

Isolation of an Acetic Acid Bacterium *Acetobacter pasteurianus* CK-1 and Its Fermentation Characteristics

Kyu-Ho Bang, Chae-Won Kim and Chul-Ho Kim*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University, Jinju 660-758, Korea

Received August 9, 2021 / Revised January 3, 2022 / Accepted February 11, 2022

To effectively isolate acetic acid bacteria for producing makgeolli vinegar, various products were researched, and *Acetobacter pasteurianus* CK-1, a strain that is excellent in acetic acid production, was finally isolated. The optimal growth temperature of the isolated strain was confirmed to be 30°C, and it grew well in the pH range of 5.5~6.5, with optimal growth at pH 6. *A. pasteurianus* CK-1 had the most active proliferation when the initial ethanol concentration in the medium was 4%, and growth was possible even at an ethanol concentration of 7%. When inoculating the isolated strain into makgeolli to induce acetic acid fermentation, the pH at the beginning of fermentation was 3.54, which was gradually lowered to 2.77 after 18 days of fermentation. The acidity was 0.75% at the beginning of fermentation and gradually started to increase from the 4th day of fermentation. The final acidity at the end of fermentation was 5.54%. In the vinegar fermented by inoculating *A. pasteurianus* CK-1, acetic acid content was detected to be as high as 3,575.7±48.6 mg%, and the malic acid and citric acid contents were 2,150.8±27.6 and 55.8±3.7 mg%, respectively. Further, it was confirmed that the content and ratio of the organic acids produced significantly differed depending on the type of inoculated bacterial strain. During acetic acid fermentation, the populations of yeast and *A. pasteurianus* CK-1 were inversely changed. In the initial stage of fermentation, yeast dominated, and after 10 days of fermentation, *A. pasteurianus* CK-1 slowly proliferated and reached stationary phase.

Key words : Acetic acid fermentation, *Acetobacter pasteurianus*, acidity, growth condition, organic acid

서 론

식초는 동서양을 막론하고 옛날부터 인류생활과 밀접한 인연을 가지고 있고 음식의 맛과 간을 맞추는데 이용되어온 발효식품일 뿐만 아니라 민간 의약으로도 널리 사용되어 왔다 [4]. 우리나라에서는 오래전부터 탁약주를 이용한 양조식초가 상류층 가정에서 자가 제조되어 이용되다가 1950년대 후반에 비로소 양조식초가 공업적으로 생산되기 시작하였다.

식초는 초산을 비롯하여 25종 이상의 유기산, 20여종의 아미노산, 20여종의 ester 및 각종 영양물질을 함유하고 있다 [16]. 대표적인 알칼리성 식품으로 알려져 있는 식초에 함유된 이러한 기능성 물질들은 천연의 원료로부터 발효 과정을 통해서 합성되기 때문에 부신피질 호르몬의 분비, 소화액의 분비 촉진, 피로회복, 당뇨병 완화, 비만 방지, 혈압 상승 방지, 노화 방지, 항종양 효과 등의 기능이 있는 것으로 확인됨으로써 최근에는 조미료로서 뿐만 아니라 건강음료로서 다양하게 활

용되고 있다[21, 29]. 또한 특유의 강한 산성으로 식품 내 유해 미생물의 생육을 억제하는 대표적인 발효식품이다[2].

우리나라에서는 양조식초를 과일 술덧, 과일 착즙액, 주정 및 당류 등을 혼합하여 초산 발효한 과일식초, 곡물 술덧, 곡물 당화액, 에탄올 및 당류 등을 초산 발효한 곡물식초, 그리고 주정, 당류, 첨가물 등을 초산 발효한 주정식초 등으로 나누고 있다[23]. 식초 제조 방법도 산업적 대량생산 방법 뿐만 아니라 근래에는 전통적인 숙성방법인 정치배양 식초가 출시되면서 고급화, 다양화 되어 건강음료 소재로 활용되고 있다[10, 18].

초산균은 그람 음성 또는 그람 다양성, 호기성, 포자 비형성, 막대형 세균으로서 독립적, 쌍, 또는 사슬 형태로 존재된다. 적정성장 pH는 5.0~6.5 범위이며, pH 3.0~4.0 정도에서도 생장이 가능하다[26]. 초산 발효에 있어서 초산균은 식초의 품질을 결정하는 중요한 요인으로서, 초산균은 그 종류에 따라 생성하는 acetic acid 함량이 다르며, 총산 함량을 좌우하는 품질 판정의 지표로 이용되므로 우수한 초산균을 개량하는 것은 산업적으로 매우 중요하다. 초산균은 당과 알코올을 초산으로 산화시킬 수 있는 능력에 따라 초산과 젖산을 재산화시킬 수 있는 *Acetobacter* 속 및 *Gluconacetobacter* 속과, 알코올보다 당을 더 선호하며 초산을 재산화시킬 수 있는 능력이 없는 *Gluconobacter* 속으로 분류된다. *Acetobacter* 속 계열의 초산균 대부분은 식초 제조에 이용되고 있다[27].

최근, 국내 식초 연구는 원료의 기능성을 이용한 식초개발

*Corresponding author

Tel : +82-55-772-3395, Fax : +82-55-772-3399

E-mail : chkim63@gnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

로써 야콘, 오이, 복분자, 홍삼 등을 사용한 웰빙형 천연발효식초 연구가 대부분을 이루고 있다. 하지만 식초의 품질에 영향을 미치는 우수 초산균에 관한 연구는 특정 원료에 적합한 균주 선발로 제한적인 연구가 이루어졌다. 고품질의 발효식초 제조시 필요한 초산균의 특징은 알코올 산화력, 초산 생성능, 초산의 비과산화, 낮은 pH 저항성 및 세포의 다당 비생성 등이 있다. 따라서 재래식초의 품질을 향상 시킬 수 있는 산업용 우수 초산균에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 우리의 전통 식품으로부터 우수 초산균을 탐색하고, 분리균을 막걸리에 접종하여 식초 발효에 어떠한 영향을 미치는지에 대하여 확인하였다.

재료 및 방법

초산균 분리 및 배양 배지

초산균 분리용 평판 배지는 GYC agar 배지(Yeast extract 1%, Glucose 5%, CaCO₃ 3%, Agar 2%)에 에탄올이 3% 함유된 배지를 사용하였으며[6, 32], 초산균 증식을 위한 배지로는 에탄올이 3% 함유된 YG 배지(Yeast extract 1%, Glucose 5%)를 사용하였다.

초산균의 분리 및 동정

초산균은 시중에 판매되는 생막걸리와 실험실에서 만든 막걸리, 그리고 가정에서 제조한 재래 식초 등으로부터 분리하였다. 이를 위하여 전통적인 방법으로 막걸리를 제조하여 공기와 접촉한 상태에서 30일 가량 발효시켜 식초를 만들었으며, 시중에 판매되는 생막걸리도 동일한 방법으로 초산 발효시켰다[20].

초산 발효된 막걸리 식초와 각종 재래 식초를 3% 에탄올이 함유된 GYC agar 배지에 도말하여 30°C에서 3일 동안 배양하여 생성된 초산균의 단일 집락(colony)을 동일한 배지에 계대 배양하여 순수 분리한 뒤, 고체배지에 점적하고 30°C에서 7일간 배양한 후 생성된 투명한 크기를 비교하여 우수 초산균을 선별하였다[8, 13, 22].

초산 생성능이 가장 우수하다고 판단되는 균주를 최종 선택하여 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여 동정하였다.

분리균주의 적정 성장 온도 및 pH

분리균주의 적정 성장온도를 확인하기 위하여 3% 에탄올을 함유한 YG 액체배지(Yeast extract 1%, Glucose 5%)에 분리균주를 접종하여 25.0°C, 27.5°C, 30.0°C, 32.5°C에서 150 rpm으로 진탕배양하면서 일정시간 간격으로 흡광도(660 nm)를 측정하였다.

적정 pH를 확인하기 위하여 동일한 배지에 분리균을 접종한 것을 pH 5.5~7.5 범위에서 pH를 0.5 간격으로 조절하여 30°C, 150 rpm 조건에서 배양하면서 배지의 흡광도(660 nm)

를 측정하였다.

분리균주의 성장에 미치는 알코올의 영향

분리균주의 성장에 미치는 알코올 농도의 영향을 확인하기 위하여 액체배지에 알코올 함량을 3~7% 범위로 조절하여 30°C, 150 rpm 조건에서 배양하면서 일정 시간 간격으로 배지의 흡광도(660 nm)를 측정하였다.

막걸리 식초 제조

막걸리에 분리균을 접종하여 초산 발효하는 과정에서의 발효 특성을 확인하기 위하여 먼저 다음과 같은 방법으로 막걸리를 제조하였다. 쌀 3 kg을 12 시간 가량 물에 불린 다음 찜기로 1시간 가량 찐 후 고두밥이 식을 때까지 공기 중에 방치하였다. 고두밥이 완전히 식은 후 소독된 항아리에 고두밥과 누룩 10%(w/w), 끓인 후 식힌 물 12 l를 넣고 잘 섞은 후 30°C 배양기에 보관하였다.

막걸리를 만들고 9일째 되는 날 항아리에 있는 막걸리의 찌꺼기를 걸러낸 후 막걸리의 알코올 농도를 6%로 조절하였다. 이를 세 개의 작은 항아리에 3 l씩 나누어 담고, 각각의 항아리에 전배양한 대조균주와 실험균주를 각각 0.5%(v/v)씩 주입하여 30°C 배양기에 보관하였다. 분리된 균주의 발효 특성 비교를 위한 대조균주로는 농업유전자원센터(KACC)에서 분양받은 *Acetobacter pasteurianus* KACC 13993, *Gluconobacter oxydans* KACC 16335를 사용하였다.

초산 발효 중 일정 시간 간격으로 각 항아리에서 시료를 채취하여 총산도, pH, 유기산, 그리고 총균수의 변화를 관찰하였다.

막걸리 식초의 산도 및 pH 측정

산도는 시료 10 ml에 phenolphthalein 지시약 2~3 방울을 떨어뜨린 후 0.1 N-NaOH 용액으로 적정한 후 소비된 용액의 양을 acetic acid로 환산하였으며[11], pH는 pH meter (model 520A, Orion Co Ltd., USA)를 사용하여 측정하였다.

막걸리 식초의 유기산 측정

막걸리 초산 발효가 종료된 후 초산 발효 과정에서 생성되는 대표적인 유기산인 acetic acid, malic acid, citric acid를 측정하였다. 유기산 분석을 위해 Sep-pack C18 cartridge (Waters Co., USA)로 색소 및 단백질 성분을 제거하고 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC (Agilent 1260, Agilent Technol., Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다. 유기산은 Hi-Plex H column (7.7 mm × 300 mm, Agilent Technol., USA) 및 UV detector (210 nm)를 사용하였으며, 이동상 5 mM sulfuric acid, 유속 0.6 ml/min의 조건으로 분석하였다. 모든 표준물질은 Sigma 제품으로 사용하였다.

막걸리 식초의 총 균수

초산 발효 도중 시료 내의 미생물 군집 변화를 관찰하기 위하여 시료 1 ml를 취하여 10배 희석법으로 희석한 시료를 초산균 계수를 위하여 초산균 분리용 평판배지에, 효모 계수를 위하여 YPD 평판배지에 각각 도말하여 30℃ 배양기에서 배양한 후 형성되는 집락을 계수하였다.

결과 및 고찰

초산균의 분리 및 동정

실험실에서 제조한 막걸리, 시중의 생막걸리, 그리고 가정에서 제조한 각종 식초를 3% 에탄올이 함유된 GYC agar 배지에 도말하여 배양한 결과 가정에서 제조한 감식초에서 집락 주변에 가장 큰 투명환을 형성하는 균주를 가장 활성이 높은 것으로 추정하여 분리하였다[20].

분리균의 16S rRNA 염기서열을 비교분석한 결과는 분리균주는 *Acetobacter pasteurianus*와 염기서열이 완전히 일치하여 유연관계가 매우 가까움을 확인할 수 있었으며, *Acetobacter pasteurianus* CK-1로 명명하였다.

분리균주의 적정 성장 온도 및 pH

분리균주의 적정 성장온도는 30.0℃로 확인되었으며, 27.5℃와 32.5℃에서 상대적으로 생장이 급격하게 둔화되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이러한 성장 특성은 다른 종의 일반세균에 비하여 매우 좁은 적정 성장 온도를 요구하는 것을 알 수 있었다. 대부분의 초산균은 25~30℃의 적정 성장 온도를 나타내며, 이 온도 보다 높아지면 효소 비활성화, 막 손상, 그리고 생산된 초산의 독성 때문에 성장 저해 효과가 나타나는 것으로 알려져 있다[28].

초산균은 초산 배양 과정에서 배지 내 초산의 농도가 증가함에 따라 세포 외부에 피막을 형성함으로써 pH 저하에 대한 저항성을 나타내는 것으로 알려져 있는데[12], 분리균주는 pH 6.0에서 가장 왕성하게 성장하였으며, pH 5.5와 pH 6.5에서도

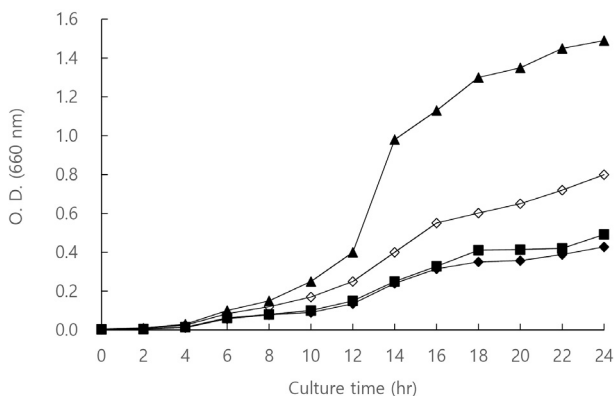


Fig. 1. Comparison of growth of *A. pasteurianus* CK-1 at different temperature. ◆, 25.0℃; ■, 27.5℃; ▲, 30.0℃; ◇, 32.5℃.

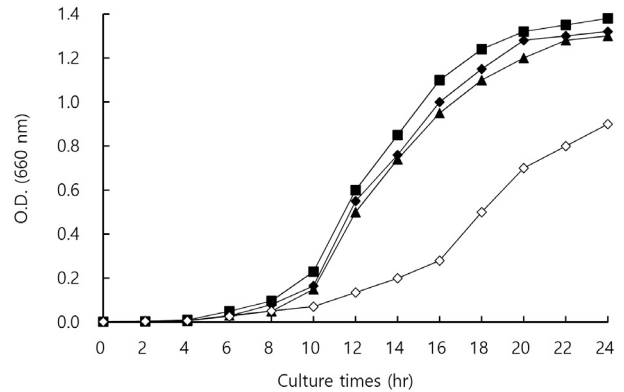


Fig. 2. Comparison of growth of *A. pasteurianus* CK-1 at different pH. ◆, pH 5.5; ■, pH 6.0; ▲, pH 6.5; ◇, pH 7.0.

높은 성장율을 나타내었다(Fig. 2). 반면 pH 7.0에서는 생장이 급격하게 둔화되었다. 이러한 결과는 다른 *A. pasteurianus*가 pH 5.0 정도의 적정 성장 조건을 나타낸다는 결과 보다는 높은 수치를 보였다[25].

분리균주의 생장에 미치는 알코올의 영향

초산 발효에 있어서 배지 내 알코올의 함유량은 초산균의 성장 및 발효능에 중요한 요인으로 작용하며, 초기 알코올 농도가 너무 높으면 초산 생성이 저해되는 것으로 알려져 있다 [17]. 일반적으로 초산균은 4% 정도의 알코올 농도에서 생장이 억제되며[3], 알코올 저항성은 환경 요인의 영향에 의한 종 의존적인 것으로 확인되었다[9].

본 연구에서 분리한 *A. pasteurianus* CK-1의 경우에는 배지 내 초기 에탄올 농도가 4%일 때 가장 활발하게 증식하였으며, 에탄올 농도가 높아질수록 생장이 점차 억제되었지만, 에탄올 농도가 7%인 배지에서도 생장이 가능하였다(Fig. 3). 다른 다수의 연구[7, 19]에서 *A. pasteurianus*는 초기 알코올 농도가 5.0% 전후일 때 초산 생산성이 높은 것으로 확인된 바 있는

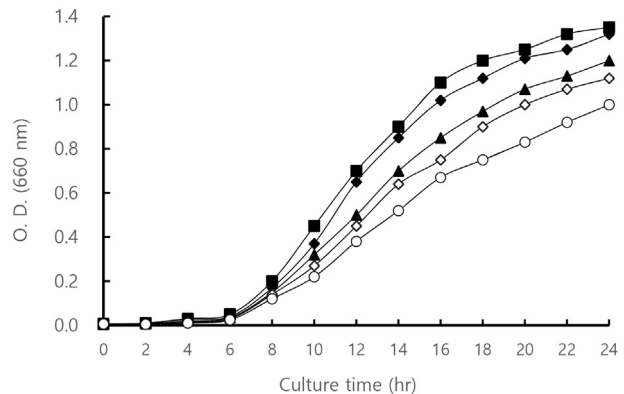


Fig. 3. Comparison of growth of *A. pasteurianus* CK-1 at different ethanol concentration. ◆, 3%; ■, 4%; ▲, 5%; ◇, 6%; ○, 7%.

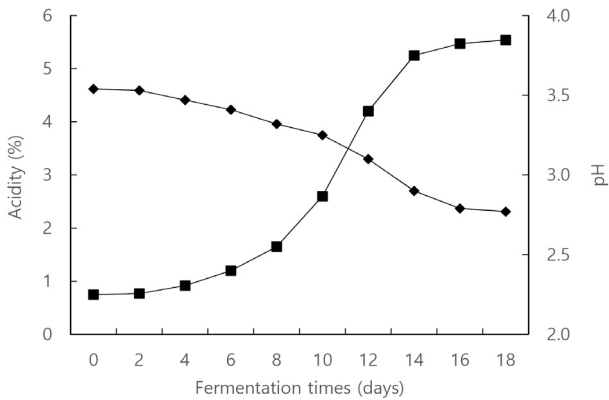


Fig. 4. Changes of acidity and pH during acetic acid fermentation. ◆, pH; ■, acidity.

반면, *Acetobacter aceti*의 경우에는 알코올 농가 5% 이상일 때 생장이 억제되는 것으로 알려져 있다[14].

배지 내 알코올 농도가 9%일 경우에는 생장이 현저하게 지연되는 것을 확인할 수 있었다(Data unshown).

막걸리 식초의 산도 및 pH 변화

초산발효 과정 중 pH 및 산도의 변화를 측정된 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 초산발효 중 pH의 변화는 발효 초기 pH 3.54에서 점차적으로 낮아져서 발효 18일 경과 후에는 pH 2.77을 나타내었다. 이러한 결과는 다른 막걸리 식초 발효 실험에서의 결과와 유사하였다[14, 19].

산도는 초기 산도 0.75%였던 것이 발효 4일경부터 점차 증가하여 18일째에는 5.54%로 측정되었다. 이러한 결과는 본 연구와 동일 조건(알코올 함량 6%, 정치배양)으로 제조한 식초의 최대 산도가 5.50%로 측정되었다는 결과와 유사하였으며 [14], *Acetobacter pomorum* IWV-03 [24], *Acetobacter pomorum* JAC002 [19]에 비해서는 높은 수준이다.

막걸리 식초의 유기산

초산균에 의해 과일 생성된 acetic acid는 acetyl-CoA를 거쳐서 citric acid, malic acid 등의 유기산으로 전환된다[30]. 초산 발효 후 발효액 내 유기산을 분석한 결과 분리균주 *A. pasteurianus* CK-1에 의해 발효된 식초에는 acetic acid가 3575.7 ± 48.6 mg% 정도로 높게 검출되었으며, malic acid와 citric acid는 각각 2150.8 ± 27.6 mg%와 55.8 ± 3.7가 검출되었는데, 대

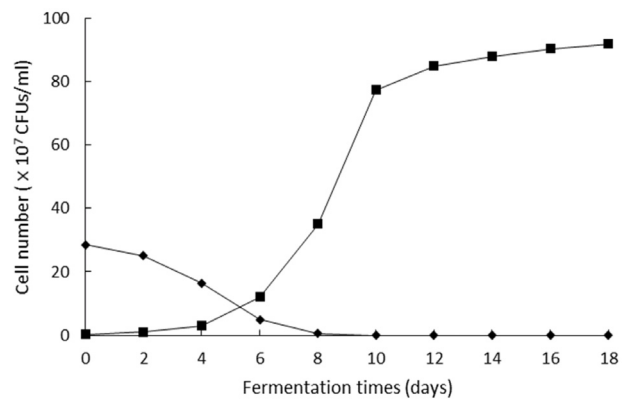


Fig. 5. Changes of yeast and acetic acid bacteria during during acetic acid fermentation. ◆, yeast; ■, acetic acid bacteria.

조균주인 *G. oxydans* KACC 16335에 비해서 같은 속인 *A. pasteurianus* KACC 13993와 유사한 농도의 유기산이 생성되는 것을 확인할 수 있었다(Table 1). Citric acid는 *A. pasteurianus* CK-1의 경우 55.8 ± 3.7 mg% 정도의 낮은 농도를 나타낸 반면, *G. oxydans* KACC 16335에서는 860.4 ± 5.5 mg% 정도의 높은 농도를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 초산 발효 과정에서 발효균주에 따라 발효액 내의 유기산 함량 및 비율이 현저하게 달라질 수 있다는 사실을 의미한다. 이전의 연구에서도 발효균 종류, 발효조건 등에 따라 유기산 조성과 함량에 차이가 있는 것이 확인된 바 있다[1]. 또한 분리균주와 대조균인 *A. pasteurianus* KACC 13993의 경우 acetic acid 뿐만 아니라 상당량의 malic acid를 생산하는 것을 확인하였는데, 이는 대부분의 시판 식초에서는 유기산의 대부분을 acetic acid가 차지한다는 사실과는 차이가 있다[15]. Malic acid가 풍부하다는 것은 식초에서 과일향을 느낄 수 있게 할 것이다.

막걸리 식초의 총균수

식초의 acetic acid는 미생물의 세포막과 세포벽의 손상을 유발하여 생장을 억제하는 것으로 알려져 있다[5, 31]. 초산 발효 과정에서 효모와 *A. pasteurianus* CK-1의 개체군 변화는 반비례적인 양상을 보였다(Fig. 5). 초산 발효 초기에는 효모가 우점하여 *A. pasteurianus* CK-1 개체수가 매우 낮았지만, 발효가 진행되면서 서서히 *A. pasteurianus* CK-1이 증식하여 10일 정도 경과 후 정체기에 도달하는 것을 확인할 수 있었다. 발효가 진행됨에 따라 효모 개체수는 점점 감소하였는데, 이는 유

Table 1. The contents of organic acids in *makgeolli* vinegar

Strains	Organic acid content (mg%) ¹⁾		
	Acetic	Malic	Citric
<i>A. pasteurianus</i> KACC 13993	3950.4 ± 70.2	1650.3 ± 15.4	250.5 ± 12.8
<i>G. oxydans</i> KACC 16335	4267.1 ± 82.5	262.4 ± 8.5	860.4 ± 5.5
<i>A. pasteurianus</i> CK-1	3575.7 ± 48.6	2150.8 ± 27.6	55.8 ± 3.7

¹⁾mean (n=3)

기산 생성에 따른 생장억제 결과로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 2020-2021년도 경상국립대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Baek, C. H., Choi, J. H., Choi, H. S., Jeong S. T., Kim, J. H., Jeong, Y. J. and Yeo, S. H. 2013. Quality characteristics of brown rice Makgeolli produced under differing conditions. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **41**, 168-175.
- Baek, S. Y., Park, H. Y., Lee, C. H. and Yeo, S. H. 2014. Comparison of the fermented property and isolation of acetic-acid bacteria from traditional Korean vinegar. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 903-907.
- Berraud, C. 2000. Production of highly concentrated vinegar in fedbatch culture. *Biotechnol. Lett.* **22**, 451-454.
- Boonsupa, W., Pimda, W., Sreeninta, K., Yodon, C., Samor-thong, N., Bou-on, B. and Hemwiphat, P. 2019. Development of fermented banana vinegar: Chemical characterizaion and antioxidant activity. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science* **12**, 21-27.
- Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K. and Guzel-Seydim, Z. B. 2014. Functional properties of vinegar. *J. Food Sci.* **79**, R757-R764.
- Chang, H. B., Park, E. H., Baek, S. Y., Jeong, S. T., Kim, M. D., Kwon, J. H., Jeong, Y. J. and Yeo, S. H. 2014. Chracterization of *Acetobacter pomorum* KJY8 isolated from Korean traditional vinegar. *J. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 1679-1684.
- Cho, K. M., Shin, J. H. and Seo, W. T. 2013. Production of Korean domestic wheat (keumkangmil) vinegar with *Acetobacter pasteurianus* A8. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **45**, 252-256.
- Du Toit, W. J. and Lambrechts, M. G. 2002. The enumeration and identification of acetic acid bacteria from South African red wine fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* **74**, 57-64.
- Gullo, M. and Giudici, P. 2008. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *Int. J. Food Microbiol.* **125**, 46-53.
- Ha, Y. D. and Kim, K. S. 2000. Civilization history of vinegar. *Food Ind. Nutr.* **5**, 1-6.
- Jeong, Y. J., Seo, K. I. and Kim, K. S. 1996. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **6**, 355-363.
- Kanchanarach, W., Theeragool, G., Inoue, T., Yakushi, T., Adachi, O. and Matsushita, K. 2010. Acetic acid fermentation of *Acetobacter pasteurianus*: relationship between acetic acid resistance and pellicle polysaccharide formation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **74**, 1591-1597.
- Kang, S. K., Jang, M. J. and Kim, Y. D. 2006. Isolation and culture conditions of *Acetobacter* sp. for the production of Citron (*Citrus junos*) vinegar. *Kor. J. Food Preserv.* **13**, 357-362.
- Kim, D. K., Baik, M. Y., Kim, H. K., Hahm, Y. T. and Kim, B. Y. 2012. Manufacture of the red ginseng vinegar fermented with red ginseng concentrate and rice wine, and its quality evaluation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **44**, 179-184.
- Kim, G. R., Yoon, S. R., Lee, J. H., Yeo, S. H., Jeong, Y. J., Yoon, K. Y. and Kwon, J. H. 2010. Physicochemical properties of and volatile components in commercial fruit vinegars. *Kor. J. Food Preserv.* **17**, 616-624.
- Kim, M. L. and Choi, K. H. 2005. Sensory characteristics of citrus vinegar fermented by *Gluconacetobacter Hansenii* CV1. *Kor. J. Food Cookery Sci.* **21**, 243-249.
- Kim, S. W., Park, J. H. and Jun, H. K. 2008. Analysis of optimum condition for production of an onionic vinegar by two-step fermentations. *J. Life Sci.* **18**, 1410-1414.
- Kwon, S. H., Jeong, E. J., Lee, G. D. and Jeong, Y. J. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverage including vinegar. *Food Ind. Nutr.* **5**, 18-24.
- Lee, H. B., Oh, H. H., Jeong, D. Y., Jun, H. I., Song, G. S. and Kim, Y. S. 2017. Isolation and chracterization of acetic acid bacteria for producing "Makgeolli seed-vinegar". *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **46**, 1216-1224.
- Lee, K. W., Shim, J. M., Kim, G. M., Shin, J. H. and Kim, J. H. 2015. Isolation and characterization of *Acetobacter* species from a traditionally prepared vinegar. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **43**, 219-226.
- Lee, W. J. and Kim, S. S. 1998. Preparation of Sikhe with brown rice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **30**, 146-150.
- Lisdiyanti, P., Navarro, R. R., Uchimura, T. and Komagata, K. 2006. Reclassification of *Gluconacetobacter Hansenii* strains and proposals of *Gluconacetobacter saccharivorans* sp. nov. and *Gluconacetobacter nataicola* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**, 2101-2111.
- Moon, S. Y., Chung, H. C. and Yoon, H. N. 1997. Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 663-670.
- Park, J. K., Huh, C. K., Kim, D. W., Kim, Y. J., Kim, S. H., Kwon, Y. K., Bae, D. and Kim, Y. D. 2018. Quality characteristics of whey makgeolli vinegar produced using *Acetobacter pomorum* IWV-03. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **50**, 61-68.
- Park, K. S., Chang, D. S., Cho, H. R. and Park, U. Y. 1994. Investigation of the cultural characteristics of high concentration ethanol resistant *Acetobacter* sp. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **23**, 666-670.
- Sengun, I. Y. and Karabiyikli, S. 2011. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control* **22**, 647-656.
- Sokollek, S. J., Hertel, C. and Hammes, W. P. 1998. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. *J. Biotechnol.* **60**, 195-206.
- Song, N. E., Cho, S. H. and Baik, S. H. 2016. Microbial com-

- munity, and biochemical and physiological properties of Korean traditional black raspberry (*Robus coreanus* Miquel) vinegar. *J. Sci. Food Agric.* **96**, 3723-3730.
29. Vogel, R. A., Corretti, M. C. and Plotnick, G. D. 2000. The postprandial effect of components of the mediterranean diet on endothelial function. *J. Am. Coll. Cardiol.* **36**, 1455-1460.
30. Wang, B., Shao, Y. and Chen, F. 2015. Overview on mechanisms of acetic acid resistance in acetic acid bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 255-263.
31. Yagnik, D., Ward, M. and Shah, A. 2021. Antibacterial apple cider vinegar eradicates methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and resistant *Escherichia coil*. *Sci. Rep.* **11**, 1854
32. Yeo, S. H., Lee, O. S., Lee, I. S., Kim, H. S., Yu, T. S. and Jeong, Y. J. 2004. *Gluconacetobacter persimmonis* sp. nov., isolated from Korean traditional persimmon vinegar. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 276-283.

초록 : 초산균 *Acetobacter pasteurianus* CK-1의 분리 및 발효 특성

방규호 · 김채원 · 김철호*
(경상국립대학교 제약공학과)

막걸리 식초 생산에 효과적인 초산균을 분리하기 위해 다양한 시료에서 초산균을 검색하였고, 그 중 초산 생산이 우수한 균주인 *Acetobacter pasteurianus* CK-1을 최종 분리하였다. 분리균주의 최적 생육온도는 30.0°C로 확인되었고, pH 6.0에서 가장 왕성하게 성장하였으며, pH 5.5~6.5 범위에서 잘 성장하였다. *A. pasteurianus* CK-1은 배지의 초기 에탄올 농도가 4%일 때 가장 왕성하게 성장하였고, 7%의 에탄올 농도에서도 생장이 가능하였다. 분리균주를 막걸리에 접종하여 초산 발효를 유도하였을 때, 발효 초기 pH 3.54였던 것이 발효가 진행되면서 점차 낮아져서 발효 18일 후에는 pH 2.77이 되었다. 산도는 발효 초기에 0.75%였던 것이 발효 4일경부터 점차 증가하여 최종 산도는 5.54%로 증가하였다. *A. pasteurianus* CK-1 발효 식초에서는 acetic acid가 3,575.7±48.6 mg%로 높게 검출되었고, malic acid와 citric acid는 각각 2,150.8±27.6 mg%와 55.8±3.7 mg%로 검출되었다. 접종한 균주의 종류에 따라 생성되는 유기산의 함량과 비율이 유의하게 차이가 나는 것을 확인하였다. 초산 발효 동안 발효액 내의 효모와 *A. pasteurianus* CK-1의 개체군은 반비례적으로 변화하였다. 발효 초기에는 효모가 우점하였으나, 발효가 진행됨에 따라 *A. pasteurianus* CK-1이 서서히 증식하여 10일 후에는 정체기에 이르렀다.