

감식초 제조를 위한 초산발효 최적 조건 및 감식초의 품질특성

정 석 태 · 김 지 감 · 장 현 세 · 김 영 배 · 최 종 욱 *
원예연구소 저장이용과, *경북대학교 식품공학과

Optimum condition of Acetic acid Fermentation for Persimmon Vinegar Preparation and Quality evaluation of Persimmon Vinegar

Seok-Tae Jeong, Ji-Gang Kim, Hyun-Sae Chang, Young-Bae Kim and Jong-Uck Choi*

Storage and Utilization division, National Horticultural Research Institute,

**Department of Food Science and Technology, Kyungpook national University*

Abstract

This study was carried out for the purpose of improving the persimmon vinegar. The acetic acid bacteria strain JST-3, using acetic acid fermentation was isolated from the traditional persimmon vinegar.

The optimum conditions for high yield of acetic acid were studied in the shaking bath. Acetic acid bacteria was cultured at 30°C for 4 days and transferred to persimmon alcoholic juice for acetic acid fermentation. The optimum initial acidity for acetic acid fermentation was 1% (w/v) and the addition of glucose or yeast extract was observed to produce relatively low yield of acetic acid. Succinic and acetic acid were major organic acid in the persimmon vinegar. The contents of lactic acid which was known to increase off-flavor were very low.

Sensory evaluation revealed that the persimmon vinegar prepared in this study was superior to two commercial ones in the aroma and taste.

Key words : Persimmon, acetic acid fermentation, vinegar

서 론

식초는 동·서양을 막론하고 다같이 오랜 역사를 지닌 발효식품으로, 조미료로서 우리 일상 생활과 밀접한 관련 을 맺고 있으며 식초는 특유의 강한 산성 때문에 식품내 유해 미생물의 생육을 억제하는 효과가 있다(1).

과실에 있어서 초산 발효는 매실을 이용한 식초 제조방법 연구(2)에서 매실 추출액 및 영양 물질, 무기염류 등의 첨가에 따른 발효 특성에 대하여 보고된 바 있으며, 배를 이용한 식초의 발효 조건에 관한 연구(3)에 의하면 초기 알콜농도 8%일 때 초산 생성능이 가장 높았으며 잡균 오염 방지를 위한 초기산도는 2%로 하는 것이 좋은 결과를 나타

내었고 초산균의 질소 영양원으로는 유기질소원이 무기질소원보다 우수한 산 생성능을 보였다고 한다. 황 등(4)은 사과와 나파를 이용한 농가 간이 식초 제조에 관하여 시험을 수행하였으며 中嶋 등(5)은 감알콜 발효액을 이용한 초산 발효 과정의 성분 변화에 있어서 acetoin계 화합물이 식초에 있어서 불쾌취의 원인 물질로서 lactic acid 또는 pyruvic acid의 존재 하에서 생성이 많다고 보고하였다.

김 등(6)의 보고에 의하면 감식초내 함유된 유기산류는 oxalic acid, malic acid, lactic acid, citric acid, succinic acid, glutaric acid 등 이었으며 자연 발효시킨 경우 lactic acid의 함량은 높았지만 식초 고유의 색상과 맛은 복발효시킨 경우가 우수하였다고 보고하였다. 기타 감과실에 있어서 식초 제조 연구는 윈(7), 山崎 등(8), 차 등(9)에 의해 이루어졌다.

위에서도 살펴보았듯이 지금까지 보고된 감식초에 대한 보고는 대부분 발효 과정에 있어서 성분 변화에 대한 것들이고 발효 효율을 향상시키기 위한 발효조건에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 감식초 제조를 위한 최적 발효 조건 검토 및 시판 감식초와의 품질 특성 비교 실험을 수행하였는바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시 재료

전보(감식초 제조를 위한 감필프의 알콜발효시펙틴분해효소 처리의 효과)에서 제조된 감알콜발효액을 면포(cheese cloth)로 여과한 다음 70℃에서 10분간 증탕 살균하여 저온저장고(4℃)에 보관하면서 본 실험을 위한 재료로 사용하였다.

공시균주 및 종초의 배양

초산발효에 이용된 초산균은 전국 4개지역 전통 감식초 제조 공장에서부터 수집한 시료에서 분리한 초산생성균 중 가장 산 생성능이 우수한 균주를 이용하였으며 초산발효를 위한 종초는 Table 1의

고체 분리배지에서 분리된 균을 1백금이 취하여 Table 1의 액체배지 30ml에 접종하고 30℃에서 4일간 진탕배양한 다음 이것을 다시 살균한 감알콜 발효액 200ml에 접종하여 30℃에서 4일간 확대 배양시켜 종초로 사용하였다.

Table 1. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria.

Solid medium		Liquid medium	
Components	Ratio (%)	Components	Ratio (%)
Glucose	3.0	Glucose	0.5
Yeast extract	0.5	Yeast extract	0.5
Ethanol	3.0	Glycerin	1.0
CaCO ₃	1.0	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.02
Agar	2.0	Ethanol	5.0
		Acetic acid	1.0

초산발효

초산발효 조건 설정

저온 저장고(4℃)에 보관된 시료를 30℃로 온탕시킨 다음 종초를 감알콜발효액에 대하여 5% 접종하고 30℃에서 120rpm 으로 진탕 배양하면서 초기산도 및 영양 물질 첨가에 대한 적정 발효조건 구명 시험을 수행하였다.

심부 발효법(submerged culture)에 의한 초산 발효

초산발효 조건 설정 시험에서 얻어진 적정 발효 조건으로 3 l flask에 1.5 l의 감알콜 발효액을 넣어 Fig. 1과 같은 실험 장치를 이용하여 stirrer로 교반하고 0.45μm membrane filter로 여과한 공기를 200ml/min으로 주입하면서 30℃에서 심부 발효법에 의한 초산발효 시험을 수행하였다.

분석방법

1) 총산

시료액 5ml를 취하여 증류수 20ml를 가하고 pH meter를 이용하여 0.1N NaOH 용액으로 pH가 8.2 될 때까지 적정한 후 acetic acid로 환산하였다.

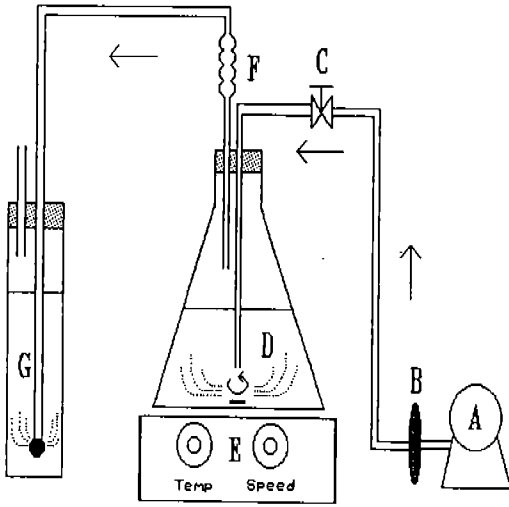


Fig. 1. Schematic diagram of submerged culture for acetic acid fermentation

- A : Compressor B : 0.45 μ m membrane filter
- C : Flow meter D : Persimmon alcohol medium
- E : Stirrer F : Cooling tube
- G : Cylinder(Water)

Table 2. The operating condition of HPLC for the analysis of organic acids.

Items	Condition
Instrument	Spectra-physics
Column	Altech IOA-1000(300mm \times 7.8mm)
Mobil phase	0.005N-H ₂ SO ₄
Flow rate	0.4ml/min
Injection volume	10 μ l
Column temp	60 $^{\circ}$ C
Detector	RI

감식초의 관능평가

원예연구소 저장이용과에 근무하는 20~30대의 남녀 9명으로 구성된 패널요원을 통하여 기존 감식초 공장에서 생산, 시중에 판매하고 있는 감식초(이하 시판 감식초라 칭함)와 본 연구에서 심부 발효법에 의해 생산된 감식초(이하 2단계발효 감식초라 칭함)와의 기호성 평가를 5단계 기호측도법에 의해 매우좋다(5), 좋다(4), 보통이다(3), 나쁘다(2), 매우나쁘다(1)와 같이 구분하여 실시하였으며 Duncan's multiple range test를 이용, 5% 유의수준에서 비교하였다.

2) 초산균 생육도 종초 배양액을 분광광도계(Gilford model 260)를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

3) 발효효율

발효 초기의 알콜농도에 따른 이론적인 초산 생성량에 대한 순수 초산 생성량을 백분율로 나타내었다.

$$\text{발효효율} = \frac{\text{최종산도}(\%, \text{w/v}) - \text{초기산도}(\%, \text{w/v})}{\text{초기 알콜농도}(\%, \text{v/v}) \times 1.304} \times 100$$

4) 유기산 분석

원심분리(15000g \times 15min)한 시료액을 적당히 희석하고 prefilter를 통과시킨 다음 0.2 μ m membrane filter로 여과시켜 아래 Table 2와 같은 조건으로 유기산류를 분석하였다.

결과 및 고찰

초산발효

1) 초산균 분리

전국 4개 지역(완주, 상주, 순창, 논산) 전통 감식초 공장에서 수집한 감식초 발효액을 무균 증류수에 희석시켜 Table 1의 고체 분리 배지에 도말한 다음 4일간 배양하여 투명환(clear zone)의 형성이 우수한 콜로니를 Table 1의 액체 배지에 이식하여 배양하였다. 이와 같은 조작을 수회 반복하여 순수 분리한 12균주 중 30 $^{\circ}$ C 에서 12일간 액체 배지에서 배양시 초산 생성력이 가장 우수한 균주인 JST-3을 이후의 실험에 공시 균주로 사용하였다.

2) 종초 배양중 균의 성장도

알콜농도를 5%로 조정된 액체 배지에 분리 초

산균을 접종하여 균체 성장도를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 접종 4일까지는 균체농도가 계속적으로 증가하였으며 4일 이후에는 흡광도가 떨어지는 경향으로 보아 종초의 사용 적기는 균성장도 및 종초의 균체량을 고려해 볼 때, 초산균 접종후 3일에서 4일 사이의 배양액이 적합하다고 판단된다.

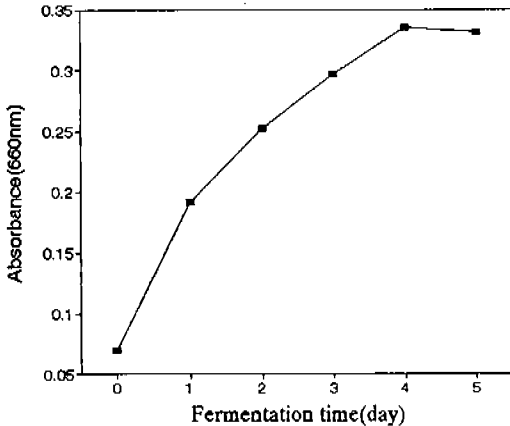


Fig. 2. Growth curve of strain JST-3 during seed culture in liquid media of Table 1.

3) 초산발효 효율에 미치는 초기산도의 영향

초산발효시 초기 산도를 0.5%~2.5% 범위에서 농도별로 조절하여 12일간 발효 중 총산을 조사한 결과, 각 처리별 발효효율은 Fig. 3과 같다.

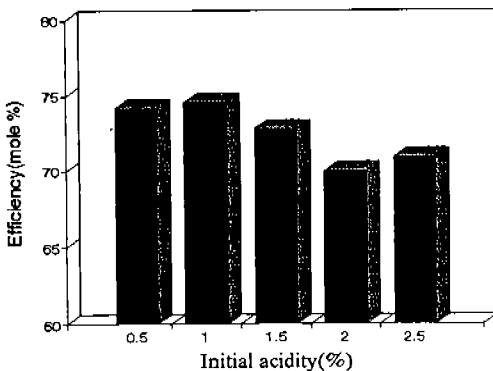


Fig. 3. Effect of initial acidity on the acetic acid fermentation of the persimmon alcohol medium by strain JST-3

김 등(10)의 보고에 의하면 식초 제조시 초기산

도가 증가할수록 초산발효의 유도기가 길어지므로 초기 산도를 2%로 조절하는 것이 적당하다고 하였으며 오(3)의 실험 결과에 따르면 초기 산도 0.5 및 1.0%에서는 산막유해균의 오염으로 초산발효가 잘 진행되지 않았으며 2% 이상에서는 발효에 차이가 없었다. 따라서 경제성을 고려하여 초기 산도를 2%로 조정하는 것이 적합하다고 하였지만 본 실험의 결과에 의하면 초기 산도를 1%로 하는 것이 가장 발효효율이 높아 상기 김 등, 오의 결과와는 상이함을 보였다.

4) 영양물질 첨가가 초산 생성에 미치는 영향

감식초 제조를 위한 감펄프의 알콜 발효액에는 초산균의 생육에 필요한 영양원이 부족할 것으로 여겨진다. 따라서 감알콜발효액의 초산발효시 요구되는 영양원의 적정농도를 찾기 위한 시험을 수행하였다.

(1) glucose 첨가에 따른 초산 생성능 비교

감펄프의 알콜발효 완료 후 당의 농도는 약 0.5%였으며 이때 glucose를 0.0~6.0% 첨가한 감알콜발효액을 30℃에서 120rpm으로 교반하면서 초산발효 시험을 수행한 결과는 Fig. 4와 같다.

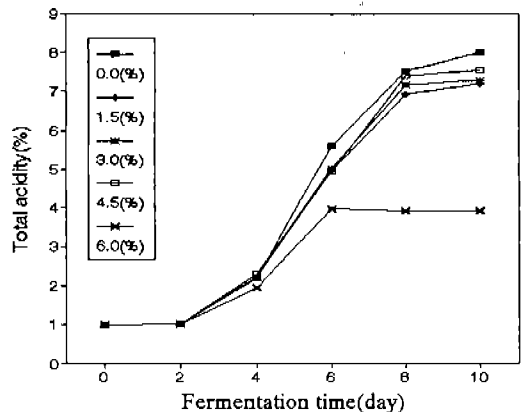


Fig. 4. Effect of glucose addition on acetic acid fermentation of the persimmon alcohol medium by strain JST-3

초산발효 초기에는 glucose 6% 첨가구를 제외하고는 처리간에 큰 차이가 없었으나 발효 6일째

부터는 무처리구가 오히려 높은 총산을 나타냈으며 glucose 6% 처리구에서는 발효기간 전반적으로 산 생성능이 저조함을 보였다.

정 등(2), 남 등(11)은 초산발효 배지에 있어서 당의 함량이 과량이면 초산발효가 저해된다고 보고한 바, 본 실험과 어느 정도 일치하나 배지에 따라서 초산 발효에 요구되는 당의 최적 농도에는 차이가 있음을 알 수 있었다.

(2) Yeast extract 첨가에 따른 초산 생성능 비교

감알콜발효액에 yeast extract를 0.0~0.6% 첨가하여 30°C에서 120rpm으로 교반하면서 초산발효 시험을 수행한 결과는 Fig. 5와 같다.

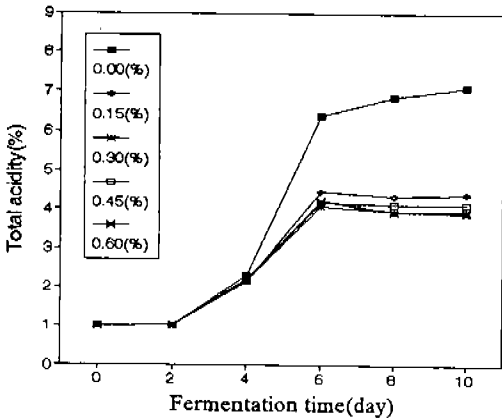


Fig. 5. Effect of yeast extract addition on acetic acid fermentation of the persimmon alcohol medium by strain JST-3

Fig. 5에서 볼 수 있듯이 발효 초기에는 처리간 큰 차이를 보이지 않았으나 접종 4일 후부터 초산 생성능에 차이를 나타냈는데 무처리구가 yeast extract 첨가구 보다 산 생성속도 및 최종 산 생성능에서 우수한 결과를 보였다. 오(3)는 배를 이용한 식초 제조 실험에서 영양원을 첨가하지 않은 처리구에서는 거의 발효가 진행되지 않았다고 보고한 바 본 실험과는 대조적이었는데 이는 초산발효의 배지에 있어서 본 실험에서는 감알콜발효액을 면포(cheese cloth) 여과후 살균시켜 초산발효를 수행하였으므로 발효액내의 효모 균체가 초산균의 영양원으로 이용되었기 때문이라고 사료된다.

5) 심부발효법에 의한 초산발효

Fig. 3에서 얻어진 결과에 따라, 미리 만들어 둔 살균 감식초를 이용하여, 감알콜발효액의 초기산도를 1%로 조정하고 Fig. 4 및 5의 실험 결과에 의하여 glucose 및 yeast extract를 첨가하지 않은 감알콜발효액에, 30°C에서 4일간 진탕배양시킨 종초를 5% 접종하고 Fig. 1과 같은 실험장치를 이용하여 심부발효법에 의한 초산발효 시험을 수행하였다. 심부발효법에 의한 초산발효 중의 알콜 및 총산의 변화는 Fig. 6과 같으며 유기산류의 변화특성은 Table 3과 같다.

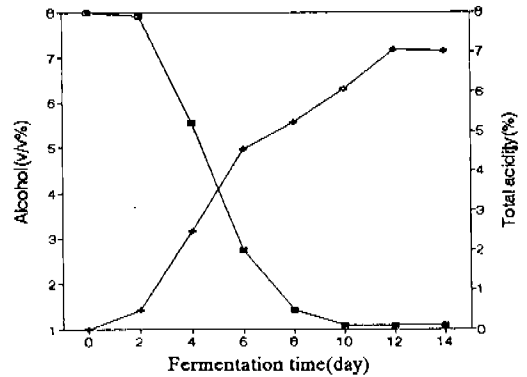


Fig. 6. Changes in alcohol and total acid contents during the acetic acid fermentation of the persimmon alcohol medium by strain JST-3
 ■ : Alcohol(v/v %)
 + : Total acidity (%)

심부발효법에 의한 배양액 중의 알콜 및 총산의 변화는 Fig. 6.과 같이 알콜 및 총산은 발효 2일부터 급격한 변화를 나타냈으며 초산균 접종 12일 후에는 발효가 완료되어 총산이 약 7% 정도 되는 감식초를 생산할 수 있었다.

검출된 유기산으로는 citric acid, pyruvic acid, succinic acid, lactic acid, formic acid, acetic acid 이었는데 citric acid, pyruvic acid 및 formic acid는 초산발효 초기에 검출되었지만 초산발효가 진행되면서 소실되었고 succinic acid 및 lactic acid는 발효가 진행되면서 급격히 감소하는 양상을 나타내어 발효 12일 후에는 각각 80 및 4mg/100ml의 함량을 보였다.

Table 3. Changes in organic acid contents during the acetic acid fermentation of the persimmon alcohol medium by strain JST-3. unit : mg/100ml

Organic acid	Fermentation time(day)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
Citric acid	140	nd*	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Pyruvic acid	19	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Succinic acid	161	139	101	83	75	77	80	72
Lactic acid	37	25	11	4	2	3	4	3
Formic acid	4	8	6	nd	nd	nd	nd	nd
Acetic acid	610	1,320	2,940	4,730	5,320	6,040	6,510	6,470

*not detected

김 등[6], 원[7]은 감식초의 유기산으로 oxalic acid, malic acid, lactic acid, citric acid, succinic acid, formic acid 등이 검출되었다고 보고하였던 바 본 실험에서 검출된 유기산류와는 약간의 차이를 보였다.

심부발효 중 휘발되는 초산량을 측정하기 위하여 유출되는 공기를 500ml 증류수(Fig.1-G)에 통과시켰던 바 최종발효가 완료된 후 Fig.1-G의 총산이 0.004%로서 휘발된 초산의 손실이 약 5%였다. 따라서 초산균의 생육을 최대한으로 유지시키면서 생성된 초산의 손실을 방지할 수 있는 공기의 주입량이 좀더 검토되어야 한다고 생각된다.

시판 감식초와 2단계발효 감식초의 품질 특성

초기산도를 1%로 조절한 감알콜발효액(알콜 8.0%)에 Table 1의 액체배지에서 4일간 증식 배양

시킨 초산균을 5% 접종하고 Fig. 1의 실험 장치에 의해 제조된 감식초(2단계발효 감식초)와 기존의 감식초 공장에서 생산, 시중에 판매되고 있는 감식초(시판 감식초)와의 품질 특성을 비교한 결과를 Table 4, 5 및 6에 나타내었다.

Table 4에서 볼 수 있듯이 시판 감식초의 초산의 농도는 대개 3% 전후이고 2단계발효 감식초는 7% 정도로서 시판 감식초보다 2배 가량 높으며 수용성 탄닌에 있어서는 시판 감식초가 훨씬 높은 값을 나타내었다.

Glycerol은 본 실험에서 제조된 감식초가 시판 감식초보다 약 7배 정도 많은 함량을 나타냈으며 잔류 alcohol은 시판 감식초가 0.6% 및 3.6%로 변이가 큰데 반하여 2단계발효 감식초는 잔존하는 알콜이 거의 없었다.

Table 4. Characteristics of the persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study compared with two commercial ones.

Samples	Total acidity (%)	Glycerol (mg/100ml)	Alcohol (%)	Tannin (ppm)
A	3.2	85	3.6	473
B	3.0	61	0.6	436
C	7.1	503	trace	287

A : Commercial persimmon vinegar I

B : Commercial persimmon vinegar II

C : Persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study

Table 5. Contents of various organic acids in the persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study compared with two commercial ones.

Organic acid	unit : mg/100ml		
	A	B	C
Citric acid	30	20	nd*
Pyruvic acid	nd	28	nd
Succinic acid	36	36	72
Lactic acid	347	312	3
Acetic acid(%)	2,440	2,510	6,430

*not detected

- A : Commercial persimmon vinegar I
- B : Commercial persimmon vinegar II
- C : Persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study

시판 감식초에는 citric acid가 검출되었는데 반하여 본 실험에서 양조한 감식초에는 검출되지 않았고 succinic acid는 2단계발효 감식초가 시판 감식초보다 2배 정도 많이 함유되어 있었으며 lactic acid는 시판 감식초의 경우 300mg/100ml 이상 함유되어 있었지만 2단계발효 감식초에는 미량 검출되었다. 초산균이 생성하는 주 유기산인 acetic acid는 초산균을 순수 배양시켜 접종시킨 2단계발효 감식초가 2배 이상 많았으며 oxalic acid, malic acid 및 formic acid는 어느 시료에서도 검출되지 않았다.

이상의 결과는 감식초에서 유기산을 분석한 中嶋 등(5), 김 등(6), 원(7)의 결과와는 일치하지 않았는데 이것은 원료로 사용한 감의 품종, 알콜 및 초산발효 조건 그리고 사용한 균주의 차이에 기인된 것으로 생각된다.

시판 감식초와 2단계발효 감식초의 관능평가 중 색의 기호성 평가에 있어서 시판 감식초 A 및 본 실험에서 제조한 감식초 C가 기호성이 높았는데 감식초의 색상에 대한 평가 중 특이한 것은 기존의 시판 감식초를 한번이라도 본적이 있는 패널원의 경우, 갈색을 띤 시판 감식초 A를 높히 평가했으며 그렇지 못한 패널원은 기존 시판 양조식초(사과식초, 현미식초 등)와 비슷한 색인 본 실험에서 제

조한 감식초에 높은 기호성을 보이는 경향이였다.

中嶋 등(5)의 보고에 따르면 양조제품에 있어서 불쾌취의 주성분 또는 전구물질인 diacetyl 및 acetoin은 lactic acid, pyruvic acid와 같은 유기산의 존재하에서 많이 생성된다고 한다. 따라서 본 실험에 의해 제조된 감식초와 시판 감식초와의 기호성 분석에서 2단계발효 감식초의 향기가 비교적 우수하게 평가된 것은 lactic acid의 함량이 시판 감식초보다 훨씬 낮았기 때문이라고 사료된다. 맛에 있어서 2단계발효 감식초 C가 가장 높은 기호성을 보인 것은 총산이 7.1%로서 시판 감식초에 비해 산뜻한 신맛을 나타냈기 때문인 것으로 생각된다.

Table 6. Scores in the sensory evaluation of persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study compared with two commercial ones.

Samples	Sensory evaluation		
	Color	Aroma	Taste
A	4.0**	2.9 ^{ab}	2.8 ^b
B	1.7 ^b	2.6 ^b	2.0 ^c
C	3.9 ^a	3.4 ^a	4.1 ^a

*Denotes the significant difference by Duncan's multiple range test at 5% level

- A : Commercial persimmon vinegar I
- B : Commercial persimmon vinegar II
- C : Persimmon vinegar prepared with two-step fermentation in this study

요 약

본 연구에서는 감식초의 품질을 개선하기 위하여 알콜발효와 초산발효의 2단계발효로써 감식초를 제조한 후 그 품질을 시판 감식초와 비교하였다.

감알콜 발효액을 이용한 초산발효시 종초는 배양 3~4일 사이에 균체 농도가 가장 높았으며 초기 산도는 1%로 조절할 때 발효 효율이 우수하였고 초산균의 영양원으로서 glucose를 0.0~6.0%

첨가하거나 yeast extract를 0.0~0.6% 첨가했을 때 무처리보다 산 생성능이 떨어지는 결과를 보여 감알콜 발효액에는 초산균 생육에 필요한 영양원이 충분한 것을 알 수 있었다.

감알콜발효액에 초산균을 접종후 심부발효법에 의한 초산발효를 수행한 결과 발효 10~12일만에 총산 7% 내외의 식초를 얻을 수 있었으며 시판 감식초와의 비교분석시 총산에 있어서는 2배 이상의 차이를 보였고 탄닌의 함량은 발효 기간이 짧은 2단계발효 감식초가 낮은 값을 나타내었다.

초산균의 심부배양중 검출된 유기산으로는 citric acid, pyruvic acid, succinic acid, lactic acid, formic acid 및 acetic acid였는데 발효 완료후 잔존하는 유기산은 succinic acid, acetic acid 및 미량의 lactic acid였다. 향기 및 맛의 기호성 평가에 있어서 본 연구에서 제조한 2단계발효 감식초가 시판 감식초 보다 훨씬 우수한 결과를 나타내었다.

참 고 문 헌

1. 양희천, 최종성(1979) 클로버꽃 식초에서 분리한 초산균의 생리학적 연구. 한국농화학회지, 22(3), 150-159
2. 정기태, 이송준, 류정, 라종성, 박건호, 최봉주(1992) 매실을 이용한 식초 제조 방법 연구. 농시논문집, 34(2), 65-69
3. 오영준(1992) 배를 이용한 식초의 발효조건에 관한 연구. 한국영양식량학회지, 21(4), 377-380
4. 황의선, 박홍주, 전해경, 장창문(1990) 사과와 나과를 이용한 농가간이식초제조. 농시논문집, 32(2), 40-47
5. 中嶋 實, 中川秀幸, 本江 薫, 山下市二, 青木章平(1987) 三社柿から分離した酢酸菌による柿酢醗酵過程の成分變化. 日本食品工業協會紙, 34(12), 818-825
6. 김미경, 김미정, 김소연, 정대성, 정용진, 김순동(1994) 북발효 감식초의 품질. 동아시아식생활학회지, 4(2), 39-44
7. 원충연(1994) 감식초 제조와 품질에 관한 연구. 영남대학교 대학원 석사학위논문
8. 山崎 幸, 杉中克照, 土佐典照, 堀江修二(1989) 靜置發酵及び密閉系連續燻過リアクターによる柿蠅の製造. J. Brew. Soc. Japan, 84(7), 481-485
9. 차원섭, 박준희, 김진구: 감(柿) 식초 생산에 관한 연구. 상주농잠전문대학논문집, 20, 29-32
10. 김해중, 박세호, 박창희(1985) 보리식초 제조에 관한 연구. 한국식품과학회지, 17(5), 350-354
11. 남성희, 유태종(1980) 인삼성분이 초산발효에 미치는 영향. 고려인삼학회지, 4(2), 121-126