(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0093506
(43) 공개일자 2014년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12J 1/04 (2006.01) *C12R 1/865* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0005982
(22) 출원일자 2013년01월18일
심사청구일자 2013년01월18일

(71) 출원인
전북대학교산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)
조현숙
전라북도 무주군 무풍면 금척로 61
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
백상호
전북 전주시 완산구 세내로 241, 103동 2005호 (효자동2가, 효자1차엘드수목토아파트)
송노을
전라북도 전주시 완산구 따박골로 8, 2동 1605호 (효자동1가, 남양황실아파트)
조현숙
전라북도 무주군 무풍면 금척로 61
(74) 대리인
특허법인 다해

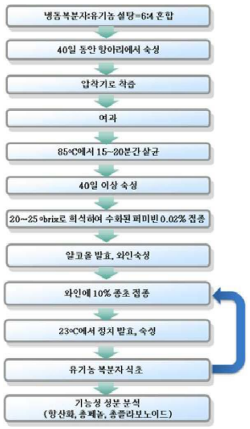
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **항산화 기능성 유기농 복분자 발효식초 및 그 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 항산화 기능성 유기농 복분자 식초 및 그의 제조 방법에 관한 것으로 유기농 복분자와 유기농 설탕을 이용하고 자연적으로 발효된 종초에서 분리한 식초균을 포함한 종초를 사용하여 발효시킨 항산화능이 뛰어난 유기농 복분자 발효식초와 그의 제조방법에 있다.

대 표 도 - 도1



(71) 출원인
전라북도 무주군(무주군농업기술센터장)
전라북도 무주군 무주읍 한풍루로 416

재단법인 전라북도생물산업진흥원
전라북도 전주시 덕진구 혁신로 399 (장동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1201000115
부처명 연구용역(지자체)
연구사업명 2012농산물가공기술개발 및 시제품제작지원사업
연구과제명 유기농 재배 복분자를 활용한 발효식초의 개발 및 기능성 검증
기 여 율 1/1
주관기관 구천동 복분자
연구기간 2012.01.01 ~ 2012.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

(1) 복분자와 설탕을 5:5 내지 7:3의 중량비로 혼합하는 단계;

(2) 상기 혼합물을 30일 내지 50일 동안 항아리에서 숙성하는 단계;

(3) 상기 숙성물을 압착기로 착즙하고 여과한 후, 60 내지 100℃에서 15 내지 20분 동안 살균하여 복분자 착즙액을 만드는 단계;

(4) 상기 복분자 착즙액을 20 내지 25 °brix로 희석하고 여기에 수화된 와인 발효 효모를 접종하여 알코올 발효시키는 단계;

(5) 상기 발효된 복분자 와인에 5 내지 15 부피%의 종초를 접종한 후, 15 내지 25℃에서 정치발효하고 숙성하여 복분자 식초를 제조하는 단계;

를 포함하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계 이후 착즙액을 40일 이상 숙성하는 단계를 더 수행하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (5) 단계에서 상기 종초는 상기 (1) 단계 내지 상기 (4) 단계까지 수행한 발효된 복분자 와인을 18 내지 23℃의 음지에서 자연발효된 식초로서 1년 내지 2년 숙성된 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 (1) 단계에서 복분자와 설탕을 6:4의 중량비로 혼합하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 (2) 단계에서 상기 혼합물을 40일 동안 항아리에서 숙성하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계에서 85℃에서 살균하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 (5) 단계에서 10부피%의 종초를 접종하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 (5) 단계에서 23℃에서 정치발효하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 복분자 및 설탕은 유기농인 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 와인 발효 효모는 퍼미빈인 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 (4) 단계에서 수화된 와인 발효 효모는 증류수 1L와 설탕 50g, 퍼미빈 100g을 혼합하여 30 내지 35℃에서 15 내지 35분간 수화시켜 0.2 g/L의 양으로 사용하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 (5) 단계에서 제조한 복분자 식초를 종초로서 상기 발효된 복분자 와인에 접종하는 것을 특징으로 하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 13

복분자와 설탕을 6:4의 중량비로 혼합하는 단계;

상기 혼합물을 40일 동안 항아리에서 숙성하는 단계;

상기 숙성물을 압착기로 착즙하고 여과한 후, 85℃에서 15 내지 20분 동안 살균하여 복분자 착즙액을 만드는 단계;

상기 복분자 착즙액을 20 내지 25 °brix로 희석하고 여기에 수화된 퍼미빈을 접종하여 알코올 발효시키는 단계;

(5) 상기 발효된 복분자 와인에 10 부피%의 종초를 접종한 후, 23℃에서 정치발효하고 숙성하여 복분자 식초를 제조하는 단계;

를 포함하는 복분자 식초의 제조방법.

청구항 14

상기 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 제조방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 복분자 식초.

청구항 15

상기 제13항에 따른 제조방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 복분자 식초.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항산화 기능성 유기농 복분자 식초 및 그의 제조 방법에 관한 것으로 유기농 복분자와 유기농 설탕을 이용하고 자연적으로 발효된 종초에서 분리한 식초균을 포함한 종초를 사용하여 발효시킨 항산화능이 뛰어난 유기농 복분자 발효식초와 그의 제조방법에 있다.

[0002] 식초는 우리나라에서 장류 다음으로 많이 애용되고 있는 조미료의 하나로 유기산, 당류, 아미노산 및 에스테르 등을 함유하여 특유한 방향과 신맛을 가진 대표적인 발효식품으로 최근에는 과실식초음료형태로 다양하게 섭취되고 있다. 유기농으로 재배되어진 복분자(Rubus coreanum)에는 일반 복분자에 비하여 P, Fe 및 K등 무기질 함량이 높으며 특히 유기산 및 비타민 C가 많이 포함되어있다. 또한 항산화 활성을 나타내는 카로티노이드(carotinoid) 물질인 캠퍼롤(kaempferol) 및 퀘르세틴(quercetin) 등이 다량 함유되어 있고 그 외에 항고혈압, SOD 유사활성, 면역세포활성 및 항암활성 등 다양한 생리활성이 보고되어 있다. 과육의 붉은 색은 안토시아닌 계통으로 다양한 기능성 성분을 함유하고 있는 것으로 알려지는 등 건강지향적인 식품소재로 각광을 받고 있어 복분자주, 복분자 첨가 기능성 음료, 복분자 착즙액을 첨가한 식빵 등이 활발하게 개발되고 있다. 그러나 유기농 재배 복분자의 경우 소재의 기능성에 비하여 미생물의 발효에 장애가 되는 phytochemical 등의 고함유로 인하여 발효하기가 매우 어려운 단점을 가지고 있다. 본 특허에서는 유기농 재배 복분자를 이용한 발효식초법을 개발하고 이의 기능성을 살펴본 결과 항산화능이 매우 뛰어남을 확인하였다.

배 경 기 술

[0003] 복분자(Rubus coreanus Miquel)는 장미과에 속하는 낙엽활엽관목으로 높이는 2~3 m에 달하는 산딸기 일종인 복분자 딸기의 열매를 말함. 복분자 과실은 우리나라 남부 및 중부지방의 해발 50~1000m의 산기슭의 양지에 자생하며, 5~6월에 꽃이 피고 지역, 품종에 따라 다르지만, 6월 중순에서 7~8월에 열매가 성숙된다.

[0004] 복분자 과실은 당도가 7.6~12.4brix 범위이며, 유리당, 무기질의 인, 철 및 칼륨이 많이 함유하여 있고 특히 유기산과 vitamin C가 많이 포함되어 있음. 또한, 생리활성 물질로서 폴리페놀, 플라보노이드 등이 다량 함유되어 있으며, 항암활성 및 면역증진효과, 항산화 및 항균효과, 혈관신생억제(anti-angiogenesis)효과 및 알레르기 관련 질병 치료 효과 등의 다양한 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있다.

[0005] 이러한 복분자는 청량음료, 잼, 차, 주류 등의 식용으로 사용되고 있으며, 약용으로도 민간에서 강장, 보혈, 호흡질환, 천식 등에 효과가 있다고 알려져 있고, 복분자 과육의 붉은 색은 안토시아닌 계통으로 다양한 기능성 성분을 함유하고 있다는 것으로 알려지는 등 건강지향적인 식품소재로 각광을 받고 있음. 따라서 현재 복분자는 냉동과일, 복분자 과즙, 복분자 잼 형태로 가공 유통되고 있으며, 건강식품으로 인식되면서 과즙인 액상 주스 또는 술 제조에도 그 이용성을 확대해 나가고 있으며 그 전망 또한 매우 밝다고 예상된다.

[0006] 최근의 식품에 대한 소비자의 관심은 식품소재가 지닌 다양한 기능성을 이용한 웰빙로하스의 지향 및 가공식품의 안전성에 있음. 특히, 농약의 과다 사용과 같은 재배과정의 문제점 및 비위생적인 관리 그리고 값싼 외국소재에 대한 불신감이 커지고 있어 국내의 신뢰할 만한 좋은 자연환경을 이용한 재배환경에서 무농약을 이용하여 재배되어지는 위생적이며 자연친화적인 유기농소재에 관심을 가지고 있다.

[0007] 전라북도 무주군에서 생산되는 복분자는 2002년부터 농약이나 기타의 화학물질을 전혀 사용하지 않는 재배방식을 시도하여 복분자를 재배하고 있으며, 2005년도에는 유기재배인증을 국립농산물 품질관리원에서 인증받음으로써 국내에서 손꼽히는 유기농 복분자를 생산하고 있다.

[0008] 식초는 동서양의 대표적 발효식품으로 최근 식생활의 향상으로 식초는 단순 조미료 기능에서 건강용 식초로의 소비패턴으로 변화되고 있으며, 이러한 식초 소비패턴의 변화는 식초시장을 고급화, 다양화로 가속시키고 있음. 최근 식초의 항암, 항돌연변이, 항노화, 면역, 동맥경화, 고혈압 등의 성인병 예방 효과, 식중독균의 살균효과, 콜레스테롤저하 효과, 체지방 감소 및 피로회복 효과 등의 효과가 알려지면서 다양한 용도의 식초제품이 개발되고 있으며, 식초가 갖는 다양한 효능에 대한 소비자의 인지도가 확산되면서 거의 건강음료로 받아들여질 만큼 높은 인기를 누리고 있음. 최근에는 과실의 향이나 유효성분을 이용한 감, 매실, 밀감, 배, 사과 등의 과실초 발효와 인삼성분이나 마늘, 양파를 이용한 기능성 식초의 제조가 시도되고 있음. 그러나 이러한 유기농으로 재배되어진 복분자의 경우, 일반 복분자에 비하여 미생물에 독성을 나타내는 인자들이 많이 포함되어짐으로 인하여 미생물의 생육을 저해하는 경우가 많다고 알려져 있음. 따라서 이러한 유기농 재배용 복분자의 발효에 적합한 미생물을 개발할 필요성이 있다.

[0009] 복분자를 이용한 발효식초의 제조법 (특허 1009430240000) 및 복분자를 이용한 식초음료 및 그의 제조방법 (특허 1009106550000)이 알려져 있으나, 항산화능 및 기능성이 뛰어난 유기농 소재를 이용함으로써 항산화능이 뛰어난 발효식초의 제조에 관한 특허는 현재까지 알려져 있지 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 항산화능이 뛰어난 유기농 복분자 발효식초를 제조하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 (1) 복분자와 설탕을 5:5 내지 7:3의 중량비로 혼합하는 단계; (2) 상기 혼합물을 30일 내지 50일 동안 항아리에서 숙성하는 단계; (3) 상기 숙성물을 압착기로 착즙하고 여과한 후, 60 내지 100℃에서 15 내지 20분 동안 살균하여 복분자 착즙액을 만드는 단계; (4) 상기 복분자 착즙액을 20 내지 25 °brix로 희석하고 여기에 수화된 와인 발효 효모를 접종하여 알코올 발효시키는 단계; (5) 상기 발효된 복분자 와인에 5 내지 15 부피%의 종초를 접종한 후, 15 내지 25℃에서 정치발효하고 숙성하여 복분자 식초를 제조하는 단계;를 포함하는 복분자 식초의 제조방법을 제공한다.

[0012] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 또한 복분자와 설탕을 6:4의 중량비로 혼합하는 단계; 상기 혼합물을 40일 동안 항아리에서 숙성하는 단계; 상기 숙성물을 압착기로 착즙하고 여과한 후, 85℃에서 15 내지 20분 동안 살균하여 복분자 착즙액을 만드는 단계; 상기 복분자 착즙액을 20 내지 25 °brix로 희석하고 여기에 수화된 퍼미빈을 접종하여 알코올 발효시키는 단계; (5) 상기 발효된 복분자 와인에 10 부피%의 종초를 접종한 후, 23℃에서 정치발효하고 숙성하여 복분자 식초를 제조하는 단계;를 포함하는 복분자 식초의 제조방법을 제공한다.

[0013] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 또한 상기 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 복분자 식초를 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 제조방법에 의하면 항산화능이 뛰어난 유기농 복분자 발효식초를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 복분자 식초 발효 제조공정을 나타내는 도면이다.

도 2는 시판복분자식초와 유기농 복분자 발효식초의 DPPH 라디칼 소거활성능을 나타내는 그래프이다.

도 3은 MBA-77 균주의 분자생물학적 계통분류도이다.

도 4는 표준균주와 자연발효군의 최적생육 pH를 나타내는 그래프이다.

도 5는 표준균주와 자연발효군의 최적생육온도(℃)를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 각 실시예를 이용하여, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0017] 이하의 실시 예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 상세한 설명이며, 본 발명의 권리 범위를 제한하는 것이 아님은 당연할 것이다. 따라서, 본 발명과 동일한 기능을 수행하는 균등한 발명 역시 본 발명의 권리 범위에 속할 것이다.

[0018] 또한 각 도면의 구성요소들에 참조부호를 부가함에 있어서, 동일한 구성요소들에 대해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 부호를 가지도록 하고 있음에 유의해야 한다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어, 관련된 공지 구성 또는 기능에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략한다.

[0019] **1. 연구수행 방법**

[0020] **실험재료 및 시약**

[0021] 유기농 복분자는 전라북도 무주군 구천동에서 수확하여 냉동된 복분자를 사용하였다. 복분자 착즙액은 유기농 설탕(GOIASA GOIATUBA ALCOOL LTDA. Brazil)을 혼합하여 제조되었으며, 와인발효에 사용한 효모는 퍼미빈(Fermivin, *Saccharomyces cerevisiae* no.7013, France)을 사용하였다.

[0022] **복분자 착즙액 제조**

[0023] 복분자 착즙액은 수확하여 냉동 보관한 복분자를 유기농 설탕과 6:4의 비율로 혼합하여 항아리에서 40일 이상 숙성 후 압착기로 착즙하여 여과한 후 85도에서 15~20분간 살균한 액을 사용하였다.

[0024] **와인제조**

[0025] 살균된 복분자 착즙액을 20~25 °brix로 희석하여 와인 발효 효모인 퍼미빈(Saccharomyces cerevisiae, DSM Food Specialties, France)을 30도 증류수 1 L와 설탕 50 g, 퍼미빈 100 g 혼합하여 30~35도의 온도에서 15~30분간 수화시켜 0.2 g/L의 양으로 복분자 착즙액에 접종하여 알코올 발효하였다.

[0026] **종초**

[0027] 초산발효에 사용된 종초는 18~23도의 그늘에서 자연발효 된 식초로 1년 6개월 정도 숙성된 것을 종초로 사용하였다.

[0028] **총플라보노이드 분석**

[0029] 총 플라보노이드의 함량을 분석하기 위하여 Davis 변법을 사용하였다. 구체적인 방법은 농도별로 조제한 민들레 추출액 1.0 ml를 시험관에 취하고 1 ml의 diethylene glycol을 가하여 혼합한 후 혼합액에 1N NaOH 0.1 ml를 혼합시켜 37°C 항온수조에서 1시간 동안 반응 시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic

acid (Sigma co., USA)를 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 정확도 99%의 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 플라보노이드 함량을 산출하였다.

[0030] **총페놀 분석**

[0031] 총페놀함량을 분석하기 위하여 Folin-Denis 변법을 사용하였다. 구체적인 방법은 농도별로 조제한 민들레 추출액 1.0 ml를 시험관에 취하고 0.1 ml의 2N Folin-ciocalteus phenol reagent를 혼합하여 반응시킨 후 1시간 동안 방치하여 발색시킨다. 그 후 혼합액을 8,000 rpm에서 원심분리하여 시료의 침전물을 제거한 후, UV-Vis spectrophotometer (Beckman coulter, DU 800, U.S.A)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 총 페놀 함량은 tannic acid (Sigma Co., USA)를 분석시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 정확도 99%의 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였다.

[0032] **DPPH radical 소거 활성 측정**

[0033] DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 전자공여작용(electron donationg abilities, EDA)에 대한 효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 시료 0.1 mL에 0.2 mM DPPH solution (99% MeOH에 용해) 0.4 mL을 가한 후 30분간 상온에서 방치한 후 분광광도계를 사용하여 흡광도 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식(3)에 의해 시료 첨가구 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

[0034] (식3) 전자공여능(%) = (1 - 시료 첨가구의 흡광도/무처리 구의 흡광도)×100

[0035] **초산균의 분리**

[0036] 종초에서 초산균을 분리하기 위하여 초산분리용 평판배지 GYEC(Glucose 1%, yeast extract 1%, Ethanol 3%, CaCO3 1.5%, Agar 0.8%)에서 28, 3일 배양하여 Colony 주위에 투명환을 형성하는 균을 분리, 동정하였다.

[0037] **최적발효pH**

[0038] 초산균의 최적발효pH를 분석하기 위하여 GYE broth배지의 pH를 3~8까지 조정하여 초산균 배양액을 10% 접종하여 29°C에서 160 rpm으로 진탕배양하면서 초산의 생성량을 조사하였다.

[0039] **최적발효온도**

[0040] 분리된 균주의 증식 최적 온도는 배양온도를 20, 25, 29, 37°C로 조정하고 GYE broth에 초산균 배양액을 10% 접종하여 160 rpm으로 진탕배양하면서 초산의 생성량을 조사하였다.

[0041] **2. 연구수행 내용 및 결과**

[0042] **복분자 식초의 발효 최적 조건 확립**

[0043] 복분자 착즙액을 20~25 °brix로 희석하여 와인 발효 효모인 퍼미빈(Saccharomyces cerevisiae, DSM Food Specialties, France)을 미지근한 물에 30분 동안 수화시켜 0.2 g/L의 양으로 복분자 착즙액에 접종하여 알코올 발효한 와인과 자연 발효된 종초를 9:1의 비율로 혼합하여 23도에서 5개월 동안 정치 발효하여 산도 4% 이상의 식초를 제조하였다. 복분자 식초 발효 제조 공정의 모식도는 도 1에 나타내었다.

[0044] **총 플라보노이드 함량 분석**

[0045] 플라보노이드는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, cathechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있으며, 식물에 다량 존재하는 플라보노이드는 항산화작용, 순환기 질환 예방, 항염, 항알러지, 항균, 항바이러스, 면역증강 등 다양한 기능성 생리활성 효과를 보인다고 보고된 바 있다. 표 1에서와 같이 유기농 복분자 발효식초에서 시중에 판매되는 복분자 식초보다 높은 0.930.44 mg/ml의 총플라보노이드 함량을 보였다.

표 1

[0046]

항목	Total Flavonoid (mg/ml)
시판복분자식초	0.520.20
유기농 복분자 발효 식초	0.930.44

[0047] **총페놀 함량 분석**

[0048] 페놀화합물은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사물질로 수산기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것으로 대부분의 폴리페놀 화합물은 세포벽 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합을 이루고 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리구조의 공명 안정화에 의하여 항산화능을 나타낸다. 즉 폴리페놀류는 체내의 항산화 체계화 함께 자유기로부터 조직을 보호해 주는 역할은 한다. 특히 항산화작용과 관련하여 최근 생체내에서의 산소 free radical 반응이 생체조직의 노화와 질병에 관련이 있고, 페놀성 물질의 hydroxyl기는 유지의 유리기 수용체로서 유지 산패의 초기단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 산화 억제작용을 하는 것으로 알려져 있다. 페놀의 경우 시판복분자식초의 총페놀 함량이 6.800.5 mg/ml 인데 비해 유기농 복분자 발효 식초는 11.820.02 mg/ml로 기능성 성분 측면에서 더욱 우수함을 확인하였다.

표 2

[0049]

항목	Total Phenol (mg/ml)
시판복분자식초	8.820.5
유기농 복분자 발효 식초	11.820.02

[0050] **DPPH 라디칼 소거활성능**

[0051] DPPH는 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있다. 민들레 추출물과 민들레 발효액 LA-F46의 항산화능을 비교분석하기위하여 DPPH 라디칼 소거활성능을 분석하였다. DPPH 라디칼 형태에서 DPPH는 517 nm에서 최대 흡광도를 가지고, 이는 항산화물질의 활성에 의한 DPPH라디칼의 환원으로 인해 흡광도가 감소되어진다. 항산화활성은 시판복분자식초가 약 80%의 DPPH 라디칼 소거활성능을 보인 반면 초산발효를 마친 유기농복분자식초 시제품은 약 93%로 이는 Ascorbic acid 0.1 mg/ml에 상응하는 항산화 활성으로 시중에 판매되는 복분자 식초 보다 뛰어난 항산화 활성능을 가지고 있는 것으로 확인되어 기능성 발효식초로서의 유용성이 증명되었다. 결과적으로 복분자는 기능성 식품 소재로서 가공식품에 활용하고자 하는 시도가 많은 식품으로 유기농 복분자를 활용하여 발효최적조건을 확립하고 기능성이 뛰어난 식초를 개발하였고 시중에 판매중인 복분자식초보다 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 확인되어 기능성 식초로의 가능성을 확인하였다.

[0052] **초산균 분리**

[0053] 유기농 복분자는 phytochemical 성분들의 영향으로 발효가 어려운 경향이 있는데 복분자 착즙액이 자연 발효된 종초에서 자연발효초산균을 분리하여 초산발효에 이용하여 식초를 제조하였고 초산분리용 평판배지 GYEC(Glucose 1%, yeast extract 1%, Ethanol 3%, CaCO3 1.5%, Agar 0.8%)에서 28, 3일 배양하여 Colony 주위에 투명환을 형성하는 균을 분리, 동정한 결과 이 자연발효균의 주요 종균은 MBA-77로 *Acetobacter aceti*와 99% 상동성을 나타냈다.

[0054] **16s rRNA sequencing**

[0055] 종초에서 분리한 MBA-77의 16s rRNA sequencing분석 결과 *Acetobacter aceti* NCBI 8621과 99% homology를 보였고 그에 따른 계통분류도를 Fig 3에 나타내었다.

[0056] **최적생육pH**

[0057] 무주 유기농 복분자 식초의 종초에서 분리한 초산균과 표준균주인 *Acetobacter aceti*의 특성 분석을 위하여 pH 3~8의 GYEC배지에서 초산 생성능을 분석한 결과 Fig 4에 나타낸 것과 같이 *A. aceti*의 최적 발효 pH는 4인데 비해 분리균주 MBA-77은 pH 6~7에서 높은 초산 생성을 보였으며 pH 3~8까지 넓은 범위에서 초산발효가 가능한 것으로 나타났다.

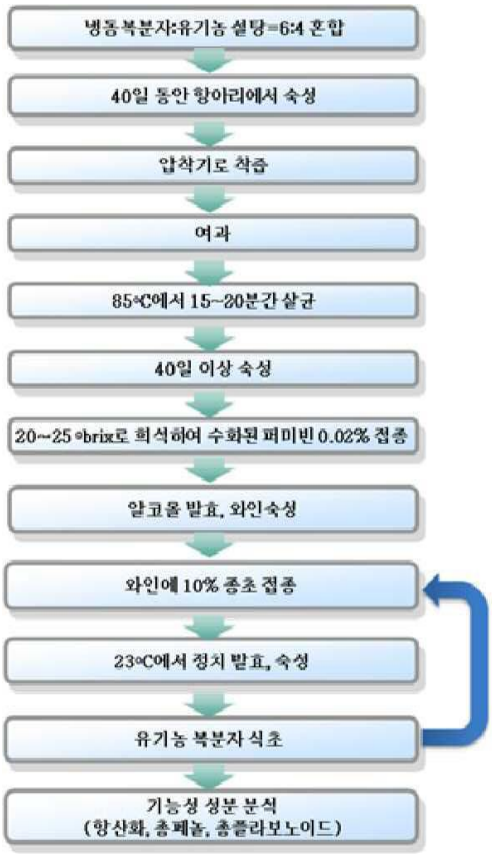
[0058] **최적생육온도**

[0059] 종초에서 분리된 자연초산발효균과 표준균주인 *Acetobacter aceti*의 최적발효온도 분석 결과는 Fig 5에 나타내었다. *A. aceti*는 29°C에서 생육과 초산발효가 가장 높게 나타났고 분리균주 MBA-77은 25°C에서 가장 높은 산도

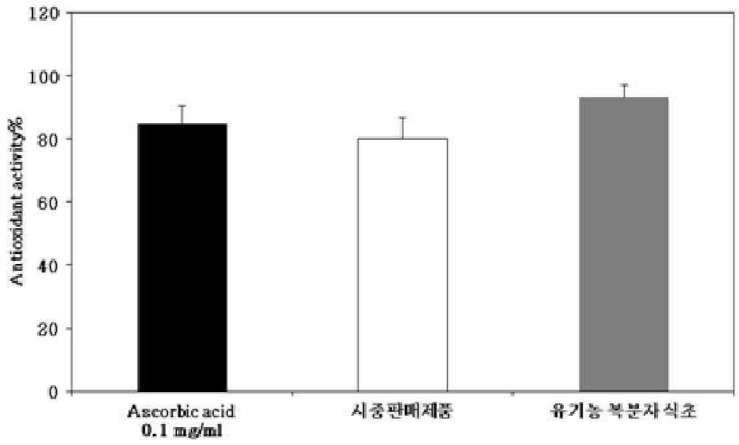
를 보여 *A. aceti*와는 차이를 보였다.

도면

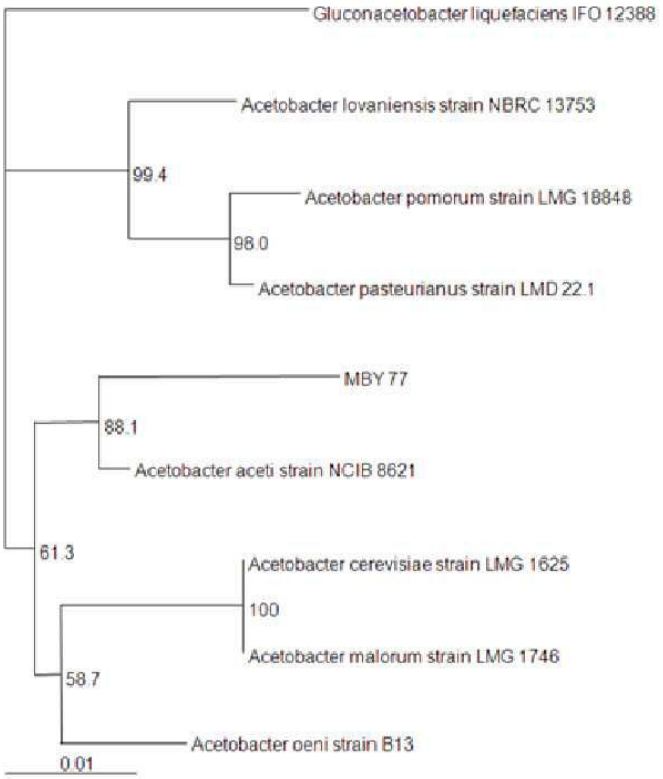
도면1



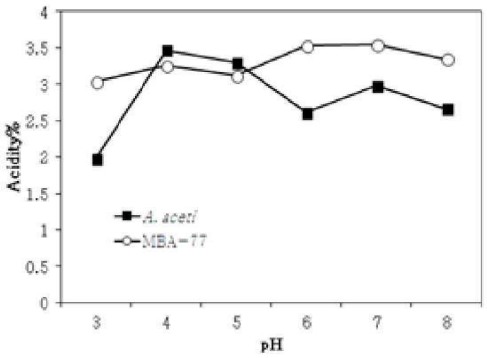
도면2



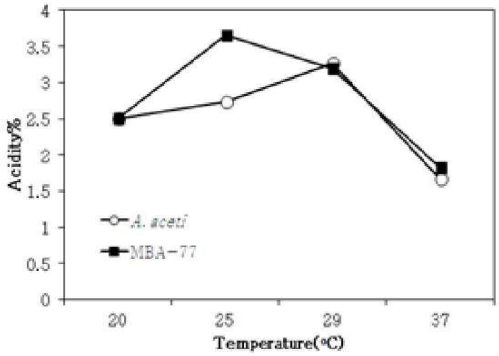
도면3


Gluconacetobacter liquefaciens IFO 12388
Acetobacter lovaniensis strain NBRC 13753
99.4
Acetobacter pomorum strain LMG 18848
98.0
Acetobacter pasteurianus strain LMD 22.1
MBY 77
88.1
Acetobacter aceti strain NCIB 8621
61.3
Acetobacter cerevisiae strain LMG 1625
100
Acetobacter malorum strain LMG 1746
58.7
Acetobacter oeni strain B13
0.01

도면4


Acidity%
pH
A. aceti
MBA-77

도면5


Acidity%
Temperature(°C)
A. aceti
MBA-77