

119114-01

기능성
보리 및 베리류를
활용한
식초
개발
및
농가
체험용
식초
제품
사업화

2021

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

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

고부가가치식품기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003413-01

기능성 보리 및 베리류를 활용한 식초 개발 및 농가 체험용 식초 제품 사업화

2021. 02. 26

주관연구기관 / (재)베리&바이오식품연구소
협동연구기관 / 상희팜푸드영농조합법인
고창베리촌영농조합법인
올라이스(주)

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

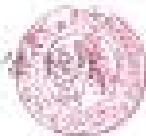
농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기능성 보리 및 베리류를 활용한 식초 개발 및 농가 제염용 식초 제품 사업화”(개발기간 : 2019. 12. 02 ~ 2020. 12. 01)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 02. 26.

주관연구기관명 : (재)베리엔바이오식품연구소

윤 기 성



협동연구기관명 : 상희푸드명농조합법인

임 영 례



고창베리손영농조합법인

최 명 순



푸을라이스

김 지 명



주관연구책임자 : 송 지 영

협동연구책임자 : 임 영 례

최 명 순

김 지 명

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	119114-01	해당단계 연구기간	2019.12.02. ~ 2020.12.01	단계구분	1차년도/ 1차년도
연구사업명	단위사업	농림축산식품연구개발사업			
	사업명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대과제명	기능성 보리 및 베리류를 활용한 식초 개발 및 농가 체험용 식초 제품 사업화			
	세부과제명	기능성 보리 및 베리류를 활용한 식초 개발 및 농가 체험용 식초 제품 사업화			
연구책임자	송지영	해당단계 참여연구원 수	총: 12명 내부: 12명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:150,000천원 민간: 50,000천원 계:200,000천원
		총연구기간 참여연구원 수	총: 12명 내부: 12명 외부: 명	총연구개발비	정부:150,000천원 민간: 50,000천원 계:200,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(재)베리&바이오식품연구소			참여기업명 상희팜푸드영농조합법인 고창베리촌영농조합법인 (주)올라이스	
국제공동연구	상대국명: (해당없음)			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (해당없음)			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반 과제
-------------------------	-------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		10-2020- 0165469						KCTC 18853P			

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수
113

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 보리식초 제조공정 확립 및 식초의 품질 규격 설정 ○ 보리식초 개발을 통한 전통식품 시장 활성화 및 농촌관광 자원 확보 ○ 연구내용 <ul style="list-style-type: none"> - 보리 종류별 성분분석 - 유색보리 및 베리류의 발효 특성 조사 - 유색보리 식초로부터 초산발효 균주 개발 - 유식보리 식초 및 베리류 혼합식초의 제조공정 확립 및 기능적 특성 분석 - 보리식초를 활용한 농가 체험용 제품개발 - 식초 및 체험용 제품 사업화
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 보리 종류별 성분분석 <ul style="list-style-type: none"> - 유색보리 5종의 일반성분을 분석한 결과 흑보리가 단백질은 가장 높고 지질은 가장 낮았으며 식이섬유 함량은 낮고 총전분은 높았음. - 보리 추출물의 항산화 성분 및 활성을 측정한 결과 흑보리에서 총폴리페놀 및 총안토시아닌 함량이 가장 높았고 DPPH 라디칼소거능, ABTS 라디칼소거능이 가장 높았음 ○ 유색보리 및 베리류의 발효 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 유색보리 5종의 알코올 발효 특성 조사 결과 발효 2일(덧술 1일) 후부터 알코올 생성이 급격히 증가하였고 발효 8일 후 쌀보리와 황맥에서 알코올 함량이 가장 높았음. 초산발효시 발효 4일부터 알코올 함량이 감소하고 초산함량이 증가하기 시작하였고 자색보리와 청색보리의 초산 생성량이 가장 높았음 - 흑보리 및 베리류를 각각 알코올 발효 후 혼합 초산발효로 제조한 식초의 특성을 조사함. 흑보리는 발효 2일부터 발효속도가 증가하면서 4일부터 완만하게 증가함. 아로니아는 발효 1일 후 알코올 발효가 급격히 증가되면서 8일 후 알코올 함량이 12.94%에 도달하였고 복분자는 알코올 발효속도가 빠르게 진행되어 4일 이후 완만해졌으며 8일차 알코올 함량이 14.77% 였음. 각각의 알코올 발효액을 알코올 함량 6%가 되도록 희석한 후 흑보리-아로니아, 흑보리-복분자를 일정비율로 혼합하여 초산발효를 진행시킴. 흑보리-아로니아 초산발효액은 흑보리 알코올 발효액을 25% 이상 첨가한 경우 산도가 크게 증가하여 약 7%에 도달하였으며 흑보리 첨가로 발효 촉진효과가 나타났음을 확인하였음. 흑보리-복분자 초산발효액은 흑보리 발효액 첨가 효과가 흑보리-아로니아 식초만큼 크지 않았음. 흑보리-아로니아 식초, 흑보리-복분자 식초에서 모두 acetic acid가 가장 높게 검출되었고 베리류 함량이 높을수록 항산화활성이 더 높았음 - 흑보리 및 베리류 혼합 알코올 발효 및 초산발효로 조제한 식초의 발효 특성을 조사함. 흑보리 당화액은 흑보리를 호정화한 후 시판용 정제 효소를 첨가하여 6시간 처리하였음. 흑보리 당화액과 복분자를 혼합하여 와인발효 방식으로 알코올 발효액을 제조한 결과 흑보리 첨가에 의해 알코올 생성이 촉진되었음. 흑보리-복분자 알코올발효액을 희석하여 초산발효를 진행한 결과 당화액을 원액으로 첨가하는 경우보다 희석해서 첨가하는 경우 초산발효가 더 빠르게 진행되었음. 혼합알코올발효로

진행한 흑보리-복분자 식초에서도 acetic acid 가 가장 높게 검출 되었고 복분자 함량이 같은 상태에서 흑보리 당화액 비율이 높을수록 항산화활성이 더 높았음

○ 유색보리 식초로부터 초산발효 균주 개발

- 곡물종초, 아로니아종초, 복분자종초에서 각각 초산균 20균주를 분리하였고 총 62균주의 우수 균주를 선발하였음. pH 및 초산 내성, 알코올 함량에 따른 내알코올성이 높은 균주 52 균주를 선정하여 16s ribosomal RNA 염기서열을 분석하였음. 산 생성 투명한 크기, pH 내성, 초산 생성, 내알코올성을 측정된 결과 최종 우수균주 5균주를 선발하였으며, 균주는 G7, G10, G15, A7, BJ20, BJ62으로 동정결과 모두 *Acetobacter pasteurianus*으로 확인되었음. 선정된 균주 5종의 생육도를 확인한 결과 BJ20 균주를 최종 선정하여 보리 및 베리류 식초를 제조하여 발효능 적합성을 평가하였음.

○ 유색보리식초 및 베리류 혼합식초의 제조공정 확립 및 기능적 특성 분석

- 흑보리-아로니아 혼합발효 식초는 흑보리는 막걸리 방식으로, 아로니아는 와인 발효 방식으로 각각 알코올발효 후 흑보리 발효액을 25% 이상 혼합하여 초산발효를 진행하고 숙성시키는 방법으로 제조공정을 확립하였음

- 흑보리-복분자 혼합발효 식초는 흑보리를 정제효소로 당화한 후 복분자와 혼합하여 와인발효 방법으로 알코올발효 한 후 초산발효를 진행하고 숙성시키는 방법으로 제조공정을 확립하였음

- 흑보리-아로니아 혼합발효 식초는 산도 6.83%, 당도 7.65 °Bx 였고 흑보리-복분자 혼합발효식초는 산도 6.17%, 당도 5.93 °Bx 였음.

○ 식초 및 체험용 제품 사업화

- 흑보리 발효식초, 흑보리-아로니아 혼합발효 식초, 흑보리-복분자 혼합발효 식초의 사업화를 위해 라벨 및 박스 디자인을 하였음.

- 흑보리 발효식초, 흑보리-아로니아 혼합발효 식초와 흑보리-복분자 혼합발효 식초의 대량생산 테스트를 통해 제조공정을 확립하고 품목제조 보고를 실시하였음.

- 흑보리-복분자 혼합발효 식초의 최종 산도는 6.03%였고 당도는 3.58 °Bx 였음. 식초음료를 개발하기 위해 관능평가를 통해 식초 함량과 당 종류, 함량을 결정하였음

- 흑보리-아로니아 혼합발효 식초의 최종 산도는 6.18%였고 당도는 6.65 °Bx 였음. 식초음료를 개발하기 위해 관능평가를 통해 당 종류, 함량, 식초의 종류를 결정하였음

○ 식초를 활용한 농가 체험용 제품개발

- 흑보리-아로니아 혼합발효 식초 및 흑보리-복분자 혼합발효 식초를 각 업체로부터 제공받아 카페형 및 체험용 제품개발을 실시함. 카페형 음료는 과일청 블렌딩 식초음료를 개발하여 베리청 발효식초에이드, 레몬청 발효식초에이드, 발효식초 아이스티, 딸기청 발효식초에이드, 베리식초 스무디, 망고와 베리식초 스무디로 활용함. 테이크아웃과 배달형태로 판매할 수 있도록 용기와 포장방법을 제시함

- 식초를 활용한 체험용 디저트 제품으로 식초를 이용한 곤약젤리를 개발하였고 발효식초 복숭아 곤약젤리, 발효식초 패션후르츠 곤약젤리, 발

	<p>효식초 레몬 곤약젤리로 활용함. 식초를 이용한 나만의 건강식초, 식초 키트를 제조하여 체험용으로 제시하였음. 발효식초를 이용한 디저트 제품으로 식초필링을 이용한 케이크, 식초크림을 이용한 마카롱, 식초고구마크림을 이용한 무스케이크, 발효식초를 이용한 젤리로 다양하게 활용하였음</p> <p>- 보리 및 베리류 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화를 위해 체험용 제품의 라벨 디자인을 제작하였고 고창에서 식초를 체험할 수 있도록 식초 체험프로그램을 개발하였음. 식초 음료와 디저트 홍보를 위해 매장과 플리마켓, 교육활동을 실시하였음</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내산 유색보리를 이용한 발효제품 개발기술 및 판로 확보를 위한 근거 자료로 활용 ○ 전통건강식품인 보리의 활용도 증가 및 보리 가공제품의 고급화 및 다양화 가능 ○ 지역 식품소재를 활용한 제품개발을 통해 농촌관광과 연계한 6차 산업 활성화 기대 ○ 지역 향토 소재를 기반으로 식초도시로써의 군정책 부합 및 농촌 특화 식문화 기반 조성 ○ 농가 활용 가공기술로서 농가 및 영농조합 기술이전을 통하여 보리의 소비촉진과 보리 재배 농가의 소득증진 기대 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>보리</p>	<p>알코올발효</p>	<p>초산발효</p>	<p>식초</p>	<p>음료</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Barley</p>	<p>Alcohol fermentation</p>	<p>Acetic acid fermentation</p>	<p>Vinegar</p>	<p>Beverage</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	8
2. 연구수행 내용 및 결과	15
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	96
4. 연구결과의 활용 계획 등	97
붙임. 참고 문헌	98

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1장 연구개발과제의 개요

1절 연구개발 목적

1. 연구개발 개요

- 전라북도는 농생명산업을 주력사업으로 추진하고 있으며 해마다 전라북도 주관으로 국제발효 식품엑스포가 열리고 있음
- 고창군은 ‘농업생명 식품산업 살려’를 군정방침으로 설정하고 오는 11월 ‘발효문화도시 고창’ 선포식을 개최함
- 맥류 재배면적 및 생산량은 12년 최소로 감소한 후 다시 증가 추세(농림축산식품부)
: 68천ha, 163천톤(00년) → 58천ha, 154천톤(06년) → 31천ha, 94천톤(12년) → 54천ha, 128천톤(18년)
2017년 기준(농림축산식품부) 전남이 16,452ha, 47,329톤으로 가장 많고 전북은 10,379ha, 32,043톤으로 2번째로 많으며 전국대비 27%를 차지함
- 고창군의 보리 생산량은 전북대비 15%를 차지하며 유색보리 생산단지를 가지고 있으며 생산 및 유통조직이 구성되어 있음. 그러나 대부분 원물판매로 선식 이외의 가공제품이 거의 없는 실정임
- 고창군은 원예작물 위주의 농업이 주로 이루어져 왔으며 발효제품으로 가공을 하고 있음. 베리류 발효 연구를 기반으로 한 베리류 식초 시장을 성장시켜왔으나, 베리류는 연간 가격변동 폭이 크고 고가의 원료로 인해 제품 가격이 높아 소비시장 확대에 한계가 있음
- 따라서 베리류 식초 제조기술 및 시설을 보리에 적용하여 보리식초 및 베리류 혼합식초를 개발하고 지역 관광상품으로 확대하여 6차산업으로 활성화시키고자 함



2. 연구개발의 목적

- 보리식초 제조공정 확립 및 식초의 품질 규격 설정
베리류 식초 제조기술 및 시설을 보리에 적용하여 **보리식초 및 베리류 혼합식초를 개발**하고 품질규격을 설정하고자 함
- 보리식초 개발을 통한 전통식품 시장 활성화 및 농촌관광 자원 확보
- **지역 관광상품으로 확대**하여 전통식품 시장을 활성화시키고 농촌관광 자원을 확보하고자 함

2절 연구개발의 필요성

1. 고창 보리의 유래 및 종류

- 보리는 전남 영광, 해남, 전북 고창, 김제, 군산 등지에서 많이 재배하고 있음. 고창은 구릉밭이 많아 밭보리를 재배하고 있어 타 지역의 논보리에 비해 알곡이 굵고 맛이 있음. 또한 청보리밭을 조성하여 2004년 말 전국 최초로 농장 주변이 경관농업 특구로 지정 됨
- **고창의 옛이름인 백제 모양부리현은 보리를 잘 키우는 마을**이라는 뜻으로 고창이 예부터 보리농사와 밀접한 지역이라는 것을 알 수 있음. 고창읍에 남아 있는 읍성의 이름도 옛이름이 남아 있어 모양성이라고 부르며 현재까지 고창 모양성제를 고창군의 대표 축제로 진행하고 있음
- 전국에서 유색보리 생산단지를 가진 곳은 고창군과 해남 뿐이며 고창군에서는 흑누리, 누리찰, 자수정, 강호청 등 향산화활성이 높은 **유색보리를 재배**하고 있음

2. 보리 가공의 한계

- 보리는 성인병 예방, 항산화, 다이어트 등의 효능을 가지고 있는 건강식품으로 인식되어 있고, 최근 기능성 곡류에 대한 현대인의 관심이 증가하므로 신제품 개발을 통한 소비 촉진이 필요함
- 보리는 전분작물이면서도 단백질이 8~15%나 들어있을 뿐만 아니라 식이섬유, 비타민 B군, 각종 무기물 등이 풍부하게 함유된 우수한 식품 자원임
- 특히 보리에는 섬유소 함량이 매우 풍부하며 대표적 식이섬유인 β -glucan(4.02~8.05%)과 tocol(42~80 mg/kg) 함량이 높아 변비해소, 대장암 발생억제, 혈중 콜레스테롤 저하 등 각종 성인병 예방에 효과가 큰 기능성물질로 알려지면서 보리의 식품학적 가치가 재평가 되고 있음
- 또한 불포화 지방산인 리놀레산 및 리놀렌산의 함량이 높아서 심장계 질환 및 각종 암예방에 효과가 있다는 보고가 있으며 GABA를 비롯한 여러 가지 생리활성 물질이 함유되어 있어 향산화 항염증 등 다양한 효능을 나타냄.
- 황색, 청색, 검정색 보리에는 delphinidin, cyanidin이, 자색 보리에는 pelagonidin이 함유되어 있고, 유색보리 추출물에 함유되어 있는 proanthcyanin은 HL60 세포분화증가 효과가 있고 보리 발효물의 색소인 hordeumin은 항돌연변이 효과가 있다고 알려짐.
- 페놀함량이 높은 유색보리 계통이 전자공여능, SOD-like 활성, lecithin 산화저해활성 등 항산

화능이 높게 나타나며, 유색보리에 대한 항당뇨, 항암효과 연구와 그에 따른 제품개발 연구가 이루어졌음.

- 이와 같이 보리는 기능성 측면에서 다른 곡류보다 우수한 점을 적극 활용하여 향후 활용분야를 확대할 수 있을 것이며 작물로서의 잠재가치가 크게 증대 될 것으로 기대할 수 있음
- **보리의 기능성이 알려지며 소비자의 관심을 불러 일으키고 있으나 장류, 보리차, 국수 제조에 이용될 뿐 가공 제품의 종류가 매우 제한적임.** 보리분말을 첨가하여 제품개발을 시도하고 있으나 보리 특유의 색이 제품의 색에 영향을 주고 거친 식감으로 기호도에 영향을 줄 수 있어 보리분말의 첨가량이나 입자크기를 조절해야 할 필요가 있음
- 농산물 수입 개방으로 가격 낮은 수입보리에 대응하기 위한 국내산 보리의 품질 경쟁력 강화가 필요하며, 최근 일본에서는 호주산 수입보리에서 기준치 5배 이상의 농약이 검출되어 문제가 됨. 국민건강을 위해 국내산 보링 산업의 경쟁력 강화가 필요함
- 농가소득 증진을 위해 **보리 가공산업이 생산, 가공, 유통에서 체험 관광까지 6차 산업화를** 통해 원물 수요를 증가시켜야 함

3. 베리류 식초 시장의 한계

- 2010년 이후 음료시장은 3B 즉, 베리(Berry), 뷰티(Beauty), 건강에 이로운(Benefit) 등의 키워드가 시장을 이끈 것으로 나타났다고 한 언론 매체는 발표했다. 블루베리와 함께 아사이베리, 크렌베리, 복분자, 오디, 아로니아 등 베리류의 인기가 높아지면서 관련 제품들이 다양하게 선보였음
- 복분자는 폴리페놀 화합물이 풍부하여 항산화활성, 항암활성, 항균 활성이 높고 간손상을 억제하고 혈중지질 및 혈압을 개선시키며 남성의 전립선 비대증을 개선시키고 자외선에 의한 피부손상을 억제한다고 보고되고 있음
- 아로니아는 방사선 조사로 감소된 백혈구를 증가시키고, 사망률은 감소시킴. 또한 면역기능 유지에 필수적인 adenosine deaminase(ADA)활성을 증가시켰으며, 세포과괴 물질인 프리라디칼의 생성을 억제하는 기능이 보고됨. 또한 간기능향상, 면역력향상, 당뇨병 개선 및 지방분해 효과, 눈 건강과 혈액순환 개선, 항암효과 등이 있다고 알려져 있음
- **베리류는 맛이 기능성이 높아 주류, 음료, 식초류로 가공이 되고 있음.** 그러나 **연간 가격 변동폭이 크고 원물의 가격이 높아** 식초 등으로 가공시 제품 원가를 상승시켜 소비시장 확대에 한계가 있음
- 고창군은 베리류 주산지로 와인, 식초 등 발효산업 확대를 위해 다방면의 노력을 하고 있으나 베리류의 원가가 높아 발효산업 활성화에 어려움이 있음
- 기능성 보리는 항산화 활성이 높아 베리류와 보리를 혼합하였을 때 베리류 함량 감소에 따른 항산화 활성 감소를 보완할 수 있고 보리의 원물가격이 베리류의 10% 이하로 식초의 원가절감과 소비자가격 인하가 가능함

4. 보리와 디저트 및 소스 산업의 연계

- 식초 시장은 1970년대에 저가의 합성식초가 주류를 이루었고 80년대에 들어서면서 주정을 희석하여 발효한 양조식초가 주로 생산되었음. 1990년대에 들어서면서 웰빙문화와 함께 100% 과실을 사용한 천연 양조식초에 관심이 높아졌으며 2000년대 이후에는 마시는 식초음료 시장이 급성장 하였음. 2010년 이후 식초시장이 약간 감소세에 들어섰으나 **2014년부터 대기업을 중심으로 천연 원료, 유기농 원료를 사용하는 프리미엄 식초시장**으로 재도약을 하고 있음
- 보리는 도정된 알곡을 주식으로 이용하거나 선식, 보리빵, 보리차 로 이용되고 있으며, 베타글루칸과 같은 기능성분 뿐만 아니라 탄수화물, 단백질 같은 영양성분이 풍부하여 후레이크, 전통주의 입국으로 사용하기 위한 연구가 시도됨. 따라서 알코올이나 초산 발효의 좋은 원료가 될 수 있음
- 식초는 조미용으로 사용되어 왔으나 최근 식초에 함유된 유기산 등 기능성이 알려지고 천연 발효식초에 관심이 증가되면서 음료의 원료로 활용되고 있음
- **HMR 시장의 확대에 따라** 드레싱을 포함한 소스 산업이 급성장 하고 있으며 식초는 드레싱 및 소스의 주 원료이므로 **식초 시장의 성장이 크게 기대됨**
- 보리 식초의 개발 및 사업화는 주식으로만 이용되는 보리의 활용도를 **소스, 디저트 분야로 확대하면서 보리의 소비를 증가시킬 수** 있으며 식초산업의 상당부분을 차지할 것임

<시대별 국내 식초시장 동향>

시대	시장동향
1970년대	저가의 합성식초
1980년대	주정 희석 발효한 양조식초
1990년대	100% 과실을 사용한 천연 양조식초
2000년대 이후	마시는 식초음료 시장 급성장 2014년부터 프리미엄 식초시장 재도약



<고창군 베리류 식초 제품들>



<마시는 식초시장 빅3기업의 프리미엄식초 재도약>

5. 식초도시로써 농촌관광 산업 활성화

- 일본 가고시마현에서는 현미와 누룩, 천연 암반수로 발효하고 1년 이상 장기 숙성하는 흑초를 개발하여 지역 관광상품으로 발전시켰으며 6차산업화의 롤모델이 되고 있음
- 발효식품의 본고장인 전라북도에서 고창군은 ‘식초도시 고창 선포식’을 개최하고 식초산업을 군정 정책과 부합하는 농생명 식품산업의 주요 사업으로 추진할 계획임
- 고창은 **흑보리 등 유색보리 생산단지**가 있어 보리식초 생산에 유리하며 일본의 현미로 제조한 흑초와 차별화 할 수 있음
- 또한 기존 식초 제품은 베리류 또는 곡물 단독으로 발효시키거나 주정발효 식초와 베리류를 혼합하는 제품들이 시판되므로 베리류와 곡물을 혼합발효시키는 조건을 정립하므로써 기존제품과 차별화 할 수 있음
- 고창 전통발효식초 연구회를 중심으로 유색 보리를 활용한 제품 개발과 사업화를 통해 **고창의 대표 관광상품**으로 자리잡을 것



<가고시마 가쿠이다 흑초(현미식초)>

3절 연구개발 범위

1. 연차별 개발목표 및 내용

가. (재)베리&바이오식품연구소 : 기능성 보리 및 베리류를 활용한 혼합발효 식초 개발

(1) 보리 종류별 성분분석

(가) 일반성분(수분함량, 단백질 함량, 지질 함량, 회분 함량), 식이섬유, β -글루칸, 아미노산, 지방산 등 분석

(나) 보리 추출물의 항산화 성분 및 활성 분석

① 총폴리페놀 및 안토시아닌 함량

② DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

(2) 유색보리 및 베리류 혼합 발효액의 발효 특성 조사

(가) 유색보리 및 베리류 혼합발효액의 알코올 발효특성 확인

① 발효 온도, 시간 및 당도, 알코올 함량 등

② 유색보리 및 베리류의 단행 복발효 방식 적성 평가

③ 유색보리 및 베리류 병행 복발효 방식 적성 평가

(나) 유색보리 및 베리류 혼합발효액의 초산 발효특성 확인

① 발효 온도, 시간 및 알코올 함량, 초산 함량 등

(다) 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초의 이화학적 특성 분석

① pH, 산도, 당도, 색도, 알코올 함량, 초산 함량 등

(라) 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초의 항산화 활성 분석

① 총폴리페놀 및 안토시아닌 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

(3) 보리식초로부터 초산발효 균주 개발

(가) 초산발효액으로부터 균주 분리 및 특성조사

① *Acetobactor* spp. 1종 이상 분리 및 선발

② 배지를 통한 초산 과산화, 초산 및 pH 내성, 내알코올성 및 생육도 우수 균주 분리 및 선발

③ 선발된 균주를 이용한 보리 및 베리류의 발효능 적합성 평가를 통한 최종 우수 균주 선발

(4) 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조공정 확립 및 기능성 특성 분석

(가) 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조에 적합한 보리 품종 및 베리류 선정

(나) 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조 조건 표준화

(다) 식초의 이화학적 특성 분석 → pH, 산도, 당도, 색도, 알코올 함량, 초산 함량 등

(라) 식초의 항산화 활성 분석 → 총폴리페놀 및 안토시아닌 함량,

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

나. 신토복분자영농조합법인 : 보리 및 복분자 혼합발효 식초 음료 사업화

(1) 보리 및 복분자 혼합발효 식초를 활용한 제품개발

(가) 보리 및 복분자 혼합발효 식초 대량생산 공정 확립 및 적용

(나) 보리 및 복분자 혼합발효 식초를 이용한 음료 개발

- 관능평가를 통한 레시피 확립

(2) 보리 및 복분자 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화

- (가) 식초 및 음료의 포장디자인 개발
- (나) 식초 및 음료의 시제품 생산
- (다) 식초 및 음료의 홍보 및 판로 개척
 - 체험농장, 축제장을 활용한 시음 시식 및 홍보

다. 고창베리촌영농조합법인 : 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 음료 사업화

- (1) 보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 활용한 제품개발
 - (가) 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 대량생산 공정 확립 및 적용
 - (나) 보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 이용한 음료 개발
 - 관능평가를 통한 레시피 확립
- (2) 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화
 - (가) 식초 및 음료의 포장디자인 개발
 - (나) 식초 및 음료의 시제품 생산
 - (다) 식초 및 음료의 홍보 및 판로 개척
 - 체험농장, 축제장을 활용한 시음 시식 및 홍보

라. (주)올라이스 : 체험용 식초제품 개발 및 사업화

- (1) 보리 및 베리류 혼합발효 식초를 활용한 농가 체험용 제품개발
 - (가) 식초를 이용한 카페형 음료 레시피 개발
 - 관능평가를 통한 레시피 확립
 - (나) 식초를 이용한 체험용 디저트 레시피 개발
 - 관능평가를 통한 레시피 확립
 - (다) 식초를 이용한 카페형 및 체험용 음료 및 디저트 제조공정 확립
- (2) 보리 및 베리류 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화
 - (가) 식초를 이용한 체험용 디저트 포장용 라벨 디자인 개발
 - (나) 식초 체험 프로그램 개발
 - (다) 식초 음료 및 디저트 홍보 및 판로 개척
 - 직영매장 및 플리마켓을 활용한 홍보

2장 연구수행 내용 및 결과

2-1장 제1세부과제 - (재)베리&바이오식품연구소

: 기능성 보리 및 베리류를 활용한 혼합발효 식초 개발

1절. 보리 종류별 성분분석

1. 성분분석

가. 실험방법

(1) 일반성분 분석

유색보리 5종은 색이 서로 다른 쌀보리, 흑보리, 황색보리(찰보리), 자색보리, 청색보리를 선정하였고 식초의 원료로 사용하기 위한 특성을 분석하였다. 일반성분은 보리를 분말화한 후 AOAC법(2000)으로 분석하였다. 수분함량은 상압가열건조법, 조단백은 단백질 자동측정장치로, 조지질은 에테르를 용매로 사용하여 지방자동추출장치로 측정하였다. 조회분은 550℃ 전기회화로를 이용한 직접 회화법으로 측정하였다.

(2) 총식이섬유 및 총전분, 손상전분, 색도

유색보리 5종을 보리를 분말화한 후 총식이섬유 및 총전분, 손상전분, 색도를 측정하였다. 총식이섬유 함량은 Total dietary fiber assay kit(TDF-100A, Sigma-aldrich, Saint Louis, MO, USA)를 사용하여 AOAC방법에 따라 측정하였다. 총전분 함량은 Megazyme kit(K-TSTA Megazyme International Ltd., Wicklow, Ireland)로 AACC 76-13(2012)의 방법에 따라 측정하였고, 손상전분 함량은 Starch Damage kit (Megazyme International Ireland, Ireland)를 이용하여 AACC 76-31의 방법에 따라 측정하였다.

유색보리 5종 분말의 색도는 Spectrophotometer(CM-5, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter의 L, a, b 값을 얻었다. L값은 명도(lightness)를 나타내며, +a는 적색도(redness), +b는 황색도(yellowness)를 나타내었다.

(3) 아미노산 및 지방산 측정

아미노산 분석은 HPLC로 분석하였다. Borate buffer, OPA/MPA, Fmoc 시약을 시료와 단계적으로 혼합한 후 반응이 완료되면 시료를 칼럼에 주입하여 분석하였다. HPLC조건은 Dionex Ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA)로 분석하였고, 칼럼은 VDSpher 100 C18-E (4.6mm x 150mm, 3.5um/VDS optilab, Germany)을 사용하였다.

지방산 측정은 Lepage and Roy의 방법에 따라 시료를 methyl ester 처리한 후 GC로 분리 정량 하였다. GC 분석조건은 Agilent 7890A(Agilent, USA)로 분석하였고, 칼럼은 DB-23(Agilent, 60mm*0.25mm*0.25um)을 사용하였다. 시료 주입구와 검출기 온도는 모두

250℃, 이동상 기체 He의 유속은 1.1 mL/min이었다. 일정량의 시료를 Teflon cap이 있는 튜브에 넣고 Methylation mixture(MeOH:Benzen:DMP:H2SO4=39:20:5:2)를 340uL, heptane 200uL를 넣어 흔든 후 80℃에서 2시간 추출한다. 추출 후 사온 냉각하여 형성된 두 층 중 상층액을 일정량 추출 후 GC로 분석하였다.

(4) 시차주사열량계(DSC)를 사용한 열적 특성 분석

열적 특성은 Differential Scanning Calorimeter(DSC, DSC-Q1000, Universal V.3.6C TA Instruments, Olivia Gibson, UK)로 분석하였다. 기기온도 검증을 위해서 indium을 사용하였다. 시료 유색보리가루(3.0 mg)과 증류수(6.0 mg)를 알루미늄 팬에 넣고 밀봉한 다음 상온에서 24시간 방치하여 평형에 도달하도록 하였다. DSC는 가열속도 10℃/분으로 하여 30℃에서 130℃까지 가열하면서 thermogram을 얻었다. 이로부터 onset temperature (To), peak temperature (Tp), conclusion temperature (Tc)와 thermal enthalpy (ΔH , J/g)를 구하였다.

나. 유색보리 5종의 외관 및 색도

유색보리 5종은 그림 1과 같이 형태는 비슷하지만 종류에 따라 다른 색을 띠었고 보리를 분말화하여 색도를 측정된 결과는 아래 표 1과 같았다. 명도 값인 L 값은 쌀보리와 찰보리가 각각 90.35 ± 0.16 과 90.46 ± 0.40 으로 가장 높게 나타냈으며 검정보리가 80.86 ± 1.51 로 가장 낮은 명도 값을 보였다. 적색도인 a 값은 청색보리가 -0.24 ± 0.01 로 가장 낮은 값을 보였고 자색보리가 1.38 ± 0.08 로 가장 높은 적색도 값을 보였다. 황색도 값인 b 값은 찰보리가 10.08 ± 0.32 로 가장 높았으며 청색보리가 5.10 ± 0.08 로 가장 낮은 값을 나타냈다.



쌀보리

흑보리

황색보리(찰보리)

자색보리

청색보리

그림 1. 유색보리 5종의 외관

표 1. 유색보리 5종의 색도

	L	a	b
쌀보리	90.35±0.16	1.05±0.06	9.50±0.20
흑보리	80.86±1.51	0.72±0.05	5.89±0.21
황색보리	90.46±0.40	0.82±0.05	10.08±0.32
자색보리	86.71±0.40	1.38±0.08	7.33±0.17
청색보리	87.66±0.09	-0.24±0.01	5.10±0.08

다. 일반성분

식초 제조에 적합한 보리 품종을 선택하기 위해 고창에서 재배되는 보리 5종을 구입하여 분말화하고 일반성분을 분석한 결과는 표 2와 같았다. 일반성분 중 수분함량은 9.14~9.95%의 범위를 나타냈고 청색보리가 가장 높았다. 단백질 함량은 평균 10.16~11.84% 였으며 시료간에 비슷한 함량을 함유하고 있었다. 지질함량은 0.66~1.76%의 범위를 나타냈는데 가장 낮은 값을 나타낸 검정보리에 비해 쌀보리의 지질 함량이 약 2.7배 높은 1.76±2.10%를 나타냈다. 회분 함량에서도 쌀보리가 2.51±0.95%로 다른 품종의 보리에 비해 높은 값을 나타냈으며 0.67±0.09%로 가장 낮은 값을 보인 청색보리에 비해 약 3.7배 높은 값을 나타냈다.

유색미와 백미의 비교연구에 의하면 조희분과 조지방의 경우 유색미가 백미의 2배 이상을 함유한 것으로 나타났다고 보고되었으며, 이는 백미가 도정 중 60-80% 정도의 표피층을 소실하기 때문이라는 연구결과가 있는데 이는 품종과 도정률이 일반성분 값에 영향을 줄 것으로 생각하였다.

표 2. 유색보리 5종의 일반성분 분석(%)

	수분함량	단백질	지질	회분
쌀보리	9.50±0.73	10.95±0.35	1.76±2.10	2.51±0.96
흑보리	9.14±0.24	11.84±0.28	0.66±0.18	1.03±0.05
황색보리	9.34±0.43	10.16±0.10	0.80±0.32	1.31±0.38
자색보리	9.40±0.05	11.08±0.09	0.82±0.15	1.41±0.32
청색보리	9.95±0.16	11.41±0.08	0.75±0.28	0.67±0.09

라. 식이섬유 및 총전분, 손상전분

유색보리 5종을 분말화한 후 식이섬유, 총전분, 손상전분을 측정된 결과는 표 3과 같았다. 식이섬유 함량은 6.96~12.76%이었고 쌀보리와 자색보리의 식이섬유 함량이 가장 높았다. 총전분은 47.72~57.64%로 식이섬유 함량과 반대로 쌀보리와 자색보리는 낮고 청색보리와 찰보리가 높았다. 손상전분은 2.24~4.74% 였다. 식이섬유와 총전분 함량은 도정률에 따라 달라지며 알코올 발효에 영향을 주는 중요한 요인이다.

박 등(2015)은 보리의 품종과 도정률이 막걸리 품질에 미치는 영향을 조사한 결과 도정률이 증가함에 따라 탄수화물은 증가하고 그 외 성분은 감소하였으며, 이는 도정에 따라 외피와 호분층이 제거되고 상대적으로 내부 전분층 비율이 높아지기 때문이라고 보고하였다.

표 3. 보리 5종의 식이섬유, 총전분, 손상전분

	식이섬유	총전분	손상전분
쌀보리	12.04±0.50	47.72±1.21	4.61±0.11
흑보리	8.78±0.33	52.01±2.25	2.24±0.14
황색보리	7.71±0.16	55.57±0.76	4.74±0.22
자색보리	12.76±1.83	48.62±1.23	3.55±0.12
청색보리	6.96±1.23	57.64±0.25	2.25±0.22

마. 아미노산 및 지방산

(1) 유색보리 5종의 지방산 함량

유색보리 분말 5종의 지방산 조성은 아래 표 4와 같았다. 보리의 주요 지방산은 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, Alpha-linolenic acid와 Eicosenoic acid가 검출되었다. 모든 시료에서 필수지방산인 linoleic acid 함량이 가장 높았으며, palmitic acid는 5.378~6.496 mg/g, stearic acid는 0.272~0.468 mg/g, oleic acid는 2.504~4.236 mg/g, linoleic acid는 10.781~14.318 mg/g, Alpha-linolenic acid는 0.614~1.035 mg/g, Eicosenoic acid는 0.129~0.190 mg/g의 범위를 나타냈다.

표 4. 보리 5종의 지방산 (mg/g)

	쌀보리	흑보리	황색보리	자색보리	청색보리
Palmitic acid (hexadecanoic acid)	5.48±0.02	5.62±0.00	6.50±0.00	6.04±0.02	5.38±0.04
Stearic acid (octadecanoic acid)	0.27±0.00	0.47±0.04	0.39±0.20	0.42±0.01	0.39±0.02
Oleic acid	2.50±0.00	3.18±0.01	3.18±0.01	4.24±0.04	2.60±0.11
Linoleic acid	10.78±0.01	12.62±0.11	13.85±0.00	14.32±0.03	11.49±0.05
Alpha-linolenic acid (ALA)	0.79±0.01	0.84±0.01	1.04±0.21	0.81±0.01	0.61±0.12
Eicosenoic acid	0.13±0.01	0.15±0.03	0.18±0.01	0.19±0.01	0.14±0.03

(2) 유색보리 5종의 아미노산 함량

보리 5종의 아미노산의 함량을 분석하고 그 결과 값을 아래 표 5에 나타냈다. 전반적으로 Asparagine의 함량이 다른 성분들에 비해 많이 함유되어 있었으며 보리에 가장 적게 함유된 아미노산은 methionine으로 분석되었다. 검정보리와 쌀보리가 Asparagine 함량이 각각 560.83과 518.84 mg/kg으로 가장 높게 나타났으며 Glutamic acid는 쌀보리와 황색보리(찰보리)가 높게 나타났으며 Aspartic acid에서도 쌀보리가 471.26 mg/kg으로 가장 높게 나타냈다. 보리의 제한아미노산인 Lysine은 19.47~29.40 mg/kg이었으며 자색보리에 가장 많이 함유되어 있었다. 쌀보리는 Aspartic acid와 Asparagine 함량이 가장 높았고, 흑보리는 Asparagine, 황색보리와 청색보리는 Glutamic acid와 Asparagine, 자색보리는 Asparagine과 Tryptophane이 가장 많이 함유되어 있었다.

표 5. 보리 5종의 아미노산 (mg/Kg)

	쌀보리	흑보리	황색보리	자색보리	청색보리
Aspartic acid	471.26±1.56	181.72±0.01	136.94±0.02	145.02±0.03	186.01±0.10
Glutamic acid	258.96±0.17	201.90±0.00	247.55±0.02	197.73±0.01	220.61±1.06
Asparagine	518.84±1.14	560.83±0.00	191.83±0.11	278.75±0.15	287.47±1.70
Serine	34.55±0.02	32.67±0.01	34.16±0.08	27.41±0.03	23.85±0.03
Glutamine	198.36±0.00	178.02±0.01	97.48±0.07	91.85±0.01	118.49±0.26
Histidine	57.64±0.11	29.11±0.01	25.41±0.04	22.94±0.21	41.77±0.04
Glycine	31.15±0.00	33.33±0.00	18.24±0.05	29.05±0.14	21.12±0.00
Threonine	33.42±0.03	32.01±0.00	23.65±0.00	30.43±0.08	19.48±0.01
Arginine	54.10±0.02	61.26±0.01	26.83±0.00	41.89±0.03	33.48±0.07
Alanine	92.64±0.10	84.14±0.03	94.00±0.01	91.49±0.12	61.00±0.11
GABA	28.91±0.02	55.02±0.01	59.66±0.02	81.07±0.10	59.66±0.02
Tyrosine	26.43±0.00	24.78±0.02	25.67±0.04	26.46±0.05	19.43±0.05
Valine	55.33±0.06	57.37±0.00	48.34±0.02	41.95±0.03	34.40±0.10
Methionine	7.67±0.00	9.40±0.05	5.05±0.06	6.09±0.00	6.65±0.00
Tryptophane	136.22±0.03	89.76±0.01	113.22±0.12	208.91±0.14	104.26±0.17
Phenylalanine	42.65±0.02	35.47±0.04	39.36±0.08	29.08±0.03	26.31±0.07
Isoleucine	22.20±0.01	22.53±0.02	19.94±0.06	18.71±0.26	13.26±0.12
Leucine	21.78±0.08	22.79±0.02	24.58±0.12	20.42±0.03	18.06±0.06
Lysine	24.97±0.00	25.97±0.01	19.47±0.09	29.40±0.11	19.98±0.03
Proline	180.35±0.01	61.71±.00	68.08±0.00	41.67±0.08	98.78±0.18

바. 보리 5종의 열적 특성

보리 품종의 열적 특성을 시차주사열량계를 이용하여 측정한 결과 아래 그림과 표 6과 같이 나타났다. 보리 5종의 호화개시온도는 60.12~65.19°C 였고 호화종료온도는 70.55~75.48°C 였으며, 온도범위는 9.80~13.08°C, 용융엔탈피는 1.77~2.06 J/g으로 보리의 품종에 따라 차이를 나타냈다.

쌀보리와 자색보리가 유사한 호화온도 범위를 나타냈고 다른 품종의 보리에 비해 호화개시온도가 높았으며, 검정보리와 청색보리는 유사한 호화온도 범위를 나타냈다. 찰보리는 호화피크가 가장 넓은 범위에서 나타났고, 용융엔탈피는 자색보리와 청색보리가 가장 높아 다른 품종보다 결정구조가 더 크을 알 수 있었다.

표 6. 온도별 조건에 따른 보리분말의 열적 특성

	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	Range (T _c -T _o)	ΔH (J/g)
흑보리	60.61±0.47	65.10±0.36	70.55±0.43	9.94±0.04	1.77±0.18
쌀보리	65.19±0.30	69.83±0.47	74.99±0.80	9.80±0.49	1.92±0.06
자색보리	65.17±0.34	69.99±0.84	75.48±2.69	10.31±2.35	2.06±0.42
찰보리	60.12±0.01	67.67±0.35	73.20±0.71	13.08±0.69	1.77±0.13
청색보리	60.28±0.33	65.01±0.11	70.94±0.08	10.66±0.25	2.06±0.18

2. 보리 추출물의 항산화 성분 및 활성 분석

가. 실험방법

유색보리의 항산화활성을 분석하기 위해 분말 30 g에 시료 무게의 10배의 methanol을 가한 후 상온에서 24시간 교반 추출하였다. 추출 후 고형분은 filter paper(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 분리하였으며 상등액은 감압 농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였으며, 모든 추출물의 농도를 10 mg/mL로 조정하여 -80°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 총 폴리페놀 함량은 건강기능식품공전 방법(2012)을 응용하여 측정하였고, 총 안토시아닌 함량은 Kim YD 등(1998)의 방법을 응용하여 측정하였으며, DPPH 라디칼 소거능은 Choi 등(1993)의 방법을 일부 변형하여 측정하였고, ABTS 라디칼 소거능은 Arts MJTJ 등(2004)의 방법을 응용하여 측정하였다.

나. 총폴리페놀 화합물 및 안토시아닌 함량

유색보리의 총폴리페놀 화합물과 총안토시아닌 함량을 측정한 결과 총폴리페놀 화합물은 65.02~123.16 mg/mL였고, 총안토시아닌 함량은 0.02~1.39 mg/mL였다. 흑보리, 자색보리, 청색보리의 경우 총폴리페놀 함량이 다른 종류에 비해 높았고 총안토시아닌은 흑보리에서 가장 높은 것을 확인할 수 있었다.

표 7. 품종별 보리 총 폴리페놀과 총 안토시아닌 함량

	Total polyphenol contents (TAE ¹⁾ mg/mL)	Total anthocyanin contents (CYE ²⁾ mg/mL)
황맥	65.02±0.23	0.02±0.21
쌀보리	113.24±0.15	0.06±0.11
흑보리	123.16±1.31	1.39±0.62
자색보리	122.48±1.23	0.21±0.36
청색보리	121.03±4.08	0.21±0.25

¹⁾Total polyphenol contents was expressed as mg tannic acid (TAE) per mL

²⁾Total anthocyanin contents was expressed as mg cyanidin (CYE) per mL.

다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

유색보리 추출물의 항산화활성을 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능으로 측정하여 IC₅₀값을 아래 표 8에 나타냈다. 유색보리의 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능의 IC₅₀값은 각각 67.06~110.72 mg/mL, 78.24~110.11 mg/mL 이었다. 두 가지 방법으로 측정된 항산화활성 결과는 총페놀화합물과 총안토시아닌 함량에서와 같은 경향으로 흑보리, 자색보리, 청색보리의 IC₅₀값이 낮았고, 특히 흑보리에서 가장 낮게 나타나 흑보리의 항산화활성이 가장 높은 것을 알 수 있었다.

표 8. 품종별 보리의 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능

	DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity
	IC ₅₀ value(mg/mL) ¹⁾	
황맥	110.72±0.28	110.11±0.92
쌀보리	94.08±0.28	106.28±1.03
흑보리	67.06±1.12	78.24±0.21
자색보리	85.34±1.25	83.74±1.18
청색보리	86.06±1.22	85.34±1.05

¹⁾Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determination, obtained by interpolation of concentration inhibition curve.

2절. 유색보리 5종 식초의 발효특성 조사

보리와 베리류 혼합식초에 사용할 보리를 선정하기 위해 유색보리 5종을 원료로 각각 알코올 발효 방법과 초산발효를 진행하여 식초를 제조하였다.

1. 유색보리 5종의 알코올 발효 특성

가. 실험방법

유색보리는 (주)청맥농업회사법인(고창군)에서 도정된 상태로 구입하여 그림 2와 같이 증자 2단 담금으로 막걸리를 제조하였다. 먼저 보리 900 g을 세척하여 6시간 수분이 포화상태에 도달하도록 불린 후, 1시간 증자하여 식히고 효모 24 g, 누룩 18 g과 물 1,120 mL을 고루 섞어 주었으며, 24시간 후 동일한 시료의 보리 2,100 g을 1차와 동일하게 불려 증자하고 누룩 42 g과 물 2,630 mL를 섞고 7일간 발효 시킨후 착즙포에 여과시켜 분석용 시료와 초산발효 원료로 사용하였다.

유색보리 5종으로 제조한 각각의 알코올 발효액의 특성을 조사하였다. 알코올은 발효 기간에 따라 당도 및 pH를 각각 당도계와 pH meter로 측정하였고, 산도는 0.1 N NaOH를 사용하여 중화적정에 소요되는 양을 측정한 후 초산 함량으로 환산하였다. 시료의 알코올 함량은 알콜라 이저를 이용하여 측정하였다.

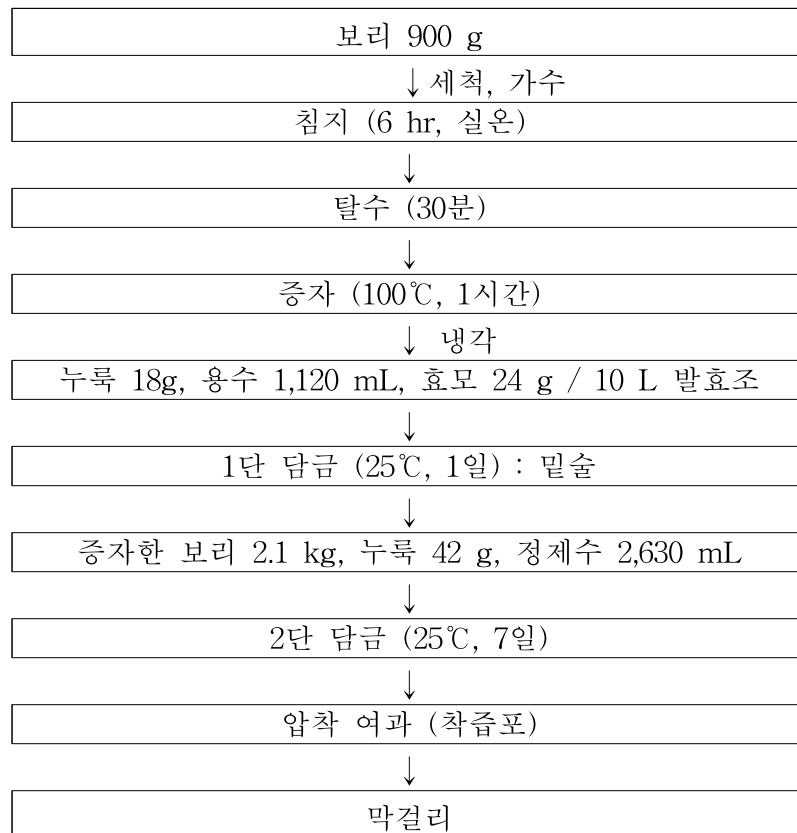


그림 2. 보리 5종의 알코올(막걸리) 발효 방법

나. 유색보리 5종의 알코올 발효 특성

유색보리 5종의 알코올 발효 특성을 조사하기 위해 각각 막걸리를 제조한 후 8일간 발효시키면서 알코올, 당도, pH, 산도를 측정하였고 결과는 그림 3에 나타냈다. 알코올 함량은 발효 2일 이후(덧술 1일 후) 급격히 증가하였고 4일차부터는 증가속도가 완만해졌으며, 8일 후 알코올 함량은 6.40~9.14%까지 증가하였고, 쌀보리의 알코올 함량이 가장 높았다. 당도는 1일 후(덧술 0일)후부터 급격히 증가하여 4일 이후 부터는 완만해졌으며, 8일 후 7.05~12.60°Bx에 도달했고 황맥과 자색보리의 당도가 가장 높았다. pH는 발효기간 동안 거의 변화가 없었고 3.58~3.70으로 거의 비슷한 값은 나타냈다. 산도는 1일 후부터 급격히 증가하여 4일 이후 완만해졌으며 최종 산도는 0.61~0.77%였고 시료간의 차이는 거의 없었다.

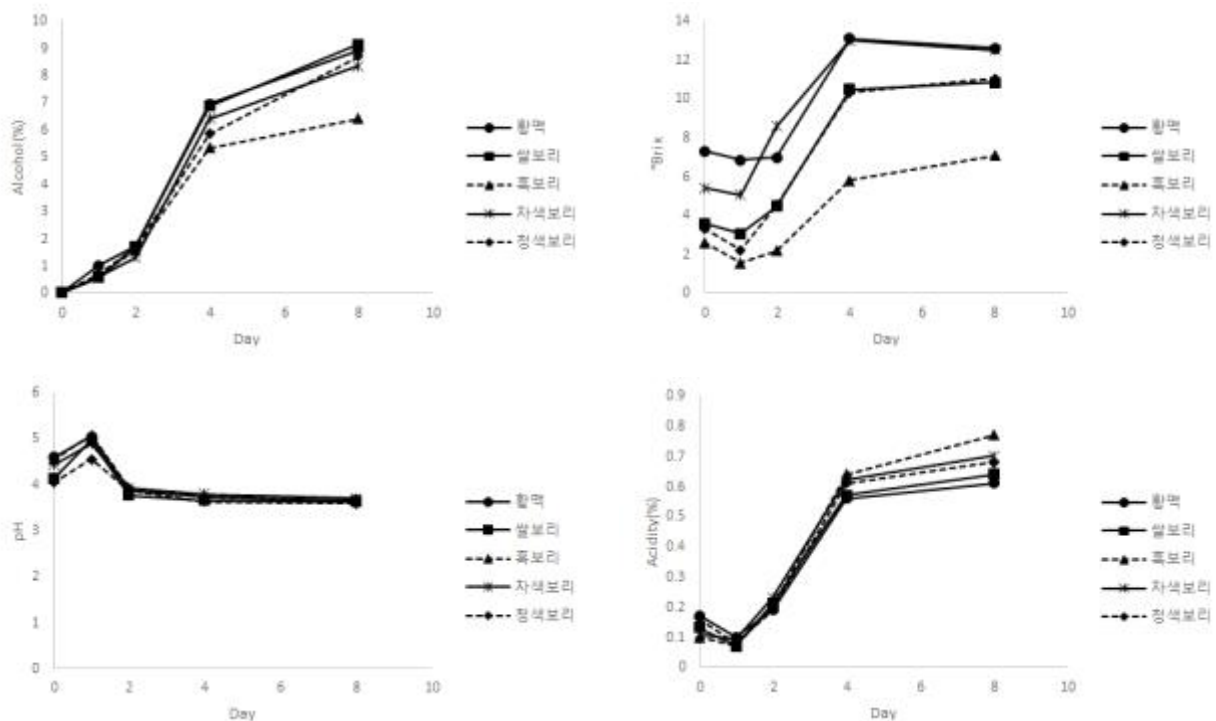


그림 3. 보리 5종의 알코올(막걸리) 발효 특성

2. 유색보리 5종의 초산 발효 특성

가. 실험방법

유색보리 5종의 초산발효를 위해 각각의 유색보리 알코올 발효액(막거리)을 알코올 농도가 6%가 되도록 희석한 후 초산발효를 그림 4와 같이 진행하였다. 유색보리 알코올발효액(막거리)에 빙초산으로 초기산도를 2%로 조정한 후 종초를 10% 첨가하여 30℃에서 21일간 발효를 시키면서 식초를 제조하였다.

발효과정 중 초산 발효 특성은 알코올 발효액에서와 같은 방법으로 당도 및 산도, pH, 알코올 함량을 측정하였다.

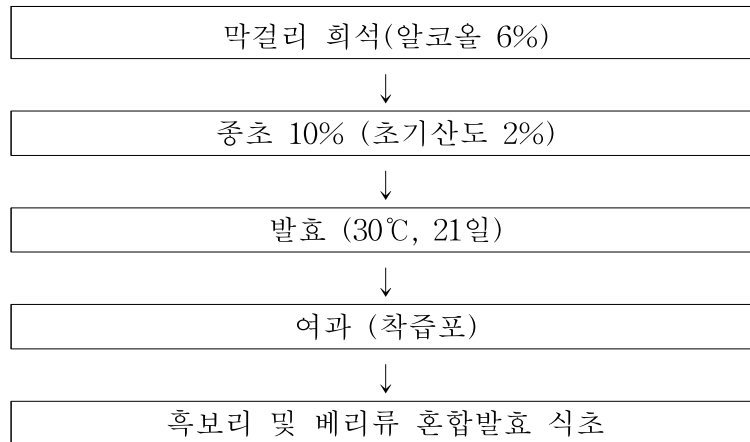


그림 4. 유색보리 5종 알코올 발효액의 초산발효 과정

나. 유색보리 5종 알코올 발효액의 초산 발효 특성

유색보리 막걸리는 6%가 되도록 희석한 후 종초를 첨가하여 초산발효를 진행하였다. 발효기간 동안 알코올 함량, 당도, pH, 산도를 측정하였고 결과는 아래 그림 5와 같이 나타났다. 알코올 함량은 발효기간 동안 점차 감소하여 발효 21일 후 0.42~2.84%였고 자색보리와 청색보리의 알코올 함량이 가장 낮았다. 당도는 초산 발효기간 동안 일정하게 유지되었고 발효 21일 후 7.2~9.3°Bx를 나타냈다. pH는 발효기간 동안 비슷한 값을 유지하였고 시료 간에도 큰 차이가 없었다. 산도는 발효 4일 이후 증가하기 시작하였고 21일 후 5.01~6.83%에 도달했고 자색보리와 청색보리의 산도가 가장 높았다. 황맥과 쌀보리, 흑보리는 다른 시료에 비해 초산발효가 서서히 일어났고 알코올 함량이 남이 있어 발효기간을 연장하면 초산이 더 생성될 수 있을 것으로 판단하였다.

초산발효는 자색보리와 청색보리가 빠르게 일어났지만 흑보리의 안토시아닌 함량이 높고 원료 수급이 원활하므로 베리류와 혼합발효 향산화활성을 유지하기 위해 흑보리를 혼합발효 원료로 선정하였다.

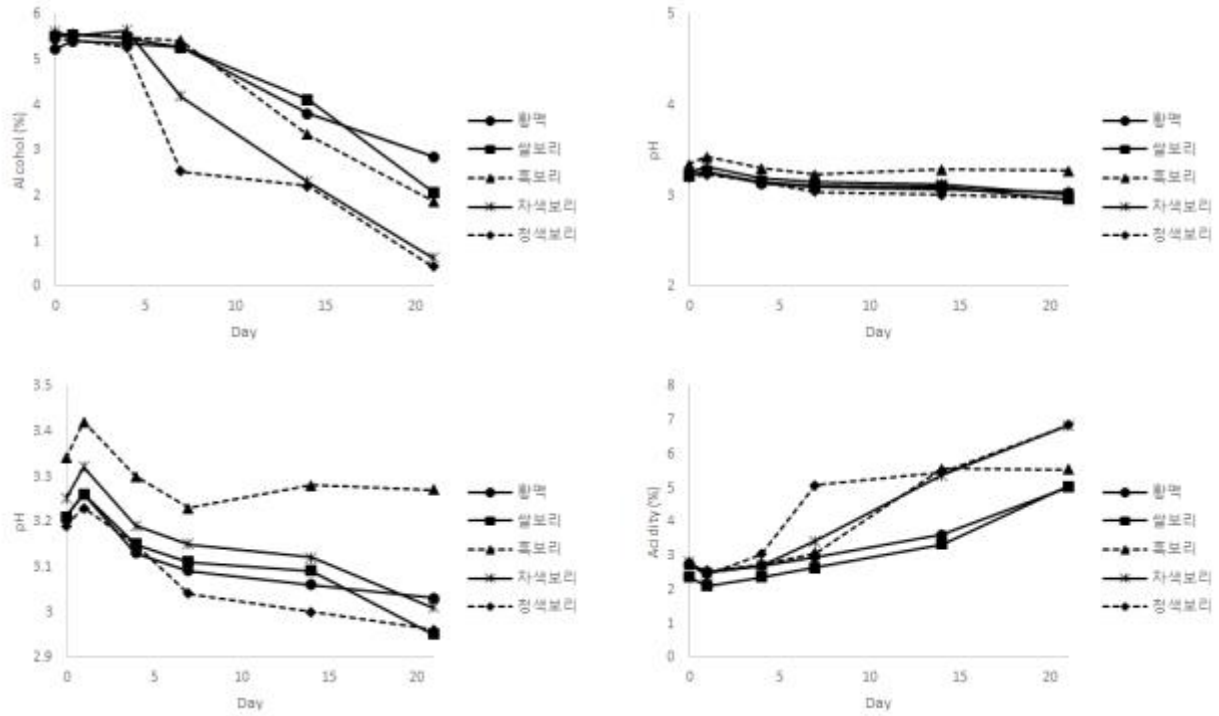


그림 5. 유색보리 5종 알코올 발효액의 초산 발효 특성

3절. 흑보리 및 베리류 혼합 발효 식초의 발효 특성 조사

1. 흑보리 및 베리류의 개별 알코올 발효 후 혼합 초산 발효로 제조한 식초의 특성

흑보리와 베리류의 특성에 적합하도록 흑보리는 막걸리발효 방법으로, 베리류는 와인발효 방법으로 각각 알코올 발효한 후 일정 비율로 알코올을 혼합하고 초산발효를 진행하여 식초를 제조하였다.

가. 실험방법

(1) 흑보리 알코올 발효액 제조

흑보리는 (주)청맥농업회사법인(고창군)에서 도정된 상태로 구입하여 2절. 1. 가의 그림 2와 같이 증자 2단 담금으로 막걸리를 제조하였다. 먼저 흑보리 900 g을 불려서 증자하여 식히고 효모 24 g, 누룩 18 g과 물 1,120 mL을 고루 섞어주었으며, 24시간 후 동일한 시료인 흑보리 2,100 g을 1차와 동일하게 불려 증자하고 누룩 42 g과 물 2,630 mL를 섞고 7일간 발효 시킨후 착즙포에 여과시켜 분석용 시료와 초산발효 원료로 사용하였다.

(2) 베리류 알코올 발효액 제조

아로니아와 복분자 알코올은 그림 6과 같이 와인제조 방법으로 제조하였다. 아로니아와 복분자 열매(고창산)를 각각 파쇄한 후 액상과당을 사용하여 28 °bx가 되도록 보당하고, 시판 효모(피미빈)로 25℃에서 8일간 발효시킨 후 여과한 여액을 분석용 시료와 초산발효 원료로 사용하였다.

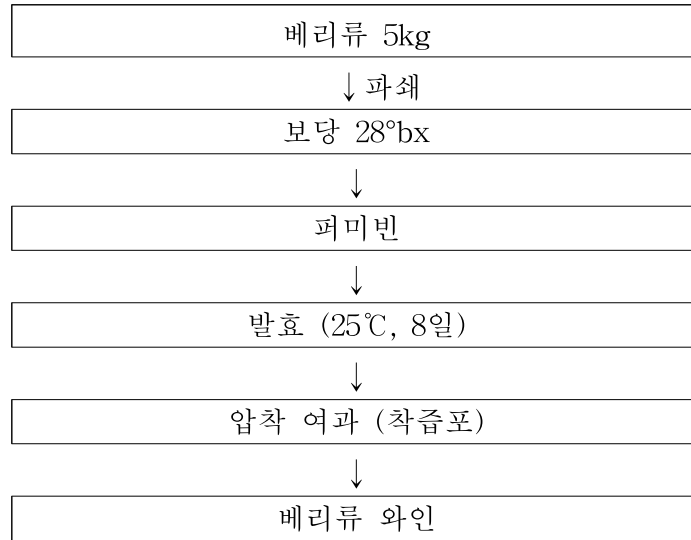


그림 6. 베리류 알코올 발효 방법

(3) 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조

흑보리 및 베리류 초산발효를 위해 각각의 알코올 발효액을 알코올 농도가 6%가 되도록 희석하고 아래 표 9와 같은 비율로 혼합하여 그림 7과 같이 초산발효를 진행하였다. 흑보리 및 베리류 알코올발효 혼합액을 빙초산으로 초기산도를 2%로 조정한 후 종초를 10% 첨가하여 30℃에서 14일간 발효를 시키면서 흑보리 및 아로니아 혼합발효식초(BA)와 흑보리 및 복분자 혼합발효식초(BB)를 제조하였다. 혼합발효식초는 베리류 혼합비율을 기준으로 BA0~BA100과 BB0~BB100으로 명명하였다.

(4) 보리 및 베리류의 알코올 발효 특성

보리, 아로니아 및 복분자를 원료로 제조한 각각의 알코올 발효액의 특성은 위의 유색보리 알코올 발효특성과 같은 방법으로 조사하였다. 보리 및 베리류 알코올 발효액은 발효 기간에 따라 당도 및 pH, 색도, 산도, 알코올 함량을 측정하였다.

(5) 혼합 초산 발효액의 특성

표 9의 비율로 흑보리와 베리류의 알코올을 혼합한 후 초산 발효를 진행하면서 식초의 특성을 조사하였다. 초산 발효 특성은 알코올 발효액에서와 같은 방법으로 당도 및 산도, pH, 색도, 알코올 함량을 측정하였다.

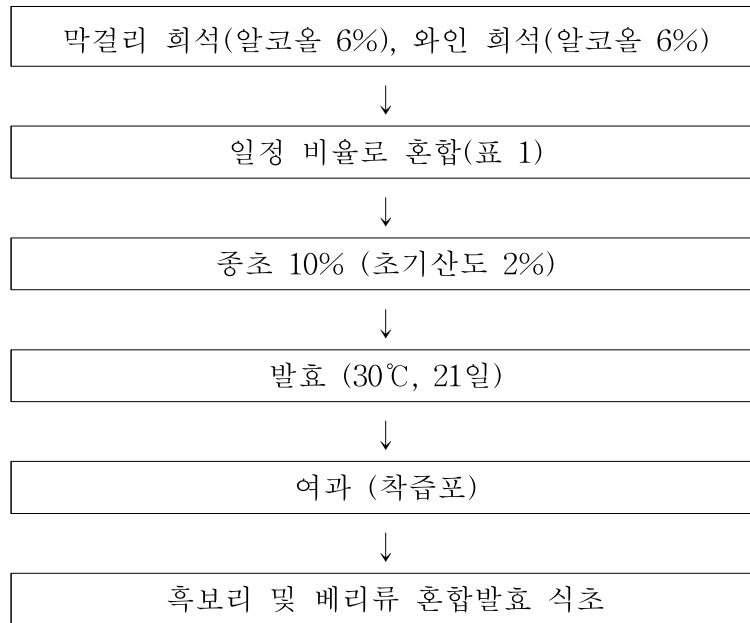


그림 7. 흑보리 및 베리류 혼합 초산발효 과정

표 9. 초산발효를 위한 흑보리 막걸리와 베리류 와인의 혼합 비율

분류	원 료	혼합 비율				
		BA100	BA75	BA50	BA25	BAR
BA	아로니아 와인	100	75	50	25	0
	흑보리 막걸리	0	25	50	75	100
BB	복분자 와인	100	75	50	25	0
	흑보리 막걸리	0	25	50	75	100

(6) 유기산 함량 분석

흑보리와 베리류 혼합 발효식초의 유기산 함량을 알아보기 위해 HPLC를 사용하여 분석하였다. 14일간 발효된 혼합발효식초에 증류수를 가하여 1시간 초음파 추출한 후 교반기에서 1시간 추출한 시료 10 µL를 column에 주입하고 검출기를 이용하여 검출하였다. 이동상은 0.01N H₂SO₄ 용액을 사용하여 0.5 mL/min 유속으로 이동시켜 분석하였다. 표준품으로 구연산, 수산, 푸마르산은 Showa Denko 제품을, 젯산, 호박산, 쉬킴산은 Sigma-Aldrich, 사과산은 Kanto Chemical 제품을 사용하여 표준곡선을 그리고 각 시료를 분석한 후 mg/kg으로 나타냈다.

(7) 총 폴리페놀 및 총 안토시아닌 함량

총 폴리페놀 함량은 건강기능식품공전 방법을 응용하여 측정하였다. 즉 흑보리 및 베리류 혼합 발효식초시료를 10 mg/10 mL 농도로 제조한 용액 1 mL에 증류수 7.5 mL와 folin-ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL, 35% sodium carbonate 1 mL를 가한 후 1시간 동안 정치하고 UV/VIS spectrophotometer 를 사용하여 760 nm에서 비색정량 하였다. 이때 tannic acid를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 안토시아닌 함량은 각각의 시료 1 g을 0.1% HCl을 함유하는 80% 메탄올 용액 40 mL로 24시간 동안 추출한 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 528 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질은 cyanidin을 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 안토시아닌 함량을 구하였다.

(8) DPPH 라디칼 소거능 측정

흑보리와 베리류 혼합 발효식초의 산화방지 활성을 측정하기 위하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 이 방법은 DPPH 라디칼이 항산화 활성을 가진 화합물과 반응하여 전자나 수소를 받아 환원됨에 따라 보라색이 탈색되는 특성을 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법으로 측정 방법은 다음과 같았다. 50 ~ 500 µg/mL 농도로 조제한 각각의 시료 0.1 mL에 에탄올 0.2 mL를 가하고 2×10^{-4} M DPPH용액 0.3 mL를 가한 후 교반하였다. 30분간 반응시킨 후 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였다. 라디칼 소거능은 측정된 흡광도를 아래 식에 대입하여 계산하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = \{1 - (A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}) / A_{\text{Control}}\} \times 100$$

(9) ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Arts MJTJ 등(2004)의 방법을 응용하여 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 성숙도가 다른 아로니아 열매 50% 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 측정하기 위해 50 ~ 500 µg/mL 농도로 시료를 제조하였다. 시료 0.005 mL에 ABTS 라디칼 용액 0.195 mL를 첨가하여 7분간 반응시킨 후 마이크로플레이트 판독기(Biotec)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 사용하여 실험하였다.

나. 흑보리 및 베리류 각각의 알코올 발효 특성

흑보리와 베리류 혼합발효 식초를 제조하기 위해 각각의 원료로 알코올 발효를 진행하면서 알코올 함량, 당도, pH, 산도를 조사하였고 그 결과는 그림 8에 나타났다. 막걸리는 원료곡에 함유된 전분이 당화 과정에 의해 단당류가 생성되고 단당류로부터 알코올이 생성되므로 알코올 발효에 앞서 전분의 당화가 이루어져야 한다. 흑보리는 1일 차에 덧술을 넣어 발효를 진행 시킴에 따라 2일부터 발효 속도가 증가하면서 4일부터 증가 속도가 완만해졌다. 흑보리 알코올의 당도는 발효 초기 누룩에 의한 당화가 진행되면서 2일부터 당도가 증가하다가 4일 이후 완만해졌고 산도는 4일까지 0.02%에서 0.64%까지 증가하다가 이후 약간 증가되었다.

아로니아는 1일 이후 알코올 발효가 급격히 진행되면서 8일까지 발효가 지속되었으며 알코올 함량 12.94%에 도달하였고, 당도는 발효가 진행되면서 4일까지 급격히 감소하다가 4일 이

후 완만하게 감소하였으며, pH와 산도는 큰 변화 없이 각각 3.74~4.01과 0.51~0.68 범위를 유지하였다.

복분자는 발효 초기부터 알코올 발효가 빠르게 일어났으며 4일 이후 완만하게 증가하면서 8일 차에 14.77%로 알코올 생성량이 가장 높았다. 당도 변화는 알코올 생성에 대응하여 발효 초기에 빠르게 감소하고 4일 이후 완만하게 감소하였고, 산도는 발효 2일까지 1.01%에서 1.30%로 약간 증가한 이후 비슷하게 유지되었으며, pH는 발효기간 동안 변화없이 유지되었다.

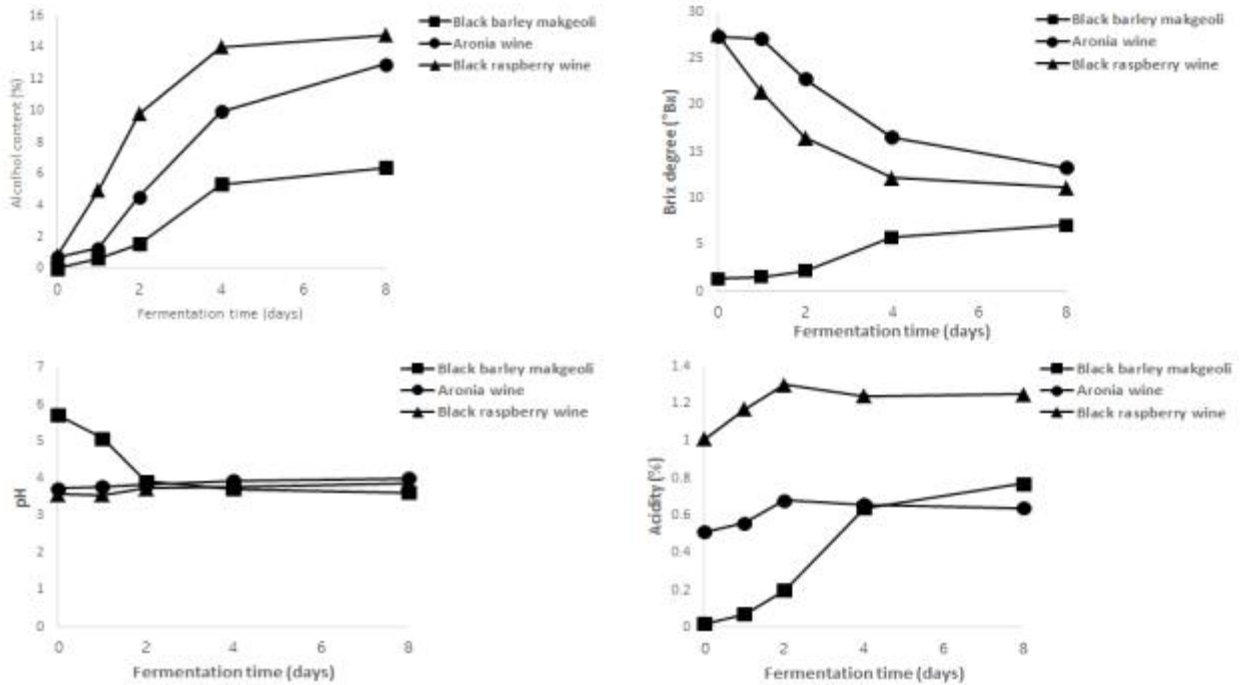


그림 8. 흑보리 및 아로니아, 복분자 알코올 발효액의 이화학적 특성

알코올 발효액의 색도를 측정 한 결과는 표 10과 같이 흑보리의 경우 명도는 감소하고 적색도와 황색도는 증가하였으며 아로니아의 경우 명도, 적색도, 황색도 모두 감소하였고 복분자는 색도의 변화가 거의 없었다.

표 10. 흑보리 및 아로니아, 복분자 알코올 발효액의 색도

		L	a	b
0 day	흑보리 막걸리	60.25±0.84	0.73±0.16	2.67±0.24
	아로니아 와인	41.05±1.38	63.36±1.20	30.15±0.20
	복분자 와인	10.14±0.11	40.65±0.10	17.47±0.19
8 days	흑보리 막걸리	41.70±4.96	0.91±0.63	4.65±1.96
	아로니아 와인	56.28±0.04	48.06±0.10	11.28±0.03
	복분자 와인	9.86±0.03	41.01±0.11	17.01±0.05

다. 흑보리 및 베리류 혼합 초산 발효액의 특성

흑보리와 아로니아, 복분자 알코올 발효액의 알코올 함량을 각각 6%가 되도록 희석한 후 흑보리-아로니아 알코올(BA), 흑보리-복분자 알코올(BB)을 표 1과같이 다른 비율로 혼합하여 21일간 초산발효를 진행하였다. 흑보리-아로니아 혼합발효 식초(BA)와 흑보리-복분자 혼합 발효 식초(BB)는 모두 초산발효 진행에 따라 알코올 함량은 감소하고 산도는 증가하였으며 pH는 감소하였으며 당도는 일정하게 유지되었다(그림 9, 그림 10). 초산 생성에 영향을 주는 요인은 발효 기질인 알코올 농도, 초기 초산농도, 초산균 접종량이며 초산발효 진행에 따라 본 연구와 유사한 발효 특성이 보고되었다.

흑보리-아로니아 혼합발효 식초(BA)는 21일 발효 후 아로니아 비율에 따라 알코올 함량 0.30~2.01%, 당도 6.50~8.20 °Bx, pH 3.06~3.29, 산도 4.21~7.42%에 도달했다. 아로니아 혼합 비율이 증가할수록 알코올 함량과 pH 감소, 산도의 증가 정도가 작았다. 특히 아로니아 알코올 100%로 초산 발효한 BA100은 14일 후 알코올 잔량은 높고 산도가 3.55%로 낮아 발효가 서서히 일어났지만, **흑보리 알코올을 25% 이상 첨가한 경우 산도가 크게 증가하여 발효 촉진 효과가 나타나는 것을 알 수 있었다**(그림 9).

그림 10과 같이 흑보리-복분자 혼합발효 식초(BB)는 발효 후 알코올 함량 0.19~0.39%, 당도 4.75~8.20 °Bx, pH 3.06~3.15, 산도 6.72~7.46%였다. 흑보리-복분자 혼합발효 식초도 흑보리를 25%이상 첨가했을 때 발효 4일 이후 초산함량이 빠르게 증가하였으나 최종 시점에서 산도가 거의 비슷해져서 흑보리 첨가효과가 흑보리-아로니아 혼합발효 식초(BA)만큼 크지 않았다.

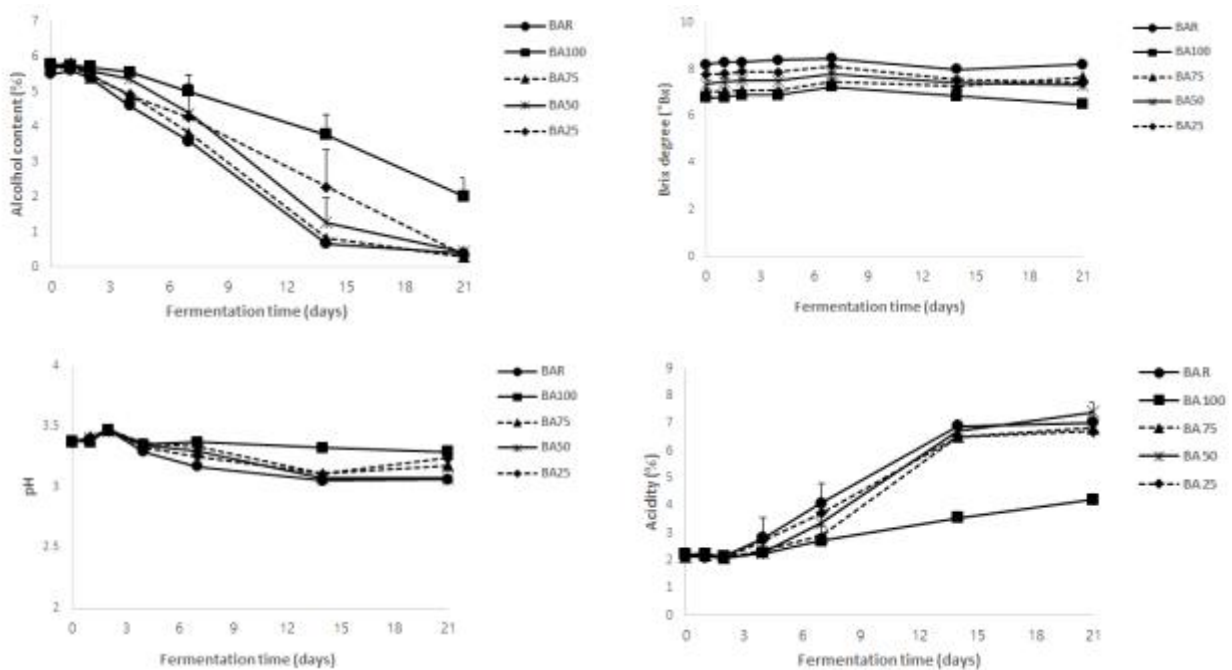


그림 9. 흑보리 막걸리-아로니아 와인 혼합에 따른 초산 발효액의 이화학적 특성

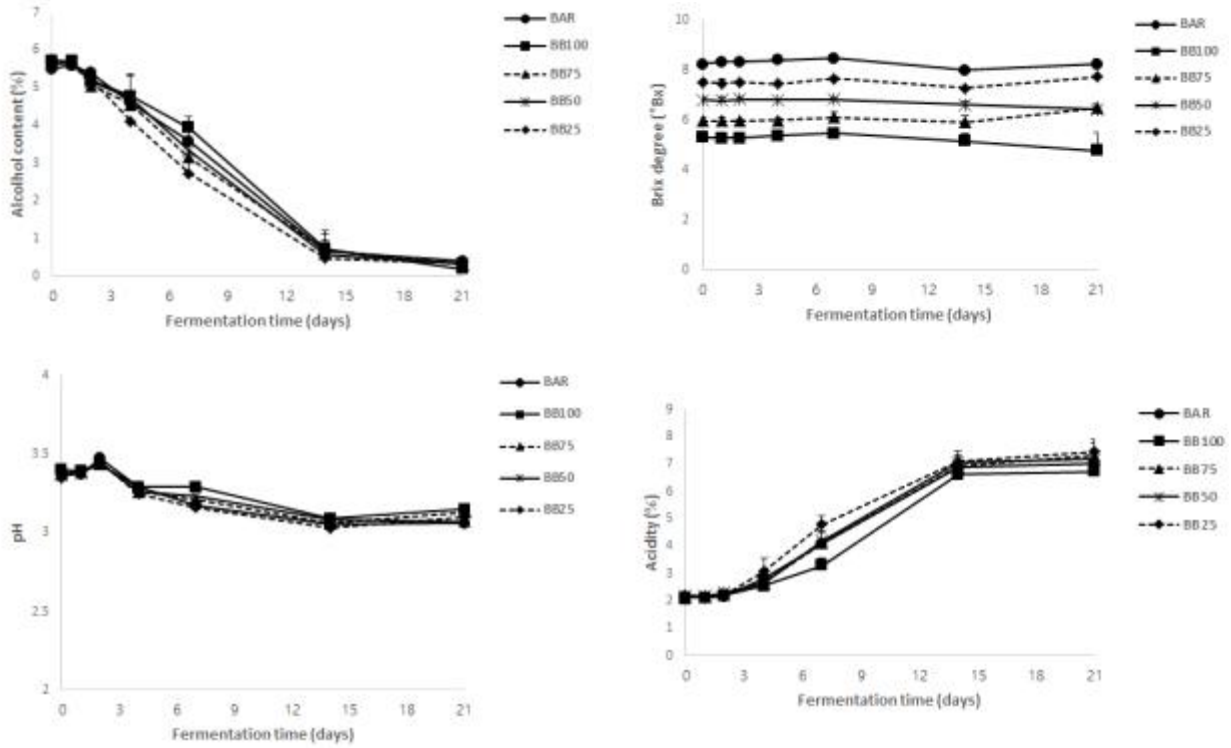


그림 10. 흑보리 막걸리-복분자 와인 혼합에 따른 초산발효액의 이화학적 특성

흑보리와 베리류 혼합발효 식초의 색도는 표 11, 12와 같았다. 흑보리-아로니아 혼합발효 식초(BA)에서는 아로니아 함량이 높은 경우 발효의 진행에 따라 L값과 a값은 감소하는 경향이 있었고 b값은 증가하였다. 아로니아 알코올의 함량이 높아질수록 명도와 황색도가 낮아졌고 적색도는 높아졌으며, 흑보리 알코올 비율이 높아질수록 붉은색이 점차 연해지는 것을 볼수 있었다(그림 11).

표 11. 흑보리 막걸리-아로니아 와인 혼합에 따른 초산 발효액의 색도

		L	a	b
0 day	BAR	102.78±0.06	-0.09±0.01	1.32±0.01
	BA100	77.80±3.12	31.18±0.38	3.96±0.29
	BA75	87.06±3.42	19.4±0.35	2.26±0.30
	BA50	91.84±3.81	12.16±0.28	1.47±0.27
	BA25	95.97±3.65	5.91±0.09	1.07±0.26
21 day	BAR	96.66±0.25	0.06±0.14	1.92±0.03
	BA100	79.66±0.24	19.87±0.36	7.21±0.74
	BA75	88.10±0.29	10.56±0.10	6.12±0.64
	BA50	92.60±0.20	5.00±0.17	3.10±0.17
	BA25	94.88±0.07	2.09±0.31	2.51±0.21

흑보리-복분자 혼합발효 식초(BB)에서는 발효 기간에 따른 색도의 변화는 거의 없었고, 그림 11과 같이 복분자 자체의 색이 진하여 흑보리 알코올을 50%까지 혼합하여도 육안으로는 색의 차이를 구분하기 어려웠다. 복분자 알코올 함량이 높아질수록 명도는 낮아지고 황색도와 적색도는 높아졌다.

표 12. 흑보리 막걸리-복분자 와인 혼합에 따른 초산 발효액의 색도

		L	a	b
0 day	BAR	102.78±0.06	-0.09±0.01	1.32±0.01
	BB100	27.33±0.94	58.63±1.45	42.25±1.69
	BB75	34.21±1.54	62.27±1.80	45.04±1.07
	BB50	43.97±2.03	64.15±2.01	31.41±0.70
	BB25	61.33±2.40	55.94±1.67	11.87±0.22
21 day	BAR	96.66±0.25	0.06±0.14	1.92±0.03
	BB100	22.52±0.77	53.46±0.63	37.94±1.23
	BB75	26.58±0.34	55.22±0.38	40.54±0.49
	BB50	40.99±0.46	56.32±0.07	28.80±0.38
	BB25	55.71±2.26	48.27±3.46	16.98±2.02

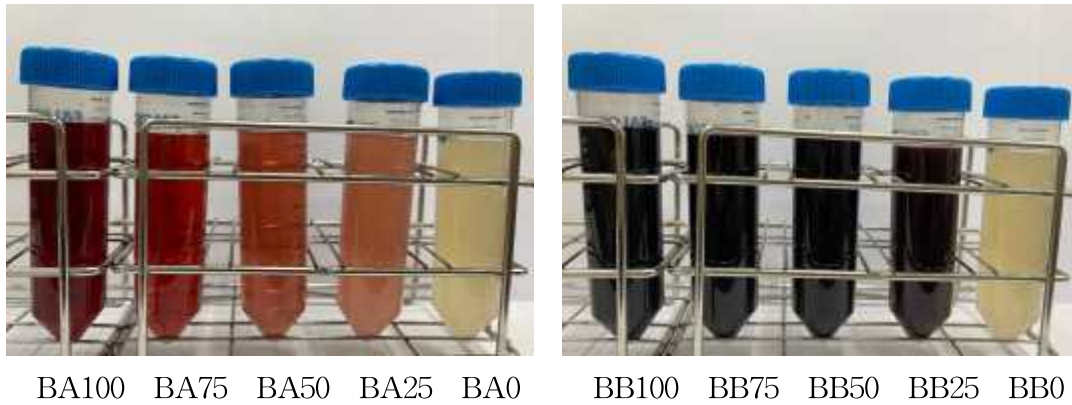


그림 11. 흑보리 막걸리 및 베리류 와인을 혼합하여 초산발효를 진행한 식초의 외관

라. 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 유기산 함량

흑보리-아로니아 혼합발효 식초와 흑보리-복분자 혼합발효 식초가 21일 발효된 후 유기산 함량을 측정한 결과는 표 13과 같았다. 모든 시료에서 acetic acid가 가장 많이 생성되었고 흑보리-아로니아 혼합발효 식초의 경우 acetic acid 외에 fumaric acid, shikimic acid, quinic acid가 검출되었으며, 아로니아 알코올 함량이 75% 이상(BA100, BA75)인 경우에만 citric acid, malic acid가 검출되었다. 흑보리-복분자 혼합발효 식초에서도 citric acid, fumaric acid,

shikimic acid가 검출되었다. 아로니아와 복분자에서 모두 흑보리 막걸리를 25% 혼합하여 식초를 제조한 경우(BA75, BB75) acetic acid 함량이 가장 높아 흑보리 막걸리를 혼합하는 것이 초산발효를 촉진시킬 수 있다고 판단하였다.

Ye XJ 등(2004)은 보리식초에서 acetic acid과 citric acid가 검출되었다고 보고하였으나 본 연구에서 베리류는 알코올 첨가에 따라 건강에 유익한 다양한 유기산이 함유되어 있음을 확인하였다.

표 13. 흑보리 막걸리 및 베리류 와인을 혼합하여 초산발효를 진행한 식초의 유기산 함량(mg/kg)

	Acetic acid (mg/L)	Citric acid (mg/L)	Malic acid (mg/L)	Fumaric acid (mg/L)	Shikimic acid (mg/L)	Quinic acid (mg/L)
BAR	18,890.80±63.67	0.00±0.00	0.00±0.00	2.12±0.08	126.41±0.37	0.00±0.00
BA100	43,393.32±79.24	204.86±1.07	1898.94±26.35	26.87±0.73	167.54±0.27	1823.12±11.88
BA75	69,602.82±117.90	169.29±1.27	1423.93±34.04	7.06±0.02	141.78±0.49	1452.57±47.47
BA50	64,336.21±56.80	0.00±0.00	0.00±0.00	1.31±0.00	131.52±0.41	830.33±80.38
BA25	39,661.89±17.75	0.00±0.00	0.00±0.00	0.79±0.17	111.17±0.53	371.40±8.95
BB100	45,391.16±124.74	9,363.06±59.95	0.00±0.00	2.02±0.13	147.44±1.63	0.00±0.00
BB75	66,882.90±78.27	3,294.13±10.51	0.00±0.00	2.37±0.07	119.77±3.12	0.00±0.00
BB50	41,419.59±18.03	1,252.75±20.34	0.00±0.00	0.98±0.06	133.57±1.56	0.00±0.00
BB25	56,524.86±124.34	846.24±34.03	0.00±0.00	1.49±0.14	136.33±1.51	0.00±0.00

마. 흑보리 및 베리류 식초의 항산화 활성 분석

(1) 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

폴리페놀과 안토시아닌은 활성산소에 노출된 세포를 보호하는 역할을 하는 물질로 알려져 있다(Bidlack W 1999). 본 연구에서는 항산화활성이 높은 베리류에 흑보리 첨가가 항산화활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 총 폴리페놀과 안토시아닌 함량을 측정하였다. 표 14와 같이 아로니아 알코올 100% 식초(BA100)는 총 폴리페놀과 안토시아닌은 각각 18.21 mg/mL, 2.19 mg/mL 였고 아로니아 비율이 증가할수록 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량이 증가하였다. 복분자의 경우, 복분자 알코올 100% 식초(BB100)는 총 폴리페놀과 안토시아닌이 각각 44.24 mg/mL, 6.69 mg/mL로 아로니아 식초보다 항산화 성분이 많이 함유되어 있었고, 복분자 비율이 증가하면서 각 성분의 함량이 증가하였고 대부분 시료에서 흑보리 막걸리만으로 제조된 식초보다 총 폴리페놀함량과 총 안토시아닌 함량이 높았다.

표 14. 흑보리 및 베리류 혼합 초산 발효 식초의 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

	총 폴리페놀 함량 (TAE ¹⁾ mg/mL	총 안토시아닌 함량 (CYE ²⁾ mg/mL
BAR	9.39±0.05	0.69±0.00
BA100	18.21±0.03	2.19±0.00
BA75	12.50±1.01	1.31±0.00
BA50	10.44±0.22	0.58±0.00
BA25	7.45±0.06	0.35±0.00
BB100	44.24±0.46	6.69±0.00
BB75	27.52±0.31	3.69±0.01
BB50	23.44±0.05	2.92±0.00
BB25	19.47±0.06	1.92±0.01

¹⁾Total polyphenol contents was expressed as mg tannic acid (TAE) per mL.

²⁾Total anthocyanin contents was expressed as mg cyanidin (CYE) per mL.

(2) 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

흑보리-베리류 혼합발효 식초의 항산화활성을 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능으로 측정한 결과는 표 15와 같았다. 흑보리-아로니아 혼합발효 식초의 농도별로 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능을 측정하여 IC₅₀ 값을 계산한 결과 아로니아 알코올 100%(BA100)의 경우 22.26 mg/mL과 35.57 mg/mL이었으며, 흑보리 알코올 함량이 증가할수록 IC₅₀ 값이 증가하여 아로니아 첨가에 의해 항산화활성이 증가하는 것을 확인하였다. 복분자 알코올 100% 혼합발효 식초(BB100)의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 측정치로 계산한 IC₅₀ 값은 9.68 mg/mL과 13.76 mg/mL였고 아로니아에서와 같이 복분자 첨가에 의해 항산화활성이 증가하는 경향을 나타냈다.

아로니아 식초와 복분자 식초의 높은 항산화 활성은 아로니아와 복분자 열매와 알코올 발효액에서 유래된 폴리페놀 및 안토시아닌과 같은 항산화 성분이 영향을 준 것으로 생각되며, 흑보리 알코올에 베리류 와인을 첨가함에 따라 식초의 항산화 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다.

(3) 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 페놀화합물 분석

흑보리 및 아로니아, 복분자 혼합발효 식초의 페놀화합물을 분석한 결과는 아래 표 16과 같았다. 흑보리-아로니아 혼합발효 식초(BA)에서는 Galic acid, Chlorogenic acid, Caffeic acid, Quercetin가 검출되었고 아로니아 함량이 높을수록 Chlorogenic acid, Caffeic acid, Quercetin이 높았다. 흑보리-복분자 혼합발효 식초(BB)에서는 Galic acid, Caffeic acid, Ellagic acid, Quercetin이 검출되었고 복분자 함량이 높을수록 페놀화합물 함량이 높았다. 흑보리 식초에서는 Galic acid만 검출되었다. 혼합발효 식초의 다양한 페놀화합물은 원료로 사용된 베리류에 따라 달라지고 베리류 첨가에 따라 다양한 페놀화합물이 검출되었고 검출량이 다른 것으로 보아 베리류로 부터 이행된 것으로 판단하였다.

표 15. 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

	DPPH 라디칼 소거능	ABTS 라디칼 소거능
	IC ₅₀ value(mg/mL) ¹⁾	
BAR	236.61±2.11	83.72±1.38
BA100	22.26±0.11	35.57±0.30
BA75	63.18±0.51	79.58±0.51
BA50	91.79±0.23	106.28±1.03
BA25	110.76±0.96	110.11±0.92
BB100	9.68±0.08	13.76±0.12
BB75	16.26±0.14	24.50±0.21
BB50	24.41±0.66	31.50±0.54
BB25	34.49±0.46	41.34±0.32

¹⁾Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determination, obtained by interpolation of concentration inhibition curve.

²⁾ Mean value ± SD with different small letters in the same column are significantly different (p<0.05).

표 16. 흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 페놀화합물 함량(mg/L)

	Galic acid(mg/L)	Chlorogenic acid(mg/L)	Caffeic acid(mg/L)	Ellagic acid(mg/L)	Quercetin (mg/L)
BAR	2.36±0.03	-	-	-	-
BA100	1.79±0.00	116.90±1.58	21.75±0.05	-	0.64±0.02
BA75	1.71±0.01	79.15±0.19	15.73±0.04	-	0.50±0.02
BA50	1.65±0.00	41.71±0.27	5.76±0.05	-	0.25±0.02
BA25	1.71±0.04	17.34±0.04	0.40±0.00	-	-
BB100	16.67±0.11	-	3.02±0.11	20.58±0.05	5.53±0.10
BB75	9.75±0.05	-	-	9.97±0.40	2.58±0.01
BB50	7.66±0.08	-	-	6.76±0.00	1.00±0.02
BB25	5.47±0.42	-	-	3.17±0.02	0.67±0.02

바. 흑보리 및 베리류 식초의 향기성분

흑보리 및 베리류 혼합발효 식초의 향기성분을 분석한 결과는 표 17과 표 18과 같았다. 흑보리 식초(BAR)의 주요 향기성분은 acetic acid, phenylethyl_alcohol, 3-hydroxy-2-butanone 였으나 흑보리-아로니아 혼합발효식초의 경우 아로니아에 의해 acetic acid, ethyl_acetate, β-phenethyl_acetate는 증가하는 것을 알 수 있었다. 흑보리-복분자 혼합발효 식초의 경우 복분자에 의해 acetic acid, phenylethyl_alcohol, β-phenethyl_acetate가 증가하였다.

표 17. 흑보리 및 아로니아 혼합발효 식초의 향기성분

	(단위 1,2,3-Trichloropropane equivalent (ug/g))				
	BAR	BA100	BA75	BA50	BA25
Acetic_acid	9.936	28.312	37.516	29.588	20.896
Ethyl_succinate	1.412	0.268	0.536	0.724	1.108
Pentanoic_acid	3.264	0.2	1.452	1.26	1.744
2,3-Butanediol	NA	0.128	0.16	0.892	0.808
2,4-Di-tert-butylphenol	0.524	1.72	2.02	1.584	0.932
2-Methoxy-4-methylphenol	0.26	0.012	0.016	0.036	0.18
4-Terpineol	0.008	0.012	0.012	0.012	0.012
6,6-Dimethyl-2-norpinene-2-ethanol	NA	NA	NA	NA	NA
Benzyl_alcohol	0.008	2.084	1.692	1.2	0.712
cis-Carveol	0.004	NA	NA	NA	NA
Cuminol	0.024	NA	NA	0.004	0.008
endo-Borneol	0.016	NA	0.024	0.04	0.044
Ethanol	0.02	31.568	0.672	0.884	0.952
Isobutyl_alcohol	0.02	0.288	0.324	0.32	0.168
Isopentyl_alcohol	0.092	3.96	2.9	2.448	1.288
Myrtenol	0.04	NA	0.008	0.008	0.012
Phenylethyl_alcohol	9.636	5.672	7.624	8.584	11.044
α-Terpineol	0.06	0.016	0.044	0.04	0.052
3-Methylbenzaldehyde	0.016	0.204	0.212	0.248	0.296
Benzaldehyde	0.268	0.048	0.068	0.056	0.06
1,3,8-p-Menthatriene	NA	NA	NA	NA	NA
m-Cymene	NA	NA	NA	NA	NA
o-Isopropenyltoluene	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol-diisobutyrate	0.248	0.388	0.276	0.368	0.492
Benzyl_acetate	NA	2.104	2.132	1.244	0.46
Ethyl_acetate	0.02	76.376	2.392	3.028	2.224
Ethyl_lactate	1.324	0.104	0.596	1.032	1.52
Isoamyl_acetate	0.048	2.044	2.316	1.62	0.54
Isobutyl_acetate	NA	0.248	0.42	0.368	0.16
Methyl_acetate	0.172	0.076	0.156	0.116	0.056
β-Phenethyl_acetate	4.228	5.236	9.672	9.212	6.956
Ethyl_palmitate	0.044	0.056	0.568	0.052	0.044
Isobutyric_acid	1.252	0.14	0.348	0.436	0.784
Octanoic_acid	0.488	0.524	0.78	0.66	0.708
2,3-Butanedione	0.272	0.056	0.1	0.072	0.028
2-Pinen-4-one	0.184	NA	0.048	0.084	0.164
3-Acetoxy-2-butanone	0.78	0.132	0.34	0.292	0.364
3-Hydroxy-2-butanone	11.092	1.032	2.876	2.44	2.008
γ-n-Amylbutyrolactone	0.728	0.088	0.208	0.292	0.504
2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane	NA	0.196	0.064	0.16	1.264

표 18. 흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 향기성분

	(단위 1,2,3-Trichloropropane equivalent (ug/g))				
	BAR	BB100	BB75	BB50	BB25
Acetic_acid	9.936	24.568	35.992	21.408	30.548
Ethyl_succinate	1.412	0.852	0.792	1.044	1.12
Pentanoic_acid	3.264	0.752	1.092	1.372	0.912
2,3-Butanediol	NA	0.2	0.912	1.052	0.664
2,4-Di-tert-butylphenol	0.524	0.964	1.472	0.956	1.012
2-Methoxy-4-methylphenol	0.26	0.024	0.036	0.112	0.096
4-Terpineol	0.008	0.184	0.468	0.184	0.04
6,6-Dimethyl-2-norpinene-2-ethanol	NA	0.112	0.204	0.088	0.032
Benzyl_alcohol	0.008	0.324	0.288	0.216	0.124
cis-Carveol	0.004	0.568	0.368	0.256	0.104
Cuminol	0.024	2.016	1.34	1.012	0.424
endo-Borneol	0.016	0.024	0.196	0.112	0.036
Ethanol	0.02	0.052	0.852	0.376	0.036
Isobutyl_alcohol	0.02	0.016	0.192	0.068	0.016
Isopentyl_alcohol	0.092	0.152	1.864	0.628	0.132
Myrtenol	0.04	0.876	1.908	0.852	0.28
Phenylethyl_alcohol	9.636	15.872	13.528	14.036	14.176
α-Terpineol	0.06	1.228	1.68	0.936	0.32
3-Methylbenzaldehyde	0.016	0.28	0.288	0.292	0.252
Benzaldehyde	0.268	0.132	0.032	0.06	0.052
1,3,8-p-Menthatriene	NA	0.604	0.796	0.188	0.096
m-Cymene	NA	0.184	0.12	0.068	0.036
o-Isopropenyltoluene	0.004	1.468	1.06	0.54	0.276
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol-diisobutyrate	0.248	0.324	0.48	0.412	0.252
Benzyl_acetate	NA	0.212	0.24	0.148	0.108
Ethyl_acetate	0.02	0.104	4.612	0.9	0.084
Ethyl_lactate	1.324	0.188	0.708	1.084	1.732
Isoamyl_acetate	0.048	0.052	0.78	0.268	0.076
Isobutyl_acetate	NA	0.012	0.148	0.044	0.016
Methyl_acetate	0.172	0.088	0.224	0.096	0.072
β-Phenethyl_acetate	4.228	8.724	8.572	8.468	12.076
Ethyl_palmitate	0.044	0.164	0.168	0.12	0.108
Isobutyric_acid	1.252	0.344	0.436	0.76	0.592
Octanoic_acid	0.488	0.628	0.736	0.776	0.452
2,3-Butanedione	0.272	0.056	0.064	0.084	0.184
2-Pinen-4-one	0.184	0.12	0.136	0.164	0.136
3-Acetoxy-2-butanone	0.78	0.068	0.124	0.244	0.36
3-Hydroxy-2-butanone	11.092	2.82	2.64	3.136	10.44
γ-n-Amylbutyrolactone	0.728	0.1	0.132	0.284	0.384
2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane	NA	0.004	0.248	0.148	0.008

2. 흑보리 및 베리류의 혼합 알코올 발효 및 초산발효로 제조한 식초의 특성

가. 실험방법

(1) 흑보리 전처리

흑보리 분말은 (주)청맥농업회사법인(고창군)에서 구입한 흑보리를 분쇄한 후 100 mesh 체를 통과시켜 제조하였다.

흑보리 호화액은 흑보리 분말에 충분한 물을 붓고 1시간 동안 수침시킨 후 121℃에서 가열하여 호화액을 제조하였다.

흑보리 호정화 분말은 흑보리를 펄핑기로 호정화 시킨후 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시킨 분말을 호정화 분말 시료로 사용하였다.

(2) 효소처리에 의한 당화액 제조

보리 분말 40 g에 물 360 mL을 넣어 호화시킨 호화액과 보리 호정화 분말 40 g에 물 360 mL을 넣어 혼합한 호정화액에 탁주용 정제효소(분말무게의 1%)를 넣고 25℃ waterbath에서 6시간 동안 shaking 한 후 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 당화액을 제조하였다. 대조군으로 보리를 전처리 하지 않은 분말을 사용하여 같은 방법으로 효소 처리를 하였다.

(3) 맥아즙에 의한 당화액 제조

(가) 맥아즙 제조

엿기름을 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시킨 후 4배의 물을 부어 40℃ waterbath에서 2시간 동안 shaking 하였다. 엿기름액을 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 맥아즙으로 사용하였다.

(나) 맥아즙에 의한 당화액 제조

보리 분말 40 g에 물 100 mL을 넣어 호화시킨 호화액과 보리 호정화 분말 40 g에 물 100 mL을 넣어 혼합한 호정화액에 맥아즙 260 g을 넣고 60℃ waterbath에서 6시간 동안 shaking 한 후 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 당화액을 제조하였다. 대조군으로 보리를 전처리 하지 않은 분말을 사용하여 같은 방법으로 맥아즙을 처리하였다.

(4) 당화액 특성 조사

보리 당화액의 특성은 2절 1. 가.와 같은 방법으로 당도, pH, 산도를 측정하였고 환원당은 DNS법으로 측정하였다.

(5) 흑보리 및 복분자 혼합 발효 알코올 제조

흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액은 그림 12와 같이 제조하였다. 복분자(고창산) 3 kg을 파쇄한 후 동량의 흑보리 당화액을 100%(DW0), 75%(DW1), 50%(DW2), 0%(DW3) 농도로 3 kg을 넣어 희석 한 후 백설탕을 사용하여 28° bx로 보당하였다. 여기에 시판 효모인 퍼미빈을 넣어 25℃에서 9일간 발효한 후 여과하여 알코올 발효액을 제조하였다.

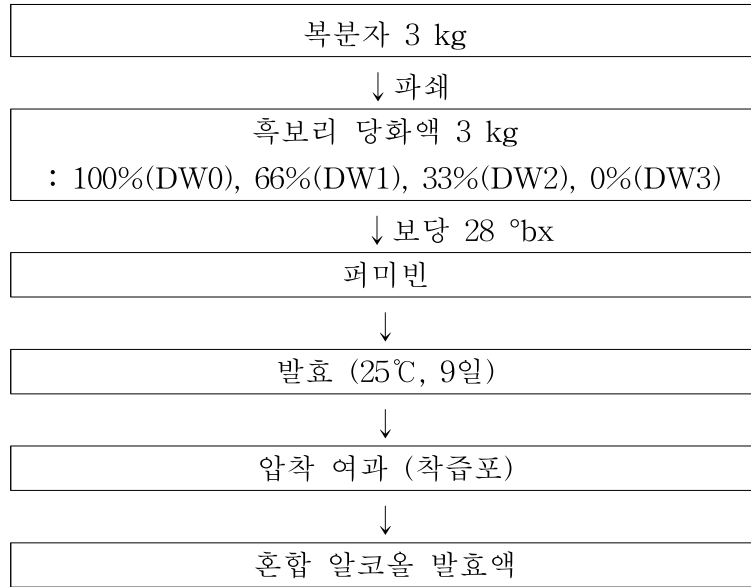


그림 12. 흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액 제조 방법

(6) 흑보리 및 복분자 혼합 발효 식초 제조

흑보리 및 복분자 혼합발효 식초 제조를 위해 위에서 제조한 혼합 알코올 발효액을 알코올 농도가 6%가 되도록 희석하고 아래 그림 13과 같이 초산발효를 진행하였다. 희석된 흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액에 종초를 10% 첨가하고 빙초산으로 초기 산도를 2%로 조정하여 30°C에서 14일간 발효를 시키면서 흑보리 및 복분자 혼합발효식초를 제조하였다.

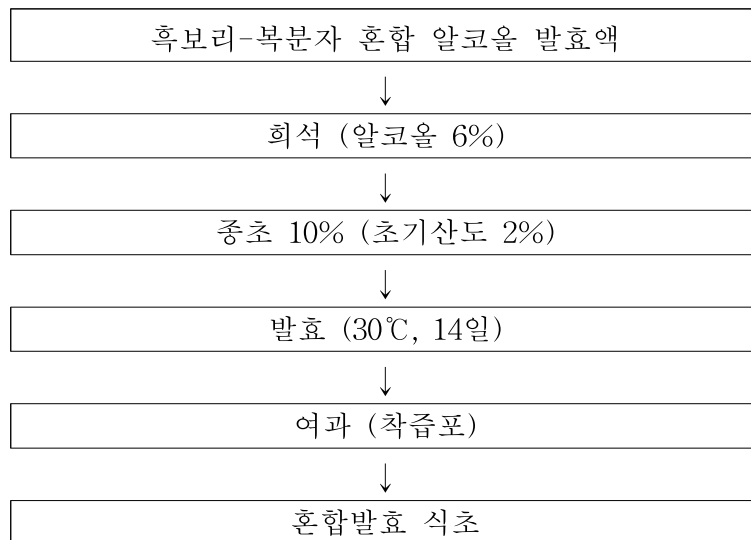


그림 13. 흑보리 및 복분자 혼합 발효식초 제조방법

(7) 흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효 특성

흑보리 및 복분자를 혼합하여 제조한 알코올 발효액의 특성을 조사하였다. 발효 기간에 따라 당도 및 pH, 산도, 색도, 알코올 함량을 2절 1. 가와 같은 방법으로 측정하였다.

(8) 초산 발효액의 특성

흑보리와 복분자 혼합 발효 알코올을 희석하여 초산 발효를 진행하면서 식초의 특성을 조사하였다. 초산 발효 특성은 알코올 발효액에서와 같이 당도 및 산도, pH, 색도, 알코올 함량을 측정하였다.

(9) 유기산 함량 분석

흑보리와 복분자 혼합 발효식초의 유기산 함량을 알아보기 위해 3절 1. 가.와 같이 HPLC를 사용하여 분석하였다.

(10) 총 폴리페놀 및 총 안토시아닌 함량

총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량은 3절 1. 가.와 같은 방법으로 측정하였다.

(11) DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 측정

흑보리와 복분자 혼합 발효식초의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 3절 1. 가.와 같은 방법으로 측정하였다.

나. 흑보리의 당화 특성

(1) 효소처리에 의한 당화액의 특성

흑보리와 베리류를 혼합하여 와인 제조방식의 알코올 발효를 진행하기 위해 베리류 착즙액과 혼합할 흑보리 당화액을 제조하였다. 흑보리를 호화 또는 호정화 처리로 전처리를 한 후 6 시간동안 효소처리를 통해 당화액을 제조하였고, 당도, pH, 산도, 환원당을 측정하였다. 시간이 증가할수록 환원당이 증가하였으며 호정화 분말에 물을 넣고 효소처리를 하는 경우 환원당이 가장 많이 생성되는 것을 알 수 있었다.

표 19. 효소처리로 제조한 흑보리 당화액의 당도, pH, 산도, 환원당

흑보리 전처리	당화 시간 (h)	당도 (°Bx)	pH	산도 (%)	환원당 (mg/mL)
호화	0	19.48±0.10	6.25±0.02	0.01±0.00	14.79±0.34
	2	20.55±0.24	6.42±0.03	0.01±0.00	28.73±2.00
	4	20.50±0.18	6.56±0.06	0.01±0.00	31.68±2.41
	6	20.40±0.23	6.62±0.07	0.01±0.00	32.51±2.03
호정화	0	19.45±0.06	5.89±0.01	0.02±0.00	16.14±2.21
	2	20.85±0.06	5.95±0.02	0.02±0.00	30.97±0.12
	4	20.85±0.06	6.12±0.01	0.02±0.00	36.25±0.89
	6	20.78±0.05	6.22±0.01	0.02±0.00	39.33±0.07
생분말	0	18.38±0.05	6.21±0.01	0.01±0.00	1.89±0.07
	2	18.68±0.10	6.29±0.02	0.02±0.00	2.35±0.06
	4	18.70±0.00	6.36±0.01	0.02±0.00	3.51±0.11
	6	18.60±0.08	6.46±0.02	0.02±0.00	4.19±0.08

(2) 맥아즙으로 제조한 흑보리 당화액의 특성

흑보리를 위와 같은 방법으로 전처리하고 효소처리 대신에 맥아즙을 활용한 당화액을 제조하였다. 당화액의 당도, pH, 산도, 환원당을 측정 한 결과는 아래 표 20과 같았다. 반응시간이 길어질수록 환원당이 증가하였고 호정화 분말에 맥아즙을 처리했을 때 환원당이 더 높았으나 효소처리하는 경우보다 환원당 생성량이 낮아 효소처리로 당화액을 제조하는 것이 더 효과적이라고 판단하였다.

표 20. 맥아즙으로 제조한 흑보리 당화액의 당도, pH, 산도, 환원당

흑보리 전처리	당화 시간 (h)	당도 (°Bx)	pH	산도 (%)	환원당 (mg/mL)
호화	0	21.10±0.08	6.12±0.01	0.07±0.00	7.08±0.30
	2	21.88±0.10	6.07±0.02	0.08±0.00	28.38±3.30
	4	22.15±0.13	6.06±0.01	0.08±0.00	24.87±0.27
	6	22.18±0.05	6.12±0.02	0.08±0.00	26.50±0.46
호정화	0	20.93±0.10	6.01±0.01	0.07±0.00	3.44±0.39
	2	22.30±0.08	5.92±0.00	0.08±0.00	27.02±1.69
	4	22.40±0.12	5.93±0.05	0.09±0.00	28.65±0.65
	6	22.35±0.06	5.96±0.04	0.10±0.00	34.46±4.56

표 21. 흑보리 당화액(6시간)의 유리당 분석

	Maltose (mg/L)	Glucose (mg/L)	Galactose (mg/L)	Fructose (mg/L)	Mannitol (mg/L)	
맥아즙	20,754.14 ±244.26	6637.04 ±110.07	821.73 ±31.62	421.99 ±3.60	3911.84 ±80.06	
생분말	맥아즙	27,267.60 ±214.41	4,897.68 ±80.28	166.24 ±6.21	756.29 ±0.56	ND
	효소	ND	2,459.26 ±39.73	60.49 ±2.40	184.80 ±18.16	ND
호정화	맥아즙	31,640.89 ±234.98	4,880.48 ±22.36	144.03 ±0.65	843.57 ±2.20	ND
	효소	2,269.40 ±7.92	24,281.91 ±12.76	ND	203.19 ±0.33	ND
호화	맥아즙	29,922.59 ±27.55	4,922.23 ±35.23	136.16 ±1.87	758.47 ±9.17	ND
	효소	2,964.33 ±25.78	20,249.47 ±197.04	62.64 ±5.38	ND	ND

(3) 흑보리 당화액의 유리당 분석

생분말, 호정화 분말, 호화액에 맥아즙과 시판용 정제효소로 6시간 동안 처리한 당화액의 유리당 함량을 분석한 결과는 표 21과 같았다. 맥아즙으로 처리한 당화액의 유리당 함량은 맥아당이 주로 함유되어 있었으며 이는 맥아즙에 맥아당 가수분해효소가 많이 함유되어 있고 맥아즙 자체에도 맥아당 함량이 높기 때문이라고 판단되었다. 정제효소를 처리한 경우 포도당이 가장 많이 생성되었으며 호정화 분말에서 포도당 함량이 가장 높은 것을 확인하였다.

다. 흑보리 및 베리류의 혼합 알코올 발효 특성

흑보리 당화액과 복분자를 혼합하여 와인제조 방법에 따라 알코올발효를 진행하였다. 흑보리 당화액은 100%(DW0), 66%(DW1), 33%(DW2), 0%(DW3) 농도로 복분자와 동량을 첨가하였으며 25°C에서 9일간 알코올 발효를 진행한 후 pH, 당도, 산도, 알코올 함량을 측정하였다. 그림 14와 같이 발효진행에 따라 알코올 발효액의 pH는 거의 변화가 없었고 발효기간 동안 당도는 감소하였으며 산도는 약간 증가하였고 알코올 함량이 크게 증가하였다.

흑보리 당화액 농도에 따른 알코올 발효액의 특성을 분석한 결과 당화액의 농도가 pH와 산도에는 영향을 주지 않았으나 당화액의 농도가 높을수록 당도가 더 빠르게 감소하고 알코올 생성량은 빠르게 증가하여 **흑보리 당화액의 첨가가 알코올 발효를 촉진시키는 것을 확인하였다.**

흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액의 색도를 측정한 결과는 표 22와 같았다. 발효가 진행됨에 따라 모든 시료에서 명도가 약간 감소하였고 적색도는 변화가 없었으며, 당화액을 첨가한 경우에만 황색도가 증가하였다.

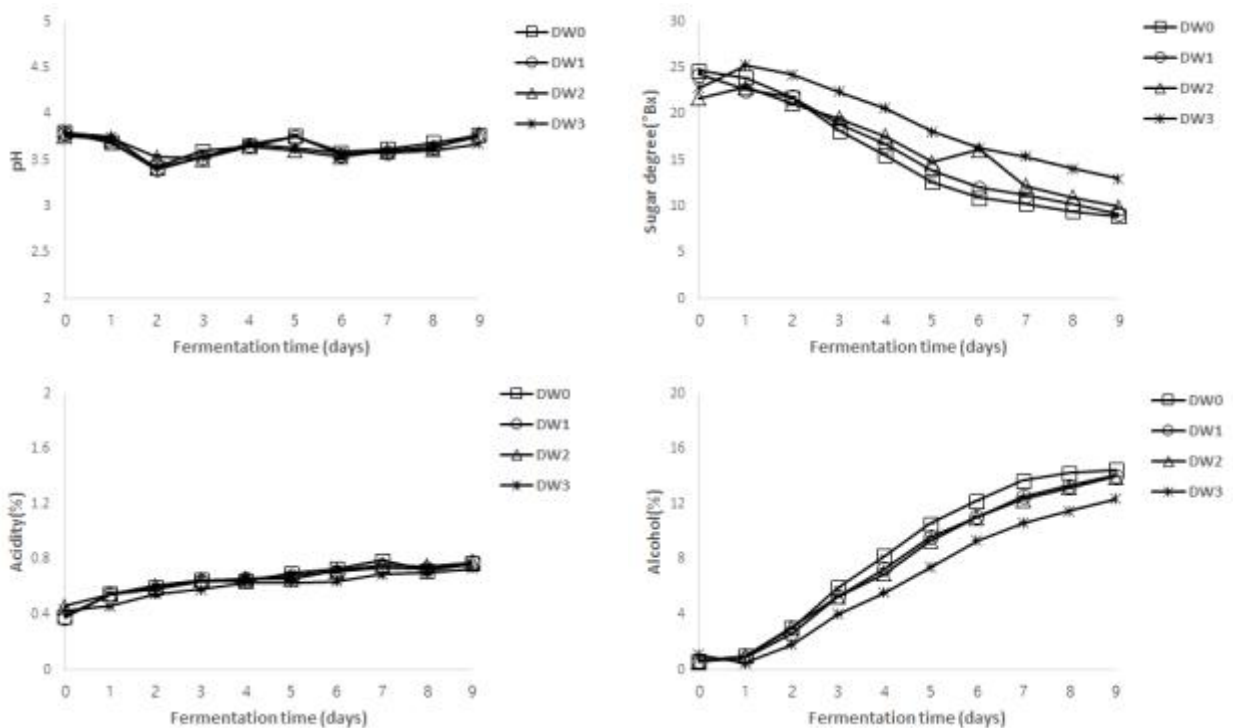


그림 14. 흑보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액의 pH, 당도, 산도, 알코올 함량

표 22 . 흑보리 복분자 혼합 알코올 발효액의 색도

		L	a	b
0일	DW0	39.40±0.05	63.41±0.03	38.05±0.17
	DW1	39.63±0.08	63.57±0.02	39.40±0.16
	DW2	33.18±0.14	61.80±0.06	49.79±0.12
	DW3	34.62±0.11	62.18±0.05	46.49±0.19
8일	DW0	33.42±0.02	62.54±0.01	47.20±0.06
	DW1	34.22±0.01	63.02±0.01	47.47±0.05
	DW2	33.81±0.02	62.84±0.00	47.26±0.09
	DW3	32.82±0.01	62.07±0.01	46.02±0.04

라. 흑보리 및 베리류 혼합 초산 발효액의 특성

흑보리 당화액과 복분자를 혼합하여 와인 방식으로 알코올발효를 시킨 후 초산발효를 진행하였다. 30℃에서 21일간 초산발효를 시킨 후 pH, 당도, 산도, 알코올 함량, 색도를 측정된 결과는 그림 15과 표 23와 같았다.

초산 발효액의 pH와 당도는 모든 시료에서 발효기간 동안 거의 일정하게 유지되었으나 발효가 진행됨에 따라 산도는 증가하고 초산발효의 기질로 사용되는 알코올 함량은 감소하였으며, 당화액 농도가 66% 일 때 산도가 가장 높았다. 초산발효액의 색도를 측정된 결과 발효 진행에 따라 명도와 적색도는 약간 감소했으나 황색도는 거의 변화가 없었다.

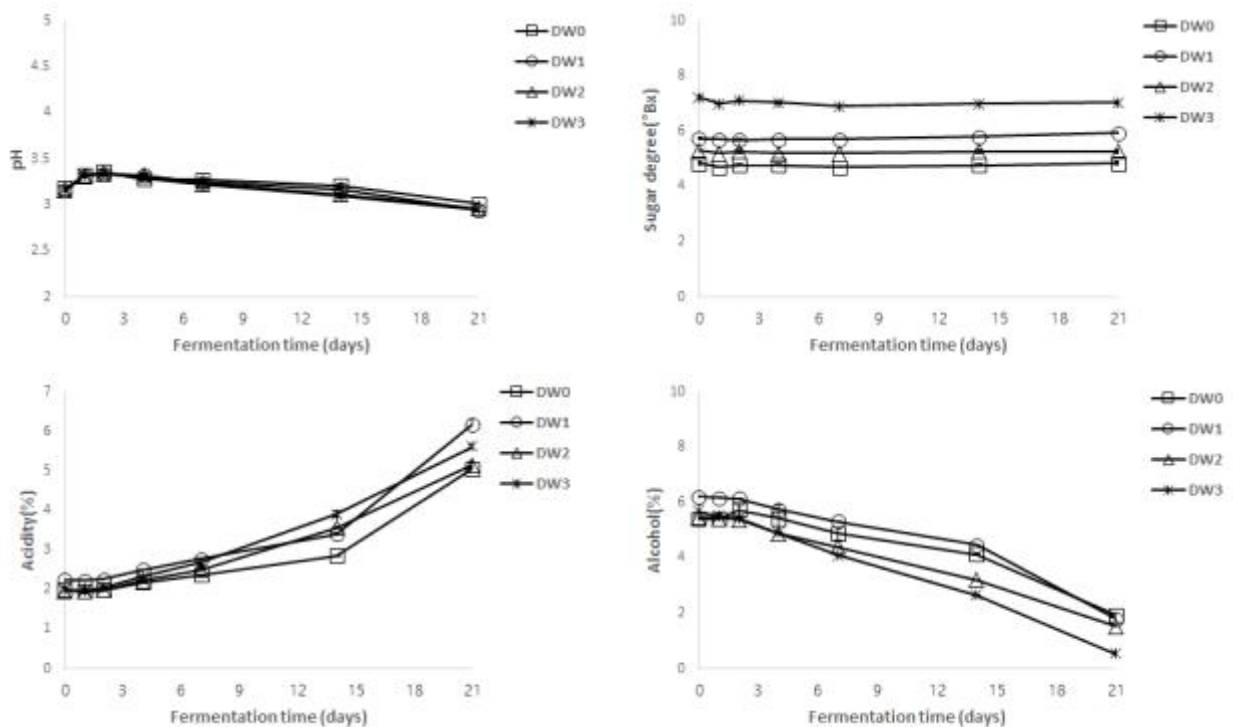


그림 15. 흑보리 및 복분자 혼합 초산 발효액의 pH, 당도, 산도, 알코올 함량

표 23 . 흑보리 복분자 혼합 초산 발효액의 색도

		L	a	b
0일	DW0	47.76±0.02	62.30±0.01	34.51±0.02
	DW1	44.84±0.02	63.25±0.01	39.65±0.05
	DW2	47.48±0.01	62.94±0.02	35.47±0.02
	DW3	44.68±0.01	62.88±0.01	37.09±0.00
21일	DW0	43.85±0.01	58.68±0.01	33.24±0.02
	DW1	40.31±0.02	59.64±0.01	38.19±0.05
	DW2	43.74±0.01	59.29±0.01	35.04±0.01
	DW3	41.42±0.02	58.54±0.02	36.89±0.06

(5) 흑보리 및 복분자 혼합 식초의 유기산 분석

흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 유기산을 분석한 결과는 표 24와 같았다. 흑보리 및 복분자 혼합발효 식초에서는 acetic acid가 가장 많이 검출되었고, citric acid, shikimic acid, lactic acid 의 순서로 검출되었다. 당화액 100%를 첨가한(DW0)의 경우 acetic acid가 낮았으나 이는 식초의 산도가 다른 시료 보다 낮기 때문이라고 생각하였으며 발효기간을 연장하면 산도와 acetic acid 함량이 더 증가할 것으로 판단하였다.

표 24. 흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 유기산 분석

	Acetic acid (mg/L)	Citric acid (mg/L)	Shikimic acid (mg/L)	Lactic acid (mg/L)
DW0	25,192.39±31.11	2,276.33±11.55	44.77±0.27	24.51±0.78
DW1	29,354.04±15.82	2,496.50±4.39	49.57±0.39	24.85±0.27
DW2	29,906.94±59.29	2,311.23±44.18	48.43±0.50	20.34±1.06
DW3	33,332.34±55.26	2,430.32±21.07	45.60±0.16	17.03±2.59

마. 흑보리 및 베리류 식초의 항산화 활성 분석

(1) 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

흑보리 당화액과 복분자를 혼합하여 알코올 발효를 진행한 흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액과 이로부터 제조한 식초의 항산화활성을 분석하기 위해 항산화활성 물질인 총 폴리페놀과 안토시아닌 함량을 측정하였다. 표 25와 같이 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량은 알코올 발효 후 최대로 증가한 후 초산발효과정에서 다시 분해되었으나 당화액을 100% 함유한 복분자 식초(DW0)가 당화액을 함유하지 않은 식초(DW3)보다 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량이 더 높은 것을 확인하였다.

표 25. 흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액 및 식초의 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

		Total polyphenol contents (TAE mg/mL)	Total anthocyanin contents (CYE mg/mL)
발효전	DW0	62.22±0.37	7.10±0.00
	DW1	59.84±0.17	6.81±0.00
	DW2	55.78±0.28	6.16±0.00
	DW3	62.77±0.08	5.53±0.00
흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액	DW0	89.20±0.08	9.72±0.00
	DW1	87.77±0.27	9.15±0.01
	DW2	86.35±0.43	8.22±0.01
	DW3	89.24±0.52	8.10±0.00
흑보리-복분자 혼합 초산 발효액	DW0	55.80±0.52	3.39±0.01
	DW1	55.52±0.09	3.22±0.00
	DW2	54.52±0.19	2.95±0.00
	DW3	47.66±0.03	2.92±0.00

(2) DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

흑보리 당화액과 복분자를 혼합하여 알코올 발효를 진행한 흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액과 이로부터 제조한 식초의 항산화활성을 분석하기 위해 농도별로 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정 후 IC₅₀ 값을 계산하였다(표 26).

DPPH 라디칼 소거능으로 항산화활성을 측정한 결과 흑보리-복분자 혼합액은 알코올 발효와 초산발효를 거치면서 IC₅₀ 값이 증가하여 항산화활성이 감소하였음을 알 수 있었다. 그러나 당화액을 100% 함유한 복분자 식초(DW0)가 당화액을 함유하지 않은 식초(DW3)보다 IC₅₀ 값이 낮아 항산화활성이 더 우수한 것으로 판단하였다. ABTS 라디칼 소거능으로 측정한 항산화활성 역시 DPPH 라디칼 소거능과 같은 경향을 나타냈으며 두 방법으로 분석한 항산화활성은 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량 변화와 관련이 있음을 알 수 있었다.

표 26. 흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액 및 식초의 항산화활성

		DPPH 라디칼 소거능	ABTS 라디칼 소거능
		IC ₅₀ value(mg/mL)	
발효전	DW0	99.03±0.35	203.93±1.03
	DW1	99.86±0.27	308.14±0.71
	DW2	101.08±0.19	319.65±0.83
	DW3	101.41±0.29	398.34±1.30
흑보리-복분자 혼합 알코올 발효액	DW0	133.44±0.56	161.60±1.01
	DW1	156.98±0.65	161.50±1.17
	DW2	158.19±0.64	159.62±1.35
	DW3	156.34±1.04	155.78±1.11
흑보리-복분자 혼합 초산 발효액	DW0	165.59±0.10	266.54±0.86
	DW1	166.83±0.57	283.10±1.12
	DW2	176.57±0.52	282.00±0.85
	DW3	190.06±0.56	360.28±0.12

마. 흑보리 및 베리류 식초의 향기성분

흑보리 및 복분자 혼합식초의 향기성분을 분석한 결과 표 27과 같았다. 보리 당화액을 첨가하여 발효시킨 흑보리-복분자 혼합식초의 주요 향기성분은 Ethanol, Ethylacetate 함량이 가장 높았고 Acetic_acid, Phenylethyl_Alcohol, Isoamyl_alcohol, 2,4-Di-tert-butylphenol, β-Phenethyl acetate 순서로 함유하고 있었다. 당화액 함량이 감소할수록 Ethanol과 Ethylacetate 함량은 감소하였고 β-Phenethylacetate는 약간 증가하였다. 위에서 실험한 보리와 베리류를 각각 알코올 발효한 후 초산발효 단계에서 혼합발효하는 방법으로 제조된 식초와 보리 당화액을 사용하여 알코올 발효 단계부터 혼합발효에 의해 제조된 식초의 외관은 비슷하였으나 향기성분의 종류와 함량에 차이가 있음을 알 수 있었다.

표 27. 흑보리 및 복분자 혼합식초의 향기성분

	(단위 1,2,3-Trichloropropane equivalent (ug/g))			
	DW0	DW1	DW2	DW3
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol_diisobutyrate	0.94	0.708	1.1	1.328
2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane	0.392	0.404	0.316	0.356
2,4-Di-tert-butylphenol	6.54	6.064	6.196	6.856
3-Hydroxy-2-butanone	0.132	0.164	0.148	0.148
3-Methylbenzaldehyde	0.136	0.164	0.216	0.248
4,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-yl_ace	0.724	0.912	0.72	0.772
4-Terpineol	0.152	0.16	0.144	0.188
Acetic_acid	21.604	24.692	24.972	25.94
Decanoic_acid	0.94	1.032	1.196	2.02
Ethanol	85.24	68.632	52.228	38.9
Ethyl_acetate	89.132	68.016	51.676	46.12
Ethyl_benzoate	0.312	0.288	0.16	0.188
Ethyl_succinate	0.28	0.316	0.324	0.348
Isoamyl_acetate	1.836	2.364	2.192	1.572
Isoamyl_alcohol	7.408	8.58	7.34	5.228
Isobutyl_acetate	0.308	0.388	0.352	0.256
Isobutyl_alcohol	0.768	0.896	0.792	0.5
Isobutyric_acid	0.084	0.104	0.116	0.116
m-Cymene	0.24	0.256	0.232	0.292
Myrtenol	0.448	0.456	0.448	0.448
Octanoic_acid	1.056	1.136	1.324	2
o-Isopropenyltoluene	1.092	1.236	1.144	1.504
Phenylethyl_Alcohol	11.716	13.04	13.912	14.672
p-Nonylphenol	NA	4.588	4.168	4.768
trans-Carveol	0.072	0.068	0.08	0.112
UN_119	0.164	0.152	0.176	0.244
UN_135	0.152	0.156	0.196	0.28
UN_79	0.208	0.232	0.248	0.304
α-Terpineol	0.44	0.44	0.46	0.584
β-Phenethyl_acetate	4.024	4.84	5.992	7.172

4절. 보리식초로부터 초산발효 균주 개발

1. 초산발효액으로부터 균주 분리 및 특성조사

가. 실험방법

(1) 보리식초로부터 초산발효 균주 분리 및 동정

초산발효액으로부터 초산균을 분리하기 위해 곡물 종초, 아로니아 종초 및 복분자 종초를 시료로하여 초산 균주를 분리하였다.

각각의 시료는 전 배양으로 GYE 배지(yeast extract 1%, glucose 5%, ethanol 3%)에 접종하여 30°C에서 48시간 배양하였다. 전 배양된 시료를 SM 배지(Acetobacter 선택 배지, yeast extract 0.5%, glucose 3.0%, CaCO₃ 1.0%, agar 2.0%, ethanol 5.0%)에 접종하여 30°C에서 48시간 배양 한 후 균주를 분리하였다. 각각 분리된 균주는 SM 배지에 tooth pick하여 균주 주변의 투명한 사이즈를 측정하여 초산균을 분리하였다.

Acetobacter 선택 배지(SM 배지)를 이용하여 각 시료에서 분리된 초산균을 대상으로 배지를 이용한 초산과산화(glucose 0.5%, glycerol 0.5%, polypeptone 0.5%, yeast extract 0.5%, bromocresol purple 0.003%, acetic acid 1%, ethanol 1%, agar 1.5%), 초산(glucose 0.5%, glycerol 0.5%, polypeptone 0.5%, yeast extract 0.5%, acetic acid 3%, ethanol 2%, agar 1.5%) 및 pH 내성(glucose 0.5%, glycerol 0.5%, polypeptone 0.5%, yeast extract 0.5%, ethanol 2%, agar 1.5%, pH 3.0~3.4), 내알코올성(yeast extract 1%, glucose 5%, CaCO₃ 3%, agar 2.5%, ethanol 10~20%)을 테스트하여 우수 균주를 선발한 후 미생물 동정을 실시하였다. 미생물 동정은 16s ribosomal RNA 염기서열 분석으로 하였으며, 분석은 (주)솔젠트에 의뢰하였다. PCR 및 sequencer는 각각 ABI 9700 PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)과 ABI 3730 XL DNA analyzer (Applied Biosystem)가 사용되었다. 분석된 미생물의 16s rRNA 염기서열은 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool을 이용하여 동정 결과 값을 나타내었다.

선발된 균주 중 최종 우수균주를 선발하기 위해 YPM 배지(yeast extract 0.5%, peptone 0.3%, mannitol 2.5%, agar 1.5%)를 이용하여 균주의 생육도를 평가하였으며, 생육도 우수 균주는 보리 및 베리류 식초 제조를 통해 발효능 적합성 평가를 실시하였다.

(2) 선발된 균주를 이용한 보리 및 베리류의 발효능 적합성 평가

배지를 통하여 최종 선발된 균주를 이용하여 보리 막걸리 및 아로니아 알콜발효 된 시료에 선발된 균주를 접종하여 14일간 pH, 당도, 산도, 색도, 알콜 함량 및 초산균수를 확인하였다. 초산균수는 Acetobacter 배양 배지인 YPM배지를 이용하여 균수를 확인하였다.

→ 배지를 통한 초산 과산화, 초산 및 pH 내성, 내알코올성 및 생육도 우수 균주 분리 및 선발

나. *Acetobacter* spp. 1종 이상 분리 및 선발

(1) 초산 발효액으로부터 초산균 분리

초산 균주 분리를 위해 곡물 종초, 블루베리 식초, 아로니아 종초 및 복분자 종초의 전 배양으로 GYE 배지에서 1차 배양 후 *Acetobacter* 선택 배지(SM 배지)를 이용하여 초산균주를 분리하였다. SM 배지를 이용하여 각 시료에서 분리된 투명한을 가진 초산균은 총 117종으로 곡물 종초에서 20종, 아로니아 종초에서 20종, 블루베리 식초에서 8종, 복분자 종초에서 69종으로 확인되었다. 이들 균주를 순수 분리하여 배지를 통한 최적 우수 균주를 선발하였다.

(2) 초산 발효액으로부터 분리된 균주 1차 선발

각각의 곡물 및 베리류 종초에서 순수 분리한 균주의 우수균주를 선발하기 위해 1차적으로 SM 배지에 tooth pick하여 배양한 후 투명한 사이즈를 측정하여 1cm 이상인 균주를 1차로 선발하였다. (그림 16)



그림 16. SM 배지에서 초산균 분리

1차 선발된 균주는 총 62균주이며, 이들 균주를 대상으로 초산과산화 배지를 통해 특성을 확인한 결과 거의 없는 것으로 확인되었다. 초산은 초산 생성 배지를 이용하여 균주 접종 후 배양 유무로 확인한 결과 거의 대부분의 균주가 초산을 생성하는 것으로 확인되었다. pH 내성은 pH3으로 조정하여 제조된 배지를 이용하여 균주 접종 후 배양 유무를 확인한 결과 거의 대부분 균주가 pH 내성을 가지고 있었다. 내알코올성은 SM 배지에 알코올 함량이 10, 15, 20%로 제조한 배지를 통해 투명한의 유무로 분석한 결과 알코올 함량이 높아질수록 활성을 가지는 균주는 감소하였으며, 10%에서 가장 많은 균주의 활성이 있는 것으로 확인되었다. 따라서 SM 배지에서의 투명한의 크기가 1cm 이상인 것과 pH 및 초산 내성, 알코올 함량에 따른 내알코올성이 높은 균주 52 균주를 선정하여 16s ribosomal RNA 염기서열 분석을 통해 동정하였으며, 분석은 (주)솔젠트에 의뢰하였다.

(3) 초산 발효액으로부터 분리한 균주의 동정

곡물 종초에서 분리한 총 20 균주 중 우수균주로 선발된 균주를 대상으로 16S rRNA 염기서열을 이용하여 동정한 결과 표 28에 나타낸 바와 같이 확인되었다. 곡물 종초에서 분리한 우수균주 11종 모두 *Acetobacter pasteurianus*로 확인되었다.

표 28. 곡물 종초에서 분리한 균주 동정 결과

균주 번호	동정결과
G3	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G5	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G6	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G7	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G10	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G11	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G12	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G13	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G15	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G17	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
G20	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence

아로니아 종초에서 분리한 총 20 균주 중 우수균주로 선발된 균주를 대상으로 16S rRNA 염기서열을 이용하여 동정한 결과 표 29에 나타낸 바와 같이 확인되었다. 아로니아 종초에서 분리한 우수균주 중 6종은 *Acetobacter pasteurianus*로 확인되었으며, 4종은 *Komagataeibacter saccharivorans*으로 확인되었다.

표 29. 아로니아 종초에서 분리한 균주 동정 결과

균주 번호	동정결과
A1	Komagataeibacter saccharivorans strain JCM 25121 16S ribosomal RNA, partial sequence
A2	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
A6	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
A7	Komagataeibacter saccharivorans strain JCM 25121 16S ribosomal RNA, partial sequence
A10	Komagataeibacter saccharivorans strain JCM 25121 16S ribosomal RNA, partial sequence
A11	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
A12	Komagataeibacter saccharivorans strain JCM 25121 16S ribosomal RNA, partial sequence
A15	Komagataeibacter saccharivorans strain JCM 25121 16S ribosomal RNA, partial sequence
A16	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
A19	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence

복분자 종초에서 분리한 총 69 균주 중 우수균주로 선발된 균주를 대상으로 16S rRNA 염기서열을 이용하여 동정한 결과 표 30에 나타낸 바와 같이 확인되었다. 복분자 종초에서 분리한 우수균주 모두 *Acetobacter pasteurianus*로 확인되었다.

표 30. 복분자 종초에서 분리한 균주 동정 결과

균주 번호	동정결과
BJ3	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ4	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ5	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ7	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ8	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ9	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ14	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ15	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ19	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ20	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ28	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ30	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ31	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ32	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ34	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ35	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ38	Acetobacter pascendens strain LMD 53.6 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ42	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ45	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ47	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ48	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ51	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ55	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ56	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ62	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence
BJ63	Acetobacter pasteurianus subsp. pasteurianus LMG 1262 = NBRC 106471 16S ribosomal RNA, partial sequence

다. 배지를 통한 초산 과산화, 초산 및 pH 내성, 내알코올성 및 생육도 우수 균주 분리 및 선발 따라서 표 31에 나타낸 바와 같이 초산 생성 투명한 크기, pH 내성, 초산 생성, 내알코올성을 측정 한 결과 최종 우수균주 5균주를 선발하였으며, 균주는 G7, G10, G15, A7, BJ20, BJ62으로 동정결과 모두 *Acetobacter pasteurianus*으로 확인되었다.

따라서 이들 균주에 대해 생육도 우수균주를 선발하여 최종 식초 발효에 사용 가능한 초산 발효 starter 균주를 선발하고자 한다.

표 31. 배지를 이용한 우수 초산균주 선정

균주명	초산 생성 투명환 size (cm)	초산 과산화	초산	pH 내성	내알코올성		
					알코올 함량 10%	알코올 함량 15%	알코올 함량 20%
G7	1.2	-	+	+	+	+	-
G10	1.0	-	+	+	+	+	-
G15	1.0	-	+	+	+	-	-
A7	1.5	-	+	+	+	-	-
BJ20	1.7	-	+	+	+	+	-
BJ62	1.2	-	+	+	+	+	-

(4) 선발된 균주의 생육도 우수 균주 선발

선정된 균주 중 생육도 우수 균주를 선발하기 위해 LM 배지에 균주를 접종하여 30도에서 4 일 동안 12시간 간격으로 흡광도(O.D. 600 nm)를 측정하여 균주의 생육도를 확인하였다. 선발된 균주는 배지를 통한 초산 우수균주로 선정된 균주로 G7, G10, G15, A7, BJ20, BJ62로 총 6 종을 이용하여 생육도 우수균주를 확인하였다.

선발된 균주의 배양 시간에 따른 흡광도를 측정하여 생육도를 확인한 결과 그림 17과 같이 BJ20균주가 가장 높은 흡광도를 나타내었다. 또한 대부분의 균주가 배양 시간 48시간 이후 가장 높은 흡광도를 나타내어 균수가 높은 것으로 확인되었다. BJ20균주의 경우 60시간에서 흡광도 값이 1.383으로 확인되었으며, G10균주의 경우 72시간에서 흡광도 값이 1.349로 확인되었다. 따라서 생육도가 높은 균주인 BJ20 균주를 선정하여 특허미생물로 기탁(KCTC18853P)하였고 보리 및 베리류 식초를 제조하여 발효능 적합성을 평가하였다.

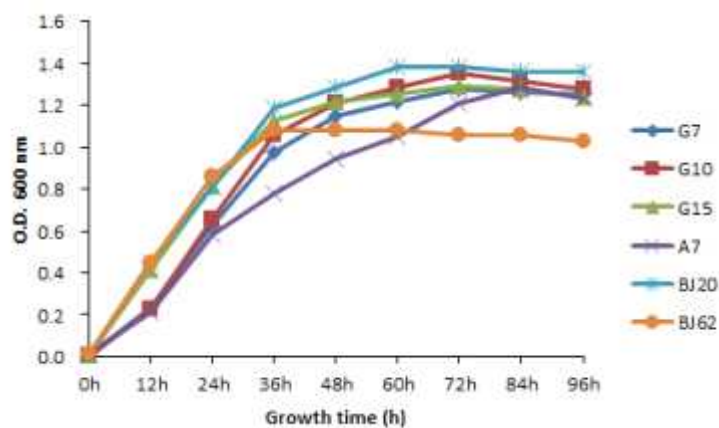


그림 17. 선발된 초산균의 성장곡선

라. 선발된 균주를 이용한 보리 및 베리류의 발효능 적합성 평가를 통한 최종 우수 균주 선발

초산 및 pH 내성, 내알코올성 및 생육 우수 균주인 *Acetobacter pasteurianus* BJ20을 선정하여 보리 및 베리류 식초를 제조하여 발효능 적합성 평가를 실시하였다. 흑보리 막걸리와 아로니아 및 복분자 술에 우수 균주인 *Acetobacter pasteurianus* BJ20을 접종하여 30도에 14일간 초산 발효하면서 발효기간에 따른 pH, 당도, 산도, 색도, 알코올 및 초산균수를 확인하였다.

표 32에 나타난 바와 같이 흑보리 식초의 pH는 3.51~3.52로 비슷한 수준을 나타내었으며, 아로니아 식초의 pH는 3.66~3.58, 복분자 식초의 pH는 3.72~3.25로 다소 감소한 것으로 확인되었다. 당도의 경우 흑보리 식초는 5.4~4.5 brix, 아로니아 식초는 6.4~6.8 brix, 복분자 식초는 7.7~6.8 brix로 확인되었다. 산도의 경우 흑보리 식초는 초기 1.41%에서 발효가 끝난 시점인 2주후 4.15%로 증가하였으며, 아로니아 식초의 경우 초기 산도는 1.13%에서 2주후 4.62%로 증가하였다. 또한 복분자 식초의 경우 초기 산도는 1.44%에서 2주후 6.75%로 증가하였다. 제조한 식초의 알코올 함량은 흑보리 식초는 초기 11.05%에서 2주후 1.05%로 감소하였으며, 아로니아 식초의 경우 초기 7.79%에서 2주후 1.25%로 감소하였다. 또한 복분자 식초의 알코올 함량은 초기 10.68%에서 2주후 1.13%로 감소하였다.

표 32. 우수 균주를 이용한 보리 및 베리류 식초의 이화학적 특성 분석

시료	발효기간 (일)	pH	당도(brix)	산도(%)	알코올(%)
흑보리 식초	0	3.51±0.02	5.4±0.0	1.41±0.12	11.05±0.12
	7	3.56±0.01	4.6±0.0	4.08±0.13	1.19±0.14
	14	3.52±0.02	4.5±0.1	4.15±0.08	1.05±0.10
아로니아 식초	0	3.66±0.01	6.4±0.0	1.13±0.14	7.79±0.09
	7	3.52±0.02	6.6±0.0	3.30±0.11	2.21±0.10
	14	3.78±0.01	6.8±0.0	4.62±0.09	1.25±0.07
복분자 식초	0	3.72±0.02	7.7±0.1	1.44±0.13	10.68±0.09
	7	3.28±0.02	6.9±0.0	6.46±0.08	2.22±0.11
	14	3.25±0.02	6.8±0.0	6.75±0.07	1.13±0.08

우수 균주인 *Acetobacter pasteurianus* BJ20을 이용하여 보리 및 베리류 식초 제조에 따른 발효 기간별 색도 및 초산균수를 측정하였다(표 33). 흑보리 식초의 색도는 발효가 진행될수록 L값은 감소하였으며, a값 및 b값은 증가하였으며, 아로니아 식초의 색도는 발효가 진행될수록 L값은 감소하였으며, a값 및 b값은 증가하였다. 복분자 식초의 색도는 발효가 진행될수록 L값, a값, b값 모두 감소하는 것으로 확인되었다.

발효기간에 따른 식초의 초산균수 분석 결과 흑보리 식초의 경우 초기 1.23±0.03 Log CFU/ml에서 2주후 6.57±0.10 Log CFU/ml로 증가하였으며, 아로니아 식초의 경우 초기 1.12±0.04 Log CFU/ml에서 2주후 6.83±0.02 Log CFU/ml로 증가하였다. 또한 복분자 식초의 경우 초기 1.19±0.06 Log CFU/ml에서 2주후 5.92±0.04 Log CFU/ml로 증가하였다. 발효 기간에 따른 식초의 초산균수는 흑보리, 아로니아 및 복분자 식초 모두 발효 1주차에 가장 높은 균수가 확인되었다.

표 33. 우수 균주를 이용한 보리 및 베리류 식초의 색도 및 균주 분석

시료	발효기간 (일)	색도			초산균수 (Log CFU/ml)
		L	a	b	
흑보리 식초	0	96.48±0.01	0.10±0.01	1.57±0.02	1.23±0.03
	7	95.91±0.02	0.47±0.01	6.67±0.03	6.83±0.06
	14	84.38±0.01	1.32±0.01	15.48±0.02	6.57±0.10
아로니아 식초	0	69.14±0.02	28.62±0.02	11.21±0.02	1.12±0.04
	7	57.68±0.03	39.57±0.01	16.37±0.03	7.08±0.01
	14	31.21±0.01	47.17±0.03	34.11±0.01	6.83±0.02
복분자 식초	0	12.97±0.05	44.19±0.01	22.36±0.01	1.19±0.06
	7	9.09±0.01	39.12±0.03	15.68±0.01	6.08±0.03
	14	5.49±0.02	31.9±0.02	9.46±0.02	5.92±0.04

5절. 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조공정 확립 및 기능성 특성

1. 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조에 적합한 보리 품종 및 베리류 선정

유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조를 위해 보리 선정은 보리의 이화학적 특성 및 발효 특성 등을 조사한 결과 폴리페놀 함량과 항산화활성이 높은 흑보리를 선정하였다. 흑보리의 알코올 발효 특성은 다소 낮았으나 이는 보리의 도정률이 다른 보리에 비해 낮았기 때문에 도정률을 높이면 알코올 발효 효율을 개선시킬 수 있으므로 베리류와 혼합식초를 제조하기에 적합하다고 판단하였다.

보리와 베리류를 각각 알코올 발효한 후 초산발효를 진행하는 방법으로 제조하는 식초의 경우 베리류는 아로니아로 선정하였다. 흑보리-아로니아 혼합식초의 경우 흑보리 알코올을 25% 이상 첨가하는 경우 산도가 증가하여 발효 촉진 효과가 나타났으며 복분자의 경우에는 큰 차이가 없었다.

알코올 발효단계부터 혼합발효 하는 방법으로 제조하는 식초의 경우 베리류는 복분자로 선정하였고 보리 당화액을 사용하여 복분자와 혼합 알코올 발효를 진행하였다.

2. 유색보리 및 베리류 혼합발효 식초 제조 조건 표준화

가. 흑보리-아로니아 혼합발효 식초

흑보리 및 아로니아 혼합발효 식초의 제조 공정은 흑보리((주)청맥농업회사법인)와 아로니아(고창산) 원료 특성에 따라 각각 알코올 발효를 진행한 후 초산발효를 거쳐 제조하였다(그림 18). 아로니아 단일 원료로 식초를 제조하는 경우 보다 흑보리 첨가에 의해 발효가 촉진되는 효과를 볼 수 있었고 흑보리 단일 원료로 제조한 식초보다 항산화 활성을 증가시킬 수 있는 상호 보완 효과를 얻을 수 있었다.

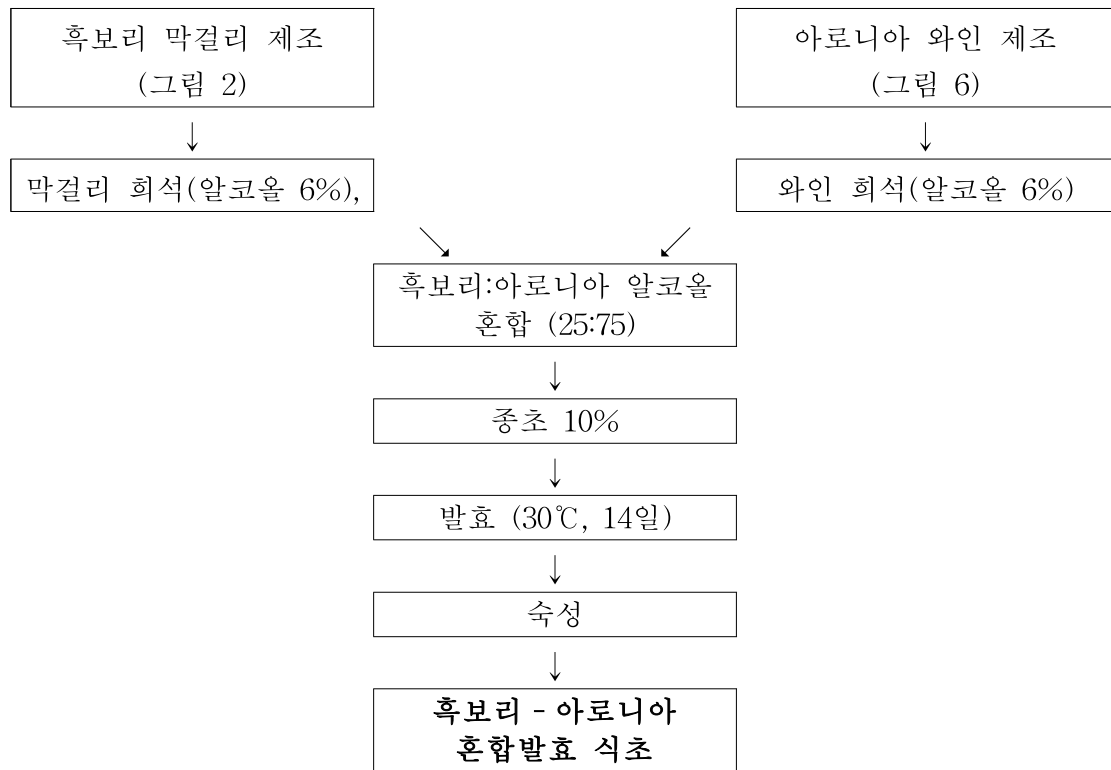


그림 18. 흑보리 및 아로니아 혼합 발효식초 제조과정

나. 흑보리-복분자 혼합발효 식초

흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 제조 공정은 흑보리((주)청맥농업회사법인)를 탁주용 정제효소로 당화시킨 후 복분자(고창산)와 혼합하여 와인 발효를 시키고 초산발효를 제조하는 공정으로 확립하였다(그림 19). 흑보리 당화액을 복분자와 혼합하여 알코올 발효함으로써 알코올 생성량이 증가하여 식초 생산 효율을 증가시킬 수 있다고 판단하였다.

3. 식초의 이화학적 특성 분석

흑보리 및 아로니아, 흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 이화학적 특성을 분석한 결과 표 34와 같았다. 두 식초 모두 6% 이상의 식초를 얻을 수 있었고 흑보리 및 복분자 식초가 흑보리 및 아로니아 식초보다 검붉은 식초로 제조되었다.

4. 식초의 항산화 활성 분석

흑보리 및 아로니아, 흑보리 및 복분자 혼합발효 식초의 이화학적 특성을 분석한 결과 표 35와 같았다. 흑보리-아로니아 식초가 흑보리-복분자 식초보다 항산화활성이 더 높은 것으로 보여지지만 이는 제조 공정상 베리류 함량이 다르기 때문이라고 판단하였다.

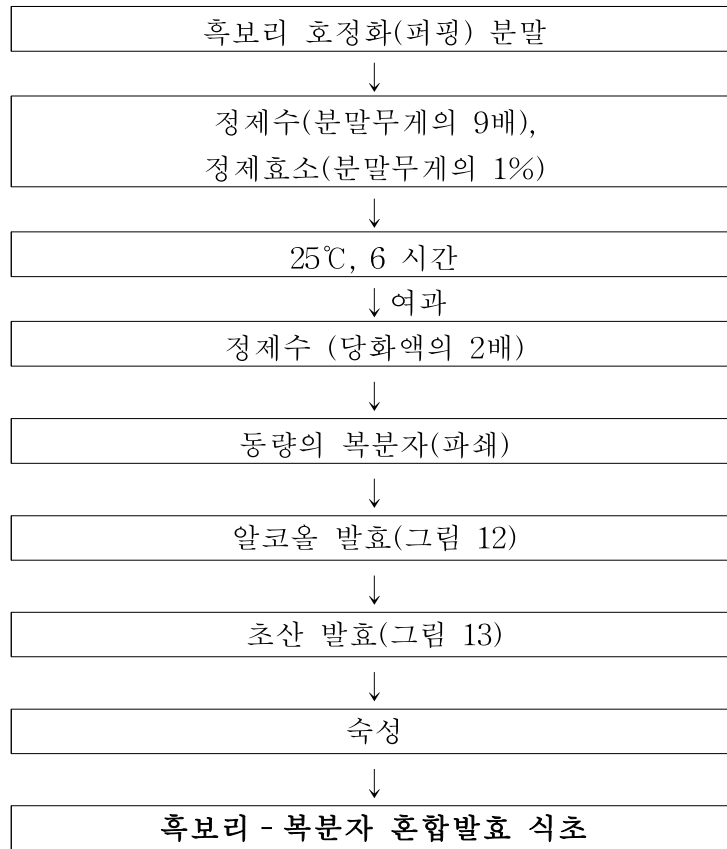


그림 19. 흑보리 및 복분자 혼합 발효식초 제조공정

표 34. 흑보리 및 베리류 혼합식초의 이화학적 특성

	산도 (%)	당도 (°Bx)	pH	알코올 (%)	L	a	b
흑보리-아로니아 식초	6.83 ±0.61	7.65 ±0.06	3.18 ±0.04	0.30 ±0.02	88.10 ±0.29	10.56 ±0.10	6.12 ±0.64
흑보리-복분자 식초	6.17 ±0.14	5.93 ±0.06	2.94 ±0.01	1.81 ±0.01	40.31 ±0.02	59.64 ±0.01	38.19 ±0.05

표 35. 흑보리-베리류 혼합발효 식초의 항산화 성분 및 활성

	Total polyphenol contents (TAE mg/mL)	Total anthocyanin contents (CYE mg/mL)	DPPH 라디칼 소거능	ABTS 라디칼 소거능
			IC ₅₀ value(mg/mL)	
흑보리-아로니아 식초	12.50±1.01	1.31±0.00	63.18	79.58
흑보리-복분자 식초	54.52±0.19	2.95±0.00	176.57	282.00

2-2장 제1협동과제 - 상희팜푸드영농조합법인 : 보리 및 복분자 혼합발효 식초 음료 사업화

1절. 보리 및 복분자 혼합발효 식초를 활용한 제품개발

1. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 대량생산 공정 확립 및 적용

보리 및 복분자 혼합발효 식초 제조공정을 확립하기 위해 주관기관의 실험결과를 바탕으로 보리와 복분자 혼합 알코올 발효를 실시하였고 초산발효를 거쳐 식초 생산을 실시하였다.

가. 보리 및 복분자 와인발효 공정 확립

(1) 복분자 알코올 발효액 제조

보리 및 복분자 혼합알코올 발효액의 기준을 설정하기 위해 기존 방식으로 복분자(고창산)만을 사용하여 알코올 발효액을 제조하였다. 복분자 알코올 발효액(와인)은 복분자 파쇄 후 설탕으로 보당하고 효모를 첨가하여 발효시키는 공정으로 제조하였다.



원물 및 설탕 측량

복분자 알코올 발효(와인 방식)

그림 1. 기존 복분자 알코올 발효액(와인) 제조 과정

(2) 보리 및 복분자 혼합알코올 발효액 제조

(가) 보리 당화액 제조

먼저 보리와 복분자 혼합 알코올 발효에 앞서 (주)청맥농업회사법인에서 구입한 보리를 퍼핑한 후 분쇄기로 분말화하여 아래 그림과 같이 당화액을 제조하였다. 보리 퍼핑 분말에 정제수를 넣고 혼합한 후 탁주용 정제효소를 보리 무게 대비 1%를 첨가하였고 실온(25℃)에서 6시간 반응시킨 후 착즙포에 담아 압착여과하였다. 보리 당화액은 보리를 증량시킴에 따라 당도가 다소 감소하였으나 6 °Bx 이상은 유지되었다.

표 1. 보리 당화액 제조 대량생산 테스트

	1차	⇒	2차	⇒	3차
보리 퍼핑분말	400 g		4 kg		10 g
물	3.6 L		36 L		90 L
정제효소	4g		40 g		100 g



퍼핑 보리 측량



퍼핑 보리 당화액 제조



보리 당화액

그림 2. 보리 당화액 제조

표 2. 보리 당화액의 당도

	1차	2차	3차
당도	21.32	20.88	20.05

(나) 보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액 제조

보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액은 주관기관 연구결과에 따라 기존 복분자 알코올 발효액(와인) 제조공정에 적용시켜서 다음과 같이 제조하였다. 복분자 와인의 제조공정에 따라 복분자(고창산)를 파쇄한 후 위에서 제조한 보리당화액과 백설탕을 사용하여 24 °Bx가 되도록 보당하였고 와인용 효모인 퍼미빈을 첨가하여 잘 섞어 준 후 25°C에서 발효하였다. 보당한 당이 다 감소되고 알코올 생성이 더 이상 일어나지 않을 때까지 발효를 진행하였으며 알코올 발효 기간은 10일이 소요되었다. 보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액의 발효특성은 색도, pH, 당도, 산도, 알코올 함량을 측정하였고 결과는 아래 표에 나타냈다. 보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액의 명도는 발효기간이 지남에 따라 감소하였으나 황색도 값은 증가하였고, 당도는 감소하고 알코올은 증가되어 알코올 발효가 진행되었음을 알 수 있었다.

표 3. 보리 및 복분자 와인발효 특성

	색도			pH	당도(°Bx)	산도(%)	알코올(%)
	L	a	b				
발효 전	37.40±3.64	62.92±0.97	42.39±6.37	3.80±0.03	23.50±1.48	0.41±0.04	0.61±0.04
발효 후	33.81±0.40	62.80±0.25	47.33±0.17	3.80±0.02	9.43±0.51	0.78±0.01	14.20±0.27

나. 보리 및 복분자 와인발효 식초 특성

보리 및 복분자 혼합 알코올발효액을 발효가 종료된 후 여과하였다. 보리 복분자 혼합발효 식초는 기존 식초 생산라인에 따라 여과액을 알코올 함량이 6%가 되도록 정제수로 희석한 후 종초를 10% 첨가하여 30℃에서 초산발효를 진행하였다. 30일 후 알코올 함량이 1% 미만으로 감소하고 초산함량의 증가가 멈추었음을 확인하고 초산발효가 완료되었다고 판단하였다. 식초의 초산발효 특성은 색도, pH, 당도, 산도, 알코올 함량을 측정하였고 그 결과는 아래 표와 같았다. 초산발효가 진행될 수록 알코올 함량은 감소하고 산도는 증가하였다.



원료 준비



원료 혼합



보리 복분자 혼합



보리 복분자 와인발효



원료 탱크 이동 및 술 거르기(압착여과)



식초제조 및 숙성



생산(살균 및 병입)

그림 3. 보리 및 복분자 와인발효를 통한 혼합식초 제조

표 4. 보리 및 복분자 와인발효 식초 특성

	색도			pH	당도(°Bx)	산도	알코올(%)
	L	a	b				
발효 전	44.68±0.16	63.11±0.20	38.95±1.63	3.21±0.09	6.20±0.87	0.88±0.13	6.44±0.44
중간	44.96±1.79	61.98±0.52	36.46±2.56	3.23±0.04	5.30±0.50	2.94±.27	4.29±0.55
발효 후	42.17±1.33	59.41±0.94	36.80±1.74	2.97±0.02	6.43±0.98	6.58±0.26	0.70±0.26

다. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 제조공정도

이상의 대량생산 테스트 결과 보리 및 복분자 혼합발효 식초의 제조 공정은 다음과 같았다. 복분자를 과쇄하여 백설탕으로 보당한 후 효모와 보리 당화액을 첨가하여 알코올 발효를 진행하였다. 알코올 발효액을 여과한 후 알코올 함량이 6%가 되도록 희석하고 증초를 첨가하여 초산발효를 진행하였고, 여과 살균하여 병입하였다. 보리 및 복분자 혼합발효 식초의 제조공정도는 아래 그림으로 나타났다. 보리-복분자 식초는 기존 복분자 식초와 비교하여 알코올발효 단계에서 알코올 생성량이 약 10% 증가하여 식초 생산시 원재료 가격의 약 20% 절감 효과가 있었다.

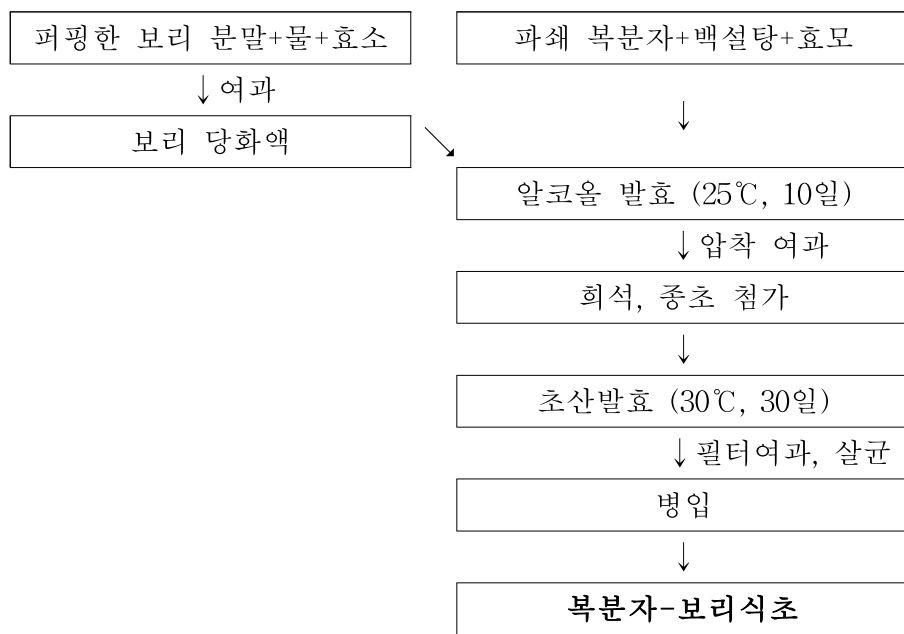


그림 4. 복분자 보리 혼합발효식초 제조공정도

2. 보리 및 복분자 혼합발효 식초를 이용한 음료 개발

가. 관능평가를 통한 식초음료 레시피 확립

보리 및 복분자 혼합발효 식초를 이용하여 식초음료를 개발하기 위해 매장 방문객과 베리&바이오식품연구소 직원을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 색, 향, 맛, 텍스처에 대해 5점 만점으로 아래 그림의 평가지를 사용하여 기호도 조사로 실시하였다.

보리 및 복분자 혼합발효 식초음료 기호도 조사

2020. 11. _____ 나이 : _____ 성별 : _____ 이름 : _____

보리와 복분자 혼합발효 식초로 제조한 음료의 기호도를 평가하고자 합니다.
 각 항목에 대해 5점 만점으로 기호도에 대해 점수를 주십시오.
 (1점-매우 싫다 - 3점-그저 그렇다 - 5점-매우 좋다)
 한 시료의 맛을 보고 생수로 입을 행균 후 다음 시료를 평가해 주십시오.

시 료	색	향	맛	텍스처(목넘김)	전체적인 기호도

※ 이 설문지의 답변은 제품의 기호도 조사를 위한 목적 이외에는 사용하지 않습니다. 개인정보 활용에 동의하십니까? (예, 아니오)

서명 _____

그림 5. 보리 및 복분자 혼합발효 식초음료 관능평가지

(1) 혼합발효식초 함량 결정

식초 음료에 사용할 보리 및 복분자 혼합발효식초 함량을 결정하기 위해 식초와 복분자 착즙액 함량을 달리한 레시피를 설정하고 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사 결과 아래 표와 같이 식초 1%를 함유한 음료가 색, 향, 삼킬 때 목넘김에 대한 점수가 높아 전체적인 기호도가 가장 좋았다. 관능평가 한 보리-복분자 식초음료의 특성조사를 실시한 결과 당산비가 가장 적절해서 기호도가 높았다고 생각했다.

표 5. 혼합발효식초 함량을 달리한 보리복분자 혼합발효식초 음료 레시피

	A	B	C	D
보리복분자 혼합발효식초(%)	1	1.5	2	2.5
과즙액(%)	30.8	30.8	30.8	30.8
당류A(%)	8.2	8.2	8.2	8.2
당류B(%)	6.2	6.2	6.2	6.2
산류(%)	0.2	0.2	0.2	0.2
정제수(%)	53.6	53.1	52.6	52.1

표 6. 보리 및 복분자 식초음료 기호도 조사

	색	향	맛	텍스처 (목넘김)	전체적인 기호도
A	4.33±0.82	4.33±0.82	3.83±1.17	4.17±0.98	4.00±0.89
B	4.00±0.89	3.33±1.21	4.17±1.17	4.00±0.63	3.873±0.41
C	3.83±0.98	3.83±0.75	3.83±1.17	3.67±0.82	3.67±0.82
D	4.17±0.75	3.67±0.82	3.33±1.03	3.17±0.98	3.17±0.75

표 7. 보리 및 복분자 식초음료 특성조사

	색도			당도(°Bx)	pH	산도(%)
	L	a	b			
1	35.25±0.01	62.36±0.01	53.41±0.04	18.05±0.07	3.28±0.01	0.90±0.01
2	36.24±0.01	63.24±0.01	55.22±0.08	17.70±0.00	3.21±0.01	0.93±0.00
3	36.46±0.01	63.29±0.02	54.46±0.00	17.50±0.00	3.29±0.01	0.95±0.00
4	36.55±0.00	63.42±0.01	55.04±0.03	17.30±0.00	3.26±0.01	0.99±0.00

(2) 당 종류 및 함량 결정

위의 평가결과에 따라 보리복분자 혼합발효식초를 1%로 하고 아래 표와 같이 당류를 달리 하여 제조한 식초 음료의 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사 결과 아래 표와 같이 당류 A와 E의 조합으로 14.4%를 넣어 제조한 식초음료가 색, 향, 맛, 질감 모두 높은 점수를 받았고 전체적인 기호도가 가장 높았다.

표 8. 당 종류 및 함량을 달리한 보리복분자 혼합발효식초 음료 레시피

	A	B	C	D
보리복분자 혼합발효식초(%)	1	1	1	1
과즙액(%)	30.8	30.8	30.8	30.8
당류A(%)	8.2	8.2	8.2	8.2
당류B(%)	6.2	0	0	0
당류C(%)	0	6.2	0	0
당류D(%)	0	0	6.2	0
당류E(%)	0	0	0	6.2
산류(%)	0.2	0.2	0.2	0.2
정제수(%)	53.6	53.6	53.6	53.6

표 9. 보리 및 복분자 식초음료 기호도 조사 관능평가

	색	향	맛	텍스처 (목넘김)	전체적인기 호도
A	4.14±0.69	4.14±0.69	4.00±0.82	4.00±1.00	4.00±1.00
B	4.29±0.49	3.43±0.53	3.71±0.95	4.00±1.15	3.71±0.76
C	4.29±0.49	4.00±0.58	3.57±0.53	4.00±0.82	3.71±0.49
D	4.42±0.53	4.29±0.76	4.29±0.76	4.43±0.76	4.57±0.53

표 10. 보리 및 복분자 식초음료 특성조사

	색도			당도(°Bx)	pH	산도(%)
	L	a	b			
1	36.20±0.00	61.35±0.01	46.74±0.03	18.10±0.00	3.27±0.01	0.79±0.01
2	35.82±0.01	61.27±.01	46.28±0.05	18.95±0.07	3.36±0.01	0.80±0.00
3	31.03±0.01	59.85±0.00	48.14±0.05	18.25±0.07	3.48±0.00	0.98±0.00
4	32.67±0.00	60.18±0.03	51.25±0.01	16.70±0.00	3.27±0.04	0.85±0.01

나. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 음료의 제조공정 확립

보리 및 복분자 혼합발효 식초음료의 제조공정은 아래 그림과 같았다. 복분자와 보리 당화액으로 알코올 발효와 초산발효를 진행 한 후 여과하여 정제수와 첨가물을 넣어 제성하였고 살균 포장하는 방법으로 식초 음료 제조공정을 확립하였다.

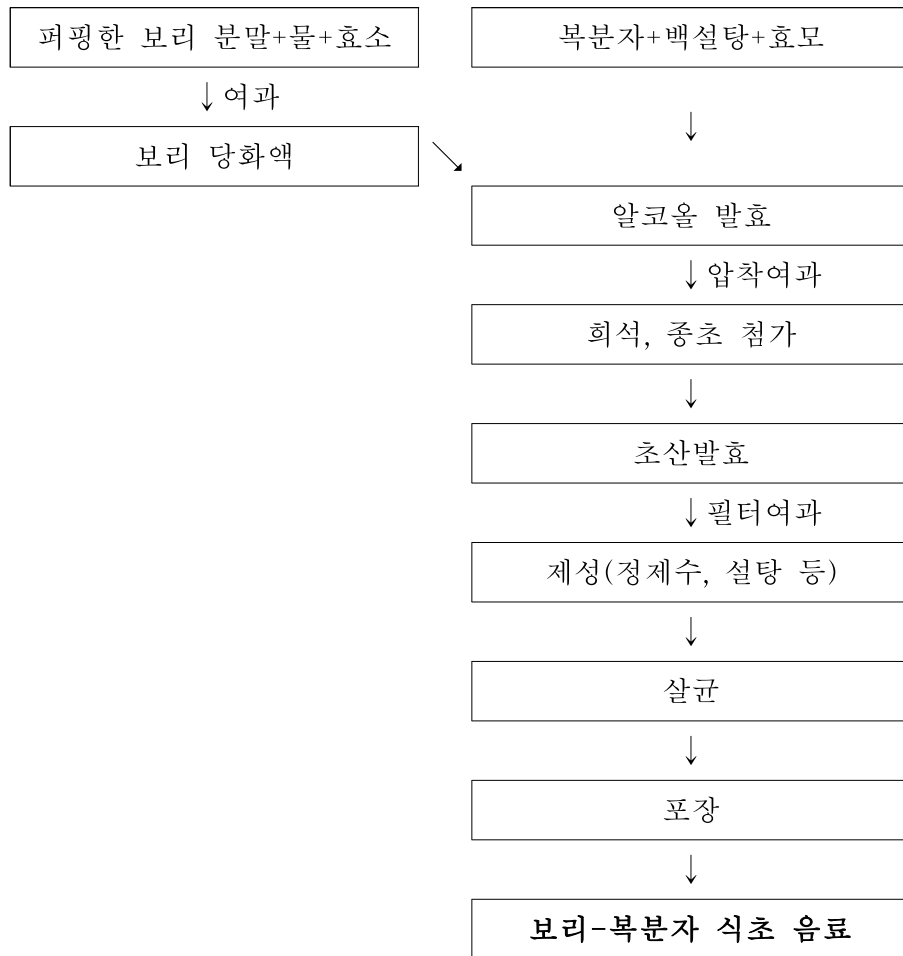


그림 6. 보리 및 복분자 혼합발효식초 음료 제조공정도

2절. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화

1. 식초 및 음료의 포장디자인 개발

보리 및 복분자 혼합발효 식초 제품화를 위해 병제품의 라벨을 디자인하였다. 라벨에는 보리와 복분자를 필화 이미지로 나타내 보리와 복분자를 원료로 사용했음을 인지하기 쉽게 표현하였다. 보리 및 복분자 혼합 발효식초의 네이밍은 누구든지 제품 내용물을 이해하기 쉽도록 복분자 보리식초라고 하였으며 라벨 디자인은 아래 그림과 같았다.

가. 복분자 보리 식초 라벨 디자인



나. 복분자 보리 식초 박스 디자인

복분자 보리식초의 박스는 중앙부분을 절개하여 박스 포장된 병 라벨이 잘 보일 수 있도록 하였고, 용량을 2가지로 하여 200 mL와 500 mL로 디자인하였다.



2. 식초 및 음료의 시제품 생산

가. 복분자 보리 식초 제품화

보리 및 복분자 혼합발효식초인 ‘복분자보리식초’라는 제품명으로 아래 그림과 같이 품목제조보고를 실시하였고 제품을 생산하였다.

3. 식초 및 음료의 홍보 및 판로 개척

보리 및 복분자 혼합발효 식초를 홍보하기 위해 본사에서 운영하는 매장 및 체험장 방문객을 대상으로 아래와 같이 교육을 실시하였고, 판로 개척을 위해 각종 전시회에 참가하였다.

가. 흑보리 및 복분자 식초 교육

 <p>2020. 06. 03. 전주 국제한식조리학교</p>	 <p>2020. 06. 16. 익산 식품회사 대표단</p>
<p><복분자 식초 실습 체험> 2020.06.03. 전주 국제한식조리학교</p>	<p><복분자와 보리 식초 실습 체험> 2020.06.16. 익산 식품회사</p>
 <p>2020. 07. 14. 전주 농식품 인력개발원</p>	 <p>2020. 07. 30. 영주시 농업기술센터</p>
<p><복분자와 보리 식초 실습 체험> 2020.07.14. 전주 농식품 인력개발원</p>	<p><복분자와 보리 식초 실습 체험> 2020.07.30. 영주시 농업기술센터</p>

그림 8. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 홍보를 위한 교육 활동

나. 흑보리 및 복분자 식초 판로개척



그림 9. 보리 및 복분자 혼합발효 식초 판로 개척을 위한 홍보 전시

2-3장 제2협동과제 - 고창베리촌영농조합법인

: 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 음료 사업화

1절. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 활용한 제품개발

1. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 대량생산 공정 확립 및 적용

보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 제조공정을 확립하기 위해 주관기관의 연구결과에 근거하여 보리와 복분자의 원료 특성에 따른 각각의 알코올 발효 후 혼합 초산발효를 거쳐 식초 시험 생산을 실시하였다.

가. 보리 및 아로니아 알코올 발효 공정 확립

(1) 흑보리 알코올 발효액 (막걸리 타입) 제조

흑보리는 전분질이 주성분이므로 누룩을 첨가하여 전분질의 당화와 알코올 발효를 일으키는 방법으로 알코올 발효액(막걸리)을 제조하여야 한다. 따라서 흑보리 알코올은 다음과 같이 제조하였다. (주)청맥농업회사법인에서 구입한 흑보리를 증자하여 식힌 후 누룩과 물, 효소를 가하고 25℃에서 1일간 발효하여 밀술을 제조한다. 다시 다량의 흑보리를 증자하여 식힌 후 누룩, 물, 효소를 혼합한 덧술을 가하여 15일간 발효시켰다. 알코올 발효가 종료되면 착즙포에 술을 걸러 색도, pH, 당도, 산도, 알코올을 측정하여 흑보리 알코올의 품질을 확인하였다.

(2) 아로니아 알코올 발효액 (와인 타입) 제조

아로니아 알코올 발효액은 와인의 제조공정에 따라 제조하였다. 아로니아(고창산)를 세척하여 파쇄한 후 백설탕을 사용하여 26 °Bx가 되도록 보당하였고 와인용 효모인 퍼미빈을 첨가하여 잘 섞어 준 후 25℃에서 발효하였다. 보당한 당이 다 감소되고 알코올 생성이 더 이상 일어나지 않을 때까지 발효를 진행하였으며 알코올 발효기간은 20일이 소요되었다. 보리 및 복분자 혼합 알코올 발효액의 발효특성은 색도, pH, 당도, 산도, 알코올 함량을 측정하였고 결과는 아래 표에 나타냈다.

표 1. 흑보리 및 아로니아 알코올 발효 특성

		색도			pH	당도(°Bx)	산도	알코올(%)
		L	a	b				
흑보리	발효 전	58.32±1.82	0.91±0.32	2.11±0.68	4.70±0.08	3.32±0.06	0.05±0.00	-
막걸리	발효 후	43.62±1.38	1.02±0.20	3.32±0.96	3.82±0.05	9.95±0.05	0.67±0.06	10.48±0.34
아로니아	발효 전	39.17±0.86	68.78±0.35	28.05±0.03	3.64±0.02	27.13±0.63	0.54±0.14	0.04±0.21
와인	발효 후	52.64±0.05	45.36±0.03	10.86±0.06	3.82±0.02	13.02±0.00	0.68±0.02	12.85±0.01



원료



→



밀슬 제조



→



→



누룩첨가 및 덧슬제조

발효



→



슬 거르기(압착여과)

그림 1. 흑보리 알코올 발효액(막걸리) 대량생산 테스트



원료(아로니아)



파쇄, 가당, 효모 첨가



발효



술거르기 (압착여과)

그림 2. 아로니아 알코올 발효(와인) 대량생산 테스트

나. 흑보리 및 아로니아 혼합 초산 발효액 (식초) 제조

흑보리 알코올과 아로니아 발효액을 혼합하여 초산발효를 거쳐 아리 그림과 같이 식초를 제조하였다. 흑보리 알코올과 아로니아 알코올은 6% 알코올을 함유하도록 정제수로 희석하였고, 혼합비율은 주관기관 연구결과와 자체 테스트 결과를 고려하여 흑보리 알코올을 10% 첨가하고 종초를 10% 첨가하여 초산발효를 진행하였다. 초산발효는 30일 후 종료되었고 숙성시킨 후 **착즙포에** 여과하여 병입하였다. 초산발효 특성은 색도, pH, 당도, 산도, 알코올 함량을 측정하여 아래 표에 나타냈다.



아로니아 와인 + 흑보리 막걸리 + 종초



발효



혼합식초
(아로니아 흑보리 식초)

그림 3. 흑보리 및 아로니아 혼합발효식초 대량생산 테스트

표 2. 흑보리 및 아로니아 혼합 초산발효액(식초) 특성

	색도			pH	당도(°Bx)	산도(%)	알코올(%)
	L	a	b				
발효 전	88.91±4.16	18.56±0.61	3.07±0.62	3.32±0.02	7.05±0.21	0.92±0.01	5.75±0.06
발효 후	90.56±3.13	7.66±3.97	4.40±1.64	3.10±0.07	7.55±0.21	7.17±0.48	0.39±0.10

표 3. 흑보리 및 아로니아 단일 원료 식초 발효 특성

	색도			pH	당도(°Bx)	산도(%)	알코올(%)
	L	a	b				
흑보리 식초	95.90±1.36	1.15±1.72	2.13±0.27	3.09±0.03	7.70±0.0.42	6.74±0.06	0.38±0.01
아로니아 식초	85.94±9.17	15.41±6.75	5.40±3.46	3.18±0.16	6.80±0.57	7.01±0.44	0.55±0.21

다. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 제조공정도

이상의 대량생산 테스트 결과 흑보리 및 아로니아 혼합발효 식초의 제조 공정은 다음과 같았다. 흑보리는 증자 후 누룩을 사용하여 밀술과 덧술 발효를 거쳐 알코올 발효액을 제조하고 아로니아는 파쇄하여 백설탕으로 보당한 후 효모를 첨가하여 알코올 발효를 진행하였다. 각각의 알코올을 6% 알코올 함량이 되도록 희석한 후 아로니아 알코올에 흑보리 막걸리를 10% 혼합하고 종초를 첨가하여 초산발효를 진행하였고 숙성 후 병입하였다. 보리 및 아로니아 혼합 발효 식초의 제조공정도는 아래 그림으로 나타냈다. 기존 아로니아 100% 식초에 비해 흑보리 막걸리 첨가에 의해 초산발효 기간이 약 7일 감소하여 생산기간 단축 효과가 있었다.

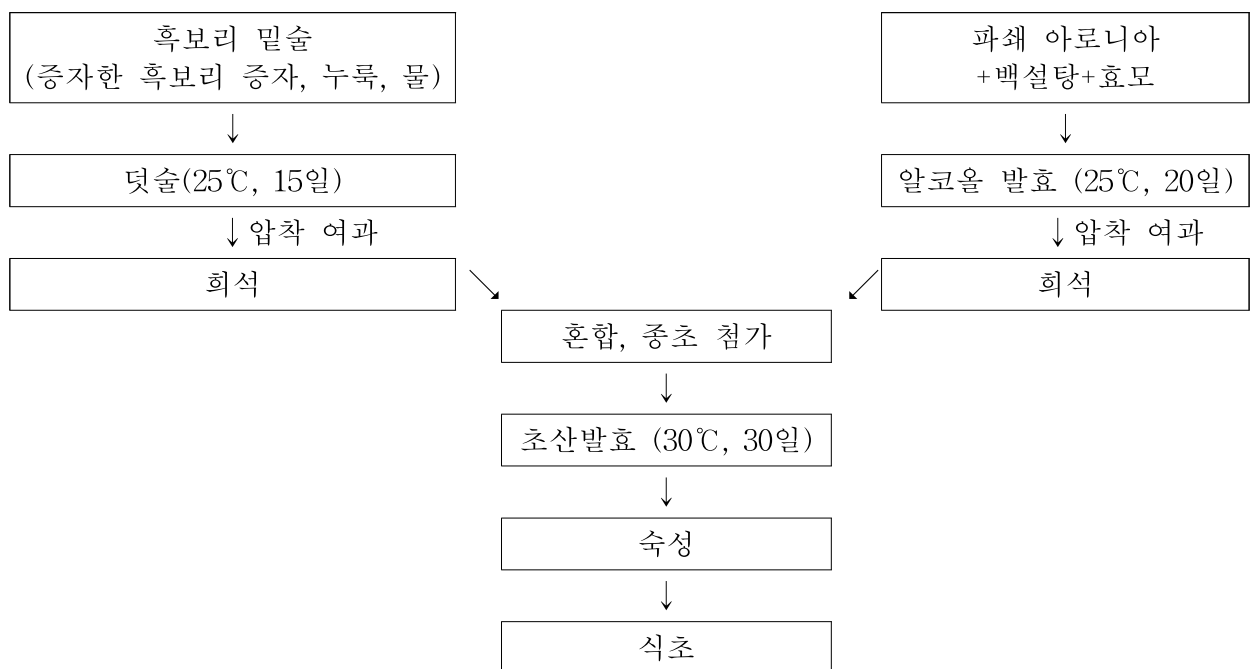


그림 4. 흑보리 및 아로니아 혼합발효식초 제조공정도

2. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 이용한 음료 베이스 개발

가. 관능평가를 통한 식초음료 베이스 레시피 확립

흑보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 이용하여 식초음료 베이스를 개발하기 위해 체험농장 방문객과 베리&바이오식품연구소 직원을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 색, 향, 맛, 텍스처에 대해 5점 만점으로 아래 그림의 평가지를 사용하여 기호도 조사를 실시하였다.

보리 및 아로니아 혼합발효 식초음료 기호도 조사

2020. 11. _____ 나이 : _____ 성별 : _____ 이용 : _____

보리와 아로니아 혼합발효 식초로 제조한 음료의 기호도를 평가하고자 합니다.
 각 항목에 대해 5점 만점으로 기호도에 대해 점수를 주십시오.
 (1점-매우 싫다 - 3점-그저 그렇다 - 5점-매우 좋다)
 한 시료의 맛을 보고 생수로 입을 헹군 후 다음 시료를 평가해 주십시오.

시 료	색	향	맛	텍스처(목넘김)	전체적인 기호도

* 이 설문지의 답변은 제품의 기호도 조사를 위한 목적 이외에는 사용되지 않습니다. 개인정보 활용에 동의하십니까? (예, 아니요)

서명 _____

그림 5. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초음료 관능평가지

(1) 당 종류 및 함량 결정

식초 음료 베이스에 사용할 당류의 종류 및 함량을 결정하기 위해 아래 표와 같이 레시피에 따라 음료베이스를 제조하고 5배 희석하여 기호도 조사를 실시하였다.

표 4. 당의 종류를 달리한 보리-아로니아 식초 음료베이스 레시피

원료	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)
아로니아 식초	20	20	20	20
흑보리 식초	17.4	17.4	17.4	17.4
당류 A	39.6	0	0	30
당류 B	0	39.6	30	9.6
당류 C	0	0	9.6	0
과즙	23	23	23	23

당류를 다르게 제조한 식초음료의 기호도 조사 결과는 아래 표와 같았다. 음료에 사용할 수 있는 당류 3가지를 조합하여 음료를 제조하고 관능평가를 실시한 결과 아래 표와 같이 당류 B 만 사용했을 때 전체적인 기호도가 가장 좋았다.

표 5. 당의 종류 및 함량을 달리한 보리-아로니아 식초 음료 관능평가 결과

	색	향	맛	텍스처 (목넘김)	전체적인 기호도
A	3.83±0.98	3.33±0.82	2.83±0.75	3.83±1.17	2.83±0.75
B	4.33±0.82	3.83±0.98	4.33±1.21	3.67±1.21	4.33±1.21
C	3.83±0.75	3.83±0.75	3.50±0.84	3.67±0.82	3.50±0.84
D	3.83±0.75	3.50±1.22	3.50±1.05	4.17±0.41	3.50±1.05

당의 종류와 함량을 다르게 제조한 음료베이스를 5배 희석하여 관능평가를 실시하고 음료의 특성 조사를 실시한 결과는 아래 표에 나타났다. 기호도 조사에서 가장 높은 점수를 받았던 음료 B의 적색도와 당도가 높았고, 같은 양의 당을 사용하였으나 당의 종류에 따라 당도가 달라졌으며 음료의 색과 단맛이 음료의 전체적인 기호도에 영향을 주었음을 알 수 있었다.

표 6. 당의 종류 및 함량을 달리한 보리-아로니아 식초 음료의 특성

	색도			당도	pH	산도
	L	a	b			
A	90.76±0.01	3.44±0.00	12.93±0.01	50.65±0.07	3.24±0.01	23.10±0.03
B	91.42±0.01	4.11±0.00	9.18±0.00	56.70±0.00	3.25±0.01	23.77±0.48
C	91.58±0.00	3.99±0.00	9.00±0.01	53.90±0.00	3.24±0.01	23.72±0.04
D	91.33±0.00	3.32±0.00	10.92±0.00	49.10±0.00	3.16±0.01	24.14±0.11

(2) 식초 종류 및 함량 결정

식초 음료 베이스에 사용할 식초의 종류 및 함량을 결정하기 위해 식초의 종류를 달리한 레시피를 아래 표와 같이 결정하여 음료 베이스를 제조하고 5배 희석하여 소비자가 섭취하는 상태로 기호도 조사를 실시하였다.

표 7. 식초의 종류 및 함량을 달리한 보리-아로니아 식초 음료 베이스 레시피

원료	A	B	C	D
식초	아로니아보리 혼합발효식초	아로니아식초 +보리식초 혼합A	아로니아식초	아로니아식초 +보리식초 혼합B
당류 B	39.6	39.6	39.6	39.6
과즙	23	23	23	23

위에서 결정된 당류 B를 사용하고 식초의 종류와 함량을 달리하여 음료베이스를 제조하였고 5배 희석한 음료로 기호도 조사를 실시한 결과는 아래 표와 같았다. 관능평가를 실시한 결과 아로니아와 보리 혼합발효식초를 사용하여 음료를 제조한 음료A의 전체적인 기호도가 가장 높은 점수를 받았다. 제조된 음료의 특성을 조사한 결과는 아래 표와 같았다. 적색도가 모두 4.36 이상의 값을 나타냈고 당산비가 가장 적절하여 기호도 점수를 높게 받은 것으로 생각되었다.

표 8. 식초의 종류 및 함량을 달리한 보리-아로니아 식초 음료 관능평가 결과

	색	향	맛	텍스처 (목넘김)	전체적인 기호도
A	4.00±0.63	3.83±0.41	4.33±0.82	4.17±0.75	4.67±0.52
B	3.83±1.17	3.50±1.38	3.33±1.86	3.50±1.52	3.33±1.86
C	3.83±0.75	3.67±0.52	3.33±1.03	3.83±1.17	3.33±1.03
D	3.50±0.55	3.50±0.84	3.33±1.03	3.83±1.17	3.00±0.63

표 9. 식초의 종류 및 함량을 달리한 보리-아로니아 식초 음료의 특성

	색도			당도	pH	산도
	L	a	b			
A	91.14±0.06	4.36±0.00	9.80±0.01	59.30±0.00	3.17±0.04	23.06±0.02
B	92.25±0.02	4.86±0.00	5.89±0.01	59.30±0.00	3.20±0.01	21.60±0.04
C	90.77±0.01	4.59±0.00	12.08±0.00	57.60±0.00	3.20±0.00	21.78±0.09
D	91.22±0.01	4.40±0.01	9.56±0.00	60.90±0.00	3.17±0.01	23.15±0.07

나. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 음료의 제조공정 확립

보리 및 복분자 혼합발효 식초음료의 제조공정은 아래 그림과 같았다. 복분자와 보리 당화액으로 알코올 발효와 초산발효를 진행 한 후 여과하여 정제수와 첨가물을 넣어 제성하였고 살균 포장하는 방법으로 식초 음료 제조공정을 확립하였다.

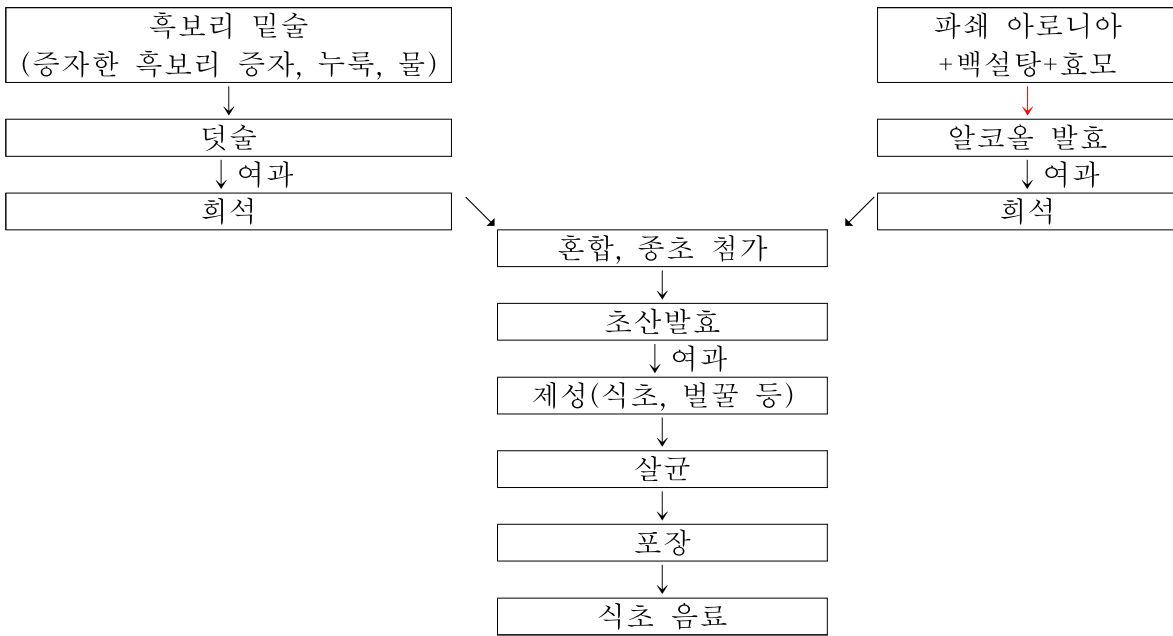


그림 6. 흑보리 및 아로니아 혼합발효식초 음료베이스 제조공정도

2절. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화

1. 식초 및 음료의 포장디자인 개발

가. 아로니아 블랙 보리 식초 라벨 디자인

아로니아 블랙보리 식초 라벨 디자인은 그림과 같이 업체명인 고창베리촌의 ‘村’을 형상화하여 트렌드에 맞는 디자인을 선택하였다.



나. 아로니아 블랙보리 식초 박스 디자인

식초 박스 디자인은 식초 1병을 넣을 수 있는 형태로, 라벨에 사용한 ‘村’을 활용하여 통일감 있게 디자인 하였다.



2. 식초 및 음료의 시제품 생산

가. 블랙보리식초 및 아로니아 블랙보리 식초 제품 품목제조보고

흑보리 발효식초는 ‘블랙보리 식초’라는 제품명으로 아래 그림과 같이 품목제조보고를 실시하였고 제품을 생산하였다. 흑보리 및 아로니아 혼합발효식초는 ‘아로니아 블랙보리 식초’라는 제품명으로 품목제조보고를 실시하였고 제품을 생산하였다.

나. 아로니아 블랙보리 식초 및 블랙보리 식초 최종제품



다. 아로니아 블랙보리 식초 최종제품 특성 조사

최종적으로 선정된 제품인 아로니아 보리 혼합발효 식초의 유기산과 폴리페놀 화합물 함량을 분석한 결과는 아래 표와 같이 lactic acid, acetic acid, quinic acid, shikimic acid가 검출되었고 그 중 acetic acid 함량이 가장 높았다. 폴리페놀 화합물은 galic acid, chlorogenic acid, caffeic acid가 검출되었고 chlorogenic acid가 가장 높았다.

표 10. 아로니아 보리 혼합발효식초의 유기산 함량

	Lactic acid (mg/L)	Acetic acid (mg/L)	Quinic acid (mg/L)	Shikimic acid (mg/L)
아로니아 블랙보리 식초	2,230.67	59,001.55	1,081.30	77.87

표 11. 아로니아 보리 혼합발효식초의 유기산 함량

	Galic acid (mg/L)	Chlorogenic acid (mg/L)	Caffeic acid (mg/L)
아로니아 블랙보리 식초	0.79	29.46	1.70

3. 식초 및 음료의 홍보 및 판로 개척

흑보리 및 아로니아 식초를 홍보하기 위해 체험농장에서 교육을 실시하고 대한민국 발효식초대전 등 전시회에 참석하였다.

가. 흑보리 및 아로니아 식초 교육



2020.06.04. 교육(장소: 고창베리촌 체험농장)

나. 흑보리 및 아로니아 식초 판로개척



2020.08.06. 제6회 대한민국발효·식초대전

2020.11.02.-03
식초문화도시'고창'기념행사

그림 7. 보리 및 아로니아 혼합발효 식초 판로 개척을 위한 홍보 전시

2-4장 제3협동과제 - (주)올라이스

: 체험용 식초제품 개발 및 사업화

1. 보리 및 베리류 혼합발효 식초를 활용한 농가 체험용 제품개발

보리 및 베리류 혼합발효 식초를 활용한 농가 체험용 제품개발을 위해 주관기관의 연구결과와 협동기관인 상희팜푸드 영농조합법인에서 보리 및 복분자 혼합발효 식초를 제공받았으며 고창베리촌영농조합법인에서 보리 및 아로니아 혼합발효 식초를 제공받아 음료 레시피개발과 디저트 레시피 개발에 사용하였으며 체험용 제품개발 등에 원재료로 사용하였다.



가. 식초를 이용한 카페형 음료 레시피 개발

● 과일청 블렌딩 식초 음료

보리 및 베리 혼합발효 식초를 이용하여 카페형 음료를 개발하기 위해 소비자를 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 색, 향, 맛, 텍스처에 대해 5점 만점으로 아래 그림의 평가지를 사용하여 기호도 조사와 다음 표와 같이 식초 혼합율을 증가하여 레시피 평가를 실시하였다.

표 1. 발효 식초 함량별 음료 레시피

	sample			
	A	B	C	D
식초 (g)	10	20	30	40
과일청 (g)	50	50	50	50
탄산수 (g)	190	180	170	160

과일 블렌딩 발효식초음료 기호도 조사

2020. 11. 나이: 성별: 이름:

과일청과 발효 식초로 제조한 음료의 기호도를 평가하고자 합니다.
 각 항목에 대해 5점 만점으로 기호도에 대해 점수를 주십시오.
 (1점- 매우싫다 ~~~ 3점- 그저그렇다 ~~~ 5점-매우좋다)
 한 시료의 맛을 보고 생수로 입을 행균 후 다음 시료를 평가해 주십시오.

시료					전체적인기호도
	색	향	맛	목넘김	
A					
B					
C					
D					

- 이 설문지의 답변은 제품의 기호도 조사를 위한 목적 이외에는 사용하지 않습니다. 개인정보 활용에 동의하십니까? (예, 아니요)
 - 서명:

그림 1. 과일 블렌딩 발효 식초음료 관능평가지

표 2. 발효 식초 함량별 음료 관능평가 결과

	색	향	맛	목넘김	전체적인기호도
A	3.00±0.23	3.18±0.54	3.05±0.84	3.08±0.98	3.70±1.23
B	4.79±0.58	4.07±0.78	4.05±0.17	4.12±0.36	4.58±0.46
C	3.21±0.64	3.55±0.72	3.64±0.21	3.01±0.35	3.01±0.44
D	4.57±0.10	4.47±0.55	4.02±0.38	4.08±0.55	4.12±0.54

관능평가 결과 발효 식초 함량별 소비자들의 기호도에 차이를 보였다. 샘플 B번의 경우 전체적인 기호도가 4.58±0.46으로 가장 높은 결과값을 보였으며 샘플 D또한 4.12±0.54로 높은 결과값을 보였주었다. 이는 소비자별 식초의 산미에 대한 기호도 차이임을 알수 있었으며 카페 음료형으로 제조시 이 결과를 토대로 진하고 새콤달콤한 맛을 좋아하는 고객층과 부드럽고 달콤한 맛을 좋아하는 고객층별 2가지로 레시피를 정하여 사용하면 좋을것으로 보인다. 표에는 제시하지 않았지만 아로니아와 복분자 두 식초 군에는 큰 차이값이 보이지 않았으며 첨가되는 함량에 따라 소비가 관능평가가 달라지는 것을 알수 있었다.

- 제조방법

연구결과를 토대로 개발된 발효식초 음료를 카페나 업체에서 쉽게 활용하기 위해 진하고 새콤달콤한 맛과 부드럽고 달콤한 맛으로 레시피를 다음 그림과 같이 쉽게 제시하였으며 제조방법은 따듯한 음료보다는 차가운 음료로 제시하였을 때 고객들의 기호도가 더 높았기 때문에 탄산수나 생수를 활용하여 식초 음료 제조방법을 제시하였다.

과일청 블렌딩 발효식초음료
ICE 음료 레시피

진하고 새콤달콤한 맛	부드럽고 달콤한 맛
<ul style="list-style-type: none">• 생수 또는 탄산수 5• 발효식초 1• 과일청 2	<ul style="list-style-type: none">• 생수 또는 탄산수 8• 발효식초 1• 과일청 2

ICE 음료 제조

01. 컵에 적당량의 얼음을 넣는다.
02. 발효 식초액과 과일청을 기호에 맞게 넣는다.
03. 탄산수 혹은 생수를 넣고 저어준다.

그림 2. 과일 블렌딩 발효 식초음료 레시피 제조방법

- 식초의 산미를 줄이면서 단맛을 부여하기 위해 과일청을 활용하여 업체나 카페에서 다양하게 활용할수 있도록 다음 그림과 같이 활용 예시를 제시하였다.

		
<p>베리청 발효식초에이드</p>	<p>레몬청 발효식초에이드</p>	<p>발효식초 아이스티</p>
		
<p>딸기청 발효식초에이드</p>	<p>베리식초 스무디</p>	<p>망고와 베리식초 스무디</p>

그림 3. 과일 블렌딩 발효 식초음료 활용 예

● 테이크아웃 형태 및 포장

업체에서 매장 판매뿐 아니라 테이크아웃과 배달형태로 판매할수 있도록 그림과 같이 용기나 포장방법을 제시하였다.



그림 4. 과일 블렌딩 발효 식초음료 테이크 아웃형태와 포장방법 예

나. 식초를 이용한 체험용 디저트 레시피 개발

발효식초를 이용한 체험용 디저트를 개발하기 위해 농가나 업체에서 쉽게 활용하고 만들 수 있어야 한다는 전제하에 디저트 제품을 선정하였다. 곤약젤리의 경우 우무 젤리라고 하여 아열대 식물로 만들어져 90%이상의 물로 이루어져 단백질 및 당분도 적기 때문에 다이어트 용으로 많이 이용하고 먹고 있습니다. 또한 곤약 젤리에 글루코메닌 성분이 있어서 조금만 먹어도 쉽게 포만감에 들게 하며 변비등 다이어트 식품이라고 알려져 있다. 또한 여기에 발효 식초와 다양한 첨가 재료를 넣어 응용이나 활용할수 있는 디저트개발이 가능하여 발효식초를 첨가하여 곤약젤리를 만들고자 하였다. 발효 식초 뿐만 아니라 보리발효 식초에 다양한 부재료를 첨가하여 건강한 식초를 체험용으로 만들 수 있도록 하였다. 또한 유통기한이나 보리식초와 함께 판매가능하도록 체험용 나만의 식초 키트 만들고자 한다.

● 식초를 이용한 곤약젤리

보리 및 베리 혼합발효 식초를 이용하여 체험용 디저트를 개발하기 위해 소비자를 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 색, 향, 맛, 텍스처에 대해 5점 만점으로 아래 그림의 평가지를 사용하여 기호도 조사와 다음표와 같이 식초 혼합율을 증가하여 레시피 평가를 실시하였다.

표 3. 발효 식초 함량별 곤약젤리 레시피

	sample			
	A	B	C	D
발효식초 (g)	10	20	30	40
곤약 (g)	7	7	7	7
설탕 (g)	130	130	130	130
물 (g)	330	320	310	300

발효식초를 이용한 곤약젤리 기호도 조사

2020. 11. 나이: 성별: 이름:

발효 식초를 이용한 곤약젤리 기호도를 평가하고자 합니다.
 각 항목에 대해 5점 만점으로 기호도에 대해 점수를 주십시오.
 (1점- 매우싫다 ~~~ 3점- 그저그렇다 ~~~ 5점-매우좋다)
 한 시료의 맛을 보고 생수로 입을 행균 후 다음 시료를 평가해 주십시오.

시료	색	향	맛	텍스처	전체적인기호도
A					
B					
C					
D					

- 아 설문지의 답변은 제품의 기호도 조사를 위한 목적 이외에는 사용하지 않습니다. 개인정보 활용에 동의하십니까? (예, 아니요)
 - 서명

그림 5. 발효 식초 함량별 곤약젤리 관능평가지

표 4. 발효 식초 함량별 곤약젤리 레시피 결과

	색	향	맛	텍스처	전체적인기호도
A	3.21±0.50	3.45±0.92	3.88±0.44	4.12±0.55	3.56±0.36
B	4.80±0.24	4.18±0.34	4.01±0.51	4.25±0.25	4.15±0.45
C	3.06±0.34	3.59±0.88	3.24±0.64	3.59±0.81	3.32±0.34
D	2.03±0.85	2.32±0.44	2.51±0.80	2.56±0.78	2.01±0.66

관능평가 결과 발효 식초 함량별 소비자들의 기호도에 차이를 보였다. 샘플 B번의 경우 전체적인 기호도가 4.15±0.45으로 가장 높은 결과값을 보였으며 식초 함량이 높아지면서 기호도 값이 낮아지는 것을 볼수 있으며 함량이 가장 높은 D의 경우 전체적인 기호도 값이 2.01±0.66으로 가장 낮은 결과값을 보여 발효 식초 함량이 높아지면서 소비자의 기호도에 부정적인 역할을 할수 있는 것을 볼수 있다. 이 기본 레시피를 활용하여 여기에 과일이나 다양한 부재료를 첨가하여 발효식초 곤약젤리를 체험용으로 만들었다. 아래 그림과 같이 발효식초 곤약젤리 활용 예를 볼 수 있다.



식초 곤약젤리 만들기(코코넛 젤리, 과일청등 활용예)

그림 6. 발효식초 곤약젤리 활용 예

● 곤약젤리 제조법

1. 곤약과 설탕을 잘 섞어준 후 물을 넣고 가열한다.
2. 거품이 잦아들면 부재료 혼합후 마지막에 발효식초혼합
3. 틀이나 용기에 부어서 굳혀준다.

● 활용레시피

■ 발효식초 복숭아 곤약젤리

물 150g, 곤약 7g, 설탕 100g, 발효식초 20g, 복숭아 120g, 복숭아 시럽 5g

■ 발효식초 패션후르츠 곤약젤리

물 300g, 곤약 7g, 설탕 120g, 발효식초 20g, 패션후르츠퓨레 무가당70g

■ 발효식초 레몬 곤약젤리

물 300g, 곤약 7g, 설탕 120g, 발효식초 20g, 레몬착즙80g, 코코넛젤리 40g\

● 식초를 이용한 건강식초만들기



식초를 이용한 건강한 나만의 식초 만들기

그림 7. 건강한 발효식초 활용 예

● 활용레시피

■ 해독 식초

율무 30g, 취 20g, 오미자 10g, 발효식초

■ 생강나무꽃 식초

계화꽃 2g, 사과 30g, 배 30g, 발효식초

■ 토마토 바질 식초

토마토 120g, 바질 10g, 발효식초

■ 바나나 식초

바나나 130g, 발효식초

■ 파인애플 식초

파인애플 130g, 발효식초

■ 장미 식초

레몬 30g, 히비스커스 1g, 장미 3g, 발효식초

■ 레몬민트 식초

레몬100g, 애플민트 10g, 발효식초

● 식초를 이용한 나만의 식초키트 만들기



식초를 이용한 건강한 나만의 식초 만들기 키트

그림 8. 나만의 식초키트 활용 예

● 활용레시피

■ 야관문 식초

야관문 12g, 건대추 5g, 건국화 1g, 감초 5g, 발효식초

■ 블루베리아로니아 식초

동결건조블루베리 5g, 건아로니아 10g, 건오디 5g, 건라임칩 5g, 큐브슈가 25g, 발효식초

■ 샹그리아식초

건레몬칩 4g, 건오렌지칩 5g, 동결건조사과칩 4g, 동결건조딸기 5g, 빙탕 25g, 발효식초

■ 대나무식초

대나무잎 10g, 메리골드 1g, 감초 5g, 스테비아 1g, 발효식초

■ 사물차식초

백작약 10g, 당귀 10g, 천궁 10g, 숙지황 10g, 건강 5g, 건대추 5g, 빙탕 20g, 발효식초

■ 베리베리식초

동결건조딸기 6g, 동결건조블루베리 6g, 건복분자 4g, 동결건조라즈베리 4g, 유기농원 55g, 발효식초

■ 복분자식초

건복분자 15g, 건오렌지칩 3g, 히비스커스 2g, 야관문 1g, 유기농원당 60g, 발효식초

■ 땀소식초

건조레몬칩 2g, 건오렌지칩 3g, 동결건조사과 3g, 돌배 10g, 시나몬스틱 1개, 정향 5~7개, 팔각향 1개, 통후추 5~7개, 빙탕 20g, 카다멈 3개

● 활용 예

		
<p>식초필링을 이용한 케이크</p>	<p>식초크림을 이용한 마카롱</p>	<p>식초고구마 크림을 이용한 무스케이크</p>
		
<p>발효식초를 이용한 젤리</p>		

그림 9. 발효식초를 이용한 다양한 디저트 제품 활용 예

다. 식초를 이용한 카페형 및 체험용 음료 및 디저트 제조공정 확립

- 카페형 음료

		
<p>과일청계량</p>	<p>재료 혼합</p>	<p>병입</p>

		
과일청제품	발효식초	과일청+식초 음료완성

- 건강한 식초 만들기

		
재료준비	병준비	재료계량후 병입
		
발효식초준비	병입	건강발효식초

- 나만의식초 체험용 키트2.

		
건조과일칩준비	동경건조칩준비	건조약재 및 꽃준비
		
당류	재료혼입	계량
		
병입완료	완제품	발효식초 혼합 완성

- 곤약젤리 만들기

		
재료계량	제조	파우치에 담기 완성

2. 보리 및 베리류 혼합발효 식초 체험용 제품 사업화

보리 및 베리류 혼합 발효 식초 체험용 제품 사업화를 위해 농가와 사업장에서 사용할 수 있도록 라벨에는 새콤달콤한 느낌의 이미지는 부여하였으며 네이밍은 업체에서 모두 사용할수 있도록 나만의 식초 키티만들기(담금초) 건강한식초(과일폼은보리식초)를 상품화 하였다.

가. 발효식초를 이용한 체험용 제품 라벨 디자인

	
담금초 라벨	과일폼은 보리식초 라벨

	
보리발효식초키트 라벨	체험용 보리식초라벨

나. 식초 체험 프로그램 개발

체험용 제품(담금초- 나만의 식초키트, 식초곤약젤리, 건강한 발효식초)식초농가에서 체험용으로 활용하기 위해 상품을 이용한 체험 프로그램을 제시하고자 한다. 체험프로그램은 대상자가 누구냐에 따라 다양하게 구성할 수 있으며 고창의 경우 식초문화의 도시로 다양한 유적지와 관광지를 가지고 있으므로 이것들을 연계하여 다양한 체험프로그램을 만들수가 있으며 식초문화도시로 많은 식초농가들이 있어 먹는 체험뿐 아니라 식초를 이용한 화장품 만들기, 식초비누 만들기, 식초활용에 대해 체험용 식문화가 만들어 질수 있을 것으로 보인다. 본 체험용 프로그램은 개발된 식초체험용 상품을 통해 체험할수 있는 상품을 제시하였다.

체험 상품 설명서

식초문화도시 고창에서 즐기는 나만의 식초	
상품의 특장점	<ul style="list-style-type: none"> - 고창 베리& 바이오식품연구소에서 고창복분자 우수성을 확인하며 견학 및 시음 - 식초 문화도시 고창에서 식초 농가 방문 및 시음 (다양한 베리류 식초를 경험함으로써 식초 홍보 및 판매) - 나만의 색깔과 맛을 담은 나만의 식초 키트 만들기 체험(식초키트와 식초를 함께 판매가능)
	
식초농가 방문 및 시음▶ 남녀노소에 따른 계량▶ 나만의 식초 키트제작▶ 개성만점 식초완성	
판매대상(주타겟)	<ul style="list-style-type: none"> -단체(가족, 친구, 동료) -소규모
상품가격	1인~~0000원
식사	<ul style="list-style-type: none"> -중식(복분자장어, 복분자냉면등) -석식 전통시장등 고창향토음식
관람 및 체험	<ul style="list-style-type: none"> -베리&바이오식품연구소 방문 -식초 농가 방문후 시음 및 식초만들기 키트체험 -고창전통시장 탐방 -고창읍성과 관소리 박물관 관람

식초문화도시 고창에서 즐기는 식초활용 청소년체험

상품의 특징점	<ul style="list-style-type: none"> - 고창 베리& 바이오식품연구소에서 고창복분자 우수성을 확인하며 견학 및 시음 - 식초문화도시 고창에서 식초 농가 방문 및 식초시음 - 남녀노소 누구나 즐길수 있는 식초간식거리 체험(식초 곤약젤리만들기)
	
판매대상(주타겟)	-단체(초,중, 고)
상품가격	1인~~0000원
식사	-중식(장어까스 도시락)등 고창 대표 음식도시락류
관람 및 체험	<ul style="list-style-type: none"> -고창 고인돌 박물관 및 모로모로 열차체험 -고창 고인돌 유적지 -운곡 람사르습지

다. 식초 음료 및 디저트 홍보 및 판로 개척

보리 및 발효혼합식초를 홍보하기 위해 매장에서는 패키지와 음료판매를 위해 배달서비스로 판매를 시작하였으며 발효식초에 대한 홍보진행을 위해 아래와 같이 교육을 실시하였으며 플리마켓등에 참여하여 홍보하였다.

- 직영매장 및 플리마켓을 활용한 홍보

		
<p>패키지</p>	<p>플리마켓 참여</p>	<p>식초음료 배달서비스</p>

- 발효식초 홍보 및 교육

		
<p><보리식초를 활용하여 다양한 제품 만들기 교육 및 홍보> 2020.08.18. 익산농업기술센터</p>	<p><고흥 농어민과 함께 하는 보리식초 활용방법, 디저트 제품> 2020.09.28. 고흥농업기술센터</p>	<p><보리식초를 활용하여 다양한 제품 만들기 교육 및 홍보> 2020.10.12. 나주농업기술센터</p>

3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

1. 목표

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표	정책 활용			홍보 전시		
												SC I	비 SC I						논문 평균 IF	
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	10			5		40	10	10					10	5				10		
최종목표	1			3		3	100	20				1		2	2			2		
연구기간내 달성실적	1			3		4	7.3	5.2				1		2	7			4	1	
달성율(%)	100			100		133	7.3	26				100		100	350			200		

2. 목표 달성여부

- 연구기반 지표인 논문, 학술발표는 100% 달성였고 교육지도는 7건으로 350%, 홍보전시는 4건으로 200% 초과달성하였으며 목표에는 없었으나 미생물 기탁 1건을 초과달성하였음
- 사업화 성과인 특허출원, 기술실시는 100% 달성하였고 제품화는 4건으로 초과달성하였으나 매출액은 부족한 상태임
- 올해초부터 시작된 코로나로 인한 사회적 거리두기로 인해 매장과 체험농장 방문객이 크게 감소하였고 박람회 및 축제 등이 취소되어 마케팅에 어려움이 있었고 그에 따른 불경기로 인해 매출 달성에 어려움이 큰 상태임. 특히 오프라인 매출을 주력으로 하고 있는 참여기업에서는 허가된 범위내에서 교육활동과 홍보전시 참여하여 홍보활동을 위해 노력했고, SNS 이벤트 등을 통해 매출달성을 위한 노력을 하였으나 코로나로 인한 타격이 매우 큰 실정임.

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

- 개발 제품인 식초는 발효와 숙성기간이 필요한 제품으로 시제품 완성 시기가 늦어졌고 코로나로 인해 매출액 달성이 미흡하였으며 지속적으로 온라인, 오프라인 홍보마케팅을 통해 연구종료 후 매출액 증대에 노력하겠음. 식초는 고창군에서 지역 특화식품으로 육성하고 있는 품목으로 고창군 식초 사업과 연계하여 판로를 확보할 수 있도록 노력하겠음
- 신규 균주 등록을 통한 초산균을 활용한 다양한 식초 제품개발 연구를 진행할 계획임

4장 연구결과의 활용 계획 등

1. 연구성과 활용방안 등

- 본 사업에서는 막걸리 발효방식으로 식초를 제조하는 곡류식초와 와인발효 방식으로 식초를 제조하는 과일식초 제조방법에 각각 적용할 수 있도록 보리 및 베리류 혼합발효식초 제조방법이 개발되어, 복분자나 아로니아 이외의 다양한 과일 및 베리류를 보리와 혼합하여 발효식초를 제품화하므로써 식초제품 시장이 확대될 것으로 기대함
- (주)올라이스에서 개발한 체험 프로그램을 상희팜푸드영농조합법인과 베리촌영농조합법인을 방문하 소비자에게 혼합발효식초 활용제품을 직접 제조, 시음 등 체험하게 함으로써 단순한 건강음료 개념의 식초음료를 트렌디한 제품으로 수용할 수 있도록 홍보할 계획임
- 고창군은 '19년도에 식초문화도시 '고창' 선포식을 하고 식초가공업체를 육성하기 위해 지원 및 홍보행사를 하고 있음. 본 사업은 지자체의 식품산업 정책과 부합되는 연구성으로 고창군, 전라북도와 연계하여 농촌관광산업과 식품문화로 자리 잡을 수 있도록 홍보하겠음

2. 추가연구의 필요성 및 타 연구 활용 계획 등

- 성과목표에 따라 이미 논문을 1편 게재하였고, 목표에는 없었지만 이번 연구를 통해 신규 초산균을 발견하여 기탁을 하였음. 혼합발효에 관련된 연구를 보완하여 논문을 추가로 투고하고자 함
- 이번 연구를 통해 발견된 균주들에 관한 특성 조사 등 추가적인 연구가 필요하며, 신규 과제를 확보하여 신규 초산균 활용 제품 개발에 대한 연구와 특허출원을 진행할 필요가 있음
- 보리 당화방법을 더 다양하게 연구하여 당화력을 증가시키는 방법으로 알코올 발효 및 초산발효 효율을 증대시키는 방안에 대한 연구가 필요함

3. 기술이전 및 기업화 추진방안

- 보리 및 베리류 혼합 발효식초 연구 결과를 토대로 식초 가공업체 간담회를 통해 혼합발효 식초 제조방법을 홍보하여 다수의 업체가 기술이전을 받아 연구결과를 활용하고 다양한 제품개발 및 사업화가 이루어지도록 할 계획임
- 복분자, 아로니아 식초 이외에 다양한 제품으로 개발하여 참여기업의 판매장을 활용하여 혼합발효식초제품 및 체험상품을 판매할 계획임
- 참여기업의 홈페이지, 블로그, 인스타 등 SNS를 활용한 홍보와 참여기업간 제품들의 공동 마케팅을 추진할 계획임
- 기존처럼 축제 및 박람회에 참석하여 상품 홍보 및 바이어 발굴 예정
- 디저트 카페 등에 천연발효식초 및 식초음료 제품 홍보 및 B2B판매

붙임. 참고문헌

- Arts MJTJ, Haenen GRMM, Voss HP, Bast A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem Toxicol* 42(1):45-49.
- Bhandary B, Lee HY, Back HI, Park SH, Kim MG, Kwon JW, Song JY, Lee HK, Kim HR, Chae SW, Chae HJ. 2012. Immature *Rubus coreanus* shows a free radical-scavenging effect and inhibits cholesterol synthesis and secretion in liver cells. *Indian J Pharm Sci* 74(3):211-216.
- Bidlack W. 1999. Phytochemicals as bioactive agent. Technomic Publishing Co. Lancaster, Basel, Switzerland, pp 25-36.
- Cha HS, Lee MK, Hwang JB, Park MS, Park KM. 2001. Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(6):1021-1025.
- Choi HS, Kim MK, Park HS, Kim YS, Shin DH. 2006. Alcoholic fermentation of Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq) wine. *Korean J Food Sci Technol* 38(4):543-547.
- Choi JS, JH Lee, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Korean J Pharmacol* 24(4):299-303.
- Cheong C. 2019. Vinegar brewing. Altamira, Seoul, Korea. pp 13-52 and pp 133-143.
- Chun AC, Kim DJ, Yoon MR, Oh SK, Choi IS. 2014. Quality characteristics of *Malgeolli* of rice cultivars with different starch compositions. *Korean J Food Nutr* 27(1):50-58.
- Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. 2012a. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J Food Preserv* 19(4):594-603.
- Hong SM, Moon HS, Lee JH, Lee HI, Jeong JH, Lee MK, Seo KI. 2012b. Development of functional vinegar by using cucumbers. *J. Korean Soc Food Sci Nutr* 41(7):927-935.
- Jeong SH, Byun BY, Park HJ, Song JY. 2020. Changes of physicochemical properties and useful components of domestic aronia (black chokeberry) fruits according to ripening stages. 36(2):126-133.
- Joung HS. 2008. Quality characteristics of Paeksulgi with added barley powder. *J East Asian Soc Dietary Life* 18(6):974-980.
- KFDA. 2012. Korea health supplements food standard codex. Korea Food and Drug

Administration, Seoul, Korea. pp 529.

- Kim HJ, Park SH, Park CH. 1985. Studies on the production of vinegar from barley. Korean J Food Sci Technol 17(5):350-354.
- Kim JH, Auger C, Kurita I, Anselm E, Rivoarilala LO, Lee HJ, Lee KW, Schini-Kerth VB. 2013. *Aronia melanocarpa* juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase. Nitric Oxide 35(1):54-64.
- Kim JH, Lee YT. 2004. Effects of Barley bran on the quality of sugar-snap cookie and muffin. J Korean Soc Food Sci Nutr 33(8):1367-1372.
- Kim YD, Ha KY, Lee KB, Shin HT, Cho SY. 1998. Varietal variation of anthocyanin content and physicochemical properties in colored rice. Korean J Breed Sci 30(3):305-308.
- Kim YY, Koo SJ. 1997. Anticomplementary activity and immuno-stimulating effect of the extracts from barley. Korean J Soc Food Sci 13(5):661-668.
- Kwak HS, Kook MC, Kim S, Sung DE, Oh SH, Chee GJ, Cheigh CI, Hong TH. 2018. Essence fermented food science. Jigu Culture Co., Paju, Korea. pp 48-146.
- Lee MJ, Jang BS, Jeong JN. 2012. Application as a functional cosmetic ingredient of carrot glycoprotein. J Korean Oil Chemists' Soc 29(2):257-267.
- Ministry of Food and Drug Safety. 2020. Korean Food Standards Codex. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/03_02.jsp?idx=33. Accessed September 28, 2020.
- Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, Choi MA, Kim ML, Kim MS. 2013. Quality characteristics of vinegar fermented using omija (*Schizandra chinensis* Baillon). J Kor Soc Food Sci Nutr 42(3):441-449.
- Oszmiański J, Lachowicz S. 2016. Effect of the production of dried fruits and juice from chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the content and antioxidative activity of bioactive compounds. Molecules 21(8):1098-1111.
- Oszmiański J, Wojdyło A. 2005. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. Eur Food Res Technol 221(6):809-813.
- Park HJ, Jeong SH, Yoon HH, Jung JH, Song JY. 2014. Optimization of the acetic acid fermentation for aronia vinegar using response surface methodology. Korean J Food Cook Sci 30(6):792-799.

- Park HJ, Kim SH, Jeong SH, Park HR, Kim JH, Song JY. 2017. Immunostimulatory effects of purple bamboo salts composed with *Rubus coreanus* in Raw264.7 cells and mouse peritoneal macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46(3):306-313.
- Park HJ, Song JY, KS Chea, Lee HK, Choi HR. 2012. Quality characteristics and functional components of Bokbunja (Black Raspberry) juice. *Food Eng Progress* 16(1):52-57.
- Park HY, Choi I, Oh SK, Woo KS, Yoon SD, Kim HJ, Sim EY, Jeong ST. 2015. Effects of different cultivars and milling degrees on quality characteristics of barley *Makgeolli*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44(12):1839~1846.
- Park S, Choi Y, Kim Y, Ham H, Jeong HS, Lee J. 2011. Antioxidant content and activity in methanolic extracts from colored barley. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40(7):1043-1047.
- Ryu IS. 2014. Textbook of Korea traditional alcoholic drink. 1st ed. Gyomunsa, Paju, Korea. pp 140-153.
- Seo SH, Yoo SA, Kang BS, Son HS. 2014. *Korean J Food Sci Technol* 46(1):33-38.
- Shin DS, Jeong ST, Sim EY, Lee SK, Kim HJ, Woo KS, Oh SK, Kim SJ, Park HY. 2017. Quality characteristics of mixed *Makgeolli* with balrey and wheat by fermentation temperature. *Koran J Food Nutr* 30(2):305-311.
- Song ES, Park SJ, Woo NRA, Won MH, Choi JS, Kim JG, Kang MH. 2005. Antioxidant capacity of colored barley extarcts by varieties. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 34(10):1491-1497.
- Tamagawa T, Iizuka S, Ikeda A, Koike H, Naganuma K, Komiyama Y. 1999. Inhibitory effects of proanthocyanidins isolated from barley bran on hyaluronidase activity, Soybean lipoxygenase activity and complementary activity. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 46(8):521-527.
- Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, Lavoie EJ, Huang TC, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46(12):4869-4873.
- Xie L, Vance T, Kim B, Lee SG, Caceres C, Wang Y, Hubert PA, Lee JY, Chun OK, Bolling BW. 2017. Aronia berry polyphenol consumption reduces plasma total and low-density lipoprotein cholesterol in former smokers without lowering biomarkers of inflammation and oxidative stress: a randomized controlled trial. *Nutr Res* 37(1):67-77.
- Ye XJ, Morimura S, Han LS, Shigematsu T, Kida K. 2004. *In Vitro* evaluation of

physiological activity of vinegar produced from barley-, sweet potato-, rice-*shochu* post-distillation slurry. Biosci Biotechnol Biochem 68(3):551-556.

Yoon HH, Chae KS, Son RH, Jung JH. 2015. Antioxidant activity and fermentation characteristics of blueberry wine using traditional yeast. J Korean Soc Food Sci Nutr 44(6):840-846.

Yu J, Vasanthan T, Temelli. 2001. Analysis of phenolic acids in barley by high performance liquid chromatography. J Agric Food Chem 49(9):4352-4358.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.