

## 누룩 및 조효소제가 정치배양 현미식초의 유리아미노산과 휘발성분에 미치는 영향

이수원 · 윤성란 · 김귀란 · 경현규<sup>1</sup> · 정용진<sup>1</sup> · 여수환<sup>2</sup> · 권중호\*  
경북대학교 식품공학과, <sup>1</sup>계명대학교 식품가공학과, <sup>2</sup>농촌진흥청 발효이용과

### Effect of *Nuruks* and Crude Amylolytic Enzyme on Free Amino Acid and Volatile Components of Brown Rice Vinegar Prepared by Static Culture

Su-Won Lee, Sung-Ran Yoon, Gui-Ran Kim, Hyun-Kyu Kyung<sup>1</sup>, Yong-Jin Jeong<sup>1</sup>, Soo-Hwan Yeo<sup>2</sup>, and Joong-Ho Kwon\*

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Keimyung University

<sup>2</sup>Fermentation and Food Processing Division, Department of Agrofood Resources, NAAS, RDA

**Abstract** The effect of *nuruks* and crude amylyolytic enzyme on free amino acid and volatile components of brown rice vinegar prepared by static cultures was investigated. Five groups consisted of AV (100% *nuruk* without crude amylyolytic enzyme), BV (75% *nuruk*; 25% crude amylyolytic enzyme), CV (50% *nuruk*; 50% crude amylyolytic enzyme), DV (25% *nuruk*; 75% crude amylyolytic enzyme) and EV (100% crude amylyolytic enzyme without *nuruk*). Free amino acid content in AV vinegar (132.06 mg%) was lower than the others (184.56-191.22 mg%). Acetic acid, 3-methyl butyl acetate, acetoin and isoamyl alcohol were major volatile components as analyzed using gas chromatography-mass spectrometry after headspace solid-phase microextraction. Acetic acid in AV and EV samples represented 67.56% and 55.53% of total GC peak area, respectively. E-nose provided different patterns in each case showing variation in sensory properties.

**Keywords:** *nuruk*, crude amylyolytic enzyme, brown rice vinegar, free amino acid, volatile compounds

## 서 론

현미는 백미보다 소화율이 낮은 단점이 있으나 외피에는 식이 섬유, 식물성단백질, 지방질 등이 많이 함유되어 있고 인, 칼륨, 마그네슘, 나트륨, 철분 등의 무기질, 비타민 B, 비타민 E, 엽산 등의 비타민류 및 필수아미노산의 함량이 높다(1,2). 특히 현미의  $\gamma$ -aminobutyric acid는 비단백태 아미노산으로 동물 중추신경계의 주된 억제성 신경전달물질로 잘 알려져 있다. 또한 뇌세포의 대사기능향진, 혈압강화 및 통증완화, prolactin 분비와 성장호르몬 분비조절에도 관여하여 약리적으로 매우 관심이 높은 생리활성 물질이며(3-5), 최근에는 이러한 현미를 활용한 다양한 가공제품들이 개발되고 있다. 이 중 현미식초는 소량의 휘발성 및 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산, ester 등을 함유한 독특한 방향과 신맛을 가진 대표적인 발효식품으로, 음식을 조리할 때 신맛을 내게 하는 조미료로 쓰이는 것은 물론 짠맛, 단맛 등의 음식 맛을 부드럽게 하고 특유의 향미를 더해 줄 뿐만 아니라, 소스, 마요네즈, 드레싱, 케찹의 원료, 향미 재료로 이용되고 있다(6). 국

내 곡물식초 품질기준은 곡물 함량 4% 이상을 함유하여야 하며, 최근 곡물함량을 높여 유기산 및 아미노산이 풍부한 생쌀발효 흑초와 같은 고품질 발효식초로 소비 패턴이 변화됨에 따라(7), 전통적인 배양 및 숙성방법을 이용한 정치배양 고품질 발효식초가 시판되어 관심이 높아지고 있다. 전통적인 숙성방법의 정치배양법은 자연발효 함으로써 원료의 특성이 많이 잔존하여 영양성이 우수하며, 관능적으로 우수한 휘발성 향기성분이 많이 검출되어 식초의 고급화 추세 및 다양화로 시장 규모가 크게 성장할 것으로 기대된다.

일반적으로 정치발효 현미식초 제조시 사용되는 누룩은 국(麴)의 한 종류로 곡물의 당화력을 높이는 발효 촉매제로 사용되어진다. 이러한 발효제로 사용되어지는 국(麴)은 전분을 당분으로 전환하는 당화제로서 우리나라 고유의 전통적인 누룩(재래누룩), 광복이후부터 점진적으로 사용되어온 입국(*koji*), 1960년 이후부터 개발 보급되었던 조효소제 및 정제효소제 등이 있다(8,9). 우리나라의 전통적인 주류인 탁·약주는 쌀을 원료로 하고 누룩을 발효제로 하여 양조 되고 있다(10). 이러한 재래누룩은 곡류를 조분쇄하여 살균하지 않고 생 전분을 그대로 일장크기로 성형하여 자연 발효상태에서 제조하기 때문에 곰팡이, 효모, 세균류 등의 다양한 종류의 미생물이 존재함으로써 곰팡이에 의한 전분의 당화력과 효모에 의한 알코올 발효를 동시에 지니게 되어 여러 균주의 조성에 의해 양조되므로 탁주의 풍미가 다양한 장점이 있다(11). 반면에 불필요한 미생물 증식에 의하여 효소력 및 효모수가 낮아져 제품의 균일성을 유지하기 어렵기 때문에 많은 양을 사용할 경우 술에 불쾌취를 나타내기도 한다(12,13). 조효소제

\*Corresponding author: Joong-Ho Kwon, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Tel: 82-53-950-5775

Fax: 82-53-950-6772

E-mail: jhkwon@knu.ac.kr

Received July 21, 2011; revised October 13, 2011;

accepted October 13, 2011

는 재래누룩의 주균인 *Rhizopus* 및 *Aspergillus* 등 당화효소 생성 균을 인위적으로 배양하여 당화력을 높인 것으로 재래누룩의 복잡한 맛과 당화력을 동시에 높일 수 있다(8). 또한 술덧의 안전한 발효와 잡균오염이 방지되어 품질이 균일한 술이 제조되는 장점이 있다(12). 최근에는 누룩 및 조효소제를 혼합하여 사용하는 경우가 많으며, 이러한 누룩 및 조효소의 혼합 첨가에 따라 미생물에 의한 효소활성, 유기산 생산력 및 알코올 발효력 등이 달라지므로 탁주의 휘발성 풍미 성분, 맛, 색상 등의 품질특성에 큰 영향을 미치는 것으로 판단된다(14).

전통 재래방식인 병행복합발효 식초는 발효과정 중 생성되는 풍부한 향미가 있는 반면에, 장기간의 비위생적인 발효과정을 거침으로써 이미·이취의 발생과 수율이 낮아 대량 생산 시 문제점으로 지적되고 있다(15). 현재 대량 생산 되고 있는 저가의 현미식초는 주정을 첨가하여 알코올 발효과정 없이 초산발효만을 한 것으로 풍부한 향미를 주지 못하는 단점이 있다(7). 또한 곡물식초는 발효법, 관여 미생물의 종류, 발효조건, 숙성기간 및 원료의 상태 등 여러 가지 요인들로 인해 다양한 향기성분들이 조화를 이루어 복합적인 향미를 형성하는 것으로 보고되고 있다(16). 그러나 현재까지 곡류를 원료로 한 술덧에 관한 휘발성 성분분에 관한 연구는 활발히 이루어지고 있으나(17) 이를 활용한 식초 제조시 휘발성 성분분에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 현재까지 보고된 현미식초의 휘발성 성분분에 관한 연구는 시판 현미식초의 주정 첨가 유무에 따른 휘발성 성분 및 관능적 특성 비교(18), 효모 종류 및 발효 방식에 따른 현미식초의 유기산 및 휘발성분 특성(19) 등의 연구로 초산발효공정 전 단계의 품질에 의해 식초의 휘발성 성분분에 영향을 미친다는 보고들이 있다. 이에 Lee 등(20)의 연구에 의하면 식초발효시 전단계의 발효공정인 술덧의 제조에 사용되어지는 누룩함량에 따라서 현미식초의 이화학적 품질에 영향을 주는 것으로 보고 하였으며, 이러한 결과는 현미식초의 휘발성 성분분에도 영향을 미칠 것으로 판단된다.

이에 본 연구에서는 누룩 및 조효소제를 비율별로 첨가한 술덧을 제조한 후 정치배양법으로 생산한 현미식초의 유리아미노산 및 휘발성 향기성분의 패턴을 비교함으로써 유리아미노산 및 휘발성 성분이 풍부한 고품질의 정치배양 현미식초 제조를 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 사용균주

본 실험에 사용된 현미는 2010년 경북 상주시방에서 재배한 일반계 현미를 구입하였으며, 현미 알코올발효에 사용된 액화효소제  $\alpha$ -amylase(14,500 unit/g, Daiwa kasei, Japan)는 (주)이앤바이오텍(E&Bio tech Co., Ltd., Korea)에서 구입하여 실온에 보관하면서 사용하였다. 누룩은 상주곡자(주)에서 구입하였고, 조효소제는 *Aspergillus uasmi*로 배양된 상품명으로 CU210(4,000 s.p., *Asp. usami*)을 한국효소주식회사(Korea Enzyme Co., Ltd., Hwaseong, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 현미 알코올발효에 사용된 효모는 K대학교 식품공학학과 발효공학실에서 보관중인 *Saccharomyces cerevisiae* GRJ를 YPD agar배지(yeast extract 1%, peptone 2%, glucose 2%, agar 2%, pH 6.0)에서 30°C, 24시간 계대배양하였으며, 초산균은 *Acetobacter pomorum* KJY 8 (KCTC 10173BP)을 고체배지(glucose 3%, yeast extract 0.5%, CaCO<sub>3</sub> 1%, ethanol 3%, agar 2%, pH 7.0)에서 30°C, 48시간 계대배양한 후 4°C에서 냉장보관하면서 사용하였다.

### 주모 및 증초

주모는 코오지 500 g에 정제수 1,500 mL를 가수하여 55°C에서 6시간 동안 당화시켜 부직포로 여과한 후 10°Bx가 되도록 조절하였다. 이 당화액을 121°C에서 15분간 살균시킨 다음 *Saccharomyces cerevisiae* GRJ를 접종하여 항온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 30°C, 24시간 동안 정치배양 시켜 원료량에 5%(v/w)를 사용하였고, 초산발효에 사용된 증초는 현미 알코올발효액을 알코올함량 6%로 희석한 후 *Acetobacter pomorum* KJY 8(KCTC 10173BP)을 접종하여 30°C에서 250 rpm으로 교반하여 10일간 배양시켜 사용하였다.

### 누룩 및 조효소제 비율에 따른 현미 알코올발효 및 초산발효

현미 분말시료 600 g을 5 L 발효탱크에 넣고 480%(v/w)로 가수한 다음 액화효소제 0.03%(v/w)를 첨가하여 진탕배양기(HB 205SWM, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 90°C로 150 rpm, 60분간 가수분해하였다. Lee 등(20)의 최적조건으로 액화된 현미 현탁액 대비 30%(w/w)의 누룩 첨가량에서 누룩 및 조효소제 비율을 각각 A(*Nuruk* 100:crude amylolytic enzyme 0), B(*Nuruk* 75:crude amylolytic enzyme 25), C(*Nuruk* 50:crude amylolytic enzyme 50), D(*Nuruk* 25:crude amylolytic enzyme 75) 및 E(*Nuruk* 0:crude amylolytic enzyme 100)로 첨가한 다음 주모 5%(v/v)를 접종하여 항온배양기에서 30°C, 3일 동안 정치배양 시켰으며, 발효 종료 후 부직포로 1차 여과한 다음 17,000×g으로 5분 동안 원심분리 시킨 상등액을 초산발효 시료로 사용하였다. 상기의 누룩 및 조효소제 첨가 비율별 현미 알코올발효 여과액을 알코올 함량 6%(v/v)로 조절한 후, 증초 10%(v/v)를 접종하여 항온배양기에서 30°C로 24일간 정치배양 시켰다. 각각 발효된 현미식초 AV(*Nuruk* 100:crude amylolytic enzyme 0), BV(*Nuruk* 75:crude amylolytic enzyme 25), CV(*Nuruk* 50:crude amylolytic enzyme 50), DV(*Nuruk* 25:crude amylolytic enzyme 75) 및 EV(*Nuruk* 0:crude amylolytic enzyme 100)는 17,000×g로 5분 동안 원심분리 시킨 상등액을 분석시료로 사용하였다.

### 유리아미노산 분석

현미식초의 유리아미노산은 초산발효액 10 mL에 ethanol 30 mL를 가한 다음 24시간 실온에 방치시켜 단백질을 침전·제거하고 상등액을 12,000×g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 중탕가열 건조시켰다. 그리고 pH 2.2의 citrate buffer 10 mL를 가하여 희석한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과한 여액을 amino acid autoanalyzer(L-8800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다(21). 분석조건으로 column은 cation separation column(LCAK07/Li, 4.6×150 mm)을 사용하였고, buffer 용액(pH 2.90-7.95)의 flow rate는 0.45 mL/min, reagent flow rate는 ninhydrin으로 0.25 mL/min, detector의 파장은 440 nm와 570 nm로 분석하였다.

### 전자코 분석

시료의 향기성분 패턴 분석에 사용된 전자코는 SAW(surface acoustic wave) 센서를 사용한 전자코 시스템(zNose 7100, Electronic Sensor Technology, Newbury park, CA, USA)을 사용하였다. 식초 2 mL를 40 mL vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 테플론으로 코팅된 septa(PTFE/silicone septa, Supelco)로 봉하여 실온에서 24시간 방치한 후 측정하였다. Headspace 부분이 운반기체(고순도 헬륨, 99.9995%)에 의해 DB-5 capillary column(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 의해 단일물질로 분리된 후

SAW 센서로 검출하였다. 재현성을 알아보기 위하여 매 시료마다 3회 반복 실험을 실시하였으며, 이때 사용된 기기의 온도 조건은 SAW sensor 30°C, column 60°C, valve 120°C, inlet 150°C, trap 220°C이었다. 그리고 측정된 향기패턴은 VaporPrint™ 프로그램(Misrosense 4.88, Electronic Sensor Technology)을 이용하여 분석하였으며, 검출된 주 peak를 대상으로 SAS program(version 8.1)을 사용하여 principal component analysis(PCA)를 분석하여 시료 간 패턴을 비교 도시하였다.

### 휘발성 성분 분석

시료의 휘발성분 포집을 위해서 carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS, 75 µm thickness)로 코팅된 SPME fiber(Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 휘발성분을 흡착시켰다. 휘발성 성분을 흡착하기 전 fiber는 GC로 250°C에서 5분간 예열시켰으며, SPME 포집은 NaCl 25%에 시료 5 mL를 첨가하여 headspace vial(22.5×75 mm, PTFE/silicon septum, aluminum cap)에 넣어 예열된 SPME fiber를 주입하였다. 시료는 35 heating block에서 5분간 예열하였고 SPME fiber는 10분 동안 휘발성분을 포집하였으며, 그 후 GC에 주입하여 2분 동안 탈착을 위해 유지하였다. 휘발성분 분석을 위하여 MSD(mass selective detector)가 부착된 GC(Agilent GC 6890, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며, HP-FFAP capillary column(30 m×0.25 mm×0.25 µm)과 He이 carrier gas(1 mL/min)로 사용되었다. 이 때 oven 온도는 35°C에서 10분 유지되었고 100°C까지는 분 당 5°C로, 210°C까지는 분 당 10°C로 상승시켜 10분 동안 유지하였다. MS system 조건으로서 MS source, MS quadrupole 및 transfer line은 각각 230, 150 및 280°C이었고, 사용된 library는 Wiley7Nist0.5(Wiley7Nist0.5 Library, mass spectral search program, version 5.0, USA)이었다.

## 결과 및 고찰

### 유리아미노산 함량

누룩 및 조효소제 첨가 비율별 현미식초의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)보다 조효소를 함께 첨가하여 제조한 현미식초(BV-EV)에서 threonine, glutamic acid, alanine, valine, leucine, phenylalanine 등이 10 mg% 이상으로 높게 나타났다. 단맛과 쓴맛을 동시에 나타내는 proline이 유리아미노산 중 가장 높은 함량을 보여주었는데 AV가 17.11 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었고, BV, CV, DV, EV는 비슷한 함량을 보였다. 감칠맛을 나타내는 glutamic acid, 단맛을 나타내는 threonine, serine, glycine 및 alanine, 쓴맛을 나타내는 leucine, isoleucine, phenylalanine 및 arginine, 약한 쓴맛을 나타내는 valine, tyrosine 및 histidine의 함량은 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)보다 조효소를 함께 첨가하여 제조한 현미식초(BV, CV, DV, EV)에서 많은 함량을 보였으며, 4개월간의 값은 비슷한 경향을 보였다. Joo 등(22)의 연구에서 누룩을 이용하여 발효한 현미식초는 glutamic acid, glycine, arginine, alanine, proline, tyrosine, valine, leucine 및 tryptophan 등이 높은 함량을 나타내었다고 보고하였으며, 본 연구에서는 발효제의 첨가비율에 따라서 유리아미노산 함량들이 차이가 있음을 볼 수 있었다. 또한 Shin과 Jeong(5)의 연구에서는 식초의 아미노산 함량은 식초제조에 이용한 초산균의 종류, 원료의 종류, 도정, 알코올 발효 조건 등에 따라 차이가 있는 것으로도 보고하였다. 본 연구에서 누룩 및 조효소제 비율에 따른 아미노산 조성에 관한 결과 필수아미노산은 DV에서 75.39 mg%로 높게 나타났으며, 비필수

아미노산 및 아미노산 유도체는 CV에서 각각 84.92, 36.01 mg%로 높게 나타났다. 총 유리아미노산 함량은 AV에서는 130.06 mg%로 가장 낮았고, BV, CV, DV, 및 EV는 190 mg% 전후로 비슷한 함량을 나타내었다. 특히 현미의 주된 생리활성 물질인  $\gamma$ -aminobutyric acid의 경우 AV에서는 2.02 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었고 BV 7.60 mg%, CV 6.92 mg%, DV 8.36 mg%, EV 9.15 mg%로 나타나 조효소제 비율이 높을수록  $\gamma$ -aminobutyric acid 함량이 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 조효소제를 일부 첨가하여 제조한 현미식초(BV, CV, DV, EV)가 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)에 비하여 필수아미노산 및 총 유리아미노산 함량이 높게 나타났으며, 이때 누룩 및 조효소제 비율 25:75(CV)로 발효하였을 때 필수아미노산 및 총 유리아미노산 함량도 높으며, 또한  $\gamma$ -aminobutyric acid함량도 다소 높게 나타나 고품질의 식초를 제조하는데 적합한 비율이라고 판단된다.

### 전자코 패턴

식초는 초산 이외에 acid, aldehyde, alcohol, ketone, ester류 화합물의 상호작용에 의해 특유의 향미를 형성한다(17). 누룩 및 조효소제 첨가 비율에 따른 현미식초의 초산발효기간 중 전자코 패턴 변화를 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. 초산발효 0일째에는 전자코 분석시 2.30, 3.20, 3.54, 3.80, 4.96, 6.70초에서 누룩 및 조효소제 비율에 따라 peak의 차이를 보였다. 발효가 진행됨에 따라 0.60, 0.94, 1.58, 1.70초에서 높은 peak들이 나타났으며, 발효 종료 후 2-4초 사이의 peak들은 누룩 및 조효소제의 비율에 따라 현저한 차이를 나타내었다. 따라서 2초 이내의 peak들은 초산 발효 과정 중 생성된 acetic acid에 의해 나타난 peak인 것으로 추측되어졌으며, 그 이후 2-4초 사이의 peak들은 누룩 및 조효소제 비율에 의해 생성된 peak들인 것으로 추측되어진다. Fig. 1의 전자코 패턴 peak들에 대하여 주성분 분석을 실시하여 누룩 및 조효소제 비율에 따른 향기패턴의 차이를 나타낸 결과는 Fig. 2와 같다. 발효 0일째는 AV, BV 및 CV에서 향기패턴의 차이를 볼 수 있었으나, DV 및 EV에서는 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 발효 12일째는 발효 0일째와 같이 DV와 EV가 비슷한 패턴으로 발효되었다. 그러나 발효 24일째는 누룩 및 조효소제를 단독으로 사용하여 발효시킨 AV 및 EV에서 뚜렷한 향기 패턴 차이를 보였고, 누룩 및 조효소제 혼합 비율로 발효시킨 BV, CV 및 DV는 유사한 향기 패턴을 나타내었다. 또한 발효 24일째 현미식초의 전자코 분석을 frequency 패턴으로 나타낸 결과 각각의 누룩 및 조효소제 비율에 따라 독특한 양상으로 나타남을 볼 수 있었다(Fig. 3). 전자코는 올리브유의 품질, 품종, 원산지 등을 구분하는데 활용되어 졌으며(23), 볶은 커피의 원산지 및 배합 커피의 상품별 분류 연구에도 활용되어지고 있다(24). 본 연구에서는 누룩 및 조효소제 첨가 비율에 따른 현미식초에 대한 향기패턴의 차이를 SAW 센서를 이용한 전자코로 신속하게 확인 가능함을 볼 수 있었으며, 식초의 향기 비교분석에 전자코의 활용이 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

### 휘발성 향기성분

식초의 휘발성 향기성분은 주된 휘발성 성분인 초산 이외에 각종 유기산이나 방향성 물질이 발효과정에서 생성되기도 하고 원료인 쌀이나 보리의 성분 등이 이행되어 각각의 고유한 향이 되는 것으로 알려져 있다(25). 누룩 및 조효소제 첨가 비율에 따른 현미식초의 휘발성 향기성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 누룩 및 조효소제 비율에 따른 현미식초의 주된 휘발성분은 acetic acid, 3-methyl butyl acetate, acetoin, isomayl alcohol 등의 20종

**Table 1. Free amino acid contents in brown rice vinegar by static cultures with different *Nuruk* and crude amylolytic enzyme contents**

Amino acids (mg%)	Sample					
	AV	BV	CV	DV	EV	
Essential amino acid	Threonine	5.72 <sup>3)</sup>	11.18	10.05	12.89	9.77
	Methionine	4.39	7.22	7.22	7.66	7.34
	Isoleucine	6.14	9.73	9.43	10.23	10.23
	Leucine	9.41	11.68	11.68	12.36	12.12
	Phenylalanine	9.10	11.03	11.15	11.50	11.52
	Valine	8.16	10.99	10.98	11.31	10.73
	Lysine	8.50	9.50	9.78	9.44	9.53
Total	51.42	71.33	70.29	75.39	71.24	
Non-essential amino acid	Aspartic acid	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	ND	ND
	Serine	3.42	8.41	7.74	9.51	7.95
	Glutamic acid	5.40	11.62	11.72	12.44	8.15
	Glycine	3.99	5.43	5.18	5.79	5.91
	Alanine	6.38	10.74	10.65	10.80	11.42
	Tyrosine	8.61	8.99	9.70	6.31	7.05
	Histidine	6.82	9.15	8.68	8.32	11.82
	Arginine	4.64	4.96	5.60	5.76	4.89
	Proline	17.11	23.75	25.65	25.37	24.23
Total	58.37	83.05	84.92	84.30	81.42	
Amino acid derivative	Phosphoserine	ND	ND	ND	ND	ND
	Phosphoethanolamine	ND	ND	ND	ND	ND
	Taurine	ND	ND	ND	ND	ND
	$\alpha$ -Aminoadipic acid	0.78	0.56	0.71	ND	ND
	$\alpha$ -Aminobutyric acid	0.45	1.41	1.22	2.42	6.18
	Citrulline	1.01	ND	ND	ND	ND
	Cystachionine	3.62	2.46	5.61	2.63	2.31
	$\beta$ -Alanine	2.45	2.85	3.80	3.04	2.57
	$\beta$ -Aminoisobutyric acid	ND	1.09	2.33	1.40	1.15
	$\gamma$ -Aminobutyric acid	2.02	7.60	6.92	8.36	9.15
	Ethanolamine	0.84	1.78	1.69	1.62	1.79
	DL-Allohydroxylysine	2.43	1.90	2.34	1.65	1.51
	Ornithine	7.38	8.06	8.22	8.15	8.11
	Carnosine	1.29	2.47	3.17	2.07	1.90
Total	22.27	30.18	36.01	31.34	34.67	
Total amino acids	130.06	184.56	191.22	191.03	187.33	

<sup>1)</sup>AV: Brown rice vinegar produced by *Nuruk* (100): crude amylolytic enzyme (0) ratio, BV: Brown rice vinegar produced by *Nuruk* (75): crude amylolytic enzyme (25) ratio, CV: Brown rice vinegar produced by *Nuruk* (50): crude amylolytic enzyme (50) ratio, DV: Brown rice vinegar produced by *Nuruk* (25): crude amylolytic enzyme (75) ratio, EV: Brown rice vinegar produced by *Nuruk* (0): crude amylolytic enzyme (100) ratio.

<sup>2)</sup>ND: Not detected.

<sup>3)</sup>Quoted values are means of duplicate experiments.

으로 검출되어졌다. Alcohol류는 phenylethyl alcohol, isoamyl alcohol의 비율이 높은 것으로 나타났으며, ester류는 ethyl acetate, 3-methyl butyl acetate 비율이 높은 것으로 나타났다. 주된 휘발성 향기 성분은 acetic acid로써 AV가 67.56%로 가장 높게 나타났고, EV가 55.53%로 낮게 나타났다. Acetic acid는 자극취를 나타내는 산미로서, 초산균에 의해 생성되는 산화생성물로서 식초의 주된 휘발성 성분으로 나타났다(26,27). Acetoin은 버터나 발효유의 주요 향기성분으로 양조주나 과즙음료에서 나쁜 냄새의 원인이 되는 향기성분으로 Jones와 Greenshields(16,28)이 연구한 malt vinegar의 휘발성 성분 연구와 Blanch 등(29)이 연구한 conventional wine vinegar와 sherry wine vinegar의 휘발성 성분 연구에서도 acetoin이 보고되었다. 특히 acetoin이 보고된 식초들은 식

초가 알코올 및 초산 발효 과정을 거치면서 생성되는 것으로 나타났다. 본 연구에서는 AV에서 4.74%로 가장 높게 나타났고, 조효소제 첨가 시료들에서는 3% 전후로 낮았다. Ethyl acetate는 에탄올과 초산의 에스테르화 반응으로 쉽게 생성이 되어지는 것으로 알려져 있으며(30), rose, floral, sweet 및 fruity향을 나타낸다(31). 특히 이 성분은 우리나라 전통 민속 소주, 맥주, 일본 소주의 주요 에스테르 성분이나 농도가 높으면 오히려 고미의 원인이 되는 향미로 알려져 있다(31). Phenylethyl acetate는 phenylethyl alcohol이 초산으로 에스테르화 되어 생성되며, 벌꿀 향을 비롯한 장미향, 사과향 등의 여러 종류의 향미를 생성함으로 fantasy 향료나 과일 에센스 제조에 많이 이용되는 좋은 향기성분이다(26,32). Isoamyl alcohol은 탁주의 주요 향기성분(17)이고,

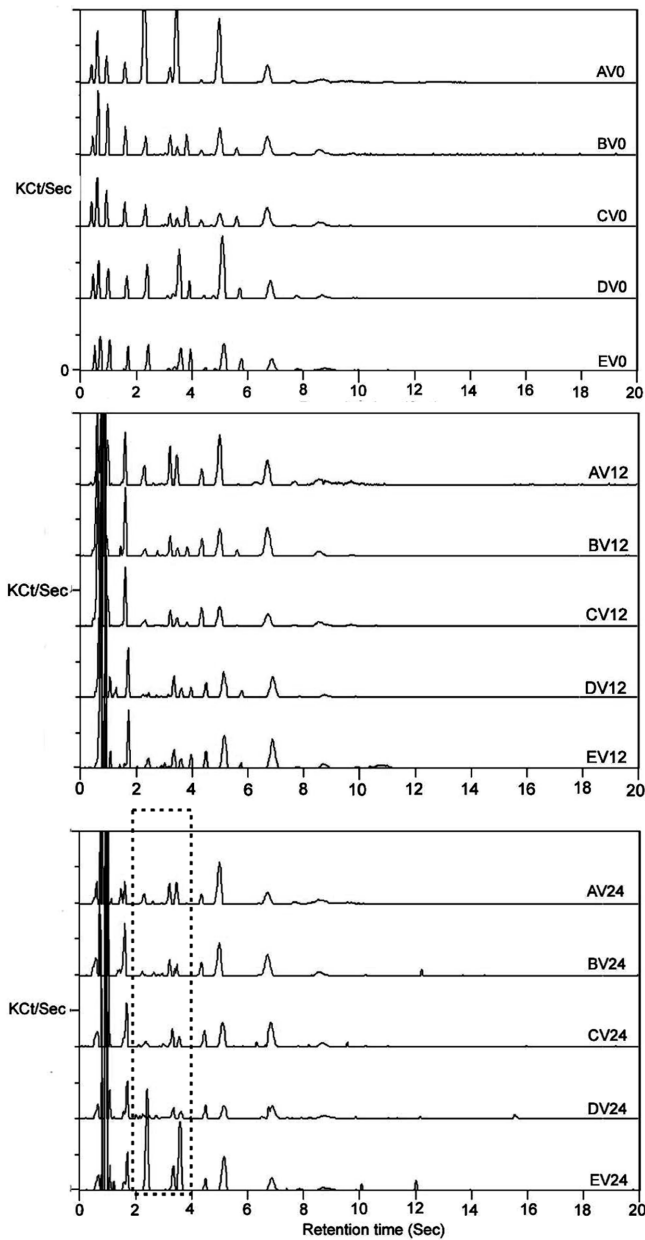


Fig. 1. Derivative pattern of electronic nose chromatogram in brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* and crude amyolytic enzyme content at 0, 12 and 24 day. AV-EV: Refer to Table 1.

isoamyl acetate는 배, 바나나, 사과의 향미를 생성하는 주요 ester 류이다(32,33). 사과 및 포도향의 주요 향기성분인 ethyl acetate와 phenylethyl acetate는 조효소제 첨가 현미식초에서 다소 높게 나타남으로써 보다 깊고 풍부한 향을 내는 것으로 생각되어지며, 조효소제 비율에 따른 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. 따라서 SPME법을 이용해 향기성분을 분리·동정한 결과 조효소제를 일부 첨가하여 제조한 현미식초(BV, CV, DV, EV)가 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)에 비하여 초산향의 상대적 농도는 다소 감소하였으나 관능적으로 좋은 향이 상대적으로 증가하는 경향으로 나타났다. 특히 조효소제만으로 발효한 EV는 이취성분인 acetoin, isobutyric acid 및 valeric acid도 다른 시료에 비해 낮거나 검출되지 않아 소비자의 향에 대한 관능적 측면에서는 우수할 것으로 판단된다.

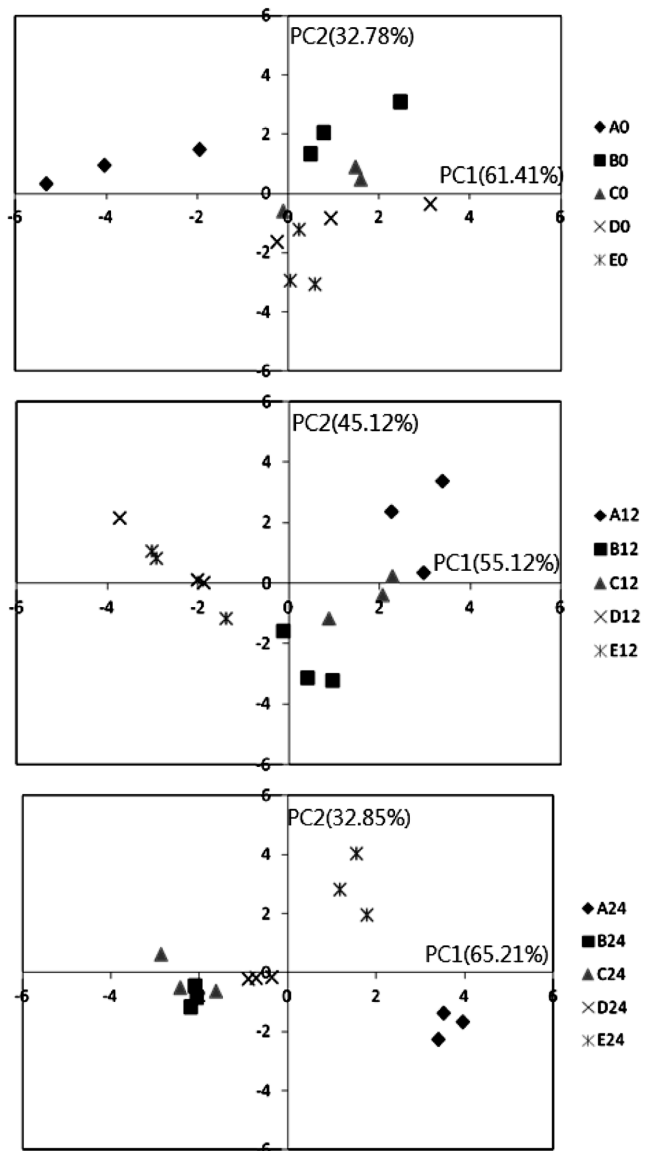
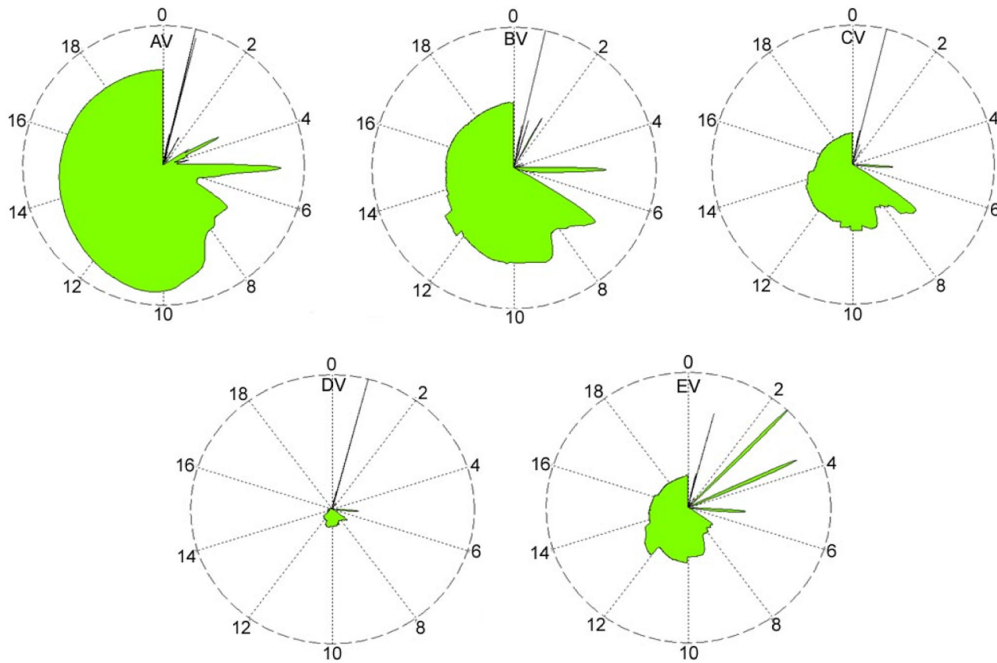


Fig. 2. Principal component analysis of main peaks in brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* and crude amyolytic enzyme content at 0, 12 and 24 day. AV-EV: Refer to Table 1.

## 요 약

본 연구에서는 누룩 및 조효소제 첨가 비율을 달리하여 제조한 현미식초의 유리아미노산 및 휘발성 성분에 관한 품질특성을 조사하였다. 총 유리아미노산 함량은 AV에서는 130.06 mg%로 가장 낮았고, BV, CV, DV, EV는 190 mg% 전후로 비슷한 함량을 나타내었다. 조효소제를 일부 첨가하여 제조한 현미식초(BV, CV, DV, EV)가 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)에 비하여 필수아미노산 및 총 유리아미노산 함량이 높게 나타났다. 전자코 분석 결과 발효 24일째 누룩 및 조효소제를 단독으로 사용하여 발효시킨 AV 및 EV에서 뚜렷한 향기 패턴 차이를 보였고, 누룩 및 조효소제 혼합 비율로 발효시킨 BV, CV 및 DV가 유사한 향기 패턴으로 보였다. 누룩 및 조효소제의 첨가비율에 따른 현미식초의 주된 휘발성분은 acetic acid, 3-methyl butyl acetate, acetoin, isomyl alcohol 등의 20종으로 검출되어졌다. Alcohol류는



**Fig. 3.** Polar frequency pattern in brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* and crude amylolytic enzyme content. AV-EV: Refer to Table 1.

**Table 2.** Flavor composition identified by GC-MS of five brown rice vinegars collected by HS-SPME method (Unit: peak area, %)

Peak	RT (min)	Compounds	Sample <sup>1)</sup>				
			AV	BV	CV	DV	EV
1	2.34	Isovaleric aldehyde	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	2.00±0.05	ND
2	2.46	3-Methylbutanal	ND	ND	ND	ND	1.79±0.04
3	4.90	Methyl acetate	ND	ND	ND	0.15	ND
4	6.79	Ethyl acetate	1.98±0.04 <sup>3)</sup>	2.57±0.05	1.59±0.02	2.53±0.05	3.14±0.07
5	9.67	Ethyl alcohol	0.37±0.08	0.51±0.14	ND	0.38±0.09	0.37±0.02
6	14.06	Isobutyl acetate	1.85±0.08	1.87±0.07	2.03±0.05	2.59±0.08	3.64±0.15
7	18.48	Isobutyl alcohol	0.43±0.10	0.38±0.08	0.30±0.08	0.38±0.02	0.34±0.06
8	19.52	3-Methyl butyl acetate	12.37±0.74	16.97±1.21	17.13±0.97	19.53±1.13	25.18±1.25
9	22.56	1-Limonene	ND	0.25±0.05	ND	ND	ND
10	23.10	Isoamyl alcohol	3.81±0.94	3.84±0.42	2.90±0.45	3.25±0.45	2.87±0.14
11	25.88	Acetoin	4.74±0.12	2.62±0.78	3.84±0.34	2.83±0.15	2.72±0.14
12	27.98	Propylene glycol	0.23±0.05	ND	0.26±0.02	0.20±0.04	0.19±0.03
13	31.87	Acetic acid	67.56±2.75	64.92±1.62	66.71±1.45	60.96±1.59	55.53±2.17
14	34.79	Benzaldehyde	1.12±0.07	0.33±0.02	0.31±0.06	0.40±0.02	0.25±0.03
15	36.51	Isobutyric acid	0.37±0.05	ND	ND	0.63±0.12	ND
16	36.57	2,3-Butanediol	0.50±0.08	0.72±0.02	0.72±0.06	ND	ND
17	40.32	3-Methyl butyrate	0.93±0.11	ND	ND	ND	ND
18	40.34	Valeric acid	ND	0.78±0.14	0.79±0.08	ND	ND
19	45.38	Phenethyl acetate	0.90±0.03	0.89±0.08	1.00±0.04	1.15±0.05	1.28±0.08
20	48.70	Phenethyl alcohol	1.21±0.02	1.01±0.06	1.24±0.04	1.19±0.03	1.02±0.04

<sup>1)</sup>AV-EV: Refer to Table 1.

<sup>2)</sup>ND: Not detected.

<sup>3)</sup>Each values is expressed as mean±SD (n=3).

phenylethyl alcohol, isoamyl alcohol의 비율이 높은 것으로 나타났다으며, ester류는 ethyl acetate, 3-methyl butyl acetate 비율이 높은 것으로 나타났다. 발효제로 누룩 및 조효소제의 첨가비율을 달리하였을 때 조효소제를 일부 첨가하여 제조한 현미식초(BV,

CV, DV, EV)가 누룩만 첨가하여 제조한 현미식초(AV)에 비하여 초산량의 상대적 농도는 다소 감소하였으나, 관능적으로 좋은 향의 상대적 농도가 증가하였으며, 특히 조효소제만으로 발효시 이취성분들도 감소되어지거나 검출되지 않음을 볼 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007173012011)의 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

## 문헌

- Choi JH. Quality characteristics of the bread with sprouted brown rice flour. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* 17: 323-328 (2001)
- Lee WJ, Jung JK. Quality characteristics and preparation of noodles from brown rice flour and colored rice flour. *Korean J. Culin. Res.* 8: 267-278 (2002)
- Nakagawa K, Onoto A. Accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ. *Food Processing* 31: 43-46 (1996)
- Jakobs C, Jacken J, Gibson KM. Inherited disorders of GABA metabolism. *J. Inherit. Metab. Dis.* 16: 704-715 (1993)
- Shin JS, Jeong YJ. Changes in the components of acetic acid fermentation of brown rice using raw starch digesting enzyme. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 381-387 (2003)
- Jeong YJ. Production of beverages and fruits vinegar using Kyungpook special products (persimmon, apple and grape). *Korean J. Food Ind. Nutr.* 5: 53-59 (2000)
- Jeong YJ. Current trends and future prospects in the Korean vinegar industry. *Food Sci. Indus.* 42: 52-59 (2009)
- Yeo SH, Jeong YJ. Current trends and development a plan in the Korean *makgeolli* industry. *Food Sci. Indus.* 43: 55-64 (2010)
- Jeong YJ. *Brewing Technology*. Keimyung University Press, Daegu, Korea. pp. 59-60 (2008)
- Lee SS, Kim KS, Eom AH, Sung CK, Hong IP. Production of Korean traditional rice-wines made from cultures of the single fungal isolates under laboratory conditions. *Korean J. Mycol.* 30: 61-65 (2002)
- Kim GW. Modernization and standardization of traditional *nuruk*. *Korean J. Soc. Mycol.* 14: 37-40 (2002)
- Park CS, Lee TS. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 296-302 (2002)
- So MH, Lee YS, Noh WS. Improvement in the quality of *takju* by a modified *nuruk*. *Korean J. Food Ind. Nutr.* 12: 427-432 (1999)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using different *nuruks*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 563-570 (1997)
- Jang SY, Jeong YJ. Effect of lactate and corn steep liquor on the production of bacterial cellulose by *Gluconobacter perimmonis* KJ145T. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 561-565 (2005)
- Jones DD, Greenshields RN. Volatile constituents of vinegar. Formation of volatiles in a commercial malt vinegar process. *J. Inst. Brew.* 76: 55-60 (1970)
- Lee TS, Han EH. Volatile flavor components in mash of *takju* by using *Rhizopus japonicus nuruks*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 691-698 (2000)
- Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Jeong YJ, Yeo SH, Choi HS, Kwon JH. Volatile compounds and sensory properties of commercial brown rice vinegars fermented with and without ethanol. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 527-532 (2010)
- Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Properties of organic acids and volatile components in brown rice vinegar prepared using different yeasts and fermentation methods. *Korean J. Food Preserv.* 17: 733-740 (2010)
- Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Yeo SH, Jeong YJ. Quality characteristics of brown rice vinegar prepared using varying amounts of *nuruk* (an amyolytic enzyme preparation) and employing different fermentation conditions. *Korean J. Food Preserv.* 18: 26-32 (2011)
- Oh YA, Kim SD, Kim KH. Changes of sugars, organic acids and amino acids content during fermentation of pine needle added kimchi. *J. Food Sci. Technol.* 9: 45-50 (1997)
- Joo KH, Cho MH, Park KJ, Jeong SW, Lim JH. Effects of fermentation method and brown rice content on quality characteristics of brown rice vinegar. *Korean J. Food Preserv.* 16: 33-39 (2009)
- Guadarrama A, Rodriguez-Mendez ML, Sanz C, Rios JL, de Saja JA. Electronic nose based on conducting polymers for the quality control of the olive oil aroma : Discrimination of quality, variety of olive, and geographic origin. *Anal. Chem. Acta* 432: 283-293 (2001)
- Seo HS, Kang HJ, Jung EH, Hwang IK. Application of GC-SAW(surface acoustic wave) electronic nose to classification of origins and blended commercial brands in roasted ground coffee beans. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* 22: 399-306 (2006)
- Jeong YJ, Lee MH. A view and prospect of vinegar industry. *Korean J. Food Ind. Nutr.* 5: 7-12 (2000)
- Su MS, Chein PJ. Aroma impact components of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) vinegara. *Food Chem.* 119: 923-928 (2010)
- Tasfaye W, Garcia-parrilla MC, Troncoso AM. Sensory evaluation of sherry wine vinegar. *J. Sens. Stud.* 17: 133-144 (2002)
- Jones DD, Greenshields RN. Volatile constituents of vinegar. I. A survey of some commercially available malt vinegars. *J. Inst. Brew.* 75: 457-463 (1969)
- Blanch GP, Tabera J, Sanz J, Herrais M, Reglero G. Volatile composition of vinegars. Simultaneous distillation-extraction and gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *J. Agr. Food Chem.* 40: 1046-1049 (1922)
- Yoon HN, Moon SY, Song SH. Volatile compounds and sensory odor properties of commercial vinegars. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 299-305 (1998)
- In HY, Lee TS, Lee DS, Noh BS. Volatile components and fusel oils of sojues and mashes brewed by Korean traditional method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 235-240 (1995)
- Nishiya T. Composition of *soju*. *J. Jpn. Soc. Brew.* 72: 415-432 (1977)
- Yuda J. Volatile compounds from beer fermentation. *J. Jpn. Soc. Brew.* 71: 818-830 (1976)