

보안과제(), 일반과제(O) 과제번호 GA108040-3

**세계 특허 기술을 활용한 발효인삼 (홍삼) 요구르트 음료와
츄어블 타입제품의 산업적 생산기술 개발 및 산업화**

(Development and commercialization of fermented(red) ginseng yogurt
drink and chewable type product based on global patented technology)

인삼발효 요구르트 소재 개발 및 제품 다양화 연구

(Development of ginseng fermented yogurt as food matters and its
variety products)

구 안 산 업 (주)

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “세계 특허 기술을 활용한 발효인삼(홍삼) 요구르트 음료와 츄어블 타입제품의 산업적 생산기술 개발 및 산업화” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011년 6 월 24 일

주관연구기관명 : 구안산업 (주)

주관연구책임자 : 김 상 옥

연 구 원 : 천 영 일

연 구 원 : 홍 종 철

연 구 원 : 송 계 로

연 구 원 : 조 말 희

연 구 원 : 정 연 주

연 구 원 : 성 원 진

연 구 원 : 정 한 나

협동연구기관명 : 한국식품연구원

협동연구책임자 : 김 경 탁

연 구 원 : 이 영 철

연 구 원 : 김 성 수

연 구 원 : 홍 희 도

연 구 원 : 노 정 해

연 구 원 : 김 영 찬

연 구 원 : 최 상 윤

연 구 원 : 조 장 원

연 구 원 : 이 영 경

연 구 원 : 이 명 희

요 약 문

I. 제 목

세계 특히 기술을 활용한 발효인삼(홍삼)요구르트 음료와 츄어블 타입제품의 산업적 생산기술 개발 및 사업화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내등록 특허 (제0497895호: 인삼의 유산균 발효물, 그를 함유하는 인삼요구르트 및 균주)와 그에 따른 PCT출원 (KR03/02609), 각국별출원특허 (캐나다, 미국, 호주, 유럽, 일본, 중국)를 근간으로 하는 인삼발효 요구르트 (발효유)를 활용하여 인삼발효 요구르트 음료와 츄어블 제품을 개발하고 산업화하여 전 세계 시장에 제품 출시를 목표로 하였다.

현재까지 인삼추출물을 첨가하는 형식의 음료는 수없이 출시되어 왔지만, 한정된 소비자 계층(중장년 남성)에 국한되어 왔다. 더 나아가 해외소비자에게 인삼의 쓴맛 (bitter taste)은 인삼소비의 가장 큰 걸림돌이 되어왔다. 인삼발효 요구르트는 인삼을 발효라는 생물전환공정을 통해 장내흡수가 빠르고 생리활성이 더 뛰어난 진세노사이드들로 전환시켜주는 것뿐만 아니라 우유/유가공제품을 발효유로 전환시켜주는 일석이조의 제품이다. 또한 관능에 있어서 인삼발효 요구르트의 우유 또는 발효유는 인삼의 부정적 관능인 쓴맛을 자연스럽게 매스킹(masking)하는 장점이 있다. 이런 장점들을 가지고 세계화된 제품의 개발과 유통을 통해 세계시장에 고려인삼과 한국의 기술의 우수성을 알리고자 한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 발효인삼(홍삼)음료 공정에 따른 음료용 중간 소재의 개발(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 중간 소재 분무건조 조건 구명 및 생산
- 인삼(홍삼)발효 요구르트 소재의 특성 조사(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 분무건조 된 중간소재를 이용한 배합기술 개발(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 인삼 발효 요구르트 분말을 이용한 발효음료의 기호 개선 및 품질 특성 평가(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 인삼발효 요구르트 분말을 이용한 츄어블 정제타입 등 고품제 형태 제품 개발 및 시제품 생산
- 인삼발효 요구르트 분말을 이용한 분말 믹스타입 포뮬러 개발 및 시제품 생산

IV. 연구개발 결과

인삼발효요구르트 분말화 제조를 위한 최종발효조건은 다음과 같다. 탈지분유 10%, 홍삼농축액 0.25%, 비타민 C 1% 및 정제수를 첨가한 후 100°C, 30min 살균하고 Jar Fermenter의 cooling 시스템을 작동하여 배양온도(37°C)까지 식힌 후 *B. longum* H1을 접종하여 발효를 실시하였다. 이후 발효물을 분무 건조하여 분말화 하였고 분말품의 ginsenoside 함량은 Rg1 32.7, Re 49.9, Rf 16.6, Rh 1.8, Rb1 29.8, Rc 5.6, Rb2 1.6, Rd 7.1 Rg 2.7 mg/kg을 나타내었다. 그리고 *B. longum* H-1 발효에 의해 ginsenoside Rb1, Rb2와 Rc 등으로부터 전이된 compound K, Rg3, Rh1, Rh2는 0.3, 3.5, 0.2, 0.1 mg/kg이 검출되어 ginsenoside의 전이를 확인하였다. 인삼발효요구르트음료(유아용) 제품의 최종 배합비는 다음과 같다. 즉, 액상과당 3 g, 정백당 5 g, gellan gum 0.03 g, 인삼발효요구르트분말 2 g, 요구르트 혼합분말 0.5 g, 식물성 크림 0.5 g, 구연산 나트륨 0.02 g, 비타민 C 0.03 g, 정제수 100 g 으로 하였다. 인삼발효요구르트음료의 품질특성 결과 산성다당체 함량 17.35 mg/g, 총페놀 함량 0.221 mg/g을 나타내었고 진세노사이드 함량의 경우 Rg1+Re은 0.013 mg/g, Rb1 0.018 mg/g, Rc 0.01 mg/g, Rb2+Rb3 0.008 mg/g, Rd 0.006 0.006 mg/g, Rg3(S,R) 0.028 mg/g을 나타내었다.

두유인삼발효음료를 제조하기 위한 두유인삼발효 조건은 다음과 같다. 대두를 95°C~98°C의 열수로 5분간 찢 후 grinding 하고 홍삼원액 0.25%, 0.5%를 첨가하여 90°C에서 30분 중탕살균한 후 자사가 보유한 특허균주인 *B. longum* H-1 및 *B. breve* K-110을 접종하여 두유인삼발효물을 제조하였다. 이후 발효물을 분무 건조하여 분말화 하였고 두유인삼발효 분말의 특성분석 결과는 다음과 같다. 균주별 발효에 의한 isoflavone 함량은 발효에 의해 isoflavone aglycones로 변화하여 두유에서 1.5%에 불과하던 aglycone이 *B. longum* H-1에 의한 발효에서는 75.6%로 *B. breve* K-110에 의한 발효에서는 81.1%로 급격히 증가하여 높은 가수분해율을 나타내었다. 그리고 발효물의 β -glucosidase 활성 측정결과 *B. longum* H-1에 의한 발효에서는 42.5 mu/ml, *B. breve* K-110에 의한 발효에서는 49.2 mu/ml를 나타내었다. 두유인삼요구르트음료 개발 제품의 최종 배합비는 다음과 같다. 두유인삼발효분말 1 g, 요구르트혼합분말 1 g pectin, 0.03 g, gellan gum 0.035 g, 과당 4 g, 프락토올리고당 3 g, 정백당 2 g, 정제염 0.05 g, 비타민 C 0.01 g, 구연산 0.025 g, 구연산나트륨 0.01 g, 과실엑기스 3 g(복숭아), 착향료 0.1 g(복숭아향) 그리고 정제수 85.74 g 이었다.

인삼발효요구르트 츄어블 제품의 경우 인삼과 우유를 동시에 발효시키는 가능성을 가진 인삼발효요구르트 분말을 1% 사용하였고 여기에 발효유 맛을 강화하기 위하여 요구르트 혼합분말, 비타민 C 그리고 이산화규소를 사용하여 제조하였다. 이후 분쇄기를 사용하여 분쇄후 150 mesh를 통과한 분말을 타정기로 타정하여 제조하였다. 인삼발효요구르트 분말 믹스타입 제품의 경우 유동층 분무건조기를 사용하여 제조하였으며 최종 배합비는 설탕 80.8%, 코코아 분말

15%, 인삼발효 요구르트분말 2.5%, 혼합미네랄 0.6%, 혼합비타민 0.6% 으로 결정하였다. 개발된 제품의 용해성과 기호성은 모두 양호한 결과를 나타내었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

원료 또는 첨가물의 유통 판매를 위해서 원료의 Spec Sheet 가 준비, 작성되었다. 이 자료와 음료, 츄어블, 그리고 분말제품과 함께 해외 바이어와 상담중이며, 원료로 현재 수출을 계획하고 있다. 츄어블 제품은 신세계백화점과 GS 슈퍼마켓에서 진열 판매되고 있는데, 이를 편의점, 대형마트에도 입점을 상담중이다. 또한 제품을 담는 용기들을 다양화하여, 청소년층과 젊은층, 그리고 외국인의 구매패턴에 맞도록 수정하여 제품을 2011년 하반기에 출시할 계획이다. 우유 또는 두유에 타먹는 인삼발효요구르트 분말제품 개발이 완료되었으며, 현재 포장재의 디자인이 진행되고 있다. 이 제품은 2011년도 하반기 (약 8월경)에 출시하고자 한다.

SUMMARY

(영문요약문)

I . Title

Development and commercialization of fermented (red) ginseng yoghurt drink and chewable type product based on global patented technology

II . R&D Purposes and Necessities

Based on the patents registered in Korea(KR03/02609) and worldwide (Canada, U.S.A., Australia, E.U., Japan, China), development of new ginseng products has been needed to overcome the resistances from western and new consumer of ginseng. The bitter taste of ginseng have been big hurdle to ginseng industry. The state of art technology and patents from GINLAC provide the solutions to solve this problem. At the same times, the fermented ginseng yoghurt (FGY) provides enhanced ginsenosides by bio-conversion, transformed yoghurt from milk, and masked ginseng taste by milk or soy milk ingredients.

Through new products and their developments, the superiority of Korean ginseng and technology will be proven in world market and help to boost export of Korean ginseng.

III . Details and Scope of R&D

- Development of fermented (red) ginseng yoghurt raw material (milk or soy milk based)
- Spray drying of fermented (red) ginseng yoghurt for mass production
- Research on characteristics of spray dried powder
- Formulation and development of fermented (red) ginseng yoghurt drink
- Formulation and development of fermented (red) ginseng yoghurt chewable
- Formulation and development of fermented (red) ginseng yoghurt powder mixing type
- Commercialization of raw material, drink, chewable, and powder products

IV . Results of R&D

Fermentation conditions for fermented (red) ginseng yoghurt have been researched and found. The mass production of raw material has been executed and successfully achieved for different products.

Based on this raw material, fermented ginseng yoghurt drink have been developed and tested on many domestic and oversea exhibition. With the feedback from consumer, the formulation has been reviewed and modified. Currently, proper OEM manufacturer is on

searching for mass production under marketing plan.

Chewable type product (Good For You Chewable – G.U.F.O.U) has been developed and distributed through department store and GS supermarket chains.

Powder mixing type product has been developed and on the process of packaging development.

V. Research outcome and utilization plan

Research outcome has passed the targeted plan, adding granule powder type product. For commercialization, fermented ginseng yoghurt beverage has hurdles due to minimum production quantity. For raw materials fermented ginseng yoghurt powder, specification sheet has been documented to distribute raw material for food materials and additives. For chewable type product has been already on consumer market. For this product, tin-can package is prepared to meet the feedback from international buyer. Also, packaging for granule powder type is on the developing process, and at second half of this year, it will be introduced to consumer market. The adaptation to market and distribution channel for each product will be continuously on progress to meet requirements.

CONTENTS
(영 문 목 차)

Summary	2
Contents	7
Chap. 1. Outline of research project	9
1. Objective	9
2. Significance	9
3. Scope	10
Chap. 2. Present state	12
Chap. 3. Methods and Results of project	13
1. Research and development of Fermented Ginseng Yoghurt raw material and drink	13
(1) Spray dried raw material development based on fermentation process	13
(2) Development of Fermented Ginseng Yoghurt drink	28
2. Research and development of Fermented Ginseng Soy Yoghurt raw material and drink	44
(1) Research on Fermented Ginseng Soy Yoghurt fermentation process and raw materials for drink	44
(2) Development of Fermented Ginseng Yoghurt drink	72
3. Development of Fermented Ginseng Yoghurt raw material and various products	94
(1) Development of Chewable type product	94
(2) Development of Granule Powder type product	97
Chap. 4. Attainment and Contribution	104
Chap. 5. Achievement and proposal for Application	105
Chap. 6. Information from Abroad Related to This Project	106
Chap. 7. References	107

목 차

요약문	2
Summary	5
Contents	7
목차	8
제 1 장 연구개발과제의 개요	9
제 1 절 연구개발의 목적	9
제 2 절 연구개발의 필요성	9
제 3 절 연구개발의 범위	10
제 2 장 국내외 기술개발 현황	12
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	13
1. 인삼발효요구르트 소재 개발 연구 및 음료제품 개발	13
(1) 발효인삼 공정에 따른 음료용 중간 소재의 개발(분무건조)	13
(2) 인삼발효 요구르트 음료개발	28
2. 두유인삼발효 요구르트 소재 개발 연구 및 음료제품 개발	44
(1) 두유인삼발효 요구르트 공정설정 및 음료용 소재개발	44
(2) 두유인삼 yogurt 음료개발	72
3. 인삼발효요구르트 소재 개발 및 제품 다양화 연구	94
(1) 츠어블타임 제품개발	94
(2) 인삼발효 요구르트 분말 믹스타입 개발	97
제 4 장 목표 달성도 및 관련분야의 기여도	104
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	105
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	106
제 7 장 참고문헌	107

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

본 연구에서는 인삼(홍삼)을 발효라는 생물전환 공정을 통해 체내 흡수율을 높이고, 유아나 청소년층, 인삼 쓴맛에 대하여 거부감이 있는 사람들을 위한 쓴맛을 저감화 시킨 음료를 제조하고자 하였다. 우유 및 두유를 base로 하고 인삼(홍삼) 엑기스를 첨가하여 발효시키고 발효물을 이용하여 대중성 있는 음료를 제조하고, 이를 이용한 츄어블 정제타입 등의 고형제제 형태의 제품을 개발하여 상품화 하고자 하였다. 국내등록 특허 (제0497895호: 인삼의 유산균 발효물, 그를 함유하는 인삼요구르트 및 균주)와 그에 따른 PCT 출원 (KR03/02609), 각국별 출원 특허 (캐나다, 미국, 호주, 유럽, 일본, 중국)를 근간으로 하는 인삼발효 요구르트 (발효유)를 활용하여 인삼발효 요구르트 음료와 츄어블 제품을 개발하고 산업화하여 전 세계 시장에 제품 출시를 목표로 하였다.

제 2 절 연구개발의 필요성

인삼중주국이라 하는 한국은 화기삼과 중국삼 저가 고려인삼에 밀려 국내외 시장에서 현재 많은 어려움을 겪고 있다. 미국과의 FTA를 보더라도 일정기간 관세가 유예되기는 했으나 EU, Canada, 중국 등과의 협상에서 어떤 결과가 나올지는 모른다. 한국은 새로운 제품 연구개발과 세계화 제품에 국가적으로 많은 지원을 하여왔으나 해외의 입맛을 뛰어넘지는 못했고 히트제품이 부재하다. 이러한 여러 가지 어려운 환경과 맛의 장벽을 극복하기 위해 국내외 환경을 다시 조사하고 각 나라 또는 지역에 맞는 인삼제품 개발의 필요성이 절실한 상황이다.

최근 인삼 유용 성분인 사포닌을 생물학적 혹은 물리적 방법으로 전환하여 인삼 사포닌의 활성을 높이하고자 하는 연구가 이루어져 왔다. 사포닌은 인체의 장내에 서식하고 있는 미생물에 의해 분해되어야 약리작용을 발휘하는 것으로 알려져 있는데, 인삼을 섭취한 사람 중 20~30%는 장내세균이 인삼사포닌(진세노사이드)을 compound K 등으로 대사시키지 못하는 것으로 알려져 있다. 그러나 인삼사포닌 중 암세포에 대한 세포독성 및 암의 전이를 억제하는 활성성분으로는 ginsenoside Rb1, Rb2와 Rc 등으로부터 장내세균에 의해 대사된 compound K, Rg3, Rh1, Rh2로 여겨지고 있으며 항암치료 중이거나 항생물질 투여를 받는 환자는 인삼사포닌을 대사시킬 수 있는 장내세균이 없는 것으로 여겨지고 있다. 그러므로 인삼사포닌을 흡수가 용이한 유용 사포닌으로 전환하고자 하는 것이 주목적으로 하는 연구가 최근의 인삼연구의 경향이다.

인삼전체를 그대로 사용하거나 추출 등의 단순가공을 통하여 제조하는 차류, 엑기스류 등 기존의 인삼가공제품들로는 새로운 시장개척이나 수출확대에 한계가 있다. 한편 우리나라 국민들

의 인삼소비 형태를 보면 수삼상태로 50% 소비되고, 백삼(31.3%), 홍삼(4.9%), 태극삼(2.0%) 등 1차 가공품으로 38.2%, 농축액과 드링크 등의 2차 가공품으로 11.8% 정도 소비하고 있다. 최근 들어 복용의 편리성 때문에 엑기스를 이용한 드링크나 파우치 형태의 2차 가공품 소비가 급격하게 늘어나고 있는 상태이다.

현재까지 인삼추출물을 첨가하는 형식의 음료는 수없이 출시되어 왔지만, 한정된 소비자 계층(중장년 남성)에 국한되어 왔다. 더 나아가 해외소비자에게 인삼의 쓴맛 (bitter taste)은 인삼소비의 가장 큰 걸림돌이 되어왔다. 인삼발효 요구르트는 인삼을 발효라는 생물전환공정을 통해 장내흡수가 빠르고 생리활성이 더 뛰어난 진세노사이드들로 전환시켜주는 것뿐만 아니라 우유/유가공제품을 발효유로 전환시켜주는 일석이조의 제품이다. 또한 관능에 있어서 인삼발효 요구르트의 우유 또는 발효유는 인삼의 부정적 관능인 쓴맛을 자연스럽게 매스킹(masking)하는 장점이 있다. 이런 장점들을 가지고 세계화된 제품의 개발과 유통을 통해 세계시장에 고려 인삼과 한국의 기술의 우수성을 알리고자 한다.

제 3 절 연구개발의 범위

인삼발효요구르트는 인삼을 발효라는 생물전환 공정을 통해 장내흡수가 빠르고 생리활성이 더 뛰어난 진세노사이드들로 전환시켜주는 것뿐만 아니라 우유/유가공제품 및 두유/두류가공제품을 발효유 및 발효두유로 전환시켜주는 일석이조의 제품으로 음료의 형태로 개발함으로써 소비자가격 경쟁력 등으로 요구르트 및 두유발효유에 기능성 소재가 첨가되기 어려운 현 시장의 문제점을 해결하고 아울러 국내 및 해외에 인삼을 저변화 할 수 있을 것이다. 또한 이미 국내외에 출원등록 되어가는 특허를 바탕으로 국내외 소비자에게 건강과 기능성을 동시에 가져다주면서 국가적으로는 인삼과 해외에서 저렴하게 생산되는 인삼들을 재가공하여 세계시장속에서 인삼기술 강국을 유지하며 수출할 수 있다. 인삼발효요구르트 음료 및 인삼발효두유 요구르트 음료는 요구르트와는 달리 직접 사업화가 가능하기에 제품 개발과 산업화 및 제품시판을 목표로 하고 있다.

음료가 가진 단 하나의 단점은 휴대성이 떨어지는 것이다. 이를 극복하고자 츄어블 정제타입 등의 고품제제 형태의 제품으로 개발하고자 하였다.

구체적인 연구범위는 다음과 같다.

- 발효인삼(홍삼)음료 공정에 따른 음료용 중간 소재의 개발(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 중간 소재 분무건조 조건 구명 및 생산
- 인삼(홍삼)발효 요구르트 소재의 특성 조사(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 분무건조 된 중간소재를 이용한 배합기술 개발(우유/유가공제품, 두유/대두제품)
- 인삼 발효 요구르트 분말을 이용한 발효음료의 기호 개선 및 품질 특성 평가(우유/유가공제품, 두유/대두제품)

- 인삼발효 요구르트 분말을 이용한 츄어블 정제타입 등 고품제제 형태 제품 개발 및 시제품 생산
- 인삼발효 요구르트 분말을 이용한 분말 믹스타입 포뮬러 개발 및 시제품 생산

제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

홍삼 제조 기술은 국내 기술이 발달되어 있으나, 표준물질 제조 기술 등 인삼 가공 기술이 동등하거나, 앞선 것으로 파악되고 있다. 또한 국내보다 외국의 제품군이 다양하며, 예로 미국에서 Echinacea가 시장점유율 1위로 부상하자 캐나다 B.C 대학에서 인삼과 Echinacea를 혼합한 기능성제품을 개발하고, 일본의 경우, Earthrise Nutritionals사에서는 은행잎과 인삼 추출물에 7여종의 기능성소재 혼합한 'Energy Rise' 개발하는 등 제품 다양화가 이루어지고 있다.

최근에는 인삼 유용 성분인 사포닌을 생물학적 혹은 물리적 방법으로 전환하여 인삼 사포닌의 활성을 높이고자 하는 연구가 이루어져 왔는데, 이러한 연구는 인삼을 투여한 사람 중 20-30%는 장내세균이 인삼사포닌을 대사시키지 못하는 것으로 생각되고 있기 때문이다. 특히 인삼사포닌 중 항암치료 중의 부작용 억제에 효과가 있는 인삼사포닌은 이러한 대사된 인삼사포닌으로 여겨지고 있으며, 항암치료중이거나 항생물질 투여를 받는 환자는 인삼사포닌을 대사시킬 수 있는 장내세균이 없는 것으로 알려져 있어 흡수가 용이한 유용 사포닌으로 전환하고자 하는 것이다.

이러한 인삼 사포닌 전환 활성성분으로는 사포닌 ginsenoside Rb1, Rb2와 Rc 등으로부터 장내세균에 의해 대사된 compound K, Rg3, Rh1, Rh2로 생각하고 있으며, 그리하여 장내균총 또는 유산균을 사용하여 compound K, Rg3, Rh1, Rh2로 전환시켜 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이런 기술을 이용한 제품도 일부 상용화 되어 있는 데, 예로 (주)비피도에서 "Probiotic 유산균을 이용하여 인삼 사포닌의 전환 연구(2003년)", (주)일화에서 Lactobacillus균을 이용한 Rg3와 Rh1을 강화한 "비삼(lacto ginseng)"과 신물질인 IH 901, (주)녹십자에서 유산균을 이용하여 Rh2를 강화한 "어삼"이라는 제품들이다.

인삼의 유산균 발효에 대한 전반적인 연구는 국외가 앞서고 있으며 국내도 국외의 연구를 추적하여 상당한 진척을 이루고 있다. 국외의 경우 여러 식품류 즉 곡물류의 Biotransformation에서 각국의 전통 발효식품 (Traditional food fermented)인 Koji, sake, ragi, tempeh 등에 대한 고체 배양 기술은 발달되어 있으나 인삼을 이용한 발효는 전무한 상태이다. 국내의 경우, 인삼소재 발효물에 대한 연구분야에서는 연구 논문 편수는 다수 있으며 유산균을 이용한 생물전환기술은 일부 확립 되어있다.

유산균을 이용한 인삼(홍삼)의 발효는 장내세균이 인삼사포닌을 대사시키지 못하는 사람에게 다양하게 이용할 수 있을 것으로 생각되므로 발효물 중간 소재를 이용한 가공 제품을 개발하여 고려인삼 산업의 수익성 창출 및 신기술 개발에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 인삼발효 요구르트 소재 개발 연구 및 음료제품 개발

1. 발효인삼음료 공정에 따른 음료용 중간 소재의 개발(분무건조)

가. 요구르트 발효

(1) 요구르트발효 조건설정

(가) 재료 및 방법

① 재료

요구르트를 제조하기 위해 우유를 직접 사용하기에는 구입, 운반, 취급, 보관 등의 문제점이 있어 탈지분유를 물에 희석하여 사용하였고 탈지분유는 서울우유 대리점(대전)에서 구입하였으며 비타민C(Ascorbic acid)는 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였다.

② 방법

탈지분유를 사용하여 요구르트를 제조하고자 배합비율별 발효물의 성상을 시험하였다. 당 연구소에서 개발하여 특허를 획득한 한 *B. longum* H1을 스타터로 하고 100℃에서 살균한 탈지분유를 5%, 8%, 10%, 14% 기질에 비타민 C를 0.1% 첨가하고 24시간 발효하였다.

(나) 결과 및 고찰

① pH 변화

모든 처리구에서 배양 24시간 후 pH는 4.47~4.73으로 나타났고 pH가 가장 낮은 처리구는 5%의 탈지분유를 첨가한 처리구였으며 가장 높은 것은 14%의 탈지분유를 첨가한 처리구였다.

② 관능

관능검사결과 14% 첨가구는 발효진행속도가 낮아 발효하기 전 우유의 맛과 비슷한 특징이 있었고 5% 첨가구에서는 너무 묽고 싱겁다는 반응이 나타났고 또한 발효과정에서 유단백과 물로 층분리가 일어나 발효조건으로 적절하지 못한 것으로 나타났다. 첨가량별 발효물의 관능 검사 결과 10%의 탈지분유를 첨가한 처리구의 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다.

표 3-1-1. 탈지분유 함량별 요구르트발효 결과

탈지분유함량	Brix°	최종 발효물 pH	관능 검사 결과
5%	5.8	4.47	푹고 싱거움, 발효과정에서 물층 분리 심함
8%	8.6	4.70	우수
10%	10.2	4.62	가장 우수
14%	13.8	4.73	발효전 우유맛과 비슷

나. 홍삼분말을 사용한 홍삼발효 요구르트 가공조건 설정

(1) 홍삼발효요구르트 제조 (홍삼분말 1%)

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼 요구르트를 발효하기 위해 홍삼분말과 탈지분유 희석액에 혼합하여 사용하였고 홍삼분말은 자사(구안산업, 충남 금산)원료를 사용하였다.

② 방법

홍삼분말은 1%를 사용하였고 먼저 121℃, 20min 가압멸균 후 탈지분유 희석액 및 비타민C를 첨가하여 다시 100℃, 30min 살균 작업을 하고 여기에 특허균주 *B. longum* H1을 접종하여 24시간 배양하여 홍삼의 유효성분 생물전환(발효) 및 요구르트를 제조하였다.

(나) 결과 및 고찰

탈지분유 농도가 8% 처리구와 10% 처리구에서 최종 pH 및 관능평가로 볼 때 발효율이 좋았고 전체적으로 홍삼 맛이 너무 강하게 나타났다(표 3-1-2).

표 3-1-2. 홍삼분말을 이용한 홍삼발효요구르트 제조시험

탈지분유함량	Brix°	최종 발효물의 pH	관능 검사 결과
8%	6.2	4.61	홍삼 맛이 강함
10%	8.0	4.55	홍삼 맛이 강함
14%	11.0	4.80	홍삼 맛이 강함

(2) 홍삼분말 농도별 홍삼발효요구르트 제조

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼 요구르트를 발효하기 위해 홍삼분말과 탈지분유 희석액에 혼합하여 사용하였고 홍삼분말은 자사(구안산업, 충남 금산)원료를 사용하였다.

② 방법

홍삼분말은 0.5%와 1%를 사용하였고 먼저 121℃, 20min 가압멸균 후 8%와 10%의 탈지분유 희석액 및 비타민C를 첨가하여 다시 100℃, 30min 살균 작업을 하고 여기에 특허균주 *B. longum* H1을 접종하여 24시간 배양하여 홍삼의 유효성분 생물전환(발효) 및 요구르트를 제조하였다.

(나) 결과 및 고찰

홍삼의 첨가량별 기호성을 조사하기 위해 홍삼분말을 0.5%와 1%를 첨가하여 발효한 결과 홍삼분말 0.5% 첨가구의 기호성이 우수하였고, 탈지분유의 함량은 8%일 때 발효율 등 효율성이 가장 좋았다(표 3-1-3).

표 3-1-3. 홍삼분말 농도별 홍삼발효요구르트 제조시험

홍삼분말 함량	탈지분유함량	Brix°	최종 발효물 pH	관능 검사 결과
0.5%	8%	6.2	4.58	가장 우수
0.5%	10%	7.8	4.65	우수
1.0%	8%	7.0	4.63	홍삼 맛이 강함
1.0%	10%	8.2	4.69	홍삼 맛이 강함

(3) Pilot plant 설정 규모의 홍삼발효요구르트 Jar Fermenter(5L) test

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼 발효요구르트를 제조하기 위해 홍삼분말은 자사(구안산업, 충남 금산)원료 홍삼을 분쇄기로 분쇄하여(100 mesh, 85%이상) 사용하였고 탈지분유는 서울우유 대리점(대전), 비타민 C(Ascorbic acid)는 식품원료 및 첨가물 취급업체 헬스라인(경기, 일산)을 통하여 구입하였다.

② 방법

홍삼분말 0.5%를 먼저 Jar Fermenter(실험실용 발효조, 5L)에 넣고 121℃, 20min 가압멸균 후 여기에 8% 탈지분유 희석액과 비타민 C 0.1%를 첨가하여 다시 100℃, 30min 살균한다. 그리고 Jar Fermenter의 cooling 시스템을 작동하여 배양온도(37℃)까지 식힌 후 *B. longum* H1을 접종하여 발효한다.

(나) 결과 및 고찰

① pH 변화 및 관능특성

발효물의 최종 pH는 4.45까지 낮아졌으나 Jar Fermenter안에 임펠러가 회전하고 있음에도 불구하고 층분리가 심하게 나타났으며 홍삼분말은 하층에 가라앉은 상태로 균질화가 이루어지지 않았다.

② Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 오염여부 없이 증균된 상태를 확인할 수 있었다.

③ 일반세균이나 잡균 등에 의해 오염되지 않았고 pH변화와 관능평가 등으로 볼 때 발효가 이루어진 것으로 판단되어 탈지분유 농도를 10%로 하여 다시 실험하고자 한다.

(4) Pilot plant 설정규모의 홍삼분말 0.5%와 10% 탈지분유 희석액을 이용한 홍삼발효요구르트 Jar Fermenter(5L) test

(가) 재료 및 방법

재료와 방법 모두 Jar Fermenter test와 동일하게 실험하였고, 단 탈지분유 농도만 10% 희석액으로 사용하였다.

(나) 결과 및 고찰

① pH 변화

발효물의 최종 pH는 4.5까지 낮아졌다.

② Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 오염여부 없이 증균된 상태를 확인할 수 있었다.

③ 관능

16시간 이후부터 약간의 층분리 현상이 발생하였고 Pilot plant 설정 규모의 홍삼발효요구르트 Jar Fermenter(5L) test 실험에서와 마찬가지로 오염여부 없었고 증균된 상태이지만 홍삼분말은 하층에 가라앉은 상태로 균질화가 이루어지지 않았다.

④ 고찰

홍삼분말이 하층에 가라앉아 균질화가 이루어지지 않는다면 현장 발효조 구조 및 분말화 작업에 어려움이 있고 하나의 제품으로 출시하기에도 문제점이 많다. 따라서 똑같이 발효가 잘 이루어진다면 홍삼분말보다 탈지분유 희석액에 골고루 혼합 및 용해될 수 있는 농축액 타입이 효율적이라 판단된다.

(5) Pilot plant 설정규모의 홍삼분말 입자크기에 따른 발효홍삼요구르트 Jar Fermenter(5L) test

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼분말이 하층에 가라앉아 균질화가 이루어지지 않는다면 현장 발효조 구조 및 분말화 작업에 어려움이 있고 하나의 제품으로 출시하기에도 문제점이 많다. 따라서 똑같이 발효가 잘 이루어진다면 홍삼분말보다 탈지분유 희석액에 골고루 혼합 및 용해될 수 있는 농축액 타입이 효율적이라 판단된다.

② 방법

실험방법은 Jar Fermenter test와 동일하게 실시하였다.

(나) 결과 및 고찰

① pH 변화

50 mesh 분말 4.52, 80 mesh 분말 4.54, 100 mesh 분말 4.52로 모두 비슷하였다.

② Gram stain

배양액을 백금어로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 50 mesh, 80 mesh 및 100 mesh 분말 모두 오염여부 없이 비슷한 정도의 증균된 상태를 확인할 수 있었다.

③ 관능

50 mesh 분말은 15시간, 80 mesh 분말 및 100 mesh 분말은 16시간 이후부터 약간의 층분리 현상이 발생하였고 Pilot plant 설정 규모의 홍삼발효요구르트 Jar Fermenter(5L) test와 Pilot plant 설정규모의 홍삼분말 0.5%와 10% 탈지분유 희석액을 이용한 홍삼발효요구르트 Jar Fermenter(5L) test 실험에서와 마찬가지로 오염여부 없었고 증균된 상태이지만 홍삼분말은 하층에 가라앉은 상태로 균질화가 이루어지지 않았다.

④ 고찰

위 결과에서와 같이 유산균이 홍삼(인삼) 조직 또는 섬유소 내에 높은 효율로 침투할 수 있을 정도의 분말화 상태면 건조분말형태의 홍삼(인삼)의 분말화 정도는 특별히 한정되지 않는

것으로 사료된다. 다만 홍삼분말이 하층에 가라앉아 균질화가 잘 이루어지지 않는다면 발효 후 분말화 작업에 어려움이 있고 상품으로도 문제가 될 것이다. 따라서 똑같이 발효가 이루어진다면 홍삼분말보다 탈지유 희석액에 희석 및 잘 용해될 수 있는 농축액 타입이 효율적이라 판단된다.

다. 홍삼/인삼농축액을 사용한 홍삼/인삼발효요구르트 가공조건 설정

(1) 홍삼농축액을 사용한 홍삼발효요구르트 제조

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼 발효요구르트를 제조하기 위해 홍삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 홍삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을 사용하였고 탈지분유는 서울우유 대리점(대전), 비타민 C(Ascorbic acid)는 식품원료 및 첨가물 취급업체 헬스라인(경기, 일산)을 통하여 구입하였다.

② 방법

홍삼농축액은 홍삼분말과 달리 일반세균도 음성이고 물에 잘 녹는 성질을 가지고 있어서 따로 가압멸균하지 않고 8% 탈지분유 희석액과 10% 탈지분유 희석액에 각각 홍삼농축액 0.25%와 비타민 C 0.1%를 넣고 100℃, 30min 살균한 후 Jar Fermenter의 cooling 시스템을 작동하여 배양온도(37℃)까지 식힌 후 *B. longum* H1을 접종하여 발효한다.

(나) 결과 및 고찰

① pH 변화 및 관능

8% 탈지분유 희석액에 홍삼농축액 0.25%의 발효물은 최종 pH가 4.83으로 낮아졌고 층 분리 현상이 심하게 나타났고 홍삼농축액 0.5%의 발효물은 최종 pH가 4.82로 낮아졌으며 층 분리는 역시 심하게 나타났다. 반면 10% 탈지분유 희석액에 홍삼농축액 0.25%의 발효물은 최종 pH가 4.80으로 낮아졌고 약간의 층 분리 현상을 보였고 홍삼농축액 0.5%의 발효물은 pH 4.76로 낮아졌으며 홍삼농축액 0.25%의 발효물과 마찬가지로 약간의 층 분리 현상을 보였다.

② Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검정한 결과 모든 처리구에서 오염여부

없이 증균된 결과를 확인할 수 있었고 홍삼농축액의 농도별로는 0.25%에서 보다 많은 균수를 확인할 수 있었다.

③ 고찰

요구르트 상태의 맛은 홍삼농축액의 농도나 탈지분유 농도에 관계없이 비슷하였으나 성상은 모든 처리구에서 층 분리 현상은 있었지만 홍삼농축액의 농도와 상관없이 8% 탈지분유 희석액에서보다 10% 탈지분유 희석액에서 층 분리 현상이 더 양호하였다.

표 3-1-4. 홍삼농축액을 사용한 홍삼발효요구르트 제조

홍삼농축액 함량	탈지분유함량	Brix°	최종 발효물 pH	관능 검사 결과
0.25%	8%	7.8	4.83	- 발효된 요구르트 맛에 약간의 홍삼 맛 - 층 분리 현상 심함
0.25%	10%	9.2	4.80	- 발효된 요구르트 맛에 약간의 홍삼 맛 - 약간의 층 분리 현상
0.5%	8%	8.5	4.82	- 발효된 요구르트 맛에 약간의 홍삼 맛 - 층 분리 현상 심함
0.5%	10%	9.8	4.76	- 발효된 요구르트 맛에 약간의 홍삼 맛 - 약간의 층분리 현상

(2) 인삼농축액을 사용한 인삼발효요구르트 제조

(가) 재료 및 방법

인삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 인삼 추출 및 농축방법에 의해 생산된 원료를 사용하였고 나머지 부분은 (1) 홍삼농축액을 사용한 홍삼발효요구르트 제조와 동일하게 실험하였다.

(나) 결과 및 고찰

홍삼농축액을 사용한 홍삼발효요구르트 제조와 같이 홍삼농축액을 사용하여 발효홍삼요구르트를 제조한 결과와 pH 수치만 차이가 있고 나머지 결과는 비슷하였다.

표 3-1-5. 인삼농축액을 사용한 인삼발효요구르트 제조

인삼농축액 함량	탈지분유함량	Brix°	최종 발효물 pH	관능 검사 결과
0.25%	8%	7.6	4.80	- 발효된 요구르트 맛에 약간의 인삼 맛
0.25%	10%	8.8	4.73	- 층 분리 현상 심함 - 발효된 요구르트 맛에 약간의 인삼 맛
0.5%	8%	8.2	4.78	- 약간의 층 분리 현상 - 발효된 요구르트 맛에 약간의 인삼 맛
0.5%	10%	9.3	4.71	- 층 분리 현상 심함 - 발효된 요구르트 맛에 약간의 인삼 맛 - 약간의 층분리 현상

(다) 최종고찰

홍삼/인삼농축액을 사용하여 홍삼/인삼발효요구르트를 제조 시 맛이나 층 분리 현상 등은 홍삼/인삼 농축액 농도와는 상관없고 다만 탈지분유 농도가 8%보다 10%에서 층 분리 현상이 더 양호하였다. 따라서 발효정도(pH 변화, 증균정도 등), 성상 및 관능, 생산원가 측면까지 고려하면 홍삼/인삼농축액 0.25%와 탈지분유 농도 10%가 가장 효율적인 홍삼발효요구르트 제조조건으로 사료된다.

라. 홍삼/인삼발효요구르트 분무건조 조건 설정

(1) 홍삼/인삼발효요구르트 제조 후 분무건조

(가) 재료 및 방법

① 재료

홍삼/인삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 인삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을 사용하였고 탈지분유는 서울우유 대리점(대전), 비타민 C(Ascorbic acid)와 텍스트린은 식품 원료 및 첨가물 취급업체 헬스라인(경기, 일산)을 통하여 구입하였다. 분무건조기는 미현엔지니어링(경기, 안양)에서 제조한 실험용으로 자사 시설을 사용한다.

② 방법

Fermenter 200L에 홍삼/인삼농축액을 비타민 C 0.1%, 탈지분유 10%, 정제수와 함께 투입한 후 Fermenter 시스템을 작동하여 100℃, 30min 살균 후 배양온도(37℃)까지 식힌 후 Jar Fermenter에서 배양한 *B. longum* H1을 접종하여 발효한다. 이에 얻어진 발효물을 실험용 분무건조기를 이용하여 분무건조 한다.

(나) 결과 및 고찰

① 온도 및 투입 조건에 따른 결과

분무건조공정을 최적화하고자 예비실험에서 얻어진 기초자료를 적용하여 표 3-1-6과 같은 분무건조 조건별 분무건조를 실시하여 생산된 건조물의 품질특성에 대해 조사하고 최종제품의 생산을 위한 중간제품의 생산조건을 확정하였다. Inlet 온도와 flow rate 에 따라 수율 및 선택에 차이가 나타났다. Inlet 온도를 150℃에서 220℃까지 변화하며 분무건조를 실시한 결과 180℃ 부근까지 68~70% 정도의 일정한 회수율을 나타내었다. 그러나 inlet 온도 220℃에서는 회수율은 급격히 떨어지고 갈변도가 심하여 전반적인 제품의 품질이 불량하고, 분무건조기의 기벽에 많은 양의 cake가 부착되는 현상이 나타났다.

② Atomizer

대부분 비 뉴우튼계 유체인 식품의 액체원료로부터 균일한 건조분말제품을 얻기 위해서는 분무입자의 크기가 균일해야하기 때문에 atomizer의 역할은 매우 중요하다. Atomizer와 분무건조장치의 설계와 제작은 매우 높은 기술 수준을 요구한다. 아토마이저의 성능은 디스크의 형상, 반경 등과 같은 설계인자와 원료의 종류 및 물성, 디스크의 회전속도 등과 같은 작동인자와 관계되며 이미 선전국의 많은 학자들은 이들 인자가 미립자의 크기, 입도분포 및 분무상태 등에 미치는 영향을 구명하였다. 따라서 atomizer의 종류에 따라 결과의 차이가 있을 수 있고 현재 자사 분무건조기(실험용)는 미현엔지니어링에서 제조한 설비로 Atomizer Model MH-60을 사용하고 있다.

③ 최종고찰

분무건조기의 기계적 조건의 조절만으로는 최적의 건조물을 생산하는 것이 제한이 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 실험에서 사용된 분무건조기에는 atomizer를 기계적으로 변경하거나 다른 조건으로 변화를 줄 수 없기 때문에 현재 설치된 기계의 제한된 시설로 인하여 다양한 중간생성물의 생성이 억제되었다. 홍삼/인삼발효요구르트가 자체 물성이 좋지 않아서 SD (spray dry)에 어려움이 있었고 이를 개선하고자 텍스트린을 20% 첨가하였으며 pilot용 기계 특성상 test 양이 소량이므로 조건에 따른 회수량의 차이는 크게 나타났다. 실험상 최적의 조

건은 표 3-1-6에서 3번과 같으며 atomizer 회전수는 디스크의 크기에 차이가 있으므로 실제 생산에서는 대용량 기계에 맞는 회전수를 선택해야 할 것으로 사료되었다.

표 3-1-6. 분무건조기 조건에 따른 분무건조 결과

처리구	Inlet (℃)	Outlet (℃)	Atomizer 회전수	투입량	회수량 (%)	색깔 (진한정도)	비고
1	220	95	17,000	10L	399g (35.7)	3	기벽에 녹아 붙은 정도가 심함
2	220	105	17,000	10L	368g (32.9)	4	기벽에 녹아 붙은 정도가 심하고 약간 탄 맛
3	180	90	16,000	10L	784g (70.1)	2	
4	170	85	17,000	10L	742g (66.3)	2	
5	150	80	15,000	10L	762g (68.1)	1	
6	150	80	15,000	15L	1148g (68.4)	2	

마. 홍삼/인삼발효요구르트 분무건조 생산

(1) 분무건조 이론

분무건조에서 분무된 입자는 입경분포가 작고 비응집 상태의 구형으로 존재할 때 매우 효과적이다. 분무건조를 실시할 때 감안해야할 공정 변수는 인입온도, flow rate, atomizer 회전수, 피 건조물의 물성 등 여러 가지 인자들이 있으며 이들 모두 각각 건조제품에 중요한 영향을 미치게 된다. 그러나 홍삼/인삼발효요구르트의 건조 시 가장 중요한 품질인자는 원료의 유동특성이라고 볼 수 있다. 홍삼/인삼발효를 위하여 0.5~1%씩 첨가한 홍삼/인삼분말은 발효가 완료된 다음에도 세포조직이 완전히 연화되지 않고 많은 양의 수분을 함유하여 상당히 큰 해면조직을 형성하고 있어 건조 시 캡슐화에 비능률적이다. 분무입자의 입도 및 분포를 예측하는 것은 분무건조공정에서 투입되는 원액, 풍량, 열풍온도뿐만 아니라 적절한 건조식의 크기를 결정하는 데 중요한 역할을 한다. 또한 건조현상 및 건조시간의 예측이 용이하게 되어 전체적인 건조공정의 시뮬레이션에 필요한 기초자료가 된다.

(2) 대용량 생산

이제까지의 연구결과를 토대로 홍삼발효 요구르트의 분무건조 제품을 가공하였다. 분무건조

기의 운용조건으로 원액의 온도를 60℃로 조절하여 증기압을 강하하였으며 분무건조기 원료투입구는 180℃로 출구는 95℃로 조절하였다. Disc의 직경이 15 cm인 atomizer의 회전수는 10,000 rpm/min으로 조절하였다. Dextrin(D.E 20)은 20%를 첨가하였고, 단위 시간당 원료의 주입량은 450 L이었다. 생산 수율은 735 L의 원료를 투입하여 76 kg의 제품을 회수하여 환산 건조 수율이 89.3%로 나타났다.

바. 홍삼/인삼발효요구르트분말 특성

(1) 제조

(가) 설비공정

① 설비

홍삼/인삼발효요구르트를 제조하기 위해 자사(구안산업, 충남 금산) Fermenter(1 KL)를 사용하였고 접종을 위한 균주(*B. longum* H1)배양은 실험실용 Jar Fermenter에서 배양접종 후 다시 200 L Fermenter에서 배양하여 최종적으로 제품생산을 위한 접종은 자동시스템에 의해 200 L Fermenter에서 1 KL Fermenter로 이루어졌다.

② 방법

우유/유제품 기질은 10% 탈지분유 희석액으로 하고 여기에 홍삼/인삼농축액을 첨가하여 기본 base로 하여 특히 균주 *B. longum* H1을 접종하여 혐기조건을 유지시키면서 발효한다.

(나) 분말특성

① 사포닌 조성의 TLC 변화

메탄올을 이용하여 발효요구르트의 인삼성분을 추출 등의 작업을 통하여 시료를 만들고 이 시료를 이용하여 TLC를 실시하였다.

(다) 결과 및 고찰

① TLC 결과

3회에 걸쳐 인삼발효요구르트분말 제조 후 각각의 시료를 만들고 각각의 시료와 std Rg3, Rh2, compound K(아래쪽부터)를 TLC를 실시해봤을 때 모든 시료에서 Rh2 분획과 compound K 분획이 생성되는 결과를 얻을 수 있었다.

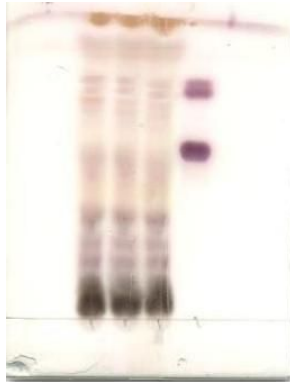


그림 3-1-1. 홍삼발효산물 확인 TLC.

② 홍삼/인삼발효요구르트의 ginsenoside 분석

특히 균주 *B. longum* H1을 이용하여 홍삼/인삼발효요구르트를 제조하는 것은 유당을 분해함으로써 우유성분의 섭취를 한층 개선시켰고 홍삼/인삼발효를 통해 장내흡수가 용이하고 생리활성이 강화된 진세노사이드로 전환된 홍삼/인삼을 섭취할 수 있으며 이를 확인하기 위해 발효산물에 대한 ginsenoside를 건강식품기준 및 규격에 의한 분석법에 의해 분석을 실시하였다.

㉠ 시료전처리

시료 약 30 g을 분액여두에 취하고 n-hexane 300 mL 및 70% 메탄올 300 mL를 가하여 3시간 동안 진탕 추출하고 층이 완전히 분리될 때까지 정지한 다음 아래층을 농축플라스크에 취하여 수욕중에서 감압농축하고 농축물을 물 10 mL에 용해한 후 여과(0.45 μ m)하여 시험용액으로 하였다.

㉡ 분석조건

Ginsenoside 분석은 HPLC(Jasco, Japan)를 사용하였으며 분리에는 Merck사의 chromolith (RP-18e)를 사용하였으며 검출기는 UV 203 nm, 이동상 용매의 기울기 용리는 10% Metanol (A)과 80% ACN (B)을 사용하였다(표 3-1-7 참조). 용매의 flow rate는 2.5 ml/min이었다. 분리되는 각 ginsenoside 피크면적을 표준물질의 면적과 비교하여 함량을 계산하였다.

표 3-1-7. Operational conditions of HPLC for ginsenosides analysis

Time (min)	A	B
0	100	0
5	100	0
15	80	20
20	80	20
25	70	30
38	69	31
41	59	41
44	56	44
52	55	45
59	31	69
65	0	100
70	100	0

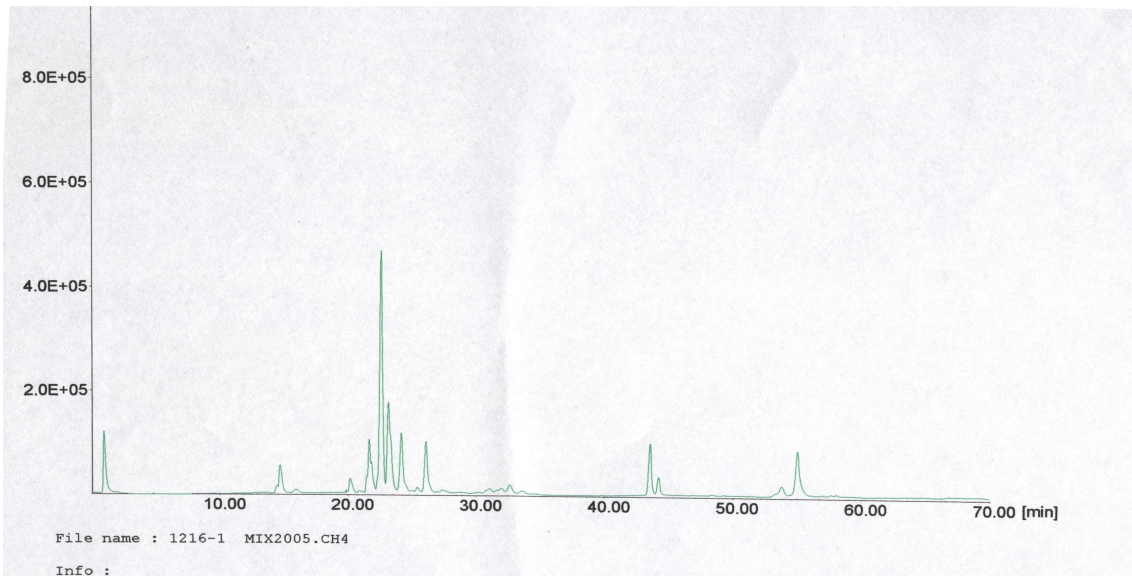


그림 3-1-2. Chromatogram of ginsenosides in fermented ginseng extract with milk

③ 최종고찰

인삼을 섭취할 때의 효능은 개인적인 차이가 나타난다. 이러한 이유는 인삼을 투여한 사람 가운데는 장내세균이 인삼사포닌을 대사시키지 못하는 것으로 추정되고 있으며 더구나 항암치료중이거나 항생물질 투여를 받는 환자는 인삼사포닌을 대사시킬 수 있는 장내세균이 없는 것으로 여겨지고 있다. 따라서 장내 흡수가 용이한 유용 사포닌으로 전환시켜 효능을 극대화하는 것이 필요하며 장내 전환기작은 아래 그림 3-1-3과 같다. 특히 인삼을 투여한 사람 중 20~

사. 비피더스균 H1(*B.longum*)을 이용한 인삼사포닌의 유효성분변환

인삼을 비피더스균 H1으로 발효시킬 경우 발효 전의 인삼에 주로 함유되어 있는 진세노사이드 Rb1, Rb2 및 Rc 등의 사포닌 성분은 발효 전의 인삼에는 존재하지 않거나 극소량 존재하는 화합물 K(20-O-β-D-글루코피라노실-20(S)-프로토파낙사디올), 진세노사이드 Rh1, Rh2 및 Δ20-진세노사이드 Rh2로 생물전환된다. 이러한 대사과정은 그림 3-1-3과 같고 전환된 화합물 K, 진세노사이드 Rh1, Rh2 및 Δ20-진세노사이드 Rh2의 사포닌 성분은 진세노사이드 Rb1, Rb2 및 Rc 등의 사포닌 성분에 비해 더욱 우수한 항암활성, 항알레르기 활성 및 압전이 억제 활성을 갖는다.(Bae et al., Biol. Pharm. Bull., 25, 743-747 2002; Bae et al., 25, 58-63, 2002; Wakabayashi et al., Oncol. Res., 9, 411-417, 1998; Saiki et al., Proceedings of the 8th international symposium on Ginseng (서울, 고려인삼학회), 305-316, 2002; Hasegawa and Saiki, Proceedings of the 8th international symposium on Ginseng (서울, 고려인삼학회), 317-334, 2002).

2. 인삼발효 요구르트 음료 개발

가. 인삼발효 요구르트 음료의 제조

(1) 재료 및 방법

(가) 재료

인삼발효 요구르트 음료를 제조하기 위해 홍삼액과 비피더스균을 혼합 배양하여 제조한 인삼발효 요구르트액을 분무 건조하여 시료로 사용하였으며, 인삼농축액(64 °Brix)과 함께 구안산업(충남, 금산)에서 제공받았다. 요구르트 혼합분말은 대호양행(경기, 화성)에서, gellan gum(type : HM-B[P])과 pectin은 쥬피터 인터네셔널(서울, 양재)에서 구입하여 사용하였다. 정백당, 과당은 시중에서 구입하여 사용하였다.

(나) 인삼발효 요구르트 음료 제조를 위한 첨가물 배합비 실험

증류수 100 ml 기준으로 인삼발효 요구르트 분말을 예비실험을 통하여 결정한 양을 첨가한 후 당류, 요구르트 혼합분말, 인삼농축액 (10 °Brix로 희석하여 첨가) 등에 대하여 배합비 선정 실험을 실시하였다. 각 음료에 대하여 관능평가를 실시하여 기호성이 뛰어난 최적 배합비를 선정하고자 하였다. 인삼발효 요구르트 음료의 관능평가는 강도검사와 기호도검사로 구분하여 9 점척도법으로 총 15명의 패널로 구성하여 실시하였다.

(다) 인삼발효 요구르트 분말의 분산성 조사

예비실험을 통해 결정된 음료 100 ml 중에 인삼발효요구르트 분말 2 g을 넣고 혼합한 후 xanthan gum, gellan gum, pectin을 농도별로 첨가하여 침전조사 방법에 의하여 분산정도를 확인하였다.

(라) 인삼발효 요구르트 음료의 살균 및 저장 안정성 조사

최종 선정된 배합비로 제조된 인삼발효 요구르트 음료를 95℃에서 30초간 가열 살균 처리한 후 4℃ 및 25℃에 보관하면서 미생물 및 성분변화를 살펴보았다. 저장 중 미생물은 총균, 대장균군, 대장균에 대한 변화를 살펴보고, 음료의 성분은 pH, 당도, 산도, 색도에 대하여 시간과 온도 차이에 따른 변화를 조사하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 인삼발효 요구르트 음료 제조를 위한 첨가물 배합비 실험

인삼발효 요구르트 음료의 배합비를 결정하기 위한 실험은 소비계층에 따라 구분하여 유아용과 성인용 두 가지의 배합비로 구분하여 실험하였고, 최적 배합비 결정을 위하여 관능평가를 실시하였다.

① 인삼발효 요구르트 음료(유아용)의 관능평가 결과

유아용 음료의 경우 아이들의 기호에 인삼의 씹쌀한 맛이 부정적으로 작용할 수 있기 때문에 요구르트 혼합분말을 첨가하여 masking 되도록 하였다. 기본적으로 유아용 음료에 액상과당은 3%, 설탕 5%, pectin 0.02%, gellan gum 0.03%로 동일하게 첨가하여 관능평가를 실시하였고, 관능평가에 큰 영향을 미치는 요구르트 혼합분말, 인삼발효 요구르트 분말의 첨가량은 각각 농도별로 첨가하여 관능평가를 실시하였다. 요구르트 혼합분말은 무첨가구, 0.5%, 1.0%로 각각 첨가하였고, 인삼발효 요구르트 분말은 1.0%, 2.0%, 3.0%로 각각 첨가하여 관능평가를 실시하였다.

요구르트 혼합분말 첨가량의 차이에 따른 관능평가 결과는 다음 표 3-1-8, 3-1-9와 같다. 먼저 강도검사에서는 요구르트 혼합분말의 첨가량이 높아질수록 인삼향이 2.93점, 인삼 맛이 3.40점으로 요구르트 혼합분말이 적은 처리구보다 인삼의 맛과 향이 약하게 느껴지는 것으로 평가되었다. 기호도 검사에서는 소비층이 유아라는 것을 반영하여 평가한 결과 요구르트 혼합분말을 1.0% 첨가한 처리구가 음료의 색, 향, 맛, 종합적 기호도 모두 좋은 점수를 받았다. 관능평가 결과 유아의 경우 인삼 맛이나 향을 싫어하는 경우가 많이 있기 때문에 인삼발효 요구르트 분말의 양을 최소화하고 요구르트 혼합분말의 양을 늘리는 것이 좋을 것으로 판단되었다.

또한 요구르트의 맛과 향을 그대로 살리면서 점성을 낮춰 음료를 더 부드럽게 제조하면 기호성이 더 뛰어난 인삼발효 요구르트 음료를 얻을 수 있을 것으로 판단되었다.

표 3-1-8. 요구르트 혼합분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (강도검사)

요구르트 혼합분말 첨가량	인삼 향	요구르트 향	인삼 맛	요구르트 맛
무첨가구	3.67±1.50	4.67±1.72	4.73±1.62	4.60±1.35
0.5%	3.67±1.29	5.07±1.62	4.47±1.60	5.40±1.45
1.0%	2.93±1.16	5.47±1.51	3.40±1.18	5.80±1.66

표 3-1-9. 요구르트 혼합분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (기호도검사)

요구르트 혼합분말 첨가량	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
무첨가구	4.73±1.03	4.73±1.22	4.93±1.16	5.13±0.99
0.5%	5.00±1.69	5.40±1.45	5.33±1.59	5.47±1.25
1.0%	6.07±1.44	5.93±1.44	5.93±1.28	6.13±1.30

인삼발효 요구르트 분말 첨가량의 차이에 따른 관능평가 결과는 표 3-1-10, 3-1-11과 같다. 강도검사에서는 인삼발효 요구르트 분말의 첨가량이 3% 일 때 인삼 향과 인삼 맛이 각각 4.67 점과 5.07점으로 다른 처리구와 비교하였을 때 인삼 맛과 향이 강한 것으로 평가되었고, 요구르트 향과 맛은 모든 처리구에서 큰 차이는 없었지만 인삼발효 요구르트 분말을 2% 첨가한 처리구에서 5.33점과 5.80점으로 평가되었다. 기호도 검사에서는 인삼발효 요구르트 분말 첨가량이 가장 낮은 1%를 첨가한 처리구에서 음료의 색과 향의 점수가 6.00점, 5.27점으로 높은 점수를 받았다. 음료의 맛과 종합적 기호도는 인삼발효 요구르트 분말을 2% 첨가한 처리구가 6.20점, 6.00점으로 기호도가 좋게 평가되었다. 패널들의 경우 음료를 넘길 때 인삼발효 요구르트 분말입자의 까끌거림이 심하였고 이러한 기호성은 유아에게 거부감을 줄 수 있다고 평가하였으며, 유아용 음료이기 때문에 새콤한 맛을 조금 약하게 하여 자극적인 느낌을 줄여야 한다고 평가되었다.

표 3-1-10. 인삼발효 요구르트분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (강도검사)

인삼발효 요구르트분말 첨가량	인삼 향	요구르트 향	인삼 맛	요구르트 맛
1%	2.87±0.83	5.20±1.61	2.60±0.91	5.07±1.58
2%	3.67±1.59	5.33±1.05	3.80±0.94	5.80±1.21
3%	4.67±1.63	5.13±1.60	5.07±1.62	5.40±1.68

표 3-1-11. 인삼발효 요구르트분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (기호도검사)

인삼발효 요구르트분말 첨가량	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
1%	6.00±1.36	5.27±1.67	5.60±1.40	5.67±1.54
2%	5.80±1.42	5.13±1.36	6.20±1.37	6.00±1.36
3%	4.47±1.19	4.73±1.33	4.67±1.72	4.80±1.57

② 인삼발효 요구르트 음료(성인용)의 관능평가 결과

성인용으로 제조한 음료의 경우 인삼 특유의 맛이 느껴지도록 백삼엑기스를 첨가하였고, 유아용 음료보다 당도는 낮으면서 부드러운 음료 타입으로 제조하고자 하였다. 기본적으로 성인용 음료에는 액상과당 1.5%, 설탕 1.5%, pectin 0.01%, gellan gum 0.015%로 첨가하여 관능평가를 실시하였고, 최종적으로 배합비를 결정하기 위하여 백삼엑기스 희석액(10 °Brix), 인삼발효 요구르트 분말의 첨가량을 각각 다르게 첨가하여 관능평가를 실시하였으며 백삼엑기스 희석액은 1%, 1.5%, 2.0%로 각각 첨가하였다. 그리고 인삼발효 요구르트 분말은 0.5%, 1.0%, 1.5%로 첨가하여 관능평가를 실시하였다.

백삼엑기스 희석액의 차이에 따른 관능평가 결과는 표 3-1-12, 3-1-13과 같다. 강도검사의 경우 엑기스의 첨가량이 높을수록 인삼 향과 인삼 맛은 강하게 느껴지고 요구르트 향과 요구르트 맛은 약하게 느껴지는 것으로 평가되었다. 기호도 검사의 경우 음료의 색은 백삼엑기스 희석액을 1% 첨가한 처리구에서 5.73점으로 가장 높은 평가를 나타내었고, 음료의 향 역시 1% 첨가한 처리구에서 5.40점으로 가장 높은 평가를 나타내었다. 음료의 맛이나 종합적인 기호도

는 백삼엑기스 희석액을 1.5% 첨가한 처리구가 각각 5.07점과 5.00점으로 다른 처리구와 비교하여 좋은 평가를 받았다. 백삼엑기스 희석액을 첨가하여 평가한 결과 요구르트 맛이나 단맛이 부족하여 밋밋하고 요구르트 음료라기보다는 일반 인삼음료로 느껴지며, 음료로 섭취하기에 맛의 기호성이 떨어진다는 관능결과를 나타내었다.

표 3-1-12. 백삼 엑기스 첨가량에 따른 관능평가 결과 (강도검사)

백삼엑기스 첨가량	인삼 향	요구르트 향	인삼 맛	요구르트 맛
1.0%	3.67±1.29	4.80±1.61	4.53±1.13	4.27±1.22
1.5%	4.67±1.29	4.13±1.46	5.67±1.18	3.33±0.98
2.0%	5.87±1.55	3.87±1.68	6.87±0.99	2.93±1.16

표 3-1-13. 백삼 엑기스 첨가량에 따른 관능평가 결과 (기호도검사)

백삼엑기스 첨가량	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
1.0%	5.73±1.28	5.40±1.18	4.80±1.26	4.93±1.44
1.5%	5.67±1.11	5.13±0.92	5.07±1.28	5.00±1.36
2.0%	5.00±1.00	4.87±0.83	4.67±0.59	4.87±1.36

인삼발효 요구르트 분말의 차이에 따른 관능평가 결과는 표 3-1-14, 3-1-15에 나타나있다. 강도검사의 경우 인삼발효 요구르트 분말의 첨가량이 높을수록 인삼 향과 인삼 맛은 각각 4.69 점, 5.77점으로 낮게 평가된 반면 요구르트 향과 요구르트 맛은 각각 5.31점과 4.69점으로 강하게 느껴진다고 평가되었다. 기호도 검사에서는 백삼엑기스 희석액을 0.5% 첨가한 처리구에서 음료의 색, 향, 맛, 종합적 기호도 모두 높은 점수를 얻었다. 인삼발효 요구르트 분말을 가장 낮게 첨가한 처리구인 0.5% 첨가 처리구가 가장 좋다는 의견이 가장 많았고, 음료가 밋밋하다는 의견이 강하여 당을 늘리거나 당 알콜류를 첨가하여 청량감을 부여하는 것도 필요하다는 평가가 있었다. 또한 인삼발효 요구르트 음료라는 타이틀에 맞게 약간 새콤하게 비타민 C나 구연산을 첨가하면 좋을 것 같다는 평가와 함께 음료에 body감을 주어 기호성을 높여야 한다는 관능평가 결과가 나왔다.

표 3-1-14. 인삼발효 요구르트분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (강도검사)

인삼발효 요구르트분말 첨가량	인삼 향	요구르트 향	인삼 맛	요구르트 맛
0.5%	5.69±1.25	3.38±0.96	5.77±1.09	3.46±1.33
1.0%	5.00±1.68	4.00±1.00	5.31±1.38	3.69±1.03
1.5%	4.69±1.60	5.31±1.49	4.92±1.71	4.69±1.32

표 3-1-15. 인삼발효 요구르트분말 첨가량에 따른 관능평가 결과 (기호도검사)

인삼발효 요구르트분말 첨가량	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
0.5%	6.15±1.57	5.46±1.51	5.92±1.19	6.00±1.22
1.0%	5.77±1.17	5.00±1.29	4.92±1.26	4.85±1.21
1.5%	4.46±0.52	5.08±1.19	4.54±1.13	4.12±1.12

③ 인삼발효 요구르트 음료의 최종 배합비 결정

앞서 실시한 소비계층별 관능평가 결과를 반영하여 결정한 인삼발효 요구르트 음료의 배합비는 표 3-1-16과 같고, 이 배합비로 제조한 인삼발효 요구르트 음료의 9점 기호도 검사에 의한 관능평가 결과는 표 3-1-17과 같다.

표 3-1-16. 인삼발효 요구르트 음료 배합비

	액상과당	정백당	pectin	gellan gum	인삼 엑기스 회석액	인삼 발효 분말	요구르트 혼합분말	식물성 크림	구연산 나트륨	비타민C	증류수
유아용	3g	5g	0.02g	0.03g	-	2g	0.5g	0.5g	0.02g	0.03g	100ml
성인용	1.5g	1.5g	0.01g	0.015g	2g	1g	-	0.2g	0.02g	0.01g	100ml

표 3-1-17. 인삼발효 요구르트 음료의 관능평가 결과

인삼발효 요구르트 음료 타입	색	향미	조식감	맛	종합적 기호도
유아용	6.0	7.1	7.0	7.6	7.4
성인용	7.4	6.3	7.2	7.3	6.8

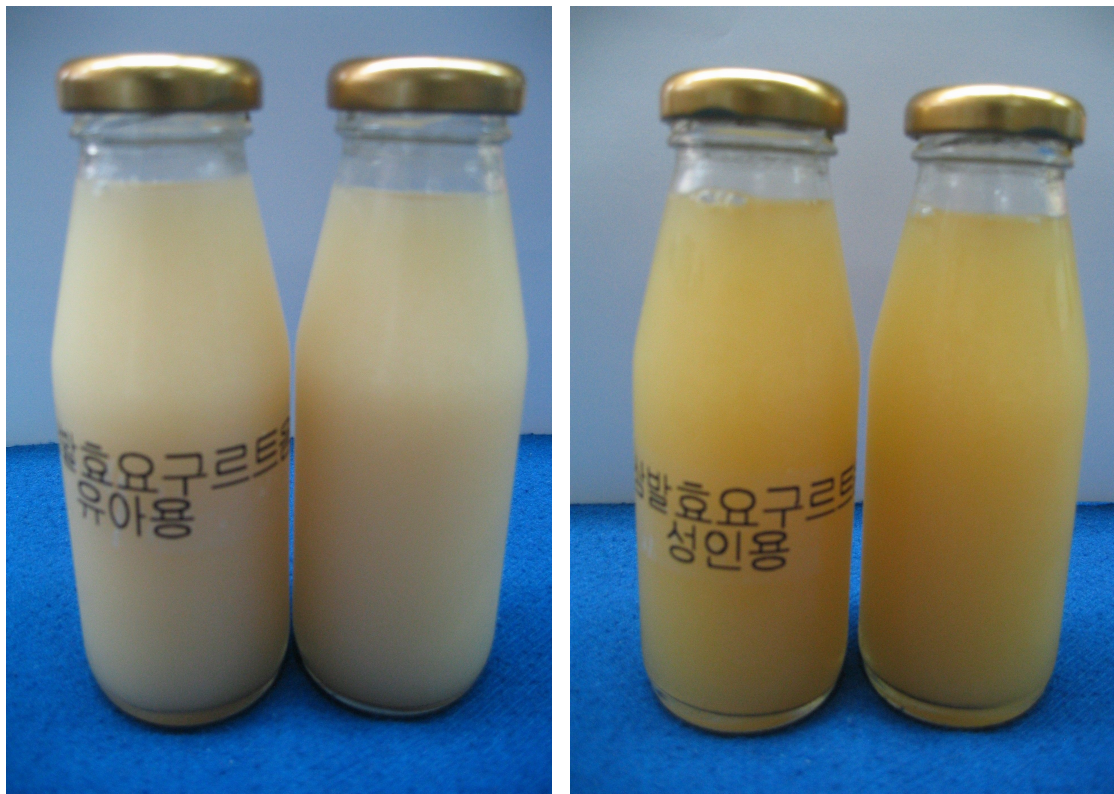


그림 3-1-4. 인삼발효 요구르트 음료 시제품.

(나) 인삼발효 요구르트 분말의 분산성 조사

인삼발효 요구르트 음료 100 ml에 인삼발효 요구르트 분말 2 g과 xanthan gum, gellan gum, pectin을 각각 농도별로 첨가한 후, 시간이 경과함에 따라 음료 중 인삼발효 요구르트 분말의 분산이 유지되는 정도를 측정한 결과를 표 3-1-18, 그림 3-1-5에 나타내었다. Gum 종류에 따라 분산을 잘 유지한 첨가량은 xanthan gum 0.15%, gellan gum 0.035%, gellan gum+pectin의 경우에는 모든 처리구가 분산을 잘 유지했으며, pectin의 경우에는 분산이 유지되지 않았다. 그림에 나타나 있는 것과 같이 gellan gum을 첨가한 처리구에서 분산성이 가장 좋았으며, gellan gum 중에서도 0.035%를 첨가한 처리구가 25시간 경과 후에도 초기의 분산

상태와 큰 차이가 없이 잘 유지되는 것을 확인할 수 있었다. Xanthan gum의 경우 분말의 분산이 오래 유지되지 못하고 빠른 속도로 침전되는 것을 확인하였다. Pectin은 단독으로 처리하였을 때에는 분말의 분산에 전혀 효과를 보이지 않았지만, gellan gum 0.025%와 pectin 0.2%를 혼합하여 처리하였을 때는 gellan gum 0.035%를 첨가한 것과 비슷하게 유지되면서, gellan gum을 단독으로 첨가한 처리구보다 분산이 안정적으로 유지된 것을 확인할 수 있었다.

표 3-1-18. 분산성을 평가를 위한 gum류의 첨가량

Gum 종류	첨가량 (%)					
Xanthan gum	0	0.025	0.05	0.1	0.15	-
Gellan gum	0	0.01	0.015	0.02	0.025	0.035
Pectin	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Pectin+gellan gum	0.3+0.035	0.4+0.025	0.5+0.035	0.1+0.025	0.2+0.025	0.3+0.025

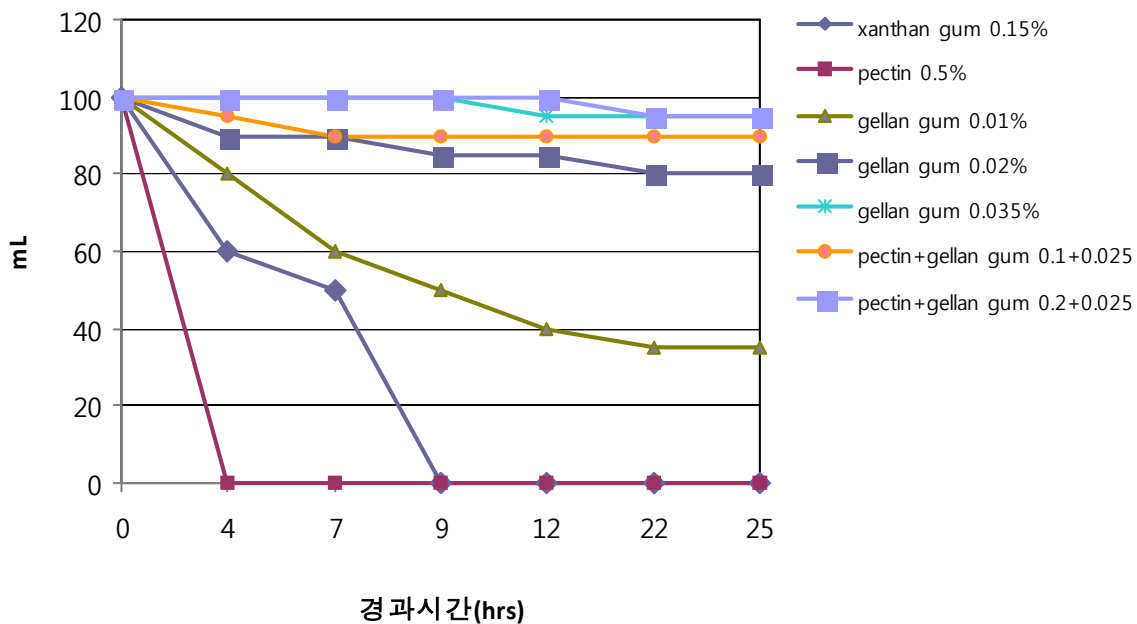


그림 3-1-5. Gum의 종류와 첨가량에 따른 인삼발효 요구르트 분말의 분산성

(다) 인삼발효 요구르트 음료의 살균 및 저장 안정성 조사결과

① 인삼발효 요구르트 음료의 저장 안정성 조사 (초기~30일)

최종 배합비에 따라 제조된 인삼발효 요구르트 음료를 95℃에서 30초간 살균하여 4℃, 25℃에 저장하면서 2주 간격으로 시료를 채취하여 미생물, 색도, pH, 당도 및 산도 등의 항목에 대하여 조사한 결과는 표 3-1-19 ~ 3-1-22와 같다. 살균처리하지 않은 인삼발효 요구르트 음료에서는 미생물이 검출되었고, 95℃에서 30초간 살균 후 저장한 음료에서는 4℃에서 저장한 음료에서는 저장기간 중 미생물이 검출되지 않았다. 그러나 25℃에서 저장한 음료에서는 저장기간이 길어질수록 호기성 균의 증식이 발생하는 것을 확인하였다. 색도, pH, 당도와 산도 모두 4℃, 25℃에서 30일간 저장하였을 때 유의적인 큰 차이는 보이지 않았다.

표 3-1-19. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성
	총균 수	1.8×10 ²	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		34.26	35.98	36.51
	<i>a</i>		5.49	5.21	5.23
	<i>b</i>		33.32	33.69	33.76
	ΔE		73.10	71.75	71.34
당도(°Brix)			9.4	9.8	9.6
산도(%)			0.115	0.108	0.108
pH			5.09	5.14	5.12

¹⁾ 살균처리를 하지 않은 음료.

표 3-1-20. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성
	총균 수	1.8×10 ²	음성	6.2×10 ⁴	9.6×10 ⁵
색도	<i>L</i>		34.26	35.46	36.76
	<i>a</i>		5.49	4.48	5.20
	<i>b</i>		33.32	32.93	34.03
	ΔE		73.10	72.09	71.15
당도(°Brix)			9.4	9.3	9.5
산도(%)			0.115	0.252	0.216
pH			5.09	4.60	4.20

¹⁾ 살균처리를 하지 않은 음료.

표 3-1-21. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성
	총균 수	6.1×10 ²	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		68.18	67.47	68.59
	<i>a</i>		0.71	0.96	0.62
	<i>b</i>		36.75	35.85	35.63
	ΔE		45.24	45.89	44.61
당도(°Brix)			3.8	3.8	4.0
산도(%)			0.054	0.036	0.072
pH			4.95	5.00	5.00

¹⁾ 살균처리를 하지 않은 음료.

표 3-1-22. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성
	총균 수	6.1×10 ²	음성	2.0×10 ²	5.0×10 ³
색도	<i>L</i>		68.18	64.13	68.14
	<i>a</i>		0.71	0.81	-0.71
	<i>b</i>		36.75	32.85	34.23
	ΔE		45.24	47.72	44.62
당도(°Brix)			3.8	3.7	4.0
산도(%)			0.054	0.18	0.072
pH			4.95	4.49	5.01

¹⁾ 살균처리를 하지 않은 음료.

② 인삼발효 요구르트 음료의 저장 안정성 조사(12개월)

최종 배합비에 따라 제조된 인삼발효 요구르트 음료를 95℃에서 30초간 살균하여 4℃, 25℃에 저장하면서 3개월 간격으로 12개월간 시료를 채취하여 미생물, 색도, pH, 당도 및 산도 등의 항목에 대하여 조사한 결과는 표 3-1-23 ~ 3-1-26과 같다. 12개월 저장기간 동안 4℃에서 저장한 음료의 경우 모든 조사 항목에 대해서 초기와 큰 변화없이 유지되었고, 25℃에서 저장한 음료에서는 저장기간이 길어질수록 호기성 균의 증식이 발생하는 것을 확인하였다. 유아용, 성인용 음료 모두 색도, pH, 당도와 산도 등 모든 측정항목에서 12개월 저장 기간 동안 저장 온도에 따른 유의적인 큰 차이는 보이지 않았다.

표 3-1-23. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (월)				
		0	3	6	9	12
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성	음성
	총균 수	7.0×10	9.3×10	1.8×10	4.6×10	9.0×10
색도	<i>L</i>	29.55	28.89	27.68	27.09	25.64
	<i>a</i>	3.56	4.04	4.73	5.15	5.94
	<i>b</i>	24.86	25.90	26.21	26.80	27.11
	ΔE	0.00	1.32	2.59	2.55	5.10
당도(°Brix)		8.4	8.1	7.9	7.8	7.9
산도(%)		0.108	0.108	0.108	0.108	0.072
pH		4.79	4.77	4.63	4.73	4.59

표 3-1-24. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (월)				
		0	3	6	9	12
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성	음성
	총균 수	7.0×10	2.7×10 ²	5.0×10 ²	1.43×10 ²	4.35×10 ²
색도	<i>L</i>	29.55	27.10	33.02	29.34	31.17
	<i>a</i>	3.56	6.16	4.66	4.97	4.89
	<i>b</i>	24.86	28.78	28.54	27.96	29.01
	ΔE	0.00	5.30	5.18	3.41	4.65
당도(°Brix)		8.4	8.2	8.2	8.0	8.2
산도(%)		0.108	0.108	0.288	0.126	0.096
pH		4.79	4.80	4.84	4.76	4.61

표 3-1-25. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (월)				
		0	3	6	9	12
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성	음성
	총균 수	1.0×10	3.3×10	3.86×10	8.3×10	3.7×10
색도	<i>L</i>	33.36	35.04	34.15	31.48	31.27
	<i>a</i>	3.33	2.98	3.50	4.15	4.50
	<i>b</i>	25.13	24.62	24.94	26.19	26.11
	ΔE	0.00	1.79	0.83	2.31	2.59
당도(°Brix)		6.3	6.1	5.8	5.9	5.9
산도(%)		0.09	0.09	0.09	0.09	0.06
pH		4.25	4.77	4.47	4.76	4.53

표 3-1-26. 인삼발효 요구르트 음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (월)				
		0	3	6	9	12
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성	음성
	대장균군 수	음성	음성	음성	음성	음성
	총균 수	1.0×10	1.5×10 ²	4.36×10 ²	5.0×10 ²	1.9×10 ²
색도	<i>L</i>	33.36	33.31	34.16	33.17	32.88
	<i>a</i>	3.33	4.47	4.69	4.80	5.05
	<i>b</i>	25.13	26.59	27.04	27.31	27.51
	ΔE	0.00	1.85	2.48	2.64	2.98
당도(°Brix)		6.3	5.9	5.9	5.9	5.9
산도(%)		0.09	0.09	0.09	0.09	0.072
pH		4.25	4.77	4.52	4.78	4.56

나. 인삼발효 요구르트 분말 및 음료의 유효성분 분석

(1) 재료 및 방법

(가) 총당 및 산성다당체 함량 분석

분말시료 2g에 증류수 50 ml을 가하고 80℃에서 환류냉각장치를 이용하여 3시간 동안 추출한 후 추출액을 100 ml로 정용하고 4℃, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 상정액의 일부를 0.45 μm 막필터로 여과하여 여액을 총당 측정용 시료로 사용하였다. 앞서 원심분리하여 얻은 상정액 5 ml을 50 ml 원심분리관에 옮기고 cold ethanol 20 ml을 넣고 2시간 반응시켜 침전을 형성시킨 후 4℃, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 상정액은 버리고 침전물에 증류수 5 ml을 가해 교반한 후, 0.45 μm 막필터로 여과한 여액을 산성다당체 측정용 시료로 사용하였다. 총당은 phenol-sulfuric acid법을 이용하여, 산성당 분석은 carbazole-sulfuric acid법을 이용하여 측정하였으며 이때 표준물질로는 glucose와 galacturonic acid를 사용하였다.

(나) 총 페놀 함량 분석

분말시료 1 g에 80% 메탄올 25 ml을 가한 후 80℃에서 환류냉각장치를 이용하여 가용성 성분들을 추출하였다. 추출물은 여과한 후 감압농축시키고 증류수 10 ml에 녹였다. 이를 0.45 μm 막필터로 여과한 여액을 총 페놀 함량 분석용 시료로 사용하였다. 총 페놀 함량 분석은 Folin-ciocalteu's 법에 따라 측정하였으며, 표준물질로는 gallic acid를 사용하였다.

(다) 인삼발효 요구르트 분말의 ginsenoside 분석

인삼성분 분석법에 따라 분말시료 5 g과 물포화 부탄올 50 ml을 80℃ 환류냉각장치를 이용하여 1시간 추출하고, 물포화 부탄올층을 여과하여 분액깔대기에 옮겼다. 이 과정을 2회 반복하고 분액깔대기에 모아진 약 150 ml의 물포화 부탄올에 증류수 50 ml을 넣고 280~290 rpm에서 shaker에 넣고 10분간 흔들여 주었다. 분액깔대기의 물층과 부탄올이 완전히 분리될 때까지 정치시키고, 물층을 제거하고 부탄올층을 농축플라스크에 옮겨 완전농축하였다. 완전 농축한 잔여물에 ether 50 ml을 넣고 약 46℃의 수욕에서 30분간 환류냉각하였고, 잔여물이 떨어지지 않도록 주의하여 ether를 완전히 버리고 냄새를 날린 후 잔류물을 105℃ dry oven에 넣고 항량이 될 때까지 건조하였다. 수기에 methanol을 넣어 잔류물을 녹이고 0.45 μm 막필터로 여과한 후 vial에 옮겨 담아 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 인삼발효 요구르트 분말 및 음료의 총당, 산성다당체, 페놀함량

인삼발효 요구르트 분말과 유아용, 성인용 음료 중의 유효성분을 알아보기 위하여 인삼발효 요구르트 분말과 최종배합비에 맞춰 음료를 제조한 후 동결건조하여 총당, 산성다당체 및 페놀 함량을 측정된 결과는 표 3-1-27에 나타내었다. 총당의 경우에는 음료에 당의 첨가가 높은 유아용 음료에서 884.16 mg/g으로 가장 높게 분석되었고, 산성다당체는 인삼발효 요구르트분말과 함께 백삼엑기스 희석액이 첨가되는 성인용 음료에서 가장 높은 32.33 mg/g, 페놀은 인삼발효 요구르트분말에서 0.432 mg/g으로 가장 높게 분석되었다.

표 3-1-27. 인삼발효요구르트 분말과 유아·성인용 음료의 총당, 산성다당체, 페놀함량

	총당(mg/g)	산성다당체(mg/g)	페놀(mg/g)
인삼발효요구르트분말	441.95	18.42	0.432
유아용음료	884.16	17.35	0.221
성인용음료	677.94	32.33	0.365

(나) 인삼발효 요구르트 분말과 음료의 사포닌조성 분석

인삼발효 요구르트 분말과 유아용, 성인용 음료의 사포닌 조성을 분석한 결과는 표 3-1-28과 같다. 인삼발효 요구르트분말의 경우 Rg1+Re 0.080 mg/g, Rf 0.014 mg/g, Rg2+Rh1 0.044 mg/g, Rb1 0.132 mg/g, Rc 0.074 mg/g, Rb2+Rb3 0.053 mg/g, Rd 0.044 mg/g, Rg3 0.260

mg/g, Rh2 0.037 mg/g의 조성을 보여주었다. 유아용 음료에서는 Rg1+Re 0.013 mg/g, Rb1 0.018 mg/g, Rc 0.010 mg/g, Rb2+Rb3 0.008 mg/g, Rd 0.006 mg/g, Rg3 0.028 mg/g의 사포닌 조성을 보여주었는데, 유아용 음료 중 인삼발효 요구르트분말 외에 gum이나 당류 등 다른 혼합물이 혼합되어 있기 때문에 추출이나 분리되는 과정이 용이하지 않아 위와 같은 결과가 나온 것으로 사료된다. 성인용 음료에서는 Rg1+Re 0.712 mg/g, Rf 0.109 mg/g, Rg2+Rh1 0.152 mg/g, Rb1 1.357 mg/g, Rc 1.096 mg/g, Rb2+Rb3 0.690 mg/g, Rd 0.414 mg/g, Rg3 0.265 mg/g, Rh2 0.009 mg/g의 조성을 보여주었다. 성인용 음료의 경우 인삼발효 요구르트 분말 외에 백삼엑기스가 첨가되었기 때문에 인삼발효 요구르트 분말이나 유아용 음료보다 사포닌 조성의 함량이 높게 분석된 것으로 판단되었다.

표 3-1-28. 인삼발효 요구르트 분말과 유아·성인용 음료의 사포닌조성 분석

	사포닌 조성(mg/g)								
	Rg1+Re	Rf	Rg2+Rh1	Rb1	Rc	Rb2+Rb3	Rd	Rg3(S,R)	Rh2
인삼발효 요구르트분말	0.080	0.014	0.044	0.132	0.074	0.053	0.044	0.260	0.037
유아용음료	0.013	trace	trace	0.018	0.010	0.008	0.006	0.028	trace
성인용음료	0.712	0.109	0.152	1.357	1.096	0.690	0.414	0.265	0.009

제 2 절 두유인삼발효 요구르트 소재 개발 연구 및 음료제품 개발

1. 두유인삼발효 요구르트 공정설정 및 음료용 소재 개발

가. 두유인삼발효 공정설정

(1) 두유인삼발효유 제조를 위한 두유base 설정

(가) 대두를 이용한 두유base 제조

① 두유base 제조를 위한 전처리 공정설정

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

대두는 충남 금산읍 소재 시장에서 국내산 콩을 구입하였고, 비타민C (Ascorbic acid)는 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였으며 접종균주는 자사에서 생산한 비피더스균 2종을 사용하였다.

2) 방법

구입한 대두를 분쇄기로 분쇄하고 9배의 물에 4시간 불린 후 이것을 기질로 한 시험구 1, 대두를 원물상태보다 추출효과를 높이기 위해 믹서기로 분말이 발생하지 않을 정도로 분쇄한 후 85℃에서 24시간 추출한 추출액을 3차까지 모아 이것을 기질로 한 시험구 2, 대두를 9배의 물에 4시간 불린 후 25~30℃에서 12시간 발아시켜 분쇄하고 이것을 기질로 한 시험구 3, 대두를 9배의 물에 4시간 불린 후 25~30℃에서 12시간 발아시켜 약간 잘게 믹서기로 분쇄하고 85℃에서 24시간 추출한 추출액을 3차까지 모아 이것을 기질로 한 시험구 4, 대두를 9배의 열수(95℃~98℃)를 이용하여 찌 후 grinding한 시험구 5 등의 5가지 종류의 시험구를 만들었고 각 시험구별로 시료를 6개씩 준비하여 여기에 비타민C 0.05%를 첨가해서 90℃에서 중탕으로 30분간 살균하고 냉각시켜 자사가 보유한 특허균주 *B. longum* H1 과 *B. breve* K110을 시험구별로 각각 3개씩 접종하여 발효하였다.(표. 3-2-1)

표 3-2-1. 두유 base 설정을 위한 전처리 공정

	시험구 1	시험구 2	시험구 3	시험구 4	시험구 5
발아	-	-	4시간 불린 후 25~30℃에서 12시간	4시간 불린 후 25~30℃에서 12시간	-
분쇄	분쇄 후 가수	믹서기 약간	분쇄	믹서기 약간	95℃ ~98℃ 열수로 5분간 찌 후 grinding
추출	-	85℃에서 24시간씩 3차까지 추출	-	85℃에서 24시간씩 3차까지 추출	-
살균	90℃에서 30분 중탕살균	90℃에서 30분 중탕살균	90℃에서 30분 중탕살균	90℃에서 30분 중탕살균	90℃에서 30분 중탕살균
접종	1% <i>B. longum</i> H1 및 <i>B. breve</i> K110	1% <i>B. longum</i> H1 및 <i>B. breve</i> K110	1% <i>B. longum</i> H1 및 <i>B. breve</i> K110	1% <i>B. longum</i> H1 및 <i>B. breve</i> K110	1% <i>B. longum</i> H1 및 <i>B. breve</i> K110

㉔ 결과 및 고찰

1) pH 변화

모든 시료에서 48시간 경과 후 4.22 ~ 5.09의 값을 나타내었고, 표 3-2-2에서와 같이 특히 5번의 시험구에서 1~4번의 시험구보다 훨씬 낮은 값을 얻을 수 있었다.

2) 관능

모든 시료에서 발효 특유의 시큼한 냄새와 맛을 느낄 수 있었고 1, 3, 5번의 시험구에서는 커드가 형성되어 거의 고체 상태로 보였고 2번 시험구와 4번 시험구는 거의 액상에 가까웠다. 또한 1번과 3번의 시험구는 세계 흔들어도 잘 풀어지지 않았고 균질화 작업 후에도 분쇄가 덜 이루어진 것처럼 알갱이들이 확인되었으나 5번 시험구는 세계 흔들어주니 잘 풀어졌고 균질화 작업 후에는 완전 액상이 되었다.

3) 고찰

모든 공정별 시험구에서 pH 변화 부분에서는 약간씩 차이는 있었지만 발효는 이루어졌고 균주별로 보면 *B. longum* H1 접종 시험구보다 *B. breve* K110 접종 시험구에서 약간 낮은 값을 얻을 수 있었으며 관능부분에서는 모든 시험구 모든 시료에서 시큼한 맛과 향을 느낄 수 있었다. 그러나 1번, 3번, 5번 시험구는 커드형성 등 고체화 현상으로 발효물 회수공정의 어려움, 실제 현장생산적용 시 2번과 4번의 시험구는 추출 후 추출액 이송의 어려움과 3번과 4번 시험

구는 발아시설 부재 등 문제점이 발생하였다. 또한 2번과 4번 시험구는 추출액만 사용하여 수분함량이 98%로 투입량 대비 건조분말 회수량이 적어 효율성도 낮은 결과를 나타내었다. 하지만 1번, 3번, 5번 시험구의 발효물 회수는 실제 현장생산 발효조에는 임펠러에 의한 교반이 가능하므로 회수공정이 개선될 가능성이 있어 5L 용량의 Jar Fermenter[(주)씨엔에스]에서 발효 후 교반 테스트 결과 1번과 3번 시험구는 액상이 되는 부분과 고형물 부분으로 나누어져 균질화가 이루어지지 않았지만 5번 시험구는 균질화가 잘 이루어졌다(표 3-2-2).

표 3-2-2. 각 공정별 결과

	시험구 1	시험구 2	시험구 3	시험구 4	시험구 5	
최종pH	<i>B. longum</i> H1	4.74 ~ 4.85	4.78 ~ 5.03	4.54 ~ 4.76	4.75 ~ 5.04	4.34 ~ 4.57
	<i>B. breve</i> K110	4.66 ~ 4.80	4.77 ~ 5.09	4.52 ~ 4.78	4.59 ~ 4.80	4.22 ~ 4.51
투입량	470	1008	500	1170	490	
건조 회수량	345	100	375	120	357	
문제점	실험 후 현장생산 시	발효물 회수가 어려움 균질화 어려움	회수율이 낮음 추출액 이송에 어려움이 있고 회수율이 낮음	발효물 회수가 어려움 균질화 어려움	회수율이 낮음 추출액 이송이 어렵고 회수율이 낮으며 발아설비 부재	발효물 회수가 어려움

② 전두유를 이용한 두유홍삼발효유 제조

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

두유홍삼발효유를 제조하기 위해 홍삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 홍삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을 사용하였고 대두는 충남 금산읍 소재 시장에서 국내산 콩을 구입하였으며 비타민 C (Ascorbic acid)는 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였다.

2) 방법

전두유는 (가) 대두를 이용한 두유base 제조의 실험에서 가장 좋은 결과를 나타낸 5번 시험구처럼 대두를 9배의 95~98℃ 열수로 5분간 찢 후 grinding하여 제조하였고 이 전두유 원액에 홍삼농축액을 0.25%와 0.5%를 넣고 90℃에서 30분 살균한 후 비타민 C를 0.05% 첨가하고 균수를 접종하여 48시간 발효하였다.

㉔ 결과 및 고찰

1) pH 변화

홍삼농축액 0.25% 함유한 시험구에서는 배양 48시간 후 pH는 4.26~4.48로 나타났고 홍삼농축액 0.5% 함유한 시험구에서는 pH가 4.31~4.64로 나타났다.

2) Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검정한 결과 모든 처리구에서 오염여부 없이 증균된 결과를 확인할 수 있었고 홍삼농축액 0.5% 농도에서보다 0.25%에서 좀 더 많은 균수를 확인할 수 있었다.

3) 관능

외관상은 부드럽고 균질한 물성으로 모든 처리구가 비슷하였고 홍삼농축액의 향은 느끼기 어려웠고 맛은 약간 느낄 수 있지만 0.25%와 0.5%의 차이는 느낄 수 없었다.



전두유 발효 전



전두유 발효 후



전두유 발효 후

그림 3-2-1. 전두유 발효 전·후.

(나) 백태분말을 이용한 두유 base 제조

① 농도별 발효조건설정

㉞ 재료 및 방법

1) 재료

백태분말은 두류가공품으로 제조(인그린, 경기 포천)된 제품을 비타민 C(Ascorbic acid)와 함께 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였다.

2) 방법

백태분말을 사용하여 soy yogurt를 제조하고자 배합비율별 발효물의 성상을 시험하였다. 자사에서 보유하고 있는 특허균주를 스타터로 하고 백태분말 5%, 8%, 10%, 14% 기질을 90℃에서 30분 살균한 후 비타민 C를 0.05% 첨가하고 48시간 발효하였다.

㉞ 결과 및 고찰

1) pH 변화

모든 시험구에서 배양 48시간 후 pH는 4.15~4.98로 나타났고 pH가 가장 낮은 시험구는 8%의 백태분말을 함유한 시험구였으며 가장 높은 것은 14%의 백태분말을 함유한 시험구였다.

2) 관능

분말상태의 제품임을 감안하여 95℃에서 1시간 살균하였으나 끓어 넘치고 상태가 양호하지 않아(그림 3-2-2) 살균조건을 전두유를 이용한 실험에서처럼 90℃에서 30분으로 조정하였고 관능검사결과 14% 함유 시험구는 발효진행속도가 낮고 너무 걸쭉하여 물성이 양호하지 않았다. 외관상으로 좋은 물성은 5%, 8%, 10% 순이었고, 5% 함유한 시험구에서는 너무 묽고 싱겁다는 반응이 나타났고 또한 발효과정에서 약간의 층분리가 일어났으며 10% 함유한 시험구에서도 약간의 층분리가 발생하여 발효조건으로 적절하지 못한 것으로 나타났다. 농도별 발효물의 관능검사 결과 8%함유한 시험구의 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다.(표 3-2-3, 그림 3-2-3)

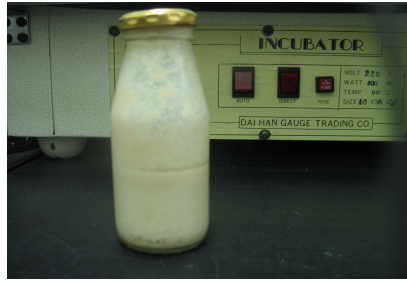


그림 3-2-2. 95℃에서 1시간 살균.

표 3-2-3. 백태분말 농도별 soy yoghurt 발효 결과

백태분말 농도	최종 발효물의 pH	관능 검사 결과
5%	4.57	끓고 싱거움, 발효과정에서 층분리 현상
8%	4.15	가장 우수
10%	4.27	우수하나 약간의 층분리 현상
14%	4.98	발효진행속도가 늦고 층분리현상 심함



5% 시험구



8% 시험구



10% 시험구



14% 시험구

그림 3-2-3. 농도별 soy yoghurt 발효.

② 백태분말을 이용한 두유홍삼발효유 제조

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

백태분말을 base로 한 두유홍삼발효유를 제조하기위해 홍삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 홍삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을 사용하였고 백태분말은 두류가공품으로 제조(인그린, 경기 포천)된 제품을 비타민 C(Ascorbic acid)와 함께 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였다.

2) 방법

백태분말을 이용한 두유홍삼발효유를 제조하기위해 1) 농도별 발효조건설정 실험에서 가장 좋은 결과를 얻은 백태분말 8%함량 시험구에 홍삼농축액 0.25%와 0.5%를 넣고 90℃에서 30분 살균한 후 비타민 C를 0.05% 첨가하고 48시간 발효하였다.

㉡ 결과 및 고찰

1) pH 변화

홍삼농축액 0.25% 함유한 처리구에서는 배양 48시간 후 pH는 4.25~4.42로 나타났고 홍삼농축액 0.5% 함유한 처리구에서는 pH가 4.37~4.54로 나타났다.

2) Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 모든 처리구에서 오염여부 없이 증균된 결과를 확인할 수 있었고 홍삼농축액의 농도별로는 0.25%에서 보다 많은 균수를 확인할 수 있었다.

3) 관능

외관상의 물성은 모든 처리구가 비슷하였으나 전두유를 이용한 두유홍삼발효유보다 좀 더 거친 조직감을 나타내었고 홍삼농축액의 향은 전두유에서와 마찬가지로 느끼기 어려웠으며 맛은 약간 느낄 수 있지만 0.25%와 0.5%의 차이는 느낄 수 없었다.

(나) 두유인삼(홍삼)발효유 가공조건설정

① Pilot plant 설정규모의 전두유를 base로 한 두유인삼(홍삼)발효유 제조 - Jar Fermenter(5L) test

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

두유인삼(홍삼)발효유를 제조하기 위해 인삼농축액/홍삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 인삼/홍삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을, 대두는 충남 금산읍 소재 시장에서 국내산으로 구입하였으며 비타민 C(Ascorbic acid)는 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였으며 5L 규모의 발효조는 자사 연구소에 보유한 Jar Fermenter[(주)씨엔에스]를 사용하였다.

2) 방법

대두를 열수로 찢 후 grinding하여 전두유로 제조하였고 인삼농축액/홍삼농축액은 일반세균도 음성이고 물에 잘 녹는 성질을 가지고 있어서 따로 가압멸균하지 않고 Jar Fermenter에서 전두유 원액에 각각 인삼농축액을 0.25%와 홍삼농축액 0.25%를 넣고 90℃에서 30분 살균한 후 Jar Fermenter의 cooling 시스템을 작동하여 배양온도(37℃)까지 식혀 비타민C 0.05%를 첨가하였으며 여기에 균주를 접종하여 발효하였다.

㉡ 결과 및 고찰

1) pH 변화

인삼농축액 0.25% 함유한 Lab test에서는 배양 48시간 후 pH는 4.88~4.92로 나타났고 홍삼농축액 0.25% 함유한 Lab test에서는 pH가 4.42~4.47로 나타났다.

2) Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 인삼농축액 첨가 시험구 및 홍삼농축액 첨가 시험구 모두 오염여부 없이 증균된 결과를 확인할 수 있었다.

3) 관능

외관상은 인삼농축액 첨가 시험구나 홍삼농축액 첨가 시험구 모두 커드가 형성되어 있어 샘플 채취 및 발효 후 회수에 약간의 어려움이 있었지만 교반기로 rpm작업 후에는 부드럽고 어느 정도 균질한 물성을 나타내었고 인삼농축액 및 홍삼농축액의 향은 느끼기 어려웠으며 맛은 홍삼농축액 첨가 시험구보다 인삼농축액 첨가 시험구가 약간 더 농축액 맛을 느낄 수 있었다.

② Pilot plant 설정규모의 백태분말을 base로 한 두유인삼(홍삼)발효유 제조 - Jar Fermenter(5L) test

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

두유인삼(홍삼)발효유를 제조하기 위해 인삼농축액/홍삼농축액은 자사(구안산업, 충남 금산)에서 원료 인삼/홍삼을 추출 및 농축하여 생산한 것을 사용하였고, 백태분말은 두류가공품으로 제조(인그린, 경기 포천)된 제품을 비타민 C(Ascorbic acid)와 함께 식품 원료 및 첨가물을 취급하는 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하여 사용하였으며, 5L 규모의 발효조는 자사 연구소에 보유한 Jar Fermenter[(주)씨엔에스]를 사용하였다.

2) 방법

전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유에서와 같이 인삼농축액/홍삼농축액을 따로 가압멸균하지 않고 Jar Fermenter에서 8% 백태분말 희석액에 각각 인삼농축액 0.25%와 홍삼농축액 0.25%를 넣고 90℃ 30min 살균한 후 Jar Fermenter의 cooling 시스템을 작동하여 배양온도(37℃)까지 식혀 비타민C 0.05%를 첨가하였으며 여기에 균주를 접종하여 발효하였다.

㉡ 결과 및 고찰

1) pH 변화

인삼농축액 0.25%함유한 Lab test에서는 배양 48시간 후 pH는 4.89~4.95로 나타났고 홍삼농축액 0.25%함유한 Lab test에서는 pH가 4.54~4.58로 나타났다.

2) Gram stain

배양액을 백금이로 소량을 슬라이드 글라스에 취한 후 그람염색을 하고 이 슬라이드 글라스에 에멀전 오일을 떨어뜨린 후 광학현미경 1000배에서 검경한 결과 인삼농축액 첨가 시험구 및 홍삼농축액 시험구 모두 오염여부 없이 증균된 결과를 확인할 수 있었다.

3) 관능

외관상의 물성은 인삼농축액 첨가 시험구나 홍삼농축액 첨가 시험구 모두 백태분말 침전물이 있어 샘플 채취 및 발효 후 회수에 어려움이 있었고 교반기로 rpm작업 후에도 백태분말로 보이는 침전물이 잔존하였으며 전두유를 이용한 실험에서처럼 인삼농축액 및 홍삼농축액의 향

은 느끼기 어려웠고 맛 또한 거의 비슷하지만 홍삼농축액 첨가 시험구보다 인삼농축액 첨가 시험구가 약간 더 농축액 맛을 느낄 수 있었다.

표 3-2-4. 전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효와 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효 결과비교

	전두유		8% 백태분말		
	인삼농축액첨가구	홍삼농축액첨가구	인삼농축액첨가구	홍삼농축액첨가구	
	농축액 함유(%)	0.25	0.25	0.25	0.25
비타민C	0.05	0.05	0.05	0.05	
최종 pH	4.88~4.92	4.42~4.47	4.89~4.95	4.54~4.58	
균 수	<i>B. longum</i> H1	8.5×10^6	5.7×10^7	6.8×10^6	1.4×10^7
	<i>B. breve</i> K110	2.3×10^7	3.6×10^8	1.7×10^7	7.9×10^7
성상	커드가 형성되었고 교반 후 균질화 됨		커드가 형성되었지만 교반 후 백태분말 침전물 생성됨		

③ 두유인삼(홍삼)발효유 분무건조

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유와 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효유를 제조하여 시료로 하였고 분무건조기는 미현엔지니어링(경기, 안양)에서 제조한 실험용으로 자사 시설을 사용하였다.

2) 방법

전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유와 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효유를 전동믹서로 균질화하여 분무건조기 투입 시료로 하고 최적 온도조건 등을 설정하여 분무건조 하였다.

㉡ 결과 및 고찰

1) 분무건조조건

분무건조공정을 최적화하고자 inlet 온도를 140℃에서 200℃까지, outlet온도를 80℃에서 105℃까지 변화시켜서 실험한 결과 inlet 온도가 150℃이상으로 높아지면 분말시료가 타서 진해진 색을 나타내는 등의 결과를 보였고 160℃부근까지 68~70 % 정도의 일정한 회수율을 나타내었다. 그러나 inlet 온도 180℃에서는 회수율은 급격히 떨어지고 색깔변화도 심하여 품질이 현저하게 낮았다. 예비실험을 통하여 최종적으로 inlet 온도 150℃, outlet온도 80℃, Automizer회전수 15,000 rpm 으로 설정하여 분무건조하였다.

2) 시료별 분무건조결과

전두유를 이용하여 제조한 두유인삼발효유는 전동믹서 후 부드럽고 균질한 상태를 나타내어 분무건조 시 별다른 어려움이 없었지만 백태분말을 이용하여 제조한 두유인삼발효유는 전동믹서 후 어느 정도 균질화는 되었지만 거친 조직감이 있고 백태분말로 보이는 침전물이 약간 있어 침전물 부분이 투입이 되지 않았으며 Automizer에 cake가 형성되었다.(표 3-2-5) 또한 건조분말의 성상은 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효유보다 전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유가 더 고운 입자를 나타내었다.(그림 3-2-4, 그림 3-2-5)

표 3-2-5. 전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유와 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효유의 분무건조 결과 비교

	전두유	백태분말
희석배수	전두유 발효원액	8%백태분말 발효원액
전처리	전동믹서	전동믹서
발효액수분	92.7	93.1
투입량	4L	3L/4L 중
회수량	117g	100g
분말수분	1.82	5.0
비고		3L 정도까지 진행 중 Automizer에 액이 눌러 붙어 중단



그림 3-2-4. 전두유를 이용한 두유인삼(홍삼)발효유 건조분말.



그림 3-2-5. 백태분말을 이용한 두유인삼(홍삼)발효유 건조분말.

(나) 대두발효물의 특성

① 대두발효물의 특성분석

㉠ 재료 및 방법

1) 재료

대두는 충남 금산읍 소재 시장에서 구입하여 사용하였다.

2) 발효균주

본 실험에서 이용된 균주는 인삼의 ginsenoside Rg3를 ginsenoside Rh2로 전환시켜 다량의 ginsenoside Rh2를 함유한 홍삼추출물의 생물전환산물을 얻기 위해 구안산업에서 개발된 미생물로서 한국미생물보존센터(Korean Culture Center for Microorganism)에 기탁번호 KCCM-10493 (기탁일자 2003.05.06.)로 기탁된 *Bifidobacterium longum* H-1과 우리나라

사람에게서 분리한 균주 가운데 유해효소의 활성억제, 항암효과, 항바이러스효과 및 항체증가효과 등을 조사하여 가장 효과가 우수한 균주를 선별한 한국형 유산균인 *B. breve* K-110(기탁번호 KCCM-10097, 기탁일자 1997.02.19.)을 사용하여 배양하였다.

3) 발효과정

대두를 정선한 다음 시료 중량 9배의 열수로 5분간 찢 후 blender로 곱게 마쇄한 다음 90℃에서 30분간 살균하였다. 살균 후 5L용 Jar Fermenter[(주)씨엔에스]를 사용하여 표준배지에서 배양한 유산균을 시료 중량의 1%로 접종한 뒤 질소를 10~15분간 치환하고 압력은 0.4kg/cm²를 유지하며 37℃에서 48시간 발효하였다.

4) pH와 적정산도의 측정

발효물의 pH는 HANNA Instrument 사의 Model HI 122 pH meter를 이용하여 측정하였고 적정산도는 시료에 같은 양의 증류수를 넣고 균질화한 후 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 산도로 환산하였다.

5) 생균수의 측정

B. longum H-1 및 *B. breve* K-110의 생균수 측정은 BL agar(Difco, Detroit, MI, USA)를 이용한 plate counting method를 사용하였다.

6) Isoflavone의 분석

Isoflavone은 AOAC(Method 2001.10. Chapter 45. p. 114~118)분석법에 준하여 분석을 실시하였다. Isoflavone의 표준품은 Daidzin, Glycitin, Genistin, M-Daidzin, M-Glycitin, A-Daidzin, M-Genistin, A-Glycitin, Daidzein, Glycitein, A-Genistin, Genistein은 Sigma-Aldrich, Inc.에서 구입하여 methanol에 용해하여 사용하였으며 chromatogram에 나타난 면적비에 대한 검량선을 작성하여 정량분석을 실시하였다.

가) 이소플라본의 추출

검체 내 이소플라본 함량이 8~10 mg 정도가 되도록 검체 약 1 g을 삼각플라스크에 채취하고 80% MeOH 40 mL에 넣은 후 65℃ 항온 수욕조에서 2시간 동안 교반 추출하였다. 추출 후 냉각 시킨 다음 2M NaOH 용액 3 mL를 넣은 후 추가로 10분간 교반하였다. 교반 후 빙초산(Acetic acid glacial) 1 mL을 넣고 80% MeOH을 가하여 최종 부피가 50 mL 되도록 정용하였다. 혼합 후 50 mL 중 여액 5 mL를 취하여 4 mL의 물을 넣고 100% MeOH을 이용 최종 부피 10 mL이 되도록 조절한 다음 syringe filter (0.45 μ m, Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 여과하여 아래의 방법으로 분석을 실시하였다.

나) HPLC 분석조건

HPLC system은 Palo Alto(CA., USA)에 소재한 Varian, Inc. 사의 Prostar HPLC system을 사용하여 분석하였다. 기기의 구성은 Dual solvent delivery system, UV/Vis detector 및 Varian ProStar 410 HPLC Autosampler를 사용하였으며 분석조건은 아래 표 3-2-6과 같다.

표 3-2-6. Isoflavone의 HPLC 분석조건

Instrument	Varian ProStar HPLC system		
Column	Eclipse XDB-C18 (Agilent) 3.5 μ m, 4.6 × 150 mm		
column temperature	40 °C		
Injection volume	20 μ l		
Flow rate	1.5 mL/min		
	A - H ₂ O : MeOH : Acetic acid = 88 : 10 : 2		
	B - MeOH : Acetic acid = 98 : 2		
	time, min	A(%)	B(%)
Mobile phase	0	90	10
	21	60	40
	32	60	40
	35	40	60
	36	90	10
	50	90	10
Detector	UV 260 nm		

다) 계산식

$$\text{이소플라본 함량(mg/g)} = \frac{A \times B \times V}{C \times 1000}$$

A : 시험용액의 농도 (ug/mL)

B : 최종량 (mL)

C : 검체채취량 (g)

V : 희석배수

라) 가수분해 비율

각 시료의 유용활성 성분의 생성량은 이소플라본의 isoflavone glycosides (daidzin, glycitin,

genistin)가 유산균 발효에 의해 당이 가수분해되어 isoflavone aglycones으로 변환된, daidzein, glycitein, genistein으로 가수분해되는 비율을 산출하여 비교하였다.

7) β -glucosidase활성 측정

β -glucosidase의 활성은 전 등의 방법(Jeon et al., 2002)에 따라 *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside(Sigma, St. Louis, MO, USA)의 가수분해율을 측정하여 분석하였다. 효소액의 조제는 균배양액을 4℃로 유지하며 11,000rpm에서 15 분간 원심분리하여 침전시킨 다음 pH 6.0의 0.2 M Sodium phosphate 완충용액에 분산시켜 채취하였다. acetone-toluene(9:1, v/v)용액과 1 mM *p*-nitrophenyl- β -glucopyranoside를 가하고 45℃에서 배양하였다. 반응은 0.5 M Na₂CO₃ 용액을 첨가하여 종결시켰다. 상층부에 유리된 *p*-nitrophenol의 양을 400 nm에서 흡광도를 측정하였고, 효소활성 단위는 분당 *p*-nitrophenol 1 μ mol을 생성하는 효소의 양으로 결정하였다. 3회 반복된 측정결과를 평균값으로 계산하였다.

Ⓢ 결과 및 고찰

1) *B. longum* H-1과 *B. breve* K-110의 생육

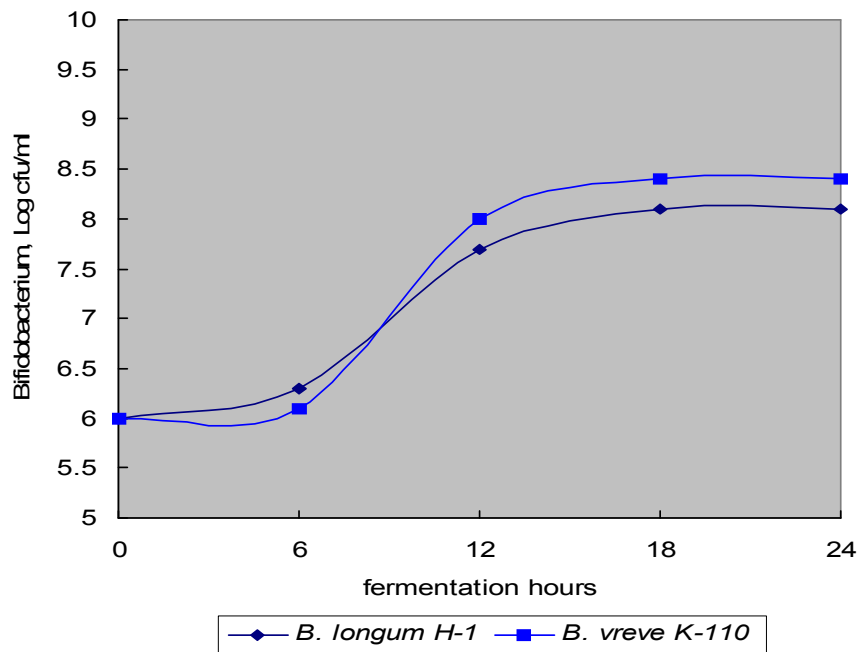


그림 3-2-6. The growth of *B. longum* H-1 and *B. breve* K-110 in soymilk during the fermentation at 37℃ for 24 hrs.

대두를 원료로 제조한 두유에서 *B. longum* H-1과 *B. breve* K-110의 생육곡선을 측정한 결과는 그림 6과 같았다. 발효 초기 *B. longum* H-1의 증식이 *B. breve* K-110 보다 다소 활발한 것으로 보였으나 약 10시간 정도 지나며 *B. breve* K-110의 증식이 *B. longum*

H-1보다 약간 빠르게 나타나 18 시간 정도 경과한 다음 생균수가 최대에 도달하였다.

2) 두유 발효물의 일반성분, pH 및 산도의 변화

발효가 완료된 후 대두 발효물의 일반성분은 다음 표 3-2-7과 같았으며 경시별 pH 및 산도의 변화를 그림 3-2-7에 나타내었다.

표 3-2-7. Proximate content of soybean milk fermented by *B. longum* H-1 and *B. breve* K-110 at 37°C for 24 hrs

component (%)	<i>B. longum</i> H-1	<i>B. breve</i> K-110
moisture	91.28	91.92
fat	1.34	1.12
protein	3.42	3.40
ash	0.43	0.39
carbohydrate	3.53	3.17
total	100	100

B. longum H-1 및 *B. breve* K-110에 의한 두유의 발효가 완료된 후 수분을 비롯한 일반성분의 차이는 거의 없이 비슷하였다. 다만 *B. breve* K-110에 의한 발효구의 상태가 다소 점성이 있는 것으로 보이며 이와 같은 이유는 발효가 잘 된 데에 기인한 것으로 사료되었다.

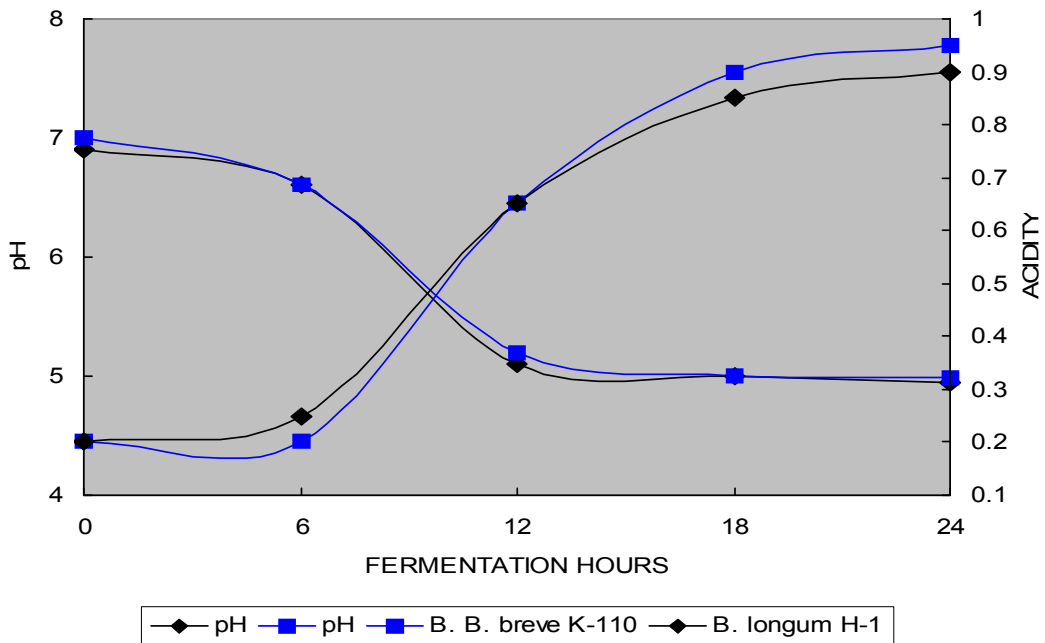


그림 3-2-7. Changes of pH and acidity of soybean milk fermented by *B. longum* H-1 and *B. breve* K-110 at 37°C for 24 hrs.

두유 발효과정 중 산의 생성에 의한 pH 그리고 acidity의 변화는 그림 3-2-7에 나타내었다. *B. longum* H-1 및 *B. breve* K-110 두 균주에 의한 발효과정 중 전체적인 경향은 비슷하게 나타났으며 pH의 변화는 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 다만 산도는 생균수의 결과와 유사하게 변하여 발효초기 *B. longum* H-1 의 발효구가 *B. breve* K-110 발효구보다 약간 높게 나타나다가 발효가 시작된 지 12시간 정도 경과하며 *B. breve* K-110 발효구가 *B. longum* H-1를 추월하기 시작하였다. 발효가 개시된 지 18시간 정도가 경과한 다음부터는 산도 pH 모두 변화가 없었으나 발효완료 시점에서 *B. breve* K-110의 산도가 최대치를 나타낸 것으로 관찰되었다.

3) Isoflavones 의 변화

균주별 발효에 따른 대두의 대표적인 isoflavone 함량의 변화를 표 3-2-8에 나타내었다. 발효 전 두유에 함유된 isoflavone glycosides인 daidzin과 genistin의 함량은 245.3 mg/100 g dry matter로 전체 isoflavone의 98.5%를 차지하였으나 *B. longum* H-1에 의한 발효에서는 24.4%, *B. breve* K-110에 의한 발효구에서는 18.9%로 상당량이 감소되는 것으로 나타났다. 이와 같이 감소된 isoflavone glycosides은 발효에 의해 isoflavone aglycones로 변화하여 두유에서 1.5%에 불과하던 aglycone이 *B. longum* H-1에 의한 발효에서는 75.6%로 *B. breve* K-110에 의한 발효에서는 81.1%로 급격히 증가하여 높은 가수분해율을 나타내었으며 분해능은 *B. longum* H-1보다 *B. breve* K-110 균주가 더 우수한 것으로 나타났다. 따라서 제품의 본격적인 생산을 위해서는 두 균주 가운데 분해율이 더 우수한 *B. breve* K-110 균주를 채용하는 것이 바람직한 것으로 보인다.

표 3-2-8. The contents of Isoflavones in soybean milk fermented by *B. longum* H-1 and *B. breve* K-110 at 37°C for 24 hrs (mg/100g dry matter, ND : Not-Detected)

Isoflavones	soy milk		<i>B. longum</i> H-1		<i>B. breve</i> K-110	
	content	SD	content	SD	content	SD
Daidzin	81.7	±2.6	7.5	±0.3	5.6	±0.7
Glycitin	ND	-	ND	-	ND	-
Genistin	163.6	±1.0	41.0	±0.2	31.6	±1.1
M-Daidzin	ND	-	ND	-	ND	-
M-Glycitin	ND	-	ND	-	ND	-
A-Daidzin	ND	-	ND	-	ND	-
M-Genistin	ND	-	ND	-	ND	-
A-Glycitin	ND	-	ND	-	ND	-
Daidzein	ND	-	63.5	±1.8	73.2	±1.6
Glycitein	ND	-	ND	-	ND	-
A-Genistin	ND	-	ND	-	ND	-
Genistein	3.8	±0.1	86.6	±1.3	94.2	±1.3
TOTAL	249.1	±3.0	198.6	±1.4	204.6	±2.9

그림 3-2-9와 3-2-10의 HPLC-chromatogram에 나타난 것과 같이 두유에서 isoflavone glycosides 화합물인 daidzin과 genistin이 검출되었으나, *B. longum* H-1과 *B. breve* K-110에 의한 발효결과 isoflavone glycosides는 함량이 줄어든 반면 생체유용 활성성분인 isoflavone aglycones 화합물인 daidzein과 genistein 즉, phytoestrogens의 검출량은 높게 측정되었다.

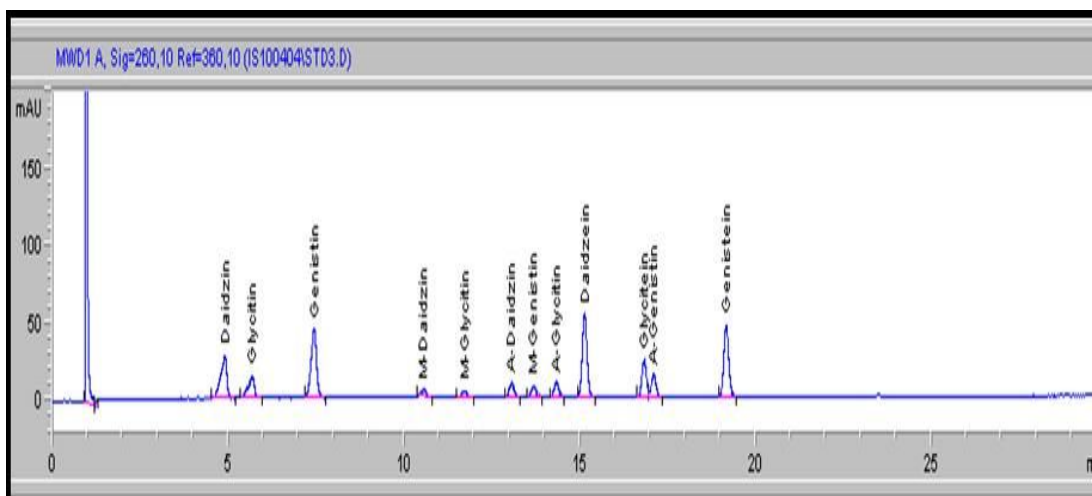


그림 3-2-8. chromatogram of standard isoflavones.

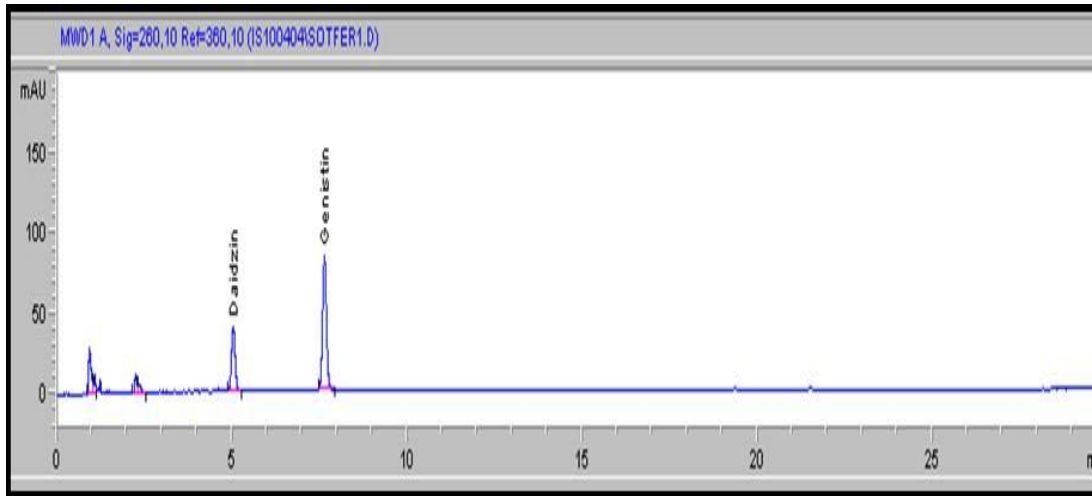


그림 3-2-9. chromatogram of isoflavones in soy milk.

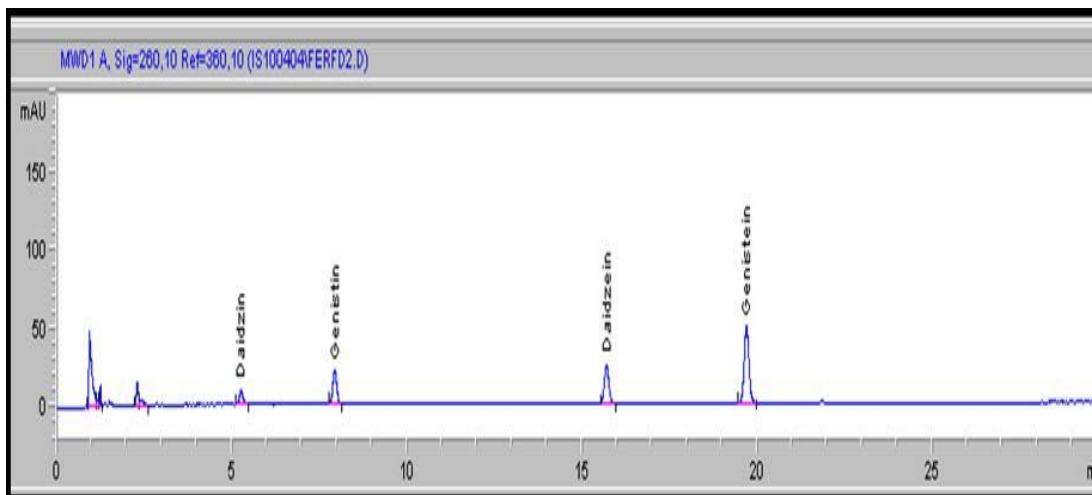


그림. 3-2-10. chromatogram of isoflavones in soy milk fermented with *B. breve* K-110.

4) β -glucosidase 활성 측정

구안산업이 특허로 등록한 균주 *B. longum* H-1과 *B. breve* K-110 두 가지 균주에 대한 β -glucosidase 활성은 Jeon 등(2001)의 방법에 따라 *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside(Sigma, St. Louis, MO, USA)의 가수분해율을 측정하여 분석하였다. 최종 배지의 pH, acidity 및 β -glucosidase 효소활성에 대한 측정결과를 표에 나타내었다.(표 3-2-9)

표 3-2-9. pH, titratable acidity and enzyme activity in fermented soybean milk with lactic acid bacteria at 37. C for 24 hrs

Strains	pH	Acidity (%, lactic acid)	β -glucosidase activity mU/mL
<i>B. breve</i> K-110	4.98	0.95	49.2
<i>B. longum</i> H-1	4.95	0.91	42.5

구안산업에서 보유중인 두 가지 균주가운데 제품의 생산에 사용될 균주를 선별하기 위한 예비실험으로 두유의 isoflavone glycoside를 isoflavone aglycone으로 전환하는 대표적인 효소인 β -glucosidase의 활성이 우수한 균주를 선별하기 위해 β -glucosidase 활성을 측정하였다. 두 가지 균주 모두 발효에 적절한 산을 생성하는 것으로 사료되었다. 그러나 enzyme activity 는 *B. breve* K-110 균주가 *B. longum* H-1 보다 우수하여 최종제품의 생산에는 *B. breve* K-110 균주를 채용하는 것이 적절할 것으로 사료되었다.

② 홍삼추출물발효에 의한 compound-K 전환시험

㉞ 재료 및 방법

1) 재료

세척한 삼을 증기로 찐 다음 열풍건조기에서 건조하고 60% EtOH로 추출하여 농축한 홍삼 extract를 사용하였다.

2) 발효균주

다량의 ginsenoside Rh2를 함유한 홍삼추출물의 생물전환산물을 얻기 위해 구안산업에서 개발한 KCCM-10493(2003.05.06.)로 기탁된 *B. longum* H-1을 사용하여 배양하였다.

3) 발효과정

약 3%의 홍삼 extract 용액을 121℃에서 10분간 멸균한 다음 배지로 효모추출물 0.03 %, 이소말토올리고당 0.01 % 및 비타민 C 0.05 %를 첨가하여 121℃에서 추가로 20분간 멸균하였다. 멸균 후 총 배양액에 대하여 2% 정도의 *B. longum* H-1를 접종하여 Jar Fermenter[(주)씨엔에스]를 사용하여 37℃에서 약 66~90시간 배양을 하였다.

4) 시료의 전처리

홍삼 extract 시료 약 2 g을 정밀히 달아 MeOH 50 mL에 완전히 용해한 다음 여과(0.45 μ m) 하여 시험용액으로 사용하였다.

5) HPLC에 의한 ginsenoside의 분석

HPLC system은 Palo Alto(CA., USA)에 소재한 Varian, Inc. 사의 ProStar HPLC system을 사용하여 분석하였다. 기기의 구성은 Dual solvent delivery system, UV/Vis detector 및 Varian ProStar 410 HPLC Autosampler를 사용하였으며 분석조건은 아래 표 3-2-10과 같다.

표 3-2-10. HPLC conditions for ginsenoside analysis

Instrument	Varian ProStar HPLC system combined with 410 autosampler 210 Solvent delivery module 320 UV detector		
Column	Sunfire C ₁₈ (Varian) 5 μ m, 4.6 x 250 mm		
column temperature	40 °C		
Ingection volume	20 μ l		
Flow rate	1.5 mL/min		
Mobile phase	A - H ₂ O B - Acetonitrile		
	time, min	A(%)	B(%)
	0	100	0
	1	100	0
	15	80	20
	20	80	20
	25	70	30
	35	69	31
	41	59	41
	44	56	44
	52	55	45
	59	31	69
	65	30	70
	70	0	100
75	0	100	
80	100	0	
Detector	UV 203 nm		

6) 계산식

$$\text{ginsenoside compound-K 함량 (mg/g)} = \frac{A \times B \times V}{C \times 1000}$$

A : 시험용액의 농도 (ug/mL)

B : 최종량 (mL)

C : 검체채취량 (g)

V : 희석배수

㉔ 결과 및 고찰

1) Compound K의 추출 정제를 위한 용매의 특성조사

Compound K는 다른 ginsenoside와 분자량이나 polarity가 비슷한 범위 내에 있어 단순하게 일반 HPLC의 column에 의해 분리되기를 기대하기는 매우 어렵다. 따라서 다른 부차적인 방법을 적용하여 추출 정제한 다음에 HPLC에 의해 정량분석을 수행하는 방법이 강구되어야 한다.

물질의 정제 방법은 물리화학적으로 여러 가지 방법이 있으며 그 가운데 여러 가지 용매를 조합하여 정제하는 방법이 있다. 현재 화학분석에 많이 사용되고 있는 여러 가지 HPLC 용매 가운데 특이한 용매의 극성을 적절히 이용하면 어떤 특정한 범위의 polarity를 갖는 ginsenoside의 분리가 가능할 것으로 추측된다. 이와 같은 가정하에 현재 많이 사용되고 있는 용매의 특성을 조사하여 표 3-2-11에 정리하였다.

표 3-2-11. The properties of HPLC solvent

Solvent	Mol Wt.	Density (20°C)	Viscosity (cP)	Eluent Strength (NP)	Solvent Polarity	UV Cut-off (nm)	Miscibility Number D<15=Misc	Dipole Moment
Water	18.02	0.9982	1.00	High	10.2	<190		1.85
Dimethylsulfoxide	78.13	1.1004	2.00	0.75	7.2	275	9	3.96
N-Methyl Pyrrolidone			1.67	0.7	6.7	285		
Dimethylformamide	73.09	0.9487	0.80	0.64	6.4	275	12	3.82
Acetic Acid			1.10		6	235		
Nitromethane			0.67	0.64	6	380		
Acetonitrile	41.05	0.7822	0.34	0.65	5.8	210	11,17	3.92
Pyridine	79.10	0.9832	0.88	0.71	5.3	305	16	2.21
Acetone	58.08	0.7900	0.32	0.56	5.1	330	15, 17	2.88
Methanol	32.04	0.7910	0.54	0.95	5.1	210	12	1.7
Methyl ethyl ketone	72.11	0.8049	0.38	0.51	4.7	330	17	2.78

Ethyl acetate	88.11	0.9006	0.45	0.58	4.4	260	19	1.78
Ethanol	46.07	0.7892	1.08	0.88	4.3	220	12	1.69
Chloroform	119.38	1.4891	0.57	0.4	4.1	245	19	1.04
n-Butyl Acetate			0.73	0.4	4	254	22	
Propan-1-ol	60.10	0.8036	1.90	0.8	4.0	240		1.55
Tetrahydrofuran, THF	72.11	0.8892	0.46	0.6	4.0	215	17	1.75
Propan-2-ol (=IPA)	60.10	0.7855	1.90	0.82	3.9	210	15	1.56
1,2-Dichloroethane	98.96	1.2521	0.78	0.44	3.5	230		-
Dichloromethane	84.93	1.3256	0.41	0.42	3.1	240	20	1.60
Diethyl ether	74.12	0.7136	0.24	0.38	2.8	220	23	1.15
Chlorobenzene			0.80	0.3	2.7		21	
m-Xylene	106.17	0.8644	0.62	0.26	2.5	290		-
Toluene	92.14	0.8668	0.55	0.29	2.4	285	23	0.37
n-Butyl Ether			0.64	0.25	2.1	220		
Triethylamine			0.36	0.54	1.9	275		
Carbon Tetrachloride			0.90	0.18	1.6	265		
Carbon Disulphide			0.34	0.15	0.3	380		
Heptane	100.20	0.6838	0.40	0.01	0.2	195	29	0
Petroleum Ether			0.30	0.01	0.1	210	29	
iso octane	114.23	0.6919	0.47	0.01	0.1	200	29	-
Hexane	86.18	0.6593	0.29	0.01	0.1	190	29	-
Pentane	72.15	0.6262	0.22	0	0	195		-
Dioxan								
Cyclopentane			0.42	0.05	-0.2	200		
Cyclohexane	84.16	0.7786	0.90	0.04	-0.2	200	28	-
Fluoroalkanes				-0.25	<-2			

이들 용매 가운데 극성이 가장 강한 것은 물로 10.2를 나타내었으며 가장 약한 것은 Fluoroalkanes 쪽으로 -2 이하의 값을 나타내었다. 일반적인 실험과정에서 인삼 ginsenoside의 추출에 물, 메틸알코올, 에틸알코올 및 부틸알코올을 사용하므로 여기에 추출되는 ginsenoside의 극성도 역시 강하여 강할 것으로 생각되어 극성측의 용매로 Water, Dimethylsulfoxide, N-Methyl Pyrrolidone, Dimethylformamide, Acetic acid, Nitromethane, Acetonitrile, Pyridine, Acetone, Methanol, Methyl ethyl ketone, Ethyl acetate, Ethanol, Chloroform, n-Butyl Acetate, Propan-1-ol, Tetrahydrofuran 등의 용매를 사용 가능한 용매로 선정하였다.

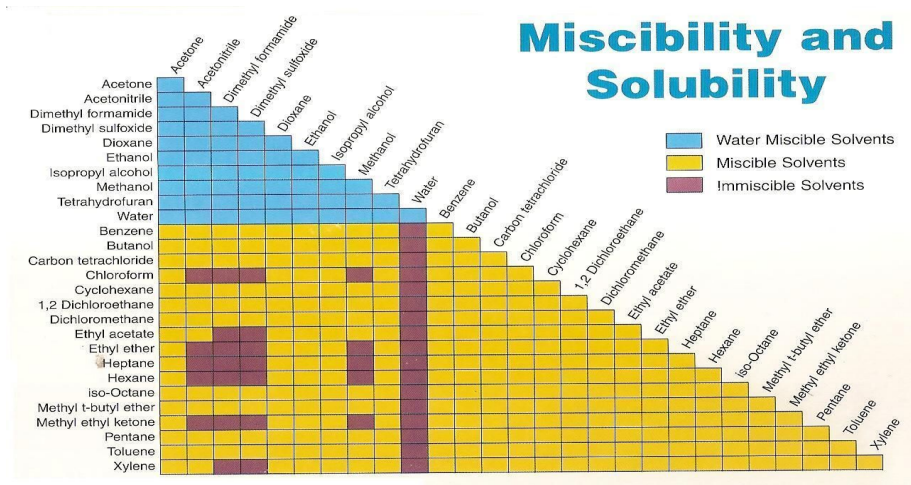


그림 3-2-11. Miscibility and solubility of solvent.

한편 극성이 4.0 미만인 용매인 Propan-2-ol(IPA), 1,2-Dichloroethane, Dichloromethane, Diethyl ether, Chlorobenzene, m-Xylene, Toluene, n-Butyl Ether, Triethylamine, Carbon Tetrachloride, Carbon Disulphide, Heptane, Petroleum Ether, iso-octane, Hexane, Pentane, Dioxan, Cyclopentane, Cyclohexane, Fluoroalkanes 등을 비극성 용매로 선정하였다. 이어서 이들 극성 및 비극성 용매간의 용해도를 조사한 결과를 바탕으로 몇 가지 용매의 조합을 선정하여 ginsenoside을 극성별 추출분리를 수행하였다.

2) compound-K의 추출 분리

Liquid-liquid fractionation을 위한 용매의 조합은 서로 용해되지 않는 극성과 비극성 용매의 조합으로 다음과 같은 용매의 조합을 설정하여 추출 정제를 실시하였다.

가) 용매 조합별 추출률

인삼 extract 적당량을 물에 용해한 다음 separating funnel에 옮기고 polarity가 약한 용매와 높은 용매를 순차적으로 조합하여 추출을 실시한 다음, 추출 정도를 측정하여 다음 표 3-2-12에 표시하였다.

표 3-2-12. Yields of compound-K by combination of solvents

No	combination of solvents	yields (%)
1	H ₂ O : n-hexane : BtOH : H ₂ O : chloroform	35~47
2	H ₂ O : ethyl ether : BtOH : H ₂ O : chloroform	40~55
3	H ₂ O : chloroform : BtOH : H ₂ O : dichloromethane	23~35
4	H ₂ O : toluene : BtOH : H ₂ O : ether	22~47
5	H ₂ O : pentane : BtOH : H ₂ O : dichloromethane	44~63
6	H ₂ O : ethyl ether : BtOH : H ₂ O : n-heptane	7~27
7	H ₂ O : methyl ethyl ketone : BtOH : H ₂ O : octane	34~40
8	H ₂ O : benzene : BtOH : H ₂ O : dichloromethane	56~76

각 용매조합별 수율은 매우 크게 나타나 최소 7 %에서 최대 76 % 정도로 차이가 많이 나타났다. compound-K의 solubility는 일반적으로 ginsenoside와 친화력이 있는 용매의 극성이 비교적 높은 편이고 n-butanol의 polarity가 3.9인 점을 감안하면 최소한 4 이상의 용매에 잘 용해 될 것으로 추측된다.

표 3-2-13. Predicting polarity molecule

	Formula	Description	Example
Polar	AB	Linear Molecules	CO
	HA _x	Molecules with a single H	HCl
	A _x OH	Molecules with an OH at one end	C ₂ H ₅ OH
	O _x A _y	Molecules with an O at one end	H ₂ O
	N _x A _y	Molecules with an N at one end	NH ₃
Non-polar	A ₂	Diatomic molecules of the same element	O ₂
	C _x A _y	Most carbon compounds	CO ₂

그러나 물질의 용해도를 polarity에만 의존할 수 없는 것이 유사한 polarity를 갖는 물질이라도 polarity 특성을 갖는 radical의 특성에 따라 다르게 된다. 따라서 특정 ginsenoside의 추출 분리를 위해서는 분자가 구성된 radical의 조합을 감안하여 용매를 선정하는 작업이 필수적이라고 볼 수 있다. 본 연구의 결과를 활용하여 앞으로 필요한 각각의 ginsenoside 화분의 분리가 가능할 것으로 사료된다.

나) compound-K의 HPLC 분리

현재까지는 적절한 compound-K의 분석법이 학계에 보고되지 않고 ginsenoside Rd에서 compound-K로 전환되는 실험에서 compound-K의 함량을 분석하여 물질의 이동경로를 추적하지 못하고 TLC plate에서 ginsenoside Rd의 감소하는 경향과 compound-K의 spot 생성을 보고 물질의 변화를 예측하고 있다.

상기 chromatogram은 *B. longum* H-1 에 의해 발효된 인삼 extract의 ginsenoside를 나타낸 chromatogram이다. 일반적인 HPLC에 의한 compound-K의 분석이 불가능한 것은 chromatogram에 나타난 바와 같이 compound-K가 용출되는 동일한 시간대에 미지의 물질이 동시에 용출되어 이의 분리가 불가능하였다.

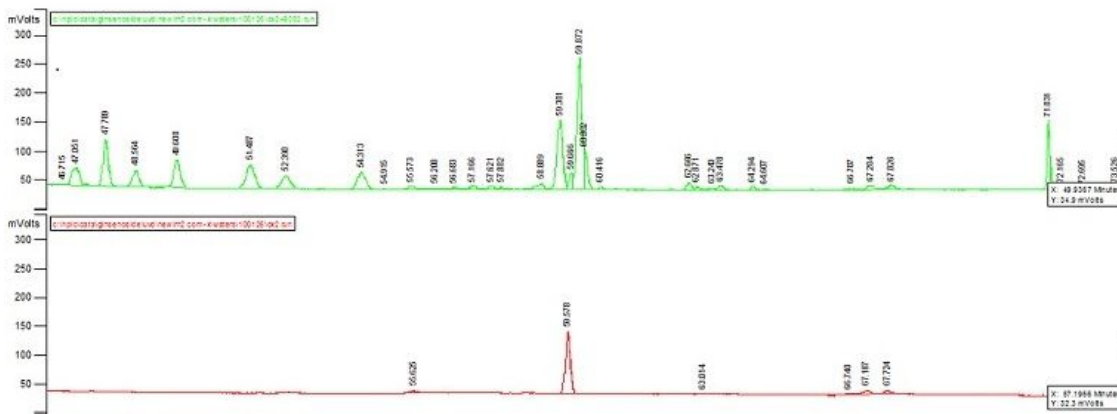


그림 3-2-12. HPLC chromatogram of ginsenoside and extracted compound-K.

인삼 사포닌은 인삼의 생리 활성을 나타내는 가장 중요한 기능성성분으로 크게 중추신경에 억제적으로 작용하여 최면, 진정, 혈압강하, 혈당강하 등의 약리작용을 나타내는 protopanaxadiol group과 중추신경의 흥분작용과 함께 항피로 두뇌기능 개선 작용 등을 나타내는 protopanaxatriol group으로 나뉜다.

최근 인삼이 섭취된 후 장내에서 미생물에 의한 대사과정을 거쳐 혈중에 존재하는 활성 본체에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 가운데 protopanaxadiol 계의 ginsenoside Rb1이 장내세균에 의해 compound K로 변화하며 이 compound K는 protopanaxadiol group의 prosapogenin으로 염색체의 종양 형성을 막고 암세포의 침입을 억제함으로써 악성종양의 생성이나 암의 전이를 막아 항암 및 암 전이 억제 활성이 보고된 바 있다. 또한 최근에는 인슐린의 분비를 촉진하고 간에서 당의 신생을 억제하여 혈당을 감소시킬 수 있다는 연구도 발표되었다.

이러한 compound K는 장내 특정 세균에 의해 생성된 대사산물이기 때문에 인체에 바로 흡수 되어 인삼의 효능을 극대화 시킬 수 있는 천연 성분으로 식품이나 약품의 원료로 사용이 가능하며 화장품이나 의약외용품의 원료로도 사용이 가능한 고기능성 소재가 될 수 있다.

또한 고려홍삼에만 미량으로 존재하는 것으로 알려진 ginsenoside Rh2가 암세포주인 3LL,

MHCII, B16 HELA의 성장을 억제하며, 사람의 자궁암 세포 HELA를 이식한 nude mice에 ginsenoside Rh2를 투여하면 대조군에 비해 농도 의존적으로 수명을 연장시켰다는 보고와, 또한 미량 사포닌인 ginsenoside Rh1과 더불어 ginsenoside Rh2가 B16 melanoma와 F9 teratocarcinoma stemcells를 정상세포로 분화시킨다는 보고도 있어 항암작용과 관련지어 상당한 관심을 모으고 있다.

이렇게 새롭게 각광을 받고 있는 Compound K나 ginsenoside Rh2의 정량분석이나 발효인삼에서 이들의 함량에 대한 보고 등은 각 회사의 극비사항으로 공개를 금기시 하고 있다. 구안 산업에서는 국내등록 특허(제0497895호: 인삼의 유산균 발효물, 그를 함유하는 인삼요구르트 및 균주)와 그에 따른 PCT출원(KR03/02609), 각국별 출원특허 (캐나다, 미국, 호주, 유럽, 일본, 중국)에 의해 세계 각국에서 발효인삼제품을 수입하겠다는 요청이 쇄도하고 있다. 그러나 각 수입국에서 요청하는 고기능성 물질의 분리 및 정제와 이제 대한 정밀분석이 뒷받침되지 못하여 compound K, ginsenoside Rh2 등 고기능성 ginsenoside의 함량을 표시하지 못하고 막대한 수출시장을 그대로 흘려보내고 있다.

한편 스위스 남부, 호수의 도시 루가노에 소재한 다국적 제약회사인 Boehringer Ingelheim의 자회사인 Pharmaton SA 회사에서는 연간 30억 달러의 인삼제품을 수출하는 것으로 알려지고 있으며 우리의 30배 규모이다. 인삼이 한 뿌리도 나지 않는 스위스가 세계 최고의 인삼제품 수출국이 된 건 기능성 식품으로서의 인삼의 가치를 일찍이 간파하고, 1960년에 세계 최초로 인삼 기능성분 사포닌을 표준화한 것이다. 우리나라를 비롯한 인삼의 종주국들이 인삼 생 뿌리 자체를 식품으로 가공하는 수준에 머물 때, 이 회사는 표준화한 사포닌을 토대로 G115라는 독자적인 기능 성분을 만들어 인삼 가공 식품 시장을 점령하였다. 한국과 중국이 인삼을 키우지만, 이를 수입해 재가공해 파는 스위스가 훨씬 더 많은 돈을 벌고 있는 것이다.

신선한 백삼에서는 홍삼에서는 발견될 수 없는 malonyl ginsenosides 등이 있는가 하면 ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1처럼 백삼에서 보다 홍삼에 약 30배 많은 양으로 존재하는 성분도 생기게 된다. 홍삼에만 존재하는 미량 사포닌 성분에 대한 약리 활성 연구도 추출 분리의 어려움 때문에 그다지 많이 이루어지지 않았다.

따라서 발효인삼에서 특수생리기능성물질인 고기능 ginsenoside의 분리 정제와 정밀 분석법을 개발하고 발효산물에서 이들 물질의 추출 정제하고 함량을 분석하여 표준화된 새로운 고기능 건강기능성 소재로 개발하여 침체된 수출을 활력화하고 발효조건별 기능성 물질의 전이 메카니즘을 연구하여 고도의 신기능성 제품의 개발에 적용하고자 한다.

2. 두유인삼 yogurt 음료 개발

가. 두유인삼 yogurt 음료의 제조

(1) 재료 및 방법

(가) 재료

두유인삼 yoghurt 음료를 제조하기 위하여 두유액과 홍삼엑기스 그리고 비피더스균을 혼합 배양하여 제조한 두유인삼 발효액을 분무 건조한 분말을 음료 제조용 시료로 사용하였다. 요구르트 혼합분말은 대호양행에서, gellan gum(type : HM-B)과 pectin은 주피터 인터네셔널에서 구입하여 사용하였다. 음료의 가미를 위하여 사용된 과실엑기스는 한국상사에서 곡물혼합분(백태, 보리, 현미잡쌀, 울무, 땅콩), 정백당, 과당, 올리고당 등은 시중에서 구입하여 사용하였다.

(나) 두유인삼 yoghurt 음료 제조를 위한 첨가물 배합비 실험

두유인삼 요구르트 음료는 크게 3가지 타입으로 제조하였다. 첫째는 기호성이 있으면서 먹기 쉬운 유아용 음료타입 둘째는 두유발효의 건강적 이미지와 함께 곡류 등과 혼합하여 제조한 식사대용 음료타입 그리고 단맛을 줄인 두유인삼발효 분말을 더 혼합한 성인용 음료 타입으로 제조하였다. 유아용의 경우 두유인삼 발효분말을 배합 예비실험을 통하여 결정된 양 첨가하고, 당류, 산미료, 요구르트 혼합분말, 과실엑기스(복숭아, 딸기, 포도, 사과) 등에 대하여 배합비 결정 실험을 실시하였다. 위의 재료들에 대하여 적정 배합비 및 첨가물을 결정하기 위해 관능평가를 실시하여 우수한 배합비를 결정하고자 하였다. 과실엑기스의 경우 두유인삼 발효분말과 가장 잘 어울리는 엑기스를 결정하기 위하여 기호도 평가를 9점 평점법으로 실시하였고, 그 외에 당도, 산도, 요구르트 혼합분말 첨가량, 두유인삼 발효분말 첨가량 결정을 위한 관능평가는 강도평가와 기호도 평가로 구분하여 9점 평점법으로 총 10명의 패널로 구성하여 실시하였다. 식사대용 음료는 유아용과는 차별을 두어 곡물혼합분(백태, 보리, 현미잡쌀, 울무, 땅콩)을 이용하여 아침대용식으로도 활용할 수 있는 음료로 제조하였고 단맛의 기호성과 점성을 좀 더 조정된 성인용 음료는 유아용 음료와 마찬가지로 각 재료에 대하여 관능평가를 실시하여 최적 배합비를 결정하고자 하였다.

(다) 두유인삼 발효분말의 분산성 조사

배합비 실험에서 결정된 대두인삼 발효분말에 대한 분산성을 조사하기 위하여 pectin, gellan gum을 농도별로 첨가하고 침전조사 방법에 의하여 분산정도를 확인하였다.

(라) 두유인삼 발효음료의 이화학적 특성 및 저장 안정성 조사

최종 선정된 배합비로 제조한 두유인삼 yoghurt 음료를 95℃에서 30초간 가열 살균 처리한 후 4℃ 및 25℃에서 저장하면서 미생물 및 성분변화를 살펴보았다. 저장 중 미생물은 총균, 대

장균군, 대장균에 대한 변화를 살펴보고, 음료의 성분변화는 pH, 당도, 산도, 색도에 대하여 저장기간과 저장온도 차이에 따른 변화를 조사하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 두유인삼 발효음료 제조를 위한 시제품 조사

두유인삼 발효음료의 최적 배합비 결정을 위하여 시중에서 판매되고 있는 각종 대두발효요구르트 음료(일반 발효음료 제품 포함) 제품들을 수거하여 음료제조에 사용된 첨가물(표 3-2-14)을 검토하였으며, 본 두유인삼 발효음료 제품에 적합한 첨가물들을 선별하여 두유인삼 발효음료 배합 실험을 실시하였다.

표 3-2-14. 시판 중인 기존 발효음료 제품들의 첨가물 현황

제품명	첨가물 및 첨가량
베지밀 요거트 (정식품)	두유액 56%(대두고형분 7%이상, 대두-수입산), 정제수, 액상과당, 말토올리고당, 사과농축과즙 2.2%(사과과즙 15.4%, 터키산), 프락토올리고당, 치커리 식이섬유, 이소말토올리고당, 함수결정포도당, 젖산칼슘, 트레할로스, 효소제제, 분리대두단백, 폴리텍스트로스, 합성착향료(사과향, 요구르트향), 싸이클로텍스트린, 구연산나트륨, 변성전분, 텍스트로스, 펙틴, 소이펙톤(대두), 정제염, 천연색소(치자청, 심황색소), 사과산, 비타민 D ₃ , 유산균
스쿨 요거트 복숭아 (정식품)	두유액(대두고형분 7%이상, 대두-수입산), 정제수, 액상과당, 복숭아농축액(복숭아과즙으로 4.6%, 미국산), 프락토올리고당분말, 함수결정포도당, 소이펙톤(대두), 효소제제, 유산균, 말토올리고당, 분리대두단백, 변성전분, 텍스트로스, 펙틴, 수크랄로스(합성감미료), 합성착향료(복숭아향), 구연산, 젖산칼슘, 정제염, 구연산나트륨, 비타민 C
라씨 파인애플 (매일유업)	원유 49%(국산), 액상과당, 파인애플푸레 5%(렐리핀산), 결정과당, 폴리텍스트로스, 탈지분유(국산), 정제수, 허브추출물 0.001% (박하잎, 머베인, 오렌지잎, 타임, 세이지, 마쉬멜로우뿌리, 감초뿌리, 블랙베리잎, 질경이잎, 링위트, 엘더꽃, 세이지그릭, 스타아니스, 당아욱, 멘톨, 말토스시럽), 비타민 C, 유산균, 펙틴, 합성착향료(파인애플향)
유기농 이오 (남양유업)	유기농혼합탈지유(독일산)3.804%, 정제수, 유기농자당, 유기농 아가베시럽, 유기농포도당, 유기농 백포도 농축과즙(이태리산), 젖산칼슘, 구연산, 천연 요구르트향, 클로렐라추출물 200 0.36311%, 미배아추출물 HC-5 0.001972%, 건조효모(뉴클레오타이드) 0.00173%, 비피더스균 0.000692%, 유산균, 비타민 D ₃ 분말(비타민 D ₃ , 디엘알파토코페롤, 아라비아검, 자당, 전분, 산도조절제, 식물성오일)
슈가리스 엔요 (매일유업)	배농축과즙 19.5%(배과즙으로 15.8%, 중국산), 탈지분유 3.3333%(국산), 정제수, 레몬농축과즙, 젖산칼슘 0.07%, 젖산철 0.0038%, 복합비타민(비타민 C, 비타민 E, dl- α -토코페릴아세테이트, 아라비아검, 변성전분, MCT유자당,

	전분, 텍스트린, 영양강화제) 0.046%, 영양강화제, 녹차추출물(카테킨성분 90%) 0.003%, 유산균, 수크랄로스(합성감미료), 합성착향료(요구르트향, 그레이프후르츠향, 레몬향)
메치니코프 씨리얼 (한국야쿠르트)	원유 71.495%(국산), 정제수, 액상과당, 당류가공품 (치커리식이섬유) 1.5%, 배농축과즙, 탈염유청혼합탈지분유, 프락토올리고당 (고형분 75%) 1.3%, 프락토올리고당 55%), 요리당, 씨리얼 1.0%(곡물혼합분 보리 50%, 쌀 30%, 현미 20%)(국산), 유단백질혼합탈지분유, 썬화이버아이저(sunfiberIG, 식이섬유 0.5%, 말토텍스트린(글루시텍스 12), 돼지감자농축액, 젖산칼슘, 비타민 C, 락타아제 0.015%, 합성착향료(씨리얼향), 곡류가공품 지엠티 엘 고형분 25%) 0.012%, 녹차추출분말, 복합유산균
양광 플러스포도 (서울우유)	원유(환원유, 우유) 49.1%(국산), 탈지분유, 정제수, 액상과당, 올리고당, 포도농축과즙 0.6%(미국산), 유청분말(우유), 펙틴, 젖산칼슘, 합성착향료(포도향), 가당난황분말(계란), 유화정제어유, 아스파탐(합성감미료, 페닐알라닌함유), 포도종자추출물제제(포도종자추출물, 텍스트린), 유산균(BB-12 [®] 포함 천만이상/ml), 규소수지혼합제제(규소수지, 유화제, 증점제, 자몽종자추출물), 우롱차추출물, 클로렐라 추출물
월 (한국야쿠르트)	원유 76.513%(국산), 정제수, 액상과당, 당류가공품 (치커리식이섬유), 유단백질혼합탈지분유, 배과즙농축액, 백설탕, 탈염유청혼합탈지분유, 알가공품 복합아 이.이.와이 냉동가당난황액(계란함유)], 매실농축액 (고형분 65%) 0.05%, 합성착향료(매실향), 알로에겔동결건조분말 100:1, 락타아제, 유산균
참두 (롯데)	두유액 60%(대두고형분 10%, 대두-수입산), 정제수, 백설탕, 곡물페이스트 1%(현미 28%, 보리, 볶은현미 18.8%, 통밀, 찹쌀, 발아현미 3.1%, 호박고구마), 참마농축액 0.08%(국산), 정제올레산 해바라기유, 유화제, 정제소금, 합성착향료(볶은콩가루향, 볶은콩향), 맥아엑기스, 산도조절제
참두 미숫가루 (롯데)	두유액 15%(대두고형분 10%, 대두-수입산), 정제수, 백설탕, 미숫가루페이스트 5%(국산-보리 30.5%, 쌀보리 25.6%, 현미 11.9%, 찹쌀, 밀쌀, 백미, 옥수수, 수수, 울무, 차조, 흑미, 통밀, 메조, 현미찹쌀, 찰흑미), 미숫가루분말 2.5%(국산-보리 20%, 현미 25%, 쌀 18%, 찹쌀, 콩, 옥수수), 참마농축액 0.04%(국산), 결정셀룰로오스, 증점제, 산도조절제, 팜경화유, 텍스트린, 유화제, 카라기난, 합성착향료(미숫가루향)
홍삼두유 (파스타르)	홍삼농축액 0.05%(고형분 60%이상, 홍삼성분 70mg/g 이상 국산), 두유액 50%(대두고형분 8%, 수입산, 대두), 백설탕, 정제수, 옥배유(수입산), 대추농축액(국산), 벌꿀(국산), 글리세린지방산에스테르, 식염, 코코넛크림분말(우유), 말레이시아산), 인삼농축액 0.01%(고형분 60% 이상 인삼성분 80mg/g 이상 국산, 합성착향료(두유향, 홍삼향), 포스칼슘 p-24(제삼인산칼슘, 아라비아검), 산도조절제, 카라기난, 티제이2000(식물성유지, 글리세린지방산에스테르, 레시틴, 탄산마그네슘)

(나) 두유인삼 발효음료 제조를 위한 첨가물 배합 실험

두유인삼 발효음료의 배합비를 결정하기 위하여 위의 표 3-2-14에 제시한 시제품의 첨가물

중에서 두유발효 분말과 어울리는 적합한 첨가물을 수십 회의 예비실험을 통하여 선별하였고, 음료 제조는 소비계층에 따라 구분하여 유아용 음료, 식사대용 음료, 성인용 음료 세 가지의 배합비로 구분하여 실험하였다. 최적 배합비 결정을 위하여 과실엑기스, 당도, 산도, 두유발효 분말 첨가량, 곡물혼합분 첨가량, 요구르트 혼합분말의 첨가량에 차이를 두어 관능평가를 실시하였다.

1) 유아용 음료 배합비 결정을 위한 관능평가 결과

가) 과실엑기스에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

복숭아, 사과, 딸기, 포도 네 가지의 과실엑기스를 3% 첨가하여 음료를 제조하고 기호도가 가장 좋은 과실엑기스를 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-15에 나타난 것과 같이 복숭아엑기스를 첨가하여 제조한 음료의 모든 평가항목의 경우 음료의 색 6.5점, 음료의 향 7.0점, 음료의 맛 6.8점, 분말과의 어울림 6.2점, 종합적 기호도는 6.4점으로 다른 엑기스와 비교하여 높은 평가점수를 얻었다. 딸기 엑기스를 첨가하여 제조한 음료의 경우 종합적 기호도는 높았지만 음료의 색이나 분말과의 어울림 항목에서 각각 5.6점과 5.7점으로 낮은 평가점수를 받았다. 포도 엑기스의 경우 음료의 색 4.8점, 음료의 향 5.5점, 음료의 맛 5.0점, 분말과의 어울림 4.5점, 종합적 기호도 5.1점으로 네 가지 엑기스 중 가장 낮은 점수를 얻었다. 사과엑기스는 색이나 향은 각각 6.1점과 6.7점으로 높은 평가점수를 얻었지만 분말과의 어울림에서 5.9점, 종합적 기호도 6.0점으로 가장 높은 점수를 받은 복숭아 엑기스보다는 낮은 평가를 받았다. 따라서 본 실험에서는 가장 우수한 평가점수를 받은 복숭아엑기스를 첨가하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-15. 과실엑기스에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

과실엑기스	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	분말과의 어울림	종합적 기호도
딸기	5.6±1.43	6.6±1.17	6.3±1.34	5.7±1.64	6.2±1.75
사과	6.1±1.20	6.7±1.57	6.0±1.25	5.9±1.52	6.0±1.15
포도	4.8±1.69	5.5±1.35	5.0±1.63	4.5±1.27	5.1±1.45
복숭아	6.5±1.58	7.0±1.25	6.8±1.87	6.2±2.39	6.4±2.01

나) 당도에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

과당, 프락토올리고당, 정백당을 혼합한 최종당도를 10, 12, 14 °Brix가 되도록 첨가하여 음료를 제조하고 기호도가 높은 음료의 당도를 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표

3-2-16에 나타나 있는 것과 같이 당도가 높을수록 종합적 기호도 역시 높은 것으로 나타났다. 강도평가의 경우 음료의 당도는 12 °Brix 농도에서 5.2점으로 적당하다는 평가를 받았고, 음료의 점도의 경우 당도의 차이가 점도에는 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 기호도 평가에서는 음료의 맛과 종합적 기호도 평가 결과를 비교하였을 때 12 °Brix 농도에서 음료의 맛이 6.8점, 종합적 기호도가 6.6점으로 가장 좋은 평가점수를 받았다. 따라서 본 실험에서는 강도평가와 기호도 평가 결과에서 좋은 평가를 받은 당도인 12 °Brix로 조절하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-16. 당도에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

당도 (°Brix)	강도평가		기호도평가			
	음료의 당도	음료의 점도	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
10	3.2±0.63	5.2±1.99	5.7±1.06	5.5±1.51	4.1±1.29	4.5±1.27
12	5.2±0.79	5.1±1.20	6.0±1.25	6.3±1.06	6.8±1.03	6.6±1.26
14	6.5±0.97	5.6±1.35	5.9±1.20	6.7±1.25	6.2±1.93	6.5±1.78

다) 구연산 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

구연산을 무첨가, 0.025%, 0.05% 첨가하여 음료를 제조하고 기호도가 높은 음료의 산도를 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-17에 나타나 있는 것과 같이 산도의 차이에 따른 차이는 크게 나타나지는 않았지만, 구연산의 첨가량이 높을수록 종합적 기호도의 평가점수가 높은 경향을 보였다. 그러나 강도평가의 경우 구연산을 0.025% 첨가하여 제조한 음료의 산도와 당도의 평가 점수가 각각 5.7, 5.5로 적당하다는 평가를 받았다. 음료에서는 적정 당산비가 맛에도 중요한 역할을 하기 때문에 산도나 당도가 너무 높지도 낮지도 않다는 평가를 받은 첨가량인 구연산 0.025%를 음료에 첨가하여 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-17. 구연산 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

구연산 (%)	강도평가		기호도 평가			
	음료의 산도	음료의 당도	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
0	4.4±0.84	6.1±0.99	6.1±1.10	6.1±1.10	6.2±1.03	6.3±0.82
0.025	5.7±1.34	5.5±0.71	5.8±1.03	6.2±1.14	6.4±1.43	6.6±1.56
0.05	6.5±0.85	4.7±1.25	6.0±1.83	6.3±1.42	6.5±1.72	6.8±1.69

라) 두유인삼발효분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

두유인삼발효분말을 1%, 2%, 3% 첨가하여 음료를 제조하고 음료의 적정 두유인삼발효분말 첨가량을 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-18에 나타나있는 것과 같이 두유인삼발효분말을 1% 첨가한 음료의 기호도가 높게 나타났다. 전체적으로 기호도 평가에서 색 7.0점, 향 6.5점, 맛 6.4점, 종합적 기호도 6.8점으로 2%, 3% 첨가한 음료의 관능점수보다 높은 평가 점수를 얻은 것을 확인할 수 있었다. 강도평가에서 두유의 맛이나 식감이 좀 떨어지는 경향이었지만 기호도 면에서 2%와 3% 첨가 음료의 평가점수가 낮은 경향을 보여 두유인삼발효분말을 1% 첨가하여 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-18. 두유인삼발효분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

두유인삼 발효분말 (%)	강도평가		기호도 평가			
	두유의 맛	음료의 식감	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
1	3.5±1.43	4.3±1.77	7.0±1.33	6.5±1.84	6.4±1.84	6.8±1.81
2	5.2±1.32	5.6±1.71	4.9±1.10	5.9±1.20	6.0±1.63	5.9±1.37
3	6.0±2.16	7.3±2.45	3.7±1.57	5.2±1.48	4.0±1.49	4.2±1.48

마) 요구르트혼합분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

요구르트혼합분말을 무첨가, 1%, 2% 첨가하여 음료를 제조하고 음료의 적정 요구르트혼합분말 첨가량을 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-19에 나타나있는 것과 같이 요구르트 혼합분말 첨가구와 무첨가구의 결과가 확연히 차이를 확인하였다. 종합적 기호도에서 무첨가구의 경우 5.4점으로 낮은 점수를 받았으나 요구르트혼합분말을 1%, 2% 첨가한 음료의 경우 모두 7.1점의 높은 점수를 받았다. 요구르트혼합분말의 첨가가 음료의 향이나 맛 등에 크게 영향을 주는 것으로 판단되었다. 요구르트혼합분말의 첨가량에 따른 차이는 크게 없는 것으로 보아 요구르트혼합분말은 1% 첨가하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-19. 요구르트혼합분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

요구르트 혼합분말 (%)	강도평가			기호도 평가			
	요구르트향	요구르트맛	두유의맛	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
0	5.7±1.34	4.5±1.58	3.8±2.20	6.0±1.94	6.6±0.97	5.5±1.27	5.4±1.43
1	5.7±1.25	5.7±1.20	4.7±1.49	6.1±1.52	7.0±0.94	7.0±1.33	7.1±1.29
2	5.4±0.84	6.1±1.42	4.4±2.17	6.1±1.10	7.1±1.29	6.8±1.32	7.1±1.29

2) 식사대용 음료 배합비 결정을 위한 관능평가 결과

가) 두유인삼분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

두유인삼발효분말을 1%, 2%, 3% 첨가하여 음료를 제조하고 음료의 적정 두유인삼발효분말 첨가량을 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-20에 나타나있는 것과 같이 두유인삼발효분말을 1% 첨가한 음료의 기호도가 높게 나타났다. 전반적으로 두유인삼발효분말의 첨가량이 높아질수록 음료의 색이나 향, 식감, 음료의 맛 등의 기호도 평가 점수가 낮게 나타났다. 강도평가의 경우에도 고소한맛은 증가하는 경향을 보였지만 점도가 너무 높게 나타나 식사대용으로 마시기에 거부감이 있을 것으로 생각되었다. 따라서 두유인삼발효음료의 첨가량을 1%로 하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-20. 두유인삼발효분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

두유인삼 발효분말 (%)	강도평가		기호도 평가				
	고소한 맛	점도	음료의 색	음료의 향	식감	음료의 맛	종합적 기호도
1	6.3±0.71	4.8±0.82	6.5±1.93	7.6±1.69	6.8±1.49	6.7±1.37	7.3±0.84
2	7.0±1.10	6.0±1.03	4.3±1.29	6.0±1.52	5.1±1.77	5.9±1.32	6.5±1.33
3	7.5±1.43	7.8±0.52	3.6±1.25	5.8±1.75	3.4±2.45	4.1±1.10	6.2±1.29

나) 당도조절에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

식사대용 음료 타입은 달지 않고 부담을 주지 않기 위해서 당도를 6, 8, 10 °Brix로 조절하여 음료를 제조하고 음료의 적정 당도를 결정하기 위하여 관능평가를 실시하였다. 결과는 표 3-2-21에 나타나있는 것과 같이 당도가 8 °Brix 일 때의 당도와 음료의 맛, 종합적 기호도의 평가점수가 높게 평가되었다. 고소한 맛은 음료의 당도가 높아질수록 낮은 점수를 받았으며,

당도는 낮을수록 평가점수는 낮게 평가된 것을 확인하였다. 따라서 관능평가 결과에서 좋은 점수를 받은 8 °Brix를 음료의 최종당도로 하여 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-21. 당도 조절에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

당도조절 (°Brix)	기호도평가			
	당도	고소한 맛	음료의 맛	종합적 기호도
6	5.5±0.97	6.2±1.56	5.9±1.51	5.8±1.43
8	7.7±1.03	6.0±0.94	7.1±1.29	7.5±0.91
10	6.4±1.10	5.8±1.14	7.0±0.63	6.3±0.85

다) 곡물혼합분 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

곡물혼합분을 1%, 2%, 3% 첨가하여 음료를 제조하고 음료의 적정 곡물혼합분 첨가량을 결정하기 위하여 관능평가를 실시한 결과는 표 3-2-22에 나타내었다. 곡물혼합분 첨가량에 따라서 강도평가와 기호도 평가 모두 차이를 보인 것을 확인할 수 있었다. 강도평가의 경우 곡물혼합분의 첨가량이 높을수록 고소한 맛은 증가하였지만 점도 역시 증가하여 기호도 평가의 식감에서는 낮은 평가점수를 받은 것을 확인할 수 있었다. 기호도 평가에서는 색, 식감 항목에서 첨가량이 높을수록 평가점수가 낮아지는 경향을 보였는데, 곡물혼합분의 첨가로 인해서 음료의 색이 탁해지고 입안에서의 거친 조직감이 심해진 결과로 판단되었다. 그러나 이러한 입안에서의 거친 조직감 문제는 곡물혼합분의 미분쇄화 공정으로 충분히 해결할 수 있을 것으로 판단되었으며 전체적으로 곡물 혼합분은 1% 첨가한 음료의 평가점수가 대부분의 평가 항목에서 높은 점수를 받아 식사대용 음료의 곡물혼합분 첨가량은 1% 첨가하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-22. 곡물혼합분 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

곡물혼합분 (%)	강도평가		기호도 평가				
	고소한 맛	점도	음료의 색	음료의 향	식감	음료의 맛	종합적 기호도
1	7.3±1.27	5.2±1.42	6.5±1.20	6.0±0.79	6.5±1.71	6.8±1.84	7.8±0.52
2	7.8±0.54	6.7±0.71	5.8±1.25	6.5±0.63	5.5±1.77	6.5±1.63	6.5±0.82
3	8.5±0.41	8.3±0.99	5.5±1.06	6.3±0.97	4.2±1.45	6.1±1.48	6.0±1.01

3) 성인용 음료 배합비 결정을 위한 관능평가 결과

가) 착향료 첨가에 따른 두유인삼발효 음료의 관능평가 결과

착향료를 첨가하지 않은 무첨가구, 밤향, 씨리얼향을 각각 0.07% 첨가하여 음료와 잘 어울리는 향을 결정하기 위하여 실시한 관능평가 결과는 표 3-2-23과 같다. 기호도 평가를 실시한 결과 향을 첨가한 음료의 평가점수가 첨가하지 않은 음료보다 높은 평가점수를 받았다. 밤향과 씨리얼향 중에서는 씨리얼향의 평가점수가 높게 나타났다. 음료의 향이 7.5점으로 가장 높았고, 종합적 기호도도 6.5점으로 높은 점수를 받은 씨리얼향을 첨가하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-23. 착향료 첨가에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

착향료첨가	기호도 평가			
	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적기호도
무첨가	6.5±1.25	5.3±1.20	5.7±1.27	5.5±1.29
밤향	6.3±1.34	6.7±0.97	6.1±1.33	6.0±1.16
씨리얼향	6.8±0.84	7.5±0.94	6.5±1.20	6.6±1.01

나) 두유인삼발효분말 첨가량에 따른 두유인삼발효음료의 관능평가 결과

두유인삼발효분말을 1%, 2%, 3% 첨가하여 음료를 제조하고 관능평가를 실시한 결과는 표 3-2-24에 나타내었다. 강도평가의 경우 분말첨가량이 높을수록 두유의 맛과 점도가 높아지는 경향을 보였고, 기호도 평가의 경우 첨가량 증가에 따라 색, 향, 맛 그리고 종합적 기호도 모두 낮은 평가점수를 받았다. 두유인삼발효분말을 1% 첨가한 음료의 경우 색 6.3점, 향 6.1점, 맛 6.7점, 종합적 기호도 6.5점을 받았는데, 두유인삼발효분말의 첨가량이 높은 음료의 경우 점도가 높아져 묵념감이 부드러워지지 못하고 음료의 맛에서도 기호도가 떨어지는 경향을 보였다.

표 3-2-24. 두유인삼발효분말 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

두유인삼 발효분말 (%)	강도평가		기호도 평가			
	두유 맛	점도	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
1	5.4±1.25	6.0±0.85	6.3±1.57	6.1±1.33	6.7±1.81	6.5±1.37
2	6.9±1.14	7.1±1.56	5.7±1.20	5.5±1.10	5.2±1.49	5.7±0.85
3	7.8±1.03	8.5±0.71	3.5±1.84	5.1±1.63	4.8±1.20	4.4±1.13

다) 당도 조절에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

성인용 음료 타입에 맞게 당도를 유아용보다 낮게 하여 7, 9, 11 °Brix로 조절하여 음료를 제조하고 음료의 적정 당도를 결정하기 위하여 관능평가를 실시한 결과는 표 3-2-25와 같다. 앞서 실시한 유아용 음료나 식사대용 음료의 경우와 마찬가지로 음료의 당도가 높을수록 기호도가 높은 경향을 보였다. 11 °Brix 당도에서도 9 °Brix와 비슷하게 높은 평가점수를 받았지만, 당도 9 °Brix 음료의 맛이나 종합적 기호도가 각각 6.7점, 6.5점으로 높은 점수를 받아 당도를 9 °Brix로 조절하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-25. 당도 조절에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

당도조절 (°Brix)	기호도 평가			
	당도	고소한 맛	음료의 맛	종합적 기호도
7	5.6±1.43	6.5±1.64	5.9±1.01	5.4±0.71
9	7.4±1.87	6.2±1.52	6.7±1.26	6.5±0.82
11	6.9±1.27	6.4±1.45	6.2±0.99	6.3±1.34

라) 구연산 첨가량에 따른 두유인삼발효음료의 관능평가 결과

구연산을 0.01%, 0.025%, 0.05% 첨가하여 음료를 제조하고 관능평가를 실시한 결과는 표 3-2-26과 같다. 산도의 차이에 따른 차이는 크게 나타나지는 않았지만, 구연산의 첨가량이 가장 높은 0.05% 음료에서 가장 종합적 기호도의 점수가 5.9점으로 가장 낮았다. 복숭아엑기스를 첨가하여 제조한 유아용 음료와는 달리 성인용 음료에서는 구연산의 신맛이 다른 재료와 잘 어울리지 못해 기호도가 떨어진 것으로 생각되었다. 전체적으로 평가점수에 큰 차이는 없었지만 구연산을 0.025% 첨가한 음료의 평가점수가 높게 나타났다. 음료에서는 적정 당산비가 맛에도 중요한 역할을 하기 때문에 산도나 당도가 적당하다는 평가를 받은 첨가량인 구연산

0.025%를 음료에 첨가하여 제조하는 것으로 결정하였다.

표 3-2-26. 구연산 첨가량에 따른 두유인삼 발효음료의 관능평가 결과

구연산 첨가량 (%)	강도평가		기호도 평가			
	음료의 산도	음료의 당도	음료의 색	음료의 향	음료의 맛	종합적 기호도
0.01	4.7±0.84	6.5±0.85	6.2±1.72	6.3±1.42	6.5±1.69	6.5±0.99
0.025	5.6±1.14	5.5±1.03	6.1±1.56	6.1±1.10	6.9±1.34	6.6±1.83
0.05	7.8±1.21	4.1±1.10	6.5±0.58	6.2±1.26	6.1±1.10	5.9±1.42

4) 두유인삼발효음료 최종 배합비 결정

앞서 실시한 소비계층별 관능평가 결과를 반영하여 결정한 두유인삼발효음료의 배합비는 표 3-2-27과 같고, 이 배합비로 제조한 두유인삼발효음료의 9점 기호도 검사에 의한 관능평가 결과는 표 3-2-28에 나타나있다.

표 3-2-27. 두유인삼발효음료 최종 배합비

첨가물	두유인삼발효음료 타입		
	유아용	식사대용	성인용
두유인삼발효분말	1 g	1 g	1 g
요구르트혼합분말	1 g	-	-
곡물혼합분 ¹⁾	-	1 g	1 g
pectin	0.03 g	0.03 g	0.03 g
gellan gum	0.035 g	0.035 g	0.03 g
과당	4 g	-	5 g
프락토 올리고당	3 g	5 g	3 g
정백당	2 g	3 g	-
정제염	0.05 g	0.1 g	0.05 g
비타민 C	0.01 g	-	0.005 g
구연산	0.025 g	-	0.025 g
구연산나트륨	0.01 g	-	0.02 g
과실액기스	3 g(복숭아)	-	3 g(사과)
착향료	0.1 g(복숭아향)	-	0.07 g(씨리얼향)
정제수	85.74 ml	88.835 ml	86.77ml
총합	100	100	100

¹⁾ 곡물혼합분 1% : 백태 0.5%, 보리 0.25%, 현미참쌀 0.1%, 율무 0.1%, 땅콩 0.05%

앞서 실시한 예비적 관능평가를 통하여 기존의 첨가물의 배합비를 조절한 후 음료를 제조하고 이에 대한 최종 관능평가를 실시한 결과는 표 3-2-28과 같다. 유아용음료의 경우 색, 향, 맛, 종합적 기호도 모두 좋은 결과를 나타내었는데, 조직감의 경우 두유인삼발효분말의 이물감 문제로 6.5점의 점수를 받아 이에 대한 보완이 필요할 것으로 판단되었다. 분말에 의한 이물감 문제는 유아용뿐만 아니라 식사대용 음료, 성인용 음료에서도 마찬가지로 지적되어 관능평가 조직감 항목은 대체로 낮은 점수를 받은 것을 확인할 수 있었다.

표 3-2-28. 두유인삼발효음료의 관능평가 결과

음료구분	색	향미	조직감	맛	종합적 기호도
유아용	7.2±0.35	7.0±0.87	6.5±0.57	7.5±1.09	7.5±0.83
식사대용	6.9±0.69	7.1±1.01	6.2±0.65	7.1±0.48	7.0±0.76
성인용	6.7±0.48	6.8±0.82	6.3±0.55	6.9±0.67	6.8±0.58

하지만 이러한 두유발효분말에 의한 음료의 거친 조직감의 문제는 분말의 미분쇄화 처리에 의하여 충분히 조직감의 기호성을 높일 수 있을 것으로 판단되었다. 식사대용 음료의 경우 향과 맛 항목에서 7.1점, 종합적기호도에서 7.0점으로 나쁘지 않은 결과를 나타내었는데, 곡물혼합분의 고소한 향과 맛이 음료의 기호성에 긍정적인 영향을 미친 것으로 판단되었다. 성인용 음료의 경우 유아용음료나 식사대용 음료와 비교하여 종합적기호도가 6.8점으로 기호성이 떨어지는 경향을 보였는데 두유인삼발효분말과 기타 첨가물의 배합을 더 조절하여 기호성을 좀 더 높일 수 있는 연구가 필요할 것으로 판단되었다.



그림 3-2-13. 두유인삼발효음료 시제품(해외전시회에 출품함).

(다) 두유인삼 발효분말의 분산성 조사

두유인삼발효분말의 경우 두유와 인삼의 유산균 발효로 제조됨으로 인하여 새로운 이온성분의 생성과 이러한 이온성분들이 음료 제조 시 검류의 suspension 역할을 저해하는 중요한 역

할을 하는 경향이 많기 때문에 본 실험에서도 두유음료 타입에 적합한 검류를 선정하여서 분산성 실험을 수행하였다. 즉, 배합비 실험에서 결정된 두유인삼 발효음료에 pectin, gellan gum 을 농도별로 첨가하고 침전조사 방법에 의하여 분산정도를 확인하였다. 그리고 pectin과 gellan gum의 첨가량은 다음 표 3-2-29과 같다.

표 3-2-29. 분산성을 평가를 위한 pectin, gellan gum의 첨가량

	첨가량 (%)					
Pectin	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
Gellan gum	0	0.01	0.02	0.03	0.035	0.04
Pectin+gellan gum	0.02+0.02	0.02+0.03	0.02+0.035	0.03+0.02	0.03+0.03	0.03+0.035

Pectin의 경우 모든 분산이 유지되지 못하고 바로 가라앉는 것을 확인하였으며, gellan gum의 경우 0.01% 첨가구에서 처리 4시간 후 분말이 50% 정도 침전된 것을 확인하였다. 다른 gellan gum 첨가구는 침전되지 않고 유지하는 경향을 보였고, 특히 pectin과 gellan gum이 혼합된 처리구에서 분산의 안정도가 높았다. Gellan gum과 pectin에 대한 분말의 분산성이 우수하게 나타나 소량의 pectin과 gellan gum의 첨가를 고려하였으나, 본 실험에서 분산이 잘 유지되면서 음료에 어느 정도의 점성을 부여하기 위한 목적으로 pectin 0.03 g, gellan gum 0.035 g 을 첨가하여 음료를 제조하는 것으로 결정하였다.

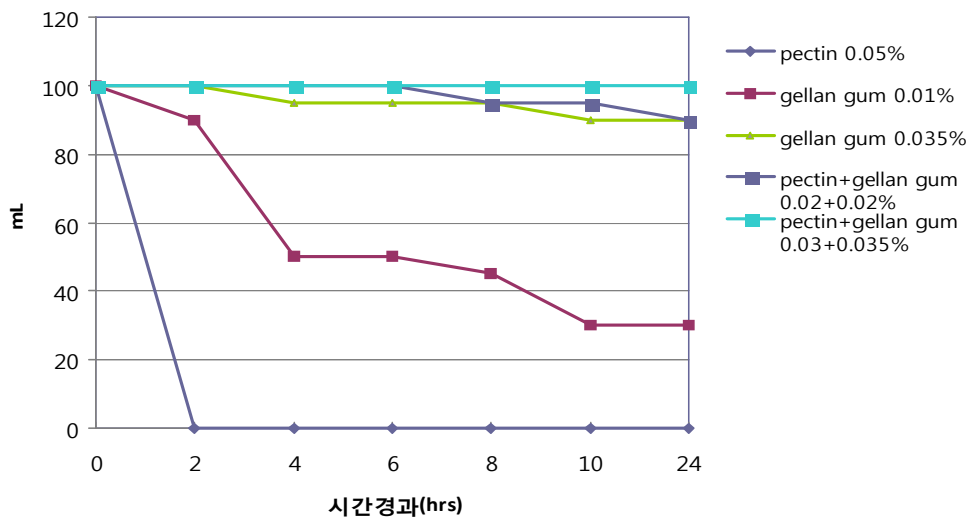


그림 3-2-14. Pectin과 gum의 첨가량에 따른 두유인삼발효분말의 분산성

(라) 두유인삼발효음료의 살균 및 저장 안정성 조사결과

관능평가를 통하여 결정된 최종 배합비에 따라 제조된 두유인삼발효음료를 95℃에서 30초간 살균하여 4℃, 25℃에 저장하면서 2주 간격으로 시료를 채취하여 미생물, 색도, pH, 당도 및 산도 등의 항목에 대하여 저장 중 성분변화를 조사한 결과는 표 3-2-30 ~ 3-2-35와 같다. 미생물 검사결과 살균처리하지 않은 대조구 음료에서는 일반세균이 1.0×10^2 cfu/ml이 검출되었으나 95℃에서 30초간 살균 후 저장한 음료의 경우에는 4℃, 25℃ 저장시료 모두 대장균, 대장균군 및 일반세균 등 미생물이 검출되지 않은 것을 확인할 수 있었다. 그리고 색도의 경우 유아용 음료의 초기치에 있어서 밝기를 나타내는 L값이 21.71, 적색도를 나타내는 a값은 7.69 그리고 황색도를 나타내는 b값이 29.82를 나타내었고 4℃와 25℃에서 저장 30일간 큰 변화를 나타내지 않았다. 식사대용 음료의 색도는 L값이 17.33, a값이 9.61, b값은 25.47이었고, 성인용 음료의 초기 색도는 L값이 16.69, a값은 12.02, b값은 26.17로 유아용음료와 마찬가지로 저장 중 큰 변화가 없는 것을 확인하였다. 초기 pH는 유아용음료가 4.19, 식사대용 음료가 5.38 그리고 성인용 음료가 4.37로 4℃와 25℃에서 큰 변화를 나타내지 않았으며, 당도와 산도의 경우도 모두 유의적인 차이를 보이지 않고 안정적으로 유지되는 경향을 보였다. 이와 함께 음료 중에 첨가된 첨가물 등으로 인한 침전현상이 없이 suspension이 잘 유지되는 것을 확인하였다.

표 3-2-30. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10^2	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		21.71	21.97	22.54
	<i>a</i>		7.69	7.34	7.41
	<i>b</i>		29.82	29.98	30.10
	ΔE		82.31	81.95	81.83
당도(°Brix)			12.1	12.3	12.2
산도(%)			0.156	0.156	0.156
pH			4.19	4.21	4.20

¹⁾ 비살균 음료.

표 3-2-31. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 유아용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10 ²	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		21.71	21.91	23.21
	<i>a</i>		7.69	7.48	7.20
	<i>b</i>		29.82	30.04	30.57
	ΔE		82.31	81.28	81.10
당도(°Brix)			12.1	12.2	12.4
산도(%)			0.156	0.156	0.156
pH			4.19	4.24	4.21

¹⁾ 비살균 음료.

표 3-2-32. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 식사대용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10 ¹	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		17.33	19.05	19.58
	<i>a</i>		9.61	9.33	9.35
	<i>b</i>		25.47	25.84	25.91
	ΔE		85.29	83.94	83.53
당도(°Brix)			7.7	7.8	7.6
산도(%)			0.036	0.036	0.036
pH			5.38	5.35	5.37

¹⁾ 비살균 음료.

표 3-2-33. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 식사대용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10 ¹	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		17.33	16.62	17.74
	<i>a</i>		9.61	9.86	9.52
	<i>b</i>		25.47	24.57	24.35
	ΔE		85.29	85.94	84.66
당도(°Brix)			7.7	8.0	7.8
산도(%)			0.036	0.036	0.036
pH			5.38	5.38	5.40

¹⁾ 비살균 음료.

표 3-2-34. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (4℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10 ¹	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		16.69	15.98	17.10
	<i>a</i>		12.02	12.27	11.93
	<i>b</i>		26.17	25.27	25.05
	ΔE		85.86	86.51	85.23
당도(°Brix)			8.9	8.9	9.0
산도(%)			0.132	0.132	0.132
pH			4.37	4.39	4.38

¹⁾ 비살균 음료.

표 3-2-35. 두유인삼발효음료의 저장 중 품질변화 (25℃ 저장, 성인용)

		저장기간 (일)			
		대조구 ¹⁾	0	15	30
미생물 (CFU/ml)	대장균수	음성	음성	음성	음성
	대장균군수	음성	음성	음성	음성
	일반세균수	1.0×10 ¹	음성	음성	음성
색도	<i>L</i>		16.69	18.41	18.94
	<i>a</i>		12.02	11.74	11.76
	<i>b</i>		26.17	26.54	26.61
	ΔE		85.86	84.51	84.10
당도(°Brix)			8.9	9.0	9.2
산도(%)			0.132	0.132	0.132
pH			4.37	4.39	4.38

¹⁾ 비살균 음료.

나. 두유인삼발효 분말 및 음료의 유효성분 분석

(1) 재료 및 방법

(가) 두유인삼발효분말 및 유아용 음료의 ginsenoside 분석

인삼성분 분석법에 따라 분말시료 5 g과 물포화 부탄올 50 ml을 80℃ 환류냉각장치를 이용하여 1시간 추출하고, 물포화 부탄올층을 여과하여 분액 깔대기에 옮겼다. 이 과정을 2회 반복하고 분액 깔대기에 모아진 약 150 ml의 물포화 부탄올에 증류수 50 ml을 넣고 280~290 rpm에서 shaker에 넣고 10분간 흔들어서 주었다. 분액 깔대기의 물층과 부탄올이 완전히 분리될 때까지 정치시키고, 물층을 제거하고 부탄올층을 농축플라스크에 옮겨 완전 농축하였다. 완전 농축한 잔여물에 ether 50 ml을 넣고 약 46℃의 수욕에서 30분간 환류냉각하였고, 잔여물이 떨어지지 않도록 주의하여 ether를 완전히 버리고 냄새를 날린 후 잔류물을 105℃ dry oven에 넣고 향량이 될 때까지 건조하였다. 수기에 methanol을 넣어 잔류물을 녹이고 0.45 μm 막필터로 여과한 후 vial에 옮겨 담아 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

(나) 두유인삼발효분말 및 유아용 음료의 isoflavone 분석

검체 내 이소플라본 함량이 8~10 mg 정도가 되도록 검체 약 1 g을 삼각플라스크에 채취하고 80% MeOH 40mL에 넣은 후 65 °C 항온 수욕조에서 2시간 동안 교반 추출하였다. 추출 후 냉각 시킨 다음 2M NaOH 용액 3 mL를 넣은 후 추가로 10분간 교반시킨다. 교반 후 빙초산 (Acetic acid glacial) 1 mL을 넣고 80% MeOH을 가하여 최종 부피가 50 mL 되도록 정용한다. 혼합 후 50 mL 중 여액 5 mL를 취하여 물 4 mL을 넣고 100% MeOH을 이용 최종 부피 10 mL이 되도록 조절한 다음 syringe filter (0.45 mm, Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 여과하여 아래의 방법으로 분석을 실시하였다. 칼럼은 Eclipse XDB-C₁₈ column(150mm×4.6mm, 3.5µm, Agilent, USA)을 사용하였고, 이동상으로 acetic acid와 MeOH을 함유한 물과 acetic acid를 함유한 MeOH을 사용하였고, 기기의 구성은 Dual solvent delivery system, UV/Vis detector 및 Varian ProStar 410 HPLC Autosampler를 사용하였다.

(다) 두유인삼발효분말 및 유아용 음료의 대두올리고당

대두올리고당은 동결건조된 시료 2g에 80% methanol 40ml을 넣고 80°C에서 1시간 동안 환류 추출 한 후 원심분리하여 상등액을 모으고 10% lead acetate로 처리하였다. 다시 10% oxalic acid를 첨가한 후 농축하고 이를 0.45µm membrane filter로 여과한 후 HPLC 로 분석하였다. 컬럼은 Spherisorb NH₂를 사용하였고 70% acetonitrile 이동상으로 하였다. 내부 표준물질은 xylose를 사용하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 두유인삼발효분말 및 유아용 음료의 ginsenoside 분석결과

대두 내 생리활성물질로 알려진 성분은 이소플라본, 사포닌, 대두올리고당, 식이섬유 등으로 알려져 있으며 현재 이들 생리활성 성분들은 각종 암, 골다공증, 고지혈증을 예방하는데 효과가 있고 또 비만, 혈당 및 콜레스테롤을 조정하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서도 유산균으로 발효된 두유인삼발효분말과 또 이를 이용하여 제품화한 두유인삼발효 음료 제품에 대하여 사포닌과 이소플라본 및 대두 당 성분을 분석한 결과는 각각 다음과 같다. 즉, 표 3-2-36은 두유인삼발효분말과 유아용 음료의 사포닌 함량을 나타낸 결과인데 두유인삼 발효 분말의 진세노사이드 함량은 Rg1+Re 0.02 mg/g, Rf 0.008 mg/g, Rg2+Rh1 0.015 mg/g, Rb1 0.04 mg/g, Rc 0.02 mg/g, Rb2+Rb3 0.01 mg/g, Rd 0.01 mg/g, Rg3 0.09 mg/g, Rh2 0.01 mg/g의 조성을 나타내었다. 그리고 이를 첨가하여 제조한 유아용 음료제품의 진세노사이드 함량은 Rg1+Re 0.003 mg/g, Rg2+Rh1 0.002 mg/g, Rc 0.02 mg/g, Rb2+Rb3 0.008 mg/g, Rg3 0.02 mg/g의 조성을 보여주었다. 이러한 결과를 볼 때 두유와 인삼의 유산균 발효로 인하여 기존 인삼에서 볼 수 없었던 Rh2와 compound K가 생성 및 증가가 이루어졌고 또한 이들 두

유인삼발효분말 성분에 포함된 사포닌 성분들이 음료 제품에 첨가된 함량대로 사포닌 함량이 나타난 것을 확인할 수 있었다.

표 3-2-36. 두유인삼발효분말과 유아용 음료의 사포닌 함량

	사포닌 조성(mg/g)								
	Rg1+Re	Rf	Rg2+Rh1	Rb1	Rc	Rb2+Rb3	Rd	Rg3(S,R)	Rh2
두유인삼 발효분말	0.02	0.008	0.015	0.004	0.02	0.01	0.01	0.09	0.01
유아용음료	0.003	trace	0.002	trace	0.002	0.008	trace	0.02	trace

(나) 두유인삼발효분말 및 개발음료의 isoflavone 함량

두유인삼발효분말 및 유아용 음료에 함유된 이소플라본을 HPLC로 분석한 결과는 표 3-2-37과 같다. 이소플라본 종류에 따른 분포를 보면 두유인삼발효분말 및 유아용 음료 모두 glucosidase과 aglycone에 대부분 분포되어 있고, malonyl과 acetyl에서는 나타나지 않았다. 대두유의 경우 glucosidase의 daidzin이 81.783 mg, genistin이 163.577 mg 검출되었고, aglycone의 genistein이 3.808 mg 검출되었다. 이에 반해 대두유에 인삼엑기스를 넣어 발효시킨 후 동결건조 한 두유인삼발효분말의 경우 glucosidase의 daidzin이 7.463 mg, genistin이 40.959 mg 그리고 aglycone의 daidzein이 63.484 mg, genistein이 86.644 mg 검출된 것을 확인하였다.

표 3-2-37. 두유인삼발효분말과 유아용 음료의 이소플라본 함량

(mg/100g)

성분		두유인삼발효분말	유아용음료
Glucosidase (mg)	Daidzin	7.463±0.256	ND ¹⁾
	Glycitin	ND	ND
	Genistin	40.959±0.189	ND
Malonyl (mg)	Daidzin	ND	ND
	Glycitin	ND	ND
	Genistin	ND	ND
Acetyl (mg)	Daidzin	ND	ND
	Glycitin	ND	ND
	Genistin	ND	ND
Aglycone (mg)	Daidzein	63.484±1.750	13.050±1.198
	Glycitein	ND	ND
	Genistein	86.644±1.312	15.526±0.835
Total		198.550±0.371	28.576±0.363

¹⁾ Not-detected.

음료제조에 사용되는 분무건조 한 두유인삼발효분말의 경우 aglycone의 daidzein 73.211 mg, genistein 94.169 mg 검출되었고, 개발음료의 경우 aglycone의 daidzein 13.050 mg, genistein 15.526 mg 검출된 것을 확인하였다. 대두유의 경우 glucosidase의 비율이 월등하게 높은 것에 반해, 두유를 발효시킨 두유인삼발효분말의 경우에 있어서는 aglycone의 함량이 상대적으로 높게 나타났는데 이는 대두의 발효과정에서 glucosidase가 감소하고 aglycone이 증가한다는 보고와 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 식품 내 이소플라본은 대부분 glucosidase 형태로 함유되어 있으며 체내 이용을 위해 장내 세균이 생성하는 β-glucosidase에 의해 glucosidase 결합이 분해되어 aglycone 형태로 흡수된다는 연구 결과들로 볼 때, 이소플라본 대부분이 aglycone 형태로 존재하는 두유인삼발효분말로 제조한 음료가 이소플라본 흡수 측면에서 도움이 될 수 있을 것으로 판단되었다.

(다) 두유인삼발효분말 및 유아용 음료의 대두 올리고당 함량

두유인삼발효 분말 및 제품화한 유아용 음료의 대두 올리고당 함량은 표 3-2-38과 같다. 즉, 두유인삼발효 분말의 raffinose 함량은 0.15, stachynose 함량은 0.25를 각각 나타내었다. 그리고 제품화된 음료의 경우 raffinose 함량이 0.26 그리고 stachynose 함량은 1.18를 각각 나타내었다. 두유인삼발효분말의 대두올리고당 함량과 비교하여 음료 제품에서 대두올리고당 함량이 높게 나타났으나 이는 요구르트 혼합분말 및 기타 여러 종류의 당류 첨가에 의해 제조된 것에 기인한 것으로 판단된다.

표 3-2-38. 두유인삼발효 요구르트 분말과 유아용 음료의 대두 올리고당 함량

	올리고당 함량 (% , dry basis)		
	Raffinose	Stachyose	Total
두유인삼 발효분말	0.15	0.25	0.40
유아용음료	0.26	1.18	1.44

제 3 절 인삼발효 요구르트 소재 개발 및 제품 다양화 연구

1. chewable 타입 제품 개발

유제품 바탕과 대두제품(식물성) 바탕 발효원료를 사용하여 다음과 같은 프로토콜에 의해 개발하였다. 구안산업(주) 진락의 chewable 개발 프로토콜 (Tablet and Chewable Product Development Process): 회사내에 tablet과 chewable 제품등과 같이 타정을 필요로 하는 제품을 개발하는 과정으로 포물러, 안정성, 원가, 관능, 대량생산 단계를 모두 고려한 사내 전문가 프로세스이며, 외부에 자세한 내용은 적극적인 공개를 하고 있지 않고 있다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

인삼발효요구르트 chewable을 제조하기 위해 요구르트 혼합분말 등은 세계에프엘(충남, 논산)에서, 유당은 성장종합식품(경기, 양주)에서, 비타민 C등 기타 부원료는 식품원료 취급업체 헬스라인(경기, 일산)에서 구입하였고 인삼발효요구르트 분말은 자사 구안산업 금산공장에서 생산한 원료를 사용하였다.

(2) 방법

인삼발효요구르트 chewable은 인삼의 유효성분(진세노사이드 등)은 유산균처럼 생균으로 원료, 환경 등에 영향을 받는 물질이 아니므로 유효성분 실험은 생략하였다. 주원료의 첨가량에 대비하여 색상, 맛, 조직감, 종합적 기호도 등에 관하여 9점 평점법으로 관능평가를 실시하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 인삼발효요구르트 chewable 제조

인삼과 우유를 동시에 발효시키는 가능성을 가진 인삼발효요구르트 분말을 주원료로 사용하였고 여기에 발효유 맛을 강화하기위해 요구르트 혼합분말을 사용하였으며 비타민류로 비타민 C, 원료들이 엉겨붙지 않고 흐름도를 좋게 하기위해 이산화규소를 사용하였다. 후드믹서 HMF-985 분쇄기(한일전기 주식회사)를 사용하여 분쇄 후 150 mesh 체를 통과한 분말을 구안산업에서 보유하고 있는 타정기(Hanyang Pharmatech, Model HRT-15)로 tablet을 제조하였다.



그림 3-3-1. 인삼발효요구르트 츠어블.

(2) 인삼발효요구르트 츠어블 관능평가 결과

인삼발효요구르트 츠어블을 제조하였고 기호도가 좋은 주원료 양을 설정하기위해 관능평가를 실시하였다. 종합적인 결과는 주원료 함유량 1%가 가장 좋은 기호도를 얻었다.

표 3-3-1. 인삼발효요구르트 츠어블의 관능평가 결과

주원료 함유량	성상	맛	조직감	종합적 기호도
1%	7.4	7.5	7.7	7.5
3%	6.9	7.3	7.4	7.2
5%	7.2	6.0	6.1	6.2



그림 3-3-2. 인삼발효요구르트 츠어블 대량생산.

(3) 고찰

인삼발효요구르트 원료의 경우 아직도 인삼의 특성(쓴맛)과 발효의 특성(신맛)이 어느 정도 남아있어서 많은 양의 첨가는 불가능한 것으로 판단이 된다. 자세한 내용은 이미 상용화되어서

판매되는 제품이라서 영업비밀 보안을 위해서 자세한 내용은 보고서에서 모두 기재하지 않았다.

(4) 대량생산 공정

(가) 혼합



(나) 타정



(다) 충전 및 포장



(라) 유통/판매 제품



그림 3-3-3. 인삼발효 요구르트 츄어블 대량 생산.

2. 인삼발효요구르트 분말 믹스타입 개발

가. 분말형 제품 시장조사 및 분석

스틱형 분말 제품의 최적 배합비를 결정하기 위하여 현재 시중에서 판매되고 있는 가공품을 수거하여 첨가물을 검토하였다(표 3-3-2). 주 소비계층이 유아나 어린이라는 점에서 스틱형 분말 제품들은 코코아, 딸기, 바나나 등의 소재를 이용하였고, 자칫 부족하기 쉬운 비타민과 무기질을 일일 영양 권장량에 따라 첨가되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 아래 그림 3-3-4에 나타난 것과 같이 아이들의 호기심과 제품에 대한 흥미를 유도하기 위한 방법으로 분말 가공품을 straw에 넣은 아이디어 제품도 판매되고 있었으며, 설탕을 줄인 슈거라이트 제품과 곡물을 함께 섞어 만든 곡물카카오 제품이 파생되어 판매되고 있는 것을 확인하였다.

이중 인삼발효요구르트 분말 첨가 스틱형 분말제품에 적합한 첨가물들을 선별하여 배합 실험을 실시하였다.

표 3-3-2. 시판 중인 기존 스틱형 분말 제품들의 첨가물 현황

제품명	첨가물 및 첨가량
네스퀵-초콜렛 (네슬레) -17g	코코아분말 16.4%, 백설탕, 계피분말, 레시틴(대두), 산화아연, 식염, 탄산칼슘, 푸마르산 제일철, 합성착향료(바닐라향), 혼합비타민(비타민 C, B1, B2, B6, A, E, D3, 나이아신, 엽산, 말토덱스트린)
제티-초콜렛 (동서식품) -17g	코코아분말 15%, 백설탕, 정제소금, 바닐린, 혼합미네랄(탄산칼슘, 젖산철, 산화아연), 탄산칼슘, 레시틴(대두), 혼합비타민(비타민 C, DL- α -토코페릴아세테이트, 나이아신아미드, 분말비타민 A, 말토덱스트린, 비타민 B6 엽산염, 비타민 D3, 비타민 B1 엽산염, 비타민 B2, 엽산), 비타민 C
제티- 1/3슈거라이트 17g	코코아분말 15%, 백설탕, 말토덱스트린, 자일리톨, 결정과당, 프락토올리고당, 정제소금, 바닐린, 혼합미네랄(탄산칼슘, 젖산철, 산화아연), 탄산칼슘, 레시틴(대두), 혼합비타민(비타민 C, DL- α -토코페릴아세테이트, 나이아신아미드, 분말비타민A, 말토덱스트린, 비타민 B6엽산염, 비타민 D3, 비타민 B1엽산염, 비타민 B2, 엽산), 비타민 C
제티-맛있는곡 물(카카오) -17g	제티 초코렛맛 1/3 슈거라이트(백설탕, 코코아분말 8.25%, 말토덱스트린, 자일리톨, 결정과당, 프락토올리고당, 레시틴(대두)), 백설탕, 현미 11.8%, 보리 9.5%, 검은쌀 1.3%, 찹쌀 현미 1.3%, 수수 0.5%, 조 0.5%, 울무 0.3%, 탄산칼슘, 혼합미네랄(탄산칼슘, 젖산철, 산화아연), 혼합비타민(비타민C, 비타민 E 초산에스테르, 나이아신아미드, 분말비타민A 초산염, 말토덱스트린, 비타민 B6엽산염, 비타민 D3, 비타민 B1엽산염, 비타민 B2, 엽산)
제티-바나나맛	백설탕, 말토덱스트린, 바나나과즙 농축분말[바나나과즙농축액(고형분 20.3%) 1%], 합성

-17g	착향료(바나나향), 정제소금, 탄산칼슘, 치자황색소(천연색소), 혼합미네랄(탄산칼슘, 젖산철, 산화아연), 혼합비타민(비타민 C, DL- α -토코페릴아세테이트, 나이아신아미드, 분말비타민A, 말토덱스트린, 비타민 B6염산염, 비타민 D3, 비타민 B1염산염, 비타민 B2, 엽산), 비타민 C, 구연산나트륨
말차라떼 (티젠) -13g	말차 3.3%, 백설탕, 혼합탈지분유[네덜란드산/탈지분유(우유), 웨이퍼미에이트(탈염, 우유)], 분말유크림[가공버터(호주산/우유), 유크림(국산), 유당(우유), 유청단백분말(제2인산칼륨)], 포머모카[폴란드산/글루코오스시럽, 식물성경화유, 탈지분유(우유), 유청분말, 유단백], 유당(우유), 프리미엄 전지분[전지분유(국산), 물엿, 유크림(국산/우유), 유청(국산), 유당], 밤농축분말, 이산화규소, 정제염
홍차라떼 (티젠) -14g	홍차엑기스분말 2.8%(고형분 95% 스리랑카산), 백설탕, 혼합탈지분유[네덜란드산/탈지분유(우유), 웨이퍼미에이트(탈염, 우유)], 식물성 크림[물엿, 정제가공유지(말레이시아산), 카제인나트륨(우유), 제2인산칼륨, 글리세린지방산에스테르], 포머모카[폴란드산/글루코오스시럽, 식물성경화유, 탈지분유(우유), 유청분말, 유단백], 말토덱스트린, 생강분말, 이산화규소, 정제염
곡물라떼 (티젠) -17g	20곡분말 25%(국내산), 백설탕, 식물성크림[유청분말, 물엿(미국산), 정제가공유지, 제2인산칼륨, 유청단백분말], 혼합탈지분유[네덜란드산/탈지분유(우유), 웨이퍼미에이트(탈염, 우유)], 콘푸라이트[옥수수(수입산), 백설탕, 맥아엿, 식물성경화유지, 혼합비타민], 포머모카[폴란드산/글루코오스시럽, 식물성 경화유, 탈지분유(우유), 유청분말, 유단백], 분말유크림(우유), 탈지방농축분말(땅콩), 카라기난, 합성착향료(땅콩향), 이산화규소, 정제염
핫초코 (담터)	코코아분말 10%, 정백당, 가공유장분[농축유청액(국산우유) 70%, 물엿 30%], 식물성 유지분[물엿, 야자경화유, 카제인나트륨(우유), 포도당, 제 2인산칼륨], 합성착향료(바닐라향, 버터향), 이산화규소
밀크 앤 퍼니 스트로우 초콜릿(동원) -3.5g	백설탕, 타피오카전분(카사바파우더, 베트남산), 코코아분말 13%(코트디부아르산), 정제수, 말토덱스트린, 합성착향료(초콜릿향), 아스파탐(합성감미료/페닐알라닌 함유)



그림 3-3-4. 현재 시판중인 스틱형 분말 제품

나. 인삼발효요구르트 분말 첨가 믹스타입 제품개발 및 시제품 생산

(1) 재료 및 방법

(가) 재료

홍삼액과 비피더스균을 혼합 배양한 발효액을 분무건조시켜 제조한 인삼발효 요구르트분말을 구안산업에서 제공받아 사용하였고, 혼합비타민과 혼합미네랄은 동은소재에서 코코아분말(Nederland S.A., Spain), 비타민 C, 세립당은 시중에서 구입하여 사용하였다. 혼합비타민 중에는 비타민 A, B1, B2, B6, C, D, E, 나이아신, 엽산, 말토덱스트린이 혼합되어 있고, 1식(17 g 기준) 당 100 mg을 투입하면 영양소기준치에 맞도록 배합되었다. 혼합미네랄의 경우 칼슘, 철, 아연이 혼합되어 있으며, 1식(17 g 기준) 당 105 mg을 투입시 영양소 기준치에 맞도록 배합되었다.

(나) 분말형 제품 과립화

코코아, 커피, 분말주스 등과 같이 입자가 작으면 물 속으로 가라앉지 않고 표면에 떠 있어 잘 녹지 않는 성질이 있기 때문에 분말을 응집시켜 과립형태(agglomeration)로 바꾸는 과정이 필요하다. 본 실험에서는 분말제품의 용해성을 높이기 위한 방법으로 과립기(GP-130, 대원정밀

기계, Korea - 그림 3-3-5)를 이용하여 과립화하였다. 원료가 통과할 과립기 원통망의 hole 크기는 0.8 mm~2.0 mm이었고, 중앙 scraper는 24 rpm으로 회전되었다. 각 배합비에 따라 혼합된 분말에 주정을 1% 정도 소량 가하여 원료를 과립망 외부로 밀어내는 과정에서 재료간 혼합 및 과립성형이 용이하도록 하였다. 과립망을 통과한 원료를 40℃에서 1시간 정도 건조하여 주정의 알콜성분 및 수분이 날아가도록 하였고, 이를 20 mesh 체에 통과시켜 균일한 분말제품을 얻었다.



그림 3-3-5. 분말 과립에 사용한 과립기

(다) 배합비 결정을 위한 관능평가

인삼발효 요구르트분말, 코코아분말, 당류 등의 혼합 적정비율의 결정을 위해 관능평가를 실시하여 기호성이 높은 최적 배합비를 선정하였다. 분말형 제품의 관능평가는 저지방 우유 200 mL에 배합된 분말 17 g 을 용해하여 패넬에 제공하였다. 관능평가는 총 15명의 패넬로 구성하여 9점척도법 (기호도평가)으로 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 스틱형 분말제품의 배합비 결정

인삼발효 요구르트분말을 첨가하여 스틱형 분말제품을 제조하기 위한 배합비율은 다음 표 3-3-3과 같다. 최적 배합비를 결정하기 위하여 위의 표 3-3-2에 제시한 시제품의 첨가물 중에서 인삼발효요구르트 분말과 어울리는 적합한 첨가물을 수십 회의 예비실험을 통해 선별하여 실험하였다.

표 3-3-3. 인삼발효 요구르트 첨가 스틱형 분말 제품의 배합비

	1	2	3	4	5	6
코코아분말	10	15	20	10	15	20
세립당	85.8	80.8	75.8	83.3	78.3	73.3
인삼발효요구르트분말	2.5	2.5	2.5	5	5	5
혼합미네랄 105mg/17g	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
혼합비타민 100mg/17g	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
비타민C	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Total (%)	100	100	100	100	100	100

(나) 인삼발효요구르트 분말첨가 스틱형 제품의 관능평가

예비실험을 통해 결정된 배합비(표 3-3-3)로 제조한 분말을 과립화한 후 저지방우유에 용해하여 관능평가를 실시하였다. 관능평가용으로 제시된 시료는 저지방우유 200 mL에 분말 17 g을 용해하여 패널에게 제시하였고, 관능평가 결과는 표 3-3-4와 같다. 결과에 나타난 바와 같이 배합비의 차이가 각 음료의 기호도에 영향을 미치지 않은 것을 알 수 있었다. 단맛 기호도의 경우 설탕 첨가량이 적을수록 기호도가 높게 나타났는데 처리간 차이는 미미하게 나타났다. 맛의 어울림 면에서도 평가 점수의 차이가 거의 나타나지 않았는데 이는 설탕, 코코아분말이 함께 배합된 인삼발효 요구르트 분말의 특성을 가릴 정도의 강한 맛과 향을 가지고 있는 것이 그 이유로 생각되었다. 종합적인 기호도의 경우 설탕 80.8%, 코코아 분말 15%, 인삼발효 요구르트분말 2.5% 첨가구의 기호도 점수가 6.3점으로 가장 높게 나타나 다른 처리구와 비교하여 높은 점수를 받았다.

표 3-3-4. 인삼발효요구르트 분말첨가 스틱형 분말 제품의 관능평가

배합비	기호도평가		
	단맛	맛(어울림)	종합적 기호도
1	5.10±1.29	5.30±1.34	5.80±1.55
2	5.70±1.49	6.00±0.94	6.30±1.06
3	5.90±1.52	5.50±1.84	6.20±1.57
4	5.50±1.35	5.70±1.83	5.90±1.37
5	5.50±1.35	6.10±1.52	5.80±1.23
6	5.70±1.16	5.60±1.65	6.10±1.37

(다) 분말제품 과립화 및 용해도

다음 그림 3-3-6과 3-3-7은 현재 시판되고 있는 시제품 2종과 개발 시제품의 용해도를 비교한 그림을 나타내었다. 그림 3-3-6은 분말을 우유에 투입한 후 녹으면서 가라앉는 정도를 확인하고자 하였는데 N사 제품의 경우가 가장 더디게 녹는 것을 확인하였다. D사 제품과 개발시제품의 경우 투입즉시 우유에 녹으며 가라앉으며 비슷한 용해정도를 보였고 약간의 부유물 차이를 보였다.

그림 3-3-7에는 우유와 분말을 혼합, 교반한 후의 결과를 나타내었다. 교반 후 분말은 우유에 뭉치거나 부유물 없이 모두 녹아 분산되었고, 시제품 2종과 개발시제품 모두 일정 시간이 지난 후에 용매인 우유와 분리되어 가라앉거나 소량의 부유물이 생긴 것을 확인하였다.

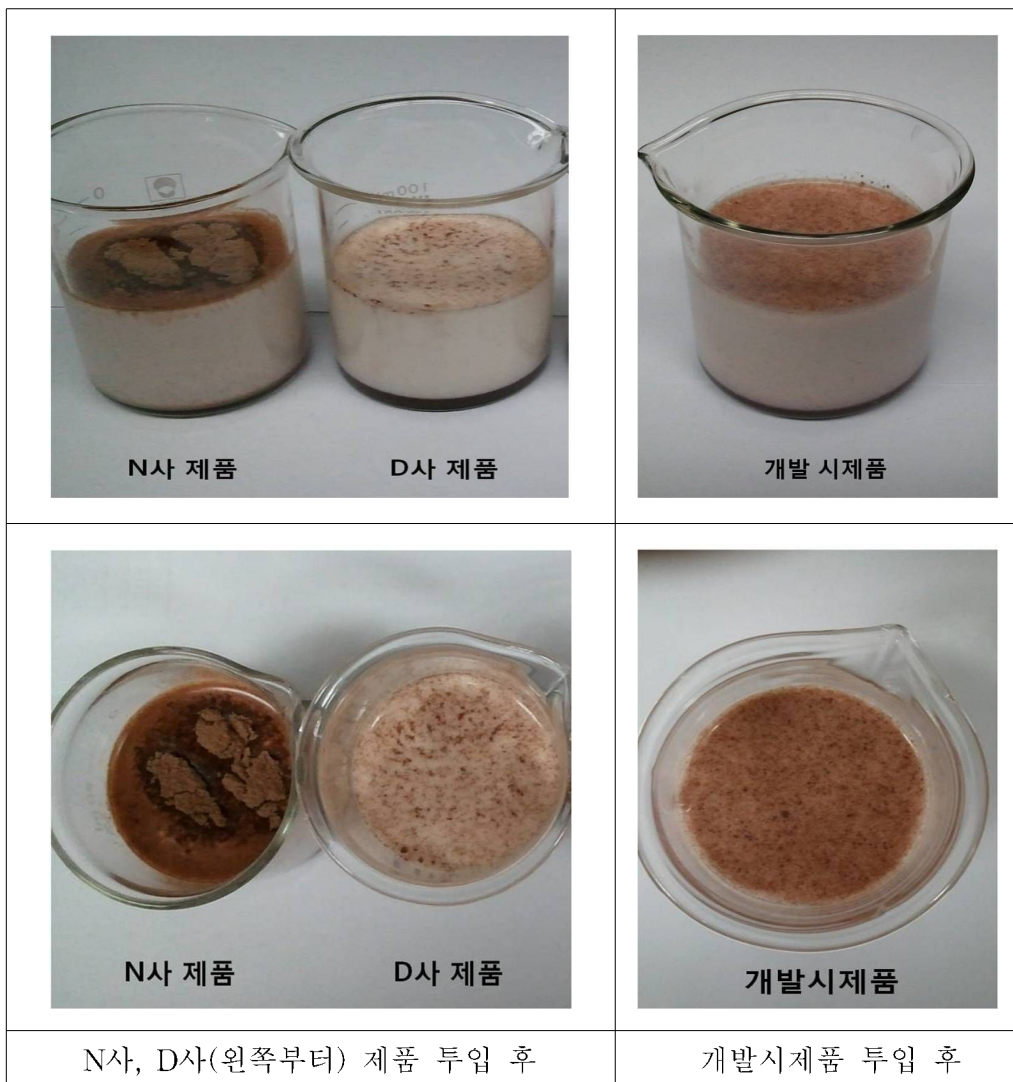


그림 3-3-6. 시판중인 제품과 개발 시제품을 우유에 투입한 후의 용해도



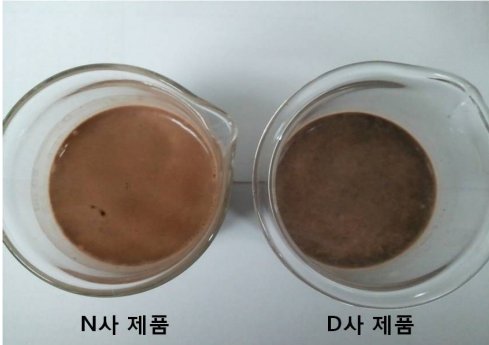

 <p>N사 제품 D사 제품</p>	 <p>개발시제품</p>
 <p>N사 제품 D사 제품</p>	 <p>개발시제품</p>
<p>N사, D사(왼쪽부터) 제품 교반 후</p>	<p>개발시제품 교반 후</p>

그림 3-3-7. 시판중인 제품과 개발 시제품을 우유에 교반한 후의 용해도

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분 (연도)	세부연구개발 목표	달성도 (%)	관련분야의 기술발전예의 기여도
1차 년도 (2008)	○ 요구르트 제조 후 희석한 발효인삼(홍삼)음료의 개발	100	○ 인삼발효요구르트 가공조건 구명
	○ 탈지분유를 사용하여 발효한 원료를 사용한 인삼(홍삼)음료개발	100	○ 인삼(홍삼)농축액, 탈지분유 및 기타 원부재료를 첨가한 발효유 가공조건 구명
	○ Spray dry 조건 설정	100	○ 발효물의 부원료의 조성을 변경하며 최적 spray dry 조건설정
	○ 인삼발효 요구르트 소재의 특성	100	○ 인삼발효 요구르트 분말의 이화학적 특성 조사
	○ 배합 기술 개발	100	○ Gum을 이용한 분산성 평가 ○ 음료의 적정 농도 및 소비층에 따른 음료 배합비 결정
	○ 인삼발효요구르트 소재에 따른 음료의 formulation	100	○ 요구르트 소재 spray dry 분말 이용 ○ 음료의 저장 중 이화학적 미생물 변화 측정
2차 년도 (2009)	○ 두유를 이용하여 요구르트 제조 후 원료 소재화	100	○ 전두유를 이용한 발효요구르트 제조 및 가공조건 설정 ○ 전두유에 인삼(홍삼) 농축액을 첨가한 발효요구르트제조 및 가공조건설정
	○ 대두분말을 사용하여 요구르트 제조 후 원료 소재화	100	○ 대두분말(백태분말)을 이용한 발효요구르트제조 및 가공조건 설정 ○ 대두분말(백태분말)을 이용한 발효요구르트제조 및 가공조건 설정
	○ Spray dry 조건 설정 및 최적의 소재개발	100	○ 대량생산에 적합한 대두발효요구르트 제조 및 분말원료화의 최적조건 설정
	○ 대두 base 인삼발효분말을 이용한 ginseng soy yoghurt 음료의 기호 개선	100	○ 대두 base 인삼 발효 분말에 어울리는 과일엑기스, 곡물혼합분 및 flavor search
	○ 대두 base 인삼발효분말을 이용한 ginseng soy yoghurt 음료의 배합비 결정	100	○ pectin, gum을 이용한 분산성 평가 ○ 음료의 적정 농도 및 소비층에 따른 음료 배합비 결정
	○ 대두 base 인삼발효분말을 이용한 ginseng soy yoghurt 음료 제품의 품질 특성	100	○ 최종 ginseng soy yoghurt 음료 제품의 관능평가 ○ 음료의 ginsenoside, isoflavone 등 유효성분 분석 ○ 음료의 저장성 및 이화학적 품질특성 평가
3차 년도 (2010)	○ 츄어블타입 제품 개발	100	○ 여러 가지 첨가물을 이용하여 츄어블 제품개발
	○ 분말형 제품 시장조사 및 분석	100	○ 우유, 두유에 섞어 먹는 초코맛, 딸기맛 분말 믹스제품 시장 분석 실시함
	○ 인삼발효요구르트 분말 믹스 타입 개발 및 시제품 생산	100	○ 인삼발효요구르트 분말을 첨가한 믹스타입 포뮬러개발
	○ 선행된 해외시장조사에 따라 다양한 시제품 제작 및 상담	100	○ 해외 상담을 통한 제품들의 수정 및 다양화, 바이어 발굴

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

연구시작시 연구개발목표로 인삼발효요구르트 원료개발, 인삼발효요구르트 음료, 인삼발효요구르트 츄어블이었다. 연구 3차년도에 추가로 우유/두유에 타먹는 그레놀 타입 분말 제품을 추가해서 연구개발을 맞추었다. 인삼발효요구르트 음료의 경우 OEM 최소생산량 협의 관계로 대량생산 및 유통이 지연되고 있다. 반면, 인삼발효요구르트 츄어블은 현재 신세계백화점과 GS슈퍼마켓에 입점되어 판매되고 있다. 현재 편의점체인과 입점상담중이다. 또한 그레놀 분말타입 제품은 하반기에 출시예정이며, 패키지 디자인 개발중이다. 연구개발목표 대비 추가 제품개발이 이루어졌다. 현재 해외바이오들과 출시된 제품을 가지고 상담중이다.

앞으로 각 국과 각 유통채널에 맞도록 제품의 내용량과 구성, 포장용기 등을 다양화 하여서 바이어들의 요구에 맞도록 꾸준한 개발을 하여 수출증대에 기여하도록 할 것이다.

인삼발효요구르트(원료:우유, 두유)원료 2건, 2 종의 원료를 바탕으로 한 제품 3종(음료, 츄어블, 그레놀분말) 등 총 8종의 연7373구개발 성과가 있었다. 이중 1건이 상품화 되어서 백화점과 SSM에서 판매중이며, 해외의 소매점에서 팔리고 있다.

예상목표와 실제목표가 차이가 나는 것은 과제 제안 당시 한국내 음료시장은 중소기업에서 출시하는 음료제품이 20%는 차지하고 있었으나, 2010년부터 급속도로 대기업위주의 음료시장으로 개편되면서 음료출시가 쉽지 않아졌다. 이로 인해 해외바이어 상담과 이루어지는 중요한 요소인 국내 판매가 실행될 수 없었다. 이 부분에서 예상 매출액이 많이 차이가 나게 되었다.

각 제품들의 목표시장과 시장전략은 충분히 사내적으로 준비되어 있으며, 연구보고서에는 영업비밀보호를 위해 자세한 것들은 누락 되었다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

인삼발효요구르트를 바탕으로 한 식품원료는 해외에서 수집한 식품원료 또는 식품첨가물 카다로그와 기술서들을 확보하였다. 이에 바탕으로 인삼발효요구르트 기술서를 준비하였다.

각국에서 수집한 요구르트 음료를 수집한 결과 저농도 음료는 일본의 칼피스사의 제품외에는 없다. 해외에서 인삼과 요구르트의 결합제품은 없는 것으로 파악되었다.

츄어블 타입은 해외의 경우 과일 함유 제품들을 수집하였다. 또한, 분말타입 제품은 초코 또는 과일향 함유 제품이 대부분이었다. 이를 참조로 하여서 추가제품 개발을 기획하고 있다.

제 7 장 참고문헌

- Lee, C.K., Choi, J.W., Kim, S.H., Kim, H.K. and Han, Y.N. : Biological activity of acidic polysaccharide of korean red ginseng I. J. Ginseng Res. 22: 260-266 (1998).
- Kim, S.W., Ryu, G.S., Hwang, S.Y., Ko, Y.S., Yoo, C.M. and Kim, S.K. : New efficient method for isolation and purification of ginsenosides. J. Ginseng Res. 22: 284-288 (1998).
- Lee, C.K., Choi, J.W., Kim, S.H., Kim, H.K. and Han, Y.N. : Biological activity of acidic polysaccharide of korean red ginseng III. J. Ginseng Res. 22: 267-273 (1998).
- Kim, C.D., In, M.J., Lee, J.Y., Hwang, Y.K. and Lee, S.D. : Antithrombin active polysaccharide isolated from the alkaline extract of red ginseng. J. Ginseng Res. 23: 217-221 (1999).
- Sung, H.S., Yang, C.B. and Kim, W.J. : Effect of extraction temperature and time on saponin composition of red ginseng extract. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 241-246 (1985).
- Sung, H.S. and Yang, C.B. : Effect of ethanol concentration on saponin composition of red ginseng extract. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 251-255 (1985).
- Lee, J.W., Do, J.H, Lee, S.K. and Yang, J.W. : Determination of total phenolic compounds from korean red ginseng, and their extraction conditions. J. Ginseng Res. 24: 64-67 (2000).
- Sohn, H.J., Jang, J.G., Lee, K.S., Kim, J.K. and Lee, Y.W. : Study on of extraction methods of saponin in ginseng products. Korean J. Ginseng Sci. 8: 32-37 (1984).
- Kong, B.M., Park, M.J., Min, J.W., Kim, H.B., Kim, S.H., Kim, S.Y. and Yang, D.C. : Physico-chemical characteristics of white, fermented and red ginseng extracts. Korean J. Ginseng Sci. 32: 238-243 (2008).
- Park, S.J., Kim, D.H., Paek, N.S. and Kim, S.S. : Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). Korean J. Ginseng Sci. 30: 88-94 (2006).

- Lee, I.S. and Paek, K.Y. : Microbiology/Fermentation : Preparation and quality characteristics of yogurt added with cultured ginseng. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 235-241 (2003).
- Kim, C.H., Park, J.S., Sohn, H.S. and Chung C.W. : Determination of isoflavone, total saponin, dietary fiber, soy oligosaccharides and lecithins from commercial soy products based on the one serving size -some bioactive compounds from commercialized soy products- Korean J. Food Sci. Technol. 34: 96-102 (2002).
- Jang, S.Y., Sin, K.A., Park, N.Y., Bang, K.W., Kim, J.H. and Jeong, Y.J. : Functional properties of hydrolysate soy milk and whole soy milk. Korean J. Food Preserv. 15: 361-366 (2008).
- Shin, H.C., Seong, H.S. and Sohn, H.S. : The industry development and health benefits of the soymilk. Korea Soybean Digest. 21: 15-27 (2004).
- Jang, S.Y., Gu, Y.A., Park, N.Y., Kim, I.S. and Jeong, Y.J. : Physicochemical property changes of whole soymilk dependent on hydrolysis conditions. Korean J. Food Preserv. 14: 394-399 (2007).
- Bae, H.C. and Nam, Y.S. : Fermentation properties of the mixed yogurt prepared with bovine milk and soybean milk. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 25: 483-493 (2005).
- Lee, Y.W., Kim, M.H., Kim, K.S. and Lee, K.A. : A study on the quality properties of Jeungpyun added with soybean yogurt. Korean J. Food Cookery Sci. 25: 387-394 (2009).
- Lee, J.H., Park, S.J. and Son, S.H. : The rheological properties and applications of modified starch and carrageenan complex as stabilizer. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 672-676 (1993).
- Bae, E.A., Han, M.J., Choo, M.K., Park, S.Y. and Kim, D.H. : Metabolism of 20(S)- and 20(R)- ginsenoside Rg3 by human intestinal bacteria and its relation to in vitro biological activities. Biol. Pharm. Bull., 25: 28-63 (2002).
- Hasegawa, H., Sung, J.H. and Benno, Y. : Role of human intestinal *prevotella oris* in hydrolyzing Ginseng saponins. Planta Med., 63: 436-440 (1997).
- Kanaoka, M., Akao, T. and Kobashi, K. : Metabolism of ginseng saponins, ginsenosides, by human intestinal bacteria. J. Tradit. Med., 11: 241-245 (1994).

주 의

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