



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0043181
(43) 공개일자 2016년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12J 1/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0136637

(22) 출원일자 2014년10월10일

심사청구일자 2014년10월10일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)

(72) 발명자

정용진

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 계명대학교
자연대 식품가공학과

우승미

대구 달서구 성서공단남로10길 34, (주)케이엠에프 (대천동)

(74) 대리인

이덕록

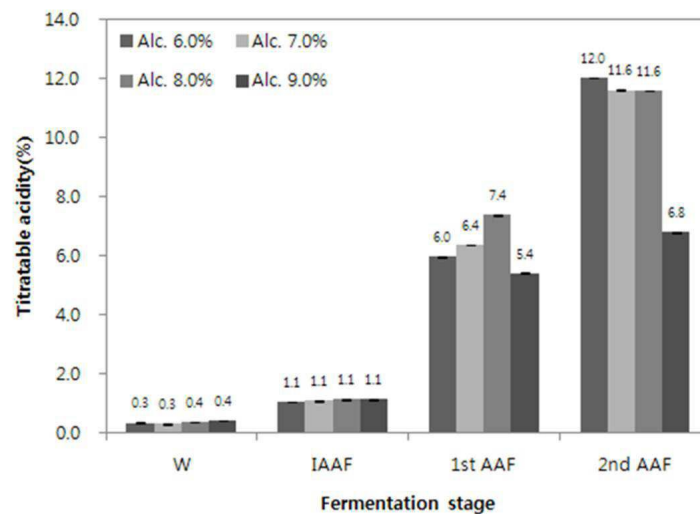
전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 발명의 명칭 2단계 발효법에 의한 고산도 포도식초 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 포도를 활용하고 수입의 의존하고 있는 고산도 식초 생산기술을 대체하고자 영양원 무첨가 고산도 포도식초 및 제조방법으로 *Gluconacetobacter intermedius* CV2(KACC 17072)를 이용하여 초기 알코올 함량에 따른 적정산도 탐색 및 상기 단계에서 얻은 결과를 통한 pH 측정과 당도의 비교측정, 2단계 초산발효시 유가액을 첨가해 초산수율의 증가를 확인하여 별도의 영양원 공급없이 알코올 및 초산발효의 2단계 발효법을 이용하여 100% 포도주스로부터 신규한 고산도 포도식초 및 그 제조방법을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ008488

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 국책기술개발사업

연구과제명 과즙 100% 고산도 식초의 발효시스템 구축 및 상품화 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 국립농업과학원

연구기간 2014.01.01 ~ 2014.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

20 Brix로 희석한 포도농축액을 제조하는 단계와; 상기 포도농축액에 주모 5%(v/v)를 접종하여 30에서 5일간 알코올 발효를 수행하는 단계와; 상기 단계에서 얻은 알코올 발효액에 정제수를 이용하여 알코올 함량 6%가 되도록 보정하는 단계와; 상기 보정된 알코올 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종하고 1단계 초산발효를 수행하는 단계와; 포도농축액을 30 Brix로 희석한 포도농축액을 30에서 5일간 발효시킨 알코올 발효액에 주정을 사용하여 알코올 함량 20%가 되도록 보정한 알코올 발효 보정액을 유가식으로 첨가하면서 적정산도가 12%에 도달하는 시점까지 2단계 초산발효를 수행하는 것이 특징인 고산도 포도식초의 제조방법

청구항 2

제 1항의 방법에 따라 제조된 적정산도 12%의 포도식초

발명의 설명

기술분야

[0001]

본 발명은 포도주스를 원료로 하여 2단계 발효법을 이용한 2배 이상의 고산도 천연 포도식초 및 그 제조방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 현재 시중에 판매되고 있는 포도주스를 이용하여 고산도 포도식초를 제조하고 당도 및 알코올 함량, 적정산도, pH, 발효수율, 색도, 유기산 함량 및 알코올 성분을 분석함으로 수입에만 의존하고 있는 고산도 식초의 수입을 대체하기 위하여 별도의 영양원을 첨가하지 않고 2단계 발효법에 의하여 고산도 포도식초의 제조방법과 그 식초에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

포도(*Vitis vinifera* L.)는 갈대나뭇목(*Rhamnaceae*) 포도과(*Vitaceae*) 작물로 전세계적으로 가장 많이 재배되는 과수 중의 하나이다(Chang SW, Kim HJ, Song JH, Lee KY, Kim IH, Rho YT, Determination of several phenolic compounds in cultivars of grape in Korea. Korean J Food Preserv, 18, 328-334, 2011). 포도 원산지는 북반구의 온대나 아열대지방이고 품종은 8,500여 종이며 그 중 양조용으로 인기 있고 널리 알려진 것은 50여 종으로 보고되고 있다(Ko JY, Wine communication. Sekyungsa, Seoul, Korea, p 103, 2011). 포도 품종들은 용도에 따라서 생식용, 건포도용, 포도주 및 기타 가공품용으로 크게 구분되며, 전체 생산량의 70% 이상이 생식으로 소비되고 그 외 와인, 음료, 잼, 식초 등 가공식품의 원료로 이용되고 있다(Kim MH, Kwak HJ, Yoo BH, Kim DJ, Youn SJ, Quality characteristics and antioxidant effects of grape juice obtained with different wxtraction methods. Korean J Food Preserv, 20, 784-790, 2013). 포도는 알칼리성 과일로 미네랄, 전화당, 주석산, 구연산, 칼륨, 철분, 비타민 A, B1, B2, D 등과 다양한 phytochemical들을 풍부하게 함유하고 있어서 피로회복, 피부미용, 소화개선, 식욕증진과 같은 생리활성 증진효과를 나타내며(Kim SB, Park JK, Kim TG, Lim DH, Lee HJ, Ki KS, Son JK, Kim HS, Kim SC, Kweon EK, Effect of dietary grape by-product on milk yield, milk composition and bleed metabolites of dairy cows. J Agri Life Sci, 45, 135-140, 2011), 특히 French paradox에서도 알 수 있듯이 심혈관질환이나 항암활성이 우수하고 면역 조절 활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(Heo JC, Woo SU, Kweon MA, Kim BB, Lee SH, Lee JM, Choi JU, Chung SK, Lee SH, Analysis of immunomodulating activities in methanol extracts from several kinds of grapes. Korean J Food Preserv, 14, 419-424, 2007). 이러한 효능을 나타내는 생리활성물질 중 대표적인 물질로 resveratrol이 있으며, 이외에도 phenolic acid, catechin, flavonoid, proanthocyanidin 등이 존재한다(Kim MA, Son HU, Yoon EK, Choi YH, Lee SH, Comparison of anti-diabetic activities by extracts of grape cultivar. Korean J Food Preserv, 19, 400-405, 2012).

- [0003] 식초는 식품의 맛을 돋워주는 산미료로서, 발효과정에서 생성된 독특한 방향과 신맛을 가지는 대표적인 발효식품이다(Casale M, Siz AMJ, Gonzlez SJM, Pizarro C, Forina M Study of the aging and oxidation processes of vinegar samples from different origins during storage by near-infrared spectroscopy. *Analy Chim Acta*, 557, 360-366, 2006). 특히 포도를 원료로 제조된 발사믹 식초는 이탈리아 중부 모데나 지방 특산물로서 옛날에는 약으로도 사용했으며 그 향과 맛이 매우 특이하여 조리용 식초로 많이 사용되고 있다(Choi EH, Kim DS, Choi SK, Park KB, Optimization and quality characteristics of balsamic vinegar jelly with various gelling agents. *Korean J Culinary Research*, 19, 151-163, 2013). 국내 식초 생산은 2009년도 기준으로 주정 식초 38.9%, 과일식초 32.5%, 곡물식초 21.4%, 합성식초 7.0%, 기타 6%로 나타났으나 건강에 대한 소비자 인식이 높아지면서 매년 과일 및 곡물 천연 발효식초에 대한 소비가 증가하고 있는 추세이다. 식초 산도의 분류에 따라 45%의 저산도, 67%의 일반산도, 1214%의 2배 산도 및 18-19% 3배 산도의 식초로 나눌 수 있으며 적정산도 10% 이상의 고산도 식초의 경우는 이미와 이취 개선 및 식초를 대량으로 사용하는 공장이나 요식업소에서 운송비와 저장 공간 절감 등의 이점을 가지고 있어 지금도 많이 소비되고 있다(Lee YC, Lee JH, A manufacturing process of high-strength vinegar. *Food Indus Nutr*, 5, 13-17, 2000).
- [0004] 현재 국내에서 시판되고 있는 고산도 과일식초는 알코올 발효를 거치지 않고 주정과 영양원을 이용하여 초산 발효만 시킨 후 약 30%의 과즙을 첨가하여 생산되고 있으며 대부분 독일의 Frings사의 설비 및 초산균주를 수입하여 제조하고 있어 설비 및 균주의 국산화가 절실히 요구된다. 국내의 고산도 식초에 관한 연구는 고농도 에탄올 내성 초산균 및 양조식초로 부터 고산도 초산균 분리(Park KS, Chang DS, Cho HR, Park UY, Investigation of the cultural characteristics of high concentration ethanol resistant *Acetobacter* sp. *J Korean Soc Food Nutr*, 23, 666-670, 1994), 영양원을 넣은 합성배지에 유가식 배양을 통한 two stage 고산도 식초 제조(Lee YC, Lee YG, Kim HC, Park KB, Yoo YJ, Ahn PU, Choi CU, Son SH, Production high acetic acid vinegar using two stage fermentation. *Korean J Microbiol Biotechnol*, 20, 663-667, 1992), 온도 조절을 통한 single stage 고산도 식초 제조(Lee YC, Park MS, Kim HC, Park KB, Yoo YJ, Ahn IK, Son SH, Production of high acetic acid vinegar by single stage fed-batch culture. *Korean J Microbiol Biotechnol*, 21, 511-512, 1993) 등이 활발히 진행 중이나 100% 과즙을 이용한 천연 고산도 식초 제조에 관한 국내 연구는 미비한 실정이다.
- [0005] 본 발명의 선행특허기술로 본 발명자에 의하여 2단계 발효에 의한 포도식초가 제10-0330341호에 공지된 바 있으나 이는 단지 씨를 제거하고 파쇄한 포도를 알콜발효시킨 후 다시 초산발효 시키는 2단계 발효공정으로 얻은 적정산도 5~6% 수준의 양과즙이 첨가된 포도-양과 조합식초에 관한 것이다. 또 천연 향산화 기능성 배-포도 혼합식초 및 그 제조방법이 대한민국 등록특허 제10-0746591호에 공지된 바 있으나 이는 알콜 발효공정 및 초산 발효공정으로 구성되는 2단계 발효공정을 통해 향산화 기능성분이 함유된 배-포도 혼합식초를 제조하고 그 방법에 관한 것이다. 그리고 유가식발효에 의한 사과식초 제조방법이 대한민국 등록특허 제10-1060415호에 공지되어 있으나 이는 초산발효물의 일부를 종초로 이용하여 반복적으로 초산발효를 수행하는 연속 3차 분획식 초산 발효에 의한 사과식초 및 그 제조방법에 관한 것이다.
- [0006] 한편 고산도 식초 및 그 제조방법에 관한 특허문헌이 대한민국 등록특허 제10-1350788에 공지되어 있으나 이는 옥수수 유래의 액상포도당이 포함된 수성배지에 효모를 접종해 알콜 발효액을 얻어 이에 주정, 효모엑기스 및 10~13%의 고산도 식초를 혼합하여 사입액을 얻은 후 반연속식 심부발효시켜 단지 저비용으로 대량의 초산함량 10~12% 수준의 고산도 식초를 제조하는 방법에 관한 것이다. 따라서, 상기 특허문헌 어디에도 100% 포도과즙만을 원료로 하여 별도의 영양원 첨가없이 2단계 발효법을 이용하여 천연 고산도 포도식초의 제조에 관련된 발명은 공지되거나 교시된바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 따라서, 본 발명의 목적은 포도를 활용하고 수입의 의존하고 있는 고산도 식초 생산기술을 대체하고자 포도주스를 이용하여 2단계 발효를 거친 고산도 포도식초의 제조 및 품질특성을 조사하여 당도, 알코올 함량, 적정산도 및 pH, 발효수율, 색도, 유기산 함량 및 알코올 성분을 측정 분석함으로 영양원 무첨가 고산도 포도식초를 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0008] 따라서, 본 발명의 상기 목적은 20 ° Brix로 희석한 포도농축액을 제조하는 단계와; 상기 포도농축액에 주모 5%(v/v)를 접종하여 30℃에서 5일간 알코올 발효를 수행하는 단계와; 상기 단계에서 얻은 알코올 발효액에 정제수를 이용하여 알코올 함량 6%가 되도록 보정하는 단계와; 상기 보정된 알코올 발효액에 종초 10%(v/v)를 접종하고 1단계 초산발효를 수행하는 단계와; 포도농축액을 30 Brix로 희석한 포도농축액을 30에서 5일간 발효시킨 알코올 발효액에 주정을 사용하여 알코올 함량 20%가 되도록 보정한 알코올 발효 보정액을 유가식으로 첨가하면서 적정산도가 12%에 도달하는 시점까지 2단계 초산발효를 수행하는 단계를 통하여 달성하였다.

발명의 효과

- [0009] 본 발명은 별도의 영양원의 공급없이 알코올 및 초산발효의 2단계 발효법을 이용하여 신규한 고산도 포도식초 및 그 제조방법을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0010] 도 1은 본 발명에 따른 초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 발효의 적정 산도의 변화를 나타낸 그래프이다(W:포도 와인, IAAF:초기 초산 발효액, 1st AAF:1 단계 초산 발효액, 2nd AAF:2 단계 초산 발효액).
- 도 2는 본 발명에 따른 초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 발효 된 pH의 변화를 나타낸 그래프이다(W:포도 와인, IAAF:초기 초산 발효액, 1st AAF:1 단계 초산 발효액, 2nd AAF:2 단계 초산 발효액).
- 도 3은 본 발명에 따른 초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 발효의 당도 변화를 나타낸 그래프이다(W:포도 와인, IAAF:초기 초산 발효액, 1st AAF:1 단계 초산 발효액, 2nd AAF:2 단계 초산 발효액).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0011] 본 발명의 구체적인 내용을 실시예를 들어 상세하게 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 발명이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0012] 본 발명에 따르면 알코올 발효용 효모는 *S. cerevisiae* Fermivin 균주가 가장 바람직 하였고 초산균으로는 *G. intermedius* CV2가 초산생성능이 우수하였다. 그러나, 상기 알코올발효용 효모와 초산발효용 초산 균주 이외의 균주도 본 발명에서 사용될 수 있음은 물론이다.

[0013] 실시예 1. 실험재료 및 사용균주

- [0014] 본 발명에 사용된 주모는 포도 농축액(72 ° Brix)은 (주)롯데쇼핑 식품사업본부에서 제공받아 냉장 보관하여 사용하였다. 알코올발효 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* Fermivin(DSM Food Specialties, Seclin, France)으로 와인킷 코리아(Wine Kit Korea Co., LTD., Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 초산균은 농식품자원부 발효이용과에서 분리한 *Gluconacetobacter intermedius* CV2(KACC 17072)를 고체 배지에서 30℃, 48시간 계대 배양하고 4℃에서 냉장보관한 후 사용하였다.

[0015] 실시예 2. 주모 및 종초

- [0016] 본 발명에 사용된 주모는 포도 농축액을 10 ° Brix로 희석하고 121℃에서 15분간 살균시킨 후 효모 0.02%(w/v)를 접종하여 항온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 30℃, 24시간 동안 정치배양하였다. 상기 정치배양한 효모 배양액은 원료량의 5%(v/v)를 사용하였고 초산발효에 사용된 종초는 포도 알코올 발효액을 알코올 함량 5%로 희석한 후 *G. intermedius* CV2를 접종하여 30℃에서 250 rpm으로 5일간 교반 배양하여 원료량의 10%(v/v)를 사용하였다.

[0017] **실시예 3. 포도 알코올 발효액 제조**

[0018] 본 발명에 따른 1 단계 초산발효에 사용된 알코올 발효액은 20 ° Brix로 희석한 포도 농축액에 실시예 2의 주모를 5%(v/v)접종하여 향온배양기(HB-103-2H, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 30℃, 5일 동안 정치배양 시켰으며 고산도 포도식초 제조를 위한 유가식 첨가용 알코올 발효액은 30 ° Brix로 희석한 포도 농축액에 주모를 5%(v/v)접종하여 상기 초산발효와 같은 방법으로 정치배양 시켜주었다. 발효 종료 후 10,000 rpm으로 5분 동안 원심분리하여 상등액을 분석용 시료로 사용하였다.

[0019] 2단계 초산발효에 사용된 유가액은 포도 농축액을 30 ° Brix로 희석하여 30℃에서 5일간 발효 시킨 후 주정을 사용하여 알코올 함량 20%가 되도록 보정하여 첨가액으로 사용하였다.

[0020] **실시예 4. 고산도 포도식초 제조**

[0021] 본 발명에 사용한 고산도 포도식초의 제조는 2단계 발효를 통해 이루어졌다. 1단계 초산발효는 포도 알코올 발효액의 알코올 농도를 각각 6, 7, 8 및 9%로 희석한 후 종초를 10%(v/v) 접종하여 Jar-fermentor(KF-5 L, Kobiotech Co., Seoul, Korea)에서 30℃, 500 rpm, 0.5 vvm으로 실시하였고 2단계 초산발효는 1단계 초산발효액의 적정산도가 6시간 동안 변화가 없는 시점부터 고농도 알코올 발효액을 유가식으로 첨가하면서 적정산도가 12%에 도달하는 시점까지 진행되었다. 이때 첨가량은 1단계 발효액과 대비하여 알코올 함량이 0.2%가 첨가되도록 일정한 속도로 주입한 후 알코올발효액(W), 초기 초산발효액(IAAF), 1단계 초산발효액(1st AAF), 2단계 초산발효액(2nd AAF)으로 발효단계를 구분하여 품질특성을 분석하였다.

[0022] **실시예 5. 당도 및 알코올 함량**

[0023] 본 발명에 따른 당도는 digital refractometer(PR-101, Atago Co., LTD, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 알코올 함량은 시료 100 mL을 증류한 다음 주정계를 이용하여 측정한 값을 Gay Lussac Table로 환산하여 산출하였다.

[0024] **실시예 6. 적정산도 및 pH**

[0025] 본 발명에 따른 적정산도는 시료 1 mL에 1% phenolphthalein 지시약을 2~3방울 첨가하고 0.1 N NaOH로 중화 적정하였다. 포도농축액과 당도에 따른 알코올 발효액은 tartaric acid로 환산하였고, 고산도 초산발효과정 중 발효단계별 알코올 및 초산발효액은 acetic acid(%)로 환산하였다. pH는 실온에서 pH meter(Metrohm 691, Metrohm UK Ltd., Herisau, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

[0026] **실시예 7. 발효수율**

[0027] 본 발명에 따른 초산 발효수율은 총 알코올 농도에 따른 이론적인 초산생산량에 대한 초산 생성량을 백분율로 나타내었다.

【수학식 1】

$$\text{초산 발효수율} = \frac{\text{최종산도}(\%, \text{w/v}) - \text{초기산도}(\%, \text{w/v})}{\text{총 알코올 농도}(\%, \text{v/v}) \times 1.304} \times 100$$

[0029] **실시예 8. 색도**

[0030] 본 발명에 따른 색도는 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimazu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 Hunter scale에 의한 명도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)로 나타내었으며, 이때 대조구는 증류수(L=100.00, a=0.02, b=-0.10)를 사용하였다.

[0031] **실시예 9. 유기산 함량**

[0032] 본 발명에 따른 유기산은 시료를 Sep-pak C18 cartridge에 통과시키고 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 high performance liquid chromatography(Waters 1515, Waters Co., Ltd., Milford, MA, USA)로 분석하였다. 유기산 분석 컬럼은 AtlantisTM dC18(3.9 $\times$ 150 mm, Waters Co.), 이동상은 20 mM NaH₂PO₄(pH 2.7)를 사용하였고 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 20 μ L, 검출기는 UV(Waters 2487, 210 nm)를 사용하였다.

[0033] **실시예 10. 미량 알코올 성분**

[0034] 본 발명에 따른 미량 알코올은 초산 발효액을 membrane filter(pore size 0.45 μ m, Advantec MFS, Japan)로 여과하고 여과액을 gas chromatography(Hewlett packard 5980, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석 컬럼은 HP-INNOWAX capillary column(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.5 μ m, Agilent, MA, USA)를 사용하였고, 오븐의 온도는 40 $^{\circ}$ C에서 2분간 유지한 후 분당 2 $^{\circ}$ C씩 130 $^{\circ}$ C까지 승온시켜 1분간 유지하였다. Injection 및 detector 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C 및 260 $^{\circ}$ C, split ratio는 10:1, 유속은 1.0 mL/min, carrier gas는 N₂, 검출기는 Flame ionization detector(FID)를 사용하였다.

[0035] **실시예 11. 통계처리**

[0036] 본 발명에 따른 상기 모든 실험은 3회 반복하여 측정한 평균과 표준편차로 나타내었다.

[0037] **실험예 1. 포도 농축액 및 알코올 발효액의 품질특성**

[0038] 본 발명에 사용된 고산도 포도 식초를 제조하기 위하여 포도 농축액을 20 및 30 $^{\circ}$ Brix로 각각 희석하여 주모를 5%(v/v) 집중한 후 알코올 발효시킨 발효액과 포도농축액의 품질 특성을 분석하였다(표 1). 20 $^{\circ}$ Brix로 희석한 포도농축액은 적정산도 0.7%에 pH는 3.9로서 일반적인 포도즙의 pH보다는 조금 높았다. 유리당은 fructose 8,582 mg%, glucose 7,749 mg%였으며 sucrose 및 maltose는 검출되지 않았다.

[0039] 알코올발효액의 당도는 초기당도 20 $^{\circ}$ Brix 구간은 6.4 $^{\circ}$ Brix로 낮아졌고 30 $^{\circ}$ Brix 구간은 12.6 $^{\circ}$ Brix으로 낮아졌다. 알코올 함량은 당도와 반비례하여 20 $^{\circ}$ Brix 구간이 10.8%, 30 $^{\circ}$ Brix 구간이 16.6%로 나타났다. 적정산도는 각각 0.9%와 1.1%였고, pH는 각각 3.5와 4.1로 나타났다. 상기 결과는 활성건조효모를 이용한 포도주의 발효 특성에서 Saccharomyces uvarum Lalvin W15균주로 발효한 포도주의 적정산도가 0.99%로 유사한 결과를 보였으나 Saccharomyces cerevisiae Epernay II 균주로 발효한 포도주의 적정산도는 0.74%로 사용균주에 따라 포도주의 적정산도에 차이가 있음을 확인하였다. 또한 포도주의 적정산도는 0.6~0.65%가 적당하고 pH는 3.2~3.3가 되어야한다는 가이드 내용과 비교해 볼 때 알코올발효액의 경우 당도는 다소 높은 편이나 연속적으로 초산발효가 진행되기 때문에 잡균 오염에 대한 가능성은 없을 것으로 판단되었다.

[0040] 상기 결과에 따라 1단계 초산발효는 초기당도 20 $^{\circ}$ Brix 포도 농축액으로 알코올 발효를 실시하여 각 알코올 함량을 6, 7, 8 및 9%로 희석하여 사용하였으며 2단계 초산발효에 사용된 유가액은 30 $^{\circ}$ Brix 포도 농축액으로 알코올 발효한 후 주정으로 알코올함량 20%로 보정한 후 사용하였다.

표 1

[0041] 식초 발효에 대한 포도 알코올 발효와 포도 농도의 물리 화학적 특성 비교

	Grape conc.	Initial sugar content(Brix)	
		20	30
Sugar content ($^{\circ}$ Brix)	20.0 $\pm$ 0.0 ¹⁾	6.4 $\pm$ 0.0	12.6 $\pm$ 0.0
Alcohol content (%)	ND	10.8 $\pm$ 0.1	16.6 $\pm$ 0.1
Titrateable acidity (%)	0.7 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.0
pH	3.9 $\pm$ 0.0	3.5 $\pm$ 0.0	4.1 $\pm$ 0.0
1) $\pm$ 값은 표준편차를 의미함(N = 3).			

[0042] 실험예 2. 2단계 고산도 초산발효의 적정산도 및 초산 발효수율

[0043] 본 발명에 따른 초기 알코올 함량 6, 7, 8과 9%를 가지고 단계별 고산도 초산발효의 품질특성으로 적정산도 변화와 초산 발효수율을 조사하였다. (도 1, 표 2) 1단계 초산발효기간 동안 적정산도는 꾸준히 증가하여 1단계 초산발효(1st AAF)에서 초기 알코올 함량이 6%인 첨가구는 6.0%의 적정산도를 나타냈고 초기 알코올 함량이 7, 8%인 첨가구는 각각 6.4% 및 7.4%의 적정산도를 나타냈으며 초기 알코올 함량이 9%인 첨가구는 5.4%의 적정산도를 나타냈다. 초산수율은 각각 63.9, 59.2, 61.3과 37.5%로 나타난 결과로 보아 초기 알코올 함량이 6%인 첨가구에서 초산수율이 가장 높았다. 또한 2단계 초산발효(2nd AAF) 단계에서 초기 알코올 함량이 6, 7 및 8%인 첨가구는 꾸준히 증가하여 각각 적정산도 12, 11.59 및 11.57%까지 도달하였으나 초기 알코올 함량이 9%인 첨가구는 적정산도 6.78%로 더 낮게 나타났다. 이는 IAAF부터 정상발효가 진행되지 못했기 때문에 시료에 잔류하는 알코올 농도가 높아짐에 따라 2nd AAF단계에서 초산균의 생육이 저해되었다. 고산도 포도식초의 초산수율은 초기 알코올 함량이 6%인 첨가구가 70.3%로 가장 높았고 초기 알코올 함량이 7, 8%인 첨가구는 약 67%, 초기 알코올 함량이 9%인 첨가구는 40% 이하로 낮게 나타났다. 상기 결과를 통해 본 발명의 고산도 포도식초의 초기 알코올 함량을 6%로 설정하였다.

표 2

[0044] 포도 식초 생산 초기에 알코올 함량의 영향

	Initial alcohol content(%)			
	6	7	8	9
Acetic acid fermentation yield(%)	70.3±0.1 ¹⁾	67.7±0.0	67.5±0.0	36.9±0.0

1) ±값은 표준편차를 의미함(N = 3).

[0045] 실험예 3. 2단계 고산도 초산발효의 pH 및 당도

[0046] 본 발명의 초기 알코올 함량 6, 7, 8 및 9%에 따른 고산도 초산발효의 단계별 품질특성 중 pH 및 당도의 변화를 조사한 결과는 도 2 및 3과 같았다. pH는 알코올 발효기간 동안 큰 변화가 없었으나 1st AAF 이후부터 감소하였고 초기 알코올 함량과 관계없이 pH는 기준에 알려진 포도식초의 pH와 비슷한 수치를 나타내었다. 당도는 발효기간 중에 큰 변화가 없었으나 1st AAF 후에 급격히 증가하였다. 또한 W에서 1st AAF까지 초기 알코올 함량이 높을수록 높게 나타났으며 2nd AAF기간 동안에는 초기 알코올 함량이 6%인 첨가구에서의 증가율이 가장 높았다. 초기 알코올 함량이 낮을수록 유가식 배양을 통해 첨가된 알코올 발효액의 첨가량이 많아 당 증가율에 영향을 미치는 것으로 보였다.

[0047] 실험예 4. 2단계 고산도 초산발효의 색도

[0048] 본 발명의 초기 알코올 함량 6, 7, 8 및 9%에 따른 고산도 초산발효의 단계별 품질특성 중 색도의 변화를 조사한 결과는 표 3과 같다. 명도(L)는 발효기간 중 W에서 30~37, 1st AAF에서 37~47로 증가하였으나 2nd AAF에서는 23~30으로 급격히 감소하였다. 초기 알코올 함량에 따른 영향에서도 W에서 1st AAF까지는 초기 알코올 함량이 높을수록 명도가 감소하였으나 2nd AAF에서는 반대의 경향으로 나타났다. 상기 결과는 초기 알코올 함량이 낮을수록 유가식 배양을 통해 첨가된 알코올 발효액의 첨가량이 많으며 유가식 배양액의 명도가 낮기 때문인 것으로 판단되었다. 적색도(a)는 종초를 첨가하는 초기 초산발효(IAAF)구간을 제외하고는 꾸준히 증가하였고, 황색도(b)는 명도와 같은 경향을 나타냈다. 초기 알코올 함량에 따른 적색도 및 황색도는 큰 차이가 없었다. 적포도주의 발효 특성은 Muscat Bailey A 품종의 명도가 14.70~17.27, 적색도가 40.28~43.53, 황색도가 21.45~24.93으로 나타났고, 적포도주 명도가 20.04~19.14, 적색도가 42.45~49.15, 황색도가 12.57~15.60으로 나타나 본 연구의 W구간과 비교해 볼 때 적색도의 수치가 비슷하게 나타났으며 포도 농축액은 과피의 안토시아닌 함량이 높아 다른 과일에 비하여 적색도 수치가 높게 나타났다.

표 3

[0049]

초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 발효의 색도

		Initial alcohol content(%)	Fermentation stage ¹⁾			
			W	IAAF	1st AAF	2nd AAF
Color	L	6	36.7±0.1 ²⁾	37.4±0.1	47.5±0.0	23.2±0.2
		7	33.1±0.1	38.6±0.2	43.8±0.2	25.9±0.1
		8	30.2±0.0	31.1±0.1	37.2±0.1	27.2±0.2
		9	30.6±0.1	32.9±0.1	38.1±0.0	30.4±0.1
	a	6	42.2±0.2	40.4±0.0	44.1±0.0	45.0±0.0
		7	44.3±0.1	40.3±0.2	48.0±0.0	48.1±0.1
		8	44.7±0.1	43.3±0.0	49.9±0.0	49.8±0.0
		9	43.4±0.1	44.8±0.0	49.9±0.0	49.9±0.2
	b	6	18.5±0.1	17.1±0.1	20.9±0.0	15.5±0.0
		7	18.1±0.0	17.7±0.0	21.1±0.0	17.3±0.0
		8	17.4±0.1	17.4±0.0	21.5±0.1	18.2±0.1
		9	17.1±0.0	17.3±0.0	22.3±0.0	19.5±0.0

1) W:포도 와인, IAAF:초기 초산 발효액, 첫번째 AAF:1 단계 아세트산 발효액, 2 AAF:2 단계 아세트산 발효액.
2) ±값은 표준편차를 의미함(N = 3).

[0050]

실험예 5. 2단계 고산도 초산발효의 유기산 함량

[0051]

본 발명의 초기 알코올 함량 6, 7, 8 및 9%에 따른 고산도 초산발효의 단계별 품질특성 중 유기산 함량 변화를 조사한 결과는 표 4와 같다. 주요 유기산은 tartaric acid, malic acid 및 citric acid로 검출되었으며 W단계에서는 초기 알코올 함량이 높아짐에 따라 유기산 함량이 높게 나타났으나 2nd AAF에서는 유가식 첨가량 및 초산 발효수를 차이로 인하여 초기 알코올 함량이 낮을수록 높게 검출되었다. Acetic acid는 초기 알코올 함량이 8% 이하인 첨가구에서는 10,000 mg% 이상이 검출되었으며 초기 알코올 함량이 9%인 첨가구에서는 6,948 mg%이 검출되었다. Oxalic acid는 모든 구간에서 발효 단계가 진행될수록 유기산의 농도가 높아졌고 초기 알코올 함량에 따른 큰 차이는 나타나지 않았다.

표 4

[0052]

초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 발효 유기산의 변화

Fermentation stage ¹⁾	Initial alcohol content(%)	Organic acid(mg%)				
		Oxalic acid	Tartaric acid	Malic acid	Acetic acid	Citric acid
W	6	15.9±0.8 ²⁾	132.1±1.6	173.3±3.5	ND ³⁾	171.3±9.4
	7	17.2±2.6	133.4±2.0	194.7±3.3	ND	178.7±8.4
	8	33.9±0.1	146.2±8.3	223.4±0.1	ND	180.4±0.4
	9	33.0±0.0	158.6±0.6	235.1±0.6	ND	185.5±1.1
IAAF	6	24.3±0.0	132.2±5.1	167.2±5.5	ND	152.1±1.7
	7	27.1±0.2	121.1±0.6	146.8±1.1	ND	158.9±1.2
	8	31.8±0.1	144.1±1.4	203.2±0.4	ND	163.2±8.6
	9	34.3±1.3	159.6±6.0	212.9±12.7	ND	154.1±39.2
1st stage AAF	6	40.8±0.8	149.2±13.8	147.2±9.5	5,539.4±10.0	114.7±4.0
	7	54.0±1.1	155.6±10.3	129.7±6.5	5,596.3±7.8	120.5±10.2
	8	55.9±0.2	146.6±0.5	166.7±2.2	7,649.3±26.0	111.0±15.5
	9	59.4±0.2	154.5±16.5	182.5±0.4	7837.3±25.7	123.8±8.8
2nd stage AAF	6	51.3±0.7	228.0±9.4	317.4±6.9	10,351.4±15.8	311.7±7.6
	7	67.6±1.7	223.47.9	305.2±12.5	10,136.2±19.0	287.9±28.3
	8	59.4±0.1	227.01.2	308.1±1.5	10,085.6±5.0	279.9±18.3
	9	59.3±2.5	218.09.4	301.3±6.7	6,948.8±8.3	274.2±3.5

- 1) W:포도 와인, IAAF:초기 초산 발효액, 첫번째 AAF:1 단계 아세트산 발효액, 2 AAF:2 단계 아세트산 발효액.
 2) ±값은 표준편차를 의미함(N = 3).
 3) ND : 검출되지않음

[0053]

실험예 6. 2단계 고산도 초산발효의 미량 알코올 성분

[0054]

본 발명에 따른 초기 알코올 함량 6, 7, 8 및 9%에 고산도 초산발효의 단계별 품질특성 중 미량 알코올 성분을 조사한 결과는 표 5와 같다. 포도식초의 주요 알코올 성분은 methyl alcohol, 2-methyl-1-propanol 및 ethyl alcohol 3종이 검출되었다. Ethyl alcohol을 제외한 검출 성분들은 극소량으로 초기 알코올 함량에 따른 큰 차이가 없었고, ethyl alcohol은 364~6,091 ppm으로 나타났다.

표 5

[0055]

초기 알코올 농도에 의한 포도 식초 생산의 알코올 성분

Alcohol component (ppm)	Initial alcohol content(%)			
	6	7	8	9
acetaldehyde	ND ¹⁾	ND	ND	ND
methyl alcohol	27.2±2.3 ²⁾	46.5±2.7	52.7±0.0	175.6±28.6
1-propanol	TR	ND	ND	ND
2-methyl-1-propanol	2.3±0.1	2.3±1.3	2.5±0.0	2.8±.2
Iso-amyl alcohol	ND	ND	TR	TR
ethyl alcohol	364.6±12.9	533.9±26.6	581.0±32.0	6,091.0±70.7
1) ND : 검출되지않음				
2) ±값은 표준편차를 의미함(N = 3).				

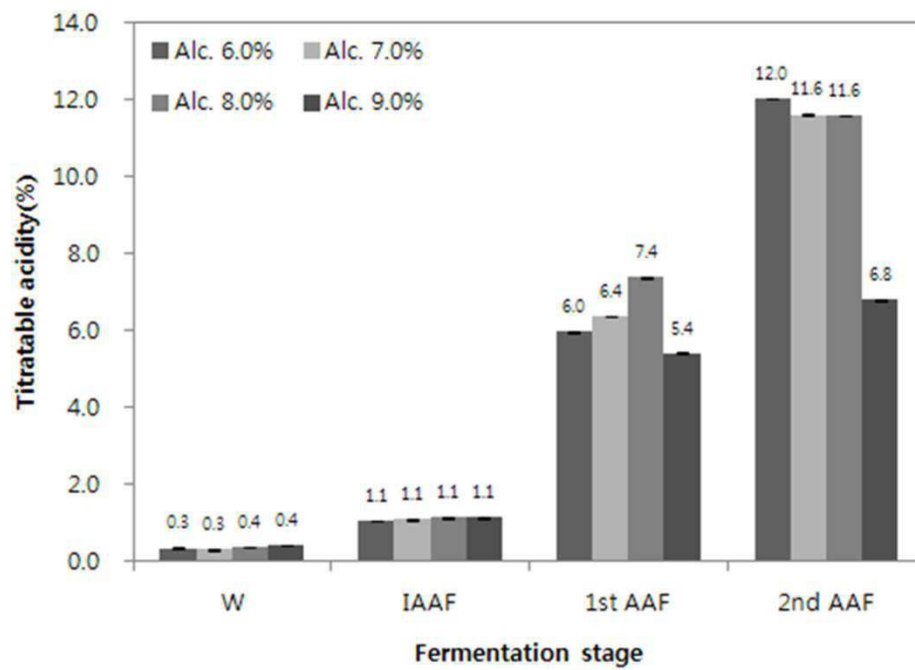
산업상 이용가능성

[0056]

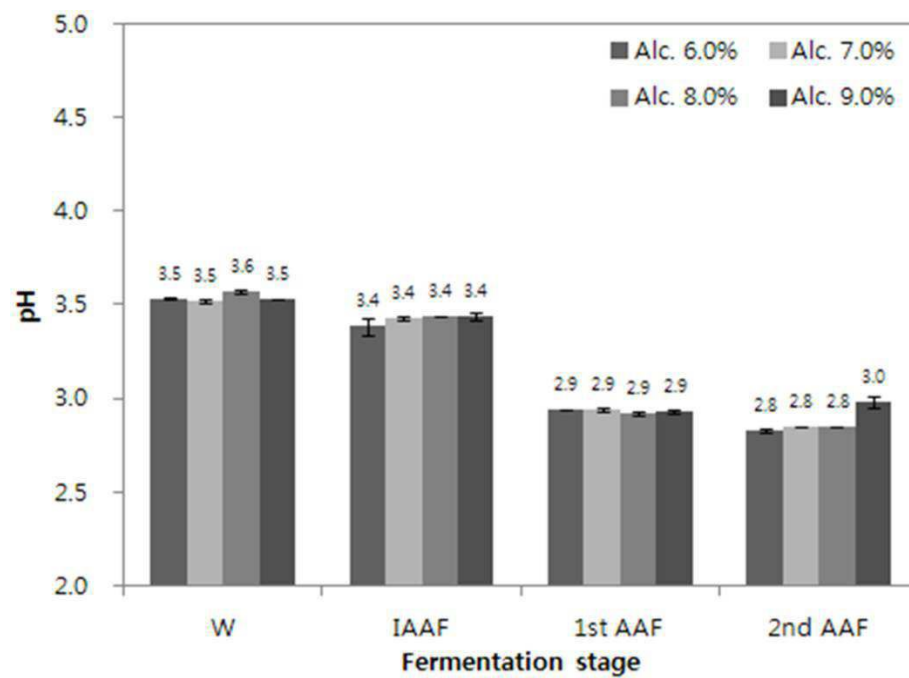
이상 설명한 바와 같이 본 발명은 포도주스를 이용한 2단계 발효법에 의한 천연 고산도 포도식초 및 그 제조방법을 제공하는 효과가 있으므로 식품산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

