

2단계 발효에 의한 양파식초 제조의 최적 조건 검토

김삼웅¹ · 박재효^{1,2} · 전홍기^{1*}

¹부산대학교 생명과학부 미생물학과, ²(주) 마이크로바이오텍

Received August 14, 2008 / Accepted October 22, 2008

Analysis of Optimum Condition for Production of an Onionic Vinegar by Two-Step Fermentations.
Sam Woong Kim¹, Jai-Hyo Park^{1,2} and Hong-Ki Jun^{1*}. ¹Division of Biological Science, Pusan National University, Busan 609-735, Korea, ²Microbiotech Co., LTD. Venture-103, Bio21center, 1033, Samgok-ri Munsan-eup Jin-ju city Gyeongnam, Korea - This study was carried out to develop a vinegar by an onion juice. Onions are considered to be a promising source of the vinegar because these are rich in sugars, amino acids and various nutrients. An *Acetobacter* for an acetic acid fermentation was isolated and used from vinegars produced by industrial goods or from matured Kimchi. When supplemented with 2-8% ethanol into an onionic juice medium, the highest production of the acetic acid was observed at 9 days by addition of 4% ethanol. Optimum temperature and aeration for acetic acid production were exhibited at 30°C and 200 rpm, respectively. A flask containing larger air-contact surface region for fermentation was produced the more acetic acid than that of a test tube. Taken all these together, an optimum condition for the acetic acid fermentation was over 9 days at 30°C, 200 rpm with 5% alcohol and 2% initial acidity. When fermented by the upper condition, the final product contains 5.2% total acidity and less than 1% ethanol. These are suitable for conditions of fruit vinegar notified by the Ministry of Commerce, Industry and Energy.

Key words : Onion, alcohol production, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, *Acetobacter*, vinegar

서 론

식초는 동서양을 막론하고 오랜 옛날부터 이용되어 온 발효 산미료로서 우리 식생활과 밀접한 관계를 가져왔다. 식초는 초산 발효에 의해 생성되는 초산을 주성분으로 하여 소량의 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산 및 ester 등을 함유하며 특유한 방향과 신맛을 지닌 발효 식품으로 발효에 의한 양조식초와 빙초산의 희석 및 조미에 의한 합성식초로 대별된다[1,4]. 과거 미생물과 천연자원을 이용한 양조식초는 생산기간이 길고 일정한 품질의 생산이 어려우며 원가가 비싸 합성 식초로 대체되었다. 그러나 최근 식생활의 다양화와 건강에 대한 인식의 확대 및 합성 식초의 유해론[1]의 제기 등으로 천연 자원을 원료로 한 고급 양조 식초 개발의 필요성이 커지고 있다. 이에 최근 보리, 사과, 감, 배, 매실 등[5,8]을 이용한 연구가 진행되어 왔으나 다양한 식초자원의 확보라는 측면에서 보다 많은 연구가 요구된다.

양조 식초는 소화액의 분비 촉진, 피로 회복, 당뇨병 예방, 비만 방지, 혈압 상승 방지, 노화 방지, 혈중 알코올 농도 상승 지연, 항산화 효과 등[1] 그 기능성이 다양하며 특히 Oki 등[16]은 대두 올리고당으로부터 제조된 식초를 20 ml/day 씩 2주 동안 섭취하였을 때 fecal bifidobacteria의 현저한 증가를 가져왔다고 보고하였다. 즉 식초 발효액에 다양한 원료

를 첨가함으로써 초산 이외의 생리적 기능이 부가된 식초의 생산도 가능할 것으로 생각된다.

초산균은 알코올을 산화시켜 초산을 생성하는 호기적 발효를 하는 균주로서 일반적인 초산균은 *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* 등과 *Gluconobacter oxydans*가 있고, Gram 음성균이며 운동성의 호기성 간균 또는 구균으로 포자는 형성하지 않는다. 또한 *Gluconobacter* sp.는 알코올보다 당을 더 선호하며 초산을 재산화시킬 수 있는 능력이 없는 반면 *Acetobacter* sp.는 초산을 재산화시킬 수 있는 TCA회로를 가지고 있다[9].

Persoon [18]에 의한 *Acetobacter*의 연구 보고를 시작으로 다양한 발효 식품으로부터 *Acetobacter* sp.의 분리에 관한 연구가 보고 되었으며[10,17,21], 오 등[15]의 배를 이용한 식초의 발효 조건, 이 등[12]의 유가식 배양에 의한 고산도 식초의 생산, 김 등[5]의 보리 식초 제조에 관한 연구가 보고 되었다.

대표적인 식초 생성균은 *Acetobacter schuetzenbachii*, *A. ascendans*, *A. gengenium*, *A. mesoxydans*, *A. melanoogenum*, *A. suboxydans*, *A. aceti* 등이 알려져 있으나 이중 내산성과 내열성을 지닌 *Acetobacter aceti*가 상업적인 대량 생산에 이용되고 있다.

본 연구에서는 양파의 수요 확대 및 국민 건강 증진을 위하여 양파즙을 발효 기질로 하여 알코올 발효를 통해 알코올을 생성하고, 생성된 이 알코올을 이용하여 초산 발효로 식초 생산의 조건을 검토했다. 이와 같은 2단계 발효를 통해 양파 식초를 생성하고 산업화를 위한 발판을 마련하고자 하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2270, Fax : +82-51-514-1778

E-mail : hkjun@pusan.ac.kr

실험 재료 및 방법

사용 균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 탁주 생산에 이용되는 시판 중인 효모 *Saccharomyces cerevisiae*를 구입하여 순화시켜 사용하였다[6]. 사용된 시약은 모두 일급이상의 Sigma사 제품을 사용하였다. 초산균은 시판중인 감 식초와, 사과 식초, 숙성된 김치 액을 초산균 분리용 액체 배지에 접종하여 30°C, 200 rpm에서 72시간 배양하였고, 이 배양액을 분리용 평판 배지에 도말하였다. 그리고 CaCO₃를 분해하여 clear zone을 형성하는 단일 colony를 1차로 분리하였다. 분리한 균주들을 다시 분리용 액체배지에 배양하여 실험에 사용하였다.

효모를 위한 배지는 양과알코올 음료의 제조와 동일한 배지를 사용하였다[6]. 초산균의 분리용 평판 배지의 구성 성분은 3% glucose, 0.5% yeast extract, 1% CaCO₃, 3% ethanol, 1.5% agar이며, 배양용 액체 배지의 구성 성분은 0.5% glucose, 0.5% yeast extract, 1.0% glycerin, 0.02% MgSO₄ · 7H₂O, 5.0% ethanol, 1.0% acetic acid이다.

양파의 처리, 주모의 제조 및 알코올의 생성

김 등의 방법에 의해 양파를 초평하고, 착즙하여 냄새를 제거하였다[6,7]. 또한, 주모의 제조와 알코올 생성능력도 김 등[6,7]의 방법에 준하여 준비하고 관찰하였다.

종초의 제조

초산을 경제적으로 대량 생산하기 위해서는 먼저 고농도의 균체 배양이 필요하므로 적절한 종초의 제조 조건을 결정하는 것이 중요하다. 먼저 양파를 믹서기로 분쇄한 후 100°C, 30분간 열처리를 하여 냄새를 제거하고 착즙한 양파즙을 110°C, 10분간 멸균(EYELA autoclave MAC-601)하여 식혔다. 그리고 알코올 농도를 5%, 초기 산도를 2%로 조절하였다. 초산균 배양 배지를 이용하여 전배양을 2차례 한 초산균을 양파 배지에 10% 접종한 후, 30°C, 200 rpm, 72시간 동안 배양하여 종초로 사용하였다[3].

균주의 초산 생성 확인

1차로 분리한 초산균의 초산 생성을 확인하기 위하여 초산 생성 실험을 하였다. 초산균 분리용 액체 배지에서 30°C, 200 rpm, 72시간 동안 배양시킨 배양액을 초산균 분리용 고체 배지에 paper disc 법을 이용하여 CaCO₃를 분해하여 생기는 clear zone의 크기를 확인하였다.

발효 산물의 성분 분석

양파즙 및 발효액의 pH를 pH meter (Corning Co., USA)로 측정하였다. 알코올 발효된 양파즙을 7,000 rpm, 20분간 원심 분리 한 후, 상등액을 membrane filter (0.45 µm, Sartorius Co.,

Australia)로 여과하여 여과액 1 µl를 GC [gas chromatography (Hewlett Packard Co., USA)]로 loading하였고 standard (absolute ethanol)의 면적과 비교하여 알코올의 양을 계산하였다[6,19]. 식초의 초산 정량은 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하여 초산 함량(%)으로 환산하였다[11].

초산 생산 최적 조건 검토

공시균의 초산생성 최적 ethanol의 함량을 조사하기 위하여 종초를 양파즙 배지의 10% 농도로 접종하여 ethanol을 각각 2, 4, 6, 8%씩 첨가하였다. 각 농도의 ethanol이 포함된 10 ml 배지를 시험관에서 9일 동안 200 rpm에서 진탕 배양하여, 전술한 분석 방법에 따라 pH, 초산의 변화를 측정하였다.

공시균의 초산생성 최적 온도를 조사하기 위하여 종초를 양파즙 배지의 10% 농도로 접종하여 25, 30, 37°C에서 각각 9일 동안 200 rpm으로 진탕 배양하여 전술한 분석 방법에 따라 pH, 초산의 변화를 측정하였다.

공시균의 초산 생성에 필요한 산소 요구성을 파악하기 위하여 종초를 양파즙 배지의 10% 농도로 접종하여 30°C의 온도에서 150, 200, 250 rpm으로 각각 달리하여 최종 액량 10 ml이 유지된 시험관내에서 9일 동안 배양하였다. 그리고 배양 용기를 달리하여 공기와의 접촉 면적에 따른 초산 생성의 변화를 관찰하기 위하여 Ø20 mm test tube와 50 ml 삼각 flask에 각각 10 ml의 전처리된 양파즙을 넣고 30°C, 200 rpm에서 9일 동안 배양하였다. 전술한 분석 방법에 따라 pH, 초산의 변화를 각각 측정하였다.

2단계 연속 발효에 의한 식초 생산

2단계 연속 발효를 위해 생양파는 믹서기로 파쇄하여 100°C, 30분간 열처리하여 양파의 고유한 냄새를 제거하고 착즙하였다. 착즙한 양파즙에 sucrose (sigma)로 초기 양파즙의 당도가 16°brix가 되게 보당하였다. 보당된 양파즙에 미리 제조된 주모를 양파즙 부피 대비 5%를 접종하여 500 ml 플라스크에 100 ml의 액량으로 30°C, 5일간 정지 배양을 실시하였다. 알코올 발효가 끝난 양파주를 8,000 rpm, 10분간 원심분리하여 상등액을 취하여 40 µm filter에 통과시켜 찌꺼기를 완전히 제거했다. 여과된 양파주에 초기 알코올 농도를 확인하고, 준비된 종초를 양파주 부피대비 10%를 접종한 뒤 30°C, 200 rpm에서 진탕 배양하며 10일 동안 초산발효를 진행하면서 생산된 초산의 농도, 알코올 함량의 변화 등을 확인하였다.

결과 및 고찰

초산 발효를 위한 사용 균주의 선별

초산 발효를 행하기 이전에 적절한 알코올을 획득하기 위해 양파를 이용하여 알코올 발효를 수행하였고, 그 결과는 김 등이 이미 보고를 하였다[6,7]. 알코올 발효를 바탕으로 하

여 생성된 알코올을 이용하여 초산 발효를 수행하기 위해 초산균을 선별하였다.

초산균을 선별하기 위해, 시판중인 감 식초, 사과 식초 그리고 완숙기에 들어선 김치액을 각각 초산균 분리용 액체 배지에 넣어 30°C, 200 rpm, 72시간 동안 전배양과 본배양을 거친 배양액을 초산균 분리용 한천 배지에 3분 도말하여 clear zone을 형성하면서 나타난 단일 colony 17개를 1차로 분리하고 각각 APJ-1~APJ-17로 명명하였다. 1차로 분리한 단일 colony들을 다시 액체 배지에 넣어 30°C, 200 rpm에서 72시간 동안 진탕 배양하였다. 이 배양액을 초산균 분리용 한천 배지에 paper disc법을 이용하여 clear zone을 형성하는 크기를 비교하여 초산발효능이 뛰어난 균주 5개를 선별하였다. 이렇게 선별된 균주를 다시 초산균 분리용 액체 배지에 접종하여 30°C, 200 rpm, 10일 동안 배양하면서 생성된 산도를 0.1 N NaOH를 이용하여 중화 적정하였다. 그 결과 APJ-3에서 가장 높은 산도를 나타내었다. 5개의 균주를 양과즙 배지 100 ml에 110°C, 10분간 멸균하여 5%의 알코올을 넣고 10%의 배양액을 접종하여 30°C, 200 rpm, 10일 동안 배양하면서 균 생육도와 산도를 측정하였다. 그 결과 APJ-3에서 가장 높은 생육도를 보였고, 가장 높은 산도를 나타내어 APJ-3을 실험 균주로 선택하여 다음 실험에 사용하였다(Fig. 1).

식초 생성 최적 조건 검토

Ethanol에 의한 영향

사용 균주의 초산 생성 최적 ethanol 함량을 조사하기 위하여 멸균된 양과즙 배지 10 ml을 test tube에 넣고, 전술한 방법으로 종초를 만들어 10% 농도로 접종하여 ethanol을 각각 2, 4, 6, 8% 씩 첨가하여 9일 동안 200 rpm에서 진탕 배양하여, 전술한 분석 방법에 따라 pH, 초산의 변화를 측정하였다. 그 결과 pH는 4% ethanol 첨가일 때 가장 낮았으며, 산도는 3-5일에서

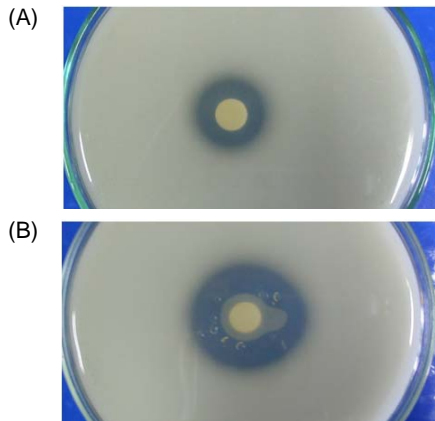


Fig. 1. A photograph of an isolated *Acetobacter* sp. on the *Acetobacter* medium. A and B indicate *Acetobacter aceti* KCTC 1010 and an isolated strain APJ-3, respectively. An *Acetobacter* produces a clear zone by degrading calcium carbonate.

2%에서 높게 나타났지만, 시간이 경과함에 따라 4%가 높게 유지되는 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 그리고 초기 알코올 농도가 8%일 때는 초산 발효 속도가 지연되는 경향을 보이는 데, 이는 초기 알코올 농도가 너무 높으면 초산생성이 저해됨을 알 수 있다. 이는 김 등[8]의 매실 식초 제조, 김 등[5]의 보리 식초 제조, 양 등[21]의 클로버 꽃 식초 제조시 알코올 농도가 각각 4~6%, 6% 및 4.5%라고 한 것과 같은 결과를 보였다.

온도에 의한 영향

사용 균주의 초산 생산 최적 온도를 조사하기 위하여 멸균된 양과즙 배지 10 ml을 test tube에 넣고, 전술한 방법으로 종초를 만들어 10% 농도로 접종하여 25, 30, 37°C에서 각각 9일 동안 200 rpm으로 진탕 배양하여 전술한 분석 방법에 따라 pH, 초산의 변화를 측정하였다. 그 결과 30°C의 온도에서 가장 높은 산도를 보였으며, 37°C에서는 25°C보다 낮은 초산 생성능을 보였다(Fig. 3). 따라서 발효 최적 온도는 30°C임을 알 수 있었다. Muraoka 등[14]과 Hekmat와 Vortmeyer [2]는 초산 발효시 배양액의 온도가 낮으면 균주 성장이 억제되고, 높으면 균주의 성장을 활발하나 초산 생성능이 떨어짐과 동시에 오염 현상이 있음을 보고한 바 있다.

교반에 의한 영향

공식균의 초산 생성에 필요한 산소 요구성을 파악하기 위하여 종초를 양과즙 배지의 10% 농도로 접종하여 30°C의 온도에서 150, 200, 250 rpm으로 각각 달리하여 9일 동안 배양

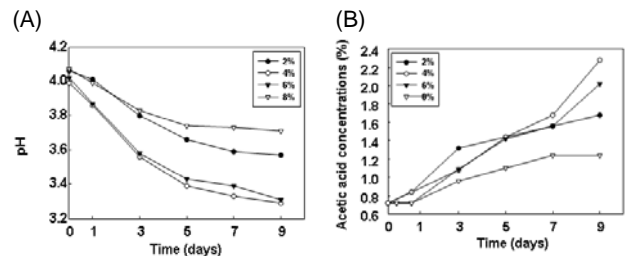


Fig. 2. Effect of supplementation with each ethanol concentration into an onionic juice medium. A and B indicate pH values and acetic acid concentrations measured, respectively. Ethanol was added by 2-8% concentrations.

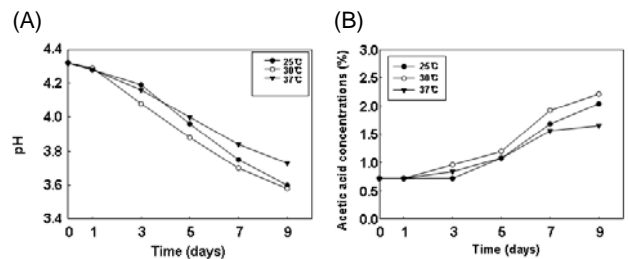


Fig. 3. Effect of incubated temperature. A and B indicate pH values and acetic acid concentrations measured, respectively. Each incubated temperature was performed at 25, 30, and 37°C.

하였다. 그 결과 150 rpm에서 pH가 높았으며, 산도는 낮은 결과를 보였다. 반면 200 rpm에서 낮은 pH를 보이고, 산도는 높은 결과를 보였으며, 250 rpm에서는 200 rpm과 pH와 산도에서 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 4). 결과적으로 200 rpm에서의 배양이 경제적으로 봤을 때 초산 발효 때 최적 rpm임을 알 수 있었다.

통기량에 대한 효과를 알아보기 위하여 배양 용기를 각각 달리하여 초산 생성의 변화를 관찰하였다. 즉, Φ 20 mm test tube와 50 ml 삼각 flask에 각각 10 ml의 전처리된 양파즙을 넣고 10%의 종초를 접종하여 30°C, 200 rpm에서 9일 동안 배양하였다. 50 ml 삼각 flask를 사용한 결과 선행실험에서 3도를 넘기 힘들었던 양파식초의 산도가 4도 이상으로 높아진 결과를 보였다(Fig. 5 및 Table 1). 그러므로 초산의 생성량을 증가시키기 위해서는 산소의 적절한 공급이 필수적인 것으로 판단된다.

2단계 발효를 통한 식초의 최적 생성 조건 검토

연속된 2단계 발효를 통해서 식초를 생성하기 위한 알코올 발효는 믹서기로 파쇄한 양파를 100°C, 30분간 열처리하여 양파의 고유한 냄새를 없애고 sucrose로 초기 당도가 16°brix가 되도록 보당하여 초산 발효를 위한 알코올 발효에 가장 효과적인 기질을 만들었다. 양파즙에 접종하는 주도의 양은 경제적으로 많은 알코올의 생성능을 보인 5%를 접종하여 알코올 발효가 가장 잘 일어나는 30°C의 배양 온도에서 4일간 정치

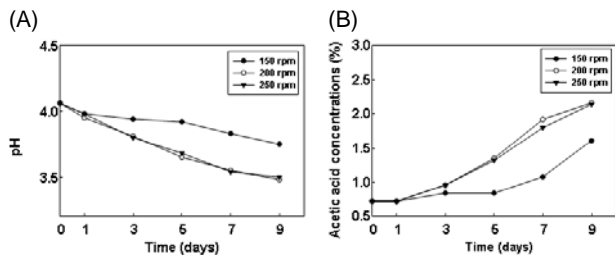


Fig. 4. Effect of aeration. A and B indicate pH values and acetic acid concentrations measured, respectively. Aeration was adjusted by revolution per minute.

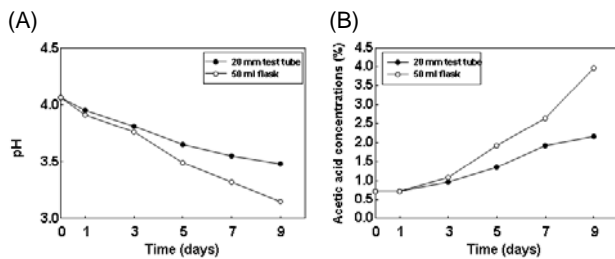


Fig. 5. Effect of air contact-surface area for fermentation. A and B indicate pH values and acetic acid concentrations measured, respectively. A flask contain higher air contact-surface area than that of a test tube.

Table 1. Production of onionic vinegar by each conditions

Cultural condition	Total acidity (%)
Alcohol concentration	
2%	1.68
4%	2.28
6%	2.02
8%	1.24
Temperature	
25°C	2.04
30°C	2.21
37°C	1.65
Agitation	
150 rpm	1.61
200 rpm	2.16
250 rpm	2.14
Air-contact surface area	
Φ 20 mm test tube	2.16
50 ml Δ flask	3.96

배양하였다. 30°C에서 배양하였을 때 초산 발효에 적절한 알코올 함량인 5% 대에 도달하여 일정하게 유지되었다.

알코올 발효가 끝난 양파주를 8,000 rpm, 10분간 원심분리하여 상등액을 취하여 40 μ m filter에 통과시켜 찌꺼기를 완전히 제거하여 초산발효의 기질로 이용하였다. 처리된 양파주를 공기와의 접촉이 용이한 500 ml 삼각 flask에 100 ml을 넣고 준비되어진 종초를 양파주 부피 대비 10%를 접종하여, 초산 발효시 필요한 초기 알코올 농도 5%와, 초기 산도 2%로 맞출 수 있었다. 이것을 30°C, 200 rpm에서 진탕 배양하면서 초산의 농도와 알코올 함량의 변화를 살펴본 결과, 최종 산도는 5.2%, 잔류 알코올 함량은 1% 미만으로 우리나라 산업자원부 기술표준원에서 정한 과일 식초의 조건을 만족하는 양파식초를 제조하는 것이 가능하였다(Fig. 6 및 7).

요 약

본 연구는 양파즙으로 식초를 생성하기 위해 수행되었다. 양파는 당, 아미노산, 다양한 영양분이 풍부하기 때문에 식초

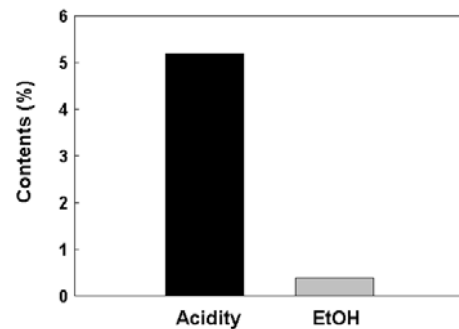


Fig. 6. Results of two-step fermentations by optimum condition. The first and second step fermentations were resulted in alcohol and acetic acid productions, respectively.

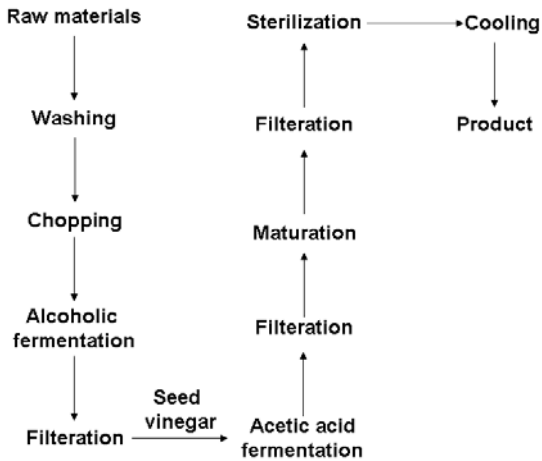


Fig. 7. A flow chart of vinegar production by two-step fermentations.

의 우수한 원료로 고려된다. 초산발효를 위해 초산균은 시판되고 있는 식초와 완숙된 김치로부터 분리하여 사용하였다. 양과즙 배지에 2-8% ethanol이 보충될 때, 4% ethanol 첨가에 의해 9일에 가장 높은 초산 생성능을 보였다. 초산 생성을 위한 적정온도는 30°C였고, 통기량은 200 rpm이 경제적인 것으로 나타났다. 초산 발효를 위해 표면적인 넓은 삼각 플라스크가 시험관보다 높은 생성 능력을 보였다. 그러므로 초산 생성을 위한 최적 조건은 초기 5% 알코올 함량과 2% 산도로, 30°C에서 200 rpm으로 9일 동안 배양하는 것으로 나타났다. 이 조건으로 초산 발효될 때, 5.2% 총산도와 1% 미만의 알코올이 잔존하는 것으로 나타났다. 이것은 산업자원부가 고시한 과일 음료 조건에 적합한 것으로 판명되었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지방기술혁신사업(RT105-03-02) 지원으로 수행하였음.

References

1. Cho, J. S. 1984. Species and properties of vinegar. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 38-87.
2. Hekmat, D. and D. Vortmeyer. 1992. Measurement control and modeling of submerged acetic acid fermentation. *J. Ferment. Bioeng.* **73**, 26-30.
3. Jeong, Y. J., J. H. Seo, G. D. Lee, N. Y. Park and T. H. Choi. 1999. The quality comparison of apple vinegar by two stages fermentation with commercial apple vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 353-358.
4. Kim, C. J., K. C. Kim, D. Y. Kim, M. J. Oh, S. G. Lee, S. O. Lee, S. T. Jung and J. H. Jung. 1990. Fermentation engineering. Sunjin Moonhasa.
5. Kim, H. J., S. H. Park and C. H. Park. 1985. Studies on the

production of vinegar from barley. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 350-354.

6. Kim, S. W., E. H., Oh and H. K., Jun. 2008a. Analysis of optimum condition for alcoholic drink production using onion extract. *J. Life Sci.* **18**, 871-877.
7. Kim, S. W., E. H. Oh and H. K. Jun. 2008b. Development of an alcoholic drink using onion extract. *J. Life Sci.* **18**, 980-985.
8. Kim, Y. D., S. H. Kang and S. K. Kang. 1996. Studies on the acetic acid fermentation using Maesil juice. *J. Korean Food Sci. Nutr.* **25**, 695-700.
9. Krige, N. R. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1, 267-278 In: *Acetobacteraceae*. Ley, J. D., M. Gillis and J. Swing (eds.), Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
10. Kwon, L. B., H. S. Chun and S. J. Kim. 1993. Isolation and characterization of *Acetobacter* sp. CS strain from Haenam vinegar. *Kor. J. Microbiol.* **31**, 99-104.
11. Lee, G. D., S. K. Kim and J. M. Lee. 2003. Optimization of the acetic acid fermentation condition for preparation of strawberry vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 812-817.
12. Lee, Y. C., M. S. Park, H. C. Kim, K. B. Park, Y. J. Yoo, I. K. Ahn and S. H. Son. 1993. Production of high acetic acid vinegar by single stage fed-batch culture. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **21**, 511-512.
13. Min, K. H., H. D. Kim and B. K. Hur. 1995. Effect of initial condition on the characteristics of ethanol fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 479-484.
14. Muraoka, H., Y. Watabe and N. Ogasawara. 1982. Effect of oxygen deficiency on acid production and morphology of bacterial cells in submerged acetic acid fermentation by *Acetobacter aceti*. *J. Ferment. Technol.* **60**, 171-180.
15. Oh, Y. J. 1992. A study on cultural conditions for acetic acid production employing pear juice. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 377-380.
16. Oki, Y., K. Hashimoto, T. Matsumoto, T. Kubota, M. Emoto and K. Kobashi. 1992. Production of vinegar from soybean oligosaccharide, *in vivo* and *in vitro* effects of the vinegar on human fecal microflora (Japanese). *Nippon Nogeikagaku Kaishi.* **66**, 727-732.
17. Park, H. P., S. J. Kim, J. C. Ryu, B. S. Pyo and S. W. Kim. 1993. Some properties of *Acetobacter* sp. isolated from traditional fermented vinegar. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* **8**, 397-401.
18. Persoon, C. H. 1822. *Mycologia Europaea.* **1**, 96.
19. Seo, J. H., N. Y. Park and Y. J. Jeong. 2001. Volatile components in persimmon vinegars by solid-phase microextraction. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 153-156.
20. Shin, K. R., B. C. Kim, J. Y. Yang and Y. D. Kim. 1999. Characterization of Yakju prepared with yeasts from fruits. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 801-804.
21. Yang, H. C. and D. S. Choi. 1979. Physiological characteristics of acetic acid bacteria isolated from clover flower vinegar. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **22**, 150-159.