

재배연도에 따른 검정콩 종자의 안토시아닌 함량 및 색차변이

주용하* · 박재훈* · 정명근*** · 윤승길** · 정길웅*†

*단국대학교 생명자원과학대학, **한경대학교 농업생명과학대학, ***삼척대학교 생약자원개발학과

Variation of Contents and Color Difference of Anthocyanin by Different Cultivation Year in Black Soybean Seed

Yong-Ha Joo*, Jae-Hun Park*, Myoung-Gun Choung***, Seung-Gil Yun**, and Kil-Woong Chung*†

*College of Bioresources Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

**College of Agriculture and Life Science, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea

***Dept. of Pharmacognosy Material Development, Samcheok Nat'l University, Samcheok 245-711, Korea

ABSTRACT : This research was carried out to offer the basic informations about new varietal breeding for specific use and physiological characteristics through investigation of detection, content variation and color difference of anthocyanin individual pigments within seedcoats in domestic black soybean. The seed of thirteen cultivars such as Geomjeongkong 1, Geomjeongkong 2, Seonheungkong, Tawonkong, Ilpumgeomjeongkong, Geomjeongkong, Cheongjakong, Jinju 1, Heugcheongkong, Juinunikong-Y, Juinunikong-G, Geomjeongkong 3, Geomjeongkong 4 was tested. C3G (cyanidin-3-glucoside) was detected in only Geomjeongkong 1 and Seonheungkong but D3G (delphinidin-3-glucoside) and C3G were found in Heugcheongkong. The rest cultivars that there were three anthocyanins such as D3G, C3G, and Pt3G (petunidin-3-glucoside). Anthocyanin content of tested cultivars showed a high variation. The ranges of D3G, C3G, Pt3G, and TA (total anthocyanin) contents were 0.55 ~ 2.63 mg/g, 2.77 ~ 8.38 mg/g, 0.38 ~ 5.65 mg/g, and 3.32 ~ 16.92 mg/g, respectively. These contents showed variation among cultivars as well as variation between two years, 2001-2002. As a result of variation of anthocyanin color difference, the ranges of L (lightness), a (redness), and b (yellowness) as Hunter's value were 34.09 ~ 42.89, 12.77 ~ 22.85, and 5.36 ~ 12.10, respectively, and these color differences showed variation among cultivars and also variation between two years, 2001-2002. D3G, C3G, Pt3G, and TA showed reciprocally a positive correlation being representative of high significance.

Keywords: color difference, anthocyanin, black soybean, seed coat, variation

안토시아닌은 식물의 꽃잎(표피세포의 액포; LI), 잎, 줄기, 과실(과피) 및 종자(종피 및 호분층)에 존재(김, 1999)하는데 최근에는 Ryu(2000)가 식량작물 중 향암 및 항염효과가 있는 벼, 보리, 밀, 옥수수 및 두류의 안토시아닌을 재조명한 바 있다. 검정콩은 혼반용으로 가장 많이 이용되며, 쌀과 취반 시에는 종피로부터 수용성의 안토시아닌 색소가 용출되어 밥의 시각적인 기호도를 높이는 특성을 갖는데, 검정콩의 안토시아닌은 Nagai(1921)가 1921년에 최초로 분리하였으며 Yoshikura & Hamaguchi(1969)가 delphinidin-3-glucoside(D3G)와 cyanidin-3-glucoside(C3G)를, Choung *et al.*(2001)이 D3G와 C3G 이외에도 petunidin-3-glucoside(Pt3G)를, Oh(2001)가 pelargonidin-3-glucoside(Pr3G)를 분리하였다 검정콩의 주요 안토시아닌은 C3G이며 D3G, Pt3G, Pr3G를 포함하며(Kuroda & Wada, 1933; Manabe *et al.*, 1965; Yoshikura & Hamaguchi, 1969; Taylor, 1976; Choung *et al.*, 2001; Oh, 2001), 검정콩에는 주로 외종피를 구성하는 액포를 가진 울타리층 표피에 존재하는데(reviewed by Carlson & Lersten, 1987, Todd & Vodkin, 1993) 품종 및 계통마다 이들 개별색소의 함량이 다르다. 안토시아닌을 종피에서만 추출하면 그 양이 약 900~16,000 mg/kg으로 포도(약 330~6,030 mg/kg)보다 2배나 많은 양이 얻어진다(정, 2001). 그러나 안토시아닌 색소는 다른 색소에 비해 상대적으로 불안정하여 pH, 열, 온도 및 ascorbic acid(Vit-C), 산소, 당 및 당분해물, 유기산, 금속이온 등 여러 인자에 의해 변형 및 파괴(Yang *et al.*, 1982)될 뿐 아니라 색소의 분리 및 정제가 까다로우며, 식품의 보존제로 이용되고 있는 sulphur dioxide(SO₂)와 반응하면 단백질과 결합하여 침전물을 형성하는 문제점이 있어 이용도가 저조한 실정이다(Jung *et al.*, 1996). 색차에 관한 연구는 많지 않으며 최근에 조사되는 형질 중 하나로 Kim *et al.*(1990)에 결과에 의하면 황색콩, 검정콩, 갈색아주까리콩의 표피와 색소추출물의 Hunter's value인 L, a 및 b를 측정된 결과, 검정콩의 경우 각

†Corresponding author (Phone)+82-41-550-3623 (E-mail) kwchung@dankook.ac.kr <Received October 16, 2003>

각 32.2, 17 및 3.5로 황색 콩의 L(단엽콩:71.7), a(장엽콩·4.4) 및 b(장엽콩:18.2)와 재래종인 갈색 콩의 L(40.8), a(4.4) 및 b(9.0)보다 작아 가장 낮은 값을 나타냈으며, 색소의 용출 정도는 물에 침적시 온도나 시간에 따라 그 양에 큰 차이를 보이는데, 특히 색에 대한 온도의 영향은 직선적인 관계($r=0.944$)를 보인다고 하였다. 콩의 기능성 성분 중 안토시아닌에 대한 연구는 50~60년대에 일본에서 연구된 바가 있으나 일본에서는 검정콩의 이용이 낮아 연구결과가 많지 않다. 반면 검정콩을 많이 이용하는 우리나라에서는 검정콩의 안토시아닌에 대한 연구는 최근의 일로 착색특성(Jeong & Hwang, 1993), 추출용매 및 방법(Kim *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2000; 정, 2001; Chu *et al.*, 2002), 종자 자엽색 및 파종기(Jung *et al.*, 1996; Chu *et al.*, 2002), 일부 품종의 개별색소 분리(Oh, 2001; 정, 2001, Choung *et al.*, 2001) 등의 연구가 진행되어 있으나 품종, 재배 및 환경요인에 대한 연구는 아직 미흡하다. 따라서 본 연구는 2001년부터 2002년까지 기능성성분인 검정콩 안토시아닌에 대하여 종자내 개별색소에 대한 검정과 함량 및 색차에 대한 연차간 변이를 구명하여 특수콩 품종육성 및 재배 생리적 특성에 대한 기초 자료를 제공하고자 현재 국내에서 육성된 장려품종 및 재배품종을 공시하여 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

국내 재배품종 중 검정콩1호, 검정콩2호, 검정울콩, 선홍콩, 흑청콩, 일품검정콩, 청자콩, 진주1호, 다원콩, 쥐눈이콩(자엽색-Green), 쥐눈이콩(자엽색-Yellow), 검정콩3호, 검정콩4호를 공시하였다.

파종 및 재배관리

파종기는 2001년과 2002년 모두 5월 15일(적파)로 하였으며, 파종은 삼공비닐포트에 균류균 접종을 위하여 콩을 재배했던 토양을 혼합한 상토를 넣고 건전종자 3립씩을 점파하였다. 재배관리는 발아 후 초생엽 완전전개기에 생육이 양호한 1주를 이식한 후 수분증발을 완화시키기 위해 벚짚을 덮었다. 재식밀도는 휴폭 60 cm, 주간거리 30 cm로 하였다. 시비량은 개간지인 관계로 질소(요소), 인산(용성인비), 가리(염화가리), 퇴비(돈분), 석회를 각각 6-8-6-1,000-200 kg/10a를 파종 전에 시험구별로 전량 기비 하였으며, 관수는 2~3일에 한번씩 하였다.

분석시료와 색소추출 및 분석 방법

분석시료는 선별된 건전종자에서 종피를 분리하여 convection dry oven(C-DM3, 제일과학)에 30°C로 3일간 건조시킨 후 분쇄기(WHF-714, 원진물산)로 곱게 분쇄하여 이용하였다. 색소 추출은 분쇄시료 0.1g을 200 ml volumetric flask

에 넣고 추출용매인 1%HCl-20%CH₃OH를 15 ml을 가한 다음 4°C의 냉암소에서 24시간 추출하였다 이를 각각 3회 반복하여 50 ml volumetric flask(Duran Co., Germany)에 filter paper(Toyo, No 2, Japan)로 1차 여과하여 모은 후 추출용매인 1%HCl-20%CH₃OH로 50 ml가 되도록 정용하여 잘 혼합하였다. 혼합된 용액을 0.45 µm membrane filter(Millipore, Millex-HV 13 mm, USA)로 2차여과하여 vial(Wheaton Co.)에 넣어 냉암소에 보관하였다. 분석용 시약은 HCl(大井化金, Korea)만 extra pure를 사용하였으며 그 이외는 독일 Merck사의 HPLC용을 사용하였다. 분석방법은 Table 1에 제시된 기기와 조건을 이용하였으며, mobile phase는 Helium(He) gas를 이용하여 완전히 기포를 제거한 후 ODS-120T(150×4.6 mm, Tosoh, Japan) column을 장착한 RP-HPLC에서 이동시키면서 base line이 안정화될 때까지 충분히 warm-up을 시켰다 안정화된 RP-HPLC에 분석시료를 Hewlett-Packard autosampler를 이용하여 20 µl를 주입한 후 나온 peak area를 환산하여 안토시아닌 함량을 계산하였다. 안토시아닌 색소의 표준 검량선을 만들기 위하여 영남농업연구소에서 추출한 delphinidin, cyanidin, petunidin의 표준물질을 농도구배로 희석하여 RP-HPLC에서 얻어진 표준용액의 peak area를 계산하여 검량회귀식을 만들어 이용하였다. 색차측정은 색차추출물을 빛이 투과되지 않도록 제작된 백색계량용기(Ø32 mm i.n.×H150 mm)에 10 ml를 넣어 표준색판(백색판-L은 47.04, a는 0.14, b는 0.33)으로 기본값을 설정한 colorimeter(CR-300, Minolta Co., Japan)를 이용하여 Hunter's value인 L[White(100)→Black(0)], a[Red(100)→Green(-80)], b[Yellow(70)→Blue(-80)]값으로 표시하였다.

조사방법 · 저장기간 · 시험구배치 및 통계분석

조사시기는 수확적성숙기인 R8단계에서 추출된 표본을 이용하여 측정하였다. 조사항목은 안토시아닌의 개별색소인 D3G, C3G, Pt3G와 총함량인 TA를 조사하였으며, 색차는 Hunter's value인 lightness(L-명도), redness(a-적색도), yellowness(b-황색도)를 조사하였다. 시험구배치는 난괴법 3반복으로 하였고,

Table 1. Instruments and operating condition for anthocyanin analysis from black soybean.

Classification	Operating condition
Instruments model	Agilent 1100series (HP, USA)
Wavelength	530 nm
Detector	Diode array detector supplies G1315B
Pump	Standard pump supplies G-1311A
Column	ODS-120T (150×4.6 mm)
Column temp	30 °C
Mobile phase	H ₂ O-CH ₃ OH-HCOOH (75:20:5, v/v)
Flow rate	0.7 ml/min
Injection volume	20 µl

통계분석은 PC-SAS Ver 8.12 (SAS, 1990)를 이용하여 분석하였다

결과 및 고찰

정량분석에 사용된 안토시아닌 표준물질의 검량선과 회귀식은 Fig 1과 같다 사용된 표준물질은 RP-HPLC에서 D3G, C3G 및 Pt3G순으로 peak area가 만들어졌으며, retention time(보유시간)은 각각 5분, 8분 및 10분대로 나타났다. 이들 표준물질을 농도구배로 희석하여 조사된 peak area값을 이용하여 계산된 D3G, C3G 및 Pt3G의 회귀식에 대한 결정계수는 D3G가 $r^2=0.996$, C3G가 $r^2=0.997$, Pt3G가 $r^2=0.997$ 로써 이들은 모두 $P<0.01$ 로 고도의 유의성을 가진 검량선을 얻었다.

안토시아닌의 개별색소 검정 및 함량변이

현재 재배되고 있는 13품종을 공시하여 안토시아닌 개별색소의 검정 및 함량 분석 결과(Table 2), 검정콩 1호와 선홍콩은 C3G만 검출되었으며 흑청콩은 D3G와 C3G가 검출되었고, 나머지 재배종에서는 D3G, C3G, Pt3G가 모두 검출되었으나 Oh(2001)가 제시한 pelargonidin-3-glucoside(Pt3G)는 표준물질을 구하지 못하여 검정하지 못한바 추후에 검토가 요망된다 D3G는 평균 함량 범위가 0.55(흑청콩)~2.63(다원콩) mg/g으로 다원콩이 가장 높았으며, 연차간 함량변이는 다원콩이 2.88 mg/g으로 가장 컸던 반면 가장 작았던 것은 청자콩으로 0.08 mg/g이었다 C3G의 평균 함량 범위는 2.77(흑청콩)~8.38(다원콩) mg/g으로 가장 함량이 높았던 품종은 다원콩이었고, 연차간 변이는 일품검정콩(6.77 mg/g)이 가장 컸으며 가장 작

았던 품종은 쥐눈이콩-Y(0.05 mg/g)이었다 Pt3G는 13개 품종 중 10개 품종에서만 검출되었으며 함량의 변이가 0.38(진주1호)~5.66(다원콩) mg/g으로 D3G의 함량변이보다는 크게 나타난 반면 C3G의 함량변이보다는 적게 나타났고, 연차간 변이는 다원콩(2.09 mg/g)이 가장 컸으며 쥐눈이콩-G(0.19 mg/g)가 가장 작게 나타났다 TA의 평균 함량 범위도 다원콩이 16.67 mg/g으로 가장 컸으며 흑청콩이 3.32 mg/g으로 가장 낮았다 다원콩의 경우 본 실험에서 가장 높은 품종으로 조사되었는데 Choung *et al* (2001)과 비교해보면 결과가 다소 상이하여 안토시아닌 분석은 추출조건, 분석시기 및 방법이 중요한 요인으로 판단되었다. 특히, 약콩으로 쓰이는 쥐눈이콩-G도 TA가 9.33 mg/g으로 상당히 높았으나 Oh(2001)가 보고한 10~11 mg/g보다는 다소 적은 함량을 보였다 따라서 추후에는 약콩용 재배종의 수집을 통한 함량변이 및 약리검증에 대한 상세한 연구가 이루어진다면 검정콩의 이용성 및 특수콩 품종개발에 많은 자료를 제공할 수 있을 것으로 판단되었다. 안토시아닌의 TA 함량에 기여하는 개별색소 중 비율이 가장 높았던 것은 C3G였으며, 그 다음은 D3G 그리고 Pt3G 순이었다

안토시아닌의 색차

색차의 분석 결과를 Table 3에서 보면 L값은 평균 함량 범위가 34.09(검정콩 2호)~42.89(흑청콩)이었으며, 재배환경에 의한 연차간 변이가 가장 컸던 품종은 검정올콩으로 13.24이었고 가장 작았던 품종은 검정콩 1호로 0.46이었다 a값의 평균 함량 범위는 12.77(흑청콩)~22.85(청자콩)로 연차에 따른 가장 큰 변이 값을 보인 품종은 검정콩 2호로 16.02이었으며 흑청

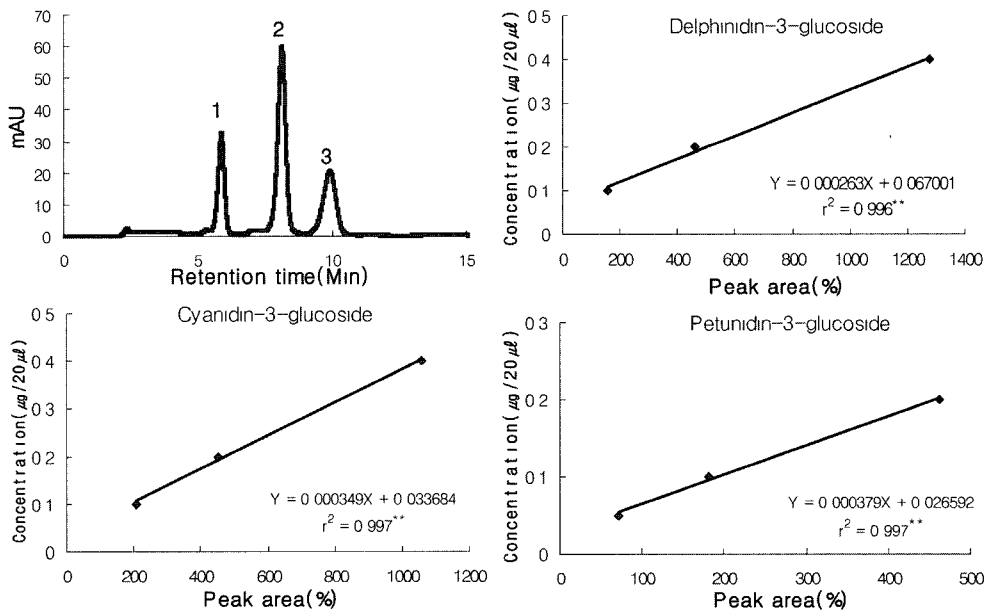


Fig. 1. HPLC chromatogram and calibration curve of standard substances of anthocyanin obtained from black soybean (Peak 1-D3G, Peak 2-C3G, Peak 3-Pt3G).

Table 2. Individual pigment detection and difference among cultivars of anthocyanin extracted from thirteen black soybean seed coats in 2001-2002

Cultivar	D3G			C3G			Pt3G			TA		
	2001	2002	Mean	2001	2002	Mean	2001	2002	Mean	2001	2002	Mean
	----- mg/g -----											
Geomjeongkong 1	ND	ND	ND	3.61e	3.80g	3.71e	ND	ND	ND	3.61e	3.80gh	3.71e
Geomjeongkong 2	1.48bc [†]	0.83de	1.16d	5.88d	8.91a	7.40b	0.40b	0.69bcd	0.55c	7.76d	10.43b	9.10b
Seonheugkong	ND	ND	ND	4.36e	5.56de	4.96d	ND	ND	ND	4.36e	5.56f	4.96d
Tawonkong	4.07a	1.19b	2.63a	9.76ab	6.99bc	8.38a	6.70a	4.61a	5.66a	20.53a	12.79a	16.67a
Ilpumgeomjeongkong	1.61b	1.41a	1.51b	8.76bc	1.99h	5.38d	0.32b	0.69bcd	0.51c	10.69bc	4.09g	7.39c
Geomjeongkong	0.87c	1.07bc	0.97e	3.19ef	7.13b	5.16d	0.18b	0.95b	0.57c	4.23e	9.15c	6.70c
Cheongjakong	1.36b	1.44a	1.40c	8.02c	5.05def	6.54c	0.24b	0.62cd	0.43c	9.61cd	7.10de	8.36c
Jinju 1	0.71cde	0.86de	0.79f	2.01f	4.65efg	3.33ef	0.19b	0.57d	0.38c	2.90e	6.09ef	4.50de
Heugcheongkong	0.38e	0.73e	0.55g	3.43ef	2.10h	2.77f	ND	ND	ND	3.81e	2.82h	3.32e
Juinunikong (Y)	0.53de	0.97cd	0.75f	3.79e	3.74g	3.77e	0.18b	0.65cd	0.42c	4.51e	5.35f	4.93d
Juinunikong (G)	0.78cd	1.06bc	0.92e	10.90a	4.31fg	7.61b	0.70b	0.89bc	0.80b	12.39b	6.26ef	9.33b
Geomjeonkong 3		1.41a			9.45a			0.67bcd			11.54b	
Geomjeonkong 4		1.16b			6.02cd			0.69bcd			7.86d	

D3G · Delphinidin-3-glucoside, C3G · Cyanidin-3-glucoside, Pt3G · Petunidin-3-glucoside, TA · Total anthocyanin.

ND Not detected.

[†] Means with the same letter within a column are not significantly different at 5% level by DMRT

Table 3. Difference among cultivars of color difference of anthocyanin extracted from thirteen black soybean seed coats in 2001-2002

Cultivar	L [*]			a			b		
	2001	2002	Mean	2001	2002	Mean	2001	2002	Mean
Geomjeongkong 1	37.32bc [†]	36.86b	37.09cd	14.60bcde	22.22e	18.41d	8.32b	11.37g	9.85cde
Geomjeongkong 2	38.05bc	30.13h	34.09e	13.42cde	29.44a	21.43ab	6.58bc	19.00a	12.79a
Seonheugkong	38.16bc	33.78e	35.97de	15.08bcde	25.91cd	20.50bcd	7.99b	14.18cde	11.09abc
Tawonkong	35.29c	35.93bc	35.61de	17.76ab	22.85e	20.31bcd	7.79bc	8.81h	8.30e
Ilpumgeomjeongkong	37.65bc	32.89ef	35.27de	12.76de	27.89b	20.33bcd	6.61bc	16.11b	11.36abc
Geomjeongkong	45.08a	31.84g	38.46bc	16.44abcd	25.51d	20.98ab	7.36bc	14.69bc	11.03bc
Cheongjakong	41.11ab	33.37ef	37.24cd	19.75a	25.95cd	22.85a	11.05a	13.16def	12.11ab
Jinju 1	43.00a	35.44cd	39.22bc	12.09e	25.04d	18.57cd	5.32c	12.77efg	9.05de
Heugcheongkong	44.67a	41.10a	42.89a	12.56de	12.98f	12.77e	6.16bc	4.56i	5.36f
Juinunikong (Y)	36.11c	34.77d	35.44de	13.18cde	25.38d	19.28bcd	7.09bc	14.29cd	10.69bcd
Juinunikong (G)	44.99a	35.39cd	40.19b	16.79abc	24.85d	20.82abc	7.86bc	11.84fg	9.85cde
Geomjeonkong 3		30.79h			30.00a			19.72a	
Geomjeonkong 4		32.65fg			26.97bc			15.24bc	

^{*} Hunter's value · L-Lightness, a-Redness, b-Yellowness.

[†] Means with the same letter within a column are not significantly different at 5% level by DMRT.

공이 0.42로 가장 작은 변이 값을 보였다 b값의 경우 함량 범위의 평균값은 5.36(흑청콩)~12.79(검정콩 2호)이었으며, 가장 큰 연차변이를 가진 품종은 검정콩 2호로 12.42이었고 다원공이 1.02로 가장 작았다.

상관관계

안토시아닌 함량간의 상관관계는 D3G가 C3G(r=0.774**), Pt3G(r=0.891**) 및 TA(r=0.890**), C3G는 Pt3G(r=0.765**) 및 TA(r=0.852**), Pt3G도 TA(r=0.893**)와 고도의 정의

Table 4. Correlation coefficient among D3G, C3G, Pt3G, and TA in black soybean anthocyanin.

	D3G(A)	C3G(B)	Pt3G(C)	TA(D)
A		0.774**	0.891**	0.890**
B			0.765**	0.852**
C				0.893**

D3G, Delphinidin-3-glucoside, C3G, Cyanidin-3-glucoside, Pt3G, Petunidin-3-glucoside, TA, Total anthocyanin

** Significant at the P<0.01

상관성이 나타나 안토시아닌은 상호간에 고도의 유의적인 정의 상관관계가 인정되어 Park et al.(2002)의 결과와 일치하였다(Table 4).

적 요

본 시험은 2001년부터 2002년까지 기능성 성분인 검정콩 안토시아닌에 대하여 종자내 개별색소 종류에 대한 검정과 함량 및 색차의 변이를 구명하여 특수콩 품종육성 및 재배 생리적 특성에 대한 기초 자료를 제공하고자 현재 국내에서 육성된 장려품종 및 재배품종인 검정콩1호, 검정콩2호, 검정올콩, 선홍콩, 흑청콩, 일품검정콩, 청자콩, 진주1호, 다원콩, 쥐눈이콩(G), 쥐눈이콩(Y), 검정콩3호, 검정콩4호를 공시하여 시험한 결과는 아래와 같다

1. 검정콩 13개 재배품종의 개별 안토시아닌 검정에서 검정콩1호와 선홍콩이 cyanidin-3-glucoside(C3G)만 검출되었으며, 흑청콩은 delphinidin-3-glucoside(D3G)와 C3G가 검출되었고, 나머지 품종들은 D3G, C3G, petunidin-3-glucoside(Pt3G)가 모두 검출되었다.

2. 공시된 검정콩 재배품종의 안토시아닌 함량의 범위는 D3G가 0.55~2.63mg/g, C3G가 2.77~8.38mg/g, Pt3G가 0.38~5.66mg/g 및 total anthocyanin(TA)이 3.32~16.67mg/g이었으며, 품종간 및 연차간에 변이를 보였다.

3. 안토시아닌의 색차의 범위는 명도(L)가 34.09~42.89, 적색도(a)가 12.77~22.85, 황색도(b)가 5.36~12.79이었으며, 품종간 및 연차간에 변이를 보였다.

4. 안토시아닌은 D3G, C3G, Pt3G 및 TA 모두 상호간에 고도의 정의 상관관계를 나타내었다.

사 사

본 시험을 수행할 수 있도록 종자 및 기기를 제공하여 주신 작물과학원, 영남농업연구소, 경기도농업기술원에 감사를 드립니다.

인용문헌

Carlson, J. B and N. R. Lersten 1987 Reproductive morphology In soybeans : Improvement, production and uses Wilcox JR pp 167-171.
 Choung, M G., I. Y Baek, S T Kang, W Y Han, D C Shun, H P Moon, and K H Kang. 2001 Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L) Merr.) J Agric Food Chem 49 5848-5851
 정명근 2001. 검정콩 함유 기능성 안토시아닌의 분리·동정 및 생리활성 검정 연구와 지도 42(1) 29-33
 Chu, Y. H., H S Kang, J H Park, S M. Kim, and K. W Chung 2002 Differences of total anthocyanin content of black soybean (*Glycine*

max L. Merr) seed coat in different extraction methods, seed size, and growth stage J of Bio-resources & Environment Research 2 1-8
 Jeong, Y S and Y H. Hwang 1993 Studies on the coloring characteristics and the related characters of cooking-with-rice soybeans Korea Soybean Digest 10(2) 15-28
 Jung, C. S., Y J. Park, Y C. Kwon, and H S Suh 1996 Variation of anthocyanin content in color-soybean collections Korean J Crop Sci 41(3) 302-307.
 Kim, D. H, S D Kim, and W. J Kim 1990 Comparison study of extraction properties of solids, protein and color pigments of several soybean varieties J. Korean Agric Chem Soc 33(1) 8-13
 김종화 1999 고랭지 화훼의 화색발현 기술 - 고랭지 화훼산업의 활성화 방안 학술 심포지엄. 농촌진흥청 고랭지농업시험장 pp. 105-157.
 Kim, S L., J J Hwang, J Song, J C Song, and K H Jung 2000 Extraction, purification, and quantification of anthocyanins in colored rice, black soybean, and black waxy corn Korean J Breed. 32(2) 146-152.
 Kim, Y H., H T Yun, K Y Park, and S D. Kim 1997. Extraction and separation of anthocyanins in black soybean RDA J Crop Sci 39(2) 35-38
 Kuroda, C and M Wada. 1933 The coloring matter of "Kuro-mame" Proc Imp Acad (Tokyo) 9(1) 17-18
 Manabe, T S., K M Kodama, and Y Bessyo 1965 Prevention of discoloration in red parts of white peach III. Some properties of an anthocyanin pigment isolated from black soybean peels Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish 12(11) 472-478
 Nagai, I 1921 A genetic-physiological study of the formation of anthocyanins and brown pigments in plant Tokyo Univ Coll Agric J 8 : 1
 Oh, H N. 2001 Accumulations of anthocyanins and storage components in the seeds of Yakkong [*Glycine max* (L) Merr] and Dolkong (*Glycine soja* S et Z.) Korea Univ Thesis for Degree of Master of Science.
 Park, J H., Y H Chu, K W Chung, J H Oh, J C Chae, C H Hwang, D J Lee, S N Ryu, M G Choung, I Y Baek 2002 Effect of Planting Dates and Growth Stages on Anthocyanin Content and Color Difference of Seed in Black Soybean (*Glycine max* (L) Merr) Proceedings of Co-symposium organized by Korean J Crop Sci, Korean J Breed, and Korean J Medicinal Crop Sci p. 221
 Ryu, S N 2000. Recent process and future of research on anthocyanin in crops I Rice, barley, wheat, maize and legumes Kor J Intl Agrn 12(1) 41-53
 SAS 1990 SAS/STAT User's guide Vol 1 and Vol 2, Ver 6, 4th ed. SAS Institute Inc
 Taylor, B H. 1976 Environmental and chemical evaluation of variations in hilum and seed coats colors in soybean University of Arkansas, M.S Thesis
 Todd, J J and L O Vodkin 1993 Pigmented soybean (*Glycine max*) seed coats accumulate proanthocyanidins during development Plant Physiol 102 : 663-670
 Yang, H C., J M Lee, and K B Song 1982 Anthocyanins in Cultured Omija (*Schizandrae chinensis* Baillon) and its Stability Agricultural Chem. and Biotech 25(1) 35-43
 Yoshikura, K and Y Hamaguchi. 1969 Anthocyanins of black soybeans Jpn Soc Food Nutr J 22 15-18.