

## 제주 감귤식초 발효균주 선발

김미림 · 최경호<sup>1</sup>

대구한의대학교 식품조리영양학부

<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 식품영양학과

### Sensory Characteristics of Citrus Vinegar fermented by *Gluconacetobacter hansenii* CV1

Mi-Lim Kim, Kyung-Ho Choi<sup>1</sup>

Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University

#### Abstract

Citrus juice, a concentrate manufactured by the Jeju Provincial Corporation, was converted into vinegar orderly by alcohol and acetate fermentation. The juice with a 6-fold dilution by distilled water was used as the sole nutrient source throughout the experiments. The diluted juice contained 12.96Brix of total sugar, 0.632% of total acid and 20.23  $\mu\text{g/ml}$  of hesperidin. Naringin was not detected from the juice. Citrus wine having 5.6~6.3% alcohol was produced from the diluted juice after 3 days of fermentation at 28°C. A kind of citrus-malomele-yeast CMY-28 was used for the wine fermentation. The wine was successfully fermented for 8 days at 30°C after inoculation of seed vinegar which contained active cells of acid producing bacteria CV1. The inoculum size of the seed vinegar was controlled to 10%(v/v) of the citrus wine. The wine was converted into vinegar by the fermentation process. Citrus vinegar, the final fermentation product, was colored with very thin, radish-yellow and was transparent. Its acidity ranged between 5.8~6.2% of that of acetic acid. The vinegar attained the best score by sensory test among several natural fruit vinegars. It was clear from the results that high quality citrus vinegar could be produced from concentrated citrus juice. However, the fermentation conditions should be improved to reduce the amount of reducing alcohol.

Key words : vinegar fermentation, citrus vinegar, citrus wine, *Gluconacetobacter*

#### 1. 서 론

제주도의 지역 특산물인 감귤은 비타민, 미네랄, 식이 섬유, 유기산 및 유리당과 아울러, 플라보노이드, 리모노이드, 카로티노이드 등의 기능성물질이 다량 함유되어 있는 소중한 과실로서<sup>1)</sup> 제주지역에서 만 연간 약

680만 MT이 생산되어 단일 과실로서는 국내 최대생산량을 나타내고 있다<sup>2)</sup>. 그러나 현재 이를 이용한 가공품으로 감귤농축액, 신선과실음료, 농축주스음료, 감귤잼, 만감류를 이용한 차, 감귤식초, 감귤요구르트, 혼합과실음료 등이 생산되고 있으나<sup>3,5)</sup> 아직 대부분이 생과로 이용되고 있어서 이의 소비를 촉진할 수 있는 제주도 특산품으로서의 새로운 가공품 개발이 요망되고 있다.

식초는 식초산 이외에도 식욕을 자극하고 풍미를 부여하는 유기산류, 당류, 아미노산류, 에스테르류와 같은 다양한 성분을 함유하고 있는 훌륭한 조미식품으로서<sup>6)</sup>,

Corresponding author: Kim, Mi-Lim, <sup>†</sup> Faculty of Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University, Kyongsan-si, Kyung-buk 712-740, Korea  
Tel : 053-819-1593  
Fax : 053-819-1272  
E-mail : mlk8742@dhu.ac.kr

국내에서도 곡류알콜 뿐만 아니라 사과, 감을 위시한 다양한 과실로부터 생산되고 있다<sup>7-10)</sup>. 감귤과즙은 citric acid 함량이 약 2%에 달할 뿐만 아니라 limonene을 위시한 정유성분과 hesperidin, naringin 등의 flavonoid류와 아울러 다양한 종류의 향균성 alkaloid를 함유하고 있어서 감귤과즙을 이용한 식초산 발효는 다른 과실에 비하여 어려운 것으로 알려져 있다. 따라서 감귤식초 발효를 위하여는 이에 적합한 균주개발이 필연적으로 요구되고 있다. 대표적인 식초산 발효균으로 *Acetobacter(A) aceti*, *A. pasteurianus* 등의 *Acetobacter*속 균주가 사용되고 있으나, 이 균주들은 감귤과즙에 함유된 정유성분과 알칼로이드와 같은 향균성 물질로 인하여 발효가 지장을 받기 때문에 효율적인 감귤식초 발효를 위해서는 새로운 발효균주의 개발이 요청되고 있다<sup>11,12)</sup>.

이런 견지에서 제주산 감귤을 이용한 고 부가가치 상품 개발을 위하여 감귤식초 발효에 적합한 균주를 선발할 목적으로 본 연구를 수행하였으며, 선발된 균주를 분리·동정하고 현재 산업적인 감식초 및 사과식초 발효에 이용되고 있는 균주와 발효력을 대비 시험하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

제주산 감귤과즙을 식초산 발효용으로 사용하였으며, 과즙은 2001년 12월 제주도 서귀포 일대에서 생산된 감귤을 착즙한 것과 가공된 농축과즙을 제주 감귤 복합가공공장으로 부터 발효용 재료로 공급 받아 사용하였다. 감귤 착즙액은 당도 10~13°Brix로서 원액을 발효액으로 사용하였고, 농축액은 증류수로 희석하여 당도를 13°Brix로 조정하여 발효액으로 사용하였다.

### 2. 알콜발효

감귤과즙에 효모를 접종하고 28°C에서 36시간 정치배양하여 발효하였다. 발효용 효모로는 제주 감귤시험장에서 분리한 감귤와인 제조용 citrus malomelo-yeast (CMY-28)를 분양받아 사용하였다. 감귤과즙 알콜발효액(이하 감귤와인으로 약함)은 5.0~5.5%의 알콜과 5.4~5.6°Brix의 잔당을 함유하였다.

### 3. 식초산 발효균 분리

(1) 1차 분리 : 감귤와인을 30°C에서 200 rpm으로 30

일간 진탕배양하여 야생의 식초산균에 의한 식초산발효를 유도하였다. 발효 30일째에 발효액을 실온에서 원심분리(6,000 rpm×10 min)하여 균체를 분리한 다음 균체에 에탄올 고체평판배지에 도말하여 감귤착즙액과 농축과즙 희석액으로부터 각각 5개 균주를 분리하였다. 분리 시에는 colony의 형태를 기준으로 분리하였으며, 같은 형태의 균주는 colony 주위에 형성된 clear zone의 직경이 크고 투명도가 높은 것을 우선적으로 분리하였다.

(2) 2차 분리 : 분리한 총 10개 균주를 에탄올 배지에 streaking하여 30°C에서 48시간 정치배양하는 한편으로 감귤와인에 접종하여 각 14일간 3회 반복 계대배양하여 배양액의 산도를 검정하고 산 생성능력과 clear zone의 넓이와 투명도가 가장 높은 균주를 재료 별로 각각 1개 균주를 선발하였다. 선발된 발효균은 분리한 재료에 따라 CV1(농축과즙) 및 CV2(착즙액)로 명명하였다.

균주분리에 사용한 에탄올배지는 yeast extract 10 g, calcium carbonate 20 g, ethanol 20 g 및 agar 20 g/L으로 조성하였으며 배지의 pH를 6.5로 조정하고 0.75 kg에서 10분간 가압살균한 후 사용하였다.

### 4. 분리균의 형태 관찰

분리균의 형태는 크리스탈 바이올렛으로 1분간 염색한 후 여분의 염료를 증류수로 세척하여 제거하고 광학현미경(Eclipse E400, Nikon, Japan)으로 관찰하였으며, 건조 피막 후 주사형현미경(S-800, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다.

### 5. 분리균의 동정

분리한 감귤 식초산 발효균을 (주)마이크로아이드(서울 관악구 신림동 56-1)에 의뢰하여 16S rDNA의 염기서열을 분석하고 한국 유전자은행이 보유한 표준균주의 염기서열과 비교하여 97% 이상의 유사성과 아울러 계통수(accession no.)가 일치하는 경우에 종을 확정하였다.

### 6. 종초제조

감귤와인 100 ml에 식초산균 1백균이를 접종하여 30°C에서 1주일간 600 rpm으로 진탕배양한 발효액을 종초로 사용하였다. 종초는 산도 5.0~5.4%로서 평균 pH 3.2를 나타내었으며 ml당 10<sup>10</sup> 이상의 균체를 함유하였다.

### 7. 분리균의 발효력 평가

분리한 2종의 식초산 발효균의 발효력을 산업적으로 식초산 발효에 사용되고 있는 균주와 대비하여 평가하였다. 발효력은 ① streaking법에 의한 clear zone 생성 능력 ② paper disc법에 의한 clear zone 생성능력 및 ③ 발효액 증 기질 소비량 및 산도변화의 3가지 방법으로 평가하였으며, 대비시험용 균주로는 경북과학대학 부설 식품가공공장에서부터 분양받은 감식초발효균 (*Acetobacter* sp. PA97)과 사과식초발효균(*Acetobacter* sp. AT1 및 AT2)을 사용하였다.

(1) Streaking법 : 고체 사면배지로부터 균체 1백금을 취하여 에탄올 배지에 streaking한 후 30°C에서 48시간 정치배양하고 생성된 streaking 한 cell line의 가장자리로부터 clear zone의 넓이를 측정하였다.

(2) Paper disc법 : 감귤와인에 균체를 접종하여 8일간 발효한 발효액 0.1 ml를 직경 8.0 mm의 멸균한 paper disc(No.2, Toyo, Japan)에 추가하고 30°C에서 48시간 배양 한 후 disc 주변에 형성된 growth zone, clear zone 및 effect zone의 폭을 측정하였다. 각 zone은 통상의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 설정하였다.

(3) pH 및 산도측정 : 감귤와인에 10%(v/v)의 종초를 첨가하고 초기산도를 1.0%로 조정 한 후 30°C에서 200 rpm으로 8일간 진탕배양한 후 pH와 산도, 잔류 알콜 및 잔당량을 측정하였다.

pH는 배양액을 원심분리(8,000rpm×15min)하여 균체를 제거한 후 pH meter (model 691, Methrom, Swiss)로 측정하였으며, 배양액 중 총산 함량은 AOAC법<sup>13)</sup>에 따라 erlenmeyer flask에 배양액 10 ml를 취한 다음

phenolptalein 용액 2방울을 적하하고 0.1N NaOH로 중화 적정하였으며 NaOH의 소비량으로부터 아래 계산식으로 acetic acid로 환산하였다.

$$\text{Total acidity (acetic acid, \% w/v)} = \frac{\text{ml of 0.1N-NaOH titrated} \times 0.006}{10 \text{ ml}} \times 100$$

(4) 알콜함량 측정 : 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 후 상등액을 수증기 증류하고 alcohol hydrometer로 증류액의 비중을 측정하였으며 Gay Lussac table에 준하여 알콜농도로 환산하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 발효균주 분리

알콜배지에 도말한 감귤농축액과 감귤과즙 배양액으로부터 clear zone을 형성한 세균 colony를 각각 5개씩 분리한 후 각 균주를 신선한 감귤와인에 접종하여 배양 6일과 14일에 균주별 배양액의 산도를 측정한 결과 Table 1과 같이 1번 균주와 6번 균주가 각각 6.0% 이상의 산도를 나타내었으며 6~14일 사이에 산도의 변화도 적었다. 한편, 균체를 알콜배지에 streaking하였을 때에도 1번 균주와 6번 균주는 균체증식선의 가장자리로부터 2.5 cm 이상의 넓은 폭의 clear zone을 형성하였다. 이 결과로부터 1번 균주와 6번 균주를 식초산 발효균으로 최종 선발하고 균주명을 각각 CV1과 CV2로 설정하였다.

CV1과 CV2는 모두 직경 0.6~0.8 μm, 길이 1.5~3.0 μm의 Gram 음성의 호기성 간균으로서 Fig. 2와 같이 *Acetobacter*의 전형적 형태를 나타내었으며, CV1과 CV2는 유사한 형태를 나타내었다.

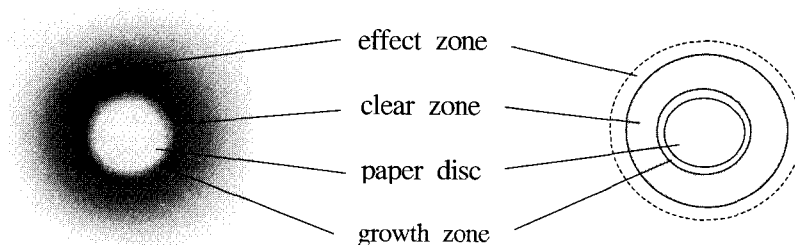


Fig. 1. Clear zone formation by paper disc test and partition of related zones

식초산은 일반적으로 Gram 음성의 호기성 간균인 *Acetobacter*를 이용하여 제조되고 있으며, *Acetobacter* sp.는 균체가 vibrio형으로 휘던가, 균체 중앙부에서 꺾이는 snapping 현상을 잘 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>14)</sup>. 분리균 CV1과 CV2는 감귤과즙을 이용한 장기간의 식초산 발효과정에서 분리된 균주로서 산도가 높고 에탄올 배지에서 탄산칼슘을 용해하여 넓은 면적의 clear zone을 형성하는 점으로 미루어 감귤식초용 발효균으로 적합한 성상을 지닌 것으로 판정된다.

2. 균주 동정

분리균의 16S rDNA의 염기서열을 분석한 결과 농축과즙발효액에서 분리한 CV1은 Table 2와 같이 총 700개의 염기쌍으로 구성되었으며, 염기서열은 Table 3과 같이 한국 유전자은행에서 보유한 표준균주

*Gluconacetobacter(G) europaeus*, *G. hansenii*, *G. xylinus*, *Acetobacter(A) intermedius* 및 *A. oboediens* 와 96% 이상의 유사성을 나타내었다. 한편, 감귤과즙액에서 분리한 CV2의 16S rDNA는 Table 4와 같이 총 645개의 염기쌍으로 구성되었으며 염기서열은 Table 5와 같이 *Gluconacetobacter hansenii* 와 97%의 다소 높은 유사성을 보인 것을 제외하면 CV1과 비슷한 유사성을 나타내었다.

이상의 결과로부터 CV2는 현재까지 알려진 10여종의 *Gluconacetobacter* sp. 중 *G. hansenii*가 유일하게 97% 이상의 유사도를 나타낸 점과 계통수가 일치한 점에서 *Gluconacetobacter hansenii*로 동정되었다. 한편, CV1은 공시한 표준균주와의 유사도에 현저한 차이가 없어서 동정은 어려웠으나 계통수 분석결과 *G. europaeus*보다는 *G. hansenii* group에 가까웠기 때문에

Table 1. Acidity and clear zone size of primarily isolated bacteria

Citrus-juice <sup>1)</sup>				Concentrated-citrus juice			
strain no.	acidity of vinegar fermented for		clear <sup>3)</sup> zone width	strain no.	acidity of vinegar fermented for		clear zone width
	6 days	14 days			6 days	14 days	
1	6.0 <sup>2)</sup>	6.3	+++	6	6.6	6.5	+++
2	5.8	5.2	++	7	5.3	5.6	++
3	4.5	5.5	++	8	5.1	5.4	++
4	3.9	4.7	++	9	4.8	5.9	++
5	1.1	1.9	+	10	2.2	4.4	++

1) Original source of isolates

2) Acidity(% acetic acid, w/v)

3) Width of clear zone from the margin of streaked-cell line as +++>2.5 cm, ++ 1~2 cm and +< 1.0 cm

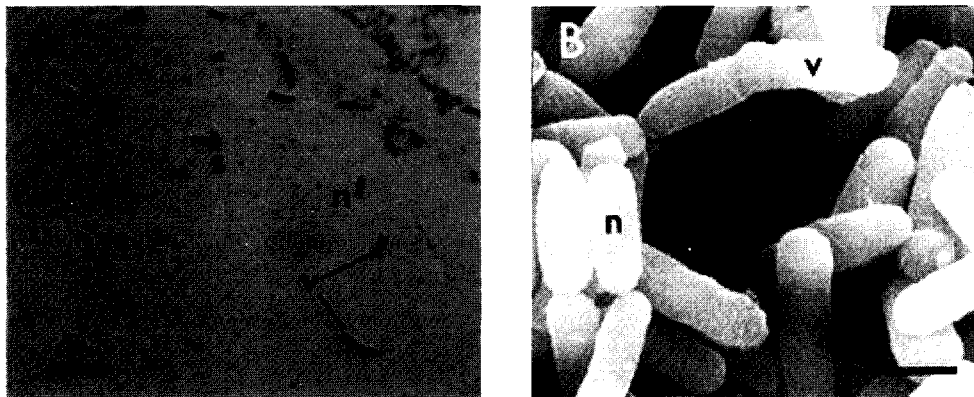


Fig. 2. Morphologies of acid producing bacteria isolated from citrus vinegar. Plate A was taken by using a light microscope, while B was taken by using a scanning electron microscope as described in the Methods.

Symbols are n: normal form, v: vibrio-like and s: snapping form.

Scale line indicates 10 μm(A) and 1 μm(B), respectively.

*G. hansenii*의 변이주로 추정되었다.

*Gluconacetobacter*는 종래 *Acetobacter*에 포함되었던 균주로서, 16S rDNA 염기서열의 차이를 바탕으로 Yamada 등<sup>15)</sup>에 의하여 근간에 *Acetobacter*로부터 분리 되었으며, 생리적 성상은 *Acetobacter*와 거의 일치하고

있다. 특히 *Gluconacetobacter hansenii*는 식초산 발효액의 표면에서 흔히 검출되는 균주로서 최 등<sup>16)</sup>도 동 균주가 감귤과즙에서 잘 증식할 뿐만 아니라 bacterial cellulose와 아울러 다량의 식초산을 생성하는 것으로 보고하였다. 이로 미루어 *Gluconacetobacter* sp.가 감귤

**Table 2. 16S rDNA partial sequencing of isolated bacteria CV1**

GGGACGGGTGAGTAACGCGTACGTATCTGTGCATGGGTGGGGGATAACCTTGGGAAACCGAGGCTAATACCGCATGACAC CTGAGGGTCAAAGGCGCAAGTCTCCTGTGGAGGAACCTGCGTTTCGATTAAGTGTGGTTGGGTAAGGCCRACCAACGC GATGATCGATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGATACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAG TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTTTTTCGGATTGTAAAGCACT TTCAGCGGGGACGATGATGACGGTACCGCANAANAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCACCANCCGCGGTAATACAAAGGGG GCAAAGCGTTGCTCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGTTGTTACAGTCAGATGTGAAATTCGCCGGGCTTAAC CTGGGGGCTGCATTTGATACGTGGCGACTAAAGTGTGANANAGGGTTGTGGAATTCCCAGTGTANAGGTGAAATTCGTAN ATATTGGGAANAACACCGGTGGCGAAGGCGGCAACCTGGCTCATGACTGACGCTGAGCCCNAAGCGTGGGGAGCAAAC AGGATTAGATCCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACAATGTGTGCTGGATGTTGGGTGGCTTG
--

**Table 3. Similarity analysis result of isolated bacteria CV1**

Strain	Accession No	%Similarity
<i>Gluconacetobacter europaeus</i> DSM 6160 (T)	Z21936	96.81
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> NCIMB 8746 (T)	X75620	96.66
<i>Acetobacter intermedius</i> 11804 (T)	Y14694	96.66
<i>Acetobacter oboediens</i> DSM 11826 (T)	AJ001631	96.52
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> subsp. <i>xylinus</i> NCIMB 11664 (T)	X75619	96.37
<i>Gluconacerobacter diazotrophicus</i> ATCC 49037 (T)	X75618	94.63
<i>Gluconacetobater liquefaciens</i> IFO 12388 (T)	X75617	94.34

**Table 4. 16S rDNA partial sequencing of isolated bacteria CV2**

GTCCACGAACCTTTTCGGGGTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTAGGGATCTGTCCATGGGTGGGGGATAACCTTGGG AAACCGAGGCTAATACCGCATGACACCTGAGGGTCAAAGGCGCAAGTCGCTGTGGAGGAACCTGCGTTTCGATTAGCTGG TTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGATGATCGATAGCTGGTCTGARAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACAC GGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGEGGGGAATATTGGACAATGGGCSAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTG AAGAAGGTTTTTCGGATTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGACGATGATGACGGTACCCGCAAAAAAGCCCCGGCTAACTT CGTGCCACCACCCGCGGTAATACAAAGGGGGCAAGCGTTGCTCGGAATCAGTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGGC GTTGTTACAGTCAGATGTGAAATTCGCCGGGCTTAACCTGGGGGCTGCATTTGATACGTGACGACTAAAGTGTGAA AGAGGGTTGTGAATTCAGTGTAAAGGTGAAATTCGTAAATATTGGGAAAAACACCGGTGGCGAAGGCGGCA CCTGGCTCATCACTGACCCTGAG
--

**Table 5. Similarity analysis result of isolated bacteria CV2**

Strain	Accession No	%Similarity
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> NCIMB 8746 (T)	X75620	97.04
<i>Gluconacetobacter europaeus</i> DSM 6160 (T)	Z21936	96.88
<i>Acetobacter intermedius</i> 11804 (T)	Y14694	96.73
<i>Acetobacter oboediens</i> DSM 11826 (T)	AJ001631	96.57
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> subsp. <i>xylinus</i> NCIMB 11664 (T)	X75619	96.42
<i>Gluconacerobacter diazotrophicus</i> ATCC 49037 (T)	X75618	95.02
<i>Gluconacetobater liquefaciens</i> IFO 12388 (T)	X75617	93.93
<i>Acetobacter pasteurianus</i> LMG 1262 (T)	X71863	93.30
<i>Acetobacter pomorum</i> DSM 11825 (T)	AJ001632	93.15
<i>Acetobacter aceti</i> JCM 7641 (T)	D30768	93.15
<i>Acetobacter aceti</i> DCIMB 8621 (T)	X74066	92.99

식초 발효에 적합한 성상을 지닌 것으로 판단된다.

### 3. 발효력 비교

분리균과 경북과학대학 부설 식품공장에서 분양받은 식초산 발효균의 발효력을 평가한 결과는 아래와 같다.

(1) Streaking에 의한 clear zone 생성 : 공시균을 에탄올 배지에 streaking하였을 때 분리균은 Fig. 3과 같이 명확한 clear zone을 형성한 반면에, 분양받은 균주인 PA97(plate A)과 AT1(plate B)은 clear zone 생성여부가 불명확하였으며, AT2 (plate C)는 clear zone은 형성하였으나 그 면적은 분리균의 약 50%에 불과하였다. 분리균 CV1과 CV2가 생성한 clear zone의 넓이에는 유

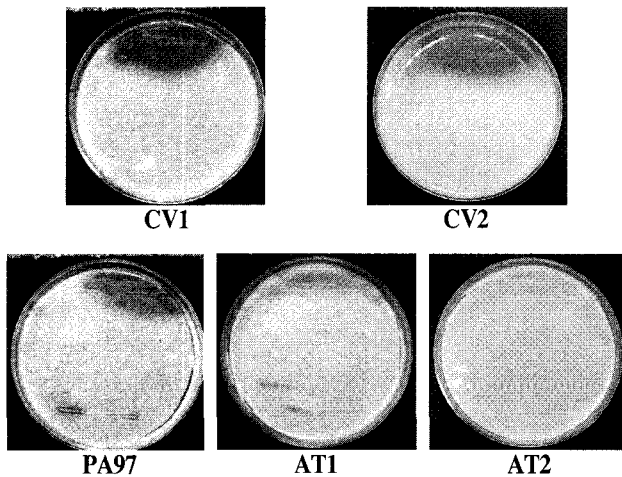


Fig. 3. Clear zone formed by isolated bacteria and *Acetobacter* sp. Bacterial cells formed clear zone near their colonies by dissolving calcium carbonate with produced acetic acid. Bacterial cells were streaked on solid ethanol medium which contained 3% ethanol and cultivated for 48 hours at 30°C.

Isolates: CV1 and CV2, *Acetobacters*: PA97, AT1 and AT2

Table 6. Clear zone forming abilities of isolated bacterial strains in comparing with those of other acetic acid producing bacterial strains. (unit: width mm)

	CV1	CV2	PA97	AT1	AT2
Growth zone	1.0±0.00	0.8±0.13	0	0.3±0.04	1.0±0.00
Clear zone	3.5±0.17	2.1±0.12	0	0.8±0.05	1.0±0.07
Effect zone	2.2±0.04	1.8±0.08	0	1.5±0.03	2.0±0.00

Paper discs inoculated with citrus vinegar were incubated for 48 hours at 30°C.

의적인 차이가 없었다.

(2) Paper disc법에 의한 clear zone 생성 : disc 주변에 생성된 여러 개의 환을 Fig. 1과 같이 설정하였을 때 분리균 CV1 및 CV2는 growth zone 외측에 각각 폭 3.5 및 2.1 mm의 clear zone을 형성한 반면에 PA97은 clear zone을 형성하지 아니하였고 AT1과 AT2도 폭 1.0 mm 이하의 clear zone을 형성하였다.

(3) 기질소비 및 산 생성 : 감귤와인에 각 균주로 제조한 종초 10%(v/v)를 첨가하여 8일간 발효한 발효액(감귤식초)의 pH, 산도, 잔당 및 알콜함량을 조사한 결과는 Table 7과 같다. 공시한 5개 균주가 모두 5% 이상의 식초산을 생성하였으며 산도는 AT2가 6.15%로 가장 높았고 CV1과 CV2의 산도는 각각 5.89%와 5.54%로 PA97 및 AT1보다는 높았다. 발효기간 중 AT2와 CV1, CV2는 발효액 중의 알콜을 모두 소비한 반면에 PA97과 AT1은 0.2%의 알콜이 잔존하였다. 잔당은 3.20~5.20%로 산도가 높을수록 낮은 함량을 나타내었으며, pH도 2.36~3.35로 산도가 높을수록 낮은 pH를 나타내었다.

현행의 식품위생법 상 4.0% 이상의 식초산을 함유하면 조미용 식초로 사용가능하며, 세계적으로도 조미식초의 규격이 4~6%의 범위에 속하는 바, 분리균을 이용한 감귤식초 생산이 가능한 것으로 판단된다. 아울러 주정을 첨가하지 아니한 천연과즙 식초는 식초산 농도가 5%를 넘기 어려운 것으로 알려져 있으나<sup>17)</sup> 분리균으로 발효한 감귤식초는 곡류식초에 가까운 5.5~6.0%의 높은 산도에 도달하였다는 점에서 우수한 발효균으로 판정된다. 다만, 산업생산을 위해서는 감귤식초의 관능적 특성과 유기산 조성 및 저장성 등의 품질 특성과 아울러 발효기간을 단축시키는 방안이 강구되

Table 7. Total acidity, pH, residual alcohol and sugar content of citrus vinegar fermented by strains of acetic acid producing bacteria

	Citrus vinegar fermented by				
	CV1	CV2	PA97	AT1	AT2
pH	3.02	2.67	3.35	2.98	2.36
Total acidity(%)	5.89	5.54	5.21	5.48	6.15
Alcohol(%)	0	0	0	0.20	0.20
Sugar(°Brix)	3.60	4.10	5.20	4.40	3.20

Citrus vinegar was fermented for 8 days at 30°C.

어야 할 것으로 분석된다.

#### IV. 요약

제주산 감귤과즙을 이용하여 감귤식초를 제조할 목적으로 식초산 발효균 CV1과 CV2를 분리하고 식초산 생성능력을 산업적으로 이용되고 있는 균주와 비교 검증하고 16S rDNA 염기서열을 분석하고 동정하였다. 분리균은 8일간의 발효에 의하여 산도 5.5% 이상의 식초산을 생성하였으며, 감귤식초 발효에는 사과식초나 감식초 발효에 이용되고 있는 균주 보다 더욱 적합한 것으로 판정되었다. 분리한 균주는 *Gluconacetobacter hansenii*(CV2) 및 *G. hansenii*의 변이주(CV1)로 동정되었다.

#### 감사의 글

본 연구는 농림기술지원센터 연구비 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

- AOAC. 1980. Official methods of analysis. 14th ed. Association of official analytical chemists. Washington DC. pp 431
- Cho JW, Kim IS, Kim MK, Lee YK, Kim SD. 2000. Characteristics of peach vinegar by parallel complex fermentation. Korean J Postharvest Sci Technol. 7: 89-93
- Choi KH, Jeong JS, Moon CH, Kim ML. 2004. Effect of carbon source supplement on the gel production from citrus juice by *Gluconacetobacter hansenii* TL-2C. J Korean Soc Food Sci Nutr. 33(1):170-175
- Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY, Kim SH. 2001. Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. Food industry and Nutrition. 5:42-51
- Hwang OS, Park HJ, Chun HK, Chang CM. 1990. A study on the manufacturing of vinegar from fallen apples. Res Rept RDA 32:40-47
- Jeong ST, Kim JG, Chang HS, Kim YB, Choi JU. 1996. Optimum condition of acetic acid fermentation for persimmon vinegar preparation and quality evaluation of persimmon vinegar. Korean J Post-harvest Sci Tech Agri Products. 3:171-179
- Jwa MK, Lim SB, Yang YT, Koh JS. 1996. Effect of supercritical carbon dioxide treatment on quality of citrus juice. Korean J. Food Sci Tech. 28: 750-755
- Kim DH, Lee JS. 2000. Vinegar production from subtropical fruits. J Korean Soc Food Sci Nutr. 29:68-75
- Kim YD, Kang SH, Kang SK. 1996. Studies on the acetic acid fermentation using maesil juice. J Korean Soc Food Nut. 25:695-700
- Koh JS, Ko NK, Kang SS. 1989. Citrus-wine making from mandarin orange produced in Cheju island. J Korean Agric Chem Soc. 32(4):416-423
- Lee GD, Jeong YJ, Seo JH. 2001. Optimization of the vinegar fermentation using concentrated apple juice. J Korean Soc Food Nut. 30:460-466
- Nagy S, Attaway JA. 1980. Citrus nutrition and quality. J American Chemical Soc :3-43
- Noel RK, John GH. 1984. : Bergy's Manual of Systematic Bacteriology. vol 1. Williams & Wilkins. Baltimore/London. pp 267
- Rhee CO, Shin DH, Yoon IH, Han PJ. 1979. Studies on the processing quality of Korean citrus fruits. J. Korean Agricultural Chemical soc. 22:28-32
- Rhyu MR, Kim EY, Bae IY, Park YK. 2002. Contents of naringin, hesperidin and neohesperidin in premature Korean citrus fruits. Korean J Food Sci Technol. 34(1):132-135
- Seo JH, Jeong YJ, Kim JN, Woo CJ, Yoon SR, Kim TH. 2001. Quality comparison of potato vinegars produced by various *Acetobacter* bacteria. Korean J Food Preser. 8:60-
- Yamada Y, Hosino K, Ishikawa T. 1997. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequence of 16S rRNA: The elevation of subgenus *Gluconoacetobacter* to genetic level. Biosci Biotech Biochem. 61:1244-1251.

(2005년 3월 16일 접수, 2005년 4월 1일 채택)