(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0085750
(43) 공개일자 2011년07월27일

(51) Int. Cl.
C12J 1/04 (2006.01) *C12R 1/69* (2006.01)
C12R 1/865 (2006.01) *C12R 1/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0005697
(22) 출원일자 2010년01월21일
심사청구일자 2010년01월21일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구 달서구 신당동 1000번지
(72) 발명자
정용진
대구광역시 달서구 파산동 350번지 삼성아파트 108동 404호
권중호
대구광역시 북구 산격동 1370번지 경북대학교 농생대 식품공학과
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이덕록

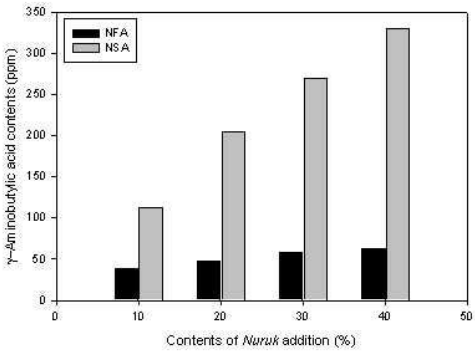
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 누룩 단독사용에 의한 현미식초의 정치 발효 방법

(57) 요 약

본 발명은 현미를 주재료로하고 누룩 단독사용에 의한 현미 발효 식초와 정치 발효 방법을 제공하는 것으로, 누룩 첨가량별 알코올 발효를 선행적으로 실시하고 이어 종초를 첨가하여 정치 발효 식초를 제조한 후 식초 품질특성을 관능검사와 함께 조사한 결과, 알코올함량은 누룩 참가량 30~40% 에서 16일째 최대값 13.5%로 나타났고, 적정산도(titratable acidity)에 있어서도 최대값 3.8% 로 나타났으며, 유기산 함량은 초산(acetic acid)이 증가할수록 다른 유기산 함량이 감소되었고, 고혈압억제, 비만억제, 신경안정 기능성 물질인 아미노산 중 γ-amynobutylic acid (GABA)의 함량은 초산 속성 발효법(63.26%)에 비하여 5배 이상 높은 319.28% 로 향상된 뛰어난 효과가 있다.

대 표 도 - 도3



[보기] NFA : brown rice vinegar by agitated fermentation with different *Nuruk* addition,
NSA : brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* addition,

(72) 발명자

우승미

대구광역시 달서구 호산동 384-6

여수환

경기도 수원시 권선구 녹지로 160(서둔동 88-2) 국립농업과학원 농식품자원부 발효이용과

김태영

경기도 수원시 권선구 녹지로 160(서둔동 88-2) 국립농업과학원 농식품자원부 발효이용과

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	없음
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	
연구사업명	2009년 어젠다 사업
연구과제명	농가형 양조식초 제조 및 상품화기술 개발
기여율	
주관기관	계명대학교 산학협력단
연구기간	2009년 1월 1일 ~ 2011년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

현미를 물에 침지한 후 물을 뺀 다음 증자하여 얻은 고두밥에 누룩 30중량% ~40중량%를 혼합하여 유리 용기에 넣고 알코올 발효용 주모 5%(v/w)를 정제수와 함께 첨가한 후 항온배양기에서 30℃에서 3일간 정치 배양하고, 상기 알코올 발효 결과 여과한 알코올 발효 여과액에 식초 발효용 종초 10%(v/v)를 상기 알코올 발효액(알콜함량 6% 기준)에 접종하여 30℃에서 16일간 발효함을 특징으로하는 현미식초의 정치 발효 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 주모는 코지(koji) 500g에 정제수 1,500mL를 가하여 55℃에서 6시간 당화시켜 여과한 후 설탕으로 10°Brix가 되도록 보당하여 121℃에서 15분간 살균한 당화액에 *Saccharomyces cerevisiae* GRJ를 접종시켜 항온배양기에서 30℃, 24시간 정치 배양한 것이 특징인 현미식초의 정치 발효 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 종초는 현미 알코올 발효액(알콜함량 6% 기준)에 *Acetobacter pasteurianus* KFC819를 접종하여 30℃에서 10일간 배양한 것이 특징인 현미식초의 정치 발효 방법.

청구항 4

제1항의 방법으로 제조된 현미식초.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 증자 현미를 당화 후 알콜 및 초산 발효를 누룩 첨가량을 달리 단독으로 사용하여 수행하는 것을 특징으로 하는 현미를 주재료로한 현미식초의 정치 발효 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 누룩은 한국의 전통적인 탁·약주 제조에서 녹말 분해효소 및 발효 미생물원으로 사용되며, 여러 종류의 미생물이 생육하므로 첨가량에 따라 효소활성, 유기산 생산력 및 알코올 발효력이 달라져 탁주의 휘발성 풍미 성분, 맛, 색상 등 품질 차이가 예상된다. 탁주에 대한 연구는 유리당, 아미노산, 유기산 등의 맛 성분에 관한 보고가 대부분이며, 휘발성 향기성분에 관한연구도 활발히 이루어지고 있어 탁주 품질개선이 기대된다.

[0003] 식초는 식생활에서 오랜 역사를 지닌 전통발효식품으로 소량의 휘발성 및 비휘발성 유기산, 당류, 아미노산, ester 등을 함유한 독특한 방향과 신맛을 가진다. 이러한 식초는 대표적인 알칼리성 식품으로 동맥경화증이나 혈전증을 일으키는 과산화지질을 분해해 동맥경화 예방과 부신피질 호르몬의 분비, 소화 및 식욕촉진, 항종양효과, 체지방 감소 및 피로회복 효과, 면역기능 향상 등의 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 국내 식초는 주로 주정을 희석하여 무기염류를 첨가한 발효식초, 과즙 30%이상을 함유하는 과실식초, 곡물함량 4% 이상을 함유하는 곡물식초가 주류를 이루워 왔으나 식초가 단순 조미료 기능에서 건강용 식초로 소비 패턴이 변화되면서 100% 과즙 원료 식초 및 곡물을 원료로 사용하여 유기산 뿐 아니라 아미노산이 풍부한 생쌀발효 흑초와 같은 고품질 발효식초의 등장이 기대되고 있다. 또, 식초 제조방법에 있어는 산업적 규모의 대량생산을 위한 속성 발효방법과 전통적인 발효방법인 정치 발효 식초로 나뉘어 연구되고 있으나, 현재까지 국내에서 식초에 대한 연구는 주로 발효균주의 개량 및 속성 발효방법에 국한되어 있으므로 전통적인 정치 발효 식초의 품질향상 및 기능성 강화에 대한 연구는 극히 미흡한 실정이다. 식초의 발효법 중 교반(agition)에 의한 속성 발효법은 교반기

(agitator)를 사용하여야 하므로 농가에서는 이 같은 교반기가 부착된 초산 발효기를 사용하기가 곤란하고 또 그렇게 할 필요가 없으므로 교반기를 사용하지 않는 정치발효법이 바람직하다. 그러나, 정치 발효 방법도 주정 발효를 거치지 않고 초산직접 발효법을 채용하는 경우 초산함량이 극히 낮고 기능성 물질인 아미노산의 함량이 극히 낮은 단점이 있다. 따라서, 본 발명자들은 이를 극복하기 위해 현미와 누룩을 주재와 발효재로 사용하되, 알코올 발효를 선행한 후, 초산 정치 발효의 최적조건을 찾으려 하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0004] (비특허문헌 0001) 1. Jeong YJ. 2009, Current trends and future prospects of vinegar industry in Korea. Food Sci Ind, 42: 52-59.

(비특허문헌 0002)

(비특허문헌 0003) 2. Lee OS. et. al., Culture condition for the production of bacterial cellulose with Gluconacetobacter perimmonus KJ145. Korean J Food Sci Nutr, 4: 572-577.

(비특허문헌 0004)

(비특허문헌 0005) 3. Chun YK. et. al., 1997, Effect of enzymatic hydrolysis on the physicochemical properties of persimmon juice. Korean J Food Sci Technol, 29: 198-203.

(비특허문헌 0006)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 현미를 주재료로하고 재래식 누룩만을 발효제로 사용하여 식초제조용 탁주의 품질 특성을 규명하여 농가형으로 적합한 현미식초의 정치 발효 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명의 상기 목적은 주모 및 종초 제조단계와; 누룩첨가량에 따른 현미 알코올 발효 단계와; 속성배양법 및 정치배양법에 의한 초산 발효 단계와; 현미 알코올 및 현미 초산 발효액의 품질특성을 규명하고 관능검사를 통하여 농가형 정치발효법을 확립함으로써 달성하였다.

발명의 효과

[0007] 본 발명은 발효 알콜 함량, 적정산도, 유기산함량, 유리아미노산함량을 조사하여 적정 누룩 첨가량을 30~40%로 하고 16시간 정치 발효를 수행함이 농가형 초산 발효 방법으로 가장 바람직한 사실을 확인한 효과가 있으므로, 고혈압예방 및 비만억제 기능성 감마 아미노뷰틸산 (GABA) 등 아미노산이 증대되고 기호도 등 관능검사결과가 우수한 농가형 현미초산 정치 발효법을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0008] 도1a 및 도1b는 누룩 첨가량별 속성 발효시 적정산도 및 pH의 변화를 도시한 그래프이다.

도2a 및 도2b는 누룩 첨가량별 정치 발효시 적정산도 및 pH의 변화를 도시한 그래프이다.

도3은 누룩 첨가량별 현미식초의 속성 및 정치발효법에 따른 γ-aminobutylic acid(GABA)의 함량을 비교한 그래

프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0009] **실험재료**

[0010] 본 실험에 사용된 현미는 2008년 경북 상주지방에서 재배한 일반계 현미를 구입하였으며, 누룩은 상주곡자(주)에서 구입하여 사용하였다.

[0011] **사용균주**

[0012] 현미 알코올발효에 사용된 균주는 계명대학교 발효공학실에서 보관중인 *Saccharomyces cerevisiae* GRJ를 YPD agar배지(yeast extract 1%. peptone 2%, glucose 2%, agar 2%, pH 6.0)에서 30℃, 24시간 계대배양 하였으며, 초산균은 *Acetobacter pasteurianus* KFC 819(KCTC 10173BP)를 Solid배지(glucose 3%, yeast extract 0.5%. CaCO3 1%, ethanol 3%, agar 2%, pH 7.0)에서 30℃, 48시간 계대배양 하여 4℃에서 냉장보관하면서 사용하였다.

[0013] **주모 및 종초**

[0014] 알코올발효에 사용된 주모는 koji 500 g에 정제수 1,500 mL를 가수하여 55℃에서 6시간동안 당화시켜 부직포로 여과한 후 설탕으로 10 ° Brix가 되도록 보당하여 121℃에서 15분간 살균시켰다. 살균된 당화액에 *Saccharomyces cerevisiae* GRJ를 접종하여 항온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Korea)에서 30℃, 24시간동안 정치배양 시켜 원료량에 5%(v/w)를 사용하였고, 초산발효에 사용된 종초는 현미 알코올발효 희석액(알코올함량 6%)에 *Acetobacter pasteurianus* KFC 819를 접종하여 30℃, 10일간 배양한 후 10%(v/v)를 사용하였다.

[0015] **누룩 첨가량에 따른 현미 알코올발효**

[0016] 현미 각 1 kg을 5시간동안 물에 침지한 후 물을 뺀 다음 증자솥에 고두밥으로 쪄서 누룩 100, 200, 300 및 400 g을 각각 혼합하여 유리용기에 넣고 주모 50 mL와 정제수 1,600 mL를 첨가한 후 골고루 저어 항온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Korea)에서 30℃, 3일 동안 정치배양 시켜 누룩 첨가량에 따른 알코올발효 특성을 조사하였다.

[0017] 누룩 첨가량(10, 20, 30, 40%)에 따른 알코올발효 특성을 조사한 결과 표 1, 2 및 3과 같다. 알코올 함량은 누룩 첨가량이 많을수록 높게 나타났으며 누룩 30% 이상 첨가구에서는 약 13.5%로 큰 변화가 없었다. 적정산도는 모든 구간에서 0.6%이하로 나타나 산패의 가능성은 나타나지 않았다. 색도 중 L값은 누룩 10% 첨가구에서 흡광도 90.7로 가장 밝게 나타났으며 첨가량이 많을수록 감소하여 누룩 40% 첨가구에서는 흡광도 70.1로 나타나 20이상 감소하였다. b값은 첨가량이 많을수록 흡광도 9.7에서 20.2로 증가하여 누룩이 첨가됨에 따라 진한 황색을 띠는 것으로 나타났다. 유리당 함량은 glucose가 331~355 mg%로 가장 높게 나타났으며, maltose가 121~157 mg%, fructose가 46~60 mg%이며, sucrose는 검출되지 않았다.

[표 1] Alcohol content, sugar content, titratable acidity and pH of brown rice *Takju* by different *Nuruk* additions

Nuruk content (%)	Alcohol content (%)	Sugar content (°Brix)	Titratable acidity (%)	pH
10	10.7±0.0[1)]	10.2±0.1	0.36±0.02	4.0±0.0
20	12.6±0.0	10.0±0.1	0.45±0.05	4.0±0.0
30	13.4±0.0	9.7±0.1	0.54±0.01	4.1±0.0
40	13.7±0.0	10.6±0.1	0.56±0.01	4.2±0.0

[0018] [1)]Values are mean ± S.D.

[표 2] Hunter's color value, turbidity and brown color of brown rice *Takju* by different *Nuruk* additions

Nuruk content (%)	Hunter's color value			Turbidity	Brown color
	L	a	b		
10	90.7±0.0[1)]	-1.9±0.0	9.7±0.0	0.06±0.0	0.22±0.0
20	83.8±0.0	-2.3±0.0	14.7±0.0	0.12±0.0	0.38±0.0
30	77.1±0.0	-2.2±0.0	17.5±0.0	0.17±0.0	0.54±0.0
40	70.1±0.0	-1.8±0.0	20.2±0.0	0.23±0.0	0.74±0.0

[0019] [1)]Values are mean ± S.D.

[표 3] Free sugar content of brown rice *Takju* by different *Nuruk* additions

Nuruk content (%)	Free sugar (mg%)			
	fructose	glucose	sucrose	maltose
10	46	355	0	157
20	48	340	0	151
30	56	331	0	130
40	60	337	0	121

[0020]

[0021] **속성배양 및 정치배양에 의한 초산발효 비교**

[0022] 누룩 첨가량별 알코올 발효 여과액을 알코올 함량 6%(v/v)로 조절한 후 종초를 접종하여 속성배양 구간은 진탕배양기(HB-201SL, Hanbaek Scientific Co., Korea)에서 30℃, 250 rpm으로 배양시키면서 1일 간격으로 8일간의 품질변화를 분석하였으며, 정치배양 구간은 항온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Korea)에서 30℃로 정치배양 시키면서 2일 간격으로 16일간의 품질변화를 분석하였다.

[0023] **알코올 함량 및 당도**

[0024] 발효액의 알코올 함량은 시료 100 mL를 취하여 증류한 다음 주정계를 이용하여 측정하였으며 Gay Luccac Table을 이용하여 15℃로 보정하였고, 당도는 digital refractometer(PR-101, ATAGO Co., Japan)를 사용하여 측정하였다.

[0025] **적정산도 및 pH**

[0026] 적정산도는 일정량의 시료를 취하여 1% phenolphthalein 지시약을 2~3방울 떨어뜨린 다음 0.1 N NaOH로 중화 적정하였으며 acetic acid(%)로 환산하였고, pH는 pH meter(Metrohm 691, Switzerland)로 실온에서 측정하였다.

[0027] 누룩 첨가량(10, 20, 30, 40%)에 따른 속성 및 정치 초산발효한 현미 식초의 적정산도 및 pH 결과를 도 1 및 2에 나타내었다. 속성 초산발효 중 적정산도는 발효 3일째부터 누룩 30, 20, 10, 40% 순으로 증가하였으며, 발효 종료 후 누룩 30% 첨가구에서 적정산도 5.97%로 가장 높았으며, 누룩 20% 및 40% 첨가구에서 각각 5.63 및 5.38%, 누룩 10% 첨가구에서 5.18%로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 정치 초산발효 중 적정산도는 발효 8일째 누룩 30% 및 40% 첨가구에서 약 3.80%, 누룩 10% 및 20% 첨가구에서 약 3.00%로 나타났다. 발효 16일째이후에는 누룩 첨가량이 높은 순으로 적정산도가 높게 나타났으며, 누룩 30%이상 첨가구들에서는 큰 차이가 없는 것으로 나타나 누룩 첨가량 30%구간이 알코올발효능 및 산 생성능이 우수하여 속성 및 정치 초산발효에 가장 적합할 것으로 판단된다.

[0028] **유리당**

[0029] 유리당 분석은 알코올 발효액을 Sep-pak C18 cartridge에 통과시킨 다음 0.45μm membrane filter로 여과하여 High Performance Liquid Chromatography(HPLC, Waters 2487, Waters Co., USA)로 분석하였다. 분석 column은 carbohydrate analysis column(3.9×300 mm, Waters Co.), mobile phase는 75% acetonitrile (Fisher Co.)을 사용하였고 flow rate는 1.0 mL/min, injection volume은 20 μL, detector는 RI(Waters 2414, M410 RI) detector를 사용하였다.

[0030] **색도, 갈색도 및 탁도**

[0031] 색도는 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimazu Co., Japan)로 명도(L), 적색도(a) 황색도(b)값을 측정하여 Hunter's color value로 나타내었으며, 이때 대조구는 증류수(L=99.99, a=0.06, b=-0.10)를 사용하였다. 갈색도 및 탁도는 각각 420 및 660 nm에서 측정하였다.

[0032]

[0033] **유기산**

[0034] 유기산은 초산 발효액을 Sep-pak C18 cartridge에 통과시키고 0.45 μM membrane filter로 여과하여 high performance liquid chromatography(Water 2487, Waters Co., USA)로 분석하였다. 이때 유기산 분석 column은 AtlantisTM dC18(3.9×150 mm, Waters Co.), mobile phase는 20 mM NaH2PO4(pH 2.7)를 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min, injection volume은 20 μL, detector는 UV detector(210 nm)를 사용하였다.

[0035] 누룩 첨가량에 따른 속성 및 정치 초산발효한 현미 식초의 유기산 결과를 표 4 및 5에 나타내었다. 속성 및 정치 초산발효액의 유기산은 oxalic, tartaric, malic, lactic, acetic 및 citric acid 등 6종이 검출되었다. 속성 초산발효 중 누룩 10% 첨가구에서는 tartaric 및 malic acid가 발효 전에는 검출되었으나 발효가 진행되면서 검출되지 않았고, 그 이상의 첨가구에서는 malic acid만 검출되지 않았다. Oxalic 및 lactic acid는 발효가 진행됨에 따라 조금씩 감소하는 경향을 보였고, acetic 및 citric acid는 발효가 진행됨에 따라 증가하였다. 정치 초산발효 중 tartaric acid는 누룩 10% 첨가구에서는 검출되지 않았고, 그 이상의 첨가구에서는 50~100 mg%로 검출되었다. Malic 및 citric acid는 발효전에 각각 100 및 70 mg%전후로 검출되었으나 발효가 진행되면서 검출되지 않았다. Oxalic 및 lactic acid는 발효가 진행됨에 따라 조금씩 감소하는 경향을 보였고, acetic acid는 발효가 진행됨에 따라 급격히 증가하였다. 현미 식초의 유기산은 acetic acid를 제외하고 lactic acid가 가장 높은 함량을 나타내었다. Jeong 등의 2단계 발효에 의한 포도 및 사과식초의 유기산함량은 acetic acid를 제외하고는 각각 tartaric acid 및 malic acid가 가장 높게 나타나 식초를 제조하는 원료에 따라 유기산들의 함량 비율에 영향을 주는 것으로 판단된다.

[표 4] Change of organic acid contents during agitated acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

Sample	Organic acid (mg%)	Fermentation time (days)		
		0	3	6
NFA1[1]	Oxalic acid	33	30	23
	Tartaric acid	23	0	0
	Malic acid	117	0	0
	Lactic acid	423	416	330
	Acetic acid	700	2591	4943
	Citric acid	44	33	82
NFA2	Oxalic acid	37	31	30
	Tartaric acid	53	21	10
	Malic acid	102	0	0
	Lactic acid	476	405	146
	Acetic acid	758	2798	4794
	Citric acid	70	76	139
NFA3	Oxalic acid	45	39	31
	Tartaric acid	69	42	21
	Malic acid	115	0	0
	Lactic acid	544	347	69
	Acetic acid	803	2428	4953
	Citric acid	84	86	197
NFA4	Oxalic acid	50	59	51
	Tartaric acid	81	27	27
	Malic acid	121	0	0
	Lactic acid	503	479	123
	Acetic acid	821	2703	5002
	Citric acid	92	181	249

[1]NFA : brown rice vinegar by agitated fermentation with different *Nuruk* addition. NFA1 : 10% *Nuruk* addition, NFA2 : 20% *Nuruk* addition, NFA3 : 30% *Nuruk* addition, NFA4 : 40% *Nuruk* addition.

[0036]

[표 5] Change of organic acid contents during static acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

Sample	Organic acid (mg%)	Fermentation time (days)			
		0	6	12	16
NSA1[b]	Oxalic acid	30	35	16	0
	Tartaric acid	0	0	0	0
	Malic acid	117	0	0	0
	Lactic acid	423	1034	441	253
	Acetic acid	700	1692	3397	4851
	Citric acid	44	0	0	0
NSA2	Oxalic acid	31	30	26	12
	Tartaric acid	53	40	44	35
	Malic acid	102	0	0	0
	Lactic acid	476	629	251	148
	Acetic acid	758	1586	3400	4902
	Citric acid	70	0	0	0
NSA3	Oxalic acid	45	42	44	26
	Tartaric acid	69	63	60	59
	Malic acid	115	0	0	0
	Lactic acid	544	481	178	141
	Acetic acid	808	1917	3995	5165
	Citric acid	84	0	0	0
NSA4	Oxalic acid	50	45	40	31
	Tartaric acid	81	79	69	74
	Malic acid	161	0	0	0
	Lactic acid	508	490	217	195
	Acetic acid	821	2195	3820	5134
	Citric acid	95	0	0	0

[b]NSA : brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* addition.
NSA1 : 10% *Nuruk* addition, NSA2 : 20% *Nuruk* addition, NSA3 : 30% *Nuruk* addition, NSA4 : 40% *Nuruk* addition.

[0037]

[0038] **유리아미노산 분석**

[0039] 초산 발효액의 유리아미노산 정량은 시료 10 mL에 ethanol 30 mL를 가한 다음 하룻밤 실온에 방치시켜 단백질을 침전·제거하고 상징액을 8,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 위층을 취하여 중탕가열 건고시켰다. 그리고 pH 2.2의 citrate buffer 10 mL를 가하여 희석시킨 후 0.45 um membrane filter로 여과한 여액을 amino acid autoanalyzer(L-8800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다.

[0040] 누룩 첨가량에 따른 속성 및 정치 초산발효한 현미 식초의 유리아미노산 결과를 표 6 및 7에 나타내었다. 속성 및 정치 초산발효액 모두 누룩함량이 증가할수록 유리아미노산 함량은 증가하는 것으로 나타났다. 또한 정치 초산발효액이 속성 초산발효액에 비하여 유리아미노산 함량이 높게 나타났다. 이는 누룩에 포함되어 있는 다양한 효소들 중 원료의 단백질을 분해하는 효소가 있기 때문인 것으로 판단된다. 속성 초산발효액에서는 alanine, glutamic acid, leucine, valine이 주된 아미노산으로 나타났으며, 정치 초산발효액에서는 alanine, valine, leucine, glycine, γ-aminobutylic acid, glutamic acid가 주된 아미노산으로 나타났다. 속성 및 정치 초산발효액 모두 누룩함량이 10%에서 40%로 증가함에 따라 대부분의 아미노산들이 증가되어짐을 볼 수 있으며, 특히 phenylalanine 및 methionine의 경우 누룩을 첨가함에 따라 5~6배 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 phenylalanine 및 methionine의 경우 속성 및 정치 초산발효 간에 아미노산의 함량에는 차이가 없는 것으로 보아 누룩 자체의 아미노산으로 발효에 크게 영향을 받지 않는 것으로 판단된다. 현미의 주된 기능물질로 γ-

aminobutylic acid(GABA)가 있는데. 그 생리활성으로는 고혈압 예방, 비만억제, 신경안정 등이 보고되고 있다. 본 발명에서 속성 초산발효액에서는 누룩을 첨가함에 따라 39.05%에서 63.26%로 증가됨을 볼 수 있었다. 반면에 정치 초산발효액의 경우 113.16%에서 319.28%로 속성 초산발효액보다 그 함량이 3~5배정도 더 많은 것을 확인할 수 있었다(도 3).

[표 6] Contents of free amino acid in brown rice vinegars by agitated acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

(Unit : ppm)

Amino acid	Sample (ppm)			
	NFA1[1)]	NFA2	NFA3	NFA4
Phosphoserine	10.58[2)]	10.82	11.85	13.31
Phosphoethanolamine	-	-	-	-
Taurine	26.09	27.37	29.08	28.53
Aspartic acid	5.53	3.74	6.24	15.01
Threonine	54.74	61.34	67.67	81.32
Serine	53.99	66.29	77.00	98.10
Glutamic acid	153.38	229.05	265.24	325.92
α-Aminoadipic acid	9.05	16.10	13.47	18.92
Glycine	66.33	77.97	84.24	98.14
Alanine	216.32	298.61	343.78	401.16
Citrulline	14.75	11.64	13.12	17.41
α-Aminobutylic acid	3.07	7.19	10.39	11.68
Valine	101.40	127.71	145.30	171.55
Cystine	2.02	3.23	5.08	6.86
Methionine	17.97	30.55	41.47	50.88
Cystathionine	1.16	1.46	1.62	1.82
Isoleucine	68.10	88.02	102.05	120.59
Leucine	107.95	154.28	192.42	233.46
Tyrosine	0.84	0.26	0.69	1.45
Penylalanine	10.46	31.60	52.76	60.51
β-Alanine	2.65	4.13	5.98	7.38
β-Aminoisobutyric acid	3.74	3.88	4.26	3.83
γ-Aminobutylic acid	39.05	48.37	58.94	63.26
Ornithine	3.62	2.15	3.29	5.93
Lysine	3.11	3.33	5.61	11.68
Histidine	29.84	40.70	50.08	64.49
3-Methyl-histidine	-	-	0.93	1.10
Arginine	1.21	0.74	0.68	0.94
Proline	73.59	97.25	123.04	174.44
Total	1,080.572	1,447.79	1,716.24	2,099.67

[1)]Refer to Table 4.

[2)]Mean (n=2).

[0041]

[표 7] Contents of free amino acid in brown rice vinegars by static acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

(Unit : ppm)

Amino acid	Sample			
	NSA1[1]	NSA2	NSA3	NSA4
Phosphoserine	16.12[2]	12.24	12.44	15.89
Phosphoethanolamine	0.00	0.00	0.00	0.00
Taurine	42.45	30.59	34.42	39.22
Aspartic acid	2.91	3.13	4.10	4.90
Threonine	95.41	86.20	95.00	113.13
Serine	51.00	53.87	77.13	103.73
Glutamic acid	100.48	52.71	51.22	60.76
α-Aminoadipic acid	7.74	15.04	15.37	15.91
Glycine	121.60	105.05	117.24	137.60
Alanine	382.30	388.85	457.95	554.62
Citrulline	5.54	4.17	5.82	6.83
α-Aminobutylic acid	4.05	5.16	7.49	8.21
Valine	158.32	150.78	178.10	209.63
Cys	0.38	1.31	4.20	4.68
Methionine	16.34	31.39	46.49	58.94
Cystachionine	1.26	1.32	1.74	2.07
Isoleucine	98.05	100.01	122.30	145.32
Leucine	125.36	157.54	213.11	264.64
Tyrosine	0.00	0.79	1.19	1.40
Penylalanine	12.08	28.30	51.47	64.87
β-Alanine	2.90	3.92	5.60	7.29
β-Aminoisobutyric acid	5.01	3.85	4.33	4.63
γ-Aminobutylic acid	113.16	204.17	269.54	329.28
Ornithine	1.37	1.51	2.21	2.28
Lysine	0.50	1.39	21.45	2.63
Histidine	18.33	29.09	23.25	54.24
3-Methyl-histidine	0.00	0.00	0.00	0.00
Arginine	0.00	0.75	1.01	0.96
Proline	79.83	45.86	123.55	176.11
Total	1,462.442	1,518	1,957.72	2,394.77

[1]Refer to Table 5.

[2]Mean (n=2).

[0042]

[0043] **휘발성 성분 분석**

[0044] 초산 발효액의 휘발성분 포집을 위해서 시료는 carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS, 75㎛ thickness)로 코팅된 SPME fiber(Supelco, Bellefonte, PA, USA)가 휘발성분을 흡착하기 위해 사용되어졌다. 휘발성 성분을 흡착하기 전에 fibersms GC로 250℃에서 5 분간 예열시켜 사용하였다. SPME 포집은 headspace vial(22.5×75 mm, PTFE/silicon septum, aluminum cap)에 시료 5 mL를 넣고 NaCl을 25% 첨가한 다음 예열 처리된 SPME fiber를 주입하였다. 시료는 heating block에서 35℃ 5분간 예열처리 되어졌으며, SPME fiber는 10분 동안 휘발성분을 포집하였다. 그 후 GC로 주입되어 지고 탈착을 위해 2분 동안 유지되었다. 휘발성분 분석을 위하여 MSD(mass selective detector)가 부착된 GC(Agillent GC 6890, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며, HP-FFAP capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25㎛)과 He가 carrier gas(1mL/min)로 사용되어졌다. Oven 온도는 35℃에서 10분 유지되고, 100℃까지 5℃/min로 상승되어지며, 210℃까지 10℃/min 상승되어져 210℃에서 10분 동안 유지되어졌다. MS system 조건으로 MS source, MS quadrupole 및 transfer line은 각각 230, 150 및 280℃였으며, 사용된 library는 Wiley7Nist0.5(Wiley7Nist0.5 Library, mass spectral search program, version 5.0, USA) 이었다.

[0045] 누룩 첨가량에 따른 속성 초산발효한 현미식초의 휘발성 성분은 표 8에 나타내었다. 속성 초산발효액에서는 총 14종의 휘발성 성분이 검출되었으며, 휘발성 성분에서 주로 acetic acid가 차지하는 비율이 다른 휘발성 성분에 비해 상대적으로 높게 나타났다. 누룩 10% 첨가구보다 누룩 40% 첨가구에서 비율이 높게 나타났으나, 누룩 첨가량에 따른 유의적인 차이는 볼 수 없었다. 속성 초산발효액은 acetic acid 이외 acid류 pentanoic acid 1종과 2종의 alcohol류 즉 benzenethanol, iso amylalcohol의 비율이 높은 것으로 나타났다. 이중 pentanoic acid는 누룩 첨가량이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났다. 또한 속성 초산발효 시 누룩 첨가량이

증가함에 따라 isobutyl acetate, 2-methylbutyl acetate등의 acetate류의 비중이 증가하는 것으로 나타났다. 표 9는 누룩 첨가량에 따른 정치 초산발효한 현미식초의 휘발성 성분을 GC-MS로 분석한 것이다. 정치 초산발효에서 주된 휘발성 성분인 acetic acid 비율이 누룩첨가량(10, 20, 30, 40%)에 따라 각각 43.63, 54.32, 69.99, 61.97%의 비율로 점차 증가하다가 감소하는 경향으로 나타났다. 또한 이는 속성 초산발효액 보다 낮게 나타났다. 반면에 상쾌한 향을 나타내는 ethyl acetate 비율이 누룩 첨가량 따라 각각 34.39, 22.48. 5.67 및 11.41%로 높게 나타남을 확인할 수 있으며, 또한 1-mehtylbutyl acetate의 비율도 높은 것으로 나타났다. Alcohol류인 isoamyl alcohol, phenethyl acohol의 경우 누룩함량이 증가할수록 증가하는 경향으로 나타났다. 결과적으로 누룩첨가량에 따른 속성 초산발효액에서는 acetic acid 이외의 alcohol류의 화합물의 비율이 높은 것으로 나타났으며, 정치 초산발효액에서는 acetate류의 화합물의 비율이 높은 것으로 나타나 향기패턴에 차이가 남을 볼 수 있었다.

[표 8] Volatile compounds in brown rice vinegars by agitated acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

(Unit : peak area, %)

Peak	RT(min)	Compounds	NFA 1[1]	NFA 2	NFA 3	NFA 4
1	5.01	Isobutyl acetate	0.31	0.51	0.64	0.99
2	10.5	2-Methylbutyl acetate		0.57	1.08	1.29
3	10.38	Isoamyl acetate	0.36	0.76	1.77	4.99
4	10.36	Isopentyl alcohol		0.7		
5	14.99	Iso amyl alcohol	1.66	3.6	3.18	3.88
6	17.87	Acetoin	0.26	0.25	0.29	
7	23.04	Acetic acid	72.48	72.46	55.29	82.86
8	25.25	2,3-Butanediol	0.25	0.36	0.27	0.92
9	25.85	Isobutyric acid	0.55	0.37	0.38	0.11
10	25.98	Methyl propionate	0.37	0.28	0.16	0.45
11	27.43	Pentanoic acid	5.84	3.72	3.86	1.06
12	27.59	p-Methylacetophenone	0.12			
13	29.32	Phenethyl ester	0.44	0.41	0.51	0.81
14	30.43	Benzenethanol	2.28	2.28	2.49	2.61

[1]Refer to Table 4.
[2]Mean (n=3).

[0046]

[표 9] Volatile compounds in brown rice vinegars by static acetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

(Unit : peak area, %)

Peak	RT(min)	Compounds	NSA1[1]	NSA2	NSA3	NSA4
1	3.94	Ethyl Acetate	34.39	22.48	5.67	11.41
2	4.97	Propane	-	-	0.75	2.58
3	5.01	2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane	3.35	3.05	-	0.52
4	6.08	Propyl isothiocyanate	1.21	0.87	-	1.49
5	7.34	2-methylpropyl ester	1.27	1.14	1.53	12.55
6	13.41	1-methylbutyl acetate	10.34	9.56	12.05	0.08
7	17.24	iso amyl alcohol	3.56	4.11	4.28	4.53
8	24.92	Acetic acid	43.63	54.32	69.99	61.97
9	26.68	2-Buten-1-ol	-	-	0.32	0.40
10	27.30	Cyclobutanol	0.43	0.49	0.63	0.54
11	28.74	Hexanoic acid	-	0.37	0.57	0.35
12	30.65	Phenethyl acetate	0.48	0.91	0.89	0.95
13	31.74	Phenethyl alcohol	1.34	2.73	3.33	2.69

[1]Refer to Table 5.
[2]Mean (n=3).

[0047]

[0048] **관능평가**

[0049] 관능검사의 경험이 많은 10명의 검사원을 대상으로 하여 평가된 식초의 관능특성은 색상, 맛, 자극취

강도, 이취(발효취) 강도, 향 기호도, 전반적인 기호도 5점 척도법(1:매우 약하다, 매우 나쁘다 5: 매우강하다, 매우 좋다)을 이용하여 평가하였다. 맛에 대한 관능평가의 경우 시판되는 식초의 산도가 강하여 음용할 수 없으므로 10배 희석하여 시료로 사용하였으며, 색 및 향에 관한 관능평가는 식초 원액 그대로를 사용하였다. 시료는 cap이 있는 투명한 유리병(50 mL)에 30 mL를 넣어 검사원에게 제시되었다.

[0050] 누룩 첨가량에 따른 속성 및 정치 초산발효한 현미식초의 관능적 특성은 표 10 및 11에 각각 나타내었다. 속성 초산발효액의 색상 기호도는 누룩첨가량이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났고, 자극취 강도는 누룩 10% 첨가구에서 높게 나타났으며, 누룩함량이 증가할수록 감소되는 경향이었다. 맛, 이취(발효취) 강도, 향 기호도 및 전반적인 기호도는 누룩함량이 증가할수록 차이가 없는 것으로 나타났다. 정치 초산발효에서는 색상 기호도는 20% 누룩 첨가구에서 높게 나타났으며, 자극취 강도는 30% 누룩 첨가한 것이 높게 나타났다. 향 기호도는 10% 누룩첨가구에서 높은 것으로 나타났으며, 전체적인 기호도에는 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 휘발성 성분 중 식초의 acetic acid가 차지하는 비율이 높아서 다른 향을 검사원이 감지하기가 어려운 것으로 판단된다.

[표 10] Sensory properties of brown rice vinegars by agitated actetic acid fermentation with different *Nuruk* additions

	NFA1[1)]	NFA2	NFA3	NFA4
Color	3.30±0.82[2)a]	3.40±0.70[a]	3.10±0.57[ab]	2.50±0.71[b]
Taste	3.00±1.05[a]	3.20±1.03[a]	3.10±1.37[a]	2.70±0.82[a]
Pungent flavor intensity	4.00±0.82[a]	3.00±0.47[b]	3.50±1.51[ab]	3.10±0.74[b]
Off-flavor intensity	3.40±0.84[a]	3.50±0.85[a]	3.70±0.82[a]	3.40±0.84[a]
Flavor	2.60±0.84[a]	2.90±0.74[a]	2.90±0.74[a]	2.80±0.57[a]
Overall palatability	3.20±0.63[a]	3.60±0.70[a]	3.50±0.97[a]	2.80±0.99[a]

[1)]Refer to Table 4.

[2)]Means±S.D.(n=10).

[a-c]Values within a row followed by different superscripts are significantly different at $p<0.05$.

[0051]

[표 11] Sensory properties of brown rice vinegars by static acetic acid fermentation with different *Nuruk* content addition

	NSA1[1)]	NSA2	NSA3	NSA4
Color	3.14±0.69[a]	2.17±0.98[b]	2.57±0.98[ab]	3.29±0.76[a]
Taste	2.86±0.90[a]	2.86±0.90[a]	3.57±0.79[a]	3.43±0.53[a]
Pungent flavor intensity	2.83±0.75[b]	3.71±0.76[a]	4.17±0.75[a]	2.86±0.90[b]
Off-flavor intensity	3.86±0.90[a]	4.00±0.82[a]	3.86±0.90[a]	3.00±1.10[a]
Flavor	3.67±0.52[a]	3.00±0.82[a]	2.71±0.76[b]	3.00±0.58[ab]
Overall palatability	3.33±1.21[a]	2.67±0.52[a]	3.00±0.82[a]	3.00±0.82[a]

[1)]Refer to Table 5.

[2)]Means±S.D.(n=10).

[a-c]Values within a row followed by different superscripts are significantly different at $p<0.05$.

[0052]

[0053] **통계처리**

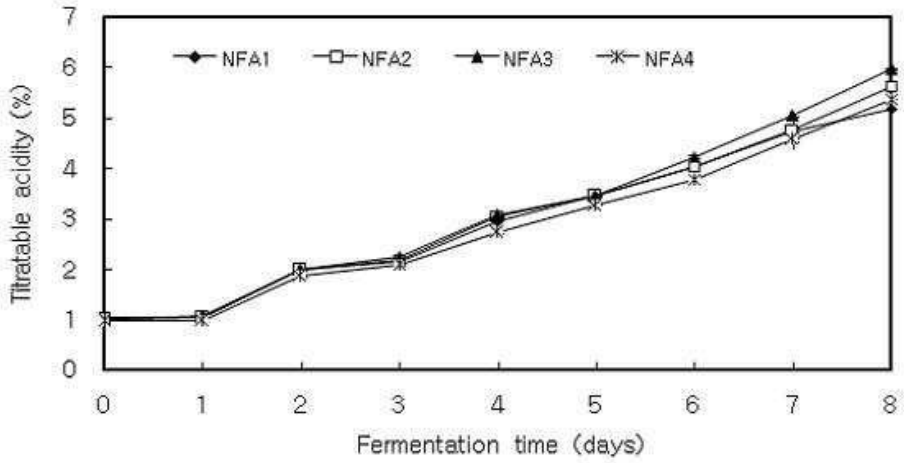
[0054] 통계처리는 SAS(Statistical Analysis System)에 의한 분산분석(ANOVA)에 의해 검증하였으며 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

산업상 이용가능성

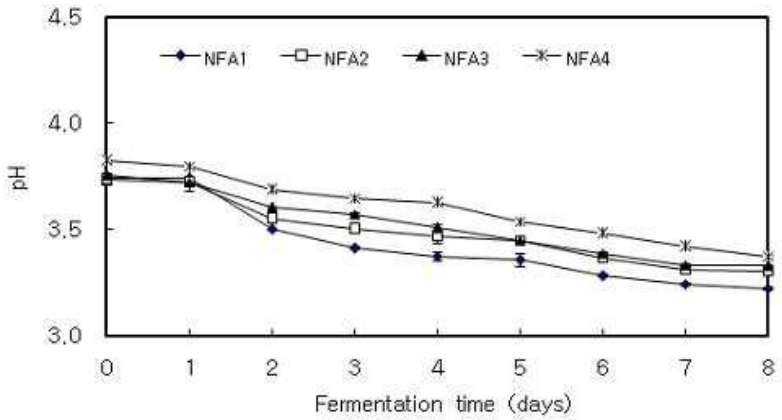
[0055] 본 발명은 현미를 주재료로하고 재래누룩만을 발효제로 사용하여 γ-aminobutylic acid 함량이 증대되어 고혈압 예방, 비만억제 및 신경안정 기능성이 향상된 농가형 현미식초의 정치발효법을 최초로 제공하는 뛰어난 효과가 있으므로 농산물가공산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면

도면1a

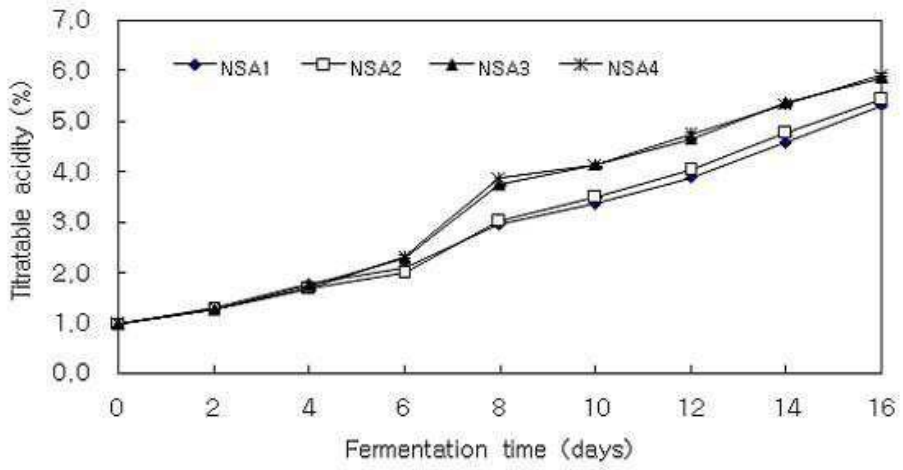


도면1b

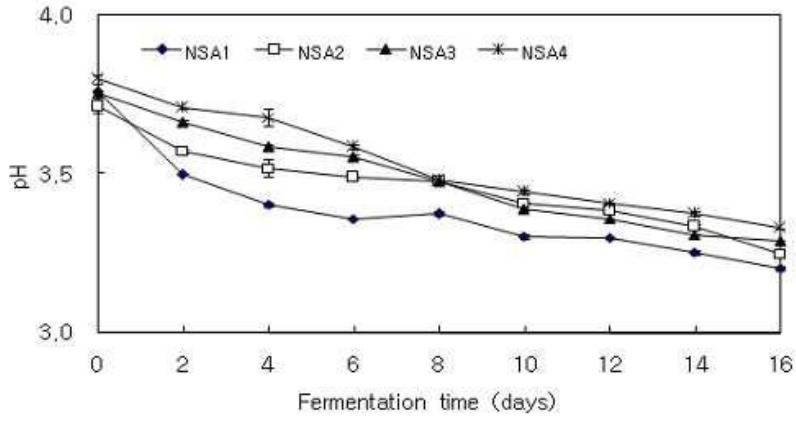


[보기]'NFA : brown rice vinegar by agitated fermentation with different *Nuruk* addition, NFA1 : 10% *Nuruk* addition, NFA2 : 20% *Nuruk* addition, NFA3 : 30% *Nuruk* addition, NFA4 : 40% *Nuruk* addition.

도면2a

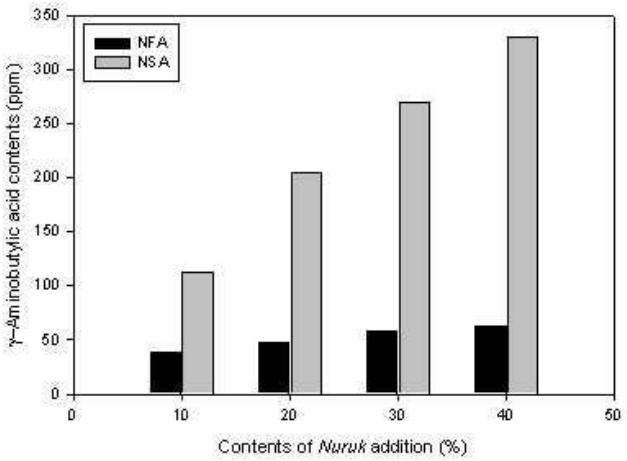


도면2b



[보기]'NSA : brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* addition, NSA1 : 10% *Nuruk* addition, NSA2 : 20% *Nuruk* addition, NSA3 : 30% *Nuruk* addition, NSA4 : 40% *Nuruk* addition.

도면3



[보기]'NFA : brown rice vinegar by agitated fermentation with different *Nuruk* addition,
NSA : brown rice vinegar by static fermentation with different *Nuruk* addition,