

## 배를 이용한 식초의 발효조건에 관한 연구

오 영 준

동신대학교 식품영양학과

### A Study on Cultural Conditions for Acetic Acid Production Employing Pear Juice

Young-Jun Oh

Dept. of Food Science and Nutrition, Dongshin University, Naju 520-714, Korea

#### Abstract

To produce economically important acid with pear juice, an acetic acid bacterium was selected from many isolated acetic acid bacteria. The alcoholic fermentation was conducted by inoculating pear juice with *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4124, and then the pear vinegar was prepared by batch cultivation in flasks with the isolated *Acetobacter* sp. The optimum conditions for high yield of acetic acid were studied experimentally in the batch shake flask. For seed purposes the *Acetobacter* sp. was cultivated for 2-days and transferred to the acid production medium. Optimum alcohol concentration, initial acidity and temperature for the acid production were 8.0%, 2.0% and 28° C, respectively. Under the same conditions, the addition of yeast extract (1%) was observed to produce relatively high yield of acetic acid.

**Key words** : pear vinegar production

#### 서 론

식초는 동서양을 막론하고 오랜 옛날부터 이용되어 온 발효식품으로 우리 식생활과 밀접한 관계를 가져왔다. 식초는 그 제조방법에 따라 양조초, 합성초 및 이들을 혼합한 혼성초로 나눌 수 있으며, 양조초는 다시 사용하는 원료에 따라 쌀초, 맥아초, 주박초, 주정초, 과일초로 나눌 수 있다<sup>1,2</sup>. 우리나라에서는 오래전부터 약 탁주를 이용한 양조식초가 상류층 가정에서 자가 제조되어 이용되다가 1950년대 후반에 비로소 양조식초가 공업적으로 생산되기 시작하였다.

최근 나주지역에서는 배의 재배가 적극 권장되어 생산량이 해마다 늘어나고 있는 실정이다. 1984년 배 생산량이 4,540 M/T 이던 것이 1897년 10,978 M/T, 1989년에는 22,383 M/T 에 이르고 있다<sup>3</sup>. 이렇게 생

산된 배는 대부분 가정용으로 소비되고 일부는 가공용으로 이용하고 있으나 생산량이 급격한 증대에 따라 더 많은 양의 과실이 가공용으로 쓰여질 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 배를 이용하여 좋은 향미를 갖는 식초의 경제적 생산을 위한 기초 연구로서 초산균의 분리 및 배식초 제조를 위한 기본 발효 조건을 검토한 결과를 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

본실험에 사용된 배는 나주지역에서 생산된 1991년 산 배(품종 : 신고)를 원료로하여 흐르는 수돗물에 충

분히 세척한 후 Waring blender로써 마쇄한 것을 식초 제조를 위한 배즙으로 사용하였다.

균주

알콜발효에 사용된 효모는 한국종균협회에서 분양 받은 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC4124, 초산발효는 본 실험실에서 분리한 *Acetobacter sp.*를 공시균주로 사용하였다.

주모 및 증초의 제조

배즙을 상법으로 멸균한 다음 공시균주를 접종하여 30°C에서 알콜발효균주는 24시간 정치배양, 초산발효균주는 48시간 진탕배양하여 알콜발효와 초산발효를 위한 주모와 증초로 사용하였다.

알콜발효 및 초산발효

유해균의 번식을 억제하고 갈변을 방지하기 위하여 K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>을 배즙에 대하여 200ppm이 되도록 가하고, 당 농도를 24% 으로 보강한후 원료에대하여 3%의 주모를 첨가하여 25°C에서 14일간 발효시켜 알콜을 제조하였다. 제조된 알콜을 압착여과 한 여액을 60°C에서 1시간 살균하여 진열살균한 250ml 진탕배양플라스크에 100ml분주한 후 원료에 대하여 2%증초를 접종하여 초산발효실험을 수행하였다.

총산 정량

초산발효액을 원심분리한 상정액 10ml을 취하여 혼합지시약 (BTB, NR) 2~3방울을 넣어 0.1N NaOH로 적정하여 acetic acid로 환산하여 %로 표시하였다.

균 성장도의 측정

균 성장도를 측정하기 위하여 균체 현탁액의 660nm에서의 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

초산균의 분리

나주 지역 배 과수원 토양 및 부패한 배를 각각 5g씩 무균 증류수 100ml에 현탁시켰다. Table 1의 분리용 배지<sup>®</sup>을 사용하여 상기 현탁시료를 살균한 백금이로 한 백금이 취하여 30°C에서 2일간 평판배양을 하여

clear zone이 성립된 독립 colony를 ethanol을 이용하여 산을 생산할 수 있는 능력의 균이라 보고 액체배지에 이식하여 2일간 배양을 한 후 이와 같은 조작을 수회 반복하여 순수분리하였다. 순수분리한 15균주중 액체배지에서 30°C에서 7일간 배양시 가장 초산발효 능력이 높은 균주를 *Acetobacter sp.* YJ-7로 명명하고 이후의 실험에 공시균주로 사용하였다.

증초 배양중 균의 성장과 산도 변화

초산을 경제적으로 대량 생산하기 위해서는 먼저 고농도의 균체배양이 필요하므로 공시초산균을 알콜농도를 6% 조정 한 배출여액에 5일간 배양하였다. 초산 생산 속도는 접종후 1~3일 경과하게 되었을 때 최대치에 접근하였으나 균체농도는 2일간 배양시 최대 흡광도를 나타내었다. 따라서 증초의 사용적기는 균성장도가 최대인 시기라 생각되어 접종후 2일 배양한 배양액을 증초로 사용하는 것이 적합하다고 판단되었다 (Fig. 1).

Table 1. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria

Solid medium (%)		Liquid medium (%)	
Glucose	3.0	Yeast extract	0.5
Yeast extract	0.5	Glucose	0.5
Ethanol	3.0	Glycerin	1.0
CaCO <sub>3</sub>	1.0	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.02
Agar	2.0	Ethanol	5.0
		Acetic acid	1.0
		pH	3.5

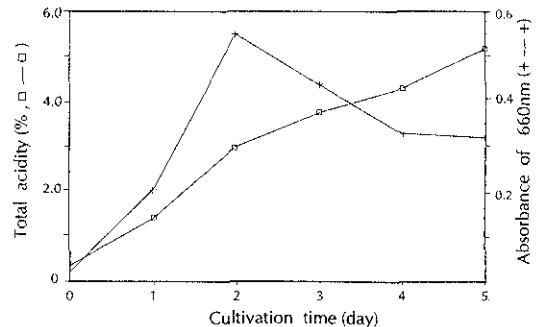


Fig. 1. Time course of batch cultivation of *Acetobacter sp.* YJ-7.  
 □ - □ ; Total acidity  
 + - + ; Absorbance at 660nm  
 Total acidity(%), Ethanol(v/v%)

초산 생성에 미치는 알콜농도의 영향

Fig. 2는 알콜농도가 초산발효시 산생성량에 미치는 영향을 조사한 결과이다. 알콜함량 4%에서는 4일만에 거의 발효가 끝났으며, 6%에서는 7일후 산생성량은 6.3%로 수율 105%였다. 알콜함량 10%에서는 발효의 진행이 매우 느려 7일후의 총 산 함량은 6.8%였고 수율도 68%로 좋지 않았다. 알콜함량 8%에서는 7일간 발효시 총 산 함량은 8.9%로 수율은 111%로 제일 좋은 결과였으므로 최적 알콜농도는 8%라 생각 되었다. 우수한 산생성 균주는 고농도의 알콜에서 고농도의 초산을 생성할 수 있어야 하는데 내산성의 균주의 분리와 개량으로 산도 20%이상의 고농도 초산에서도 내성인 균이 보고되고있다<sup>11)</sup>. 본연구에 사용된 균주는 10%이상의 알콜농도에서는 내성이 약한 균주로 추정된다.

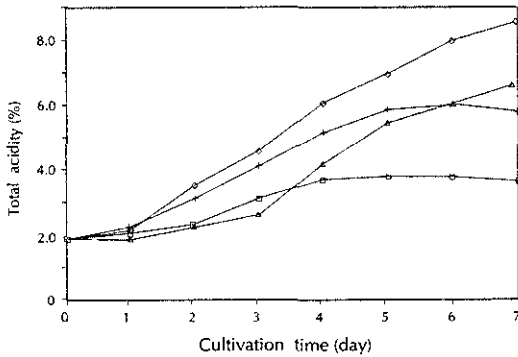


Fig. 2. Effect of alcohol concentration on the acetic acid production by *Acetobacter sp.* YJ-7.

□ - □ ; 4% alcohol    + - + ; 6% alcohol  
 ◇ - ◇ ; 8% alcohol    △ - △ ; 10% alcohol

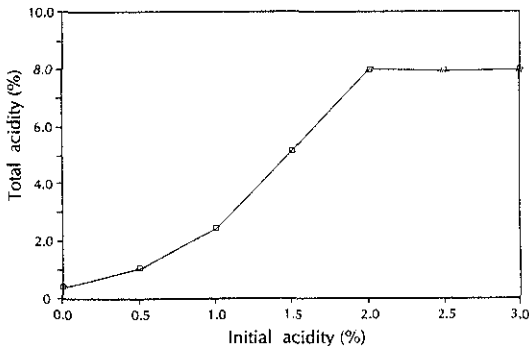


Fig. 3. Effect of initial acidity on the acetic acid production by *Acetobacter sp.* YJ-7.

Culture condition ; temperature 30°C, agitation speed 120rpm, alcohol concentration 8%, culture time 7 day.

집중시 산도가 초산생성에 미치는 영향

초산 발효를 시킬 때 잡균의 오염을 방지하기 위하여 초산을 가하여 총산 농도를 0~3% 범위에서 각 농도를 조정하여 7일간 발효한 후 총 산 생성량을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 초산 농도 0.5, 1.0 %에서는 산막 유해균의 오염으로 인하여 초산이 저해를 받고 발효가 잘 진행되지 않았으며 2%에서는 산막균은 발견되었으나 발효에 영향을 주지 않았다는 것을 알 수 있었고 그 이상에서는 차이가 없었다. 종초의 사용량이 많으면 초산 발효시 경제성이 낮아지므로 발효전의 산도를 2%로 조정하여 발효를 진행시키는 것이 적합하다고 판단되었다.

초산 생성에 미치는 온도의 영향

발효 온도를 20~35°C로 조절하여 7일간 배양 후 산 생성량과 균체량 증가에 미치는 온도의 영향을 검토한 결과는 Fig. 4 에 나타내었다. 총 산과 흡광도는 28°C까지는 계속 증가하였으나 그 이상에서는 총산과 균체량이 모두 감소하였다. 28°C에서 총산과 균체량이 모두 최고치를 나타내었으므로 발효 최적온도는 28°C로 판단되었다. 초산발효와 관련된 많은 사람들의 연구<sup>9-11)</sup>로부터 배양액의 온도가 낮으면 균주 성장이 억제되고 높으면 균주가 활발하게 성장하나 초산 생성능은 저하됨과 아울러 오염 현상이 보고되고 있다.

초산 생성에 미치는 질소원 첨가의 영향

초산균은 ethyl alcohol 자화균이므로 특별히 탄소원

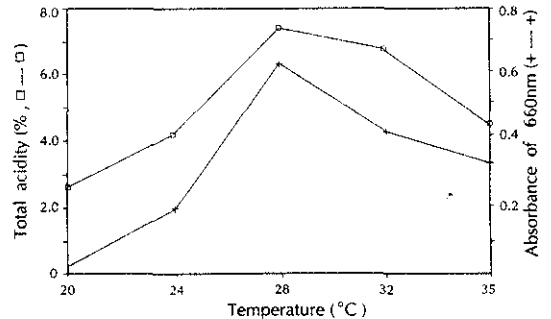


Fig. 4. Effect of temperature on the acetic acid production by *Acetobacter sp.* YJ-7.

Culture condition ; temperature 30°C, agitation speed 120rpm, alcohol concentration 8%, culture time 7 day.  
 □ - □ ; Total acidity (%)    + - + ; Absorbance at 660nm

을 첨가해 줄 필요는 없으나 배즙을 알콜발효한 여액 성분 중에서 특히 질소원과 성장인자가 부족할 것이라 생각되어 알콜 여액에 유기질소원인 yeast extract나 meat extract, 무기질소원으로 ammonium sulfate, ammonium nitrate를 각각 1%씩 첨가하여 경시적으로 산 생성능력을 살펴본 결과는 Fig. 5와 같다. 그림에 나타

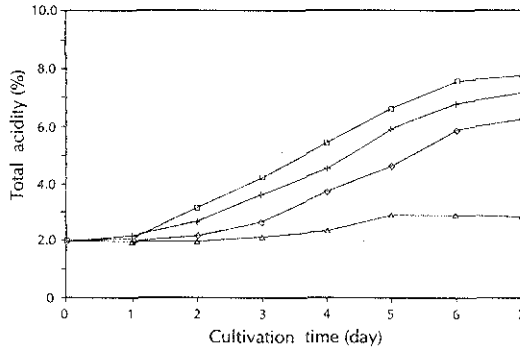


Fig. 5. Effect of nitrogen source on the acetic acid production by *Acetobacter* sp. YJ-7.

Culture condition ; temperature 30°C, agitation speed ; 120rpm  
alcohol concentration ; 8%, culture time ; 7 day  
□ - □ ; Yeast extract + - + ; Meat extract  
◇ - ◇ ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> △ - △ ; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

난 바와 같이 유기 질소원이 무기 질소원보다 산발효에 좋은 결과를 보여주고있다. 무첨가에는 거의 발효가 진행되지 않았다. 이로 미루어 볼때 배 술중에는 질소원이 극히 결핍하고 아울러 초산균이 필요로 하는 다른 성장인자도 부족한 것으로 생각되었다.

## 요 약

본 연구는 배즙을 알콜발효시킨 후 여과하여 그 여액을 이용하여 초산 발효를위한 기본조건을 검토하였다. 토양에서 분리한 15균주중 가장 초산 생성률이 높은 균주 *Acetobacter* sp. YJ-7을 본 실험의 공시균주로 사용하였다. 배즙의 당도를 24%로 조정하여 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4124를 접종하여 14일간 발효시켰을 때 알콜농도 8~10% 였으며 이를 압착여과한

여과액을 초산 발효의 기본배지로 하여 진탕배양기에 배양 실험을 수행하였다. 초산발효를 경제적으로 수행하기 위해서 초산균 균체생성속도를 검토한 결과 접종 후 48시간에서 최대 흡광도를 나타내었다. 고농도의 초산을 얻기 위한 공시균의 알콜 내성실험을 행한 결과 8%에서 가장 낮은 초산 생산능을 나타내었고 잠균 오염을 방지하기 위한 초기 산도는 2%임을 알수 있었다. 공시균주의 초산생성 최적온도는 28°C였으며 질소균으로서는 유기질소원이 무기질소원 첨가시 보다 비교적 높은 산 생산능력을 나타내는 경향이 있었다.

## 문 헌

1. 伊藤寛 : 食醋(1). 醸協, 73(3), 200(1978)
2. 柳田藤治 : 食醋酸造における優良菌の分類ならび香味について. 醸協, 73(6), 436(1978)
3. 나주통계연보 : 나주군, 신진 인쇄소, p.70(1990)
4. 京都大學農學部 : 食品工學實驗書, p.163(1970)
5. Dubois, M. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.*, 28(3), 550(1956)
6. Yamada, Y., Itakura, N., Yamashita, M. and Tahara, Y. : Deoxycarboxylic acid homologies in strains of *Gluconobacter* sp. *J. Ferment. Technol.*, 62, 595(1984)
7. 高橋慧, 相原宏, 島川武, 管家通夫 : 醸造酢の製造に關する 研究(第二報). 愛媛試報, 167(2), 15(1974)
8. Ameyama, M. and Adachi, O. : L4 Alcohol dehydrogenase from acetic acid bacteria, membrane-bound. *Methods Enzymol.*, 89, 450(1992)
9. Muraoka, H., Watabe, Y. and Ogasawara, N. : Effect of oxygen deficiency on acid production and morphology of bacterial cells in submerged acetic acid fermentation by *Acetobacter aceti*. *J. Fermt. Technol.*, 60(3), 171(198)
10. 正井博之, 川村吉也, 西村幹夫, 家義則 : 醋酸の製造法に關する 研究. *J. Brew. Soc. Japan*, 73(10), 793(1978)
11. Hekmat, D. and Vortmeyer, D. : Measurement, control, and modeling of submerged acetic acid fermentation. *J. Fermt. Bioeng.*, 73(1), 26(1992)
12. 円谷悦造, 正井博之 : 福山米酢の醸造工程中の香味成分および微生物叢の變化. 醸酵工學, 63(3), 211(1985)
13. Hromatka, O. and Kastner, G. : Untersuchungen über die essiggärung. *Enzymologia*, 15(6), 337(1953)

(1992년 6월 17일 접수)