

## *Rhizopus oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 아미노산, 피틴산 및 트립신 저해제 함량

†박혜영 · 송하나\* · 김현주 · 서민정\*\* · 최혜선 · 박지영 · 심은영 · 김홍식\*\*\*

농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구사, \*농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 전문연구원,  
\*\*농촌진흥청 혁신행정법무담당관실, 농업연구사, \*\*\*농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구관

### Amino Acid, Phytic Acid, and Trypsin Inhibitor Contents of Korean Soybeans Before and After Fermentation by *Rhizopus oligosporus*

†Hye-Young Park, Hana Song\*, Hyun-Joo Kim, Min-Jung Seo\*\*, Hye Sun Choi,  
Jiyoung Park, Eun-Yeong Sim and Hong-Sik Kim\*\*\*

Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

\*Post-Doctor, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

\*\*Researcher, Dept. of Management Innovation and Legal Affairs Division, RDA, Jeonju 54875, Korea

\*\*\*Senior Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea

#### Abstract

This study investigated the nutritional characteristics of before and after fermentation of domestic soybean (*Glycine max* L.) by *Rhizopus oligosporus*. The soybean storage proteins,  $\beta$ -conglycinin (11S globulin) and glycinin (7S globulin), were the most abundant in Seonyu (SY) and Danbaegkong (DBK), with concentrations of 253.4 mg/g and 193.0 mg/g, respectively. For 11S/7S related to sulfur-containing amino acid, DBK had a value of 0.95, making it the most excellent nutritionally among all the cultivars. The free amino acid content significantly increased from 0.04~10.45 mg/g before fermentation to 1.37~16.95 mg/g after fermentation, and the essential amino acid composition increased, confirming an improvement in protein quality after fermentation. Phytic acid, known as a nutritional inhibitor of soybeans, decreased from 1.66~2.13 g/100 g before fermentation to 0.90~1.58 g/100 g after fermentation, suggesting that mineral absorption inhibition was alleviated. In addition, the trypsin inhibitor content is suppressed by 76.20% to 81.25% after fermentation, which is expected to improve protein utilization in the body. This study confirmed some properties of fermented products by *Rhizopus oligosporus* using domestic soybeans, and these results are presented to serve as the basic data for establishing new uses of Korean soybean cultivars.

Key words: soybean, *Rhizopus oligosporus*, amino acid, phytic acid, trypsin inhibitor

#### 서 론

콩(*Glycine max* L.)은 식물성 원료이면서 우수한 영양성분이 많이 함유되어 있어, ‘밭에서 나는 소고기’로 불렸으며, 한국인의 식단에 포함되어 오랜 세월을 함께하였다. 실제 콩에 들어있는 영양성분은 소고기 등심만큼 높으며, 식이섬유, 티

아민, 리보플라빈, 니아신, 폴린산, 비타민K, 철, 아연, 인, 칼슘 그리고 마그네슘 등이 포함되어 있어, 콩은 우리에게 최고의 식품 원료로 한국인의 식생활에 큰 비중을 차지하고 있다(RDA 2021). 지금까지 콩의 자급률을 높이기 위하여 다양한 정책들이 추진되어, 2016년 이후 연 12%의 꾸준한 증가로 2022년 국내 콩 생산량은 12만 9,925톤을 나타냈고, 재배면

† Corresponding author: Hye-Young Park, Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16613, Korea. Tel: +82-31-695-0626, Fax: +82-31-695-0609, E-mail: phy0316@korea.kr

적은 전년 대비 17% 증가한 63,956헥타르를 기록하였다(Ha BK 2023). 그러나 여전히 낮은 콩 자급률과 수입 콩의 비중이 높아 국내 생산 기반 확충과 수입 콩과의 차별화된 고부가가치 콩 소재 개발이 필요한 때이다.

콩을 이용한 발효식품은 오랜 역사를 지니며 각국의 전통 식품으로 이어져 왔고, 많은 연구를 통해 그 우수성이 알려졌다. 이러한 식품 중 템페(Tempeh)는 인도네시아의 가장 대표적인 발효식품으로 단백질, 칼로리, 비타민의 주요 공급원이었다. 템페란 대두에 *Rhizopus* 곰팡이균을 접종하여 발효시켰을 때, 순하고 향긋한 향을 내며 잘 제조된 템페는 하얀 곰팡이 균사로 완전히 덮여 있을 뿐 아니라, 그 내부까지 깊이 침투되어 촘촘한 덩어리 형태를 하고 있다(Jung DH 2006). 이렇게 완성된 템페는 튀기거나 굽거나 끓이는 2차 가공으로 폭넓은 활용 범위를 가지며, 이미 알려진 많은 영양 및 기능적 우수성을 통해 국산 콩의 고부가가치 증대를 실현할 수 있는 발효 소재가 아닌가 생각한다.

지금까지 다양한 템페 연구가 수행되었는데 그중 발효에 의한 템페 고형조직 관련 연구로 Varzakas T(1998)는 endoglucanase와 endoxylanase 확산을 곰팡이 균사의 움직임과 연관한 모델을 제시하였고, Sugai-Guérios 등(2016)은 템페 집락화와 관련하여 *Rhizopus oligosporus*의 2가지 균사 역할과 효과를 설명하였다. 템페 기능성 연구는 발효에 의한 phytic acid 감소와 그 효과(Sudarmadji & Markakis 1977; Park & Yoon 1983), L-dihydroxy phenylalanine과 페놀성 항산화능 증가(Randhir 등 2004), 특정 품종과 부위에서의 isoflavone 변화(Nakajima 등 2005), 뇌의 신경염증 저감에 따른 기억력 개선(Ahmad 등 2014) 등이 보고되었고, 그 외 여러 기능성과 다양한 이용 측면에 대한 정보도 제시되었다(Kim JT 1986; Lee JK 1988; Romulo & Surya 2021). 또한 대두 외 작물 활용 연구에서 Kim 등(1990)은 대두와 수수를 혼합한 템페에서 trypsin inhibitor와 phytic acid 감소를 확인하였고, Cuevas-Rodríguez 등(2006)은 고상 발효를 통해 quality protein maize의 단백질 품질 향상을 보고하였으며, Vaidehi 등(1985)은 기존 템페보다 sunflower 혼합 템페의 기호도가 더 우수하다는 결과를 제시하였다. 그러나 국산 콩 적용 연구는 많이 이루어지고 있지 않아 본 연구에서는 국산 콩 주요 품종인 단백질콩, 대풍, 대원콩, 새단백, 선유, 청자4호를 중심으로 각 품종에 따른 차이와 *Rhizopus oligosporus* 발효 전·후의 변화를 살펴 향후 국산 콩 대상의 단백질 소재 개발을 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험재료

본 연구의 시험재료는 국내 육성된 콩 품종인 단백질콩

(*Glycine max* cv. Danbaegkong, DBK), 대풍(cv. Daepung, DP), 대원콩(cv. Daewonkong, DWK), 새단백(cv. Saedanbaek, SDB), 선유(cv. Seonyu, SY), 청자4호(cv. Cheongja4ho, CJ4)를 대상으로 하였다. 시험품종은 Song 등(2021)의 연구에서 콩의 100립중이 큰 것, 조단백질 함량이 높은 것, 콩 발효물의 높은 정도로 견고한 조직의 고품 발효물이 만들어지는 것을 선발하였고, 6개의 품종은 경기도 수원에 있는 국립식량과학원 증부작물부 시험포장에서 2020년 직접 생산한 것을 실험에 사용하였다.

### 2. 시료 제조

원료 시료는 콩을 1분간 분쇄기(FM-700SS, Hanil Inc., Wonju, Korea)로 분쇄하여 100 mesh의 체로 내린 후  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 사용하였다. *R. oligosporus* 발효물 시료는 Egounlety & Aworh(2003)와 Azeke 등(2007)의 템페 제조법을 참조하여 제조하였다. 콩 50 g에 충분한 양의 물을 넣고 인덕션레인지(HC-IH4000, 1800W, Happycall Ltd., Seoul, Korea)로 30분 가열 후 탈피한 다음, 전기보일러(DA-2, Kyung Chang, Seoul, Korea)에서 발생하는  $100^{\circ}\text{C}$ 의 스팀으로 2시간 동안 증가하였다. 상온으로 식힌 콩에 상업용 종균(*R. oligosporus*, Wira brand ragi tempeh, Jans Enterprises Corp., El Monte, CA, USA)을 원료 무게의 1.5%로 접종한 다음, 폴리에틸렌 포장지에 옮겨 밀봉하였다. 호기적 발효를 위하여 밀봉한 시료 포장재의 면적이 넓은 면 앞·뒤로 멸균주사기 바늘을 이용하여 일정 간격의 기공을 만들었으며,  $28^{\circ}\text{C}$ 에서 68시간 동안 발효 후 콩 발효물을 얻었다. 제조한 콩 발효물은 동결 건조 후 원료와 같은 방법으로 처리하여 보관하였다.

### 3. 저장단백질 분석

원료의 저장단백질 분석은 Kim 등(2022)의 방법을 참고하였고, 시험을 위한 모든 시약은  $\beta$ -conglycinin 및 glycinin ELISA Kit(Wuhan Unibiotest Co., Ltd, Hubei, China)에서 제공되는 것을 사용 조건에 맞게 희석하여 사용하였다. 즉, 시료 0.3 g에 1× sample extractant 30 mL를 넣고  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 16시간 교반 후  $4^{\circ}\text{C}$ , 4,000 rpm에서 5분간 원심분리(Centrifuge, CR22GIII, Hitachi, Co., Ltd., Osaka, Japan)한 다음 시료 상등액을 1× sample diluent로 70배 희석하였다. 이어서 96-well plate에 시료 및 표준물질  $\beta$ -conglycinin(혹은 glycinin, 개별 진행) 50  $\mu\text{L}$ 를 넣고 antibody solution 50  $\mu\text{L}$ 를 가하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시켰다. 이어서 well plate에 있는 모든 용액을 제거한 다음, 1× wash solution 300  $\mu\text{L}$ 를 가하여 15초 후 다시 용액을 제거하는 과정을 3회 반복한 뒤 건조하였다. 그다음 각 well에 HRP conjugate enzyme 100  $\mu\text{L}$ 를 분주하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 반응 후 chromogen solution A과 chromogen solution

B 1:1 혼합용액을 100  $\mu$ L 분주하여 37°C에서 15분 반응하였다. 반응 종료는 stop solution 50  $\mu$ L를 가하여 노란색이 나타나면 450 nm, 630 nm에서 흡광도(EPOCH2, Bio Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 측정하였고, 얻어진 값을 Wuhan Unibiotest사에서 제공하는 calculation sheet를 이용하여  $\beta$ -conglycinin과 glycinin 함량을 산출하였다.

#### 4. 유리아미노산 분석

원료 및 *R. oligosporus* 발효물 시료의 유리아미노산 분석은 Henderson 등(2000)의 방법을 참조하였다. 분쇄한 시료에 0.1 M perchloric acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)를 일정량 가하여 1시간 동안 초음파 추출한 다음, 4°C, 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하였고, 상등액을 0.2  $\mu$ m 실린지 필터로 여과하였다. 분석 장비는 Dionex Ultimate 3000(Thermo Scientific, MA, USA)을 사용하였고 FL Detector는 여기 파장이 340 nm, 방출 파장이 450 nm이었다. 분석 컬럼은 INNO C18(4.6mm  $\times$  150mm, 5 $\mu$ m, Youngjin biochrom Co., Ltd. Seongnam, Korea)을 사용하였고 이동상 A는 40 mM sodium phosphate (pH 7, Sigma-Aldrich), 이동상 B는 3차 증류수 : Acetonitrile(Thermo Fisher Scientific, MA, USA) : Methanol(Thermo Fisher Scientific) = 10 : 45 : 45 (% , v/v)로 gradient를 주었으며, 용매 혼합 조건은 Table 1과 같다. 시료 주입량은 0.5  $\mu$ L, 컬럼 온도는 40°C의 조건으로 분석하였고 amino acid standard kit(Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)는 2종(Part No. 5061-3330, 5062-2478)을 사용하였다.

#### 5. Phytic acid와 trypsin inhibitor 분석

원료 및 *R. oligosporus* 발효물 시료의 phytic acid는 Han 등(2022)의 방법을 참조하여, assay kit(K-PHYT, Megazyme International Ltd., Wicklow, Ireland)로 분석하였다. 시료 1 g에 0.66 M hydrochloric acid 20 mL를 가하여 상온에서 3시간 교반 후, 1 mL를 취해 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 0.5 mL에 0.75 M NaOH 0.5 mL를 가하여 중화된 추출물 0.05 mL에 증류수 0.6 mL와 buffer 1(200 mM sodium acetate, pH 5.5) 0.2 mL 및 phytase 0.02 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 10분 동안 교반하였다. 그다음 반응액에 buffer 2(pH 10.4) 0.2 mL와 alkaline phosphatase 0.02 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 10분 동안 교반하였으며, 50% trichloroacetic acid 0.3 mL를 가하여 반응을 중지시켰다. 반응액을 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 1 mL에 color reagent 0.5 mL를 가하여 40°C 항온수조에서 1시간 동안 교반하여 1 mL를 취했으며 655 nm에서 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하였고, 표준물질 phosphorus solution을 사용하여 phytic acid 함량을 산출하였다.

**Table 1. HPLC gradient conditions for the measurement of free amino acids**

Time (min.)	Flow rate (mL/min.)	Mobile phase (%)	
		A	B
0	1.5	95	5
3.0	1.5	95	5
24.0	1.5	45	55
25.0	1.5	20	80
31.0	1.5	20	80
34.5	1.5	95	5
35.0	1.5	95	5

원료 및 *R. oligosporus* 발효 시료의 trypsin inhibitor 분석은 Hamerstrand 등(1981)과 Liu K(2019) 방법을 참조하였다. 10 mM NaOH로 추출한 시료 2 mL에 trypsin 용액(20  $\mu$ L/mL, Sigma-Aldrich) 2 mL를 첨가하여 37°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후 기질인 benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide 용액(0.4 mg/mL, Sigma-Aldrich) 5 mL를 추가하여 다시 37°C 항온수조에서 10분간 반응시켰다. 30% acetic acid 1 mL로 최종 반응을 종결시킨 후 8,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액의 흡광도를 410 nm에서 측정하여 TI(trypsin inhibitor, mg/g of sample)를 도출하였다.

#### 6. 통계분석

통계분석은 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, version 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 저장단백질 외 모두 3회 반복 측정하였고, 1회 이상 측정된 분석값은 평균과 표준편차를 산출하여 나타냈다. 품종 간 유의성 검정은 일원 분산분석(one-way ANOVA)과 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)을 독립적으로 수행하여 결과를 도출하였다. 원료 및 콩 발효물의 유의성 검정은 독립표본 *t*-test로 분석하여 얻어진 *t* 값과 *p* 값 수준을 \*\*로 제시하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 국산 콩 품종별 저장단백질 함량

콩은 단백질 함량이 약 40%(건조중량 기준) 내외이며, 이중 저장단백질인 glycinin(11S globulin)과  $\beta$ -conglycinin(7S globulin)이 65~85%를 차지하고 있다(Yang 등 2000). 콩의 아미노산 조성에서 황 아미노산이 적다고 알려져 있으나, 그중 11S는 7S에 비하여 황 아미노산을 많이 포함하고 있어 11S/7S 비율은 콩의 주요한 영양 정보가 되며 품종육성에도 매우 중요하다(Van Etten 등 1967; Ogawa 등 1989). 이러한

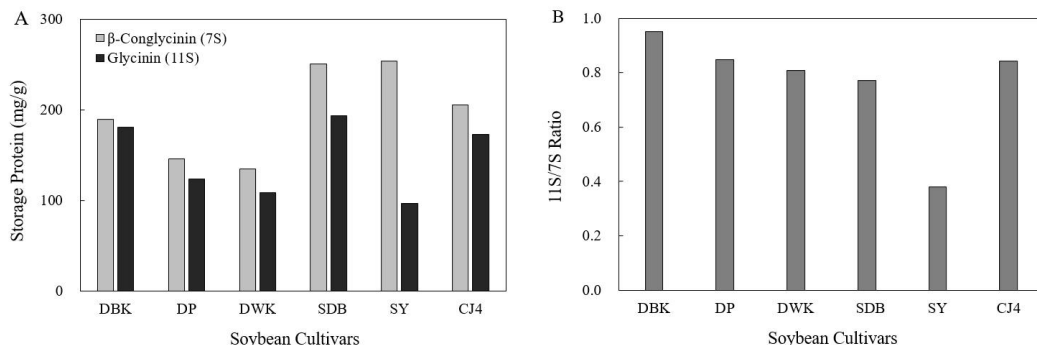
저장단백질 함량과 조성은 품종에 따른 차이를 나타내어 다양한 기능적 특성을 가진 펩타이드를 형성하며, 미량 단백질과 당단백질에는 trypsin inhibitor, lipoxygenase, lectin 및  $\alpha$ -amylase가 포함된다(Liu K 1997).

본 연구에서는 국산 콩 6품종을 대상으로 주요 저장단백질인  $\beta$ -conglycinin과 glycinin을 분석하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같다.  $\beta$ -conglycinin은 선유와 새단백이 253.4 mg/g과 250.1 mg/g, glycinin은 새단백과 단백콩이 193.0 mg/g과 180.3 mg/g으로 다른 품종과 비교하여 높은 수준을 나타냈다(Fig. 1A) 관련하여 Kim 등(2022)의 연구와 동일한 시료 품종임에도  $\beta$ -conglycinin과 glycinin 다소 높은 함량 차이를 나타냈는데, 이것은 분석시료의 단백질 추출 여부에 기인할 것으로 사료된다. 또한,  $\beta$ -conglycinin과 glycinin 함량으로부터 원료의 영양 정보이면서 품종의 고유한 특성인 11S/7S 비율을 살펴보았을 때, 단백콩이 0.95로 다른 품종과 비교하여 다소 높게 나타났다(Fig. 1B). 11S/7S 비율은 함황 아미노산인 메티오닌과 시스테인이 7S와 비교하여 11S에서 더 높은 수준을 보이는 것으로 영양수준을 평가하는 기준이 되기도 하며, 물성 및 유화적 특성과 양의 상관을 나타냄에 따라 두부나 젤의 견고성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등 1994; Mujoo 등 2003; Liu 등 2023). 이에 따라 Song 등(2021)의 연구에서 메티오닌과 시스테인 함량이 가장 높았던 단백콩이 11S/7S 비율이 높을 것으로 예측하였고, 본 연구결과로 확인할 수 있었다. 이것은 단백콩의 높은 단백질 함량에서 유래하며, 콩 가공물의 영양적 가치와 물성에도 관련될 것으로 생각된다.

## 2. *R. oligosporus* 발효에 의한 국산 콩의 유리아미노산 함량 변화

*R. oligosporus* 발효에 의한 국산 콩의 유리아미노산 함량

변화를 살펴보고자 원료 및 발효물을 대상으로 아미노산을 분석하였으며, 검출된 19종의 아미노산 함량을 Table 2에 나타냈다. 원료의 유리아미노산 함량은 품종 및 아미노산 종류에 따라 0.04~10.45 mg/g이었고, 그중 arginine이 매우 높은 함량을 나타냈다. 원료의 총 아미노산 함량은 3.96~17.29 mg/g 범위에서 단백콩 > 새단백 > 청자4호 > 대원콩 > 선유 > 대풍의 품종 차이를 나타냈고, 필수 및 비필수 아미노산의 조성율은 11.68~31.78%와 68.22~88.32%로 비필수 아미노산이 필수아미노산 조성보다 현격히 높았다. Song 등(2013)은 콩 8품종을 대상으로 한 연구에서 각 유리아미노산의 큰 차이를 확인하였고, 유전자형 외 성장 단계, 재배 조건의 영향을 받을 수 있다고 하였다. 또한, 필수아미노산의 조성은 대부분 유사했으나, 농도에서는 품종에 따른 차이를 나타냈다. 한편 *R. oligosporus* 발효물은 원료와 비교하여 대부분의 아미노산 함량이 증가하여 1.37~16.95 mg/g 범위를 나타냈고, glutamic acid, alanine, glutamine, arginine, leucine 등의 변화가 컸다. 이에 따라 콩 발효물의 총 아미노산 함량도 크게 증가하여 99.97~129.77 mg/g을 나타냈고, 단백콩 > 새단백 > 청자4호 > 선유 > 대풍 > 대원콩으로 원료 총 아미노산 함량의 품종 순위와 차이를 보였다. *R. oligosporus* 발효에 의한 필수 아미노산 조성을 변화는 단백콩이 11.68%에서 40.73%, 대풍이 22.98%에서 37.44%, 대원콩이 18.89%에서 36.09%, 새단백은 21.61%에서 39.35%, 선유가 31.78%에서 36.59%, 청자4호가 20.29%에서 36.4%로 변화하여 모든 품종에서 발효 후 단백질 품질이 향상되었음을 확인하였다(Fig. 2). 이와 관련하여 Aoki 등(2023)의 연구에서 moringa로 제조한 템페의 유리 아미노산은 발효 전과 비교하여 월등히 높은 함량을 나타냈고, 특히 Glu, Ala, Arg이 크게 증가하여 본 연구와 같은 결과를 나타냈다. 또한, Vong 등(2018)은 콩 가공 부산물(okara)의 *R. oligosporus* 발효 후 phytic acid와 불용성 식이섬유의 감소,



**Fig. 1.** Storage protein content and 11S/7S ratio of soybean on Korean cultivars. A:  $\beta$ -conglycinin (7S) and glycinin (11S) content. Each value represents single data. B: Data calculated from A. DBK: Danbaegkong, DP: Daepung, DWK: Daewonkong, SDB: Saedanbaek, SY: Seonyu, CJ4: Cheongja4ho.

Table 2. Amino acid contents (mg/g) of raw and fermented soybean on Korean cultivars

Amino acid	Sample condition	Soybean cultivars						F-value
		Danbaegkong	Daepung	Daewonkong	Saedanbaek	Seonyu	Cheongja4ho	
Ala <sup>1)</sup>	Raw	0.29±0.02 <sup>b2)3)</sup>	0.16±0.01 <sup>d</sup>	0.19±0.01 <sup>c</sup>	0.37±0.01 <sup>a</sup>	0.36±0.00 <sup>a</sup>	0.37±0.01 <sup>a</sup>	277.9765 <sup>***5)</sup>
	Fermented	11.88±1.17 <sup>ABC</sup>	10.63±2.02 <sup>BC</sup>	14.27±1.26 <sup>A</sup>	9.98±1.19 <sup>C</sup>	12.96±2.08 <sup>AB</sup>	13.61±0.61 <sup>A</sup>	3.9153 <sup>*</sup>
	t-value	-17.1427 <sup>***4)5)</sup>	-8.9751 <sup>***</sup>	-19.3228 <sup>***</sup>	-13.9794 <sup>***</sup>	-10.4720 <sup>***</sup>	-37.3418 <sup>***</sup>	
Arg	Raw	10.45±0.30 <sup>a</sup>	0.95±0.01 <sup>f</sup>	2.10±0.04 <sup>d</sup>	4.10±0.04 <sup>b</sup>	1.28±0.02 <sup>e</sup>	3.40±0.04 <sup>c</sup>	2,304.9402 <sup>***</sup>
	Fermented	9.22±0.71	9.84±0.56	8.39±0.14	9.98±1.01	9.51±1.35	9.89±0.23	1.7444
	t-value	2.7525	-27.6599 <sup>***</sup>	-77.8186 <sup>***</sup>	-10.1021 <sup>**</sup>	-10.5287 <sup>**</sup>	-47.9855 <sup>***</sup>	
Asn	Raw	1.91±0.05 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>f</sup>	0.42±0.01 <sup>d</sup>	1.58±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.01 <sup>e</sup>	0.49±0.01 <sup>c</sup>	3,630.9051 <sup>***</sup>
	Fermented	2.74±0.50 <sup>B</sup>	4.55±0.24 <sup>A</sup>	3.67±0.04 <sup>A</sup>	3.79±0.05 <sup>A</sup>	4.63±1.11 <sup>A</sup>	4.60±0.06 <sup>A</sup>	6.5642 <sup>**</sup>
	t-value	-2.8854	-31.2881 <sup>***</sup>	-143.9033 <sup>***</sup>	-73.1057 <sup>***</sup>	-6.7048 <sup>*</sup>	-128.7577 <sup>***</sup>	
Asp	Raw	1.42±0.03 <sup>a</sup>	0.89±0.02 <sup>b</sup>	0.90±0.02 <sup>b</sup>	0.63±0.01 <sup>d</sup>	0.48±0.01 <sup>e</sup>	0.86±0.01 <sup>c</sup>	1,056.5774 <sup>***</sup>
	Fermented	5.43±0.45 <sup>A</sup>	2.38±0.11 <sup>CD</sup>	1.37±0.08 <sup>D</sup>	3.94±0.03 <sup>B</sup>	2.60±1.41 <sup>C</sup>	1.78±0.05 <sup>CD</sup>	18.6323 <sup>***</sup>
	t-value	-15.5295 <sup>***</sup>	-34.1006 <sup>***</sup>	-9.7532 <sup>***</sup>	-163.0838 <sup>***</sup>	-2.6102	-30.3687 <sup>***</sup>	
Glu	Raw	0.46±0.08 <sup>a</sup>	0.38±0.09 <sup>ab</sup>	0.26±0.03 <sup>c</sup>	0.39±0.06 <sup>ab</sup>	0.30±0.02 <sup>bc</sup>	0.31±0.03 <sup>bc</sup>	5.2331 <sup>**</sup>
	Fermented	16.95±0.80 <sup>A</sup>	10.81±3.32 <sup>C</sup>	11.75±2.11 <sup>C</sup>	15.56±2.48 <sup>AB</sup>	10.87±0.97 <sup>C</sup>	12.52±0.43 <sup>BC</sup>	5.1291 <sup>**</sup>
	t-value	-35.3124 <sup>***</sup>	-5.4473 <sup>**</sup>	-9.4454 <sup>***</sup>	-10.6138 <sup>***</sup>	-18.8536 <sup>**</sup>	-49.1245 <sup>***</sup>	
Gln	Raw	0.08±0.01 <sup>ab</sup>	0.05±0.00 <sup>d</sup>	0.05±0.01 <sup>d</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>c</sup>	0.08±0.01 <sup>bc</sup>	23.2250 <sup>***</sup>
	Fermented	8.30±0.06 <sup>B</sup>	9.98±0.07 <sup>AB</sup>	8.08±0.09 <sup>B</sup>	9.66±1.25 <sup>AB</sup>	11.27±2.64 <sup>A</sup>	11.73±0.27 <sup>A</sup>	4.6682 <sup>*</sup>
	t-value	-256.8898 <sup>***</sup>	-242.3462 <sup>***</sup>	-162.4822 <sup>***</sup>	-13.2350 <sup>***</sup>	-7.3622 <sup>*</sup>	-75.1524 <sup>***</sup>	
Gly	Raw	0.06±0.01 <sup>b</sup>	0.04±0.01 <sup>c</sup>	0.04±0.01 <sup>c</sup>	0.07±0.00 <sup>b</sup>	0.06±0.00 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	28.2000 <sup>***</sup>
	Fermented	3.67±0.36 <sup>A</sup>	2.58±0.24 <sup>AB</sup>	2.22±0.06 <sup>B</sup>	2.93±0.23 <sup>B</sup>	2.67±0.40 <sup>AB</sup>	2.79±0.08 <sup>B</sup>	10.1285 <sup>***</sup>
	t-value	-17.1473 <sup>***</sup>	-18.6120 <sup>**</sup>	-62.3565 <sup>***</sup>	-22.0000 <sup>***</sup>	-11.1898 <sup>**</sup>	-59.1263 <sup>***</sup>	
His	Raw	0.70±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>f</sup>	0.09±0.01 <sup>e</sup>	0.51±0.01 <sup>b</sup>	0.17±0.00 <sup>d</sup>	0.39±0.01 <sup>c</sup>	3,627.8400 <sup>***</sup>
	Fermented	4.49±0.28 <sup>A</sup>	3.23±0.24 <sup>C</sup>	2.99±0.21 <sup>C</sup>	3.76±0.36 <sup>B</sup>	3.34±0.25 <sup>BC</sup>	3.27±0.13 <sup>C</sup>	13.6170 <sup>***</sup>
	t-value	-23.3751 <sup>***</sup>	-23.2038 <sup>**</sup>	-24.3759 <sup>***</sup>	-15.7917 <sup>***</sup>	-21.7037 <sup>**</sup>	-38.7557 <sup>***</sup>	
Ile	Raw	0.08±0.01 <sup>c</sup>	0.06±0.01 <sup>e</sup>	0.08±0.01 <sup>cd</sup>	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>de</sup>	35.0400 <sup>***</sup>
	Fermented	6.23±0.37 <sup>A</sup>	4.63±0.08 <sup>CD</sup>	4.08±0.20 <sup>D</sup>	5.42±0.30 <sup>B</sup>	4.72±0.56 <sup>C</sup>	4.82±0.11 <sup>C</sup>	16.7398 <sup>***</sup>
	t-value	-29.0606 <sup>**</sup>	-98.6148 <sup>***</sup>	-34.8743 <sup>***</sup>	-30.5815 <sup>***</sup>	-14.3097 <sup>**</sup>	-72.3942 <sup>***</sup>	
Leu	Raw	0.19±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>c</sup>	0.13±0.01 <sup>c</sup>	0.20±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	24.2625 <sup>***</sup>
	Fermented	10.46±0.44 <sup>A</sup>	8.39±0.08 <sup>C</sup>	7.23±0.29 <sup>D</sup>	9.54±0.22 <sup>B</sup>	8.14±0.76 <sup>C</sup>	8.45±0.13 <sup>C</sup>	24.9917 <sup>***</sup>
	t-value	-40.3590 <sup>***</sup>	-183.3851 <sup>***</sup>	-42.9685 <sup>***</sup>	-73.2314 <sup>***</sup>	-18.0788 <sup>**</sup>	-111.0879 <sup>***</sup>	
Lys	Raw	0.27±0.03 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>c</sup>	0.17±0.01 <sup>c</sup>	0.26±0.01 <sup>a</sup>	0.22±0.00 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>c</sup>	38.2733 <sup>***</sup>
	Fermented	8.01±0.60 <sup>A</sup>	5.92±0.25 <sup>CD</sup>	5.29±0.29 <sup>D</sup>	7.16±0.40 <sup>AB</sup>	6.32±0.98 <sup>BC</sup>	6.09±0.06 <sup>CD</sup>	10.4620 <sup>***</sup>
	t-value	-22.3917 <sup>***</sup>	-39.9438 <sup>***</sup>	-30.5174 <sup>***</sup>	-29.7870 <sup>***</sup>	-10.7661 <sup>**</sup>	-184.9523 <sup>***</sup>	
Met	Raw	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>c</sup>	0.06±0.00 <sup>c</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	23.4571 <sup>***</sup>
	Fermented	2.09±0.10 <sup>A</sup>	1.69±0.01 <sup>B</sup>	1.45±0.07 <sup>C</sup>	1.78±0.04 <sup>B</sup>	1.62±0.20 <sup>BC</sup>	1.64±0.06 <sup>B</sup>	13.9791 <sup>***</sup>
	t-value	-34.2977 <sup>***</sup>	-219.5819 <sup>***</sup>	-36.0718 <sup>***</sup>	-81.9218 <sup>***</sup>	-13.2232 <sup>**</sup>	-44.9081 <sup>***</sup>	
Phe	Raw	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>bc</sup>	0.15±0.01 <sup>c</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>bc</sup>	28.7125 <sup>***</sup>
	Fermented	7.85±0.33 <sup>A</sup>	6.46±0.16 <sup>C</sup>	5.94±0.14 <sup>D</sup>	7.32±0.23 <sup>B</sup>	6.38±0.35 <sup>C</sup>	6.63±0.02 <sup>C</sup>	26.5548 <sup>***</sup>
	t-value	-40.3837 <sup>***</sup>	-68.3054 <sup>***</sup>	-72.2497 <sup>***</sup>	-53.6199 <sup>***</sup>	-30.5000 <sup>**</sup>	-471.4893 <sup>***</sup>	

Table 2. Continued

Amino acid	Sample condition	Soybean cultivars						F-value
		Danbaegkong	Daepung	Daewonkong	Saedanbaek	Seonyu	Cheongja4ho	
Pro	Raw	0.25±0.08	0.19±0.02	0.24±0.10	0.30±0.10	0.24±0.03	0.19±0.05	1.0478
	Fermented	7.80±2.51	7.48±2.34	5.78±1.38	6.25±0.47	7.02±1.44	6.19±0.29	0.7272
	<i>t</i> -value	-5.2085*	-5.4762*	-6.9233**	-21.1962***	-8.1717*	-35.0590***	
Ser	Raw	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>c</sup>	0.07±0.01 <sup>d</sup>	0.11±0.00 <sup>b</sup>	0.09±0.00 <sup>c</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>	211.0000***
	Fermented	4.85±0.33	4.70±0.05	4.01±0.09	4.96±0.28	4.70±0.81	4.86±0.12	2.4797
	<i>t</i> -value	-24.7392**	-169.1689***	-78.1748***	-30.5664***	-9.8948*	-67.6886***	
Thr	Raw	0.13±0.02 <sup>a</sup>	0.08±0.01 <sup>d</sup>	0.09±0.01 <sup>c</sup>	0.12±0.01 <sup>ab</sup>	0.09±0.00 <sup>cd</sup>	0.10±0.01 <sup>bc</sup>	16.5091***
	Fermented	4.71±0.25 <sup>A</sup>	3.95±0.03 <sup>BC</sup>	3.57±0.12 <sup>C</sup>	4.43±0.20 <sup>AB</sup>	4.13±0.71 <sup>ABC</sup>	4.25±0.12 <sup>AB</sup>	4.4107*
	<i>t</i> -value	-31.5447**	-219.5974***	-50.3670***	-36.7917***	-9.8658*	-59.6659***	
Trp	Raw	0.22±0.02 <sup>d</sup>	0.10±0.01 <sup>f</sup>	0.15±0.01 <sup>e</sup>	0.51±0.01 <sup>a</sup>	0.48±0.01 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>c</sup>	1,943.6250***
	Fermented	2.31±0.07 <sup>A</sup>	1.64±0.06 <sup>C</sup>	1.49±0.13 <sup>C</sup>	2.02±0.08 <sup>B</sup>	1.63±0.06 <sup>C</sup>	1.68±0.03 <sup>C</sup>	15.0180***
	<i>t</i> -value	-29.8709***	-26.5851**	-10.0344**	-18.0194***	-18.2379**	-50.2213***	
Tyr	Raw	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.13±0.02 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>	0.14±0.02 <sup>bc</sup>	0.13±0.01 <sup>bc</sup>	11.0095***
	Fermented	6.08±0.29 <sup>A</sup>	5.02±0.23 <sup>B</sup>	4.35±0.17 <sup>C</sup>	5.51±0.20 <sup>B</sup>	5.00±0.64 <sup>B</sup>	4.90±0.08 <sup>BC</sup>	10.0470***
	<i>t</i> -value	-35.3000***	-36.9985***	-44.4744***	-46.4586***	-13.1086**	-109.5993***	
Val	Raw	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.00 <sup>c</sup>	0.10±0.01 <sup>c</sup>	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.10±0.00 <sup>c</sup>	29.3667***
	Fermented	6.70±0.48 <sup>A</sup>	4.77±0.11 <sup>C</sup>	4.04±0.25 <sup>D</sup>	5.65±0.30 <sup>B</sup>	4.83±0.65 <sup>C</sup>	4.92±0.13 <sup>C</sup>	18.0292***
	<i>t</i> -value	-23.4593***	-71.3693***	-27.5788**	-31.7917***	-12.6363**	-64.9722***	

<sup>1)</sup> Ala: alanine, Arg: arginine, Asn: asparagine, Asp: aspartic acid, Glu: glutamic acid, Gln: glutamine, Gly: glycine, His: histidine, Ile: isoleucine, Leu: leucine, Lys: lysine, Met: methionine, Phe: phenylalanine, Pro: proline, Ser: serine, Thr: threonine, Trp: tryptophan, Tyr: tyrosine, Val: valine.

<sup>2)</sup> All results are expressed as mean±standard deviation (n=3).

<sup>3)</sup> Means with different letters (<sup>a-f</sup>, <sup>A-D</sup>) within the same rows are significantly different from each other at  $p<0.05$  by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

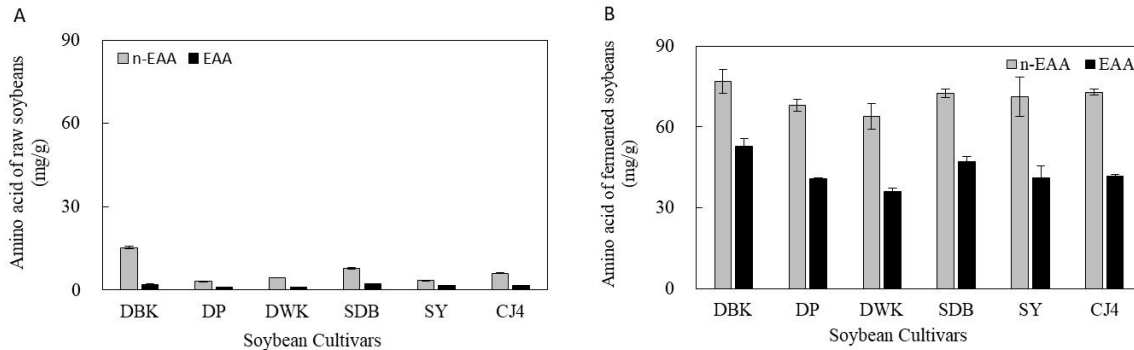
<sup>4)</sup> The *t*-values' star symbols within the column indicate significant difference at  $p<0.05$  by independent samples *t*-test.

<sup>5)</sup> \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ .

수용성 식이섬유, 유리아미노산, isoflavone aglycon, 페놀산 등의 증가를 보고하여, 콩 원료의 *R. oligosporus* 발효물은 다양한 영양성과 기능성을 갖춘 우수한 단백 소재임을 확인하였다. 일반적으로 단백질은 맛을 갖고 있지 않으나, 그 분해 생성물인 아미노산은 각각 특유한 맛을 가지고 있어 식품의 맛과 밀접한 관계가 있다. 아미노산 중에서 L-Leu, L-Ile, L-Phe, L-Trp 등 소수성 아미노산은 쓴맛을 가지며, glycine, L-Ala, DL-Ser, L-Hydroxy Pro, L-Lys 등은 단맛, L-Glu는 감칠맛을 가지고 있어 조미료로 널리 사용된다(Lee 등 2014). 국산콩 *R. oligosporus* 발효물의 유리아미노산은 대부분 품종에서 Glu, Ala, Arg 등이 높은 수준을 나타냈고, 각 유리아미노산에서 유래하는 감칠맛, 쓴맛, 단맛은 풍미에 주요한 영향을 줄 것으로 사료 된다.

### 3. *R. oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 phytic acid 함량 변화

곡류와 두류 등은 phytic acid를 비롯한 tannin, cyanogenic glycoside, oxalate, saponin, lectin과  $\alpha$ -amylase, trypsin, chymotrypsin 같은 효소 억제제 등 항 영양 또는 독성 성분을 상당량 포함하여, 미네랄 생체이용률과 단백질 및 탄수화물의 소화를 방해하며 식품의 영양소를 감소시킨다(Reddy와 Pierson 1994). 본 연구에서는 국산 콩 *R. oligosporus* 발효 전·후 phytic acid 함량을 분석하여 발효에 의한 변화를 살펴보고, 그 결과는 Fig. 3의 A와 같다. 원료 6품종의 phytic acid 함량은 발효 전 1.66-2.13 g/100 g에서 발효 후 0.90-1.58 g/100 g으로 감소하였고, 단백콩을 제외한 대풍( $p<0.05$ ), 대원콩( $p<0.01$ ), 새단백( $p<0.01$ ), 선유( $p<0.01$ ), 청자4호( $p<0.01$ )는 유의적 차이를 나타냈다. 이러한 결과로 *R. oligosporus* 발효에 의하여 콩의 영



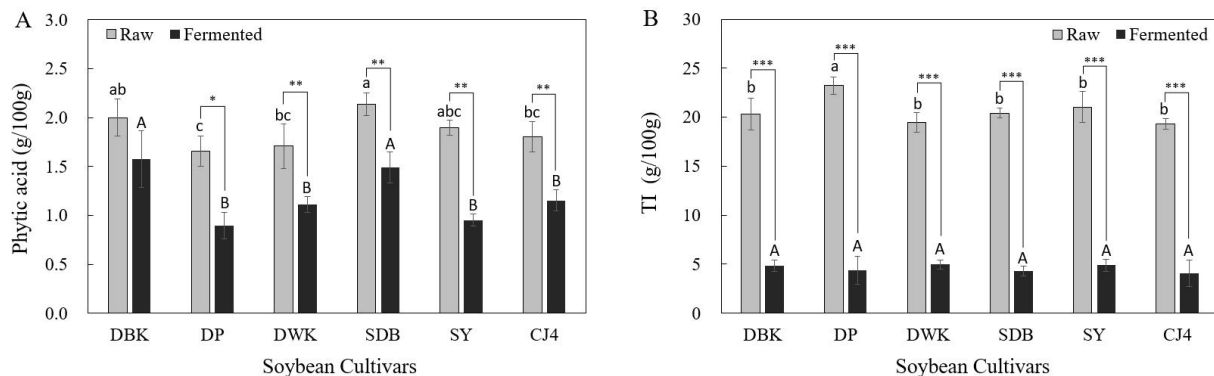
**Fig. 2. Amino acid properties of raw and fermented soybean on Korean cultivars.** Data derived from Table 2. Each value represents mean±S.D. (n=3). n-EAA: non-essential amino acid (Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, Gly, Pro, Ser, Tyr), EAA: essential amino acid (His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val).

양이 개선되었음을 확인할 수 있었고, Abu-Salem 등(2014)의 연구에서도 생콩-침지 후 탈피-발효 단계별 phytic acid 함량이 지속적으로 감소하여 본 연구와 일치하였다. 이외 많은 연구에서 *R. oligosporus* 발효에 의한 phytic acid의 효과적인 감소를 보고하였고(Cuevas-Rodríguez 등 2004; Reyes-Moreno 등 2004; Refaat 등 2018), *R. oligosporus* 발효 중 phytic acid를 분해하는 phytase의 합성 증가에 의한 것으로 설명하였고(Sudarnadji & Markakis 1977; Beal & Mehta 1985; Reyes-Moreno 등 2004), Drabo 등(2023)은 phytic acid 감소와 아연의 생체 흡수가 증가하는 것을 확인하였다. 한편 같은 결과에 대해 Kim 등(1990)은 수침 및 삶는 과정 중 수용성 피트산의 용해가 이루어졌으며 단백질 분해효소에 대한 영향으로 그 원인을 제안하였다. 또한, 발효 후 품종별 phytic acid 함량 비교에서 단백질, 새단백 > 청자4호, 대원콩, 선유, 대풍으로 나타났는데

( $p < 0.001$ ), Song 등(2021)의 연구에서 *R. oligosporus* 발효 후 단백질과 새단백이 단백질 함량이 높았던 품종과 일치하였으며 해당 품종에서는 영양물질 저해가 더 크게 일어날 것으로 사료 된다. 그리고 Ryoo 등(2004)은 수입산 콩과 비교하여 국산 콩의 다소 높은 phytic acid 함량을 보고하였는데, 이와 관련하여 *R. oligosporus* 발효는 국산 콩의 가공법으로 효과적이라고 생각한다.

#### 4. *R. oligosporus* 발효에 따른 국산 콩의 trypsin inhibitor 함량 변화

콩은 우수한 영양적 특성에도 불구하고 일부 바람직하지 않은 항 영양적 생리활성 물질을 갖는데, 이러한 화합물로 앞서 제시한 phytic acid 외 trypsin inhibitor, lipoxygenase, urease, oligosaccharides, alkaloids, phenolics, isoflavones 등이 있다 (Vagadia 등 2017). 본 연구는 국산 콩 대상의 단백질 소재 개발



**Fig. 3. Phytic acid and trypsin inhibitor contents of raw and fermented soybean on Korean cultivars.** Each value represents mean±S.D. (n=3). Means with different letters (<sup>a-c</sup>, <sup>A,B</sup>) within the same sample conditions are significantly different from each other at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. The star symbols within the soybean cultivars indicate significant difference at  $p < 0.05$  by independent samples *t*-test. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

을 위한 기초연구로 그 중 단백질과 직접적 관련이 있는 trypsin inhibitor의 함량을 *R. oligosporus* 발효 전·후로 분석하였고, 그 결과는 Fig. 3의 B와 같다. Trypsin inhibitor 함량은 원료 품종별 19.32~23.24 mg/g에서 *R. oligosporus* 발효 후 4.07~4.96 mg/g으로 크게 감소하였다. 원료 품종 간 비교에서 대풍이 비교적 높은 trypsin inhibitor 함량을 나타냈으나 ( $p<0.05$ ), 발효 후 품종간 유의적 차이 없이 모두 낮아 바람직한 결과를 나타냈다. 이상의 결과로 단백질 소화를 방해하는 trypsin inhibitor 함량이 *R. oligosporus* 발효 후 76.20~81.25%로 크게 감소한 것을 확인하였고, 체내 단백질 이용성 개선에 영향을 줄 것으로 사료 된다. Kim 등(1990)은 원료 콩과 발효물에 대한 trypsin inhibitor 함량 비교에서 본 연구보다 다소 낮은 56.4%의 감소를 보고하였고, *R. oligosporus*에 의해 생성된 효소의 영향으로 설명하였다. 지금까지 콩에 존재하는 trypsin inhibitor를 제거하기 위한 많은 연구가 진행되었으며, 물리적 처리로 건조나 로스팅 등의 열처리 방법(Kim & Kim 1998; Stewart 등 2003; Carvalho 등 2013)이 있으며, 화학적 처리는 sodium carbonate(Wallace 등 1971), cysteine(Lei 등 1981), ascorbic acid과 cupric sulfate(Sessa 등 1990), polyphenols(Huang 등 2004) 등의 물질을 열과 함께 처리하였을 때 효과적이었다. 본 연구에서는 콩 외피 제거 단계와 접종 전 단계에서 두 번의 열처리가 있었고 생물학적 처리인 *R. oligosporus* 발효까지 이루어져 trypsin inhibitor 함량이 크게 저하된 것으로 사료 된다. 이와 관련한 Park 등(2022)의 연구에서 국산 콩 6품종을 대상으로 한 *R. oligosporus* 발효물의 단백질 소화율이 0.9 이상으로 매우 높은 수준을 나타냈고, 필수아미노산 함량과 소화율에 근거한 PDCAAS(protein digestibility corrected amino acid score)도 0.8 내외를 나타냄으로써 추출물이 아닌 가공소재 자체로서의 단백질 평가에서 매우 우수하였다.

이제까지의 연구 결과를 종합하면 국산 콩을 *R. oligosporus*로 발효했을 때, 원료 대비하여 유리아미노산은 크게 증가하였고, 피틴산과 트립신 저해제 감소로 영양소 흡수 저해의 개선을 기대할 수 있었다. 이 효과는 콩 품종에 따른 차이를 나타냈으며, 향후 우수한 국산 품종을 활용한 발효 소재 개발을 위하여 본 결과를 기초자료로 활용하고자 한다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 국산 콩 *Rhizopus oligosporus* 발효물의 단백질 소재 활용성을 검토하고자 발효 전·후의 영양적 특성 변화를 살펴보았다. 콩 저장단백질로 알려진  $\beta$ -conglycinin(11S globulin)은 선유와 새단백이 253.4 mg/g과 250.1 mg/g, glycinin(7S globulin)은 새단백과 단백질이 193.0 mg/g과 180.3 mg/g으로 다른 품종과 비교하여 높았고, 함황 아미노산과 관련하

여 영양성을 가늠할 수 있는 11S/7S는 단백질이 0.95로 6품종 중 가장 우수하였다. 유리아미노산 함량은 *R. oligosporus* 발효 전 0.04~10.45 mg/g에서 발효 후 1.37~16.95 mg/g으로 크게 증가하였고, 필수아미노산 조성율도 함께 증가하여 발효 후 단백질 품질이 향상되었음을 확인하였다. 콩의 영양 저해 인자로 알려진 phytic acid는 *R. oligosporus* 발효 전 1.66~2.13 g/100 g에서 발효 후 0.90~1.58 g/100 g으로 감소하여 무기질 흡수 저해가 완화되었을 것으로 생각한다. 또한 단백질 소화와 직접적 관련이 있는 trypsin inhibitor 활성은 원료 19.32~23.24 mg/g에서 *R. oligosporus* 발효 후 4.07~4.96 mg/g으로 크게 감소하여( $p<0.05$ ), 76.20~81.25%의 억제율을 나타냈고 단백질의 체내 이용성 개선에 영향을 줄 것으로 사료 된다. 이상의 결과에서 국산 콩을 원료로 한 *R. oligosporus* 발효는 유리아미노산 증가에 따른 영양적 가치와 피틴산 및 트립신 저해제 감소에 따른 기능적 가치를 부여하였다. 향후 국산 콩이 수입 콩과의 경쟁력을 확보하기 위해서 고부가가치 발효 소재의 개발이 필요한데, 세계 우수 발효식품 템페로 알려진 *R. oligosporus* 발효물은 이에 적합한 소재라고 생각하며, 국산 콩의 새로운 소비처로 확대되기를 희망한다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 국립식량과학원 연구개발 과제(PJ016089032022)의 지원으로 이루어진 것임.

## References

- Abu-Salem FM, Mohamed RK, Gibriel AY, Rasmy NMH. 2014. Levels of some antinutritional factors in tempeh produced from some legumes and jojobas seeds. *Int J Biol Agric Biosyst Life Sci Eng* 8:296-301
- Ahmad A, Ramasamy K, Jaafar SM, Majeed ABA, Mani V. 2014. Total isoflavones from soybean and tempeh reversed scopolamine-induced amnesia, improved cholinergic activities and reduced neuroinflammation in brain. *Food Chem Toxicol* 65:120-128
- Aoki H, Nakatsuka-Mori T, Ueno Y, Nabeshima Y, Oyama H. 2023. Analysis of functional ingredients of tempe-like fermented *Moringa oleifera* seeds (*Moringa* tempe) prepared with *Rhizopus* species. *J Biosci Bioeng* 135:306-312
- Azeke MA, Fretzdorff B, Buening-Pfaue H, Betsche T. 2007. Comparative effect of boiling and solid substrate fermentation using the tempeh fungus (*Rhizopus oligosporus*) on the flatulence potential of African yambean (*Sphenostylis*



- stenocarpa* L.) seeds. *Food Chem* 103:1420-1425
- Beal L, Mehta T. 1985. Zinc and phytate distribution in peas. Influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorus on pea phytate and phytase. *J Food Sci* 50: 96-100
- Carvalho AW, Natal DIG, Silva CO, Dantas MIS, Barros EG, Ribeiro SMR, Costa NMB, Martino HSD. 2013. Heat-treatment reduces anti-nutritional phytochemicals and maintains protein quality in genetically improved hulled soybean flour. *Food Sci Technol* 33:310-315
- Cuevas-Rodríguez EO, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Cárdenas-Valenzuela OG, Reyes-Moreno C. 2004. Quality protein maize (*Zea mays* L.) tempeh flour through solid state fermentation process. *LWT Food Sci Technol* 37:59-67
- Cuevas-Rodríguez EO, Verdugo-Montoya NM, Angulo-Bejarano PI, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Bello-Pérez LA, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C. 2006. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). *LWT Food Sci Technol* 39:1072-1079
- Drabo MS, Savadogo A, Raes K. 2023. Effects of tempeh fermentation using *Rhizopus oryzae* on the nutritional and flour technological properties of *Zamne* (*Senegalia macrostachya* seeds): Exploration of processing alternatives for a hard-to-cook but promising wild legume. *Food Biosci* 54:102823
- Egounlety M, Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *J Food Eng* 56:249-254
- Ha BK. 2023. Recent soybean industry trends. *Soybean Ind Inf* 6:4-14
- Hamerstrand GE, Black LT, Glover JD. 1981. Trypsin inhibitors in soy products: Modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chem* 58:42-45
- Han N, Woo KS, Lee JY, Song SB, Lee YY, Kim M, Kang MS, Kim HJ. 2022. Comparison of physicochemical characteristics, functional compounds, and physiological activities in Adzuki bean cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:428-438
- Henderson JW, Ricker RD, Bidlingmeyer BA, Woodward C. 2000. Rapid, Accurate, Sensitive and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. pp.1-10. Agilent Technologies
- Huang H, Kwok KC, Liang H. 2004. Effects of tea polyphenols on the activities of soybean trypsin inhibitors and trypsin. *J Sci Food Agric* 84:121-126
- Jung DH. 2006. Fermented Soybean Food. pp.709-735. Honggigjae.
- Kim CT, Kim CJ, Kim DC, Kwon TW. 1990. Tempeh fermentation from a mixture of soybean and sorghum grain. *Korean J Food Sci Technol* 6:668-674
- Kim HJ, Seo JH, Won DJ, Han N, Lee JY, Kim M, Lee YY, Kang MS. 2022. Comparison of physicochemical properties of seed protein in soybean cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:1048-1055
- Kim JT. 1986. Temph: Soybean fermented food in the spotlight. *Korea Soybean Dig* 3:28-36
- Kim YH, Kim SD, Hong EH. 1994. 11S and 7S globulin fractions in soybean seed and soycurd characteristics. *Korean J Crop Sci* 39:348-352
- 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
- Lee HJ, Moon TH, Noh BS, Chang PS, Baek HH, Lee KK, Kim SJ, Yoo SH, Lee GW. 2014. Food Chemistry. pp.190-193. Soohaksa
- Lee JK. 1988. Review of nutritional characteristics of tempeh and its usage. *Korea Soybean Dig* 5:10-22
- Lei MG, Bassette R, Reeck GR. 1981. Effect of cysteine on heat inactivation of soybean trypsin inhibitors. *J Agric Food Chem* 29:1196-1199
- Liu K. 1997. Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization. pp.1-12. Springer Science + Business Media, B.V., Dordrecht
- Liu K. 2019. Soybean trypsin inhibitor assay: Further improvement of the standard method approved and reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. *J Am Oil Chem Soc* 96:635-645
- Liu L, Huang Y, Zhang X, Zeng J, Zou J, Zhang L, Gong P. 2023. Texture analysis and physicochemical characteristics of fermented soymilk gel by different lactic acid bacteria. *Food Hydrocoll* 136:108252
- Mujoo R, Trinh DT, Ng PKW. 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chem* 82:265-273
- Nakajima N, Nozaki N, Ishihara K, Ishikawa A, Tsuji H. 2005. Analysis of isoflavone content in tempeh, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *J Biosci Bioeng* 100:685-687
- Ogawa T, Tayama E, Kitamura K, Kaizuma N. 1989. Genetic

- improvement of seed storage proteins using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean (*Glycine max* L.). *Jpn J Breed* 39:137-147
- Park ES, Yoon S. 1983. The changes of phytic acid content and its interactions with protein and minerals in the preparation of tempeh. *Korean J Nutr* 16:281-286
- Park HY, Kim HJ, Seo JH, Choi HS, Park J, Sim EY, Kim MJ, Kim HS. 2022. *In vitro* digestibility and amino acid score of *Rhizopus oligosporus* fermented products by domestic soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Korean J Food Nutr* 35:435-444
- Randhir R, Vattem D, Shetty K. 2004. Solid-state bioconversion of fava bean by *Rhizopus oligosporus* for enrichment of phenolic antioxidants and L-DOPA. *Innov Food Sci Emerg Technol* 5:235-244
- Rural Development Administration [RDA]. 2021. Agricultural Technology Guide 116: Soybean. pp.18-23. Rural Development Administration
- Reddy NR, Pierson MD. 1994. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. *Food Res Int* 27:281-290
- Rafaat AA, Hemmat MA, Shimaa AA, Emam AM. 2018. Production and evaluation of soybean tempeh to use as a ready to eat meal in Egyptian hotels. *Asian Food Sci J* 5:1-9
- Reyes-Moreno C, Cuevas Rodríguez EO, Milán Carrillo J, Cárdenas Valenzuela OG, Barrón Hoyos J. 2004. Solid state fermentation process for producing chickpea (*Cicer arietinum* L) tempeh flour. Physicochemical and nutritional characteristics of the product. *J Sci Food Agric* 84:271-278
- Romulo A, Surya R. 2021. Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits. *Int J Gastron Food Sci* 26:100413
- Ryoo SH, Kim SR, Kim KT, Kim SS. 2004. Isoflavone, phytic acid and oligosaccharide contents of domestic and imported soybean cultivars in Korea. *Korean J Food Nutr* 17:229-235
- Sessa DJ, Haney JK, Nelsen TC. 1990. Inactivation of soybean trypsin inhibitors with ascorbic acid plus copper. *J Agric Food Chem* 38:1469-1474
- Song H, Seo MJ, Kim HS, Choi HS, Park J, Sim EY, Park HY. 2021. Physico-chemical properties of Korean soybean (*Glycine max* L.) and tempeh by *Rhizopus* sp. from soybean cultivars. *J East Asian Soc Diet Life* 31:281-290
- Song J, Liu C, Li D, Gu Z. 2013. Evaluation of sugar, free amino acid, and organic acid compositions of different varieties of vegetable soybean (*Glycine max* [L.] Merr). *Ind Crops Prod* 50:743-749
- Stewart OJ, Raghavan GSV, Orsat V, Golden KD. 2003. The effect of drying on unsaturated fatty acids and trypsin inhibitor activity in soybean. *Process Biochem* 39:483-489
- Sudarmadji S, Markakis P. 1977. The phytate and phytase of soybean tempeh. *J Sci Food Agric* 28:381-383
- Sugai-Guérios MH, Balmant W, Krieger N, Furigo A Jr, Mitchell DA. 2016. Colonization of solid particles by *Rhizopus oligosporus* and *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation involves two types of penetrative hyphae: A model-based study on how these hyphae grow. *Biochem Eng J* 114: 173-182
- Vagadia BH, Vanga SK, Raghavan V. 2017. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor: A review. *Trends Food Sci Technol* 64:115-125
- Vaidehi MP, Annapurna ML, Vishwanath NR. 1985. Nutritional and sensory evaluation of tempeh products made with soybean, ground-nut, and sunflower-seed combinations. *Food Nutr Bull* 7:1-4
- Van Etten CH, Kwolek WF, Peters JE, Barclay AS. 1967. Plant seeds as protein sources of food or feed. Evaluation based on amino acid composition of 379 species. *J Agric Food Chem* 15:1077-1089
- Varzakas T. 1998. *Rhizopus oligosporus* mycelial penetration and enzyme diffusion in soya bean tempe. *Process Biochem* 33:741-747
- Vong WC, Hua XY, Liu SQ. 2018. Solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus* and *Yarrowia lipolytica* improved nutritional and flavour properties of okara. *LWT* 90:316-322
- Wallace GM, Bannatyne WR, Khaleque A. 1971. Studies on the processing and properties of soymilk: II.—Effect of processing conditions on the trypsin inhibitor activity and the digestibility *in vitro* of proteins in various soymilk preparations. *J Sci Food Agric* 22:526-531
- Yang JH, Mau JL, Ko PT, Huang LC. 2000. Antioxidant properties of fermented soybean broth. *Food Chem* 71:249-254

---

Received 12 September, 2023

Revised 11 October, 2023

Accepted 20 October, 2023