

최 종
연구보고서

청매실의 냉동저장 기술개발 및 이를 활용한 매실식초 개발

연구기관 : (주) 송광매원

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “청매실의 냉동저장 기술개발 및 이를 활용한 매실식초 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007 년 4 월 24 일

주관연구기관명 : (주) 송광매원

총괄연구책임자 : 서 명 선

세부연구책임자 : 서 명 선

연 구 원 : 이 창 재

연 구 원 : 이 보 경

연 구 원 : 김 민 성

협동연구기관명 : 아시아대학교

협동연구책임자 : 최 응 규

연 구 원 : 김 미 향

요 약 문

I. 제 목

청매실의 냉동저장 기술개발 및 이를 활용한 매실식초 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

매실은 다른 과실과는 달리 후숙이 매우 빠르고 수확후 호흡열이 많은 작물로써 수확후 2-3일 이내에 과실의 색상이 황색으로 변하고 조직이 급격히 연화되어 청과를 이용한 가공품에 사용하기 부적합한 단점이 있는 과실이다. 따라서 현재까지 시중에 청매실 상태의 청과 유통이 불가능할 뿐만 아니라 저장성의 불안정 등으로 인하여 산지 매실농가의 가격 경쟁력 확보에 매우 불리한 요인으로 작용하고 있다. 매실은 그 소비량의 75% 정도가 청매실로 가정에서 술담그는데 이용되고 25% 정도가 술, 차, 엑기스, 희석음료, 절임, 식초 등의 가공원료로 이용된다. 일본의 경우 도매 시장을 통한 소매시장 점두에서 판매하던 것이 최근 통신판매 등 개인판매가 늘어나 판매량의 30%를 차지하고 있다. 이에 매실의 연중 출하를 위한 냉동저장 기술은 농가소득 증대를 위한 중요한 기술이라 할 수 있다.

매실은 단일 식물로써는 유일하게 국내 건강보조식품에 등록되어 있는 기능성 작물일 뿐만 아니라 국민의 인지도가 매우 높은 식물로써 매실의 냉동저장 기술개발 및 이를 이용한 다양한 가공식품의 개발은 농민의 소득 증대와 국민건강 증진을 위해서 매우 중요한 개발이라 판단된다.

매실을 이용한 다양한 가공식품의 개발에 대한 연구는 일본과 한국을 중심으로 매우 많이 진행되어 왔으며, 생산과 판매 역시 매우 활성화되어 있으며, 매실의 기능성 규명 및 이를 활용한 다양한 가공제품의 개발시도는 한국식품개발연구원에서 시행한 ‘청매실의 저

장성 증진 및 새로운 가공기술 개발' 등 활발히 진행되고 있다. 하지만 현재까지 청매실의 냉동저장에 대한 연구는 진행되지 않았을 뿐만 아니라 매실을 이용한 식초개발에 대한 내용도 포함되어 있지 않으므로 본 연구개발이 완료 될 경우 매실의 이용성 증대에 큰 영향을 미칠 것이라 판단된다.

본 보고서에서는 청매실의 연중 출하를 위한 연구의 기초 자료로써 원료형태를 달리하여 냉동한 매실의 저장중 품질특성을 확인하였으며, 냉동저장온도에 따른 냉동매실의 품질특성을 조사함으로써 매실의 냉동유통을 위한 자료를 확보하였다. 또한 매실을 이용한 식초발효의 최적조건을 확립하고 부재료(자소)의 첨가에 따른 품질향상효과도 확인함으로써 매실식초의 개발에도 성공하였다,

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 자생 청매실의 냉동저장 기술개발 및 이를 활용한 매실식초 개발에 관한 연구로써 (주)송광매원과 아시아대학교에서 2년간 2개의 세부과제로 나누어 수행하였다.

제 1세부과제의 목표는 매실의 원료의 형태와 냉동온도에 따른 냉동매실의 품질변화 정도를 확인하여 냉동 매실의 연중출하를 위한 기초자료를 확보하기 위한 것으로 아래의 세가지의 주제로 나누어 수행하였다. 먼저 원료의 형태를 원형그대로의 매실, 씨를 뺀 매실 및 마쇄한 매실로 구분하여 18개월 동안 저장하면서 매 6개월마다 시료를 채취하여 품질특성을 확인하였다. 두 번째 실험으로 냉동온도가 냉동매실의 품질에 미치는 영향을 확인하기 위하여 냉동온도를 -70°C , -20°C , -10°C 및 -5°C 로 다양화하여 12개월 동안 저장한 후 이화학적 특성과 맛성분 및 항산화활성을 확인하였다. 또한, 식품의 냉동시 품질변화는 냉동저장기간 동안에 일어나는 변화보다는 냉동과 해동과정, 특히 해동속도에 의해 많은 영향을 받으므로 세 번째 실험은 해동방법을 실온(20°C)해동, 냉장해동 및 microwave 해동으로 달리하여 해동하여 품질을 비교하였다.

제 2세부과제는 매실식초의 개발을 목표로 하였으며, 이를 위하여 초산 발효균 *Acetobacter* sp. SK-7의 자체 분리, *Acetobacter* sp. SK-7을 이용한 매실식초 발효, EVOP-factorial design technique를 이용한 매실식초의 초산생성 최적화 및 부재료 첨가에 따른 품질향상 등을 확인하였다. 부재료로써는 한약재와 herb를 활용하였으며, 최종적으로

자소(차조기)를 첨가한 매실식초의 개발과 시제품 생산에 성공하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

제 1 절 청매실의 원료형태에 따른 심은 냉동시 품질변화

제1절에서는 원료형태에 따른 청매실의 -70°C 에서의 냉동저장시 품질 및 항산화력의 변화를 확인하였다. 수분, 가용성 고형분 및 회분 함량은 원료의 형태에 따른 차이가 아주 미비하였다. 저장 18개월 동안 매실의 pH는 원료의 형태에 따른 유의적인 차이는 발견할 수 없었다. 하지만 냉동기간이 길어짐에 따라 매실의 pH는 약간이나마 상승하는 경향을 확인할 수 있었다. 냉동 18개월째의 L값은 원료의 형태에 따라 상당한 차이를 보이는 것으로 확인되었다. a값을 기준으로 보면 냉동매실은 저장기간이 지남에 따라 점차 적색에 가까워지며, 원료형태는 원형 그대로 저장하는 것이 신선한 매실의 색도와 좀더 비슷하였다. b값은 결과들 사이의 유의적인 차이를 발견할 수 없었다. ΔT 값은 신선한 매실이 31.8을 나타내었으며, 냉동 6개월째의 매실은 원료의 형태에 관계없이 31.0 ~ 31.9사이의 값을 나타내었다. 신선한 매실의 경우 총유리당 함량은 426.6 mg%를 나타내었으며, -70°C 에서 6개월간 냉동저장한 경우, 신선한 매실에 비해 3.0-3.9% 정도의 유리당 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 원료 형태에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. 18개월간 냉동저장한 매실은 신선한 매실에 비해 84.9%가 남아 있는 것으로 확인된 반면 씨를 뺀 매실의 경우 저장 12개월째와 18개월째에 각각 394.6 mg% (92.5%)와 373.0 mg% (87.4%)가 검출되어 가장 유리당의 보전이 좋은 것을 확인할 수 있었다. 유기산은 citric acid가 가장 많이 검출되었고 malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순으로 확인되었다. 신선한 매실의 경우 총 유기산 함량은 5,297.2 mg%를 나타내었다. 18개월 동안 -70°C 에서 저장한 매실의 경우, 신선한 매실에 비해 15.7-21.6% 정도의 유기산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 저장기간에 따른 유기산 함량은 저장 6개월에서 12개월 사이에 가장 많은 손실이 일어나는 것으로 확인되었다. 유리아미노산은 asparagine이 가장 많이 검출되었고

arginine과 aspartic acid의 순이었다. 신선한 매실의 경우 총 유리 아미노산 함량은 281.4 mg%를 나타내었다. 원형 그대로 냉동한 매실의 유리아미노산 손실이 씨를 뺀 상태로 저장한 매실과 분쇄하여 저장한 매실에 비해 조금 손실량이 적은 것으로 확인되었으며, 12개월이 지난 시점에서는 모든 시험구에서 10% 이상의 손실이 발생하였다. 신선한 매실의 경우 ascorbic acid 함량은 62.1 ± 1.0 ppm을 나타내었다. 저장시간에 따른 매실의 ascorbic acid 함량은 원료의 형태에 관계없이 저장기간이 지남에 따라 점차 감소함을 확인할 수 있었으며, 감소속도도 빨라짐을 확인할 수 있었다. 원료형태에 따른 비교 결과 원형 그대로 저장한 경우가 가장 좋았다. 원료의 형태에 따른 관능적 특성의 차이는 색깔과 냄새 및 종합적 기호도 모두 저장 전 기간에 걸쳐 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다. 원료의 형태에 따른 POV값은 비교적 차이는 크지 않았지만 씨를 뺀 후 분쇄한 매실 < 씨를 뺀 매실 < 원형 그대로 저장한 매실의 순으로 나타났다. 저장기간에 따른 항산화 활성의 소실정도를 확인한 결과 시간에 정비례하여 활성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. TBA와 전자공여능을 비교한 결과를 통해 항산화력을 측정한 결과 모든 형태의 매실이 저장기간이 지남에 따라 항산화력이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 매실의 저장형태는 원형 그대로 냉동시키는 것이 가장 항산화활성이 높았다.

제 2 절 저장온도를 달리하여 저장한 청매실의 품질특성

제2절에서는 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 매실의 품질변화를 확인하였다. 냉동저장된 매실의 유리당은 glucose가 가장 많이 검출되었고 maltose, fructose, sucrose의 순으로 나타났다. -70°C 에서 저장한 매실은 신선한 매실에 비해 약 4.1%의 손실이 발생한 것으로 확인되었다. 유기산은 citric acid가 가장 많았으며, malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순이었다. 분석된 유기산중 냉동에 의해 가장 손실이 많은 것은 succinic acid로 -5°C 에서 저장할 경우 1년 후에는 신선한 매실에 비해 50%나 손실되는 것으로 확인되었다. 유리아미노산은 asparagine이 전체 아미노산의 70% 이상으로 가장 많이 검출되었고, arginine과 aspartic acid의 순이었다. -70°C 에서 1년 동안 저장한 후 급속해동한 매실에서는 신선한 매실에 비해 6.5%의 손실이 발생한 것으로 나타났다. Ascorbic acid 함량은 저장온도가 높아짐에 따라 급격히 감소하였다. -70°C 에서 1년간 저장한 냉동매실의 경우 냄새와 색

갈 및 종합적 기호도에서 감소는 있었으나 유의적인 차이는 나지 않은 반면 -20°C , -10°C 와 -5°C 에서 저장한 냉동매실의 경우 냄새에서 선호도가 유의적으로 감소하였다.

냉동저장 온도에 따른 항산화력을 확인한 결과 TBA가, 과산화물가 및 EDA가 모두 냉동 저장 온도가 낮을 수록 항산화활성의 보존이 우수하였다.

제3절 냉동매실의 해동기술 개발

제3절에서는 냉동매실의 해동방법에 따른 품질변화를 조사하였다. 사용된 세 가지 해동 방법 중 microwave에서 냉동매실을 해동하는 것이 가장 유리하였다. 드립손실은 microwave oven에서 해동할 경우 $3.2\pm 0.2\%$ 가 용출되는 것으로 나타났다. 매실의 총 유리당 함량은 $426.6\text{ mg}\%$ 였으며, 해동에 의한 손실은 microwave oven에서 해동시 약 3%인 것으로 나타났다. 유기산 함량은 $5,297.2\text{ mg}\%$ 였으며 해동에 따른 손실은 2.5% 정도였다. 유리아미노산 함량은 $281.4\text{ mg}\%$ 였으며, 해동에 따른 손실은 2.1%인 것으로 확인되었다. 해동방법에 따른 매실의 식중독 균에 대한 항균작용은 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 항균력이 그대로 유지되는 것으로 나타났다. 항산화력은 신선한 매실 > microwave에서 해동한 매실 > 냉장온도에서 해동한 매실 > 실온에서 해동한 매실의 순으로 약간 차이를 보였다

제4절 매실을 이용한 식초 개발 (*Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초 발효)

제4절은 매실을 이용한 식초개발의 기초연구로써 초산생성능이 우수한 초산균을 재래초로부터 분리·동정하고 매실 식초 제조를 위한 최적 발효조건을 검토하였다. 재래초로부터 분리한 20균주 중 매실즙이 30% 첨가된 배지에서 초산생성능이 가장 우수한 균주인 SK-7 균을 선정하고 형태 및 생리학적 특성을 확인한 결과 *Acetobacter* sp. SK-7으로 동정하였다. 이 균주에 의한 초산생성 최적조건을 확인한 결과, 최적온도는 30°C 였으며, 진탕배양이 정지배양에 비해 초산생성에 효과적인 것으로 나타났다. 초산생성에 가장 적합한 배지 조성은 매실즙 30%, 초기산도 2%, 에탄올 농도 4%, 포도당 0.2%가 함유된 배지였다. 이와같은 배양조건에서 매실식초는 8일이 지나면 발효가 완만해졌으며, 12일에는 발효가 거의 완료되는 것으로 확인되었다. 12일째의 총 산도는 7.1%인 것으로 나타났다.

제5절 EVOP-Factorial Design Technique을 이용한 매실식초 발효조건의 최적화

제5절에서는 EVOP-factorial design technique를 이용하여 *Acetobacter* sp SK-7에 의한 매실식초 발효 최적조건을 찾고자 하였다. 발효조건으로 발효온도, ethanol 농도 및 glucose 농도를 세가지 인자로 정하고 첫 번째 set의 중심점은 발효온도 30°C, ethanol 농도 6%, glucose 농도 0.4%로 정하였다. 첫 번째 set에서는 각 효과의 값들 중 한개 이상의 값이 error limit보다 큰 상태로써 중심점이 실제 최적조건이 아니라는 것을 확인하고 두 번째 set의 실험을 실시하였다. 두 번째 set의 실험에서 중심점은 첫 번째 set에서 산도가 가장 높게 나온 최적점인 E₁₁(발효온도 : 27°C, ethanol 농도 : 5%, glucose 농도 0.3%)로 고정하였다. 두 번째 set의 실험에서도 효과 값들 중 error limit보다 큰 것들이 존재하므로 비록 changes in mean effect가 (-)부호이고 error limit보다 큰 값을 나타내었지만 두 번째 set의 실험도 최적조건이 아니라고 판단하고, 두 번째 set에서 가장 높은 산도값을 나타낸 E₂₃ (발효온도 : 30°C, ethanol 농도 : 4%, glucose 농도 : 0.2)을 세 번째 set의 중심점으로 설정하고 실험을 진행하였다. 불행히도 세 번째 set의 실험에서는 change in mean effect의 값이 error limit보다 컸으며 부호가 (-)의 값을 나타내었으나, 효과들 중 Temperature × GC에 대한 값이 error limit보다 크게 나타나 최적조건 도달에 실패하였다. 하지만, 본 실험결과에서 최종 산도값은 6.365%로 set 1의 중심점에서 나타난 산도값 5.4%에 비해 1.0%정도 높아졌으며 그 이상의 실험은 비효율적이라고 판단되어 위의 조건을 최적조건으로 결정하였다.

제 6 절 한약재의 첨가를 통한 매실식초의 품질 향상

제6절에서는 매실식초의 품질향상을 위하여 각종 한약재를 첨가함에 따른 매실식초의 산도 변화 및 관능적 특성을 확인하기 위해 수행되었다. 관능검사점수를 통해 1차로 선정된 선정된 5가지의 한약재를 농도별로 첨가하여 관능검사를 실시한 결과는 오미자, 구기자, 산수유의 경우는 7.5%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었으며, 황기와 소엽은 5.0%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었다. 이들 중 소엽을 첨가하는 것이 가장 좋은 점수를 얻었다. 매실식초의 산도는 자소의 첨가량이 많아짐에 따라 조금 감소하였으나 3% 첨가까지는 매실식초의 품질에 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 자소의 첨가에 따른 매실식초의 관능적 특성은 자소의 첨가량이 증가함에 비례하여 선호

도 역시 증가하는 것으로 나타났다.

2. 결과활용에 대한 건의

(1) 매실의 냉동저장 기술확립 및 냉동 매실제품의 상품화

본과제를 통하여 -70°C 에서 저장한 매실의 매 6개월 단위마다 품질특성이 확인되었다. 이는 수확 후 급속도로 품질의 변화가 일어나는 매실의 장기간 보존을 위해서는 꼭 필요한 자료라고 판단되며, 본 과제에서는 18개월까지의 변화만을 확인하였으나, 향후 그 이후의 품질에 대한 모니터링도 실시하여야 할 것으로 생각된다. 또한, 매실의 냉동 저장온도에 따른 품질변화를 확인함으로써 다양한 냉동온도에서 매실을 저장할 경우 1년 후의 품질을 예측가능하게 하였으며, 향후 이 결과를 바탕으로 포장의 종류에 따른 매실의 냉동저장시 품질변화의 최소화를 위한 연구를 진행하고자 한다. 이를 위해서는 농림기술관리센터 또는 농촌진흥청에서 일정한 예산이 지원되어야 할 것으로 판단된다.

(2) 매실식초의 최적발효조건 확립 및 매실식초의 상품화 및 부재료 첨가에 의한 매실식초의 품질향상 및 관련제품(자소)의 상품화

본 업체에서는 매실을 이용한 제품의 다양화를 꾀하기 위하여 본 과제를 통하여 매실을 이용한 식초를 제조기술을 확보하고, 제품의 차별화를 위하여 부재료 첨가 실험을 통하여 자소첨가 매실식초의 개발에 성공하였다. 또한, 매실식초의 최적발효조건을 확인하기 위하여 국내에서는 최초로 EVOP-factorial design을 초산생성능 확인에 적용하여 성공적으로 수행하였다.

향후 본 업체에서는 매실식초를 바탕으로 하여 다양한 효능을 가진 한방처방전을 접목시킴으로써 매실식초 제품의 다양화를 이루어 내기위해 최선을 다하고자 한다. 또한, 매실식초 발효능이 우수한 균주를 지속적으로 분리·육성하고자 한다.

SUMMARY

Chapter 1. The changes in the quality of deep-frozen green mume by the shape of raw material

This study was conducted to identify the changes in the quality and antioxidation activity of various shape of green mume fruit refrigerated at -70°C . The changes in the content of moisture, soluble solid and ash by the shape of raw materials were little. The difference in pH of mume was not found by the shape of raw materials. However, the pH of mume refrigerated in -70°C was increased with the storage time. The L-value of mume refrigerated for 18 months was considerably dissimilar with the shape of raw materials. When the mume was refrigerated with the original form, the color of mume freezed for 18 months was similar with the fresh fruit. The color of refrigerated mume fruit was verge to the red with the storage time. ΔT value of fresh mume was 31.8 and it was changed to 31.0 ~ 31.9 after 6 months of storage irrespective of the shape. The content of total free sugar in the fresh mume was 426.6 mg% and 3.0-3.9% of free sugar was lossed when mume was stored at -70°C for 6 months. The maintenance of free sugar was obtained when it was stored with the seedless type. Among the organic acid found in the mume fruit, the content of citric acid was highest followed by malic acid, formic acid, oxalic acid and succinic acid. Total organic acid of fresh mume was 5,297.2 mg%. When it was refrigerated at -70°C for 18 months, the 15.7-21.6% of organic acid was missed. The most of organic acid loss was occurred 6-12month of storage. Among the free amino acid found in the mume, the content of asparagine was highest followed by arginine and aspartic acid. The total free amino acid content of fresh mume was 281.4 mg%. When the mume was refrigerated with the original form, the loss of free amino acid was less than seedless mume and minced mume. The the content of ascorbic acid in the fresh mume was 62.1 ± 1.0 ppm and it was decreased with the storage time regardless of the

shapes. The sensory score (color, odor and overall acceptability) evaluated by 20 trained panels was not significantly differed by the shape. The POV, TBA and EDA value of refrigerated with the original form of mume was highest followed by the seedless mume and minced mume. The antioxidation activity was decreased with the storage time.

Chapter 2. The quality characteristics of green mume refrigerated at various temperature

This study was investigated to identify the changes in the quality of mume refrigerated for 12 months at various storage temperature (-5°C , -10°C , -20°C and -70°C). Among the free sugar contained in the mume, the content of glucose was highest followed by maltose, fructose and sucrose. When it was refrigerated at -70°C , the loss of free sugar was 4.1% compared to the fresh mume. Among the organic acids, citric acid content was highest followed by malic acid, formic acid, oxalic acid and succinic acid. The loss of succinic acid (50% was lost after 1 year at -5°C) was highest among the organic acid. Among the free amino acids, asparagine which was more than 70% of total free amino acids was highest followed by arginine and aspartic acid. The loss of amino acid refrigerated at -70°C for 12 months was 6.5% compared to fresh mume. The content of ascorbic acid was rapidly decreased when stored at -5°C for 12 months compared to the lower temperature (-10°C , -20°C and -70°C). The significant difference of color, odor and overall acceptability, which was tested by 20 trained panels, between the fresh mume and mume refrigerated at -70°C for 12 months was not found. On the other hand, odor of mume refrigerated at -20°C , -10°C and -5°C was significantly differed to the fresh mume. High antioxidation activity was achieved at lower refrigeration temperature.

Chapter 3. quality changes of frozen maesil according to thawing methods

This study was conducted to investigate quality changes of frozen maesil according

to thawing methods. The quality of maesil thawed in microwave oven was superior to maesil thawed in refreezing temperature and maesil thawed in room temperature. Drip loss of maesil thawed in microwave oven was $3.2\pm 0.2\%$. The total content of free sugars of maesil was 426.6 mg%, and 3% of them was lost during thawing in microwave oven. The total content of organic acids was 5,297.2 mg%, and 2.5% of them was lost during thawing in microwave oven. The total content of free amino acids was 281.4 mg%, and 2.1% of them was lost during thawing in microwave oven. Antimicrobial activity against food poisoning bacteria of maesil was maintained after freezing and thawing. Antioxidative activity of fresh maesil was highest followed by maesil thawed in microwave oven, thawed in refreezing temperature (5°C) and room temperature (25°C)

Chapter 4. Acetic Acid Fermentation by *Acetobacter* sp. SK-7 using Maesil Juice

This study was conducted to produce vinegar using maesil. 20 acetic acid bacteria was isolated from several conventional vinegars. Among the isolates, a strain showed highest acetic acid productivity was selected and identified as *Acetobacter* sp. SK-7. The optimum medium of acetic acid production by *Acetobacter* sp. SK-7 was 30% of maesil juice, 4% of ethanol, 0.2% ethanol and 2% of starting acidity. And the optimum culture condition was shaking culture at 30°C. The acidity of culture medium was reached to 7.1% after 12 days fermentation.

Chapter 5. Optimization of acetic acid production by *Acetobacter* sp. SK-7 using Evolutionary Operation-Factorial Design Technique

This study was conducted to find out optimum condition of acetic acid by *Acetobacter* sp SK-7. using Evolutionary Operation-Factorial Design Technique. The maximum acetic acid production by *Acetobacter* sp SK-7 was determined by the EVOP-factorial

technique was obtained at 30°C fermentation temperature, 4% ethanol concentration and 0.2% glucose concentration. The population of *S. mutans* decreased from 6.110 logCFU/ml in the initial set to 4.125 logCFU/ml in the third set. The acidity at the optimum conditions settled by EVOP-fs was 6.365, which was more than 1.0% higher than the acidity at the central point of first set.

CONTENTS

Chapter 1. Summary of researches	16
Section 1. Research objectives	16
Section 2. Research background	16
Section 3. Research range	18
Chapter 2. Present status of domestic and foreign researches	19
Section 1. Present status of domestic researches	19
Section 2. Effects of research results	19
Chapter 3. Results and discussion	21
Section 1. The changes in the quality of deep-frozen green mume by the shape of raw material	21
Section 2. The quality characteristics of green mume refrigerated at various temperature	53
Section 3. quality changes of frozen maesil according to thawing methods	68
Section 4. Acetic Acid Fermentation by <i>Acetobacter</i> sp. SK-7 using Maesil Juice	92
Section 5. Optimization of acetic acid production by <i>Acetobacter</i> sp. SK-7 using Evolutionary Operation-Factorial Design Technique	106
Section 6. Quality elevation of mesil vinegar by addition of medicinal plants	122
Chapter 4. Degree of target achievement and contribution to the related research fields	130
Chapter 5. Plan of use of research results	134
Chapter 6. Scientific technical informations obtained from overseas	136

Chapter 7. References 137

목 차

제1장 연구개발 과제의 개요	16
제1절 연구개발의 목적	16
제2절 연구개발의 필요성	16
제3절 연구개발의 범위	18
제2장 국내외 기술개발 현황	19
제1절 국내외 기술개발의 현황	19
제2절 연구결과의 영향	19
제3장 연구개발 수행 내용 및 결과	21
제1절 청매실의 원료형태에 따른 심온 냉동시 품질변화	21
제2절 저장온도를 달리하여 저장한 청매실의 품질특성	53
제3절 냉동매실의 해동기술 개발	68
제4절 <i>Acetobacter</i> sp. SK-7에 의한 매실식초 발효	92
제5절 EVOP-fs Design Technique을 이용한 매실식초 발효조건 최적화	106
제6절 한약재의 첨가를 통한 매실식초의 품질 향상	122
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	130
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획	134
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보	136
제 7 장 참고문헌	137

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

본 연구개발의 목적은 크게 두 가지로 요약할 수 있다. 본 과제를 수행한 (주) 송광매원은 국산 매실을 보급하고 농가와의 계약재배를 통해 생산한 후 매실관련 제품을 상품화하는 벤처기업으로써 생산품으로는 매실액기스, 매실고추장, 매실장아찌, 오매부시, 매실주 등이 있으며, 그 외 다양한 제품을 개발 중에 있다.

따라서, 본과제의 목적은 첫째 단기간내에 숙성되어 청매실 상태의 보존과 가공이 매우 어려운 매실의 냉동저장 기술을 확립함으로써 매실의 냉동 유통하는 것이다. 이를 위하여 본 연구진은 18개월 동안 매실을 냉동저장하면서 품질변화를 확인하였을 뿐만 아니라 냉동저장 온도에 따른 품질의 차이도 확인하였다.

두번째 목적은 매실을 이용한 식초의 개발과 부재료 첨가에 의한 품질차별화이다. 매실은 농산물중 유일하게 건강보조식품에 포함된 기능성 식품원료로써 그 이용가치가 매우 높다. 따라서 본 연구진은 매실을 이용한 식초개발을 위하여 독자적으로 새로운 초산 발효균 *Acetobacter* sp. SK-7을 재래초로부터 분리하고, 이 균주를 이용한 초산생성 최적조건을 확립한 후 부재료 첨가를 통해 품질향상가능성을 확인하여 최종적으로 자소첨가 매실식초의 개발에 성공하였다.

제2절 연구개발의 필요성

제1세부과제 : 매실의 냉동 및 해동기술확립

청매실은 항균작용, 항알러지 작용 및 정혈작용 등 다양한 기능성이 있는 식품원료일 뿐만 아니라 약알카리성으로 체질을 개선하는 효과도 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 청매실은 절임식품, 식초, 음료, 주류 등의 원료로써 최근 국내에서 그 소비가 급속도로 증가하고 있다. 매실은 수확시기에는 2-3일 정도의 시간에 의해 성숙이 될 뿐만 아니라 수확후에도 매우 빠른 숙성이 일어나기 때문에 이러한 특성의 효율적인 이용은 매실의 가공을 위

해 꼭 필요한 단계이다. 청매실의 선도유지에 대한 연구로는 대부분 포장 형태를 달리하여 저온 또는 상온에 저장하면서 품질특성을 확인한 실험과 CA저장 등 저장환경을 달리하여 저장된 매실의 품질등에 관한 보고들이 다수 있으나, 냉동보존시 품질변화에 관한 보고는 미비한 실정이다.

매실은 해마다 가격의 변동이 심하여 농가의 소득이 불안정할 뿐만 아니라 소비기간이 매우 짧아 현재로써는 고부가가치를 얻을수 없는 구조를 가지고 있다. 또한 한미 FTA 체결이 이루어질 경우 이러한 구조는 더욱 가속화될 것으로 예상된다. 이를 극복하기 위해서는 매실의 생산을 촉진하는 방안 마련이 시급하며, 이는 원료의 연중이용과 안정적인 구매시스템의 확립에 의해 해결될 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 본 업체는 제1세부과제로 매실의 심온냉동 시 품질변화확인, 매실의 해동방법에 따른 품질변화 확인 등의 실험을 수행하여 매실의 냉동저장에 따른 품질변화에 대한 database를 구축함으로써 냉동매실을 주원료로 한 다양한 제품의 출시를 위한 기초자료를 확보하였다.

제2세부과제 : 매실을 이용한 식초개발

매실식초를 비롯한 매실가공식품은 다른 과실가공식품과 비교하여 제품의 가치가 많지 않은 단점이 있으며, 원료매실의 공급에 한계가 있는 단점이 있다. 매실가공제품은 매실엑기스, 매실식초, 매실주스, 매실절임, 매실고추장, 매실장아찌 등 이 있으며, 이 중 매실식초는 희석음료로의 전환이 가능하므로 소비자 친화형 제품으로 판매가 가능한 주력제품군에 포함된다. 따라서, 매실을 주원료로 한 식초는 음료제품의 베이스로써 작용가능한 매우 중요한 개발제품이다. 본 업체는 국산매실을 직접재배 또는 계약재배를 통하여 생산한 후 이를 주원료로 하여 다양한 제품을 개발 및 출시하고 있는 벤처기업으로써 다양한 소비자 친화형 제품을 출시하기 위해서는 매실식초의 개발이 매우 절실한 과제이다. 이에, 본 연구진은 농림기술개발사업을 통하여 재래초로부터 *Acetobacter* sp.를 분리한 후 이를 이용하여 매실식초의 최적생산조건을 확인하고 생산시설을 성공적으로 갖추으로써 매실식초의 본격적인 생산이 가능하게 되었다.

제3절 연구개발의 범위

구 분	주요 개발내용 및 범위
<p>1차년도</p> <p>제1세부과제</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 청매실의 원료형태에 따른 심온냉동 중 품질변화 확인 ○ 청매실의 해동방법(상온에서의 해동, 냉장온도에서의 해동 및 microwave oven에서의 해동)에 따른 품질의 차이 확인 <p>제2세부과제</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 재래초에서 초산생성능이 우수한 야생균주 <i>Acetobacter</i> sp. SK-7을 분리한 후 이를 이용한 매실식초 발효의 최적조건을 확인 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료형태별 냉동청매실의 일반성분 확인 ○ 원료형태별 냉동 청매실의 pH변화 확인 ○ 원료 형태별 냉동 청매실의 색도변화 확인 ○ 원료 형태별 냉동 청매실의 유리당 함량 변화 확인 ○ 원료 형태별 냉동 청매실의 유기산 함량 변화 확인 ○ 원료 형태별 유리아미노산 함량 변화 확인 ○ 원료 형태별 ascorbic acid 함량 변화 확인 ○ 원료 형태별 관능적 특성 변화 확인 ○ 원료 형태별 항산화력 변화 확인 ○ 해동방법에 따른 drip 손실 확인 ○ 해동방법에 따른 색도 변화 확인 ○ 해동방법에 따른 유리당 함량 변화 확인 ○ 해동방법에 따른 유기산 함량 변화 확인 ○ 해동방법에 따른 유리아미노산 함량 변화 확인 ○ 해동방법에 따른 관능적 특성 변화 확인 ○ 해동방법별 매실의 식중독 균에 대한 항균작용 ○ 해동방법별 매실의 항산화력 변화 확인 <ul style="list-style-type: none"> ○ 초산생성균의 분리 및 동정 ○ 분리균 <i>Acetobacter</i> sp. SK-7의 증식최적 온도 확인 ○ 총산도에 미치는 진탕배양의 효과 확인 ○ 초기 산도의 영향 확인 ○ 초기 알콜농도의 영향 확인 ○ 당농도의 영향 확인 ○ 분리균 <i>Acetobacter</i> sp. SK-7로 발효된 매실식초의 유기산 함량 확인
<p>2차년도</p> <p>제1세부과제</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 청매실의 원료형태에 따른 심온냉동 중 품질변화 확인 (계속) ○ 청매실의 저장온도에 따른 품질변화 확인 <p>제2세부과제</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ EVOP-fs를 이용한 초산생성 최적화 ○ 한약재 첨가를 통한 품질향상(소스개발) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 냉동온도별 냉동청매실의 일반성분 확인 ○ 냉동온도별 냉동 청매실의 pH변화 확인 ○ 냉동온도별 냉동 청매실의 색도변화 확인 ○ 냉동온도별 냉동 청매실의 유리당 함량 변화 확인 ○ 냉동온도별 냉동 청매실의 유기산 함량 변화 확인 ○ 냉동온도별 유리아미노산 함량 변화 확인 ○ 냉동온도별 ascorbic acid 함량 변화 확인 ○ 냉동온도별 관능적 특성 변화 확인 ○ 냉동온도별 항산화력 변화 확인 <ul style="list-style-type: none"> ○ EVOP-fs를 이용한 초산생성 최적화 (3단계) ○ 한약재 첨가를 통한 품질향상(소스개발)

제2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내외 기술개발의 현황

매실은 우리나라 이외에도 일본과 중국등지에서 매우 많이 이용되는 식품이다. 따라서 우리나라를 비롯한 동아시아 지역에서는 매실에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 일본에서 가장 활발히 진행되고 있다. 특히, 매실의 기능성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데 매실에서 기능성으로는 고혈압, 당뇨, 설사 및 변비의 예방, 숙취해소, 항알러지 작용, 항균효과, 정혈작용, 체질개선 등이 보고되고 있다.

이러한 기능성에 대한 연구결과가 소비자들에게 인식되면서 매실의 수요가 급격히 증가함에 따라 매실의 공급부족이 야기되면서, 안정적인 공급방안이 연구되었다. 수확후 상온에 방치할 경우 급속히 일어나는 수축에 의해 매실은 가공용 원료로서의 가치가 단기간내에 떨어지는 단점이 있다. 이를 방지하기 위해서 청매실의 저장성 증진에 관한 많은 연구가 진행되고 있으며, 냉장저장과 포장재의 활용을 통한 저장성 증진에 관한 연구는 이미 상당이 진행되었나, 냉동저장에 관한 연구는 미비한 실정이다.

매실은 이미 기능성에 대한 홍보가 상당히 이루어져 있으며 이에 따라 다양한 형태로 가공되어 소비자들에게 공급되고 있다. 매실을 이용한 가공제품은 매실식초, 매실액기스, 매실장아찌, 매실주, 매실주스 등 매우 다양한 종류가 있으며 매실음료를 제외한 대부분의 제품이 중소기업에서 생산되어 지역적으로 보급되고 있다. 본 업체에서도 매실을 이용한 다양한 제품을 생산하고 있으나 맛과 향의 차별화를 위하여 매실식초 발효균주의 분리, 매실식초 발효조건의 최적화 등의 실험을 수행하여 본 업체의 고유한 브랜드 및 상품을 개발하였다.

제2절 연구결과의 영향

본 연구과제의 주관기관인 (주)송광매원은 그 창립목적이 기능성 매실의 전국보급과 이를 이용한 상품화이므로 무엇보다 매실의 보급과 이를 활용한 팔릴 수 있는 제품의 개발

이 주된 목표이다. 본과제의 수행을 통해 얻어진 결과가 (주) 송광매원에 미칠 영향을 보면 아래와 같다.

제1세부과제 : 매실의 냉동 및 해동기술확립

제1세부과제의 주된 내용은

1. 매실의 원료형태에 따른 -70°C 에서 심온냉동시 저장기간에 따른 품질변화 (18개월)
2. 매실의 12개월저장시 저장온도에 따른 품질변화
3. 매실의 해동방법에 따른 품질변화 에 관한 것이다.

본 업체는 이러한 결과를 바탕으로 냉동매실을 대량유통하기 위한 체계적인 냉동유통시스템을 구축함으로써 냉동 청매실의 연중유통을 실시하여 매출증대에 이바지함과 동시에 매실의 연중가공을 통하여 공장의 가동을 활성화를 통한 원가절감 및 소득의 극대화를 이룰 것이다.

제2세부과제 : 매실을 이용한 식초개발

제2세부과제의 주된 내용은

1. 재래초로부터 *Acetobacter* sp. 의 분리 및 특성 확인
2. *Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초발효 특성 및 EVOP-factorial design을 이용한 발효조건 최적화
3. 부재료 첨가에 의한 품질향상 에 관한 것이다.

매실식초는 식초로써의 제품기능을 담당할 뿐만 아니라 2차가공을 통하여 다양한 음료 제품을 제조하는 원료가 되므로 균일한 품질의 매실식초를 생산하는 것은 품질관리 측면에서 매우 중요하다.

본 업체에서는 이미 매실식초의 시제품은 생산이 완료되었으며, 향후 2년 이내에 시장에 본격적으로 진출할 수 있을 것으로 예상된다. 또한 본 업체에서는 음료수 제조라인을 설치하여 매실음료를 생산하기 위한 설비를 모두 끝낸 상태이므로, 원료의 확보와 최적 레시피가 결정된 후 매실음료를 출시함으로써 매출의 극대화를 이루어 낼 것이다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 청매실의 원료형태에 따른 심은 냉동시 품질변화

제1항 서 론

매화나무(*Prunus mume* Siet. Zucc.)는 우리나라의 전국각지에서 식용, 약용 및 관상수로 널리 애용되고 있는 다년생 식물의 낙엽교목이다. 매화나무의 과실인 매실은 둥근모양이고 5월 말에서 6월 중순에 녹색으로 익으며, 당분과 칼슘, 철분등 미네랄이 풍부할 뿐만 아니라 구연산 등 각종 유기산이 다량 함유되어 있어 신맛이 강하고 사람의 인체에 매우 이롭게 작용하여 3,000여년 전부터 건강보조식품이나 약재로 사용되어져 왔다(1-1, 1-2).

매실은 주로 생식되지 않는 가공 전용 과실로서 국내에서 생산되는 전체량이 대부분 매실주스나 매실 액기스 등 가공용으로 사용되고 있으며, 최근 매실김치, 매실주, 매실잼 등의 각종 식품으로 개발되어져 왔다(1-3). 특히 말린 매실은 오매라 하여 한방에서 해독 및 구충 등의 약제로 활용되고 있기도 하며(1-4), 혈중 유산농도와 혈청 지질성분(1-5), 흰쥐의 간장장애와 당뇨병(1-6, 1-7), 식중독 유발세균의 증식에 효능이 있는 것(1-8)으로 보고되고 있다.

매실의 성숙 및 저장 중 품질에 영향을 미치는 이화학적 특성변화는 가용성 고형분과 산도 및 pH의 변화, 성숙과정 중 유기산과 유리당, 유리아미노산의 변화, 조직연화와 관련된 경도와 무기성분 및 펙틴질의 변화, 호흡량 및 호흡패턴의 변화, 클로로필 및 에틸렌 생성량의 변화, 향기성분의 변화 등을 들 수 있는데 품종별로 약간의 차이는 있지만 가용성고형분과 산도는 성숙이 진행됨에 따라 증가하는 반면 pH는 감소하는 것으로 알려지고 있다(1-9 ~ 1-14).

본 연구에서는 청매실의 연중 출하를 위한 연구의 기초 자료로써 원료형태를 달리하여 냉동한 매실의 저장중 품질특성에 관해 보고하고자 한다.

제2항 연구개발의 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 매실은 경북 칠곡군 왜관읍에 소재한 (주)송광매원에서 생산된 2005년 산 청매실을 만개(4월 1일) 후 60일째의 것을 동일 수목상에서 채취하여 시료로 사용하였다. 수확된 시료는 수확된 그대로의 매실, 씨를 뺀 매실과 씨를 뺀 후 믹서기로 분쇄한 매실 등 세 가지의 형태로 구분하여 -70°C 로 급속냉동한 후 18개월 동안 저장하면서 매 6개월 마다 microwave oven에서 해동하여 시료로 사용하였다.

2. 일반성분 분석

수분과 조회분은 상법(1-15)에 따라 분석하였으며 pH는 매실과육을 세절한 후 마쇄, 여과하여 얻은 여과액을 pH meter로 측정하였다. 산도는 pH 측정용 시료를 이용하여 여과액 10mL의 pH 값이 8.2로 되는데 소요되는 0.1 N NaOH의 소비량을 구한 후 citric acid로 환산하여 총산의 함량(%)로 나타내었다. 가용성 고형분은 매실과즙 여과액을 굴절당도계 (Atago pr-100, Japan)를 이용하여 측정하였다.

3. 색도측정

매실의 형태별 냉동매실의 색도는 microwave oven에서 해동한 매실 과즙을 여과하여 Chromameter (Minolta CR 300, Japan)으로 Hunter의 L값, a값, b값을 측정하였다. 표준판은 $L = 97.51$, $a = -0.18$, $b = +1.67$ 의 값을 가진 백색판을 사용하였다.

4. 유리당 함량 분석

매실의 유리당 분석을 위해서는 보리메주 200 g을 800 mL의 에탄올로 85°C 에서 환류 추출한 후 여과하였다. 이 여액을 감압건조시킨 후 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 시료 5 mL에 양이온과 음이온 물질을 제거하기 위해 mixed bed resin TMD-8 (Sigma, USA)을 약 10 g 가하고 5°C 에서 1일간 방치하고 이온교환수지를 제거하기 위해 여지 위에서 여과, 세척하였다. 이 액을 감압 건조 시키고 10 mL 초순수로 정용한 후 membrane filter ($0.45\ \mu\text{m}$)로 여과하였다. 여과액 5 mL에 양이온과 음이온 물질을 제거하

기 위해 Mixed bed resin TMD-8 (Sigma, USA)을 약 10 g 가하고 5°C에서 1일간 방치하고 이온교환수지를 제거하기 위해 여지 위에서 여과, 세척하였다. 이 액을 감압 건조시키고 10 mL 초순수로 정용한 후 membrane filter (0.45 µm)로 여과하고 유리당을 분석하였다. 분석을 위해서는 HPLC(Young-In HPLC 930 pump, Korea)를 이용하고, 분리 칼럼은 Rezex RNM과 RPM (7.8×300 mm, Phenomenex, USA), 이동상은 초순수, 유속은 0.6 mL/min, 칼럼 온도는 75°C, 검출기는 Shimadzu RID-6A (Yamato, Japan)를 사용하였다 (Table 1-1).

5. 휘발성 유기산 함량 분석

시료를 초순수로 3배 희석한 후 membrane filter (0.45 µm)로 여과한 시료 5.7 mL에 2% H₂SO₄ 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 µL를 GC (DS 6200, Donam Systems Inc., Korea)에 주입하였다. 표준물질은 acetic acid, propionic acid 및 butyric acid를 사용하고 0.1%로 조제한 후 이 용액 5.7 mL와 2% H₂SO₄ 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 µL를 GC에 주사했다. 이 때 칼럼 충전제는 10% PEG 6,000 60/80, 주입부 온도는 200°C, 검출기 (FID) 온도는 220°C, 운반 기체는 질소 (20 mL/min), 칼럼온도는 150°C로 분석하였다(Table 1-1).

6. 비휘발성 유기산 함량 분석

매실 시료는 200 g을 800 mL의 에탄올로 85°C에서 환류 추출한 후 여과액을 감압건조시킨 후 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 시료 1 mL를 5 mL test tube형 수기에 넣고 다시 감압건조시킨 다음 보리간강 시료는 탈염 시료 1 mL를 5 mL test tube형 수기에 넣고 감압건조시켰다. 여기에 14% BF₃ 2 mL를 넣고 밀봉하여 80°C에서 30분간 반응시킨 후 냉각하고 (NH₄)₂SO₄ 4 mL를 첨가, 여기에 CHCl₃ 용액 2 mL를 첨가하였다. 하층에 메칠화된 유기산이 녹아 나온 CHCl₃층을 주사기로 채취한 액을, pasteur pipette에 비등석으로 입구를 막고 Na₂SO₃로 2/3 채운 다음, 이 pipette에 채취한 액을 흘려 보내 수분을 제거하고, 통과한 액을 받아서 GC로 분석하였다. 칼럼은 DB-FFAP (0.53 mm×30 m), 칼럼 온도는 100°C (5 min)-4°C/min-220°C (5 min), 주입부 온도 230°C, 검출기(FID) 온도 250°C, 운반 기체는 질소 (2 mL/min)로 분석하였다(Table 1-1).

7. 유리 아미노산 함량 분석

시료를 아미노산 분석용 lithium citrate buffer로 20배 희석한 다음 0.45 µm membrane filter로 여과하고 아미노산 자동분석기(Bio chrom 20 amino acid analyzer, USA)로 분리 정량하였다 (Table 1-1).

8. 관능검사

각각의 처리구의 매실시료의 색깔, 이취 및 종합적 품질에 대해 특성 차이검사 및 기호도 검사를 실시하였다. 관능검사원의 선발을 위하여 먼저 3점 검사법으로 매실의 색깔, 이취에 대한 차이식별 능력이 우수한 패널 20명을 선발하였다. 관능검사는 9점 평점법(1-16)에 의하여 실시하였다.

9. 항산화력 측정

(1) 과산화물 (POV) 가

과산화물가는 세 가지 형태별로 냉동하여 6개월간 저장한 후 microwave oven에서 해동한 매실과육 추출물과 비교구로서 BHT, ascorbic acid 각각을 대두유 100 g에 0.02%(w/w)를 첨가하여 60°C 항온기에 저장하면서 경시적으로 1 g 씩 평취하여 분석하였다. 시료에 chloroform 10 mL, acetic acid 15 mL 및 KI 포화용액 1 mL를 가하여 1분간 진탕시켜 5분간 암소에 방치시킨 후 증류수를 75 mL 첨가하여 진탕시키고 1% 전분용액을 지시약으로 하여 0.01N Na₂S₂O₃ 용액으로 청남색이 무색으로 될 때까지 역적정하여 POV (peroxide value)로 하였다(1-17). 이때 POV는 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{POV (meq/kg)} = \frac{[(\text{Tv}-\text{Bv}) \times 0.01 \times 1000 \times \text{F}]}{\text{시료량}}$$

Tv : sample 적정에 소비된 0.01N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량 (mL)

Bv : 대두유 적정에 소비된 0.01N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량

F : Na₂S₂O₃ 용액의 역가

(2) TBA가

기질용액은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic acid를 0.03 M이 되도록 첨가하였다. 이 기질용액 2.5 mL에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 2.4 mL, 0.05%(w/v)의 각 조건별 매실과육 추출물을 0.1 mL 첨가하여 반응액을 조성한 후 반응액 2.0 mL에 35% trichloroacetic acid 1.0 mL와 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 95°C 수욕상에서 40분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 acetic acid 1.0 mL, chloroform 2.0 mL를 가하여 진탕시킨 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBA값은 시료 첨가군의 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로부터 다음과 같이 계산하였다(1-18).

$$\text{TBA (\%)} = (A-B)/A \times 100$$

A: 대조구 (물 첨가군의 흡광도)

B : 시료 첨가군의 흡광도

(3) 전자공여능 (Electron donating ability)

전자공여능은 Blois의 방법(1-19)을 변형하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 전자공여효과로 나타나는 시료의 환원력을 측정하였다. 시료를 에탄올에 녹여 일정농도로 조제한 후 이를 시료 용액으로 0.1 mL에 0.4 mM DPPH용액 2mL를 넣고 교반한 후 30분간 실온의 암소에서 방치한 다음 spectrophotometer 517 nm에서 흡광도를 측정하였고 아래의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{전자공여능 (\%)} = (1-\text{시료첨가구의 흡광도}/\text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

10. 통계분석

모든 실험은 3회 반복측정하여 수행하였다. 실험 결과는 평균치로 나타내었고, 시료간의 유의성 검정은 SAS (Statistical Analysis system) program (20)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

Table 1-1. Specifications and operating conditions for instrumental analysis

HPLC for free sugars analysis.

Instrument	Young-In HPLC 9500 system
Column	RNM carbohydrate
Detector	Shimazu RID-6A
Mobile phase	water
Flow rate	0.6 mL/min
Injection volume	20 μ L
Range	8×10^{-6}
Temperature	75°C

GC for volatile organic acid analysis.

Instrument	Simazdu GC 8A
Detector	FID
Oven temperature	150°C
Column material	10% PEG 6,000
Injector temperature	200°C
Carrier gas	N ₂ (40 mL/min)
Column size	3 mm×1 m(stainless)

GC for non-volatile organic acid analysis

Instrument	DS 6200(Donam systems Inc.)
Column	DB-Waxter(0.53×30m)
Oven temperature	60°C (1)-10°C/min-220°C (5)
Detector	FID
Injector temperature	230°C
Carrier gas	N ₂ (2 mL/min)
Injection volume	2 μ L

Amino acid analyzer

Instrument	Bio chrom 20 amino acid analyzer
Flow rate	Buffer 35 mL/hr, ninhydrin 25 mL/hr
Wavelength	440 nm, 570 nm
Injection volume	20 μ L
Column length	4.6 mm×250 mm
Buffer solution	pH3.2-pH4.25-pH6.45, sodium citrate
Temperature	35°C -74°C -80°C -37°C

제 3 항 연구개발의 결과 및 고찰

1. 원료형태별 냉동 청매실의 일반성분

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 수분, 가용성 고형분 및 회분의 함량을 6개월 간격으로 조사한 결과는 Table 1-2에서와 같다. 수분은 저장기간 동안 91.1 ~ 91.2%으로 나타났으며 저장기간과 원료형태에 따른 유의적인 차이는 발견할 수 없었다. 가용성 고형분의 함량은 원료형태, 저장기간에 차이없이 5.9 ~ 6.0%로 나타났으며, 0.6%로 나타난 회분 함량도 역시 원료의 형태에 따른 차이는 아주 미비한 것으로 조사되었다.

2. 원료형태별 냉동 청매실의 pH

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 pH를 매 6개월 간격으로 조사한 결과 Fig. 1-1에서와 같다. 신선한 매실의 pH는 2.91로 나타났으며, 6개월동안 저장한 매실의 pH는 2.91 ~ 2.98의 범위로 매실의 냉동형태에 따른 유의적인 차이는 발견할 수 없었다. 하지만 냉동기간이 길어짐에 따라 매실의 pH는 약간이나마 상승하는 경향을 확인할 수 있었다. 즉 냉동 18개월 후에는 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실의 pH가 각각 3.21 ± 0.2 와 3.29 ± 0.2 를 나타내었다. 이는 원형 그대로의 매실이 저장 18개월째 3.05 ± 0.1 의 pH를 나타낸 것과 비교해 0.2정도 상승한 결과로써 이러한 변화의 원인을 규명하기 위해서는 차후 저온성 세균수와 유기산 및 유리당 등 각종 성분변화를 확인할 필요가 있을 것으로 사료된다

Table 1-2. Changes in chemical composition of frozen mume fruits

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Mume		
		6	12	18
Moisture	91.2±0.2	91.2±0.2	91.1±0.2	91.1±0.2
Soluble solids	6.0±0.1	5.9±0.1	5.9±0.1	5.9±0.1
Ash	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Seedless mume		
		6	12	18
Moisture	91.2±0.2	91.1±0.2	91.1±0.2	91.0±0.2
Soluble solids	6.0±0.1	6.0±0.1	6.0±0.1	6.0±0.1
Ash	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Minced mume		
		6	12	18
Moisture	91.2±0.2	91.1±0.2	91.0±0.2	91.0±0.2
Soluble solids	6.0±0.1	6.0±0.1	6.0±0.1	6.0±0.1
Ash	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0

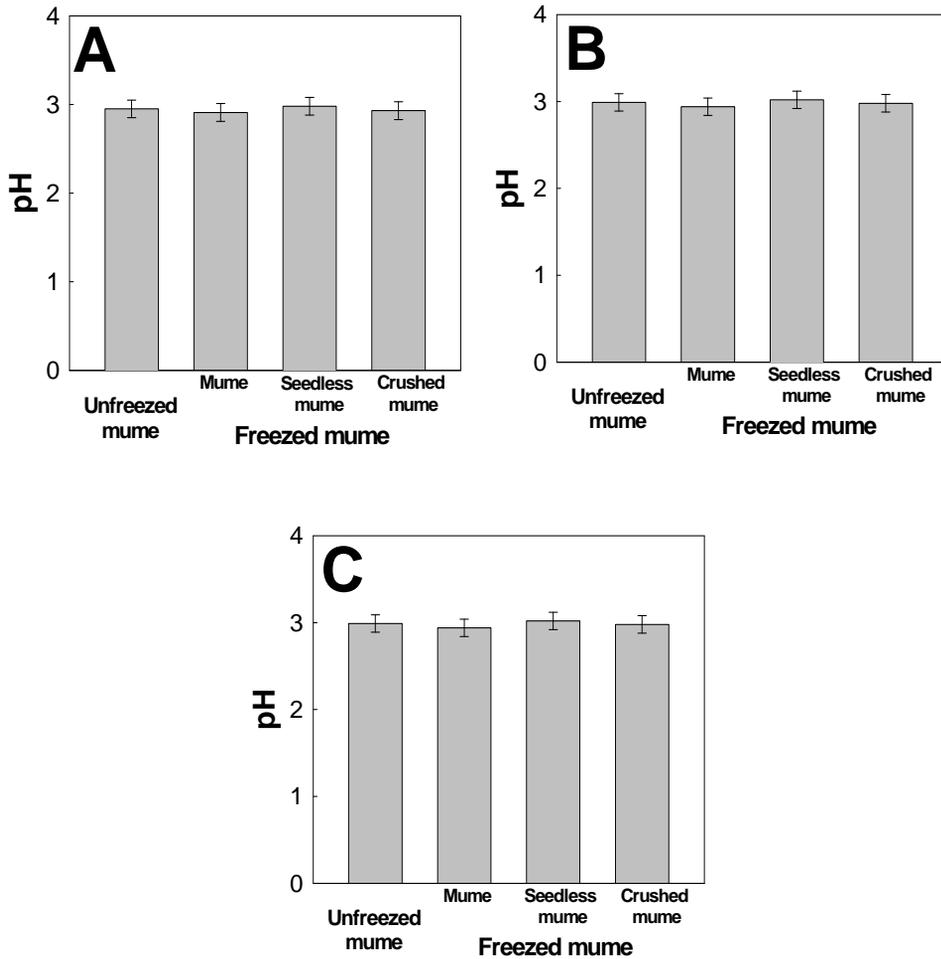


Fig. 1-2. pH of mume fruit during freeze storage at -70°C according to the shape

A; pH of refrigerated for 6 month according to the shape, B; pH of refrigerated for 12 month according to the shape, C; pH of refrigerated for 18 month according to the shape

3. 원료형태별 냉동 청매실의 색도변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 색도를 매 6개월 간격으로 조사한 결과 중 초기 6개월의 결과는 Fig. 1-2 ~ 1-5에서와 같다. 모든 저장구에서 큰 변화는 없는 것으로 관찰되었으나, 미약하나마 씨를 제거한 매실과 씨를 제거한 후 분쇄한 매실에서는 L, a, b값 모두에 변화가 일어났으며, 씨를 제거하지 않은 냉동매실과 약간의 차이를 보였다. L값은 흑색의 0에서 백색의 100까지의 범위를 갖는 것으로 신선한 매실의 L값은 30.4를 나타내었다. 6개월간 냉동한 후 microwave oven에서 급속 해동한 매실의 L값은 30.1 ~ 30.4 사이의 값을 나타내었으며, 원료형태에 따른 유의적인 차이는 발견할 수 없었다. 하지만 냉동 저장 12개월째 부터는 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실의 L값이 각각 29.1 ± 0.5 와 28.7 ± 0.4 로 원형그대로의 매실(30.2 ± 0.1)에 비해 어두워지는 것을 확인할 수 있었다. 냉동 18개월째는 원형그대로 저장한 매실의 L값도 약간 떨어졌으며, 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실의 L값은 27.9 ± 0.5 와 27.7 ± 0.7 로 상당한 차이를 보이는 것으로 확인되었다.

a값은 녹색의 -80에서 적색의 +100까지의 범위를 가지는 것으로 신선한 매실의 a 값은 -4.5를 나타내었다. 6개월 동안 저장한 매실의 a값은 -3.7 ~ -4.5사이의 값을 나타내었으며, 원형그대로의 매실의 a값은 -4.1, 씨를 뺀 매실과 씨를 뺀 후 분쇄한 매실의 a값은 각각 3.7 ± 0.1 과 3.8 ± 0.1 을 나타내어 조금이나마 적색에 가까워짐을 확인할 수 있었다. 저장12개월째와 18개월째에도 이러한 변화의 패턴이 지속되어 18개월째에는 씨를 뺀 매실의 경우 -3.5 ± 0.2 , 분쇄한 매실의 경우 -3.3 ± 0.2 를 나타내었다. 즉 a값을 기준으로 보면 냉동매실은 저장기간이 지남에 따라 점차 적색에 가까워지며, 원료형태는 원형그대로 저장하는 것이 신선한 매실의 색도에 좀 더 가까운 상태로 보존될 수 있다는 것을 의미한다.

b값은 황색이 진해질수록 0에서 +70으로 증가하는데 신선한 매실의 b값은 8.2를 나타내었다. 6개월간 -70°C 에서 저장한 매실의 b값은 원료의 형태에 관계없이 모두 8.2~8.4 사이의 값을 나타내어 형태에 따른 유의적인 차이를 발견할 수 없었으나, 저장 12개월째와 18개월째의 냉동매실은 형태에 따른 차이가 6개월째 보다는 크게 나타났다. 하지만 결과들 사이의 유의적인 차이는 역시 발견할 수 없었다.

ΔT 값은 신선한 매실이 31.8을 나타내었으며, 냉동 6개월째의 매실은 원료의 형태에 관계없이 31.0 ~ 31.9사이의 값을 나타내었다. 냉동 18개월째의 ΔT 값은 원형그대로 저장한 매실

은 31.48 ± 0.2 를 나타내었으며, 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실은 각각 30.16 ± 0.4 와 29.34 ± 0.4 를 나타내었다.

청매실의 숙성의 색도에서 일차적으로 구별할 수 있으므로, 색도값에 대한 결과는 매실의 성숙도 및 신선도를 측정하는데 매우 중요한 기준이 될 수 있다. 결과적으로 L, a, b 및 ΔT 값 모두 원형 그대로 저장한 냉동매실이 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실에 비해 신선한 매실의 색도에 가까운 것을 확인할 수 있었으며, 차후 대량 저장시 매실의 저장형태는 색도를 기준으로 고려할 경우 원형 그대로 저장하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

4. 원료형태별 냉동 청매실의 유리당 함량 변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 유리당의 함량을 조사한 결과 중 초기 6개월의 결과는 Table 1-3 ~ Table 1-5에서와 같다. 유리당은 fructose, glucose, maltose 및 sucrose 등 4가지가 측정되었으며, 유리당의 종류별로 보면 glucose가 가장 많이 검출되었고 maltose, fructose, sucrose의 순으로 나타났다. 신선한 매실의 경우 총유리당 함량은 426.6 mg%를 나타내었으며, -70°C 에서 6개월간 냉동저장한 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 409.8 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 412.7 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 413.8 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 3.0-3.9% 정도의 유리당 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 원료 형태에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. 원형 그대로 저장한 매실의 경우, 12개월간 냉동저장한 매실의 유리당 함량은 378.9 mg%로 신선한 매실에 비해 88.8%가 유지되고 있었고 18개월간 냉동저장한 매실은 362.2 mg%로 신선한 매실에 비해 84.9%가 남아 있는 것으로 확인되었다. 반면 씨를 뺀 매실의 경우 저장 12개월째와 18개월째에 각각 394.6 mg% (92.5%)와 373.0 mg% (87.4%)가 검출되어 가장 유리당의 보전이 좋은 것을 확인할 수 있었다. 씨를 뺀 후 분쇄한 매실의 저장 18개월째의 유리당 함량은 371.2 mg%로 신선한 매실에 비해 87.0%가 검출되었

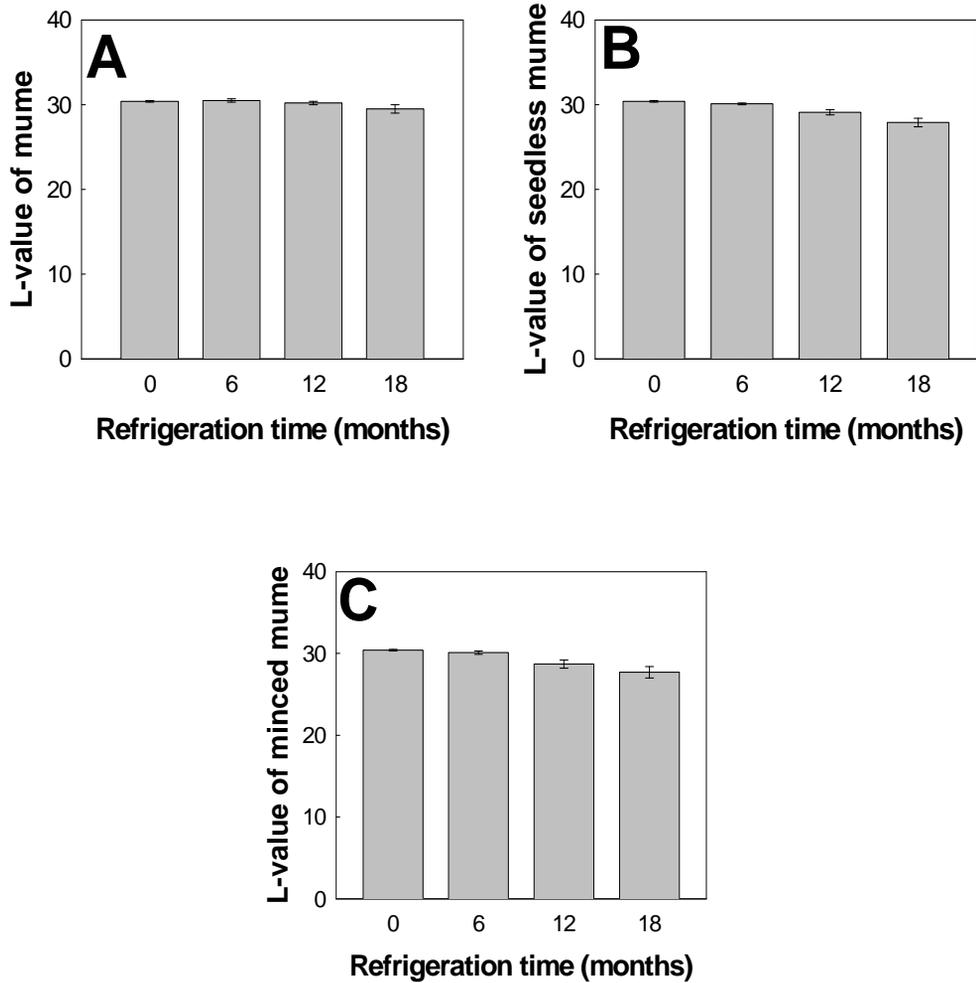


Fig. 1-2. L-value of mume fruit of freeze storage at -70°C according to the shape. A: mume fruit, B: seedless mume fruit, C: minced mume fruit

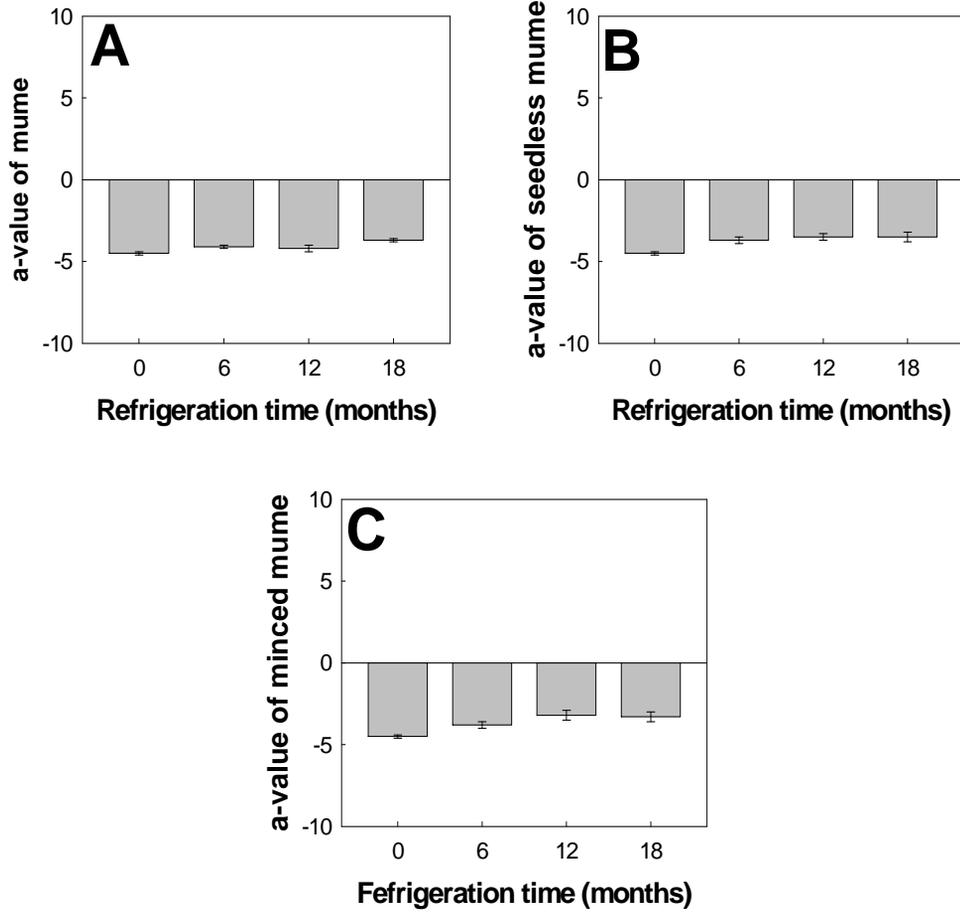


Fig. 1-3. a-value of mume fruit of freeze storage at -70°C according to the shape. A: mume fruit, B: seedless mume fruit, C: minced mume fruit

L-value, B: a-value, C: b-value, D: $\Delta T (\sqrt{L^2+a^2+b^2})$

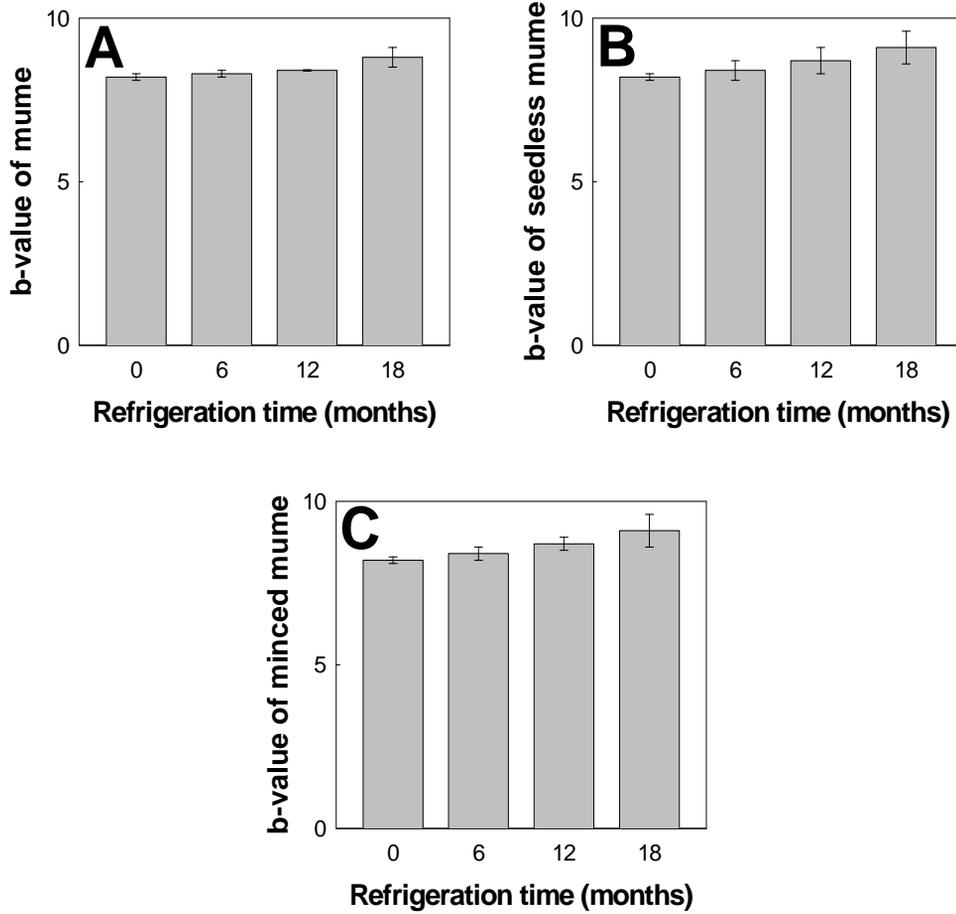


Fig. 1-4. b-value of mume fruit of freeze storage at -70°C according to the shape. A: mume fruit, B: seedless mume fruit, C: minced mume fruit

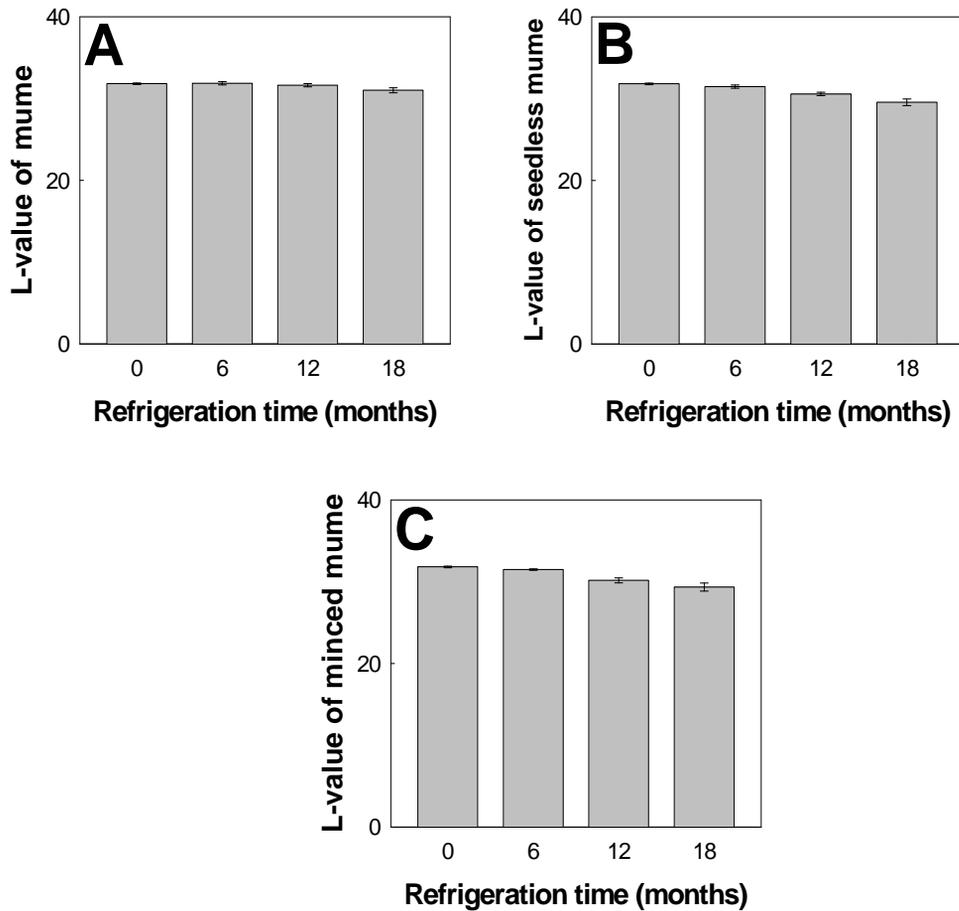


Fig. 1-5. ΔT ($\sqrt{L^2+a^2+b^2}$) value of mume fruit of freeze storage at -70°C according to the shape. A: mume fruit, B: seedless mume fruit, C: minced mume fruit

Table 1-3. Changes in free sugar contents of Mume fruit during storage at -70°C according to the shape [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Fructose	57.7	55.2(95.7)	54.0(93.6)	53.6(92.9)
Glucose	229.3	218.1(95.1)	200.5(87.4)	196.4(85.7)
Maltose	89.5	86.6(96.8)	79.3(88.6)	71.2(79.6)
Sucrose	50.1	49.9(99.6)	45.1(90.0)	41.0(81.8)
Total	426.6	409.8(96.1)	378.9(88.8)	362.2(84.9)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-4. Changes in free sugar contents of seedless mume fruit during storage at -70°C according to the shape [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Fructose	57.7	54.6(94.6)	54.2(93.9)	51.0(88.4)
Glucose	229.3	221.5(96.6)	214.3(93.5)	206.1(89.9)
Maltose	89.5	86.9(97.1)	82.5(92.2)	73.7(82.3)
Sucrose	50.1	49.7(99.2)	43.6(87.0)	42.2(84.2)
Total	426.6	412.7(96.7)	394.6(92.5)	373.0(87.4)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-5. Changes in free sugar contents of minced mume fruit during storage at -70°C according to the shape [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Fructose	57.7	55.7(94.8)	56.9(98.6)	50.7(87.9)
Glucose	229.3	222.6(97.1)	210.1(91.6)	203.9(88.9)
Maltose	89.5	87.1(97.3)	79.7(89.1)	75.8(84.7)
Sucrose	50.1	49.4(98.6)	42.1(84.0)	40.8(81.4)
Total	426.6	413.8(97.0)	388.8(91.1)	371.2(87.0)

Numbers in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

5. 원료형태별 냉동 청매실의 유기산 함량 변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C에서 18개월간 냉동하면서 유기산의 함량을 조사한 결과 중 초기 6개월의 결과는 Table 1-6 ~ Table 1-8에서와 같다. 유기산은 malic acid, citric acid, succinic acid, formic acid 및 oxalic acid 등 5가지가 검출되었으며, 함량별로 보면 citric acid가 가장 많이 검출되었고 malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순으로 확인되었다. 신선한 매실의 경우 총 유기산 함량은 5,297.2 mg%를 나타내었다. 6개월 동안 -70°C에서 저장한 매실의 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 5,174.1 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 5,173.37 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 5,166.1 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 2.3-2.5% 정도의 유기산 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 원료 형태에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. 12개월 동안 -70°C에서 저장한 매실의 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 4,549.8 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 4,433.2 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 4,400.3 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 12.7 ~ 16.3% 정도의 유기산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 18개월 동안 -7

0℃에서 저장한 매실의 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 4,364.3 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 4,239.7 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 4,207.5 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 15.7-21.6% 정도의 유기산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 저장기간에 따른 유기산 함량은 저장 6개월에서 12개월 사이에 가장 많은 손실이 일어나는 것으로 확인되었으며, 매실 냉동저장의 목적은 이듬해에 수확할 시기까지 신선한 매실에 가장 근접한 상태로 저장하는 것이므로 유기산 함량을 보전하기 위한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Table 1-6. Changes in organic acid contents of mume fruit during storage at -70℃
[unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfreezed mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Malic	2,487.6	2,202.3(96.6)	2,099.1(84.4)	2,034.7(81.8)
Citric	2,507.1	2,289.1(99.3)	2,184.3(95.4)	2,077.2(82.9)
Succinic	75.8	63.9(97.5)	64.1(84.6)	59.9(79.0)
Formic	149.0	134.2(90.1)	128.4(86.2)	121.5(81.5)
Oxalic	77.7	74.6(96.0)	73.9(95.1)	71.0(91.4)
Total	5,297.2	5,174.1(97.7)	4,549.8(87.9)	4,364.3(84.3)

Each Mume was refrigerated at -70℃

Numbers in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-7. Changes in organic acid contents of seedless mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Malic	2,487.6	2,426.1(97.5)	2,073.9(83.4)	1,997.6(80.3)
Citric	2,507.1	2,459.5(98.1)	2,107.6(84.1)	2,002.5(79.9)
Succinic	75.8	73.8(97.4)	61.5(81.1)	58.4(77.0)
Formic	149.0	137.4(92.2)	119.7(80.3)	112.8(75.7)
Oxalic	77.7	76.5(98.5)	70.5(90.7)	68.4(88.0)
Total	5,297.2	5,173.3(97.7)	4,433.2(83.7)	4,239.7(80.0)

Each mume was frozen at -70°C

Numbers in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-8. Changes in organic acid contents of minced mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Malic	2,487.6	2,395.6(96.3)	2,057.9	1,990.1
Citric	2,507.1	2,485.1(99.1)	2,099.6	1,991.7
Succinic	75.8	73.4(96.8)	59.6	54.4
Formic	149.0	136.1(91.3)	114.5	108.7
Oxalic	77.7	75.9(97.7)	68.7	62.6
Total	5,297.2	5,166.1(97.5)	4,400.3(83.1)	4,207.5(79.4)

Each mume was frozen at -70°C

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

6. 원료형태별 냉동 청매실의 유리아미노산 함량 변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 유리아미노산 함량의 변화를 조사한 결과 중 초기 6개월의 결과는 Table 1-9 ~ Table 1-11에서와 같다. 유리아미노산은 aspartic acid를 비롯하여 총 17종이 검출되었으며, 이를 함량별로 보면 asparagine이 전체 아미노산 함량의 75.5 ~ 76.4%를 차지하여 가장 많이 검출되었고 arginine과 aspartic acid의 순으로 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 신선한 매실의 경우 총 유리 아미노산 함량은 281.4 mg%를 나타내었다. 6개월 동안 -70°C 에서 저장한 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 271.8 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 275.7 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 275.4 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 2.0 ~ 3.4% 정도의 유리아미노산 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 원형그대로 냉동한 매실의 유리아미노산 손실이 씨를 뺀 상태로 저장한 매실과 분쇄하여 저장한 매실에 비해 조금 많은 것으로 확인되었다. 12개월동안 -70°C 에서 저장한 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 263.2 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 238.5 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 250.3 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 6.5 ~ 15.4% 정도의 유리아미노산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 원료형태에 따라 비교할 경우, 원형그대로 냉동한 매실의 유리아미노산 손실이 씨를 뺀 상태로 저장한 매실과 분쇄하여 저장한 매실에 비해 상당히 적은 것으로 확인되었으며, 이는 6개월동안 저장한 매실의 유리아미노산 함량과는 반대되는 결과이다. 18개월 동안 -70°C 에서 저장한 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 236.8 mg%, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 231.0 mg%, 분쇄하여 저장한 매실은 210.1 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 15.8 ~ 25.3% 정도의 유리아미노산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 원료형태에 따라 비교할 경우, 원형그대로 냉동한 매실의 유리아미노산 손실이 씨를 뺀 상태로 저장한 매실과 분쇄하여 저장한 매실에 비해 조금 상당히 적은 것으로 확인되었다.

유리아미노산의 경우 유리당과 유기산에 비해 저장에 따른 손실량이 비교적 많은 것으로 나타났으며, 특히 12개월이 지난 시점에서는 모든 시험구에서 10% 이상의 손실이 발생하여 이를 방지하기 위한 시도가 절실히 요구되어 진다. 이에 따라 본 연구진은 향후 포장 방법과 매실의 전처리 등 다양한 방법을 동원하여 냉동저장에 따른 매실의 맛성분 보전을 위한 연구를 지속할 것이다.

Table 1-9. Changes in free amino acid contents of mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Aspartic acid	13.5	13.3(98.5)	12.6(99.3)	12.8(94.8)
Glutamic acid	7.9	7.5(94.9)	7.1(89.9)	6.6(83.5)
Asparagine	212.4	205.6(96.8)	200.3(94.3)	176.4(83.1)
Glycine	5.1	4.6(90.2)	4.4(86.3)	4.1(80.4)
Histidine	2.5	2.2(88.0)	2.3(92.0)	1.9(76.0)
Arginine	19.3	19.3(100.0)	18.6(96.4)	17.1(88.6)
Threonine	1.9	1.7(89.5)	1.6(84.2)	1.8(94.7)
Alanine	7.7	7.2(93.5)	6.1(79.2)	6.4(83.1)
Proline	2.2	2.0(90.9)	2.0(90.9)	2.0(90.9)
Tyrosine	1.3	1.2(92.3)	1.1(84.6)	1.3(100.0)
valine	1.7	1.6(94.1)	1.5(88.2)	1.4(82.4)
Metionine	1.0	1.0(100.0)	0.9(90.0)	0.9(90.0)
Cystein	1.8	1.8(100.0)	1.9(105.6)	1.6(88.9)
Isoleucine	0.5	0.5(100.0)	0.6(120.0)	0.4(80.0)
Leucine	0.8	0.7(87.5)	0.7(87.5)	0.6(75.0)
Phenylalanine	1.4	1.2(85.7)	1.1(78.6)	1.1(78.6)
Lysine	0.4	0.4(100.0)	0.4(100.0)	0.4(100.0)
Total	281.4	271.8(96.6)	263.2(93.5)	236.8(84.2)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-10. Changes in free amino acid contents of seedless mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Aspartic acid	13.5	13.3(98.5)	12.6(93.3)	11.8(87.4)
Glutamic acid	7.9	7.7(97.5)	7.5(94.9)	7.0(88.6)
Asparagine	212.4	210.1(98.9)	175.1(82.4)	159.9(75.3)
Glycine	5.1	4.6(90.2)	5.0(98.0)	4.7(92.2)
Histidine	2.5	2.1(84.0)	2.3(92.0)	1.9(76.0)
Arginine	19.3	19.1(99.0)	18.5(95.9)	18.6(96.4)
Threonine	1.9	1.7(89.5)	1.8(94.7)	1.6(84.2)
Alanine	7.7	7.2(93.5)	7.0(90.9)	6.5(84.4)
Proline	2.2	2.0(90.9)	2.0(90.9)	2.1(95.5)
Tyrosine	1.3	1.1(84.6)	1.3(100.0)	1.2(92.3)
valine	1.7	1.5(93.8)	1.3(76.5)	1.4(82.4)
Metionine	1.0	1.0(100.0)	1.0(100.0)	1.0(100.0)
Cystein	1.8	1.7(94.4)	0.5(27.8)	10.7(594.4)
Isoleucine	0.5	0.4(80.0)	0.4(80.0)	0.3(60.0)
Leucine	0.8	0.8(100.0)	0.6(75.0)	0.8(100.0)
Phenylalanine	1.4	1.0(71.4)	1.3(92.9)	1.1(78.6)
Lysine	0.4	0.4(100.0)	0.3(75.0)	0.4(100.0)
Total	281.4	275.7(98.0)	238.5(84.6)	231.0(82.1)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 1-11. Changes in free amino acid contents of minced mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Aspartic acid	13.5	13.4(99.3)	12.1(89.6)	12.0(88.9)
Glutamic acid	7.9	7.6(96.2)	7.5(94.9)	7.2(91.1)
Asparagine	212.4	209.1(98.4)	186.7(87.9)	150.9(71.0)
Glycine	5.1	4.5(88.2)	4.6(90.2)	3.9(76.5)
Histidine	2.5	2.3(92.0)	2.1(84.0)	2.2(88.0)
Arginine	19.3	19.5(101.0)	18.7(96.9)	15.9(82.4)
Threonine	1.9	1.7(89.5)	1.7(89.5)	1.5(78.9)
Alanine	7.7	7.0(90.9)	7.2(93.5)	7.2(93.5)
Proline	2.2	2.0(90.9)	2.3(104.5)	2.1(95.5)
Tyrosine	1.3	1.1(84.6)	1.0(76.9)	1.1(84.6)
valine	1.7	1.6(94.1)	1.4(82.4)	1.3(76.5)
Metionine	1.0	1.0(100.0)	1.0(100.0)	0.9(90.0)
Cystein	1.8	1.8(100.0)	1.6(88.9)	1.7(94.4)
Isoleucine	0.5	0.5(100.0)	0.4(80.0)	0.3(60.0)
Leucine	0.8	0.8(100.0)	0.6(75.0)	0.7(87.5)
Phenylalanine	1.4	1.1(78.6)	1.1(78.6)	0.9(64.3)
Lysine	0.4	0.4(100.0)	0.3(75.0)	0.3(75.0)
Total	281.4	275.4(97.9)	250.3(89.0)	210.1(74.7)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

7. 원료형태별 냉동 청매실의 ascorbic acid 함량 변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 ascorbic acid의 함량을 조사한 결과는 Fig. 1-6에서와 같다. 신선한 매실의 경우 ascorbic acid 함량은 62.1 ± 1.0 ppm을 나타내었다. 저장시간에 따른 매실의 ascorbic acid 함량은 원료의 형태에 관계없이 저장기간이 지남에 따라 점차 감소함을 확인할 수 있었으며, 감소속도도 빨라짐을 확인할 수 있었다.

원료형태에 따른 매실의 ascorbic acid의 손실정도를 비교하면 6개월 저장한 매실의 경우, 원형 그대로 냉동한 매실은 59.3 ± 1.1 ppm, 씨를 뺀 상태로 저장한 매실은 59.0 ± 0.9 ppm, 분쇄하여 저장한 매실은 61.2 ± 0.7 ppm을 나타내어 신선한 매실에 비해 1.4 ~ 5.0% 정도의 ascorbic acid 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 분쇄하여 저장한 매실의 ascorbic acid 손실이 가장 적은 것으로 조사되었다. 하지만, 12개월 동안 저장한 매실의 ascorbic acid는 원형그대로 냉동한 매실의 경우 50.3 ppm으로 신선한 매실에 비해 91.3% 정도를 유지한 반면, 씨를 뺀 매실과 분쇄하여 저장한 매실의 경우 각각 55.3 ppm (89.0%) 과 53.7 ppm (86.5%)으로 나타나 원형 그대로 냉동한 매실에 비해 ascorbic acid의 파괴량이 많아지는 것을 알 수 있었다. 18개월 동안 냉동한 매실에서도 역시 원형 그대로 냉동한 매실은 50.3 ppm으로 81.0%의 ascorbic acid 함량을 나타낸 반면 씨를 뺀 매실과 분쇄하여 저장한 매실의 경우 48.7 ppm (78.4%)과 48.1 ppm (77.5%)을 나타내어 원형그대로 저장한 경우가 가장 vitamin C의 보존성이 좋은 것을 확인할 수 있었다.

따라서, 향후 매실의 대량 냉동저장은 원형그대로 저장하는 것이 ascorbic acid의 보전에 가장 유리할 것으로 판단되며, 같은 저장온도에서도 ascorbic acid를 보다 더 보전할 수 있는 다양한 방법이 연구되어야 할 것으로 판단된다.

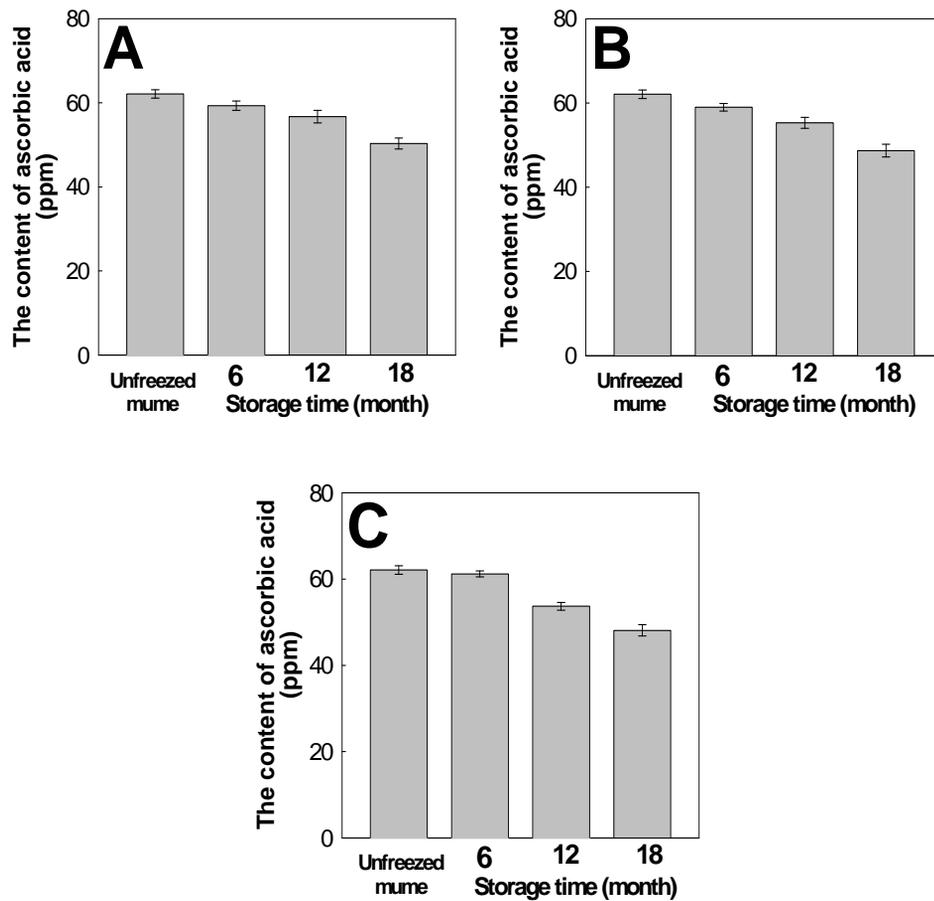


Fig. 1-6. Changes in the content of ascorbic acid of mume fruit during storage at -70°C according to the shape

A; The original form of mume, B; seedless mume, C; minced mume

8. 원료형태별 냉동 청매실의 관능적 특성 변화

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동하면서 관능적 특성을 조사한 결과는 Table 1-12 ~ 1-14에서와 같다. 신선한 청매실과의 비교에서는 3가지 형태의 원료로 냉동한 매실 모두가 저장기간이 지남에 따라 선호도가 떨어지는 것으로 확인되었으며, 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실을 18개월 동안 저장하였을 경우에는 5%유의수준에서 차이를 나타내었다. 하지만, 그 외의 경우는 유의적인 차이를 보이지는 못하였다. 또한, 신선한 매실과 6개월 동안 저장한 매실의 선호도 차이가 저장기간이 지남에 따른 차이보다 크게 나타났는데 이는 냉동과 해동과정 중에서 나타나는 관능적 특성의 변화가 저장기간에 따른 변화보다 크다는 것을 의미한다.

원료의 형태에 따른 관능적 특성의 차이는 색깔과 냄새 및 종합적 기호도 모두 저장 기간에 걸쳐 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다. 이러한 결과도 역시 원료의 형태 또는 저장기간에 비해 냉동과정과 해동과정에서 일어나는 관능적 특성의 변화가 크기 때문인 것으로 판단된다.

Table 1-12. Sensory evaluation of mume fruit during storage at -70°C according to the shape

Sensory score	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Color	6.3±1.2 ^a	5.6±1.0 ^a	5.3±1.1 ^a	5.2±0.9 ^a
Odor	6.7±1.2 ^a	5.9±0.7 ^a	5.5±0.7 ^a	5.5±1.0 ^a
Overall	6.4±1.3 ^a	5.7±0.8 ^a	5.8±0.8 ^a	5.4±0.7 ^a

1) 9: like extremely, 1: unlike extremely

2) a,b: different letters within the same row indicate significant difference ($p < 0.05$)

Table 1-13. Sensory evaluation of seedless mume fruit during storage at -70°C according to the shape

Sensory score	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Color	6.3±1.2 ^a	5.8±0.7 ^a	5.6±0.5 ^a	5.4±1.0 ^a
Odor	6.7±1.2 ^a	6.1±0.9 ^{ab}	5.8±1.0 ^{ab}	5.1±0.6 ^b
Overall	6.4±1.3 ^a	5.7±0.7 ^a	5.6±0.8 ^a	5.5±1.1 ^a

1) 9: like extremely, 1: unlike extremely

2) a,b: different letters within the same row indicate significant difference ($p < 0.05$)

Table 1-14. Sensory evaluation of minced mume fruit during storage at -70°C according to the shape

Sensory score	Unfrozen mume	Storage time (month)		
		6	12	18
Color	6.3±1.2 ^a	5.9±1.1 ^a	5.9±0.6 ^a	5.6±0.9 ^a
Odor	6.7±1.2 ^a	5.8±0.8 ^{ab}	5.7±0.8 ^{ab}	5.3±0.7 ^b
Overall	6.4±1.3 ^a	5.6±0.9 ^a	5.7±0.6 ^a	5.5±0.9 ^a

1) 9: like extremely, 1: unlike extremely

2) a,b: different letters within the same row indicate significant difference ($p < 0.05$)

9. 항산화력

(1) 과산화물 (POV) 가

원료 형태별로 달리 처리한 청매실을 -70°C 에서 18개월간 냉동한 후 이를 microwave oven에서 해동하여 얻은 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물을 동결건조한 후 80°C 에서 물추출하여 감압농축한 시료를 이용하여 4주간 저장시 대두유의 산화에 미치는 영향을 과산화물가의 변화를 통해 측정된 결과는 Fig. 1-7에 나타내었다. 4주동안의 저장기간 동안 냉동전 원료의 형태에 따른 POV값은 비교적 차이는 크지 않았지만 씨를 뺀 후 분쇄한 매실 < 씨를 뺀 매실 < 원형 그대로 저장한 매실의 순으로 나와 원형 그대로 저장하는 것이 항산화활성의 보존에 유리할 것으로 판단된다. 저장기간에 따른 항산화 활성의 소실정도를 확인한 결과 시간에 정비례하여 활성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

황 등(1-21)은 매실과육과 매실즙의 항산화성을 비교한 결과 매실과즙 추출물의 항산화 활성이 매실과육 추출물에 비해 훨씬 높게 나타났으며, 이러한 결과는 매실의 기능성 물질이 극성이 높은 용매에 의해 추출되기 때문(1-22)에 매실 과즙으로 추출된 수용성 물질이 항산화 효과를 나타내기 때문인 것으로 보고하였다.

(2) TBA가

Linoleic acid를 기질로 하여 원료의 형태를 각각 달리하여 냉동한 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물, BHT 및 ascorbic acid를 동일한 농도로 첨가하여 상대적 산화억제 정도를 측정된 결과는 Fig. 1-8에 나타내었다. TBA가를 통해 항산화력을 측정된 결과 합성산화제인 BHT가 $42.6 \pm 0.7\%$ 로 가장 높은 값을 나타내었으며, ascorbic acid는 $30.3 \pm 0.56\%$ 로 나타났다. 신선한 매실 추출물의 TBA가는 $21.7 \pm 2.1\%$ 로 나타났으며, 모든 형태의 매실이 저장기간이 지남에 따라 항산화력이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 원형 그대로 냉동한 매실의 경우 12개월째에는 $20.7 \pm 2.9\%$ 를 나타내었고 18개월째에는 $18.6 \pm 2.7\%$ 를 나타내었다. 씨를 제거한 매실은 18개월째에 $16.8 \pm 3.9\%$ 를 나타내어 신선한 매실에 비해 77.9%의 활성밖에 가지지 못하는 것으로 나타났다. 또한, 분쇄한 매실의 TBA가는 $17.5 \pm 3.1\%$ 로 신선한 매실에 비해 80.6%의 활성을 가지는 것으로 나타났다.

원료형태를 원형그대로의 매실, 씨를 뺀 매실, 분쇄한 매실 등 세 가지로 달리하여 6개월 동안 -70°C 에서 저장한 매실(21.2 - 21.6%)과의 TBA가는 큰 차이를 보이지 않았다. 하지만 저장 12개월째와 18개월째는 형태에 따른 차이도 발견할 수 있었는데, 유의적인 차이는 없었으나 전반적으로 원형그대로 저장할 경우에 항산화력이 상대적으로 우수한 것으로 나타났다.

(3) 전자공여능 (Electron donating ability: EDA)

산소는 에너지 획득 반응의 말단에 관여하여 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 식품 중의 지질산화와 생체의 산화적 장애를 초래하는데, 항산화 물질은 superoxide 생성과정에서 oxidative free radical과 전자를 공여하여 oxidative free radical를 소거·분해하는 항산화 작용을 함으로써 전자공여능은 항산화력의 척도로 이용된다. 전자공여능 측정은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정되는데 DPPH는 분자내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있고 이 색차를 517 nm의 흡광도에서 비색 정량하여 전자공여능을 측정하였다. 신선한 매실, 원료의 형태를 달리하여 냉동한 매실, ascorbic acid 및 BHT의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 1-9에 나타내었다.

Ascorbic acid의 전자공여능은 $97.7 \pm 0.2\%$ 로 나타났고 BHT의 전자공여능은 $79.6 \pm 2.8\%$ 로 나타났다. 신선한 매실의 전자공여능은 $427. \pm 3.3\%$ 로 나타났다. 신선한 매실과 비교하였을 때 세 가지 원료처리를 달리하여 냉동한 매실은 저장 6개월째에는 모두 전자공여능에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 저장 12개월째에는 신선한 매실에서 $37.6 \pm 3.5\%$ 를 나타내어 6개월째에 비해 상당히 감소됨을 확인할 수 있었으며, 씨를 뺀 매실과 분쇄한 매실은 각각 $30.5 \pm 4.1\%$ 와 $30.1 \pm 3.9\%$ 를 나타내어 원형그대로 냉동한 매실에 비해 항산화 활성이 감소됨을 확인할 수 있었다. 저장 18개월째에는 원형그대로 냉동한 매실의 전자공여능이 $33.7 \pm 4.1\%$ 로 신선한 매실에 비해 78.9%의 활성을 나타내었고, 씨를 뺀 매실의 전자공여능은 $28.2 \pm 2.9\%$ 로 66.0%의 항산화활성을 나타내었다.

따라서 전자공여능을 고려하였을 때 매실의 저장형태는 원형그대로 냉동시키는 것이 가장 바람직할 것으로 사료된다.

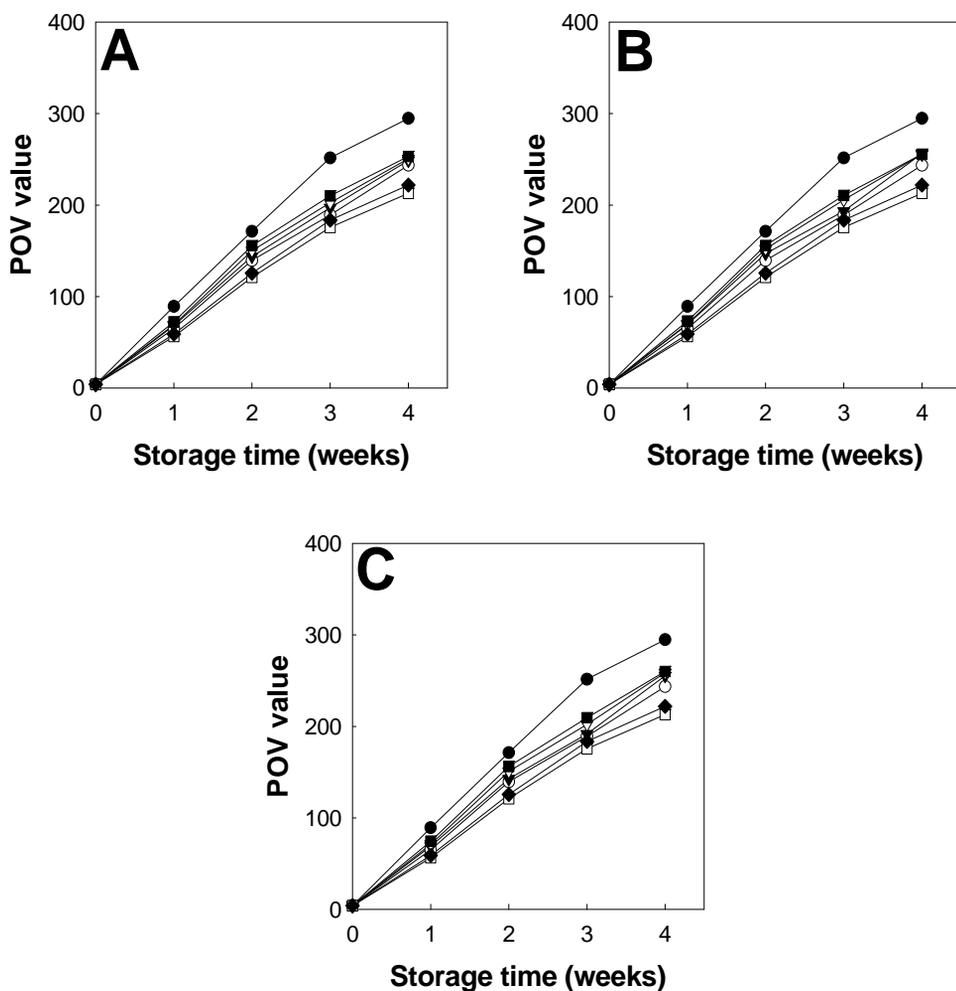


Fig. 1-7. Peroxide values in soybean oil substrates containing Mume fruit extracts and other antioxidants during storage at 60°C. ●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : Mume refrigerated at -70°C for 6 months, ▽-▽ : Mume refrigerated at -70°C for 12 months, ■-■ : Mume refrigerated at -70°C for 18 months, □-□ : BHT, ◆-◆ : ascorbic acid
 A; The original form of mume, B; seedless mume, C; minced mume

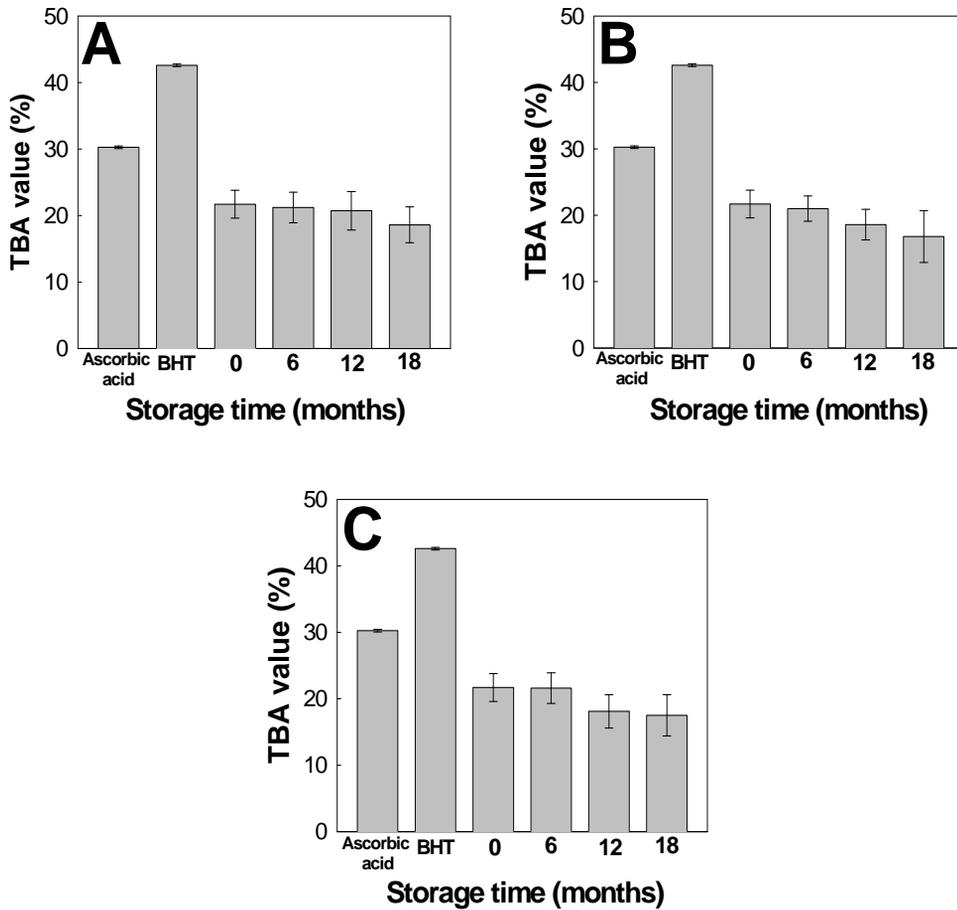


Fig. 1-8. TBA value of linoleic acid containing mume fruit during storage at -70°C according to the shape

A; The original form of mume, B; seedless mume, C; minced mume

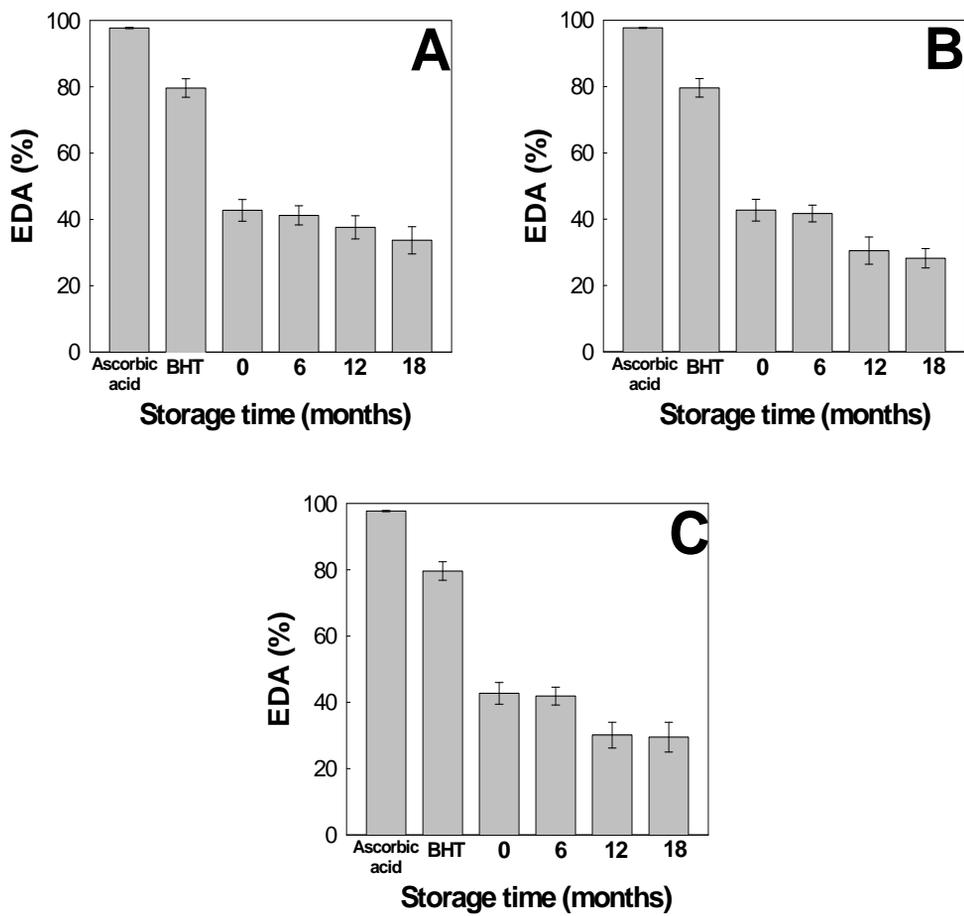


Fig. 1-9. Electron donating ability of mume fruit during storage at -70°C according to the shape

A; The original form of mume, B; seedless mume, C; minced mume

제 2 절 저장온도를 달리하여 저장한 청매실의 품질특성

제 1 항 서 론

매실은 바나나, 복숭아, 사과 등과 같이 수확 후 과도한 호흡열로 인하여 숙성이 빠르게 일어나는 climacteric 형 과실로써 수확 후 빠른 처리가 필요한 과실이다. 이러한 매실은 미숙과실의 형태인 청매실 상태에서 수확하여 즉시 가공처리를 하게 되며, 이 때 신속한 가공을 하지 못할 경우 단시간내에 후숙이 일어나고 에틸렌이 발생되어 색깔과 조직의 변화가 일어난다.

매실은 다른 과실과는 달리 가공용의 비율이 상대적으로 높은 과실이다. 과일 전체의 경우 생과 가공량은 5-11%에 못미치고 있으나 매실의 경우는 가공율이 35%에 달하고 있다.

최근 소비자들의 매실가공제품에 대한 인식이 높아지면서 수요가 증가함에 따라 매실가공식품의 종류도 매실음료, 매실주, 매실잼, 매실장아찌, 매실액기스 등 해마다 다양화되고 있으며 생산량도 급격히 증가하고 있다. 현재까지 매실을 생산하고 있는 업체는 본 (주) 송광매원을 비롯한 중소기업들이 대부분을 차지하고 있으나, 점차 생산량이 확대될 전망이다. 또한 본 업체를 비롯한 매실과 매실가공제품을 전문적으로 생산하고 있는 업체에서는 대부분 매실이 생산되는 4월에 노동력이 집중되어, 인력의 원활한 활용이 어려운 실정이다. 이를 극복하기 위해서는 청매실의 품질을 유지한 상태에서 이를 냉동저장한 후 연간 원료로 사용함으로써 노동력의 효율적인 활용과 생산성 향상 및 공장의 연중가동을 통한 원가절감 등의 효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

현재까지 본 업체가 확인한 매실에 관한 연구로는 매실을 이용한 다양한 가공식품개발에 관한 연구와 매실의 생리활성에 관한 연구가 주류를 이루고 있으며, 한국식품개발연구원에서 ‘청매실의 저장성 증진 및 새로운 가공기술 개발’에 관한 연구의 일환으로 매실을 냉장 저장하면서 품질의 변화를 살펴본 연구가 있다. 하지만, 매실의 냉동조건에 따른 냉동매실의 저장에 따른 품질의 변화를 확인한 연구·보고는 확인되지 않고 있다.

따라서, 본 연구에서는 매실의 냉동저장기술을 확립하기 위한 연구의 일환으로 청매실의 냉동온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 1년 동안 저장한 후 microwave oven에서 급속해동하여 각종 품질특성을 조사하였다.

제 2 항 연구개발의 재료 및 방법

제 1장 ‘청매실의 원료형태에 따른 심은 냉동시 품질변화’에 사용된 재료 및 방법과 동일한 방법을 사용하였으므로 생략하고자 합니다.

제 3 항 연구개발의 결과 및 고찰

1. 냉동 저장온도에 따른 냉동 청매실의 pH변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 pH를 조사한 결과는 Fig. 2-1에서와 같다. 냉동온도가 낮을수록 pH의 변화는 적은 것으로 확인되었으며, -70°C 에서 저장하는 것과 -20°C 및 -10°C 에서 저장하는 것은 본 실험에서 확인한 저장 1년까지의 변화에는 5% 신뢰수준에서 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다. 본 연구는 매실의 수확주기와 과제의 수행기간을 고려하여 1년 동안 냉동저장한 결과를 제시하였으나, 2년 후의 변화에 대하여는 예측하기가 매우 힘들었다. 또한 본 연구결과에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 수치의 차이는 명백하므로 매실의 냉동저장온도는 -70°C 에서 저장하는 것이 가장 유리할 것으로 판단되며, 비용적인 측면을 고려하더라도 -20°C 이하에서 저장하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. -5°C 에서 저장할 경우는 저장 1년 후에는 pH값이 3.4 ± 0.2 로 나타나 신선한 매실과 -70°C 에서 저장한 매실의 pH (2.9 ± 0.1)에 비해 0.5나 상승한 결과를 나타내어 냉동저장의 온도로는 적합하지 않음을 확인할 수 있었다.

2. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 색도변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 색도변화를 조사한 결과는 Fig. 2-2에서와 같다. 신선한 매실의 L값은 30.2 ± 0.1 로 나타났으며, -70°C 에서 저장한 매실의 L값은 30.0 ± 0.2 로 나타나 1년간 저장하여도 L값에는 큰 변화가 없음을 확인할 수 있었다. 하지만 그 이상의 온도에서는 온도가 상승할수록 L값이 유의적으로 낮아졌으며, -10°C 와 -5°C 에서 저장할 경우 L값

은 각각 26.9 ± 0.7 과 26.3 ± 0.6 으로 신선한 매실과는 상당한 차이를 보였다. a 값의 경우 신선한 매실은 -4.5 ± 0.1 을 나타내었으며, -70°C 에서 저장한 매실은 -4.2 ± 0.2 로 신선한 매실과는 유의적인 차이가 없었다. 하지만 -20°C , -10°C 및 -5°C 에서 저장한 매실은 각각 -3.5 ± 0.2 , -1.9 ± 0.5 및 0.2 ± 0.5 를 나타내어 신선한 매실과는 상당한 차이를 보였다. b 값의 경우도 -70°C 에서 저장한 매실은 신선한 매실의 b값과 오차범위 안에 있었으나 그 외의 온도에서는 점차 높아짐을 확인할 수 있었다. L, a, b값을 모두 고려한 ΔT 값은 신선한 매실이 31.8 ± 0.1 이었으며, -70°C 에서 저장한 매실은 31.6 ± 0.2 로 나타나 유의적인 차이가 없었다. 하지만 -20°C 에서 저장한 매실의 ΔT 값은 30.0 ± 0.3 으로 유의적인 차이를 보였으며, 저장온도가 높아질수록 그 차이는 명확하게 나타났다.

따라서, 색도를 기준으로 판단할 때 -70°C 에서 저장할 경우 신선한 매실과 거의 차이가 없는 상태로 보존할 수 있었으며, -20°C 에서 저장할 경우는 신선한 매실에 비해 약간 어두운 황색으로 변화됨을 확인할 수 있었다.

4. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 유리당 함량 변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 유리당 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 2-1에서와 같다.

유리당은 fructose, glucose, maltose 및 sucrose 등 4가지가 측정되었으며, 유리당의 종류별로 보면 glucose가 $207.2 \sim 230.6 \text{ mg}\%$ 로 가장 많이 검출되었고 maltose ($65.7 \sim 89.5 \text{ mg}\%$), fructose($48.7 \sim 57.7 \text{ mg}\%$), sucrose ($40.1 \sim 50.1 \text{ mg}\%$)의 순으로 나타났다. 신선한 매실의 경우 총 유리당 함량은 $426.6 \text{ mg}\%$ 를 나타내었으며, -70°C 에서 저장한 매실은 $409.3 \text{ mg}\%$ 로 신선한 매실에 비해 약 4.1%의 손실이 발생한 것으로 확인되었다. -20°C 에서 저장한 매실의 총 유리당 함량은 $396.6 \text{ mg}\%$ 로 신선한 매실의 약 93% 정도가 함유되어 있었으며, -10°C 에서 저장한 매실은 신선한 매실에 비해 87.3%정도 함유되어 있었다. -5°C 에서 저장한 매실의 경우 $372.2 \text{ mg}\%$ (신선한 매실의 87.2%)로 -10°C 에서 저장한 매실과 비교해 비슷한 유리당 함량을 나타냄을 확인할 수 있었으며, 특히 glucose의 함량이 $215.6 \text{ mg}\%$ 로 오히려 신선한 매실에 비해 많이 검출됨을 확인할 수 있었다. 이는 0°C 이하에서 생육 가능한 미생물의 작용에 의한 것일 가능성을 배제할 수 없으며, 향후 이에대한 연구가 진행될 필요가 있을 것으로 판단된다.

5. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 유기산 함량 변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 유기산 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 2-2에서와 같다.

유기산은 malic acid, citric acid, succinic acid, formic acid 및 oxalic acid 등 가지가 검출되었으며, 총 유기산의 함량은 $4,063.3 \sim 4,549.8 \text{ mg}\%$ 로 신선한 매실에 비해 $76.7 \sim 85.9\%$ 정도 함유된 것으로 나타났다. 유기산의 종류별로 보면, citric acid가 $2,023.8 \sim 2,184.3 \text{ mg}\%$ 로 가장 많이 검출되었으며, malic acid ($1,841.2 \sim 2,099.1 \text{ mg}\%$), formic acid ($92.8 \sim 128.4 \text{ mg}\%$) oxalic acid ($60.1 \sim 73.9 \text{ mg}\%$) 및 succinic acid ($45.4 \sim 64.1 \text{ mg}\%$)의 순이었다.

분석된 유기산중 냉동에 의해 가장 손실이 많은 것은 succinic acid로 -5°C 에서 저장할 경우 1년 후에는 신선한 매실에 비해 50%나 손실되는 것으로 확인되었다. 그 외의 유기산들도 -70°C 에서 저장할 경우 5.4-15.7%정도 손실되었으며, -5°C 에서 저장할 경우 19.3 ~ 49.1%정도 손실되는 것으로 나타났다. 저장온도에 따른 유기산의 손실은 온도가 낮을 수록 손실이 적은 것으로 나타나 매실의 품질만을 고려한다면 -70°C 에서 저장하는 것이 가장 좋을 것으로 판단된다.

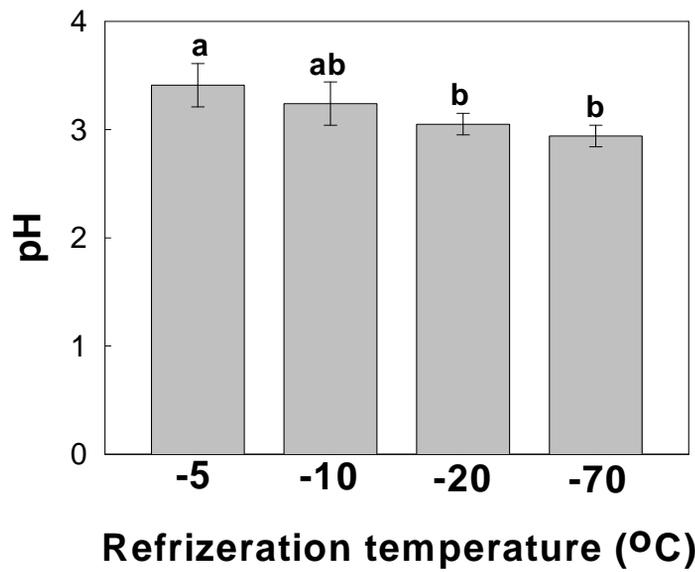


Fig. 2-1. pH of the frozen mume fruit by the refrigeration temperature.

Mume fruit was preserved for 12 months in the Refrigerator in which temperature was diversified to -5, -10, -20 and -70°C.

The pH of fresh mume was 2.91 ± 0.1

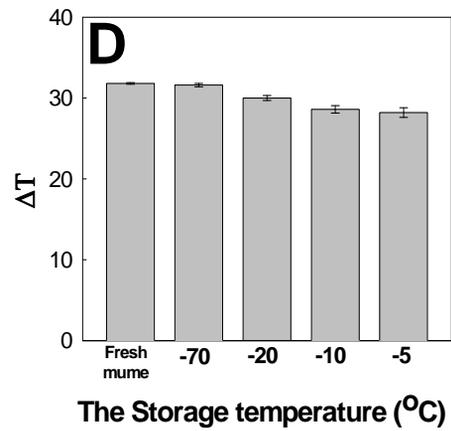
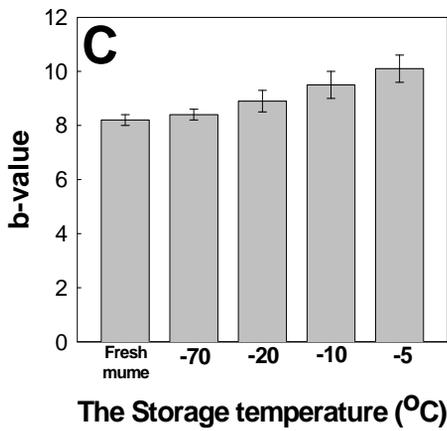
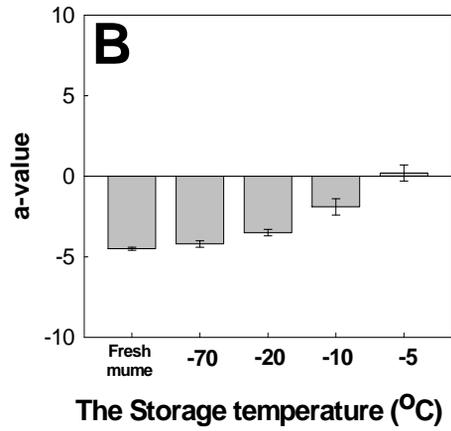
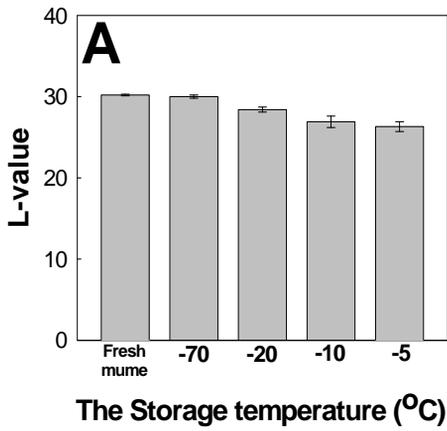


Fig. 2-2. Color of the mume fruit by the refrigeration temperature

A: L-value, B: a-value, C: b-value, D: ΔT ($\sqrt{L^2+a^2+b^2}$)

Table 2-1. Free sugar contents of frozen mume fruit by the refrigeration temperature [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Fresh mume	Refrigeration temperature (°C)			
		-5	-10	-20	-70
Fructose	57.7	50.8(88.1)	48.7(84.4)	54.7(94.8)	54.0(93.6)
Glucose	229.3	230.6(100.6)	207.2(90.4)	211.8(92.4)	200.5(87.4)
Maltose	89.5	65.7(73.4)	69.3(77.4)	80.6(90.1)	79.3(88.6)
Sucrose	50.1	40.1(80.1)	47.2(94.2)	49.5(98.8)	45.1(90.0)
Total	426.6	387.2(90.8)	372.4(87.3)	396.6(93.0)	378.9(88.8)

Number in parenthesis are the per cent of free sugar compared to the control (fresh mume)

Table 2-2. Changes in organic acid contents of mume fruit during storage at -70°C [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Fresh mume	Refrigeration temperature (°C)			
		-5	-10	-20	-70
Malic	2,487.6	1,841.2(74.0)	1,955.7(78.6)	2,012.5(80.9)	2,099.1(84.3)
Citric	2,507.1	2,023.8(80.7)	2,101.3(83.8)	2,103.6(83.9)	2,184.3(87.1)
Succinic	75.8	45.4(50.9)	53.6(70.7)	58.0(76.5)	64.1(84.6)
Formic	149.0	92.8(62.3)	112.1(75.2)	125.9(89.5)	128.4(86.2)
Oxalic	77.7	60.1(77.3)	68.3(87.9)	69.9(90.7)	73.9(95.1)
Total	5,297.2	4063.3(76.7)	4291.0(81.0)	4369.9(82.5)	4549.8(85.9)

Number in parenthesis are the per cent of organic acid content compared to the control (fresh mume)

6. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 유리아미노산 함량 변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 유기산 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 2-3에서와 같다. 유리아미노산은 aspartic acid를 비롯하여 총 17종이 검출되었으며, 이를 함량별로 보면 asparagine이 163.9-200.3 mg%로 가장 많이 검출되었고, arginine과 aspartic acid의 순으로 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. Asparagine은 전체 아미노산의 70% 이상을 차지하였다.

신선한 매실의 총 유리아미노산은 281.4 mg%였으며, -70°C 에서 1년 동안 저장한 후 급속해동한 매실에서는 263.2 mg%로 신선한 매실에 비해 6.5%의 손실이 발생한 것으로 나타났다. 또한 -20°C 에서 1년동안 저장할 경우 유리아미노산의 10.0%가 손실되는 것으로 나타났으며, -10°C 와 -5°C 로 저장할 경우에는 각각 13.7%와 22.6%의 유리아미노산의 손실이 발생하는 것으로 확인되었다.

7. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 ascorbic acid 함량 변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 ascorbic acid의 함량 변화를 조사한 결과는 Fig. 2-3에서와 같다. 신선한 매실의 경우 ascorbic acid 함량은 62.1 ± 1.0 ppm을 나타내었다. 저장온도에 따른 매실의 ascorbic acid 함량은 저장온도가 높아짐에 따라 급격히 감소함을 확인할 수 있었다. 즉 -70°C 에서 1년간 저장한 매실의 ascorbic acid 함량은 56.7 ± 1.5 ppm으로 신선한 매실에 비해 8.7%의 손실이 발생한 반면 -5°C 에서 1년 동안 저장한 매실의 ascorbic acid 함량은 36.1 ± 5.3 ppm으로 신선한 매실에 비해 42%의 손실이 발생한 것으로 확인되었다. Vitamin C는 일반적으로 -20°C 에서 저장할 경우 약 12 ~ 18개월 사이에 70%정도가 손실되는 것으로 알려져 있으며, 본 실험결과에서도 이러한 패턴으로 나타났다.

8. 냉동저장 온도에 따른 냉동 청매실의 관능적 특성 변화

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 관능적 특성을 조사한 결과는 Table. 2-4에서와 같다.

-70°C 에서 1년간 저장한 냉동매실의 경우 냄새와 색깔 및 종합적 기호도에서 감소는 있었

으나 유의적인 차이는 나지 않았다. 반면 -20°C 에서 저장한 냉동매실의 경우 냄새에서 선호도가 유의적으로 감소하는 것을 알 수 있었으며, -10°C 와 -5°C 에서 저장한 매실은 선호도가 떨어질 뿐만 아니라 외관상 drip loss의 양이 많아 상품으로써의 가치가 전혀 없는 것으로 확인되었다. 따라서, 1년 동안 냉동저장 또는 냉동유통할 경우 매실의 저장 및 유통온도는 -70°C 에서 하여야 할 것으로 판단되며, 향후 T.T.T.(Time Temperature Tolerance)의 계산을 통해 정확한 품질관리가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Table 2-3. Changes in free amino acid contents of mume fruit during storage at -70℃ [unit : mg%]

Chemical composition (%)	Unfrozen mume	Refrigeration temperature (℃)			
		-5	-10	-20	-70
Aspartic acid	13.5	10.0(74.1)	11.9(88.1)	12.1(89.6)	12.6(93.3)
Glutamic acid	7.9	6.3(79.7)	6.7(84.8)	7.5(94.9)	7.1(89.9)
Asparagine	212.4	163.9(77.2)	187.5(88.3)	190.8(89.8)	200.3(94.3)
Glycine	5.1	4.0(78.4)	4.5(88.2)	4.2(82.4)	4.4(86.3)
Histidine	2.5	2.0(80.0)	2.0(80.0)	2.0(80.0)	2.3(92.0)
Arginine	19.3	15.4(79.8)	15.9(82.4)	18.1(93.8)	18.6(96.4)
Threonine	1.9	1.5(78.9)	1.6(84.2)	1.8(94.7)	1.6(84.2)
Alanine	7.7	6.2(80.5)	6.1(79.2)	6.3(81.8)	6.1(79.2)
Proline	2.2	1.8(81.8)	1.9(86.4)	2.0(90.9)	2.0(90.9)
Tyrosine	1.3	1.0(76.9)	1.1(84.6)	1.1(84.6)	1.1(84.6)
valine	1.7	1.4(82.4)	1.4(82.4)	1.6(94.1)	1.5(88.2)
Metionine	1.0	0.8(80.0)	0.9(90.0)	1.0(100.0)	0.9(90.0)
Cystein	1.8	1.4(62.5)	1.5(83.3)	1.7(94.4)	1.9(105.6)
Isoleucine	0.5	0.4(80.0)	0.4(80.0)	0.5(100.0)	0.6(120.0)
Leucine	0.8	0.6(62.5)	0.7(87.5)	0.8(100.0)	0.7(87.5)
Phenylalanine	1.4	1.1(78.6)	1.2(85.7)	1.3(92.9)	1.1(78.6)
Lysine	0.4	0.3(75.0)	0.3(75.0)	0.4(100.0)	0.4(100.0)
Total	281.4	217.9(77.4)	245.6(87.3)	253.2(90.0)	263.2(93.5)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control (unfrozen mume)

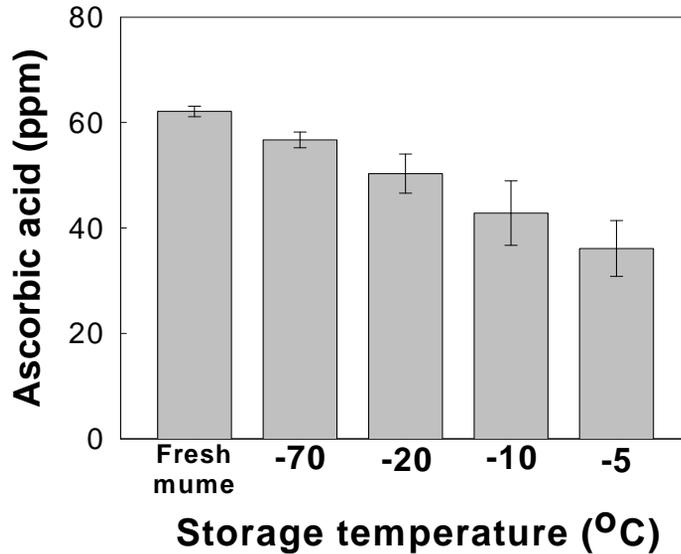


Fig. 2-3. Changes in the content of ascorbic acid of mume fruits which were stored for one year at various temperature

Table 2-4. Sensory evaluation of mume fruit mume fruits which were stored for one year at various temperature

Sensory score	Unfrozen mume	Refrigeration temperature (°C)			
		-5	-10	-20	-70
Color	6.3±1.2 ^a	3.0±0.9 ^c	4.3±0.8 ^{bc}	5.0±0.7 ^{ab}	5.3±1.1 ^a
Odor	6.7±1.2 ^a	2.5±0.6 ^c	4.1±0.7 ^{bc}	5.1±0.5 ^{bc}	5.5±0.7 ^{ab}
Overall	6.4±1.3 ^a	3.0±0.8 ^c	4.4±0.6 ^b	5.3±0.9 ^{ab}	5.8±0.8 ^a

1) 9: like extremely, 1: unlike extremely

2) a,b: different letters within the same row indicate significant difference (p<0.05)

9. 항산화력

(1) TBA가

Linoleic acid를 기질로 하여 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 각각 달리하여 냉동한 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물, BHT 및 ascorbic acid를 동일한 농도로 첨가하여 상대적인 산화억제 정도를 측정한 결과는 Fig. 2-4에 나타내었다. TBA가를 통해 항산화력을 측정한 결과 합성산화제인 BHT가 $42.6 \pm 0.7\%$ 로 가장 높은 값을 나타내었으며, ascorbic acid는 $30.3 \pm 0.56\%$ 로 나타났다. 신선한 매실 추출물의 TBA가는 $21.7 \pm 2.1\%$ 로 나타났으며, 냉동온도가 낮을수록 해동 후의 항산화 활성이 높은 것으로 확인되었다.

(2) 과산화물 (POV) 가

청매실의 냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 얻은 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물을 동결건조한 후 80°C 에서 물추출하여 감압농축한 시료를 이용하여 4주간 저장시 대두유의 산화에 미치는 영향을 과산화물가의 변화를 통해 측정한 결과는 Fig. 2-5에 나타내었다. 4주 동안의 저장기간 동안 POV값은 원료의 냉동온도가 낮을수록 항산화활성이 높은 것으로 나타났다. 매실의 과육과 즙의 항산화성을 비교하면 매실과즙 추출물의 항산화 활성이 매실과육 추출물에 비해 훨씬 높게 나타나는데 이러한 결과는 매실의 기능성 물질이 극성이 높은 용매에 의해 추출되기 때문에 매실 과즙으로 추출된 수용성 물질이 항산화 효과를 나타내기 때문인 것이다. 본 실험결과에서는 저장온도가 낮을수록 해동시 drip의 손실이 적을 뿐만 아니라 냉동저장기간 동안에도 수분과 함께 용출되는 수용성물질이 적기 때문인 것으로 판단된다.

(3) 전자공여능 (Electron donating ability: EDA)

산소는 에너지 획득 반응의 말단에 관여하여 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 식품 중의 지질산화와 생체의 산화적 장애를 초래하는데, 항산화 물질은 superoxide 생성과정에서 oxidative free radical과 전자를 공여하여 oxidative free radical

를 소거·분해하는 항산화 작용을 함으로써 전자공여능은 항산화력의 척도로 이용된다. 전자공여능 측정은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정되는데 DPPH는 분자내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있고 이 색차를 517 nm의 흡광도에서 비색 정량하여 전자공여능을 측정하였다. 신선한 매실, 저장온도를 -70°C , -20°C , -10°C 및 -5°C 로 각각 달리하여 1년 동안 저장한 후 microware oven에서 급속 해동한 매실, ascorbic acid 및 BHT의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 2-6에 나타내었다. 신선한 매실과 비교하였을 때 모든 1년간 저장한 매실은 온도에 관계없이 모두 전자공여능이 낮아짐을 확인할 수 있었으며 특히 -10°C 와 -5°C 에서 저장한 매실의 전자공여능은 유의적인 차이를 확인할 수 있었다. 또한, -70°C 에서 저장한 매실의 전자공여능이 가장 우수함을 확인할 수 있었다.

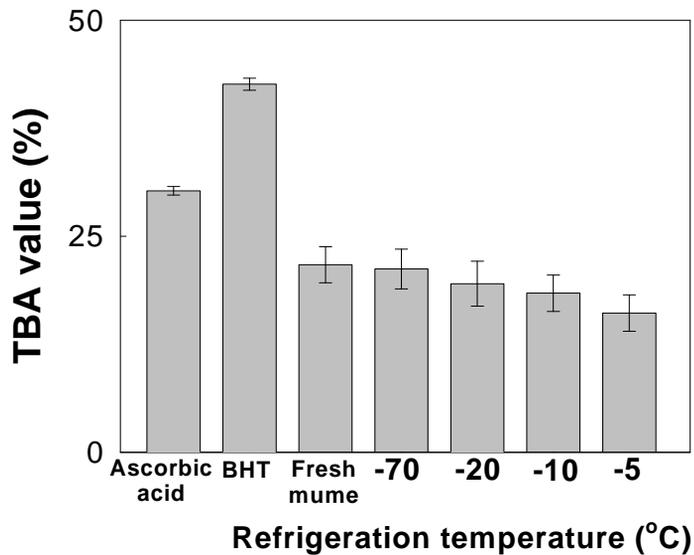


Fig. 2-4. TBA value of linoleic acid containing mume fruits which were stored for one year at various temperature

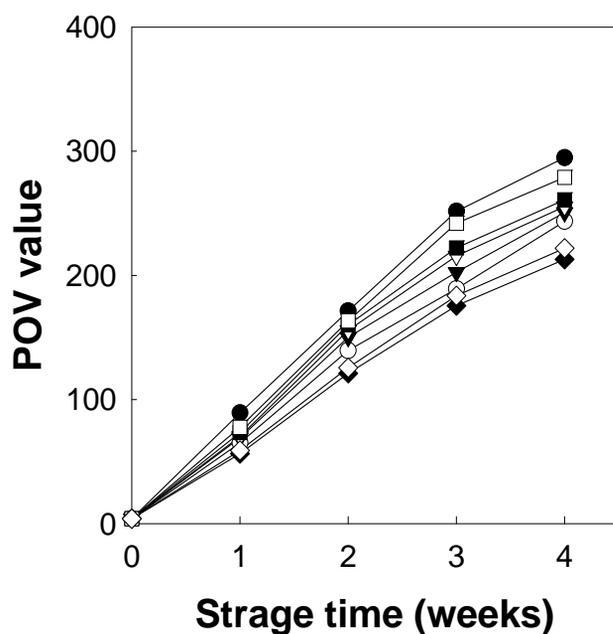


Fig. 2-5. Peroxide values in soybean oil substrates containing mume fruits extracts refrigerated various temperature and other antioxidants during storage at 60°C. ●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume freezed at -70°C, ▽-▽ : mume freezed at -20°C, ■-■ : mume freezed at -10°C, □-□ : mume freezed at -5°C, ◆-◆ : BHT, ◇-◇ : ascorbic acid

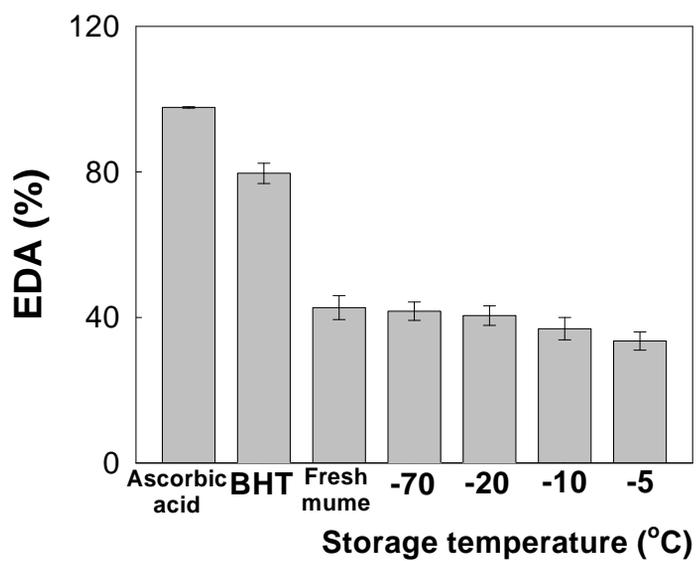


Fig. 2-6. Electron donating ability of mume fruits which were stored for one year at various temperature

제3절 냉동매실의 해동기술 개발

제1항 연구개발의 목적과 범위

매실나무(*Prunus mume* Siebold. et Zuccarini)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽소교목이며, 높이 5 m 안팎이고 작은 가지는 녹색이며 털이 없거나 잔털이 있다(3-1). 일본, 대만, 중국 및 우리나라 충청이남에서 생산되는 과실로 1-3월 경에 꽃이 피고 열매를 맺어 6월 경 청매로서 수확된다(3-2). 매화나무의 과실인 매실은 민간에서 기능성 식품으로 다양하게 쓰여진 대표적인 민속약재로 잘 알려져 있다. 매실에 관한 연구로는 오매가 간디스토마에 대해 살충활성이 있고(3-3), 청매추출물이 항균활성을 가지고 있으며(3-4), 간장장애를 회복시키고(3-5), 항돌연변이 활성(3-6)이 있다는 보고가 있다. 그리고 매실로부터 유기산인 succinic acid, citric acid, malic acid, tartaric acid (3-7)와 flavonoid인 naringenin 등(3-8)과 amyralcohol이 분리 보고되었으며, 지금까지 알려져 있는 피로회복, 장장작용, 식욕증진, 해독, 항균활성 등(3-9)과 같은 매실의 기능성은 대부분 풍부한 유기산의 효과에 기인한다고 볼 수 있을 것이다. 일본에서는 매실을 건강식품이라 하여 매실김치(우메보시), 매실주, 매실즙, 액기스, 잼, 차, 산자 등 각종 식품으로 개발되어 활발히 소비되고 있으며(3-10), 우리나라의 민간에서도 액기스를 추출하여 차로 음용하거나 한약재로 이용되어 왔다(3-11).

하지만, 매실은 다른 과실에 비해 후숙이 빠르고 수확 후 호흡열이 대단히 많은 작물이기 때문에 수확 후 2~3일 이내에 과실의 색상이 황색으로 변하고 조직이 급격히 연화되어 가공품으로 사용하기가 부적합하므로 매실의 저장성을 개선시키고자 하는 연구는 그 가치가 매우 크다고 할 수 있다. 본 연구에서는 청매실의 연중출하하기 위한 연구의 일환으로 청매실의 해동방법에 따른 품질변화를 조사하였다.

제2항 연구개발의 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 매실은 경북 칠곡군 왜관읍에 소재한 (주)송광설중매에서 생산된 2005

년산 청매실을 직접 채취하여 재료로 사용하였다. 채취한 매실은 정수에 수세한 후 Nylon/PE(polyethylene) film 포장재로 포장하여 사용하였다.

2. 원료 형태별 매실 제조

원료 매실의 형태는 생 매실을 수세한 후 Nylon/PE(polyethylene) film 포장재로 포장하여 저장하였다. 씨를 뺀 원료 매실은 생매실을 수세한 후 씨를 도려낸 다음 같은 포장재로 포장하여 저장하였다. 분쇄형태의 매실가공품은 매실을 정수에 수쇄하고 씨를 뺀 후 분쇄기 (CM-3000, Chaming-Art Ltd., Korea)로 분쇄하였으며 같은 필름 포장재로 포장하여 -5, -20 및 -70℃에 저장하였다. -5℃ 저장구의 시료는 30일 간격으로 6개월 동안, -20℃ 저장구의 시료는 60일 간격으로 12개월, -70℃ 저장구의 시료는 90일 간격으로 18개월 동안 저장하면서 품질특성을 조사하였다.

3. 냉동 매실의 해동기술 확립

원형형태의 매실을 정수에 수세한 후 Nylon/PE(polyethylene) film 포장재로 포장하여 -20℃의 저장고에서 냉동저장하였다. 해동은 매실의 중심부 온도가 5℃에 도달하였을 때 해동을 완료하였으며, 냉장해동은 5℃ 냉장고에서, 상온해동은 25℃ 저장고에서 방치하였으며 microwave oven (RE-5718, Samsung, Korea) 해동은 2,450 MHz 주파수의 microwave oven을 이용하였다. 온도측정은 매실 샘플의 기하학적 중심부에 T-type의 thermocouple (PC-2200, Sato Keiryoki, Japan)을 삽입하여 온도를 측정하여 다음 해동을 완료하였다.

4. 일반성분 분석

수분과 조회분은 상법(3-12)에 따라 분석하였으며 pH는 매실과육을 세절한 후 마쇄, 여과하여 얻은 여과액을 pH meter로 측정하였다. 산도는 pH 측정용 시료를 이용하여 여과액 10mL의 pH 값이 8.2로 되는데 소요되는 0.1 N NaOH의 소비량을 구한 후 citric acid로 환산하여 총산의 함량(%)로 나타내었다. 가용성 고형분은 매실과즙 여과액을 굴절당도계 (Atago pr-100, Japan)를 이용하여 측정하였다.

5. pH의 측정

pH는 시료 10 g에 100 g의 증류수를 넣고 homogenizer로 2분간 균질화한 후 pH meter를 사용하여 측정하였다.

6. 색도 분석

색도는 Chromameter CR 300 (Minolta, Japan)으로 직경 5 cm의 petri dish에 paste상으로 만든 시료를 넣고 Hunter의 L값, a값, b값을 측정하였다. 표준판은 L = 97.51, a = -0.18, b = +1.67의 값을 가진 백색판을 사용하였다.

7. Drip loss 측정

각각의 처리구별로의 냉동저장된 냉동매질의 drip loss 측정은 매질 중량에 대한 해동후 드립량의 백분율로 나타내었다.

8. 유리당 함량 분석

매질의 유리당 분석을 위해서는 보리메주 200 g을 800 mL의 에탄올로 85°C에서 환류 추출한 후 여과하였다. 이 여액을 감압건조시킨 후 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 시료 5 mL에 양이온과 음이온 물질을 제거하기 위해 mixed bed resin TMD-8 (Sigma, USA)을 약 10 g 가하고 5°C에서 1일간 방치하고 이온교환수지를 제거하기 위해 여지 위에서 여과, 세척하였다. 이 액을 감압 건조 시키고 10 mL 초순수로 정용한 후 membrane filter (0.45 μ m)로 여과하였다. 여과액 5 mL에 양이온과 음이온 물질을 제거하기 위해 Mixed bed resin TMD-8 (Sigma, USA)을 약 10 g 가하고 5°C에서 1일간 방치하고 이온교환수지를 제거하기 위해 여지 위에서 여과, 세척하였다. 이 액을 감압 건조 시키고 10 mL 초순수로 정용한 후 membrane filter (0.45 μ m)로 여과하고 유리당을 분석하였다. 분석을 위해서는 HPLC(Young-In HPLC 930 pump, Korea)를 이용하고, 분리 칼럼은 Rezex RNM과 RPM (7.8×300 mm, Phenomenex, USA), 이동상은 초순수, 유속은 0.6 mL/min, 칼럼 온도는 75°C, 검출기는 Shimadzu RID-6A (Yamato, Japan)를 사용하였다.

9. 휘발성 유기산 함량 분석

시료를 초순수로 3배 희석한 후 membrane filter (0.45 μm)로 여과한 시료 5.7 mL에 2% H_2SO_4 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 μL 를 GC (DS 6200, Donam Systems Inc., Korea)에 주입하였다. 표준물질은 acetic acid, propionic acid 및 butyric acid를 사용하고 0.1%로 조제한 후 이 용액 5.7 mL와 2% H_2SO_4 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 μL 를 GC에 주사했다. 이 때 칼럼 충전제는 10% PEG 6,000 60/80, 주입부 온도는 200 $^{\circ}\text{C}$, 검출기 (FID) 온도는 220 $^{\circ}\text{C}$, 운반 기체는 질소 (20 mL/min), 칼럼온도는 150 $^{\circ}\text{C}$ 로 분석하였다.

10. 비휘발성 유기산 함량 분석

매실 시료는 200 g을 800 mL의 에탄올로 85 $^{\circ}\text{C}$ 에서 환류 추출한 후 여과액을 감압건조시킨 후 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 시료 1 mL를 5 mL test tube형 수기에 넣고 다시 감압건조시킨 다음 보리간강 시료는 탈염 시료 1 mL를 5 mL test tube형 수기에 넣고 감압건조시켰다. 여기에 14% BF_3 2 mL를 넣고 밀봉하여 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시킨 후 냉각하고 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 4 mL를 첨가, 여기에 CHCl_3 용액 2 mL를 첨가하였다. 하층에 메칠화된 유기산이 녹아 나온 CHCl_3 층을 주사기로 채취한 액을, pasteur pipette에 비등석으로 입구를 막고 Na_2SO_3 로 2/3 채운 다음, 이 pipette에 채취한 액을 흘려 보내 수분을 제거하고, 통과한 액을 받아서 GC로 분석하였다. 칼럼은 DB-FFAP (0.53 mm \times 30 m), 칼럼 온도는 100 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)-4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ -220 $^{\circ}\text{C}$ (5 min), 주입부 온도 230 $^{\circ}\text{C}$, 검출기(FID) 온도 250 $^{\circ}\text{C}$, 운반 기체는 질소 (2 mL/min)로 분석하였다.

11. 유리 아미노산 함량 분석

시료를 아미노산 분석용 lithium citrate buffer로 20배 희석한 다음 0.45 μm membrane filter로 여과하고 아미노산 자동분석기(Bio chrom 20 amino acid analyzer, USA)로 분리정량하였다.

12. 관능검사

각각의 처리구의 매실시료의 색깔, 이취 및 종합적 품질에 대해 특성 차이검사 및 기호도 검사를 실시하였다. 관능검사원의 선발을 위하여 먼저 3점 검사법으로 매실의 색깔, 이취에 대한 차이식별 능력이 우수한 패널 20명을 선발하였다. 관능검사는 9점 평점법(13)에

의하여 실시하였다.

13. 항균성 측정

(1) 분양균주

식중독 균은 한국중균협회로부터 분양을 받은 *Enterobacter aerogenes* KCCM 12177(이하 *E. aerogenes*), *Escherichia coli* KCCM 11234(이하 *E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11328(이하 *P. aeruginosa*), *Vibrio parahaemolyticus* KCCM 11965(이하 *V. parahaemolyticus*), *Salmonella typhimurium* KCTC 1925(이하 *S. typhimurium*), *Bacillus cereus* KCTC 1012(이하 *B. cereus*), *Clostridium perfringenes* KCCM 12098(이하 *C. perfringenes*), *Staphylococcus aureus* KCTC 1928(이하 *S. aureus*)을 사용하였으며, 배양 조건은 Table 3-1과 같다.

Table 3-1. List of strains and cultivation conditions for antibacterial activity against pathogenic bacteria

Strains	Cultivation condition
<i>Escherichia coli</i> KCCM 11234	Tryicase soy media, 37°C, Facultatively anaerobic
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCCM 11328	Nutrient media, 37°C, Aerobic
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	Tryicase soy media, 37°C, Facultatively anaerobic
<i>Listeria</i> sp.	Tryicase soy media, 37°C, Facultatively anaerobic
<i>Bacillus cereus</i> KCTC 1012	Nutrient media, 37°C, Aerobic
<i>Clostridium perfringenes</i> KCCM 12098	Brain Heart Infusion media, 37°C, Anaerobic
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928	Nutrient media, 37°C, Facultatively anaerobic

2) 해동방법별 매실의 균생육 억제 효과

해동방법을 달리한 매실을 착즙하여 동결건조한 다음 이를 Tryptic soy broth (TSB)에 1% 첨가한 다음 멸균하였다. 계대배양한 각 시험 균주를 멸균된 TSB에 접종하여 1일동안 전배양한다음 각각의 매실이 들어있는 TSB에 초기 균수가 약 1.0×10^5 cfu/mL가 되게 접종하여 각 균주의 최적 성장조건에서 48시간 동안 배양하면서 12시간 간격으로 생균수를 측정하였다. 생균수의 측정은 시료를 10배단계 희석법에 따라 희석한 후 tryptic soy agar (TSA) 평판배지에 혼합분주하여 30°C에서 24-48시간 배양한 후 형성된 집락의 수를 측정하여 희석배수에 따라 환산하였다.

14. 해동방법별 항산화력 측정

(1) 과산화물 (POV) 가

과산화물가는 냉장고내 해동, 상온 해동, 마이크로 웨이브 오븐에서의 해동 등 세 가지 조건에서 해동한 매실과육 추출물과 비교구로서 BHT, ascorbic acid 각각을 대두유 100 g에 0.02%(w/w)를 첨가하여 60°C 항온기에 저장하면서 경시적으로 1 g 씩 평취하여 분석하였다. 시료에 chloroform 10 mL, acetic acid 15 mL 및 KI 포화용액 1 mL를 가하여 1분간 진탕시켜 5분간 암소에 방치시킨 후 증류수를 75 mL 첨가하여 진탕시키고 1% 전분용액을 지시약으로 하여 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 청남색이 무색으로 될 때까지 역적정하여 POV (peroxide value)로 하였다(14). 이때 POV는 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{POV (meq/kg)} = \frac{[(\text{Tv}-\text{Bv}) \times 0.01 \times 1000 \times \text{F}]}{\text{시료량}}$$

Tv : sample 적정에 소비된 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 소비량 (mL)

Bv : 대두유 적정에 소비된 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 소비량

F : $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 역가

(2) TBA가

기질용액은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic

acid를 0.03 M이 되도록 첨가하였다. 이 기질용액 2.5 mL에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 2.4 mL, 0.05%(w/v)의 각 조건별 매실과육 추출물을 0.1 mL 첨가하여 반응액을 조성한 후 반응액 2.0 mL에 35% trichloroacetic acid 1.0 mL와 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 95°C 수욕상에서 40분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 acetic acid 1.0 mL, chloroform 2.0 mL를 가하여 진탕시킨 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBA값은 시료 첨가군의 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로부터 다음과 같이 계산하였다(15).

$$\text{TBA (\%)} = (A-B)/A \times 100$$

A: 대조구 (물 첨가군의 흡광도)

B : 시료 첨가군의 흡광도

(3) 전자공여능 (Electron donating ability)

전자공여능은 Blois의 방법(16)을 변형하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 전자공여효과로 나타나는 시료의 환원력을 측정하였다. 시료를 에탄올에 녹여 일정농도로 조제한 후 이를 시료 용액으로 0.1 mL에 0.4 mM DPPH용액 2mL를 넣고 교반한 후 30분간 실온의 암소에서 방치한 다음 spectrophotometer 517 nm에서 흡광도를 측정하였고 아래의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{전자공여능 (\%)} = (1-\text{시료첨가구의 흡광도}/\text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

15. 통계분석

모든 실험은 3회 반복측정하여 수행하였다. 실험 결과는 평균치로 나타내었고, 시료간의 유의성 검정은 SAS (Statistical Analysis system) program (17)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

제3항 연구개발의 결과 및 고찰

1. 해동방법에 따른 Drip 손실

원료 매실을 -0°C 저장고에 7일간 냉동저장하고 냉동된 시료를 각각의 해동방법별 (실온, 냉장, 마이크로웨이브)로 해동을 실시하여 해동시 원료 매실의 품질에 미치는 영향을 조사해본 결과 중 드립로스는 Fig. 3-1에 나타내었다. 실온 해동시 drip loss 량은 $7.6 \pm 0.5\%$ 로 냉장해동의 $4.5 \pm 0.4\%$ 와 microwave oven 해동의 $3.2 \pm 0.3\%$ 에 비해 1.7배-2.4배 가량 드립의 용출이 많은 것으로 확인되었다.

2. 해동방법에 따른 표면 색도의 변화

원료 매실을 -0°C 저장고에 7일간 냉동저장하고 냉동된 시료를 각각의 해동방법별 (실온, 냉장, 마이크로웨이브)로 해동을 실시하여 해동시 원료 매실의 품질에 미치는 영향을 조사해본 결과 중 색도변화는 Fig. 3-2에 나타내었다. L값은 흑색의 0에서 백색의 100까지의 범위를 갖는 것으로 신선한 매실은 32.07을 나타내었으며, 해동방법에 따라 L값은 조금 차이를 나타내었다. 즉 마이크로웨이브 오븐에서 해동한 매실의 L값은 31.95로 생매실과 큰 차이가 없었으나, 실온에서 해동한 매실은 30.69로 1.38정도의 차이를 보였다. a값은 녹색이 -80이고 적색이 +100으로 나타내어지는데 생매실의 a값은 -5.77을 나타내었으며, 해동방법에 따른 차이는 미약한 것으로 조사되었다. b값은 황색이 진해질수록 0에서 +70으로 증가하는데 생매실의 b값은 8.76을 나타내었으며, 실온에서 해동할 경우 10.45를 나타내어 황색이 좀 진해짐을 알 수 있었다. ΔT 값은 신선한 매실이 33.74를 나타내었으며, 냉장해동과 마이크로웨이브 해동은 각각 33.54와 33.63으로 큰 차이가 없었으나, 실온에서 해동한 매실의 ΔT 값은 32.91로 약간의 차이를 보였다.

3. 해동방법에 따른 유리당 함량 변화

냉동매실을 해동한 후 유리당 함량을 측정해본 결과는 Table 3-2에서와 같다. 유리당은 fructose, glucose, maltose 및 sucrose 등 4 종류가 측정되었으며, 유리당의 종류별로 보면 glucose가 가장 많이 검출되었고 maltose, fructose, sucrose의 순으로 나타났다. 신선한 매

실의 경우 총유리당 함량은 426.6 mg%를 나타내었으며, microwave oven에서 해동한 매실은 413.8 mg%, 냉장온도에서 해동한 매실은 400.7 mg%, 실온에서 해동한 매실은 373.9 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 유리당이 적게 함유된 것으로 나타났으며, 이는 해동시 유출된 드립과 함께 유리당이 같이 스며나갔기 때문인 것으로 판단된다. 특히, 실온에서 해동한 매실의 유리당 함량은 신선한 매실에 비해 87.6% 정도 밖에 되지 않아 품질에 많은 변화를 가져오는 것으로 확인되었으며, 해동방법은 유리당 함량에 변화가 가장 적은 microwave 해동이 가장 적합할 것으로 사료된다.

4. 해동방법에 따른 유기산 함량 변화

냉동매실을 해동한 후 유기산 함량을 측정해본 결과는 Table 3-3에서와 같다. 유기산은 malic acid, citric acid, succinic acid, formic acid 및 oxalic acid 등 5가지가 검출되었으며, 함량별로 보면 citric acid가 가장 많이 검출되었고 malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순으로 확인되었다. 특히 malic acid와 citric acid가 전체 유기산의 94.3 - 94.5%정도를 차지하는 것으로 나타났다. 신선한 매실의 경우 총 유기산 함량은 5,297.2 mg%를 나타내었으며, microwave oven에서 해동한 매실은 5,166.1 mg%, 냉장온도에서 해동한 매실은 5,128.8 mg%, 실온에서 해동한 매실은 4,806.9 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 유기산이 적게 함유된 것으로 나타났으며, 이는 해동시 유출된 드립과 함께 유기산도 역시 같이 스며나갔기 때문인 것으로 판단된다. 특히, 실온에서 해동한 매실의 유기산 함량은 신선한 매실에 비해 90.7% 정도 밖에 되지 않아 품질에 많은 변화를 가져오는 것으로 확인되었으며, microwave 해동(97.5%)과 냉장 해동방법(96.8%)은 유기산 함량에 비교적 변화가 적은 것으로 확인되었다.

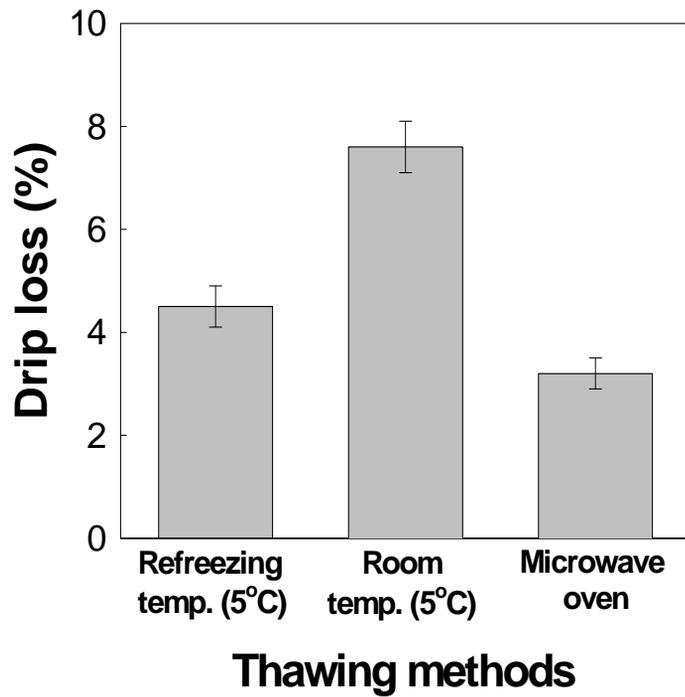


Fig. 3-1. Drip loss of Mume fruits according to the thawing methods

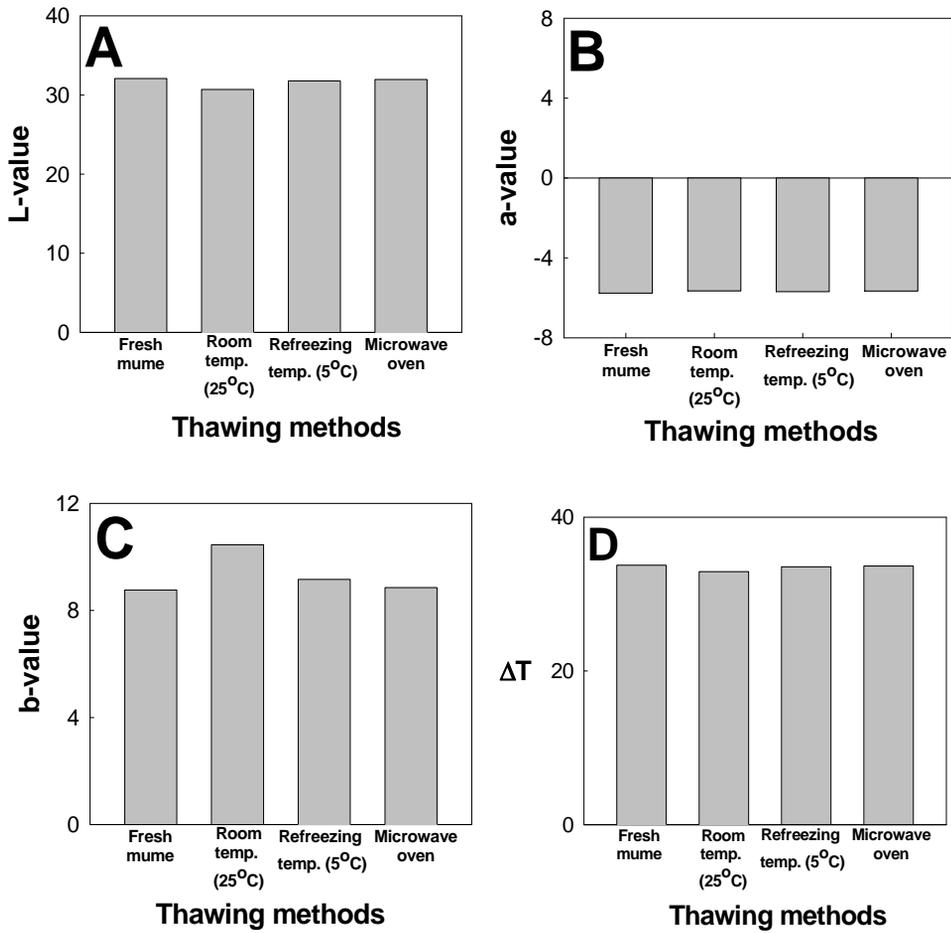


Fig. 3-2. Hunter's value of Mume fruits according to the thawing methods

Table 3-2. Free sugar contents of Mume fruit according to thawing method
[unit : mg%]

Free sugar (%)	Thawing method			
	Fesh mume fruit	Room temp. (25℃)	Refreezing temp. (5℃)	Microwave oven
Fructose	57.7	49.3(85.4)	52.6(91.2)	54.7(94.8)
Glucose	229.3	198.1(86.4)	212.5(92.7)	222.6(97.1)
Maltose	89.5	83.6(93.4)	86.9(97.1)	87.1(97.3)
Sucrose	50.1	42.9(85.6)	48.7(97.2)	49.4(98.6)
Total	426.6	373.9(87.6)	400.7(93.9)	413.8(97.0)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 3-3. Organic acid contents of Mume fruit according to thawing method
[unit : mg%]

Organic acid (%)	Thawing method			
	Fresh mume fruit	Room temp. (25℃)	Refreezing temp. (5℃)	Microwave oven
Malic	2,487.6	2,145.7(86.3)	2,386.1(95.9)	2,395.6(96.3)
Citric	2,507.1	2,397.5(95.6)	2,459.5(98.1)	2,485.1(99.1)
Succinic	75.8	67.3(88.8)	70.8(93.4)	73.4(96.8)
Formic	149.0	124.8(83.8)	135.9(91.2)	136.1(91.3)
Oxalic	77.7	71.6(92.1)	76.5(98.5)	75.9(97.7)
Total	5,297.2	4,806.9(90.7)	5,128.8(96.8)	5,166.1(97.5)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

5. 해동방법에 따른 유리아미노산 함량의 변화

냉동매실을 해동한 후 유리아미노산 함량을 측정해본 결과는 Table 3-4에서와 같다. 유기산은 aspartic acid를 비롯하여 총 17종이 검출되었으며, 이를 함량별로 보면 asparagine이 전체 아미노산 함량의 75.5-76.4%를 차지하여 가장 많이 검출되었고 arginine과 aspartic acid의 순으로 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 신선한 매실의 경우 총 유리 아미노산 함량은 281.4 mg%를 나타내었으며, microwave oven에서 해동한 매실은 275.4 mg%, 냉장온도에서 해동한 매실은 272.0 mg%, 실온에서 해동한 매실은 264.3 mg%를 나타내어 신선한 매실에 비해 유리 아미노산이 적게 함유된 것으로 나타났으며, 이는 해동시 유출된 드립과 함께 유기산도 역시 같이 스며나갔기 때문인 것으로 판단된다. 하지만 유리 아미노산은 유리당과 유기산에 비해서는 비교적 많은 양이 남아 있는 것으로 확인되었는데 이는 불용성 성분들이 다량 존재하기 때문인 것으로 사료된다. 유리아미노산 함량조사의 결과에서도 역시 microwave oven에서의 해동이 가장 좋았으며 냉장온도에서의 해동과 실온에서의 해동 순으로 품질변화가 적은 것으로 확인되었다.

6. 해동방법에 따른 관능적 특성 변화

냉동매실을 해동한 후 총 관능적 특성을 확인한 결과는 Table 3-5에서와 같다. 신선한 청매실과의 비교에서는 3가지 해동방법으로 해동한 매실 모두가 색깔과 냄새에서 낮은 점수를 받았으나, 냉장온도에서의 해동과 microwave oven 내에서의 해동은 유의적인 차이가 없었다. 하지만 실온에서 해동할 경우는 신선한 청매실과 비교하였을때 5% 유의 수준에서 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 따라서, 매실의 해동은 microwave oven 내에서 해동하는 것이 가장 유리하며, 냉장온도에서 해동할 경우에도 신선한 매실과 유사한 색과 향을 가지는 것으로 확인되었다.

Table 3-4. Free amino acid contents of Mume fruit according to thawing method [unit : mg%]

Free sugar (%)	Thawing method			
	Fresh mume fruit	Room temp. (25°C)	Refreezing temp. (5°C)	Microwave oven
Aspartic acid	13.5	12.7(94.1)	13.2(97.8)	13.4(99.3)
Glutamic acid	7.9	7.1(89.9)	7.3(92.4)	7.6(96.2)
Asparagine	212.4	201.9(95.1)	206.5(97.2)	209.1(98.4)
Glycine	5.1	3.9(76.5)	4.5(88.2)	4.5(88.2)
Histidine	2.5	2.1(84.0)	2.2(88.0)	2.3(92.0)
Arginine	19.3	18.8(97.4)	19.3(100)	19.5(101.0)
Threonine	1.9	1.8(94.7)	1.9(100.0)	1.7(89.5)
Alanine	7.7	6.7(87.0)	7.2(93.5)	7.0(90.9)
Proline	2.2	1.8(81.8)	1.9(86.4)	2.0(90.9)
Tyrsine	1.3	1.1(84.6)	1.1(84.6)	1.1(84.6)
valine	1.7	1.5(88.2)	1.5(88.2)	1.6(94.1)
Metionine	1.0	0.9(90.0)	0.9(90.0)	1.0(100.0)
Cystein	1.8	1.5(83.3)	1.7(94.4)	1.8(100.0)
Isoleucine	0.5	0.4(80.0)	0.5(100.0)	0.5(100.0)
Leucine	0.8	0.7(87.5)	0.7(87.5)	0.8(100.0)
Phenylalanine	1.4	1.1(78.6)	1.2(85.7)	1.1(78.6)
Lysine	0.4	0.3(75.0)	0.4(100.0)	0.4(100.0)
Total	281.4	264.3(93.9)	272.0(96.7)	275.4(97.9)

Number in parenthesis are the per cent of amino acid compared to the control

Table 3-5. Sensory evaluation of Mume fruit according to thawing methods

Free sugar (%)	Thawing method			
	Fresh mume fruit	Room temp. (25°C)	Refreezing temp. (5°C)	Microwave oven
Color	6.3±1.2 ^a	4.5±1.0 ^b	5.7±1.0 ^{ab}	5.9±1.1 ^{ab}
Odor	6.7±1.2 ^a	4.6±1.1 ^b	5.3±1.1 ^{ab}	5.8±0.8 ^{ab}
Overall	6.4±1.3 ^a	4.5±0.8 ^b	5.1±0.9 ^{ab}	5.6±0.9 ^{ab}

1) 9: like extremely, 1: unlike extremely

2) a,b: different letters within the same row indicate significant difference ($p < 0.05$)

5. 해동방법별 매실의 식중독 균에 대한 항균작용

해동방법별 매실의 식품부패균과 식중독 유발균에 대한 생육억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 3-3에서 Fig. 3-6까지에 나타내었다. 매실 착즙액을 1% 첨가할 경우 조사한 모든 균에 대해서 정균작용 또는 미약하나마 살균작용을 조금 나타내는 것으로 확인되었다. 하지만 해동방법에 따른 차이는 크게 나타나지 않아 매실의 냉동 및 해동은 매실의 항균력에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 이 등(3-18)은 매실 착즙액의 1% 첨가는 배양 48시간 이내에 약간의 증식감소를 보이며 2% 이상 첨가할 경우는 뚜렷한 증식억제를 보였으며 3% 이상 첨가할 경우는 성장이 완전히 억제되었다고 보고한 바 있으며, 김 등(3-19)도 매실 추출물이 식품부패균 및 식중독균에 대해 광범위한 항균효과가 있음을 보고한 바 있다. 채 등(3-20)은 매실 추출물의 농도가 높아질 수록 유산균의 성장이 억제되었으며, 김치 숙성중 유산균의 수도 매실을 첨가하지 않은 대조구 보다 유의적으로 낮게 나타났다고 보고한 바 있다.

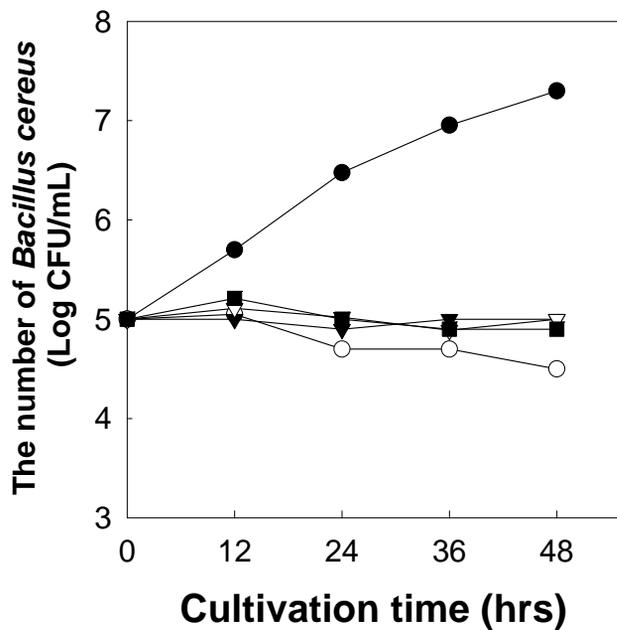


Fig. 3-3. Antimicrobial activity of Mume fruit on the growth of *Bacillus cereus* KCTC 1012

●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume fruit thawed at microwave oven, ▽-▽ : mume fruit thawed at refreezing temperature (5°C), ■-■ : mume fruit thawed at room temperature (25°C)

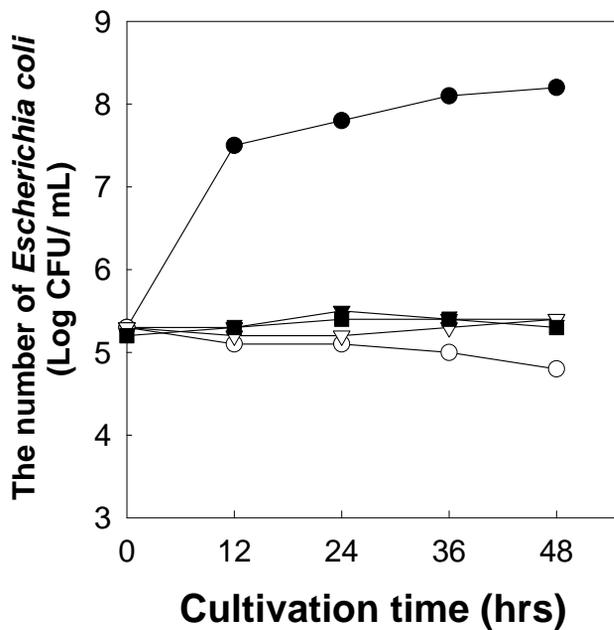


Fig. 3-4 Antimicrobial activity of Mume fruit on the growth of *Escherichia coli* KCTC 1012

●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume fruit thawed at microwave oven, ▽-▽ : mume fruit thawed at refreezing temperature (5°C), ■-■ : mume fruit thawed at room temperature (25°C)

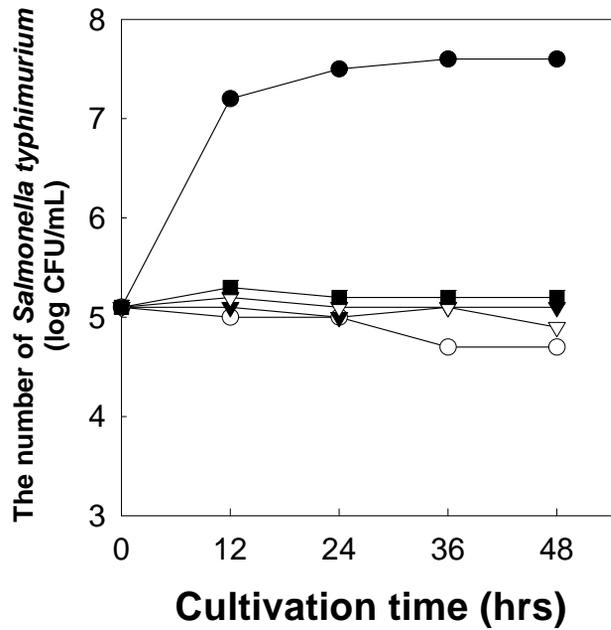


Fig. 3-5. Antimicrobial activity of Mume fruit on the growth of *Salmonella typhimurium* KCTC 1925. ●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume fruit thawed at microwave oven, ▽-▽ : mume fruit thawed at refreezing temperature (5°C), ■-■ : mume fruit thawed at room temperature (25°C)

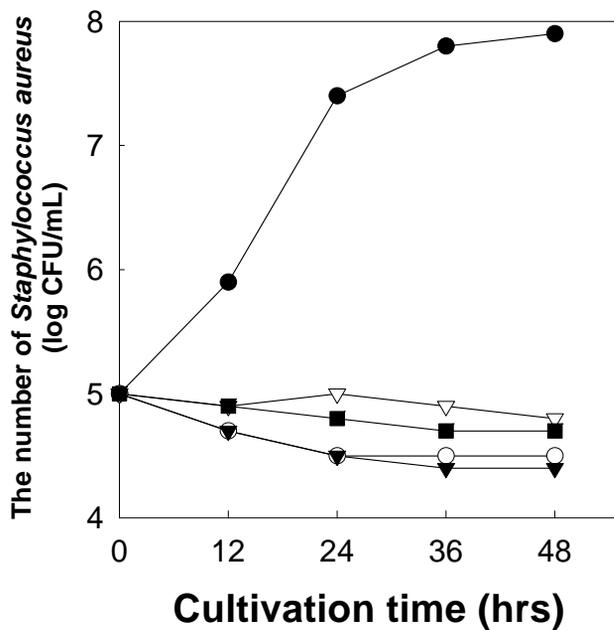


Fig. 3-6. Antimicrobial activity of Mume fruit on the growth of *Staphylococcus aureus* KCTC 1928. ●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume fruit thawed at microwave oven, ▽-▽ : mume fruit thawed at refreezing temperature (5°C), ■-■ : mume fruit thawed at room temperature (25°C)

8. 해동방법별 항산화력

(1) 과산화물 (POV) 가

해동방법을 각각 달리한 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물을 동결건조한 후 80°C에서 물추출하여 감압농축한 시료를 이용하여 4주간 저장시 대두유의 산화에 미치는 영향을 과산화물가의 변화를 통해 측정한 결과는 Fig. 3-7에 나타내었다. 4주동안의 저장기간 동안 POV값은 control>상온에서 해동한 매실>냉장온도에서 해동한 매실>마이크로웨이브 오븐에서 해동한 매실>신선한 매실>ascorbic acid> BHT의 순으로 나타났다. 황 등(21)은 매실과육과 매실즙의 항산화성을 비교한 결과 매실과즙 추출물의 항산화활성이 매실과육 추출물에 비해 훨씬 높게 나타났으며, 이러한 결과는 매실의 기능성 물질이 극성이 높은 용매에 의해 추출되기 때문(22)에 매실 과즙으로 추출된 수용성 물질이 항산화 효과를 나타내기 때문인 것으로 보고하였다. 본 연구 결과에서도 해동시 드립의 양이 가장 많은 상온에서 해동한 매실의 POV값이 가장 높은 것은 drip과 함께 수용성 물질이 빠져나갔기 때문으로 사료된다.

(2) TBA가

Linoleic acid를 기질로 하여 해동방법을 각각 달리한 매실추출물과 대조구로 사용된 신선한 매실 추출물, BHT 및 ascorbic acid를 동일한 농도로 첨가하여 상대적인 산화억제 정도를 측정한 결과는 Table 3-8에 나타내었다. TBA가를 통해 항산화력을 측정한 결과 합성산화제인 BHT가 $42.6 \pm 0.7\%$ 로 가장 높은 값을 나타내었으며, ascorbic acid는 $30.3 \pm 0.5\%$ 로 나타났다. 신선한 매실 추출물의 TBA가는 $21.7 \pm 2.1\%$ 로 나타났으며, 마이크로 웨이브오븐에서 해동한 매실 추출물과 냉장온도에서 해동한 매실 추출물의 TBA가는 각각 $21.6 \pm 2.3\%$ 와 $21.0 \pm 1.9\%$ 로 신선한 매실추출물의 TBA가와 큰 차이를 보이지 않았다. 하지만 실온에서 해동할 경우 TBA가가 13.8 ± 2.3 으로 다른 두가지 방법에 의해 해동한 매실보다 낮게 나타났다. 황 등(21)은 매실의 항산화성을 측정하기 위한 연구에서 매실과육 추출물과 매실과즙 추출물의 TBA가를 측정한 결과 매실과즙 추출물이 매실과육 추출물보다 다소 높은 TBA가를 나타내었다고 보고한 바 있다.

(3) 전자공여능 (Electron donating ability: EDA)

산소는 에너지 획득 반응의 말단에 관여하여 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 식품 중의 지질산화와 생체의 산화적 장애를 초래하는데, 항산화 물질은 superoxide 생성과정에서 oxidative free radical과 전자를 공여하여 oxidative free radical를 소거·분해하는 항산화 작용을 함으로써 전자공여능은 항산화력의 척도로 이용된다. 전자공여능 측정은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정되는데 DPPH는 분자내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있고 이 색차를 517 nm의 흡광도에서 비색 정량하여 전자공여능을 측정하였다. 신선한 매실, 각각의 방법으로 해동한 매실, ascorbic acid 및 BHT의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 3-9에 나타내었다. 신선한 매실과 비교하였을 때 3가지 해동방법에 의해 해동된 매실은 모두 유의적인 차이는 보이지 않았으나 신선한 매실 > microwave oven에서 해동한 매실 > 냉장온도에서 해동한 매실 > 실온에서 해동한 매실의 순으로 약간의 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 따라서, 전자공여능을 기초로 하였을 때에는 3가지 해동방법이 모두 사용가능하나 microwave oven과 냉장온도에서 해동하는 방법이 조금 유리할 것으로 사료된다. 한 등(23)은 혈관계 질환의 치료와 모세혈관 강화, 항염증 효과 등에 사용되는 항산화물질(24)인 rutin을 매실로부터 분리하였다고 보고한 바 있으며, 심 등(25)은 매실 8종의 항산화력을 비교 측정한 결과 비교적 모든 제품의 항산화력이 높았으며, 특히 옥영의 항산화활성이 가장 높았다고 보고한 바 있다. 본 연구결과에서도 순수 분리한 물질이 아니라 다양한 물질의 혼합체인 매실 추출물의 항산화활성이 비교적 높게 나타났으며, 이 중 활성을 나타내는 물질을 분리·비교하는 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

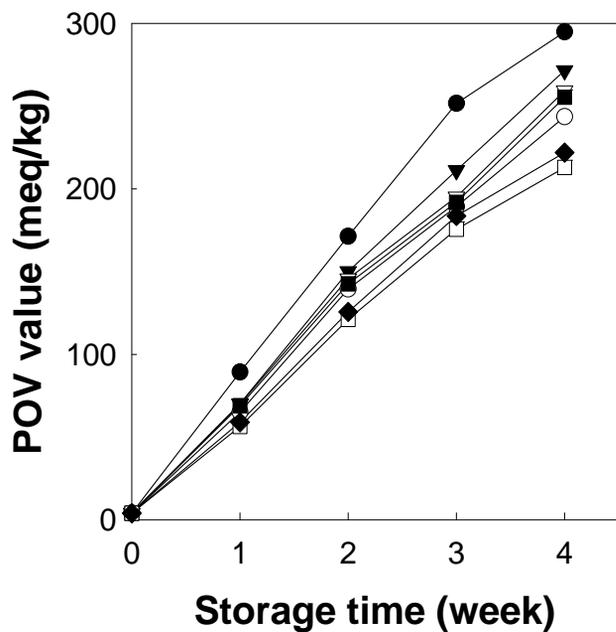


Fig. 3-7. Peroxide values in soybean oil substrates containing Mume fruit extracts and other antioxidants during storage at 60°C. ●-● : Control, ○-○ : fresh mume fruit, ▼-▼ : mume fruit thawed at room temperature (25°C), ▽-▽ : mume fruit thawed at refreezing temperature (5°C), ■-■ : mume fruit thawed at microwave oven, □-□ : BHT, ◆-◆ : ascorbic acid

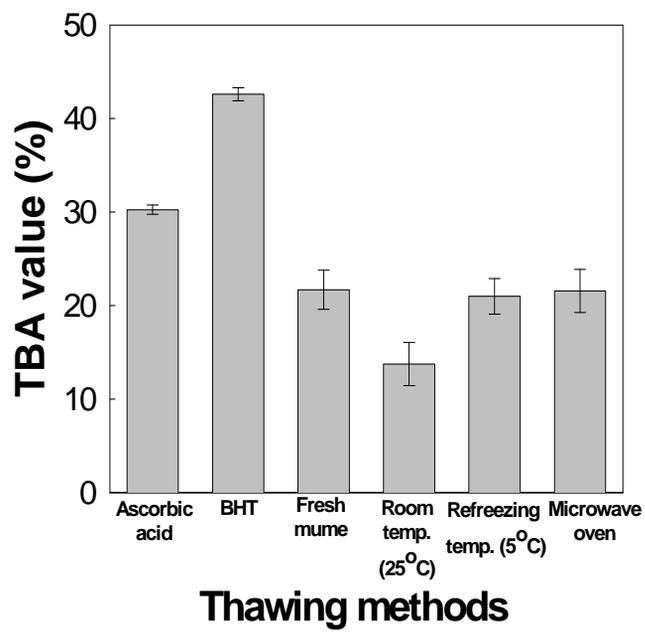


Fig. 3-8. TBA value of linoleic acid containing mume fruit extracts according to thawing methods and other antioxidants

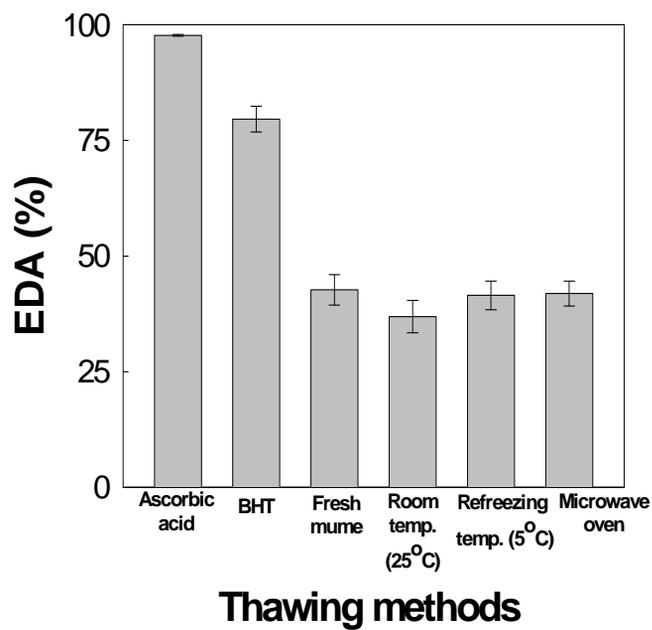


Fig. 3-9. Electron donating ability of mume fruit extract according to thawing methods

제4절 매실을 이용한 식초 개발

(*Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초 발효)

제 1 항 서 론

우리의 식생활과 밀접한 관계를 갖고 오랜 옛날부터 이용되어온 양조식초는 합성식초와는 달리 초산균의 초산발효에 의하여 생성되는 초산을 주성분으로 하여 소량의 유기산류, 유리당류, 유리아미노산류 및 에스테르류 등을 함유하여 특유한 방향과 맛을 가지는 발효 식품이다. 양조식초는 이용 가능한 원료의 다양화로 많은 종류가 만들어져 왔는데, 최근에는 식생활의 다양화와 더불어 품질이 우수하고 안정성이 확보된 고급의 양조식초에 대한 소비자의 관심이 크게 높아지고 있어 새로운 과일이나 야채등을 이용하여 독특한 풍미를 가진 양조식초를 개발하고자 하는 시도가 활발히 행하여지고 있다 (4-1 ~ 4-5). 식초에 관한 연구로 박 등(4-6, 4-7)은 고농도 에탄올 내성 초산균을 분리·동정한바 있으며, 전 등(4-8)은 우수초산균을 분리하여 자외선과 NTG를 처리하여 초기 산생성이 우수한 균주를 분리·동정하였다. 김 등(4-9)은 밀감 과피 식초에서 *Acetobacter pasteurianus*를 분리·동정한 바 있다. 오 (4-10)는 배식초 제조를 위한 기본 발효조건을 보고하였고, 김과 조(4-11)의 고량주 발효에 관한 연구, 신과 배(4-12)의 감을 이용한 과실초 제조 가능성 검토, 김 등(4-13)의 *Acetobacter aceti*의 모균주와 변이주를 이용한 사과초 제조과정에서 생성된 유기산의 조성 등이 보고된 바 있다.

한편 매실은 succinic acid, citric acid, malic acid 및 tartaric acid 등의 유기산 뿐만 아니라 sitosterol과 무기질 함량이 많은 알칼리 식품으로 알려져 있으며, 예부터 엑기스를 추출하여차로 음용하고 미숙과실을 건위, 주독, 해독 및 구충제 등 한약제로 일부 이용되어 왔으며, 매실식품으로는 술, 엑기스, 잼, 차, 장아찌 및 김치 등으로 개발되어 있다 (4-14 ~ 4-16). 매실을 이용한 식품개발에 관한 연구로 배 등(4-17)은 매실을 새로운 기능성 음료로 개발하여 각종 암세포주에 미치는 영향과 실제 운동선수에게 섭취시 혈액내 전해질의 농도와 삼투압의 변화를 조사한 바 있고, 이 등(4-18)은 매실 착즙액 3%를 첨가하여 발효시킨 호상요구르트에 당에 절인 매실과육을 첨가하여 품질특성을 보고한 바 있다. 정 등(4-19)은 매실즙이 두부의 저장성을 연장시키는 결과가 있음을 보고하였고 이 등(4-20)

고 박 등(4-21)은 매실 추출물 또는 매실과육을 빵에 첨가한 결과 반죽의 안정도는 낮았으나 기호성은 높아 기능성 소재로 이용가능하다고 보고한 바 있다. 이 등(4-22, 4-23)은 매실 착즙액을 생국수에 첨가할 경우 품질, 기호도의 향상 효과와 저장성의 연장효과가 있음을 보고한 바 있으나 매실에서 분리된 단독 균주를 이용하여 매실식초를 제조하고자 한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 매실을 이용하여 우수한 식초를 제조하기 위하여 재래식초에서 *Acetobacter* sp. SK-7을 분리, 동정 한 후 이 균을 이용하여 제조한 매실식초의 품질을 조사하였다.

제2항 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 매실은 경북 칠곡군 왜관읍에 소재한 (주)송광설중매에서 생산된 2005년산 매실을 원료로 사용하였으며, 채취한 매실을 수돗물에 충분히 수세하여 씨를 제거한 과육을 waring blender로 마쇄한 것을 매실즙으로 하였다.

2. 배지

초산 생성균 분리용 평판배지는 표준 배지(Yeast extract, 1%; glucose, 5%; CaCO₃, 3%; agar, 2.5%) 에 에탄올이 4% 함유된 배지를 사용하였으며(4-24), 매실 식초 제조를 위한 초산 생산용 매실즙 배지는 yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4%가 함유된 배지에 매실즙액을 30%로 첨가하여 사용하였다(4-25). 이때 사용된 매실즙액은 매실 1 Kg에서 얻은 추출액을 1L로 정용한 것을 사용하였다.

3. 초산 생성균의 분리

경상북도 지역의 가정에서 제조한 재래초 20여점을 초산균 분리시료로 하였으며, 30℃에서 24시간 동안 활성화시킨 후 생리식염수로 적절하게 희석하여 각각의 분리시료에서 0.2mL 씩 분리용 평판배지에 도말배양하고 30℃에서 3일간 배양하여 colony 주위에 투명환이 형성된 균을 순수분리하였다.

4. 매실즙 배지에서서 우수 초산균 선정

분리용 평판배지에서 초산 생성 균주로 선정된 균주들을 초산생성용 매실즙 배지에 접종하고 shaking incubator (제품명, 제조사, 국가명)를 사용하여 30℃에서 100 rpm으로 8일간 배양한 후 초산생성량이 가장 좋은 균주를 최종 선정하였다.

5. 분리균의 동정

분리균주는 Bergy's manual of systematic bacteriology (4-26)와 Manual of method for bacteriology (4-27)에 준하여 동정하였다.

6. 산도측정

산도측정은 초산발효액을 원심분리한 상등액 10 mL를 취하여 0.1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH로 적정한 후 초산으로 환산하여 나타내었다.

7. 유기산 분석

유기산 분석은 시료 1 mL를 먼저 활성화된 amberlite IRA-118H(Sigma, USA)과 amberlite IRA-45(Sigma, USA)를 사용하여 유기산을 흡착, 분리시킨 다음 55℃에서 감압 건조한 후 n-butanol 2 mL, benzene 2 mL, H₂SO₄ 1 mL 및 무수 Na₂SO₄ 2 g을 가하여 환류냉각장치에서 2시간 동안 비등시킨 다음, 증류수로 수회 세척하고 ether로 추출한 후 10 mL로 정용하여 GC로 분석하였다.

제3항 연구개발의 결과 및 고찰

1. 초산 생성균의 분리 및 동정

경북지역의 가정에서 재래식 방법으로 제조한 20여점의 식초로부터 초산균 분리용 배지에 접종하여 colony의 주위에 투명환을 형성하는 40개 균주를 순수분리 하였다. 이들 균주 중 매실즙을 첨가한 배지에서 초산생성이 우수한 균을 선정하기 위해 매실즙액이 25%가 함유되어 있는 초산생산용 매실즙 배지에 분리 균주들을 각각 접종하여 초산 생성량이 가장 높은 균을 공시균주로 최종 선정하였다(Table 4-1).

분리균의 형태 및 생리학적 특성을 조사한 결과는 Table 4-2에서와 같다. 즉, 그람음성 간균으로 에탄올을 산화하여 초산을 생성하며, catalase 생성능, 운동성, acetate와 lactate 산화성은 양성반응을 나타내었다. 또한 질산염 환원능은 없었으며, 탄소원으로 mannitol, inulin, sucrose 및 methanol을 이용하지 못하였다. Indole 생성능과 gelatin 액화능은 없는 것으로 확인되었으며, 1.0% 이상의 NaCl 용액에서 증식하지 않아 내염성이 약한 것으로 조사되었다. 이와 같은 결과를 종합하여 Bergy's manual 분류표에 의해 분리 균주를 *Acetobacter* sp.으로 동정되었으나 정확한 species는 알 수 없었다. 따라서 이 균주를 *Acetobacter* sp. SK-7로 명명하였다.

2. 증식 최적온도

매실즙 배지에서 *Acetobacter* sp. SK-7의 증식 최적온도를 확인하기 위하여 배양온도를 15 - 45°C의 온도범위에서 48시간 동안 진탕배양 한 후 균의 증식과 산도를 확인한 결과는 각각 Fig. 4-1과 Fig. 4-2에 나타내었다. 균의 증식 최적온도는 30°C인 것으로 확인되었으며, 산도도 증식 최적온도에서 가장 높게 나타났다. 또한 25°C와 35°C에서 균의 증식은 비슷하게 나타나고 있으나 그 범위의 바깥쪽에서는 균수가 급격히 감소되는 경향을 나타내었다. 특히, 15°C에서는 접종량과 거의 차이가 없는 것으로 나타나 이 온도에서는 균의 증식이 거의 없음을 확인할수 있었다. 이러한 결과는 순천지역에서 분리한 초산발효균의 증식최적온도가 30°C였다는 김 등(4-25)의 보고와 유사한 결과이며, Lee 등(4-28)이 분리균 *Acetobacter* sp. DS-118을 이용한 알로에 식초의 최적 발효온도가 25°C라고 한 보고와는 다소 차이를 보였다.

3. 총산도에 미치는 진탕배양의 효과

정치배양과 진탕배양이 산생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 매실즙 배지에 분리균주 *Acetobacter* sp. SK-7을 접종하고 12일 동안 배양하면서 총 산도를 경시적으로 측정할 결과는 Fig. 3-3과 같다. 진탕배양의 경우 정치배양에 비해 분리균의 유도기가 짧아 배양 2일째 산도가 3%를 넘었으며, 배양 6일째에는 산도가 5%를 넘는 것으로 확인되었다. 배양 12일째의 최종산도는 5.5%로 조사되었다. 정치배양의 경우는 발효 4일째까지는 산도의 증가가 거의 없는 것으로 확인되었으며 발효 6일째 산도가 3.9%로 나타났다. 배양 12일째의

산도는 4.8%로 조사되었다.

4. 초기산도의 영향

초기 산도가 초산생성량에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 매실즙 배지의 초기산도를 1-4%의 범위에서 0.5% 간격으로 각각 조절하여 30℃에서 진탕배양하면서 12일 동안 경시적으로 생성된 초산량을 측정한 결과는 Fig. 4-4와 같이 모든 처리구에서 배양 6일째에 발효가 완료되었다. 초기 산도가 가장 낮은 1% 첨가구에서는 초산생성량이 가장 낮게 나타났으며, 3% 첨가구까지는 초기 산도에 비례하여 배양 6일째의 산도가 높아짐을 확인할 수 있었다. 하지만 3.5% 첨가구에서는 초산생성이 약간 증가하였으나 발효가 진행되지 않는 것으로 확인되었다

5. 초기알콜 농도의 영향

에탄올 농도가 초산발효시 초산생성량에 미치는 영향을 확인하기 위하여 매실즙 배지에 에탄올 초기 농도를 2, 4, 6, 8, 10%로 각각 첨가하여 30℃에서 진탕배양 하면서 경시적으로 산도를 측정한 결과는 Fig. 4-5와 같다. 에탄올을 2%와 4% 첨가한 구에서는 배양 초기부터 산도가 점차 증가하여 배양 6일째에는 산도가 각각 5.8과 5.9에 도달하였으나 그 이후에는 증가하지 않는 것으로 확인되었다. 에탄올을 6% 이상 첨가한 구에서는 4% 첨가구에 비해 초산발효가 억제되는 것을 확인할 수 있었으며, 10% 첨가시에는 발효가 전혀 일어나지 않음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 *Acetoacter* sp. VC-2의 초산발효를 위한 최적 알콜농도가 4%라는 김 등(4-25)의 보고와는 일치하는 결과이며, 매실을 이용한 초산발효의 최적조건을 조사한 결과 알콜농도가 8.76%였을 경우 최적이었다는 손 등(4-29)의 보고와는 차이를 보였는데, 이는 사용된 균주가 상이한데 기인하는 것으로 사료된다.

Table 4-1. Cell growth and acidity of isolates

[unit : logCFU/mL, %]

Isolates	Cell growth	Acidity	Isolates	Cell growth	Acidity
SK-1	6.3	3.6	SK-11	7.3	3.5
SK-2	6.5	3.9	SK-12	7.5	3.8
SK-3	7.1	3.9	SK-13	6.8	3.8
SK-4	6.1	3.5	SK-14	6.4	3.5
SK-5	7.2	3.8	SK-15	5.9	3.3
SK-6	6.9	3.9	SK-16	4.1	3.1
SK-7	7.7	4.1	SK-17	5.8	3.5
SK-8	6.5	3.6	SK-18	7.1	3.8
SK-9	6.8	3.7	SK-19	3.9	3.1
SK-10	6.6	3.7	SK-20	6.4	3.3

1) Each isolates was cultivated at 30°C.

Table 4-2. Morphology and physiological properties of the isolate strain

Test	SK-7	Test	SK-7
Shape	rod	Growth on SM medium	
Gram stain	-	+0.5% NaCl	+
Catalase	+	+1.0% NaCl	+
Motility	+	+2.0% NaCl	-
Grown on carbon source		+1.0% Ethanol	+
Ethanol	+	+2.0% Ethanol	+
Methanol	-	+5.0% Ethanol	+
Na-Acetate	+	+10.0% Ethanol	-
n-Propanol	+	Oxidation of carbohydrate	
Amyl alcohol	-	D-Glucose	+
n-Butanol	-	D-Fructose	+
Nitrate reduction	-	D-Mannitol	+
		Inulin	+
		Sucrose	+

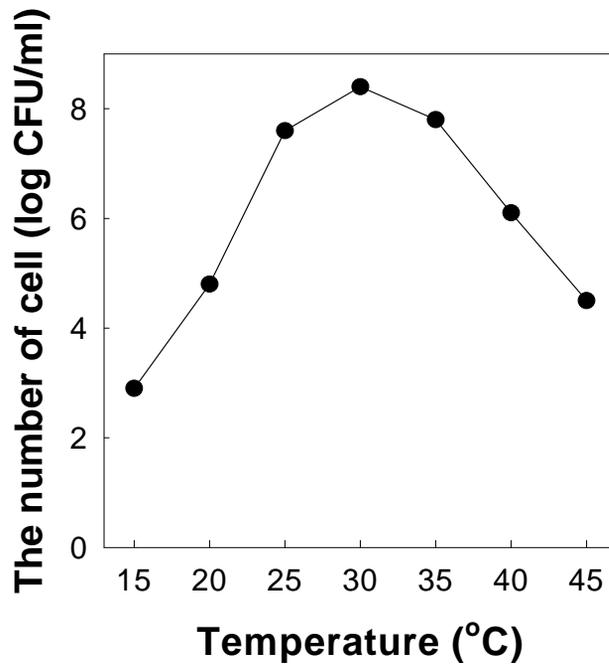


Fig. 4-1. Effect of temperature on the growth of *Acetobacter* sp. SK-7.

The strain was cultivated in the medium in which yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4% and mume extract 30% was contained

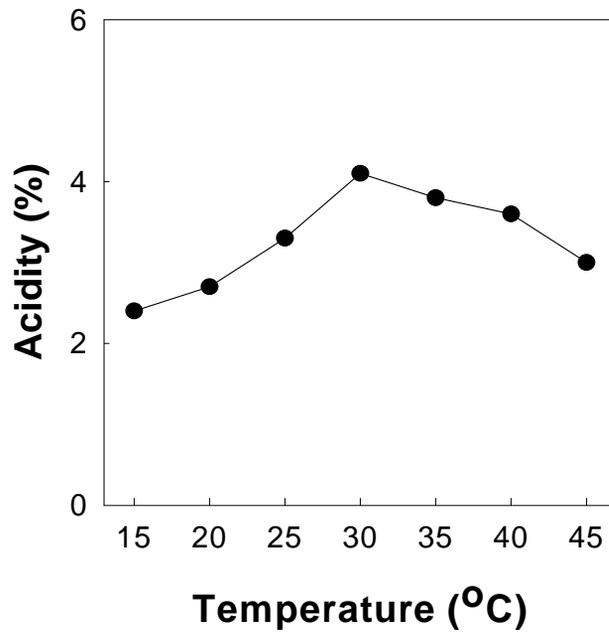


Fig. 4-2. Effect of temperature on the acidity by *Acetobacter* sp. SK-7.

The strain was cultivated in the medium in which yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4% and mume extract 30% was contained

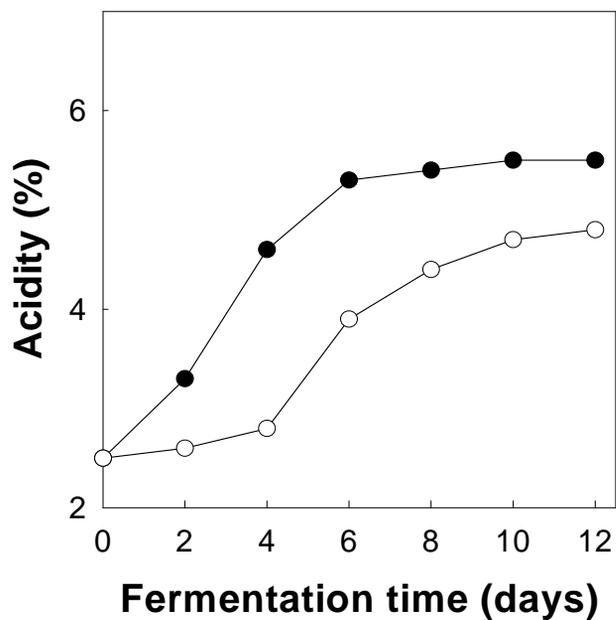


Fig. 4-3. Effects of agitation on the total acidity of *Acetobacter*. sp. SK-7.

-●- shaking culture, -○- static culture

The strain was cultivated at 30°C in the medium in which yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4% and mume extract 30% was contained

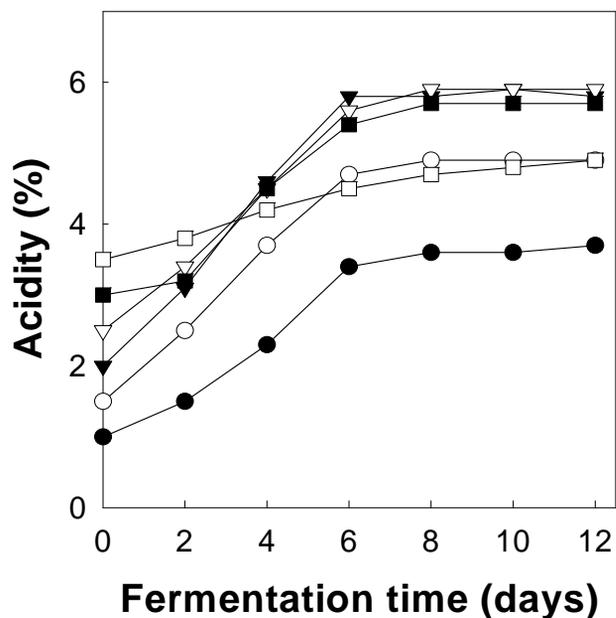


Fig. 4-4. Acetic acid production from *Acetobacter* sp. SK-7 by the initial acidity concentration during the incubation period at 30°C.

●-1.0% of initial acidity, ○-1.5% of initial acidity, ▼-2.0% of initial acidity, ▽-2.5% of initial acidity-■-3.0% of initial acidity-□- 3.5% of initial acidity

The strain was cultivated at 30°C in the medium in which yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4% and mume extract 30% was contained

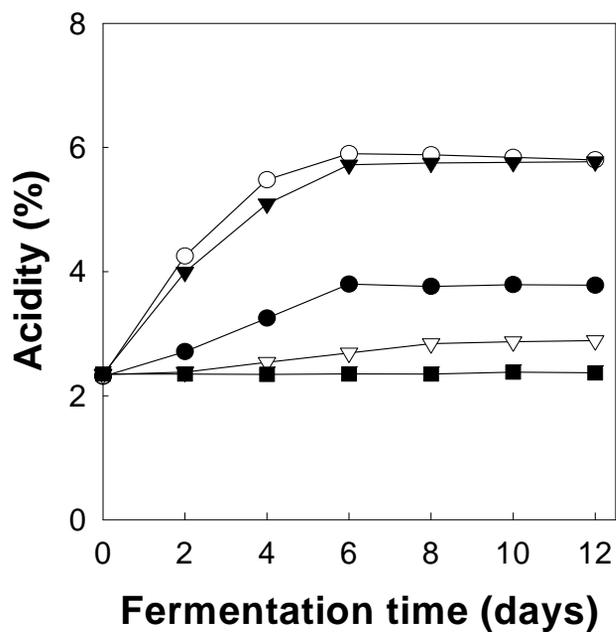


Fig. 4-5. Acetic acid production from *Acetobacter* sp. SK-7 by the initial ethanol concentration during the incubation period at 30°C. ●-● : Ethanol 2%, ○-○ : Ethanol 4%, ▼-▼ : Ethanol 6%, ▽-▽ : Ethanol 8%, ■-■ : Ethanol 10%. The strain was cultivated at 30°C in the medium in which yeast extract, 0.2%; glucose, 0.5%; (NH₄)₂PO₄, 0.06%; ethanol 4% and mume extract 30% was contained

6. 당 농도의 영향

매실즙액 30%와 에탄올 4%를 첨가한 액체 배지에 당의 농도를 0%에서 0.5%까지 0.1% 간격으로 각각 달리 첨가하여 30℃에서 12일 동안 진탕배양하여 산도를 측정된 결과는 Table 4-3에서와 같다. 대조구에서의 산도는 4.2%였다. 당의 종류에 따른 산도는 포도당을 첨가하였을 때가 설탕과 맥아당을 첨가할 경우보다 높게 나타났으며, 포도당의 농도는 0.2%를 첨가하는 것이 가장 높게 나타났다. 또한 0.3% 이상 포도당을 첨가할 경우는 오히려 산도가 감소하는 결과를 초래하였다. 이상의 결과는 배지 중의 sucrose 함량이 과량일 경우 초산발효가 저해된다는 남과 유(4-24)의 보고와 분리균 *Acetobacter* sp. VC-2에 의한 초산발효의 경우 과량의 glucose 첨가는 오히려 초산발효를 억제한다는 김 등(4-25)의 보고와 일치하는 결과이며, 그 원인 규명에 대한 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다. 한편, Hong 등(4-1)은 단감을 이용한 식초 제조시 알코올 발효의 기질인 포도당을 첨가할 경우 첨가된 당의 일부만 알코올로 전환되고 나머지는 유해균의 증식과 이취발생 및 착색에 관여하여 상품성을 저하시키므로 포도당 첨가효과는 부적합하다고 보고하여 본 연구결과와는 약간의 차이를 나타내었다.

7. 유기산 함량

분리 초산균 *Acetobacter* sp. SK-7 균주를 이용하여 위의 배양조건에서 얻어진 최적 발효조건에서 12일간 진탕배양한 후 유기산을 분석한 결과는 Table 4-4에서와 같다. 매실식초의 유기산은 acetic acid를 포함하여 6 종류가 확인되었으며 총 유기산의 함량은 발효 0일차에 1,661.0 mg%였으나 발효가 진행됨에 따라 점차 증가하여 발효 12일째에는 7,068.7 mg%로 나타났다. Acetic acid의 경우 배양 2일째에 2,774.8 mg%가 검출되었으며, 발효가 지속됨에 따라 점차 증가하여 발효 12일째에는 4,392.1 mg%를 나타내었다. 신선한 매실에 가장 많이 함유되어있는 유기산인 malic acid와 citric acid는 발효 0일째에는 각각 739.1와 814.5 mg%가 함유되어 있었으나 malic acid는 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 발효 12일째에는 403.0 mg%가 검출된 반면 citric acid는 발효와 함께 증가하여 발효 12일째에는 1,781.4 mg%가 검출되었다. Tartaric acid는 발효초기에는 검출되지 않았으나 발효가 진행됨에 따라 검출되기 시작하여 12일째에는 malic acid보다 많은 512.2 mg%가 검출되었다.

Table 4-3. Effect of sugars on the production of acetic acid by *Acetobacter* sp. SK-7 [unit : %]

Compounds	The concentration of sugar (%)					
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Glucose	4.2	4.9	6.3	5.6	5.1	5.0
Sucrose	4.2	4.9	6.0	5.3	5.0	5.0
Maltose	4.2	4.8	5.8	5.0	4.8	4.7

Table 4-4. The content of organic acids in maesil vinegar fermented by *Acetobacter* sp. SK-7. [unit : mg%]

Compounds	Fermentation time (days)						
	0	2	4	6	8	10	12
Acetic acid	-	2,774.8	3,541.6	4,081.7	4,351.6	4,389.2	4,392.1
Malic acid	739.1	711.6	599.2	481.3	438.5	410.6	403.0
Tartaric acid	-	-	101.2	195.6	361.9	481.2	512.2
Succinic acid	35.5	14.6	10.9	-	-	-	-
Formic acid	71.9	52.2	17.2	9.5	-	-	-
Citric acid	814.5	1,124.2	1,430.9	1,511.1	1,693.1	1,754.2	1,781.4
Total	1,661.0	4,677.4	5,701.0	6,279.2	6,845.1	7,035.2	7,068.7

제5절 Evolutionary Operation-Factorial Design Technique을 이용한 매실식초 발효조건의 최적화

제1항 서론

최적화를 확인하기 위한 실험 계획법은 반응표면분석, 혼합물분석 등 매우 다양하며, 이들은 각각 장단점을 가지고 있다. 한가지의 변수만을 고려하여 단계적으로 최적조건을 찾아가는 시도는 요인들 간의 상호작용에 의한 변화가 무시될 수 있기 때문에 최적조건을 찾아낼 수 없을 가능성이 있다(5-1). 따라서 최적조건을 찾고자 하는 실험계획에서 가장 기본이 되어야 할 점은 가능한 최대한의 변수를 한번에 변화시키려는 디자인을 만들어내는 것이다(5-2). 추출수율이나 목표로 하는 물질의 생산을 최적화하기 위해서는 실험디자인과 최적화 기술이 모두 고려되어야 한다.

Evolutionary operation (EVOP) design의 가장 중요한 이점은 다양한 변수들을 최대화 또는 최소화의 방향으로 명확하게 결정지어 주는데 있다. EVOP technique의 또 다른 장점은 최종산물의 수준이 저하되지 않으며, 현장적용에 매우 적합한 방법이라는 점이다(5-3). 하지만 EVOP technique는 한번에 세 가지 이상의 변수를 적용시킬 경우 실험의 양이 매우 많아져서 실험을 수행하기가 번거롭다는 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해서 factorial technique를 접목시키는 방법이 고안되었다(5-4).

본 실험의 목적은 3가지 변수 (배양온도, ethanol 함량, glucose 함량)를 달리하여 EVOP-factorial design에 적용시켜 *Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초 발효의 최적조건을 찾는 데 있다.

제2항 연구개발의 재료 및 방법

1. 재료 및 사용균주

본 실험에 사용한 매실은 경북 칠곡군 왜관읍에 소재한 (주)송광설중매에서 생산된 2005년산 매실을 원료로 사용하였으며, 채취한 매실을 수돗물에 충분히 수세하여 씨를 제거한

과육을 waring blender로 마쇄한 것을 매실즙으로 하였다.

본 실험에 사용된 균주는 본 연구진이 재래 매실초로부터 분리한 *Acetobacter* sp. SK-7을 사용하였다.

2. 초산발효 및 초산함량 측정

씨를 제거한 매실과육을 waring blender로 마쇄한 매실즙을 100℃에서 30분간 멸균한 후, 원료량에 대하여 전배양한 초산균을 2%가 되게 접종하여 각 조건별로 초산발효를 진행하였다. 초산함량은 초산발효액을 원심분리한 상등액 100mL를 취하여 0.1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH로 적정한 후 초산으로 환산하여 나타내었다.

3. Evolutionary Operation-Factorial Design Technique

본 보고서에서는 EVOP-factorial system이 국내에서는 아직 농업, 식품 및 생명공학 분야에서 적용된 사례가 없으므로, 변수가 n 개인 최적화 실험계획에서 EVOP-factorial design technique를 적용하기 위한 방법을 설명하고자 한다.

EVOP-factorial system은 factorial system과 EVOP법의 장점을 결합시킨 방법으로써, 목표로 하는 최적조건까지 단계적, 연속적으로 실험을 진행함으로써 최적조건에 이르게 되는 실험방법이다. n 개의 변수를 가진 실험계획에서 한번에 발생하는 실험의 개수는 2^n ($n=2$ 개일 경우는 제외)개가 된다. 각각의 변수들은 search level (0), higher level (1), lower level (-1)로 구성되며, 예비실험 등을 통하여 각각의 변수들이 결정된다.

EVOP-factorial system은 두개의 block (block 1과 block 2)로 나뉘어지고 각각의 block 1은 만약 n 이 홀수라면 한개의 search level과 홀수개(1, 3, 5, ... n)의 lower level 변수로 구성되고 만약 n 이 짝수라면 ($n-1$)개의 lower level로 구성된다. Block 2는 만약 n 이 짝수라면 짝수개(2, 4, 6 ... n)의 lower level을 구성하고, 만약 n 이 홀수라면 ($n-1$)/2개로 구성된다. 즉, block 1은 lower level을 나타내는 반면 block 2는 higher level을 나타내는 것이다, Table 5-1에 block 1과 block 2사이에 실험이 어떻게 분포되는지를 나타내었으며, 이 내용을 바탕으로 n 이 4일 경우를 가정하여 block 1과 block 2를 표의 형태로 Table 5-2와 5-3에 나타내었다.

두개의 cycle에서 모든 실험은 표준편차와 실험오차를 최소화하기 위해 2반복으로 이루

어진다. 2반복으로 진행되는 각각의 cycle에서 얻어진 결과는 각각 독립된 형태로 기록된다. 각 변수의 효과와 교호작용은 실험의 평균값과 평균값들의 차이에 의해 결정된다. 95% 신뢰수준에서 standard deviation과 error limit는 Table 5-4에 나타내었다(5-5, 5-6). 이러한 방법으로 changes in mean effect와 error limit를 계산하고 나서, 대조구(search level)을 변화시킴으로써 최적화에 가까워질 수 있을 것이라고 예상될 경우 대조구를 최적화에 가까운 방향으로 변화시키게 된다(5-7). 이러한 목적에서 각 효과들의 값의 크기와 error limit 값의 크기를 비교하고, 만약 1개 이상의 효과의 값이 error limit보다 크다면 좀더 좋은 결과를 얻을 수 있는 실험조건으로 변화시켜야 한다. 이러한 변화양식을 아래에 나타내었다.

- A. 만약 결과 값이 (+)이고 error limit보다 크면서 changes in mean effect가 작다면
 - a. 목적으로 하는 값이 최대화라면 변수의 값을 증가시키는 것이 종속변수의 값을 증가시키는데 도움이 될 것이다.
 - b. 목표로 하는 값이 최소화라면 변수의 값을 감소시키는 것이 종속변수의 값을 감소시키는데 도움이 될 것이다.
- B. 만약 결과 값이 (-)이고 error limit 보다 크면서 changes in mean effect가 적다면 변수의 값을 감소시키는 것이 최대화에 도움을 줄 것이다.
- C. 만약 결과 값이 error limit 보다 작고 changes in mean effect가 크면
 - a. 만약 changes in mean effect가 (-)라면 최대값에 도착했다
 - b. 만약 changes in mean effect가 (+)이라면 최소값에 도착했다
- D. 만약 결과값이 (-) 또는 (+)이고 error limit보다 작으면 changes in mean effect 역시 적다면, 아마 새로운 실험계획을 세워야 할 것으로 판단된다.

Table 5-1. Experimental design for n variables effect

Design of experiments	Number of experiments	
	Block 1	Block 2
Control (search level) experiment	1	1
With one lower level parameter	${}^n C_1 = n$	0
With two lower level parameters	0	${}^n C_2 = n(n-1)/2!$
With three lower level parameters	${}^n C_3 = n(n-1)(n-2)/3!$	0
With four lower level parameters	0	${}^n C_4 = n(n-1)(n-2)(n-3)/4!$
With five lower level parameters	${}^n C_5 = n(n-1)(n-2)(n-3)(n-4)/5!$	0
With n lower level parameters		
a) when n is an even number	0	${}^n C_n = 1$
b) when n is an odd number	${}^n C_n = 1$	0
With n higher level (+) parameters	0	${}^n C_1 = 1$

Table 5-2. Design of experiments of block 1 for n=4

Parameters \ Experiments	E ₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄	E ₁₅	E ₁₆	E ₁₇	E ₁₈
	P ₁	0	-	+	+	+	-	-	-
P ₂	0	+	-	+	+	-	-	+	-
P ₃	0	+	+	-	+	-	+	-	-
P ₄	0	+	+	+	-	+	-	-	-
Experimental responses	a ₁₀	a ₁₁	a ₁₂	a ₁₃	a ₁₄	a ₁₅	a ₁₆	a ₁₇	a ₁₈

Table 5-3. Design of experiments of block 2 for n=4

Parameters \ Experiments	E ₂₀	E ₂₁	E ₂₂	E ₂₃	E ₂₄	E ₂₅	E ₂₆	E ₂₇	E ₂₈
	P ₁	0	-	-	+	+	-	+	-
P ₂	0	-	+	-	-	+	+	-	+
P ₃	0	+	-	-	+	+	-	-	+
P ₄	0	+	+	+	-	-	-	-	+
Experimental responses	a ₂₀	a ₂₁	a ₂₂	a ₂₃	a ₂₄	a ₂₅	a ₂₆	a ₂₇	a ₂₈

Table 5-4. Calculation of standard deviation and error limits

σ = standard deviation = $1/2(\sigma_1 + \sigma_2)$

$\sigma_1 = R_1 \times f$

$\sigma_2 = R_2 \times f$

R_1 = (largest difference - smallest difference) in block 1

R_2 = (largest difference - smallest difference) in block 2

f = statistical constant

= 0.3 for number of cycles 2 and number of experiment per cycle up to 32.

Error limits : For average = $\pm 1.414\sigma$ ($\pm 2\sigma/\sqrt{n}$)

For effects = $\pm 1.004\sigma$ ($\pm 0.71 \times 2\sigma/\sqrt{n}$)

For change in mean = $\pm 0.891\sigma$ ($\pm 0.63 \times 2\sigma/\sqrt{n}$)

제3항 결과 및 고찰

첫 번째 set의 실험 (cycles I and II)에 사용된 실험조건에서 각 조건에서의 평균산도에 대한 2반복의 결과와 반복값의 차이를 Table 5-5에 나타내었다. 발효온도, ethanol 농도 및 glucose 농도를 세가지 인자로 정하고 첫 번째 set의 중심점(E_{10} , E_{20})은 발효온도 30°C, ethanol 농도 6%, glucose 농도 0.4%로 정하였다

Error limits, 각 효과와 change in mean effect를 계산한 결과는 Table 5-6에 나타내었다. Decision-making procedure에 따라서, change in mean effects와 error limits를 계산한 후에, 대조구 (search level)의 실험조건을 변화시키는 것이 더욱 좋은 결과를 얻을 수 있을 것이라고 기대될 경우 중심점을 변화시키게 된다(5-7). 최적조건은 change in mean effect가 크고 각 효과의 결과값이 error limit 보다 적을때 도달될 수 있다. 또한, 종속변수는 *Acetobacter* sp. SK-7에 의해서 생성되는 식초의 산도이며, 이는 값이 높을 수록 최적점에 도달한 것이 된다. 즉, mean effect의 부호가 (-)일때 최적점에 도달하게 되는 것이다.

본 실험에서는 change in mean effect의 부호가 (-)이고 error limit에 비해서 크게 나타났으므로 본 실험값이 최적조건에서 얻어진 것인지를 확인해보았다. 그 결과, 각 효과의 값들 중 한개 이상의 값이 error limit보다 큰 상태는 첫 번째 set 실험의 중심점 (search level : E_{10} , E_{20})이 실제 최적조건이 아니라는 것을 확인하였으며, 두 번째 set의 실험을 실시해야 한다. 두 번째 set의 실험에서 중심점 (search level : E_{10} , E_{20})은 첫 번째 set에서 산도가 5.6이상으로 가장 높게 나온 최적점인 E_{11} (발효온도 : 27°C, ethanol 농도 : 5%, glucose 농도 0.3%)로 고정하였다. 두 번째 set의 실험조건과 결과는 Table 5-7에 나타내었고 효과들의 결과값과 error limit은 Table 5-8에 나타내었다. 두 번째 set의 실험에서 가장 높은 산도는 E_{23} (발효온도 : 30°C, ethanol 농도 : 4%, glucose 농도 : 0.2)에서 얻어졌으며 이때의 산도는 6.365로 나타났다. 두 번째 set의 실험에서도 효과 값들 중 error limit보다 큰 것들이 존재하므로 비록 changes in mean effect가 (-)부호이고 error limit보다 큰 값을 나타내었지만 두 번째 set의 실험도 최적조건이 아니라고 판단하고, 두 번째 set에서 가장 높은 산도값을 나타낸 E_{23} (발효온도 : 30°C, ethanol 농도 : 4%, glucose 농도 : 0.2)을 세 번째 set의 중심점으로 설정하고 실험을 진행하기로 하였다. 세 번째 set의

실험에서 중심점 (search level : E_{10} , E_{20})은 두 번째 set에서 산도가 6.365로 가장 높게 나온 최적점인 E_{23} 으로 고정하였다. 세 번째 set의 실험조건과 결과는 Table 5-9에 나타내었고 효과들의 결과값과 error limit은 Table 5-10에 나타내었다. EVOP-factorial design에서 만약 주효과들의 값이 error limit보다 적고 change in mean effect가 클 경우 change in mean effect의 부호가 (-)일 경우 최대값에 도달하였다고 판단한다. 불행히도 세 번째 set의 실험에서는 change in mean effect의 값이 error limit보다 컸으며 부호가 (-)의 값을 나타내었으나, 효과들 중 Temperature \times GC에 대한 값(-0.2138)이 error limit보다 크게 나타나 최적조건 도달에 실패하였다. 하지만, 본 실험결과에서 최종 산도값은 6.365%로 set 1의 중심점에서 나타난 산도값 5.4%에 비해 1.0%정도 높아졌으며 (Fig. 5-1), 그 이상의 실험은 비효율적이라고 판단되어 위의 조건을 최적조건으로 결정하였다.

Table 5-5. Experimental design for three inducer system and results of Set I

Experimental conditions	E ₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄
Temperature	30(0)	27(-)	27(-)	33(+)	33(+)
Ethanol concentratoion	6(0)	5(-)	7(+)	5(-)	7(+)
Glucose concentration	0.4(0)	0.3(-)	0.5(+)	0.5(+)	0.3(-)
The content of acetic acid (cycle I)	5.47	5.72	4.35	4.24	4.16
The content of acetic acid (cycle II)	5.33	5.51	4.51	4.43	3.97
Difference (cycle I -cycle II)	0.14	0.21	-0.16	-0.19	0.19
Average	5.400	5.615	4.430	4.335	4.065
	(a ₁₀)	(a₁₁)	(a ₁₂)	(a ₁₃)	(a ₁₄)

Experimental conditions	E ₂₀	E ₂₁	E ₂₂	E ₂₃	E ₂₄
Temperature	30(0)	33(+)	27(-)	33(+)	27(-)
Ethanol concentratoion	6(0)	7(+)	5(-)	5(-)	7(+)
Glucose concentration	0.4(0)	0.5(+)	0.5(+)	0.3(-)	0.3(-)
The content of Acetic acid (cycle I)	5.38	3.35	4.73	4.54	4.27
The content of Acetic acid (cycle II)	5.50	3.50	4.57	4.68	4.50
Difference (cycle I -cycle II)	-0.12	-0.15	0.16	-0.14	-0.23
Average	5.440	3.425	4.650	4.610	4.385
	(a ₂₀)	(a ₂₁)	(a ₂₂)	(a ₂₃)	(a ₂₄)

^{b)}Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the extraction conditions

Table 5-6. Calculation worksheet of effects of three-variable system and magnitude of effects and error limits of Set I.

Effects of	Calculation of effects	
Temperature	$1/4(a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{23}-a_{11}-a_{12}-a_{22}-a_{24})$	-0.66125
Ethanol concentratoion (EC)	$1/4(a_{12}+a_{14}+a_{21}+a_{24}-a_{11}-a_{13}-a_{22}-a_{23})$	-0.72625
Glucose concentration (GC)	$1/4(a_{12}+a_{13}+a_{21}+a_{22}-a_{11}-a_{14}-a_{23}-a_{24})$	-0.45875
Temperature × EC	$1/4(a_{11}+a_{14}+a_{21}+a_{22}-a_{12}-a_{13}-a_{23}-a_{24})$	-0.00125
Temperature × GC	$1/4(a_{11}+a_{13}+a_{21}+a_{24}-a_{12}-a_{14}-a_{22}-a_{23})$	-0.00125
EC × GC	$1/4(a_{11}+a_{12}+a_{21}+a_{23}-a_{13}-a_{14}-a_{22}-a_{24})$	-0.16125
Temperature × EC × EC	$1/4(a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-a_{11}-a_{12}-a_{13}-a_{14})$	-0.34375
Change in mean effect	$1/10(a_{11}+a_{12}+a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-4a_{10}-4a_{20})$	-0.2405
Standard deviation (σ)	$1/2(\sigma_1+\sigma_2)=1/2(R_1 \times f_{k,n} + R_2 \times f_{k,n})^{(1)}$	0.1185
Error limits : For average	$\pm 1.414\sigma (\pm 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1676
For effects	$\pm 1.004\sigma (\pm 0.71 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1190
For change in mean	$\pm 0.891\sigma (\pm 0.63 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1056

R_1 : (largest difference - Smallest difference) in Block 1

R_2 : (largest difference - Smallest difference) in Block 2

$f_{k,n}$ =constant depending on number of replication (n) and number of experiments (k) per cycle = 0.3 for n=2 and k=5

Table 5-7. Experimental design for three inducer system and results of Set II

Experimental conditions	E ₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E₁₄
Temperature	27(0)	24(-)	24(-)	30(+)	30(+)
Ethanol concentratoion	5(0)	4(-)	6(+)	4(-)	6(+)
Glucose concentration	0.3(0)	0.2(-)	0.4(+)	0.4(+)	0.2(-)
The content of acetic acid (cycle I)	5.87	3.99	3.22	5.86	6.02
The content of acetic acid (cycle II)	5.66	4.13	3.08	6.11	6.15
Difference (cycle I -cycle II)	0.21	-0.14	0.14	-0.25	-0.13
Average	5.765 (a ₁₀)	4.060 (a ₁₁)	3.150 (a ₁₂)	5.985 (a ₁₃)	6.085 (a₁₄)

Experimental conditions	E ₂₀	E ₂₁	E ₂₂	E ₂₃	E ₂₄
Temperature	27(0)	30(+)	24(-)	30(+)	24(-)
Ethanol concentratoion	5(0)	6(+)	4(-)	4(-)	6(+)
Glucose concentration	0.3(0)	0.4(+)	0.4(+)	0.2(-)	0.2(-)
The content of Acetic acid (cycle I)	5.75	5.68	4.29	6.26	4.65
The content of Acetic acid (cycle II)	5.89	5.84	4.46	6.47	4.79
Difference (cycle I -cycle II)	-0.14	-0.16	-0.17	0.21	-0.14
Average	5.820 (a ₂₀)	5.760 (a ₂₁)	4.375 (a ₂₂)	6.365 (a ₂₃)	4.720 (a ₂₄)

^{b)}Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the extraction conditions

Table 5-8. Calculation worksheet of effects of three-variable system and magnitude of effects and error limits of Set II.

Effects of	Calculation of effects	
Temperature	$1/4(a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{23}-a_{11}-a_{12}-a_{22}-a_{24})$	1.9725
Ethanol concentratoion (EC)	$1/4(a_{12}+a_{14}+a_{21}+a_{24}-a_{11}-a_{13}-a_{22}-a_{23})$	-0.2675
Glucose concentration (GC)	$1/4(a_{12}+a_{13}+a_{21}+a_{22}-a_{11}-a_{14}-a_{23}-a_{24})$	-0.4900
Temperature × EC	$1/4(a_{11}+a_{14}+a_{21}+a_{22}-a_{12}-a_{13}-a_{23}-a_{24})$	0.0150
Temperature × GC	$1/4(a_{11}+a_{13}+a_{21}+a_{24}-a_{12}-a_{14}-a_{22}-a_{23})$	0.1375
EC × GC	$1/4(a_{11}+a_{12}+a_{21}+a_{23}-a_{13}-a_{14}-a_{22}-a_{24})$	-0.4575
Temperature × EC × EC	$1/4(a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-a_{11}-a_{12}-a_{13}-a_{14})$	0.4850
Change in mean effect	$1/10(a_{11}+a_{12}+a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-4a_{10}-4a_{20})$	-0.5760
Standard deviation (σ)	$1/2(\sigma_1+\sigma_2)=1/2(R_1 \times f_{k,n} + R_2 \times f_{k,n})^{(1)}$	0.1155
Error limits : For average	$\pm 1.414\sigma (\pm 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1633
For effects	$\pm 1.004\sigma (\pm 0.71 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1160
For change in mean	$\pm 0.891\sigma (\pm 0.63 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1029

R_1 : (largest difference - Smallest difference) in Block 1

R_2 : (largest difference - Smallest difference) in Block 2

$f_{k,n}$ =constant depending on number of replication (n) and number of experiments (k) per cycle = 0.3 for n=2 and k=5

Table 5-9. Experimental design for three inducer system and results of Set III

Experimental conditions	E₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄
Temperature	30(0)	27(-)	27(-)	33(+)	33(+)
Ethanol concentratoion	4(0)	3(-)	5(+)	3(-)	5(+)
Glucose concentration	0.2(0)	0.1(-)	0.3(+)	0.3(+)	0.1(-)
The content of acetic acid (cycle I)	6.25	5.95	5.79	5.48	5.66
The content of acetic acid (cycle II)	6.37	5.68	6.01	5.72	5.84
Difference (cycle I -cycle II)	-0.12	0.27	-0.22	0.24	-0.18
Average	6.310 (a₁₀)	5.815 (a₁₁)	5.900 (a₁₂)	5.600 (a₁₃)	5.750 (a₁₄)

Experimental conditions	E₂₀	E ₂₁	E ₂₂	E ₂₃	E ₂₄
Temperature	30(0)	33(+)	27(-)	33(+)	27(-)
Ethanol concentratoion	4(0)	5(+)	3(-)	3(-)	5(+)
Glucose concentration	0.2(0)	0.1(+)	0.3(+)	0.1(-)	0.1(-)
The content of Acetic acid (cycle I)	6.27	5.69	6.10	5.74	5.48
The content of Acetic acid (cycle II)	6.39	5.49	5.89	5.91	5.74
Difference (cycle I -cycle II)	-0.09	0.20	0.21	-0.17	-0.26
Average	6.330 (a₂₀)	5.590 (a₂₁)	5.995 (a₂₂)	5.825 (a₂₃)	5.610 (a₂₄)

^{b)}Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the extraction conditions

Table 5-10. Calculation worksheet of effects of three-variable system and magnitude of effects and error limits of Set III

Effects of	Calculation of effects	
Temperature	$1/4(a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{23}-a_{11}-a_{12}-a_{22}-a_{24})$	-0.0613
Ethanol concentratoion (EC)	$1/4(a_{12}+a_{14}+a_{21}+a_{24}-a_{11}-a_{13}-a_{22}-a_{23})$	-0.0963
Glucose concentration (GC)	$1/4(a_{12}+a_{13}+a_{21}+a_{22}-a_{11}-a_{14}-a_{23}-a_{24})$	0.0213
Temperature × EC	$1/4(a_{11}+a_{14}+a_{21}+a_{22}-a_{12}-a_{13}-a_{23}-a_{24})$	0.0538
Temperature × GC	$1/4(a_{11}+a_{13}+a_{21}+a_{24}-a_{12}-a_{14}-a_{22}-a_{23})$	-0.2138
EC × GC	$1/4(a_{11}+a_{12}+a_{21}+a_{23}-a_{13}-a_{14}-a_{22}-a_{24})$	0.0438
Temperature × EC × EC	$1/4(a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-a_{11}-a_{12}-a_{13}-a_{14})$	-0.0113
Change in mean effect	$1/10(a_{11}+a_{12}+a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24}-4a_{10}-4a_{20})$	-0.4475
Standard deviation (σ)	$1/2(\sigma_1+\sigma_2)=1/2(R_1 \times f_{k,n} + R_2 \times f_{k,n})^{(1)}$	0.1440
Error limits : For average	$\pm 1.414\sigma (\pm 2\sigma/\sqrt{n})$	0.2036
For effects	$\pm 1.004\sigma (\pm 0.71 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1446
For change in mean	$\pm 0.891\sigma (\pm 0.63 \times 2\sigma/\sqrt{n})$	0.1283

R_1 : (largest difference - Smallest difference) in Block 1

R_2 : (largest difference - Smallest difference) in Block 2

$f_{k,n}$ =constant depending on number of replication (n) and number of experiments (k) per cycle = 0.3 for n=2 and k=5

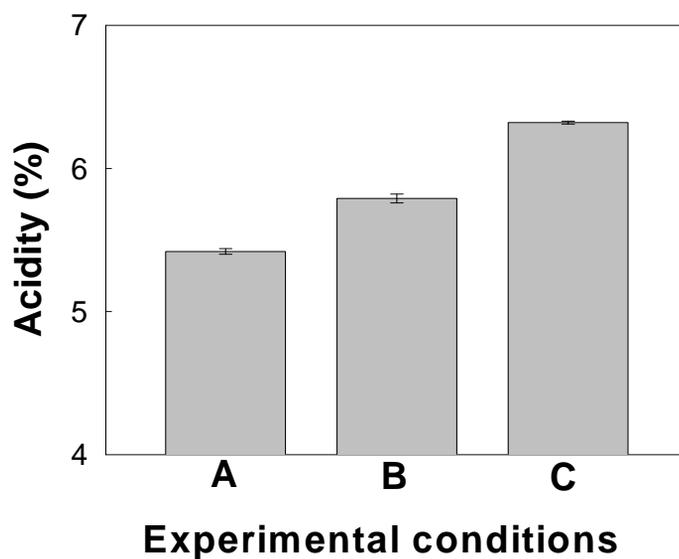


Fig. 5-1. Comparison of acidity at the central point of each set. A: central point of Set I (Temperature; 30°C, Ethanol concentration; 6%, Glucose concentration; 0.4%), B: central point of Set II (Temperature; 27°C, Ethanol concentration; 5%, Glucose concentration; 0.3%), C: Central point of Set III (Temperature; 30°C, Ethanol concentration; 4%, Glucose concentration; 0.2%)

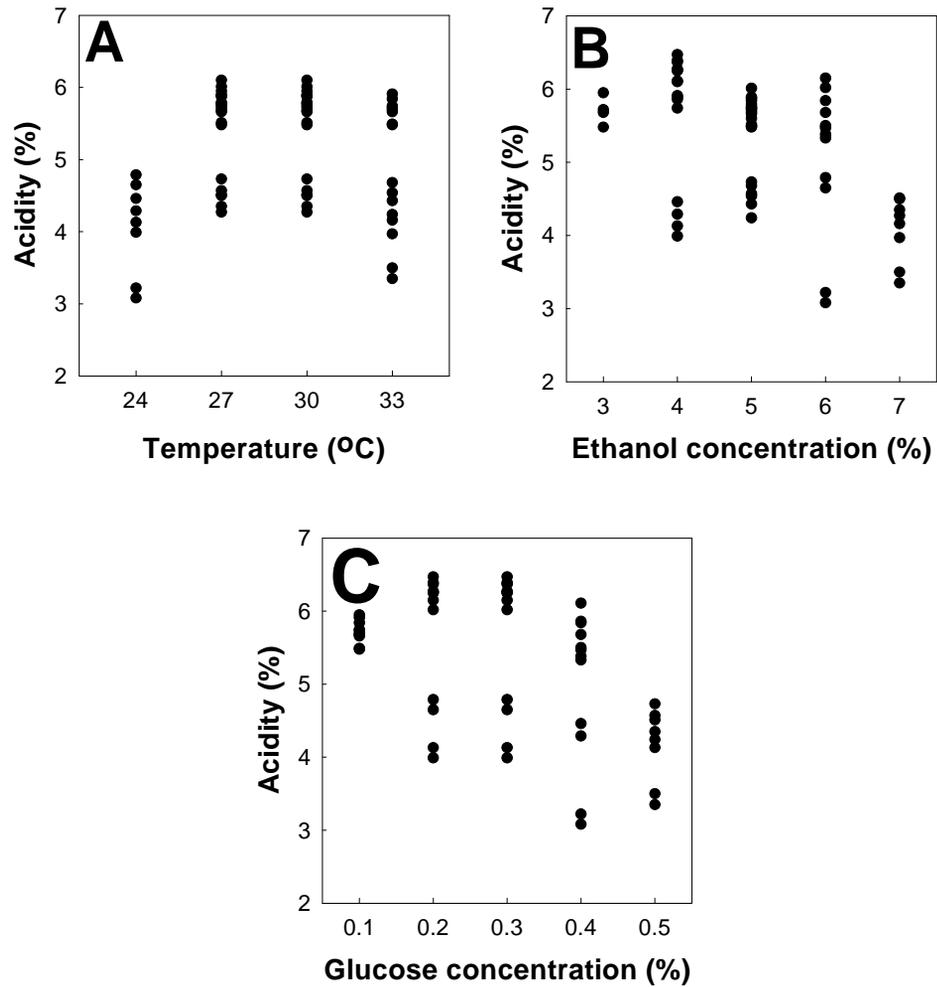


Fig. 5-2. Main effects plot for responses against independent variables in EVOP. **; $p < 0.05$. A; temperature, B; ethanol concentration, C; glucose concentration.

제 6 절 한약재의 첨가를 통한 매실식초의 품질 향상

제1항 서 론

식초는 전분질과 알콜을 초산발효시켜 생산하는 양조식초와 빙초산, 물, 향신료 및 착색료 등을 사용하여 제조하는 합성식초로 구별된다. 양조식초는 원료에 따라 쌀, 주박, 레몬, 감, 사과, 포도식초 등이 있는데 초산발효에 의해 생성되는 초산을 주성분으로 소량의 휘발성도는 비휘발성의 유기산, 당류, 아미노산 및 ester 등을 함유하여 특유한 방향과 신맛을 가진 대표적인 발효식품이다.

미생물의 증식을 억제하는 보존제로 인공합성품이 상업적으로 사용되고 있으나 그 안전성이 경우에 따라 문제로 제기되고 있다. 근래 소비자의 건강지향적 욕구가 증대됨에 따라 인공합성보존제의 기피현상이 두드러지고 있으며 이에 따라 식품가공업계에서도 인공합성보존제의 사용을 될 수 있는 한 제한하려는 추세이다. 이러한 문제점에 대처하기 위해서 안전성에 문제가 없는 천연의 향미생물물질의 개발에 관심이 집중되고 있다.

천연물에 존재하는 항균성물질을 식품의 보존에 이용하고자 하는 연구는 오래전부터 수행되었고(6-1), 현재도 이에 대한 연구(6-2, 6-3)는 활발하며, 주로 향신료와 그 정유성분(6-4 ~ 6-6), 미생물이 생성하는 항균물질(6-7 ~ 6-9)에 대해 이루어지고 있다.

우리나라 생약재의 항균성은 오래전부터 알려져 왔으나, 이러한 천연 항균성물질은 항균효과가 인공합성 보존료에 비교될 정도가 되지 못하기 때문에 아직까지 실용적으로 식품산업에 이용되는 경우는 별로 없는 실정이나, 최근 천연물에 대한 소비자의 요구가 점차 높아지므로 천연물로부터 항균성물질의 개발은 천연식품보존제의 개발이라는 의미에서 그 의의가 있다고 사료된다.

본 연구진은 항균성이 있다고 알려진 한약재를 식초에 첨가하는 방법으로 다양한 종류의 양조식초를 개발하였으며, 그 결과를 보고하고자 한다.

제2항 연구개발의 재료 및 방법

1. 생약재료

본 실험에 사용한 생약재는 세균의 증식억제에 효과가 있다고 보고(6-10 ~ 6-12)된 32종을 대구 약령시장과 경산 중앙시장에서 구입한 것으로 Table 6-1과 같다. 이들 건조된 시료를 그대로 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다.

2. 한약재가 첨가된 매실식초의 제조

한약재 추출물을 첨가한 식초의 제조는 Fig. 6-1과 같은 방법으로 행하였다. 즉, 원료의 파쇄 단계 (1차발효전)와 2차여과 단계 등 두 단계에서 한약재를 첨가하여 식초를 제조하였다.

3. pH와 산도 측정

pH는 pH meter를 사용하여 측정하였으며, 총산은 0.1 N NaOH용액으로 중화적정하여 초산으로 환원하였다.

4. 관능검사

12명의 관능검사 요원을 선정하여 7점 기호척도법을 검사를 실시하였다. 7점은 매우 좋음이고, 1점은 매우 나쁨이었다. 이때 제공된 시료는 무작위로 제시하였으며, 향(flavor), 신맛(sourness), 단맛(sweetness), 색상(color), 종합적 기호도(overall quality)를 평가하였다.

Table 6-1. 실험에 사용된 한약재

Korean name	medicinal plants name	Korean name	medicinal plants name
구 기 자	<i>Lycii Fructus</i>	천 문 동	<i>Asparagi Radix</i>
목 단 피	<i>Moutan cortex</i>	현 초	<i>Geranium thunbergii Koidz</i>
목 향	<i>Helenii Radix</i>	황 기	<i>Astragali</i>
맥 문 동	<i>Ophiopogonis Tuber</i>	황 백	<i>Phellodendri Cortex</i>
맥 아	<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	황 련	<i>Coptidis Rhizoma</i>
백 출	<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i>	백 질 여	<i>Tribuli Fructs</i>
사 인	<i>Arnomi Seman</i>	빌 량	<i>Arecae Semen</i>
산 사	<i>Crataegi Fructus</i>	사 간	<i>Belamcandae Rhizoma</i>
산 수 유	<i>Corni Fructus</i>	소 회 향	<i>Foeniculi Fructs</i>
석 창 포	<i>Acori Graminei Rhizoma</i>	승 마	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>
소 엽	<i>Perillae Herba</i>	육 두 구	<i>Myristicae Semen</i>
연 교	<i>Forsythiae Fructs</i>	음 양 괄	<i>Epimedii Herba</i>
오 미 자	<i>Schizandrae Fructs</i>	정 향	<i>Caryophylli Flos</i>
작 약	<i>Paeoniae Radix</i>	후 박	<i>Magnoliae Cortex</i>
지 실	<i>Ponciri Fructs</i>	행 인	<i>Armeniacaе Semcn</i>
창 출	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	육 계	<i>Cinnamomi Cortex Spissus</i>

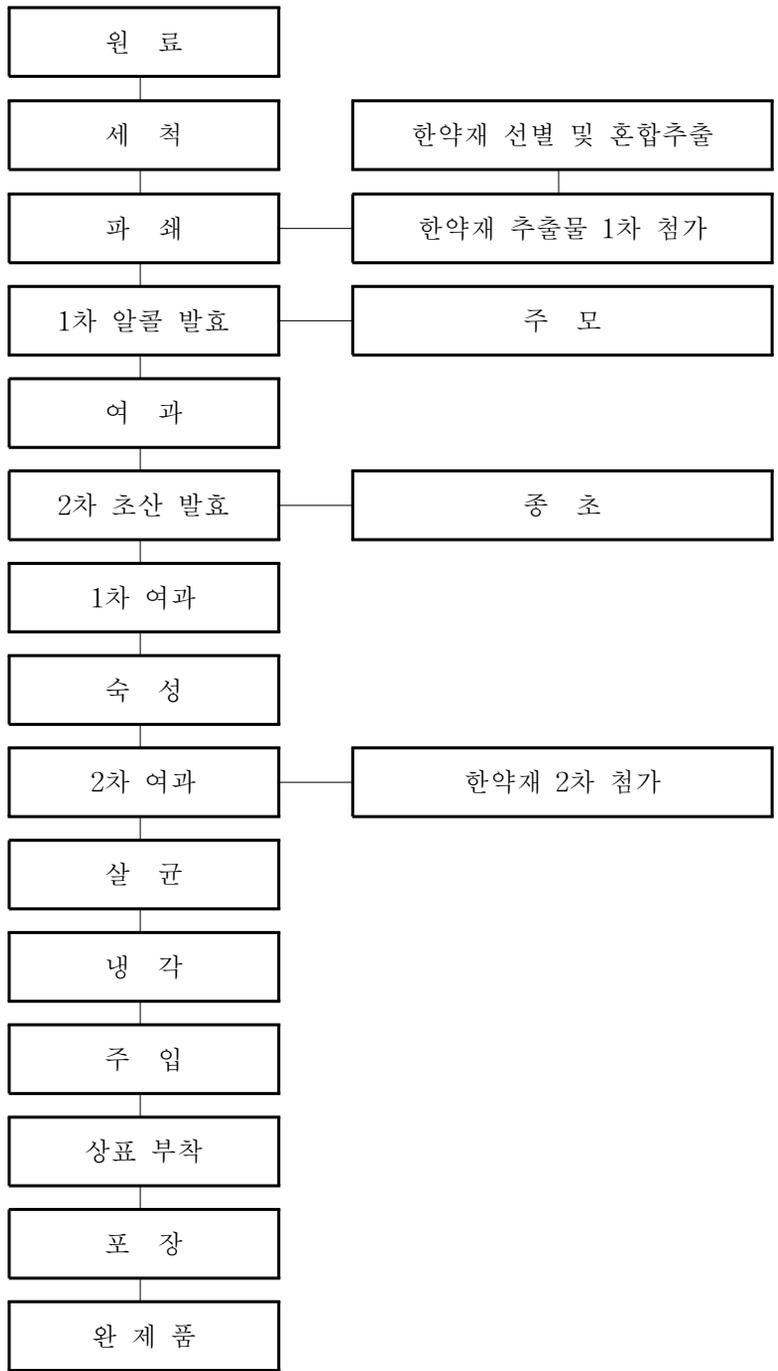


Fig. 6-1. 한약재 추출물 첨가식초의 제조방법

제3항 연구개발의 결과 및 고찰

가. 재료의 선별

생약재의 선정을 위하여 시료의 추출은 수직으로 환류 냉각관을 부착시킨 flask에 시료의 10배의 80% ethanol을 혼합하여 100℃의 수용상에서 3시간 동안 추출한 후 10% 용액으로 농축시켜 첨가를 위한 원액으로 사용하였다. 제조된 원액을 양조식초에 5%첨가하여 12명의 관능검사요원이 종합적 기호도를 평가한 결과는 Table 6-2에서와 같이 오미자, 구기자, 산수유, 황기, 소엽 등의 순으로 색과 맛에서 우수하였으며, 차후 실험은 이 중 다섯가지를 대상으로 수행하였다

나. 최적 첨가농도 결정

선정된 5가지의 한약재를 농도별로 첨가하여 관능검사를 실시한 결과는 Table 6-3에서와 같이 오미자, 구기자, 산수유의 경우는 7.5%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었으며, 황기와 소엽은 5.0%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었다. (본 보고서에서는 종합적 기호도에 대한 자료만 제시함)

Table 6-2. 한약재 첨가식초의 관능검사 결과

Korean name	medicinal plants name	S.E.V.
구 기 자	<i>Lycii Fructus</i>	5.1 ± 0.7
목 단 피	<i>Moutan cortex</i>	4.2 ± 0.8
목 향	<i>Helenii Radix</i>	3.0 ± 0.9
맥 문 동	<i>Ophiopogonis Tuber</i>	3.9 ± 0.5
맥 아	<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	4.8 ± 0.8
백 출	<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i>	5.0 ± 0.6
사 인	<i>Arnomi Seman</i>	3.9 ± 0.9
산 사	<i>Crataegi Fructus</i>	4.3 ± 0.8
산 수 유	<i>Corni Fructus</i>	6.1 ± 0.6
석 창 포	<i>Acori Graminei Rhizoma</i>	4.8 ± 0.9
소 엽	<i>Perillae Herba</i>	6.0 ± 0.7
연 교	<i>Forsythiae Fructs</i>	3.6 ± 0.6
오 미 자	<i>Schizamdrae Fructs</i>	6.3 ± 0.8
작 약	<i>Paeoniae Radix</i>	2.9 ± 0.8
지 실	<i>Ponciri Fructs</i>	4.5 ± 0.9
창 출	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	3.4 ± 0.6
천 문 동	<i>Asparagi Radix</i>	5.5 ± 1.2
현 초	<i>Geranium thunbergii Koidz</i>	5.2 ± 0.9
황 기	<i>Astragali</i>	6.0 ± 0.9
황 백	<i>Phellodendri Cortex</i>	3.7 ± 1.1
황 런	<i>Coptidis Rhizoma</i>	4.2 ± 0.8
백 질 여	<i>Tribuli Fructs</i>	3.5 ± 0.9
빌 랑	<i>Arecae Semen</i>	5.1 ± 0.7
사 간	<i>Belamcandae Rhizoma</i>	4.9 ± 1.2
소 회 향	<i>Foeniculi Fructs</i>	4.8 ± 0.9
승 마	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	2.6 ± 1.0
육 두 구	<i>Myristicae Semen</i>	5.0 ± 0.9
음 양 곽	<i>Epimedii Herba</i>	4.3 ± 0.8
정 향	<i>Caryophylli Flos</i>	2.3 ± 0.9
후 박	<i>Magnoliae Cortex</i>	2.9 ± 0.9
행 인	<i>Armeniacae Semcn</i>	4.1 ± 0.7
육 계	<i>Cinnamomi Cortex Spissus</i>	5.2 ± 0.9

Table 6-3. 한약재 첨가농도에 따른 식초의 관능검사 결과

한 약 재	첨 가 농 도				
	0%	2.5%	5.0%	7.5%	10.0%
구 기 자	2.5±0.5	4.2±0.7	5.8±1.0	6.3±0.7	5.8±0.8
산 수 유	3.0±0.4	5.0±1.0	6.0±0.9	6.5±1.0	5.9±0.7
소 엽	3.1±0.7	4.1±0.8	5.2±1.1	5.9±0.8	5.7±0.7
오 미 자	2.9±0.5	5.7±0.8	6.7±0.7	5.2±0.8	4.9±0.9
황 기	3.5±0.7	4.1±0.6	6.4±0.5	5.8±0.7	5.7±1.1

Table 6-4. 한약재 첨가농도에 따른 매실식초의 산도

한 약 재	첨 가 농 도				
	0%	2.5%	5.0%	7.5%	10.0%
구 기 자	5.9	5.7	5.5	5.1	4.8
산 수 유	5.8	5.5	5.2	4.9	4.7
소 엽	5.9	5.8	5.7	5.5	5.3
오 미 자	5.9	5.6	5.4	5.1	4.9
황 기	5.9	5.7	5.3	5.0	4.9

8. 자소의 첨가가 매실식초의 품질에 미치는 영향

Acetobacter sp. SK-7의 의한 초산생성 최적조건에서 자소첨가에 따른 매실식초의 품질 특성을 조사하기 위하여 초산발효 최적조건인 매실즙 30%, 초기산도 2%, 에탄올 농도 4%, 포도당 0.2%가 함유된 배지에 동결건조된 자소 분말을 농도별로 첨가한 후 30℃에서 8일간 진탕배양한 후 산도와 관능검사를 실시하였다. 산도는 Fig. 6-2에서 나타난 바와 같이 자소의 첨가량이 많아짐에 따라 조금 감소하였으나 3% 첨가시까지는 그 정도가 매우 미비하였으며 4% 이상에서는 산도가 유의적으로 감소하는 것으로 확인되었다. 따라서 산도를 고려할 경우 자소의 3% 첨가까지는 매실식초의 품질에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

자소의 첨가에 따른 매실식초의 관능적 특성을 조사한 결과는 Table 6-3에서와 같다. 색깔의 경우 자소의 첨가량이 증가함에 따라 선호도가 급격히 상승하였다. 냄새의 경우 자소의 첨가는 대조구에 비해서 선호도가 증가함을 확인할 수 있었으나, 첨가량이 증가함에 따른 차이는 미비한 것으로 나타났다. 종합적 기호도는 자소의 첨가량이 증가함에 비례하여 선호도 역시 증가하는 것으로 나타났다.

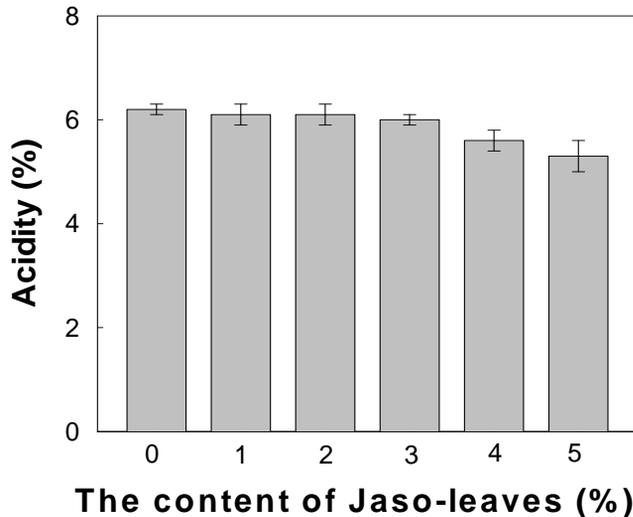


Fig. 9-6. Acetic acid production from *Acetobacter* sp. SK-7 according to the addition of *Preilla frutescens* var. *acuta*.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 청매실의 원료형태에 따른 심온 냉동시 품질변화

원료형태에 따른 청매실의 -70°C 에서의 냉동저장시 품질 및 항산화력의 변화를 확인하였다. 수분, 가용성 고형분 및 회분 함량은 원료의 형태에 따른 차이가 아주 미비하였다. 저장 18개월 동안 매실의 pH는 원료의 형태에 따른 유의적인 차이는 발견할 수 없었다. 하지만 냉동기간이 길어짐에 따라 매실의 pH는 약간이나마 상승하는 경향을 확인할 수 있었다. 냉동 18개월째의 L값은 원료의 형태에 따라 상당한 차이를 보이는 것으로 확인되었다. a값을 기준으로 보면 냉동매실은 저장기간이 지남에 따라 점차 적색에 가까워지며, 원료형태는 원형 그대로 저장하는 것이 신선한 매실의 색도와 좀더 비슷하였다. b값은 결과들 사이의 유의적인 차이를 발견할 수 없었다. ΔT 값은 신선한 매실이 31.8을 나타내었으며, 냉동 6개월째의 매실은 원료의 형태에 관계없이 31.0 ~ 31.9사이의 값을 나타내었다. 신선한 매실의 경우 총유리당 함량은 426.6 mg%를 나타내었으며, -70°C 에서 6개월간 냉동저장한 경우, 신선한 매실에 비해 3.0-3.9% 정도의 유리당 손실이 있는 것으로 확인되었으며, 원료 형태에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. 18개월간 냉동저장한 매실은 신선한 매실에 비해 84.9%가 남아 있는 것으로 확인된 반면 씨를 뺀 매실의 경우 저장 12개월째와 18개월째에 각각 394.6 mg% (92.5%)와 373.0 mg% (87.4%)가 검출되어 가장 유리당의 보전이 좋은 것을 확인할 수 있었다. 유기산은 citric acid가 가장 많이 검출되었고 malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순으로 확인되었다. 신선한 매실의 경우 총 유기산 함량은 5,297.2 mg%를 나타내었다. 18개월 동안 -70°C 에서 저장한 매실의 경우, 신선한 매실에 비해 15.7-21.6% 정도의 유기산 손실이 있는 것으로 확인되었다. 저장기간에 따른 유기산 함량은 저장 6개월에서 12개월 사이에 가장 많은 손실이 일어나는 것으로 확인되었다. 유리아미노산은 asparagine이 가장 많이 검출되었고 arginine과 aspartic acid의 순이었다. 신선한 매실의 경우 총 유리 아미노산 함량은 281.4 mg%를 나타내었다. 원형 그대로 냉동한 매실의 유리아미노산 손실이 씨를 뺀 상태로 저장한 매실과 분쇄하여 저장한 매실에 비해 조금 손실량이 적은 것으로 확인되었으며, 12개월이 지난 시점에서는 모든 시험구에서 10% 이상의 손실이 발생하였다. 신선한 매실의 경우 ascorbic acid 함량은 62.1 ± 1.0 ppm을 나타내었다. 저장시간에 따른 매실의 ascorbic acid 함량은

원료의 형태에 관계없이 저장기간이 지남에 따라 점차 감소함을 확인할 수 있었으며, 감소 속도도 빨라짐을 확인할 수 있었다. 원료형태에 따른 비교 결과 원형 그대로 저장한 경우가 가장 좋았다. 원료의 형태에 따른 관능적 특성의 차이는 색깔과 냄새 및 종합적 기호도 모두 저장 전 기간에 걸쳐 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다. 원료의 형태에 따른 POV값은 비교적 차이는 크지 않았지만 씨를 뺀 후 분쇄한 매실 < 씨를 뺀 매실 < 원형 그대로 저장한 매실의 순으로 나타났다. 저장기간에 따른 항산화 활성의 소실정도를 확인한 결과 시간에 정비례하여 활성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. TBA가와 전자공여능을 비교한 결과를 통해 항산화력을 측정된 결과 모든 형태의 매실이 저장기간이 지남에 따라 항산화력이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 매실의 저장형태는 원형 그대로 냉동시키는 것이 가장 항산화활성이 높았다.

2. 저장온도를 달리하여 저장한 청매실의 품질특성

냉동 저장온도를 -5°C , -10°C , -20°C 및 -70°C 로 달리하여 12개월간 냉동한 후 microwave로 급속 해동하여 매실의 품질변화를 확인하였다. 냉동저장된 매실의 유리당은 glucose가 가장 많이 검출되었고 maltose, fructose, sucrose의 순으로 나타났다. -70°C 에서 저장한 매실은 신선한 매실에 비해 약 4.1%의 손실이 발생한 것으로 확인되었다. 유기산은 citric acid가 가장 많았으며, malic acid, formic acid, oxalic acid 및 succinic acid의 순이었다. 분석된 유기산중 냉동에 의해 가장 손실이 많은 것은 succinic acid로 -5°C 에서 저장할 경우 1년 후에는 신선한 매실에 비해 50%나 손실되는 것으로 확인되었다. 유리아미노산은 asparagine이 전체 아미노산의 70% 이상으로 가장 많이 검출되었고, arginine과 aspartic acid의 순이었다. -70°C 에서 1년 동안 저장한 후 급속해동한 매실에서는 신선한 매실에 비해 6.5%의 손실이 발생한 것으로 나타났다. Ascorbic acid 함량은 저장온도가 높아짐에 따라 급격히 감소하였다. -70°C 에서 1년간 저장한 냉동매실의 경우 냄새와 색깔 및 종합적 기호도에서 감소는 있었으나 유의적인 차이는 나지 않은 반면 -20°C , -10°C 와 -5°C 에서 저장한 냉동매실의 경우 냄새에서 선호도가 유의적으로 감소하였다. 냉동저장 온도에 따른 항산화력을 확인한 결과 TBA가, 과산화물가 및 EDA가 모두 냉동저장 온도가 낮을 수록 항산화활성의 보존이 우수하였다.

3. 냉동매실의 해동기술 개발

냉동매실의 해동방법에 따른 품질변화를 조사하였다. 사용된 세 가지 해동방법 중 microwave에서 냉동매실을 해동하는 것이 가장 유리하였다. 드립손실은 microwave oven에서 해동할 경우 $3.2 \pm 0.2\%$ 가 용출되는 것으로 나타났다. 매실의 총 유리당 함량은 426.6 mg%였으며, 해동에 의한 손실은 microwave oven에서 해동시 약 3%인 것으로 나타났다. 유기산 함량은 5,297.2 mg%였으며 해동에 따른 손실은 2.5% 정도였다. 유리아미노산 함량은 281.4 mg%였으며, 해동에 따른 손실은 2.1%인 것으로 확인되었다. 해동방법에 따른 매실의 식중독 균에 대한 항균작용은 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 항균력이 그대로 유지되는 것으로 나타났다. 항산화력은 신선한 매실 > microwave에서 해동한 매실 > 냉장 온도에서 해동한 매실 > 실온에서 해동한 매실의 순으로 약간 차이를 보였다

4. 매실을 이용한 식초 개발 (*Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초 발효)

매실을 이용한 식초개발의 기초연구로써 초산생성능이 우수한 초산균을 재래초로부터 분리·동정하고 매실 식초 제조를 위한 최적 발효조건을 검토하였다. 재래초로부터 분리된 20균주 중 매실즙이 30% 첨가된 배지에서 초산생성능이 가장 우수한 균주인 SK-7균을 선정하고 형태 및 생리학적 특성을 확인한 결과 *Acetobacter* sp. SK-7으로 동정하였다. 이 균주에 의한 초산생성 최적조건을 확인한 결과, 최적온도는 30°C였으며, 진탕배양이 정지배양에 비해 초산생성에 효과적인 것으로 나타났다. 초산생성에 가장 적합한 배지 조성은 매실즙 30%, 초기산도 2%, 에탄올 농도 4%, 포도당 0.2%가 함유된 배지였다. 이와같은 배양조건에서 매실식초는 8일이 지나면 발효가 완만해졌으며, 12일에는 발효가 거의 완료되는 것으로 확인되었다. 12일째의 총 산도는 7.1%인 것으로 나타났다.

5. EVOP-Factorial Design Technique을 이용한 매실식초 발효조건 최적화

EVOP-factorial design technique를 이용하여 *Acetobacter* sp SK-7에 의한 매실식초 발효 최적조건을 찾고자 하였다. 발효조건으로 발효온도, ethanol 농도 및 glucose 농도를 세 가지 인자로 정하고 첫 번째 set의 중심점은 발효온도 30°C, ethanol 농도 6%, glucose 농도 0.4%로 정하였다. 첫 번째 set에서는 각 효과의 값들 중 한개 이상의 값이 error limit 보다 큰 상태로써 중심점이 실제 최적조건이 아니라는 것을 확인하고 두번째 set의 실험을

실시하였다. 두 번째 set의 실험에서 중심점은 첫 번째 set에서 산도가 가장 높게 나온 최적점인 E₁₁(발효온도 : 27°C, ethanol 농도 : 5%, glucose 농도 0.3%)로 고정하였다. 두 번째 set의 실험에서도 효과 값들 중 error limit보다 큰 것들이 존재하므로 비록 changes in mean effect가 (-)부호이고 error limit보다 큰 값을 나타내었지만 두 번째 set의 실험도 최적조건이 아니라고 판단하고, 두 번째 set에서 가장 높은 산도값을 나타낸 E₂₃ (발효온도 : 30°C, ethanol 농도 : 4%, glucose 농도 : 0.2)을 세 번째 set의 중심점으로 설정하고 실험을 진행하였다. 불행히도 세 번째 set의 실험에서는 change in mean effect의 값이 error limit보다 컸으며 부호가 (-)의 값을 나타내었으나, 효과들 중 Temperature × GC에 대한 값이 error limit보다 크게 나타나 최적조건 도달에 실패하였다. 하지만, 본 실험결과에서 최종 산도값은 6.365%로 set 1의 중심점에서 나타난 산도값 5.4%에 비해 1.0%정도 높아졌으며 그 이상의 실험은 비효율적이라고 판단되어 위의 조건을 최적조건으로 결정하였다.

6. 한약재의 첨가를 통한 매실식초의 품질 향상

매실식초의 품질향상을 위하여 각종 한약재를 첨가함에 따른 매실식초의 산도 변화 및 관능적 특성을 확인하기 위해 수행되었다. 관능검사점수를 통해 1차로 선정된 선정된 5가지의 한약재를 농도별로 첨가하여 관능검사를 실시한 결과는 오미자, 구기자, 산수유의 경우는 7.5%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었으며, 황기와 소엽은 5.0%를 첨가하였을 때 가장 좋은 결과를 나타내었다. 이들 중 소엽을 첨가하는 것이 가장 좋은 점수를 얻었다. 매실식초의 산도는 자소의 첨가량이 많아짐에 따라 조금 감소하였으나 3% 첨가까지는 매실식초의 품질에 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 자소의 첨가에 따른 매실식초의 관능적 특성은 자소의 첨가량이 증가함에 비례하여 선호도 역시 증가하는 것으로 나타났다.

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

본 연구 결과에서 얻어진 핵심정보와 기술은 아래와 같다.

- 원료형태별 냉동청매실의 일반성분 확인
- 원료형태별 냉동 청매실의 pH변화 확인
- 원료 형태별 냉동 청매실의 색도변화 확인
- 원료 형태별 냉동 청매실의 유리당 함량 변화 확인
- 원료 형태별 냉동 청매실의 유기산 함량 변화 확인
- 원료 형태별 유리아미노산 함량 변화 확인
- 원료 형태별 ascorbic acid 함량 변화 확인
- 원료 형태별 관능적 특성 변화 확인
- 원료 형태별 항산화력 변화 확인
- 해동방법에 따른 drip 손실 확인
- 해동방법에 따른 색도 변화 확인
- 해동방법에 따른 유리당 함량 변화 확인
- 해동방법에 따른 유기산 함량 변화 확인
- 해동방법에 따른 유리아미노산 함량 변화 확인
- 해동방법에 따른 관능적 특성 변화 확인
- 해동방법별 매실의 식중독 균에 대한 항균작용
- 해동방법별 매실의 항산화력 변화 확인
- 초산생성균의 분리 및 동정
- 분리균 *Acetobacter* sp. SK-7의 증식최적 온도 확인
- 총산도에 미치는 진탕배양의 효과 확인
- 초기 산도의 영향 확인
- 초기 알콜농도의 영향 확인
- 당농도의 영향 확인
- 분리균 *Acetobacter* sp. SK-7로 발효된 매실식초의 유기산 함량 확인

- 냉동온도별 냉동청매실의 일반성분 확인
- 냉동온도별 냉동 청매실의 pH변화 확인
- 냉동온도별 냉동 청매실의 색도변화 확인
- 냉동온도별 냉동 청매실의 유리당 함량 변화 확인
- 냉동온도별 냉동 청매실의 유기산 함량 변화 확인
- 냉동온도별 유리아미노산 함량 변화 확인
- 냉동온도별 ascorbic acid 함량 변화 확인
- 냉동온도별 관능적 특성 변화 확인
- 냉동온도별 항산화력 변화 확인
- EVOP-fs를 이용한 초산생성 최적화 (3단계)
- 한약재 첨가를 통한 품질향상(소스개발)

본 연구진은 연구개발과정 중에 구축된 산·학·연의 관련 전문인력을 유기적으로 연결하여 추가기술 및 제품을 개발할 것이며, 전문기술인력의 양성을 통하여 지속적인 품질의 제품 생산이 가능하도록 할 것이다. 또한 연구수행 중에 수집한 고급정보기술은 조속한 시간내에 전문학술지에 조속히 투고하고 특허출원을 통하여 권리를 보호받을 것이다.

또한 매실식초를 바탕으로 한 다양한 가공제품의 개발과 냉동매실을 이용한 제품개발에 매진할 것이며, 본 연구과제 수행 중에 발생한 애로사항인 매실의 씨빼기 작업에서의 문제점을 해결하기 위하여 매실 씨빼는 기계의 개발에 착수할 것이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

본 연구진은 매실식초 발효조건의 최적화를 위해 국내에서 최초로 EVOP-factorial design technique를 도입하였으며, 이는 식품, 미생물, 또는 생명과학을 연구하는데 좋은 tool이 될것으로 판단하였다.

Evolutionary operation (EVOP) design의 가장 중요한 이점은 다양한 변수들을 최대화 또는 최소화의 방향으로 명확하게 결정지어 주는데 있으며, EVOP technique의 또 다른 장점은 최종산물의 수준이 저하되지 않으며, 현장적용에 매우 적합한 방법이라는 점이다(5-3). 하지만 EVOP technique는 한번에 세 가지 이상의 변수를 적용시킬 경우 실험의 양이 매우 많아져서 실험을 수행하기가 번거롭다는 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해서 factorial technique를 접목시키는 방법이 고안되었다(5-4).

본 실험에서는 3가지 변수 (배양온도, ethanol 함량, glucose 함량)를 달리하여 EVOP-factorial design에 적용시켜 *Acetobacter* sp. SK-7에 의한 매실식초 발효의 최적조건을 확인하였으며, 향후 다양한 종류의 실험에 적용될 수 있을 것으로 기대된다.

제 7 장 참고문헌

- 1-1. Shim KH, Sung NK, Choi JS, Kang KS. Changes in major components of Japanese apricot during ripening. J. Korean Soc. Food Nutr. 18: 101-108 (1989)
- 1-2. Son SS, Ji WD, Chung HC. Optimum condition for alcohol fermentation using mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) fruit. J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr. 32: 539-543 (2003)
- 1-3. Jung DH, You JY. Fermented foods of vegetables. Gang Il Sa, Seoul, Korea (1997)
- 1-4. Kim JH, Xiao PG. Traditional drugs of the east. Young Lim Sa, Seoul, Korea (1995)
- 1-5. Youn MS. Effect of maesil extracts ligestion on blood lactate density and serum lipid components. M.S. thesis. Kyungnam Univ. Masan. Korea (1989)
- 1-6. Sheo HJ, Ko EY, Lee MY. Effect of *Prunus mume* extracts on the gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. J. Korean Soc. Food Nutr. 16: 41-47 (1990)
- 1-7. Sheo HJ, Lee MY, Chung DL. Effect of *Prunus mume* extracts on the gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. J. Korean Soc. Food. Nutr. 19: 21 (1990)
- 1-8. Bae JH, Kim KJ. Effect of *Prunus mume* extract containing beverages on the proli feration of food borne pathogens. J. East Asian Diet. Life 9: 214-222 (1999)
- 1-9. 문재식. 성숙과정중 매실의 이화학적 특성변화. 경희대학교 석사학위 논문 (1994)
- 1-10. 심기환, 성낙계, 최진상, 강갑석. 매실의 성숙중 주요성분의 변화. 한국영양식량학회지. 18:101-108 (1989)
- 1-11. 신수철. 매실의 수확시기별 성분의 변화 . J. Oriental Bot. Res., 8: 259-264 (1995)
- 1-12. 차환수, 홍석인, 박정선, 박용곤, 김관, 조재선. 포장조건에 따른 청매실의 호흡생리 및 선도유지특성. 한국식품영양과학회지. 28: 1304-1309 (1999)
- 1-13. 차환수, 황진봉, 박정선, 박용곤, 조재선. 매실의 성숙중 유기산, 유리당 및 유리아미

- 노산의 변화. 한국농산물저장유통학회지. 6: 481-487 (1999)
- 1-14. Cha HS, Chung MS. Changes in physicochemical characteristics of mature-green mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) fruit as influenced by the thickness of packaging material. Korean J. Food Preservation 9: 148-153 (2002)
- 1-15. AOAC. Official Method of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Communities, Washington, DC, USA (1995)
- 1-16. Choi UK, Son DH, Ji WD, Choi DH, Kim YJ, Rhee SW, Chung YG. Producing method and statistical evaluation of taste of *sigumjang*. Kor. J. Food Sci. Technol. 31: 778-787 (1999)
- 1-17. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 978-984 (1995)
- 1-18. Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. Isolation of antioxidative components of *Perillae seme*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 38-43 (1997)
- 1-19. Blois MS. Abtioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1200 (1958)
- 1-20. SAS Institute, Inc. SAA User's guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (2000)
- 3-1. 문관심. 약초의 성분과 이용. 일월서각. 299 (1994)
- 3-2. 김태정. 한국의 자원식물. 서울대학교 출판부(Ⅱ). 160 (1996)
- 3-3. Lim JW. Studies on the antibacterial and physiological activities of *Prunus mume*. MS thesis, Kyunghee University, Suwon, Korea (1999)
- 3-4. Sheo HJ, Lee MY, Chung DL. Effect of *prunus mume* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. J. Korean Soc. Food Nutr. 19: 21-26 (1990)
- 3-5. Dogasaki C, Murakami H, Nisjijima M, Yamamoto K, Miyazaki T. Antimutagenic activities of *Prunus mume* SIEB. et ZUCC. Yakugaku Zasshi. 112: 577-584 (1992)
- 3-6. Lee DS, Woo SK, Yang CB. Studies on the chemical composition of major fruit

- in Korea. Korean J. Food Sci. Technol. 4: 134-139 (1972)
- 3-7. Hasegawa M. Flavonoids of various Prunus species. J. Org. Chem. 24: 408-409 (1959)
- 3-8. Kameoka H, Kitagawa C. Constituents of the fruits of Prunus mume SIEB. et ZUCC. Nippon Nogei Kagaku Kaishi. 50: 389-393 (1976)
- 3-9. Han JT, Lee SY, Kim KN, Baek NI. Rutin, Antioxidant compound isolated from the fruit of Prunus mume. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44: 35-37 (2001)
- 3-10. Park YS. Effect of Prunus mume extract on the sensory quality and shelf life of cooked rice. Korean J. Soc. Food. Sci. 14: 503-508 (1998)
- 3-11. 조한영. 매실의 건강법. 믿을출판사. 98 (1981)
- 3-12. AOAC. Official Method of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Communities, Washington, DC, USA (1995)
- 3-13. Choi UK, Son DH, Ji WD, Choi DH, Kim YJ, Rhee SW, Chung YG. Producing method and statistical evaluation of taste of *sigumjang*. Kor. J. Food Sci. Technol. 31: 778-787 (1999)
- 3-14. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 978-984 (1995)
- 3-15. Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. Isolation of antioxidative components of Perillae seme. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 38-43 (1997)
- 3-16. Blois MS. Abtioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1200 (1958)
- 3-17. SAS Institute, Inc. SAA User's guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (2000)
- 3-18. Lee HA, Nam ES, Park SI. Effect of maesil (Prunus mume) juice on antimicrobial activity and shelf-life of wet noodle. Korean J. Food Culture. 18: 428-436 (2003)

- 3-19. Kim YS, Park YS, Im MH. antimicrobial activity of *Prunus mume* and *Shizandra chinensis* H-20 extracts and their effects on quality of functional *kochujang*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 893-897 (2003)
- 3-20. Lee SH, Choi JS, Park KN, I, YS, Choi WJ. Effects of *Prunus mume* Siet. extract on growth of lactic acid bacterial isolated from kimchi and preservation of kimchi. Korean J. Food Preservation 9: 292-297 (2002)
- 3-21. Hwang JY, Han JW, Nam SH. The antioxidant activity of maesil (*Prunus mume*). Korean J. Food Sci. Technol. 36: 461-464 (2004)
- 3-22. Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. Screening of antioxidant in fructus mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) extract. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 45: 119-123 (2002)
- 3-23. Han JT, Lee SY, Kim KN, Baek MI. Rutin, antioxidant compounds isolated from the fruit of *Prunus mume*. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44: 35-37 (2001)
- 3-24. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural produces of high pharmacological potency. Biochem. Pharmacol. 32: 1141-1148 (1983)
- 3-25. Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. Screening of antioxidant in fructus mume (*Prunus mume* Sieb et Zucc.) extract. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 45: 119-123 (2002)
- 4-1. Oh YJ. A study on cultural conditions for acetic acid production employing pear juice J. Korean Soc Food Nutr. 21: 377-380 (1992)
- 4-2. Hong JH, Lee GM, Hur SH. Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmons during low temperature storage. J. Korean Soc Food Nutr. 25: 123-128 (1996)
- 4-3. Ko EJ, Hur SS, Choi YH. The establishment of optimum cultural conditions for manufacturing garlic vinegar. J. Korean Soc Food Nutr. 27: 102-108 (1998)
- 4-4. Park YK, Jung ST, Kang SG, Park IB, Cheun KS, Kang SK. Production of a vinegar from onion. Kor J. App; Microbiol. Biotechnol. 27: 75-79 (1999)

- 4-5. Kim DH. Studies on the production of vinegar from fig. J. Korean Soc Food Nutr. 28: 53-60 (1999)
- 4-6. 박권삼, 장동석, 조학래, 박옥연. 고농도 에탄올 내성 초산균의 개발 및 배양특성. 한국영양식량학회지. 23: 666-?? (1994)
- 4-7. 박권삼, 이명숙, 목중수, 장동석. 고농도 에탄올 내성균 *Acetobacter* FM-10을 이용한 초산발효조건 검토. 한국영양식량학회지. 23: 845-?? (1994)
- 4-8. 전홍성, 박종필, 이양수, 김연순, 김중승, 김성준. 식초로부터 분리한 초산 발효균들의 특성에 관한 연구. 조선대학교 유전생물공학연구지. 2: 117 (1992)
- 4-9. 김용호, 박윤중, 손천배. 식초제조에 있어 밀감과피즙 이용에 관한 연구. 충남대학교 농업기술연구보고. 8: 110-118 (1981)
- 4-10. 오영준. 배를 이용한 식초의 발효조건에 관한 연구. 한국영양식량학회지. 21: 191-?? (1981)
- 4-11. 김해중, 조재선. 곶감주 박초 제조에 관한 연구. 산업미생물학회지. 9, 191-?? (1981)
- 4-12. 신두호, 배정. 감을 이용한 식초제조. 대전실전중경공전논문집. 16: 857 (1987)
- 4-13. 김찬조, 박윤중, 이석건, 오만진. *Acetobacter* sp.와 그 변이주를 이용한 식초산 발효에 관한 연구 (사과식초의 유기산 조성에 대하여). 산업미생물학회지. 9: 139-144 (1981)
- 4-14. 서화중, 이명렬, 정두례. 매실 추출물이 흰쥐의 위액분비 및 사염화탄소로 유발시킨 가토의 간장 장애에 미치는 영향. 한국영양식량학회지. 19: 1-?? (1990)
- 4-15. Lee SH, Choi JS, Park KN, Im YS, Choi WJ. Effects of *Prunus mume* Siet. extract on growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi and preservation of kimchi. Korean J. Food Preservation. 9: 292-297 (2002)
- 4-16. Lee KI, Moon RJ, Lee SJ, Park KY. The quality assessment of doenjang added with Japanese apricot, garlic and ginger, and samjang. Korea J. Soc. Food Cookery Sci. 17: 472-477 (2001)
- 4-17. Bae JH, Kim KJ, Kim SM, Lee WJ, Lee SJ. Development of the functional beverage containing the *Prunus mume* extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 713-719 (2000)

- 4-18. Lee EH, Nam ES, Park SI. Characteristics of curd yogurt from milk added with maesil (*Prunus mume*). Korean J. Food Sci. Technol. 34: 419-424 (2002)
- 4-19. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. Preparation and shelf-life of soybean curd coagulated by fruit juice of schizandra *chinensis* Ruprecht(omija) and *Prunus mume* (maesil). Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1087-1092 (2000)
- 4-20. Lee YH, Shin DH. Bread properties utilizing extracts of mume. Korean J. Food & Nutr. 14: 305-310 (2001)
- 4-21. Park SI, Hong KH. Effect of Japanese Apricot(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) flesh on baking properties of white breads. Korean J. Food Culture. 18: 506-514 (2003)
- 4-22. Lee HA, Nam ES, Park SI. Effect of maesil (*Prunus mume*) juice on antimicrobial activity and shelf-life of wet noodle. Korean J. Food Culture. 18: 428-436 (2003)
- 4-23. Lee HA, Nam ES, Park SI. Effect of maesil (*Prunus mume*) juice on antimicrobial activity and shelf-life of wet noodle. Korean J. Food Culture. 18: 527-535 (2003)
- 4-24. 남성희, 유태중: 인삼성분이 천연발효에 미치는 영향. 고려인삼학회지. 4: 121-?? (1980)
- 4-25. Kim YD, Kang SH, Kang SK. Studies on the acetic acid fermentation using maesil juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25: 695-700 (1996)
- 4-26. Krig, N. R. and J. G. Holt. 1984 Bergey's manual of systematic bacteriology. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA.
- 4-27. Gerhardt, P. R. G. E. Murray, W. A. Wood and N. R. Krieg. 1994. Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington D.C., USA
- 4-28. Jeong YJ, Lee GB, Kim KS. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1203-1208 (1998)
- 5-1. Kennedy, M. and Krouse, D. (1999), J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 23, 456-475.

- 5-2. Fisher, R. A. (1926), J. Min. Agric. 33, 503-513.
- 5-3. Banerjee, R. and Bhattacharyya, B. C. (1993), Biotechnol. Bioeng. 41, 67-71.
- 5-4. Mukherjee, G and Banerjee R. (2004) Evolutionary operation-factorial design technique for optimization of conversion of mixed agroproducts into gallic acid. Appl. Biochem. Biotechnol. 118, 33-46
- 5-5. Box G. E. P., and Hunter J. S. (1959) Condensed calculation for evolutionary operation programs. Technometric, 1, 77-95
- 5-6. Pierson, E. S. and Hartly, H. O. (1954) Biometrika tables for statisticians, p46. vol 1. University press. Cambridge.
- 5-7. Banerjee, R and Bhattacharyya, B. C.(1993) Evolutionary operation (EVOP) to optimize three-dimensional biological experiments. Biotechnol. Bioeng., 41, 67-71 (1993)
- 6-1. Bass, g.k : Methods of testing disinfectants. In Disinfection. Sterillization 2nd (ed.). Block. S.S., ed., Lea and Febiger, Philadelphia p.49(1977)
- 6-2. Beuchat, L.R. and Golden, D.A. : Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol., 43, 134(1989)
- 6-3. Davidson, P.M. and Post, L.S. : Naturally occurring and miscellaneous food antimicrobials. In Antimicrobials in Foods, Branen, A.L. and DAVIDSON, p.M., (ed)., Marcel Dekker, Inc. New. York p371(1983)
- 6-4. 정병선, 이병구, 심선택, 이정근 : 쑥씨 증의 정유성분이 미생물의 생육에 미치는 영향. 한국식문화학회지, 4, 417(1989)
- 6-5. Conner, D.E. and Beuchat, L.R. : Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. J. Food Sci. 49: 429 (1984)
- 6-6. Shelef. L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W. : Sensitivity of some common food borne bacteria to the spices sage, rosemary and ailspice. J. Food Sci. 45: 1042 (1980)
- 6-7. Branen, A.L., Go, H.C. and Genske, R.P. : Purification and properties of antimicrobial substances produced by *Streptococcus diacetiliactis* and *Luconostoc*

citrovorum. J. food Sci. 40: 446 (1975)

- 6-8. Pulusani, S.R., Rao, D.R. and Sunki, G.R. : Antimicrobial activity of lactic cultures-Partial purification and characterization of antimicrobial compound(s) produced by *Streptococcus thermophilus*. J. Food Sci., 44: 575 (1979)
- 6-9. Abdel-Bar N., Harris, N.D. and Rill, R.L. : Purification and properties of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus bulgaricus*. J. Food Sci., 52: 411(1987)
- 6-10. Kawai., Nagame, Effects of salts and metal oxides on electrochemical and optical properties of *Streptococcus mutans*. Japanese Journal of Applied Physics. Part 2 Japan, JJAP, 33: 1496-1498 (1994)
- 6-11. Mata, Lodi G., Drake, D., Doyle, R.J. Modification of surface properties of oral streptococci by α -1,6 glucans. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Amsterdam, Elsevier, 8: 295-302 (1997)
- 6-12. Varpuleena K., Longitudinal Analysis of Human Salivary Immunoglobulins, Nonimmune Antimicrobial Agents and Microflora after Tonsillectomy. Clinical Immunology and Immunopathology. 80: 110-115 (1996)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.