

어젠다코드	2 - 6 - 2		구 분	계 속	
기술분야코드	V3	기술유형코드	H03	작목구분코드	RR-02-RR08
과 제 종 류	공동연구		세부사업(약어)	산자부	
과 제 명	중균활용 음료형 발효식초 개발				
과제책임자	성명		직급	소속기관 및 부서	
	홍진호		대표	농업법인 부일농산	
연구기간	2015 ~ 2018		참여연구기관	-	
세부과제명			부서	세부책임자	연구기간
1) 전통발효식초 상품 개발			농업법인 부일농산	홍진호	'15~'18
2) 식초 발효용 중균 개발			농식품연구소	이하연	'15~'18
색 인 용 어	중균, 초산균, 발효식초, 음료형 식초				

I. 연구목적

- *Acetobacter pasteurianus*는 식약처에 식품원료로 등재된 유일한 식초 발효용 미생물로서 식초 중균 수입액은 420억원('09년)으로 중균개발을 통한 중균 국산화 시급
- 현재 음용식초는 감, 사과, 석류, 복분자, 블루베리 등에 편중되어 있으며 지역특산작목을 활용한 차별화와 고급화를 통한 발효식초 다양화 및 부가가치 향상 연구 필요

II. 2017년도 추진목표 대비 당해연도 목표 달성도

추진목표	달성내용	달성도
<제2세부과제 : 식초 발효용 중균 개발> ○ 중균활용 발효식초 대량생산 공정 개발 ○ 발효·숙성기간별 대사체 분석 ○ 발효식초 생리활성 평가 ○ 음료형 발효식초 개발	[결과활용 : 학술발표 1/1, 특허출원 1/1, 홍보 1/1, 생물자원기탁 1/0] ○ 학술발표 : Complete genome sequence of <i>Gluconobacter oxydans</i> GV30-1 isolated from fermented vinegar in South Korea(유럽미생물학회) ○ 특허출원 : 중균을 이용한 발효식초 제조방법 ○ 홍 보 : 강원 농식품 기술이전설명회 홍보 ○ 생물자원기탁 : <i>Acetabcter pasteurianus</i> AFY-4 (KACC 92166P)	100%

Ⅲ. 주요 연구내용 및 결과요약

1. 연구내용

<제2세부과제 : 식초 발효용 종균 개발>

(시험1) 종균활용 발효식초 대량생산공정 개발

- 가. 시험재료 : 머루, 다래, 현미
- 나. 처리내용 : 발효기간(0~6개월) 정치배양(100L)
- 다. 분석내용 : 잔류알코올, 산도, 환원당, 색도

(시험2) 발효·숙성기간별 대사체 분석

- 가. 시험재료 : 발효식초(머루, 다래, 현미)
- 나. 처리내용 : 발효기간(1주~4주), 숙성기간(1~6개월)
- 다. 분석내용 : 유리당, 유리아미노산, 유기산, 지방산, 에스테르 등

(시험3) 발효식초 생리활성 평가

- 가. 시험재료 : 발효식초(머루, 다래, 현미)
- 나. 분석내용 : 항산화활성, 항균활성, 총페놀·플라보노이드함량, 지질과산화물 억제활성(SDS-PAGE)

(시험4) 음료형 발효식초 개발

- 가. 시험재료 : 발효식초(머루, 다래, 현미)
- 나. 처리내용 : 부재료(과실즙, 과실농축액 곡물당화액 등) 첨가
- 다. 분석내용 : 관능평가(전문패널 대상), 산도, 당도, 색도

2. 연구결과 요약

<제2세부과제 : 식초 발효용 종균 개발>

가. 반응표면분석법을 이용한 초산발효 최적화

- 머루식초 초산발효 최적화
 - 중심합성계획법을 이용하여 실험계획을 설계하였고, 초산발효 최적화를 위한 독립변수로 초기알코올, 초기산도, 접종농도 3가지 변수를 선정하였고, 종속변수로 잔류알코올과, 산도로 선정하여 분산분석을 통하여 높은 만족도를 갖는 최적점을 선택하고 지점 예측을 통해 최적값을 예측하였음

표 1. 머루식초 실험설계 및 결과

실험번호	변수 부호화			독립변수(%)			반응변수(%)		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3
호	초기알코올	초기산도	접종농도	초기알코올	초기산도	접종농도	잔류알코올	산도	당도
1	-1	-1	-1	6	1.0	15	0.3052	6.50	5.30
2	-1	-1	1	6	1.0	25	0.5123	6.47	5.60
3	-1	1	-1	6	2.0	15	0.0359	7.83	5.90
4	-1	1	1	6	2.0	25	0.0341	7.64	6.00
5	1	-1	-1	8	1.0	15	1.6878	6.46	6.20
6	1	-1	1	8	1.0	25	0.8980	6.58	6.40
7	1	1	-1	8	2.0	15	0.9563	7.53	6.53
8	1	1	1	8	2.0	25	1.5692	6.15	5.00
9	0	0	0	7	1.5	20	1.9077	6.38	6.20
10	0	0	0	7	1.5	20	1.8771	6.42	6.00
11	2	0	0	9	1.5	20	1.4793	3.99	5.50
12	-2	0	0	5	1.5	20	0.0347	6.88	5.10
13	0	2	0	7	2.5	20	1.2045	7.09	6.40
14	0	-2	0	7	0.5	20	0.9854	4.45	4.30
15	0	0	2	7	1.5	30	0.9828	7.26	6.50
16	0	0	-2	7	1.5	10	1.0751	6.74	5.70

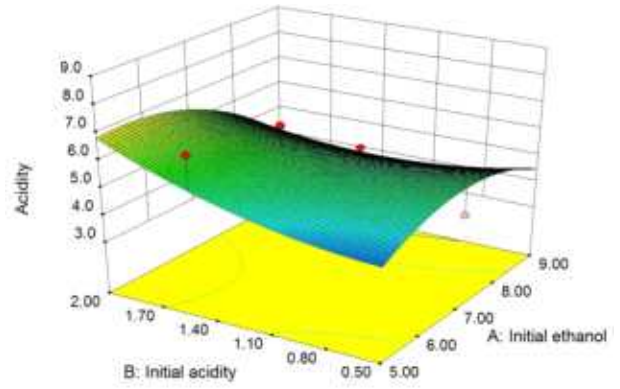
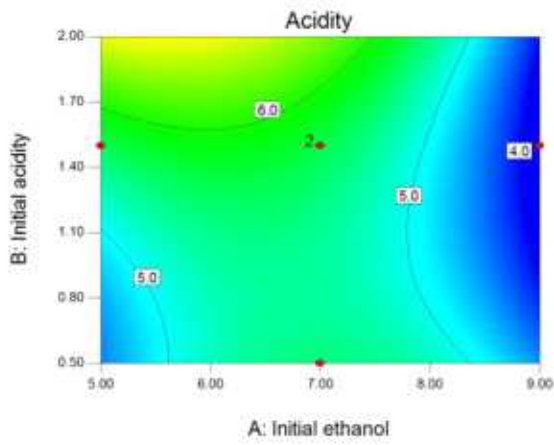
표 2. 머루식초 초산발효최적화 실험결과 분산분석

구분	제공합	자유도	평균제공합	F값	p값
모델	7.9628	3	2.6543	4.0129	0.0343
A : 초기알코올	3.5066	1	3.5066	5.3015	0.0400
B : 초기산도	4.4448	1	4.4448	6.7198	0.0236
C : 접종농도	0.0114	1	0.0114	0.0173	0.8976
잔차	7.9372	12	0.6614		
적합성결여	7.9366	11	0.7215	1146.9141	0.0230
순 오차	0.0006	1	0.0006		
합계	15.9000	15			
표준편차		0.8133	예측 오차제공합		15.7147
평균		6.5235	결정계수(R ²)		0.5008
변동계수		12.4670	조정결정계수		0.3760

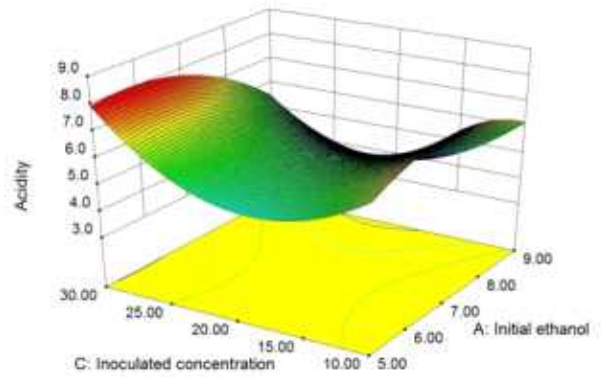
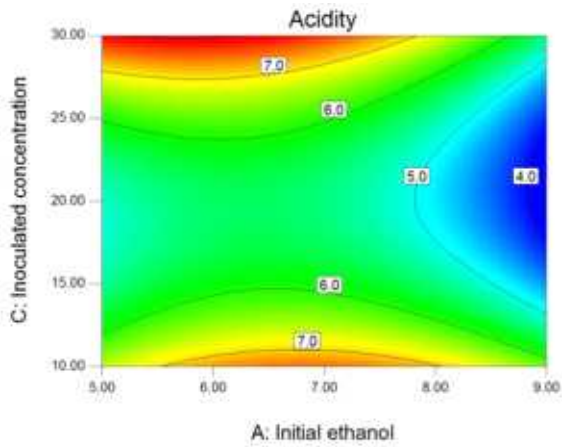
표 3. 머루식초의 초산발효 최적화 반응표면 모델식

예측	2차 회귀모형식
산도	Acidity = 6.26 - 0.94A + 0.79B - 0.053C

A. 초기알코올과 초기산도



B. 초기산도와 접종농도



C. 초기알코올과 접종농도

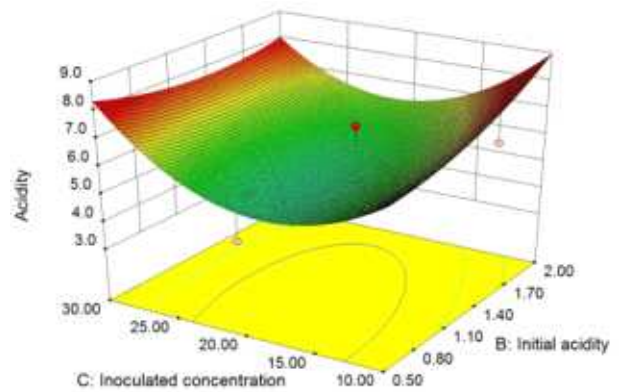
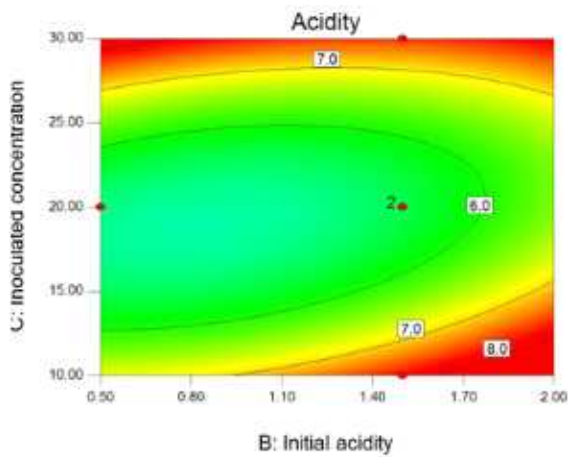


그림 1. 머루식초 초산발효 최적화 반응표면분석

표 4. 머루식초의 최적 초산발효 조건 예측

(단위 : %)

구 분	목표값	최소 한계	최대 한계	최적화 수치
A: 초기알코올	in range	5	9	5.17
B: 초기 산도	in range	0.5	2	1.98
C: 접종 농도	in range	10	30	10.15
산도	Maximize	3.99	7.83	7.93692
잔류알코올	Minimize	0.0340	1.9077	0.153234

- 머루식초의 최적조건은 초기 알코올도수 5.17%, 초기산도 1.98%, 접종농도 10.15%로 예측되었음

○ 다래식초 초산발효 최적화

- 다래식초의 최적조건은 초기 알코올도수 9.00%, 초기산도 1.29%, 접종농도 15.34%로 예측되었음

표 5. 다래식초 실험설계 및 결과

번호	변수 부호화			독립변수(%)			반응변수(%)		
	X1 초기 알코올	X2 초기 산도	X3 접종 농도	X1 알코올	X2 초기 산도	X3 접종 농도	Y1 잔류 알코올	Y2 산도	Y3 당도
1	-1	-1	-1	6	1.0	15	0.0048	4.20	3.50
2	-1	-1	1	6	1.0	25	0.0326	3.57	3.60
3	-1	1	-1	6	2.0	15	0.0217	4.49	3.70
4	-1	1	1	6	2.0	25	0.0374	4.10	3.80
5	1	-1	-1	8	1.0	15	0.0060	4.26	3.93
6	1	-1	1	8	1.0	25	0.0194	3.86	4.00
7	1	1	-1	8	2.0	15	0.0244	4.53	4.00
8	1	1	1	8	2.0	25	0.0495	4.41	4.20
9	0	0	0	7	1.5	20	0.0264	4.33	3.80
10	0	0	0	7	1.5	20	0.0085	4.69	4.00
11	2	0	0	9	1.5	20	0.0142	5.14	4.50
12	-2	0	0	5	1.5	20	0.0245	4.29	3.50
13	0	2	0	7	2.5	20	0.0523	4.67	4.10
14	0	-2	0	7	0.5	20	0.0056	3.88	3.60
15	0	0	2	7	1.5	30	0.0388	4.35	4.10
16	0	0	-2	7	1.5	10	0.0087	4.64	3.60

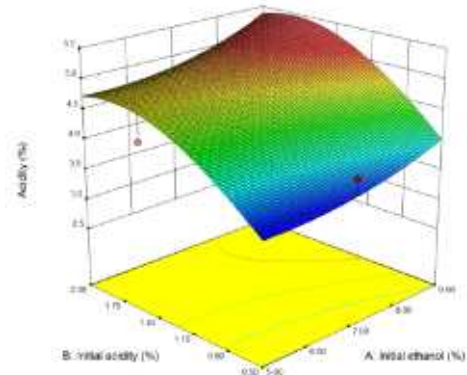
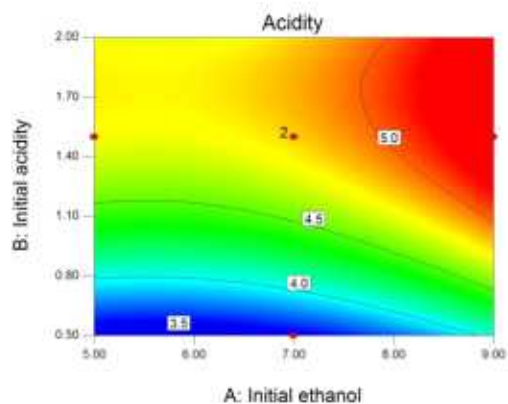
표 6. 다래식초 초산발효최적화 실험결과 분산분석

구 분	제공합	자유도	평균제공합	F값	p값
모델	0.1062	9	0.0118	6.3164	0.0281
A-초기알코올	0.0123	1	0.0123	6.5990	0.0501
B-초기산도	0.0526	1	0.0526	28.1395	0.0032
C-접종농도	0.0175	1	0.0175	9.3463	0.0282
AB	0.0000	1	0.0000	0.0071	0.9363
AC	0.0021	1	0.0021	1.1091	0.3405
BC	0.0026	1	0.0026	1.3731	0.2941
A2	0.0017	1	0.0017	0.8870	0.3895
B2	0.0208	1	0.0208	11.1098	0.0207
C2	0.0112	1	0.0112	6.0016	0.0579
잔차	0.0093	5	0.0019		
적합성결여	0.0062	4	0.0016	0.5019	0.7691
순 오차	0.0031	1	0.0031		
합계	0.1163	15			
표준편차	0.0432		예측 오차제공합		0.9430
평균	1.4641		결정계수(R ²)		0.9192
변동계수	2.9526		조정결정계수		0.7736

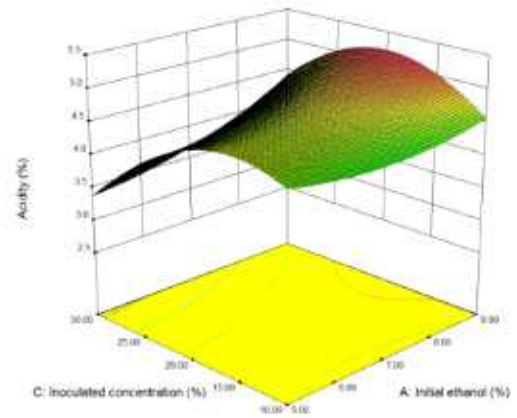
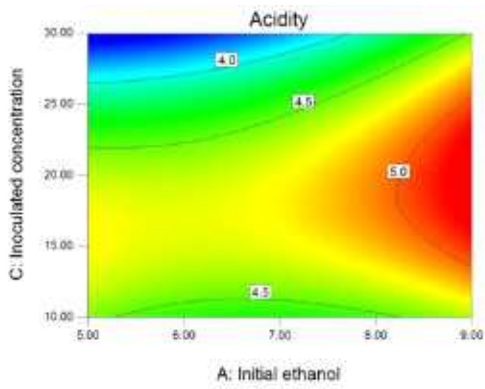
표 7. 다래식초의 초산발효 최적화 반응표면 모델식

구 분	2차 회귀모형식
산 도	$\text{Acidity} = 1.54 + 0.0681A + 0.15B + 0.081C - 3.851E-003AB + 0.064AC + 0.054BC + 0.041A^2 - 0.11B^2 - 0.15C^2$

A. 초기알코올과 초기산도



B. 초기산도와 접종농도



C. 초기알코올과 접종농도

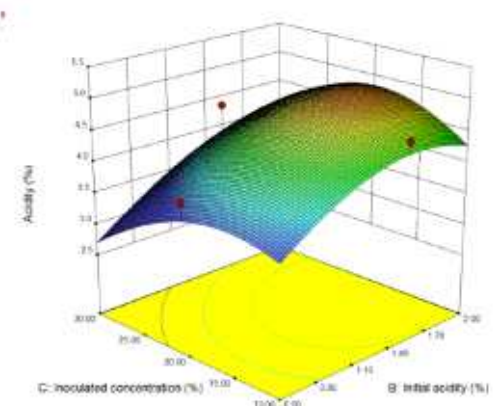
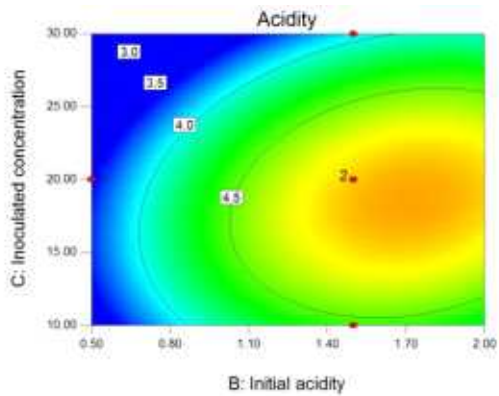


그림 2. 다래식초 초산발효 최적화 반응표면분석

표 8. 다래식초의 최적 초산발효 조건 예측

구분	목표값	최소 한계	최대 한계	최적화 수치
A: 초기알코올	in range	5	9	9.00
B: 초기 산도	in range	0.5	2	1.29
C: 접종 농도	in range	10	30	15.34
산도	Maximize	3.53	5.14	5.1177
잔류알코올	Minimize	0.0048	0.0523	0.0095

○ 현미식초 초산발효 최적화

- 현미식초의 최적조건은 초기 알코올도수 7.79%, 초기산도 2.00%, 접종농도 30.00%로 예측되었음

표 9. 현미식초 실험설계 및 결과

번호	변수 부호화			독립변수(%)			반응변수(%)		
	X1 초기 알코올	X2 초기 산도	X3 접종 농도	X1 알코올	X2 초기 산도	X3 접종 농도	Y1 잔류 알코올	Y2 산도	Y3 당도
1	-1	-1	-1	6	1.0	15	0.0051	5.85	4.40
2	-1	-1	1	6	1.0	25	0.0129	6.13	4.80
3	-1	1	-1	6	2.0	15	0.0118	6.83	5.00
4	-1	1	1	6	2.0	25	0.0121	6.92	5.30
5	1	-1	-1	8	1.0	15	0.0220	7.31	5.47
6	1	-1	1	8	1.0	25	0.0198	7.39	5.70
7	1	1	-1	8	2.0	15	0.0050	7.65	5.73
8	1	1	1	8	2.0	25	0.0187	8.01	6.10
9	0	0	0	7	1.5	20	0.0182	7.24	5.50
10	0	0	0	7	1.5	20	0.0158	7.25	5.60
11	2	0	0	9	1.5	20	0.5819	7.69	6.23
12	-2	0	0	5	1.5	20	0.0090	5.96	4.53
13	0	2	0	7	2.5	20	0.1649	7.85	5.70
14	0	-2	0	7	0.5	20	0.0295	5.96	5.00
15	0	0	2	7	1.5	30	0.0224	7.07	6.10
16	0	0	-2	7	1.5	10	0.0125	6.58	4.90

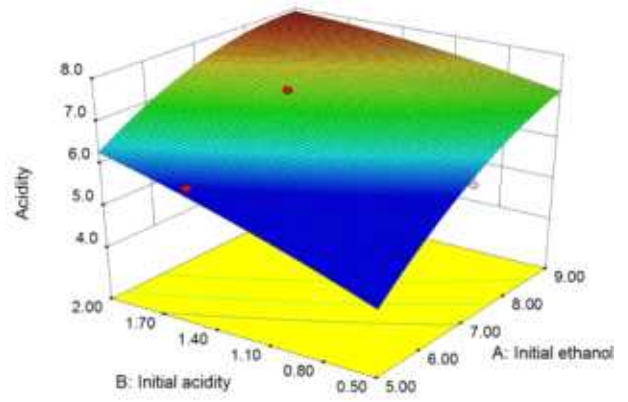
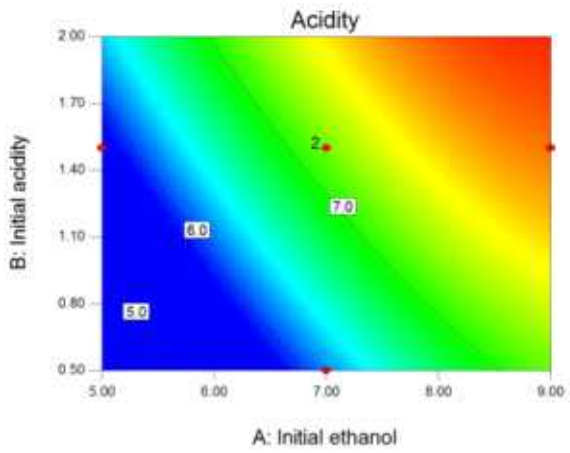
표 10. 현미식초 초산발효최적화 실험결과 분산분석

구 분	제공합	자유도	평균제공합	F값	p값
모델	6.965544	3	2.321848	53.427870	0.000000
A-초기알코올	4.102906	1	4.102906	94.411657	0.000000
B-초기산도	2.663776	1	2.663776	61.295941	0.000005
C-접종농도	0.198863	1	0.198863	4.576012	0.053671
잔차	0.521491	12	0.043458		
적합성결여	0.521339	11	0.047394	311.834336	0.044144
순 오차	0.000152	1	0.000152		
합계	7.487035	15			
표준편차		0.1923	예측 오차제공합		2.3451
평균		6.9808	결정계수(R ²)		0.9751
변동계수		2.7547	조정결정계수		0.9302

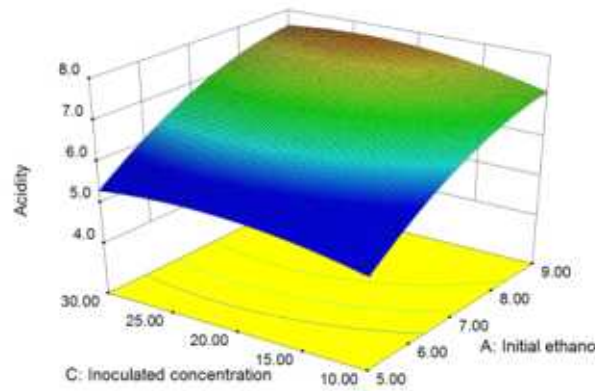
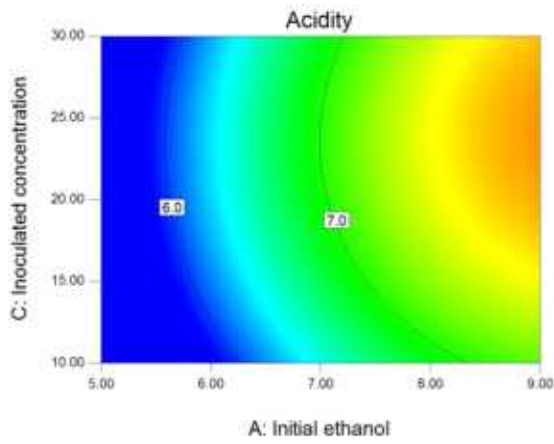
표 11. 현미식초의 초산발효 최적화 반응표면 모델식

구 분	2차 회귀모형식
산 도	Acidity = 6.78 + 1.01A + 0.61B + 0.22C

A. 초기알코올과 초기산도



B. 초기산도와 접종농도



C. 초기알코올과 접종농도

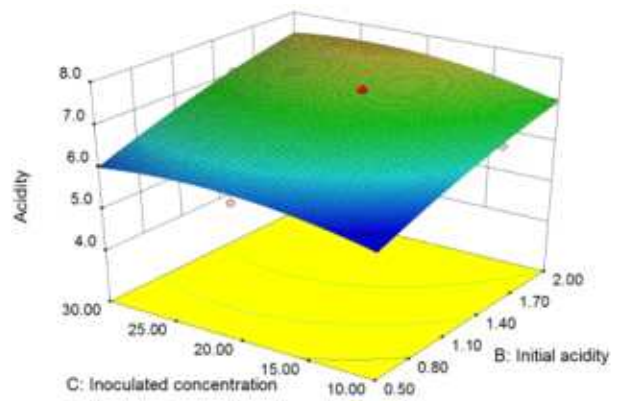
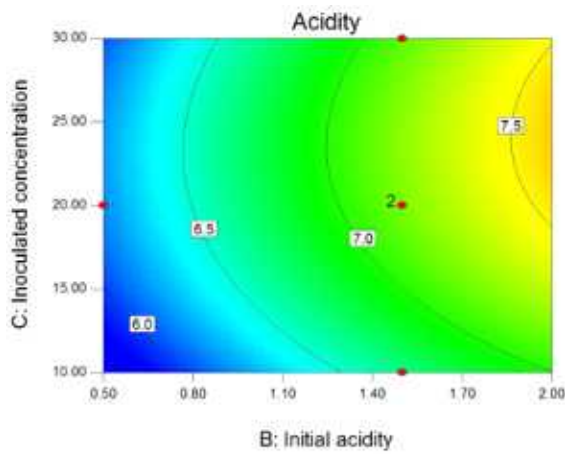


그림 3. 현미식초 초산발효 최적화 반응표면분석

표 12. 현미식초의 최적 초산발효 조건 예측

(단위 : %)

구 분	목표값	최소 한계	최대 한계	최적화 수치
A: 초기알코올	in range	5	9	7.79
B: 초기 산도	in range	0.5	2	2.00
C: 집종 농도	in range	10	30	30.00
산도	Maximize	5.85	8.01	8.01008
잔류알코올	Minimize	0.0050	0.5819	0.138701

- 위 결과들을 근거로 AFY-4 균주를 이용한 발효식초 제조의 초산발효 조건으로 활용하였음

나. 발효·숙성기간별 대사체 분석

○ 숙성기간별 다래식초 주요 대사체 비교

- 숙성기간에 따른 다래식초의 주요 대사체를 GC-TOF/MS로 분석하여 주요 대사물질을 선정하기 위하여 Fisher ratio 값이 200이상인, 총 507종의 대사체 중 7종의 대사물질이 선정되었음

그림 4. 다래식초의 GC-TOF/MS 총이온크로마토그램

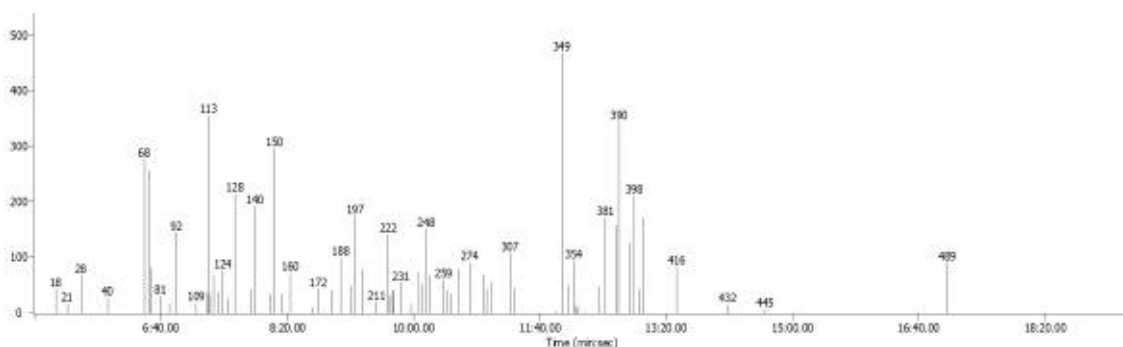


그림 5. 숙성기간별 다래식초의 Fisher ratio plot
(숫자 : 대사물질의 피크번호)

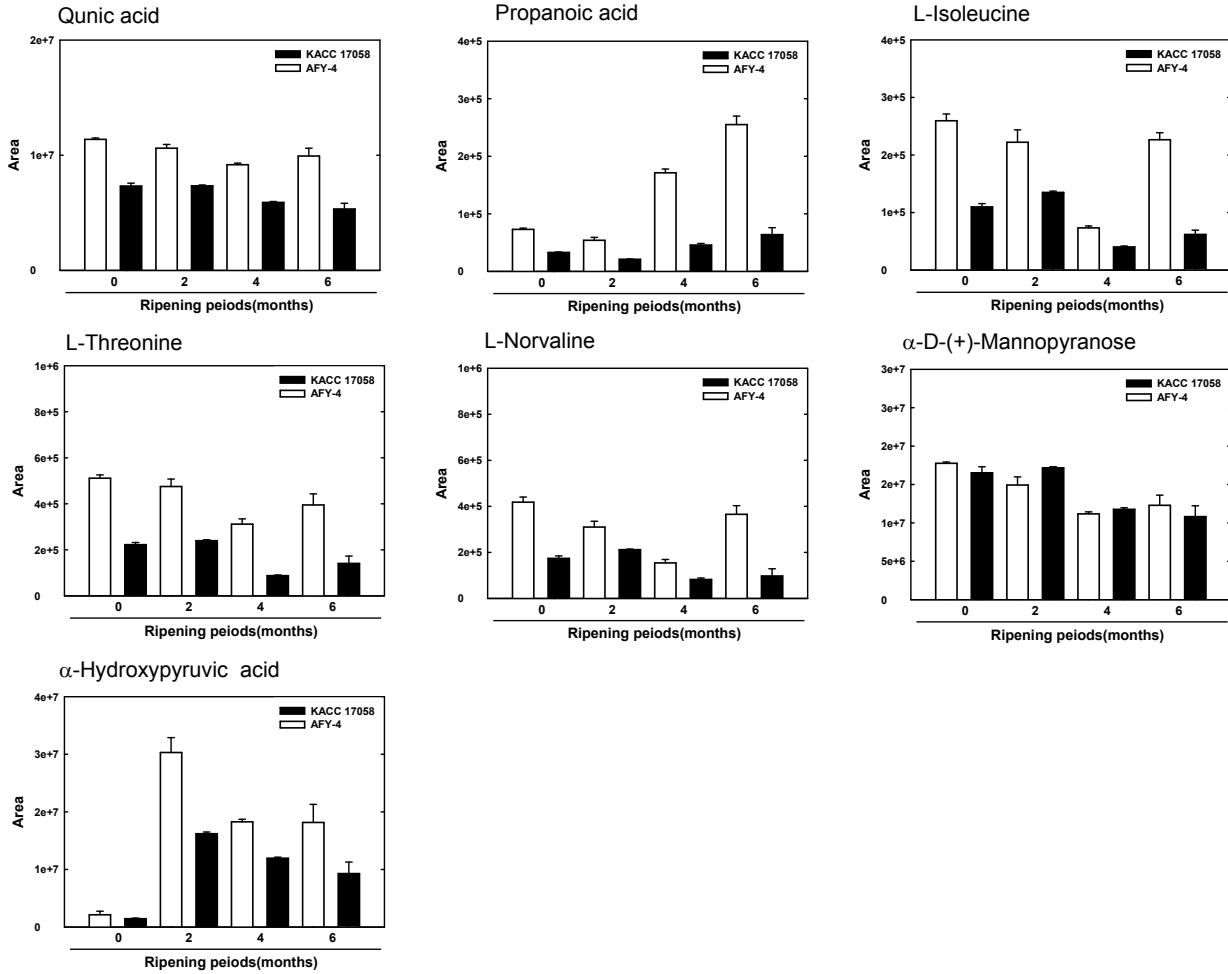


그림 6. 숙성기간별 다래식초의 주요 대사물질 비교

표 13. 숙성기간에 따른 다래식초의 주요 대사물질

No.	Name	Peak No.	mass	Fisher ratio ¹⁾
<i>Organic acids</i>				
1	Quinic acid	349	345	467.31
2	Propanoic acid	128	189	213.99
<i>Amino acids</i>				
3	L-Isoleucine	113	158	355.49
4	L-Theronine	150	73	295.34
5	L-Norvaline	74	144	256.65
<i>Sugar and sugar derivatives</i>				
6	α-D-(+)-Mannopyranose	390	204	344.11
7	α-Hydroxypyruvic acid	398	73	209.81

¹⁾ Fisher ratio : $(m_1 - m_2)^2 / (v_1 + v_2)$, m은 평균, v는 변화량으로 변수의 판별능을 나타내는 값

- 균주의 종류와 숙성기간에 따라 발효식초의 대사물질의 함량이 변화하는 것을

- 확인하였고, 특히 Shikimate pathway의 대사산물로서 다래에 풍부하다고 알려진 퀴닌산(quinic acid)의 Fisher ratio 값이 467.31로 가장 높게 나타남
- 총 7종의 대사물질은 유기산 2종, 아미노산 3종, 당류 및 유도체 2종으로 분류되었고, 6종(Qunic acid, L-isoleucine, L-threonine, L-norvaline, a-D-(+)-Mannopyranose)의 대사물질은 숙성기간이 경과됨에 따라 감소하는 경향을 보인 반면, propanoic acid만 증가하는 경향을 나타냄

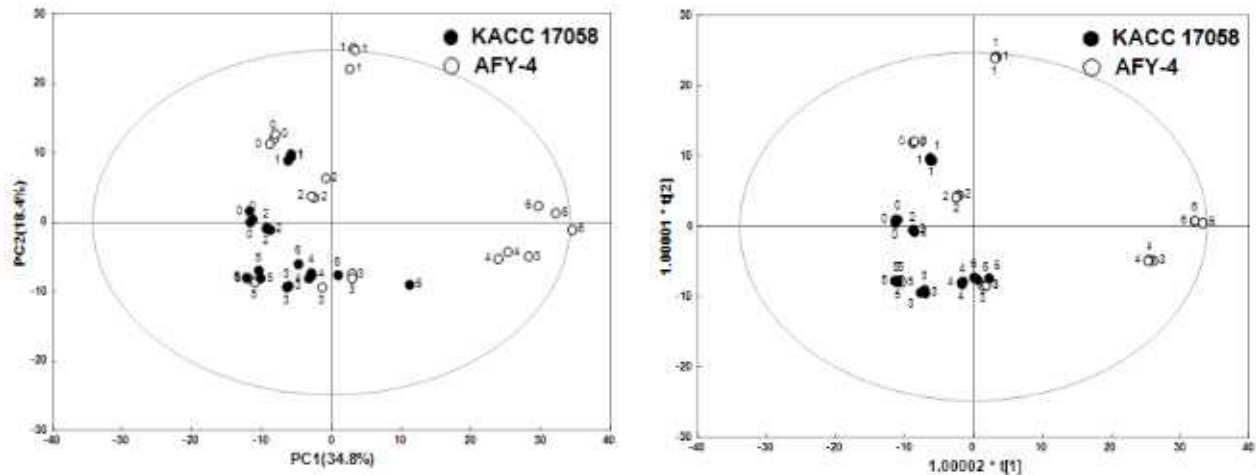


그림 7. 숙성기간별 다래식초의 대사체 다변량 통계분석
(좌: PCA, 우: OPLS-DA)

- 다변량 통계분석을 통하여 숙성시간에 따른 대사체의 profiling을 분석한 결과 주성분분석(PCA)보다 직교부분최소자승법판별분석(OPLS-DA) 결과가 R²가 각각 0.639, 0.881로 OPLS-DA 판별모델이 더 적합한 것으로 확인되었고, AFY-4 균주로 발효시킨 다래식초가 4개월, 6개월 숙성되었을 때, 다른 숙성기간에 비하여 현저하게 구별됨을 확인함

다. 발효식초 생리활성 평가

○ 발효식초의 항균활성

- 디스크 확산법으로 식중독미생물 5종에 대한 항균활성을 측정한 결과 *Salmonella enterica*와 *Bacillus cereus*에 대한 항균활성을 나타내었고, 현미식초의 경우 머루식초와 다래식초에 비하여 유의적으로 높은 항균활성을 나타냄

표 14. 식중독미생물에 대한 발효식초 항균활성 비교

(단위 : mm)

구분	머루식초	다래식초	현미식초
<i>Salmonella enterica</i>	9.75±0.35 ^a	14.75±0.35 ^b	15.75±0.35 ^b
<i>Bacillus cereus</i>	18.50±0.71 ^a	18.75±0.35 ^a	20.25±0.35 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	N.D ¹⁾	N.D	N.D
<i>Escherichia coli</i>	N.D	N.D	N.D
<i>Yersinia enterocolitica</i>	N.D	N.D	N.D

¹⁾ Not detected

○ 발효식초의 항산화 활성

- 항산화 활성을 측정하여 IC₅₀ 값을 비교한 결과 다래 < 머루 < 현미식초 순으로 낮아 다래식초가 가장 높은 항산화 활성을 나타내었고, 총페놀 및 총플라보노이드 함량은 머루 > 다래 > 현미식초 순으로 머루식초가 가장 높았음

표 15. 발효식초 항산화 활성, 총페놀 및 총플라보노이드 함량

구 분	머루식초	다래식초	현미식초
DPPH assay(IC ₅₀) ¹⁾	0.12%	0.06%	0.34%
ABTS assay(IC ₅₀)	0.60%	0.62%	1.03%
Total phenol(μg GAE/mL) ²⁾	117.43±2.37 ^b	87.00±1.96 ^c	25.41±0.18 ^a
Total flavonoid(μg NE/mL) ³⁾	82.01±6.61 ^b	49.11±6.61 ^c	11.83±1.68 ^a

¹⁾ IC₅₀(Inhibitory concentration 50%) : 활성을 50% 억제하는데 필요한 농도(대조구 Vit.C- 0.29 mg/mL)

²⁾ GAE(Gallic acid equivalent) : 갈산 당량

³⁾ NE(Naringin equivalent) : 나린진 당량

○ 발효식초의 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

- 첨가농도별 발효식초 처리에 따른 지질과산화물 중간생성물인 MDA(Malondialdehyde)와 단백질 BSA(bovine serum albumin)의 결합억제 효과를 SDS-PAGE를 통하여 확인한 결과, 발효식초 첨가농도의 의존적으로 MDA-BSA 결합물의 농도가 감소하는 것을 확인하였음

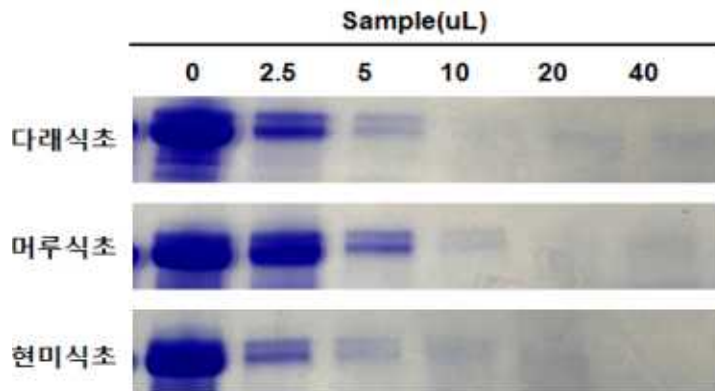


그림 8. MDA-BSA 결합단백질 SDS-PAGE

- 또한 현미 > 다래 > 머루식초 순으로 지질과산화물과 단백질의 결합 억제 효과가 높은 것으로 확인되어 발효식초의 콜레스테롤 생합성 대사의 억제 효과가 가능성을 확인함

라. 음료형 발효식초 개발

○ 음료형 발효식초 제조

- AFY-4 균주를 이용한 발효식초와 음료베이스 및 음료 제조공정에 대하여 특허

출원 완료하였음(출원번호 : 10-2017-0039860)

표 16. 머루식초 음료베이스 배합비

재 료	중 량 (g)
머루식초(산도 6.06%, 당도 5.1°Brix)	25
머루청(57.9°Brix)	30
머루착즙액(20.2°Brix)	10
머루농축액(54.5°Brix)	5
구연산	0.02
정제수	29.98
합 계	100

표 17. 다래식초 음료베이스 배합비

재 료	중 량 (g)
다래식초(산도 7.42%, 당도 7.8°Brix)	20
다래청(57.8°Brix)	30
다래착즙액(12.6°Brix)	10
올리고당(77.5°Brix)	5
정제수	35
합 계	100

표 18. 현미식초 음료베이스 배합비

재 료	중 량 (g)
현미식초 (산도 6.72%, 당도 5.46 °Brix)	25
볶은현미추출물(0.4 °Brix)	30
현미농축액(62.5 °Brix)	20.02
올리고당(77.5 °Brix)	23.12
쌀향	0.1
정제수	1.76
합 계	100

표 19. 다래식초 음료 배합비

재 료	중 량 (g)
다래식초	12
다래청(57.8 °Brix)	20
다래착즙액(12.6 °Brix)	8
올리고당(77.5 °Brix)	2
정제수	58
합 계	100

표 20. 머루식초 음료 배합비

재 료	중 량 (g)
머루식초	10
머루청(57.9 °Brix)	20
머루착즙액(20.2 °Brix)	8
머루농축액(54.5 °Brix)	2
구연산	0.02
정제수	59.98
합 계	100

표 21. 현미식초 음료 배합비

재 료	중 량 (g)
현미식초	11.20
볶은현미추출물(0.4 °Brix)	50
현미농축액(62.5 °Brix)	13
올리고당(77.5 °Brix)	13.02
쌀향	0.1
정제수	12.68
합 계	100



【발효식초】



【음료베이스】



【음료】

그림 9. 발효식초를 이용한 음료베이스 및 음료 시제품

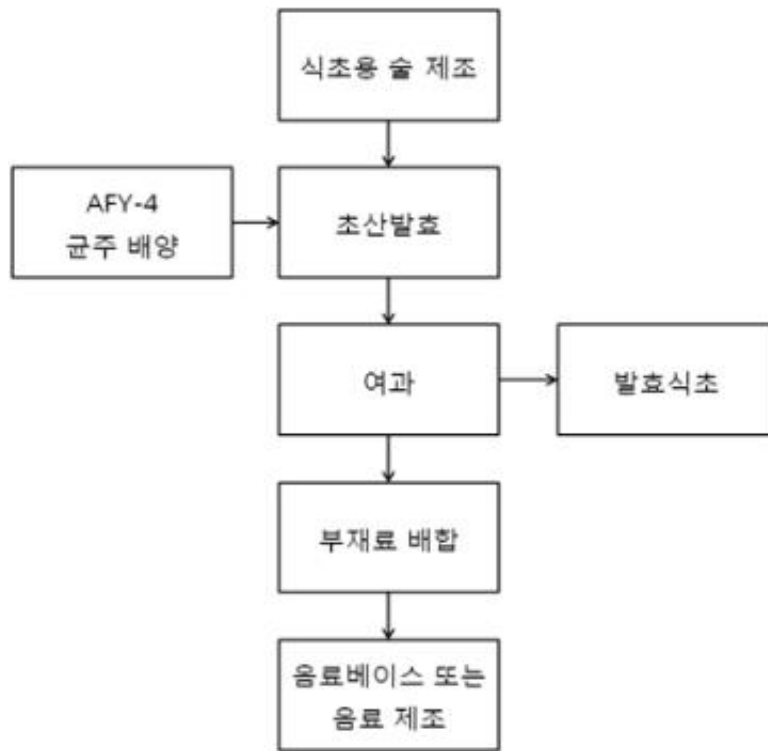


그림 10. 종균활용 발효식초 제조공정

표 22. 발효식초 이화학적 특성

구 분	머루식초	다래식초	현미식초
pH	2.88	2.97	2.95
산도(%)	8.61	7.82	8.57
당도(°Brix)	15.1	7.8	5.46
총 유기산(mg%)	4,624	5,900.78	5,666
유기산 (mg%)			
Formic acid	-	125.90	-
Oxalic acid	5.63	5.29	18.98
Acetic acid	4222.10	5090.22	5339.56
Lactic acid	38.12	206.18	53.29
Succinic acid	17.50	23.38	46.50
Tartaric acid	19.52	-	73.88
Citric acid	321.28	449.80	134.44
총 유리아미노산(mg%)	37.42	105.79	258.14

유 리 아 미 노 산 (mg%)	Aspartic acid	0.29	0.10	0.18
	Threonine	2.01	4.89	9.52
	Serine	0.92	4.91	9.61
	Glutamic acid	4.18	13.71	24.76
	Glycine	0.80	2.56	11.02
	Alanine	2.90	26.33	39.10
	Valine	3.07	3.30	15.29
	Methionine	0.51	0.70	5.12
	Cysthine	0.07	0.09	0.38
	Iso-leucine	2.29	2.38	10.54
	Leucine	4.13	3.74	23.78
	Tyrosine	1.66	1.70	14.66
	Phenylalanine	3.29	3.03	16.90
	Trptophan	0.00	0.00	0.00
	Ornithine	0.43	1.05	4.37
	Lysine	4.20	3.75	22.95
	Histidine	0.66	1.27	6.08
	Arginine	2.95	21.64	27.65
	Na	-	-	-
Ca	0.021	0.076	0.037	
무기질 (mg%)	K	1.438	0.822	2.608
	Mg	0.594	0.020	0.810
	P	0.003	0.002	0.012
	Fe	0.003	0.003	0.002
	Mn	0.001	-	0.001

○ 음료형 머루식초 관능평가

- 관능평가는 센소메트릭스에 의뢰하여 음료형 머루식초 2종, 음료형 다래식초 2종, 음료형 현미식초 2종 총 6종에 대하여 평소 식초음료를 즐겨 음용하는 소비자를 대상(총 64명, 여성 38명, 남성 26명)으로 관능검사를 수행하였음
- 음료형 머루식초의 경우, 머루음료의 선호도가 7.27로 전체 6종의 샘플 중에서 가장 높은 평가를 받았고, 신맛의 희망강도가 높았음

표 23. 음료형 머루식초의 관능평가

(9점 척도법)

구 분	종합 기호 ¹⁾	외관 기호	맛 기호	질감 기호	뒷맛 기호
머루음료베이스	5.95 ^b	7.25 ^a	5.86 ^b	5.88 ^b	5.58 ^b
머루음료	7.27 ^{a2)}	7.42 ^a	7.16 ^a	6.91 ^a	6.70 ^a

¹⁾ 종합기호: 각 시료의 종합기호 평균에 대해 LSD 검증

²⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05), 다중비교는 세부 속성 별로 시료 평균에 대해 LSD 검증

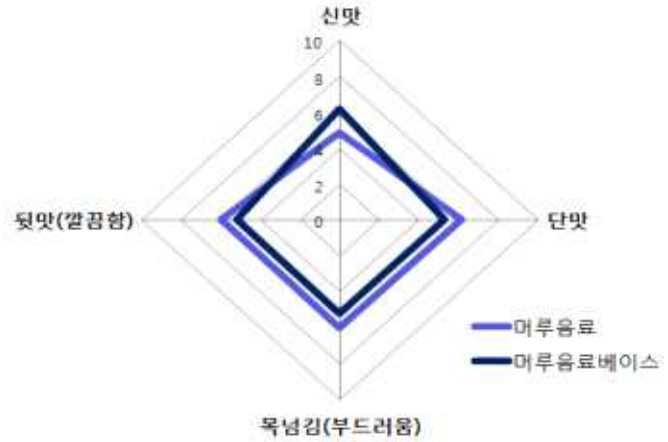
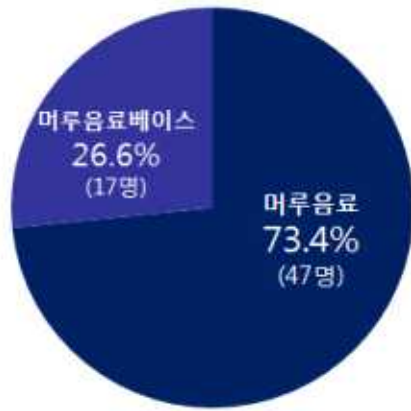
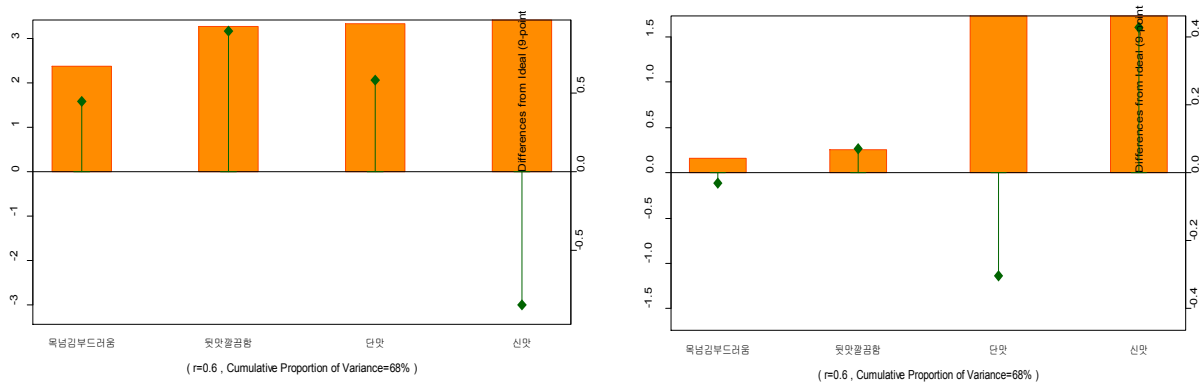


그림 11. 머루음료 및 음료베이스의 종합기호도 및 주요특성 인지강도



【머루음료】

【머루음료베이스】

그림 12. 음료형 다래식초의 인지 및 희망강도
(주황색: 인지강도, 녹색 : 희망강도)

○ 음료형 다래식초 관능평가

- 음료형 다래식초의 경우 음료베이스와 음료의 유의적 차이는 없었고, 6.22~6.25 점으로 중상에 해당하는 평가를 받았음
- 또한 다래음료의 경우, 신맛과 단맛의 희망강도가 기존보다 감소하는 방향으로 관능개선요구가 있었음

표 24. 음료형 다래식초의 관능평가

(9점 척도법)

구 분	종합 기호 ¹⁾	외관 기호	맛 기호	질감 기호	뒷맛 기호
다래음료베이스	6.22 ^{a2)}	5.56 ^b	6.25 ^a	6.08 ^a	6.00 ^a
다래음료	6.25 ^a	6.25 ^a	6.16 ^a	6.00 ^a	5.91 ^a

¹⁾ 종합기호: 각 시료의 종합기호 평균에 대해 LSD 검증

²⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05), 다중비교는 세부 속성 별로 시료 평균에 대해 LSD 검증

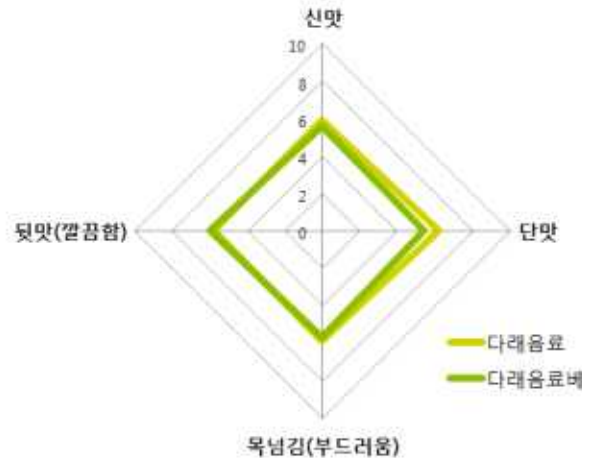
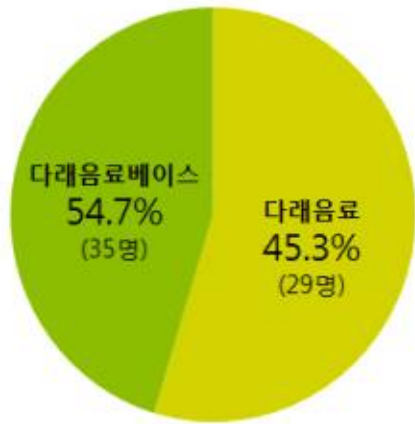
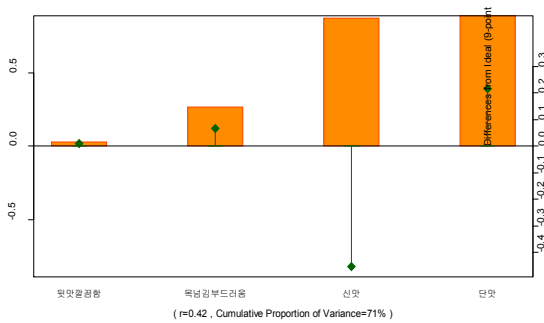
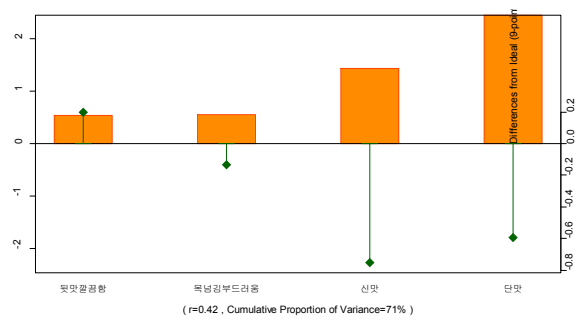


그림 13. 다래음료 및 음료베이스의 종합기호도 및 주요특성 인지강도



【다래음료베이스】



【다래음료】

그림 14. 음료형 다래식초의 인지 및 희망강도

○ 음료형 현미식초 관능평가

- 곡물신초인 현미식초의 경우, 머루와 다래와 같은 과실식초에 비하여 낮은 관능평가 결과를 받았고, 이는 각 원료의 영양학적 차이에 의한 성분의 종류에 기인하여 최종적으로 관능에 영향을 미치는 것으로 보이며, 향후 위 관능평가를 바탕으로 배합비를 리뉴얼할 계획임

표 25. 음료형 현미식초의 관능평가

(9점 척도법)

구 분	종합 기호 ¹⁾	외관 기호	맛 기호	질감 기호	뒷맛 기호
현미음료베이스	4.70 ^{a2)}	5.92 ^a	4.72 ^a	5.41 ^a	4.77 ^a
현미음료	4.92 ^a	6.19 ^a	5.09 ^a	5.44 ^a	4.97 ^a

¹⁾ 종합기호: 각 시료의 종합기호 평균에 대해 LSD 검증

²⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05), 다중비교는 세부 속성 별로 시료 평균에 대해 LSD 검증

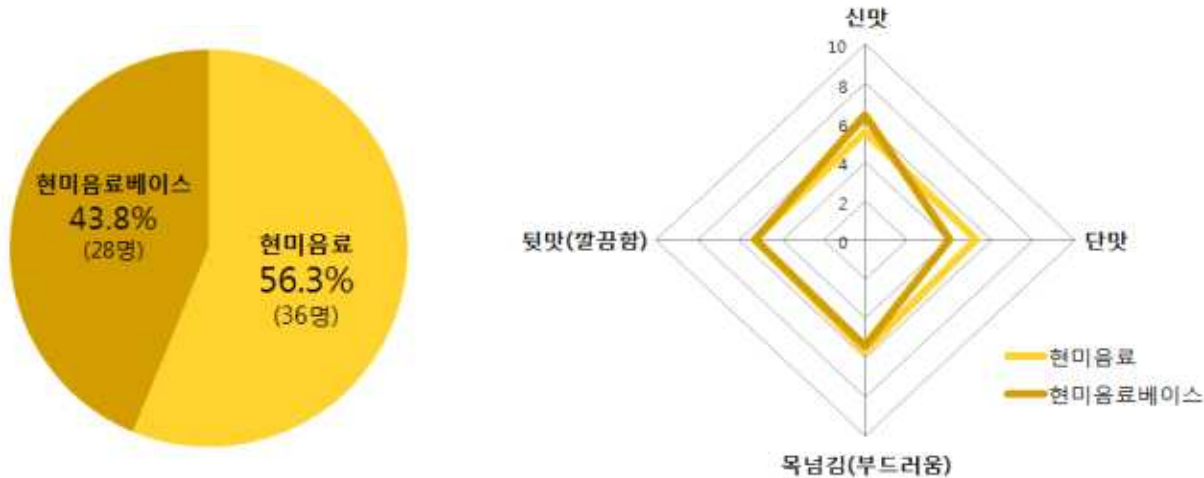


그림 15. 현미음료 및 음료베이스의 종합기호도 및 주요특성 인지강도

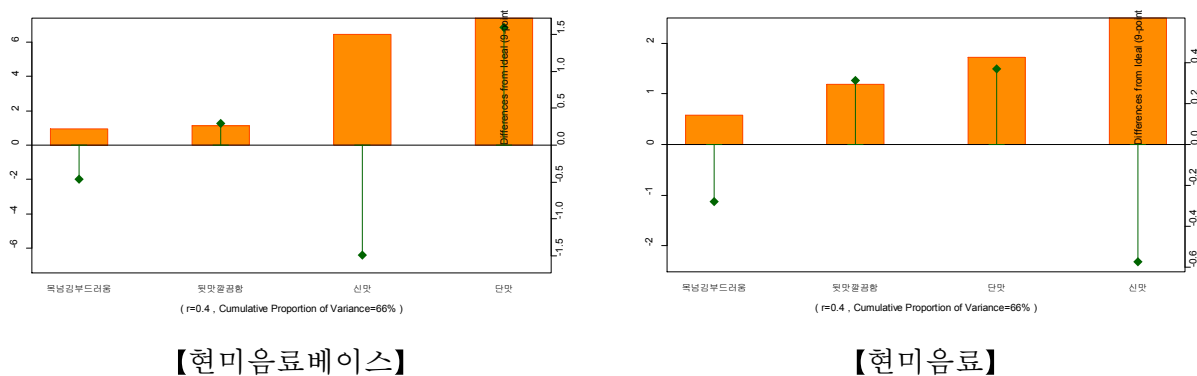


그림 16. 음료형 다래식초의 인지 및 희망강도

3. 적 요

<제1세부과제 : 오류품중(벼·감자) 증류주 상품 개발>

(시험1) 종균활용 발효식초 대량생산공정 개발

- 가. 중심합성계획법을 이용하여 실험계획을 설계하였고, 초산발효 최적화를 위한 독립변수로 초기알코올, 초기산도, 접종농도 3가지 변수를 선정하였고, 종속변수로 잔류알코올과, 산도로 선정하여 분산분석을 통하여 높은 만족도를 갖는 최적점을 선택하고 지점 예측을 통해 최적값을 예측하였음
- 나. 머루식초의 최적조건은 초기 알코올도수 5.17%, 초기산도 1.98%, 접종농도 10.15%로 예측되었고, 다래식초의 최적조건은 초기 알코올도수 9.00%, 초기산도 1.29%, 접종농도 15.34%로 예측되었음 현미식초의 최적조건은 초기 알코올도수 7.79%, 초기산도 2.00%, 접종농도 30.00%로 예측되었음

(시험2) 발효·숙성기간별 대사체 분석

- 가. 숙성기간에 따른 다래식초의 주요 대사체를 GC-TOF/MS로 분석하여 주요 대사 물질을 선정하기 위하여 Fisher ratio 값이 200이상인, 총 507종의 대사체 중 7종

의 대사물질이 선정되었음

나. 다변량 통계분석을 통하여 숙성시간에 따른 대사체의 profiling을 분석한 결과 주 성분분석(PCA)보다 직교부분최소자승법판별분석(OPLS-DA) 결과가 R^2 가 각각 0.639, 0.881로 OPLS-DA 판별모델이 더 적합한 것으로 확인되었고, AFY-4 균주로 발효시킨 다래식초가 4개월, 6개월 숙성되었을 때, 다른 숙성기간에 비하여 현저하게 구별됨을 확인함

(시험3) 발효식초 생리활성 평가

- 가. 항균활성 평가 결과, *Salmonella enterica*와 *Bacillus cereus*에 대한 항균활성을 나타내었고, 현미식초의 경우 머루식초와 다래식초에 비하여 유의적으로 높은 항균활성을 나타냄
- 나. 항산화 활성을 측정하여 IC_{50} 값을 비교한 결과 다래 < 머루 < 현미식초 순으로 낮아 다래식초가 가장 높은 항산화 활성을 나타내었고, 총페놀 및 총플라보노이드 함량은 머루 > 다래 > 현미식초 순으로 머루식초가 가장 높았음
- 다. 첨가농도별 발효식초 처리에 따른 지질과산화물 중간생성물인 MDA와 단백질 BSA의 결합억제 효과를 SDS-PAGE를 통하여 확인한 결과, 발효식초 첨가농도의 의존적으로 MDA-BSA 결합물의 농도가 감소하는 것을 확인하였음

(시험4) 음료형 발효식초 개발

- 가. 평소 식초음료를 즐겨 음용하는 소비자를 대상(총 64명, 여성 38명, 남성 26명)으로 관능검사를 실시한 결과 머루음료 > 다래음료 > 현미음료 순으로 관능평가 점수가 높았음

IV. 연구결과 활용

연도(연차)	활용구분	제목
2017(3년)	학술발표	<i>Gluconobacter oxydans</i> GV30-1 전장유전체 특성
	특허출원	종균을 이용한 발효식초 제조방법
	홍보	종균을 이용한 음료형 발효식초

V. 기대 및 파급효과

- 종균을 이용한 발효식초 제조 표준화 및 산업화
- 정채배양기술 접목으로 대량생산 제품과의 차별화