

오이를 이용한 기능성 식초 음료 개발

홍성민 · 문현실 · 이주혜 · 이해인 · 정지혜 · 이미경 · 서권일[†]

순천대학교 식품영양학과

Development of Functional Vinegar by Using Cucumbers

Sung-Min Hong, Hyun-Sil Moon, Ju-Hye Lee, Hae-In Lee, Ji-Hye Jeong,
Mi-Kyung Lee, and Kwon-Il Seo[†]

Dept. Food and Nutrition, Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

Abstract

This study was performed to develop functional vinegar by using cucumbers through two stages of fermentation. The alcohol content was maximized (7.8%) after 6-days of alcohol fermentation at 25°C by adjusting the initial sugar concentration to 15°Brix, and vinegar with an acidity of 5.8% was obtained after 12-days of acetic acid fermentation at 30°C. The major sugars in the produced vinegar were glucose and fructose, which were present in concentrations of 3,067.26 and 395.73 mg%, respectively. The major organic acids were acetic acid and succinic acid, which were present in concentrations of 4,410.5 and 841.11 mg%, respectively. The total free amino acid content of the cucumber vinegar was 181.45 µg/mL and citrulline, valine, aspartic acid, asparagine, and ornithine were the major amino acids. The inorganic components included various alkaline elements, such as K, Ca, and Mg. In addition, experimental methods to assess the DPPH and ABTS⁺ radical-scavenging ability, reducing power, and β-carotene bleaching activity showed that the cucumber vinegar had strong antioxidant properties. The total polyphenol content, which are the major components responsible for the antioxidant activities of the cucumber vinegar, was 40.14 mg/100 mL. The cucumber vinegar showed significantly higher hepatic aldehyde dehydrogenase activity when compared to the alcoholic control (negative) and the marketing drink (positive), resulting in decreased plasma acetaldehyde concentrations in rats. These results demonstrate that cucumber vinegar possesses antioxidant properties and holds great promise for use in preventing hangovers.

Key words: cucumber vinegar, two-step fermentation, antioxidant activities, acetaldehyde

서 론

오이(*Cucumis sativus* L.)는 박과에 속하는 1년생 만초로 삼국시대부터 재배된 것으로 추정되며, 무기질과 비타민 C 함량이 높은 알칼리성 식품으로 이노자용이 우수하여 신장병, 심장병, 부종 등에 사용되어 왔을 뿐만 아니라 해독 작용이 탁월한 것으로 알려져 왔다(1). 그러나 2000년대 이후 오이는 생산량에 비하여 소비량이 현저히 감소하고 있어 이에 따른 과일 오이산물의 처리가 문제시 되고 있다(2,3). 이러한 문제를 해결하기 위해 오이를 이용한 가공제품의 개발이 꾸준히 이루어져 오고 있으나, 오이지(3), 오이피클(4), 오이장아찌(5) 등과 같은 생과를 이용한 절임류나 통조림 형태에만 국한되어 있을 뿐 다양한 제품화가 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 따라서 남아도는 오이의 활용도를 높일 수 있는 기능성이 강화된 오이 가공품의 연구 개발이 요구되고 있다.

식초는 신맛과 특유한 방향을 가진 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산, ester 등을 함유하고 있는 대표적

인 발효식품이다(6). 식초의 성분들은 소화액의 분비촉진, 피로회복, 노화방지 등의 생리활성 기능이 알려져 있으며(7,8), 동맥경화, 고혈압, 심장병 등에 효능이 있는 것으로 보고되어 있다(9).

식초의 종류는 곡류, 과일류 등을 주원료로 하여 만든 양조식초와 빙초산 또는 초산을 물로 희석하여 만든 합성식초로 대별된다(10). 과거에는 생산기간이 길고 원가가 높으며 일정한 품질을 유지하기 어려운 양조식초보다 저가의 합성식초가 주를 이루어 왔으나(11), 최근에는 식생활의 다양화 및 건강에 대한 의식 확대로 합성식초의 유해론이 제기되면서 양과(12), 포도(13), 감(14), 사과(15) 등과 같은 과채류를 이용한 천연 양조식초 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 그러나 오이를 이용한 식초개발에 관한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 단기간에 대량생산이 가능한 2단계 발효를 통해 오이 식초를 제조하여 이화학적 성분을 분석하였고, 그 향산화 및 숙취해소 효과를 조사하여 오이 식초를

[†]Corresponding author. E-mail: seoki@sunchon.ac.kr
Phone: 82-61-750-3655, Fax: 82-61-752-3657

기능성식품 소재로 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 오이(*Cucumis sativus* L.)는 2009년 9월 전남 순천 지역에서 생산된 것을 구입하여 사용하였으며, 분쇄기(CM-3000, Samyang Electronics Co., Ltd, Gunpo, Korea)로 파쇄한 후 착즙한 것을 원료로 사용하였다.

사용균주 및 배지조성

알코올발효 균주는 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7904를 YPD 평판배지(YPD agar, Becton and Dickinson Co., Le Pont de Claix, France)에 계대배양한 후, YM 액체배지(YM broth, Becton and Dickinson Co.)를 이용하여 25°C에서 24시간 정치 배양하여 사용하였다. 초산균은 *Acetobacter* sp. PA 97를 0.5% yeast extract, 0.5% glucose, 1.0% glycerin, 0.02% MgSO₄·7H₂O, 5.0% ethanol, 1.0% acetic acid의 배지 조성으로 30°C에서 72시간 진탕 배양하여 사용하였다.

주모 및 증초

주모는 오이를 파쇄하여 착즙한 것에 100% 사과농축액(72°Brix)으로 초기당도를 15°Brix로 조절한 후 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7904를 접종하여 25°C에서 48시간 정치 배양하여 사용하였다. 증초는 오이 알코올 발효액을 여과한 후 그 여액에 초산균주 *Acetobacter* sp. PA97을 접종하여 30°C에서 200 rpm으로 72시간 진탕 배양하여 사용하였다.

알코올 및 초산발효

알코올발효는 오이 착즙액 30%, 사과농축액(72°Brix) 16.52% 및 정제수 53.58%로 15°Brix가 되도록 초기당도를 조절한 후 주모 5%(v/v)를 접종하여 25°C 항온 배양기(HB-103MP, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 8일간 배양시켰다. 초산발효는 여과된 오이 알코올 발효액에 증초 10%(v/v)를 접종하여 30°C에서 200 rpm으로 진탕 배양기(LSI-3106R, Daihan Labtech Co., Ltd, Namyangju, Korea)를 이용하여 12일간 배양하였다.

알코올 함량 및 당도

알코올 함량은 시료 100 mL를 취하여 증류한 다음 Gay-Lussac 주정환산표를 이용하여 15°C로 보정하여 측정하였다. 당도는 시료 300 μL를 취하여 당도계(Atago Pocket PAL-3, Atago Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

총 산도 및 pH

총 산도는 6배 희석한 시료 5 mL를 pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH용액으로 적정하여 acetic acid의 양으로 표시하였으며, pH는 시료 10 mL 취하여 pH meter(pH-200L, Istek

Co., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

유리당 및 유기산 분석

유리당 및 유기산 분석은 0.45 μm membrane filter와 Sep-pak C₁₈ cartridge(Waters Associate, Milford, MA, USA)로 여과하여 색소 및 단백질 성분을 제거한 다음 HPLC로 분석하였다. 유리당 분석 column은 IonPac AS11-HS analytical(4×250 mm, 9 μm, Dionex Co., Ltd, Sunnyvale, CA, USA), 이동상은 23 mM potassium hydroxide를 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min, injection volume는 10 μL, detector는 ELSD detector를 사용하였다. 유기산 분석 column은 Inertsil ODS-3V(4.6×250 mm, 5 μm, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan), 이동상은 dihydrogenphosphate와 phosphoric acid(pH 2.5)를 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min, injection volume을 20 μL, detector는 RI detector를 사용하였다.

유리아미노산 분석

오이 식초 10 mL에 25 mg sulfosalicylic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리 하여 단백질을 제거하고, 상정액을 0.22 μm membrane filter로 여과하여 얻은 여액은 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech, Stockholm, Sweden)를 이용하여 분석하였다. Column은 ultrapac 11 cation exchange resin(11 μm±2 μm)을 사용하였고, flow rate와 buffer는 각각 ninhydrin 25 mL/hr와 pH 3.20~10.0으로 하였으며, column 온도와 reaction 온도는 각각 46°C와 88°C로 하였고, 분석시간은 44분 동안 분석하였다(16).

무기성분 분석

식초 용액 100 mL에 분해제(HClO₄:H₂SO₄:H₂O₂=9:2:2, v/v) 25 mL를 가하여 낮은 온도에서 서서히 가열하여 완전하게 분해한 후 여과시켜 100 mL로 정용하였다. 이를 시료로 하여 Inductively coupled plasma(Aton scan 25, Thermo Jarrell Ash Co., Franklin, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. 분석조건 중 RF power는 1,300 W이며, analysis pump flow rate는 1.5 mL/min으로 하였고, gas flows는 plasma: 15, auxiliary: 0.2, nebulizer: 0.8 L/min으로 하여 분석하였다(16).

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocaltun 방법에 따라 측정하였다(17). 즉, 시료 0.1 mL에 증류수 8.4 mL과 2 N Folin-Ciocaltun 시약(Sigma-Aldrich Co.) 0.5 mL를 첨가하고 20% Na₂CO₃(Junsei Chemical Co., Ltd, Tokyo, Japan) 1 mL를 가하여 2시간 방치하였다. 반응물의 흡광도는 725 nm에서 spectrophotometer(U-1800, Hitachi Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였고, gallic acid(Sigma-Aldrich

Co.)를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

시료에 대한 a,a'-diphenyl-β-picrylhydrazine(DPPH) 라디칼 소거활성은 DPPH의 환원성을 이용하여 540 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다(18). 대조구로 사용한 butylated hydroxytoluene(BHT)와 α-tocopherol (Sigma-Aldrich Co.) 농도는 0.1%가 되게 조제하였으며, 시료 1 mL와 5×10^{-4} M DPPH 용액 3 mL를 5초 동안 혼합하고 이를 암실에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 ethanol 1 mL을 첨가하였으며, DPPH 라디칼 소거활성을 대조구에 대한 흡광도의 감소 비율로 나타내었다.

ABTS⁺ 라디칼 소거활성 측정

ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 Re 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7.0 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS, Sigma-Aldrich Co.)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합한 후 23°C의 암소에서 16 시간 동안 반응시켰다. ABTS 용액의 농도는 734 nm에서 흡광도가 0.700 ± 0.005 정도가 되도록 조정하였다. 시료 0.1 mL와 ABTS 용액 3.9 mL을 혼합한 후 23°C에서 6분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

환원력 측정

시료들의 환원력은 Yildirim 등(20)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 2.5 mL에 0.2 M phosphate 완충용액(pH 6.6) 2.5 mL과 potassium ferricyanide(1%, w/v) 2.5 mL를 첨가하여 혼합한 후 50°C를 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 trichloroacetic acid(10%, w/v) 2.5 mL를 첨가하여 섞은 후 3000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액의 1 mL을 취해 시험관에 담고 증류수 1 mL와 FeCl₃(0.1%, w/v) 0.2 mL를 첨가하여 흡광도 700 nm에서 환원력을 측정하였다.

β-Carotene bleaching 측정

β-Carotene linoleate system을 이용한 항산화 효과의 측정은 Mattaus(21)의 방법을 변형하여 측정하였다. 클로로포름 10 mL에 β-carotene(Sigma-Aldrich Co.) 1 mg을 용해하여 β-carotene용액을 만든 후, β-carotene용액 10 mL를 100 mL 둥근 플라스크에 취하고, linoleic acid(Sigma-Aldrich Co.) 20 mg 및 tween 40(Sigma-Aldrich Co.) 200 mg을 첨가하여 40°C 진공회전농축기로 클로로포름을 제거한 후 증류수 100 mL를 첨가한 다음 진탕하여 에멀전 용액을 제조하였다. 이 에멀전 용액 0.2 mL에 시료 첨가군, 에탄올(대조구) 및 positive control인 0.1% α-tocopherol과 0.1% BHT 용액 8 μL를 각각 첨가하여 50°C 배양기(HB-103MP, Hanbaek Scientific Co.)에서 저장하였다. 저장기간 중 0분에서 180분 동안 15분 간격으로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험동물 사육 및 혈장 채취

오이 식초의 숙취해소 효능을 살펴보기 위하여 8주령의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐 30마리를 바이오제노믹스(Biogenomics, Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 동물 사육실의 환경은 항온($20 \pm 2^\circ\text{C}$), 항습($50 \pm 5\%$), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하여 1주간 고정식으로 적응시킨 후 사용하였다. 알코올 투여는 Kato 등(22)의 방법을 응용하여 40% 에탄올을 체중 kg당 5 g 수준으로 경구투여 하였다. 실험군은 난괴법에 의하여 알코올 대조군(control), 오이 식초(cucumber vinegar)군, 양성대조군으로 현재 숙취음료로 판매되고 있는 타사제품(marketing drink)군으로 나누었다. 사람의 1회 음용량을 고려하여 오이 식초와 타사제품은 알코올 투여 30분 전에 체중 kg당 7 mL씩 각각 경구투여 하였으며, 알코올 대조군은 시료 대신 증류수를 동일한 수준으로 경구투여 하였다. 알코올 투여 후 180분이 경과하였을 때 CO₂ 마취상태에서 채골하정맥을 통하여 채혈하였다. 항응고제 EDTA가 처리된 혈액은 2시간 정도 실온에서 방치시킨 후 알코올 및 아세트알데히드 농도 측정을 위해 $600 \times g$ 에서 15분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다.

혈장 중의 알코올 및 아세트알데히드 농도 측정

알코올 농도는 측정용 kit(Roche Diagnostics Co., Indianapolis, IN, USA)를 사용하여 Cobas Intergra 800(Roche Diagnostics Co.) 기기로 분석하였다. 분석 원리는 ADH에 의하여 알코올로부터 생성되는 NADH의 함량을 정량하였다(23). 아세트알데히드 농도는 아세트알데히드가 ALDH에 의해 아세테이트를 생성하고 NAD⁺라는 조효소의 도움을 받아 NADH를 생성하는데 이때 생성된 NADH의 농도를 파장 340 nm에서 측정하는 원리로 제조된 kit(Roche Diagnostics Co.)를 사용하여 측정하였다.

간조직 중의 효소원 분리 및 알코올 대사 효소 활성도 측정

간조직은 0.1 M triethanolamine, 0.02 M EDTA와 2 mM DTT가 포함된 완충용액(pH 7.4)을 가하여 균질기(099 CK33, Glascol, Terre Haute, IN, USA)로 마쇄하여 얻은 균질액을 $600 \times g(4^\circ\text{C})$ 에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 $10,000 \times g(4^\circ\text{C})$ 에서 20분간 원심분리 하여 미토콘드리아 침전물을 취하여 사용된 완충용액에 녹인 후 효소원으로 사용하였다. 상층액은 $100,000 \times g(4^\circ\text{C})$ 에서 1시간 초원심분리하여 시토졸 분획을 얻어 효소원으로 사용하였다.

Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성도는 Bergmeyer의 방법(24)에 준하여 측정하였으며, aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성도는 Koivula와 Koivusalo의 방법(25)에 준하여 측정하였다. 효소활성도는 Bradford의 방법(26)을 사용하여 측정된 단백질 mg당의 고유활성도로 나타내었다.

통계처리

이화학적 성분 분석 및 항산화 효과의 실험결과는 3반복

한 후, 평균±표준편차로 표시하여 나타내었다. 숙취효과의 실험결과는 SPSS package 프로그램(v19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 각 군의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하였다. 다군 간의 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

오이 식초 제조

오이 자체만을 가지고 오이 식초를 제조할 시에 과실 양조 식초의 품질기준인 총산도 4.0%가 되기 어려워 사과농축액을 이용하여 초기당도를 15°Brix로 맞춘 후 발효를 진행하였다(27). 산입화 단계에서 발효시간은 제품의 단가를 높이는 요인이 되기 때문에 가능한 단기간에 최대의 알코올 생산을 유도해야 한다. Fig. 1A와 같이 1단계 과정인 알코올발효 과정 중 알코올 함량은 1일째부터 증가하기 시작하여 6일째에 7.8%로 나타났으며, 6일째 이후부터는 더 이상 증가하지 않았다. 반면, 당도의 변화는 0일째부터 급격하게 감소하여 6일째에 5.8°Brix로 나타났으며, 6일째 이후부터는 더 이상 감소하지 않았다. 이는 딸기와 양파즙을 이용한 알코올발효에서 각각 8일과 5일째에 알코올 함량이 최대로 생성되었다

는 Jeong 등(28)과 Kim 등(12)의 보고와 유사하였다.

1단계 발효과정 종료 후, 그 여액을 기질로 2단계 과정인 초산발효를 진행하였다. 초산발효 과정 중에 알코올 함량 및 초산 함량의 변화는 Fig. 1B와 같다. 알코올 함량은 4일째부터 급격하게 감소하기 시작하여 12일째에 과실 식초의 품질기준인 잔류알코올 함량 1.0% 미만에 적합한 0%가 되었으며, 초산 함량은 2일째부터 증가하기 시작하여 12일째에 5.8%로 나타났다. Park(1)은 1단계 알코올발효를 거치지 않고 초산발효만을 통하여 제조된 오이 식초의 pH와 산도가 각각 4.63, 3.63%로 나타났으며, 이는 식초의 품질기준인 초산 함유량 4.0%를 넘지 못하는 것이라고 보고하였다. 또한 Jeong(29)은 재래적 전통 발효법이 장기간의 비위생적인 발효과정으로 인해 이취 및 이미를 발생시키며 수율이 낮아 대량 생산 시 많은 문제점이 제기된다고 보고한 바 있다. 따라서 오이 식초 제조방법으로 단기간에 산도를 높이고 일정한 품질을 유지할 수 있는 2단계 발효법이 전통 발효방법보다 활용가치가 높을 것으로 생각된다.

유리당

오이 식초의 유리당 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 식초의 원료 중 당분은 발효과정에서 초산균의 대사 작용으로 대부분 산으로 변화되고 일부는 에너지원으로 이용된다(30). 오이 식초의 총 유리당 함량은 3,462.99 mg%이었으며, 이 중 glucose 함량이 3,067.26 mg%로 가장 높았고 이어서 fructose가 395.73 mg%로 나타났다. Seo 등(31)은 2단계 발효를 통하여 제조된 과실 식초들의 주요 유리당이 glucose(34.70~102.87 mg%), fructose(62.51~234.61 mg%) 및 sucrose(52.44~1,325.82 mg%)로 나타났으며, 과실의 종류에 따라 그 함량에 차이가 있다고 보고하였다.

유기산

오이 식초의 유기산 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 오이 식초의 유기산은 acetic acid, malic acid, citric acid, lactic acid, succinic acid 및 oxalic acid로 총 5,883.98 mg%의 함량을 나타내었다. 오이 식초의 주요 유기산은 acetic acid이었으며, 그 함량은 4,410.50 mg%로 가장 높게 나타났다. 이어서 succinic acid, oxalic acid, lactic acid, malic acid 및 lactic acid가 각각 841.11 mg%, 332.87 mg%, 114.15 mg%, 98.18 mg% 및 87.05 mg%로 높게 나타났다. Park 등(32)은 오이과실의 총 유기산(10~25 mg·g⁻¹FW(100~

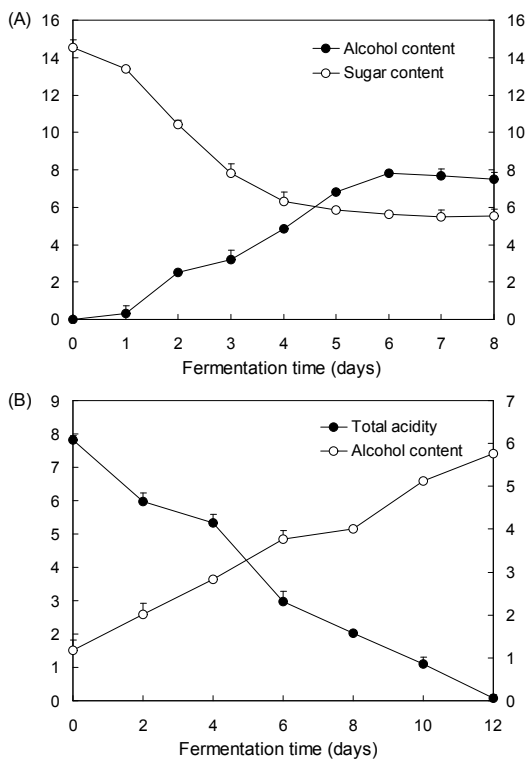


Fig. 1. Production of cucumber vinegar by two-step fermentation. Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. (A) Changes of alcohol and sugar content during alcohol fermentation of cucumber juice. (B) Changes of alcohol content and total acidity during acetic acid fermentation of cucumber juice.

Table 1. Contents of free sugars in cucumber vinegar (Unit: mg%)

Free sugars	Contents
Glucose	3,067.26±72.44
Fructose	395.73±5.66
Sucrose	ND ¹⁾
Total free sugars	3,462.99±74.62

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

¹⁾ND: not detected.

Table 2. Contents of organic acids in cucumber vinegar
(Unit: mg%)

Free organic acids	Contents
Acetic acid	4,410.50±106.62
Succinic acid	841.11±10.07
Oxalic acid	332.87±20.44
Lactic acid	114.27±15.13
Malic acid	98.18±2.47
Citric acid	87.05±3.20
Total organic acids	5,883.98±101.14

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

250 mg%) 중 95% 이상을 malic acid가 차지하며, 그 외에는 미량으로 존재한다고 보고하였다. 사과식초의 경우, acetic acid 4,601.7 mg%, malic acid 427.1 mg%, citric acid 89.9 mg% 및 succinic acid 67.8 mg%의 유기산 함량을 나타내어(15), 본 연구에서 보당을 위해 첨가한 사과농축액이 오이 식초의 유기산 함량 증가에 기여한 것으로 여겨진다. 따라서 식초 제조 시 사과농축액의 첨가는 오이의 부족한 유기산의 함량을 증가시킴으로써 그 이용가치를 증대시킬 수 있을 것으로 기대된다. 한편, 식초의 주요 유기산인 acetic acid를 제외하고 매실 식초(10)에서는 succinic acid가, 감식초(33)에서는 galacturonic acid가, 포도 식초(13)에서는 tartaric acid가 높게 나타나 과실의 종류에 따라 식초의 유기산의 구성 및 함량에 차이가 있음을 확인할 수 있었다. Nakancn(34)은 acetic acid를 비롯한 유기산들이 식초의 산미와 지미를 형성하며, TCA회로를 활성화하여 젖산분해를 촉진하는 기능이 있다고 보고한 바 있다. 따라서 여러 과실 식초의 유기산 구성 및 함량의 차이는 각각의 미각적 특성이나 생리활성에 영향을 미칠 것이라고 생각된다.

유리아미노산

오이 식초의 유리아미노산을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 오이 식초의 유리아미노산 종류는 26종이었으며, 총 함량은 181.45 µg/mL로 나타났다. 주요 아미노산은 citrullin,

valine, aspartic acid, asparagine 및 ornithine이었으며, 그 외에는 미량으로 나타났다. 사과 식초는 tyrosine, aspartic acid, cystine 등(15)이, 현미 식초는 glutamic acid, alanine, valine 등(34)이, 감식초는 ornithine, γ -aminoisobutyric acid 등(35)이 주요 아미노산으로 나타나 식초마다 유리아미노산의 함량 및 구성성분에 차이가 있음을 알 수 있었다. 이는 초산균의 종류, 원료, 발효방법, 재료 배합비의 차이 등에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 유리아미노산은 초산 발효 중 자화되어 38~60%가 감소되고 특히, glutamic acid, aspartic acid 및 proline의 감소가 크다고 보고된 바 있다(36).

무기성분

오이 식초의 무기성분은 ICP로 측정하여 Table 4에 나타내었다. 오이 식초의 무기성분은 K이 1,560.75 ppm으로 가장 높게 나타났다. 그 외에는 Mg, Ca 및 Na의 함량이 각각 71.25, 65.51 및 26.60 ppm으로 높았으며, Fe, Mn 및 Cu는 미량으로 나타났다. 이는 오이의 무기성분 분석결과 K의 함량이 가장 높았으며, 이어서 Mg과 Ca이 높게 나타났다는 Kim 등(37)의 보고와 유사하였다. 또한 Kwon 등(38)은 감식초, 포도 식초 등의 주된 무기성분이 K이었으며, 그 외의 성분은 식초 제조 시 부재료의 사용 및 과실의 종류에 따라 차이를 나타낸다고 보고하였다.

총 폴리페놀 함량

폴리페놀은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로 자유라디칼 소거활성과 같은 항산화 활성에 매우 중요한 인자로 작용한다(39). 본 연구에서 제조한 오이 식초는 100 mL당 40.14 mg의 높은 폴리페놀 함량을 나타내었으며(Table 5), 이는 선호도 및 기호성을 고려하여 보당액으로 사용한 사과농축액에 기인한 것으로 판단된다. 이러한 폴리페놀 함량 증가는 오이 식초의 항산화 활성을 증강시켜 기능이 한층 강화된 오이 식초 생산을 가능케 할 것으로 여겨진다.

Table 3. Contents of free amino acids in cucumber vinegar

(Unit: µg/mL)

Free amino acids	Contents	Free amino acids	Contents
Citrulline	33.57±2.94	Tyrosine	2.97±0.21
Valine	26.15±3.15	α -Aminoisobutyric acid	2.60±0.29
Aspartic acid	23.56±1.11	γ -Aminoisobutyric acid	2.44±0.15
Asparagine	15.77±1.56	Alanine	2.40±0.15
Ornithine	12.67±0.20	Leucine	2.38±0.37
Cystine	8.77±0.39	3-Methylhistidine	1.83±0.12
Glutamic acid	7.46±0.36	Homocysteine	1.75±0.12
Cystathionine	6.52±0.40	Lysine	1.48±0.20
β -Aminoisobutyric acid	5.46±0.06	Histidine	1.35±0.15
Phenylalanine	5.43±0.30	Glycine	1.45±0.46
Ammonia	4.81±0.26	Serine	1.07±0.21
Arginine	4.15±0.12	Isoleucine	0.80±0.12
α -Amino adipic acid	3.97±0.24	DL+all hydroxylysine	0.58±0.20
Total free amino acids			181.45±4.96

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

Table 4. Contents of minerals in cucumber vinegar

Minerals	Contents (Unit: ppm)
K	1,560.75 ± 35.62
Mg	71.25 ± 2.49
Ca	65.61 ± 2.07
Na	26.60 ± 3.02
Fe	2.62 ± 0.30
Mn	0.70 ± 0.17
Cu	0.04 ± 0.03

Data values were expressed as mean ± SD of triplicate determinations.

Table 5. Content of total polyphenol in cucumber vinegar
(Unit: mg/100 mL)

Sample	Content
Cucumber vinegar	40.14 ± 0.02

Data values were expressed as mean ± SD of triplicate determinations.

항산화 효과

DPPH radical 소거능에 사용되는 짙은 자색을 띠는 DPPH는 비교적 안정한 자유 라디칼로서 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다(40). 오이 식초의 소거활성은 68%로 positive control인 0.1% α -tocopherol과 유사한 활성을 나타내었다(Table 6). Lee 등(41)은 발효과정 중에 생긴 유기산 등의 추가적인 유효성분이 DPPH 라디칼 소거능 활성을 향상시킨다고 보고한 바 있다.

ABTS⁺ 라디칼을 이용한 항산화능 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺ 자유 라디칼이 시료 내의 항산화 물질로부터 수소를 제공받아 안정한 물질로 변화됨에 따라 라디칼 특유의 푸른색을 잃게 되는 성질을 이용한 방법이다(42). Table 6과 같이 오이 식초의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 79%로 높은 활성을 나타내었으며, DPPH 라디칼 소거능보다 다소 높게 나타났다. Wang 등(43)은 자유 라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS 라디칼에 결합하는 페놀물질의 종류가 달라 라디칼의 제거능력에 차이가 나타난다고 보고하였다.

환원력은 시료에 존재하는 reductones가 제공하는 수소 원자가 활성산소 사슬을 분해함으로써 항산화 활성을 나타내는 것으로 항산화 활성과 직접적으로 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(44). 오이 식초의 환원력은 positive control인 0.1% BHT와 유사한 경향을 나타내어(Table 6), DPPH

Table 6. DPPH radical activity (AA1), ABTS⁺ scavenging activity (AA2) and reducing power effect (AA3) of cucumber vinegar

Samples	AA1 (%)	AA2 (%)	AA3 (nm)
Cucumber vinegar	68.47 ± 1.08	79.29 ± 0.08	2.35 ± 0.02
0.1% BHT	96.65 ± 0.05	99.55 ± 0.14	1.70 ± 0.08
0.1% α -Tocopherol	71.27 ± 0.31	95.55 ± 0.22	2.32 ± 0.05

Data values were expressed as mean ± SD of triplicate determinations.

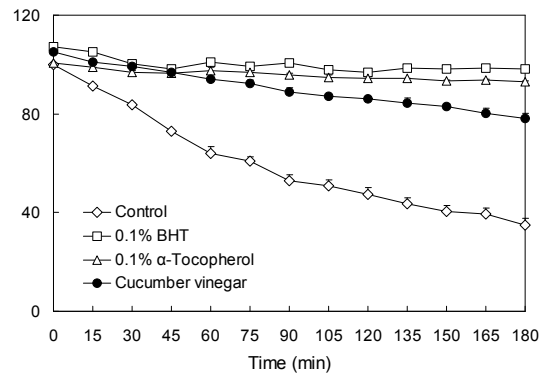


Fig. 2. β -carotene bleaching assay of cucumber juice and vinegar. Data values were expressed as mean ± SD of triplicate determinations. Control: ethanol.

라디칼 소거능과 ABTS⁺ 라디칼 소거능의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

오이 식초의 β -carotene bleaching을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. β -carotene bleaching assay는 linoleic acid와 β -carotene이 반응하여 β -carotene 특유의 주황색이 급격히 퇴색되는 것을 시료가 어느 정도 억제하는지 흡광도를 통해 알아보는 방법이다. 무첨가군에서는 시료 대신 에탄올을 첨가하여 실험하였다. 무첨가군은 처리시간 동안 흡광도의 감소 정도가 컸으며, 0.1% BHT와 0.1% α -tocopherol이 처리된 양성 대조군은 높은 항산화력으로 처리시간 동안 흡광도의 변화가 거의 없었다. 한편, 오이 식초군은 양성 대조군과 유사한 경향을 나타내어 lipid peroxyl 라디칼 소거능이 높음을 확인할 수 있었다.

숙취해소 효과

혈장 중의 아세트알데히드 농도는 오이 식초군이 알코올 대조군과 타사제품군에 비하여 각각 41%와 24% 유의적으로 낮았으나($p < 0.05$, Fig. 3A), 알코올 농도는 실험군 간의 유의적인 차이가 없었다($p < 0.05$, Fig. 3B). 아세트알데히드는 알코올대사 산물 중 가장 독성이 강하며 알코올생 긴장해의 주원인 물질이며 뇌로 이동하여 유해화합물로 전환되어 맥박증가, 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다(45,46).

간조직 중의 알코올 대사 효소 활성도를 살펴 본 결과(Table 7) 오이 식초는 알코올 제거효소인 ADH 활성에는 유의적인 영향을 미치지 않은 반면, 아세트알데히드를 제거하는 ALDH 활성을 알코올대조군과 타사제품군에 비하여 각각 29%, 15.5% 높인 것으로 나타났다($p < 0.05$). 알코올은 ADH에 의해 아세트알데히드로 전환되고 이는 ALDH에 의해 아세트산(acetic acid)으로 산화된다. 아세트산은 아세틸-CoA로 전환되며 구연산회로를 거쳐 에너지를 발생하거나 지방산을 합성하는데 이용되고 일부는 요나 CO₂로 배설된다(47). 그러나 과량의 알코올을 섭취하게 되면 ALDH 활성은 감소되어 아세트알데히드 분해 속도를 늦춘다. 그로 인해

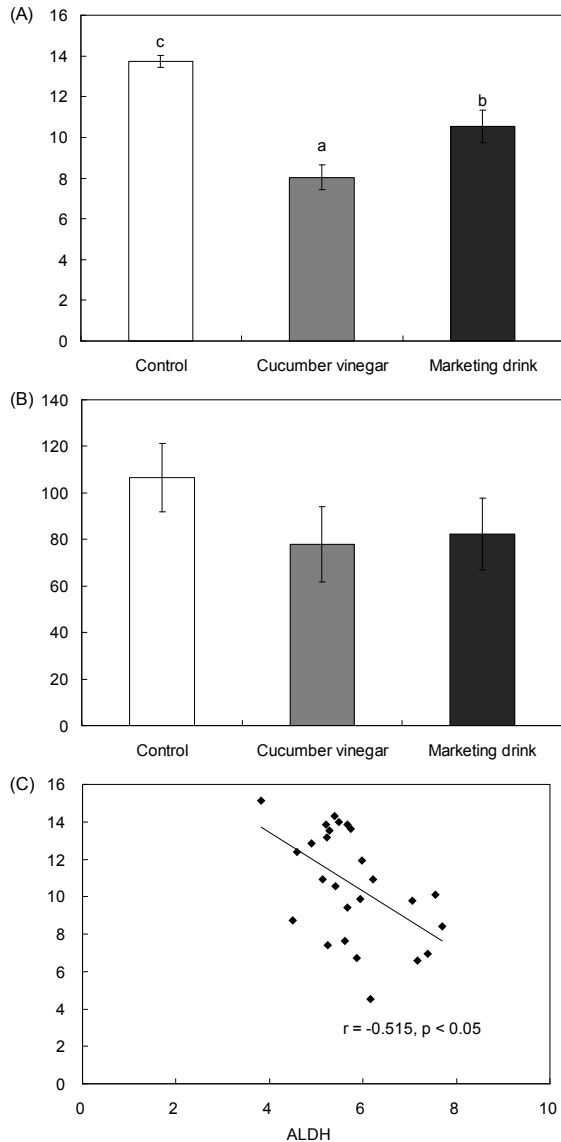


Fig. 3. Effects of cucumber vinegar on plasma acetaldehyde (A) and alcohol (B) concentrations and correlation between hepatic ALDH activity and plasma acetaldehyde concentration (C) in acute ethanol-administered rats. Data values were expressed as means±SE (n=10). ^{a-c}The means not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

Table 7. Effects of cucumber vinegar on hepatic alcohol metabolic enzyme activities in acute ethanol-administered rats¹⁾

	Control	Cucumber vinegar	Marketing drink
ADH (nmol/min/mg protein) ²⁾	2.25±0.05	2.42±0.05	2.20±0.10
ALDH (nmol/min/mg protein)	5.02±0.21 ^a	6.48±0.33 ^b	5.61±0.12 ^a

¹⁾Mean±SE (n=10). Means in the row not sharing a common letter are significantly among groups (p<0.05).

²⁾ADH: alcohol dehydrogenase, ALDH: aldehyde dehydrogenase.

체내의 아세트알데히드 함량이 높아지고 이는 간의 마이크로솜 단백질과 높은 친화력을 가지게 되어 간 손상을 유발한

다고 알려져 있다(48). 본 실험에서 오이 식초는 ALDH 활성을 높여 혈 중 아세트알데히드 제거에 기여하였을 것으로 사료되며, 이는 ALDH 활성이 아세트알데히드 농도와 음의 상관관계(r=-0.0515, p<0.05)를 보임으로써 뒷받침된다(Fig. 3C).

이와 같이 오이 식초는 간조직의 ALDH 활성을 높이고 혈장 중의 아세트알데히드 농도를 유의적으로 낮춤으로써 숙취해소에 효과적인 것으로 평가되었다.

요 약

남아도는 오이의 활용도 및 그 부가가치를 높이기 위하여 오이 식초를 제조한 후 이화학적 성분을 분석하고, 항산화 및 숙취해소 효능과 같은 기능성을 조사하였다. 초기당도를 15°Brix가 되도록 조절하여 25°C에서 알코올 발효하였을 때, 발효 6일째에 7.8%의 최대 알코올 함량을 얻었으며, 이를 다시 30°C에서 12일간 초산발효 하여 산도 5.8%의 식초를 얻었다. 오이 식초의 주요 유리당은 glucose 및 fructose로 그 함량은 각각 3,067.26 및 395.73 mg%였고, 주요 유기산은 acetic acid 및 succinic acid로 그 함량은 각각 4410.5 및 841.11 mg%이었다. 오이 식초의 유리아미노산 총 함량은 181.45 µg/mL이었고, 이 중 citrulline, valine, aspartic acid, asparagine 및 ornithine이 주된 아미노산이었으며, 무기성분은 K, Ca, Mg와 같은 알칼리성 원소를 다량 함유하고 있는 것으로 나타났다. 또한 DPPH, ABTS⁺ 라디칼 소거능, 환원력 및 β-carotene bleaching과 같은 실험방법을 통해 오이 식초의 항산화 활성을 측정된 결과 높은 활성을 나타내었으며, 오이 식초의 주요 항산화 활성성분인 폴리페놀의 함량은 40.14 mg/100 mL이었다. 한편, 오이 식초는 급성으로 알코올을 투여한 흰쥐의 간조직 중 알데히드 탈수소효소 활성을 높임으로써 혈장 중 아세트알데히드 농도를 효과적으로 낮추었다. 따라서 본 연구결과를 통해 오이를 주원료로 하여 제조한 오이 식초는 상당한 항산화 및 숙취해소 효과가 있는 것으로 판단되며, 이를 기능성식품 소재로 활용이 가능하리라 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 농림수산식품부 농림기술개발사업의 연구비 지원으로 이루어진 결과이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Park KH. 2001. Studies on the optimization of fermentation condition for the production of cucumber vinegar. *MS Thesis*. Kyunghee University, Seoul, Korea. p 1-7.
2. Jeong MH. 2009. A study on improvement directions and management practices of environmentally-friendly cucumber farm with emphasis on Jeonnam eastern around area.

- MS Thesis*. Sunchon University, Sunchon, Korea. p 20-25.
3. Park HS, Park WS, Kim MR. 2004. Quality characteristics of commercial *Oiji*, Korea cucumber pickle. *Korean J Sci Technol* 36: 385-392.
 4. Kim JE. 2001. Effect of processing methods on quality of cucumber pickles. *MS Thesis*. Chungju National University, Chungju, Korea. p 1-46.
 5. Jung ST, Lee HY, Park HJ. 1995. The acidity, pH, salt content and sensory scores change in *Oyijangachi* manufacturing. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 606-612.
 6. Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. 1996. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian Soc Dietary Life* 6: 355-363.
 7. Lee DS, Ryu IH, Lee GS, Shin YS, Joen SH. 1999. Optimization effect against lipase activity in preparation of aloe vinegar by *Acetobacter* sp. and inhibitory. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 105-110.
 8. Kim DH. 1999. Studies on the production of vinegar from fig. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 53-60.
 9. Lee SH, Shim WM. 2000. Bioactive functions of vinegar. *Food Sci Inst* 9: 29-36.
 10. Ko YJ, Jeong DY, Lee JO, Park MH, Kim EJ, Kim JW, Kim YS, Ryu CH. 2007. The establishment of optimum fermentation conditions for *Prunus mume* vinegar and its quality evaluation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 361-365.
 11. Kim SW, Park JH, Jun HK. 2002. Analysis of optimum condition for production of an onionic vinegar by two-step fermentations. *J Life Sci* 18: 1410-1414.
 12. Kim SW, Oh EH, Jun HK. 2008. Analysis of optimum condition for alcoholic drink production using onion extract. *J Life Science* 18: 871-877.
 13. Jeong YJ, Lee MH, Seo KI, Kim JN, Lee YS. 1998. The quality comparison of grape vinegar by two stages fermentation with traditional grape vinegar. *J East Asian Soc Dietary Life* 8: 462-468.
 14. Jeong YJ, Seo KI, Lee GD, Youn KS, Kang MH, Kim KS. 1998. Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using response surface methodology. *J East Asian Soc Dietary Life* 8: 57-65.
 15. Jeong YJ, Seo JH, Lee GD, Park NY, Choi TH. 1999. The quality comparison of apple vinegar by two stages fermentation with commercial apple vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 353-358.
 16. Jeong CH, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong HR, Kim DO, Heo HJ. 2010. Changes in nutritional components of Daebong-gam (*Diospyros kaki*) during ripening. *Korean J Food Preserv* 17: 526-532.
 17. Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *Am J Enol Vitic* 28: 49-56.
 18. Blois MA. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 19. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorizing assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
 20. Yildirim A, Mavi A, Kara A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex of aerobic life. *Bioche Symp* 61: 1-34.
 21. Mattaus B. 2002. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J Agric Food Chem* 50: 3444-3452.
 22. Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N, Liber CS. 1990. Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rat. *Gastroenterol* 98: 203-210.
 23. Sund H, Theorell H. 1963. Alcohol dehydrogenase. In *The Enzymes*. Academic Press, New York, NY, USA. Vol 7, p 25-83.
 24. Bergmeyer HU. 1974. Alcohol dehydrogenase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, NY, USA. Vol 1, p 428-429.
 25. Koivula T, Koivusalo M. 1975. Different from of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem Biophys Acta* 397: 9-23.
 26. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
 27. Food Code. 2002. Korea Foods Industry Association, Seoul, Korea. p 32.
 28. Jeong EJ. 2007. Study on the optimum condition for fermentation of strawberry wine and its quality improvement. *MS Thesis*. Chonbuk University, Cheongju, Korea. p 20-21.
 29. Jeong YJ. 1996. Optimization for the fermentation of persimmon vinegar using response surface methodology. *PhD Dissertation*. Yeungnam University, Daegu, Korea. p 4-12.
 30. Moon SY, Chung HC, Yoon HN. 1997. Comparative analysis commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. *Korean J Post-harvest Sci Technol* 8: 60-65.
 31. Seo JH, Kim YJ, Lee KS. 2003. Comparison of physicochemical characteristics of fruit vinegars produced from two-stage fermentation. *Korean J Food Nutr* 8: 40-44.
 32. Park SW, Chi SH, Hong SJ. 2002. Difference in firmness, sugars and organic acids contents of cucumber fruit based on size. *J Kor Soc Hor Sci* 43: 553-555.
 33. Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. 1996. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian Soc Dietary Life* 6: 355-363.
 34. Nakancn S. 1988. Food useful for preventing alcohol intoxication containing persimmon-vinegar and optimum fruits, with blood alcohol concentration reducing action. *Japan patent* 63: 562-566.
 35. Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Jang SY, Yeo SH, Choi JH, Jeong YJ. 2010. Quality characteristic of brown rice vinegar by different yeasts and fermentation condition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1366-1372.
 36. Kough K, Kim KS. 1999. Studies on quality characteristics of commercial vinegars. *Bull Nat Sci* 2: 171-187.
 37. Kim JH, Kim MH, Oh HK, Chang MJ, Kim SH. 2007. Seasonal variation of mineral nutrients in Korean common fruits and vegetables. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 860-875.
 38. Kwon SH, Jeong EJ, Lee GD, Jeong YJ. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverage including vinegar. *Food Ind Nutr* 5: 18-24.
 39. Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim YH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong and black teas. *Korean J Food Preserv* 16: 230-237.
 40. Lee SK, Yu MH, Lee SP, Lee IS. 2008. Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 269-275.
 41. Lee SM, Choi YM, Kim YW, Kim DJ, Lee JS. 2009. Antioxidant activity of vinegars commercially available in Korean markets. *Food Eng Prog* 13: 221-225.
 42. Hong J, Wie MJ, Leem DG, Park KS, Yoon TH, No KM, Jeong JY. 2010. Evaluation of antioxidants activity through the chemical assay. *J Biomed Res* 11: 1-8.

43. Wang MF, Shao Y, Li JG, Zhu NQ, Rngarajan M, Lavoie EJ, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46: 4869-4873.
44. Godone MF. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food Antioxidants*. Hudson BJJ, ed. Elsevier Applied Science, London, UK. p 1-18.
45. Park SC. 1993. Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate. *Korean J Biochem* 25: 137-143.
46. Kim CI. 1999. Cause and effect of hangover. *Food Industry and Nutrition* 4: 26-30.
47. Linder MC. 1991. Nutrition and metabolism of fats. In *Nutritional biochemistry and metabolism with clinical applications*. Linder MC, ed. Elsevier, New York, NY, USA. p 51-83.
48. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. 1987. Involvement of iron and iron-catalyzed free radical production in ethanol metabolism and toxicity. *Enzyme* 37: 57-69.

(2012년 2월 10일 접수; 2012년 6월 14일 채택)