

발효 과일식초의 대사체 분석 및 향기 특성

최찬영¹, 박은희¹, 류수진², 신우창², 김명동^{1*}

¹강원대학교 식품생명공학과

²국순당

Received: July 2, 2018 / Revised: August 21, 2018 / Accepted: August 23, 2018

Metabolome Analysis and Aroma Characteristics of Fermented Fruit Vinegar

Chan-Yeong Choi¹, Eun-Hee Park¹, Su-Jin Ryu², Woo-Chang Shin², and Myoung-Dong Kim^{1*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

²Kooksoondang Brewery Co. Ltd, Seongnam 13202, Republic of Korea

Vinegar was prepared from the fruits produced in Gangwon province, and major metabolite and aroma components were investigated for acetic acid fermentation. In the case of *Meoru-Bokbunja* vinegar, the L-alanine content was greatly changed by acetic acid fermentation. Acetic acid had the highest content (43%) of total aromatic components, and the contents of ester compounds, such as ethyl acetate and isoamyl acetate, were significantly increased after fermentation. *Omija-Makgeolli* vinegar produced linalool and hexanoic acid by fermentation, and terpenoid compound was prevalent (41.5%). L-alanine was also increased in *Omija-Makgeolli* vinegar, similar to that of *Meoru-Bokbunja* vinegar. Terpene compounds, such as terpinol-4-ol and α -terpineol in *Omija-Makgeolli* vinegar, and ethyl acetate in *Meoru-Bokbunja* vinegar, were identified as major components in each aromatic formulation.

Keywords: Vinegar, metabolome, aroma characteristics, acetic acid, fermentation

서론

식초는 우리나라의 대표적인 발효식품으로, 식욕과 소화 흡수 촉진, 항산화 활성, 노화방지, 면역기능 향상 등의 생리 활성이 보고되었으며, 산미료 뿐만 아니라 건강 음료로서 최근 소비가 꾸준히 증가하고 있다[1]. 국내에서 조미료로 소비되는 식초는 주정을 원료로 사용하는 양조식초가 주를 이루고 있으나, 건강관련 기능성이 보고되면서 양조식초의 수요가 지속적으로 증가하고 있다. 이외에도 과일을 이용한 음용식초의 개발도 증가하고 있으며, 고급화, 다양화 등으로 인하여 향후 식초 및 관련 제품 시장의 규모는 더욱 증가할 것으로 전망된다[2].

식초 제조에 사용되는 대표적인 미생물로는 *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp. 등을 들 수 있으며, 에탄올을 기질로 사용하여 초산을 생산한다. 초산발효는 초산 이외에도 알코

올, 에스테르, 유기산 및 아미노산 등의 다양한 물질을 생산하여 식초마다 고유한 향미를 나타나게 된다[3, 4]. 발효 과정 중에 생성되는 주요 향기성분으로는 식초 고유의 향기로 알려진 acetic acid, ethyl acetate 등이 있으며, phenylethyl alcohol, phenylethyl acetate, isoamyl acetate 등도 특유의 풍미를 생성하는 것으로 알려져 있다. 식초의 품질은 원료, 발효 및 숙성 방법에 따라 달라지며[5, 6], 최근 정밀기기를 이용한 대사체(metabolome) 및 향기 성분 분석을 통해 제품의 품질 및 원산지 판별 등도 가능한 것으로 보고되었다[7].

대사체 분석은 핵자기 공명 Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS) 및 Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) 등의 다양한 분석 기기를 사용하여 시료에 존재하는 물질을 광범위하게 측정하는 것을 의미하며[8, 9], 최근에는 Ultra-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) 및 Gas Chromatography Time of Flight Mass Spectrometry (GC-TOF/MS) 등을 사용하여 극미량으로 존재하는 물질까지 분석할 수 있는 기술이 개발된 바 있다[10, 11].

*Corresponding author

Tel: +82-33-250-6458, Fax: +82-33-259-5565

E-mail: mdkim@kangwon.ac.kr

© 2018, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

향기 성분을 분석하는 방법으로는 관능검사법과 전자코, 전자혀 및 Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) 등을 이용한 기기 분석 방법이 있다[12, 13]. 관능검사법은 간단하고 신속한 장점이 있으나, 관능검사에 참여하는 패널들의 개인적인 기호도 차이로 인해 기기분석법에 비하여 결과의 재현성이 상대적으로 낮다는 단점이 있다[14]. 최근 이러한 단점을 보완하기 위하여 전자코 및 전자혀 등의 기기 분석법이 식품의 품질 평가에 활용되고 있으며[14, 15], 식품 내에 존재하는 향기 성분의 농도와 최소감지농도(Odor Threshold, OT)의 비율을 의미하는 향기활성가(Odor Activity Value, OAV)의 정의를 통해 특정 향기 성분이 해당 식품의 향미 특성에 기여하는 정도를 평가할 수 있게 되었다[16].

강원도는 지형 및 기후적인 영향으로 생산되는 과실의 종류가 국내 다른 지역에 비해 다양하지 않고 생산량도 적었으나 산간 지역의 기후 및 청정 자연환경을 이용한 특산 과실의 재배가 점차 증가하고 있는 추세이다[17]. 최근에는 지역에서 생산되는 과일인 머루, 다래, 오미자 및 복분자 등을 이용한 와인, 식초 등의 상품 개발이 꾸준히 이루어지고 있으나[18, 19], 이들의 이화학적 특성 및 향산화 활성 및 품질 특성에 관한 연구는 상대적으로 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 강원도에서 생산된 과일을 사용하여 제조한 식초의 대사체 및 향기 성분을 분석하여 고품질 식초 생산을 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 균주

머루는 강원도 영월군, 복분자는 강원도 원주시, 오미자는 강원도 횡성군에서 2016년에 수확된 것을 사용하였다. 알코올 발효를 위한 효모 균주는 (주)국순당에서 제공한 *Saccharomyces cerevisiae* KWN을 사용하였으며[20], YEPD (2% glucose, 1% yeast extract, 2% peptone) 액체 배지에 세포흡광도 (OD₆₀₀) 기준으로 초기 농도 OD₆₀₀ = 1 수준으로 접종하여 30°C에서 24시간 진탕배양기를 사용하여 배양하였다. 에탄올(5%, w/v)이 함유된 GY (2% glucose, 1% yeast extract) 배지를 사용하여 (주)국순당에서 제공한 *Acetobacter pasteurianus* KSD5 균주를 30°C, 150 rpm 조건으로 진탕배양기(JSR, Japan)를 사용하여 18시간 배양한 후 식초 제조를 위한 종초로 사용하였다[21].

식초 제조

수확된 머루를 분쇄하여 21° Brix의 착즙액을 제조한 후 *S. cerevisiae* KWN을 초기 세포 농도 OD₆₀₀ = 5 수준으로 접종하여, 25°C에서 7일 동안 정치 배양을 통해 알코올 발효를 진행하여 에탄올 농도 10%(v/v)의 머루주를 제조하였다.

머루·복분자 과실주 제작을 위하여 복분자를 분쇄하여 얻은 착즙액(10° Brix)을 머루주와 50% (w/v) 비율로 혼합하였다. 오미자 착즙액은 총산도가 약 6% (w/v) 수준으로 나타나 알코올 발효가 어려울 것으로 판단되어 쌀막걸리(주)국순당, Korea) 원주를 혼합하여 사용하였다. 쌀막걸리(10 L)에 오미자 착즙액을 초산 발효 중 단계적으로 추가하였으며, 초산 발효 개시일에 20% (v/v), 10일 후 30% (v/v), 발효 말기 40% (w/v) 비율로 첨가하였다. 각각의 과실주에 *A. pasteurianus* KSD5 균주를 초기 농도 OD₆₀₀ = 5로 접종하여 30°C 항온배양기에서 20일 동안 정치 배양하여 초산 발효를 진행하였다[22].

시료 전처리 및 유도체화

발효가 완료된 식초는 원심분리(5,867 ×g, 20분)한 후 상등액을 회수하여 초저온 냉동고(-70°C)에서 24시간 동안 보관한 후 동결건조(일신바이오베이스, Korea) 하였다. 동결건조물은 70% (w/v)의 에탄올(덕산과학, Korea)을 사용하여 1시간 동안 추출한 후, 상등액을 회수하여 감압건조기(Eppendorf, Germany)를 사용하여 건조하였다. Pyridine (Sigma-Aldrich, USA)을 20 mg/ml의 농도로 녹인 methoxyamine hydrochloride (Sigma-Aldrich)를 50 µl 첨가하여 30°C에서 90분 동안 반응시키고, *N*-methyl-*N*-trimethylsilyl trifluoroacetamide (MSTFA, Sigma-Aldrich, USA) 50 µl를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응한 후 여과지(polytetrafluoroethylene, 0.45 µm, Sigma-Aldrich)를 사용하여 여과하였다.

대사체 분석

GC (7890A, Agilent, USA)가 연결된 Pegasus HT-TOF-mass spectrometer (Leco, USA)에 RTX-5sil MS 컬럼 (Restek, USA)을 장착하여 사용하였다. 컬럼의 온도는 50°C에서 1분간 유지한 다음 330°C까지 분당 20°C씩 증가시킨 후 5분간 유지하였다. 이동상으로서 헬륨(He)을 1.5 ml/min의 유속으로 하였다.

향기 성분 분석

식초에 함유된 휘발성 향기 성분은 Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-GC/MS)법을 이용하여 추출하였다[23]. 휘발 성분 포집을 위해 시료 5 ml을 유리병(Supelco, USA)에 넣어 밀봉한 후 250°C에서 예열 처리된 SPME fiber (50/30 µm DVB/CAR/PDMS, Supelco)에 30분동안 흡착하였다. 흡착된 향기 성분은 250°C에서 3분간 열탈착한 후 GC-MS (Agilent)로 분석하였다. 컬럼은 DB-WAX (30 m × 0.32 mm × 0.5 µm, Agilent, USA)을 사용하였으며, 이동상으로 헬륨(He)을 1 ml/min의 유속으로 사용하였다.

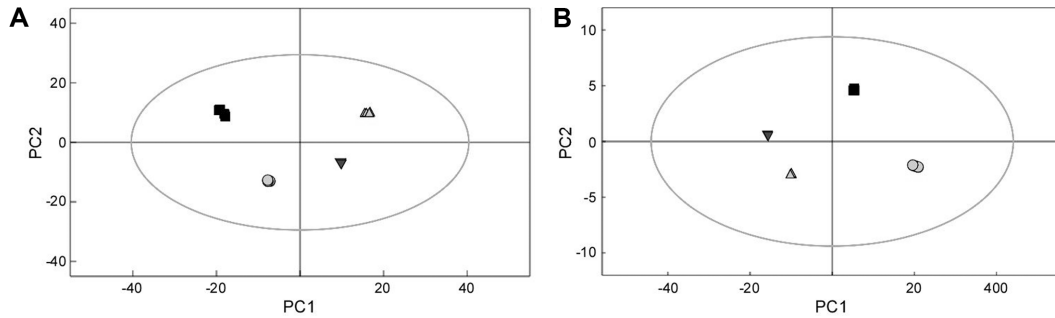


Fig. 1. PCA score plot derived from the GC-TOF/MS (A) and GC-MS (B) of fruit vinegars (light gray circle; *Meoru-Bokbunja* alcohol, black square; *Meoru-Bokbunja* vinegar, gray triangle; *Omija-Makgeolli* alcohol, dark gray inverted triangle; *Omija-Makgeolli* vinegar).

향기활성가 측정

상업적으로 판매되는 향기 성분 18종을 구입하여 향기활성가 측정을 위한 표준 물질로 사용하였다. 시료의 향미 특성에 기여하는 정도를 측정하기 위해 문헌에 보고된 각 향기 성분의 최소감지농도를 조사하였으며[24], GC-MS를 이용하여 정량 분석하였다[16]. 향기활성가는 시료에 포함된 특정 향기 성분의 농도와 최소감지농도의 비율로 정의하였다[24, 25]. 향기활성가가 1이하인 경우 특정 성분이 시료의 향미 특성에 미치는 정도가 미미하다고 판단하였다[24].

통계처리

모든 측정은 3회 반복하였으며 통계처리는 SPSS Statistics (v. 22, IBM, USA)를 사용하여 Duncan의 다중범위 검정법으로 유의성을 검정하였다[26]. 다변량 분석을 위하여 SIMCA (v.14, Umetrics, Sweden)를 이용하여 주성분 분석(Principle Component Analysis, PCA)과 부분최소제곱 판별 분석(Partial Least Square-Discriminant Analysis, PLS-DA)을 수행하였다[27, 28].

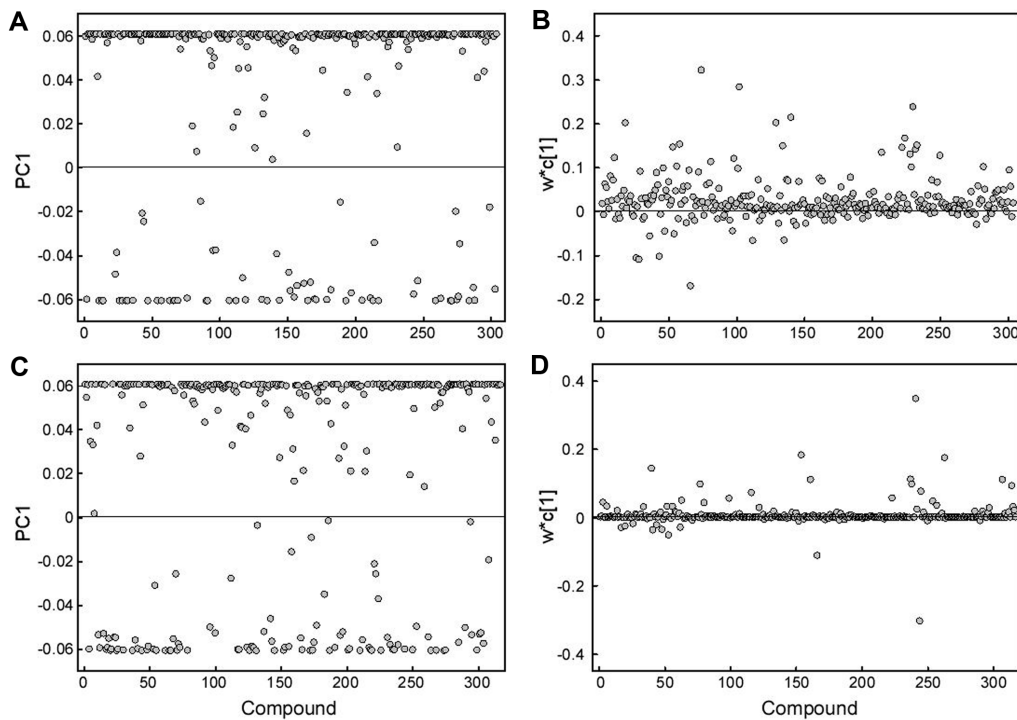


Fig. 2. PCA loading plot and PLS-DA loading plot from GC-TOF/MS analysis of *Meoru-Bokbunja* vinegar (A, B) and *Omija-Makgeolli* vinegar (C, D).

결과 및 고찰

대사체 분석

강원도에서 재배된 과일로 제조한 과일 식초의 대사체를 분석하였다. 초산 발효 전, 머루·복분자 과실주는 289개의 대사체가 동정되었으며, 머루·복분자 식초에서는 274개의 대사체가 동정되었다. 막걸리가 첨가된 오미자주에서는 303개, 막걸리가 첨가된 오미자(오미자·막걸리)를 발효한 식초에서는 287개의 대사체가 동정되어 초산 발효 이후 대사체 수가 다소 감소한 것으로 나타났다. 주성분 분석(PCA) 결과 제1주성분(PC1)의 기여율은 52.6%, 제2주성분(PC2)의 기여율은 27.9%로서, 총 90.5%의 누적기여율을 나타내었다(Fig. 1A). 머루·복분자 과실주와 식초는 초산 발효를 통하여 대사체의 변화가 구분되는 양상을 나타냈으며, 오미자에 막걸리를 첨가하여 제조한 식초의 경우도 초산 발효에 의하여 대

사체의 차이가 나타났다. 머루·복분자 식초가 오미자·막걸리 식초와 비교하여 초산 발효에 의한 대사체의 변화가 상대적으로 큰 것으로 나타났다.

주성분 및 부분최소제곱 판별 분석을 통하여 발효에 의한 대사체 함량의 증감을 확인하였다(Fig. 2). 초산 발효가 완료된 머루·복분자 식초는 총 237종류의 대사체의 함량이 증가된 것으로 나타났다(Fig. 2A). 부분최소제곱 판별 분석을 통하여 결정된 VIP (Variable Importance in the Projection) 값이[29] 1.0 이상인 당 및 당유도체류 11종, 유기산류 5종, 아미노산류 6종 등 22개 대사체를 확인하였다(Table 1). 이들 대사체 중 L-alanine의 함량 변화(VIP = 9.22)가 가장 큰 것으로 나타났으며, D-glucose, L-proline, ethyl-D-glucopyranoside 순으로 나타났다. 약 30종 이상의 식초에 함유된 아미노산을 분석한 연구에서 L-alanine의 함량이 식초의 종류를 구분할 수 지표물질로 제시되지 않았으나[30], 무화과식초에서[5]는 특이적으로 높은 함량을 나타낸 바 있으며, 머루·복분자 식초에서도 초산발효 전후에 유의적인 함량의 변화를 나타내어 머루·복분자 식초의 숙성 정도를 판단할 수 있는 중요한 지표물질 중의 하나로 사료된다.

Table 1. List of discriminative metabolites in Meoru-Bokbunja vinegar.

| Peak No. | Retention time (min) | Compounds | Variable importance projection |
|-----------------------------|----------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Sugar and sugar derivatives | | | |
| 1 | 09:14 | meso-Erythritol | 1.03 |
| 2 | 10:36 | D-ribose | 3.62 |
| 3 | 10:55 | D-rhamnose | 1.00 |
| 4 | 12:06 | D-ribitol | 1.90 |
| 5 | 12:22 | D-mannose | 2.08 |
| 6 | 13:28 | myo-Inositol | 1.00 |
| 7 | 13:36 | D-glucose | 7.15 |
| 8 | 17:03 | Guaiacol-β-glucopyranoside | 1.98 |
| 9 | 17:18 | D-xylose | 3.61 |
| 10 | 17:34 | Ethyl β-D-glucopyranoside | 4.35 |
| 11 | 19:44 | D-glucuronic acid | 2.55 |
| Organic acids | | | |
| 12 | 07:23 | 2-butenedioic acid | 3.83 |
| 13 | 07:26 | Butanedioic acid | 3.17 |
| 14 | 08:15 | Butanoic acid | 1.44 |
| 15 | 10:17 | Succinic acid | 3.68 |
| 16 | 10:58 | Cis-aconitic acid | 1.06 |
| Amino acids | | | |
| 17 | 06:30 | L-valine | 1.60 |
| 18 | 07:04 | L-leucine | 1.89 |
| 19 | 07:18 | L-isoleucine | 1.00 |
| 20 | 07:21 | L-proline | 5.06 |
| 21 | 12:16 | L-lysine | 1.00 |
| 22 | 13:08 | L-alanine | 9.22 |

Table 2. List of discriminative metabolites in Omija-Makgeolli vinegar.

| Peak No. | Retention time (min) | Compounds | Variable importance projection |
|-----------------------------|----------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Sugar and sugar derivatives | | | |
| 1 | 12:12 | Glycoside | 1.00 |
| 2 | 13:36 | D-glucose | 1.28 |
| 3 | 17:03 | Guaiacol-β-glucopyranoside | 3.24 |
| 4 | 17:34 | Ethyl β-D-glucopyranoside | 1.96 |
| Alcohols | | | |
| 5 | 10:59 | 4-hydroxyphenyl ethanol | 1.96 |
| Organic acids | | | |
| 6 | 07:23 | 2-butenedioic acid | 5.40 |
| 7 | 07:26 | Butanedioic acid | 1.35 |
| 8 | 08:15 | Butanoic acid | 3.09 |
| 9 | 13:21 | Pentanedioic acid | 1.72 |
| 10 | 14:01 | Phosphoric acid | 1.00 |
| Amino acids | | | |
| 11 | 06:12 | L-alanine | 10.28 |
| 12 | 06:30 | L-valine | 1.00 |
| 13 | 07:04 | L-leucine | 1.98 |
| 14 | 07:21 | L-proline | 8.77 |
| 15 | 09:56 | L-glycine | 1.64 |
| 16 | 11:34 | L-ornithine | 2.55 |

오미자·막걸리 식초의 경우 발효 후 222개의 대사체 함량이 증가된 것을 확인하였으며, 부분최소제공 판별 분석 시 당 및 당유도체류 4종, 알코올류 1종, 유기산류 5종, 아미노산류 6종 등 총 17종류의 대사체 함량이 증가되는 것으로 나타났다(Table 2). 머루·복분자 식초의 경우와 유사하게 L-alanine의 함량 변화(VIP = 10.28)가 가장 큰 것으로 나타났으며, L-proline, butane, 2-butanedioic acid 순으로 나타났다.

휘발성 성분 분석

본 연구에서 제조한 식초의 휘발성 성분을 측정된 결과 머루·복분자 과실주 및 머루·복분자 식초 모두 17종의 휘발성 성분이 동정되었다(Table 3). 머루·복분자주는 알코올류 6종, 유기산류 2종, 에스테르류 6종, 테르펜류 3종 등의 휘발성 성분이 확인되었으며, 이 중 phenylethyl alcohol, acetic acid, ethyl acetate, 2-heptanone 및 α -terpineol이 주요 휘발성 성분으로 검출되었다. Linalool, terpinene-4-ol 및 α -

terpineol 등의 성분은 복분자 열매에 함유된 주요 휘발성 성분으로 알려져 있다[31]. Ethyl hexanoate, ethyl octanoate 및 ethyl decanoate 등의 향기성분들은 머루·복분자주에 함유된 것으로 나타났으며, 이는 알코올 발효로 인해 생성된 것으로 판단된다[32]. 초산 발효가 완료된 머루·복분자 식초의 경우 알코올류 4종, 유기산류 3종, 에스테르류 3종, 테르펜류 3종 등의 향기 성분이 분석되었으며, 초산 발효에 의해 알코올성 휘발성분의 함량이 감소된 것으로 나타났다. 초산은 향기 성분 전체 함량 중 43%로 가장 높은 함량을 나타냈으며, ethyl acetate, phenylethyl alcohol 순으로 나타났으며, 초산 발효 후 ethyl acetate, isoamyl acetate 등의 에스테르 화합물의 함량이 증가하였다.

Ethyl acetate는 알코올과 초산의 에스테르화 반응에 의해 생성되는 물질로 식초 특유의 향미 특성을 부여하지만 과도하게 존재하게 되는 경우 화학 용매, 페인트류의 향을 나타내어 식초의 품질을 저하시키는 주요 원인으로 알려져 있

Table 3. Volatile compounds in fruit vinegars.

(Unit : peak area, %)

| Peak No. | Retention time (min) | Compounds | Sample | | | |
|----------|----------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | | Meoru-Bokbunja alcohol | Meoru-Bokbunja vinegar | Omija-Makgeolli alcohol | Omija-Makgeolli vinegar |
| 1 | 02:18 | Ethyl acetate | 11.88 | 16.30 | 1.44 | 3.12 |
| 2 | 09:36 | Isoamyl acetate | 1.57 | 4.23 | 0.84 | 0.36 |
| 3 | 14:44 | 2-Methyl-1-Butanol | 3.22 | 0.68 | 2.42 | - |
| 4 | 14:56 | 2-Heptanone | 10.39 | 2.85 | 9.99 | 1.22 |
| 5 | 15:42 | Ethyl hexanoate | 0.89 | - | - | - |
| 6 | 22:05 | o-Isopropenyltoluene | 1.61 | 1.02 | - | - |
| 7 | 22:28 | Ethyl octanoate | 3.95 | - | - | - |
| 8 | 22:50 | Acetic acid | 19.12 | 43.81 | 7.82 | 25.95 |
| 9 | 24:50 | Benserazide | - | 0.47 | - | 0.54 |
| 10 | 25:48 | Linalool | 2.48 | 1.42 | - | 0.52 |
| 11 | 27:30 | Terpinen-4-ol | 2.54 | 1.31 | 12.25 | 35.50 |
| 12 | 28:33 | Ethyl decanoate | 1.88 | - | - | - |
| 13 | 29:12 | 2,6-octadiene 2,6-dimethyl | - | - | - | 0.35 |
| 14 | 29:22 | Isovaleric acid | - | 1.62 | 0.56 | 1.17 |
| 15 | 30:37 | α -Terpineol | 8.64 | 5.97 | 1.81 | 6.00 |
| 16 | 31:47 | 1-Isopropoxy-2-propanol | 1.10 | - | - | - |
| 17 | 32:48 | (R)- β -citronellol | - | - | - | 2.10 |
| 18 | 33:48 | β -Phenylethyl acetate | 2.40 | 1.24 | 5.43 | 0.78 |
| 19 | 34:37 | Phenylthiotrimethylsilane | - | 3.03 | - | - |
| 20 | 34:48 | ρ -Cymen-8-ol | 0.71 | 0.52 | - | - |
| 21 | 35:05 | Hexanoic acid | 1.40 | 0.73 | - | 0.66 |
| 22 | 35:39 | Benzyl alcohol | - | 0.71 | - | - |
| 23 | 37:40 | Phenylethyl alcohol | 26.22 | 14.45 | 57.08 | 21.73 |

Table 4. Changes in aroma-active compounds in Meoru-Bokbunja samples.

| Compounds | Odor characteristics | OT ^a (mg/l) | Meoru-Bokbunja alcohol | | Meoru-Bokbunja vinegar | |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|------|
| | | | Concentration (mg/l) | OAV ^b | Concentration (mg/l) | OAV |
| Alcohols | | | | | | |
| 2-Methyl-1-Butanol | Winey, onion, fruity | 0.045 | 5.73 | 127.3 | 1.95 | 43.3 |
| Phenylethyl alcohol | Honey, spicy, rose | 140 | 0.02 | <1 | 0.01 | <1 |
| Benzyl alcohol | Floral, rose | | | | | |
| p-Cymen-8-ol | Sweet, Fruity | | | | - | - |
| Acids | | | | | | |
| Acetic acid | Pungent, vinegar | 200 | 514.25 | 2.6 | 2970.19 | 14.9 |
| Hexanoic acid | Fatty, sour | | | | | |
| Isovaleric acid | Sweet, cheese | 3 | - | - | 0.01 | <1 |
| Esters | | | | | | |
| Ethyl acetate | Pineapple, solvent | 12 | 65.66 | 5.5 | 142.26 | 11.9 |
| Ethyl hexanoate | Fruity, green apple | 0.05 | 1.58 | 31.6 | - | <1 |
| Ethyl octanoate | Fruity, winey | 0.60 | 5.59 | 9.3 | - | <1 |
| Ethyl decanoate | Fruity, grape | 0.20 | 0.16 | <1 | - | <1 |
| Isoamyl acetate | Banana | 0.30 | 0.12 | <1 | 0.51 | 1.7 |
| β-Phenylethyl acetate | Flowery, fruity, olive | 0.25 | 0.10 | <1 | 0.09 | <1 |
| Ketones | | | | | | |
| 2-Heptanone | Cheesy, waxy | 0.02 | 23.46 | 1171.5 | 10.32 | 516 |
| Terpenes | | | | | | |
| Linalool | Fruity, sweet | 0.025 | 1.8 | 72 | 1.7 | 68 |
| Terpinel-4-ol | Citrus, spicy | 0.25 | 2.4 | 9.6 | 2.1 | 8.4 |
| α-Terpineol | Floral, sweet | 0.25 | 14.0 | 56 | 16.9 | 67.6 |

OT : Odor threshold (Concentration/OAV), b) OAV : Odor activity value.

다[16]. 부패한 치즈 냄새와 같은 이취를 나타내는 물질의 하나인 isovaleric acid [33], 머루·복분자 식초와 오미자·막걸리 식초에서 검출되었으나 전체 향기 성분의 2% 미만으로 상대적으로 함량이 낮은 수준이었다.

오미자·막걸리 및 오미자·막걸리 식초는 각각 10종, 14종의 휘발성 성분이 동정되었다. 오미자·막걸리의 경우 phenylethyl alcohol 등의 알코올류 성분이 전체 향기 성분 중 59.5%로 가장 높은 비율을 나타내었으며, terpinen-4-ol, 2-heptanone 순으로 높은 함량을 나타냈다. 현미 식초의 경우 초산의 함량이 75% 내외[34]로 가장 높은 함량을 나타낸 것과 비교하여 머루·복분자 식초와 오미자·막걸리 식초에서 각각 43.81%, 25.95%로 낮은 초산 함량을 나타냈다(Table 3). 오미자·막걸리 식초는 초산 발효에 의하여 benserazide, linalool, hexanoic acid 등의 휘발성성분이 생성되었으며, 초산 이외에도 terpinen-4-ol, α-terpineol 등의 테르펜류가 전체 향기 성분 중 41.5%의 높은 비율을 차지하였다.

오미자·막걸리 식초에 함유된 휘발성분의 주성분 분석을

진행한 결과 제1, 2 주성분의 기여율은 각각 44.8, 32.6%으로 나타나 총 77.4%의 누적기여율을 나타내었다(Fig. 1B). 머루·복분자주와 머루·복분자 식초는 주성분분석을 통하여 초산 발효에 의하여 휘발성 성분의 양상이 구분되는 것으로 나타났다.

향기활성가 측정

식초의 향기 특성을 부여하는 휘발성 성분을 조사한 결과 머루·복분자주 및 머루·복분자 식초에서 각각 13종, 11종의 향기 성분이 확인되었다(Table 4). 머루·복분자 식초의 주요 향기 성분인 초산은 2,970.19 mg/l로 초산 발효를 통하여 약 5배 증가한 것으로 나타났으며, ethyl acetate는 142.26 mg/l로 약 2배 증가한 것으로 나타났다. 문헌에 보고된 각 성분의 최소 감지 농도[35, 36]를 이용하여 향기활성가를 측정된 결과 acetic acid와 ethyl acetate는 각각 14.9, 11.9로 식초의 향기 특성에 미치는 영향이 큰 것으로 판단되었다.

머루·복분자주에서 과일향을 나타내는 ethyl hexanoate,

Table 5. Changes in aroma-active compounds in *Omija-Makgeolli* samples.

| Compounds | Odor characteristics | OT ^a (mg/l) | <i>Omija-Makgeolli</i> alcohol | | <i>Omija-Makgeolli</i> vinegar | |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|-------|
| | | | Concentration (mg/l) | OAV ^b | Concentration (mg/l) | OAV |
| Alcohols | | | | | | |
| 2-Methyl-1-Butanol | Winey, onion, fruity | 0.045 | 12.76 | 283.5 | - | - |
| Phenylethyl alcohol | Honey, spicy, rose | 140 | 4.50 | <1 | 2.9 | <1 |
| Acids | | | | | | |
| Acetic acid | Pungent, vinegar | 200 | 438.64 | 2.2 | 2,356.31 | 11.8 |
| Hexanoic acid | Fatty, sour | | | | | |
| Esters | | | | | | |
| Ethyl acetate | Pineapple, solvent | 12 | 9.77 | <1 | 36.61 | 3.1 |
| Isoamyl acetate | Banana | 0.30 | 0.08 | <1 | 0.06 | <1 |
| β-Phenylethyl acetate | Flowery, fruity, olive | 0.25 | 0.29 | <1 | 0.07 | <1 |
| Ketones | | | | | | |
| 2-Heptanone | Cheesy, waxy | 0.02 | 28.00 | 1400 | 5.91 | 295.5 |
| Terpenes | | | | | | |
| Linalool | Fruity, sweet | 0.025 | - | - | 0.80 | 32 |
| Terpinel-4-ol | Citrus, spicy | 0.25 | 0.86 | 3.4 | 4.28 | 17.1 |
| α-Terpineol | Floral, sweet | 0.25 | 0.75 | 3.0 | 4.27 | 17.1 |
| (R)-β-citronellol | Floral, rose | | - | - | | |

OT : Odor threshold (Concentration/OAV), b) OAV : Odor activity value.

ethyl octanoate는 각각 31.6, 9.3의 향기활성가를 나타내어 향미 특성에 영향을 크게 미칠 것으로 판단되었다. 반면 바나나향을 나타내는 2-Methyl-1-butanol [37]은 초산 발효에 의하여 5.73 mg/l에서 1.95 mg/l로 감소하는 것으로 나타났다.

오미자·막걸리와 오미자·막걸리 식초에서는 각각 9종의 향기 성분이 확인되었으며, 2-methyl-1-butanol은 초산발효과정에서 함량이 감소하는 것으로 나타났다(Table 5). 초산은 발효과정을 통하여 438.64 mg/l에서 2,356.31 mg/l로 약 5.3배 증가하였으며, ethyl acetate는 9.77 mg/l에서 36.61 mg/l로 약 3.7배 증가하였다. 초산의 향기활성가는 11.8, ethyl acetate의 향기활성가는 3.1로 머루·복분자 식초와 비교하여 ethyl acetate의 향기활성가는 상대적으로 낮았다. 오미자·막걸리는 초산 발효에 의하여 과일 향기, 달콤한 향을 나타내는 linalool이 생성되었고, 향기활성가가 32를 나타내어 오미자·막걸리 식초의 향기 특성에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이외에도 감귤향을 나타내는 terpinel-4-ol, 꽃향기를 나타내는 α-terpineol 등 테르펜류의 향기활성가가 17.1로 오미자·막걸리 식초의 향미 특성에 크게 관여하는 것으로 판단되었다.

Malic acid, lysine, succinic acid, glucose, lactic acid 및 1-hexanol 등을 이용하여 원료에 따른 식초의 차이를 판별한 연구 사례가 있으며[30], acetic acid, ethyl acetate,

isoamyl acetate, isovaleric acid 등은 시판 과실식초의 주요 향기 성분으로 보고된 바 있다[4]. 사과식초에서는 malic acid [5], 야콘식초에서는 succinic acid [38] 등 원료의 종류에 따라서 제조한 식초에서 특징적으로 높은 함량을 나타내는 성분들이 알려져 있다. 본 연구를 통하여 머루·복분자 식초에서는 ethyl acetate, 오미자·막걸리 식초에서는 terpinel-4-ol, α-terpineol 등 테르펜류의 성분들이 특징적으로 나타나는 것을 확인하였다. 강원도에서 생산된 과일을 사용하여 제조한 식초의 대사체 및 향기 성분을 분석하여 고품질 식초 생산을 위한 기초자료가 될 것으로 사료된다.

요 약

강원도에서 생산된 과일을 사용하여 식초를 제조하여, 초산 발효에 의하여 변화되는 주요 대사체 및 향기 성분을 조사하였다. 머루·복분자 식초에서는 초산 발효에 의하여 L-alanine의 함량 변화가 가장 크게 변화하였으며, 초산은 향기 성분 전체 함량 중 43%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 초산 발효 후 ethyl acetate, isoamyl acetate 등의 에스테르 화합물의 함량이 증가하였다. 오미자·막걸리 식초의 경우 초산발효에 의하여 linalool, hexanoic acid 등이 생성되었고 테르펜류 화합물이 41.5%로 대부분을 차지하였다. 머루·복분

자 식초의 경우와 유사하게 L-alanine의 함량 변화가 가장 큰 것으로 나타났다. 머루·복분자 식초에서는 ethyl acetate, 오미자·막걸리 식초에서는 감귤향을 내는 terpinel-4-ol, 꽃향을 내는 α -terpineol 등 테르펜류의 성분들이 각 식초의 향기 특성에 큰 영향을 나타내는 것으로 확인되었다.

Acknowledgments

This research was financially supported by the Ministry of Trade, Industry and Energy (MOTIE) and Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT) through the Research and Promoting Regional specialized Industry.

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

1. Yeo SH, Lee OS, Lee IS, Kim HS, Yu TS, Jeong YJ. 2004. *Gluconacetobacte persimmonis* sp. nov., isolated from Korean traditional persimmon vinegar. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**: 276-283.
2. Jeong YJ. 2009. Current trends and future prospects in the Korean vinegar industry. *Food Sci. Ind.* **42**: 52-59.
3. Jung YJ, Lee MH. 2000. A view and prospect of vinegar industry. *Food Ind. Nutr.* **5**: 7-12.
4. Kim GR, Yoon SR, Lee JH, Yeo SH, Jeong YJ, Yoon KY, Kwon JH. 2010. Physicochemical properties of and volatile components in commercial fruit vinegars. *Korean J. Food Preserv.* **17**: 616-624.
5. Na HS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY, Ma SJ, Kim JY. 2013. Comparison of characteristics in commercial fermented vinegars made with different ingredients. *Korean J. Food Preserv.* **20**: 482-487.
6. Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Jang SY, Yeo SH, et al. 2010. Quality characteristics of brown rice vinegar by different yeasts and fermentation condition. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 1366-1372.
7. Hur SH, Kim SW, Min BW. 2015. Discrimination of cultivars and cultivation origins from the sepals of dry persimmon using FT-IR spectroscopy combined with multivariate analysis. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**: 20-26.
8. Pinu FR, Edwards PJ, Jounanneau S, Kilmartin PA, Gardner RC, Villas-Boas SG. 2014. Sauvignon blanc metabolomics: grape juice metabolites affecting the development of varietal thiols and others aroma compounds in wines. *Metabolomics* **10**: 556-573.
9. Lee JI, Park YJ, Gu EJ, Kim DW, Song SH, Jang GJ, et al. 2015. GC/MS-based metabolomics analysis of *Yershinia enterocolitica* and its growth media. *J. Agricul. Life Sci.* **49**: 199-207.
10. Zhuang B, Bi ZM, Wang ZY, Duan L, Lai CJ, Liu EH. 2018. Chemical profiling and quantitation of bioactive compounds in Platycladi Cacumen by UPLC-Q-TOF-MS/MS and UPLC-DAD. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **154**: 207-215.
11. Cappellin L, Aprea E, Granitto P, Wehrens R, Soukoulis C, Viola R, et al. 2012. Linking GC-MS and PTR-TOF-MS fingerprints of food samples. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* **118**: 301-307.
12. Jo YJ, Kim OM, Jeong YJ. 2013. Monitoring of the changes in volatile flavor components in oriental melon wine using SPME. *Korean J. Food Preserv.* **20**: 207-214.
13. Kim KH, Kim AH, Lee JK, Chun MS, Noh BS. 2014. Analysis of flavor pattern of various coffee beans using electronic nose. *Korean J. Food Sci. Technol.* **46**: 1-6.
14. Noh BS. 2005. Analysis of volatile compounds using electronic nose and its application in food industry. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 1048-1064.
15. Lee SW, Yoon SR, Kim GR, Woo SM, Jeong JH, Yeo SH, et al. 2012. Effects of Nuruk and fermentation method on organic acid and volatile compounds in brown rice vinegar. *Food Sci. Biotechnol.* **21**: 453-460.
16. Lee SJ, Noble AC. 2003. Characterization of odor-active compounds in Californian chardonnay wines using GC-olfactometry and GC-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 8036-8044.
17. Park YS, Heo JY, Kim IJ, Heo SJ, Kim KH, Jeong BC, Park SM. 2005. Growth and fruit characteristics of *Vitis amurensis* Rupr. collected in Gangwondo. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **13**: 226-233.
18. Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, et al. 2013. Quality characteristics of vinegar fermented using Omija. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**: 441-449.
19. Oh HJ, Lim SB. 2017. Quality changes in kiwifruit wines during fermentation and aging with different yeasts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **46**: 481-489.
20. Baek SY, Lee YJ, Kim MD, Lee JH, Mun JY, Yeo SH. 2015. Characterization of ethanol fermentation with wild type yeast strains. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **43**: 228-236.
21. 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.
22. Baek CH, Baek SY, Lee SH, Kang JE, Choi HS, Kim JH, Yeo SH. 2015. Characterization of *Acetobactor* sp. strain CV1 isolated from a fermented vinegar. *J. Microbiol. Biotechnol.* **43**: 126-133.
23. Jo YH, Gu SY, Chung NH, Gao Y, Kim HJ, Jeong MH, et al. 2016. Comparative analysis of sensory profiles of commercial cider vinegars from Korea, China, Japan, and US by SPME/GC-MS, E-nose, and E-tounge. *Korean J. Food Sci. Technol.* **48**: 430-436.
24. Guth H. 1997. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food chem.* **45**: 3027-3032.
25. Welke JE, Zarus M, Lazzarotto M, Zini CA. 2014. Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. *Food Res. Int.* **59**: 85-99.

26. Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **11**: 1-42.
27. Ramadan Z, Jacobs D, Grigorov M, Kochhar S. 2006. Metabolic profiling using principal component analysis, discriminant partial least squares, and genetic algorithms. *Talanta*. **68**: 1683-1691.
28. Worley B, Powers R. 2015. Multivariate analysis in metabolomics. *Curr. Metabolomics* **1**: 92-107.
29. Farrés M, Platikanov S, Tsakovski S, Tauler R. 2015. Comparison of the variable importance in projection (VIP) and of the selectivity ratio (SR) methods for variable selection and interpretation. *J. Chemometr.* **29**: 528-536.
30. Yoon HN. 1999. Chemical characterization of commercial vinegars. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**: 1440-1446.
31. Lee JW, Do JH. 2000. Chemical compounds and volatile flavor of *Rubus coreanum*. *Korean J. Food Nutr.* **13**: 453-459.
32. Choi SH, Kwak EJ. 2012. Volatile flavor compounds and sensory properties of *Yakju* fermented with different contents of *Meoru* (*Vitis coignetiae*). *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**: 642-648.
33. Aznar M, Lopez R, Cacho JF, Ferreira V. 2001. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 2924-2929.
34. Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Jeong YJ, Yeo SH, *et al.* 2010. Volatile compounds and sensory properties of commercial brown rice vinegars fermented with and without ethanol. *Korean J. Food Sci. Tech.* **42**: 527-532.
35. Sivert EC, Wang B, Parcsi G, Stuetz RM. 2016. Prioritisation of odorants emitted from sewers using odour activity values. *Water Res.* **88**: 308-321.
36. Zhu JC, Wang LY, Xiao ZB, Niu YW. 2018. Characterization of the key aroma compounds in mulberry fruits by application of gas chromatography-olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and flame photometric detection (FPD). *Food Chem.* **245**: 775-785.
37. Vogt M, Brusseler C, Ooyen J, Bott M, Marienhagen J. 2016. Production of 2-methyl-1-butanol and 3-methyl-1-butanol in engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Metab. Eng.* **38**: 436-445.
38. Lee MK, Choi SR, Lee JH, Choi YH, Lee JH, Park KU, *et al.* 2012. Quality characteristics and anti-diabetic effect of yacon vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 79-86.