

고해상도 질량 분석을 이용한 대두(*Glycine max* L.) 우수자원 종자의 이소플라본 특성 평가

이소정 · 김현웅* · 이수지 · 라혜민 · 권령하 · 김주형** ·
윤혜명*** · 최유미*** · 위치도**** · 유선미***** · †이상훈*****

국립농업과학원 농식품자원부 연구원, *국립농업과학원 농식품자원부 박사전문연구원,
국립농업과학원 농식품자원부 석사전문연구원, *국립농업과학원 농업유전자원센터 농업연구사,
****국립농업과학원 농식품자원부 농업연구사, *****국립농업과학원 농식품자원부 농업연구관

Characterization of Isoflavones from Seed of Selected Soybean (*Glycine max* L.) Resources Using High-Resolution Mass Spectrometry

So-Jeong Lee, Heon-Woong Kim*, Suji Lee, Hyemin Na, Ryeong Ha Kwon, Ju Hyung Kim**,
Hyemyeong Yoon***, Yu-Mi Choi****, Chi-Do Wee*****, Seon Mi Yoo***** and †Sang Hoon Lee*****

Assistant Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

*Post-Doctor, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

**Post-Master, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

***Researcher, National Agrobiodiversity Center, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Jeonju 54874, Korea

****Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

*****Senior Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

Abstract

In this study, chemical information on a total of 20 individual compounds was constructed to identify isoflavones from the previous reports related with used parts(seeds, leaves, stems, pods) and products of soybean(*Glycine max* L.). Through constructed library and UPLC-DAD-QToF/MS analysis, a total of 19 individual isoflavones including aglycones, glucosides, acetylglucosides and malonylglucosides as major compounds was identified and quantified from 14 selected soybean seeds. Among them, genistein 7-O-(2"-O-apiosyl)glucoside and genistein 7-O-(6"-O-apiosyl)glucoside(ambocin) were identified tentatively as novel compounds in soybean seeds. Besides, among malonylglucosides, glycitein 4'-O-(6"-O-malonyl)glucoside was estimated for the first time. Total isoflavone contents were distributed from 240.21 to 445.21(mg/100 g, dry matter) and 7-O-6"-O-malonylglucosides were composed of 77.8% on total isoflavone as well as genistein derivatives were confirmed as major class. It was considered importantly that the development of isoflavone-rich varieties was necessary to strengthen their effects such as anti-inflammation, anti-cancer and menopause mitigation. The qualitative and quantitative data presented precisely in this study could be help to select and breed isoflavone-rich varieties. Furthermore, their basic isoflavone profile is expected to be applied to estimate the change of isoflavone conjugates on bioavailability after soy food supplements.

Key words: soybean seed, core collection, isoflavone, UPLC-DAD-QToF/MS

† Corresponding author: Sang Hoon Lee, Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-3562, Fax: +82-63-238-3841, E-mail: spprigan@korea.kr

서 론

콩과(Fabaceae)식물 중 대두(*Glycine max* L.)에는 특이적으로 필수아미노산 라이신(lysine)이 풍부할 뿐만 아니라 단백질, 필수지방산, 탄수화물, 미네랄, 이소플라본(isoflavone) 등을 많이 함유하고 있어 영양적인 관점에서 중요한 식품이다(Suh 등 1996). 20세기에 들어서는 두유, 두부, 콩나물무침, 간장, 기름 등 콩을 기초로 한 다양한 식품들이 전 세계적으로 광범위하게 소비되고 있다(Yoo KM 2011; Lee 등 2013; John 등 2016). 대두는 식물성 에스트로젠인 이소플라본을 많이 함유하고 있으며, 사람에게 생물학적인 영향을 주기 위한 식이 에스트로젠 한계 섭취량은 30~50 mg/day로, 이는 평균적인 서양식 식단에 적당량의 대두를 포함시킬 경우 가능한 양이다(Setchell KD 1998). 기존 연구에서 이소플라본의 항산화력을 ABTS 실험으로 알아본 결과, 제니스테인(genistein) > 제니스틴(genistin) = 다이드제인(daidzein) 등의 순으로 나타났으며, 그 중 제니스테인은 epidermal growth factor(EGF) 등과 같은 성장인자들로 유도된 종양의 성장과 증식을 억제하는 것으로 보고되었다(Ruiz-Larrea 등 1997; Ravindranath 등 2004).

대두는 품종, 지역(위도, 온도), 수확시기, 토양비옥도(K⁺ 농도), 빛 처리, 저장 시기 등의 다양한 조건에 따라서 이소플라본 함량의 변화가 나타난다(Carrão-Panizzi 등 1999; Vyn 등 2002; Lee 등 2003; Kirakosyan 등 2006; Lee 등 2008a; Ha 등 2009; Kim 등 2012a; Kim 등 2012b; Kim 등 2014). 대두의 주요한 이소플라본 성분군은 제니스테인, 다이드제인, 글라이시테인(glycitein) 아글리콘(aglycone) 기반의 화합물들이 해당되며, 제니스테인 유도체에는 genistein 7-O-glucoside (genistin) 및 genistein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonylgenistin), 다이드제인 유도체에는 daidzein 7-O-glucoside (daidzin) 및 daidzein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonyldaidzin), 글라이시테인 유도체에는 glycitein 7-O-glucoside (glycitin) 및 glycitein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonylglycitin)이 각각 주요 화합물로서 확인되었다(Caldwell 등 2005; Charron 등 2005; Kim & Chung 2007).

국가별 및 품종별 함량 비교 연구에서 총 페놀화합물(phenolic compounds) 함량의 경우 미국 품종이 가장 높게 나타나는 반면, 총 이소플라본 함량은 한국 품종이 가장 높았으며(Kim 등 2012b), 실제로 한국산 대조품종 대원, 풍산나물, 실파달 2호는 이들 총 함량에 있어 각각 98.4, 81.7, 161.0 mg/100 g(건조중량)의 순으로 나타났다(Lee 등 2002). 다수 품종을 대상으로 이소플라본 12종 함량은 6개의 지역별로 다양하게 나타났으며(Lee 등 2008a), 검정콩에 열처리를 가할수

록 이소플라본 12종을 대상으로 아글리콘, malonylglucoside 및 acetylglucoside 구조 타입의 함량이 줄어드는 반면, glucoside 구조 타입의 함량이 점차 늘어나는 경향을 보였다(Huang & Chou 2008).

현재까지 질량분석을 이용한 개별 이소플라본 동정이 주를 이루고 있으나 아글리콘, glucoside, malonylglucoside, acetylglucoside를 포함한 핵심 성분 12종에 한해서만 집중적으로 연구가 되어왔다. 하지만 최근에는 기존 아글리콘 7-OH 위치의 glucoside 및 6"-O-malonylglucoside 구조 이외에 7-OH 위치의 4"-O-malonylglucoside 구조가 보고된 바 있으며, 나아가 아글리콘의 4"-OH 또는 5-OH 위치에 glucoside 및 6"-O-malonylglucoside가 결합한 구조가 추가적으로 제시되어 보다 상세한 구조 동정이 이루어졌으나 관련 연구는 아직 부족한 실정이다(Peng 등 2017; Zhang 등 2017; Jang 등 2020).

따라서 본 연구에서는 이소플라본 구조동정을 위한 화합물 정보 라이브러리를 직접 구축하였으며, 기선발된 대두 우수자원 14품종으로부터 고해상도 질량분석(QToF-MS) 기반의 정밀기기 분석을 통해 개별 이소플라본 조성 및 함량을 평가하였다. 또한 신규 이소플라본 배당체를 동정하여 정보를 제공함으로써, 추후 연구자들이 질량분석을 통해 이들 화합물을 신속하게 동정하고 정확하게 평가하는 데 도움이 되고자 하였으며, 나아가 기능성이 강화된 우수품종을 개발하기 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

국립농업과학원 농업유전자원센터에서 보유 중인 대두 23,199종 중 농업형질 및 성분함량을 고려하여 1,000종을 1차 선정하였고, 이들 중 핵심 자원 일부(9종), 현장 평가 우수자원(4종), 재래종 중 유망 품종(20종), 나물용 콩(4종) 그리고 성분 고함유 품종(17종) 등 총 54종을 선발하였다. 선발한 핵심 자원 54종 및 대조품종 대원, 풍산나물, 실파달 2호, 청자 2호를 2019년 6월에 파종하여 9월에 수확한 후, 플라보노이드, 에스트로젠 유사활성, 농업형질 특성 등을 평가하여 우수자원 10종을 선발하였다. 종자의 IT 번호, 종피색 및 원산지 등의 정보는 Table 1에 제시하였으며, 이들은 동결건조 후 분말화 과정을 거쳐 분석시료로 사용하였다. 이소플라본 정량에 사용된 내부표준물질 6-methoxyflavone은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였고, methanol, acetonitrile 및 water(Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA)은 MS grade를 사용하였으며, formic acid은 Junsei Chemical(Tokyo, Japan)에서 구입하였다.

Table 1. List of soybean bean samples

Soybean	Introduction (IT) number	Variety name	Seed coat color	Origin	Cultivar type
Sinpaldal #2	-	Sinpaldal 2	Yellow	Korea	Recommended variety
Daewon	-	Daewon Kong	Yellow	Korea	Recommended variety
Cheongja #2	-	Cheongja 2	Black	Korea	Recommended variety
Pungsannamul	-	Pungsannamul Kong	Yellow-white	Korea	Recommended variety
1	021665	PI 90763	Black	China	Landraces
3	104690	Kongnamul Kong	Green	Korea	Landraces
6	153844	KLS 87248	Yellow-white	Korea	Landraces
7	154351	KAS 579-1	Black on green	Korea	Landraces
9	155963	Nongnim 51	Yellow	Japan	Breeding variety
13	177573	Geomjeong Kong-5	Black	Korea	Landraces
27	229421	Hoseo	Yellow	Korea	Breeding variety
33	252768	Incheongangwha-2008-326	Black	Korea	Landraces
41	274515	Gyeongsang Univ.-2007-24502	Black	Korea	Landraces
42	274571	Gyeongsang Univ.-2007-14613	Yellow	Korea	Landraces

2. 이소플라본 추출 및 SPE(Solid phase extraction) 과정

분말화된 시료 1 g을 칭량하여 이소플라본 추출 용매 (methanol:water:formic acid=50:45:5, v/v/v) 10 mL와 혼합시켜 5분 동안 교반하였다. 추출액은 3,600 rpm에서 15분간 원심 분리(Gyrozen Co., Daejeon, Korea)한 후 분리한 상층액을 0.2 µm syringe filter(Thermo International, Maidstone, UK)를 이용하여 여과하였다. SPE 과정을 위해 methanol 2 mL 및 water 5 mL를 순서대로 흘려 보내주어 활성화하였으며, 상기 희석된 여과액 5 mL 및 내부표준물질(6-methoxyflavone, 50 ppm) 5 mL를 순차적으로 SPE 카트리지에 통과시켰다. 그 후 water 5 mL를 흘려 세척하였고, 칼럼에 흡착된 이소플라본을 methanol 5 mL로 완전히 용출하였다. 용출된 이소플라본 추출물을 질소가스를 사용해 농축하고, 0.5 mL 추출 용매로 재용해한 후, 0.2 µm syringe filter로 여과하여 UPLC-DAD-QToF/MS로 분석하였다.

3. 대두 함유 이소플라본 구조 동정을 위한 라이브러리 제작

구조동정용 화합물 상세정보(LC-MS Library)는 지금까지 질량 분석을 기초로 한 대두 관련 선행 연구를 바탕으로 하여, 개별 이소플라본 성분의 분자량, 양-음이온 질량 패턴, 구조, 이용 부위 등을 종합적으로 정리하였다(Table 2).

4. UPLC-DAD-QToF/MS 분석

대두 종자에서 개별 이소플라본을 분리하기 위해 CORTECS UPLC T3(2.1×150 mm I.D., 1.6 µm; Waters, Wexford, Ireland)

분석 칼럼 및 CORTECS UPLC T3 VanGuard™(2.1×50 mm I.D., 1.6 µm; Waters) 보호 칼럼을 이용하였다. 또한 고성능액체크로마토그래피(ACQUITY UPLC™ system, Waters Co.) 및 QToF-MS 분석기기(Xevo G2-S QToF, Waters MS Technologies, Manchester, UK)를 연결시켜 사용하였으며, 검출 파장은 210~400 nm(대표파장, 254nm), 시료의 주입량은 1 µL, 유속은 0.3 mL/min으로 설정하였다. 개별 이소플라본을 분리하기 위해 이동상으로 0.5% formic acid가 포함된 water를 용매 A로, 용매 B는 0.5% formic acid이 포함된 acetonitrile로 하였다. 이동상 구배조건은 B를 5%로 시작점으로, 20분까지는 25%, 25분까지는 50%, 30분까지는 90%로 증가시킨 뒤 2분 동안 32분까지 유지하고, 35분까지는 5%로 다시 감소시켰으며 40분까지 그 상태로 유지하여 안정화하였다. 이소플라본 구조 동정을 위해 QToF-MS(Xevo G2-S QToF, Waters MS Technologies, Manchester, UK)로 positive ion mode에서 질량 분석을 진행하였다. 그에 대한 최적화 조건으로 capillary, extraction cone 및 sampling cone의 전압을 각각 3,500 V, 4.0 V 및 40 V으로 설정하였고, ion source 온도는 120°C, desolvation 온도는 500°C로 하였다. 그밖에 desolvation 및 cone 가스는 각각 1,050 및 50 L/hr로 설정하였으며, 질량의 스캔 범위는 m/z 200~1,200으로 하였다. 이소플라본 개별성분을 분석 후, 앞서 제작된 대두 라이브러리로부터 질량단편이온 패턴 정보를 참고하여 동정하였다. 개별 이소플라본 정량은 전처리 시에 투입된 내부표준물질(6-methoxyflavone) 대비 성분별 면적을 1:1로 비교하여 상대적인 정량 값(mg/100 g dry weight)으로 산출하는 방식으로 진행하였다.

Table 2. LC-MS library for isoflavones identification from *Glycine max* (L.) based on literature sources

No.	Compound names	MW ¹⁾	Fragment ions patterns		Used parts ⁴⁾	Literature cited ⁵⁾
			Positive ²⁾	Negative ³⁾		
1	Daidzein	254	293, 277, 255, 237	253	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2-10, 13-18, 20-27, 29, 31
2	Genistein	270	309, 293, 271, 253	269	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2-10, 13-18, 20-27, 29, 31
3	Glycitein	284	323, 307, 285, 270	283, 268	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2, 3, 5-10, 13-17, 20-23, 25-27, 31
4	Daidzein 7-O-glucoside	416	455, 439, 417, 255, 237	453, 415, 253	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2-4, 6-9, 13, 14, 17, 20-22, 24-27, 29-31
5	Daidzein 4'-O-glucoside	416	455, 439, 417, 255, 237	415, 253	seed ^a	21
6	Genistein 7-O-glucoside (genistin)	432	471, 455, 433, 271, 253	431, 269	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2-4, 6-9, 13, 14, 17, 20-22, 24-27, 29, 30, 31
7	Genistein 5-O-glucoside	432	471, 455, 433, 271, 253	431, 269	seed ^a	8, 21
8	Glycitein 7-O-glucoside (glycitin)	446	485, 469, 447, 285, 270	481, 445, 283	seed ^{a,b} , pod ^a , leaves ^a , stems ^a , tofu ^a , soymilk ^a , sprout ^a	2-9, 13, 14, 17, 20, 21, 22, 24-27, 31
9	Daidzein 7-O-(6"-O-acetyl)glucoside (6"-O-acetyl daidzin)	458	497, 481, 459, 255, 237	457, 253	seed ^{a,b} , tofu ^a , soymilk ^a	4, 7, 8, 19, 21, 24, 25, 31
10	Genistein 7-O-(6"-O-acetyl)glucoside (6"-O-acetyl genistin)	474	513, 497, 475, 271, 253	509, 473, 269	seed ^{a,b} , tofu ^a	4, 7, 8, 24, 25, 31
11	Glycitein 7-O-(6"-O-acetyl)glucoside (6"-O-acetyl glycitin)	488	527, 511, 489, 285, 270	487, 283	seed ^{a,b} , soymilk ^a	4, 7, 8, 12, 25, 31
12	Daidzein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonyl daidzin)	502	541, 525, 503, 417, 255, 237	501, 253	seed ^{a,b} , tofu ^a , soymilk ^a	1, 4, 7, 8, 11, 25, 31
13	Daidzein 7-O-(4"-O-malonyl)glucoside (4"-O-malonyl daidzin)	502	541, 525, 503, 255, 237	501, 253	seed ^a , soymilk ^a	8, 29, 31
14	Daidzein 4'-O-(6"-O-malonyl)glucoside	502	525, 541, 503, 255, 237	501, 253	seed ^a , soymilk ^a	8, 31
15	Genistein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonyl genistin)	518	557, 541, 519, 433, 271, 253	517, 269	seed ^{a,b} , tofu ^a	1, 4, 7, 8, 11, 25, 28, 29
16	Genistein 7-O-(4"-O-malonyl)glucoside (4"-O-malonyl genistin)	518	557, 541, 519, 271, 253	517, 269	seed ^a , soymilk ^a	8, 28, 29, 31
17	Genistein 4'-O-(6"-O-malonyl)glucoside	518	557, 541, 519, 271, 253		seed ^a	8
18	Genistein 5-O-(6"-O-malonyl)glucoside	518	557, 541, 519, 271, 253		seed ^a	8
19	Glycitein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside (6"-O-malonyl glycitin)	532	571, 555, 533, 447, 285, 270	531, 283	seed ^{a,b} , tofu ^a , soymilk ^a	1, 4, 7, 8, 11, 25, 31
20	Glycitein 7-O-(4"-O-malonyl)glucoside	532	571, 555, 533, 285, 270	531, 283	seed ^a , soymilk ^a	8, 31

¹⁾ MW: molecular weight.

²⁾ Bold font indicates reported product ions and the remaining proposed product ions in positive ESI-ionization mode (m/z , $[M+H]^+$; $[M+Na]^+$ and $[M+K]^+$ adducts presented).

³⁾ Normal font indicates reported product ions in negative ESI-ionization mode (m/z , $[M-H]^-$).

⁴⁾ ^a*Glycine max.* (soybean, cultivar), ^b*Glycine soja.* (soybean, wild).

⁵⁾ Previous reports were referred to construct on LC-MS library. (1) Aguiar et al. 2012, (2) Cameiro et al. 2020, (3) Dueñas et al. 2012, (4) Gu & Gu 2001, (5) Gu et al. 2017, (6) Gasparetto et al. 2012, (7) Hong et al. 2011, (8) Jang et al. 2020, (9) Jia et al. 2019, (10) Kim et al. 2020, (11) Kudou et al. 1991a, (12) Kudou et al. 1991b, (13) Landete et al. 2015, (14) Lee et al. 2015a, (15) Lee et al. 2008b, (16) Lee et al. 2015b, (17) Lee et al. 2018, (18) Miyazawa et al. 1999, (19) Ohta et al. 1979, (20) Park & Jung 2017, (21) Peng et al. 2017, (22) Ren et al. 2017, (23) Seo et al. 2017, (24) Stürtz et al. 2006, (25) Wang & Sporns 2000, (26) Wu et al. 2017, (27) Wu et al. 2004, (28) Yerramsetty et al. 2011, (29) Yerramsetty V 2013, (30) Yuk et al. 2016, (31) Zhang et al. 2017.

5. 통계 처리

실험은 3회 반복하여 실시하였으며, 시료 간의 평균과 표준편차를 산출하고 처리 간의 유의적인 차이를 검증하기 위하여 One-way ANOVA로 분석하였다. Duncan's multiple range test로 유의수준 5%에서 시료 간의 차이를 분석하였고 ($p=0.05$), 통계분석은 SPSS통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 20.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 대두 우수자원 종자 내 개별 이소플라본 성분 분리 및 동정

이전에 보고된 대두의 종자를 포함한 잎, 꼬투리, 줄기, 두부, 두유, 콩나물과 관련된 31편의 연구 결과로부터 20종의

개별 이소플라본 화합물 정보를 해석하여 상세히 구축하였다(Table 2).

라이브리리 중 질량 이온패턴은 양이온과 음이온 모드로 각각 문헌 실측값을 기재하였으며, 특히 양이온 패턴은 예측값도 포함하고 있어 정확한 구조동정이 가능하게 하였다. 대두 종자로부터 분리된 이소플라본의 분석자료를 가지고 앞서 구축된 라이브러리에 제시된 머무름시간, UV spectrum, 질량 이온 패턴 등의 정보와 비교하여 동정한 결과, 대두 우수자원 14종으로부터 총 19종 isoflavone 유도체(daidzein계열 5종, genistein계열 10종, glycitein계열 4종) 성분을 UV 254 nm에서 확인하였다(Table 3, Fig. 1). Table 2에서 알 수 있듯이 daidzein, genistein, glycitein 아글리콘 구조 이외에 아글리콘의 7-OH나 5-OH 혹은 4'-OH 위치에 glucose 결합 및 이들 구조에 추가적으로 malonic acid 혹은 acetic acid가 결합하는 등의 다양한 배당체 형태를 나타낸다. Quadrupole ToF-MS 기반

Table 3. Mass fragmentation of isolated 19 isoflavones in soybean seed (*Glycine max* (L.))

Aglycones	Library No. ¹⁾	Peak No.	RT ²⁾	Individual flavonoids	MW	Fragment ions (<i>m/z</i>)
Daidzein (<i>m/z</i> 255)	1	16	19.31	Daidzein	254	277, 255
	4	2	10.45	Daidzein 7- <i>O</i> -glucoside (daidzin)	416	455, 439, 417, 255
	14	7	13.90	Daidzein 4'- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside	502	541, 525, 503, 255
	13	9	14.39	Daidzein 7- <i>O</i> -(4"- <i>O</i> -malonyl)glucoside (4"- <i>O</i> -malonyлдаidzin)	502	541, 525, 503, 255
	12	11	15.31	Daidzein 7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside (6"- <i>O</i> -malonyлдаidzin)	502	541, 525, 503, 255
Genistein (<i>m/z</i> 271)	2	19	23.19	Genistein	270	293, 271
	7	1	9.91	Genistein 5- <i>O</i> -glucoside	432	471, 455, 433, 271
	6	6	14.32	Genistein 7- <i>O</i> -glucoside (genistin)	432	471, 455, 433, 271
	10	18	21.08	Genistein 7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -acetyl)glucoside (6"- <i>O</i> -acetylgenistin)	474	513, 497, 475, 271
	18	8	14.63	Genistein 5- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside	518	557, 541, 519, 271
	17	13	17.28	Genistein 4'- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside	518	557, 541, 519, 271
	16	14	17.81	Genistein 7- <i>O</i> -(4"- <i>O</i> -malonyl)glucoside (4"- <i>O</i> -malonylgenistin)	518	557, 541, 519, 271
	15	15	18.33	Genistein 7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside (6"- <i>O</i> -malonylgenistin)	518	557, 541, 519, 271
-	4	12.85	Genistein 7- <i>O</i> -(2"- <i>O</i> -apiosyl)glucoside	564	271, 433, 565, 587, 603	
-	5	13.52	Genistein 7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -apiosyl)glucoside (ambocin)	564	271, 433, 565, 587, 603	
Glycitein (<i>m/z</i> 285)	3	17	53.83	Glycitein	284	323, 307, 285, 270
	8	3	11.30	Glycitein 7- <i>O</i> -glucoside (glycitin)	446	485, 469, 447, 285, 270
	-	10	14.63	Glycitein 4'- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside	532	571, 555, 533, 285, 270
	19	12	15.76	Glycitein 7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -malonyl)glucoside (6"- <i>O</i> -malonylgyicitin)	532	571, 555, 533, 285, 270

¹⁾ Library number is presented according to compound names in Table 2.

²⁾ RT: Retention time; Retention time indicates representatively RT of soybean 1 (IT 021665).

³⁾ All samples analyzed in positive ESI-ionization mode (*m/z*, [M+H]⁺) using UPLC-DAD-QToF/MS; [M+Na]⁺ and [M+K]⁺ adducts presented.

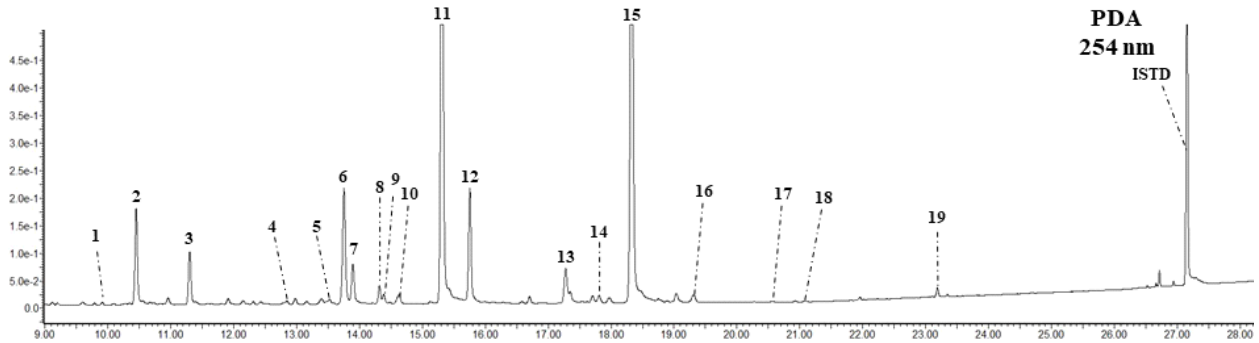


Fig. 1. UPLC-DAD chromatograms of isoflavones in soybean seed (1, IT 021665). Compound names are presented according to peak number in Table 4. ISTD(internal standard): 6-methoxyflavone 50 ppm.

의 이소플라본 양이온 패턴은 기본적으로 모분자량의 $H^+(m/z 1)$ 을 나타내고, 추가적으로 $Na^+(m/z 23)$ 와 $K^+(m/z 39)$ 양이온이 확인되어 모분자의 확인이 용이할 뿐만 아니라 음이온 모드 ($H^-, m/z 1$)보다 질량 스캔 해상도가 높아 성분이 겹치거나 미량일 경우에 도움을 준다(Kim 등 2019). 실제 대두에서 분리된 이소플라본 배당체는 전체구조로부터 glucose (162 Da), glucose+malonic acid(248 Da), glucose+acetic acid (204 Da) 및 glucose+apiose(294 Da)이 잘려 나가는 패턴을 나타내었다. 이들 중 genistein 7-O-glucoside(genistin, peak 6)의 기본구조에 apiose(132 Da)가 연이어 결합된 genistein 7-O-(2''-O-aposyl) glucoside(peak 4) 및 genistein 7-O-(6''-O-aposyl) glucoside(ambocin, peak 5)는 대두 종자에서 처음으로 확인된 화합물로서 $603[M+K]^+$, $587[M+Na]^+$, $565[M+H]^+$, $433[M+H-apiose]^+$, $271[M+H-apiose-glucose]^+$ 의 패턴을 나타냈으며, 기존 콩과식물에서 보고된 ambocin을 바탕으로 추정되었다(Clarke 등 2004)(Fig. 2).

대두 종자로부터 핵심성분 genistein, daidzein, glycitein, genistein 7-O-glucoside, daidzein 7-O-glucoside, glycitein 7-O-

glucoside를 분리하였을 뿐만 아니라(Gu & Gu 2001; Hong 등 2011; Dueñas 등 2012; Gasparetto 등 2012; Carneiro 등 2020; Jang 등 2020), 본 연구에서는 기존 7-OH 위치가 아닌 5-OH 또는 4'-OH 위치에 glucose 및 malonic acid가 결합한 genistein 5-O-glucoside(peak 1), daidzein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside(peak 7) 및 genistein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside(peak 13) 등 5종의 배당체를 추가 동정하였다(Peng 등 2017; Zhang 등 2017; Jang 등 2020).

Malonylglucoside의 경우 daidzein 배당체($503[M+H]^+$, peak 7, 9, 11) 3종은 $541[M+K]^+$, $525[M+Na]^+$, $255[M+H-Mal-Glu]^+$ 의 패턴을 나타내며, 이들의 glucose 및 malonic acid 결합 위치에 따라 용출이 다르게 나타났음이 이미 보고된 바 있다(Zhang 등 2017). 이를 바탕으로 peak 7, 9 및 11은 각각 daidzein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside, daidzein 7-O-(4''-O-malonyl)glucoside 및 daidzein 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside로 확인 되었으며, 마찬가지로 genistein 배당체($519[M+H]^+$, peak 13, 14, 15) 3종 역시 $557[M+K]^+$, $541[M+Na]^+$, $271[M+H-Mal-Glu]^+$

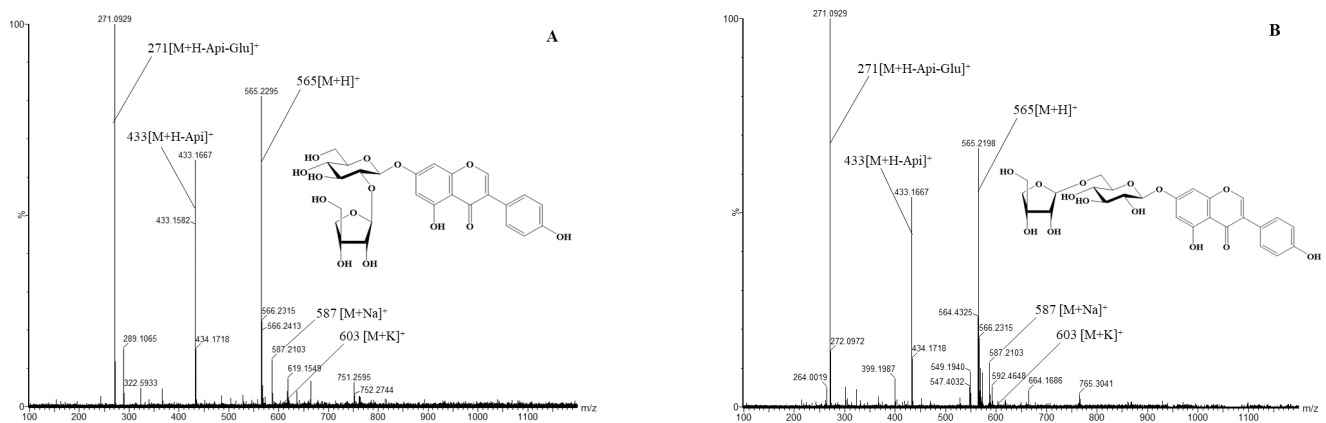


Fig. 2. Positive mass fragmentations (m/z , $[M+H]^+$) of new genistein apiosylglucosides from soybean seed. (A) Genistein 7-O-(2''-O-aposyl)glucoside (m/z 565), (B) Genistein 7-O-(6''-O-aposyl)glucoside (m/z 565).

의 패턴을 나타내어 각각 genistein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside, genistein 7-O-(4''-O-malonyl)glucoside 및 genistein 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside인 것으로 확인되었다(Jang 등 2020). 또한 533[M+H]⁺의 모분자를 나타내는 glycitein 배당체 2종(peak 10, 12) 중 571[M+K]⁺, 555[M+Na]⁺, 285[M+H-Mal-Glu]⁺, 270 [M+H-Mal-Glu-CH₃]⁺의 패턴을 나타내는 glycitein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside(peak 10)는 앞서 제시된 패턴을 고려하여 대두 종자로부터 최초로 추정·확인되었다(Table 2, Table 3).

2. 대두 우수자원 간 이소플라본 조성 및 함량 비교

대두 우수자원 14종에서 분리된 개별 이소플라본 19종의 함량(mg/100 g, 건조중)을 Table 4에 제시하였다. 효과적인 정량분석을 위해 시료 내 성분 peak와 겹치지 않는 표준물질 6-methoxyflavone을 첨가하여 relative response factor(RRF)를 고려하지 않는 조건에서 함량을 평가하였으며, SPE(solid phase extraction) 과정을 통해 간섭요인으로 작용할 수 있는 당이나 유기산 등 불순물을 추출 전처리 단계에서 제거하였다.

본 연구에서 제시된 우수자원의 총 이소플라본 함량은 240.21~445.21의 분포를 나타내었고, 검정콩 중 중국 재래종 PI 90763(IT 021665)은 445.21로 가장 높았으며, 국내 재래종 검정콩-5(IT 177573)는 274.91의 가장 낮은 함량으로 유의적인 차이를 보였다. 반면 검정콩 내 대조품종 청자 2호 및 재래종 인천강화-2008-326(IT 252768)은 각각 325.88 및 328.49로 유의적인 수준에서 유사하게 나타났다. 황색콩 중 대조품종 신평달 2호(379.53)와 국내 재래종 경상대-2007-14613(IT 274571)이 유사하게 높은 함량을 보였으며, 대원(331.44)과 일본 육성종 농림 51(IT 155963) 간 역시 유사한 수준으로 나타났다. 이어 풍산나물 콩(259.94)과 재래종 콩나물 콩(IT 104690, 240.21, 녹색)에는 약간의 차이가 있었으며, 국내 육성종 호서(IT 229421)의 함량은 239.55로 나타났다. 이는 총 이소플라본 함량(mg/100 g, 건조중)에 있어 유럽, 미국 등 콩의 기후 및 토양 조건에 따른 변이(17.8~555.5, 124.8~265.0)와 대풍 등 국내 콩 수확시기에 따른 변이(41.5~542.2) 결과와 유사한 경향을 나타냈다(Vyn 등 2002; Lozovaya 등 2005;

Table 4. Comparison of individual isoflavone contents(mg/ 100g, dry weight) in the soybean seed (*Glycine max*(L.))

Peak No. ¹⁾	Sinpaldal #2	Daewon	Cheongja #2	Pungsan-namul	1	3	6	7	9	13	27	33	41	42
16	0.69±0.10 ^{cd}	0.72±0.03 ^{cd}	1.35±0.11 ^b	0.28±0.04 ^f	3.06±0.19 ^a	0.20±0.05 ^f	0.66±0.17 ^{cd}	0.62±0.13 ^{cd}	0.56±0.06 ^{cd}	0.69±0.04 ^{cd}	0.68±0.14 ^{cd}	0.50±0.13 ^c	0.85±0.08 ^e	0.70±0.12 ^{cd}
2	23.39±0.64 ^b	13.33±0.33 ^{ab}	12.73±0.17 ^b	9.69±0.38 ^e	25.10±0.84 ^a	6.86±0.23 ^d	19.16±1.52 ^d	17.06±1.44 ^c	14.52±0.96 ^{bc}	15.84±0.09 ^{ef}	10.98±0.19 ^f	6.76±0.45 ^f	21.55±2.46 ^e	15.85±0.90 ^f
7	9.63±3.57 ^{abc}	8.49±2.95 ^{abc}	7.68±2.92 ^{bc}	6.36±2.17 ^{bc}	12.01±2.41 ^a	4.64±0.70 ^f	9.72±2.84 ^{abc}	6.56±1.48 ^{bc}	6.78±1.45 ^{bc}	6.37±1.23 ^{bc}	6.22±2.15 ^{bc}	5.10±1.06 ^f	12.13±4.66 ^e	10.52±4.06 ^{bc}
9	1.92±0.30 ^{bc}	1.26±0.16 ^{cd}	1.47±0.12 ^{bcd}	0.83±0.06 ^f	2.33±0.15 ^{bc}	0.86±0.07 ^f	1.88±0.52 ^{bc}	1.02±0.04 ^{cd}	1.37±0.05 ^{cd}	1.33±0.18 ^{cd}	1.07±0.08 ^{cd}	0.50±0.09 ^f	3.00±1.72 ^e	1.04±0.18 ^{cd}
11	108.41±2.64 ^f	95.73±3.89 ^d	77.92±0.61 ^{ef}	76.21±4.09 ^{ef}	151.56±3.53 ^a	64.23±2.99 ^b	126.97±15.00 ^b	81.54±2.59 ^e	85.51±2.09 ^e	84.15±2.30 ^e	70.05±3.24 ^{ef}	41.74±1.87 ^g	131.32±6.11 ^b	107.12±1.08 ^e
Daidzein total	144.04±3.34 ^f	119.53±6.76 ^d	101.14±2.64 ^{ef}	93.37±6.59 ^{ef}	194.05±2.43 ^a	76.79±2.48 ^b	158.39±17.01 ^b	106.80±2.34 ^c	108.75±1.98 ^{cd}	108.38±2.99 ^{cd}	89.00±4.39 ^e	54.60±2.82 ^g	168.85±9.80 ^b	135.23±3.98 ^e
19	0.64±0.19 ^{cd}	0.77±0.02 ^{cd}	1.28±0.08 ^b	0.41±0.21 ^c	1.99±0.04 ^a	0.62±0.43 ^{cd}	0.68±0.21 ^{cd}	0.86±0.18 ^c	0.69±0.10 ^{cd}	0.81±0.02 ^e	0.64±0.04 ^{cd}	0.62±0.19 ^{cd}	0.46±0.02 ^{cd}	0.70±0.03 ^{cd}
1	1.08±0.05 ^b	0.75±0.02 ^{bcd}	0.14±0.15 ^f	0.07±0.12 ^f	0.96±0.57 ^{bc}	0.18±0.03 ^{ef}	0.81±0.47 ^{bd}	0.24±0.04 ^{ef}	0.24±0.01 ^{ef}	0.22±0.22 ^{ef}	0.15±0.13 ^f	0.60±0.21 ^{cd}	1.62±0.09 ^a	0.49±0.06 ^{def}
6	25.89±1.74 ^{bc}	17.92±1.22 ^{ef}	26.55±0.64 ^{bc}	13.11±0.75 ^{ef}	30.39±1.76 ^b	10.72±0.79 ^e	27.83±9.76 ^{bc}	35.87±2.33 ^a	23.03±1.26 ^{cd}	19.54±0.50 ^{cd}	12.94±1.31 ^{ef}	24.71±1.92 ^{bd}	18.45±3.65 ^{ef}	22.39±2.04 ^{cd}
18	0.27±0.10 ^a	0.16±0.03 ^{ab}	0.32±0.10 ^a	0.31±0.02 ^a	0.30±0.26 ^a	0.26±0.05 ^a	0.30±0.04 ^a	0.16±0.10 ^{ab}	0.27±0.01 ^a	0.36±0.24 ^a	0.22±0.20 ^{ab}	ND	0.17±0.15 ^{ab}	0.21±0.04 ^{ab}
8	5.11±0.65 ^{bc}	4.51±0.33 ^{bc}	0.88±0.07 ^f	1.20±0.09 ^f	4.02±0.27 ^{bcd}	1.07±0.09 ^f	5.63±3.57 ^{bc}	1.29±0.03 ^{ef}	1.35±0.07 ^{ef}	1.38±0.15 ^{ef}	1.16±0.04 ^f	2.42±0.18 ^{def}	7.05±1.54 ^a	3.23±0.50 ^{cd}
13	10.74±0.94 ^{cd}	11.19±0.79 ^{cd}	11.64±0.35 ^{cd}	8.15±0.58 ^{ef}	10.60±1.37 ^{cd}	8.04±1.35 ^{ef}	12.21±2.24 ^{bcd}	12.60±0.69 ^{bc}	11.68±0.61 ^{cd}	8.86±0.67 ^e	7.01±0.62 ^f	13.70±0.41 ^{ab}	12.05±1.06 ^{bcd}	14.60±0.67 ^a
14	3.36±1.76 ^e	2.02±0.26 ^{ab}	3.14±0.84 ^{ab}	1.66±0.92 ^{ab}	2.65±1.04 ^{ab}	1.81±0.95 ^{ab}	3.16±1.28 ^{ab}	2.85±1.77 ^{ab}	3.08±0.97 ^{ab}	1.82±0.50 ^{ab}	1.28±0.11 ^b	2.16±0.22 ^{ab}	2.30±0.13 ^{ab}	2.11±0.10 ^{ab}
15	152.90±5.41 ^{cd}	151.22±7.25 ^d	163.69±4.97 ^{bc}	125.52±3.57 ^e	152.89±6.46 ^{cd}	118.44±4.61 ^{ef}	170.72±14.21 ^b	165.67±8.93 ^b	164.90±4.47 ^b	119.27±2.27 ^{ef}	110.35±0.39 ^f	187.97±6.26 ^e	165.37±5.02 ^b	187.57±5.75 ^a
4	0.68±0.23 ^{abcd}	0.48±0.21 ^{bcd}	0.61±0.24 ^{abcd}	0.43±0.11 ^{bcd}	0.99±0.17 ^a	0.29±0.04 ^{cd}	0.85±0.53 ^{ab}	0.29±0.19 ^{cd}	0.76±0.16 ^{bc}	0.20±0.19 ^d	0.54±0.24 ^{abcd}	0.62±0.07 ^{bcd}	0.90±0.50 ^{ab}	0.24±0.10 ^d
5	1.19±0.23 ^{bc}	0.58±0.15 ^c	0.86±0.17 ^e	0.74±0.11 ^c	1.55±0.67 ^{bc}	0.48±0.22 ^c	1.99±1.37 ^{bc}	1.55±0.14 ^{bc}	6.12±0.51 ^a	1.02±0.08 ^e	5.45±0.08 ^a	2.64±2.67 ^b	0.68±0.12 ^c	0.80±0.05 ^e
Genistein total	201.86±8.04 ^{cd}	189.61±9.11 ^c	209.12±5.56 ^{bcd}	151.59±4.33 ^f	206.35±8.21 ^{cd}	141.91±6.60 ^f	224.17±22.11 ^{ab}	221.37±11.76 ^{abc}	212.13±6.03 ^{bcd}	153.48±2.31 ^f	139.75±2.10 ^f	235.44±2.32 ^a	209.04±8.57 ^{bcd}	232.34±4.64 ^d
17	ND	ND	ND	ND	0.25±0.22 ^{bc}	0.60±0.53 ^{ab}	ND	ND	ND	ND	0.11±0.18 ^c	0.69±0.61 ^a	ND	ND
3	9.93±1.09 ^b	5.88±1.12 ^{cd}	4.88±0.55 ^{ef}	3.82±0.51 ^{fg}	13.51±0.98 ^a	4.61±0.44 ^{ef}	7.33±2.62 ^{cd}	4.67±0.44 ^{ef}	1.88±0.63 ^b	4.21±0.36 ^{ef}	2.41±0.50 ^{bc}	10.61±1.00 ^b	8.90±0.41 ^{bc}	4.91±0.38 ^{ef}
10	1.90±0.22 ^{bc}	1.51±0.24 ^{bcd}	0.84±0.13 ^{fg}	0.95±0.16 ^{ef}	2.58±0.64 ^a	1.29±0.30 ^{ef}	1.38±0.27 ^{cd}	0.82±0.16 ^{fg}	0.67±0.21 ^g	0.66±0.12 ^g	0.72±0.18 ^g	1.83±0.09 ^{bc}	1.49±0.23 ^{bcd}	1.07±0.11 ^{def}
12	21.81±1.22 ^{bc}	14.91±1.73 ^d	9.90±0.44 ^e	10.21±0.55 ^e	28.47±0.97 ^a	15.02±1.17 ^d	17.08±6.44 ^d	9.02±0.44 ^{ef}	5.53±0.55 ^f	8.18±0.29 ^{ef}	7.57±0.76 ^{ef}	25.31±3.22 ^{ab}	21.04±0.41 ^c	13.95±1.03 ^d
Glycitein total	33.63±1.21 ^{bc}	22.30±2.54 ^{cd}	15.62±0.74 ^{de}	14.98±0.58 ^{de}	44.81±2.37 ^a	21.51±1.44 ^{cd}	25.79±9.28 ^d	14.32±0.46 ^g	8.08±0.69 ^g	13.05±0.11 ^{gh}	10.81±1.06 ^{gh}	38.45±1.87 ^b	31.43±0.94 ^c	19.93±1.35 ^{ef}
Total	379.53±11.60 ^f	331.44±15.67 ^d	325.88±5.71 ^d	259.94±10.25 ^e	445.21±12.11 ^a	240.21±9.33 ^f	408.35±4.66 ^b	342.67±11.93 ^d	328.95±7.38 ^d	274.91±5.32 ^e	239.55±4.92 ^f	328.49±5.68 ^d	409.33±7.46 ^b	387.49±7.21 ^c

Each value calculated as mean±S.D. (n=3) using internal standard (6-methoxyflavone); ND, Not detected.

Different small letters in the same low with mean values(n=3) indicate a significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ 1, genistein 5-O-glucoside; 2, daidzein 7-O-glucoside(daidzin); 3, glycitein 7-O-glucoside(glycitin); 4, genistein 7-O-(2''-O-apsiosyl)glucoside; 5, genistein 7-O-(6''-O-apsiosyl)glucoside; 6, genistein 7-O-glucoside(genistin); 7, daidzein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside; 8, genistein 5-O-(6''-O-malonyl)glucoside; 9, daidzein 7-O-(4''-O-malonyl)glucoside(4''-O-malonyldaidzin); 10, glycitein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside; 11, daidzein 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside(6''-O-malonyldaidzin); 12, glycitein 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside(6''-O-malonylglycitin); 13, genistein 4'-O-(6''-O-malonyl)glucoside; 14, genistein 7-O-(4''-O-malonyl)glucoside(4''-O-malonyl-genistin); 15, genistein 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside(6''-O-malonylgenistin); 16, daidzein; 17, glycitein; 18, genistein 7-O-(6''-O-acetyl)glucoside(6''-O-acetylgenistin); 19, genistein.

Kim 등 2006).

대두 종자 중 daidzein, genistein, glycitein 계열별 총 함량 비중은 각각 평균 34.9%, 58.5%, 6.6%로 기존 연구 결과와 유사하게 genistein 계열이 가장 높게 함유되어 있었으며, glycitein 계열이 가장 낮게 나타났다(Szymczak 등 2017). 성분별 평균 함량은 genistein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside(110.35~187.97, 152.61), daidzein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside(41.74~151.56, 93.03), genistein 7-O-glucoside(10.72~35.87, 22.10), daidzein 7-O-glucoside(6.76~25.10, 15.20), glycitein 7-O-(6"-O-malonyl)glucoside(5.53~28.47, 14.86)의 순이었으며, 이들 중 7-O-6"-O-malonylglucosides 배당체 화합물들은 총 77.8%의 비중을 차지하여 주요성분인 것으로 확인되었다(Gu & Gu 2001; Stürtz 등 2006; Hong 등 2011; Jang 등 2020). 반면에 daidzein, genistein, glycitein 아글리콘 함량은 각각 0.82, 0.80, 0.12로 미량 성분이었으며, glycitein의 경우 대부분의 시료에서 확인되지 않은 경우가 많았다. 또한 genistein 7-O-(6"-O-acetyl)glucoside(0.16~0.36) 및 신규성분 genistein 7-O-(2"-O-apiosyl)glucoside(peak 4, 0.20~0.99), genistein 7-O-(6"-O-apiosyl)glucoside(peak 5, 0.48~6.12) 역시 낮은 함량을 나타내었다.

지금까지 genistein 등 아글리콘 중심으로 항산화, 항염, 항암 등의 건강 가능성이 다양하게 규명되었으며(Verdrengh 등 2003; Lee 등 2005; Li 등 2005; Huang 등 2010), 이들을 포함한 glucosides, acetylglucosides, malonylglucosides 등 표준물질 확보가 가능한 핵심 성분 12종에 한해서만 정량분석이 이루어졌다(Aguiar 등 2012; Lee 등 2015a; Lee 등 2015b). 하지만 본 연구에서는 고해상도 질량분석을 통해 대두 우수자원 14종으로부터 핵심 성분 12종을 포함한 총 19종의 이소플라본 조성 및 함량 정보를 제공함으로써 추후 연구자들이 정밀하게 분석하고 평가하는 데 도움이 될 뿐만 아니라, 두부, 두유, 장류 등 콩 가공품 제조에 있어 경쟁력 있는 국산 품종을 개발하는 데 중요한 기초자료가 될 것으로 사료된다. 또한 재배, 저장 및 유통 등 다양한 조건에 따른 변화 연구가 필요하며, 나아가 이소플라본 효능 관련하여 콩 섭취 시 체내 이소플라본 대사체 변화 및 생체이용률 평가 연구도 중요하다.

요약 및 결론

본 연구에서는 이소플라본 구조 확인을 위해 대두 부위별 (종자, 잎, 줄기, 꼬투리), 관련 가공품 등의 기존 연구 결과로부터 총 20종의 개별 화합물 정보를 구축하였다. 이들 정보 및 UPLC-DAD-QToF/MS 결과의 질량 패턴 해석 과정을 통해 우수자원 14종으로부터 아글리콘, glucosides, acetylglucosides, malonylglucosides 등 핵심 성분 12종을 포함한 개별 이소플라본 19종의 조성 및 함량 정보를 제공하였다. Genistein 7-O-(2"-

O-apiosyl)glucoside 및 genistein 7-O-(6"-O-apiosyl) glucoside (ambocin)가 대두 내 신규 배당체로 확인되었으며, malonylglucosides 중 glycitein 4"-O-(6"-O-malonyl)glucoside가 최초로 추정되었다. 우수자원은 240.21~445.21 mg/100 g(건조중)의 총 이소플라본 함량 분포를 보였으며, genistein 계열의 비중이 가장 크게 나타났다. 특히 7-O-6"-O-malonylglucosides 배당체 화합물들은 이소플라본 중 총 77.8%의 비중을 차지하여 주요 그룹인 것으로 확인되었다. 이소플라본의 항염, 항암, 항비만 등 질환 개선 효능이 밝혀짐에 따라 이들 고함유 국산 품종 개발 및 보급이 매우 중요하며, 본 연구에서 제시된 우수자원별 정성 및 정량 정보는 이소플라본 고함유 품종을 선별하고 육성하는 데 큰 도움이 될 것으로 판단된다. 나아가 이들의 구체적인 이소플라본 프로파일을 콩 관련 식품 섭취 후 체내 이소플라본 대사체 변화 확인에도 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청의 국가연구개발사업(과제번호: PJ 014172012020), 전문연구원 및 학·연협동과정 지원사업에 의해 수행한 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

References

- Aguiar CL, Haddad R, Eberlin MN, Carrão-Panizzi MC, Tsai SM, Park YK. 2012. Thermal behavior of malonylglucoside isoflavones in soybean flour analyzed by RPHPLC/DAD and electrospray ionization mass spectrometry. *LWT-Food Sci Technol* 48:114-119
- Caldwell CR, Britz SJ, Mirecki RM. 2005. Effect of temperature, elevated carbon dioxide, and drought during seed development on the isoflavone content of dwarf soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] grown in controlled environments. *J Agric Food Chem* 53:1125-1129
- Carneiro AM, Moreira EA, Bragagnolo FS, Borges MS, Pilon AC, Rinaldo D, Funari CS. 2020. Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones. *Food Res Int* 130:108949
- Carrão-Panizzi MC, Beléia ADP, Kitamura K, Oliveira MCN. 1999. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. *Pesqui Agropecu Bras* 34:1787-1795
- Charron CS, Allen FL, Johnson RD, Pantalone VR, Sams CE. 2005. Correlations of oil and protein with isoflavone concentration in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J Agric*

- Food Chem* 53:7128-7135
- Clarke DB, Barnes KA, Lloyd AS. 2004. Determination of unusual soya and non-soya phytoestrogen sources in beer, fish products and other foods. *Food Addit Contam* 21: 949-962
- Dueñas M, Hernández T, Robredo S, Lamparski G, Estrella I, Muñoz R. 2012. Bioactive phenolic compounds of soybean (*Glycine max* cv. Merit): Modifications by different microbiological fermentations. *Pol J Food Nutr Sci* 62:241-250
- Gasparetto JC, Smolarek FSF, de Francisco TMG, Miranda LC, Pontarolo R, Siqueira PF. 2012. Development and validation of an HPLC-DAD method for analysis of the six major isoflavones in extracts from soybean processing. *J Am Oil Chem Soc* 89:1211-1222
- Gu EJ, Kim DW, Jang GJ, Song SH, Lee JI, Lee SB, Kim BM, Cho Y, Lee HJ, Kim HJ. 2017. Mass-based metabolomic analysis of soybean sprouts during germination. *Food Chem* 217:311-319
- Gu L, Gu W. 2001. Characterization of soy isoflavones and screening for novel malonyl glycosides using high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry. *Phytochem Anal* 12:377-382
- Ha TJ, Lee JH, Shin SO, Shin SH, Han SI, Kim HT, Ko JM, Lee MH, Park KY. 2009. Changes in anthocyanin and isoflavone concentrations in black seed-coated soybean at different planting locations. *J Crop Sci Biotechnol* 12:79-86
- Hong JL, Qin XY, Shu P, Wang Q, Zhou ZF, Wang GK, Lin BB, Wang Q, Qin MJ. 2011. Comparative study of isoflavones in wild and cultivated soybeans as well as bean products by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry and chemometric techniques. *Eur Food Res Technol* 233:869-880
- Huang CC, Hsu BY, Wu NL, Tsui WH, Lin TJ, Su CC, Hung CF. 2010. Anti-photoaging effects of soy isoflavone extract (aglycone and acetylglucoside form) from soybean cake. *Int J Mol Sci* 11:4782-4795
- Huang RY, Chou CC. 2008. Heating affects the content and distribution profile of isoflavones in steamed black soybeans and black soybean Koji. *J Agric Food Chem* 56:8484-8489
- Jang HH, Noh H, Kim HW, Cho SY, Kim HJ, Lee SH, Lee SH, Gunter MJ, Ferrari P, Scalbert A, Freisling H, Kim JB, Choe JS, Kwon O. 2020. Metabolic tracking of isoflavones in soybean products and biosamples from healthy adults after fermented soybean consumption. *Food Chem* 330:127317
- Jia Y, Ma Y, Zou P, Cheng G, Zhou J, Cai S. 2019. Effects of different oligochitosans on isoflavone metabolites, antioxidant activity, and isoflavone biosynthetic genes in soybean (*Glycine max*) seeds during germination. *J Agric Food Chem* 67:4652-4661
- John KMM, Natarajan S, Luthria DL. 2016. Metabolite changes in nine different soybean varieties grown under field and greenhouse conditions. *Food Chem* 211:347-355
- Kim DH, Yang WT, Cho KM, Lee JH. 2020. Comparative analysis of isoflavone aglycones using microwave-assisted acid hydrolysis from soybean organs at different growth times and screening for their digestive enzyme inhibition and antioxidant properties. *Food Chem* 305:125462
- Kim EH, Kim SL, Kim SH, Chung IM. 2012a. Comparison of isoflavones and anthocyanins in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seeds of different planting dates. *J Agric Food Chem* 60:10196-10202
- Kim EH, Lee OK, Kim JK, Kim SL, Lee J, Kim SH, Chung IM. 2014. Isoflavones and anthocyanins analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) from three different planting locations in Korea. *Field Crops Res* 156:76-83
- Kim EH, Ro HM, Kim SL, Kim HS, Chung IM. 2012b. Analysis of isoflavone, phenolic, soyasapogenol, and tocopherol compounds in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasms of different seed weights and origins. *J Agric Food Chem* 60:6045-6055
- Kim HW, Lee SH, Asamenew G, Lee MK, Lee S, Park JJ, Choi Y, Lee SH. 2019. Study on phenolic compounds in lettuce samples cultivated from Korea using UPLC-DAD-QToF/MS. *Korean J Food Nutr* 32:717-729
- Kim JA, Chung IM. 2007. Change in isoflavone concentration of soybean (*Glycine max* L.) seeds at different growth stages. *J Sci Food Agric* 87:496-503
- Kim SL, Berhow MA, Kim JT, Chi HY, Lee SJ, Chung IM. 2006. Evaluation of soyasaponin, isoflavone, protein, lipid, and free sugar accumulation in developing soybean seeds. *J Agric Food Chem* 54:10003-10010
- Kirakosyan A, Kaufman P, Nelson RL, Kasperbauer MJ, Duke JA, Seymour E, Chang SC, Warber S, Bolling S. 2006. Isoflavone levels in five soybean (*Glycine max*) genotypes are altered by phytochrome-mediated light treatments. *J Agric Food Chem* 54:54-58
- Kudou S, Fleury Y, Welti D, Magnolato D, Uchida T, Kitamura K, Okubo K. 1991a. Malonyl isoflavone glycosides in

- soybean seeds (*Glycine max* Merrill). *J Agric Biol Chem* 55:2227-2233
- Kudou S, Shimoyamada M, Imura T, Uchida T, Okubo K. 1991b. A new isoflavone glycoside in soybean seeds (*Glycine max* Merrill), Glycitein 7-*O*- β -D-(6"-*O*-acetyl)-glucopyranoside. *J Agric Biol Chem* 55:859-860
- Landete JM, Hernández T, Robredo S, Dueñas M, de Las Rivas B, Estrella I, Muñoz R. 2015. Effect of soaking and fermentation on content of phenolic compounds of soybean (*Glycine max* cv. Merit) and mung beans (*Vigna radiata* [L] Wilczek). *Int J Food Sci Nutr* 66:203-209
- Lee CH, Yang L, Xu JZ, Yeung SYV, Huang Y, Chen ZY. 2005. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chem* 90:735-741
- Lee JH, Ha TJ, Baek IY, Han WY, Cho KM, Park KY, Choung MG. 2008b. Evaluation of isoflavones from the leaves of soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *J Appl Biol Chem* 51:172-175
- Lee JH, Hwang SR, Lee YH, Kim K, Cho KM, Lee YB. 2015b. Changes occurring in compositions and antioxidant properties of healthy soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] and soybean seeds diseased by *Phomopsis longicolla* and *Cercospora kikuchii* fungal pathogens. *Food Chem* 185:205-211
- 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
- Lee MJ, Chung IM, Kim H, Jung MY. 2015a. High resolution LC - ESI-TOF-mass spectrometry method for fast separation, identification, and quantification of 12 isoflavones in soybeans and soybean products. *Food Chem* 176:254-262
- Lee S, Lee YB, Kim HS. 2013. Analysis of the general functional components of various soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1255-1262
- Lee SJ, Ahn JK, Kim SH, Kim JT, Han SJ, Jung MY, Chung IM. 2003. Variation in isoflavone of soybean cultivars with location and storage duration. *J Agric Food Chem* 51:3382-3389
- Lee SJ, Kim JJ, Moon HI, Ahn JK, Chun SC, Jung WS, Lee OK, Chung IM. 2008a. Analysis of isoflavones and phenolic compounds in Korean soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seeds of different seed weights. *J Agric Food Chem* 56:2751-2758
- Lee YH, Kim B, Hwang SR, Kim K, Lee JH. 2018. Rapid characterization of metabolites in soybean using ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) and screening for α -glucosidase inhibitory and antioxidant properties through different solvent systems. *J Food Drug Anal* 26:277-291
- Li Y, Ahmed F, Ali S, Philip PA, Kucuk O, Sarkar FH. 2005. Inactivation of nuclear factor κ B by soy isoflavone genistein contributes to increased apoptosis induced by chemotherapeutic agents in human cancer cells. *Cancer Res* 65:6934-6942
- Lozovaya VV, Lygin AV, Ulanov AV, Nelson RL, Daydé J, Widholm JM. 2005. Effect of temperature and soil moisture status during seed development on soybean seed isoflavone concentration and composition. *Crop Sci* 45:1934-1940
- Miyazawa M, Sakano K, Nakamura SI, Kosaka H. 1999. Antimutagenic activity of isoflavones from soybean seeds (*Glycine max* Merrill). *J Agric Food Chem* 47:1346-1349
- Ohta N, Kuwata G, Akahori H, Watanabe T. 1979. Isoflavonoid constituents of soybeans and isolation of a new acetyl daidzin. *Agric Biol Chem* 43:1415-1419
- Park HJ, Jung MY. 2017. One step salting-out assisted liquid-liquid extraction followed by UHPLC-ESI-MS/MS for the analysis of isoflavones in soy milk. *Food Chem* 229:797-804
- Peng H, Li W, Li H, Deng Z, Zhang B. 2017. Extractable and non-extractable bound phenolic compositions and their antioxidant properties in seed coat and cotyledon of black soybean (*Glycine max* (L.) merr). *J Funct Foods* 32:296-312
- Ravindranath MH, Muthugounder S, Presser N, Viswanathan S. 2004. Anticancer therapeutic potential of soy isoflavone, genistein. In Cooper EL, Yamaguchi N (Eds.), *Complementary and Alternative Approaches to Biomedicine*. pp.121-165. Springer
- Ren Q, Wang J, Liu S, Wang F, Wang H. 2017. Identification and determination of isoflavones in germinated black soybean sprouts by UHPLC-Q-TOF-MS mass spectrometry and HPLC-DAD. *Int J Food Prop* 20:2877-2887
- Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. 1997. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res* 26:63-70
- Seo WD, Kang JE, Choi SW, Lee KS, Lee MJ, Park KD, Lee JH. 2017. Comparison of nutritional components (isoflavone, protein, oil, and fatty acid) and antioxidant properties at the

- growth stage of different parts of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Food Sci Biotechnol* 26:339-347
- Setchell KD. 1998. Phytoestrogens: The biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr* 68:1333S-1346S
- Stürtz M, Lander V, Schmid W, Winterhalter P. 2006. Preparative isolation of isoflavones from soy and red clover. *Mol Nutr Food Res* 50:356-361
- Suh HJ, Kim YS, Chung SH, Kim YS, Lee SD. 1996. Functionality and inhibitory effect of soybean hydrolysate on angiotensin converting enzyme. *Korean J Food Nutr* 9:167-175
- Szymczak G, Wójciak-Kosior M, Sowa I, Zapala K, Strzemski M, Kocjan R. 2017. Evaluation of isoflavone content and antioxidant activity of selected soy taxa. *J Food Compos Anal* 57:40-48
- Verdrengh M, Jonsson IM, Holmdahl R, Tarkowski A. 2003. Genistein as an anti-inflammatory agent. *Inflamm Res* 52:341-346
- Vyn TJ, Yin X, Bruulsema TW, Jackson CJC, Rajcan I, Brouder SM. 2002. Potassium fertilization effects on isoflavone concentrations in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J Agric Food Chem* 50:3501-3506
- Wang J, Sporns P. 2000. MALDI-TOF MS analysis of isoflavones in soy products. *J Agric Food Chem* 48:5887-5892
- Wu HJ, Deng JC, Yang C, Zhang J, Zhang Q, Wang XC, Yang F, Yang W, Liu J. 2017. Metabolite profiling of isoflavones and anthocyanins in black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds by HPLC-MS and geographical differentiation analysis in Southwest China. *Anal Methods* 9:792-802
- Wu Q, Wang M, Sciarappa WJ, Simon JE. 2004. LC/UV/ESI-MS analysis of isoflavones in edamame and tofu soybeans. *J Agric Food Chem* 52:2763-2769
- Yerramsetty V, Mathias K, Bunzel M, Ismail B. 2011. Detection and structural characterization of thermally generated isoflavone malonylglucoside derivatives. *J Agric Food Chem* 59:174-183
- Yerramsetty V. 2013. Malonyl-conjugates of isoflavones: Structure, bioavailability and chemical modifications during processing. Ph.D. Thesis, Minnesota Univ. Minnesota
- Yoo KM. 2011. Effects of soybean varieties on the physicochemical and sensory characteristics of tofu. *Korean J Food Nutr* 24:451-457
- Yuk HJ, Song YH, Curtis-Long MJ, Kim DW, Woo SG, Lee YB, Uddin Z, Kim CY, Park KH. 2016. Ethylene induced a high accumulation of dietary isoflavones and expression of isoflavonoid biosynthetic genes in soybean (*Glycine max*) leaves. *J Agric Food Chem* 64:7315-7324
- Zhang S, Zheng Z, Zeng M, He Z, Tao G, Qin F, Chen J. 2017. A novel isoflavone profiling method based on UPLC-PDA-ESI-MS. *Food Chem* 219:40-47

Received 05 November, 2020

Revised 17 November, 2020

Accepted 24 November, 2020