



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년06월01일
(11) 등록번호 10-1863760
(24) 등록일자 2018년05월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12J 1/00 (2006.01) A23L 2/38 (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
C12J 1/00 (2013.01)
A23L 2/38 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0018578
(22) 출원일자 2017년02월10일
심사청구일자 2017년02월10일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020020032668 A
JP11018752 A
KR1020010038181 A

(73) 특허권자
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
류충호
경상남도 진주시 가좌안골길21번길 5, 101동 903
호 (가좌동, 제일풍경채아파트)
허병문
경상남도 김해시 한림면 김해대로1271번길 3
(74) 대리인
주대원

전체 청구항 수 : 총 5 항

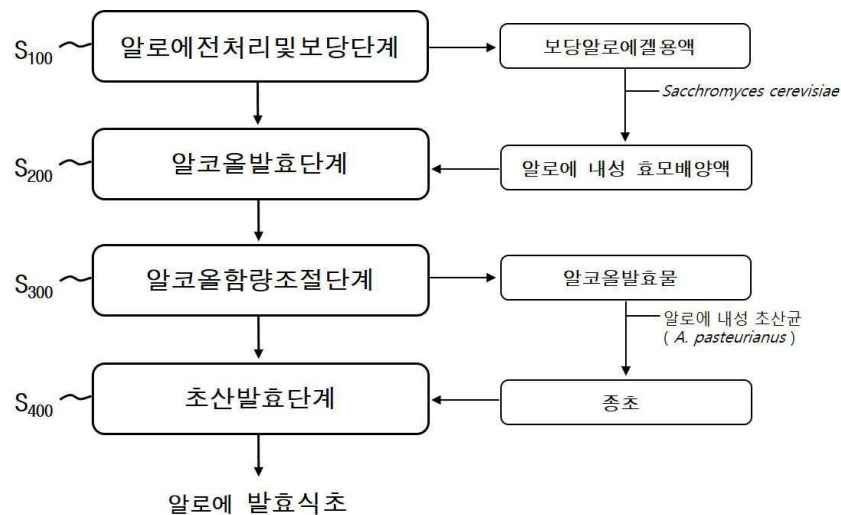
심사관 : 김상인

(54) 발명의 명칭 알로에 발효식초 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 알로에 발효식초 및 그 제조방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 비 상품성 알로에를 재활용하여 향이 뛰어난 발효 식초를 제조하기 위해서, 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에겔착즙액에 보당하여 보당알로에 겔용액을 제조하고, 보당알로에겔용액과 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 보당 알로에겔용액을 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하며, 알로에초산자연발효물에서 분리한 초산균 (*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP)을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 알코올발효물을 정치배양하며 발효 시켜서 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016-0448

부처명 교육부

연구관리전문기관 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업단

연구사업명 산학협력 선도대학 육성사업(LINC)

연구과제명 [LINC기술개발과제] 사포나리아를 이용한 미생물 발효 식초 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교

연구기간 2016.06.01 ~ 2016.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 당을 가하여 보당알로에겔용액을 제조하는 알로에전처리및보당단계;

상기 알로에전처리및보당단계에서 제조된 보당알로에겔용액을 75 내지 85℃의 온도에서 25 내지 35분 동안 열처리한 뒤, 열처리된 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 알로에 내성 효모배양액 2 내지 4중량부 및 누룩 0.4 내지 1.2중량부의 비율로 첨가하고 26 내지 28℃의 온도에서 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하는 알코올발효단계;

상기 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 회석하여 알코올 함량이 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하는 알코올함량조절단계; 및

상기 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 조절된 알코올발효물 50 내지 90중량%에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 정치배양하여 제조한 종초 10 내지 50중량%를 첨가하고 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 초산발효단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법에 있어서,

상기 초산발효단계의 종초는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 3 내지 5일 동안 정치배양하여 초산 함량이 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하여 제조한 것이며,

상기 초산발효단계의 알로에 내성 초산균은 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물에서 분리된 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP인 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 알로에전처리및보당단계에서는,

보당알로에겔용액의 당도가 23 내지 25° Brix인 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 알코올발효단계의 알로에 내성 효모배양액은,

당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액을 배지에 계대 배양을 실시하여 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 선발하고, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 대수증식기의 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 2 내지 4중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 25 내지 35℃의 온도에서 170 내지 190rpm의 회전속도로 70 내지 74시간 동안 진탕배양하여 제조한 것임을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

청구항 1에 있어서,

상기 초산발효단계에서는,

25 내지 27℃의 온도에서 정치배양하여 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법.

청구항 11

청구항 1, 청구항 2, 청구항 5 또는 청구항 10 중 어느 한 항의 방법으로 제조되는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 알로에 발효식초 및 그 제조방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 비 상품성 알로에를 재활용하여 향이 뛰어난 발효 식초를 제조하기 위해서, 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에겔착즙액에 보당하여 보당알로에겔용액을 제조하고, 보당알로에겔용액과 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 보당알로에겔용액을 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하며, 알로에초산자연발효물에서 분리한 초산균(*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP)을 이용하여 제조한 중초를 첨가한 알코올발효물을 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 동서양을 막론하고 오랫동안 이용되어 온 식초는 발효식품으로 당류나 전분질을 함유하고 있는데, 여러 원료를 효모에 의해 알코올 발효시킨 다음, 초산균으로 초산발효 시켜 제조한 것으로 우리의 식생활과 밀접한 관계를 가지면서 산미료 이외에도 식품의 보존 효과와 의약용으로 이용되어 왔다(Ha YD, Kim KS (2000) Civilization history of vinegar. Food industry and nutrition. 5: 1-6.; Jeoung YJ, Lee MH. (2000) Analytical Study on the Cooking in Zu Bang Moon. Food industry and Nutrition, 5: 7-12.).

[0003] 이러한 식초는 대표적인 알칼리성 식품으로 동맥경화증이나 혈전증을 일으키는 과산화지질을 분해해 동맥경화 예방과 부신피질 호르몬의 분비, 소화 및 식용촉진에 효능, 당뇨병과 비만, 혈압상승, 노화방지와 항종양 효과 등 그 기능성이 주목을 받고 있다(Kim DH (1999) Studies on the Production of Vinegar fruit. J Korean Soc Food Sci. Nutr 28: 53-60.).

[0004] 신맛의 대명사로 불리 우는 식초의 신맛은 체내에 들어가면 알칼리성으로 작용하여 체내에 생긴 산을 알맞게 중화시키고 혈액과 체액의 pH 안정을 유지할 뿐만 아니라, 예비 알칼리를 저장하는 저항력이 있는 신체를 유지시켜 주는 필수 아미노산이 포함되어 있다.

[0005] 『동의보감(東醫寶鑑)』(허준 1610)에 용종(암), 통증, 염증 등을 낮게 한다고 기록되어 있으며, 현대에는 피로 회복과 다이어트, 피부에 좋고, 혈전이나 동맥경화를 예방하고, 혈압을 낮추며, 스트레스를 줄이고, 소화 및 식욕을 촉진하며, 칼슘 흡수를 촉진한다고 알려져 마시는 음료 형태로 발전하였다(Ann YG (2001) Studies on wax ground Ginseng vinegar 2. J Korean Soc Food Nutr 14: 239-244.).

[0006] 식초는 당 혹은 전분질을 알코올 발효 후 초산 발효시켜 생산하는 양조식초(발효식초)와 빙초산, 물, 향신료 및 착색료 등을 사용하여 제조하는 합성식초로 구별된다.

- [0007] 양조식초(발효식초)는 원료에 따라 쌀, 주박, 레몬, 감, 사과, 포도 식초 등이 있는데 초산발효에 의해 형성되는 초산을 주성분으로 소량의 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산 및 ester 등을 함유하여 특유한 방향과 신맛을 가진 대표적인 발효식품이다.
- [0008] 식초의 국내규격 중 감식초는 초산함량이 2.6% 이상, 기타 식초는 4.0~20.0%로 되어 있으나 유럽 등에서는 초산 4%이상의 양조식초만을 식용하도록 되어 있다.
- [0009] 현재 국내 양조식초는 알코올을 주원료로 하여 곡물이 4% 이상 함유된 것을 곡물식초, 과즙이 30%이상 함유된 것을 과실식초로 시판하고 있으며, 최근 생활습관의 향상으로 식초 소비 패턴의 변화는 식초시장의 고급화, 다양화를 가속하고 있다(Jeong YJ and Lee MH. (2000) A view and prospect of vinegar industry. Food industry and nutrition. 5(1): 7~12.).
- [0010] 양조 식초는 신체조직의 젖산을 분해하여 피로회복에 도움이 되며 식초산과 기타 유기산류의 새콤한 신맛으로 인해 식욕과 소화흡수를 촉진한다고 알려져 있다(Jeoung YJ, Lee MH. (2000) Analytical Study on the Cooking in Zu Bang Moon. Food industry and Nutrition, 5: 7-12.). 최근 생활 습관 병이 사회적 이슈로 등장하면서 소비자들 사이에서 저염화 식품을 선호하고 있는데, 식초는 체내의 규산과 나트륨의 배설을 촉진하여 동맥경화와 고혈압 같은 성인병에 예방효과가 있다고 알려져 있으며(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.), 이외에도 식중독균에 대한 항균력, 생선비린내 제거 등과 같은 식품의 품질을 저하시키는 외부적 요인을 차단할 수 있는 기능을 가진 식품(「Agricultural products processing and storage」, 2008)이지만, 특유의 강한 맛과 아세트산이 주는 자극이 강한 신맛에 대한 거부감으로 단순 조미료의 한계를 벗어나지 못하고 있는 실정이다(Lee KO (2008) Market trends of vinegar beverages. Food World, 9: 46-49.). 반면, 유럽 등은 식초의 음료화를 위하여 허브 또는 포도 및 과일 농축액을 첨가한 발사믹 식초와 음료형 식초를 전통적으로 제조하고 있고, 일본의 경우에는 음료시장의 약 80%를 건강 식초 시장이 자리매김 하고 있으며, 그 종류는 블루베리, 딸국초, 유자, 매실, 와인 식초 등 다양한 종류가 시장에 출시되고 있다. 또한 대부분이 발효식초를 음료화 하여, 특히 마시는 식초시장의 고급화 및 다양성을 증진시킴으로써 소비자의 성향을 이끌어 내고 있다.
- [0011] 발효식초를 제조하는 과정에서 감, 배, 사과 등의 과일에 대한 식초의 발효 가능성에 대한 연구는 익히 보고되었으나, 민간요법에 자주 쓰여 졌던 알로에를 이용한 식초에 대한 연구는 거의 없는 실정이며, 특히 알로에의 수확 중 발생하는 비 상품성 부위의 재활용을 통한 연구는 거의 진행되고 있지 않다.
- [0012] 대한민국 공개특허 제10-1999-0046058호는 알로에를 주재료로 한 식초의 제조방법에 관한 것으로서, 알로에를 소정온도로 열탕 처리한 후 소정량의 종균을 투입하여 일정기간 발효 과정을 통하여 제조된 알로에 식초 및 알로에 음료 제조방법에 대해 개시하고 있다. 또한, 대한민국 등록특허 제10-0910655호는 복분자를 이용한 식초음료 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 복분자액을 알코올 발효 시킨 후 종초를 첨가하여 식초 발효시켜 복분자 식초를 얻은 후 알로에 추출물과 같은 기능성 성분 추출물을 첨가하여 복분자 식초음료를 제조하는 방법에 대해 개시하고 있다.
- [0013] 알로에는 식물학적으로 백합목 백합과의 알로에 속에 속하는 다년생초이며, 약 4천여 년 간 민간 및 한방약으로 애용되어온 최고의 식물로 일컬어지고 있다. 현재 건강기능식품에는 알로에 베라(Aloe vera), 알로에 아보레센스(Aloe arborescence), 사포나리아(Aloe saponaria)의 잎만 허용되고 있다.
- [0014] 건강기능식품에 사용되는 알로에 겔은 알로에 잎의 비 가치부분과 외피를 제거 한 후 겔 부분을 분리하여 건조하거나, 분쇄, 농축하여 식용에 적합하도록 한 것을 말하며, 알로에 겔의 주요성분으로는 고분자 다당체, alomichin, aloin, aloetic acid, aloe ulcin 등이 있어 항종양, 정장작용, 면역력 증진, 세포재생작용 등의 효능 및 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Cho, Young-Je, An, Bong-Jeun, Kim, Myung-Uk, Shim, Chang-Sub (2006) Anti-inflammatory effect of aloe vera and aloe arborescens in phosphatidic acid-stimulated raw cells. Journal of The Korean Society For Applied Biological Chemistry, 49: 65-69.; Kang Min-Hee, Cho So-Yean, Kim Hyun-Su, Kim Dong-Hyun, Jeong Choon-Sik (2005) Antigastric and Antiulcerative Effect of Pulmuone Healthy Aloe Gel. Korean Journal of Pharmacognosy, 49: 237-243.).
- [0015] 알로에 겔에 대한 연구로는 산성 물질을 이용하여 인위적으로 위 손상을 유발시킨 쥐에게 알로에 베라 에탄올 농축액을 섭취시켜 위산분비가 농도 의존적으로 억제되고 위궤양 지수가 감소되는 결과를 얻은 연구와(Yusuf S et al., (2004) The effect of aloe vera A. Berger(Liniaceae) on gastric acid secretion and acute

gastric mucosal injury in rats. J Pharmacol, 93: 33-37.), 아스피린으로 유도된 쥐의 위십이지장궤양이 알로에 겔에 접착되어 인하여 궤양이 저해되는 연구결과(Mage G et al., (1977) Aloe vera extract prevents aspirin-induced acute gastric mucosal injury in rats. Med Sci Res, 25: 765-766.) 등이 있으며, 물리적 원인으로 유발되어지는 위 손상개선에 대한 연구로는 스트레스로 유발된 쥐의 위궤양을 알로에 겔에 함유된 aloctin A의 lectin fraction이 개선시키나, glycoprotein이 없는 고분자 fraction(5,000~50,000 Da)은 유문부 결찰 및 산 또는 알코올 등으로 유발시킨 물리적 또는 화학적 궤양 모델에서는 개선 효과를 보이나 스트레스로 유도된 궤양 모델에서는 유효하지 않은 연구결과(Saito H et al., (1989) Effect of aloe extract, Aloectin A on gastric secretion and on experimental gastric lesions in rats. Yakugaku Zasshi, 109: 335-339.)가 보고되기도 하였다. 또한, 다양한 방법의 인체실험을 통해 위와 장 기능을 개선시키는 연구결과 (김종국 (1992) 소화성궤양에 있어서 알로에베라의 치료경험. 최신의학, 35: 58-64.; Langmead L et al., (2004) Randomized, double-blind, placebo-controlled of oral aloe vera gel for active ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther, 19: 739-747.)를 보고하기도 하였다.

[0016] 상기와 같이, 효능이 뛰어나고, 향이 우수하며, 조직감 또한 부드러운 장점이 있는 알로에를 이용하여 발효식초를 제조하는 기술에 대한 연구는 현재까지 활발히 진행되고 있지 않은 실정이며, 특히 비 상품성 알로에(알로에 겔)를 재활용하여 향이 뛰어난 발효 식초를 제조하기 위해서, 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에겔착즙액에 보당하고, 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 뒤 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하며, 알로에초산자연발효물에서 분리한 초산균을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 알코올발효물을 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초 제조방법에 대한 기술 개발은 현재까지 진행되고 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-1999-0046058호
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-0910655호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명은 상술한 것과 같은 문제점을 해결하고 필요한 기술을 제공하기 위하여 안출된 것으로서,
[0019] 본 발명은 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에겔착즙액에 보당하여 보당알로에겔용액을 제조하고, 보당알로에겔용액과 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 보당알로에겔용액을 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하며, 알로에초산자연발효물에서 분리한 초산균(*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP)을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 알코올발효물을 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법을 제공함에 목적이 있다.
[0020] 또한, 본 발명은 비 상품성 알로에인 알로에 겔을 이용하여 제조되며, 알로에 겔 성분의 효율적인 이용 방안을 제시하는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초를 제공함에 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0021] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시형태로서,
[0022] 본 발명의 일 실시형태는 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 당을 가하여 보당알로에겔용액을 제조하는 알로에전처리및보당단계; 상기 알로에전처리및보당단계에서 제조된 보당알로에겔용액을 열처리한 뒤, 열처리된 보당알로에겔용액에 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가하고 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하는 알코올발효단계; 상기 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 회석하여 알코올 함량이 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하는 알코올함량조절단계; 및 상기 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 정치배양하여 제조한 종초를 첨가하고 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 초산발효단계;를 포함하는 것을 특징

으로 하는 알로에 발효식초의 제조방법을 제공할 수 있다.

- [0023] 본 발명에 있어서, 상기 알로에 전처리 및 보당단계에서는, 보당알로에 겔 용액의 당도가 23 내지 25° Brix인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0024] 본 발명에 있어서, 상기 알코올 발효단계에서는, 보당알로에 겔 용액을 75 내지 85℃ 온도에서 25 내지 35분 동안 열처리하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0025] 본 발명에 있어서, 상기 알코올 발효단계에서는, 열처리된 보당알로에 겔 용액 100중량부에 대해 알로에 내성 효모 배양액 2 내지 4중량부 및 누룩 0.4 내지 1.2중량부의 비율로 첨가하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0026] 본 발명에 있어서, 상기 알코올 발효단계의 알로에 내성 효모 배양액은, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에 겔 용액을 배지에 계대 배양을 실시하여 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 선발하고, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에 겔 용액 100중량부에 대해 대수증식기의 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 2 내지 4중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 25 내지 35℃의 온도에서 170 내지 190rpm의 회전속도로 70 내지 74시간 동안 진탕배양하여 제조한 것임을 특징으로 할 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어서, 상기 알코올 발효단계에서는, 26 내지 28℃의 온도에서 정치배양하여 알코올 발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 상기 초산 발효단계에서는, 알코올 함량이 조절된 알코올 발효물 50 내지 90중량%에 종초 10 내지 50중량%를 첨가하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 상기 초산 발효단계의 종초는, 알코올 함량이 조절된 알코올 발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 3 내지 5일 동안 정치배양하여 제조한 것이며, 초산 함량이 4 내지 7%(w/w)인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0030] 본 발명에 있어서, 상기 초산 발효단계의 알로에 내성 초산균은, 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에 초산 자연 발효물에서 분리된 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0031] 본 발명에 있어서, 상기 초산 발효단계에서는, 25 내지 27℃의 온도에서 정치배양하여 초산 발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 다른 실시형태는 상기의 방법으로 제조되는 것을 특징으로 하는 알로에 발효식초를 제공할 수 있다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 일 실시형태에 따라 제조된 알로에 발효식초는, 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에 겔 착즙액에 보당하여 보당알로에 겔 용액을 제조하고, 보당알로에 겔 용액과 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모 배양액과 누룩을 첨가한 보당알로에 겔 용액을 정치배양하며 발효시켜서 알코올 발효물을 제조하며, 알로에 초산 자연 발효물에서 분리한 초산균(*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP)을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 알코올 발효물을 정치배양하며 발효시켜서 초산 발효물을 제조함으로써, 발효식초의 향미가 우수하여 품질이 뛰어난 장점이 있다.
- [0034] 또한, 본 발명의 일 실시형태에 따라 제조된 알로에 발효식초는, 비 상품성 알로에인 알로에 겔을 이용하여 발효식초로 제조함으로써, 섭취 방법이 한정되어 있는 알로에의 가공 기술 개발을 통해 원료 소비를 촉진하여 농가 소득 증대 및 지역 경제 활성화에 이바지 할 수 있는 장점이 있다. 또한, 규격외의 알로에를 적극적으로 활용함으로써 국내 생산 농가의 소득을 증대시킬 수 있으며, 알로에를 이용한 장기 보관형 가공품을 출시할 수 있고, 고품질화시킬 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초의 제조방법을 공정 단계 별로 나타내는 순서도이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초의 제조방법을 공정 단계 별로 나타내는 공정도이다.
- 도 3은 본 발명의 알로에 전처리 및 보당단계의 과정을 사진으로 나타낸 것이다.
- 도 4는 알로에 내성 효모(사카로미세스 세레비시아, *Sacchromyces cerevisiae*) 확인 배지 및 알로에 내성 초산균(*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP) 확인 배지를 나타내는 사진이다.
- 도 5는 본 발명의 알코올 발효단계에서 나타나는 보당알로에 겔 용액의 알코올 발효 과정을 사진으로 나타낸 것이다.

다.

도 6은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 pH 변화를 나타내는 그래프이다.

도 7은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 산도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 8은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 당도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 9는 본 발명의 초산발효단계에서 나타나는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물의 초산 발효 과정을 사진으로 나타낸 것이다.

도 10은 초산발효단계 중 알코올발효단계에서 누룩의 첨가량을 조절하여 제조되고 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 6%(w/w)로 조절된 알코올발효물에 대한 초산 발효기간의 경과에 따른 산도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일 실시형태에 따라 제조된 알로에 발효식초(초산발효물)에 포함된 총페놀성화합물의 함량을 나타내는 그래프이다.

도 12는 본 발명의 일 실시형태에 따라 제조된 알로에 발효식초(초산발효물)의 ABTS⁺ radical 소거능을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 본원의 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시 형태를 들어 상세히 설명한다. 본 발명의 실시형태는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다. 따라서, 본 발명의 실시형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시형태로 한정되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 포함한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0038] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 단계가 다른 단계와 “상에” 또는 “전에” 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 단계가 다른 단계와 직접적 시계열적인 관계에 있는 경우뿐만 아니라, 각 단계 후의 혼합하는 단계와 같이 두 단계의 순서에 시계열적 순서가 바뀔 수 있는 간접적 시계열적 관계에 있는 경우와 동일한 권리를 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용 오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본 발명의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 “~(하는) 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.
- [0040] 본 발명은 알로에 발효식초 및 그 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 알로에 발효식초의 제조방법은 알로에전처리및보당단계; 알코올발효단계; 알코올함량조절단계; 및 초산발효단계;를 포함할 수 있다.
- [0041] 이하, 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초의 제조방법을 구체적으로 설명한다. 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초는 후술하는 제조방법에 의하여 보다 명확하게 이해될 수 있다.
- [0042] 도 1은 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초의 제조방법을 공정 단계 별로 나타내는 순서도이며, 도 2는 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초의 제조방법을 공정 단계 별로 나타내는 공정도이다.
- [0043] 우선, 알로에전처리및보당단계를 수행할 수 있다(S₁₀₀).
- [0044] 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 당을 가하여 보당알로에겔용액을 제조하는 알로에전처리및보당단계를 수행할 수 있다.
- [0045] 본 발명에서는 비 상품성 알로에를 이용하여 발효식초로 제조하기 위하여, 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제

거하여 겔만을 분리한 뒤, 발효식초로 제조하는 것을 특징으로 한다. 또한, 추후 알코올발효단계에서 효모의 필수 영양원인 당분을 보충하여 위하여 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 설탕(당)을 첨가하여 보당알로에겔 용액을 제조하는 것을 특징으로 한다.

[0046] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 알로에전처리및보당단계에서는, 보당알로에겔용액의 당도(° Brix)가 23 내지 25° Brix인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0047] 보당알로에겔용액의 당도(° Brix)는 23 내지 25° Brix인 것이 가장 바람직한데, 당도가 23° Brix 미만일 경우에는 추후 알코올발효단계에서 효모의 작용이 원활하게 이루어지지 않아 알코올 발효가 제대로 이루어지지 않을 우려가 있기 때문이며, 당도가 25° Brix를 초과하는 경우에는 불필요하게 과량의 설탕이 알로에겔착즙액에 첨가 되게 되어 생산성이 저하되는 문제점이 발생할 수 있기 때문이다.

[0048] 따라서, 본 발명의 알로에전처리및보당단계에서는 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 설탕을 가하여 당도(° Brix)가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액을 제조하는 것이 가장 바람직하다.

[0049] 다음으로, 알코올발효단계를 수행할 수 있다(S₂₀₀).

[0050] 상기 알로에전처리및보당단계에서 제조된 보당알로에겔용액을 열처리한 뒤, 열처리된 보당알로에겔용액에 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가하고 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하는 알코올발효단계를 수행할 수 있다.

[0051] 본 발명에서는 알코올발효단계에서 사용되는 알로에 내성 효모배양액을 제조하기 위하여, 알로에 성분에 의한 생육억제를 받지 않고 증식하며 알코올을 생성할 수 있는 최적의 효모를 선발하여 계대배양한 뒤, 보당알로에겔용액과 효모를 이용하여 별도의 효모배양액을 제조하여 사용하는 것을 특징으로 할 수 있다. 또한, 적정 당도로 조절된 보당알로에겔용액에 상기 알로에 내성 효모배양액을 첨가하고, 알로에 겔을 구성하는 난분해성 다당류의 효소적 방법을 이용하여 효율적으로 분해시키기 위하여 식물유래 고분자 물질의 분해능이 우수하고 특유의 누룩취가 나지 않는 전통 누룩을 선택해서 첨가한 뒤, 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다. 아울러, 알코올발효단계에서는 정치배양법을 이용하여 발효시키는 것이 바람직한데, 이는 알로에 발효식초에 포함된 고유의 향미를 증진시키기 위함이다.

[0052] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 알코올발효단계에서는 보당알로에겔용액을 75 내지 85℃ 온도에서 25 내지 35분 동안 열처리하는 것을 특징으로 할 수 있다. 이는, 적정 당도로 조절된 보당알로에겔용액을 75 내지 85℃ 온도에서 25 내지 35분 동안 열처리함으로써, 잡균 및 야생 효모를 살균하여 알로에 종균으로 사용 예정인 알로에 효모가 우선적으로 생육 가능하도록 하기 위함이다. 즉, 상기 알코올발효단계에서는 보당알로에겔용액을 80℃ 온도에서 30분 동안 열처리하는 것이 가장 바람직하다.

[0053] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 알코올발효단계에서는 열처리된 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 알로에 내성 효모배양액 2 내지 4중량부 및 누룩 0.4 내지 1.2중량부의 비율로 첨가하는 것을 특징으로 할 수 있다. 이는, 알코올 발효 효율을 증진시키기 위하여 한정된 수치이며, 누룩의 첨가량에 따른 알코올발효물의 당도, pH, 및 알코올 함량을 분석한 결과를 토대로 설정한 수치이다.

[0054] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 알코올발효단계의 알로에 내성 효모배양액은 당도(° Brix)가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액을 배지에 수차례 계대 배양을 실시하여 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 선발하고, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 대수증식기의 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 2 내지 4중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 25 내지 35℃의 온도에서 170 내지 190rpm의 회전속도로 70 내지 74시간 동안 수회 진탕배양하여 제조한 것임을 특징으로 할 수 있다.

[0055] 즉, 본 발명에서는 당도(° Brix)가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액을 배지에 수차례 계대 배양을 실시하여 알코올 발효능이 우수한 효모주를 선택하으며, 선택된 효모 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*)를 대수증식기까지 배양한 후, 배양액 100중량부에 대해 2 내지 4중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 25 내지 35℃의 온도에서 170 내지 190rpm의 회전속도로 70 내지 74시간 동안 수회 진탕배양하여 알로에 내성 효모배양액을 제조하였다.

[0056] 이때, 상기 알로에 내성 효모로 사용된 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*)는 알로에 내성 효모 선발 실험을 실시한 결과에 따라 알로에 성분에 의한 생육억제를 적게 받고, 알코올을 생성할 수 있는 내성 효

모로 선발된 효모이다.

- [0057] 즉, 알코올발효단계에서 알로에 내성 효모로 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*)를 사용하는 것은, 알코올발효단계에서 사용되는 알로에 내성 효모배양액을 제조하기 위하여 알로에 내성 효모 선발 실험을 실시한 결과를 토대로 한정된 내용이다.
- [0058] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 알코올발효단계에서는 26 내지 28℃의 온도에서 정치배양하여 알코올발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0059] 본 발명의 알코올발효단계에서는 열처리된 보당알로에겔용액에 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 뒤, 26 내지 28℃의 온도에서 정치배양하여 알코올발효물을 제조하는 것이 바람직한데, 이는 26℃ 미만의 온도에서 정치배양하여 발효시키는 경우에는 알코올 발효가 제대로 이루어지지 않아 제조된 알코올발효물의 알코올 농도가 너무 낮아지게 되기 때문에 최종적으로 제조된 알로에 발효식초 자체의 품질이 저하될 수 있기 때문이며, 28℃를 초과하는 온도에서 정치배양하여 발효시키는 경우에는 발효과정에서 보당알로에겔용액이 변질 및 변성될 우려가 있기 때문이다.
- [0060] 또한, 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 알코올발효단계에서는 26 내지 28℃의 온도에서 20 내지 38일 동안 정치배양하여 알코올발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0061] 알코올발효단계에서는 26 내지 28℃의 온도에서 6일 동안 정치배양하여 알코올발효물을 제조하는 것도 가능하지만, 숙성 및 자연적인 층 분리를 위해 20 내지 38일 동안 정치배양하여 알코올발효물을 제조하는 것이 가장 바람직하다.
- [0062] 상기 알코올발효단계에서 사용되는 알로에 내성 효모의 종류를 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*)으로 한정하는 것은, 알코올발효단계에서 사용되는 알로에 내성 효모배양액을 제조하기 위하여 알로에 내성 효모 선발 실험을 실시한 결과를 토대로 한정된 내용이며, 이는 하기 실시예 2의 발효단계에서 사용되는 효모 선발 실험 결과에 의하여 보다 명확하게 이해될 수 있다.
- [0063] 또한, 알코올발효단계의 보당알로에겔용액과 알로에 내성 효모배양액 및 누룩의 혼합비율을 구체적으로 한정하고, 공정 조건을 구체적으로 한정하는 것은 알코올발효물의 당도, pH, 및 알코올 함량을 분석한 결과를 토대로 설정한 수치이며, 이는 실시예 3의 알코올발효단계 최적 공정 조건 탐색 결과에 의해 보다 명확하게 이해될 수 있다.
- [0064] 따라서, 본 발명의 알코올발효단계에서는 상기 알로에전처리및보당단계에서 제조된 보당알로에겔용액을 80℃ 온도에서 30분 동안 열처리한 뒤, 열처리된 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 알로에 내성 효모배양액 2 내지 4 중량부 및 누룩 0.4 내지 1.2중량부의 비율로 첨가하고, 26 내지 28℃의 온도에서 20 내지 38일 동안 정치배양하여 발효시켜서 알코올발효물을 제조하는 것이 가장 바람직하다. 이때, 상기 알로에 내성 효모배양액은 당도(° Brix)가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액을 배지에 수차례 계대 배양을 실시하여 배양액을 제조하고, 배양액 100중량부에 대해 대수증식기의 사카로미세스 세레비시아(*Sacchromyces cerevisiae*) 효모를 2 내지 4중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 25 내지 35℃의 온도에서 170 내지 190rpm의 회전속도로 70 내지 74시간 동안 수회 진탕배양하여 제조한 것을 사용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0065] 다음으로, 알코올함량조절단계를 수행할 수 있다(S₃₀₀).
- [0066] 상기 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 희석하여 알코올 함량이 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하는 알코올함량조절단계를 수행할 수 있다.
- [0067] 본 발명에서는 상기 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물에 증류수를 첨가하는 방식으로 희석하여 알코올 함량을 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하는 것이 바람직한데, 이는 알코올 발효되어 제조된 알코올발효물의 알코올 함량이 약 11%(w/w) 이상이기 때문에, 알코올 함량을 조절하지 않고 바로 사용할 경우, 알코올발효물의 알코올 농도가 너무 높아서 초산발효 과정에서 필수적인 미생물인 초산균이 증식할 수 없는 문제점이 발생할 수 있기 때문이다.
- [0068] 따라서, 본 발명의 알코올함량조절단계에서는 알코올발효물에 증류수를 가하여 알코올발효물의 알코올 함량을 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절하는 것이 바람직하며, 알코올발효물의 알코올 함량을 6%(w/w)가 되도록 조절하는 것이 가장 바람직하다.
- [0069] 다음으로, 초산발효단계를 수행할 수 있다(S₄₀₀).

- [0070] 상기 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 정치배양하여 제조한 종초를 첨가하고 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 초산발효단계를 수행할 수 있다.
- [0071] 본 발명에서는 상기 알코올발효단계에서 제조된 뒤 알코올함량이 조절된 알코올발효물을 식초로 생물전환시키는 초산발효단계를 수행하기 위하여, 알로에 내성 초산균을 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물에서 순수 분리하여 선발한 뒤, 알코올발효물과 알로에 내성 초산균을 이용하여 별도의 종초로 제조하여 사용하는 것을 특징으로 할 수 있다. 또한, 알코올 함량이 적정하게 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 뒤 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다. 아울러, 초산발효단계에서는 정치배양법을 이용하여 발효시키는 것이 바람직한데, 이는 알코올발효단계와 마찬가지로 알로에 발효식초 제조 과정 중 저분자화된 미량 성분 간의 반응으로 형성되는 향기 물질의 손실을 막아 풍미를 증진시키기 위함이다.
- [0072] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 초산발효단계에서는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물 50 내지 90중량%에 종초 10 내지 50중량%를 첨가하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0073] 가장 바람직하게는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물 50중량%와 종초 50중량%가 혼합되는 것이며, 90중량%를 초과하는 알코올발효물과 10중량% 미만의 종초가 혼합될 경우 초산발효 속도가 늦어지고 오염 미생물로 인한 산패로 인해 최종적으로 제조된 알로에 발효식초의 품질이 저하되는 문제점이 발생할 수 있다.
- [0074] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 초산발효단계의 종초는, 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 3 내지 5일 동안 정치배양하여 제조한 것이며, 초산 함량이 4 내지 7%(w/w)인 것을 특징으로 할 수 있다. 즉, 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 활성화시켜서 종초를 제조할 수 있다.
- [0075] 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 초산발효단계의 종초는, 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 25 내지 35℃의 온도에서 3 내지 5일 동안 정치배양하여 제조한 것이며, 초산 함량이 4 내지 7%(w/w)인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0076] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 초산발효단계의 알로에 내성 초산균은, 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물에서 분리된 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0077] 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 알로에초산자연발효물은 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 당을 가하여 당도가 11 내지 13° Brix인 보당알로에겔용액을 제조한 뒤, 보당알로에겔용액에 누룩을 첨가하고 자연 발효시켜서 제조된 발효물인 것을 특징으로 할 수 있다. 이는, 보당알로에겔용액으로 알로에초산자연발효물을 제조할 때, 누룩을 일부 첨가함으로써 알로에 겔 속의 점질성 다당류 등 고분자 물질의 분해를 촉진하고 발효에 관여하는 미생물이나 효소의 활성을 촉진시켜 알로에 내성 초산균의 분리하기에 적합한 장점이 있다.
- [0078] 이때, 상기 알로에 내성 초산균으로 사용된 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP는 알로에 내성 초산균 선발 실험을 실시한 결과를 토대로 선발된 최적의 초산균이다.
- [0079] 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 상기 초산발효단계에서는, 25 내지 27℃의 온도에서 정치배양하여 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0080] 본 발명의 초산발효단계에서는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균을 접종한 뒤 25 내지 27℃의 온도에서 정치배양하여 초산발효물을 제조하는 것이 바람직한데, 이는 25℃ 미만의 온도에서 정치배양하여 발효시키는 경우에는 초산발효 속도가 늦어 최종적으로 제조된 알로에 발효식초에 포함된 초산?t량이 부족하게 됨에 따라 알로에 발효식초 자체의 품질이 저하될 우려가 있기 때문이며, 27℃를 초과하는 온도에서 정치배양하여 발효시키는 경우에는 초산발효과정에서 알로에의 유효성분이 변질 및 변성될 우려가 있으며, 최종적으로 제조된 알로에 발효식초의 초산함량이 너무 과도하게 되어 식초의 맛과 풍미가 저감될 우려가 있기 때문이다.
- [0081] 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 초산발효단계에서는, 25 내지 27℃의 온도에서 3 내지 5일 동안 정치배양하여 초산발효물을 제조하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0082] 상기 초산발효단계에서 사용되는 알로에 내성 초산균의 종류를 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP로 한정하는 것은, 초산발효단계에서 사용되는 알로에 내성 초산균 선발 실험을 실시한 결과를 토대로 한정된 내용이며, 이는 하기 실시예 2의 발효단계에서 사용되는 초산균 선발 실험 결과에 의하여 보다 명확하게 이해될

수 있다.

- [0083] 또한, 초산발효단계의 알코올 함량이 조절된 알코올발효물과 종초의 혼합비율을 구체적으로 한정하고, 공정 조건을 구체적으로 한정하는 것은 초산발효물의 당도, pH, 및 산도(초산 함량)를 분석한 결과를 토대로 설정한 수치이며, 이는 실시예 4의 초산발효단계 최적 공정 조건 탐색 결과에 의해 보다 명확하게 이해될 수 있다.
- [0084] 따라서, 본 발명의 초산발효단계에서는, 상기 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 조절된 알코올발효물 50 내지 90중량%에 종초 10 내지 50중량%를 첨가하고, 25 내지 27℃의 온도에서 3 내지 5일 동안 정치배양하여 발효시켜서 초산발효물을 제조하는 것이 가장 바람직하다. 이때, 상기 종초는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP를 접종한 뒤 3 내지 5일 동안 정치배양하여 제조한 것을 사용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0085] 이에 제한되는 것은 아니나, 상기의 방법에 의해 제조된 알로에 발효식초는 설탕과 혼합하여 제조한 알로에발효소 즉 알로에당추출액이나 알로에겔착즙액과 혼합하여 음료로 제조할 수 있으며, 소비자의 기호에 따라 다양한 형태로 가공 후 응용될 수 있다.
- [0086] 이하, 알로에 발효식초를 제조하기 위한 알로에전처리및보당단계 확립, 발효단계에서 사용되는 효모 및 초산균의 선발, 알코올발효단계의 확립 및 초산발효단계의 확립과 같은 공정조건 탐색 실험을 실시하였으며, 다양한 형태에 따라 알로에 발효식초를 제조한 뒤, 알로에발효식초에 대한 당도, pH, 산도(초산 함량), 알코올 함량, 갈색도, 탁도 및 항산화 활성 측정 시험과 같은 품질시험을 실시하였다. 본 발명의 일 실시형태에 따른 알로에 발효식초는 후술하는 실시예에 의하여 보다 명확하게 이해될 수 있다.

실시예 1

[0087] 알로에전처리및보당단계 확립

[0088] 알로에 발효식초를 제조하기 위한 알로에의 전처리 및 보당 공정(알로에전처리및보당단계)을 구체적으로 확립하였다.

[0089] 1. 알로에전처리및보당단계 확립 방법

[0090] 경남 김해시 소재 한림알로에(주)에서 제공받은 알로에를 발효시켜서 식초로 제조하기 위하여, 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하였다. 분리된 알로에 겔은 저속주스기(HWS-SBF18, (주)휴롬)(착즙기)를 이용하여 착즙함으로써 고점성 상태의 액체상태인 알로에겔착즙액으로 제조하고, 효모의 필수 영양원인 당분을 보충하기 위하여 설탕을 첨가하여 보당알로에겔용액을 제조하였다.

[0091] 알로에겔착즙액 등의 pH는 pH meter(Orion 420A, USA)를 이용하여 실온에서 측정하였고, 알로에겔착즙액 및 보당알로에겔용액의 발효 중 당도는 hand refractometer(Kruss, Germany)를 이용하여 ° Brix로 측정하였다.

[0092] 2. 알로에전처리및보당단계 확립 결과

[0093] 알로에 생잎을 전처리(세척, 수분제거, 껍질 제거) 후 겔만 분리하고, 착즙기로 착즙하여 액체상태의 알로에겔착즙액으로 제조한 뒤, 알로에겔착즙액의 pH 및 당도를 측정하였다.

[0094] 계절별 알로에의 무게, 다당류, 수분 등의 특성에 차이가 난다고 알려져 있으며, 본 발명에서는 10월에 수확한 알로에 생잎을 시료로 사용하였다. 생잎의 평균적인 무게는 280g 이었으며, 길이는 46cm 이었고, 굴절당도계로 측정한 알로에겔착즙액은 당도(° Brix)가 0° Brix로 유리당이 포함되어 있지 않았으며, 알로에겔착즙액의 pH는 4.48로 측정되어 산성이 강함을 확인할 수 있었다.

[0095] 알로에겔착즙액에 설탕을 첨가하여 보당알로에겔용액의 당도가 24° Brix가 되도록 보당하였다. 즉, 알로에겔착즙액에 설탕을 첨가한 후 용해시켜서 제조되는 보당알로에겔용액의 당도가 24° Brix가 되도록 보당하기 위해서는 알로에겔착즙액 10kg 당 설탕 2.4kg이 필요하였다.

[0096] 알로에전처리및보당단계에서는 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리(수득율 60%)하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 설탕을 첨가하고 용해시켜서 보당알로에겔용액의 당도(° Brix)가 24° Brix가 되도록 보당함으로써 알로에의 전처리 및 보당 공정을 종료하였으며, 알로에전처리및보당단계의 과정은 도 3에 나타내었다.

실시예 2

[0097] 발효단계에서 사용되는 효모 및 초산균의 선발

[0098] 알코올발효단계에서 사용되는 알로에 내성 효모배양액을 제조하기 위하여 보당알로에겔용액을 계대 배양하여 알코올 발효능이 우수한 효모를 선발하였으며, 초산발효단계에서 사용되는 종초를 제조하기 위하여 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물에서 알로에 내성 초산균을 분리하여 선발하였다.

[0099] 1. 알로에 내성 효모 선발 실험 방법 및 결과

[0100] 알로에 내성 효모 선발 실험 방법

[0101] 알코올발효를 위해 알로에 성분에 의한 생육억제를 적게 받고, 알코올을 생성할 수 있는 내성 효모를 선발하기 위하여, 당도가 24° Brix로 조절된 보당알로에겔용액을 YM 배지(YM broth, Becton, Dickinson and Company, France)에 수차례 계대 배양을 실시하여 사카로미세스 세레비시아(*Sacchomyces cerevisiae*) 효모를 선발하고, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 대수증식기의 건강한 과실주용 효모를 3중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 30℃의 온도에서 180rpm의 회전속도로 72시간 동안 수회 진탕배양을 실시하여 효모배양액을 제조하였다.

[0102] 배양액을 YM 한천배지와 보당알로에겔용액에 한천을 첨가한 배지에 동시 접종하여 알로에 성분에 내성을 가진 것으로 추측되는 콜로니를 선택하였고, 보당알로에겔용액에 진탕배양 후 주모(알로에 내성 효모배양액)로 사용하였다.

[0103] 알로에 내성 효모 선발 실험 결과

[0104] 알코올발효단계에서 사용되며, 알로에의 알코올발효에 적합한 효모 선발을 위해, 알로에 성분에 의한 생육억제를 받지 않고 증식하며 알코올을 생성할 수 있는 효모를 과실주용 효모에서 선발하였으며(아황산은 첨가하지 않음), 알로에 내성 효모로 사카로미세스 세레비시아(*Sacchomyces cerevisiae*) 효모를 최종적으로 선발하였다. 알로에 내성 효모인 사카로미세스 세레비시아(*Sacchomyces cerevisiae*) 확인 배지를 나타내는 사진은 도 4와 같다.

[0105] 이에 따라, 알코올발효단계의 알로에 내성 효모배양액은 당도(° Brix)가 24° Brix인 보당알로에겔용액을 YM 배지(YM broth, Becton, Dickinson and Company, France)에 수차례 계대 배양을 실시하여 사카로미세스 세레비시아(*Sacchomyces cerevisiae*) 효모를 선발하고, 당도가 23 내지 25° Brix인 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 대수증식기의 사카로미세스 세레비시아(*Sacchomyces cerevisiae*) 효모를 3중량부의 비율로 첨가하여 접종한 뒤, 30℃의 온도에서 180rpm의 회전속도로 72시간 동안 수회 진탕배양하여 제조한 것을 사용하는 것으로 공정조건을 구체적으로 확립하였다.

[0106] 2. 알로에 내성 초산균 선발 실험 방법 및 결과

[0107] 알로에 내성 초산균 선발 실험 방법

[0108] 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 식초로 생물전환시키는 초산발효단계를 수행하기 위해서 알로에 내성 초산균을 선발할 필요가 있다. 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물(산도 4.3)에서 천연 초산균 스크리닝을 실시하였다. 백금으로 GYP 한천배지(Glucose, Duksan pharmaceutical co., Korea; Yeast extract, Difco, France; Peptone, Becton, Dickinson and Company., France)에 2분획하여 도말한 후, 26℃에서 5일간 가습 배양하여 후보 균주를 선택하고, 순수 분리한 균주 중 초산 생성능이 우수하고 이취가 적은 우량 초산균을 선발하였다.

[0109] 본 발명의 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물의 당도를 12° Brix가 되도록 조절하여 초산균 증식에 적합한 농도로 조절하여 사용하거나, 알로에 생잎을 세척한 뒤 껍질을 제거하여 겔을 분리하고, 분리된 알로에 겔을 착즙한 알로에겔착즙액에 당을 가하여 당도가 12° Brix인 보당알로에겔용액을 제조한 뒤, 보당알로에겔용액에 누룩을 첨가하고 자연 발효시켜서 제조된 알로에초산자연발효물을 사용하고, 선발 및 확인된 초산균을 GYP 배지 또는 한천배지에 접종하여 26℃의 온도에서 180rpm의 회전속도로 증균시킨 후, 알로에 내성 초산균으로 사용하였다.

[0110] 알로에 내성 초산균 선발 실험 결과

[0111] 초산발효단계에서 사용되며, 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 초산으로 발효 가능한 초산균을 알로에에 설탕을 첨가하여 자연 발효시킨 알로에초산자연발효물(산도 4.3)에서 순수 분리하여 알로에 내성 초산균으로 사용하며, 알로에 내성 초산균으로 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP를 최종적으로 선발하였다. 즉,

알로에초산자연발효물로부터 *Acetobacter pasteurianus* 170001(Alonaria)를 순수 분리 및 동정한 뒤, 한국생명공학연구원에 균주(미생물)를 기탁하였으며, 기탁번호(KCTC 13188BP)를 부여받았다. 알로에 내성 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP 확인 배지를 나타내는 사진은 도 4와 같다.

실시예 3

[0112] 알코올발효단계 확립

[0113] 알로에 발효식초를 제조하기 위하여 알로에전처리및보당단계에서 제조된 보당알로에겔용액을 발효시켜서 알코올 발효물로 제조하기 위한 알코올발효 최적조건을 탐색하였으며, 알코올발효단계의 공정 조건을 구체적으로 확립하였다.

[0114] 1. 알코올발효단계의 최적 공정 조건 탐색 방법

[0115] 당도가 24.0° Brix로 조절된 보당알로에겔용액을 80℃ 온도에서 30분 동안 열처리한 후, 보당알로에겔용액 100중량부에 상기 실시예 2에 의해 선발된 알로에 내성 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모배양액을 3중량부의 비율로 첨가한 뒤, 알로에 겔을 구성하는 난분해성 다당류의 효소적 방법으로 효율적인 분해를 시키는 방안으로 식물성 물질의 분해능이 우수한 발효제인 전통 누룩을 첨가해서 알코올 발효효율 상승을 시험하였다.

[0116] 누룩은 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 0.1 내지 1.2중량부의 비율로 첨가하였으며, 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 누룩을 0.4중량부(실험군 1), 0.8중량부(실험군 2), 1.2중량부(실험군 3)의 비율로 첨가한 실험군 그룹과, 누룩을 전혀 첨가하지 않은 대조군 그룹으로 나누어 27±1℃에서 정치배양하며 발효시켰다.

[0117] 알코올발효 과정 중 채취한 시료(알코올발효물)의 알코올 함량은 AOAC 법에 따라 시료액 100mL를 증류한 액 70mL를 증류수로 100mL 정용 후, alcohol meter(Snap 50, Austria)를 이용하여 측정하였다.

[0118] 2. 알코올발효단계의 최적 공정 조건 탐색 결과

[0119] 당도가 24.0° Brix로 조절된 보당알로에겔용액을 80℃ 온도에서 30분 동안 열처리함으로써, 잡균 및 야생 효모를 살균하여 알로에 중균으로 사용 예정인 알로에 내성 효모가 우선적으로 생육 가능하도록 설정하였다.

[0120] 알로에 겔에 함유된 난분해성 다당류 성분을 효모가 활용 가능한 저분자량의 당분 형태로의 전환을 목적으로, 우리나라 전통주 제조 시 사용되는 발효제인 누룩의 효과를 검토하였다.

[0121] 누룩 속에는 식물성 다당류의 분해에 적합한 각종 효소류가 풍부하여 알로에 겔을 구성하는 다당류가 분해될 확률이 높다. 예상대로 효소분해가 일어나면 알로에 유래의 점액성 다당체가 분해되며 생성된 발효성 당류의 증가로 인해 발효효율이 상승되고, 그 결과 생성되는 알코올 농도가 증가된다. 또한, 알로에의 유효 성분에 붙은 당분자도 일부 분해되어 알로에 특유의 생리활성의 구조변화는 물론 난용성 물질의 가용화, 물질의 용해성 증가 및 효소적 전환에 의한 신물질 생성 등이 예상된다.

[0122] 열처리된 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 선발된 알로에 내성 효모배양액 3중량부와 누룩 0 내지 1.2중량부(0.4중량부-실험군 1, 0.8중량부-실험군 2, 1.2중량부-실험군 3, 0중량부-대조군)의 비율로 첨가한 뒤, 27±1℃의 온도에서 정치배양하며 알코올발효를 실시하였으며, 본 발명의 알코올발효단계에서 나타나는 보당알로에겔용액의 알코올발효 과정은 도 5와 같다.

[0123] 도 5에 나타난 바와 같이, 누룩을 첨가한 실험군 1 내지 3은 알로에 겔을 구성하는 점액성 다당질의 분해 및 세포 내 물질의 용출로 추정되는 현상이 발견되었다. 누룩 첨가량이 적은 실험군 1은 발효 2일 후에 액 표면의 부유물질 상승 현상이 관찰되었고, 실험군 2 및 실험군 3은 1일 만에 부유물질의 상승 현상이 일어났으나, 효소제인 누룩을 첨가하지 않은 대조군에서는 발효 종료까지 부유물질이 관찰되지 않았다.

[0124] 이에 따라, 알코올발효단계에서 일정 농도 이상으로 누룩을 첨가함으로써 알로에 겔을 감싸고 있는 세포 외층의 효소적 분해가 일어나 세포구성 물질 중의 일부가 부유된 것으로 추정된다.

[0125] 대조군의 경우에는 발효 2일째 다량의 거품을 수반한 발효가 일어났으나, 겔 구성 물질로 추정되는 고형물이 바닥에 침전된 상태로 존재하고, 발효를 종료한 61일째에도 계속적인 약 발효가 일어나 탄산가스가 표면의 액 층 상부에 잔존하는 현상이 관찰되었다.

[0126] 누룩을 첨가한 실험군 1 내지 3의 경우에는 20일 후 발효 및 숙성이 종료되어 발효액의 층 분리가 일어났지만, 누룩을 첨가하지 않은 대조군은 층 분리 이후에도 계속적인 발효가 일어난 점으로 미루어 알로에 식초 제조 시

전통 누룩의 발효제 효과가 입증되었다.

- [0127] 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량으로 인한 영향 및 성분 변화를 관찰하기 위하여, 알코올발효물의 pH, 산도 및 당도를 발효일자(알코올발효)의 경과에 따라 측정하였으며, 그 결과는 도 6 내지 도 8에 나타내었다.
- [0128] 도 6은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 pH 변화를 나타내는 그래프이며, 누룩을 첨가하지 않은 대조군의 2일째 pH가 4.46으로 측정되어 실험군 1 내지 3에 비해 높은 것으로 미루어 보아, 누룩 첨가로 인해 담금물의 성상이 산성화됨을 알 수 있었다.
- [0129] 발효가 진행되며 실험군 및 대조군의 pH가 점진적으로 감소되는 경향을 나타내었고, 최종 pH는 발효 37일째 실험군 1 내지 3에서 각각 3.19, 3.20 및 3.23으로 측정되었다. 알코올발효 과정의 진행을 시각으로 확인 가능한 거품 발생 상황을 평가하며 발효기간을 연장시켜 실험군(누룩 첨가 그룹)보다 2배 이상의 기간 동안 담금물의 일부를 발효시킨 결과, 대조군은 61일째 3.18로 최종 pH를 나타내었다. 그러나 종료 후 발효가 계속 진행된 대조군은 111일째 3.06으로 pH가 감소되었다.
- [0130] 도 7은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 산도 변화를 나타내는 그래프이며, 산도의 변화를 측정한 결과, 발효 2일째 누룩 첨가량이 증가할수록 산도가 0.12 내지 0.24%(w/w)로 높아지는 경향을 나타냄을 확인 할 수 있었다. 이는, 유용 곰팡이류를 증식시켜 제조한 누룩이 산성을 띄기 때문으로 생각된다. 발효 4일째부터 실험군 2 및 실험군 3의 산도가 증가하기 시작하였고, 발효 5일째부터 실험군 1의 산도가 증가하기 시작하였으며, 실험군 1 내지 3(누룩 첨가 그룹)의 발효 종료 시점인 37일과 대조군의 발효 종료 시점은 61일의 산도는 0.42%(w/w)로 거의 유사한 것으로 나타났다.
- [0131] 도 8은 알코올발효단계 중 누룩의 첨가량 및 알코올 발효일자의 경과에 따른 알코올발효물의 당도 변화를 나타내는 그래프이며, 당도의 변화는 효모 증식으로 알코올발효가 진행될수록 당이 분해되어 알코올이 생성되기 때문에 당 함량은 발효 중 감소되는 것이 일반적이다. 이에 따라, 초기 당도와 비교하여 발효의 진행 상황을 간접적으로 판단하는 것이 가능하다. 실험군 및 대조군의 초기 당도를 24° Brix로 조절하여 발효를 시작하였으며, 실험군 3이 발효 9일째의 당도가 9° Brix로 측정됨에 따라, 실험군 3의 당의 소비가 가장 빠르게 나타나는 것으로 확인되었다.
- [0132] 발효 9일째 까지 실험군 1의 당도는 17° Brix로 측정되고, 실험군 2의 당도는 14° Brix로 측정됨으로써, 비교적 발효 속도가 늦었지만 최종 종료일인 37일째에는 실험군 1 내지 3의 당도가 각각 7.4° Brix, 7.2° Brix 및 7.2° Brix로 측정되어 비슷한 수준으로 감소되는 것으로 나타났다.
- [0133] 그러나, 누룩을 첨가하지 않은 대조군은 발효 속도가 매우 느리고 실험군의 발효가 종료되어 층 분리가 일어나며, 거의 숙성 단계로 추정 가능한 37일째의 당도가 16.0° Brix로 측정되었으며, 대조군의 발효 종료 시점인 61일째에도 당도가 13.0° Brix로 측정되어 잔존 당의 함량이 매우 높은 것으로 나타났다. 이 결과로 미루어 누룩을 전혀 첨가하지 않은 대조군은 알코올 발효 수율이 낮음을 알 수 있다.
- [0134] 대조군의 일부를 계속 발효시키며 분석한 결과 111일째의 당도가 7.4° Brix로 측정됨에 따라 실험군과 비슷한 수준의 당도를 나타내는 것을 확인 할 수 있었다.
- [0135] 실험군 1 내지 3과 대조군의 알코올발효물 중의 당도와 알코올 함량은 하기 표 1과 같다.

표 1

	실험군 1(①)	실험군 2(②)	실험군 3(③)	대조군(④)
Sugar content(° Brix)	7.40	7.20	7.20	13.00
Alcohol content(%)	17.44	18.64	18.46	11.63

- [0136]
- [0137] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 실험군 1 내지 3 및 대조군의 최종 잔당의 농도 및 생성된 알코올 함량을 조사한 결과에 따르면, 누룩을 첨가하지 않은 대조군의 알코올발효물의 당도는 13° Brix로 측정되고, 알코올 함량이 11.63%(w/w)로 측정되었다. 또한, 보당알로에겔용액 100중량부에 대해 누룩을 0.4중량부의 비율로 첨가한 실험군 1의 당도 및 알코올 함량은 각각 7.4° Brix 및 17.44%(w/w)로 측정되었으며, 누룩을 0.8중량부의 비율로 첨가한 실험군 2의 당도 및 알코올 함량은 각각 7.2° Brix 및 18.64%(w/w)로 측정되었고, 누룩을 1.2중량부의 비율로 첨가한 실험군 3의 당도 및 알코올 함량은 각각 7.2° Brix 및 18.46%(w/w)로 측정되었다.
- [0138] 이에 따라, 실험군 1 내지 3 및 대조군의 최종 잔당의 농도 및 생성된 알코올 함량을 조사한 결과에 따르면, 보

당알로에겔용액 100중량부에 대해 누룩을 0.8중량부의 비율로 첨가할 경우에 가장 효율적으로 알코올발효가 일어남을 확인할 수 있었다.

실시예 4

[0139] 초산발효단계 확립

[0140] 알로에 발효식초를 제조하기 위하여 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 초산발효시켜서 초산발효물로 제조하기 위한 초산발효 최적 조건을 탐색하였으며, 초산발효단계의 공정 조건을 구체적으로 확립하였다.

[0141] 1. 초산발효단계의 최적 공정 조건 탐색 방법

[0142] 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 6%(w/w)가 되도록 조절된 알코올발효물에 상기 실시예 2에 의해 선발된 알로에 내성 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP를 접종한 뒤, 3 내지 5일 동안 정치배양하여 산도(초산 함량)가 6%(w/w)인 종초를 제조하였다.

[0143] 알코올 함량이 6%(w/w)가 되도록 조절된 알코올발효물에 상기에서 제조된 종초를 첨가한 뒤, $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 정치 배양 하면서 pH 및 산도의 변화를 관찰하였다.

[0144] 산도는 10배로 희석한 시료 10mL에 phenolphthalein 지시약을 2 내지 3방울 가하고, 0.1N NaOH 용액으로 중화 적정한 후 소비된 용액의 양을 acetic acid로 환산하여 %로 표시하였다.

[0145] 2. 초산발효단계의 최적 공정 조건 탐색 결과

[0146] 알코올발효단계에서 제조된 알코올발효물을 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 4 내지 7%(w/w)가 되도록 조절 한다. 알코올 함량 6%(w/w)로 조절된 알코올발효물에 알로에 내성 초산균인 *Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP를 접종한 뒤, 3 내지 5일 동안 정치배양하여 산도(초산 함량)가 6%(w/w)인 종초를 제조하였다.

[0147] 상기에서 제조된 산도(초산 함량)가 6%(w/w)인 종초 50중량%와 알코올 함량이 6%(w/w)가 되도록 조절된 알코올 발효물 50중량%를 혼합한 뒤, $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조하였으며, 초산발효단계 에서 나타는 알코올 함량이 조절된 알코올발효물의 초산발효 과정은 도 9와 같다.

[0148] 이때, 실시예 4의 실험군 1 내지 3 및 대조군은 상기 실시예 3에서 제조된 각각의 알코올발효물을 이용하는 것 을 특징으로 한다. 즉, 실시예 4의 실험군 1은 실시예 3의 실험군 1의 알코올발효물을 이용하여 초산발효물을 제조하는 것을 의미하며, 실험군 2, 실험군 3 및 대조군 또한 실험군 1과 마찬가지로 실시예 3에서 제조된 각각 의 알코올발효물을 이용하여 초산발효물을 제조하는 것을 의미한다.

[0149] 도 9에 나타난 바와 같이, 초산발효가 진행될수록 발효액 표면의 균막이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다.

[0150] 또한, 초산발효단계 중 알코올발효단계에서 누룩의 첨가량을 조절하여 제조되고 알코올함량조절단계에서 알코올 함량이 6%(w/w)로 조절된 알코올발효물에 대한 초산 발효일자의 경과에 따른 산도 변화는 도 10으로 나타내었다.

[0151] 도 10에 나타난 바와 같이, 알로에 발효식초 제조과정 중 산도 변화를 측정한 결과에 따르면, 초산발효 개시 즉, 1일째 실험군 및 대조군 모두 산도(초산 함량)가 2.46%(w/w)로 확인되었다.

[0152] 초산발효가 점차 진행될수록 실험군 1은 초산발효 4일째에 산도가 급격히 증가하여 5.4%(w/w)를 나타내고, 초산 발효 5일째 산도가 6.36%(w/w)로 초산발효가 종료되었다.

[0153] 또한, 실험군 2는 초산발효 2일째 가장 빨리 산도가 증가하여 3.42%(w/w)를 나타내었으며, 초산발효 5일째 산도 가 6.48%(w/w)로 초산발효가 종료되었다.

[0154] 또한, 실험군 3은 초산발효 3일째 급격히 증가하여 산도가 3.96%(w/w)를 나타내었으나 초산발효 종료 시점인 5 일째 5.64%(w/w)로 산도가 6%에 미치지 못하는 것으로 확인되었다.

[0155] 아울러, 대조군은 초산발효 3일째 산도가 급격히 증가하기 시작하여 5.70%(w/w), 발효 4일째 7.32%(w/w)로 높은 산도를 보였으나 알코올발효수율이 낮아 초산발효물의 생산에 적합하지 않았다.

실시예 5

[0156] 알로에 발효식초의 품질 특성

[0157] 알로에 발효식초의 품질 특성 조사를 위해 일반성분 분석 시험법으로 당도, pH, 산도, 갈색도 및 탁도를 측정하였으며, 항산화 활성을 알아보기 위해 총페놀함량과 ABTS^{•+} radical 소거능을 측정하였다.

[0158] 이때, 실시예 5의 실험군 1 내지 3 및 대조군은 상기 실시예 4에서 제조된 각각의 초산발효물(발효식초)을 의미한다.

[0159] **알로에 발효식초의 당도와 pH 측정**

[0160] 알로에 발효식초(초산발효물)의 당도는 hand refractometer(Kruss, Germany)를 이용하여 ° Brix로 측정하였고, 알로에겔 발효식초(초산발효물)의 pH는 pH meter(Orion 420A, USA)를 이용하여 실온에서 측정하였으며, 당도 및 pH를 측정한 결과는 하기 표 2와 같다.

표 2

	실험군 1(①)	실험군 2(②)	실험군 3(③)	대조군(④)
Sugar content(° Brix)	3.00	3.80	3.20	8.90
pH	2.66	2.59	2.63	2.88

[0162] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 알로에 발효식초의 당도는 실험군 1이 3.00° Brix로 측정되었으며, 실험군 2가 3.80° Brix로 측정되었고, 실험군 3이 3.20° Brix로 측정되었으며, 대조군이 8.90° Brix로 측정되어, 대조군의 알코올 발효력이 가장 떨어져 당을 소비하지 못한 대조군의 당도가 가장 높게 나타난 것을 확인 할 수 있었다.

[0163] 또한, 알로에 발효식초의 pH는 실험군 1이 2.66으로 측정되었으며, 실험군 2가 2.59로 측정되었고, 실험군 3이 2.63으로 측정되었으며, 대조군이 2.88로 측정되어, 실험군 및 대조군 모두 비슷한 수준의 pH로 측정되었으며, 실험군 2의 pH가 가장 낮고, 대조군의 pH가 가장 높은 것을 확인 할 수 있었다.

[0164] **알로에 발효식초의 갈색도 및 탁도 측정**

[0165] 알로에 발효식초(초산발효물)의 갈색도는 UV-spectrophotometer (UV-1800, Japan)를 사용하여 420nm에서 측정하였고, 탁도는 660nm에서 측정하였으며, 갈색도 및 탁도를 측정한 결과는 하기 표 3과 같다.

표 3

	실험군 1(①)	실험군 2(②)	실험군 3(③)	대조군(④)
Brown color intensity	0.133	0.223	0.400	0.119
Turbidity	0.040	0.067	0.134	0.030

[0167] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 알로에 발효식초의 갈색도를 측정한 결과에 따르면, 실험군 1은 0.133으로 측정되었으며, 실험군 2는 0.223으로 측정되었고, 실험군 3은 0.400으로 측정되었으며, 대조군이 0.119로 측정되어, 대조군의 색상이 가장 밝은 것으로 나타났다. 동일한 조건에서 전처리 발효 과정을 거쳤음에도 불구하고 누룩 첨가량에 비례하여 갈색도가 증가한 점으로 미루어 누룩 유래의 철분 등의 금속성분이나 폴리페놀산화 효소, 아미노산 등에 기인한 결과로 추측된다.

[0168] 또한, 알로에 발효식초의 탁도를 측정한 결과, 탁도 역시 갈색도와 유사한 경향을 나타내었다. 이는, 발효제인 누룩 첨가 비율이 높을수록 비례적으로 갈색도가 상승한 것과 관계가 있는 것으로 추정된다. 누룩을 첨가하지 않은 대조군의 탁도는 0.030이었으나, 국균 유래의 각종 효소가 풍부한 누룩을 발효제로 첨가한 실험군 1 내지 3의 탁도는 각각 0.040, 0.067 및 0.134로 측정되어, 누룩 첨가량이 증가할수록 탁도가 증가하여 약 1.3배, 2.2배, 4.6배 정도 높게 측정되는 것을 확인 할 수 있었다.

[0169] **알로에 발효식초의 항산화 활성 측정(총페놀성화합물 함량)**

[0170] 알로에 발효식초(초산발효물)의 항산화 활성을 측정하기 위한 총페놀함량은 Folin-Denis 법에 의해 비색 정량 즉, 일정하게 희석한 시료 0.2mL에 증류수 1.8mL를 첨가하고, 2N Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich, USA) 0.2mL를 혼합하여 6분간 반응한 후, 7% Na₂CO₃ 2mL를 첨가하여 암소에서 2시간 반응하고, 반응물은 UV-spectrophotometer를 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정한 뒤, gallic acid(Sigma-Aldrich, USA)를 이용한 표준곡선으로 함량을 환산하여 mg(GAE)/100mL로 나타내었다. 알로에 발효식초의 총페놀성화합물 함량은 도

11과 같다.

[0171] 도 11은 알로에 발효식초의 항산화 활성 측정을 위해 총페놀성화합물 함량을 분석한 결과를 나타내는 그래프이며, 누룩 첨가량을 달리하여 제조한 알로에 발효식초의 총페놀성화합물의 총량을 측정한 결과에 따르면, 실험군 1은 총페놀성화합물의 총량이 1.25mg/100mL로 측정되었으며, 실험군 2는 총페놀성화합물의 총량이 1.80mg/100mL로 측정되었고, 실험군 3은 총페놀성화합물의 총량이 1.95mg/100mL로 측정되었으며, 대조군은 총페놀성화합물의 총량이 1.92mg/100mL로 측정되었다. 이에 따라, 누룩 첨가량이 증가할수록 총페놀성화합물의 함량이 높아지는 경향이 나타나는 것으로 확인되었다. 누룩을 첨가하지 않고 제조한 대조군의 알로에 발효식초(초산발효물)의 총페놀성화합물 함량은 실험군 3과 큰 차이를 보이지 않은 것으로 보아, 알코올발효 후의 에탄올 함량, 즉 알코올 발효물의 순도가 낮아 초산발효 시 증류수를 첨가하는 희석비율이 낮았기 때문으로 추측된다.

[0172] **알로에 발효식초의 항산화 활성 측정(ABTS^{•+} radical 소거능)**

[0173] 알로에 발효식초(초산발효물) 항산화 활성을 측정하기 위한 ABTS^{•+} radical 소거능은 7mM ABTS^{•+}(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 용액에 2.45mM potassium persulfate를 혼합한 뒤 23℃의 압소에서 16시간 동안 반응시키고, 농도가 734nm에서 흡광도 0.700±0.005 정도가 되도록 ethanol로 희석하여 조정 한 후, 시료 0.1mL과 혼합시약 3.9mL를 23℃에서 6분간 반응시켜 UV-spectrophotometer를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 양성대조구로는 0.1% ascorbic acid(Daejung, Korea)를 이용하였으며, radical 소거능을 하기의 계산식에 의해 백분율(%)로 산출하여 나타내었다. 알로에 발효식초의 ABTS^{•+} radical 소거능은 도 12와 같다.

[0174] [계산식]

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ radical scavenging activity}(\%) = \left(1 - \frac{\text{sample O.D.}}{\text{control O.D.}}\right) \times 100$$

[0175]

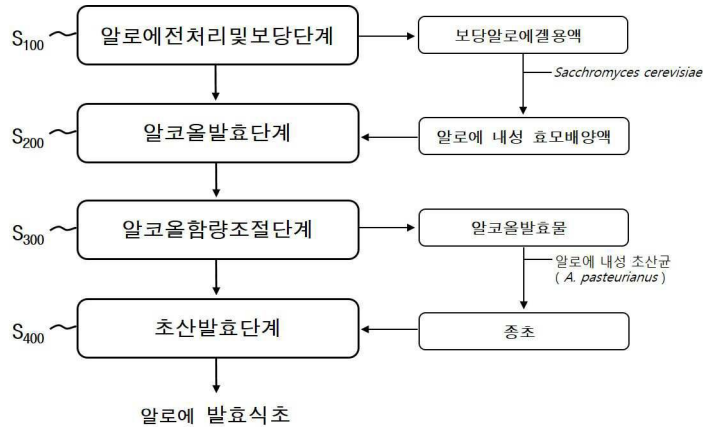
[0176] 도 12는 보다 유의적인 항산화 활성 결과를 도출하기 위해 알로에 발효식초의 ABTS^{•+} radical 소거능을 측정한 결과를 나타내는 그래프이며, 실험군 1이 10.60%로 측정되었으며, 실험군 2가 11.86%로 측정되었고, 실험군 3이 13.07%로 측정되었으며, 누룩을 사용하지 않은 대조군이 14.08%로 가장 높은 것으로 측정됨에 따라, 이 결과는 총페놀성화합물함량 측정치와 유사한 경향을 나타내었다. 누룩 첨가 비율 혹은 알코올발효물을 초산발효시키기 위해 알코올 함량을 6%(w/w)로 희석할 때 사용한 증류수의 첨가량과 생성된 초산의 함량 등이 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.

[0177] 결론적으로, 상기 실시예 1 내지 5를 실시한 결과를 통해, 본 발명의 일 실시형태에 따라 제조된 알로에 발효식초는 알로에 겔을 분리하여 착즙한 알로에겔착즙액에 보당하여 보당알로에겔용액을 제조하고, 보당알로에겔용액과 효모를 이용하여 제조한 알로에 내성 효모배양액과 누룩을 첨가한 보당알로에겔용액을 정치배양하며 발효시켜서 알코올발효물을 제조하며, 알로에초산자연발효물에서 분리한 초산균(*Acetobacter pasteurianus* KCTC 13188BP)을 이용하여 제조한 종초를 첨가한 알코올발효물을 정치배양하며 발효시켜서 초산발효물을 제조함으로써, 발효식초의 향미가 우수하며, 산도 및 당도가 우수하여 발효식초 자체의 품질이 증진되는 효과가 있음을 확인하였다.

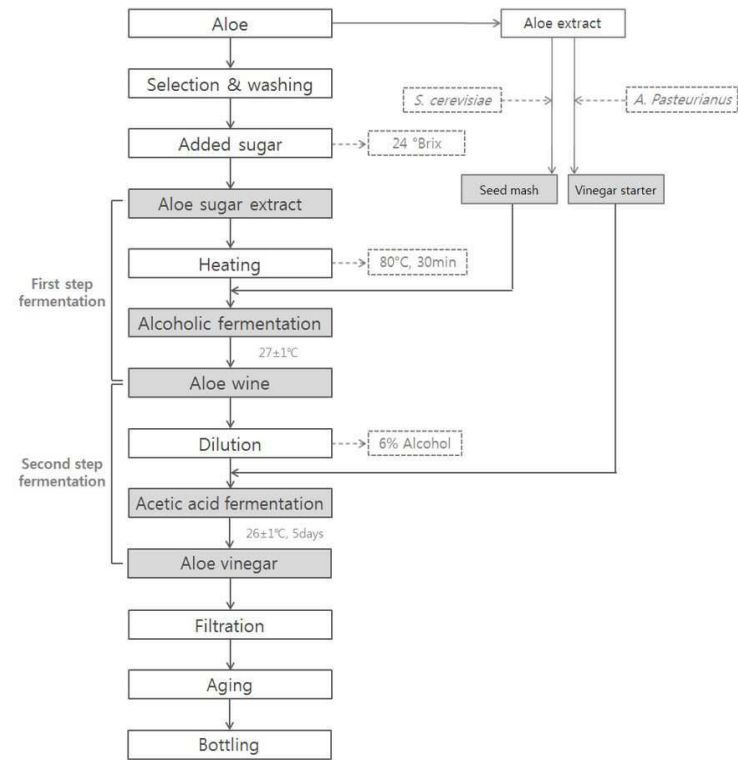
[0178] 이상, 실시예를 들어 본 발명을 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 구현예들에 한정되지 않으며, 여러 가지 다양한 형태로 변형될 수 있고, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함이 명백하다. 또한, 특허청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 형태의 치환, 변형 및 변경이 가능할 것이며, 이 또한 본 발명의 범위에 속한다고 할 것이다.

도면

도면1



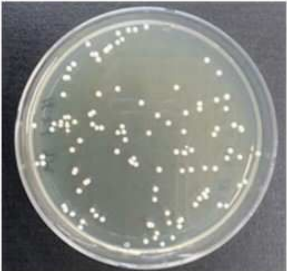
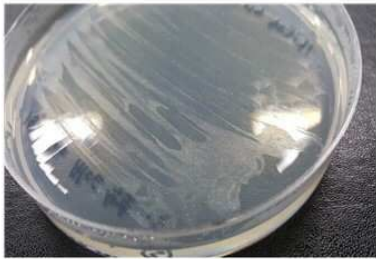
도면2



도면3

	
평균무게: 280g 평균당도: 0° Brix 평균길이: 46cm 평균pH : 4.48	알로에 겔 분리 (알로에 생잎의 겔질을 제거하여 겔을 분리함)
	
알로에겔착즙액 제조 (분리한 알로에 겔을 착즙기로 착즙하여 알로에겔착즙액을 제조함)	보당알로에겔용액 제조 (당 첨가) (알로에겔용액에 설탕을 첨가한뒤, 당도가 24° Brix가 되도록 함)

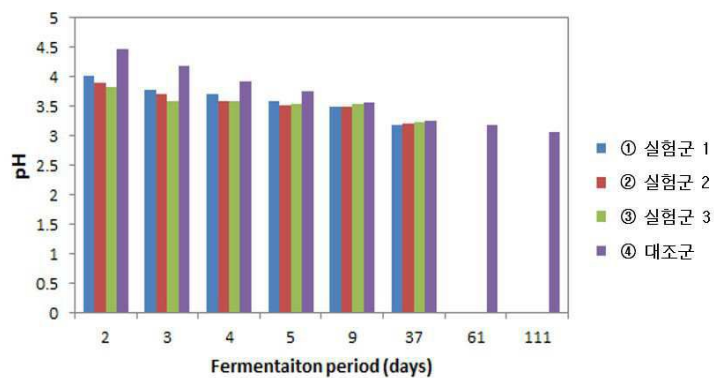
도면4

	
알로에 내성 효모 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	알로에 내성 초산균 (<i>Acetobacter pasteurianus</i> KCTC 13188BP)

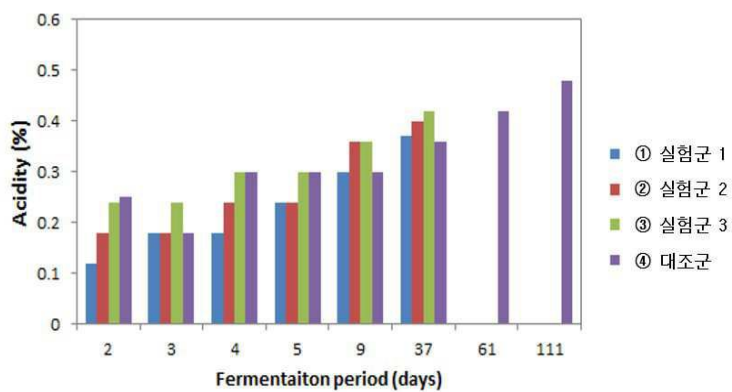
도면5

①②③	누룩 첨가량 (보당알로에겔용액 100중량부 기준)				④
	실험군 1(①)	실험군 2(②)	실험군 3(③)	대조군(④)	
	0.4중량부	0.8중량부	1.2중량부	0중량부	
발효 1일					발효 1일
발효 2일					발효 2일
발효 6일					발효 30일
발효 20일					발효 48일
발효 38일 (종료)					발효 61일 (종료)

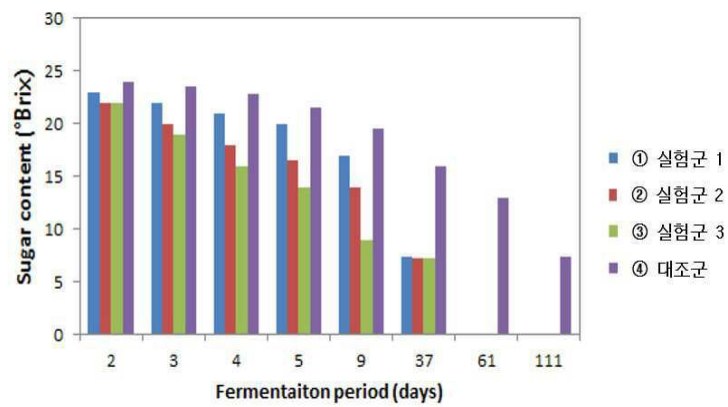
도면6



도면7



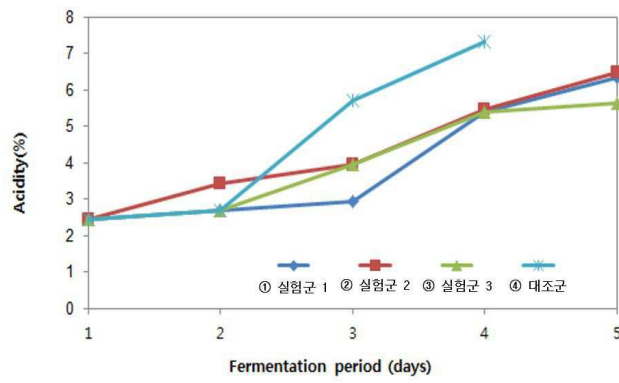
도면8



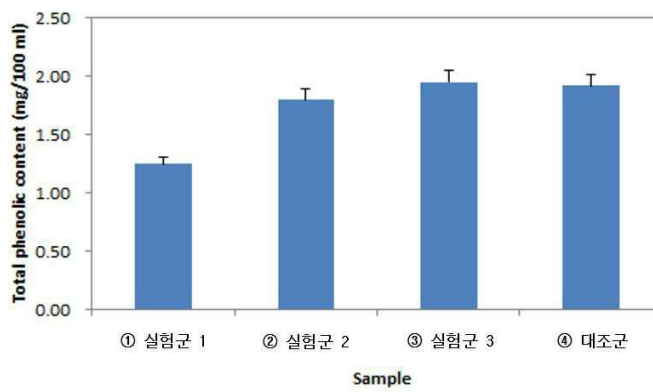
도면9

①②③④	누룩 첨가량 (보당알로에겔용액 100중량부 기준)			
	실험군 1(①)	실험군 2(②)	실험군 3(③)	대조군(④)
	0.4중량부	0.8중량부	1.2중량부	0중량부
발효 1일 짜				
발효 2일 짜				
발효 3일 짜				
발효 4일 짜				
발효 5일 짜 (종료)				(종료)

도면10



도면11



도면12

