



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

碩士學位論文

제주산 소립종콩의 초음파 처리 및
발효에 따른 생리활성 변화 연구

濟州大學校 大學院

食品工學科

高 允 範

2022年 2月

제주산 소립종콩의 초음파 처리 및 발효에 따른 생리활성 변화 연구

指導教授 千 智 蓮

高 允 範

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2021年 12月

高允範의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 任 尙 彬 ㉠

委 員 朴 恩 珍 ㉠

委 員 千 智 蓮 ㉠

濟州大學校 大學院

2021年 12月

A study on the changes in biological activity
of small grain soybeans from Jeju according to
ultrasonic treatment and fermentation

Yoon-bum Ko

(Supervised by professor Ji-Yeon Chun)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement
for the degree of Master of Engineering

2021. 12

This thesis has been examined and approved.

Sang-Bin Lim, Prof. of Food Science and Engineering Dept.
Eun-JIN Park, Prof. of Food Science and Engineering Dept.
Ji-Yeon Chun, Prof. of Food Science and Engineering Dept.

Dec. 2021

Department of Food Science and Engineering
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

CONTENTS

ABSTRACT	1
LIST OF FIGURES	2
LIST OF TABLES	3
1. 서론	4
2. 재료 및 방법	
2.1. 두유제조.....	8
2.2. 초음파 처리.....	8
2.3. 유산균을 이용한 콩 발효물 제조.....	11
2.3.1. 유산균 분리.....	11
2.3.2. 분리된 유산균으로부터 GABA 생성 확인.....	11
2.3.3. GABA 생성균의 동정.....	14
2.3.4. 유산균 발효물 제조.....	16
2.4. 분석방법.....	17
2.4.1. pH 및 적성 산도(TA).....	17
2.4.2. 가용성고형물.....	17
2.4.3. 색도.....	17
2.4.4. 환원당 함량.....	17
2.4.5. DPPH radical scavenging activity.....	18
2.4.6. ABTS radical scavenging activity.....	18
2.4.7. 총 폴리페놀 함량.....	19
2.4.8. 이소플라본 함량.....	19
2.4.9. γ -aminobutyric acid(GABA)의 정성 분석.....	20
2.4.10. γ -aminobutyric acid(GABA)의 정량 분석.....	20
2.4.11. 통계처리.....	21

3. 결과 및 고찰	
3.1. 초음파 처리에 따른 두유의 pH와 색도.....	22
3.2. 유산균 발효에 의한 pH와 산도, 생균수.....	24
3.3. 가용성 고형물과 환원당.....	26
3.4. 라디칼 소거활성 및 총페놀함량.....	28
3.5. 이소플라본 함량	30
3.6. GABA 생성 능력.....	32
3.7. GABA 정량분석.....	34
4. 결론.....	36
국문요약.....	37
REFERENCES.....	39

ABSTRACT

This study was conducted to study the changes in the physiological activity of soymilk made from 'Shinhwa Soybean' grown in Jeju due to ultrasound and fermentation. Soymilk was prepared by preparing Shinhwa soybeans (SH) and Baektae soybeans (BT). After removing the bean fat, soybean milk was heated, soaked in water, pulverized, and sonicated (0, 3, 6, 9, 12 min). For fermentation, the lactic acid bacteria were isolated from kimchi, and then the formation of GABA was confirmed. Moreover, the lactic acid bacteria with confirmed GABA formation were identified as *Lactobacillus brevis* by 16S rRNA sequencing, which was then used in this experiment. After sonication, solid content, pH, color, reducing sugar, ABTS free radical scavenging activity, DPPH free radical scavenging activity, total phenol content, isoflavone content, GABA formation, and quantification were evaluated. Experimental results indicated that the solid content increased depending on the ultrasonic treatment time. The ultrasonic treatment was effective in reducing sugar increased as the sonication time increased. In the antioxidant activity analysis, Shinhwa soybean increased in ABTS free radical scavenging activity and total polyphenol content. In addition, both ABTS free radical scavenging activity and DPPH free radical scavenging activity increased after fermentation, and the total polyphenol content of Shinhwa soybeans increased even after fermentation. In the isoflavone analysis, it was confirmed that glycosides greatly decreased and aglycones increased according to the fermentation of lactic acid bacteria. The GABA content was also increased after fermentation.

LIST OF FIGURES

Figure 1.	Production of ultrasound processed soymilk.....	10
Figure 2.	TLC chromatogram of GABA. Lanes 1-3 : 0.5%, 1% and 5% MSG standard. Lanes 4-6 : 0.5%, 1%, and 5% GABA standard. Lanes 7-19 : Isolated lactic acid bacteria	13
Figure 3.	16S rRNA sequences-based phylogenetic tree showing the location of bacteria isolated from kimchi	15
Figure 4.	TLC chromatogram of GABA before and after lactic acid bacteria fermentation	33
Figure 5-1.	Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) of different soybean milk (SH) depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process.....	35
Figure 5-2.	Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) of different soybean milk (BT) depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process.....	35

LIST OF TABLES

Table 1.	Changes in pH and color of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time	23
Table 2.	Changes in pH, acidity, and viable cell numbers of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process	25
Table 3-1.	Changes in solid content and reducing sugar of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time	27
Table 3-2.	Changes in Reducing sugar of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process.....	27
Table 4.	Changes in ABTS, DPPH radical scavenging and total phenolic contents of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process.....	29
Table 5.	Changes in Isoflavone contents of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the <i>Lactobacillus sp. KYB12</i> fermentation process	31

1. 서론

최근 간편식에 대한 식품 산업계의 혁신적인 변화로 다양한 간편식이 소개되고 있고, 그에 따라서 소비자들의 소비형태도 변화되고 있다. 또한 노인인구의 증대로 인하여 노인층이 새로운 소비층으로 부각 되고 있고, 그에 따른 식품 산업계의 신규 제품 출시도 빠르게 진행되고 있다. 노인층의 영양과 건강을 고려한 건강식품에서부터 저작능력을 고려한 연하식품까지 다양한 제품이 나오고 있다 (kim 등, 2014). 특히 경제력을 보유하면서 건강한 삶을 추구하는 노인층의 건강식품에 대한 수요는 미래의 산업을 변형시킬 정도이다.

다양한 식품소재 중 콩(*Glycine max*)은 전통적으로 활용되어온 제품으로 동양 서양 구분 없이 노인층에게 생소한 제품이 아니다. 콩은 소화흡수가 잘 되고, 노인에게 유용한 각종 영양성분이 풍부하기 때문에 노인용 건강식품의 소재로 적합하다. 콩은 필수아미노산 균형이 우수하여 밭에서 나는 쇠고기라고 불리어 지기도 하며, 칼슘, 인 등 무기질과 비타민 등의 영양소가 높기 때문에 우수한 영양 공급원이다. 아시아에서 전통적인 식재료로써 활용되고 있고, 우리 주변에서도 흔하게 볼 수 있는 식량자원이다. 콩을 활용한 다양한 음식과 가공식품이 유통되고 있고 건강에 유익하다는 연구가 소개되면서 아시아를 포함하여 서구권에서도 많은 관심을 나타내고 있다. 콩은 특히 채식에 지향하거나 동물성 단백질 섭취를 줄이고자 하는 소비자, 그리고 우유단백질에 알레르기가 있는 소비자들에게 많은 관심이 가는 식재료라 할 수 있다(Vanga 등, 2018, Syah 등, 2015, Reilly 등, 2006, Falade 등, 2014).

하지만 최근 젊은 층뿐만 아니라 중년·노년층에게도 다양한 식재료가 공급되고, 많은 맛과 향을 경험하면서 전통적인 식재료의 취식에 거리감을 두는 경향이 나타나고 있으며, 콩 특유의 비린 맛과 풋내로 인하여 기호도가 높지 않은 것도 사실이다. 서구권의 경우도 익숙하지 않은 맛으로 단순 가공한 콩(두유 등) 제품의 섭취도 쉽지 않은 상황에서 발효된 제품을 섭취한다는 것은 어려운 일이다. 그러

나 콩의 기능성(항비만, 성인병 예방, 골다공증 예방 등)으로만 본다면 모든 연령층에게 필요한 식품이며, 특히 노인층에는 필수 식품이라고 할 수 있기에 다양한 연구를 통하여 쉽게 접근할 수 있도록 해야 한다(Lee 등, 2006). 콩은 발아 또는 발효 조건을 통하여 노인들에게 유효한 성분인 GABA(γ -aminobutyric acid) 등이 증대되며, 노인 치매 예방 등 건강한 노년을 누리기 위한 보조적인 역할로 충분히 가능하다(Lim 등, 2009, Sawai 등, 1999, Kum 등, 2004). 그리고 여러 가지 연구에서 콩은 항암과 성인병 관련 질환(Zhao 등, 2014)을 예방하고 골형성에 중요한 작용을 하며, 항산화 등 여러 가지 기능성, 그리고 영양학적으로 우수하다는 것은 잘 알려져 있어(Lee 등, 2014, Choi 등, 2005, Cassileth 등, 2003) 서구권 노인층의 관심은 더 높아질 것으로 예상된다.

콩을 이용한 가공식품 중에는 콩을 갈아서 착즙한 두유와 이를 응집시켜 만든 두부가 대표적이며 전통적으로 콩을 발효하여 만든 제품도 많이 소개되고 있다. 미생물을 이용한 발효공정으로 과거에서부터 현대까지 많은 연구 및 가공식품이 개발되었다. 식품을 오래 보관하고 맛을 개선하고자 하는 목적에서부터 현대 사람들에게 장수와 건강을 유지하는 식품으로 활용 되고 있다(Nevin 등, 2019, Gomes 등 1999). 특히 곡류, 두류, 야채류, 육류, 유제품 등 식품 발효는 전통적으로 행해지고 있기에 된장, 간장, 초절임, 소시지, 치즈, 요거트 등 각종 식품들이 우리 주변에 흔하게 제공되고 있다. 특히 콩을 발효한 제품의 경우는 각 나라, 그리고 그 나라의 지역마다 고유의 발효 방법이 있으며, 한국의 경우 대표적으로 메주, 된장, 간장, 청국장 등을 들 수 있고, 일본의 낫또(Natto), 인도의 템페(Tempeh) 등이 세계적으로도 잘 알려진 제품이다.

농산물에 적용되는 미생물 발효는 생리활성 및 영양의 변화를 제공하면서 맛과 향을 개선한다. 콩의 경우는 곰팡이, 효모, 유산균 등을 이용하여 다양한 발효제품을 선보이고 있다. 현대에는 콩의 특유 비린내를 줄이기 위한 목적으로 유산균을 포함한 다양한 미생물을 적용한 제품을 소개하고 있고, 그에 따르는 다양한 기능성 개선에 관한 연구도 소개되고 있다(Park 등, 2007, Weng 등, 2016, Hwang 등, 2018, Sajad 등, 2020). 특히 유산균은 콩의 특유의 비린내를 감소시

키고, 영양분 흡수, 면역력 강화, 장건강 등의 건강 증진 효과(Hill 등, 2014, Saadat 등, 2019)를 나타내고 있기에 많은 연구를 통하여 대두 치즈(Jianming 등, 2013, Vargas-Bello-Pérez 등, 2015), 비유제품 프로바이오틱스 음료(do Amaral 등, 2014), 발효 콩비지를 이용한 쿠키와 컵케이크(Matsuo, 1999) 등 일상에서도 활용이 가능한 제품들이 소개되고 있고, 앞으로도 다양한 가공식품으로 연구 개발이 기대되고 있다. 이와 같이 미생물을 이용하여 가공한 콩 기반의 다양한 제품들이 있으며, 그 중 두유를 발효한 콩 요거트도 연구가 진행되었다(Saito 등, 2014). 두유는 각 나라마다 제조하는 방법이 다르지만 한국과 일본에서는 콩을 삶은 후 갈아서 비지를 걸러내어 맑은 콩액을 얻고, 여기에 다양한 제조과정을 통하여 두유를 생산하게 된다(Weng 등, 2016). 이 두유에 유산균을 활용한 콩요거트를 제조할 수 있다. 콩요거트 제조과정에서 미생물이 두유에 영향을 미치는 정도에 따라 맛과 향, 기능적 특징과 영양에 차이를 나타낸다(Hui 등, 2020). 이렇게 제조된 콩요거트는 유제품 대체를 원하는 소비자에게 관심을 받고 있으며, 발효제품의 영역을 넓히는 것에도 기여할 수 있다(Stephen, 1997).

식품 분야에서 이용되는 초음파 기술은 미생물의 생물학적 조직에 영향을 주어 파괴시키는 작용을 하여 식품의 유통기한 연장에 도움을 주며, 거대분자를 쪼개거나 분자내의 특이 성분을 추출, 분자사슬을 변형시키는 작용을 통하여 미세 분자 용액으로의 제조, 특정 성분 용출, 물성개선, 수율 증가를 기대할 수 있다(Augustin 등, 2016, Knorr 등, 2011, Jun 등, 2017). 더욱이 초음파처리가 효소처리를 대체하는 효과도 나타나면서 다양한 기능성성분이 발현되는 효과를 증대시킨다는 연구도 소개되고 있다(Awad 등, 2012). 더불어 트립신 억제제 활성 감소 등 콩 단백질의 소화율이 떨어지는 단점을 개선할 수 있다(Sai 등, 2020). 초음파는 우유의 균질 및 요거트제조, 미생물 제어 등 유제품에 사용되어지고 있기에(Wu 등, 2000, Zisu 등, 2010) 콩으로 제조한 두유 관련 식품에 적용 가능할 것으로 판단된다. 더불어 초음파 처리 후 발효과정을 거친다면 초음파처리가 응집된 분자를 풀어주고, 고형물 성분을 추출하는 성질이 있기 때문에 미생물이 활용할 수 있는 성분이 더욱더 증가되어 다양한 효과를 얻을 수 있을 것으로 예상된다.

콩나물콩으로 활용되는 소립종이 전국 제배의 80%를 제주도가 차지하고 있다 (Ko 등, 2010). 대립종에 비하여 두유 및 두부 제조에 수율이 좋지 않아 활용 가치가 제한적이기 때문에 제주지역의 소립종의 가치를 높일 수 있는 방안을 모색할 필요가 있다. 이에 제주지역에서 제배하고 있는 나물콩 중 품종육성기간, 발아율, 작물품질이 우수한 재배특성을 가지면서 이소플라본 함량이 상대적으로 높은 신화콩을 활용하여 식품 소재로의 가치를 발굴하고, 더 나아가 노인식으로서의 활용까지 기대하고자 한다.

본 연구에서는 이소플라본 함량이 상대적으로 높은 제주지역의 신화콩을 이용하며, 다양한 초음파 처리시간 및 김치 유래 유산균 발효가 두유 기능적 특징 변화에 미치는 영향을 관찰하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 두유 제조

소립종 중 하나인 ‘신화콩(SH)’을 제주도 조천읍 선흘리에 위치한 도구리영농조합법인으로부터 구입하여 사용하였다. 신화콩은 3 kg씩 소분하여 18℃ 이하의 냉장고에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 비교분석을 위해서 대립종으로 군자농협 ‘백태콩(BT)’을 농협 하나로마트에서 구입하여 사용하였다.

두유 제조방법은 Fig. 1에 나타내었다. 두유제조방법은 Ronak 등(2011)의 방법을 응용하여 제조하였다. 콩을 세척 후 원료 무게 대비 4배의 증류수를 가수하여 16시간 수침하였다. 수침이 완료되면 탈수를 하고 원료 무게 기준 5배수의 증류수를 가수하여 90~95℃에서 30분간 가열을 하고 탈수를 하였다. 여기에 원료무게 대비 6배수를 증류수로 가수하여 후드믹서(SHMF-3500G, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄 후 삼베를 이용하여 비지를 제거하였다.

신화콩으로 두유를 제조하면서 각 공정별로 제조기준을 정립하기 위하여 수분함량을 측정하였다. 신화콩의 수분은 12.5%이며, 이를 16시간 수침을 하면 2.02배(수분 61.2%)가 증량되고, 가열을 하게 되면 최종적으로 2.28배(수분63.5%)가 증량된다. 이를 분쇄하여 삼베로 여과 후 고형물 함량이 6.8%임을 확인할 수 있었다.

2.2. 초음파 처리

분쇄한 콩에서 비지를 제거 후 각 품종별로 2 L 유리비이커에 500 mL씩 5개의 샘플로 나누어 배분하였다. 초음파 처리에 의한 열 발생을 방지하기 위하여 사전에 샘플을 얼음에 담가두어 온도를 낮추었으며, 초음파 처리되는 동안에도 얼음에 담가두어 37℃가 넘지 않도록 유지하면서 실험을 진행하였다. 초음파처리는 20kHz ± 50 Hz (75%)의 주파수를 이용하였으며 최대 출력 750 watt인 초음파 기기(VCX750, SONIC & MATERIALS, INC., Newtown, CT, USA)로 처리를

하였다. Probe는 titanium 도금 처리된 Probe (25 mm, 630-0210)를 사용하였으며, 초음파의 진동자 방식은 Horn 방식으로 하였고, 처리시간은 3분(50초 작동 10초 중지 × 3회)(SH3, BT3), 6분(50초작동 10초 중지 × 6회)(SH6, BT6), 9분(50초작동 10초 중지 × 9회)(SH9, BT9), 12분(50초작동 10초 중지 × 12회)(SH12, BT12)로 나누어 조사하였다. 미처리 샘플(SH0, BT0)을 대조군으로 사용하였다.

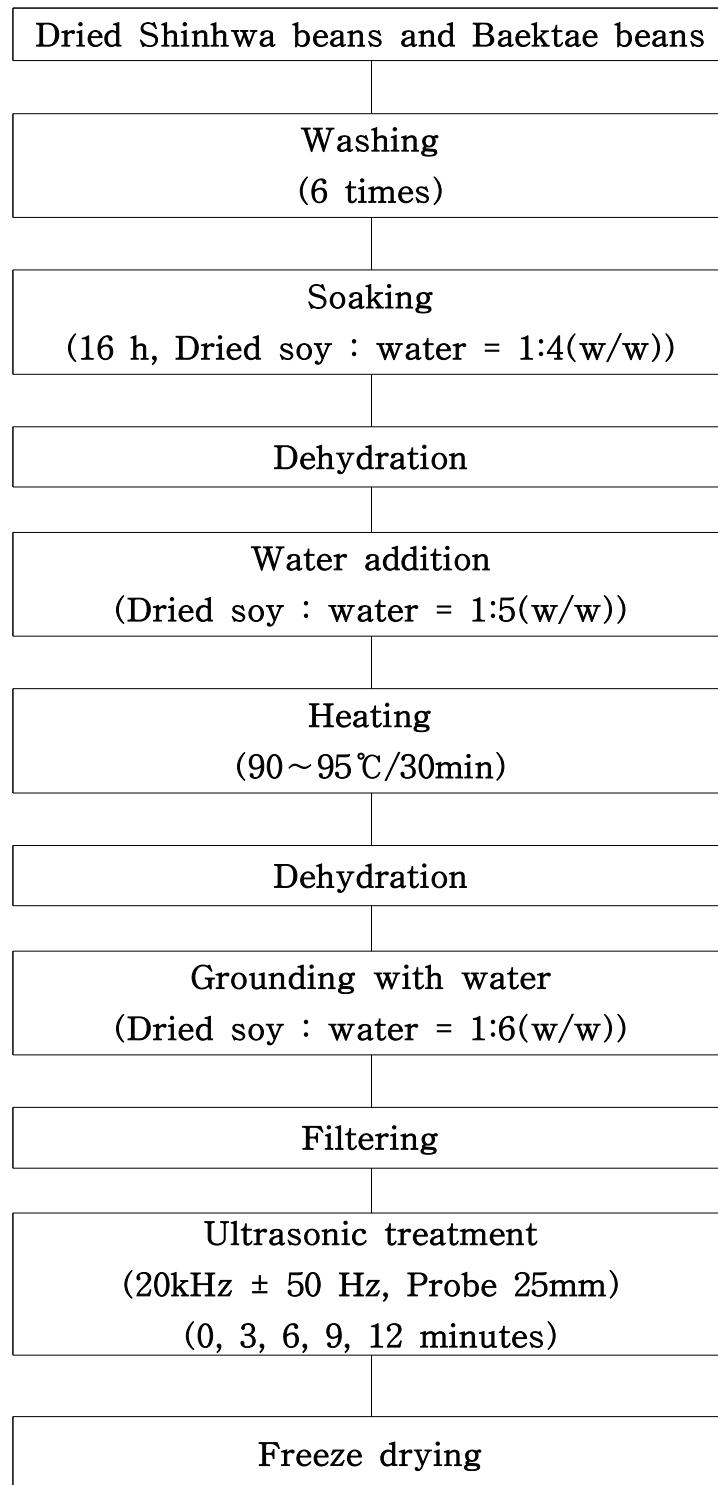


Figure 1. Production of ultrasound processed soymilk.

2.3. 유산균을 이용한 콩 발효물 제조

2.3.1. 유산균 분리

본 연구에서 시료로 사용된 유산균은 제주지역 가정집에서 직접 담근 배추김치에서 분리하였다. 배추김치를 얇게 절단한 후 0.85% NaCl 용액을 1시간 진탕교반 한 후 상온에 30분간 두고 상등액을 채취하여 $10^{-3} \sim 10^{-7}$ 까지 십진법으로 희석한 후 Bromocresol purple 0.006%(w/v)를 포함한 MRS Agar (Difco, Detroit, MI, USA)에 0.1 mL씩 평판도말법으로 접종하여 30°C에서 48시간 동안 평판배양하였다. 유산균의 분리는 성장된 균체주위가 노란색을 띄는 균체를 대상으로 크기 모양 등의 형태학적 특성에 따라 무작위로 선발하여 MRS 고체배지에 3차례 계대배양하여 순수분리 하였다. 이들 균주를 20%의 glycerol이 함유된 배지에 접종하여 -70°C의 초저온냉동고 (DF8517S, Ilshinbiobase, Daejeon, Korea)에 보관하여 사용하였다.

2.3.2. 분리된 유산균으로부터 GABA 생성 확인

배추김치로부터 분리된 유산균의 GABA 생성능 확인은 Hwang 등(2018)의 방법을 참고하였다. 분리된 20개의 유산균 균주를 5% MSG (monosodium glutamate)가 함유되어 있는 MRS 액체배지 접종한 후 30°C에서 48시간 동안 배양을 하였다. 배양된 유산균 배양액을 1.5 mL 마이크로 튜브로 옮겨 13,000 rpm에서 1분간 원심분리를 실시하였다. 그 후 상등액으로 분석을 실시하였다. GABA 분석은 silica gel 60 F254 thin layer chromatography plate (Merk Co., Darmstadt, Germany)를 이용하여 TLC 분석을 실시하였다. 전개용매는 n-butyl alcohol : acetic acid : distilled water를 4:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 실온에서 3시간 포화시켰다. TLC plate에 0.5%, 1%, 5%의 GABA표준품과 MSG 표준품, 유산균 배양액을 각각 2 μ L씩 점적하고 10-15 mm를 유지하였다. 점적 후 TLC plate의 sample를 건조한 다음 전개하였고, 전개가 끝난 TLC plate는 실온에서 약 30분간 건조시켰다. 건조된 TLC plate에 발색시약 0.2% ninhydrin (Sigmaaldrich, St. Louis, MO, USA) 용액을 뿌리고 heat gun으로 발색 유도하여 확인하였다. 표준시약의 GABA 위치와 시료의 밴드를 비교하여 확인하였고,

Lane14와 Lane18이 표준시약인 GABA와 동일한 위치의 spot이 나타나서 초기 배양에 첨가한 MSG가 GABA로 전환되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 그리하여 분리된 12종의 유산균 중 GABA 생성능이 있는 것으로 확인되는 균주를 각각 KYB08과 KYB12로 정하고 동정을 진행하였다.

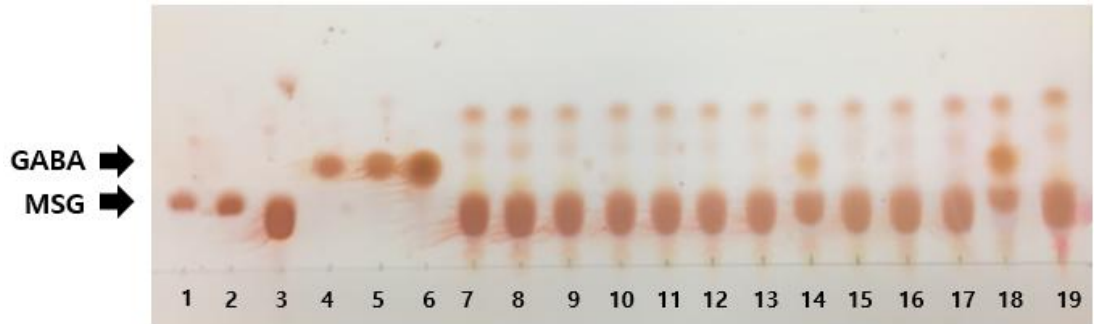
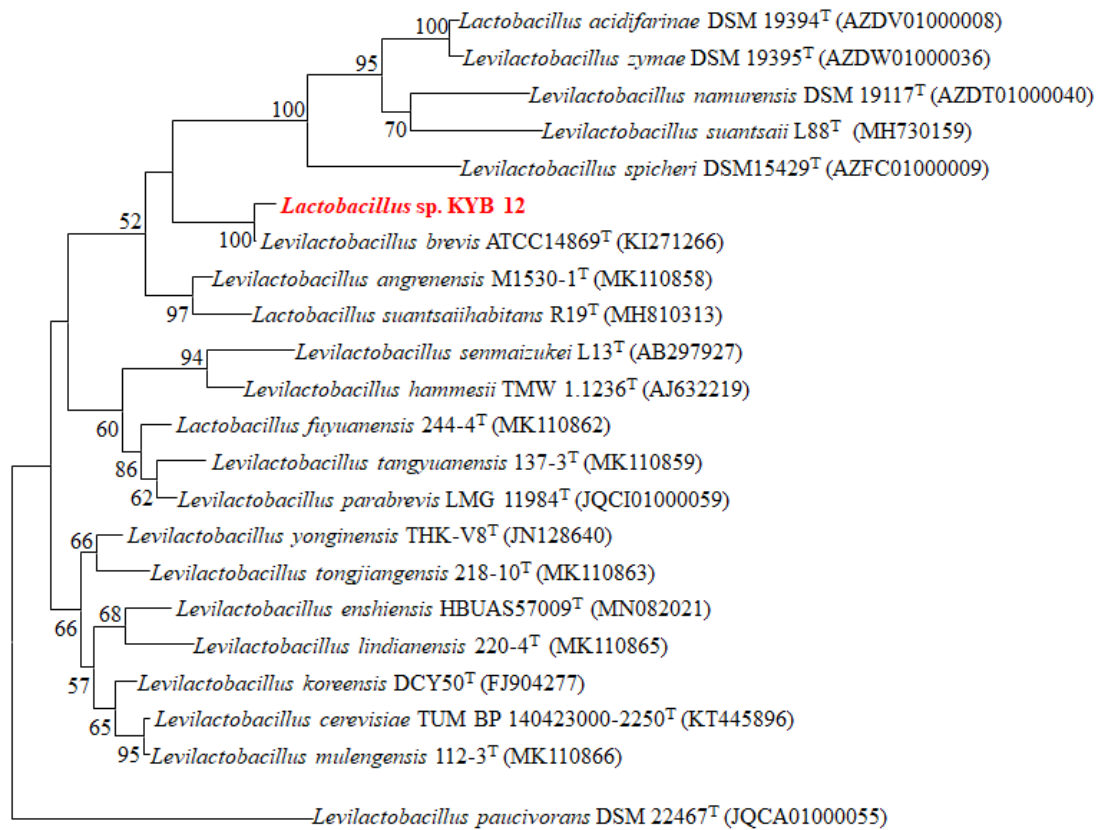


Figure 2. TLC chromatogram of GABA. Lanes 1-3 : 0.5%, 1% and 5% MSG standard. Lanes 4-6 : 0.5%, 1%, and 5% GABA standard. Lanes 7-19 : Isolated lactic acid bacteria.

2.3.3. GABA 생성균의 동정

GABA형성이 우수한 유산균 *Lactobacillus* SP.를 선발하고 16S rRNA 염기서열을 이용한 균주 동정은 바이오팩트에 의뢰하여 6S rRNA 염기서열을 통해 분석하였으며. BLASTn (Nucleotide Basic local alignment search tool) search와 CLUSTAL W 프로그램을 사용하여 해독된 균주의 염기서열과 서열 일치도가 높은 표준균주의 16S rRNA 유전자 염기서열을 비교하여 동정하였다.

계통학적 분석은 Clustal X, BioEdit, MEGA 4 (www.megasoftware.net/)를 이용하여 염기서열간의 유전적 거리와 phylogenetic tree를 확인하였고, *Lactobacillus brevis* ATCC 14869와 상동성이 99.93%으로 가장 높은 것으로 나타났다(Fig. 3).



0.0050

Figure 3. 16S rRNA sequences-based phylogenetic tree showing the location of bacteria isolated from kimchi.

2.3.4 유산균 발효물 제조

콩발효액을 제조하기 위하여 먼저 유산균을 배양하였다. 1차 균주 배양을 MRS 액체 배지를 제조하여 멸균을 진행하였다. 이 MRS 액체배지에 유산균을 접종한 후 30℃에서 24시간 배양하여 접종원으로 사용하였다. 배양된 균주를 초음파처리 된 두유(SH0, SH3, SH6, SH9, SH12, BT0, BT3, BT6, BT9, BT12) 샘플 150 mL에 각각 2%(v/v)되게 (초기균수를 약 1.0×10^6 CFU/mL) 접종하여 30℃의 항온배양기에서 72시간 동안 정치배양 하였다. 발효가 완료된 발효액 (FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12, FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12)은 동결건조(Cool safe 100, Fujitsu, JPN) 후 냉동보관을 하였고, 분석이 필요할 때 마다 소분하여 활용하였다.

2.4. 분석방법

2.4.1. pH 및 적정 산도(TA)

초음파처리 및 발효된 두유를 5 mL 준비하여 pH-meter (S470 SevenExcellence™, Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였다. 산도 적정은 페놀프타레인을 지표로 하여 0.1 N NaOH를 사용하여 측정하였고 샘플 1 mL당 젖산 mg 당량으로 표시하였다. 모든 측정은 3회 반복하였다.

2.4.2. 가용성고형물

초음파처리로 제조된 두유를 vortex mixer로 잘 혼합한 후 당도계(PAL-BX | ACIC181 Master Kit, ATAGO Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고 모든 측정은 3회 반복하였다.

2.4.3. 색도

초음파처리 두유의 색도를 측정하기 위하여 페트리디쉬(35 mm × 10 mm)에 두유를 가득담은 후 Colorimeter (PCR-TCR 200, PCE Americas Inc., Jupiter, FL, USA)를 이용하여 페트리디쉬 중앙 부분의 명도(CIE L^* : lightness), 적색도(CIE a^* : redness), 황색도(CIE b^* : yellowness)를 측정하였다. 표준백색판은 L^* value: 92.91, a^* value: 4.15, b^* value: -15.24의 값을 나타냈으며, 모든 측정은 3회 반복하였다.

2.4.4. 환원당 함량

초음파처리 및 발효된 두유의 환원당 분석을 위하여 Miler(1959)의 Dinitrosalicylic acid (DNS)법을 이용하여 함량을 분석하였다. 1/10 농도로 희석을 하고 시료 1 mL에 DNS시약을 3 mL를 첨가하여 반응을 위하여 90°C에서 5

분간 반응시키고 실온에서 냉각하였다. 그리고 UV spectrophotometer (DS-11, DeNovix, DE, USA)로 50 nm 흡광도로 측정하였다. Glucose를 표준시료로 하여 0, 200, 400, 600, 800, 1000 µg/mL의 농도를 측정하여 등온곡성을 작성하여 비교하였다.

2.4.5. DPPH radical scavenging activity

초음파처리 및 발효된 두유의 DPPH free radical 소거 능력을 측정하기 위하여 Mensor 등(2001)의 방법으로 측정하였다. 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 에탄올에 녹여 0.3 mM DPPH 용액을 준비하였다. 동결 건조된 시료 1 g을 10 mL의 에탄올에 녹이고 이 용액을 2.0 mL 채취하여 0.3 mM DPPH 용액 0.8 mL와 혼합하였다. 이 혼합용액을 빛이 없는 암소에 30분간 발색시켰다. 발색이 완료된 후 spectrophotometer를 통하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 분석의 Control은 증류수를 사용하였고, ascorbic acid를 양성대조군으로 하여 비교하였다. 계산식은 아래와 같다.

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}}\right) \times 100$$

2.4.6. ABTS radical scavenging activity

초음파처리 및 발효된 두유의 ABTS free radical 소거능력을 확인하기 위하여 변형된 Nicoletta 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 7 mM ABTS수용액 [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]과 2.45 mM potassium persulfate를 준비하고 혼합하여 암실에서 16시간 반응시킨다. UV/Vis-spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.05가 되도록 에탄올로 희석한다. 희석된 ABTS용액 1.9 mL과 시료 0.05 mL를 혼합하여 6분간 상온에서 정치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{ABTS radical scavenging (\%)} = \frac{1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

2.4.7. 총 폴리페놀 함량

초음파처리 두유와 발효액의 페놀화합물의 양을 측정하기 위하여 Singleton & Rossi (1965)의 방법으로 Folin-reagent가 샘플의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 청색으로 발생하는 원리를 이용하였다. 동결건조된 샘플 1 g을 증류수 900 uL에 혼합한 후 2 M Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 uL을 첨가하였다. 그리고 빛이 없는 암소에 5분간 반응 시켰다. 2% Na₂CO₃ 300 uL를 준비하여 실험 용액에 혼합하고 증류수로 2 mL 정용하였다. 다시 암소에서 1시간 반응을 시키고 spectrophotometer 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid 용액으로 0, 200, 400, 600, 800, 1,000 µg/mL으로 작성하였다. 샘플의 총 페놀 함량은 100 mL중의 mg gallic acid equivalents(GAE)로 표현하였다.

2.4.8. 이소플라본 함량

초음파처리 및 발효된 두유의 이소플라본 함량 분석은 Lee등(2019)의 방법으로 측정하였다. 동결건조가 되어있는 샘플에 샘플 중량 대비 20배 헥산을 혼합하고 상온에서 2시간 교반하고, 원심분리(7,800 rpm, 10 min)한 후 상등액을 제거하여 건조하여 헥산과 동량의 메탄올을 첨가하고 1시간 초음파로 이소플라본을 추출하였다. 다시 원심분리(7800 rpm, 10 min)를 하여 상등액을 회수하였다. 이 상등액을 0.2µm PTEE syringe filter (Thermo Scientific, Rockwood, Germany)로 여과하여 HPLC 분석을 준비하였다. HPLC 표준용액을 제조하기 위하여 Daidzin, Glycitin, Genistin 표준품 0.001 g을 정밀히 달아 메탄올(Methanol)에 녹여 1 mL로 한 액을 표준원액으로 사용하였다. Daidzein, Glycitein, Genistein 표준품 0.001 g을 정밀히 달아 DMSO (Dimethyl Sulfoxide)에 녹여 1 mL로 한액을 표준원액으로 하였다. 표준원액을 희석하여 0.5~50 µg/mL(ppm)이 되도록 한 액을 검량선용 표준용액으로 하였다. HPLC 분석은 Column CapcellPak C18

(Shiseido, Tokyo, Japan, 4.6 × 250 mm, 5 μm)으로 진행하였다. 이동상 용매는 아세토니트릴 : 0.1% 트리플루오로아세트산이며, 유속은 분당 1.0 mL, 주입량은 10 μL로 하였으며 PDA detector (260 nm)으로 분석하였다.

2.4.9. γ -aminobutyric acid(GABA)의 정성 분석

발효 전후 두유의 MSG 분해와 GABA의 생성 능력을 확인하기 위하여 TLC plate를 이용하여 분석을 진행하였다. 비교 샘플로 Glutamic acid (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA), γ -aminobutyric acid (GABA) 표준시료 (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 준비하였다. 표준시료 (Glutamic acid, GABA)는 0.5% 농도와 1, 5%의 농도로 사용하였다. 전개는 n-butyl alcohol:acetic acid glacial:distilled water (4:1:1, v/v/v) 용액에서 전개시켰다. 각 샘플을 2 μL 씩 점적하여 건조를 시키고 전개 후 실온에 건조시켰다. 0.2% ninhydrin을 주입하여 90°C 10분 동안 발색을 시켜 GABA 생성 여부를 확인하였다.

2.4.10. γ -aminobutyric acid (GABA)의 정량 분석

동결 건조한 두유와 콩발효액은 중량 측정 후 4°C에 보관하면서 분석에 사용하였다. 건조한 시료에 10배 부피의 80% 에탄올을 넣어 5분 동안 초음파분산기로 2회 추출하였고, 5,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 mm filter로 여과 후 speed-vac을 이용하여 50°C에서 12시간 농축 건조하였다. GABA 분석을 위해 acetonitrile에 희석한 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (DNFB) solution을 사용하여 pre-column derivatization하였다. 100 μL DNFB solution 및 180 μL 추출물, 100μL NaHCO₃ (0.5 M, pH 9.0), 20 μL distilled water를 넣고 교반하여 60°C에서 60분 동안 암반응하였다. 반응 완료 후 실온으로 냉각하여 400 μL KH₂PO₄ (0.01 M, pH 7.0)를 넣고 15분 동안 빛을 차단시켜 반응하였다. GABA 분석은 HPLC를 이용하여 측정하였으며 Li et al. (2016)의 방법을 변형하여 진행하였다. HPLC는

Shimadzu LC-20 series (Pump: LC-20AD, Degassor: DGU-20A5R, Column oven: CTO-20A, UV/VIS detector: SPD-20A, Japan)로 구성되었으며, column은 Shim-pack GIS, ODS (250 × 4.6 mm, 5.0 μm, SIMADZU Co., Kyoto, Japan)을 사용하였다. Mobile phase로는 0.02 M potassium phosphate buffer (pH 7.0), (solution A)와 Acetonitrile (solution B)을 사용하였고, Flow rate 1.0 mL/min, column temperature 35°C, injection volume 20 μL, UV detector의 wavelength는 360 nm로 하여 GABA를 분석하였다. GABA는 0.0001-0.125 mg/mL 범위의 표준용액을 조제하여 사용하였고, 추출물은 100 mg/mL로 제조하여 사용하였으며 derivatization시킨 반응액은 0.45 mm filter로 여과하여 분석에 사용하였다.

2.4.11. 통계처리

모든 실험은 3회를 반복하여 측정하였고 결과는 평균 ± 표준 편차로 표시하였다. 분산 분석(ANOVA) 및 Tukey방법 또는 *t*-test를 적용하였고, 사후 테스트는 SPSS(version 24.0, IBM SPSS Statistics) 소프트웨어를 사용하여 유의성을 결정하였다. $P < 0.05$ 는 데이터 측정 간에 유의한 차이가 있음을 나타낸다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 초음파 처리에 따른 두유의 pH와 색도

초음파처리 시간에 따른 두 가지 콩의 pH와 색도의 변화를 Table 1.에 나타내었다. SH는 초음파처리 시간이 길어짐에 따라 pH가 낮아지는데, 처리시간이 6분이 넘어가면서 pH의 차이에 유의차를 나타내었다($p < 0.05$). BT도 초음파처리 시간이 길어지면서 pH가 낮아지고는 있지만, 유의적인 차이를 나타내지는 않았다($p < 0.05$). 색도 분석에서는 SH와 BT샘플의 L^* 값은 초음파처리 시간이 길어지면서 높게 나타났지만, 유의적인 차이가 나타나진 않았다. 즉, BT에서는 초음파 처리시간에 따라 유의적인 차이가 나타나지는 않았고($p < 0.05$), SH에서는 SH0과 SH12사이에서만 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). a^* 에서는 SH가 BT보다 녹색이 나타나고 있으며, 초음파시간에 따라 SH의 a^* 는 유의적 차이가 없었으나($p < 0.05$), BT의 경우 녹색에서 적색으로 유의적인 변화가 나타났다($p < 0.05$). b^* 는 육안 상으로도 진한 노란색이 확인이 되는 SH가 분석결과에서도 BT보다 진한 황색을 나타내었다. 더욱이 초음파처리에 따라 황색이 더 진해짐을 알 수 있는데, BT의 경우 3분간 초음파 처리 했을 때 황색이 가장 강하게 나타났고, 이후 감소하였지만 초음파 6분 처리 샘플을 제외하고 초음파처리 전보다 높은 황색 정도를 나타내었다. SH는 초음파처리 후 모든 샘플에서 BT보다 황색이 강하게 나타났으나 초음파처리 시간에 따른 유의적 차이는 없었다($p < 0.05$). 색도 측정으로 초음파처리가 두유를 더욱 더 밝고 진한 노란색을 나타내게 한다는 것을 확인할 수 있었다.

다른 연구에서도 두유의 pH와 색도를 확인할 수 있었는데, 국내산 대두로 제조한 두유의 pH가 6.38이고, L^* , a^* , b^* 가 각각 56.86, -1.32, 5.31이고(Han 등, 2017), 국내산 진품콩으로 제조한 두유는 pH가 6.80이고 L^* , a^* , b^* 가 각각 82.94, 2.43, 26.77으로 나타났다(Jeon 등, 2015). 본 연구와 같이 국내산 콩은 pH가 6.50 전후로 나타나고, 색상은 품종에 따라 밝거나 어두운 노란색의 특징을 나타내었다.

Table 1. Changes in pH and color of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time

Samples	pH	Color		
		L*	a*	b*
SH0	6.82±0.01 ^a	75.67±0.93 ^b	-2.31±0.29 ^a	3.07±0.54 ^a
SH3	6.79±0.01 ^{ab}	76.89±0.51 ^{ab}	-2.10±0.05 ^a	3.64±0.28 ^a
SH6	6.77±0.01 ^{bc}	77.01±0.57 ^{ab}	-2.05±0.07 ^a	3.38±0.44 ^a
SH9	6.75±0.01 ^c	76.41±0.10 ^{ab}	-2.06±0.15 ^a	3.75±0.37 ^a
SH12	6.78±0.03 ^{bc}	77.40±0.50 ^a	-2.12±0.18 ^a	3.24±0.13 ^a
BT0	6.88±0.24 ^a	76.90±0.07 ^a	-1.76±0.12 ^{ab}	1.64±0.24 ^{bc}
BT3	6.77±0.01 ^a	77.92±0.05 ^a	-1.57±0.04 ^a	2.12±0.06 ^a
BT6	6.76±0.15 ^a	76.87±0.94 ^a	-2.07±0.22 ^b	1.25±0.14 ^c
BT9	6.74±0.00 ^a	78.07±0.05 ^a	-1.60±0.04 ^a	1.82±0.07 ^{ab}
BT12	6.72±0.02 ^a	77.83±0.53 ^a	-1.70±0.14 ^a	1.70±0.05 ^b

Data show in mean ± standard deviation.

Different letters in the same column indicate significant differences in same bean type ($p < 0.05$). SH0, SH3, SH6, SH9, SH12 : Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes.

BT0, BT3, BT6, BT9, BT12 : Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes.

3.2. 유산균 발효에 의한 pH와 산도, 생균수

초음파처리 시간에 따라 제조된 다양한 두유를 3일간 유산균 발효시킨 후 도달한 pH와 산도, 생균수를 측정하였는데 두 품종의 두유에서 초음파 처리시간이 발효공정에 미치는 유의적인 영향은 나타나지 않았다. pH의 경우, FBT는 3.71~3.80의 범위의 pH를 나타내었고, FSH는 3.68~3.72의 범위의 pH를 나타내었다. 두 품종의 콩 모두 발효 후 pH가 대두의 등전점인 pH 4.5 이하로 나타났고, 발효하는 과정에서 두 품종 모두 커드가 형성되었다. 산도는 초음파 처리시간에 따라 계속 증가되는 경향을 보였으나 유의적 차이는 나타나지 않았다($p < 0.05$). 마찬가지로 FBT에서도 초음파처리에 대한 영향을 확인할 수 없었다. 생균수는 FSH에서는 초음파 처리시간에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, FBT는 초음파 처리시간에 따라 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다($p < 0.05$). 유의적인 차이는 없지만 초음파처리가 생균 생성에 영향을 주고, 적절한 초음파처리 조건에 따라 유산균 생육의 활성을 증대시킬 수 있을 것이라고 판단된다. 대체로 두유를 발효할 경우 비슷한 연구결과를 찾을 수 있다. 우람콩을 김치 유래 유산균으로 발효를 3일간 진행하였을 때 pH는 4.22, 산도가 1.34로 나타났으며(Hwang 등, 2020), *L. plantarum* 균주로 발효한 두유 역시 pH 3.7까지 내려갔다(Han 등, 2019). 이와 같이 유산균을 이용하여 두유를 발효하였을 경우 pH 4.0 전후로 나타났다.

Table 2. Changes in pH, acidity, and viable cell numbers of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process

Samples	Physiochemical properties		Viable cell numbers (logCFU/mL)
	pH	Acidity (%, as lactic acid)	
FSH0	3.69±0.02	0.93±0.04	8.20±0.08
FSH3	3.69±0.04	0.93±0.05	8.24±0.04
FSH6	3.68±0.03	0.93±0.05	8.20±0.04
FSH9	3.72±0.04	0.95±0.04	8.23±0.08
FSH12	3.68±0.02	1.00±0.06	8.19±0.06
FBT0	3.76±0.04	0.96±0.03	8.18±0.07
FBT3	3.72±0.06	0.97±0.03	8.22±0.04
FBT6	3.71±0.03	0.97±0.04	8.19±0.03
FBT9	3.74±0.04	0.95±0.04	8.23±0.03
FBT12	3.80±0.06	0.97±0.02	8.25±0.04

Data show in mean ± standard deviation.

There was no significant differences in same bean type ($p > 0.05$). FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12 : Fermented Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes. FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12 : Fermented Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes.

3.3. 가용성 고형물과 환원당

초음파 처리시간 및 유산균 발효공정에 따른 두유의 가용성 고형물 함량과 환원당 함량은 Table 3-1과 3-2에 각각 나타냈다. 가용성 고형물(°Brix)은 두유를 활용하여 분말이나 음료 등의 제품을 가공할 때 중요한 생산효율 지표가 되기 때문에 중요하다. SH와 BT 모두 초음파처리시간에 따라 유의적으로 가용성 고형물이 높아졌다($p < 0.05$). 즉 초음파 처리가 가용성 고형물 함량을 증진시키는데 효과적인 것으로 판단된다. 특히 SH에 대한 초음파 처리는 가용성 고형물을 BT 수준만큼 높이는 작용을 하여 신화공에 대한 초음파처리가 가공제품 제조에 효율적일 수 있다고 판단할 수 있다.

환원당은 초음파처리 시간이 길어짐에 따라 유의적인 증가를 나타내었다($p < 0.05$). 초음파처리는 SH와 BT모두에게서 동일한 증가를 나타내어 두유에 대한 초음파처리가 환원당을 증가시키는 영향을 부여한다는 것을 확인할 수 있다. 발효 후 FSH의 환원당은 뚜렷한 경향을 없으나 초음파처리 시간에 따라 감소하는 경향을 보였고, 6분 이상의 초음파처리 후 발효한 샘플에서는 유의적인 감소를 나타내었다($p < 0.05$). FBT의 경우 초음파처리에 따른 유의적 차이가 없었고($p < 0.05$), 발효 후 초음파처리 9분 처리 샘플에서 유의적인 감소를 확인하였다. 미생물은 당을 활용하기 때문에 당이 많을수록 발효 효과가 좋은 것으로 알려져 있다(Yi 등, 1998). 젖산균을 이용한 발효 연구에서도 젖산균이 증가함에 따라서 환원당이 감소하는 연구(Lee 등, 2015)와 같이 본 연구에서도 발효에 의해서 환원당이 감소하는 것으로 나타났다. 비지를 이용한 초고압균질 처리에서도 처리 압력이 높을수록 환원당과 총당이 증가되는 연구도 보고되었다(Lee, 2015). 고압 균질처리와 같은 고에너지 균질 공정(high-energy emulsification)은 비환원당이 환원당으로 가수분해 되어 처리 강도에 따라 증가되는 것으로 생각 된다. 본 연구에서는 초음파 처리 시간에 따라 가용성 고형물과 환원당이 증가되었고, 발효 후 환원당의 감소폭이 초음파처리 시간에 따라 커진다는 것을 확인하였다.

Table 3-1. Changes in solid content and reducing sugar of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time

Samples	Solid content	Reducing sugar
	(°Brix)	($\mu\text{g}/\text{mL}$)
SH0	4.57±0.13 ^c	360.07±20.13 ^c
SH3	5.43±0.06 ^b	320.07±12.06 ^{bc}
SH6	5.57±0.15 ^b	372.07±24.19 ^{bc}
SH9	5.80±0.10 ^{ab}	376.07±18.58 ^{ab}
SH12	6.13±0.58 ^a	427.40±23.07 ^a
BT0	4.93±0.32 ^c	347.40±2.00 ^b
BT3	5.47±0.58 ^b	354.73±7.57 ^b
BT6	5.60±0.00 ^b	384.07±35.35 ^{ab}
BT9	5.90±0.01 ^{ab}	434.07±20.23 ^a
BT12	6.17±0.15 ^a	428.73±41.00 ^a

Data show in mean ± standard deviation.

Different letters in the same column indicate significant differences in same bean type ($p < 0.05$). SH0, SH3, SH6, SH9, SH12 : Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes. BT0, BT3, BT6, BT9, BT12 : Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes.

Table 3-2. Changes in Reducing sugar of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process

Samples	Reducing sugar
	($\mu\text{g}/\text{mL}$)
FSH0	305.17±11.55 ^{ab}
FSH3	331.28±25.51 ^a
FSH6	254.06±21.50 ^{bc}
FSH9	227.94±30.29 ^c
FSH12	275.72±28.98 ^{abc}
FBT0	360.72±24.96 ^a
FBT3	380.72±25.62 ^a
FBT6	371.28±20.84 ^a
FBT9	346.83±4.41 ^a
FBT12	383.50±25.17 ^a

Data show in mean ± standard deviation.

Different letters in the same column indicate significant differences in same bean type ($p < 0.05$). FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12 : Fermented Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes. FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12 : Fermented Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes.

3.4. 라디칼 소거활성 및 총페놀함량

두유의 초음파처리 시간 및 유산균 발효처리에 따른 항산화 활성을 분석하기 위하여 ABTS, DPPH 라디칼 소거활성, 총페놀함량을 비교 분석하였다(Table 4). SH와 BT의 ABTS 라디칼 소거활성 및 DPPH 라디칼 소거활성은 초음파 처리 시간에 따른 유의적 차이가 나타나지 않았다($p < 0.05$). ABTS 라디칼 소거활성은 SH가 BT보다 전체적으로 높은 소거활성을 보였다. 경우 유의적 차이는 없었지만, 초음파 처리시간 6분까지 증가하다 9분부터 감소하는 경향을 보여 초음파 처리시간에 따라 비례적으로 소거활성이 증가하진 않는 것으로 판단된다. DPPH 라디칼 소거활성은 BT 샘플이 전반적으로 높게 나타났으며 초음파 처리에 따른 영향은 확인되지 않았다($p < 0.05$). 총페놀함량은 SH의 경우 초음파 처리시간에 따른 유의적 차이가 나타나지 않았으나, BT의 경우 초음파 처리시간 6분까지 증가하다 감소하는 경향을 보여 6분 초음파 처리 시 가장 높은 총페놀함량을 나타냈다. 특히, 초음파 처리하지 않은 BT0보다 BT6가 유의적으로 높은 값을 보였다($p < 0.05$).

유산균 발효 후 ABTS 라디칼소거활성 및 DPPH 라디칼 소거활성은 유산균 발효 처리에 의해 약 2~3배 증가하는 경향을 보였다. 그러나 초음파 처리시간에 따른 유의적 차이는 없었다($p < 0.05$). 총페놀함량의 경우 SH는 유산균 발효 처리에 의해 다소 증가하는 경향을 보였으나 *t-test*로 분석 결과 유의적인 차이는 없었고(*t-test*, $p < 0.05$), BT의 경우는 반대로 6분과 9분 초음파 처리 시료에서 발효 후 유의적인 감소를 나타냈었다(*t-test*, $p < 0.05$). 그리고 초음파 처리시간에 따른 유의적 차이는 보이지 않았다($p < 0.05$). 라디칼 소거 활성은 총페놀함량이 증가함에 따라 소거활성 능력이 증가되고(Cho 등, 2009), *Lactobacillus brevis*를 포함한 다양한 유산균들은 발효를 통하여 항산화 활성이 유의적으로 증가되는 것으로 보고되고 있다(Hwang 등, 2018). 본 연구에서는 콩의 품종에 따라 다른 경향을 보였으나 초음파 처리공정 보다는 유산균 발효공정이 라디칼소거활성 증가에 영향을 주고, 총페놀함량의 경우 SH가 BT보다 우수한 것으로 관찰되었으며, 총페놀함량이 증가하면서 라디칼 소거활성도 증가되는 것으로 확인할 수 있었다.

Table 4. Changes in ABTS, DPPH radical scavenging and total phenolic contents of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process

Radical scavenging activities(%)								TPC			
ABTS				DPPH				(mg GAE/g)			
SH0	24.22±1.25 ^{a2}	FSH0	75.47±1.70 ^{a1}	SH0	13.32±1.38 ^{a2}	FSH0	30.94±1.24 ^{a1}	SH0	95.22±5.92 ^{a1}	FSH0	98.55±6.28 ^{a1}
SH3	24.21±1.09 ^{a2}	FSH3	81.38±4.04 ^{a1}	SH3	12.49±0.74 ^{a2}	FSH3	35.27±2.94 ^{a1}	SH3	97.44±4.91 ^{a1}	FSH3	100.31±8.27 ^{a1}
SH6	26.80±0.75 ^{a2}	FSH6	77.84±2.98 ^{a1}	SH6	12.84±2.01 ^{a2}	FSH6	29.89±2.43 ^{a1}	SH6	96.46±1.12 ^{a1}	FSH6	110.94±7.05 ^{a1}
SH9	24.05±0.79 ^{a2}	FSH9	80.00±2.72 ^{a1}	SH9	12.04±2.22 ^{a2}	FSH9	33.92±2.28 ^{a1}	SH9	99.11±4.41 ^{a1}	FSH9	106.73±9.10 ^{a1}
SH12	25.14±1.35 ^{a2}	FSH12	80.50±3.91 ^{a1}	SH12	12.00±1.39 ^{a2}	FSH12	30.21±2.99 ^{a1}	SH12	91.77±3.45 ^{a1}	FSH12	102.14±8.98 ^{a1}
BT0	20.85±1.30 ^{a2}	FBT0	72.57±3.48 ^{a1}	BT0	19.18±0.75 ^{a2}	FBT0	38.83±3.84 ^{a1}	BT0	82.07±3.08 ^{b1}	FBT0	77.80±8.79 ^{a1}
BT3	22.48±0.73 ^{a2}	FBT3	75.19±1.55 ^{a1}	BT3	20.56±0.13 ^{a2}	FBT3	38.07±4.58 ^{a1}	BT3	88.12±2.70 ^{ab1}	FBT3	76.10±5.95 ^{a2}
BT6	23.07±0.48 ^{a2}	FBT6	71.94±1.63 ^{a1}	BT6	19.46±0.18 ^{a2}	FBT6	36.68±5.12 ^{a1}	BT6	89.54±2.06 ^{a1}	FBT6	81.82±3.25 ^{a2}
BT9	21.94±0.26 ^{a2}	FBT9	73.72±2.72 ^{a1}	BT9	19.77±0.39 ^{a2}	FBT9	40.38±2.73 ^{a1}	BT9	87.14±0.43 ^{ab1}	FBT9	84.28±7.74 ^{a1}
BT12	19.57±2.97 ^{a2}	FBT12	73.00±3.81 ^{a1}	BT12	19.49±0.79 ^{a2}	FBT12	36.19±3.57 ^{a1}	BT12	83.49±3.64 ^{ab1}	FBT12	85.35±6.05 ^{a1}

Data show in mean ± standard deviation.

Different letters in the same column indicate significant differences in same bean type (p < 0.05).

Different numbers in the same row indicate significant differences before and after fermentation, analyzed by *t*-test (p < 0.05).

SH0, SH3, SH6, SH9, SH12 : Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

BT0, BT3, BT6, BT9, BT12 : Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12 : Fermented Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12 : Fermented Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

3.5. 이소플라본 함량

콩의 대표적인 성분중 하나인 이소플라본을 분석하여 Table 5.에 나타내었다. SH와 BT 모두 초음파처리시간에 따른 영향을 없는 것으로 나타났다. SH의 경우 Daidzin와 Glycitin, Geristin에서 변화를 나타내지 않았지만, BT의 경우 초음파시간에 따라 Daidzin와 Glycitin, Geristin이 약간의 증가를 나타내었다. 다만 SH가 BT와 비교하여 Daidzin와 Glycitin, Geristin 함유량이 많다는 것은 확인하였다. 더불어 Daidzein, Glycitein, Genistein도 SH가 BT보다 많은 양을 나타내었다.

발효를 진행한 후 이소플라본을 측정된 결과에서 발효과정을 통하여 ST와 BT 모두 Glycosides가 Aglycones로 변환된 것을 확인할 수 있다. BT는 Glycitin이 일부 남아있고, SH는 Daidzin, Glycitin, Genistin모두 검출되지 않았다. 발효 후 Aglycones역시 FBT와 비교하여 FST가 높게 나타났다.

이소플라본은 콩에는 소화흡수가 용이하지 않은 비배당체 형태로 되어 있고, 이를 소화효소처리(Kang 등, 2003) 또는 발효과정(Kim 등, 2010)을 통하여 소화흡수가 용이한 비배당체로 전환되기 때문에 영양적 측면에도 발효가 중요한 작용을 한다. 비배당체로 알려진 daidzein과 genistein이 효과적인 항산화 물질로 알려져 있으며(Tyug 등, 2010), 유산균 발효를 통하여 배당체에서 daidzein과 genistein으로 화학적 변화가 형성되는 것은 β -glucosidase 활성이 영향이 있다고 보고되고 있다(Donkor 등, 2008). 그러므로 유산균을 통한 발효는 강력한 항산화 활성이 있는 비배당체 생성에 큰 효과가 있다는 것을 알 수 있다. *L. plantarum* 균주를 이용한 우람콩 두유 발효 실험에서는 0시간부터 72시간까지 발효를 진행하였을 때 비배당체가 36시간 때 가장 많이 증가되고, 반대로 배당체는 급격하게 감소되는 것이 나타나고 이후에는 큰 차이가 없었다(Hwang 등, 2020). 즉 본 실험에서는 3일간 발효를 한 결과를 얻었지만 향후 발효 시간에 따른 분석을 통하여 가장 효율적인 발효 공정을 정하는 것도 필요해 보인다.

Table 5. Changes in Isoflavone contents of different soybean milk depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process

Isoflavone contents(mg/L)																			
Glycosides									Aglycones										
Daidzin	Glycitin	Genistin	Total	Daidzin	Glycitin	Genistin	Total	Daidzin	Glycitin	Genistin	Total	Daidzin	Glycitin	Genistin	Total				
SH0	15.47	2.86	31.11	49.44	FSH0	N.D	N.D	N.D	N.D	SH0	0.81	1.33	1.28	3.42	FSH0	18.32	2.58	38.03	58.93
SH3	15.78	3.06	31.06	49.90	FSH3	N.D	N.D	N.D	N.D	SH3	0.79	1.18	1.30	3.27	FSH3	19.26	2.64	40.17	62.07
SH6	16.07	3.01	31.90	50.98	FSH6	N.D	N.D	N.D	N.D	SH6	0.81	1.34	1.28	3.43	FSH6	18.38	2.44	38.32	59.14
SH9	15.77	3.11	31.45	50.33	FSH9	N.D	N.D	N.D	N.D	SH9	0.70	1.12	1.27	3.09	FSH9	17.56	2.41	36.87	56.84
SH12	15.42	2.94	31.27	49.63	FSH12	N.D	N.D	N.D	N.D	SH12	0.69	1.27	1.26	3.22	FSH12	17.97	2.00	38.04	58.01
BT0	11.55	2.32	22.17	36.04	FBT0	N.D	0.50	N.D	0.50	BT0	0.63	0.94	1.12	2.69	FBT0	18.20	2.25	33.47	53.92
BT3	11.16	2.35	21.66	35.17	FBT3	N.D	0.51	N.D	0.51	BT3	0.61	0.81	1.10	2.52	FBT3	18.84	2.12	34.67	55.63
BT6	11.97	2.50	22.91	37.38	FBT6	N.D	0.52	N.D	0.52	BT6	0.66	0.95	1.16	2.77	FBT6	18.84	2.25	34.71	55.80
BT9	11.99	2.53	23.23	37.75	FBT9	N.D	0.42	N.D	0.42	BT9	0.66	0.86	1.16	2.68	FBT9	18.77	2.30	36.64	57.71
BT12	12.49	2.53	24.06	39.08	FBT12	N.D	0.50	N.D	0.50	BT12	0.68	0.97	1.19	2.84	FBT12	18.80	2.03	34.73	55.56

SH0, SH3, SH6, SH9, SH12 : Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

BT0, BT3, BT6, BT9, BT12 : Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12 : Fermented Shinhwa soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12 : Fermented Baektae soy milk ultrasonicated for 0, 3, 6, 9, 12 minutes

3.6. GABA 생성 능력

사전에 분리된 유산균을 통하여 두유를 발효 후 GABA형성을 확인하기 위하여 TCL chromatogram을 활용하여 측정하였다. 3일간 발효한 결과 FSH와 FBT 샘플 모두 GABA가 형성된 것을 확인하였다. 발효 전을 기준으로 SH0, SH3, SH6, SH9, SH12, BT0, BT3, BT6, BT9, BT12 샘플 모두에게서 GABA 기준시료와 비교하여 GABA형성이 되지 않았지만, 유산균 발효 후 FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12, FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12 샘플에서 모두 GABA가 형성된 것이 확인 되었다. MSG는 GABA생성 시 활용되는 중요한 인자이다(Choe 등, 2019). 물론 포도당이 충분할 경우 MSG보다 우선적으로 소진하는 것으로 알려져 있다(Lee 등, 2016). 본 실험에서는 TCL chromatogram 상에서는 MSG소진까지는 확인할 수 없었지만 *L. brevis*를 통하여 신화콩(SH)과 백태콩(BT)으로부터 GABA형성이 확인되었다.

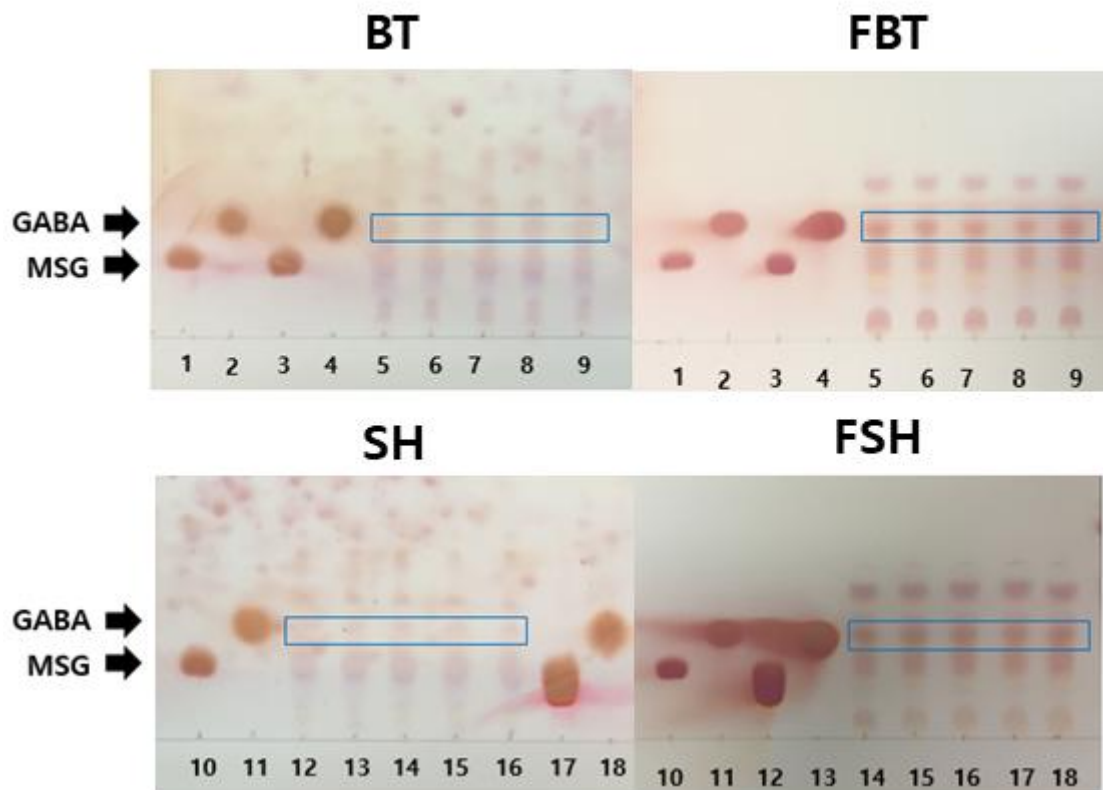


Figure 4. TLC chromatogram of GABA before and after lactic acid bacteria fermentation. Lanes 1, 3, 10, 17: 0.5%, 1% and 5% MSG standard, Lanes 2, 4, 11, 18: 0.5%, 1%, and 5% GABA standard, respectively. Lanes 5-9 (BT): BT0, BT3, BT6, BT9, BT12, Lanes 5-9 (FBT): FBT0, FBT3, FBT6, FBT9, FBT12, Lanes 12-16 (ST): SH0, SH3, SH6, SH9, SH12, Lanes 14-18 (FST): FSH0, FSH3, FSH6, FSH9, FSH12.

3.7. GABA 정량분석

초음파 처리시간을 달리한 SH와 BT를 각각 유산균 발효를 진행하여 GABA 함량을 분석하였다(Figure 5-1, 5-2). GABA는 유산균 대사로 인하여 전구체인 GA (glutamic acid)가 변환된 것이기에 발효과정으로 증가 될 것으로 보고 있으므로, 초음파처리가 GABA 생성에 어떠한 영향을 주는지 확인하고자 하였다. 분석결과 SH0은 18.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 발효과정을 통하여 FSH0 (121.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FSH3 (182.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FSH6 (166.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FSH9 (186.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FSH12 (188.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 샘플은 모두 증가되었다. BT0은 26.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이지만 유산균 발효를 통하여 FBT0 (183.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FBT3 (180.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FBT6 (176.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FBT9 (185.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), FBT12 (192.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 샘플 모두 증가되었다. SH와 BT 두 품종 모두 발효 후 GABA함량이 증가되는 것으로 나타났다. 다수에 연구에서 유산균은 GABA를 생성할 수 있는 능력을 보여주고 있다. 발아 고단백 콩에 *Lactobacillus brevis* 발효를 통하여 GABA의 증가를 확인하였고(Hwang등, 2014), *L.plantarum*으로 포도를 발효하여 GABA를 증가시킨 연구도 있다(Cagno 등, 2010). 더불어 쌀겨를 이용하여 *L.sakei*를 통한 GABA생산 발효공정 연구도 이루어 졌다(Kook 등, 2010). 유산균 발효를 통하여 유산균의 GAD활성이 GA를 감소시키고 GABA를 증가 되고 보고되고 있다(Hwang등, 2018). 이와 같이 *L. brevis* 외의 일부 유산균에서도 GABA 생성에 관련된 연구가 확인되고 있다. 다만 김치 유래 유산균이 다른 유산균과 GABA 생성에 어떠한 차이가 나타나는지에 대한 추가연구가 필요해 보인다.

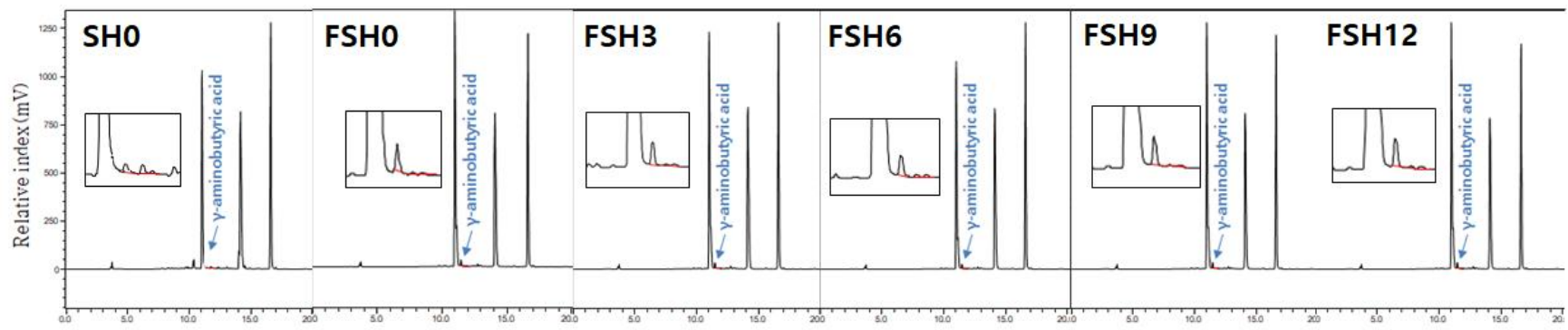


Figure 5-1. Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) of different soybean milk (SH) depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process.

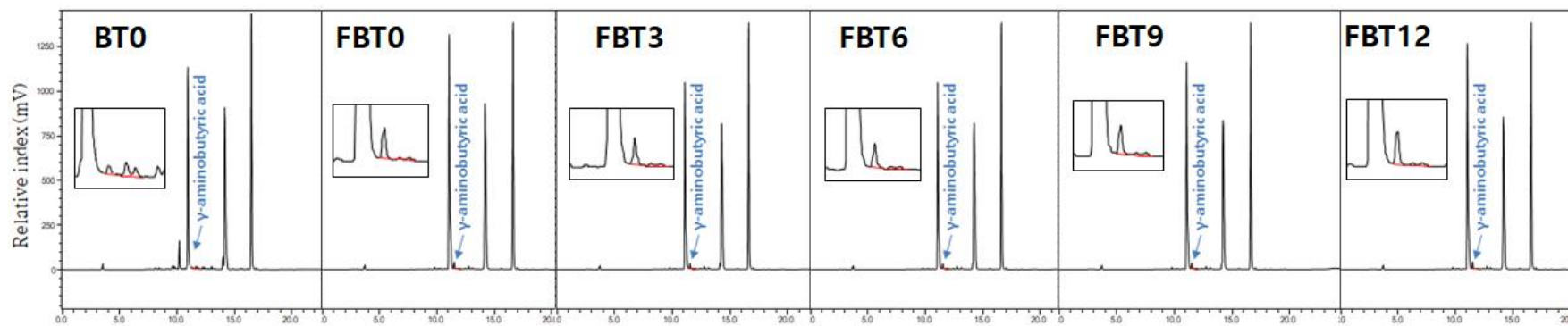


Figure 5-2. Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) of different soybean milk (BT) depending on ultrasonic treatment time with the *Lactobacillus sp. KYB12* fermentation process.

4. 결론

신화콩으로부터 두유를 제조하여 초음파를 처리한 후 유산균을 접종할 경우 기능적인 특징이 어떻게 변하는지 백태콩을 대조구로 하여 분석하였다. 초음파 처리에 따라서 pH는 신화콩과 백태콩 모두 약간의 산성으로 진행되는 것이 확인되었고, 색상에서는 신화콩이 백태콩보다 더욱더 황색을 띄는 경향을 나타내었고, 초음파처리에 따라 색상은 더 뚜렷해졌다. 이는 신화콩을 이용하여 식품을 제조할 경우 콩 특유의 색상으로 긍정적인 영향을 줄 수 있다. 가용성 고형물 함량은 초음파 처리 시간에 의존하여 증가됨이 나타났는데, 이와 같은 부분은 식품가공시 생산수율에도 좋은 영향을 줄 수 있다. 초음파 처리 전 샘플은 백태가 가용성 고형물이 약간 높은 편이지만 초음파처리 시간이 경과함에 따라 신화콩과 백태가 유사한 정도의 가용성고형물을 나타내었다. 환원당은 초음파처리 시간이 길어질수록 증가되어 초음파에 의한 영향을 확인하였다. 초음파처리가 비환원당을 환원당으로 가수분해하는 것이라고 추측할 수 있다. 더불어 초음파처리 시간에 따라 발효 후 환원당의 감소도 확인되었다. 항산화활성 분석을 통하여 신화콩이 총 폴리페놀과 ABTS 라디칼 소거활성이 증가되는 것을 확인하였고, 발효를 통하여 더 높은 효과를 얻을 수 있기 때문에 초음파처리와 발효의 복합처리가 생리활성물질 증대를 기대할 수 있다.

이소플라본 분석에서는 유산균 발효에 따라서 배당체는 크게 감소하면서 비배당체가 증가되는 것을 확인하였다. TCL chromatogram으로 유산균 처리에 따라 GABA가 형성되는 것을 확인하였고, 발효된 두유를 GABA정량 분석하여 초음파처리 시간에 의존하여 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 발효를 통하여 GABA의 합성이 초음파 처리를 통하여 활성을 증폭시켰다고 추측할 수 있다.

소립종인 신화콩에 대한 초음파 처리 및 발효 공정을 통하여 생리활성물질 증가, 수율 개선으로 노인식 등 다양한 식품의 소재로의 가능성을 발견할 수 있을 것이고, 이를 통하여 신화콩이 제주지역에 새로운 소립종 육성작물로 자리매김하기를 기대한다.

국문요약

제주에서 재배되기 시작한 소립종콩인 신화콩의 재배 확산 및 활용 증대를 위하여 물리적인 처리(초음파 처리)와 생물적인 처리(발효)의 복합 처리의 효과를 통하여 기능성을 확인하고자 하였다.

신화콩과 백태콩을 두유로 제조하여 비지를 제거 후 초음파 처리를 시간의 차이(0분, 3분, 6분, 9분, 12분)를 두어 처리하였다. 초음파처리 시간이 길어짐에 따라 약간의 산성으로의 변화가 나타났다. 초음파 처리한 샘플을 발효하기 위하여 김치에서 유산균을 분리 동정 후 *Lactobacillus brevis*로 확인된 균주를 이용하여 발효물을 제조하였다. 색상에서는 초음파 처리 시간에 따른 영향 없이 신화콩 특성에 맞게 백태보다 노란색을 띄었다. 초음파처리 시간이 길어짐에 따라서 가용성 고형물이 증가되었다. 신화콩은 초음파처리 전에 상대적으로 백태콩보다 낮은 가용성고형물을 나타내었지만 초음파 시간이 길어지면서 백태 수준까지 가용성 고형물을 높일 수 있었다. 또한 초음파처리를 통하여 환원당 증가도 확인되었다. 항산화활성에서는 신화콩이 ABTS 라디칼 소거활성에 대한 효과 및 총폴리페놀 함량 증가를 초음파 처리 시간에 의존하여 증가되었다.

발효를 진행한 후 환원당 분석에서 초음파처리 시간에 따라 환원당이 감소되어 발효를 통하여 소비되는 것을 확인하였다. 항산화활성에서는 백태콩과 신화콩 모두 ABTS 라디칼 소거활성과 DPPH 라디칼 소거활성이 증가되었다. 신화콩은 초음파처리 시간이 길어짐에 따라 발효 후에서 ABTS 라디칼 소거활성이 증가되었고, 총 폴리페놀함량도 증가 후 초음파처리시간 9분을 기점으로 감소하였다. 이소플라본함량에서는 발효가 진행되면서 배당체가 비배당체로 전환되는 것을 확인하였고, 신화콩이 백태콩과 비교하여 발효 전후 이소플라본 비배당체의 함량이 높게 나타났다. 백태콩과 신화콩이 발효를 통하여 GABA가 생성되는지 TLC chromatogram을 통하여 확인하였고, 정량분석을 통하여 초음파의 처리시간이 길어지면 발효 후 GABA 함량이 증가되는 것이 확인되었다.

신화콩을 두유로 제조하여 초음파처리와 발효과정이라는 복합과정으로 생리활성 증가 및 수율 개선을 확인하였다. 이와 같은 결과를 제주에서 재배되는 신화콩의 노인식 등 다양한 식품의 소재로 활용 가능한 부분을 발견할 수 있었다. 향후 발효과정과 초음파과정 순서의 변화, 비지 제거 전 후와의 비교 등 다양한 공정에 대한 검토, 공장 스케일의 적용 등의 추가연구를 통하여 신화콩의 식품소재에 대한 가능성을 확인하는 등의 연구가 계속 되어져야 할 것이다.

REFERENCES

Augustin MA, Riley M, Stockmann R, Bennett L, Kahl A, Lockett T, et al. (2016). Role of food processing in food and nutrition security. *Trends in Food Science & Technology*. 56, 115 - 125.

Awad TS, Moharram H A, Shaltout OE, Asker D, Youssef MM. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A re view. *Food Research International*. 48, 410 - 427.

Cagno RD, Mazzacane F, Rizzello CG, Angelis MD, Giuliani G, Meloni M, Servi BD, Gobbetti M. (2010). Synthesis of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: functional grape must beverage and dermatological applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 86, 731 - 741.

Cassileth BR and Vickers AJ. (2003). Soy: an anticancer agent in wide use despite some troubling data. *Cancer Invest*. 21, 817-818.

Cho KM, Hong SY, Math RK, Lee JH, Kambiranda DM, Kim JM, Islam SMA, Yun MG, Cho JJ, Lim WJ, Yun HD. (2009). Biotransformation of phenolics (isoflavones, flavanols and phenolic acids) during the fermentation of cheonggukjang by *Bacillus pumilus* HY1. *Food Chemistry*. 114, 413 - 419.

Choe JY, Lim JS, Lee SP. (2019). Increased production of GABA in non-alcoholic by optimization of lactic acid fermentation using *Lactobacillus plantarum*. *Korean Journal of Food Preservation*. 26, 157-164.

Choi IS, Bae YJ, Jang S, Lee DH, Yun ME, Lee HS, Kim MH, Lee SH, Sung CJ. (2005). Effect of soy isoflavone supplementation and exercise on

serum lipids in postmenopausal women. The Korean Journal of Food And Nutrition. 38, 411-418.

do Amaral SC, da Silva LB, Schwan RF. (2014). Co culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. International Journal of Food Microbiology. 186, 32 - 41.

Donkor ON, Shah NP (2008). Production of α -glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in soymilk. Food Microbiology and Safety. 73, 15 - 20.

Falade KO, Ogundele OM, Ogunshe AO, Fayemi OE, Ocloo FC. (2014). Physico-chemical, sensory and microbiological characteristics of plain yoghurt from bambara groundnut (*Vigna subterranea*) and soybeans (*Glycine max*). Journal of Food Science and Technology. 52, 5858 - 5865.

Gomes AMP & Malcata FX. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science & Technology. 10, 139 - 157.

Han KY, Choi JY. (2017). Quality characteristic and antioxidant activity analysis of soybean milk added Chickpea. The Korean Journal of Food And Nutrition. 30, 1015-1024.

Hongyu W., Greg JH., John RM. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 1, 211 - 218.

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B. (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term pro biotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 11, 506 - 514.

Hui S, Min Z, Weiqin W, Sakamon D. (2020). Solid-state fermentation with probiotics and mixed yeast on properties of okara. *Food Bioscience*. 36, 100610.

Hwang CE, Haque MA, Lee JH, Joo OS, Kim SC, Lee HY, Um BS, Park KS, Cho KM. (2018). Comparison of γ -aminobutyric acid and isoflavone aglycone contents, to radical scavenging activities of high- protein soybean sprouting by lactic acid fermentation with *Lactobacillus brevis*. *Korean Journal of Food Preservation*. 25, 7 - 18.

Hwang CE, Kim SC, Kee JH, Hong SY, Cho KM. (2018). Enhanced biological effect of fermented soy-powder milk with *Lactobacillus brevis* increasing in γ -aminobutyric acid and isoflavone aglycone contents. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 61, 245-255.

Hwang CE, Cho DY, Lee JH, Lee DH, Cho KM. (2020). Changes in active compounds and biological activities during fermentation of soy-powder milk by the mixtures of probiotics lactic acid bacteria. *Korean Journal of Food Preservation*. 27, 769-780.

Jeon KS, Park SI. (2015). Manufacturing and functional properties of soymilk prepared with Korean and Chinese Soybeans. *Culinary Science & Hospitality Research*. 21, 68-79.

Jianming W, Yuan G, Ping L, Feng H, Liying L. (2013). Optimization of ultrasound-assisted extraction procedure to determine total isoflavones in Chinese soybean cheese by Box-Behnken design. *Food Analytical Methods*. 6, 221 - 226.

Jun M, Fei F, Yunfei L. (2017). Effective of different homogeneous methods on physicochemical, textural and sensory characteristics of soybean (*Glycine max* L.) yogurt. *CyTA - Journal of Food*. 15, 21-26.

Kang SA, Jang KH, Cho YH, Hong KH, Suh JH, Choue R. (2003). Effects of artificial stomach fluid and digestive enzymes of the aglycone isoflavone contents of soybean and black bean(*Rhynchosia molubilis* : Yak-Kong). *Journal of Nutrition and Health*. 36, 32-39.

Knorr D, Froehling A, Jaeger H, Reineke K, Schlueter O, Schoessler K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual review of food science and technology*. 2, 203 - 235.

Kim IB, Shin S, Lim BL, Seong GS, Lee YE. (2010). Bioconversion of soybean isoflavone by *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum*. *Korean Journal of Food and Cookery Science*. 26, 214-219.

Kim SJ, Joo NM (2014). Development of easily chewable and swallowable korean barbecue beef for the aged. *The Korean Journal of Food And Nutrition*. 27, 75-181.

Ko SB. (2010). A study on the organization and management of the Jeju soybean cluster. *Journal of the Korea academia-industrial cooperation society*. 11, 3740-3746.

Kook MC, Seo MJ, Cheigh CI, Pyun YR, Cho SC, Park H. (2010). Enhanced production of γ -aminobutyric acid using rice bran extracts by *Lactobacillus sakei* B2-16. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20, 763 - 766.

Kum JS, Choi BK, Lee HY, Park JD. (2004). Physicochemical properties of germinated brown rice. *Korean Journal of Food Preservation*. 11, 182 - 188.

Lee LS, Choi EJ, Kim CH, Kim YB, Kum JS, Park JD. (2014). Quality characteristics and antioxidant properties of black and yellow soybeans. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 46, 757-761.

Lee MJ, Park SY, Lee KS, Kim HY, Ra JE, Ham HM. (2019). Bioconversion of isoflavone and soyasaponin in the fermentation of soy embryo using lactic acid bacteria. *Food Engineering Progress*. 23, 209-216.

Lee SH. (2015). Antioxidant capacity and nutritive components from biji sub-micron suspension by ultra-high pressure homogenization process. *Korean Journal of Food Preservation*. 22, 714-720.

Lee SS, Kwon DJ. (2015). Quality characteristics of kimchi with *Artemisia annua* extracts. *Korean Journal of Food Preservation*. 22, 666-673.

Lee SY and Kwon SY. (2006). Soy products for the health of the aged. *Chung Ang Journal of Human Ecology*, 24, 85-95.

Lim SD, Yoo SH, Yang HD, Kim SK, Park SY. (2009). GABA productivity in yogurt fermented by freeze dried culture preparations of *Lactobacillus acidophilus* RMK567. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 29, 437 - 444.

Mariah BRS, Heloisa, GF, Louise EK, Sandra HP, Adriano C de C, Fereidoon S, Elza II. (2019). Ultrasound- and hemicellulase-assisted extraction increase β -glucosidase activity, the content of isoflavone aglycones and antioxidant potential of soymilk. *Journal of Food Bioactives*. 6, 140 - 147.

Matsuo M. (1997). Application of okara koji, okara fermented by *Aspergillus oryzae*, for cookies and cupcakes. *Journal of Home Economics of Japan*. 50, 1029-1034.

Miler GL. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31, 426-428.

Nevin Ş, Gökçen BB, Sezgin AC. (2019). Health benefits of fermented foods. *Crit. Rev. Food Science & Nutrition*. 59, 506 - 527.

Park KY. (2012). Increased health functionality of fermented foods. *Food Industry and Nutrition*. 17, 1-8.

Reilly JK, Lanou AJ, Barnard ND, Seidl K, Green AA. (2006). Acceptability of soymilk as a calcium-rich beverage in elementary school children. *Journal of the American Dietetic Association*. 106, 590 - 593.

Saadat YR, Khosroushahi AY, Gargari BP. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 217, 79 - 89.

Sai KV, Jin W, Vijaya R. (2020). Effect of ultrasound and microwave processing on the structure, in-vitro digestibility and trypsin inhibitor activity of soymilk proteins. *LWT - Food Science and Technology*. 131, 109708.

Sajad S, Seyed SS, Saeid, H. (2020). Stimulatory effects of low intensity ultrasound on the growth kinetics and metabolic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. Process Biochemistry. 89, 1 - 8.

Saito V, Dos Santos T, Vinderola C, Romano C, Nicoli J, Araújo L. Uetanabaro A. (2014). Viability and resistance of lactobacilli isolated from cocoa fermentation to simulated gastrointestinal digestive steps in soy yogurt. Journal of Food Science. 79, M208 - M213.

Sawai Y, Konomi K, Odaka Y, Yoshitomi H, Yamaguchi Y, Miyama D, Takeuchi A. (1999). Repeating treatment of anaerobic and aerobic incubation increases the amount of α -aminobutyric acid in tea shoots. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 46, 462 - 466.

Stephen H. (1997). Soya ; The health food of the next millennium. Korea soybean digest, 14, 91-97.

Syah D, Sitanggang AB, Faradilla RF, Trisna V, Karsono Y, Septianita DA. (2015). The influences of coagulation conditions and storage proteins on the textural properties of soy-curd (tofu). CyTA-Journal of Food. 13, 259 - 263.

Taruna V and Akash P. (2019). Effect of microwave assisted extraction on yield and protein characteristics of soymilk. Journal of Food Engineering. 262, 92 - 99.

Tyug TS, Prasad NK, Ismail A (2010). Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products. Food Chemistry. 123, 583 - 589.

Vanga SK and Raghavan V. (2018). How well do plant based alternatives

fare nutritionally compared to cow's milk?. *Journal of Food Science & Technology*, 55. 10 - 20.

Vargas-Bello-Pérez E, Fehrmann-Cartes K, Íñiguez-González G, Toro Mujica P, Garnsworthy P. (2015). Chemical composition, fatty acid composition, and sensory characteristics of Chanco cheese from dairy cows supplemented with soybean and hydrogenated vegetable oils. *Journal of Dairy Science*. 98, 111 - 117.

Weng CV and Shao-Quan L. (2016). Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. *Trends in Food Science & Technology*. 52, 139-147.

Yi JH, Cho Y, Hwang IK. (1998). Fermentative characteristics of kimchi prepared by addition of different kinds of minor ingredients. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 14, 1-8.

Zhao DP and Shah N. (2014). Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. *LWT-Food Science and Technology*. 58, 454 - 462.

Zisu B, Bhaskaracharya R, Kentish S, Ashokkumar M. (2010). Ultrasonic processing of dairy systems in large scale reactors. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 1075 - 1081.

감사의 글

학업과 일을 병행하면서 쉽지 않은 일정으로 학사일정을 소화함에 있어 많은 배려와 지도를 해주신 천지연 교수님께 감사의 인사를 드립니다. 그리고 항상 저의 든든한 기둥이 되어주신 고영환 교수님과 임상빈 교수님께도 깊이 감사드립니다. 두 교수님께서 계셨기에 늦게 시작한 석사과정이 마치 20여년전 학부생 때의 열정까지 끌어올리게 되는 계기가 되었습니다. 그리고 김현정 교수님과 박은진 교수님께서는 제가 알지 못하는 부분까지 고려하여 많은 것을 알려주시고 자힘써주셔서 너무 감사드립니다. 모든 교수님 한분 한분 정성으로 지도해주신 덕분에 이렇게 석사과정을 마칠 수 있었다고 생각합니다.

더불어 항상 뒤에서 전폭적인 지지와 응원, 걱정을 해주신 강호정 조교선생님, 항상 학과에 있을 수 없는 저를 위하여 많은 부분에서 우선적으로 챙겨주셔서 감사드립니다. 그리고 비정기적으로 갑자기 실험실에 나타나 실험을 하면서 실험실을 엉망으로 만들어도 묵묵히 정리해주고, 실험실에 필요한 기자재 및 시약의 정보를 세세하게 알려준 하영이와 두리, 그 외 실험실 후배님들 모두 감사드립니다.

저를 옆에서 챙겨주시고 석사과정에 많은 일정을 배려해주신 LINC+사업단 단장님과 모든 직원 가족 여러분께도 감사드립니다. 특히 석사과정에 동기부여 및 진행과정을 적극적으로 응원해주신 산학협력중점교수님들께도 감사인사 드립니다.

석사과정을 진행하면서 직접적으로 도움을 주시고, 자문을 해주신 (주)팜마루 이동현 대표님, 제주국제대학교 오명철 교수님께도 깊이 감사드립니다. 마치 가족처럼 저를 아껴주시고 도와주셔서 여기까지 올 수 있었습니다.

마지막으로 일과 학업을 병행하면서 많은 어려움을 받아들여야 했던 우리 가

족들에게는 사랑한다는 말을 전하고 싶습니다. 가족들의 응원은 저에게는 피로회복제보다 더 크게 다가왔던 보약과도 같았습니다.

여기에 담지 못한 분들이 많지만 제 주변에 계신 모든 분들로부터 받았던 성원은 저에게 석사과정을 넘어 사회 활동에도 다시 돌아보게 되는 계기가 되었습니다. 제 스스로 성장을 하면서 저 또한 많은 분들에게 도움이 될 수 있도록 노력하겠습니다. 감사합니다.