

Comparison of physiochemical property, phytochemical contents, and biological activity of soy sauce added with bitter melon powder

Chung Eun Hwang¹, Dong Hee Lee², Ok Soo Joo¹, Hee Yul Lee¹,
Su Cheol Kim¹, Kyung Sook Park¹, Bong Sik Um¹, Kye Man Cho^{1*}

¹Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

²Gyeongbuk Institute for Bioindustry, Andong 36728, Korea

여주분말 함유 간장의 이화학적 특성, phytochemical 함량 및 생리활성 비교

황정은¹ · 이동희² · 주옥수¹ · 이희율¹ · 김수철¹ · 박경숙¹ · 엄봉식¹ · 조계만^{1*}

¹경남과학기술대학교 식품과학부, ²경북바이오산업연구원

Abstract

In this study, contents of phenolic acid and isoflavone, and biological activities of soy sauce were compared the soy sauce added bitter melon powder (BMPs). After the fermentation, pHs were decreased from 5.83 (0% BMP), 5.47 (5% BMP), and 5.32 (10% BMP) to 5.28, 5.36, and 5.16 at 90 days, whereas the acidities of soy sauce were increased from 0.06%, 0.07%, and 0.09% to 0.30%, 0.28%, and 0.36% at 90 days, respectively. In addition, the salinities of soy sauce were decreased, while viable cell numbers including *Bacillus* and yeast were increased. The contents of total phenolic, isoflavone-aglycone, and phenolic acid and antioxidant and α -glucosidase inhibition activities were significantly increased for 90 days, while the isoflavone-glycoside contents were decreased. In Particular, soy sauce with 10% BMP at 90 days showed the highest contents of glutamic acid (GA, 9,876.09 mg/100 mL) and γ -aminobutyric acid (GABA, 325.02 mg/100 mL) contents than among other samples. Additionally, the radical scavenging activities (DPPH, ABTS, \cdot OH, and FRAP) and α -glucosidase inhibition activities of soy sauce with 10% BMP at 90 days were shown to be high 96.07%, 97.27%, 59.47%, 1.98%, and 79.96%, respectively.

Key words : antioxidant, bitter melon, soy sauce, isoflavones, phenolic acids

서 론

간장은 소금물에 메주를 30-40일간 담가 우려낸 뒤 그 국물을 떠내어 달여서 만들어지며 예로부터 음식의 간을 맞추는데 쓰는 흑갈색 액체의 조미료로 사용되어져 왔다. 특히 간장은 콩을 이용한 전통 발효식품 중 가장 대표적이며 발효 중 생성되는 아미노산에 의해 구수한 맛과, 당에 의한 단맛, 소금에 의한 짠맛, 유기산에 의한 신맛이 어우러져 간장의 품질을 형성한다(1).

간장의 주성분인 콩은 단백질의 대명사로 알려져 있으나 이 외에도 기능성 물질인 이소플라본을 함유하고 있다. 발효 과정을 거치지 않은 생콩에는 일반적으로 약 25%의 glycosides 형태와 80% 가량의 malonyl-glycosides 형태, 그리고 5%의 acetyl-glycosides 형태와 약 2% 미만의 aglycones 형태가 존재하는 것으로 알려져 있다(2). 한편 이러한 콩이 발효(간장, 된장, 청국장 등)됨에 따라 미량에 불과하던 aglycones 함량은 30-80%까지 증가한다고 보고되어있다(3). 또한 간장은 항산화(4,5)나 면역개선(6)등의 여러 생리활성 효과가 밝혀지면서 이제는 더 이상 조미식품이 아닌 세계적으로도 각광받고 있는 식품이다(7).

여주(*Momordica charantia* L.)는 우리나라에서 여자 또는 쓴오이라고 불리며 동아프리카, 남아메리카 등에서는 미숙과나 종자 등을 치료 및 예방 목적으로 이용해 오고 있는 1년생 박과식물이다(8,9). 여주 특유의 쓴맛 때문에

*Corresponding author. E-mail : kmcho@gntech.ac.kr
Phone : 82-55-751-3272, Fax : 82-55-751-3279
Received 22 November 2017; Revised 20 December 2017;
Accepted 22 December 2017.
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

우리나라에서는 과거 관상용으로만 재배되다가 여러 효능들이 밝혀지면서 조금씩 이용하고 있는 추세이다. 여주에 함유되어 있는 monordicin 및 cucurbitacins라는 알칼로이드 물질은 항바이러스나 혈당강하 등의 효능이 있다고 알려져 있다(10). 특히 여주에는 charantin이라는 지용성 물질이 함유되어 있고 이는 인슐린 분비를 촉진시켜 혈당 강하능이 아주 우수하다 보고되어 있다(11-13). 또한 여주에 함유되어 있는 MAP3이라는 단백질은 암세포를 파괴하는 세포를 활성화 시켜 암세포 증식 억제 효과(14)와 momorcharoside라는 물질은 DNA 합성을 저해하여 암이 전이되는 것을 방지할 수 있는 물질로 알려져 있다(15).

여주는 다양한 생리 효능을 지니고 있으나 아직 우리나라의 경우 여주 관련 연구와 소비는 적은 수준이다. 따라서 본 연구에서는 여주 분말을 첨가하여 간장을 제조하고 항산화 및 항당뇨 효과를 측정함으로써 기능성 식품 개발과 함께 여주 이용성 증대를 위해 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

간장 제조에 사용된 콩은 함양군 농협가공사업소에서 장류용 노란콩을 구입하여 사용하였으며 여주는 경상남도 함양군 소재 천령식품에서 건조분말 형태로 공급받아 사용하였다. 소맥 코오지 제조에 사용한 밀가루는 경상남도 진주시 대형마트에서 구입하여 사용하였다. Phenolic acid 표준품(gallic acid, chlorogenic acid, p-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, veratric acid 및 t-cinnamic acid(t-CnA))은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Isoflavone 비배당체(daidzein, glycitein 및 genistein) 역시 Sigma-Aldrich사에서 구입하였고 Folin-Ciocalteu phenol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), potassium ferricyanide, trichloroacetic acid(TCA), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTs), 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ), 2-thiobarbituric acid, trichloroacetic acid, 2-deoxyribose, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(NPG), α -glucosidase(Type I : from Bakers Yeast) 또한 Sigma-Aldrich사에서 구입하여 사용하였다. 한편 배당체(daidzin, glycitin 및 genistin)는 Indofine사(Hillsborough, NJ, USA)에서 구입하여 본 연구에 사용하였다.

소맥 코오지, 청국장 및 여주 분말 함유 간장 제조

소맥 코오지는 밀가루 3 kg에 *Aspergillus oryzae* 현탁액을 골고루 분사시켜 가며 반죽한 후 사각형 틀에 얇게 피고 25°C에서 48시간 배양하고 55°C에서 48시간 건조 및 분쇄시켜 제조하였다. 콩은 정선 및 수세하여 12시간 수침한 후 물기를 제거하고 121°C에서 1시간 증자 처리를 하였다. 상

온(15-25°C)으로 식힌 후 미리 배양해둔 *Bacillus subtilis* CSY191(16) 균주 배양액을 2.5% 접종하여 3일간 청국장을 띄운 후 55°C에서 2-3일간 건조하여 분말 형태로 제조하였다. 한편 청국장 분말과 소맥 코오지 분말은 15% 염수에 용해시킨 후 여주 첨가량은 간장 총 부피에 무첨가(대조구)와 5% 그리고 10%에 해당하는 양을 분말 형태로 첨가하여 여주 간장을 제조하였다. 제조된 여주 간장은 총 90일간 상온에서 보관하며 본 실험에 사용하였다.

pH, 산도, 염도 및 생균수

pH는 간장 시료를 일정량 취하여 pH meter(MP 220 pH meter, Schwerzenbach, UK)를 사용하여 측정하였다. 산도는 증류수 50 mL에 간장 시료 1 mL를 첨가하여 용해시킨 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3까지 중화시킨 후 젯산 양으로 환산하였다. 염도는 적당히 희석한 간장을 염도계(Atoga ES-421, Atago Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 한편 각각의 미생물 배양과 생균수 확인은 고초균의 경우 tryptic soy broth/agar(TSB/TSA) 배지를 사용하였고 효모는 chloramphenicol이 함유된 potato dextrose broth/agar(PDB/PDA) 배지를 사용하였으며 생균수 확인은 평판 도말법으로 도말한 후 30°C에서 48시간 배양한 후 30-300개 사이의 집락수를 선정 및 계수하여 log CFU/mL로 나타내었다.

유리아미노산

간장 1 mL에 증류수 4 mL를 가해 60°C에서 1시간 가수분해 시킨 후 10% 5-sulfosalicylic acid 1 mL를 첨가하여 4°C에서 2시간 방치시키고 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 μ m membrane filter(Dismic-25CS, Toyoroshikaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과시켜 60°C에서 감압 농축하였다. 농축 후 건조물에 대하여 pH 2.2 lithium buffer 2 mL씩 첨가하여 용해 후 0.45 μ m membrane filter로 여과시킨 것을 아미노산 자동 분석기로 분석하였다.

추출물 제조

간장을 우선 동결 건조하여 얻은 분말을 메탄올에 12시간 녹여 추출하고 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 상등액을 회수한 것을 추출물로 사용하였다.

Total phenolics 분석

적당히 희석한 추출물 0.5 mL를 시험관에 분주하고 25% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL를 첨가하여 3분간 정치시켰다. 이어서 2 N Folin-Ciocalteu phenol 시약 0.25 mL를 첨가하여 혼합한 다음 상온에서 1시간 동안 발색시키고 750 nm에서 분광광도계(Spectronic 2D, Thermo Co., California, CL, USA)를 이용하여 측정하였다.

Isoflavones 화합물 분석

Isoflavone 함량 분석은 Cho 등(17)의 방법에 따라 High performance liquid chromatography(HPLC, Agilent 1200 series, Agilent Co., Forest Hill, Vic, Australia)로 분석하였다. 분석에 사용된 칼럼은 Lichrophore 100 RP C18 column (4.6×250 mm, 5 µm, Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였고 이동상 용매는 0.2% 초산이 함유된 HPLC water (solution A)와 0.2% 초산이 함유된 acetonitrile(solution B)로 분석하였다. 이동상 조건은 A 용매 기준으로 0분-100%, 15분-90%, 25분-80%, 35분-75%, 45분-65% 및 50분-65%로 유지하였다. 시료는 20 µL를 주입하였으며, 이동상 속도는 30°C에서 1 mL/min으로 유지하였다. 검출기는 diode array detector(DAD)를 사용하여 UV 254 nm에서 검출하였다.

Phenolic acids 화합물 분석

Phenolic acid 함량 분석은 XTerra™ RP C8 칼럼(4.6×250 mm, 5 µm, Waters Corp., Milford, MA, USA)과 HPLC (Agilent 1200 series, Agilent Co. Forest Hill, Vic, Australia)을 이용하여 분석하였다. 0.2% 초산 함유 HPLC water(A 용매)와 0.2% 초산 함유 HPLC acetonitrile(B 용매)를 사용하였고 40분으로 60-100% linear gradient한 것은 30°C에서 1 mL/min의 흐름률을 적용하였다. 시료는 20 µL로 주입하였고 UV 검출기(Agilent 1200 series, Agilent Co.)의 280 nm에서 측정하였다.

항산화 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)라디칼 소거능은 Hwang 등(18)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 추출물의 최종 농도가 1 mg/mL가 되도록 3차 증류수로 희석한 간장 시료 0.2 mL에 DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 상온에서 30분간 방치 후 525 nm에서 측정하였다.

2,2-azino-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)(ABTS) 라디칼 소거능 역시 Hwang 등(18)의 방법에 따라 7 mM

ABTs 용액과 2.45 mM Potassium persulfate(K₂S₂O₈)를 1:1로 섞고, 암실에서 12-16시간 보관하여 ABTs radical(ABTS +•)을 형성시켰다. 이후 732 nm에서 흡광도의 값이 0.7±0.02가 되도록 메탄올로 희석하였으며 시료 0.1 mL에 ABTS 용액 0.9 mL를 첨가하여 3분 후에 분광광도계를 이용하여 측정하였다.

Hydroxyl(·OH) 라디칼 소거능은 10 mM FeSO₄·7H₂O-EDTA 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL, 시료 1.4 mL를 혼합하고 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 이 혼합액에 1% thiobarbituric acid와 2.8% trichloroacetic acid를 각각 1 mL씩 가하여 100°C에서 20분간 발색시켜 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 및 ABTS의 음성대조구는 시료대신 증류수를 사용하였고 ·OH 라디칼 소거능의 음성 대조구는 PBS 완충액(NaCl 8.76 g, NaH₂PO₃ 0.11 g, Na₂HPO₃ 0.596 g)을 사용하여 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

α-Glucosidase 저해율 측정

200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8) 50 µL에 시료와 α-glucosidase 효소 50 µL를 첨가하여 37°C에서 10분간 예비 배양한 후 sodium phosphate buffer(pH 6.8) 100 µL와 5 mM p-nitrophenol-α-D-glucopyranoside(p-NPG)을 100 µL를 가하여 37°C에서 10 분간 반응시켰다. 이 반응물에 100 mM Na₂CO₃ 750 µL를 첨가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율을 계산하였다. 음성 대조구는 증류수를 사용하였다.

통계처리

실험 결과는 SPSS 12.0 package를 사용하여 분산 분석을 수행하였고 평균±표준편차로 나타내었다.

Table 1. Comparison of pH, acidity, salinity, and viable cell numbers of soy sauce without and with bitter melon powder

Contents ¹⁾	Added bitter melon powder concentration (%)					
	0		5		10	
	0 day	90 day	0 day	90 day	0 day	90 day
pH	5.83±0.23 ²⁾	5.28±0.21 ^a	5.47±0.23 ^a	5.36±0.22 ^a	5.32±0.21 ^a	5.16±0.21 ^a
Acidity (% as lactic acid)	0.06±0.00 ^b	0.30±0.02 ^a	0.07±0.01 ^b	0.28±0.02 ^a	0.09±0.01 ^b	0.36±0.02 ^a
Salinity (% as NaCl)	12.04±0.42 ^a	11.06±0.48 ^b	12.54±0.42 ^a	10.95±0.42 ^b	11.60±0.43 ^b	11.39±0.46 ^b
Viable cell numbers (log CFU/mL)						
<i>Bacillus</i>	8.78±0.35 ^b	9.42±0.38 ^a	8.81±0.35 ^b	9.40±0.38 ^a	8.85±0.37 ^b	9.39±0.35 ^a
Yeast	6.09±0.24 ^b	6.16±0.29 ^b	6.09±0.24 ^b	7.09±0.24 ^a	6.09±0.28 ^b	6.58±0.30 ^b

¹⁾All values are means of determination in three independent experiments.

²⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

결과 및 고찰

여주분말 함유 간장의 이화학적 특성 변화

여주분말을 첨가하여 제조한 간장의 이화학적 특성은 Table 1에 나타내었다. pH는 여주분말의 첨가량이 많을수록 조금씩 감소하는 경향을 보였다(0%-5.83, 5%-5.47, 10%-5.32). 또한 90일째에는 모든 여주 간장의 pH가 아주 조금씩 감소하였고 평균 pH는 5.33을 나타내었다. 한편 pH 감소에 비례하여 산도는 조금씩 증가하였고 10% 여주 간장이 0.36%로 산도가 가장 높게 측정되어졌으나 큰 차이는 없었다. 염도는 전체적으로 90일째 조금씩 감소하는 경향을 나타내었고 10%(11.39%), 0%(11.06%), 5%(10.95%) 첨가 순으로 염도가 높은 것으로 나타났다. 한편 간장의 생균수 변화는 여주분말 첨가량에 따른 큰 차이는 보이지 않았고 대체적으로 90일째 증가하는 결과를 나타내었다(Table 1).

여주분말 함유 간장의 유리아미노산 함량 변화

여주분말 함유 간장의 유리아미노산 함량 분석 결과는 Table 2와 같았다. 여주 첨가 간장은 공통적으로 urea가 검출되지 않았다. 비필수 아미노산은 여주 첨가량이 높을수록 총 함량 역시 증가하는 것으로 나타났다. 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우에는 4,156.95 mg/100 mL, 여주 5.0% 첨가 간장은 6,481.14 mg/100 mL, 10% 첨가 간장에서는 7,512.67 mg/100 mL가 검출되었다. 90일째 역시 비필수 아미노산 총 함량이 여주 첨가량에 비례적으로 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 11,239.62 mg/100 mL로 증가하였고 여주 5.0% 첨가 간장은 14,006.49 mg/100 mL, 여주 10% 첨가 간장은 19,229.86 mg/100 mL로 가장 크게 증가하였다. Glutamic acid(GA)는 모든 간장에서 가장 많은 양을 차지하고 있었으며 90일째 여주를 첨가하지 않은 간장은 1,341.33 → 4,094.78 mg/100 mL로 증가하였다. 5.0% 첨가 간장 역시 2,456.54 → 6,050.33 mg/100 mL로 크게 증가하였고 10% 첨가 간장은 3,400.21 → 9,876.09 mg/100 mL로 여주 간장 중 가장 큰 증가폭을 나타내었다. 한편 비필수 아미노산 (proline, aspartic acid, serine, sarcosine, glycine, α -aminobutyric acid, cystathionine, β -alanine, β -aminobutyric acid, aminoethanol, anserine, arginine)과 필수 아미노산 (threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine, histidine)들은 모두 90일째에 크게 증가하였다. 특히 혈압저하 효과가 있다고 알려진 γ -aminobutyric acid (GABA) 역시 여주 첨가량이 높을수록 많은 양이 검출되었고 90일째에는 조금씩 증가하였다. 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 GABA 함량은 42.46 → 84.95 mg/100 mL로 증가하였고 5% 첨가 시에는 168.34 → 170.30 mg/100 mL로 약간 증가하였고 10% 첨가 시에는 296.21 → 325.02 mg/100 mL로 증가하였다.

유리아미노산의 생성은 일반적으로 단백질 가수분해에

의해 생성이 되며(19) 이는 발효 미생물이 관여하고 더 나아가서는 간장을 비롯한 콩 발효식품의 관능적 특성과 영양적인 특성과 직접적인 관련이 있다(20). Yang 등(21)의 간장 가수분해물 연구 결과에서는 가수분해 처리농도에 따라 생성되는 유리아미노산의 양은 증가한다고 보고하였으며 일반 간장에서는 glutamic acid(37.04 mg/100 mL), aspartic acid(24.27 mg/100 mL), leucine(19.94 mg/100 mL), lysine(18.65 mg/100 mL), 및 tyrosine(16.02 mg/100 mL)등의 대부분의 유리아미노산이 검출되었고 주요 아미노산은 glutamic acid인 것으로 결과를 나타내 본 연구와도 일치하였다. 한편 Zarkadas 등(22) 역시 주요 아미노산으로 glutamic acid를 제시하였으며 원료 콩이 함유하고 있는 유리아미노산 조성은 콩 품종에 따른 차이가 있는 것으로 보고하였으며 이는 본 연구와도 유사한 경향을 나타내었다.

여주분말 함유 간장의 phenolic acid 함량 변화

여주분말 함유 간장의 phenolic acid 함량 변화는 Table 3에 나타낸바와 같았다. 여주분말 함유 간장에서는 모두 7종류의 화합물인 gallic acid, protocatechuic acid, p-hydrobenzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, vetaric acid, 및 t-cinnamic acid가 검출되었다. 또한 vanillic acid를 제외한 나머지 phenolic acid 화합물들은 모두 90일째에 증가한 것으로 나타났다. 또한 90일째 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 gallic acid 함량은 140.88 μ g이었고 5% 첨가 시 141.24 μ g, 10% 첨가 시 150.55 μ g을 나타내었으며 전체적으로 여주 분말 첨가량이 많을수록 gallic acid를 포함한 대부분의 phenolic acids 함량이 90일째에 증가하는 경향을 나타내었다(Table 3). 한편 초기와 90일째까지 가장 함량이 높았던 p-hydrobenzoic acid는 주요 phenolic acid 화합물인 것으로 나타났으며 여주 첨가량이 많을수록 즉, 0%(334.76 μ g → 793.68 μ g), 5%(398.67 μ g → 909.04 μ g), 10%(443.31 μ g → 1027.65 μ g)로 첨가량이 높아질수록 초기 함량도 많았으며 90일째에도 많은 것으로 나타났다. 한편 vetaric acid는 여주 첨가량에 따른 상관관계는 나타나지 않았으며 여주를 첨가하지 않은 경우 90일째 미량으로 검출되었으며 나머지 간장들 역시 대부분 90일째 감소하는 경향을 나타내었다. 일부 phenolic acid 화합물들은 증가와 감소의 차이가 조금씩 있었으나 total phenolic acid 함량은 여주 첨가량이 높을수록 다음과 같이 크게 증가하였다. 0%(605.43 μ g → 1,175.55 μ g), 5%(610.27 μ g → 1,316.30 μ g), 10%(670.97 μ g → 1,587.44 μ g) (Table 3).

Cho 등(17)의 연구 결과에서는 청국장 발효 시 phenolic acid 중 gallic acid 함량이 증가함을 보고하였고 이는 본 연구 결과와도 완벽히 일치하였다. 하지만 gallic acid를 제외한 나머지 phenolic acid 화합물들은 감소 혹은 불검출되거나 미량 검출되어 이 결과는 본 연구와 차이점이 있는 것으로 나타났다. 이러한 phenolic acid 화합물들은 2차 대

Table 2. Comparison of free amino acid contents of soy sauce without and with bitter melon powder

Contents ¹⁾ (mg/100 mL)	Added bitter melon powder concentration (%)					
	0		5		10	
	0 day	90 day	0 day	90 day	0 day	90 day
Non-essential amino acids						
Urea	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND
Proline	291.46±11.66 ³⁾	789.22±31.57 ^b	413.78±16.55 ^d	1094.72±43.79 ^a	468.67±18.75 ^c	1029.56±41.18 ^a
Aspartic acid	189.58±7.58 ^e	915.41±36.62 ^c	447.39±17.90 ^d	1345.67±53.83 ^a	443.64±17.75 ^d	1214.52±48.58 ^b
Serine	102.43±4.10 ^e	335.48±13.42 ^c	202.21±8.09 ^d	710.17±28.41 ^a	333.21±13.33 ^c	576.88±23.08 ^b
Glutamic acid	1341.33±53.65 ^f	4094.78±163.79 ^c	2456.54±98.26 ^e	6050.33±242.01 ^b	3400.21±136.01 ^d	9876.09±395.04 ^a
Sarcosine	29.23±1.17 ^d	156.89±6.28 ^a	20.83±0.83 ^e	56.33±2.25 ^c	89.65±3.59 ^b	90.59±3.62 ^b
Aminoadipic acid	103.23±4.13 ^b	252.68±10.11 ^a	6.51±0.26 ^d	ND	12.52±0.50 ^e	ND
Glycine	186.73±17.47 ^f	447.62±17.90 ^c	216.62±8.66 ^e	562.60±22.50 ^a	237.26±9.49 ^d	526.78±21.07 ^b
Alanine	486.03±19.44 ^d	1135.30±45.41 ^a	557.84±22.31 ^b	426.54±17.06 ^c	128.08±5.12 ^e	1102.92±44.12 ^b
Citrulline	130.51±5.22 ^e	475.22±19.01 ^b	219.94±8.80 ^e	ND	48.60±1.94 ^f	998.07±39.92 ^a
α-Aminobutyric acid	35.54±1.42 ^d	79.46±3.18 ^b	39.34±1.57 ^d	67.31±2.69 ^c	19.27±0.77 ^e	90.51±3.62 ^a
Cystine	ND	ND	ND	84.89±3.40 ^b	ND	97.73±3.91 ^a
Cystathionine	30.77±1.23 ^c	70.26±2.81 ^a	30.21±1.21 ^c	49.12±1.96 ^b	31.95±1.28 ^c	50.24±2.01 ^b
Tyrosine	438.74±17.55 ^f	917.18±36.69 ^c	546.27±21.85 ^e	1188.10±47.52 ^a	600.66±24.03 ^d	1103.27±44.13 ^b
β-alanine	27.82±1.11 ^f	134.95±5.40 ^a	52.91±2.12 ^e	99.30±3.97 ^c	63.68±2.55 ^d	109.97±4.40 ^b
β-Aminoisobutyric acid	101.53±4.06 ^f	286.61±11.46 ^a	145.86±5.83 ^c	207.46±8.30 ^c	155.73±6.23 ^d	234.82±9.39 ^b
γ-Aminobutyric acid	42.46±1.70 ^e	84.95±3.40 ^d	168.34±6.73 ^c	170.30±6.81 ^c	296.21±11.85 ^b	325.02±13.00 ^a
Aminoethanol	13.22±0.53 ^e	52.19±2.09 ^a	27.30±1.09 ^d	44.34±1.77 ^b	33.03±1.32 ^c	46.81±1.87 ^b
Hydroxyproline	50.34±2.01 ^b	74.34±2.97 ^a	46.42±1.86 ^b	48.51±1.94 ^b	49.21±1.97 ^b	44.05±1.76 ^b
Ornithine	187.92±7.52 ^c	131.21±5.25 ^c	152.67±6.11 ^d	318.88±12.76 ^a	230.87±9.23 ^b	307.68±12.31 ^a
1-Methylhistidine	2.22±0.09 ^e	ND	244.29±9.77 ^d	519.34±20.77 ^a	296.94±11.88 ^c	496.09±19.84 ^b
3-Methylhistidine	18.20±0.73 ^c	44.24±1.77 ^a	7.22±0.29 ^d	29.89±1.20 ^b	19.60±0.78 ^c	15.69±0.63 ^c
Anserine	129.85±5.19 ^c	436.19±17.45 ^a	126.57±5.06 ^f	344.38±13.78 ^b	156.43±6.26 ^d	313.29±12.53 ^c
Carnosine	58.68±2.35 ^a	64.50±2.58 ^a	18.16±0.73 ^c	57.27±2.29 ^a	17.88±0.72 ^c	51.44±2.06 ^b
Arginine	159.13±6.37 ^c	260.94±10.44 ^d	333.92±13.36 ^c	531.04±21.24 ^a	379.37±15.17 ^b	527.84±21.11 ^a
Totals	4156.95±166.28 ^f	11239.62±449.58 ^c	6481.14±259.25 ^e	14006.49±560.26 ^b	7512.67±300.51 ^d	19229.86±769.19 ^a
Essential amino acid						
Threonine	236.92±9.48 ^f	646.58±25.86 ^c	276.98±11.08 ^e	787.98±31.52 ^b	412.65±16.51 ^d	985.12±39.40 ^a
Valine	510.60±20.42 ^e	1381.03±55.24 ^a	617.51±24.70 ^d	1363.37±54.53 ^a	645.00±25.80 ^c	1199.64±47.99 ^b
Methionine	146.65±5.87 ^d	403.09±16.12 ^a	183.37±7.33 ^c	351.23±14.05 ^b	188.00±7.52 ^e	364.30±14.57 ^b
Isoleucine	418.09±16.72 ^e	1153.41±46.14 ^c	505.10±20.20 ^d	2048.09±81.92 ^a	498.86±19.95 ^d	1799.38±71.98 ^b
Leucine	791.36±31.65 ^e	2041.56±81.66 ^c	948.03±37.92 ^d	2456.32±98.25 ^b	951.71±38.07 ^d	2709.32±108.37 ^a
Phenylalanine	588.79±23.55 ^f	1430.34±57.21 ^b	736.69±29.47 ^e	1509.16±60.37 ^a	803.98±32.16 ^d	1411.86±56.47 ^c
Lysine	427.10±17.08 ^f	976.46±39.06 ^c	531.54±21.26 ^e	1232.93±49.32 ^a	613.17±24.53 ^d	1200.75±48.03 ^b
Histidine	171.14±6.85 ^f	398.56±15.94 ^c	212.34±8.49 ^e	467.56±18.70 ^b	334.43±13.38 ^d	678.90±27.16 ^c
Totals	3290.65±131.63 ^f	8431.02±337.24 ^a	3522.24±140.89 ^e	6504.79±260.19 ^b	3700.72±148.03 ^d	5975.92±239.04 ^c
Total amino acids	7447.60±290.90 ^f	19670.64±786.83 ^c	10003.38±400.14 ^e	20511.28±820.45 ^b	11213.39±448.54 ^d	25205.78±1008.23 ^a
Ammonia	221.66±8.87 ^d	467.50±18.70 ^a	259.74±10.39 ^c	456.10±18.24 ^b	264.68±10.59 ^c	457.47±18.30 ^b

¹⁾All values are means of determination in three independent experiments.²⁾ND, not detected.³⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 3. Comparison of phenolic acid contents of soy sauce without and with bitter melon powder

Contents ¹⁾ (µg/mL)	Added bitter melon powder concentration (%)					
	0		5		10	
	0 day	90 day	0 day	90 day	0 day	90 day
Gallic acid	85.14±3.41 ²⁾	140.88±5.64 ^b	83.65±3.35 ^c	141.24±2.15 ^b	81.76±3.27 ^c	150.55±6.02 ^a
Protocatechuic acid	32.69±1.31 ^c	47.53±1.90 ^b	21.87±0.87 ^d	53.74±2.15 ^b	11.55±0.46 ^e	79.47±3.18 ^a
p-Hydrobenzoic acid	334.76±13.39 ^f	793.68±31.75 ^c	398.67±15.95 ^e	909.04±36.36 ^b	443.31±17.73 ^d	1027.65±41.11 ^a
Chlorogenic acid	25.54±1.02 ^d	59.24±2.37 ^a	13.79±0.55 ^f	34.17±1.37 ^c	14.64±0.59 ^e	47.83±1.91 ^b
Vanilic acid	27.39±1.10 ^b	tr ³⁾	6.53±0.26 ^d	11.05±0.44 ^c	39.66±1.59 ^a	25.97±1.04 ^b
Ventricaric acid	81.56±3.26 ^d	110.86±4.43 ^c	70.22±2.81 ^e	135.78±5.43 ^b	60.79±2.43 ^f	224.59±8.98 ^a
t-Cinnamic acid	18.35±0.73 ^c	23.36±0.93 ^b	15.54±0.62 ^d	31.28±1.25 ^a	19.26±0.77 ^e	31.38±1.26 ^a
Total	605.43±24.22 ^c	1,175.55±47.02 ^c	610.27±24.41 ^c	1,316.30±52.65 ^b	670.97±26.84 ^d	1,587.44±63.50 ^a

¹⁾All values are means of determination in three independent experiments.

²⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

³⁾tr, trace (<0.002 µg/mL).

사산물로 흔히 식용 가능한 식물에 널리 분포한다고 알려져 있다(23,24). Pratt 등(25)과 Seo와 Morr(26)는 본 연구에서 검출되었던 vanillic acid나 p-hydrobenzoic acid와 같은 여러 phenolics 화합물들은 일반적으로 원료 콩에서는 매우 적은 양만이 존재한다 하였으며 Boo 등(27)은 품종별 여주의 phenolics 함량을 측정한 결과 한국 재래종이 가장 많은 양을 함유한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 phenolic acid 증가 현상은 본래 여주가 함유하고 있는 것에 기인하여 phenolics 화합물들이 90일째에 점차적으로 증가한 것으로 판단된다.

여주분말 함유 간장의 total phenolics 함량 변화

여주분말 함유 간장의 total phenolics 함량 변화는 Fig. 1과 같았다. 간장 담금 직후에는 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 1.84 mg/mL를 나타내었고 5% 첨가 시에는 2.99 mg/mL, 10% 첨가 시에는 3.76 mg/mL로 여주 첨가량이 높을수록 함량 또한 높았으며 이는 본 연구의 phenolic acid 결과와 완벽히 일치하는 경향을 나타내었다(Fig. 1). 또한 여주 첨가 간장은 90일째 각각 4.43 mg/mL(0%), 4.78 mg/mL(5%), 및 4.95 mg/mL(10%)로 증가하였다.

Phenolics 화합물은 이미 언급한바와 같이 식물계에 널리 존재하는 천연 항산화제의 대부분을 차지하며 지방질의 산화 및 산화적 스트레스 방어 효과를 나타냄과 동시에 활성산소 제거에도 관여하는 것으로 알려져 있다(18,28).

한편 Choi 등(29)은 흑마늘 첨가량이 많을수록 total phenolics 함량이 증가하는 경향을 나타낸다 하였고 Jang 등(30) 역시 황기 추출액을 5%와 10% 첨가 시 함량은 각각 7.6 mg/g 및 10.3 mg/g으로 첨가량이 많을수록 total phenolics 함량이 증가함을 보고하였다. Park 등(31)도 천마를 첨가한 간장에서 숙성 기간이 길어짐에 따라 phenolics 함량 역시 증가함을 보고하여 본 연구와도 동일한 경향을

나타내었고 이는 여주 분말에 함유되어 있는 phenolics 화합물들에 기인한 것으로 판단된다.

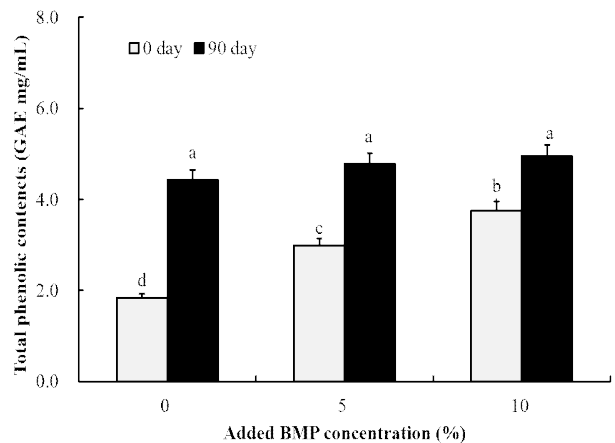


Fig. 1. Comparison of total phenolic contents of soy sauce without and with bitter melon powder (BMP).

All values are means of determination in three independent experiments. All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

여주분말 함유 간장의 isoflavone 함량 변화

여주 간장의 isoflavone 함량 분석 결과 배당체(daidzin, glycitin, genistin)와 비배당체(daidzein, glycitein, genistein) 형태의 6종류의 isoflavone이 검출되었다(Table 4). 여주 첨가 간장은 공통적으로 여주 첨가량이 높을수록 초기 배당체 총 함량은 낮은 것으로 나타났고 90일째 모두 감소하는 것으로 나타났다. 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 초기 배당체 총 함량은 80.32 µg/mL에서 11.78 µg/mL로 크게 감소하였고 5% 첨가 간장은 55.89 µg/mL → 38.99 µg/mL, 10% 첨가 간장은 54.44 µg → 45.28 µg/mL로 조금씩 감소하였다(Table 4). 여주를 첨가하지 않은 간장의 비배당체 함량

Table 4. Comparison of isoflavone contents of soy sauce without and with bitter melon powder

Contents ¹⁾ ($\mu\text{g/mL}$)	Added bitter melon powder concentration (%)					
	0		5		10	
	0 day	90 day	0 day	90 day	0 day	90 day
	Glycosides					
Daidzin	25.90 \pm 1.04 ^{a2)}	6.28 \pm 0.25 ^d	13.21 \pm 0.53 ^b	11.49 \pm 0.46 ^c	11.69 \pm 0.47 ^c	11.13 \pm 0.45 ^c
Glycitin	24.94 \pm 1.00 ^b	4.21 \pm 0.17 ^c	29.22 \pm 1.17 ^b	24.53 \pm 0.98 ^b	27.27 \pm 1.09 ^b	31.51 \pm 1.26 ^a
Genistin	29.48 \pm 1.18 ^a	1.29 \pm 0.05 ^c	13.46 \pm 0.54 ^b	2.97 \pm 0.12 ^c	15.48 \pm 0.62 ^b	2.64 \pm 0.11 ^c
Total	80.32 \pm 3.21 ^a	11.78 \pm 0.47 ^c	55.89 \pm 2.24 ^b	38.99 \pm 1.56 ^d	54.44 \pm 2.18 ^b	45.28 \pm 1.81 ^c
	Aglycones					
Daidzein	27.54 \pm 1.10 ^d	103.85 \pm 4.15 ^a	50.14 \pm 2.01 ^c	82.05 \pm 3.28 ^b	52.04 \pm 2.08 ^c	78.55 \pm 3.14 ^b
Glycitein	6.11 \pm 0.24 ^c	24.20 \pm 0.97 ^a	10.79 \pm 0.43 ^c	18.34 \pm 0.73 ^b	9.38 \pm 0.38 ^c	17.41 \pm 0.70 ^b
Genistein	15.57 \pm 0.62 ^c	77.09 \pm 3.08 ^a	33.46 \pm 1.34 ^d	62.43 \pm 2.50 ^b	33.57 \pm 1.34 ^d	56.65 \pm 2.27 ^c
Total	49.22 \pm 1.97 ^c	205.14 \pm 8.21 ^a	94.39 \pm 3.78 ^d	162.82 \pm 6.51 ^b	94.99 \pm 3.80 ^d	152.61 \pm 6.10 ^c
Total isoflavone	129.54 \pm 5.18 ^d	216.92 \pm 8.68 ^a	150.28 \pm 6.01 ^c	201.81 \pm 8.07 ^b	149.43 \pm 5.98 ^c	197.89 \pm 7.92 ^b

¹⁾All values are means of determination in three independent experiments.

²⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

변화는 49.22 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow 205.14 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 크게 증가하였으며 5% 첨가 시에는 94.39 $\mu\text{g/g}$ \rightarrow 162.82 $\mu\text{g/g}$ 만큼 증가하였으며 10% 첨가 시에는 94.99 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow 152.61 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가하였다. 즉, 여주를 첨가한 간장 모두 배당체 함량이 감소함에 따라 비배당체 함량이 크게 증가하였으며 total isoflavone 함량 역시 증가하는 결과를 나타내었고 여주를 첨가하지 않은 간장의 total isoflavone 함량이 216.92 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높았다.

Isoflavone 화합물 중 배당체 형태가 감소함에 따라 비배당체 형태가 증가하는 현상은 발효나 숙성 과정 중에 미생물이 생성하는 산이나 β -glucosidase 활성에 의한 것으로 보고되었다(17). 대표적인 콩 발효식품인 된장, 청국장, 두유의 경우에도 발효나 숙성 초기보다는 발효나 숙성 후에 비배당체 isoflavone 화합물 함량이 적게는 약 1.8배에서 많게는 약 4배 정도 증가하는 것으로 보고되어있다(18,32). Marazza 등(33) 콩 발효 연구 결과에서 발효 12시간째 배당체 함량이 100% 감소하였고 비배당체 함량이 크게 증가함을 보고하였다. 배당체 함량이 감소함에 따라 비배당체 함량이 증가하는 Marazza 등(33)의 결과는 본 연구와도 유사하였으나 배당체와 비배당체 함량은 서로 차이점이 있는 것으로 나타났다. 따라서 이러한 결과는 발효 미생물 종류와 가수분해 효소 활성도 차이, 발효 환경 등 여러 요인에 의해 차이가 있는 것으로 판단된다(34,35).

여주분말 함유 간장의 항산화 활성 변화

여주분말 함유 간장의 항산화 활성 결과는 Fig. 2와 같았다. DPPH 라디칼 소거활성 변화로는 여주를 첨가하지 않은 간장의 경우 초기 53.65%에서 90일째 92.58%로 크게 증가

하였다. 5% 첨가 여주 간장도 마찬가지로 64.03% \rightarrow 93.96%로 크게 증가하였고 10% 첨가 여주 간장은 72.16% \rightarrow 96.07%로 가장 크게 증가하였다(Fig. 2A). ABTS 라디칼 소거활성 역시 여주 첨가량에 따라 증가하였고 여주를 첨가하지 않은 간장은 68.97% \rightarrow 95.63%의 라디칼 소거활성을 보였고 5% 및 10% 첨가 간장은 각각 71.76% \rightarrow 96.42% 및 75.76% \rightarrow 97.27%의 소거활성을 나타내었다(Fig. 2B). Hydroxyl 라디칼 소거활성 및 FRAP 환원력 역시 10% 첨가 여주 간장이 90일째 가장 우수하였으며 각각 59.47%와 1.98의 환원력을 나타내었다(Fig. 2C-D).

DPPH와 같은 라디칼 소거활성의 메카니즘은 비라디칼 형태인 DPPH-H와 수소공여능이 있는 항산화제의 존재 하에서 DPPH 용액이 환원되는 원리에 기초하고 있다(36). 한편 단백질질을 원천으로부터 많은 소수성 아미노산을 갖는 peptide 서열은 항산화 활성과 관련이 있는 것으로 보고되었다(37). 그러므로 본 연구의 여주 간장은 소수성 아미노산인 phenylalanine, isoleucine, leucine, valine 등이 증가함으로 라디칼 소거활성에 영향을 미치는 것으로 추정된다. 더욱이 Eresha Mendis 등(38)은 leucine, valine, 그리고 alanine과 같은 친수성 및 소수성 아미노산이 리놀레산 모델에서 지방산의 산화를 억제하는데 효과적이라 보고하였고 Suetsuna 등(39)도 glutamic acid, leucine, histidine이 항산화 활성을 향상시키므로 그 중요성을 강조하였다. 이 외 요인으로 Heim 등(40)의 결과에서는 비배당체 이소플라본이 우수한 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였고 특히 daidzein보다는 genistein이 우수하다고 발표한 바 있다. 따라서 본 연구의 여주 분말 첨가 간장의 향상된 항산화 활성은 상기 기술된 여러 결과들과 유사한 것으로 판단된다.

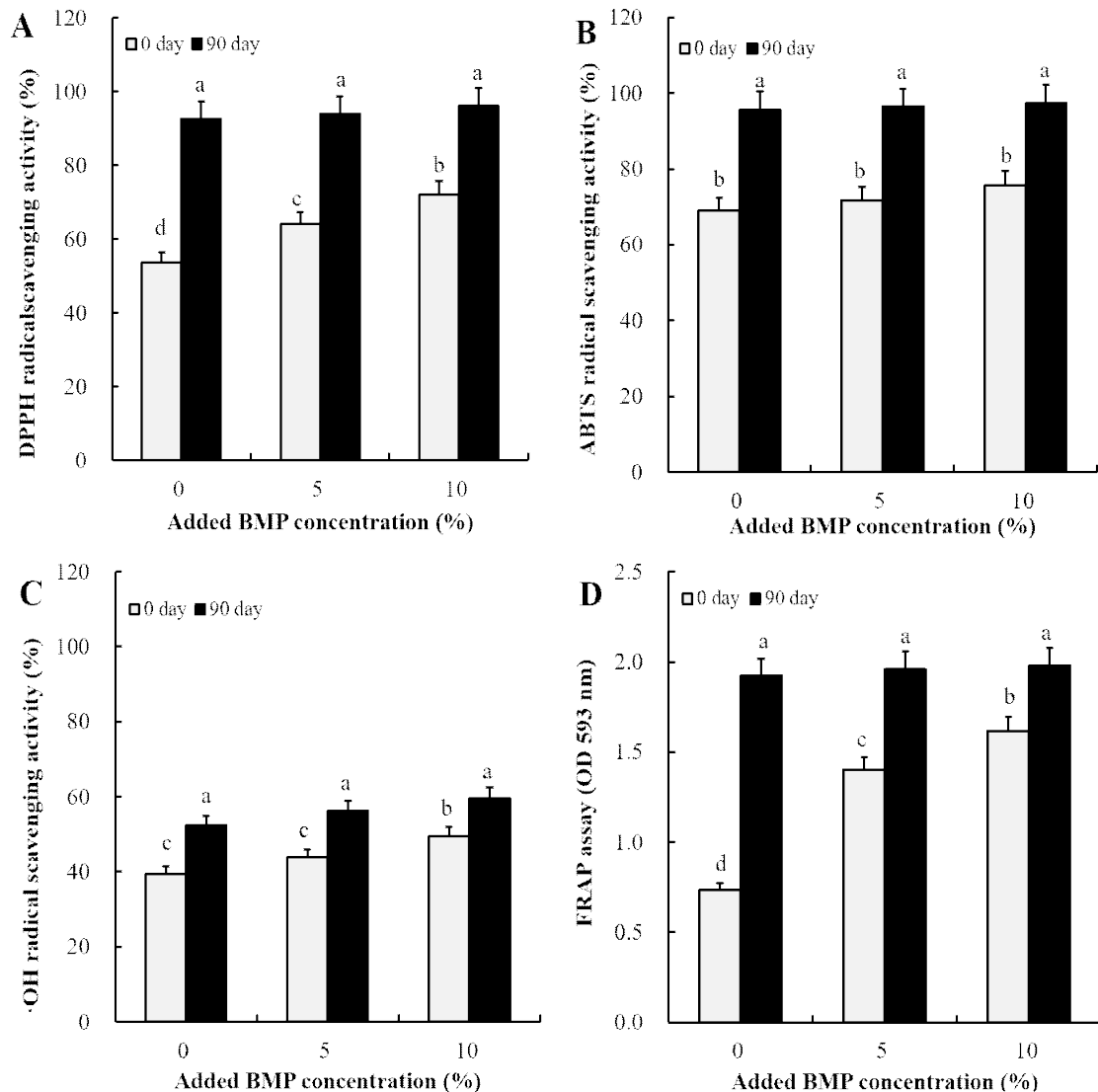


Fig. 2. Comparison of antioxidant activity of soy sauce without and with bitter melon powder (BMP).

(A), DPPH radical scavenging activity; (B), ABTS radical scavenging activity; (C), ·OH radical scavenging activity; (D), FRAP assay. All values are means of determination in three independent experiments.

All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

여주분말 함유 간장의 탄수화물 분해효소 저해활성 변화

여주분말 함유 간장의 α -glucosidase 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같았다. 전체적인 결과로는 DPPH 라디칼 소거활성과 경향이 일치하는 것으로 나타났으며 여주 첨가량이 높을수록 초기 탄수화물 저해활성이 증가하였다. 또한 90일째에는 탄수화물 저해활성이 더욱 증가하여 여주를 첨가하지 않은 경우 68.51%의 비교적 우수한 활성을 나타내었고 5% 첨가 시에는 76.62%를 보였고 10% 첨가 시에는 79.96%로 가장 우수한 혈당 강화 효과를 보였다(Fig. 3).

α -Glucosidase는 맥아당을 포도당 단위로 가수분해 시키는 효소로 분해된 단당류는 인체에 소화 및 흡수됨에 따라 결과적으로 혈당이 상승하게 된다. 그러나 가수분해 효소

활성을 저해시킨다면 당의 흡수율을 떨어뜨릴 수 있으므로 고혈당을 저지함과 동시에 비만 예방 효과를 기대할 수 있다(41). 일반적으로 phenolics 화합물을 함유하고 있는 콩은 그 자체보다는 발효시켰을 시 소화효소 저해활성이 증가한다고 Lee 등(42)은 보고하였고 특히 Behloul와 Wu(43)의 연구결과에서는 isoflavone 화합물 중 비배당체 형태인 daidzein과 genistein이 혈당 감소효과가 있음을 보고 하였다. 또한 Xu 등(44)은 토후박 추출물에서 total phenolics 함량과 DPPH 라디칼 소거활성이 높을수록 α -glucosidase 저해활성이 높다고 보고하였고 이는 phenolics 함량과 항당뇨 활성에 상관관계가 있는 것으로 추측되며 본 연구 결과와도 유사하였다. 그러나 Ranilla 등(45)의 결과에 따르면 phenolics 함량과 항산화 활성과의 상관관계는 $R^2=0.81$ 로

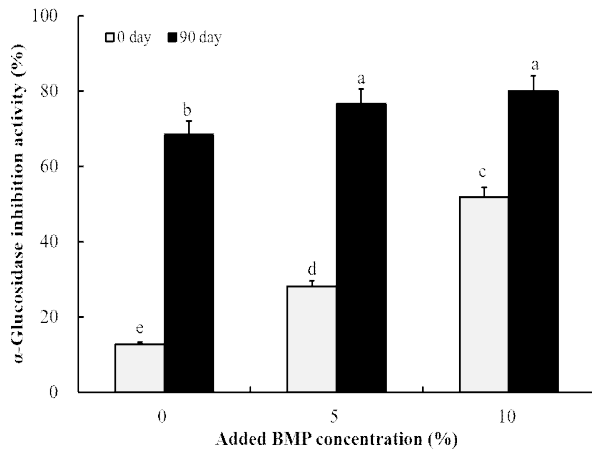


Fig. 3. Comparison of α -glucosidase inhibition activity of soy sauce without and with bitter melon powder (BMP).

All values are means of determination in three independent experiments. All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

높은 유의성을 나타내었으나 항당뇨($R^2=0.39$) 활성과는 아주 낮은 유의성을 나타내 본 연구와는 상이하였다. Park 등(46)의 당뇨유발 모델을 이용한 연구에서는 여주발효 추출물의 항당뇨 효능을 보고하였다. 좀 더 상세한 결과로는 당뇨모델 마우스의 혈당 수치는 317 mg/dL였으며 유산균 발효 여주 추출물 식이 후에는 183 mg/dL로 뚜렷한 혈당강화 효과를 나타내었다. 또한 Moon 등(47)은 70°C에서 70% 주정으로 추출한 여주 추출물의 경우 81.03%로 혈당강화제인 acarbose(100%)에 비해 활성이 높진 않았으나 비교적 우수한 항당뇨 활성을 보고하였다. 특히 항당뇨 활성에 직접적으로 관여하는 물질은 charantin 또는 momordicin임을 보고하였다. 한편 Park 등(46)은 여주 발효 추출물은 항당뇨 활성을 나타내었으나 여주 열수 추출물(339 mg/dL) 또는 여주 에탄올 추출물(329 mg/dL)의 경우에는 명백한 혈당강화 효과를 나타내지 않는다고 보고하였다. 이러한 결과는 발효 과정에서 항당뇨 기능을 가지는 물질, 즉 charantin 또는 momordicin 등의 유효성분이 증가된 결과로 추측하였다. 따라서 본 연구 역시 여주에 함유된 charantin 또는 momordicin 물질 함량에 의해 α -glucosidase 저해활성을 보인 것으로 사료되며 향후 연구에서는 여주 유효성분 변화 확인과 같은 연구가 추가적으로 필요할 것으로 판단된다. 이러한 결과로 α -glucosidase 저해활성은 90일간의 숙성과정 중 생성된 phenolics 화합물 또는 비배당체 isoflavone인 daidzein과 genistein 화합물 함량과 높은 상관관계가 있는 것으로 판단된다. 그러므로 본 연구의 여주 분말 첨가 간장은 향상된 항산화 활성을 가지는 동시에 유용성분(phenolic acid 및 비배당체 isoflavone, 유리아미노산 등) 증대와 탄수화물 분해효소 저해활성 또한 있으므로 여러 기능성을 포함한 식품으로 개발될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 여주 분말 첨가 간장의 기능성 화합물인 phenolic acid(p-hydrobenzoic acid)와 이소플라본(daidzein 및 genistein) 함량 및 항산화 효과를 측정하였다. 여주 분말 10% 첨가 간장의 pH 변화는 5.83(0% BMP), 5.47(5% BMP) 및 5.32(10% BMP)에서 5.28, 5.36 및 5.16으로 감소하였고, 총산은 반대로 0.06%, 0.07% 및 0.09%에서 0.30%, 0.28% 및 0.36%로 증가하였다. 한편 염도는 감소하였고, *Bacillus* 와 효모의 생균수는 증가하였다. 여주 분말 첨가 간장은 모두 공통적으로 90일째 isoflavone 배당체 형태가 감소하는 반면, total phenolics 및 isoflavone 비배당체 함량과 phenolic acid 함량, 항산화 활성 및 탄수화물 분해효소 저해활성은 증가하였다. 특히 10% 여주 분말 첨가 간장의 경우 glutamic acid(GA, 9,876.09 mg/100 mL) 와 γ -aminobutyric acid(GABA, 325.02 mg/100 mL) 함량이 다른 간장들에 비해 높은 것으로 나타났다. 한편 10% 여주 분말 첨가 간장은 90일째 항산화 활성(DPPH, ABTS, \cdot OH 라디칼 소거활성 및 FRAP 환원력)과 α -glucosidase 저해율은 각각 96.07%, 97.27%, 59.47%, 1.98, 및 79.96%로 아주 우수한 활성을 나타내었다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ00846101)의 지원과 농림축산식품부 농생명산업기술개발사업(과제번호: 314021-03)의 지원에 의해 이루어진 결과입니다.

References

- 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 Diet Life*, 18, 981-988
- Lee JH, Chung MG (2011) Determination of optimal acid hydrolysis time of soybean isoflavones using drying oven microwave assisted methods. *Food Chem*, 129, 577-582
- Choi YB, Woo JG, Noh WS (1999) Hydrolysis of β -glycosidic bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Korean J Food Sci Technol*, 31, 189-195
- Jackman KA, Woodman OL, Chrissobolis S, Sobey CG (2007) Vasorelaxant and antioxidant activity of the isoflavone metabolite equol in carotid and cerebral

- arteries. *Brain Res*, 1141, 99-107
5. Shon MY, Lee J, Choi JH, Choi SY, Nam SH, Seo KI, Lee SW, Sung NJ, Park SK (2007) Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of *Cheonggukjang*. *J Food Composition Anal*, 20, 113-118
 6. Jeong MK, Bang MH, Seol SM, Kim WK (2002) The effects of isoflavone on lipid metabolism and immune responses in SD rats. *Korean J Nutr*, 35, 635-642
 7. 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 *Kanjang* and garlic added soy sauce. *Korean J Agric Life Sci*, 44, 39-48
 8. Grover JK, Yadav SP (2004) Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*. *J Ethnopharmacol*, 93, 123-132
 9. Kubola J, Siriamornpun S (2008) Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chem*, 110, 881-890
 10. Singh A, Singh SP, Bamezai R (1998) *Momordica charantia* (bitter gourd) peel, pulp, seed and whole fruit extract inhibits mouse skin papillomagenesis. *Toxicol Lett*, 94, 37-46
 11. Rathi SS, Grover JK, Vats V (2002) The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Phytother Res*, 16, 236-243
 12. Parkash A, Ng TB, Tso WW (2002) Purification and characterization of charantin, a napin-like ribosome-inactivating peptide from bitter gourd (*Momordica charantia*) seeds. *J Pept Res*, 59, 197-202
 13. Schmourlo G, Mendonca-Filho RR, Alviano CS, Costa SS (2005) Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol*, 96, 563-568
 14. Bourinbaiar AS, Lee-Huang S (1995) Acrosin inhibitor, 4'-acetamidophenyl 4-guanidinobenzoate, an experimental vaginal contraceptive with anti-HIV activity. *Contraception*, 51, 319-322
 15. Hamato N, Koshiha T, Pham TN, Tatsumi Y, Nakamura D, Takano R, Hayashi K, Hong YM, Hara S (1995) Trypsin and elastase inhibitors from bitter gourd (*Momordica charantia* LINN) seeds: purification, amino acid sequences, and inhibitory activities of four new inhibitors. *J Biochem*, 117, 432-437
 16. Cho KM, JOO OS (2015) Change in phytoestrogen contents and antioxidant activity during fermentation of *Cheonggukjang* with bitter melon. *Korean J Food Preserv*, 22, 119-128
 17. Cho KM, Lee JH, Yun HD, Ahn BY, Kimm H, Seo WT (2011) Changes of phytochemical constituents (isoflavones, flavonols, and phenolic acids) during *Cheonggukjang* soybeans fermentation using potential probiotics *Bacillus subtilis* CS90. *J Food Comp Anal*, 24, 402-410
 18. Hwang CE, Seo WT, Cho KM (2013) Enhanced antioxidant effect of black soybean by *Cheonggukjang* with potential probiotic *Bacillus subtilis* CSY191. *Korean J Microbiol*, 49, 391-397
 19. Aguirre L, Garro MS, de Giori CS (2008) Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. *Food Chem*, 111, 976-982
 20. Nishiwaki T, Hayashi K (2001) Purification and characterization of an aminopeptidase from the edible basidiomycete *Grifola frondosa*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65, 424-427
 21. Yang B, Yang H, Li J, Li Z, Jiang Y (2011) Amino acid composition molecular weight distribution and antioxidant activity of protein hydrolysates of soy sauce lees. *Food Chem*, 124, 551-555
 22. Zarkadas CG, Gagnon C, Gleddie S, Khanizadeh S, Cober ER, Guillemette RJD (2007) Assessment of the protein quality of fourteen soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars using amino acid analysis and two-dimensional electrophoresis. *Food Res Int*, 40, 129-146
 23. Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*, 85, 231-237
 24. Lee JH, Seo WT, Cho KM (2011) Determination of phytochemical contents and biological activities from the fruits of *Elaeagnus multiflora*. *J Food Sci Nutr*, 16, 29-36
 25. Pratt DE, Birac PM, Porter WL, Giffie JW (1981) Phenolic antioxidants of soy protein hydrolyzates. *J Food Sci*, 47, 24-35
 26. Seo A, Morr CV (1984) Improved high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic acids. *J Agric Food Chem*, 32, 530-533
 27. Boo HO, Lee HH, Lee JW, Hwang SJ, Park SU (2009) Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. *Korean*

- J Medicinal Crop Sci, 17, 15-20
28. Cho HK, Lee JY, Seo WT, Kim MK, Cho KM (2012) Quality characteristics and antioxidant effects during *Makgeolli* fermentation by purple sweet potato-rice *Nuruk* Korean J Food Sci Technol, 44, 728-735
 29. Choi MH, Kang JR, Kang MJ, Sim HJ, Lee CK, Kim GM, Kim DG, Shin JH (2016) Quality characteristics and antioxidant activity of soy sauce with added levels of black garlic extract. Korean J Food Cookery Sci, 32, 188-196
 30. Jang YJ, Kim EJ, Choi YH, Choi HS, Song J, Choi JH, Park SY (2014) Quality characteristics of Korean traditional *Kanjang* containing *Astragalus membranaceus*. Korean J Food Preserv, 21, 885-891
 31. Park SY, Jang YJ, Kim EJ, Choi YH, Choi HS, Choi JH, Song J (2014) Quality characteristics of soy sauce containing *Gastrodia elata* during fermentation. J East Asian Dietary Life, 24, 875-882
 32. Otieno DO, Ashton JF, Shah NP (2006) Evaluation of enzymic potential for biotransformation of isoflavone phytoestrogen in soymilk by *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*. Food Res Int, 39, 394-407
 33. Marazza JA, Nazareno MA, de Giori GS, Garro MS (2012) Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. J Funct Foods, 4, 594-601
 34. Chien HC, Huang HY, Chou CC (2006) Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol, 23, 772-778
 35. Donkor ON, Shah NP (2008) Production of β -glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogen by *Lactobacillus acidophilus*, *bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in soymilk. J Food Sci, 73, 15-20
 36. Yang B, Zhao MM, Shi J, Yang N, Jiang YM (2008) Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from longan fruit pericarp. Food Chem, 106, 685-690
 37. Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F (1995) Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin. J Agric Food Chem, 43, 574-578
 38. Eresha Mendis NR, Jung WK, Je JY, Kim SK (2005) Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. Food Res Int, 38, 175-182
 39. Suetsuna K, Ukeda H, Ochi H (2000) Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. J Nutr Biochem, 11, 128-131
 40. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002) Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J Nutr Biochem, 13, 572-584
 41. Mai TT, Thu NN, Tien PG, Chuyen NV (2007) Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. J Nutr Sci Vitaminol, 53, 267-276
 42. Lee BH, Lo YH, Pan TM (2013) Anti-obesity activity of *Lactobacillus* fermented soy milk products. J Funct Foods, 5, 905-913
 43. Behlou N, Wu G (2013) Genistein: A promising therapeutic agent for obesity and diabetes treatment. Eur J Pharmacol, 698, 31-38
 44. Xu ML, Wang L, Kim HS, Jin CW, Cho DH (2010) Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S.et Z. Korean J Medicinal Crop Sci, 18, 34-39
 45. Ranilla LG, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K (2010) Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin. Bioresour Technol, 101, 4676-4689
 46. Park HS, Kim WK, Kim HP, Yoon YG (2015) The efficacy of lowering blood glucose levels using the extracts of fermented bitter melon in the diabetic mice. J Appl Biol Chem, 58, 259-265
 47. Moon JH, Choi DW, Kim SE, Seomoon JH, Hong SY, Kim HK, Cho KM, Song J, Kang SS, Kim KH, Kwon OK (2015) Comparison of biological activities of ethanol extracts of unripe fruit of bitter melon (*Momordica charantia* L.) cultivated in Hamyang, Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr, 44, 1637-1644