

## 추출조건에 따른 콩잎 추출물의 이소플라본 함량 및 이화학적 특성

윤정아<sup>1</sup>, 권세영<sup>2</sup>, 박은희<sup>1,2</sup>, 김명동<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 바이오산업공학부

<sup>2</sup>주메타스크린

Received: December 31, 2018 / Revised: January 6, 2019 / Accepted: January 10, 2019

### Changes in Isoflavone Contents and Physicochemical Properties of Soybean Leaf Extract by Extraction Conditions

Jeong-Ah Yoon<sup>1</sup>, Se-Young Kwun<sup>2</sup>, Eun-Hee Park<sup>2</sup>, and Myoung-Dong Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Food Biotechnology and Biosystems Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

<sup>2</sup>Metascreen Inc., Chuncheon 24341, Republic of Korea

To utilize soybean leaf, which is a waste product in soybean production, as a value-added food material, this study aimed to investigate the extraction efficiency of isoflavone from soybean leaf and to characterize physicochemical properties of the extract. Maximum isoflavone content of  $59.74 \pm 4.54$  mg/l was obtained from soybean leaf extracted at 90°C for 12 h. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity and total polyphenol contents reached maximum levels of  $67.26 \pm 3.64\%$  and  $1,688.68 \pm 97.37$  µg/ml chlorogenic acid equivalent, respectively. Based on the contents of isoflavone and total polyphenol, and DPPH radical-scavenging activity, optimum extraction conditions for soybean leaf using water as solvent were 90°C and 12 h.

**Keywords:** Soy bean leaf, isoflavone, DPPH radical-scavenging activity, polyphenol, extraction

다양한 식생활의 발달과 바쁜 일상으로 인하여 간편식과 건강식에 대한 관심이 매년 증가하고 있으며, 식품 선택의 기준이 맛, 가격 등에서 영양, 생산 방법, 섭취 방법 등 다양한 요인을 고려하는 추세로 변화하였다[1]. 따라서, 새로운 식품소재와 천연 원료 유래의 기능성 관련 물질에 대한 연구개발이 이어지고 있으며 관련 시장이 지속적으로 성장하고 있다[2].

콩에는 이소플라본, 사포닌, 레시틴 등 다양한 생리활성 물질들이 존재하며, 이 중에서도 이소플라본은 심장질환, 골다공증, 위암, 유방암, 폐경기 증상 등에 대한 효과가 보고되었다[1, 3]. 그러나, 콩잎에 대한 연구는 원료를 활용한 단순 가공품 단계에 머물러 있으며, 콩잎 장아찌와 콩잎김치 형태로 경상도 지역에서 주로 소비되고 있고[4], 콩잎 분말을 첨가한 두부 등이 개발되었다[5].

콩잎은 다른 식물의 잎들과 비교하여 이소플라본이 풍부하게 함유되어 있으며, 항산화 활성에 관여하는 페놀계 화합

물, 클로로필, 카로티노이드, 비타민 C 등의 함량이 높은 것으로 보고되었다[6]. Ho 등[7]의 연구에 의하여 콩잎의 부탄올 추출물에서 플라보노이드 계열의 kaempferol glycoside 이 확인되었다. 또한, 콩잎 에탄올 추출물이 당뇨병 치료에 관여하는 β-세포의 인슐린 신호전달을 강화시키는 것으로 보고되었으며[8], 동맥 내피세포의 혈관확장을 유도하여 동맥 경화증을 예방하는 효과가 있는 것으로 보고되었다[9].

천연물을 원료로 하여 제조된 추출물의 다양한 생리 활성에 대한 연구결과가 지속적으로 보고되고 있으며, 이들 추출물에 함유된 유용물질은 용매 등 추출 조건에 따라 함량이 크게 달라지는 것으로 알려져 있다[10]. 따라서 추출물을 제작하는 경우 유용물질의 특성을 고려한 용매 선정, 추출 시간, 온도 등에 대한 면밀한 고려가 필요하다[11, 12].

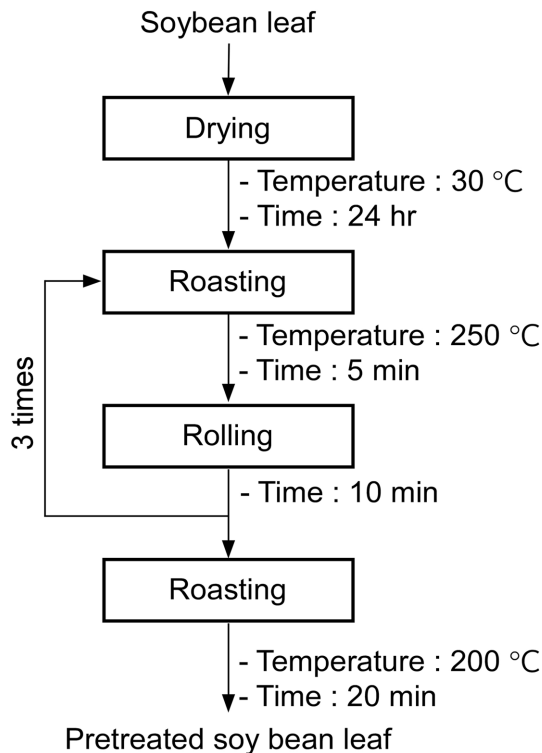
퓌의 추출물은 상압에서 제조한 추출물보다 초고압에서 추출한 경우 상대적으로 우수한 항산화 활성을 나타냈고, 초고압으로 제작한 추출물은 tyrosinase와 elastase 효소활성에 대한 저해효과가 우수한 것으로 보고되었다[13]. 다양한 온도, 시간, 용매 등을 고려하여 항산화 활성이 우수한 로즈마리 추출물을 제작한 연구[12]와 동백나무 잎을 이용하여 항산화 효과가 우수한 추출조건을 설정한 결과[14] 등도 보고

#### \*Corresponding author

Tel: +82-33-250-6458, Fax: +82-33-259-5565

E-mail: mdkim@kangwon.ac.kr

© 2019, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology



**Fig. 1. Pretreatment procedures for soybean leaf.**

되었다.

콩을 생산하는 과정에서 발생하는 콩잎의 경우 추출 등 부가가치 창출을 위한 기반 연구가 매우 미흡한 상황이며, 콩잎에 함유된 고부가가치 기능성 물질의 추출 공정을 개발한 사례는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 추출 온도와 시간에 따른 이소플라본의 추출 효율 및 이화학적 특성 변화를 고찰하여 콩잎을 산업적으로 활용하는데 필요한 기반 자료를 확보하고자 하였다.

콩잎은 강원도 농업기술원에서 제공받은 호반 품종(강원 5호)을 2018년 6월에 강원도 춘천시 소재 노지에 파종한 후 9월에 수확하여 사용하였다. 콩잎은 흐르는 물에 세척한 후, 건조기(Jinwoo electronic Co., Korea)를 사용하여 30°C에서 24시간 건조하였다. 건조된 콩잎은 원통형볶음기(Xiamen Yuneng Machinery Plant, China)를 이용하여 산화 효소활성을 억제시키고[15], 율넝기(Bohyun Eng Co., Korea)를 사용하여 성분 추출이 용이[16]하도록 전처리하였다(Fig. 1). 전처리한 콩잎 2 g을 정제수 100 ml와 혼합한 후 환류 냉각 방식의 추출기(MTOPS, Korea)를 사용하여 추출 온도는 50, 70, 90°C, 추출 시간은 1, 12, 24시간으로 각각 설정하여 콩잎 추출물을 제조하였다. 추출된 시료는 여과하여 냉동 보관하였다.

이소플라본 배당체 2종(daidzin, genistin)과 비배당체 2종

(daidzein, genistein)을 지표물질로 선정하여 LiChrospher RP-18 컬럼(5 µm, 250 mm × 4.6 mm, SUPERCO, USA)이 장착된 HPLC (Shimadzu, Japan)로 측정하였다. 이동상은 물과 초산 혼합물(water/acetic acid, 99.9/0.1, v/v), 아세토니트릴과 초산 혼합물(acetonitrile/acetic acid, 99.9/0.1, v/v)를 사용하여 시간에 따라 농도 구배를 적용하였다[17]. 컬럼의 온도는 35°C로 유지하였으며, 자외선 검출기(254 nm)를 사용하였다.

탄닌 함량은 박 등[18]이 제시한 방법에 따라 콩잎 추출물 5 ml에 주석산 철 용액(FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 5 ml를 첨가한 뒤 Sorensen's 인산염 완충액(0.133 M, pH 7.2) 15 ml를 가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, Ethyl gallate (Sigma-Aldrich, USA)를 표준물질로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법[19]으로 측정하였다. 추출물 0.5 ml에 Folin's & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich, USA) 0.5 ml를 첨가하여 3분간 반응한 후, 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 0.5 ml 주입하였다. 혼합액을 1시간 동안 상온에서 정치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 총 폴리페놀 함량은 chlorogenic acid equivalent (CAE)로 나타내었다.

정 등[20]의 방법을 변형하여 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, USA) 라디칼 소거능을 평가하였다. 시료 20 µl와 DPPH 시약 180 µl를 혼합하고 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음식을 사용하여 산출하였다.

DPPH 라디칼 소거능(%) =

$$\frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

모든 측정은 3회 반복하였으며 평균값과 표준오차는 SPSS (v 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA)를 사용하여 Duncan의 다중범위 검정 방법[21]으로 검정하였다.

2017년 9월에 수확한 콩잎을 튀음기를 사용하여 30°C에서 24시간 동안 건조한 후, 250°C에서 5분 동안 튀음 처리를 하고, 10분간 유념하는 과정을 3회 반복하여 전처리하였다(Fig. 1). 추출 공정에 적용하기 전 200°C에서 20분간 튀음 처리한 후, 추출 용매로 사용한 물과 일정 비율로 혼합하여 추출 온도와 시간을 조정하여 추출하였다.

추출조건에 따른 콩잎 추출물의 이소플라본 함량을 측정하였다(Table 1). 추출 온도 50°C에서 제작한 콩잎 추출물은 추출 시간에 따라 이소플라본의 함량이 유의적인 수준에서 차이가 있었으며, 12시간 동안 추출한 시료의 총 이소플라본 함량이 12.71 ± 1.66 mg/l로 나타났으며, 추출 시간이 길어지면서 63% 수준으로 감소하였다. 그러나 70°C에서 제작한 추출물은 추출 시간에 따라서 이소플라본 농도가 유의

**Table 1. Isoflavone contents of soybean leaf extract influenced by extraction conditions\*.**

Temperature (°C)	Time (h)	Isoflavone (mg/l)				
		Daidzin	Genistin	Daidzein	Genistein	Total
50	1	0.97 ± 0.05	7.53 ± 0.39	ND**	ND	8.50 ± 0.40 <sup>ab</sup>
	12	1.33 ± 0.28	9.90 ± 1.40	ND	ND	12.71 ± 1.66 <sup>b</sup>
	24	0.45 ± 0.14	2.94 ± 0.34	0.61 ± 0.07	0.76 ± 0.14	4.76 ± 0.65 <sup>a</sup>
70	1	1.18 ± 0.02	9.98 ± 0.72	ND	ND	11.16 ± 0.70 <sup>b</sup>
	12	2.73 ± 0.20	24.08 ± 1.88	ND	ND	26.81 ± 2.07 <sup>c</sup>
	24	4.00 ± 0.45	32.99 ± 3.20	0.34 ± 0.02	0.59 ± 0.23	37.61 ± 3.38 <sup>d</sup>
90	1	2.77 ± 0.06	27.69 ± 0.73	ND	ND	30.46 ± 0.77 <sup>c</sup>
	12	5.49 ± 1.13	53.72 ± 3.86	ND	0.54 ± 0.07	59.74 ± 4.54 <sup>e</sup>
	24	5.84 ± 0.88	51.50 ± 4.56	0.26 ± 0.01	0.89 ± 0.09	58.48 ± 5.43 <sup>e</sup>

\*Different letters in each column indicate significant difference between averages.

\*\*ND: not detected.

적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 추출 온도 70°C에서 24시간 동안 추출한 콩잎 추출물의 이소플라본 함량이 37.61 ± 3.38 mg/l로서 70°C 조건에서 실험구 중 가장 우수하였다. 추출 온도를 90°C로 설정한 경우 추출 시간에 따라 이소플라본 농도는 증가하였으나 12시간과 24시간 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 따라서 추출물에 함유된 이소플라본 농도를 기준으로 90°C에서 12시간 동안 콩잎을 추출하는 것이 가장 적절한 조건인 것으로 판단되었다. 비배당체 이소플라본인 daidzein과 genistein은 추출 초기에 검출되지 않았으나 24시간에서 낮은 농도로 검출되었다.

류 등[6]은 노란 콩잎을 가수분해한 후 메탄올 추출물을 제작하여 이소플라본 함량을 조사하였으며, 비배당체 형태인 daidzein과 genistein이 각각 16.30 ± 0.14 mg%, 8.76 ± 0.01 mg% 함유된 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 가수분해 과정을 거치지 않고, 물을 용매로 사용하여 콩잎에 함유된 이소플라본을 추출하였으며, 비배당체 형태인 daidzein과 genistein의 추출 효율에 부분적으로 영향을 미친 것으로 판단된다. 메탄올을 용매로 이용하는 방법 등은 추출을 통하여 얻은 원료를 직접적으로 식품가공에 적용하기 어려우므로, 식물의 세포벽을 가수분해하는데 필요한 xylanase 등의 유용 효소들을 적용하는 생물학적 가수분해 공정을 활용할 필요가 있다[22].

국내산 콩을 이용하여 이소플라본 함량을 분석한 김 등[23]의 연구결과에 따르면, 실파달 품종의 콩에서 genistein의 함량이 daidzein과 비교하여 약 2배 높은 함량을 나타냈다. 그러나 본 연구에 사용한 호반 품종의 콩잎 추출물은 이소플라본 중 genistin이 상대적으로 높은 함량을 나타냈으며, 대부분 80% 내외를 차지하는 것으로 나타났다. 주 등[24]의 연구에 의하면, 붉은 콩의 이소플라본 함량 분석에서 genistin과 diadzin이 유사한 함량을 나타냈으며, 전처리 방법에 따

라서 성분의 함량이 유의적으로 변화하는 것으로 보고되었다. 김정공의 종피에서 안토시아닌을 추출한 연구에서 일정 시간 이상 추출 시간이 지속될 경우 추출 효율이 감소하는 양상이 보고되었으며[14], 자색 옥수수 속대 추출물의 경우 24시간 이후 추출물은 가용성 고형물 및 적색도가 감소하면서 품질의 저하가 나타났다[8]. 따라서 추출물 제작을 위한 최적의 조건을 선정하는데 온도와 시간의 설정은 매우 중요할 것으로 판단된다.

추출 조건에 따른 콩잎 추출물의 탄닌의 함량, DPPH 라디칼 소거능, 총 폴리페놀 함량의 변화를 조사하였다(Table 2). 탄닌은 차의 맛과 색에 영향을 미치는 주요 인자로 가공 녹차의 경우 7.2%를 함유하는 것으로 보고되었으며[25], 국내산 재래종의 녹차잎을 이용한 발효차의 경우 13.7%의 함량을 나타내는 것으로 알려져 있다[18]. 콩잎 추출물은 낮은 온도에서 추출할수록 탄닌의 함량이 높았으며, 특히 50°C에서 12시간 추출한 콩잎 추출물에서 0.31%의 함량을 나타냈다. 온도 90°C에서 추출한 경우, 추출 시간이 증가함에 따라 탄닌의 양이 증가하였으나, 24시간 동안 추출하였을 때 0.19 ± 0.01%의 탄닌 함량을 나타내어 시중에 유통 중인 녹차의 2% 수준으로 매우 낮은 함량을 나타냈다[25]. 추출 온도가 증가할수록 탄닌의 양이 증가하는 것으로 보고되었으며[26], Bressani 등[27]의 보고에 따르면 콩 추출물에 포함된 탄닌은 0.32 ± 1.12% 수준으로 알려져 있으며, 콩잎 추출물의 탄닌 함량도 콩 추출물과 유사한 수준으로 판단되었다.

추출조건에 따른 콩잎 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위하여 DPPH를 이용한 라디칼 소거능을 측정하였다(Table 2). 추출 온도 90°C에서 추출한 콩잎은 50°C와 70°C에서 추출한 콩잎과 비교하여 상대적으로 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈으며, 특히 12시간 동안 추출한 경우 67.26 ±

**Table 2. Changes in tannin contents, DPPH radical-scavenging activity, and polyphenol contents of soybean leaf extract by extraction conditions\*.**

Temperature (°C)	Time (h)	Tannin (%)	DPPH radical scavenging activity (%)	Polyphenol (µg/ml CAE**)
50	1	0.13 ± 0.00 <sup>bc</sup>	57.03 ± 3.06 <sup>c</sup>	1,011.54 ± 51.52 <sup>c</sup>
	12	0.31 ± 0.02 <sup>f</sup>	36.83 ± 4.46 <sup>a</sup>	344.12 ± 18.75 <sup>a</sup>
	24	0.27 ± 0.04 <sup>e</sup>	67.13 ± 2.44 <sup>e</sup>	476.72 ± 11.25 <sup>a</sup>
70	1	0.11 ± 0.01 <sup>ab</sup>	58.02 ± 1.17 <sup>cd</sup>	646.45 ± 22.29 <sup>b</sup>
	12	0.12 ± 0.01 <sup>bc</sup>	48.42 ± 0.99 <sup>b</sup>	1,389.01 ± 3.75 <sup>d</sup>
	24	0.15 ± 0.02 <sup>c</sup>	47.03 ± 2.97 <sup>b</sup>	1,304.14 ± 228.78 <sup>d</sup>
90	1	0.08 ± 0.01 <sup>a</sup>	66.00 ± 2.54 <sup>e</sup>	1,239.61 ± 199.61 <sup>d</sup>
	12	0.15 ± 0.01 <sup>c</sup>	67.26 ± 3.67 <sup>e</sup>	1,688.68 ± 97.37 <sup>e</sup>
	24	0.19 ± 0.01 <sup>d</sup>	63.57 ± 4.21 <sup>de</sup>	1,370.44 ± 165.02 <sup>d</sup>

\*Different letters in each column indicate significant difference between averages.

\*\*CAE: chlorogenic acid equivalent.

3.67%로 가장 우수한 항산화 활성을 나타냈다.

콩잎 외에도 작두콩 추출물[28]과 검정콩 추출물[29]의 항산화 활성이 문헌에 보고된 바 있다. 문 등[6]의 보고에 따르면 trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 시험법으로 측정하였을 때 콩잎이 콩보다 더 높은 항산화 활성을 나타냈다. 천연물 유래의 추출물을 제작하는 경우 추출 시간의 지나친 증가는 오히려 제품의 품질을 저하시키는 것으로 보고되었는데[14, 26], 콩잎 추출물의 경우, 이소플라본의 함량과 폴리페놀 함량이 가장 높은 조건(90°C, 12시간)에서 항산화 활성이 가장 우수한 것으로 나타났다.

추출조건에 따른 콩잎 추출물의 폴리페놀 함량을 조사하였다(Table 2). 콩잎을 12시간 동안 추출한 경우 추출 온도가 증가할수록 폴리페놀 함량이 증가하였으며, 90°C에서 추출한 콩잎 추출물이 1,688.68 ± 97.37 µg/ml CAE로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타냈다. 문 등[6]은 노란 콩잎의 총 폴리페놀 함량을 2,324 ± 30 µg/ml CAE로 보고하여, 본 연구에서 사용한 호반 품종의 콩잎보다 높은 폴리페놀 함량을 나타냈다. 추출 온도 90°C에서 12시간 동안 추출한 호반 콩잎 추출물의 우수한 항산화 활성이 폴리페놀의 함량이나 이소플라본의 함량과 밀접한 관련이 있을 것으로 사료된다. 결론적으로, 물을 용매로 사용한 호반 품종 콩잎의 추출조건은 90°C에서 12시간 동안 추출하는 것이 가장 효율적인 것으로 판단되었다.

초고압추출 방법 등 보다 다양한 추출방법의 적용에 의한 이소플라본 등 고부가 기능성 물질 추출기술이 개발된다면 농산 부산물로 매년 막대한 양이 폐기되는 콩잎을 산업적으로 활용하여 농산업의 새로운 부가가치를 창출할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구는 콩 생산 산업의 부산물로 생산되는 콩잎을 고부가 식품원료로 활용하기 위해 이소플라본의 추출 효율 및 이화학적 특성 변화를 조사하였다. 열수 추출 중 온도와 시간에 따른 이소플라본 함량, DPPH 라디칼 소거능, tannin 함량, 총 폴리페놀 함량을 조사하였다. 이소플라본 함량은 90°C에서 12시간 동안 추출하였을 때 59.74 ± 4.54 mg/l로 가장 높게 나타났으며, 12시간과 24시간 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 탄닌 함량은 낮은 온도에서 추출할수록 높은 함량을 나타내었는데, 50°C, 12시간에서 0.31 ± 0.02%로 가장 높게 나타났다. DPPH 라디칼 소거능은 90°C에서 12시간 동안 추출하였을 때, 67.26 ± 3.67%로 가장 높게 나타났으며, 총 폴리페놀 함량도 1,688.68 ± 97.37 µg/ml CAE로 가장 우수하였다. 따라서, 이소플라본과 폴리페놀의 함량, 항산화 활성 등을 고려하여 콩잎의 열수 추출조건은 90°C에서 12시간 동안 추출하는 것이 가장 효율적인 것으로 판단되었다.

## Acknowledgments

This research was financially supported by the Ministry of SMEs and Startups (MSS), Korea, under the "Regional Specialized Industry Development Program(R&D, R0005969)" supervised by the Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT).

## Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

## References

- Wada K, Tsuji M, Tamura T, Konishi K, Kawachi T, Hori A, *et al.* 2015. Soy isoflavone intake and stomach cancer risk in Japan: from the takayama study. *Int. J. Cancer*. **137**: 885-892.
- Nam H. 1999. Development of bioactive peptides and its market trend. *Food Indust. Nutr.* **4**: 17-19.
- Choi Y, Yoon S, Lee MJ, Lee SK, Lee BS. 2001. Dose response relationship of isoflavone supplementation on plasma lipid profiles and total antioxidant status in permenopausal and postmenopausal women. *Korean Nutri. Soci.* **34**: 322-329.
- Lee SH, Choi DJ, Kim JG. 2003. Effect of salt concentration on soybean leaf kimchi fermentation. *Korean J. Food Preserv.* **10**: 512-516.
- Kim MK, Lee SH, Hwang K. 2011. Physicochemical properties of soybean leaf by cultivar and development of soybean curd prepared with soybean leaf powder. *Korean J. Food Cookery Sci.* **27**: 557-565.
- Ryu SH, Lee HS, Lee YS, Moon GS. 2005. Contents of isoflavones and antioxidative related compounds in soybean leaf, soybean leaf *Jangachi*, and soybean leaf *Kimchi*. *Korean J. Food Cookery Sci.* **21**: 433-439.
- Ho HM, Chen R, Huang Y, Chen ZY. 2002. Vascular effects of a soy leaves (*Glycine max*) extract and kaempferol glycosides in isolated rat carotid arteries. *Planta. Med.* **68**: 487-491.
- Li H, Ji HS, Kang JH, Shin DH, Park HY, Choi MS, *et al.* 2015. Soy leaf extract containing kaempferol glycosides and pheophorbides improves glucose homeostasis by enhancing pancreatic beta-cell function and suppressing hepatic lipid accumulation in *db/db* Mice. *J. Agric. Food Chem.* **63**: 7198-7210.
- Han JM, Li H, Cho MH, Baek SH, Lee CH, Park HY, Jeong TS. 2017. Soy-leaf extract exerts atheroprotective effects via modulation of kruppel-like factor 2 and adhesion molecules. *Int. J. Mol. Sci.* **18**: 21-26.
- Kim JW, Kwon YR, Youn KS. 2012. Quality characteristics and antioxidant properties in spray-dried and freeze-dried powder prepared with powdered seaweed extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **44**: 716-721.
- Kang JR, Lee SJ, Kwon HJ, Kwon MH, Sung NJ. 2012. Establishment of extraction conditions for the optimization of the black garlic antioxidant activity using the response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.* **19**: 577-585.
- Lee CY, Kim KM, Son HS. 2013. Optimal extraction conditions to produce rosemary extracts with higher phenolic content and antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 501-507.
- Kwon YR, Youn KS. 2017. Antioxidant and physiological activities of *Hijikia fusiforme* by extraction methods. *Korean Soc. Food Preserv.* **24**: 631-637.
- Chung JH, Lee HJ, Lee SY, Kim KS, Rim YS, Chin SC, *et al.* 2006. Establishment of conditions for hot water extraction of *Camellia japonica* leaves. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**: 823-828.
- Kim DC, Kim DW, Lee SD, In MJ. 2006. Preparation of barley leaf powder tea and its quality characteristics. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 734-737.
- Kwon GJ, Choi DS, Wang MH. 2007. Biological activities of hot water extracts from *Euonymus alatus* Leaf. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**: 569-574.
- Alam A, Naik KK, Upadhaya NK, Kumar S, Char KL. 2017. Simple, efficient and economical methods for isolation and estimation of novel isoflavone using RP-HPLC. *MethodsX* **4**: 128-133.
- Han SK, Song YS, Lee JS, Bang JK, Suh BS, Cho JY, *et al.* 2010. Changes of the chemical constituents and antioxidant activity during microbial-fermented tea (*Camellia sinensis* L.) processing. *Korean J. Food Sci. Technol.* **42**: 21-26.
- Folin O, Denis W. 1912. On phophotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**: 239-243.
- Woo KS, Jeong JY, Hwang IG, Lee YJ, Lee YR, Park HJ, *et al.* 2009. Antioxidant activity of ethanol extraction on citron seed by response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**: 384-390.
- Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **11**: 1-42.
- Heo SY, Kwak JY, Oh HW, Park DS, Bae KS, Shin DH, *et al.* 2006. Characterization of an extracellular xylanase in *Paenibacillus* sp. HY-8 isolated from an herbivorous longicorn beetle. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 1753-1759.
- Choi JS, Kwon TW, Kim JS. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Food Sci. Biotechnol.* **5**: 167-169.
- Shin JH, Joo NM. 2016. Component changes in antioxidant activity and isoflavones ( $\beta$ -glucoside & aglycone) contents of small black bean according to different cooking methods. *Korean J. Food Cook Sci.* **32**: 197-203.
- Lee MH, Park YH, Oh HS, Kwak TS. 2002. Isoflavone content in soybean and its processed products. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 365-369.
- Kim YM, Kim YW. 1998. Changes of enzyme activity, trypsin inhibitor, tannin and phytic acid during heat treatment of soybean. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**: 1012-1017.
- Bressani R, Elias LG, Wolzak A, Hagerman AE, Butler LG. 1983. Tannin in common beans : methods of analysis and effects on protein quality. *J. Food Sci.* **48**: 1000-1001.
- Kim JP, Yang YS, Kim JH, Lee HH, Kim ES, Moon YW, *et al.* 2012. Chemical properties and DPPH radical scavenging ability of sword bean (*Canavalia gladiata*) extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* **44**: 441-446.
- Lee LS, Choi EJ, Kim CH, Kim YB, Kum JS, Park JD. 2014. Quality characteristics and antioxidant properties of black and yellow soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* **46**: 757-761.