

Biotic 물질이 콩 발아 중 Isoflavone 함량에 미치는 영향

김서영¹ · 송영호¹ · 이유정¹ · 김홍식² · 김용호^{3,†}

Effect of Biotic Substances on Isoflavone Content in Soybean Germination

Seo-Young Kim¹, Young-Ho Song¹, Yoo-Jung Yi¹, Hong-Sik Kim², and Yong-Ho Kim^{3,†}

ABSTRACT For humans, soybean and soybean products are the main dietary sources of isoflavones, which are polyphenolic compounds that represent one of the most common categories of phytoestrogens. The objective of this study was to determine isoflavone concentrations in soybean cultivars during germination when treated with some biotic substances. Three soybean cultivars were germinated in replicated trials in 2018/2019 and their individual and total isoflavone concentrations were determined using HPLC (High-Performance Liquid Chromatography). Significant differences were observed in total isoflavone content were observed among cultivars regardless of years and treatments. ‘Daepung2-ho’ and ‘Uram’ had significantly higher total isoflavones than ‘Pungsannaul-kong’. Differences among treatments were also significant for total isoflavone content. In 2018, with chitosan treatment, total isoflavone concentration ranged from 551.15 to 7584.07 $\mu\text{g g}^{-1}$, with an average of 2972.64 $\mu\text{g g}^{-1}$ across cultivars. In 2019, there was no significant difference among treatments in total isoflavone content. Regarding individual isoflavone concentrations, the malonyl-glucoside groups accounted for over 85% of the total isoflavone content, which is indicated that these groups play an important role with regard to isoflavone components in soybean seeds. The individual proportions in the total concentrations of isoflavones varied according to germination period and seed tissues. Glucosides and malonyl-glucosides showed differences in concentrations among seed tissues, aglycones were further accumulated as germination period was progressed. This study suggests that biotic substances have an impact on seed isoflavone content during germination. However, cultivars with consistently high or low isoflavone concentrations across biotic substance treatments were identified despite differences in germination period and seed tissues, demonstrating that the genetic factor plays the most important role in isoflavone accumulation.

Keywords : biotic substance, germination, isoflavone, soybean

식물성 에스트로겐은 자연적으로 발생하는 비스테로이드 성 페놀류 식물 화합물이다. 이소플라본은 대표적인 식물성 에스트로겐으로 콩 및 콩 가공식품에 풍부하며 유방암 및 전립선 암, 심혈관 질환, 골다공증 또는 폐경기 증상과 같은 여러 가지 암 유형을 포함한 광범위한 호르몬 장애에 대한 대체 요법으로 사용되고 있다(Křížová *et al.*, 2019; Ko *et al.*, 2017; Ko, 2014; Wang *et al.*, 2013).

콩의 이소플라본 농도는 스트레스에 의해 급격히 증가하

는데 온도, 강수량, 수확 기간 또는 토양 비옥도와 같은 환경 및 기후 조건에 크게 영향을 받으며 또한 수확 후 처리에 의해서도 영향을 받는다(Hong *et al.*, 2018; Hasanah *et al.*, 2015). 또한 Zhang *et al.* (2014)은 이소플라본 함량이 환경 등 여러 요인에 영향을 받지만 특히 유전적 요소가 중요하다고 하였으며, Miladinović *et al.* (2019)은 육종에 의해 품종의 이소플라본 함량을 높일 수 있다고 하였다. 최근에는 이소플라본 관련 유전자가 밝혀지고 있어(Ahmad *et*

¹순천향대학교 의료생명공학과 학부생 (Undergraduate Student, Department of Medical Biotechnology, SoonChunHyang University, Asan 31538, Korea)

²국립식량과학원 남부작물부 농업연구관 (Senior Researcher, Department of Southern Area Crop Science, NICS, RDA, Miryang 50424, Korea)

³순천향대학교 의료생명공학과 교수 (Professor, Department of Medical Biotechnology, SoonChunHyang University, Asan 31538, Korea)

†Corresponding author: Yong-Ho Kim; (Phone) +82-41-530-1281; (E-mail) yohokim@sch.ac.kr

<Received 17 February, 2020; Revised 30 March, 2020; Accepted 1 April, 2020>

al., 2017; Yoneyama *et al.*, 2016; Yuk *et al.*, 2016) 이를 뒷받침하고 있다.

발아를 통한 콩의 이소플라본 함량 변이에 관한 연구도 수행되고 있는데, Cho *et al.* (2019)은 콩 발아 중의 스트레스에 의해서 이소플라본 함량이 증가한다고 하였으며, 감마선 처리(Yun *et al.*, 2013), 초음파 처리(Yang *et al.*, 2015)가 콩나물의 이소플라본 함량에 영향을 끼친다는 연구가 발표되기도 하였다. 이밖에 콩나물 재배시 물리적 요인 외에 biotic 물질 처리에 의해 콩나물의 여러 가지 성분함량에 미치는 연구가 수행되고 있으나 이소플라본 함량에 관한 연구는 미흡한 실정이다. Lee *et al.* (2013)은 녹두 발아시 대사물질 처리가 이소플라본 함량에 영향을 미친다고 한 바 있으며, Lee *et al.* (2018)은 대사물질인 쿠마르산과 식물생장조절제인 NAA와 BA가 콩 발아 중 이소플라본 함량에 영향을 끼친다고 하였다.

본 연구에서는 콩 발아기간 중 면역활성제 및 약초 추출물 처리를 통하여 발아종자의 이소플라본 함량 변이를 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

콩 발아실험

공시재료는 2017년 및 2018년 2개년 각각 국립식량과학원에서 재배한 대풍2호, 우람콩, 풍산나물콩 등 3 품종을 분양받아 2018년과 2019년 2년간 발아실험에 사용하였다. 발아실험은 페이퍼 타올에 공시재료를 각각 100립씩 치상하고 28°C 생육상에서 완전임의 3반복으로 배치한 후 수행하였다. 수분은 시간에 맞추어 하루에 4번 충분하게 공급하였다. 치상된 콩 종자는 발아 후 1일, 3일 및 5일째에 각각 회수하여 동결건조 후 이소플라본 분석에 사용하였는데 발아 5일차 시료는 생육이 진전되어 종자 형태가 아니므로 자엽과 배축을 따로 분리한 후 실험을 수행하였다.

Biotic 물질 처리

Biotic 물질이 콩 발아기간 동안 이소플라본 함량 증대에 미치는 영향을 확인하고자 식물면역활성제 일종인 methyljasmonic acid 0.1 mM, chitosan 250 ppm, β -glucan 150 ppm, 및 게르마늄 1 ppm 용액을 발아실험에 사용하였다. 또한 사포닌 함량이 320 ppm인 홍삼 엑기스를 증류수로 희석하여 사포닌 함량을 1.5 ppm 및 3.0 ppm으로 조절하여 발아실험을 수행하였으며, 100% 녹차 가루를 0.025% 및 0.05%로 용해 및 희석하여 발아실험에 사용하였다.

이소플라본 함량 분석

시료별 이소플라본 함량은 HPLC (Ultimate3000 HPLC, Thermo Dionex, USA)를 사용하여 분석하였다. 시료는 발아 1일, 3일 및 5일(자엽, 배축 분리)차에 수거하여 동결건조 시킨 후 100 mesh 크기로 분쇄하여 사용하였다. 마쇄한 시료 0.1 g을 80% 메탄올(30 ml)로 잘 혼합한 후 30분간 초음파 처리를 하고 다시 180 rpm 속도에서 1시간 shaking 하였다. 전 처리가 완료된 시료는 0.2 μ m PVDF로 여과시킨 후 HPLC 분석에 사용되었다. HPLC는 Inno C-18 칼럼(4.6 x 250, 5 μ m, Youngjinbiochrom, Koera)을 사용하여 UV-detector 260 nm 파장에서 분석을 수행하였다. 용매는 0.1% formic acid와 acetonitrile을 조합별로 혼합한 후 gradient에 따라 1.0 mL/min 속도로 흘러주었다. 이소플라본 표준물질 중 glycitein, genistein, daidzein, glycitin, genistin 및 daidzin은 Extrasynthese사(HPLC \geq 95%, France)의 제품을 사용하였고 6'-O-malonyldaidzin, 6'-O-malonylgenistin, 6'-O-malonylglycitin, 6'-O-acetyldaidzin, 6'-O-acetylgenistin 및 6'-O-acetylglycitin은 Wako사(90%, Japan)의 제품을 사용하였다.

통계분석

모든 실험은 완전임의 3반복으로 수행하였으며, 분석결과는 SPSS (Version 17.0, SPSS Institute Inc., USA)를 사용하여 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

표준발아법에 의한 품종별 이소플라본 함량

Table 1은 일반적인 콩 발아실험을 통하여 1일, 3일, 5일 등 발아시간 경과별로 이소플라본 함량을 분석한 결과이다.

표에서 보는 바와 같이 공시재료인 3 품종 모두 발아시간이 경과함에 따라 이소플라본 함량이 증가하였으며, 이는 2018년 및 2019년 모두 같은 양상이었다. 품종별 이소플라본 함량은 대풍2호>우람>풍산나물콩 순서로 높았다. 그런데 우람의 경우 2018년 분석결과에 비해 2019년 결과가 낮게 분석되어졌다. 이것은 2019년 시료가 발아울 저하 등 발아상태가 좋지 않은 것에 기인하는데 아마 우람의 2018년 재배시 환경이 발아울 등에 영향을 끼친 것으로 사료된다.

발아 5일차 시료는 자엽과 배축을 따로 분리하여 이소플라본 함량을 분석하였다. 자엽에서의 이소플라본 함량이 3일차에 비해 함량이 다소 적은 것은 5일차 시료에서 배축 부분이 제외되었기 때문이다. 배축의 이소플라본 함량이 다른 시료에 비해 월등히 높은 까닭은 분석시료량을 모두 같은 건물중으로 취급하였기에 분석에 사용된 배축의 생체

Table 1. Isoflavone content according to germination periods and years during soybean germination (ug/g, DW).

	Germination period	0	1	3	5 (Cotyledon)	5 (Hypocotyl)
2018	Daepung2-ho	5463.5±45.5d	5760.8±66.2c	5996.9±61.8b	5929.1±108.7b	15921.2±341.1a
	Uuram	5150.1±56.9d	5442.0±63.1c	5834.2±52.5b	5750.1±98.7b	11861.3±258.3a
	Pungsannamul-kong	3214.9±53.5d	3520.7±85.5 bc	3705.0±108.2b	3467.8±41.6c	5489.0±135.2a
2019	Daepung2-ho	5794.2±185.5c	6574.3±206.8b	6661.2±81.4b	5538.7±179.3c	13272.7±710.6a
	Uuram	4991.9±205.3c	5394.6±120.0b	5545.5±84.6b	4669.4±123.6d	13181.3±220.6a
	Pungsannamul-kong	3387.5±106.2d	3576.6±50.8c	3718.7±192.2b	3084.1±47.5e	7786.8±589.2a

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

Table 2. Isoflavone content of soybean cultivars during germination after treatment with four biotic substances (ug/g, DW).

	Germ. period	Water	Germanium	Chitosan	Methyl-jasmonate	β-glucane
Daepung2-ho	1	5760.8c±66.2	6492.9b±94.0	7229.1a±123.6	5646.2c±101.4	6450.0b±148.0
	3	5996.9c±61.8	6636.6b±95.9	7867.8a±223.9	5698.7c±143.6	7014.1b±266.9
	5 (Cotyledon)	5929.1ab±108.7	6599.7a±131.6	6474.8a±141.2	5779.4b±92.3	4919.2c±91.5
	5 (Hypocotyl)	15921.2c±341.1	20802.7a±426.2	16178.4c±390.3	17633.3b±333.4	7705.3d±279.6
Uram	1	5442.0b±63.1	5608.1ab±85.0	5923.2a±151.3	5549.7b±105.6	6011.2a±167.8
	3	5834.2b±52.5	5711.6b±112.8	6657.4a±193.5	5939.5b±172.5	5721.3b±145.3
	5 (Cotyledon)	5750.1a±98.7	5363.6b±92.1	6074.3a±167.3	5708.6a±126.6	4130.8c±58.8
	5 (Hypocotyl)	11861.3c±258.3	22173.8a±358.2	13062.9b±274.7	10877.8c±226.1	8609.4d±203.6
Pungsannamul-kong	1	3520.7ab±85.5	3662.3ab±101.1	3854.5a±117.2	3525.6ab±103.7	3412.4b±47.7
	3	3705.0b±108.2	3853.1ab±205.8	4212.5a±141.2	3807.6ab±71.9	2507.6c±94.9
	5 (Cotyledon)	3467.8a±41.6	3615.6a±113.5	3773.1a±124.6	3494.6a±118.6	2821.8b±91.4
	5 (Hypocotyl)	5489.0d±135.2	6423.1c±172.9	8459.3b±205.8	9872.6a±248.8	6507.6c±171.8

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

량이 다소 많았기 때문일 것이다. 그러나 5일차 시료에서 배축의 무게 비율을 감안하더라도 배축에 이소플라본이 많이 축적되는 것은 확실한 것으로 판단된다. 특히 풍산나물콩의 경우 2019년 배축에서의 이소플라본 함량이 2018년에 비해 상당히 높아졌는데 이것은 자엽에서의 이소플라본 함량이 2018년에 비해 2019년에 낮아진 것과도 관련이 있을 것이다. 즉 이소플라본 함량은 유전적 요인, 환경적 요인 뿐만 아니라 유전적 요인과 환경적 요인의 상호작용도 관여하리라 판단된다. Gutierrez-Gonzalez *et al.* (2009)은 이소플라본 축적에는 여러 유전자에서 상위성 등 유전자 간 상호작용 뿐만 아니라, 유전자의 minor effects가 존재하는 등 수 많은 요인이 관여된다고 하였다.

식물면역활성제가 콩 발아 중 이소플라본 함량에 미치는 영향

Table 2는 몇 가지 식물면역활성제 처리 시 콩 발아 중

이소플라본 함량 변화에 관한 결과이다.

이소플라본 함량은 발아시간이 경과함에 따라 대부분 증가하는 경향이었으나 우람과 풍산나물콩에서 베타글루칸 처리 시 시간 경과에 따라 오히려 함량은 줄어들었으며, 처리별 효과면에서는 발아일수에 상관없이 키토산 처리에서 이소플라본 함량이 높았다. 게르마늄과 자스몬산은 표준발아(증류수 처리)와 비교하여 유의성은 없었지만 총 함량은 높아지는 경향이였다. 그러나 베타글루칸 처리는 표준발아와 비교하여서도 총 이소플라본 함량이 낮아지는 것으로 나타났다.

Oh (2004) 등은 키토산 처리가 콩 발아 6일차 까지는 사포닌 함량을 증가시키나 7일차에는 감소하였으며, 베타글루칸 처리는 표준발아보다 사포닌 함량이 증가하는 경향이 나 큰 영향은 없다고 하였다. Lee *et al.* (2005)도 키토산 처리가 콩나물 생육 촉진 효과는 있으나 비타민 C 등 영양성분 함량에는 영향을 끼치지 않는다고 하였다. Kim *et al.*

Table 3. Types of isoflavone content with four biotic substances treatment during the germination period (ug/g, DW).

		Water	Germanium	Chitosan	Methyl-jasmonate	β-glucane
1	Aglycone	17.8 b	22.5 b	40.4 a	28.5 b	25.4 b
	Glucoside	714.6 b	804.6 a	739.6 ab	708.9 b	843.4 a
	Acetyl glucoside	12.3 a	14.4 a	11.3 a	13.9 a	15.0 a
	Malonyl glucoside	4163.0 a	4412.7 a	4877.6 a	4155.7 a	4407.3 a
3	Aglycone	36.0 bc	31.7 c	58.6 a	41.7 b	38.1 b
	Glucoside	660.4 b	802.2 a	783.8 a	805.6 a	802.2 a
	Acetyl glucoside	13.4 a	15.2 a	19.3 a	14.4 a	15.0 a
	Malonyl glucoside	4468.7 b	4551.2 b	5384.0 a	4286.7 b	4225.5 b
5 (Cotyledon)	Aglycone	22.2 b	53.6 ab	61.8 ab	79.2 a	33.5 b
	Glucoside	661.3 a	720.4 a	646.4 ab	732.0 a	603.3 b
	Acetyl glucoside	14.7 a	17.0 a	15.9 a	20.5 a	12.8 a
	Malonyl glucoside	4350.7 a	4401.8 a	4716.5 a	4162.3 a	3307.5 b
5 (Hypocotyl)	Aglycone	261.4 b	648.2 a	297.3 b	613.1 a	362.4 b
	Glucoside	2142.2 ab	3600.4 a	2270.2 ab	2793.8 ab	1704.0 b
	Acetyl glucoside	20.9 b	35.3 a	33.0 a	34.0 a	20.4 b
	Malonyl glucoside	8665.8 b	12182.5 a	9966.2 a	9353.6 a	5520.5 c

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

(2002)은 게르마늄을 처리하여 재배한 콩나물이 일반성분을 비롯하여 식이섬유, 페놀화합물, 비타민 및 무기질의 함량을 높였다고 하였다. Lee *et al.* (2004)은 methyl-jasmonic acid가 처리된 숙주나물 자엽에서 이소플라본 함량은 감소한다고 하였다.

품종별 이소플라본 함량 분석결과를 살펴보면 대풍2호에서 발아 1일차는 키토산>게르마늄>자스몬산>베타글루칸>표준발아의 순서로 총 이소플라본 함량이 높았으며, 3일차는 베타글루칸 처리가 자스몬산 처리보다 함량이 높았다. 5일차의 자엽과 배측에서는 베타글루칸 처리가 오히려 표준발아 처리보다 함량이 낮아졌다. 우람에서의 이소플라본 함량은 1일차에는 키토산과 베타글루칸 처리시 이소플라본 함량이 높았으며 자스몬산과 게르마늄은 유의성은 없었으나 표준발아 보다 함량이 높아지는 경향이였다. 3일차에는 키토산 처리가 다른 처리에 비해 이소플라본 함량을 높였다. 5일차의 자엽과 배측에서는 대풍2호와 같이 베타글루칸 처리가 오히려 표준발아 보다 함량이 낮아졌다. 풍산나물콩에서의 이소플라본 함량은 발아 1일 및 3일차에 키토산 처리가 제일 높았으며, 자스몬산과 게르마늄 처리는 표준발아와 큰 차이가 없었다. 그러나 베타글루칸은 발아시간이 경과에 상관없이 다른 처리에 비해 이소플라본 함량

이 낮아졌는데 이것은 발아기간이 경과함에 따라 발아형태가 불량해지는 것과 관련이 있을 것으로 판단된다. 따라서 베타글루칸은 콩 발아에 부정적 영향을 끼치는 것으로 사료된다.

면역 물질 처리 시 발아시간 경과에 따른 이소플라본 종류별 함량을 분석하였다(Table 3, Table 4). 표에서 보는 바와 같이 발아시간 경과에 상관없이 malonyl-glucoside>glucoside>aglycone>acetyl-glucoside 순서로 이소플라본 함량이 높았다.

발아일수 별로 살펴보면 3일차의 총 이소플라본 함량이 1일차 보다 높아졌으므로 각각의 이소플라본 종류별 함량도 3일차가 1일차 보다 높았다. 특히 3일차의 아글리콘과 malonyl-glucoside 함량이 1일차 보다 많이 높아졌다. 자엽과 1일차의 이소플라본 종류별 함량을 비교하면 aglycone 함량에서 자엽이 1일차 보다 높아진 반면 다른 이소플라본 종류는 자엽에서의 함량이 1일차와 대동소이 하였다. 발아일수 별 aglycone 함량을 총 이소플라본 함량에서 차지하는 비율로 살펴보면 1일차, 3일차, 자엽에서 각각 0.51%, 0.77%, 1.01%로 발아일수 경과에 따라 점차 높아짐을 알 수 있었다. 배측에서 이소플라본 함량은 1일차, 3일차 및 자엽과는 차이가 있었는데 종실 등에서 malonyl-glucoside 함량이 85% 내외이었음에 반해 배측에서는 76%이었으며,

Table 4. Average content of individual isoflavones during germination with treatment of four biotic substances (ug/g, DW).

		Aglycone			Glucoside			Malonyl-glucoside			Acetyl-glucoside	
		Daidzein	Glycitein	Genistein	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzin	Genistin
Daepung 2-ho	1	10.8c	4.3bc	8.2d	345.3ab	147.6a	527.9a	1903.0b	370.4a	2984.1a	12.0c	1.9b
		±0.7	±0.4	±0.7	±16.1	±8.2	±17.0	±118.4	±32.5	±308.4	±0.5	±0.05
	3	22.6a	7.9a	16.3c	382.5a	143.7a	522.3a	2021.8ab	369.9a	3136.8a	15.3bc	3.3a
		±0.9	±0.4	±0.1	±19.5	±10.7	±17.3	±166.2	±38.4	±452.1	±0.6	±0.09
	5 (Cotyledon)	17.1b	4.0c	20.1b	352.8ab	18.2c	514.7a	1813.2b	51.8d	3133.4a	12.8c	2.5a
		±1.1	±0.05	±0.4	±13.7	±2.9	±9.5	±119.7	±12.4	±386.9	±0.7	±0.6
5 (Hypocotyl)	278.7a	215.3a	135.3a	1263.7a	1833.6a	460.7a	5036.4b	4868.0a	1516.6a	33.8a	6.1a	
	±11.5	±10.0	±7.9	±115.9	±122.3	±14.0	±174.9	±139.8	±150.7	±1.5	±0.2	
Uram	1	17.5b	3.6d	14.8c	357.7ab	57.9b	399.9b	2103.2ab	163.4b	2571.8b	16.1b	0.9c
		±1.1	±0.08	±0.7	±17.1	±6.5	±12.1	±145.0	±7.5	±257.9	±0.1	±0.01
	3	21.9a	5.9b	17.2bc	349.7ab	61.6b	400.0b	2258.1a	179.7b	2661.1b	17.0ab	0.7cd
		±1.6	±0.2	±0.9	±9.6	±7.3	±12.3	±129.7	±8.7	±363.2	±1.2	±0.01
	5 (Cotyledon)	26.2a	4.4bc	38.7a	326.1b	10.7d	380.4b	1848.6b	22.1e	2783.1ab	20.1a	1.1c
		±2.6	±0.2	±1.1	±9.8	±1.1	±14.2	±105.1	±1.8	±379.7	±1.9	±0.01
5 (Hypocotyl)	264.5a	91.7b	85.6b	1168.8a	980.3b	382.4b	6004.6a	2846.4b	1459.2a	29.0a	4.6b	
	±14.2	±7.9	±10.2	±125.6	±148.5	±15.5	±199.3	±105.4	±148.5	±0.9	±0.2	
Pungsan namul- kong	1	12.7c	3.8d	4.9e	183.0c	58.0b	209.5c	1242.2c	144.2c	1727.6c	8.3d	0.9c
		±1.9	±0.1	±0.3	±8.9	±3.1	±8.0	±58.9	±7.0	±85.6	±0.9	±0.01
	3	16.0b	5.1b	10.8d	193.7c	50.3b	208.8c	1266.7c	131.5c	1724.1c	9.5d	0.7cd
		±0.9	±0.2	±1.1	±13.6	±6.3	±6.1	±86.0	±3.3	±298.8	±0.7	±0.01
	5 (Cotyledon)	17.1b	4.5bc	18.1b	175.3c	12.6d	229.7c	1067.2c	15.3f	1881.8c	9.6d	3.6a
		±0.8	±0.1	±0.8	±10.5	±0.7	±8.7	±72.9	±0.8	±213.8	±0.2	±0.1
5 (Hypocotyl)	158.1b	28.0c	52.6c	825.5b	396.8c	194.5c	3488.0c	1257.1c	937.0b	8.8b	4.0b	
	±8.8	±9.3	±6.6	±108.7	±11.8	±10.2	±144.5	±116.6	±107.8	±0.1	±0.09	

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

aglycone과 glucoside 함량이 종실 등에 비해 높았다. 따라서 발아기간이 경과함에 따라 이소플라본 종류별 축적 정도가 다를 수 있었다(Table 3).

처리별 효과에서는 키토산 처리가 발아시간 경과에 상관 없이 모든 이소플라본 종류에서 함량이 가장 높았으나 다른 처리들은 이소플라본 종류별 함량에 큰 차이를 보이지 않았다. 이소플라본 종류별 함량 차이는 앞에서 언급하였다시피 아글리콘의 함량이 시간경과에 따라 높아졌는데 특히 자엽의 경우, 키토산, 자스몬산, 게르마늄 처리 시 aglycone 함량이 표준발아 처리보다 높았으며 베타글루칸 처리도 유의성은 없었으나 33.5 ug/g으로 표준발아의 22.2 ug/g보다 높았다. 배축에서의 처리별 함량은 게르마늄, 키토산, 자스몬산 처리는 표준발아 보다 함량을 높였으나 베타-글루칸 처리는 표준발아와 함량이 비슷하였다. 배축에서 aglycone

함량은 다른 이소플라본 종류보다 처리별 차이가 컸었는데 자스몬산, 게르마늄 처리 시 함량이 표준발아 처리보다 2배 이상 높았다. Acetyl-glucoside 함량도 처리별 차이가 컸는데 자스몬산, 게르마늄, 키토산 처리 시 함량이 표준발아보다 1.5배 정도 높아졌다.

Table 4는 개별 이소플라본 종류별 함량을 분석한 결과로써 aglycone의 daidzein은 대풍2호 3일차, 우람 3일차 및 자엽에서 함량이 높았다. Glycitein은 대풍2호 3일차에서 높았으며, genistein은 우람 자엽에서 높았다. Glucosides 함량은 대풍2호의 1일 및 3일차에서 높았으며, malonyl-glucoside에서도 대체로 대풍2호의 1일 및 3일차에서 함량이 높았다. Acetyl-glucoside 함량은 acetyl-daidzin의 경우 우람 자엽에서 높았으며, acetyl-genistin은 대풍2호 3일차 및 자엽, 그리고 풍산나물콩 자엽에서 함량이 높았다. 그러나 acetyl-

Table 5. Isoflavone content of soybean cultivars during germination with green teas and ginsengs extracts treatment (ug/g, DW).

		Water	Green tea 0.025%	Green tea 0.05%	Ginseng 1.5 ppm	Ginseng 3.0 ppm
Daepung 2-ho	1	6574.3a±206.8	6059.4b±158.8	6264.1ab±205.4	6512.5a±72.0	6395.0ab±52.0
	3	6661.2a±81.5	6345.3a±125.2	6281.5a±243.6	6647.7a±163.4	6532.9a±209.0
	5 (Cotyledon)	5538.7c±179.3	5881.8bc±218.4	6361.9ab±209.8	6869.1a±311.1	6781.6a±235.2
	5 (Hypocotyl)	13272.7c±710.6	17484.7a±342.4	14592.5bc±505.6	13584.3c±549.4	16701.1ab±795.6
Uram	1	5394.6c±120.0	5879.8a±195.1	5814.1a±149.8	5540.8bc±137.7	5747.4ab±81.6
	3	5545.6b ±84.6	5874.8a±149.6	5793.4ab±116.2	5939.1a±29.8	5910.3a±150.9
	5 (Cotyledon)	4669.4c±123.6	5363.7b±282.3	5349.4b±317.3	5580.8ab±282.6	5974.0a±82.1
	5 (Hypocotyl)	13181.3bc±220.6	16571.5a±702.5	12357.2c±264.0	15518.3ab±410.9	14534.7abc±218.0
Pungsan namul-kong	1	3576.6ab±50.8	3547.1b±141.2	3669.4ab±90.2	3675.6ab±150.5	3821.3a±35.6
	3	3718.7a±192.2	3789.3a±220.0	3754.3a±107.0	3456.1a±44.4	3705.4a±103.5
	5 (Cotyledon)	3084.1b±47.5	3282.2b±192.9	4100.6a±170.4	3423.6b±142.1	3122.0b±255.0
	5 (Hypocotyl)	7786.8b±289.2	7598.5b±237.3	7901.1b±167.0	7388.7b±26.7	10214.2a±312.4

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

glycitin은 모든 시료에서 분석되지 않았다.

자엽에서는 발아 1일 및 3일차와는 달리 특이하게 aglycones 함량이 높아졌는데 genistein의 경우 우람 자엽에서의 함량이 38.7 ug/g 으로 1일 및 3일차 보다 2배이상 높았으며, 대풍2호와 풍산나물콩의 경우도 자엽에서 1일 및 3일보다 높았다. 배측에서의 이소플라본 함량을 품종별로 분석한 결과 aglycone과 glucoside는 대풍2호에서 함량이 높았으며 malonyl-glucoside는 malonyl-daidzin은 우람, malonyl-glycitin은 대풍2호, malonyl-genistin은 대풍2호와 우람에서 높았다. 배측에서 acetyl-glucoside 함량은 acetyl-daidzin의 경우 대풍2호와 우람에서 높았으며, acetyl-genistin은 대풍2호에서 함량이 높았다.

이와 같이 개별 이소플라본 함량은 품종에 따라 다를 뿐만 아니라 발아종자의 조직별로도 다르게 나타났다. 따라서 이소플라본 축적 정도에는 유전적 요인이 상당히 영향을 끼치는 것으로 판단된다. Gutierrez-Gonzalez *et al.* (2010)은 콩에서 이소플라본은 종자와 잎에 풍부하게 함유되어 있다고 하였다.

녹차 및 인삼 추출물이 콩 발아 중 이소플라본 함량에 미치는 영향

Table 5는 녹차 및 인삼 추출물 처리 시 발아시간 경과에 따른 공시품종의 이소플라본 함량 변화에 관한 결과이다.

발아 1일 및 3일차에는 처리간 유의성이 크지 않았으며 자엽과 배측에서의 이소플라본 함량은 녹차 및 인삼 추출물이 표준발아 보다 높았으나 처리 간에는 유의성이 나타

나지 않았다. Kim *et al.* (2006)은 0.05% 녹차물 처리시 콩나물 생육이 왕성해지며 항산화 활성도 높아진다고 하였으며, Choi *et al.* (2003)도 인삼 추출물이 콩나물 생육을 촉진시키며 아미노산, 유기산 및 유리당 함량을 증가시킨다고 하였다.

품종별 분석결과를 살펴보면 대풍2호에서 발아 1일차는 약초 추출물 처리 보다 표준발아에서 이소플라본 함량이 높았으나, 3일차는 처리간 차이가 없었다. 5일차의 자엽과 배측에서는 약초 추출물 처리가 이소플라본 함량을 높였다. 특히 자엽에서는 인삼 추출물 처리에서 함량이 높았으며, 배측에서는 녹차 0.025% 처리에서 17,484.7 ug/g을 나타내어 효과가 제일 컸다. 우람에서의 이소플라본 함량은 발아 일수에 상관없이 약초 추출물 효과가 나타났다. 1일차에는 녹차 추출물의 효과가 큰 반면, 3일차 및 자엽과 배측에서는 인삼 추출물의 효과가 크게 나타났는데 배측에서는 대풍2호와 같이 녹차 0.025% 처리에서 이소플라본 함량이 제일 높았다. 풍산나물콩에서의 이소플라본 함량은 발아 1일 및 3일차에는 처리간 유의성이 크지 않았으나 자엽과 배측에서는 유의성이 인정되었다. 특히 자엽에서는 녹차 0.05, 배측에서는 인삼 3.0에서 이소플라본 함량이 가장 높았다. 따라서 약초 추출물 처리는 발아일수에 따른 이소플라본 함량 증대에 어느 정도 영향을 끼치나 그 효과가 크지 않은 것으로 나타났으며 대체로 인삼 추출액 처리가 이소플라본 함량을 높이는 경향이였다. 그러나 약초 추출물 처리가 이소플라본 함량에서 품종간 차이는 유발함을 알 수 있었는데 우람에서 처리간 차이가 많이 나타나는 반면 풍

Table 6. Average contents of individual isoflavones during germination with green teas and ginsengs extracts treatment (ug/g, DW).

		Aglycone			Glucoside			Malonyl-glucoside			Acetyl-Daidzin
		Daidzein	Glycitein	Genistein	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzin	Glycitin	Genistin	
Daepung 2-ho	1	12.3d ±1.9	0.2c ±0.1	15.4c ±2.8	379.9ab ±18.6	150.6a ±8.4	641.4a ±14.0	1808.9b ±50.7	359.1a ±11.2	2991.7b ±118.5	1.7ab ±0.1
	3	38.6cd ±2.5	13.7a ±2.1	45.2bc ±2.0	392.7a ±24.4	145.2a ±8.5	603.2b ±31.8	1853.4b ±104.2	348.1a ±10.9	3051.8ab ±69.4	1.9ab ±0.1
	5 (Cotyledon)	91.5bc ±9.4	11.5a ±1.3	140.0ab ±10.4	365.5ab ±17.4	6.6d ±0.5	580.0b ±37.2	1729.1b ±162.1	72.5d ±8.8	3287.1a ±294.7	2.9a ±0.2
	5 (Hypocotyl)	638.3b ±39.1	489.1a ±39.3	452.9b ±35.9	1000.0b ±111.0	1842.1a ±215.8	378.4a ±43.1	4262.1ab ±355.7	4061.4a ±213.7	1993.2a ±136.1	9.7b ±1.5
Uram	1	45.0cd ±5.0	0.0	56.5bc ±4.2	386.7ab ±23.5	54.8b ±5.8	429.6c ±41.0	2024.7a ±30.6	171.3b ±7.5	2550.1c ±143.6	2.0ab ±0.1
	3	112.8ab ±20.4	5.4b ±0.2	117.7abc ±20.0	371.9ab ±13.0	53.3b ±3.8	389.3c ±12.4	2058.3a ±52.8	172.6b ±9.2	2529.6c ±90.1	1.8ab ±0.2
	5 (Cotyledon)	172.0a ±10.6	12.1.4a ±1.32	205.37a ±13.9	335.5b ±42.9	1.9d ±0.1	365.4c ±44.6	1862.1b ±207.1	50.4e ±4.5	2385.4c ±244.9	2.2ab ±0.2
	5 (Hypocotyl)	1186.7a ±293.0	476.6a ±33.2	561.3a ±39.7	1272.2a ±148.6	1195.8b ±157.3	304.6b ±25.5	5067.0a ±413.5	28428.3b ±166.2	1560.5b ±111.9	20.1a ±1.6
Pungsan namul- kong	1	7.7d ±0.7	0.8bc ±0.1	6.5c ±0.2	198.4c ±12.2	43.1c ±2.8	239.7d ±22.1	1325.1c ±58.7	130.2c ±5.6	1706.3d ±45.0	0.3b ±0.0
	3	30.4cd ±302	2.2bc ±0.1	25.5c ±1.8	217.2c ±17.6	41.9c ±4.3	240.0d ±24.7	1274.6cd ±24.3	124.6c ±6.9	1728.5d ±57.1	0.0
	5 (Cotyledon)	43.8cd ±3.9	4.9b ±0.3	51.1bc ±6.1	196.6c ±21.4	0.4d ±0.0	249.3d ±16.0	1151.0d ±95.6	22.7f ±1.3	1702.7d ±228.7	0.2b ±0.0
	5 (Hypocotyl)	241.4c ±19.7	116.6b ±18.7	165.3c ±17.4	773.0c ±56.7	525.6c ±41.7	188.9c ±19.5	3738.8b ±144.6	1370.4c ±119.4	1055.8c ±95.0	1.8c ±0.2

*The same letter in a row is not significantly different according to the DMRT (5%)

산나물콩에서는 처리간 효과가 크지 않았다.

Table 6은 녹차 및 인삼 추출물 처리 시 발아시간 경과에 따른 개별 이소플라본 함량을 분석한 결과로써 면역활성제 처리와 같이 발아시간 경과에 상관없이 malonyl-glucoside>glucoside>aglycone>acetyl-glucoside 순서로 함량이 높았다.

발아 1일 및 3일차에서 약초 추출물이 이소플라본 종류별 함량에 끼치는 영향은 표준발아 대비 aglycone에서 유의성이 나타났다. 자엽에서는 약초 추출물이 aglycone과 glucoside의 함량을 높였으며, 배축에서도 aglycone 함량이 높아졌는데 특히 녹차 0.025% 처리에서 함량이 다른 처리에 비해 월등히 높았다(data 미제시).

개별 이소플라본 함량을 분석한 결과 aglycone은 발아일수 경과에 따라 함량이 높아졌으며, 3 공시품종 모두 자엽에서 함량이 가장 높았다. Glucoside의 경우 발아 1일차와 3일차 간 유의성이 없는 반면 자엽에서 함량은 3일차에 비해 떨어졌다. Malonyl-glucoside 함량에서 malnonyl-daidzin은

대풍2호에서 발아일수 간 차이가 없었으나 우람과 풍산나물콩은 자엽에서 함량이 가장 낮았다. Malnonyl-glycitin은 세 품종 모두 자엽에서 함량이 떨어졌으며, malnonyl-genistin은 대풍2호에서는 자엽에서 함량이 가장 높았으나 우람과 풍산나물콩에서는 발아일수 간 차이가 없었다. Acetyl-glucoside 함량은 세 품종 모두 acetyl-daidzin만 함량이 분석되었으며, acetyl-glycitin과 acetyl-genistin은 검출되지 않았다.

배축에서 개별 이소플라본 함량을 분석한 결과 aglycone은 우람에서 함량이 높았으며, malonyl-glucoside은 대풍2호에서 높았다. Glucoside의 경우, daidzin은 우람, glycitin과 genistin은 대풍2호에서 함량이 높았다. Acetyl-daidzin의 경우 우람에서 함량이 가장 높았다. 이와 같이 약초 추출물 처리의 개별 이소플라본 함량은 면역활성제 처리와 같이 품종 및 조직에 따라 다르게 나타났다. 그리고 품종 및 조직에 따른 이소플라본 축적 양상은 약초 추출물 처리와 면역활성제 처리에서 다소 비슷한 양상을 띠는 경향이였다.

Table 7. Isoflavone content of soybean at 3 days of germination when treated with some biotic substances (ug/g, DW).

		Methyl-jasmonate		Chitosan		β-glucane		Germanium		
		Water (A)	Content (B)	B/A	Content (C)	C/A	Content (D)	D/A	Content (E)	E/A
2018	Daepung2-ho	5996.9	5698.7	95.0	7867.8	131.2	7014.1	117.0	6636.6	110.7
	Uram	5834.2	5939.5	101.8	6657.4	114.1	5721.3	98.1	5711.6	97.9
	Pungsannamul-kong	3705.0	3807.6	102.8	4212.5	113.7	2507.6	67.7	3853.1	104.0
	Mean	5178.7	5148.6	99.4	6245.9	120.6	5081.0	98.1	5400.4	104.3
		Green tea 0.025%		Green tea 0.05%		Ginseng 1.5 ppm		Ginseng 3.0 ppm		
		Water (F)	Content (G)	G/F	Content (H)	H/F	Content (I)	I/F	Content (G)	G/F
2019	Daepung2-ho	6661.2	6345.3	95.3	6281.5	94.3	6647.7	99.8	6532.9	98.1
	Uram	5545.5	5874.8	105.9	5793.4	104.5	5939.1	107.1	5910.3	106.6
	Pungsannamul-kong	3718.7	3789.3	101.9	3754.3	101.0	3456.1	92.9	3705.4	99.6
	Mean	5308.5	5336.5	100.5	5276.4	99.4	5347.6	100.7	5382.9	101.4

Table 7은 면역활성제 및 약초 추출물 등 biotic 물질이 콩 발아 중 이소플라본 함량에 미치는 영향을 발아 3일차에 표준발아와 비교 분석한 결과이다.

표에서 보는 바와 같이 이소플라본 함량은 품종과 처리 간 상호작용이 있는 것으로 판단된다. 면역활성제 처리(2018년)에서 베타글루칸 처리의 경우 대풍2호에서는 표준발아 대비 117%의 이소플라본 함량이 분석되었으나 풍산나물콩의 경우 67.7%로 감소하였다. 처리 간 비교에서 키토산 처리가 공시된 3 품종 평균 120.6%로 이소플라본 함량을 높였으나 기타 처리군에서는 표준발아 대비 함량이 비슷하거나 오히려 떨어지는 경향이였다. 녹차 및 인삼 추출물 처리(2019년)에서는 3 품종 평균으로 볼 때 이소플라본 함량이 표준발아 대비 99.4%~101.4%로 큰 효과가 없었다. 다만 우람에서는 모든 처리가 104.5%~106.6%의 수준으로 이소플라본 함량을 높이는 결과를 나타내었다. Lee *et al.* (2018)은 대사물질과 식물생장조절제를 사용하여 콩 발아기간 중 이소플라본 함량 변이를 분석한 결과 NAA의 효과가 컸으며, 품종과 처리 간에는 상호작용이 있다고 하여 본 연구결과와 같은 결과를 나타내었다.

이와 같은 결과를 볼 때 일부 biotic 물질은 콩 발아 중 이소플라본 함량 증대에 어느 정도 기여함을 알 수 있었으며 그 효과는 품종과 물질 처리간 상호작용도 관여하는 것으로 사료된다.

적 요

콩 발아기간 중 몇 가지 면역활성제(자스몬산, 키토산,

베타글루칸 및 게르마늄)와 녹차 및 인삼 추출물이 이소플라본 함량 증대에 미치는 영향에 대하여 알아보았다.

1. 대부분의 처리에서 발아시간이 경과함에 따라 이소플라본 함량이 높아졌는데 면역활성제 중에서는 키토산 처리가 이소플라본 함량 증대에 가장 큰 효과가 있었으며 약초추출물 처리는 효과가 미미하였다.
2. 품종별 이소플라본 함량은 모든 처리에서 대풍2호>우람>풍산나물콩의 순서로 높았으며 이소플라본 함량은 품종과 biotic 물질 처리간 상호작용도 영향을 미치는 것으로 판단된다.
3. 개별 이소플라본 종류별 함량을 분석한 결과 malonyl-glucoside>glucoside>aglycone>acetyl-glucoside 순서로 함량이 높았으며 발아가 진행되면서 aglycone 함량이 증가하는 경향이였다.

따라서 콩 발아기간 중 biotic 물질 처리는 어느 정도 이소플라본 함량을 증대시키며 품종과 물질처리간 상호작용 효과도 있음을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청(농업공동연구, 과제번호-PJ012512 012019) 및 순천향대학교의 학술연구비 지원으로 수행되었음.

인용문헌(REFERENCES)

- Ahmad, M. Z., P. Li, J. Wang, N. U. Rehman, and J. Zhao. 2017. Isoflavone malonyltransferases GmlMaT1 and GmlMaT3 differently modify isoflavone glucosides in soybean under various stresses. *Front. Plant Sci.* 8:735. doi:10.3389/fpls.2017.00735.
- Choi, S. D., Y. H. Kim, S. H. Nam, M. Y. Shon, and J. H. Choi. 2003. Changes in major taste components of soybean sprout germinated with extract of Korean *Panax ginseng*. *Korean J. Lie Sci.* 13(3) : 273-279.
- Gutierrez-Gonzalez, J. J., S. K. Guttikonda, L. P. Tran, D. L. Aldrich, R. Zhong, O. Yu, H. T. Nguyen, and D.A. Slepser. 2010. Differential expression of isoflavone biosynthetic genes in soybean during water deficits. *Plant and Cell Physiology.* 51(6) : 936-948.
- Gutierrez-Gonzalez, J. J., X. Wu, J. Zhang, D. Lee, M. Ellersieck, L. G. Shannon, *et al.* 2009. Genetic control of soybean seed isoflavone content: importance of statistical model and epistasis in complex traits. *Theor. Appl. Genet.* 119:1069-1083.
- Hasanah, Y., T. C. Nisa, H. Armidin, and H. Hanum. 2015. Isoflavone content of soybean [*Glycine max* (L). Merr.] cultivars with different nitrogen sources and growing season under dry land conditions. *JAEID.* 109:5-17.
- Hong, S. Y., S.J. Kim, H. B. Sohn, Y. H. Kim, and K. S. Cho. 2018. Comparison of Isoflavone Content in 43 Soybean Varieties Adapted to Highland Cultivation Areas. *Korean J. Breed. Sci.* 50(4) : 442-452.
- Jo, M. S., J. H. Lee, M. H. Ma, S. Y. Kim, C. R. Byun, Y. J. Yi, J. W. Lee, D. J. Choi, H. S. Kim, and Y. H. Kim. 2019. Influence of abiotic treatments on isoflavone accumulation in soybean seeds during germination. *Korean J. Crop Sci.* 64(1) : 18-24.
- Kim, E. J., K. I. Lee, and K. Y. Park. 2002. Quality analysis of nutrients in soybean sprouts cultured with germanium. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31(6) : 1150-1154.
- Kim, K. S., S. Y. Jung, J. G. Chung, and M. K. Shin. 2006. Antioxidative and amylase activity of soybean sprouts by treatment of green tea water extract. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 16(4) : 447-452.
- Ko, K. P., Y. Yeo, J. H. Yoon, C. S. Kim, S. Tokudome, L. T. Ngoan, C. Koriyama, Y. K. Lim, S. H. Chang, H. R. Shin, D. Kang, S. K. Park, C. H. Kang, and K. Y. Yoo. 2017. Plasma phytoestrogens concentration and risk of colorectal cancer in two different Asian populations. *Clinical Nutrition* <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2017.07.014>.
- Ko, K.P. 2014. Isoflavones: Chemistry, Analysis, Functions and Effects on Health and Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15(17): 7001-7010.
- Lee, J. H., I. M. Chung, S. J. Park, W. H. Kim, S. Y. Kim, J. A. Kim, and W. S. Jung. 2004. Manipulating isoflavone levels in mungbean sprouts by chemical treatment. *Korean J. Crop Sci.* 49(6) : 528-532.
- Lee, J. W., Y. J. Yi, J. H. Lee, M. S. Jo, D. J. Choi, M. H. Ma, H. S. Kim, D. O. Kim, H. T. Yun, and Y. H. Kim. 2018. Quantification of isoflavone malonylglucosides in soybean seed during germination. *Korean J. Crop Sci.* 63(3) : 239-247.
- Lee, Y. S, Y. H. Kim, and S. B. Kim. 2005. Changes in the respiration, growth, and vitamin C content of soybean sprouts in response to chitosan of different molecular weights. *Hortscience* 40(5) : 1333-13335.
- Ludmila Křížová, L., K. Dadáková, J. Kašparovská, and T. Kašparovský. 2019. Isoflavones. *Molecules* 24(6). <https://doi.org/10.3390/molecules24061076>.
- Miladinović, J., V. Đorđević, S. Balešević-Tubić, K. Petrović, M. Čeran, J. Cvejić, M. Bursać, and D. Miladinović. 2019. Increase of isoflavones in the aglycone form in soybeans by targeted crossings of cultivated breeding material. *Scientific Reports.* <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46817-1>.
- Oh, B. Y. 2004. Effects of elicitor treatment on changes of saponin content in soybean sprout during cultivation. Ph.D Thesis. Dept. of Homeeconomics. Mokpo Natl. Univ.
- Wang, Q., X. Ge, X. Tian, Y. Zhang, J. Zhang, and P. Zhang. 2013. Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (Review). *Biomed. Rep.* 1(5) : 697-701.
- Yang, Hui., J. Gao, A. Yang, and H. Chen. 2015. The ultrasound-treated soybean seeds improve edibility and nutritional quality of soybean sprouts. *Food Research International.* 77 : 704-710.
- Yoneyama, K., T. Akashi, and T. Aoki. 2016. Molecular characterization of soybean pterocarpan 2-dimethylallyltransferase in glyceollin biosynthesis: Local gene and whole-genome duplications of prenyltransferase gene led to the structural diversity of soybean prenylated isoflavonoids. *Plant Cell Physiol.* 57(12) :2497-2509.
- Yuk, H. J., Y. H. Song, M. J. Curtis-Long, D. W. Kim, S. G. Woo, Y. B. Lee, Z. Uddin, C. Y. Kim, and K. H. Park. 2016. Ethylene induced a high accumulation of dietary isoflavones and expression of isoflavonoid biosynthetic genes in soybean leaves. *J. Agric. Food Chem.* 64 : 7315-7324.
- Yun, J., X. Li, X. Fan, W. Li, and Y. Jiang. 2013. Growth and quality of soybeans sprouts as affected by gamma irradiation. *Radiation Physics Chem.* 82 : 106-111.
- Zhang, J., Y. Ge, F. Han, B. Li, S. Yan, J. Sun, and L. Wang. 2014. Isoflavone Content of Soybean Cultivars from Maturity Group 0 to VI Grown in Northern and Southern China. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91(6) : 1019-1028.