

# Development of an Onion Vinegar Beverage Containing Yuza (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) and Its Biological Activity

Eun-Jeong Jeong<sup>1</sup> and Yong-Jun Cha<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Changshin University, Changwon 51352, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

Received January 9, 2016 / Revised March 29, 2016 / Accepted April 11, 2016

Onion vinegar has an undesirable flavor and taste that results from alcohol and acetic acid production from fermentation. In this study, we have used onion vinegar to develop an onion vinegar beverage with better sensory quality. The objective of this study was to determine the optimum blending ratio by using response surface methods to produce an onion vinegar beverage containing Yuza (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka). The optimal formula for a fermented onion beverage was determined using a central composite design by the response surface methodology. The independent variables were obtained by regression analysis of the reaction surface of brown sugar, apple extracts and Yuza extracts. The optimum mixing ratio for onion vinegar:water:brown sugar:apple extracts:Yuza extracts was 6.0:77.6:4.9:9.2:2.3 (w/w). The actual overall acceptance was 7.08 under optimum conditions, which was close to the maximum predicted value of 6.96. The concentration of phenolic compounds, total flavonoids, and quercetin present in the onion vinegar beverage was 14.8 mg/100 g, 2.6 mg/100 g and 1.4 mg/100 g, respectively. The onion vinegar beverage showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Enterobacter aerogenes*. It also showed antioxidant effects, with a DPPH radical inhibition rate of 18.2% and superoxide dismutase (SOD)-like activity of 11.5%. In conclusion, the onion vinegar beverage described here seems to have nutritional value and potential biological activity.

**Key words** : Biological activities, onion vinegar, phenolic compound, total flavonoid, quercetin

## 서 론

식초는 산미를 갖는 조미료로 인류의 식생활에서 오랜 역사를 지닌 발효식품 중 하나이다. 2005년부터 형성된 식초음료 시장은 2009~2011년(530~1,450억원) 동안 급성장을 보이면서 조미용 식초 중심의 식초산업에서 기능성 천연식초음료 제품으로 시장규모가 확대되고 있다[16]. 이러한 식초시장의 변화는 주정발효식초에서 곡물 및 과일발효식초로의 다양한 식품소재로 확대되어 가고 있고 기능성 소재로부터의 다양한 제품개발이 증대되고 있다[16].

양파(*Allium cepa* L.)는 단맛과 매운맛을 동시에 지녀 동·서양 요리에서 중요한 식품으로 당성분(포도당, 설탕, 맥아당), 무기원소(칼슘, 철분) 및 각종 비타민(A, B, B<sub>2</sub>, C)이 풍부하며 [15, 24], 양파로부터 기인하는 quercetin, quercitrin, rutin 등의 flavonoid 물질로 부터 항산화, 심혈관 질환 예방, 항혈전

등의 생리 활성[3]을 함유한 기능성 식품소재이지만 저장성이 낮아 저장 유통 시 변색, 연부병, 동해 등에 의한 폐기율이 30% 이상이[10] 되고 있어 양파출하시기에 대량 소비가 일어날 수 있는 양파가공품 개발 등 실효성이 있는 대안들이 요구된다. 발효기술을 통한 기능성 양파음료개발은 양파를 이용하여 알콜발효 및 초산발효를 통한 유기산 음료로 자연적으로 생성된 향미를 가지는 고품질의 식초음료개발로 기대 할 수 있다. 반면 양파발효음료는 발효과정중의 생성되는 천연의 향미와 기능성 발현에 관련 있는 양파 특유의 맛과 향은 음료로서의 관능적 품질저하로 이어지므로 양파발효초의 불쾌치를 차폐할 수 감미조향제의 선택이 요구된다. 이에 본 연구는 풍부한 비타민 C, 무기질 및 약 4% 정도의 구연산을 함유한 알카리성 과실로서 향기가 좋아서 산미료로 사용되고 있는 유자[14, 18]를 가미한 유자 양파발효음료 개발하여 개발된 음료의 영양성분(phenolic compound, total flavonoids, quercetin) 및 생리활성(항균, 항산화, 혈전용해능) 분석결과를 양파발효음료의 산업화를 위한 자료로 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 양파(*Allium cepa* L.)는 농산물 품질관리

### \*Corresponding author

Tel : +82-55-213-3513, Fax : +82-55-281-7480

E-mail : yjcha@changwon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

원 지리적표시제 제 30호로 등록(2007. 6. 5)된 창녕양파를 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(Table 1). 양파의 일반성분은 AOAC법[1]에 따라(상압 가열건조법, semi-micor Kjeldahl법, 직접회화법 및 Soxhlet 추출법) 분석한 결과 수분함량은 91.8%, 조단백질 1.1%, 조회분 0.5% 및 조지방 0.5%로 측정되었다(결과미제시).

음료첨가물인 사과과즙농축액(72 °Brix)은 (주) 한미향료에서 제공받았으며 유자차즙액은 (주) 몽고식품으로부터 획득하였다. 항균성 실험에 사용한 균주 *Bacillus cereus* (KCTC 1012), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1916), *Listeria monocytogenes* (KCTC 3710), *Escherichia coil* (KCTC 1924), *Salmonella typhimurium* (KCTC 2515), *Enterobacter aerogenes* (KCTC 2190)는 BRC 생물자원센터(Daejeon, Korea)에서 분양받아 사용하였다.

**양파식초제조**

양파차즙액(보당 13 °Brix, pH 6.2조절)에 주모 5%를 접종(양파차즙액에 대한 부피비)하여 30°C 항온배양기(DS-310FL, Dasol Scientific Co., Ltd, Gyeonggi-do, Korea)에서 교반(200 rpm) 하면서 5일간 알콜발효(*Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763), 30°C, 100 rpm)를 행한 후 여과(0.45 µm membrane filter (Puradisc NYL 25 Filter, Whatman® Schleicher & Schuell. LTD. Florham Park, NJ, USA))하여 알콜발효액을 제조하였다. 알콜발효액에 35% 종초(전체 초산발효액에 대한 부피비)를 첨가하여 발효조(5 l, KF-5, KFC, Incheon, Korea)에서 10일간 초산발효(*Acetobacter pasteurianus* (ATCC 9432), 30°C, 200 rpm, air 0.5 vvm), 를 행한 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 양파식초(총산 함량 4.2%)를 제조하였다.

**중심합성계획에 따른 반응표면분석에 의한 조합비율 결정**

반응표면분석에 의한 유자 첨가 양파발효음료의 최적 조합비율의 결정을 위하여 반응표면분석법을 사용하였다. 예비실험을 통하여 얻어진 결과로부터 황설탕, 사과농축액 및 유자차즙액의 비율을 독립변수로 하여 Table 1과 같이 code화(-2에서 +2)하여, 중심합성계획법에 따라 작성하였다[7]. 즉, 실험설계 Table 2와 같이 18조건(8개 요인실험점, 6개의 축점, 4개의 중심점)에 따라 황설탕, 사과농축액 및 유자차즙액 조합한 후 양파식초(총산함량 4.2%) 각각의 음료 6%(w/w) 비율로 첨가한 후 물을 넣어 전체무게를 100이 되도록 제조하였다. 제조한 유자 첨가 양파발효음료는 기호도검사(9점 평점법)를 실시하여 중심합성법의 종속변수로 선정하였다.

Table 1. Level in blending condition for onion vinegar beverage added with Yuza in fractional factorial design

Code level	Independent variables <sup>1)</sup>		
	Brown sugar	Apple extract	Yuza extract
	X1	X2	X3
-2	0.5	2	0.4
-1	2.5	5	1.2
0	4.5	8	2.0
+1	6.5	11	2.8
+2	8.5	14	3.6

<sup>1)</sup>The content (w/w) was g% of each additive per 100 g of Yuza-onion vinegar beverage.

험을 통하여 얻어진 결과로부터 황설탕, 사과농축액 및 유자차즙액의 비율을 독립변수로 하여 Table 1과 같이 code화(-2에서 +2)하여, 중심합성계획법에 따라 작성하였다[7]. 즉, 실험설계 Table 2와 같이 18조건(8개 요인실험점, 6개의 축점, 4개의 중심점)에 따라 황설탕, 사과농축액 및 유자차즙액 조합한 후 양파식초(총산함량 4.2%) 각각의 음료 6%(w/w) 비율로 첨가한 후 물을 넣어 전체무게를 100이 되도록 제조하였다. 제조한 유자 첨가 양파발효음료는 기호도검사(9점 평점법)를 실시하여 중심합성법의 종속변수로 선정하였다.

**관능검사**

각 조건에서 배합된 유자 첨가 양파발효음료를 약 50 ml 씩 유리잔에 담아 10°C 온도에서 검사요원에게 제공하였다. 관능검사요원은 대학생 및 교직원 25명을 대상으로 시료는 각각의 패널요원에게 3개씩 주었다. 시료는 무작위로 추출한 세자리 숫자로 표시하고, 제공순서를 매번 다르게 제시하였다. 또한 입을 행굴 수 있는 물이 담긴 유리컵과 빨을 수 있는 종이컵을 함께 마련하였고 입에 남은 맛을 제거하기 위해 크래커를 사용하여 전반적인 기호도(overall acceptability)를 9

Table 2. Central composite design consisting of 18 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Exp. No.	Coded independent variables <sup>1)</sup>			Dependent variables
	X1 <sup>2)</sup>	X2 <sup>2)</sup>	X3 <sup>2)</sup>	Overall acceptance
1	-1	-1	-1	5.00 <sup>3)</sup>
2	+1	-1	-1	5.12
3	-1	+1	-1	5.24
4	+1	+1	-1	5.50
5	-1	-1	+1	5.06
6	+1	-1	+1	5.41
7	-1	+1	+1	5.75
8	+1	+1	+1	6.31
9	-2	0	0	5.56
10	+2	0	0	5.75
11	0	-2	0	4.35
12	0	+2	0	5.82
13	0	0	-2	4.29
14	0	0	+2	5.53
15	0	0	0	7.12
16	0	0	0	6.82
17	0	0	0	6.71
18	0	0	0	6.94

<sup>1)</sup>The coded levels of independent variables are same as represented in Table 1.

<sup>2)</sup>Abbreviation: X1 = brown sugar, X2 = apple extract, X3 = Yuza extract.

<sup>3)</sup>Acceptance test (9-point hedonic scale, n=25).

점 척도법으로 측정하였다. 이때 1점에서 9점으로 숫자가 커질수록 기호도가 높다(1점; 대단히 싫어한다, 2점; 아주 싫어한다, 3점; 보통으로 싫어한다. 4점; 약간 싫어한다, 5점; 좋지도 싫지도 않다, 6점; 약간 좋아한다, 7점; 보통으로 좋아한다, 8점; 아주 좋아한다, 9점; 대단히 좋아한다).

#### Phenolic compound성 화합물 분석

항산화물질의 대표적인 총 페놀성 화합물의 분석은 Singleton 등의 방법[28]을 변형한 Dewanto 등의 방법[6]으로 UV/visible spectrophotometer (Spectrophotometer A10934101307, Shimadzu, Tokyo, Co., Ltd., Japan)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 gallic acid (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 작성한 표준 검량선으로부터 함량을 구하였다.

#### Total flavonoid 함량 분석

Total flavonoid 분석은 건강기능식품공전 방법[19]에 따라 측정하였다. 표준시약 quercetin dihydrate (Q0125, Sigma, St. Louis, MO, USA)로 측정하였고 UV/visible spectrophotometer (Spectrophotometer A10934101307, Shimadzu, Tokyo, Co., Ltd., Japan)를 사용하여 415 nm에서 실험하였다.

#### Quercetin 함량 분석

Quercetin의 분석은 Jeon 등의 방법[12]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% aceticacid: acetonitrile (40%:30%:30%), PDA detector (370 nm), flow rate:1.0 ml/min, injection volume: 20 μl였다. 시료 중 quercetin의 함량은 표준품과의 retention time을 비교하여 동정하였고 검량선을 이용한 peak의 면적으로 정량하였다.

#### 항균활성 측정

항균활성은 식품영양 실험핸드북에 제시된 disc 확산법[29]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.

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

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거능 측정은 Blois 방법[4]에 의해 UV/visible spectrophotometer (Spectrophotometer A10934101307, Shimadzu, Tokyo, Co., Ltd.,

Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 BHT, BHA 및  $\alpha$ -Tocopherol은 DMSO에 각각 200 ppm 농도로 처리하여 비교 분석하였다.

#### SOD 유사활성 측정

SOD의 활성은 Marklund과 Marklund의 방법[23]을 변형한 방법으로 UV/visible spectrophotometer (Spectrophotometer A10934101307, Shimadzu, Tokyo, Co., Ltd., Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 색소에 영향을 미치는 시료에는 pyrogallol 대신에 완충액만 넣고 흡광도를 측정하였다.

#### 혈전용해능 측정

유자 양파발효음료의 혈전용해 활성 시험은 Astrup과 Mullertz의 방법[2]을 일부 변형한 방법으로 대조구로는 정제된 혈전용해효소인 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하여 측정하였다.

#### 통계분석

중심합성계획에 따른 반응표면분석은 SAS (Statistical Analysis System) program (version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) [27]을 이용하여 통계 분석하였으며 반응표면도를 SAS/GRAPH를 사용하여 두 독립변수간의 상관성을 검토하였다. 또한 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.

## 결과 및 고찰

#### 유자 첨가 양파발효음료 개발

중심합성계획에 따른 전반적 기호도 관능검사 결과를 Table 2에 나타내었다. 이러한 전반적기호도값을 이용한 반응표면분석 결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 유자 첨가 양파발효음료의 전체 반응 모형은 유의 확률이 0.05보다 작으므로 반응모형이 통계학적으로 유의함을 볼 수 있고 결정계수값이 0.9645로 모형에 사용된 자료의 적합성이 증명되었다(Table 3). 선형항, 이차항, 교차곱항들의 유의 확률을 본다면 유의 확률이 0.05 이하 이므로 선형 및 제곱항은 통계학적으로 유의함을 보였으나 교차항은 0.4091이므로 모형에서 교차곱 효과의 삽입이 불필요하지만 모형을 완벽하게 설명하기 위해서 삽입을 하였다. 반응모형식은 다음과 같다.

전반적기호도 =  $-1.619 + 0.642(\text{황설탕}) + 0.804(\text{사과농축과즙액}) + 2.928(\text{유자착즙액}) - 0.081(\text{황설탕})^2 + 0.007(\text{황설탕})(\text{사과농축과즙액}) - 0.052(\text{사과농축과즙액})^2 + 0.041(\text{황설탕})(\text{유자착즙액}) + 0.051(\text{사과농축과즙액})(\text{유자착즙액}) - 0.799(\text{유자착즙액})^2$

Table 3. Model coefficients estimated by multiple linear regression and polynomial equation for dependent variable (overall acceptance) on onion vinegar beverage added with *Yuza*

Factor	Coefficients
Constant	-1.619
Linear	
X <sub>1</sub>	0.642*
X <sub>2</sub>	0.804*
X <sub>3</sub>	2.928*
Quadratic	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.081*
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0.052*
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-0.799*
Crossproduct	
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.007
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.041
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.051
Model	
Linear	0.0006
Quadratic	<0.0001
Crossproduct	0.4091
Second order polynomials	
Y = -1.619+0.642X <sub>1</sub> +0.804X <sub>2</sub> +2.928X <sub>3</sub> -0.081X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.007X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> -0.052X <sub>2</sub> <sup>2</sup> +0.041X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> +0.051X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> -0.799X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	
R <sup>2</sup>	0.9645
Total Regression (>F)	<0.0001
Lack of fit	0.2903

\*p<0.05

Abbreviation: X<sub>1</sub> = brown sugar, X<sub>2</sub> = apple extract, X<sub>3</sub> = *Yuza* extract. Abbreviation: Y = overall acceptance

반응모형의 적합결여도는 유의확률 수준인 0.05보다 큰 값인 0.2903이므로 현재 모형은 적합이 결여된다고 판단할 근거가 없음을 볼 수 있다. 정준분석의 결과( $\hat{y} = 6.96-1.25\omega_1^2-1.75\omega_2^2-2.22\omega_3^2$ ) 모든 고유값들이 음수이므로 정상점은 최대점임을 알 수 있고 반응표면의 좌표축 유자착즙액, 사과농축액기스,

황설탕 순으로 민감하게 변화함을 알 수 있어서 유자착즙액의 첨가함량에 따라 전반적인 기호도의 변화가 클 것으로 예상된다.

유자 양파발효음료의 향미첨가제간의 효과를 보면(Fig. 1) 유자착즙액에 사과농축액의 첨가량이 증가하거나 또는 사과농축액에 유자착즙액의 첨가량 증가에 따라 전반적기호도의 값의 상승하였으나, 황설탕의 경우는 첨가량의 증감에 따라 전반적인 기호도값의 변화가 나타나지 않았다. 전반적으로 유자 양파발효음료에는 황설탕의 단맛에 대한 기여도는 낮을 것으로 판단된다. 이러한 결과로부터 유자 양파발효음료개발에 있어서 최대의 기호도를 얻기 위해서는 다음과 같은 원료 배합비율이 나타났다.

양파식초 : 용수s : 황설탕 : 사과농축과즙액 : 유자착즙액 = 6 : 77.62 : 4.94 : 9.19 : 2.25(무게비율)

상기 배합비율로 배합한 유자 양파발효음료의 예측된 전반적 기호도 값은 6.96이었고, 실측치는 7.08로 이었다.

**양파발효음료의 기능성 성분(Phenolic compound, flavonoids 및 quercetin)**

페놀화합물은 일반적으로 식물체에서 발견되는데 대표적으로 항산화와 관련된 기능성을 가진다. 이러한 항산화력은 페놀화합물의 산화 환원 특성에 의한 것으로 그 자체가 reducing agent, hydrogen donators, singlet oxygen quencher의 역할을 하며 금속이온에 대해 chelation potential을 가진다고 보고[17]되고 있다. Phenolic compound함량은 Table 4에 나타내었다. 양파식초의 경우 33.3 mg/100 g로 품종에 따른 차이가 있겠으나 국내산 양파보다는 다소 적은 함량을 가졌고 미국산 양파와는 유사한 함량이 분석되었다(국내산 양파: 약 50 mg% (gallic acid기준물질), 미국산 양파: 16.8~104.9 mg/100 g (gallic acid기준물질))[20, 32]. 유자 양파발효음료는 14.8 mg/100 g의 phenolic compound함량을 가졌다. 대조구로서 시판식초음료 A의 경우 66.4 mg/100 g로 가장 높은 함량을 나타내었는데 이는 고농축된 과실 원료(복분자식초 36.2%, 울

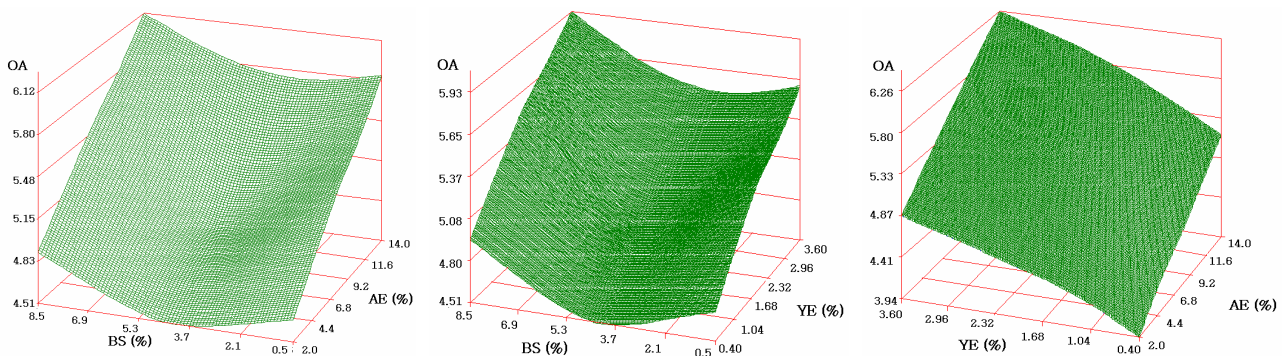


Fig. 1. Response surfaces for the effect of two independent variables on the sensory score (overall acceptance).BS: brown sugar, AE: apple extract, YE: *Yuza* extract

Table 4. Contents of phenolic compound, flavonoids and quercetin in onion vinegar beverage added with Yuza (mg/100 g)

Samples	Phenolic compound	Flavonoids	Quercetin
Onion vinegar	33.3±1.0 <sup>c</sup>	3.0±0.2 <sup>ab</sup>	2.0±0.1 <sup>b</sup>
Onion vinegar beverage added with Yuza	14.8±1.0 <sup>b</sup>	2.6±0.2 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>
References:			
Commercial product A	66.4±2.1 <sup>d</sup>	3.4±0.3 <sup>b</sup>	2.2±0.3 <sup>b</sup>
Commercial product B	8.7±0.4 <sup>a</sup>	- <sup>1)</sup>	-

<sup>1)</sup>Not detected.

Different letters (<sup>a-c</sup>) within a column indicate significant difference ( $p < 0.05$ ).

리고당 4%, 벌꿀 2.76%, 폴리텍스트로스 2.76%, 사과농축액, 벌꿀, 액상과당, 저감미당)에서 기인된 것으로 사료된다. 또한 시판식초음료 A의 경우 식품의 유형이 음료베이스로서 음용시에 물과 1:3비율로 희석하여 마시기를 권유하는 제품으로 희석비를 고려한다면 본 연구에서 제조한 유자 양파발효음료와 유사한 범위의 제품으로 판단된다. 반면 대조구로서 시판식초의 B의 경우는 8.7 mg/100 g으로 낮은 함량을 나타내었는데 이는 단순한 합성식초에 과즙(현미초 1%, 사과과즙, 액상과당, 결정과당, 벌꿀, 폴리텍스트로스, 카라멜색소, 합성착향료, 비타민 C)을 섞은 형태의 음료로 영양적 가치가 낮음을 알 수 있었다.

Total flavonoids의 함량은 양파식초 및 유자 양파발효음료에서 각각 3.0 mg/100 g, 2.6 mg/100 g 나타나 원료인 양파식초와 유사한 함량을 나타내었다(Table 4). 이는 양파발효음료의 부원료인 사과(acetone 추출물; 50.0~77.1 mg/100 g) 및 유자(유자에탄올 추출물: naringin 637 mg/100 g)[5, 31]에 포함된 total flavonoids에서 기인된 것으로 사료된다. 시판식초음료 A의 경우는 3.4 mg/100 g으로 유자 양파발효음료와 유사한 범위로 나타난 반면 시판식초음료 B의 경우는 검출되지 않았다. Quercetin의 함량은 양파식초 2.0 mg/100 g이었고, 유자 양파발효음료는 이보다 다소 낮은 1.4 mg/100 g이었다. 시판식초음료 A의 경우는 2.2 mg/100 g으로 양파식초와 유사한 함량을 가진 반면 시판식초음료 B의 경우는 검출되지 않았다(Table 4). 국내산 양파의 quercetin (황색양파: 15.24 mg%, 자색양파: 5.70 mg%)[13]과 비교하여 비교적 적은 함량이나 관능성이 고려된 음용제품이므로 소비가 확대가 되면 양파가

지닌 quercetin함량에 접근할 수 있을 것으로 본다. 시판식초음료 A의 경우 고농축과실식초음료로 개인적인 기호도에 따라 음용시 2~3배의 물로 희석하여 섭취하기를 권한다. 또한 시판식초음료 B의 경우는 합성식초에 일부과즙을 첨가하여 제조된 식품으로 영양학적 가치가 매우 낮음을 볼 수 있다. 따라서 본 연구의 유자 양파발효음료는 시판식초음료에 비해 생리적 기능성을 나타내는 잠재적 화합물로부터 영양학적 가치를 가지는 제품으로 판단된다.

**유자 양파발효음료의 항균성**

유자 양파발효음료의 항균성 결과를 Table 5에 나타내었다. 양파식초 및 대조구로서 고농축형 시판식초 음료 A에서 군 6종에 대해 뛰어난 항균활성을 나타내었다. 유자 양파발효음료의 경우 음성균 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes* 3종에 대해 항균활성을 나타내었으나 그람 양성균 *Staphylococcus aureus*에서만 항균활성이 나타났다. 이러한 항균활성은 식초에 내재된 유기산 및 flavonoids에 의한 복합적인 영향으로 판단되며 양파식초음료의 유기산의 함량이 적어짐에 따른 활성 감소로 사료된다. 저가의 시판식초음료의 경우는 그람 음성균에서만 항균활성을 나타내었다. 식초의 주요 유기산인 acetic acid의 식품부패에 관련한 미생물 활성저지에 관한 연구보고[21]에 따르면 acetic acid는 lactic acid와 같은 다른 유기산에 비해 항균활성(*Salmonella aertrycke*, *Staphylococcus aureus*, *Phytomonas phaseoli*, *Bacillus ceres*, *Bacillus mesentericus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*)이 강하고 비교적 낮은 농도에서도 활성을 가지나 일정

Table 5. Antimicrobial activity of onion vinegar beverage added with Yuza

	Gram (+)			Gram (-)		
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Onion vinegar	11	13	13.8	10.8	10.5	10
Onion vinegar beverage added with Yuza	- <sup>1)</sup>	10	-	9.7	9.8	10
Commercial product A	15	14	11.5	11.2	11	9.7
Commercial product B	-	-	-	10.3	11	9.5

<sup>1)</sup>Not detected.

농도 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[3, 9, 34]. 그러므로 유자 양파발효음료의 항균성은 발효에 의해 생성된 유기산과 양파로부터 유래되는 활성성분간의 복합적인 효과로 사료된다.

**유자 양파발효음료의 항산화성**

양파의 항산화성은 여러 연구에서 증명이 되고 있다. 특히 양파의 대표적인 flavonoids 성분인 quercetin은 free radical scavenging, 금속이온 전이의 chelation 및 lipoxigenase의 활성 억제 등을 통한 항산화기능[25, 33]을 가지고 양파의 대표적인 휘발성 함황화합물(dipropyl disulfide, dipropyl trisulfide)의 유지산화의 지연 등으로 항산화 효과를 기대할 수 있다.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 안정한 자유라디칼로서 DPPH radical 소거능이 높으면 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 높아 체내에 활성산소와 같은 자유라디칼의 소거작용으로 노화를 억제하는 효과를 예시해주는 항산화실험이다. 양파식초는 26.23% DPPH 라디칼 소거능을 가졌고 유자 양파발효음료에서 18.10%로 다소 적은 소거능을 가졌다(Table 6). 국내산 양파(24.9~33.9%의 DPPH radical 소거능) 및 양파고농축액(89.4~94.4% DPPH radical 소거능)의 항산화 활성이 보고[11, 20]되고 있는데 본 연구의 양파식초는 원료 양파의 활성과 유사하나 고농축액에 비해서는 낮은 활성을 나타내었다. 시판식초음료에서는 60.03~69.85%의 높은 함량을 나타내었다. 시판초음료의 경우 제품의 품질향상을 위하여 비타민 C와 같은 성분의 첨가로 인하여 다소 높은 값을 나타낸 것으로 사료된다. 일반적으로 사용되는 인공 항산화제

인 BHA (200 ppm)와 BHT (200 ppm)의 경우 각각 57.20%, 30.43%로 나타났고 천연 항산화제로 사용되는 *α*-tocopherol (200 ppm)는 32.33%를 나타내었다. 본 연구의 양파식초 및 유자 양파발효음료는 이러한 항산화제에 비해서는 다소 적은 값을 가지나 음료라는 식품특성상 자주 다량 음용을 한다면 유의적인 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

과산화효소 중 superoxide dismutase (SOD)는 O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키는 촉매효소로 활성 산소에 대한 방어기작 중요한 역할을 한다. 이러한 SOD의 유사활성은 양파식초에서 58.58%로 높은 함량을 나타내었고 유자 양파발효음료에서 11.49%로 다소 적은 소거능을 나타내었다(Table 7). 보고된 국내산 양파의 SOD 활성은 25.9~39.5%, 양파고농축액 40.8~45.9%[11]로 본 연구의 양파식초는 양파 및 양파고농축액의 SOD 활성에 비해 다소 높은 활성을 가지는 것으로 사료된다. 고농축과실 시판초음료 A의 경우 양파식초와 유사한 53.48%의 함량을 가진 반면 저가의 시판식초음료 B는 9.08%로 낮은 활성을 나타내었다.

항산화 작용은 활성의 강약과 함께 장기간 활성의 유지도 중요하다. Jang의 보고[11]에 따르면 양파추출농축액의 경우 DPPH 라디칼 소거능이 저장 150일에 감소하는 경향을 보고하였다. 기능성 관련 식품은 함유된 기능활성이 유통기간에 따른 활성 유지에 대한 자료도 중시된다. 건강기능 식품의 특성상 식품에 함유된 대표적인 기능성의 유지에 대한 연구는 개발된 제품품지 유지기간과 밀접한 관계를 나타내므로 본 연구에서 개발된 유자 양파발효음료의 저장기간에 따른 생리적 기능활성의 변화에 대한 연구가 계속 이뤄져야 할 것이다.

**유자 양파발효음료의 혈전용해능**

혈행 장애와 관련된 주요한 조직은 혈액으로 혈장 및 혈구 세포(적혈구 및 혈소판)로 구성되어 있다. 혈액은 조직으로 산소와 영양분을 공급하고 세포내 대사 노폐물을 제거함으로써 조직의 항상성 유지에 역할을 담당한다. 조직은 혈관의 손상된 부위나 염증 부위에서 정상적인 지혈과 보호작용을 유지함으로써 인체의 정상적인 기능을 유지한다. 그러나 혈장내의

Table 6. *In-vitro* 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical scavenging activity of onion vinegar beverage added with Yuza

Samples	DPPH radical scavenging activity (%)
Onion vinegar	26.23±0.16 <sup>1b</sup>
Onion vinegar beverage added with Yuza	18.10±0.47 <sup>a</sup>
Commercial product A	60.03±0.25 <sup>d</sup>
Commercial product B	69.85±0.34 <sup>e</sup>
References <sup>2)</sup> :	
BHA (200 ppm)	57.20±0.09 <sup>c</sup>
BHT (200 ppm)	30.43±0.41 <sup>b</sup>
<i>α</i> -Tocopherol (200 ppm)	32.33±0.25 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD (n=3).

<sup>2)</sup>Dissolve 0.2 mg of each reference in 1 ml of dimethylsulfoxide. Different letters (<sup>a-d</sup>) within a column indicate significant difference (*p*<0.05).

Table 7. *In-vitro* superoxide dismutase-like activity of onion vinegar beverage added with Yuza

Samples	Superoxide dismutase-like activity (%)
Onion vinegar	58.58±0.25 <sup>1d</sup>
Onion vinegar beverage added with Yuza	11.49±0.89 <sup>b</sup>
Commercial product A	53.48±0.65 <sup>c</sup>
Commercial product B	9.08±1.13 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD (n=3).

Different letters (<sup>a-d</sup>) within a column indicate significant difference (*p*<0.05).

Table 8. *In-vitro* fibrinolytic activity<sup>1)</sup> of onion vinegar beverage added with Yuza

Samples	Fibrinolytic activity
Onion vinegar	1.51±0.09 <sup>2)b</sup>
Onion vinegar beverage added with Yuza	- <sup>3)</sup>
Commercial product A	1.31±0.08 <sup>a</sup>
Commercial product B	-

<sup>1)</sup>The clear zone ratio of sample and plasmin, mean±S.D (n=3).

<sup>2)</sup>Mean±SD (n=3).

<sup>3)</sup>Not detected.

Different letters (<sup>a-b</sup>) within a column indicate significant difference (*p*<0.05).

혈액응고와 관련된 coagulation factors의 지나친 활성화, 혈소판 응집 촉진, 적혈구 변형능 이상은 혈류의 항상성을 파괴하여 혈행장애 질환(동맥경화, 뇌졸중) 등의 질환을 유발시킨다 [8, 26]. 양파의 주된 flavonoid 성분인 quercetin (thromboxane A2의 억제) 및 양파로부터 추출한 paraffinic polysulfide의 혈소판 응집저해 효과가 보고되었다[22, 30]. 이에 본 연구에서 개발된 유자 첨가 양파발효음료의 혈행개선효과를 측정하였다(Table 8). 양파식초의 경우 대조구인 plasmin에 비해 1.5배의 활성을 가졌고 고농축과실식초음료인 시판초음료 A의 경우 1.3배의 혈전용해능을 나타내었지만 유자 양파발효음료에서는 활성이 검출되지 않았다. 따라서 양파식초에서 혈전용해능을 가지는 유용성분의 농도가 희석됨에 따라 활성이 미약해진 것으로 다량음용이 가능한 양파식초음료의 경우 혈전용해능의 잠재력이 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

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

### References

1. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, pp. 69-74, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
2. Astrup, T. and Mullertz, S. 1952. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem. Biophys.* **40**, 346-352.
3. Augusti, K. T. 1996. Therapeutic values onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). *Indian J. Exp. Biol.* **34**, 634-640.
4. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
5. Choi, S. Y., Ko, H. C., Ko, S. Y., Hwang, J. H., Park, J. G., Kang, S. H., Han, S. H., Yun, S. H. and Kim, S. J. 2007. Correlation between flavonoid content and the NO pro-

- duction inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *Biol. Pharm. Bull.* **30**, 772-778.
6. Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K. and Liu, R. H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3010-3014.
7. Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J. L. 1992. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film-properties using response surface methodology. *J. Food Sci.* **57**, 190-195, 199.
8. Harker, L. A. 1994. Platelets and vascular thrombosis. *N. Engl. J. Med.* **330**, 1006-1007.
9. Hughes, B. and 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. *Phytother. Res.* **5**, 154-158.
10. Industry-Academia-Reserch 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.
11. Jang, H. S. 2009. Quality stability of concentrated onion extracts having biological activity during storage. MS. dissertation, Changwon National University, Changwon, Korea.
12. Jeon, S. Y., Jeong, E. J., Baek, J. H., Hwang, S. J., Cha, H. R. and Cha, Y. J. 2009. Validation of analysis method for main component of Oniwell<sup>TM</sup> (extracts of Changnyeong premium onion). Proceedings of 2009 International symposium and annual meeting on Korean Soc. Food Sci. Nutr. November 4-6. Changwon, Korea.
13. Jeong, C. H., Kim, J. H. and Shim, K. H. 2006. Chemical components of yellow and red onion. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 708-712.
14. Jeong, J. W., Lee, Y. C., Kim, I. H., Kim, J. H. and Lee, K. M. 1977. Technological Development of Processing Utilization and Storage of Domestic Citrons, pp. 21-25. *Korean Res. Ins.*, Seongnam, Korea.
15. Jin, S. K., Kim, I. S., Hah, K. H., Lyon, H. J., Park, K. H. and Lee, J. I. 2005. Changes of quality characteristics of spicy fermented pork with atmosphere packaging during storage. *J. Anim. Sci. Technol.* **47**, 813-824.
16. Kim, C. J. and Kim, I. J. 2013. Rapid growth market of brewed vinegar and Gangwon-do. *Policy Memo.* **30**, 1-6.
17. Kim, K. S. 2004. Antioxidant activity reverse age. 2004 Autumn Symposium of the Korean Academy of Clinical Geriatrics, pp. 379-392, The Korean Clinical Geriatric Society Publishing, Seoul, Korea.
18. Kim, O. B. 1944. Cultural Technology of Citron, pp. 31, Ou-Seong Publishing Co., Seoul, Korea.
19. Korea Food and Drug Administration. 2008. Health/Functional Food Code, No. III. 3.6.3. Korea Food and Drug Administration.
20. Lee, H. Y. 2006. Comparison of quality and functional properties of domestic onions during storage. MS. dissertation, Changwon National University, Changwon, Korea.
21. Levine, A. S. and Fellers, C. R. 1939. Action of acetic acid

- on food spoilage microorganisms. *J. Bacteriol.* **39**, 499-515.
22. Makheja, A. N. and Bailey, J. M. 1990. Antiplaetlet constituents of garlic and onion. *Agents Actions.* **29**, 360-363.
  23. Marklund, S. and 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.
  24. Park, Y. G. 1995. Processing techniques and study trends of vegetable juice. *Bull. Food Technol.* **8**, 59-68.
  25. Rice-Evans, C., Miller, N., Bolwell, P., Bremley, P. and Pridham, J. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res.* **22**, 375-383.
  26. Ross, R. 1993. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* **362**, 801-809.
  27. SAS. 1990. Statistical Analysis Systems User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA
  28. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
  29. The Korean Society of Food Science and Nutrition. 2000. Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition, pp. 666-667, Hyoil Publishing, Seoul, Korea.
  30. Tzeng, S. H., Ko, W. C., Ko, F. N. and Teng, C. M. 1991. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb. Res.* **64**, 91-100.
  31. Wolfe, K., Wu, X and Liu, R. H. 2009. Antioxidant activity of apple peels. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 609-614.
  32. Yang, J., Meyers, K. J., van der Heide, J. and Liu, R. H. 2004. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 6787-6793.
  33. Yokozawa, T., Dong, E., Kawai, Y., Gemba, M. and Shimzu, M. 1999. Protective effects of some flavonoids on the renal cellular membrane. *Exp. Toxic. Pathol.* **51**, 9-14.
  34. Zohri, A., Abdel-Gawad, K. and Saber, S. 1995. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. *Microbiol. Res.* **150**, 167-172.

## 초록 : 유자 첨가 양파발효음료의 제조 및 생리활성

정은정<sup>1</sup> · 차용준<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>창신대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>창원대학교 식품영양학과)

양파식초는 양파특유의 냄새로 인한 관능적인 저하를 가지므로 양파의 불쾌치를 차폐할 수 있는 감미조향제의 선택이 요구된다. 이에 본 연구는 중심합성계획에 따른 반응표면분석을 통하여 감미조향제(유자착즙액, 사과농축액 및 황설탕)의 첨가량을 결정하였다. 즉 독립변수를 달리한 각 실험조건을 다섯 단계로 부호화 하고 실험설계 18조건(8개 요인실험점, 6개의 축점, 4개의 중심점)에 따라 기호도검사(9점 평점법)를 실시하여 중심합성법의 종속 변수로 선정하여 유자 첨가 양파발효음료(양파식초 : 용수 : 황설탕 : 사과농축액 : 유자착즙액 = 6.0 : 77.6 : 4.9 : 9.2 : 2.3(w/w비율))를 제조하였다. 최적 배합조건에서 제조된 유자 양파발효음료의 phenolic compound, total flavonoid, quercetin 및 생리활성(항균성, 항항산화성, 항혈전용해능) 분석결과 총 phenol함량은 14.8 mg/100 g, total flavonoids의 함량 2.6 mg/100 g, quercetin 함량은 1.4 mg/100 g으로 측정되었다. 유자 첨가 양파발효음료는 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 및 *Enterobacter aerogenes* 4종의 균에서 항균성을 가졌고 DPPH 라디칼 소거능에서는 18.2%, SOD 유사활성에서는 11.5%의 활성을 나타내었다. 따라서 본 연구로 개발된 유자 양파발효음료는 원료인 양파로부터 기인되는 영양성분 및 발효과정에서 생성되는 각종 유기산으로부터 복합적인 생리활성이 기대되는 제품으로 사료된다.