

# Antioxidant, Anti-thrombosis, and Lipid Accumulation Inhibition Activities of Different Dried Vinegars

Jong-Kyu Lee<sup>1,2</sup>, Jong-Sik Kim<sup>3</sup> and Ho-Yong Sohn<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 26339, Korea

<sup>2</sup>Duck-Soo Co., Danyang, Chungbook 27027, Korea

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>4</sup>Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

Received March 21, 2024 / Revised April 29, 2024 / Accepted April 30, 2024

Vinegar is a fermented food product created by fermenting various sugar- and starch-containing ingredients with microorganisms. It contains a variety of organic acids, sugars, amino acids, esters, and other compounds that contribute to its unique sensory properties. Vinegar is known for its potential benefits, including aiding digestion, lowering blood sugar levels, anti-obesity effects, and antioxidant properties. It is also believed to contribute to improving alkaline body conditions. This study was conducted to develop functional dried vinegar powder from naturally fermented vinegars. Unripe apple, brown rice, and black chokeberry (aronia) were fermented using *Gluconacetobacter xylinus* for 90–180 days. The filtrate vinegar was spray dried with 37.46% maltodextrin, 5% glucose, 1% citric acid, and 0.04% vitamin C. Analysis of the acidity, color difference, water and soluble solid content, and heat stability of dried vinegar (DV) confirmed that spray drying is a suitable method for powder production. Moreover, the DVs exhibited excellent sensory attributes and solubility. Among the DVs, aronia-DV showed the highest 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl and 2,2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radical scavenging activity (36.7% and 75.3%) and reducing power (0.334) at 0.5 mg/ml concentration, respectively. The nitrite scavenging activity was highest in brown unripe apple-DV, followed by aronia-DV and brown rice-DV. In the anti-thrombosis activity assay, aronia-DV showed the highest prothrombin inhibition. The brown rice-DV exhibited lipid accumulation inhibitory activity in 3T3-L1 adipocytes without cell cytotoxicity. Our results suggest the potential for commercialization of dried vinegar, highlighting its diverse benefits and applications.

**Key words :** Anti-oxidant, anti-thrombosis, dried vinegar, lipid accumulation, spray drying

## 서 론

발효 식초는 초산을 포함한 다양한 유기산, 당류, 아미노산을 함유하고 있으며, 독특한 맛과 향으로 인해 식품의 조미료로 이용되고 있다[2]. 발효식초는 사용 원료에 따라 맛과 향, 기능성에 차이가 있으며, 현미와 같은 곡류[7, 12, 14], 사과 등과 같은 과실류[10, 19, 27], 구지빵 열매 등과 같은 약용식물류[13], 레몬밤과 같은 허브류[32, 33] 등 다양한 천연물을 발효기질로 이용하고 있다. 최근 식초의 피로회복, 항산화 활성, 고혈압 예방, 콜레스테롤 저하, 체지방 감소 등의 다양한 효능[2, 5, 25, 26]이 알려지면

서 식초를 이용한 음료류 및 기능성 식품이 개발되고 있으며, 대표적으로 복분자 식초[5], 아로니아 식초[6], 매실 식초[18], 양파 식초[11], 상황버섯 식초[4], 흑마늘 식초[28], 오미자 식초[23], 감귤 식초[31], 레몬그라스 식초[32] 등이 개발되어 있다. 이러한 발효식초의 장점에도 불구하고, 액상 식초의 경우 휴대성, 접근성이 낮으며 특히 치아 손상, 입속 조직 손상이 있는 경우에는 음용하기 어려운 단점이 있다[8, 9, 26]. 이러한 단점을 극복하고자 식초를 cyclodextrin 또는 dextrin과 같은 피복제와 함께 분산시키고 이를 분무건조하여 분말식초를 제조하는 기술이 개발되어 있다. 분말식초는 휴대하기 편하며 물 없이 섭취할 수 있고, 다양한 가공식품에 첨가가 용이한 장점을 가지며, 분무건조 과정 중 기능성 물질을 식초에 혼합하여 분말화하는 경우, 분말식초에 부가적인 건강기능성을 부여할 수 있다는 장점을 가지므로, 향후 수요가 증가되리라 예상된다[9]. 그러나 분말식초에 대한 제조방법에 대한 연구[8, 9]는 진행되어 왔으나, 현재까지 분말식초의 기능성에 대한 연구는 매실 분말식초의 암세포 성장 억제활성에

### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-7804

E-mail : [hysohn@anu.ac.kr](mailto:hysohn@anu.ac.kr)

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

대한 연구[26] 이외에는 매우 제한된 상태이다.

본 연구에서는 기능성이 강화된 과립식초를 제조하기 위한 전 단계로, 항비만, 항혈전 및 노화방지 효과가 우수하다고 알려진 풋사과, 현미 및 아로니아를 이용하여 각각 풋사과 식초, 현미 식초 및 아로니아 식초를 제조하였다. 이후 제조된 식초를 각각 분무건조하여 분말식초 3종을 최종 제조하였으며, 이의 이화학적 특성과 항산화, 항혈전 및 지방축적 억제활성을 평가한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 풋사과, 현미, 아로니아 및 기타 시약

본 실험에서 사용한 풋사과는 2021년 충북 단양에서 재배한 미얀마 품종으로, 개화 후 70-90일 정도의 씨방 및 씨앗이 만들어지지 않은 미성숙 사과를 사용하였다. 현미와 아로니아는 2022년 충북 단양군 소재에서 재배한 식재료를 구매하여 사용하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), triton X-100 및 기타 사용 시약은 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 시약급 이상의 제품을 구입하여 사용하였다.

### 3종 발효식초의 제조

3종 발효 식초는 (주)득수(Danyang, Korea)에서 제조하였다. 먼저 풋사과 식초 제조의 경우 수세, 선별된 풋사과를 스크류 방식의 습식분쇄 착즙시스템(Hansung screw juicer, Gwangju, Korea)으로 착즙하였으며, 착즙액(12°brix)에 가당하여 24°brix 발효 배지를 조제하였다. 이후 전 배양된 *Gluconacetobacter xylinus* (*G. xylinus*) 배양액을 5% 중량비로 접종한 후 25°C에서 90일간 발효시켜 pH 3.4, 산도 4.5의 풋사과 식초를 얻었다. 현미식초 제조의 경우에는 수세, 정선한 현미를 3시간 침지한 후 1.2배의 물을 첨가하여 스팀기로 증자하여 고두밥을 제조하였으며, 이후 고두밥 중량대비 10배의 물을 가수하여 고두밥액(0.4°brix)을 만들고, 시판 누룩(Rice nuruk, Janghueng, Korea)을 이용하여 당화과정을 거친 당화액(3°brix)에 가당하여 24°brix 발효 배지를 조제하였다. 이후 상기와 동일하게 *G. xylinus* 배양액을 5% 중량비로 접종한 후 25°C에서 180일간 발효시켜 pH 3.8, 산도 4.8의 현미 식초를 얻었다. 아로니아 식초의 경우 수세, 선별된 아로니아 열매 10 kg 당 200 ml의 30% 알코올을 분무한 후 상온에서 1일 동안 밀폐 보존하여 탈삼하였으며, 이후 탈삼 열매를 스크류 방식의 습식분쇄 착즙시스템(Hansung chopper machine, Gwangju, Korea)을 이용하여 착즙하였다. 이후 착즙액(7°brix)에 가당하여 24°brix 발효 배지를 조제한 후, 상기와 동일하게 *G. xylinus* 배양액을 5% 중량비로 접종한 후, 25°C에서 90일간 발효시켜 pH 3.2, 산도 5.2의 아로니아 식초를 얻었다.

### 3종 발효식초의 분말화

각각의 제조된 식초는 분무건조하여 분말화하였으며, 각각의 발효 식초액(56.5%)에 말토덱스트린(37.46%), 포도당(5%), 구연산(1%), 비타민 C (0.04%)를 첨가한 후 분무건조하였다. 이때 분무건조는 Mini-spray Dryer B-191 (Buchi labortechnik AG, Switzland)을 사용하였으며 운전 조건은 atomizer nozzle의 spray air flow 600 l/hr, aspirator의 air flow rate 31.5 m<sup>3</sup>/hr, feed flow 54 ml/hr, inlet temperature 180°C, inlet temperature 80°C로 조정하여 수행하였다.

### 3종 분말식초의 이화학적 특성 평가

분말식초의 pH 측정은 320 pH meter (Mettler toledo InLabR 413, UK)로 측정하였으며, brix 측정은 refractometer (Atago N-1E, Japan)를 이용하였다. 색도는 Hunter Color Difference meter (Super color SP-80 colormeter, Tokyo Denshoku Co., Japan)를 이용하여 명도(lightness, *L*), 적색도(redness, *a*), 황색도(yellowness, *b*)를 측정하였다[21]. 이때 표준백관의 색도는 *L*값이 92.44, *a*값이 -0.06, *b*값이 1.35로 기준을 정하였으며, 시료당 3회 측정하여 평균값을 구하여 나타내었고 색차( $\Delta E$ )는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

한편 산도는 기존의 보고[8, 26]와 동일하게 각각의 분말식초 시료 2 g을 20 ml 증류수에 녹이고, 그 중 5 ml를 취한 후 1% 페놀프탈레인(phenolphthalein)을 지시약으로 하여, 0.1 N 수산화나트륨(NaOH)용액으로 중화 적정하여, 아세트산에 상당하는 유기산 계수를 이용하여 총산 함량으로 환산하여 나타내었다(0.1 N NaOH 용액,  $F = 1.000$ ). 분말식초의 수분함량은 식품공전에 따라 상압조건인 105°C에서 항량건조하여 측정하였으며, 용해도 평가는 30°C, 정지 조건에서 각각의 분말식초 1.5 g에 증류수 30 ml를 가한 후 경시적으로 용액 20 ml를 취해 산도 변화를 측정하여 용해도를 나타내었으며, 더 이상 산도의 변화가 없는 경우 최대 용해도로 판정하였다[8, 9].

### 3종 발효식초의 열 안정성

분말식초의 열 안정성은 각각의 분말식초 1 g을 취하여 50°C의 건조오븐(Hanback HB-502B, Bucheon, Korea)에서 5시간 방치 후 산도를 측정하여 산도의 잔존율로 열안정성을 나타내었다. 구체적으로 건조오븐에 넣기 전에 산도와 50°C에서 5시간 분말을 방치한 후에 총 산을 재었을 때 산도가 동일하면 열 안정성을 100%라고 계산하였다[9].

### 3종 분말식초의 성분 분석

3종 분말식초의 total polyphenol 및 total flavonoid 함량 측정은 기존 보고된 방법[24, 29]에 따라 측정하였으며,

각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. 총당 정량은 phenol-sulfuric acid 법[30]을 사용하였으며, 표준 시약은 sucrose를 사용하였다. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

### 3종 분말식초의 항산화 활성

3종 분말식초는 각각 정제수에 녹여 기존 보고된 방법 [16, 21]에 따라, 항산화 활성을 측정하였으며, 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) anion scavenging activity (DSA), ABTS [2,2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] cation scavenging activity (ASA), 환원력 평가 및 nitrite scavenging activity (NSA) 측정으로 평가하였으며, 활성 평가의 대조구로는 vitamin C (Sigma Co. St. Louis, MO, USA)를, 용매 대조구로는 정제수를 사용하였다.

### 3종 분말식초의 항혈전 활성

3종 분말식초의 항혈전 활성은 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 각각 측정하여 평가하였다[1]. 모든 실험은 3회 반복하여 평균과 편차로 나타내었으며, 각각의 저해 활성은 시료 첨가 시 혈액 응고시간의 평균치를 용매 대조구 첨가시의 혈액 응고시간의 평균치의 비로 나타내었다[15, 17]. 사용 혈장은 기존 보고와 동일하게 시판 control plasma (MD pacific technology Co., Ltd, Huayuan industrial area, China)를 사용하였으며, PT reagent와 aPTT reagent는 MD Pacific Hemostasis (MD pacific technology Co., Ltd, Huayuan industrial area, China)의 분석시약을 사용하였다.

### 3종 분말식초의 지방 축적 억제활성

먼저 분말식초의 세포독성을 측정하기 위해, 마우스 전지방 세포 3T3-L1 세포를 10% newborn calf serum (NBCS, Gibco, Grand island, NY, USA), 1% penicillin-streptomycin (Welgene, Korea)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다[20]. 96-well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well로 seeding 한 후 48시간 동안 배양한 후, 다양한 농도의 분말식초 용액을 처리한 후 48시간 동안 배양하였으며, 이후 CellTiter96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay kit (Promega, Madison, WI, USA) 용액을 각 well 당 20 µl씩 첨가한 후 incubator에서 4시간 동안 반응시켰다. 그 후, NanoQuant Plate TM을 사용하여 480 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 측정하였다[22]. 실험 결과는 다섯 개의 well을 독립적으로 수행한 값의 평균을 Sigma plot program 10.0을 이용하여 분석하여 그래프로 나타내었다.

각각의 분말식초의 지방세포 형성 억제 활성은, 3-bu-

tyl-1-methylxanthine (M), 0.5 mM, dexamethasone (D) 1 µM 및 insulin (I) 10 µg/ml로 구성된 MDI를 3T3-L1 세포에 처리하여 분화유도한 후, 세포 내 축적된 triglyceride양을 Oil Red O staining을 수행하여 측정하여 평가하였다. 사용 시약은 모두 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 시약급 이상의 제품을 구입하여 사용하였다. 지방세포 분화는 3T3-L1을 6-well plate (5×10<sup>5</sup> cells/well)로 seeding한 후 100% confluence 상태에서 72시간 동안 더 배양한 이후, MDI 및 10%의 fetal bovine serum (FBS, Gibco, Grand island, NY, USA)이 첨가된 DMEM으로 교체하였으며, 72시간 후 기존 배지를 제거하여 10 µg/ml의 insulin과 10%의 FBS가 첨가된 DMEM으로 교환하여 3일 동안 배양하였다. 그 후, 72시간마다 9일 동안 10%의 FBS가 첨가된 DMEM으로 교체하였다. 분화 유도는 15일 동안 실시하였으며 각각의 분말식초를 농도별로 분화유도물질과 함께 처리하였다. 분화된 세포의 지질 축적 정도는 Oil Red O staining으로 관찰하였다. 분화된 3T3-L1 세포를 10% formalin으로 5분 고정한 후 10% formalin을 제거하고, 다시 10% formalin을 처리하여 30분간 4°C에서 고정시켰다. 그 후, 70% isopropyl alcohol로 한 번 건조시킨 후 isopropyl alcohol에 녹인 Oil Red O 염색제로 5분 동안 염색시키고, 증류수로 4회 세척하였다. 이후 현미경으로 세포의 사진을 촬영하였으며, 세척된 세포는 상온에서 증류수를 완전히 건조시킨 후 100% isopropyl alcohol을 가하여 Oil Red O 염색제를 용해시킨 후 Tecan spark (Tecan Austria GmbH, Austria)로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다[20, 22].

### 통계분석

분석결과는 SPSS 27.0 버전을 사용하여 mean ± SD로 나타내었으며, 각 군 간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 3종 분말식초의 이화학적 특성 평가

제조된 풋사과, 현미 및 아로니아 식초를 분무건조하여 제조한 분말식초의 사진과 이화학적 특성은 Fig. 1 및

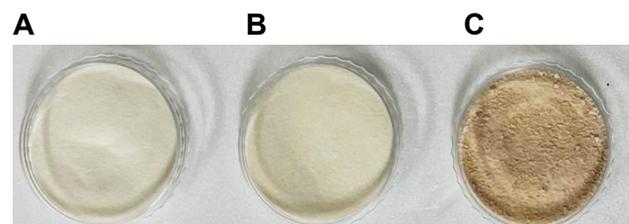


Fig. 1. Photography of the dried vinegars prepared with (A) unripe apple vinegar, (B) brown rice vinegar, and (C) aronia vinegar.

Table 1. Color differences of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar

Dried vinegars	L	a	b	ΔE
Unripe apple	83.65±0.00 <sup>c</sup>	-1.83±0.00 <sup>a</sup>	9.2±0.00 <sup>a</sup>	11.65±0.00 <sup>a</sup>
Brown rice	81.00±0.01 <sup>b</sup>	-1.80±0.01 <sup>a</sup>	10.37±0.04 <sup>b</sup>	14.55±0.04 <sup>b</sup>
Aronia	72.57±0.04 <sup>a</sup>	3.01±0.04 <sup>b</sup>	13.96±0.04 <sup>c</sup>	23.59±0.06 <sup>c</sup>

Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscripts within a column differ significantly ( $p<0.05$ ).

Table 1에 나타내었다. 풋사과 분말식초와 현미 분말식초는 탈지우유 분말과 같은 색상을 나타낸 반면, 아로니아 분말식초는 상대적으로 황색을 나타내었다(Fig. 1). 색차 분석 결과 아로니아 식초분말은 높은 적색도, 황색도 및 낮은 명도를 나타내어, 여타 2종의 분말식초와는 확연히 구분되었으며(Table 1), 현미 분말식초의 경우에는 풋사과 분말식초보다 높은 황색도와 낮은 명도를 나타내어 3종 분말식초는 유의적으로 색차가 구분되었다( $p<0.05$ ). 분말식초의 pH는 모두 3.2로 유사하였으나, 산도 측정결과 풋사과 분말식초는 3.97, 현미 분말식초는 3.81, 아로니아 분말식초는 2.15로 차이가 있었다(Table 2). 기존 매실 분말식초의 경우 산도가 1.0 이었으나[26], 본 연구에서 제조된 3종 분말식초는 발효식초 이외에 1%의 구연산을 첨가하여 제조되어 기존 보고와 달리 높은 산도를 나타내었으며, 이는 향후 분말식초를 이용한 과일식초 및 가공품 제조를 고려한다면 적절한 산도로 판단된다. 수용성 고형분(°brix) 함량 측정결과, 풋사과 및 현미 분말식초의 경우 83-84%를 나타내었으나, 아로니아 분말식초는 79%를 나타내었다. 수분함량은 모든 분말식초에서 3.5-4.0%를 나타내었다. 또한 제조된 분말식초를 50°C에서 5시간 저장한 경우와 30°C에서 10일간 저장한 경우 산도의 감소는 5% 이하로 나타나 장기저장이 가능함을 확인하였다

(Results not shown).

**3종 분말식초의 성분 분석**

제조된 풋사과, 현미 및 아로니아 분말식초의 유용성분 평가로, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 당 함량을 분석하였으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 총 폴리페놀의 경우, 아로니아 분말식초에서 가장 높은 24.4 mg/g을 보였으며, 현미 분말식초(15.5 mg/g), 풋사과 분말식초(12.2 mg/g) 순으로 나타났다. 반면 총 폴리보노이드 함량의 경우 풋사과 분말식초와 현미 분말식초에서 6.9-7.0 mg/g을 함유하였으나 아로니아 분말식초의 경우 거의 함유하지 않음을 확인하였다. 이는 기존 매실 분말식초[26]의 총 폴리페놀(59.58 mg/g) 및 총 플라보노이드(57.56 mg/g) 함량에 비해 낮은 함량이며, 이러한 차이는 사용 발효 기질의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 3회 반복 분석의 총 당 평균함량은 풋사과 분말식초(824.1 mg/g), 아로니아 분말식초(814.1 mg/g), 현미분말식초 (725.6 mg/g) 순으로 나타났다(Table 3).

**3종 분말식초의 항산화 활성**

제조된 3종 분말식초의 항산화 활성을 평가한 결과는 Table 4에 나타내었다. 먼저 DPPH 음이온 소거능을 0.5

Table 2. Physicochemical properties of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar

Dried vinegars	pH	Acidity (%)	Brix	Water content (%)
Unripe apple	3.2±0.1 <sup>a</sup>	3.97±0.3 <sup>a</sup>	84.0±0.5 <sup>a</sup>	3.5±0.3 <sup>a</sup>
Brown rice	3.2±0.1 <sup>a</sup>	3.81±0.1 <sup>a</sup>	83.0±0.3 <sup>a</sup>	3.8±0.4 <sup>a</sup>
Aronia	3.2±0.1 <sup>a</sup>	2.15±0.2 <sup>b</sup>	79.1±0.8 <sup>b</sup>	4.0±0.4 <sup>a</sup>

Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscripts within a column differ significantly ( $p<0.05$ ).

Table 3. Content of total polyphenol, total flavonoids and total sugar of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar

Dried vinegars	Contents (mg/g)		
	Total Polyphenol	Total flavonoid	Total Sugar
Unripe apple	12.2±0.1 <sup>a</sup>	7.0±0.0 <sup>a</sup>	824.1±52.8 <sup>a</sup>
Brown rice	15.5±0.1 <sup>b</sup>	6.9±0.1 <sup>a</sup>	725.6±38.6 <sup>a</sup>
Aronia	24.4±0.4 <sup>c</sup>	0.1±0.1 <sup>b</sup>	814.4±77.8 <sup>a</sup>

Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscripts within a column differ significantly ( $p<0.05$ ).

Table 4. Antioxidant activities of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar

Dried vinegars	Anti-oxidant activity (%)			Reducing power (700 nm)
	DPPH SA	ABTS SA	Nitrite SA	
Unripe apple	-6.9±2.4 <sup>a</sup>	13.0±1.0 <sup>b</sup>	11.0±3.1 <sup>a</sup>	0.026±0.004 <sup>a</sup>
Brown rice	-12.1±8.7 <sup>a</sup>	7.1±0.1 <sup>a</sup>	5.3±5.0 <sup>a</sup>	0.047±0.005 <sup>a</sup>
Aronia	36.7±0.6 <sup>b</sup>	75.3±0.4 <sup>c</sup>	8.3±1.4 <sup>a</sup>	0.334±0.054 <sup>b</sup>

DPPH, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl; SA, scavenging activity; ABTS, 2,2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate). Data are presented as the mean ± SD of three determinations. Different superscripts within a column differ significantly ( $p < 0.05$ ).

mg/ml 농도에서 평가한 결과, 아로니아 분말식초에서만 36.7% 소거능을 보였다. ABTS 양이온 소거능의 경우에도 아로니아 분말식초에서는 75.3% 소거능을 보였으나, 현미 및 풋사과 분말식초는 각각 7.1% 및 13%의 약한 소거능을 보였다. 환원력 역시 아로니아 분말식초에서 가장 높은 0.334를 나타내었다. 한편 nitrite 소거능을 0.2 mg/ml 농도에서 평가한 결과, 풋사과 분말식초, 아로니아 분말식초, 현미 분말식초 순으로 소거활성이 나타났다. 기존 연구에서 분말식초 제조 및 활성평가가 거의 없는 상태이나, 본 연구에서 제조된 3종 분말식초 중 아로니아 분말식초는 우수한 항산화력을 나타냄을 확인하였다. 3종 분말식초의 항산화 활성의 차이는 원재료의 차이에서 나타나는 것으로 판단된다[2, 6].

### 3종 분말식초의 항혈전 활성

제조된 3종 분말식초의 항혈전 활성은 fibrin polymer 생성에 관여하는 트롬빈의 저해정도를 나타내는 TT, 프로트롬빈 활성화에 관련되는 PT 및 내인성 혈전 생성과 연관된 혈액응고인자의 저해정도를 확인하는 aPTT를 각각 측정[3]하여 Table 5에 나타내었다. 항혈전제로 사용되고 있는 아스피린은 5.0 mg/ml 농도에서 용매 대조구보다 15배 이상 연장된 TT, PT, aPTT를 나타내었으며, 1.5 mg/ml 농도에서는 용매 대조구보다 각각 1.26배, 1.30배 및 1.33배 연장된 TT, PT, aPTT를 보여 혈전 생성 억제 효과

를 확인하였다. 3종 분말식초(5 mg/ml)의 경우 PT에서 우수한 항혈전 활성이 나타난 바, 풋사과 분말식초, 현미 분말식초 및 아로니아 분말식초에서 각각 1.22배, 1.17배 및 1.16배 연장된 PT를 보였다. 반면 3종 분말식초는 TT에서는 거의 변화가 나타나지 않았으며, aPTT의 경우 용매 대조구에 비해 0.8-0.83배의 감소를 보였다. 이러한 결과는 분말 식초가 프로트롬빈 저해에 효과적임을 의미하고 있다.

### 3종 분말식초의 지방 축적 억제활성

제조된 3종 분말식초의 지방 축적 억제활성은 MDI로 분화 유도된 3T3-L1 세포를 이용하여 triglyceride 축적량을 측정하여 평가하였으며, 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 분화세포에 Oil-red O staining결과, 무처리 세포에서는 lipid droplet이 관찰되지 않았으나, MDI 처리구에서는 크기가 증가된 lipid droplet이 관찰되었다. 3종 분말식초의 경우 100 µg/ml 농도까지 세포독성이 나타나지 않음을 확인한 후(Fig. 2A) 분화세포에 100 µg/ml 농도로 각각 처리하였으며, 그 결과 풋사과 분말식초와 아로니아 분말식초의 경우 MDI 처리와 유사하게 크기가 증가된 lipid droplet이 관찰되었으며(Results not shown), 각각 1.18배 및 1.48배 증가된 지질 축적량을 보였다. 그러나, 현미 분말식초를 처리한 경우 세포 내 lipid droplet의 크기가 현저하게 감소하였으며, 축적된 triglyceride 양은 MDI 처리구의 61.7%를

Table 5. *In vitro* anticoagulation activities of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar

Dried vinegars/ Chemicals	Conc. (mg/ml)	Anti-thrombosis activity (x control)		
		TT	PT	aPTT
Water	-	1.00±0.02 <sup>c</sup>	1.00±0.01 <sup>a</sup>	1.00±0.01 <sup>b</sup>
Aspirin	5.0	> 15 <sup>c</sup>	> 15 <sup>c</sup>	> 15 <sup>d</sup>
	1.5	1.26±0.00 <sup>d</sup>	1.30±0.02 <sup>d</sup>	1.33±0.02 <sup>c</sup>
Unripe apple	5.0	0.96±0.01 <sup>b</sup>	1.22±0.01 <sup>c</sup>	0.80±0.01 <sup>a</sup>
Brown rice	5.0	0.95±0.01 <sup>b</sup>	1.17±0.01 <sup>b</sup>	0.82±0.02 <sup>a</sup>
Aronia	5.0	0.92±0.01 <sup>a</sup>	1.16±0.01 <sup>b</sup>	0.83±0.03 <sup>a</sup>

TT, thrombin time; PT, prothrombin time; aPTT, activated partial thromboplastin time.

Data are presented as relative clotting time based on solvent control (x control). The solvent control (dimethylsulfoximide) of TT, PT and aPTT were 28.5 sec, 16.5 sec, and 40.1 sec, respectively. Different letters within a panel differ significantly ( $p < 0.05$ ).

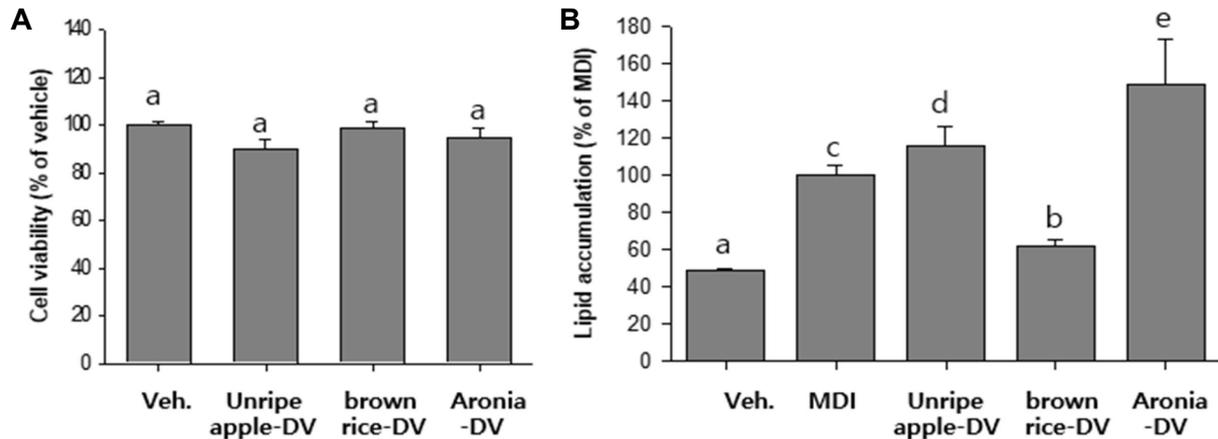


Fig. 2. Effect of the dried vinegars prepared with unripe apple vinegar, brown rice vinegar, and aronia vinegar on cell viability and lipid accumulation on 3T3-L1 cells. (A) Mouse pre-adipocyte 3T3-L1 cells were treated with different dried vinegars (100  $\mu$ g/ml) for 48 hr, and then cell viability was measured using MTS assay. (B) Lipid accumulation was measured using Oil-red O staining. Data are presented as the mean  $\pm$ SD of five determinations. Different superscripts within a column differ significantly ( $p < 0.05$ ).

나타내었다(Fig. 2B). 3종 분말식초에 의한 지질 축적에 미치는 영향과 관련 기전은 향후 상세한 연구가 필요하다고 판단된다. 3종 분말식초에 대한 연구결과, 아로니아 분말식초에서 우수한 항산화 활성을, 현미 분말식초에서 지질 축적억제 활성을 확인하였으며, 3종 분말식초 모두에서 프로트롬빈 저해에 의한 항혈전 활성을 확인하였다. 본 연구결과는 향후 분말식초의 기능성 식품으로 개발 연구가 필요함을 제시하고 있으며, 과립식초 제조의 기초 자료로 활용될 것이다.

### 감사의 글

본 연구는 2023년 시군 경쟁력 강화산업 육성사업(단양군)의 지원으로 진행되었으며, 이에 감사드립니다.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

- Bijak, M., Bobrowski, M., Borowiecka, M., Podsedek, A., Golanski, J. and Nowak, P. 2011. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds. *Fitoterapia* **82**, 811-817.
- Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K. and Guzel-Seydim, Z. B. 2014. Functional properties of vinegar. *J. Food Sci.* **79**, 757-764.
- Chen, H., Qi, X., He, C., Yin, Z., Fan, D. and Han, G. 2013. Coagulation imbalance may not contribute to the development of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Thrombosis Res.* **131**, 173-177.
- Chung, B. H., Seo, H. S., Kim, H. S., Woo, S. H. and Cho, Y. G. 2010. Antioxidant and anticancer effects of fermentation vinegars with *Phellinus linteus*, *Inonotus obliquus*, and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* **18**, 113-117.
- Hong, S. M., Kang, M. J., Lee, J. H., Jeong, J. H., Kwon, S. H. and Seo, K. I. 2012. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J. Food Preserv.* **19**, 594-603.
- Hwang, E. S. and Thi, N. D. 2020. Quality characteristics and antioxidant activity of vinegar by the addition of aronia juice (*Aronia melanocarpa*). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **49**, 167-176.
- Hwang, J. Y., Cho, H. Y. and Pyo, Y. H. 2016. Effect of unpolished rice vinegar containing monascus-fermented soybean on inhibitory activities of tyrosinase and elastase. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 149-154.
- Hwang, S. H., Hong, J. H., Jeong, Y. J. and Youn, K. S. 2002. Effects of the proportions of wall materials on the characteristics of spary dried vinegar. *Korean J. Food Preserv.* **9**, 189-193.
- Hwang, S. H., Jeong, Y. J. and Youn, K. S. 2002. Optimization of spray drying process for manufacturing dried vinegar using response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.* **9**, 194-199.
- Jang, S. Y., Sin, K. A. and Jeong, Y. J. 2010. Quality characteristics of apple vinegar by agitated and static cultures. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 308-312.
- Jeong, E. J., Park, H. J. and Cha, Y. J. 2016. Fermented production of onion vinegar and its biological activities. *Korean J. Food Nutr.* **29**, 962-970.
- Joo, K. H., Cho, M. H., Park, K. J., Jeong, S. W. and Lim, J. H. 2009. Effects of fermentation method and brown rice

- content on quality characteristics of brown rice vinegar. *Korean J. Food Preserv.* **16**, 33-39.
13. Kim, D. W., Kim, D. H., Kim, J. K., Yeo, S. H., Choi, H. S., Kim, Y. H. and Kim, M. K. 2020. Comparison of volatile compounds in *Maclura tricuspidata* fruit vinegar and commercial vinegars. *Korean J. Food Preserv.* **27**, 85-97.
  14. Kim, H., Lee, H. and Shin, K. S. 2016. Intestinal immunostimulatory activity of neutral polysaccharide isolated from traditionally fermented Korean brown rice vinegar. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **12**, 2383-2390.
  15. Kim, M. S. and Sohn, H. Y. 2014. Anti-thrombosis activity of the aerial parts of *Aruncus dioicus* var *kamtschaticus*. *J. Life Sci.* **24**, 515-521.
  16. Kim, M. S. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-oxidant, anti-coagulation and anti-platelet aggregation activities of black currant (*Ribes nigrum* L.). *J. Life Sci.* **26**, 1400-1408.
  17. Kim, M. S., Shin, W. C., Kang, D. K. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-thrombosis activity of sinapic acid isolated from the lees of *bokbunja* wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 61-65.
  18. Ko, Y. J., Jeong, D. Y., Lee, J. O., Park, M. H., Kim, E. J., Kim, J. W., Kim, Y. S. and Ryu, C. H. 2007. The establishment of optimum fermentation conditions for *Prunus mume* vinegar and its quality evaluation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 361-365.
  19. Ko, Y. J. and Ryu, C. H. 2016. Optimum fermentation condition of apple vinegar added with Korean rice wine lees extracts. *J. Agric. Life Sci.* **50**, 193-200.
  20. Kwon, G. S., Kim, B. H., Lee, J. H., Hwang, H. S. and Lee, J. B. 2021. Evaluation of lipid accumulation's inhibitory activity on 3T3-L1 Cells with red yeast barley extracts. *J. Life Sci.* **31**, 192-198.
  21. Lee, Y. S., Kwon, H. Y., Hwang, E. K. and Sohn, H. Y. 2022. Anti-thrombosis and anti-oxidant activities of edible flower. *J. Life Sci.* **32**, 989-996.
  22. Lim, H. J., Chang, Y. H., Han, B. K., Jeong, J. K., Park, S. B., Choi, H. J. and Hwang J. 2014. Anti-obesity effects of Jeju hallabong tangor (*Citrus kiyomi*×*ponkan*) peel extracts in 3T3-L1 adipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 1688-1694.
  23. Mo, H. W., Jung, Y. H., Jeong, J. S., Choi, K. H., Choi, S. W., Park, C. S., Choi, M. A., Kim, M. L. and Kim, M. S. 2013. Quality characteristics of vinegar fermented using omija (*Schizandra chinensis* Baillon). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 441-449.
  24. Park, J. S., Hwang, I. W., Zheng, H. Z., Kim, S. K. and Chung, S. K. 2010. Determination of optimum hydrolysis conditions for flavonoid analysis in plant leaves. *Kor. J. Food Preserv.* **17**, 261-266.
  25. Park, S. and Park, S. K. 2022. Anti-oxidant and anti-aging effects of phlorizin are mediated by DAF-16-induced stress response and autophagy in *Caenorhabditis elegans*. *Antioxidants* **11**:1996. doi: 10.3390/antiox11101996.
  26. Park, W. L., Kim, J. H., Joe, J. A., Won, Y. S. and Seo, K. I. 2021. Antioxidant and antiproliferating effects of *Prunus mume* vinegar powder on breast cancer cells. *J. Life Sci.* **31**, 149-157.
  27. Park, Y. O. 2016. Quality characteristics of fermented vinegars using pear. *Korean J. Food Preserv.* **23**, 778-787.
  28. Sim, H. J., Seo, W. T., Choi, M. H., Kim, G. W., Shin, J. H. and Kang, M. J. 2016. Quality characteristics of vinegar added with different levels of black garlic. *Korean J. Food Cook Sci.* **32**, 16-26.
  29. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
  30. Valentina, U., Fabcic, J. and Stampar, F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**, 185-192.
  31. Yi, M. R., Hwang, J. H., Oh, Y. S., Oh, H. J. and Lim, S. B. 2014. Quality characteristics and antioxidant activity of immature Citrus unshiu vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 250-257.
  32. Yi, M. R., Kang, C. H. and Bu, H. J. 2017. Acetic acid fermentation properties and antioxidant activity of lemongrass vinegar. *Korean J. Food Preserv.* **24**, 680-687.
  33. Zhu, H., Zhang, Y., Duan, Y., Pei, K., Tu, S., Chen, Y. and Cai, H. 2023. Pharmacokinetic evaluation of sinisan containing vinegar-processed products in depressive rats, a comprehensive perspective of individual herb, herb-pair, and herbal formula. *J. Ethnopharmacol.* **317**, 116817. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116817>

### 초록 : 3종 분말식초의 항산화, 항혈전 및 항비만 활성

이종규<sup>1,2</sup> · 김종식<sup>3</sup> · 손호용<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>상지대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>주독수, <sup>3</sup>국립안동대학교 생명과학과, <sup>4</sup>국립안동대학교 식품영양학과)

식초는 당과 전분을 함유하는 다양한 재료를 초산균으로 발효시켜 제조되며, 다양한 유기산, 당류, 아미노산, 에스터 및 기타 화합물을 포함하여 독특한 맛과 향미를 나타낸다. 식초는 소화를 원활하게 하고 혈당 수준을 낮추는 데 도움을 주며, 항비만 및 항산화 활성이 알려져 있으며, 체액의 알칼리화에 기여한다고 알려져 있다. 본 연구에서는 천연 발효식초로부터 기능성 분말식초(dried vinegar, DV)를 제조하기 위해, 풋사과, 현미 및 아로니아를 각각 *Gluconacetobacter xylinus*로 90-180일 발효시킨 발효식초를 말토덱스트린(37.46%), 포도당(5%), 구연산(1%) 및 비타민 C (0.04%) 용액에 현탁 후 분무건조하여 3종의 DV를 제조하였다. 제조된 DVs의 산도, 색상, 수분 및 용해성 고형 내용물 및 열 안정성 분석 결과, 분무건조가 분말 제조에 적합함을 확인하였으며, DVs는 우수한 관능과 용해성을 나타내었다. 제조된 DVs중 아로니아-DV가 0.5 mg/ml 농도에서 가장 높은 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl 및 2,2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) 자유 라디칼 소거 활성(각각 36.7% 및 75.3%) 및 환원력 (0.334)을 보였으며, nitrite 소거 활성은 풋사과-DV에서 가장 높았으며, 아로니아-DV 및 현미-DV순으로 나타났다. 항혈전 활성 평가결과 아로니아-DV가 prothrombin 억제 활성이 가장 높게 나타난 반면, 현미-DV는 3T3-L1 지방세포에서 세포 독성 없이 지질 축적 억제 활성을 나타내었다. 상기 결과는 분말식초의 산업화 가능성을 제시하며, 식품가공 소재로 응용 가능함을 제시하고 있다.