

고산도 배식초 제조 시 발효조건에 따른 품질특성

조덕조 · 이혜진 · 정용진¹ · 여수환² · 권중호*

경북대학교 식품공학과, ¹계명대학교 식품가공학과, ²농촌진흥청 발효이용과

Quality Properties of Pear Vinegars with High-Acidity under Different Fermentation Conditions

Deokjo Jo, Hye-Jin Lee, Yong-Jin Jeong¹, Soo-Hwan Yeo², and Joong-Ho Kwon*

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

¹Department of Food Science and Technology, Keimyung University

²Fermentation and Food Processing Division, Department of Agrofood Resources, NASS, RDA

Abstract High-acidity vinegar was manufactured using pear concentrate by fed-batch fermentation without additional nutrients, and the physicochemical properties and volatile components were investigated at different fermentation stages (Stages 1-4) and at various initial alcohol concentrations (IAC; 6-9%). The levels of reducing sugar, free amino acids, total phenolic content, total flavonoid content, and radical scavenging ability increased slightly during Stage 4 (high-acidity vinegar), which was affected by alcohol feeding. The contents of approximately 20 types of volatile compounds differed between the moderate- and high-acidity vinegar samples, as determined by solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectroscopy. The level of acetic acid in high-acidity vinegar increased according to the initial alcoholic content applied. The high-acidity vinegar produced by fed-batch culture at an IAC of 6-7% showed improved physicochemical and volatile properties as compared to the moderate-acidity vinegar.

Keywords: pear vinegar, high-acidity, fermentation, amino acid, volatile

서 론

국내에서 생산되는 주요 6대 과일에는 사과, 배, 포도, 감귤, 단감, 복숭아 등이 있다. 이들 과일의 생산량은 지난 90년대 이후 꾸준한 증가세를 보이고 있으나 소비는 뒷걸음질치고 있어 과수산업은 만성적인 공급과잉에 시달리고 있다. 여기에 도하개발어젠다(DDA)와 자유무역협정(FTA) 등을 통한 시장개방 확대로 과일의 수입이 지속적으로 증가하고 있으며, 매년 발생하는 수해, 풍해, 냉해, 설해 등으로 많은 낙과들이 발생하고 있어 국내 과수산업의 경쟁력 확보가 시급한 상황이다. 이에 생산량 조절과 고품질 제품 생산을 통한 소비 촉진 전략이 주요 과제로 떠오르고 있다.

식초는 술과 함께 인류의 식생활에서 가장 오랜 역사를 갖는 발효식품 중 하나이다. 식초는 과일, 곡류 등을 원료로 하여 효모에 의해 당이 알코올로 발효되고, 초산균에 의해 알코올이 초산으로 산화되는 2단계의 발효공정을 거쳐 제조되며(1), 초산으로서 총산을 4.0% (w/v) 이상 포함하면 식초로 분류하고 있다. 식초는 산도에 따라 총산도 4-5%의 저산도, 6-7%의 일반산도, 13-14%의 2배 산도, 18-19%의 3배 산도로 나눌 수 있고, 총산도

12% 이상일 경우 고산도 식초로 분류할 수 있다(2). 고산도 식초는 이미·이취 개선 및 운송비와 저장공간 절감 등의 이점을 가지고 있어 식초를 대량으로 사용하는 공장이나 요식업소에서 많이 소비되고 있다(3).

식초의 제조방법은 전통적인 정치배양과 속성의 통기진탕배양으로 구분될 수 있으며, 현재 대부분의 상업적 생산은 속성방법으로 제조되고 있다. 국내에서 시판되는 대부분의 고산도 식초는 주정과 영양소 및 최소한의 원료(과일즙의 경우 30% 이하)를 이용하여 발효되고 있다(3). 대부분의 시판 식초는 발효기로 유입되는 공기를 사용하여 제조되는데, 이는 미세한 거품을 만들어 초산균이 알코올 및 영양원과 잘 섞이게 되도록 도움을 준다. 그러나 높은 알코올 농도에 의한 bactericidal 현상과 대사 중간 생성물에 의한 발효 억제현상으로 인해 식초가 일정 산도에 다다르면 초산균의 증식이 억제된다(4-7). 이러한 이유로 고산도 식초의 경우 초산균의 생육에 필요한 영양원을 혼합한 후 최종 산도까지 배양한다(3). 고산도 식초 제조에 관한 연구로 고농도 에탄올에 대한 내성 초산균 분리(8)와, 합성배지의 유기식 배양 및 온도 조절을 통한 고산도 식초 제조(3,5)가 보고되어 있다. 그러나 첨가물 없이 과일만을 이용한 고산도 식초 제조에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

식초의 품질은 원료, 제조방법 등에 따라 크게 달라지며, 가장 중요한 초산 함량과 맛에 영향을 주는 유리아미노산 조성, 휘발성분, 미량성분 등은 품질에 미치는 영향이 다양하다(9). 본 연구에서는 영양원의 첨가없이 초산 함량 12% 이상의 고산도 배식초를 제조하는 과정에서 발효단계 및 초기 알코올 농도에 따른 품질 특성을 비교하고자 하였다.

*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 May 13, 2014; revised June 23, 2014;
accepted June 23, 2014

재료 및 방법

재료

배 농축액은 충북원예농협에서 구입하였고, 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin (DSM Food Specialties, Seclin, France)을, 초산균은 *Acetobacter pomorum* KJY 8 (KCTC 10173BP)을 사용하였다. 배 농축액을 10°Bx로 희석 및 멸균하고 효모를 접종하여 30°C에서 24시간 동안 알코올 발효한 후 주모로 사용하였다. 또한 알코올 발효액을 5% 농도로 희석하고 초산균을 접종하여 30°C, 250 rpm 조건에서 5일 동안 초산발효를 실시한 후 종초로 사용하였다. 고농도 알코올 발효액은 35°Bx의 배 농축액을 30°C에서 5일간 정치배양하고 주정으로 최종 알코올 농도를 20%로 보정하였다.

고산도 식초 제조

배 농축액을 24°Bx로 희석하고 주모를 5% (v/v) 농도로 접종하여 30°C 항온배양기에서 8일 동안 정치 배양한 후 알코올 농도 약 11%의 발효액을 제조하였다. 알코올 발효액을 6, 7, 8 및 9% 농도로 희석하고(1단계; 알코올 발효액) 종초를 10% (v/v) 농도로 접종하여(2단계; 초기 초산 발효액) Jar-fermentor (KF-5L, Kobiotech. Co. Ltd., Seoul, Korea)에서 30°C, 500 rpm, 0.5 vvm 조건으로 1차 초산발효를 실시하였다(3단계; 1차 초산 발효액). 1차 초산 발효액의 적정산도가 6시간 동안 변화없는 시점부터 고농도의 알코올 발효액을 유가식으로 첨가하여 2차 초산발효를 실시하였다. 이 때 고농도 알코올의 feeding은 1차 발효액 대비 시간당 알코올 함량 0.2%가 첨가되도록 일정한 속도로 최종 산도가 12%가 될 때까지 주입하였다(4단계; 2차 초산 발효액). 식초 제조에서 영양원은 사용되지 않았고, 발효단계 및 초기 알코올 농도에 따른 시료를 원심분리 후 품질 분석에 사용하였다.

환원당 및 유리아미노산 함량 분석

환원당 함량은 시료 1 mL에 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 시약 1 mL를 가하여 가열한 후 증류수 3 mL를 가하여 분광광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 546 nm에서 측정하였고, 표준곡선 작성에는 glucose를 사용하였다(6). 시료의 유리아미노산 분석을 위해 시료 10 mL와 ethanol 30 mL를 혼합하고 실온에서 24시간 방치한 후 원심분리(8,000 rpm, 15 min)하여 단백질을 제거하였다. 상등액을 농축하고 lithium citrate loading buffer (pH 2.2) 10 mL로 용해한 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 amino acid analyzer (L-8800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 분석하였다(10).

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

시료의 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법(11)에 의해 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid 용액으로 작성하였고, 시료의 총 페놀 함량은 100 mL 중의 mg gallic acid equivalents (GAE)로 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(12)과 Zou 등(13)의 방법에 따라 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선 작성에는 catechin을 사용하였고, 시료의 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalents (CE)/100 mL로 나타내었다.

항산화 활성 측정

시료의 항산화 활성은 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) (14) 및 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)

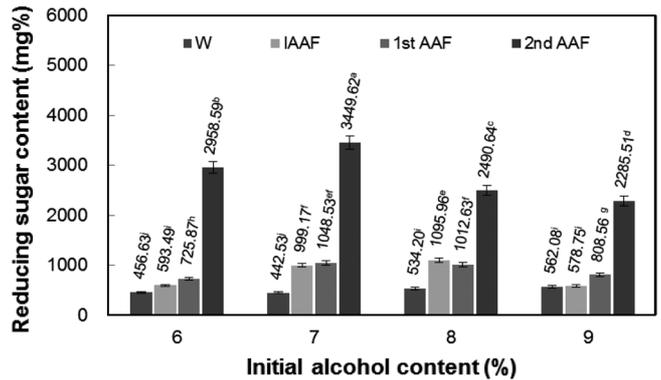


Fig. 1. Comparison in reducing sugar content in pear vinegars according to initial alcoholic content and acetic fermentation stage (W: wine; IAAF: initial acetic acid fermented broth; 1st AAF: 1st acetic acid fermented broth; 2nd AAF: 2nd acetic acid fermented broth). ^{a-d}Values with different small letters within the histogram are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

radical 소거활성(15)으로 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 시료 1 mL에 517 nm에서 흡광도를 1.00 ± 0.02 로 조정된 DPPH (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 용액 5 mL를 혼합하고 30초 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS⁺ radical 소거활성 측정을 위해 7 mM ABTS (Sigma Chemical)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합 및 암소 방지하여 ABTS⁺ radical을 충분히 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값을 0.70 ± 0.02 로 조정하였다. 시료 0.2 mL에 희석된 ABTS 용액 4 mL를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 5분 후에 측정하였다. 항산화 활성은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

SPME/GC-MS (Solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectroscopy)를 이용한 휘발성분 분석

시료의 휘발성분 포집을 위해 50/30 µm divinylbenzene/carboxen/polydimethyl-siloxane (DVB/CAR/PDMS)으로 코팅된 SPME fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였고, internal standard로 7% 초산에 용해한 4-pentyl-2-methanol (Fluka, Madrid, Spain)을 사용하였다. Headspace vial (22.5×75 mm, PTFE/silicon septum, aluminum cap)에 시료 2 mL를 넣고 internal standard를 20 µL 넣은 후 250°C에서 5분간 예열 처리된 SPME fiber를 주입하였다. 시료는 70°C heating block에서 20분간 예열되었고, 휘발성분은 SPME fiber를 통해 60분 동안 포집되었으며, GC (Agilent GC 6890, Palo Alto, CA, USA)로 주입 후 탈착을 위해 2분 동안 유지되었다. 휘발성분 분석을 위하여 MSD (mass selective detector)가 부착된 GC를 사용하였고, fused silica capillary column (DB WAX; 60 m×0.25 mm×0.25 µm) 및 헬륨 가스(1 mL/min)를 이용하였다. Oven 온도는 35°C에서 10분간 유지되었고 100°C까지 분당 5°C로 210°C까지 분당 3°C로 상승시켜 1분간 유지되었다. MS system은 MS interface 250°C, ion source 230°C 및 MS quadrupole 150°C 조건이었고, Wiley 7/NIST 05 Library (mass spectral search program, version 5.0, Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다.

통계처리

결과는 3회 반복하여 평균과 표준편차로 나타내었고, Statistical Analysis System (SAS, v8.1, SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA)를

이용하여 분산분석(ANOVA) 및 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

환원당 및 아미노산 함량

당 및 아미노산 함량은 식초의 맛과 향에 영향을 준다. 고산도 배식초 제조에서 발효 단계와 초기 알코올 농도에 따른 환원당 함량을 확인하였다(Fig. 1). 시료의 환원당 함량은 초산발효 단계에 따라 꾸준한 증가를 보이다가 마지막 단계인 2차 초산발효 후 급격히 증가하였고($p<0.05$), 이는 2차 초산발효 과정에서 유가식으로 첨가되는 알코올 발효액의 당도에 의한 영향으로 사료되었다. 한편, 2차 초산 발효액의 환원당 함량은 초기 알코올 농도의 증가에 따라 증가하다 8% 이상의 조건에서는 오히려 감소하였고($p<0.05$), 이는 높은 초기 알코올 농도로 인해 초산발효가

원활히 진행되지 않아 2차 초산발효 과정에서 첨가되는 알코올 양이 줄어든 영향으로 사료되었다. 발효단계 및 초기 알코올 농도에 따른 유리아미노산 함량의 변화는 Table 1과 같다. 유리아미노산의 함량은 1차 초산발효 동안 494.04 mg/100 mL에서 206.90 mg/100 mL로 감소하였다. Horiuchi 등(16)은 양과즙 아미노산 함량의 45%가 식초 생산을 위한 발효 과정에서 소모되었다고 보고하였고, Yulkimichi 등(17)은 초산발효 중 아미노산이 자화되어 38-60%가 감소하고 특히 glutamic acid, aspartic acid, proline의 감소가 크다고 보고하였다. 한편, 유리아미노산 함량은 2차 초산발효 후 276.14 mg/100 mL로 다시 증가하였고, 이 역시 feeding alcohol에 함유된 아미노산에 의한 영향으로 사료되었다. 초기 알코올농도(6-9%)와 2차 초산발효액의 아미노산 함량(247.26-276.14 mg/100 mL)은 일정한 상관성을 보이지 않았다. 배식초 제조를 위한 초산발효 과정에서 필수아미노산 중 isoleucine이, 비필수아미노산 중 aspartic acid, arginine 및 glutamic acid가 높은 함량으로

Table 1. Comparison in free amino acid content (mg/100 mL) in pear vinegars according to initial alcoholic content and acetic fermentation stage

Free amino acid		Sample ¹⁾					
		W at IAC of 6%	1 st AAF at IAC of 6%	2 nd AAF at IAC of 6%	2 nd AAF at IAC of 7%	2 nd AAF at IAC of 8%	2 nd AAF at IAC of 9%
Essential amino acid	Threonine	0.15±0.02	0.59±0.05	0.62±0.02	0.63±0.06	0.57±0.03	0.64±0.03
	Valine	8.91±0.74	0.58±0.04	1.11±0.15	1.27±0.01	0.75±0.12	1.43±0.21
	Methionine	0.78±0.14	0.11±0.02	0.43±0.06	0.41±0.01	0.25±0.06	0.28±0.05
	Isoleucine	24.85±1.36	3.29±0.32	2.16±0.21	5.10±0.25	3.05±0.24	3.73±0.17
	Leucine	1.61±0.21	0.74±0.08	0.63±0.03	1.30±0.06	1.35±0.26	1.38±0.08
	Phenylalanine	5.91±0.08	0.70±0.14	1.78±0.42	1.05±0.04	1.02±0.01	1.01±0.10
	Tryptophan	2.69±0.03	0.12±0.02	0.29±0.06	0.20±0.03	0.41±0.04	0.47±0.05
	Lysine	1.84±0.41	0.11±0.01	ND ²⁾	ND	0.12±0.02	ND
	Total	46.74 ^a	6.23 ^c	7.02 ^{bc}	9.96 ^b	7.52 ^{bc}	8.94 ^{bc}
Nonessential amino acid	Aspartic acid	163.74±3.98	148.58±5.98	185.84±5.21	133.33±4.76	153.78±5.57	132.99±4.54
	Asparagine	17.04±0.14	1.68±0.35	1.32±0.02	5.11±0.39	5.85±0.63	6.84±1.38
	Glutamic acid	83.51±1.98	12.62±0.84	42.59±1.28	47.32±1.24	45.26±1.63	45.81±1.75
	Proline	28.01±0.87	2.16±0.21	3.72±0.56	3.48±0.08	4.48±0.02	6.69±0.81
	Cystine	5.25±0.30	3.11±0.33	2.69±0.17	5.15±0.54	4.05±0.04	4.31±0.39
	Tyrosine	1.26±0.45	0.89±0.21	0.80±0.02	1.17±0.06	1.43±0.02	1.50±0.12
	Histidine	11.84±0.96	0.94±0.15	0.97±0.25	1.17±0.02	1.32±0.06	0.88±0.08
	Arginine	89.25±1.88	11.95±0.29	8.54±0.86	11.06±0.95	11.43±1.06	12.94±0.54
	Total	399.92 ^a	181.93 ^c	246.45 ^b	207.80 ^d	227.61 ^c	211.95 ^d
Amino acid derivative	Phosphoserine	1.85±0.14	1.99±0.02	0.23±0.04	ND	ND	2.68±0.06
	Taurine	2.50±0.17	12.07±1.73	12.73±1.54	17.23±0.52	17.05±0.08	13.67±0.98
	Phosphoethanolamine	1.05±0.02	1.85±0.12	6.05±1.63	8.13±0.90	9.56±0.68	8.15±0.54
	Glycine	0.69±0.04	0.64±0.06	0.68±0.45	1.05±0.14	1.10±0.16	1.09±0.05
	α-Aminobutyric acid	1.85±0.87	0.18±0.01	0.55±0.02	0.53±0.06	0.63±0.07	0.42±0.08
	β-Alanine	5.25±0.24	0.17±0.01	0.21±0.08	0.32±0.18	0.51±0.05	0.53±0.07
	Homocystine	11.99±1.15	0.39±0.02	0.68±0.19	0.86±0.27	1.77±0.71	ND
	γ-Aminobutyric acid	9.86±1.25	0.47±0.07	0.27±0.11	0.37±0.06	0.32±0.11	0.50±0.01
	Ethanolamine	0.71±0.43	0.05±0.00	0.21±0.09	0.12±0.02	0.28±0.05	0.26±0.14
	Hydroxylysine	11.11±0.21	0.68±0.12	0.67±0.03	0.64±0.21	1.37±0.20	1.94±0.08
	1-Methylhistidine	0.52±0.09	0.25±0.05	0.38±0.02	0.25±0.04	0.34±0.06	0.39±0.03
Total	47.39 ^a	18.74 ^c	22.66 ^{dc}	29.50 ^{bc}	32.92 ^b	26.92 ^{cd}	
Total	494.04 ^a	206.90 ^d	276.14 ^b	247.26 ^c	268.06 ^b	250.51 ^c	

¹⁾W: wine; IAC: initial alcohol content; IAAF: initial acetic acid fermented broth; 1st AAF: 1st acetic acid fermented broth; 2nd AAF: 2nd acetic acid fermented broth.

²⁾Not detected.

^{a-c}Values with different small letters within the row are significantly different at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.

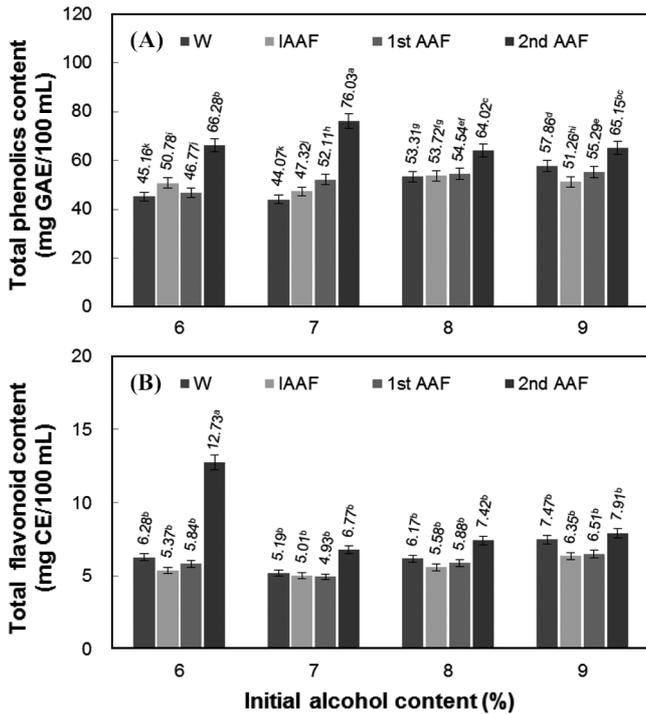


Fig. 2. Comparison in total phenolics and total flavonoid content in pear vinegars according to initial alcoholic content and acetic fermentation stage (W: wine; IAAF: initial acetic acid fermented broth; 1st AAF: 1st acetic acid fermented broth; 2nd AAF: 2nd acetic acid fermented broth). ^{a, b}Values with different small letters within the histogram are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

검출되어 식초의 주요 성분으로 확인되었다. 이상의 결과, 배 농축액을 이용한 고산도 식초 제조의 경우 초기 알코올농도 6 및 7% 조건에서 식초의 유리당 및 유리아미노산의 함량이 높게 측정되었고, 2차 초산발효 과정에서 주입되는 고농도 알코올 발효액의 영향으로 인해 일반산도 식초보다 고산도 식초에서 높은 함량을 나타내었다.

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

과일이나 채소에서의 폴리페놀은 강하게 결합된 상태로 존재하여 쉽게 흡수될 수 없는데 비해 알코올에서는 수용성 상태로 존재하여 생물학적 이용성이 증진되는 장점이 있고, 알코올에서 유래된 제품 역시 폴리페놀 화합물로 인한 항산화 작용을 기대할 수 있다(18). 고산도 배식초 제조 과정에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 1차 초산발효까지는 증감을 반복하다 2차 초산발효 후 유의적으로 증가하였고($p < 0.05$), 이는 2차 초산발효 단계에서 유가식으로 첨가된 알코올 발효액의 영향으로 생각된다(Fig. 2). 한편, 2차 초산 발효액의 총 페놀 함량은 초기 알코올농도 7% 조건에서, 총 플라보노이드 함량은 6% 조건에서 유의적으로 높은 함량을 나타내어($p < 0.05$), 초기 알코올농도 6 및 7% 조건에서 발효 시 이들의 함량이 증가하는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 식초의 경우 초산발효 과정에서 강력한 페놀 분해 및 변형으로 인해 총 페놀 함량이 감소하는 것으로 보고되어 있으나(19-21), 본 연구에서 제조된 배식초의 경우 초산발효 과정에서 이들의 감소가 크지 않았고 2차 초산발효 후 그 함량이 오히려 증가하였다. 이는 2차 초산발효 과정에서 주입되는 알코올 발효액의 영향으로 추측되었으며, 이와 같은 유가식 발효를 통한 고

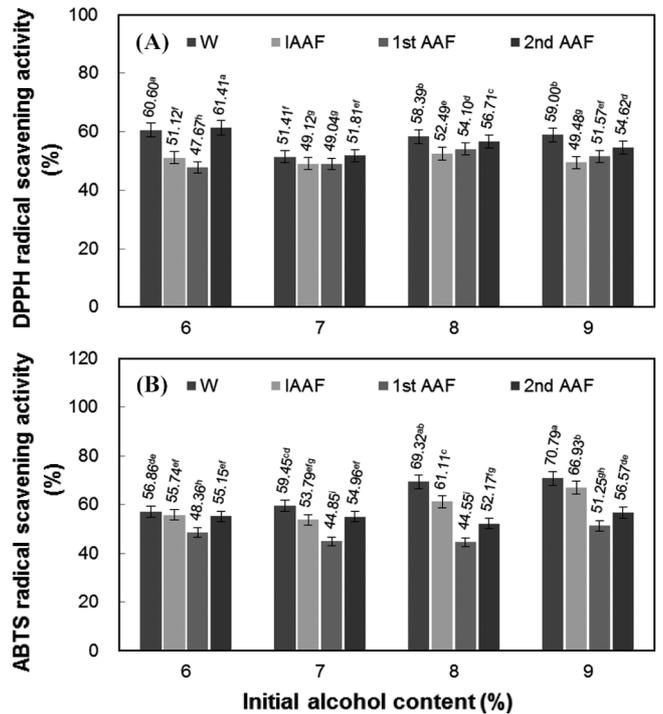


Fig. 3. Comparison in DPPH and ABTS radical scavenging activity in pear vinegars according to initial alcoholic content and acetic fermentation stage (W: wine; IAAF: initial acetic acid fermented broth; 1st AAF: 1st acetic acid fermented broth; 2nd AAF: 2nd acetic acid fermented broth). ^{a, b}Values with different small letters within the histogram are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

산도 식초 제조가 식초의 품질 개선에 도움이 된 것으로 생각된다. Lee 등(21)은 페놀산 중 caffeic acid 및 chlorogenic acid의 함량은 pH의 변화에 민감하게 반응하지 않아 초산발효 과정 중 유의적인 변화를 보이지 않는 것으로 보고하여, 배 식초의 경우 페놀 화합물의 구성에 대한 추후 연구가 필요한 것으로 판단된다.

항산화 활성

시료의 항산화 활성 분석을 위해 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 측정하였고, 이 때 DPPH 라디칼 소거능에는 시료의 2배 희석액을, ABTS⁺ 라디칼 소거능에는 10배 희석액을 사용하였다(Fig. 3). 시료의 항산화 활성은 1차 초산 발효액에 비해 2차 초산 발효액에서 다소 증가하여 발효단계에 따른 유의적인 차이를 나타내었으나, 2차 초산 발효액의 활성을 1단계 알코올과 비교하면 그 변화가 크지 않거나 오히려 감소하는 경향을 나타내었다($p < 0.05$). 한편 이러한 경향은 초기 알코올 농도가 증가함에 따라 뚜렷하게 나타나, 초기 알코올 농도는 6 및 7%로 조절하는 것이 고산도 식초의 항산화 활성 증진에 유리한 것으로 확인되었다(Fig. 3). Su와 Chien(22)은 산화중합반응에 의해 phenolic dimer와 oligomer가 형성되고 이들은 반응성이 강한 수산기를 보유하고 있으므로, 초산발효의 산화 과정에서 생성된 이러한 물질들이 가용성 상태라면 식초의 항산화 활성을 증진시킨다고 설명하였다. 한편, 배식초의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 DPPH 라디칼 소거활성보다 높게 나타나 Hong 등(23)의 결과와 일치하였고, 이러한 차이는 자유라디칼인 DPPH와 양이온라디칼인 ABTS⁺에 결합하는 페놀물질의 종류가 다르기 때문인 것으로 보고되고 있다(24).

휘발성분 특성

고산도 배식초 제조에서 초기 알코올 농도에 따른 발효수율(data not shown)과 이화학적 특성을 분석한 결과 초기 알코올농도 6% 조건에서 비교적 높은 발효수율과 이화학적 특성을 나타내어, 이 조건에서 발효단계에 따른 휘발성분의 변화를 분석하였다(Table 2). 알코올발효액의 경우 acetic ester류 3종, acid류 2종, alcohol류 5종, aldehyde류 1종, ethyl ester류 3종 등으로 구성되어 전체 함량은 1,468 mg/L로 확인되었다. 주요 휘발성분으로 ethyl alcohol (alcoholic odor)을 포함한 alcohol류가 약 86% 비율로 확인되었고, 그 외 과일 향을 특징으로 하는 ethyl octanoate (fruity, wine, pear odor), isopentyl alcohol (sweet, fruity, pineapple odor), phenethyl alcohol (sweet, floral odor) 등이 확인되었다. 1차 초산 발효액의 경우 acetic ester류 3종, acid류 3종, alcohol류 3종, aldehyde류 2종, ethyl ester류 1종 등으로 구성되어 전체 함량은 2,105 mg/L로 확인되었다. 주요 휘발성분으로 acetic acid (sharp,

pungent, sour odor)를 포함한 acid류와, ethyl acetate (ethereal, fruity, sweet odor)를 포함한 acetic ester류가 각각 42% 및 36% 비율로 확인되었고, 그 외 ethyl alcohol 등이 확인되어 전체 휘발성분의 함량은 알코올발효액에 비해 증가하였다. Acetic acid는 초산균에 의해 생성되는 산화물로 자극취를 나타내는 휘발성 성분이고(22), ethyl acetate는 알코올과 초산의 에스테르화 반응에 의해 쉽게 생성되는 물질로(25) 초산과 함께 식초의 주요 성분으로 알려져 있다. 2차 초산 발효액의 경우 acetic ester류 3종, acid류 3종, alcohol류 4종, aldehyde류 1종 등으로 구성되어 전체 함량은 2,367 mg/L로 1차 초산 발효액과 유사한 수준이었다. 2차 초산발효를 마친 고산도 식초는 1차 초산발효의 일반산도 식초에 비해 ethyl acetate 및 ethyl alcohol의 함량은 감소하였으나 acetic acid 함량이 증가하여, acid류의 비율이 약 88%를 차지하였다. 1차 및 2차 초산 발효액은 휘발성분의 차이는 없었으나, 2차 초산 발효액의 경우 자극취인 acetic acid 성분의 증가로 관능

Table 2. Aroma compounds (unit: mg/L) according to the fermentation stage of the broth adjusted to initial alcoholic content at 6% in the production of the high-acidity pear vinegar

RT	Component	Sample ¹⁾					
		W at IAC of 6%	1 st AAF at IAC of 6%	2 nd AAF at IAC of 6%	2 nd AAF at IAC of 7%	2 nd AAF at IAC of 8%	2 nd AAF at IAC of 9%
Acetic esters							
13.07	Ethyl acetate	10±0 ^d	670±16 ^a	77±0 ^b	54±0 ^c	8±0 ^d	ND ²⁾
22.81	Methyl isobutyl carbinyl acetate	ND	ND	1±0	ND	ND	1±0
23.50	Isoamyl acetate	11±2	29±1	ND	ND	2±0	4±0
50.12	Phenethyl acetate	10±0	55±1	5±0	9±0	17±1	42±0
Acids							
35.85	Acetic acid	13±2 ^c	781±2 ^d	2002±57 ^c	2001±12 ^c	2045±6 ^b	2156±67 ^a
44.52	Isovaleric acid	ND	7±3	15±1	33±0	27±0	ND
58.05	Octanoic acid	33±0	92±0	57±0	99±1	69±1	48±1
Alcohols							
15.50	Ethyl alcohol	1197±201 ^a	230±7 ^b	52±3 ^{bc}	73±3 ^{bc}	12±0 ^c	ND ^c
22.51	Isobutyl alcohol	2±0	ND	ND	ND	ND	ND
26.89	Isopentyl alcohol	34±0	30±0	7±0	6±0	6±0	14±0
39.77	2,3-Butandiol	1±0	ND	8±0	12±0	11±0	ND
53.46	Phenethyl alcohol	31±2	71±0	40±0	21±0	28±1	12±1
Aldehyde							
6.33	Acetaldehyde	8±3	35±2	30±2	45±4	39±1	40±1
39.46	Benzaldehyde	ND	14±0	ND	ND	ND	36±0
Ethyl esters							
27.89	Ethyl hexanoate	3±0	ND	ND	ND	ND	ND
35.56	Ethyl octanoate	48±3	ND	ND	ND	ND	ND
43.28	Ethyl decanoate	28±0	ND	ND	ND	ND	ND
49.57	Ethyl palmitate	ND	5±0	ND	ND	26±5	26±6
51.07	Ethyl stearate	ND	ND	ND	ND	ND	20±1
Others							
26.73	Limonene	26±12	66±16	56±10	44±1	56±3	72±8
30.10	Acetoin	ND	ND	6±0	10±0	7±0	15±0
51.91	Hexyl isobutyrate	2±0	8±0	5±0	8±0	16±2	21±0
52.72	Isobutyl isobutyrate	3±0	5±0	ND	2±0	7±0	12±0
Total		1,460 ^d	2,098 ^c	2,361 ^b	2,417 ^{ab}	2,376 ^b	2,521 ^a

¹⁾W: wine; IAC: initial alcohol content; IAAF: initial acetic acid fermented broth; 1st AAF: 1st acetic acid fermented broth; 2nd AAF: 2nd acetic acid fermented broth.

²⁾Not detected.

^{a-c}Values with different small letters within the row are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

적인 향미에 영향을 줄 것으로 사료되었다. 한편, 과일의 숙성 과정에서 pyruvic acid로부터 생성되기도 하는 acetoin (sweet, butyry, creamy odor)은 알코올 발효액과 1차 초산 발효액에서는 검출되지 않았으나, 2차 초산발효를 마친 고산도 식초에서 소량 검출되었고, Kahn 등(26)은 알코올 발효와 초산발효를 거친 cider vinegar에서는 비교적 많은 양의 acetoin이 생성된다고 보고하였다.

초기 알코올 농도에 따른 2차 초산 발효액의 휘발성분 변화를 분석하였다(Table 2). 2차 초산 발효액의 경우 acetic ester류 2-3종, acid류 2-3종, alcohol류 2-4종, aldehyde류 1-2종, ethyl ester류 0-2종 등으로 구성되어, 전체 함량은 2,367-2,527 mg/L로 확인되었다. 알코올과 초산이 반응하여 생성되는 acetic ester류의 경우 초기 알코올 농도 증가에 따라 전체 함량은 감소하는 경향을 나타내었으나, phenethyl alcohol의 에스테르화로 생성되는 phenethyl acetate는 다소 증가하였고, 이는 과일 에센스 제조에 많이 이용되는 향기성분으로 알려져 있다(27). Alcohol류 역시 초기 알코올 농도 증가에 따라 감소하였고, 그 중 ethyl alcohol과 phenethyl alcohol의 감소가 뚜렷하였다. 한편, benzaldehyde (almond, fruity odor), ethyl palmitate (waxy, fruity odor) 및 ethyl stearate (waxy odor) 성분의 경우 초기 알코올농도 8-9% 시료에서만 확인되었는데, ethyl palmitate 및 ethyl stearate는 fatty acid ethyl ester의 형태로 맥주나 청주의 향기성분으로 인식되고 있다(28). Acid류의 경우 전체 향기성분의 87-89% 범위를 차지하였고, 식초 특유의 강한 향을 특징으로 하는 acetic acid 함량은 초기 알코올농도의 증가와 함께 다소 증가하는 경향을 나타내었다.

이상의 결과를 바탕으로 고산도 식초의 발효단계에 따른 휘발성분의 차이를 확인한 결과, 1차 초산 발효액은 acetic ester류 및 acid류가 42% 및 36%를, 2차 초산발효액의 경우 acid류가 88%를 차지하여, 초산발효 단계에 따른 함량의 차이를 나타내었다. 초기 알코올 농도에 따른 2차 초산 발효액의 휘발성분은 초기 알코올 농도의 증가에 따라 acetic ester류와 alcohol류가 다소 감소한 반면 acid류가 증가하여, 이에 대한 추가적인 관능품질 관련 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

요 약

배 농축액의 유가식 배양을 통해 영양원 없이 산도 12% 이상의 고산도 식초를 제조하면서 발효단계(Stage 1-4) 및 초기 알코올농도(6-9%)에 따른 품질특성 변화를 확인하였다. 환원당, 유리 아미노산, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 및 라디칼 소거능은 1차 초산발효한 일반산도 식초에 비해 2차 초산발효한 고산도 식초에서 증가하였고, 이는 유가식으로 첨가된 feeding 알코올의 영향으로 사료되었다. SPME/GC-MS 분석을 통한 20여종의 휘발성분은 식초의 산도에 따라 함량의 차이를 나타내었고, 초기 알코올농도의 증가에 따라 자극적인 향의 acid류 함량이 다소 증가하였다. 이상의 결과, 초기알코올 농도 6-7% 조건에서 유가식 배양으로 제조된 고산도 배식초는 일반산도 식초에 비해 우수한 품질을 나타내었고, 이에 관능특성 및 대규모 생산에 대한 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008488032012) 지원에 의한 연구결과와 일부로 이에 감사드립니다.

References

- Adams MR. Vinegar. pp. 1-44. In: Microbiology of fermented food. Wood BJ (ed). Blackie Academic and Professional, London, UK (1998)
- Jo D, Park EJ, Kim GR, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Quality comparison of commercial cider vinegars by their acidity. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 699-703 (2012)
- Lee YC, Lee JH. A manufacturing process of high-strength vinegars. Food Indus. Nutr. 5: 13-17 (2000)
- Romeo J, Scheraga M, Umbreit WW. Stimulation of the growth and respiration of a methylotrophic bacterium by morphine. Appl. Environ. Microb. 34: 611-614 (1977)
- Lee YC, Lee YG, Kim HC, Park KB, Yoo YJ, Ahn PU, Choi CU, Son SH. Production high acetic acid vinegar using two stage fermentation. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 20: 663-667 (1992)
- Luchsinger WW, Cornesky RA. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method. Anal. Biochem. 4: 346-347 (1962)
- Park MH, Lyu DK, Ryu CH. Characteristics of high acidity producing acetic acid bacteria isolated from industrial vinegar fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 394-398 (2002)
- Park KS, Chang DS, Cho HR, Park UY. Investigation of the cultural characteristics of high concentration ethanol resistant *Acetobacter* sp. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 23: 666-670 (1994)
- Jeong YJ, Lee MH. A view and prospect of vinegar industry. Food Indus. Nutr. 5: 7-12 (2000)
- Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. Physicochemical Properties of marketing and intensive persimmon vinegars. J. East Asian Soc. Dietary Life 6: 355-363 (1996)
- Singleton VL, Rossi Jr. JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555-559 (1999)
- Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. J. Agr. Food Chem. 52: 5032-5039 (2004)
- Blios MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evansa C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. Med. 26: 1231-1237 (1999)
- Horiuchi JI, Kanno T, Kobayashi M. New vinegar production from onions. J. Biosci. Bioeng. 88: 107-109 (1999)
- Yulkimichi K, Yasuhiro U, Fujitharu Y. The general composition inorganic cations free amino acids and organic acid of special vinegars. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 34: 592-597 (1987)
- Alonso AM, Castro R, Rodriguez MC, Guilln DA, Barroso CG. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. Food Res. Int. 37: 715-721 (2004)
- Andlauer W, Stumpf C, Frst P. Influence of the acetification process on phenolic compounds. J. Agr. Food Chem. 48: 3533-3536 (2000)
- Su MS, Silva JL. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. Food Chem. 97: 447-451 (2006)
- Lee SY, Yoo KM, Moon BK, Hwang IK. A study on the development of vinegar veborage using yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*) and analysis of components changes during the fermentation. Korean J. Food Cook. Sci. 26: 95-103 (2010)
- Su MS, Chien PJ. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. Food Chem. 104: 182-187 (2007)
- Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Heong JH, Kown SH, Seo KI. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant

- activities. Korean J. Food Preserv. 19: 594-603 (2012)
24. Wang M, Li J, Rngarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, Ho CT. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). J. Agr. Food Chem. 46: 4869-4873 (1998)
25. Yoon HN, Moon SY, Song SH. Volatile compounds and sensory odor properties of commercial vinegars. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 299-305 (1998)
26. Kahn JH, Nickol GB, Conner HA. Vinegar compounds: analysis of vinegar by gas-liquid chromatography. J. Agr. Food Chem. 14: 460-465 (1966)
27. Nishiya T. Composition of *soju*. J. Soc. Brew. Japan 72: 415-432 (1977)
28. Yuda J. Volatile compounds from beer fermentation. J. Soc. Brew. Japan 71: 818-830 (1976)