

Quality characteristics of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar fermented using different acetic acid bacteria

Seong Yeol Baek¹, Ji-Seon Kim¹, Ji-Young Mun¹, Choong Hwan Lee²,
Yoo Kyoung Park³, Soo-Hwan Yeo^{1*}

¹Department of Agro-food Resources, National Institute of Agricultural Science,
Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

²Department of Bioscience and Biotechnology, Konkuk University, Seoul 05029, Korea

³Department of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science,
Kyunghee University, Yongin 17104, Korea

초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 품질 특성

백성열¹ · 김지선¹ · 문지영¹ · 이충환² · 박유경³ · 여수환^{1*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부, ²건국대학교 생명공학과,
³경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과

Abstract

To investigate the effect of different acetic acid bacteria on qualities of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar (DRV), different DRVs were produced by using three acetic acid bacterial strains including *Acetobacter pasteurianus* KACC16934 (AP), *Acetobacter malorum* V5-7 (AM), and *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S (GE). Little difference in pH (2.87~2.90) or titratable acidity (5.33~5.68%) was observed among different DRVs. Acetic acid yields of the AP, AM, and GE strains were 78.6%, 85.3%, and 85.9%, respectively. Organic acid content in different DRVs was in the range of 69.84~73.83 mg/mL. Oxalic acid, malic acid, succinic acid, acetic acid, and fumaric acid were detected in all DRVs. And glutamic acid, alanine, valine, leucine, tyrosine, lysine, anserine, and arginine were detected in all DRVs. Arginine and alanine were the predominant amino acids in all DRVs. PCA plots of electronic nose analysis data showed a significant differentiation of DRVs from different acetic acid bacterial strains. A sensory evaluation of all DRVs indicated that DRV fermented using AM was superior in the aspect of flavor, tasted and overall preference.

Key words : fermentation, vinegar, acetic acid bacteria, *Rhus verniciflua*, organic acid

서 론

옷나무는 칠공예품의 원료와 의약 목적으로 약 4,000년 전부터 한국을 비롯한 중국, 일본 등의 동북아시아에서 사용되었다(1). 옷은 수포, 가려움, 발진 등의 접촉성 피부염을

유발하는 우루시올(urushiol) 성분이 있으나 당뇨병과 위장병 치료를 위해 오래전부터 닭과 오리 등을 조리할 때 첨가하여 섭취해 왔다(2). 이러한 독성이 있음에도 불구하고 우루시올은 항산화, 항암 및 면역력 증진 효과가 있어 한방과 민간에서 해열, 구충, 통경, 소염, 어혈, 폐결핵 및 관절염 치료제로 사용되어 왔다(3). 그러나 옷나무는 다양한 약리, 생리활성에도 불구하고 접촉성 피부염 유발로 식·의약품으로 사용하기에는 제한적이었다. 하지만 2014년 식품의약품안전처에서는 우루시올 성분이 제거된 옷나무 추출물로 장류, 발효식초, 주류(탁주, 약주, 청주 및 과실주)에 한하여 발효공정 전에만 사용할 수 있도록 옷의 기준과 규격이

*Corresponding author. E-mail : yeobio@korea.kr
Phone : 82-63-238-3610, Fax : 82-63-238-3843
Received 19 April 2016; Revised 26 May 2016; Accepted 3 June 2016.
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

개정되었다(4). 본 연구진에 의해 우루시올이 제거된 옷 추출물을 첨가한 발효식초의 제조 방법이 보고되었다(5).

식초는 오랜 역사를 가진 조미료로써 우리의 일상생활과 밀접한 관련을 맺고 있으며, 최근 여러 가지 효능이 과학적으로 증명되면서 소비량이 증가하고 있다. 식초는 휘발성 및 비휘발성의 유기산류, 당류, 아미노산, 에스테르 등이 함유된 독특한 향과 신맛을 가진 천연 발효식품이다(6). 식초는 곡류, 과실류 및 주류 등을 주원료로 제조한 곡물식초, 과실식초 및 주정식초 등의 발효식초와 빙초산 또는 초산을 음용수로 희석한 후, 조미 제조하는 희석 초산으로 구분되며 국내에서는 총산(% w/v)이 초산으로서 4.0~20.0% 미만으로 규정하고 있다(7).

초산균은 특히 당류와 알코올과 같은 불완전한 탄소 기질을 빠르게 산화할 수 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 특성은 알코올에서 초산이 생성되는 식초 생산을 포함한 생물공학 기술에 이용되고 있다(8). 식초를 생산함에 있어 가장 중요한 요소는 발효미생물로 초산균에 따라 독특한 향과 맛을 결정한다. 초산균은 *Acetobacteraceae* family에 속하며, 현재까지 *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* 등의 12속(genus)이 보고되어 있다(9,10). 국내 식초 연구는 지역 농·특산물의 부가가치를 높이기 위해 감(11), 유자(12), 산딸기(13), 사과(14), 오미자(15), 감귤(16), 옷(5)을 이용하여 발효식초를 제조하였고, 이들 식초에 사용된 대부분의 초산균은 *Acetobacter* 속의 균주들이었다. *Acetobacter* 계열의 초산균은 알코올 내성과 초산 내성이 강하여 산업적으로도 중요한 균주(9)이며, 현재 식품의약품안전처의 식품 원료로 등록된 유일한 초산균으로 *Acetobacter pasteurianus*만이 식용으로 허가되어 있다.

농촌진흥청에서는 발효식초 제조의 품질 차별화 및 현대화를 위해, 발효식초로부터 유용한 토착 발효미생물을 지속적으로 탐색·발굴하여 특성을 구명하고 있으며, 이를 바탕으로 국내 농산물 가공의 부가가치 창출에 매진하고 있다. 국내 발효식초에서 초산균의 발굴은 나고야 의정서

가 발효됨(2014년 10월)에 따라 균주 사용에 따른 로열티 지불 경감과 토착 발효미생물의 국가 자원화에도 기여하고 있다.

국내 식품 원료 데이터베이스에 등록된 *A. pasteurianus* 균주 외 초산균을 식초 발효에 사용함으로써 제품의 다양화와 부가가치 향상 연구가 필요한 시점이다. 따라서 본 연구에서는 전보(5)에서 확립된 무독화 옷 추출물을 이용한 발효식초 제조에서, 국내 식초에서 분리한 *A. malorum* V5-7, *Gluconacetobacter entanii* RDAF-S 균주를 사용하여 발효식초의 품질 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

균 주

본 연구에 사용된 알코올 발효 균주는 시판효모인 *Saccharomyces cerevisiae*(Fermivin, Oenobrand, France)를 YPD 액체배지(YPD broth, BD, Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 25°C에서 48시간동안 150 rpm으로 진탕 배양 후, YPD 액체배지를 이용하여 계대 배양하여 사용하였다. 이를 원심분리(2,000 rpm, 10분, 4°C)하여 상등액을 제거한 후, 증류수로 3회 세척하고 알코올 발효액 제조에 사용하였다. 식초 제조용 초산균은 전보(17)에서 분리한 초산균 중 *Acetobacter pasteurianus* KACC16934, *A. malorum* V5-7, *Glu. entanii* RDAF-S를 사용하였으며, 초산균 배양은 8.26 g/L glucose, 2.5 g/L fructose, 83.92 g/L soy peptone, 0.088 g/L MnSO₄·H₂O의 조성으로 30°C에서 48시간 150 rpm으로 진탕 배양하였다(18).

알코올 발효

무독화 옷을 첨가한 알코올 발효액 제조 방법은 Table 1에 나타내었다. 옷을 이용한 무독화 옷 추출물은 전보(5)에 의한 방법으로 제조하였다. 1단 담금 후, 25°C에서 24시간

Table 1. Raw material components of detoxified *Rhus verniciflua* alcohol fermented liquor

	Ingredient	Content (g)	Condition
1st stage mash	Rice nuruk (<i>Aspergillus oryzae</i> , Chungmoo Fermentation)	200	
	Rice nuruk (<i>A. luchuensis</i> , Chungmoo Fermentation)	400	
	Yeast (<i>S. cerevisiae</i> , Fermivin)	1.8	25°C
	Detoxified <i>Rhus verniciflua</i> extract	800	24 hr
	Water	100	
2nd stage mash	Steamed rice (glutinous rice)	1,200	
	Steamed rice (non-glutinous rice)	1,200	
	Commercial improved nuruk	24	20°C
	Detoxified <i>Rhus verniciflua</i> extract	100	8 day
	Water	3,500	

알코올 발효하였으며 이를 2단 담금하여 20℃에서 8일간 발효하였다. 정제수로 희석하여 알코올 함량을 6%로 제정한 후, 초산 발효를 위한 발효액으로 사용하였다.

종초 배양

초산균을 이용한 종초 배양은 3종의 초산균을 액체배지 (8.26 g/L glucose, 2.5 g/L fructose, 83.92 g/L soy peptone, 0.088 g/L $MnSO_4 \cdot H_2O$)에 30℃에서 48시간 150 rpm으로 진탕 배양한 후, 원심분리(2,000 rpm, 10분, 4℃)하여 상등액을 제거하였다. 증류수로 3회 세척 후, 무독화 옷으로 제조된 알코올 발효액에 서로 다른 3종류의 초산균을 각각 10% (v/v)로 접종하여 30℃에서 4일간 정치 배양하여 산도가 3.5% 이상이 되었을 때 종초로써 사용하였다(5).

초산 발효

2 L 삼각플라스크에 무독화 옷 알코올 발효액 800 mL에 종초 10% (v/v)를 접종한 후 항온 배양기를 이용하여 30℃에서 14일간 정치 배양하였다.

pH 및 적정 산도

pH는 시료 10 mL를 취하여 pH meter(FE20, Mettler Toledo, Switzerland)를 사용하였으며, 적정산도는 시료 5 mL에 1% 페놀프탈레인 지시약을 2~3방울 떨어뜨린 다음, pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 초산(acetic acid, %)으로 환산하였다.

발효 수율

초산 발효 수율은 총 알코올 농도에 따른 이론적인 초산 생산량에 대한 초산 생성량을 백분율로 나타내었다(19).

$$\text{초산 수율(\%)} = \frac{\text{최종 산도 (\%, w/v)} - \text{초기 산도 (\%, w/v)}}{\text{초기 알코올 농도 (\%, v/v)} \times 1.0} \times 100$$

유기산 분석

서로 다른 3종류 옷식초의 유기산을 분석하기 위해, 시료 10 mL를 원심분리(3,500 rpm, 20분, 4℃) 후 상등액을 초순수(Fisher, HPLC water)를 이용해 산도 0.2%가 되도록 희석하였다. 각각의 시료를 Sep-pack C₁₈ Cartridge(Waters Oasis, Milfort, MA, USA)로 색소 및 단백질 성분을 제거하고 0.45 μm membrane filter(Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 여과하였다. 시료는 HPLC(Chromaster 5000, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan)로 분석하였으며, ODS-100W(4.6 mm×250.0 mm) column을 사용하여 분석하였다. 이동상은 3 mM perchloric acid를 사용하였으며, flow rate는 0.7 mL/min, column oven 온도는 63℃로 하였다. 분리물을 반응액(0.2 mM bromothymol blue, 15 mM Na₂HPO₄, 2 mM NaOH)과 혼합시킨 후, UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 반응액의

flow rate는 0.9 mL/min로 하였다.

유리아미노산 분석

서로 다른 3종류 옷식초의 유리아미노산 성분을 분석하기 위해, 각 시료를 5% trichloroacetic acid(TCA)로 5배 희석한 후 원심분리(10,000 rpm, 15분, 4℃)하여 상등액을 사용하였다. 상등액에 n-Hexane을 처리하여 비극성 물질을 제거한 후, 하층액을 0.2 μmsyringe filtering하고 아미노산 분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 분석하였다(20).

전자코 분석

서로 다른 3종류 옷식초의 향기패턴 분석에 사용된 전자코는 metal oxide sensor(MOS)가 장착된 전자코 시스템(Fox 2000, Alpha MOS, Toluense, France)으로 시료 1 mL을 10 mL 헤드 스페이스 용기에 담아 밀봉 후, 실온에서 24시간 방치하여 사용하였다. Standard로는 신선한 공기를 사용하였으며 시료는 80℃에서 20분간 250 rpm으로 교반하였다. 주입구 온도는 130℃ 상태에서 주입하였으며 이때 사용한 가스는 공기로 분당 150 mL의 유속으로 분석하였다(21,22).

기호도 조사

서로 다른 3종류 옷식초의 기호도 조사는 경험이 많은 11명의 연구원을 대상으로 실시하였다. 식초의 기호적 특성은 색상, 맛, 향, 전반적인 기호도를 5점 척도법(1: 매우 약하다, 매우 나쁘다, 5: 매우 강하다, 매우 좋다)을 이용하였으며(23), 식초를 3자리수로 난수표 화하여 검사원에게 제시하였다. 맛에 대한 평가는 각각의 옷식초를 원심분리(3,000 rpm, 10분, 4℃)하여 불순물을 제거한 후, 약 10배 희석하여 산도를 0.5%로 조절하여 사용하였으며, 색과 향에 관한 평가는 옷식초 원액을 원심 분리하여 불순물을 제거하여 cap이 있는 투명한 유리병(50 mL)에 40 mL를 넣어 연구원에게 제시하였다(24).

통계분석

시료 분석은 3회 반복하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 유기산과 유리아미노산, 기호도 평가는 SPSS(12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA test)을 하고 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test(DMRT)로 평균 간의 다중비교를 실시하였다.

결과 및 고찰

초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 pH 및 적정산도

서로 다른 3종류 초산균으로 제조한 무독화 옷식초의 초산 발효에 미치는 결과를 Fig. 1과 2에 나타내었다. A.

pasteurianus 균주의 초산 발효 2일과 4일에 pH 3.21, 2.88로 다른 2종류의 초산균으로 발효한 무독화 옷식초와 유의적인 차이를 보이면서 pH가 빠르게 감소되었다. *A. pasteurianus*로 발효한 옷식초는 발효 4일 이후 pH의 변화 없이 발효 종료 시까지 pH 2.88로 안정하게 유지되었다. *A. pasteurianus*, *A. malorum*, *Glu. entanii*로 발효한 옷식초 순서로 pH의 감소가 빠르게 진행되었으며, pH 감소에 따른 초산 발효는 *Gluconoacetobacter* 속 보다 *Acetobacter* 속 초산균이 산(acid) 생성이 빠른 것으로 나타났다.

*A. pasteurianus*로 발효한 옷식초의 산도 변화는 발효 2일(2.08%)부터 4일(5.43%)사이 산도가 큰 폭으로 증가하였다. 반면 *A. malorum*의 경우, 발효 2일(1.43%)에서 8일(5.63%)사이, *Glu. entanii* 또한 발효 2일(1.73%)에서 8일

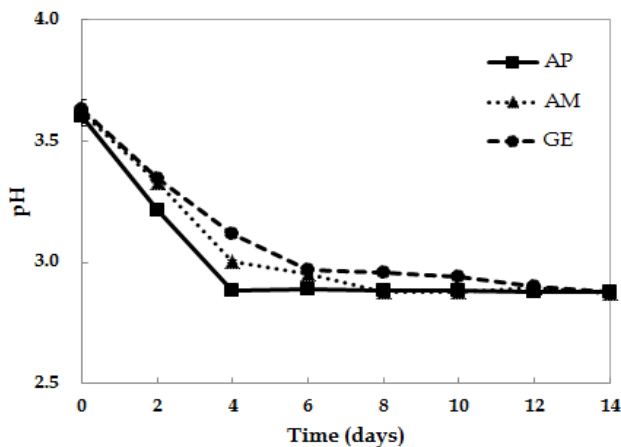


Fig. 1. Comparison of pH of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar produced by static fermentation with different acetic acid bacteria.

AP, *Acetobacter pasteurianus* KACCI16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

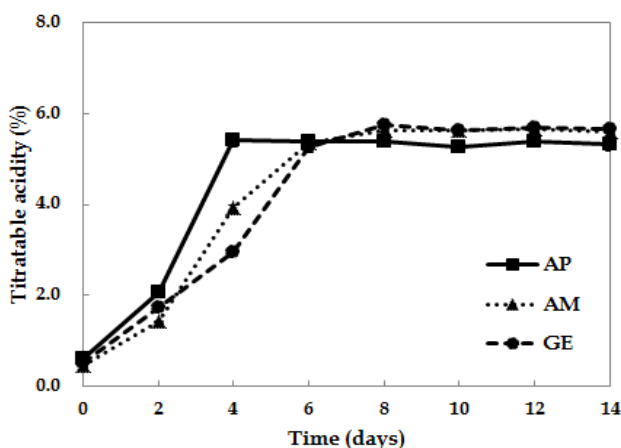


Fig. 2. Comparison of titratable acidity of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar produced by static fermentation with different acetic acid bacteria.

AP, *Acetobacter pasteurianus* KACCI16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

(5.76%)사이 산도의 증가가 나타났다. 발효시간에 따른 산도의 변화를 볼 때, *A. pasteurianus*로 발효한 경우 산도의 증가가 높았으며, *A. malorum* 및 *Glu. entanii*로 발효하였을 때 *A. pasteurianus*보다 낮았으나 최종 산도는 좀 더 높은 값을 나타내었다. 일반적으로 초산 발효는 알코올 농도에 큰 영향을 끼치며 초산 발효의 에너지원으로써 사용된다(5). 본 연구에서는 동일한 알코올 농도에서 초산균에 따른 산도의 변화를 조사한 결과, 최종적인 산도의 차이보다 초산발효 속도 차이가 있는 것으로 보여진다. Hidalgo 등(25)은 딸기를 원료로 한 식초 제조에서 우점종으로 *A. malorum*을 선발하였으며, 초산 발효에 *A. malorum* 균주를 스타터로 사용하였으며, 최종 산도는 약 5.5%로 보고하였다. 또한, Keum (26)등은 식초 제조 시 초산 발효 15일까지 산도가 증가한 후, 일정하게 유지한다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 초산 발효 6일 이후 증가된 산도가 일정하게 유지되는 것으로 보아 기존 연구 결과와 유사하였다.

초산균 종류별로 제조한 옷식초의 초산 수율을 조사한 결과, 각각 78.6%(AP), 85.3%(AM) 및 85.9%(GE)로 *Glu. entanii*가 가장 높았으며, 오히려 *A. pasteurianus*로 발효한 옷식초가 낮았다(Table 2). 알코올이 초산으로 전환되는 비율은 이론적으로 알코올 증량의 1.64배 정도의 초산이 생성되지만 제조된 옷식초는 이론치의 88~90%의 효율을 나타내는데 이는 발효 과정 중 알코올의 증발과 초산 이외의 다른 물질로 전환되는 것으로 알려져 있다(27). 전보(5)와 Woo 등(28)이 보고한 발효 수율은 각각 69.5~84.4%, 67.5~70.3%로 이중 초기 알코올 농도 6%에서는 84.4%, 70.3%이며, 본 연구 결과와의 수율 차이는 초산이나 알코올 증발과 초산균에 따른 특성으로 보여진다. *Glu. entanii*는 독일 남부의 고산도 식초에 분리·보고(29)된 종으로 많은 연구는 이루어지지 않았다.

옷식초의 pH와 산도에서 *A. malorum*와 *Glu. entanii*는 대조구인 *A. pasteurianus*와 차이는 없었고, 초산 수율에서는 *A. pasteurianus*보다 약 8~9% 높은 결과를 보여 식초 제조용 초산균으로써 가능성을 나타내었다.

Table 2. Effect of different acetic acid bacteria on the production yield of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar

	AP ¹⁾	AM	GE
Fermentation yield (%)	78.6±3.66	85.3±2.78	85.9±2.02

¹⁾ AP, *Acetobacter pasteurianus* KACCI16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 유기산 함량

서로 다른 3종류 초산균으로 제조한 무독화 옷식초의 유기산 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 그 결과, oxalic acid, malic acid, acetic acid, succinic acid, fumaric acid 5종이 검출되었으며, 초산균마다 생성된 유기산은 약간의 함량

Table 3. Organic acid content of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar produced by fermentation with different acetic acid bacteria

	Oxalic acid	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Succinic acid	Fumaric acid	Total
AP ¹⁾	0.99±0.09 ^b	3.01±0.72 ^a	nd ²⁾	59.31±0.77 ^{ab}	3.34±0.72 ^c	3.98±0.49 ^c	70.62
AM	nd	4.73±0.28 ^b	nd	60.22±0.54 ^a	2.22±0.29 ^b	6.66±0.41 ^b	73.83
GE	nd	7.23±0.97 ^c	nd	62.61±1.04 ^b	nd	nd	69.84

¹⁾AP, *Acetobacter pasteurianus* KACC16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

²⁾nd, not detected.

차이는 있었지만 초산이 하나의 지표(indicator)로 나타났다. *A. pasteurianus*로 발효한 율식초의 총 유기산 함량은 70.62 mg/mL, *A. malorum*은 73.83 mg/mL, *Glu. entanii*은 69.84 mg/mL로 유기산 함량의 차이가 있었다. 초산균에 따른 생성된 초산 함량은 59.31~62.61 mg/mL의 범위로 초산균마다 약간의 차이를 나타내었다. Yoon 등(24)이 효모 종류 및 발효 방식에 따른 현미식초의 유기산 분석 결과는 6,141~7,213 mg%로 나타나 본 연구 결과와 유사하였다. 유기산은 식초의 산미와 지미의 주요 인자로서 품질에 중요한 영향을 미치며, 식초의 발효과정 중 초산균에 의해 생성되는 초산은 식초의 주성분으로 초산발효의 관리 지침으로 알려져 있다(30). 곡물식초인 맥아식초와 쌀식초에는 다른 유기산에 비해 젖산(lactic acid) 함량이 높다고 보고되어 있으며(31), 특히 곡류식초에서 lactic acid 함량이 높으면 균덕내의 원인으로 알려져 있다(6). 그러나 본 연구에서는 젖산이 검출되지 않았으며, 이는 알코올 발효 및 초산 발효 방식과 무독화 율 추출물 첨가 및 초산균에 의한 것으로 생각된다. 식초마다 유기산 함량 차이는 원료, 원료 처리법, 알코올 및 초산발효, 초산균 종류에 의한 것으로 보고되었으며(32), 본 연구의 무독화 율식초 제조에서도 초산균 종류에 따른 유기산 함량에 차이가 있음을 확인하였다.

초산균 종류에 따른 무독화 율식초의 유리 아미노산 함량

서로 다른 3종류 초산균으로 제조한 무독화 율식초의 유리 아미노산 분석 결과를 Table 4에 나타내었다. 초산균에 따른 무독화 율식초의 유리 아미노산 함량은 2,202.70~2,322.71 µg/mL로 큰 차이를 보이지 않았다. *A. pasteurianus*로 발효한 율식초의 주요 유리 아미노산은 arginine(277.74 µg/mL), tyrosine(160.17 µg/mL), alanine(158.95 µg/mL)이며, *A. malorum*으로 발효한 율식초는 arginine(277.74 µg/mL), alanine(181.90 µg/mL), proline(172.85 µg/mL), *Glu. entanii*로 발효한 율식초는 arginine(278.28 µg/mL), alanine(273.67 µg/mL)으로 3종류 율식초의 공통 유리 아미노산은 arginine과 alanine이었다. 무독화 율식초의 주원료는 쌀로 곡류식초인 쌀식초에 많이 존재하는 arginine, alanine, leucine 등의 함량이 높은 특성과 일부 유사하였다(33). 또한 우루시올이 제거된 발효 율 추출물의 주요 유리 아미노산은 alanine(243.6 mg/L), serine(231.2 mg/L), leucine(218.6

mg/L)으로 보고하여 본 연구에서 제조된 율식초의 serine과 leucine 등 유리 아미노산 함량과는 차이가 있었다(34). 그리고 전보(5)에서도 무독화 율 추출물 농도에 따른 유리 아미노산의 함량 차이를 보고하였으며 이는 미생물 발효에 의한 영향으로 추측된다. 식초의 산미를 온화하게 해주는 glutamic acid와 aspartic acid은 *A. pasteurianus*으로 발효한 율식초에서 134.00 µg/mL, 68.69 µg/mL로 다량 검출되었다(33). 항비만, 뇌혈류 개선 및 알코올 분해능이 우수한 생리활성 물질인 γ-amino butyric acid(GABA)는 소량 검출되었지만 초산균 종류에 따른 차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 식초에 공통적으로 많은 아미노산은 glutamic acid, alanine, leucine, arginine 등이며 다음으로는 proline, glycine, isoleucine, histidine인 것으로 알려져 있으며 이는 초산균의 종류, 사용 원료, 도정 상태, 알코올 발효조건 등에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다(32). 본 연구에서 유리 아미노산의 조성 차이는 서로 다른 초산균에 의한 것으로 생각된다.

초산균 종류에 따른 무독화 율식초의 전자코 분석

일반적으로 식초의 향미는 발효미생물의 작용으로 다양한 휘발성 성분이 생성된다. 식초는 초산 이외에 산(acid), 알데히드(aldehyde), 알코올(alcohol), 케톤(ketone) 및 에스테르(ester)류 화합물의 상호작용으로 독특한 향미를 나타낸다(35). 휘발성 성분을 비파괴적으로 분석할 수 있는 전자코(electronic nose)는 신속하고 편리하게 향기패턴을 분석할 수 있는 장점을 가진 장비(36)로 본 연구에서 서로 다른 초산균 사용에 따른 율식초의 복합적인 향을 전자코 분석에 의해 시료 간의 차이를 판별하고자 하였다. 초산균 종류에 따른 무독화 율식초의 향기 패턴을 전자코로 비교하여 주성분분석(Principal Component Analysis, PCA) 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 영향력이 큰 함수 값인 PC1과 PC2를 중심으로 율식초를 분석한 결과, 초산균에 따른 무독화 율식초는 뚜렷한 향기 패턴의 차이를 나타내었다. *Glu. entanii*로 발효한 율식초는 PC1(X축)의 가장 우측 하단에 위치하였으며, *A. pasteurianus* 율식초는 좌측 상단에, *A. malorum* 율식초는 두 초산균 사이에 위치하여 속간의 향기패턴의 차이가 뚜렷하게 나타났다. 따라서 초산균에 따라 초산 발효 후의 생성된 휘발성 향기성분의 차이를 확인하였다. 이들 향기

Table 4. Free amino acid content of detoxified *Rhus verniciflua* vinegar produced by fermentation with different acetic acid bacteria

(unit: µg/mL)

Free amino acid	Acetic acid bacteria			
	AP ¹⁾	AM	GE	
Threonine	53.70±4.32 ^a	56.63±5.09 ^a	58.15±5.20 ^a	
Valine	110.01±7.88 ^a	113.47±9.28 ^a	111.87±9.41 ^a	
Methionine	34.08±1.71 ^b	38.08±2.27 ^b	27.16±2.01 ^a	
Essential amino acid	Isoleucine	66.00±4.66 ^a	68.16±5.10 ^a	67.46±5.79 ^a
	Leucine	134.15±9.75 ^a	145.60±12.10 ^a	128.91±11.24 ^a
	Phenylalanine	117.03±8.85 ^a	123.90±10.58 ^a	120.62±11.40 ^a
	Lysine	108.37±7.03 ^a	112.81±8.96 ^a	109.37±10.51 ^a
Total	623.34	658.66	623.54	
Aspartic acid	68.69±5.21 ^c	27.66±2.50 ^b	2.90±0.90 ^a	
Serine	84.86±6.06 ^b	92.19±7.53 ^b	51.44±4.41 ^a	
Glutamic acid	134.00±9.99 ^b	97.88±8.41 ^b	122.30±11.73 ^a	
Glycine	89.83±6.45 ^a	92.56±7.53 ^a	100.94±9.62 ^a	
Alanine	158.95±11.51 ^a	181.90±15.00 ^a	273.67±27.44 ^b	
Cystine	48.10±3.33 ^a	49.17±3.66 ^a	44.34±4.02 ^a	
Tyrosine	160.17±11.91 ^a	165.07±13.85 ^a	161.63±14.36 ^a	
Nonessential amino acid	Histidine	79.00±5.54 ^a	79.20±6.45 ^a	78.08±7.16 ^a
	Arginine	277.74±20.40 ^a	296.59±24.82 ^a	278.28±24.56 ^a
	Proline	85.98±9.13 ^b	172.85±17.67 ^c	35.28±2.94 ^a
	Taurine	1.32±0.04 ^b	1.25±0.13 ^{ab}	1.12±0.05 ^a
Citrulline	nd ²⁾	5.53±0.37 ^a	3.57±3.11 ^a	
Hydroxy proline	2.69±4.65 ^a	nd	2.77±1.15 ^a	
Proline	85.98±9.13 ^b	172.85±17.67 ^c	35.28±2.94 ^a	
Total	1277.31	1434.70	1191.60	
Sarcosine	54.51±33.19 ^a	45.83±4.12 ^a	40.67±3.99 ^a	
a-amino adipic acid	12.06±3.21 ^a	17.17±1.52 ^b	16.42±1.55 ^{ab}	
Urea	19.56±2.15 ^{ab}	22.41±2.90 ^b	16.79±1.07 ^a	
Phosphoserine	3.86±0.14 ^a	3.93±0.24 ^a	3.87±0.18 ^a	
a-amino-n-butyric acid	2.55±0.25 ^a	8.43±0.55 ^b	7.06±3.63 ^b	
Cystationine	14.35±0.83 ^a	14.66±0.82 ^a	14.14±1.05 ^a	
b-Alanine	28.03±2.30 ^a	27.45±2.90 ^a	27.23±2.50 ^a	
b-Amino isobutyric acid	35.27±4.08 ^a	36.92±4.34 ^a	71.97±5.77 ^b	
g-Amino-n-butyric acid	22.83±1.91 ^a	28.42±2.49 ^b	21.44±1.98 ^a	
Amino acid derivative	Ethanol amine	8.00±0.49 ^b	nd	1.83±0.27 ^a
	Ammonia	33.63±2.23 ^a	39.03±2.85 ^a	87.14±6.99 ^b
	Hydrixylysine	24.09±1.78 ^b	23.11±0.97 ^{ab}	20.85±1.40 ^a
	Ornithine	12.88±1.17 ^a	12.23±0.70 ^a	11.44±1.16 ^a
	3-Methylhistidine	5.23±1.10 ^{ab}	5.41±0.54 ^b	3.65±0.77 ^a
	Anserine	104.82±6.31 ^a	112.10±9.46 ^a	91.56±16.84 ^a
	Carnosine	5.81±0.50 ^a	6.10±0.66 ^a	5.53±0.64 ^a
	Total	387.48	403.2	441.59
Total	2202.70	2322.71	2221.46	

¹⁾AP, *Acetobacter pasteurianus* KACC16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

²⁾nd, not detected.

성분은 추후 가스크로마토그래피 등을 이용한 정성과 정량 분석이 필요한 것으로 보인다. Yoon 등(24)에 의하면 효모 종류, 속성 및 정치발효에 따라서 향기패턴의 차이를 전자코로 확인하였으며, 본 연구의 향기패턴은 사용한 초산균에 따라 차이가 있었다.

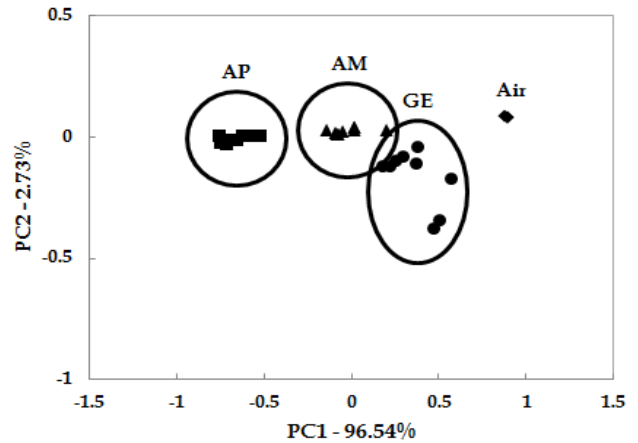


Fig. 3. Comparison of PCA of E-nose patterns from detoxified *Rhus verniciflua* vinegars produced by static fermentation with different acetic acid bacteria.

AP, *Acetobacter pasteurianus* KACC16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

기호도 평가

식품의 향미는 여러 종류의 휘발성 성분으로 구성되어 특유의 관능적 특성을 가진다(37). 초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 색, 향, 맛 및 전반적인 기호도 평가 결과를 Table 5에 나타내었다. 무독화 옷식초의 색상과 맛은 초산균 종류에 따른 차이가 없는 것으로 나타났으나, 향과 전반적인 기호도에서는 *A. malorum*로 발효한 옷식초에서 높은 점수를 받았다. 이는 *A. malorum* 초산균이 생성하는 향이 전반적인 기호도에 큰 영향을 준 것으로 판단된다. *A. malorum* 초산균이 생성하는 향기성분이 무엇인지 그리고 *A. pasteurianus*와 *Glu. entanii* 초산균이 생성하는 휘발성분의 차이를 추가적으로 연구할 필요가 있다.

본 연구에서 사용한 *A. malorum*과 *Glu. entanii* 초산균은

Table 5. Sensory properties of detoxified *Rhus verniciflua* vinegars produced by static fermentation with different acetic acid bacteria

	Color	Flavor	Taste	Overall palatability
AP ¹⁾	3.45±0.65 ²⁾	3.73±0.82 ^a	3.55±0.82 ^a	3.55±0.82 ^a
AM	3.36±0.50 ^a	4.36±0.67 ^b	3.45±0.82 ^a	4.36±0.50 ^b
GE	3.58±0.75 ^a	3.82±0.94 ^{ab}	3.64±0.67 ^a	3.82±0.75 ^{ab}

¹⁾AP, *Acetobacter pasteurianus* KACC16934; AM, *A. malorum* V5-7; GE, *Gluconoacetobacter entanii* RDAF-S.

²⁾Mean±SD (n=11) within each column followed by the same letter are not significantly different (p<0.05).

식초의 산도, 초산 수율, 유기산 및 유리아미노산 결과에서 대조구인 *A. pasteurianus*와 큰 차이를 나타내지 않았으나 기호도 평가에서 *A. pasteurianus*보다 좀 더 높은 점수를 받아 식초의 향과 맛 측면에서 종초로써 사용 가능성을 보였다. 이러한 초산균을 적용함으로써 발효식초의 품질 향상과 더불어 다양한 파생 제품 개발이 가능할 것으로 여겨진다.

요 약

본 연구는 초산균 종류에 따른 무독화 옷 추출물을 첨가한 식초의 품질 특성을 비교하였다. 초산균 종류에 따라 pH와 적정 산도는 약간의 차이를 보였으며, *A. pasteurianus*로 발효한 옷식초가 가장 빠른 pH 감소와 산도의 증가를 보였다. *A. malorum*, *Glu. entanii*로 발효한 옷식초 순으로 pH와 산도의 변화를 보였으며 초산균 3종 모두 초산 발효에 적합한 것으로 나타났다. 초산 수율은 78.6%, 85.3%, 85.9%로 *A. malorum*, *Glu. entanii* 초산균이 높게 나타났다. 초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 유기산은 oxalic acid, malic acid, acetic acid, succinic acid, fumaric acid 5종이 검출되었으며, 유기산 함량은 69.84~73.83 mg/mL로 검출되었다. 초산균에 따른 무독화 옷식초의 유리 아미노산 함량은 2,202.70~2,322.71 µg/mL로 큰 차이를 보이지 않았으며, arginine과 alanine이 주요 유리 아미노산으로 분석되었다. 전자코 분석 결과, 초산균에 따른 무독화 옷식초는 뚜렷한 향기패턴의 차이를 나타내었다. 기호도 평가는 초산균 종류에 따른 무독화 옷식초의 색상과 맛은 초산균에 따른 차이가 없는 것으로 나타났으나, 향과 전반적인 기호도에 서 *A. malorum* V5-7로 발효한 옷식초가 높은 점수를 받았다.

감사의 글

This work was carried out with the support of 'Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ00982601)' Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Kim MJ, Hyun JO (1997) Genetic variation in urushiol components of *Rhus verniciflua* Stokes. Korean J Breed Sci, 29, 115-123
- Jung NC (1998) Biological activity of urushiol and flavonoids from Lac tree (*Rhus verniciflua* Stokes). Ph D Thesis, Chonnam National University, Korea, p 9-21
- Lee SK, Kang SM, Kim YS, Kang CG (2005) Quality comparison of emulsion-type sausages made from *Rhus verniciflua* Stokes fed pork and extract. Korean J Food Sci An, 25, 210-217
- MFDS (2014) Korean Food Standards Codex. Ministry of Food & Drug Safety, Cheongju, Korea, p 56, 165-166
- Baek SY, Lee CH, Park YK, Choi HS, Mun JY, Yeo SH (2015) Quality characteristics of fermented vinegar prepared with the detoxified *Rhus verniciflua* extract. Korean J Food Preserv, 22, 674-682
- Jeoung YJ, Lee MH (2000) A view and prospect of vinegar industry. Food Industry and Nutrition, 5, 7-12
- Anon (2014) Notification some revision of standards and specifications of food. Notification No. 2014-106 of Ministry of Food and Drug Safety
- Gullo M, Giudici P (2008) Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. Int J Food Microbiol, 125, 46-53
- Sengun IY, Karabiyikli S (2011) Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control, 22, 647-656
- Gonzalez A, Mas A (2011) Differentiation of acetic acid bacteria based on sequence analysis of 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences. Int J Food Microbiol, 147, 217-222
- Park MH, Lee JO, Lee JY, Yu SJ, Ko YJ, Kim YH, Ryu CH (2005) Isolation and characteristics of acetic acid bacteria for persimmon vinegar fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 1251-1257
- Kang SK, Jang MJ, Kim YD (2006) Isolation and culture conditions of *Acetobacter* sp. for the production of citron (*Citrus junos*) vinegar. Korean J Food Preserv, 13, 357-362
- Han WC, Ji SH, Surh JH, Kim MH, Lee JC, Jang KH (2010) Characterization of vinegar using *Rubus crataegifolius* and *Rosa rugosa* Thunb. J East Asian Soc Dietary Life, 20, 582-585
- Kang BH, Shin EJ, Lee SH, Lee DS, Hur SS, Shin KS, Kim SH, Son SM, Lee JM (2011) Optimization of the acetic acid fermentation condition of apple juice. Korean J Food Preserv, 18, 980-985
- Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, Choi MA, Kim ML, Kim MS (2013) Quality characteristics of vinegar fermented using *Omiija* (*Schizandra chinensis* Baillon). J Korean Soc Food Sci Nutr, 42, 441-449

16. Yi MR, Hwang JH, Oh YS, Oh HJ, Lim SB (2014) Quality characteristics and antioxidant activity of immature *Citrus unshiu* vinegar. J Korean Soc Food Sci Nutr, 43, 250-257
17. Baek SY, Park HY, Lee CH, Yeo SH (2014) Comparison of the fermented property and isolation of acetic-acid bacteria from traditional Korean vinegar. Korean J Food Preserv, 21, 903-907
18. Chen XH, Lou WY, Zong MH, Smith TJ (2011) Optimization of culture conditions to produce high yields of active *Acetobacter* sp. CCTCC M209061 cells for anti-Prelog reduction of prochiral ketones. BMC Biotechnol, 11, 110-121
19. NAAS (2013) Quality analysis manual for fermented food. Semyeongmunhwasa, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju, Korea, p 93-94
20. Hitachi High-Technologies Corporation. L-8900 Amino Acid Analyzer. (2014) Available from: <http://www.hitachi-hitec.com/global/science/lc/l8900.html#jump2>. Accessed
21. Shin JA, Choi SW, Lee KT (2005) Prediction of kimchi aging using electronic nose system. Korean J Food Preserv, 12, 613-616
22. Jo IH, Kim HS, Kim GM, Kim JS, Kim GC (2012) Effects of packaging method on the quality of blanched *Namul* during storage. Korean J Food Preserv, 19, 328-336
23. Yoon HN, Moon SY, Song SH (1998) Volatile compounds and sensory odor properties of commercial vinegars. Korean J Food Sci Technol, 30, 299-305
24. Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Jeong YJ, Yeo SH, Choi HS, Kwon JH (2010) Volatile compounds and sensory properties of commercial brown rice vinegars fermented with and without ethanol. Korean J Food Sci Technol, 42, 527-532
25. Hidalgo C, Torija MJ, Mas A, Mateo E (2013) Effect of inoculation on strawberry fermentation and acetification processes using native strains of yeast and acetic acid bacteria. Food Microbiol, 34, 88-94
26. Keum JH (1999) Studies on garlic and pumpkin vinegar. Korean J Food Nutr, 12, 518-522
27. Kim KE, Choi OS, Lee YJ, Kim HS, Bae TJ (2001) Processing of vinegar using the sea tangle (*Laminaria japonica*) extract. J Life Sci, 11, 211-217
28. Woo SM, Yeo SH, Kwon JH, Kim SH, Jeong YJ (2015) Quality characteristics of high-acidity vinegar prepared with grape juice. Korean J Food Preserv, 22, 100-107
29. Schuller G, Hertel C, Hammes WP (2000) *Gluconacetobacter entanii* sp. nov., isolated from submerged high-acid industrial vinegar fermentations. Int J Syst Evol Microbiol, 50, 2013-2020
30. Moon SY, Chung HC, Yoon HN (1997) Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. Korean J Food Sci Technol, 29, 663-670
31. Furukawa S, Takenaka N, Ueda R (1973) Conversion of non-volatile organic acids to acetic acid in acetic acid fermentation. J Ferment Technol, 51, 327-334
32. Shin JS, Jeong YJ (2003) 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
33. Lee YC, Jang OY, Kim HW, Choi CU, Yoon SK (1999) Physicochemical characteristics of traditional vinegars in Andong province. J Korean Soc Food Cult, 14, 17-20
34. Choi HS, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Kang JE, Kim MK (2012) Effect of the extracts from fermented-*Rhus verniciflua* stem bark with *Fomitella fraxinea* on the growth and enzyme activity of soybean product-fermenting microorganisms. Kor J Mycol, 40, 235-243
35. Seo JH, Park NY, Jeong YJ (2001) Volatile components in persimmon vinegars by solid phase microextraction. Korean J Food Sci Technol, 33, 153-156
36. Hong HK, Shin HW, Park HS, Yun DH, Kwon CH, Lee KC, Kim ST, Moriizumi T (1996) Gas identification using micro gas sensor array and neural-network pattern recognition. Sensors and Actuators, B33, 68-71
37. Lee BY, Yuk JS, Oh SR, Lee HK (2000) Aroma pattern analysis of various extracts of *Agastache rugosa* O. Kuntice by electron nose. Korean J Food Sci Technol, 32, 9-16