

## 전통식품 품질인증 일부 시판 된장의 효소활성 및 항당뇨 활성

이소영, 김인선, 박소림, 임성일, 최혜선<sup>1</sup>, 최신양\*

### Antidiabetic Activity and Enzymatic Activity of Commercial *Doenjang* Certified for Traditional Foods

So-Young Lee, In-Sun Kim, So-Lim Park, Seong-IL Lim, Hye-Sun Choi<sup>1</sup>, and Shin-Yang Choi\*

접수: 2012년 11월 15일 / 게재승인: 2012년 11월 20일  
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** We investigated the anti-diabetic activity and enzymatic activity of 24 commercial *doenjang* samples certified for traditional foods. Twenty four *doenjang* samples showed the wide ranges in enzymatic activities (protease activities 0-50.45 unit/g,  $\alpha$ -amylase activities 0-675.9 unit/g,  $\beta$ -amylase 13.6-308.6 unit/g), and there were no difference in enzymatic activity by the producing region. To evaluate the potential anti-diabetic activity of 24 *doenjang* samples, we examined the effect of *doenjang* methanol extract (DME) on 2-[n-(7-nitrobenz-2-oxa-1, 3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-d-glucose (2-NBDG) uptake. Ten samples among 24 samples significantly stimulated the uptake of 2-NBDG. When the cells were treated with DME at 400 ug/mL, No. 17 and 23 specially stimulated 2-NBDG uptake by 1.23-fold and 1.25-fold, respectively, compared with untreated control cell. And there were no cytotoxicity in the C2C12 cells treated with DME at concentration of 500 ug/mL. Among 24 samples, No. 6, 7, 12, 21 and 24 showed the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activity at concentration of 10 mg/mL; however, they were less effective than acarbose which is a commercial  $\alpha$ -glucosidase inhibitor.

**Keywords:** *doenjang*, enzyme activity, antidiabetic activity, 2-NBDG uptake,  $\alpha$ -glucosidase inhibitor

#### 1. 서론

전체 당뇨병의 90%에 해당하는 제 2형 당뇨병은 근육, 간, 지방조직에서 인슐린 저항성으로 인해 인슐린 작용이 충분하지 못하거나 췌장의 베타세포가 인슐린 저항성을 극복할 수 있을 만큼 인슐린을 분비하지 못하여 혈중 포도당 농도가 높게 지속될 때 유발된다. 지속적인 고혈당은 당질 뿐만 아니라 지질 및 단백질 대사에도 이상을 초래하여 신장 기능의 저하, 동맥경화, 망막 출혈로 인해 시력 저하, 족부 궤양, 말초신경병증 등 다양한 합병증을 유발하는데, 최근 식생활의 서구화와 더불어 비만 환자가 급증하면서 제 2형 당뇨병 환자의 유병율도 급격히 증가하여 경제적 사회적으로 상당한 손실이 발생하고 있다 [1]. 이에 당뇨병을 예방하고 치료하기 위해 장에서 포도당 흡수를 억제하는  $\alpha$ -glucosidase 저해제, 간에서 포도당 합성을 억제하는 biguanide 계, 베타세포에서 인슐린 분비를 직접 자극하는 설폰닐요소제 등 효능이 우수한 경구용 약물을 비롯한 다양한 치료제 개발이 활발히 진행되고 있다 [2,3]. 그러나 이들 치료제의 지속적인 복용은 저혈당, 간독성, 체중증가 및 복부팽만감 등의 부작용 [4]과 약제 내성을 초래할 수 있어서 문제가 되고 있으므로, 장기 복용에 따른 이 같은 부작용의 위험성을 해소할 수 있는 혈당 강화 소재의 개발이 절실한 실정이다. 이에 일본과 미국을 비롯한 선진국에서는 대체의학과 더불어 식품소재로부터 항당뇨 활성이 있는 물질을 얻고자 많은 연구를 진행하고 있다 [5,6]. 따라서 오랜 기간 섭취해 온 전통식품

한국식품연구원 발효기능연구단  
Fermentation and Functional Research Group, Korea Food Research Institute, 1201, Anyangpangyo-ro, Bundang-Ku, Gyeonggi-Do, 463-746, Republic of Korea  
Tel: +82-31-780-9107, Fax: +82-31-709-9876  
e-mail: choisy@kfri.re.kr

<sup>1</sup>농진청 국립농업과학원 농식품자원부  
<sup>\*</sup>Department of Agro-food resources, National Academy of Agricultural science, RDA, Suwon 441-853, Republic of Korea

으로부터 향당뇨 활성이 있는 소재를 찾는 것은 안전성 측면에서 의미가 있을 것이다. 한국의 전통발효식품 중 된장은 간장, 청국장과 함께 콩을 주원료로 하는 우리나라 고유의 발효식품으로 식문화적 관점에서 뿐만 아니라 영양학적으로 매우 우수한 식품으로 인정되고 있다. 된장을 비롯한 대두를 원료로 한 우리나라 장류의 제조기원은 삼국시대 이전으로 추정될 만큼 긴 역사를 가지고 있어 된장의 제조 방법이나 관능적 특성에 관해서는 많은 연구가 진행되어 왔다 [7,8]. 최근에는 된장이 활성 산소에 의한 세포나 유전자의 파괴와 변형을 방지하여 노화를 억제하는 효과 [9]가 있고, 된장 발효 중 생성되는 리놀렌산과 펩타이드 등이 항암성과 항고혈압성 [10]을 나타낸다는 기능성과 관련된 연구도 보고되고 있으며, 된장의 향당뇨 활성 [11]에 대한 연구도 보고되고 있다. 그러나 이러한 연구는 기능성 소재를 첨가하여 된장을 제조하였거나, 특정 미생물을 사용하여 제조한 된장에 관한 연구로 시판되고 있는 전통식품 품질인증을 받은 시판 된장제품에 대한 연구는 미비한 실정이다. 전통식품 품질인증은 국내산 농수산물을 주원료로 하여 제조, 가공 또는 조리한 우리 고유의 맛, 향 및 색을 내는 우수 전통식품에 대해 품질을 보증하는 제도로 된장 품목으로 전통식품 품질인증을 받기 위해서는 식품위생법상의 된장기준규격 [12]을 만족함과 동시에 수분 60% (w/w) 이하, 아미노산성질소 300 mg% 이상으로 고시하고 있는 전통식품 표준규격 [13]을 충족하여야 한다. 2012년 10월까지 총 46품목 472개 공장이 전통식품 품질인증을 받아 운영되고 있는데, 그 중 된장품목 (규격번호 T015)에서는 51개 제품이 전통식품 품질인증을 받아 생산 및 판매되고 있다 [14]. 이에 본 연구에서는 인증을 통해 품질관리가 이루어지고 있는 전통된장의 우수성 구명과 더불어 안전성이 확보된 향당뇨 식품 소재를 탐색하기 위한 일환으로 전통식품 품질인증을 받은 일부 시판 된장의 효소활성 및 향당뇨 활성을 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 된장 시료의 수집

전통식품 품질인증을 받아 시판되고 있는 된장을 제조지역별 (경기도 4 제품, 강원도 4 제품 충청도 3 제품, 경상도 3 제품, 전라도 6 제품, 제주 3 제품)로 총 24개 제품을 수집하여 실온에 보관하며 실험에 사용하였다. 본 논문상에는 시판 제품임을 고려하여 제품명을 기재하지 않고 일련번호로 표기하였다.

### 2.2. 사용시약

세포배양을 위한 DMEM, Fetal bovine serum (FBS), 0.05% Trypsin, Penisillin-streptomycin, PBS 및 2-[n-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2-deoxy-d-glucose (2-NBDG)는 Life technology (CA, USA) 제품을 이용하였으며, 그 외 연구에 사용된 시약은 Sigma (MO, USA) 제품을 사용하였다.

### 2.3. 조효소액 및 70% methanol 추출물 제조

효소활성 측정을 위한 조효소액 추출을 위해 수집한 된장 2 g에 증류수 20 mL를 가하여 25°C에서 60분 동안 180 rpm으로 shaking 한 후 4°C에서 8000 rpm로 5분 동안 원심분리하였다. 상등액을 취하여 whatman No. 1로 여과한 후 여액을 조효소액으로 하여 실험에 사용하였다. 향당뇨 활성 측정을 위해 된장 20 g에 70% 메탄올 180 mL를 가하여 25°C에서 150 rpm로 18시간 동안 shaking 하였다. 4°C에서 8000 rpm로 15분 동안 원심분리 한 뒤 상등액을 whatman No. 2로 여과하였다. 감압 농축기를 이용하여 농축하고 동결건조한 후 -20°C에서 보관하며 증류수로 일정 농도로 용해시켜 실험에 사용하였다.

### 2.4. 효소활성 측정

$\alpha$ -amylase activity는 blue value 법을 변형하여 측정하였다 [15]. 0.5% soluble starch (pH 5.9) 0.5 mL에 0.04 M PBS 0.4 mL를 넣은 후 조효소액을 0.1 mL를 가한 후 30°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1 N HCl을 0.1 mL 넣어서 반응을 중지시킨 후 0.1 mL 취하여 1.5 mL iodine solution과 30분 동안 반응시키고 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 단위는 pH 5.9, 25°C에서 10분 동안 Starch-iodine solution의 blue density를 10% 감소시키는 양을 1 unit으로 정의하였다.  $\beta$ -amylase activity측정은 dinitrosalicylic acid 법으로 측정하였다 [16]. 1% soluble starch를 기질로 사용하여 기질 0.1 mL, 조효소액 0.1 mL 혼합한 후 20°C에서 10분간 반응시킨 뒤 DNS 시약 0.1 mL를 첨가하여 5분간 끓는 물에서 가열하였다. 가열 반응 후 급냉시키고 증류수를 0.9 mL 첨가한 후 4°C에서 8000 rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 상등액을 0.2 mL 취하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질로 maltose를 사용하였다. 효소활성 단위는 pH 4.8, 20°C에서 3분 동안 1 mg maltose를 생산하는 효소량을 1 unit으로 정의하였다. Protease 활성 Anson의 방법을 일부 변형하여 측정하였다 [17]. 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8) 0.2 mL에 0.6% casein 0.3 mL과 조효소액 0.1 mL을 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 0.4 M TCA를 0.6 mL 첨가하여 상온에서 10분간 방치시켜 효소반응을 정지시켰다. 반응액은 12,000 rpm으로 10분 동안 원심분리한 뒤 상등액 0.2 mL에 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL와 1 N phenol 0.2 mL를 첨가하여 40°C에서 30분간 발색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tyrosine을 사용하였다. 효소활성 단위는 1분간 tyrosine 1  $\mu$ g을 유리하는 효소량을 1 unit로 정의하였다.

### 2.5. 2-NBDG uptake

C2C12 myoblast cell line을 DMEM supplement 10% FBS 배지에서 48시간 배양한 후, 2% horse serum 배지에서 functional myotube가 될 때까지 4-5일간 분화시켰다. 이를 low glucose 배지로 옮긴 후 4시간 starving 시키고 여기에 시료를 400  $\mu$ g/mL 농도로 희석시킨 50  $\mu$ M 2-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-2-deoxy-d-glucose low glucose 배지로 옮겨 18시간 동안 배양하였다. 배양한 배지를 제거

하고 PBS로 세척한 후 cell을 건조시켜 fluorescence micro reader를 사용하여 EX/EM = 466/540 조건으로 측정하였다.

## 2.6. MTT

C2C12 myoblast cell line을  $1.0 \times 10^5$  cell/100  $\mu$ L의 농도로 96 well plate에 분주하고 24시간 배양한 후, 배지를 제거하였다. 여기에 시료를 500  $\mu$ g/mL 농도로 희석시킨 DMEM 배지 100  $\mu$ L을 가하여 24시간 배양한 후, 5 mg/mL로 제조한 MTT용액 20  $\mu$ L를 각각 넣고 4시간동안 배양하였다. 배양 후, 상등액을 제거하고 100  $\mu$ L의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 계산하였다.

## 2.7. $\alpha$ -glucosidase 저해활성 측정

96 well plate에 된장 추출물 147  $\mu$ L, 30  $\mu$ L 0.1 M PBS (pH 7.2), 30  $\mu$ L p-NPG (1.42 mM) 및 5  $\mu$ L  $\alpha$ -glucosidase (1.8 U/mL)을 첨가한 후 37°C에서 10분간 반응 시켰다. 10분 후 0.5 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 을 100  $\mu$ L 가하여 반응을 중지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다 [18]. 저해율은 아래 식을 통해 산출하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = [1 - (A_{405} \text{ of sample} - A_{405} \text{ of blank}) / A_{405} \text{ of control}] \times 100$$

## 2.8. 통계처리

실험결과는 SAS 9.1 (ver.)을 이용해 평균값 (mean)  $\pm$  표준편차 (standard deviation)로 표기 하였고, 분산분석법 (ANOVA)으로 분석하였다. 각 실험 군 사이의 평균 값들에 대한 통계적 유의성 검증은  $P < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 효소활성 측정

국내에 유통되고 있는 된장에는 *Aspergillus* 속, *Bacillus* 속, *Tetragenococcus*, *Lactobacillus* 속, *Staphylococcus* 속 및 *Weissella* 속의 미생물이 우점하고 있는데 [19], 이들 미생물이 생산하는 protease, amylase 및 lipase 등의 효소에 의해 원료의 단백질과 탄수화물, 그리고 지방 성분이 가용성으로 분해되면 된장의 고유한 맛과 향이 나타나게 된다. 된장의 풍미는 소금에서 오는 짠맛, 탄수화물의 분해로 생성되는 당에 의한 단맛, 이 당이 알코올로 발효되면서 나타나는 tangy flavor, 단백질의 가수분해 산물인 펩타이드나 아미노산에서 오는 구수한 맛 등이 조화를 이루면서 생성되므로 [20,21] 효소학적 특성은 된장의 품질과 밀접한 관련이 있는 인자라 할 수 있다. 이에 전통식품 품질인증을 받아 시판되고 있는 된장 중 24종의 된장을 수집하고 조효소액을 추출한 후 protease 및  $\alpha$ ,  $\beta$ -amylase 활성을 측정하여 된장의 효소학적 특성을 평가하였다. 24종 된장 중 3종의 된장에서는 protease 활성이 검출되지 않았고 이를 제외한 21종 된장에서 4.41-

50.45 unit/g 수준의 protease 활성을 보였다.  $\alpha$ -amylase는 7종 된장에서는 활성이 없는 것으로 나타났으나, 그 외 17종 된장에서 17.0-675.9 unit/g 범위의 활성을 보였으며,  $\beta$ -amylase의 경우 24종 된장에서 13.6-308.6 unit/g의 넓은 활성 범위를 보였다 (Table 1). 된장 숙성 중에 나타나는 protease 및 amylase의 활성은 된장의 품질을 좌우하는 중요한 지표로서 코지나 메주의 품질 및 양과 밀접한 관련이 있으며, 일반적으로 발효초기에는 증가하다 발효후기에 감소하는 경향이 나타난다고 보고되고 있다 [22-25]. 본 연구 결과에서 시판 된장의 효소활성이 넓은 범위를 나타낸 것은 제품의 숙성기간이 다양하기 때문인 것으로 생각되며,  $\alpha$ ,  $\beta$ -amylase의 경우 protease에 비해 활성 범위가 월등히 넓게 분포한 것은 숙성기간의 차이도 있지만 제품 제조 시 사용한 전분질 원료의 종류와 첨가량의 다양함에 의한 것으로 생각된다.

**Table 1.** Enzymatic activity of commercial *doenjang* certified for traditional foods

Products No	$\alpha$ -amylase activity (Unit/g)	$\beta$ -amylase activity (Unit/g)	Protease activity (Unit/g)
1	31.3 $\pm$ 1.65	111.4 $\pm$ 0.0	12.88 $\pm$ 0.00
2	ND <sup>1)</sup>	37.8 $\pm$ 2.4	16.27 $\pm$ 8.47
3	397.4 $\pm$ 0.99	25.7 $\pm$ 1.6	4.41 $\pm$ 8.47
4	25.0 $\pm$ 1.91	138.8 $\pm$ 1.6	9.49 $\pm$ 0.00
5	ND	308.6 $\pm$ 3.2	13.45 $\pm$ 5.65
6	279.1 $\pm$ 5.21	85.5 $\pm$ 0.0	30.68 $\pm$ 35.31
7	125.7 $\pm$ 4.40	13.6 $\pm$ 0.8	<sup>1)</sup> ND
8	ND	78.2 $\pm$ 0.8	9.49 $\pm$ 8.47
9	17.0 $\pm$ 0.41	49.9 $\pm$ 1.6	14.29 $\pm$ 4.24
10	ND	58.0 $\pm$ 6.5	8.08 $\pm$ 1.41
11	43.0 $\pm$ 1.12	75.0 $\pm$ 0.8	22.49 $\pm$ 8.47
12	344.4 $\pm$ 1.19	75.8 $\pm$ 0.0	25.31 $\pm$ 22.60
13	675.9 $\pm$ 2.66	15.2 $\pm$ 0.8	32.94 $\pm$ 29.66
14	204.4 $\pm$ 9.04	54.0 $\pm$ 0.8	20.23 $\pm$ 5.65
15	ND	51.6 $\pm$ 1.6	ND
16	633.8 $\pm$ 1.78	44.3 $\pm$ 0.8	ND
17	191.6 $\pm$ 0.99	49.1 $\pm$ 0.8	14.01 $\pm$ 22.60
18	532.0 $\pm$ 2.12	79.8 $\pm$ 2.4	8.08 $\pm$ 12.71
19	34.7 $\pm$ 1.55	69.3 $\pm$ 1.6	42.82 $\pm$ 11.30
20	116.1 $\pm$ 5.33	70.2 $\pm$ 2.4	30.11 $\pm$ 1.41
21	49.5 $\pm$ 4.22	250.4 $\pm$ 6.5	19.10 $\pm$ 2.82
22	548.9 $\pm$ 6.12	173.6 $\pm$ 4.0	50.45 $\pm$ 21.19
23	ND	62.9 $\pm$ 1.6	33.22 $\pm$ 5.65
24	ND	189.0 $\pm$ 3.2	14.58 $\pm$ 5.65

<sup>1)</sup> ND: not detect.

Each value represent the mean  $\pm$  SD.

### 3.2. 2-NBDG uptake

2-NBDG uptake 측정결과 (Table 2), 된장메탄올추출물을 400  $\mu$ g/mL 농도로 처리 시 24종 된장 중 4, 7, 8, 10, 15, 16, 17, 19, 20 및 23번 된장이 근육세포에서의 glucose uptake를 유의적으로 촉진시키는 것으로 나타났다. 이 중 17번 된장과 23번 된장은 시판 당뇨치료제인 metformin과 유사한 수준의 glucose uptake를 보였다. 된장 추출물의 C2C12에 대한 세포독성을 MTT assay 통해 측정한 결과 (Table 3), 대부분의 된장메탄올추출물은 500  $\mu$ g/mL 농도에서 95-100%의

cell viability를 보여 세포독성이 없는 것으로 나타났으며, glucose uptake 활성을 보인 17번 된장과 23번 된장을 처리한 경우 세포독성도 없었으며, 세포증식활성화 효과도 나타나지 않아 glucose uptake의 증가가 세포증식에 의한 것은 아님을 알 수 있었다. 된장과 같은 대두 발효식품에는 phytoestrogen alycone류로 인슐린 저항성 개선에 관여하는 genistein 및 daidzein 등의 isoflavone이 다량 존재하는데 [26-29], 이들 물질은 대두에 존재하는 배당체 형태의 isoflavone이 발효 과정 중 발생하는 열이나 미생물이 생산하는  $\beta$ -glucosidase에 의해 전환되면서 생성된다고 알려져 있으며, 생성량은 발효 기간, 발효 미생물 등에 의해 영향을 받는다고 알려져 있

**Table 2.** Effect of 70% methanol extract from commercial *doenjang* certified for traditional foods on glucose uptake in C2C12 cells

Products No	2-NBDG uptake (fold induction)	Products No	2-NBDG uptake (fold induction)
Control	1.00 ± 0.04 <sup>cdef</sup>	12	0.90 ± 0.02 <sup>cdef</sup>
Metformin	1.25 ± 0.07 <sup>a</sup>	13	0.99 ± 0.05 <sup>cdef</sup>
1	1.00 ± 0.09 <sup>cdef</sup>	14	1.01 ± 0.07 <sup>bcdef</sup>
2	0.98 ± 0.06 <sup>cdef</sup>	15	1.12 ± 0.03 <sup>abcdef</sup>
3	0.95 ± 0.06 <sup>def</sup>	16	1.16 ± 0.08 <sup>abcde</sup>
4	1.09 ± 0.01 <sup>abcdef</sup>	17	1.23 ± 0.02 <sup>ab</sup>
5	1.06 ± 0.08 <sup>abcdef</sup>	18	0.94 ± 0.05 <sup>ef</sup>
6	1.07 ± 0.11 <sup>abcdef</sup>	19	1.17 ± 0.06 <sup>abc</sup>
7	1.10 ± 0.06 <sup>abcdef</sup>	20	1.17 ± 0.04 <sup>abce</sup>
8	1.13 ± 0.10 <sup>abcde</sup>	21	0.98 ± 0.01 <sup>cdef</sup>
9	1.00 ± 0.07 <sup>cdef</sup>	22	1.05 ± 0.07 <sup>abcdef</sup>
10	1.14 ± 0.08 <sup>abcde</sup>	23	1.25 ± 0.04 <sup>a</sup>
11	1.07 ± 0.10 <sup>abcdef</sup>	24	1.02 ± 0.07 <sup>bc</sup>

C2C12 cells treated with *doenjang* methanol extract and metformin at concentration of 400 and 414  $\mu$ g/mL, respectively. Each value and bar represent the mean  $\pm$  SD. Different letters indicate a significantly different base on one-way ANOVA and the Duncan's multiple Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Effect of 70% methanol extract from commercial *doenjang* certified for traditional foods on the proliferation of C2C12 Cells

Products No	cell viability (%)	Products No	cell viability (%)
Control	100.00 $\pm$ 6.05	13	98.18 $\pm$ 2.58
1	98.95 $\pm$ 0.83	14	97.06 $\pm$ 6.44
2	99.62 $\pm$ 3.30	15	97.63 $\pm$ 2.76
3	98.81 $\pm$ 4.90	16	92.27 $\pm$ 2.08
4	96.42 $\pm$ 2.88	17	99.85 $\pm$ 4.27
5	92.07 $\pm$ 2.48	18	96.76 $\pm$ 4.23
6	95.07 $\pm$ 4.15	19	97.14 $\pm$ 6.05
7	98.32 $\pm$ 2.82	20	95.55 $\pm$ 2.46
8	96.07 $\pm$ 1.59	21	91.51 $\pm$ 3.70
9	97.50 $\pm$ 1.87	22	99.30 $\pm$ 2.35
10	96.76 $\pm$ 2.22	23	99.63 $\pm$ 6.35
11	95.96 $\pm$ 2.10	24	96.79 $\pm$ 1.27
12	93.00 $\pm$ 2.00		

C2C12 cells were treated with *doenjang* methanol extract at concentration of 500  $\mu$ g/mL. Each value and bar represent the mean  $\pm$  SD. Different letters indicate a significantly different base on one-way ANOVA and the Duncan's multiple Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

다 [26,27,30,31]. 본 연구에서 시판된장 중 10 여종의 된장에서 glucose uptake를 촉진시킨 것도 이와 같은 alycone 형태의 daidzein 및 genistein에 의한 인슐린 저항성 개선에 기인한 것으로 사료된다. 그러나 정확한 기작 구명을 위해서는 된장메탄올추출물에 대한 인슐린 신호전달경로 활성화, 인슐린 유사작용, AMPK 활성화 또는 PPAR- $\gamma$  agonist 작용에 의한 것인지에 대한 다각적인 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

### 3.3. $\alpha$ -glucosidase 저해활성 측정

장내  $\alpha$ -glucosidase는 탄수화물의 분해에 필수적으로 관여하는 효소로 amylase에 의해 분해된 oligosaccharide가 포도당으로 분해되는데 관여하는 효소이다. 따라서 이 효소의 저해를 통해 탄수화물의 분해를 억제하여 포도당이 흡수되는 것을 지연시키면 결과적으로 식후 혈당을 조절할 수 있으므로  $\alpha$ -glucosidase 저해제는 인슐린 비의존성 당뇨병 개선에 효과적인 것으로 알려져 있다 [32]. 이에 24종 된장메탄올추출물의 식후혈당조절활성을 평가하기 위해 10 mg/mL 및 1 mg/mL 농도에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 측정하고 결과 (Table 4), 6, 7, 12, 21 및 24번 된장에서 0.97-18.53%의 저해활성이 관찰되었으나, 시판 식후혈당강하제인 acarbose에 비해 월등히 낮은 수준이었다. 이로 미루어 보아 전통식품 인증을 받은 24종 된장 대부분은 식후혈당조절활성이 없는 것으로 생각된다.

**Table 4.**  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity of commercial *doenjang* certified for traditional foods

Product No.	Concentration	
	10 mg/mL	1 mg/mL
6	5.24 $\pm$ 0.23	1.90 $\pm$ 0.23
7	ND	0.97
12	13.91 $\pm$ 1.53	ND
21	18.53 $\pm$ 3.24	3.71 $\pm$ 0.89
23	ND	6.31 $\pm$ 1.22
24	10.31 $\pm$ 2.86	2.30 $\pm$ 1.32
Acarbose	99.54 $\pm$ 3.13	95.16 $\pm$ 5.20

Each value represent the mean  $\pm$  SD.

## 4. 결론

전통식품 품질 인증을 받아 시판되고 있는 된장 중 24종의 된장을 수집한 후 된장추출물을 제조하고 효소활성 및 항당뇨 활성을 평가하였다. 된장 조효소액의 효소활성 측정 결과, 24종 된장의 protease 및  $\alpha$ , $\beta$ -amylase 활성은 넓은 활성 범위를 보였는데 이는 제품 간의 숙성기간과 전분질 원료의 첨가량에 따른 것으로 생각된다. 2-NBDG uptake 측정결과, 된장메탄올추출물을 400  $\mu$ g/mL 농도로 처리 시 24종 된장 중 10종 된장이 근육세포에서의 glucose uptake를 촉진시키는 것으로 나타났다. 이 중 17 및 23번 된장은 시판 당뇨치료제인 metformin과 유사한 수준의 glucose uptake를 보였으며, 활성을 보인 400  $\mu$ g/mL 농도에서 C2C12에 대한 세포

독성도 나타나지 않았다. 24종의 된장메탄올추출물에 대한  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 측정한 결과, 10 mg/mL 및 1 mg/mL 농도로 처리 시 24종 중 6, 7, 12, 21 및 24번 된장에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성이 관찰되었으나, 시판 식후혈당조절제인 acarbose에 비해 매우 낮은 수준이었다. 이상이 결과를 종합해 볼 때, 전통식품 품질인증 시판된장 중 실험에 사용한 24종은 식후혈당조절활성은 없으나, 17 및 23번 된장은 근육 내포 내로의 glucose 흡수를 촉진함으로써 항당뇨 식품 소재로의 이용 가능성을 보였다.

## 감사

본 연구는 농진청 국가농업 R&D 어젠다 연구개발사업의 일부 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## References

- Korean Diabetes Association (2008) *Health Insurance Review & Assessment Service. Report of Task Force Team For Basic Statistical Study of Korean Diabetes Mellitus: Diabetes in Korea*, 1st ed., Goldfishery, Seoul, Korea.
- Levetan, C. (2007) Oral antidiabetic agent in type 2 diabetes. *Curr. Med. Res. Opin.* 23: 945-952.
- Krentz, A. J. and C. J. Bailey (2005) Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 63: 1373-1405.
- Chattopadhyay, R. R. (1999) A comparative evaluation of some blood sugar lowering agents of plant origin. *J. Ethnopharmacology* 67: 367-372.
- Miura, T., N. Ueda, K. Yamada, M. Fukushima, T. Ishida, T. Kaneko, F. Matsuyama, T. Ishida, T. Kaneko, F. Matsuyama, and Y. Seino (2006) Antidiabetic effects of corosolic acid in KK-Ay diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 585-587.
- Baskaran, K., B. Kizar Ahmath, K. Radha Shanmugasundaram, and E. R. B. Shanmugasundaram (1990) Antidiabetic effect of a leaf extract from *Gymnema sylvestre* in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J. Ethnopharmacology* 30: 295-305.
- Lee, J. O. and C. H. Ryu (2002) Preparation of low salt doenjang using by nisin producing lactic acid bacteria. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 75-80.
- Kim, M. L., E. J. Park, and J. S. Jeong (2010) Sensory characteristics of doenjang with added licorice powder as assessed by response surface methodology. *Korean J. Food Cookery Sci.* 26: 62-71.
- Cheigh, H. S. and C. Y. Lee (1993) Antioxidative and antimutagenic characteristics of melanoidin related products. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 246-52.
- Lee, D. H., J. H. Kim, B. H. Yoon, G. S. Lee, S. Y. Choi, and J. S. Lee (2003) Changes of physiological functionalities during the fermentation of medicinal herbs Doenjang. *Kor. J. Food Preserv.* 10: 213-218.
- Kwon, D. Y., J. W. Daily, H. J. Kim, and S. M. Park (2010) Antidiabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. *Nutr. Res.* 30: 1-13.
- Korea Food and Drug Administration (2011) Korean Food Standards codex. pp. 5-20-2. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea.
- Korea Food Research Institute, Submission of manuscript. <http://foodcert.kfri.re.kr> (2012).
- National Agricultural Products Quality Management Service (2012) Traditional food standards. pp. 88-93. Samjung press, National Agricultural Products Quality Management Service, Seoul, Korea.
- Fuwa, H. (1954) A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylase as the substrate. *J. Biochem.* 41: 583-603.
- Lee, N. Y., Y. S. Kim, and D. H. Shin (2003) Characteristics of microbes for high temperature fermentation and the effect of high temperature fermentation of soy. *Food Sci. Biotechnol.* 12: 390-398.
- Anson, M. L. (1938) The estimation of pepsin, trypsin, and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 79-89.
- Scofield, A. M., L. E. Fellows, R. J. Nash, and G. W. J. Fleet (1986) Inhibition of mammalian digestive disaccharidases by polyhydroxy alkaloids. *Life Sci.* 39: 645-650.
- Nam, Y. D., S. Y. Lee, and S. L. Lim (2012) Microbial community analysis of Korean soybean pastes by next-generation sequencing. *Int. J. Food Microbiol.* 155:36-42.
- Park, J. S. (1992) Histological changes of Doenjang during the fermentation with different strains. *Korea J. Food Sci. Technol.* 24: 477-481.
- Park, J. S., M. R. Lee, J. S. Kim, and T. S. Lee (1994) Composition of nitrogen compound and amino acid in soybean paste doenjang prepared with different microbial sources. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 609-615.
- Kim, J. H., J. S. Yoo, S. Y. Kim, and K. S. Lee (2006) Quality properties of soybeans pastes made from meju with mold producing protease isolated from traditional meju. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 49: 7-14.
- Kim, S. H., S. J. Kim, B. H. Kim, S. G. Kang, and S. T. Jung (2000) Fermentation of doenjang prepared with seasalts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 9: 131-137.
- MoK, C. K., K. T. Song, J. Y. Lee, Y. S. Park, and S. B. Lim. (2005) Changes in microorganisms and enzyme activity of low salt soybean paste (Doenjang) during fermentation. *Food Eng. Progress.* 9: 112-117.
- Joo, H. K., N. D. Kim, and K. S. Yoon (1989) Changes of enzymatic activities during the fermentation of soybean paste by *Aspergillus* spp. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 32: 295-302.
- Murphy, P., T. Song, G. Buseman, K. Barua, G. Beecher, D. Trainer, and J. Holden (1999) Isoflavones in retail and institutional soy foods. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2697-2704.
- Lee, Y. W., J. D. Kim, J. Zheng, and K. H. Row (2007) Comparisons of isoflavones from Korean and Chinese soybean and processed products. *Biochem. Eng. J.* 36: 49-53.
- Jang, C. H., C. S. Park, J. K. Lim, J. H. Kim, D. Y. Kwon, Y. S. Kim, D. H. Shin, and J. S. Kim (2008) Metabolism of isoflavone derivatives during manufacturing of traditional meju and doenjang. *Food Sci. Biotechnol.* 17: 442-445.
- Kwon, D. Y., J. S. Jang, J. E. Lee, Y. S. Kim, D. W. Shin, and S. Park (2006) The isoflavonoid aglycone-rich fractions of chungkookjang unsalted soybeans, enhance insulin signaling and peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  activity *in vitro*. *Biofactors* 26: 245-258.
- Barnes, S., L. Coward, M. Kirk, and J. Sgkianos (1998) HPLC-mass spectrometry analysis of isoflavones. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217: 254-262.

31. Choi, H. K., J. H. Yoon, Y. S. Kim, and D. Y. Kwon (2007) Metabolomic profiling of cheonggukjang during fermentation by <sup>1</sup>H NMR spectrometry and principal components analysis. *Process Biochem.* 42: 263-266.
32. Fischer, P. B., G. B. Karlsson, R. A. Dwek, and F. M. Platt (1996) N-butyladeoxynojirimycin-mediated inhibition of human immunodeficiency virus entry correlates with impaired gp120 shedding and gp41 exposure. *J. Virol.* 70: 7153-7160.