

양파식초의 발효제조 및 제품의 생리활성

정은정 · 박혜진 · †차용준*

창신대학교 식품영양학과, *창원대학교 식품영양학과

Fermented Production of Onion Vinegar and Its Biological Activities

Eun-Jeong Jeong, Hye-Jin Park and †Yong-Jun Cha*

Dept. of Food Science and Nutrition, Changshin University, Changwon 51352, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

Abstract

Commercialized production of onion vinegar, which has biological activities formed through alcohol and acetic acid fermentation, requires standardization. The objective of this study was to determine optimal conditions of sugar contents (11~15 °Brix) and agitation rate (100~300 rpm) of fermenter in the alcohol-acetic fermentation for producing onion vinegar. The alcohol and total acidity contents increased, whereas contents of total sugars decreased during alcohol fermentation. Contents of alcohol of 13 and 15 °Brix reactants were about 8% in 36 hr and total acidities of all samples were below 0.2% in 60 hr. During acetic fermentation, total acidity increased with highest value at 9 days (3.2% in 100 rpm), 10 days (4.1% in 200 rpm) and 8 days (4.3% in 300 rpm), respectively. From these results, sugar contents (13 °Brix) were measured for alcohol fermentation and agitation rate (300 rpm) for fast fermentation method of vinegar. The contents of total phenols, flavonoids and quercetin in onion vinegar were 33.3 mg/100 g, 3.0 mg/100 g and 2.0 mg/100 g, respectively. Onion vinegar showed an antimicrobial activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes*. Antioxidant effect of onion vinegar was 26.23% in DPPH radical inhibition and 58.58% in superoxide dismutase like activity, respectively. Fibrinolytic activity was 1.51 plasmin unit/mL in onion vinegar. In conclusion, onion vinegar processed by alcohol and acetic fermentation had nutritional values and potential biological activities.

Key words: onion vinegar, antimicrobial activity, antioxidant effect, fibrinolytic activity

서 론

양파(*Allium cepa* L.)는 백합목(Liliales) 부추과(Alliaceae) 부추속(*Allium*)에 속하는 향미채소로 이용되어 왔다. 재배 역사는 매우 오래되어 기원전 4,000년에 고대 이집트에서 식용으로 사용한 기록이 전해진다(Lee HY 2006). 이러한 양파의 대표적인 영양활성 성분은 정미관련 인자(pyruvic acid, 함황화합물, 유리당), 생리활성 성분(페놀화합물, 플라보노이드, 비타민)이 대표적이고 이러한 성분으로부터 양파는 항산화 활성,

혈행 개선 및 항암에 대해 주된 생리활성이 보고(Park YG 1995; Jin 등 2005)되고 있으며 이외에 성기능 개선, 뼈 건강, 면역개선에 관한 기능이 보고되는 식품소재이지만 저장성이 낮아 저장 유통 시 변색, 연부병, 동해 등에 의한 폐기율이 30% 이상(IARI 2006)이 되고 있어 양파 출하시기에 대량 소비가 일어날 수 있는 고부가가치의 양파가공품 개발이 요구된다.

식초는 동서양의 대표적 발효식품으로 동맥경화, 고혈압, 콜레스테롤 저하 효과, 체지방 감소, 피로회복 및 식중독균 살균효과(Entani 등 1981) 등이 밝혀지면서 음료시장성이 확대

† Corresponding author: Yong-Jun Cha, Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea.
Tel: +82-55-213-3513, Fax: +82-55-281-7480, E-mail: yjcha@changwon.ac.kr

되고 있다. 서양에는 과즙(wine, mango)을 이용한 식초(Gerbi 등 1992; Garg 등 1995)와 맥아, 증류주가 공존(Aurand 등 1966; Jones & Greenshields 1969)하고, 일본에서는 알코올 초 외에 쌀, 현미, 곡물, 사과, 매실식초 등이 시판(Furukawa & Ueda 1963; Masai H 1980; Kubota 등 1989)되고 있으며, 최근 식초산업의 고급화로 인해 가고시마 현 흑초와 같은 농가형 식초산업이 각광을 받고 있다(Jeong YJ 2009). 국내에는 발효 과정을 거치지 않고 빙초산, 물, 향신료, 착색료 등을 혼합한 합성식초와 초산발효과정을 거쳐 제조하는 양조식초가 있다. 양조식초에는 사과, 감, 포도, 복숭아, 참외, 유자, 석류 등과 같은 과실을 이용한 과실식초(Jeong 등 1999; Cho 등 2000; Jeong YJ 2000; Kim 등 2004; Lee 등 2005; Kang 등 2006; Yae 등 2007)와 감자, 현미, 보리와 같은 곡류를 원료로 한 곡물식초(Kim 등 1985; Lee 등 2000; Shin & Jeong 2003)가 주종으로 연구 보고되고 있다. 식초의 제조방법은 알코올 발효와 초산 발효를 연속적으로 실시하는 2단발효의 경우와 초산 발효만 실시하는 경우로 나누어지며, 원료의 종류 및 제조방법(발효 균주, 발효조건, 숙성조건)에 따라 식초의 영양성분(유리아미노산, 유기산, 휘발성 향기성분)이 다르다(Yoon HN 1999). 이에 따라 최근 식초의 고급화 및 다양화 추세에 2단 발효법으로 제조된 식초들에 대한 수요가 증가되고 있다(Lee KO 2008). 반면 국내 식초에 대한 연구는 발효균주 및 다양한 원료를 이용한 숙성제조방법 등에 관한 연구가 대부분으로 식초의 기능성 활용도에 따른 연구가 아주 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 양파의 생리활성 성분을 살린 양파식초 개발함으로써 양파의 가공적성 및 상품성을 높이고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 양파(*Allium cepa* L.)는 창녕양파(2007. 6. 5. 지리적표시제 제 30호)를 창녕군 소재 모곡농산에서 구입하여 사용하였다. 양파의 외형적 특성은 품질기준상 무게 360.9 g, 높이 8.2 cm, 직경 8.8 cm, 구형지수 93.1%로 원형에 가까운 대(大) 이상의 양파를 사용되었다. 헹잡물을 제거한 후 수세·세절한 양파를 착즙기(Philips HR1861, Amsterdam, Netherlands)로 착즙한 양파즙을 여과(Toyo No 2)한 후 65°C에서 25분간 살균하여 0.9 L polyethylene terephthalate(P.E.T) 통에 나누어 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 사용균주 및 배지

알코올 발효에 사용한 효모(*Saccharomyces cerevisiae*, ATCC 9763) 및 초산발효에 사용된 초산균(*Acetobacter pasteurianus*, ATCC 9432)을 BRC 생물자원센터(Jeongeup, Korea)에서 분양

받아 사용하였다.

3. 일반성분 및 이화학적 성분 분석

양파의 일반성분은 AOAC법(AOAC 1995)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법 및 회분은 건식회화법으로 분석하였다. 알코올 발효 및 초산발효 여과액의 pH는 pH meter(530-pH meter, Coming Pinnacle Co., Männedorf, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 총산은 발효여과액 10 mL를 취하여 0.1% phenolphthalein 지시약을 첨가하여 0.1 N NaOH로 적정하고 acetic acid로 환산하였다(KFDA 2000). 알코올은 수증기를 증류하여 산화법으로 정량하였다(NTS 2008). 전당은 Somogyi 변법(KSFSN 2000)을 변형하여 분석하였다

4. 양파착즙액 주모 제조 및 알코올 발효를 위한 보당 농도 결정

양파의 대표적인 항균물질인 allicin과 같은 물질에 효모를 적응시켜 효율적인 알코올 발효를 위하여 3회의 전배양 단계를 거쳐 주모를 제조하였다. 즉 *Saccharomyces cerevisiae* 균을 YM 배지(0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, 0.5% peptone, 1.0% dextrose)에 배양(pH 6.2, 30°C, 100 rpm, 24 h, 1단계 배양)한 후, 배양액과 고압멸균기(121°C, 15분, 15 lbs)로 처리한 양파착즙액(pH 6.2 조절)을 동비율로 섞어 24시간 배양하였다(2단계 배양). 2단계 배양액과 멸균된 양파착즙액(pH 6.2 조절)을 1:4 비율로 혼합하여 24시간 배양한 액을 주모로 사용하였다. 본 배양의 알코올 발효는 양파착즙액에 자당으로 각각 10, 13, 15 °Brix로 하여(각 pH 6.2로 조절) 고압멸균기(SW00AV, Sang Woo, Bucheon, Korea)에서 멸균시킨 후 냉각한 액에 주모를 5%(v/v) 접종하여 배양기(DS-310FL, Dasol Scientific Co., Ltd, Hwaseong, Korea)에서 배양(30°C, 100 rpm, 72 h)하였다.

5. 양파식초의 종초 제조 및 초산 발효 시 발효조의 교반 속도 결정

초산균 *Acetobacter pasteurianus*는 YPM 배지(0.5% yeast extract, 0.3% peptone, 2.5% mannitol)에서 배양(30°C, 24 h)하였다. 알코올 원료인 양파알코올 발효액은 원심분리(10,000 rpm, 20 min, 5°C)한 후 여과(0.45 µm)한 여액(알코올 농도 7.5%)으로 1단계에서 배양된 초산균 배양액을 10%(v/v, 알코올 여액 부피비) 첨가하여 배양(30°C, air 0.5 NL/min, 10일)하였다. 상기배양액 20%(v/v, 알코올 여액 부피비)을 양파알코올 발효여액에 첨가하여 배양한 액을 종초(30°C, air 0.5 NL/min, 10일)로 사용하였다. 본 배양의 초산발효는 종초 35%(v/v, 전발효액 부피비)를 양파알코올 발효 여액(알코올 함량 7.5%)

에 접종하여 발효조(5 L, KF-5, KFC, Inchon, Korea)에서 발효시켰다.

6. 양파식초의 기능성 성분 분석

1) 총 phenolic compounds 분석

항산화물질의 대표적인 총 페놀성 화합물의 분석은 Singleton 등의 방법(Singleton 등 1999)을 변형한 Dewanto 등의 방법(2002)으로 UV/visible spectrophotometer(A10934101307, Shimadzu, Tokyo, Japan)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 gallic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 작성한 표준 검량선으로부터 함량을 구하였다.

2) 총 flavonoids 함량 분석

Flavonoid 분석은 건강기능식품공전 방법(KFDA 2008)에 따라 측정하였다. 표준시약 quercetin dihydrate(Q0125, Sigma, St. Louis, MO, USA)로 측정하였고 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 415 nm에서 실험하였다.

3) Quercetin 함량 분석

Quercetin의 분석은 Jeon 등의 방법(Jeon 등 2009)으로 실험으로 HPLC(Hewlett Packard 1100, Co., Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 분석용 칼럼은 ZORBAX C18(4.6×150 mm, 5 μm, XDB-C₁₈, Hewlett Packard, Co., Palo Alto CA, USA)을 사용하였고, 이동상으로는 water : 5% acetic acid : acetonitrile(40% : 30% : 30%), PDA detector(370 nm), flow rate : 1.0 mL/min, injection volume: 20 μL였다. 시료 중 quercetin의 함량은 Fig. 1과 같이 표준품과의 retention time을 비교하여 동정하였고 검량선을 이용한 peak의 면적으로 정량하였다.

7. 양파식초의 생리활성 측정

1) 항균활성 측정

항균활성은 식품영양 실험핸드북에 제시된 disc 확산법(KSFSN 2000)에 따라 그람 양성균 *Bacillus cereus*(KCTC 1012), *Staphylococcus aureus*(KCTC 1916), *Listeria monocytogenes*(KCTC 3710) 3종 및 그람 음성균 *Escherichia coli*(KCTC 1924), *Salmonella typhimurium*(KCTC 2515), *Enterobacter aerogenes*(KCTC 2190) 3종에 대해 실험하였다.

2) DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 radical 소거능 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거능 측정은 Blois

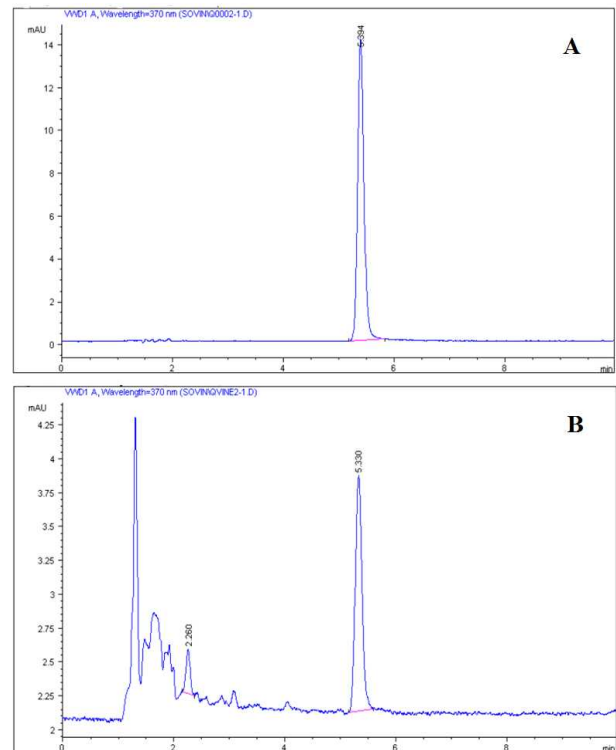


Fig. 1. Chromatogram of a standard solution (quercetin, A) and fermented onion vinegar (B)

방법(Blois MS 1958)에 의해 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 시판 식초음료 2종(A, B)과 비교 분석하였다.

3) SOD 유사활성 측정

SOD의 활성은 Marklund과 Marklund의 방법(Marklund & Marklund 1974)을 변형한 방법으로 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 색소에 영향을 미치는 시료에는 pyrogallol 대신에 완충액만 넣고 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 시판 식초음료 2종(A, B)과 비교 분석하였다.

4) 혈전용해능 측정

유자 양파발효음료의 혈전용해 활성 시험은 Astrup과 Mullertz의 방법(1952)을 일부 변형한 방법으로 대조구로는 정제된 혈전용해효소인 plasmin(1.0 unit/mL)을 사용하여 측정하였다. 대조군으로 시판 식초음료 2종(A, B)과 비교 분석하였다.

8. 통계분석

분석시료의 결과는 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 16.0, Statistical Package Inc., Chicago,

USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하여 통계적 유의성($p < 0.05$)은 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

연구결과 및 고찰

1. 주모 제조 및 양파착즙액 알코올 발효를 위한 배양액 최적 보당 농도 결정

본 연구에 사용한 양파의 일반성분 함량을 Table 1에 나타내었다. 수분함량은 91.8%, 조회분 0.5%, 조지방 0.5% 및 조단백질 1.1%로 측정되었다. 이론적으로 포도당에서 알코올 수득량은 포도당 1 kg에서 511 g의 ethanol(51%)이 생산된다(Sung NJ 1999). 즉, 본 연구에서 사용된 양파를 알코올 발효시키면 약 3% 이내의 ethanol이 생산될 것으로 예측된다. 그러므로 초산발효에 이용될 충분한 알코올(5~10%)을 수득하기 위하여 알코올 발효 과정 중 양파착즙액에 보당 함량에 따른 이화학적 변화(alcohol 함량, pH, 총산, °Brix)를 실험하

*Saccharomyces cerevisiae*에 의한 알코올 발효과정 중 보당 함량(10 °Brix, 13 °Brix 및 15 °Brix)에 따른 이화학적 변화(alcohol 함량, 총산, 당 및 pH)는 Fig. 2와 같다. 알코올 함량의 경우, 발효 시간에 따라 계속적으로 증가하는 경향으로 특히 13과 15 °Brix의 경우 36시간 이후 약 8% 이상의 값을 가졌으나 10 °Brix의 경우는 다른 농도에 비해 낮았다(0.96~4.90%). 양파착즙액의 보당에 따른 알코올 생성능에 대한 보고(Park JH 2007)에서와 같이 보당함량에 비례하여 알코올 함량이 증가하지만 과한 보당농도(20%) 이상이 첨가되면 오히려 저해 요인으로 작용하여 알코올 함량이 떨어진다는 경향과 유사하였다. 모든 시료의 당함량은 발효 24시간 이후 급격히 감소하여 발효 60시간 이후에는 0.2% 이하로 감소하였다. 총산의 경우, 10 °Brix는 24시간에 최대(0.28%)로 증가하였다가 이후 감소하였다. 13 및 15 °Brix에서는 발효 24시간에 각각 0.28%, 0.29%로 증가하였다가 이후 감소하는 경향을 보였다. pH는 발효 24시간에 각각 3.64(10 °Brix), 3.52(13 °Brix) 및 3.50(15 °Brix)으로 감소하였고, 이후 10 °Brix의 경우 3.67~3.83, 13 °Brix에서는 3.52~3.84, 15 °Brix에서는 3.70~3.84로 나타났다. 이상의 보당첨가량에 따른 본 연구의 알코올 발효는 13 °Brix 이상의 농도에서 진행이 되어야 8% 이상의 양파알코올 발효액을 수득함을 알 수 있었다.

Table 1. Proximate composition of onion (% , w/w)

Moisture	Crude ash	Crude lipid	Crude protein
91.8±0.1 ¹⁾	0.5±0.0	0.5±0.1	1.1±0.1

¹⁾ Mean values±S.D. (n=3)

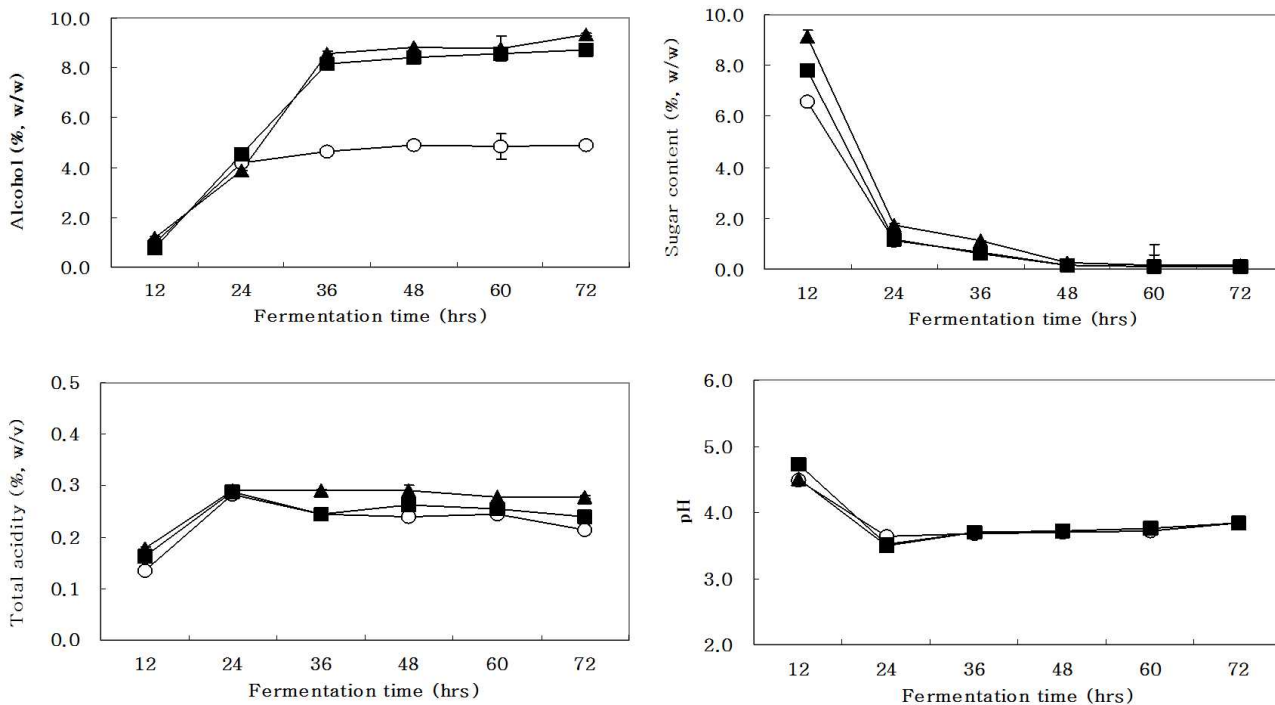


Fig. 2. Changes in alcohol, sugar, total acidity and pH by *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763) during onion fermentation. Symbols; ○: 10 °Brix, ■: 13 °Brix, ▲: 15 °Brix.

였다.

2. 초산발효 시 발효조 교반속도에 따른 수율 비교

초산발효의 효율성을 높이기 위해 조절되는 인자로는 발효온도, 초기 알코올 농도, 초기산도, 종초 접종량, 교반속도 및 영양원(질소원, 무기원) 등으로 대표된다(Kim 등 1996; Kim DH 1999; Shin 등 2002; Shin & Jeong 2003; Cheun 등 2005; Park JH 2007). 이에 본 연구에서는 초산균의 최적 생육온도 30℃를 유지하였고, 산막효모나 유해균의 생육을 저지하기 위해 초기 산도가 1% 이상이 요구되므로 종초 접종량을 35%로 첨가하였으며, 전체 발효조의 알코올 농도를 4.4~4.6%로 조절하였다. 초산발효의 최적화에 관한 보고는 많으나(Kim 등 1996; Kim DH 1999; Shin 등 2002; Shin & Jeong 2003; Cheun 등 2005; Park JH 2007), 이에 더하여 pilot system이나 산업적으로 적용할 때 교반속도에 관한 초산 생성에 관한 발효는 많이 보고되지 않았다(Jeong 등 1998; Lee 등 2003).

초산발효기간 중 교반속도에 따른 수율을 비교하기 위해

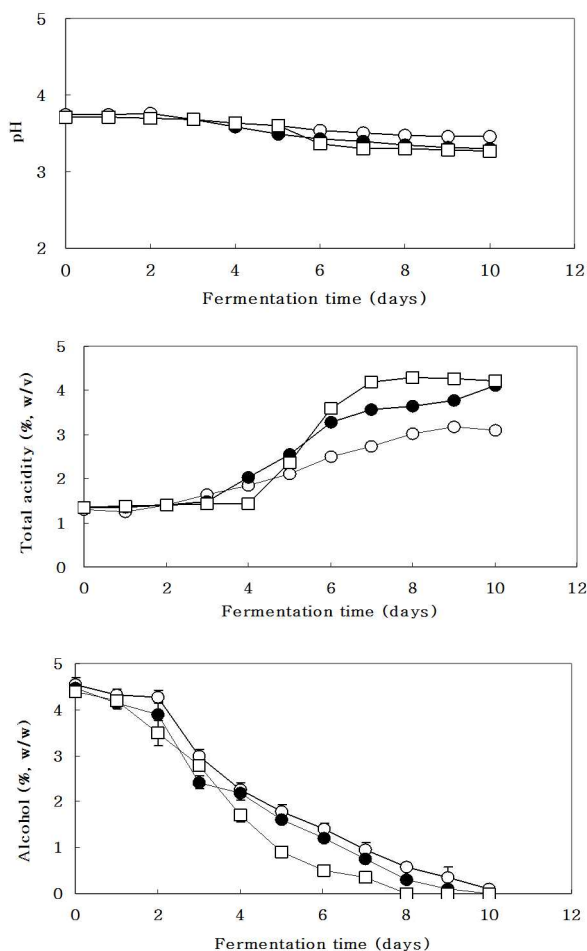


Fig. 3. Changes in pH, total alcohol and acidity by *Acetobacter pasteurianus* (ATCC 9432) during onion fermentation. Symbols; ○: 100 rpm, ●: 200 rpm, □: 300 rpm.

여 알코올, pH 및 총산의 변화를 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 알코올 농도(4.4~4.6%)는 발효기간에 따라 교반속도에 비례하여 감소하는 경향을 보였다. pH의 경우, 발효기간에 따라 100 rpm에서는 3.8~3.5, 200 rpm에서는 3.7~3.3 및 300 rpm에서는 3.7~3.3 범위를 나타내었다. 반면 총산의 경우는 발효기간에 따라 증가하는 경향을 보였다. 100 rpm의 경우, 초산발효 9일 정도까지 증가(1.3~3.2)하였다가 감소하였고, 200 rpm의 경우 10일까지 점진적으로 증가(1.4~4.1)하였으며, 300 rpm은 발효 8일까지 증가(1.4~4.3)하였다가 다소 감소하였다. 최고의 총산함량을 고려한 총산의 생성 수율을 본다면, 100 rpm의 경우 32.0%, 200 rpm의 경우 47.2% 및 300 rpm은 51.4% 수율이 얻어졌다. 따라서 효율적인 총산 생산량을 고려한다면 300 rpm의 교반속도가 좋다는 것을 알 수 있었다. 식품공전에서 요구하는 식초는 4% 이상의 총산함량을 가지는 식품이므로(KFDA 2000) 200 rpm 이상의 교반속도가 요구됨을 볼 수 있다. 교반속도는 통기량에 영향을 미치는 인자로 균의 생육도에서 유도기를 단축시키고 생산량을 증가시킨다고 한다(Kim 등 1996). 반면, 교반속도가 너무 빠르면 편모의 손실 등으로 초산균의 생육이 억제되거나 또는 발효가 왕성하지 못한 발효 후기에는 잔류된 알코올과 생성된 초산의 소실이 일어날 수도 있으므로 오히려 교반속도를 낮추는 것도 제안이 된다(Kim & Jo 1981). 그러므로 한 가지 최적의 교반속도를 결정하기 보다는 식초의 산업화를 위하여 변이적인 교반속도에 대한 연구가 이뤄져야 할 것이다.

3. 양파식초의 기능성 성분

양파식초의 총 phenols, 총 flavonoids 및 quercetin 함량은 Table 2에 나타내었다. 총 phenols 함량은 양파식초의 경우 33.3 mg/100 g으로 품종에 따른 차이가 있겠으나 양파(국내산 양파: 약 50 mg%(gallic acid 기준물질), 미국산 양파: 16.8~104.9 mg/100 g(gallic acid 기준물질))(Yang 등 2004; Lee HY 2006)에 비해서 다소 적은 함량을 가졌다. 총 flavonoids의 함량은 3.0 mg/100 g, quercetin은 2.0 mg/100 g으로 나타났다. 국내산 양파의 quercetin(황색양파: 15.24 mg%, 자색양파: 5.70 mg%)(Jeong 등 2006)과 비교하여 비교적 적은 함량이나 관능

Table 2. Contents of total phenol, total flavonoids and quercetin in fermented onion vinegar¹⁾ (mg/100 g)

Samples	Total phenols	Total flavonoids	Quercetin
Fermented onion vinegar	33.3±1.04 ²⁾	3.0±0.2	2.0±0.1

¹⁾ Gallic acid was used as a standard of total phenol compounds, and quercetin was used a standard of total flavonoids and quercetin.
²⁾ Mean values±S.D. (n=3)

성이 고려된 음용제품이므로 소비가 확대가 되면 양파가 지닌 quercetin 함량에 접근할 수 있을 것으로 본다. 양파의 생리적 기능 활성물질은 phytochemical(glycosides, flavonoids, saponins, sulfur compounds) 중 페놀화합물은 대표적인 항산화 물질로 그 자체가 reducing agent, hydrogen donators, singlet oxygen quencher의 역할을 하며 금속이온에 대해 chelation potential을 가진다고 보고(Kim KS 2004)되고 있다. 또한 양파의 주된 flavonoids 성분인 quercetin은 free radical scavenging, 금속이온의 chelation, lipoxygenase의 억제 등의 기전으로 항산화 효과를 나타낸다고 알려져 있으므로(De-Groot & Rauen 1998; Suzuki 등 1998) 본 연구의 양파식초는 생리적 기능성을 나타내는 잠재적 화합물로부터 영양학적 가치를 가지는 제품으로 판단된다.

4. 양파식초의 생리활성 측정

1) 양파식초의 항균활성

양파식초의 그람 양성균 *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 3종 및 그람 음성균 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes* 3종에 대한 항균성 결과를 Table 3에 나타내었다. 양파식초는 균 6종에 대해 뛰어난 항균활성을 나타내었다. 이러한 항균활성은 식초에 내재된 유기산 및 flavonoids에 의한 복합적인 영향으로 판단된다. 식초의 주요 유기산인 acetic acid의 식품부패에 관련

Table 3. Antimicrobial activity of fermented onion vinegar

Fermented onion vinegar		
Gram (+)	<i>Bacillus cereus</i>	11
	<i>Staphylococcus aureus</i>	13
	<i>Listeria monocytogenes</i>	13.8
Gram (-)	<i>Salmonella typhimurium</i>	10.8
	<i>Escherichia coli</i>	10.5
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10

Table 4. In-vitro DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical scavenging activity, superoxide dismutase-like activity and fibrinolytic activity of fermented onion vinegar

Samples	Fermented onion vinegar	Commercial product A	Commercial product B
DPPH radical scavenging activity(%)	26.23±0.16 ^{1)a2)}	60.03±0.25 ^b	69.85±0.34 ^c
Superoxide dismutase-like activity(%)	58.58±0.25 ^c	53.48±0.65 ^b	9.08±1.13 ^a
Fibrinolytic activity	1.51±0.09 ^{3)b}	1.31±0.08 ^a	ND ⁴

¹⁾ Mean±S.D. (n=3)

²⁾ Mean values having the same superscripts in each row are not significantly different ($p<0.05$) by Duncan's test.

³⁾ The clear zone ratio of sample and plasmin, mean±S.D. (n=3)

⁴⁾ Not detected

한 미생물 활성저지에 관한 연구보고(Garruti 등 2003)에 따르면 acetic acid는 lactic acid와 같은 다른 유기산에 비해 항균활성(*Salmonella aertrycke*, *Staphylococcus aureus*, *Phytomonas phaseoli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mesentericus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*)이 강하고, 비교적 낮은 농도에서도 활성을 가지나 일정농도 이하에서는 효과가 낮아진다는 보고와 유사하였다. 양파의 항균력에 대한 보고에 따르면 onion oil은 gram(+)균에 대한 항균력과 *Aspergillus fungi*(aflatoxin 생성균주)에 대한 뛰어난 항균력을 가지며 Welsh onion 추출물은 보존제(sorbate, propionate)보다도 훨씬 효과가 있다고 보고되었다(Hughes & Lawson 1991; Zohri 등 1995; Augusti K 1996). 그러므로 양파식초의 항균성은 발효에 의해 생성된 유기산과 양파로부터 유래되는 활성성분간의 복합적인 효과로 사료된다.

2) 양파식초의 항산화 활성

본 연구의 양파식초는 26.23% DPPH 라디칼 소거능을 가졌고, 58.58%의 SOD 유사활성능을 나타내었다(Table 4). 음용 시판식초의 경우, DPPH 라디칼 소거능 60.03~69.85%로 본 연구의 양파식초에 비해 높은 활성을 나타낸 반면, SOD 유사활성능은 9.08~53.48%로 낮은 활성을 나타내었다. 국내산 양파(24.9~33.9%의 DPPH radical 소거능, 25.9~39.5% SOD 유사활성) 및 양파 고농축액(89.4~94.4% DPPH radical 소거능, 40.8~45.9% SOD 유사활성)의 항산화 활성이 보고(Lee HY 2006; Jang HS 2009)되고 있는데 본 연구의 양파식초는 DPPH radical 소거능은 원료 양파의 활성과 유사하나 고농축액에 비해서는 낮은 활성을 나타낸 반면, SOD 유사활성은 양파 및 양파 고농축액에 비해 다소 높은 함량을 나타내었다. 양파의 항산화성은 여러 연구에서 증명되고 있다. 특히 양파의 대표적인 flavonoids 성분인 quercetin은 free radical scavenging, 금속이온 전이의 chelation 및 lipoxygenase의 활성 억제 등을 통한 항산화기능(Rice-Evans 등 1995; Suzuki 등 1998)을 가지고 양파의 대표적인 휘발성 함황화합물(dipropyl disulfide, dipropyl

trisulfide)의 유지산화의 지연 등으로 항산화 효과를 기대할 수 있다. 또한 유기산(구연산, 인산류) 등은 유지산화 과정에 있어서 개시반응을 일으킬 수 있는 금속이온에 대한 chelation을 유도(NRFK 2001)하므로 발효과정에서 생성된 유기산에 의한 예방형 항산화제 역할을 기대할 수 있을 것으로 본다.

3) 양파식초의 혈전용해능

본 연구에서 개발된 양파식초의 혈전용해능을 측정된 결과(Table 4), 양파식초의 경우 대조구인 plasmin에 비해 1.5배의 활성을 가졌고, 음료용 시판식초(시판식초 A 1.31, 시판식초 B 불검출)보다 높은 혈전용해능을 나타내었다. 혈관의 항상성은 손상된 부위나 염증 부위에서 정상적인 지혈과 보호 작용을 유지되나, 혈장내의 혈액응고와 관련된 coagulation factors의 지나친 활성화, 혈소판 응집 촉진, 적혈구 변형능 이상은 혈류의 항상을 파괴하여 동맥경화, 뇌졸중 등의 혈행장애 질환을 유발한다(Ross R 1993; Harker LA 1994). 양파의 주된 flavonoid 성분인 quercetin(thromboxane A2의 억제) 및 양파로부터 추출한 paraffinic polysulfide의 혈소판 응집저해 효과가 보고되었다(Tzeng 등 1991; Makheja & Bailey 1990). 따라서 다량응용이 가능한 양파식초의 경우 혈전용해능의 효과를 기대할 수 것이다.

요약 및 결론

동서고금을 막론한 대표적인 발효식품인 식초는 산미를 갖는 조미료로, 최근 음료로의 이용도가 증가되고 있다. 음료 시장은 신소재에 대한 소비자의 욕구 증대로 인해 과채류 음료제품들에 대한 소비가 증대되고 있다. 이에 본 연구는 양파로부터 2단 발효 공정을 설정(알코올 발효-보당함량, 초산발효-교반속도)하여 양파식초를 제조하였다.

효율적인 알코올 생성을 위하여 착즙된 양파즙에 보당조건에 따라 *Saccharomyces cerevisiae*(ATCC 9763)의 알코올 생성능, 총산, 당 및 pH의 변화를 측정된 결과, 배양 시간에 따라 계속적으로 증가하는 경향으로 특히 13과 15 °Brix의 경우 36시간 이후 약 8% 전후의 값을 가졌다. 알코올 발효 동안 총산은 0.3% 이내의 값을 나타내었고 당함량은 배양 중 감소하여 배양 60시간 이후에는 0.2% 이하로 감소하였다. 교반속도(100-300 rpm)에 따른 초산발효(*Acetobacter pasteurianus* ATCC 9432, 30 °C, aeration 0.5 NL/min)에서는 100 rpm의 경우, 초산발효 9일 정도까지 증가(1.3-3.2)하였다가 감소하였고, 200 rpm의 경우 10일까지 점진적으로 증가(1.4-4.1)하였으며, 300 rpm은 발효 8일까지 증가(1.4-4.3)하였다가 다소 감소하였다. 이상의 결과로부터 2단 발효를 통한 양파식초 제조를 위해서는 13 °Brix의 보당조건(알코올 발효) 및 300 rpm

교반속도(초산발효)가 선정되었다. 본 연구에서 개발된 양파식초는 *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes* 6종의 균에 대해 항균성을 가졌고, DPPH 라디칼 소거능 26.2%, SOD 유사활성 58.6%의 항산화 활성을 나타내었다. 또한 혈전용해능의 경우, plasmin의 활성화에 대한 1.5배의 활성을 보였다. 따라서 본 연구의 양파식초는 항균성 · 항산화성 · 혈전용해능과 같은 생리활성을 기대할 수 있는 기능성식품으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2008-2009년 중소기업청 산학연 공동기술개발 지원사업으로 수행하였으며, 이에 감사드립니다.

References

- AOAC. 1995. The Association Official Methods of Analysis. 16th ed. pp.69-74
- Astrup T, Mullertz S. 1952. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 40: 346-352
- Augusti K. 1996. Therapeutic values of onion and garlic. *Indian J Experimental Biology* 34:634-640
- Aurand LW, Singleton JA, Bell TA, Etchells JL. 1966. Volatile components in the vapors of natural and distilled vinegars. *J Food Sci* 31:172-177
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Cheun KS, Kang SG, Kang SK, Jung ST, Park YK. 2005. cultivars the flavonoids in onion vinegar fermented with onion juice and ethanol. *Korean J Food Preserv* 12:650-655
- Cho JW, Kim IS, Kim MK, Lee YK, Kim SD. 2000. Characteristics of peach vinegar by parallel complex fermentation. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7:89-93
- De-Groot H, Rauen U. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* 12:249-255
- Dewanto V, Wu X, Adom K K, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:3010-3014
- Entani E, Shibata K, Kawamura Y, Masai H. 1981. Microbicidal effect of awasezu. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 28:387-392

- Furukawa S, Ueda R. 1963. Studies on non-volatile organic acids in vinegars. (I) Contents of non-volatile organic acids in commercial vinegars. *J Ferment Technol* 41:14-19
- Garg N, Tandon DK, Karla SK. 1995. Production of mango vinegar by immobilized cells of *Acetobacter aceti*. *J Food Sci Technol* 32:216-218
- Garruti DS, Franco MRB, Silva MAAP, Janzantti NIS, Alves GL. 2003. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. *J Sci Food Agric* 83:1455-1462
- Gerbi V, Zeppa G, Camacini A. 1992. Rapid extraction of volatile compounds in wine and vinegar using extrelut resin. *Ital J Food Sci* 4:259-267
- Harker LA. 1994. Platelets and vascular thrombosis. *N Engl J Med* 330:1006-1007
- Hughes B, Lawson L. 1991. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. (garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elephant garlic), and *Allium cepa* L. (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytotherapy Research* 5: 154-158
- IARI (Industry-Academia-Research Institute) of Ajou University. 2006. Identification of onion components having beneficial effects on cardiovascular diseases, p. 20. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries of the Republic of Korea
- Jang HS. 2009. Quality stability of concentrated onion extracts having biological activity during storage. Ms.D. Thesis, Changwon National Univ. Changwon, Korea
- Jeon SY, Jeong EJ, Baek JH, Hwang SJ, Cha HR, Cha YJ. 2009. Validation of analysis method for main component of Oniwell™ (extracts of Changnyeong premium onion). Proceedings of 2009 International symposium and annual meeting on Korean Soc Food Sci Nutr. November 4-6. Changwon, Korea
- Jeong CH, Kim JH, Shim KH. 2006. Chemical components of yellow and red onion. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 708-712
- 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
- Jeong YJ, Seo KI, Lee GD, Youn KS, Kang MJ, Kim KS. 1998. Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using response surface methodology. *J East Asian of Dietary Life* 8:57-65
- Jeong YJ. 2000. Production of beverages and fruits vinegar using Kyungpook special products (persimmon, apple and grape). *Food Industry and Nutrition* 5:53-59
- Jeong YJ. 2009. Current trends and future prospects in the Korean vinegar industry. *Food Science and Industry* 42:52-59
- Jin SK, Kim IS, Hah KH, Lyon HJ, Park KH, Lee JI. 2005. Changes of quality characteristics of spicy fermented pork with atmosphere packaging during storage. *J Anim Sci Technol* 47:813-824
- Jones DD, Greenshields RN. 1969. Volatile constituents of vinegar. I. A survey of some commercially available malt vinegars. *J Inst Brew* 75:457-463
- Kang SK, Jang MJ, Kim YD. 2006. Isolation and culture conditions of *Acetobacter* sp. for the production of citrom (*Citrus junos*) vinegar. *Korean J Food Preserv* 13:357-362
- Kim DH. 1999. Studies on the production of vinegar from Fig. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:53-60
- Kim HJ, Jo JS. 1981. Studies on the production of vinegar from Koryangju distillers' grain. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 9:191-196
- Kim HJ, Park SH, Park CH. 1985. Studies on the production of vinegar from barley. *Korean J Food Sci Technol* 17:350-354
- Kim JS, Kim JG, Kim WJ. 2004. Changes of isoflavone contents in soybean cultivars pickled in persimmon vinegar. *Korean J Food Sci Technol* 36:833-836
- Kim KS. 2004. Antioxidant activity reverse age. 2004 Autumn Symposium of the Korean Academy of Clinical Geriatrics. pp. 379-392
- 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
- Korea Food and Drug Administration (KFDA). 2000. Food code, Korean Food Industry Association, Seoul. pp. 378-379
- Korea Food and Drug Administration (KFDA). 2008. Health/Functional Food Code, No. III. 3.6.3. Korea Food and Drug Administration
- Korea National Tax Service (NTS). 2008. Liquor Analysis Regulation. NTS Technical Service Institute. Seoul. pp. 37-39
- Kubota T, Oki Y, Uehara H, Haramaki Y. 1989. Phenylacetic acid in vinegar. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 63:49-50
- Lee GD, Jeong YX, Seo JH, Lee JM. 2000. Monitoring on alcohol and acetic acid fermentation of potatoes using response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr*

- 29:1062-1067
- Lee GD, Kim SK, Lee JM. 2003. Optimization of the acetic acid fermentation condition for preparation of strawberry vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:812-817
- Lee GD, Kim SK, Lee MH. 2005. Quality changes of beverage containing muskmelon vinegar and concentrate muskmelon juice during storage. *Korean J Food Preserv* 12:223-229
- Lee HY. 2006. Comparison of quality and functional properties of domestic onions during storage. Ms.D. Thesis, Changwon National Univ. Changwon, Korea
- Lee KO. 2008. Market trends of vinegar beverages. *Food World* 9:46-49
- Makheja AN, Bailey JM. 1990. Antiplatelet constituents of garlic and onion. *Agents and Actions* 29:360-363
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:467-474
- Masai H. 1980. Taste of the fermented beverage and foods. II. Taste of vinegars. *The Brewing Society of Japan* 75:888-891
- National Research Foundation of Korea (NRFK). 2001. Stabilization of thiosulfates and sulfides in garlic and onions as related with antioxidative activities
- Park JH. 2007. Studies on the production of an onion vinegar by two-stage fermentation. Ms.D. Thesis, Pusan National Univ. Pusan, Korea
- Park YG. 1995. Processing techniques and study trends of vegetable juice. *Bull Food Technol* 8:59-68
- Rice-Evans C, Miller N, Bolwell P, Bremley P, Pridham, J. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad Res* 22:375-383
- Ross R. 1993. The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature* 362:801-809
- Shin JS, Jeong YJ. 2003. Changes in the components of acetic acid fermentation of brown rice using raw starch digesting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:381-387
- Shin JS, Lee OS, Jeong YJ. 2002. Changes in the components of onion vinegars by two stages fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 34:1079-1084
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152-178
- Sung NJ. 1999. Fermentation Process Engineering. pp. 309-310. Hyungseul. Co
- Suzuki Y, Masashi I, Segami T, Ito M. 1998. Anti-ulcer effects of antioxidant, quercetin, α -tocopherol, nifedipine and tetracycline in rats. *Jpn J Pharmacol* 78:435-441
- The Korean Society of Food Science and Nutrition (KSFSN). 2000. Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition, pp. 220-222, 666-667, Hyoil publishing, Seoul, Korea
- Tzeng SH, Ko WC, Ko FN, Teng CM. 1991. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb Res* 64:91-100
- 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
- Yang J, Meyers KJ, van der Heide J, Liu RH. 2004. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and anti-proliferative activities of onions. *J Agric Food Chem* 52:6787-6793
- Yoon HN. 1999. Chemical characterization of commercial vinegars. *Korean J Food Sci Technol* 31:1440-1446
- Zohri A, Abdel-Gawad K, Saber S. 1995. Antibacterial, anti-dermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. *Microbiol Res* 150:167-172

Received 03 November, 2016

Revised 23 November, 2016

Accepted 12 December, 2016