

딸기식초 제조를 위한 초산발효 조건 최적화

이기동* · 김숙경** · 이진만†

경북과학대학 약용식품과
*경북과학대학 침단발효식품과
**경북과학대학 전통식품연구소

Optimization of the Acetic Acid Fermentation Condition for Preparation of Strawberry Vinegar

Gee-Dong Lee*, Suk-Kyung Kim** and Jin-Man Lee†

Dept. of Herbs and Food Science, Kyongbuk College of Science, Chilgok 718-850, Korea

*Dept. of Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Chilgok 718-850, Korea

**Traditional Food Institute, Kyongbuk College of Science, Chilgok 718-850, Korea

Abstract

In the first stage, strawberry wine was manufactured in 14°Brix initial sugar content, for 50 hr at 28°C using *Saccharomyces kluyeri* DJ97. In the second stage, the acetic acid fermentation conditions for maximum acidity (4.60%) were 1.48% initial acidity and 195.76 rpm in agitation rate for 7.34 day. The fermentation conditions for maximum Hunter color a value were 1.78% initial acidity and 117.63 rpm in agitation rate for 7.35 day. Therefore, optimum acetic acid fermentation conditions were 1.5% initial acidity and 196 rpm in agitation rate for 176 hr using *Acetobacter* sp. PA97.

Key words: strawberry vinegar, acetic acid fermentation, optimization, RSM

서 론

식초는 대표적인 발효식품의 하나로서 식초에 함유되어 있는 초산은 알콜보다 더 강한 식품보존 활성을 나타내므로 피클 등 많은 채소류의 보존에 사용된다(1). 식초는 알콜, 곡류 및 과일을 이용하여 만들 수 있는 발효식품으로 발효에 의한 생산은 유기산 등 이차 부산물들이 맛, 향 및 식초의 품질을 변화시키는 것으로 알려져 있다(2). 식초는 당이 혐기적 상태에서 알콜로 변환되고 다시 알콜이 호기적 상태에서 산으로 변형되는 과정을 거쳐 생산되며, 다양한 농산물을 이용하여 식초를 얻고자 하는 연구들이 많이 이루어져 왔으며, 초산발효시 원료마다 최적 조건들이 달리 나타나고 있다(3). 식초는 발효과정 중 초산균의 작용으로 생성되는 초산이 총산 함량을 좌우하여 품질판정의 지표로 이용되며, 이외에 다양한 유기산이 함께 함유되어 식초의 산미를 형성한다. 식초의 휘발성 성분은 휘발성 유기산인 초산이 주성분이지만 이 밖에 각종 유기산이나 방향성물질이 알콜발효와 초산발효 과정에서 생성된다(4). 식초는 단순한 조미료 용도에서 식초 음료, 스낵제품 등에 기능성 소재로 활용성이 다양해지고 있다. 앞으로 식초 산업은 21세기의 첨단산업으로 발전되어

광범위한 분야에서 활용이 기대되고 있다(5). 식초는 동맥경화, 고혈압 등의 성인병 예방효과, 식중독균의 살균효과, 콜레스테롤 저하효과, 체지방 감소, 피로회복 등의 기능이 밝혀지면서 다양한 용도로의 개발이 기대되는 발효식품이다(6). 봄철에 생산되는 대표적인 과일로 잘 알려진 딸기(*Fragaria ananassa* Duch.)는 유기산과 당분이 풍부하며, 비타민 C, flavanol류 등의 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있다(7,8). 딸기를 이용한 연구는 Kim과 Chun(8)의 양파를 첨가한 딸기잼의 품질 특성, Park 등(9)의 딸기잼의 안토시아닌과 sp-readmenter치의 가열 및 저장중 변화, Byun 등(10)의 우렁콩이 껍질로부터 정제된 섬유소 첨가 기능성 딸기잼의 품질 평가 등이 있다. 그러나 딸기를 이용한 가공제품 중 딸기식초에 관한 연구내용은 거의 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 딸기의 가공적성을 높이고 다양한 식품에 활용하기 위한 전단계로 딸기를 이용한 천연 양조식초를 제조하고자 딸기의 초산발효 특성을 조사하였다

재료 및 방법

재료

딸기는 2002년도 경북 고령에서 생산된 딸기를 이용하여

*Corresponding author. E-mail: jmlee@kbcs.ac.kr
Phone: 82-54-972-9543. Fax: 82-54-979-9210

초산발효 실험에 이용하였다.

종초

초산발효를 위해 *Acetobacter* sp. PA97를 딸기 알콜발효액에 접종시켜 진탕배양기(30°C, 200 rpm)에서 발효시켜 산이 4.5%일 때 종초로 사용하였다(11).

딸기식초 제조

16가지 실험조건별 중심합성 계획에 따라 딸기식초를 제조하였다. 딸기식초 제조를 위하여 수세된 딸기를 파쇄한 후 착즙하여 각각 10%(v/v)의 주모를 접종하여 28°C 배양기에서 딸기과즙의 초기당도를 14°Brix로 조정된 후 28°C에서 50시간 발효시켜 얻은 딸기알콜발효액을 초산발효에 사용하였다(12). 초산발효는 알콜발효가 끝난 발효액을 여과한 후 종초를 10%(v/v) 접종하고 조건별로 발효시켜 초산함량, 잔류 당함량 및 기계적 색도를 측정하기 위한 분석시료로 사용하였다. 2단계 초산발효조건은 초기산도 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5%, 교반속도 100, 130, 160, 190, 210 rpm, 발효시간 4, 5, 6, 7, 8 day로 설정하여 2개의 발효조건이 5수준(-2, -1, 0, 1, 2)으로 부호화하여 각각 설정된 16개의 조건으로 실험을 행하였다(13).

산도

알콜발효 및 초산발효시 배양액의 총산은 0.1 N NaOH 용액으로 중화적정하여 초산함량(%)으로 환산하였다(14).

당도

발효액의 당함량은 hand refractometer(model 507-1, Brix 0~32%, Nippon Optical Works Co., Japan)를 사용하여 3회 반복하여 측정하였다.

색도측정

색도는 색차계(Chromameter, model CR-300, CT310, Minolta Co., Japan)를 이용하여 Hunter's color L값(백색도), a값(적색도), b값(황색도)을 3회 반복하여 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이 때 사용된 표준백판(standard plate)의 L, a, b 값은 각각 96.92, 0.02 및 1.31이었다.

결과 및 고찰

저장성이 낮은 딸기를 이용하여 가공제품을 제조함으로 딸기의 소비를 증진시키고, 다양한 가공상품에 활용하고자 딸기를 이용하여 천연 양조식초를 제조하였다. 초산발효에 이용된 딸기 알콜발효액은 딸기과즙을 14°Brix로 보당한 후 28°C에서 50시간동안 발효시킨 것을 이용하였다. 딸기 알콜발효액에 초기산도(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5%), 교반속도(100, 130, 160, 190, 210 rpm) 및 발효시간(4, 5, 6, 7, 8 day)에 따라 *Acetobacter* sp. PA97를 첨가한 다음 초산발효시킨 후 품질특성을 조사하였다.

초산발효 조건에 따라 딸기 식초를 제조한 결과 산도는 2.00~4.30%의 값을 나타내었으며, 초기산도가 높을수록 총산의 함량이 높게 나타났으며, 교반속도가 증가할수록 산도가 증가하는 경향을 나타내었다(Table 1). 이는 Lee 등(15)이 참외식초를 제조하기 위해 참외를 초산발효시켰을 때 1.92~5.24%를 나타낸 결과와 유사한 경향을 나타내었으며, Jeong 등(16)이 뽕은감을 이용하여 식초를 제조시 총산도가 1.32~6.36%를 나타내었다는 보고와 다소 일치하는 경향을 나타내었다. 초산발효조건에 따른 산도변화를 2차 다항식으로 나타

Table 1. Change of acidity, residual sugar concentration and Hunter's color under different conditions for acetic acid fermentation of strawberry wine

Exp. No.	Fermentation conditions			Chemical properties				
	Initial acidity (%)	Agitation rate (rpm)	Fermentation time (day)	Acidity (%)	Residual sugar conc. (°Brix)	Hunter's color ¹⁾		
						L	a	b
1	1.0	130	5	2.44	4.2	1.11	7.04	1.88
2	1.0	130	7	2.88	4.0	2.87	10.36	4.53
3	1.0	190	5	3.28	4.2	0.95	6.03	1.61
4	1.0	190	7	4.30	4.6	1.38	6.76	2.20
5	2.0	130	5	3.22	4.8	1.69	8.18	2.86
6	2.0	130	7	3.66	4.6	3.59	11.62	5.73
7	2.0	190	5	3.56	4.2	3.14	7.00	4.23
8	2.0	190	7	4.00	4.8	1.58	7.48	2.63
9	1.5	160	6	3.70	4.0	2.45	7.70	3.03
10	1.5	160	6	3.70	4.0	2.46	7.70	3.03
11	0.5	160	6	2.00	4.5	3.36	9.00	4.38
12	2.5	160	6	3.70	4.2	2.39	9.13	3.90
13	1.5	100	6	3.12	4.2	2.78	9.50	4.58
14	1.5	210	6	4.28	4.2	1.13	6.15	1.85
15	1.5	160	4	3.20	5.0	1.40	7.37	2.31
16	1.5	160	8	4.30	5.0	1.78	8.59	2.95

¹⁾Hunter color (standard plate): L, Lightness (96.92); a, Redness (0.02); b, Yellowness (1.31).

Table 2. Polynomial equations calculated by RSM program for acetic acid fermentation¹⁾ conditions for vinegar fermentation of strawberry wine

Response	Polynomial equation ¹⁾	R ²	Significance
Acidity (%)	$Y_1 = -3.975852 + 6.147565X_1 + 0.010963X_2 - 0.032019X_3 - 0.851133X_1^2 - 0.013167X_1X_2 + 0.000018136X_2^2 - 0.1450X_1X_3 + 0.002417X_2X_3 + 0.012217X_3^2$	0.9519	0.0025
Residual sugar conc. (°Brix)	$Y_2 = 19.152678 + 0.073332X_1 - 0.043812X_2 - 3.980834X_3 + 0.353334X_1^2 - 0.008333X_1X_2 + 0.00006904X_2^2 + 0.0500X_1X_3 + 0.005833X_2X_3 + 0.250833X_3^2$	0.8483	0.0615
Hunter's color L	$Y_3 = -29.129944 + 0.198978X_1 + 0.145875X_2 + 6.606272X_3 + 0.447146X_1^2 + 0.009083X_1X_2 - 0.000167X_2^2 - 0.462500X_1X_3 - 0.019958X_2X_3 - 0.209463X_3^2$	0.7279	0.2473
Hunter's color a	$Y_4 = -11.568356 - 2.232626X_1 + 0.129436X_2 + 3.736332X_3 + 1.306014X_1^2 - 0.005917X_1X_2 - 0.000057874X_2^2 - 0.032500X_1X_3 - 0.023125X_2X_3 + 0.055254X_3^2$	0.9082	0.0162
Hunter's color b	$Y_5 = -24.988615 - 1.096743X_1 + 0.116347X_2 + 6.558466X_3 + 1.141831X_1^2 + 0.007250X_1X_2 + 0.000047257X_2^2 - 0.492500X_1X_3 - 0.027208X_2X_3 - 0.092042X_3^2$	0.8177	0.0978

¹⁾X₁: initial acidity (%).
X₂: agitation rate (rpm).
X₃: fermentation time (day).

넌 결과 Table 2와 같으며, R²는 0.9519로, 유의성이 1% 이내의 수준에서 높게 나타났다. 알콜발효시킨 딸기 발효액을 가지고 초기산도, 교반속도 및 발효시간에 따라 초산발효시 결과를 SAS 프로그램을 통해 총산도의 최적조건을 설정한 결과 초기산도가 1.48%, 교반속도가 195.76 rpm 및 발효시간이 7.34 day일 때 가장 높은 총산도(4.60%)를 나타내었다(Table 3). 이는 Lee 등(15)이 참외식초 제조시 총산도의 최적조건은 발효시간이 250 hr 및 교반속도가 200 rpm일 때였다는 결과와 비교해 볼 때 교반속도는 200 rpm으로 유사한 경향을 나타내었으나, 발효시간은 다소 다른 경향을 나타내었다. 그러나 Lee 등(13)이 감자를 이용하여 식초를 제조할 경우 교반속도

가 150~200 rpm일 때 높은 총산을 나타내었다는 결과와는 동일하였다. 초산균을 이용하여 식초를 제조하고자 할 때 교반속도는 사용시료와 발효조건에 따른 영향을 받지만 교반속도가 150~200 rpm일 때 총산도 함량을 높게 유지할 수 있음을 알 수 있었다. 초기산도가 1.48%일 때 딸기식초는 최적의 총산도를 나타내었는데, 이는 Oh(17)가 배를 이용한 식초발효조건에 관한 연구결과, 잡균 오염을 방지하며 배식초를 제조하기 위해 첨가해야 할 초기산도가 2%였다는 결과와는 다소 차이가 있었다. 총산도는 교반속도 및 발효시간보다 초기산도에 더 많은 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 4). 이는 Jeong 등(14)이 단감을 이용한 식초제조에서 총산도는

Table 3. Predicted levels of optimum conditions for acetic acid fermentation of strawberry wine by ridge analysis

Chemistry properties	Fermentation conditions								Morphology
	Initial acidity (%)		Agitation rate (rpm)		Fermentation time (day)		Estimated response		
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	
Acidity	1.48	0.61	195.76	132.87	7.34	5.53	4.60%	1.66%	Saddle point
Residual sugar conc.	1.56	0.90	172.59	113.06	7.98	6.49	5.14°Brix	3.88°Brix	Saddle point
Hunter's color L	1.02	1.33	119.82	129.80	7.21	4.25	3.94	0.42	Saddle point
Hunter's color a	1.78	1.45	117.63	208.05	7.35	6.52	11.82	5.61	Saddle point
Hunter's color b	1.31	1.28	114.17	133.69	7.29	6.00	4.21	1.13	Saddle point

Table 4. Analysis of variables for regression model of acidity, residual sugar concentration and Hunter's color in acetic acid fermentation conditions for vinegar fermentation of strawberry wine

Fermentation conditions	Acidity	Residual sugar conc.	F-Ratio		
			L	a	b
Initial acidity	12.774***	1.584	0.483	1.387	1.165
Agitation rate	10.210***	2.233	2.546	10.045***	4.373
Fermentation time	6.724**	6.898**	2.333	4.981**	3.087

*Significant at 10% level, **Significant at 5% level, ***Significant at 1% level.

발효 시간보다 교반속도에 더 많은 영향을 받는다는 결과와 일치하는 경향을 나타내었다. 그러나, Lee 등(15)이 실험한 참외식초의 제조조건에서와 Lee 등(13)이 실험한 감자의 알콜 및 초산발효조건에서 총산도는 교반속도보다 발효시간에 더 많은 영향을 받는다는 결론과는 상이한 경향을 나타내었다. 초기산도, 교반속도 및 발효시간에 따라 제조된 딸기식초의 잔당함량은 4.0~4.8°Brix의 값을 나타내었다. 잔당함량의 R²는 0.8483이었으며, 유의성은 10% 이내의 유의수준으로 나타났다(Table 2). 잔당함량은 초기산도가 1.56%, 교반속도가 172.59 rpm 및 발효시간이 7.89 day일 때 가장 높은 5.14%를 나타내었다(Table 3). 또한 잔당함량은 초기산도 및 교반속도 보다는 발효시간에 더 많은 영향을 받는 것으로 나타났다.

중심합성계획에 의해 제조된 딸기식초의 색도를 측정된 결과 색차계 L 값은 0.95~3.59의 값을 나타내었으며, 색차계 a값은 6.03~11.62의 범위를 나타내었으며, 색차계 b값은 1.61~5.73의 범위를 나타내었다(Table 1). 색도에 대한 2차 다항식은 Table 2와 같이 나타났으며, 색차계 L값의 경우 R²가 0.7279, 색차계 a값의 R²가 0.9082 및 색차계 b값의 R²가 0.8177로 나타났으며, 색차계 a값 및 색차계 b값은 10% 이내의 유의수준에서 유의성을 나타내었다(Table 2). 색차계 L값은 초기산도가 1.02%, 교반속도가 119.82 rpm 및 발효시간이 7.21 day일 때 가장 높은 3.94를 나타내었으며, 색차계 a값은 초기산도가 1.78%, 교반속도가 117.63 rpm 및 발효시간이 7.35 day일 때 가장 높은 11.82를 나타내었다(Table 3). 색차계 b값은 초기산도가 1.31%, 교반속도가 114.17 rpm 및 발효시간이 7.29 day일 때 가장 높은 4.21를 나타내었다(Table 3). 초기산도, 교반속도 및 발효시간이 산도, 잔당 및 색차계의 이화학적 품질에 어떠한 영향도를 주는가를 분석한 결과 Table 4와 같은 결과를 나타내었는데, 색도에 있어서는 교반속도가 발효시간 및 초기산도보다 더 많은 영향을 주는 것으로 나타났다.

본 실험을 통해서 식초의 제조시 원재료의 특성에 따라서 발효에 영향을 미치는 주요 인자가 달라짐을 알 수 있었으며, 식초 제조시 각 원료의 특성에 맞는 발효조건을 설정하는 것이 중요함을 인식할 수 있었다.

딸기 알콜발효액이 초기산도, 교반속도 및 발효시간에 따라 초산발효된 후 산도, 잔당함량 및 색도의 영향을 살펴본 결과 Fig. 1~5와 같은 결과를 나타내었다. Fig. 1에서 총산도의 4차원 반응표면을 나타내었는데, 발효시간 및 교반속도가 증가할수록 산도도 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 Lee 등(15)이 참외식초의 제조시 총산함량이 발효시간 및 교반속도가 증가할수록 증가한다는 보고와 일치하는 경향을 나타내었다. 잔당함량은 초기산도가 낮을수록 발효시간이 높을수록 높아지는 경향을 나타내고 있다(Fig. 2). 색차계 L값은 교반속도가 증가할수록 발효시간이 감소할수록 높은 값을 나타내었으며, 색차계 a값은 교반속도가 증가할수록

증가하는 경향을 나타내었으며, 색차계 b값은 발효시간이 증가할수록, 초기산도가 증가할수록 그리고, 교반속도가 감소할수록 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3~5).

딸기식초 제조를 위해서는 *Saccharomyces kluyveri* DJ97을 이용하여 딸기과즙을 14°Brix로 보당한 후 28°C에서 50시간동안 발효시켜 딸기 알콜발효액을 얻은 후 *Acetobacter* sp. PA97를 이용하여 초기산도 1.5% 및 교반속도 196 rpm에서 176시간 발효함으로써 산도 4%이상의 딸기식초 생산이 가능하였다.

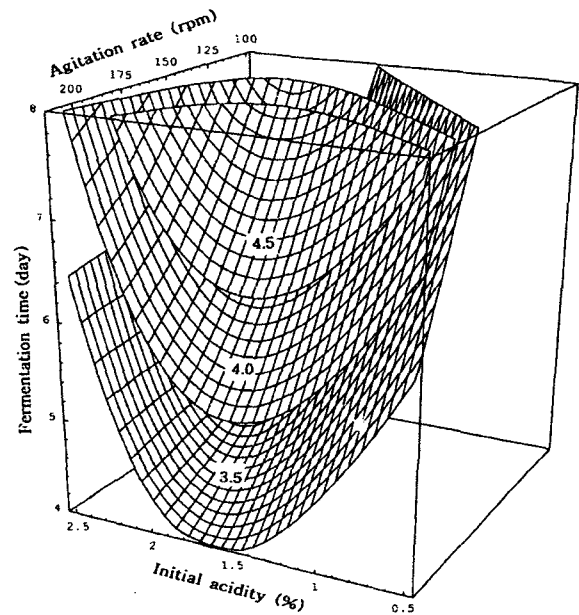


Fig. 1. Response surface on acidity (3.5-4.0-4.5%) in acetic acid fermentation using strawberry wine at constant values.

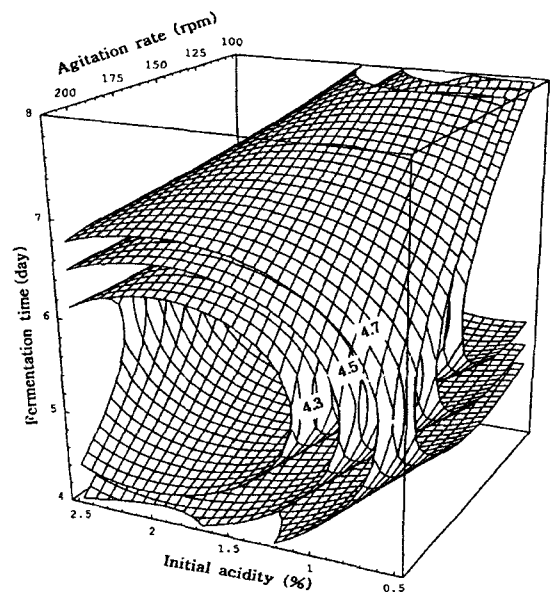


Fig. 2. Response surface on residual suagr concentration (4.3-4.5-4.7°Brix) in acetic acid fermentation using strawberry wine at constant values.

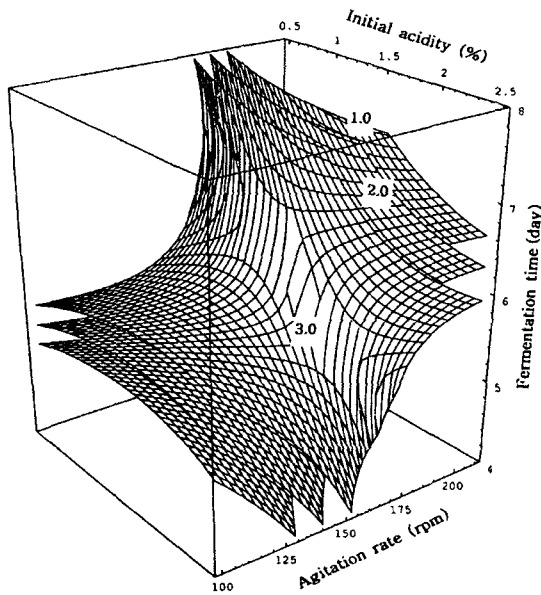


Fig. 3. Response surface on Hunter's color L (1.0-2.0-3.0) in acetic acid fermentation using strawberry wine at constant values.

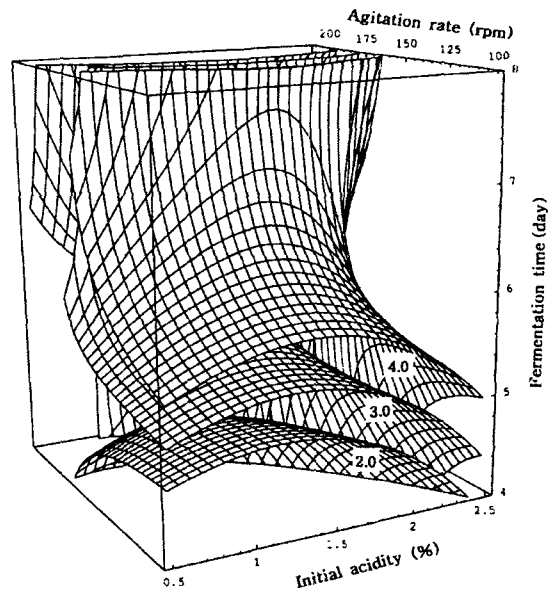


Fig. 5. Response surface on Hunter's color b (2.0-3.0-4.0) in acetic acid fermentation using strawberry wine at constant values.

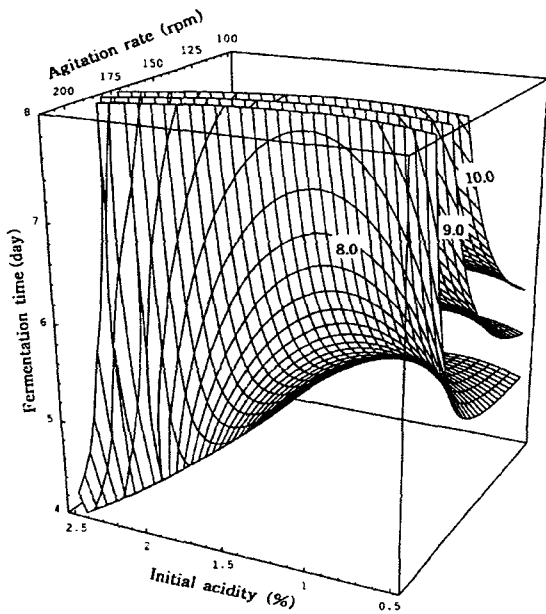


Fig. 4. Response surface on Hunter's color a (8.0-9.0-10.0) in acetic acid fermentation using strawberry wine at constant values.

요 약

딸기식초 제조를 위해 1차 단계로 *Saccharomyce kluyeri* DJ97을 이용하여 딸기과즙을 14°Brix로 보당한 후 28°C에서 50시간동안 발효시켜 딸기 알콜발효액을 얻은 후 사용하였다. 2차 단계에서, 초산발효를 시킨 결과 산도는 초기산도가 1.48%, 교반속도가 195.76 rpm, 발효시간이 7.34 day일 때 가장 높은 4.60%를 나타내었다. 색차계 a값은 초기산도가 1.78%, 교반속도가 117.63 rpm, 발효시간이 7.35 day일 때 가

장 높은 11.82를 나타내었다. 딸기식초 제조를 위해서는 *Acetobacter* sp. PA97를 이용하여 초기산도 1.5% 및 교반속도 196 rpm에서 176시간 발효함으로써 산도 4% 이상의 식초를 얻었다.

감사의 글

본 연구는 고령군청 "지역 특산물 (딸기)가공식품 개발"의 연구비 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Keith H. Steinkraus. 1997. Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. *Food Control* 8: 311-317.
2. Lipp M, Radovic, BS, Anklam E. 1998. Characterisation of vinegar by pyrolysis-mass spectrometry. *Food Control* 9: 349-355.
3. Horiuchi J, Kanno T, Kobayashi M. 2000. Effective onion vinegar production by two-step fermentation system. *J Biosci Bioeng* 90: 289-293.
4. Jeong YJ, Seo JH, Park NY, Shin SR, Kim KS. 1999. Changes in the components of persimmon vinegars by two stages fermentation (II). *Korean J Postharvest Sci Tec'no* 6: 233-238.
5. Jeong YJ, Lee MH. 2000. A view and prospect of vinegar industry. *Food Industry and Nutrition* 5: 7-12.
6. Kwon SH, Jeong EJ, Lee GD, Jeong YJ. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverage including vinegar. *Food Industry and Nutrition* 5: 18-24.
7. Kim JG, Hong SS, Jeong ST, Kim YB, Jang HS. 1998. Quality changes of Yeobong strawberry with CA storage conditions. *Korean J Food Sci Technol* 30: 871-876.
8. Kim MY, Chun SS. 2001. Effect of onions on the quality

- characteristics of strawberry jam. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17: 316-322.
9. Park SJ, Lee JH, Rhim JH, Kwon KS, Jang HG, Yu MY. 1994. The change of anthocyanin and spreader value of strawberry jam by heating and preservation. *Korean J Food Sci Technol* 26: 365-369.
 10. Byun MY, Yook HS, Ahn HJ, Lee KH, Lee HJ. 2000. Quality evaluation of strawberry jams prepared with refined dietary fiber from Ascidian (*Halocynthia rotetzi*) tunic. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1068-1072.
 11. Jeong YJ, Seo JH, Lee GD, Park NY, Choi TH. 1999. The quality comparison of apple vinegar by two stages fermentation with commercial apple vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 353-358.
 12. Lee JM, Kim SK, Lee GD. 2003. Monitoring on alcohol fermentation characteristics of strawberry. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 679-683.
 13. Lee GD, Jeong YJ, Seo JH, Lee JM. 2000. Monitoring on alcohol and acetic acid fermentation of potatoes using response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1062-1067.
 14. Jeong YJ, Seo KI, Lee GD, Youn KS, Kang MJ, Kim KS. 1998. Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using response surface methodology. *J East Asian of Dietary Life* 8: 57-65.
 15. Lee GD, Kwon SH, Lee MH, Kim SK, Kwon JH. 2002. Monitoring on alcohol and acetic acid fermentation properties of muskmelon. *Korean J Food Sci Technol* 34: 30-36.
 16. Jeong YJ, Lee GD, Kim KS. 1998. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1203-1208.
 17. Oh YJ. 1992. A study on cultural conditions for acetic acid production employing pear juice. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 377-380.

(2003년 4월 2일 접수; 2003년 7월 9일 채택)