

Production of Vinegar using *Rubus coreanus* and Its Antioxidant Activities

Sung-Min Hong¹, Min-Jeong Kang¹, Ju-Hye Lee², Ji-Hye Jeong¹,
Seung-Hyek Kwon¹ and Kwon-Il Seo^{1*}

¹Dept. Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

²Research Institute of Basic Science, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

복분자를 이용한 식초의 제조 및 그의 항산화 효과

홍성민¹ · 강민정¹ · 이주혜² · 정지혜¹ · 권승혁¹ · 서권일^{1*}

¹순천대학교 식품영양학과, ²순천대학교 기초과학연구소

Abstract

This study developed a high-utility type of vinegar from *Rubus coreanus* by optimizing its fermentation conditions. In the alcohol fermentation process, the optimal conditions for the maximization of the alcohol contents were an initial sugar concentration of 15 °Brix, a temperature of 30 °C and 4 days. The optimal conditions for the acetic acid fermentation were 9 days of fermentation at 30 °C and 200 rpm, with 6% alcohol and 2% initial acidity. The sucrose, fructose, and glucose contents were 952.90, 491.01, and 386.62 mg%, respectively. The free organic acids were acetic, malic, succinic, malonic, oxalic, and lactic acids. The total free amino acid content was 104.33 µg/mL, with alanine, glutamic acid, γ-amino-N-butyric acid, and o-phospho-ethanolamine as the major amino acids. The K, Na, and Mg contents were 1,686.10, 172.50, and 69.33 ppm, respectively. The total phenolic and anthocyanin contents were 25.19 and 80.71 mg/100 mL, respectively. The DPPH- and ABTS⁺ radical scavenging activities were approximately 65 and 94%, respectively. Moreover, the vinegar's β-carotene bleaching activity and reducing power showed that it had strong anti-oxidant properties. These results show that *Rubus coreanus* vinegar has anti-oxidant properties and may be used as functional food.

Key words : *Rubus coreanus*, vinegar, antioxidant activities

서 론

식초는 동서양을 막론하고 예로부터 이용되어 온 발효 식품으로, 식품에 첨가되는 기초산미료이며 의약품 및 미용재료로도 널리 사용되고 있다(1). 이러한 식초는 미생물을 이용하여 당류나 전분질을 함유하고 있는 여러 원료들을 알코올 및 초산 발효시켜 제조되며, 신맛을 내는 초산성분을 비롯하여 유기산과 아미노산, ester 및 각종 영양물질이 함유되어 있다(2,3). 위와 같은 식초성분들은 콜레스테롤 저하 및 체지방을 감소시켜 성인병 예방에 효과적이며, 젖산 분해에 따른 피로회복 및 식품성분 내의 비타민 C 보호

작용 등의 효능이 있는 것으로 보고되어 있다(4,5).

국내 식초 산업은 1970년대에 빙초산을 희석하여 만든 저가의 합성식초가 주를 이루었으며(4-6), 80년대에는 주정을 희석하여 과즙, 무기염을 첨가한 양조식초의 소비가 증가하였다(7). 이후 90년대부터는 첨가물을 사용하지 않고 100% 과실을 원료로 하는 천연 양조식초의 생산이 시작되어(8), 최근에는 단기간에 대량생산이 가능한 2단계 발효 및 병행발효법을 통해 참다래(9), 사과(10), 양파(6) 등을 이용한 다양한 천연 양조식초의 개발에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다.

복분자(*Rubus coreanus* Miq.)는 장미과에 속하는 산딸기의 일종으로 반구형의 검붉은색 열매를 맺는 다년생 식물이다(11). 동의보감에 의하면 복분자는 신(身)과 간(肝)을 보

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

호하고 눈을 밝게 하며, 신경(腎精) 보강 및 정력 감퇴 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(12). 복분자에는 인, 철, 칼륨, 유기산, 비타민 C 등의 영양성분(13)과 gallic acid, tannin, catechin, quercetin 등의 유용성분이 풍부하게 함유되어 있어(14,15), 항암 활성(16), 면역증진 효과(17), 항균 효과(18) 및 혈관신생억제 효과(19)와 같은 다양한 생리활성을 가진다고 보고되고 있다.

복분자는 1993년부터 재배되기 시작하여 복분자 시장의 성장과 더불어 매년 11,000톤 이상의 생과가 생산 유통되고 있어 많은 농가의 소득원이 되고 있다(20). 그러나 최근 홍수출하로 인한 가격폭락과 복분자의 주 소비시장을 이루고 있는 과실주의 소비 감소로 그 활용이 문제시 되고 있다(21). 이를 해결하기 위해 복분자를 이용한 제품의 개발이 이루어져 오고 있으나 초콜릿, 면, 떡, 식빵 등과 같은 단순 가공 수준의 제품만이 제시되고 있을 뿐 과잉으로 생산되는 복분자를 대량적으로 활용할 방안으로는 아직까지 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 과잉산물인 복분자를 이용하여 단기간에 대량생산이 가능한 2단계 발효를 통한 복분자 식초를 제조하고 그 이화학적 성분분석 및 항산화 효과를 조사하여 복분자 식초를 기능성 식품 소재로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에 사용된 복분자(*Rubus coreanus* Miq)는 2008~2009년 7월 전남 장흥군에서 수확한 것을 구입하여 사용하였으며, 분쇄기(CM-3000, Samyang Electronics Co, Ltd, Gunpo, Korea)로 파쇄한 후 착즙한 것을 원료로 사용하였다.

사용균주 및 배지조성

본 연구에서 사용된 알코올 발효 균주는 한국생명자원센터에서 분양받은 *Saccharomyces cerevisiae* (KCTC 7904)를 YPD 평판배지(YPD agar, Becton, Dickinson and Co, Le Pont de Claix, France)에 계대배양한 후, YM 액체배지(YM broth, Becton, Dickinson and Co, Le Pont de Claix, France)를 이용하여 24°C에서 24시간 정지 배양하여 사용하였다. 초산균은 경북과학대학 전통식품연구소에서 보관중인 *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 종초

주모는 복분자를 파쇄하여 착즙한 것에 100% 사과농축액(72 °Brix)으로 초기 당도를 15 °Brix로 조절한 후, *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7904를 접종하여 30°C에서 48시간 정지 배양하여 사용하였다. 종초는 주모 제조 시 동일 방법으로 제조된 복분자 알코올 발효액을 여과한 후, 그 여액에 초산균주 *Acetobacter sp.* PA97를 접종하여 30°C에서 200 rpm으로 72시간 진탕 배양하여 사용하였다.

알코올발효

복분자 착즙액 30%, 사과농축액(72 °Brix) 및 정제수로 초기 당도를 15 °Brix로 조절한 후, 주모 5% (v/v)를 접종하여 항온 배양기(HB-103MP, Hanbaek Scientific Co, Bucheon, Korea)를 이용하여 6일간 배양시켰으며, Kim 등(22)의 방법을 참고하여 초기 당도(10~20 °Brix)와 온도(20~30°C)를 각각 조절한 후 알코올 및 당도의 변화를 조사하였다.

초산발효

여과된 복분자 알코올 발효액에 종초 10% (v/v)를 접종한 후 30°C에서 진탕 배양기(LSI-3106R, Daihan Labtech Co, Ltd, Namyang, Korea)를 이용하여 200 rpm으로 9일간 배양하였다. Kim 등(1)의 방법을 참고하여 초기 산도(1~3%), 알코올 농도(4~8%) 및 온도(25~35°C)를 각각 조절한 후 초산 함량의 변화를 측정하였다.

알코올 함량 및 당도

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

총 산도 및 pH

총 산도는 6배로 희석한 시료 5 mL를 pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH용액으로 적정하여 acetic acid의 양으로써 표시하였으며, pH는 시료 10 mL를 취하여 pH meter (pH-200L, Istek Co, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

유리당 및 유기산 분석

유리당 및 유기산 분석은 시료액을 원심분리 시킨 후 Sep-pak C₁₈ cartridge (Water Associate, Maple Street/Milford, Ma 01757, USA)로 통과시키고 0.45 μm membrane filter로 여과하여 색소 및 단백질 성분을 제거한 다음 HPLC로 분석하였다. 유리당 분석 column은 Zorbax Carbohydrate Analysis column (4.6 × 150 mm, 5 μm, Agilent Technologies Inc., USA), 이동상은 acetonitrile : H₂O (80:20)를 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min, injection volume는 10 μL,

detector는 1200 series ELSD detector를 사용하였다. 유기산 분석 column은 Inertsil ODS-3V (4.6 × 250 mm, 5 μm, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan), 이동상은 0.1 M ammonium dihydrogenphosphate와 phosphoric acid (pH 2.5)를 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min, injection volume를 20 μL, detector는 UV(210nm) detector를 사용하였다.

유리아미노산 분석

복분자 식초 10 mL에 25 mg sulfosalicylic acid (Sigma-Aldrich, Co, ST Louis, MO, USA)를 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리하여 단백질 등을 제거하고, 상정액을 0.22 μm membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 아미노산 자동분석기(Biochrom 30, Pharmacia Biotech, Stockholm, Sweden)를 이용하여 분석하였다. Column은 Ultrapac II cation exchange resin (11±2 μm, 220 mm)를 사용하였고, 0.2 N Na-citrate buffer 용액(pH 3.20, 4.25 및 10.00)의 flow rate는 25 mL/hr, ninhydrin 용액의 flow rate는 20 mL/hr이며, pH 2.80(32°C 02:00)-pH 3.00(32°C, 29:15)-pH 3.15(40°C, 16:00)-pH 3.15(54°C, 01:30)-pH 3.50(74°C, 25:30)-pH 3.55(74°C 37:00)으로 분석하였다.

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(23).

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법에 따라 측정하였다(24). 즉, 시료 0.1 mL에 증류수 8.4 mL과 2 N Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA) 0.5 mL를 첨가하고 20% Na₂CO₃ (Junsei Chemical Co, Ltd, 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, St Louis, MO, USA)를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

총 안토시아닌 함량 측정

총 안토시아닌 함량은 pH-differential method를 사용하여 측정하였다(25). 안토시아닌은 pH의 변화에 따라 가역적인 구조적 변형을 일으켜 유색의 oxonium 형태는 pH 1.0에서,

무색의 hemiketal 형태는 pH 4.5에서 우세하며, pH-differential method는 이 반응에 기초를 두었다. 시료를 0.025 M potassium chloride (Junsei Chemical Co, Ltd, Tokyo, Japan) buffer (pH 1.0)와 0.4 M sodium acetate (Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA) buffer (pH 4.5)에 각각 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm 및 700 nm에서 측정하였다. 복분자 식초의 총 안토시아닌 함량(mg/100 mL)은 cyanidin-3-glucoside의 몰흡광계수(ε=26,900 M⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$Total\ anthocyanin\ content(mg/100mL) = \frac{(A \times MW \times 100)}{\delta \times V}$$

$$A\ (Absorbance) = (A_{510\ nm} - A_{700\ nm})_{pH\ 1.0} - (A_{510\ nm} - A_{700\ nm})_{pH\ 4.5}$$

$$MW\ (Molecular\ weight\ of\ cyanidine-3-glucoside) = 449.2$$

$$\epsilon\ (cyanidin-3-glucoside\ molar\ absorbance) = 26,900\ M^{-1}cm^{-1}$$

$$V = final\ volume\ of\ sample$$

DPPH 라디칼 소거능 측정

시료에 대한 DPPH 라디칼 소거능은 a,a'-diphenyl-β-picrylhydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 540 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (U-1800, Hitachi Co, Ltd, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 대조구로 사용한 butylated hydroxytoluene (BHT, Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA)와 α-tocopherol (Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA)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 mL를 첨가하였으며, DPPH 라디칼 소거능을 대조구에 대한 흡광도의 감소 비율로 나타내었다(26).

ABTS⁺ 라디칼 소거활성 측정

ABTS⁺ radical 소거활성은 Re 등(27)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7.0 mM 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합한 후 23°C의 암소에서 16시간 동안 반응시켰다. ABTS⁺ 용액의 농도는 734 nm에서 흡광도가 0.700±0.005 정도가 되도록 조정하였다. 시료 0.1 mL와 ABTS⁺용액 3.9 mL를 혼합한 후 23°C에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

환원력 측정

시료들의 환원력은 Yildirim 등(28)의 방법을 약간 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 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 그

상징액의 1 mL를 취해 시험관에 담고 증류수 1 mL와 FeCl_3 (0.1%, w/v) 0.2 mL를 첨가하여 흡광도 700 nm에서 환원력을 측정하였다.

β -Carotene bleaching 측정

β -Carotene linoleate systems을 이용한 항산화 효과의 측정은 Mattaus(29)의 방법을 변형하여 측정하였다. 클로로포름 10 mL에 β -carotene (Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA) 1 mg을 용해하여 β -carotene-용액을 만든 후 β -carotene-용액 10 mL를 100 mL 둥근 플라스크에 취하고, linoleic acid (Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA) 20 mg 및 tween 40(Sigma-Aldrich, Co, St Louis, MO, USA) 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(대조군) 및 positive control인 0.1% α -tocopherol과 0.1% BHT 용액 8 μ L를 첨가하여 50°C 배양기(HB-103MP, Hanbaek Scientific Co, Bucheon, Korea)에서 저장하였다. 저장기간 중 0분에서 180분 동안 30분 간격으로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

알코올발효 중 초기 당도의 영향

2단계 발효 시 glucose 1 g에 대한 알코올 및 초산의 수득율은 이론상 각각 0.51 g과 0.67 g이라고 보고된 바 있어(30), 복분자(6.0 °Brix) 자체만으로 총 산도 4.0% 이상의 식초 제조가 어렵다. 따라서 본 연구에서는 소비자의 선호도를 감안하여 사과농축액을 보당액으로 사용하여 당도를 높였다. 알코올발효를 위한 최적 초기 당도를 설정하기 위해 복분자 착즙액의 초기 당도를 조절하여 알코올 함량과 당도를 측정하였다(Fig. 1A). 초기 당도 10, 15 및 20°Brix에 대한 알코올 함량은 각각 4.7, 6.6, 및 8.4%로 당도가 높을수록 높게 나타났으며, 당도는 각각 3.7, 6.1, 및 7.9 °Brix로 당도가 높을수록 크게 감소했다. Kim 등(31)과 Ko 등(32)은 초산발효를 진행하기 위한 초기 알코올 함량은 6%가 가장 적합하다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 알코올 함량 6.6%를 나타낸 15 °Brix를 최적 초기 당도로 선정하여 차후 실험을 진행하였다.

알코올발효 중 발효 온도의 영향

알코올발효를 위한 최적 온도를 설정하기 위해 복분자 착즙액의 초기 온도를 조절하여 알코올 함량과 당도를 측정하였다(Fig. 1B). 초기 온도 20, 25 및 30°C에 대한 알코올 함량은 각각 5.8, 6.6 및 7.2%로 온도가 높을수록 증가하였으나, 35°C에서는 알코올 함량이 6.0%로 25°C와 30°C 보다

감소하는 것으로 나타났다. 한편, 발효 후 당도는 온도가 높을수록 크게 감소했다. Son 등(33)은 발효온도 25~30°C 범위에서 알코올 생성량이 가장 우수하였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사함을 알 수 있었다. 또한, Rhee 등(34)

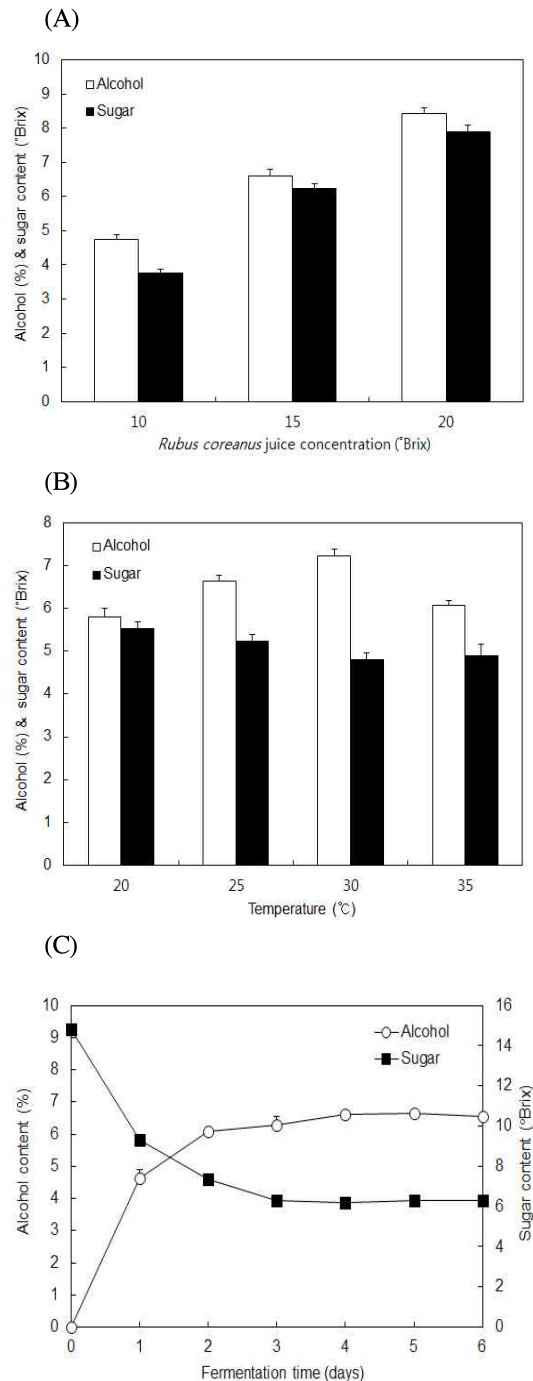


Fig. 1. Optimum condition for alcohol fermentation using *Rubus coreanus* juice.

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. (A) Comparison of alcohol and sugar contents on alcohol fermentation by different *Rubus coreanus* juice concentration. (B) Comparison of alcohol and sugar contents on alcohol fermentation by different temperature. (C) Effect of fermentation times on alcohol fermentation.

은 온도가 상승함에 따라 대사속도가 빨라져 초기 발효 속도는 증가하지만 알코올 생산율은 낮아진다고 보고한 바 있어 35°C 이상에서는 오히려 알코올 함량이 감소하는 것을 알 수 있다. 따라서 복분자 식초의 알코올 발효를 위한 최적 발효 온도는 30°C가 가장 이상적이라고 생각된다.

알코올발효 중 발효 시간의 영향

최적 알코올발효 시간 설정을 위하여 사과농축액(72 °Brix)으로 초기 당도를 15 °Brix로 조절한 후, 주모 5%(v/v)를 접종하여 30°C에서 6일간 정치 배양시키면서 24시간 간격으로 알코올 함량변화 및 당도 변화를 측정된 결과는 Fig. 1C와 같다. 알코올 함량은 발효 2일째 급격히 증가하여 4.6%로 나타났으며 4일째부터는 6.6%로 더 이상 증가하지 않았다. 당도는 2일째 7.3 °Brix로 급격하게 당도가 감소하였으며, 4일째부터는 6.2 °Brix로 더 이상 감소하지 않았다. 포도 식초(35)의 알코올 발효는 3일째에, 양과(6)와 석류 식초(36)의 알코올 발효는 5일째에 알코올이 최대 생성된다고 보고되어 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

초산발효 중 초기 산도의 영향

초기 산도가 초산 발효 시 초산 생성량에 미치는 영향을 확인한 결과는 Fig. 2A와 같다. 초기 산도 1%와 1.5%에서 초산 생성량이 가장 낮게 나타났으며, 2%에서는 발효 9일째에 초산 생성량이 6.96%로 가장 높게 나타났다. 그러나 초기 산도 2.5%와 3%에서는 4일째부터 유도기가 길어져 2%보다 산 생성능이 저하되는 경향을 나타내었다. 따라서 초산발효를 진행하기 위한 최적 초기 산도는 2%임을 알 수 있었다. 이는 오디 식초(37)와 매실 식초(38)의 제조에서 초기 산도 2%가 가장 적합하다는 보고와 일치하였다.

초산발효 중 초기 알코올 농도의 영향

일반적으로 초산 발효는 알코올 함량에 큰 영향을 받기 때문에 초산 발효에 요구되는 알코올의 최적 농도 설정은 매우 중요하다. Fig. 2B와 같이 알코올 함량 4%에서는 5일째에 산도 값이 4.4%로 나타났으나 이후에는 더 이상 증가하지 않았으며, 6%일 때는 2일째부터 산도가 증가하여 9일째에 6.96%로 가장 높게 나타났다. 한편, 알코올 함량 8%에서는 알코올 함량 6%보다 초산 발효 속도가 지연되면서 9일째에 산도 값이 6.12%로 나타났다. 이러한 결과는 초기 알코올 농도가 6%일 때 가장 높은 수율을 얻었다는 Ko 등(39)과 Kim 등(40)의 보고와 일치하였다. 또한 Kim 등(1)은 초기 알코올 농도가 8%일 때 초산 발효 속도가 지연되는 경향을 보인다고 보고한 바 있어, 초기 알코올 농도가 너무 높으면 초산 생성이 저해됨을 알 수 있다. 따라서 복분자 식초의 초산 발효 최적 알코올 농도는 6%임을 확인할 수 있었다.

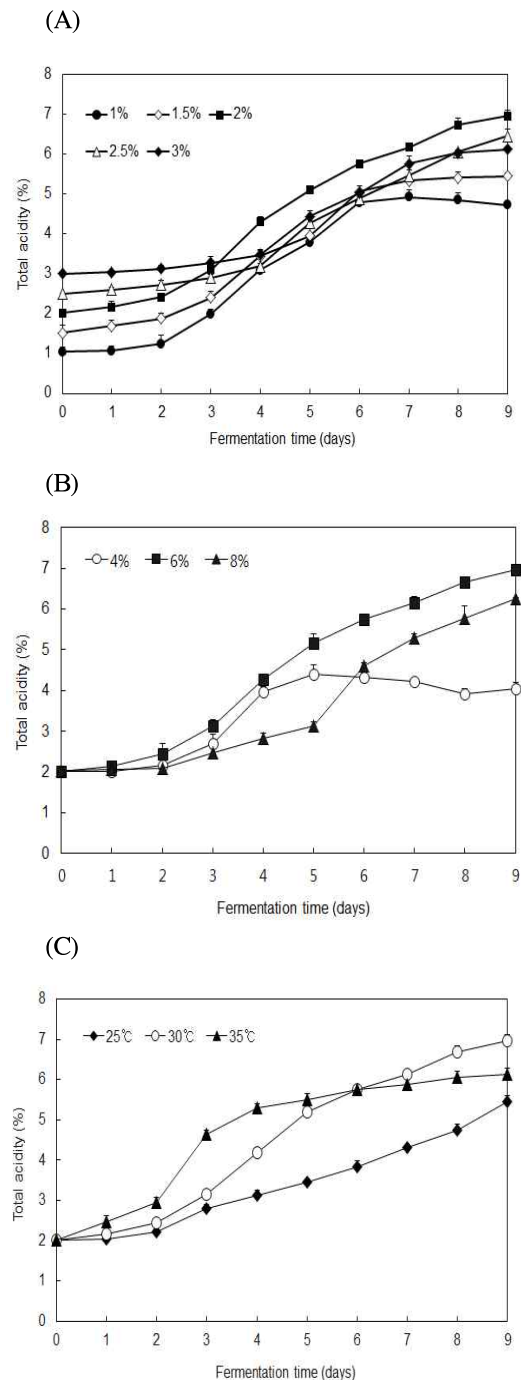


Fig. 2. Optimum condition for acetic acid fermentation using *Rubus coreanus* wine.

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. (A) Effect of initial acetic acid concentration on acetic acid fermentation. (B) Effect of initial ethanol concentration on acetic acid fermentation. (C) Effect of initial temperature on acetic acid fermentation.

초산발효 중 초기 온도의 영향

초산 발효 중 초기 온도가 초산 생성량에 미치는 영향을 확인한 결과는 Fig. 2C와 같다. 초기 온도 25°C에서 다른 온도보다 낮은 초산 함량을 나타냈으며, 30°C에서 2일째부터 증가하기 시작하여 가장 높은 초산 함량을 나타내었다.

한편, 35°C에서는 1일째부터 초산 함량이 높아지다가 6일째 이후부터는 30°C에서 보다 낮아졌다. Kim 등(1)과 Kim 등(40)은 25°C에서 초산균 증식시간이 길어지고 35°C이상에서 알코올의 손실량이 커져 초산의 수율이 떨어진다고 보고하였다. 따라서 복분자 식초의 최적 초산 발효 온도는 30°C가 가장 이상적이라고 생각된다.

유리당

최적 조건으로 발효된 복분자 식초의 유리당을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 복분자 식초의 주요 유리당 성분은 sucrose, fructose 및 glucose로 나타났으며, 그 함량은 각각 952.90, 491.01 및 386.62 mg%이었다. Cha 등(41)의 보고에 의하면 복분자 과실의 주요 유리당은 fructose, glucose 및 sucrose로 그 함량이 각각 1.41, 0.90 및 0.08 g%로 나타나, 복분자의 유리당이 알코올 발효 시 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 복분자 착즙액의 알코올 발효 시 유리당이 발효에 의해 소실되어 미량으로 나타났다는 Choi 등(42)의 보고와 유사하였다. 한편, Jang 등(43)은 사과를 이용하여 제조한 식초의 유리당은 fructose와 glucose로 나타났다고 보고하여 본 연구에서 보당액으로 사용된 사과농축액이 복분자 식초의 유리당 함량을 높이는데 기여한 것으로 생각된다.

Table 1. Contents of free sugars in *Rubus coreanus* vinegar

(Unit: mg%)	
Free sugars	Contents
Sucrose	952.90±10.29
Fructose	491.01±10.01
Glucose	386.62±15.02
Total free sugars	1,830.53±15.34

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

유기산

복분자 식초의 유기산을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 복분자 식초의 주요 유기산은 acetic acid이었으며, 그 함량은 5,321.71 mg%로 나타났다. 이어서 malic acid, succinic acid 및 malonic acid가 각각 348.26, 140.91 및 105.81 mg%로 높았으며, 그 외에는 미량으로 나타났다. 이러한 결과는 복분자 열매의 주요 유기산이 citric acid, succinic acid 및 malic acid로 나타났다는 Cha 등(41)의 보고와 복분자 착즙액의 알코올 발효 시 citric acid와 malic acid가 큰 폭으로 감소하였다는 Choi 등(42)의 보고와 유사하였다. 한편, Seo 등(10)은 사과 식초에서 acetic acid을 제외한 유기산 중 malic acid의 함량이 575.19 mg%으로 가장 높게 나타났다고 보고하여 본 연구에서 보당액으로 사용된 사과농축액이 복분자 식초의 유기산 함량을 높이는데 기여한 것으로 생각된다.

Table 2. Contents of organic acids in *Rubus coreanus* vinegar

(Unit: mg%)	
Free organic acids	Contents
Acetic acid	5,321.71±200.42
Malic acid	348.26±15.09
Succinic acid	140.91±9.56
Malonic acid	105.81±5.46
Oxalic acid	38.81±3.90
Lactic acid	23.80±3.01
Total oranic acids	5,979.30±201.44

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

유리아미노산

복분자 식초의 유리아미노산을 분석한 결과는 Table 3와 같다. 복분자 식초의 유리아미노산 성분은 23종으로 총 함량은 104.33 µg/mL로 나타났다. 주요 아미노산은 alanine, glutamic acid, γ-amino-*N*-butyric acid 및 *o*-phosphoethanolamine로 나타났으며, 그 외에는 미량으로 나타났다. Cha 등(41)은 복분자 열매의 주요 유리아미노산이 aspartic acid, glutamic acid, leucine 및 alanine로 그 함량은 각각 546.55, 452.22, 284.10 및 232.27 mg%으로 나타났다고 보고하였다. 또한 Yukimichi 등(44)은 원료의 유리아미노산이 식초 제조 중 크게 감소된다고 보고하였는데 본 연구에서 제조한 복분자 식초의 유리아미노산은 발효 중 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 한편, 다른 과실 식초와 비교 시 매실 식초에서는 asparagine(31), 석류 식초에서는 glutamic acid, histidine 및

Table 3. Contents of free amino acids in *Rubus coreanus* vinegar

(Unit: µg/mL)			
Free amino acids	Contents	Free amino acids	Contents
L-Alanine	25.37±1.82	δ-Hydroxylysine	1.78±0.35
L-Glutamic acid	12.85±2.16	Citrulline	1.56±0.15
γ-Amino- <i>N</i> -butyric acid	12.14±0.90	L-Serine	1.49±0.51
<i>O</i> -Phosphoethanolamine	11.75±1.55	L-Leucine	1.44±0.11
L-Ornithine	5.52±0.25	L-Tyrosine	1.27±0.17
L-Lysine	5.41±0.20	L-Arginine	0.93±0.07
L-Proline	4.53±0.39	L-Phenylalanine	0.86±0.09
L-Valine	3.53±0.39	β-Alanine	0.74±0.17
L-Cystine	2.62±0.39	L-α-Aminoadipic acid	0.64±0.09
Glycine	2.29±0.22	L-Isoleucine	0.55±0.25
L-Histidine	2.19±0.26	L-Sarcosine	0.38±0.17
Cystathionine	1.81±0.24	L-Methionine	0.25±0.11
Total free amino acids			104.33±7.25

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

aspartic acid(36)의 함량이 높게 나타나 식초마다 유리아미노산의 함량 및 구성성분의 차이가 있음을 알 수 있었다. 이러한 차이는 초산균의 종류, 원료, 발효방법 및 재료 배합비의 차이 등에 의한 것으로 생각된다.

무기성분

복분자 식초의 무기성분을 측정한 결과는 Table 4과 같다. 복분자 식초의 무기성분은 K가 1,686.25 ppm으로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 그 외에는 Na, Mg, Ca 및 Fe이 각각 172.50, 69.33, 65.91 및 0.19 ppm으로 나타났다. Lee 등(45)의 보고에 의하면, 복분자 과실의 무기성분 함량은 복분자 식초와 마찬가지로 K가 38,789 ppm으로 가장 높았고, 이어서 Mg, Na 및 Ca이 각각 6,857, 3,122 및 2,415 ppm으로 나타났다. 또한, Jeong 등(46)은 과실식초에서 주요 무기성분은 K이며, 그 외의 성분은 식초 제조 시 부재료의 사용 및 원료의 차이에 의해 달라진다고 보고하였다. 한편, 초산과 작용하여 색을 변색시켜 식초가공식품의 가치를 저하시킬 가능성이 있다고 보고된 Fe는 본 연구에서 미량으로 나타났다(47).

Table 4. Contents of minerals in *Rubus coreanus* vinegar

(Unit: ppm)

Minerals	Contents
K	1,686.25±15.10
Na	172.50±9.91
Mg	69.33±0.99
Ca	65.91±1.51
Fe	0.19±0.06

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

총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

폴리페놀과 안토시아닌은 활성산소에 노출되어 손상되는 DNA의 보호나 세포 구성 단백질 및 효소를 보호하는 역할을 하여 항산화능에 크게 기여하는 물질이라고 보고된 바 있다(48). 복분자 식초의 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 복분자 식초의 총

Table 5. Contents of total phenolics and anthocyanins in *Rubus coreanus* vinegar

(Unit: mg/100 mL)

<i>Rubus coreanus</i> vinegar	Contents
Total phenolics	25.19±0.65
Total anthocyanins	80.71±0.96

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

폴리페놀 함량은 25.19 mg/100 mL로 나타났고, 총 안토시아닌 함량은 80.71 mg/100 mL로 나타났다. Kim (49)은 시판 되고 있는 복분자 식초의 폴리페놀 및 안토시아닌의 함량이 각각 87.25 mg/100 mL과 13.21 mg%으로 나타났다고 보고하여 본 연구에서 제조된 복분자 식초의 함량과 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 이는 사용된 원료, 배합비율 및 제조방법에 의한 것으로 생각된다.

항산화 효과

제조한 복분자 식초의 항산화 활성을 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성, 환원력 및 β-carotene bleaching 측정법으로 확인하였다. DPPH 라디칼 소거활성에 사용되는 DPPH는 비교적 안정한 free radical로써 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 탈색되는데, 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다(50). ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 DPPH 라디칼 소거활성과 함께 항산화 활성을 screening하는데 많이 사용되고 있다(51). 복분자 식초의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 각각 65%와 95%로 높게 나타났으며(Fig. 3A, Fig. 3B), 특히 ABTS⁺ 라디칼 소거활성이 DPPH 라디칼 소거활성보다 높게 나타났다. 이러한 차이는 자유라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS⁺에 결합하는 페놀물질의 종류가 다르기 때문이라고 생각된다(52). Labuza(53)는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 등의 함량이 우수할수록 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 활성이 우수하다고 보고하여, 복분자 식초의 높은 항산화 활성은 폴리페놀 및 안토시아닌과 같은 항산화 성분들의 작용에 의한 것으로 사료된다.

환원력은 potassium ferricyanide reduction method을 사용한 화합물의 환원력을 평가하는 것으로 reduction의 항산화 반응은 수소 원자를 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, 과산화의 전구물질과 반응하여 과산화 형성을 방해한다(51). 환원력에서의 흡광도 수치는 그자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 환원력을 가지는 물질은 흡광도 수치가 높게 나타난다(54). 복분자 식초의 환원력은 positive control인 0.1% BHT 및 α-tocopherol과 유사하게 높은 활성을 나타내었다(Fig. 3C).

β-Carotene bleaching assay는 β-carotene이 lipid peroxyl radical (LOO·)의 첨가에 의하여 탈색화 되는 것을 측정하는 방법이다(55). Fig. 3D와 같이 에탄올을 첨가한 무첨가군에서는 시간이 지남에 따라 흡광도의 감소 값이 크게 나타난 반면, 0.1% BHT와 0.1% α-tocopherol이 처리된 양성 대조군은 처리시간 동안에 흡광도의 변화가 거의 없었다. 한편, 복분자 식초군은 양성 대조군과 유사한 경향을 나타내어 lipid peroxyl 라디칼 소거능이 높음을 확인할 수 있었다.

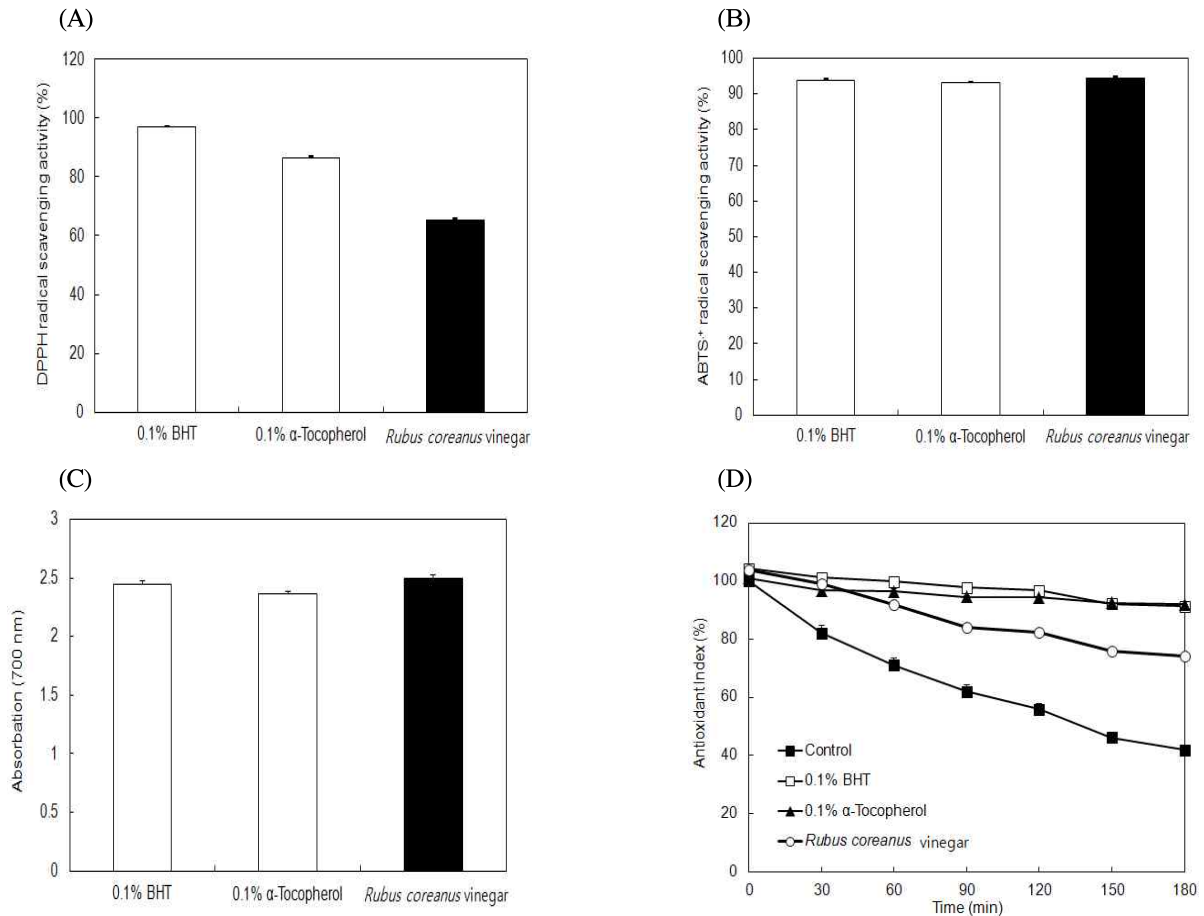


Fig. 3. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* vinegar.

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations. The result did not show significant differences in all the three groups. (A) DPPH radical scavenging. (B) ABTS⁺ radical scavenging activity. (C) Reducing power effect. (D) β -Carotene bleaching assay.

요 약

과잉으로 생산되는 복분자의 소비 촉진과 신수요 창출을 위해 복분자 식초를 제조한 후 이화학적 성분분석 및 항산화 효과를 조사하였다. 알코올 발효의 최적 조건은 당도 15 °Brix, 온도 30 °C, 발효기간 4일이었으며, 초산 발효의 최적 조건은 초기 알코올 함량 6%, 초기 산도 2%, 온도 30 °C, 발효기간은 9일이었다. 최적 조건으로 발효된 복분자 식초의 유리당은 sucrose, fructose 및 glucose로 확인되었으며, 주요 유기산은 acetic acid, malic acid, succinic acid 및 malonic acid로 나타났다. 또한 유리아미노산 총 함량은 108.03 μ g/mL로 alanine, glutamic acid, γ -amino-*N*-butyric acid 및 *o*-phosphoethanolamine가 주된 성분으로 나타났으며, 무기성분은 K, Na, Mg, Ca과 같은 알칼리성 원소를 다량 함유한 것으로 나타났다. 복분자 식초의 총 폴리페놀 및 안토시아닌의 함량은 각각 25.19, 80.71 mg/100 mL이었으며, DPPH, ABTS⁺ 라디칼 소거 활성, 환원력, β -carotene bleaching의 실험에서 복분자 식초는 양성 대조군과 유사한

높은 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Kim YT, Seo KI, Jung YJ, Lee YS, Shim KH (1997) The production of vinegar using citron (*Citrus junos Seib*) juice. J East Asian Soc Dietary Life, 7, 301-307
- Gil BI (2004) Physicochemical characteristics of brown rice vinegars produced by traditional and industrial manufacturing method. J Nat Sci, 11, 1-7
- Jeong YJ, Lee MH (2000) A view and prospect of vinegar industry. Food Ind Nutr, 5, 7-12
- Kim DH (1999) Studies on the production of vinegar from fig. J Korean Soc Food Sci Nutr, 28, 53-60
- Jeong YJ, Seo JH, Jung SH, Shin SR, Kim KS (1998) The quality comparison of uncleaned rice vinegar by two stages fermentation with commercial uncleaned rice

- vinegar. Korean J Food Preserv, 5, 374-379
6. Kim SW, Park JH, Jun HK (2008) Analysis of optimum condition for production of an onionic vinegar by two-step fermentations. J Life Sci, 18, 1410-1414
 7. Jeong YJ (2009) Current trends and future prospects in the Korean vinegar industry. Food Sci Ind, 42, 52-59
 8. Yoon HN (1999) Chemical characterization of commercial vinegars. Korean J Food Sci Technol, 31, 1440-1446
 9. Woo SM, Kim OM, Choi IW, Kim YS, Choi HD, Jeong YJ (2007) Condition of acetic acid fermentation and effect of oligosaccharide addition on kiwi vinegar. Korean J Food Preserv, 14, 100-104
 10. Seo JH, Lee GD, Jeong YJ (2001) Optimization of the vinegar fermentation using concentrated apple juice. J Korean Soc Food Sci Nutr, 30, 460-465
 11. Kim MS, Pang GC, Lee MW (1997) Flavonoids from the leaves of *Rubus coreanum*. J Pharm Soc Korea, 41, 1-6
 12. Heo J (1994) *Donguibogam* 1-5. Yeogang Publishing Co, Seoul, Korea, p 62, p 296, p 334, p 617, p 984, p 1085, p 2679
 13. Pang KC, Kim MS, Lee MW (1996) Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. Korean J Pharm, 27, 366-370
 14. Lee YA, Lee MW (1995) Tannins from *Rebus coreaum*. Korean J Pharm, 26, 27-30
 15. Lee MW (1995) Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreaum*. J Pharm Soc Korea, 39, 200-204
 16. Kim JH, Kim CH, Kim HS, Kwon MC, Song YK, Seong NS, Lee SE, Yi JS, Kwon OW, Lee HY (2006) Effect of aqueous extracts from *Rubus coreanus* Miquel and *Angelica gigas* Nakai on anti-tumor and anti-stress activities in mice. Korean J Med Crop Sci, 14, 206-211
 17. Lee MK, Lee HS, Choi GP, Oh DH, Kim JD, Yu CY, Lee HY (2003) Screening of biological activities of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. Korean J Med Crop Sci, 11, 5-12
 18. Lee YC, Hong HD, Oh SW (2002) Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. Korean J Food Sci Technol, 34, 700-709
 19. Moon SY, Chung HC, Yoon HN (1997) Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. Korean J Food Sci Technol, 29, 663-670
 20. Sung KH, Lee JH (2009) A study on quality characteristics of Teriyaki sauce with added *Rubus coreanus* Miquel. J East Asian Soc Diet Life, 19, 958-966
 21. Song YJ (2004) A study to marketing strategies for the korean wild-berry wine industry. Korean Bus Edu Assoc, 4, 119-146
 22. Kim OM, Jang SY, Woo SM, Jo YJ, Choi MS, Jeong YJ (2010) Changes in the physicochemical properties of tomato wine by alcohol fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 29, 1516-1521
 23. 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
 24. Slinkard K, Singleton VL (1977) Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. Am J Enol Vitic, 28, 49-56
 25. Giusti MM, Wrolstad RE (2001) Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Current Procotols in Food Analytical Chemistry. Wrolstad RE (Ed), NY, USA, p F1.2.1-F1.2.13.
 26. Blois MA (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1200
 27. 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
 28. Yildirim A, Mavi A, Kara A (2001) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. J Agric Food Chem, 49, 4083-4089
 29. Mattaus B (2002) Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. J Agric Food Chem, 50, 3444-3452
 30. Jeong YJ, Lee GD, Kim KS (1998) Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. Korean J Food Sci Technol, 30, 1203-1208
 31. Kim YD, Kang SH, Kang SK (1996) Studies on the acetic acid fermentation using maesil juice. J Korean Soc Food Sci Nutr, 25, 695-700
 32. 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
 33. Son SS, Ji WD, Chung HC (2003) Optimum condition for acetic acid fermentation using mume (*Prunus mume sieb. et Zucc*) fruits. J Korean Soc Food Sci Nutr, 32,

- 544-548
34. Rhee CH, Park HD (1997) Isolation and characterization of alcohol fermentation yeasts from persimmon. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol*, 25, 266-270
 35. 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 Diet Life*, 8, 462-468
 36. Yae MJ, Lee GH, Nam KH, Jang SY, Woo SM, Jeong YJ (2007) Establishment of quality control standardization for pomegranate vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 36, 1425-1430
 37. Hong SK (2010) A study on quality properties of mulberry vinegar with different addition ratios of mulberry fruit. MS thesis. Sunchon National University, Sunchon, Korea
 38. Kim MH, Choi UK (2006) Acetic acid fermentation by *Acetobacter sp.* SK-7 using maesil juice. *Korean J Food Culture*, 21, 420-425
 39. Ko EJ, Hur SS, Choi YH (1998) The establishment of optimum cultural conditions for manufacturing garlic vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, 102-108
 40. Kim HJ, Park SH, Park CH (1985) Studies on the production of vinegar from barley. *Korean J Food Sci Technol*, 17, 350-354
 41. Cha HS, Lee MK, Hwang JB, Park MS, Park KM (2001) Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 3, 1021-1025
 42. Choi HS, Kim MK, Park HS, Kim YS, Shin DH (2006) Alcoholic fermentation of *Bokbunja* (*Rubus coreanus* Miq) wine. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 543-547
 43. Jang SY, Sin KA, Jeong YJ (2010) Quality characteristics of apple vinegar by agitated and static cultures. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 308-312
 44. Yukimichi K, Yasuhiro U, Fujiharu Y (1987) The general composition inorganic cations free amino acids and organic acid of special vinegars. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 34, 592-596
 45. Lee JW, Do JH (2000) Chemical compounds and volatile flavor of *Rubus coreanus*. *Korean J Food & Nutr*, 13, 453-459
 46. Jeong YJ, Seo KI, Kim KS (1996) Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian of Diet Life*, 6, 355-363
 47. Kough K, Kim KS (1999) Studies on quality characteristics of commercial vinegars. *Bull Nat Sci*, 2, 171-187
 48. Bidlack W (1999) *Phytochemicals as bioactive agents*. Technomic Publishing Co, Lancaster, Basel, Switzerland, p 25-36
 49. Kim SH (2011) Physicochemical properties and antioxidant activity of drinking vinegars commercially available in Korean market. MS thesis, Dongguk University, Seoul, Korea
 50. Cha HS, Park MS (2001) Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol*, 33, 409-415
 51. Hassas-Roudsari M, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT (2009) Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanol and hot water extraction. *Food Chem*, 114, 717-726
 52. 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
 53. Labuza TP (1971) Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol*, 2, 335-405
 54. Nam HS, Chang SM, Kang MY (2003) Varietal difference in antioxidative activity of ethanolic extracts from colored rice bran. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 46, 16-22
 55. Choi JI, Kim YJ, Kim JH, Song BS, Yoon Y, Byun MW, Kwon JH, Chun SS, Lee JW (2009) Antioxidant activities of the extract fractions from *Suaeda japonica*. *J Korea Soc Food Sci Nutr*, 38, 131-135

(접수 2012년 6월 14일 수정 2012년 7월 2일 채택 2012년 7월 13일)