

# *Bacillus velezensis* L2 접종량에 따른 발효 대두의 품질 특성 및 생리활성 분석

김진솔<sup>1</sup>, 양은주<sup>2</sup>, 이현화<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>조선대학교 생명과학과, <sup>2</sup>(재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터

## Biological Activities and Physicochemical Properties of *Glycine max* Fermented by *Bacillus velezensis* L2 with Different Inoculum Level

Jin-Sol Kim<sup>1</sup>, Eun Ju Yang<sup>2</sup>, Hyun-Hwa Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Chosun University

<sup>2</sup>Food Research Center, Jeonnam Bioindustry Foundation

**요약** 본 연구에서는 장류의 기능성을 개선시킨 발효대두 제품 개발을 위해 대두를 0, 0.5, 1, 2 % (v/w) 농도의 *B. velezensis* L2 균을 접종하여 발효시킨 후 발효 대두의 이화학적 특성과 생리활성에 대해 조사하였다. 발효대두의 수분 함량과 pH는 발효 후 증가하였고 산도는 발효 후 감소하였다. 아미노태 질소 함량은 2 % 접종군에서(178.7 mg%) 높은 아미노태 질소 함량이 확인되었다. 발효미생물 접종군의 평균 수는 유의적으로 높게(9.38-9.46 Log CFU/g) 나타났다. 0.5 % 접종군의 protease 활성은 2.655 unit/g으로 가장 높은 활성을 보였다. 발효대두 추출물의 항산화 활성은 모두 0.5 % 접종군에서 우수한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능(각각 70, 69.5 %) 보였다. 발효대두의 항고혈압 활성은 100 µg/mL 농도의 0.5 % 접종군에서 64.2 %로 높은 ACE 저해활성이 나타났다. 발효대두 추출물의 daidzein과 genistein의 함량은 접종량에 따른 함량 변화를 보이지 않았고 L-arginine 함량은 0.5 % 접종군에서 2,350 µg/g으로 가장 높은 함량이 확인되었다. 마지막으로 발효대두의 이화학적 특성과 생리활성 사이의 상관관계 분석 결과, 발효대두의 protease 활성은 수분함량, 아미노태질소 함량, 항산화활성, ACE저해활성, arginine 함량과 유의적으로 높은 양의 상관관계( $r = 0.662 \sim 0.968$ ,  $p < 0.05$ )가 확인되었다. 본 실험 결과에 따라 0.5 %의 *B. velezensis* L2 균을 이용하여 제조한 발효대두는 우수한 protease 활성, 항산화 활성 및 항고혈압 활성을 나타냈고 이러한 결과는 발효 대두의 품질 향상 및 신제품 개발에 기초자료로 활용 가능할 것으로 판단된다.

**Abstract** In order to develop fermented *G. max* resource with improved quality and functionality, this study investigated the physicochemical properties of *Glycin max* fermented with varying concentrations of *Bacillus velezensis* L2 (0, 0.5, 1, and 2% v/w). Moisture content and pH of the fermented *G. max* were observed to increase after fermentation, resulting in decreasing acidity with increasing concentrations of *B. velezensis* L2. Compared to other groups, the content of amino-type nitrogen was highest in the 2% group (178.7 mg%), whereas the highest protease activity was obtained in the 0.5% group (2.655 units/g). The 0.5% group also had the highest antioxidant activities (70% DPPH and 69.5% ABTS radical scavenging) and ACE inhibitory activity (64.2%). The contents of daidzein and genistein showed no significant difference by concentration, and the 0.5% group had the highest L-arginine content (2,350 µg/g). Furthermore, the protease activity of fermented *G. max* was determined to be positively correlated with the antioxidant activities, ACE inhibitory activity, and the moisture, amino-type nitrogen, and L-arginine contents. These results show that *G. max* fermented with 0.5% *B. velezensis* L2 showed excellent protease, antioxidant activities, and ACE inhibitory activity, indicating the potential to be used as material for food development and in other new applications.

**Keywords** : *Bacillus velezensis* L2, Fermentation, Inoculum Level, Biological Activity, Physicochemical Property

본 논문은 2022년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

\*Corresponding Author : Hyun-Hwa Lee(Chosun Univ.)

email: papaya@chosun.ac.kr

Received July 26, 2023

Revised August 28, 2023

Accepted September 1, 2023

Published September 30, 2023

## 1. 서론

콩은 식물 단백질의 주공급원으로 알려져 있으며 이 외에도 탄수화물, 지질, 미네랄, 비타민, isoflavone, peptide 등의 영양 및 유용성분들을 풍부하게 함유하고 있다[1]. 콩은 콩나물, 두부, 두유, 콩기름, 콩가루 등으로 가공하거나 콩을 발효시켜 만든 간장, 된장, 청국장 등으로 이용하고 있으며[1,2] 장류의 항산화활성[3], 항암활성[4], 항고혈압 활성[5], 항염 활성[6] 등 여러 효과들이 활발하게 보고되고 있다. 이러한 콩을 발효시킨 장류는 12세기부터 한국, 일본, 중국 등 아시아에서 주로 소비하고 있고[7] 국내 식품시장에서 2007-2017년 동안 점유율이 3.14 %에서 1.78 %까지 계속해서 감소하는 경향을 보였으나 최근 코로나19 이후 건강기능성에 관심이 높아지면서 발효식품에 대한 수요가 늘어나 국내외에서 장류에 대한 판매율도 2018-2021년 동안 연평균 4.9 %의 증가 추세를 보이고 있다[8,9]. 이러한 수요에 발맞추어 기존 장류의 생리활성 증진 및 기능을 강화할 수 있는 연구 및 개발이 요구되고 있다. 콩의 발효는 자연에 존재하는 곰팡이, 효모, 유산균, 세균 등의 다양한 미생물이 관여하며 대표적으로 *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Lactobacillus*, *Bacillus*속 등이 있다. 발효과정 중 콩이 외부환경에 노출되면서 미생물의 증식이 이뤄지고 다양한 대사산물을 생성해 장류 특유의 풍미, 감칠맛, 향 등을 나타낸다[10]. 이처럼 발효에 사용하는 종균은 풍미와 향, 항산화활성 등 제품의 질에 영향을 준다고 알려져 있으며[11] 현재 발효에 사용하는 미생물에 따라 감칠맛 성분 함량 증가[12], 비배당체 isoflavone 함량 증가[13] 등 발효 산물의 생리활성에 변화가 나타난다고 보고되었다. 또한, 콩은 사용한 종균 뿐 아니라 콩의 품종이나[14] 가공방법 등에 따라 isoflavone, anthocyanin 등 항산화물질과 같은 유용성분 및 영양성분의 함량과 생체 내 흡수율, 식감, 향미 또한 차이가 나타난다[15,16]. 최근 발효시간, 숙성시간, 조리시간, 종균에 따른 콩의 품질 및 특성비교에 대한 연구는 보고되어 왔으나[17-19] 발효 실패 위험을 줄이면서 발효 제품의 질을 일정하게 유지함과 동시에 기존 장류의 기능을 개선시키기 위해서는 특정 종균을 사용한 발효 제품에 대한 연구가 필요하다. 본 실험에서 사용한 종균 *Bacillus velezensis* L2는 발효의 효능과 풍미를 높이기 위해 재래식으로 제조된 된장과 멸치액젓으로부터 분리된 것으로 이를 이용해 멸치 분말 첨가한 매주 제조하였을 때 단백질해활성이 우수하여 전통된장의 품질이 향상됨을 확인하였다[20]. 그

러나 *B. velezensis* L2 종균을 사용하여 다양한 조건하에 콩을 발효시킨 후 이화학적 특성 및 생리활성 분석을 비교한 연구는 전무하다. 따라서 본 연구에서는 *B. velezensis* L2균의 접종량에 따라 대두를 발효시킨 후 미생물의 변화 및 발효대두의 다양한 특성을 분석하여 이를 *Bacillus velezensis* L2를 이용한 발효대두 제품 개발하는데 기초자료로 활용하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 실험재료

본 실험에서 사용한 대두(*Glycine max*)는 함평 월야면 인근에서 생산된 것을 2021년 10월 전남 함평농협에서 구입하여 사용하였고 발효 미생물은 (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터에서 보유종인 *Bacillus velezensis* L2(KCCM1 2498P) 균을 제공받아 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 모든 시약은 sigma사에서 구입하였으며 이외는 본문에 별도 표기하였다. 히스타민 함량 및 지표성분 분석에 사용한 표준품 histamine, genistein, daidzein, L-arginine(Sigma, St. Louis, USA)은 순도 97 % 이상의 분석용 시약을 구입하였으며 분석용매로 사용한 acetonitrile과 methanol을 포함하여 모두 HPCL용을 사용하였다.

### 2.2 발효 미생물을 통한 발효대두 제조

본 실험의 발효대두 제조는 Shin 등[21]의 방법을 변형하여 다음과 같이 제조하였다. 대두는 실온에서 24시간 동안 수침하고 100 °C에서 1시간 동안 증자한 후 마쇄하여 실험에 사용하였다. *Bacillus velezensis* L2는 tryptic Soy Broth(TSB) 액체배지에 접종하여 30 °C에서 20시간 동안 배양한 후 3,000 rpm으로 20분 동안 원심 분리하였다. 이 후 배양액을 제거하고 OD<sub>600</sub>에서 0.4가 되도록 멸균수를 이용하여 희석해 이를 배양액으로 사용하였다. 증자대두 1.2 kg에 미리 배양해 둔 *B. velezensis* L2 배양액을 증자대두 무게의 0, 0.5, 1, 2 % (v/w)를 접종하고 30 °C에서 48시간 동안 발효시켰다. 모든 대두시료는 동결건조(PVTFD 10R, IlShin Lab Co., Ltd., Dongducheon, Korea) 후 분말화시켜 -70 °C에 보관하면서 발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 특성을 비교분석하는데 사용하였다.

### 2.3 발효대두의 수분함량, 산도, 및 pH 측정

발효미생물 접종량에 따른 발효대두 시료의 수분 함량과 산도는 식품공전의 적정법[22]을 기초하여 측정하였다. 시료 5 g을 건조 접시에 취해 적외선 수분함량 측정기(MX-50, AND, Tokyo, Japan)를 이용하여 105 ± 1 °C 조건으로 함량이 될 때까지 건조하여 수분함량으로 결정하였다. 접종량에 따른 발효대두의 산도와 pH분석은 각각의 발효대두 시료 5 g 에 증류수에 500 mL을 가하여 혼합하고 3,000 rpm으로 20분 동안 원심 분리하여 얻은 상등액을 시료로 사용하였다. 산도는 시료 10 mL에 30 µL의 1 % phenolphthalein 넣고 0.1 N NaOH를 첨가해 미홍색(pH 8.3)의 시료가 될 때까지 적정하고 소비된 NaOH 부피를 측정하여 젖산함량(% w/w)으로 나타내었고 pH는 시료액을 pH meter(Mettler Toledo GmbH, Greifensee, Switzerland)를 통해 측정하였다.

### 2.4 발효대두의 아미노태질소 함량측정

발효대두 시료의 아미노태 질소 함량 분석은 식품공전의 측정법[22]을 변형하여 측정하였다. 발효미생물 접종량에 따른 각각의 발효대두 시료 5 g를 삼각플라스크에 넣고 증류수를 250 mL까지 가한 후 여액 50 mL을 취하여 30 µL의 1 % phenolphthalein 지시약을 첨가하고 0.1 N NaOH를 이용해 발효대두 시료가 미홍색(pH 8.3)이 될 때까지 가하였다. 별도의 비커에 30 mL의 formalin과 30 µL의 1 % phenolphthalein 지시약을 넣고 0.1 N NaOH로 이용해 미홍색이 될 때까지 적정한 후 이를 미홍색의 발효대두 시료와 혼합하고 다시 0.1 N NaOH를 이용해 혼합시료가 미홍색(pH 8.3)이 될 때까지 가하였다. 이때 사용한 0.1 N NaOH mL 양을 아미노태질소 함량 측정에 사용하였으며 계산식은 아래와(1) 같다.

$$\text{Amino nitrogen(mg\%)} = \frac{N \times 0.0014 \times 100 \times 1000 \times D}{S} \quad (1)$$

0.0014: 0.1N NaOH 1.0 mL에 해당하는 질소량(g)

N: 0.1 N NaOH 첨가량(mL)

D: 희석배수

S: 시료량(mL)

### 2.5 발효대두의 종균 수 측정

발효대두의 *B. velezensis* L2 종균수를 측정하기 위해 발효미생물 미접종 대두시료와 0.5, 1, 2 %의 발효미

생물을 접종하여 발효시킨 대두시료를 각각 멸균수로 10 배 희석하여 준비한 후 LB broth(BD, NJ, USA) 고체 배지에 도말하였다. 배지는 30 °C에서 24시간 배양한 후 각각의 시료의 *B. velezensis* L2 종균 집락수(CFU: colony forming units) 계산하여 Log CFU/g로 나타내었다.

### 2.6 발효대두의 단백분해효소(protease) 활성 측정

발효 대두의 단백분해효소 활성은 azocasein법을 일부 변형하여 측정하였다[23]. 발효미생물의 접종량별 발효 대두 시료를 각각 증류수로 10배 희석하고 30분 초음파 추출하였고 12,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 상등액만 얻었으며 이 상등액을 효소활성 측정에 사용하였다. Casein의 농도가 0.5 % (w/v)가 되도록 100 mM, pH 7.0 sodium phosphate buffer에 용해하여 이를 기질로 사용하였다. 150 µL의 0.5 % casein reagent에 각각의 발효대두 추출물 50 µL을 혼합하여 30 °C에서 1시간 반응시키고 400 µL의 10 % trichloroacetic acid를 첨가하였다. 반응액을 12,000 rpm, 10분 동안 원심분리한 후 상등액 500 µL를 취하고 700 µL의 525 mM NaOH를 가하여 혼합한 다음 1 mL의 혼합액을 432 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 효소활성 1 unit은 30 °C에서 1시간 동안 효소반응에 의하여 유리되는 azo기에 의해 432 nm에서의 흡광도를 0.01 증가시키는 양으로 나타내었다.

### 2.7 발효대두의 히스타민 함량 측정

발효 미생물의 접종량에 따른 발효 대두의 히스타민 함량 분석은 식품공전법의 방법[22]을 변형하여 측정하였다. 시료 5 g에 20 mL의 0.1 N HCl을 가하여 30분간 초음파 추출하였고 12,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 상등액을 얻었으며 이를 2회 반복하여 얻은 최종 상등액을 50 mL로 정용하였다. Histamine과 발효 미생물 접종량에 따른 각각의 발효대두 추출물 시료 1 mL에 1,7-diaminoheptane 100 µL를 가한 다음 포화탄산나트륨용액 0.5 mL와 1 % dansyl chloride 아세톤용액 0.8 mL을 가하여 혼합하고 45 °C에서 1시간 동안 유도체화를 시켰다. 유도체화 시킨 시료에 10 % proline 용액 500 µL와 ethyl ether 5 mL을 가하여 10분 동안 진탕하고, 상등액 4 mL을 취하여 60 °C heat block에서 3시간 동안 농축하였다. 농축한 시료에 acetonitrile 1 mL을 가해 용해한 후 0.45 µm syringe filter로 여과하여 이를 HPLC 분석에 사용하였다. 각 시료는 HPLC 분

석기기를 이용하여 3회 반복 분석하였고 기기분석 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Condition of HPLC for histamine content analysis

Item	Condition		
Detector	UV DAD detector(254 nm)		
Column	Atlantis dC18 5 μm(4.6 mm × 250 mm)		
Column temperature	40 °C		
Injection volume	20 μL		
Flow rate	1.0 mL/min		
	A : 0.1 % acetic acid in water B : 0.1 % acetic acid in acetonitrile		
Mobile phase	min	A(%)	B(%)
	0	45	55
	10	45	55
	15	35	65
	25	20	80
	40	10	90

## 2.8 발효대두의 항산화 활성 측정

발효 미생물 접종량별 발효대두의 항산화 활성을 알아보기 위해 먼저 각각의 발효대두 시료 4 g에 10배량의 증류를 넣고 2시간 동안 초음파 추출을 진행하였다. 추출물은 동결 건조하여 발효대두 추출물 분말을 얻었고 이를 항산화 활성(DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능) 및 항고혈압 활성(ACE 저해활성) 측정에 사용하였다.

### 2.8.1 DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 항산화 활성을 가지는 물질이 DPPH 유리 radical에 전자를 공여해줌으로써 유리 radical이 소거되는 원리를 이용하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다[24]. 각각의 발효대두 추출 분말시료를 증류수를 이용하여 8 mg/mL의 농도로 준비하고 8 mg/mL의 발효대두 시료에 100 μM DPPH(Wako Pure Chemical Industries, Inc, Osaka, Japan)용액 320 μL를 혼합한 다음 25 °C에서 1시간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 발효대두 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 (2)와 같이 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (2)$$

- A: 대조구 흡광도
- B: 시료첨가구 흡광도

### 2.8.2 ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical 소거능은 ABTS 양이온이 시료 중의 항산화 물질에 의해 제거되는 반응을 이용하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다[25]. 먼저, 100 mM, pH 7.4 potassium phosphate 용액에 7 mM ABTS(Wako Pure Chemical Industries, Inc, Osaka, Japan)와 2.45 mM potassium persulfate의 용액을 혼합하여 암소에서 16시간 반응시켜 ABTS 양이온을 형성하도록 하였다. 각각의 발효대두 추출분말 시료는 증류수를 이용하여 100 μg/mL의 농도로 준비한 후 8 mg/mL의 발효대두 시료 80 μL에 ABTS 용액 320 μL를 혼합한 다음 25 °C에서 10분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 발효대두 시료의 ABTS 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (3)$$

- A: 대조구 흡광도
- B: 시료첨가구 흡광도

### 2.8.3 ACE저해 활성

측정 발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 ACE저해 활성 저해활성은 ACE kit(angiotensin I converting enzyme)(Dojindo Molecular Technologies, Inc, MD, USA)를 사용하여 측정하였다. 농도별 발효대두 추출물 20 μL에 substrate buffer 20 μL와 enzyme working solution 20 μL을 넣고 혼합한 다음 37 °C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 indicator working solution 200 μL를 넣고 25 °C에서 10분 동안 반응시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 접종량별 발효대두 추출물의 ACE 저해활성은 아래의 식을 통해 계산하였다.

$$\text{ACE 저해활성(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (4)$$

- A: 대조구 흡광도
- B: 시료첨가구 흡광도

## 2.9 발효대두의 지표성분 함량 분석

발효미생물 접종량 따른 발효대두의 지표성분 함량 분석을 위해 접종량별 발효대두 분말시료 100 g에 증류수

400 mL을 넣고 55 °C에서 24시간 동안 추출하였다. 추출물은 Whatman no. 2 여과지를 이용해 여과한 다음 동결 건조하여 분쇄하고 -70 °C에 보관하며 사용하였다. 발효미생물 접종량 따른 발효대두 추출물의 daidzein, genistein, L-arginine 함량을 정량분석하기 위해 LC-MS/MS 질량분석기(AB SCIEX 4000 Q-Trap, Shimadzu LC 20A System)를 이용하였고 분석 용매로 acetonitrile과 methanol을 사용하였다. 발효미생물 접종량별 발효대두 추출물 시료 20mg을 각각 1 mL의 증류수에 녹인 후 상층을 50 % methanol로 40배 희석하여 10 µL를 Gemini C18 컬럼(5 µm, 50 mm \* 2.0 mm)에 주입하여 분석 후 환산하였다. 각 시료는 LC-MS/MS 질량분석기를 이용하여 3회 반복하여 분석하였다.

## 2.10 통계처리

본 연구의 모든 실험은 3회 반복 실험하여 평균과 오차 값을 나타냈고 통계처리는 IBM SPSS Statistics(SPSS Inc, Chicago, USA, version 27)을 이용하여 분석하였다. 각 실험의 유의성 분석은 ANOVA 검정을 시행하였으며  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple test로 검정하였다. 발효 미생물 접종량별 발효대두의 이화학적 특성과 항산화활성, 항고혈압활성 및 지표성분 함량 데이터를 이용하여 MetaboAnalyst 5.0(<http://www.metaboanalyst.ca>)을 통해 주성분 분석(PCA: principal components analysis)의 biplot, variable importance in projection(VIP) score 및 correlation analysis를 분석하였고 어떤 변수가 발효미생물 접종량별 발효대두의 이화학적 특성과 항산화활성, 항고혈압활성 및 지표성분 함량과 상관관계가 있는지 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 발효미생물 접종량별 발효대두의 수분함량

장류의 수분함량은 발효균의 생장, 단백질의 가수분해에 의한 아미노산 생성정도 등에 영향을 미치기 때문에 발효물의 수분함량을 측정하는 것은 중요하다[26]. 본 실험에서 *Bacillus velezensis* L2 접종량에 따른 발효대두의 이화학적 특성변화를 살펴보기 위하여 발효 48시간 후 수분함량을 측정하였고 그 결과는 Table 1에 나타나 있었다. 발효대두의 수분함량은 발효 미생물 접종량에 따

라 59.7-60.7 %의 범위를 보였다. *B. velezensis* L2 접종에 따라 발효대두의 수분함량은 증가되어 1 % *B. velezensis* L2를 접종하였을 때 60.7 %로 가장 높은 수분함량이 측정되었으나 2 % 부터 수분함량이 줄어드는 경향을 보였다. Lee 등[27]의 중국 내 시판 장류의 수분함량을 조사한 연구에서 된장은 52.55-70.40 %의 수분함량을 보였으며 본 실험결과와 발효대두와 유사한 수분함량 범위를 보였다. 또한, Jeong 등[28]의 연구에서 중균함량에 따라 콩알메주의 수분함량은 유의적인 차이를 보였고 발효가 진행됨에 따라 수분함량이 감소하는 것으로 보고하였다. 이와 유사하게 본 실험에서 *B. velezensis* L2균 접종량에 따른 발효대두의 수분함량은 유의적인 차이를 보였고 이는 숙성시간, 사용한 발효 미생물 등의 조건에 영향을 받는 것으로 보인다.

### 3.2 발효미생물 접종량별 발효대두의 산도 및 pH

발효과정 중 콩은 단백질이 분해되고 암모니아가 생성되면서 발효 후 pH와 산도에 변화가 발생한다[29]. 일반적으로 미생물의 대사과정을 통해 유기산이 생성됨에 따라 산도가 증가하고 pH는 감소한다고 알려져 있다[30]. 대두에 농도별 *Bacillus velezensis* L2를 접종하여 48시간 배양한 후 발효대두의 산도와 pH를 측정하였고 그 결과 발효 미생물 접종량에 따른 발효대두의 산도는 0.2-1.6 %의 범위로 나타났다(Table 1). 발효 후 대두의 산도가 감소하였으며 그 중 0.5 % 농도의 *B. velezensis* L2를 접종한 발효대두에서 0.2 %의 산도를 보여 다른 농도에 비해 가장 낮은 산도가 확인되었다. 발효대두의 pH는 *Bacillus velezensis* L2 접종량에 따라 6.3-7.7의 pH를 보였으며 0.5 % 접종한 발효대두에서 7.7로 가장 높은 pH가 측정되었고 미생물 접종량이 증가함에 따라 발효대두의 pH는 감소하였다.

Jeong 등[31]의 연구에서 농도별로 *B. subtilis* SRCM10075을 접종한 청국장 pH는 균 접종량에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았고 발효시간에 따라 pH가 증가하고 이후로는 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고하였다. 이와 다르게 본 실험에서는 발효 후 균 접종량에 따라 pH가 증가하여 0.5 % 접종군에서 다른 군에 비해 유의적으로 높은 pH를 보였고 이후 1, 2 % 접종군에서는 pH가 감소하였다. 이처럼 발효에 사용한 미생물과 콩의 품종, 발효시간 등 발효조건은 발효 후 산도와 pH 변화에 영향을 미치는 것으로 조사되었다.

### 3.3 발효미생물 접종량별 발효대두의 아미노태 질소 함량

아미노태 질소는 발효의 정도를 나타내는 지표로 알려져 있으며 장류의 맛을 결정하는 중요 요인 중 하나이다. 아미노태 질소 함량은 콩의 단백질이 protease에 의해 아미노산으로 분해되는 정도를 측정한 것으로 아미노태 질소 함량이 높을수록 구수한 맛을 낸다고 알려져 있다 [32].

본 실험에서 발효미생물 접종량을 달리하여 발효시킨 대두의 아미노태 질소 함량을 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다. 발효 전 대두의 아미노태 질소 함량은 66.4 mg%로 나타났고 발효 후에는 171.7-178.7 mg%로 아미노태 질소함량이 유의적으로 증가하였다. 본 실험과 유사하게 Cho 등[18]의 연구에서도 아미노태 질소의 함량은 발효시간에 따라 증가한다고 보고되었다. 또한 발효대두의 아미노태 질소 함량은 미생물 접종농도에 따라 유의적으로 증가하였고 그 중 2% 접종군의 아미노태 질소 함량은 178.7 mg%로 다른 접종군에 비해 가장 높은 아미노태 질소 함량을 보였다. Shin 등[32]의 연구에서 품종별 다양한 콩 발효물의 아미노태 질소함량은 401.1-524.5 mg%로 나타나 본 실험 결과와 달리 높은 수준의 아미노태 질소함량이 측정되었다. Lee 등[33]의 연구에 따르면 콩 발효과정 중 사용하는 용기의 특성에 따라 공기의 순환이 달라지면서 아미노태 질소함량에도 영향을 미친다고 보고하였다. 본 실험에서도 발효대두의 아미노태 질소함량은 콩의 품종, 발효 미생물 종류, 발효 시간, 발효온도 등의 발효조건에 따라 차이를 보이는 것으로 나타난다.

### 3.4 발효미생물 접종량별 발효대두의 종균 수

발효미생물 접종량을 달리하여 발효시킨 발효대두의 종균 수를 측정된 결과, 발효미생물 첨가한 대두의 종균 수는 5.4 Log CFU/g로 측정되었고 발효 48시간 후 발

효대두의 종균 수는 9.4-9.5 Log CFU/g 범위로 나타났다(Fig. 1). 발효 48시간 후 발효대두의 종균 수는 무첨가구 대비 증가하였지만 미생물 접종량에 따른 발효대두 종균수의 유의적인 차이는 보이지 않았다. Oh 등[34]의 연구에서 대두를 발효시켜 만든 청국장 곰팡이 수는 발효시간이 경과함에 따라 급격하게 증가하였고 발효 후 48- 60시간에서 다시 감소하는 경향을 보였고 Shin 등[35]은 발효온도에 따라 종균 수 변화에 차이를 보였다고 보고하였다. 본 실험에서는 발효 미생물의 접종량에 따른 종균 수 함량의 증가하는 경향을 보였으나 그 차이가 미비하였고 발효 후 시간이 경과함에 따라 종균수의 변화를 보였으므로 발효미생물 접종량 뿐만 아니라 발효 시간과 발효온도 조건을 세분화하여 종균 수 변화를 측정해볼 필요가 있을 것으로 판단된다.

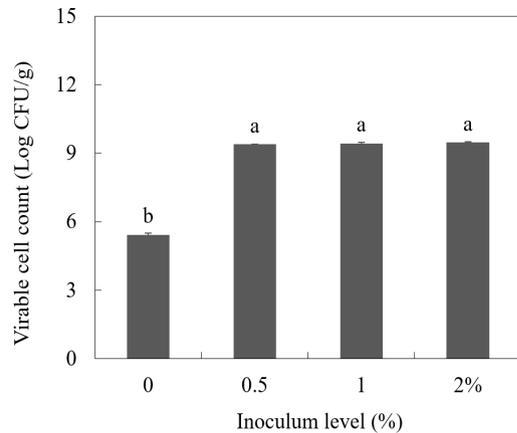


Fig. 1. Change in variable cell count in *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels. All values are represented as the mean  $\pm$  SD (n = 3). Lower cases mean significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Change in moisture, acidity, pH and aminotype nitrogen contents of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels

Fermentation time(hr)	Inoculation level(%)	Moisture(%)	Acidity(%)	pH	AN(mg%)
0	0	59.7 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	1.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	6.3 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	66.4 $\pm$ 0.9 <sup>d</sup>
	0	60.2 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.5 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	6.3 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	65.5 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>
48	0.5	60.6 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.2 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup>	7.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	171.7 $\pm$ 1.4 <sup>c</sup>
	1	60.7 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	7.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	174.3 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>
	2	60.2 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	7.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	178.7 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>

All values are represented as the mean  $\pm$  SD (n = 3). Lower cases mean significantly different in the same column by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

### 3.5 발효미생물 접종량별 발효대두의 protease 활성

발효과정 중 대두의 단백질은 미생물의 protease에 의해 펩타이드, 아미노산으로 가수분해되며 발효시간이 경과함에 따라 그 양이 증가되어 장류 특유의 구수한 맛과 감칠맛이 나타난다고 알려져 있다[36].

본 실험에서는 발효 미생물 *B. velezensis* L2의 접종량에 따른 발효대두의 protease 활성을 측정하였다(Fig. 2).

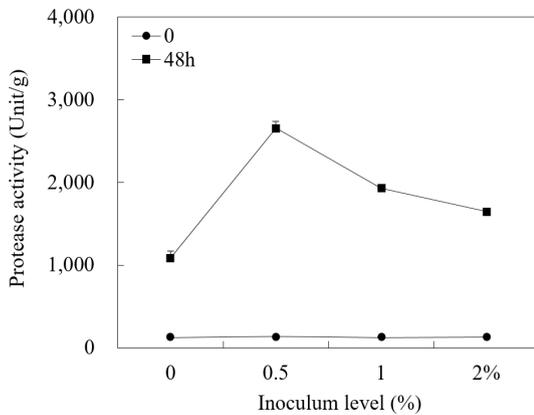


Fig. 2. Change in protease activity in *Glycine max* fermented th *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels. All values are represented as the mean  $\pm$  SD (n = 3).

발효 48시간 후 발효 미생물 접종군에서는 1,650-2,655 unit/g의 범위의 protease 활성이 나타났으며 그 중 0.5 % 접종군에서 2,655 unit/g로 1, 2 % 접종군에(각각 1,930, 1650 unit/g) 비해 가장 높은 protease 활성을 보였다. Jeong 등[37]은 붉은 팥원물(1, 3, 5%)에 *Bacillus subtilis* KCCM 11965P 3% (v/v)를 접종한 결과, 1%와 3%의 붉은 팥 원물 첨가군에는 발효미생물의 protease 활성이 나타나지 않고 5% 붉은 팥 첨가군에서만 발효시간에 따라 protease 활성이(1.29-2.69 unit/mL) 나타남을 보고하였다. 이처럼 본 실험의 0.5% 접종군에서 가장 높은 protease 활성을 보인 후 1, 2% 접종군에서 활성이 감소한 것은 발효미생물의 영양분에 비해 과다한 발효미생물을 접종하여 균의 증식이 늦어지면서 protease 활성도 감소한 것으로 보인다. Protease 활성은 발효과정에서 미생물에 의해 생성되는 아미노태 질소 함량과도 연관되어 있는데[38] 본 실험에서는 발효 미생물 0.5 % 접종군의 아미노태 질소함량은 171.7 mg%로 1, 2 % 접종군에 비해 낮았지만 발효 미생물

0.5 % 접종군의 protease 활성은 1, 2 % 접종군에 비해 높게 나타났다. Seon 등[39]은 된장 발효 균주로 사용한 *B. subtilis* TSD의 생육곡선과 protease 활성이 유사한 경향을 보였다고 보고하였고 이와 유사하게 본 실험에서 발효 후 높은 종균수를 보였던 0.5 % 접종군에서 protease 활성이 가장 높은 결과를 보였다. 따라서 본 실험 결과, protease 활성이 다른 접종군에 비해 높게 관찰되었던 대두 무게 대비 0.5 % *B. velezensis* L2 균주를 사용하였을 때 장류의 풍미를 향상시킬 수 있을 것으로 조사되었다.

### 3.6 발효미생물 접종량별 발효대두의 히스타민 함량

Biogenic amines은 식품의 발효 또는 저장 기간 동안 미생물이 아미노산을 탈카르복실화 시켜 만들어지는 유해한 화합물로서 히스타민, 티라민 등이 있다[40]. Biogenic amine을 과량 섭취하였을 경우 메스꺼움, 구토, 발진 등과 같은 식중독 증세가 나타날 수 있으며 심할 경우 사망에 이를 수 있다고 알려져 있다[41]. 따라서 발효 식품의 biogenic amine 함량을 조사하는 것은 안전성 측면에서 중요하며 본 실험에서는 발효식품이 다량으로 함유하고 있다고 알려져 있는[42] 히스타민 함량을 조사하였다.

본 실험 결과 발효 미생물 접종량에 따른 발효대두의 히스타민 함량을 Table 3에 나타냈으며 발효 48시간 후 모든 발효미생물 접종군에서 히스타민이 검출되지 않았다. 이러한 결과는 0.5-2 %의 *Bacillus velezensis* L2로 발효시킨 대두는 인체에 무해한 조건이나 히스타민 이외의 다른 biogenic amine의 함량 조사가 필요할 것으로 판단된다.

Table 3. Change in histamine content in *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels

Inoculum level(%)	Histamine content(ppm)
0	ND
0.5	ND
1	ND
2	ND

ND: not detected. All values are represented as the mean  $\pm$  SD (n = 3).

### 3.7 발효미생물 접종량별 발효대두의 항산화 활성

발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 항산화 활성

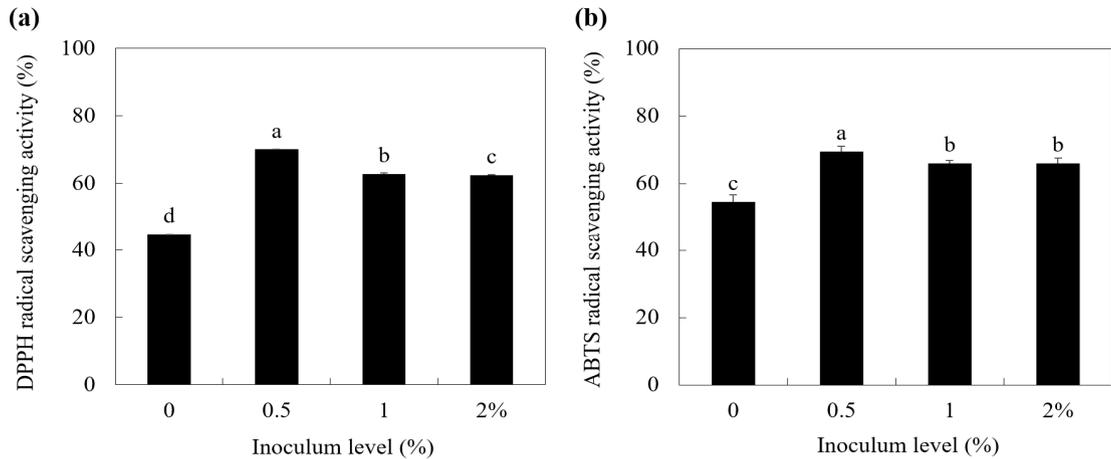


Fig. 3. Changes in DPPH and ABTS radical scavenging activities(%) in extracts of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 at different inoculum levels. All values are represented as the mean  $\pm$  SD(n = 3). Lowercases mean significantly different by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

을 알아보기 위해 발효대두의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 측정하였다. 그 결과, DPPH, ABTS 라디칼 소거능은 발효미생물 접종군에서 각각 62.3-70.0 %, 65.9-69.5 %의 활성 범위를 보였으며 모두 발효하지 않은 대두에 비해 발효 48시간 후 항산화 활성이 증가한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또한 0.5 %의 발효 미생물 접종군에서는 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능이 각각 70.0, 69.5 %로 다른 접종군에 비해 유의적으로 높은 활성이 나타났다. Gil 등[43]의 연구에서 protease를 첨가한 된장의 우수한 DPPH 라디칼 소거능은 protease에 의해 콩의 단백질이 분해되어 아미노산 함량 증가를 보인 것으로 보고하였다. 본 실험의 경우 0.5 % 발효 미생물 접종군에서 우수한 protease 활성이 나타났으며 이에 따라 아미노산 함량이 증가하여 0.5 % 발효 미생물 접종군에서 높은 DPPH라디칼 소거능을 보인 것으로 판단된다. 또한, Hwang 등[44]은 발효 중에 증가된 비배당체 이소플라본의 함량이 소립콩 두유의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능과 FRAP활성에 영향을 미쳐 우수한 항산화활성을 보였다고 보고하였다. 이와 달리 본 실험 결과 발효대두의 비배당체 이소플라본 daidzein과 genistein 함량은 발효 48시간 후 유의적인 변화를 보이지 않았고 발효 미생물 접종량에 따른 차이도 나타나지 않았다. 이러한 결과는 0.5 % 발효 미생물 접종군의 우수한 DPPH 라디칼 소거능은 비배당체 이소플라본 daidzein, genistein 외에 다른 유효물질에 의한 것으로 판단된다.

### 3.8 발효미생물 접종량별 발효대두의 ACE 저해활성

혈압 조절 기작 중 하나인 renin-angiotensin계에서 angiotensin I converting enzyme(ACE)는 혈압을 조절하는 중요한 효소로 알려져 있다[45]. ACE는 angiotensin I을 angiotensin II로 전환시키고 이렇게 전환된 angiotensin II는 강한 혈관 수축물질인 angiotensin II에 의해 혈압이 상승된다. 따라서 ACE의 활성이 저해되면 angiotensin II로 전환이 더디게 일어나 혈압의 상승을 막을 수 있다.

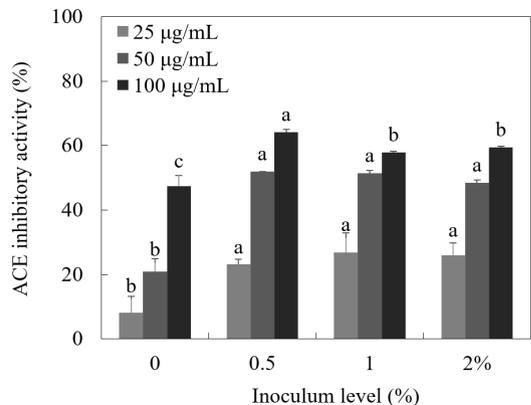


Fig. 4. Changes in ACE inhibitory activity(%) in extracts (25, 50, 100 µg/mL) of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 at different inoculum levels. All values are represented as the mean  $\pm$  SD(n = 3). Lowercase letters indicate significant differences within the same concentration of extracts by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

본 실험에서는 *Bacillus velezensis* L2 접종량에 따라 발효시킨 대두 추출물의 ACE 저해활성을 측정된 결과, 모든 시료에서 농도 의존적으로 ACE 저해활성이 증가하였으며 농도별 발효미생물을 첨가한 발효대두 시료에서 무첨가 시료에 비해 유의적으로 높은 활성이 확인되었다(Fig. 4). 25, 50 µg/mL 농도의 발효미생물 첨가군은 각각 23.1-26.8, 48.5-51.9 %의 ACE 저해활성을 보였고 발효미생물 무첨가 시료에 비해 유의적으로 높은 활성이 측정되었다. 100 µg/mL 농도의 0.5 % 발효미생물 접종군에서 64.2 %의 ACE 저해활성이 나타나 다른 발효 미생물 접종군에 비해 가장 높은 활성이 확인되었다. ACE 저해활성을 갖는 물질은 주로 펩타이드이며 protease와 같은 효소나 발효과정에 의해 생성된다고 알려져 있다[46]. 이와 같이 발효미생물 무첨가 시료에 비해 발효대두 추출물에서 높은 ACE 저해활성이 나타나고 그 중 0.5 % 발효 미생물 접종군에서 높은 ACE 저해활성을 보인 것은 0.5 % 발효 미생물 접종군의 우수한 protease 활성에 의해 단백질이 가수분해되어 생성된 유용한 물질들이 항산화 활성 뿐 아니라 ACE 저해활성에도 영향을 미친 것으로 보인다.

### 3.9 발효미생물 접종량별 발효대두의 지표성분 분석

Daidzein과 genistein은 콩이 함유하고 있는 isoflavone 비배당체이며 일반적으로 배당체에서 비배당체로 변화하는 요인은 발효 중 발효미생물에 의해 생성되는 효소에 의해 당 결합이 끊어져 비배당체 isoflavone함량이 증가한다고 알려져 있다[47]. 대두의 isoflavone인 daidzein과 genistein은 항암, 항산화 활성을 지니고 있으며 L-arginine은 조건부 필수 아미노산으로 혈관이완에 도움을 주며 혈행 개선효과를 지닌다고 알려져 있다[48-50]. 본 실험에서는 발효 미생물 접종량에 따른 발효대두의 daidzein, genistein과 L-arginine의 함량을 분석하였고 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 발효 대두 추출물의 daidzein과 genistein의 함량은 각각 117-124, 81-86 µg/g의 범위로 나타났고 발효 미생물 접종량에 따라 유의적인 함량 차이는 보이지 않았다. L-arginine 함량은 대두추출물에서 1,930-2,350 µg/g의 함량을 보였고 발효대두 추출물에서 2,065-2,350 µg/g의 함량을 나타냈다. 발효 후 대두의 L-arginine함량이 증가하였으며 발효 미생물 접종량에 따라 L-arginine함량이 증가하지 않았고 그 중 0.5 % 발효미생물 접종군에서 2,350 µg/g로 가장 높은 함량이 측정되었다. 따라서 본 실험 결과 0.5 % *Bacillus velezensis* L2 접종군에서 우수한

Table 4. Changes of Daidzein, genistein and L-arginine contents of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 at different inoculum levels

Inoculum level(%)	Content(µg/g)		
	Daidzein	Genistein	L-arginine
0	122±6	85±4	1930±82
0.5	124±17	81±8	2350±247
1	117±6	83±1	2290±181
2	121±8	86±10	2065±130

All values are represented as the mean ± SD(n = 3).

daidzein, genistein, L-arginine함량이 확인되었다. Shahzad 등[51]의 연구에서 발효미생물 *B. amyloliquefaciens* RWL-1의 접종량(2, 3, 5 %)에 따른 daidzein과 genistein함량은 접종량에 따라 유의적으로 감소함을 보였다. Ali 등[52]의 0-7 %의 *Bacillus subtilis* 접종량에 따른 arginine함량 측정 결과 1 % 접종군에서 7.82 mg/g로 가장 높은 함량을 보였고 접종농도가 높아짐에 따라 arginine함량은 감소하는 경향을 보였다. 또한, 몇몇 아미노산 함량은 7 % 접종군에서 가장 낮은 함량이 측정되어 1, 3 % 접종군이 가장 높은 아미노산 함량을 보였다고 보고하였다. 이처럼 발효미생물 접종량에 따른 발효대두 추출물의 daidzein, genistein, L-arginine 함량은 대두 품종, 발효미생물 종류, 발효 시간과 같은 발효공정에 영향을 받아 함량의 차이가 나타난 것으로 판단되며 앞선 실험에서 ACE 저해활성에서 우수한 활성을 보였던 0.5 % 발효미생물 접종군에서 혈관이완 및 혈행개선 효과가 있는 L-arginine의 함량 역시 높게 나타난 경로로 보아 2 %의 고농도 발효 미생물 접종보다 0.5 % 발효 미생물 접종이 더 효과적으로 항고혈압 및 혈관이완과 같은 혈행개선 효과가 우수한 것으로 조사되었다.

### 3.10 발효미생물 접종량별 발효대두의 주성분분석

주성분분석(PCA; principal component analysis)을 통해 발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 품질특성과 항산화활성 그리고 지표성분(daidzein, genistein, arginine)함량 사이의 패턴을 분석하여 변수를 간략화하였다. 주성분 분석 결과, 제1주성분(PC1)과 제2주성분은 각각 98.9 %, 1.1 %의 변동량을 나타냈으며 제1주성분에 따라 발효미생물 0.5, 1, 2 % 접종군은 비접종군과 음의 상관성을 보였다(Fig. 5a). 시료의 위치와 품질특성이 같은 위치, 같은 방향에 존재할 때 그 함량이 높은 것

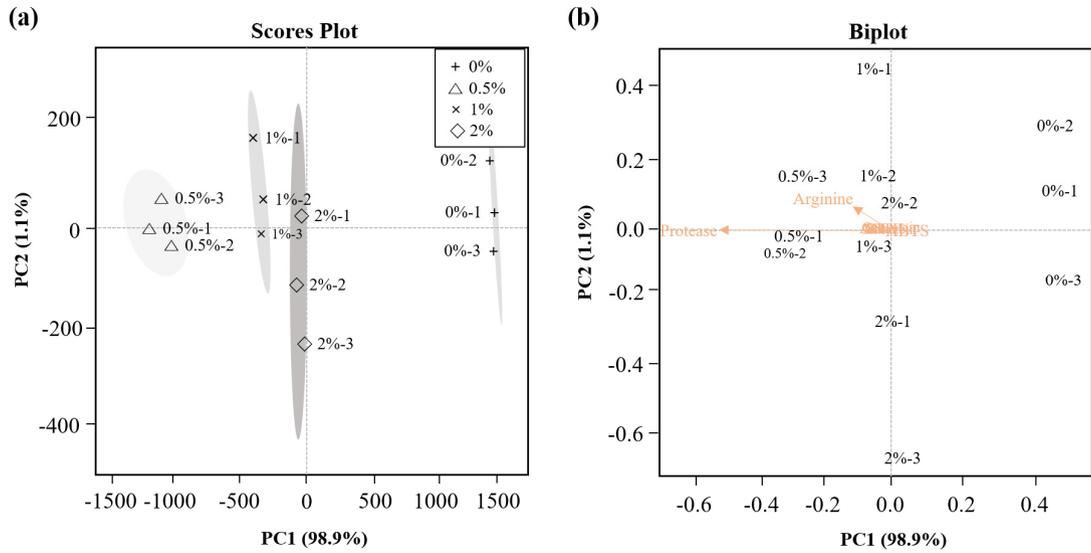


Fig. 5. Score plot(a) and biplot(b) of PCA analysis of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels.

을 의미하는데[53] 본 실험의 PCA 분석을 통해 발효미생물 비접종군은 수분함량, pH, 산도, 아미노태 질소함량, protease 활성과 같은 이화학적 특성과 항산화활성(DPPH, ABTS 라디칼 소거능), ACE저해활성 및 daidzein, genistein, arginine 함량과 반대 방향에 위치하여 그 수준이 낮은 것을 의미하며 발효미생물 0.5 % 접종군은 다른 접종군에 비해 protease 활성과 arginine 함량이

우수한 것으로 판단된다(Fig. 5b). 다변량분석에서 VIP score(variable importance in the projection) 값이 1보다 큰 경우, 그룹을 분리하는데 영향을 준 요소를 의미한다[54]. 발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 품질 특성과 항산화활성 그리고 지표성분(daidzein, genistein, arginine)함량 데이터의 VIP score를 분석한 결과, protease 활성과 arginine 함량에서 각각 VIP = 3.19,

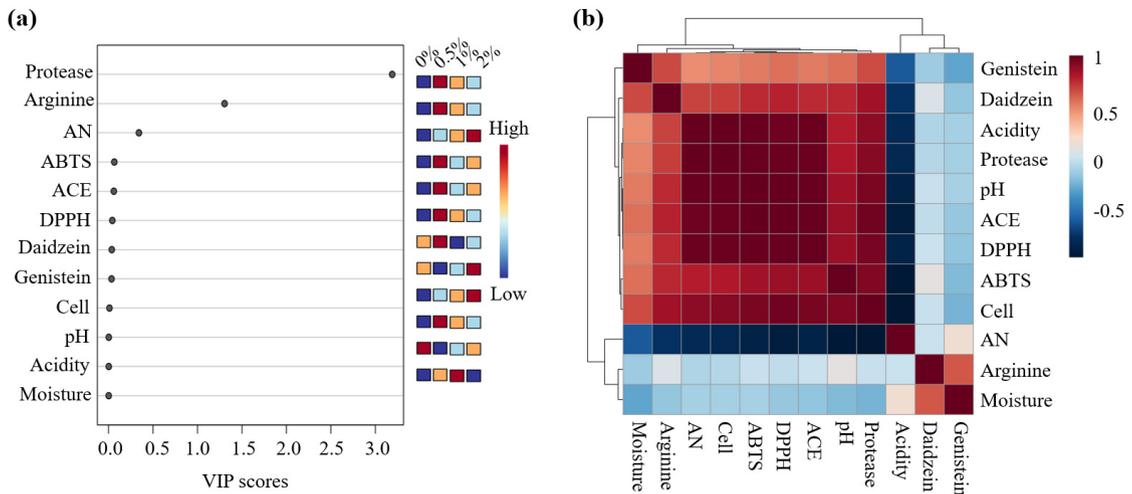


Fig. 6. VIP scores of PLS-DA analysis(a) and correlation matrix(b) between antioxidant activity and quality characteristics of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 on the different inoculum levels. The intensity of red and blue colors represents positive and negative correlations. The correlation coefficient represented AN, amino type nitrogen; ACE, ACE inhibitory activity; Cell, variable cell count.

1.30으로 확인되어 protease 활성 및 arginine함량이 발효대두 접종량에 따른 발효대두를 구분하는 가장 큰 요인으로 판단된다(Fig. 6a).

본 실험에서 대두를 발효시키는데 사용한 *B. velezensis* L2균은 protease 활성이 우수하다고 알려져 있으며[20] 발효미생물 접종량에 따른 발효대두의 품질특성과 항산화활성 그리고 지표성분(daidzein, genistein, arginine) 함량 사이의 상관관계를 분석한 결과, protease활성은 수분함량, 아미노태질소 함량, 항산화활성, ACE저해활성, arginine 함량 사이에 유의적으로 높은 양의 상관관계( $r = 0.662 \sim 0.968$ ,  $p < 0.05$ )가 확인되었다(Fig. 6b). 이와 같은 결과는 우수한 protease 활성을 보인 0.5 % 발효미생물 접종균이 수분함량, 아미노태질소 함량, 항산화활성, ACE저해활성, arginine 함량 역시 높은 결과를 보인 것과 일치하였다. 따라서 본 실험결과 발효대두는 발효미생물의 접종량에 따라 protease 활성, arginine 함량을 포함한 이화학적 특성 및 항산화활성에 차이가 있는 것을 확인할 수 있었으며 *B. velezensis* L2 균을 사용하여 대두를 발효시켰을 경우 품질 특성에 영향을 미치는 주요인자로 판단된다.

#### 4. 결론

본 연구는 protease 활성이 우수한 *B. velezensis* L2 균을 이용하여 균 접종량에 따라 대두를 발효시키고 발효대두의 품질과 생리활성을 비교분석하였다. 수분함량은 발효 후에 증가하였으나 균 접종량에 비례하여 증가하지는 않았다. 발효미생물 접종량에 따라 산도는 증가하고 pH는 감소하는 경향을 보였으며 대조구에 비해 0.5 % 접종균의 산도는 낮고 pH는 높게 나타났다. 아미노태 질소는 발효 미생물 접종량에 따라 증가하였고 2 % 접종균에서 178.7 mg%으로 대조구 대비 2.7배 높은 함량을 보였다. 발효 미생물 접종 후 중균 수는 대조구에 비해 증가하였으나 발효미생물 접종량에 따른 중균 수는 유의미한 차이를 보이지 않았다. Protease 활성은 대조구에 비해 발효 후 증가하였고 그 중 0.5 % 접종균에서 유의적으로 가장 높은 protease활성을(2.655 unit/g) 나타내었다. 대조균을 포함하여 접종량에 따른 발효대두 시료 모두 히스타민 함량이 검출되지 않았다. 발효 후 대두 추출물의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능이 유의적으로 증가하였으며 그중 0.5 % 접종한 발효대두에서 각각 70, 69.5 %의 우수한 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 나타내

었다. 또한, 100 µg/mL 농도의 0.5 % 접종균에서 64.2 %의 높은 ACE 저해활성이 나타났고 모든 추출물 농도에서 높은 ACE 저해활성을 보였다. 마지막으로 daidzein 함량은 발효미생물 접종량에 관계없이 검출되었으며 genistein함량은 대조구 대비 발효 대두시료에서 높은 함량을 보이진 않았으며 발효미생물 접종량에 따라 함량이 증가하였다. 발효 후 L-arginine 함량은 대조구 대비 크게 증가 하였으며 0.5 % 접종균에서 2,350 µg/g으로 가장 높은 L-arginine 함량을 나타내었다. 본 실험 결과에 따라 0.5 %의 *B. velezensis* L2 균을 이용하여 제조한 발효대두는 우수한 protease활성, 항산화 활성 및 항고혈압활성을 나타내었으며 이는 발효 대두의 품질 향상과 신제품 개발에 기초자료로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

#### References

- [1] K. I. Chen, M. H. Erh, N. W. Su, W. H. Liu, C. C. Chou, et al., "Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications", *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.96, pp.9-22, Aug. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4330-7>
- [2] B. Xu, S. K. Chang, Z. Liu, S. Yuan, Y. Zou, et al., "Comparative studies on the chemical and cell-based antioxidant activities and antitumor cell proliferation properties of soy milk manufactured by conventional and commercial UHT methods", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.58, No.6, pp.3558-3566, Feb. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf903796c>
- [3] S. Shukla, J. Park, D. H. Kim, S. Y. Hong, J. S. Lee, et al., "Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture Doenjang, a Korean fermented soybean sauce variety", *Food Control*, Vol.59, pp.854-861, Jul. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.003>
- [4] M. K. Sundaram, M. Z. Ansari, A. Al Mutery, M. Ashraf, R. Nasab, et al., "Genistein induces alterations of epigenetic modulatory signatures in human cervical cancer cells", *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, Vol.18, No.3, pp.412-421, Mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871520617666170918142114>
- [5] V. S. Vallabha, P. K. Tiku, "Antihypertensive peptides derived from soy protein by fermentation", *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, Vol.20, pp.161-168, Nov. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10989-013-9377-5>
- [6] H. M. Yusof, N. M. Ali, S. K. Yeap, W. Y. Ho, B. K.

- Beh, et al., "Anti-inflammatory, analgesic and acute toxicity effects of fermented soybean", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.19, pp.1-7, Dec. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2791-2>
- [7] J. H. Mah, "Fermented soybean foods: significance of biogenic amines", *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, Vol.3, No.1, pp.1-3, Mar. 2015.
- [8] U. Shin, Y. Choi, J. Kim, J. Lee, "Current Status and Future of Jang Industry", *Food Industry and Nutrition*, Vol.24, No.1, pp.15-19, Jun. 2019.
- [9] Ministry of Food and Drug Safety(MFDS), Production performance of food etc, in 2021, Ministry of Food and Drug Safety, Korea, pp.113.
- [10] S. Sanjukta, A. K. Rai, "Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits", *Trends in Food Science & Technology*, Vol.50, pp.1-10, Jan. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.010>
- [11] W. He, H. Y. Chung, "Exploring core functional microbiota related with flavor compounds involved in the fermentation of a natural fermented plain sufu (Chinese fermented soybean curd)", *Food Microbiology*, Vol.90, pp.103408, Dec. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103408>
- [12] J. Lee, S. Heo, J. Choi, E. Pyo, M. Lee, et al., "Application of *Lactococcus lactis* HY7803 into Soybean Fermentation for Production of Glutamic Acid", *Microbiology and Biotechnology Letters*, Vol.51, No.1, pp.53-59, Feb. 2023.  
DOI: <https://doi.org/10.48022/mbl.2301.01006>
- [13] S. Kwun, J. Yoon, E. Park, M. Kim, "Improving the aglycon isoflavone content in soybean leaf extracts by lactic acid fermentation", *Journal of Agricultural, Life and Environmental Sciences*, Vol.31, No.3, pp.160-170, Dec. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.22698/jales.20190019>
- [14] H. Song, M. J. seo, H. S. Kim, H. S. Choi, J. Park, et al., "Physico-Chemical Properties of Korean Soybean (*Glycine max* L.) and Tempeh by *Rhizopus* sp. from Soybean Cultivars", *Journal of the East Asian Society of Dietary Life*, Vol.31, No.5, pp.281-290, Oct. 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.17495/easdl.2021.10.31.5.281>
- [15] M. Granito, A. Torres, J. Frías, M. Guerra, C. Vidal-Valverde, "Influence of fermentation on the nutritional value of two varieties of *Vigna sinensis*", *European Food Research and Technology*, Vol.220, pp.176-181, Sep. 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1011-5>
- [16] S. Sanjukta, A. K. Rai, A. Muhammed, K. Jeyaram, N. C. Talukdar, "Enhancement of antioxidant properties of two soybean varieties of Sikkim Himalayan region by proteolytic *Bacillus subtilis* fermentation", *Journal of Functional Foods*, Vol.14, pp.650-658, Feb. 2015.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.033>
- [17] J. Shin, N. Joo, "Component changes in antioxidant activity and isoflavones ( $\beta$ -glucoside & aglycone) contents of small black bean according to different cooking methods", *Korean Journal of Food and Cookery Science*, Vol.32, No.2, pp.197-203, Mar. 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.9724/kfcs.2016.32.2.197>
- [18] E. Cho, Y. H. Yoon, "Quality characteristics of Cheongkookjang made with lentils according to fermentation time", *Culinary Science & Hospitality Research*, Vol.26, No.6, pp.203-213, Jun. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.20878/cshr.2020.26.6.019>
- [19] H. Y. Kim, B. S. Kim, H. S. Ko, S. Y. Kim, G. J. Ha, "Quality characteristics and comparison of microbial community in traditional Doenjang by aging period in Gyeongnam province", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.34, No.1, pp.58-68, Jan. 2021.  
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2021.34.1.058>
- [20] J. S. Park, H. W. Lee, Y. S. Seo, E. J. Yang, "Quality characteristics of anchovy-Meju fermented with *Bacillus velezensis* L2", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.49, No.9, pp.1000-1008, Sep. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2020.49.9.1000>
- [21] D. S. Shin, I. D. Choi, S. K. Lee, J. Y. Park, N. G. Kim, K. H. Jeong, C. H. Park, H. S. Choi, "Quality change of fermented soybean products by *Aspergillus* spp. from soybean cultivar", *Food Engineering Progress*, Vol.23, No.4, pp.258-264, Oct. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.13050/foodengprog.2019.23.4.258>
- [22] Ministry of Food and Drug Safety(MFDS), Standards and specifications for food, Food General test method, Ministry of Food and Drug Safety, Korea, pp.22-23.
- [23] H. J. Kim, J. J. Lee, M. J. Cheigh, S. Y. Choi, "Amylase, pretease, peroxidase and ascorbic acid oxidase activity of Kimchi ingredients", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.30, No.6, pp.1333-1338, Dec. 1998.
- [24] M. S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol.181, No.4617, pp.1199-1200, 1958.
- [25] A. L. Dawidowicz, M. Olszowy, "Antioxidant properties of BHT estimated by ABTS assay in systems differing in pH or metal ion or water concentration", *European Food Research and Technology*, Vol.232, pp.837-842, 2011.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1451-7>
- [26] M. Y. Kim, M. Kim, J. H. Hwang, S. Kim, Y. J. Jeong, "Comparison of quality characteristics of Doenjang reduced of sodium content", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.24, No.6, pp.771-777, Oct. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.6.771>
- [27] S. Y. Lee, S. H. Baik, Y. J. Ahn, J. Song, J. H. Kim, et al., "Quality characteristics of commercial Korean types of fermented soybean sauces in China", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.45,

- No.6, pp.796-800, Oct. 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.6.796>
- [28] E. J. Jeong, H. S. Yoon, I. J. Kim, S. T. Hong, S. Y. Kim, et al., "Quality characteristics of whole soybean meju doenjang prepared with addition times and starter contents", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.47, No.11, pp.1159-1168, Nov. 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2018.47.11.1159>
- [29] D. S. Shin, I. D. Choi, S. K. Lee, J. Y. Park, N. G. Kim, et al., "Physicochemical characteristics of fermented soybean products with *Aspergillus* Strain", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.33, No.3, pp.279-286, May. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2020.33.3.279>
- [30] S. K. Lee, J. G. Lim, Y. S. Lee, S. H. Ji, P. H. Kim, et al., "Comparison of the quality characteristics and microbial community of traditional doenjang across fermentation places", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.29, No.7, pp.1059-1078, Oct. 2022.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2022.29.7.1059>
- [31] M. H. Jeong, S. O. Bang, K. S. Kim, "Quality characteristics and vitamin K 2 (MK-7) productivity of Cheonggukjang fermented by *Bacillus subtilis* SRCM100757 with different inoculum concentrations and fermentation time", *Journal of the East Asian Society of Dietary Life*, Vol.27, No.3, pp.341-347, Jun. 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.17495/easdl.2017.6.27.3.341>
- [32] D. S. Shin, C. H. Park, I. D. Choi, S. K. Lee, J. Y. Park, et al., "Quality properties of soy-paste soybean cultivar for fermented soybean products", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.32, No.2, pp.114-121, Mar. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2019.32.2.114>
- [33] S. Y. Lee, J. H. Lee, G. H. Hong, Y. L. Lim, J. H. Kim, et al., "Increased qualities and health functional effects of ganjang fermented in onggi", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.29, No.3, pp.407-417, Jun. 2022.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2022.29.3.407>
- [34] H. I. Oh, S. M. Eom, "Changes in microflora and enzyme activities of cheonggukjang prepared with germinated soybeans during fermentation", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.40, No.1, pp.56-62, Nov. 2008.
- [35] D. S. Shin, H. Y. Park, J. Y. Park, E. y. Sim, H. S. Kim, et al., "Change of quality characteristics of Meju during fermentation with multiple starters", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.33, No.5, pp.524-531, Oct. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2020.33.5.524>
- [36] C. E. Hwang, K. M. Cho, O. S. Joo, "Diversity of *Bacillus* groups isolated from fermented soybean foods ('Doenjang' and 'Kanjang') and their fermentation characteristics of 'Cheonggukjang'", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.27, No.7, pp.946-958, Oct. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2020.27.7.946>
- [37] K. O. Jeong, K. S. Oh, K. H. Moon, D. G. Kim, S. Y. Im, E. J. Lee, N. R. Kim, W. Kim, H. J. Kim, J. H. Lee, "Antioxidant activity and physicochemical composition of fermented *Vigna angularis* using *Bacillus subtilis* KCCM 11965P", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.24, No.7, pp.975-982, Nov. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.7.975>
- [38] K. H. Lee, E. J. Kim, H. S. Choi, S. Y. Park, J. H. Kim, et al., "Quality characteristics of popped rice Doenjang prepared with *Bacillus subtilis* strains", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.22, No.4, pp.545-552, Aug. 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.4.545>
- [39] Y. K. Seon, J. S. Park, E. J. Yang, "Isolation of microorganism with high protease activity from Doenjang and production of Doenjang with isolated strain", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.50, No.1, pp.79-87, Dec. 2021.  
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2021.50.1.79>
- [40] J. H. Mah, Y. K. Park, Y. H. Jin, J. H. Lee, H. J. Hwang, "Bacterial production and control of biogenic amines in Asian fermented soybean foods", *Foods*, Vol.8, No.2, pp.85, Feb. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8020085>
- [41] H. Joosten, M. Nunez, "Prevention of histamine formation in cheese by bacteriocin-producing lactic acid bacteria", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.62, No.4, pp.1178-1181, Apr. 1996.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.62.4.1178-1181.1996>
- [42] I. S. Um, K. S. Park, "Biogenic amine contents of commercial salted and fermented sand lance *Ammodytes personatus* sauces", *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol.48, No.6, pp.883-887, Dec. 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0883>
- [43] N. Y. Gil, B. Y. Choi, S. Y. Park, Y. S. Cho, S.nY. Kim, "Physicochemical properties of Doenjang using grain type Meju fermented by *Aspergillus oryzae* and protease", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.24, No.5, pp.697-706, Aug. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.5.697>
- [44] C. E. Hwang, K. M. Cho, S. C. Kim, O. S. Joo, "Change in physicochemical properties, phytoestrogen content, and antioxidant activity during lactic acid fermentation of soy powder milk obtained from colored small soybean", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.25, No.6, pp.696-705, Aug. 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2018.25.6.696>
- [45] S. Taddei, L. Bortolotto, "Unraveling the pivotal role of bradykinin in ACE inhibitor activity", *American Journal of Cardiovascular Drugs*, Vol.16, No., pp.309-321, Jun. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s40256-016-0173-4>
- [46] H. Wang, S. Zhang, Y. Sun, Y. Dai, "ACE-inhibitory

peptide isolated from fermented soybean meal as functional food”, *International Journal of Food Engineering*, Vol.9, No.1, pp.1-8, Jun. 2013.  
DOI: <https://doi.org/10.1515/ijfe-2012-0207>

- [47] Y. Hu, C. Ge, W. Yuan, R. Zhu, W. Zhang, et al., “Characterization of fermented black soybean natto inoculated with *Bacillus natto* during fermentation”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.90, No.7, pp.1194-1202, Mar. 2010.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3947>
- [48] S. Incir, I. M. Bolayirli, O. Inan, M. S. Aydın, I. A. Bilgin, et al., “The effects of genistein supplementation on fructose induced insulin resistance, oxidative stress and inflammation”, *Life sciences*, Vol.158, pp.57-62, Jun. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.06.014>
- [49] S. M. Nachvak, S. Moradi, J. Anjom-Shoae, J. Rahmani, M. Nasiri, et al., “Soy, soy isoflavones, and protein intake in relation to mortality from all causes, cancers, and cardiovascular diseases: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies”, *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, Vol.119, No.9, pp.1483-1500. Jul. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.04.011>
- [50] G. Siasos, D. Tousoulis, C. Vlachopoulos, C. Antoniadis, E. Stefanadi, et al., “Short-term treatment with L-arginine prevents the smoking-induced impairment of endothelial function and vascular elastic properties in young individuals”, *International Journal of Cardiology*, Vol.126, No.3, pp.394-399, Jun. 2008.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.04.057>
- [51] R. Shahzad, A. Shehzad, S. Bilal, I.J. Lee, “*Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 as a new potential strain for augmenting biochemical and nutritional composition of fermented soybean”, *Molecules*, Vol.25, No.10, pp.2346, May. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25102346>
- [52] M. W. Ali, R. Shahzad, S. Bilal, B. Adhikari, I. D. Kim, et al., “Comparison of antioxidants potential, metabolites, and nutritional profiles of Korean fermented soybean (Cheonggukjang) with *Bacillus subtilis* KCTC 13241”, *Journal of Food Science and Technology*, Vol.55, No.8, pp.2871-2880, Jun. 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3202-2>
- [53] H. Jeon, S. Lee, S. Kim, Y. Kim, “Quality characteristics of modified doenjang and traditional doenjang”, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.45, No.7, pp.1001-1009, May. 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.7.1001>
- [54] G. Zengin, K. I. Sinan, M. F. Mahomoodally, S. Angeloni, A. M. Mustafa, et al., “Chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory properties of different extracts obtained from spent coffee ground and coffee silverskin”, *Foods*, Vol.9, No.6, pp.713, 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9060713>

김진솔(Jin-Sol Kim)

[준회원]



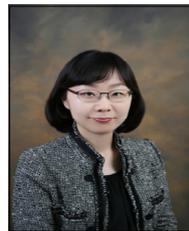
- 2017년 2월 : 조선대학교 생명과학 (이학사)
- 2019년 2월 : 조선대학교 일반대학원 생명과학 (이학석사)
- 2019년 4월 ~ 현재 : 조선대학교 자연과학대학 생명과학 연구원

<관심분야>

식물생리, 분자생물

양은주(Eun Ju Yang)

[정회원]



- 2008년 2월 : 조선대학교 식품영양학과 (이학박사)
- 2010년 9월 ~ 2012년 1월 : 조선대학교 산학협력단 연구교수
- 2012년 2월 ~ 현재 : (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터 연구개발팀장

<관심분야>

식품공학, 기능성식품

이현화(Hyun-Hwa Lee)

[정회원]



- 1998년 2월 : 조선대학교 일반대학원 생물학과 (이학석사)
- 2002년 8월 : 조선대학교 일반대학원 생물학과 (이학박사)
- 2006년 3월 ~ 현재 : 조선대학교 생명과학 교수

<관심분야>

식물생리, 분자생물