

복분자 착즙박을 이용한 식초의 이화학적 특성 및 항산화 활성

류은혜^{1,†} · 채규서^{2,†} · 김성웅¹ · 김용석³ · 김기덕⁴ · 권지웅^{1,*}

¹(재)베리&바이오식품연구소, ²고창군 농업기술센터,
³전북대학교 농업생명과학대학 식품공학과, ⁴고창군청 농어촌식품과

Physicochemical properties and antioxidant activities of vinegar using black raspberry pomace

Eun-Hye Ryu^{1,†}, Kyu-Seo Chae^{2,†}, Sung-Woong Gim¹, Yong-Suk Kim³, Ki-Deok Kim⁴, and Ji-Wung Kwon^{1,*}

¹Berry&Biofood Research Institute

²Gochang Agriculture Technology Center

³Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

⁴Gochang County Agro-Fisheries & Food Department

Abstract In this study, vinegar was prepared using black raspberry pomace to increase its utilization capacity. As a result of alcohol fermentation, the final alcohol content was 8.90% and the sugar content was 7.03°Brix. The total acid content after acetic acid fermentation was 4.44%, which was 0.38% higher than that of the juice. Among the organic acid content, the acetic acid content was higher in the pomace than in the juice. The total polyphenol (51.58 TAE mg/mL), total flavonoid (9.55 RUE mg/mL), and total anthocyanin (6.05 CYE mg/mL) contents of vinegar produced using black raspberry residue were higher than those of the juice. In addition, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) radical scavenging activity, reducing power, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) activity were higher than those of the juice, indicating strong antioxidant properties. Thus, black raspberry pomace has excellent acetic acid fermentation ability and high antioxidant activity, indicating that it can be used as a functional fermented vinegar.

Keywords: black raspberry, antioxidant activity, vinegar, pomace, physicochemical properties

서 론

식초는 동서양을 막론하고 오랜 역사를 지닌 발효식품으로서 사용한 원료에서 유래하거나 발효에 관여하는 미생물 대사에 의해 생성된 각종 휘발성 및 비휘발성의 유기산, 아미노산, 당류, 에스테르 등이 함유되어 특유의 향과 산미를 가진 식품이다(Gil, 2004). 식초는 인체에 유해한 활성산소를 파괴하는 작용을 하는 항산화 활성 이외에도 항균 활성, 항비만, 항당뇨, 피로회복, 소화액 분비 촉진, 지질 대사 개선, 혈압상승 억제, 동맥경화, 고혈압, 심장병 예방 효과 등 다양한 기능이 밝혀지면서 기능성식품으로 주목을 받고 있다(Kim 등, 2020). 최근에는 부재료를 첨가하지 않고 100% 과즙 원료 및 높은 곡물 함량으로 제조하는 천연 발효식초의 수요가 증가함에 따라 다양한 천연소재를 이용한 식초 개발 및 기능성 증대 연구가 이루어지고 있다. 이러한

관심에도 복분자, 블루베리, 꾸지뽕 등의 과실을 원료로 제조된 전통 발효식초는 원료의 높은 가격으로 인해 경쟁력이 부족하여 높은 기능성에도 불구하고 소비가 미비한 실정이다.

복분자(*Rubus occidentalis*)는 당도가 낮고 신맛이 강한 것이 특징으로서, 생과보다는 음료, 과일주, 잼 등의 가공식품으로 주로 이용되고 있다. 그뿐만 아니라 복분자에 ellagic acid, gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, rutin, myricetin, luteolin, kaempferol 등의 기능성 화합물이 다량 존재하며(Shin 등, 2018), 이와 같은 다양한 성분들이 산화 방지(Wang과 Lin, 2000), 면역 증진 활성(Seeram 등, 2006) 및 항암효과(Eu 등, 2008) 등의 생리활성을 나타내는 것으로 보고되면서 그 수요가 증가하고 있는 추세이다. 2018년 복분자 가공량은 총 232톤으로 이 중 음료의 비중이 53.5%로 가장 높게 나타났으며, 술 30.3%, 주정 9.5% 순으로 나타났다(MAFRA, 2019). 이와 같은 복분자 가공식품 생산을 위해서는 착즙 과정을 거치게 되며, 착즙 수율은 약 60~70% 가량으로 이에 따른 부산물이 발생하지만 이에 대한 이용연구는 복분자박을 이용한 색소추출 연구(Jeong과 Seo, 2009)와 사료이용을 위한 연구(Lee 등, 2019)만 수행될 정도로 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 복분자 가공 후 버려지는 부산물의 활용성을 높이고자, 복분자 착즙박을 이용한 식초를 제조하여 이에 대한 발효 특성 및 항산화 활성을 포함한 이화학적 특성을 분석하고 전통 발효식초의 소재로서의 이용 가능성을 살펴보고자 하였다.

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Ji-Wung Kwon, Berry&Bio food Research Institute, Gochang, Jeonbuk 56417, Korea

Tel: +82-63-560-5190

Fax: +82-63-563-6680

E-mail: kjwung@daum.net

Received October 23, 2020; revised January 20, 2021;

accepted January 22, 2021

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에서 사용한 복분자(*Rubus occidentalis* L.)는 국내 최대 복분자 산지인 전라북도 고창군의 5개 농가에서 2020년도에 수확한 것을 구입하여 시료로 사용하였으며, 농가별로 동량의 동결된 복분자를 실온에서 해동한 후 균질화하고 유압착즙기(Stainless 70 L, Tomotech Ltd., Seoul, Korea)를 통해 착즙한 착즙액과 착즙박을 식초 제조를 위한 시료로 사용하였다. 복분자 착즙액 및 착즙박의 시료 특성 확인을 위하여 당도, pH 및 총산을 확인하였으며, 착즙박의 경우 100 g에 증류수 1 L을 넣고 균질화하여 4°C에서 10,000×g로 10분간 원심분리(Supra 22K, Hanil Co., Incheon, Korea)한 후 상정액을 실험에 사용하였으며, 시료의 특성은 Table 1에 나타내었다.

항산화 활성 측정에 사용한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent, DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 등과 유기산 정량을 위한 표준물질인 lactic acid, citric acid, malic acid, acetic acid, succinic acid 및 초산균 배양에 사용된 yeast extract, peptone, mannitol은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 에탄올과 메탄올은 J.T. Baker (Boston, MA, USA)에서 구입하였으며, 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

사용균주 및 배지조성

알코올 발효에 사용한 효모는 수입 시판건조 효모 *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin (DSM Food Specialties, Ma Delft, Netherlands)을 구입하여 15% 설탕 용액에 20°C에서 10분간 배양한 후 활성회시켜 발효에 사용하였다. 초산발효에는 (재)베리엔바이오식품연구소에서 보유하고 있는 *Acetobacter pasteurianus* GBA5 균주를 사용하였으며, yeast extract 0.5%, peptone 0.3%, mannitol 2.5%의 배지조성으로 30°C에서 160 rpm 조건으로 72시간 진탕 배양(Shaking incubator WIS-10R wisecube, Daihan-Sci, Wonju, Korea)한 것을 초산발효 starter로 사용하였다.

식초 제조

복분자 식초는 Park 등(2012)과 Oh 등(2017)의 방법을 일부 응용하여 제조하였다. 주모의 경우 복분자 착즙액을 감압농축기(Buchi R210, Flawil, Switzerland)로 18°Bx가 될 때까지 농축하였고, 복분자 착즙박은 10배 증량의 물을 넣고 6시간 동안 100°C에서 추출한 후 감압농축기로 18°Bx가 될 때까지 농축하였다. 각각의 농축액 10 L에 시판건조 효모 *S. cerevisiae* Fermivin을 1×10⁹ CFU/kg이 되도록 접종하여 교반하고 25°C에서 6일 동안 발효한 것을 주모로 사용하였다. 알코올 발효가 끝난 후에 발효액을 여과하고 증초 10% (v/v)를 각각 접종하여 30°C에서 24일간 배양시키면서 3일 간격으로 시료를 채취하여 시료로 사용하였다.

알코올, 당도, pH, 총산 및 색도 변화

알코올 함량은 알코올 분석기(Alcoholizer wine, Anton Paar,

Graz, Austria)를 이용하여 측정하였고, 당도 측정은 상온에서 당도계(PAL-1 Pocket Refractometer, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. pH는 pH meter (S20, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였으며, 총산 함량 측정은 시료 10 mL에 0.1 N NaOH를 첨가하여 pH 8.3에 도달할 때까지 소모된 양을 구연산 또는 초산 함량으로 산출하였다. 색도는 Chroma meter (CM-5, Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 L (명도, lightness), a (적색도, redness) 및 b (황색도, yellowness) 값을 측정하였으며, 사용된 백색 판(Calibration plate)의 값은 L=92.73, a= -0.03, b= -0.06이며, L값, a값 및 b값을 각 3회 반복 측정하여 평균값으로 나누어 색도를 측정하였다.

유기산

복분자 착즙액 및 착즙액으로 제조한 식초의 유기산 측정을 위해 발효 종료 후 각각의 시료를 0.45 µm membrane filter (Millipore, Bedford, MA, USA)로 여과한 후 희석하여 HPLC (Ultimate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 분석조건으로 컬럼은 Aminex HPX-87H (300×10 mm, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), solvent는 0.01N H₂SO₄ (Sigma-Aldrich)를 사용하였고, 유속은 0.5 mL/min, 주입량은 10 µL, UV 검출기 파장은 210 nm를 이용하였다.

총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량

총 폴리페놀 함량은 건강기능식품공전 방법(KFDA, 2012)을 응용하여 측정하였다. 즉 초산발효가 종료된 복분자 착즙액 및 착즙액으로 제조한 식초 1 mL에 증류수 7.5 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL, 35% Sodium carbonate 1 mL를 가한 후 실온 암 조건에서 1시간 동안 정지한 후, UV/VIS spectrophotometer (UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 760 nm에서 비색정량 하였다. 이때 tannic acid를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 Chang 등(2002)의 방법을 응용하여 측정하였다. 초산발효가 종료된 식초를 각각 시료 200 µL/mL 농도로 제조한 용액에 diethylene glycol 2 mL, 1 N sodium hydroxide 20 µL를 가한 다음 37°C 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 rutin을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

총 안토시아닌 함량은 Kim 등(1998)의 방법을 응용하여, 초산 발효가 종료된 식초 시료 1 mL에 0.1% HCl을 함유하는 80% 메탄올 용액 39 mL로 24시간 동안 진탕 배양기에서 추출한 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 528 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질은 cyanidin을 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 안토시아닌 함량을 구하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

자유라디칼인 DPPH를 사용한 산화 방지 활성 측정법(Choi 등, 1993)을 응용하여 초산발효가 종료된 각각의 식초 시료를 5, 10,

Table 1. Characterization of black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) juice and pomace

Sample	Sugar concentration (°Brix)	pH	Total acidity (%)
Black raspberry juice	10.57±0.06 ¹⁾	3.63±0.01	1.17±0.01
Black raspberry pomace	0.73±0.06	3.81±0.00	0.07±0.01

¹⁾Data are means±standard deviation.

20, 30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도로 증류수에 희석 후, 각 시료 100 μL 에 200 μL 의 에탄올과 0.2 mM DPPH용액 300 μL 를 가한 후 교반하였고, 실온에서 30분간 반응시키고 ELISA reader (Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS assay는 Arts 등(2004)의 방법을 응용하였다. 5, 10, 20, 30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도별로 제조한 초산발효가 종료된 각각의 식초 시료 5 μL 에 ABTS 라디칼 용액 195 μL 를 첨가하여 7분간 반응시킨 후 ELISA reader를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였다.

환원력

환원력은 Oyaizu (1986)의 방법을 이용하여 5, 10, 20, 30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도별로 제조한 초산발효가 종료된 각각의 식초 시료 200 μL 에 0.2 M 인산나트륨 완충용액(pH 6.6) 250 μL 및 1% potassium ferricyanide 250 μL 를 첨가하고 50°C 항온수조에서 20 분 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 250 μL 을 가하였다. 그 후 0.1% ferric chloride 50 μL 를 첨가하여 700 nm에서 환원력을 측정하였다.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

FRAP은 Blois (1958)의 방법을 응용하여 측정하였다. 즉 0.3 M 아세트산나트륨 완충용액(pH 3.6), 10 mM TPTZ 및 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 제조하여 실험 직전에 10:1:1의 비율로 혼합하여 FRAP 용액을 제조하였다. FRAP 용액 750 μL 와 초산발효가 종료된 식초를 농도별로 제조하여 각각 30 μL 를 첨가한 후 37°C 항온수조에서 15분간 반응 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

본 연구의 각 시험항목별 실험 결과는 3회 반복 분석하여, SPSS program 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계처리 후 평균 및 표준편차로 나타내었다. 각 시험군간의 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 Student's *t*-test 및 one-way ANOVA로 분석하였으며, Duncan's multiple range test를 이용하여 사후검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

알코올 발효

복분자 착즙액 및 착즙박을 이용하여 알코올 발효액을 제조하였으며, 발효 초기, 중기 및 완료기의 이화학적 특성을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 복분자 착즙액 및 착즙박의 알코올 함량은 발효 초기 0.01%에서 발효가 진행됨에 따라 증가하여 발효 중기인 3일차에 각각 착즙액이 8.51%, 착즙박이 6.32%를 나타내었으며 발효 종료시점인 6일차에는 각각 10.22, 8.90%로 복분자 착즙액이 착즙박에 비해 더 높은 알코올 함량을 나타내었다($p < 0.05$). 당도의 경우 복분자 착즙액 및 착즙박의 초기 당도는 18.01-18.07 °Bx에서 발효가 진행됨에 따라 감소하였으며 발효 종료시에 각각 7.80°Bx와 7.03°Bx로 복분자 착즙액의 당도가 착즙박에 비해 더 높게 나타났다($p < 0.05$). 복분자 착즙액과 착즙박의 초기 pH는 3.69-3.75 범위로 발효 종료 후 감소하여 복분자 착즙액은 3.63, 착즙박은 3.59를 나타내었다($p < 0.05$). 총 산도의 경우 복분자 착즙액과 착즙박의 초기 총 산도는 각각 0.94, 0.46%로 복분자 착즙액이 착즙박에 비해 2배 가량 높게 나타났는데 이는 착즙하는 과정에서 유기산이 착즙액과 함께 용출됨에 따라 착즙액의 초기 총 산도가 착즙박에 비해 높게 나타나는 것으로 추정된다. 발효가 진행되면서 총 산도는 서서히 증가하여 발효 종료 후의 총 산도는 복분자 착즙액이 1.20%로 복분자 착즙박의 총 산도(0.71%)에 비해 높게 나타났다($p < 0.05$). Lee 등(2002)에 따르면 색도는 폴리페놀 함량, 미생물 활성 및 SO_2 등 여러 요인에 의해 발효 중 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 복분자 착즙액 및 착즙박의 알코올 발효액의 색도를 측정된 결과 명도를 나타내는 L값, 적색도를 나타내는 a값, 황색도를 나타내는 b값 모두 발효가 진행됨에 따라 증가하는 것으로 나타났으며, L, a, b값 모두 복분자 착즙박보다 착즙액이 높게 나타났다($p < 0.05$).

초산 발효

복분자 착즙액 및 착즙박 알코올 발효액을 이용하여 제조한 식초의 발효기간 중 알코올, 당도, pH 및 총 산도의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 알코올 함량 변화는 Fig. 1A와 같이 발효가 진행됨에 따라 서서히 감소하였으며, 복분자 착즙액 식초는 발효 초기 10.04%에서 발효 종료 시점인 발효 24일에 0.87%를 나타내었고, 복분

Table 2. Changes in fermentation characteristics of black raspberry juice and pomace wines fermented using *S. cerevisiae* Fermivin for 6 days at 25°C

Fermentation time (days)	Black raspberry wine	Alcohol content (%)	Sugar concentration (°Brix)	pH	Total acidity (%)	Hunter's color value		
						L	a	b
0	Juice	0.01±0.01 ¹⁾	18.01±0.06	3.69±0.01	0.94±0.01	15.10±0.02	46.86±0.01	26.03±0.03
	Pomace	0.01±0.01	18.07±0.06	3.75±0.01*	0.46±0.01*	15.78±1.73	45.75±0.06*	25.34±0.03*
3	Juice	8.51±0.03	12.03±0.06	3.64±0.01	1.20±0.01	20.25±0.01	49.67±0.03	38.40±0.56
	Pomace	6.32±0.01*	9.77±0.06*	3.57±0.01*	0.76±0.01*	17.12±0.01*	48.78±0.07*	29.50±0.15*
6	Juice	10.22±0.03	7.80±0.01	3.63±0.01	1.20±0.01	24.76±0.01	56.25±0.01	41.38±0.06
	Pomace	8.90±0.01*	7.03±0.06*	3.59±0.01*	0.71±0.01*	17.91±0.01*	49.60±0.53*	30.70±0.02*

¹⁾Data are means±standard deviation.

* $p < 0.05$ indicate statistically significant differences from the wine using black raspberry juice.

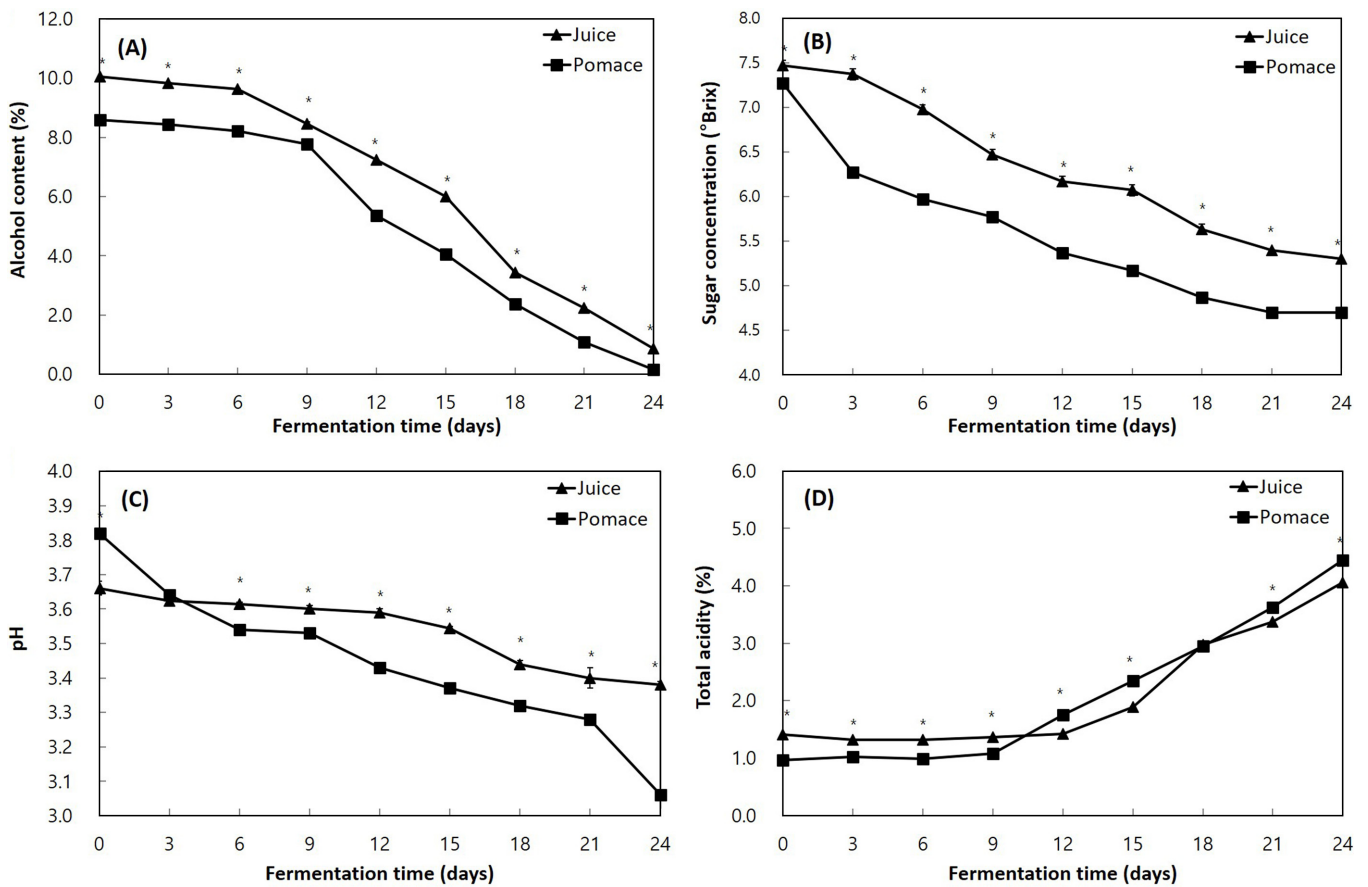


Fig. 1. Changes in alcohol (A), sugar concentration (B), pH (C) and total acidity (D) of vinegars using black raspberry juice and pomace. Data are means±standard deviation. * $p < 0.05$ indicate statistically significant differences from the wine using black raspberry juice.

자 착즙박 식초는 발효 초기 8.58%에서 발효 24일 차에 0.15%로 측정되어 발효 종료 후 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 잔류 알코올 함량이 1% 미만으로 나타났다. 이는 우리나라 산업자원부 기술표준원에서 정한 과일 식초의 조건(Kim 등, 2008)에 부합하는 결과를 보였다. 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 초산발효 기간 중 당도는 Fig. 1B와 같다. 발효 초기 7.27-7.47°Bx에서 발효 기간이 경과함에 따라 서서히 감소하여 발효 24일 차에 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 당도가 각각 5.3, 4.7°Bx로 나타났다. 발효기간 중 pH의 변화를 살펴본 결과 복분자 착즙액 식초의 초기 pH는 3.66에서 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 발효 24일 차에 3.38로 나타났으며, 착즙박을 이용한 식초는 초기 pH 3.82에서 3.06으로 감소하는 것으로 나타나 최종 pH가 착즙액보다 더 낮게 나타남을 확인하였다(Fig. 1C). Lee 등(2012)은 일반적으로 초산발효 시 유기산 생성에 의해 pH가 감소한다고 보고하였고 본 연구의 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 pH가 감소하는 경향과 일치하였다. 초산은 식초의 품질 판정의 지표로 이용되는데 식품공전에서는 식초의 총산(초산, w/v%) 함량을 4.0-20.0% 범위로 정하고 있으며, 감식초는 2.6% 이상으로 규정하고 있다(MFDS, 2007). 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 총 산도는 Fig. 1D와 같이 발효가 진행됨에 따라 점차 증가하여 발효 24일 차에 복분자 착즙액 식초가 4.06%, 착즙박 식초는 4.44%로 착즙박을 이용한 식초가 착즙액보다 더 높은 총 산도를 보여 복분자 착즙박을 이용한 과일 식초 소재로의 이용이 가능할 것으로 판단된다.

복분자 착즙액 및 착즙박을 이용하여 제조한 식초의 발효기간 중 색도 변화는 Table 3과 같다. 명도를 나타내는 L값, 적색도를 나타내는 a값, 황색도를 나타내는 b값 모두 초산발효 과정에서 감소하는 것으로 나타났으며, 복분자 착즙액이 복분자 착즙박 식초에 비해 발효 전체 기간에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). Kim 등(2013)에 의하면 식초의 색은 발효 방법에 상관없이 사용한 원료의 영향을 받는다고 보고하였다. 복분자의 주요 색소는 carotene, polyphenol, anthocyanin, quercetin, ellagic acid 등으로 안토시아닌 색소는 다른 색소 성분과 비교하여 가공 및 저장조건에서 불안정한 것으로 알려져 있다(Bai, 2006; Kim 등, 2017b). 이는 본 연구결과에서 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 색도 차이는 사용 원료, 착즙 및 농축 등에 의한 성분 변화, 폴리페놀 함량, 미생물 활성 등 여러 요인에 의해 영향을 받는 것으로 사료된다.

유기산

복분자 착즙액 및 착즙박을 이용하여 제조한 식초의 발효 종료 후(발효 24일차) 유기산 분석 결과는 Table 4와 같다. 2종의 식초 모두 acetic acid와 citric acid만 검출되었으며, acetic acid 함량은 착즙박으로 제조한 식초(3.09 mg/mL)가 착즙액(2.80 mg/mL)으로 제조한 식초보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 이는 초산발효 종료 시 착즙박으로 제조한 총산 함량이 착즙액으로 제조한 식초의 함량보다 더 높은 것과 일치하는 것으로 나타났다. Citric acid의 함량은 복분자 착즙액으로 제조한 식초가 1.19 mg/mL

Table 3. The Hunter color values of vinegar using black raspberry juice and pomace

Color value	Fermentation time (days)	Black raspberry vinegar	
		Juice	Pomace
L	0	28.46±0.01 ^{1)a2)}	22.67±0.03 ^a
	3	27.09±0.04 ^b	18.52±0.03 ^b
	6	25.76±0.02 ^c	18.34±0.08 ^c
	9	25.39±0.08 ^d	18.31±0.06 ^c
	12	24.46±0.04 ^e	17.67±0.02 ^d
	15	24.20±0.16 ^f	17.33±0.05 ^d
	18	24.03±0.04 ^f	17.14±0.07 ^e
	21	22.98±0.08 ^g	16.77±0.05 ^f
	24	22.21±0.02 ^h	14.23±0.04 ^g
a	0	58.79±0.03 ^a	54.68±0.03 ^a
	3	57.19±0.03 ^b	50.39±0.03 ^b
	6	56.69±0.09 ^c	50.25±0.11 ^c
	9	55.85±0.03 ^d	50.11±0.07 ^d
	12	55.23±0.05 ^e	49.11±0.07 ^e
	15	54.69±0.10 ^f	48.92±0.01 ^f
	18	54.19±0.04 ^g	48.68±0.03 ^g
	21	53.98±0.07 ^h	48.29±0.02 ^h
	24	53.44±0.03 ⁱ	45.57±0.02 ⁱ
b	0	44.79±0.03 ^a	36.11±0.03 ^a
	3	43.19±0.08 ^b	31.56±0.32 ^b
	6	42.87±0.13 ^c	31.54±0.05 ^b
	9	42.06±0.01 ^d	31.09±0.04 ^b
	12	41.07±0.05 ^e	30.32±0.06 ^c
	15	40.72±0.05 ^f	29.41±0.02 ^d
	18	40.12±0.07 ^g	29.05±1.15 ^d
	21	39.10±0.09 ^h	28.27±0.03 ^e
	24	39.03±0.02 ^h	24.53±0.04 ^f

¹⁾Data are means±standard deviation.

²⁾Different letters within a column indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

로 착즙박의 함량(0.52 mg/mL)보다 약 2.2배 높은 것으로 나타났다. 일반적으로 식초의 유기산 함량은 사용한 원료에 따라 유기산 조성에 많은 차이를 나타내는 것으로 알려져 있다(Jung 등, 2019). 복분자 열매에는 citric acid, succinic acid, fumaric acid가 존재하는 것으로 알려져 있으며, Hong 등(2012)은 복분자 식초의 유기산을 측정된 결과 주요 유기산은 acetic acid가 가장 높은 함량을 나타내었으며, malic acid, succinic acid 및 malonic acid 순으로 나타났다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 acetic acid와 citric acid만 검출되었으며, 이러한 차이는 식초 제조 시 초산균의 종류, 원료 처리 및 발효 방법이 상이함에 따라 발생한 것으로 판단된다.

항산화 활성

폴리 페놀성 물질은 식물계에 널리 분포된 2차 대사산물 중의 하나로 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 단백질 및 기타 거대

Table 4. Organic acid contents of vinegars using black raspberry juice and pomace

Black raspberry vinegar	Organic acid contents (mg/mL)	
	Acetic acid	Citric acid
Juice	2.80±0.72	1.19±0.38
Pomace	3.09±0.64*	0.52±0.20*

¹⁾Data are means±standard deviation.

* $p<0.05$ indicate statistically significant differences from the vinegars using black raspberry juice.

분자들과 결합하는 성질을 나타내며 항산화 효과 등의 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Fine, 2000). 복분자 착즙액 및 착즙박으로 제조한 식초의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 복분자 착즙박으로 제조한 식초의 총 폴리페놀 함량은 51.58 TAE mg/mL로 착즙액으로 제조한 식초(29.09 TAE mg/mL) 보다 약 1.7배 높은 것으로 나타났다($p<0.05$). 이는 복분자 원액 제조를 위한 유압 착즙 공정의 경우 과피, 과육 및 씨앗에 존재하는 폴리페놀 성분이 제대로 용출되지 못하고 부산물에 다량 존재하게 되어 최종 식초의 총 폴리페놀 함량에 영향을 미치는 것으로 추정된다. 복분자 착즙액 및 착즙박을 이용한 식초의 총 플라보노이드를 측정된 결과 착즙박으로 제조한 식초가 9.55 RUE mg/mL로 나타났고, 착즙액으로 제조한 식초는 6.48 RUE mg/mL로 총 플라보노이드 함량 또한 착즙박으로 제조한 식초가 착즙액으로 제조한 식초에 비해 높은 것으로 나타났다($p<0.05$). 총 플라보노이드는 총 폴리페놀과 마찬가지로 복분자 열매에 다량 존재하는 것으로 알려진 물질로 강력한 항산화 효과가 있어 건강 기능 식품 소재로 이용되고 있고, 인체 내에서 합성할 수 없기 때문에 식이를 통해 섭취해야 하는 것으로 알려져 있다(Rice-Evans 등, 1996). 안토시아닌은 cyanidin계의 색을 지닌 chrysanthemine으로 물에 쉽게 용해되는 수용성으로 생체 이용률이 높은 기능성 물질로 항산화 활성(Tsuta 등, 1996), 항암효과 및 항염증(Ryu 등, 2000) 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 총 안토시아닌 함량을 측정된 결과에서도 복분자 착즙박으로 제조한 식초가 6.05 CYE mg/mL로 착즙액으로 제조한 식초의 5.13 CYE mg/mL보다 높게 나타나 착즙박으로 제조한 식초가 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 모두 높게 나타났다. 페놀성 화합물로 총칭되는 폴리페놀, 플라보노이드 및 안토시아닌 화합물은 강력한 항산화제로 알려져 있는 화합물로 복분자 착즙박으로 제조한 식초에서 높은 함량을 보여, 기능성 식초 제조의 원료로 복분자 착즙박의 활용 가치가 높을 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼은 비교적 안정한 자유 라디칼로서 천연소재로부터 항산화 물질을 측정하는 데 많이 이용되고 있다(Lee 등, 2008). 복분자 착즙액 및 착즙박으로 제조한 식초의 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀값을 측정된 결과 복분자 착즙박으로 제조한 식초(10.23 μL/mL)가 복분자 착즙액 식초(20.12 μL/mL) 보다 약 2배 정도 높은 활성을 나타내었다($p<0.05$). ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과도 DPPH 라디칼 소거능과 마찬가지로 복분자 착즙박을 이용한 식초(18.30 μL/mL)가 착즙액을 이용한 식초(35.39 μL/mL)에 비해 약 2배 정도 높은 활성을 보였다($p<0.05$). Kim 등(2017a)은 대표적 식물계 폴리페놀 물질로 플라보노이드와 탄닌이 있으며, 페놀 화합물의 항산화 기작이 라디칼 소거능 작용에 기인하기 때문에 총 페놀 함량과 항산화 활성은 비례한다고 보고하였는데, 이는 본 연구와 같은 결과를 나타내었다.

Table 5. Antioxidant activities of the vinegars using black raspberry juice and pomace

Black raspberry vinegar	Polyphenol contents (TAE ¹⁾ mg/mL)	Flavonoid contents (RUE ²⁾ mg/mL)	Anthocyanin contents (CYE ³⁾ mg/mL)	DPPH (IC ₅₀ μL/mL) ⁴⁾	ABTS (IC ₅₀ μL/mL)
Juice	29.09±0.29 ⁵⁾	6.48±0.09	5.13±0.02	20.12±0.08	35.39±0.15
Pomace	51.58±0.44*	9.55±0.09*	6.05±0.03*	10.23±0.08*	18.30±0.03*

¹⁾Total polyphenol contents was expressed as mg tannin acid (TAE) per 100 gram.

²⁾Total flavonoid contents was expressed as mg rutin (RUE) per 100 gram.

³⁾Total anthocyanin contents was expressed as mg cyanidin (CYE) per 100 gram.

⁴⁾DPPH and ABTS radical scavenging activity were expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration inhibition curve.

⁵⁾Data are means±standard deviation.

**p*<0.05 indicate statistically significant differences from the vinegars using black raspberry juice.

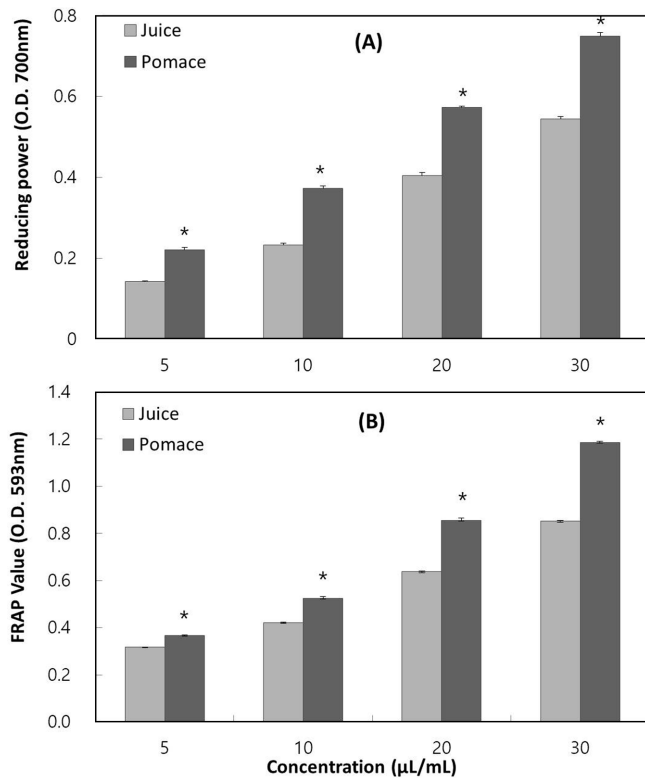


Fig. 2. Reducing power (A), FRAP activity of vinegars using black raspberry juice and pomace. Data are means±standard deviation. **p*<0.05 indicate statistically significant differences from the vinegars using black raspberry juice.

환원력 및 FRAP

항산화 작용을 나타내는 여러 가지 기작 중에는 활성산소 및 유리기에 전자를 공여하여 안정화 시키는 작용을 환원이라 하고, 환원력을 가진 물질은 전자 공여체로 작용하기 때문에 지질 과산화 과정에서 중간 생성물의 생성을 억제하여 2차적인 항산화제의 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Yoshino와 Murakami, 1998). 복분자 착즙액 및 착즙박으로 제조한 식초의 환원력 및 FRAP 활성을 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 동일한 농도에서 복분자 착즙박으로 제조한 식초가 착즙액으로 제조한 식초보다 높은 환원력을 보여, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성 연구 결과와 같은 경향을 보였다. 또한 FRAP 활성을 측정된 결과에서도 복분자 착즙박으로 제조한 식초가 복분자 착즙액으로 제조한 식초보다 높은 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 DPPH 및

ABTS 라디칼 소거 활성과 환원력 및 FRAP 활성이 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량과 높은 상관관계가 있다고 보고한 Park 등(2008)의 연구 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 따라서, 복분자 착즙박을 이용한 식초는 항산화 활성이 우수하여 기능성이 강화된 식초 제조의 가능성을 보여줄 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 복분자 가공 후 버려지는 부산물의 활용성을 높이기 위하여 착즙박의 발효를 통해 식초를 제조한 후, 전통 발효 식초의 소재로서의 이용 가능성을 살펴보고자 발효 특성 및 항산화 활성을 포함한 이화학적 특성을 분석하였다. 알코올 발효 후 이화학적 특성 분석 결과, 총 산도와 알코올 함량은 착즙액보다 착즙박에서 각각 0.49, 1.32% 만큼 낮게 나타났으며, 초산발효 후에는 알코올 함량과 당도가 착즙액에서 각각 0.72, 0.6 °Brix 만큼 높게 나타났다. 착즙박에서 pH는 0.32 낮았고 총 산도가 0.38% 높게 나타났다. 이러한 결과에 비추어 볼 때 착즙박 또한 원활한 발효가 진행됨이 확인되었다. 유기산 분석 결과 착즙박에서는 acetic acid가 착즙액에서는 citric acid가 더 높게 나타났다. 복분자 착즙박을 이용한 식초의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총 안토시아닌 함량을 측정된 결과 각각 51.58 TAE mg/mL, 9.55 RUE mg/mL, 6.05 CYE mg/mL로 대조구인 복분자 착즙액 식초보다 높은 함량을 보였다. 복분자 착즙박 식초의 산화 방지 활성 측정을 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값을 측정된 결과 각각 10.23, 18.30 μL/mL로 착즙액 식초보다 높은 활성을 나타내었으며, 환원력 및 FRAP 또한 착즙박을 이용한 식초에서 높게 나타났다. 이러한 결과를 종합해볼 때 복분자 가공 부산물로 버려지는 착즙박은 초산발효 결과가 우수하고, 높은 산화 방지 활성을 나타내어 기능성 발효식초로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2020년 전북형 미래혁신식품 기술개발 지원사업(전라북도)과 농림축산식품부가 지원하는 2020년 농촌자원복합산업 화지원사업 향토건강식품명품화사업의 지원을 받아 수행된 연구 결과입니다.

References

Arts MJTJ, Haenen GRMM, Voss HP, Bast A. Antioxidant capacity

- of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem. Toxicol.* 42: 45-49 (2004)
- Bai SK. Natural dyeing of silk fabric dyed with *Rubus coreanus* Miquel extract. *J Kor Soc Cloth Ind* 8: 476-480 (2006)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200 (1958)
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* 10: 178-182 (2002)
- Choi, JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Kor. J. Pharmacogn.* 24: 299-303 (1993)
- Eu GS, Chung BY, Bandopadhyay R, Yoo NH, Choi DG, Yun SJ. Phylogenetic relationships of *Rubus* species revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers. *J. Crop Sci. Biotech.* 11: 39-44 (2008)
- Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev.* 5: 114-151 (2000)
- Gil BI. Physicochemical characteristics of brown rice vinegars produced by traditional and industrial manufacturing method. *J. Nat. Sci.* 11: 1-7 (2004)
- Hong SM, Moon HS, Lee JH, Lee HI, Jeong JH, Lee MK, Seo KI. Development of functional vinegar by using cucumbers. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* (2012)
- Jeong YJ, Seo JH. Conditions for Pigment Extraction from Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) Byproducts. *Korean J. Food Preserv.* 16: 400-404 (2009)
- Jung KI, Ha NY, Choi YJ. Functional properties of muskmelon vinegars manufactured with traditional fermentation methods. *J. Life Sci.* 29: 345-353 (2019)
- KFDA. Korean Food and Drug Administration. Korea Health Supplements Food Standard Codex. Korea. p. 529 (2012)
- Kim EJ, Baek SY, Li FY, Choi HJ, Kim MR. Physicochemical characteristics and antioxidant activities of 'Eteum' Doraji Jungkwa substituted sucrose with oligosaccharides. *Korean J. Food Cookery Sci.* 33: 625-635 (2017a)
- Kim YD, Ha KY, Lee KB, Shin HT, Cho SY. Varietal variation of anthocyanin content and physicochemical properties in colored rice. *J. Korean Breed.* 30: 305-308 (1998)
- Kim KO, Kim SM, Kim SM, Kim DY, Jo DJ, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Physicochemical properties of commercial fruit vinegars with different fermentation methods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 736-742 (2013)
- Kim DW, Kim DH, Kim JK, Yeo SH, Choi HS, Kim YH, Kim MK. Comparison of volatile compounds in *Maclura tricuspidata* fruit vinegar and commercial vinegars. *Korean J. Food Preserv.* 27: 85-97 (2020)
- Kim BM, Lee KM, Jung IC. Changes in anthocyanin content of aronia (*Aronia melanocarpa*) by processing conditions. *Korean J. Plant Res.* 30: 152-159 (2017b)
- Kim SW, Park JH, Jun HK. Analysis of optimum condition for production of an onionic vinegar by two-step fermentations. *J Life Sci.* 18: 1410-1414 (2008)
- Lee SJ, Gim SW, Choi HR, shin DK, Chung YH, Jang HS, Park HC, Kwon GT. Development of k-berkshire exclusive feed additive using black raspberry by-product. *J. Agric & Life Sci.* 53: 87-99 (2019)
- Lee JC, Han WC, Le JH, Jang KH. Quality evaluation of vinegar manufactured using rice and *Rosa rugosa* Thunb. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 202-206 (2012)
- Lee JE, Shin YS, Sim JK, Kim SS, Koh KH. Study on the color characteristics of Korean red wine. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 164-169 (2002)
- Lee SG, Yu MH, Lee SP, Lee IS. Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 269-275 (2008)
- MAFRA. Ministry of Agriculture, food and Rural Affairs. Current status of fruits processing in 2018. Korea. p. 10 (2019)
- MFDS. Ministry of Food and Drug Safety. Korean Food Standards Codex. Korea. pp. 166-167 (2007)
- Oh HH, Jang SW, Jun HI, Jeong DY, Kim YS, Song GS. Production of concentrated blueberry vinegar using blueberry juice and its antioxidant and antimicrobial activities. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46: 695-702 (2017)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction-: antioxidative activity of products of browning reaction. *Jpn. J. Nutr.* 44: 307-315 (1986)
- Park SY, Chae KS, Son RH, Jung JH, Im YR, Kwon JW. Quality characteristics and antioxidant activity of bokbunja (black raspberry) vinegars. *Food Eng. Prog.* 16: 340-346 (2012)
- Park YK, Cho SH, Kim SH, Jang YS, Han JG, Chung HG. Functional composition and antioxidant activity from the fruits of *Rubus coreanus* according to cultivars. *Mokchae Konghak.* 36: 102-109 (2008)
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Bio. Med.* 20: 933-956 (1996)
- Ryu SN, Han SJ, Park SZ, Kim HY. Antioxidative and varietal difference of cyanidin-3-glucoside and pelargonidin-3-glucoside contents in pigmented rice. *Korean J. Crop. Sci.* 45: 257-260 (2000)
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry and strawberry extracts inhibit growth and stimulated apoptosis of human cancer cells in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 54: 9329-9339 (2006)
- Shin D, Chae KS, Choi HR, Lee SJ, Gim SW, Kwon GT, Lee HT, Song YC, Kim KJ, Kong HS, Kwon JW. Bioactive and pharmacokinetic characteristics of pre-matured black raspberry, *Rubus occidentalis*. *Ital. J. Food Sci.* 30: 428-439 (2018)
- Tsuta T, Shiga K, Ohshima K, Kawakishi S, Osawa T. Inhibition of lipid peroxidation and the active Oxygen radical Scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem. Pharmacol.* 52: 1033-1039 (1996)
- Wang SY, Lin HS. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146 (2000)
- Yoshino M, Murakami K. Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal Biochem.* 257: 40-44 (1998)