

한국전통 궁중간장류의 생리활성 분석

이남근^{1,2} · 류영준¹ · 여인철¹ · 권기옥² · 서은미² · 함영태^{1*}

¹중앙대학교 생명공학과
²(주)상촌식품 연구개발부

Physiological Activities of Korean Traditional Soybean-Fermented Royal Court Soy Sauces, *Gungjungjang*

Nam Keun Lee^{1,2}, Young Jun Ryu¹, In-Cheol Yeo¹, Ki Ok Kwon²,
Eun-Mee Suh², and Young Tae Hahm^{1*}

¹Dept. of Biotechnology (BK21 program), Chung-Ang University, Gyeonggi 456-756, Korea
²Dept. of Research and Development, Sangchon Food Product, Gyeonggi 448-861, Korea

Abstract

In this study, the functional properties of royal court (RC) soy sauces, *Gungjung-kanjang*, were analyzed *in vitro*. RC soy sauces, traditional soy sauce, and commercial soy sauces were fractionated based on an MW cut-off of 1,000. The total phenolic compounds smaller than and larger than 1,000 MW (low and high fraction) in RC soy sauces were determined to be $101.55 \pm 1.49 \sim 114.00 \pm 0.11$ mg/L and $32.51 \pm 0.32 \sim 113.47 \pm 0.43$ mg/L, respectively. The low fraction of RC soy sauces showed around 51% superoxide dismutase (SOD)-like activity, which was higher than other soy sauces. Among RC soy sauces, *Cheong-jang* showed significantly high activity. Significant differences in fibrinolytic and antibacterial activities were not observed between soy sauces. α -Glucosidase inhibitory activities in the low and high fractions of RC soy sauces were in the range from $6.34 \pm 1.51 \sim 8.79 \pm 0.81\%$ and $5.72 \pm 1.29 \sim 7.94 \pm 0.34\%$, respectively. However, α -glucosidase inhibitory activity in the high fraction of *Kot-jang* soy sauce was $75.88\% \pm 1.20\%$. Lipase inhibitory activities in the low fractions of RC soy sauces, especially *Cheong-jang*, *Deot-kangang*, *Jin-jang*, and *Euyeuk-kanjang*, were also measured.

Key words: *Gungjung-kanjangs*, royal court soy sauce, superoxide dismutase-like activity, α -glucosidase inhibition, lipase inhibition

서 론

궁중의 장(궁중장)은 일반적으로 궁인들이 궁중에 출입하는 사람들을 위해 민가로부터 받은 메주를 사용하여 제조된 장류와 왕실 및 왕실과 관련된 사대부가에서 주로 담근 장류로 나눌 수 있다. 왕실로부터 유래된 궁중장의 제조법에 대해서는 구체적인 기록은 없으나 '산림경제'(홍만선, 1715년), '증보산림경제'(유중립, 1766년), '규합총서'(빙허각 이씨, 1809년) 등의 문헌과 왕실 및 왕실과 관련된 사대부가에서 전수되어온 것으로부터 유추할 수 있으며, 재료와 제조 방법이 우리가 흔히 먹던 된장, 간장, 고추장의 제조법과는 다소 다른 점을 발견할 수 있다. 특히 전수되어 제조되고 있는 궁중장의 종류에는 청장(간장)과 된장, 겹장(겹간장과 겹된장), 진장과 증장, 어육장(어육간장과 어육된장)이 있고, 또한 10년 이상 숙성된 간장인 꽃장과 조림간장으로서 진간장이 있으며, 고추장으로는 약고추장이 있다.

청장 및 된장은 민가에 알려진 방법과 거의 비슷한 방법으

로 제조된 일반 장이며, 덧장(겹장) 역시 현재 알려진 방법처럼 메주에 소금물이 아닌 1년 전의 청장으로 담근 장을 말한다. 진장과 증장에 있어서는, 벗짚이 아닌 4월에 새로이 돌아난 풀을 잘라 말린 것으로 검은콩으로 만들어진 메주를 띄워 제조한 것이 진장이며, 증장은 진장에서 첫 번째 간장(춧장, 수라상 간장)을 떠낸 이후 다시 소금물을 부어 제조된 간장을 말한다. 어육장은 메주를 비롯한 육류(소고기, 닭고기, 꿩고기), 수산물류(대구, 민어, 조기, 병어, 도미, 가자미, 전복, 홍합, 다시마 등) 및 두부 등 다양한 재료를 이용하여 제조된 것이며(1), 약고추장은 고추장에 볶은 소고기와 꿀을 주요 재료로 이용하여 만들어진다.

간장은 발효 및 숙성과정 중 기능성 물질인 펩타이드, Maillard 반응에 의한 갈변물질, 폴리페놀 화합물, 이소플라본과 같은 물질들의 생성 및 함량이 변화가 되며, 이러한 물질들이 항산화, 항암, 항고혈압 등 여러 가지 생리작용이 확인되면서 단순 조미식품이 아닌 기능성식품으로 제조명되고 있다(2-6). 이에 한국전통 장류들은 꾸준한 관심과 연

*Corresponding author. E-mail: ythahm@cau.ac.kr
Phone: 82-31-670-3064, Fax: 82-31-675-0406

구가 진행되고 있으나 궁중장과 관련된 연구는 거의 전무한 편이며, 이 중 식물 및 동물성으로부터 오는 영양 및 기능성을 충족할 수 있는 대표적인 발효식품으로 전수되어 제조되고 있는 궁중어육장은 장기 숙성됨에 따라 일반 한식 장보다 아미노산 질소의 함량이 높게 나타나 질적인 면에서 우수했으며, 항산화력이 증가함을 보였다(1). 특히 어육장에는 일반 한식 장에는 없는 오메가 3 성분(EPA: 콜레스테롤 감소, 관절염, 심근경색, 뇌졸중 등을 예방; DHA: 두뇌개발, 신경조직 안정, 시력향상, 안과질환 등을 예방)이 확인됨에 따라 한식 장류가 갖는 기능성은 물론 새로운 생리활성이 부가되어 있는 것이 확인되어졌다(7).

대두 및 식품유래의 생리활성 물질들은 기능성을 갖는 분자량 1,000 이하의 저분자 물질들(2~9 amino acid residues 및 phytochemicals 등)과 멜라노이딘색소 및 폴리펩타이드 등이 포함된 고분자 물질들이 보고되어 있음에 따라(8-10), 본 연구에서 전수되어 내려오고 있는 고급 장류인 궁중장을 새로운 장류 먹거리 제품으로 재조명 및 활성화하기 위한 일환으로 궁중장류 중 간장류와 한식간장 및 시판간장류를 이용하여 분자량 1,000 이하와 1,000 이상으로 분획하고, 각 분획된 물질의 갈변도와 총 phenol 화합물 함량, superoxide dismutase(SOD) 유사활성, 항균활성, 혈전용해능, α -glucosidase 및 lipase 억제효과를 비교 분석함으로써 궁중간장류의 생리활성 기초 연구 자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 궁중간장류는 대한민국 식품명인 제 37호 권기옥 어육장 식품명인(Sangchon Food Product Co., Yongin, Korea)으로부터 전통적으로 제조된 궁중간장인 청장(2009년), 덧장(2008년), 진장(2008년), 어육간장(2008년), 꽃장(1999년)과 한식간장(2009년)을 제공받았으며, 시판 개량간장은 양조간장 501S(Sempio, Icheon, Korea), 유기농간장(Kikkoman, Nodashi, Japan) 및 흑간장(Selected Dark Soy Sauce, LEE KUM KEE, Jiangmen, China)을 각각 대형마트, 인터넷몰, 중국 청도 식료품점에서 구매하였다.

시료 준비

궁중간장류를 포함한 각 간장으로부터 1,000 이하와 1,000 이상 분자량으로 분획한 후 본 연구에 사용하였다. 분자량별로 분획하기 위해서 간장 원액 50 mL을 한외여과기(ultra-filtrator)를 이용하여 5 mL까지 농축하였다. 농축액에 다시 50 mL 증류수를 두 번 넣어 희석한 후 재 농축하여 1,000 이상의 분자량을 갖는 물질이 존재하는 농축액(5 mL)과 분자량 1,000 이하의 물질이 존재하는 총 여과액(약 150 mL)을 얻었다. 여과액은 70% 에탄올로 녹여 여과액 내에 존재하고 농도의 염 및 불용성 물질을 제거(2회 실시)한 후 농축액과 함께 vacuum concentrator(CENTRA-VAC, VISION

scientific, Bucheon, Korea)를 이용하여 건조시켰다. 건조된 시료들은 10 mg/mL의 시료농도가 되도록 증류수로 녹여 여과(0.45 μ m) 후 사용하였다.

갈색도 측정

간장의 갈변반응물질(10 mg/mL)의 갈변도는 UV-VIS 분광광도계(OPTIZEN 3220UV BIO, Mecaasys Co. Ltd., Deajeon, Korea)를 이용하여 시료 1 mL을 420 nm에서 흡광도를 측정하였다(11). 분자량 1,000 이상 분획물 시료는 흡광도 측정 범위를 고려하여 증류수로 5배 희석하여 측정에 사용하였다.

총 페놀 화합물 함량 측정

총 페놀 화합물 함량 측정은 Joo와 Park(12)의 방법을 토대로 측정하였다. 간장 분획물 시료(10 mg/mL)를 200 μ L 증류수 2.6 mL에 녹이고 Folin 시약(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 200 μ L 첨가하여 혼합한 후 2 mL의 7% sodium carbonate 용액을 서서히 가한 후 이 혼합액을 실온에서 90분간 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 분자량 1,000 이상 분획물 시료는 흡광도 기기 측정 범위를 고려하여 증류수로 5배 희석하여 측정에 사용하였다. 검량선은 gallic acid(mg/L)를 이용하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Pyrogallol을 이용한 항산화 활성은 Oh와 Kim(13)의 방법을 토대로 측정하였다. 간장 분획물 시료(10 mg/mL)를 증류수에 녹여 200 μ L씩 1 mL 튜브에 옮긴 후, Tris-HCl buffer(50 mM Tris aminomethane, 10 mM EDTA, pH 8.0) 600 μ L와 7.2 mM pyrogallol(Sigma-Aldrich Co.) 50 μ L를 첨가하여 실온에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 250 μ L를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 분광광도계(Mecaasys Co.)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 추출 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 다음과 같은 식을 이용하였다.

$$\text{SODA}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 420 nm 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 420 nm 흡광도

항균활성 및 혈전용해능 측정

항균활성 및 혈전용해능은 Lee 등(14)의 방법을 토대로 측정하였다. 항균활성에 사용된 미생물은 대표적 식중독 유발 미생물인 *Bacillus cereus*(KCTC 3624), *Escherichia coli* O157:H7(ATCC 43888), *Listeria monocytogenes*(ATCC 19111), *Salmonella* Enterica(KCTC 12401), *Salmonella* Enteritidis(KCTC 13076), *Staphylococcus aureus*(KCTC 3881)를 이용하였으며, 각 미생물이 도말 LB agar plate의 6 mm paper disc 위에 각 시료 10 μ L(10 mg/mL) 떨어뜨린 후 37°C에서 24시간 방치하여 투명환의 크기를 측정하였다. 혈전용해능 측정 또한 Blood agar plate(HANIL COMED

Co. Ltd., Sungnam, Korea)의 6 mm paper disc 위에 각 시료 10 µL(10 mg/mL) 떨어뜨린 후 37°C에서 24시간 방치하여 투명환의 크기를 측정하였다.

α-glucosidase 억제능 측정

α-glucosidase 저해능 측정은 Palanuvej 등(15)의 방법을 변형하여 다음과 같이 수행하였다. 간장 분획물 시료(10 mg/mL) 9 µL에 α-glucosidase 효소(Sigma-Aldrich Co.; 10 mg/mL) 1 µL를 첨가한 후 37°C에서 10분간 전 배양을 하고 여기에 기질(1 mM p(4)-nitrophenly-α-D-glucopyranoside) 90 µL을 더하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 이후 1 M Na₂CO₃ 100 µL을 첨가하여 반응을 정지시키고 샘플에 증류수 800 µL을 첨가한 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. α-glucosidase inhibition은 추출 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 다음과 같은 식을 이용하였다.

$$\alpha\text{-glucosidase inhibition}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 405 nm 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 405 nm 흡광도

Lipase 억제능 측정

Lipase 억제효과는 Jeon(16)의 방법을 기초로 변형하여 측정하였다. 효소 반응 기질은 10 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 각각 olive oil 5%(v/v), gum arabic 5%(w/v)를 넣은 것을 사용하였다. 290 µL 기질에 10 µL pancreatic lipase(Sigma-Aldrich Co.; 10 mg/mL)와 200 µL 각 간장 분획물 시료(10 mg/mL)를 37°C에서 10분 동안 전 처리된 샘플액 200 µL를 넣고 각각 37°C에서 250 rpm으로 교반하면서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 에탄올과 아세톤을 1:1로 혼합한 용액 200 µL와 이소옥탄 1 mL을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 12,000 rpm으로 3분간 원심분리 하여 상층액을 얻었다. 획득된 상층액에 copper reagent(5% cupric acetate(w/v)에 pyridine을 사용하여 pH 6.1 맞춤)를 200 µL 첨가하여 1분간 vortex한 후 약 10분간 정치시키고, 상층액을 715 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lipase inhibition은 추출 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 다음과 같은 식을 이용하였다.

$$\text{lipase inhibition}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 715 nm 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 715 nm 흡광도

통계처리

측정된 결과는 SPSS program(ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 이용하여 ANOVA 분산분석 후 유의차가 있는 경우, 다중비교법인 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

궁중간장의 항산화 활성

본 연구에서는 갈변도, 총 페놀 함량 및 SOD 유사활성으로 항산화 활성을 분석하였다. 간장의 갈변도는 대체로 발효 숙성 과정 중에 간장내의 carbonyl 화합물, 아미노산, peptide, 단백질 등의 amino 화합물과의 상호반응에 의해서 melanoidin을 형성하여 갈색화와 현상이 일어난다. Melanoidin 색소성분은 reductone 구조에 의해 환원력을 가지며 지방질산화의 억제작용과 밀접한 관계가 있는 물질로 간장 속의 melanoidin 색소 성분 역시 환원력을 가지고 있어 이와 관련된 항산화작용에 관여한다고 하였다(2,10). 따라서 궁중간장류인 청장(CJ), 덧장(DJ), 진장(JJ), 어육장(EJ), 꽃장(KJ)을 포함한 한식간장(TJ) 및 시판간장류들의 갈변물질 함량을 예측하기 위하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 비교 대조군으로 한식간장과 국내 제조 시판 개량간장(KCJ)을 사용하여 이에 따른 결과 값을 다음 Table 1 및 2에 나타내었다.

분자량이 1,000 이하 간장 분획물에 있어서, 궁중간장류의 갈변물질에 따른 흡광도 값은 0.101±0.001~0.206±0.006의 범위 값을 보였으며, 궁중간장류 중에는 꽃장이 가장 높게 측정되어졌다(Table 1). 또한 꽃장은 분자량이 1,000 이상의 각 간장의 분획물 시료의 갈변도에 있어서 한식간장 및 국내 제조 시판 개량간장보다 각각 약 1.8배와 2.7배 정도 높게 유의적 차이를 보였으며(Table 2), 이는 10년 이상 장기간 저장숙성에 따른 결과라 생각된다. 꽃장이외 1~2년 저장숙성된 궁중간장류 중 진장의 갈변도가 가장 높게 나타난 것은 진장이 검정콩으로 제조되었기 때문이라 판단되어진다.

총 페놀성 화합물의 측정 결과에 있어서, 궁중간장류의 분

Table 1. Brown color intensity, total phenol contents, and SOD-like activities of low molecular (MW, <1,000) substances of Korean traditional soy sauces and commercial soy sauces

Sample	Brown color intensity (O.D.)	Total phenol (mg/L)	SOD-like activity (%) ¹⁾
CJ	0.119±0.002 ²⁾	114.00±0.11 ^a	54.97±1.99 ^a
DJ	0.158±0.002 ^e	112.15±0.05 ^a	54.31±1.99 ^a
JJ	0.141±0.001 ^e	102.51±0.11 ^c	44.37±3.31 ^b
EJ	0.101±0.001 ^f	101.55±1.49 ^c	50.00±0.99 ^{ab}
KJ	0.206±0.006 ^d	107.19±0.75 ^b	53.64±0.66 ^a
TJ	0.145±0.005 ^e	112.40±0.85 ^a	49.67±2.65 ^{ab}
KCJ	0.261±0.002 ^g	108.15±1.28 ^b	25.24±2.86 ^c
JCJ	0.347±0.013 ^b	94.53±0.64 ^d	21.19±0.24 ^{cd}
CCJ	0.385±0.015 ^a	61.23±1.38 ^e	16.91±0.04 ^d

¹⁾ %: absorbance ratio to control.

²⁾ Means followed by different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

CJ, *Cheong-jang*; DJ, *Deot-jang*; JJ, *Jin-jang*; EJ, *Eoyeuk-jang*; KJ, *Kot-jang*; TJ, traditional *kanjang*; KCJ, Korean commercial *kangjang*; JCJ, Japanese commercial *kangjang*; CCJ, Chinese commercial *kangjang*.

Table 2. Brown color intensity, total phenol contents, and SOD-like activities of high molecular (MW, >1,000) substances of Korean traditional soy sauces and commercial soy sauces

Sample	Brown color intensity (O.D.)	Total phenol (mg/L)	SOD-like activity (%) ¹⁾
CJ	0.507±0.003 ^{h2)}	43.68±1.28 ^f	18.54±3.31 ^a
DJ	0.791±0.009 ^g	57.51±0.43 ^e	7.62±1.66 ^b
JJ	1.139±0.001 ^e	91.45±0.96 ^c	ND ³⁾
EJ	0.486±0.145 ^h	32.51±0.32 ^g	ND
KJ	2.503±0.008 ^b	113.47±0.43 ^b	ND
TJ	1.427±0.004 ^d	86.87±1.49 ^c	10.26±0.99 ^b
KCJ	0.920±0.002 ^f	67.30±3.83 ^d	ND
JCJ	2.007±0.003 ^c	164.11±5.53 ^a	ND
CCJ	2.785±0.015 ^a	169.85±0.21 ^a	ND

¹⁾absorbance ratio to control.

²⁾Means followed by different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

³⁾ND: not detected.

Brown color intensity and total phenol content are analyzed by samples diluted with dH₂O (×5).

CJ, *Cheong-jang*; DJ, *Deot-jang*; JJ, *Jin-jang*; EJ, *Eoyeuk-jang*; KJ, *Kot-jang*; TJ, traditional *kanjang*; KCJ, Korean commercial *kangjang*; JCJ, Japanese commercial *kangjang*; CCJ, Chinese commercial *kangjang*.

자량이 1,000 이하의 분획된 시료들로부터 궁중간장류의 총 페놀성 화합물은 101.55±1.49~114.00±0.11 mg/L 범위 내에서 측정되었으며, 궁중간장류 및 한식간장(112.40±0.85 mg/L)과 국내에서 제조된 시판 개량간장(108.15±1.28 mg/L)이 일본 및 중국에서 제조된 시판 개량간장보다 유의적으로 높은 차이로 우수함을 확인하였다(Table 1).

그러나 분자량이 1,000 이상에서는 일본(JCJ) 및 중국(CCJ)에서 제조된 시판 개량간장의 페놀성 화합물의 양은 각각 164.11±5.53 mg/L와 169.85±0.21 mg/L로 이는 궁중간장류, 한식간장 및 국내 제조 시판 개량간장 각각의 페놀성 화합물 양인 32.51~113.47±0.32~0.43 mg/L, 86.87±1.49 mg/L 및 67.30±3.83 mg/L보다 높은 유의적 차이를 보였다(Table 2). 1,000 이상에서 일본, 중국의 시판개량장의 페놀 함량이 국산간장류보다 높은 이유는 한국, 일본 및 중국의 간장제조법의 차이에 따라 저분자 물질보다는 1,000 이상 분자량을 갖는 펩타이드 및 단백질 함량이 상대적으로 높아 페놀성 물질들이 분자량 1,000 이상 물질들과 결합한 결과로 사료된다. 본 실험에서의 분자량에 따른 궁중간장류의 총 페놀성 화합물의 함량에 있어서는 Kim 등(3)이 보고한 전통적으로 제조된 일반 메주 간장 및 검은콩 메주 간장의 총 페놀성 화합물 함량인 4.46~258.24 mg/L와 2.30~316.52 mg/L의 범위 내에 있음을 또한 확인할 수 있었다.

SOD 효소는 식물이나 동물에 있어 활성산소를 제거하는 항산화 효소로 매우 잘 알려져 있으며, 이러한 항산화 효소 뿐만 아니라 활성산소를 제거하는데 있어 많은 비효소계의 물질 또한 관여하며, 이러한 SOD 유사활성을 갖는 항산화 물질로는 carotenoids, tocopherols, ascorbic acid, phenols 등이 대표적이며, 특히 phenolic acids, flavonoids, biflavo-

noids, anthocyanins 및 isoflavonoids와 같은 페놀성 화합물들은 항산화뿐만 아니라 항돌연변이, 항암, 항균, 항바이러스 효과가 있다고 보고된 바 있다(17-19).

따라서 본 연구에서 궁중간장류의 SOD 유사활성 측정값은 Table 1 및 2와 같다. 분자량 1,000 이하의 궁중간장류의 분획물 시료의 SOD 유사활성은 평균 51%로 한식간장(약 49%)과 국내 제조 시판 개량간장(약 25%) 및 국외 제조 시판 개량간장들(평균 약 19%)보다 유의적으로 높았으며, 국내의 제조 시판 개량간장들보다 평균 2.3배 높다는 것을 확인하였다(Table 1). 또한 SOD 유사활성을 1,000 ppm으로 환산된 평균 값(25%)을 Joo와 Park(12) 및 Oh와 Kim(13)이 보고한 청국장과 된장의 SOD 유사활성과 비교해 볼 때 Joo와 Park(12)이 보고한 검정콩들을 이용한 청국장 활성보다는 다소 낮았지만, Oh와 Kim(13)이 보고한 된장의 SOD 유사활성 값(약 18%)보다는 1.3배 정도 높았다.

1,000 이상의 분자량 분획물에서는 궁중간장류들 중 청장(18.5%)과 덧장(7.6%) 및 한식간장(10%) 이외의 간장류들에서는 SOD 유사활성이 측정되지 않았다. 이는 SOD 유사활성은 주로 phytochemical에 속하는 저분자 물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제한다는(13, 20) 보고에 따라 저분자 phytochemical류(phenolic acids 및 isoflavonoid류)가 주로 존재하는 1,000 이하의 분획물보다 SOD 유사활성이 낮거나 또는 측정되지 않는 것으로 사료된다. 또한 이러한 결과는 페놀성 화합물 농도가 높으면 활성이 증가한다는 보고(19)와 비교해 볼 때에도 1,000 이하의 분자량 분획물에서 일치하는 결과를 얻은 반면 1,000 이상의 시료에서는 일치하지 않은 결과를 얻은 것은 이러한 이유로 사료된다.

혈전용해능 및 항균활성 측정

각 간장 분획물들의 Blood agar plate 이용한 혈전용해능 측정 결과 분자량이 1,000 이하 분획물들에서는 혈전용해 활성을 볼 수가 없었다. 그러나 1,000 이상의 분획물들에서는 7~9 mm 정도의 활성이 약하게 나타났으며, 어육장, 꽃장 및 한식간장의 혈전용해능이 다른 간장 분획물들보다 높

Table 3. Fibrinolytic activities of Korean traditional soy sauces and commercial soy sauces

Sample	Fibrinolytic activities	
	Activity zone (mm) ¹⁾ < Mw 1,000	Activity zone (mm) > Mw 1,000
CJ	ND ²⁾	7.5±0.8 (hazy)
DJ	ND	7.7±1.2 (hazy)
JJ	ND	7.7±1.2 (hazy)
EJ	ND	8.1±0.8 (hazy)
KJ	ND	8.0±1.4 (hazy)
TJ	ND	8.0±0.4 (hazy)
KCJ	ND	7.3±0.4 (hazy)
JCJ	ND	7.3±0.4 (hazy)
CCJ	ND	7.3±0.4 (hazy)

¹⁾Diameter of the activity zone with a 6 mm paper disc.

²⁾ND: not detected.

기는 하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 3). 일반적으로 간장의 혈전용해능은 주로 간장 발효균주로부터 생산되는 혈전용해 효소의 효과이며, 이에 따라서 간장 자체 보다는 간장 발효균주에 대한 혈전용해능의 연구에 초점이 맞춰져 수행되어지고 있다(21,22). 그러나 본 연구에서는 자연 상태의 다양한 균주에 의해 제조된 궁중간장류 자체의 혈전용해능을 분석한 것으로 혈전용해 효소가 존재할 수 있는 1,000 이상의 분자량 분획물에서 높은 혈전용해 활성을 예상하였으나 대표적인 혈전용해능이 우수한 청국장과는 달리 혈전용해 활성이 매우 낮았다. 이러한 이유는 간장 발효 균주가 10% NaCl 농도까지 효소생산이 유지된다는 보고(21)와 관련 있는 것으로 보인다.

각 간장 분획물의 항균활성에 있어서, 100 µg 농도의 분획물들을 식중독 유발 미생물들이 도말된 LB 고체배지의 6 mm paper disc 위에 떨어뜨린 후 37°C에서 24시간 동안 배양 후 관찰한 결과 사용된 식중독 유발 미생물들은 모든 간장 분획물들에 의해 저해되지 않았다. Kim 등(23)에 의해 보고된 초피를 첨가한 전통간장의 항균 활성 연구 중 초피를 첨가하지 않은 전통간장의 추출물에서 *E. coli* O157:H7, *Sal. Typhimurium*, *Sta. aureus*, *Vibrio parahemolyticus*에 10~20% 범위에서 항균활성이 나타난 결과와는 달리 본 연구에서 항균활성이 보이지 않는 것은 간장으로 부터 항균물질을 추출하지 않고 간장 자체를 사용한 차이 때문이라 사료된다.

α-glucosidase 및 lipase 억제효과

α-glucosidase는 이당류를 단당류로 분해하는 효소로 인체가 포도당을 이용할 수 있도록 해주는 중요한 효소인 동시에 당뇨병의 치료제 개발을 위한 타깃 물질이기도 하다. 현재 이 효소의 활성을 저해하는 물질들인 acarbose, voglibose, miglitol 등이 인슐린 비의존형 당뇨병 환자들의 혈당 강하제로 사용되고 있으며, *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., 누에 및 뽕나무로부터 생산되는 imino sugar인 deoxynojirimycin 등이 지속적으로 연구되어지고 있다(23-25). 따라서 α-glucosidase 저해활성을 분석함으로 궁중간장류의 항당뇨 효과를 확인하고자 하였으며, 이에 따른 결과는 Table 4 및 5와 같다.

분자량이 1,000 이하의 분획된 간장시료의 α-glucosidase 저해활성에 있어서 궁중간장류는 6.34±1.51~8.79±0.81% 범위에서 저해활성을 보였다. 이는 한식간장(7.82±0.50%)과는 유의적 차이가 없었고, 시판 개량간장들보다는 약 2.9 배 높은 유의적 차이가 있음을 확인할 수 있었다(Table 4). 분자량이 1,000 이상의 분획된 궁중간장류의 시료에서는 꽃장을 제외하고 평균 약 6.7%의 α-glucosidase 저해활성을 보여 국외에서 제조된 시판간장들보다는 높은 유의적 차이가 있었으나 한식간장 및 국내 제조 시판 개량간장들과는 유의적 차이가 없었다(Table 5).

궁중간장류의 모든 분획물들의 α-glucosidase 저해활성은 Hwang 등(26)에 의해 보고된 재래식된장으로부터 메탄

Table 4. α-glucosidase and lipase inhibition of low molecular (MW, <1,000) substances of Korean traditional soy sauces and commercial soy sauces

Sample	α-glucosidase inhibition (%)	Lipase inhibition (%) ¹⁾
CJ	6.41±0.24 ^{ab2)}	17.93±0.03 ^c
DJ	6.34±1.51 ^{ab}	43.55±0.05 ^a
JJ	8.79±0.81 ^a	3.84±1.28 ^d
EJ	6.91±0.67 ^a	29.48±1.28 ^b
KJ	7.45±1.14 ^a	ND ³⁾
TJ	7.82±0.50 ^a	ND
KCJ	3.45±2.05 ^{bc}	ND
JCJ	1.34±0.56 ^c	ND
CCJ	2.57±0.18 ^c	ND

¹⁾ %: absorbance ratio to control.

²⁾ Means followed by different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

³⁾ ND: not detected.

CJ, *Cheong-jang*; DJ, *Deot-jang*; JJ, *Jin-jang*; EJ, *Eoyeuk-jang*; KJ, *Kot-jang*; TJ, traditional *kanjang*; KCJ, Korean commercial *kangjang*; JCJ, Japanese commercial *kangjang*; CCJ, Chinese commercial *kangjang*.

Table 5. α-glucosidase and lipase inhibition of high molecular (MW, >1,000) substances of Korean traditional soy sauces and commercial soy sauces

Sample	α-glucosidase inhibition (%)	Lipase inhibition (%) ¹⁾
CJ	6.99±1.29 ^{b2)}	ND ³⁾
DJ	7.94±0.34 ^b	19.20±1.30 ^c
JJ	6.99±0.25 ^b	12.81±0.01 ^d
EJ	5.72±1.29 ^b	34.55±1.25 ^b
KJ	75.88±1.20 ^a	ND
TJ	4.76±0.97 ^{bc}	47.40±1.30 ^a
KCJ	5.20±1.10 ^{bc}	ND
JCJ	2.11±1.41 ^{cd}	ND
CCJ	1.36±0.01 ^d	10.25±2.56 ^d

¹⁾ %: absorbance ratio to control.

²⁾ Means followed by different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

³⁾ ND: not detected.

CJ, *Cheong-jang*; DJ, *Deot-jang*; JJ, *Jin-jang*; EJ, *Eoyeuk-jang*; KJ, *Kot-jang*; TJ, traditional *kanjang*; KCJ, Korean commercial *kangjang*; JCJ, Japanese commercial *kangjang*; CCJ, Chinese commercial *kangjang*.

올을 이용한 추출물의 α-glucosidase 저해활성(약 33~44%)과 비슷함 범위의 활성을 보임을 알 수 있었다. 저분자 분획물 시료 중 가장 높은 α-glucosidase 저해활성을 보인 간장은 궁중간장인 진장(8.8%)이었으며, 고분자 분획물 시료에 있어서는 궁중간장인 꽃장으로 약 75%의 저해활성을 보였다. 꽃장의 고분자량 분획물의 분자량을 더 세분화하여 분획한 후 시료를 분석한 결과 100,000 이상의 분자량을 갖는 물질이 높은 α-glucosidase 저해활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 이 분획물을 열처리 및 cysteine, serine 및 threonine 계열의 단백질 분해효소 저해제인 leupeptin을 처리했을 때, α-glucosidase 저해활성을 잃어버리는 점으로 보아 전형적인 단백질 분해효소로 생각되어진다. 그러나 최근 삼

푸진저(*Zingiber ottensii* Valetton)의 줄기로부터 α -glucosidase를 저해하는 새로운 단백질이 보고(27)된 점으로 미루어 볼 때 이는 좀 더 많은 연구를 통해 규명되어야 할 부분으로 사료된다.

항비만효과에 있어서 lipase 효소활성 억제제는 비만치료제를 개발하기 위한 많은 연구 중의 하나이다. Lipase는 triglyceride를 2-monoacylglycerol과 fatty acid로 분해하여 지방을 체내로 흡수할 수 있게 해주는 주요 효소이다. 대표적인 이 효소의 저해제인 lipstatin의 유도체인 tetrahydro-lipstatin은 현재 의약품으로 시판중이나 위장장애, 과민증, 담즙분비장애, 지용성비타민 흡수억제, oxalate 축적에 의한 신장손상 등의 부작용이 보고되고 있다. 따라서 많은 연구자들은 식품 및 천연물로부터 보다 안전한 lipase 억제제를 개발하기 위해 꾸준히 연구해 오고 있다(28-31). 이에 한국 전통발효 식품인 궁중간장류의 lipase 저해효과를 분석하였으며, 이에 따른 결과는 Table 4와 5에 나타내었다.

궁중간장류의 1,000 이하의 저분자량에서의 lipase 저해활성은 청장, 덧간장, 진장 및 어육간장에서 각각 $17.93 \pm 0.03\%$, $43.55 \pm 0.05\%$, $3.84 \pm 1.28\%$, $29.48 \pm 1.28\%$ 값이 분석되어졌고, 1,000 이상의 고분자량 분획물 시료에서는 덧간장 $19.20 \pm 1.30\%$, 진장 $12.81 \pm 0.01\%$, 어육간장 $34.55 \pm 1.25\%$ 로 각각 lipase 저해활성이 확인되어졌다. 종합적으로 본 연구에서 수행된 간장류의 lipase 저해활성은 재래식 간장이 시판 개량간장보다 우수했으며 특히 궁중간장류인 덧간장 및 어육간장은 향후 많은 연구가 필요로 하지만 항비만 식품으로써의 가능성이 있을 것으로 기대된다.

결론적으로 궁중간장류의 생리활성은 분획된 저분자 분자량의 물질이 고분자 분자량 물질보다 다소 우수해 보이는 하나, 전체적인 생리활성은 분자량별 차이가 있다기보다는 다양한 크기의 분자들이 서로 혼합되어 시너지 효과에 의해 생리활성이 결정될 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 고급 장류인 궁중간장과 한식간장 및 시판 개량간장의 갈변도, 총 phenol 함량, SOD 유사활성, 항균활성, 혈전용해능, α -glucosidase 및 lipase 억제효과를 한외여과기로 분획된 1,000 이하 저분자 물질과 1,000 이상 고분자 물질의 분획물을 이용하여 *in vitro*에서 측정하였다. 분자량이 1,000 이하 및 1,000 이상 궁중간장류의 분획물의 갈변물질에 따른 갈변도는 각각 $0.101 \pm 0.001 \sim 0.206 \pm 0.006$ 과 $0.486 \pm 0.145 \sim 2.503 \pm 0.008$ 범위 흡광도 값을 보였으며, 궁중간장류 중 꽃장의 갈변도가 가장 높았다. 총 페놀 화합물 함량에 있어서, 분자량 1,000 이하 궁중간장류 분획물은 $101.55 \pm 1.49 \sim 114.00 \pm 0.11$ mg/L 범위에서 측정되었으며, 이는 일본 및 중국에서 제조된 시판 개량간장에 비해 높았다. 그러나 분자량이 1,000 이상의 분획물에서는 일본 및 중국에서

제조된 시판 개량간장들보다는 낮았다. 궁중간장류의 항산화 활성은 대부분 1,000 이하 분획물 시료에서 평균 51%의 SOD 유사활성을 보였으며, 한식간장과 시판 개량간장들보다 높게 나타났다. 혈전용해능 및 항균활성에 있어서는 본 연구에 사용된 모든 간장 분획물 시료에서는 뚜렷한 결과를 얻지 못했다. α -glucosidase 저해활성은 분자량이 1,000 이하의 분획된 궁중간장류는 $6.34 \pm 1.51 \sim 8.79 \pm 0.81\%$ 범위에서 저해활성을 보여 한식간장과는 유의적인 차이가 없었으나 시판 개량간장들보다는 약 2.9배 높은 유의적 차이를 보였다. 분자량이 1,000 이상의 분획물은 꽃장(75%)을 제외하고는 평균 약 6.7%로 한식간장 및 국내 제조 개량간장들과는 유의적 차이가 없었다. 분자량 1,000 이하 및 이상 분획된 간장 시료들로부터 lipase 저해활성은 시판 개량간장들에서는 거의 볼 수 없었으며 대부분 궁중간장인 청장, 덧간장, 진장, 어육간장 시료들에서만 lipase 저해활성을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2011년도 농림수산식품부 식품기술개발사업에 의해 이루어진 연구결과로, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Park JW, Lee NK, Kim BY, Kim HK, Kwon KO, Hahn YT. 2010. Characterization of traditionally fermented Korean soybean paste, *Eoyukjang*, and isolation of its microorganisms. *Food Sci Biotechnol* 19: 425-430.
2. Moon GS, Cheigh HS. 1987. Antioxidative characteristics of soybean sauce in lipid oxidation process. *Korean J Food Sci Technol* 19: 537-542.
3. Kim JS, Kim HO, Moon GS, Lee YS. 2008. Comparison of characteristics between soy sauce and black soy sauce according to the ripening period. *J East Asian Soc Dietary Life* 18: 981-988.
4. Ham SS, Kim SH, Yoo SJ, Oh HT, Chio HJ, Chung MJ. 2008. Biological activities of soybean sauce (Kangjang) supplemented with deep sea water and sea tangle. *Korean J Food Preserv* 15: 274-279.
5. Heu MS, Park CH, Kim JG, Kim HJ, Yoon MS, Park KH, Kim JS. 2010. Improvement of the antioxidative and ACE-inhibiting activities of commercial soy sauce using gelatin hydrolysates from the by-products of Alaska pollock. *Kor J Fish Aquat Sci* 43: 170-187.
6. Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities of Korean traditional *Kangjang* and garlic-added *Kangjang*. *J Agriculture & Life Science* 44: 39-48.
7. Park YW, Lee SW, Chang PS, Lee JM, Kim YS, Lee JH. 2009. Changes of isoflavones and fatty acids in *Eoyukjang*, a traditional Korean fermented soysauces prepared under the ground in a pot or an incubator. *Food Sci Biotechnol* 18: 48-52.
8. Yoshikawa M, Fujita H, Matoba N, Takenaka Y, Yamamoto T, Yamauchi R, Tsuruki H, Takahata K. 2000. Bioactive

- peptides derived from food proteins preventing lifestyle-related diseases. *BioFactors* 12: 143-146.
9. Barać MB, Stanojević SP, Pešić MB. 2005. Biologically active components of soybeans and soy protein products. *Apteff* 36: 155-168.
 10. Cheigh HS, Lee JS, Lee CY. 1993. Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22: 570-575.
 11. Lee NK, Hahm YT. 2005. Antioxidative characteristics of browning reaction products of glucose-poly- γ -glutamate (Glu-PGA) obtained from amino-carbonyl reaction. *Korean J Food Sci Technol* 37: 812-815.
 12. Joo EY, Park CS. 2010. Antioxidative and fibrinolytic activity of extracts from soybean and *Chungkukjang* (fermented soybean) prepared from a black soybean cultivar. *Korean J Food Preserv* 17: 874-880.
 13. Oh HJ, Kim CS. 2007. Antioxidant and nitrite scavenging ability of fermented soybean foods (*Chungkukjang*, *Doenjang*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1503-1510.
 14. Lee NK, Yeo IC, Park JW, Kang BS, Hahm YT. 2010. Isolation and characterization of a novel analyte from *Bacillus subtilis* SC-8 antagonistic to *Bacillus cereus*. *J Biosci Bioeng* 110: 298-303.
 15. Palanuvej C, Hokputsa S, Tunsaringkarn T, Ruangrunsi N. 2009. *In vitro* glucose entrapment and alpha-glucosidase inhibition of mucilaginous substances from selected Thai medicinal plants. *Sci Pharm* 77: 837-849.
 16. Jeon EH. 2003. Isolation and characterization of aerobic spore-forming bacteria isolated from Chung Guk Jang. *MS Thesis*. Chung-Ang University, Seoul, Korea. p 3-4.
 17. Kawk YJ, Kim JS. 2009. Changes of chlorophyll and SOD-like activities of Chinese chives dehydrated at different heat treatments. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 879-884.
 18. Nakamura K, Ogasawara Y, Endou K, Fujimori S, Koyama M, Akano H. 2010. Phenolic compounds responsible for the superoxide dismutase-like activity in high-brix apple vinegar. *J Agric Food Chem* 58: 10124-10132.
 19. Choudhary RK, Swarnkar PL. 2011. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India. *Nat Prod Res* 25: 1101-1109.
 20. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
 21. Yun GH, Lee ET, Kim SD. 2003. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus amyloliquefaciens* K42 isolated from Korean soy sauce. *Kor J Microbiol Biotechnol* 31: 284-291.
 22. Kim DY, Lee ET, Kim SD. 2003. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus subtilis* K7 isolated from Korean traditional soy sauce. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 176-182.
 23. Kim KK, Park HC, Son HJ, Kim YG, Lee SM, Choi IS. 2007. Antimicrobial and anticancer activity of Korean traditional soy sauce and paste with Chopi. *Journal of Life Science* 17: 1121-1128.
 24. Cho YS, Park YS, Lee JY, Kang KD, Hwang KY, Seong SI. 2008. Hypoglycemic effect of culture broth of *Bacillus subtilis* S10 producing 1-deoxynojirimycin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1401-1407.
 25. Kim HS, Lee JY, Hwang KY, Cho YS, Park YS, Kang KD, Seong SI. 2011. Isolation and identification of a *Bacillus* sp. producing α -glucosidase inhibitor 1-deoxynojirimycin. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 49-55.
 26. Hwang JH, Oh YS, Lim JH, Park JE, Kim MB, Yoon HS, Lim SB. 2009. Physiological properties of Jeju traditional *Doenjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1656-1663.
 27. Tiengburanatan N, Boonmee A, Sangvanich P, Karnchanat A. 2010. A novel α -glucosidase inhibitor protein from the rhizomes of *Zingiber ottensii* valetton. *Appl Biochem Biotechnol* 162: 1938-1951.
 28. Kim MS, Kim BY, Park CS, Yoon BD, Ahn SC, Oh WK, Ahn JS. 2006. Inhibitory effect of *Thujae orientalis* semen extract on pancreatic lipase activity. *Journal of Life Science* 16: 328-332.
 29. Kwon SK, Lee KB, Im KS, Kim SO, Park KY. 2006. Weight reduction and lipid lowering effects of Korean traditional soybean fermented products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1194-1199.
 30. Kim JH, Son IS, Kim JS, Kim KH, Kwon CS. 2008. Lipase-inhibitory and anti-oxidative activity of the methanol extract and the powder of *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 154-161.
 31. Weir MA, Beyea MM, Gomes T, Juurlink DN, Mamdani M, Blake PG, Wald R, Garg AX. 2011. Orlistat and acute kidney injury: an analysis of 953 patients. *Arch Intern Med* 171: 703-704.

(2011년 8월 24일 접수; 2012년 1월 12일 채택)