

콩 Saponin의 생리활성 기능과 함량변이

김 용 호[†]

순천향대학교

Biological Activities of Soyasaponins and Their Genetic and Environmental Variations in Soybean

Yong-Ho Kim[†]

Div. of Life Sciences, Soonchunhyang Univ., Asan, Chungnam 336-745, Korea

ABSTRACT : There is much evidence suggesting that compounds present in soybean can prevent cancer in many different organ systems. Especially, soybean is one of the most important source of dietary saponins, which have been considered as possible anticarcinogens to inhibit tumor development and major active components contributing to the cholesterol-lowering effect. Also they were reported to inhibit the infectivity of the AIDS virus (HIV) and the Epstein-Barr virus. The biological activity of saponins depend on their specific chemical structures. Various types of triterpenoid saponins are present in soybean seeds. Among them, group B soyasaponins were found as the primary soyasaponins present in soybean, and the 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one(DDMP)-conjugated soyasaponin α g, β g, and β a were the genuine group B saponins, which have health benefits. On the other hand, group A saponins are responsible for the undesirable bitter and astringent taste in soybean. The variation of saponin composition in soybean seeds is explained by different combinations of 9 alleles of 4 gene loci that control the utilization of soyasapogenol glycosides as substrates. The mode of inheritance of saponin types is explained by a combination of co-dominant, dominant and recessive acting genes. The function of these genes is variety-specific and organ specific. Therefore distribution of various saponins types was different according to seed tissues. Soyasaponin β g was detected in both parts whereas α g and β a was detected only in hypocotyls and cotyledons, respectively. Soyasaponins γ g and γ a were minor saponin constituents in soybean. In case group A saponins were mostly detected in hypocotyls. Also, the total soyasaponin contents varied among different soybean varieties and concentrations in the cultivated soybeans were 2-fold lower than in the wild soybeans. But the contents of soyasaponin were not so influenced by environmental effects. The composition and concentration of soyasaponins were different among the soy products (soy-

bean flour, soycurd, tempeh, soymilk, etc.) depending on the processing conditions.

Keywords: soyasaponin, DDMP-conjugated, biological activity, anticarcinogen

콩에는 다양한 단백질(40%)과 지질(20%)이 함유되어 있을 뿐만 아니라 기타 탄수화물 및 비타민군이 많이 포함되어 있고 또한 콩과 콩 가공제품에는 칼슘, 인, 마그네슘을 비롯하여 철, 아연, 구리 등 무기성분도 풍부하게 들어 있어 콩은 예로부터 “밭에서 나는 소고기”로 일컬어져 왔다. 더구나 선진 국가나 고소득 계층에서는 현재 육류의 과다섭취로 인한 콜레스테롤의 증가 등 각종 성인병에 시달리고 있는 것을 감안할 때 식물성 영양원인 콩의 중요성은 그 무엇보다도 크다고 하겠다. 즉 콩 단백질의 아미노산 조성이 혈중 콜레스테롤 강하작용을 하는 것으로 이미 밝혀졌고(Hawrylewicz & Zapata, 1995; Klein, et al., 1995; Sirtori, et al., 1995), 지방질의 경우에도 콩에는 불포화지방산이 전체 지방산의 80% 이상을 차지하며 특히 필수지방산인 linoleic 산과 linolenic 산의 함량이 높아 동맥경화증의 예방 및 치료에 많은 효과가 있는 것으로 보고되었다. 이밖에 콩 지방에는 토포페롤(비타민 E) 등의 항산화제가 함유되어 있으며 estrogen effect를 갖는 coumestrol도 포함되어 있다. 한편 콩의 탄수화물은 당질이 약 22%, 섬유질 5%, 전분 1% 등으로 구성되어 있는데, 이중 콩의 섬유질인 셀룰로오스, 펩틴 등은 식이섬유(dietary fiber)로서 변비 및 직·결장암이나 고혈압의 예방에 효과가 있으며, 또한 콩의 당질중 raffinose와 stachyose 같은 올리고당은 장내세균을 개선하는 기능(비피더스균의 증식 촉진)을 가지고 있을 뿐만 아니라 콩나물 재배시 가수분해 산물인 galactose가 비타민 C로 전환됨으로써 콩 종실에 없는 비타민 C의 생성작용도 한다.

이밖에 콩에는 우리 몸의 항상성 유지와 생체리듬에 도움을 주는 생리활성 물질이 풍부하게 들어 있는데, 레시틴, 단백질 분해효소 억제제, phytate, 식물성 sterols, 사포닌 및 isofla-

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-530-1281 (E-mail) yohokim@sch.ac.kr

<Received September 19, 2003>

vone 등이 그 예로서 이들은 콜레스테롤 제거, 항암작용, 변비 방지, 치매방지, 뇌기능 향상 등에 효과가 있는 것으로 보고(Hawrylewicz & Zapata, 1995; Klein, et al., 1995; Messina, 1995; Shamsuddin, 1995; Sirtori, et al., 1995) 되었다. 이와 같이 생리활성 기능이 있는 콩 성분들의 역할을 요약해 보면 ① 콩 단백질과 콩단백 가수분해 peptide는 혈중 콜레스테롤 농도 감소 및 분변 steroid 배설을 촉진하고 ② 콩 올리고당(stachyose, raffinose)은 장내 유용균의 번식을 촉진하며 ③ 식이섬유는 콜레스테롤 배설 촉진, 장기능에 대한 생리효과 및 식후 혈당 상승과 인슐린 분비를 억제하고 ④ 인지질은 생체막의 성분으로 뇌기능 향상과 노인성 치매 방지, 혈중 콜레스테롤 축적을 방지하며 ⑤ 사포닌은 생체내 과산화 지질 형성을 억제하고 AIDS 바이러스(HIV) 감염 저해작용 및 항지혈, 항암작용을 하며 ⑥ isoflavone은 estrogen 활성과 함께 항암 및 항산화 작용을 하고 ⑦ phytic acid는 항암 작용, 항산화작용, 콜레스테롤 저하 ⑧ 트립신 저해제는 항암 작용 ⑨ 기타 phytosterol과 폐놀화합물 등도 항암 가능성성이 있는 것으로 밝혀졌다.

본 고에서는 콩 생리활성 물질 중 특히 콜레스테롤 저하 및 항암작용에 효과가 큰 것으로 밝혀진 사포닌의 기능과 함량 면이에 관하여 최근까지 보고된 논문들을 정리하였다.

콩 사포닌의 생리활성

콩 사포닌은 원래 항 영양물질로 더 많이 알려졌으나(Okubo et al., 1992) 최근 여러 가지 생리활성 기능이 밝혀짐(Huang et al., 1982; Kennedy, 1995; Messina et al., 2002; Sohn et al., 2000; Tokuda, 1988)에 따라 많은 주목을 받고 있다. 콩 사포닌은 몇 가지 종류로 구분되지만 대부분의 생리활성은 DDMP 사포닌이 담당하며, group A 사포닌은 오히려 영양소 이용률 감소 등의 반 영양적 요소인 것으로 알려져 있다. DDMP 사포닌은 최근까지의 보고에 따르면 혈중 cholesterol 감소 효과(Hendrich, et al., 2000; Rao & Sung, 1995), 항암 효과(Jeon & Sung, 2000; Potter, 1995; Sung & Park, 2000), 면역 증진 효과(Koratkar & Rao, 1997; Sohn et al., 1996; Sung et al., 1995; Vlietinck et al., 1998) 등을 수행하는 것으로 밝혀졌다. 표 1은 이미 발표된 몇가지 콩 사포닌의 생리활성을 나열한 것이다.

콩 사포닌은 담즙산과 결합함으로써 콜레스테롤 축적을 저해하며, 이러한 기작이 항암 효과와도 연관이 있으리라는 추정을 한다. 항암 효과는 암 세포에 대한 독성 및 성장 저해 작용, 면역 증진 작용 등을 콩 사포닌이 수행하기 때문인 것으로 보고되었으며, 한편으로는 비정상적인 세포 분열을 정상화시키는 항암 기전도 사포닌이 지니고 있다고 한다. 이밖에 콩 사포닌은 간 손상 억제, 알레르기 억제, 바이러스 억제 등의 생리활성도 지니고 있는 것으로 보고되었다(Sohn et al., 2000; Sung, 1996).

Table 1. Examples of different types of biological properties reported for soyasaponins.

| Type of biological properties | References |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Cytotoxic to sacroma cells in culture | Huang et al.(1982) |
| Inhibit the expression of an oncogenic virus (Epstein-Barr virus genome expression) | Tokuda(1988) |
| Cholesterol-lowering effect | Potter(1995), Hendrich et al.(2000) |
| Inhibit tumor development | Rao et al.(1995), Koratkar et al.(1997), Jeon et al. (2000) |
| Antihepatotoxic activity against carbon tetrachloride damage | Kim et al.(1997), Miyao et al.(1998) |
| Chemotherapy of human immunodeficiency virus(HIV) infection | Vlietinck et al.(1998) |
| Antioxidant effects on human hepatocarcinoma cells | Sung et al.(2000) |

콩 사포닌의 구조와 관련 유전자

사포닌의 구조

사포닌은 배당체 화합물의 하나인데 steroid 혹은 triterpenoid에 1개 이상의 당 분자가 결합한 구조를 가지고 있으며 약 500여종의 식물이 사포닌을 함유하고 있는 것으로 알려졌다.

콩에도 여러 종류의 사포닌이 존재하는데 aglycon 구조(soyasapogenol A, B, and E)를 기준으로 크게 A, B, E의 세 그룹으로 구분된다(그림 1). 콩 사포닌은 C-3 위치에 glucuronic acid가 부착되어 있는 기본적 구조를 지니고 있는 한편, C-22 위치의 sugar chain에 따라 크게 A, B, E의 세 종류로 구분되었다. 일찍이 group A는 C-3과 C-22 두 곳에 당을 지니고 있는 bis-desmoside saponin이며 group B 와 E는 C-3 한 곳에만 당이 부착된 mono-desmoside saponins으로 알려졌다. 그러나 Kudou 등(Kudou et al., 1993; Kudou et al., 1992)에 의해서 group B 사포닌이 진정한 콩 사포닌이며, group B 사포닌 중에는 C-22 고리에 DDMP 즉 2,3-dihydro-2,5dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one이 부착되어 있는 종류도 있는 것으로 밝혀졌다. 이같이 group B는 다시 DDMP가 부착된 것과 그렇지 못한 것으로 구분되었으며(그림 2), 이중에서도 DDMP 사포닌이 진정 사포닌이며 이는 다시

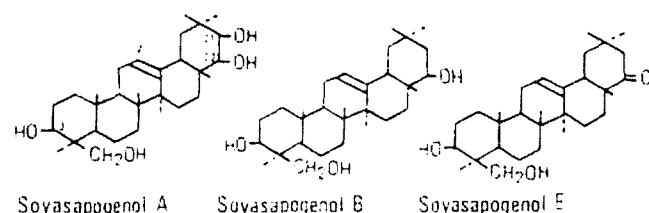
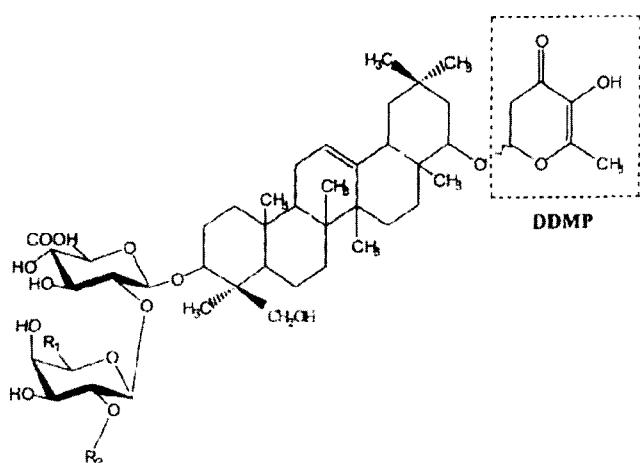


Fig. 1. Structure of soyasapogenols in soybean seeds.



| | R ₁ | R ₂ | DDMP |
|-----------------|--------------------|----------------|------|
| Soyasaponin βg | CH ₂ OH | α-L-Rhamnosyl | - |
| Soyasaponin I | CH ₂ OH | α-L-Rhamnosyl | - |
| Soyasaponin βa | H | α-L-Rhamnosyl | + |
| Soyasaponin II | H | α-L-Rhamnosyl | - |
| Soyasaponin γg | CH ₂ OH | H | + |
| Soyasaponin III | CH ₂ OH | H | - |
| Soyasaponin γa | H | H | + |
| Soyasaponin IV | H | H | - |
| Soyasaponin αg | CH ₂ OH | β-D-Glucosyl | + |
| Soyasaponin V | CH ₂ OH | β-D-Glucosyl | - |

Fig. 2. Structures of group B soyasaponin.

DDMP: 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one

C-3에 부착된 당에 따라 soyasaponin αg, βa, βg, γa, γg 등으로 나누어졌다. DDMP 사포닌은 열이 가해짐에 따라 group B의 기본구조에서 DDMP가 털락하게 되는데 이같이 DDMP가 탈락된 종류들은 다시 soyasaponin I, II, III, IV, V로 구분되었다(Hu *et al.*, 2002). 그러나 이를 사포닌은 standard 물질을 분리하기 어려운 점등으로 인하여 정확한 함량분석에 곤란(Murphy *et al.*, 2002; 塚本知玄, 1993)을 겪었으나 최근에 Hu 등(2002)에 의하여 정량분석을 위한 새로운 HPLC 방법이 제시되었다.

콩 사포닌 관련 유전자

Tsukamoto 등(Tsukamoto, *et al.*, 1998; 塚本知玄, 1993; Tsukamoto *et al.*, 1993)은 콩 사포닌 유전자를 4 gene loci의 9 alleles로 설명한다(표 2). 그림 3은 group A, B 사포닌에서 각 유전자가 작용하는 부위를 나타내었다. 이를 유전자는 품종에 따라 분포 정도가 다르며 종자의 organ에 따라서도 분포도가 다르다고 하였다.

표 2와 그림 3에서 보는 바와 같이 Sg-1과 Sg-2는 group A 사포닌의 C-22 부위와 관련되어 구분되었다. Sg-2는 hydroxyl group의 acetylation이 이루어지는 것이 우성이며 그렇지 못한 것이 열성(sg-2)으로 구분된 반면, Sg-1은 xylosylation과 glucosylation이 일어나는 것에 관해 각각 Sg-1a와 Sg-1b로 나뉘어졌으며 당(Ara)이 존재하지 않는 것을 열성(sg-1)으로 분

Table 2. Characteristics of gene products controlling polymorphism of soybean saponin sugar chains attached at the C-3 and C-22 positions of the soyasapogenols.

| Gene | Characteristics of gene products |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| | C-22 Position of soyasapogenol A |
| Sg-1 ^a | β(1→3)xylosylation of arabinosyl moiety |
| Sg-1 ^b | β(1→3)glucosylation of arabinosyl moiety |
| Sg-2 | acetylation of the hydroxyl groups of glucosyl moiety |
| | C-3 Position of soyasapogenols |
| Sg-3 | β(1→2)glucosylation of galactosyl and arabinosyl moieties attached to GlcUA |
| Sg-4 | α(1→2)arabinosylation of GlcUA |

Source : Tsukamoto, C. *et al.* (1993)

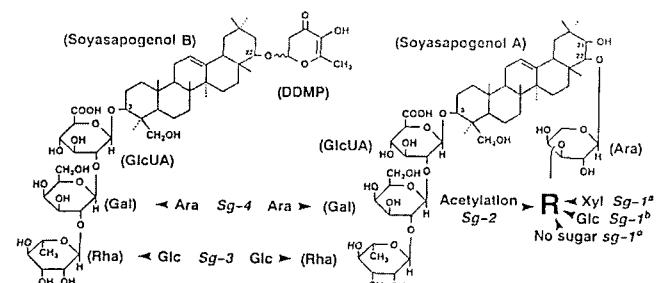


Fig. 3. Characteristics of genes controlling elongation and modification of soybean saponin sugar chains attached at the C-3 and C-22 position of the soyasapogenols.

류하였다. Sg-2는 dominant trait에 의해 조정되며 Sg-1a와 Sg-1b는 single locus에서 co-dominant alleles로 작용한다고 하였다. 또한 C-3 부위에서는 몇 가지 당의 존재 여부에 따라 우성(Sg-3, Sg-4)과 열성(sg-3, sg-4) 유전자가 존재하며 이들도 single dominant locus에 의하여 조절된다고 하였다.

표 3은 Tsukamoto 등(Tsukamoto, *et al.*, 1993)이 콩 사포닌의 화학적 구조에 따른 유전적 다양성을 일부 소개한 것이다. Group A 사포닌은 Aa, Ab, Ad, Ae, Af type 등으로 나누어졌으며, group B 사포닌은 DDMP가 부착된 것(αg, βg, βa, γg, γa)과 DDMP가 부착되지 않은 type(Ba, Bb, Bb', Bc)으로 구분하였고, Bd 와 Be 등을 group E로 표현하였다. 이와 같이 콩 사포닌은 기본적인 aglycon 뿐만 아니라 부착된 당의 종류에 따라 여러 type으로 구분이 되므로 유전적 다양성이 매우 크다고 하겠다.

콩 사포닌 함량 변이

정성 및 정량 분석

콩 사포닌 함량의 정확한 분석을 위한 시도는 지금까지 계속되고 있다(Berhow *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2002; Ireland *et al.*, 1986) 표준물질 분리 및 triterpene saponins을 검출하기 어려운 까닭에 사포닌의 정성 및 정량 분석에는 곤란한 점

Table 3. Estimation of the whole saponin composition in soybean seeds based on genetic and chemical analysis of polymorphism of the sugar chains attached at the C-3 and C-22 positions of the soyasapogenols.

| C-3 position structure | C-22 position structure | | | | E* |
|------------------------|-------------------------|----------------|---------------------|-----------------|-------|
| | Soyasapogenol A | | B | ns [‡] | |
| | AcXyl(1→3)Ara- | AcGlc(1→3)Ara- | DDMP [†] - | ns [‡] | |
| Glc(1→2)Gal(1→2)GlcUA- | Aa | Ab | g | Ba | Bd |
| Rha(1→2)Gal(1→2)GlcUA- | (Au) | Ac | g | Bb | Be |
| Gal(1→2)GlcUA- | Ae | Af | g | Bb' | (Be') |
| Glc(1→2)Ara(1→2)GlcUA- | Ax | Ad | (a) | Bx | Bf |
| Rha(1→2)Ara(1→2)GlcUA- | (Ay) | (Az) | a | Bc | Bg |
| Ara(1→2)GlcUA- | Ag | Ah | a | Bc' | (Bg') |

*Soyasapogenol E contains a ketone function at the C-22 position.

[†]2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one.

[‡]No sugar chain is attached at the C-22 positioin.

Unreported saponins are shown in parenthesis.

Source : Tsukamoto, C. et al. (1993)

이 많았다. 그동안 여러 가지 방법으로 이를 타개하기 위한 시도가 계속되었으며, 처음으로 Tsukamoto 등(Tsukamoto et al., 1995)이 DDMP 사포닌을 HPLC를 사용하여 UV (ultraviolet) 범위에서 검출하였다.

이미 언급하였다시피 콩에서 진전한 사포닌은 DDMP 사포닌임이 밝혀졌으므로 Kudou 등, Tsukamoto 등 많은 연구자들이 DDMP 사포닌의 정확한 함량 분석에 많은 노력을 기울였으나 DDMP 사포닌이 열처리, pH 등에 민감한 까닭(Yoshiki, et al., 1998)에 콩 종자 및 가공품에서 DDMP-conjugated soyasapoins과 non-DDMP soyasapoins을 뚜렷하게 구분하여 분석하는 방법에 어려움이 많았다(그림 4). 그러나 최근에 Hu 등이 group B 사포닌을 정확하게 분석할 수 있는 방법을 보고(Hu et al., 2002)함으로써 앞으로 콩 사포닌의 정성 및 정량 분석에 많은 도움이 될 것으로 사료된다.

유전적 요인

콩 사포닌 유전자는 co-dominant, dominant, recessive 등 의 유전양식이 복합적으로 작용하여 함량 변이에 영향을 끼치는 것으로 보고되었다(Shiraiwa et al., 1991; Shiraiwa et al., 1990; Tsukamoto et al., 1998; Tsukamoto et al., 1993). 한편 이들 유전자는 품종 및 조직에 특이적으로 작용하는 것으로 밝혀졌다(Shimoyamada et al., 1990; Tsukamoto et al., 1998). Anderson 등(1995)은 콩 종자의 부위별로 사포닌 함량을 분석한 바 있는데, 종실의 0.1~0.5%를 사포닌이 차지하고 있으며, cotyledon과 hypocotyl은 각각 전체 부위의 0.2~0.3%와 2%를 사포닌이 차지한다고 하였다. 그리고 Kudou 등(1992)은 콩의 종실 부위에 따라 group A, B, E 사포닌이 종류별로 특이적으로 분포한다고 하였다.

표 4는 재배종과 야생종에서의 사포닌 종류별 분포를 나타낸 것이다. 사포닌의 종류별 분포 빈도는 재배종과 야생종에

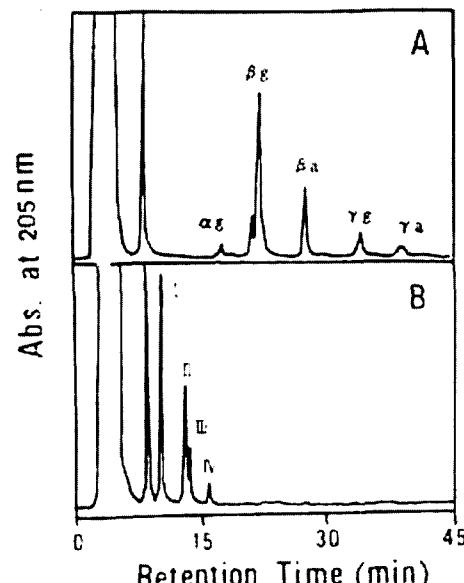


Fig. 4. HPLC patterns of group B saponin in whole soybean seeds. HPLC conditions : column, YMC ODS-AM-303(5 μm, 4.6×250 mm); mobile phase, acetonitrile-water-TFA(42:38:0.05, v/v); flow rate, 1 ml/min. A, the butanol extract from whole soybean seeds (unheated); B, after heating at 100°C for 1 h. Source : Kudou, S. et al. (1993)

서 확연히 다름을 알 수 있다. Tsukamoto 등(1994)은 야생콩 배축 부위에서 DDMP 사포닌 함량이 7%에 이르는 유전자원을 발견하였으며(표 5), Kikuchi 등(1999)은 group A 사포닌이 결핍된 유전자원을 발견한 바 있다. 따라서 콩 사포닌의 함량변이는 품종에 따라 분포 범위가 아주 넓음을 알 수 있다. 표 6은 야생콩의 사포닌 종류별 분포 빈도를 수집지별로 분석한 것이다. 표에서 보는 바와 같이 우리 나라, 중국, 일본 지역에서 사포닌 종류별 분포 빈도가 다름을 알 수 있는데,

Table 4. Classification of saponin types of 800 cultivated soybeans(*G. max*) and 329 wild soybean(*G. soja*) accessions according to the saponin composition of the seed hypocotyl.

| Saponin type | Frequency no. (%) | | Group A | | | | | Group B | | | Group E | | |
|--------------|-------------------|----------------|---------|----|----|----|----|---------|----|----|---------|----|----|
| | <i>G. max</i> | <i>G. soja</i> | Aa | Ab | Ad | Ae | Af | Ba | Bb | Bb | Bc | Bd | Be |
| Aa | 199(24.9) | 71(21.6) | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + | + |
| Ab | 572(71.5) | 32(9.7) | - | + | - | - | + | + | + | + | - | + | + |
| AcAf | 1(0.1) | 0(0) | - | - | - | - | + | - | + | + | - | - | + |
| AaAb | 12(1.5) | 4(1.2) | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + |
| AaBc | 2(0.3) | 192(58.4) | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| AbBc | 14(1.8) | 15(4.6) | - | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + |
| A0Bc | 0(0) | 1(0.3) | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + |
| AaAbBc | 0(0) | 14(4.3) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Total | 800 | 329 | | | | | | | | | | | |

Source : Tsukamoto, C. et al. (1993)

Table 5. Soybean saponin contents in seed hypocotyl part of cultivated and wild soybeans

| Variety | Sample No. | Saponin content (%), ±S.D) | |
|----------------------|------------|----------------------------|--------------|
| | | Group A saponin | DDMP saponin |
| Cultivated soybeans | 414 | 1.62±0.60 | 1.83±0.60 |
| Wild soybeans | 149 | 4.30±1.00 | 4.35±0.85 |
| Nattoshoryu | 1 | 3.72±0.07 | 6.05±0.11 |
| Col/Nara1983Nobuka-2 | 1 | 5.84±0.23 | 7.20±0.22 |

Source : Tsukamoto, et al. (1994)

사포닌 함량 제고를 위한 유전자원 탐색과 함께 이를 통하여 콩의 전파 경로에 따른 원산지 추적도 가능하리라 판단된다.

콩 사포닌 중 group A는 반 영양적 요소로 알려져 있어 이를 제거하기 위한 노력이 일본에서 꾸준히 이루어져 왔다. 표 7은 group A saponin은 단순열성으로 유전한다는 것을

보고한 것으로 Kikuchi 등(1999)은 group A가 결핍된 야생 콩 유전자원을 이용하여 재배종에서 group A 사포닌 제거 가능함을 밝혔다. 따라서 앞으로는 사포닌의 유전 양상 및 유전자원을 충분히 검토함으로써 재배종에 생리활성이 뛰어난 DDMP 사포닌 등의 함량을 제고할 수 있음을 알 수 있겠다.

환경적 요인

콩 사포닌 함량은 isoflavone 등 콩의 기타 성분 함량들과는 달리 환경의 변화에 민감하지 않는 것으로 보고되었다 (Shiraiwa & Okubo, 1991; Tsukamoto et al., 1995).

표 8과 9는 사포닌 함량이 지역이나 성숙기 등 환경 요인에 영향받지 않음을 나타낸다. 사포닌 함량은 품종간에만 영향을 받는 것을 알 수 있으므로 앞으로 사포닌 함량 제고를 위해서는 환경적 요인보다는 유전적 요인을 고려함이 옳을 것으로 판단된다.

Table 6. Number of saponin types of *G. soja* collection detected in different areas

| Country & area | | Sum | Aa | Ab | AaAb | AaBc | AbBc | AaAbBc | Saponin type |
|----------------|--------------|-----|----|----|------|------|------|--------|--------------|
| Japan | Hokkaido | | | | | | | | |
| | Tohoku | 59 | 16 | 6 | 1 | 24 | 8 | 4 | |
| | West area | 35 | 8 | 1 | 0 | 26 | 0 | 0 | |
| | East area | 58 | 7 | 5 | 0 | 46 | 0 | 0 | |
| Korea | West area | 10 | 5 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | |
| | East area | 16 | 2 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | |
| China | Heilungkiang | 8 | 6 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | Jilin | 15 | 7 | 4 | 0 | 4 | 0 | 0 | |
| Total | | 219 | 54 | 29 | 2 | 122 | 8 | 4 | |

Source : 塚本知玄 (1993)

Table 7. Observed and expected segregation of F₂ seeds derived from crosses A-b(F) x Shiroennari and A-b(F) x Suzuyutaka for the presence or absence of group A acetyl saponins

| Cross (Parental phenotype) | Saponin phenotype | No. of seeds | | χ^2 value (3 : 1) | Probability |
|----------------------------------|----------------------|--------------|-------|---------------------------|-------------|
| | | Obs. | Exp. | | |
| A-b(F) x Shiroennari (-) (Aa) | Aa | 146 | 145.5 | 0.007 | > 0.93 |
| | - | 48 | 48.5 | | |
| A-b(F) x Suzuyutaka (-) (Ab) | Ab | 137 | 142.5 | 0.849 | > 0.35 |
| | - | 53 | 47.5 | | |

Source : Kikuchi, A. et al. (1999)

Table 8. Mean values of seed component analysis in four groups composed of seventy different samples belonging to seven soybean varieties based on the difference in locations and harvest periods in 1991^{a)}

| Location | Harvest period | Sample size | Isoflavone (whole seed) | Isoflavone (hypocotyl) | Saponin | C18:2+C18:3 /Total FA |
|----------|-----------------|-------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Kyushu | before 9/15 | 24 | 44.4±20.5 | 803.7±148.8 ^a | 216.2±61.8 ^a | 46.1±8.4 ^a |
| | later than 9/15 | 16 | 132.4±45.4 ^a | 1001.7±161.2 ^{bc} | 243.6±42.6 ^a | 61.2±3.4 ^b |
| Tsukuba | before 9/15 | 10 | 107.6±17.9 ^a | 914.9±103.9 ^{ab} | 214.9±27.5 ^a | 46.5±5.8 ^a |
| | later than 9/15 | 20 | 229.9±78.9 | 1152.5±246.9 ^c | 215.7±46.9 ^a | 59.2±9.6 ^b |

^{a)}Values are expressed in mg/100 g seed (isoflavone and saponin contents) and in % (fatty acid ratio). Means with the same letter in the same column are not significantly different at 1% level by *t*-test.

Source : Tsukamoto, C. et al. (1993)

Table 9. F values and levels of significance of ANOVA of seed components of three cultivars grown at different temperatures during seed development in growth cabinets^{a)}

| Source | df | Isoflavone (whole seed) | Isoflavone (hypocotyl) | Saponin | C18:2+C18:3 /Total FA |
|-----------------------|----|-------------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|
| Between varieties | 2 | 2.20 ^{NS} | 51.62** | 9.53** | 12.99** |
| Between temperature | 1 | 273.85** | 281.20** | 0.05 ^{NS} | 118.73** |
| Variety × temperature | 2 | 2.20 ^{NS} | 16.93** | 0.71 ^{NS} | 6.55* |

^{a)}NS, not significant; * and **, significant at 5 and 1%, respectively.

Source : Tsukamoto, C. et al. (1995)

콩 가공제품에서의 사포닌 함량 변이

콩 사포닌의 정성 및 정량 분석을 위한 방법이 정립화되지 않음으로 인해 Anderson 등 (1995) 몇몇 group 이외에는 콩 가공 제품에서의 사포닌 함량 변이에 관한 보고는 미미하다. Tsukamoto 등(1992)은 13종류의 일본 콩 품종을 대상으로 DDMP 사포닌 함량을 분석한 결과 1.39~3.25 μmol/g의 범위를 나타내었다고 하였으며, 또한 GMO 종자(Round-up Ready)의 사포닌 함량은 기존의 재배종에 비해 1/2에 불과하다고 하였다. 한편, Hu 등(2002)은 콩 종자에 함유되어 있는 group B 사포닌 함량을 HPLC를 사용하여 정량하였다. 분석된 46 품종의 종실내 평균 함량은 4.04±0.91 μmol/g이며 범위는 2.50~5.85 μmol/g를 나타내었다고 하였으며 이중 DDMP가 전체 group B 사포닌의 85~94%를 차지한다고 하였다. 이는 Tsukamoto 등이 분석한 DDMP 사포닌 함량과 비슷한 결과임

을 알 수 있다.

표 10은 Hu 등(2002)이 콩 가공제품에 대하여 group B 종류별 사포닌 함량을 분석한 결과이다. 표에서 볼 수 있듯이 콩 제품간에는 0.20~114.02 μmol/g의 차이를 보여 분포 범위가 매우 넓은 것으로 나타났다. 일반적으로 콩의 분리단백이 가공처리가 되지 않은 raw soybean flour 보다 사포닌 함량이 높았으며, DDMP 사포닌 함량은 열처리 등이 수행되지 않은 raw soybean flour이 높은 반면 가공처리가 된 콩 제품에서는 non-DDMP saponinsⁱ 주로 검출되었다. 따라서 열처리가 사포닌 함량 변이에 영향을 미침을 알 수 있었다. 한편, acid가 처리된 농축단백에서 group B 사포닌이 높게 분석된 반면 ethanol이 처리된 농축단백에서는 group B 사포닌이 거의 검출되지 않아 추출 용매의 조건에 따라서도 사포닌 함량에 변이가 나타남을 알 수 있었다. 콩 가공식품에서는 tempe가 건물종으로 3.79 μmol/g, 두부는 4.49 μmol/g,

Table 10. Soyasaponin content and composition in commercial soy products

| | Moisture (%) | Group β soyasaponin content ^a (μmol/g) | | | | | | total |
|----------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------|-------|-------|------|-------|------|--------|
| | | V | I | II | g | g | a | |
| Soybeanflour ^b | 6.43 | 0.00 | 0.28 | 0.21 | 0.17 | 2.19 | 0.47 | 3.31 |
| Tofu ^c | 86.87 | 0.00 | 0.31 | 0.13 | 0.01 | 0.11 | 0.03 | 0.59 |
| Tempeh ^c | 59.65 ^e | 0.00 | 0.76 | 0.39 | 0.01 | 0.28 | 0.09 | 1.53 |
| Soy milk ^f | 90.75 | 0.00 | 0.22 | 0.12 | 0.00 | 0.09 | 0.04 | 0.47 |
| Acid-washed soy concentrates ^g | 5.80 ^e | 0.00 | 2.41 | 1.05 | 0.19 | 4.90 | 0.86 | 9.41 |
| Ethanol-washed soy concentrates ^g | 5.80 | 0.00 | 0.08 | 0.12 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.20 |
| Isolated soy protein 500E ^h | 4.87 | 0.87 | 5.73 | 2.39 | 0.10 | 1.20 | 0.31 | 10.60 |
| Isolated soy protein Supro 670 ^h | 4.56 | 0.00 | 5.59 | 2.50 | 0.07 | 1.01 | 0.33 | 9.51 |
| Textured vegetable protein ^g | 5.66 | 0.00 | 1.89 | 0.87 | 0.11 | 1.26 | 0.38 | 4.51 |
| Soy hypocotyl ⁱ | 3.55 | 4.41 | 5.80 | 0.00 | 4.71 | 12.53 | 0.00 | 27.46 |
| Novasoy ^g | 3.75 | 0.00 | 77.55 | 36.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 114.02 |

^aAll samples were analyzed in duplicate. Saponin contents are reported on an "as is" weight basis and are corrected according to the internal standard. ^bVinton 81, 1994 crop. ^cMori-nu, firm. ^dQuong Hop and Co. ^eObtained from USDA food composition database. ^fWhite Wave, Inc.

^gArcher Danieis Midland Co. ^hProtein Technologies international. ⁱSchouten USA Inc., toasted.

Source : Hu, J. et al. (2002)

두유에서는 5.06 μmol/g^o] 분석되었다. 이와 같이 콩 가공 제품은 처리공정의 방법에 따라 사포닌 함량에 많은 변이가 나타남을 알 수 있는데, Anderson 등(1995)도 동양의 전통 콩 가공제품은 0.3~ 0.4%의 사포닌이 포함되어 있다고 밝힌 바 있다.

표 11은 DDMP 사포닌의 안정성에 관하여 분석한 결과이다. DDMP 사포닌은 solid matrix(soy flour 등) 상태에서는 가열 시간에 관계없이 열에 안정한 것으로 사료된다. 그러나 20시간 정도 미리 수분이 흡수된 상태에서는 가공 공정에 따라 사포닌의 구성성분 및 농도가 달라짐을 알 수 있다. 즉 두 유 제조를 위해 흡수된 콩을 이용하여 raw soymilk를 만든

경우 사포닌 함량은 마쇄 전에 비해 76%의 사포닌 함량을 나타내었으며 열처리에 관계없이 사포닌 구성성분도 대부분 non-DDMP임이 보고되었다. 이는 DDMP 사포닌이 흡수된 콩이 마쇄되는 과정 중에 non-DDMP로 전환되었음을 나타낸다. 아직 이에 관한 원인은 알 수 없으나 수분 흡수가 콩 발아와 연관되어 특정 효소가 발현되고, 이것이 두유를 만드는 공정 중의 하나인 세포파괴 중에 누출되어 DDMP를 털락시키는 역할을 하는 것으로 보고 있다. 이와 같이 아직 콩 가공공정 중의 사포닌 변화에 대해서는 아직 연구가 미미한 편인데 앞으로 사포닌의 생리활성을 제고하기 위해서는 이와 관련된 연구가 깊이 이루어져야 할 것으로 판단된다.

Table 11. Stability of DDMP-conjugated soyasaponins in food matrices

| Treatment | | Soyasaponin content ^a (μmol/g) | | | | | | total ^b |
|------------------------------|-----------------|-------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------------|------------------------|
| | | V | I | II | αg | βg | βa | |
| Soybean unheated | nd ^c | 0.40±0.13 | 0.19±0.06 | 0.14±0.02 | 2.01±0.11 | 0.49±0.03 | 3.13±0.06 ^a | |
| 50°C | 15 min | nd | 0.33±0.03 | 0.16±0.01 | 0.15±0.01 | 2.03±0.02 | 0.53±0.01 | 3.20±0.03 ^a |
| | 30 min | nd | 0.33±0.02 | 0.17±0.05 | 0.14±0.01 | 2.02±0.06 | 0.51±0.02 | 3.19±0.09 ^a |
| | 60 min | nd | 0.35±0.08 | 0.17±0.05 | 0.15±0.02 | 2.01±0.05 | 0.51±0.01 | 3.18±0.07 ^a |
| | 90 min | nd | 0.39±0.05 | 0.18±0.02 | 0.15±0.01 | 1.97±0.10 | 0.50±0.03 | 3.19±0.08 ^a |
| 80°C | 15 min | nd | 0.33±0.03 | 0.20±0.05 | 0.16±0.01 | 2.00±0.06 | 0.55±0.01 | 3.07±0.10 ^a |
| | 30 min | nd | 0.40±0.06 | 0.17±0.02 | 0.15±0.02 | 1.99±0.05 | 0.51±0.01 | 3.04±0.04 ^a |
| | 60 min | nd | 0.38±0.02 | 0.18±0.03 | 0.16±0.01 | 1.96±0.04 | 0.55±0.01 | 3.23±0.07 ^a |
| | 90 min | nd | 0.35±0.03 | 0.16±0.01 | 0.15±0.01 | 2.01±0.01 | 0.54±0.01 | 3.20±0.03 ^a |
| Soaked soybeans ^d | nd | 0.25±0.05 | 0.07±0.01 | 0.11±0.03 | 1.93±0.03 | 0.62±0.01 | 2.99±0.09 ^a | |
| Raw soy milk ^d | 0.20±0.01 | 1.33±0.03 | 0.71±0.03 | 0.01±0.01 | 0.02±0.00 | 0.01±0.00 | 2.28±0.06 ^b | |

^aValues are the mean of two duplicate determinations standard deviation. ^bValues followed by the same letter in the same column are not significantly different ($p>0.05$). ^cnd = not detected. ^dConcentrations were calculated as μmol/g of original seeds used.

Source : Hu, J. et al. (2002)

맺 음 말

콩 사포닌은 혈중 콜레스테롤 감소, 항암작용, 면역증진작용 등 여러 가지 성인병의 치료 및 예방에 효과가 있는 것으로 밝혀져 생리활성에 관한 연구는 활발하게 이루어졌으나 사포닌의 정성 및 정량 분석에 어려움이 많아 작물학적인 접근은 미미하였던 것이 사실이다. 그러나 최근 들어 일본을 중심으로 국외에서는 여러 가지 분석 방법이 개발되어 콩 종실뿐만 아니라 콩 가공제품에 관한 함량 분석도 용이하게 되었다. 이에 비하여 국내의 콩 사포닌에 관한 작물학적 연구는 전무한 실정이다. 다행히도 사포닌의 생리활성에 관한 연구는 국내에서도 점차 활기를 띠고 있어 앞으로 작물학적 접근 방법에도 큰 영향을 미치리라 사료된다.

콩 사포닌은 다양한 화학적 구조를 지니고 있으며, 화학형에 따라 여러 유전자가 복잡하게 서로 관여하고 있다. 또한 콩 사포닌의 구조 및 성분 함량은 환경의 영향이 미미하고 오히려 유전적인 요소가 중요한 것으로 보고되었다. 따라서 콩 사포닌을 유용하게 이용하기 위해서는 각종 유전자원의 선택이 중요함을 알 수 있는데, 우리 나라는 콩의 원산지 혹은 주변지일 것이라고 추정하고 있으며 이에 따라 다양한 콩 유전자원이 보존되어 있으리라 판단된다. 이미 일본에서는 야생콩 유전자원을 이용하여 유익한 콩 사포닌 함량은 높이고 반 영양적인 사포닌 종류는 제거하고자 하는 유풍적 노력이 계속되고 있는 실정이다.

이러한 세계의 연구 추세를 따라가며 우리 나라 콩 종실의 사포닌 함량 제고 및 이용면의 확대를 위해서는 여러 연구 분야가 협력하여야 할 것으로 판단된다. 작물학 및 육종학적 접근뿐만 아니라 영양학, 화학, 생화학분야 등 여러 학문 분야 전문가와의 상호 협력이 절실했던 형편이다. 이밖에도 유용유전자 탐색을 위한 분자생물학적 접근도 중요한 과제가 될 것이다. 다양한 유전자원의 탐색, 수집 및 작물학적 특성 평가와 함께 사포닌의 구조 및 생리활성 효과 연구가 상호 연관되어 수행됨으로써 더욱 깊은 연구 결과를 얻을 수 있으리라 판단된다.

인용문헌

- Anderson, R.L. and W.J. Wolf. 1995. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J. Nutr.* 125 : 581S-588S.
- Berhow, M.A., S.F. Vaughn, C.L. Cantrell, S.M. Duval, E.J. Woods, M. Rundell, K.J. Naschansky, S. Bartolini, E.D. Wagner, and M.J. Plewa. 2002. Separation, analysis and bioassay of phytochemicals found in soybeans: isoflavones and saponins. *J. Nutr.* 132 : 592S.
- Hawrylewicz, E. J., J. J. Zapata, and W. H. Blair. 1995. Soy and experimental cancer : Animal studies. *J. Nutr.* 125 : 698S-708S.
- Hendrich, S., T.T. Song, S.O. Lee, and P.A. Murphy. 2000. Are saponins and/or other soybean components responsible for hypcholesterolemic effects of soybean foods. *J. Nutr.* 130 : 674S.
- Hu, J., S.O. Lee, S. Hendrich, and P.A. Murphy. 2002. Quantification of the group B soyasaponins by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 2587-2594.
- Huang, H.P., C.F. Cheng, W.Q. Lin, G.Y. Yang, Y.J. Song, and G.Y. Ren. 1982. Antitumor activity of total saponins from *Dolichos falactus* Klein. *Acta pharmacol. Sinica* 3 : 386(abs.).
- Ireland, P.A., S.Z. Dziedzic, and M.W. Kearsley. 1986. Saponin content of soya and some commercial soya products by means of high performance liquid chromatography of the sapogenins. *J. Sci. Food Agric.* 37 : 694-698.
- Jeon, H.S. and M.K. Sung. 2000. Soybean saponins inhibit the formation of DNA adducts in human colon and liver cells. *J. Nutr.* 130 : 687S.
- Kennedy, A.R. 1995. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J. Nutr.* 125 : 733S-743S.
- Kikuchi, A., C. Tsukamoto, K. Tabuchi, T. Adachi, and K. Okubo. 1999. Inheritance and characterization of a null allele for group A acetyl saponins found in a mutant soybean. *Breeding Sci.* 49 : 167-171.
- Klein, B. P., A. K. Perry, and N. Adair. 1995. Incorporating soy proteins into baked products for use in clinical studies. *J. Nutr.* 125 : 666S-674S.
- Koratkar, R. and A.V. Rao. 1997. Effect of soya bean saponins on azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the colon of mice. *Nutr. Cancer* 27 : 206-209.
- Kudou, S., M. Tonomura, T. Masahide, C. Tsukamoto, T. Sakabe, N. Tamura, and K. Okubo. 1993. Isolation and structural elucidation of DDMP-conjugated soyasaponins as genuine saponins from soybean seeds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 57 : 546-550.
- Kudou, S., M. toromura, C. Tsukamoto, M. Shimoyamada, T. Uchida, and K. Okubo. 1992. Isolation and structural elucidation of the major genuine soybean saponins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56 : 142-143.
- Liener, I.E. 1995. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. *J. Nutr.* 125 : 744S-750S.
- Messina, M., C. Gardner, and S. Barnes. 2002. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go : Commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J. Nutr.* 132 : 547S-551S.
- Messina, M. 1995. Modern applications for an ancient bean : soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J. Nutr.* 125 : 567S-569S.
- Murphy, P.A., J. Hu, S.O. Lee, K. Barua, and S. Hendrich. 2002. Isoflavone, saponin correlation in soybeans and soy foods. *J. Nutr.* 132 : 592S.
- Okubo, K., Y. Yoshiki, K. Okuda, T. Sugihara, C. Tsukamoto, and K. Hoshikawa. 1994. DDMP-conjugated saponin isolated from american groundnut. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58(12) : 2248-2250.
- Okubo, K., M. Iijima, Y. Kobayashi, M. Yoshikoshi, T. Uchida, and S. Kudou. 1992. Components responsible for the undesirable taste of soybean seeds. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56(1) : 99-103.
- Potter, S.M. 1995. Overview of proposed mechanisms for the hypcholesterolemic effect of soy. *J. Nutr.* 125 : 606S-611S.
- Rao, A.V. and M.K. Sung. 1995. Saponins as anticarcinogens. *J. Nutr.* 125 : 717S-724S.
- Shamsuddin, A.M. 1995. Inositol phosphates have novel anticancer

- function. *J. Nutr.* 125 : 725S-732S.
- Shimoyamada M., S. Kudou, K. Okubo, F. Yamauchi, and K. Harada. 1990. Distribution of saponin constituents in some varieties of soybean plant. *Agric. Biol. Chem.* 54(1) : 77-81.
- Shiraiwa, M., K. Harada, and K. Okubo. 1991. Composition and content of saponins in soybean seed according to variety, cultivation year and maturity. *Agric. Biol. Chem.* 55 : 323-331.
- Shiraiwa, M., K. Harada, and K. Okubo. 1991. Composition and structure of "group B saponin" in soybean seeds. *Agric. Biol. Chem.* 55 : 911-917.
- Shiraiwa, M., F. Yamauchi, K. Harada, and K. Okubo. 1990. Inheritance of "group A saponin" in soybean seed. *Agric. Biol. Chem.* 54 : 1347-1352.
- Sirtori, C. R., M. R. Lovati, C. Manzoni, M. Monetti, F. Pazzucconi, and E. Gatti. 1995. Soy and cholesterol reduction : Clinical experience. *J. Nutr.* 125 : 598S-605S.
- Sohn, H.S., Y.S. Lee, H.C. Shin, and H.K. Chung. 2000. Recent research for physiological mechanism of soybean in preventing and treating chronic diseases. *Korea Soybean Digest* 17(1) : 37-60.
- Sung, M.K. and M.Y. Park. 2000. Effects of soybean saponins on the growth and antioxidant defense of human hepatocarcinoma cells. *J. Nutri.* 130 : 687S
- Sung, M.K. 1996. The anticarcinogenic properties of soybeans. *Korea Soybean Digest* 13(1): 19-31.
- Sung, M.K., C.W.C. Kendall, M. Koo, and A.V. Rao. 1995. Effect of soybean saponins and gypsophilla saponin on growth and viability of colon carcinoma cells in culture. *Nutr. Cancer* 23 : 259-270.
- Tokuda, H. 1988. Inhibitory effects of 12-O-tetradecanoylphorbol-13acetate and teleocidin-B-induced Epstein-Barr virus by saponin and its related compounds. *Cancer Lett.* 40: :309-317.
- Tsukamoto,C., A. Kikuchi, K. Harada, K. Kitamura, T. Iwasaki, and K. Okubo. 1998. Genetic improvement of saponin components in soybean seed. *Proceedings of World Soybean Research Conference* . pp 8085. Kasetsart University Press. Bangkok, Thailand.
- Tsukamoto, C., S. Shimada, K. Igita, K. Kudou, M. Kokubun, K. Okubo, and K. Kitamura. 1995. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. *J. Agric. Food Chem.* 43 : 1184-1192.
- Tsukamoto, C., A. Kikuchi, S. Kudou, K. Harada, K. Kitamura, and K. Okubo. 1992. Group A acetyl saponin-deficient mutant from the wild soybean. *Phytochemistry* 31(12) : 4139-4142.
- 塚本知玄. 1993. 大豆不快味配糖体成分の改変に関する遺傳育種学的研究. 日本東北大學大學院農學研究科 博士學位論文.
- Tsukamoto, C., A. Kikuchi, K. Harada, K. Kitamura, and K. Okubo. 1993. Genetic and chemical polymorphisms of saponins in soybean seed. *Phytochemistry* 34(5) : 1351-1356.
- Tsukamoto, C., A. Kikuchi, S. Kudou, K. Harada, K. Kitamura, and K. Okubo. 1994. Genetic improvement of saponin component in soybean. In "ACS Symposium Series 546, Food Phytochemicals for Cancer Prevention I, Fruits and Vegetables"; American Chemical Society, Washington DC, USA, pp 372-380.
- Vlietinck, A.J., T.D. Bruyne, S. Apers, and L.A. Pieters. 1998. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus(HIV) infection. *Planta Med.* 64(2) : 97-109.
- Yoshiki, Y., C. Tsukamoto, K. Harada, and K. Okubo. 1998. Instability of DDMP saponins and their composition in subgenus *Soja*. *Proceedings of World Soybean Research Conference V*. pp 545-549. Kasetsart University Press. Bangkok, Thailand.