



Quality characteristics of fermented vinegar containing different concentration of an ethanol extract from ‘Seomaeyaksuk’ (*Artemisia argyi* H.)

Jeong Yeon Shin¹, Min Jung Kang², Jae Ran Kang², Jin Sang Choi¹,
 Weon Teak Seo¹, Jung Hye Shin^{2*}

¹Department of Food Technology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea
²Namhae Garlic Research Institute, Namhae 52430, Korea

섬애약쑥 주정 추출물의 첨가 농도에 따른 발효식초의 품질 특성

신정연¹ · 강민정² · 강재란² · 최진상¹ · 서원택¹ · 신정혜^{2*}

¹경남과학기술대학교 식품과학부, ²(재)남해마늘연구소

Abstract

Optimization of the fermentation conditions for the preparation of ‘Seomaeyaksuk’ (*Artemisia argyi* H.) vinegar was carried out and the results reported herein. The ‘Seomaeyaksuk’ sample was divided 3 groups, such as shade dry ‘Seomaeyaksuk’ extract added group was control (CO), 2.75 °Brix (SEE-0.5) and 5.5 °Brix (SEE-1.0) of the roasted ‘Seomaeyaksuk’ edible ethanol extract addition group, respectively. Subsequently, 5% *Acetobacter pasteurianus* A8 was to the total fermentation volume, and samples were taken at 5 day intervals for 25 days to analyze their quality factors. After 25 days fermentation, the pH of the CO group was 3.0, while the corresponding values for the SEE-0.5 and SEE-1.0 groups were 3.14. The total polyphenols contents tended to decrease during fermentation. More specifically, after 25 days fermentation, the flavonoid content was significantly higher in the SEE-1.0 group, while the jaceosidin content had decreased by 50% and 43% in the SEE-0.5 and SEE-1.0 group, respectively. A total of seven organic acids were detected, with their contents decreasing in the order acetic acid > succinic acid > citric acid > propionic acid. Among the various aroma components present in the vinegar, the acetic acid content was the highest, followed by 92.6,15-octadecatrienoic acid and hexadecanoic acid. Moreover, the ABTS and DPPH radical scavenging activities of all experimental groups tended to decrease during the fermentation period, likely due to reduced levels of the polyphenol compounds.

Key words : ‘Seomaeyaksuk’, vinegar, jaceosidin, eupatilin, aroma components

서 론

세계적으로 섭취되고 있는 발효 조미료인 식초는 각 지역별 특성이 반영되어 제조·발전되어 왔는데, 우리나라에서는 곡주 양조 기법을 기반으로 한 곡물 식초가 주로 제조되었고, 서양에서는 포도, 사과 등의 과일을 이용한

식초가 프랑스, 스페인, 이탈리아 등 와인의 주요 산지에서 는 포도 식초와 발사믹 식초, 영국에서는 보리, 밀, 옥수수 를 사용한 맥아 식초, 아시아 지역에서는 현미 식초가 주로 생산되어 왔다(Chung 등, 2015; Park 등, 2016).

식초는 세계 각국에서 조미료뿐만 아니라 식품 방향제, 보존제 및 치료제로 사용되어 왔는데(Ko 등, 1998; Kim

*Corresponding author. E-mail : whanbee@daum.net, Phone : +82-55-860-8947, Fax : +82-55-860-8960

Received 30 October 2019; Revised 21 November 2019; Accepted 12 December 2019.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

등, 2013c), 과거로부터 오랜 경험을 통해 피로회복, 소화액의 분비 촉진과 식욕증진, 혈중 콜레스테롤 저하, 혈압 상승 방지, 혈중 알코올 농도 상승 지연, 항균 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Hong 등, 2012a; Chung 등, 2015). 동의보감에는 “초는 독이 없어 옹종(癰腫)을 없애고 혈운(血雲)을 부수며 모든 실혈(失血)의 과다와 심통(心痛)과 인통(咽痛)을 다스린다”라고 되어 있어 우리나라에서도 오래 전부터 식초는 약용으로도 사용하여 왔음을 알 수 있다(Lee, 2013).

최근에는 더 다양한 원료를 사용한 식초의 제조와 그 기능성 규명을 위한 연구들이 진행되고 있는데, 비만을 유도한 흰쥐에 무독화한 옷을 발효한 식초(Cheong 등, 2015)나 산사 발효식초(Chon 등, 2009)의 급여는 체중의 증가를 저해하며, 혈청이나 간의 지질 조성을 개선시키고, 지질 배설을 증가시켜 부작용 없이 비만을 개선하는 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다. Kim 등(2015)은 발효 식초의 새로운 기능성 성분에 대한 연구의 일환으로 발효 식초로부터 분리한 다당류가 독성 없이 대식세포를 자극하여 IL-6, IL-12 및 TNF- α 와 같은 염증과 면역능의 활성화와 관련이 있는 cytokine들의 생산을 농도 의존적으로 증가 시킴으로써 면역기능 증진에 기여한다고 보고하였다. 야콘 식초는 제2형 당뇨 마우스의 인슐린 민감성 개선을 통해 혈당과 식후 혈당개선에 효과적이라는 보고(Lee 등, 2012)가 있으며, 오이 식초는 급성으로 알코올을 투여한 흰쥐의 간 조직 중 알데히드 탈수소효소의 활성을 높여 혈장 중 아세트알데히드 농도를 효과적으로 낮추어 숙취 해소에 효과적이라는 보고(Hong 등, 2012b)도 있다. 천연 발효식초는 다양한 종류의 폴리페놀 화합물을 함유하며 산화적 스트레스로 인한 만성 대사성 질환의 발생과 역의 상관성이 입증되어 있어 가장 편리하고 보편적으로 활용할 수 있는 대표적인 기능성 식품으로 인지되면서 조미식품의 범주를 넘어 소비자의 선호도가 높은 기능성 건강식품으로 주목받고 있다.

식초의 품질은 원료의 종류, 사용균주, 제조방법, 발효 조건, 숙성정도 등에 따라 달라지고, 초산의 함량, 유기산과 유리아미노산의 조성 등은 맛에 영향을 미치게 된다(Kim 등, 2013b). 식초의 발효 및 숙성 조건에 많은 인자들이 관여하고 있으므로 식초는 제조 조건이나 완성된 식초의 기능성 등 다양한 관점에서 연구의 대상이 되고 있고, 더 많은 연구들이 추진되어야 할 필요성이 있다.

본 연구에서는 기능성 소재를 활용한 식초 개발 연구의 일환으로 섬애약쑥을 소재로 한 숙성 식초 제조방법을 개발하고자 하였다. 섬애약쑥은 2013년 산림청에 품종보호 등록(제42호)된 남해군 고유의 품종으로(Shin 등, 2018) 다른 쑥에 비해 기능성 성분인 eupatilin은 약 20%, jacosidin은 2배 정도 더 높고(Hwang 등, 2014), 간기능

개선과 항산화 효소에 의한 간보호 활성 및 신경보호 효과를 가지는 것으로 보고되어 있다(Shin 등, 2017). 섬애약쑥의 유효성분은 물보다는 주정 추출물에 더 용출량이 많고, 덩음쑥에서 항산화활성 등 기능성이 더 높은 것이 확인되어 있으므로(Kang 등, 2017) 본 연구에서는 이에 기초하여 음건한 쑥의 물 추출물과 주정 첨가균을 대조군으로 하고, 덩음쑥 주정 추출물의 첨가 농도를 달리해 초산발효 식초를 제조하면서 품질관련 인자들을 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료

섬애약쑥(*Seomaeyaksuk*, *Artemisia argyi* H.)은 경남 남해군에서 재배된 것을 6월 하순경 채취하여 흐르는 물에서 2회 세척한 후 통풍이 잘 되는 실내에서 뒤집어 주면서 완전건조시킨 것을 음건쑥으로 하였다. 덩음쑥은 음건쑥을 길이 3 cm 정도로 절단하여 160°C에서 30분간 건열 덩음 처리한 것을 사용하였다. 음건쑥과 덩음쑥은 각각을 밀봉하여 상온에서 보관하면서 시료 제조에 사용하였다.

발효시 첨가되는 맥아(푸른들농산(주), Andong, Korea)는 시판되는 것을 구입하여 분쇄기로 한번 더 분쇄한 후 균일하게 체질한 고운분말을 사용하였다. 주정은 우리주정(주)사(Busan, Korea)의 95% 발효주정을 사용하였다.

초산발효균주 및 추출물의 제조

본 연구진이 식초로부터 분리하여 동정하고 보관 중인 *Acetobacter pasteurianus* A8을 GYCEA(3% glucose, 0.5% yeast extract, 1% CaCO₂, 4% ethanol, 1.5% agar) 배지에서 계대배양하여 발효 종균으로 사용하였다. 옛기름 분말 200 g을 정제수 1 L에 현탁시켜 60°C에서 2시간 동안 당화시킨 후 여과하여 제조한 당화액에 초산 발효 균주를 접종하고, 30°C의 진탕배양기(IS-971RF model, Jeiotech Co., Seoul, Korea)에서 160 rpm으로 3일간 진탕배양한 것을 초산 발효용 starter로 사용하였다.

초산균의 영양원으로 첨가할 맥아추출물은 체에 쳐 균질화한 맥아 분말에 무게 대비 10배의 정제수를 가하여 진탕 교반한 후 여과하여 사용하였다. 음건쑥 물 추출물과 덩음쑥 주정 추출물을 각각 제조하여 식초 제조에 이용하였다. 음건쑥 물 추출물은 쑥 무게 대비 20배의 물을 가하여 상온에서 24시간 정치 추출한 후 121°C, 15 psi의 압력에서 15분 동안 멸균처리한 것을 여과한 다음 멸균수를 이용해 5.5 °Brix로 농도를 조정하여 사용하였다. 주정 추출물은 예비 실험을 통해 30 - 90% 주정을 가하여 추출한 추출물 중의 이화학적 특성을 분석한 결과에 기초하여 70% 주정을 사용하였으며, 덩음쑥 무게대비 30배의 70% 주정을 가하여 24시간 정치 추출한 후 여과하여 대용량 농축기

(rotavapor R-220, Buchi, Flawil, Switzerland)에서 에탄올을 완전히 제거하고 5.5 °Brix로 조정된 것을 사용하였다.

식초 발효물 제조

쭈 식초는 음건쭈 물추출물을 사용한 대조군(CO), 뒤음쭈 70% 주정 추출물에 멸균수를 가하여 2.75 °Brix로 희석하여 첨가한 SEE-0.5군과 5.5 °Brix의 주정 추출물 사용군(SEE-1.0)으로 나누어 제조하였다. 즉, 각각의 쭈 추출물과 10% 맥아 추출액을 동량으로 혼합하였고, 여기에 알코올 발효를 거치지 않고 초산발효부터 진행하기 위하여 모두 동일하게 발효주정(Woori ethanol supplies company, Busan, Korea)을 가해 알코올 농도를 6%로 조정하였다. 각각의 발효 혼합물에 총 부피 대비 5%의 starter를 접종한 후 30°C에서 25일간 정지배양하면서 5일 간격으로 시료를 취하였다.

pH 측정

pH는 시료 5 g에 증류수를 가해 50 mL로 만든 다음 잘 혼합한 후 여과지(Filter paper, No. 2, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 여액을 시료로 하여 pH meter (Model 720, Thermo Orion, Waltham, MA, USA)로 측정하였다.

총페놀화합물 및 플라보노이드 정량

총페놀화합물의 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리로 Folin-Denis 방법(Gutfinger, 1981)을 이용하였다. 여과지로 여과한 식초액 1 mL에 Folin-Ciocalteu's 시약 0.5 mL를 넣고 3분 후 10% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL씩을 가한 후 혼합하여 실온의 암실에서 1시간 정치한 다음 분광광도계(Libra S 35, Biochrom, Cambridge, England)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총페놀화합물의 함량을 계산하였다.

총플라보노이드 함량은 Moreno 등(2000)의 방법에 따라 시료액 1 mL에 10% aluminium nitrate 0.2 mL, 1 M potassium acetate 0.2 mL 및 80% ethanol 4.1 mL를 차례로 가한 후 혼합하여 실온의 암실에서 40분간 정치한 다음 분광광도계(Libra S 35, Biochrom)를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma-Aldrich Inc.)을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총플라보노이드 함량을 계산하였다.

유기산 함량 분석

각각의 시료를 여과지로 여과한 후 여액을 취하여 0.45 µm membrane filter로 재여과한 다음 HPLC(1260 infinity, Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다. 분석용 컬럼

은 Watchers 120 ODS-BP(4.6×250 mm, 5 µm, Watchers, Daiso Chemical Co., Tokyo, Japan)를 사용하였고, 이동상 용매는 0.1% H₃PO₄ 수용액을 0.5 mL/min의 속도로 주입하였으며, 분석온도는 30°C를 유지하였고, 10 µL의 시료를 주입하여 210 nm에서 UV 검출기를 이용하여 검출하였다. 총 11종의 유기산(citric acid, oxalic acid, tartaric acid, formic acid, malic acid, glutaric acid, lactic acid, acetic acid, fumaric acid, succinic acid, propionic acid) 표준물질을 시료와 동일한 조건에서 분석하여 머무름 시간을 비교해 확인하였으며, 각각의 검량곡선으로부터 그 함량을 산출하였다.

Jaceosidin 및 eupatilin 함량 분석

각각의 시료 1 g에 100% ethanol 20 mL를 가하고, 30분간 sonication하여 추출하였으며, 추출액은 원심분리기(Combi-514R, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상정액을 취하여 0.45 µm syringe filter로 여과하여 HPLC(1260 infinity, Agilent)로 분석하였다. 분석용 컬럼은 Zorbax SB-C₁₈(4.6×250 mm, 5 µm, Agilent)을 사용하였고, 이동상은 (A) 0.1% formic acid containing water와 (B) 0.1% formic acid containing acetonitrile을 시간에 따라 gradient로 용리하여 분석하였다. 이동상의 속도는 1.0 mL/min, 시료 주입량은 10 µL, UV 검출기 파장은 340 nm로 설정하였다(Kang 등, 2017).

향기성분 분석

식초 20 mL에 diethyl ether를 가하여 진탕 추출한 다음 용매층을 모아 1 mL가 되도록 질소 농축한 것을 가스크로마토그래피질량분석기(GC-MSD, 7890A GC system-5975C inert MSD with Triple-Axis detector, Agilent)로 분석하였다. HP-5MS(30 m× 0.25 mm×0.25 µm, Agilent) 컬럼을 사용하여, 초기 오븐 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후에 5°C/min의 속도로 승온시켜 160°C에서 10분간 유지하다가 6°C/min의 속도로 승온시켜 최종온도 280°C에서 5분간 유지하였고, carrier gas는 helium(1.0 mL/min)을 사용하였다. MS의 이온화는 70 eV에서 실행하였고, 분석 mode는 splitless로 하였다. 분석된 물질의 확인은 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 통하여 실시하였다.

항산화활성 평가

시료의 항산화활성은 2-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)(ABTS) 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거활성을 통하여 평가하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 Re 등(1999)의 방법에 따라 7 mM의 ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12 - 16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액을 사용하

였다. ABTS 용액 100 μ L에 시료액 100 μ L를 혼합하고, 실온에서 5분간 반응시킨 다음 효소반응분광광도계 (VictorX3, Perkin-Elmer Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거활성은 DPPH에 대한 전자공여 활성으로 나타낸 것으로 에탄올에 용해한 DPPH 액과 시료액 각각을 150 μ L씩 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois, 1958).

각각의 라디칼 소거활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도비로 계산하여 %로 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 실시하였으며, 실험결과는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, SPSS 18.0 (IBM Corodrtaion, Endicott, NY, USA)을 사용해 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 시행하여 통계적 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

pH 변화

섬애약쑥 물추출물과 주정추출물의 농도를 달리하여 제조한 식초의 pH와 산도는 Table 1과 같다. 식초 제조 직후의 pH는 4.52 - 4.75의 범위이던 것이 모든 시료에서 발효기간에 따라 감소하여 발효 25일에는 3.0 - 3.14의 범위로 시판 식초들의 pH는 2.39 - 3.60이라는 보고(Na 등, 2013)와 일치하여 섬애약쑥 식초의 발효가 완료되었음을 확인하였다. 숙성기간 동안 섬애약쑥 물추출물이 첨가된

식초의 pH는 33%가 감소하였으며, SEE-0.5는 33.9%가 감소하여 산성화되는 경향이였다. SEE-1.0은 pH가 점차 감소하여 10일에 3.25이던 것이 발효 15일에 다시 3.66으로 증가한 이후 감소하였으나, 발효 25일에는 SEE-0.5군과 유의적인 차이가 없었다.

흑마늘의 첨가 농도를 달리하여 제조한 발효식초의 pH는 초산 발효 전 4.42 - 4.69의 범위이던 것이 발효 초기 일부 증가하는 경향을 보인 이후 발효 25일 후에는 3.88 - 4.46까지 감소하였다는 보고(Seo 등, 2016)와 무독화 율 발효액을 첨가하여 제조한 식초의 초기 pH는 3.46 - 3.69이던 것이 발효 10일째에는 2.87 - 3.06으로 감소하였다는 보고(Kim 등, 2016)는 본 연구의 결과와 동일한 경향이였다. Kim 등(2012)도 동일한 경향의 결과를 보고한 바 있는데, 홍삼 농축액의 첨가량이 많을수록 pH 감소가 늦고 최종 pH도 높았는데, 이는 홍삼의 항균작용으로 초산균의 알코올 발효 활동이 일부 저해되었기 때문이라고 보고하였다.

총페놀화합물 및 플라보노이드의 변화

섬애약쑥 물 추출물과 70% 주정 추출 농축물의 농도를 달리하여 제조한 식초의 발효 중 총페놀화합물과 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 섬애약쑥 물 추출물을 사용한 CO군은 22.91 - 28.03 mg/100 mL의 범위로 타 시료에 비해 총페놀화합물의 함량이 낮은 반면, SEE-0.5는 102.20 - 113.35 mg/100 mL, SEE-1.0은 195.46 - 213.21 mg/100 mL로 높은 함량이었다. 이러한 결과는 섬애약쑥 주정 추출 농축물을 사용함에 따라 추출물 자체의 총페놀화합물 함량(339.28 mg/100 mL, data not shown)이 높아 이에 비례하여 높게 측정된 것으로 판단된다. 발효

Table 1. Changes in pH of vinegar added with edible ethanol extract from 'Seomaeyaksuk'

Fermentation period (days)	pH		
	CO ¹⁾	SEE-0.5	SEE-1.0
0	4.52 \pm 0.01 ^{aE}	4.75 \pm 0.00 ^{cF}	4.61 \pm 0.00 ^{bD}
5	3.27 \pm 0.08 ^{aD}	3.41 \pm 0.00 ^{bE}	3.53 \pm 0.00 ^{cBC}
10	3.19 \pm 0.08 ^{aCD}	3.26 \pm 0.00 ^{aD}	3.25 \pm 0.01 ^{aAB}
15	3.15 \pm 0.07 ^{aBC}	3.20 \pm 0.00 ^{aC}	3.66 \pm 0.01 ^{bC}
20	3.06 \pm 0.02 ^{aAB}	3.18 \pm 0.00 ^{abB}	3.65 \pm 0.45 ^{bC}
25	3.00 \pm 0.02 ^{aA}	3.14 \pm 0.00 ^{bA}	3.14 \pm 0.02 ^{bA}

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and 'Seomaeyaksuk' water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol.

Each value represents mean \pm SD, n=3.

^{a-c}Means with different superscript in the same fermentation days are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-E}Means with different superscript in the same sample code are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Changes in total polyphenols and flavonoid contents of vinegar added with edible ethanol extract from ‘Seomaeyaksuk’ (mg/100 mL)

Fermentation period (days)	Total polyphenols			Flavonoid		
	CO ¹⁾	SEE-0.5	SEE-1.0	CO	SEE-0.5	SEE-1.0
0	28.03±0.57 ^{ad}	113.35±0.08 ^{bd}	213.21±0.14 ^{cd}	8.71±1.26 ^{ae}	49.35±0.73 ^{be}	73.48±0.82 ^{ce}
5	25.57±0.61 ^{ac}	110.23±1.30 ^{bc}	202.51±1.24 ^{cc}	6.81±0.00 ^{ad}	40.46±0.27 ^{bd}	61.89±0.27 ^{cb}
10	24.31±0.68 ^{ab}	106.92±0.67 ^{bb}	201.21±0.21 ^{cc}	5.54±0.27 ^{ac}	36.02±0.55 ^{bc}	61.73±0.73 ^{cb}
25	23.41±1.34 ^{aa}	106.47±1.18 ^{bb}	201.26±1.19 ^{cc}	5.22±0.34 ^{abc}	35.38±0.48 ^{bc}	61.25±0.27 ^{cb}
20	23.13±0.21 ^{aa}	105.68±0.09 ^{bb}	198.21±0.92 ^{cb}	4.27±0.27 ^{ab}	33.48±0.25 ^{bb}	61.10±0.48 ^{cb}
25	22.91±0.54 ^{aa}	102.20±0.28 ^{ba}	195.46±0.27 ^{ca}	3.16±0.55 ^{aa}	31.10±0.48 ^{ba}	58.71±0.95 ^{ca}

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and ‘Seomaeyaksuk’ water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol.

Each value represents mean±SD, n=3.

^{a-d}Means with different superscript in the same fermentation days are significantly different at p<0.05.

^{A-D}Means with different superscript in the same sample code are significantly different at p<0.05.

시간이 경과함에 따라 총페놀화합물의 함량은 감소하는 경향으로 발효 전에 비해 발효 25일에 CO군은 18%가 감소하였으며, SEE-0.5군은 9.8%, SEE-1.0군은 8.3%가 감소하였다.

Lee 등(2014)은 으름열매를 첨가하여 발효한 식초의 총 폴리페놀 함량은 으름열매의 첨가량이 많을수록 유의적으로 높다고 하였으며, Sim 등(2016)은 흑마늘의 첨가량을 달리하여 제조한 식초의 발효 초기 총페놀화합물의 함량은 흑마늘의 첨가량이 비례하며, 최종 발효 후에는 감소하는 경향이었다고 보고하였는데, 이는 본 연구의 결과와 일치하는 경향이였다.

섭에약썩 추출물을 첨가한 식초의 플라보노이드 함량은 추출물의 첨가량에 비례하여 증가하였으나, 발효기간에 따라서는 감소하는 경향이였다. 섭에약썩 물 추출물을 첨가한 CO군의 플라보노이드 함량은 3.16 - 8.71 mg/100 mL로 낮은 반면, 주정 추출물을 첨가한 SEE-0.5 및 SEE-1.0군에서는 각각 31.10 - 49.35 mg/100 mL 및 58.71 - 73.48 mg/100 mL로 정량되었다. 플라보노이드 함량은 발효 기간이 경과할수록 감소하는 경향이었는데, 발효가 진행되면서 고분자 화합물이 분해되기 때문으로 판단된다.

섭에약썩의 채취시기 및 가공방법에 따른 이화학적 성분 분석결과(Choi 등, 2015) 플라보노이드 함량은 3.26±0.02 g/100 g과 0.87±0.02 g/100 g으로 음건시 약 4배 정도 더 높은 함량이라고 하였고, Choi 등(2006)은 썩의 주요 생리활성 물질로서 총페놀화합물과 플라보노이드는 그 품종에 따라 차이를 가지며, 동일한 품종이라도 온도나 습도와 같은 생육조건에 따라서도 차이를 나타내는데, 분

석된 100종의 썩 중 총페놀화합물의 함량이 900 mg/100 g 이상인 것은 20종, 400 - 800 mg/100 g의 중간값을 나타내는 것이 65종, 400 mg/100 g 이하가 15종이며, 플라보노이드 함량도 82.9 - 852.2 mg/100 g으로 최대 10배 이상의 편차를 보인다고 하였다.

Jaceosidin 및 eupatilin 변화

썩에 함유되어 있는 플라보노이드는 항산화, 항암 활성, 항염증 작용, 세포 보호작용 등 다양한 약리작용을 나타내며 대표적인 플라보노이드로 apigenin, jaceosidin, eupatilin 및 eupafolin 등이 알려져 있다(Lee 등, 2018). 이들 플라보노이드 중 섭에약썩에 그 함량이 높은 것으로 알려진 jaceosidin과 eupatilin 함량 변화를 식초의 발효기간 동안 분석한 결과는 Table 3과 같다.

Jaceosidin은 low density lipoprotein(LDL)의 산화를 억제하고(IC₅₀= 10.2 μM), 활성산소의 생성과 NF-κB의 활성 및 nitric oxide(NO)의 생성을 억제하며, inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 발현을 억제하여 항산화 및 항염증 활성을 나타낸다고 보고(Han 등, 2009)되어 있다.

썩 물추출물을 첨가한 식초에서 jaceosidin은 불검출이었고, SEE-0.5 시료와 SEE-1.0 시료에서는 jaceosidin 함량이 각각 1.51 - 3.00 mg/L와 4.75 - 8.46 mg/L의 범위로 측정되었다. 발효기간에 따른 jaceosidin 함량은 감소하는 경향으로 SEE-0.5 시료는 발효 25일에 1.51 mg/L로 약 50%가 감소하였고, SEE-1.0 역시 43% 감소하였다.

썩 식초에 함유된 eupatilin은 jaceosidin의 경향과 유사하게 썩 물추출물 첨가 식초에서는 검출되지 않았고 주정추출

Table 3. Changes in jaceosidin and eupatilin contents of vinegar added with edible ethanol extract from 'Seomaeyaksuk' (mg/L)

Fermentation period (days)	Jaceosidin			Eupatilin		
	CO ¹⁾	SEE-0.5	SEE-1.0	CO	SEE-0.5	SEE-1.0
0	ND	3.00±0.04 ^F	8.46±0.01 ^E	ND	1.39±0.10 ^F	4.56±0.00 ^D
5	ND	1.83±0.01 ^B	5.97±0.01 ^C	ND	0.82±0.03 ^C	2.77±0.11 ^C
10	ND	2.57±0.01 ^E	4.75±0.03 ^A	ND	0.90±0.04 ^D	2.20±0.07 ^A
15	ND	2.16±0.01 ^D	5.53±0.03 ^B	ND	0.71±0.03 ^B	2.50±0.08 ^B
20	ND	2.04±0.01 ^C	6.08±0.01 ^D	ND	0.67±0.03 ^B	2.74±0.09 ^C
25	ND	1.51±0.00 ^A	5.55±0.03 ^B	ND	0.40±0.00 ^A	2.46±0.04 ^B

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and 'Seomaeyaksuk' water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol.

Each value represents mean±SD, n=3.

^{A-F}Means with different superscript in the same sample code are significantly different at p<0.05.

물 첨가군에서는 검출되었다. Eupatilin 함량은 jaceosidin 함량보다는 낮았는데, 발효 0일차에 SEE-0.5는 1.39 mg/L, SEE-1.0은 4.56 mg/L로 검출되었다. 발효 5일에 eupatilin의 감소 폭이 가장 컸는데, SEE-0.5군에서는 0.82 mg/L로 0일차에 비해 41%가 감소하였으며, SEE-1.0은 39%가 감소하였고, 이후 계속 감소하여 발효 25일에는 0.40 mg/L 및 2.46 mg/L 였다. 앞서 제시한 플라보노이드 함량도 발효기간이 경과할수록 유의적으로 감소하였는데, 쑥의 주요 플라보노이드 화합물인 jaceosidin과 eupatilin도 동일한 경향으로 발효기간의 경과와 더불어 그 함량은 감소하였다.

Eupatilin은 쑥의 대표적인 약용성분 중의 하나로 항염, 항염증, 항알러지 효과를 가지며, 세포주기 조절인자의 발현을 억제하여 유방암 세포의 성장을 억제하고, 위암세포에서는 apoptosis를 유도함으로써 항암효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Choi 등, 2009).

유기산 변화

쑥 추출물의 종류를 달리하여 식초를 제조 후 유기산의 변화를 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 유기산은 분석된 11종 중 총 7종이 검출되었는데, acetic acid 함량이 가장 높고, succinic acid, citric acid 및 propionic acid 순으로 높았다. 유기산의 총량은 발효 25일에 SEE-1.0군에서 6,604.78 mg/100 mL로 가장 높았고 다음으로 CO군(5,930.53 mg/100 mL)과 SEE-0.5군(5,114.23 mg/100 mL)의 순이었다. 첨가된 추출물의 종류에 따라 유기산의 총량 변화에 차이가 있었는데, 물 추출물을 첨가한 CO군의 경우 발효 5일에 가장 큰 폭으로 유기산의 함량이 증가한 후 발효 15일까지 증가하다가 그 이후부터는 감소하는 경향이었다. 반면, SEE-0.5군은 발효 10일에 가장 큰 폭으로 유기산의 총량이

증가한 후 15일 이후부터는 일정 수준으로 그 함량이 유지되었다. SEE-1.0군의 유기산 증가 경향은 SEE-0.5군과 유사하였으나, 발효 전부터 유기산의 함량이 높아 발효 종료 후 총 유기산의 함량이 가장 높았다.

식초의 발효 과정을 거치면서 acetic acid의 경우 ethanol의 산화로 그 함량이 급격히 증가하지만, 다른 유기산들은 초산균의 생육에 있어서 탄소원으로 제공되기도 하므로 오히려 감소가 일어나기도 한다고 보고(Jeong과 Cha, 2016)되어 있는데, 본 연구에서 CO군의 유기산 함량이 15일 이후에 감소한 것도 발효 초기에는 초산균의 생육이 왕성하다가 상대적으로 유기물이 적은 발효조건에서 생육을 위해 유기산을 탄소원으로 이용하였기 때문으로 추정된다.

Lactic acid는 초산 발효 전에는 360.27 - 732.17 mg/100 mL의 범위로 검출되었으나, 발효 5일 이후에는 모든 시료에서 검출되지 않았다. 유기산 중 함량이 가장 높았던 acetic acid는 발효 25일에 CO군에서 4,700.82 mg/100 mL, 섬애약쑥 주정 추출물을 첨가하여 제조한 SEE-0.5군과 SEE-1.0군에서는 각각 3,808.45 mg/100 mL 및 4,701.14 mg/100 mL로 정량되었다. 다음으로 함량이 높았던 succinic acid는 발효 25일에 SEE-1.0군에서 1033.14 mg/100 mL로 가장 높았고, CO군이 677.49 mg/100 mL로 가장 낮은 함량이었다.

식초의 유기산은 사용되는 원료에 따라서도 차이가 있는데, 시판 감식초에서는 acetic acid의 함량이 가장 높고, 그 외 유기산으로는 tartaric acid만이 검출되었으나, 시판 흑초에서는 acetic acid와 citric acid의 함량이 높았고, malic acid와 tartaric acid가 검출되었다고 보고(Hwang과 Pyo, 2016)되어 있다.

Kim 등(2013b)도 acetic acid를 제외한 식초의 주된 유기

Table 4. Changes in organic acids contents of vinegar added with edible ethanol extract from 'Seomaeyaksuk' (mg/100 mL)

Sample code ¹⁾	Fermentation period (days)	Oxalic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid	Fumaric acid	Propionic acid	Total
CO	0	49.09±0.66	509.12±1.62	437.20±8.80	127.26±3.90	589.64±4.13	4.14±0.12	267.12±4.44	1,983.57
	5	77.66±1.28	ND	4,379.37±13.97	314.80±5.42	704.71±4.87	3.84±0.27	192.83±3.08	5,673.21
	10	81.01±1.51	ND	4,929.80±17.77	320.70±6.32	720.76±10.95	4.01±0.07	184.68±3.55	6,240.96
	15	84.75±0.95	ND	5,019.93±13.42	333.89±2.51	746.81±9.54	4.22±0.06	193.26±2.44	6,382.86
	20	75.12±0.57	ND	4,635.96±5.90	299.62±2.11	661.94±5.84	3.72±0.03	170.27±6.15	5,846.63
	25	76.67±0.25	ND	4,700.82±4.49	303.68±1.12	677.49±2.87	3.76±0.01	168.11±1.14	5,930.53
SEE-0.5	0	176.49±1.19	360.27±2.11	492.51±3.18	105.23±2.01	686.98±7.50	3.41±0.036	262.90±1.96	2,087.79
	5	182.39±1.67	ND	1,484.64±5.63	130.09±1.92	704.51±9.82	3.43±0.04	224.73±1.63	2,729.79
	10	190.50±1.09	ND	3,221.02±4.29	147.29±1.82	705.17±5.71	3.58±0.04	218.54±1.60	4,486.10
	15	195.33±1.47	ND	3,838.21±8.23	157.47±0.68	700.72±6.39	3.63±0.01	204.16±0.71	5,099.52
	20	200.54±0.65	ND	3,887.27±4.97	162.83±1.37	721.85±5.61	3.71±0.01	207.71±0.38	5,183.91
	25	205.53±0.53	ND	3,808.45±4.79	169.08±1.06	725.40±3.85	3.82±0.02	201.95±1.09	5,114.23
SEE-1.0	0	290.38±1.38	732.17±1.82	1,119.80±2.23	421.21±2.91	491.19±2.24	9.37±0.05	392.69±1.15	3,456.81
	5	283.16±7.68	ND	3,270.52±4.66	147.11±2.05	664.60±7.30	8.76±0.11	378.66±1.00	4,752.81
	10	284.79±0.91	ND	4,280.34±5.03	176.75±1.82	964.95±4.29	8.54±0.02	376.83±1.22	6,092.2
	15	292.46±2.33	ND	4,637.08±6.90	180.68±2.06	982.10±1.39	8.82±0.18	372.64±2.91	6,473.78
	20	297.43±1.26	ND	4,630.61±6.15	182.40±0.30	1,019.70±2.25	9.18±0.18	380.38±1.24	6,519.7
	25	298.98±1.65	ND	4,701.14±6.75	187.83±1.76	1,033.14±8.07	9.19±0.14	374.50±0.65	6,604.78

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and 'Seomaeyaksuk' water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix 'Seomaeyaksuk' 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol. Each value represents mean±SD, n=3.

산은 원료에 따라 차이가 있으며, 총 유기산에 대한 acetic acid의 비율(A/T)은 초산발효만 진행된 식초에서 알코올 발효 및 초산 발효가 모두 진행된 식초에 비해 더 높다고 보고한 바 있다. Chung 등(2015)은 시판 천연발효 식초의 A/T 비율이 0.81과 0.83으로 낮았는데, 이 경우 고유의 맛을 지닌 다양한 유기산의 함량이 상대적으로 더 높아 특유의 맛이 예측되지만 식초의 유기산 종류와 함량은 발효에 사용하는 미생물의 종류와 발효방법이 상이하므로 제품에 따라 차이가 있다고 보고한 바 있다. 본 연구의 결과에서 A/T 비율은 0.71 - 0.79로 상기의 보고에 비해 더 낮아 acetic acid 대비 다른 유기산의 비율이 더 높으며, 이 역시 섬애약삭 식초의 풍미를 더 풍부하게 하는데 도움을 줄 것으로 예상된다.

식초의 주요 성분인 acetic acid는 신맛을 제공하는 주체가 될 뿐만 아니라, 콜레스테롤과 지방산 합성의 중심 물질

인 acetyl-CoA와 HMG-CoA의 양을 감소시킴으로써 mRNA 수준에서 sterol regulatory element-binding protein (SREBP)의 발현을 억제하며, ATP citratelase의 활성을 감소시키는 역할을 하게 된다(Kim 등, 2013a). 또한, acetic acid는 간에서 콜레스테롤과 지방산의 형성을 억제하고, 지방산의 분해를 촉진함으로써 근육의 손실 없이 지방을 감소시키므로 하루에 15 mL 이상의 식초 급이는 체중, body mass index(BMI) 및 체지방 비율을 감소시키는 것으로 보고되어 있다(Moon 등, 2010; Samad 등, 2016).

향기성분 변화

식초의 향미는 미생물 작용으로 생성되는 다양한 휘발성 성분이 기여하는데, 초산과 그 외의 acid, aldehyde, alcohol, ketone, ester류 화합물 등이 상호작용에 의해 특유의 향미를 형성하는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2016).

Table 5. Contents of volatile flavor compounds of vinegar added with edible ethanol extract from ‘Seomaeyaksuk’ (peak area, %)

RT	Compound	Sample code ¹⁾		
		CO	SEE-0.5	SEE-1.0
2.733	Acetic acid	63.9	66.1	54.0
3.363	Butanoic acid	0.2	0.5	-
14.343	Phenylethyl alcohol	0.3	0.2	0.5
15.911	Fumaric acid	0.2	0.1	-
18.480	Benzoacetic acid	0.1	0.1	0.9
20.706	Benzenepropanoic acid	0.5	0.2	0.9
21.233	Eugenol	0.2	0.2	0.8
29.341	Tetradecane	0.2	0.2	0.2
29.851	Allopurinol	3.8	0.5	0.3
30.119	Methyl jasmonate	0.5	0.3	1.9
32.541	Azulene	-	-	0.5
35.005	Tetradecanoic acid (myristic acid)	0.3	0.5	0.7
35.425	Octadecane	0.1	0.1	0.3
35.944	Cyclohexanol	-	-	0.8
36.287	Tetradecanoic acid	0.3	0.3	0.7
36.545	Naphthalene	-	-	0.6
39.120	Hexadecanoic acid	11.4	7.4	10.3
39.783	Hexadecanoic acid ethyl ester	0.4	2.5	1.0
40.284	Phytol	1.2	1.3	1.1
42.354	9,12,15-Octadecatrienoic acid (linolenic acid)	12.6	15.1	15.7
42.854	Linolenic acid ethyl ester	1.6	2.2	2.0
43.153	Octadecanoic acid	1.4	0.8	3.1
48.858	Eupatilin	0.8	1.4	3.7
Total		100	100	100

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and ‘Seomaeyaksuk’ water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol.

섭에약썩 물 추출물과 주정 추출물을 첨가하여 제조한 식초의 향기성분을 분석한 결과는 Table 5와 같다. CO와 SEE-0.5군에서는 각각 20종씩 SEE-1.0군에서는 21종이 검출되었는데, 주요 향기성분으로는 acetic acid가 54.0 - 66.1%의 비율로 첨가되어 있었고, 9,12,15-octadecatrienoic acid가 12.6 - 15.7%, hexadecanoic acid가 7.4 - 11.4%의 비율로 검출되었으며, 그 외 미량성분으로 allopurinol, eugenol, eupatilin, phytol, methyl jasmonate 등이 검출되었다.

Choi 등(2005)의 연구에 의하면 썩의 주요 향기성분 중 탄화수소류로는 사자발썩에서 tetradecane이 가장 많았으며 황해썩은 상대적으로 적었고, 알코올류는 사자발썩에서 nerolidol과 elemol이 검출되었고, 황해썩은 eugenol과 nerolidol이 높게 검출되는 등 썩의 종류에 따라 향기성분이 상이한 것으로 보고되어 있다. 본 연구 결과 썩 식초의 주요 향기성분으로는 eugenol, tetradecane, methyl jasmonate, eupatilin 등이 검출되어 상기의 보고에 비해 차이가 있었는데

데, 이는 식초로 발효되는 과정에서 숙 자체의 향기성분들이 분해되거나 변화되었기 때문으로 추정된다.

Jeong 등(2011)은 시판 과실식초의 휘발성 화합물은 산류, 에스테르류, 알코올류, 알데이드류, 테르펜류, 케톤류, 방향족 화합물 등으로 50 - 106종이 검출되었는데, 이 중 모든 시료에서 신맛을 내는 acetic acid의 함량이 가장 높아 전체 성분 중 56 - 81% 정도를 차지한다고 보고한 바 있다. 현미 식초의 주요 향미성분은 균주에 따라 차이를 나타내기는 하지만 모두 acetic acid의 비율이 가장 높으며, 숙성발효에서는 식초의 품질에 좋지 못한 영향을 미치는 이취성분이 검출되는 것에 반해 정치 배양시는 사과와 포도향의 주성분이 되는 성분들이 높게 나타나, 깊고 풍부한 향을 내는데 도움이 되는 것으로 보고되어 있다(Yoon 등, 2010). 사과식초의 경우, 휘발성분은 원료인 사과의 고유한 향에서 이행되고, 일부는 발효미생물의 작용으로 생성되는데, acetic acid가 45.93 - 65.46%의 범위로 가장 높은 함량이라고 보고되어 있다(Jo 등, 2016). 이들의 연구 결과와 본 연구의 결과를 비교해 볼 때 식초의 향미성분 중 acetic acid의 함량이 가장 높은 것은 모두 일치하는 경향이었으나, 그 외의 부가적인 향미성분의 종류와 양은 서로 상이하였는데, 이는 원료의 종류와 발효균주, 발효방법 등에 따른 차이로 생각된다.

항산화 활성 변화

섬애약썩 주정 추출물의 농도를 달리하여 제조한 식초의 발효기간에 따른 항산화 활성을 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성을 통해 측정된 결과는 Table 6에 나타내었다. 섬애약썩 물 추출물로 제조한 CO군의 ABTS 라디칼 소거활성은 31.96 - 47.80%로 낮았으며, 발효 0일에 47.8%였으

나 5일 이후부터는 33.55% 미만으로 활성이 낮아졌다. 반면 SEE-0.5와 SEE-1.0군은 발효 초기부터 90% 이상으로 CO군에 비해 활성이 약 2배 더 높았으며, SEE-0.5군에 비해 SEE-1.0군의 활성이 더 높았다. 모든 실험군에서 항산화 활성은 발효기간이 경과할수록 낮아지는 경향이었는데, 이러한 결과는 총페놀화합물, 플라보노이드, jacosidin 및 eupatilin의 감소에 따른 결과로 추측된다.

DPPH 라디칼 소거 활성 역시 ABTS 라디칼 소거활성과 유사한 경향이었으며, 발효기간이 경과할수록 활성이 점차 감소하였다. 썩 물 추출물로 제조한 CO군의 활성은 13.58 - 21.82%의 범위로 타 시료에 비해 소거활성이 낮았으며, SEE-0.5군의 활성은 48.10 - 68.37%, SEE-1.0군은 76.93 - 86.13%의 범위였다.

Hong 등(2012a)의 연구에서 복분자 식초의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 각각 65%와 95%로 높게 나타났으며, 특히 ABTS 라디칼 소거활성이 DPPH 라디칼 소거활성보다 높게 측정되었는데, 이러한 차이는 자유 라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS에 결합하는 페놀물질의 종류가 다르기 때문이라고 하였다. 본 연구에서도 DPPH 라디칼 소거활성보다 ABTS 라디칼 소거활성이 더 높아 동일한 경향이였다.

Seo와 Yun(2008)이 사철썩을 hexane, ether, ethyl acetate, methanol 및 water로 연속 추출물을 제조한 후 추출물별 DPPH 라디칼 소거능을 IC₅₀ 값으로 확인한 결과, ethyl acetate 추출물에서 1.56 - 2.24 µg/mL로 활성이 가장 높고, water 추출물은 12.93 - 82.91 µg/mL로 활성이 가장 낮아 추출용매에 따라 활성이 상이하다고 보고한 바 있다. 본 연구의 결과에서도 물 추출물과 70% 주정 추출물로 각각 제조한 식초에서 활성에 차이가 있는 것은 추출에 사용된

Table 6. ABTS and DPPH radical scavenging activity of vinegar added with edible ethanol extract from ‘Seomaeyaksuk’ (%)

Fermentation days	ABTS radical scavenging activity			DPPH radical scavenging activity		
	CO ¹⁾	SEE-0.5	SEE-1.0	CO	SEE-0.5	SEE-1.0
0	47.80±0.84 ^{ab}	96.56±0.74 ^{bf}	97.45±0.03 ^{ce}	21.82±1.20 ^{ad}	68.37±0.60 ^{be}	86.13±0.97 ^{cc}
5	33.55±0.65 ^{aA}	94.34±0.12 ^{be}	95.18±0.03 ^{cd}	17.05±1.35 ^{ac}	64.47±0.12 ^{bd}	85.46±0.38 ^{cc}
10	33.29±0.38 ^{aA}	92.25±0.26 ^{bd}	94.97±0.10 ^{cc}	16.15±0.44 ^{abc}	64.43±0.50 ^{bd}	83.59±0.28 ^{cb}
25	33.22±0.41 ^{aA}	91.60±0.29 ^{bc}	94.92±0.05 ^{cc}	15.91±0.63 ^{abc}	57.51±1.02 ^{bc}	82.94±1.00 ^{cb}
20	32.44±1.53 ^{aA}	90.55±0.16 ^{bb}	93.10±0.09 ^{cb}	14.68±0.20 ^{aAb}	50.21±0.95 ^{bb}	77.51±0.83 ^{cA}
25	31.96±0.87 ^{aA}	89.71±0.00 ^{ba}	92.13±0.18 ^{cA}	13.58±0.20 ^{aA}	48.10±0.63 ^{ba}	76.93±0.29 ^{cA}

¹⁾CO, The same volume of 10% malt extract and ‘Seomaeyaksuk’ water extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-0.5, The same volume of 10% malt extract and 2.75 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol; SEE-1.0, The same volume of 10% malt extract and 5.5 °Brix ‘Seomaeyaksuk’ 70% ethanol extract mixture was adjusted the alcohol concentration to 6% with edible ethanol.

^{a - c}Means with different superscript in the same fermentation days are significantly different at p<0.05.

^{A - D}Means with different superscript in the same sample code are significantly different at p<0.05.

Each value represents mean±SD, n=3.

용매가 서로 상이하여 식초 제조의 주원료가 되는 추출물 중의 유효성분 함량과 발효 완료된 식초의 항산화 활성에 차이를 가지는 것으로 판단된다.

요 약

남해군 고유 품종 쑥인 섬애약쑥 식초 제조를 위한 숙성 조건 최적화 연구의 일환으로 음건한 쑥 물 추출물 첨가군을 대조군(CO)으로 하고, 2.75 °Brix의 덩음쑥 주정 추출물의 첨가군(SEE-0.5)과 5.5 °Brix 덩음쑥 주정 추출물의 첨가군(SEE-1.0) 각각에 종 배양한 *A. pasteurianus* A8을 발효물의 총 부피 대비 5% 첨가하여 25일간 발효시키면서 5일 간격으로 시료를 취하여 품질관련 인자들을 분석하였다. 식초제조 직후의 pH는 4.52 - 4.75였는데, 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하여 25일 후 CO군은 3.00, 쑥 주정 추출물 첨가군들은 3.14로 동일하였다. 발효 기간이 경과함에 따라 총페놀화합물의 함량은 감소하는 경향으로 발효 전에 비해 발효 25일에 CO군은 18%가 감소하였으며 SEE-0.5군은 9.8%, SEE-1.0군은 8.3%가 감소하였다. 플라보노이드 함량도 총페놀 화합물과 동일한 경향으로 변화하였으며, 발효 25일에 대조군은 3.16 mg/100 mL, SEE-0.5군은 31.10 mg/100 mL, SEE-1.0군은 58.71 mg/100 mL이었다. 쑥 물추출물을 첨가한 식초에서 jaceosidin과 eupatilin은 불검출이었고, SEE-0.5와 SEE-1.0군에서는 발효 기간의 경과와 더불어 감소하였다. 발효 25일에 jaceosidin 함량은 SEE-0.5와 SEE-1.0군에서 각각 50%와 43%가 감소하였고, eupatilin은 각각 0.40 mg/L 및 2.46 mg/L였다. 유기산은 총 7종이 검출되었는데, acetic acid 함량이 가장 높고 succinic acid, citric acid 및 propionic acid 순으로 높았다. 유기산의 총량은 SEE-0.5군에서 가장 높았고, 다음으로 CO군, SEE-1.0군의 순이었다. 식초 중의 향기성분은 CO와 SEE-0.5군에서는 각각 20종씩 SEE-1.0군에서는 21종이 검출되었는데, acetic acid가 54.0 - 66.1%로 가장 함유 비율이 높았고, 다음으로 9,12,15-octadecatrienoic acid가 12.6 - 12.7%, hexadecanoic acid가 7.4 - 11.4%의 비율로 검출되었다. SEE-0.5와 SEE-1.0군의 ABTS 라디칼 소거활성은 발효 초기부터 90% 이상으로 CO군에 비해 활성이 약 2배 더 높았으며 SEE-0.5군에 비해 SEE-1.0군의 활성이 더 높았다. DPPH 라디칼 소거 활성도 SEE-1.0군에서 가장 높았고, 다음으로 SEE-0.5군과 CO군의 순이었다. 본 실험의 결과, 섬애약쑥 주정 추출물을 첨가한 쑥 식초는 일정기간의 발효 후에는 산의 생성량은 적고, 유효성분이 오히려 감소하므로 유기산의 생성 정도나 유효성분인 총페놀화합물, jaceosidin, eupatilin의 함량과 라디칼 소거활성이 적절히 유지되는 20일 정도가 적정 발효기간으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 산업통상자원부의 지역특화산업육성사업 기술개발사업(과제번호: R0004407) 수행성과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jeong Yeon Shin <https://orcid.org/0000-0001-9832-4887>

Jung Hye Shin <https://orcid.org/0000-0002-1505-1965>

Reference

- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200 (1958)
- Cheong SR, Kim RS, Park YK, Baek SY, Yeo SH, Lee CH. Anti-obesity effect of fermented detoxified *Rhus verniciflua* vinegar supplementation in diet-induced obese rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 1771-1778 (2015)
- Choi BB, Lee HJ, Bang SK. Studies on the volatile components and biochemical characterizations of *Artemisia princeps* and *A. argyi*. *Korean J Food Nutr*, 18, 334-340 (2005)
- Choi EJ, Oh HM, Wee H, Choi CS, Choi SC, Kim KH, Han WC, Oh TY, Kim SH, Jun CD. Eupatilin exhibits a novel anti-tumor activity through the induction of cell cycle arrest and differentiation of gastric carcinoma AGS cells. *Differentiation*, 77, 412-423 (2009)
- Choi MH, Kang JR, Sim HJ, Kang MJ, Seo WT, Bae WY, Shin JH. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Sumaeyaksuk* depending on harvest times and processing methods. *Korean J Food Preserv*, 22, 399-407 (2015)
- Choi YM, Chung BH, Lee JS, Cho YG. The antioxidant activities of *Artemisia* spp. collections. *Korean J Crop Sci*, 51, 209-214 (2006)
- Chon JW, Park JK, Lee MA, Jeong MR, Han JH, Park YK. Fermented *Crataegi fructus* vinegar improves lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 1024-1031 (2009)
- Chung NH, Jo YH, Gao YP, Gu SY, Jeong YJ, Kwon JH.

- Comparison of physicochemical properties and anti-oxidant activities of naturally-fermented commercial rice vinegars produced in Korea, China, and Japan. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 1799-1805 (2015)
- Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *JAOCS*, 58, 966-968 (1981)
- Han JM, Kim MJ, Baek SH, An SJ, Jin YY, Chung HG, Baek NI, Choi MS, Lee KT, Jeong TS. Antiatherosclerotic effects of *Artemisia peinceps* Pampanini cv. Sajabal in LDL receptor deficient mice. *J Agric Food Chem*, 57, 1267-1274 (2009)
- Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J Food Preserv*, 19, 594-603 (2012a)
- 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*, 41, 927-935 (2012b)
- Hwang CR, Seo WT, Bae WY, Kang MJ, Shin JH. Physicochemical characteristics and biological activities of *Artemisia argyi* H. *J Life Sci*, 24, 377-385 (2014)
- Hwang JY, Pyo YH. Comparison of organic acid contents and xanthine oxidase inhibitory activities of commercial fruit juices and vinegars. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 1685-1690 (2016)
- Jeong EJ, Cha YJ. Changes in taste compounds during onion vinegar fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 298-305 (2016)
- Jeong EJ, Jeon SY, Baek JH, Cha YJ. Volatile flavor compounds in commercial vinegar beverages derived from fruits. *J Life Sci*, 21, 292-299 (2011)
- Jo YH, Gu SY, Chung NH, Gao YP, Kim HJ, Jeong MN, Jeong YJ, Kwon JH. Comparative analysis of sensory profiles of commercial cider vinegars from Korea, China, Japan, and US by SPME/GC-MS, E-nose, and E-tongue. *Korean J Food Sci Technol*, 48, 430-436 (2016)
- Kang JR, Kang MJ, Choi MH, Byun HU, Shin JH. Physicochemical characteristics of ethanol extract from *Artemisia argyi* H. using different preparation methods. *J Life Sci*, 27, 23-31 (2017)
- Kim DK, Baik MY, Kim HK, Hahm YT, Kim BY. Manufacture of the red ginseng vinegar fermented with red ginseng concentrate and rice wine, and its quality evaluation. *Korean J Food Sci Technol*, 44, 179-184 (2012)
- Kim DS, Hurh BS, Shin KS. Chemical characteristics and immuno-stimulatory activity of polysaccharides from fermented vinegars manufactured with different raw materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 191-199 (2015)
- Kim JS, Yeo SH, Mun JY, Baek SY. Characterization of acetic acid fermentation of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar produced by various yeast strains. *Korean J Food Preserv*, 23, 1042-1049 (2016)
- Kim JY, OK E, Kim JY, Choi KS, Kwon O. Oxidation of fatty acid may be enhanced by a combination of pomegranate fruit phytochemicals and acetic acid in HepG2 cells. *Nutr Res Pract*, 7, 153-159 (2013a)
- Kim KO, Kim SM, Kim SM, Kim DY, Jo D, 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 (2013b)
- Kim MJ, Lee SB, Choi JH, Kwon SH, Kim HD, Bang MH, Yang SA. Characteristics of fermented dropwort extract and vinegar using fermented dropwort extract and its protective effects on oxidative damage in rat glioma C6 cells. *Korean J Food Sci Technol*, 45, 350-355 (2013c)
- Ko EJ, Hur SS, Choi YH. The establishment of optimum cultural conditions for manufacturing garlic vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, 102-108 (1998)
- Lee EK, Kwon WY, Lee JW, Yoon YA, Chung KH, Song BC, An JH. Quality characteristics and antioxidant activity of vinegar supplemented added with *Akebia quinata* fruit during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 1217-1227 (2014)
- Lee JH, Kim YJ, Lee YJ, Jeong JT, Park CG, Chang JK. Crop characteristics and flavonoid contents of mugwort (*Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot). *Horticul Sci and Technol*, 36, 647-657 (2018)
- Lee KJ. Preparation of there vinegar produced through fermentation with purple-fleshed sweet potato and evaluation of its antioxidative activity. MS Thesis, Woosuk University, Korea, p 1-3 (2013)
- Lee MK, Choi SR, Lee J, Choi YH, Lee JH, Park KU, Kwon SH, Seo KI. Quality characteristics and anti-diabetic effect of yacon vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 41, 79-86 (2012)
- Moon YJ, Choi DS, Oh SH, Song YS, Cha YS. Effects of persimmon-vinegar on lipid and carnitine profiles in mice. *Food Sci Biotechnol*, 19, 343-348 (2010)

- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region Argentina. *J Ethnopharmacol*, 71, 109-114 (2000)
- Na HS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY, Ma SJ, Kim JY. Comparison of characteristics in commercial fermented vinegars made with different ingredients. *Korean J Food Preserv*, 20, 482-487 (2013)
- Park EH, Choi CY, Kwon HJ, Kim MD. Literature review on type and manufacturing methods of Korean traditional vinegar. *Food Sci and Ind*, 49, 94-99 (2016)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-1237 (1999)
- Samad A, Azlan A, Ismail A. Therapeutic effects of vinegar, a review. *Current Opinion Food Sci*, 8, 56-61 (2016)
- Seo KS, Yun KW. Antioxidant activity of extracts from *Artemisia capillaris* Thunb. and *Artemisia iwayomogi* Kitam. used as Injin. *Korean J Plant Res*, 21, 292-298 (2008)
- Seo WT, Choi MH, Sim HJ, Kim GW, Shin YM, Kang MJ. Quality characteristics of vinegar fermented with different amounts of black garlic and alcohol. *Korean J Food Preserv*, 23, 34-41 (2016)
- Shin JH, Kang MJ, Byun HU, Bae WY, Shin JY, Seo WT, Choi JS, Shin JH. Quality characteristics of fermented vinegar prepared with *Seomaeyaksuk* (*Artemisia argyi* H.) extract. *Korean J Food Preserv*, 24, 647-657 (2017)
- Shin JY, Shin JH, Kang MJ, Kang JR, Choi JS, Seo WT, Shin JH. Quality characteristics of *Seomaeyaksuk* (*Artemisia argyi* H.) vinegar using a three-step continuous fermentation method. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 47, 55-64 (2018)
- Sim HJ, Seo WT, Choi MH, Kim KH, Shin JH, Kang MJ. Quality characteristics of vinegar added with different levels of black garlic. *Korean J Food Cook Sci*, 32, 16-26 (2016)
- Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Properties of organic acids and volatile components in brown rice vinegar prepared using different yeasts and fermentation methods. *Korean J Food Preserv*, 17, 733-740 (2010)