

117019-1

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(), 비공개(), 발간등록번호(○)

11-1543000-002301-01

동충하초발효물질을 이용한
신개념의
발효커피의 개발 및
사업화 최종보고서

2018

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

동충하초발효물을 이용한 신개념의 발효커피의 개발 및 사업화 최종보고서

2018. 5. 31

주관연구기관 / 세명대학교 산학협력단
참여 기업 / (주)커피시대

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

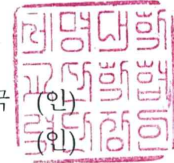
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “동충하초발효물을 이용한 신개념의 발효커피의 개발 및 사업화”(개발기간 : 2017.4. 21. ~ 2018. 4. 20)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 5. 31.

주관연구기관명 : 세명대학교 산학협력단 (대표자) 신용국
협동연구기관명 : (대표자)
참여기관명 : (주)커피시대 (대표자) 박승재



주관연구책임자 : 송효남

협동연구책임자 :

참여기관책임자 : 박승재

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	117019-1	해 당 단 계 연 구 기 간	12개월	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 사업(성능개선형)			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	동충하초발효물을 이용한 신개념의 발효커피의 개발 및 사업화			
연구책임자	송효남	해당단계 참여연구원 수	총: 4 명 내부: 4 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 82,000천원 민간: 27,500천원 계:109,500천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 4 명 내부: 4 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부: 82,000천원 민간: 27,500천원 계:109,500천원
연구기관명 및 소속부서명	세명대학교 산학협력단 바이오식품산업학부			참여기업명 (주)커피시대	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
9대 성과 등록·기탁번호	

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

동충하초의 기능성을 인스턴트 추출커피가 아닌 커피생두 자체에 적용하고자 한 새로운 개념의 스페셜티커피를 개발하고자 하였음. 이때 발생하는 동충하초 특유의 이취문제는 상황버섯 및 차가버섯추출물을 활용하여 난제를 해결하였으며, 더불어 동충하초의 기능성성분인 Cordycepin뿐만 아니라 β-glucan까지 함유한 고급커피를 개발하는데 성공하였음.

보고서
면수

1. 동충하초의 불쾌취가 감소된 커피제조 공정개발완료 : 동충하초추출물 및 상황버섯/차가버섯추출복합액의 최적배합비 80:20	12
2. 동충하초 복합액이 침투된 커피생두 제조공법 확립 : 단순침지법으로 3일간 침지 조건 확정 (※로스팅후 원두의 깨짐을 최소화하고 비용절감에 최적의 공정)	14
3. 커피 고유의 풍미 및 품질변화가 없는 생두의 건조 및 배전의 최적조건 확립 : 60℃ 열풍건조 및 배전온도 180℃에서 14분 배전	18
4. 동충하초커피 원두의 배전시간별 색차 분석완료 : redness 및 yellowness는 강배전일수록 감소하고 lightness는 약배전일수록 증가하였음. (※추가연구항목)	21
5. HPLC로 동충하초커피의 Cordycepin 분석완료 : 동충하초 5% 첨가시 597.14 mg/kg 함유 (※당초목표 0.1~1 mg/100g)	24
6. 효소법으로 동충하초커피의 β-glucan 함량 분석완료 - 2.03% (※당초목표 0.1~1 mg/100g)	31
7. 동충하초커피의 총폴리페놀화합물 함량 분석완료 : 39.1 mg/g (※당초목표 450 mg/100g)	36
8. 동충하초커피의 항산화 활성 분석완료 : EDA 77.1% (※추가연구항목)	39
9. 동충하초커피의 품질에 대한 관능평가 : 동충하초커피가 전체적인 기호도 5.64점으로 오리지널 커피보다 높은 점수 획득(※당초목표 4점)	41
10. 전자코로 분석한 동충하초커피의 향기성분 분석결과 동충하초커피는 원래의 오리지널 커피와 거의 유사한 향기성분패턴을 보여 동충하초의 이취가 나타나지 않음을 확인함. (※추가연구항목)	48

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 본 연구에서는 목적은 고가의 동충하초를 대중화하고 신기능성 커피로 업그레이드하기 위한 동충하초 커피를 개발함을 목표로 한다. 즉, 동충하초 특유의 불쾌취를 제거하고 동충하초의 고기능성 천연유효성분을 커피에 접목시킨 새로운 기능성 커피생두를 개발하고자 한다.</p>				
<p>연구개발성과</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 동충하초의 불쾌취가 감소된 커피제조 공정개발완료 : 동충하초추출물 및 상황버섯/차가버섯추출복합액의 최적배합비 80:20 2. 동충하초 복합액이 침투된 커피생두(Green Bean) 제조공법 확립 : 단순 침지법으로 3일간 침지조건 확정 (※로스팅후 원두의 깨짐을 최소화하고 비용절감에 최적인 공정) 3. 커피 고유의 풍미 및 품질변화가 없는 생두의 건조 및 배전의 최적조건 확립 : 60℃ 열풍건조 및 배전온도 180℃에서 14분 배전 4. 동충하초커피 원두의 배전시간별 색차 분석완료 : redness 및 yellowness는 강배전일수록 감소하고 lightness는 약배전일수록 증가하였음. (※추가연구항목) 5. HPLC로 동충하초커피의 Cordycepin 분석완료 : 동충하초 5% 첨가시 597.14 mg/kg 함유 (※당초목표 0.1~1 mg/100g) 6. 효소법으로 동충하초커피의 β-glucan 함량 분석완료 - 2.03% (※당초목표 0.1~1 mg/100g) 7. 동충하초커피의 총폴리페놀화합물 함량 분석완료 : 39.1 mg/g (※당초목표 450 mg/100g) 8. 동충하초커피의 항산화 활성 분석완료 : EDA 77.1% (※추가연구항목) 9. 동충하초커피의 품질에 대한 관능평가 : 동충하초커피가 전체적인 기호도 5.64점으로 오리지널 커피보다 높은 점수 획득(※당초목표 4점) 10. 전자코로 분석한 동충하초커피의 향기성분 분석결과 동충하초커피는 원래의 오리지널 커피와 거의 유사한 향기성분패턴을 보여 동충하초의 이취가 나타나지 않음을 확인함.(※추가연구항목) 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 생두의 질과 종류에 관계없이 모든 생두를 고기능성커피로 제조하여 경쟁력 강화 ○ 저가형, 중가형, 고가형, 초고가형의 커피제품으로 차별화 하여 사업화 ○ FTA시대로 위기에 처한 농업 및 농가의 새로운 대안 기대</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>동충하초</p>	<p>커피</p>	<p>기능성식품</p>	<p>Cordycepin</p>	<p>상황버섯</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>					

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	9
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	53
4. 연구결과의 활용 계획 등	54
붙임. 참고 문헌	55

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발 목적

- 동충하초는 항암, 면역 증강, 항피로, 노화 방지에 효과가 있음이 밝혀지고 있으며, 일본과 미국에서 발표된 연구결과들 또한 항암 효과, 면역 증강, 신장 이식 후 면역반응 억제, 혈당 강하 효과 등이 있는 것으로 보고된 바 있다.
- 그러나 동충하초는 가격이 고가로 판매되어 일반대중적 식품으로의 활용이 어려울 뿐 아니라 동충하초 특유의 좋지 않은 냄새 때문에 대부분 기능성식품으로 제한적으로 판매되는 등 새로운 시장 창출이 쉽지 않은 형편이다.
- 또한 전세계적으로 과포화상태에 있는 커피시장은 이제 차별화 전략으로 기능성커피의 개발이 시급하다.
- 본 연구에서는 목적은 고가의 동충하초를 대중화하고 신기능성 커피로 업그레이드하기 위한 동충하초 커피를 개발함을 목표로 한다. 즉, 동충하초 특유의 불쾌취를 제거하고 동충하초의 고기능성 천연유효성분을 커피에 접목시킨 새로운 기능성 커피생두를 개발하고자 한다.
- 핵심기술
 - 상황버섯 및 차가버섯 추출물에 의해 불쾌취가 감소된 동충하초 복합추출액 개발
 - 동충하초의 Cordycepin, 상황버섯의 β -glucan 등 기능성 유효성분이 가미된 커피생두 개발
 - 최종 커피제품의 패널관능평가



제 2 절 연구개발의 필요성

- 2013년 커피의 국내 생산량은 약 65만톤이며, 5년전에 비해 63% 증가한 것으로 나타났으며, 생산액은 약 1조 6천억원으로 약 92% 성장세를 나타냈다.
- 2013년 커피믹스의 국내 생산량은 약 26만톤(전체 커피의 39.2%), 생산액 기준으로는 8,679억원(전체 커피의 52.5%)으로 5년전에 비해 약 54%, 121% 증가한 것으로 나타났다.
- 커피 생두(카페인 함유)는 주로 베트남, 브라질, 콜롬비아에서 수입되고 있으며, 3개 국가가

전체 수입량의 64.7%(2013년 기준)를 차지하고 있다. 국가별 1인당 커피 소비량은 핀란드, 노르웨이, 덴마크, 스웨덴 등 주로 유럽 국가로 나타났으며, 한국은 소비량이 2008년 1인당 2.91kg에서 2011년 3.38kg으로 4년간 약 17%가 증가하여 다른 국가에 비해 증가폭이 큰 것으로 나타났다.

- 동충하초는 귀농대표작물로 대두되고 있으며 많은 귀농농가에서 재배를 하고 있다. 하지만 생산된 동충하초의 판로가 문제가 되고 있다. 왜냐하면 특유의 불쾌취와 높은 가격으로 다른 식용버섯처럼 식재료로 활용되기 어렵고 주로 건강식품 시장에 적용되기 때문이다.
- 국내외 경쟁기관으로 (주)자연중의 건강나라의 동충하초커피가 시판되어 인터넷을 통해 판매되고 있음. 알콜분해를 통해 얻은 동충하초 원액을 발효시킨 후 커피에 섞어 제조한다.
- 리리란 봄 동충하초 커피는 인스턴트 제품으로 인터넷 상에서 13,000원에 판매되고 있다. 밀리타리스 누에 동충하초 추출분말 20%, 인스턴트 커피 80%로 구성됨. 헤이즐넛 향이 가미된 제품도 판매 중이다.
- 해외시장에 동충하초 커피가 여러종류 시판되고 있으나 이는 인스턴트 커피일뿐아니라 커피 추출액에 동충하초 추출액을 첨가한 형태의 제품으로 본 연구에서 개발하고자 하는 동충하초 생두커피와는 기술적으로 전혀 다르다.
- 최근 각 지자체별로 지역특산물의 특화사업에 중점을 두고 있는데, 본 과제에서 개발한 동충하초커피는 국내의 동충하초 농가와 경쟁력이 약한 국내 커피재배농가에 획기적인 브랜드 사업화를 이룰 수 있다. 따라서 어려움에 처한 국가 농산물 및 식품시장을 고품질화 하고 사업성이 약한 동충하초의 가치혁신을 이룰 수 있을 것이다.
- 또한 본 과제를 통하여 생산되는 동충하초커피는 국내에 수입된 커피의 가치를 혁신한 고품질의 제품으로 역수출이 가능하여 무역불균형을 상쇄할 수 있을 것으로 사료된다.

제 3 절 연구개발의 범위

1. 동충하초 추출물 및 상황버섯과 차가버섯 추출복합액 제조
 - 동충하초의 이취를 제거하기 위해 상황버섯 및 차가버섯 추출복합액을 혼합하는 공정개발
2. 동충하초 복합액이 침투된 커피생두 제조
 - 상황버섯, 차가버섯 및 동충하초 복합추출액을 커피생두에 침투시키는 공정개발
3. 동충하초커피 생두의 건조 및 배전조건 확립
 - 동충하초 복합액이 침투된 커피생두의 품질변화 없는 건조 및 배전조건 확립

4. 동충하초커피의 Cordycepin

-동충하초의 품질지표성분인 Cordycepin이 생두에 충분히 전이되었는지 확인하는 공정

5. 동충하초커피의 β -glucan 함량분석

- 상황버섯의 β -glucan이 생두에 충분히 전이되었는지 확인하는 공정

6. 동충하초커피의 총 페놀화합물 함량 분석

7. 동충하초커피의 품질에 대한 관능평가

제 2 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발성과

가. 전문학술대회 논문발표 성과

1. 2018 한국식품과학회 국제학술대회 포스터논문 발표 예정
2. 일시 : 2018. 6. 27 ~ 29
3. 장소 : 부산 벡스코 (Busan Exhibition & Convention Cener)
4. 발표학문분야 : Product Development
5. 발표논문제목 : High quality specialty coffee containing Cordycepin and betaglucan and its flavor characteristics by GC/SAW Electronic Nose
6. 발표공저자 : 송효남(세명대학교) · 박승재((주)커피시대)



한국식품과학회 논문초록 접수확인증

7. 접수된 논문초록

High quality specialty coffee containing Cordycepin and betaglucan and its flavor characteristics by GC/SAW Electronic Nose

Hyo-Nam Song, Seung-Jae Park

School of Food and Nutrition Science for Bioindustry, Semyung University, Korea

CoffeeSidae Co., Ltd., Korea

To develop high-quality specialty coffee with increased functionality, *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and Chaga mushroom was applied to the coffee beans. When the Cordyceps powder was added by increasing amount of 5, 10 and 15%(w/w), Cordycepin content in coffee determined by HPLC increased by 597.14, 1,224.56 and 2,274.70 mg/kg. To reduce the undesirable flavor of Cordyceps, the preparation process was improved that the coffee bean was immersed in the mushroom extract for 72 hrs and additionally *Phellinus linteus* and Chaga mushroom were used. The betaglucan contents dermined by enzyme method were 7.06% and 8.57% in the raw *Phellinus linteus* and Chaga mushroom, respectively. The betaglucan in the immersed coffee bean decreased by 2.11% and 4.19%. The flavor characteristics were analyzed using GC/SAW electronic nose. The mushroom coffee showed significantly different flavor pattern with that of Cordyceps and was similar with the control. It implies that immersed mushroom coffee keeps effectively its original coffee flavor containing functional compounds. In sensory evaluation by Likert 7point scale for 40 panels, mushroom coffee showed higher score than the control.

나. 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.2억원	
			향후 3년간 매출	7억원	
		관련제품	개발후 현재까지	0.6억원	
			향후 3년간 매출	15억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0.01% 국외 : 0.00%	
			향후 3년간 매출	국내 : 0.35% 국외 : 0.00%	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0.03% 국외 : 0.00%	
			향후 3년간 매출	국내 : 0.75% 국외 : 0.00%	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			0위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		1		
	소요예산(백만원)		35		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0.1	2	8
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0.01	0.35	0.65
		국외	0.00	0.00	0.00
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		- 동충하초복합액을 적용한 다양한 발효커피의 다양한 제품개발 및 사업화 - 동충하초특유의 불쾌취가 제거된 동충하초복합액을 이용한 동충하초 발효차 개발 및 사업화			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	0.6	10	25	
	수 출	0	5	20	

제 2 절 연구결과

1. 동충하초 추출물 및 상황/차가버섯 추출복합액 제조공정개발

가. 목표

동충하초의 이취를 제거하기 위해 상황버섯 및 차가버섯 추출복합액을 혼합하는 공정개발

나. 연구방법

1) 상황버섯 및 차가버섯 복합추출액 제조

- ① 상황버섯을 50~100 μ m의 크기로 분쇄하여 정제수 1 L당 상황버섯분말 50g을 첨가하여 80~90 $^{\circ}$ C에서 추출한 다음 여과하여 추출액을 수득하였다.
- ② 차가버섯을 50~100 μ m의 크기로 분쇄하여 정제수 1L당 차가버섯분말 50g을 첨가하여 60~70 $^{\circ}$ C에서 추출한 다음 여과하였다.
- ③ 상황버섯추출액 + 차가버섯추출액을 40 : 60의 중량비율로 혼합하여 상황버섯 및 차가버섯 추출복합액을 제조하였다.



Fig. 상황버섯 및 차가버섯 복합추출물

2) 동충하초추출액 제조

- ① 동충하초를 50~100 μ m의 크기로 분쇄하여 정제수 1L당 동충하초분말 50g을 첨가하여 80~90 $^{\circ}$ C에서 추출한 다음 여과하여 추출액 수득하였다.
- ② 동충하초추출액 : 상황버섯 및 차가버섯 추출복합액을 90 : 10, 80 : 20, 70 : 30의 중량비율로 혼합하여 24시간 숙성 후 동충하초 이취를 측정하였다.



Fig. 동충하초추출액

다. 연구결과

동충하초의 이취를 제거하기 위해 상황버섯 및 차가버섯 추출물복합액을 사용하였으며, 여러 가지 조합의 배합비를 적용하여 최적의 배합비를 확립하고자 하였다.

동충하초 추출액	상황버섯 및 차가버섯 추출복합액	이취여부
90%	10%	이취가 많아 부적절함
80%	20%	이취가 제거되어 적절함
70%	30%	이취가 제거되어 적절함

상기의 결과와 같이 상황버섯 및 차가버섯 추출복합액을 최소한 20% 이상 투입할 때 동충하초의 이취가 효과적으로 제거되는 것으로 보여진다. 본 과제에서 목표로 하는 것은 동충하초의 유효성분인 Cordycepin 함량을 극대화 하면서 이취를 최소화 하는 것이므로 가장 효과적인 배합비는 80:20의 비율인 것으로 판단된다.

2. 동충하초 복합액이 침투된 커피생두(Green Bean) 제조공법 확립

가. 목표

상황버섯, 차가버섯 및 동충하초 복합추출액을 커피생두에 침투시키는 공정개발

나. 연구방법

동충하초 추출복합액을 커피생두에 침투시키기 위한 가장 효율적인 공정을 찾기 위하여 단순침지, 초음파침지 및 가열침지 등 세가지 공정을 시험하였다. 이때 동충하초복합액과 커피생두의 혼합비율은 2 : 1의 중량비, 즉, 동충하초 복합액 2kg + 커피생두 1kg으로 혼합하여 실험하였으며, 일정 시간이 경과한 후 생두에 흡수되지 않고 남은 잔여량을 측정하여 판단하였다.

또한, 장시간 침투시 동충하초 복합액이 변질될 우려가 있으므로 최적의 시간 결정은 필수적이다. 따라서 본 실험에서는 상기 3가지 공정으로 처리한 생두를 1, 3, 5 days 로 비교하여 최적의 침투시간을 결정하고자 하였다.

(1) 단순침지 : 동충하초 복합추출액에 커피생두를 침지하는 방법

- ① 23~30℃의 온도에서 1일동안 침지하였다.
- ② 23~30℃의 온도에서 3일동안 침지하였다.
- ③ 23~30℃의 온도에서 5일동안 침지하였다.



Fig. 단순침지 공정

(2) 초음파침지 : Ultrasonic water bath를 응용하여 커피생두에 동충하초 복합액을 침투시키는 방법

- ① Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 1일동안 침지하였다.
- ② Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 3일동안 침지하였다.
- ③ Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 5일동안 침지하였다.



Fig. 초음파침지 공정

(3) 가열침지 : 생두와 동충하초 복합액을 함께 장시간 가열하는 방법

- ① 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 1일동안 침지하였다.
- ② 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 3일동안 침지하였다.
- ③ 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 5일동안 침지하였다.



Fig. 가열침지 공정

다. 연구결과

1) 침지공정 확립

(1) 단순침지

- ① 23~30℃의 온도에서 1일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량은 175g으로 나타났다.
- ② 23~30℃의 온도에서 3일동안 침지하는 방법
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.
- ③ 23~30℃의 온도에서 5일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.

(2) 초음파침지

- ① Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 1일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량은 83g으로 나타났다.
- ② Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 3일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.
- ③ Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 5일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.

(3) 가열침지

- ① 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 1일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량은 38g으로 나타났다.
- ② 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 3일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.
- ③ 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 5일동안 침지하는 방법.
: 커피에 흡수되지 아니한 동충하초 복합액의 잔여량 없이 전량 흡수되었다.

[결론] 침지공정별 최적의 침지조건

- ① 단순침지 : 23~30℃의 온도에서 3일
- ② 초음파침지 : Ultrasonic water bath를 30분동안 적용한 후 3일
- ③ 가열침지 : 90~100℃의 온도에서 1시간 동안 가열한 후 3일

2) 각 공정별로 제조한 커피원두의 로스팅 후 변형정도

각 침지공정에 의하여 침지가 완료된 커피생두를 수분 함유율 10%로 건조한 후 roasting한 커피원두의 상태를 관찰하였다. 로스팅에 의해 변형될 수 있는 커피원두의 상태는 커피의 맛과 아로마에 매우 중요한 영향을 주며 상품성에 결정적이기 때문에 변형을 최소화 할수 있는 공정을 선택하는 것이 중요하다.

표에서와 같이 단순침지한 경우 깨짐성이 3%로 가장 낮았고, 초음파 처리한 생두는 44%에 이르는 커피빈이 깨진 것으로 나타났다. 커피원두의 깨짐현상이 높을수록 상품성이 저하되는 바, 최적의 침지방식은 커피원두의 단순침지 공정인 것으로 판단된다.

공정분류	로스팅 후 깨진 커피원두 비율
단순침지 커피생두	3%
초음파침지 커피생두	44%
가열침지 커피생두	37%



3) 최종결론

생두에의 효율적인 침투율과 로스팅 후 커피원두의 깨짐성으로 분석한 결과 최적의 침지 시간 및 침지방식은 단순침지법으로 3일간 처리하는 공정인 것으로 판단된다. 이는 초음파침지나 가열침지 방법처럼 추가로 발생하는 비용이 없다는 점에서 생산비가 절감되는 장점이 있기 때문에 현장에서 적용하기 가장 유리한 공정으로 판단된다.

3. 동충하초커피 생두의 건조 및 배전의 최적조건 확립

가. 목표

동충하초 복합액이 침투된 커피생두의 품질변화 없는 건조 및 배전조건 확립

나. 연구방법

1) 생두의 건조방법 및 시간

- ① 고온건조 (130℃) : 130℃의 온도에서 고온건조를 진행하여 4시간 후부터 30분 간격으로 수분함유율 12%에 도달할 때까지 수분측정을 시행하였다.
- ② 열풍건조(60℃) : 60℃의 온도에서 열풍건조를 진행하여 18시간 후부터 30분 간격으로 수분함유율 12%에 도달할 때까지 수분측정을 시행하였다.

2) 배전(Roasting) 온도 및 시간

동종업계에서 통상적으로 시행하는 배전온도 180℃를 기준으로 하여 배전을 실시하였으며, 배전시간을 10분, 12분, 14분, 16분, 20분 및 25분 등으로 달리하여 최적의 배전시간을 결정하고자 하였다.

[개인정보 사진삭제]



다. 연구결과

1) 생두의 건조방법 및 시간

최적의 생두 건조방법과 시간을 결정하기 위하여 고온건조와 열풍건조 공정을 시험한 결과는 다음과 같다.

- ① 고온건조 (130℃) : 수분함량 12% 건조 소요시간 = 6.5시간
- ② 열풍건조 (60℃) : 수분함량 12% 건조 소요시간 = 22시간

따라서 효율적인 최적의 생두 건조는 고온에서 단시간에 처리하는 것이지만, 130℃의 고온에서 처리할 경우 지나친 열처리에 의해 커피원두의 열화현상이 우려되므로 온화한 조건인 열풍건조법을 선택하였다.

2) 배전(Roasting) 시간에 따른 커피의 품질특성

		
10분 (Light)	12분 (Cinnamon)	14분 (High)
미완의 커피빈이 잔존하였다.	전체적으로 roasting의 미완으로 색도가 약화되었고, 추출한 커피의 풍미가 저하되었다.	전체적으로 roasting이 완성되었고, 추출한 커피의 풍미가 향상되었다.
		
16분 (Full-city)	20분 (French)	25분 (Italian)
전체적으로 roasting이 과하게 되어 탄화초기현상이 나타났고, 추출한 커피에서 약한 탄화된 풍미가 나타났다.	전체적으로 roasting이 과하게 되어 탄화현상이 나타났고, 추출한 커피에서 탄화된 풍미가 강하였다.	roasting이 과하게 되어 전체적으로 탄화되었고, 추출한 커피에서 강하게 탄화된 풍미로 시음이 불가하였다.



Fig. Grinding후 커피가루의 색깔비교

왼쪽부터 시계방향으로 light, cinnamon, high, full-city, french, Italian

[결론]

배전온도 180℃에서 배전시간은 14분이 최적조건인 것으로 나타났다.

[문제점 지적사항 및 해결방안]

- 상기와 같이 고온에서 배전하는 공정은 앞서 저온에서 1차 및 고온에서 2차 가열되므로, 독성물질이 발생할 위험이 있어 독성실험을 의뢰하고 안전성 검증을 시행할 것에 대한 지적이 있었음.
- 사실 커피의 배전조건과 같은 고온에서의 열처리하는 “아크릴아마이드”와 같은 발암성 물질이 생성될 수 있는 것은 사실임.
- 그러나, 국제암연구소(IARC)는 지난 2016년 “커피 자체가 암을 유발한다고 볼 근거는 없다”고 발표했으며, 한국의 식약처에서도 “소비자들이 지금까지의 커피 소비행태를 유지해도 문제가 없다”는 입장이다. 2016년 식품 400여 품목 24만건에 대해 총 64종의 유해물질 위해 평가를 실시하면서 아크릴아마이드의 노출량도 조사했지만 위험 요인을 확인하지 못했다는 것이다. 즉, 안만호 식약처 대변인은 “2016년 조사 결과로는 아크릴아마이드가 국내 섭취량에 비춰 크게 위해한 수준은 아니라고 판단했다”

[출처: 한국일보. 2018.03.30. <http://hankookilbo.com/v/0808bb3658854b3689124603ae736f03>]

- 그러나, 커피의 경우 국내섭취량이 지속적으로 늘어나고 있는 형편이므로, 지적사항과 같이 독성실험 및 안전성 검증이 필요할 것으로 보여지며, 비용의 문제상 향후의 후속과제에서 반드시 실시할 수 있도록 노력하고자 한다.

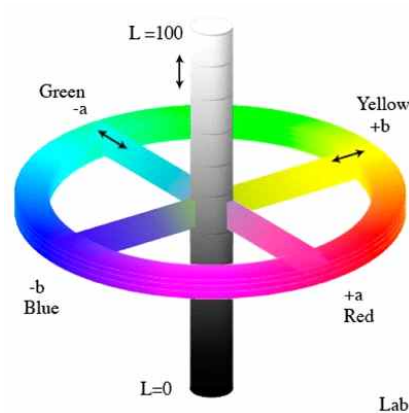
4. 동충하초커피 원두의 배전시간별 색차 분석

가. 목표

동충하초 커피의 배전시간에 따른 커피원두의 색도차이(색차)를 분석하여 최적배전시간을 찾고자 함.

나. 연구방법

배전도를 달리한 커피의 색도는 색차계(Model CR-200, Minolita Co., Osaka, Japan)를 사용하여 측정하였으며, Hunter scale에 의해 L(lightness), a(redness), b(yellowness) 값으로 표시하였고, 각각 3회 측정하여 평균값으로 나타냈다. 표준색판으로 백판($Y=94.2$, $x=-0.3131$, $y=0.3201$)을 사용하였다.



다. 연구결과

배전도를 달리한 커피의 색도를 측정한 결과 붉은색과 노란색은 강배전일수록 감소하는 것으로 나타났고, 명도는 약배전일수록 증가하는 것으로 나타났다.

Table. Hunter's color value of coffee powder by the various roasting conditions

Coffee sample	Roasting	a (redness)	b(yellowness)	L(brightness)
C1	Light	+12.2	+17.6	55.8
C2	Cinnamon	+12.4	+12.7	46.9
C3	High	+8.8	+5.9	39.9
C4	Full-city	+5.4	+2.3	37.4
C5	French	+3.4	+0.7	36.1
C6	Italian	+3.7	+1.0	35.2

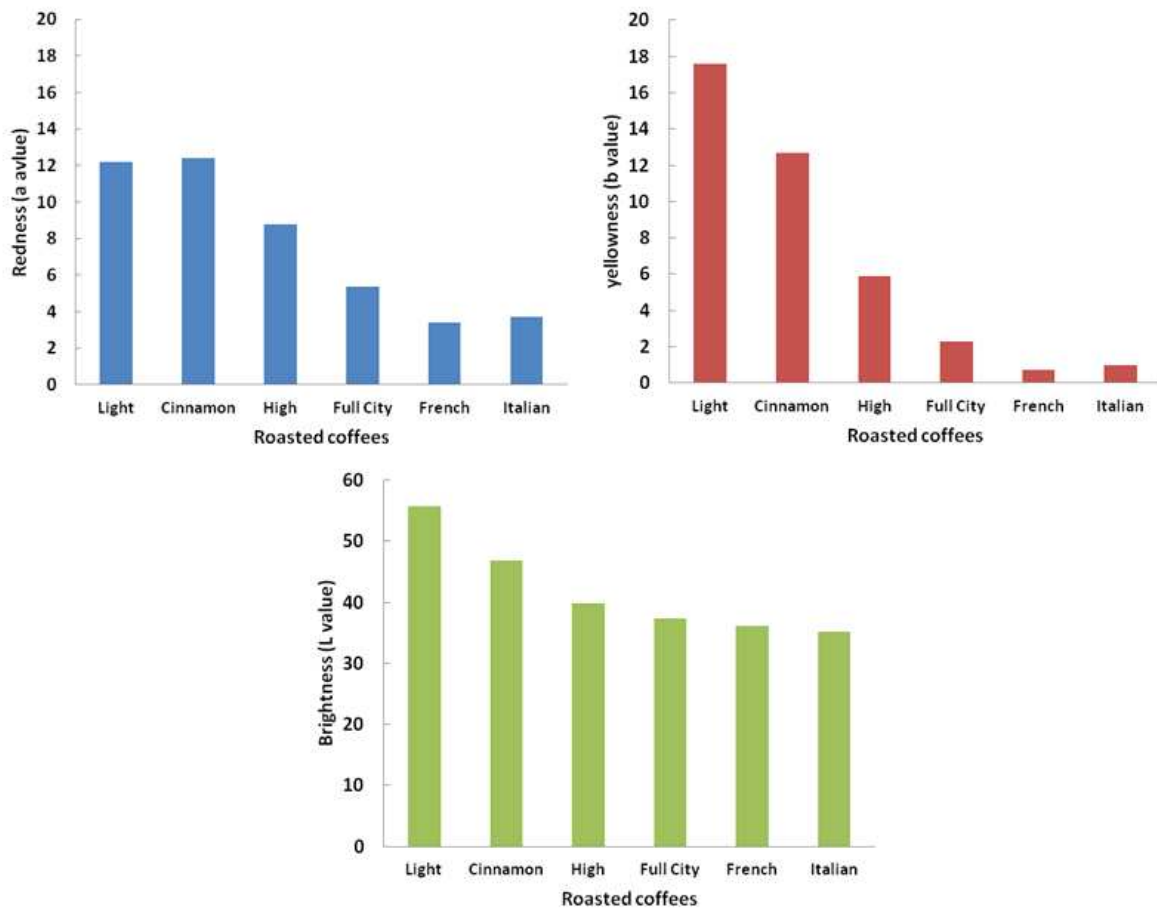



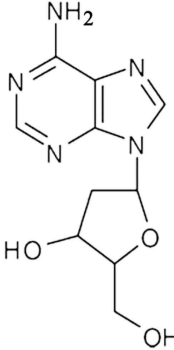

Fig. Hunter's color value of coffee powder by the various roasting conditions

[개인정보 사진삭제]	[개인정보 사진삭제]	[개인정보 사진삭제]
[개인정보 사진삭제]	[개인정보 사진삭제]	[개인정보 사진삭제]

5. HPLC에 의한 동충하초커피의 Cordycepin 분석

가. 목표

동충하초의 품질지표 성분인 Cordycepin(蟲草素)이 생두에 충분히 전이되었는지 확인하는 공정

	 <p style="text-align: right;">cordycepin</p>	
<p style="text-align: center;">번데기 동충하초</p>	<p style="text-align: center;">Cordycepin의 화학구조</p>	<p style="text-align: center;">인공재배 동충하초</p>

나. 연구방법

1) 실험 재료

본 실험에 사용한 동충하초 시료는 (주)가화에프앤비(충북, 진천)에서 구매한 cordycepin 고 함유 *Cordyceps militaris* 누에동충하초 시료를 건조시킨 후 분말화하여 사용하였다. 동충하초 분말은 외관상 옅은 갈색을 띄었으며 동충하초 특유의 냄새를 지니고 있었다.



[개인정보 사진삭제]

2) HPLC에 의한 Cordycepin 함량 분석

Cordycepin 함량분석을 위해 커피분말 시료를 3차 증류수에 넣어 초음파 추출 후 0.22 μm syringe filter로 여과한 것을 검액으로 사용하였다. Cordycepin 표준물질(Cordycepin from *Cordyceps militaris*, Sigma C3394)을 각각 농도별로 용매에 희석하여 표준용액으로 하고 각 농도에 따른 peak area로 계산하여 정량곡선을 작성하였다. 용액 시료 내 cordycepin 함량을 Table 1의 HPLC(High Performance Liquid Chromatograph) 분석조건에서 측정하였다.

Table 1. HPLC condition for cordycepin analysis

Parameters	Conditions																								
HPLC system	Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 Standard Systems (USA)																								
Column	VDSphere C18 column (4.6mm \times 250mm, 5 μm /VDS optilab, Germany)																								
Detector	UV detector																								
Wavelength	260 nm																								
Injection volumn	10 μL																								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time(min)</th> <th>Water(%)</th> <th>MeOH(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>26</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	Time(min)	Water(%)	MeOH(%)	0	10	90	0.5	10	90	15	30	70	20	90	10	25	90	10	26	10	90	30	10	90
Time(min)	Water(%)	MeOH(%)																							
0	10	90																							
0.5	10	90																							
15	30	70																							
20	90	10																							
25	90	10																							
26	10	90																							
30	10	90																							
Mobile phase gradient condition																									
Flow rate	1.0 mL/min																								
Temperature	30 $^{\circ}\text{C}$																								

다. 연구결과

1) Cordycepin 표준품 확인 및 검량곡선 작성

Cordycepin 분석을 위한 표준품의 peak에 대한 retention time(RT) 확인 및 농도에 따른 검량선 작성 결과는 다음과 같다. Table 1에서와 같은 분석조건에서 cordycepin은 RT 12.5 min에서 peak가 확인되었다. 이에 따라 동충하초 커피의 제조조건 등을 확립하기 위하여 분석을 실시하였다.

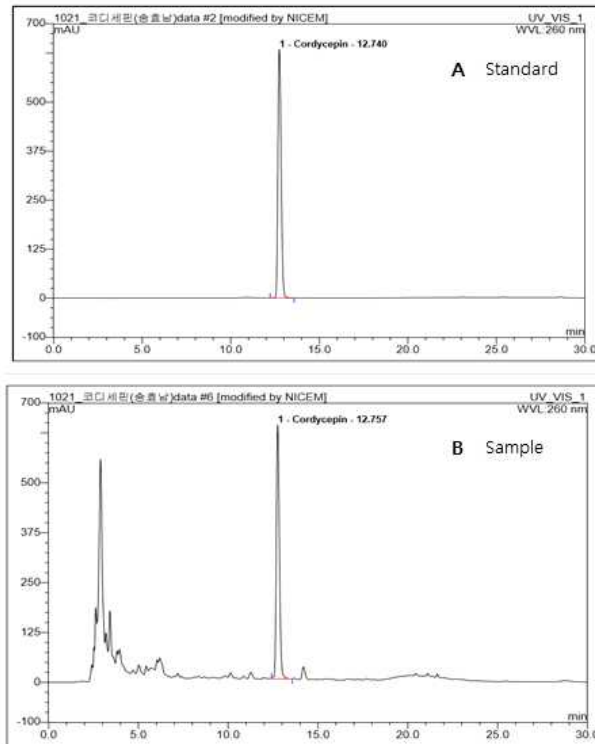


Fig. HPLC chromatogram of Cordycepin. A, standard; B, sample

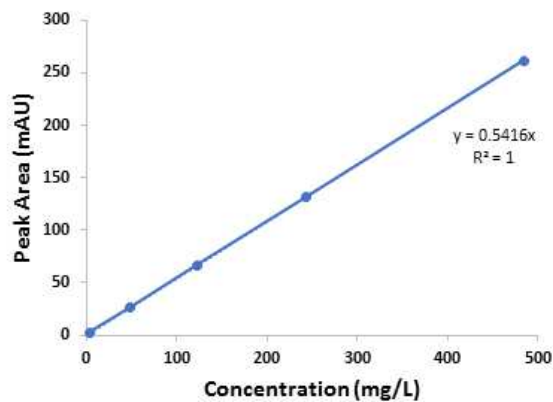


Fig. Standard curve of authentic Cordycepin by HPLC

2) 동충하초의 첨가량 결정

① 침지시간에 따른 cordycepin 함량

동충하초 커피의 침지시간을 24, 48, 72시간으로 하였을 때 cordycepin은 검출되지 않았다.

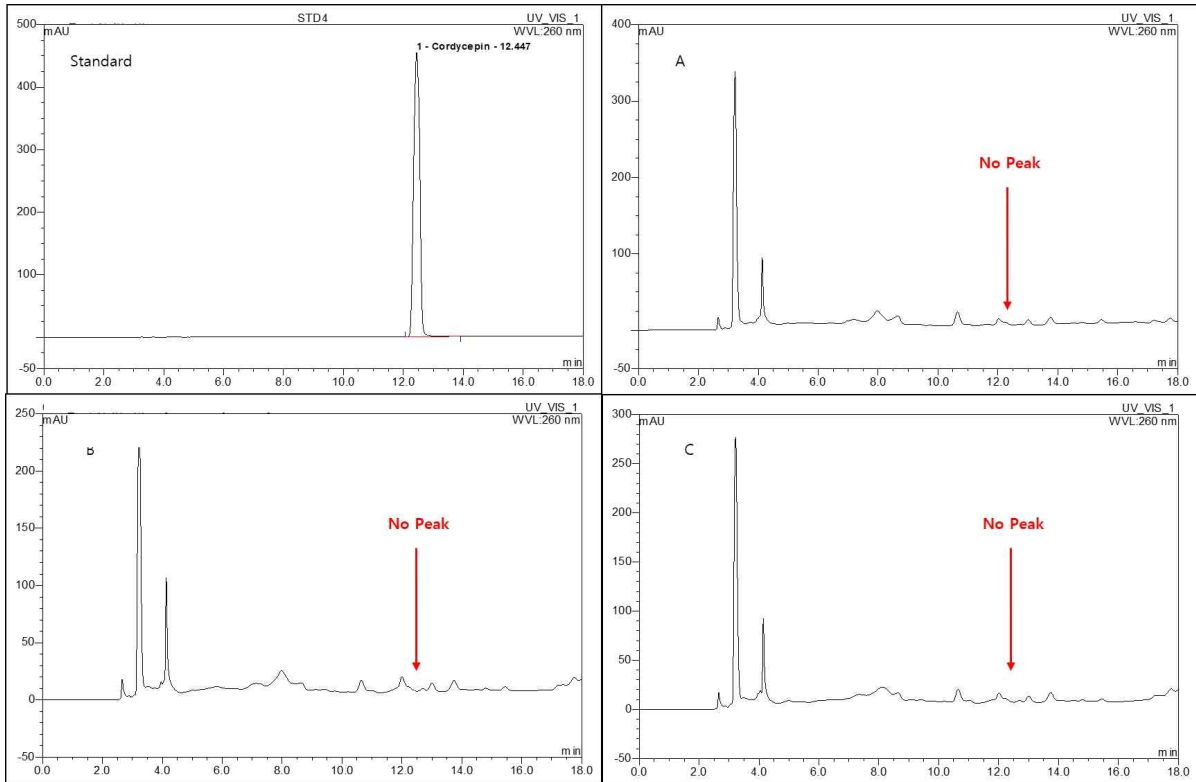


Fig. Cordycepin contents by the various fermentation conditions;

A, 24 hrs; B, 48 hrs; C, 72 hrs

② 문제점 발견 및 해결

커피생두 제조에 사용한 동충하초는 현미를 기주로 하여 인공배양된 제품이었으며 해당 동충하초에 cordycepin 함량이 극히 미미하여 커피생두로 이행되지 못했음이 발견되어 동충하초 원료 자체를 타사 제품으로 교체함.

③ 누에동충하초를 사용한 커피의 Cordycepin 확인

누에동충하초를 사용한 커피의 cordycepin 함량은 동충하초 첨가량에 따라 농도의존적으

로 나타남이 확인되었다. 즉, 누에동충하초를 5, 10 및 15% (w/w)로 첨가량을 증가시킴에 따라 cordycepin 함량은 597.14 mg/kg, 1,224.56 mg/kg 및 2,274.70 mg/kg으로 증가하였다.

본 과제에서 설정한 정량지표로서 cordycepin 목표 함량은 1~10 mg/100g이었으며, 누에동충하초를 5% 첨가시에도 충분함이 확인되어 동충하초 커피 제조시 첨가할 누에동충하초의 양은 5%로 결정하였다.

Table. Cordycepin concentration in fermented coffee bean

Dongchunghacho (%)	Cordycepin in coffee bean (mg/kg)
5	597.14
10	1,224.56
15	2,274.70

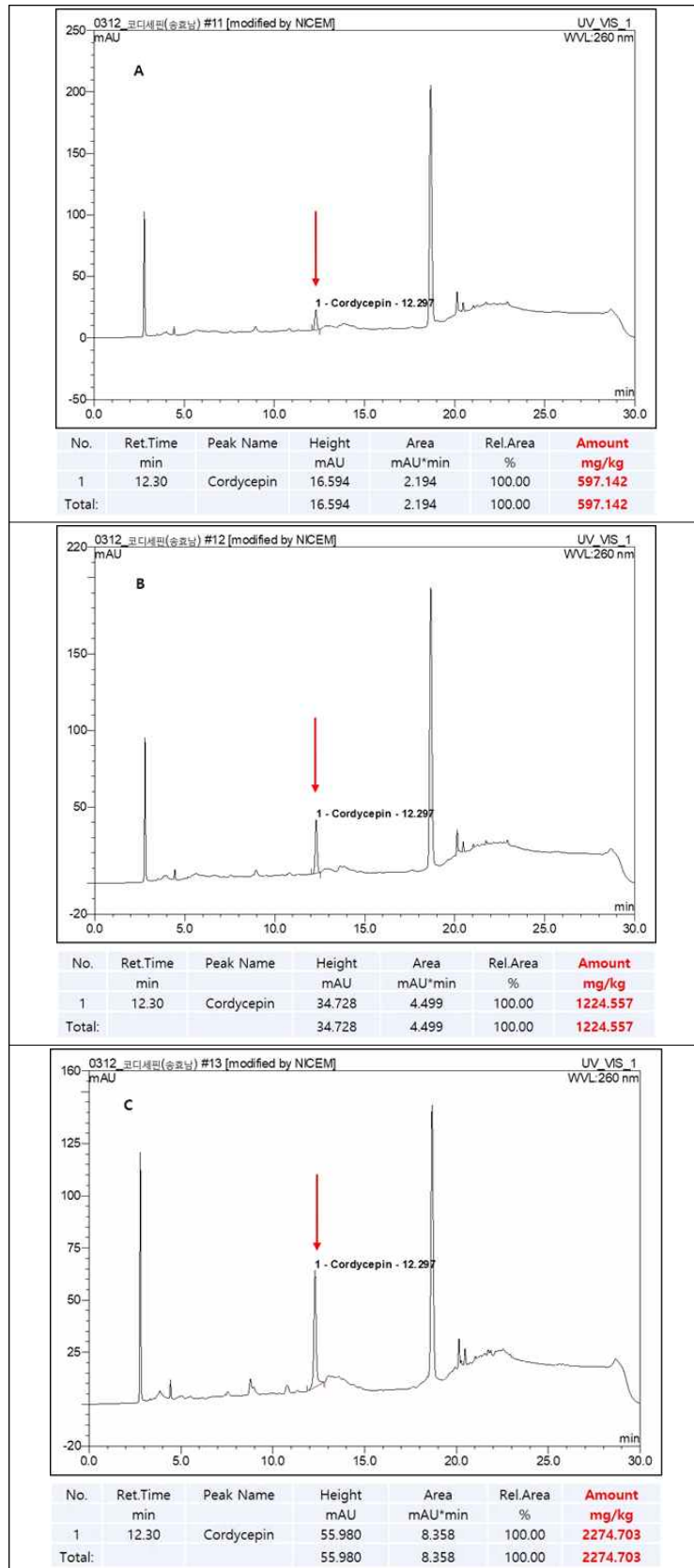


Fig. Cordycepin contents by concentration-dependant manner;
A, Dongchunghacho 5%, B, Dongchunghacho 10%; C, Dongchunghacho 15%

④ 타사제품과의 비교

밀리타리스 누에동충하초를 사용한 것으로 광고 및 판매중인 일부 기존제품은 “국내산 동충하초 20%” 함유라고 광고하고 있다. 그러나, 제품표시부분을 상세히 살펴보면 “밀리타리스 누에 동충하초 추출물분말(밀리타리스 동충하초 추출물+텍스트린) 20%’ 임을 알수 있다. 즉, 인스턴트 커피 분말과의 혼합성을 감안하여 텍스트린이 가미된 추출물분말이기 때문에 실제 상기 제품은 과장된 것임을 알수 있다. 또한 cordycepin 함량이 어느 정도인지 나타나 있지 않기 때문에 기능성에 대해서는 신뢰하기 어려운 것으로 보인다.

따라서, 본 연구와 같이 정밀한 과학적 성분분석을 토대로 개발된 동충하초커피는 타사제품과는 비교가 어려울 정도로 신뢰할 만한 제품이라고 사료된다.



6. 동충하초커피의 β -glucan 함량분석

가. 목표

상황버섯의 β -glucan이 생두에 충분히 전이되었는지 확인하는 공정

나. 연구방법

β -glucan 분석은 Megazyme kit의 방법을 사용하여 분석하였다. 즉, Total glucan을 먼저 구한 후 α -glucan 량을 빼서 β -glucan 정량하였다.



Total glucan은 시료 0.1 g 을 tube에 넣어 37% HCl 1.5 mL을 넣고 45분간 30°C water bath에 넣어 분해하였다. 그 후 증류수 10 mL을 넣어 vortex하고, 100°C에서 2시간 incubation 시켰다. 그 후 실온에서 식히면서 2 N KOH를 10 mL씩 넣고 200 mM Sodium acetate buffer 로 100 mL로 양을 조절 한 후 충분히 mixing 하였다. 그 후 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3- β -glucanase plus β -glucosidase 0.1 mL을 넣고, reagent blank는 acetate buffer 0.2 mL을 넣고, D-glucose standard는 D-glucose standard 0.1 mL와 acetate buffer 0.1 mL을 넣고 mixing 후 40°C에서 60분 동안 incubation 하였다. Glucose oxidase/peroxidase mixture(GOPOD) 3 mL을 넣고 40°C에서 20분 동안 incubation 한 후, 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

α -Glucan은 시료 0.1 mL을 tube에 넣고 2 M KOH 2 mL씩 넣고 20분간 mixing 하였다. 1.2 M Sodium acetate buffer 8 mL를 넣고 섞은 후 amyloglucosidase plus invertase 0.2 mL 을 넣고, 잘 섞어서 40°C water bath에서 30 분간 incubation 하였다. 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer 0.1 mL와 GOPOD 3 mL을 넣고 40°C에서 20분간 incubation 한 후, 510 nm 흡광도에서 측정하였다.

$$\begin{aligned} \text{Total Glucan (\% w/w)} &= \Delta E \times F \times 100/0.1 \times 1/1000 \times 100/W \times 162/180 \\ &= \Delta E \times F/W \times 90 \\ \alpha\text{-Glucan (\% w/w)} &= \Delta E \times F \times 1000(\text{or } 103) \times 1/1000 \times 100/W \times 162/180 \\ &= \Delta E \times F/W \times 90 \text{ (final volume 100 mL)} \\ &= \Delta E \times F/W \times 9.27 \text{ (final volume 10.3 mL)} \\ \therefore \beta\text{-Glucan} &= \text{Total Glucan} - \alpha\text{-Glucan} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta E &= \text{반응흡광도} - \text{공시료흡광도} \\ F &= \text{ug D-glucose 전환계수} = 100/\text{D-glucose STD 흡광도} \\ W &= \text{시료무게} \end{aligned}$$

다. 연구결과

β -glucan의 함량을 분석한 결과를 Table 에 나타내었다. 연구재료로 사용한 상황버섯과 차가버섯은 버섯 원물 자체에 β -glucan을 각각 7.06% 및 8.57% 함유하고 있는 것으로 나타났다. 두 버섯을 사용하여 제조한 상황버섯커피 및 차가버섯커피는 각각 2.11% 및 4.19%로 원물에 비해 감소하였다. 상황버섯과 차가버섯으로 제조한 커피의 경우 1.28%로 나타났고, **상황/차가 버섯과 동충하초로 제조한 경우 2.03%**로 훨씬 증가하였다. 결과적으로 **β -glucan 함량은 0.1~1.0%로 목표한 지표를 훨씬 상회**하고 있어 본 과제에서 개발한 커피는 β -glucan 함량이 우수한 기능성 커피라 할수 있다.

Table. Total glucan, α -glucan and β -glucan contents of mixed or fermented coffees

	구 분	Total-glucan(%)	α -glucan(%)	β -glucan(%)
S1	상황버섯 원물	7.48	0.43	7.06±0.07
S2	상황단순혼합커피	6.54	0.69	5.84±0.11
S3	상황버섯커피	3.54	1.43	2.11±0.12
S4	상황/차가/동충하초커피	3.11	1.08	2.03±0.11
B1	상황/차가버섯커피	2.42	1.15	1.28±0.05
B2	차가버섯커피	5.53	1.33	4.19±0.13
B3	상황버섯커피	3.86	1.17	2.69±0.08
B4	차가(5%) 단순혼합커피	2.69	1.89	0.80±0.11
B5	차가버섯 원물	9.62	1.06	8.57±0.03

JMI-2018-1

분석결과통지서

의뢰인	성명	개인정보삭제	기관명	개인정보삭제	전화번호	개인정보삭제
	주소	개인정보삭제				
검사내용	분석항목	β -glucan	분석기간	2018. 1. 05 ~ 1. 05		
	시험검사자	개인정보삭제	시험책임자	개인정보삭제		
	분석시료	상황버섯(S1, S2, S3, S4)				
	분석방법	○ β -glucan - Megazyme β -glucan 분석 kit 사용				

분 석 결 과

○ 결과

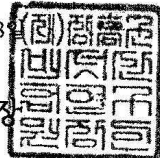
구분	Total-glucan (%)	α -glucan (%)	β -glucan (%)
S-1	7.48	0.43	7.06±0.07
S-2	6.54	0.69	5.84±0.11
S-3	3.54	1.43	2.11±0.12
S-4	3.11	1.08	2.03±0.11

「재단법인 장흥군버섯산업연구원 장비관리 및 분석의뢰에 관한 규정」제15조에 따라 귀하가 의뢰한 분석시료에 대한 분석결과를 위와 같이 통지합니다.

※ 유의사항 : 이 분석결과는 사용목적 이외에 광고 또는 선전 등에 이용할 수 없으며 용기.포장 등에도 이를 표시할 수 없음

2018년 1월 8일

재단법인 장흥군버섯산업연구원장



JMI-2018-2

분석결과통지서

의뢰인	성명	개인정보삭제	기관명	개인정보삭제	전화번호	개인정보삭제
	주소	개인정보삭제				
검사내용	분석항목	β -glucan	분석기간	2018. 3. 23 ~ 3. 28		
	시험검사자	개인정보삭제	시험책임자	개인정보삭제		
	분석시료	Sample (B1, B2, B3, B4, B5)				
	분석방법	<input type="radio"/> B-glucan - Megazyme β -glucan 분석 kit 사용				

분 석 결 과

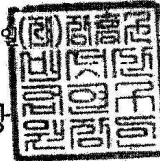
○ 결과

구 분	Total-glucan (%)	α -glucan (%)	β -glucan (%)
B1	2.42	1.15	1.28±0.05
B2	5.53	1.33	4.19±0.13
B3	3.86	1.17	2.69±0.08
B4	2.69	1.89	0.80±0.11
B5	9.62	1.06	8.57±0.03

「재단법인 장흥군버섯산업연구원 장비관리 및 분석의뢰에 관한 규정」제15조에 따라 귀하가 의뢰한 분석시료에 대한 분석결과를 위와 같이 통지합니다.

* 유의사항 : 이 분석결과는 사용목적 이외에 광고 또는 선전 등에 이용할 수 없으며 용기, 포장 등에도 이를 표시할 수 없음

2018년 3월 28일





재단법인 장흥군버섯산업연구원장

7. 분석을 위한 커피추출액 제조

가. 목표

동충하초 커피의 총폴리페놀 함량과 항산화 활성 분석을 위해 커피추출액을 제조함.

나. 연구방법 및 결과

<p>1. 로스팅 후 같은 커피분말 시료 (S1, S2, S3, S4)</p>	<p>2. 일정조건으로 추출</p> <ul style="list-style-type: none"> - 커피의 양 3.5g - 가수량 62.5 mL - 추출온도 93°C - 추출시간 4 min
	
<p>3. 여과 - Whatman #1 (11 um pore size)</p>	<p>4. 커피 추출원액 - 분석용 시료로 사용</p>
	

8. 동충하초커피의 총 폴리페놀화합물 함량 분석

가. 목표

동충하초 커피의 기능성 물질 중 폴리페놀 함량을 분석하고자 함.

나. 연구방법

폴리페놀성 물질에 의해 Folin-Ciocalteu reagent가 환원되면 몰리브덴 청색으로 발색하는 원리를 이용하여 다음과 같이 분석하였다. 즉, 시료 메탄올 추출물을 50 mg/mL의 농도로 각각의 용매에 녹인 후 이중 20 uL를 취해 2 mL tube에서 증류수 1.4 mL로 희석하고 Folin-Denis reagent를 0.1 mL 가하여 진탕하였다. 3분후 0.2 mL sodium carbonate 포화용액을 가하고 전체를 2 mL로 정용하여 잘 혼합한 후 40°C에서 1시간 동안 방치 후 spectrophotometer(DU 650, Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA)로 765 nm에서 흡광도를 측정하였으며 이때의 표준곡선은 gallic acid를 이용하여 작성하였다.



폴리페놀 정량반응을 위한 waterbath 온도(40°C) 유지 과정

다. 연구결과

총폴리페놀 화합물을 정량하기 위해 gallic acid를 농도별로 달리하여 작성한 standard curve는 다음과 같이 직선성이 거의 완벽하게 얻어졌고($R^2 = 0.9887$), 이를 바탕으로 커피시료의 총폴리페놀 화합물의 양을 측정하였다.

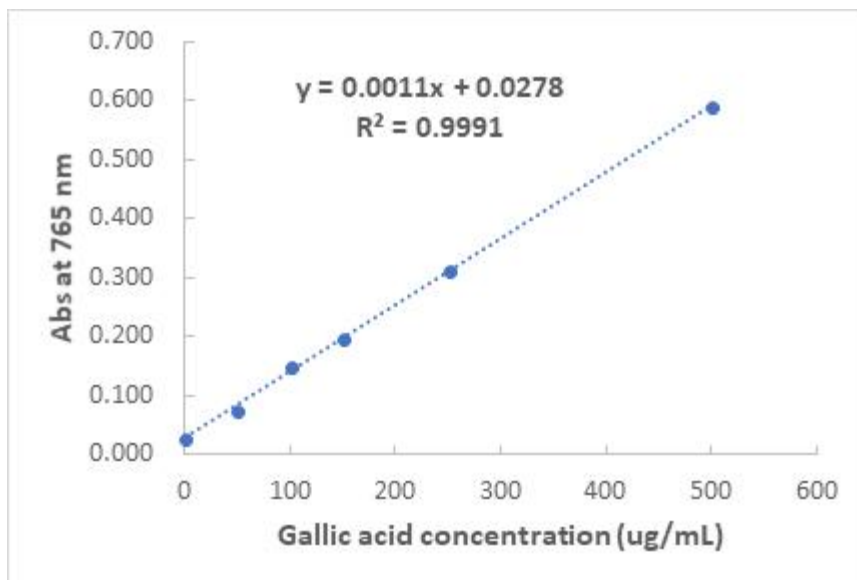
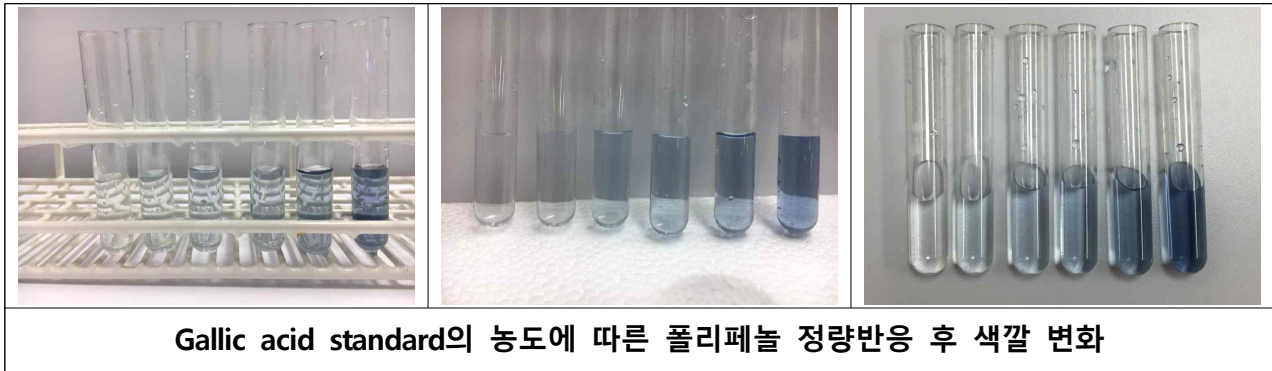


Fig. Standard curve of gallic acid for total polyphenol determination

폴리페놀(polyphenol)은 식물에서 발견되는 화학물질의 일종으로서 분자 하나에 페놀 그룹이 두 개 이상 있는 것이 특징이다. 폴리페놀의 종류는 수천 가지가 넘는데 녹차에 든 카테킨, 포도주의 레스베라트롤, 양파의 퀘세틴 등이 대표적이다. 과일에 많은 플라보노이드와 콩에 많은 이소플라본도 폴리페놀의 일종이다. 이러한 폴리페놀은 광합성에 의해 생성되며 대개 식물의 색소와 쓴맛 성분에 기여한다.

총폴리페놀 함량을 측정한 결과 상황/차가버섯과 동충하초를 사용하여 제조 커피는 39.10 mg/g coffee bean과 같이 매우 높은 함량을 나타내어 고무적이었다. 이는 상황버섯 원물의 22.30 mg/g 및 상황버섯만으로 제조한 커피의 28.11 mg/g 보다 월등히 높은 값이어서 상황버섯 및 동충하초를 동시에 사용하면 시너지효과(synergic effect)가 나타나는 것으로 사료된다. 본 과제의 평가목표로 한 총폴리페놀 함량은 450 mg/100g 으로 이를 충분히 달성하는 수치로 나타났다.

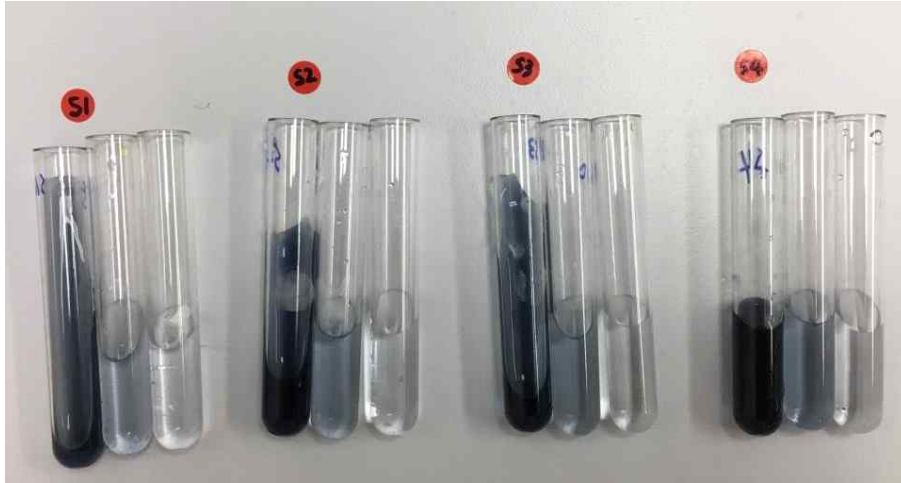


Fig. Color changes after polyphenol determination reaction of coffee extracts:
100%, 10%, 1% concentration of each coffee sample from the left

Table. Total polyphenol contents of fermented coffee

Coffee Samples		Total polyphenol (mg/g coffee bean)
S1	상황버섯 원물	22.30
S2	상황단순혼합커피	31.59
S3	상황버섯커피	28.11
S4	상황/차가/동충하초커피	39.10

9. 동충하초커피의 항산화 활성 분석

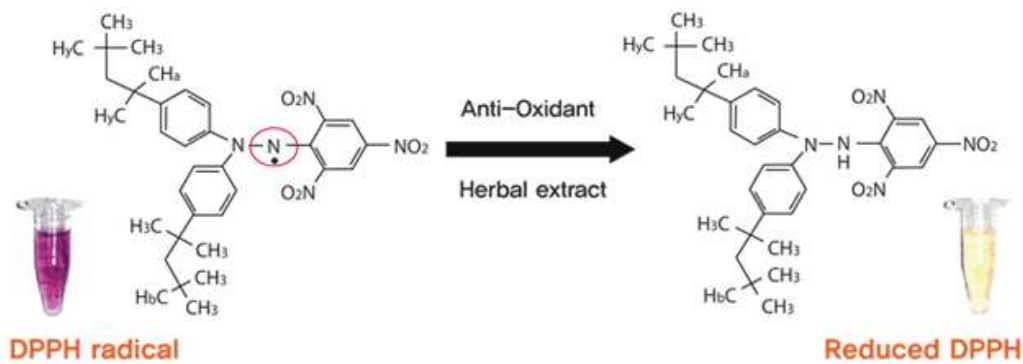
가. 목표

개발한 동충하초 커피의 항산화활성을 DPPH 라디칼의 전자공여능으로 측정하여 분석함.

나. 연구방법

전자공여능에 의한 항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 유리라디칼 소거법으로 분석하였다. 즉, 시료의 메탄올 추출물 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 vortex mixer로 10초간 혼합한 후 실온에서 30분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였고, 다음과 같은 식에 의해 전자공여능(Electron Donating Ability, EDA)을 계산하였다.

$$\text{EDA (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}} \right) \times 100$$



다. 연구결과

식품의 항산화 활성은 식물체 내에 존재하는 폴리페놀 화합물과 밀접한 관계가 있다. 즉, 폴리페놀 화합물에 다수 존재하는 페놀성 수산기(-OH기)에 의하여 DPPH의 라디칼이 소거되는 정도를 측정하여 항산화 활성으로 나타낸다.

커피시료의 항산화 활성을 농도별로 측정한 결과 상황/차가버섯과 동충하초 커피원액의 항산화 활성은 77.05%로 매우 높게 나타났다. 커피원액을 희석할수록 항산화활성은 크게 감소하므로 연한 커피일수록 그 활성은 적다고 볼수 있다.

Table. Antioxidant effect of fermented coffee determined by DPPH radical scavenging effect

Coffee Samples		EDA (%)		
		100%	10%	0.1%
S1	상황버섯 원물	62.89	7.24	0.00
S2	상황단순혼합커피	78.81	23.37	0.00
S3	상황버섯커피	67.50	15.25	0.00
S4	상황/차가/동충하초커피	77.05	29.74	0.00

10. 동충하초커피의 품질에 대한 관능평가

가. 목표

개발한 동충하초 커피의 향, 맛 등에 대한 관능평가

나. 연구방법

동충하초를 첨가하기 전후의 커피추출액에 대한 패널요원 관능평가를 실시하였다. 총 3차에 걸쳐 실시하였으며 단계별로 목적에 맞는 관능검사법을 적용하여 평가하였다.

다. 연구결과

1) 1차 관능평가

① 목표 : 동충하초 특유의 쿼퀴한 냄새가 소비자들에게 식별이 되는지 알기 위하여 오리지널 커피에 동충하초 분말을 단순히 혼합하여 대조구(동충하초가 없는 오리지널 커피빈)와 맛이 다른지를 찾아내도록 함.

② 방법 : 삼점검사(Triangle Test)

▶3개의 시료 중 2개는 같은 시료를 제시하고 나머지 1개는 다른 시료를 제시하여 패널로 하여금 다른 1개를 선택하게 하고 선택된 1개가 나머지 것과의 기호도에 대하여 평가하는 방법으로 2점법에 비하여 통계적 유의성이 높은 측정법이다.

중합적 차이검사 중에서 가장 널리 쓰이는 방법이다.

▶제품을 개발 시 제조방법, 재료, 포장, 저장조건 등이 제품에 변화를 주는지의 여부를 조사하는 데 흔히 사용된다.

▶동일한 2개의 검사물과 서로 다른 1개의 검사물(모두 3개)을 패널요원에게 제시하여, 제시된 순서대로 왼쪽에서부터 시료를 맛보고 서로 다른 검사물을 선택하도록 지시한다.

▶두 검사물 A, B가 있다고 가정하면 A나 B중에서 어느 하나가 이중으로 등장하게 되며, 이들로 이루어지는 검사물의 조합은 다음과 같다.

ABB	BAB	BBA
BAA	ABA	AAB

③ 패널요원 : “관능평가및실습” 정규 수업과정을 이수한 세명대 식품영양학과 3학년 학생들 35명

④ 평가결과 : 총 35명 중 25명이 동충하초 혼합커피를 찾아내었다. 즉, 동충하초는 그 특유의 맛과 향으로 소비자들에게 쉽게 구분이 되는 것으로 결론을 내릴수 있다.

Table. 동충하초 단순혼합커피 식별여부를 위한 삼점검사

제시한 시료번호	커피 종류	응답인원수	정답여부
941	오리지널 대조구	5명	X
387	오리지널 대조구	5명	X
249	동충하초혼합커피	25명	O

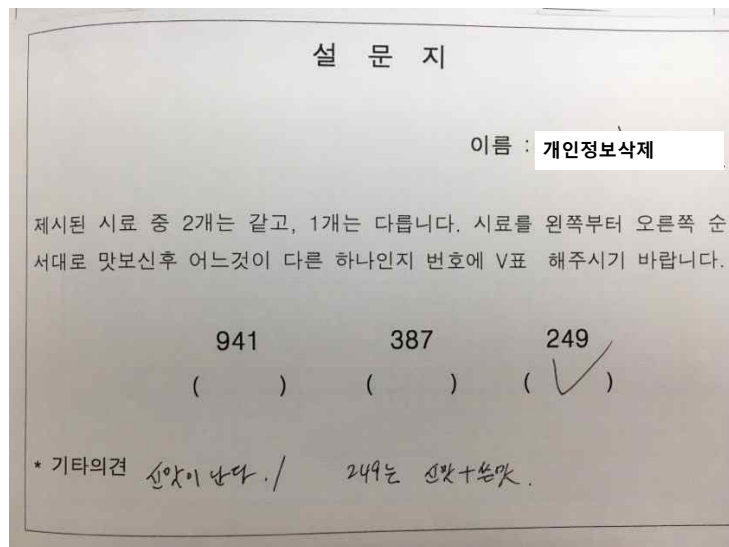


Fig. 1차 관능평가 응답값

2) 2차 관능평가

① 목표 : 1차 관능평가 결과를 바탕으로 이제 본 과제에서 개발한 동충하초커피가 과연 동충하초 단순혼합한 커피와도 차이식별이 되는지를 확인하고자 함.

② 방법 : **평점법=채점법(Rating)**

- ▶ 주어진 시료들의 특성 강도가 어떻게 다른지를 조사할 때 사용
- ▶ 기준 시료 없이 여러개의 시료(3-7개)를 제시하여 정해진 척도에 따라 평가함
- ▶ 각 특성에 따른 강한 정도의 수량적 인지와 특성간의 영향 오차를 줄이기 위하여 강도 높은 훈련이 필요하며, 검사요원은 8명 이상의 훈련된 패널요원이 동원됨

③ 패널요원 : “관능평가및실습” 정규 수업과정을 이수한 세명대 식품영양학과 3학년 학생들 35명

④ 시료준비

제시한 시료번호	커피 종류
472	오리지널 대조구
813	오리지널 커피 100g + 동충하초 분말 10g
596	동충하초커피

⑤ 제시순서 : 커피를 시음하는 순서에 따른 영향을 배제하기 위하여 표와 같이 여러 가지 순서의 조합으로 시료를 제시함

1st 시료	2nd 시료	3rd 시료
596	813	472
	472	813
813	472	596
	596	472
472	813	596
	596	813

⑥ 평가방법

- 커피의 향, 맛, 전체적인 기호도에 대해 1점(매우 좋지않다)~5점(매우 좋다) 범위내에서 채점을 하게 하고, “최고의 커피”는 어떤 것인지 순위를 매기게 함.

⑦ 평가결과 : **총 35명 중 17명이 동충하초커피를 “최고의 커피”로 평가**하였고, 오리지널 기본커피도 11명이 좋아하였다. 동충하초를 단순히 혼합한 커피는 7명만이

좋다고 평가하였다. 결론적으로 본 과제에서 개발한 동충하초커피는 소비자들에게 좋은 점수를 받아 어필할 수 있을 것으로 사료된다.

Table. 동충하초커피 및 단순혼합커피에 대한 채점법 관능평가

제시한 시료번호	커피 종류	최고의 커피 응답인원수
472	오리지널 대조구	11명
813	동충하초 단순혼합커피	7명
596	동충하초커피	17명

관능평가 설문지

이름 : 개인정보삭제

제시된 시료를 왼쪽부터 오른쪽으로 순서대로 맛보신 후 각각의 특성에 대해 좋은 정도를 1점(매우 좋지 않다)에서 5점(매우 좋다)까지 평가하여 주시기 바랍니다.

	472	596	813
1. 향	(4)	(3)	(1)
2. 맛	(3)	(3)	(1)
3. 전체적인 기호도	(3)	(4)	(1)

※최고의 커피를 찾아주세요 1등 (596) 2등 (472) 3등 (813)

Fig. 2차 관능평가 응답값

3) 3차 관능평가

① 목표 : 1~2차 관능평가 결과를 바탕으로 본 과제에서 개발한 동충하초커피가 대조구에 비해서 향, 신맛, 쓴맛, 쿼퀴한 냄새 등의 항목에 대해 어떻게 차이가 나는지, 기호도는 어떤지를 평가하고자 함.

② 방법 : 척도법 (Likert 7 point scale 법 사용)

- ▶ 주어진 시료들의 특성 강도 및 기호도가 어떻게 다른지를 조사할 때 사용
- ▶ 구획척도로는 보통 1~9점 항목척도가 사용 됨
- ▶ 비구획 척도로는 15cm 선척도가 사용 됨
- ▶ 항목척도의 사용시에는 패널요원들이 시료를 맛을 본 후 평가한 특성의 해당 강도 항목을 선택하여 숫자를 표시하도록 함

기호도 검사

- ▶ 소비자의 선호도 또는 기호도를 평가하는 방법
- ▶ 새로운 제품의 개발과 개선을 위해 주로 사용 됨
- ▶ 일반적으로 차이식별검사나 묘사분석검사 후 실시 됨
- ▶ 기호도 검사 또는 선호도 검사, 소비자 검사라고도 함

③ 패널요원 : “관능평가및실습” 정규 수업과정을 이수한 세명대 식품영양학과 3학년 학생들 35명 + 2학년 학생 10명 + 산학협력단 직원 12명 = 총 57명

④ 시료준비

제시한 시료번호	커피 종류
472	오리지널 대조구
596	동충하초커피

⑤ 평가방법

- 강도평가 + 기호도 평가와 같이 이원화함.
- 예를 들어 커피의 “신맛” 강도평가에서 “강하다”라고 느꼈을 때 어떤 사람은 이 강한 신맛이 “좋다”라고 기호도를 평가할 수도 있고, “싫다”라고 평가할 수도 있기 때문이다.
- 커피의 향, 신맛, 쓴맛, 쿼퀴한 냄새, 전체적인 기호도에 대해 1점(매우 좋지않다)~7점(매우 좋다) 범위내에서 채점을 하게 하고, “최고의 커피”는 어떤 것인지 순위를 매기게 함.

⑥ 평가결과 : 관능평가 결과 향, 신맛, 쓴맛, 쿼퀴한 냄새 및 전체적인 기호도의 전 항목에 걸쳐 동충하초커피가 훨씬 높은 점수를 받았다. 각 특성별 강도와 기호도를 비교해 보면 다음과 같이 매우 흥미로운 사실을 알 수 있다.

- 향 : 대조구의 향이 더 강하며 이를 좋아하지 않았다.
- 신맛 : 대조구의 신맛은 3.28점, 동충하초커피는 2.32점으로 큰 차이가 났으며, 커피의 약한 신맛을 훨씬 더 좋아하였다. (기호도 4.83점과 4.03점 비교)
- 쓴맛 : 대조구의 쓴맛이 4.21점으로 훨씬 강하게 느껴졌으며, 이 또한 동충하초커피가 3.49점으로 약하여 이를 더 좋아하였다.
- 쿼퀴한 냄새 : 본 특성은 동충하초가 함유된 커피보다 오히려 대조구에서 더 강하게 느껴진 것으로 나타나 개발된 커피에서 동충하초의 쿼퀴한 냄새가 효과적으로 제거되었음을 시사한다.

결과적으로 동충하초커피가 전체적인 기호도 5.64점으로 월등히 높은 점수를 받았으며 총 57명 중 40명이 동충하초커피를 “최고의 커피”로 평가하였다.

이로써 동충하초커피는 동충하초 특유의 불쾌한 냄새를 극복하였을 뿐만 아니라 오리지널커피보다 신맛과 쓴맛은 감소하여 훨씬 부드러운 맛으로 소비자들에게 어필할 수 있는 것으로 평가되었다.

Table. 동충하초커피에 대한 특성별 강도 및 기호도 검사(7점 만점 척도법)

Characteristics	472 (Control)		596 (D-coffee)	
	Intensity	Preferences	Intensity	Preferences
Flavor	4.11±1.53	4.12±1.58	4.07±1.41	5.00±1.49
Sour taste	3.28±1.99	4.03±1.59	2.32±1.20	4.83±1.58
Bitter taste	4.21±1.63	3.88±1.35	3.49±1.67	4.19±1.72
Off flavor	2.75±1.60	3.47±1.60	2.39±1.40	3.65±1.78
Overall acceptability	-	4.39±1.23	-	5.64±1.29

제시한 시료번호	커피 종류	최고의 커피 응답인원수
472	오리지널 대조구	17명
596	동충하초커피	40명

관능평가 설문지

일시 : 2018. 4. 10 성별 : 남 여 나이 : ~~20~~ 19 이름 : **개인정보삭제**

제시된 시료를 왼쪽부터 오른쪽으로 순서대로 시음하신 후 각각의 특성에 대해 1점에서 7점까지 평가하여 주시기 바랍니다.

■ 강도 평가
1점(매우 약하다)~7점(매우 강하다)

■ 기호도 평가
1점(매우 나쁘다)~7점(매우 좋다)

	596	472	596	472
1. 향	(4)	(5)	(6)	(4)
2. 신맛	(3)	(6)	(5)	(4)
3. 쓴맛	(4)	(5)	(4)	(3)
4. 콧물안 냄새	(1)	(2)	(4)	(3)
5. 전체적인 기호도	1	2	(17)	(14)

※최고의 커피를 찾아주세요 1등 (596) 2등 (472)

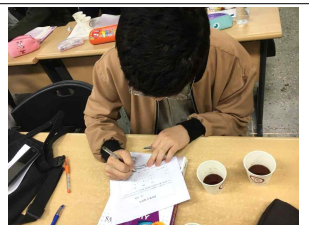
[개인정보 사진삭제]



[개인정보 사진삭제]

[개인정보 사진삭제]

[개인정보 사진삭제]



11. 전자코에 의한 향기성분 분석

가. 목표

개발한 동충하초커피의 향기성분을 Electric Nose로 패턴분석을 함으로써 대조구인 오리지널 커피와 다른 이취가 있는지 여부를 확인한다. 대조구와 비슷한 패턴을 보일 경우 개발된 커피는 원래의 향기성분과 유사함을 의미하므로 동충하초의 이취가 효과적으로 제거되었음을 의미한다.

나. 연구방법

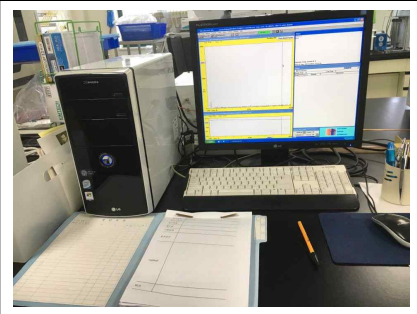
커피 향기의 전후 변화를 살펴보기 위하여 Electronic Nose로 향기패턴의 변화를 분석하였다. 대조구커피(R), 동충하초 단순혼합커피(MIX) 및 동충하초커피(FER)를 반자동 커피머신(EC 680.M, Delonghi사, 이태리)으로 갖 내린 에스프레소 커피시료를 40 mL vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 테프론 코팅이 된 septa(PTFE/silicone septa, Supelco)로 밀봉한 후 바로 측정하였다. 전자코는 GC/SAW Electronic Nose System(Model 7100 Fast GC Analyzer, Electronic Sensor Technology, Newbury park, CA, USA)를 사용하였으며 이 기기는 GC 시스템에 표면탄성파소자(Surface Acoustic Wave sensor: SAW) 센서를 검출기로 장착하고 있다. 준비된 시료가 평형이 이루어졌을 때 내장 된 펌프가 가동되면서 시료의 주입구를 통하여 시료의 휘발 성분만 주입되었고 20초 동안 향기성분을 채취하였다. 기기분석 조건으로는 운반기체는 고순도 헬륨을 사용하였고 컬럼은 DB-624 capillary column(0.33 μ m, 0.25 mm \times 1 m, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 이용하여 온도를 30 $^{\circ}$ C to 120 $^{\circ}$ C까지 3 $^{\circ}$ C/sec의 속도로 프로그램하였다. Run time은 30초로 설정하였고, sensor/column/valve/inlet의 온도를 각각 30/40/50/50 $^{\circ}$ C로 하였다.



추출용 커피머신



전자코 시스템에 커피시료 연결



소프트웨어 시스템



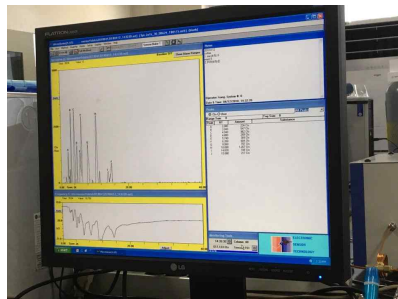
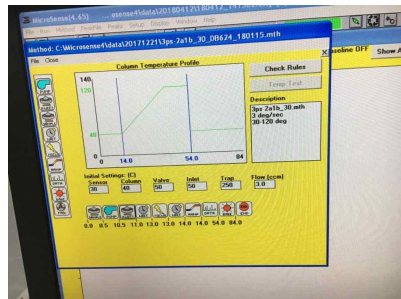
항온유지를 위한 heating block



분석용 컬럼



분석조건 컨트롤



Notes

2018.4.12

coffee

1. mc (4/5)-5
2. wash 5
3. FER(4/5)5
4. wash 5
5. FER coffee-5
6. wash 5
7. re FER coffee-5
8. wash 5
9. re FER coffee-5
10. wash 5

Operator: kang, System #: 0

Date & Time: 04/12/2018, 16:28:41

Desktop

© Cts O User

Plange Sum: 0

Peak	RT	Amount	Tag Sum
A	4.080	257 C13	

분석 중 그려지는 크로마토그램 및 각종 기기조건

다. 연구결과

전자코의 크로마토그램에서 보여지는 바와 같이 대조구(R), 동충하초 단순혼합커피(MIX) 및 동충하초 발표커피(FER)는 확연히 다른 향기성분 패턴을 보이는 것으로 나타났다. 각 시료는 3 반복을 분석하여 편차가 없는지를 확인하였기 때문에 동일한 크로마토그램을 3개씩 나타내었다.

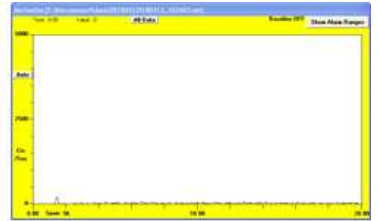
여기서 Derivative chromatogram이란 머무름 시간별에 따라 센서로부터 얻어진 진동수의 변화를 미분하여 나타낸 크로마토그램이고, Vapor Print란 머무름 시간을 각변수(auauar variables)로 하고, 전자코의 응답정도를 반경변수(radial variable)로 사용하여 초기의 머무름 시간으로부터 마지막 성분이 검출된 머무름 시간까지를 360 ° 원형모양으로 이미지한 그래프이며, Polar Frequency pattern이란 머무름 시간별에 따라 센서로부터 얻어진 진동수의 변화를 herz단위로 나타낸 패턴 이미지, Polar derivative pattern이란 Frequency를 미분하여 나타낸 패턴 이미지를 의미한다.

그림에서 붉은 화살표로 표시한 부분과 같이 MIX 시료의 경우 다른 두 시료와는 다르게 특정피크가 유난히 강하게 나타났고, 전반적으로 FER은 R과 거의 동일한 패턴을 나타내었다. 이는 동충하초커피가 원래의 오리지널 커피와 거의 유사한 아로마를 지니기 때문에 소비자들로 하여금 동충하초에 의한 이취를 감지하지 못하게 됨을 의미한다. 따라서 본 과제에서 개발한 동충하초 커피공정은 매우 효율적으로 동충하초의 유효성분을 보유하면서도 원래의 커피와 다름없는 맛과 향기를 즐길 수 있는 공법이라고 할 수 있다.

Derivative Chromatogram

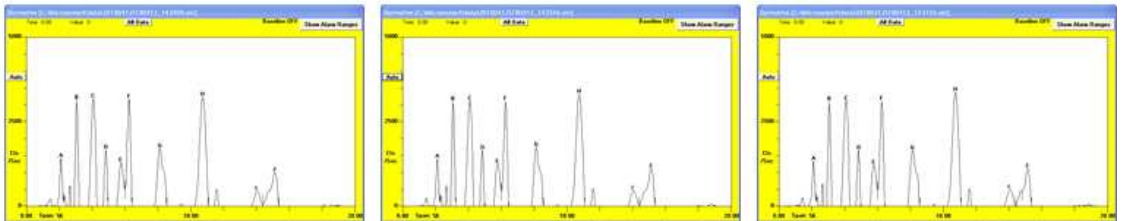
기준 (Y축) 5,000cts/sec (X축) 20sec

Blank (빈병)

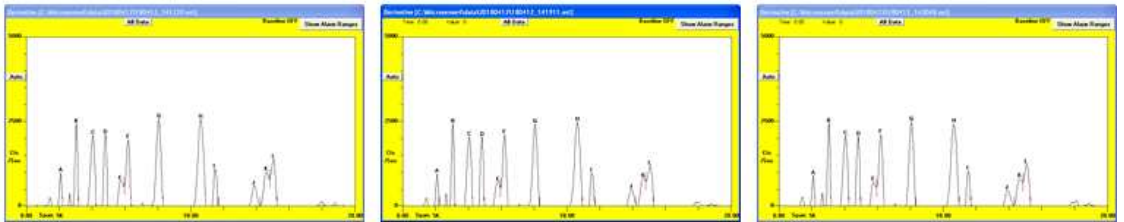


1: 커피가루 (3반복)

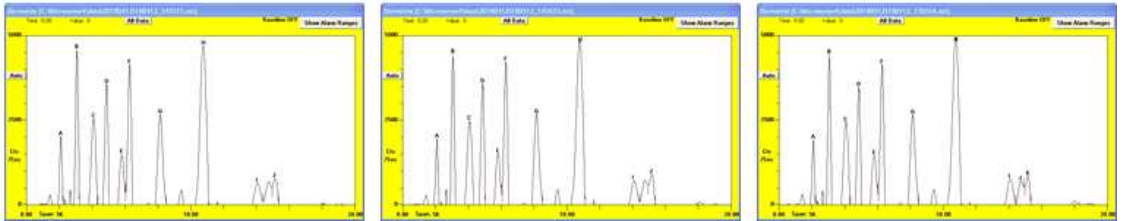
FER



MIX



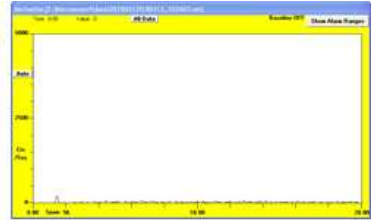
R



Derivative Chromatogram

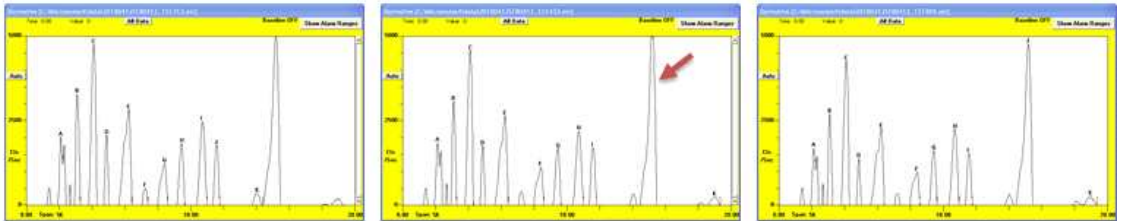
기준 (Y축) 5,000cts/sec (X축) 20sec

Blank (빈병)

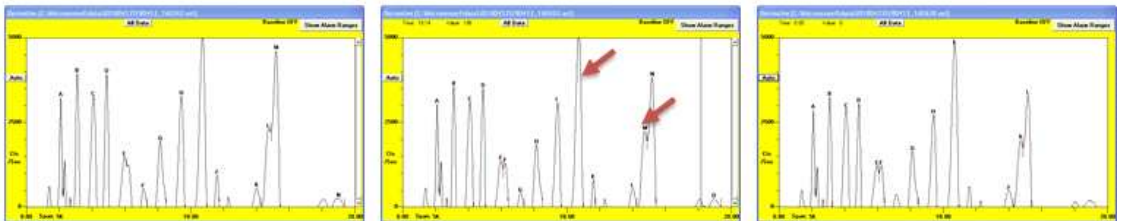


2: 갓내린 에소프레소 커피 (3반복)

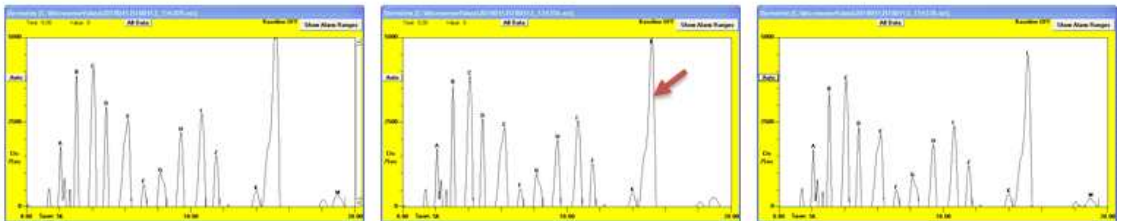
wFER



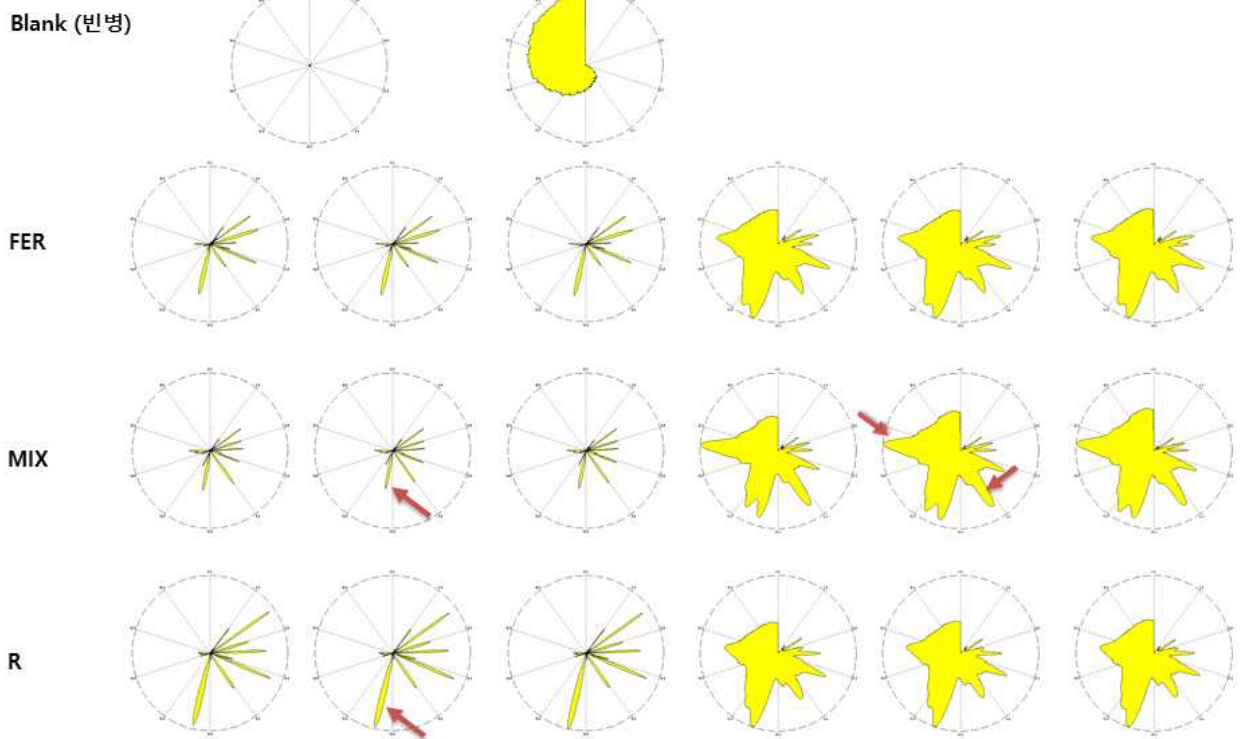
wMIX



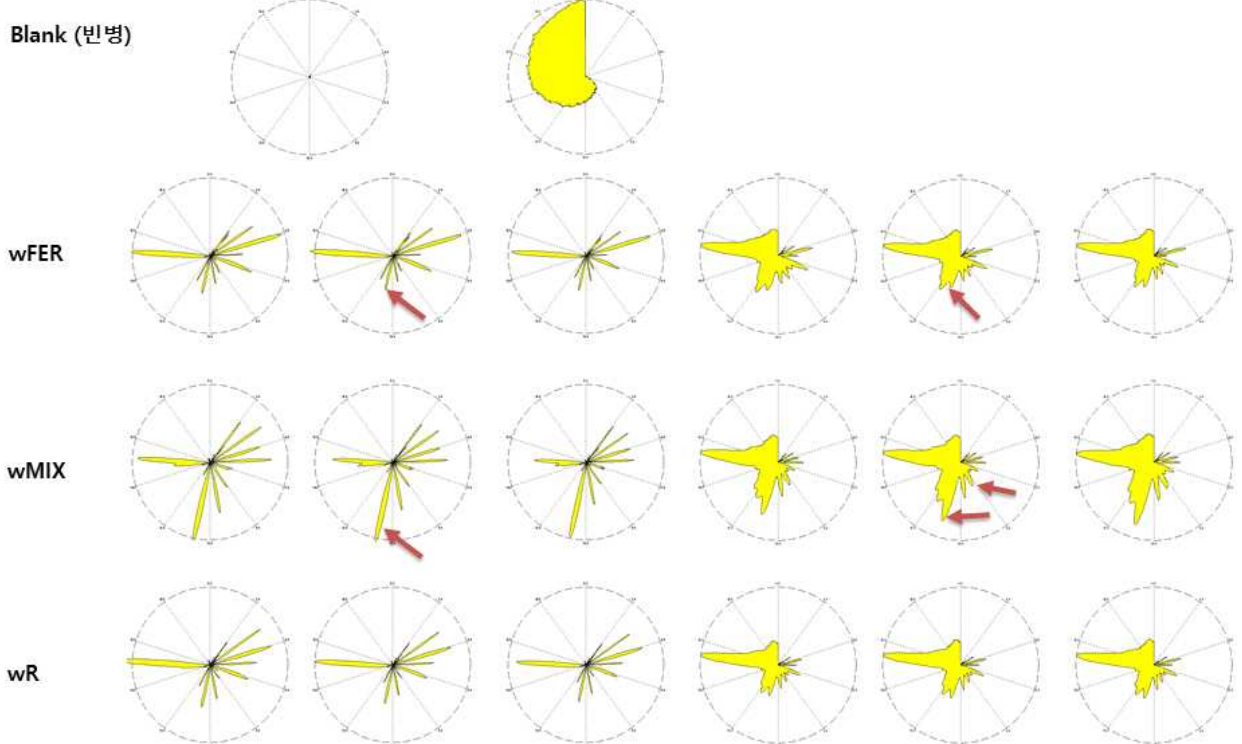
wR



Vapor print – polar derivative pattern / polar frequency pattern **1: 커피가루**



Vapor print – polar derivative pattern / polar frequency pattern **2: 갓내린 에소프레소 커피**



제 3 장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

1. 목표

구분	내용
최종목표	<p>○ 동충하초의 기능성을 인스턴트 추출커피가 아닌 커피생두 자체에 적용하고자 한 새로운 개념의 스페셜티커피를 개발하고자 하였음.</p> <p>○ 이때 발생하는 동충하초 특유의 이취문제는 상황버섯 및 차가버섯추출물을 활용하여 난제를 해결하였으며, 더불어 동충하초의 기능성성분인 Cordycepin뿐만 아니라 β-glucan까지 함유한 고급커피를 개발하였음.</p>
세부목표	<p>○ 주요 성능치</p> <ul style="list-style-type: none"> - 동충하초커피의 배전조건 표준화 완료 : 60℃ 열풍건조 + 180℃, 14분 배전함이 최적조건임. - Cordycepin 함량이 가장 높은 제조조건 확립 : 5% 첨가시 597.14 mg/kg 함유 달성 - β-glucan 함량이 가장 높은 제조조건 확립 : 동충하초추출물 및 상황버섯/차가버섯추출복합액의 최적배합비를 80:20의 비율로 할 때 β-glucan 함량 2.03% 달성 - 총폴리페놀 함량이 가장 높은 제조조건 확립 : 상기의 조건에서 총폴리페놀화합물 함량 39.1 mg/g coffee bean 달성 - 불쾌취 감소에 대한 관능평가 점수 : 전체적인 기호도 5.64점 획득 성공

2. 목표 달성여부

주요 성능지표	단위	최종 개발목표	시험규격	개발결과	달성도
1.Cordycepin 함량	mg	0.1~1 mg/100g	공인시험성적서	597.14mg/kg	100%
2.폴리페놀 함량	mg	450 mg/100g	자체분석 (공인시험기관 없음)	39.1 mg/g	100%
3.β-glucan 함량	mg	0.1~1mg/100g	공인시험성적서	2.03%	100%
4.관능시험평가	점수	4점	Likert scale	5.64점	100%

3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

해당없음

제 4 장 연구결과의 활용계획

- 동충하초를 적용한 커피제품의 다양화 및 사업화
- 커피원두에 대한 전문성을 바탕으로 국내 스페셜티 커피 시장을 선점하여 보급화 추진
- 생두의 질과 종류에 관계없이 모든 생두를 고기능성커피로 제조하여 신규시장 창출
- 저가형, 중가형, 고가형, 초고가형의 커피제품으로 차별화 하여 경쟁력 강화
- FTA시대로 위기에 처한 농업 및 농가의 새로운 대안 기대
- 전입상 등 효능평가를 할 수 있는 후속연구의 발판 마련
- 향후 로스팅후 커피원두의 품질변화에 대한 후속 연구 필요
- 원두의 로스팅후 저장기간 연장에 관한 후속 연구 필요 (현재 1개월 이내)

붙임. 참고문헌

1. 오세욱, 김선희, 송효남, 한대석. 동충하초 품종별 영양성분 비교. 한국식품과학회지. 35: 15-22 (2003)
2. 최유현, 김상은, 허진, 한영환, 이문조. 로스팅커피와 홍삼 혼합추출물의 항균 및 항산화 효과. 한국식품영양과학회지. 41: 320-326 (2012)
3. 서연수, 이승현, 상아방, 이원중. 배전조건이 아라비카 커피의 이화학적 성질에 미치는 영향. 한국식품저장유통학회지. 22: 6990-698 (2015)
4. 강난기, 민관식, 강명화. 분쇄도 및 로스팅 조건이 수프리모 커피의 이화학적 특성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 44: 89-96 (2015)
5. 김훈, 유광원, 이준수, 백길원, 신지영. 원산지 및 품종에 따라 조제된 홍국균 균사체-고체발효 원두커피의 생리활성. 한국식품과학회지. 46: 79-86 (2014)
6. 송효남, 오세욱. 인공재배 상황버섯 액상추출차 제조를 위한 최적추출 및 청징화 조건. 한국식품영양과학회지. 31: 636-641 (2002)
7. 정현식, 조정석, 김한수, 김동섭, 이영근, 성종환, 문광덕. 초음파 추출이 커피 음료의 품질특성에 미치는 영향. 한국식품저장유통학회지. 23: 660-665 (2016)
8. 권대중, 이민준, 박옥진. 저장기간에 따른 스페셜티 등급 커피의 소비자 관능평가. 한국식품영양학회지. 25: 1033-1038 (2012)
9. 이문조, 김상은, 김종환, 이상원, 염동민. 커피원두의 배전강도에 따른 품질특성 및 향기성분에 관한 연구. 한국식품영양과학회지. 42: 255-261 (2013)
10. 김현아, 이경희. 커피의 배전후 경과시간에 따른 관능적 특성. 동아시아식생활학회지. 23: 382-390 (2013)

<뒷면지>

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.