

최 종  
연구 보고서

# 고부가 가치 기능성 콩나물 개발 및 상품화

연구기관 : 소이벤처(주)

농림부 도서실



0011161

농림부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “ 고부가가치 기능성 콩나물 개발 및 상품화에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 10월 15일

주관연구기관명 : 소이벤처(주)  
총괄연구책임자 : 황 영 현  
세부연구책임자 : 황 영 현  
연 구 원 : 이 정 동  
연 구 원 : 정 연 신  
협동연구기관명 : 경북대학교  
협동연구책임자 : 김 길 응  
연 구 원 : 신 동 현  
연 구 원 : 김 일 두  
위탁연구기관명 : 에프시키탈(주)  
위탁연구책임자 : 김 용 훈  
연 구 원 : 김 용 화

2005-182

농림부 자료실
등록번호: 11161
등록일: 2006년 1월 11일
기증:

# 요 약 문

## I. 제 목

고부가가치 고기능성 콩나물 개발 및 상품화

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

콩나물은 우리나라에서 비닐하우스가 널리 보급되기 전까지는 김치를 제외하고는 겨울동안에 먹을 수 있는 유일한 채소이었다. 비닐하우스가 널리 보급되어 연중 다양한 종류의 채소가 공급되고 있는 오늘날에도 콩나물은 재배가 단기간에 이루어질 수 있을 뿐만 아니라 그 영양성과 기능성이 우수하여 연간 50만톤 내외로 많이 이용되고 있는 중요한 채소이다. 또한 콩나물은 연구개발에 따라서는 김치와 마찬가지로 세계인의 식품으로 개발할 여지가 얼마든지 있다고 보여 진다.

그러나 모든 먹거리에서 단순한 양이 아니라 질이 중요시 되고 있는 요즘은 콩은 다른 어느 작물보다도 그 기능성에서 높은 가치가 주어지고 있기 때문에 국내의 두채 산업체에서나 국제 경쟁력을 갖기 위해서는 보다 높은 기능성을 가진 품종의 개발과 식품으로 이용하는 측면에서 안전성이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 세계에서 유일하게 우리나라만이 보존하고 있는 콩나물콩 유전자원 전부를 순계화하고 특성화하여 세계적으로 독특한 유전자원으로서의 가치를 확보할 필요성이 있다고 본다. 또한 시대가 요구하는 기능성을 가진 새로운 품종으로 육성할 필요가 있는데, 특히 지난세기 말부터 콩의 최고 기능성 물질로 알려지고 있는 이소플라본과 콩에는 없으나 콩나물로 재배되는 과정에서 생성되는 숙취해독 작용이 있는 아스파라긴을 다량함유하고 있는 콩나물콩 품종을 선정 개발코자 하였다. 아울러 이들 자원을 이용하고 콩나물콩의 아스파라긴 함량을 최대한으로 높여 숙취해독제제 상품으로 개발코자 하였다. 또한 수율을 높이고 잔뿌리 발생을 억제하며 외관상의 품질을 높이기 위해 거의 모든 두채 업자들이 사용하고 있는 인체에 극히 해로운 성장조정제인 “인돌비”의 효능을 어느 정도 대체할 수 있는 인체에 무해한 천연의 성장조정제를 탐구코자 하였다.

또한, 최근에 화학적인 방법으로 합성하여 사용하고 있는 식품첨가물이나 성장조절제에 대하여는 소비자들이 강한 거부감을 나타내므로, 콩나물에서 경제적으로 아스파라긴을 추출하여 사용하는 것이 매우 중요하다. 또한 콩 이소플라본은 최근 합성 호르몬에 의한 심각한 부작용을 슬기롭게 대처할수 있는 천연의 호르몬 대체물질로 각광을 받고 있어 본 과제에서는 이들 물질에 대한 효과적인 추출방법을 확립함과 동시에 이소플라본을 이용한 숙취해독제를 개발코자 하였다. 일반적인 L-asparagine의 합성 방법으로는 L-aspartic acid와 암모니아수의 반응이나, L-asparagine을 많이 포함하는 루핀이나 콩 싹의 추출물에서 분리한다. 그러나 합성에 따르는 여러 반응 단계와 추출과정에서 과량의 물을 사용함으로써 asparagine 정제시 물을 제거하는데 따르는 부대비용이 많이 든다. 따라서 제거가 용이한 용매와 pH 조건을 선정하여 보다 쉽고, 편리한 기술의 개발이 필요하다. 콩 이소플라본은 상대적으로 고가에 거래되며, 따라서 보다 싼 가격의 추출조건을 확립함으로써, 이들 제품을 이용한 다양한 제품 개발에 대한 원가 경쟁력 확보가 가능하다. 미국, 중국 등 콩을 대량으로 생산하는 국가에서의 isoflavone의 추출은 대부분 유전자변이(GMO) 콩을 이용하여 이소플라본을 생산하므로, 이들에 대한 안전성 문제가 대두된다. 또한 아스파라긴의 경우 화학적 반응에 의한 합성이 주를 이루고 있으므로 이들에 대한 보다 안전한 물질의 획득이 필요하다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구의 내용은 크게 세가지 세부과제로 나누어 수행되었는데, 제1세부과제에서는 현재 농촌진흥청이 보유하고 있는 1,000여개 콩나물콩 전체 유전자원을 이용하여 순계화하고, 이들 순계에 대하여 일반 농업적 형질을 포함하여 기능성 성분인 아스파라긴과 이소플라본의 함량을 개략적으로 분석하여 고함량의 품종들에 대하여 정밀분석하였으며 콩나물의 특성도 함께 조사하여 재배가치가 있는 계통들에 대하여는 품종 육성에 필요한 생산력을 검정하였다.

제2세부과제에서는 콩나물 재배용 천연 식물성 성장 조절제 개발 과제로서 천연 물질인 죽순, 겨자, 느릅나무, 현사시 나무 등을 이용하여 즙액을 추출한 후 이들 추출물질을 콩나물 재배에 처리하여 처리에 따르는 콩나물의 품질과 저장성을 평가하였다. 또한 실용화 가능성이 타진된 최적 재배조건을 찾아서 그 최적조건에 의한 재배

콩나물의 품질, 저장성, 경제성, 시장성 및 소비자 호응도 등을 감안한 천연 생장 조정제의 대량생산 시스템을 확립하여 지적 소유권 보호 차원에서 특허 출원하여 관련 업체에 기술 이전하여 실용화 하는 것이다

제3세부과제에서는 asparagine과 isoflavone의 추출을 비이커, pilot, 및 양산단계로 양을 늘려가면서, 온도, pH, 및 용매의 조건에 따른 최적의 추출 조건을 확립하는 것으로서, 특히 isoflavone의 추출은 이 때 얻어진 isoflavone의 순도를 50%이상 증가시킬 수 있는 조건을 확립하는 것이었다. 얻어진 asparagine 및 isoflavone을 이용하여 상품화에 대비하였고, asparagine 및 isoflavone의 추출은 콩나물을 원료로 하여 각각의 추출조건에서 얻어진 결과를 이용하여 asparagine 및 isoflavone을 동시에 추출하였다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 연구개발 결과

#### 가. 고기능성 나물콩 품종개발과 상품화

1) 순계분리 후 동일포장 동일 날짜에 파종한 1,139개의 재래종들의 조사형질의 변이는 매우 컸는데, 개화일수는 35~85일, 생육일수는 85~152일로 이들 자원들을 이용하는 경우 전 세계 어느 위도에서나 적응할 수 있는 콩나물 콩 품종육성이 가능할 것으로 평가되었다.

2) 공시계통들의 5일 재배한 콩나물 아스파라긴 함량을 포함하여 콩나물의 전체, 배축 및 뿌리 길이, 배축의 두께, 개당무게 및 수율에서도 큰 변이를 보여 우량한 콩나물콩 육성을 위한 귀중한 자료로 생각되었다.

3) 공시계통 중 5일 재배한 콩나물의 수율이 900%에 가까운 계통이 있었으며, 아스파라긴의 함량도 풍산나물콩의 1.5배 정도나 높은 것이 있어 중요한 자원으로 생각되었다.

4) 농업적 특성과 콩나물 특성을 종합적으로 평가하여 우수한 19개의 계통을 선발하고 이들에 대한 포장 수량성을 검정한 결과 종실수량은 풍산나물콩과 유사한 계통이 수개 있었으나 모자이크 바이러스 및 도복 저항성은 아주 낮은 것으로 평가되어 직접적인 농가재배로 권장하기에는 문제가 있는 것으로 평가되었다. 그러나 이들 콩

나물의 우수한 특성은 새로운 콩나물콩 품종육성에 이용할 가치가 매우 높은 것으로 보였다.

5) 요약하여 우리나라 거의 전 콩나물 재래자원을 순계화하여 포장에서의 농업적 특성과 콩나물의 특성을 검정한 결과 바로 농가에 장려할 수 있는 재래계통은 없었으나 새로운 품종육성에 이용할 수 있는 유용형질을 가진 계통은 아주 많아 본 과제를 통해 순계화하고 특성검정이 된 이들 콩나물 유전자원은 세계적으로 잘 보존되고 보다 더 많은 연구가 되어야 할 중요한 우리의 귀중한 유산이라고 생각되어진다.

6) 현재 공장에서 재배되어 시판되어지는 콩나물처럼 잔뿌리가 나기 전까지만 재배한 경우 뿌리부분의 중량비율이 매우 낮은 것을 알 수 있다. 또한, 뿌리부분의 아스파라긴 함량이 높다는 일반적인 사실과는 달리 건물중으로 환산한 뿌리부분의 아스파라긴 절대함량이나 비율도 매우 낮았다.

7) 콩나물 재배를 통해 아스파라긴의 최대량을 추출하기 위해서는 15일 이상까지도 콩나물을 재배할 필요가 있는데, 오존수로 콩나물을 재배한 경우 16일까지도 콩나물 재배가 가능하였으며 재배일수가 길어질수록 콩나물의 아스파라긴 함량은 계속적으로 증가하였다

8) 콩나물을 재배하여 아스파라긴의 추출 수율을 높이기 위해서는 콩나물 재배 중요소 0.2%용액을 사용하는 것이 효과가 있었으며 콩나물 재배실의 온도를 20℃로 하는 것이 콩나물의 품질 및 아스파라긴의 수율이 가장 높은 것으로 나타났다.

9) 숙취해독제를 개발하기 위해 여러 가지 물질을 이용하여 실험한 결과 콩나물에서 추출한 아스파라긴에 수종의 콩 추출물을 혼합한 가칭 소이벤처 숙취해독제가 아스파라긴 단용보다 숙취해독에 효과가 있는 것으로 나타났다. 상품화를 위해서는 약간의 추가적인 실험이 필요한 것으로 생각된다.

#### 나. 콩나물 재배용 천연 식물성 성장조정제 개발

##### 1) 천연 성장조정제의 콩나물 품질과 성분함량에 미치는 영향 구명

콩나물 재배시 천연물 추출물 (유근피, 죽순, 현사시 나무, 거자)을 물, 초음파, 에탄올추출방법으로 0.05-0.5 %의 농도로 추출 콩나물 재배시 처리후 수율을 살펴본 결과 재배 6일째 0.5%유근피 물추출 (WEJ), 0.5%거자 물추출(WEM) 0.5%죽순초음파(UEB)가 물로만 재배한 무처리구(CON)보다 9.8-11.0% 증가 하였다. 수분함량은 처리간에

뚜렷한 차이가 없었다. Vitamin C 함량은 모든 처리에서 증가하여 WEM은 16.1 mg%, UEB는 15.2mg%, WEJ는 14.6 mg%, INB(인돌비 처리)는 14.1 mg% , CON는 14.3 mg%이었다. 식이성 섬유는 전체적으로 22.6~25.3%(d.w.) 범위였으며 WEM>UEB>WEJ>INB>CON순이었다. 총 아미노산 함량은 WEM>CON> WEJ>UEB>INB 순 이었다 무기질 함량은 UEB에서 CON보다 Fe는 97.3%, Mg는 35.8% P는 22.8% 이었으나 Zn, Mn, Na 는 변화가 없었다. 총 균수의 WEM 처리구를 제외하고 큰 변화는 없었다.

#### 2) 천연 성장조정제의 작용 메카니즘 구명

천연 성장 조정제 (WEJ, WEM, UEB), INB(인돌비)와 무처리(CON) 콩나물을 7°C 저장한 결과 수분함량은 저장기간의 경과에 따라 2~5% 정도 증가하였으나, 처리간에 뚜렷한 차이가 없었다. 총 균수와 chlorophyll 함량도 처리간에 뚜렷한 차이가 없었으며, vitamin C 함량은 모든 처리구 다 같이 저장기간의 경과에 따라 감소하였다. 경도는 저장 5일째 WEM > UEB >INB> WEJ =CON 순서였다. 관능적 품질은 저장 5일째 조리한 후 평가한 색상은 WEJ, WEM 이 가장 좋았으며 냄새는 UEB가 종합적인 맛은 WEJ 가장 좋았다.

이상의 결과로 미루어 콩나물 재배시 천연 성장조정제는 부패율을 줄일 수 있음과 동시에 성장촉진과 품질향상을 꾀할 수 있어 산업적 적용을 기대할 수 있을 것이라 판단되었다.

#### 3)중심 합성법에 의한 천연 성장조정제 처리 콩나물 재배 최적조건 과 품질

콩나물 재배시 겨자 추출물 처리 최적조건을 확립하기 위하여 겨자 추출물 농도 0.15, 0.1, 0.05%, 수침 처리시간 30, 60, 90분, 처리 횟수 1, 2, 3회로 하여 중심 합성법에 의해 설계하여 반응 표면 분석법으로 최적 재배 조건을 구한 결과 겨자 추출물 농도 0.30~0.40%, 처리시간 34~38분 처리횟수 1회이었고, 이에 따른 품질은 대조구에 비하여 발아율이 12.5%이상 증가하였다.

#### 4) 최적 재배 조건에 의한 콩나물 품질 에 미치는 효과

콩나물 재배시 겨자 추출물 처리 방법 (CON: 대조구, WEM :겨자물 추출물 처리구)별로 콩나물 재배 중 6일째 기준으로 볼 때 수분 함량을 유의적 차이가 나타나지 않았고, vitamin C의 함량은 대조구에 비하여 WEM 처리구가 16.8% 증가하였고, 식이성 섬유는 11.4% 증가하였다. 총 아미노산 함량을 CON 보다 WEM 이 다소 증가

하였다.

무기질 함량은 WEM 에서 CON보다 P는 8.5%, Na는 4.5%높았으나 Zn, Mn, k등에는 변화가 없었다. 총 균수의 경우 재배 6일째 CON은 8.8cfu/g이었고, WEM 경우 7.4 cfu/g였다.

5) 최적 재배조건에 의한 콩나물 저장성에 미치는 효과

겨자 추출물 처리구 (WEM) 와 무처리구 (CON) 콩나물을 7°C에서 저장한 결과 6일째 수분, chlorophyll 함량과 총 균수는 처리별 차이가 없었고 vitamin C 함량도 모든 처리구에서 다같이 저장 기간의 경과에 따라 감소하였다. 관능적 품질, 종합적인 맛에서는 CON보다 WEM 처리구가 좋았다.

6)천연 생장 조정제의 대량 생산 시스템

본 연구는 콩나물 재배를 위한 천연 식품 생장조절 개발의 일환으로 천연물인 겨자 추출물이 콩나물 생장 촉진에 도움이 된다고 판단되었다. 이의 산업화와 대량 생산으로 그 보관성과 편리성을 위한 겨자 추출물을 동결건조하여 대량 생산을 시도 하였다. 이를 위한 다른 생장조절제(인돌비, BA)와 가격 경쟁에서는 다소 떨어지지만 천연물질로서 안전성에는 우수하다고 판단된다. 한편 이를 산업화 하기위한 지적보호 차원에서 발명특허(발명국문명칭 : 겨자를 이용한 콩나물 및 숙주나물 재배 방법, 출원번호 : 10-2005-0095083호)를 출원하였다. 앞으로 본 연구에서 개발된 겨자 추출물을 좀더 생산자에게 편리하도록 하는 연구가 요망된다.

다. Asparagine 및 Isoflavone의 경제적 추출 방법 개발

. 1) Asparagine의 추출

가) 10일 재배한 콩나물을 이용하여 다른 용매의 첨가 없이 분쇄하여, 분쇄한 물질에서 부유물을 온도의 적절한 조정 및, 알코올계 소포제를 이용하여 제거함으로써, asparagine의 재결정을 매우 효과적으로 얻을 수 있었다.

나) 추출시 다른 용매를 사용하지 않으므로 pH의 변화에 의한 추출 효율의 변화는 관찰되지 않았으며, 80도에서 최고의 추출효율을 보였다.

다) 분쇄 공정에서 콩나물의 몸통 부분만을 이용한 아스파라긴의 추출은 부유물의 제거 공정이 용이하여 효과적으로 아스파라긴을 얻을 수 있었다.

## 2) Isoflavone의 추출

가) 아세톤을 추출 용매로 사용하여 매우 효과적으로 이소플라본을 획득할 수 있었으며, 추출에 이용된 아세톤을 재순환하여 다음 공정에 이용함으로 매우 효과적인 용매로 사용할 수 있었다.

나) 이소플라본의 고순도화는 적절한 용매를 사용하여 쉽게 얻을 수 있었다.

다) 두질 콩나물 공정에서 발생하는 콩나물 머리 부분을 이용한 이소플라본의 추출은 부산물을 이용한 부가적인 경제효과를 거둘 수 있다.

라) 60%의 이소플라본을 용매에 의한 용해도 차이를 이용하여 Genistin 및 Daidzin을 쉽게 획득하여, 이들을 Aglucone isoflavone으로 전환하여, 이들의 기능성 영역의 제품으로 쉽게 개발 할 수 있었다.

## 3). 응용

가) 분리한 asparagine 및 genistein을 이용하여 음주에 따른 알코올 산화 산물인 아세트 알데히드의 혈중 농도를 저하시키고, isoflavone의 항산화 효과를 이용한 숙치해독제에 이용하였다.

나) 용해도 차이를 이용하여 분리한 비배당체 genistein은 쉽게 호르몬대체제 등과 같은 응용을 위하여 Cream 및 Gel형의 제품을 만들었다.

## 결과활용에 대한 건의

### 가. 고기능성 나물콩 품종개발과 상품화

본 과제를 통해 순계화되고 다수의 특성이 조사된 우리나라 전래의 콩나물콩 유전자원은 전 세계적으로도 독특한 자원으로 그 보관과 지속적인 연구가 필요하다고 본다. 본 과제를 통해 순계화된 이들 자원들은 그 가치가 무한한 것으로 조사되었으며 사정이 허락되면 이들 자원을 증식하여 농진청의 gene bank에 입고하고 국내의 연구자들에게 유용하게 이용이 되도록 하고자 한다. 농림기술관리 센터 또는 농진청에서 이에 필요한 많지 않은 예산의 지원이 필요하다고 본다.

### 나. 콩나물 재배용 천연 식물성 성장조정제 개발

콩나물 재배용 천연 성장 조절제로서 안전성과 경제성을 고려한 겨자 추출물은 콩

나물 재배용 외에 숙주나물이나 발아식품에 사용하므로써 다양한 분야에 이용 될 수 있다고 판단된다. 따라서 본 연구에서 개발된 겨자 추출물을 다른 식물에 적용하는 경우에는 적용식물의 각각에 대한 적용 실험을 통해 성장과 품질에 미치는 영향을 연구한 후 그 적용이 가능하리라 본다.

#### 다. Asparagine 및 Isoflavone의 경제적 추출 방법 개발

경제적 추출방법 개발과정에 획득한 배당체 이소플라본(Genistin, Daidzin) 및 비배당체 이소플라본(Genistein, Daidzein)을 이용한 알코올 중독자 치료제, 천연항암치료제, 골다공증 치료제 및 숙취관련 약품 등 다양한 분야의 출발물질 및 최종물질로 이용한 차후의 개발이 가능하게 되었다.

## SUMMARY

### 1. Development of high functional soy-sprout varieties and merchandises

A. Much more greater variations than expected were observed in the important agronomic and sprout characteristics from those 1,139 indigenous soybean sprout lines which were planted on the same date this year after development as pure inbred lines in the last two years. For examples, the ranges of days to flower and to maturity were 35~85 and 85~152, respectively, which could successfully be used for the development of new sprout soybeans adaptable even in those countries at around equator or in northern part of China.

B. Also a great deal of variation was observed out of 5 days grown soybean sprouts in asparagine content, total length, the length and thickness of hypocotyl, weight, and yield rate, etc. These facts infer that those indigenous lines can be a good source of germplasm for the development of new soybean sprout varieties.

C. Some of the lines showed as high as 8.8 yield rate of soybean sprouts, which can be grown without any chemical growth regulators. At the same time, some of the lines showed as high as 1.5 times of asparagine content compared with Pungsannamulkong which is the most widely being cultivated as soy-sprout variety in Korea at present.

D. Based on the agronomic and sprout characteristics, 19 promising lines were selected. Some of the selected lines showed nearly same seed yields as Pungsn-namulkong but those selected lines were much poorer than Pungsannamulkong in the resistance to virus and lodging, thus considered difficult to be recommended to the farmers. But those can be used as good source materials for the development of new good variety for soybean sprouts.

E. In a word, those pure inbred lines developed from this research can not directly be recommended to the farmers for cultivation but have so much valuable

characteristics which are properly maintained and studied in more detail to be a precious and unique world heritage.

F. As most of soybean sprouts grown in the factories for selling at market, soybean sprouts grown up to lateral root germination, the content of asparagine in the roots are comparatively low both in the rate of asparagine out of all sprouts and in absolute amount.

G. To extract the greatest amount of asparagine from soy-sprouts, it is needed to grow sprouts more than 16 days. When sprouts were grown with ozonic water, it was possible to grow sprouts more than 16 days without any rotting problems. The content of asparagine in the sprouts were proportionally increased up to 16 days.

H. When sprouts were grown in 0.2% of urea, the content of asparagine in sprouts were significantly increased. Soybean sprouts grown at 20°C room temperature showed the highest yield rate and asparagine content, at the same time.

I. A serial experiments conducted to develop an antidote of alcohols revealed that "SV antidote for a hangover" made of mixture of asparagine and several kinds of soybean extracts showed better detoxifying effects than pure asparagine. A few more experiments are to be needed to commercialize the one as the selling products.

## **2. Development of nature plant growth conditioner (NPGC) for soybean-sprouts cultivation**

A. Effect of NPGC(Nature plant growth conditioner) on growth and quality of soybean sprouts

Qualities of soybean sprouts cultivated by various nature plant extracts treatment during cultivation for 6 days were investigated. Nature plant growth conditioners (NPGC) were extracted from Japanese Elm, bamboo - shoot, poplar *glandnlosa*, mustard by water, ethanal, ultrasonic waves and the concentrations of

0.05, 0.1 and 0.5% were adjusted. Total weight yield of WEJ (0.5% water extracts of Japanese Elm), WEM (0.5% water extracts of mustard), UEB (0.5% ultrasonic waves extract of bamboo-shoot) soybean sprouts as compared with CON (control) products increased by 9.8~11.0%.

No great difference occurred among all samples in the changes of moisture content, bacterial counts (except for WEH sample). Vitamin C contents at 6th days of cultivation were 16.1mg% for WEM soybean sprouts, 15.2mg% for UEB products 14.6mg% for WEJ 14.1mg% for INB (sample treated indolbi) and 14.3mg% for CON respectively. The orders of dietary fiber and total amino acid content were WEM > UEB > WEJ > INB > CON. and WEM > CON > WEJ > UEB > INB respectively. The levels of Fe, Mg and P in UEB soybean sprouts as compared with CON increased by 97.3, 35.8 and 22.8 respectively.

#### B. NPGC action mechanism to soybean sprouts by storage

Qualities of soybean sprouts cultivated by NPGC (WEJ, WEM, UEB, INB and CON) and stored for 6 days at 7°C were investigated by moisture content, number of total microbe, vitamin C content, chlorophyll content, hardness and sensory evaluation. Moisture content of soybean sprouts stored at 7°C in all samples increased by 2~5%. Number of total microbe also increased significantly during storage at 7°C. However, no great difference occurred among samples in the moisture content, number of total microbe, vitamin C and chlorophyll content. The orders hardness in soybean sprouts at 5 days were WEM > UEB > INB > WEJ = CON. Color score of WEJ and WEM was higher than those of the others. However, higher scores for overall taste were found for WEJ products as compared to the other samples.

#### C. Optimal conditions and quality of soybean sprouts cultivated by WEM treatment with central composite design

To enhance soybean sprouts growth, the optimal conditions for WEM(water

extracts of mustard) treatment of soybean during soaking at 20°C were evaluated with WEM concentration (0.05, 0.1 and 0.5%), treatment time(30, 60 and 90min) and treatment frequency (1,2 and 3 time) by response surface methodology. Optimal conditions of soybean sprouts cultivated by WEM (water extracts of mustard) during soaking of soybean were WEM concentration of 0,30 to 0.40, WEM treatment time of 34 to 38 min, and WEM frequency of ons time. The soybean sprouts cultivated under the optimal conditions increased above 12.5% germination rates.

#### D. Effect of optimal cultivation conditions on quality of soybean sprouts

Qualities of soybean sprouts cultivated by WEM (water extracts of mustard) treatment during cultivation for 6 days were investigated. Vitamin C content and dietary fiber content of WEM soybean sprouts as compared with CON products increased by 16.8 and 11.4%, respectively. Total amino acid yield of WEM sample as compared with CON increased slightly. The levels of P and Na in WEM soybean. sprouts increased by 8.5 and 4.5%, respectively. Number of total microbe of CON and WEM soybean sprouts during cultivation at 6 days increased 8.5 cfu/g and 7.4 cfu/g, respectively.

#### E. Effect of optimal cultivation conditions on quality of soybean sprouts during storage

Qualities of soybean sprouts cultivated by water extracts of mustard(WEM), and stored for 6 days at 7°C, were investigated by moisture content, number of total microbe, vitamin C content, chlorophyll content and sensory evaluation. No great difference occurred among samples in moisture content, number of total microbe, vitamin C content and chlorophyll content. However, higher scores for overall taste were found for WEM products as compared to CON sample.

#### F. Mass production system for nature plant growth conditioner(NPGC)

In this study, the mass production of mustard extracts powder by freeze drying for soybean sprouts cultivation was investigated. The safety of nature plant growth conditioner extracted by mustard was higher than that of the other growth conditioners (Indolbi, BA, etc), but the price was more expensive than that of the others. On the other hand, The patent (Invention title ; cultivation method of soybean and mung bean sprouts by using mustard extracts , Application number ; 10-2005-0095083) for intellectual protection was applied.

### **3. Improvement of the economical extraction method of asparagine and isoflavone**

According to extraction condition from beaker to the mass production, asparagine and isoflavone are effectively extracted from soy and soybean sprouts cultivated during 10 days. Acetone is a excellent solvent for dissolving isoflavone from the fat-removed soy powders and the head of soybean sprouts. The removing foam process in the extraction of asparagine is a key process for easy producing and we are effectively extracted by using alcohol type surfactant (DS-1000). Specially, isoflavone and asparagine are extracted by using the head and the body from the soybean sprouts respectively. As this method utilize the industrial by-product which is obtained the process of making a head cutting soybean sprouts, we will anticipate to reduce the production cost economically.

We also established the obtaining condition for genistin and daidzin from the extracted crude isoflavone material using the solubility of genistin and daidzin in the special solvent system. It is more economical and effective method than the general column chromatographic separation method. Therefore, genistein and daidzein are directly obtained through the acid hydrolysis of glycoside genistin and daidzin. This aglucone isoflavones are very important materials for making alcohol related symptom, HRT agent (cream and gel types), and anti-cancer agent and so on.

## CONTENTS

Charpter 1. Summary of researches-----	10
Section 1. Research objectives-----	17
Section 2. Research background-----	18
Section 3. Research range-----	23
Charpter 2. Present status of domestic and foreign researches---	24
Section 1. Present status of domestic researches-----	24
Section 2. Effects of research results-----	27
Charpter 3. Research results and discussions-----	30
Section 1. Development of high functional soy-sprout varieties and merchandises-----	30
Section 2. Development of natural fungicides & bactericides and plant growth regulators for soy-sprouts-----	57
Section 3. Improvement of the economical extraction method of asparagine and isoflavone-----	90
Charpter 4. Degree of target achievement and contribution to the related research fields-----	105
Charpter 5. Plan of use of research results-----	108
Charpter 6. Scientific technical informations obtained from----- overseas	111
Charpter 7. References-----	114

# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요-----	17
제 1 절	연구개발의 목적-----	17
제 2 절	연구개발의 필요성-----	18
제 3 절	연구개발의 범위-----	23
제 2 장	국내외 기술개발 현황-----	24
제 1 절	국내외 기술개발의 현황-----	24
제 2 절	연구결과의 영향-----	27
제 3 장	연구개발 수행내용 및 결과-----	29
제 1 절	고기능성 나물콩 품종개발과 상품화-----	29
제 2 절	콩나물재배용 천연살균제 및 식물성 생장조정제 개발-----	57
제 3 절	Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발-----	90
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	105
제 5 장	연구개발결과의 활용계획-----	108
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	111
제 7 장	참고문헌-----	114

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적

본과제의 목적은 크게 보아 4가지로 요약할 수 있다. 본 과제를 신청한 소이벤처(주)는 새로운 콩 품종을 자체개발하고 개발된 품종을 농가와의 계약재배를 통해 생산한 후 콩 관련제품을 상품화하는 벤처기업으로서 생산품으로서의 콩나물, 두부, 메주, 된장, 간장, 청국장 및 건강보조식품이 있다. 따라서 본과제의 목적은

첫째, 농촌진흥청에서 농가수집 당시의 잡종형태(seed lots)로 보관되고 있는 우리나라 전체 콩나물 콩 자원을 인출하여 순계로 육성하고 이들 순계에 대하여 생육특성 및 수량성을 검정함과 아울러 콩나물의 특성과 콩나물의 기능성 성분인 아스파라진의 함량 등에 대한 정보를 data base화 하고자 하였다. 세계에서 유일하게 우리나라에서 콩나물 콩의 용도로 수천 년간 농민들에 의해 선발되어온 귀중한 자원을 순계화 하고 순계들에 대한 특성을 data base화 하는 것만으로도 누군가는 해야 할 값진 일이라고 생각하였으며 콩만을 대상으로 설립된 소이벤처(주)로서는 이러한 일들이 숙명적인 사업으로 생각되었다. 순계화한 계통 중에 재배가치가 있는 우수한 계통에 대하여는 생산력을 예비적으로 검정하여 품종화에 대비코자 하였다.

둘째, 콩나물의 기능성 성분 중 아스파라진은 숙취해독의 작용이 탁월한 것으로 알려져 있다. 아스파라진은 콩에는 없으나 콩을 압 조건에서 콩나물로 재배하는 과정 중에 생성되는 성분으로 순계화한 유전자원에 대하여 콩나물의 아스파라진 함량의 품종간 차이를 구명코자 하였으며 동시에 이를 이용하여 숙취해독제를 개발에 필요한 기초연구를 하고자 하였다. 콩 최고의 기능성물질로 알려진 isoflavone 중 daidzein은 골다공증의 예방기능뿐만 아니라 위에서의 알콜흡수를 방해하여 숙취경감의 효능도 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 이들 콩나물 유전자원에 대한 isoflavone의 함량도 예비적으로 함께 검정코자 하였다.

셋째, 콩나물 재배 시 잔뿌리 발생을 방지하고 수율을 높이하고자 거의 전 재배업자가 이용하는 성장조정제인 “인돌비”는 미국 EPA의 쥐를 이용한 실험에 의하면 산모의 건강과 태아의 발육에 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 따라서 이를 대체할 수 있는 인체에 무해한 물질을 천연물 가운데서 찾고자 하였으며

넷째, 상기한 콩나물의 아스파라진과 isoflavone의 효율적이고도 경제적인 추출방법

을 개발코자 하였다.

## 제 2 절 연구개발의 필요성

제1 세부과제 : 고기능성 나물콩 품종개발과 상품화

지금까지 알려진 콩의 대표적인 기능성 물질은 숙취해독에 탁월한 효과가 과학적으로 밝혀진 asparagine, phytochemical 로 갱년기 여성의 주요 질병인 유방암, 자궁암 및 골다공증을 포함하여 남자의 전립선암의 예방과 치료에 탁월한 효과가 있다고 알려진 isoflavone, 철에 의한 산화반응을 감소시켜 항암작용이 있으면서 심혈관질환을 감소시키는 효능이 있는 것으로 알려진 phytic acid, 알콜성 강경변과 알츠하이머성 치매 예방과 뇌의 활성화에 효과가 있는 lecitin, 체내 지방축적을 방해하고 지방산의 산화를 방지하여 노화를 예방하는 saponine, 혈중 콜레스테롤 저하작용과 대장암 및 변비예방 효과가 있는 것으로 알려진 대두섬유소 등이 있으나 본 과제에서는 시간과 예산 및 수행능력을 고려하여 우선 고 asparagine과 고 isoflavone 나물콩 품종개발과 콩나물을 이용하는 상품개발에 필요한 연구에 국한하고자 하였다.

우리가 술을 마시면 인체에 흡수된 ethanol(알콜)은 독성이 강한 acetaldehyde로 되는데, NAD<sup>+</sup>에 의해 다시 무해한 acetate로 대사과정을 거쳐 최종적으로 물과 탄산가스 등으로 분해되어지나 너무 많은 술을 마시면 aspartate-malate shuttle에서 생성된 NAD<sup>+</sup>가 고갈되어 체내에 독성이 강한 acetaldehyde가 축적되고 이 것이 숙취에 이르게 된다. 그러나, 우리가 술을 마신 후 asparagine 함량이 많은 콩나물을 먹거나 콩나물국을 마시면, 아래 그림에서와 같이 NAD<sup>+</sup>를 보충하여 주어 체내 흡수된 ethanol을 무해한 acetate로 분해하여 숙취에 이르지 않도록 해준다.

### 세포내에서 알코올의 분해

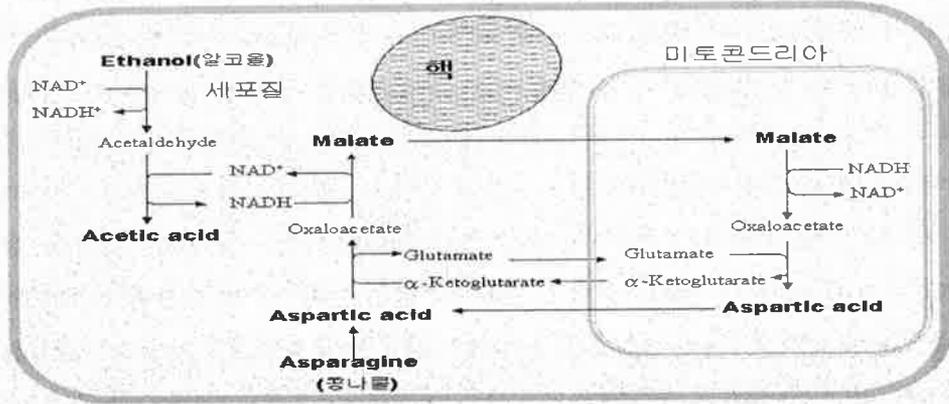


그림. Aspartic acid와 malate cycle을 통한 NAD<sup>+</sup>의 생성과 알코올의 분해과정

Isoflavone은 콩과 콩제품의 씹쓸하고 비린 좋지 않은 뒷맛에 관여하는 성분으로 그 동안 이를 제거하기 위한 노력이 시도되어 왔으나 생리활성에 관한 연구결과가 발표되면서 isoflavone 함량증가가 중요한 과제로 대두되었다. 현재까지 알려진 isoflavone은 12가지인데, aglycone인 daidzein, genistein, glycitein과 glycoside 결합 형태인 daidzin, acetyldaidzin, malonyldaidzin, genistin, acetylgenistin, malonyl-genistin, glycitin, acetylglycitin, malonylglycitin이 있고, 대부분이 glycoside(배당체) 형태로 존재하지만, 배당체 형태의 isoflavone은 체내에서 섭취된 후 당이 제거되어 aglycone 형태로 흡수되거나 장내 미생물에 의해 파괴된다. Isoflavone은 발효를 통하여 배당체가 활성을 갖는 aglycone 형태로 전환하므로 비발효식품보다는 발효식품을 섭취하는 것이 isoflavone을 더 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 예상된다. 콩중의 isoflavone은 주로 genistein과 daidzein인데, genistein은 암세포의 증식에 관여하는 효소인 protein tyrosin kinase와 DNA topo-isomerase II의 작용을 저해하는 것으로 밝혀져 전립선암 억제 등 발암 억제 가능성이 있으며 체내에서 estrogen과 유사한 작용을 하므로 phytoestrogen으로 불리며, 폐경기 이후 여성의 estrogen결핍으로 인해 유발되는 유방암 및 골다공증의 예방과 진행 억제에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Daidzein은 뼈의 재흡수를 억제하고 genistein이 약한 estrogen 활성을 발휘하여

노인과 여성의 골다공증 방지도 효과적이라고 알려져 있으며 항산화효과와 심혈관 질환 및 신부전에서 *genistein*의 효용성도 인정되고 있다.

우리나라는 세계에서 유일하게 콩나물을 많이 소비하고 있는 나라로서 원료콩 기준으로 연간 6-7만톤이 이용되며 생산량은 거의 50만 톤에 이르고 있으며 금액으로는 평가자에 따라 워낙 범위가 커 정확히 알 수가 없으나 최소 3,000억원에서 최대 8,000억원이 되는 것으로 보고하고 있다.

현재 원료콩의 품종은 대부분이 육성종이기는 하나 아직도 재래종의 비율이 상당히 높을 것으로 추정되나 정확한 자료는 없다. 육성종의 대부분은 종피색이 황색인데, 황색종을 이용하는 경우 청색이나 오리알태와는 달리 공장재배에서 세척 후 남아있는 종피색을 소비자들이 감지할 수 없기 때문으로 생각된다. 육성종은 품종의 포장 수량이 대체로 높고 내병성을 포함한 농업적 특성이 대체로 우수하기는 하나 수천년 동안 우리네 선조들이 선발하여 온 재래종 콩나물품종들이 가지고 있는 맛과 향, 노지 저장시 저장의 기간 및 콩나물 생육특성 면에서는 부족한 면이 있는 것 또한 사실이다.

따라서 본 과제에서는 “광고”의 보급으로 우리의 조상들이 보존하여 온 대부분의 유전자원을 짧은 기간에 없애버린 장류콩과는 달리 그래도 상당수가 농가수집 상태로 농촌진흥청 gene bank에 보존되고 있는 우리나라 콩나물 콩 전체 유전자원을 꺼내어 이를 순계화하고 동시에 특성검정을 실시하여 data base하여 필요한 연구자들이 이용할 수 있도록 함과 아울러 기능성과 식품질 면에서도 현재 보급되고 있는 육성종들 보다는 우수한 새로운 품종의 개발에 이용될 수 있는 정보의 제공 및 그 자체로서 재배와 이용이 가능한 계통이 있는 경우 이를 선발할 필요가 있는 것으로 생각되었다. 또한 콩나물콩의 경우에도 숙취해독 작용이 있는 asparagine과 콩 최고의 기능성 물질로 알려진 isoflavone 함량에 대한 정보는 중요하다고 본다.

Asparagine의 함량이 아주 높은 콩 품종을 이용하여 특수 재배하는 경우 콩나물의 체내 asparagine의 함량을 크게 높일 수가 있는바, 이를 이용한 천연의 숙취해독제 개발 또한 콩나물콩과 관련하여 필요한 분야이다.

## 제2 세부과제(협동과제) : 콩나물재배용 천연살균제 및 식물성 성장조정제 개발

콩나물은 연령과 빈부의 차이 없이 우리나라 국민 누구나 계절에 관계없이 상식

하는 채소로서 그 안전성이 무엇보다 중요하다. 그러나 원료 콩의 상당부분이 발아율이 낮은 수입 콩으로 이용되고 있을 뿐만 아니라 콩나물 생산자의 대부분은 미생물에 의한 부패로 인하여 발생하는 콩나물 품질의 저하를 막고 수율을 높이고, 성장을 촉진시키며 외관상의 품질을 높이기 위해 인체에 유해한 성장 조정제를 사용하고 있다. 아마도 콩나물 재배업자에게 성장조정제의 사용을 완전히 금한다는 것은 현실적으로 어려움이 있을 것이다. 따라서 기존의 염소계 살균제와 합성 성장조정제(인돌비)를 대체할 수 있는 안전한 식물성 천연살균제 및 성장조정제를 개발할 필요가 있다. 콩나물 재배과정에 부패를 일으키는 미생물로서 *Pseudomonas* sp. 와 *Fusarium* sp.을 분리 동정이 연구되었으며, 이들 미생물은 재배과정중 온도 상승과 함께 급속히 증식하면서 효소류와 유해한 부산물을 분비하며 조직을 분해하여 콩나물을 썩게 한다고 하였다. 따라서 콩나물 재배중 부패의 주된 원인은 콩에 오염된 미생물, 발아율이 낮은 콩이나 변질된 콩의 이용, 온·습도관리 등의 미숙으로 요약된다.

콩나물에 관한 연구는 재배과정중 주요성분 변화, 부패방지 및 생육촉진을 중심으로 많이 이루어져 왔다. 박 과 최 (1995)는 기존의 식품제조에 허용되고 있는 식품첨가제를 사용하여 부패균 생육억제 및 콩나물 부패와 음성적으로 사용되는 농약문제의 해결방안을 모색하였다. 그러나 이러한 연구에도 불구하고 안전성과 품질을 감안한 실용적인 방법이 확립되지 못하고 있다. 현실적으로는 일반 콩나물제조업자들의 영세성과 시설의 낙후성, 및 안전성에 대한 의식부족 등으로 콩의 발아와 성장 촉진 및 부패 방지를 위하여 성장조정제와 함께 음성적으로 농업용 농약을 살포하고 있다 (박 등, 1995). 1996년 보건복지부에 의하면 콩나물 업체의 약 60% 이상이 농약을 사용한 경험이 있는 것으로 조사된 바 있다 (박, 1997).

콩나물에 사용하는 농약중 단속대상 농약은 carbendazim과 captan이다 (하, 1990). Carbendazim은 시력장애, 정신착란, 심장마비, 유전자 변이, 종양유발 등을 일으키는 것으로 알려져 있다. Captan은 어류에 대한 독성은 있으나 포유동물에 대한 독성은 매우 낮아 복강내 주사시 LD50은 100 mg/Kg 이하이다. 그럼에도 불구하고 이 농약이 집중적인 단속대상이 되는 것은 이 물질이 기형 유발성 약물인 thalidomide와 간접적으로 관련이 있기 때문이다 (박 등, 1994).

**제3 세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발**

본 과제에서 선발된 콩나물 콩에 대하여 재배기간과 재배조건을 달리하여 숙취해독제로 이용코자 하는 asparagine과 다양한 기능성 성분인 isoflavone을 가장 효율적이고 경제적인 방법으로 추출하는 방법을 확립하는 것은 산업적 측면에서 아주 중요하다.

콩 이소플라본은 상대적으로 고가에 거래되며, 따라서 보다 싼 가격의 추출조건을 확립함으로써, 이들 제품을 이용한 다양한 제품 개발에 대한 원가 경쟁력 확보가 가능하다.

**제 3 절 연구개발의 범위**

구 분	주요 개발내용 및 범위
<b>1년차 : 2002/2003년</b> 제1세부과제: 고 기능성 나물콩 품종개발과 상품화  제2세부과제 : 콩나물재배용 천연 살균제 및 식물성 성장조정제 개발  제3세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발	-본 과제 책임자가 순계화한 기존 200개 나물콩 계통에 대한 asparagine과 isoflavone 함량 검정 -Genebank에서 인출할 약 1,000개에 대한 순계화 -죽순을 비롯한 여러 식물에서 부위별로 다양한 방법을 통하여 함유물질을 추출하여 농도별로 콩나물의 원료콩에 처리하여 살균 및 성장조정효과를 검정한다. -Asparagine과 isoflavone 추출조건 확립
<b>2년차: 2003/2004년</b> 제1세부과제: 고 기능성 나물콩 품종개발과 상품화 제2세부과제 : 콩나물재배용 천연 살균제 및 식물성 성장조정제 개발  제3세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발	-순계에 대한 종자증식과 characterization -순계화된 계통에 대한 기능성 물질의 검정 -실험에서 개발된 식물추출물을 이용하여 콩나물의 최적 생육조건을 구명하기 위하여 추출물의 농도와 침적방법, 재배온도 등의 재배조건을 고려한 효율적인 콩나물 재배방법을 확립 -Kg단위(Pilot 수준)의 범위확대와 추출조건 변화조절
<b>3년차: 2004/2005년</b> 제1세부과제: 고 기능성 나물콩 품종개발과 상품화  제2세부과제 : 콩나물재배용 천연 살균제 및 식물성 성장조정제 개발  제3세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발	-우량계통의 선발 및 생산력 검정 -우량계통의 품종등록 준비 -우량계통의 종자증식과 이를 이용한 상품화준비 -선발된 천연살균 및 성장조정 물질을 대량으로 추출하는 시스템을 확립하기 위하여 다양한 추출 방법을 사용하여 살균 및 성장조정 효과를 검정 -천연살균 및 성장조정 물질의 대량 추출기술을 관련 산업체로 이전하여 상품화를 추진한다. -공장규모로 asparagine과 isoflavone의 추출정제

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내.외의 기술현황

콩나물은 우리나라 이외에도 중국과 일본 및 미국 등지의 동양계, 주로는 한인교포사회에서 일부 이용되고 있기는 하나 그 양이 많지 않다. 따라서 국외의 경우 콩나물 콩의 품종육성이나 콩나물의 재배법에 대한 연구는 거의 전무한 편이다.

콩나물의 품종간 asparagine 함량의 차이는 본 과제 연구책임자가 수년 전에 밝힌 바 있으며, 200개의 재래 나물콩 계통에 대한 예비 분석에서도 품종간 차이가 매우 커 국내의 많은 나물콩 재래자원을 대상으로 검정을 한다면 asparagien 함량이 아주 높은 품종의 선발도 가능하리라고 본다. 또한, asparagine의 함량은 양적형질로서 검정과정을 통해 asparagine 함량이 높은 계통이 선발된다면 농업적 형질이 우수한 품종들과의 인공교배를 통한 다수성 우량 고 asparagine 신 품종의 육성도 가능할 것이라고 본다.

Isoflavone은 앞서 설명한 데로 다양한 함압작용과 골다공증의 예방과 치료뿐만 아니라 콩 뿌리의 질소고정을 촉진하고, phytoalexin의 전구물질로 작용하여 작물의 내병성 증진에 기여할 수 있다는 것이 알려져 isoflavone 단일물질에 대해 전세계적으로 연간 1,000여편의 논문이 발표되고 있을 뿐만 아니라 선진국을 중심으로 콩 종실에서 isoflavone을 추출 정제하여 다양한 기능성식품의 첨가물질로 이용되고 있다.

종실용으로서 isoflavone 함량이 높은 품종으로는 미국의 몬산토에서 개발한 한 품종이 보고되고 있으며, 국내육성종 중에는 “신팔달콩 2호”와 나물콩으로 육성된 “소록콩”이 있다. 그러나, 소록콩은 입중이 너무 커 나물콩으로 이용하기에는 약간의 어려움이 있다고 본다. 본 과제책임자가 개발한 “아가콩”은 자체분석결과 지금까지 보고된 국내의 어느 품종보다도 isoflavone 함량이 높은 것으로 나타나 크게 기대가 되고 있다.

실제로 국내에서는 많은 나물콩 품종들이 농진청 산하 3개 시험장에서 육성 보급되었으나 두채업자들은 제주도를 중심으로 재배되는 준저리 (황색 종피종으로 국내 어느 육성품종 보다 입중이 작음)를 가장 선호하고 있는 바, 2001~05년 제주도 재배

콩나물의 약 60% 이상이 준저리 이다. 또한, 실제 (주)소이벤처에서 준저리와 함께 육성품종인 풍산나물콩, 소원콩 및 소명콩을 원료로 시판한 결과 준저리를 제외한 육성품종들에 대하여는 기호성이 많이 떨어져 육성품종들은 가정용이 아닌 급식용에 주로 공급하고 있는 실정이다.

콩나물에 대한 isoflavone 함량에 대한 국내의 연구로는 발아시간별 isoflavone의 함량변이, 시판 콩나물의 isoflavone 함량차이 및 콩나물 부위별 isoflavone 함량차이가 있다. 또한, 콩종실의 isoflavone 함량에 대한 연구로는 콩제품의 종류와 가공공정에 따른 차이, 품종 및 재배환경에 따른 차이가 있는데, 등숙기간이 저온이었을 때 함량이 높아진다는 보고가 있어 등숙기의 온도가 isoflavone 함량에 큰 영향을 미칠 것이라고 생각되어 진다. 이와 같이 콩나물의 isoflavone 함량을 높이기 위해서는 고 isoflavone의 품종육성뿐만 아니라 원료 나물콩 종자의 생산기술 및 isoflavone의 함량을 제고시킬 수 있는 콩나물 생산기술의 개발도 필요하다.

콩나물의 asparagine을 이용한 제품의 수는 많지는 않으나 소주에 asparagine을 첨가하거나 asparagine을 함유하였다는 숙취해독제가 있다. 그러나 콩나물 자체의 asparagine을 크게 높여 그 자체로 숙취해독제를 만든 제품은 없는 실정이다.

#### 제2 세부과제(협동과제) : 콩나물재배용 천연살균제 및 식물성 성장조정제 개발

콩나물은 우리나라 고유의 전통식품으로 오랜 기간 재배 이용되어 왔으나 주로 소규모로 재배하였다. 그러나 최근에는 대규모 재배시설에서 상업적으로 재배하고 있기 때문에 재배시에 미생물에 의한 부패방지와 생산효율을 높이기 위해 개발된 합성 살균제와 성장조정제를 사용하는 경우가 대부분인 실정이다. 콩나물 재배에 사용이 허가된 농약이 있으나 부적절한 사용과 허가되지 않은 농약의 사용으로 콩나물 제품의 안전성이 문제가 되는 경우가 종종 발생하고 있다.

따라서 콩나물 재배에 안전하게 사용할 수 있는 살균제와 성장조정제의 개발이 절실히 요구되고 있으며 식물로부터 천연물질이 개발된다면 콩나물제품의 안전성을 획기적으로 높일 수 있고 사용량도 크게 증가할 것으로 사료된다.

콩나물 재배에서 종자소독은 현재까지 염소 등 합성제제를 주로 사용하고 있으며, 일본에서는 원료콩의 염소살균효과는 100-200 ppm에서 1시간이상 침지하였을 경우 가장 높았다고 하였으며, 국내 연구에서는 콩나물 부패균의 증식을 억제하기 위해

서는 0.02-0.2 ppm 오존농도의 공기 및 0.3-0.5 ppm 오존농도의 오존수 처리가 효과적이었으며 콩나물의 총균수가 감소하였고 콩나물의 성장에도 영향을 미쳤다고 하였다. 일본의 경우 녹두나물 재배시 원료소독을 위해 열탕법을 사용한 사례는 있으나 콩에 대한 연구는 없으며 최근 우리나라에서는 열탕법을 이용한 미생물 제어방법을 콩나물 재배용 원료콩에 적용하여 기존의 다른 살균법, 염소, 이온수, 오존수, 염수법보다 효과적이었다고 하였다.

콩나물의 재배수율을 향상시키고 뿌리의 발생을 억제시키기 위하여 성장조정제를 사용하고 있다. 우리나라에서는 인돌비가 콩나물의 성장조정제로 허가되어 사용되고 있으나 합성제제이고 인돌비의 주성분인 N6-benzyladenine은 미국 EPA의 쥐를 이용한 실험에 의하면 산모의 건강과 태아발육에 나쁜 영향을 미친다고 하여 사용 자체가 문제가 될 수 있을 것으로 우려되고 있어 빠른 시일내에 인체에 무해한 성장조정제의 개발이 필요한 것으로 생각된다.

### 제3 세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발

일반적인 L-asparagine의 합성 방법으로는 L-aspartic acid와 암모니아수의 반응이나, L-asparagine을 많이 포함하는 루핀이나 콩 싹의 물 추출물에서 분리한다. 그러나 합성에 따르는 여러 반응 단계와 추출과정에서 과량의 물을 사용함으로써 asparagine 정제시 물을 제거하는데 따르는 부대비용이 많이 든다. 따라서 제거가 용이한 용매와 pH 조건을 선정하여 보다 쉽고, 편리한 기술의 개발에 목적이 있다.

콩의 주된 구성 성분인 지방, 탄수화물, 단백질 등에 대하여 선발된 콩 품종에 맞는 각종 용매 조건과 pH 조절 등의 방법으로 순차적으로 분리하는 기술을 확립하고, 최종 산물인 고농축 isoflavone을 생산한다. 선택된 품종과 이들의 asparagine과 isoflavone의 분리 방법을 특허 등록함으로써 국내의 기능성 품종 개발 발전과 더불어 기능성 식품원료의 국산화와 더불어 해외시장을 개척할 수 있다. 아이소플라본의 국내외 생산현황은 아래 표와 같다.

표. 국가별 isoflavone 생산 주요 업체

국가명	업체명	제품명	배당체여부
한국	신동방	소이플라	비배당체
	태평양	이소본	배당+비배당체
	유젠바이오		
일본	후지코	후지프라본	배당체
	기코망	소이악트	비배당체
	도키와	P-40	배당체
미국	ADM	NOVASOY	배당체
	센트럴소아	소야리치	배당체
이스라엘	SOLBAR		배당체
네델란드	스코덴 프리덕트	SOYLIFE	배당체

## 제 2 절 연구결과의 영향

본 과제의 책임자인 소이벤처(주)는 그 창립 목적이 기능성 콩 품종의 개발과 이들을 이용한 상품화이기 때문에 무엇보다 기능성 품종의 개발과 이를 이용한 팔릴 수 있는 제품의 개발이 주된 목표이다. 본 과제의 수행을 통해 얻어진 결과가 소이벤처(주)에 미칠 영향을 보면 아래와 같다.

### 제1 세부과제 : 고 기능성 나물콩 품종개발과 상품화

제1세부과제의 주된 내용은 재배농가에서 수집하여 농촌진흥청 genebank에 seed lots 형태(순계화 하지 않고 수개의 유전자형이 혼합된)로 보존되고 있는 우리나라 전체 나물콩 재래유전 자원에 대한 순계화와 농업적 특성의 조사, 기능성 성분중 콩나물에 가장 중요한 기능성 성분으로 생각되어지는 asparagine과 isoflavone을 검정하여 database하고 장기적으로는 이를 토대로 고 기능성 나물콩 품종을 육성하는 것이다. 아울러 고 asparagine 함량의 계통을 이용하여 특수재배법을 통해 체내 asparagine 함량을 높인 콩나물의 추출물 및 분말 등과 다양한 기능성과 위에서의 알콜흡수를 저해하는 기능이 있다고 알려진 isoflavone을 첨가하여 새로운 형태의 숙취해독제 및 다양한 종류의 숙취해독 관련 상품화를 하는 것이다.

따라서 세계에서 유일하게 수천 년에 걸쳐 우리의 선조들에 의하여 선발 유지되

어은 콩나물 콩 유전자원을 순계로 하여 특성조사 하여 두는 것만으로도 콩나물 콩 계통들이 우리나라에 고유한 유전자원이라고 볼 때에 상당한 의의가 있다고 보며 앞으로 이를 이용하여 품종육성이나 다양한 연구를 하고자 하는 연구자들에게 상당한 도움이 되리라고 생각된다.

순계화한 1,139개의 계통을 반복 시험하는 방대한 시험구(2반복의 경우 시험구수 2,278구)와 특성조사의 작업량 때문에 정밀한 계통별 특성은 불가능 하였으나 달관조사에 의한 우량 계통의 선발과 선발계통들에 대한 생산력 검정 등을 실시하여 보다 이용 가능한 얻어진 결과는 차후 계속적인 연구를 통해 품종 육성에 크나큰 정보를 제공할 수 있다고 보여 진다. 또한 특수 재배법을 통해 콩나물의 체내 함량을 상당히 높이고 isoflavone을 첨가한 다양한 제품은 현재 소이벤처(주)가 판매하고 있는 6개 제품에 이어 유망한 새로운 제품군이 될 수 있다고 본다.

#### 제2 세부과제(협동과제) : 콩나물재배용 천연살균제 및 식물성 성장조정제 개발

콩나물 재배에서 원료콩의 살균작업과 성장조정제의 사용은 콩나물의 생산수율을 높이기 위해 필수적인 단계이나 기존의 방법을 지속적으로 사용할 경우 콩나물의 안전성이 문제가 되기 때문에 본 연구에서 개발코자 하는 콩나물재배용 천연살균제 및 성장조정제의 개발은 콩나물 생산수율을 높일 수 있을 뿐만 아니라 품질의 향상을 통한 소비량의 증가효과도 기대된다.

기존의 살균제나 성장촉진제의 안전성면에서 본다면 이미 식약청에서 허가된 살균제의 경우 그 원료의 주성분이 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 실제 현시점에서 소규모의 콩나물 공장여건을 감안하면 이 또한 사용방법에 따라 그 최종 콩나물 제품의 안전성을 보장할 수 없고 한편 이미 허가된 콩나물 성장촉진제인 인돌비 경우 그 주 유효성분이 indole-3-acetic acid와 6-benzyl adenine으로 식물체내에서도 생합성되는 식품 성장호르몬으로서 인체에 유해하지 않은 것으로 판단되지만 이를 녹이고 있는 용매는 메탄올과 같은 독성물질이므로 위해성이 논란되고 있는 실정이다. 또한 이외 도 문제시 될 수 있는 콩나물 관련 농약은 인체에 치명적인 캡탄(captan), 카벤다짐(carbendazim) 등이 있다. 따라서 개발된 천연 살균제와 성장조정제를 검정을 통하여 국민 건강을 위하여 콩나물에 독점 사용할 수 있는 법적 근거 마련이 요망된다.

#### 제3 세부과제(위탁과제) : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발

콩나물로부터 추출, 정제 방법은 암모니아를 사용하는 기존의 합성법보다 환경친화적으로 대량 생산이 가능하다. 콩나물 재배시설을 그대로 사용하고, 추출과정에 부과 되는 시설만을 부가적으로 설치하므로 아스파라긴 생산에 따르는 시설비용을 줄일 수 있다.

새로운 기능성 콩의 개발과 동시에 이들 콩으로부터 각종 기능성 물질, 특히 isoflavone의 분리는 고함량의 품종에 의해서 상대적으로 고생산성, 저비용으로 이들 물질을 분리할 수 있으며, 유전자변이(GMO) 콩이 아닌 순수한 국산 개발 품종으로부터 분리함으로써 보다 안전하고 믿을 수 있는 제품을 만들 수 있다. 또한 국산 콩을 이용한 식품 첨가물의 개발은 국내 콩 재배의 활력소가 됨과 아울러 국제 경쟁력을 길러 줄 수 있는 계기가 될 것이다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 : 고기능성 나물콩품종개발과 상품화

연구기관: 소이벤처(주), 연구책임자 : 황영현

#### 1. 1년차 시험

##### 가. 시험방법

(시험1) Genebank에서 분양받은 500개 재래 자원에 대한 순계화 및 특성검정

- 파 종 기 : 6월 28일
- 재식밀도 : 60 X 15cm, 1주 1본
- 시 비 량 : N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O=4-7-6kg/10a
- 시험구배치 : 난괴법 2반복

(시험2) 아가콩에 대한 isoflavone 제고 및 농가 표준재배법 개발

##### ◇ 아가콩에 대한 isoflavone 제고

- 재배지역 : 평지(군위), 고랭지(보현산 기슭 : 해발 400m)
- 파 종 기 : 5월 15일, 5월 30일, 6월 15일

○ isoflavone 함량 검정 : 건조된 콩나물 분말 1g에 1N HCl을 첨가하여 105℃, 3시간동안 heating block에 가수분해 한 뒤 방냉하여 MeOH를 첨가한 후 상온에서 12시간동안 방치하고, filter paper로 여과한 뒤 MeOH를 첨가하여 희석한 후 syringe filter(0.45 $\mu$ l)로 여과하여 HPLC분석시료로 사용하였으며, HPLC기기는 Hitachi사의 HPLC system을 이용하였고 column은 ODS-120T(150 X 4.6mm)을 사용하였으며, 이동상은 H<sub>2</sub>O과 MeOH을 60%/40% 로 사용하였다. 유속은 1.0ml/min로 조절하였고 injection volume는 20 $\mu$ l, UV detector의 파장은254nm를 사용하여 daidzein, glycitein, genistein을 분석하였다.

##### ◇ 아가콩에 대한 재식밀도 및 적심 효과 구명

###### ● 파종기와 재식밀도

- 파 종 기 : 6월 10일, 6월 30일
- 재식밀도 : 60×15cm 1주 1본, 1주 2본, 60×20cm 1주 1본, 2본

###### ● 적심처리시 재배법

- 파 종 기 : 5월 1일, 20일, 6월 10일, 30일
- 적 심 : 무적심(A), 본엽 5매(B), 개화시(C)
- 재식밀도 : 60 X 15cm, 1주 2본

(시험3) 순계화된 300개 나물콩 계통에 대한 asparagine과 isoflavone함량검정

○ 콩나물재배 : 재배실온도 20℃, 물온도 18℃, 1일 8회수주, 5일간재배

○ Asparagine 함량 검정 : 건조된 콩나물 분말 1g에 75% EtOH 30ml을 첨가하여 30분간 가수분해한 후 filter paper로 여과하고, 다시 75% EtOH 20ml을 첨가하여 20분간 2회 가수분해하여 filter paper로 여과한 후 rotary evaporator로 감압농축하였다. 감압농축된 것을 lithium citrate(pH 2.2)로 녹여낸 후, diethyl ether를 첨가하여 지방층을 분리하고, 다시 rotary evaporator로 감압농축한 후 lithium citrate로 녹여내어 희석한 후 분석시료로 사용하였으며, 아미노산 분석기는 S 4300 reagent organizer(SYKAM, Germany)을 사용하였다.

○ Isoflavone 함량 검정 : TLC(thin layer chromatography)를 사용하여 콩나물에 함유된 glycoside isoflavone의 상대적인 양을 측정하였다.

TLC 종류 : 25 TLC aluminium sheets, 20×20 cm, Silica gel 60 F<sub>254</sub>

Eluting solution → ethyl acetate : acetone = 4 : 1

UV lamp : Short wave ultraviolet 254nm

R<sub>f</sub> = 0.25(genistin), 0.2(daidzin)

콩나물 시료 0.2g을 1mL의 acetone으로 1분간 교반한 후, TLC에 0.01cc를 찍은후 elution 시킨후, UV Lamp로 샘플의 농도를 측정함으로써 상대적인 isoflavone의 양을 측정하였다.

##### 나. 시험결과

(시험1) Genebank 인출 재래 자원의 500여개 계통에 대한 순계화 및 주요 농업적 특성검정

농진청 genebank에서 인출한 재래 콩나물 500개 계통에 대한 순계화와 기 순계화된 계통들에 대한 주요 농업적 특성을 보면 표1-1과 같다. 전 공시계통들의 개화일수와 생육일수의 평균은 각각 46, 118일이었고, 경장은 24-119cm로 계통간 큰 변이를 보였으며 분지수는 평균 3.9개 이었고, 주경절수는 8.8 - 21.2개로 큰 변이를 보였다. 종실 수량과 직접적인 관련이 높은 개체당 협수는 가장 변이가 심했는데 약 7.8 - 232.4개로 평균은 86.9개이었고, 10a당 평균 수량은 평균 171.4kg이었다.

Table 1-1. 공시된 재래 나물콩 509계통의 주요 농업적 형질의 평균과 변이 정도

형질	범위	평균
개화일수	27~60	46
성숙일수	97~129	118
경장(cm)	24.3~118.6	58.3
분지수	0.8~10.0	3.97
주경절수	8.8~21.2	14.93
개체당협수	7.8~232.4	86.9
10립중(g)	6.2~32.9	11.6
수량(kg/10a)	4.2~499.3	171.4

공시한 509계통의 질적형질인 꽃색, 모용색, 종피색의 분포는 표 1-2와 같았다. 꽃색은 자색이 331계통이고 흰색이 178계통으로 자색이 훨씬 많았으며, 모용색은 회갈색이 196계통이었고, 황갈색이 313계통이었고, 종피색은 매우 다양하였는데 혼색이 212계통으로 많았으며 갈색이 24계통으로 가장 적었으며, 종실의 제색은 흑색이 272계통으로 가장 많았으며 회색은 9계통이었다.

Table 1-2. 공시된 나물콩 509계통에 대한 꽃색, 모용색, 종피색, 제색의 분포

꽃색		모용색		종피색				제색				계	
자색	흰색	회갈	황갈	흑색	갈색	녹색	황색	혼색	흑색	갈색	황		회색
331	178	196	313	94	24	37	142	212	273	144	83	9	509

(시험2) “아가콩”의 isoflavone 제고 재배법 개발 및 표준재배법확립

1) 최적 파종기와 재배지역의 효과

고 isoflavone의 아가콩을 생산하기 위하여 고도가 상이한 2개 지역(군위, 청송)에서 3파종기에 아가콩을 재배한 결과 표1-3에서 보인 바와 같이 해발 400m인 청송의 경우 5월 14일의 조파보다 5월 30일 파종구에서 가장 높은 isoflavone의 함량을 보였는데, 이는 isoflavone의 함량은 주로 등숙기간에 저온으로 경과하는 경우 isoflavone 함량이 높아진다는 다른 보고와 일치하는 결과라고 보여진다. 지난해의 경우 6월 15일에 파종한 구는 청송에서 등숙기간에 서리의 피해로 립의 발육과 성숙이 완전하지 못하였기 때문에 isoflavone의 함량이 낮아던 것으로 보인다. 만파에서도 성숙에 문제가 없었던 군위의 경우에는 만파할수록 isoflavone의 함량이 높아지는 경향을 보였으

나 저온 지역인 청송에 비하여 isoflavone의 함량이 대체적으로 낮았다.

지역간에도 상당한 차이가 있었는데, 영천시 화산면에서 재배한 경우 isoflavone의 함량이 3,426µg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, 우리나라에서 나물콩으로 가장 많이 사용되고 있는 풍산나물콩에 비하여 이 지역에서 생산된 아가콩은 isoflavone의 함량이 368%나 되어 품종적인 효과와 아울러 재배지역 및 파종기를 잘 선택하여 아가콩을 재배하는 경우 고 isoflavone의 콩나물 콩 생산이 가능할 것으로 보인다.

Table 1-3. 재배지역별 수확 종실의 isoflavone 함량 차이

재배지역 및 파종기(월.일)	Isoflavone 함량 (µg/g)	재배지역	Isoflavone 함량 (µg/g)
청송(보현산) 5.14	2,410	영천시화산 6월말	3,426
5.30	3,019	포항시대보 6월말	2,042
6.15	1,806	청하 6월말	1,415
군위군효령면 5.14	1,684	고창군 6월말	3,054
5.30	1,744	(풍산나물콩) 6.15	931
6.15	2,273	(신팔달콩 2호) 6.16	1,141

참고 : 청송은 해발 400m, 기타 재배지역은 해발 100m 이하 지역임.

2) “아가콩”에 대한 최적 재식밀도

남부지방 맥후작 파종적이인 6월 20일에 파종한 아가콩의 재식밀도에 따른 생육특성을 보면 표 1-4와 같다. 개화일수와 생육일수는 각각 59일과 114일 이었고, 재식밀도는 60×15cm, 1주 2분으로 한 약간의 소식구에서 종실수량이 가장 높은 112kg/10a 이었다.

또한, 맥류, 봄채소 및 담배등 후작으로 콩이 7월 소순경까지 많이 파종되는데, 7월 3일에 파종한 아가콩의 개화일수와 생육일수는 각각 58일과 105일이었다. 일반 콩과 달리 아가콩은 만파에서도 60×20cm, 1주 1분으로 소식한 것이 다른 재식밀도에 비해 양호한 생육을 보였는데, 이는 초기 생육이 일반콩에 비해 열세인 아가콩을 밀식하면 초기 생육이 떨어지는 것으로 생각된다. 그러나, 종실수량은 60×15cm, 1주 2분이 122.6 kg/10a로 가장 높았다. 따라서, 남부지방에서 아가콩을 만파 재배하는 경우 가장 적당한 재식밀도는 주간거리를 15-20으로 하고 주당분수를 2분 이하로 하는 것이 좋을 것으로 판단 되었다.

Table 1-4. The change of agronomic characteristics depending on seeding date & planting density.

Planting date	Planting density	Days to flowering	Days to maturity	Plant Height (cm)	No. of branches	No. of nodes	No. of pods per plant	100seeds weight (g)	Yield (kg/10a)
June 20	60×15, 1주1본	59	114	70.5 <sup>abc</sup>	3.3 <sup>d</sup>	13.1 <sup>ab</sup>	57.8 <sup>b</sup>	6.3 <sup>a</sup>	70.9 <sup>c</sup>
	60×15, 1주2본	59	114	76.6 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>d</sup>	12.8 <sup>b</sup>	62.0 <sup>b</sup>	6.2 <sup>a</sup>	112.0 <sup>ab</sup>
	60×20, 1주1본	59	114	72.5 <sup>abc</sup>	4.1 <sup>bcd</sup>	13.9 <sup>ab</sup>	62.8 <sup>b</sup>	6.0 <sup>a</sup>	50.0 <sup>c</sup>
	60×20, 1주2본	59	114	82.2 <sup>a</sup>	3.7 <sup>cd</sup>	14.0 <sup>ab</sup>	75.5 <sup>b</sup>	6.6 <sup>a</sup>	81.5 <sup>bc</sup>
July 3	60×15, 1주1본	58	105	58.9 <sup>bcd</sup>	5.2 <sup>ab</sup>	14.0 <sup>ab</sup>	78.8 <sup>b</sup>	5.2 <sup>b</sup>	67.8 <sup>c</sup>
	60×15, 1주2본	58	105	54.9 <sup>cd</sup>	4.7 <sup>bcd</sup>	13.9 <sup>ab</sup>	63.4 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	122.6 <sup>a</sup>
	60×20, 1주1본	58	105	67.2 <sup>abcd</sup>	6.2 <sup>a</sup>	14.7 <sup>a</sup>	118.0 <sup>a</sup>	5.2 <sup>b</sup>	79.1 <sup>bc</sup>
	60×20, 1주2본	58	105	48.9 <sup>d</sup>	5.0 <sup>abc</sup>	14.0 <sup>ab</sup>	62.2 <sup>b</sup>	5.1 <sup>b</sup>	81.2 <sup>bc</sup>

3) “아가콩”에 대한 적심의 효과

야생종과 재배종간의 중간 교잡종인 아가콩은 3회의 여교잡에도 불구하고 조파시 생육후기에 줄기 끝부분이 약간 만화하는 경우가 있다. 5월 15일 파종에서 적심처리가 아가콩의 생육과 수량에 미치는 영향을 조사하였다. 지난해의 경우 논에 시험이 실시되었는데, 잦고 엄청난 강우량으로 생육이 부진하여 도복이 전연 되지 않고(도복 정도 표시 안함) 성적이 불균일하여 적심의 효과를 검정하기가 곤란하였다. 성적에 의하면 6월 중순 이후 파종에서는 적심이 불필요한 것으로 보인다.

시험 설계서와 별도로 금년도에도 적심의 시험을 하고 있으나 금년도에도 과도한 강우로 하여 적심의 효과 검정이 불가능할 것으로 판단되었다. 그러나 금년도 농가 계약재배 포장에서는 도복이 되는 경우가 있어 농민들에게 개화기에 도복의 위험이 있는 경우 줄기 정단부의 일부를 제거해 줄 것을 권장하고 있다.

(시험3) 순계화된 300개 나물콩 계통에 대한 asparagine과 isoflavone 함량검정

현재까지 50개 계통에 대한 아스파라긴 분석이 되었는 바, 5일간 재배한 콩나물의 아스파라긴 함량은 표 1-5에서 보인 바와 같이 평균이 8.6±2.71%이었으며 범위는 2.67~13.78이었다. 현재까지 분석된 50개 계통중 상대적으로 높은 asparagine 함량을 보인 계통은 KLG11182, KLG11165, KLG10901, KLG11053 및 KLG10981로서 풍산나물콩( 7.8%)에 비해 13.8, 12.8, 12.2 및 12.2%의 함량을 보인 우수한 계통으로 이들 계통들은 포장재배에서 조사된 농업적 특성에서도 우량한 것으로 평가되어 고 아스파라긴 콩나물 재배용 또는 숙취해독용 음료 제조용 아스파라긴 추출용 콩나물로 재배가 가능하리라고 생각되어 진다.

Table 1-5. Range and mean of asparagine content of Korean indigenous lines for soybean sprouts.

Asparagine content(% , dry basis)	
Range	2.67~13.78
Mean±SE	8.63±2.71

Isoflavone 함량의 분석은 육종에 이용할 수 있는 간편한 방법의 개발과 아울러 순계화된 계통들을 대상으로 고 isoflavone 계통의 선발을 위해 TLC방법을 이용하여 1차선발을 실시한 후 상대적으로 isoflavone이 높게 나타난 계통들에 대하여 HPLC를 이용한 정밀 검정을 실시하였다. 지금까지 분석을 완료한 194 계통 중 7계통을 선발하였다. 공시한 194개 계통의 상대적 isoflavone 함량은 표 1-6에서 보인 바와 같았다. 높은 함량은 보인 7개 계통은 KLG10988, KLG10999, KLG11037, KLG11190, KLG11219, KLG11200, 및 KLG11306이었다.

Table 1-6. 나물콩 194계통의 콩나물의 isoflavone 상대적 함량분포.

등급	계통수
A(많은 함량)	7
B+(중상 정도의 함량)	25
B(중간 정도의 함량)	113
C(중 이하의 함량)	49
계	194

## 2. 2년차 시험

### 가. 시험방법

(시험 1) 재래자원의 순계화 : Genebank에서 인출한 계통에 대한 순계화

- 공시재료 : 2003년 유전자은행에서 분양 받은 나물콩 유전자원 680계통
- 파 종 기 : 2003년 6월 28일, 재식밀도 : 60 X 15cm, 1주 1본
- 시 비 량 : 표준시비, 시 험 구 : 계통당 1열씩 파종 후 생육조사
- 조사항목 : 경장, 분지수, 주경절수, 개체당 협수, 100립중, 종피색

(시험 2) 순계화된 나물콩 계통에 대한 asparagine과 isoflavone 함량 검정

#### 1) Asparagine 함량 검정

- 공시재료 : 시험 1에서 증식된 나물콩 유전자원(630계통)
- 콩나물 재배 : 경북대학교 농업생명과학대학내의 식물생장상에 간이로 제작한 콩나물 생육장치를 이용하여 온도 20℃, 습도 80%의 암상태에서 4일간 재배하였다. 콩나물 재배는 6(가로) × 6(세로) × 14 cm(높이)인 플라스틱용기를 사용하였으며, 생육기간동안 수주 빛수는 3시간 간격으로 하였으며 타이머를 펌프에 장착하여 1회 수주시간을 4분간으로 하였다. 각 계통별 20 g의 콩을 이용하여 20℃ 항온기에서 4시간 동안 침지하여 재배하였다.
- Asparagine 분석을 위한 시료 채취 : 4일 동안 자란 콩나물 10g을 막자사발로 마쇄 하여 콩나물 즙을 내어 냉동 시켜 분석에 이용하였다.

#### ○ Asparagine 분석

Asparagine은 asparaginase에 의해 분해가 되면 aspartic acid와 암모니아로 되는데 asparaginase의 활성도를 측정하여 asparagine의 함량을 추정하였다. asparaginase 활성도를 측정하는 방법을 다음과 같다.

Phosphate buffered saline tablets(0.01 M phosphate buffer, 0.0027 M potassium chloride, 0.137 M sodium chloride, pH 7.4)으로 10배 희석한 콩나물즙 100  $\mu$ l에 50 mM KCl 100  $\mu$ l를 넣고 10  $\mu$ l(50 ng/10  $\mu$ l)의 asparaginase를 넣은 후 25℃에서 1시간 동안 반응 시켰다. 반응후 1.5 M trichloroacetic acid를 25 $\mu$ l를 넣어 반응을 중지 시키고 Nessler's solution (2,000  $\mu$ l 1 N NaOH plus 250  $\mu$ l Nessler's reagent)를 넣어 발색 시켰다. 발색한 시료는 UV-spectrophotometer 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard curve는 L-ASN을 phosphate buffer에 녹여 상기한 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였으며 standard curve 작성시 blank를 이용하여 zero화 하고 5반복으로 측정하였으며, 시료는 3반복의 평균을 이용하였다.

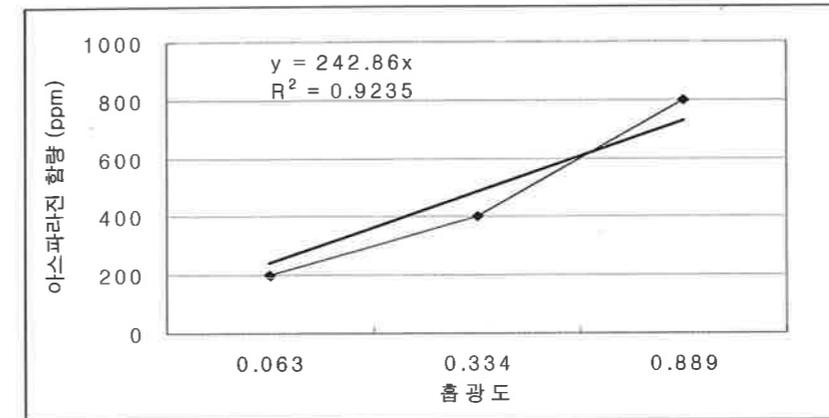


그림 1-1. Asparaginase를 이용한 asparagine 검정 standard curve.

#### 2) Isoflavone 함량 검정

김(2003) 등에 의하면 콩나물 재배시 5일까지 isoflavone 함량이 증가한다는 보고에 따라 선발 효율을 높이기 위해 콩나물이 아닌 콩을 이용하여 isoflavone을 분석하였다.

- 공시재료 : 1년차 공시한 500계통 및 2년차 공시 660계통(총 1,160계통)

○ Isoflavone 추출 : glycoside 형태의 isoflavone을 aglycone 형태의 isoflavone으로 바꾸어 총 함량을 추정 하였다. 콩 5g을 분쇄기로 갈아 1g을 취하여 1N HCl를 첨가하여 105℃ dry oven에서 3시간 동안 가수분해 한 후 15ml의 메탄올을 첨가하여 여과하였으며 여과액에 동일량의 메탄올을 첨가하여 membrane filter로 여과 후 HPLC (Sykam S 2100 solvent delivery system, Germany)를 이용하여 분석하였다. 흡광도는 UV detector (model S3210, Sykam, Germany)를 이용하여 254 nm에서 측정하였으며, 이동상은 물과 메탄올을 6:4로 혼합한 후 사용하였으며, column은 Lichrospher RP-18e(5 $\mu$ m, 4.6 125mm, Merck)를 이용하였다.

(시험 3) 순계화된 500계통의 종자증식

- 공시재료 : 1년차 선발한 순계 500계통
- 파 종 기 : 6월 11일, 재식밀도 : 60 X 15cm, 1주 2본
- 시 비 량 : N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O=4-7-6kg/10a
- 시 험 구 : 계통당 1열씩 파종

### 나. 시험결과

(시험 1) 재래자원의 순계화 : Genebank에서 인출한 680개에 대한 순계화

유전자은행에서 분양받은 680계통을 2003년 6월 28일에 파종을 하여 몇가지 농업적 형질들을 조사하고 순계화 하였다. 주요 농업적 형질의 변이는 표 1-7과 같다. 100립 중의 평균은 9.6g 이었고 범위는 6.8-27.2g 이었는데 15g 이상이 12계통으로 이들 계통은 나물콩으로 적합하지 않을 것으로 생각된다. 종피색은 황색이 가장 많은 264계통이었으며 다음으로 녹색이 많았다.

표 1-7. 공시한 680계통의 주요 농업적 형질변이

구분	경장 (cm)	분지수	주경절수	개체당 협수	100립중 (g)	종피색(계통)				
						황색	녹색	갈색	검정	혼색
평균	37.5±11.2	4.1±1.6	13.3±2.1	62.3±32.6	9.6±2.0	264	188	113	94	94
범위	20.0-149.8	0-9.6	7.5-23.5	8-185	6.8-27.2					

(시험 2) 순계화된 나물콩 계통에 대한 asparagine과 isoflavone 함량 검정

1) Asparagine 함량 검정

작물을 육종할 때 목적형질에 대하여 시간과 비용을 절감하면서 유전자원이나 육성 분리세대에서 대량으로 screen 하는 방법은 매우 중요하다. 일반적인 유리아미노산의 경우 동결건조한 시료를 알콜로 추출하고 다시 감압농축하는 과정을 거쳐 아미노산 분석기를 통하여 유리아미노산의 함량을 측정하는데, 여러단계를 거치면서 오차가 많이 발생하며, 아미노산 분석기를 이용할 때 1개의 시료를 분석하는데 필요한 시간은 대략 130분 정도이고 분석에 필요한 용매도 고가의 시약이어서 특정 아미노산 즉 아스파라진과 같은 기능성 성분의 함량이 높은 자원을 screen 하는 데는 많은 제약이 따른다. 그러나 본 연구의 결과 (표 1-8)에서 보면 공시한 630계통에서 아스파라진 함량은 평균 1,165.5±412.0 ppm 이었고 범위가 2,184.5-36.4 ppm으로 계통간 차이를 확인 할 수 있었다.

표 1-8. 공시한 나물콩 계통의 아스파라진 함량 변이

구분	아스파라진 함량 (ppm)
평균	1,165.5±412.0
범위	2,184.5-36.4

공시한 나물콩 계통중 본 실험을 통하여 아스파라진 함량이 높은 계통을 선발하였는데 그 결과는 표 1-9와 같다. 선발한 계통중에 아스파라진 함량이 2,000 ppm 이상인 것이 10계통이었다. 본 연구과제를 수행하면서 효소활성 측정에 의해 계통간의 아스파라진 함량 변이를 확인하고 함량에 대한 선열을 평가할 수 있었고 이 성적을 토대로 상위 5%에 대하여는 아미노산 분석기를 이용하여 정량검정을 하여 최종적으로 아스파라진 함량이 가장 높은 계통을 선발하여 본 연구과제의 목적을 달성할 것이다.

표 1-9. 선발된 고 아스파라진 함량 계통

계통명	함량(ppm)	계통명	함량(ppm)	계통명	함량(ppm)	계통명	함량(ppm)
180	2184.5	113	2070.8	120	1993.1	280	1934.0
467	2125.0	484	2053.0	622	1983.4	485	1925.9
160	2091.0	170	2036.8	131	1981.7	424	1922.6
191	2087.0	604	2032.7	655	1955.0	199	1921.0
171	2087.0	159	2025.5	559	1934.4	161	1901.6

2) Isoflavone 함량 검정

2002년에 생산된 나물콩 500계통에 대한 isoflavone 함량의 변이(표1-10)는 평균 1,530µg/g이었으며, 범위가 520-3,696 µg/g으로 2,500 µg/g 이상의 높은 계통이 13계통이었다. 그러나 2003년에 공시한 680계통은 2002년에 공시한 계통보다 다소 낮은 isoflavone 함량을 나타내었는데 평균 987±377 µg/g이었으며, 범위가 71-2,389 µg/g 이었다.

표 1-10. 공시한 1,160계통의 총 isoflavone 함량 변이

구분	2002년산 500계통	2003년 산 660계통
평균	1,530±457 µg/g	987±377 µg/g
범위	520-3,696 µg/g	71-2,389 µg/g

2002년 및 2003년에 공시한 재래 나물콩 계통중 isoflavone 함량이 높은 선발된 계통들의 isoflavone 함량은 다음 표 1-11과 같다. 일반적으로 isoflavone의 함량은 재배년도, 재배 장소 및 환경에 따라 많은 변이가 있는 것으로 알려져 있다. 1년차에 isoflavone 검정은 본 연구기관에서 방학기간 동안 건물을 수리 하는 관계로 분석되지 못했지만 2년차에 1, 2년차의 시료에 대하여 isoflavone 함량의 검정을 완료 하였다. 1, 2년차에 공시한 계통에서 년차간 변이의 폭이 컸지만 년차별로 isoflavone 함량이

높은 계통을 차년도에 동시에 공시하여 비교한다면 1, 2년차에 공시한 1,160계통 중에 isoflavone 함량이 가장 높으면서 농업적 형질이 우수한 계통을 선발하여 품종등록이 가능할 것으로 생각된다.

표 1-11. 1, 2년차에 공시한 1,160계통중 선발된 isoflavone 함량이 높은 계통

계통명	총 isoflavone 함량(2002년공시)	계통명	총 isoflavone 함량(2003년 공시)
425	3697	633	2390
151	3155	414	2313
3	3116	2	2282
178	3027	574	2108
69	2925	631	2062
65	2919	632	2008
322	2825	417	1954
59	2807	19	1863
92	2657	376	1847
303	2621	567	1841
61	2573	434	1821
75	2572	242	1782
311	2544	551	1769
49	2492	459	1768
81	2485	260	1743
1	2484	26	1715
153	2458	300	1699
18	2448	415	1689
136	2420	50	1687
46	2394	464	1683
479	2391	1	1677
291	2389	388	1668
431	2373	352	1664
496	2356	5	1660
189	2348	321	1641
260	2240	455	1635
317	2240	4	1633
159	2239	461	1616
476	2233	291	1614
246	2231	63	1591

(시험 3) 순계화된 500계통의 종자증식

1년차에 순계화된 500계통을 2004년 6월 11일 파종하여 종자를 증식하고 있는 중이다. 순계 선발을 할 때 공시한 계통 중에서 가장 대표되는 1개체를 선발하였기 때문에 순계가 된 계통의 종자가 많지 않아 주로 1-2열씩 파종되었다. 본 시험은 10-11월 경에 수확이 되어 완료될 것이다.

### 3. 3년차 시험

#### 가. 시험방법

(시험I) 유전자원에 대한 순계화와 특성검정시험

지난 1, 2년차에는 농촌진흥청의 유전자은행에서 2002년과 2003년에 인출한 500개와 680개의 계통은 같은 년도에 조사되지 않아 포장 농업적 특성을 동일선상에서 비교하는 데에는 상당한 무리가 있었다. 따라서 크게 힘이 들더라도 금년도에 이들 전 계통을 동일포장에 다시 재배하면서 특성을 조사하였다.

지난 2년간에 발아된 계통 중 순계분리된 1,139개의 계통을 6월 15일 균위의 경북대학교 농생대 시험포장에 휴폭 60cm, 주간 15cm, 1주 2개체, 2반복으로 파종한 후, 개화기, 성숙기 등 주요 농업적 형질을 조사하였다. 콩나물의 특성은 1, 2년차에 수확된 종자를 5℃내외의 저온저장고에 보관하면서 실내에서 조사하였다. 콩나물의 재배 방법은 1, 2년차와 동일한 방법으로 하였다.

(시험II) 숙취해독제의 개발

숙취해독제 개발을 위한 아스파라긴과 이소플라본은 제3세부과제에서 추출된 것을 사용하였으며, 숙취해독의 검정은 음주측정기(CA2000: TNT Tech사 제조)를 사용하였다. 음주 측정에는 몸무게가 다른 7명의 학생이 참여하였다. 시험참여 학생들은 시험 4시간 전에 식사를 마쳤으며 시험 전 2일 이내에는 음주를 금하였다. 숙취해독의 측정에는 소주(알콜 함량21%) 200cc를 안주없이 5분 이내에 마신후 30분 간격으로 혈중 알콜 농도를 측정하였다. 검정한 숙취해독제는 control을 포함하여 아스파라긴 4g과 콩추출물과 아스파라긴 등 수개의 천연물질을 혼합한 소이벤처(주)가 개발한 숙취해독제 3가지 처리를 비교하였다.

시험에 참여한 학생들의 체중은 표 1-12에서 보인 바와 같다.

표 1-12. 음주 측정실험에 참여한 학생들의 나이, 체중 및 신장.

Student	Age	Body weight	Height
		(kg)	(cm)
a	40	72	170
b	27	67	162
c	25	75	177
d	25	90	180
e	25	77	183
f	27	91	181
g	28	78	175
Mean	28.1	78.6	175.4

나. 시험결과

(시험I) 유전자원에 대한 순계화와 특성검정시험

1) 상이한 용도의 육성 콩품종들의 콩나물 특성

우리나라에는 세계에서 유일하게 콩 품종들이 용도별로 잘 분화되어 있으며 특히 콩나물 콩이라는 특이한 용도의 콩 품종들이 우리네 조상들로부터 잘 보존되어 왔다. 콩나물 콩은 무엇보다 입중이 다른 용도의 콩들에 비해 소립으로 100립 중의 평균이 11g 내외인 것으로 알려져 오고 있다.

본 연구에서는 우선 우리나라에서 장려품종으로 농가에 보급된 900개의 콩 품종들을 콩나물로 재배하여 콩나물로 재배한 후 전통적으로 콩나물로 이용되어 온 콩 품종들과 그 특성면서의 차이 유무를 검정하였다. 표 1-13에서 보인 바와 같이 콩나물의 외형적 특성에는 용도별 큰 차이는 없으나 콩나물 콩은 다른 용도의 콩에 비해 배축과 뿌리의 길이가 길고, 배축의 폭과 개당 무게가 작았다. 반대로 수율에서는 다른 용도의 콩들에 비해 아주 높다는 것을 알 수가 있는데, 아마 소립종이 콩나물로 이용되는 가장 큰 이유일는 지도 모른다. 물론 여기서 물성의 부드러움은 조사가 쉽지 않아 하지를 알았으나 예비시험 결과 물성은 배축의 크기와는 별로 상관이 없는 것으로 나타났다. 또한, 콩나물 콩으로 재배한 콩나물의 아스파라긴 함량도 가장 높은 것도 흥미 있는 것 중의 하나이었으나 그 이유에 대하여는 더 자세한 연구가 필요하다고 본다.

Table 1-13. 장려품종의 용도별 콩나물 특성과 asparagine 함량 비교

Use	Whole length (cm)	Hypocotyl length (cm)	Root length (cm)	Hypocotyl diameter (mm)	Weight /sprout (g)	Yield of sprout (%)	Asn content (%)
Soy paste(P)	16.0	9.9	6.1	2.41	1.11	420	7.9
Sprout(S)	16.8	9.0	7.8	2.23	0.74	534	9.7
With rice(R)	14.5	8.3	6.3	2.60	1.15	386	7.2
Vegetable(V)	15.2	8.9	6.3	2.61	1.25	392	8.9
LSD(5%) Between							
P and S	1.15	0.88	0.75	0.10	0.08	23.8	0.7
P and R	1.77	1.36	1.16	0.15	0.13	36.6	1.1
P and V	1.87	1.44	1.22	0.16	0.13	38.7	1.1
S and R	1.82	1.40	1.19	0.16	0.13	37.8	1.1
S and V	1.92	1.48	1.26	0.16	0.14	39.9	1.1
R and V	2.35	1.81	1.54	0.20	0.17	48.6	1.4

2) 재래 수집종의 포장 특성검정

금년도에 공시된 1,139계통에 대한 조사형질의 범위와 평균치를 보면 표 1-14와 같다. 개화일수의 경우 35일인 계통으로부터 86일(9월 이나 되는 계통으로 넓게 분포하고 있었으며, 생육일수도 85일의 극 조생종으로부터 152일이나 되는 극 만생종까지 있었다. 경장의 경우에도 31cm 되는 단경계통으로부터 190cm나 되는 장경계통까지 넓게 분포하고 있었다.

이와 같이 우리나라 농가에서 재배되던 콩나물콩 계통들은 지방의 작부방식에 따라 다양한 파종기에 재배되던 것들로서 생육일수가 아주 큰 범위에 걸쳐 있었음을 알 수가 있으며 이러한 자원들은 적도 지역 국가들로부터 북방재배 한계상에 위치한 국가들에 까지도 콩나물콩 품종육성에 이용될 수 있는 귀중한 유전자원이라고 생각되어 진다.

Table 1-14. 공시된 나물콩 계통의 농업적 특성의 범위 및 평균

Characteristics	Range	Mean±SD
Days to flowering	35~86	52±2.77
Days to maturity	85~152	134±4.31
Plant height(cm)	31~190	65±15.75
No. of branches on main stem	0~15	5±1.69
No. of nodes on main stem	9~27	14±1.87
No. of pod per plant	10~190	62±22.42

3) 재래 수집종의 콩나물 특성검정

공시계통들의 5일 재배한 콩나물 아스파라긴 함량을 포함한 콩나물의 특성을 보면 표 1-14와 같다. 표에서와 같이 콩나물의 전체, 배축 및 뿌리 길이, 배축의 두께 개당 무게 수율 및 본 과제에서 중요하게 검토된 콩나물의 아스파라긴 함량에서도 표에서 보인 바와 같이 큰 변이를 보였다. 현재 국내에서 콩나물로 가장 많이 이용되고 있는 풍산나물콩과 비교하여 보면 5일 동안 재배한 경우에 전체길이가 풍산나물콩에 비하여 훨씬 크게 자라는 계통이 있었으며 순수 물로 재배한 경우에 수율도 풍산나물콩의 1.5배나 되는 계통도 있어 앞으로 고수율 콩나물 품종육성에 이용가치가 큰 계통도 있었다.

또한 아스파라긴의 함량도 풍산나물콩에 비하여 상당히 높은 계통이 많아 콩나물에서 아스파라긴을 추출코자 하는 경우에는 또는 숙취해독용의 콩나물로 바로 이용할 수 있는 계통이 다수 있음을 알 수가 있었다.

Table 1-14. 공시된 나물콩 계통의 콩나물 특성과 asparagine 함량의 범위 및 평균

Characteristics	Pungsan-namulkong	Range	Mean±SD
Whole length(cm)	20.1	8.5~28.0	15.9±2.21
Hypocotyl length(cm)	11.4	4.8~16.5	10.2±1.48
Root length(cm)	8.7	2.0~12.7	5.7±1.15
Hypocotyl diameter(mm)	2.01	1.37~2.94	2.15±0.19
Weight per sprout(g)	0.65	0.40~1.13	0.74±0.08
Yield rate of sprout(%)	599	245~908	514±75
Asparagine content(ppm)	3,500	368.7~4,572	1,335.9±714.5

공시 계통중 아스파라긴의 함량이 높은 계통을 선발하였는 바, 이들 계통들의 5일 재배한 체내 아스파라긴 함량은 표 1-15에서 보인 바와 같다. 이들 계통들에 대하여는 시간을 두고 포장 농업적 특성, 콩나물의 외관상의 특성 및 향기 등 다른 특성들은 종합하여 2차 선발을, 한다면 우수 콩나물 품종 육성 및 새로운 콩나물 재배용의 품종으로 바로 선발도 가능하리라고 본다.

표 1-15. 공시 계통 중 콩나물의 수율을 중심으로 선발한 계통.

Line	Whole length (cm)	Hypocotyl length (cm)	Root length (cm)	Hypocotyl diameter (mm)	Weight /sprout (g)	Yield of sprout (%)
KLG11183	26.1	15.5	10.6	1.80	0.78	889
KLG11218	18.7	12.5	6.2	1.90	0.71	876
KLG11187	25.4	14.6	10.8	1.75	0.75	830
KLG11178	23.3	14.4	8.9	1.94	0.83	827
KLG11224	19.2	12.2	7.0	2.06	0.70	814
KLG11260	18.7	13.0	5.7	2.22	0.80	795
KLG11227	22.4	14.6	7.8	2.25	0.85	792
KLG11225	23.8	13.1	10.7	2.10	0.82	788
KLG11217	20.4	12.4	8.0	1.96	0.69	751
KLG11261	22.7	14.4	8.4	2.01	0.79	747
KLG11175	19.5	12.9	6.6	2.04	0.81	740
KLG11156	21.6	15.0	6.7	2.03	0.76	736
KLG11277	21.6	12.0	9.7	1.98	0.77	734
KLG11193	18.5	12.9	5.6	2.05	0.91	733
KLG11159	21.5	14.5	7.1	1.72	0.66	729
풍산나물콩	20.1	11.4	8.7	2.01	0.65	599

4) 종합적 평가에 의해 선발된 우수 재래 콩나물 계통

1, 2년차에 포장에서 조사된 농업적 특성과 콩나물의 특성을 종합적으로 검토하여 선발한 우량 콩나물 콩 계통에 대한 생산력을 검정한 결과는 표 1-16과 같다. 표에서 보인 바와 같이 현재 국내에서 가장 많이 재배되고 있는 풍산나물콩 품종에 비해 재래종에서 선발된 모든 계통들은 도복이 아주 심하게 되었으며 종실수량도 대부분이 풍산나물콩에 비하여 낮았다. 그러나 KLG11226계통을 포함하여 3계통은 풍산나물콩과 비슷하거나 약간 높은 수량성을 보여 내년에는 시험구를 조금 더 크게 한 조건에서 수량성을 정밀 검토코자 한다. 그러나 수많은 재래종 계통 중에서도 바이러스 저

항성(1, 2년차 정밀검정) 및 도복 저항성 등을 종합적으로 검토하였을 경우 바로 농가 재배에 추천할만한 계통은 거의 전무하다고 볼 수 있었다. 이는 새로 육성한 나물콩 품종들이 상당한 육종의 효과를 보이고 있다는 다른 설명이 될 수 있다. 그러나 표 1-17에서 보인 바와 같이 콩나물의 품질에서는 새로 육성되어 보급되고 있는 품종들에 비해 우수한 계통들이 많아 농업적 특성 외에도 콩나물의 품질 면에서 개량을 해야 할 여지가 아직은 많다고 보여 진다.

Table 1-16. 우량 선발 나물콩 20계통의 농업적 특성

Line	Days to maturity (day)	Plant height (cm)	No. of branches	No. of nodes	No. of pods	Yield (kg/10a)	Weight/100seeds (g)	Pod color	Lodging (1-5)
Pungsan-namul-kong	147	45	5	15	73	253	13.6	G	1
KLG11365	143	48	5	14	47	212	10.9	G	4
KLG11369	148	143	6	28	101	215	14.2	T	5
KLG11505	142	52	5	13	28	145	12.2	T	3
KLG11528	145	45	4	13	58	219	10.9	G	4
KLG11590	148	139	5	21	38	147	13.2	G	5
KLG10978	147	45	6	15	42	223	13.9	T	5
KLG11226	155	56	3	16	41	253	13.1	T	3
KLG11176	155	46	4	15	34	171	12.2	G	4
KLG11668	143	47	5	14	35	208	11.4	G	3
KLG11719	140	41	5	14	35	193	10.7	G	4
KLG11743	148	46	5	14	29	181	11.0	T	3
KLG11754	143	51	5	14	29	285	11.7	G	3
KLG11168	155	45	5	14	41	261	11.1	T	4
KLG11778	155	46	5	14	38	186	11.2	T	2
KLG11779	146	48	5	15	41	232	11.1	T	3
KLG11780	143	46	5	14	48	170	10.7	T	3
KLG11781	145	55	5	15	50	175	11.6	G	3
KLG11058	148	53	5	15	39	173	11.5	T	4
KLG11159	155	56	4	15	32	260	11.5	T	3
Mean	148	58	5	15	42	208	11.9		3

LSD(5%) between lines -----38

공시한 계통 중 콩나물의 특성을 중심으로 선발한 우량계통을 보면 표 1-17과 같다. 풍산나물콩에 비해 수율이 높고 외관상의 품질이 우량한 계통(Bold 체)이 수개나 있었는데, 특히 KLG11159는 콩나물의 수율이 풍산나물콩 보다 월등히 높은 것으로 평가되었다.

Table 1-17. 우량 선발 나물콩 20계통의 콩나물 특성

Line	Whole length (cm)	Hypocotyl length (cm)	Root length (cm)	Hypocotyl diameter (mm)	Weight per sprout (g)	Yield of sprout (%)
Pungsannamulkong	20.1	11.4	8.7	2.01	0.65	599
KLG11365	21.6	12.3	9.3	2.21	0.97	669
KLG11369	22.2	14.1	8.1	1.91	0.87	608
KLG11505	13.8	9.7	4.2	2.27	0.68	434
KLG11528	10.5	7.0	3.5	2.20	0.67	428
KLG11590	15.5	9.5	6.0	2.06	0.79	541
KLG10978	11.3	8.1	3.2	2.27	0.67	421
KLG11226	18.5	13.1	5.5	2.20	0.84	564
KLG11176	22.5	12.9	9.6	1.67	0.74	618
KLG11668	13.0	9.0	4.1	2.29	0.82	444
KLG11719	14.3	10.2	4.1	2.45	0.65	473
KLG11743	16.7	11.4	5.3	2.14	0.89	592
KLG11754	17.3	10.6	6.7	2.05	0.74	494
KLG11168	20.7	13.8	6.9	1.88	0.83	547
KLG11778	15.7	11.3	4.4	2.33	0.72	575
KLG11779	19.4	12.4	7.0	2.48	0.77	624
KLG11780	15.8	10.4	5.4	2.41	0.87	609
KLG11781	15.7	10.7	5.1	2.20	0.74	481
KLG11058	15.9	11.3	4.6	2.40	0.81	511
KLG11159	21.5	14.5	7.1	1.72	0.66	729
Mean	17.1	11.2	5.9	2.2	0.77	548

(시험II) 숙취해독제의 개발

1) 콩나물의 Asparagine 함량증대

가) 콩나물 부위별 아스파라긴의 함량

주로 공장에서 재배되어 백화점에서 판매되고 있는 콩나물의 형태, 즉 잔뿌리가 발생되기 전까지 재배한 국내에서 주로 이용되는 풍산나물콩과 물성을 고려하여 극소립종으로 개발한 “아가콩”의 부위별 중량과 아스파라긴의 함량을 보면 표 1-18과 같다. 콩나물의 뿌리가 크게 자라도록 재배하여 뿌리를 제거하고 사용하던 예전과 달리 가정주부들의 편의성을 고려하여 잔뿌리가 나기 전까지만 재배한 경우 뿌리부분의 중량비율이 매우 낮은 것을 알 수 있다. 또한, 뿌리부분의 아스파라긴 함량이 높다는 일반적인 사실과는 달리 건물중으로 환산한 아스파라긴의 절대함량이나 비율도 매우 낮다는 것을 알 수가 있다. 따라서 자가 재배하지 않고 백화점이나 가정배달 등으로 구입하여 사용되는 콩나물의 경우 품종간 차이나 있으나 자엽과 배축에 비슷한 양의 아스파라긴이 함유되어 있다는 것을 알 수가 있다.

Table 1-18. Weight and rate of fresh and dry weight and asparagine contents for each part of soybean sprout.

Variety	Parts of sprout	Fresh weight per 100sprouts (g:%)	Dry weight per 100 sprouts (g:%)	Asparagine		
				Content (% dry basis)	Total amount (g)	Rate of asparagine (%)
Pungsan-namulkong	Cotyledon	41.2:46.8	4.08:68.0	3.033	0.124	44.8
	Hypocotyl	34.8:39.5	1.46:24.3	8.567	0.125	45.1
	Root	12.1:13.7	0.46: 7.7	6.193	0.028	10.1
Agakong	Cotyledon	24.3:43.5	3.58:69.6	3.270	0.117	48.5
	Hypocotyl	19.4:34.8	1.06:20.6	8.468	0.096	37.3
	Root	12.1:21.7	0.50: 9.7	5.896	0.034	14.1

Remark : 100 seed weights of Pungsannamulkong and Agakong was 12.0 and 5.5g, respectively.

콩나물의 부위별 건물율을 보면 자엽부분이 배축이나 뿌리부분에 비하여 상대적으로 상당히 높다는 것을 알 수가 있다. 또한, 실뿌리가 발생하지 않은 직근만을 가진 공장에서 재배된 콩나물의 뿌리부분의 아스파라긴 함량은 자엽이나 배축부분에 비하

여 상당히 낮은 편이다 (표 1-19). 검정은 재료 및 방법에서 보인 바와 같이 시간과 경비의 효율성을 고려하여 주로 생체의 즙을 이용하여 이루어지는데, 이 경우 절대량은 검정량의 약 1/10 수준이나 비율은 같다고 할 수 있다.

Table 1-19. 콩나물 부위별 무게와 생체 Asn 함량

Variety	Parts of sprout	Dry weight/100gram fresh sprouts	Asparagine content (% fresh wt basis)
		Pungsan-namulkong	Cotyledon
	Hypocotyl	5.6	5.2
	Root	4.8	2.9
Agakong	Cotyledon	25.7	5.6
	Hypocotyl	5.6	4.9
	Root	5.5	3.3

나) 콩나물 장기재배 시 오존수의 영향

콩나물을 재배하여 숙취해독에 효능이 있는 아스파라긴을 추출하는 경우 경제적 측면에서도 콩나물 체내의 아스파라긴의 함량을 최대한으로 높일 수 있는 방법의 개발이 무엇보다 필요하다. 콩나물 체내의 아스파라긴 함량은 일반적으로 재배일수와 비례하는 것으로 알려져 있는데, 변 등의 발표<sup>37)</sup>에 의하면 재배 15일까지는 콩나물의 아스파라긴 함량이 계속 증가하여 건물중의 25%까지 이른다고 하였다. 실제로 일반적인 콩나물 재배방법으로는 10일경이 되면 콩나물이 심하게 부패하여 더 이상의 재배가 불가능하다. 본 시험에서는 예비시험을 거쳐 장기간 재배가 가능한 오존수로 콩나물을 재배한 경우 수율과 체내 아스파라긴의 함량을 조사한 결과 16일까지 콩나물 재배가 가능하였으며 재배일수별 콩나물의 수율과 아스파라긴의 함량은 계속적으로 증가하였다 (표 1-20).

표 1-20. 오존수를 이용한 재배일수별 콩나물의 수율과 아스파라긴 함량의 변이.

Treatment	Culturing period (days)	Yield of sprout (%)		Asn content (% dry basis)	
		Agakong	Pungsan-namulkong	Agakong	Pungsan-namulkong
O <sub>3</sub> treated	4	321	328	0.2	0.3
	8	509	589	5.3	5.4
	12	739	881	7.6	8.8
	16	1,050	1,111	12.5	10.2
	Mean	655	727	6.4	6.2
Control	4	401	442	3.0	2.9
	8	820	904	10.5	10.9
	12	1,096	1,156	12.7	12.1
	16	1,216	1,329	12.9	15.6
	Mean	883	958	9.8	10.4
LSD(5%) between means of treatment		45.9	33.3	4.0	1.1
between means of culturing days within a treatment		15.5	12.8	0.9	2.0

다) 콩나물의 재배일수별 건물중, 수율 및 Asn 함량 변이

재배일수에 따른 콩나물 체내의 아스파라긴 함량뿐만 아니라 콩나물의 건물중의 변이도 경제적 측면에서 매우 중요한데, 그림 1-2에서 보인 바와 같이 콩나물의 건물중은 계속하여 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 경제적 측면에서 최대의 콩나물 수율을 얻기 위해서는 아스파라긴 함량과 건물중의 곱이 최대가 되는 일수까지 콩나물을 재배하는 것이다. 표 1-21에서는 재배일수별 콩나물의 건물중 함량과 건물중을 곱한 값을 표시한 것으로서 계산상으로 풍산나물콩은 6일, 아가콩은 9일 정도 재배한 후 아스파라진을 추출하는 것으로 나타났다. 그러나 체내 아스파라긴의 함량을 최대한으로 높여 건물중당 아스파라긴의 추출효율을 높이거나 콩나물을 건조하여 직접적인 숙취해독제로 이용할 경우에는 콩나물의 체내 아스파라진을 최대한으로 높일 필요가 있다. 이 경우에는 가능하면 콩나물이 부패하지 않는 한 재배일수를 길게하는 것이 필요하다고 생각되어 진다.

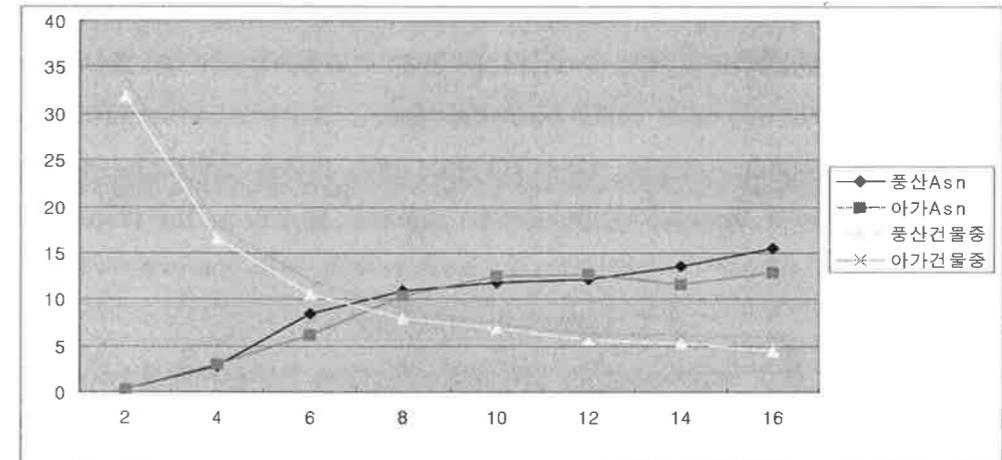


그림 1-2. 콩나물의 재배일수별 아스파라긴의 함량과 건물중의 변이

표 1-21. 콩나물 재배일수별 체내 아스파라긴 함량 x 건물중의 값의 변이.

Variety	Culturing period	Dry weight × asparagine
Pungsannamulkon	2	8.62
	4	47.44
	6	89.80*
	8	86.40
	10	82.14
	12	67.67
	14	72.28
Agakong	16	68.87
	2	12.54
	4	54.77
	6	73.72
	8	93.94*
	10	91.46
	12	79.07
14	71.72	
16	78.04	

라) 콩나물의 녹화와 아스파라긴의 함량변이

일반적으로 콩나물 체내의 아스파라긴은 암조건에서 콩나물을 재배하는 과정에서 저장단백질의 분해에 의해 새로이 합성되는 것으로 알려져 있다. 그러나 표 1-22에서

보인 바와 같이 콩나물을 광조건에서 재배한 경우에도 암조건에서 재배했을 때와 마찬가지로 아스파라긴이 합성되는 것으로 나타났다.

Table 1-22. Content of asparagine in soybean sprouts grown in the flurescent light.

Culturing condition	Culturing period(day)					
	5		7		9	
	Pungsan-namulkong	Agakong	Pungsan-namulkong	Agakong	Pungsan-namulkong	Agakong
General	5.70	5.32	5.23	7.41	8.27	10.89
Green	5.28	5.96	6.57	7.94	6.51	10.82
LSD(5%)	2.27	1.44	1.94	3.08	3.94	4.40

Remarks : intensity of light was 30 lux.

마) 요소처리에 의한 아스파라긴의 함량변이

콩나물을 재배하는 과정에 0.2%의 요소를 처리한 경우 표0에서 보인 바와 같이 품종에 관계없이 무처리에 비해 유의한 증가를 보였다. 따라서 식용이 아닌 콩나물을 이용하여 아스파라긴을 숙취해독제로 추출코자 하는 경우에는 요소 처리에 의해 아스파라긴의 수율을 높일 수 있는 것으로 나타났다.

Table 1-23. Effect of 0.2% urea application on the content of asparagine in soybean sprouts.

Treatment	Culturing periods (day)	Variety	
		Pungsannamulkong	Agakong
0.2% urea	4	6.5	6.5
	6	12.9	10.2
	Mean	9.7	8.3
control	4	3.8	3.1
	6	5.4	7.1
	Mean	7.1	6.8

LSD(5%) between means of urea treatments-----1.2-- 1.5  
culturing periods within a treatment ----1.0 1.4

바) 콩나물의 재배온도별 아스파라긴의 함량변이

콩나물 재배시 재배온도에 따른 콩나물의 수율과 체내 아스파라긴의 함량을 보면 표 1-24와 같다. 콩나물의 수율은 품종에 관계없이 20℃에서 가장 높았으며 체내 아스파라긴의 함량은 온도가 가장 낮은 15℃에서는 낮았으나 20℃와 25℃에서는 차이가 없었다. 따라서 콩나물을 재배하여 아스파라긴을 추출코자 하는 경우에는 콩나물을 20℃에서 재배하는 것이 가장 좋은 것으로 나타났다.

Table 1-24. 재배온도에 따른 콩나물의 수율 및 asparagine 함량 변이

Temperature (°C)	Culturing period (days)	Sprout yield (%)		Asn content (% dry basis)	
		Agakong	Pungsan-namulkong	Agakong	Pungsan-namulkong
15	4	243	243	0.5	0.2
	8	324	354	0.5	3.0
	12	517	579	2.4	3.3
	16	700	739	6.8	6.8
	Mean	466	479	2.5	2.7
20	4	402	442	3.0	2.9
	8	820	904	10.5	10.9
	12	1,095	1,156	12.7	12.1
	16	1,216	1,328	12.9	15.6
	Mean	883	957	9.8	10.4
25	4	482	509	2.3	2.7
	8	795	875	10.0	9.8
	12	944	1,137	12.1	11.7
	16	1,104	1,221	15.0	12.7
	Mean	831	936	10.0	9.2

LSD(5%) between means of temperatures -----30.6 32.6 2.3 2.3  
culturing periods within a temperature---9.9 17.1 1.2 1.5

2) 숙취해독제제의 개발

해장국용으로 이용되는 대구시내 4개 해장국집에서 팔고있는 콩나물의 조리방법, 콩나물의 양, 국물의 양 및 국물에 녹아있는 아스파라긴의 함량을 조사한 결과는 표 1-25와 같았다. 콩나물을 끓이는 시간은 약 14분, 한 대접당 사용되는 콩나물의 양은 35g, 끓인 후의 국물의 양은 약 400ml이었고 국물에 녹아 있는 아스파라긴의 함량은

음식점에 따라 큰 차이가 있었는데, 평균함량은 3.4%이었다.

Table 1-25. 대구지역 콩나물국밥의 asparagine 함량.

Area	Boiling time (min.)	Amount of sprouts /vessel(g)	Water volume (ml/vessel)	Asparagine (%)
산격	10	20	405	0.7
침산	15	40	410	3.8
만춘	20	50	400	6.3
신암	10	30	390	2.3
평균	14	35	400	3.4

학생 7명에 대한 음주후의 처리별 시간대별 음주측정기를 사용하여 조사한 혈중 알콜농도는 그림 1-3에서 보인 바와 같다. 7인 평균을 보면 음주(21% 소주 200ml) 후 숙취해독제를 복용하지 않은 경우에는 혈중 알콜 농도가 완전히 0로 떨어질 때까지 소요되는 시간이 330분이었으며 음주 후 숙취해독에 효능이 있는 콩나물에서 추출한 아스파라긴을 복용하거나 위에서 알콜의 흡수를 저해하는 것으로 알려진 콩 추출물과 몇 가지 숙취해독제(가칭 SV숙취해독제)를 아스파라긴과 함께 복용한 경우에도 혈중 알콜 농도가 0로 될 때까지 소요되는 시간이 300분이나 되어 큰 차이가 없었다. 그러나 음주 후 음주 단속에 문제가 되는 혈중농도 0.05이하가 되는 데에 소요되는 시간이 숙취해독제를 복용하지 않은 경우에는 120분인데 비해 아스파라긴을 복용한 경우에는 90분, SV숙취해독제를 복용한 경우에는 아스파라긴을 복용한 것보다도 약 30분이 빠른 복용후 60분으로 나타나 소이벤처(주)에서 아스파라긴에 콩 추출물과 몇 가지 물질을 첨가하여 개발 중에 있는 우수한 숙취해독제의 개발이 기대되고 있다.

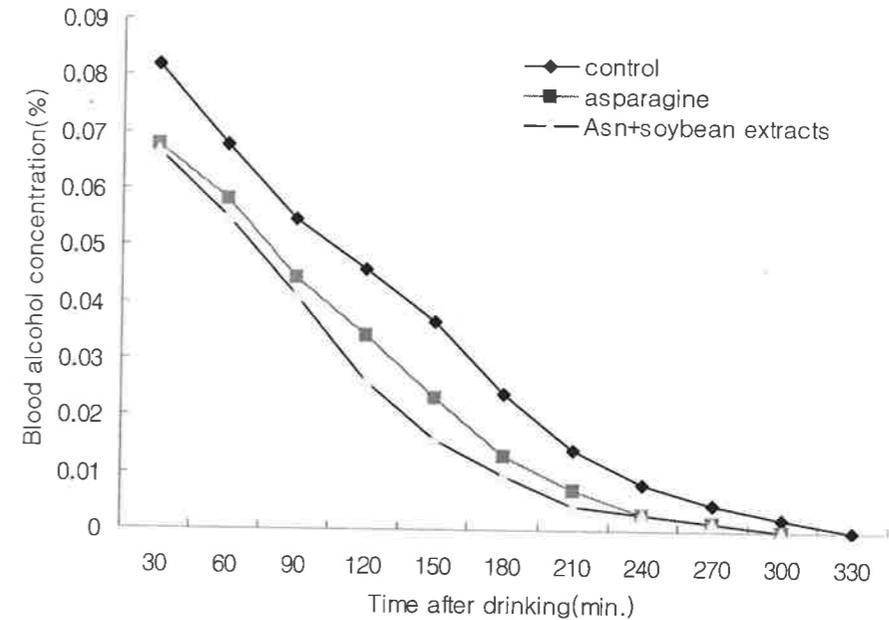
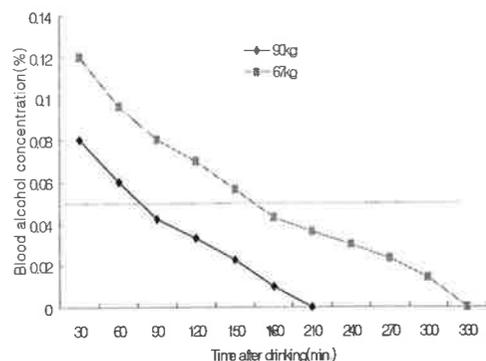


Figure 1-3. Change in the percentage of alcohols in blood of human beings after drinking of 200ml Soju ( 21% alcohols).

그림 1-4는 숙취해독시험에 참가한 학생 중 체중에서 큰 차이가 있는 2명의 학생의 숙취해독에 소요되는 시간에 큰 차이가 있는 학생과 체중이 비슷하나 숙취해독에 소요되는 시간에서 큰 차이가 있는 학생을 대상으로 음주 후 시간대별 혈중알콜 함량의 변이를 보이고 있다. 그림에서 보인 바와 같이 동일한 양의 알콜을 섭취한 경우에도 체중이 크게 차이나는 경우에는 혈중 알콜함량이 0이되는 데에 소요되는 시간이 체중이 큰 학생이 210분인데 비해 체중이 작은 학생은 330분이나 소요되었으며 혈중 알콜농도가 음주측정에서의 허용 하한치인 0.05까지 낮아지는데 소요되는 시간도 체중이 많은 학생은 약 75분인데 비해 체중이 작은 학생은 165분이나 소요되었다.

또한 체중이 비슷하나 혈중 알콜농도가 0이 될 때까지 소요되는 시간에서 가장 큰 차이를 보인 학생 a와 b의 경우 a는 240분이 소요된 데 비해 b는 330분이 소요되었고, 음주측정의 허용치인 혈중 알콜농도 0.05까지의 시간이 a는 105분인데 비해 b는 165분이나 소요되었다. 이러한 사실은 음주 후 혈중알콜 함량의 저하는 체중과 함께 개인의 알콜분해 능력에 크게 영향을 받는다는 것을 나타내 주고 있다.

Different body weight



Similar body weight

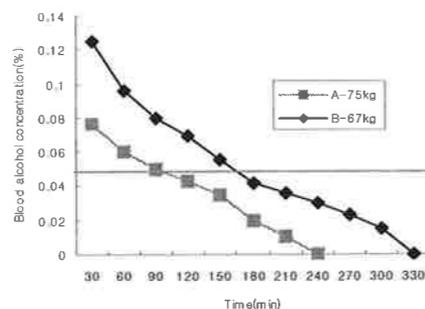


Fig 1-4. Change in the content of alcohols in bloods of two students having different body weight (left) and similar body weight (right) after drinking 200ml of Soju (21% alcohols).

## 제 2 절 : 제2세부과제 : 콩나물재배용 천연 성장조정물제 개발

연구기관: 경북대학교 농업생명과학대학, 연구책임자: 김길웅

### 1. 1년차 시험

#### 가. 시험방법

##### 1) 원료 콩

원료 콩은 경북, 의성, 안계에서 생산된 2001년산 개체 중량이  $110 \pm 10\text{mg}$ 인 오리알테 (*Glycine max* Merr., cv. Orialtea)를 시료로 하였으며, 외관상 이상이 없는 것을 정선하여  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 저장하면서 사용하였다.

##### 2) 천연 식물성 성장조정제를 위한 재료 제조

천연 식물성 성장조정제를 위하여 유근피, 죽순, 겨자, 현사시나무(가지)를 사용하였으며 유근피와 겨자는 대구 약전골목에서 구입을 하였으며, 현사시나무는 경산 하양에서 구입하였고, 죽순은 거제도산을 구입하여 사용하였으며 대조구로서 시중에 사용되는 성장조정제로 인돌비(뚜꺼비 시루 : 푸른산업주식회사)를 사용하였다.

##### 3) 시료조제

① 물추출 - 유근피, 죽순, 백겨자, 현사시나무 분말 상태를 한약 추출기 이용하여 농도가, 0.5, 0.1, 0.05%로 각각 2시간 추출하였다.

② 초음파 추출 - 유근피, 죽순, 백겨자 분말 상태를 초음파 추출기 (decon FS200, England) 이용하여 2시간 추출하여 추출물 농도를 0.5, 0.1, 0.05% 로하여 실험하였다.

③ 에탄올추출 - 50% 에탄올에 유근피, 죽순, 백겨자분말을 24시간 추출후 rotary evaporator (Eyela, Japan) 를 이용해서 추출하여 사용하였다. 실험은 0.5, 0.1, 0.05% 의 농도로 조정하였다.

##### 4) 콩나물 재배 방법

원료콩 1kg를 양파 땅에 각각 나누어  $20^\circ\text{C}$ 을 수침온도  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 수침시간 8시간후 4시간 동안 방치 후 추출물에 30분간 침지 후 플라스틱 시루 (직경 31cm × 높이 29cm)에 담아, 수온  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 주수횟수는 1일 6회, 주수시간은 2분으로 재배온도는  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 재배기간은 6일로 하였다.

#### 5) 수분정량

수분함량은 콩나물 재배 기간 중 24시간마다 일정하게 무작위로 시료를 10g 취하여 자엽과 배축을 즉시 나누어서 AOAC법 (1975)에 준하여 상압 가열건조법을 사용하였다.

#### 6) 콩나물 성장도 및 수율 측정

콩나물의 시루의 중앙부와 가장자리부로 구분하여 각각 그 상부와 하부로부터 300 개체를 무작위로 채취하여 자엽과 배축 및 뿌리부로 나눈 다음 중량과 평균길이를 측정하였다. Digmatic caliper (CD-20B, Mitutoyo, Co., Japan)를 사용하여 배축길이와, 배축무게 평균값을 측정하였다. 또 콩나물 수율은 전기식 지시저울 (SW-1, CAS Co., Korea)를 이용하여 6일간 재배한 시루당 콩나물 무게를 측정하였다.

#### 7) 콩나물 수율 (발아율과 부패율) 측정

발아율은 원료콩 1 kg에 대한 평균 개수를 미리 산출한 후 6일간 재배하였을 때 얻어진 전체 콩 개수에 대하여 미발아된 콩의 개수를 제한 콩나물 수의 백분율로 나타내었다. 또, 부패율의 측정은 5회 반복 실험구에 대한 부패구의 백분율로 나타내었는데 5명의 관능요원에 의하여 부패취가 있다고 인정된 것을 부패로 판정하였다. 부패율을 제외한 모든 실험 데이터는 무처리 (수돗물에 8시간 수침한 것)에 대한 %로 나타내었다.

#### 8) 분석시료

모든 분석시료는 -65°C에서 저온 동결고 (Gudero, DF9017, Il-Sin Engineering Co., Seoul)에 즉시 동결시킨다음 동결건조기 (Bondiro, FD-5518-01, Il-Shin Engineering Co., Seoul)로 5일간 건조하였다. 건조시료는 분쇄기 (Bamix, De-Luxe, Switzerland)로 파쇄한후 20 mesh sieve를 통과시킨 다음 유리병에 담아 데시케이터에 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

#### 9) 식이섬유의 측정

시료의 식이섬유 함량은 효소중량법인 Prosky법 (1988, 1992)에 따라 분석하였다. 즉, 분쇄시료 1g (0.1 mg까지)을 400 mL tall 비이커에 넣어서 40 mL phosphste buffer (pH 6.0±0.2)와 0.1 mL termamyl 용액 (Sigma Co.)을 넣어 골고루 섞었다. 이때, 알루미늄 호일로 비이커를 막고 끓는 수조에서 흔들어서 15분간 반응시켜 비이커의 내부온도가 95~100°C가 될 때부터 반응시간을 측정하여 총 반응시간이 35분

을 넘지 않도록 하였다. 다음에 비이커를 60°C로 유지하면서 protease stock 용액 0.1 mL을 첨가하고 알루미늄 호일로 덮는다. 60°C에서 항온수조에서 30분간 흔들어주면서 반응을 시킨 다음 0.561N HCl 용액 4~7 mL를 넣어 pH 4.0~4.7로 조정하였다. 또한, 시험액에 amyloglucosidase 0.3 mL을 첨가하고 다시 60°C 항온수조에서 30분간 흔들며 반응시킨 다음 60°C로 조정된 95% ethanol 225 mL를 시험액이 들어있는 비이커에 넣었다. 그리고 상온에서 1시간 이상 방치하여 침전시켰다. 여과는 15 mL의 78% ethanol로 도가니의 celite를 고르게 분산시키고 감압하여 mat를 만든 후 시험액을 여과하고, 78% ethanol 15 mL로 비이커를 세척하여 여과하였으며 이 조작을 2회 반복하였다. 그리고 95% ethanol 15 mL로 비이커를 2회 세척, 여과하고 acetone 15 mL로 2회 여과후 105°C 건조기에서 하룻밤 건조시킨 후 도가니의 항량을 구하였다. 한편, 항량을 구한 도가니 중 1개는 잔여분을 단백질 분해관에 넣고 Kjeldahl 법으로 단백질 함량 (환산계수 6.25를 사용)을 측정하고 다른 1개 도가니는 525°C에서 5시간 회화시켜 회분함량을 구하여 아래의 계산식에 의하여 함량을 산출하였다.

$$B \text{ (blank, mg)} = \text{Wt residue} - \text{PAPB}$$

$$\text{TDF (total dietary fiber)\%} = [(\text{Wt residue} - B - A - B) / \text{Wt sample}] \times 100$$

Wt residue : Duplicate 시료 잔여분 무게의 평균

PA = Duplicate blank 잔여분에서 결정된 단백질의 양 (mg)

PB = Duplicate blank 잔여분에서 결정된 회분의 양 (mg)

B = Blank 값

A = Duplicate 시료의 잔여분에서 결정된 단백질 양 (mg)

B = Duplicate 시료의 잔여분에서 결정된 회분 양 (mg)

Wt sample : 시료 무게의 평균

#### 10) 아미노산 분석

총 아미노산 분석은 양 (1981)의 방법으로 동결건조된 분말시료 1 g을 6N HCl로 24시간 가수분해시킨후 감압건조기 (HB-501 VS, Korea)로 증발건조 시킨후 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 녹인후 100배로 희석한후 amino acid analyzer (Biochrom

20, Pharmacia, Co., England)에 10 $\mu$ L씩 주입하여 분석하였다. 그 분석 조건은 표 2-1과 같다.

Table 2-1. Conditions of amino acid analyzer for analysis of total amino acids

Item	Condition
Detector	Photometer (440 - 570 nm)
Column	Sodium high performance PEEK column
	Size : 16 cm $\times$ 4.6 mm
	Bed length : 200 nm Diameter : 4.6 mm
Flow rate	Buffer : 35 mL/hr (5.8) Nin/OPA : 25 mL/hr (5.8)
Pressure	Buffer : 65bar
	Nin/OPA : 12bar 135 $^{\circ}$ C
Reaction coil temperature at 47 $^{\circ}$ C	Column buffer pressure : 76bar Ninhydrin pressure : 11.5bar Coil pressure : 7.4bar
Injection volume	10 $\mu$ L

11) 무기질 분석

무기질은 우와 류 (1986)의 방법을 약간 변형한것으로 동결건조된 분말시료 약 1g을 취하여 65% (특급) HNO<sub>3</sub> 10 mL을 넣고 뚜껑을 열고 실온에서 3~5시간 동안 방치한 뒤 100 $^{\circ}$ C에서 산이 1 mL 정도 남을때까지 가열하고 다시 질산 5 mL, HClO<sub>4</sub> 0.5~1 mL 넣고 다시 2 mL 정도 남을때까지 가열한다음 초순수 50 mL로 희석하여 10  $\mu$ L씩 주입하여 Na과 K은 원자흡광 분광광도계 (Spectra AA800, Varian Co., Australia)을 이용하여 분석하였고 Zn, Mn, Fe, Mg, P, Ca은 ICP emission spectrophotometer (38Plus, Jobin Yvon, Co., France)에 주입하여 분석하였다. 그 분석조건은 표 2- 2와 같다.

Table 2-2. Instrumental parameters employed in the atomic absorption spectrophotometer and ICP1) emission spectrometer for determination of Na, K, Zn, Mn, Fe, Mg, P and Ca in soybean sprouts

Item	Element							
	Na	K	Zn	Mn	Fe	Mg	P	Ca
Wave length (nm)	589.1	766.4	206.1	257.6	178.2	279.5	214.9	422.7
Lamp current (mA)	0	9	9	1	8	5	1	
Slit width (nm)	12.0	20.0	12.0	20.0	30.0	12.0	12.0	20.0
Air flow rate (L/min)	0.7	0.7	0.7	0.2	0.2	0.7	0.7	0.7
Acetylene flow rate (L/min)	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6
	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4

1)Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

12) Vitamin C 함량 측정

Vitamin C 의 함량은 DNP (2,4-dinitrophenyl hydrazine) 비색법 (照丙淳也, 1964)에 따라 측정하였다. 즉, 콩나물 5 g을 2% m-HPO<sub>3</sub> 용액으로 파쇄하고 그 추출액 2 mL에 indophenol 2~5 방울과 thiourea m-HPO<sub>3</sub> 혼합액 2 mL를 가하여 잘 혼합한 후 DNP용액 1 mL를 가하여 50 $^{\circ}$ C에서 1.5시간 반응시켰으며 즉시 빙냉한 후 85% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mL를 기벽을 통해 서서히 가하여 상온에서 30분간 방치하였다. 다음에 540 nm 에서 흡광도를 측정하고 표준곡선에 의하여 총 vitamin C 의 함량을 구하였다. 대조구는 DNP 용액을 최후로 가한 것으로 하였다.

13) 총균수 측정

총 균수를 측정하기 위해 처리 구간별로 각각의 콩나물 시료 10 g을 무균실에서 취하여 멸균된 0.1% peptone수 100 mL로 현탁하고 위의 peptone수로 순차적으로 희석한 용액을 시료로 하였다 (Shigezo, 등, 1989). 총 균수의 측정은 3M社 petrifilmTM plate를 사용하였다. 즉, 무균실에서 petrifilm의 윗부분을 들어올린 다음 자동피펫을

이용하여 시료 1 mL를 배지중앙에 접종하고 누름판으로 시료를 눌러 원형으로 만든 후 시료가 겔화될 때까지 1분정도 두었다. 다음에 총균수는 32°C에서 24~48시간 배양시킨 후에 나타난 colony를 계측하였으며 colony-forming unit (CFU/g)로 표시하였다 (김 등, 1997).

#### 14) 경도측정

콩나물의 경도는 Texture Analyzer (TA-XT2, Stable Micro System, Haslemere, England)을 이용하여 배측의 가운데 부분을 측정하였다 (이 등, 1999). Plunger는 cylindrical type으로 직경 5.0 mm의 것을 사용하였고 test speed는 1.0 mm/sec, 변형률은 99.9%로 측정하였다.

#### 15) Chlorophyll 함량 측정

Vernon (1960)의 방법에 준하여 신선한 콩나물 5 g을 80% acetone 50 mL 정도 가하여 약 10분 동안 방치한 다음 감압여과기로 여과하였다. 잔사는 80% acetone을 소량 가하여 저어주면서 10분 정도 방치하였다가 여과하고 잔사에 색소가 없을 때까지 반복한 후 모든 여액을 합한 것을 전량이 100 mL가 되게 하였다. 추출액의 일정량을 663 nm, 645 nm에서 흡광도를 측정하였고, total chlorophyll (mg/L) =  $20.2 \times \text{O.D.}645 + 8.02 \times \text{O.D.}663$ 의 계산식에 의하여 그 함량을 산출하였다.

#### 16) 콩나물의 저장

CON(무처리), WEJ(0.5%유근피 물추출물), WEM(0.5%겨자 물추출물), UEB(0.5%죽순 초음파 추출물), INB(인돌비)로 6일동안 재배한 콩나물 300 g씩을 무작위로 취하여 흐르는 수돗물로 3회 세척한 후 습기를 제거하고 폴리에틸렌 필름봉지 (두께 0.01 mm, 크기 15×31 cm)에 담아서 7°C의 저장실에서 저장하면서 기간별로 품질을 측정하였다.

#### 17) 관능검사

콩나물 재배기간 중 일정 간격으로 채취한 콩나물을 물에 씻고 각각 300 g씩 냄비에 넣고 물 450 mL, 소금 5 g을 첨가한 후 가열하여 끓기 시작 할 때부터 1분간 익

힌 후 찬물로 냉각하고 각각 일정량을 접시에 담아 콩나물의 색상 (color), 냄새 (flavor), 종합적인 맛 (overall taste)에 대하여 훈련된 10명의 관능요원에 의해 5점법 (Herbert and Joel, 1993)으로 평가하였다. 즉 색상, 냄새, 종합적인 맛은 매우 나쁘다 (1점), 나쁘다 (2점), 보통이다 (3점), 좋다 (4점), 아주 좋다 (5점)으로 하였다.

#### 18) 통계처리

실험결과의 평균치간의 유의성은 SAS software package (SAS Inc., 1985)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다.

#### 나. 시험결과

##### 1) 천연 성장조정제의 콩나물 품질과 성분함량에 미치는 영향 구명

본 연구는 콩나물 재배용 천연 성장 조정 물질의 탐색 및 동정의 일환으로 죽순, 겨자, 느릅나무, 현사시 나무 등에서 부위별로 함유물질을 추출하여 농도별로 콩나물의 원료콩에 처리하여 콩나물의 성장조정효과를 검정하여 천연 성장조정제의 콩나물 품질과 성분함량에 미치는 영향과 최적 농도와 혼합비를 구명하고 이들 처리에 의한 콩나물의 품질과 여러 가지 성분 함량에 미치는 영향을 조사 하였다

##### 가) 수율

콩나물은 비교적 고온, 다습한 암소에서 재배되고 단백질고 수분이 많아서 미생물에 의해 쉽게 감염되어 썩기 쉽다. 또 한번 썩기 시작하면 그 오염도가 급속히 확산되어 성장지연을 초래하고 이로 인한 수율 감소와 악취발생 등으로 상품성이 크게 떨어진다. 콩나물의 재배 중 부패는 불량한 원료 콩의 사용, 콩에 오염되어 있는 미생물, 재배용기, 및 재배용수의 오염 등이 주된 요인으로 알려져 있으며 (김, 1992 ; Takashi, 1980), 이들 중 단 한가지 조건이라도 미비하게 되면 썩게 된다. 콩의 발아와 성장촉진 및 부패방지를 위하여 성장 조절제와 함께 농업용 농약들이 음성적으로 사용되고 있다. (박, 1997). 따라서 본 실험에서는 천연 성장 촉진제를 이용하였을 때 청정 콩나물 재배가 가능한지를 검토하고자 실험하였다. 그 처리 방법으로는 유근피, 죽순, 겨자, 현사시나무를 물, 초음파, 에탄올을 추출하여 그 농도를 0.05%, 0.1%,

0.5%로 조정하여 실험하였다.(표 2-3)

그 결과 0.5% 유근피 물 추출물, 0.5% 겨자 물 추출물 0.5% 죽순 초음파 추출물을 이용하여 재배한 콩나물이 재배 6일째 무처리(대조구 : 물만으로 재배)비하여 109.8 ~ 111.0% 로 약 10%정도 높은 성장률을 나타냈고 이는 시중에서 사용되는 인돌비로 재배한 결과(데이터에 없음) 무처리 대비 118.2%에 비하여 다소 낮게 나타났다 따라서 본 실험에서는 콩나물재배 중 천연 성장 조정제로 0.5% 유근피 물 추출물(WEJ) 0.5% 겨자 물 추출물(UEB)를 사용하여 그 생육 및 품질에 미치는 효과와 저장 중 품질에 미치는 효과를 검토하였다.

Table 2-3. Yield(%) of soybean sprouts by various extracts<sup>1)</sup> treatment for 6 days (%of control)

Extract	JAE		
	Water	Ultrasonic waves	EtOH
method			
Conc(%)			
0.5	111.1 <sup>2)</sup>	100.1	104.5
0.1	101.3	103.5	103.2
0.05	101.2	102.2	100.1

Extract	BAS		
	Water	Ultrasonic waves	EtOH
method			
Conc(%)			
0.5	100.3	110.0	103.2
0.1	103.2	102.6	102.1
0.05	98.5	101.3	105.1

Extract	MUS		
	Water	Ultrasonic waves	EtOH
method			
Conc(%)			
0.5	109.8	99.8	99.4
0.1	101.2	104.1	98.2
0.05	102.9	104.6	97.2

Extract	POP		
	Water	Ultrasonic waves	EtOH
method			
Conc(%)			
0.5	101.2	101.1	101.2
0.1	98.2	97.2	98.2
0.05	101.6	102.2	99.4

1)JAE, Jpanese Elm ; BAS, Bmboo-shoot ; MUS mustard ; POP, Poplar glandnlosa.

2)Quoted values are means of duplicate experiments.

나) 수분함량

천연 성장조정제에 의한 수율증가가 콩나물내의 수분함량과 관련이 있는지를 조사하기 위하여 각 처리별로 수분함량을 조사한 결과는 표 2-4와 같다. 콩나물의 부위별 수분함량을 측정된 결과 자엽에서는 CON, UEB과 INB에서 71.9~72.3%으로 WEJ 와 WEM의 70.6~70.7% 보다 다소 높은 경향을 나타내었으며, 배축에서는 각 처리구가 94.2~94.8% 범위로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 천연 성장조정제 처리구의 수율증가는 수분증가에 의한 것으로는 볼 수 없으며 물질대사와 관련이 있는 것으로 판단된다.

Table 2-4. Moisture content<sup>1)</sup> (%) of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment for 6 days

part	Cultivation methods <sup>2)</sup>				
	CON <sup>2)</sup>	WEJ	WEM	UEB	INB
Cotyledon	72.3±0.5 <sup>a1)</sup>	70.7±0.3 <sup>b</sup>	70.6±0.1 <sup>b</sup>	71.9±0.2 <sup>a</sup>	72.4±0.1 <sup>a</sup>
Hypocoty	94.2±0.3 <sup>a</sup>	94.8±0.2 <sup>a</sup>	94.8±0.3 <sup>a</sup>	94.2±0.2 <sup>a</sup>	94.6±0.3 <sup>a</sup>

1)Values are the mean±standard deviation of triplicate experiments.

2)CON,(control) material soybeans were soaked in water for 8 hours at 20±1°C and cultivated by watering with water (18±1°C) for 2 minutes at 6 times every day.

; WEJ, material soybeans were soaked in 0.5% water extracts of Japanese Elm for 30 min in water and 7.5 hours at 20±1°Cand cultivated by watering with water (18±1°C) for 2 minntes at 6 times every day.

; WEM , material soybeans were soaked in 0.5% water extracts of mustard for 30 min in water and 7.5 hours at 20±1°Cand cultivated by watering with water (18±1°C) for 2 minntes at 6 times every day.

; UEB material soybeans were soaked in 0.5% ultrasonic waves extracts of bamboo - shoot for 30 min in water and 7.5 hours at 20 ±1°Cand cultivated by watering with water (18±1°C) for 2 minntes at 6 times every day.

; INB:Indolbi of commercial growth controller containing 0.3% 6 - benzylamino -purine by mixing with soaked soybean for 4 hours and diluted solution.

a~b Means with different superscripts within a row indicate significant differences (p<0.05).

다) Vitamin C과 식이섬유

CON, WEJ, WEM, UEB, INB의 처리에 따른 재배 6일째 비타민과 총 식이섬유 함량을 조사한 결과 표 2-5와 같다. 비타민 C의 경우 무처리구(CON)와 WEJ, INB 처리구는 비슷한 경향을 나타냈으나 WEM과 UEB 처리구 경우는 무처리구 보다 높은 값을 나타냈다.

한편, 총 식이섬유 함량은 모든 처리구에서 22.6 ~ 25.3 g/100g 의 범위로 큰 차이를 나타내지 않았다.

Table 2-5. Quality of soybean sprouts at in vitamin C and total dietary fiber 6 days cultivated by various extracts treatment

Item	Cultivation method <sup>1)</sup>				
	CON	WEJ	WEM	UEB	INB
Vitamin C (mg% - fresh weight)	14.3±0.2 <sup>2)</sup>	14.6±0.2	16.1±3	15.2±1	14.1±0.3
Total dietary fiber (g/100g - dry weight)	22.6±0.2	23.6±0.3	25.3±3	24.2±1	23.5±0.2

1)Refer to Table 2- 4. 2)Quoted values are means of duplicate experiments.

라) 아미노산

콩나물은 콩이 가지는 두류로서의 특성과 함께 채소류의 특성을 동시에 가지고 있으며, 재배중에 단백질은 아미노산으로 변화된다 (김, 1981). 천연 생장조정제가 아미노산의 함량변화에 미치는 영향을 살펴보고자 CON, WEJ, WEM, UEB, INB의 처리

에 따른 아미노산의 변화를 조사하였다. 콩나물의 아미노산 중 asparatic acid와 glutamic acid는 타 아미노산류에 비하여 그 함량이 현저하게 높은 것으로 나타났으며 이러한 결과는 양 (1981)의 연구결과와 일치하였다. 본 실험특성상 콩나물로서 상품적 가치가 있는 6일간 재배한 콩나물시료의 결과(표 2-6)를 보면 WEM이 다른 처리구들에 비하여 cystine과 methionine을 제외하고 다른 모든 아미노산에서 그 함량이 높은 것으로 나타났다.

Table 2-6. Total amino acid content of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment at 6 days of cultivation

Amino acid	Cultivation treatment (mg/g on a dry basis)				
	CON	WEJ	WEM	UEB	INB
Asp	24.02±0.03 <sup>2)</sup>	22.87±0.02	29.91±0.07	26.26±0.06	21.66±0.08
Thr*	5.91±0.01	5.14±0.01	8.33±0.02	4.43±0.02	4.87±0.11
Ser	8.76±0.01	7.45±0.02	12.62±0.01	6.88±0.08	7.12±0.03
Glu	20.19±0.30	18.88±0.30	32.85±0.08	18.12±0.21	18.93±0.01
Pro	8.83±0.02	7.36±0.03	10.48±0.12	6.21±0.01	6.18±0.05
Gly	9.34±0.07	8.23±0.05	12.19±0.01	7.12±0.02	9.17±0.06
Ala	9.97±0.01	9.99±0.12	12.88±0.01	7.93±0.01	7.88±0.03
Cys	1.12±0.01	0.99±0.09	1.38±0.03	4.95±0.04	1.86±0.01
Val*	7.25±0.08	7.84±0.02	12.55±0.21	8.91±0.01	8.04±0.03
Met*	1.32±0.01	1.32±0.02	1.77±0.01	1.16±0.01	1.21±0.01
Ile*	6.59±0.06	6.30±0.05	8.39±0.01	4.17±0.02	5.21±0.02
Leu*	10.88±0.01	9.73±0.02	3.72±0.01	6.58±0.09	7.59±0.04
Tyr	3.97±0.06	3.82±0.03	4.53±0.06	2.14±0.01	2.12±0.03
Phe*	6.67±0.01	6.29±0.03	8.91±0.01	5.25±0.02	5.84±0.01
His	3.95±0.03	3.83±0.02	3.92±0.02	3.26±0.05	2.61±0.01
Lys*	7.00±0.01	6.17±0.03	9.99±0.01	6.25±0.03	6.25±0.01
Arg	9.36±0.01	8.48±0.02	12.07±0.02	7.45±0.03	8.35±0.01
Total	145.13±0.05	134.69±0.03	196.49±0.02	127.07±0.03	124.89±0.02

1)Refer to Table 2- 4. 2)Quoted values are means of duplicate experiments.

3)Asterisks denote essential amino acids.

마) 무기질

CON, WEJ, WEM, UEB, INB의 처리에 따른 재배 중 무기질의 함량 변화를 조사한 결과 표 2-7과 같다. 6일간 CON(무처리)로 재배한 콩나물의 주요 무기질 함량은 건물당 K가 1771.00mg%로 가장 많았으며, P는 645.32mg%, Ca는 319.00mg%, Mg는 218.00mg%였다. 그리고 Zn, Mn, Fe, Na등은 3.21 ~ 29.12mg% 범위였다.

한편, 천연 성장조정제에 따른 재배 콩나물에서 특히 죽순처리인 UEB 처리구에서

Fe, Ca, P의 함량이 다른 처리구의 함량보다 높았다. 이와같은 변화는 생체 자극에 의한 급수와 천연 성장조정제 자체에 함유된 무기질을 흡수하는 흡수력 변화에 기인된 것으로 추측된다.

Table 2-7. Mineral content of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment<sup>1)</sup> at 6 days of cultivation

(mg/100g of dry weight)

Element	Cultivation treatment				
	CON	WEJ	WEM	UEB	INB
Zn	6.57 ± 0.06 <sup>2)</sup>	6.12 ± 0.17	6.14 ± 0.04	6.72 ± 0.01	58.9 ± 0.07
Mn	3.21 ± 0.03	3.17 ± 0.03	4.21 ± 0.21	3.16 ± 0.07	3.12 ± 0.03
Fe	9.23 ± 0.05	9.17 ± 0.04	9.81 ± 0.07	18.21 ± 0.02	9.42 ± 0.07
Mg	218.00 ± 5.12	262.00 ± 5.12	289.00 ± 4.52	296.00 ± 3.41	252.00 ± 5.21
Ca	319.00 ± 4.56	324.00 ± 6.12	319.00 ± 3.51	399.00 ± 2.71	291.00 ± 3.34
P	645.32 ± 4.82	676.12 ± 5.32	674.82 ± 6.12	792.12 ± 2.41	524.19 ± 3.21
Na	29.12 ± 0.65	30.61 ± 0.19	30.81 ± 0.42	30.19 ± 2.62	31.20 ± 2.72
K	1771.00 ± 12.62	1779.00 ± 20.12	1690.00 ± 8.12	1850.00 ± 6.12	1692.00 ± 6.32

1) Abbreviations are specified in Table 4.

2) Values are means of duplicate experiments

바) 총균수 변화

콩에 오염되어 있는 미생물은 콩나물의 재배시에 번식하여 부패를 유발시키고 수율을 떨어트림으로서 농약살포의 원인이 된다. 콩나물의 재배중 수침시와 주수시에 오존수 처리에 따른 총 균수의 변화를 조사한 결과는 표 2-8과 같다. 그 결과 WEM(2.3cfu/g)을 제외한 무처리와 처리구 모두 재배 1일째 총 균수 log 3.2~3.5 cfu/g에서 재배 3일째는 급격히 증가 하여 log 6.2~6.5 cfu/g을 보였고, 재배 5일째는 WEM(6.2cfu/g)를 제외하고 모든 처리구에서 log 8.2~8.6 cfu/g으로 처리구간 사이에 큰 차이가 없었고 이는 재배 6일째도 같은 경향을 나타냈다.

따라서 본 실험에 사용된 천연 성장조정제 중 겨자 추출물을 사용한 WEM 처리구는 콩나물 재배시 살균력에 영향을 미친것으로 판단된다.

Table 2-8. Effect of various extracts treatment on bacterial counts<sup>1)</sup> of soybean sprouts

(Log No. CFU/g)

Cultivation method <sup>1)</sup>	Cultivation time (days)			
	1	3	5	6
CON	3.3 ± 0.3 <sup>2)</sup>	6.2 ± 0.3	8.6 ± 0.2	8.7 ± 0.2
WEJ	3.2 ± 0.3	6.2 ± 0.2	8.3 ± 0.2	8.8 ± 0.2
WEM	2.3 ± 0.2	4.4 ± 0.1	6.2 ± 0.3	7.8 ± 0.2
UEB	3.3 ± 0.2	6.4 ± 0.3	8.2 ± 0.2	8.5 ± 0.3
INB	3.5 ± 0.2	6.5 ± 0.2	8.5 ± 0.2	8.8 ± 0.1

1) Abbreviations are specified in Table 4.

2) Values are means of triplicate experiments.

2) 천연 성장조정제의 작용 메카니즘 구명

본연구는 천연성장조정제를 처리하여 재배한 콩나물을 저장 중 그 특성을 조사하여 실용화 가능성을 타진하는데 있다

가)수분함량 변화

표 2-9는 천연 성장조정제 처리 콩나물을 7℃에서 저장 하면서 자엽과 배축으로 구분하여 수분함량을 조사하였다.

그 결과 자엽에서는 저장기간의 경과에 따라 2~5%, 배축은 1~2% 수분증가 현상이 관찰되었으며 처리간에는 뚜렷한 차이가 발견되지 않았다. 이러한 현상은 콩나물을 필름에 싸서 저장하여 저장 중에도 생장이 이루어지는 때문이라 사료된다. 일반적으로 과채류의 저장수명은 수분함량과 밀접한 관련이 있다 (Johansson and Leufven, 1994). 수분함량의 손실이 5%정도가 되면 상품적 가치가 현저하게 감소되며 조위현상(wilting)을 비롯하여 갈변 등의 변화를 초래한다.

따라서 본 실험에 처리된 천연 성장조정제 처리 콩나물은 무처리 콩나물과 저장중 수분함량 변화는 큰 차이가 나타나지 않았다.

Table 2-9. Changes in moisture content<sup>1)</sup> (%) of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment during storage at 7℃

Cultivation method <sup>2)</sup>	Part	Storage time (days)			
		0	2	4	5
CON	C <sup>3)</sup>	73.2±0.4	73.2±0.2	72.9±0.1	72.5±0.5
	H <sup>4)</sup>	93.1±0.3	94.1±0.2	94.3±0.2	96.3±0.4
WEJ	C	71.2±0.3	73.2±0.2	73.2±0.1	74.2±0.3
	H	93.6±0.3	94.3±0.2	94.2±0.3	94.6±0.3
WEM	C	72.3±0.1	72.3±0.4	73.3±0.4	74.2±0.3
	H	93.5±0.2	94.7±0.3	94.2±0.2	94.6±0.3
UEB	C	73.1±0.1	74.2±0.3	73.2±0.2	74.2±0.2
	H	93.2±0.1	94.2±0.3	94.2±0.2	95.2±0.1
INB	C	72.3±0.2	72.9±0.2	74.2±0.2	75.2±0.2
	H	93.5±0.2	94.3±0.2	94.2±0.2	93.5±0.2

1)Mean±standard deviation of triplicate experiments.

2)Abbreviations are the specified in Table 5.

3)C: cotyledon. 4)H: hypocotyl.

나) 총균수의 변화

천연 성장 조정제 처리 콩나물의 7℃ 저장 중 총 균수 변화를 조사한 결과는 표 2-10과 같다. 본 실험은 6일간 재배한 콩나물을 흐르는 수돗물로 3회 세척한 후 포장하여 저장 실험을 행한 것이다. 저장당일 처리별 다른 균수는 log 5.27~ 5.62/g 범위로 거의 차이가 없었다. 저장 일수가 경과 할수록 처리별에 따른 뚜렷한 차이 없이 총 균수가 크게 증가 하였으며 저장 5일째는 log 8.73~8.87/g 범위를 나타내었다. 이러한 결과는 천연 성장 조정제 처리가 콩나물 저장 중에는 효과가 없는 것으로 나타나 저장 및 유통을 위해서는 새로운 청정화 방법이 요구된다.

Table 2-10. Changes in bacterial counts<sup>1)</sup> of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment during storage at 7℃

(Log No. CFU/g)

Cultivation method <sup>2)</sup>	Storage time (days)			
	0	2	4	5
CON	5.27±0.05	6.33±0.03	7.32±0.02	8.84±0.02
WEJ	5.52±0.03	6.32±0.04	7.567±0.12	8.81±0.02
WEM	5.62±0.05	6.47±0.02	7.78±0.05	8.73±0.24
UBE	5.52±0.04	6.22±0.02	7.32±0.15	8.87±0.02
INB	5.51±0.03	6.37±0.04	7.82±0.02	8.87±0.03

1)Mean±standard deviation of triplicate experiments.

2)Abbreviations are specified in Table 4.

다) Vitamin C 변화

천연 성장조정제 처리 콩나물의 저장 중 비타민 C의 함량 변화를 조사한 결과 표 2-11과 같다. 모든 처리구 다같이 저장기간의 경과에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며 저장 3일째는 9.2~16.7% 정도 감소하였으며 처리별로는 큰 차이를 나타내지 않았다.

저장 5일째는 60%이상이 감소되었다. 처리별로는 큰 차이는 없었고 천연 성장조정

제 처리 콩나물에서 비타민 C의 손실율이 낮은 원인에 대하여는 앞으로의 연구가 요망되나 비타민 C는 체내 산화, 환원에 관계하는 물질 (양, 1994)로서 체내의 산화 환원 체계와 관련이 있는 것으로 추측된다.

Table 2-11. Changes in residual rate of vitamin C content<sup>1)</sup> in soybean sprouts cultivated by various extracts treatment during storage at 7°C

(% of zero day)

Cultivation method <sup>2)</sup>	Storage time (days)		
	1	3	5
CON	98.2±0.1	81.3±0.3	39.2±0.5
WEJ	95.6±0.3	86.4±0.2	40.3±0.2
WEM	97.3±0.1	85.5±0.2	40.1±0.5
UEB	97.2±0.1	83.2±0.1	36.2±0.1
INB	98.2±0.3	85.2±0.2	43.6±0.4

1)Mean±standard deviation of duplicate experiments.

2)Abbreviations are specified in Table 4

3)Vitamin C contents of soybean sprouts by various extracts treatment were 14.3±0.2 mg% for CON (control), 14.6±0.2 mg% for WEJ, 16.1±0.3 mg% for WEM, 15.2±0.2 mg% for UEB, 14.1±0.2 mg% for INB, respectively.

#### 라) Chlorophyll 변화

천연 성장 조절제를 처리한 콩나물은 7°C의 암소에서 저장하면서 chlorophyll의 함량변화를 조사한 결과는 표 2-12와 같다. 7°C에서 저장한 경우 모든 처리 구에서 그 생성량이 적었으며, 5일째의 함량은 3.0~3.4 mg% 범위로서 천연 성장 조절제 처리구가 CON(무처리)보다 약간 높은 함량을 나타냈지만 뚜렷한 차이가 관찰되지 않았다. 김 등 (1982)은 콩나물의 유통 중 녹변현상을 관찰한 연구에서 콩나물을 자연광에 3

시간 정도 쪼이면 380 mg/100g-f.w. 정도가 생성된다고 하였다. 콩나물은 순간적으로 태양광에 노출될 경우도 자엽부의 녹변현상이 일어난다. 식물 조직 내의 chlorophyll 생합성은 TCA cycle의 중간생성물인 succinyl Co A와 유리 아미노산인 glycine 이 δ-amino-levuline acid synthetase에 의하여 δ-aminolevuline acid가 되고 이것이 porphyrin의 동족체인 protochlorophyllide로부터 chlorophyllide 등의 복잡한 과정을 태양광 없이도 생합성된다. 그러나 chlorophyllide로부터 chlorophyll의 합성에 관여 하는 chloroyllase는 광선에 의하여 활성화되는 것으로 알려져 있다. (Ohhama and Hase, 1975). 이러한 사실로 미루어 천연 성장 조절제의 처리방법에 따라 생체 내 대사에 다소 영향을 미치는 것으로 추측된다.

Table 2-12. Changes in total chlorophyll content<sup>1)</sup> of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment during storage at 7°C

(mg/%-fresh weight)

Cultivation method <sup>2)</sup>	Storage time (days)			
	0	2	4	5
CON	1.6±0.1	2.3±0.0	2.8±0.1	3.0±0.0
WEJ	1.6±0.0	2.6±0.1	2.9±0.2	3.2±0.0
WEM	1.9±0.1	3.2±0.0	3.2±0.2	3.4±0.2
UEB	1.8±0.0	3.0±0.0	3.1±0.0	3.3±0.2
INB	1.8±0.1	3.0±0.1	3.2±0.2	3.3±0.1

1)Mean±standard deviation of triplicate experiments.

2)Abbreviations are specified in Table 4.

#### 마) 경도변화

콩나물의 물성 중 품질과 관련이 큰 항목은 배축의 경도로서 천연 성장조절제 처리에 따른 변화를 조사한 결과 표 2-13과 같다.

저장 당일의 처리별 경도는 WEM, UEB 는 CON보다 높은 값을 나타냈으며 WEJ, INB 경우는 비슷한 값을 나타냈다.

이와 같은 결과는 경도가 cellulose의 함량과 관계가 있을 것으로 생각된다.

저장 중에는 저장일수의 경과에 따라 각 처리구 다같이 감소하는 경향을 나타냈으며 저장 5일째의 경도는 0.65~0.83의 범위로 저장 당일의 절반으로 감소되었다. 그러나 처리별로는 CON보다 천연 성장조정제 모든 처리구가 높은 값을 나타내었으며 그중 WEM, UEB가 가장 높은 값을 나타냈다.

Table 2-13. Changes in instrumental hardness<sup>1)</sup> of soybean sprouts hypocotyl cultivated by various extracts treatment during storage at 7°C (unit : Kgf)

Cultivation method <sup>2)</sup>	Storage time (days)			
	0	2	4	5
CON	1.31±0.02	0.96±0.05	0.87±0.02	0.65±0.03
WEJ	1.33±0.04	1.01±0.02	0.84±0.03	0.65±0.02
WEM	1.57±0.03	1.25±0.05	1.04±0.02	0.83±0.02
UEB	1.52±0.03	1.07±0.01	0.85±0.2	0.75±0.02
INB	1.32±0.01	1.00±0.03	0.89±0.02	0.74±0.04

1)Mean±standard deviation of triplicate experiments.

2)Abbreviations are specified in Table 4.

바) 관능적 품질변화

콩나물의 관능적 품질평가는 6일간 재배한 콩나물을 7°C에서 저장하면서 저장일수별로 조리한 콩나물을 이용하여 행하였다. 콩나물 조리는 수돗물로 깨끗이 세척한 콩나물을 끓는 물에서 1분간 데쳐낸 후 소금으로 맛을 조정하여 관능검사를 실시하였다. 조리콩나물의 관능적 품질지표에 대하여는 기존의 연구 결과가 없으나 일반적인 지표로서 조리후의 색상, 냄새 및 종합적인 맛을 평가하였다. 즉 색상은 갈변여부, 자엽부의 황색정도, 배측부의 투명도 등을 고려하였으며, 냄새는 비린내 여부와 구수한 냄새의 정도를 그리고 종합적인 맛은 질긴 맛과 변질된 맛의 여부, 및 기호도 등을 고려하여 5점 척도법으로 평가하였다 (표 2-14). 종합적인 맛의 평가치가 보통 (3점) 까지의 일수를 저장 한계로 삼았을 때 CON의 7°C에서의 저장 한계일은 5일이었으나 WEJ, WEM, UEB는 3점 이상을 유지하였다.

색상에 대한 평가치는 천연 성장조정제 처리에 따라 저장 5일째까지는 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다.

냄새의 경우는 저장 5일째 CON에 비하여 WEJ, WEM, UEB 는 높은 값을 나타냈다. 따라서 무처리구에 비하여 천연 성장조정제 처리구는 색상, 냄새, 종합적인 맛에서 약간 높은 값을 나타냈다.

Table 2-14. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of soybean sprouts cultivated by various extracts treatment during storage at 7°C

Characteristic	Cultivation method <sup>2)</sup>	Storage time (days)			
		1	3	5	6
Color	CON	4.2±0.1	3.5±0.1	3.0±0.2	1.8±0.1
	WEJ	3.1±0.1	3.5±0.1	3.0±0.2	2.1±0.2
	WEM	4.1±0.1	3.5±0.1	3.2±0.2	1.9±0.1
	UEB	4.2±0.1	3.5±0.3	3.2±0.2	1.9±0.2
	INB	4.2±0.1	3.5±0.1	3.2±0.1	2.1±0.1
Flavor	CON	4.1±0.1	3.6±0.1	2.9±0.2	1.5±0.7
	WEJ	4.1±0.1	4.0±0.1	3.4±0.1	2.1±0.2
	WEM	4.2±0.3	3.5±0.2	2.7±0.2	2.3±0.2
	UBE	4.2±0.1	4.0±0.1	3.7±0.1	2.8±0.2
	INB	3.2±0.2	2.7±0.2	1.8±0.1	1.7±0.1
Overall taste	CON	4.2±0.1	3.2±0.1	2.8±0.2	2.6±0.1
	WEJ	4.5±0.2	4.2±0.1	3.9±0.2	3.0±0.2
	WEM	4.2±0.1	3.5±0.3	3.2±0.2	2.7±0.2
	UEB	3.5±0.2	4.0±0.2	3.5±0.2	3.4±0.1
	INB	3.4±0.2	2.8±0.2	2.5±0.2	2.2±0.2

1)Mean ±standard deviation of triplicate experiments, Means of n=10 based on 5points score (very poor, 1 ; poor, 2 ; fair, 3 ; good, 4 ; very good, 5).

2)Abbreviations are specified in Table 4.

2. 2년차 시험

가. 시험방법

1). 원료 콩

원료 콩은 경북 의성 안계에서 생산된 2002년 산 개체 중량이 110±10mg인 오리알테 (Glycine max Merr., cv. Orialtea)를 시료로 하였으며, 외관상 이상이 없는 것을 정선 하여 4±1℃에서 저장하면서 사용하였다.

2) 콩나물 발아율과 부패율 측정

발아율은 원료콩 1kg에 대한 평균 개수를 미리 산출한 후 5일간 재배하였을 때 얻어진 전체 콩 개수에 대하여 미발아된 콩의 개수를 제한 콩나물 수의 백분율로 나타내었다. 또, 부패율의 측정은 5회 반복 실험구에 대한 부패구의 백분율로 나타내었는데 5명의 관능요원에 의하여 부패취가 있다고 인정된 것을 부패로 판정하였다. 부패율을 제외한 모든 실험 데이터는 무처리(겨자추출물 없이 수돗물에 8시간 수침한 것)

3) 콩의 수침 시 겨자추출물 처리를 위한 최적화 설계

예비실험 결과인 X1, X2, X3값( 표 2-15)을 이용하여 실험하였다. 콩과 수돗물 (20℃)의 비율을 1:3(w/v)으로 하여 8시간 동안 수침하면서 오존농도, 처리시간, 처리횟수를 각각의 독립변수로 설정하고 Statgraphics 프로그램내의 중심합성 계획법 (central composite design)을 이용하여 겨자추출물 콩나물 재배에 대한 부분실험 계획(fraction factorial block)을 설정하였다. (표 2-16). 즉, 수중 겨자추출물농도는 0.1, 0.3 및 0.5%, 처리시간은 30, 60 및 90분, 처리횟수 1, 2, 3회로 하였다.

Table 2-15. WEM (0.5% water extracts of mustard) treatment conditions during soaking of soybean

	Code <sup>a</sup>	Levels		
		-1	0	+1
Mustar extracts				
Concentration, M(%)	X <sub>1</sub>	0.1	0.3	0.5
Treatment time, H(min)	X <sub>2</sub>	30	60	9
Treatment frequency, F(time)	X <sub>3</sub>	1	2	3

a X<sub>1</sub> = (M-0.3)/0.2 ; X<sub>2</sub> = (H-60)/30 ; X<sub>3</sub> = (F-2).

Table 2-16. Experimental conditions for the central composite design

Exp. No.	Experimental factor values					
	Real <sup>a</sup>			Codified		
	C	H	F	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	0.1	30	1	-1	-1	-1
2	0.5	30	1	1	-1	-1
3	0.1	90	1	-1	1	-1
4	0.5	90	1	1	1	-1
5	0.1	30	3	-1	-1	1
6	0.5	30	3	1	-1	1
7	0.1	90	3	1	1	1
8	0.5	90	3	1	1	1
9	0.1	60	2	1	0	0
10	0.5	60	2	1	0	0
11	0.3	30	2	0	-1	0
12	0.3	90	2	0	1	0
13	0.3	60	1	0	0	-1
14	0.3	60	3	0	0	1
15	0.3	60	2	0	0	0
16	0.3	60	2	0	0	0

a M in %, H in minutes and F in time of WEM( 0.5% water extracts of mustard) treatment

4) 콩나물 재배, 수분 정량, 아미노산 분석, 무기질 분석, Vitamin C 함량 측정, 총균수 측정, 경도 측정, Chlorophyll 함량 측정, 콩나물의 저장, 관능 검사, 통계처리 -제1장과 분석 방법 동일함

나. 시험 결과

1) 중심 합성법에 의한 천연 생장 조절제 처리 콩나물 재배

가) 중심 합성법에 의한 천연 생장조절제 처리 콩나물 품질

콩의 발아력은 콩의 생명력으로 생체내 식물 생장조절물질을 비롯한 각종 대사의 활성화와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려졌다 (김 등, 1990). 그러므로 저장조건이 불량하거나 오래된 콩에서 발아력이 떨어지게 된다. 또한 발아시에는 수분의 공급이 필수적이므로 수침공정이 요구된다. 콩은 수침 중에도 호흡과 대사작용을 계속하고 있으며 이러한 대사작용은 온도나 공기 조성 등 주변 환경 조건에 따라서 달라질 수 있다 (김 등, 1996).

콩의 수침 중 겨자추출물이 콩의 발아력에 미치는 영향을 조사한 결과 겨자 추출물처리구 (추출농도 0.1~0.5 %, 처리시간 30~90분, 처리 횟수 1~3회)가 대조구에 비하여 전반적으로 높은 발아력을 나타내었다 (표 2-17). 발아율의 증진은 콩나물의 수율과 밀접한 관계가 있을 뿐만 아니라 재배시 부패를 줄일 수 있는 하나의 요인이 될 수 있는데 발아가 지연되거나 미 발아 콩이 공존할 경우는 미생물이 쉽게 번식하여 콩나물의 생육에 영향을 미칠 수 있기 때문이다. 콩의 수침시의 겨자 추출물 처리 콩나물의 수율에 영향을 조사한 결과 무처리에 비하여 14.9~18.5%가 높았다.

Table 2-17. Quality of soybean sprouts by nature plant growth conditioner (mustard extracts) treatment for central composite design

Response	Taylor second equation	R <sup>2</sup>	Significance
Germination rate (% of control)	$y = 110.35 + 7.20X_1 - 0.02X_2 - 2.99X_3 - 1.683X_1^2 + 0.04X_2X_1 + 0.0004X_2^2 - 0.10X_3X_1 - 0.10X_3X_2 + 2.44X_3^2$	0.7165	0.0002
Hypocotyl weight (% of control)	$y = 162.82 + 7.57X_1 + 0.76X_2 - 59.07X_3 - 2.70X_1^2 + 0.08X_2X_1 - 0.007X_2^2 + 0.71X_3X_1 - 0.07X_3X_2 + 15.21X_3^2$	0.5146	0.0098
Hypocotyl length (% of control)	$y = 114.06 - 19.63X_1 + 2.43X_2 - 4.42X_3 + 2.12X_1^2 + 0.13X_2X_1 - 0.02X_2^2 - 1.22X_3X_1 - 0.34X_3X_2 + 6.43X_3^2$	0.5221	0.0938
Root weight (% of control)	$y = 47.55 + 21.46X_1 + 0.29X_2 + 17.41X_3 - 2.54X_1^2 + 0.10X_2X_1 - 0.002X_2^2 - 5.71X_3X_1 - 0.07X_3X_2 - 2.05X_3^2$	0.7023	0.3823

나) 최적 천연 생장조절제 재배 조건

콩의 수침시 겨자추출물의 처리는 발아의 촉진은 물론 배축의 신장과 수율증대 및 재배중에 부패를 억제하는 효과가 인정되었다. 겨자추출물 처리농도, 처리시간 및 처리횟수를 central surface method에 의하여 설계하여 처리한 후 콩나물을 재배하여 얻어진 결과를 반응표면 분석으로 수율과 발아율, 배축의 신장측도 및 뿌리의 중량 등에 대한 최적 겨자추출물처리 조건을 조사하였다. 겨자추출물 처리가 발아율, 수율, 배축의 중량 및 길이, 뿌리 중량에 미치는 효과에 대한 관계식은 표 2-18에서와 같으며 상관계수가 0.5146~0.7165 로 나타났다. 배축무게에서 F 검정결과 5% 수유의 수준에서 유의성이 인정되었다. 겨자 추출물의 최적 조건을 종합한결과 (그림 2-1) 겨자 추출물 농도 0.30~0.40%, 처리시간 34~38분 처리 횟수 1.5~2.4회에서 대조구에 비하여 12.5~18.5%가 증가 되었다. 한편 처리 횟수는 큰 영향을 미치지 않아 산업적으로 이용할 시 1회 처리가 적당하다고 판단된다.

Table 2-18. Taylor second equations caculated by response surface method program.

Exp. No.	Germination rate (%)	Yeild (%)	Hypocotyl weight (g)	Hypocotyl length (cm)	Root weight (g)	Putrefaction rate (%)
1	112.9	118.4	7.82	10.725	0.67	0
2	105.3	112.1	7.01	8.875	0.80	0
3	108.9	116.9	8.39	10.241	0.73	0
4	116.3	117.5	8.50	9.725	1.07	0
5	119.2	118.2	7.55	11.012	0.67	0
6	116.3	117.3	7.83	10.575	0.44	0
7	118.9	116.8	8.11	9.775	0.50	0
8	119.3	115.4	8.02	9.451	0.63	0
9	119.0	119.5	8.71	10.925	0.69	0
10	108.6	116.1	7.88	8.853	0.65	0
11	117.3	116.8	8.77	9.125	0.79	0
12	117.3	117.4	8.40	10.213	0.68	0
13	117.2	117.9	9.91	11.752	0.80	0
14	116.2	116.3	9.95	11.732	0.67	0
15	119.5	118.5	8.13	9.776	1.04	0
16	118.0	114.9	7.53	8.921	0.82	0

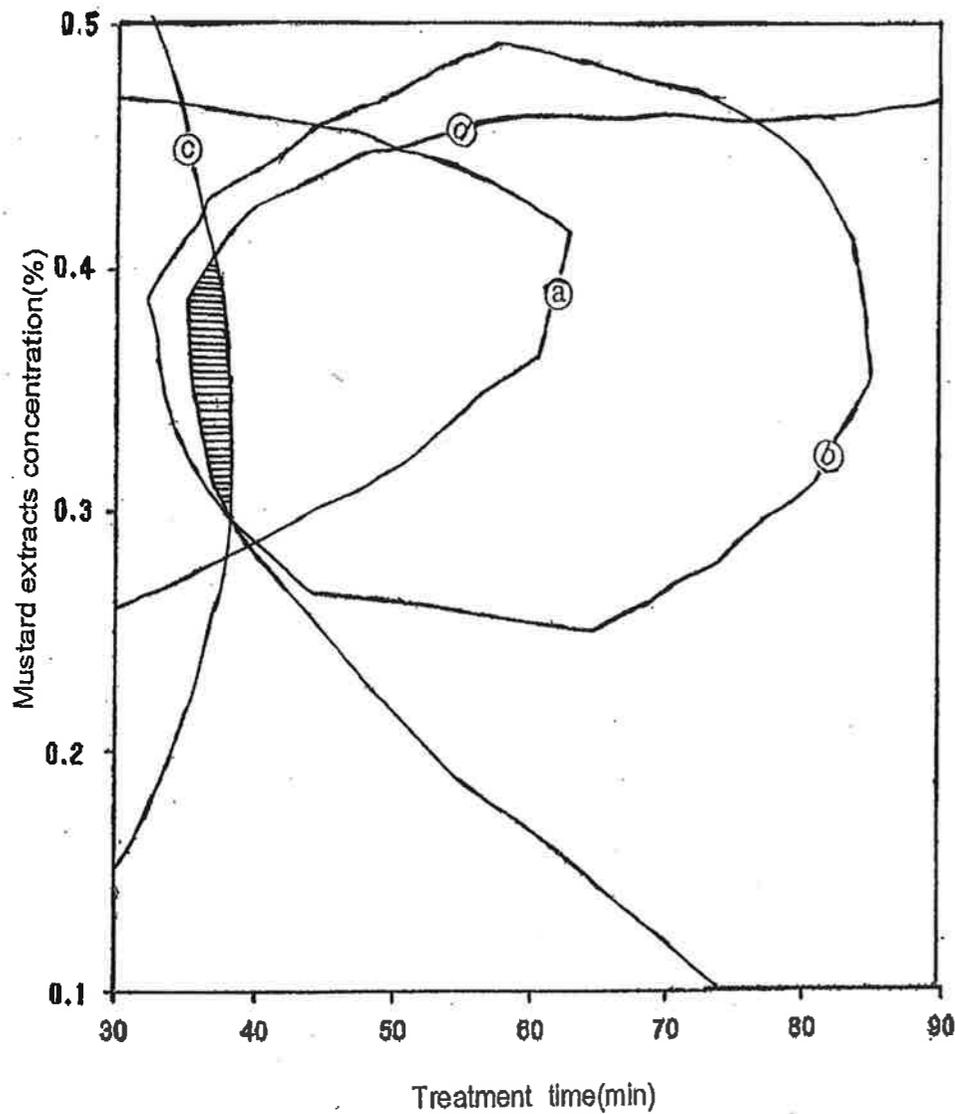


Fig. 2-1. Superimposed contour map for optimization of germination rate (a), hypocotyl weight (b), hypocotyl length (c), and root weight (d) in mustard extracts concentration and treatment time.

2) 최적 재배 조건에 의한 콩나물 품질에 미치는 효과

가) 수분함량, 비타민과 식이섬유

최적조건에 의한 콩나물을 재배 6일째 부위별 수분함량을 측정한 결과 (표 2-19) 자엽에서는 CON 71.3%보다 WEM 72.4%가 다소 높은 경향을 나타내었으며, 배축에서는 각 처리구가 93.2~94.2% 범위로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

Vitamin C의 함량은 대조구에 비하여 WEM 처리구는 16.8% 증가하였고 식이섬유는 11.4% 증가하였다.

Table 2-19. Quality of soybean sprouts in moisture content vitamin C and total dietary fiber at 6 days cultivated by WEM (0.5% water extract of mustard) extracts treatment

Item	Cultivation method	
	CON	WEM <sup>2)</sup>
Moisture content		
Cotyledon	71.3±0.1	72.4±0.2
Hypocoty	93.2±0.2	94.2±0.3
Vitamin C		
(mg% - fresh weight)	14.3±0.2 <sup>1)</sup>	16.7±3
Total dietary fiber		
(g/100g - dry weight)	23.6±0.2	26.3±3

1) Quoted values are means of duplicate experiments.

2) WEM (0.5% water extract of mustard)

나) 아미노산

최적조건에 의한 6일간 재배한 콩나물 시료의 결과 (표 2-20)는 aspartic acid(CON - 19.28±0.03mg/g, 와 WEM - 25.90±0.07mg/g)와 glutamic acid(CON - 20.19±0.19mg/g, WEM - 26.85±0.05mg/g)는 CON 보다 WEM이 다소 높은 것으로 나타났다. 다른 아미노산의 경우 처리간 큰 차이가 나타나지 않았다.

Table 2-20. Total amino acid content of soybean sprouts cultivated by WEM (0.5% water extract of mustard) treatment at 6 days of cultivation (mg/g on a dry basis)

Amino acid	Cultivation treatment	
	CON	WEM <sup>1)</sup>
Asp	19.28±0.03 <sup>2)</sup>	25.05±0.05
Thr*	5.91±0.01	5.14±0.01
Ser	8.74±0.01	7.45±0.02
Glu	20.10±0.30	26.85±0.05
Pro	8.82±0.02	7.36±0.03
Gly	9.34±0.07	8.23±0.05
Ala	9.97±0.01	9.99±0.12
Cys	1.17±0.01	0.99±0.09
Val*	7.28±0.08	7.84±0.02
Met*	1.30±0.01	1.32±0.02
Ile*	6.52±0.06	6.30±0.05
Leu*	10.22±0.01	9.73±0.02
Tyr	3.37±0.06	3.82±0.03
Phe*	6.22±0.01	6.29±0.03
His	3.22±0.03	3.83±0.02
Lys*	7.12±0.01	6.17±0.03
Arg	9.36±0.01	8.48±0.02

1) Refer to Table 5

2) Quoted values are means of duplicate experiments.

3) Asterisks denote essential amino acids.

다) 무기질

CON(무처리)로 재배한 콩나물의 주요 무기질 함량은 건물당 K가 1780.00mg%로 가장 많았으며, P는 632.32mg%, Ca는 349.00mg%, Mg는 219.00mg%였다. Zn, Mn, Fe, Na등은 3.12~22.12mg% 범위였다. (표2-21)

한편, 천연 성장조절제에 의한 재배 콩나물에서 WEM은 대조구와 비슷한 경향을 나타냈다.

Table 2-21. Mineral content of soybean sprouts cultivated by WEM (0.5% water extract of mustard) treatment at 6 days of cultivation (mg/100g of dry weight)

Element	Cultivation treatment	
	CON	WEM <sup>1)</sup>
Zn	6.57± 0.06 <sup>2)</sup>	6.12±0.17
Mn	3.12± 0.03	3.17±0.03
Fe	9.23± 0.05	9.20±0.04
Mg	219.00± 5.12	220.00±5.12
Ca	349.00± 4.56	324.00±6.12
P	623.32± 4.82	676.12±5.32
Na	22.12± 0.65	23.61±0.19
K	1780.00±12.62	1779.00±20.12

1) Abbreviations are specified in Table 2-5.

2) Values are means of duplicate experiments

라) 총균수

콩에 오염되어 있는 미생물은 콩나물 재배시에 번식하여 부패를 발생시키고 수율을 떨어뜨림으로써 농약 살포의 원인이 된다. 콩나물 재배시 겨자추출물 처리에 따른 총균수 변화 조사한 결과 표 2-22와 같다 6일째 총균수는 CON log 8.8 cfu/g > WEM log 7.4 cfu/g 로 약 1.4log cycle이 감소 되었다 이로써 겨자 추출물은 살균력과 관계가 있을 것이라고 판단된다.

Table 2-22. Effect of WEM treatment on bacterial countsof soybean sprouts (Log No. CFU/g)

Cultivation method	Cultivation time (days)			
	1	3	5	6
CON	3.2±0.2 <sup>1)</sup>	6.3±0.2	8.5±0.2	8.8±0.2
WEM <sup>2)</sup>	2.5±0.2	4.6±0.1	6.5±0.3	7.4±0.2

1) Values are means of triplicate experiments.

2) Abbreviations are specified in Table 2-5.

3) 최적 재배조건에 의한 콩나물 저장성에 미치는 효과

가) 수분함량, 비타민 C, 및 Chlorophyll 함량 변화

최적조건에 의한 재배된 콩나물의 수분함량, 비타민 C, 및 Chlorophyll 함량 변화를 재배 6일째 살펴본 결과, 표 2-23과 같다. 수분함량의 변화는 60% 이상이 감소되었고 처리별로는 큰 차이는 없었다. 비타민 C의 함량은 모든 처리구에서 6일째 60% 이상 감소 되었고 처리별로는 큰 차이가 없었다. 겨자 추출물 처리 콩나물에서 비타민 C의 손실률이 낮은 원인에 대해서는 앞으로의 연구가 요망되나, 비타민 C는 체내산화, 환원에 관계 되는 물질로써 체내의 산화와 환원 체계와 관련이 있는 것으로 추측된다. Chlorophyll 함량은 모든 처리구에서 그 생성량이 적었으며 6일째 함량은 3.1~3.3mg% 범위로 겨자 추출물 처리구에 의한 뚜렷한 차이가 관찰되지 않았다.

Table 2-23. Quality of soybean sprouts in moisture content vitamin C and total dietary fiber at 6 days cultivated by WEM (0.5% water extract of mustard) extracts treatment

Item	Cultivation method	
	CON	WEM <sup>2)</sup>
Moisture content		
Cotyledon	71.8±0.1 <sup>1)</sup>	72.4±0.2
Hypocoty	94.2±0.2	94.2±0.3
Vitamin C		
(% - of zero day)	39.0±0.2	43.3±0.3
Chlorophyll content		
(mg% - fresh weight)	3.1±0.3	3.3±0.1

1) Quoted values are means of duplicate experiments.

2) Abbreviations are specified in Table 2-5.

나) 총 균수의 변화

최적조건에 의한 재배 콩나물의 총 균수 변화는 표 2-24와 같다. 저장당일 처리별 따른 균수는 log 5.36~5.85/g 범위로 모든 처리구 에서 거의 차이가 없었다. 저장 일수가 경과 할수록 처리별에 따른 뚜렷한 차이 없이 총 균수가 크게 증가 하였으며 저장

1일째는 log 8.52~8.65/g 범위를 나타내었다. 이러한 결과는 겨자 처리구가 콩나물 생육시에는 감균효과를 나타내며 저장중에는 효과가 없는 것으로 나타나 저장 및 유통을 위해서는 새로운 청정화 방법이 요구된다.

Table 2-24. Effect of WEM treatment on bacterial counts of soybean sprouts (Log No. CFU/g)

Cultivation method	Cultivation time (days)			
	1	3	5	6
CON	5.36±0.12 <sup>1)</sup>	6.31±0.02	8.52±0.02	8.83±0.03
WEM <sup>2)</sup>	5.85±0.02	6.61±0.03	8.65±0.03	8.73±0.03

1) Values are means of triplicate experiments.

2) Abbreviations are specified in Table 2-5.

다) 관능적 품질변화

콩나물의 관능적 품질평가는 6일간 재배한 콩나물을 7℃에서 저장하면서 저장일수별로 조리한 콩나물을 이용하여 행하였다. 콩나물 조리는 수돗물로 깨끗이 세척한 콩나물을 끓는 물에서 1분간 데쳐낸 후 소금으로 맛을 조정하여 관능검사를 실시하였다. 조리콩나물의 관능적 품질지표에 대하여는 기존의 연구 결과가 없으나 일반적인 지표로서 조리후의 색상, 냄새 및 종합적인 맛을 평가하였다. 즉 색상은 갈변여부, 자엽부의 황색정도, 배축부의 투명도 등을 고려하였으며, 냄새는 비린내 여부와 구수한 냄새의 정도를 그리고 종합적인 맛은 질긴 맛과 변질된 맛의 여부, 및 기호도 등을 고려하여 5점 척도법으로 평가하였다 (표 2-25). 종합적인 맛의 평가치가 보통 (3점)까지의 일수를 저장 한계로 삼았을 때 CON 처리구의 저장 한계일은 3일 이었으나 WEM의 경우는 5일까지 3.0점 이상을 유지하였다. 색상과 냄새에 대한 평가치는 겨자 추출물 처리에 따른 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다.

Table 2-25. Changes in sensory characteristics<sup>1)</sup> of soybean sprouts cultivated by WEM extracts treatment during storage at 7°C

Characteristic	Cultivation <sup>2)</sup> method	Storage time (days)			
		1	3	5	6
Color	CON	4.2±0.2	3.3±0.2	3.2±0.2	2.0±0.1
	WEM	4.1±0.2	3.4±0.1	3.2±0.1	2.1±0.1
Flavor	CON	4.2±0.1	3.7±0.1	3.0±0.2	1.7±0.7
	WEM	4.1±0.2	3.6±0.2	3.1±0.2	2.2±0.2
Overall taste	CON	4.2±0.2	3.1±0.3	2.3±0.2	2.1±0.1
	WEM	4.3±0.1	3.6±0.3	3.3±0.2	2.9±0.2

1) Mean ±standard deviation of triplicate experiments, Means of n=10 based on 5 points score (very poor, 1 ; poor, 2 ; fair, 3 ; good, 4 ; very good, 5).

2) Abbreviations are specified in Table 2-5.

### 3. 3년차 시험 :

#### 가. 시험방법

##### 1) 겨자

- 2004년(중국산) 백겨자를 대구 약전골목에서 구입하였다.

##### 2) 겨자 추출물의 분말화

- 0.4%의 겨자를 열수 추출하여 동결건조 하여 사용하였다.

#### 나. 시험결과

##### 1) 시제품 제작을 기준으로 한 상품화 및 특허화

###### 가) 상품화

본 실험에 사용되는 겨자 추출물은 많은 콩나물 제조업자들이 사용하기 위하여 추출 액상을 동결 건조하여 분말 상태로 보관하여 필요시 즉시 공장에서 찬물에 용해시켜 사용할 수 있도록 하였다. 건조 시 약간 고 비용이라도 겨자 추출물이 가지고 있는 여러 유효성분을 콩나물에 잘 옮기기 위해서는 동결건조가 최적이라고 판단된다. 또한 건조 후 분말 상태에서는 실험결과에 나타난 0.4%농도에 조절된 분말의 경우도 찬물에서도 잘 용해 되었다. 0.4% 농도와 물에 희석 배수 조절은 다음과 같다

(표 2-26).

Table 2-26. Dilution condition of mustard powder for raw soybean at the soaking

Raw soybean (kg)	Mustard extracts (0.4%)(mL)	Powder (g)	Water at dilution of power (mL)
1	2000	1	2000

따라서 분말화된 겨자는 보관성과 저장성 및 용해성이 용이 하므로 산업화에 적당하다고 판단된다.

#### 나) 특허화

특허 출원 내용은 다음과 같다.

##### (1) 특허 출원 번호

- 출원번호 : 10-2005-0095083

##### (2) 발명의 국문 명칭

- 겨자를 이용한 콩나물 및 숙주나물 재배 방법

##### (3) 발명의 영문 명칭

- Cultivation method of soybean and mung bean sprouts by using mustard extracts

##### (4) 특허 출원인 및 발명자

- 김길웅, 황영현, 신동현, 김일두

#### 2) 천연 생장 조정제로 인돌비(규격0.5%)와 비에이(규격 0.3%) 비교

##### 가) 안전성 비교

지금까지 여러 연구에서 콩나물의 썩는 부패방지책으로 물주는 방법의 문제점 및 대책을 제시하였고, 기존의 식품제조에 허용되고 있는 식품첨가제를 사용하여 부패균 생육억제 및 콩나물 부패와 음성적으로 사용되는 농약문제의 해결방안을 모색하였다.

그러나 이러한 연구에도 불구하고 안전성과 품질을 감안한 실용적인 방법이 확립되지 못하고 있다. 현실적으로는 일반 콩나물 제조업자들의 영세성과 시설의 낙후성, 및 안전성에 대한 의식부족 등으로 콩의 발아와 생장 촉진 및 부패 방지를 위하여 생장조절제와 함께 음성적으로 농업용 농약을 살포하고 있다. 1996년 보건복지부에 의하면 콩나물 업체의 약 60% 이상이 농약을 사용한 경험이 있는 것으로 조사된 바 있다. 따라서 지금 시중 사용하는 생장 조절제와 본 연구에서 연구된 것의 안전성 비교는 표 2-27과 같다. 나물에 사용하는 농약 중 단속대상 농약은 carbendazim과 captan이다. Carbendazim은 시력장애, 정신착란, 심장마비, 유전자 변이, 종양유발 등을 일으키는 것으로 알려져 있다. Captan은 어류에 대한 독성은 있으나 포유동물에 대한 독성은 매우 낮아 복강내 주사시 LD50은 100 mg/Kg 이하이다. 그럼에도 불구하고 이 농약이 집중적인 단속대상이 되는 것은 이 물질이 기형 유발성 약물인 thalidomide와 간접적으로 관련이 있기 때문이다.

인돌비의 경우 가격은 저렴하지만 그 유효성분이 농약의 일종인 6-benzyl aminopurine 으로 그 안전성이 각별히 유의되어야 하겠다. BA는 품종에 따라서 기대했던 만큼의 생장 촉진적인 효력은 없었고 극히 적은수치이기는 하나 무처리 보다 길어지거나 짧아졌다. 이와 같이 생장억제제의 억제효과는 뚜렷하지 않았고 또한 그 유효성분에서 N6-benzyl adenine 으로 그 안전성이 적용 식물 품종에 따라 안전성에 각별히 주의가 요망된다. 또한 시중의 콩나물 공장에서 사용되는 오존은 강력한 산화력을 지닌 가스 상의 물질로 미생물의 살균 및 번식방지, 탈취 등의 효과가 우수하며 또한, 자연 상태에서 쉽게 분해 되어 최종적으로 산소로 되돌아가므로 2차적 공해를 일으키지 않기 때문에 이를 이용한 식품의 살균 및 저장 분야를 비롯한 농산물의 청정화 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

오염된 미생물의 살균과 유기물질의 분해 제거 탈색, 탈취 오존처리는 목적에 따라서 오존의 처리형태(오존 수 또한 오존가스), 농도, 온도, 습도 등의 조건을 결정해야 하는 어려움과 관리의 복잡성, 설치비용의 고가 등의 어려움이 있다. 또한 잉여 오존은 식품에 산화하여 과산화 지질의 생성과 인체에 직접적으로 유독해서 관리가 각별히 요망되는 것이다.

위에서 본 바와 같이 콩나물 등에 개발 사용되는 생장 조절제는 그 안전성 면에서 많은 문제점을 안고 있다 그러나 본 연구에서 개발된 겨자 추출물 경우 천연물 추출

물로서 그 안전성에서 뛰어나다고 판단된다.

Table 2-27. Safety of growth conditioners

Item	Indolbi	BA(0.3%)	Mustard extracts	Ozone
Effective component	6-Bnzyl aminopurine	N6-Benzyl adenine	Black mustard -	O <sup>-</sup> ion
			Sinigrin	
Safety	Bad	Bad	White mustard -	Bad
			Sinalbin	
			Good	

나) 가격 경쟁

현실적으로는 일반 콩나물제조업자들의 영세성과 시설의 낙후성, 및 안전성에 대한 의식부족 등으로 콩의 발아와 생장 촉진 및 부패 방지를 위하여 생장조절제와 함께 음성적으로 농업용 농약을 살포하고 있다. 1996년 보건복지부에 의하면 콩나물 업체의 약 60% 이상이 농약을 사용한 경험이 있는 것으로 조사된 바 있다

Table 2-28. Price analysis of growth conditioners for 1kg of raw soybean

Item	Indolbi	BA	Mustard	Ozone
price(won)	100	200	650	850

위의 표(표 2-28) 에서 보는 것과 같이 인돌비나 BA에 비하여 겨자의 경우 약 6배 정도 수치상 나타나지만 콩나물 콩 1kg는 최종제품인 경우 약 7kg 정도 생산되어 약 15,000원(2005년)정도 유통판매, 되고 있으니 이는 웰빙을 추구하는 현대인에게 유통, 판매의 전략을 가지고 소비자에게 접근이 요망된다.

### 제 3 절 : Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발

연구기관 : (주)에프시키타 연구책임자 : 김용훈

#### 1. 1년차 시험

##### 가. 시험방법

###### (시험1) 콩나물 시료에서 아스파라긴 추출

###### 1) 시료의 채취

풍산 나물콩을 5일 및 10일간 재배한 콩나물을 dry oven기에서 105°C에서 깨끗이 건조시킨 후, 100mesh로 분쇄하여 사용하였다. 10일 이상 콩나물을 재배할 경우 부패가 심하여 시료의 일정한 채취가 불가능하였다. 콩가루의 경우 시중에 판매하는 콩가루 분말을 구입하여 사용하였다.

###### 2) 온도에 따른 비교

10g의 콩나물 분말에 물 100 mL를 첨가하여, 25°C(상온), 50°C, 및 80°C의 조건에서 1시간 교반하였다. 이후 거름종이(watman No. 4)에 1차 여과한 후 콩나물 여과액의 150 mL의 95%에탄올을 첨가하여, 냉장고에서 재결정을 시켰다.

###### 3) pH에 따른 비교

아스파라긴의 pI=5.4이므로 이보다 산도가 낮거나, 높을 경우 물의 대한 용해도가 높아진다. 따라서, pH=3(acetic acid사용), pH=10(NaOH사용)로 조절하여 추출한 후 pH=7로 조절하였다. 추출 온도는 50°C로 하였다.

###### 4) 콩나물 자체의 마쇄에 의한 추출

100g의 콩나물을 물의 첨가 없이 분쇄한 후 면보를 이용하여 1차 여과하였다. 이 여과액을 가열하는 과정에서 콩나물 부유물이 여액위로 부상한다. 이때 이 부유물을 깨끗한 면보를 이용하여 천천히 거른 후, 여액의 1.5배에 해당하는 95% 에탄올을 첨가하여, 냉장고에서 재결정을 시켰다.

###### (시험2) 콩 및 콩나물 시료에서 이소플라본 추출

###### 1) 콩에서의 분리

3L의 round bottom flask에 콩분말 500g을 넣은후 1L의 hexane을 가하여 10시간 교

반하였다. 이과정을 2번 반복한 후 여과지를 이용하여 분리한후, 남은 분말을 dry oven기에 잘 말렸다. 여기에서 얻은 분말 100g을 아세톤 500mL를 가하여 60 °C에서 1시간 가열한후 suction flask를 이용하여 분리한 여액을 evaporator를 통하여 용매를 날리고 원하는 이소플라본을 얻었다.

###### 2) 콩나물에서의 분리

콩나물 분말 100g을 1L의 round bottom flask에 넣고 아세톤 500mL를 가하여 60 °C에서 1시간 가열한 후, 여기에 헥산 100mL를 가하여 분별 깔때기를 이용하여 남아 있는 지방을 제거한 후 여액을 제거한 후 이소플라본을 얻었다.

###### 3) 콩나물 분말에서 이소플라본 추출 후 아스파라긴 추출

이소플라본을 추출한 후, 여액으로 남은 콩나물 잔류물을 잘 건조 시킨다. 여기에 잔류물의 5배에 해당하는 물을 가하여 50 °C로 가열한다. 여과지를 통하여 여과된 액의 1.5배에 해당하는 95% 에탄올을 첨가하여, 냉장고에서 재결정을 시켰다.

###### 4) 콩나물 분말에서 아스파라긴 추출후 이소플라본 추출

아스파라긴을 추출한 후, 여과물을 잘 건조 한 후, 건조물에 대하여 이소플라본을 얻었다. 또한 아스파라긴 추출 후 여과물을 건조하지 않고 이소플라본을 추출하였다..

###### (시험3) 아스파라긴 및 이소플라본의 재결정을 통한 고순도화

###### 1)아스파라긴

아스파라긴은 잘 알려진 대로 50 °C에서 물에 잘 녹으며, 0 °C에서 재결정이 일어난다. 그러므로 순도가 낮은 아스파라긴(순도: ~80%)의 무게에 5배에 해당하는 물을 넣은 후 50 °C에서 완전히 녹인후 냉장고에 하룻밤 보관 후 98% 이상의 고순도의 아스파라긴을 재결정하였다.

###### 2)이소플라본

이소플라본(순도 : 10% 이하)을 함유한 물질을 메탄올 : 에틸아세테이트 = 20 : 1의 용액에서 50~60°C로 가열 한 후 상온으로 떨어뜨리면, 순도가 60% 정도의 이소플라본 추출물이 떨어지는 데, 이를 여과지로 분리한 후 건조하여 얻었다.

#### 나. 시험결과

###### (시험1) 콩나물 시료에서 아스파라긴 추출

###### 1) 온도 변화에 따른 추출 효율

Asparagine의 추출 온도를 25℃, 50℃, 및 80℃ 로 올려 추출 할 경우, 추출 효율은 표 3-1과 같다.

표 3-1. 온도에 따른 추출 효율 비교

	25℃	50℃	80℃
5일 재배	0.2g	0.28g	0.26g
10일 재배	0.45g	0.55g	0.56g

\* 콩나물(100g)사용. 10일간 재배한 콩나물을 dry oven에서 105℃에서 건조시킨 후, 100mesh로 분쇄하여 위 실험조건으로 추출

- 온도를 높일 경우 asparagine의 추출 환경은 좋아지는 것을 볼 수 있음
- 건조 콩나물 분말(0.56g)을 이용한 추출 보다, 콩나물 자체(0.65g)를 이용하는 것이 공정의 단축 및 추출 효율에 뛰어난 양상을 보임

## 2) pH에 따른 비교

용해도 측면에서 아스파라긴은 pH=3 및 pH=10에서 추출효율이 이론적으로 뛰어 나야 되나, 0.5g 정도의 아스파라긴을 얻어 중성에서의 추출조건과 별다른 효과를 거두지 못했다. 또한 중성을 맞추기 위하여 보다 많은 용매가 사용될 뿐더러, 다음의 실험에서 요구되는 이소플라본 추출시 콩나물의 팽윤이 심하여 pH조절에 의한 추출은 전체적으로 볼 때 떨어졌다.

## 3) 콩나물 자체의 마쇄에 의한 추출

콩나물을 건조시키지 않고 직접 분쇄하여 콩나물이 갖고 있는 수분을 이용하여 아스파라긴을 분리하는 방법에서, 건조한 후 아스파라긴 분리 보다 뛰어난 추출효율(0.65g)을 보였다. 10일 재배한 콩나물을 잘게 마쇄하여 면보를 이용하여 1차 여과한 액을 50~80℃까지 천천히 가열하면, 콩나물의 부유물이 여액위로 뜬다. 이 부유물을 여과지로 여과한 후, 여액을 에탄올을 첨가하여 하루 밤 냉장고에서 재결정하면, 건조 분말에서 아스파라긴 추출시 보다, 순도가 95%이상의 순수한 아스파라긴을 직접 얻을 수 있다. 그러나, 이소플라본의 동시추출시에는 콩나물의 팽윤에 의하여 좋지 않았다.

## (시험2) 콩 및 콩나물 시료에서 이소플라본 추출

1) 이소플라본의 용매에 의한 용해를 이용하여 추출하였다. 전반적인 이소플라본의 추출용매로 에틸아세테이트, 아세톤, chloroform등 여러 용매를 사용하였으나, 콩이나 콩나물에 존재하는 glycoside형의 이소플라본이 모두 녹는 아세톤의 경우 최고 추출 조건을 보였다. 500g의 콩을 사용한 추출에서 10%이하의 이소플라본을 함유한 2g의 분말을 얻을수 있었으며, 이 분말을 여러 이소플라본 재결정 용매를 이용하여 순수한 이소플라본을 얻었다.

2) 경제적 이득을 극대화 하는 방안으로 아스파라긴과 이소플라본을 동시에 추출하고자 하는 실험에서, 아스파라긴을 먼저 추출하는 경우 아스파라긴을 추출하는데 사용하는 물의 량 때문에 콩나물의 팽윤 현상과 이소플라본의 경우 daidzin은 약하게 물에 녹는 성질 때문에 전체적인 효율면에서 떨어 졌다.

3) 아세톤을 사용하여 이소플라본을 추출한 후, 나머지 콩나물 잔류물을 완전히 건조한 후 아스파라긴을 추출 시, 10일 재배한 콩나물 10g(건조물)을 사용하여 0.15g(~10%)의 이소플라본과 0.45g의 아스파라긴을 얻었다. 이때 낮아진 아스파라긴의 추출량은 추출 공정에 의한 요소로 보여진다.

4) 본 연구를 진행하는 과정에서 특히 이소플라본의 추출중 추출과정에서 사포닌도 소량 추출이 가능하였으며, 이는 순수한 메탄올에 60℃ 정도에서 녹여 filter하여 상온으로 떨어뜨리면 관상의 결정을 얻을 수 있었다.

또한 아스파라긴의 pH에 의한 추출효율 검토 실험 중 pH: 8~9 정도에서 냉장고에서 재결정과정에서 우연히 콩나물안에 다량으로 존재하는 피틴(phytin)을 다량 결정(침상결정)으로 얻었다.

## 2. 2년차 시험

### 가. 시험방법

#### (시험 1) Asparagine 추출

1) 비이커 추출 조건을 sale up

Step 1 : 콩나물 10Kg을 마쇄기에 넣어 분쇄한 후 면보를 이용하여 1차 여과

Step 2 : 여과된 8.2L의 여과액을 80℃로 천천히 가열하여 부유물을 여액위로 부상

Step 3 : 먼보를 두른 채를 이용하여 천천히 부유물 제거

Step 4 : 부유물이 제거된 6.5L의 여액에 10L의 95% 에탄올을 첨가하여 0℃ 부근에서 하루 저녁 재결정하여 asparagine 45g을 얻음

2) 부유물과 기포를 줄이기 위하여 소포제와 고분자 응집제의 이용

위와 같은 실험 조건에서 step 2 과정에 소포제 및 응집제 사용하여 수율을 높임

3) 분무건조기를 이용

위의 실험 step 4의 과정에서 여액 중 10%인 650mL를 분무건조기를 이용하여 건조시켰다. 이때 건조된 분말 52g을 얻었으며, 이를 물 100mL에 60℃에서 녹인후 거름종이를 이용하여 거른 후, 에탄올 150mL를 넣어 냉장고에서 재결정하여 4g의 아스파라긴을 얻음

(시험 2) Isoflavone 추출

1) 얻어진 beaker 추출 조건을 scale up

Step 1 : 분쇄한 콩분말 5Kg에 10L의 hexane을 가하여 10시간 교반(2회반복)하여 여과한 후, evaporator에서 용매를 제거하여 탈지된 분말 3.5Kg을 얻음 (이때, 사용한 hexane은 정제하여 계속 순환하여 사용)

Step 2 : 탈지된 분말을 dry oven(80℃)에서 4시간 정도 완전히 건조

Step 3 : 탈지된 분말 3.5Kg을 (10×2)L의 아세톤을 가하여 60℃에서 1hr 가열한 후, 여과하여 evaporator에서 acetone을 제거한후 crude isoflavone(25g) 얻음

Step 4 : Crude isoflavone 40g을 50~60℃에서 메탄올 : 에틸아세테이트 = 20:1의 용액 200mL에 완전히 녹인후 떨어드리면, 순도가 60% isoflavone 6g을 얻음

2) 추출에 사용된 아세톤양의 변화에 따른 수율의 변화측정

모든 실험은 위와 같은 조건에서 이루어 졌으며, step 3에서 사용된 탈지 분말 3.5Kg 대신 2Kg을 사용하였으며, 아세톤의 양을 8L, 6L, 4L 및 재생한 아세톤을 사용하여 추출의 효율을 검토

3) 순도 향상(90%이상)

60% isoflavone 10g을 메탄올 용매 100mL에 잘 녹인 다음 냉장고에서 하루저녁 재결정 시키면 쉽게 고 순도의 isoflavone 4.5g(1회 재결정)을 얻음

(시험 3) Asparagine 및 isoflavone 동시추출

1) 콩나물 몸통을 이용한 asparagine 추출

Step 1 : 콩나물 몸통부분 5Kg을 마쇄기에 넣어 분쇄한 후 먼보를 이용하여 1차 여과

Step 2 : 여과된 4.5L의 여과액에 소포제 DS-1000 5g을 넣은 후 50℃로 천천히 가열하여 부유물을 여액위로 부상

Step 3 : 상온으로 내린 후 부유물 제거

Step 4 : 부유물이 제거된 4L의 여액에 6L의 95% 에탄올을 첨가하여 냉장고에서 재결정하여 asparagine 34g을 얻음

2) 콩나물 머리를 이용한 isoflavone 추출

Step 1 : 콩나물 머리부분을 건조기에서 완전히 건조시킨 후 분쇄하여 분말을 얻음 (콩나물 머리 10Kg 2~3Kg 분말을 얻음, 탈지하지 않고 사용)

Step 2 : 콩나물 머리 분말 2Kg을 (8×2)L의 아세톤을 가하여 60℃에서 1hr 가열한 후, 여과하여 evaporator에서 acetone을 제거한후 crude isoflavone(10g) 얻음

Step 3 : Crude isoflavone 10g을 메탄올 : 에틸아세테이트 = 20:1의 용액 50mL에서 60% isoflavone ~1g을 얻음

나. 시험결과

(시험 1) Asparagine 추출

비이커 규모보다 100배 증가한 시험을 하면서 다음과 같은 보완사항이 발생하였다.

a. 마쇄한 여액의 증가로 비이커 조건 보다 부유물과 기포가 많이 발생

b. 부유물 증가에 따른 여과 시간이 비이커 조건보다 많이 소요

c. 양의 증가에 따른 에탄올의 사용량이 증가함으로 이를 줄일수 있는 방법이 요구 위 사항을 보완하기 위하여 소포제 첨가 실험과 분무건조 실험을 행하였으며, 소포제

첨가에 의한 수율의 증가는 아래 표 3-2와 같다.

표 3-2. 소포제 유무에 따른 asparagine추출 효율

	소포제		응집제	여과 시간(hr)	수율(g)	비고
	실리콘	알코올				
1	-	-	-	2:30	45	자연여과
2	○	-	-	2	46	"
3	-	○	-	1:50	48	"
4	-	-	○	2:10	44	"
5	-	○	○	1:45	48	"

비고 : 실리콘 소포제 : ICI-5, 알코올 소포제 : DS-1000, 응집제 : acryl amide계  
사용한 실리콘과 응집제의 양은 콩나물양의 0.1%

소포제를 사용할 경우 수율이 5~10% 범위내에서 증가하였는데 이는 여과시간의 단축으로 인한 asparagine과 기포 및 부유물의 접촉시간 감소가 수율에 기여한다고 보여진다.

소포제의 경우 일반적으로 사용되는 실리콘계 보다 고급알코올계 소포제에서 여과시간의 단축은 콩나물의 마쇄과정에서 발생하는 부유물과 기포가 끈적하고 기포의 막이 두꺼운 점액성을 가지기 때문에 DS-1000에 더 좋은 결과를 보이며, 응집제사용에 의한 부유물의 응집효과는 결과에서 보듯이 큰 효과를 보이지 않았다.

또한, 비이커 반응에서와 같이 온도와 pH조절에 의한 수율의 변화는 크지 않으며, 주로 가열공정에서 발생하는 부유물의 제거 공정이 주요 공정으로 나타났다.

(시험 2) Isoflavone 추출

비이커 조건(500g추출에서 2g)에서 보다 양이 10배 증가시킨 Pilot 시스템에서의 isoflavone의 수율은 10%정도 증가 하였다. 이것은 탈지된 콩분말의 양이 증가 됨에 따라 추출수율이 증가됨을 보였다. 추출용매인 아세톤의 양을 20~40%정도 줄여도 isoflavone의 수율에는 크게 영향을 미치지 않았으며, 재사용된 아세톤을 사용하여도 역시 추출효율에는 크게 영향을 미치지 않았다. 이는 아세톤에 대한 isoflavone의 용해도가 크기 때문인 것으로 사료된다. 용매 양에 따른 추출 효과는 아래 표 3-3과 같

다.

표 3-3. 용매양에 따른 추출효율 비교

	아세톤(L)	재사용 아세톤	수율(g)	비고
1	10×2	-	23	~10% isoflavone
2	8×2	-	23	
3	6×2	-	21	
4	4×2	-	19	
5	-	8×2	22.5	

Isoflavone의 순도 향상을 위하여 재결정 용매로 메탄올 : 에틸아세테이트 = 20:1의 용매를 사용하는데 이때 사용하는 에틸아세테이트는 50~60℃에서 녹은 isoflavone을 상온으로 떨어뜨리면서 isoflavone을 쉽게 얻는 용매로 사용되며, 이들의 순도는 TLC plate상에서 쉽게 확인된다. 90%이상의 고 순도 isoflavone을 위해서는 이미 얻어진 60%의 isoflavone을 순수한 메탄올 용액에 녹인 다음 0℃에서 재결정하면 쉽게 얻어진다.

또한 isoflavone은 온도와 용매에 매우 안정적이므로 얻고자 하는 isoflavone의 순도에 따라서 쉽게 조절이 가능하다.

(시험 3) Asparagine 및 isoflavone 동시추출

동시에 추출하는 방법으로 비이커 단위에서 asparagine 추출 후 isoflavone 추출, 또는 이 역순으로 추출하였으나, scale up하는 과정에서 여러 공정을 거쳐야 함으로 효율적인 측면에서 여러 가지 제약을 받았다. 따라서 이를 극복하기 위하여 콩나물의 머리부분과 몸통부분을 분리하여 머리부분은 isoflavone, 몸통부분은 asparagine의 추출에 이용하였다.

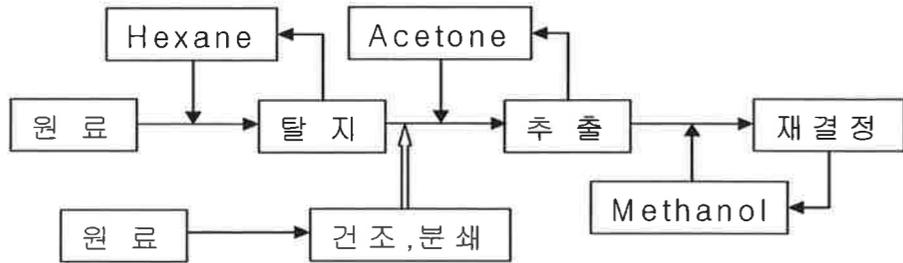
최적의 추출 조건은 위의 실험에서 얻어진 결과를 사용하였으며, 또한 콩나물 머리부분은 급식시장에서 두절로 사용하고 난후에 나오는 머리부분을 구할 수 있으므로 상대적으로 경제적인 방법이라 사료된다.

실험 결과 콩나물 전체에서 asparagine 및 isoflavone을 추출할 때 보다 머리와 몸통에서 각각의 성분을 확보된 추출조건으로 추출할 수 있어 아주 효율적이었다.

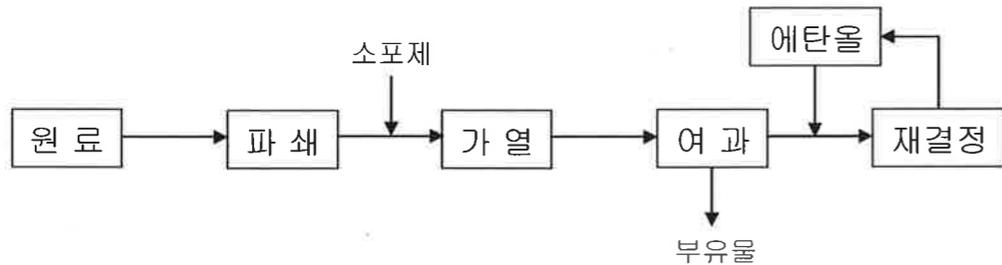
특히, 콩나물의 머리 부분에서 isoflavone을 추출할 때에는 일반 콩을 사용할 때 거치는 탈지 공정을 거치지 않고도 수율의 변화가 크지 않으므로 아주 경제적인 방법이라 사료된다. 천연의 콩을 사용할 때 보다 수율은 조금 떨어지나, 두절 콩나물 제조 시 발생하는 콩나물 머리를 사용할 경우 콩나물 머리와 탈지 공정을 줄일 수 있으므로 isoflavone추출에 대한 경제적인 이점을 가진다.

지금까지의 얻어진 결과를 가지고, 유추한 공정도는 아래와 같다.

Asparagine 추출 공정도



Isoflavone 추출 공정도



Asparagine 및 isoflavone을 얻기위한 공정으로 Batch System으로 공정을 표시 하였으며, 각각의 공정에서 사용된 용매들은 재사용을 위한 정제과정이 필요하다.

3. 3년차 시험

가. 시험방법

(시험1) Asparagine의 추출

1) 콩나물 사용

Step 1 : 콩나물 100Kg을 마쇄기로 분쇄하여 면보로 1차 여과 한후 glass filter 를 이용하여 2차 여과함

Step 2 : 80L의 여액에 알코올 소포제 DS-1000을 100 mL 첨가한후 80℃로 천천히 가열 하면서 1 hr 교반한후, glass filter를 이용하여 부유물 제거

Step 3 : 부유물이 제거된 72L의 여액에 에탄올 150L 첨가하여 0℃ 부근에 재결정 하여 crude asparagine 530g을 얻음

Step 4 : 위의 crude asparagine을 60% aqueous ethanol에서 한번더 재결정하여 순수한 asparagine 480g을 얻음

2) 콩나물 몸통 사용

Step 1 : 콩나물 몸통부분 50Kg을 마쇄기에 넣어 분쇄한 후 면보를 이용하여 1차 여과 한후 glass filter로 2차 여과함

Step 2 : 여과된 45L의 여과액에 소포제 DS-1000 50g을 넣은 후 80℃로 천천히 가열 한 후 glass filter를 이용하여 부유물 제거

Step 3 : 상온으로 내린 후, 42L의 여액에 65L의 95% 에탄올을 첨가하여 냉장고에서 재결정하여 asparagine 350g을 얻음

(시험2) Isoflavone 추출

1) 탈지 콩분말 사용

Step 1 : 탈지된 분말 100Kg을 (400×2)L의 아세톤을 가하여 60-70℃에서 2hr 교반 추출한후, 용매를 제거하여 1.2Kg의 powder을 얻음

Step 2 : 얻어진 powder에 95% 에탄올 50L 첨가한후 80℃에서 1hr 교반한후 glass filter로 여과한 다음 용매를 제거하여 60% isoflavone 210g을 획득

## 2) 콩나물 머리 사용

- Step 1 : 콩나물 머리부분을 건조기에서 완전히 건조시킨 후 분쇄하여 분말을 얻음  
Step 2 : 콩나물 머리 분말 50Kg을 (200×2)L의 아세톤을 가하여 60℃에서 1hr 가열한 후, 여과하여 evaporator에서 acetone을 제거한후 crude isoflavone(260g) 얻음  
Step 3 : 얻어진 powder에 95% 에탄올 10L 첨가한후 80℃에서 1hr 교반한후 glass filter로 여과한 다음 용매를 제거하여 60% isoflavone 23g을 획득

## (시험3) Isoflavone의 Genistein 및 Daidzein 분리

### 1) 용해도를 이용한 분리

60% Glycoside isoflavone 30g 을 80% aqueous ethanol 2.5L에 넣어서 80℃에서 30분간 reflux한 다음 Ceramic filter를 이용하여 재빨리 거른 후, 급속으로 10℃ 부근으로 냉각시키면, 순수한 옅은 노란색의 genistin이 생성되기 시작한다. 다음날 filter하여 genistin(8.5g)을 얻고, 다량의 daidzin이 함유된 여액은 evaporator에서 용매를 제거한후 60% aqueous methanol을 이용하여 2회 재결정하여 daidzin (3.5g)얻었다.

## 2) Genistein 및 Daidzein 제조

### 가) Genistein 제조

Genistein (10g)을 메탄올 400mL에 잘녹인후 Conc. HCl 20mL를 첨가한후 70℃에서 6시간 동안 reflux한후 상온으로 내리면, 흰색의 Crystallin한 Genistein이 침전된다. 이것을 60% aqueous ethanol을 이용하여 재결정하여 순수한 Genistein (4.3g)을 얻었다.

### 나) Daidzein 제조

Daidzin (10g)을 메탄올 200mL에 잘녹인후 Conc. HCl 20mL를 첨가한후 70℃에서 6시간 동안 reflux한후 상온으로 내리면, 흰색의 powder가 침전된다. 이것을 methanol 10mL이용하여 재결정하여 순수한 Daidzein (4.2g)을 얻었다.

## (시험4) Application

### 1) 2% Genistein HRT Cream 제제

250 mL의 beaker에 cetyl alcoho 10g, Sterayl alcoho 10g, 및 petrolatum 24g을 65-75℃ 사이에서 완전히 녹인다. 그리고 여기에 Genistein 2g 과 lecithin 4g을 넣어서 Homogeneous하게 녹여 오일층을 완성한다. 별도의 100 mL beaker 용기에 sodium lauryl sulfate 1g, propylene glycol 15g, methyl p-hydroxybenzoate 25 mg, 및 propyl p-hydroxybenzoate 15 mg을 섞은 다음 여기에 치차 증류한 물 34 mL를 넣어서 65-75℃의 온도에서 완전히 녹여 물층을 완성한다. 250 mL beaker의 오일층을 mechanical 교반기에서 잘 저어면서 여기에 물층을 천천히 넣어서 2% genistein cream 제제를 완성한다.

### 2) 2% Genistein HRT Gel 제제

250 mL round bottom 용기에 Genistein 2g 과 lecithin 4g을 chloroform : methanol (2:1 v/v)용매에 잘 녹인후 evaporator로 용매를 제거한다. 여기에 물 47 mL를 넣은후 homogenizer로 60분간 고속으로 교반하여 homogenized suspension을 만든다. 다른 250 mL beaker에 xanthane gum 2g을 물 48 mL에 완전히 녹여 겔상으로 만든다. 위의 두 물질을 교반하면서 섞어 2%의 겔형 Genistein 제제를 만든다.

## 나. 시험결과

### (시험1) Asparagine의 추출

10Kg 단위에서 100Kg으로 양의 증가에 따라 소포제에 의한 부유물의 적절한 분리가 용이 하였으며, 이러한 공정상의 장점에 의해 전체 추출 효율이 대략 7%정도 향상됨을 보였다.

또한 부유물 분리의 용이함으로 1차 면보 처리 후, glass filter를 사용해서 2차 분리가 용이하여, 전체적인 공정 시간의 단축이 가능하였다.

콩나물 전체와 몸통의 부분의 실험에서 콩나물 몸통만을 사용할 경우 콩나물 머리 부분의 마쇄에 의한 부유물에 의한 추출효율을 상당 부분 없애 줌으로써 전체적인 수율은 15~20% 증가 함을 보였다.

(시험2) Isoflavone 추출

확립된 추출 조건을 사용하여 20배 증가한 탈지분말 100Kg에서 이소플라본 추출에서 4.3% 정도의 추출 효율의 증가를 보였으며, 이것은 대량 추출에 의한 추출 변수가 상대적으로 줄어 든 결과로 예측된다.

전체적인 이소플라본의 추출은 아세톤을 용매로 사용하기 때문에, 물을 사용하는 아스파라긴의 경우보다 추출량의 증가에 의한 변수가 상대적으로 적어 추출량에 따른 추출 효율은 안정적이다.

콩나물 머리 부분만을 이용한 이소플라본의 추출은 탈지분말 자체를 이용한 실험보다 상대적으로 수율은 낮았지만, 두절 작업의 부산물을 이용한 추출이므로 부가적인 수익창출의 효과 볼수 있으며, 양의 증가에 의한 수율의 변화는 비슷하게 나타났다.

또한 대량반응으로 얻어진 이소플라본의 양이 많으므로 메탄올 및 에틸아세테이트 용매를 사용한 방법보다, 직접 95%에탄올을 사용하여 보다 효과적으로 60% 정도의 이소플라본을 얻었다.

(시험3) Isoflavone의 Genistein 및 Daidzein 분리

콩에서 이소플라본을 획득하는 방법으로는 그림1. 에서 보는바와 같이 Column Chromatography를 이용하여 glycoside isoflavone을 분리한 다음, 산이나 효소를 이용하여 aglucone isoflavone을 얻는 방법이 일반적인 방법이다. 그러나, 본 연구를 통하여 보다 경제적인 방법으로 60%의 glycoside isoflavone 혼합물에서 genistin 및 daidzin의 aqueous ethanol에 대한 용해도 차이를 이용하여 보다 효율적으로 이들을 분리 할 수 있었다

(시험4) Applicaton

1) Asparagine 및 Aglucon isoflavone의 이용

가) 숙취해독제

- 음주와 관련된 에탄올의 체내 대사 경로는 그림 3-2에서 보는 바와 같으며, 알코올은 알코올 탈수소 효소(alcohol dehydrogenase:ADH), 간의 Cytochrome 효소, 및 Catalase에 의해 아세트알데히드로 전환되며, 알데히드는 알데히드탈수소효소(aldehyde dehydrogenase:ALDH)에 의해 아세트산으로 산화되어 배출된다.

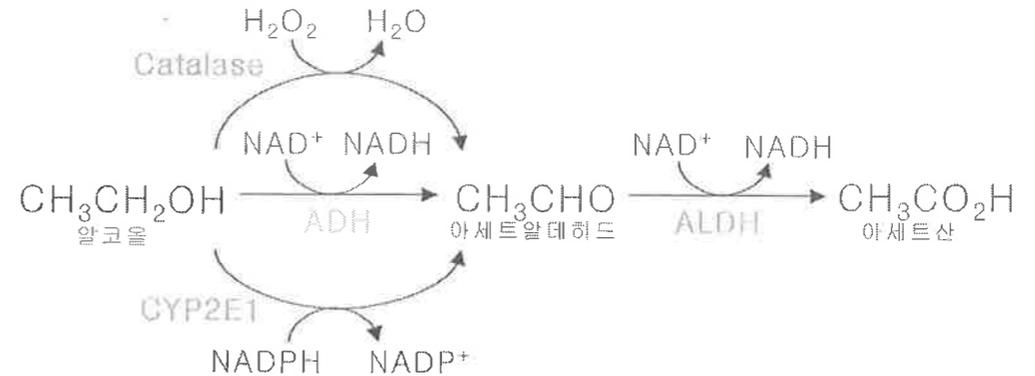


그림 3-2. 알코올의 인체대사 경로

- Asparagine은 간세포의 NADH/NAD<sup>+</sup>비를 줄여주며, isoflavone은 알코올 중독자에게서 나타나는 cytochrome효소 및 ADH 효소를 부분적으로 억제하여 알코올의 흡수를줄여주며, 신체 알코올 대사를 촉진시킨다.

- 따라서, 분리한 asparagine, daidzein, 및 genistein을 이용하여 음주에 따른 알코올의 산화 산물인 아세트알데히드의 혈중 농도를 저하시키고, isoflavone의 항산화 효과를 이용하여 보다 효과적인 숙취해독제(Asparagin:Genistein=4:0.2비율)를 만들었다.

나) 호르몬 대체제 (HRT)

- 분리한 aglucone isoflavone을 이용하여 보다 효과적인 호르몬대체제의 원료로서의 응용이 가능하다. 일반적으로 aglucone 형은 glycoside 형 isoflavone에 비하여 체내 흡수가 6배 이상 효과적이다.

- 비배당체 이소플라본의 뛰어난 성능을 이용하여 기능성 Cream형 및 Gel형 Genistein 제품을 만들었다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 고기능성 나물콩 품종개발과 상품화

본 과제에서는 농진청 보유 우리나라 전 콩나물콩 유전자원을 인출하여 순계화하고 포장 및 콩나물의 특성을 조사하는 부분과 아스파라긴을 이용하여 새로운 숙취해독제를 개발하는 부분으로 구성하였는바, 유전자원의 순계화와 특성검정 1, 2년차에 나누어 조사를 마친 것을 3년 차에 전 계통을 다시 포장에 공시하여 동일 조건에서 포장검정을 실시하였다. 이는 본 유전자원이 세계적으로 자랑할 만한 자원으로 누군가는 제대로 된 특성 검정치를 제공하여야 한다는 꿈을 연구하는 사람으로서의 사명감에서였다. 워낙 방대한 자료의 조사 때문에 정밀하게 조사 못한 부분도 있으나 어느 정도의 기초조사는 목표이상으로 수행하였다고 본다. 또한, 발아에 문제가 없었던 전 계통에 대하여 콩나물 특성의 검정도 마쳤기 때문에 콩나물 특성검정 부분은 정밀검정이 이루어 졌다고 볼 수 있다.

숙취해독제의 개발은 개발에 필요한 콩나물로부터의 추출수율을 최대로 할 수 있는 기초연구를 수행하였으며 순수 천연의 아스파라긴과 콩 추출물을 이용하여 숙취해독의 효능을 볼 수 있었기 때문에 약간의 시험만 더 거치면 시판이 가능한 새로운 타입의 숙취해독제가 개발되리라고 본다. 그러나 시판에서 성공적인 판매를 하기 위해서는 확실한 실험의 결과가 필요하기 때문에 약간의 시간(아마 1년 정도)이 더 필요할 지도 모른다.

### 2. 콩나물 재배용 천연 식물성 성장조정제 개발

본 세부과제의 목표달성도는

#### ① 콩나물 재배용 천연 성장조정 물질의 탐색과 동정

- 죽순, 겨자, 느릅나무, 현사시나무의 부위별, 추출물 농도, 현장 산업화를 감안한 실험 함
- 영세한 콩나물 제조 공장에서 직접 사용할 수 있는 물질을 선정 하여 추출물을 실제 콩나물 재배에 적용하므로, 천연 성장 조정제가 콩나물 생육과 품질에 미치는 영향을 조사하여 실용화 가능성을 타진한 결과 겨자 추출물이 가장 적당하

다고 판단되어 일차 천연 성장 조정제 선정 목표에 도달함.

#### ② 천연 성장 조정제를 이용한 효과적인 재배법

- 콩나물 생육과 품질, 제조업자의 생산비, 소비자의 선호도를 감안한 겨자추출물의 콩나물 공장화 생산에 적용 시 최적 재배 조건과 이와 관련되어 최적 재배 조건에 의해 재배된 콩나물의 품질과 저장성에 미치는 효과를 검토 결과 기존의 화학 성장 조정제와 경쟁력이 있다고 판단되는 목표에 도달함.

#### ③천연 성장 조정제의 대량생산 시스템

- 시제품을 기준으로 기존의 성장 조절제(인돌비 등) 에 대한 경제성, 시장성, 소비자 호응도, 실용화 및 편리성을 고려하여 대량 생산 생산 시스템 기술 획득과 지적 소유권 보호차원에서 특허 출원이 완성되어 이의 목표 달성에 도달함.

본 세부과제의 관련분야 기여도는

#### ① 천연 물질이 한방 및 민간 요법에 의한 효능을 전통 식품에 적용

- 예로부터 겨자는 중독, 폐렴, 기침, 및 내장의 염증 등을 없애므로 항균, 효소작용, 냄새제거 등으로 전통식품과 접목하여 성장에 도움이 되는 물질로 적용함.
- 전통 한방 제재 추출물을 효능에 의해 식품에 적용하므로 안전한 고품질 전통 식품 생산 가능성을 과학적으로 입증함.

#### ② 겨자 추출물을 발아 식품에 적용 범위 확대

- 콩나물보다 더 대량생산에 생리적 및 위생적으로 어려움을 겪고 있는 숙주나물 대량생산에 적용가능성 제시
- 민족의 주식인 쌀의 고부가가치화의 일환으로 발아현미를 제조 시 고품질 및 성장촉진의 방면으로 천연물질인 겨자추출물 적용 가능성제시
- 새싹채소 (브로콜리, 적양배추, 들깨, 해바라기, 클로버, 적갓, 열청갓, 케일, 순무, 적무, 무 등) 재배 시 천연 겨자 추출물 적용으로 고품질화 채소생산 가능성제시

### 3. 제3세부과제: Asparagine과 isoflavone의 경제적 추출방법 개발

Beaker 조건에서 대량생산의 공정을 확대에 따른 추출 조건을 콩 획득한 asparagine 및 isoflavone을 바로 사업화가 가능하게 되었다. 확립된 추출 조건을 이용하여 10일 이상 재배된 콩나물에서 머리 부분과 몸통부분에서 각각 isoflavone 과 asparagine을 얻는 조건을 확립하므로써, 추출물의 원가를 상당히 낮추는 효과를 거두

었다. 대량생산에서 나타나는 거품, 미세입자 등의 문제를 본 과제를 통하여 효과적으로 처리하여 추출 효율을 증대 시켰다.

또한 추출된 glycoside isoflavone에서 용매에 의한 용해도 차이를 이용하여 분리한 genistin 및 daidzin을 인체 흡수가 glycoside형 보다 6배 이상 뛰어난 aglucone isoflavone인 genistein 및 daidzein을 얻으므로, 보다 다양한 분야의 제품개발 및 응용에 활용할 수 있게 되었다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 제1세부과제 결과

첫째 본 과제를 통해 순계화 및 특성화가 된 1,139개의 재래콩나물 유전자원에 대하여는 그 형질의 우수성 때문에 얼마든지 품종의 개량에 이용할 수 있는 무한한 가치가 있다고 보여 진다. 따라서 이들 자원에 대하여 종자증식을 담당하고 보다 더 정밀한 지속적인 연구를 할 수 있는 연구진을 공모하여 세계에서 독특한 이 집단에 대한 이용성을 최대화할 수 있도록 할 필요가 있다고 본다.

둘째, 본 과제를 통해 지금까지와는 완전히 다른 새로운 타입의 숙취해독제가 머지 않아 소이벤처(주)에서 개발 시판되리라고 예상된다.

### 제2세부과제(협동과제) 결과

제 2세부과제의 기대효과와 활용계획을 보면

#### 1) 기대 효과

가. 기술적인 측면

- ① 독성 및 부작용이 없으며 민간 및 한방요법에 사용되는 효과를 직접 전통식품에 접목하여 확인하는 기술의 이론 확립함.
- ② 콩나물 대량 생산 시 문제가 되는 생장조절 위한 화학물질을 천연 물질로 대체하여 제품화 촉진함.
- ③ 농산물 가공분야의 천연물질의 활성화 및 기술 첨단화 기반 조성을 부여함.

나. 경제, 산업적 측면

- ① 천연 물질인 겨자를 추출하여 전통 식품중 위생상 문제가 될 수 있는 콩나물에 천연생장조절제로 적용하므로 안전한 우리 농산물의 섭취하여 국민 건강 증진에 기여함
- ② 겨자 추출물을 이용한 천연 생장 조절 물질을 전통식품인 콩나물에 적용하므로 소비자는 더 안전한 식품을 섭취하고 생산자는 소득증대 및 안정적 생산기반 조성에 기여 할 수 있음
- ③ 천연 물질인 겨자추출물을 콩나물 및 다른 발아식품에 적용하므로 생산업자의 고부가 가치화와 소비자에게 신뢰도를 구축함

④ 천연 성장조절물질 개발로 전통식품의 안정된 생산과 생산업자의 체계적인 생산량 계획의 지표가 될 수 있음

⑤ 이와 관련되는 산업의 발전이 안정화 될 수 있을 것으로 기대 됨

## 2) 활용계획

① 전통식품의 선호도 증가에 따른 시대적 변화의 산업화에 따른 겨자이용 천연추출물 공장 적용화 및 확대화

② 기존 pilot plant을 이용하여 생산된 것을 상품화하여 홍보전략, 유통전략 수집하여 소비 촉진을 위한 콩나물적용 그린 투어리즘 실시

③ 겨자 추출물이용 생산 콩나물의 시장진입

- 학교 및 단체급식소 납품
- 유명 유통업체 납품처 개발 및 (입점 코드학보)
- 각 직능별 유명 식품 프랜차이즈에 무공해 식자재로 집중홍보와 대량 소비유발
- 우리 먹거리의 고급제품 이미지로 브랜드 화

④겨자추출물 이용 범위 확대 및 실용화

- 콩나물이외 숙주나물, 발아현미 새싹 채소 등의 발아 식품에 겨자추출물을 적용 및 실용화함

## 3. 제3세부과제(위탁과제) 결과

첫째, 추출된 asparagine 및 aglucone genistein을 이용하여 알코올의 흡수 및 알코올 대사를 효과적으로 증진시키는 숙취해독제의 개발하였으며, 또한 daidzin의 잘 알려진 ALDH(알데히드 탈수소효소)억제효과와 뇌속의 dopamine, 및 serotonin의 알데히드 유도체의 농도 증가에 따른 알코올 중독자들의 치료제의 개발에 응용될수 있다.

Genistein 및 daidzein은 인체흡수율이 뛰어난 호르몬대체제(크림, 젤형)로 개발되었으며, daidzein을 원료로 하여 최근 뛰어난 5a-reductase 억제 효과를 보이는 equol의 생산에 응용이 가능하다.

둘째, 획득된 추출조건을 이용하여 두부 조제시 발생하는 비지에서의 isoflavone 추출에 대한 연구가 진행되어야 할 것이며, 최근 천연물을 이용한 항암, 당뇨, 고지혈증, 및 고혈압등의 이용이 급증하고 있으므로, 얻어진 daidzein 및 genistein을 이용한 다양한 유도체의 개발을 통하여 성인병 예방제제의 개발이 요구된다.

셋째, 향상된 추출방법에 의한 asparagine의 생산단가 감소는 숙취해소에 좋은 소주 첨가물의 양을 같은 단가에 많이 첨가할 수 있으며, asparagine으로부터 출발하는 모든 제품의 원가 절약을 할 수 있다.

넷째, 선발된 고 기능성 콩품종과 이들로부터 고함량 isoflavone 제품의 추출방법을 특허화하여 제품의 경쟁력을 강화하며, 초기 생산에 따르는 비용(생산설비비용)을 정책자금으로 조달하든지, 아니면 유통경쟁력과 자금을 확보한 기업과 연계하여 생산할 것이다.

다섯째, 고순도의 asparagine과 고함량의 isoflavone 제품은 캡슐이나 분말의 형태로 만들어 상품화 할 것이며, 음료나 차 형태 등의 제품화를 연구할 것이다. 이러한 단계가 성공리에 끝나면, 고함량의 isoflavone의 혼합물을 aglycone isoflavone의 비율을 증가시키고, 각각의 aglycone isoflavone 즉, Genistein, Daidzein, Glycitein 등 순수한 각 물질로 분리하는 방법을 연구하여 상품의 가치를 한 단계 더 높일 것이다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 1) 겨자 추출성분이 감귤의 푸른곰팡이 및 녹색곰팡이 억제

- ① 일본 에히메현 과수 시험장 개발 - 2000. 3.
- ② 적용 - 겨자에서 추출한 성분이 감귤류에서 문제가 되고 있는 푸른곰팡이 및 녹색곰팡이 병을 억제할 수 있다는 것. 유통경로에 실려서 실험한 결과 거의 부패하지 않음 확인.
- ③ 내용 - 겨자 추출한 'AIT' 라는 물질로 선도 향상제로 사용
  - 에히메현 과수시험장에서는 농도가 다른 포장형의 AIT를 사용 하여 감귤에 잘 발생하는 푸른곰팡이 병균과 녹색곰팡이 병균에 대한 실험결과 모든 형에서 균을 억제 확인.

### 2) 해외 관련 특허 정보

US6228330(국가: US)  
발명의 명칭 : Atmospheric-pressure plasma decontamination/sterilization chamber  
IPC분류 : B01J19/12  
공보일자 : 2001.05.08  
출원인 : UNIV CALIFORNIA

US6124108(국가: US)  
발명의 명칭 : Protein biomarker for mustard chemical injury  
IPC분류 : G01N33/573  
공보일자 : 2000.09.26  
출원인 : US ARMY

US6024992(국가: US)  
발명의 명칭 : Enhanced kimchi mix composition  
PC분류 : A23L1/303  
공보일자 : 2000.02.15

US5747056(국가: US)  
발명의 명칭 : Pesticide compositions containing mustard bran  
IPC분류 : A01N25/10  
공보일자 : 1998.05.05  
출원인 : CANADA MAJESTY IN RIGHT OF

US5331004(국가: US)  
발명의 명칭 : Aromatic mustards and aziridines and pharmaceutical uses thereof  
IPC분류 : A61K31/165  
공보일자 : 1994.07.19  
출원인 : CANCER SOC AUCKLAND DIV NZ INC

US5143621(국가: US)  
발명의 명칭 : Method of chemical decontamination  
IPC분류 : B01D15/04  
공보일자 : 1992.09.01  
출원인 : US ARMY

US4970022(국가: US)  
발명의 명칭 : Liquid-crystalline mustard oils  
IPC분류 : C07C291/00  
공보일자 : 1990.11.13  
출원인 : MERCK PATENT GMBH

Soy isoflavone은 유방암 환자들의 Tamoxifen처방에 있어서 사용제한 식품으로 제한하였으나, 이는 콩의 Genistein의 Estrogenic 성질에 의한 것이다. 그러나 최근의 Daidzein, Phenoxodiol(dehydroequol : NOVOGEN사) 등 Daidzein 유도체 들은 화학적 항암 치료에 매우 효과적인 결과를 나타내었다.

-European Journal of Cancer 41 (2005) 647-654 등

당뇨병치료제는 소화관 포도당 흡수 억제제( $\alpha$ -Glucosidase 억제제), 인슐린 대체제, 인슐린 분비 촉진제, 인슐린 감작제(PPARc 촉진제: Thiazolidinedione(TZD)등) 등

많은 치료제가 있다. 최근의 연구 결과는 Genistein이  $\alpha$ -Glucosidase억제, PPAR $\gamma$ , 및 PPAR $\alpha$ 를 모두 억제함으로써 당뇨병 치료에도 SERM(선택적 호르몬 조절제)의 개념이 당뇨병 치료에 확대 적용되고 있다.

-Molecular and Cellular Endocrinology 220(2004) 51-58 등

## 제 7 장 참고문헌

1. AOAC : Official Methods of Analysis 15th ed. Association of Official, Analytical Chemists, Washington, D.C. p. 59 (1975)
2. Herbert, A. and Juel, L.S. : Sensory evaluation practices. 2nd Ed., Academic Press, New York, p. 11 (1993)
3. Johansson, F. and Lenfven, A. : Food packing polyner filims as aroma vapor barriers at different relative humidities. J. Food Sci., 59, 1328-1331 (1994)
4. Ohhama, T. and Hase, E. : Chlorophyll synthesis. Plant and cell Physiol., 16, 297-300 (1975)
5. Park, M.H. : Some problems and improvement against soybean sprouts industry. Paper presented at 10th. Ann. Conference. of Korean. Society Postharvest Sci. and Technol of Agric. Products, Jeju, Korea (1997)
6. Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W., Funda, I.: Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products, Interlaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem, 71 (5), 1017-1023 (1988)
7. Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W., Funda, I. : Determination of Insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products, collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem, 75(2), 360-367 (1988)
8. Robertson, J.A. and Eastwood, M.A. : An investigation of the experimental conditions which could affect water-holding capacity of dietary fiber. J. Sci. Food Agric., 32, 819-821 (1981)
9. Takashi, T. : Effect of conditions of storage, soaking and sprinkling of seed of beans on the sprouting and growth of the bean sprouts. Nippon Shukuhin Kogyo Gakkaishi, 27, 166-171 (1980)
10. Takashi, T. : Effect of phytohormone teated cultures on quality and yeild of

- thick bean sprouts. Nippon Shukuhin Kogaku Kaishi 43, 849-857 1996)
11. Van Soest, P.J. : Dietary fibers, Their definition and nutritional properties. Am. J. Clin. Nutr., 31, 12 (1978)
  12. Vernon, L.P. : Determination of chlorophyll content. Anal. Chem., 32, 1144(1960)
  13. 김길환 콩나물콩 품종별 생육특성 및 일반성분조성. 한국콩연구회지 9(2), 27-30 (1992)
  14. 김동희, 최희숙, 김우정 : 콩품종에 따른 발아 속도와 익힘정도의 비교. 한국식품과학회지, 22, 94-98 (1990)
  15. 김상옥 : 콩나물 성장과 vitamin C 생성에 미치는 kinetin과 anxin의 혼합효과. 한국식량영양학회지, 11 (2), 37-41 (1982)
  16. 김석동, 김수희, 홍은희 : 콩나물의 성분과 그 영양학적 의미. 한국콩연구회지, 10(1), 1-9 (1993)
  17. 김철재, 박진숙, 김상용, 오덕근 : 발아 및 성장중에 일어나는 콩나물의 품종간 변화. 한국콩연구회지, 13(1), 55-69 (1996)
  18. 김혜숙 : 대두발아 중 핵산, 단백질, 유리 amino 산 함량과 trypsin 저해활성에 미치는 blue 및 red광의 영향. 효성여자대학교 석사논문(1981)
  19. 명인식 : 콩나물 부패의 원인과 방제. 고려대학교 석사학위 논문. (1987)
  20. 박무현, 김동철, 김병삼, 남궁배 : 청정콩나물 생산 및 유통방법 개선에 관한 연구. 한국콩연구회지, 12(1), 51-67 (1995)
  21. 박원목, 명인식, 이용재 : 콩나물 부패병의 생물학적 방제. 한국콩연구회지, 3(2), 41-71 (1986)
  22. 박의호, 최연식 : 콩나물 부패경감에 유용한 약제 선발. 한국작물학회지, 40(4), 487-493. (1995)
  23. 양한철 : 최신 비타민학. 세문사, 서울, p. 147-154 (1994)
  24. 양차범 : 콩나물 제조중 질소화합물의 변화와 그 영양학적연구. 한국농화학지, 24, 94-100 (1981)
  25. 우순자, 류시생 : 원자흡광분석을 위한 식품시료의 전처리 방법. 한국식품과학회지, 15, 225-228 (1986)

26. 오병준 : 철분 및 엷분이 콩나물 생육과 부패에 미치는 영향 및 콩나물 부패병균. 고려대학교 석사학위 논문. (1989)
27. 이유석, 박노동, 이종욱 : 콩나물의 생장에 미치는 키토산 처리의 영향. 한국식품과학회지, 31(1), 153-157 (1999)
28. 전세열 : Dietary fiber의 기능과 질병예방. 식품영양학회지. 4, 101-107 (1990)
29. 장권열 : 고농서를 통해 본 한민족과 콩. 한국 콩연구회지 6(2), 1-8 (1989)
30. 정과정, 장현기 : 식품분석. 진도연구사, p. 250 (1989)
31. 한국식품공업협회 : 식품공전. 문영사, 서울, p. 812-959 (1999)
32. Kano M. et al. Soymilk products affect ethanol absorption and metabolism in rats during acute and chronic ethanol intake. J. Nutr. 132, 238-244 (2002)
33. Toru I. et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. J. Nutr 130, 1695-1699 (2000)
34. Amir H. R. et al Plant derivatives in the treatment of alcohol-dependency. Pharm. Biochem., and Dehavoir 75, 593-606 (2003)
35. Sujong K et al Genistein enhances expression of genes involved in fatty acid catabolism through activation of PPARα MCE 220, 51-58 (2004)
36. Andreas I. C. et al. The soy isoflavone daidzein improves the capacity of tamoxifen to prevent mammary tumours Euro. J Cancer 41, 647-654 (2005)
37. 변시명, 허남응, 이춘영. 1977. 콩나물의 Asparagine 생합성에 관한 연구. 한국농화학회지 20(1):33-42.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.