

콩, 두부 및 두부부산물중의 Isoflavone함량 및 항산화효과

배은아 · 권태완 · 문갑순[†]
인제대학교 식품영양학과

Isoflavone Contents and Antioxidative Effects of Soybeans, Soybean Curd and their By-Products

Eun-A Bae, Tai-Wan Kwon and Gap-Soon Moon[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

Abstract

The content of genistein and daidzein which were known to be major antioxidative compounds in soybeans were detected by C₁₈ reverse phase HPLC. Most of isoflavones in soybeans were detected in the methanol extract but much less amount of isoflavones in the water extract. Among the four different kind of soybeans, the isoflavone content was highest in brown soybean, followed by yellow, small black and black soybean, in the order. These isoflavones were known to be soluble in hot water, which means transfer of isoflavones in soy curd into whey during soy curd processing. To identify the change of isoflavone content during processing of soybean curd, soybean curd were made from yellow, brown and black soybean and isoflavone content were determined in each soybean curd, curd residue and whey. Most of isoflavones were remained in the whey, it means most of useful antioxidative compounds were wasted. Thus, it is necessary to develop new technology to collect these isoflavones lost during soybean curd processing.

Key words: antioxidative effect, isoflavone, daidzein, genistein, soybean curd, soybean curd by-product

서 론

대두 중의 주요 isoflavone은 genistein과 daidzein이고 특히 genistein의 경우 유방암과 전립선암에 대한 항암작용이 알려져 있어 이에 관한 많은 연구가 전세계적으로 이루어지고 있다(1,2). Genistein이 항암효과를 나타내는 주요 메카니즘의 하나로서 genistein의 항산화적 특성이 지적되고 있다(3-8). Pratt와 Birac(3)은 linoleic/ β -carotene system에서, Jha 등(4)은 Fe²⁺/ADP/NADPH를 사용한 microsomal system에서 genistein의 항산화효과를 확인하였다. Tumor 개시단계와 진행단계에서 활성산소종이 광범위하게 관여하고 있고 genistein은 유해한 활성산소종을 소거하여 항산화효과를 나타냄이 여러 연구자들에 의해 밝혀지고 있다. Kusonoki 등(5)의 연구에 의하면 neutrophils에 의한 superoxide 생성이 genistein에 의해 억제되었고, Record 등(6)에 의하면 genistein이 liposome의 자외선 및 peroxy radical

에 의한 지질과산화의 방지에 효과적이었음을 밝히고 있어 genistein이 hydrogen peroxide의 효과적인 소거제 역할을 하고 있음을 입증하고 있다. 이와 유사한 결과는 Wei 등(7)의 mouse 피부를 이용한 *in vitro*와 *in vivo* 연구에서 genistein이 tumor promoter인 hydrogen peroxide의 효과적인 소거제로 작용함이 규명된 바 있고, genistein이 자외선과 Fenton 반응에 의한 산화적 DNA 손상을 막아줌이 Wei 등(8)에 의해 밝혀진 바 있다.

Pratt(9)에 의하면 콩의 항산화효과 원인물질은 당과 결합하고 있어 냉수와 온수에 모두 잘 녹는다고 하였고, 이물질은 주로 메타놀로 추출되나 열수추출물에 의해서도 상당량 검출되는 것으로 알려져 있다(10). 두부는 콩의 열수추출물에서 단백질을 추출, 응고하여 제조하므로 항산화효과 물질들이 두부순물 속에 잔류되어 있을 가능성이 매우 크다.

두부순물의 경우 응고되지 않는 저분자 단백질과 올리고당이 주성분을 이루고 있어 이들을 분리하여 고부

[†]To whom all correspondence should be addressed

가 기능성 물질을 제조하려는 가능성이 검토되어 왔으나(11), 두부순물 중에는 이들 성분 뿐만 아니라 콩의 항산화·항암효과의 주요성분인 isoflavone들이 상당량 함유되어 있을 것으로 판단된다. 그리고 비지나 두부순물 속에 함유되어 있는 항산화 관련 물질들을 분리하여 두부부산물의 이용효율을 증진시킬 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 콩, 두부 및 두부부산물중의 isoflavone 함량과 항산화효과를 알아보기 위하여 네종류(노란콩, 밤콩, 검정콩, 소립검정콩)의 콩을 n-헥산, 80% 메타놀 및 물로 추출하여 HPLC로 isoflavone 함량을 확인하고 두부를 제조하여 두부와 두부부산물의 항산화효과 및 isoflavone 함량을 측정하였다

재료 및 방법

재료

본 연구에서 시료로 사용한 노란콩은 단원콩으로서 영남작물시험장에서 분양받았으며 검정콩은 수원155호로서 전북 태안군 농촌지도소에서 구입하였으며 밤콩은 충남 홍성에서, 소립검정콩은 경남 산청의 농민에게서 직접 구입하였다.

콩의 용매 추출물중의 isoflavone 함량 측정

시료로 사용한 4종류의 콩을 n-헥산과 80% 메타놀 및 물로 각각 추출하였는데 추출방법은 전보(12)의 방법을 따랐다. 콩 종류별 동결건조물을 1N HCl로 98~100°C에서 1시간 가수분해시킨 후 genistein과 daidzein의 함량을 Wang과 Kuan(13)의 방법에 따라 C₁₈ reverse phase column에서 HPLC(Jasco model PU980, Japan)를 사용하여 분리하였다. 이때 사용한 이동상으로는 메타놀 : 1mM ammonium acetate(6 : 4)를 사용하였다.

두부 및 두부부산물의 제조

노란콩, 밤콩, 검정콩에 콩무게의 10배량의 물을 가하여 실온에서 5~6시간 불린 후 mixer에서 잘고 100°C

로 저어가면서 끓인 후 자루에 넣고 두유와 비지로 분리시켰다. 두유를 가열하여 70~80°C가 될 때 응고제로 MgCl₂를 콩중량의 2%가 되도록 첨가하고 응고가 완료되면 소창을 깬 구멍난 상자에서 두부를 만들었다. 콩 100g에서 만들어진 두부, 두부부산물 및 이의 동결건조물의 함량은 Table 1과 같았다.

두부 및 두부부산물의 항산화 효과의 측정

콩종류별(노란콩, 밤콩, 검정콩)로 제조한 두부, 비지 및 두부순물을 동결건조한 후 Hayase와 Kato의 방법(14)에 따라 linoleic acid에 대한 과산화물가를 측정하였다. 즉 linoleic acid emulsion에 0.04g의 각각의 동결건조 시료를 가한 후 50°C incubator에서 incubation 시키면서 7일간의 과산화물가를 측정하였다.

두부 및 두부부산물의 isoflavone 함량의 측정

노란콩, 밤콩, 검정콩으로 만든 두부와 비지 및 두부순물의 동결건조물을 80% 메타놀로 추출하고 회전진공농축기로 농축하여 80% 메타놀 추출물로 하였다. 추출한 메타놀 추출물을 앞에서와 같이 1N HCl로 산분해한 후 HPLC에 의해 isoflavone 함량을 측정하였다(13).

두부 및 두부부산물의 총페놀 함량의 측정

콩종류별로 제조한 두부 및 두부부산물의 총 페놀 함량은 Hammerschmidt의 방법(15)에 따라 측정하였고 chlorogenic acid를 표준으로 하여 총 페놀 함량을 산출하였다.

결과 및 고찰

콩의 메타놀 및 물추출물 중의 isoflavone 함량

노란콩, 밤콩, 검정콩, 소립검정콩의 4종류의 콩을 80% 메타놀 및 물로 각각 추출하여 산분해한 후 측정된 genistein과 daidzein 함량을 Table 2에 나타내었다. 80% 메타놀 추출물의 isoflavone 함량은 물 추출물의 경우보다 높은 값을 나타내어 메타놀 추출물 중에 isoflavone

Table 1. Yields of fresh or lyophilized soybean curd, soybean curd residue and whey from 100g soybeans

Soybean varieties	Fresh			Lyophilized		
	Soybean curd(g)	Soybean curd residue(g)	Soybean curd whey(ml)	Soybean curd(g)	Soybean curd residue(g)	Soybean curd whey(g)
Yellow soybean	155	139	530	41.1	30.9	8.5
Brown soybean	140	115	620	35.9	28.2	9.0
Black soybean	190	120	590	36.6	43.4	9.0

Table 2. Genistein and daidzein contents in methanol and water extracts of soybeans

Soybean varieties	Methanol extracts		Water extracts	
	Genistein (µg/g)	Daidzein (µg/g)	Genistein (µg/g)	Daidzein (µg/g)
Yellow soybean	3211.0	1079.8	1015.0	1101.0
Brown soybean	3794.0	3158.0	737.7	972.0
Black soybean	1928.0	2011.0	669.0	938.6
Small black soybean	2202.0	2489.0	1342.5	989.5

이 많이 용출되는 것을 알 수 있었다.

식물로부터 항산화물질 추출 시험에서 가장 많이 사용하고 있는 용매는 메타놀인데 이는 비교적 항산화 효과가 높은 극성물질의 추출과 함께 추출수율이 높기 때문이다(16). 탈지대두를 이용한 김 등(10)의 연구에 의하면 여러가지 용매에 의한 추출물 중에서 항산화성분의 추출에 가장 좋은 용매는 메타놀이였다. 이러한 결과는 전보(12)에서 80% 메타놀 추출물에서 콩의 항산화 효과가 가장 컸던 결과와도 일치한다. 에탄올과 메탄올의 경우 단일용매일 때 보다는 물과 희석한 용매에서 약간 높은 수율을 나타내었다고 보고되어 있어(17) 80% 메타놀 추출물이 좋은 용매임을 알 수 있었다.

콩종류에 따라서도 isoflavone의 함량은 많은 차이를 나타내었는데 메타놀 추출물의 경우 밤콩에서 높았고 소립검정콩과 노란콩이 유사하였으며 검정콩이 가장 낮았다. 80% 메타놀 및 물추출물 중의 isoflavone 총량은 밤콩이 8,661.7µg/g로서 역시 가장 높았고 소립검정콩 7,022.5µg/g, 노란콩 6,406.8µg/g이었고 검정콩이 5,546.6µg/g으로서 가장 낮았다. 김(18)이 50여종의 국내산 콩의 isoflavone 함량을 측정된 결과에 의하면 460~4,180µg/g으로서 품종간 차이가 컸는데 본 실험에 사용한 콩들의 isoflavone 함량은 김의 결과 보다는 약간 높은 isoflavone값을 나타내었다. 한편 종피의 색과 isoflavone 함량간의 관련은 명확하지 않았으나 김(18)의 실험결과 검정콩이면서 자엽이 녹색인 계통들의 isoflavone 함량이 높았고 갈색콩의 isoflavone 함량은 낮았다고 보고하고 있으나 본 결과와는 상반되게 나타났다.

한편 대두 isoflavone은 동잎콩종의 경우 재배위치나 재배년도에 따라 함량이 46~195mg/g정도로 차가 있다고 보고되어 있고 콩의 부위에 따라서도 차이가 나서 E-dridge(19)에 의하면 hypocotyl에 가장 많은 isoflavone이 함유되어 있다고 한다.

두부 및 두부부산물의 항산화효과

노란콩, 밤콩, 소립검정콩의 세종류의 콩을 이용하여 두부 및 두부부산물을 얻은 결과는 Table 1에 나타내었다. 콩 100g에 대한 두부 수득량은 140~190g정도였고 비지는 115~139g이었으며 두부순물은 530~620 ml 사이였다 이는 이와 황(11)의 두부 수득량 172.3g과 유사하였고 두부순물의 수득량 297.5ml 보다는 약간 높은 값이었다. 두부와 두부부산물의 항산화효과를 알아보기 위하여 노란콩, 밤콩, 검정콩의 두부, 비지, 두부순물을 동결건조하여 linoleic acid emulsion에 0.04g씩 가한 후 50°C incubator에서 incubation시키면서 7일간의 과산화물가를 측정된 결과를 Fig. 1~3에 나타내었다.

두부의 과산화물가는 반응 5일까지는 안정한 값을 나타내어 항산화효과를 나타내었고 특히 검정콩과 밤콩으로 만든 두부의 항산화효과가 높은 것으로 나타났다. 6일 이후에는 두부의 과산화물가는 급격히 증가하였으나 검정콩으로 만든 두부의 과산화물가는 가장 낮아서 전보(12)에서 검정콩이 가장 강한 항산화효과를

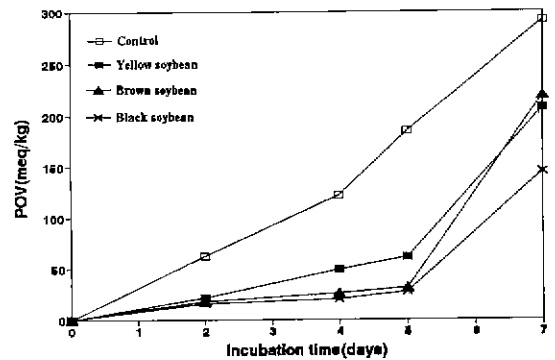


Fig. 1. Changes of peroxide values of linoleic acid emulsion with the addition of soybean curd during autoxidation at 50°C for 7 days.

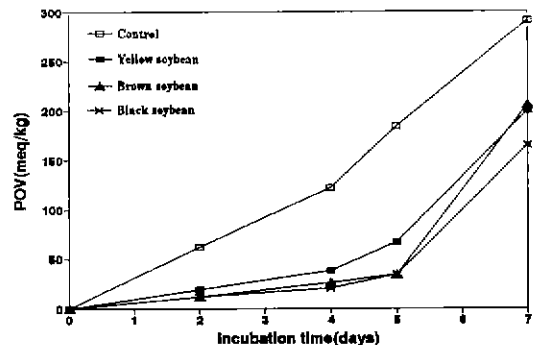


Fig. 2. Changes of peroxide values of linoleic acid emulsion with the addition of soybean curd residues during autoxidation at 50°C for 7 days.

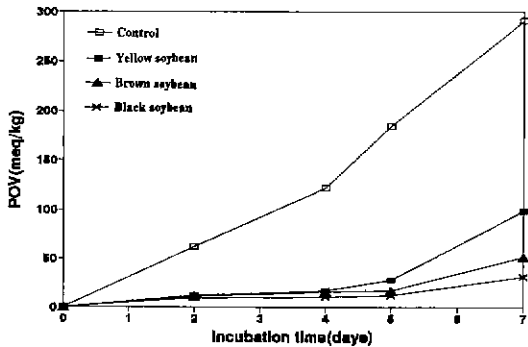


Fig. 3. Changes of peroxide values of linoleic acid emulsion with the addition of soybean curd wheys during autoxidation at 50°C for 7 days.

나타내었던 결과와 일치하는 결과를 얻었다. 비지의 항산화효과는 두부와 유사하여서 50°C에서 반응 5일까지는 상당한 항산화효과를 나타내었고 역시 검정콩과 밤콩으로 만든 비지의 항산화효과가 노란콩으로 만든 비지 보다 현저히 높았으나 6일 이후에는 과산화물가가 급격히 상승하였고 노란콩의 과산화물가가 조금 낮은 값을 나타내었다.

두부순물 동결건조물의 항산화효과는 반응 5일까지 매우 강하였는데 6일 이후에는 증가하였고 검정콩 두부순물의 항산화효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

두부, 비지, 두부순물 중 7일간의 반응기간 동안 두부순물 동결건조물의 과산화물가가 가장 낮았고 두부와 비지의 경우에는 유사한 항산화효과를 가진 것으로 나타났다.

두부 및 두부부산물의 isoflavone 함량

두부 및 두부부산물의 항산화효과의 원인물질로서 콩중에 가장 많이 함유되어 있는 isoflavone 물질의 규명 및 두부 제조시 isoflavone의 거동을 확인하기 위하여 두부, 비지 및 두부순물 동결건조물의 daidzein, genistein 함량을 측정하여 Table 3에 나타내었다. 두부나 비지 속의 isoflavone 함량은 매우 낮았고 두부순물 속에 대부분의 isoflavone들이 함유되어 있었다. 이는 콩의 isoflavone이 두부제조 공정 중 열수에 상당량 용출

되어 두부순물 중으로 전이한 결과로 보인다.

Murphy(20)는 두부 제조과정에서 isoflavone 화합물의 농도를 조사한 결과 대두가공의 침수동안 genistein은 의미있게 증가한다고 하였고 Matsuura 등(21)은 isoflavone glucoside는 β -glucosidase에 의해 가수분해되어 daidzein과 genistein을 생성하며 결국 대두의 침수과정 동안 증가됨으로서 두유의 독특한 후미와 관련된 원인물질이라고하여 genistein이 물에 용출됨을 입증하고 있다. 몇몇 전연병학적 증거에 의하면 아시아지역에서 콩섭취량과 식도암, 유방암, 대장암 발생과 밀접한 관계가 있고 콩 및 콩발효제품을 많이 섭취하는 아시아 여성들의 유방암이완율이 낮은 이유를 콩에 함유된 genistein 때문이라고 설명하고 있다(22,23). 그러나 아시아 지역에서의 주요 콩급원식물의 하나인 두부에 있어서는 isoflavone의 섭취를 크게 기대할 수 없다는 사실을 알 수 있었다. 따라서 genistein의 이용효율을 높이기 위해서는 두부순물에서 genistein을 회수하여 사용하는 방법이 강구되어야 하리라고 여겨진다.

두부 및 두부부산물의 총페놀 함량

콩종류별 두부, 비지 및 두부순물의 총 페놀 함량을 측정할 결과를 Table 4에 나타내었다. 노란콩, 밤콩, 검정콩의 두부, 비지 및 두부순물의 총 페놀 함량은 노란콩 보다 밤콩과 검정콩에서 높은 함량을 나타내었고 두부와 두부부산물중에서는 두부순물에서 높은 페놀 함량을 나타내었다. 따라서 이는 isoflavone의 함량과 같은 경향을 나타내어 두부제조시 두부순물 중으로 isoflavone 물질들이 대부분 이행되었음을 알 수 있었다.

Table 4. Content of total phenol in soybean curd, soybean curd residue and whey(mg/ml)

Soybean varieties	Soybean curd	Soybean curd residue	Soybean curd whey
Yellow soybean	0.62	0.22	1.43
Brown soybean	0.54	0.34	1.52
Black soybean	0.35	0.35	1.62

Table 3. Daidzein and genistein content in soybean curd, soybean curd residue and whey

Soybean varieties	Soybean curd		Soybean curd residue		Soybean curd whey	
	Daidzein (ng/g)	Genistein (ng/g)	Daidzein (ng/g)	Genistein (ng/g)	Daidzein (ng/g)	Genistein (ng/g)
Yellow soybean	25.71	67.22	344.24	286.87	9793.35	1016.30
Brown soybean	19.70	32.24	339.24	197.83	5561.25	1184.80
Black soybean	23.20	52.16	397.19	169.61	2948.70	725.55

요 약

콩의 주요 isoflavone은 genistein과 daidzein이고 특히 genistein은 유방암과 전립선암에 대한 항암효과를 가진 물질로 잘 알려져 있다. Genistein의 항암효과는 genistein의 항산화특성과 관련이 있는 것으로 보고되어 있다. 4종류의 국산콩(노란콩, 밤콩, 검정콩, 소립검정콩)의 isoflavone 함량을 측정하기 위하여 물과 80% 메탄올로 isoflavone을 추출하고 산분해하여 HPLC로 isoflavone 함량을 측정된 결과 콩의 주요 isoflavone인 genistein과 daidzein은 대부분 80% 메탄올 추출물속에 존재하였고 콩 중의 isoflavone 함량은 1607.6~6952.0 μ g/g으로서 콩종류, 추출용매에 따라 차이가 컸다. 콩의 isoflavone은 열수추출물에도 용해하므로 두부제조시 두부 보다는 두부순물에 존재할 가능성이 높다. 따라서 콩, 두부 및 두부부산물 중의 isoflavone 함량과 항산화 효과를 알아보기 위하여 노란콩, 밤콩, 검정콩으로 두부 및 두부부산물을 만들고 항산화효과를 비교한 결과 두부순물의 항산화효과가 가장 높았고 특히 검정콩의 항산화효과가 높았다. 두부 및 두부부산물 중의 isoflavone 함량과 총 페놀 함량도 두부순물에서 가장 높아 콩에 존재하는 주요 isoflavone들이 두부제조 과정 중 대부분 두부순물쪽으로 용출되는 것을 알 수 있었고 이를 회수하여 사용할 수 있는 방법을 강구해야 할 것으로 여겨진다.

감사의 글

이 연구는 '94-97년도 한국과학재단 연구비 지원(KO-SEF 94-0402-02-3)에 의한 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1st International symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J. Nutr.*, **125**, 567s (1995)
- 2nd International symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease abstract book. Brussels, Belgium(1996)
- Pratt, D. E. and Birac, P. M. : Sources of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Foos Sci.*, **44**, 1720(1979)
- Jha, H. C., von Recklinghausen, G. and Zilliken, F. : Inhibition of *in vitro* microsomal lipid peroxidation by isoflavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 1367(1985)
- Kusonoki, T., Higashi, H., Hosai, S., Hata, D., Sugie, K., Mayumi, M. and Migawa, H. : Tyrosine phosphorylation and its possible role in superoxide production by human neutrophils stimulated with FMLP and IgG. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **183**, 789(1992)
- Record, I. R., Dreosti, I. E. and McInerney, J. K. : The antioxidant activity of genistein *in vitro*. *Nutr. Biochem.*, **6**, 481(1995)
- Wei, H., Wei, L., Frenkel, K., Bowen, R. and Barnes, S. : Inhibition of tumor promotor-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutr. Cancer*, **20**, 1(1993)
- Wei, H., Cai, Q. and Rahn, R. : Inhibition of UV light- and Fenton reaction-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis*, **17**, 73(1996)
- Pratt, D. E. : Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.*, **37**, 322(1972)
- 김지영, 맹영선, 이기영 : 다양한 용매를 이용한 대두 추출물의 항산화 효과. *한국식품과학회지*, **27**, 635(1995)
- 이선미, 황인경 : 응고제를 달리하여 제조한 두부의 텍스처 특성과 두부순물의 성분. *한국조리과학회지*, **13**, 78(1997)
- 배은아, 문갑순 : 국산대두의 항산화효과. *한국식품영양과학회지*, **26**, 203(1997)
- Wang, G. and Kuan, S. S. : A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 185(1990)
- Hayase, F. and Kato, H. : Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 37(1984)
- Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D. E. : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.*, **43**, 556(1978)
- 이연재, 신동화, 장영상, 강우석 : 붉나무 순차 용매 추출물의 항산화 효과 비교. *한국식품과학회지*, **25**, 677(1993)
- 김나미, 성현순, 김우정 : 용매와 추출조건이 계피추출액의 항산화성에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **25**, 204(1993)
- 김성란 : 심비한 콩의 이소플라본. *한국콩연구회소식지*, **122**, 2(1997)
- Eldridge, A. S. : Determination of isoflavones in soybean flours, protein concentrates, and isolate. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 353(1982)
- Murphy, P. A. : Phytoestrogen content of processed soybean products. *Food Technol.*, **36**, 60(1982)
- Matsuura, M., Obata, A. and Fukushima, D. : Objectionable flavor of soy milt developed during the soaking of soybeans and its control. *J. Food Sci.*, **54**, 602(1989)
- Messina, M. and Barnes, S. : The role of soy products in reduction risk of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**, 541(1991)
- Messina, M. and Messina, V. : Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *J. Am. Diet. Assoc.*, **91**, 836(1991)

(1997년 2월 27일 접수)