

Physicochemical properties, phytochemicals, and biological activities of heat-treated *Elaeagnus multiflora* juice and vinegar

Kye Man Cho, Chung Eun Hwang, Su Cheol Kim, Ok Soo Joo*

Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

열처리 보리수 과즙과 식초의 이화학적 특성, phytochemicals 및 생리활성

조계만 · 황정은 · 김수철 · 주옥수*

경남과학기술대학교 식품과학부

Abstract

In this study, vinegar was produced after heat treatment of *Elaeagnus multiflora* juice and its fermentative characteristics were investigated. The heat-treated juice and vinegar of *E. multiflora* were similar in fruit color, with *b* values (redness) of 39.48 (juice) and 37.56 (vinegar). After 10 days of fermentation of *E. multiflora* fruit, the acetic acid bacteria viable cell number, pH, acidity, reducing sugar content, and alcohol content were 4.59-4.62 log CFU/mL, 3.14-3.45, 0.2-2.12%, 0.69-35.24 mg/mL, and 0.2%, respectively. The heat-treated juice and vinegar showed significantly higher radical scavenging and digestive enzyme inhibitory activities than untreated samples, and the levels of soluble phenolics, soluble flavonoids, flavan-3-ol derivatives, and phenolic and derivatives were increased. Additionally, the heat-treated vinegar contained major organic acids, such as acetic acid (21.82 mg/mL), and major flavan-3-ols and phenolic acids, such as catechin (72.24 µg/mL), catechin gallate (273.36 µg/mL), epigallocatechin gallate (68.35 µg/mL), protocatechuic acid (12.84 µg/mL), and salicylic acid (42.29 µg/mL). At 25 µL/mL treatment, DPPH and ABTS radical scavenging activities and α-glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities were 79.66%, 93.99%, 90.12%, and 64.85%, respectively. This result suggested that it is possible to produce new types of vinegar and beverages, using heat-treated *E. multiflora* juice.

Key words : *Elaeagnus multiflora*, heat-treatment, vinegar, phytochemicals radical scavenging activity, digestive enzyme inhibitory activity

서 론

보리수(*Elaeagnus multiflora*)는 보리수나무과(*Elaeagnaceae*)에 속하는 관상용으로 잘 알려진 식물로서 보리수 열매는 단맛을 가지고 있어 식용이 가능하지만 떫은맛이 강하다(1). 보리수 열매는 한방에서는 전통적으로 부종, 생리통 개선, 혈액순환 및 소화불량 등에 사용을 하고 있다(2,3). 한편, 보리수 열매는 glucose와 fructose 등의 당류가 약

13-16% 함유되어 있으며, flavan-3-ols 화합물인 catechin, epicatechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate와 epigallocatechin gallate 및 phenolic acids 유도체인 gallic acid, protocatechuic acid, salicylic acid, vanillic acid와 tannic acid 등이 함유되어 있어 자유라디칼 소거능 및 소화 효소 저해활성 등이 있는 것으로 보고되어 있다(1,4-6).

식초는 예로부터 술과 함께 가장 오래된 발효식품으로 비휘발성의 당류, 유기산, 아미노산 및 휘발성 ester 성분 등을 함유하여 독특한 방향과 신맛을 가지고 있는 대표 조미식품 중 하나이며, 조미용 이외에도 식품 방향제, 식품 보존제 혹은 치료제로 널리 사용되고 있다(7). 한편 식초는 식욕증진 혹은 소화액 분비촉진, 피로회복, 숙취해소, 혈당 강화, 비만방지, 혈압상승방지, 노화방지, 동맥경화 및 항종양 효과 등의 기능성이 있어 주목받고 있다(7,8). 국내의

*Corresponding author. E-mail : kmcho@gntech.ac.kr

Phone : 82-55-751-3272, Fax : 82-55-751-3279

Received 29 January 2018; Revised 21 February 2018;

Accepted 22 February 2018.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

식초는 주정을 원료로 발효한 식초, 곡물 4% 이상의 곡물식초 및 과즙 30% 이상의 과일식초가 유통되고 있었으나, 사과식초, 감식초 및 현미식초가 시장에서 대부분 차지하고 있고 소비자들의 건강에 대한 관심 증가로 다양한 과일을 기질로 식초 제조에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며(8-13), 역시 시장에서 다양한 과일식초들이 판매되고 있다.

따라서 본 연구에서는 우수한 생리활성물질과 다양한 생리활성을 지닌 보리수 열매를 이용한 발효식품을 개발하기 위해 열처리에 따른 보리수 과즙과 식초의 발효특성, 생리활성물질, 라디칼 소거활성과 소화효소 저해활성을 평가하였다.

재료 및 방법

재료, 시약 및 기기

보리수 열매는 2016년 6월 중순경 경남 거제시 남부면 다대리 소재 '수림농장'에서 수확한 시료를 받아 실험 재료에 사용하였다. 12종의 표준 phenolic acid 화합물인 gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, p-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, tannic acid, salicylic acid, trans-cinnamic acid chlorogenic acid, 7종의 flavan-3-ol 표준 화합물인 catechin, epicatechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate, gallic acid gallate와 epigallocatechin gallate 및 10종의 표준 유기산인 oxalic acid, tartaric acid, malic acid, ascorbic acid, acetic acid, maleic acid, citric acid, succinic acid, fumaric acid와 glutaric acid은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Folin-Ciocalteus phenol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), potassium ferricyanide, trichloroacetic acid(TCA), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ), p-nitrophenol- α -D-glucopyranoside(p-NPG), p-nitrophenol-butyrate(p-NPB) α -glucosidase(Type I: from Bakers Yeast), α -amylase(Human saliva), pancreatic lipase(Type II: porcine pancreas) 역시 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하였다. HPLC-grade H₂O, methanol, acetonitrile 그리고 glacial acetic acid는 Fisher Scientific(Fairlawn, NJ, USA)에서 구입하였다.

분광광도계는 Spectronic 2D(Spectronic 2D, Thermo Co., Petaluma, California, USA)을 사용하여 측정하였고 high pressure liquid chromatography(HPLC) system은 Agilent HPLC 1200 series(Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)를 이용하였다.

과즙 제조 및 열처리

보리수 과즙 제조 및 열처리는 Cho와 Joo(3)의 방법을

약간 변형하여 수행하였다. 간략하게 보리수 열매를 흐르는 물에 3회 세척하고 물기를 완전히 제거한 후 과즙기(HJ-7000, Hanil, Daejeon, Korea)를 사용하여 펄프와 콜로이드 상태의 액만을 치즈크로스로 여과하여 보리수 과즙을 얻었다.

보리수 과즙의 열처리는 5 L 유리 발효조에 3 L 보리수 과즙을 넣고 120°C에서 30분간 열처리하였다.

종 배양 및 식초 제조

알코올 발효 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 11215를 GYP(2% glucose, 0.5% yeast extract, 0.5% peptone, 1.5% agar) 배지에서 보관하면서 알코올 발효를 위한 종균 배양은 맥아(엿기름) 30% 당화액 50 mL가 들어 있는 250 mL Erlenmyer flask에 접종한 후 진탕배양기(IS-971RF model, Jeiotech Co., Seoul, Korea)에서 150 rpm의 속도로 25°C에서 3일간 진탕하여 배양하였다. 초산 발효 초산균은 *Acetobacter pasteurianus* A8를 GYCEA(3% glucose, 0.5% yeast extract, 1% CaCO₂, 4% ethanol, 1.5% agar) 배지에서 보관하면서 사용하였고(8), 초산 발효를 위한 종균 배양은 2% 에탄올이 첨가된 맥아(엿기름) 당화액 50 mL가 들어 있는 250 mL Erlenmyer flask에 접종하고 진탕배양기(IS-971RF model, Jeiotech Co.)에서 150 rpm의 속도로 25°C에서 3일간 배양하였다.

알코올 발효는 비열처리 과즙(non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*, NHJEM)과 열처리 과즙(heating juice of *Elaeagnus multiflora*, HJEM)에 각각 효모 종균을 2.5%(v/v)로 접종하여 30°C에서 4일간 정치 발효시켜 초산 발효를 위한 기질을 얻었으며, 초산 발효는 기질 4 L가 들어 있는 유리 발효조에 초산 종균 배양액을 2.5%(v/v)를 접종하고 35°C에서 5일간 정치 발효시켜 저산도 비열처리 식초(non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, NHVEM)와 열처리 식초(heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, HVEM)를 제조하였다.

pH와 산도

보리수 과즙과 식초의 pH는 pH meter(MP 220 pH meter, London, UK)를 사용하여 측정하였고, 산도는 10 mL에 대해서 0.1 N NaOH로 pH 8.3까지 중화시킨 후 초산의 양으로 환산하여 백분율(%) 나타내었다.

환원당 및 알코올 함량

환원당은 보리수 과즙과 식초를 13,000 ×g의 속도에서 원심분리기로 5분간 원심분리한 후 상등액을 3차 증류수로 50배 혹은 100배로 희석한 시료 0.1 mL에 DNS 시약 1 mL를 첨가하여 100°C에서 10분 동안 발색시킨 후 0°C(얼음물)에서 급속히 냉각하여 분광광도계(Spectronic 2D, Thermo Co.)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선과

비교하였다(14).

알코올 측정은 증류법으로 보리수 과즙과 식초 시료 100 mL에 물 100 mL를 가하여 희석시킨 후 100°C에서 증류시켜 80 mL를 회수한 후 증류수 20 mL를 첨가하여 100 mL로 표선을 맞춘 다음 굴절식 알코올 농도 측정기(Atago Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다.

생균수 확인

보리수 열매 과즙과 식초에서 초산균의 생균수는 과즙 및 식초를 멸균증류수로 10단 희석법으로 희석하고 YCE 한천배지에 spreaded plate method로 도말한 후 30°C에서 72 시간 동안 배양하여 투명환이 형성된 집락을 계수하였다.

유기산 분석

유기산 분석은 Cho 등(1)의 방법에 준하여 HPLC로 분석하였다. 분석 컬럼은 TSKgel ODS-100V(4.6×250 mm, 5 μm, Tosoh Corp., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 이동상 용매는 0.1% phosphoric acid를 이용하여 40°C에서 1 mL/min의 흐름을 적용하여 30분 수행하였고, 시료는 20 μL를 주입하여 UV 검출기의 210 nm에서 측정하였다.

수용성 phenolics 및 flavonoids 함량 분석

수용성 phenolics과 flavonoids 함량은 Folin-Ciocalteu법(15)과 Davis 변법(16)으로 분석하였다. 수용성 phenolics 분석은 각각의 보리수 과즙과 식초를 13,000 ×g의 속도에서 원심분리기로 5분간 원심분리한 상등액을 50배 혹은 100배 희석한 후 0.5 mL를 시험관에 분주하고 25% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL를 첨가하여 3분간 정치시키고 2 N Folin-Ciocalteu phenol 시약 0.25 mL를 첨가하여 혼합한 다음 1시간 동안 발색시킨 후 분광광도계(Spectronic 2D, Thermo Co.)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

수용성 flavonoids 함량은 상등액 0.5 mL를 시험관에 분주하고 여기에 diethylene glycol 1.0 mL 및 1 N NaOH 0.01 mL를 가하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 수용성 phenolics와 flavonoids의 표준물질은 각각 gallic acid와 rutin을 이용하여 표준 검량곡선을 작성하여 산출하였다.

Flavanols 및 phenolic acids 함량 분석

Flavanols와 phenolic acids 화합물 분석은 HPLC를 이용하였다(1). Flavanols 유도체 분석은 TSKgel ODS-100Z column(4.6×250 mm, 5 μm, Tosoh Corp.)을 이용하여 0.5% acetic acid(pH 2.5), 이동상 용매 A)와 100% acetonitrile(이동상 용매 B)을 이용하여 이동상 용매 B 기준 10%-0분에서 100%-30 분 30°C에서 1 mL/min의 흐름을 적용하여 분석하였다. 시료는 20 μL를 주입하였고, UV 검출기의 270 nm에서 측정하였다.

Phenolic acids 화합물 분석은 XTerra™ RP C₈ column(4.6×250 mm, 5 μm, Waters Corp., Milford, MA, USA)을 이용하여 분석되었다. 0.5% glacial acetic acid(이동상 용매 A)와 100% 메탄올(이동상 용매 B)을 사용하여 용매 B를 기준으로 40분 동안 60%에서 100% 기울기 모드(linear gradient)로 30°C에서 1 mL/min으로 분석하였다. 시료는 20 μL로 주입하였고 UV 검출기의 280 nm에서 측정하였다.

항균활성 확인

항균활성 확인을 위한 식중독 세균은 한국생명공학연구원 전북분원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에 구입한 후 배양하여 사용하였다. *Escherichia coli* KCTC 1682, *Salmonella enterica* KCTC 12456, *Bacillus cereus* KCTC 1012, *Listeria monocytogenes* KCTC 3569와 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 균주들의 배양은 tryptic soy broth 혹은 agar(TSB 혹은 TSA, Difco, Becton Dickinson Co., MD, USA)를 사용하였고, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471 균주의 배양은 2% NaCl이 첨가된 TSB 혹은 TSA를 이용하였다. 항균활성 측정은 우선 petri dish에 용융한천배지 15 mL를 분주하고 여기에 미리 활성화 시켜둔 각각의 식중독 세균 배양액 1 mL를 적하한 후 고형화 시켜 37°C에서 48시간 배양하였다. 이 후 보리수 과즙 및 식초 상등액을 살균된 0.45 μm의 여과필터에 여과한 후 여과액 50 μL를 살균된 8 mm paper disc에 분취하고 균은 용융한천배지에 접촉시킨 후 37°C에서 48시간 배양하여 형성된 clear zone의 지름을 통해 항균활성을 확인하였다.

라디칼 소거활성

Cho와 Joo(4)의 방법을 따라 라디칼 소거활성을 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 DPPH(1.5×10⁻⁴ M) 용액 0.8 mL와 보리수 과즙과 식초 상등액 0.2 mL를 가한 후 10초간 잘 혼합하고 실온에서 30분 방치한 후 분광광도계를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구 실험은 시료 대신에 증류수를 0.2 mL를 취하여 실험하였다.

ABTS 라디칼 소거활성 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM K₂S₂O₈을 1:1로 섞고, 암실에서 약 14시간 보관하여 ABTS radical(ABTS^{•+})을 생성시킨 후 732 nm에서 흡광도값이 0.7±0.02가 되도록 에탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 0.9 mL과 보리수 과즙과 식초 상등액 0.1 mL를 섞고, 정확히 3분 후 분광광도계(Spectronic 2D, Thermo Co.)를 이용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다.

라디칼 소거활성은 실험구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 다음과 같이 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{라디칼 소거활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{음성대조구 흡광도}}{\text{실험구 흡광도}}\right) \times 100$$

소화효소 저해활성

Cho 등(1)의 방법을 따라 소화효소 저해활성을 측정하였다. α -Glucosidase 저해활성은 보리수 과즙과 식초 상등액 50 μ L, 0.5 U/mL α -glucosidase 효소액 50 μ L 및 200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8) 50 μ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 반응 후 sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 5 mM p-NPG 100 μ L를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 반응물에 100 mM Na_2CO_3 750 μ L로 반응을 정지시키고 420 nm에서 측정하였고, 음성 대조구로 완충액을 사용하였다.

Pancreatic lipase 저해활성은 보리수 과즙과 식초 상등액 50 μ L, 1.0 U/mL pancreatic lipase 용액 50 μ L와 200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8) 50 μ L를 혼합하여 37°C에서 10분간 예비 반응시킨 후 sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 녹인 5 mM p-nitrophenol-butyrate(p-NPB) 100 μ L를 가하여 10분간 반응시키고 100 mM Na_2CO_3 0.75 mL를 가해 반응을 중지시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였고, 음성 대조구는 시료 대신에 완충액을 이용하였다.

소화효소 저해활성은 실험구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 다음과 같이 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{소화효소 저해활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{음성대조구 흡광도}}{\text{실험구 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리

3회 반복 실험을 통하여 얻은 결과는 SPSS 12.0 package (SPSS Inc., Chicago, USA)를 사용하여 분산분석을 하였으며, 시료에 대한 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 시료의 분석 결과에 대한 유의성 검정은 분산분석 후 $p < 0.05$ 수준에서 Tukey's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

보리수 과즙과 식초의 색깔, 초산균수 및 이화학적 특성

본 연구에서 보리수 열매 고유의 색인 적색을 유지하고 생리활성을 증진시킬 목적으로 열처리하여 제조한 보리수 과즙과 식초는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 열처리 후 보리수 열매의 고유색인 적색을 유지하고 있음을 확인할 수 있었다. 한편 보리수 과즙과 식초의 색도를 살펴본 결과 Table 1과 같았다. 적색도를 나타내는 b 값이 열처리한 보리수 과즙(HJEM)과 식초(HVEM)에서 각각 39.48과 37.56으로 비열처리한 보리수 과즙(NHJEM)과 식초(NHVEM)의 14.15와 21.86보다 높은 것을 확인할 수 있었다.

보리수 과즙 및 식초의 생균수 및 이화학적 특성을 살펴본 결과 Table 2와 같았다. 보리수 과즙(NHJEM 및 HJEM)

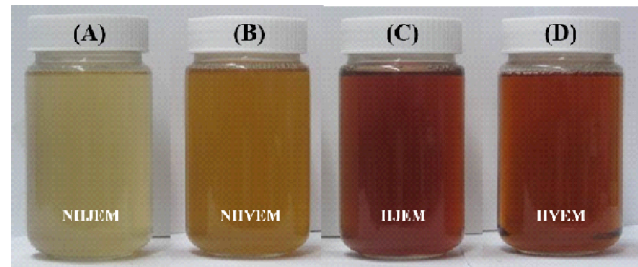


Fig. 1. Photograph of the juices (A and C) and vinegars (B and D) of *Elaeagnus multiflora* fruit.

(A) NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*, (B) NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, (C) HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*, (D) HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

Table 1. Comparison of the color parameters on the juices and vinegars of *Elaeagnus multiflora* fruit

Indexes	Samples ¹⁾				
	Control	NHJEM	NHVEM	HJEM	HVEM
L value	96.35 \pm 4.87 ^{2(a3)}	73.21 \pm 2.92 ^b	57.50 \pm 2.87 ^c	56.14 \pm 1.68 ^c	48.55 \pm 1.45 ^c
a value	-0.20 \pm 0.00 ^d	0.51 \pm 0.01 ^c	3.06 \pm 0.04 ^b	16.91 \pm 0.33 ^a	13.78 \pm 0.14 ^a
b value	-0.22 \pm 0.00 ^d	14.15 \pm 0.28 ^c	21.86 \pm 0.87 ^b	39.48 \pm 1.18 ^a	37.56 \pm 1.04 ^a

¹⁾NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*, NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*, HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

²⁾All data are presented as the mean \pm SD of triplicate determinations.

³⁾Means with different lowercase letters (a-c) indicate significant differences of juices and vinegars by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

에서는 초산균이 검출되지 않았으며, 보리수 비열처리 식초(NHVEM)는 4.59 log CFU/mL이었고 보리수 열처리 식초(HVEM)는 4.62 log CFU/mL 수준이었다. NHJEM의 경우 pH는 3.14이었으며, NHVEM는 3.39, HJEM는 3.15, HVEM는 3.45이었고 산도는 NHJEM와 HJEM의 경우 0.20%이었고 NHVEM는 2.04%, HVEM는 2.12%이었다. 한편 당도는 NHJEM와 HJEM의 경우 13.2이었으며, NHVEM는 5.4, HVEM는 7.2이었다. 이에 상응하여 환원당은 NHJEM의 경우 35.09 mg/mL이었으며, NHVEM는 0.69 mg/mL, HJEM는 35.24 mg/mL, HVEM는 14.4 mg/mL이었다. 특히 NHVEM의 경우 환원당이 급격히 감소한 것은 초산균 이외에 다른 잡균들이 증식한 것으로 사료된다. 알코올 함량은 0% 수준으로 2% 정도로 유독한 알코올이 모두 초산으로 전환된 것으로 판단되었다.

초산발효 시 초산균수가 증가함에 따라 pH, 환원당 그리고 알코올 함량이 감소하는 것은 초산발효의 일반적인 결과이지만(17) 본 연구에서는 보리수 과즙의 pH가 아주 낮아 초산발효 후에 약간 높은 경향을 보였다. 그러나 초산발효 후에 산도는 과즙보다 높았고, 환원당은 낮았다. 초산발효 후 초산균이 생성하는 이차대사산물인 초산(acetic acid) 등의 유기산에 의해 산도는 증가하게 되며(9,10), 이는 본 연구 결과와도 일치하였다. 한편 Cho 등(1)은 보리수 열매의 자연 초산발효 중 pH와 환원당은 감소하고, 이에 따라 산도는

Table 2. Comparison of the physicochemical properties and viable cell numbers of acetic acid bacteria in the juices and vinegars of *Elaeagnus multiflora* fruit

Indexes	Samples ¹⁾			
	NHJEM	NHVEM	HJEM	HVEM
Acetic acid bacteria (log CFU/mL)	ND ²⁾	4.59±0.13 ^{3)a4)}	ND	4.62±0.10 ^a
Physicochemical properties				
pH	3.14±0.03 ^a	3.39±0.02 ^a	3.15±0.04 ^a	3.45±0.04 ^a
Acidity (% v/v)	0.20±0.00 ^b	2.04±0.08 ^a	0.20±0.01 ^b	2.12±0.06 ^a
Reducing sugar (mg/mL)	35.09±1.40 ^a	0.69±0.03 ^c	35.24±1.55 ^a	14.4±0.43 ^b
Alcohol (% v/v)	ND	0.20±0.00 ^a	ND	ND

¹⁾NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*; NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*; HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*; and HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

²⁾ND, not detected.

³⁾All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

⁴⁾Means with different lowercase letters (a-c) indicate significant differences between juices and vinegars by Tukey's multiple range test (p<0.05).

감소한다고 보고하였다. 한편 초산 발효 후 pH 증가 현상은 Jin 등(18)은 발효주의 경우 발효가 진행됨에 따라 알코올과 유기산이 상호 반응하여 생성되는 에스테르 화합물에 영향을 받아 pH가 증가한다고 보고하여 본 연구에서도 Jin 등(18)의 결과에 따른 것으로 추정하였다. 이 외 So(19)는 단백질 분해에 따라 생성된 아미노산이 펩타이드 완충작용에 의해 pH가 증가함을 보고하였다.

보리수 과즙과 식초의 유기산 함량

보리수 과즙 및 식초의 유기산 함량을 살펴본 결과 Table 3과 같았다. 보리수 과즙의 주요 유기산은 lactic acid 이었으며, 식초의 주요 유기산은 acetic acid 이었다. NHJEM은 lactic acid가 6.50 mg/mL로 가장 많았으며, 그 다음으로 ascorbic acid가 2.56 mg/mL, acetic acid가 2.22 mg/mL, tarataric acid가 1.87 mg/mL, malic acid가 1.54 mg/mL로 많은 함량을 나타냈었고 NHVEM은 acetic acid가 23.56 mg/mL로 가장 많았으며, lactic acid와 ascorbic acid는 과즙보다 감소하여 각각 4.97 mg/mL과 1.61 mg/mL가 검출되었다. 한편 HJEM은 lactic acid가 6.18 mg/mL로 가장 많았으며, 그 다음으로 ascorbic acid가 2.41 mg/mL로 많이 검출되었다. HVEM은 acetic acid가 21.82 mg/mL로 가장 많았으며, lactic acid와 ascorbic acid는 과즙보다 감소하여 각각 4.73 mg/mL 및 1.80 mg/mL가 검출되었다.

초산발효에 있어서 풍미 향상으로 알려진 호박산인 succinic acid는 과즙보다 식초에 약간 높게 나타났다(20).

Cho 등(1)은 보리수 열매의 자연 초산발효 중 주요 유기산은 lactic acid와 acetic acid라고 보고하여 본 연구 결과와도 유사하였으나 함량에는 차이가 있었다. 그러나 NHJEM(6.50 mg/mL), NHVEM(4.97 mg/mL), HJEM(6.18 mg/mL)와 HVEM(4.733 mg/mL)의 lactic acid 함량은 Cho 등(4)의 딸보리수 과즙에 관한 연구 결과와 유사하였고 특히 효모 발효 과정 중 tricarboxylic acid cycle(TCA)에 의해

Table 3. Comparison of the organic acid contents on the juices and vinegars of *Elaeagnus multiflora* fruit

Contents (mg/mL)	Samples ¹⁾			
	NHJEM	NHVEM	HJEM	HVEM
Oxalic acid	0.59±0.04 ^{2)a3)}	0.09±0.01 ^c	0.31±0.03 ^b	0.07±0.00 ^c
Tartaric acid	1.87±0.09 ^a	0.42±0.02 ^b	1.70±0.05 ^a	0.59±0.03 ^b
Malic acid	1.54±0.06 ^a	0.33±0.01 ^b	1.19±0.04 ^a	0.88±0.05 ^b
Ascorbic acid	2.56±0.11 ^a	1.61±0.05 ^b	2.41±0.10 ^a	1.80±0.07 ^b
Lactic acid	6.50±0.32 ^a	4.97±0.20 ^b	6.18±0.30 ^a	4.73±0.21 ^b
Acetic acid	2.22±0.09 ^b	23.56±0.94 ^a	1.89±0.08 ^b	21.82±1.00 ^a
Citric acid	0.44±0.01 ^b	0.48±0.02 ^b	0.62±0.02 ^a	0.62±0.02 ^a
Succinic acid	0.13±0.01 ^c	0.35±0.03 ^b	0.60±0.02 ^a	0.72±0.03 ^a
Fumaric acid	0.03±0.00 ^a	0.06±0.01 ^a	0.03±0.00 ^a	0.09±0.02 ^a
Glutaric acid	ND ⁴⁾	ND	ND	ND
Total	13.66±0.55	31.87±1.27	13.04±0.52	31.32±1.25

¹⁾NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*; NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*; HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*; and HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

²⁾All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

³⁾Means with different lowercase letters (a-c) indicate significant differences of juices and vinegars by Tukey's multiple range test (p<0.05).

⁴⁾ND, not detected.

여러 lactic acid를 비롯한 여러 유기산들이 생성된다고 Cho 등(4)은 보고하였으며 이 연구 결과를 바탕으로 본 연구에서도 초산균 발효 중 2차 대사산물로서 특히 lactic acid 함량이 크게 축적된 것으로 추정하였다. 한편 복분자 식초(9), 참다래 식초(11), 흑마늘 식초(18) 및 제주감귤 식초(21)의 연구에서도 식초의 주요 유기산은 acetic acid라고 보고하였다. Seo 등(22)은 초산균 종류에 따라 각종 유기산의 함량에 차이가 나타난다고 보고하였으나, 본 연구에서는 원료 과실의 종류, 초산균의 종류 및 발효 방법보다는 발효 기간이 다른 식초들보다 짧은 초산의 함량이 낮은 것으로

판단되었다.

보리수 과즙과 식초의 생리활성물질 함량

보리수 과즙과 식초의 수용성 phenolics와 flavanoids 함량을 살펴본 결과 Fig. 2와 같았다. 전체적으로 식초보다는 과즙의 함량이 높았으며, 비열처리열처리구에서 수용성 phenolics와 flavanoids 함량이 높았다. NHJEM과 NHVEM의 수용성 phenolics 함량은 각각 2.32 g/L와 0.82 g/L 이었으며, 수용성 flavanoids 함량은 0.39 g/L와 0.17 g/L 이었으나, 열처리 후 증가하여 HJEM과 HVEM의 수용성 phenolics 함량은 2.75 g/L와 1.59 g/L 이었고 수용성 flavanoids 함량은 0.62 g/L와 0.35 g/L 이었다.

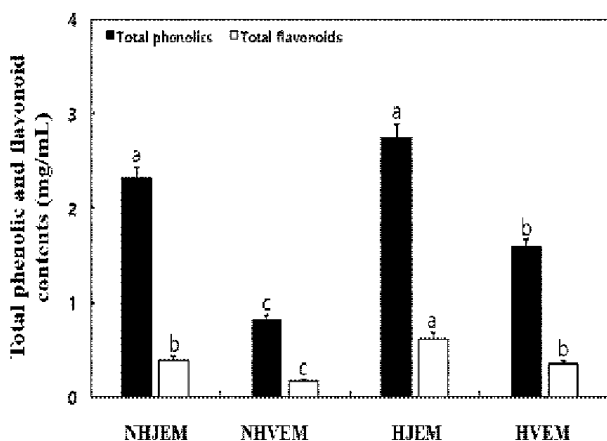


Fig. 2. Comparison of the total phenolic and flavonoid contents of the juices and vinegars from *Elaeagnus multiflora* fruit.

NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*; NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*; HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*; and HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

All data are presented as the mean±SD of triplicate determination. Means with different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between juices and vinegars by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

보리수 과즙과 식초의 flavan-3-ols와 phenolic acids 함량을 살펴본 결과 Table 4와 같았다. 전체적으로 식초보다는 과즙의 함량이 높았다. 보리수 과즙과 식초의 주요 flavan-3-ols 화합물은 epicatechin gallate로 HJEM이 288.12 mg/g으로 가장 많았으며, 그 다음으로 HVEM가 273.36 mg/g, NHJEM이 211.48 mg/g, NHVEM가 162.88 mg/g으로 가장 적게 검출되었다. 한편, NHJEM과 NHVEM는 epigallocatechin과 catechin gallate가 HJEM과 HVEM보다 함량이 높았다(Table 4).

보리수 과즙과 식초의 주요 phenolic acids는 salicylic acid와 protocatechuic acid이었다. Salicylic acid는 HJEM이 73.71 mg/g으로 가장 많았으며, 그 다음으로 NHJEM이 43.49 mg/g, HVEM가 42.29 mg/g, NHVEM가 15.57 mg/g로 가장 적게 함유되어 있었다. 한편 salicylic acid와 protocatechuic acid 이외에도 p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid,

Table 4. Comparison of the phytochemical contents on the juices and vinegars of *Elaeagnus multiflora* fruit

Contents ($\mu\text{g/mL}$)	Samples ¹⁾			
	NHJEM	NHVEM	HJEM	HVEM
Flavan-3-ol derivatives				
Epigallocatechin	66.39±1.99 ^{2a3)}	31.42±1.25 ^b	37.72±1.08 ^b	25.88±0.89 ^b
Catechin	111.38±3.34 ^a	66.57±1.88 ^b	129.75±3.55 ^a	72.24±2.02 ^b
Epicatechin	ND ⁴⁾	ND	ND	ND
Epigallocatechin gallate	84.0±3.36 ^b	47.79±1.11 ^c	113.38±3.55 ^a	68.35±2.01 ^b
Gallocatechin gallate	14.82±0.59 ^b	3.67±0.15 ^c	34.82±1.39 ^a	11.10±0.44 ^b
Epicatechin gallate	ND	ND	ND	ND
Catechin gallate	211.48±8.45 ^b	162.88±3.24 ^c	288.12±8.64 ^a	273.36±8.12 ^a
Total	488.07±19.52	312.33±12.49	603.79±24.15	450.93±18.04
Phenolic acid derivatives				
Gallic acid	7.99±0.16 ^a	6.80±0.13 ^a	8.58±0.18	6.57±0.12 ^a
Protocatechuic acid	13.09±0.52 ^a	11.65±0.33 ^a	14.56±0.55 ^a	12.84±0.41 ^a
Tannic acid	1.60±0.04	ND	ND	ND
p-Hydroxybenzoic acid	2.84±0.11 ^b	3.24±0.15 ^{ab}	3.64±0.15 ^{ab}	5.16±0.17 ^a
Vanillic acid	9.83±0.28 ^b	5.98±0.18 ^c	12.88±0.35 ^a	8.59±0.25 ^b
Caffeic acid	2.61±0.07 ^a	2.40±0.05 ^a	2.16±0.05 ^a	2.17±0.03 ^a
Chlorogenic acid	ND	ND	ND	ND
Salicylic acid	43.49±0.87 ^b	15.57±0.46 ^c	73.71±2.94 ^a	42.29±0.90 ^b
p-Coumaric acid	8.07±0.18 ^a	5.43±0.10 ^{ab}	7.54±0.16 ^a	4.82±0.09 ^b
Sinapic acid	ND	ND	ND	ND
Ferulic acid	ND	ND	5.77±0.10 ^a	2.21±0.05 ^b
t-Cinnamic acid	1.31±0.02 ^a	0.81±0.01 ^b	1.17±0.04 ^a	0.96±0.03 ^{ab}
Total	90.83±3.63	51.88±2.08	130.01±5.20	85.61±3.42
Totals (1+2)	578.90±23.16	364.21±14.57	734.10±29.36	536.54±21.46

¹⁾NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*; NHVEM: non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*; HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*; and HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*.

²⁾All data are presented as the mean±SD of triplicate determinations.

³⁾Means with different lowercase letters (a-c) indicate significant differences between juices and vinegars by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

⁴⁾ND, not detected.

p-coumaric acid 및 t-cinnamic acid는 공통적으로 검출되었으며, tannic acid는 NHJEM에서만 1.60 mg/g이 검출되었다(Table 4).

Polyphenol성 화합물인 flavan-3-ols과 phenolic acids 유도체들은 자연계의 식용 혹은 약용이 가능한 식물체에 존재하고 다양한 생리활성이 뛰어난 것으로 알려져 있다(1,6,23). 일반적으로 phenolics와 flavan-3-ols 화합물들은 분자 내 hydroxyl기가 각종 거대 분자와 결합하여 생리활성을 나타낸다고 알려져 있으며(4,24), 열처리할 경우 식물 세포막과 세포벽의 ester 결합이 붕괴되면서 결합형 화합물이 유리형으로 전환된다(4). Cho 등(1)은 보리수 열매의 자연 초산발효 중 발효초기에는 catechin류 함량과 탄닌류의 저분자

phenolic acids 함량이 거의 유사하였으나, 발효가 진행됨에 따라 catechin류 함량은 감소하였고 탄닌류는 증가한다고 보고하여 본 연구결과가 상이하였다. 한편 Cho와 Joo (4)는 보리수 열매의 열처리 온도가 상승할수록 수용성 phenolics와 flavonoids 및 총 flavan-3-ols와 phenolic acids 화합물 함량은 증가하였으나, 알코올 발효 후(과실주)에는 감소하였다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 이러한 결과는 제조 원료의 차이(재배환경, 수확시기 혹은 전처리 방식 등)뿐만 아니라 발효 과정(종균의 종류와 접종량, 발효 방식 혹은 발효 기간 등)에서 생성되는 산 생성정도나 발효미생물 유래 효소 활성 차이에 기인한 것으로 판단되었다.

보리수 과즙과 식초의 항균활성

보리수 과즙과 식초의 식품위해미생물에 대한 항균활성을 살펴본 결과 Fig. 3과 같았다. 보리수 과즙과 식초는 그람양성균에 대해서는 모두 약하게 항균력을 지니고 있으나, 그람음성균에 대해서는 보리수 식초만이 모든 균에 대해서 항균력을 나타냈었다. 특히 장염비브리오균인 *V. parahaemolyticus*에 대해서 보리수 과즙과 식초 모두 강한 항균력을 나타냈었다. 또한 HVEM는 *B. cereus*와 *L. monocytogenes*에 대해서도 우수한 항균력을 보였다.

10여 년 전부터 식품은 빠르게 변화하는 생활방식에 따라 쉽게 먹을 수 있는 가공식품이 증가하고 있는 추세이다. 이러한 식품들은 가열 등의 물리적인 방법으로 식품의 저장성을 높이고 있는데, 이는 식품의 영양성분의 파괴 및 품질 저하 등을 초래할 수 있다는 단점을 갖고 있다. 이에 우리나라에는 14가지 합성보존료를 식품위생법에 따라 허용을 허가하고 있지만 합성보존료의 지속적인 사용이 인체에 부작용을 일으킬 수 있는 안전성 문제가 제시되고 있다. 이러한 문제점을 해결하고 식품의 안전성과 보존성을 확보하기 위해 천연물질로부터 항균제 개발 연구가 활발히 진행되고 있다(25). 식초는 예로부터 우수한 항균제로서 일상생활에서 유용하게 사용되어 왔으며, 본 연구의 보리수 식초는 신맛을 내는 조미료뿐만 아니라 항균제로서 사용 역시 가능할 것으로 추정되었다.

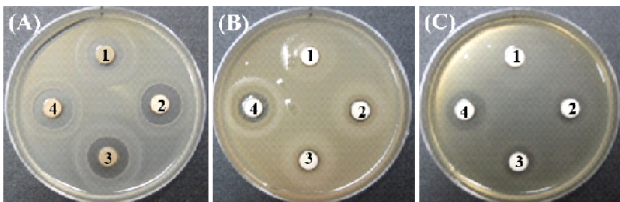


Fig. 3. Comparison of in vitro inhibitory activity against *Vibrio parahaemolyticus* (A), *Bacillus cereus* (B), and *Listeria monocytogenes* (C) by the juices and vinegars of *Eleoagnus multiflora* fruit.

NHJEM, non-heating juice of *Eleoagnus multiflora*, NHVEM, non-heating vinegar of *Eleoagnus multiflora*, HJEM, heating juice of *Eleoagnus multiflora*, HVEM, heating vinegar of *Eleoagnus multiflora*.

보리수 과즙과 식초의 자유라디칼 소거활성

보리수 과즙과 식초의 라디칼 소거활성은 DPPH와 ABTS로 측정하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 보리수 과즙이 식초보다는 자유라디칼 소거활성이 높았고, 비열처리구보다는 열처리구가 자유라디칼 소거활성이 높았다.

보리수 과즙 및 식초의 DPPH 라디칼 소거활성을 살펴본 결과 Fig. 4A와 같았다. NHJEM의 경우에는 95.04%(원액)에서 49.78%(100배 희석)이었으며, NHVEM의 경우에는 93.83%(원액)에서 21.99%(100배 희석)이었다. 한편 열처리 HJEM의 DPPH 라디칼 소거활성은 97.01%(원액)에서 48.56%(100배 희석)이었으며, HVEM의 DPPH 라디칼 소거활성은 93.26%(원액)에서 31.98%(100배 희석)이었다.

보리수 과즙 및 식초의 ABTS 라디칼 소거활성을 살펴본 결과 Fig. 4B와 같았다. NHJEM의 경우에는 96.96%(원액)에서 78.12%(100배 희석)이었으며, NHVEM의 경우에는 95.38%(원액)에서 53.93%(100배 희석)이었고, HJEM의 ABTS+ 라디칼 소거활성은 98.82%(원액)에서 83.69%(100배 희석)이었으며, HVEM의 ABTS+ 라디칼 소거활성은 96.11%(원액)에서 71.09%(100배 희석)이었다.

이전 연구자들에 의하여 항산화 활성 등의 생리활성 지표 물질은 phenolic acids와 flavonoids 유도체 화합물이라고 보고하였으며(26), phenolics 화합물의 농도가 상승할수록 증가한다고 보고하였다(3). Lee 등(6)은 보리수 열매의 주요 화합물로 catechin류의 6종과 gallic acid 등의 phenolic acids 화합물을 함유하고 있다고 보고하였다. 한편 Cho 등(1)은 자연발효에 의한 보리수 식초의 생리활성물질로서 flavan-3-ols 중 epicatechin gallate와 phenolic acids 유도체 중 gallic acid가 주요 화합물로 보고하였으나, 본 연구에서는 catechin류에서는 catechin gallate, phenolic acids에서는 salicylic acid이었고, 함량은 자연발효 보리수 식초보다 본 연구의 식초가 높았으며 생리활성 물질 역시 다양하였다. 한편 본 연구에서 제조된 HVEM는 비열처리 과즙 즉, NHJEM와 NHVEM 및 HJEM에 비해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성이 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 ABTS의 경우 100배 희석물에서 50% 이상의 라디칼 소거활성을 나타내었으며 특히 5-25배 희석물에서는 모두 공통적으로 50%가 넘는 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었으므로 비록 열처리 후 항산화 활성이 감소는 하였으나 50% 이상의 라디칼 소거활성을 나타내므로 비교적 우수한 것으로 판단된다. 또한 항산화 활성이 증가하는 현상은 Cho 등(4)의 결과에 따라 생리활성 물질 함량, 즉 phenolic acid 및 flavonol과 같은 여러 유도체 함량과 밀접한 관련이 있는 것으로 판단되었다. 이런 결과로부터 자연발효 보리수 식초의 경우에는 당의 삼투압에 의해 자연적으로 발효기질이 생기면서 동시에 알코올과 초산발효가 자연적으로 진행되었으나, 본 연구에서는 열매를 파쇄하여 발효기질을 제조한 후 종균을 접종하여 발효하는 방식으로 진행되어 과즙

수득방법과 발효방식의 차이에 기인하여 함량과 생리활성 지표물질이 다른 것으로 판단되었다.

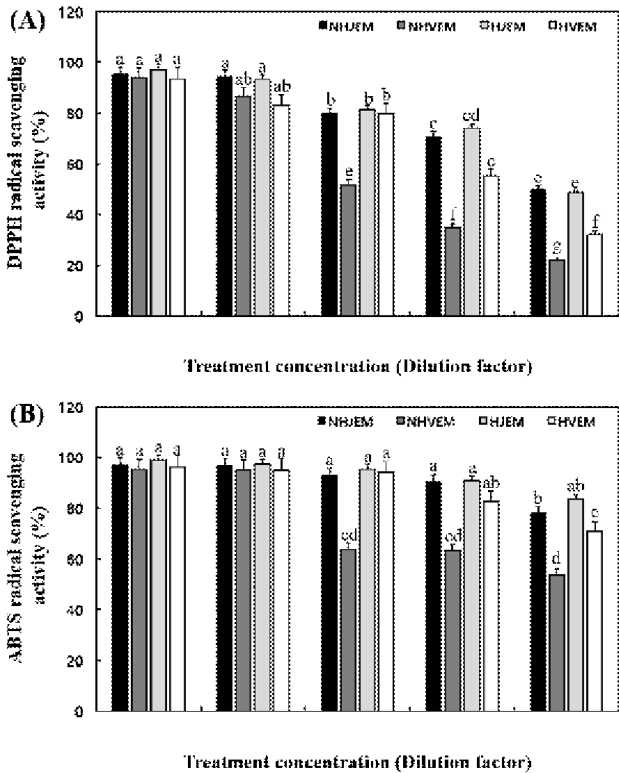


Fig. 4. Comparison of the DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging activities of the juices and vinegars from *Elaeagnus multiflora* fruit.

NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*, NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*, HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*. All data are presented as the mean±SD of triplicate determination. Means with different lowercase letters (a-g) indicate significant differences between juices and vinegars by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

보리수 과즙과 식초의 소화효소 저해활성

보리수 과즙과 식초의 α -glucosidase와 pancreatic lipase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 5와 같았다. 라디칼 소거활성 동일하게 보리수 과즙이 식초보다는 저해활성이 높았고, 비열처리구보다는 열처리구가 소화효소 저해활성이 높았다.

α -Glucosidase 저해활성을 살펴본 결과 Fig. 5A와 같았다. 항산화 활성과 달리 과즙과 식초 및 비열처리와 열처리 처리에 대한 큰 차이는 없었다. NHJEM의 경우에는 96.84%(원액)에서 1.23%(100배 희석)이었으며, NHVEM의 경우에는 93.78%(원액)에서 0.08%(100배 희석)이었다. 한편 HJEM의 α -glucosidase 저해 활성은 95.57%(원액)에서 2.23%(100배 희석)이었으며, HVEM의 α -glucosidase 저해 활성은 94.01%(원액)에서 1.0%(100배 희석)이었다.

보리수 과즙 및 식초의 pancreatic lipase 저해활성을 살펴본 결과 Fig. 5B와 같았다. 희석 50배 처리 시 식초보다

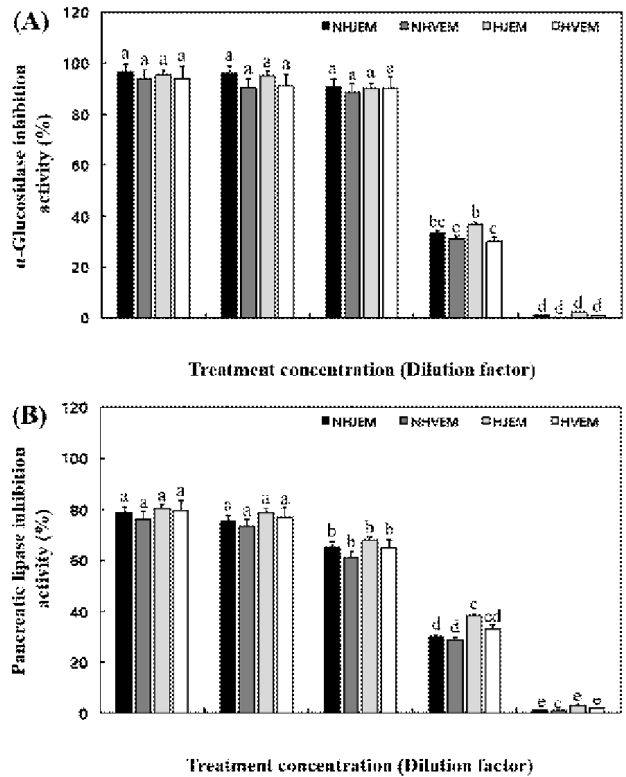


Fig. 5. Comparison of the α -glucosidase (A) and pancreatic lipase (B) inhibition activities of the juices and vinegars from *Elaeagnus multiflora* fruit.

NHJEM, non-heating juice of *Elaeagnus multiflora*, NHVEM, non-heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*, HJEM, heating juice of *Elaeagnus multiflora*, HVEM, heating vinegar of *Elaeagnus multiflora*. All data are presented as the mean±SD of triplicate determination. Means with different lowercase letters (a-e) indicate significant differences between juices and vinegars by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

과즙 및 비열처리보다는 열처리가 저해활성이 높았으나, 커다란 차이는 없었다. 즉, NHJEM은 30.16%, NHVEM은 28.74%, HJEM은 38.36%와 HVEM은 33.24%이었다.

전분과 같은 다당류는 α -amylase에 의해 이당류로 분해되고 다시 α -glucosidase에 의해 단당류인 glucose로 분해되어 소장에 존재하는 용털을 통해 흡수되어 혈관으로 당이 이동하여 혈당이 증가하게 된다. 특히, α -glucosidase를 억제시켜 분해되는 이당류의 양을 감소시켜 흡수되는 양을 줄임으로서 혈당의 증가를 억제시킨다(27-29). 한편, pancreatic lipase는 중성지방을 분해하는 효소로서 이 효소가 지속적으로 작용 시 체중 증가와 더불어 당뇨, 동맥경화, 심혈관질환 등의 위험에 노출될 수 있다(30). α -Glucosidase 저해활성에 관여하는 물질은 polyphenol성 화합물 중 flavan-3-ols 화합물로 알려져 있고(31) pancreatic lipase 저해활성 역시 polypehnl성 화합물에 유래된 결과들이 보고되어 있다(32). Cho 등(1)은 보리수 열매 혹은 발효된 식초의 경우 flavan-3-ols 및 phenolic acids 화합물에 기인하여 라디칼 소거활성과 소화효소 저해활성이 나타나는 것으로 보고하였다. 이러한 연구 결과로 볼 때 본 연구에서는 flavan-3-ols

중에서는 catechin과 catechin gallate 및 phenolic acids 중에서는 protocatechuic acid와 salicylic acid의 영향을 받아 우수한 라디칼 소거활성과 소화효소 저해활성을 나타낸 것으로 판단되었다.

요 약

본 연구에서는 보리수 과즙에 열처리 후 식초를 제조하고 발효특성을 조사하였다. 열처리 보리수 과즙과 식초는 보리수 열매 색깔과 거의 유사하였으며, 적색도인 b 값은 각각 39.48(과즙)과 37.56(식초)이었다. 보리수 과즙을 발효하였을 때 10일 경과 시 초산균수는 4.59-4.62 log CFU/mL, pH는 3.14-3.45, 산도는 0.2-2.12%, 환원당은 0.69-35.24 mg/mL 및 알코올은 0.2%이었다. 비열처리 과즙보다 열처리 과즙이 라디칼 소거활성과 소화효소 저해활성이 높았고, 이에 상응하여 수용성 phenolics, 수용성 flavonoids, flavan-3-ols 유도체 및 phenolic acids 유도체 함량이 높았다. 한편 열처리 식초의 주요 유기산은 acetic acid(21.82 mg/mL)이었고 주요 flavan-3-ols와 phenolic acids 화합물은 catechin(72.24 µg/mL), catechin gallate(273.36 µg/mL), epigallocatechin gallate(68.35 µg/mL), protocatechuic acid (12.84 µg/mL) 및 salicylic acid(42.29 µg/mL)가 검출되었다. 25 µL/mL 처리 시 DPPH와 ABTS 라디칼 소거활성 및 α-glucosidase와 pancreatic lipase 저해활성은 각각 79.66%, 93.99%, 90.12% 및 64.85% 이었다. 이 결과로부터 보리수 과즙의 열처리 방법을 활용한 새로운 형태의 기능성 식초 혹은 음료를 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2016년 국립경남과학기술대학교의 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

References

1. Cho KM, Hwang CE, Joo OS (2017) Change of physicochemical properties, phytochemical contents and biological activities during the vinegar fermentation of *Elaeagnus multiflora* fruit. J Food Preserv, 24, 125-133
2. Hong JY, Cha HS, Shin SR, Jeong YJ, Youn KS, Kim MH, Kim NW (2007) Optimization of manufacturing condition and physicochemical properties for mixing beverage added extract of *Elaeagnus multiflora* Thumb. fruits. Korean J Food Preserv, 14, 269-275
3. Youn KY, Hong JY, Nam HS, Moon YS, Shin SR (2007) Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of hot-water extracts from fruits of *Elaeagnus multiflora* Thumb. in maturity. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 14-19
4. Cho KM, Joo OS (2014) Quality and antioxidant characteristics of *Elaeagnus multiflora* wine through the thermal processing of juice. J Food Preserv, 21, 206-214
5. Kim NW, Joo EY, Kim SL (2003) Analysis on the components of the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thumb.. Korean J Food Preserv, 10, 413-419
6. Lee JH, Seo WT, Cho KM (2011) Determination of phytochemical contents and biological activity from the fruits of *Elaeagnus multiflora*. J Food Sci Nutr, 16, 29-36
7. Shin JH, Cho KM, Seo WT (2014) Enhanced antioxidant effect of domestic wheat vinegar using mugwort. J Agric Life Sci, 48, 95-104
8. Cho KM, Shin JH, Seo WT (2013) Production of Korean domestic wheat (*Keumkangmi*) vinegar with *Acetobacter pasteurianus* A8. Korean J Food Sci Technol, 45, 252-256
9. Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI (2012) Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. Korean J Food Preserv, 19, 594-603
10. 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
11. Woo SM, Kim OM, Choi IW, Kim YS, Choi HD, Jeong YJ (2007) Condition of acetic acid fermentation and effect of oligosaccharide addition on kiwi vinegar. Korean J Food Preserv, 14, 100-104
12. Jeong YJ, Seo JH, Park NY, Shin SR, Kim KS (1999) Changes in the components of persimmon vinegars by two stages fermentation (I). Korean J Food Preserv, 6, 228-232
13. Seo JH, Lee GD, Jeong YJ (2001) Optimization of the vinegar fermentation using concentrated apple juice. J Korean Soc Food Sci Nutr, 30, 460-465
14. Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. Anal Chem, 31, 426-428
15. Folin D and Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J Biol Chem, 12, 239-243
16. Davis WB (1947) Determination of flavanones in citrus fruits. Anal Chem, 19, 476-478

17. Lee MK, Choi SR, Lee J, Choi YH, Lee JH, Park KU, Kwon SH, Seo KI (2012) Quality characteristics and anti-diabetic effect of yacon vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 41, 79-86
18. Jin TY, Kim ES, Eun JB, Wang SJ, Wang MH (2007) Changes in physicochemical and sensory characteristics of rice wine *Yakju* prepared with different of red yeast rice. *Korean J Food Sci Technol*, 39, 309-314
19. So MH (1999) Characteristics of a modified Nuruk made by inoculation of traditional Nuruk microorganisms. *Korean J Food Nutr*, 12, 219-225
20. Sim HJ, Seo WT, Choi MH, Kim KH, Shin JH, Kang MJ (2016) Quality characteristics of vinegar added with different levels of black garlic. *Korean J Food Cook Sci*, 32, 16-26
21. Yi MR, Hwang JH, Oh YS, Oh HJ, Lim SB (2014) Quality characteristics and antioxidant activity of immature Citrus unshiu vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 250-257
22. Seo JH, Jeong YJ, Kim JN, Woo CJ, Yoon SR, Kim TH (2000) Quality comparison of potato vinegars produced by *Various acetobacter* bacteria. *Korean J Postharvest Sci Technol*, 8, 60-65
23. Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*, 85, 231-237
24. Husain SR, Cillard J, Cillard P (1987) Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26, 2489-2491
25. Kim KJ, Do JR, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Lim SD, Kang SN (2005) Antibacterial activity of *Terminalia chebula* Retz. extract against food spoilage microorganisms. *Korean J Food Sci Technol*, 37, 498-503
26. Kang YH, Park YK, Lee GD (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol*, 28, 232-239
27. Ahn MJ, Yuk HJ, Lee HY, Hwang CE, Jeong YS, Hong SY, Kwon OK, Kang SS, Kim HR, Park DS, Cho KM (2015) Effect of the enhanced biological activities and reduced bitter taste of bitter melon (*Momordica charantia* L.) by roasting. *J Agric Life Sci*, 49, 107-119
28. Cha JY, Jin JS, Cho YS (2011) Biological activity of methanolic extract from *Ganoderma lucidum*, *Momordica charantia*, *Fagopyrum tataricum*, and their mixtures. *J Life Sci*, 21, 1016-1024
29. Lo HY, Ho TY, Lin CJ, Li CC, Hsiang CY (2013) *Momordica charantia* and its novel polypeptide regulate glucose homeostasis in mice via binding to insulin receptor. *J Agric Food Chem*, 61, 2461-2468
30. Kim MS, Kim BY, Park CS, Yoon BD, Ahn SC, Oh WK, Ahn JS (2006) Inhibitory effect of *Thujae orientalis* semen extract on pancreatic lipase activity. *J Life Sci*, 16, 328-332
31. Kim JE, Joo SJ, Seo JH, and Lee SP (2009) Antioxidant and α -glucosidase inhibitory effect of tartary buckwheat extract obtained by the treatment of different solvents and enzymes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 989-995
32. Park JS (2013) Effect on the inhibition of pancreatic lipase and lipid metabolism of *Zanthoxylum piperitum* extracts. *Korean J Food Nutr*, 26, 615-619