

## 고함량 이소플라본 생산을 위한 대두의 전처리 및 청국장 발효조건 확립

유재수\*

전북대학교 식품공학과

### Pretreatment of Soybean and Development of Fermentation Conditions of Chungkukjang for High Contents Isoflavone Production

Jae-Soo Yoo\*

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

#### Abstract

The separation conditions for the enhancement of isoflavone contents in soybean by soaking and germination were developed, and the fermentation conditions of Chungkukjang were optimized by using response surface methodology analysis. The high-yield of isoflavone production was obtained when the conditions of soaking and germination were at 25.6°C, 7 hr and 29.1°C, 42.4 hr, respectively. Total isoflavone contents in soybean (Daepung) by treatment were increased from 1,012 ppm to 1,912 ppm. Also, the optimum fermentation conditions of Chungkukjang were determined 39.96°C, 1.32% (inoculum size) and 42.4 hr, respectively. Isoflavone contents in Chungkukjang under the optimum fermentation conditions were 1.3 times higher than the control (1,960 ppm).

**Key words:** isoflavone, response surface methodology, germination, fermentation, Chungkukjang

#### 서 론

최근 식생활의 향상과 건강에 대한 관심이 높아지면서 생리활성 물질이 풍부한 원료의 이용 및 개발에 관한 연구가 활발해지고 있다(Kim et al., 2006; Oh, 2007; Choi et al., 2009; Jo & Choi, 2010).

콩은 우리 국민이 전통식품으로 이용되어 온 주요 작물 중의 하나로 필수아미노산과 필수지방산의 함량이 높아 단백질과 지방질의 공급원으로 이용되어왔으며 다양한 생리활성을 가진 기능성 물질들을 함유하고 있다. 대표적인 기능성 물질로는 이소플라본, 피틴산, 트립신 저해제, 사포닌, 콩 단백질과 그 가수분해물, 식이섬유질과 페놀 화합물 등이 있다(Anderson et al., 1995; Coward et al., 1993). 이러한 여러 가지 기능성 성분 중 이소플라본은 유방암, 폐경기 증후군, 전립선암, 대장암, 골다공증과 심혈관계질환 등과 같은 호르몬과 관련된 질환에 예방효과가 있는 것으로 알려져 있다(Setchell et al., 1984; Moon et al., 1994;

Chang et al., 2005). 이소플라본은 주요 활성물질인 genistein, daidzein, glycitein 등 3종의 aglycon 형태로 되어 있고, 각각에 3 종류의 배당체가 있어 12 종류의 화합물이 존재한다. 이들의 함량은 콩의 품종, 재배지역, 재배년도와 같은 환경, 각종 부위와 가공공정에 따라 차이가 있는 것으로 보고되어 있다(Eldridge & Kwoler, 1983; Dwyer et al., 1994).

장류의 경우 콩의 침지는 6-12 시간 동안 행해지며 그 목적은 조식을 연하게 하여 조리시간을 단축시키거나 발아를 쉽게 하기 위해서이다. 그러나 지나치게 오랫동안 침지 시 수용성 영양성분의 손실과 오염 가능성이 높아진다. Quest & Silva(1977)와 Wang et al.(1979)은 대두를 오랫동안 침지 시 수용성 영양분 손실로 인한 고형물이 감소된다는 보고를 하였다.

식물의 증지는 발아가 진행됨에 따라 성분변화와 생리적 활성이 증대되기 때문에 콩의 발아 또한 호흡과 대사 작용으로 인하여 영양성분 및 기능성 물질의 변화가 예상된다(Kim & Hwang, 1993). Sierra & Valverde(1977)는 완두콩 발아 시 미량 영양소 함량이 증가되고, Bergman et al. (2000)은 보리를 발아시킴으로써 탄수화물의 소화율이 증가됨을 보고하였다. 따라서 대두 중 생리활성물질의 하나인 이소플라본 함량을 얻기 위한 침지와 발아조건의 확립은 중요한 일이라 판단되어 진다.

\*Corresponding author: Jae-Soo Yoo, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Korea  
Tel: +82-63-270-2565; Fax: +82-63-270-2572  
E-mail: yjsoo5@hanmail.net  
Received September 23, 2011; revised November 3, 2011; accepted November 3, 2011

청국장은 발효과정 중 미생물이 생산하는 효소 작용으로 단백질이 분해되어 그 특유의 구수한 맛을 내고 원료인 콩에 함유되어 있는 생리활성 물질 이외에 여러 가지 생체조절기능을 가지고 있다. Shin et al.(1995)과 Shon et al.(2000)은 각각 항산화와 혈압강하 효과에 대해 보고하였고, Kil et al.(1998)과 Youn et al.(2001)은 각각 항균효과와 혈전용해능에 대해 보고하였다. 특히 Kim et al.(2003)은 발효과정 중 생성된 점질물질인 폴리글루타메이트가 지질대사 개선과 혈전용해능 및 항암 활성 등에 큰 효과가 있음을 보고하였다. 그러나 청국장은 각 지역마다 제조방법이 일정하지 않고 원료의 종류, 사용균주, 발효온도, 접종량 및 시간 등 발효조건의 차이에 따라 영양과 특유의 풍미가 달라지게 된다. 따라서, 청국장 산업의 활성화를 위해서는 제조법의 표준화와 품질 균일화가 선행되어야 한다고 판단된다.

본 연구에서는 실험디자인과 반응표면 분석을 이용하여 고수율의 이소플라본 함량을 얻기 위한 콩의 침지, 발아조건과 청국장제조를 위한 발효 조건을 확립하기 위해 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

2009년 생산된 장수산콩(장수콩)과 2010년 5월 영남 농업연구소에서 대망, 대원, 대풍, 선유, 소담, 황금 6 품종을 제공받아 4°C에 보관하며 사용하였다.

### 대두의 수침 및 발아

100 g의 콩을 2-3 번 수세하여 시료 부피의 5-6 배의 물에 약 10 시간 동안 수침한 후, 콩나물 자동재배기(청시루, Korea)를 사용하여 발아시켰다.

### 청국장제조

발아시킨 대두를 121°C에서 60 분간 증자 한 후 균 접종을 위해 50°C 정도로 냉각하였다. 냉각 후 36°C에서 18 시간 배양된 배양액을 2%(v/v) 접종하여 40°C에서 72°C 시간 동안 발효 시켰다. 사용된 균주(*Bacillus subtilis*)는 대상식품(주)에서 분양받아 활성화 시킨 후 사용하였다.

### Isoflavone 함량 분석

동결건조 시킨 콩가루 0.5 g에 1 N HCl 7.5 mL를 넣어 isoflavone 배당체를 aglycon으로 전환시키기 위해 100°C에서 90 분간 가수분해 시켰다. 가수분해된 시료는 메탄올을 첨가하여 15 mL로 정용하였고, 6 시간 교반 후 5,000 rpm에서 10 분간 원심분리 하였다. 원심분리된 상정액은 0.2 syringe filter(Satorius, Germany)로 여과 한 후 분석시료로 사용하였다. 분석조건은 Table 1에 나타났다.

**Table 1. Conditions of isoflavone analysis.**

Instrument	Shimadzu (Japan)
Column	25 cm×4.6 mm ID SUPELCO SIL™ LC-18 5 μm
Mobile phase	Acetonitrile/0.005 M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (25:75)(v/v)
Flow rate	1.2 mL/min
Injection volume	20 μL
Detection	UV detector (Shimadzu, Japan), λ = 254
Column temp.	40°C

### 반응표면 분석

반응표면분석(Response Surface Methodology)은 적절한 실험 디자인을 바탕으로 반응조건들을 통계적인 기법에 의해 핵심적인 독립 변수들을 선정하여 최적 수준을 찾아내는데 사용된다. 이를 수행하기 위한 실험디자인으로 중심합성계획법을 사용하였다.

중심합성계획(Central Composition Design, CCD)은 중심점을 포함한 요인배치 실험점(꼭지점)과 축점으로 이루어진다. 독립변수의 수가 k라면 요인 실험점의 수가 2<sup>k</sup>이고 축점의 수가 2k이므로, 중심점에서의 반복회수가 n<sub>0</sub>인 경우 총 실험횟수는 2<sup>k</sup> + 2k + n<sub>0</sub>가 된다. 예를 들어 중심점에서 반복 횟수로 2 개의 같은 실험(n<sub>0</sub>)을 포함하여 2 개의 독립변수를 선택할 경우 10 회의 실험이 필요하다. 본 실험에서는 온도, 시간과 접종량을 독립변수로, 이소플라본 함량을 종속변수로 설정하였다. 모든 실험자료는 Design Expert pro S/W ver. 6.0을 사용하여 분석하였고 2 차 다항식으로 구하였다.

다음은 종속변수와 독립변수 사이의 상관관계를 얻기 위해 적용한 식이다(Muthukumar et al., 2004).

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_{ii}X_1^2 + b_{ij}X_1X_j \quad (1)$$

식 (1)에서 Y는 예측응답(response), X<sub>i</sub>는 독립변수, b<sub>0</sub>는 상수계수(constant), b<sub>i</sub>, b<sub>ii</sub>, b<sub>ij</sub>는 교호작용 계수(interaction coefficient)이다. 다항식 모형의 적합도의 질(quality of fit)은 상관관계수(correlation coefficient, R<sup>2</sup>)로 표현하였으며 전체 모델에 대한 유의성은 ANOVA(analysis of variance) 시 주어지는 P값(probability value)에 의해 결정되어지는데 P값이 0.05보다 작을 때 유의성이 인정된다고 간주하였다. 고품량 이소플라본 생산을 위한 최적 조건은 2 차 다항식의 Y값인 이소플라본 함량이 최대가 되는 지점을 3 차원 반응표면도를 그려 확인 하였다.

## 결과 및 고찰

### 품종별 이소플라본 함량

콩에 함유된 이소플라본은 genistein, daidzein, glycitein의

**Table 2. Isoflavone contents of various soybean cultivars after soaking for 10 hr.** (Unit: ppm)

	Daidzein	Glycitein	Genistein	Total
Control	300	10	60	370
Daemang	342	36	141	519
Daewon	501	71	147	719
Daepung	689	51	272	1012
Sunyu	342	35	93	504
Sodam	726	47	205	978
Hwangkum	249	42	105	438

3종의 aglycon과 각각에 3 종류의 배당체가 있어서 12 종류의 화합물이 존재한다. 그 중 주요 활성물질은 daidzein과 genistein이다. 또한 그 함량과 조성은 품종, 생산년도, 재배 지역과 환경에 따라 차이가 있다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 다양한 대두의 품종에 대해 가장 이소플라본 함량이 높은 품종을 선정 후 환경조건, 즉 침지와 발아조건을 달리함으로써 고농도의 이소플라본 함량을 얻고자 실험을 수행하였다. 대조구는 2009년도 장수에서 재배된 대두를 사용하였고, 다양한 대두의 품종 들을 10 시간 동안 침지 후 이소플라본 함량을 측정하여 결과를 Table 2에 나타냈다. 실험결과 대두의 품종별 이소플라본 함량은 daidzein과 genistein이 각각 249-726 ppm과 93-272 ppm의 범위를 나타냈고, glycitein은 35-71 ppm 범위로 낮은 함량을 나타냈다. 이러한 결과는 콩에 glycitein 보다 daidzein과 genistein 유도체가 많이 함유되어있다는 Lee et al.(2002)의 보고와 유사하였다. 콩 품종 별 total 이소플라본 함량은 대조구가 370 ppm을 나타냈고, 대풍콩이 1012 ppm으로 가장 높았으며, 황금콩이 438 ppm으로 가장 낮은 함량을 나타내 생산년도와 콩 품종에 따라 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 상기 실험결과로부터 다음 실험 시 대풍콩을 사용하여 실험을 수행하고자 하였다.

**침지와 발아조건 확립**

고함량 이소플라본을 얻기 위한 콩의 침지 최적 조건을 찾기 위해 장수산 콩(2009년)을 사용하여 실험을 수행하였다. 실험디자인 시 독립변수로 온도와 시간에 대해 5 단계로 부호화하여 Table 3에 나타냈다. 온도와 시간의 중심점은 각각 25°C와 7 hr으로 정하고 반복횟수를 1 실험구로 하여 실험의 조합의 수는 요인의 행렬 4 개, 축점 4 개, 중

**Table 3. Levels of independent variables for experimental design of soaking conditions using Jangsu soybeans.**

$X_n$	-1.414	-1	0	1	1.414
$X_1$ (Temperature)	17.9	20	25	30	32.1
$X_2$ (Time)	2.8	4	7	10	11.2

**Table 4. The central composite design for time and temperature during soaking with Jangsu soybeans.**

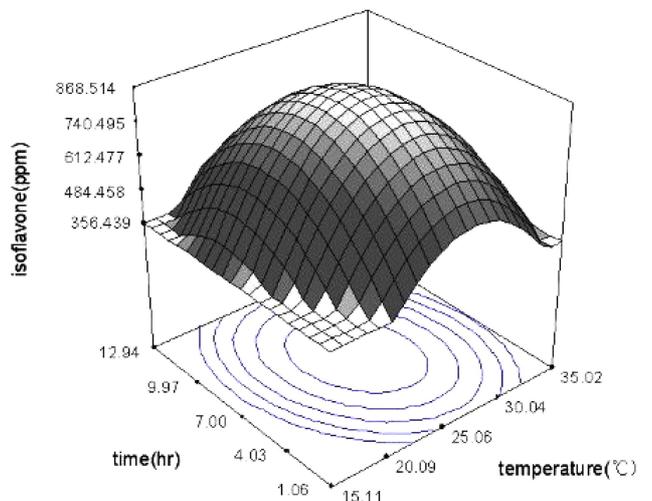
Trial No.	$X_1$ (°C)	$X_2$ (hr)	Isoflavone content (ppm)
1	-1(20)	-1(4)	509
2	-1(20)	1(10)	638
3	1(30)	-1(4)	642
4	1(30)	1(10)	638
5	0(25)	0(7)	864
6	$-\alpha$ (17.9)	0(7)	643
7	$\alpha$ (32.1)	0(7)	700
8	0(25)	$-\alpha$ (2.8)	806
9	0(25)	$\alpha$ (11.2)	737

심점 1 개를 합하여 9 종류로 Table 4에 나타냈다. 실험결과 이소플라본 함량은 온도와 시간이 각각 25°C와 7hr에서 가장 높은 값을 나타냈고 509-864 ppm 범위를 나타냈다. 이 결과를 이차다항식의 형태로 표현하고 각 항에 대한 계수를 회귀분석 방법으로 결정하기 위해 Design Expert pro S/W 6.0을 사용하였다. 전체적인 실험 모델의 유의성과 적합도는 분산분석을 통해 확인하였다. 분석결과 P value가 0.0343으로 0.05보다 낮게 분석되어 가정한 모형이 통계적으로 유의함을 알 수 있었고,  $R^2$ (결정계수) 값은 0.6429로 1에 가까운 값을 나타내 반응모형을 신뢰할 수 있었다.

모수추정에 의한 회귀 식은 다음과 같이 분석되었다.

$$Y = -8.647949X_2^2 - 2.216667X_1X_2 - X_1^2 + 177.683238X_2 + 274.776821X_1 - 3264.02142$$

주어진 데이터에 대한 정확한 최적점을 찾기 위해 모수 추정에 의한 2 차 회귀 식을 바탕으로 능선분석을 하여 Fig. 1에 나타냈다. 정상점은 최대점으로 나타났고, 장수산



**Fig. 1. Response surface plot of time and temperature effects during soaking with Jangsu soybeans.**

**Table 5. Levels of independent variables for experimental design of germination conditions using Daepung and Jangsu soybeans.**

$X_n$	-1.414	-1	0	1	1.414
$X_1$ (Temperature)	17.9	20	25	30	32.1
$X_2$ (Time)	19	24	36	48	53

콩 침지의 최적 온도와 시간은 각각 25.6°C와 7 hr으로 확인되었으며, 이소플라본의 함량은 868.7 ppm으로 예측되었다. 상기 결과를 토대로 최적의 발아 조건을 확립하기 위해 장수산 콩(2009년)과 대풍콩(2010년)에 대해 온도와 시간을 각각 25.6°C와 7 hr 동안 침지 후 콩나물 자동재배기를 이용하여 실험을 수행하였다. 장수산 콩과 대풍콩에 대한 실험디자인을 5 단계로 부호화하여 Table 5에 나타냈다. 장수산 콩에 대한 온도와 시간의 중심점은 각각 25°C와 36 hr으로 정하고 반복수는 1로 하여 9 종류의 조합으로 Table 6에 나타냈다. 실험결과 이소플라본 함량은 온도와 시간이 각각 32.1°C와 36 hr동안 발아시켰을 경우 1,106 ppm으로 가장 높게 측정되었고 940-1,106 ppm 범위를 나타냈다. 분산분석 결과 전체적인 실험모델의 유의확률은 0.0410으로 0.05보다 낮은 값을 나타내 신뢰할수 있었고 R<sup>2</sup> 값은 0.7635로 1에 가까운 값을 나타내어 반응모형이 자료에 잘 적합됨을 알 수 있었다. 모수추정에 관한 결과에서 선형, 순수이차와 교차곱의 유의 확률은 0.05이상으로 분석되었고 모수추정에 의한 2차 회귀식은 다음과 같이 분석되었다.

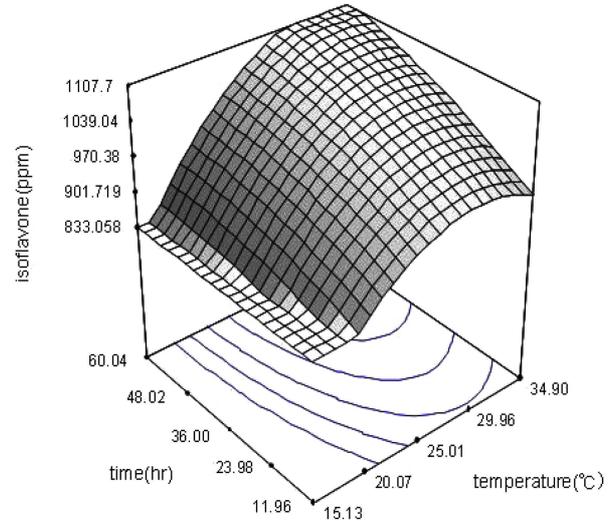
$$Y = -0.033531X_2^2 + 0.129167X_1X_2 - 1.120992X_1^2 + 1.668635X_1 + 64.985481X_2 - 37.252831$$

온도와 시간의 정상점은 각각 29.6°C와 48.7시간으로 확인되었고 정상점에서의 이소플라본 함량은 1,150 ppm으로 예측되었다. 반응표면도를 이용해서 온도와 시간에 따른 이소플라본 함량을 Fig. 2에 나타냈다. 고농도의 이소플라본은 중점보다 높은 온도와 시간에서 얻어짐을 알 수 있었다.

**Table 6. The central composite design for the two variables by using Jangsu soybeans.**

Trial No.	$X_1$ (°C)	$X_2$ (hr)	Isoflavone content (ppm)
Control*			618
1	-1(20)	-1(24)	940
2	-1(20)	1(48)	1,000
3	1(30)	-1(24)	980
4	1(30)	1(48)	1,071
5	0(25)	0(36)	1,020
6	- $\alpha$ (17.9)	0(36)	801
7	$\alpha$ (32.1)	0(36)	1,106
8	0(25)	- $\alpha$ (19)	968
9	0(25)	$\alpha$ (53)	1,030

\* conditions: soaking for 25.6°C, 7 hr and germination for 25°C, 72 hr



**Fig. 2. Response surface plot of time and temperature effects during germination with Jangsu soybeans.**

**Table 7. The central composite design for the two variables using Daepung soybeans.**

Trial No.	$X_1$ (°C)	$X_2$ (hr)	Isoflavone content (ppm)
Control*			1,058
1	-1(20)	-1(20)	1,370
2	-1(20)	1(48)	1,708
3	1(30)	-1(20)	1,634
4	1(30)	1(48)	1,773
5	0(25)	0(36)	1,758
6	- $\alpha$ (17.9)	0(36)	1,386
7	$\alpha$ (32.1)	0(36)	1,940
8	0(25)	- $\alpha$ (19)	1,609
9	0(25)	$\alpha$ (53)	1,793

\* conditions: soaking for 25.6°C, 7 hr and germination for 25°C, 7 hr

대풍콩 역시 온도와 시간의 중심점을 각각 25°C와 36 hr으로 정하고 반복수를 1 실험구로 하여 9 종류의 조합으로 수행 후 결과를 Table 7에 나타냈다. 실험결과 이소플라본 함량은 온도와 시간을 각각 32.1°C와 36 hr동안 발아시켰을 경우 1,940 ppm으로 가장 높게 측정되었고 1,386-1,940 ppm 범위를 나타냈다. 분산분석 결과 전체적인 실험모델의 유의 확률은 0.0313으로 0.05보다 작으므로 가정된 모형반응 역시 자료에 적합하였고 R<sup>2</sup> 값은 0.8606로 1에 가까운 값을 나타내어 반응모형이 자료에 잘 적합됨을 알 수 있었다. 모수추정에 의한 2차 회귀식은 다음과 같이 분석되었다.

$$Y = -87.584011X_2^2 - 98.670833X_1X_2 - 126.292440X_1^2 + 130.402080X_2 + 195.257576X_1 + 1759.006053$$

주어진 데이터에 대한 정확한 최적점을 찾기 위한 회귀

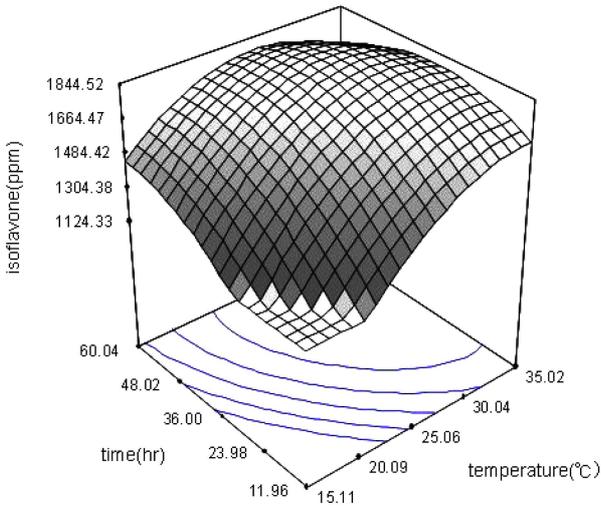


Fig. 3. Response surface plot of time and temperature effects during germination with Daepung soybeans.

분석 결과 고함량 이소플라본을 얻기 위한 온도와 시간은 각각 29.1°C와 42.4 hr으로 확인되었으며, 이소플라본의 함량은 1,845 ppm으로 예측되었다. 3 차원 반응표면도와 2 차원 contour plot을 이용해서 온도와 시간에 따른 이소플라본 함량을 Fig. 3에 나타냈다. 대풍콩 역시 고함량의 이소플라본은 중심점보다 높은 온도와 시간에서 얻어짐을 알 수 있었다.

장수산 콩과 대풍콩에서 최대점으로 나타난 조건으로 각각 확인 실험을 수행하였다. 실험결과 이소플라본 함량은 장수산 콩의 경우 910 ppm으로 대조구보다 약 1.5 배 향상되었고, 대풍콩의 경우 1,910 ppm으로 예측치 보다 높은 값을 나타내 대조구보다 약 1.8 배 향상됨을 알 수 있었다. 상기 결과로부터 발아 전후, 재배년도와 지역에 따라 이소플라본 함량의 차이가 있음을 확인 할 수 있었다.

고함량 이소플라본 생산을 위한 청국장 발효조건

최적화된 발아 콩을 가지고 고함량 이소플라본을 얻기 위한 청국장 발효조건을 확립하고자 반응표면 분석을 수행하였다. 실험디자인으로는 청국장 발효 시 중요 인자인 온도, 접종량과 시간에 대해 중심합성계획법을 이용하였다.

온도, 접종량과 시간에 대해 중심점을 각각 38, 48 hr과 1.5%로 정한 후 반복횟수를 2 실험구로 선택함으로써  $\alpha$ 값은 1.682로 정하고 다섯 단계로 부호하여 Table 8에 나타냈다. 총 실험횟수는 요인의 행렬 8 개, 축점 6 개, 중심점 2 개로 16 종류의 실험구에 대해 실험을 수행하여 Table 9에 나타냈다. 실험결과 이소플라본 함량은 온도, 접종량과 시간이 각각 42°C, 1%, 60 hr일 때 2,545 ppm으로 가장 높게 측정되었고 온도, 접종량과 시간이 각각 34°C, 1%, 36 hr일 때 2,110 ppm으로 가장 낮게 나타났다. 다중 회귀

Table 8. The level of variables for Chungkukjang preparation.

X <sub>n</sub>	Independent variable	Level				
		-1.682	-1	0	1	1.682
X <sub>1</sub>	Temperature(°C)	32.8	34	38	42	43.1
X <sub>2</sub>	Inoculum concentration (%)	0.8	1.0	1.5	2.0	2.1
X <sub>3</sub>	Time (hr)	32.6	36	48	60	63.4

Table 9. The central composite design for Chungkukjang preparation.

Trial No.	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (%)	X <sub>3</sub> (hr)	Isoflavone content (ppm)
Control*				
1	-1(34)	-1(1.0)	1(60)	2,117
2	-1(34)	-1(1.0)	-1(36)	2,110
3	-1(34)	1(2.0)	1(60)	2,214
4	-1(34)	1(2.0)	-1(36)	2,210
5	1(42)	-1(1.0)	1(60)	2,545
6	1(42)	-1(1.0)	-1(36)	2,266
7	1(42)	1(2.0)	1(60)	2,288
8	1(42)	1(2.0)	-1(36)	2,271
9	0(38)	0(1.5)	0(48)	2,510
10	0(38)	0(1.5)	0(48)	2,520
11	$-\alpha$ (32.8)	0(1.5)	0(48)	2,200
12	$\alpha$ (43.1)	0(1.5)	0(48)	2,212
13	0(38)	$-\alpha$ (0.8)	0(48)	2,134
14	0(38)	$\alpha$ (2.1)	0(48)	2,337
15	0(38)	0(1.5)	$-\alpha$ (32.6)	2,240
16	0(38)	0(1.5)	$\alpha$ (32.6)	2,312

\* fermentation conditions: 2% of inoculum size, 40°C and 72 hr

분석 시 온도(X<sub>1</sub>), 접종량(X<sub>2</sub>)과 시간(X<sub>3</sub>)을 독립변수로 설정하고 이소플라본 함량을 종속변수(Y)로 하여 모수추정에 의한 회귀 식은 상기에서 언급된 프로그램을 사용하였다. 상기결과를 분산분석 한 결과 P value가 0.0158로 0.05보다 작아 RSM 결과는 매우 유의성이 있는 것으로 확인되었고 특히 온도의 경우 P값이 0.0146으로 가장 큰 유의성을 보여 주었다. 또한 R<sup>2</sup>(결정계수)은 0.7770으로 나타내 반응모형이 모델에 적합함을 알 수 있었다. 모수추정에 의한 2차 회귀식은 다음과 같이 분석되었다.

$$Y = -0.466677X_3^2 - 5.520833X_2X_3 - 200.430486X_2^2 + 0.742188X_1X_3 - 28.062500X_1X_2 - 7.000095X_1^2 + 1946.927120X_2 + 554.970352X_1 - 10615$$

모델식에 대한 반응표면 분석법을 수행하여 얻은 결과를 Fig. 4(a), (b), (c)에 나타냈다. 3 개의 독립변수 중 발효시간을 고정시키고 접종량과 발효온도와의 상관관계를 Fig. 4(a)에 나타냈다. 온도를 일정하게 유지할 경우 접종량이 증가할수록 이소플라본 함량은 증가됨을 알 수 있었다. 발

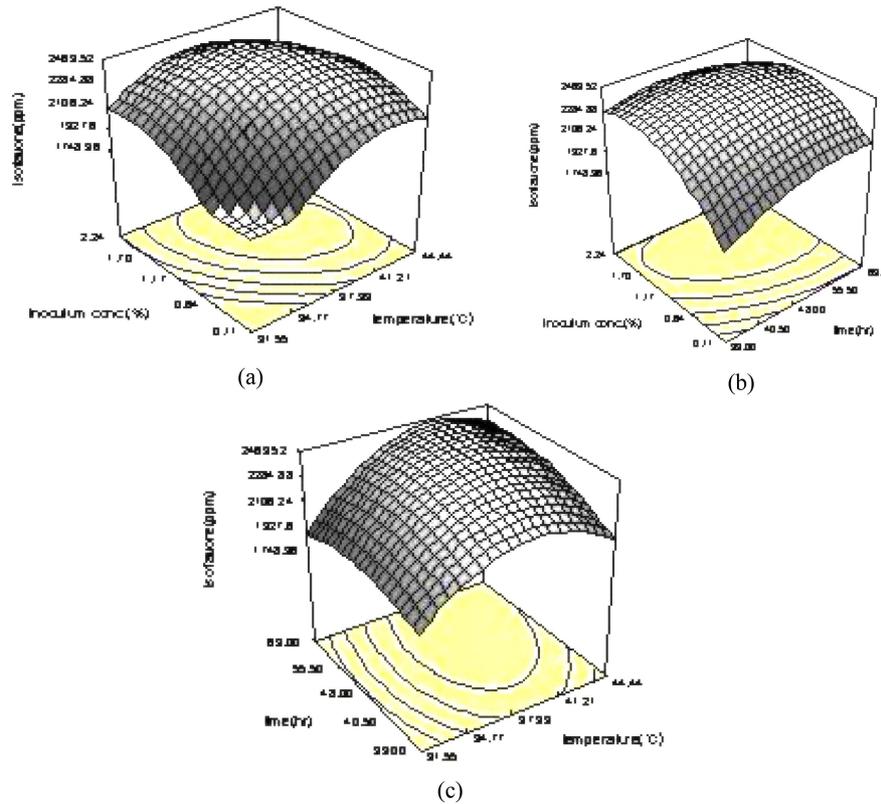


Fig. 4. The effect of time, inoculum size and temperature on the content of isoflavone in Chungkukjang.

효온도를 고정 후 접종량과 발효시간과의 관계를 Fig. 4(b)에 나타냈다. 발효시간과 접종량이 증가할수록 이소플라본 함량은 증가하였다. Fig. 4(c)는 접종량을 고정한 후 발효시간과 온도와의 관계를 나타냈다. 시간이 일정한 조건에서 온도가 높아질수록 이소플라본 함량은 증가하였고, 낮은 온도에서 발효를 할 경우 고함량의 이소플라본을 얻기 위해서 발효시간이 길어짐을 알 수 있었다. 또한 모델식으로부터 고함량 이소플라본을 얻기 위한 최적의 반응조건, 즉 온도, 접종량과 시간은 각각 39.96°C, 1.32%와 54.27 hr으로 확인되었고 이 조건에서의 이소플라본 함량은 2,475.72 ppm으로 예측되었다. 상기조건으로 확인 실험을 수행한 결과 이소플라본 함량은 2,544 ppm으로 예측치 보다 높게 측정되었고, 대조구보다 약 1.3 배 향상됨을 알 수 있었다.

## 요 약

고 함량 이소플라본 생산을 위한 대두의 침지, 발아조건 및 청국장 발효 최적조건을 찾기 위해 반응표면분석법을 사용하였다. 대두의 침지와 발아조건은 대두를 25.6°C에서 7 hr 침지 후 29.1°C에서 42.4 hr 발아 시 이소플라본 함량이 가장 높게 측정이 되었다. 또한 고함량 이소플라본을 얻기

위한 청국장 발효 최적 조건은 온도 39.96°C, 접종량 1.32%, 42.4 hr 이었다. 최적조건에서의 이소플라본 함량은 2,544 ppm으로 대조구(1,960 ppm)보다 약 1.3 배 향상되었다.

## 참고문헌

- Aderson RL, Wolf WJ. 1995. Compositional changes in trypsin inhibitor, phytic acid, saponins and isoflavone related to soybean processing. *J. Nutr.* 125: 581-588.
- Bergman EL, Aurio K, Sandberg AS. 2000. Optimal conditions for phytate degradation estimation of phytate activity and localization of phytate in barley. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4647-4655.
- Chang MJ, Kwon KJ, Kim SH. 2005. Calcium and phosphorus balance study by soy isoflavone intake in ovariectomized rats. *Korean J. Nutr.* 38(1): 40-47.
- Choi YM, Jeon GU, Kong SY, Lee JS. 2009. Changes in GABA content of selected specialty rice after germination. *J. Food Eng.* 13: 154-158.
- Coward S, Barnes NC, Setchell KDP, Bames S. 1993. Genistein, daidzein and their glucoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.* 31: 394-396.
- Dwyer JT, Goldin BR, Saul N, Gualtieri L, Barakat S, Alder-

- creutw H. 1994. Soy drinks contain phytoestrogens. J. Am. Diet Assoc. 94: 743-793.
- Eldridge AC, Kwoler WF. 1983. Soybean isoflavones effect of environment and variety on composition. J. Agric. Food Chem. 31: 394-396.
- In ZP. 2000. Flavor enhancement of Chungkookjang by addition of yucca extract. Master thesis, Konkuk University.
- Jeon SH, Lee KA, Byoun KE. 2005. Studies on change of isoflavone and nutrients during germination of soybean varieties. Korean Living Sci. Assoc. 14(3): 485-489
- Jo IH, Choi YH. 2010. Optimization of ethanol extraction of -oryzanol and other functional compounds from rice bran. Korean J. Food Preserv. 17: 281-289.
- Kil JO, Kim GN, Park IS. 1998. Production and characterization of fibrinolytic enzyme. Optimal condition for production of the enzyme from *Bacillus sp. KP-6408* isolated from chunkukjang. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27:51-56.
- Kim JI, Kang MJ, Kwon TW. 2003. Antidiabetic effect of soybean and chongkukjang. Korea soybean digest. 20(2): 44-52.
- Kim SM, Ma JY, Kim JH. 2006. A study on the extraction and efficiency of bioactive compound from *Hovenia dulcis*. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 21: 11-15.
- Lee SH, Cha YJ. 1993. Isoflavone content in soy sauce made with whole grain soybean *Meju* during fermentation. Korean J. Food & Nutr. 19(4): 460-465.
- Lee MH, Park YH, Oh HS, Kwak TS. 2002. Isoflavone content in soybean and its processed products. Korean J. Food Sci. Technol. 34(3): 365-369.
- Moon BK, Jeon KS, Hwang IK. 1994. Isoflavone contents in some varieties of soybean and on processing conditions. Korean J. Soc. Food Sci. 12: 113-131.
- Muthukumar M, Sargunamani D, Selvakumar N, Rao J. 2004. Optimization of ozone treatment for color and COD removal of acid dye effluent using central composite design experiment. Dyes and Pig. 63: 127-134.
- Oh SH. 2007. Effects and application of germinated brown rice with enhanced level of GABA. Food Sci. Industry. 40: 41-46
- Quest DG, Silva SD. 1977. Temperature dependence of hydration rate and effect of hydration on the cooking rate of dry legumes. J. Food Sci. 42: 1299-1303.
- Setchell KDR. 1984. Nonsteroidal estrogens of dietary origin: possible roles in hormone dependent disease. Am. J. Clin. Nutr. 40: 569-578.
- Shin ZA, Nam CW, Lee HS, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from soybean paste. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 230-234
- Sierra I, Vidal VC. 1999. Kinetics of free and glycosylate thiamin and riboflavin during germination of pea seeds. J. Sci. Food Agric. 73: 307-310.
- Son DH, Kwon OJ, Ji WD, Choi UK, Kwon OJ, Lee EJ, Cho YJ, Cha WS, Chung YG. 2000. The quality of Chungkookgang prepared by *Bacillus sp. CS-17* during fermentation time. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 43: 1-6.
- Sulistyo J, Naotoshi T, Kazumi F, Kan K. 1999. Production of natto starter. Nippon Shokuchin Kogyo Gakkaishi. 35: 280-281.
- Wang HL, Swain EW, Hüssel CW, Health HD. 1979. Hydration of whole soybeans affects solid losses and cooking quality. J. Food Sci. 44: 1510-1518.
- Youn HK, Choi HS, Hur S, Hong JH. 2001. Antimicrobial activities of viscous substance from Chongkukjang fermented with different *Bacillus spp.* J. Food Hyg. Safety. 16: 188-193.