

## 시판되는 밥밀콩류의 이소플라본 함량, 항산화활성 및 혈전용해활성

오혜숙\* · 박영훈<sup>1</sup> · 김준호<sup>1</sup>  
상지대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>상지대학교 화학과

### Isoflavone Contents, Antioxidative and Fibrinolytic Activities of Some Commercial Cooking-with-Rice Soybeans

Hae-Sook Oh\*, Young-Hoon Park<sup>1</sup> and Jun-Ho Kim<sup>1</sup>

Department of Food and Nutrition, Sangji University

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Sangji University

Isoflavone (daidzein and genistein) contents, and antioxidative and fibrinolytic activities of seven commercial Korean cooking-with-rice soybeans, including Seonbikong, Chungtae, Gangnamkong, Whangtae, Geodoo, Seolita, and Wooltalikong, were investigated. Daidzein and genistein were not found in Seolita, nor was daidzein in Gangnamkong and Geodoo. Total daidzein and genistein levels in Chungtae and Whangtae were 500 and 1550 mg per kg, respectively. Wooltalikong, Whangtae, and Gangnamkong had very high electron donating abilities, over 90%, but Seonbikong and Chungtae showed significantly lower activities. SOD-like activities were also the highest in Gangnamkong and Wooltalikong. Fibrinolytic activities in Seonbikong, Whangtae, and Gangnamkong were similarly strong. Fibrinolytic substances purified from protease inhibitors or activated under various pH or heat treatment conditions, were different among the soybean varieties. This study revealed that, although several cooking-with-rice soybeans were poor in isoflavones, Wooltalikong and Gangnamkong could be good sources for functional products due to their strong antioxidative activities, and heat- and acid-resistant proteolytic abilities.

**Key words:** cooking-with-rice soybeans, isoflavone content, electron donating ability, SOD-like activity, fibrinolytic activity

## 서 론

우리 식생활에서 이용되는 콩류는 양적으로 대두가 차지하는 비율이 가장 크지만, 팥, 녹두, 완두, 동부, 강남콩 등 다양한 품종의 콩류가 잡곡의 한 종류나 떡의 소 등으로 사용되어 왔다. 이들은 대두보다는 적으나 20% 내외의 비교적 풍부한 단백질을 함유하고 있으며, 지방 함량이 높은 대두와 달리 당질이 많고 지방은 1% 정도로 매우 적다<sup>(1)</sup>. 식물성 단백질이 많아 영양적으로 우수한 두류는 그 자체로는 소화율이 낮고 트립신 저해제, 헤마글루티닌(hemagglutinin), 사포닌 등의 저해물질이 들어 있으므로 적당히 처리한 후 이용하는 것이 좋다<sup>(2)</sup>.

최근 질병양상의 변화와 함께 두류에 함유된 isoflavone, 사포닌, 레시틴, 올리고당 등 여러 기능성 성분에 대한 관심이 증가하고 있다. Isoflavone은 폐경기 증후군, 골다공증, 심혈

관계 질환, 유방암, 전립선암, 대장암 등과 같이 호르몬과 관련된 질환의 예방에 효과가 있음이 알려지고 있다<sup>(3-5)</sup>. Isoflavone 섭취는 주로 콩과 콩제품을 통해 이루어지는데, 두류의 주요 isoflavone은 daidzein과 genistein으로 이들은 대부분 배당체로 존재한다<sup>(6)</sup>. 김 등<sup>(7)</sup>은 국민영양조사에 근거하여 우리나라 사람들의 isoflavone 섭취량을 추정한 결과 콩과 두부, 된장, 콩나물이 전체 isoflavone 섭취량의 94%를 차지한다고 하였다. 일본인의 경우 하루 섭취하는 총 isoflavone의 90% 이상을 두부, 미소, 나토(natto), 유부 등으로부터 얻는다는 보고도 있다<sup>(8)</sup>.

심혈관계 질환 역시 현대인의 사망원인 중 높은 비중을 차지하고 있는 질병이다. 혈전은 여러 가지 원인에 의해 fibrin 섬유소와 혈소판의 응집으로 형성되며, 혈관벽에 쌓여 동맥경화나 심근경색을 유발하고, 혈관을 따라 이동하여 뇌출혈, 뇌혈전증, 심부전증, 심장마비 등의 원인이 될 수도 있다<sup>(9)</sup>. 일단 형성된 혈전은 쉽게 용해되지 않지만, 섬유소 용해 및 혈전 축소 기능을 갖는 혈전용해제를 사용하므로써 혈전으로 유발되는 질병의 예방 및 치료가 가능하다. 따라서 식품에서 혈전용해효소를 얻기 위한 연구들이 수행되고 있으며, 청국장<sup>(10)</sup>, 된장<sup>(11)</sup>, 젓갈<sup>(12)</sup> 및 나토<sup>(13)</sup>와 같은 발효식품으로부터 혈전용해효소의 정제 및 생산균주의 분리가 보고되었고, 버섯<sup>(14-17)</sup>을

\*Corresponding author: Hae-Sook Oh, Department of Food and Nutrition, Sangji University, 660 Woosan-dong, Wonju-si, Kangwon-do, 220-702, Korea  
Tel: 82-33-730-0498  
Fax: 82-33-730-0403  
E-mail: hsoh@mail.sangji.ac.kr

이용하려는 시도도 이루어지고 있다. 대두 중에는 다양한 단백질 분해효소와<sup>(18,19)</sup> 여러 종류의 단백질 분해효소 저해제가 있는 것으로 알려져 있으며, 이 저해제들이 두류로부터 혈전용해효소 분리시 가장 큰 장애가 되고 있다<sup>(20,21)</sup>.

우리나라 부존자원인 밭밀콩류는 품종이 다양하지만 이들 에 함유된 isoflavone 함유량이나 생리활성에 대한 연구가 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 강남콩, 거두, 서리태, 선비콩, 울타리콩, 청태, 황태 등 7종에 함유된 isoflavone 함량과 일부 항산화능을 측정하였다. 또한 두류를 이용한 혈전용해제의 개발을 위한 기초 조사로서, 두류 추출물의 처리 조건을 달리하여 혈전용해활성을 비교하였다.

**재료 및 방법**

**실험재료**

본 실험에서 시료로 사용한 콩종류는 서울 소재 경동시장에서 구입하였다. 시약으로 사용한 daidzein, genistein, 2-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one(이하 flavone라 표기함), butylated hydroxytoluene(이하 BHT라 표기함), diethylenetriaminepentaacetic acid(이하 DTPA라 표기함), Trizma base, pyrogallol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(이하 DPPH라 표기함), fibrinogen, plasmin, thrombin, bovine serum albumin, agarose 등은 Sigma사에서 구입하였으며, isoflavone 추출 및 측정시 사용한 ethyl alcohol과 acetonitrile 등의 용매는 HPLC 등급의 Fisher 사 제품이었고, 기타 다른 시약은 특급 시약을 사용하였다.

**수분함량**

콩류의 수분함량은 날콩을 분쇄기(후드믹서 CGS-2500/2700, 선보정밀)로 갈아 각각 2~3 g을 정확히 취해 적외선 수분측정기(Moisture Balance HA 300, Precisa Co., Switzerland)를 이용하여 3회 반복 측정하였다.

**Daidzein 및 genistein 정량**

Daidzein과 genistein 정량은 Franke 등<sup>(22)</sup>의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. Isoflavone을 추출하기 위해 곱게 분쇄한 시료 2 g에 96% 에틸알콜 40 mL와 10 mL의 10 N HCl을 가하고 10분간 sonicating한 후 3시간 동안 열수추출하였다. 96% 에틸알콜은 가수분해 과정중 산화방지를 위해 BHT 0.05%와 internal standard로 20 ppm의 flavone을 함유하도록 제조하였다. 추출물은 냉각시킨 후 여과(Whatman No. 2)하고 손실된 에탄올을 첨가하여 총 50 mL가 되도록 하였다. 이를 syringe filter(0.45 µm)로 다시 여과한 후 HPLC로 분석하였으며, HPLC 분석조건은 Table 1과 같다. 각 시료 모두 추출과정부터 세번 반복 실험하여 평균값을 구하였고, 건조중량 기준으로 표시하였다.

**SOD 유사활성 측정**

SOD(superoxide dismutase) 유사활성은 김 등<sup>(23)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다. 콩가루 1 g에 1 mM의 DTPA를 함유하는 55 mM Tris-HCl buffer(pH 8.2) 20 mL를 가하고 10분간 방치하여 수화시켰다. 이를 균질화(1,000 rpm, 2 min, GTR-1000, Eyela Co., Japan), 원심분리(4°C, 12,000×g, 60 min,

**Table 1. Conditions for isoflavon analysis by HPLC.**

Items	Conditions
HPLC	9012, Varian Co., USA
Column	Nova-Pak C <sub>18</sub> reversed-phased column, 150×3.9 mm, 4 µm column, Waters Co., USA
Guard column	Adsorbosphere C <sub>18</sub> direct-connect guard column, 10×4.6 mm, 5 µm, Waters Co., USA
Detector	9050 UV detector, 260 nm, Varian Co., USA
Autosampler	AI-200 automatic sample injector, Varian Co., USA
Mobile phase	10% acetic acid: acetonitrile
Composition of mobile phase	77 : 23 → 30 : 70(linear gradient for 8 min) and then 77 : 23(for 12 min)
Flow rate	0.8 mL/min
Sample injection volume	10 µL

Supra 21, 한일과학) 및 여과하였고(Whatman, No. 1), 색을 제거하기 위해 0.5 g의 활성탄을 가하여 24시간 방치한 다음 얻은 여액의 pH를 8.2로 조정하여 시료액으로 하였다. 시료액 2.85 mL에 12 mM pyrogallol 용액 0.15 mL을 가한 후 525 nm에서 1분 동안 흡광도 변화를 측정하였다(UV-1201, Shimadzu Co., Japan). SOD 유사활성은 다음 식에 의해 산출하였으며, 바탕시험의 흡광도는 시료액 대신 buffer를 사용하였다.

$$\text{SOD 유사활성} = \frac{\{(\text{O.D.}_{\text{바탕시험 증가분}} - \text{O.D.}_{\text{시료 증가분}}) / \text{O.D.}_{\text{바탕시험 증가분}}\} \times 100}$$

**전자공여능에 의한 항산화활성 측정**

Blois<sup>(24)</sup> 및 김 등<sup>(25)</sup>의 실험과정에 따라 전자공여능을 측정하였다. 콩을 곱게 갈아 2~3 g을 취해 3배 분량(w/v)의 증류수를 가한 다음 10분간 수화시켰다. 1,000 rpm에서 2분간 균질화시킨 후(GTR-1000, Eyela Co., Japan) 12,000×g에서 60분간 원심분리하고(Supra 21, 한일과학) 여과한(Whatman, No. 1) 여액 0.4 mL를 시험관에 넣고 5.6 mL의 1×10<sup>-4</sup> M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) ehanol 용액을 가하여 총 6 ml이 되도록 하였다. 4분간 반응시키고 다시 여과한 다음 총 반응시간이 10분이 되면 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(UV-1201, Shimadzu Co., Japan). 다음 식에 의해 전자공여능을 계산하였으며, 바탕시험은 증류수를 사용하였다.

$$\text{전자공여능} = \{1 - (\text{O.D.}_{\text{시료}} / \text{O.D.}_{\text{증류수}})\} \times 100$$

**혈전용해활성 측정용 시료의 조제**

곱게 간 콩을 일정량 취해서 5배 분량(w/v)의 증류수를 가하여 균질화시켰다(GTR-1000, Eyela Co., Japan). 이를 4°C, 12,000×g에서 60분간 원심분리한 후(Supra 21, 한일과학) 상층액을 조효소액으로 사용하였다.

단백질 분해효소와 공존하는 저해제들을 분리하기 위하여 조효소액을 가열처리 및 산처리하였다. 가열조건에 따른 혈전용해활성을 비교하기 위하여 조효소액을 55°C에서 30분,

100°C에서 10분, 100°C에서 30분간 각각 열처리하였고, 원심분리하여 얻은 상층액을 시료로 사용하였다. 조효소액의 산 처리는 적정 농도의 염산으로 pH 6.4 혹은 3.0으로 조절하였다(720 A, Orion Co., USA). pH 6.4로 조절한 조효소액은 4°C에서 18시간 동안 냉장 후 그리고 pH 3.0으로 조절한 것은 즉시 원심분리하여 각각의 상층액을 얻었으며, 최종 pH를 8.0으로 재조정하여 원심분리한 상층액을 이용하여 산처리에 따른 혈전용해활성 비교 실험의 시료로 사용하였다. 열처리 및 산처리 후의 원심분리 과정은 모두 4°C, 12,000×g에서 30분간 행하였다.

### 혈전용해 활성 측정

Fibrin 분해 활성은 Haverkate-Trass의 fibrin plate법<sup>(20)</sup>에 따라 측정하였다. 2% gelatin용액에 녹인 0.7%(w/v) fibrinogen 용액 10 mL와 50 mM barbital buffer(pH 7.5)에 녹인 thrombin(100 NIH units) 50 µL를 잘 섞고 petri dish에 부어 fibrin막을 만든 다음 시료용액(단백질 함량이 20 mg/mL가 되도록 조절)을 20 µL씩 점적한 후 36°C에서 17시간 방치하여 fibrin막의 용해면적을 측정하였다. 혈전용해활성은 대조구로 혈전용해효소인 plasmin(3 units)을 연속적으로 희석하여 얻은 표준곡선으로부터 산출하였다. 사진자료는 2.0 unit/mL의 plasmin과 시료용액을 같이 점적한 것으로 용해면적을 상대비교할 수 있도록 한 것이다. 비활성도 산출에 필요한 단백질의 농도는 Lowry<sup>(27)</sup> 등의 방법에 의하여 bovine serum albumin 표준곡선에 의하여 환산하였다.

### 통계처리

실험결과는 모두 3회 반복하였고, 분산분석 및 최소유역차 검정(LSD)에 의해 시료간 유의성 검정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 밥밀콩류의 isoflavone 함량

두류에 가장 많이 함유되어 있는 isoflavone인 daidzein과 genistein을 측정한 결과는 Table 2에 제시하였다. 서리태에서는 daidzein과 genistein 모두 검출되지 않았으며, 강남콩과 겨두, 울타리에는 daidzein이 없는 것으로 나타났고, 청태는 daidzein과 genistein이 각각 278 mg/kg 및 223 mg/kg으로 비교적 적은 양이 포함되었다. 한편, 황태에 함유된 isoflavone 양은 대두와 비교할 만한 정도로서, 총 1552 mg/kg이 들어 있었다. 문 등<sup>(28)</sup>과 최 등<sup>(29)</sup>의 결과에 의하면 가장 많은 isoflavone을 함유한 품종은 신팔달 2호로 각 실험에서 899 µg/g과 2115 µg/g로 크게 차이가 났으며, 단양산 콩을 분석한 김 등<sup>(30)</sup>의 연구 결과 daidzein과 genistein이 각각 406 mg/kg, 484 mg/kg이었다. 김<sup>(31)</sup>은 검정콩중 자엽이 녹색인 품종은 isoflavone 함량이 높았고, 갈색콩의 isoflavone 함량이 낮았고 한 반면, 배 등<sup>(32)</sup>은 노란콩, 밤콩, 검정콩 및 소립검정콩의 isoflavone 함량을 측정된 결과 노란콩과 밤콩에 비해 검정콩의 isoflavone 함량이 낮았다고 하여 서로 상반된 결과를 보였다.

대두의 isoflavone 함량은 daidzein에 비해 genistein이 더

Table 2. Isoflavone contents(mg/kg, dry basis) in seven varieties of cooking-with-rice soybean

Products	Moisture (%)	Isoflavones (dry wt. basis, mg/kg)			D/G
		Daidzein	Genistein	Total	
Chungtae	11.6±0.4	277.9±9.3	223.1±2.8 <sup>b</sup>	501.9±11.3 <sup>b</sup>	1.25
Gangnamkong (Kidney bean)	13.4±1.0	ND	18.4±0.3 <sup>a</sup>	18.4±0.3 <sup>a</sup>	0
Geodoo	13.9±0.7	ND	34.1±0.7 <sup>a</sup>	34.1±0.7 <sup>a</sup>	0
Seolitae	13.1±0.8	ND	ND	ND	0
Seonbikong	11.1±0.3	TR	94.2±16.3 <sup>a</sup>	94.2±16.3 <sup>a</sup>	-
Whangtae	11.9±0.3	909.3±5.7	642.5±7.7 <sup>c</sup>	1551.9±12.5 <sup>c</sup>	1.42
Wooltalikong	13.8±0.5	ND	2.5±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.4 <sup>a</sup>	0

D/G: daidzein/genistein ratio, ND: not detected, TR: trace.

Values are Mean±S.D. of triplicate measurements.

<sup>a,b,c</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different by ANOVA test at p<0.001

Table 3. Antioxidative activities of seven varieties of cooking-with-rice soybean

Products	Electron donating activity (%)	SOD-like activity (%)	
		for 1 min	for 2.5 min
Chungtae	49.5±0.4 <sup>a1)</sup>	53.9±0.1 <sup>b</sup>	23.2±0.1 <sup>b</sup> (57%) <sup>2)</sup>
Gangnamkong (Kidneybean)	90.7±0.3 <sup>de</sup>	99.3±1.3 <sup>f</sup>	96.5±0.9 <sup>f</sup> (3%)
Geodoo	90.2±0.2 <sup>cd</sup>	91.0±1.6 <sup>e</sup>	85.6±1.0 <sup>e</sup> (6%)
Seolitae	89.4±0.7 <sup>c</sup>	30.7±4.1 <sup>a</sup>	11.8±1.2 <sup>a</sup> (62%)
Seonbikong	56.8±0.9 <sup>b</sup>	80.7±1.5 <sup>d</sup>	67.7±1.8 <sup>d</sup> (16%)
Whangtae	90.4±0.2 <sup>d</sup>	73.0±2.7 <sup>c</sup>	59.0±5.4 <sup>e</sup> (19%)
Wooltalikong	91.5±0.1 <sup>e</sup>	100.0±0.0 <sup>f</sup>	98.2±0.0 <sup>f</sup> (2%)

Values are Mean±S.D. of triplicate measurements.

<sup>1)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different by ANOVA test at p<0.001.

<sup>2)</sup>loss.

많은 것으로 보고되었으며<sup>(30,33)</sup>, 김 등<sup>(30)</sup>은 daidzein/genistein의 비율이 0.85라고 하였으나 본 실험에 사용한 청태와 황태의 경우 이 비율이 1.25와 1.42로서 daidzein이 많은 것으로 나타났다.

**밥밀콩류의 항산화활성**

밥밀콩류의 항산화활성은 전자공여능 및 SOD 유사활성을 통해 추정하였다. Table 3에서 볼 수 있는 바와 같이 전자공여능은 울타리콩, 황태, 강남콩이 90% 정도로 가장 높은 군으로 나타났고, 거두와 서리태 역시 울타리콩보다는 낮으나 황태와 강남콩과는 유의적 차이가 없이 항산화활성이 큰 품종이었다(p<0.001). 선비콩과 청태는 전자공여능이 각각 57%와 50%로 위의 5종보다는 항산화활성이 유의적으로 낮았다.

DPPH는 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하므로 전자공여능으로부터 항산화활성을 예측할 수 있다. Rhec 등<sup>(34)</sup>은 종실류의 페놀성 화합물 중 flavonoids와 phenolic acid가 가장 중요한 항산화물질이라고 하였다. 찰옥수수<sup>(35)</sup>와 유색미<sup>(36)</sup>의 항산화활성에 대한 결과를 살펴보면, 색을 띠는 종자의 항산화활성이 상당히 높았고 이러한 양상은 페놀화합물 뿐 아니라 안토시아닌계 색소 때문인 것으로 결론지었다. 본 연구에 사용한 밥밀콩류는 대개가 자색과 청색 등의 색을 띠고 있었으나, DPPH 첨가량에 비해 시료 사용량이 상대적으로 작아서인지 예비실험 결과 껍질의 색이 미치는 영향은 무시할만한 한 정도였다.

SOD는 superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 산소로 산화시키는 천연 항산화제이다. 일부 저분자 물질들은 산화방지 및 노화억제 등 SOD와 유사한 활성을 지니면서 열에 약하고 흡수율이 낮은 등의 SOD의 단점을 보완하는 기능을 갖는다. 이들은 SOD와 결합된 phenol류로 밝혀진 바 있으며, 우리나라에서는 감잎차<sup>(37)</sup>, 과채류<sup>(23)</sup> 등의 SOD 유사활성에 대해 조사되었다.

전자공여능력이 높았던 울타리콩과 강남콩은 SOD 유사활성도 다른 종류보다 유의적으로 좋았으며, 2.5분 경과시에도 2~3% 정도만 감소하여 항산화활성이 거의 유지된다고 볼 수 있다. 91%의 SOD 유사활성을 보인 거두의 경우 울타리콩과 강남콩에는 떨어지지만 비교적 강한 항산화활성을 띠고 있으며, 역시 시간 경과에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 전

자공여능이 컸던 황태와 서리태는 SOD 유사활성이 높지 않았고, 전자공여능이 낮았던 선비콩은 황태나 거두보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 청태는 전자공여능과 SOD 유사활성이 모두 낮았다. 시간이 경과함에 따른 SOD 유사활성의 감소 경향은 초기 활성이 낮을수록 컸다. 즉, 청태와 서리태는 2.5분 경과시 각각 57%와 62%가 감소한 반면, 중간 정도인 선비콩과 황태는 16%와 19%가 감소하였고, 울타리콩, 강남콩 및 거두는 2~6% 만이 감소하였다.

**밥밀콩류의 혈전용해활성**

밥밀콩류의 혈전용해활성은 선비콩, 황태, 강남콩 등이 비교적 컸고, 거두, 서리태, 울타리콩 등의 추출물에서는 활성이 매우 낮았으며, 청태는 전혀 활성을 보이지 않았다(Table 4와 5). 이들 시료는 36°C에서 배양시 14시간까지는 반응을 거의 보이지 않다가 15시간이 지나면서 급격히 활성을 나타내는 특이성을 보였는데, 이는 혈전용해효소 저해제의 작용 때문으로 여겨진다. 두류마다 단백질 함량과 영양저해 물질의 종류 및 함량이 각기 다르다. 연구 결과에 따르면 대두에는 5-6개의 trypsin inhibitor가 분리되었고, lima bean에는 6개 있는 것으로 밝혀졌으며, 이들 저해제는 열, 알카리, 산에 의해 불활성화되는 정도도 차이가 있는 것으로 알려져 있다<sup>(18,21,38)</sup>.

Table 4는 두류 추출물의 pH를 달리하여 혈전용해활성을 측정한 결과이다. 혈전용해효소와 공존하고 있는 것으로 여겨지는 저해성분을 부분적으로 제거하기 위해 추출액의 pH를 6.4로 조절한 후 18시간 동안 냉장처리한 결과 원액에서 활성이 없었던 청태를 비롯하여 대개의 품종들에서 활성이 뚜렷이 증가하였다. 비활성도값 비교시 거두, 서리태, 울타리콩류는 10~15배의 증가를 보였고, 강남콩은 2배 내외로, 선비콩과 황태는 18~19%가 증가하였다.

두류 추출액을 pH 3.0으로 조절한 후 침전물을 원심분리시키고 pH 8.0로 재조정 후 원심분리하여 얻은 상층액의 혈전용해활성은 비활성도가 선비콩과 황태, 청태, 강남콩에서는 크게 증가한 반면, pH 6.4 조절 및 냉장처리시 혈전용해활성이 컸던 거두, 서리태 및 울타리콩에서는 실활되었다. Fig. 1은 황태(위), 선비콩(왼쪽), 청태(오른쪽) 및 서리태(아래) 추출액의 pH를 3.0으로 조절한 시료를 plasmin 2.0 unit (가운데)과 같이 점적하므로써 용해면적을 상대비교할 수 있

**Table 4. Fibrinolytic activities and specific activities of water extracts and their acid-treated samples obtained from seven varieties of cooking-with-rice soybeans**

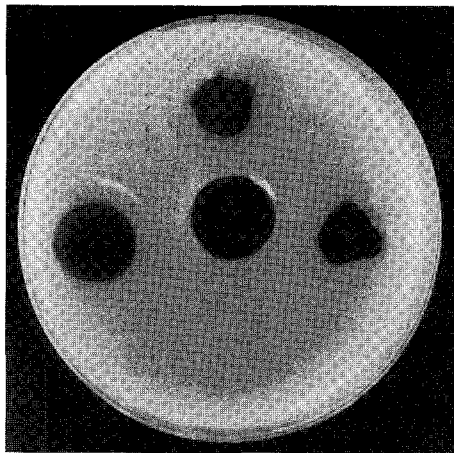
Samples	pH control		pH control			
	Crude extracts		pH 6.4		pH 3.0	
	Enzyme activity <sup>1a)</sup> (plasmin unit/mL)	Specific activity <sup>1b)</sup> (plasmin unit/mg)	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)
Chungtae	ND	ND	0.935	0.015 (-) <sup>1)</sup>	2.112	0.131 (-)
Gangnamkong (Kidneybean)	1.217	0.028	1.464	0.050 (1.79)	2.311	0.168 (6.00)
Geodoo	0.173	0.004	1.331	0.039 (9.75)	ND	ND (0)
Seolitae	0.137	0.002	1.336	0.031 (15.50)	ND	ND (0)
Seonbikong	1.353	0.017	1.113	0.020 (1.18)	2.167	0.132 (7.76)
Whangtae	1.284	0.021	1.281	0.025 (1.19)	2.486	0.163 (7.76)
Wooltalikong	0.105	0.002	0.642	0.021 (10.50)	ND	ND (0)

<sup>1)</sup>purification fold.

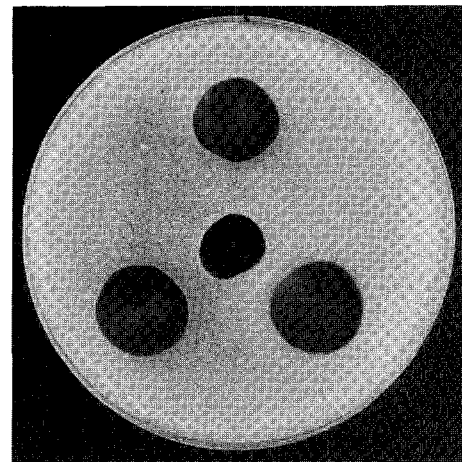
**Table 5. Fibrinolytic activities and specific activities of water extracts and their heat-treated samples obtained from seven varieties cooking-with-rice soybean**

Samples	Heat treatments		Heat treatment					
	Crude extracts		55°C, 30 min		100°C, 10 min		100°C, 30 min	
	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)	Enzyme activity (plasmin unit/mL)	Specific activity (plasmin unit/mg)
Chungtae	ND	ND	1.039	0.019 (-) <sup>1)</sup>	ND	ND	ND	ND
Gangnamkong (Kidneybean)	1.217	0.028	1.177	0.044 (1.57)	2.531	0.142 (5.07)	0.361	0.030 (1.07)
Geodoo	0.173	0.004	1.404	0.045 (11.25)	3.140	0.113 (28.25)	ND	ND (0)
Seolitae	0.137	0.002	1.423	0.027 (13.50)	1.676	0.044 (22.00)	ND	ND (0)
Seonbikong	1.353	0.017	1.160	0.021 (1.24)	3.060	0.077 (4.53)	ND	ND (0)
Whangtae	1.284	0.021	1.875	0.040 (1.90)	2.613	0.082 (3.90)	ND	ND (0)
Wooltalikong	0.105	0.002	1.385	0.045 (22.50)	1.143	0.062 (31.00)	0.508	0.047 (23.50)

<sup>1)</sup>purification fold.  
 ND: not detected.



**Fig. 1. Fibrinolytic activities of plasmin and acid-treated (pH 3.0) soybean extracts.**  
 Plasmin (2.0 units, center), Whangtae (top), Seonbikong (left), Chungtae (right), Seolitae (bottom).



**Fig. 2. Fibrinolytic activities of plasmin and heat-treated (100°C, 10 min) soybean extracts.**  
 Plasmin (2.0 units, center), Gangnamkong (top), Whangtae (left lower end), Geodoo (right lower end).

도록 한 것이다.

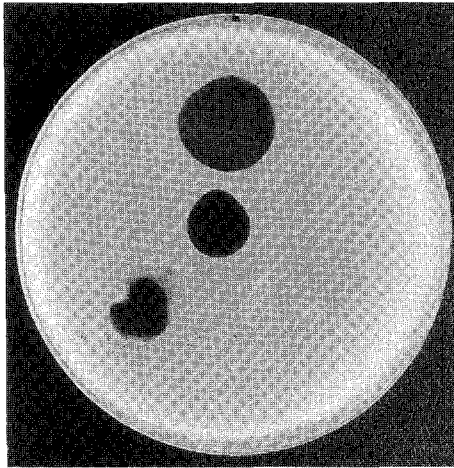
두류 추출물의 열처리시 존재하는 혈전용해 물질의 활성을 비교하기 위해 두류 추출물을 55°C에서 30분, 100°C에서 10분, 100°C에서 30분간 각각 열처리하였다. pH 조정 결과와 같이 열처리 효과는 콩의 종류에 따라 다양하게 나타났다(Table 5). 청태는 55°C에서 30분간 열처리하였을 때 활성을 보였으나 열처리 수준이 높아지면서 활성을 상실하였다. 선비콩과 강남콩, 황태는 효소 활성이 크게 증가하였으나 원액의 활성이 컸기 때문에 비활성도는 약간 증가하는 경향을 보였다.

거두, 서리태, 울타리콩은 55°C에서 30분간 열처리시 11~22배로 비활성도가 크게 증가하였고, 100°C에서 10분간의 처리로 22~31배까지 활성이 더 커졌다. 특히 거두는 100°C에서 10분간의 열처리로 효소활성이 18배 이상 커졌으며, 비활성도는 28배 향상되었다. 이들 3종류는 pH 6.4로 조정시에도 활성이 향상되었던 품종들로 혈전용해효소 및 그의 저해제들의 작용양상이 유사한 것으로 여겨진다. Fig. 2와 3은 100°C

에서 10분간 처리한 시료를 plasmin 2.0 unit(가운데)과 같이 점적하여 용해면적을 비교할 수 있도록 한 것으로, Fig. 2에는 강남콩(위), 황태(왼쪽 하단), 거두(오른쪽 하단)을, Fig. 3에는 선비콩(위), 울타리콩(왼쪽 하단), 청태(오른쪽 하단)의 혈전용해활성을 제시한 것이다.

100°C에서 30분간의 과도한 열처리시 대부분의 콩품종에서는 혈전용해활성이 거의 없어졌으나 강남콩과 울타리콩은 활성을 유지하였다. 따라서 이들 콩류에 들어있는 혈전용해 성분은 내열성이 큰 것으로 여겨지며, 밥밑콩으로 상용시 혈액순환을 도와주는 효과를 기대할 수 있을 것이다. 또한 조직이 손상되지 않은 자연상태이므로 열에 의한 단백질 변성이 어느정도 보호받을 수 있는 장점도 지녔다고 판단된다.

이상의 결과로부터 두류 추출물은 처리 조건에 따라 혈전용해활성에 크게 차이가 있음을 알 수 있다. pH 조절효과는 콩의 품종에 따라 크게 차이가 났으며, 거두, 서리태, 울타리콩은 약산성에서 저해제의 작용이 억제되는 반면, 선비콩, 청태, 강남콩, 황태 등은 pH 3.0으로 조정시 부분적으로 제거



**Fig. 3. Fibrinolytic activities of plasmin and heat-treated (100°C, 10 min) soybean extracts.** Plasmin (2.0 units, center), Seonbikong (top), Wooltalikong (left lower end), Chungtae (right lower end).

되는 것 같다. 열처리효과를 살펴보면 일반적으로 55°C에서 30분간 열처리시 보다 100°C에서 10분간 열을 가한 경우 비활성도가 증가하였고, 100°C에서 30분간 가열한 경우는 오히려 활성이 감소하였다. 이는 100°C에서 10분간의 열처리 조건은 혈전용해효소 저해제가 변성하여 혈전용해활성이 증가하며, 100°C에서 30분간 가열하는 경우 혈전용해효소도 변성을 일으키는 것으로 해석할 수 있다.

**요 약**

우리나라 자생콩류중 주로 밥밀콩으로 이용되는 7품종(강남콩, 거두, 서리태, 선비콩, 울타리콩, 청태, 황태)의 isoflavone 함량과 일부 항산화 및 혈전용해활성을 조사하였다. Isoflavone 함량 분석 결과, 서리태에서는 daidzein과 genistein 모두, 강남콩과 거두에서는 daidzein이 검출되지 않았다. 청태의 daidzein 및 genistein 함량은 각각 278 mg/kg과 223 mg/kg이었으며, 황태중에는 총 1552 mg/kg으로 대두와 비교할 만한 정도였다. 청태와 황태의 경우 daidzein/genistein의 비율이 1.25와 1.42로서 daidzein이 많은 것으로 나타났다.

전자공여능은 울타리콩, 황태, 강남콩이 90% 이상으로 가장 높았고, 거두와 서리태 역시 황태와 강남콩과 유의적 차이를 보이지 않았으며, 선비콩과 청태의 경우 각각 57%와 50%로 유의적으로 낮았다(p<0.001). 울타리콩과 강남콩, 거두는 SOD 유사활성도 다른 종류보다 유의적으로 높았다. 전자공여능이 컸던 황태와 서리태는 SOD 유사활성이 낮았고, 전자공여능이 낮았던 선비콩은 황태나 서리태보다 유의적으로 높은 활성을 보였다.

혈전용해활성은 선비콩, 황태, 강남콩 등이 비교적 컸고, 청태는 활성을 보이지 않았다. 혈전용해효소의 저해성분을 부분적으로 제거하기 위해 추출액의 pH를 6.4로 조절한 후 18시간 동안 냉장처리한 결과 대부분의 품종에서 활성이 뚜렷이 증가하였다(비활성도 값으로 비교시 거두, 서리태, 울타리콩류는 10~15배, 강남콩은 2배 내외, 선비콩과 황태는 18

~19% 증가). pH를 3.0으로 조정시 비활성도가 선비콩과 황태, 청태, 강남콩에서는 크게 증가한 반면, pH 6.4 조절 및 냉장처리시 혈전용해활성이 컸던 거두, 서리태 및 울타리콩에서는 실패하였다.

활성을 보이지 않던 청태는 55°C에서 30분간 열처리하였을 때 약한 활성을 나타내었으며, 100°C로 처리시 실패하였다. 거두와 서리태, 선비콩, 황태, 강남콩은 55°C에서 30분 및 100°C에서 10분의 열처리로 활성이 점차 증가하였으나 100°C에서 30분 처리시 활성을 대부분 혹은 완전 상실하였다. 울타리콩의 혈전용해활성은 100°C에서 30분간 가열시에도 높은 비활성도를 유지하여 내열성이 매우 큰 것으로 나타났다.

**감사의 글**

이 논문은 2000년도 상지대학교 교내연구비의 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

**문 헌**

1. Rhee, H.S. and Cho, Y. Foundations of Food Preparation. pp. 145-146, Kyomunsa, Seoul (2001)
2. Moon, S.J. and Shon, K.H. Foundations of Food Preparation. p. 342, Soohaksa, Seoul (1994)
3. Knight, D.C. and Eden, J.A. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet. Gynecol.* 87: 897-904 (1996)
4. Cassidy, A. Physiological effects of phyto-estrogens in relation cancer and other human health risks. *Proc. Nutr. Soc.* 55: 399-417 (1996)
5. Barrett, J. Phytoestrogens. Friends or foes? *Environ. Health Perspect.* 104: 478-482 (1996)
6. Choi, Y.B. and Sohn, H.S. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 745-750 (1998)
7. Kim, J.S. and Kwon, T.W. Estimated dietary isoflavone intake of Korean population based on national nutrition survey. *Nutrition Research* 21: 947-953 (2001)
8. Wakai, K., Egami, I., Kato, K., Kawamura, T., Tamakoshi, A., Lin, Y., Nakayama, T., Wada, M. and Ohno, T. Dietary intake and sources of isoflavones among Japanese. *Nutrition and Cancer* 33: 139-145 (1999)
9. Voet, D. and Voet, J.G. *Biochemistry*, pp. 1087-1095 John Wiley Sons, New York, USA (1990)
10. Kim, Y.T., Kim, W.K. and Oh, H.S. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from chungkookjang. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2482-2488 (1996)
11. Kim, S.H. New trends of studying on potential activities of *doen-jang*. *Korea Soybean Digest* 15: 8-15 (1998)
12. Kim, H.K., Kim, G.T., Kim, D.K., Choi, W.A., Park, S.H., Jeong, Y.K. and Kong, I.S. Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KA38 originated from fermented fish. *J. Ferment. Bioeng.* 84: 307-312 (1997)
13. Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H.A. A noble fibrinolytic enzyme(nattokinase) in the vegetable cheese Natto: a typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia.* 43: 1110-1111 (1987)
14. Kim, J.H. and Kim, Y.S. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme from *Armillariella mellea*. *Korean J. Mycol.* 26: 583-588 (1998)
15. Kim, J.H. and Kim, Y.S. A fibrinolytic metalloprotease from the fruiting bodies of an edible mushroom, *Armillariella mellea*. *Bio-*

- sci. Biotech. Biochem. 63: 2130-2136 (1999)
16. Shin, H.H. and Choi, H.S. Purification and partial characterization of a metalloprotease in *Flammulina velutipes*. J. Microbiol. 36: 20-25 (1998)
  17. Kim, J.H. Purification and characterization of fibrinolytic enzymes from *Tricholoma saponaceum*. Korean J. Mycol. 28: 60-65 (2000)
  18. Morita, S., Fukase, M., Hoshino, K., Fukuda, Y., Yamaguchi, M. and Morita, Y. Partial purification and characterization of a novel soybean protease which is inhibited by Kunitz and Bowman-Birk trypsin inhibitors. J. Biochem. 119: 711-718 (1996)
  19. Asano, M., Suzuki, S., Kawai, M., Miwa, T. and Shibai, H. Characterization of novel cysteine proteases from germinating cotyledons of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. J. Biochem. 126: 296-301 (1999)
  20. Hong, H.D., Kim, S.R. and Kim, S.S. Bowman-Birk protease inhibitor contents of soybeans and soybean products. Korea Soybean Digest 17: 61-68 (2000)
  21. Kang, M.H., Kim, Y.H. and Lee, S.R. Trypsin inhibitor and hemagglutinating activities of some minor beans in Korea. Korean J. Food. Sci. Technol. 12: 24-33 (1980)
  22. Franke, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M. and Narala, K.K. Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 208: 18-26 (1995)
  23. Kim, S.J., Han, D.S., Park, M.H. and Rhee, J.S. Screening for superoxide dismutase-like compounds and its activators in extracts of fruits and vegetables. Biosci. Biotech. Biochem. 58: 2263-2265 (1994)
  24. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1120 (1958)
  25. Kim, Y.J., Kim, C.K. and Kwon Y.J. Isolation of antioxidative components of *Perillae semen*. Korean J. Food. Sci. Technol. 29: 38-43 (1997)
  26. Haverkate, F. and Traas, D.W. Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of protease. Thromb. Haemost. 32: 356-365 (1974)
  27. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J. and Randall, A.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)
  28. Moon, B.K., Jeon, K.S. and Hwang, I.K. Isoflavone contents in some varieties of soybean and on processing conditions. Korean J. Soc. Food Sci. 12: 59-66 (1996)
  29. Choi, J.S., Kwon, T.W. and Kim, J.S. Isoflavone contents in same varieties of soybean. Foods and Biotech. 5: 137-169 (1996)
  30. Kim, J.S. and Yoon, S. Isoflavone contents and  $\beta$ -glucosidase activities of soybeans, *meju*, and *doenjang*. Korean J. Food. Sci. Technol. 31: 1405-1409 (1999)
  31. Kim, S.R., Hong, H.D. and Kim, S.S. Some properties and contents of isoflavone in soybean and soybean foods. Korea Soybean Digest 16: 35-46 (1997)
  32. Bae, E.A., Kwon T.W. and Moon G.S. Isoflavone contents and antioxidative effects of soybeans, soybean curd and their by-products. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26(3): 371-375 (1997)
  33. Hui, H.J. Soybeans. Vol. 4. p. 2391. In: Encyclopedia of Food Science and Technology. A Wiley-Interscience Publication, New York, USA (1992)
  34. Rhee, K.S., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C. Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients. J. Food Sci. 46: 75-77 (1981)
  35. Seo, Y.H., Kim, I.J., Yie, A.S. and Min, H.K. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea Mays* L.). Korean J. Food Sci. Technol. 31: 581-585 (1999)
  36. Choi, H.C. and Oh, S.K. Diversity and function of pigments in colored reice (in Korea). Korean J. Crop Sci. 41 (Special Issue): 1-9 (1996)
  37. Park, Y.J., Kang, M.H., Kim, J.I., Park, O.J., Lee, M.S. and Jang, H.D. Changes of vitamin C and superoxide dismutase(SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 281-285 (1995)
  38. Kembhavi, A.A., Buttle, D.J., Knight, C.G. and Barrett, A.J. The two cysteine endopeptidases of legume seeds: Purification and characterization by use of specific fluorometric assay. Archives of Biochem. Biophys. 303: 208-213 (1993)