

감식초 제조를 위한 감펄프의 알콜발효시 펙틴분해효소 처리의 효과

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

Effect of Pectin Degradation Enzyme during Alcohol Fermentation of Persimmon Pulp for Persimmon Vinegar Preparation

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. Crushed persimmon (persimmon pulp) was used at alcohol fermentation using *Saccharomyces bayanus* for persimmon alcohol medium preparation.

Glucose(8.39%) and fructose(7.96%) were the dominant free sugar in persimmon pulp before the alcohol fermentation. They decreased abruptly during alcohol fermentation and glucose was consumed more rapidly than fructose. Final alcohol concentration was finally reached to 8%(v/v) in 5 days fermentation of persimmon pulp.

Pectinase pre-treatment of persimmon pulp resulted in higher contents of galacturonic acid, galactose, methyl alcohol, and isoamyl alcohol in main mash for alcohol fermentation than those in main mash prepared without pectinase pre-treatment. After alcohol fermentation, tannin concentration was 350ppm and astringency was not perceived.

Key words : Persimmon, Pectinase, Alcohol fermentation, Persimmon vinegar

서 론

감(*Diospyros kaki*)은 온대 아시아 지방이 원산지로서 예로부터 우리 나라에서 재배되어 온 과실로서 뚝은감은 우리 나라의 중북부 산간 지역을 제외하고 전국 어디서나 재배가 가능하다. 감은

국내에서 연간 약12만톤 이상이 생산되고 있지만[1] 연시나 꽃감 외에는 별로 이용되고 있지 못하다. 그러나 최근 들어감을 이용한 발효 식품인 감식초의 인식이 좋아짐에 따라 감을 원료로 한 양조식초가 전국 20여개의 소규모 공장에서 생산되고 있다.

감과실에 있어서 식초 제조 연구는 中川 등 [2], 中嶋 등[3], 김 등[4], 원[5], 山崎 등[6], 차 등[7]에 의해 이루어졌는데 감즙의 알콜발효 및 초산발효 과정 중의 성분 변화에 대하여 연구한 中川 등[2]에 의하면 알콜발효 과정 중 fructose 보다 glucose가 우선적으로 소비되며 발효 초기에 malic acid 및 galacturonic acid가 비교적 많이 함유되어 있지만 발효가 진행되면서 malic acid가 급격히 감소된다고 하였다.

현재 국내에서 감식초 제조 공장의 가장 큰 문제점은 대부분 수율이 저조하며 발효 기간이 6~8개월 걸리는데 이때 알콜발효 과정만 3~4개월 소요되므로 장기간의 발효에 의해 품질 관리가 어렵고 유해 미생물의 오염에 많이 노출되어 있는 상태이다. 그리고 지금까지 국내의 감식초 제조에 관한 문헌들은 효모와 초산균의 생육 조건에 큰 차이가 있음에도 불구하고 알콜발효와 초산발효를 병행하여 발효를 시킨 것이 대부분이고 저온저장이나 CA저장중에 발생된 비상품과를 이용한 감식초에 대하여 연구한 원[5]의 실험에서는 알콜발효와 초산발효를 구분하여 감식초를 제조하였지만 알콜발효중 성분변화에 대한 연구는 미흡하였다. 따라서 본 실험에서는 감식초 제조 과정을 알콜발효 및 초산발효로 구분시켜 발효를 수행하면서 알콜발효시 펙틴분해효소 처리의 효과 및 초산발효의 최적 발효 조건에 대하여 연구하였는바, 그 결과중 일부를 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료

본 실험에 사용된 감은 1993년 11월경 경상북도 청도군에서 생산된 청도반시로서 완숙된 감에 알콜을 이용하여 30℃에서 7일간 탈삼한 다음 -24℃로 동결해 두었다가 감식초 제조를 위한 감펄프의 알콜발효용 재료로 사용하였다.

펙틴분해효소 처리

탈삼시켜 연시가 된 감을 으깨어 꼭지와 씨, 껍질을 제거한 감 과육(이하 감펄프라 칭함)에 펙틴분해효소(Novo Nordisk Ferment Ltd pectinex 3XL)를 처리하여 농도 또는 시간에 따른 효소의 적정 작용량과 시간을 조사하였다.

공시균주 및 주모의 배양

알콜발효에 사용된 효모는 *Saccharomyces bayanus*(Gifs-brocades Ltd)이고 효모의 배양은 YM 합성 배지에 *S. bayanus* 건조효모를 0.03% 접종하여 25℃에서 20~30시간 진탕 배양시켜 알콜발효를 위한 주모로 사용하였다.

알콜발효

탈삼시켜 연시가 된 감을 으깨어 꼭지와 씨, 껍질을 제거한 감 과육(이하 감펄프라 칭함)에 펙틴분해효소(Novo Nordisk Ferment Ltd pectinex 3XL) 300ppm을 2시간 이상 처리하여 세포 조직으로부터 당질의 유리를 쉽게 하며 점도를 떨어뜨려 효모가 생육하기에 적당하도록 만든 감펄프에 유해균의 번식을 방지하기 위하여 NaHSO_3 를 300ppm 가하고 이 원료에 대하여 주모를 5% 접종하여 알콜발효를 수행하였다.

일반 화학성분 분석

총산은 시료액 5mℓ를 취하여 증류수 20mℓ를 가하고 pH meter를 이용하여 0.1N NaOH 용액으로 pH가 8.2될 때까지 적정한 후 acetic acid로 환산하였으며 전당은 시료액 5mℓ에 3N HCl 5mℓ를 이용, 분해시키고 중화한 다음 DNS 비색법 [8]에 따라 정량분석 하였다. 수용성 탄닌은 Folin-Denis 비색법 [9]에 따라 정량 분석하였으며 알콜 농도는 시료액 100mℓ를 상압 증류장치에서 증류시킨 다음 증류액의 온도를 15℃로 조절하고 주정계를 이용하여 측정하였다.

유리당 정량

시료액을 원심분리(15000g×15min) 시킨 후 적당히 희석하고 prefilter로 여과한 다음 0.2 μ m membrane filter를 통과시킨 액를 아래 Table 1. 와 같은 조건으로 분석하였다.

Table 1. The operating condition of HPLC for the analysis of free sugar.

Items	Condition
Instrument	Spectra-physics
Column	Carbohydrate(300mm×6.5mm)
Mobil phase	Water
Injection volume	10 μ l
Flow rate	0.5ml/min
Column temp	90 $^{\circ}$ C
Oetector	RI

알콜류 정량

상압증류한 시료액을 아래 Table 2와 같은 조건으로 알콜류를 분석하였다.

Table 2. The operating condition of GC for the analysis of alcohol components

Items	Conditions
Instrument	Shimazu GC-14B
Column	HiCap-CBP (25m×0.25mm)
Carrier gas	Helium(30ml/min)
Injection temp.	150 $^{\circ}$ C
Injection volume	1 μ l
Oven temp.	40 $^{\circ}$ C(5min) to 100 $^{\circ}$ C at 30 $^{\circ}$ C/min
Detector	FID
Detector temp	250 $^{\circ}$ C

결과 및 고찰

펙틴분해효소 처리

1) 펙틴분해효소 처리농도 및 시간에 따른 감펄프의 점도 저하 효과

펙틴분해효소를 감펄프에 대하여 무처리에서 500ppm까지 45 $^{\circ}$ C에서 3시간 처리한 후 점도 저하 효과를 조사하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 본 실험에 사용한 효소는 45 $^{\circ}$ C에서 3시간 처리 시 300ppm이상이면 충분히 작용하는 것으로 나타났으며 효소 처리 시간별 점도를 조사한 결과는 아래 Fig. 3에서 알 수 있듯이 45 $^{\circ}$ C에서 300ppm 처리 시 80분 이상이면 충분히 작용한 것으로 생각 된다.

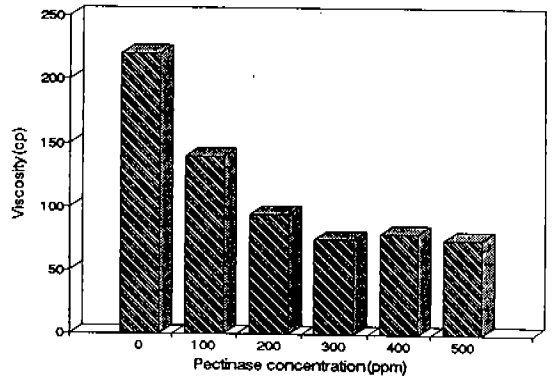


Fig. 1. Effect of pectin degradation on concentration of pectinase in persimmon pulp

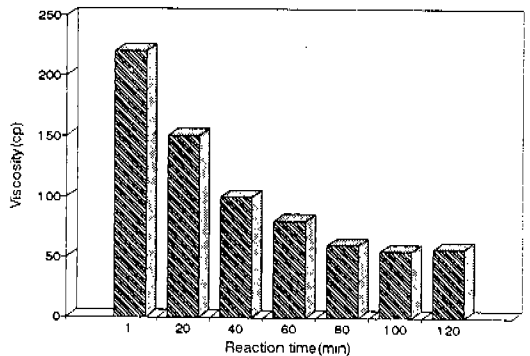


Fig. 2. Effect of pectin degradation on treatments time of pectinase in persimmon pulp

알콜발효

1) 온도에 따른 알콜발효 특성:

감펄프에 주모를 5% 접종하고 발효 온도를 15°C에서 30°C까지 5°C 간격으로 조절된 발효실에서 알콜발효를 수행한 결과는 Fig. 2와 같다.

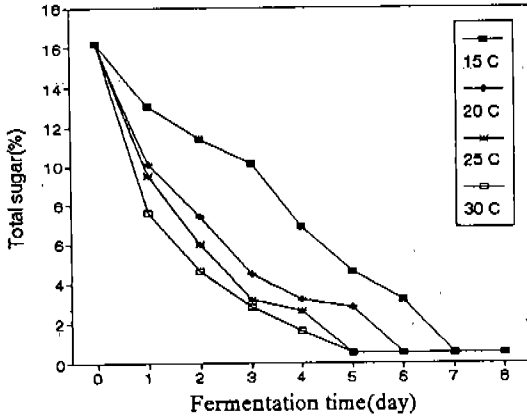


Fig. 3. Effect of temperature on the changes in total sugar contents during the alcohol fermentation of the persimmon pulp.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 15°C에서는 주모 접종 7일만에 알콜발효가 완료되었으나 20°C 이상의 온도에서는 발효 속도에 있어서 큰 차이를 보이지 않았다. 과실의 즙액을 이용한 알콜 발효 시 품온을 15~20°C로 조절하는 것이 필요하며 그 이상의 온도에서는 발효액의 조화된 방향(bouquet)과 향기(aria)가 나빠진다[10]고 알려져 있다. 따라서 감식초 제조를 위한 알콜발효의 온도는 20°C정도면 적절하다고 생각된다

펙틴분해효소 처리에 따른 알콜발효 특성

1) 알콜발효중 성분 변화:

펙틴 분해 효소 처리에 대한 감펄프의 알콜발효 중 성분 변화를 Table 3에 나타내었다.

원료감의 총산이 0.1% 이하였는데 주모 접종 시 감펄프의 총산이 0.24%로서 높았던 것은 원료감의 탈삼시 감겉질의 표면에 붙어 있던 야생 초산균에 의한 초산발효에 기인한 것으로 판단되며 알콜발효 과정 중에 약간 증가하였으나 처리 간에는 차이가 없었다.

Table 3. Analytical data during the alcohol fermentation of the persimmon pulp with or without pectinase pre-treatment by *Saccharomyces bayanus*.

Contents	Pectinase treatment ¹⁾	Fermentation time(day)					
		0	1	2	3	4	5
Total acidity (%)	X	0.24	0.26	0.30	0.32	0.33	0.32
	O	0.24	0.25	0.29	0.31	0.33	0.34
Soluble tannin (ppm)	X	315	325	342	345	352	342
	O	315	319	339	341	336	350
Total sugar (%)	X	17.2	6.4	0.9	0.5	0.5	0.5
	O	17.2	7.4	0.8	0.7	0.5	0.5
Galacturonic acid (ppm)	X	583	732	601	823	805	817
	O	583	884	986	1292	1157	1248
Glycerol (ppm)	X	36	506	723	825	824	834
	O	36	318	522	568	626	632
Alcohol (v/v%)	X	0	2.6	5.2	6.2	7.2	8.0
	O	0	2.8	5.4	6.2	7.4	8.2

¹⁾ The persimmon pulp was used for the alcohol fermentation after with(O) or without(X) the treatment of pectinase at a concentration of 200ppm at 45°C for 80min.

과즙중의 탄닌은 polyphenol oxidase의 기질이 되어 갈변 현상을 일으키며 효모의 알콜발효를 저해하고 일부 금속과 쉽게 결합하여 유색의 침전물을 형성한다[11]고 알려져 있는데 탈삼이 완료된 감펄프의 수용성 탄닌 함량은 315ppm이었으며 알콜발효중 탄닌에 의한 저해 작용은 관찰되지 않았다. 알콜발효 완료후 감알콜 발효액의 수용성 탄닌 함량은 350ppm으로 발효초기 보다 약간 증가하였으나 떫은맛은 느낄 수 없었다. 당(糖)은 두 처리간 공히 발효 3일 후에는 거의 소모되었지만 알콜함량은 당이 소모된 뒤에도 계속 증가하여 주모 접종 5일 후에 발효가 완료되었다.

Galacturonic acid는 pectin의 87~95%를 차지

하는 물질로서 pectin의 가수분해시 생성되며 [12] 감펄프에 583mg/100ml 이었던 것이 발효가 진행되면서 증가되었으며 펙틴분해효소 처리구가 무처리에 비하여 더 많은 것으로 보아 감펄프의 펙틴 물질에 효소가 작용하여 펙틴질을 분해하였기 때문인 것으로 생각된다. Glycerol은 당의 알콜발효시 생성되며 비중이 1.26인 polyhydric alcohol로서[13]펙틴분해효소를 처리하지 않은 것이 좀더 많이 생성되는 특징을 보였다.

2) 유리당 함량의 변화

감펄프의 알콜발효중 유리당 함량의 분석 결과를 Table 4에 나타내었다.

Table 4. Changes in free sugar contents during the alcohol fermentation of the persimmon pulp by *Saccharomyces bayanus*. Unit : mg/100ml

Contents	Pectinase treatment ¹⁾	Fermentation time(day)					
		0	1	2	3	4	5
Sucrose	X	525	53	trace	trace	trace	trace
	O	525	53	trace	trace	trace	trace
Glucose	X	8394	2632	468	trace	trace	trace
	O	8394	2551	106	trace	trace	trace
Galactose	X	85	87	91	79	95	88
	O	85	105	104	157	146	152
Fructose	X	7963	4058	1474	103	trace	trace
	O	7963	4135	855	171	trace	trace

¹⁾ Pectinase treatment was carried out as described in Table 3.

감펄프에 있어서 주된 당류는 glucose와 fructose이었으며 미량의 sucrose와 galactose가 함유되어 있었다. 주모 접종 후 발효가 진행되면서 당이 급격히 소모되었는데 glucose가 fructose보다 빨리 소모되는 특징을 보였으며 이는 中川등 [2], 우등[13]의 실험에서 glucose가 fructose보다 우선적으로 소비되었다는 보고와 일치되는 경향이었다.

Galactose는 원료에 있어서 85mg/100ml이었으나 발효가 진행되면서 펙틴분해효소를 처리한 구

에서 다소 증가되었고 무처리구에서는 거의 비슷한 것으로 보아 galactose는 *Saccharomyces bayanus*에 의해서 자화되지 않으며 펙틴물질의 분해에 의해서 생성된다고 사료된다.

3) 알콜류 함량의 변화

감펄프의 알콜발효중 acetaldehyde 및 알콜류 함량의 변화는 Table 5와 같다.

Table 5. Changes in the contents of acetaldehyde and alcohols during the alcohol fermentation of the persimmon pulp with or without pectinase pre-treatment by *Saccharomyces bayanus*.

Contents	Pectinase treatment ¹⁾	Fermentation time(day)				
		1	2	3	4	5
Acetaldehyde	X	73	84	73	53	43
(ppm)	O	63	80	70	53	60
Methyl alcohol	X	227	330	422	551	560
(ppm)	O	442	476	512	582	644
Ethyl alcohol	X	2.8	5.9	7.1	7.4	7.7
(v/v%)	O	2.9	6.3	7.2	7.5	7.9
Isoamyl alcohol	X	41	91	136	120	105
(ppm)	O	42	111	149	135	124

¹⁾ Pectinase treatment was carried out as described in Table 3.

Acetaldehyde의 경우 처리간에 큰 차이를 나타내지 않았으나 methyl alcohol의 경우에는 효소 처리구가 훨씬 많은 경향을 보였는데 이것은 펙틴분해효소가 펙틴물질의 측쇄에 작용, methoxy기(CH₃O-)를 유리시키기 때문이라고 사료된다. [12] Methyl alcohol은 그 유독성 때문에 식품에서 규제를 하고 있는데 과일주의 경우 1,000ppm이하로 규정하고 있으며 본 실험에서의 methyl alcohol의 함량은 최대 600ppm 정도였다. 발효가 진행되면서 methyl alcohol은 급격히 증가하여 발효가 완료된 후 펙틴분해효소 처리구에서 644ppm을 나타내어 무처리 보다 조금 높은 경향을 보였다.

고급알콜류는 주로 알콜발효시 효모에 의한 아미노산류의 탈아미노 반응 및 탈카르복시 반응에 의하여 생성된 알데하이드의 환원으로 생성되는데 감펄프의 알콜발효시 생성된 고급알콜은 isoamyl alcohol로서 펙틴분해효소 처리구에서 많은 생성을 보였으며 그밖에 n-propyl alcohol이 미량 검출되었고 1-butyl alcohol 및 2-butyl alcohol은 검출되지 않았다.

요 약

감식초의 품질을 개선하기 위하여 감식초 제조 과정을 알콜발효와 초산발효로 구분하여 실시하였으며 그 제조 과정중, 원료 처리 및 알콜발효 과정에 있어서 발효액의 특성에 대하여 조사하였다. 원료는 완숙된 감을 탈삼시켜 연시로 만든 다음 실험 재료로 사용하였고 45℃에서 300ppm의 펙틴분해효소를 80분 이상 처리했을 때 감펄프의 점도 저하 효과가 양호하였다.

감알콜 발효액 제조를 위해 사용한 효모는 *Saccharomyces bayanus*였으며 펙틴분해효소 처리 후 알콜발효를 시킬 경우, 발효속도 및 발효 효율에 있어서는 효소를 처리하지 않은 것과 큰 차이를 보이지 않았지만 당류에 있어서는 무처리보다 galacturonic acid 및 galactose의 함량이 많았고 알콜류는 methyl alcohol 및 isoamyl alcohol의 함량이 높은 특징을 보였다. 알콜발효 기간은 5일 정도 소요되었으며 발효완료후 알콜함량은 7~8% 였고 탄닌함량은 300ppm내외로 짙은맛은 느낄 수 없었으며 잔당은 0.5% 였다.

참 고 문 헌

1. 농림수산부(1994) 농림수산부 통계연보, 116
2. 中川秀幸, 中嶋 實, 山下市二, 青木章平(1986) 柿果汁のアルユール醱酵過程における成分變化. 日本食品工業協會紙, 33(11), 786-790
3. 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 酢醱酵過程の成分變化. 日本食品工業協會紙, 34(12), 818-825
4. 김미경, 김미정, 김소연, 정대성, 정용진, 김순동 (1994) 복발효 감식초의 품질. 동아시아 식생활학회지, 4(2), 39-44
5. 원충연 (1994) 감식초 제조와 품질에 관한 연구. 영남 대학교 대학원 석사학위논문

6. 山崎 幸, 杉中克照, 土佐典照, 堀江修二
(1989) 静置發酵及び密閉系連續濾過リアクターによる 柿醋の製造. J. Brew. Soc. Japan, 84(7) 481-485
7. 차원섭, 박준희, 김진구: 감(柿) 식초 생산에 관한 연구. 상주농잠전문대학논문집, 20, 29-32
8. Summer, J. B(1925) Dinitrosalicylic method for glucose. J. Biochem, 60, 393-398
9. Maynard J. Pro : Report on spectrophotometric determination of tannin in wine and whiskies. Association of Official Agricultural Chemists, 35(2), 255-257
10. 정동효 (1990) 발효와 미생물공학, p.165, 선진문화사
11. 채수규, 유태종(1983) 미생물 tannase를 이용한 도토리주의 실험적 제조. 한국식품과학회지, 15(4), 326-332
12. 김동연, 권용주, 양희천, 윤형식 (1991) 식품화학, p.77-85, 영지문화사
13. 우강용, 이수학 (1994) 꽃감주 개발에 관한 연구. 한국식품과학회지, 26(3) 204-212