

보안과제( ), 일반과제( ○ )

과제번호 108148-03-2-CG000

**오이를 주원료로 한 숙취해소 음료의  
개발 및 상품화**

(Development and Commercialization of Alcohol  
Detoxification Beverage using Cucumber)

순 천 대 학 교

농 립 수 산 식 품 부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “오이를 주원료로 한 숙취해소 음료의 개발 및 상품화” 과제  
의 보고서로 제출합니다.

2010 년 12 월 19 일

주관연구기관명 : 순천대학교

총괄연구책임자 : 서 권 일

세부연구책임자 : 서 권 일

연 구 원 : 권 순 재

홍 성 민

조 현 동

세부연구책임자 : 이 미 경

연 구 원 : 이 진

이 해 인

참 여 기 업 : (주)에스바이오푸드

대 표 : 박 경 욱

# 요 약 문

## I. 제 목

오이를 주원료로 한 숙취해소 음료의 개발 및 상품화

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

오이는 인도 북서부가 원산지인 1년생 덩굴형 초본이며 예로부터 해열제로 이용하였고 신장병, 심장병, 부종의 치료에 쓰여 왔으며, 주요성분으로는 수분이 대부분을 차지하고 있으며 당류 및 비타민 C와 무기질의 함량이 많다고 알려져 있다. 특히 오이는 이뇨작용과 해열작용이 뛰어나다고 알려져 있으며 이는 숙취해소에 주요한 작용을 한다고 알려져 있다. 우리나라에서는 주로 생과로만 이용되고 있으며, 개발된 가공품이 많지 않아, 총생산량에 비해 소비량이 현저히 낮아질수록 폐기량이 높아지고 있는 실정이므로, 이에 대책이 시급한 실정이다.

한편, 한국보건사회연구원의 국민건강 영양조사 결과에 의하면 국내 20세 이상 성인의 경우 술 마시는 날은 1달 평균 약 8일로 알코올의 섭취가 국민건강 측면에서 큰 사회적 문제로 대두되고 있다. 특히, 우리나라 국민 중 알코올 섭취에 의한 알코올성 간염의 10~35%, 간경변증의 8~20% 정도가 알코올성 지방간과 관련된 만성 간 질환으로 알려져 있다. 이에 따라 숙취해소와 관련된 드링크류가 개발되어 내수 및 수출 효자상품으로 자리잡아가고 있으나 아직은 이에 대한 연구개발이 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 위와 같은 문제점을 해결하고자 오이를 주원료로 한 속성 발효원액과 SKM(숙취해소 활성물질) 및 기타 보조제를 이용한 숙취해소 음료를 개발하고 그 기능성을 확인하고자 하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 오이를 이용한 발효원액 및 SK mixture(SKM) 제조
  - 오이와 천연과실을 소재를 이용한 발효조건 확립
  - SKM(숙취해소 활성 물질) 조성물 제조
2. 오이 발효원액 및 SKM을 이용한 숙취해소 음료 시제품 개발
  - 오이 발효원액과 SKM 배합비율에 따른 1차 시제품 제조
  - 1차 시제품에 대한 기타 부용제 선별
  - 1차 시제품에 대한 식품학적 특성 분석
3. 발효원액 과 SKM의 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과 규명
  - 발효원액과 SKM 배합에 따른 숙취해소 활성 검증
  - 원료물질에 대한 알코올성 간장해 개선 효과 검증
4. 음료 시제품에 대한 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과 규명
  - 최종 시제품에 대한 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 *in vivo* 효능 검증
  - 기존의 타사 제품과의 효능 비교
5. 숙취해소 최종 제품 개발 및 제품화
  - 1차 시제품의 평가 결과에 따른 숙취해소 최종 시제품 개발
  - 제품 디자인 및 포장용기 선별
6. 최종 제품의 대량 생산 및 상품화
  - 최종 제품의 생산을 위해 대량생산 체제하에서 발효 및 배합공정 시스템 구축
  - 대량 생산을 위한 재형 선별 및 포장을 통한 상품화
  - 제품 홍보를 위한 인터넷, 유통업체를 통한 국내·외 판매망 구축

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 관한 건의

##### 가. 연구개발 결과

본 연구는 오이를 효율적으로 활용하기 위해 발효를 통해 오이 식초를 제조하였다. 알코올 발효와 초산 발효로 나누어 발효시키는 2단계 발효를 사용하여 오이 식초의 제조 조건을 최적화하였다. 알코올 발효는 오이를 파쇄하여 사과 농축액으로 당도를 15°brix로 조절한 후 알코올 균주인 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용해 28°C에서 발효를 하였다. 시간에 따른 알코올 함량 변화 및 당도 변화를 측정한 결과 효모 균주를 이용한 오이 착즙액의 발효시간은 6일로 가장 적합한 것으로 나타났다. 초산 발효는 오이 알코올 발효액을 여과 후, 그 여액을 초산균주인 *Acetobacter sp.* PA97을 알코올 발효 종료액에 초기산도 1%로 조절한 후 30°C에서 200 rpm으로 발효조에서 발효시켰다. 초산 발효시 시간에 따른 알코올 함량 변화 및 초산함량의 변화를 측정한 결과 12일째 이후로 초산함량이 5.8%로 더 이상 높아지지 않아 초산 발효 시간은 12일로 가장 적합한 것으로 나타났다.

오이 식초 제조 과정 중 유리당 변화를 분석한 결과 glucose, maltose, fructose 및 sucrose으로 확인되었다. glucose가 가장 높은 함량으로 나타났고, 발효시간이 경과됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 유기산을 측정한 결과 발효 초기 착즙액 일 때 유기산은 acetic, malic, citric, lactic, succinic 및 oxalic acid가 확인되었다. acetic acid와 succinic acid가 가장 높은 함량으로 나타났으며, 발효시간이 경과됨에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 오이 식초의 유리아미노산 함량은 citrulline, valine, aspartic acid, asparagine, ornithine이 비교적 높았으며, 그 외에는 미량의 함량으로 나타났다. 오이 식초의 무기성분 함량은 potassium이 가장 높게 나타났고, 그 외에는 다소 낮은 함량으로 나타났다.

오이 식초의 총 폴리페놀함량은 40.14 mg/mL 이었고, 수소공여능과 ABTS<sup>+</sup> radical 소거능은 68% 와 79% 이었다. 환원력과 β-carotene bleaching 활성에서도 높은 활성을 보였다. 숙취해소 효과를 확인하기 위해 실험동물에게 알코올을 섭취

시킨 후 오이 식초를 기반으로 만든 시제품과 시제품에 첨가물인 SKM, 오이 착즙액, 오이 식초 및 현재 시판되고 있는 숙취해소 음료제품을 실험동물에게 경구 투여하여 혈중 알코올 농도와 아세트알데히드 농도를 측정하였다. 혈중 알코올 농도를 측정한 결과 각 실험군들에서 90분에 알코올 농도가 증가되고 180분에 감소하는 경향 나타났다. 시판되고 있는 숙취음료인 A, B, C들에 비해 오이 착즙액, 오이 식초, SKM 그리고 시제품에서 감소하는 것으로 나타났다. 그 중에서도 시제품이 가장 혈중 알코올 농도를 감소시켜 숙취해소 효과가 높음을 확인 할 수 있었다. 알코올에 따른 대사산물 중 독성물질로써 반응성이 강한 아세트알데히드 농도를 측정한 결과 각 시료 투여군에서 시료를 보충하지 않은 알코올 대조군에 비해 감소하였다. 시판되는 숙취음료들인 A, B, C들 보다 오이 착즙액과 오이 식초 SKM 그리고 시제품에서 혈중 아세트알데히드 농도가 감소하였다. 그 중에서 시제품이 혈중 아세트알데히드 농도를 가장 낮게 감소시켰다. 따라서 주요 원인으로 알려진 아세트알데히드의 농도를 감소시켜 숙취해소 효과가 높음을 확인 할 수 있었다.

오이 발효원액의 숙취효과 검증을 통해 오이를 주원료로 한 숙취음료 시제품의 알코올성 간장해 개선 효능을 검증하고자 *in vivo* 실험을 통한 간독성 지표, 알코올 대사, 지질 함량 및 항산화대사계를 측정하였다. 실험동물의 체중증가량 및 식이섭취량은 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 시제품의 신장무게가 대조군에 비해 낮아진 것을 제외하고는 장기무게 역시 유의적인 변화가 없었다. 혈장 중의 에탄올 함량은 알코올 대조군에 비하여 시제품군은 유의적으로 낮았으며, SKM군은 감소하는 경향을 나타내었다. 혈장 중의 아세트알데히드 함량은 SKM과 시제품군 모두 에탄올대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 간조직 중의 ADH는 실험군간 유의적인 차이가 없었으나, ALDH 활성은 알코올대조군에 비하여 SKM과 시제품 모두 유의적으로 높았다. 반면, CYP2E1의 활성은 알코올대조군에 비하여 SKM군과 시제품군에서 유의적으로 낮았다. 혈장 중의 AST와 ALT활성은 SKM과 시제품 보충시 알코올대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. SKM과 시제품 보충은 혈장의 총 콜레스테롤 함량과 간조직의 콜레스테롤 함량을 유의적으로 개선하였으며, 간조직의 트리글리세리드 함량은 시제품군에서만 에탄올대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 또한 SKM과 시제품군의 간조직의 지질축적이 에탄올대조군에 비하여 현저히

감소되었다. 간조직의 SOD와 CAT활성은 에탄올대조군에 비하여 SKM군과 시제품군에서 유의적으로 높았으며, GSH-Px 활성은 실험군간 차이가 없었다. SKM과 시제품 보충시 GSH 함량은 에탄올대조군에 비하여 유의적으로 높은 반면, 지질과산화물 함량은 유의적으로 낮았다.

## SUMMARY

To develop the surplus cucumber as a high value produce, cucumber vinegar was produced on the optimal fermentation condition. Physiochemical component of the cucumber vinegar was analyzed, and the biological activities such as antioxidative activities and alcohol hangover prevention were examined *in vitro* and *in vivo*. In the alcohol fermentation, the optimum condition for maximum alcohol contents were 15°brix of initial sugar concentration, 28°C of temperature, and 5 days of fermentation time. The optimum condition for the acetic acid fermentation was over 12 days at 30°C, 200 rpm with 7% alcohol and 1% initial acidity. The contents of glucose, maltose and sucrose of cucumber juice were 11194.74, 2629.85, 2794.04 mg%, respectively. The contents of sugar decreased significantly during alcohol fermentation. During acetic acid fermentation, the concentration of acetic acid, succinic acid, malonic acid and were found. The concentrations of succinic acid and acetic acid as major organic acid increased. Other organic acid contents such as malonic acid was higher than in cucumber juice. The content of total amino acid in commercial vinegar was higher than in cucumber vinegar. The content of amino acids was high in order of leucine, valine and aspartic acid in cucumber vinegar. The contents of total free amino acids in commercial vinegar and cucumber vinegar were 36.1180 mg% and 4.2246 mg%, respectively. The contents of Ca, Fe, K, Mg, Mn, Cu and Na were 6.586, 0.266, 153.150, 7.010, 0.068, 0.001 and 2.755 mg/100g. The cucumber vinegar contents of total polyphenol compound was 40.14 mg/100ml. DPPH radical and ABTS radical scavenging of cucumber vinegar was approximately 68% and 79%.  $\beta$ -carotene bleaching activity showed also significantly antioxidant activities. On the study of ethanol induced hangovers in rat, alcohol and acetaldehyde concentration of the cucumber vinegar-treated group was significantly decreased in blood and liver tissue compared with that of the control group. Therefore, these results indicate



the cucumber vinegar may be used as functional vinegar which has not only antioxidant activity but also prevention effect of alcohol-induced hangover. Also, this study was performed to investigate the effect of hangover drink containing cucumber and SK mixture (SKM group) and marketing hangover drink (MHD group) supplement on the alcohol, lipid, and antioxidant metabolism in ethanol-treated rats. There were no significant differences in the food intake, weight gain or organ weights among the ethanol or pair-fed groups. Among the ethanol treated groups, the MHD group significantly lowered the plasma ethanol concentration, and SKM group reduced the plasma ethanol concentration. MHD and SKM group significantly lowered the plasma acetaldehyde concentration when compared among the ethanol-treated groups. Among the ethanol-treated groups, there is no significant difference in hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity, but MHD and SKM group tended to significant increase the aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity. However, MHD and SKM group significant lowered the CYP2E1 activity when compared among the ethanol-treated groups. MHD and SKM supplementation significant lowered the AST and ALT activity in plasma. MHD and SKM supplementation significantly increased the HDL-cholesterol and HDL-C/total-C ratio in hepatic lipid, but triglyceride ratio was significantly lowered in MHD group when compared with ethanol-treated groups. Hepatic lipid accumulation was also significantly reduced in the MHD and SKM group compared to the ethanol-treated groups. Among the ethanol-treated groups, the MHD and SKM supplementation resulted in a significant increased in the levels of SOD and CAT activities, and there were no difference on GSH-Px activity in the liver. Among the ethanol-treated groups, the MHD and SKM supplementation resulted in a significant high in the GSH ratio, but TBARS significant lowered in the liver.

# CONTENTS

Chapter 1. Summary of Research .....	3
Session 1. Objectives .....	3
Session 2. Necessity .....	41
Session 3. Scope .....	5
Chapter 2. International and Domestic Technology Status .....	6 1
Chapter 3. Methods and Results .....	8
Session 1. The Optimizing Production Conditions of Cucumber Vinegar .....	8 1
1. Materials and Methods .....	8
2. Results and Discussions .....	52
Session 2. The Analysis of Physico–Chemical Components in Cucumber Vinegar .....	29
1. Materials and Methods .....	2
2. Results and Discussions .....	23
Session 3. The Antioxidants Effects of Cucumber Vinegar .....	8 3
1. Materials and Methods .....	8
2. Results and Discussions .....	04
Session 4. The Hangover Effects of Cucumber Vinegar and SK mixture .....	5 4
1. Materials and Methods .....	54
2. Results and Discussions .....	64

Session 5. Studies on the Protective Effect of Hangover Drink Containing Cucumber Vinegar Against the Alcoholic Liver Disease in Rats .....	0 5
1. Materials and Methods .....	05
2. Results and Discussions .....	85
Chapter 4. Achievement and Contribution to related fields .....	86
Chapter 5. Application of results .....	96
Chapter 6. Information collected from overseas .....	07
Chapter 7. References .....	7

# 목 차

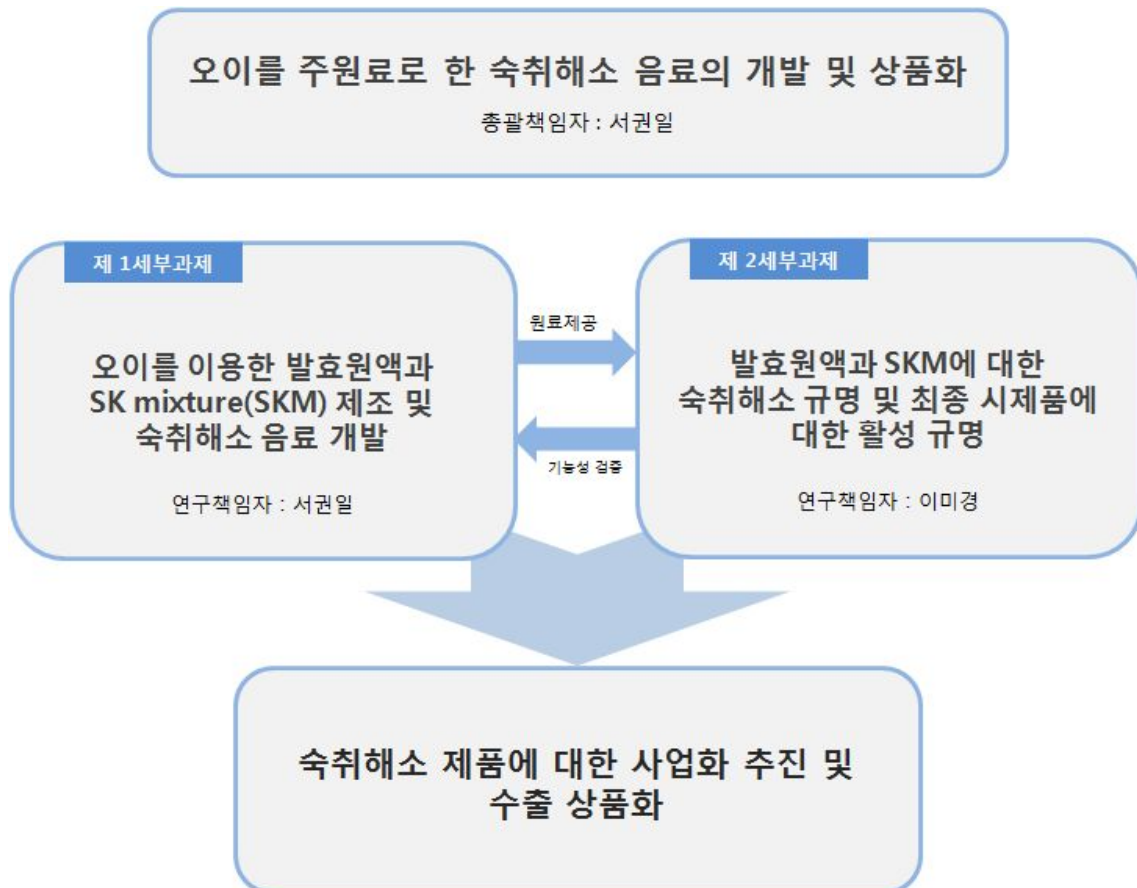
제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	13
제 1 절 연구개발 목적 .....	13
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	14
제 3 절 연구개발의 내용 및 범위 .....	15
제 2 장 국내·외 기술개발 현황 .....	16
제 3 장 연구 개발수행 내용 및 결과 .....	18
제 1 절 오이 식초의 최적 제조 조건 확립 .....	18
1. 재료 및 방법 .....	18
2. 결과 및 고찰 .....	25
제 2 절 오이 식초의 이화학적 성분분석 .....	29
1. 재료 및 방법 .....	29
2. 결과 및 고찰 .....	32
제 3 절 오이 식초의 항산화 효과 .....	38
1. 재료 및 방법 .....	38
2. 결과 및 고찰 .....	40
제 4 절 오이 식초와 SKM의 숙취해소 효능 .....	45
1. 재료 및 방법 .....	45
2. 결과 및 고찰 .....	46

제 5 절 오이를 주원료로 한 숙취음료 시제품의 알코올성 간장해 개선 효능 검증 .....	50
1. 재료 및 방법 .....	50
2. 결과 및 고찰 .....	58
제 4 장 목표달성도 및 관련분야의 기여도 .....	68
제 5 장 연구개발결과의 활용 계획 .....	69
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	70
제 7 장 참고문헌 .....	71

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발 목적

오이를 주원료로 한 숙성 발효원액과 본 연구진이 개발한 SK mixture(SKM)를 이용하여 기존의 숙취해소 음료보다 훨씬 숙취해소 효능이 뛰어나고, 알콜성 간장해 개선 효과가 있는 고부가가치적 음료를 개발하여 국내 및 국외 시장을 개척함으로써 농가의 소득에 기여하고자 함.



## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

- 가. 본 연구를 통해 얻어진 오이 발효기술은 다른 농산물에도 적용이 가능하므로 향후 농가의 잉여 농산물에 대한 문제점의 해결방안 제시함
- 나. 국내 어디에서도 재배 가능한 오이를 산업적으로 응용할 수 있는 기초 자료를 제공할 수 있음
- 다. 오이를 이용한 발효원액을 제조함으로써 그 원액을 이용하여 다양한 가공식품 개발 가능
- 라. 최근 개발된 SK mixture를 이용한 기존의 숙취해소 음료보다 효과가 탁월한 음료를 개발 할 수 있음
- 마. SK mixture의 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과에 대한 연구는 다른 학문 분야에서도 응용이 가능하여 인접학문의 발전에 활용 가능함

### 2. 경제·산업적 측면

- 가. 오이를 이용한 발효원액 제조에 따른 오이의 저장성 연장이 가능하고(2년 이상), 발효원액의 실온 저장이 가능함에 따라 저장비용이 크게 절감됨
- 나. 오이를 이용한 발효원액으로 2차 가공 음료를 개발함으로써, 오이의 소비촉진 및 농가의 소득증대 기대
- 다. 오이 발효원액 및 SK mixture를 이용한 숙취해소 음료 개발에 따른 고부가가치 창출 기대
- 라. 개발 제품을 수출상품화 함으로서 외화 획득에 기여함

### 3. 사회·문화적 측면

- 가. 급속한 경제 성장으로 인한 국민들의 건강에 대한 의식수준 향상
- 나. 식품 자체의 영양 섭취보다는 기능적인 성분에 관심이 증가하고 있는 추세
- 다. 기능성 성분에 대한 연구는 많으나 이를 활용하는 산업화에 대한 연구 부족
- 라. 명확한 효능을 갖는 기능성 소재의 개발의 관련 산업의 과학화 유도가 필요

### 제 3 절 연구개발의 내용 및 범위

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용 및 범위
1차년도 (2008)	오이 발효원액과 SKM의 제조 및 이의 숙취해소 효능 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 오이를 이용한 발효원액 및 SK mixture(SKM, 숙취해소 활성 물질) 제조</li> <li>○ 발효원액 및 SKM의 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과 규명</li> </ul>
2차년도 (2009)	숙취해소 음료 시제품 개발 및 제품의 기능성 규명과 최종 제품에 대한 대량생산 및 상품화	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 오이발효 원액 및 SKM을 이용한 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선, 음료 시제품 개발</li> <li>○ 음료 시제품에 대한 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과 규명</li> <li>○ 최종 시제품에 대한 영양성분 및 관능적 평가</li> <li>○ 최종 제품 개발 및 제품화</li> <li>○ 최종 제품의 대량생산 및 상품화</li> </ul>



## 제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

### 1. 국내의 기술개발 현황

- 국내에서의 오이에 관한 연구는 대부분이 오이 재배 기술과 오이에 해를 입히는 곤충과 병에 대한 방제 및 오이 성분 등에 대하여 검토한 바 있음
  - 성 등은 오이의 시설재배 시 착과율을 높이기 위해 화분 매개 곤충을 이용하는 방법에 대하여 검토
  - 남 등은 오이 흰가루병에 대한 *Bacillus subtilis* KB-401의 방제 효과에 대하여 검토
  - 이 등은 유기 및 관행재배 오이의 품질특성 및 휘발성 향기성분 특성에 대하여 조사
- 오이를 이용한 가공품에 대한 연구는 한정적인 1차 가공품들이 주를 이루고 있음
  - 김 등은 열처리가 오이지의 발효에 미치는 영향에 대해서 조사
  - 김 등은 발효 중 오이지의 물리화학적 및 관능적 품질의 변화에 대한 검토
  - 염지 오이피클의 숙성 중 펙틴질의 변화를 오 등이 조사
- 오이를 이용한 가공품과 기능성을 가진 성분에 대한 연구가 부족한 실정임
- 오이를 이용한 발효식초에 대한 연구는 전무한 실정임

## 2. 국외의 기술개발 현황

○ 오이를 이용한 발효식품은 전 세계적으로 다양한 종류가 있으나 대부분이 절임방법을 이용한 식품들이며, 전통적인 방법으로 제조방법을 토대로 과학적인 기능성을 입증하기 위한 노력들이 이루어지고 있음

- 아시아 지역 : 쓰케모노(일본), 옌차이(중국), 아차르(인도) 등
- 서양 지역 : 피클

○ 쓰케모노, 옌차이, 아차르 및 피클은 오이를 비롯한 채소들을 소금이나 장 및 식초에 절여 발효 기간 중에 풍미를 증진시키고 저장성을 늘여준다고 보고되어짐

○ 우리나라와 마찬가지로 오이를 이용한 제품은 1차 가공품이 주를 이루고 있음

○ 국외에도 오이를 이용한 발효식초에 대한 연구는 전무한 실정임

○ 최근 일본 및 서양에서는 식초를 조미가 아닌 음료로서 많이 개발되고 있음

## 제 3 장 연구 개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 오이 식초의 최적 제조 조건 확립

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. 재료

##### 1) 재료

본 실험에 사용된 오이(*Cucumis sativus* L.)는 2009~2010년 대형 마트에서 국산을 구입하여 warning blender로 파쇄 한 것을 원료로 사용하였다.

##### 2) 사용균주 및 배지조성

알코올 발효 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*(KCTC 7904)을 YPD 평판배지에 계대배양 후, YM 액체배지에서 24℃에서 24시간 정지 배양하여 사용하였으며, 초산균은 *Acetobacter* sp. PA 97을 Table 1의 배지 조성으로 30℃에서 72시간 배양하여 사용하였다.

Table 1. Cultural medium composition of acetic acid bacteria

Liquid Medium	
Components	Ratio(%)
Yeast extract	0.5
Glucose	0.5
Glycerin	1.0
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	0.02
Ethanol	5.0
Acetic acid	1.0

## 나. 방법

### 1) 오이를 이용한 발효원액 제조 조건

식품공전에 과실 식초의 경우는 과즙이 30%이상 함유되어야 한다고 규정되어 있으며, 본 실험실에서 예비실험 결과 오이 식초 제조 시 오이가 30%이상 함유하는 것이 좋은 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 최적 발효 조건을 위하여 오이즙 농도를 이전 연구 결과를 토대로 결정하였다. 즉 오이즙의 농도를 30%, 40%, 50%(v/v) 달리하며, 여기에 당을 첨가하여 5일 동안 알코올 발효를 한 후 관능 평가를 실시한 결과 농도에 따라 큰 차이를 나타나지 않았으며, 앞으로 산업화 시 경제적인 조건도 고려하여 30%의 오이즙을 사용하기로 하였다.

### 2) 천연과실 소재를 이용한 발효원액 제조 조건

알코올 발효 시 당이 필수적이거나 오이에는 당이 많이 함유되어 있지 않으므로 (3.7°Brix) 보당이 필요하다. 이전 연구 결과에서 당도가 14-15°Brix 범위에서 알코올 발효가 잘 되고 최종적으로 식초 제조 시 기호적인면도 좋은 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 이전의 연구 결과를 토대로 여러 가지 천연과실의 농축액을 이용하여 최적 알코올 발효 조건을 검색하고자 하였다.

### 3) 알코올 발효 조건

#### 가) 주모

오이를 파쇄 하여 사과 농축액(72°brix)을 당도 15°brix로 조절한 후 *Saccharomyces cerevisiae*를 접종하여 28°C에서 72시간 배양하여 주모로 사용하였다.

#### 나) 발효시간에 의한 영향

발효시간이 알코올 발효에 미치는 영향을 알아보기 위해 오이 30%와 사과 농축액(72°brix) 16.42% 및 정제수 53.58%로 농도를 맞춰 초기당도를 15°brix로 조절 후 주모 10%를 접종하고 28°C에서 6일 동안 정치 배양하여 24시간 간격으로 당

도변화 및 알코올 함량 변화를 측정하였다.

#### 4) 초산 발효 조건

##### 가) 종초의 배양

주모 제조 시 동일방법으로 제조된 오이 알코올 발효액을 여과한 후, 그 여액을 초산균주 *Acetobacter sp.* PA97을 접종하여 30°C에서 200 rpm으로 72시간 배양하여 종초로 사용하였다.

##### 나) 발효시간에 의한 영향

발효시간이 초산 발효에 미치는 영향을 알아보기 위해 알코올 발효 종료액에 초기산도를 1%로 조정하고 30°C에서 진탕배양(200 rpm)을 하면서 알코올 함량 변화 및 초산 함량 변화를 측정하였다.

### 5) 오이 식초의 제조

오이 식초의 최적조건을 확립하기 위하여 오이를 파쇄 하여 사과 농축액 (72°brix) 을 이용해 15°brix로 조절한 후 10%(v/v)의 주모를 접종하여 28℃ incubator(IB-600M, JEIO TECH, Korea)에서 수립된 최적조건에 알코올발효 시킨 후 여과한 여액을 초산발효기질로 사용하였다. 초산발효는 발효조(KF-5L, Korea fermentor Co., Korea)에 오이 알코올 발효액을 넣고 종초 10%(v/v) 접종한 후 수립된 최적 조건에서 발효시켜 분석시료로 사용하였다.

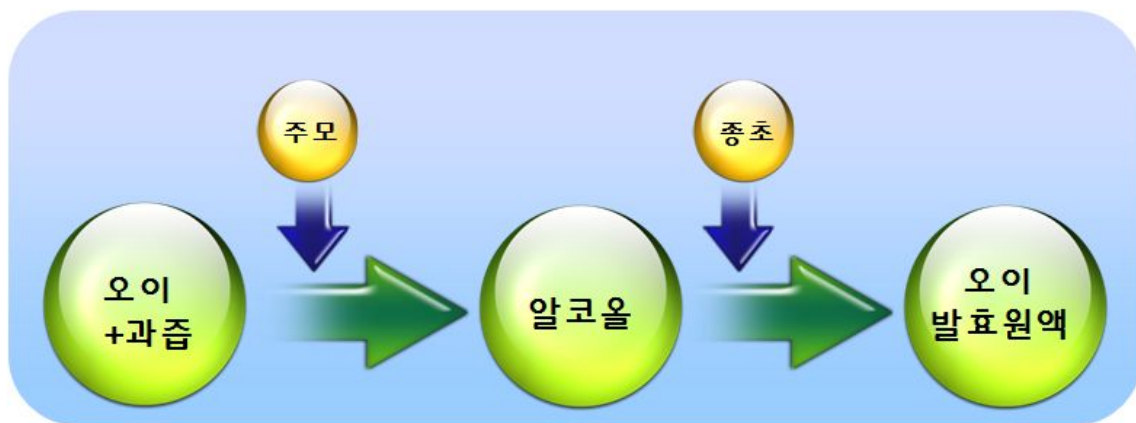


Fig. 1. Production of cucumber vinegar.

1. 알코올 발효



2. 초산 발효



3. Jar fermenter를 이용한 Scale-up



Fig. 2. Manufacturing process of fermented cucumber vinegar.





<알코올 발효조>



<초산 발효조>

Fig. 3. Scale-up of fermentation process for the production of cucumber vinegar.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 오이와 천연과실 농축액을 이용한 발효 조건 확립

#### 1) 사과 농축액을 이용한 알코올 발효 조건 확립

설탕, 꿀, 배농축액 및 사과농축액으로 보당하여 발효를 진행한 후 전체적인 맛, 소비자의 선호도 및 상품화 시 경제적인 면 등을 고려하여 최종적으로 오이 파쇄액에 사과농축액으로 당도를 15°brix로 조절한 후 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용해 28°C에서 6일간 발효 시간에 따른 알코올 함량변화 및 당도 변화를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 알코올 함량의 경우 발효 1일째부터 급격히 증가하기 시작하여 발효 종료 시 7.8%를 나타냈다. 당도의 경우는 발효가 진행될수록 점점 감소하여 발효 종료 후 5.8°brix로 알코올 함량과 반비례 하게 나타났다. 6일째부터는 5.8°brix로 더 이상 감소하지 않아 효모 균주를 이용한 오이 착즙액의 발효시간은 6일로 가장 적합 한 것으로 나타났다.

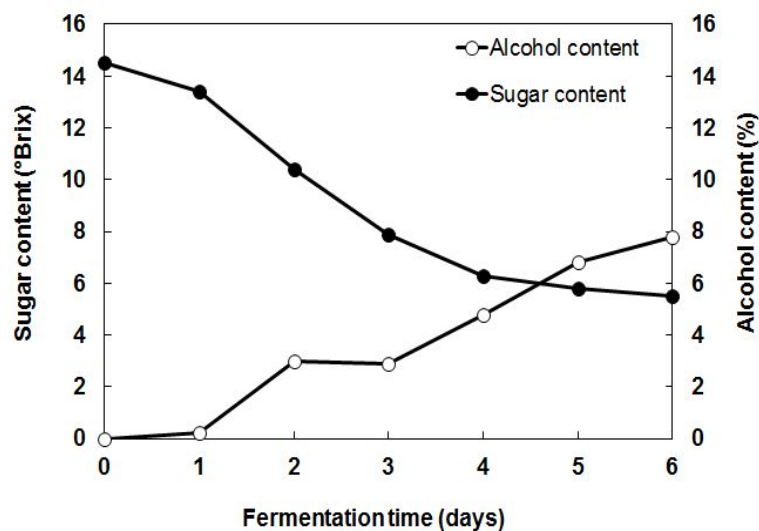


Fig. 4. Effect of fermentation times on alcohol production.

## 2) 사과 농축액을 이용한 초산 발효 조건 확립

Fig. 5는 알코올 발효 종료액에 초기산도 1%로 조절한 후 시간에 따른 알코올 함량 변화 및 초산함량의 변화를 측정한 결과이다. 발효시간이 경과함에 따라 초산 함량은 조금씩 증가하여 12일째에 5.8%로 나타났으며, 알코올 함량은 반비례적으로 4일째부터 급격하게 감소하여 12일째에 0%로 나타났다. 이러한 결과를 통해 알코올 발효와 초산 발효로 구분한 2단계 발효 방법은 자연발효 방법에 비하여 단기간에 제조가 가능 하며 산도 함량도 높아 식초의 품질을 향상 시킬 수 있다고 사료된다.

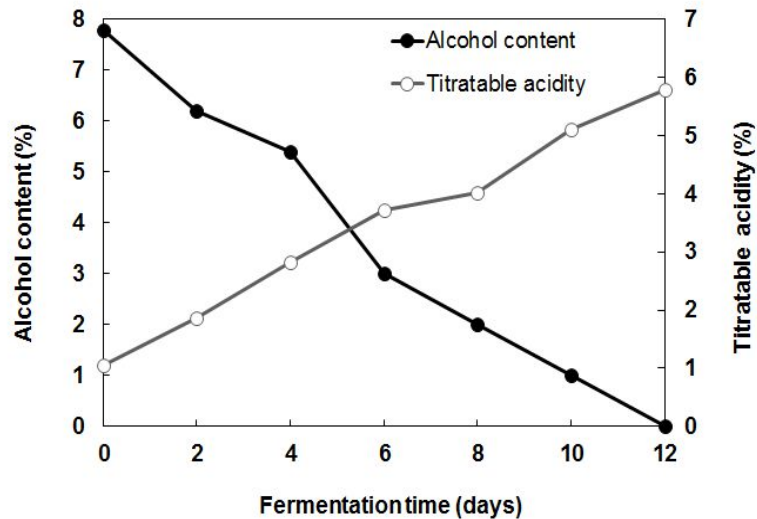


Fig. 5. Effect of fermentation times on acetic acid production.

3) 알코올 발효액의 초기 산도가 초산 발효 중 미치는 영향

초기 산도가 초산 발효에 미치는 영향을 살펴보기 위해 초기 산도를 1, 1.5, 2%로 조절하여 30°C에서 200 rpm으로 진탕배양을 하였다. 발효시간에 따른 초산 함량의 변화를 측정한 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 전반적으로 초기 산도 농도가 높을수록 발효 시간이 경과됨에 따라 산도함량이 높게 나타났으나, 첨가된 산도를 감안한다면 최종 산도는 큰 차이가 없는 것으로 판단된다.

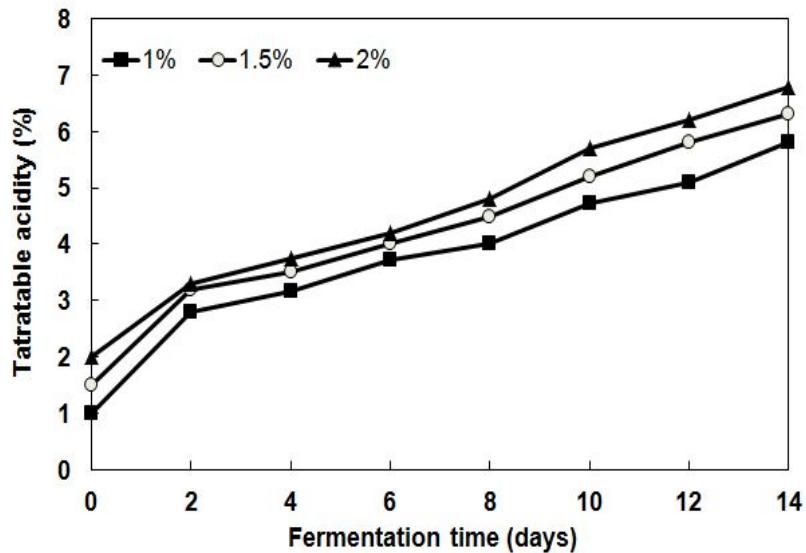


Fig. 6. Effect of initial acetic acid concentration on acetic acid production.

#### 4) 오이와 사과 농축액을 이용한 식초 발효의 최적조건

위의 결과들을 토대로 알코올 발효는 오이를 파쇄하여 사과 농축액으로 당도를 15°brix로 조절한 후 알코올 균주인 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용해 28°C에서 발효를 하였다. 시간에 따른 알코올 함량 변화 및 당도 변화를 측정한 결과 효모 균주를 이용한 오이 착즙액의 발효시간은 6일로 가장 적합한 것으로 나타났다. 또한, 초산 발효는 오이 알코올 발효액을 여과 후, 그 여액을 초산균주인 *Acetobacter sp.* PA97을 알코올 발효 종료액에 초기산도 1%로 조절한 후 30°C에서 200 rpm으로 발효조에서 발효시켰다. 초산 발효 시 시간에 따른 알코올 함량 변화 및 초산함량의 변화를 측정한 결과 12일째 이후로 초산함량이 5.8%로 더 이상 높아지지 않아 초산 발효 시간은 12일로 가장 적합한 것으로 나타났다. 따라서 이를 오이 식초 시료로 하여 기능성 검증에 사용하였다.

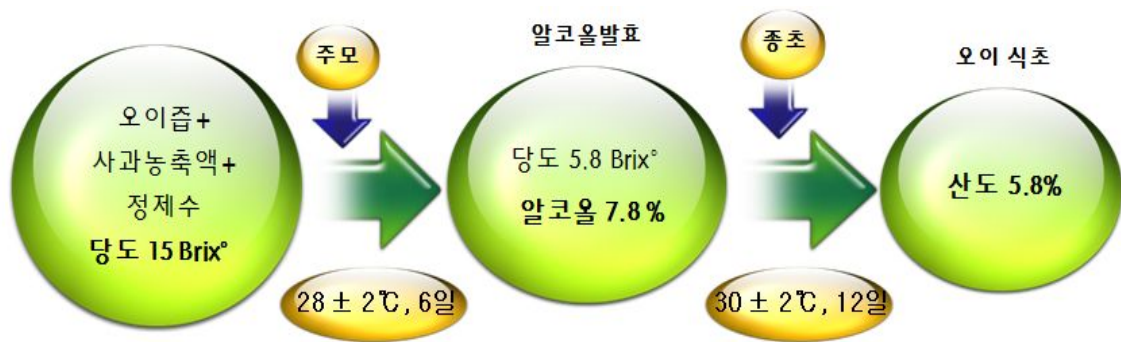


Fig. 7. Changes in pH, acidity, sugar and alcohol contents during fermentation.

## 제 2 절 오이 식초의 이화학적 성분분석

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 알코올 함량 및 당도 측정

주류분석규정에 따라 알코올발효액을 원심분리 하여 균체를 제거한 후 상징액 100 mL를 증류한 후 유액이 70 mL이 되면 중지하고 물을 가하여 증류액을 100 mL로 채운다음 주정계(alcohol hydrometer)로 측정하여 Gay-Lussac 주정환산표 에서 15°C 온도로 보정 후 측정하였다. 당도는 300  $\mu$ L을 취하여 당도계(ATAGO : PAL-3, Japan)를 사용하여 °Brix(%) 측정하였다.

#### 나. pH 및 총산 측정

pH측정은 시료 10 mL 취하여 pH meter(720p, Istek, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 총산은 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하여 초산으로 환산하였다.

#### 다. 유리당 및 유기산 분석

시료액을 원심분리 시킨 후 Sep-Park C<sub>18</sub> cartridge(Water Associate, U.S.A)에 통과시키고 0.45 $\mu$ m membrane filter 여과로 색소 및 단백질성분을 제거한 다음 분석하였고, 각각의 분석조건은 Table 2와 같다.

#### 라. 유리 아미노산 분석

오이 식초의 유리아미노산 분석은 여액 10 mL에 sulfosalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(50,000 rpm, 30분)하여 단백질등을 제거하고, 상등액을 0.22 $\mu$ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 취하여 분석시료로 사용하였으며 분석조건은 Table 3과 같다.

마. 무기성분

오이 식초 무기성분 분석은 습식분해법으로 행하였다. 시료용액 100 mL에 분해제(HClO<sub>4</sub> : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 9 : 2 : 5, v/v) 25 mL를 가하여 낮은 온도에서 서서히 가열하여 완전하게 무색으로 변할 때까지 hot plate에서 분해한 후 여과(Whatman NO.2)하여 100 mL 정용하였으며, 이를 시료로 하여 atomic absorption spectrometer을 사용해서 Table 4와 같은 조건으로 분석하였다.

Table 2. Operating conditions of ion chromatography

Items	Conditions	
	Free sugars	Organic acids
Column	IonPac AS11-HS Analytical, 4-mm	InertsilODS-3V (250×4.6mm I.D)
Column temp.	IonPac AG11-HS Guard, 4-mm	40℃
ELUENT	EGC-KOH Cartridge-23mM KOH	0.1M Ammonium dihydrogenphosphate + Phosphoric acid (pH 2.5)
Flow rate	1.0 mL/min	1.0 mL/min
Inj. Volume	10 µL	20 µL
Detection	ELSD	RI

Table 3. Operating conditions of amino acid analyzer for amino acid content analysis

Instrument	S433-H (SYKAM)
Column	Cation separation column (LCA K07/Li)
Column size	4.6 × 150 mm
Column temperature	37 ~ 74°C
Flow rate	Buffer 0.45 mL/min, reagent 0.25 mL/min
Buffer pH range	2.90 ~ 7.95
Wavelength	440 nm and 570 nm

Table 4. Operating for analysis of minerals by atomic absorption spectrophotometer

Item	Minerals (AA-6501GS(SHIMADZU))							
	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Cu	Na	Zn
Wave length(nm)	422.7	248.3	766.5	285.2	279.5	324.8	330.2	213.9
Current(mA)	10	12	10	8	10	6	10	8
Slit Width(nm)	0.5	0.2	0.5	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
Lighting Mode	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	Non-BGC	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	BGC-D <sub>2</sub>	Non-BGC	BGC-D <sub>2</sub>
Burner Height(mm)	7	7	7	7	7	7	7	7
Fuel Gas Flow(/min)	2.0	2.0	2.0	1.8	2.0	1.8	1.8	2.0



## 2. 결과 및 고찰

### 가. 알코올 함량 및 당도의 변화

Table 5는 식초 제조 과정 중 알코올 함량과 당도의 변화를 측정한 결과이다. 알코올 발효 과정에서 당도는 발효 초기 착즙액일 때 15°brix에서 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 알코올 발효가 종료 후에는 5.8°brix로 나타났다. 알코올 함량은 발효 초기 착즙액일 때 0%에서 발효가 진행됨에 따라 점차 증가하여 알코올 발효 종료 후에는 7.8%로 나타났다. 초산 발효 과정 후에는 당도는 5.8°brix로 변화가 거의 없었으며, 잔류 알코올 함량은 0%로 나타났다.

Table 5. Changes in alcohol and °brix concentration after alcohol and acetic acid fermentation of cucumber juice

Items	Samples	Juice	Wine	Vinegar
Sugar contents(°Brix)		15	5.8	5.8
Alcohol(%)		0	7.8	0

나. pH 및 총산의 변화

식초 제조 과정 중 pH 및 총 산도의 변화를 측정한 결과는 Table 6과 같다. pH는 발효 전 착즙액일 때 3.90이었으며, 발효가 진행됨에 따라 감소하여 알코올 발효 종료 후에는 3.40이었다. 초산발효 과정에서도 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 초산발효 종료 후에는 2.90이었다. 산도의 변화는 발효초기 착즙액일 0.54%였고, 알코올 발효 종료 후에는 0.72%로 큰 변화는 없었다. 초산 발효 과정에서의 산도는 발효가 진행됨에 따라 서서히 증가하여 발효 12일에 5.8%로 최고치를 나타냈다.

Table 6. Changes in pH and acidity after alcohol and acetic acid fermentation of cucumber juice

Items \ Samples	Juice	Wine	Vinegar
pH	3.90	3.40	2.90
Acidity(%)	0.54	0.72	5.80

다. 유리당의 변화

Table 7은 오이 식초 제조과정 중 유리당 변화를 HPLC로 분석한 결과이다. 발효경과에 따른 유리당 성분은 glucose, maltose, fructose 및 sucrose으로 확인되었다. 알코올 발효 과정에서는 glucose함량이 가장 높았으며, 발효시간이 경과됨에 따라 발효 전 12,554.45 mg%에서 발효 후 3,107.53 mg%로 감소하였다. 그 외 유리당 성분인 maltose, fructose 및 sucrose 함량은 상대적으로 미량으로 나타났고 발효시간이 경과됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 7. Changes in contents of free sugars after alcohol and acetic acid fermentation of cucumber juice

Free sugars	Samples		
	Juice	Wine	Vinegar
Glucose	12,554.45	3,107.53	3,058.52
Maltose	175.72	29.30	19.82
Fructose	1,589.51	751.08	418.30
Sucrose	109.48	46.59	—
Total free sugars	14,429.16	3,934.50	3,496.37

라. 유기산의 변화

오이 식초 제조과정 중 유기산 변화를 측정한 결과는 Table 8과 같다. 발효 초기 착즙액일 때 유기산은 acetic, malic, citric, lactic, succinic, oxalic acid가 확인 되었다. 알코올 발효 과정에서는 acetic acid와 succinic acid함량이 높았으며 그 외 유기산들은 미량의 함량으로 나타났다. 초산 발효가 진행되면서 acetic acid 4,417.55 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며 그 다음으로 succinic acid가 842.09 mg%로 높게 나타났다. 또한 초산 발효 시 acetic acid와 succinic acid를 제외한 다른 유기산들에서도 증가하는 것으로 나타났다.

Table 8. Changes in organic acids contents after alcohol and acetic acid fermentation of cucumber juice

(mg%)

Organic acids	Samples		
	Juice	Wine	Vinegar
Acetic acid	137.57	552.76	4,417.55
Malic acid	11.59	37.79	98.90
Citric acid	11.06	27.91	86.35
Lactic acid	78.74	88.19	111.96
Succinic acid	92.18	238.96	842.09
Oxalic acid	27.45	30.76	337.74
Total organic acids	355.59	946.37	5,894.09

마. 오이 식초의 유리아미노산의 함량

Table 9는 2단계 발효과정으로 제조한 오이 식초에 대한 유리아미노산을 분석한 결과이다. 식초의 유리아미노산 함량은 citrulline, valine, aspartic acid, asparagine, ornithine가 비교적 높았다. 그 외에 유리 아미노산들은 미량의 함량으로 나타났다.

Table 9. Comparison free amino acid contents in commercial vinegars and cucumber vinegar

(mg%)			
Free amino acids	Contents	Free amino acids	Contents
Aspartic acid	2.379	Leucine	0.224
Serine	0.092	Tyrosine	0.292
Asparagine	1.524	Phenylalanine	0.550
Glutamic acid	0.740	$\beta$ -aminoisobutric acid	0.549
$\alpha$ -aminoadipic acid	0.392	$\gamma$ -aminoisobutric acid	0.242
Glycine	0.127	Homocysteine	0.173
Alanine	0.224	Ammonia	0.492
Citrulline	3.487	DL+allohydroxylysine	0.055
$\alpha$ -aminoisobutyric acid	0.259	Ornithine	1.262
Valine	2.591	Lysine	0.145
Cystine	0.885	Histidine	0.135
Cystathionine	0.656	3-methylhistidine	0.184
Isoleucine	0.082	Arginine	0.407
Total			21.642

바. 오이식초의 무기성분 함량

오이 식초의 무기성분 함량을 분석한 결과는 Table 10과 같다. 오이 식초의 무기 성분 중 K의 함량이 1531.50 ppm으로 가장 높게 나타났다. 그 외에 Ca, Mg Na의 함량이 65.86 ppm, 70.10 ppm, 27.55 ppm으로 높았다. Fe, Mn 및 Cu는 다소 낮은 함량으로 나타났다.

Table 10. Content of mineral in cucumber vinegar

(ppm)	
Mineral	Contents
Ca	65.86
Fe	2.66
K	1531.50
Mg	70.10
Mn	0.68
Cu	0.01
Na	27.55

## 제 3 절 오이 식초의 항산화 효과

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalten's 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시 0.1 mL에 증류수 8.4 mL와 2 N Folin-Ciocalten's 시약 0.5 mL를 첨가하고 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mL를 가하여 2시간 방치하였다. 반응물의 흡광도는 725 nm에서 spectrophotometer를 사용하여 측정하였고, gallic acid를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

#### 나. 수소공여능

시료에 대한 수소공여능은  $\alpha, \alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazine(DPPH)의 환원성을 이용하여 540 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다. 대조구로 사용한 BHT와  $\alpha$ -tocopherol 농도는 0.1%가 되게 조제하였으며, 시료 1 mL과  $5 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 3 mL를 5초 동안 혼합하고 이를 암실에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 ethanol 1 mL을 첨가하였으며, 수소공여능을 대조구에 대한 흡광도의 감소 비율로 나타내었다.

#### 다. 환원력

시료 2.5 mL에 2.5 mL의 인산완충용액(0.2 M, pH 6.6)과 2.5 mL의 potassium ferricyanide(1%, w/v)를 첨가하여 섞은 후, 50°C를 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 mL의 trichloroacetic acid(10%, w/v)를 첨가하여 섞은 후 3000 rpm으로 10분간 원심 분리하였다. 상층액의 1 mL을 취해 시험관에 담고 1 mL의 증류수와 0.2 mL의  $\text{FeCl}_3$ (0.1%, w/v)을 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

라. ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성

7 mM의 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid)와 2.45 mM의 potassium peroxodisulfate를 혼합한 후 23°C의 암소에서 16시간 동안 반응시켰다. ABTS<sup>+</sup> 용액의 농도는 734 nm에서 흡광도가 0.700 ± 0.005 정도가 되도록 하였다. 시료 0.1 mL 와 3.9 mL ABTS 용액을 혼합한 후 23°C에서 6분간 반응시키면서 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군은 0.1% BHT, 0.1% α-tocopherol를 사용하였다. ABTS<sup>+</sup> radical 소거능은 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.})}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

마. β-carotene bleaching 측정

클로로포름 10 mL에 1 mg β-carotene을 용해하여 β-carotene 용액을 만든 후, β-carotene 용액 10 mL를 100 mL 둥근 플라스크에 취하고, linoleic acid 20 mg 및 Tween 40 200 mg을 첨가하여 40°C 진공회전농축기에서 클로로포름을 제거한 후 증류수 100 mL를 첨가한 다음 진탕하여 emulsion 용액을 제조하였다. 이 emulsion 용액 0.2 mL에 시료 첨가군, 에탄올(대조구) 및 positive control인 0.1% α-tocopherol과 0.1% BHT 용액 8 μL를 첨가하여 50°C에 저장하였다. 저장기간 중 0분에서 180분 동안 15분 간격으로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.



## 2. 결과 및 고찰

### 가. 총 폴리페놀 함량

오이 착즙액과 2단 발효를 통하여 제조한 오이 식초의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 11과 같다. 오이 착즙액의 폴리페놀 함량은 1.56 mg/mL 이었고, 오이 식초의 폴리페놀 함량은 증가하여 40.14 mg/mL로 높게 나타났다. 이는 오이 발효 시 첨가된 사과농축액에 의한 것으로 사료된다. 천연물에 함유되어 있는 페놀성 화합물들은 항균, 항산화, 항암 등 다양한 생리활성이 있어 천연 항산화제로써 작용되고 있으며 오이 식초는 우수한 천연 항산화제 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 11. Total phenolics content of cucumber juice, vinegar

(mg/mL)

Samples	Total phenolics
Juice	1.56±0.06
Vinegar	40.14±0.02

Data values were expressed as mean ± S.D. of triplicate determinations.

### 나. 수소공여능

수소공여능에 사용되는 DPPH는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다. Fig. 8은 오이 착즙액과 오이식초의 수소공여능을 측정된 결과이다. 오이 착즙액은 20%로 낮은 항산화 효과를 나타냈으나 2 단 발효를 통해서 제조된 오이 식초는 68%로 높은 항산화 효과를 나타내었다. 또한 오이 식초는 0.1%  $\alpha$ -tocopherol과 유사한 항산화 효과를 나타내었다. 이는 발효 후 생성된 식초 및 첨가된 사과농축액의 polyphenol 성분 등에 기인된 것으로 사료된다.

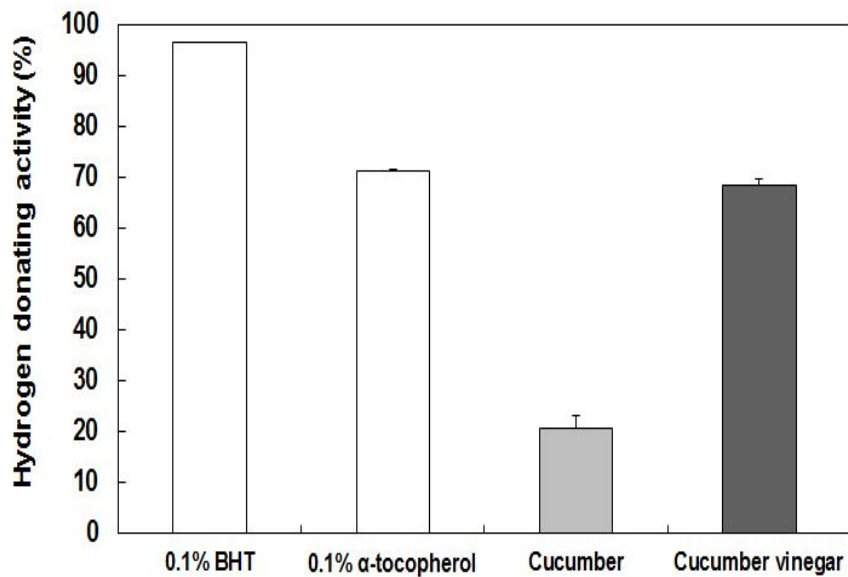


Fig. 8. Hydrogen donating activities of cucumber juice and vinegar. Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations.

#### 다. 환원력

환원력은 시료에 존재하는 reductones가 제공하는 수소원자가 활성산소 사슬을 분해함으로써 항산화 활성을 나타내는 것으로 항산화 활성과 직접적으로 연관되어 있는 것으로 알려져 있다. Fig. 9는 오이 착즙액과 오이 식초의 환원력을 측정한 결과이다. 오이 착즙액은 낮은 환원력을 나타내었으나, 2단 발효를 통한 오이 식초는 착즙액과 비교 시 높은 활성을 나타내었다. 또한 오이 식초는 0.1% BHT와 유사한 높은 항산화 효과를 나타내었으며, 수소공여능 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

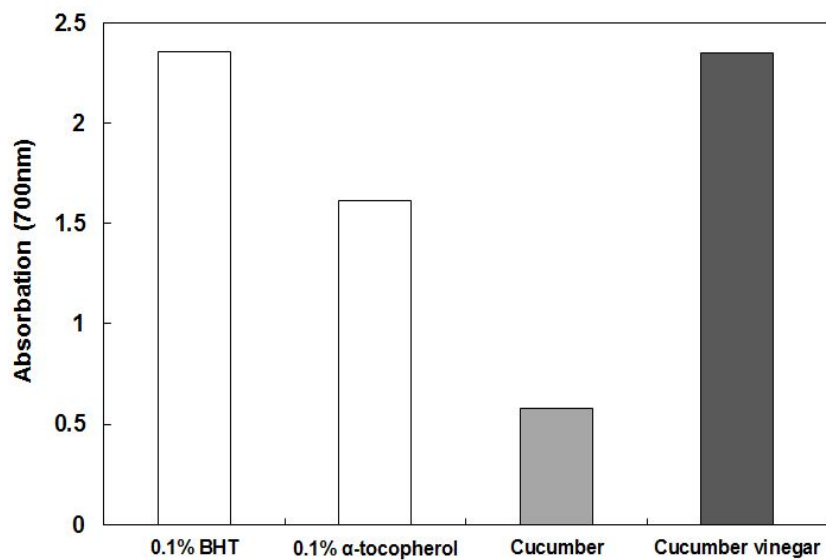


Fig. 9. Reducing power effects of cucumber vinegar.

Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations.

라. ABTS<sup>+</sup> radical 소거능

ABTS<sup>+</sup> radical을 이용한 항산화능 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS<sup>+</sup> free radical이 시료 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법이다. 오이 착즙액과 오이 식초를 가지고 ABTS<sup>+</sup> radical 소거능 효과를 측정한 결과는 Fig. 10과 같다. 오이 착즙액은 radical 소거능이 26%로 나타났고, 오이 식초는 radical 소거능이 79%로 나타났다. 또한 오이식초는 0.1%  $\alpha$ -tocopherol와 비교 시 다소 낮은 경향을 나타냈으나 착즙액보다 높은 항산화 활성을 나타내어 발효한 과정 중에 의존적으로 항산화 능력이 증가하는 경향을 확인 할 수 있었다.

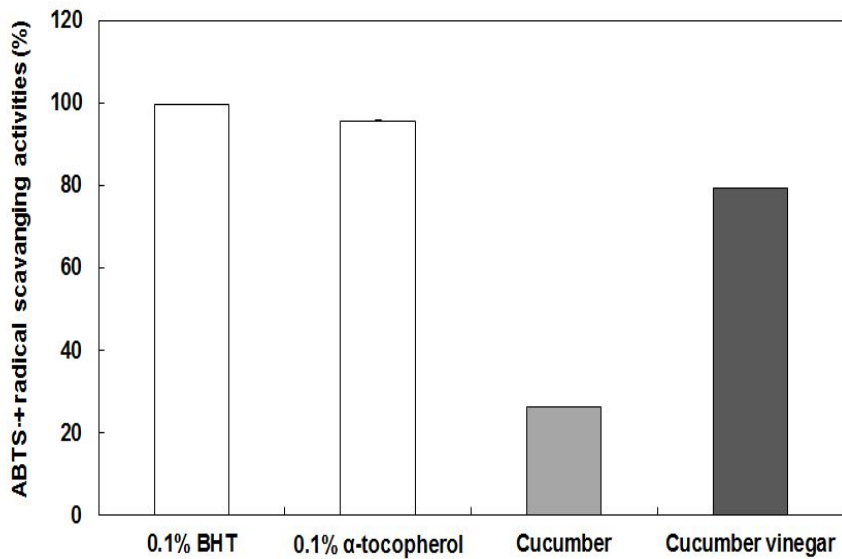


Fig. 10. ABTS<sup>+</sup> scavenging activities of cucumber juice and vinegar. Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations.

마.  $\beta$ -carotene bleaching 활성

$\beta$ -carotene의 황색이 lipid peroxy radical의 첨가에 의하여 탈색화되는 것을 측정하는 방법인  $\beta$ -carotene linolate system을 이용하여 오이 착즙액과 오이 식초의 항산화 효과를 측정한 결과는 Fig. 11과 같다. 오이 식초는 대조군에 비해 흡광도가 다소 낮았으나 대조군과 유사한 항산화 효과를 나타내었다. 따라서 2단 발효를 통해 제조한 오이 식초는 항산화 기전 중 lipid peroxy radical의 억제능이 있는 것으로 확인하였다.

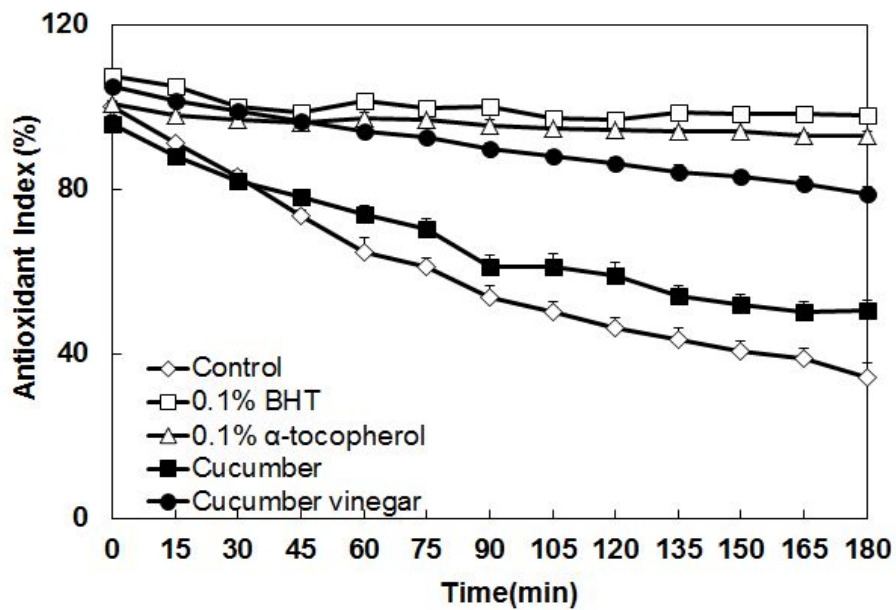


Fig. 11.  $\beta$ -carotene bleaching assay of cucumber juice and vinegar. Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations.

## 제 4 절 오이 식초의 숙취해소 효능

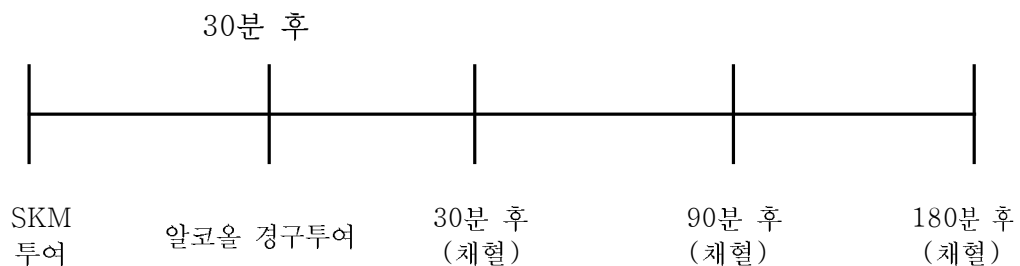
### 1. 재료 및 방법

#### 가. SK mixture(SKM)의 제조 방법

기존의 문헌 및 연구결과를 토대로 하여 숙취해소 효능이 뛰어난 천연식물들을 선별하였다.. 이들 각각에 물을 첨가하여 85℃에서 3시간 3회씩 열수 추출한 다음 여과하여 추출물을 조제하였다. 이들을 대상으로 하여 6종류의 mixture를 제조한 후 가장 효능이 뛰어난 것으로 판단되는 mixture를 SK mixture로 명명하고 본 연구의 실험원료로 사용하였다.

#### 나. 혈중의 알코올과 아세트알데히드 함량 측정

혈중의 에탄올 농도는 에탄올 측정용 kit(Roche, Switzerland)를 이용하여 Cobas Intergra 800(Roche, Switzerland)기기로 분석하였다. 아세트알데히드 농도는 아세트알데히드 탈수소 효소(ALDH)에 의해 산화되어 아세트산을 생성하는 과정에서  $NAD^+$ 라는 조효소의 도움을 받아 NADH를 생성하는데 그 생성물의 양을 측정하였다.



## 2. 결과 및 고찰

### 가. SKM의 숙취해소 효과

#### 1) SKM 식이에 따른 혈중 알코올 농도 변화

시간에 따른 혈중 알코올 농도를 측정한 결과는 Fig. 12와 같다. 실험군들은 30분에 알코올 농도가 증가하고 180분 후에 감소하는 경향을 나타내었다. 시판되고 있는 숙취음료군에 비해 SKM군들에 감소하는 것으로 나타났으며, 그중에서도 SKM1이 가장 혈중 알코올 농도를 감소시키는 것으로 나타났다.

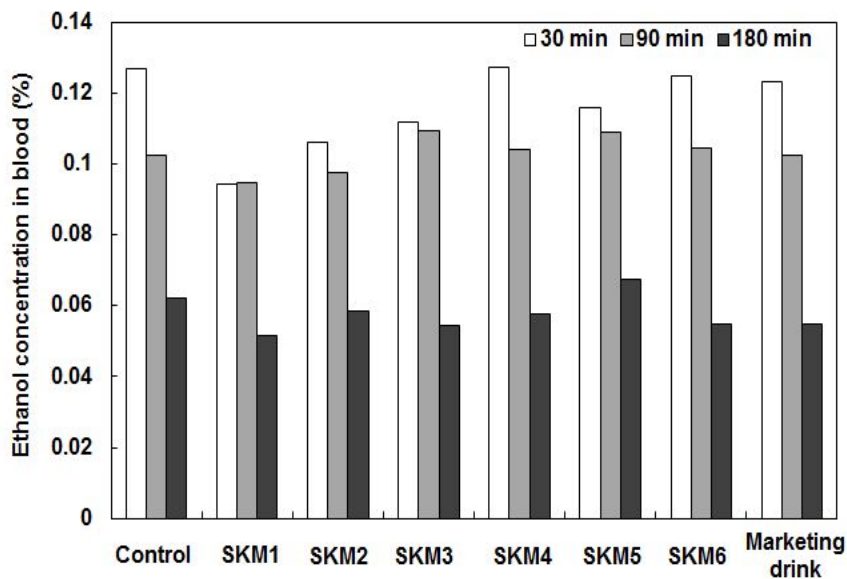


Fig. 12. Effect of SKM samples and marketing drink on blood ethanol concentration in rats. Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations. \*SKM1~6 : Hangover material group.

2) SKM 식이에 따른 혈중 아세트알데히드 농도 변화

혈중 아세트알데히드 농도를 측정한 결과는 Fig. 13과 같다. 시료 투여군에서 알코올 섭취 후 혈중 아세트알데히드 농도가 시료를 보충하지 않은 대조군에 비해 감소하였다. 시판되는 숙취음료군보다 SKM군에서 혈중 아세트알데히드 농도가 감소하였으며, 그중에서 SKM4가 혈중 아세트알데히드 농도를 가장 낮게 감소하였다. 알코올 농도 결과와 비교 시 다른 경향으로 나타났으며, 알코올 농도와 연관성이 없다는 것을 확인 할 수 있었다. 위의 결과를 종합하여 볼 때, 실험한 재료 중 효능과 경제적인 단가를 고려하여 SKM1을 본 시제품의 최종 숙취해소 활성물질(SKM)로 선정하여 사용하였다.

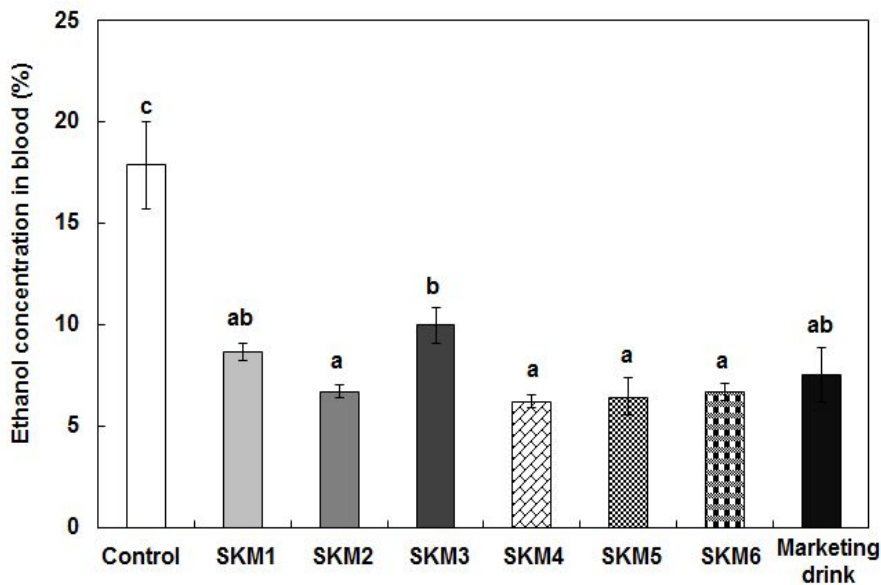


Fig. 13. Effect of SKM samples and marketing drink on blood acetaldehyde concentration in rats. Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations. Different letter are significantly at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. \*SKM1~6 : Hangover material group.



나. 오이 식초의 숙취해소 효과

1) 오이 식초 식이에 따른 혈중 알코올 농도 변화

시간에 따른 혈중 알코올 농도를 측정한 결과는 Fig. 14와 같다. 실험군들은 90분에 알코올 농도가 증가하고 180분 후에 감소하는 경향을 나타내었다. 시판되고 있는 숙취음료인 A, B, C들에 비해 오이 착즙액과 오이 식초 SKM 그리고 시제품들은 감소하는 것으로 나타났으며, 그 중에서도 시제품이 가장 혈중 알코올 농도를 감소시켜 숙취해소 효과가 높음을 확인 할 수 있었다.

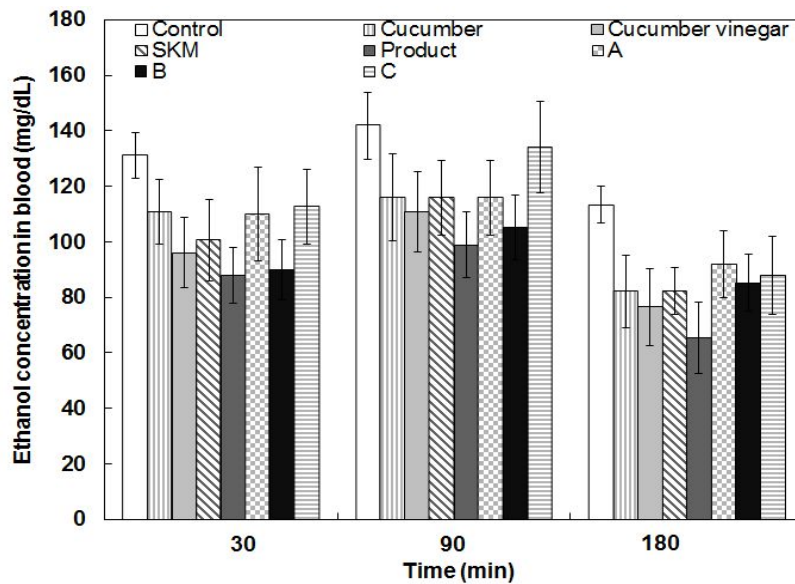


Fig. 14. Effect of cucumber juice, vinegar and marketing drink on blood ethanol concentration in rats.

Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations.

A, B, C : Marketing drink.

2) 오이 식초 식이에 따른 혈중 아세트알데히드 농도 변화

혈중 아세트알데히드 농도를 측정한 결과는 Fig. 15에서 보는 바와 같이 각 시료 투여군에서 알코올 섭취 후 혈중 아세트알데히드 농도가 시료를 보충하지 않은 알코올 대조군에 비해 감소하였다. 시판되는 숙취음료들인 A, B, C들 보다 오이착즙액과 오이 식초 SKM, 그리고 시제품에서 혈중 아세트알데히드 농도가 감소하였으며, 그중에서 시제품이 혈중 아세트알데히드 농도를 가장 낮게 감소하였다. 알코올 섭취 시 나타나는 독성은 알코올 자체에 의한 것과 그 대사산물인 아세트알데히드에 의한 것 등의 복합적인 작용으로 알려져 있다. 이 중 아세트알데히드는 반응성이 강한 독성물질로서 혈액내의 아세트알데히드가 과량인 경우 일부가 뇌를 비롯한 다른 장기로 이동하여 숙취 및 알코올성 간질환 등 유해한 영향을 미치는 것으로 사료된다. 따라서 2단 발효를 통해서 제조한 오이식초와 생리활성을 지닌 SKM을 가지고 만든 시제품은 숙취의 주요 원인으로 알려진 아세트알데히드의 농도를 감소시켜 숙취해소 효과가 높음을 확인 할 수 있었다.

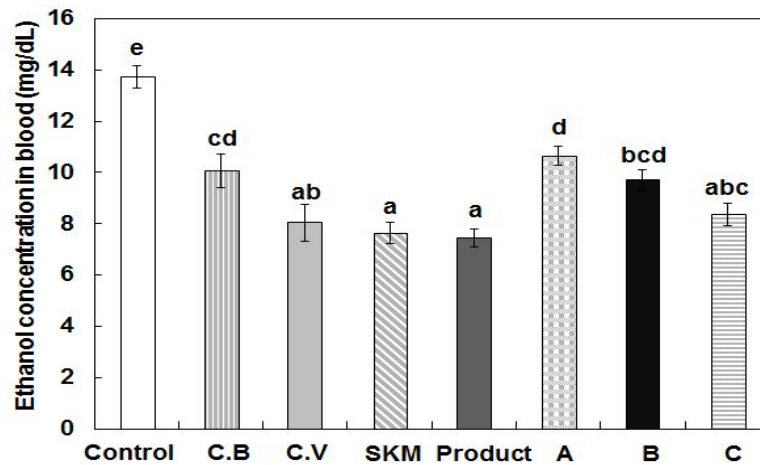


Fig. 15. Effect of cucumber juice, vinegar and marketing drink on blood acetaldehyde concentration in rats.

Data values were expressed as mean  $\pm$  S.D. of triplicate determinations. Different letter are significantly at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

A, B, C : Marketing drink. C.V : Cucumber vinegar.

## 제 5 절 오이를 주원료로 한 숙취음료 시제품의 알코올성 간장해 개선 효능 검증

### 1. 재료 및 방법

가. 오이를 주원료로 한 숙취음료 시제품 제조 및 관능검사

자체 숙취해소 효과가 검증된 오이 발효원액에 본 연구진에서 개발한 기능성 숙취해소 물질인 SK mixture를 첨가한 후 배합하여 숙취음료 시제품을 제작하여 효능을 검증하고자 하였다.



## 1. 숙취해소 음료 제품의 개발 공정도



## 2. 숙취해소음료 시제품



3. 최종제품의 예정 스펙

No	원료명	배합비율(w/w, %)
1	정제수	78.20
2	액상과당	14.60
3	올금	0.25
4	헛개나무 추출농축액	1.50
5	오이식초	4.00
6	구연산	1.45
7	사과농축액	
8	비타민D	
9	오렌지향	
10	카라멜비에이	
11	별꽃향	
12	로얄제리 추출물	
13	비타민 B1	
14	비타민 B2	
15	멘톨	
	합 계	100.00

Fig. 16. Production of hangover drink containing cucumber vinegar and SK mixture.

## 나. 동물실험

### 1) 동물사육 조건

실험동물은 4 주령의 수컷 SD계 흰쥐 24마리를 바이오제노믹스(Biogenomics, Seoul, Korea)로부터 구입하였다. Fig. 17과 같이 마우스는 1 주간 고형식으로 적응시킨 후 난피법에 의하여 알코올 대조군(Control), 알코올과 SKM 보충군(SKM), 알코올과 시제품 보충군(Product)으로 나누었다. 동물 사육실의 환경은 항온( $20 \pm 2$  °C), 항습( $50 \pm 5$  %), 12 시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 stainless cage에서 한 마리씩 분리하여 사육하였다. 식이와 식수는 자유롭게 섭취(ad libitum)하도록 하였다.

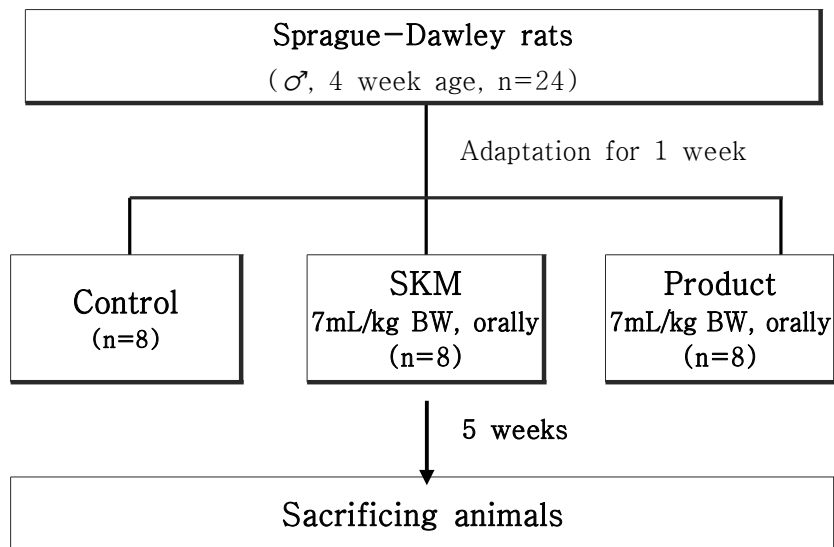


Fig. 17. Experimental design of animal test.

## 2) 실험동물 식이조건

본 실험에 사용한 기본식은 Lieber와 DeCarli(Table 12)의 액체식이 식이조성에 따라 1 mL당 1 kcal 열량을 공급할 수 있도록 같이 제조하였다. 실험 기간 중 식이조제는 각종 비타민 파괴와 오염방지를 위하여 매일 제조하여 신선한 상태로 공급하였다. 알코올을 포함한 액체식은 특수 고안된 액체 식이병에 채워 제공하였으며, 알코올 식이 적응을 위해 급여 첫날과 둘째날의 알코올 함량은 식이의 3%(전체 에너지 섭취량의 21%), 셋째날과 넷째날은 식이의 4%(전체 에너지 섭취량의 28%), 그리고 다섯째 날부터는 식이의 5%(전체 에너지 섭취량의 36%)로 급여하여 알코올성 간장해를 유도하였다. SKM과 시제품 음료는 사람의 하루 섭취량을 기준으로 매일 일정한 시각에 체중 kg당 7 mL씩 경구투여 하였다. 체중은 매주 1회 일정시각에 측정하였으며, 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정한 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다.

Table 12. Composition of the ethanol liquid diet<sup>a</sup>

Component	g/L/1,000 kcal
Casein	41.4
L-Cystein	0.5
D,L-Methionine	0.3
Corn oil	8.5
Olive oil	31.1
Dextrin maltose	25.6
Choline bitartrate	0.53
Fiber	10.0
Xanthan gum	3.0
Mineral mixture <sup>1</sup>	2.55
Vitamin mixture <sup>2</sup>	9.0
Ethanol	50.0

<sup>a</sup>The liquid diet was mixed in 1L of distilled water.

<sup>1</sup>Mineral mixture according to AIN-76.

<sup>2</sup>Vitamin mixture according to AIN-76.

#### 다. 혈장 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12 시간 동안 절식시킨 후 CO<sub>2</sub> 가스를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부 하대정맥(inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 혈액의 일부는 EDTA 처리된 튜브에 담고 나머지 혈액은 그대로 3,000 rpm(4℃)에서 15분간 원심분리하여 각각 혈장과 혈청을 분리하였다. 실험동물의 장기조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 PBS(phosphate buffered saline)용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며, 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70℃에 보관하였다.

#### 라. 혈장 중의 알코올과 아세트알데히드 함량 측정

혈장 중의 알코올 농도는 알코올 측정용 kit(Roche, Switzerland)를 이용하여 Cobas Intergra 800(Roche, Switzerland)기기로 분석하였다. 아세트알데히드 농도는 알세트알데히드 탈수소 효소(ALDH)에 의해 산화되어 아세트산을 생성하는 과정에서 NAD<sup>+</sup>라는 조효소의 도움을 받아 NADH를 생성하는데 그 생성물의 양을 측정하였다.

#### 마. 간독성 지표 분석

간독성의 생화학적 지표로 널리 알려져 있는 혈장의 glutamic-oxaloacetic transferase(GOT)와 glutamic-pyruvic transaminase(GPT) 활성은 생화학 분석기(Fuji Film DRI-CHEM, 35001)를 이용하여 측정하였다.

#### 바. 간 조직 중의 효소원 분리

간 조직은 0.1 M triethanolamine, 0.02M EDTA와 2mM DTT가 포함된 완충용액(pH 7.4)을 가하여 균질기(IKA, Rw20.7, USA)로 마쇄하여 얻은 균질액을 600×g(4℃)에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미 마쇄 부분을 제거한 후 상층액을 얻었다. 이를 10,000×g(4℃)에서 20분간 원심분리하여 미토콘드리아 분획을 취했으며, 분리된 상층액을 100,000×g(4℃)에서 1시간 초원심분리하여 시토졸 분획과 마이크로솜 분획을 얻었다. 미토콘드리아와 마이크로솜 침전물은 사용된 완충용액에 녹인 후 효



소원으로 사용하였다. 조직의 효소활성도는 Bradford의 방법을 사용하여 측정된 단백질 mg당의 고유활성도로 나타내었다.

#### 사. 간조직의 알코올 대사계 활성 측정

##### 1) Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성도

Bergmeyer의 방법에 준해 70 mM glycine/NaOH 완충액 일정량에 기질인 10 mM 알코올 용액과 0.67 mM NAD<sup>+</sup> 용액 및 효소액 0.1 mL를 첨가하여 최종 반응액이 4.0 mL가 되게 한 다음 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응 종료 후 생성된 NADH를 340 nm에서 흡광도를 측정하고 표준검량선에 의거하여 그 활성도를 산출하였다.

##### 2) Aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성도

Koivula와 Koivusalo의 방법에 준하여 ALDH 활성저해제인 16.7 mM 피라졸 용액의 존재 하에서 기질인 60 mM 프로피온알데히드 용액과 13.3 mM NAD<sup>+</sup> 용액 및 효소액 0.1 mL를 70 mM 피로인산 나트륨 완충액 중에 함유시켜 최종 반응액이 4.0 mL가 되게 하였다. 이것을 37°C에서 5분간 반응시켜 생성된 NADH를 340 nm에서 흡광도를 측정하고 표준검량선에 의거하여 그 활성도를 산출하였다.

##### 3) Cytochrome P450 2E1(CYP2E1) 활성도 측정

CYP2E1과 관련이 있는 aniline hydroxylase의 측정은 기질로 aniline을 사용하여 생성된 4-hydroxy aniline의 양을 630 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다. 100 mM aniline과 20 mM NADPH 및 마이크로솜 시료를 potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 혼합한 후 37°C에서 1시간동안 반응시킨 다음 40% TCA를 가하여 반응을 종결시키고 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액에 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 2% phenol를 가한 후 실온에서 45분간 방치하여 발색시켰다. 630 nm에서 흡광도를 측정하고 4-hydroxyaniline 검량선으로 부터 활성도를 계산하였다.

## 아. 간 조직 중의 항산화 효소 활성도 측정

### 1) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

SOD 활성도는 Marklund 와 Marklund 의 방법으로 측정하였다. 반응액은 10 mM EDTA 용액을 함유한 50 mM Tris-HCl 완충액에 0.5 mM의 피로갈롤 용액과 효소액을 가하여 25 °C 에서 10 분간 반응시킨 후, 1 N 염산 용액을 가해 반응을 종료시키고 440 nm 에서 흡광도를 측정하여 활성도를 산정하였다. 효소활성도는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 0.5 mM pyrogallol 용액의 자동산화를 50 % 억제하는 단백질의 양으로 나타내었다.

### 2) Catalase (CAT) 활성도 측정

CAT 활성도는 Aebi 등의 방법을 수정·보완하여 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer 2.89 mL와 효소원 10 µL를 섞어 25°C에서 5분간 반응시킨 후 0.3 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 0.1 mL를 첨가하여 240 nm에서 반응 전 흡광도를 측정 한 다음 25°C에서 5분간 더 반응시킨 후 240 nm에서 반응 후 흡광도를 측정하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 흡광도 변화를 구하였다. 활성 단위는 mitochondrial protein 1 mg당 1분간 감소된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 µmol로 나타내었다.

### 3) Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도 측정

GSH-Px 활성도는 Paglia 등의 방법을 수정·보완하여, 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 즉, 환원형 glutathione (GSH)은 GSH-Px에 의해 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 반응하여 산화형 glutathione(GSSG)으로 되고, 이것은 다시 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원된다. 이때 NADPH의 광도가 340 nm 에서 감소되는 정도를 측정하여 GSH-Px의 활성도를 산출하였다. 즉 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.2) 2.6 mL에 30 mM 환원형 glutathione 용액 0.1 mL, 6 mM NADPH 용액 0.1 mL, 그리고 25 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.1 mL을 순서대로 첨가하여 25°C에서 5분간 전 반응시킨 후 효소원 0.1 mL을 혼합하여 340 nm 에서 반응 전 흡광도를 측정하였다. 이어서 즉시 25°C에서 5분간 더 반응시킨 후 340 nm에서 반응 후 흡광도를 측

정하였다. 활성도 단위는 cytosolic protein 1 mg 당 1분간 산화된 NADPH의 nmol로 나타내었다.

#### 4) Glutathione 정량

총 glutathion(환원형 GSH와 산화형 GSSG) 함량 측정은 Ellman 등의 방법을 수정·보완하여 수행하였다. 간조직에 20%(w/v) 농도가 되도록 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 첨가하여 빙냉상태에서 glass teflon homogenizer(Glascol, 099C K44, USA)로 분쇄하였다. 분쇄물 0.2 mL, 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL, 그리고 증류수 0.3 mL을 잘 섞은 후 2,500 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하여 상층액 0.3 mL을 취하였다. 여기에 발색제인 disulfide 시액(5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) 2.0 mL을 첨가하고 20분 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 자. 간조직의 지질과산화물 생성 측정

간조직의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법을 이용하여 조직 0.5 g에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 2 mL을 첨가하여 빙냉상태에서 glass teflon homogenizer(Glascol, 099C K44, USA)로 분쇄하였다. 분쇄물 0.2 mL, 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) 용액 0.2 mL, 그리고 증류수 0.6 mL를 섞어 실온에서 5분간 방치한 후 20% acetate(pH 3.5) buffer 1.5 mL와 0.8% TBA 1.5 mL를 첨가하여 95°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 시료를 실온으로 냉각시켜 증류수 1 mL와 *n*-butanol : pyridine(15 : 1) 용액 5 mL를 첨가하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다.

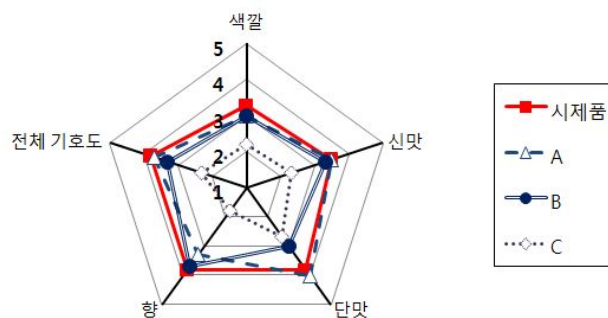
#### 차. 통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램을 이용하여 실험군당 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 각 군간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다 군간의 차이는  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple test로 사후 검정하였다. 상관관계는 Pearson's correlation을 적용하여 분석하였다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 시제품 및 시판된 숙취음료의 관능검사

시제품의 기호도를 알아보기 위하여 향(flavor), 신맛(sourness), 단맛(sweetness), 색(color), 전체적인 기호도(overall palatability)에 대하여 5점 척도법으로 시판되고 있는 제품과 비교하여 관능검사를 실시하였다(Fig. 18). 시제품에서 색, 신맛, 향 및 전체적인 기호도면에서 약간 좋은 선호도를 보였으나, 단맛에서 다른 시판 제품보다 기호도가 감소하였다. 음료 품질을 결정하는 중요한 요소로는 일반적으로 색, 향미, 맛 등을 들 수 있으며 본 실험에서 나타난 바와 같이 관능 평가의 대부분의 항목에서 시제품의 기호도가 시판 제품보다 좋은 것으로 평가 되었다.



제품	색깔	신맛	단맛	향	전체 기호도
시제품	3.3±0.5	3.5±0.8	3.8±1.0	3.8±0.8	3.8±0.1
A	3.0±0.6	3.5±0.5	4.0±0.0	3.3±0.5	3.7±0.5
B	3.0±1.1	3.3±0.5	3.0±0.6	3.7±0.5	3.3±0.8
C	2.2±1.0	2.3±0.8	2.7±1.2	1.8±0.4	2.3±0.5

Fig. 18. Sensory evaluation scores of hangover drink containing cucumber vinegar and SK mixture.

Data values were expressed as mean ± S.D. of triplicate determinations.

\* A, B, C : Marketing product

나. 체중, 식이섭취량 및 장기무게 변화에 미치는 영향

1) 체중 증가량

알코올과 SKM 및 시제품의 급여에 따른 체중의 변화는 Fig. 19와 같다. SKM 군이 대조군에 비해 체중이 감소되는 경향으로 나타났고 시제품군에서는 대조군에 비해서 체중이 증가하였다. 따라서 SKM 과 시제품은 알코올을 급여한 마우스의 체중과 식이섭취량에는 영향을 미치지 않는다는 것을 확인 할 수 있었다.

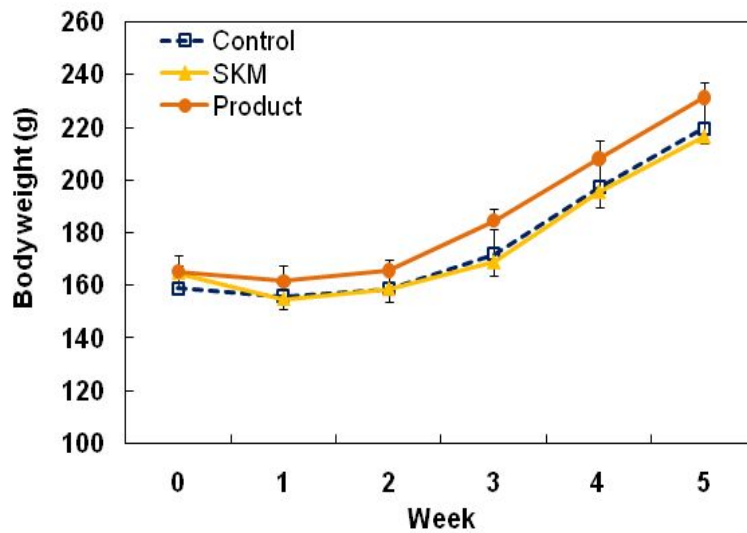


Fig. 19. Effect of SKM and product on changes of body weight in ethanol-treated mice. Mean±S.E.

2) 장기무게 변화

Table 13은 장기간 SKM과 시제품을 급여 후 알코올을 투여하고 마우스의 100 g 당 장기무게를 나타낸 것이다. 간의 무게에서 대조군에 비해 SKM과 시제품군들이 유의적으로 감소하였다. 다른 장기무게에서는 유의적 차이가 없었다.

Table 13. Effects of SKM and product on food intake and organ weights in ethanol-treated rats

	Control	SKM	Product
Food Intake (mL/day)	64.93 ± 2.18	65.01 ± 0.61	66.15 ± 1.38
Organ Weights (g/100g)			
Liver	4.61 ± 0.21	4.38 ± 0.11	4.42 ± 0.14
Heart	0.41 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.41 ± 0.01
Kidney	0.97 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.99 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>
Spleen	0.17 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.17 ± 0.00
Epididymal WAT <sup>1)</sup>	0.98 ± 0.07	0.99 ± 0.04	0.96 ± 0.05

Mean ± S.E.(n=8).

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different between groups (p<0.05).

<sup>1)</sup>WAT, white adipose tissue

#### 나. 혈중 알코올과 아세트알데히드 농도에 미치는 영향

SKM과 시제품을 알코올 투여 전에 장기적으로 섭취시켰을 때 나타나는 혈장 알코올과 아세트알데히드 농도 변화는 Fig. 20와 같다. 알코올을 5주 동안 급여한 흰쥐에서 SKM과 시제품의 혈장 중 알코올 함량은 대조군에 비하여 각각 9.5%와 31.7% 낮았다. 특히, 시제품은 유의적으로 혈중 알코올 함량을 개선하였다. 혈장 중의 아세트알데히드 함량은 대조군에 비하여 SKM과 시제품군이 각각 40.6%와 48.4% 개선하였다. 특히, 혈장의 아세트알데히드 함량은 간조직의 아세트알데히드 탈수소효소 활성과 유의적 음의 상관관계( $r=-0.564$ ,  $p<0.01$ )였으며, CYP2E1 활성과는 양의 상관관계( $r=0.566$ ,  $p<0.01$ )를 보였다. 따라서 혈장 중의 아세트알데히드 함량은 알코올성 간장해 개선의 주요 지표인 것으로 확인할 수 있었다.



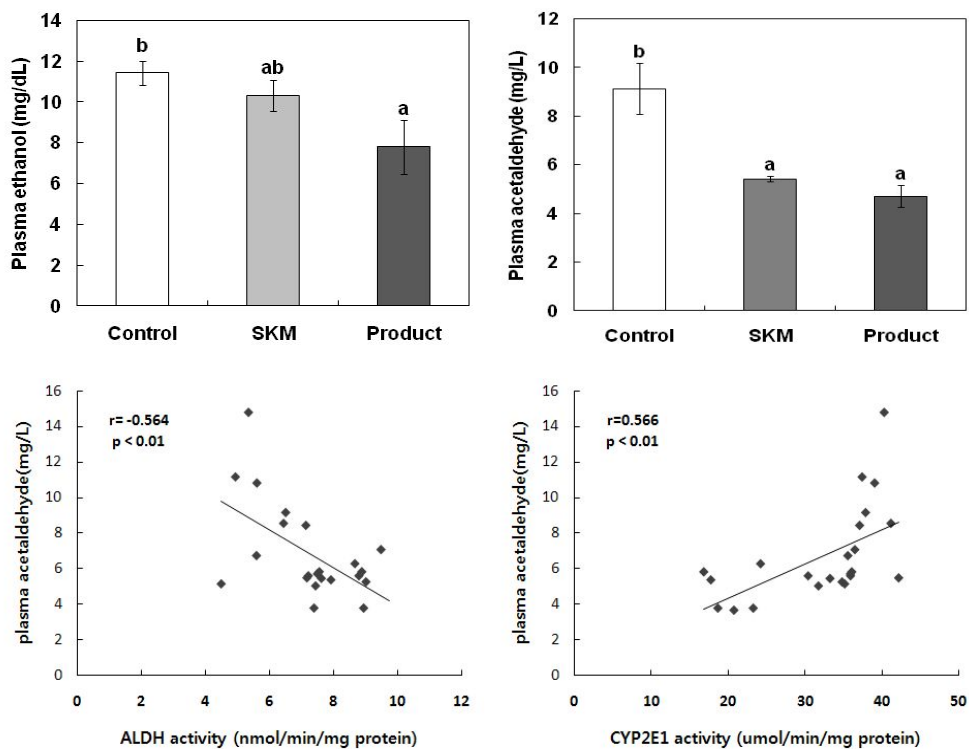


Fig. 20. Effect of SKM and product on plasma alcohol and acetaldehyde concentrations and correlation between parameters in ethanol-treated mice. Mean  $\pm$  S.E.(n=8). Means not sharing a common letter are significantly different between groups(p<0.05).

다. 간기능 관련 바이오마커에 미치는 영향

에탄올의 간기능 저하 정도를 알아보기 위한 혈청 GOT와 GPT 활성을 측정한 결과는 Table 14에 나타내었다. 간기능의 대표적인 지표로 사용되는 혈청 중의 GOT와 GPT 활성은 대조군에 비하여 SKM과 시제품군에서 유의적으로 낮았으며, SKM과 시제품은 장기간의 알코올 섭취로 인한 간장해 개선에 유의할 것으로 사료된다.

Table 14. Effect of SKM and product on plasma aminotransferase activity in ethanol-treated rats\*

	Control	SKM	Product
GOT(U/mL)	210.83 ± 26.26 <sup>b</sup>	150.66 ± 9.48 <sup>a</sup>	118.80 ± 7.71 <sup>a</sup>
GPT(U/mL)	99.85 ± 10.93 <sup>b</sup>	58.00 ± 7.59 <sup>a</sup>	65.80 ± 6.88 <sup>a</sup>

\*Mean ± S.E.(n=8).

Means in the row not sharing a common letter are significantly different between groups (p<0.05).

라. 간조직의 ADH와 ALDH 활성도에 미치는 영향

Fig. 21은 알코올 대사에 간여하는 ADH, ALDH의 활성을 조사한 결과이다. 간조직의 알코올대사 효소인 ADH는 실험군간에 유의적인 변화가 없었다. 이는 5주 동안 장기적인 알코올 섭취로 인한 알코올 분해 대사가 ADH에 의존하지 않기 때문인 것으로 사료된다. 반면, 아세트알데히드를 아세트산으로 산화하는 ALDH 활성은 SKM와 시제품 모두 대조군에 비하여 각각 약 25.2%, 27.8% 유의적으로 높았다. 이와 같이 SKM은 알코올성 간독성 물질로 알려진 아세트알데히드 분해를 향상시키는 것으로 나타났다.

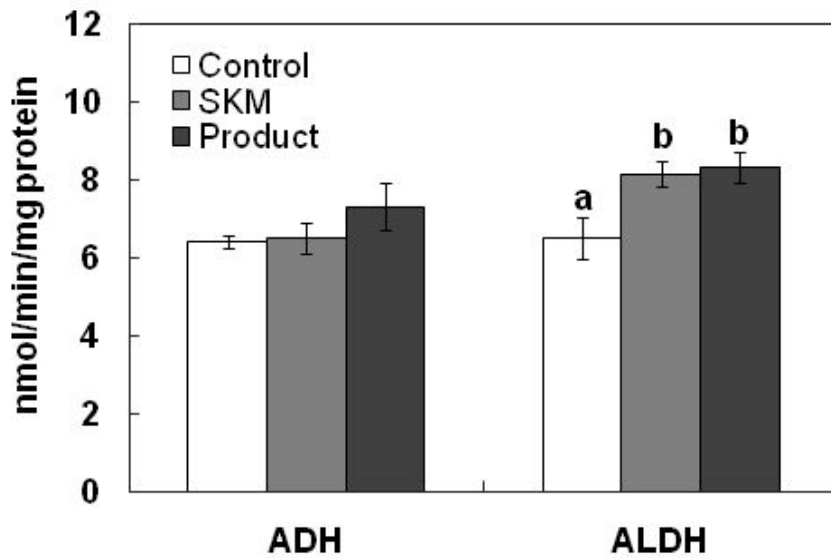


Fig. 21. Effect of SKM and product on hepatic ADH and ALDH activities in ethanol-treated mice. Mean  $\pm$  S.E.(n=8). Means not sharing a common letter are significantly different between groups( $p < 0.05$ ).

마. 간조직의 CYP2E1 활성도에 미치는 영향

간조직의 CYP2E1 활성도의 결과는 Fig. 22와 같다. 만성적인 알코올 섭취는 ADH 활성에 영향을 미치기보다 CYP2E1을 활성화하여 알코올 대사율을 증가시킨다. 따라서 만성 알코올 급여 시 CYP2E1에 대한 알코올 대사 의존성이 높아지며, 알코올 대사에 있어 CYP2E1 의존성이 높을수록 산소 라디칼 생성이 많아지는 것으로 알려져 있다. 본 연구를 통해 대조군보다 SKM과 시제품은 간조직의 CYP2E1 활성을 유의적으로 낮추어 간장해 개선에 유익할 것이라고 사료된다.

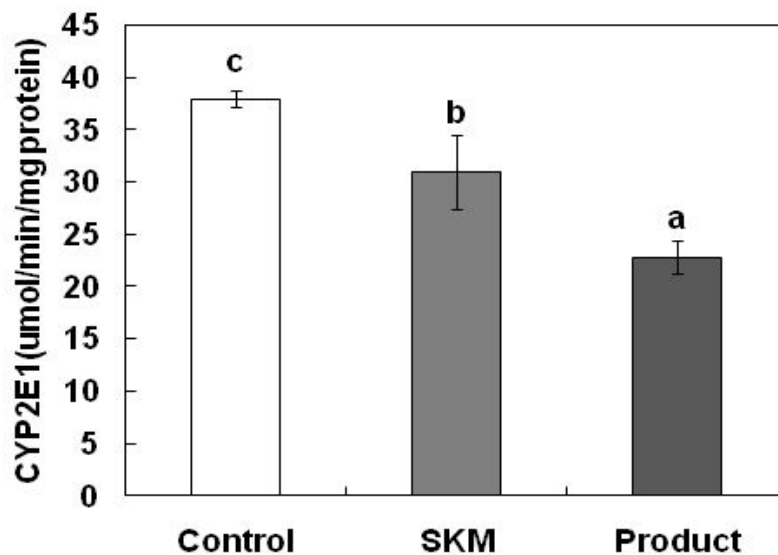


Fig. 22. Effect of SKM and product on hepatic CYP2E1 activity in ethanol-treated mice. Mean  $\pm$  S.E.(n=8). Means not sharing a common letter are significantly different between groups( $p < 0.05$ ).

바. 간조직의 항산화 효소 활성도에 미치는 영향

만성적인 음주는 ROS를 정상적인 조건에서보다 많이 생성하는데 생체 내에서는 이러한 반응성 산소종으로 부터 과산화물이 증가되어져 지질과산화물이 증가되어진다. 이러한 지질과산화물을 세포막과 생체 내 물질을 보호하기 위해 SOD, catalase, GST, GSH-px 등의 항산화 효소계가 작용한다. 알코올을 투여 후, SKM과 시제품의 투여에 의한 항산화 효소 활성 변화를 나타낸 결과는 Table 15와 같다. 간조직의 SOD와 CAT 활성은 SKM과 시제품군이 대조군에 비하여 유의적으로 높았으나 GSH-Px 활성은 군간 변화가 없었다. SKM과 시제품은 알코올 섭취로 인한 항산화 물질인 GSH 함량을 유의적으로 높였다. 또한 간조직의 지질과산화물 함량 역시 SKM과 시제품 보충으로 저하시켰다.

Table 15. Effect of SKM and product on hepatic antioxidant enzymes activities in ethanol-treated rats\*

	Control	SKM	Product
SOD (Unit/mg protein)	4.61 ± 0.15 <sup>a</sup>	5.85 ± 0.39 <sup>b</sup>	5.89 ± 0.29 <sup>b</sup>
CAT (umol/min/mg protein)	14.50 ± 0.64 <sup>a</sup>	17.82 ± 1.16 <sup>b</sup>	17.82 ± 0.40 <sup>b</sup>
GSH-Px (nmol/min/mg protein)	12.11 ± 0.24	12.50 ± 0.33	13.98 ± 1.21
GSH (nmol/g)	5.57 ± 0.14 <sup>a</sup>	6.10 ± 0.22 <sup>b</sup>	6.33 ± 0.09 <sup>b</sup>
Lipid peroxide (nmol/g)	56.87 ± 1.31 <sup>c</sup>	49.65 ± 1.64 <sup>b</sup>	44.21 ± 1.51 <sup>a</sup>

\*Mean ± S.E.(n=8).

Means in the row not sharing a common letter are significantly different between groups(p<0.05).

사. 혈장과 간조직의 지질 함량에 미치는 영향

Table 16은 SKM과 시제품을 투여한 rat의 혈장과 간조직 내 지질함량을 측정한 것이다. SKM과 시제품은 혈장의 총콜레스테롤과 간조직의 콜레스테롤을 유의적으로 개선하였으며, 시제품일 경우 간조직의 트리글리세리드 함량이 유의적으로 낮아졌다.

Table 16. Effect of SKM and product on plasma and hepatic lipid contents in ethanol-treated rats\*

	Control	SKM	Product
Plasma			
Total cholesterol (mg/dL)	142.18 ± 7.19 <sup>b</sup>	97.15 ± 5.48 <sup>a</sup>	102.73 ± 9.87 <sup>a</sup>
Triglyceride (mg/dL)	56.90 ± 9.17	48.61 ± 2.84	49.97 ± 4.85
Liver			
Cholesterol (mg/g)	6.81 ± 0.35 <sup>b</sup>	5.53 ± 0.51 <sup>a</sup>	5.10 ± 0.16 <sup>a</sup>
Triglyceride (mg/g)	26.37 ± 1.13 <sup>b</sup>	25.30 ± 0.91 <sup>ab</sup>	22.88 ± 1.84 <sup>a</sup>

\*Mean ± S.E.(n=8).

Means in the row not sharing a common letter are significantly different between groups(p<0.05).

아. 간조직의 조직학적 변화에 미치는 영향

SKM과 시제품을 급여 시 간조직의 조직학적 변화는 Fig. 23에 나타내었다. 알코올 대조군은 고지방 식이 및 알코올 섭취에 의해 각 조직에 지방축적 및 세포손상이 발생하는데 본 연구에서도 알코올 대조군 간조직에 지방이 축적된 것이 발견되었다. SKM과 시제품군에서는 알코올대조군에 비하여 지방축적이 감소되는 것으로 나타났다.

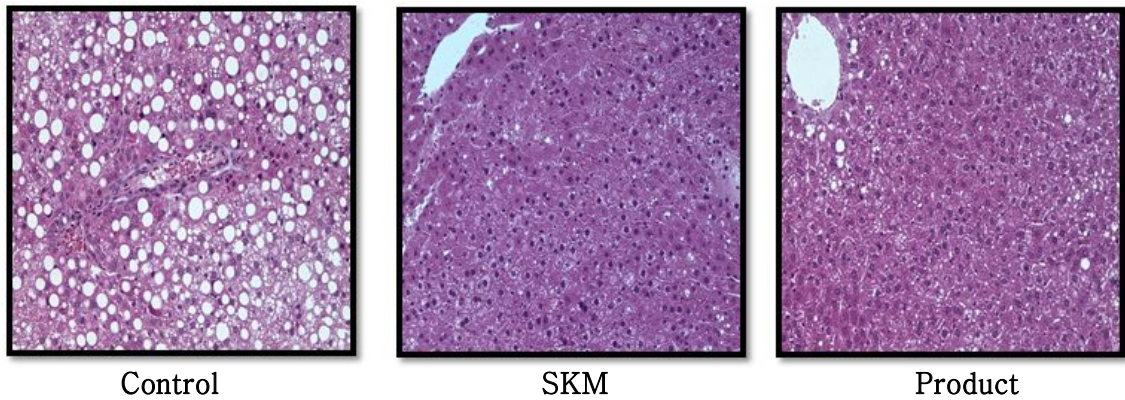


Fig. 23. Effect of SKM and product supplementation on hepatic lipid contents morphology in alcohol-treated rats. Values are expressed as means  $\pm$  S.E. (n=8).

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구목표	연구개발목표의 달성도	관련분야의 기술발전에의 기여도
오이 발효원액과 SKM의 제조 및 이의 숙취해소 효능 검증	오이 발효원액과 SKM의 최적 제조 조건을 확립하고 이의 숙취해소 효능 검증 하였다.	오이 발효원액과 SKM의 최적 제조 조건을 확립하고 이의 숙취해소 효능 검증 하였다.
숙취해소 음료 시제품 개발 및 제품의 기능성 규명과 최종 제품에 대한 대량생산 및 상품화	숙취해소 음료 시제품으로 개발하고 제품의 기능성을 규명하여 최종 제품에 대한 대량생산 및 상품화에 관련한 공정을 확립하였다.	숙취해소 음료 시제품으로 개발하고 제품의 기능성을 규명하여 최종 제품에 대한 대량생산 및 상품화에 관련한 공정을 확립하였다.



## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 제 1 절 연구개발 효과

#### 1. 기술적 측면

- 가. 오이 발효기술은 다른 농산물에도 적용이 가능하므로 향후 농가의 잉여 농산물에 대한 문제점을 해결함이 기대된다.
- 나. 오이를 산업적으로 응용할 수 있는 기초 자료로 활용됨이 기대된다.
- 다. 오이를 이용한 발효원액을 제조함으로써 그 원액을 이용하여 다양한 가공식품이 개발의 가능성이 기대된다.
- 라. SK mixture를 이용한 기존의 숙취해소 음료보다 효과가 탁월한 음료의 개발이 기대된다.
- 마. SK mixture의 숙취해소 및 알코올성 간장해 개선 효과에 대한 연구는 다른 학문 분야에서도 응용이 가능하며 인접학문의 발전에 활용이 기대된다.

#### 2. 경제·산업적 측면

- 가. 오이를 이용한 발효원액 제조에 따른 오이의 저장성 문제를 해결함이 기대된다.
- 나. 오이를 이용한 발효원액으로 2차 가공 음료를 개발함으로써, 오이의 소비촉진 및 농가의 소득증대가 기대된다.
- 다. 오이 발효원액 및 SK mixture를 이용한 숙취해소 음료 개발에 따른 고부가가치 창출이 기대된다.
- 라. 개발 제품을 수출상품화 함으로서 외화 획득에 기여함이 기대된다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

가. 오이에 관한 국외문헌을 보면, 오이를 이용한 발효에 대한 조사는 미미한 실정  
⇒ 주로 발효과정 중에 발생하는 미생물과 성분변화에 대한 조사가 주를 이루고 있음

나. 오이를 이용한 국외 발효식품으로는 서양의 피클을 비롯하여 일본의 쓰케모노, 중국의 옌차이, 인도의 아차르 등 아시아 지역의 절임류 등이 대부분을 차지하고 있음

다. 우리나라와 마찬가지로 국외의 식초에 관한 국외 문헌을 보면, 다양한 종류의 식초에 관한 연구는 활발히 이루어지고 있으나 오이를 이용한 식초에 대한 연구는 전무한 실정임

## 제 7 장 참고문헌

1. A.O.A.C. 1990, Official Method of Analysis. 15th Ed., Association of Official Analytical Chemists Inc. p 1048.
2. American Institute of nutrition. 1977, Report of the american institute of nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. J. Nutr. 107, 1340-1348.
3. Bradford, M.M. 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72, 248-254.
4. Banks, W.A. 2004, The many lives of leptin. Peptides. 25, 331-338.
5. Blois, M. A. 1958, Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 181, 1199-1200.
6. Bucher, T. and Redetzki, H. 1951, Eine spezifische photometrische Bestimmung von ethylalkohol auf fermentativem Wege. Klinische Wochenschrift. 29, 615-616.
7. Carl, M.N., Lakshmana, M.R. and Porter, J.W. 1975, Fatty acid synthase from rat liver. Methods in Enzymology 35, 37-44.
8. Cho, Y.S., Shon, M.Y. and Lee, M.K. 2007, Lipid-lowering action of powder and water extract of mulberry leaves in C57BL/6 mice fed high-fat diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36, 405-410.
9. Chung, S.H. and Moon, S.H. 2001, Antimutagenic and antimicrobial effect of cucumber (*Cucumis sativus*) extracts. J. Korea Soc. Food Sci. Nutr. 30, 1164-1170.
10. Eder, K. and Kirchgessner, M. 1998, The effect of dietary vitamin E supply and a moderately oxidized oil on activities of hepatic lipogenic enzymes in rats. Lipids 33, 277-283.
11. Folch, J., Mee, L. and Stanley, G.S.H. 1975, A simple method for the

- isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol Chem.* 226, 497–509.
12. Fröhbeck, G. 2001, A heliocentric view of leptin. *Pro. Nutr Soc.* 60, 301–318.
  13. Ghasi, S., Nwobodo, E. and Ofili, J.O. 2000, Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J. Ethnopharmacol.* 69, 21–25.
  14. Godone, M.F. 1990, The mechanism of antioxidant action in vitro. In food antioxidant. Hudson. B.J.F. Ed. Elsevier Applied Science, London. p 1–18.
  15. Halliwell B. and Gutteridge, J.M.C. 1990, Role of free radical and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods. Enzymo.* 186, 1–85.
  16. Jeong, Y. J., Seo, K. I. and Kim, K. S., 1996, Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J. East Asian of Dietary Life.* 6, 355–363.
  17. Kim, S. W., Oh, E. H. and Jun, H. K. 2008, Analysis of optimum condition for alcoholic drink production using onion extract. *Journal of Life Science,* 18, 871–877.
  18. Kim, Y.W. 2007, Leptin resistance. *J. Korean Endocrine. Society.* 22, 311–317.
  19. Kwon, S.H., Jeong, E.J., Lee, G.D. and Jeong, Y.J. 2000, Preparation method of fruit vinegars by two stages fermentation and beverages including vinegar. *Food. Ind. Nutr.* 5, 18–24.
  20. Lazarow, P.B. 1981, Assay of peroxisomal  $\beta$ -oxidation of fatty acids. *Methods in Enzymology.* 72, 315–319.
  21. Lee, S.M., Choi, Y.M., Kim, Y.W., Kim, D.J. and Lee, J.S. 2009, Antioxidant activity of vinegars commercially available in korean markets. *Food. Engineering. Progress.* 13, 221–225.
  22. Leonhardt, M., Hrupka, B. and Langhans, W. 2001, Effect of hydroxycitrate on food intake and body weight regain after a period of restrictive feedings

- in male rats. *Physiology & Behavior*. 74, 191–196.
23. Lucas, E.A., Khalil, D.A., Daggy, B.P. and Arjmandi, B.H. 2001, Ethanol-extracted soy protein isolate does not modulate serum cholesterol in Golden Syrian hamsters: A model of postmenopausal hypercholesterolemia. *J Nutr*. 131, 211–214.
  24. Lundquist, F. 1974, in *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London, 2nd edition Vol.3, p. 1509–1513
  25. Mattaus, B. 2002, Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J. Agric Food. Chem*. 50, 3444–3452.
  26. Mark, A.L., Correia, M.L., Rahmouni, K. and Haynes, W.G. 2004, Loss of leptin actions in obesity: two concepts with cardiovascular implications. *Clin Exp Hypertens*. 26, 629–636.
  27. Mosinoa, F., Chinnicib, F., Bendinic, A., Montevecchia, G. and Antonellia, A. 2008, A study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar. *Food. Chem*. 106, 90–95.
  28. Muller, P.H. 1977, A fully enzymatic triglyceride determination. *J Clin Chem Clin Biochem*. 15, 457–464.
  29. Nakancn, S. 1988, Food useful for preventing alcohol intoxication containing persimmon-vinegar and optimum fruits, with blood alcohol concentration reducing action. Japan patent. 63, 562–566.
  30. Park, K.H. 2001, Studies on the optimization of fermentation condition for the production of cucumber vinegar. Master Thesis, Kyunghee university.
  31. Park, J. H. 2007, Studies on the production of an onion vinegar by two-stage fermentation. Master Thesis, Pusan university.
  32. Portillo, M.P., Chavarri, M., Duran, D., Rodriguez, V.M. and Macarulla, M.T. 2001, Differential effects of diets that provide different lipid sources on hepatic lipogenic activities in rats under ad libitum or restricted feeding.

- Nutrition, 17, 467–473.
33. Richmond, V. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum continuous flow analysis. *Clin Chem* 22: 1579–1588.
  34. Su, M. S. and Chien, P. J. 2007, Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinum ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*. 104, 182–187.
  35. Shin, J. S., Lee, O. S. and Jeong, Y. J. 2002, Changes in the components of onion vinegars by two stages fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 34, 1079–1084.
  36. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977, Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *Am. J. Ecol. Vitic.* 28, 49–56.
  37. Thomas, T., Burguera, B., Melton, L.J., Atkinson, E.J., O'Fallon, W.M., Riggs, B.L. and Khosla, S. 2000, Relationship of serum leptin levels with body composition and sex steroid and insulin levels in men and women. *Metabolism*. 49, 1278–1284.
  38. Tian, W.X. 2006. Inhibition of fatty acid synthase by polyphenols. *Curr Med Chem*. 13, 967–977.
  39. Yoo, S.J. 2008, Pharmacological treatment of obesity. *J. Korean Endocrine Society*. 23, 223–233.
  40. Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A. 2001, Determination of antioxidant and anti microbial activities of Rumex of aerobic life. *Biochem. Symp.* 61, 1–34.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 **농림/고부가가치 식품/수산기술개발사업(해당사업만 표기)**의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 **농림/고부가가치 식품/수산기술개발사업(해당사업만 표기)**의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.