

허브간장의 항산화성 및 품질 특성에 미치는 영향

김기명 · 신지선* · †이재우**

호남대학교 식품영양학과 교수, *전라남도 생물산업진흥원 식품산업연구센터 연구원, **김천대학교 식품영양학과 교수

Effects of Antioxidant and Quality Characteristics of Herb Soy Sauce

Ki-Myong Kim, Ji-Sun Shin* and †Jae-Woo Lee**

Professor, Dept. of Food & Nutrition, Honam University, Gwangju 62399, Korea

**Researcher, Food Research Center, Jeollanamdo Bioindustry Foundation, Naju 58275, Korea*

***Professor, Dept. of Food & Nutrition, Gimcheon University, Gimcheon 39528, Korea*

Abstract

Herb soy sauce was prepared by extracting rosemary, lemon balm, spearmint and peppermint at a low temperature in fresh soy sauce. The antioxidant and physicochemical properties of herb soy sauces were examined. Herb soy sauces were prepared by adding 2.5% (w/v) of herbs to fresh soy sauce at 60°C. The total polyphenol, DPPH%, ABTS% increased with extracting time but five minutes extraction with sufficient antioxidant herb soy sauce could be prepared. The antioxidant powers of herb soy sauces were higher in lemon balm extract, and the rosemary extract showed the lowest. Soy sauces added with herbs had lower pH and salinity ($p < 0.05$) and higher sugar content than without herbs. The colorness according to the type of herbs showed significant difference.

Key words: herb, soy sauce, antioxidant, extraction, lemon balm

서 론

허브(herb)는 herba라는 라틴어에서 유래된 말로서 약초, 향초 및 향신료나 약으로 사용되는 식물을 통칭하는 것으로 일반적으로 잎, 꽃, 뿌리, 줄기, 열매 등에 독특한 향과 맛이 있어 향신료 등으로 많이 사용하여 왔다. 약리적 기능성에 따라 약재로 사용하는 것은 물론, 독특하고 강한 향과 관련하여 음용의 재료로 사용하거나 식품에 첨가함으로써 강한 향미를 부여하고, 비린내나 이취 등의 억제 등 풍미를 개선하는데 사용하고 있으며, 특히 현대인의 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 그 쓰임새가 증가하고 있다. 우리나라에서는 1990년대 초반부터 허브에 관심을 가지기 시작하였고, 2000년을 전후하여 식용이나 약용뿐 아니라, 관상용, 방향용, 미용 등 다양한 목적으로 사용하고 있다. 허브에 대한 연구로 약리적인 효과, 생체 기능성 효과 등 많은 연구가 진행되고 있으며, 허브와 녹차를 이용한 식용유의 산패 억제(Ryu 등

2018), 페퍼민트 첨가 콩기름의 산화방지 효과(Choe & Kim 2018)와 같이 유지에 대한 천연 산화방지제로의 효과, 로즈마리 첨가 양파 김치의 제조(Kim JH 2003), 허브류를 첨가한 저염 멸치젓의 숙성(Shin 등 2001) 등 허브를 첨가한 식품개발에 관한 연구도 진행되고 있다.

간장은 콩 단백질을 원료로 우리나라의 다양한 음식의 조미료로 활용되고 있다. 일상적으로 먹는 간장은 특유의 감칠맛으로 식품의 풍미를 개선하는 대표적인 전통식품이나 높은 소금 함유량은 현대인의 건전한 식생활의 유지에 문제점으로 대두되고 있다. 또한 간장은 한식에 있어서 첨가되지 않는 음식이 거의 없을 정도로 중요한 비중을 차지하고 있고, 간장의 맛이나 품질을 증진시키기 위하여 대두피 젤라틴 가수분해물을 이용한 조미간장의 제조(Kim 등 1993), 헛개 열매와 배 추출물을 첨가한 향신 간장소스(Oh & Song 2013), 수액을 첨가하여 제조한 간장(Choi 등 2006; Cho 등 2007), 곰취, 컴푸리를 첨가한 양조간장의 제조(Kang 등 1999), 산수유

† Corresponding author: Jae-Woo Lee, Professor, Dept. of Food and Nutrition, Gimcheon University, Gimcheon 39528, Korea.
Tel: +82-54-420-4015, Fax: +82-54-420-4015, E-mail: ljw715@hanmail.net

간장소스의 개발(Oh & Kim 2006), 약용식품 열수추출물을 첨가한 간장(Shim 등 2008) 등 많은 연구가 진행된 바 있으나, 허브의 기능성을 추가한 간장의 제조에 관한 연구는 진행된 바 없다.

따라서 본 연구는 간장에 허브를 첨가하여 허브의 기능성을 포함한 새로운 간장의 제조 가능성을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출조건

허브는 전북 남원에서 2018년에 수확한 것으로 저온에서 건조시킨(24~28°C, 36h) 로즈마리(rosemary), 레몬밤(lemon balm), 스피어민트(spearmint), 페퍼민트(peppermint)를 구입하여 사용하였다. 간장은 2018년에 농업회사법인 순창장류주식회사에서 제조·판매하는 생간장을 사용하였다. 추출은 생간장에 구입한 건조허브 4종을 각각 첨가하여 추출하되, 허브의 수분함량을 감안하여 허브의 중량과 간장의 부피비를 맞추어 중량별(0.5, 1.25, 2.5, 5%), 시간별(3, 5, 10, 30, 60분)로 진탕 배양기(JSSB-50T, JSR, Gongju-City, Chungchungnam-Do, Korea)에서 60°C에서 추출하였다. 추출 이후 실온으로 냉각하고 여과지(Whatman, 110mmØ)로 여과하였다. 본 추출조건에 따른 시료의 제조는 3회 반복으로 시행하였고, 분석결과에 각 시료 당 3회의 분석결과를 평균으로 취하였다.

2. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 AOAC의 Folin-Denis의 방법(Folin & Denis 1912)을 변형하여 측정하였다. 추출이 완료된 허브 첨가 간장을 10배 희석한 후 희석액 0.1 mL에 증류수 7.5 mL를 넣고, Folin-Denis reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL와 무수탄산나트륨(Na₂CO₃, DAEJUNG, Seoul, Korea) 포화용액 1 mL를 넣고 증류수를 첨가하여 10 mL로 정용하였다. 실온의 암소에서 30분 동안 발색시키고, 흡광광도계(Cary 50 Spectrophotometer, Varian Inc., Lake Forest, California USA)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 0.1~1.0 mg/mL 농도 범위의 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로 표준곡선을 계산하였다.

3. DPPH 자유라디칼 소거 활성능 측정

허브 첨가 간장의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 자유라디칼 소거 활성능 측정은 Blois MS(1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 허브를 첨가하여 추출한 간장을 10배 희석한 다음 10 µL를 취해 microplate spectrophotometer(PowerWave XS, BioTek Inc., Winooski,

VT, USA)로 517 nm에서 DPPH 반응 전 흡광도를 측정하였다. 그리고 0.1 mM DPPH-EtOH 용액 190 µL를 넣고 암소, 실온에서 30분간 발색시킨 다음, DPPH 반응 후 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 L-ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며, 1 - [(시료의 흡광도/대조군의 흡광도) × 100]에 의해 DPPH 라디칼 소거활성도를 산출하여 %로 표시하였다.

4. ABTS 자유라디칼 소거 활성능 측정

허브 첨가 간장의 ABTS 자유 라디칼 소거 활성능 측정은 Re 등(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. ABTS((2,2'-azino-bis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid), Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 7.4 mM과 potassium persulfate(DAEJUNG, Seoul, Korea) 2.6 mM을 물에 녹인 후, 실온의 암소에서 24h 동안 양이온을 형성시키고, 동량의 부피비로 섞어 732 nm에서 흡광도를 측정하여 측정값이 0.7±0.02가 되도록 희석하여 이를 ABTS⁺ 용액으로 사용하였다. 허브를 첨가하여 추출한 간장을 10배 희석한 다음 10 µL를 취해 microplate spectrophotometer(PowerWave XS, BioTek Inc., Winooski, VT, USA)로 734 nm에서 ABTS 반응 전 흡광도를 측정하였다. 그리고 ABTS⁺ 용액 300 µL를 넣고 실온에서 3분간 발색시킨 다음, ABTS 반응 후 흡광도를 측정하였다. ABTS 자유라디칼 소거 활성능 계산식은 [(대조군 흡광도 - 시료의 흡광도)/대조군 흡광도 × 100]을 사용하여 %로 나타내었고, 대조군으로 L-ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

5. 일반 이화학적 분석

pH와 당도는 각각 pH meter기(S70 SevenMulti™, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland), 당도기(PR-201, ATAGO, Fukayashi, Saitam, Japan)로 측정하였다. 색도는 색차계(CM-3500d, KONICA MINOLTA, Hino-shi, Tokyo, Japan)를 사용하여 각 시료의 색을 측정하였으며, 백색도를 나타내는 L(lightness), 적색도 a(redness) 및 황색도 b(yellowness)를 지시하는 L, a 및 b값으로 나타내었고, 각각 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 나타내었다. 이때 표준값(standard plate)의 L, a, b value는 각각 96.19, 0.19, 1.93이었다.

6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 실시하였으며, 결과는 평균에 대한 표준편차로 나타내었다. 일반 이화학적 분석의 유의성 검정은 SPSS 18(SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA test)를 실시하고, Duncan의 다중검정(Duncan's multiple range test)을 통해 95% 신뢰 수준에서 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 허브 첨가량에 따른 항산화력의 변화

간장 20 mL에 대하여 고형분량을 감안한 허브의 양을 0.1 g, 0.25 g, 0.5 g, 1.0 g을 첨가한 간장을 0.5, 1.25, 2.5, 5%(w/v)의 비로 60°C의 온도에서 추출하였을 때 허브 간장 4종의 항산화력(DPPH%, ABTS%) 분석 결과를 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내었다. 첨가되는 허브의 양이 증가할수록 허브 간장 4종 모두 항산화력이 증가하였다. 특히 레몬밤은 다른 허브에 비하여 높은 항산화력을 보였고, 이에 비하여 로즈마리는 가장 낮은 항산화력을 보였다. 그러나 5%로 첨가된 시료의 경우 용적을 크게 차지하여 추출 작업이 매우 불편하였다. 따라서 간장에 대한 허브의 첨가량은 2.5%로 추출하는 것이 최대한의 항산화력을 가진 간장의 제조에 가장 적합한 용량비로 판단되었다.

2. 추출시간 별 총 폴리페놀 함량의 변화

허브를 첨가한 생간장의 추출시간에 따른 총 폴리페놀 함량의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 본 결과는 용량별 추출조

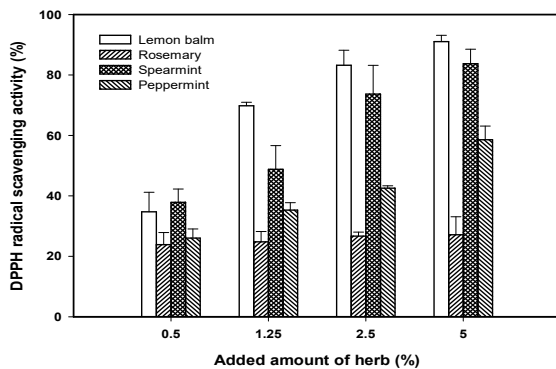


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of herb soy sauces according to amount of herbs added. Mean±S.D.

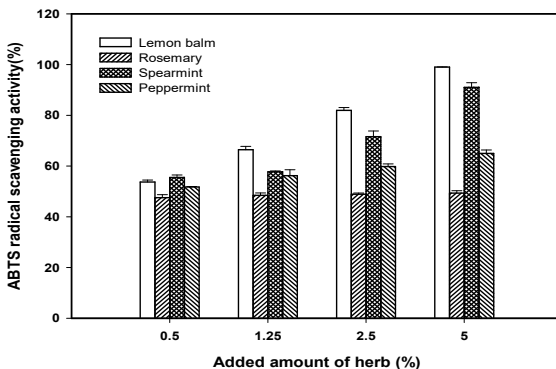


Fig. 2. ABTS radical scavenging activities of herb soy sauces according to amount of herbs added. Mean±S.D.

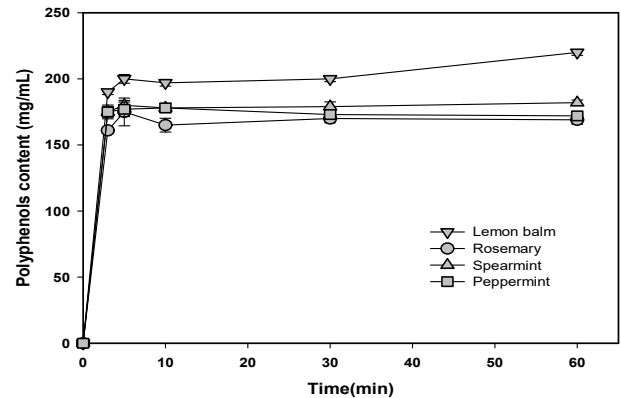


Fig. 3. Total polyphenol amount of herb soy sauces according to extraction times. Mean±S.D.

건의 결과에 따라 2.5%(w/v)의 수준으로 생간장에 60°C의 온도에서 추출하였을 때의 결과로서 시간에 따라 총 폴리페놀의 추출량은 약간의 상승이 있으나, 많은 양이 이미 5분에 추출되는 것을 알 수 있었다. 허브의 품종별로 품종간의 추출된 폴리페놀 함량의 변화를 살펴보면, 레몬밤의 총 폴리페놀의 함량이 다른 3종의 허브보다 높은 추출량을 보였고, 로즈마리, 스피어민트, 페퍼민트는 품종간의 차이를 발견할 수 없었다. 간장으로 저온 추출한 레몬밤의 경우 총 폴리페놀의 함량이 180~220 mg/mL의 수준으로, Jeong 등(2018)의 연구에서는 총 폴리페놀 함량은 33.02~302.76 mg/mL의 수준으로 분석되어 본 결과가 그 수준 안에 포함되나, 시료 전처리에 있어 생 허브를 사용하였고, 알코올을 추출 용매로 사용되어 직접적인 비교는 어려웠다. 또한 실험에 사용된 생간장의 총 폴리페놀의 함량은 73.23±1.52 mg/mL로 이는 간장 자체에도 이미 많은 항산화력을 가진 물질이 존재하고 있음을 알 수 있었다.

3. 허브 종류에 따른 항산화력의 변화

허브를 첨가한 생간장의 추출시간별에 따른 항산화력의 변화는 Fig. 4와 Fig. 5에 나타내었다. 본 결과는 용량별 추출조건의 결과에 따라 2.5%(w/v)의 수준으로 생간장에 60°C의 온도에서 추출한 시료를 측정된 것으로 추출 시간에 따라 총 폴리페놀의 추출량의 변화 추이와 비슷하게 약간의 상승이 있으나, 5분 추출 이후의 시료의 항산화력은 큰 변화가 없었다. 그러나 총 폴리페놀의 추출패턴과는 다르게 추출물의 항산화력은 레몬밤, 스피어민트, 페퍼민트 그리고 로즈마리의 순으로 허브의 종류에 따라 차이를 보였다. Osawa(1994)의 보고에 의하면 식물에서 추출된 페놀류 화합물들은 생물학적 효능을 나타낸다고 보고하였으며, 이 효능은 주로 항산화력에 의한다고 보고하였다. 레몬밤의 주요 성분은 rosmarinic acid, caffeic acid, protocatechuic acid 등이 알려져 있고, 로즈

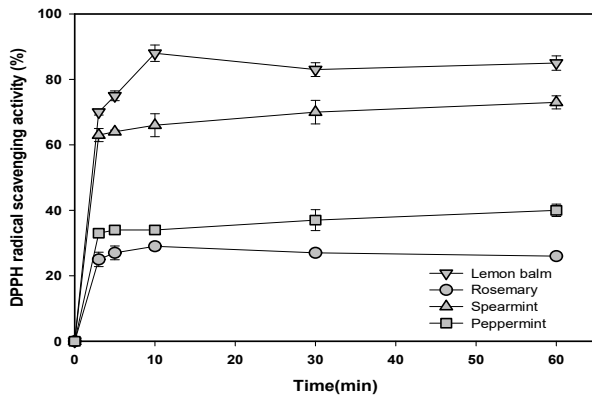


Fig. 4. Changes of DPPH radical scavenging activities of herbs (lemon balm, rosemary, spearmint and peppermint) soy sauces according to extraction time. Mean \pm S.D.

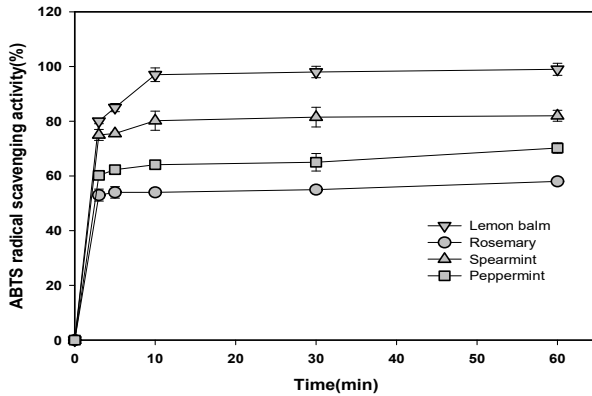


Fig. 5. Changes of ABTS radical scavenging activities of herbs (lemon balm, rosemary, spearmint and peppermint) soy sauces according to extraction time. Mean \pm S.D.

마리의 주요 항산화 성분으로는 rosmarinic acid 외에 carnosic acid, rosmanol 등이 보고된 바 있다(Richheimer 등 1996; Gad &

Sayd 2015). Yu 등(2011)의 연구에 의하면 로즈마리의 메탄올 추출물은 매우 높은 DPPH radical 소거 활성을 가지는 것으로 나타났으나, 물 추출 분획에서는 상대적으로 낮은 소거활성을 보였다고 보고한 바 있으며, Ryu 등(2018)은 대두유의 저장기간을 연장하기 위하여 대두유를 레몬밤과 로즈마리 두 가지 허브를 이용하여 침출유를 제조하여 항산화력을 측정하였는데, 그 결과 본 실험과는 대조적으로 로즈마리가 레몬밤에 비해 더 높은 항산화력을 보였다. 이는 본 실험에서 물 추출 이후 측정된 항산화력의 결과에서 알 수 있듯이 로즈마리는 외피의 구성에 있어 다른 허브에 비하여 두꺼운 왁스층으로 덮여 있어 일차적으로 왁스층이 유리되기 쉬운 유지 추출에서 항산화력이 높은 것으로 보이고, 본 실험과 같은 물 추출에서는 항산화력이 높게 나타나지 않는 것으로 보인다.

4. 허브 간장의 이화학적 특성

허브를 첨가하지 않은 간장을 대조구로 허브첨가 간장 4종의 이화학적 분석을 한 결과는 Table 1과 같다. 허브를 첨가한 간장은 허브를 첨가하지 않은 간장보다 유의적($p<0.05$)으로 pH와 염도(%)는 낮고, 당도(%)는 높았다. 염도는 허브의 종류와 관계없이 추출과정 중 허브에 흡착, 제거된 것으로 추정되며, 당도는 허브에서 용출된 물질이 증가함에 따라 높아지는 것으로 추정된다. 색도 분석에 있어 L, a, b값은 유의적($p<0.05$)으로 모두 다른 값을 나타내었다. 이는 용출되어 나오는 페놀화합물은 가열되면서 갈색화 반응에 참여함으로써 색이 더 검고 진하게 바뀌는 것으로 추측된다.

요약 및 결론

생간장에 로즈마리, 레몬밤, 스피어민트, 페퍼민트 허브를 첨가한 후 저온으로 추출하여 허브간장을 제조하였고, 이의

Table 1. Physicochemical properties of herb soy sauces

Contents	Control*	Rosemary soy sauce	Lemon balm soy sauce	Spearmint soy sauce	Peppermint soy sauce
pH	4.88 \pm 0.00 ^{a1)}	4.84 \pm 0.01 ^b	4.85 \pm 0.01 ^b	4.82 \pm 0.01 ^c	4.85 \pm 0.01 ^b
Salinity (%)	18.60 \pm 0.41 ^a	16.96 \pm 0.06 ^b	16.45 \pm 0.30 ^c	17.05 \pm 0.14 ^b	16.78 \pm 0.11 ^{bc}
Brix (%)	31.73 \pm 0.06 ^c	31.87 \pm 0.06 ^b	32.17 \pm 0.06 ^a	32.17 \pm 0.06 ^a	32.13 \pm 0.06 ^a
Color					
L	33.28 \pm 0.03 ^a	32.60 \pm 0.01 ^b	28.66 \pm 0.02 ^e	29.61 \pm 0.03 ^d	31.21 \pm 0.02 ^c
a	40.75 \pm 0.03 ^a	40.39 \pm 0.01 ^b	37.60 \pm 0.01 ^c	38.38 \pm 0.02 ^d	39.40 \pm 0.00 ^c
b	56.85 \pm 0.04 ^a	55.72 \pm 0.02 ^b	49.02 \pm 0.07 ^e	50.63 \pm 0.10 ^d	53.35 \pm 0.03 ^c

Values are expressed as the mean \pm S.D. (n=3).

¹⁾ Means with different letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

* Control means soy sauce without any herbs.

항산화 특성 및 이화학적 특성을 조사하였다. 생간장에 허브를 2.5%(w/v)로 첨가하고 60°C의 저온에서 시간에 따라 추출한 결과, 총 폴리페놀, DPPH%, ABTS% 모두 시간에 따라 증가하였으나, 5분 추출로도 충분히 항산화력이 있는 허브간장을 제조할 수 있었다. 허브 종류에 따른 항산화력은 레몬밤 추출 간장이 높았으며, 로즈마리 추출은 가장 낮은 항산화력을 보였다. 허브를 첨가한 간장은 허브를 첨가하지 않은 간장보다 유의적($p<0.05$)으로 pH와 염도는 낮았으며, 당도는 높았고 허브의 종류에 따라 색도를 측정할 결과 L, a, b값도 유의적으로 차이를 보였다. 따라서 레몬밤을 첨가한 허브간장이 기능성으로 우수한 허브간장을 제조할 수 있는 재료이며, 생간장을 열처리하는 제조과정에 60°C, 5분, 2.5%의 건조 허브를 첨가함으로써 추가공정없이 효율적으로 제조할 수 있을 것으로 보인다.

References

- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Cho SH, Choi YJ, Oh JY, Kim NG, Rho CW, Choi CY, Cho SH. 2007. Quality characteristics of *Kanjang* (soy sauce) fermentation with bamboo sap, xylem sap and Gorosoe. *Korean J Food Preserv* 14:294-300
- Choe E, Kim J. 2018. Effect of tocopherols present in soybean oil on the antioxidant activity of peppermint extract during autoxidation of oil-in-water emulsion. *Korean J Food Cookery Sci* 34:172-177
- Choi SY, Sung NJ, Kim HJ. 2006. Physicochemical analysis and sensory evaluation of fermented soy sauce from Gorosoe (*Acer mono* Max.) and Kojesu (*Betula costata* T.) saps. *Korean J Food Nutr* 19:318-326
- Folin O, Dennis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12:239-243
- Gad AS, Sayd AF. 2015. Antioxidant properties of rosemary and its potential uses as natural antioxidant in dairy products: A review. *Food Nutr Sci* 6:179-193
- Jeong YU, Lee H, Park H, Kim K, Kim S, Park YJ. 2018. Studies on antioxidant, anti-inflammation and tyrosinase inhibitory activities of *Melissa officinalis* extracts and their fractions. *J Soc Cosmet Sci Korea* 44:465-475
- Kang IJ, Ham SS, Chung CK, Lee SY, Oh DH, Do JJ. 1999. Production and characteristics of fermented soy sauce from mountain herbs. *Korean J Food Sci Technol* 31:1203-1210
- Kim JH. 2003. Effect of rosemary leaf on quality and sensory characteristics of kimchi. *Korean J Food Nutr* 16:283-288
- Kim SK, Ahn CB, Kang OJ. 1993. Preparation of imitation sauce from enzymatic hydrolysate of cod skin gelatin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22:470-475
- Oh HS, Kim JH. 2006. Development of functional soy-based stew sauce including hot water extract of *Cornus officinalis*. S. et Z. *J Korean Soc Food Cult* 21:550-558
- Oh KH, Song HS. 2013. Sensory evaluation of seasoned soy sauce with hutgae (*Hovenia dulcis* Thumb) fruit and pear extracts. *Korean J Food Nutr* 26:323-328
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological system. In Uritani I, Garcia VV, Mendoza EM (Eds.), *Postharvest Biochemistry of Plant Food Material in the Tropics*. pp.241-251. Japan Scientific Societies Press
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26:1231-1237
- Richheimer SL, Bernart MW, King GA, Kent MC, Beiley DT. 1996. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. *J Am Oil Chem Soc* 73:507-514
- Ryu KY, Kim AG, Kim TS, Lee HH, Seo KW, Cho BS. 2018. Inhibition effect of herbs on the rancidity of soybean oil. *Korean J Food Preserv* 25:36-43
- Shim SL, Ryu KY, Kim W, Jun SN, Seo HY, Han KJ, Kim JH, Song HP, Cho NC, Kim KS. 2008. Physicochemical characteristics of medicinal herbs *Ganjang*. *Korean J Food Preserv* 15:243-252
- Shin JH, Chung MJ, Kim HS, Kim HJ, Sung NJ. 2001. The effect of soybean and herbs on formation of N-nitrosamine during the fermentation of low salted anchovy. *Korean J Food Nutr* 14:204-210
- Yu MH, Chae IG, Jung YT, Jeong YS, Kim HI, Lee IS. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of methanol extract from *Rosmarinus officinalis* L. and their fractions. *J Life Sci* 21:375-384

Received 12 February, 2020

Revised 14 February, 2020

Accepted 21 February, 2020