

한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 조미간장소스의 항산화 및 항균활성

정 업 · 박소영 · 박시현 · 염은선 · 정우용 · 김수민 · †송효남*
세명대학교 바이오식품영양학부 학부생, *세명대학교 바이오식품영양학부 교수

Antioxidant and Antibiotic Activities of Seasoned Soy Sauce added with Medicinal Mushrooms and Oriental Medicinal Plants

Yeop Jung, So Young Park, Si Hyun Park, Eun Sun Yeom, Woo Yong Jeong, Su Min Kim and †Hyo-Nam Song*

Undergraduate Student, Dept. of BioFood and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea

*Professor, Dept. of BioFood and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea

Abstract

To increase antioxidant and antibacterial activities of seasoned soy sauce, five kinds of oriental medicinal plant (*Scutellaria baicalensis* (P1), *Coptis japonica makino* (P2), *Citriunshius pericarpium* (P3), *Zizyphi spinosi semen* (P4), *Crataegus pinnatifida* (P5)) and four kinds of medicinal mushrooms (*Inonotus obliquus* (M1), *Hericium erinaceus* (M2), *Phellinus linteus* (M3), *Lentinula edodes* (M4)) were added to seasoned soy sauce. Soluble solid content, pH, salinity, total polyphenol & flavonoid contents were determined. DPPH & ABTS radical scavenging activities, SOD-like activity, and antibacterial activity were analyzed. Experimental sauces showed decreased pH but significant increases of soluble solid content and salinity. Total polyphenol content was 12.76 µg GAE/g in the control. However, M1 and P1 sauce had significantly higher polyphenol contents at 352.14 and 528.25 µg GAE/g, respectively. Total flavonoids content also showed the same pattern. DPPH free radical scavenging activity was the lowest in the control at 15.75%. It was the highest at 81.80% in M1 and 68.88% in P1. ABTS free radical scavenging activity and SOD-like activity showed the same tendencies. They were higher in the experimental groups than in the control. As for the antibacterial activity analyzed by the paper-disc method, the activity increased the most in P1 and P2. In particular, P2 had the strongest antibacterial activity. Its activity against different microorganisms was in the order of *Staphylococcus aureus* > *Bacillus cereus* > *Escherichia coli* > *Salmonella typhimurium*. In conclusion, these new sauces show increased antioxidative and antioxidant activities. Therefore, they are expected to be used in various ways as a functional soy sauce.

Key words: antioxidant activity, antibiotic activity, DPPH, ABTS, SOD-like

서 론

한식의 다양한 음식에 필수로 사용되고 있는 간장은 특유의 감칠맛으로 식품의 풍미를 돋우는 대표적인 전통식품이다. 최근에는 간장의 맛이나 품질을 증진시키거나 스스로 사용하기 위한 조미간장에 대한 관심이 증가하여 헛개 열매와 배 추출물을 첨가한 향신 간장소스(Oh & Song 2013), 수액을 첨가하여 제조한 간장(Choi 등 2006), 산수유간장소스의 개

발(Oh & Kim 2006), 약용식품 열수추출물을 첨가한 간장(Shim 등 2008), 약용식물을 첨가한 어간장의 품질특성(Kim 등 2008), 황기 첨가량에 따른 전통식 간장의 품질특성(Jang 등 2014), 황기 및 표고버섯 첨가간장의 숙성기간별 품질특성 및 항산화 활성(Kim 등 2013) 등 많은 연구가 진행된 바 있다.

한편, 이와 같은 조미간장 및 소스류는 소량씩 사용하는 특성상 한번 구매하면 장기간 보관하며 사용하기 때문에 품

† Corresponding author: Hyo-Nam Song, Professor, Dept. of BioFood and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea. Tel: +82-43-649-1430, Fax: +82-43-649-1759, E-mail: hnsong@semyung.ac.kr

질의 저하 및 변질 등에 대한 우려가 있어 보존료 및 방부제 등 각종 식품첨가물이 사용되고 있다. 현재 사용되고 있는 식품첨가물의 종류는 약 2,000여 품목에 달하며 그 중 가장 많은 부분을 차지하고 있는 것은 풍미료 관련 소재로서 천연 풍미료와 함께 전체 품목의 63.5%를 차지하고 있고, 그 다음 영양강화 소재 및 유화제의 순서로 사용 빈도가 높다(Byeon & Seonu 2002). 이와 관련하여 최근 수입대체 품목으로 업계에서 관심을 가지고 개발하려는 품목은 소르빈산칼륨, 착향료, 합성감미료, 천연방부제, 천연색소 및 아미노산 등으로 현재 이미 생산시설을 갖추고 있거나 국내 생산 계획이 검토되고 있다. 이와 같은 동향은 기존의 합성첨가물에 대한 소비자들의 불신과 천연보존제에 대한 긍정적 인식의 확대에 따른 자연스런 현상인 것으로 사료된다.

본 연구에서는 항산화 및 항균활성이 강한 한방천연물과 약용버섯을 활용하여 건강기능성이 강화된 천연조미간장소스를 개발하고자 하였고 품질특성을 분석함으로써 향후 다양한 음식의 소스로 활용될 수 있는 가능성을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

실험에 사용한 한방천연물은 5종으로 황금(*Scutellaria baicalensis*), 산사자(*Crataegus pinnatifida*), 산조인(*Zizyphi spinosi semen*), 황련(*Coptis japonica makino*), 진피(*Citriunshius pericarpium*)은 2021년 수확된 국산제품을 충북 제천시 약초시장에서 일괄 구매하였다. 표고버섯(*Lentinula edodes*), 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*), 차가버섯(*Inonotus obliquus*), 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 온라인쇼핑몰에서 일괄 구매하였다. 기타 분석에 사용한 시약으로 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl), ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 및 gallic acid는 Sigma-Aldrich Co.(St Louis, MO, USA)에서 구입하였고, potassium persulfate(99.0%), pyrogallol (99.0%)는 Samchun Co.(Pyeongtak, Korea)에서 구입하였으며, quercetin은 Daejunhwagum Co.(Siheung, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2. 조미간장소스 제조

조미간장소스를 제조하기 위한 대조구 조미간장소스의 주·부재료 배합비는 Table 1에 나타내었고 다음과 같이 제조하였다. 간장은 예비실험을 통해 시판 중인 여러 브랜드의 간장으로 예비 테스트한 후 최종적으로 마산명산에서 제조·판매하는 송표프라임 양조간장을 선택하여 사용하였다. 신선식품류의 부재료인 무, 파, 사과, 생강, 청양고추, 건고

Table 1. Formulas for seasoned soy sauce base

Ingredients	Amount (g)	Ingredients	Amount (g)
Soy sauce	600	Garlic	70
Water	500	Cooking wine	70
Radish	250	Rice wine (Cheongju)	40
Ginger	180	Dried red pepper	30
Apple	150	Pepper	30
Pear	150	Red pepper	30
Green onion	100	Kelp	30

추, 배, 마늘, 다시마 등은 충북 제천에 소재한 대형체인마트에서 구매하였다. 모든 재료를 손질하여 Table 1의 배합비에 따라 계량한 후 일정한 온도와 타이머에 의한 일정시간 가열이 가능한 전기약탕기(DW-890, Daewoong, Seoul, Korea)에 넣고 150분간 끓였다. 끓이는 동안 중간 중간 간장과 재료들이 잘 섞이도록 저어주었고, 조리를 마친 후 50°C가 될 때까지 상온에서 식혔다. 마지막으로 조리용 체에 걸러 대조구 조미간장소스액을 얻었다. 이와 같이 얻어진 조미간장소스액 200 mL에 5종의 한방천연물(황금(*Scutellaria baicalensis*), 진피(*Citriunshius pericarpium*), 황련(*Coptis japonica makino*), 산조인(*Zizyphi spinosi semen*), 산사자(*Crataegus pinnatifida*)) 및 4종의 약용버섯(노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*), 상황버섯(*Phellinus linteus*), 차가버섯(*Inonotus obliquus*) 및 표고버섯(*Lentinula edodes*))을 25 g 첨가하여 환류냉각 하에 2.5시간 동안 추출한 후 여과지로 여과하여 실험균을 얻었고 이를 분석의 시료로 사용하였다.

3. pH, 가용성 고형분 함량 및 염도

pH와 가용성 고형분 함량은 각각 pH meter(S70 SevenMulti™, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) 및 굴절당도계(PR-201, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하였다(Song & Park 2018). 염도는 염도계(SB-2000PRO, HM DIGITAL, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다(Kim & Han 2016).

4. 항산화 성분의 함량

1) 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법에 따라 측정하였다(Song & Lee 2017). 시료액 0.15 mL에 Folin-Denis 시약 0.15 mL와 증류수 0.7 mL를 넣어 진탕하고 5분 동안 반응시켰다. 반응액에 10% Na₂CO₃ 용액 0.7 mL와 증류수 1.3 mL를 혼합하여 암실 상태에서 실온에 1.5hr 동안 방치한 후 Ultra Violet-Visible spectrophotometer(UV/Vis spectrophotometer, UV-

1601, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용하여 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 산출하였다.

2) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량 측정은 Kim 등(2003)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 시료액 1.0 mL와 5% sodium nitrite 0.3 mL, 증류수 2.0 mL를 진탕한 후 5분간 실온에서 반응시키고 10% aluminum chloride 0.3 mL를 첨가해 혼합하여 6분간 실온에서 반응시킨 뒤 1 M sodium hydroxide 2 mL와 증류수 2.4 mL를 혼합하여 UV/Vis spectrophotometer를 이용해 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 quercetin을 이용하여 표준곡선으로부터 총 플라보노이드 함량을 산출하였다.

5. 항산화 활성 분석

1) DPPH 자유라디칼 소거활성

DPPH 자유라디칼 소거활성은 Song HN(2020)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 시료액 0.8 mL에 70% ethanol 1.5 mL, 0.2 mM 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH) 용액 1.5 mL를 진탕한 뒤 암실에서 1.5 hr 동안 방치하고 UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 다음과 같은 공식을 이용하여 Electron Donating Ability(EDA)를 산출하였다.

$$\text{EDA} (\%) = \frac{C-S}{C} \times 100$$

C: Control absorbance

S: Sample absorbance

2) ABTS 자유라디칼 소거활성

ABTS 자유라디칼 소거활성은 Oh 등(2014)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 즉, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS) 용액 7 mM와 2.45 mM potassium persulfate를 1:1의 비율로 혼합한 뒤 암실에서 16 hr 반응시킨 후 ABTS 라디칼을 형성시켜 희석된 ABTS 용액을 에탄올로 희석하여 734 nm에서 측정된 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 조정하였다. 그 후 ABTS 용액 0.75 mL에 시료액 0.15 mL를 혼합하여 암실에서 6분간 방치 후, UV/Vis spectrophotometer를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity} (\%) = \frac{C-S}{C} \times 100$$

C: Control absorbance

S: Sample absorbance

3) SOD 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund & Marklund(1974)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 시료액 1.0 mL와 pH 8.5 Tris-HCL buffer 3.0 mL, 7.2 mL pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C의 항온수조에서 10분간 반응시킨 뒤 1 N HCl 0.5 mL를 첨가한 후 UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{SOD-like activity} (\%) = \frac{C-S}{C} \times 100$$

C: Control absorbance

S: Sample absorbance

6. 항균활성

Paper disc법을 이용하여 항균활성 검색에서 활성이 확인된 미생물에 대해 미생물 증식억제 효과를 측정하였다. 각 배양에 사용된 균주는 식중독균인 *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*를 Macconkey agar(TSA, Difco Co., Sparks, MD, USA) 배지에 희석한 균주를 100 μ L씩 균일하게 분주를 진행한 후 멸균된 paper disc(dia. 10 mm, Advantec Co., Japan)를 배지 위에 시료 원액 50 μ L/disc를 분주하였다. 배양조건은 37°C, 24시간 배양을 진행하였으며, 결과 분석 조건은 disc 크기를 포함한 clear zone이 12~16 mm 일 때는 +, 17~24 mm일 때는 ++, 항균활성이 없을 때는 -로 표기하였다.

7. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 측정하였으며, 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 평균값에 대한 유의적인 차이는 SPSS (version 27, IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하여 ANOVA로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다. 시료의 항산화 성분과 항산화 활성들간의 상관관계를 알아보기 위하여 Pearson의 상관분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. pH, 가용성 고형분 함량 및 염도

한방천연물과 약용버섯을 첨가하여 만든 조미간장소스의 pH, 가용성 고형분 함량 및 염도는 Table 2에 나타내었다. 조미간장소스의 pH는 오리지널 대조구 간장에 비교하였을 때 약용버섯과 한방천연물을 첨가한 것이 모두 감소하였다. 대조구 간장이 5.96으로 가장 높게 나타났으며, 진피를 첨가한 간장이 4.88로 가장 낮았다. Choi 등(2016)의 흑마늘 간장의

Table 2. pH, soluble solid contents and salinity of seasoned soy sauces

Seasoned soy sources		pH	Soluble solid contents (Bx%)	Salinity (%)
Control		5.96±0.03 ^{a1)}	18.80±0.40 ⁱ	2.58±0.04 ^f
Medicinal mushrooms	M1	5.23±0.03 ^d	33.30±0.05 ^c	4.06±0.07 ^a
	M2	5.18±0.01 ^e	36.60±0.20 ^a	3.15±0.02 ^d
	M3	4.98±0.06 ^h	28.30±0.15 ^d	3.39±0.04 ^e
	M4	5.27±0.03 ^c	27.00±0.10 ^e	2.91±0.01 ^e
Oriental medicinal plants	P1	5.38±0.04 ^b	22.20±0.10 ^g	3.09±0.00 ^d
	P2	5.36±0.03 ^b	21.00±0.05 ^h	3.28±0.90 ^e
	P3	4.88±0.02 ⁱ	23.00±0.05 ^f	3.11±0.05 ^d
	P4	5.01±0.04 ^g	32.60±0.30 ^c	3.89±0.00 ^b
	P5	5.12±0.01 ^f	34.40±0.20 ^b	3.30±0.15 ^e

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

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

M1: Seasoned soy sauce added with *Inonotus obliquus*, M2: Seasoned soy sauce added with *Hericium erinaceus*, M3: Seasoned soy sauce added with *Phellinus linteus*, M4: Seasoned soy sauce added with *Lentinula edodes*, P1: Seasoned soy sauce added with *Scutellaria baicalensis*, P2: Seasoned soy sauce added with *Coptis japonica* Makino, P3: Seasoned soy sauce added with *Citriunshius pericarpium*, P4: Seasoned soy sauce added with *Zizyphi spinosi* semen, P5: Seasoned soy sauce added with *Crataegus pinnatifida*.

경우 대조구의 pH는 5.16이었으나 흑마늘 추출액 5%를 첨가했을 때의 pH는 4.99로 감소하여 본 연구와 유사하였다.

가용성 고형분의 함량은 대조구 간장이 가장 낮았다. 대조구 간장의 경우에 18.8 Bx%로 가장 낮으며 노루궁뎅이버섯을 첨가한 간장이 36.6 Bx%로 가장 높게 나타났다. Lee 등 (2015)에 따르면 우리나라 전통 간장들의 고형분 함량의 평균은 30.37%로 보고하여 본 연구의 노루궁뎅이버섯을 첨가한 간장보다 낮았다. Kim 등(2020)의 허브간장의 경우 대조구의 가용성고형분은 31.73 Bx%이지만 허브를 첨가한 간장의 가용성고형분 함량은 32.17 Bx%로 소폭 증가한 것으로 보고하였다. 이와 같이 약용버섯 또는 한방천연물을 첨가하였을 때 가용성 고형분량이 증가하는 현상은 조미간장소스의 농도가 진해지는 것과 관련이 있는 것으로 추측되며 이는 육안으로도 관찰이 가능하였다.

염도의 경우에는 대조구 간장이 2.58%로 가장 낮았으며 차가버섯을 첨가한 간장이 4.06%로 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 약용버섯과 한방천연물 자체가 조미간장소스에 짠맛을 더했기 때문이라기보다는 조미간장소스 제조 시 건조되어 있는 이들의 재료가 간장 베이스의 액체를 흡수하면서 수분의 손실로 인하여 상대적으로 액체의 양이 줄어들어 염도가 증가된 것으로 사료된다(Jang 등 2014).

2. 총 폴리페놀 함량

약용버섯과 한방천연물을 첨가한 조미간장소스의 총 폴리페놀 함량은 Table 3에 나타내었다. 페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한

구조와 분자량을 가지며, 자유라디칼을 수용할 수 있는 phenolic hydroxyl기의 활성에 의해 항산화, 항균 및 항암 등의 생리기능을 가진다(Song HN 2013).

약용버섯과 한방천연물을 첨가한 조미간장소스는 오리지널 대조구 조미간장소스에 비해 총 폴리페놀 함량이 현저하게 증가하는 것으로 나타났다. 즉, 대조구가 12.76 µg GAE/g으로 가장 낮은 것에 비해 약용버섯 중에서는 차가버섯 조미간장소스가 352.14 µg GAE/g으로 가장 높았고, 한방천연물 중에서는 황금 조미간장소스가 528.25 µg GAE/g으로 가장 높았다. 총 폴리페놀 함량은 대표적인 항산화 기능성 성분으로 이 함량이 높아질수록 기능성이 증가한다고 볼 수 있어 이와 같은 결과는 매우 고무적인 것으로 사료된다. Jang 등 (2014)은 5%의 황기를 첨가한 간장의 총 폴리페놀 함량이 25.01 mg/g으로 대조구에 비해 높은 것으로 보고한 바 있어 본 연구와 유사하였다.

3. 총 플라보노이드 함량

한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 조미간장소스의 총 플라보노이드 함량을 Table 3에 나타내었다. 전반적으로 약용버섯과 한방천연물을 첨가한 조미간장소스는 대조구에 비해 총 플라보노이드 함량이 현저하게 증가한 것으로 나타났다. 대조구가 30.03 µg QE/g으로 가장 낮았고 약용버섯 중에서는 차가버섯 조미간장소스가 269.33 µg QE/g으로 가장 높았으며, 한방천연물 중에서는 황금 조미간장소스가 373.51 µg QE/g으로 가장 높았다.

플라보노이드는 알칼리를 작용시켰을 때 플라바논이나

Table 3. Total polyphenol contents and total flavonoid contents of seasoned soy sauces

Seasoned soy sources		Total polyphenol contents ($\mu\text{g GAE/g}$)	Total flavonoid contents ($\mu\text{g QE/g}$)
Control		12.76 \pm 0.32 ^j	30.03 \pm 0.40 ^j
Medicinal mushrooms	M1	352.14 \pm 2.58 ^d	269.33 \pm 3.331 ^c
	M2	240.95 \pm 1.28 ^e	138.53 \pm 0.40 ^e
	M3	170.15 \pm 0.87 ^e	199.69 \pm 1.80 ^c
	M4	123.89 \pm 1.11 ^h	119.39 \pm 0.23 ^h
Oriental medicinal plants	P1	528.25 \pm 2.88 ^{a1)}	373.51 \pm 1.47 ^{a1}
	P2	491.29 \pm 2.32 ^b	346.29 \pm 3.46 ^b
	P3	434.32 \pm 0.21 ^c	173.90 \pm 0.89 ^f
	P4	197.56 \pm 0.83 ^f	239.80 \pm 1.41 ^d
	P5	70.89 \pm 2.29 ⁱ	83.69 \pm 1.87 ⁱ

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

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

M1: Seasoned soy sauce added with *Inonotus obliquus*, M2: Seasoned soy sauce added with *Hericium erinaceus*, M3: Seasoned soy sauce added with *Phellinus linteus*, M4: Seasoned soy sauce added with *Lentinula edodes*, P1: Seasoned soy sauce added with *Scutellaria baicalensis*, P2: Seasoned soy sauce added with *Coptis japonica* Makino, P3: Seasoned soy sauce added with *Citriunshius pericarpium*, P4: Seasoned soy sauce added with *Zizyphi spinosi* semen, P5: Seasoned soy sauce added with *Crataegus pinnatifida*.

수용성 플라보놀 배당체가 황색을 나타내는 반응성을 이용하여 분석하며(Kim & Han 2018), 폴리페놀 화합물의 일종이기 때문에 전술한 총 폴리페놀 함량과 유사한 패턴을 나타내며 본 연구에서도 일치하는 경향성을 보였다. Lee & Song (2018)은 유산균 발효 다시마 분말 및 마른 다시마를 첨가한 간장의 플라보노이드 함량은 대조구가 9.50 mgQE/g인 것으로 보고하여 본 연구의 대조구인 30.03 $\mu\text{g QE/g}$ 보다 높은 것으로 비교되었다. 또한 Kim 등(2013)의 보고에 따르면 향기를 첨가하여 제조한 간장을 장기간 발효 숙성한 연구에서 총 플라보노이드 함량은 발효 15일 이후 급격히 증가하는 경향을 보였고 25일에 210 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 함량을 나타냈다고 보고하여 첨가하는 원료에 따라 플라보노이드 함량은 매우 다양한 것으로 사료된다. 한편 각 조미간장소스의 항산화 성분과 항산화 활성에 대한 상관분석 결과 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량 간의 r값이 0.855로 매우 높게 나타났다(Table 4). 종합적으로 폴리페놀 및 플라보노이드와 같은 기능성 성분의 함량이 증가한 결과는 조미간장소스의 항산화 기능성 증가에 크게 기여할 것으로 사료된다.

4. DPPH 자유라디칼 소거활성

한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 조미간장소스의 DPPH 자유라디칼 소거활성은 Fig. 1에 나타내었다. DPPH 자유라디칼 소거활성 측정법은 비교적 간단하면서도 대량 측정이 가능한 방법으로 DPPH 자유라디칼이 EtOH 용액에서는 보라색으로 발색되나 항산화 활성을 갖는 물질과 반응 시 자유

라디칼이 소거되면서 탈색되는 원리를 이용한다(Jung 등 2004). 약용버섯과 한방천연물을 첨가한 조미간장소스는 대조구에 비해 DPPH 라디칼 소거활성이 현저히 증가한 것으로 나타났다. 즉, 대조구의 활성이 15.75%에 그친 것에 반해 차가버섯 조미간장소스는 68.88%로 증가되었고, 황금 조미간장소스는 81.80%로 가장 높았다. 또한 조미간장소스의 항산화 성분 및 항산화 활성에 대한 상관분석 결과, 폴리페놀 및 플라보노이드 성분과 DPPH 라디칼 소거활성의 상관관계

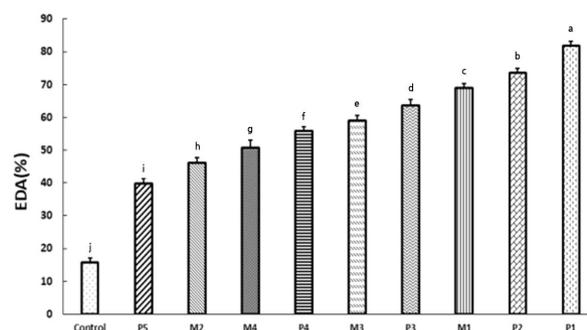


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of seasoned soy sauces. M1: *Inonotus obliquus* sauce, M2: *Hericium erinaceus* sauce, M3: *Phellinus linteus* sauce, M4: *Lentinula edodes* sauce, P1: *Scutellaria baicalensis* sauce, P2: *Coptis japonica* Makino sauce, P3: *Citriunshius pericarpium* sauce, P4: *Zizyphi spinosi* semen sauce, P5: *Crataegus pinnatifida* sauce.

는 r 값이 각각 0.509 및 0.464로 나타났다(Table 4).

Kwon 등(2014)은 천마와 버섯을 첨가한 간장의 DPPH 자유라디칼 소거활성이 크게 증가하였고 특히 표고버섯을 첨가한 간장의 DPPH 자유라디칼 소거활성이 76.46%로 가장 높았음을 보고하였다. Kim 등(2013)은 황기와 표고버섯을 첨가한 간장 역시 DPPH 자유라디칼 소거활성이 대조구 간장에 비하여 높게 나타났다고 보고하였다. 이상과 같이 한방천연물 및 버섯류를 첨가한 경우 간장의 항산화 기능을 증가시킬 수 있다는 점은 거의 일치하였다.

5. ABTS 자유라디칼 소거활성

한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 조미간장소스의 ABTS 라디칼 소거활성을 Fig. 2에 나타내었으며 DPPH 라디칼 소거활성과 마찬가지로 한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 경우 활성이 유의적으로 증가하였다. 즉, 대조구는 19.47%로 낮은 활성을 보였으나 약용버섯 중 차가버섯 간장은 64.85%로 크게 증가하였고, 한방천연물 중에서는 역시 황금 간장이 76.21%로 가장 높았다. ABTS 라디칼 소거활성 측정법은 식품 중에 존재하는 항산화 물질이 potassium persulfate와 결합하여 색을 변화시키는 반응을 이용한 분석법으로 넓은 pH 범위 내에서도 유의미한 측정이 가능하다는 장점이 있다(Re 등 1999). Lee & Song(2018)은 일반 조미간장에 마른 다시마 및 유산균 발효 다시마를 1% 및 3%로 첨가하였을 때 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성 모두 증가하였음을 보고하여 본 연구와도 일치하였다. 또한 조미간장소스의 항산화 성분 및 항산화 활성에 대한 상관분석 결과 폴리페놀 및 플라보노이드 성분과 ABTS 라디칼 소거활성의 상관관계는 r 값이 각각 0.531 및 0.529로 나타났고, ABTS 자유라디칼 소거활성과 DPPH 라디칼 소거활성 간의 r 값은 0.987로 나타나 높은 상관관계를 보였다(Table 4).

6. SOD 유사활성

한방천연물 및 약용버섯 추출액 첨가 간장의 SOD 유사활

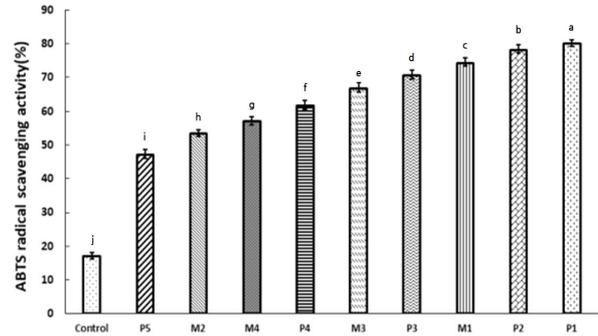


Fig. 2. ABTS radical scavenging activities of seasoned soy sauces. M1: *Inonotus obliquus* sauce, M2: *Hericium erinaceus* sauce, M3: *Phellinus linteus* sauce, M4: *Lentinula edodes* sauce, P1: *Scutellaria baicalensis* sauce, P2: *Coptis japonica* Makino sauce, P3: *Citriunshius pericarpium* sauce, P4: *Zizyphi spinosi semen* sauce, P5: *Crataegus pinnatifida* sauce.

성 결과는 Fig. 3과 같으며, 약용버섯과 한방천연물을 첨가한 조미간장소스는 대조구에 비해 SOD 유사활성이 유의적으로 현저하게 증가한 것으로 나타났다. 즉, 대조구는 19.47%로 낮은 활성을 보였으나 차가버섯 첨가 시 64.85%로 크게 증가하였고, 황금 첨가 시 76.21%로 가장 높게 나타났다. SOD 유사활성 분석은 pyrogallol이 superoxide 라디칼에 의해 자동산화되어 갈색물질을 형성하는 원리를 이용하여 분석하며, 항산화 물질 존재 시 pyrogallol의 산화 속도가 감소된다(Cho 등, 2007). 본 연구에서 약용버섯은 차가버섯 > 상황버섯 > 표고버섯 > 노루궁뎅이버섯 순으로 조미간장소스의 SOD 유사활성을 증가시켰고, 한방천연물은 황금 > 진피 > 황련 > 산조인 > 산사자 순으로 높은 활성을 나타내었다.

한편 조미간장소스의 항산화 성분 및 항산화 활성에 대한 상관분석 결과 폴리페놀 및 플라보노이드 성분과 SOD 유사활성의 상관관계는 r 값이 각각 0.491 및 0.457로 나타났고, ABTS 자유라디칼 소거활성 및 DPPH 라디칼 소거활성과의

Table 4. Correlation coefficients among antioxidant compounds and antioxidant activity of seasoned soy sauces

	Polyphenols	Flavonoids	DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity	SOD-like activity
Polyphenols	1				
Flavonoids	0.855	1			
DPPH radical scavenging activity	0.509	0.464	1		
ABTS radical scavenging activity	0.531	0.529	0.987	1	
SOD-like activity	0.491	0.457	0.980	0.952	1

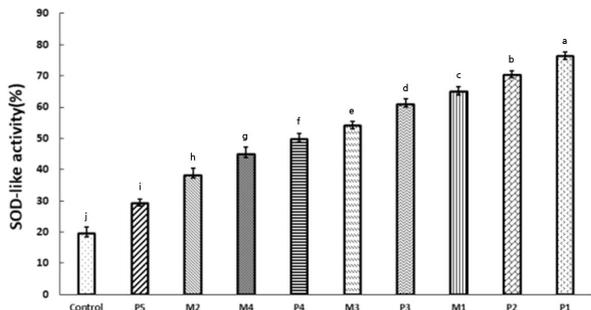


Fig. 3. SOD-like activities of seasoned soy sauces. M1: *Inonotus obliquus* sauce, M2: *Hericium erinaceus* sauce, M3: *Phellinus linteus* sauce, M4: *Lentinula edodes* sauce, P1: *Scutellaria baicalensis* sauce, P2: *Coptis japonica* Makino sauce, P3: *Citriunshius pericarpium* sauce, P4: *Zizyphi spinosi* semen sauce, P5: *Crataegus pinnatifida* sauce.

r값은 각각 0.952 및 0.980으로 나타나 높은 상관관계를 보였다(Table 4). 이상과 같이 한방천연물 및 약용버섯을 첨가하면 조미간장소스의 항산화 기능이 크게 증가하는 것으로 사료된다.

7. 항균활성

한방천연물 및 약용버섯을 첨가한 조미간장소스의 항균 활성 결과는 Table 5와 같으며, 대조군에 비해 첨가군의 항균 활성이 모두 증가한 것을 볼 수 있었다. 대조군에서는 4종의 균에서 모두 항균작용이 나타나지 않았으며, 약용버섯 중 표고버섯과 차가버섯 첨가군에서 항균 활성이 가장 크게 증가한 것으로 나타났다. 특히 표고버섯 첨가 조미간장소스는 시험대상 4종의 모든 식중독균에서 항균활성을 나타내었다. 즉, *Salmonella typhimurium*에서 +, *Escherichia coli*에서 +, *Bacillus cereus*에서 ++, *Staphylococcus aureus*에서 ++로 항균활성을 볼 수 있었다. 한방천연물 중에서는 황금과 황련을 첨가한 조미간장소스에서 항균활성이 가장 크게 증가하였으며, 그 중 황련이 가장 우수하여 *Staphylococcus aureus* > *Bacillus cereus* > *Escherichia coli* > *Salmonella typhimurium* 순서로 높은 항균활성을 나타내었다.

종합적으로 항균활성이 증가한 순서는 약용버섯에서 표고버섯 > 차가버섯 > 상황버섯 > 노루궁뎅이버섯 이었으며, 한방천연물에서는 황련 > 황금 > 산사자 = 산조인 > 진피의 순서로 대조군에 비해 항균활성이 증가하였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 조미간장소스의 항산화 및 항균 활성을 증

Table 5. Antibiotic activity of seasoned soy sauces

Sample	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>B.cereus</i>	<i>S.aures</i>
Control	-	-	-	-
M1	-	+	++	+
M2	-	+	-	+
M3	+	+	-	++
M4	+	+	++	++
P1	-	+	+	+
P2	-	+	++	++
P3	-	-	-	+
P4	-	+	-	-
P5	-	+	-	-

Growth inhibition size of clear zone: -, not detected; +, 4mm or more and 8mm or less; ++, 9mm or more and 16mm or less.

M1: Seasoned soy sauce added with *Inonotus obliquus*, M2: Seasoned soy sauce added with *Hericium erinaceus*, M3: Seasoned soy sauce added with *Phellinus linteus*, M4: Seasoned soy sauce added with *Lentinula edodes*, P1: Seasoned soy sauce added with *Scutellaria baicalensis*, P2: Seasoned soy sauce added with *Coptis japonica* Makino, P3: Seasoned soy sauce added with *Citriunshius pericarpium*, P4: Seasoned soy sauce added with *Zizyphi spinosi* semen, P5: Seasoned soy sauce added with *Crataegus pinnatifida*.

가시키기 위하여 5종의 한방천연물(황금, 진피, 황련, 산조인, 산사자) 및 4종의 약용버섯(노루궁뎅이버섯, 상황버섯, 차가버섯 및 표고버섯)을 첨가한 조미간장소스를 개발하여 분석하였다. 한방천연물과 약용버섯을 첨가한 조미간장소스가 대조군에 비해 전체적으로 pH는 감소하였고, 가용성고형분 함량과 염도는 유의적으로 증가하였다. 총 폴리페놀 함량은 대조군 조미간장소스가 12.76 µg GAE/g으로 나타난 것에 비해 약용버섯 중에서는 차가버섯 조미간장소스가 352.14 µg GAE/g으로, 한방천연물 중에서는 황금조미간장소스가 528.25 µg GAE/g으로 가장 높았다. 총 플라보노이드 함량은 대조군 가 30.03 µg QE/g으로 가장 낮았고 차가버섯과 황금조미간장소스가 각각 269.33 µg QE/g 및 373.51 µg QE/g으로 높았다. DPPH 자유라디칼 소거활성은 대조군 조미간장소스가 15.75%로 낮은 것에 비해 황금소스가 81.80%로 가장 높았으며 차가버섯소스는 68.88%의 활성을 나타냈다. ABTS 자유라디칼 소거활성 및 SOD 유사활성도 모두 동일한 경향을 나타내어 대조군에 비해 실험군이 모두 높았다. 결론적으로 한방천연물과 약용버섯을 첨가한 조미간장소스는 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 유의적으로 증가하였고, 항산화 활성도 대조군에 비해 유의적인 증가를 보였다. Paper-disc법으로 분석한 항균활성 결과에서는 황금과 황련 첨가 조미간장소스에서 항균활성이 가장 크게 증가하였다. 특히 황련소스의 항균활성

은 가장 강력하였고, 미생물 균주별로는 *Staphylococcus aureus* > *Bacillus cereus* > *Escherichia coli* > *Salmonella typhimurium* 순서로 높은 항균활성을 나타내었다. 전체적으로 항균활성의 증가는 약용버섯 첨가소스에서 표고버섯 > 차가버섯 > 상황버섯 > 노루궁뎅이버섯이었고, 한방천연물에서는 황련 > 황금 > 산사자 = 산조인 > 진피와 같이 나타났으며 시료군 모두 대조군에 비해 항균활성이 높았다. 결론적으로 한방천연물 또는 약용버섯을 첨가한 조미간장소스는 우수한 항산화 및 항균 활성을 지닌 기능성 소스로 다양하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2022학년도 세명대학교 대학혁신지원사업에 의한 연구임.

References

- Byeon GS, Seon US. 2002. Food additive. *Food Ind* 165:26-44
- Cho MJ, Park M, Lee HS. 2007. Nitrite scavenging ability and SOD-like activity of a sterol glucoside from *Chrysanthemum coronarium* L. var. *spatiosum*. *Korean J Food Sci Technol*. 39:77-82
- 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
- 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
- Jang YJ, Kim EJ, Choi YH, Choi HS, Song J, Choi JH, Park SY. 2014. Quality characteristics of Korean traditional kanjang containing *Astragalus memvranaceus*. *Korean J Food Preserv* 21:885-891
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baek NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47:135-140
- Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem* 51:6509-6515
- Kim HS, Lim JM, Kwon HJ, Yoo JY, Park PS, Choi YH, Choi JH, Park SY. 2013. Antioxidant activity and quality characteristics on the maruration period of the soy sauce containing *Astragalus memvranaceus* and oak mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Preserv* 20:467-474
- Kim KM, Shin JS, Lee JW. 2020. Effects of antioxidant and quality characteristics of herb soy sauce. *Korean J Food Nutr* 33:86-90
- Kim MH, Han YS. 2016. Quality characteristics of yangha (*Zingiber mioga* Rose) pickle with soy sauce during storage. *J East Asian Soc Diet Life* 26:260-270
- Kim YM, Han YS. 2018. Antioxidant activities and quality characteristics of matcha (powdered green tea) spreads containing coconut milk. *Korean J Food Sci Technol* 50:92-97
- Kim YS, Yeum DM, Roh SB, Kim YH, Chung SK. 2008. Quality characteristics of soybean anchovy sauce added with medicinal herbs. *Korean J Food Preserv* 15:367-376
- Kwon KJ, Kim HS, Choi YH, Choi JH, Choi HS, Song J, Park SY. 2014. Antioxidant activity and quality characteristics on the maturation period of the soy sauce with *Gastrodia elata* and oak mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Preserv* 21:231-238
- Lee IS, Song HS. 2018. Characteristics of seasoning soy sauce with added *Saccharina japonica* powder fermented by lactic acid bacteria. *Korean J Fish Aquat Sci* 51:613-622
- Lee S, Jeong Y, Yim SB, Yu S. 2015. Antioxidant activity of Korean traditional soy sauce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:1399-1406
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469-474
- Oh HS, Kim JH. 2006. Development of functional soy-basted stew sauce including hot water extract of *Comus officinalis* S. et Z. *Korean J Food Cult* 21:550-558
- Oh KH, Song HS. 2013. Sensory evaluation of seasoned soy sauce with Hutgae (*Hovenia dulcis* Thunb) fruit and pear extracts. *Korean J Food Nutr* 26:323-328
- Oh NS, Kwon HS, Lee HA, Joung JY, Lee JY, Lee KB, Shin YK, Baick SC, Park MR, Kim Y, Lee KW, Kim SH. 2014. Preventive effect of fermented Maillard reaction products from milk proteins in cardiovascular health. *J Dairy Sci* 97:3300-3313
- 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*

Radic Biol Med 26:1231-1237

- 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
- Song HN, Lee YR. 2017. Biological activities and quality characteristics of rice germ after microbial fermentation. *Korean J Food Nutr* 30:59-66
- Song HN, Park MS. 2018. Analysis of biological activities and functional components in fermented *Gastrodia elata* Blume by *Lactobacillus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:32-38

Song HN. 2013. Quality properties of fermented mugworts and the rapid pattern analysis of their volatile flavor components via surface acoustic wave (SAW) based electronic nose sensor in the GC system. *Korean J Food Preserv* 20: 554-563

Song HN. 2020. Functional Cordyceps coffee containing Cordycepin and β -glucan. *Prev Nutr Food Sci* 25:184-193

Received 28 December, 2022

Revised 16 January, 2023

Accepted 25 January, 2023