

## 감식초 발효용 초산균의 분리 및 특성

박미화<sup>1</sup> · 이정옥<sup>1</sup> · 이주영<sup>1</sup> · 유선주<sup>1</sup> · 고유진<sup>1</sup> · 김영훈<sup>2</sup> · 류충호<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부 · 농업생명과학연구원

<sup>2</sup>경상남도 보건환경연구원

## Isolation and Characteristics of Acetic Acid Bacteria for Persimmon Vinegar Fermentation

Mi-Hwa Park<sup>1</sup>, Jeong-Ok Lee<sup>1</sup>, Ju-Young Lee<sup>1</sup>, Seon-Joo Yu<sup>1</sup>,  
Yu-Jin Ko<sup>1</sup>, Yeong-Hoon Kim<sup>2</sup> and Chung-Ho Ryu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science, Institute of Agriculture and Life Science,  
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Gyeongsangnam-do Provincial Government Public Health &  
Environmental Research Institute, Changwon 641-825, Korea

### Abstract

This study was carried out to investigate characteristics of acetic acid bacteria for persimmon vinegar fermentation. Acetic acid bacteria were isolated from statically fermented vinegar. Microscopically the cells appeared as non-motile and non-flagellated, preferentially occurring in pairs. Isolated strains were able to grow in the presence of acetic acid, ethanol, and glucose. Four of them produced 2-ketogluconic acid but did not produce 5-ketogluconic acid. The four strains isolated from statically fermented vinegar were considered to be grouped into *Acetobacter*. The strains were inoculated into persimmon juice for persimmon vinegar fermentation. They produced acetic acid in the range of 5.25~5.68%.

**Key words:** persimmon vinegar, acetic acid bacteria

### 서 론

식초는 동서양을 막론하고 옛부터 이용되어온 전통 발효 식품으로 식품에 직접 첨가되는 산미료로서의 기능뿐만 아니라 의약품, 미용재료 널리 사용되고 있다. 식초는 크게 곡류, 과일류, 주류 등을 주원료로 하여 제조한 곡물식초, 과일 식초 및 주정식초 등의 양조식초와 병초산 또는 초산을 음용수로 희석한 후 조미하여 제조하는 합성식초로 대별되며, 국내에서는 총산(w/v%)이 초산으로서 4.0~20.0% 미만으로 규정하고 있다(1).

감식초는 옛날부터 일반 농가에서 제조하여 이용되던 전통발효식품으로 숙취제거, 피로회복 및 정장작용 등의 효과가 있어 민간요법으로 애용되고 있다. 최근 급격한 경제성장 및 건강에 대한 인식전환으로 안전한 천연소재의 전통양조식초에 대한 관심이 높아지고 있다(2,3).

초산균은 그 종류에 따라 생성하는 acetic acid 함량이 다르며 총산 함량을 좌우하는 식초품질판정의 지표로 이용되므로 우수한 초산균을 육성하는 것은 매우 중요하다. 초산균은 당과 알코올을 초산으로 산화시킬 수 있는 능력에 따라

초산과 젖산을 재산화시킬 수 있는 *Acetobacter* 속과 알코올보다 당을 더 선호하며 초산을 재산화시킬 수 있는 능력이 없는 *Gluconobacter* 속 두 종류로 분류되어 왔으나 최근 Yamada와 Kondo(4)에 의해 새로운 아속인 *Gluconacetobacter* 속을 밝힌 바 있다. 지금까지 알려진 대표적인 종들은 *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*, *A. liquefaciens*, *A. xylinum*, *A. hansenii*와 *A. methanolicus* 등이 있다(5,6).

현재 대부분의 식초 공장에서는 미생물학적으로 밝혀지지 않은 균주로 발효시킨 것에 사입물을 첨가하여 계속 배양하고 있는 실정이며 특성이 알려지지 않은 종초의 사용은 초산균의 균주 분리, 배양과 보존에 문제를 야기시킨다(7).

지금까지 감을 이용한 식초 생산에 관한 연구로는 Cha 등(2)의 감에서 분리한 *Acetobacter* sp.를 이용한 감식초 제조에 관한 연구와 Jeong 등(8)의 반응표면분석 방법을 이용한 감식초제조방법의 최적조건 확립에 관한 연구가 있으며, Kim 등(3)은 감을 이용한 초산발효에서 20일만에 산도가 4.0%까지 증가되었다고 보고하였고, Kim 등(9)의 고품질의 감식초를 농가에서 자가생산하기 위한 기초적 자료를 마련할 목적으로 자연발효와 복발효한 감식초의 품질 비교 등

\*Corresponding author. E-mail: ryu@gsnu.ac.kr  
Phone: 82-55-751-5482, Fax: 82-55-753-4630

다양한 연구가 이루어지고 있으나, 전통적 정치배양법에 응용가능한 감식초용 종균에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 정치배양법으로 감식초 발효에 사용할 수 있는 탄닌 내성 초산균을 분리하여 그 균주의 특성을 규명하였고 감식초 사입액에서의 배양특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 초산발효 균주는 정치배양 중인 식초발효액에서 분리한 초산균을 30°C, 72시간 배양하여 사용하였다. 초산균 분리용 배지의 조성은 Table 1과 같다.

### 초산균주의 분리

정치배양 중인 식초발효액을 GYP 배지에 도말, 배양하여 얻은 단일 colony를 ethanol 배지에 획선 분리하여 30°C에서 5일간 평판 배양한 후 생성된 투명환(clear zone)의 크기를 확인하였다. 투명환의 크기가 큰 20 균주를 선발하여 반복적으로 순수 분리하여 살균된 감 알콜발효액에 30°C, 5일간 정치 배양하여 초산 생성력이 가장 우수한 균주를 선별하여 실험에 사용하였다.

### 현미경 관찰

분리된 초산균의 모양, 크기 및 colony의 특성은 광학현미경(Olympus, BHA)과 주사전자현미경(S-800, Hitachi, Japan)으로 검경하였다. 광학현미경에 의한 형태학적 특성은 Hucker의 변법에 준해 균체를 gram염색하여 관찰하였으며, 전자현미경은 Chae(10)의 방법에 따라 균체를 osmic acid로 고정(전고정: 1%, 후고정: 0.2%)한 후 ethanol농도별(25, 50, 75, 95, 100%)로 각 30분간 탈수하고 membrane filter(0.45 µm)로 여과하여 집균하였다. Filter 위에 포집된 균체를 crytical point dryer로 건조한 다음 gold로 coating하고 검경하였다.

### 초기 초산농도의 영향

초기 초산농도가 분리균의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위해 3% ethanol을 함유한 GYP 배지에 acetic acid 농도를 1, 2, 3, 4%로 조절하여 30°C에서 3일간 배양하면서 생육유무를 관찰하였다.

### 초기 알콜농도의 영향

초기 알콜농도가 분리균의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위해 2% acetic acid를 함유한 GYP 배지에 ethanol 농도를 2, 4, 6, 8%로 조절하여 30°C에서 3일간 배양하면서 생육유무를 관찰하였다.

### 초기 tannin 농도의 영향

초기 tannin 농도가 분리균의 초산생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 GYP 배지에 tannin 농도를 0, 50, 100, 250, 500, 1000 ppm으로 각각 조절하여 30°C에서 6일간 경시적으로 배양액을 취하여 초산함량을 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

### 분리균주의 탄소원 이용능 및 생화학적 특성조사

다양한 탄소원의 이용능은 Nanba와 Kato(11)의 방법에 의해 inositol, D-sorbitol, xylose, D(+)-maltose, D(+)-mannose, D-mannitol, dulcitol, D(+)-arabitol, fructose, sucrose, galactose 등을 첨가한 액체배지에 초산균을 접종하고 30°C에서 7일 이상 배양한 후 배양액이 황색을 띠면 양성으로 나타내었다.

분리된 균주의 생화학적 특성은 초산이 없을 시의 생육, GYC(yeast extract 1%, glucose 3%, CaCO<sub>3</sub> 1%) agar상에서의 갈색색소생성유무, ethanol, lactate 및 30% glucose 첨가시의 생육 등을 Sievers 등(12)의 방법에 따라 GYP배지에서 30°C, 7일간 배양하여 실험하였으며 2-ketogluconic acid와 5-ketogluconic acid 형성유무는 Stolz 등(13)에 따라 HPLC로 측정하였다.

### 감식초액에서의 생육

자연적으로 알콜발효된 감 발효액을 살균한 다음 분리한 초산균으로 30°C에서 72시간 정치 배양하여 종초로 사용하였다. 균주의 생육도는 감식초 원액을 사용하여 배양액을 경시적으로 취하여 spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서의 흡광도로 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

### 종균 배양 기간에 따른 분리균주의 생육도

종균 배양 기간에 따른 초산균의 생육을 알아보기 위해 감식초 사입액에 2, 3, 4, 5, 6일 배양한 감식초 표면의 균막을 새로운 감식초 사입액에 접종하여 30°C, 6일간 배양하면서 경시적인 초산함량의 변화를 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

Table 1. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria

GYP medium		Ethanol medium	
Glucose	15 g	Yeast extract	2 g
Yeast extract	2 g	Peptone	3 g
Peptone	3 g	CaCO <sub>3</sub>	20 g
Agar	15 g	Agar	15 g
Acetate	10 mL	Ethanol	20 mL
Ethanol	30 mL	Distilled water	1 L
Distilled water	1 L		

## 결과 및 고찰

### 초산균주의 분리 및 특성

정치배양 중인 식초발효액에서 분리한 20개의 초산균 중에서 초산 생성력이 우수한 4균주를 선별하여 그 특성을 현미경으로 관찰하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, 분리한 4 초산균주는 모두 단간균으로 flagella가 없으며 쌍을 이루고 있는 것이 관찰되었다.

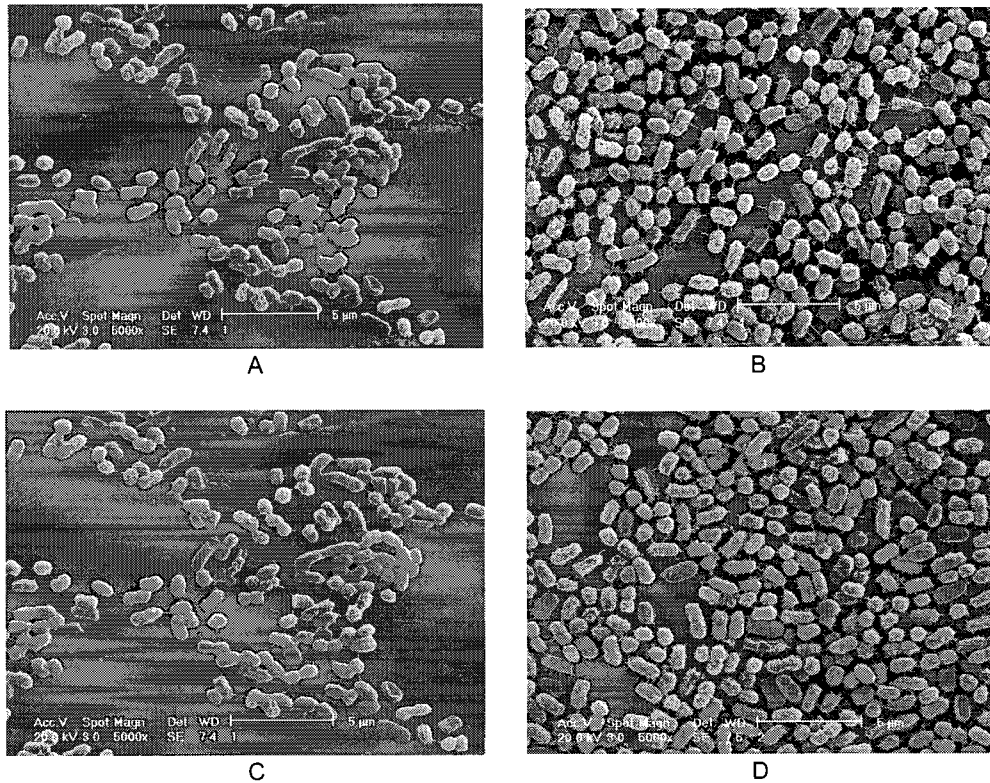


Fig. 1. Scanning electron micrograph of isolated strains. A: Strain JS 11, B: Strain JS 21, C: Strain JS 32, D: Strain JS 42.

초기 초산농도에 따른 생육

초기 초산 농도에 따른 분리균주의 생육을 조사하기 위해 정지 발효시 초기 산도를 1~4% 범위에서 농도별로 조절하여 3일간 생육유무를 관찰한 결과를 Table 2에 나타내었다. 배양 1일째 JS 32 균주는 모든 농도에서 약하게 생육한 반면에 JS 21 균주는 생육하지 못하였다. 배양 3일째 4균주 모두 3% acetic acid 를 함유한 배지에서 매우 잘 자랐으나 4% acetic acid를 함유한 배지에서는 JS 21 균주를 제외한 3균주는 잘 생육하였으나, JS 21 균주는 약한 생육을 보였다.

Chung(14)은 초산균의 특성을 연구한 결과에서 초발 산도가 높은 경우 유도기가 길어지고 산 생성량이 적어지므로 식초균 증식의 늦고 빠름에 영향을 끼치며 *Acetobacter acetosus* CAU-15는 초산을 2% 첨가하였을 때 산생성이 가장 좋았다고 보고하였다. 본 연구에서 분리한 4균주는 3% acetic acid 농도에서도 잘 생육하므로 감식초 발효시 초기

pH를 낮춤으로서 잡균의 생육을 억제하여 우수한 품질의 감식초를 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

초기 알콜농도에 따른 생육

배지 중의 초기 알콜 농도가 분리균주의 생육에 미치는 영향을 ethanol 농도 2~8%로 조절한 GYP배지에서 배양하면서 생육유무를 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 배양 1일째 JS 21를 제외한 3균주는 모든 ethanol 농도에서 약하게 생육하였으며 JS 21 균주는 2% ethanol에서만 약한 생육을 보였으나, 3일째 2, 4, 6, 8% 모든 ethanol 농도에서 4균주 모두 잘 생육하였다. 분리한 4균주는 GYP 배지에서 3일 배양하였을 때 6~8% ethanol 농도에서 잘 생육하였다.

Hong 등(15)은 알코올 농도 4% 첨가구에서는 산생성능이 우수하고 관능적인 향미가 우수하지만 6% 첨가구에서는 산생성능이 저해되어 강한 자극취와 관능적인 향미가 부적합

Table 2. Growth of isolated strains on GYP in variable acetic acid concentration

Strain	1 day				2 day				3 day			
	1A/3E <sup>1)</sup>	2A/3E	3A/3E	4A/3E	1A/3E	2A/3E	3A/3E	4A/3E	1A/3E	2A/3E	3A/3E	4A/3E
JS 11	(+) <sup>2)</sup>	(+)	(+)	-	++	++	++	(+)	++	++	++	+
JS 21	-	-	-	-	+	+	(+)	(+)	++	++	++	(+)
JS 32	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(+)	++	++	++	+
JS 42	(+)	(+)	-	-	++	++	+	(+)	++	++	++	+

<sup>1)</sup>1A/3E: GYP medium containing 1% acetic acid and 3% ethanol.

<sup>2)</sup>Symbols: ++, excellent growth; +, good growth; (+), weakly growth; -, no growth.

**Table 3. Growth of isolated strains on GYP in variable ethanol concentration**

Strain	1 day				2 day				3 day			
	2A/2E <sup>1)</sup>	2A/4E	2A/6E	2A/8E	2A/2E	2A/4E	2A/6E	2A/8E	2A/2E	2A/4E	2A/6E	2A/8E
JS 11	(+) <sup>2)</sup>	(+)	(+)	(+)	++	++	+	+	++	++	++	++
JS 21	(+)	-	-	-	+	+	(+)	(+)	++	++	+	+
JS 32	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(+)	++	++	++	+
JS 42	(+)	(+)	(+)	(+)	++	++	+	+	++	++	++	++

<sup>1)</sup>2A/2E: GYP medium containing 2% acetic acid and 2% ethanol.

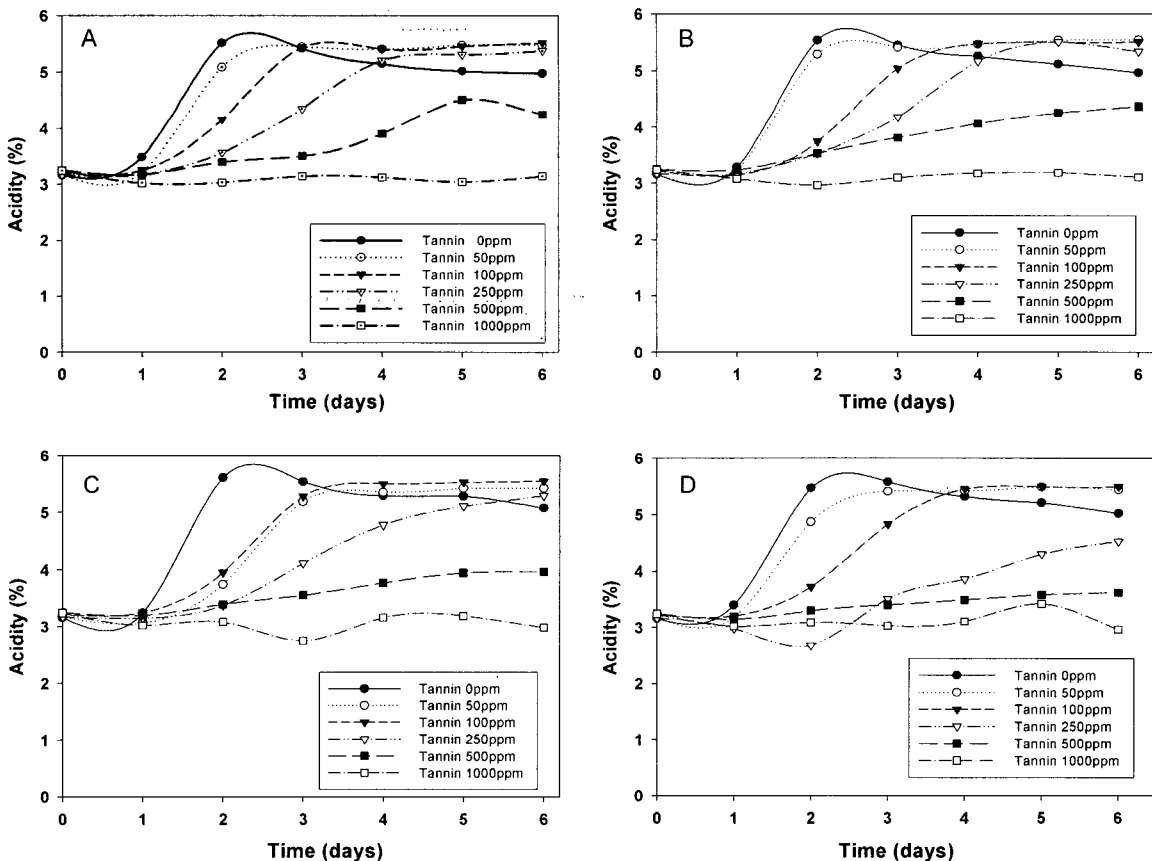
<sup>2)</sup>Symbols: ++, excellent growth; +, good growth; (+), weakly growth; -, no growth.

하다고 하였으나 Lee 등(16)은 알코올 농도 6%에서 가장 높은 산생성능을 보였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였으며 분리된 4균주는 고농도의 식초 양조에도 이용될 수 있을 것으로 생각되어진다.

초기 tannin 농도가 분리균의 초산생성에 미치는 영향 감식초를 제조할 때 원료로 이용되는 감과실의 품종 및 탈삼정도에 따라 발효기질에 함유된 탄닌성분의 함량이 좌우되며, 이들 탄닌 성분은 발효 미생물의 생육 및 발효제품의 외관에 영향을 미칠 것으로 추측된다고 Seo 등(17)이 보고하였다. 따라서 분리한 균주들의 tannin에 대한 내성정도를 알아보기 위하여 초기의 tannin 농도를 0, 50, 100, 250, 500, 1000 ppm으로 각각 조절하여 분리균의 초산생성능을

경시적으로 관찰한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Tannin 농도가 증가함에 따라 균주의 생육 유도기가 길어지는 것을 확인할 수 있었다. JS 11, JS 21, JS 42 균주는 tannin 농도 100 ppm 이상에서 유도기가 증가하였으며 JS 32 균주는 50 ppm 이상의 농도에서 증가하였으나 4균주 모두 6일 배양 후 5% 전후의 초산을 생성하였다. 500 ppm 이상의 tannin 농도에서는 분리한 4균주 모두 산생성능이 급격히 저하되어 3~4% 미만의 약한 초산 생성능을 보였다.

Jeong 등(18)은 알콜 발효한 감발효액의 초산발효시 총탄닌 함량은 발효 초기 단감과 뽕은 감에서 각각 1.20 mg/mL 및 4.10 mg/mL이었으나, 발효기간이 지남에 따라 서서히 감소하여 최종 발효 후에는 각각 1.06 mg/mL 및 3.52 mg/



**Fig. 2 Growth of isolated strains by tannin concentration.**  
 A: Strain JS 11, B: Strain JS 21, C: Strain JS 32, D: Strain JS 42.

mL이었다고 보고하여 본 연구에서 분리한 초산균주는 단감 뿐만 아니라 꺾은감을 이용한 감식초 발효에 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

**분리균주의 탄소원 이용능과 생화학적 특성**

분리균주의 탄소 이용능을 이미 보고된 몇몇 *Acetobacter* 속의 탄소원 이용능(19)과 비교하여 관찰한 결과를 Table 4에 나타내었다. JS 11 균주는 sucrose, xylose, mannose를 탄소원으로 이용하였으며, JS 21 균주는 xylose, galactose, mannose를, JS 32 균주는 galactose만을, JS 42 균주는 xylose, mannose를 탄소원으로 이용하여 4균주 모두 다른 특성을 나타냈다. 이들 분리균주의 탄소원 이용능을 이미 보고된 몇몇 *Acetobacter* 속 균주들의 탄소 이용능(19)과 비교·관찰하였을 때 JS 11 균주와 대조균주인 *A. liquefaciens*는 sucrose, xylose와 mannose를 이용 가능하였으나 대조균주 *A. liquefaciens*, *A. pasteurianus* 및 *A. Hansenii*는 sucrose와 mannose를 탄소원으로 이용하지 못하였다. JS 21 균주는 대조균주인 *A. liquefaciens*, *A. pasteurianus*와 동일하게 xylose, galactose를 이용하였지만 *A. Hansenii*의 경우 mannose를 탄소원으로 이용하지 못하였다. JS 32 균주는 *A. liquefaciens*, *A. pasteurianus*와 같이 galactose를 탄소원으로 이용하였지만 그 이외의 당은 이용하지 못하였다. JS 42 균주의 경우도 *A. liquefaciens*의 탄소원 이용능과 비슷하게 xylose, man-

nose를 탄소원으로 이용하였지만 그 이외의 당은 탄소원으로 이용하지 못하는 특성을 보였다.

분리한 4균주를 GYP 액체배지에 배양하여 생화학적 특성을 *Acetobacter*, *Gluconobacter* 속 균주(20)와 비교하여 관찰한 결과를 Table 5에 나타내었다. 분리된 4균주 모두 acetic acid 없이는 생육하지 못하였고 GYC 배지 상에 형성된 colony는 갈색색소를 생성하지 않았다. *Gluconobacter* 속 균주의 경우, glucose를 이용하여 2-ketogluconic acid와 5-ketogluconic acid 둘 다 생성하나, 분리균주들은 2-ketogluconic acid만을 생성하여 *Acetobacter* 속의 표준균주와 유사한 특성을 보였다. 또한, 분리균주들은 ethanol 첨가시 생육 가능하였지만 glucose 대신 1.5% lactate를 첨가한 경우와 30% glucose 첨가한 경우 생육하지 않는 특성을 보였다. 이러한 특성으로 미루어 보아 본 연구에서 분리한 균주는 *Acetobacter* 속 균주로 추정된다.

**감식초 사입액에서의 생육도**

분리한 초산균을 이용하여 감식초발효에 사용된 원료인 감식초 사입액의 산도는 2.92%이고 ethanol 함량은 3.14%였으며 tannin 함량은 450 ppm이었다.

Fig. 3은 감식초 사입액에 배양한 4균주의 생육을 경시적인 흡광도 변화로 나타낸 결과이다. 4균주는 배양 1일부터 점차 빠르게 증가하여 배양 4일까지는 계속 증가하였다. 4균

**Table 4. Utilization of carbon sources of isolated strains**

Carbon sources	Type strains				Isolated strains			
	<i>A. aceti</i>	<i>A. liquefaciens</i>	<i>A. pasteurianus</i>	<i>A. Hansenii</i>	JS 11	JS 21	JS 32	JS 42
Sucrose	-	(+)	-	-	+	-	-	-
Fructose	(+)	+	(+)	(+)	-	-	-	-
Xylose	(+)	(+)	(+)	-	+	(+)	-	+
Galactose	-	+	(+)	-	-	(+)	(+)	-
D(+)-Maltose	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-
D(+)-Mannose	-	(+)	-	-	(+)	(+)	-	(+)
Inositol	-	(+)	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	(+)	-	-	-	-
D(+)-Arabitol	-	(+)	-	-	-	-	-	-
D-Mannitol	+	+	-	(+)	-	-	-	-
D-Sorbitol	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-

Symbols: +, Positive; (+), Weakly positive; -, Negative.

**Table 5. Characteristics of isolated strains**

Characteristics	1	2	3	4	5	6
Growth without acetic acid	+	D	-	-	-	-
Formation of brown water-soluble pigments on GYC agar	-	D	-	-	-	-
Production formed from D-glucose:						
2-ketogluconic acid	+	D	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	-	-	-	-	-
Growth in the present of:						
Ethanol	D	+	+	+	+	+
Lactate	-	D	-	-	-	-
30 %(w/v) D-glucose	-	-	-	-	-	-

1, *Gluconobacter* (Type strain); 2, *Acetobacter* (Type strain); 3, strain JS 11; 4, strain JS 21; 5, strain JS 32; 6, strain JS 42. Symbols: +, Positive; D, Weakly positive; -, Negative.

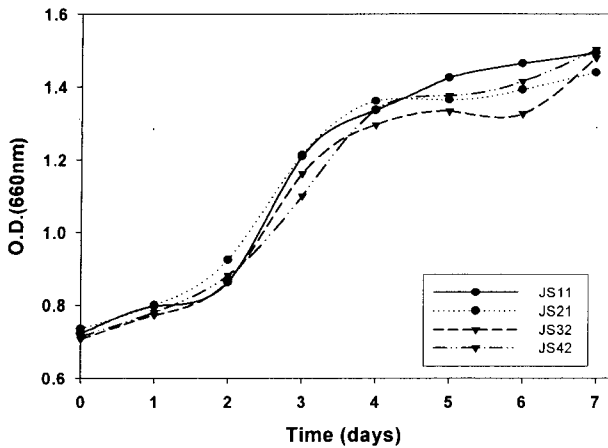


Fig. 3. Growth of isolated strains in persimmon alcoholic juice.

주 모두 배양 2일째 분명한 변곡점이 나타났으며 JS 32 균주는 배양 6일째 또 하나의 변곡점이 발견되어 Jeong 등(21)의 결과와 비슷한 양상을 보였으나 JS 11, JS 21, JS 42 균주는 4일째 변곡점이 나타났다.

미생물은 일정기간 동안 흡광도가 직선적으로 감소되는 사멸기를 거치는 것이 통상이나(22) 본 연구에서는 4균주 모두 두 개의 변곡점이 가지고 있는 것이 발견되는 특이한 현상을 나타내었다. 이는 배양 2일부터 피막을 형성하기 시작하는 것이 흡광도의 변화와 변곡점 생성의 원인으로 추측된다.

#### 종균 배양 기간에 따른 생육도

배양 2~6일된 감식초 표면의 균막들을 감식초 사입액에 접종하여 경시적인 산도 변화를 측정된 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 배양 2~5일된 종균을 사용할 경우 배양기간이 길었던 노쇠한 균을 사용할수록 접종 후 최대 산도에 도달하기까지의 기간 즉, 유도기가 증가하였다. 육안으로 관찰한 결과, 배양 2일째부터 정치배양 중인 종균의 얇은 균막이 두꺼워지기 시작하고 배양 5일부터는 종균의 균막 두께가

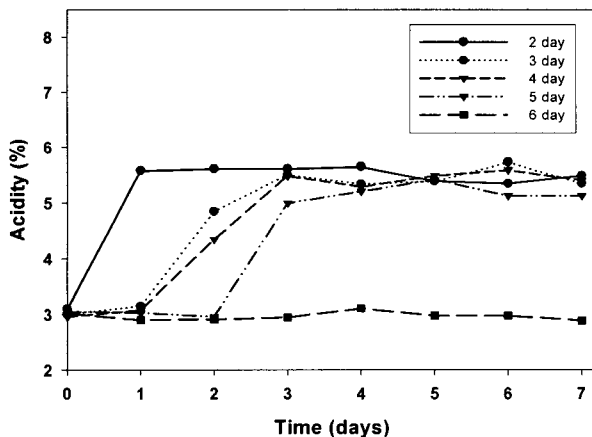


Fig. 4. Growth curve of isolated strain JS 32 by variable starter culture time.

감소하고 배양 6일된 종균의 균막은 거의 흐트러져 있는 것을 관찰할 수 있었다. 2일된 종균은 1일, 3~4일된 종균은 3일, 5일된 종균은 4일 정치발효 후에 최대 산도에 도달하였으나, 배양 6일된 종균을 사용할 경우 발효 7일 이후에도 산도 증가가 전혀 관찰되지 않았다. 감식초 발효에 사용할 종균은 2일 배양한 것을 사용하는 것이 산생성능에 있어서 가장 좋을 것으로 생각된다.

#### 요 약

정치발효 중인 식초로부터 분리한 4 초산균주는 모두 단기간으로 flagella가 없으며 쌍을 이루고 있는 것이 관찰되었다. 또한, 3% acetic acid를 함유한 배지에서 매우 잘 자랐으나 4% acetic acid를 함유한 배지에서는 JS 21 균주를 제외한 3균주만이 생육이 활발하였다. 그리고 2, 4, 6, 8% 모든 ethanol 농도에서 4균주 모두 생육이 활발하였다. 분리 균주는 tannin 농도가 증가함에 따라 균주의 생육 유도기가 길어지는 것을 알 수 있었으며 tannin 농도 500 ppm 이상 첨가한 구에서는 산 생성능이 저해됨을 관찰하였다. 분리한 초산균의 탄소원 이용능과 생화학적 성질들을 Bergey's manual에 나타난 *Acetobacter* 속과 *Gluconobacter* 속 균주의 특성과 비교해 보았을 때 본 연구에서 분리한 균주들이 *Acetobacter* 속으로 추정된다. 분리한 4균주를 이용하여 감식초 사입액에서 6일간 정치 배양하였을 때 5.25~5.68%의 초산 생성능을 보였으며 배양 2~5일된 종균을 사용할 경우 배양기간이 길었던 노쇠한 균을 사용할수록 접종 후 최대 산도에 도달하기까지의 기간 즉, 유도기가 증가하였다. 배양 2일된 종균은 1일, 배양 3, 4일된 종균은 3일, 배양 5일된 종균은 4일 정치 발효 후에 최대 산도에 도달하였으나, 배양 6일된 종균을 사용할 경우 발효 7일 이후에도 산도 증가가 전혀 관찰되지 않았다. 이러한 결과들로 미루어 보아 종균 배양기간은 2~3일이 가장 좋을 것으로 생각된다. 본 연구에서 분리한 tannin 내성 초산균을 육종하여 배양특성을 향상시킬 수 있을 것으로 기대하며 감식초의 초산농도를 5% 이상으로 향상시킬 수 있는 종균 확보가 가능할 것으로 사료된다.

#### 문 헌

1. Kwon SH, Jeong EJ, Lee GD, Jeong YJ. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverages including vinegar. *Food Industry and Nutrition* 5: 18-24.
2. Cha WS, Park JH, Kim JK. 1986. Studies on the production of persimmon vinegar. Sangju National University *Collection of Thesis* 20: 29-32.
3. Kim MC, Cho KT, Shim KH. 1980. The manufacture of vinegar from fallen persimmon. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 8: 103-111.
4. Yamada Y, Kondo K. 1984. *Gluconoacetobacter*, a new sub-genus comprising the acetate-oxidizing acetic acid bacteria

- with ubiquinone-10 in the genus *Acetobacter*. *J Gen Appl Microbiol* 30: 297-303.
5. Entani E, Ohmori S, Masai H, Suzuki KI. 1985. *Acetobacter polyoxogenes* sp. nov., a new species of an acetic acid bacterium useful for producing vinegar with high acidity. *J Gen Appl Microbiol* 31: 475-490.
  6. Cha YJ, Park KJ, Kim DK, Chun HS, Lee BK, Kim KH, Lee SY, Kim SJ. 1994. Isolation and characterization of cellulose producing *Acetobacter xylinum* KI strain. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 22: 571-576.
  7. Sokollek SJ, Hertel C, Hammes WP. 1998. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. *J Biotechnol* 60: 195-206.
  8. Jeong YJ, Lee GD, Kim KS. 1998. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. *Kor J Food Sci Technol* 30: 1203-1208.
  9. Kim MK, Kim MJ, Kim SY, Jeong DS, Jeong YJ. 1994. Quality of persimmon vinegar fermented by complex fermentation method. *J East Asian Soc Dietary Life* 4: 39-44.
  10. Chae CM. 1977. *Maceration Methods for SEM Obserbation*. 'A legal medicine lecture room'. Kyungpook National University. p 40-58.
  11. Nanba T, Kato H. 1985. Identification of acetic acid bacteria isolated from vinegar mash. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 32: 326-330.
  12. Sievers M, Sellmer S, Teuber M. 1992. *Acetobacter europaeus* sp. nov., a main component of industrial vinegar fermenters in central Europe. *Syst Appl Microbiol* 15: 386-392.
  13. Stolz P, Böcker G, Vogel RF, Hammes WP. 1993. Utilisation of maltose and glucose by lactobacilli isolated from sourdough. *FEMS Microbiology Letters* 109: 237-242.
  14. Chung DH. 1980. Studies on the vinegar fermentation. Chungang University *Collection of Thesis* 24: 181-196.
  15. Hong JH, Lee GM, Hur SH. 1996. Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmons during low temperature storage. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 123-128.
  16. Lee DS, Ryu IH, Lee GS, Shin YS, Chun SH. 1999. Optimization in the preparation of *Aloe* vinegar by *Acetobacter* sp. and inhibitory effect against lipase activity. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 105-110.
  17. Seo JH, Jeong YJ, Shin SR, Kim KS. 2000. Effects of tannins from astringent persimmons in alcohol fermentation for persimmon vinegars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 407-411.
  18. Jeong YJ, Seo JH, Park NY, Shin SR, Kim KS. 1999. Changes in the components of persimmon vinegars by two stages fermentation (I). *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 228-232.
  19. Noel RK, John GH. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore. Vol 1, p 268-278.
  20. Uhlig H, Karbaum K, Steudel A. 1986. *Acetobacter methanolicus* sp. nov. an acidophilic facultatively methylotrophic bacterium. *Int J Syst Bacteriol* 36: 317-322.
  21. Jeong YJ, Seo JH, Park NY, Shin SR, Kim KS. 1999. Changes in the components of persimmon vinegars by two stages fermentation (II). *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 233-238.
  22. Amerine MA, Ough CS. 1980. *Methods for analysis of musts and wine*. John Wiley & Sons, New York. p 177.

(2005년 7월 13일 접수; 2005년 9월 29일 채택)