GA0282-0117

최 종
연구보고서

도토리를 이용한 건강 별미 식초 음료 개발

Development of functional and palatable vinegar beverage by using acorn

연구기관
한국식품개발연구원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "도토리를 이용한 건강 별미 식초 음료 개발" 사업의 최종보고서로 제출합니다.

2001. 12.

주관연구기관명 : 한국식품개발 연구원
총괄연구책임자 : 이 명 기
세부연구책임자 : 구 경 형
연 구 원 : 김 영 진
연 구 원 : 김 성 수
참 여 기 업 : 고향식품
참 여 기 업 : 신평농업협동조합
참 여 기 업 : (주)WMC

요 약 문

I. 제목

도토리를 이용한 건강 별미 식초 음료 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

탄닌을 다량 함유하여 활용이 낮은 도토리를, 탄닌을 함유하여 기능성 식품으로 기호도가 높은 감식초와 같이 건강 식초 원료로 개발하여 기능성이 부가된 고부가가치 건강 별미 식초 음료를 개발함

2. 연구개발의 중요성

우리 나라 임목 축적은 활엽수계가 침엽수계보다 약 3배가 많고 활엽수계에서 축적이 가장 많은 수종이 도토리나무들로서 대표적인 5종만(신갈나무, 상수리나무, 굴참나무, 졸참나무, 갈참나무)을 합하여도 80,992,350 m^3로서 활엽수의 67%를 차지하고 있고(활엽수자원조사보고서, 1996), 도토리 생산량은 96년도에 1,433,479 kg으로서 도토리나무 5대수종 입목축적의 1%가 도토리 생산량이라고 가정하면 809,923,500 L(485,144,177 kg, 종실 1 L 당 도토리 중량은 0.599 kg)로서 0.3% 만이 회수되는 실정이다.

도토리는 생것 100g 당, 에너지 221 kcal, 수분 44.9%, 단백질 4.4%, 지질 3.0%, 당질 44.5%, 섬유소 2.2%, 회분 1.1%, 칼슘 16 mg, 인 84 mg, 철 0.6 mg, 비타민

A 21 IU, B1 0,01 mg, B2 0,06 mg, niacin 0,8 mg, 비타민 C 9 mg이 함유되어 있어서 영양학적으로 우수하나 주로 전분질을 이용한 묵, 국수 등의 구황식품으로 이용되고, 구내염, 대장염, 설사, 위장병, 종독, 인후통, 강장, 주름제거 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있으며(구황식물도감, 호남작물시험장) 토토리가 함유한 주요 탄닌 성분 중에 하나인 gallic acid는 우수한 천연항산화제로 알려져 있다.

탄닌의 함량이 많은 감(2-3%)을 발효시켜 만든 전통 감식초는 탄닌성분에 의한 기능성이 인정되고 있으며 탄닌성분이 많은 도토리(4-7%)는 식초가 개발되어 있지 않으므로 도토리의 탄닌 조절방법을 검토하고 탄닌 저항성을 가지고 발효능이 우수한 효모 및 초산균을 선발하여 알콜 및 초산 발효를 하면 도토리 식초개발이 가능할 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

구 분	연 구 개 발 목 표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (1999)	○도토리 건강 별미 식초 음료의 원료 전처리 및 전발효 조건 확립	- 도토리 전분질 분해 방법 검토 - 효모 선발 - 효모 성장에 적합한 탄닌량 조절 방법 조사 - 초산균 선발 - 알콜발효 및 숙성 조건 검토
2차 년도 (2000)	○ 2차년도; 도토리 식초 제조공정 기술 확립 및 도토리 건강 별미 식초 음료 개발	- 초산발효 및 숙성 조건 검토 - 침전방지 방법 검토 - 변색방지 방법 검토 - 도토리 별미 건강 식초 음료 성분 조합비와 음용 방법 설정을 위한 관능 평가 - 도토리 별미 건강 식초 음료 개발 - 도토리 별미 건강 식초 음료 개발 - 다양한 기능성 식음료 개발 검토 - 제조공정 확립

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 도토리 식초 음료 제조의 전처리 및 전발효 조건 확립

1) 도토리의 이화학적 특성

도토리의 수분은 의성 36.18%, 부여 12.63%, 점촌 46.13%이었으며 도토리 가루는 의성 13.81%, 부여 9.94%이었다.

도토리의 탄닌은 의성 4.46%, 부여 10.07%, 점촌 3.65%이었으며 도토리 가루는 의성 2.43%, 부여 1.00%이었다.

도토리이 환원당은 의성 2.8%, 부여 4.7%, 점촌 3.0%이었으며 도토리 가루는 의성 0.5%, 부여 2.3%이었다.

호화개시온도는 생도토리에서 의성산이 72.3℃, 점촌산이 71.2℃, 생도토리 가루에서 의성산이 70.5℃, 부여산이 72.5℃으로 나타났다.

2) 탄닌량 조절 방법 조사

가공적성을 떨어뜨리는 탄닌을 조절하기 위하여 추출온도 및 시간별로 생도토리와 시판 도토리가루의 탄닌을 분석한 결과, 물침지는 온도가 높고 시간이 길수록 추출이 많이 되었으며, 염수로 추출한 경우는 2%의 낮은 농도에서는 물(생도토리에서 추출된 탄닌이 2.67%으로 추출된 비율이 60%)보다 제거능이 낮거나 유사(추출된 탄닌이 2.69%으로 추출 비율이 60%)하였으며, 4%, 6%로 염농도가 증가 할 수록 2.58%, 2.56%로 용액에 추출된 농도가 낮아 탄닌의 제거능이 감소하였다.

발아시킨 도토리는 생도토리(3.65%)에 비해 발아 기간이 길수록 도토리의 탄닌 함량이 감소되어 10일째에 2.77%, 15일째에 2.34%, 20일째에 1.50%로 나타났다.

3) 도토리 전분질 분해 효소의 선정 및 최적 조건 조사

전분질 분해 효소는 혼합처리가 단독처리보다 우수하였으며 혼합처리 조건에서 기질을 감자전분으로 하였을 때에는 *Aspergillus orizae*의 α-amylase와 *Aspergillus niger*의 amyloglucosidase를 섞은 처리구가, 도토리를 기질로 하였을 때에는 *Aspergillus orizae*의 α-amylase와 *Rizopus mold*의 amyloglucosidase와 같이 처리하였을 때에 우수하였다. 천연효소원 처리는 안양남부시장 누룩과 엿기름 처리구가 우수하였으며, 누룩 첨가에 의한 방법은 부여누룩을 15배까지 희석된 농도로 증자된 도토리에 첨가할 수 있었으며(30℃), 50℃ 경우에는 20배까지 희석된 농도를 첨가하여 사용할 수 있었다. 천연효소를 사용할 경우, 희석이 많이 된 누룩을 사용하면 누룩으로

부터 오는 곰팡이 냄새를 줄일 수 있고 30℃의 저온처리로 공장에서 이용하기 용이할 것으로 생각되었다.

나. 도토리를 이용한 알콜발효

1) 효모 및 사상균의 탄닌 저항성

탄닌 저항성 조사에 있어서는 대부분의 곰팡이의 경우 1% tannin에서 잘 자랐으나 *Monascus* 속, *Mucor* 속, *Rhizopus* 속, *Schizosaccharomyces* 속은 잘 자라지 못하였다. 반면에, 대부분의 *Aspergillus* 속은 탄닌 분해력이 우수하였다. 탄닌 저항성 효모 균주 중에는 *Saccharomyces cerevisiae* 균주가 탄닌 5% 농도에서도 성장하여 우수하였고 *Saccharomycopsis* 속과 *Sacchromydoes* 속에서도 탄닌 분해력이 나타났다.

2) 알콜 생성이 우수한 균주선발

무증자 도토리액에서 알콜이 1.28 ~ 2.02 g/L가 생성되었고 *Torulaspora hansenii* A30 균주가 생산량이 가장 많았으며 다음으로 *Zygosaccharomyces rouxii* A27과 *Trigonopsis variabilis* A25로 나타났다.

증자 도토리액에서 알콜이 1.00 ~ 3.59 g/L가 생성되었고 α-amylase와 glucoamylase를 생산하는 *Schwanniomyces occidentalis var. occidentalis* A11 균주가 생산량이 가장 많았다.

Glucose를 5%되게 첨가한 무증자 도토리액에서 알콜이 7.79 ~ 21.81 g/L가 생성되었고 *Torulaspora hansenii* A30 균주가 생산량이 가장 많았다.

Glucose를 5%되게 첨가한 증자 도토리액에서 알콜이 6.98 ~ 26.10 g/L가 생성되었고 *Saccharomyces cerevisie* A18 균주가 생산량이 가장 많았다.

따라서, 알콜생성이 우수한 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*이었으며, 탄닌 저항성이 우수한 균주는 *Aspergillus* 속과 *Saccharomyces cerevisiae*이었고, 과일향을 내는 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*이었다. 이 중에서 세 항목 모두에서 우수한 균준는 *Saccharomyces cerevisiae*로 나타났다.

3) 향기 우수 균주 선별

전반적으로 *Saccharomyces cerevisiae* 종의 향이 우수하였고 무증자 도토리에

환원당을 첨가한 배양이 우수하였으며, 관능 우수균으로 효모 15 균주(A2, A3, A6, A11, A12, A15, A16, A17, A18, A20, A22, A24, A26, A28, A30), 사상균 5균주(B2, B5, B7, B11, C6)를 분리하였다.

4) 알콜발효 및 숙성조건 검토

시판효소제에 의한 당화액의 초기 환원당량은 평균 3.24%(±o.22)로 발효기간동안의 환원당량의 변화를 보면, 0일째 이후부터 감소하여 15일까지 급격하게 감소하는 group, 15일까지 초기 환원당량을 유지하였다가 15일 이후에 급격히 감소하는 group, 15일까지 증가하였다가 15일 이후에 감소하거나 계속 증가하는 group으로 나타났다. 발효조건간의 차이를 보면 진탕배양처리구보다 정치배양처리구에서 전 발효기간동안 환원당량의 함량이 크게 감소하였다.

도토리용액의 알코올발효는 초기 0일째 알코올함량 0%에서 발효기간동안 증가하여 발효15일째에는 Alcohol 함량이 최저 3.4%에서 최고 8.8%로 증가하였다.

도토리식초의 알코올 발효를 위한 최적의 조건을 알아보면, 20% 도토리 용액의 당화액에 *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7)를 접종한후 25℃ 정치배양을 할 경우 발효 15일까지 알코올 8%이상을 생산할 수 있을 것이다

다. 도토리를 이용한 초산발효

1) 초산균의 탄닌 저항성

대부분의 초산균의 경우에 0.5%의 tannic acid 용액에서는 성장이 양호하였으나 1% 이상에서는 균주별 저항력이 차이 졌으며 *Gluconobacter oxydans* subsp. *oxydans*(KCTC 2108)가 가장 저항력이 높았고, 과일에서 분리한 Ma5(5)R2균주가 다음으로 높았으며 *Acetobacter pasteurianus*(KCTC 1008)가 가장 낮았다.

2) 산생성력이 우수한 균주

발효 10일째에 산도 1.0% 이상 생산하는 균주는 37균주 중에 17 균주였으며 *Acetobacter aceti* KFRI1026이 산도 1.46으로 가장 높았다. 과일에서 분리한 균중에는 M22(7)T2가 1.27로 가장 높았다.

3) 초산발효 관능검사

초산균 23균주를 관능치인 신맛 및 향기를 조사하여 측정치인 산도와 비교한 결과 향기 우수균주는 과일 유래균에서 Ma5(5)T2, M22(7)T2, M19(5)Y1, M23(5)Y1,

M3(7)T1, M16(7)T1이 관능치가 각각 5.9, 5.7, 5, 6.6, 5.3, 5.7점으로 나타났고 이중에 산도에 비하여 신맛이 강하지 않은 균주는 M22(7)T2이 산도 1.24%, 신맛관능치 2.6점으로 가장 우수하였으며, 분양균주에서 향기우수균주는 KFRI1026, KFRI895으로 관능치가 5.7과 6.1점으로 나타났으며 이중에 산도에 비하여 신맛이 강하지 않은 균주는 산도1.47%, 신맛관능치 8점으로 나타난 KFRI1026 이었으나 KFRI895 보다 향기 관능치는 낮았다.

신맛이 강한 균주는 KFRI1026, KFRI895, KFRI837으로 산도가 각각 1.47, 0.98, 1.03%로 나타났고 향기관능치가 5.7, 6.1, 4.6점으로 나타났다. 향기관능치 6.6점을 받은 과일 유래균 M23(5)Y1 보다 낮았다.

4) 초산발효 및 숙성 조건 검토

(1) 탄닌 저항성균주의 pH 및 산도 특성

대부분의 *Acetobacter* 속은 발효 15일째에 산도 1.0%이 넘었으나 과일에서 분리한 균주에서는 M17(7)T1(1.28%), M22(7)T2(1.24%), M19(5)Y1(1.40), M5(5)T1(1.29%) 만이 1.0%를 넘었다.

(2) 초산균주의 온도 및 배양조건에 따른 산생성 검토

초산균 KFRI1026, KFRI895, 과일에서 분리한 M22(7)T2 균주를 15일간 배양한 결과 KFRI895가 정치배양에서 20℃, 25℃, 30℃에서 각각 산도 0.108, 0.540, 0.108로 나타나 가장우수하였고 진탕배양에서도 20℃, 25℃, 30℃에서 각각 산도 1.068, 0.960, 0.084로 나타나 가장우수하였으며, 최적 조건은 KFRI895 균주를 20℃에서 진탕배양한 처리구로 나타났다.

라. 도토리 식초 안정성 검토

발효가 완료된 도토리 식초를 숙성시키는 과정에서 tannin 성분으로 인해 발생하기 쉬운 변색 및 침전을 방지하지 위한 방안을 검토한 결과는 다음과 같았다.
1. 10℃에서 숙성시키고, 빛과 공기에 노출되지 않으며, bentonite를 0.25%의 농도로 처리하거나 ascorbic acid를 0.5%, 1.0%로 처리한 시료에서 변색 방지 효과가 우수한 것으로 나타났다.
2. 저온(4～10℃)에서 숙성시키고 빛과 공기를 차단하며 , bentonite 0.1%, 0.25%처리 시료 및 ascorbic acid의 모든 농도에서 투과율이 증가되었는데, 이 중 ascorbic acid 1.0% 처리 시료가 97.38%로 가장 높은 청징 효과를 나타내였다.

마. 도토리를 이용한 식초음료 제조

각 과실초 성분들의 최적 배합비를 알아보기 위하여 문헌에 분석된 결과로서 유기산, 당, 알코올을 재배합하여 제조한 결과 유기산만을 재배합한 경우 기호성이 매우 낮아 평가하기가 매우 어려웠으나, 포도의 경우가 기호성이 사과, 단감에 비해 좋은 것으로 나타났으며, 보당과 알코올의 첨가로 유기산만을 재배합한 용액의 기호성보다 2～3배가량 높게 나타났고, 역시 포도의 경우가 기호성이 가장 좋았다. 연구되어진 것은 기기적 분석으로 식초의 주성분만을 재배합하여 만든 용액은 과실엑기스와 그 외 미량성분이 빠져 있어 실제 식초의 맛을 내지는 못하였다. 그러나, 전반적으로 포도의 유기산 성분과 인공향미에 있어서 포도향과 사과향을 선호하는 것으로 나타나 도토리 식초음료 개발에 적용할 수 있는 자료로서 활용하였다.

과실초의 유기산을 보충한 결과 사과식초의 유기산 성분을 보충한 것이 기호성이 높게 나타나 사과식초 유기산중 malic acid가 식초의 맛에 주요 기인하는 것으로 사료되었다. 보당의 효과로는 유의적이지 않았으나, 유기산만을 보충했던 시료보다 기호성은 향상된 것으로 나타났으며, 유기산 보충 실험과 마찬가지로 사과식초의 기호성이 높은 것으로 나타났다. 5가지 인공향을 0.1% 첨가한 결과에서는 사과향 > 과일믹스향 > 오렌지향 > 복숭아향 > 포도향의 순서로 사과향을 선호하는 것으로 나타났다. 음료로서 개발하기 위하여 적정희석배수를 설정한 결과 4배로 희석한 시료를 선호한 것으로 나타났다.

식초음료로서 제조한 시료에 대해서 기능성 물질을 첨가하여 기호성 향상을 한 결과 키토산과 올리고당을 각각 0.1% 첨가한 시료는 대조군보다 기호성이 높게 나타났으며, 검질을 농도별로 첨가한 결과 1.0% 첨가한 시료에서 가장 높게 선호한 것으로 나타났다.

바. 도토리를 이용한 요구르트 제조

배양 기질과 배양 종균을 달리한 시료의 배양 기간별 당도의 변화를 측정한 결과, 모든 그룹에서 찹쌀 호화군이 가장 높은 당도를 나타내였고, 쌀 호화군과 도토리 호화군에서의 당도 수치는 유사한 수준을 나타내였으며, Group별 당도 수치간의 큰 차이는 보이지 않았으나 전반적으로 SN 106과 *L. lactis* SKD 1011를 혼합 접종한 Group에서의 당도가 높은 경향을 나타내였다.

젖산 발효 기간 중의 pH와 산도를 측정한 결과, SN 106만을 접종한 G1에서 pH 저하와 산도의 증가가 가장 두드러졌고, 다른 그룹간에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 호화 처리군에서 가장 높은 산도를 나타내었으며, 생전분 중에는 쌀과 찹쌀·도토리를 모두 혼합한 시료의 산도가 가장 높게 나타났다.

발효가 완료된 시료의 점도를 측정한 결과, 호화 처리군을 제외하고는 거의 점성을 나타내지 않았고, 쌀 호화군에 SN 106과 *L. casei* AP6을 혼합 접종한 시료와 도토리 호화군에 SN 106과 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 혼합 접종한 시료에서 매우 높은 점성을 나타내였으며, 도토리 호화군의 경우 배양 종균에 상관없이 높은 점성을 나타내였다.

젖산 발효 기간중의 젖산균 생육 변화를 측정한 결과, 모든 시료에서 발효 2일에 급격히 증가한 후 점차 감소하였고, 호화 처리군의 균수가 대체적으로 높게 측정되었고으며, SN 106과 *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*를 접종한 Group과 SN 106만을 단독 접종한 Group에서의 생육이 활발하게 나타났다.

사. 도토리를 이용한 탁주 제조

탄닌 저항성이 높고 관능미가 우수한 발효 균주를 이용하고 도토리와 기존 탁주 원료에 대한 발효성을 조사함으로써 탁주 제조 원료로서의 가능성을 검토한 결과는 다음과 같았다.

발효 기간 중 당도 생성량을 측정한 결과, 도토리 · 찹쌀 혼합 처리구(2:3)에서 가장 높은 수치를 나타내였고, 쌀 및 찹쌀의 함량이 높을수록 당도가 높아지는 경향을 보였다. 발효 기간 중 알콜 생성량을 측정한 결과, 3 ~4%의 낮은 수치가 측정되었는데, 도토리와 찹쌀 혼합 처리구에서 가장 많은 알콜이 생성된 반면 도토리 단독 처리구에서의 생성량이 가장 적게 나타났다. 발효 기간 중 산 생성량을 측정한 결과, 쌀이나 찹쌀의 함량이 높아질수록 산도가 높아지는 경향을 나타내었다. 발효 기간 중 효모의 생육변화를 측정한 결과, 쌀 및 찹쌀 혼합 처리구간의 큰 차이는 보이지 않았으나 도토리 단독 처리구에서 현저히 낮아지는 결과가 나타났다. 발효가 완료된 탁주를 관능검사한 결과, 도토리와 찹쌀 혼합구에서 색이 가장 진하게 나타났는데, 찹쌀의 함량이 높을수록 색이 흐려지는 경향을 나타내었다. 패널들이 느끼는 알코올 강도는 2.3 ~4.0 정도로 전반적으로 낮게 나타났으며 도토리·쌀(2:3)>도토리·쌀(2:1)> 도토리30%> 도토리·쌀 혼합 처리구(2:2)의 순이였다. 향은 도토리·쌀(2:1), 도토리·찹쌀(2:1), 도토리20%, 도토리 · 찹쌀(2:2)의 순으로, 탁주의 맛은 도토리·쌀(2:3), 도토리10%, 도토리·쌀(2:2), 쌀 20%시료의 순으로 우수하였다.

따라서, 탁주의 기존 원료인 쌀로 제조한 시료보다 도토리와 쌀을 혼합해서 제조한 탁주의 경우 훨씬 맛과 향이 탁월하다는 평이 있었을 뿐만 아니라 도토리만을 사용하여 제조한 탁주에서도 기대 이상의 점수를 얻음으로써 도토리를 이용하여 알콜 강도가 약하고 맛과 향이 우수한 탁주의 개발이 가능하다고 사료되었다.

2. 활용에 대한 건의

개발된 도토리 식초는 먹기 좋은 음료로 함으로써 기능성과 상품성이 겸비된 제품이 될 수 있을 것이고, 소규모의 산지특화에도 적합하므로 산지가공업등의 식품가공기술에 파급효과를 줄 수 있을 것이다. 현재, 도토리 가공업체는 본 기술을 보유하고 있는 회사가 없으므로 도토리 가공회사들이 기술전수를 받아 활용하면 안정성, 성장성이 클 것으로 생각되나 대단히 영세하므로 본 기술을 감면 또는 무상양여 등으로 지원이 되었으면 한다.

V. 주요 연구개발결과 및 성과

1. 특허출원

도토리 식초 및 이의 제조방법, 출원번호 제10-2001-84248호

2. 학회지투고중

도토리 식초의 가공 특성, 식품과학회(2002)

3. 학회발표

1) 도토리 가공을 위한 탄닌 조절 및 호화 온도 조건,
한국식품과학회(2000. 5. 27)
2) 도토리를 이용한 요구르트의 제조, 한국식품과학회(2001. 10. 20)
3) 도토리를 이용한 탁주 제조, 한국식품과학회(2001. 10. 20)

4. 시식회:

1) 참여기업을 대상으로 도토리식초음료 시식회(2001. 12. 7)

SUMMARY

I. Title

Development of functional and palatable vinegar beverage by using acorn

II. Objectives and Significance of the Study

The objective of this research is to develop the high quality of the acorn vinegar beverage as a health food like persimmon vinegar which has high amount of tannin.

In Korea, the acorn tree is the most accumulated wood resource(80,992,350 m^3) among the wide leave trees and the presume amount of acorn production is 809,923,500 L(485,144,177 kg).

The raw acorn has 221 kcal of energy, 44.9% moisture, 4.4% of protein, 3.0% of lipid, 44.5% of carbohydrate, 2.2% of dietary fiber, 1.1% of ash, 16 mg of calcium, 84 mg of phosphorus, 0.6 mg of ferrous, 21 IU of vitamin A, which is very nuturitious and superior medicinal effect for intestinal and larynx disease, but, which also contain high amount of tannin to be not suitable to use for food manufacturing. Additionary, the acorn contains another functional effect of anti-oxidation by gallic aicd which is one of the tannic acids.

The persimmon consumed very much, which sold as a fruit and manufactured products like vinegar is sold with high price, to be well known as a functional food due to high content of tannin. However, the acorn is not developed vinegar yet even though has many functional nutritious effects by high content tannin. Thus, if it will be developed acorn vinegar, it is sold with high price too.

For the developed acorn vinegar, the tannin in acorn is reduced under level to do not inhibit starter strains on alcohol and acetic acid fermentation. Also, isolated superior strains for growth against at high tannin content ferment acorn to produce high quality vinegar.

III. Content and Scope

Part 1. Raw material pretreatment and prefermentation of acorn vinegar beverage

1. Physicochemical characters study of acorn
2. Reducing tannin in acorn by water, salt solution, or alcohol extraction or by germination
3. Screening of saccharification enzyme on commercials and naturals

Part 2. Alcohol fermentation of acorn flour

1. Tannin resistants isolation of yeast and mold
2. Screening high alcohol producing strain of yeast and mold
3. Screening high quality aroma producing strain
4. Alcohol fermentation and ripening by various incubation and temperature

Part 3. Acetic acid fermentation of acorn flour

1. Isolation of acetic acid bacteria against high tannin acid
2. Screening of acetic acid bacteria for high acid production
3. Screening of acetic acid bacteria for palatable taste production
4. Acetic acid fermentation and ripening by various content of intial alcohol and acetic acid

Part 4. Stability of acorn vinegar

1. Color difference on differnt ripening condition

2. Turbidity of acorn vinegar on differnt ripening period

Part 5. Acorn vinegar beverage manufacturing

1. Fruit type vinegar manufacturing from acorn vinegar
2. Acorn vinegar beverage manufacturing by readjustment of organic acid

Part 6. Acorn yoghurt manufacturing

1. Reducing sugar content by substrate type
2. Change of pH and titratable acidity
3. Change of viscosity
4. Change of starter population

Part 7. Acorn wine manufacturing

1. Change of reducing sugar content in acorn wine
2. Change of alcohol content in acorn wine
3. Change of acidity in acorn wine
4. Change of bacteria population in acorn wine
5. Sensory evaluation of acorn wine

IV. Results of Research and Recommendation

Part 1. Result of research

1. Raw material pretreatment and prefermentation of acorn vinegar beverage

1) Physicochemical characters of acorn

Moisture of acorn nuts was 36.18% of Uisung, 12.63% of Puyo, 46.13% of Chomchon, and it of acorn flour was 13.81% and 9.94%, respectively.

Tannin of acorn nuts was 4.46% of Uisung, 10.07% of Puyo, 3.65% of Chomchon, and it of acorn flour was 2.43% of Uisung and 1.00% of Puyo, respectively.

Reducing sugar of acorn nuts was 2.8% of Uisung, 4.7% of Puyo, 3.0% of

Chomchon, and it of acorn flour was 0.5% of Uisung and 2.3% of Puyo, respectively.

Initial gelatinization temperature of acorn nuts was 72.3℃ of Uisung, 71.2℃ of Chomchon, and it of acorn flour was 70.5℃ of Uisung and 72.4℃ of Puyo, respectively.

2) Tannin content level reducing control

For the control of tannin level, raw acorn was germinated, it's level was 2.77% at tenth day, 2.34% at fifteenth, 1.50% at twenties, reaspectively. In case of acorn flour was soaked in water or NaCl solution, the tannin was reduced by elivating temperature and increasing submerged time.

3) Screening of saccharification enzyme

Among the commercial saccharification enzyme treatments, the mixed treatment with α-amylases of *Aspergillus orizae* and amyloglucosidase of *Aspergillus niger was* excellent by using on potato starch. And the mixed treatment with α-amylases of *Aspergillus orizae* and amyloglucosidase of *Rizopus mold was* excellent by using on acorn starch.

Among the natural source enzyme treatments, the mixed treatment with Nuruk from Anyang market and malt from Lotte department store *was* excellent by using on acorn starch.

2. Alcohol fermentation of acorn flour

1) Tannin resistants isolation of yeast and mold

On tannin resistance test, most fungi were grown well at 1% level of tannin, specially the genus of *Aspergillus* but were not grown the genus of *Monascus, Mucor, Rhizopus, Schizosaccharomyces*. Among the resistances *Saccharomyces cerevisiae* was grown at 5% level of tannin.

2) Screening high content of alcohol producing strain

In nongelatinized acorn solution, fungi produced 1.28 ~ 2.02 g/L of alchohol. Among these *Torulaspora hansenii* A30 was the best producer and followed *Zygosaccharomyces rouxii* A27 and *Trigonopsis variabilis* A25.

In gelatinized acorn solution, fungi produced 1.00 ~ 3.59 g/L of alchohol.

Among these *Schwanniomyces occidentalis var. occidentalis* A11 was the best producer.

In nongelatinized acorn solution with 5% of glucose, fungi produced 7.79 ~ 21.81 g/L of alchohol. Among these *Torulaspora hansenii* A30 was the best producer.

In gelatinized acorn solution with 5% of glucose, fungi produced 6.98 ~ 26.10 g/L of alchohol. Among these *Saccharomyces cerevisie* A18 was the best producer.

3) Screening aroma producing strain

Generally, *Saccharomyces cerevisiae* was the superior species to produce good aroma among the fungi. The high score strains of sensory evaluation were A2, A3, A6, A11, A12, A15, A16, A17, A18, A20, A22, A24, A26, A28, A30 mong yeasts and B2, B5, B7, B11, C6 among molds. Among the treatments, nongelatinized acorn solution with added glucose was the best aroma producer.

4) Alcohol fermentation and ripening

On fermentation with acorn solution, the alcohol was 0% at initial stage, 3.4% ~8.8% at fifteenth day. The optimun procedure was the using of *S. sake* and *Asp. carbonarius*(a6+b7) as starters in 20% acorn solution at 25℃ which was produced up to 8% of alcohol.

3. Acetic acid fermentation of acorn flour

1) Screening of acetic acid bacteria on tannin acid resistance

The most strains of acetic acid bacteria was grown in 0.5% of tannin solution. And more 1% of tannin *Gluconobacter oxydans* subsp. *oxydans*(KCTC 2108) was grown the best and folowed Ma5(5)R2 isolated from fruit, and *Acetobacter pasteurianus*(KCTC 1008) was the worst.

2) Screening of acetic acid bacteria for high acid production

The best acid producing strain was the *Acetobacter aceti* KFRI1026 to produce 1.46% of acid.

3) Screening of acetic acid bacteria for palatable taste production

The palatable taste producing natural acetic acid bacteria were Ma5(5)T2, M22(7)T2, M19(5)Y1, M23(5)Y1, M3(7)T1, M16(7)T1 isolated from fruits, which

sensory evaluation value were 5.9, 5.7, 50, 6.6, 5.3, 5.7 respectively at a nine score test.

The palatable taste producing acetic acid bacteria of type cultures were KFRI1026, KFRI895, which sensory evaluation value were 5.7, 6.1 respectively at a nine score test.

4) Acetic acid fermentation and ripening

(1) Acetic acid fermentation by various content of intial alcohol

The most strains of *Acetobacter* produced more than 1.0% acid. Among the strains isolated from fruits, M17(7)T1(1.28%), M22(7)T2(1.24%), M19(5)Y1(1.40), M5(5)T1(1.29%) produced more than 1.0% acid.

(2) Acetic acid fermentation by various content of initial acetic acid

With bach culture fermentation, the acid was 0.108, 0.540, 0.108 at 20℃, 25℃, 30℃ respectively by KFRI895 during fifteenth incubation.

With shaking culture fermentation, the acid was 1.068, 0.960, 0.084 at 20℃, 25℃, 30℃ respectively by KFRI895 during fifteenth incubation. The optimum was using KFRI895 at 20℃ by shaking.

4. Stability of acorn vinegar

For prevent the change of the vinegar during ripenig to be decolorated and precipitated by tanin, acorn vinegar was treated as followed

For prevent decolorlation the vinegar was seperated from light and air, and added 0.25% of bentonite, or 0.5%(or 1%) of ascorbic acid, it was the best.

For the clearness was the best by using 1.0% of ascorbic acid in acorn vinegar, its trasmitance was 97.38% of original light.

5. Acorn vinegar beverage manufacturing

The best artificial fruit vinegar made from water and organic acid was a grape to be better than persimmon vinegar. In the case of made from acorn vinegar and organic acid, the best artificial fruit vinegar was a grape and a apple vinegar.

The best aroma for artificial vinegar was an apple and followed a fruit mix,

an orange, a peach and a grape by using 0.1% of level.

For drinking purpose the palatable diluted ratio of vinegar was 4 times. To increase the palatability with adding materials, it was 0.1% of chitsan and oligosaccharide.

6. Acorn yoghurt manufacturing

It was the best production of sugar by fermenting with SN 106 and *L. lactis* SKD 1011 in gelatinized rice and acorn solution. During lactic acid fermentation, the pH and acidity were remarkably changed by SN 106. The viscosity was incresed gelatinized better than that of nongelatinized treatment. The high level of viscosity was SN 106 and *L. casei* AP6 in gelatinized rice solution, and SN 106, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in gelatinized acorn solution. But, in acorn solution the viscosity was a high value with no large difference among the starters.

Lactic acid bacteria grew rapidly after second fermentaion day and reduced gradually, to be population in gelatinized better than that of nongelatinized.

7. Acorn wine manufacturing

For acorn wine fermentation, the sugar content was the highest with acorn and gulutinouse rice(2:3). The better content of rice and gulutinous rice in wine made to be better sugar content.

For acorn wine fermentation, the alcohol content was the highest with acorn and gulutinouse rice. The level of alcohol content was 3~4% on different substrate generally. The lowest level of alcohol content was the treatment by using with single substrate.

Among the wines the darkenist color was in acorn and glutinous rice treatment, and gradually more darken and more high content of glutinous rice.

The alcohol was 2.3~4.0% by sensory evaluation and to be the highest on taste fermented with acorn and rice(2:3), and followed acorn and rice(2:1), 30% of acorn, acorn and gulutinouse rice(2:2).

Contents

Chapter 1. Introduction ····· 37
1. Introduction ····· 37
2. Objectives and Scope ····· 37
1) Objectives ····· 37
2) Scope ····· 37

Chapter 2. Raw material pretreatment and prefermentation of acorn vinegar beverage ····· 39
1. Introduction ····· 39
2. Material and Methods ····· 39
1) Material ····· 39
2) Methods ····· 39
(1) Measured moisture ····· 39
(2) Measured tannin acid ····· 40
(3) Tannic acid measured volume ····· 40
(4) Measured reducing sugar ····· 41
(5) Measured initial temperature of gelatinization ····· 41
(6) Saccharification of acorn flour by amylolytic enzymes ····· 42
① Acorn solution manufacturing
② Commercial enzyme treatment
③ Natural enzyme treatment

2. Result and Discussion ····· 43
1) Physicochemical characters of acorn ····· 43
(1) Moisture content ····· 43
(2) Tannin content ····· 44
(3) Reducing sugar content ····· 46
(4) Gelatinization ····· 46
2) Reducing tannin in acorn ····· 47
(1) Tannin reducing by water and salt solution extraction ····· 47

(2) Tannin reducing by alcohol extraction ····· 48
(3) Tannin reducing by germination ····· 49
3) Screening of saccharification enzyme ····· 50
(1) Commercial enzyme treatment ····· 51
① Single enzyme treatment
② Mixed enzyme treatment
③ Step-by-step enzyme treatment
(2) Natural enzyme treatment ····· 58
① Single enzyme treatment
② Mixrd enzyme treatment
③ Step-by-step enzyme treatment
④ Nuruk treatment
4. Reference ····· 65

Chapter 3. Alcohol fermentation of acorn flour ····· 67
1. Introduction ····· 67
2. Material and Methods ····· 67
1) Material ····· 67
2) Methods ····· 67
(1) Strain isolation and stock ····· 67
(2) Strain incubation ····· 67
① Mold and yeast incubation
② Screening of tannin resistants
③ Screening of high alcohol and good aroma producing strains
3. Result and Discussion ····· 69
1) Tannin resistants isolation of yeast and mold ····· 69
(1) Isolation resistants from high tannin nuts ····· 69
① Characters and colony forms of resistants isolated from Nuruk
② Alcohol resistance of Nuruk strains
③ Amylolytic activity of Nuruk strains
(2) Tannin resistance of isolated strains and type cultures ····· 71

① Tannin resistance by variable tannin concentration
② Growth in different tannin contents
2) Screening high alcohol producing strain ····· 75
(1) Yeast fermentation ····· 76
(2) Mold fermentation ····· 77
3) Screening high quality aroma producing strain ····· 78
4) Alcohol fermentation and ripening ····· 79
(1) Fermentation by various incubation and temperature ····· 79
① Measured reducing sugar
② Measured alcohol
(2) Alcohol fermentation ····· 80
4. Reference ····· 81

Chapter 4. Acetic acid fermentation of acorn flour ····· 82
1. Introduction ····· 82
2. Material and Methods ····· 82
1) Material ····· 82
2) Methods ····· 82
(1) Pretreatment for acetic acid bacteria isolation ····· 82
(2) Acetic acid bacteria isolation ····· 83
(3) Flavor evaluation of acorn vinegar ····· 83
3. Result and discussion ····· 84
1) Isolation of acetic acid bacteria against tannin acid ····· 84
(1) Isolation of acetic acid bacteria from fruits and artificial fruits ····· 84
(2) Test of acetic acid bacteria on tannin resistance ····· 92
2) Screening of acetic acid bacteria for high acid production ····· 94
3) Screening of acetic acid bacteria for palatable taste production ····· 95
4) Acetic acid fermentation and ripening ····· 96
(1) Acetic acid fermentation by various content of intial alcohol ····· 96
① Titrable acidity of acetic acid
② Population of acetic acid bacteria
(2) Acetic acid fermentation by various content of initial acetic acid ····· 99

(3) Effect of fermentation temperature ····101
① Titrable acidity of acetic acid
② Population of acetic acid bacteria
(4) Organic acid production by fermentation type ····103
① Change of organic acid production
② Change of organic acid production by intial alcohol
③ Change of organic acid production by intial acetic acid
④ Change of organic acid production by fermentation temperature
⑤ pH and acidity of acorn vinegar and commercial vinegar
⑥ Sensory evaluation of acorn vinegar and commercial vinegar
4. Reference ····110

Chapter 5. Stability of acorn vinegar ····111
1. Introduction ····111
2. Material and Methods ····111
1) Material ····111
2) Methods ····111
(1) Prevention of color change and precipitation ····111
(2) Color and turbidity difference measurement ····112
3. Result and discussion ····113
1) Color difference on ripening condition ····113
(1) Temperature ····113
(2) Light ····114
(3) Air ····115
(4) Clarifier ····116
(5) Ascorbic acid ····117
2) Turbidity of acorn vinegar on ripening period ····118
(1) Temperature ····118
(2) Light ····119
(3) Air ····120
(4) Clarifier ····121
(5) Ascorbic acid ····122
4. Reference ····123

Chapter 6. Acorn vinegar beverage manufacturing ····124
1. Introduction ····124
2. Material and Methods ····124
1) Material ····124
2) Methods ····124
(1) Readjustment of organic acid in acorn vinegar ····124
(2) Sensory evaluation of acorn vinegar beverage ····124
3. Result and Discussion ····125
1) Fruit type vinegar manufacturing from acorn vinegar ····125
(1) Readjustment of organic acid in acorn vinegar ····125
(2) Effect of sugar addition ····126
(3) Effect of alcohol addition ····126
(4) Effect of artificial aroma addition ····127
2) Acorn vinegar beverage manufacturing ····128
(1) Readjustment of organic acid in acorn vinegar beverage ····128
(2) Effect of sugar addition ····130
(3) Effect of alcohol addition ····131
(4) Dilution rate of palatable acorn vinegar beverage ····132
(5) Effect of functional ingredients addition ····132
4. Reference ····135

Chapter 7. Acorn yoghurt manufacturing ····136
1. Introduction ····136
2. Material and Methods ····136
1) Material ····136
2) Methods ····137
(1) Starter incubation ····137
(2) Yoghrt manufacturing ····137
(3) Sugar content ····137
(4) pH and titratable acidity ····137
(5) Viscosity ····138

(6) Starter population ····138
3. Result and Discussion ····139
1) Reducing sugar content by substrate type ····139
2) Change of pH and titratable acidity ····142
3) Change of viscosity ····147
4) Change of starter population ····149
4. Reference ····153

Chapter 8. Acorn wine manufacturing ····154
1. Introduction ····154
2. Material and Methods ····154
1) Material ····154
2) Methods ····154
(1) Starter incubation ····154
(2) Acorn wine manufacturing ····154
(3) pH and titratable acidity ····155
(4) Alcohol content ····155
(6) Atarter population ····155
(7) Sensory evaluation ····155
3. Result and Discussion ····156
1) Change of reducing sugar content in acorn wine ····156
2) Change of alcohol content in acorn wine ····157
3) Change of acidity in acorn wine ····158
4) Change of bacteria population in acorn wine ····159
5) Sensory evaluation of acorn wine ····160
4. Reference ····163

목 차

제 1 장 서론 37
제 1 절 연구개발의 필요성 37
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 37
1. 연구개발 목표 37
2. 연구개발 내용 37

제 2 장 도토리 식초 음료 제조의 원료 전처리 및 전발효 조건 확립 39
제 1 절 서론 39
제 2 절 재료 및 방법 39
1. 실험재료 39
2. 실험방법 39
가. 수분함량 측정 39
나. 탄닌함량 측정 40
다. Tannic acid 정량 40
라. 환원당함량 측정 41
마. 호화온도 41
바. 당화원 제조 및 당화효소에 따른 당화조건 검토 42
1) 도토리용액제조
2) 시판효소 처리구
3) 천연효소 처리구

제 3 절 결과 및 고찰 43
1. 도토리의 이화학적 특성 43
가. 수분함량 43
나. 탄닌함량 44
다. 환원당함량 46
라. 호화온도 46
2. 도토리 탄닌의 감소화 47
가. 물 및 소금 추출에 의한 감소화 47

나. 알콜 추출에 의한 감소화 ……48
다. 발아에 의한 감소화 ……49
3. 전분질 분해효소 선정 및 당화 조건 ……50
가. 시판효소 처리구 ……51
1) 단독처리구
2) 혼합처리구
3) 경시적처리구
나. 천연효소 처리구 ……58
1) 단독처리구
2) 혼합처리구
3) 경시적처리구
4) 개량누룩처리구
제 4절 참고문헌 ……65

제 3 장 도토리를 이용한 알콜발효 ……67
제 1 절 서론 ……67
제 2 절 재료 및 방법 ……67
1. 실험재료 ……67
2. 실험방법 ……67
가. 균주의 전처리 ……67
나. 균주배양 ……67
1) 사상균 및 효모의 배양
2) 탄닌 저항성 균주 선별
3) 알콜 생성능 및 향기 우수 균주 선별
제 3 절 결과 및 고찰 ……69
1. 탄닌 저항 효모 및 사상균의 분리 ……69
가. 탄닌이 많이 함유된 견과류 및 누룩으로부터 분리 ……69
1) 누룩 균주 특성 및 colony 형태
2) 누룩 균주의 알콜 저항력
3) 누룩 균주의 전분 분해력
나. 분리균 및 분양균의 탄닌 저항성 조사 ……71

1) 탄닌 농도별 균 저항성 조사
2) 탄닌에서 균 성장성 조사
2. 알콜생성 우수균 선발 ……75
가. 효모의 발효 ……76
나. 사상균의 발효 ……77
3. 향기생성 우수균 선발 ……78
4. 알콜발효 및 숙성 조건 검토 ……79
가. 배양방법 및 온도에 따른 발효 ……79
1) 환원당 측정
2) Alcohol 측정
나. 경시적 알81콜발효 ……80
제 4 절 참고문헌 ……81

제 4 장 도토리를 이용한 초산발효 ……82
제 1 절 서론 ……82
제 2 절 재료 및 방법 ……82
1. 실험재료 ……82
2. 실험방법 ……82
가. 초산균분리 전처리 ……82
나. 초산균 분리 ……83
다. 식초의 관능검사 ……83
제 3 절 결과 및 고찰 ……84
1. 탄닌 저항 초산균의 분리 ……84
가. 썩은 과일 및 자연 노출된 인공배지로부터 초산균 분리 ……84
나. 분리균 및 분양 초산균의 탄닌 저항성 조사 ……92
2. 초산생성 우수균 선발 ……94
3. 향미 생성 우수균 선발 ……95
4. 초산발효 및 숙성 조건 검토 ……96
가. 알콜 첨가량에 의한 영향 ……96
1) 산도
가) 정치배양
나) 진탕배양

2) 균수
가) 정치배양
나) 진탕배양
나. 초산 첨가량에 의한 영향 ……99
1) 산도
2) 균수
다. 발효온도에 의한 영향 ……101
1) 산도
2) 균수
라. 발효조건에 따른 유기산 생성 ……103
1) 경시적 유기산 변화
2) 알콜함량에 따른 유기산 변화
3) 초산함량에 따른 유기산 변화
4) 발효온도에 따른 유기산 변화
5) 도토리식초와 종래시판 식초와의 pH 및 산도
6) 도토리 식초와 종래시판 식초와의 관능검사 결과

제 4절 참고문헌 ……110

제 5 장 도토리 식초 안정성 검토 ……111
제 1 절 서론 ……111
제 2 절 재료 및 방법 ……111
1. 실험재료 ……111
2. 실험방법 ……111
가. 변색 및 침전 방지 조건 ……111
나. 색도 및 탁도 측정 ……112
제 3 절 결과 및 고찰 ……113
1. 도토리 식초의 숙성 조건에 따른 색도 측정 결과 ……113
가. 온도의 영향 ……113
나. 빛의 영향 ……114
다. 공기 접촉의 영향 ……115

라. 청징제의 영향 ……116
마. Ascorbic acid의 영향 ……117
2. 도토리 식초의 숙성 조건에 따른 탁도 ……118
가. 온도의 영향 ……118
나. 빛의 영향 ……119
다. 공기 접촉의 영향 ……120
라. 청징제 처리의 영향 ……121
마. Ascorbic acid 처리의 영향 ……122
제 4 절 참고문헌 ……123

제 6 장 도토리를 이용한 식초음료 제조 ……124
제 1 절 서론 ……124
제 2 절 재료 및 방법 ……124
1. 실험재료 ……124
2. 실험방법 ……124
가. 유기산 재배합 ……124
나. 식초음료의 관능검사 ……124
제 3 절 결과 및 고찰 ……125
1. 과일형 도토리식초의 제조 ……125
가. 유기산 재배합 ……125
나. 당 첨가 효과 ……126
다. 알콜 첨가 효과 ……126
라. 인공향 첨가 효과 ……127
2. 도토리 식초 음료 제조 ……128
가. 유기산 재배합 ……128
나. 당 첨가 효과 ……130
다. 인공향 첨가 효과 ……131
다. 적정 음용 희석배수 설정 ……132
라. 기능성물질 첨가 효과 ……132
제 4 절 참고문헌 ……135

제 7 장 도토리를 이용한 요구르트 제조 ……136
제 1 절 서론 ……136
제 2 절 재료 및 방법 ……136
1. 실험재료 ……136
2. 실험방법 ……137
가. 균주 배양 ……137
나. 요구르트 제조 ……137
다. 당도 측정 ……137
라. pH 및 산도 측정 ……137
마. 점도 측정 ……138
바. 균수 측정 ……138
제 3 절 결과 및 고찰 ……139
1. 기질에 따른 환원당 생성 ……139
2. pH 및 산도 변화 ……142
3. 점도변화 ……147
4. 균수변화 ……149
제 4 절 참고문헌 ……153

제 8 장 도토리를 이용한 탁주 제조 ……154
제 1 절 서론 ……154
제 2 절 재료 및 방법 ……154
1. 실험재료 ……154
2. 실험방법 ……154
가. 균주배양 ……154
나. 탁주제조 ……154
다. pH 및 산도 측정 ……155
라. Alcohol 함량 측정 ……155
마. 균수 측정 ……155
바. 관능 평가 ……155
제 3 절 결과 및 고찰 ……156
1. 발효액의 경시적 환원당 변화 ……156
2. 발효액의 경시적 알콜 변화 …… 157

3. 발효액의 경시적 산도 변화 ……158
4. 발효액의 경시적 균수 변화 ……159
5. 발효액의 관능 평가 ……160
제 4 절 참고문헌 ……163

여 백

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 필요성

도토리는 수렵·채취시대부터 식용으로 이용된 것으로 추측되며 우리나라에는 약 57종의 도토리 품종이 나타나고 있고 활엽수 중에서 가장 많은 식생을 나타내고 있다.

도토리는 생것이 100g 당, 에너지 221 kcal, 수분 44.9%, 단백질 4.4%, 지질 3.0%, 당질 44.5%, 섬유소 2.2%, 회분 1.1%, 칼슘 16 mg, 인 84 mg, 철 0.6 mg, 비타민 A 21 IU, B1 0.01 mg, B2 0.06 mg, niacin 0.8 mg, 비타민 C 9 mg이 함유되어 있어서 영양학적으로 우수하나 주로 전분질을 이용한 묵, 국수 등의 구황식품으로 이용되었고, 구내염, 대장염, 설사, 위장병, 종독, 인후통, 강장, 주름제거 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있으며(구황식물도감, 호남작물시험장) 토토리가 함유한 주요 탄닌 성분 중에 하나인 gallic acid는 우수한 천연항산화제로 알려져 있다.

탄닌의 함량이 많은 감(2-3%)을 발효시켜 만든 전통 감식초는 탄닌성분에 의한 기능성이 인정되고 있으나 탄닌성분이 많은 도토리(4-7%)는 식초가 개발되어 있지 않았고, 감식초는 탄닌에 의한 갈변화와 침전물 생성 그리고 낮은 산생성이 문제가 되고 있으나 탄닌함량 조절과 청징방법에 대한 연구로 많은 개선을 이루었고, 탄닌 저항성 균주개발로 산생성을 증가시켜 왔다.

도토리는 감보다 탄닌함량이 높으므로 탄닌을 조절하는 기술개발이 중요할 것으로 생각되었고 감식초처럼 변색 및 침전, 그리고 낮은 산 생성이 문제가 될 것으로 생각되었으며, 도토리로 식초를 제조할 때에는 탄닌 조절방법을 검토하고 탄닌 저항성을 가지고 발효능이 우수한 효모 및 초산균을 선발하여 발효 단계별 종균을 접종하여 발효 효율을 높여야 할 것이다.

소비자 기호가 빠르게 변화하고 소비증가가 낮은 탄산 쥬스 음료 보다 소비증가가 높은 전통음료와 새로운 소제를 원료로 한 이색음료가 기존 시장을 잠식할 것으로 예상됨으로 새로운 형의 음료 개발이 필요하므로, 도토리로 제조된 식초는 새로운 식재료이고 제조된 식초는 상품성을 높이기 위하여 맛있는 음료수로 개발될 수 있을 것이다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발 목표

탄닌을 다량 함유하여 활용이 낮은 도토리를, 탄닌을 함유하여 기능성 식품으로 기호도가 높은 감식초와 같이 건강 식초 원료로 개발하여 기능성이 부가된 고부가가치 건강 별미 식초 음료를 개발하고자 하였다.

2. 연구개발 내용

가. 도토리 식초 음료 제조의 원료 전처리 및 전발효 조건 확립

탄닌이 많은 도토리의 알콜 발효성을 높이기 위하여 도토리 특성 분석, 탄닌제거 및 전분당화 조건을 검토하였다.

나. 도토리를 이용한 알콜발효

탄닌에 대하여 저항성이 있고 알콜생성력 및 발효향이 우수한 균주를 선별하여 알콜발효를 함으로서 초산발효 전단계 조건을 검토하였다.

다. 도토리를 이용한 초산발효

탄닌에 대하여 저항성이 있고 초산생성력 및 관능미가 우수한 균주를 선별하여 초산발효를 검토하였다.

라. 도토리 식초 안정성 검토

식초로 발효된 도토리 액의 이화학적인 안정성을 검토하였다.

마. 도토리를 이용한 식초음료 제조

도토리식초를 이용하여 과일형 도토리식초를 제조하였고 보다 고부가 제품을 위하여 도토리 식초음료를 제조하였다.

바. 도토리를 이용한 요구르트 제조

이용성 낮은 도토리를 요구르트로 제조하여 활용하였다.

사. 도토리를 이용한 탁주 제조

이용성 낮은 도토리를 탁주로 제조하여 활용하였다.

제 2 장 도토리 식초 음료 제조의 원료 전처리 및 전발효 조건 확립

제 1 절 서론

도토리는 생것이 100g 당, 에너지 221 kcal, 수분 44.9%, 단백질 4.4%, 지질 3.0%, 당질 44.5%, 섬유소 2.2%, 회분 1.1%, 칼슘 16 mg, 인 84 mg, 철 0.6 mg, 비타민 A 21 IU, B1 0.01 mg, B2 0.06 mg, niacin 0.8 mg, 비타민 C 9 mg이 함유되어 있어서 영양학적으로 우수하나 주로 전분질을 이용한 묵, 국수 등의 구황식품으로 이용되었고, 구내염, 대장염, 설사, 위장병, 종독, 인후통, 강장, 주름제거 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있으며(구황식물도감, 호남작물시험장) 토토리가 함유한 주요 탄닌 성분 중에 하나인 gallic acid는 우수한 천연항산화제로 알려져 있다.

도토리는 탄닌이 많이 함유되어 있어서 식품가공적성이 떨어지므로 본 연구에서는 식품가공도를 높이기 위한 전단계로 도토리 이화학적 특성 조사 및 탄닌감소 및 당화조건을 검토하여 활용성을 높이기 위한 전단계를 검토하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

생도토리(의성, 부여, 점촌), 시판 도토리 가루(의성, 부여), Dry oven, 데시케이터, 실리카겔, 칭량병, balance(소수 4자리), Folin-Denis reagent, 탄닌,

2. 실험방법

가. 수분함량 측정

도토리를 무작위로 선택하고 생도토리는 파쇄하여 시료를 준비한다. 110℃로 조절된 dry oven에서 비이커를 미리 건조시킨 후 항량시킨고 항량시킨 비이커에 시료 약 5g을 잰 후 dry oven에서 2시간 건조시켰다. 30분간 데시케이터에서 방냉 후 dry oven에서 1시간 건조시킨 후 방냉하고 건조시킨 시료와 비이커의 무게를 측정하여 다음과 같이 수분함량을 계산하였다.

$$\text{수분}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100$$

W_0 : 칭량병의 중량(g)

W_1 : (칭량병 + 시료)의 중량(g)

W_2 : W_1을 건조하여 항량이 되었을 때의 중량(g)

나. 탄닌함량 측정

탄닌함량은 Folin-Denis 방법에 따른 tannic acid 정량한다. 즉, 100 ml vol. flask에 75 ml의 증류수를 넣고 sample 1ml를 취한 후, Folin-Denis 시약 5 ml와 포화탄산나트륨 10 ml를 순차적으로 넣어 증류수로 100 ml가 되도록 한다(sample 준비 : 0.01 g/ml이 되도록 도토리 가루를 추출용매 및 시간을 달리하여 추출한 후 여과한다). 그리고, 실온에서 30분간 방치한 후 UV/VIS Spectrophotometer(Jasco V-550, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

다. Tannic acid 정량

<Folin-Denis reagent>

$Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$	100 g
Phosphomolybdic acid	20 g
H_3PO_4(phosphoric acid)	50 ml
H_2O	750 ml

reflux 2 hr. → cooling → dilution to 1 L

* 장치 및 기구 : 1000 ml 메스플라스크, 환류장치(환류 냉각관, 1L 수기)

<Saturated Sodium Carbonate Solution>

H_2O	100 ml
Na_2CO_3 Anhyd.	35 g

70~80℃로 용해 → cooling(overnight) → $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ → filtering of crystal

<Tannic acid standard solution>

H_2O	1 L
Tannic acid	100 mg

(Cont. : 0.1 mg/ml)

Tannic acid 정량은 Folin-Denis 방법에 따랐으며 상기 시약을 미리 제조하여 다

음과 같이 하였다.

1) 100 ml vol. flask에 75 ml의 증류수를 넣고 sample 1ml를 취한 후 Folin-Denis 시약 5 ml와 포화 탄산나트륨 10 ml를 순차적으로 넣어 증류수로 100 ml가 되도록 하였다. (sample 준비 : 0.01 g/ml이 되도록 도토리 가루를 추출용매 및 시간을 달리하여 추출한 후 여과하였다)

2) 실온에서 30분간 방치한 후 UV/VIS Spectrophotometer(Jasco V-550, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정한다.

라. 환원당함량 측정

환원당 함량은 DNS 방법으로 하였다.

마. 호화온도

Amylograph을 이용한 전분의 호화 온도 측정은

35℃에서 95℃까지 1.5℃/min로 가열

→ 95℃에서 15 min 유지

→ 동일속도에서 50℃까지 냉각

→ 30 min 유지

5, 10(15, 20)% 도토리 용액을 제조하여 amylograph의 시료 용기에 넣고 작동시킨 후 amylogram을 통해 점도가 변화하는 시점을 전분의 호화 개시온도로 하였다.

시료량 계산법:

$$X = \frac{(N \times Y)/100}{(100 - M - Y)/100}$$

X : 시료의 양(g)

M : 시료 수분함량(%)

Y : 시료 농도(%) (5~8% 정도)

N : 가한 증류수의 ml 수(440~450 ml 정도)

바. 당화원 제조 및 당화효소에 따른 당화조건 검토

1) 도토리용액제조

도토리가루(의성농협)는 증자처리구와 무증자처리구로 나누어 증자처리구는 121℃ 15분간 증자하여 사용하였으며, 각각 10%, 20%, 30%, 40%(w/w)의 도토리가루용액을 제조하였다.

2) 시판효소 처리구

시판 도토리 가루(의성 농협)로 제조한 10%, 20%, 30%, 40%도토리 용액을 기질로 사용하여 각 도토리 용액 9.5ml에 시판효소 α-amylase와 glucoamylase의 각각 또는 1:1 혼합액 20unit, 40unit/ml를 0.5ml씩 가하여 30℃ water bath에서 반응시켜면서 0hr, 6hr, 12hr, 24hr, 48hr에 sample을 취하여 DNS(Dinitrosalicylic acid)에 의한 비색법을 이용하여 환원당을 측정하였다.

3) 천연효소 처리구

천연 효소원인 누룩(개량누룩-증자용, 무증자용)을 마쇄하여 9.5ml에 마쇄한 가루를 0.5g씩 가하여 30℃ water bath에서 반응시키면서 각 시간별(0, 6, 12, 24, 48hr)로 sample을 취하여 환원당을 측정하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 도토리의 이화학적 특성

가. 수분함량

생도토리(의성, 부여, 점촌) 및 시판 도토리 가루(의성, 부여)의 수분함량을 측정한 결과는 Table 2-1과 같다. 생도토리의 경우 점촌의 수분함량이 가장 높았는데 이는 약간의 싹이 틔어있으며 건조된 상태가 아니었기 때문이고, 반면 부여의 경우 가장 낮았는데 이는 침지하여 건조시킨 것으로 생각되었다. 전반적으로 생도토리가 시판 도토리에 비해 높았는데 이는 도토리의 건조 정도에 따른 결과라고 판단되었다.

Raw			Comercial	
Uisung	Puyo	Chomchon	Uisung	Puyo
36.18	12.63	46.13	13.81	9.94

Table 2-1. Moisture contents(%) of raw and commercial acorn flour

나. 탄닌함량

생도토리(의성산, 부여산, 점촌산) 및 시판 도토리가루(A, B사)를 70% ethanol으로 추출시간(6, 12, 18, 24, 30)과 온도(10, 20, 30, 40, 50℃)를 달리하여 침출시킨 후 Polin-Denis 방법에 의해 탄닌 함량을 측정하였다.

70% ethanol로 추출한 생도토리의 탄닌 함량은 의성산이 4.46%, 부여산이 10.07%, 점촌산이 3.65%로 나타났고, 시판 도토리 가루의 경우에서는 A사가 2.43%, B사가 1.00%로 나타났다(Table 2-2).

Time (hr)	Temperature (℃)	Raw acorn flour			Commercial acorn flour	
		Uisung	Puyo	Chomchon	Uisung	Puyo
6	10	1.48	6.75	0.78	1.78	0.65
	20	1.48	6.80	0.87	1.95	0.68
	30	1.78	7.10	1.11	2.06	0.89
	40	2.30	7.85	1.51	2.14	1.09
	50	2.56	8.11	1.69	2.45	1.10
12	10	1.45	7.16	1.07	1.76	0.65
	20	1.82	7.91	1.18	2.19	0.68
	30	2.19	8.10	1.34	2.26	0.89
	40	3.23	8.85	1.65	2.32	1.09
	50	3.56	8.99	1.78	2.45	1.10
18	10	2.11	7.69	1.70	1.72	0.87
	20	2.74	8.14	1.80	2.19	0.99
	30	2.82	9.07	2.35	2.12	1.00
	40	4.22	10.06	3.18	2.46	1.04
	50	4.34	10.13	3.43	2.55	1.11
24	10	2.12	7.68	1.79	1.75	0.66
	20	2.66	8.13	2.01	1.98	0.67
	30	3.21	9.13	2.76	2.23	0.89
	40	4.46	10.07	3.65	2.43	1.00
	50	4.81	10.11	3.79	2.50	1.11
30	10	2.42	7.87	1.90	1.88	0.68
	20	2.58	8.14	2.11	1.76	0.71
	30	3.26	9.41	2.64	2.38	0.99
	40	4.74	10.17	3.66	2.45	1.14
	50	4.97	10.31	3.94	2.59	1.13

Table 2-2. Tannic acid contents of acorn extracted with 70% ethanol(Unit : %)

생도토리와 시판 도토리가루를 물 및 NaCl 용액(2, 4, 6%)으로 추출시간 및 온도를 달리하여 Polin-Denis 방법에 의해 탄닌함량을 측정하였다.

NaCl 용액으로 추출한 경우는 2%의 낮은 농도에서 물(생도토리에서 탄닌의 함량 2.67%로 나타남)보다 제거능이 낮거나 유사(탄닌의 함량이 2.69%로 나타남)하였으며, 4%, 6%로 염농도가 증가할수록 탄닌의 제거능이 감소하여 그 함량은 각각 2.58%, 2.56%로 나타났다(Table 2-3).

Time (hr)	Temperature (℃)	Raw acorn flour				Commercial acorn flour			
		water	2% NaCl	4% NaCl	6% NaCl	water	2% NaCl	4% NaCl	6% NaCl
6	10	1.32	1.32	1.30	1.29	0.77	0.69	0.70	0.65
	20	1.40	1.41	1.38	1.33	0.87	0.81	0.77	0.71
	30	1.54	1.46	1.35	1.37	1.04	1.05	1.00	0.89
	40	1.76	1.70	1.61	1.49	1.08	1.07	0.89	0.96
	50	1.83	1.68	1.69	1.53	1.43	1.32	1.25	1.14
12	10	1.42	1.43	1.40	1.32	0.91	0.88	0.89	0.86
	20	1.76	1.69	1.70	1.66	1.11	1.09	1.01	1.00
	30	1.88	1.76	1.77	1.79	1.43	1.42	1.39	1.32
	40	2.18	2.19	1.89	2.09	1.65	1.54	1.55	1.56
	50	2.29	2.19	2.15	2.15	1.69	1.56	1.54	1.59
18	10	2.10	2.08	2.00	1.99	1.29	1.26	1.20	1.11
	20	2.21	2.19	2.18	2.19	1.47	1.47	1.41	1.44
	30	2.33	2.34	2.29	2.20	1.76	1.69	1.65	1.63
	40	2.52	2.44	2.34	2.37	1.89	1.88	1.79	1.77
	50	2.51	2.49	2.33	2.38	1.87	1.79	1.81	1.78
24	10	2.21	2.19	2.16	2.19	1.44	1.33	1.21	1.29
	20	2.44	2.41	2.40	2.38	1.59	1.50	1.49	1.41
	30	2.45	2.44	2.46	2.40	1.82	1.81	1.79	1.70
	40	2.67	2.69	2.58	2.56	1.99	1.89	1.88	1.81
	50	2.66	2.61	2.63	2.62	2.01	1.93	1.97	1.96
30	10	2.37	2.29	2.31	2.17	1.50	1.47	1.45	1.40
	20	2.43	2.40	2.39	2.41	1.65	1.65	1.54	1.56
	30	2.87	2.79	2.78	2.79	1.87	1.77	1.76	1.72
	40	3.03	3.01	2.91	2.89	2.19	1.88	1.81	1.80
	50	3.17	3.15	3.10	2.99	2.34	2.10	1.99	1.97

Table 2-3. Tannic acid contents of acorn extracted with different concentration of NaCl solution(Uisung)(Unit : %)

다. 환원당함량

환원당 함량은 부여의 생도토리가 가장 높았고 시판도토리 가루는 탈삽시 일부가 제거되는 것으로 생각되었다(Table 2-4).

Table 2-4. Reducing sugar(%) in raw acorn and acorn powder

Raw			Cornercial	
	Puyo	Chomchon	Uisung	Puyo
2.8	4.7	3.0	0.5	2.3

라. 호화온도

의성산 생도토리 및 시판 도토리 가루로 5, 10, 15, 20% 용액을 제조하여 amylograph을 이용하여 도토리 전분의 호화 개시온도를 측정하였다.

도토리의 호화 온도는 4.46%의 탄닌을 가진 도토리의 경우 용액의 농도가 10, 20, 30%인 경우 각각 79.2℃, 69.9℃, 66.9℃로 나타났고, 2.43%의 탄닌을 함유한 도토리의 경우 10, 20, 30%인 경우 각각 70.5℃, 62.5℃, 57.5℃로 나타나 도토리의 농도가 증가할수록 탄닌 함량이 높을수록 호화온도는 낮게 나타났다(Table 2-5).

Table 2-5. Gelatinization temperature of acorn flour(Uisung)

Flour	Concentration(%)	Initial gelatinization temperature(℃)
A	5	ND
	10	79.2
	15	73.9
	20	69.9
	25	68.1
	30	66.9
B	5	86.5
	10	70.5
	15	68.0
	20	62.5
	25	59.5
	30	57.5

A : Raw acorn flour, B : Commercial acorn flour, ND : Not Detection

2. 도토리 탄닌의 감소화

가. 물 및 소금 추출에 의한 감소화

생도토리와 시판 도토리가루를 물 및 NaCl 용액(2, 4, 6%)으로 추출시간 및 온도를 달리하여 Folin-Denis 방법에 의해 탄닌함량을 측정하였다.

NaCl 용액으로 추출한 경우는 2%의 낮은 농도에서 물(생도토리에서 탄닌의 함량 2.67%로 나타남)보다 제거능이 낮거나 유사(탄닌의 함량이 2.69%로 나타남)하였으며, 4%, 6%로 염농도가 증가할수록 탄닌의 제거능이 감소하여 그 함량은 각각 2.58%, 2.56%로 나타났다(Table 2-6).

Table 2-6. Tannic acid contents of acorn extracted with different concentration

Time (hr)	Temperature (℃)	Raw acorn flour				Commercial acorn flour			
		water	2% NaCl	4% NaCl	6% NaCl	water	2% NaCl	4% NaCl	6% NaCl
6	10	1.32	1.32	1.30	1.29	0.77	0.69	0.70	0.65
	20	1.40	1.41	1.38	1.33	0.87	0.81	0.77	0.71
	30	1.54	1.46	1.35	1.37	1.04	1.05	1.00	0.89
	40	1.76	1.70	1.61	1.49	1.08	1.07	0.89	0.96
	50	1.83	1.68	1.69	1.53	1.43	1.32	1.25	1.14
12	10	1.42	1.43	1.40	1.32	0.91	0.88	0.89	0.86
	20	1.76	1.69	1.70	1.66	1.11	1.09	1.01	1.00
	30	1.88	1.76	1.77	1.79	1.43	1.42	1.39	1.32
	40	2.18	2.19	1.89	2.09	1.65	1.54	1.55	1.56
	50	2.29	2.19	2.15	2.15	1.69	1.56	1.54	1.59
18	10	2.10	2.08	2.00	1.99	1.29	1.26	1.20	1.11
	20	2.21	2.19	2.18	2.19	1.47	1.47	1.41	1.44
	30	2.33	2.34	2.29	2.20	1.76	1.69	1.65	1.63
	40	2.52	2.44	2.34	2.37	1.89	1.88	1.79	1.77
	50	2.51	2.49	2.33	2.38	1.87	1.79	1.81	1.78
24	10	2.21	2.19	2.16	2.19	1.44	1.33	1.21	1.29
	20	2.44	2.41	2.40	2.38	1.59	1.50	1.49	1.41
	30	2.45	2.44	2.46	2.40	1.82	1.81	1.79	1.70
	40	2.67	2.69	2.58	2.56	1.99	1.89	1.88	1.81
	50	2.66	2.61	2.63	2.62	2.01	1.93	1.97	1.96
30	10	2.37	2.29	2.31	2.17	1.50	1.47	1.45	1.40
	20	2.43	2.40	2.39	2.41	1.65	1.65	1.54	1.56
	30	2.87	2.79	2.78	2.79	1.87	1.77	1.76	1.72
	40	3.03	3.01	2.91	2.89	2.19	1.88	1.81	1.80
	50	3.17	3.15	3.10	2.99	2.34	2.10	1.99	1.97

of NaCl solution(Uisung)(Unit : %)

나. 알콜 추출에 의한 감소화

생도토리(의성산, 부여산, 점촌산) 및 시판 도토리가루(A, B사)를 70% ethanol으로 추출시간(6, 12, 18, 24, 30)과 온도(10, 20, 30, 40, 50℃)를 달리하여 침출시킨 후 Polin-Denis 방법에 의해 탄닌 함량을 측정하였다.

70% ethanol로 추출한 생도토리의 탄닌 함량은 의성산이 4.46%, 부여산이 10.07%, 점촌산이 3.65%로 나타났고, 시판 도토리 가루의 경우에서는 A사가 2.43%, B사가 1.00%로 나타났다(Table 2-7).

Time	Temperature	Raw acorn flour			Commercial acorn flour	
(hr)	(℃)	Uisung	Puyo	Chomchon	Uisung	Puyo
6	10	1.48	6.75	0.78	1.78	0.65
	20	1.48	6.80	0.87	1.95	0.68
	30	1.78	7.10	1.11	2.06	0.89
	40	2.30	7.85	1.51	2.14	1.09
	50	2.56	8.11	1.69	2.45	1.10
12	10	1.45	7.16	1.07	1.76	0.65
	20	1.82	7.91	1.18	2.19	0.68
	30	2.19	8.10	1.34	2.26	0.89
	40	3.23	8.85	1.65	2.32	1.09
	50	3.56	8.99	1.78	2.45	1.10
18	10	2.11	7.69	1.70	1.72	0.87
	20	2.74	8.14	1.80	2.19	0.99
	30	2.82	9.07	2.35	2.12	1.00
	40	4.22	10.06	3.18	2.46	1.04
	50	4.34	10.13	3.43	2.55	1.11
24	10	2.12	7.68	1.79	1.75	0.66
	20	2.66	8.13	2.01	1.98	0.67
	30	3.21	9.13	2.76	2.23	0.89
	40	4.46	10.07	3.65	2.43	1.00
	50	4.81	10.11	3.79	2.50	1.11
30	10	2.42	7.87	1.90	1.88	0.68
	20	2.58	8.14	2.11	1.76	0.71
	30	3.26	9.41	2.64	2.38	0.99
	40	4.74	10.17	3.66	2.45	1.14
	50	4.97	10.31	3.94	2.59	1.13

Table 2-7. Tannic acid contents of acorn extracted with 70% ethanol(Unit : %)

다. 발아에 의한 감소화

점촌산 생도토리를 10, 15, 20일간 발아시킨 후 70% ethanol으로 24시간, 40℃에서 추출하여 Folin-Denis 방법에 따라 탄닌 함량을 측정하였는데 그 결과, 발아 도토리는 생도토리에 비해 탄닌 함량이 감소되어 10일째에 76%, 15일째에 64%, 20일째에 41%로 나타났다(Fig. 2-1).

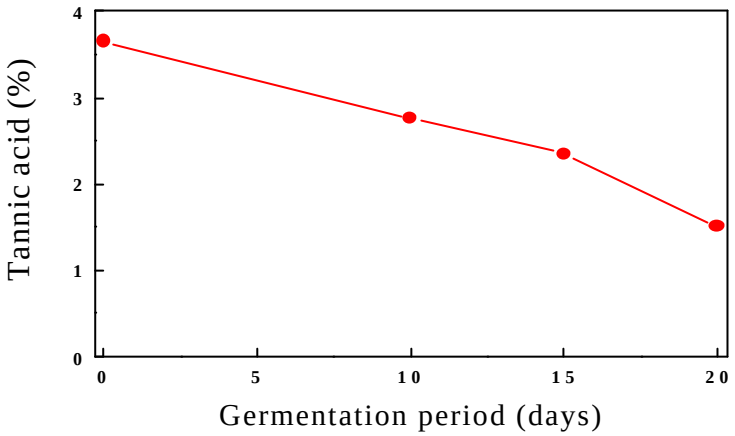


Fig. 2-1. 발아기간에 따른 도토리의 탄닌 함량 변화

3. 전분질 분해효소 선정 및 당화 조건

시판 도토리가루(의성농협)로 제조한 도토리 용액(10, 20, 30, 40%)을 기질로 사용하여 도토리가루의 증자처리구와 무증자처리구별 효소의 종류(Table 2-8)와 농도(시판효소: 20, 40unit/ml)를 달리하여 30℃ water bath에서 반응시킨후 각 시간별(0, 6, 12, 24, 48hr)로 Dinitrosalicylic acid에 의한 비색법을 이용하여 환원당량을 측정한 결과, 시간이 지남에 따라 모든 처리구의 환원당량은 증가하는 경향을 나타냈으며, 기질로 이용된 도토리용액의 농도가 높을수록 환원당 생성량도 높았다.또한 기질로 사용된 도토리가루의 증자 및 무증자 처리구에서는 증자처리구의 환원당량이 다소 높았지만, 두 처리간에 큰 차이는 나타나지 않았다.

기질로 사용한 도토리 용액(10, 20, 30, 40%)에 처리한 효소중, 시판효소를 사용한 처리구에서는 모든처리구가 환원당량이 8%이하로 낮게 생성되었으며, 천연효소원으로 사용한 개량 누룩(증자용, 무증자용)을 가한 도토리 용액에서 6hr이후 10% 도토리용액을 제외한 모든 처리구에서 8%이상의 높은 환원당을 생성하였다. 개량누룩중 무증자 개량누룩과 증자개량누룩의 처리구간의 비교를 보면 모든 처리구에서 무증자개량누룩을 처리한 구가 무증자 개량누룩을 처리한 구에 비해 환원당량의 생성이 다소 높았으나, 큰 차이는 없었다. 본 실험에서의 6hr이후의 환원당량의 생성이 전의 실험의 비해 1.5~2배정도의 증가를 보였는데, 이는 희석배수의 차이에 의한 실험오차인 것으로 사료된다.

따라서 본 실험에서 도토리 식초의 발효전 조건 확립을 위한 과제로 8%이상의 환원당을 생성시키는 당화조건을 보면, 20%이상의 도토리 용액을 기질로 사용하여 마쇄한 개량 누룩을 무희석으로 처리할 경우 6hr이후에 8%이상의 환원당이 생성되었다.

Amylolytic enzymes	
Commercial	Natural
1. amyloglucosidase 2. α-amylase A6814 3. α-amylase A0273 (40U) 4. α-amylase A0273 (24U) 5. α-amylase A3403 6. G990ZT (amyloglucosidase) 7. G995 (α-amylase) 8. G998 (α-amylase) 9. Mycolase (α-amylase)	1. 누룩 (충남 부여) 2. 누룩 (수원 남문시장) 3. 누룩 (안양 남부시장) 4. 누룩 (서울 경동시장) 5. 누룩 (경기도 평택) 6. 엿기름 7. 발아도토리 8. 무우

Table 2-8. Commercial and natural amylolytic enzymes

가. 시판효소 처리구

1) 단독처리구

Table 2-9. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by single commercial enzyme

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
1	OD 값	0.2006	0.2285	0.3286	0.3013	0.3186	0.2677
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5193	0.5693	0.7487	0.6998	0.7308	0.6396
2	OD 값	0.1916	0.2008	0.2495	0.2602	0.2384	0.2466
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5032	0.5197	0.6069	0.6216	0.5870	0.6017
3	OD 값	0.1415	0.1813	0.2025	0.2321	0.2545	0.2540
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4134	0.4847	0.5227	0.5758	0.6159	0.6150
4	OD 값	0.1450	0.1865	0.2925	0.2278	0.2559	0.2553
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4197	0.4940	0.6840	0.5681	0.6184	0.6173
5	OD 값	0.1827	0.1853	0.2836	0.2429	0.2617	0.2347
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4872	0.4919	0.6681	0.5951	0.6288	0.5804
6	OD 값	0.1740	0.1514	0.3334	0.9874	0.9519	0.9256
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4716	0.4311	0.7573	1.9293	1.8657	1.8186
7	OD 값	0.2166	0.2338	0.3223	0.2681	0.2738	0.2592
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5480	0.5788	0.7374	0.6403	0.6505	0.6243
8	OD 값	0.2105	0.2145	0.3280	0.7613	0.8452	0.7686
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5370	0.5442	0.7476	1.5241	1.6745	1.5372
9	OD 값	0.1937	0.2011	0.1917	0.2805	0.3056	0.3153
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5069	0.5202	0.5034	0.6625	0.7075	0.7249

2) 혼합처리구

Table 2-10. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by mixed commercial enzymes

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
10 (2+1)	OD 값	0.1601	0.2489	0.2257	0.2562	0.2702	0.2588
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4467	0.6059	0.5643	0.6189	0.6440	0.6236
11 (3+1)	OD 값	0.1289	0.1482	0.2859	0.2472	0.2519	0.2535
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3908	0.4254	0.6722	0.6028	0.6112	0.6141
12 (4+1)	OD 값	0.1948	0.2095	0.1985	0.2377	0.2720	0.2800
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5089	0.5353	0.5155	0.5858	0.0647	0.6616
13 (5+1)	OD 값	0.1703	0.2315	0.2729	0.2677	0.2729	0.2573
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4650	0.5747	0.6489	0.6396	0.6489	0.6209
14 (7+1)	OD 값	0.1170	0.1899	0.2381	0.2891	0.2816	0.2921
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3695	0.5001	0.5865	0.6779	0.6645	0.6833
15 (8+1)	OD 값	0.1953	0.1769	0.2692	0.5743	0.6402	0.6324
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5098	0.4768	0.6422	1.1890	1.3071	1.2931
16 (9+1)	OD 값	0.0787	0.2463	0.2154	0.3026	0.3045	0.3144
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3008	0.6012	0.5458	0.7021	0.7055	0.7232

(계속)

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
17 (2+6)	OD 값	0,1771	0,1512	0,3456	1,0278	0,8517	0,8248
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,4772	0,4308	0,7792	2,0017	1,6862	1,6379
18 (3+6)	OD 값	0,1323	0,1226	0,2815	0,7668	0,7878	0,7112
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,3969	0,3795	0,6643	1,5340	1,5716	1,4344
19 (4+6)	OD 값	0,1128	0,1663	0,3321	0,7736	0,8652	0,8449
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,3620	0,4578	0,7550	1,5462	1,7103	1,6740
20 (5+6)	OD 값	0,1084	0,1392	0,3163	0,8009	0,7843	0,8005
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,3541	0,4093	0,7267	1,5951	1,5654	1,5944
21 (7+6)	OD 값	0,1268	0,1352	0,3434	0,6964	0,7785	0,7884
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,3870	0,4021	0,7752	1,4078	1,5550	1,5727
22 (8+6)	OD 값	0,2027	0,1545	0,3910	0,9602	1,1558	1,0525
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,5231	0,4367	0,8605	1,8806	2,2311	2,0460
23 (9+6)	OD 값	0,1530	0,1410	0,.3373	0,7653	0,8670	0,7708
	환원당의 양(㎎/㎖)	0,4340	0,4125	0,7643	1,5313	1,7136	1,5412

(계속)

3) 경시적처리구

Table 2-11. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by step by step treatment with two commercial enzymes

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
24 (2→1)	OD 값	0.1461	0.2067	0.3017	0.3108	0.2873	0.2660
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4216	0.5302	0.7005	0.7168	0.6747	0.6365
25 (3→1)	OD 값	0.0802	0.1365	0.1436	0.2978	0.2763	0.2234
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3035	0.4044	0.4172	0.6935	0.6550	0.5602
26 (4→1)	OD 값	0.0724	0.0791	0.1935	0.3114	0.2768	0.2707
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.2896	0.3013	0.5066	0.7179	0.6559	0.6449
27 (5→1)	OD 값	0.1228	0.1230	0.2413	0.2809	0.2952	0.2773
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3799	0.3802	0.5922	0.6632	0.6888	0.6568
28 (7→1)	OD 값	0.1268	0.1983	0.2713	0.2859	0.2778	0.2814
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3870	0.5152	0.6460	0.6722	0.6577	0.6641
29 (8→1)	OD 값	0.1118	0.1333	0.3466	0.9212	0.6960	0.6106
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3602	0.3987	0.7810	1.8107	1.4071	1.2541
30 (9→1)	OD 값	0.1613	0.2412	0.2483	0.3831	0.3313	0.3295
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4489	0.5924	0.6048	0.8464	0.7535	0.7503

(계속)

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
31 (2→6)	OD 값	0.1395	0.1390	0.3231	0.7510	0.8339	0.6304
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4098	0.4089	0.7388	1.5057	1.6543	1.2896
32 (3→6)	OD 값	0.1543	0.1163	0.2574	0.7566	0.7717	0.7924
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4363	0.3682	0.6211	1.5157	1.5428	1.5799
33 (4→6)	OD 값	0.0826	0.1456	0.3536	0.8479	0.8201	0.7731
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3078	0.4207	0.7935	1.6793	1.6295	1.5453
34 (5→6)	OD 값	0.1718	0.1293	0.3521	0.9409	0.8448	0.8380
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4677	0.3915	0.7908	1.8460	1.6738	1.6616
35 (7→6)	OD 값	0.1153	0.1185	0.3423	0.8123	0.8235	0.7597
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3664	0.3722	0.7732	1.6155	1.6356	1.5213
36 (8→6)	OD 값	0.1096	0.1430	0.2919	1.0420	0.9333	0.8069
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3562	0.4161	0.6829	2.027	1.8324	1.6059
37 (9→6)	OD 값	0.1619	0.1340	0.2273	0.7389	0.6443	0.5797
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.45	0.4	0.5672	1.4840	1.3145	1.1987

(계속)

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
38 (1→2)	OD 값	0.1537	0.1900	0.3033	0.2842	0.2850	0.2601
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4353	0.5003	0.7034	0.6691	0.6706	0.6259
39 (1→3)	OD 값	0.1633	0.1812	0.3092	0.2854	0.2684	0.2519
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4525	0.4845	0.7139	0.6713	0.6408	0.6112
40 (1→4)	OD 값	0.1639	0.1878	0.2048	0.2747	0.2949	0.2570
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4535	0.4964	0.5268	0.6521	0.6883	0.6204
41 (1→5)	OD 값	0.1954	0.1916	0.2974	0.2175	0.2643	0.2736
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.5100	0.5032	0.6928	0.5496	0.6335	0.6501
42 (1→7)	OD 값	0.0931	0.0773	0.2937	0.2388	0.2493	0.2438
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3267	0.1737	0.6862	0.5878	0.6066	0.5967
43 (1→8)	OD 값	0.1150	0.1053	0.2785	0.5899	0.6334	0.6481
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3659	0.3485	0.6589	1.2170	1.2949	1.3213
44 (1→9)	OD 값	0.2166	0.1936	0.2285	0.2539	0.3003	0.2722
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.5480	0.5068	0.5693	0.6148	0.6980	0.6476

(계속)

Enzyme No	Amount value	6hr	12hr	18hr	24hr	30hr	36hr
45 (6→2)	OD 값	0.1110	0.1778	0.3581	0.7374	0.8595	0.7573
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3587	0.4784	0.8016	1.4813	1.7001	1.5170
46 (6→3)	OD 값	0.1185	0.1228	0.2953	0.7242	0.7877	0.7943
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3722	0.3799	0.6890	1.4577	1.5715	1.5833
47 (6→4)	OD 값	0.0929	0.1314	0.3562	0.8152	0.8558	0.8194
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3263	0.3953	0.7982	1.6207	1.6935	1.6283
48 (6→5)	OD 값	0.1276	0.1727	0.2588	0.7555	0.8696	0.7753
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3885	0.4693	0.6236	1.5137	1.7182	1.5492
49 (6→7)	OD 값	0.0959	0.1145	0.2516	0.7037	0.8591	0.7276
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3317	0.3650	0.6107	1.4209	1.6994	1.4637
50 (6→8)	OD 값	0.1461	0.1588	0.2543	0.9320	1.0902	1.1334
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.4216	0.4444	0.6155	1.8301	2.1136	2.1910
51 (6→9)	OD 값	0.1154	0.2685	0.2765	0.5061	0.7434	0.8338
	표준곡선으로부터 구한 환원당의 양(㎎/㎖)	0.3666	0.6410	0.6553	1.0668	1.4921	1.6541

나) 천연효소 처리구

1) 단독처리구

Table 2-12. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by single natural enzymes

Enzyme No	Amount value	2hr	4hr	25hr
1	OD 값	0.0753	0.0762	0.1293
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.2948	0.2964	0.3915
2	OD 값	0.0875	0.1962	0.0459
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3166	0.5114	0.2421
3	OD 값	0.3341	0.1279	0.0347
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.7586	0.3890	0.2220
4	OD 값	0.1353	0.1367	0.1113
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4623	0.4048	0.3593
5	OD 값	0.1706	0.1286	0.0791
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4655	0.3903	0.3016
6	OD 값	0.13	0.2022	0.0991
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3928	0.5222	0.3374
7	OD 값	0.1333	0.1345	0.0316
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3987	0.4008	0.2164
8	OD 값	0.1301	0.1704	0.081
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3930	0.4652	0.3050

2) 혼합처리구

Table 2-13. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by mixed natural enzymes

Enzyme No	Amount value	2hr	4hr	25hr
9 (1+6)	OD 값	0.116	0.2287	0.0456
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3677	0.5697	0.2415
10 (2+6)	OD 값	0.0537	0.1628	0.1749
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.2560	0.4516	0.4732
11 (3+6)	OD 값	0.0952	0.1019	0.1368
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3304	0.3424	0.4050
12 (4+6)	OD 값	0.1193	0.1593	0.1426
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3736	0.4453	0.4154
13 (5+6)	OD 값	0.096	0.2173	0.193
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3319	0.5492	0.5057
14 (1+7)	OD 값	0.1027	0.1733	0.3497
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3439	0.4704	0.7865
15 (2+7)	OD 값	0.097	0.0196	0.2152
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3336	0.1949	0.5455
16 (3+7)	OD 값	0.1177	0.1763	0.2855
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3707	0.4758	0.6715
17 (4+7)	OD 값	0.1224	0.2124	0.1969
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3792	0.5405	0.5127

(계속)

Enzyme No	Amount value	2hr	4hr	25hr
18 (5+7)	OD 값	0.1466	0.1667	0.2269
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4225	0.4586	0.5664
19 (1+8)	OD 값	0.0043	0.182	0.1748
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.1675	0.4860	0.4731
20 (2+8)	OD 값	0.1276	0.2975	0.0929
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3885	0.6930	0.3263
21 (3+8)	OD 값	0.1	0.2425	0.0465
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3390	0.5944	0.2431
22 (4+8)	OD 값	0.1126	0.1783	0.1069
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3616	0.4793	0.3514
23 (5+8)	OD 값	0.1337	0.1502	0.1833
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3994	0.4290	0.4883

3) 경시적처리구

Table 2-14. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by step by step treatment with two natural enzymes

		2hr	4hr	25hr
24 (1→6)	OD 값	0.0849	0.1858	0.0891
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3120	0.4928	0.3195
25 (2→6)	OD 값	0.0908	0.1675	0.1154
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3225	0.4600	0.3666
26 (3→6)	OD 값	0.0992	0.1731	0.0224
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3376	0.4700	0.2
27 (4→6)	OD 값	0.1093	0.1267	0.2782
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3557	0.3869	0.6584
28 (5→6)	OD 값	0.005	0.1346	0.1289
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.1688	0.4010	0.3908
29 (1→7)	OD 값	0.1167	0.1575	0.1471
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3689	0.4421	0.4232
30 (2→7)	OD 값	0.1154	0.1796	0.1765
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3666	0.4817	0.4761
31 (3→7)	OD 값	0.1062	0.131	0.1579
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3501	0.3946	0.4428
32 (4→7)	OD 값	0.0263	0.1611	0.0814
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.2069	0.4485	0.3057
33 (5→7)	OD 값	0.1059	0.1492	0.0912
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3496	0.4272	0.3232

(계속)

		2hr	4hr	25hr
34 (1→8)	OD 값	0.0034	0.1425	0.1446
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.1659	0.4152	0.4189
35 (2→8)	OD 값	0.1253	0.1381	0.1125
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3844	0.4073	0.3614
36 (3→8)	OD 값	0.4403	0.1408	0.0313
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.9489	0.4121	0.2159
37 (4→8)	OD 값	0.1182	0.1604	0.0715
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3716	0.4473	0.2879
38 (5→8)	OD 값	0.1764	0.2077	0.0226
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.4759	0.5320	0.2003
39 (6→1)	OD 값	0.1147	0.1533	0.0576
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3654	0.4345	0.2630
40 (6→2)	OD 값	0.1442	0.1421	0.0274
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.4182	0.4145	0.2089
41 (6→3)	OD 값	0.1202	0.0538	0.015
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3752	0.2562	0.1867
42 (6→4)	OD 값	0.1133	0.0309	0.0118
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3629	0.2152	0.1810
43 (6→5)	OD 값	0.1174	0.1444	0.0392
	환원당의 양(mg/mℓ)	0.3702	0.4186	0.2301

(계속)

		2hr	4hr	25hr
44 (7→1)	OD 값	0.1162	0.0191	0.088
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3681	0.1940	0.3175
45 (7→2)	OD 값	0.1195	0.1413	0.1682
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3740	0.4130	0.4612
46 (7→3)	OD 값	0.1265	0.0234	0.1834
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3865	0.2017	0.4885
47 (7→4)	OD 값	0.126	0.0172	0.1633
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3856	0.1906	0.4525
48 (7→5)	OD 값	0.1372	0.2387	0.1393
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.4057	0.5876	0.4094
49 (8→1)	OD 값	0.1298	0.1668	0.4676
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3924	0.4587	0.9978
50 (8→2)	OD 값	0.1103	0.1472	0.1329
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.3575	0.4236	0.3980
51 (8→3)	OD 값	0.195	0.2927	0.1235
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.5093	0.6844	0.3811
52 (8→4)	OD 값	0.1577	0.1818	0.4521
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.1577	0.4856	0.9700
53 (8→5)	OD 값	0.2421	0.1401	0.1509
	환원당의 양(㎎/㎖)	0.2421	0.4109	0.4302

여 백

4) 개량누룩처리구

누룩 함량에 따른 도토리전분 분해력은 생전분의 경우에 30℃에서 거의 분해가 없었고 50℃에서는 5, 10, 15배 희석액은 큰 차이 없이 최초 환원당량 보다 2배의 양이 나타났으며 20배 희석액은 1.7배의 환원당이 나타났다. 증자한 도토리전분인 경우에는 누룩효소액의 농도가 높을 수록, 반응온도가 높을 수록 높게 나타났고, 도토리 용액을 70℃에서 30분간 열처리한 경우에는 그렇지 않은 경우에 비해 약10배의 환원당이 나타났다(Table 2-15).

따라서, 도토리전분 분해는 증자한 후에 15배까지 희석된 누룩을 저온에서 사용하는 것이 효과적일 것으로 생각되었다.

누룩희석배수 (배)	환원당(mg/ml)			
	무증자 도토리 (30℃ 반응)	무증자 도토리 (50℃ 반응)	증자 도토리 (30℃ 반응)	증자 도토리 (50℃ 반응)
5	0.49	0.99	5.12	5.19
10	0.48	0.93	5.01	5.32
15	0.40	0.90	4.69	5.27
20	0.40	0.79	3.81	5.31

Table 2-15. Reducing sugar in acorn solution hydrolyzed by different reaction and content of Nuruk

제 4절 참고문헌

1. 도토리떡(상실병) 조리법의 표준화와 품질특성에 관한 연구 : 도토리전분 첨가를 중심으로/ 김이영 명지대 대학원 2000 641.5951 ㄱ825ㄷ 학위논문(석사)
2. 도토리 추출물의 항균특성에 관한 연구/ 이종갑 1999 동명논문집 21,1(”99,12):pp,65-72
3. 상수리 견과상배축의 무균묘 배양에 관한 연구/ 이철호 外 1998 진주산업대농업기술연구소보 11(”98,2):pp,35-39
4. '98년 돌발 산림해충 발생상황/ 변봉규 1998 임업정보 91(”98,11):pp,51-54
5. 도토리 수급의 동향 및 결정요인 분석/ 조덕래 1998 농업정책연구 25,2(”98,12):pp,71-84
6. 도토리 전분 겔의 텍스쳐와 노화에 미치는 당류의 영향/ 이향애 · 김남희 1998 한국식품과학회지 141(”98,8):pp,803-810
7. 천연염료에 관한 연구 (9) : 도토리 탄닌의 견섬유에 대한 염색성/ 조경래 1997 부산여대자연과학논문집 3(”97,2):pp,207-226
8. 도토리추출물이 흰쥐의 체내 항산화효소계에 미치는 영향/ 성인숙 外 1997 한국식품영양과학회지 26,3(”97,6):pp,494-500
9. 도토리추출물이 흰쥐의 체내 지질대사에 미치는 영향/ 성인숙 外 1997 한국식품영양과학회지 26,2(”97,4):pp,327-333
10. 도토리를 이용한 천연염료의 염색/ 유혜자 外 1997 서원대응용과학연구 6,1(”97,2):pp,109-124
11. 도토리에서 분리한 QC-B Saponin의 구조/ 배춘일 外 1995 부산대약학연구지 29,1(”95,6):pp,31-37
12. 시판 도토리 묵가루의 아밀로그래프 호화 성질/ 박선희 外 1993 한국영양식량학회지 22,6(”93,12):pp,753-757
13. 도토리 Gallic Acid의 항산화성/ 이미현 外 1992 한국영양식량학회지 21,6(”92,12):pp,693-700
14. 도토리를 이용한 폐액중 우라늄 회수에 관한 연구/ 윤명환 1989 한국에너지연구소휘보 9,1(”89,6):pp,102-119
15. 압착시험에 의한 도토리 전분겔의 물성 연구/ 김영아 1989 인하대기초과학연구소논문집 10(”89,2):pp,239-24
16. 도토리 tannin 이용성 효모에 관한 연구 (제1報)도토리 tannin이용성 효모의 분리 및 분리효모의 형태학적 생리학적 특성 / 蔡洙圭 1986 서울보건전문대론문집 6(”86,7):61-66
17. 도토리 tannin이용성 효모에 관한 연구 / 채수규 1986 서울보건전문대론문집 6(”86,7):67-73
18. 도토리 분 묵 의 Rheology 특성 과 Tannin성분 의 영향 에 대하여 / 구성자 外 1985 대한가정학회지 60(′85,3)33-47

19. 도토리전분 이 흰쥐 의 지질대사 에 미치는 영향 / 고진복 外 1984 부산여대론문집 16(′84,1):435-443 유
20. 미생물 Tannase 를 이용한 도토리주 의 실험적 제조 / 채수규;유태종 1983 한국식품과학회지 15,4(′83,12):326-332
21. Aspergillus Sp. AN-11 이 분비하는 도토리 Tannin 분해효소 의 정제 와 물리화학적 성질 / 채수규 外 1983 한국식품과학회지 15,4(′83,12):333-341
22. 도토리전분 첨가급식 이 백서 에 미치는 영양효과 에 關한 硏究 / 오형근;고진복 1983 부산녀대론문집 15(′83,6):455-468 유
23. 도토리전분 첨가급식시 소화흡수에 關한 硏究 / 고진복;최도점 1983 부산녀대론문집 14(′83,1):483-495 유
24. 도토리전분의 영양생리학적 연구/ 고진복 1982 부산여전논문집 13(”82,7):pp.367-377
25. 누에 인공사료 조성개선 에 關한 硏究 , 메밀 , 녹두 , 도토리 의 한천대체효과에 관하여/ 설광열 外 1977 농사시험연구보고(가축위생 · 잠업) 19(′77,12):61-65

제 3 장 도토리를 이용한 알콜발효

제 1 절 서론

우리 나라 임목 축적은 활엽수계가 침엽수계보다 약 3배가 많고 활엽수계에서 축적이 가장 많은 수종이 도토리나무들이다. 도토리는 건조된 것의 약 70% 이상이 탄수화물이라서 전분함유량이 높으나 탄닌이 다량 함유되어 있어서 식품가공적성이 떨어져 활용이 낮다. 전분질이 많은 도토리를 효과적으로 이용하기 위하여 도토리 가루 및 묵제조에 대한 연구는 많이 있으나 균을 이용한 발효 연구는 거의 없고, 도토리에서 탄닌분해효소 생성균주로 탄닌을 분해하고 알코올 발효를 하여 술을 제조하여 가능성이 있음을 보고하였다(채수규, 유태종, 1983).

여기에서는 도토리를 이용하여 알콜발효를 하여 식초발효 전단계로 그 가공적성을 검토하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

분양 균주(사상균 및 효모, 초산균 : 89개), Potato Dextrose Agar, Mannitol Aagr, tannic acid, glucose, ethanol, acetic acid, cycloheximide, 감, 포도쥬스, 토마토쥬스, 매실쥬스

2. 실험방법

가. 균주의 전처리

1) 지퍼백에 취한 과일(가락시장)을 실온에서 2~3일 방치하여 시큼한 향이 나면 생리식염수로 희석하여 Potato Dextrose Agar(10% tartaric acid 첨가) 및 Mannitol Aagr(MA) 배지에 접종하여 30℃ incubator에서 24/48시간 배양하였다.

2) 5% ethanol 1 ml에 각각의 멸균 포도쥬스, 토마토쥬스, 매실쥬스, 감 페이 스트(3% tannic acid 첨가/무첨가)를 20 ml씩 첨가하여 한국식품개발연구원 주변산에 1일간 방치한다. 감(500g)을 glucose(5g), ethanol(25ml), acetic acid(10ml), 증류수(500ml)로 구성된 broth에 첨가하여 shaking culture하였다. 모든 sample은 실험실에 방치하여 시큼한 향이 나면 생리식염수로 희석하여 cycloheximide(40ppm)가

첨가된 Mannitol Agar에 접종하여 30℃, 48시간 배양하였고 인위적으로 선별된 colony의 gram 염색, catalase 반응 등을 관찰하였다.

나. 균주배양

1) 사상균 및 효모의 배양

PDA 배지에 나타난 colony 중에 gram 염색 및 catalase 반응 등을 통해 사상균 및 효모로 간주되는 균주는 -70℃에 stock 시키기고, 이들 사상균과 효모를 다시 사용시는 Potato Dextrose Agar plate에 streaking한 후 30℃ incubator에서 24/48시간 배양하였으며, 유사한 colony(3~4개)를 섞어서 agar plate에 streaking한 후 30℃ incubator에서 24/48시간 배양하였다. 이 것을 2개의 agar plate에 streaking한 후 30℃ incubator에서 24/48시간 배양하여 2차 transfer 하였다.

2) 탄닌 저항성 균주 선별

가) Tannic acid 혼합 배지 이용 균주 선별

Potato Dextrose Agar(2%)에 1% tannic acid를 혼합하여 굳힌 배지에 효모 균주를 멸균수로 희석하여 멸균봉에 묻혀서 30℃ incubator에서 24시간 배양하였다.

나) 농도를 달리한 tannic acid 용액 이용 균주 선별

Potato Dextrose Agar plate(10 ml)에 멸균면봉을 이용하여 균주를 도말한 후 멸균 실린더를 올려놓고 농도를 달리한 tannic acid(0.5, 1, 2, 3, 4, 5%)을 50㎕씩 떨어뜨린 후 30℃ incubator에서 24시간 배양하여 탄닌 저항력을 관찰하였다.

3) 알콜 생성능 및 향기 우수 균주 선별

YM broth에 효모 및 사상균을 접종하여 30℃ incubator에서 48시간 2번 계대배양하여 사용하였다.

시료의 효모 접종은 100 ml 삼각플라스크에 20% 도토리(의성)용액에 효모 균주를 2%씩 접종하여 잘 혼합한 후 25℃의 shaking incubator에서 배양하였으며, 또한 10% 도토리용액(의성)을 70℃, water bath에서 30분간 열처리한 후 위와 동일한 방법으로 시료를 준비 하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 탄닌 저항 효모 및 사상균의 분리

가. 탄닌이 많이 함유된 견과류 및 누룩으로부터 균주 수집

1) 누룩 균주 특성 및 colony 형태

부여 누룩에서 분리한 균주의 특성은 Table 1과 같다. 부여 누룩에서 분리한 균주는 크게 흰색 균사를 보이는 곰팡이류와 크림색의 효모류의 2가지 형태로 나타났다. 곰팡이류의 경우 중심부위에 검은 포자를 보였다(Table 3-1).

Strain	Gram staining	Catalase	Characteristics				Population (cfu/ml)
			Size(mm)	Flat	Form	Color	
PA(5)M1	-	+	18	wooly	mold	white 균사	6.9×10^{6}
PA(5)M2	-	+	22	wooly	mold	white 균사	
PA(5)M3	-	+	18	wooly	mold	white 균사	
PA(5)M4	-	+	14	wooly	mold	white 균사	2.9×10^{6}
PA(5)M5	-	+	20	wooly	mold	white 균사	
PA(5)M6	-	+	20	wooly	mold	white 균사	
PA(5)W1	+, 큰구균	+	3	+	round	cream	2.9×10^{6}
PA(5)W2	+, 긴구균	+	3.5	+	round	cream	
PA(5)W4	+, 긴구균	+	3.5	+	round	cream	1.3×10^{6}

Table 3-1. Colony and cell characters of strains originated from Nuruk

* PA : PDA + chloramphenical(100 ppm), (5) : 최종 희석수 10^{5}
M : mold type, W : white colony

2) 누룩 균주의 알콜 저항력

Strain	Alcohol concentration(%)			
	0	10	15	20
PA(5)M1	20	20	18	-
PA(5)M2	17	16	13	-
PA(5)M3	18	18	15	-
PA(5)M4	13	13	12	-
PA(5)M5	25	20	18	10
PA(5)M6	20	19	16	9
PA(5)W1	3	3	3.5	3.5
PA(5)W2	3	3	3	3
PA(5)W4	3	3	3.5	3.5

알콜(10, 15, 20%)을 첨가한 PDA 배지에 나타난 균주의 알콜 저항력은 균주의 size로 나타내며 그 결과는 Table 3-2와 같다. 효모류의 경우에는 대체로 첨가된 알콜 함량이 증가할수록 균주의 size가 다소 크게 나타났다. 곰팡이류의 경우 대체로 첨가된 알콜 함량이 증가할수록 균주의 size가 감소하는 경향이었으며 특히, PA(5)M1, PA(5)M2, PA(5)M3, PA(5)M4의 경우 20% 알콜 배지에서는 균주가 자라지 못했다(Table 3-2).

Table 3-2. Colony size(mm) of Nuruk strain on alcohol PDA agar

3) 누룩 균주의 전분 분해력

TSA에 starch를 첨가한 배지에 Lugol solution을 부어 colony 주위환 생성 여부로 전분 분해력을 나타냈으며 그 결과는 Table 3-3과 같다. PA(5)M5의 경우 clear zone의 size가 가장 컸으므로 전분 분해력이 가장 컸던 것으로 판단되며, PA(5)M4와 PA(5)M6의 경우 clear zone이 나타나지 않았으므로 전분 분해력이 없거나 낮은 것으로 사료된다.

Table 3-3. Clear zone size(mm) of Nuruk starin on starch-TSA agar

Strain	배 양 시 간	
	24시간	48시간
PA(5)M1	8	12
PA(5)M2	7	10
PA(5)M3	6	9
PA(5)M4	·	·
PA(5)M5	10	15
PA(5)M6	·	·

나. 분리균 및 분양균의 탄닌 저항성 조사

1) 탄닌 농도별 균 저항성 조사

Potato Dextrose Agar에 농도를 달리한 tannic acid(0.5, 1, 2, 3, 4, 5%)을 50㎕씩 떨어뜨린 후 30℃ incubator에서 18/24시간 배양하여 탄닌 저항력을 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 대부분의 *Aspergillus* 속은 탄닌 분해력이 우수하였으며, 탄닌 저항성 효모 균주 중에는 *Saccharomyces cerevisiae* 균주가 탄닌 5% 농도에서도 성장하여 우수하였고, *Saccharomycopsis* 속, *Sacchromydoes* 속에서 탄닌 분해력이

기호	균 주	배양시간	Tannic acid(%)						비고
			0.5	1	2	3	4	5	
A 1	KFRI 917	18	-	-	-	5	6	7	
		24	-	-	-	5	6	7	
A 2	KFRI 1014	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 3	KCTC 7939	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 4	KCTC 7295	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 5	KFRI 278	18	-	-	다른것보다 균적음		18	20	
		24	-	-	다른것보다 균적음		18	20	
A 6	KFRI 924	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 7	KFRI 795	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 8	KCTC 7228	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A 9	KFRI 635	18	-	-	-	6	8	9	강력
		24	-	-	-	6	8	9	
A10	KCTC 7708	18	-	-	-	6	7	8	B23과 유사
		24	-	-	-	내부에 균자랍, 가장자리 clear			
A11	KCTC 7210	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A12	KCTC 1703	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A13	KFRI 923	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A14	KCTC 1704	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A15	KFRI 1017	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	

나타났다(Table 3-4).

Table 3-4. Growth inhibiton(mm) of yeast by different tannin solution on PDA (계속)

기호	균 주	배양시간	Tannic acid(%)						비고
			0.5	1	2	3	4	5	
A16	KFRI 1015	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A17	KFRI 1019	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A18	KFRI 630	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A19	KFRI 257	18	-	-	-	-	6	7	강력
		24	-	-	-	-	6	7	
A20	KCTC 7238	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A21	KFRI 925	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A22	KFRI 1013	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A23	KCTC 1709	18	-	-	-	15(20)	16(23)	18(25)	내부균○
		24	-	-	-	15(20)	16(23)	18(25)	밖-clear
A24	KCTC 7116	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A25	KCTC 7263	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A26	KFRI 930	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A27	KFRI 208	18	-	-	-	-	-	-	균격음
		24	-	-	-	-	8	9	
A28	KFRI 321	18	9	12	14	16	17	19	매우강력
		24	9	12	14	16	17	19	
A29	KFRI 550	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A30	KFRI 560	18	균 안자람						
		24							
A31	KCTC 7126(7904)	18	-	-	-	-	-	-	균격음
		24	-	-	-	-	-	-	
A32	KCTC 1565	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A33	KCTC 6819	18	균 안자람						
		24							
A34	KCTC 1426	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A35	KCTC 1199	18	-	-	-	-	-	-	
		24	-	-	-	-	-	-	
A36	KCTC 7948	18	균 안자람						
		24							

2) 탄닌에서 균 성장성 조사

Potato Dextrose Agar(2%)에 1% tannic acid용액을 혼합하여 굳힌 후 곰팡이 및 효모를 30℃ incubator에서 24시간 배양한 결과는, 대부분의 곰팡이의 경우 1% tannin에서 잘자랐으나 *Monascus* 속, *Mucor* 속, *Rhizopus* 속, *Schizosaccharomyces* 속은 잘 자라지 못하였다(Table 3-5).

Table 3-5. 1% 탄닌 PDA 배지에서의 균주의 탄닌 저항성 및 clear zone 형성여부 (mm)

기호	균 주 명	15hr	19hr	24hr	Clear zone 형성여부
A1	KFRI 917	2	2	2,5×3	-
A2	KFRI 1014	3,5	3,5	4	-
A3	KCTC 7939	1,5	2	1,5	+
A4	KCTC 7295	3×4	3×4	3×4	-
A5	KFRI 278	-	1,5	1,5	+
A6	KFRI 924	3	3	3	-
A7	KFRI 795	2	2	2,5×3	-
A8	KCTC 7228	2	2	2,5×3	-
A9	KFRI 635	-	-	-	-
A10	KCTC 7708	-	-	-	-
A11	KCTC 7210	2×3	2×3	2,5×3,5	-
A12	KCTC 1703	2×3	2×3	3×2,5	-
A13	KFRI 923	2	2	2,5	-
A14	KCTC 1704	2	2×2,5	3	+
A15	KFRI 1017	2,5	2,5	3	-
A16	KFRI 1015	4	4	4	-
A17	KFRI 1019	3	3	3	-
A18	KFRI 630	3	3	3	-
A19	KFRI 257	3	3	3	-
A20	KCTC 7238	3	3	3	-
A21	KFRI 925	2,5	2,5	3	-
A22	KFRI 1013	3×4	3×4	4	-
A23	KCTC 1709	3	3	3	-
A24	KCTC 7116	-	-	2	-
A25	KCTC 7263	2,5×3	2,5×3	2,5×3	-

(계속)

기호	균 주 명	15hr	19hr	24hr	Clear zone 형성여부
B1	KFRI 856	5,5	9	12	+
B2	KFRI 623	3×4	6	9	+
B3	KFRI 985	-	5	7	+
B4	KFRI 998	-	2,5	3,5	+
B5	KFRI 980	-	-	4	+
B6	KFRI 602	-	-	-	-
B7	KFRI 854	4×5	6×7	8×9	+
B8	KFRI 888	2	3	5	+
B9	KFRI 982	-	-	6,5	-
B10	KFRI 986	6	8	11	+
B11	KFRI 999	-	2,5	4×5	+
B12	KCTC 6595	-	-	2,5	-
B13	KFRI 1010	-	-	-	-
B14	KFRI 984	-	-	6	-
B15	KFRI 951	-	1×2	1,5×2,5	-
B16	KFRI 1001	-	-	3	-
B17	KFRI 857	1,5	3	3×4	+
B18	KFRI 899	2	2	2×3	+
B19	KFRI 1158	-	-	-	-
C1	KCTC 1005	-	-	-	-
C2	KCTC 1254(6936)	-	-	-	-
C3	KCTC 6174	-	10	18	-
C4	KFRI 1007	-	-	-	-
C5	KFRI 1008	-	-	-	-
C6	KCTC 6947	-	-	-	-

2. 알콜생성 우수균 선발

무증자 도토리액에 효모 30균주를 30℃, 10일간 발효시, 알콜이 1.28 ~ 2.02 g/L가 생성되었고 *Torulaspora hansenii* A30 균주가 생산량이 가장 많았으며 다음으로 *Zygosaccharomyces rouxii* A27과 *Trigonopsis variabilis* A25로 나타났다(Fig. 3-1, 2, Table 3-6).

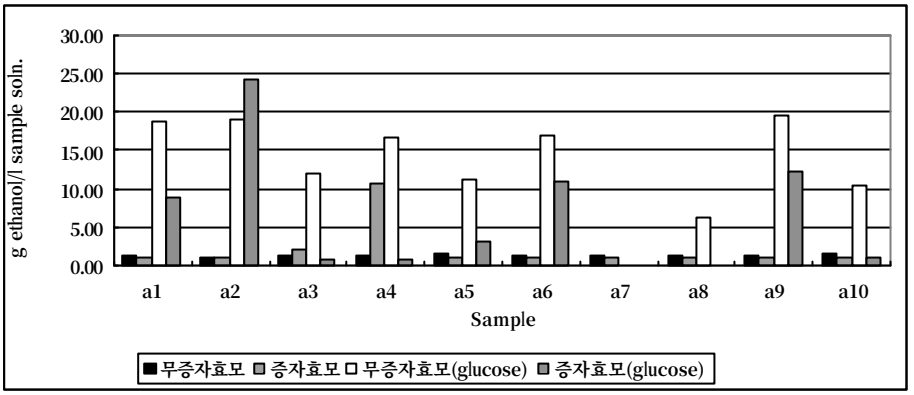
증자 도토리액에 효모 30균주를 30℃, 10일간 발효시, 알콜이 1.00 ~ 3.59 g/L가 생성되었고 α-amylase와 glucoamylase를 생산하는 *Schwanniomyces occidentalis var. occidentalis* A11 균주가 생산량이 가장 많았으며 다음으로 glucoamylase를 생산하는 *Saccharomycopsis fibuligera* A3과 *Saccharomyces cerevisie* var. *ellipsoideus* A26으로 나타났다(Fig. 3-1, 2, Table 3-6).

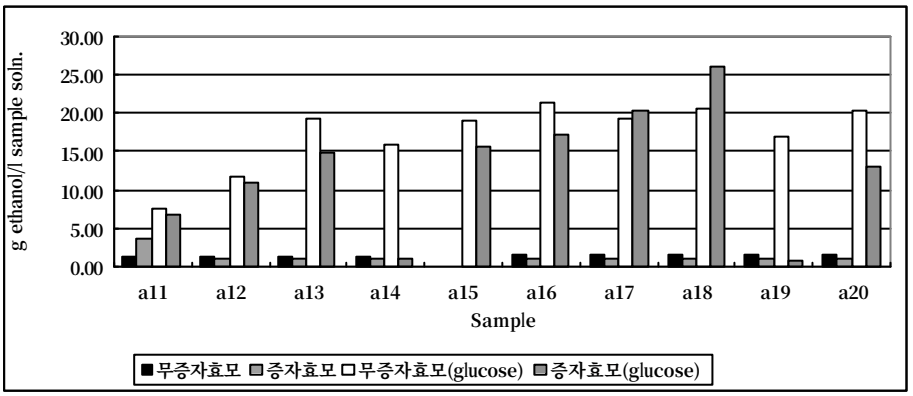
Glucose를 5%되게 첨가한 무증자 도토리액에 효모 30균주를 30℃, 10일간 발효시, 알콜이 7.79 ~ 21.81 g/L가 생성되었고 *Torulaspora hansenii* A30 균주가 생산량이 가장 많았으며 다음으로 *Saccharomyces cerevisie* A18과 *Saccharomyces cerevisie* A20으로 나타났다(Fig. 3-1, 2, Table 3-6).

Glucose를 5%되게 첨가한 증자 도토리액에 효모 30균주를 30℃, 10일간 발효시, 알콜이 6.98 ~ 26.10 g/L가 생성되었고 *Saccharomyces cerevisie* A18 균주가 생산량이 가장 많았으며 다음으로 *Saccharomyces cerevisie* A2와 *Saccharomyces cerevisie* A17로 나타났다(Fig. 3-1, 2, Table 3-6).

따라서, 당이 첨가되지 않은 처리구는 전분분해력이 있는 효모가 알콜 생산량이 많았으나 당이 첨가된 처리구는 *Saccharomyces cerevisie* 종이 생산량이 많았고 *Torulaspora hansenii* 균주는 당이 첨가 여부와 관계없이 무증자 처리구에서 생산량이 많아 생전분의 분해력이 높은 것으로 생각되었다.

가. 효모의 발효


g ethanol/l sample soln.
30.00
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
a1 a2 a3 a4 a5 a6 a7 a8 a9 a10
Sample
무증자효모 증자효모 무증자효모(glucose) 증자효모(glucose)


g ethanol/l sample soln.
30.00
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
a11 a12 a13 a14 a15 a16 a17 a18 a19 a20
Sample
무증자효모 증자효모 무증자효모(glucose) 증자효모(glucose)

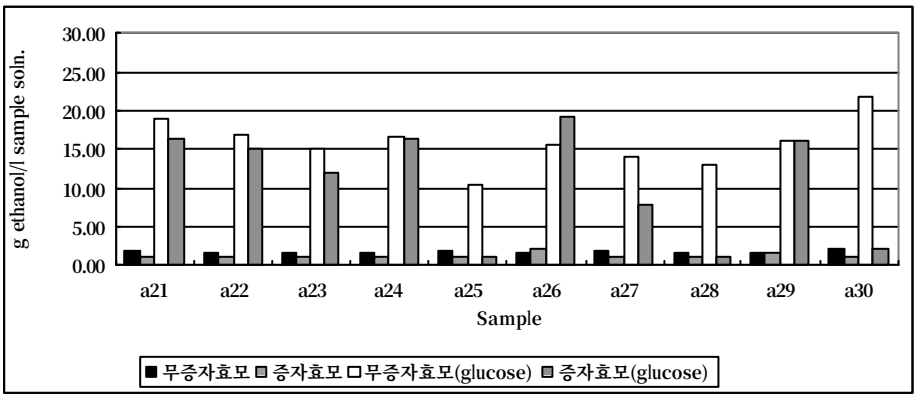
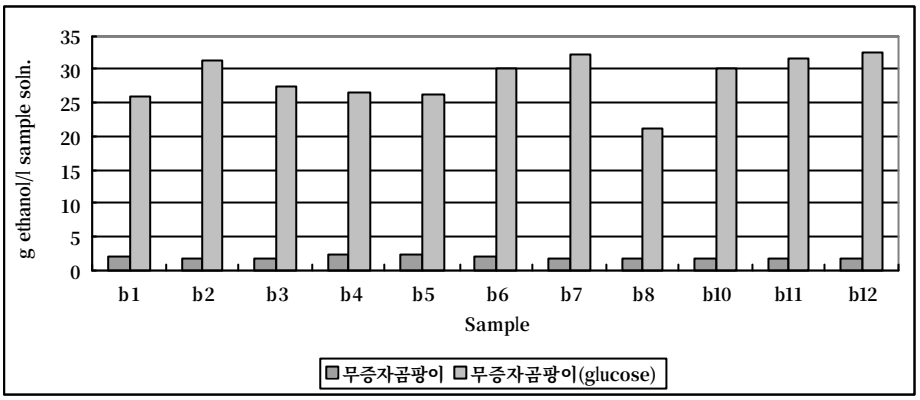
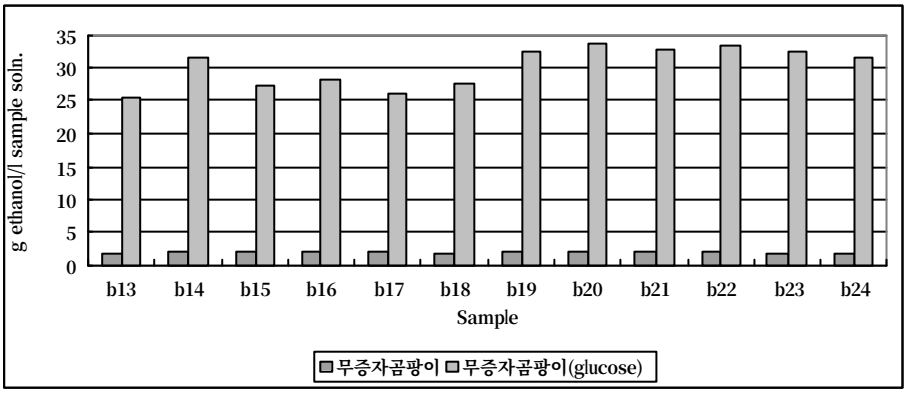

g ethanol/l sample soln.
30.00
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
a21 a22 a23 a24 a25 a26 a27 a28 a29 a30
Sample
무증자효모 증자효모 무증자효모(glucose) 증자효모(glucose)

Fig. 3-1. Ethanol content in acorn solution fermented by different yeasts.

나. 사상균의 발효





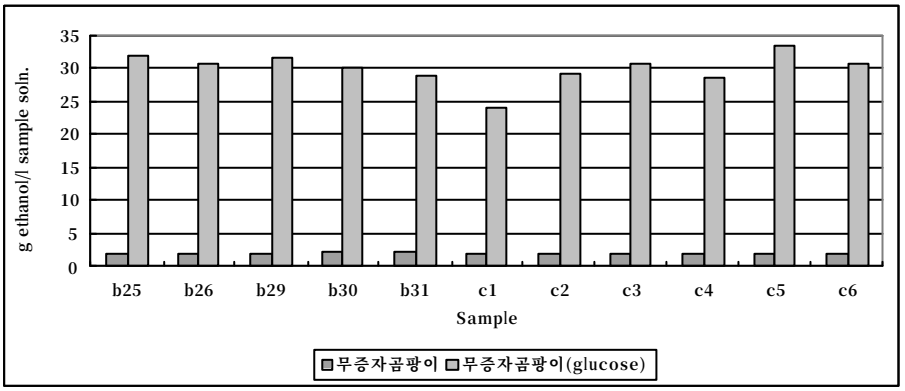


Fig. 3-2. Ethanol content in acorn solution fermented by different molds.

Table 3-6. Selected strains for alcohol production depend on substrates

생성물	기질	우수균	알콜생산량(g/L)
알콜	무증자	*Torulaspora hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Trigonopsis variabilis*	1.28 ~ 2.02
	증자	*Schwanniomyces occidentalis var. occidentalis*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomyces cerevisie* var. *ellipsoideus*	1.00 ~ 3.59
	Glucose 첨가 무증자	*Torulaspora hansenii*, *Saccharomyces cerevisie*	7.79 ~ 21.81
	Glucose 첨가 증자	*Saccharomyces cerevisie*	6.98 ~ 26.10

3. 향기 생성 우수균 선발

Saccharomyces cerevisiae 종이 가장 기호도가 우수하였으며 배, 포도와 복숭아가 섞인 과일 향을 나타내었다. 그 외 *Pichia anomala*가 우수하였고 미약한 바나나 향을 나타내었다(Table 3-7).

Glucose를 첨가한 무증자 도토리 발효에서는 *Saccharomyces cerevisiae* 종이 가장 기호도가 우수하였으며 여러 과일 향을 나타내었다. 그 외 *Saccharomycodes fibuligera*, *Endomyces sp.*가 우수하였다(Table 3-7).

Table 3-7. Selected strains for aroma production depend on substrates

생성물	기질	우수균	알콜생산량(g/L) 또는 향기
향기	무증자	*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*	배, 포도와 복숭아 바나나
	증자	*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces sake*, *Tolulaspora sp.*	여러 과일 향
	Glucose 첨가 무증자	*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes fibuligera*, *Endomyces sp.*	〃
	Glucose 첨가 증자	*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes fibuligera*	〃

4. 알콜발효 및 숙성 조건 검토

가. 배양방법 및 온도에 따른 발효

도토리 식초 생산을 위한 전단계로 알코올 생성이 우수한 조건을 확립하기 위하여 온도(20, 25, 30℃) 및 배양조건(정치배양, 진탕배양)을 달리하여 30일동안 발효시키면서 기간에 따른 환원당과 Alcohol을 측정한 결과는 Table 3-8과 같다.

1) 환원당 측정

시판효소제에 의한 당화액의 초기 환원당량은 평균 3.24%(±0.22)로 발효기간동안의 환원당량의 변화를 보면, 0일째 이후부터 감소하여 15일까지 급격하게 감소하는 group, 15일까지 초기 환원당량을 유지하였다가 15일 이후에 급격히 감소하는 group, 15일까지 증가하였다가 15일 이후에 감소하거나 계속 증가하는 group으로 나타났다. 발효조건간의 차이를 보면 진탕배양처리구보다 정치배양처리구에서 전 발효기간동안 환원당량의 함량이 크게 감소하였는데, 즉 30℃, *S. cerevisiae*와 *A. awamori*(a16+b5)의 혼합균주를 처리한구를 제외한 모든 정치배양 처리구는 온도와 사용균주의 차이에 상관없이 발효 30일까지 잔류 환원달양이 0.12-0.60%로 크게 감소하였으며 특히 25℃ 처리구와 30℃ *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7) 처리구는 발효 15일까지 잔류 환원당량이 0.5%이하로 크게 감소하였다.

이에 반해 진탕배양처리구에서는 25℃와 30℃의 *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7)처리구만이 발효30일까지 잔류환원당량이 0.17%로 크게 감소하였다.

전실험의 결과와 비교해 보면, 초기 환원당량이 6-8(mg/ml)로 발효 15일까지 7-11(mg/ml)로 모든 처리구가 증가한 것으로 본 실험과 대조를 이루었다.

따라서 도토리식초의 알코올 발효를 위한 최적의 조건을 환원당량의 감소량으로 추정해 보면, 20% 도토리 용액의 당화액에 *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7)를 접종한후 25℃ 정치배양을 할 경우 15일까지 환원당량이 크게 감소한 결과, 많은 알코올 생성을 나타낼수 있는 조건으로 추정할 수 있다.

2) Alcohol 측정

도토리용액의 알코올발효는 초기 0일째 알코올함량 0%에서 발효기간동안 증가하여 발효15일째에는 Alcohol 함량이 최저 3.4%에서 최고 8.8%로 증가하였다. 발효조건간의 차이를 보면 진탕배양조건보다 정치배양조건에서 발효30일째 전 처리구가 7%이상의 Alcohol을 생성하였는데, 진탕배양처리가 정치배양보다 알코올 함량이 낮게 측정된 것은 Shaking에 의해 생성된 Alcohol이 휘발된 것으로 추정된

다. 정치배양처리구내에서의 온도 및 사용균주별 차이를 보면, 20℃에서는 발효 15일째 알코올 함량 6%미만이었다가 발효 30일째 되어서 7.8~7.9%에 도달하였으나 25, 30℃처리구에서는 발효 15일째에서 8%이상의 알코올을 생성하였으며, 균주별 차이는 전 처리구에서 *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7)를 처리하였을 경우 알코올 함량이 다소 높았으나 큰 차이는 없었다.

따라서 도토리식초의 알코올 발효를 위한 최적의 조건을 알아보면, 20% 도토리 용액의 당화액에 *S. sake*와 *Asp. carbonarius*(a6+b7)를 접종한후 25℃ 정치배양을 할 경우 발효 15일까지 알코올 8%이상을 생산할 수 있을 것이다(Table. 3-8).

Table 3-8. Change of reducing sugar content(%) and alcohol upon alcohol fermentation condition of acorn

			환원당량			Alcohol생성량		
			0일	15일	30일	0일	15일	30일
진탕배양	20℃	A6+B7	3.03	6.77	3.83		0.89	2.99
		A16+B5	3.06	3.65	5.34		4.04	8.10
	25℃	A6+B7	3.06	5.88	0.17		4.66	3.54
		A16+B5	3.41	5.70	8.74		3.41	3.05
	30℃	A6+B7	3.56	0.15	0.17		8.95	8.61
		A16+B5	2.81	1.98	2.43		8.04	7.01
정치배양	20℃	A6+B7	3.37	3.07	0.21		5.43	7.81
		A16+B5	3.19	3.68	0.15		4.61	7.99
	25℃	A6+B7	3.25	0.18	0.12		8.85	8.62
		A16+B5	3.39	0.16	0.60		8.62	8.37
	30℃	A6+B7	3.26	0.45	0.53		8.80	8.33
		A16+B5	3.53	1.91	2.17		8.87	7.46

나. 경시적 알콜발효

산업용 누룩을 이용하여 65℃에서 24시간동안 당화 시킨 결과 당도는 5.5%로 나타났으며 8일 동안의 알콜 발효 중에 생성된 알콜량은 table 1과 같다. 즉, 발효 2일 까지 생성된 알콜량은 큰 차이가 없었으나 3일 이후부터 크게 증가되기 시작하였고 6일 이후부터 거의 일정 수준을 유지하여(3.03~3.05%) 알콜 발효가 완료된 것으로 간주하였다(Fig. 3-3).

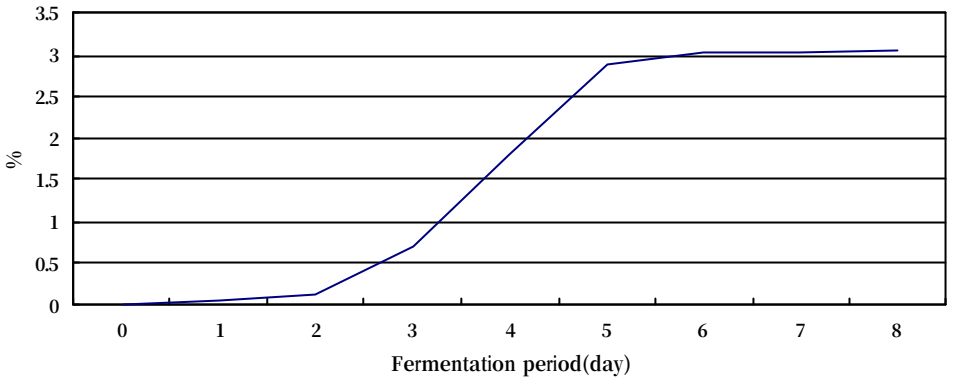


Fig. 3-3. Concentration of alcohol during alcohol fermentation at 30℃.

제 4절 참고문헌

1, 이명환 · 임나성: GC에 의한 Kiwi주 발효중 알코올 및 유기산의 분석, 1999 서울여대자연과학논문집 11(”99,12)pp,1-13

2, 이상목 · 조규성: *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 호박분말의 알코올발효 특성, 1996 한국영양식량학회지 25,3(”96,6)pp,513-518

3, 홍 연 · 최언호: 돼지감자 분말을 이용한 *Kluyveromyces marxianus* F043의 고농도 알코올발효 특성, 1994 서울여대자연과학연구논문집 5(”94,12)pp,36-42

4, 최선희 外: 가스 크로마토그래피에 의한 재래주 발효중 알코올과 유기산 분석, 1992 한국식품과학회지 104(”92,6)pp,272-278

5, 신용철: 무증자 알콜발효를 위한 생전분 분해 효소의 개발 동향과 주류공업에의 이용방향, 1991 주류공업 28(”91,4):pp,43-57

6, 유병호 外: *Aspergillus awamori*와 *Saccharomyces Cerevisiae*의 동시고정화에 의한 알코올 발효공정의 개발, 1988 부산산업대론문집 9,1(”88,3)421-428

7, 朴允仲 · 孫天培: 몇가지 효모 의 산 및 알콜생성 에 미치는 발효조건 의 影響, 1978 충남대농업기술연구보고 4,2(′77,12):173-177

제 4 장 도토리를 이용한 초산발효

제 1 절 서론

전분질이 많은 도토리를 효과적으로 이용하기 위하여 도토리에서 탄닌분해효소 생성균주로 탄닌을 분해하고 알코올 발효를 하여 술제조를 하여 이용 가능성을 높인 연구가 보고되어 있으나(채수규, 유태종, 1983), 아직 식초 발효까지 한 실험은 없다. 이 것은 도토리에 탄닌이 많이 함유되어 있어서 그 가공 적성이 떨어지기 때문이다. 그러나 탄닌을 많이 함유한 감은 식초로 제조되어 기능성 식품으로 활용되고 있다.

따라서, 식초가 개발되어 있지 않은 도토리도 감보다 함량이 높은 탄닌을 조절하는 기술이 개발되면 고부가 가치의 기능성식초가 제조될 수 있을 것이다.

여기에서는 도토리를 이용하여 도토리식초를 제조하고 변색 및 침전방지에 대하여 검토하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

과일(사과, 배, 수박, 자두, 천도 복숭아, 참외껍질, 오이, 당근 등 가락 시장에서 sampling), 미숙감(일부 발효된 것), glucose, ethanol, acetic acid, cycloheximide, mannitol agar, potato dextrose agar, tannic acid, shaking incubator

2. 실험방법

가. 초산균분리 전처리

1) 지퍼백에 취한 과일(가락시장)을 실온에서 2~3일 방치하여 시큼한 향이 나면 생리식염수로 희석하여 Potato Dextrose Agar(10% tartaric acid 첨가) 및 Mannitol Aagr(MA) 배지에 접종하여 30℃ incubator에서 24/48시간 배양하였다.

2) 5% ethanol 1 ml에 각각의 멸균 포도쥬스, 토마토쥬스, 매실쥬스, 감 페이스트(3% tannic acid 첨가/무첨가)를 20 ml씩 첨가하여 한국식품개발연구원 주변산

에 1일간 방치하였다. 감(500g)을 glucose(5g), ethanol(25ml), acetic acid(10ml), 증류수(500ml)로 구성된 broth에 첨가하여 shaking culture하였다. 모든 sample은 실험실에 방치하여 시큼한 향이 나면 생리식염수로 희석하여 cycloheximide(40ppm)가 첨가된 Mannitol Agar에 접종하여 30℃, 48시간 배양하였고, 인위적으로 선별된 colony의 gram 염색, catalase 반응 등을 관찰한다.

나. 초산균 분리

Mannitol agar에 나타난 colony는 1% $CaCO_3$, bromocresol purple(60ppm)이 첨가된 MA배지에 picking 하여 30℃ incubator에서 1주일간 배양시켜 clear zone의 형성 여부로써 산생성력을 측정하였고, 산 생성력, gram 염색 및 catalase 반응 등을 초산균으로 간주되는 균주 를 -70℃에 stock 시켰다.

탄닌저항력은 mannitol agar plate(10 ml)에 멸균면봉을 이용하여 균주를 도말한 후 멸균 실린더를 올려놓고 농도를 달리한 tannic acid(0.5, 1, 2, 3, 4, 5%) 용액을 50㎕씩 떨어뜨린 후 30℃ incubator에서 48시간 배양하여 관찰하였다.

다. 식초의 관능검사

도토리 식초(발효 40일-실온보관 30일)와 종래 시판 식초(사과식초-한국산, 양조식초-한국산, 순흑초-중국산, 포도식초-일본산, 적초-일본산, 곡물식초-일본산, 유자식초-일본산)와 「시큼한 냄새」, 「알코올 냄새」, 「이취」, 「신맛」, 「단맛」, 「이미」, 「전체적인 기호도」에 대하여 9점척도로 검사한 후, one-way ANOVA로 분석하여 유의성이 있는 항목에 대해서는 DMRT(Duncan's Multiple Range Test)로 검증하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 탄닌 저항 초산균의 분리

가. 썩은 과일 및 자연 노출된 인공배지로부터 초산균 분리

과일(가락시장)을 실온에 방치하여 시큼한 향이 날 때 희석하여 Potato Dextrose Agar 및 Mannitol Aagr 배지에 접종하여 30℃ incubator에서 24/48시간 배양한 후 gram 염색, catalase 반응 등을 관찰한 결과는 Table 4-1, 2와 같다.

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics on Mannitol Agar				균 수	source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
1	M1(5)L1	-, 작은간균 (0.5/1)	+	4.5	++	물규칙 꽃무늬	Creem (겸질)	9.2×10^{6}	배
2	M1(5)L2	//	+	5	++	//	//		
3	M2(5)T1	+, 구균 (2/3-4)	+	1.5	(+)	Round	//	1.1×10^{7}	//
4	M2(5)T2	+, 구균 (1.5/2-3)	+	1.5	(+)	//	//		
5	M3(5)L1	+, 구균 (타원, 3-4)	+	2.5	+	//	Creem (겸질×)	8.3×10^{6}	//
6	M3(5)L2	//	+	2.5	+	//	//		
7	M3(7)T1	-, 작은간균 (0.5-1)	+	2.5	+	//	Creem (겸질)	10^{8}이하	
8	M3(7)T2	//	+	2.5	+	//	//		
9	M4(5)L1	+, 구균 (타원, 3-4)	+	2	+	//	Creem (겸질×)	1.2×10^{7}	//
10	M4(5)L2	+, 구균 (길쭉함, 2/5-6)	+	2.5	+	//	//		
11	M4(7)F1	+, 구균 (2/3)	+	2.5	+	//	//	10^{7}이하	
12	M4(7)F2	//	+	2.5	+	//	//		
13	M5(5)L1	+, 구균 (길쭉함, 2/3-4)	+	3	+	//	//	10^{5}이하	//
14	M5(5)L2	//	+	3	+	//	//		
15	M5(7)T1	-, 작은간균 (0.5-1)	+	2	(+)	//	Yellow (겸질)	5.0×10^{7}	
16	M5(7)T2	+, 큰구균 (4/5)	+	2	(+)	//	Creem (겸질)		
17	M6(5)T1	-, 작은간균 (0.5)	+	1.8	+	//	//	3.0×10^{6}	사과
18	M6(5)T2	//	+	1.8	+	//	//		
19	M6(5)L1	//	+	3	++	//	// (가스생성)	6.0×10^{6}	

Table 4-1. 과일에서 분리한 균주의 특성

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics				균 수	source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
20	M6(5)L2	-, 간균 (1)	+	5.5	+++	Round	Cream (점질,가스생성)	6.0×10^{6}	사과
21	M7(5)T1	·	+	2.5	+	〃	Cream (점질)	3.7×10^{6}	〃
22	M7(5)T2	-, 작은간균 (0.5)	+	2.5	+	〃	Yellow (점질)		
23	M7(5)L1	-, 작은간균 (0.5)	+	3.5	+	〃	〃	8.3×10^{6}	
24	M7(5)L2	〃	+	3.5	+	〃	〃		
25	M8(3)L1	+/-, 작은간균 (1)	+	4	+	〃	Cream (점질)	1.0×10^{7}	〃
26	M8(3)L2	-, 작은간균 (1)	+	4	+	〃	〃		
27	M8(5)T1	〃	+	1.5	(+)	〃	〃	3.2×10^{6}	천도 복숭아
28	M8(5)T2	〃	+	1.5	(+)	〃	〃		
29	M10(5)L1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	3	(+)	〃	Cream (점질×)	8.3×10^{6}	〃
30	M10(5)L2	〃	+	4	(+)	〃	〃		
31	M10(7)T1	-, 간균 (0.5/1-2)	+	2	(+)	〃	Cream (점질)	1.9×10^{8}	
32	M10(7)T2	〃	+	1.5	(+)	〃	〃		
33	M10(7)F1	+, 구균 (2/3-4)	+	2.5	(+)	〃	Cream (점질×)	10^{7} 이하	
34	M10(7)F2	+, 큰구균 (2/5-8)	+	3	(+)	〃	〃		
35	M11(5)L1	+, 구균 (2/2-3)	+	2	+	〃	Cream (점질)	2.0×10^{6}	파인 애플
36	M11(5)L2	〃	+	2	+	〃	〃		
37	M11(7)T1	+, 구균 (1.5-2/ 3-4)	+	2	(+)	〃	〃	4.2×10^{8}	
38	M11(7)T2	+, 구균 (1.5/2-3)	+	1.5	(+)	〃	〃		
39	M12(7)T1	+, 구균 (2/3)	+	1.5	(+)	〃	Cream (점질)	6.0×10^{6}	파인 애플
40	M12(7)T2	〃	+	1.5	(+)	〃	〃		
41	M13(3)L1	+, 큰구균 (2/4-5)	+	3	(+)	〃	Cream (점질×)	4.4×10^{4}	수박
42	M13(3)L2	+, 큰구균 (길쭉함, 1.5/5-6)	+	3.5	(+)	〃	〃		

(계속)

여 백

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics				균 수	source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
43	M14(5)T1	+, 구균 (1,5/2-3)	+	2	+	Round	Cream (점질)	4.0×10^{6}	자두
44	M14(5)T2	//	+	2	+	//	//		
45	M14(5)L1	+, 큰구균 (2/4-5)	+	3	(+)	//	Cream (점질×)	4.7×10^{6}	
46	M14(5)L2	+, 구균 (2/3-4)	+	3	(+)	//	//		
47	M15(5)M1	+, 구균 (2/3-4)	+	2.5	+	//	//	2.3×10^{6}	포도
48	M15(5)M2	//	+	2	+	//	//		
49	M16(7)T1	-, 작은간균 (0.5-1)	+	1.5	(+)	//	Yellow (점질)	4.9×10^{8}	토마토
50	M16(7)T2	+/-, 작은간균 (0.5-1)	+	1.5	(+)	//	Cream (점질)		
51	M16(7)L1	+, 구균 (2/4-5)	+	3	(+)	//	//	10^{8} 이하	
52	M16(7)L2	+, 큰구균 (2/7-8)	+	3	(+)	//	//		
53	M17(7)T1	-, 작은간균 (1/1.5-2)	+	2	(+)	//	//	2.4×10^{8}	방울 토마토
54	M17(7)T2	+, 구균 (2/3-4)	+	2	(+)	//	//		
55	M17(7)F1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	3.5	(+)	//	Cream (점질×)	10^{7} 이하	
56	M17(7)F2	+, 구균 (2/4-5)	+	3.5	(+)	//	//		
57	M18(5)L1	+, 간균 (1/1/5-2)	+	5	++	//	Cream (점질)	4.0×10^{6}	바나나
58	M18(5)L2	//	+	7	+++	//	Cream (점질, 가스생성)		
59	M19(5)1	+, 구균 (2/4-5)	+	2	(+)	//	Cream (점질)	2.6×10^{7}	살구
60	M19(5)2	//	+	3	(+)	//	Cream (점질×)		

(계속)

여 백

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics				균 수	source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
61	M19(5)Y1	-, 작은간균 (0,5)	+	1,5	(+)	Round	Yellow (겹질)	$2,6\times10^{7}$	살구
62	M19(5)Y2	//	+	2	(+)	//	//		
63	M19(5)L1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	3	(+)	//	Cream (겹질×)	$2,5\times10^{6}$	
64	M19(5)L2	+, 구균 (1,5/3-4)	+	3	(+)	//	//		
65	M20(5)1	+, 구균/간균 (2/3-4, 1/2-3)	+	3	(+)	//	//	$2,7\times10^{6}$	참외
66	M20(5)2	//	+	3	(+)	//	//		
67	M20(5)L1	+, 큰구균 (2-3/4-5)	+	2,5	+	//	Cream (겹질)	$9,9\times10^{6}$	
68	M20(5)L2	+, 구균 (2/4-5)	+	2,5	+	//	//		
69	M21(7)L1	-, 작은구균 (1)	+	5,5	+++	//	// (가스생성)	$2,4\times10^{8}$	오이
70	M21(7)L2	//	+	4	+++	//	// (가스생성)		
71	M22(7)T1	+, 작은구균 (1)	+	2	(+)	//	Cream (겹질)	$5,4\times10^{8}$	당근
72	M22(7)T2	-, 작은간균 (0,5/1,5)	+	2	(+)	//	Yellow (겹질)		
73	M23(5)W1	-, 작은구균 (0,5)	+	6	+++	//	Cream (겹질)	$6,3\times10^{6}$	참외 겹질
74	M23(5)W2	//	+	4,5	++	//	//		
75	M23(5)Y1	-, 작은간균 (0,5)	+	3,5	++	//	Yellow (겹질)	$2,1\times10^{6}$	
76	M23(5)Y2	//	+	3	++	//	//		
77	M24(7)T1	-, 작은간균 (0,5)	+	2	(+)	//	Cream (겹질)	$6,2\times10^{8}$	감 + 10% EtOH (20 ml)
78	M24(7)T2	//	+	2	(+)	//	//		

여 백

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics				균 수	Source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
1	P1(5)1	+, 큰구균 (길쭉함, 1/5-6)	+	2	+	Round	Cream (점질)	3.1×10^{7}	배
2	P1(5)2	+, 구균 (타원형, 1/3-4)	+	2	+	〃	〃		
3	P2(5)1	+, 큰구균 (길쭉함, 1-2/5-6)	+	2	+	〃	〃	8.8×10^{6}	
4	P2(5)2	+, 큰구균 (타원형, 1-2/4-5)	+	2	+	〃	〃		
5	P3(5)1	+, 구균 (2/3-4)	+	2.5	+	〃	〃	3.5×10^{7}	
6	P3(5)2	+, 큰구균 (2/4-5)	+	2.5	+	〃	〃		
7	P4(5)1	+, 큰구균 (타원형, 3-4)	+	3.5	+	〃	〃	2.5×10^{7}	
8	P4(5)2	+, 큰구균 (5-6)	+	3	+	〃	〃		
9	P5(5)1	+, 구균 (1/2-3)	+	1.5	+	〃	〃	5.1×10^{7}	
10	P5(5)2	+, 구균 (1.5/3-4)	+	2	+	〃	〃		
11	P6(5)1	+, 큰구균 (2/4-6)	+	2	+	〃	〃	10^{6} 이하	사과
12	P6(5)2	+, 구균 (2/3-4)	+	2.5	+	〃	〃		
13	P7(5)1	+, 구균 (길쭉함, 2/4-5)	+	2.5	+	〃	〃	10^{6} 이하	〃
14	P7(5)2	+, 구균 (2/3)	+	2.5	+	〃	〃		
15	P9(5)1	+, 큰구균 (2-3/5-6)	+	4.5	(+)	〃	〃	10^{6} 이하	천도 복숭아
16	P9(5)2	+, 큰구균 (2-3/5-6)	+	2.5	+	〃	〃		
17	P10(5)1	+, 구균 (1.5/3-4)	+	2	+	〃	〃	4.5×10^{7}	〃
18	P10(5)2	+, 구균 (길쭉함, 2/10)	+	2	+	〃	〃		
19	P11(5)1	+, 구균 (길쭉함, 2/5-6)	+	2	+	〃	〃	5.0×10^{7}	파인애플

No.	Origin	Gram stain	Catalase	Characteristics				균 수	Source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
20	P11(5)2	+, 구균 (길쭉함, 1.5/5-6)	+	2.5	+	불규칙	Cream (점질)	5.0×10^{7}	파인애플
21	P12(5)1	+, 구균 (1.5/4-5)	+	2	+	Round	〃	5.0×10^{7}	파인애플
22	P12(5)2	+, 구균 (1.5/4-5)	+	2	+	〃	〃		
23	P13(5)1	+, 구균 (길쭉함, 2/8-10)	+	3	+	〃	〃	10^{5} 이하	수박
24	P13(5)2	+, 구균 (길쭉함, 2/7-8)	+	2	+	〃	〃		
25	P14(5)L1	+, 구균 (1.5/4-5)	+	2.5	+	〃	〃	8.1×10^{6}	자두
26	P14(5)L2	+, 구균 (1.5/4-5)	+	2.5	+	〃	〃		
27	P15(5)L1	+, 큰구균 (길쭉함, 2/7-8)	+	3.5	(+)	〃	Cream (점질×)	10^{5} 이하	포도
28	P15(5)L2	+, 큰구균 (2/5-6)	+	4.5	(+)	〃	〃		
29	P15(5)T1	+, 구균 (2/3-4)	+	2	(+)	〃	Cream (점질)	1.5×10^{7}	
30	P15(5)T2	+, 구균 (2/4-5)	+	2	(+)	〃	〃		
31	P16(5)1	+, 구균 (길쭉함, 2/9-10)	+	2	+	〃	〃	3.9×10^{7}	토마토
32	P16(5)2	+, 구균 (길쭉함, 2/7-8)	+	2.5	+	〃	〃		
33	P17(5)1	+, 구균 (1.5/4-5)	+	2	+	〃	〃	3.7×10^{7}	방울 토마토
34	P17(5)2	+, 큰구균 (2/5-6)	+	1.5	+	〃	〃		
35	P18(5)1	+, 큰구균 (1.5/5-6)	+	2.5	+	〃	〃	1.3×10^{7}	바나나
36	P18(5)2	+, 큰구균 (2.5/5-6)	+	2.5	+	〃	〃		
37	P19(5)L1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	4.5	(+)	〃	Cream (점질×)	2.1×10^{6}	살구
38	P19(5)L2	+, 큰구균 (2/5-6)	+	3	(+)	〃	〃		

Table 4-2 과일(가락시장)에서 분리한 균주(Potato Dextrose Agar)의 특성

No.	Origin	Gram stain	Catalase	PDA				균 수	Source
				Size(mm)	Flat	Margin	Color		
39	P21(5)L1	+, 큰구균 (길쭉함, 4-5)	+	2.5	+	//	Cream (점질)	4.9×10^{5}	오이
40	P21(5)L2	+, 구균 (2-3)	+	2.5	+	//	//		
41	P21(5)T1	+, 큰구균 (4-5)	+	2	+	//	//	4.9×10^{6}	
42	P21(5)T2	+, 큰구균 (길쭉함, 4-5)	+	1.5	+	//	//		
43	P22(5)L1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	2.5	(+)	//	Cream (점질×)	10^{5} 이하	당근
44	P22(5)L2	+, 구균 (2/4-5)	+	3	(+)	//	//		
45	P22(5)T1	+, 구균 (2-3)	+	2	+	//	Cream (점질)	1.9×10^{7}	
46	P22(5)T2	+, 구균 (2-3)	+	1.5	+	//	//		
47	P23(5)1	+, 구균 (2-3)	+	2	+	//	//	3.1×10^{6}	참외껍질
48	P23(5)2	+, 구균 (2-3)	+	2.5	+	//	//		
49	P24(5)1	+, 큰간균 (2.5/6-10)	+	3	++	//	Cream (곰팡이?)	1.0×10^{7}	감 + 10% EtOH (20 ml)
50	P24(5)2	+, 큰간균 (2.5/6-10)	+	3	++	//	//		
51	P24(5)L1	+, 큰구균 (2/5-6)	+	4	(+)	//	Cream (점질×)	10^{5} 이하	
52	P24(5)L2	+, 큰구균 (2.5/5-6)	+	4.5	(+)	//	//		

(계속)

(계속)

여 백

과일 쥬스 및 미숙감에 알콜을 첨가하여 발효시켜 cycloheximide(40ppm)가 첨가된 Mannitol Agar에 접종하여 30℃, 48시간 배양한 후 gram 염색, catalase 반

Strain	Gram 염색	Catalase	Characteristics				초기균수	비고
			Size(mm)	Flat	Form	Color		
Ma1(5)S1	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream	1.3×10^{7}	감, glucose, ethanol, acetic acid (shaking culture/10일)
Ma1(5)S2	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma1(5)S3	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma2(5)S1	+, 구균	+	2	+	Round	Cream	1.9×10^{6}	포도쥬스 (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma2(5)S2	+, 구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma2(5)S3	+, 구균	+	2.5	+	Round	Cream		
Ma3(5)S1	-, 작은구균	+	1.8	+	Round	Cream	1.3×10^{5}	감, glucose, ethanol, acetic acid (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma3(5)S2	-, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma3(5)S3	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma4(5)S1	-, 작은간균	+	2	+	Round	Cream	1.5×10^{5}	감 페이스트 + tannic acid (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma4(5)S2	-, 작은간균	+	1.8	+	Round	Cream		
Ma4(5)S3	+, 작은간균	+	1.5	+	Round	Cream		
Ma5(5)R1	-, 간균	-	3	+	Round	Red	10^{5}이하	감 페이스트 (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma5(5)R2	+, 간균	-	2	+	Round	Red		
Ma5(5)L1	-, 작은구균	+	2.5	+	Round	Cream	1.3×10^{5}	
Ma5(5)L2	+/-, 작은구균	+	3	+	Round	Cream		
Ma5(5)L3	+, 간균	+	2	+	Round	Cream		
Ma5(5)T1	+, 간균	-	1	+	Round	Cream	2.3×10^{7}	
Ma5(5)T2	+, 간균	-	1	+	Round	Cream		
Ma5(5)T3	+, 간균	-	1.5	+	Round	Cream		
Ma6(7)T1	+, 간균	+	1	+	Round	Cream	TNTC	토마토쥬스 1 (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma6(7)T2	+, 간균	+	1.5	+	Round	Cream		
Ma6(7)T3	+, 간균	+	1	+	Round	Cream		
Ma7(3)S1	+, 작은구균	+	1.5	+	Round	Cream	4.0×10^{5}	토마토쥬스 2 (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma7(3)S2	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		
Ma7(3)S3	+, 작은구균	+	2	+	Round	Cream		

응 등을 관찰한 결과는 Table 4-3과 같다.

Table 4-3. 과일 쥬스 및 미숙감(알콜 첨가)에서 분리한 균주의 특성

나. 분리균 및 분양 초산균의 탄닌 저항성 조사

Mannitol Agar plate(10 ml)에 멸균면봉을 이용하여 자연(과일)에서 분리한 균주를 도말한 후 멸균 실린더를 올려놓고 농도를 달리한 tannic acid(0.5, 1, 2, 3, 4, 5%) 용액을 50㎕씩 떨어뜨린 후 30℃ incubator에서 48시간 배양하여 탄닌 저항력을 관찰한 결과는 Table 5와 같다.

과일에서 분리한 균주의 탄닌 저항력은 Ma5(5)R2와 Ma6(7)T1의 경우가 유사한 경향으로써 약하게 나타났고, M10(7)T1, M17(7)T1, M22(7)T2, Ma5(5)T1의 경우가 유사한 경향으로써 강하게 나타났다.

Table 5. Clear zone size of indicator strains on Mannitol Agar by different concentration of tannic acid(Unit : mm)

Species	Concentration of tannic acid(%)						Source
	0.5	1	2	3	4	5	
M3(7)T1	균 안자람						배
M10(7)T1	18	19	20	23	24	26	천도복숭아
M16(7)T1	균 안자람						토마토
M17(7)T1	18	20	21	22	23	25	방울토마토
M22(7)T2	20	20	22	23	23	24	당근
Ma5(5)T1	20	21	23	25	25	25	감 페이스트 (야산에 12시간 방치후 수집)
Ma5(5)R2	7	9	12	13	15	17	
Ma6(7)T1	7	10	13	15	15	16	토마토쥬스 1 (야산에 12시간 방치후 수집)

Mannitol agar plate(10 ml)에 멸균면봉을 이용하여 균주보관소로부터 분양받은 균주를 도말한 후 멸균 실린더를 올려놓고 농도를 달리한 tannic acid(0.5, 1, 2, 3, 4, 5%)용액을 50㎕씩 떨어뜨린 후 30℃ incubator에서 48시간 배양하여 탄닌 저항력을 관찰한 결과는 Table 4-5와 같다.

초산균의 경우 대부분 우수한 탄닌 저항력을 나타냈고 tannic acid 용액의 농도와 관계없이 *Gluconobacter oxydans* subsp. *oxydans*(KCTC 2108)가 가장 낮았다. 농도별 탄닌 저항력은 5% tannic acid의 경우 *Acetobacter pasteurianus*(KCTC 1008)가 가장 강했던 반면 0.5~4% tannic acid의 경우 *Gluconobacter oxydans* subsp. *oxydans*(KCTC 2108)를 제외한 균주는 유사한 경향을 나타냈다.

Table 4-5. Clear zone size of indicator strains on Mannitol Agar by different concentration of tannic acid(Unit : mm)

Species	Concentration of tannic acid(%)					
	0.5	1	2	3	4	5
Gluconacetobacter liquefaciens KCTC 2859	18	23	24	25	25	25
Acetobacter sp. KCTC 2806	균 안자람					
Gluconobacter oxydans subsp. *sub oxydans* KCTC 1091	11	13	13	15	15	16
Acetobacter pasteurianus KCTC 1008	20	23	25	27	27	29
Gluconobacter oxydans subsp. *oxydans* KCTC 2108	균 안자람					
Acetobacter sp. KCTC 2335	균 안자람					
Gluconacetobacter diazotrophicus KCTC 2804	20	22	23	23	24	25
Gluconobacter oxydans subsp. *oxydans* KCTC 2109	18	18	20	20	23	25
Acetobacter aceti KFRI 1026	20	21	23	25	25	25
Acetobacter pasteurianus KFRI 1027	균 안자람					
Acetobacter pasteurianus KFRI 1028	균 안자람					
Acetobacter liquefaciens KFRI 837	18	20	21	21.5	21.5	22
Acetobacter pasteurianus KFRI 838	균 안자람					
Acetobacter aceti subsp. *aceti* KFRI 895	19	21	22	23	23	23
Acetobacter aceti KFRI 435	균 안자람					

2. 초산생성 우수균 선발

Mannitol agar에 나타난 colony를 1% $CaCO_3$, bromocresol purple(60ppm)이 첨가된 MA배지에 picking 하여 30℃ incubator에서 1주일간 배양시켜 clear zone의 형성 여부를 관찰한 결과는 Table 4-6과 같다.

과일에서 분리한 균주의 산 생성력은 균주의 색과 관계없이 clear zone의 형성과 함께 주변의 배지가 노란색으로 바뀜으로써 확인할 수 있었다. Clear zone의 size와 산 생성력이 비례한다면 M10(7)T1의 산 생성력이 가장 높았으며 Ma5(5)R2와 Ma6(7)T2는 가장 낮았다.

Table 4-6. 1% $CaCO_3$, bromocresol purple(60ppm)이 첨가된 Mannitol Agar에 나타난

균주의 clear zone 형성 여부

Strains	Colony		Clear zone		Source
	size(mm)	color	size(mm)	color	
M3(7)T1	4	투명	6	yellow	배
M5(5)T1	3	남보라	-	-	배
M8(3)L2	28	남보라	-	-	사과
M10(7)T1	18	투명	20	yellow	천도복숭아
M16(7)T1	4	투명	6,5	yellow	토마토
M17(7)T1	11	투명	14	yellow	방울토마토
M19(5)Y1	5,5	남보라	-	-	살구
M22(7)T2	5	투명	10	yellow	당근
M23(5)Y1	17	남보라	-	-	참외껍질
M24(7)T1	3	남보라	-	-	감+10% EtOH(20 ml)
Ma5(5)T1	2,5	투명	5	yellow	감 페이스트 (산에 배치함)
Ma5(5)T2	3	투명	5,5	yellow	
Ma5(5)T3	3,5	투명	6,5	yellow	
Ma5(5)R2	2,5	투명	4	yellow	
Ma6(7)T1	2,5	투명	5,5	yellow	토마토쥬스 1 (산에 배치함)
Ma6(7)T2	2	투명	4	yellow	
Ma6(7)T3	2,5	투명	6	yellow	

3. 향미 생성 우수균 선발

향미 생성 우수균은 과일 및 인공 과일 배지로부터 M3(7)T1, M10(7)T1, M16(7)T1, M17(7)T1, M22(7)T2 Ma5(5)T1, Ma5(5)R2, Ma6(7)T1 등, 8균주를 분리하였다.

4. 초산발효 및 숙성조건

가. 알콜 첨가량에 의한 영향

1) 산도

가) 정치배양

Alcohol 함량을 조절하지 않은 대조군의 alcohol 함량은 약 3% 수준이였고 alcohol 첨가량을 달리하여 초기 alcohol 함량이 초산 발효에 미치는 영향을 알아본 결과는다음과 같다. 발효 5일의 모든 시료가 초기산도의 3~4배 이상 증가되었고 이후 점차 산도가 증가되었는데 발효 15일까지는 alcohol 함량을 6%로 조절한 시료의 산도가 가장 높게 측정되었으나 15일 이후 증가도가 감소되어 대조군과 alcohol 4% 시료의 산도가 더 높게 측정되었다. 모든 시료가 발효 25~30일 이후에 4% 이상의 산도를 나타내였고, 35일 이후부터는 일정 수준을 유지함으로써 초산 발효가 거의 완료된 것으로 판단해도 무리가 없을 듯 보였다. 발효 40일 시료의 산도 측정 결과, alcohol 4% 시료의 산도가 5.04%로 가장 높게 측정되었고, 대조군(4.96%), alcohol 6%시료(4.92%), alcohol 8%시료(4.60%), alcohol 10% 시료(4.32%)의 순으로 나타났다. 따라서 초기 alcohol 함량을 4% 수준으로 조절하는 것이 초산발효에 효과적인 것으로 나타났다(Fig. 4-1).

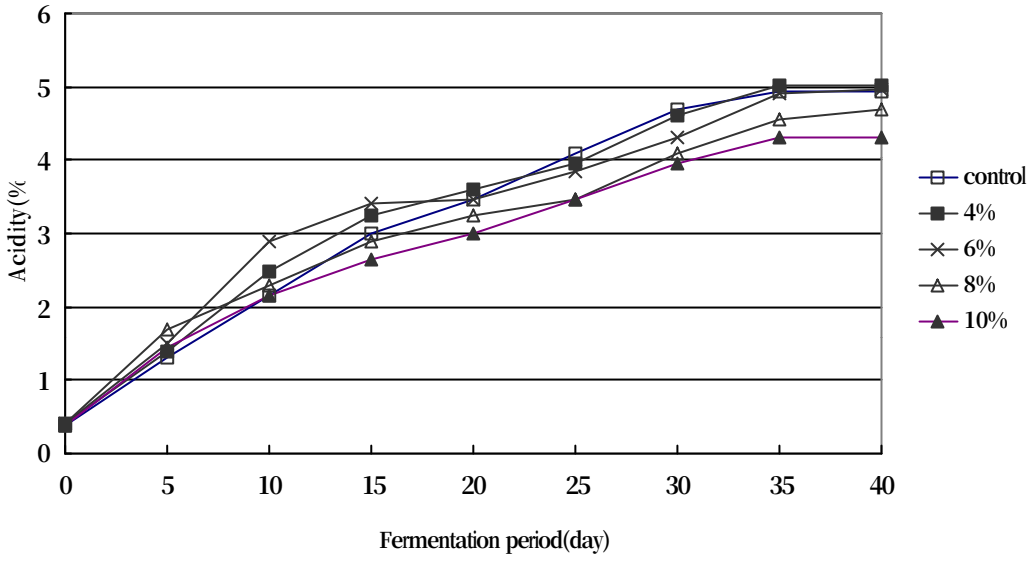


Fig. 4-1. Changes in acidity during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of ethanol at different levels with batch culture.

나) 진탕배양

알콜에서의 초산 생성시 진탕에 의한 초산 발효 효과를 검토한 결과는 다음과 같았다. alcohol 4%와 6% 시료의 경우 정치 배양했을 때보다 산생성량이 증가되었는데, 4% 시료에서 발효 10일에 이미 4% 이상의 산이 생성되었고, 발효 40일에 5.64%의 산이 생성되었다. alcohol 6% 시료도 또한 진탕 배양에 의해 산 생성이 촉진되어 발효 20일에 4.08%의 산도를, 발효 40일에 5.28%의 산도를 나타내었는데, 이는 진탕에 의해 초산균의 증식이 촉진되었기 때문인 것으로 생각되었다. 그러나, alcohol 8%와 10% 시료의 경우 오히려 정치 배양시보다 산생성이 억제되었으므로 고농도의 alcohol은 초산발효를 오히려 억제시킴을 알 수 있었다(Fig. 4-2).

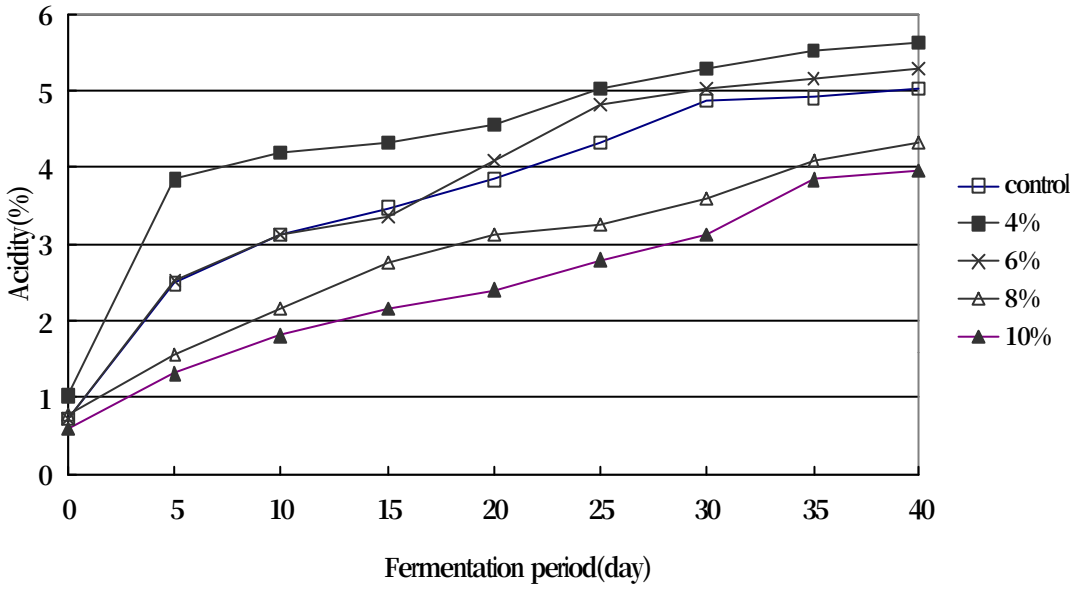


Fig. 4-2. Changes in acidity during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of ethanol at different levels with shaking culture.

1) 균수

가) 정치배양

Alcohol 첨가량을 달리한 시료를 30℃ incubator에서 정치 배양하여 발효기간중의 초산균 생육변화를 관찰하였다. Alcohol 농도를 4%, 6%, 8%로 조절한 시료에서 초산균수가 발효 10일까지 증가한 후 감소된 반면, alcohol 10% 시료의 초산균수는 발효 5일 이후부터 감소되는 경향을 나타내었고 초산균수도 alcohol 10% 시료에서 가장 적게 측정되었다. Alcohol 6% 시료는 발효 15일까지 2.1×10^{8}의 균수가 측정됨으로써 초산균의 생육이 가장 활발해 보였으나 그 이후 감소되어 alcohol 4% 시료보다 낮은 균수가 측정됨으로써 고농도의 alcohol이 발효 후기의 초산균 작용을 저해한다는 것을 알 수 있었다(Fig. 4-3).

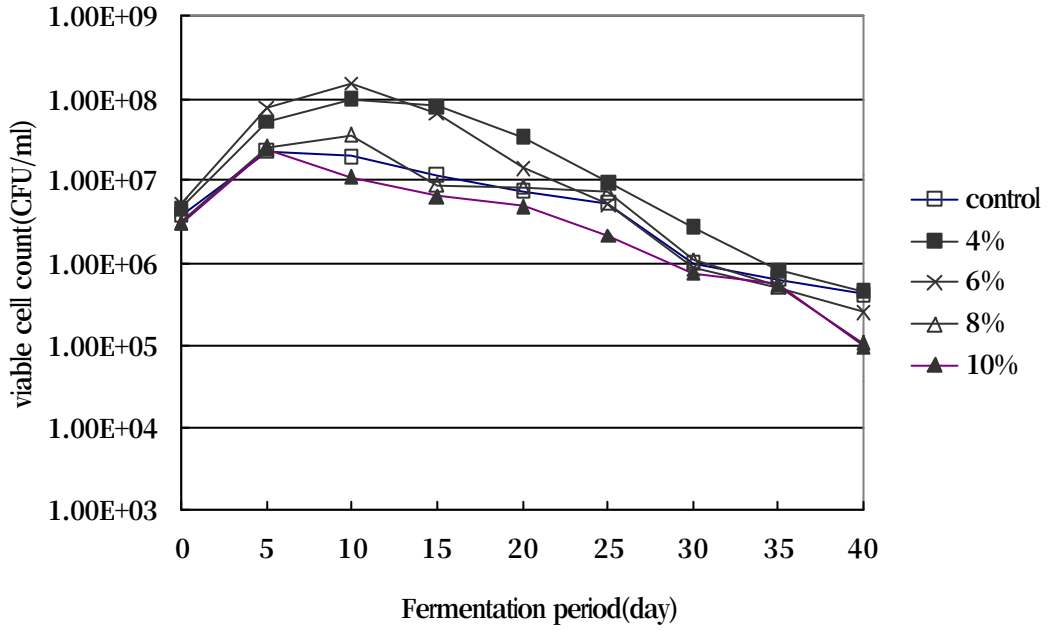


Fig. 4-3. Changes in viable cell count of acetic acid producing bacteria during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of ethanol at different levels with batch culture.

나) 진탕배양

Alcohol 농도를 달리하고 30℃ incubator에서 진탕 배양시킨 시료의 초산발효중 초산균수 생육 변화를 측정한 결과는 다음과 같았다. Alcohol 농도를 4%, 6%로 조절한 시료에서 정치 배양시킨 시료보다 높은 균수가 측정됨으로써 진탕에 의해 초산균 증식이 촉진되는 효과가 나타났으며, 또한 진탕에 의해 alcohol 농도에 따른 초산균 증식의 차이가 크게 나타났는데, alcohol 4%시료, alcohol 6%시료, 대조군, alcohol 8%시료, alcohol 10%시료의 순이였다. 이는 진탕배양에 의해 초산균의 증식에 미치는 알콜 농도의 영향이 더욱 민감하게 나타나기 때문인 것으로 생각되었다 (Fig. 4-4).

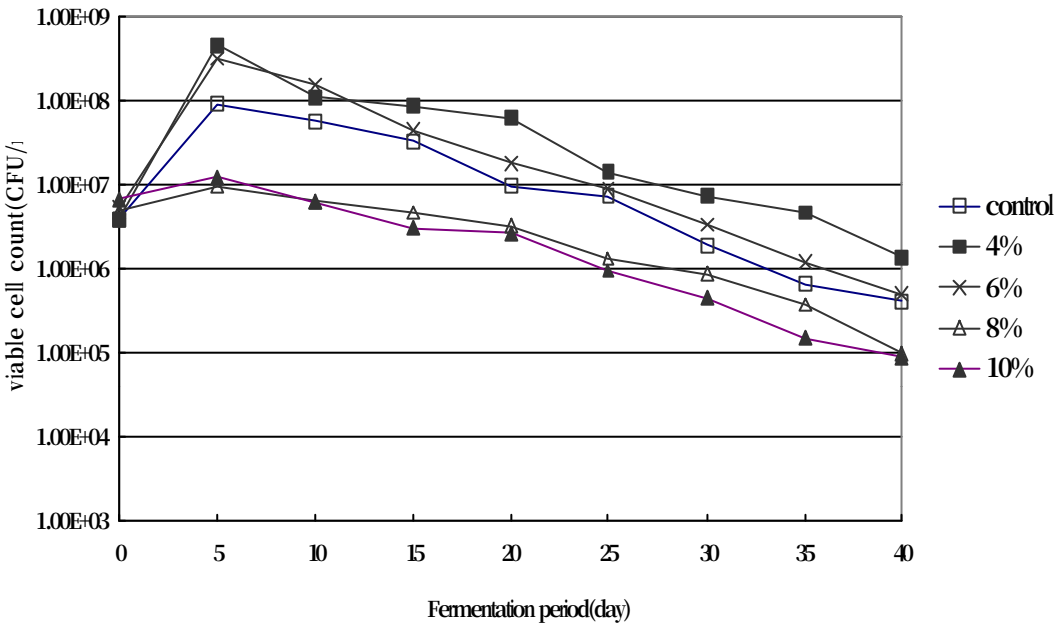


Fig. 4-4 Changes in viable cell count of acid producing bacteria during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of ethanol at different levels with shaking culture.

나. 초산 첨가량에 의한 영향

1) 산도

초기 산도를 조절하지 않은 대조군의 총산 함량은 약 0.4%였고, 초기 산도를 달리하여 발효기간에 따른 산 생성량을 측정한 결과는 다음과 같았다. 발효 5일 시료의 산도 측정 결과, 초기 산도의 1.5~2.5 배 이상 증가되었고, 초기산도 1% 시료의 증가도가 가장 크게 나타났다. 초기산도 1% 시료와 2% 시료의 경우 발효 10일 이후에 산도 4% 이상의 수치를 나타내였으나, 대조군과 초기산도 0.5% 시료는 발효 25일 이후부터 산도 4% 이상으로 증가되었으며, 발효 40일의 산도 측정 결과, 초기산도 2% 시료(10.92%), 초기산도 1% 시료(9.6%), 초기산도 0.5%(5.16%)으로 산도의 차이가 크게 나타났다. 따라서 초산 발효시 발효 초기에 초산을 첨가하는 것이 발효 효율을 높이는데에 도움이 될 것으로 보였다(Fig. 4-5).

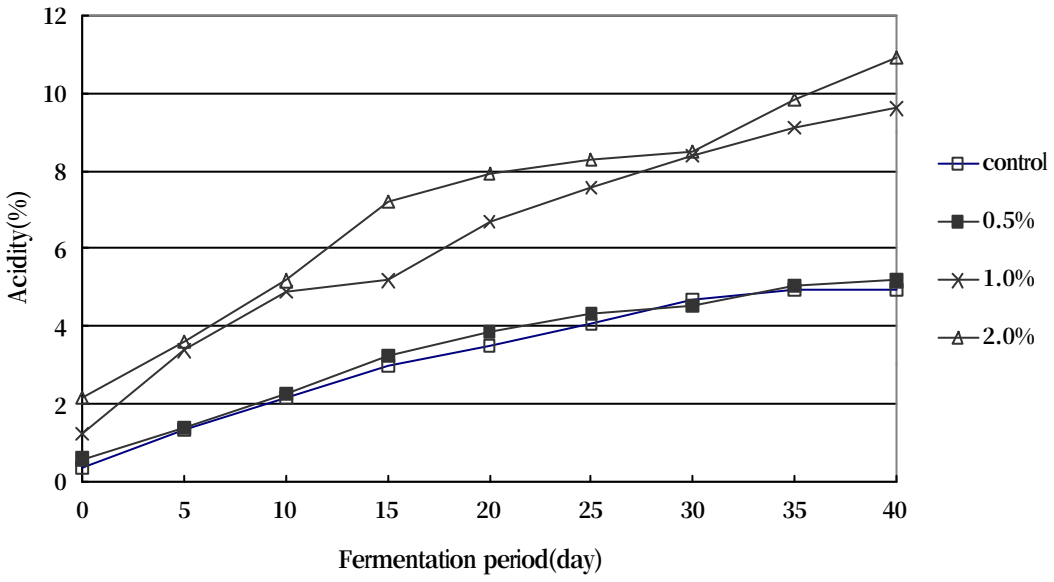


Fig. 4-5. Changes in acidity during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of acetic acid at different levels with batch culture.

2) 균수

초기 산도를 조절하여 초산 발효시킴으로써 초기 산도가 초산균의 생육에 미치는 영향을 관찰한 결과는 다음과 같았다. 초기 산도를 조절하지 않은 시료에 비해 초산을 첨가하여 발효시킨 시료에서 모두 초산균의 증식이 증가되었는데, 산도 2.0%, 1.0%, 0.5%, 대조군의 순으로 산도를 2%로 조절한 시료에서 초산균의 증식이 가장 두드러지게 나타났다. 이는 초기 산도를 높여 pH를 저하시킴으로써 기타 잡균의 증식을 억제하였기 때문에 초산균 증식에 적합한 조건이 이루어진 것으로 보인다 (Fig. 4-6).

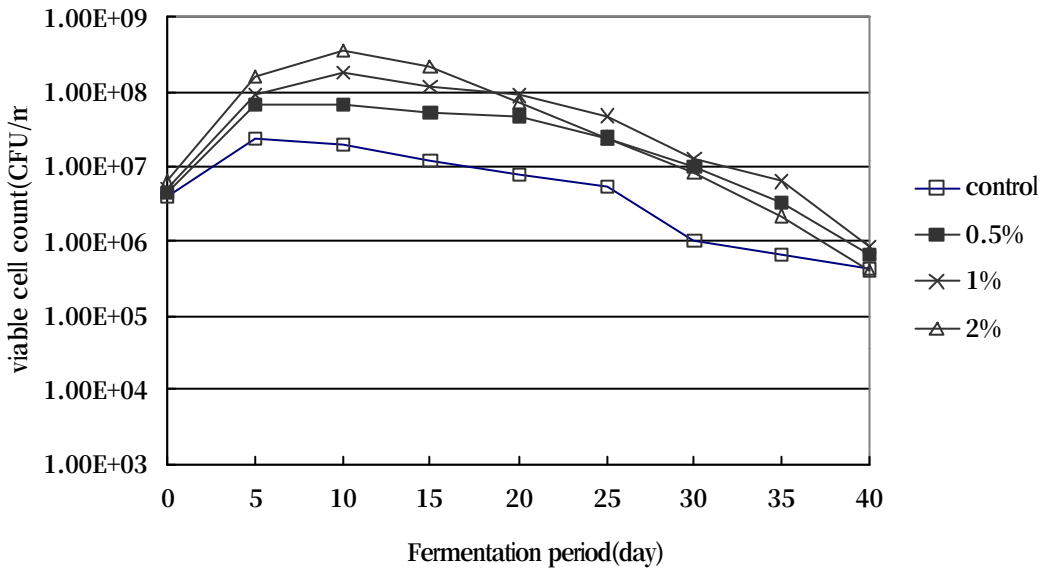


Fig. 4-6. Changes in viable cell count of acid producing bacteria during vinegar fermentation of acorn as affected by the addition of acetic acid at different levels with batch culture.

다. 발효온도에 의한 영향

1) 산도

발효 온도를 달리하여 초산 발효 시킨 결과는 다음과 같다. 발효 10일까지는 발효 온도로 인한 큰 차이가 보이지 않았으나 15일 이후에 20℃와 25℃시료의 증가도가 감소되어 산도가 낮게 측정되었다. 30℃ 시료의 경우 발효 25일 이후에 4% 이상의 산도를 나타내였으나, 25℃ 시료는 30일 발효시킨 이후에야 4%를 넘어섰고, 30℃ 시료는 35일 발효시킨 후에 4% 이상의 산이 생성되었다. 따라서 초산 발효시 발효온도는 30℃가 가장 적당한 것으로 나타났다(Fig. 4-7).

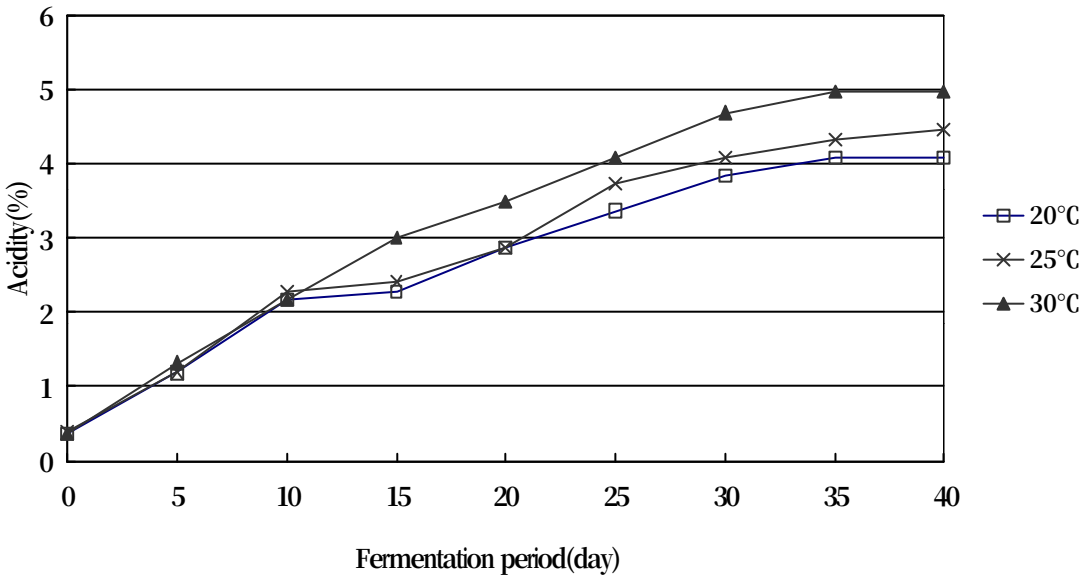


Fig. 4-7. Effect of fermentation temperature on the acid production during vinegar fermentation of acorn with batch culture.

2) 균수

발효 온도를 달리하여 정치배양한 시료의 초산 발효기간중의 초산균 생육 변화를 관찰하였다. 측정 결과, 30℃, 25℃, 20℃ 배양시료의 순으로 30℃에서 배양한 시료의 초산균수가 가장 높게 측정되었는데, 발효 10일까지 초산균수가 증가되어 2.3×10^{7}의 균수를 나타낸 후 감소되어 발효 40일에는 4.2×10^{6}의 균수가 측정되었다. 25℃에서 배양한 시료는 30℃ 배양 시료와 큰 차이를 보이지 않았으나, 20℃에서 배양했을 경우 두드러지게 초산균수가 감소된 점으로 보아 최소한 25℃이상의 온도에서 발효시키는 것이 효과적일 것으로 보인다(Fig. 4-8).

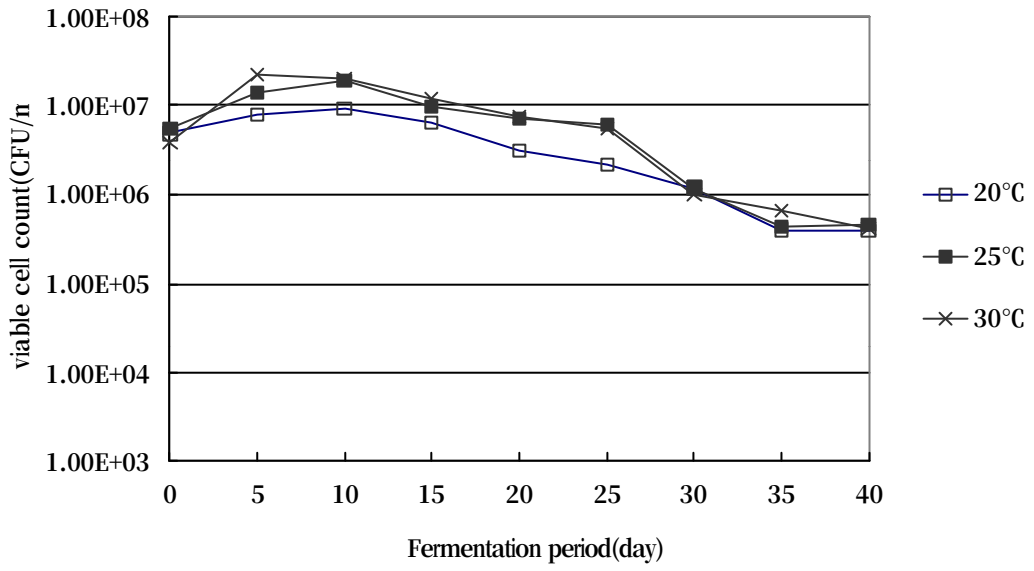


Fig. 4-8. Effect of fermentation temperature on the acid production during vinegar fermentation of acorn with batch culture.

라. 발효조건에 따른 유기산 생성

1) 경시적 유기산 변화

Alcohol 발효가 끝난 시료에 *Acetobactor aceti* KFRI 1026을 접종한 후 30℃에서 정치 배양하여 초산 발효시킨 발효액의 발효 기간에 따른 유기산 생성량을 알아보았다. acetic acid의 경우 발효 발효 15일까지 급격하게 증각한 후 점차 증가폭이 감소하여 발효 40일에 약 2.9%로 측정되었으며, citric acid와 α-ketoglutaric acid는 소량 증가하기는 하였으나 발효 기간동안 전반적으로 함량이 낮게 나타났다.

Lactic acid와 malic acid는 발효 40일에 각각 226.62mg%와 107.17mg%로 나타났으나 발효 0일의 함량외의 증가량은 크지 않았으며 발효 기간 중에 점차적으로 증가하였다. Succinic acid는 발효 15일 이후 급격하게 증가하여 발효 40일에 242.60mg%로 약 4배 가량 증가하였다(Table 4-7).

Table 4-7. Content of organic acid during acetic acid fermentation of acorn with batch culture at 30℃ (unit = mg%)

organic acid	Fermentation period (day)								
	0	5	10	15	20	25	30	35	40
acetic acid	216.32	870.22	1235.47	1611.05	1943.22	2281.42	2536.74	2724.95	2859.31
citric acid	11.68	13.21	18.42	20.80	22.94	23.39	24.46	24.98	25.64
α-KG	10.05	11.81	12.61	12.78	13.51	14.23	14.50	15.54	15.62
lactic acid	181.19	192.72	195.74	197.83	197.91	201.01	210.29	214.24	226.62
malic acid	86.13	93.32	93.55	95.32	95.77	96.73	100.08	103.10	107.17
succinic acid	62.09	76.25	76.30	149.69	193.82	204.19	232.12	241.09	242.60

*α-KG = α-ketoglutaric acid

2) 알콜함량에 따른 유기산 변화

도토리의 초산 발효중 생성되는 유기산을 측정한 결과는 다음과 같았다. 도토리 식초에서 acetic acid의 함량은 2~3% 정도로 유기산의 주된 성분으로 나타났고, acetic acid를 제외한 유기산 중 lactic acid, malic acid, succinic acid의 함량이 높게 측정되었다. 이취를 나타내는 lactic acid의 경우, 약 0.2% 이상의 수치를 나타내었고 alcohol 함량이 높을수록 증가되는 경향을 나타내었으나 모든 시료에서 발효 0일에 측정된 양과 큰 차이를 보이지 않았으므로 도토리 자체내에 함유되어 있는 양 이외에는 발효 기간 중의 증가량이 크지 않은 것으로 판단되었다. Citric acid의 생성량은 전반적으로 적게 나타났는데, alcohol 8%시료와 10% 시료에서 비교적 높게 측정되었으며, malic acid와 succinic acid는 alcohol 4%시료와 6% 시료에서 높게 나타났다. 향미가 우수한 유기산인 citric acid와 malic acid 및 succinic acid의 생성량을 과실초와 비교하자면, citric acid의 함량은 많이 부족했지만 malic acid와 succinic acid는 유사한 수준을 나타내어 유기산 보강에 의해 과실초로의 접근이 가능할 것이라고 판단되었다(Table 4-8).

* Acetic acid fermentation period(day) = 0							
		organic acid					
		acetic acid	citric acid	α-KG	lactic acid	malic acid	succinic acid
alcohol (%)	4	206.32	8.98	9.28	192.24	82.13	57.09
	6	273.12	8.29	9.76	182.46	89.49	59.88
	8	291.34	9.44	10.08	183.71	90.19	61.47
	10	285.54	8.18	8.97	187.65	83.62	62.06
* Acetic acid fermentation period(day) = 40							
alcohol (%)	4	3053.33	28.64	14.85	228.72	115.97	237.15
	6	2739.33	33.08	14.99	230.23	106.60	225.24
	8	2191.24	39.86	17.31	241.79	99.47	180.55
	10	1788.60	37.65	10.20	241.43	98.52	136.09

Table 4-8. Effect of alcohol concentration on organic acid content during acetic

acid fermentation of acorn with batch culture (unit = mg%)

*α-KG = α-ketoglutaric acid

3) 초산함량에 따른 유기산 변화

초산 첨가량이 초산 발효기간 중 유기산 생성에 미치는 영향을 알아보고자 초기 산 첨가량을 달리하여 30℃ incubator에서 40일간 정치배양한 시료의 유기산을 정량하였다. 초산 첨가에 의해 유기산 중 acetic acid 생성량이 매우 증가되었는데, 산도 2%시료의 경우 약 10%로 측정되어 초기 산 첨가가 초산 생성에 매우 효과적임을 알 수 있었다. 그러나, 산도 2% 시료의 경우 이취원인인 lactic acid 생성량이 증가된 반면, α-KG, malic acid, succinic acid의 생성이 저해됨으로써 유기산 조성면에서 바람직하지 않은 결과를 나타내었다. 따라서 초기 산도를 0.5~1.0% 수준으로 조절하는 것이 초산 생성뿐만 아니라 유기산 조성도 우수한 식초를 제조하는데 도움이 될 것으로 사료되었다(Table 4-9).

sample		organic acid					
		acetic acid	citric acid	α-KG	lactic acid	malic acid	succinic acid
* Acetic acid fermentation period(day) = 0							
acidity (%)	0.5	326.26	10.46	8.33	177.42	74.36	66.39
	1.0	640.25	11.65	8.25	180.81	75.63	68.42
	2.0	1243.65	8.23	9.34	187.56	65.49	68.56
* Acetic acid fermentation period(day) = 40							
acidity (%)	0.5	3322.79	28.21	16.29	198.98	96.68	234.53
	1.0	6170.28	28.10	17.83	194.21	95.68	208.07
	2.0	9837.88	36.25	14.33	240.04	88.34	92.37

Table 4-9. Effect of initial acidity on organic acid content during acetic acid fermentation of acorn with batch culture (unit = mg%)

*α-KG = α-ketoglutaric acid

4) 발효온도에 따른 유기산 변화

각각 20℃, 25℃, 30℃ incubator에서 40일간 초산 발효시킨 시료의 발효기간중 유기산 생성량을 측정하였다. 발효 40일째의 초산 생성량을 측정한 결과, 30℃시료, 25℃시료, 20℃시료의 순으로 30℃시료에서 가장 높은 초산량을 나타내었는데, 30℃ 발효시료가 초산 함량이 3.86%로 측정되었던 것에 비해 20℃ 발효 시료의 경우 2.56%에 지나지 않았다. 또한, 20℃에서 발효시킨 시료에서 α-KG와 succinic acid의 생성이 적게 나타나 발효에 적합하지 않은 온도임을 알 수 있었다. 그러나, citric acid와 lactic acid 및 malic acid는 발효 온도에 그다지 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Table 4-10).

sample		organic acid					
		acetic acid	citric acid	α-KG	lactic acid	malic acid	succinic acid
* Acetic acid fermentation period(day) = 0							
temperature (℃)	20	288.36	9.11	8.24	187.52	80.02	58.84
	25	279.34	8.49	9.08	161.08	75.43	60.25
	30	216.32	11.68	10.05	181.19	86.13	62.09
* Acetic acid fermentation period(day) = 40							
temperature (℃)	20	1556.33	26.68	8.93	224.90	112.63	172.55
	25	2275.28	26.45	10.62	176.54	107.73	204.16
	30	2859.31	25.64	15.62	226.62	107.17	242.60

Table 4-10. Effect of fermentation temperature on organic acid content during acetic acid fermentation of acorn with batch culture (unit = mg%)

*α-KG = α-ketoglutaric acid

5) 도토리식초와 종래시판 식초와의 pH 및 산도

도토리식초는 탄닌이 함유되어 있어 기존의 과일 및 곡류 양조식초보다 산도가 낮았으나 유자식초보다는 높았다(Table 4-11).

Table 4-11. pH and titratable acidity of acorn and commercial vinegar

시료	pH	산도(%)
도토리식초	2.87	4.12
사과식초	2.70	7.08
양조식초	2.56	6.60
유자식초	3.66	2.76
포도식초	2.40	7.20
순흑초	3.31	4.98
적초	2.90	5.64
곡물식초	2.74	4.38

사과식초제조원: 사과식초(오뚜기, 한국)
양조식초제조원: 양조식초(청정원, 한국)
순흑초제조원: 순흑초(중국양유식품병국공사, 중국)
포도식초제조원: Aceto Balsamico grape vinegar(CREMONINI, Italy)
적식초제조원: 적초(Youki, 홍콩)
곡물식초: 곡물초(Uchibori Vinegar, 일본)
유자식초제조원: ゆずぽん酢(三ツカソ, 日本)

6) 도토리 식초와 종래시판 식초와의 관능검사 결과

도토리식초와 종래시판 식초와의 관능검사 결과 시큼한 냄새, 알코올냄새, 이취에 대하여 시큼한 냄새와 이취에서 유의적인 결과가 나타났다(표1). 시큼한 냄새가 가장 강한 시료는 사과식초(한국산)이였으며, 도토리식초는 시큼한 냄새의 강도는 4.00±2.29로 보통정도였으며, 사과식초를 제외한 모든 시료군에서 비슷한 강도를 나타내었다. 알코올 냄새에 대해서는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 이취에 대해서는 유의적인 결과를 보였으며, 도토리식초의 이취는 보통수준으로 순흑초(중국산), 적초(일본산), 유자식초(일본산)과 유사하였다(Table 4-12).

Table 4-12. Aroma evaluation of acorn and commercial vinegar

시료명	시큼한냄새*	알코올냄새	이취*
사과식초	6.11±1.62^{a}	3.22±2.54	2.67±2.50^{c}
양조식초	5.67±1.66^{ab}	3.67±2.06	3.78±1.48^{bc}
도토리식초	**4.00±2.29^{bcd}**	**3.89±2.37**	**5.22±2.11^{ab}**
순흑초	2.44±1.67^{d}	2.78±1.92	6.39±1.87^{a}
포도식초	4.33±1.41^{abcd}	3.06±1.18	3.50±1.23^{bc}
적초	3.50±2.18^{cd}	2.78±1.79	6.17±2.26^{a}
곡물식초	5.11±2.03^{abc}	2.78±1.56	2.67±1.73^{c}
유자식초	3.28±2.20^{cd}	3.11±2.62	6.11±2.57^{a}
p value(df, F)	0.001(7, 3.901)	0.912(7, 0.377)	0.000(7, 5.575)

Values are Means±S.D.

a~d means in a column by different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's test.

도토리식초와 종래시판 식초와의 맛요소와 전체적인 기호도를 조사한 결과 모든 항목에서 유의적이였다(표2). 신맛에 있어서 도토리식초는 약한 경향을 보여 유자식초(일본산)과 유사한 결과를 얻었고, 단맛에 있어서도 약한 경향을 보였으며, 사과식초(한국산)와 곡물식초(일본산)와는 차이를 보였으며, 도토리식초는 유자식초(일본산)의 단맛과 비슷한 것으로 나타났다. 이미에 대해서는 도토리식초는 다른 시료와 차이를 보이지 않았다. 전체적인 기호도는 사과식초(한국산) > 곡물식초(일본산) > 양조식초(한국산) > 포도식초(일본산) > 적초(일본산) > 도토리식초 > 순흑초(중국산) > 유자식초(일본산)의 순서로 기호도를 보였다(Table 4-13).

Table 4-13. Taste evaluation of acorn and commercial vinegar

시료명	신맛*	단맛*	이미*	전체적인 기호도*
사과식초	7.06±1.33^{a}	4.78±1.92^{a}	2.67±2.55^{c}	7.89±0.78^{a}
양조식초	7.72±1.64^{a}	3.39±1.69^{abc}	2.44±1.51^{c}	4.39±2.03^{c}
도토리식초	**3.78±1.86^{b}**	**2.78±1.30^{bc}**	**4.56±2.30^{abc}**	**3.56±1.33^{cd}**
순흑초	6.22±2.49^{a}	3.50±2.18^{abc}	6.33±2.45^{a}	2.67±0.87^{de}
포도식초	6.72±1.52^{a}	3.22±1.64^{abc}	4.67±1.84^{abc}	4.33±0.71^{c}
적초	6.44±1.59^{a}	4.44±1.42^{ab}	5.17±2.32^{ab}	4.00±1.12^{c}
곡물식초	6.67±1.50^{a}	4.61±1.80^{a}	2.83±1.46^{bc}	6.06±1.38^{b}
유자식초	4.11±2.85^{b}	2.56±1.331^{c}	5.83±3.43^{a}	2.00±1.00^{e}
p value (df, F)	0.000 (7, 4.818)	0.038 (7, 2.288)	0.002 (7, 3.750)	0.000 (7, 21.209)

Values are Means±S.D.
a~e means in a column by different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's test.

따라서, 도토리식초 제조 실험 결과는 다음과 같았다.

1. 도토리를 당화시킨 후 탄닌 저항성이 크게 나타난 *Saccharomyces cerevisiae*를 접종하여 알콜 발효시킨 결과, 발효 3일 이후부터 알콜 생성량이 크게 증가되기 시작하였고 발효 6일 이후부터 3.03~3.05%의 일정 수준을 유지하였다.

2. 탄닌 저항성이 높은 *Acetobactor aceti*를 접종하고 발효 조건을 달리하여 초산 발효시킨 후 산도를 측정한 결과는 다음과 같았다.

· 초기 alcohol 농도를 4%로 조절한 시료에서 산도가 가장 높게 나타났으며 정치배양보다 진탕배양시 더 많은 산이 생성되었다.

· 초기 산도를 달리하여 초산 발효시킨 결과, 초기 산도를 2%로 조절한 시료에서 약 10.92%로 가장 높은 산도를 나타내였다.

· 초산 발효 온도에 따른 산 생성을 측정한 결과, 30℃, 25℃, 20℃의 순으로 30℃에서 발효시킨 시료에서 가장 산도가 높게 측정되었다.

3. 발효 조건을 달리하여 초산 발효시킨 후 초산균수를 측정한 결과는 다음과 같았다.

· 알콜 농도를 4%로 조절한 시료에서 가장 많은 균수가 측정되었으며, 진탕배양에 의해 초산균의 생육이 더욱 우수해지는 결과를 나타내였다.

· 초기 산도를 2%로 조절한 시료에서 발효 초기에 가장 높은 균수가 측정되었으나 발효 20일 이후부터 급격하게 감소되었다.

· 초산 발효 온도에 따른 초산균의 생육정도를 측정한 결과, 30℃, 25℃, 20℃의 순으로 30℃에서 발효시킨 시료에서의 균수가 가장 높게 측정되었다.

4. 초산 발효 조건에 따른 발효 기간 중 유기산 생성량을 측정한 결과는 다음과 같

았다.

· acetic acid의 함량은 3~10%로 측정되었고, 초기 알콜 농도 4%와 초기산도 2%, 발효 온도 30℃ 및 진탕 배양 조건에서 생성량이 많았다.

· citric acid의 함량은 모든 시료에서 전반적으로 낮게 측정되어 유기산 보충이 요구되었다.

· α-ketoglutaric acid의 함량은 0.01~0.02% 수준으로 함량이 적었고, 발효조건에 따라 큰 영향을 받지 않았다.

· lactic acid의 함량은 0.2~0.3% 정도로 측정되었으나 도토리 자체내의 양이외의 발효 중 증가량은 크지 않았다.

· malic acid와 succinic acid의 함량은 과실초와 비교했을 때 크게 뒤떨어지지는 않았으나 고농도의 alcohol과 높은 산도 조건에서 두드러지게 감소되는 경향을 나타내었다.

제 4절 참고문헌

1. Hill, A. F.. Economic Botany, Mcgraro-Hill Book Co., Inc., New York, (1937)

2. Fernald, H. and kinsey, A.. Edible wild plan of Eastern North America Academic press, Cornwall-on-Hudson, New York, (1937)

3. 松山利夫 : 李刑人, 類學, (1974)

4. 서지형, 정용진, 신승렬, 김광수 : 떫은감 탄닌성분이 감식초의 알콜발효에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지, 29(3), 407~411, 2000

5. 김동한, 이정성, 난지과실을 이용한 식초제조, 한국식품영양과학회지, 29(1), 68~75, 2000

6. Jeong, Y.J., S대, J.H., Lee, G.D., Park, N.Y. and Choi, T.H. : The quality comparison vinegar by two stage fermentation with commercial apple vinegar, *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 353-358, (1999)

제 5 장 도토리 식초 안정성 검토

제 1 절 서론

발효가 끝난 식초를 6개월 내지 1년 정도 숙성시키는 과정에서 식초의 강하고 탁한 향이 소실되고 mild flavor가 형성된다고[1] 보고한 바와 같이 식초를 적절한 조건에서 숙성시키면 발효액이 맑아지고 색이 안정해지는 효과를 얻을 수 있다. 그러나, 도토리 식초의 경우 도토리 중의 tannin 성분으로 인해 발효가 완료된 후에도 숙성 중 변색 및 침전이 일어나기 쉬우므로 이를 방지하기 위한 방안을 검토하여 안정한 제품을 만들고자 한다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

발효가 완료된 도토리 식초, gelatin(Wako, Japan), bentonite(Junsei, Japan), ascorbic acid(Showa, Japan), 12ℓ bottle, 500ml bottle, water bath(CHANG SHIN Scientific Co, Korea), incubator(SAM IK Science, Korea), No.2 여과지, Spectrocolorymeter(Hunter lab, USA), UV/VIS Spectrophotometer(Jasco, V-550, Japan)

2. 실험방법

가. 변색 및 침전 방지 조건

발효가 완료된 도토리 식초를 숙성시키는 과정에서 일어날 수 있는 변색 및 침전 방지 조건을 알아보고자 상등액을 No.2 여과지를 이용하여 여과하고 빛과 공기를 차단시킨 후 실온에 저장한 식초를 대조군으로 하였고, 다음과 같이 조건을 설정하여 30일간 숙성시켰다.

1) 저장 온도가 변색 및 침전에 미치는 영향

4℃ 저장, 빛차단; 10℃ 저장, 빛차단; 20℃ 저장, 빛차단; 30℃ 저장, 빛차단 조건으로 하였다.

2) 빛이 변색 및 침전에 미치는 영향

햇빛, 실온; 형광등, 실온 조건으로 하였다.

3) 산소의 접촉이 변색 및 침전에 미치는 영향

실온, 빛차단, 호기 조건으로 하였다.

4) 청징제 처리

Gelatin 0.1% 첨가, 빛차단, 혐기; gelatin 0.25% 첨가, 빛차단, 혐기; gelatin 0.5% 첨가, 빛차단, 혐기; gelatin 1.0%첨가, 빛차단, 혐기; bentonite 0.1%첨가, 빛차단, 혐기; bentonite 0.25%첨가, 빛차단, 혐기; bentonite 0.5%첨가, 빛차단, 혐기; bentonite 1.0첨가, 빛차단, 혐기 조건으로 하였다.

5) 변색 방지 조건

Ascorbic acid 0.1%첨가, 빛차단, 혐기; ascorbic acid 0.25%첨가, 빛차단, 혐기; ascorbic acid 0.5%첨가, 빛차단, 혐기; ascorbic acid 1.0%첨가, 빛차단, 혐기 조건으로 하였다.

그리고, gelatin과 bentonite 및 ascorbic acid 처리군의 경우 10℃에서 4일간 반응시켜 No.2 여과지로 여과한 후 30일간 숙성시켰다.

나. 색도 및 탁도 측정

도토리 식초의 색도는 Spectrocolorymeter(Hunter lab, USA)를 이용하여 L(light), a(red), b(yellow)를 측정하였고, 탁도는 UV/VIS Spectrophotometer(Jasco, V-550, Japan)를 이용하여 660nm에서 투과율(%)로 측정하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 도토리 식초의 숙성 조건에 따른 색도 측정 결과

가. 온도의 영향

도토리 식초의 숙성 중 온도에 의한 색의 변화를 측정한 결과, 30℃에서 숙성시킨 시료를 제외한 모든 시료가 room temperature에서 숙성시킨 시료에 비해 L, b 값이 증가되었고 a 값은 감소되었다. 10℃ 숙성 시료의 색도 측정 결과, L 값 79.41, b 값 37.08로 가장 높은 수치를 나타내었고 a 값은 0.75로 가장 낮은 수치를 보인 반면, 30℃ 숙성 시료는 L 값 73.68, b 값 36.87로 가장 낮았으며, a 값은 4.94로 가장 높은 수치를 나타내었다. 이들 시료 중 L 값과 b 값이 가장 높게 측정되었던 10℃ 숙성 시료의 색이 가장 바람직하다고 판단되었다(Fig. 5-1).

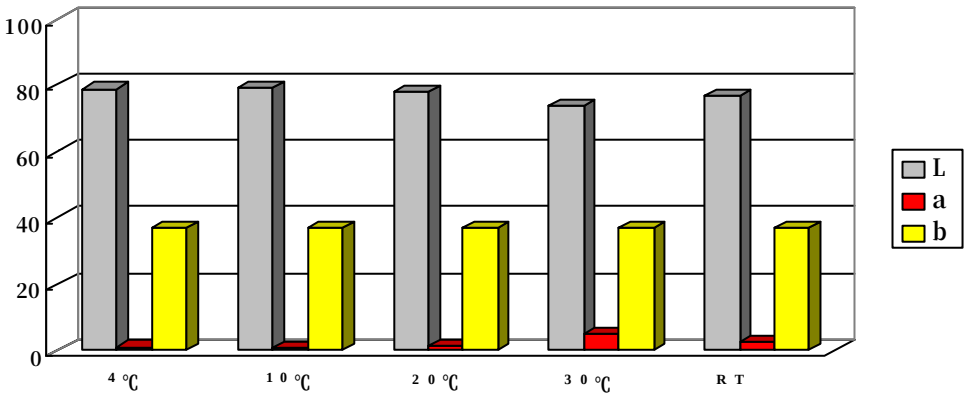


Fig 5-1. Comparison of colors according to temperature in acorn vinegars.

RT = room temperature (20~30℃)

나. 빛의 영향

햇빛과 형광등에 노출되어 30일간 숙성된 시료의 경우 빛을 차단한 대조군에 비해 L, b 수치가 낮아졌고, a 값은 증가되었다. 햇빛에 노출된 시료의 L 값이 74.54로 가장 낮았고, a 값은 3.65로 가장 높았으며, b 값은 대조군보다 높게 측정되었다(Fig. 5-2).

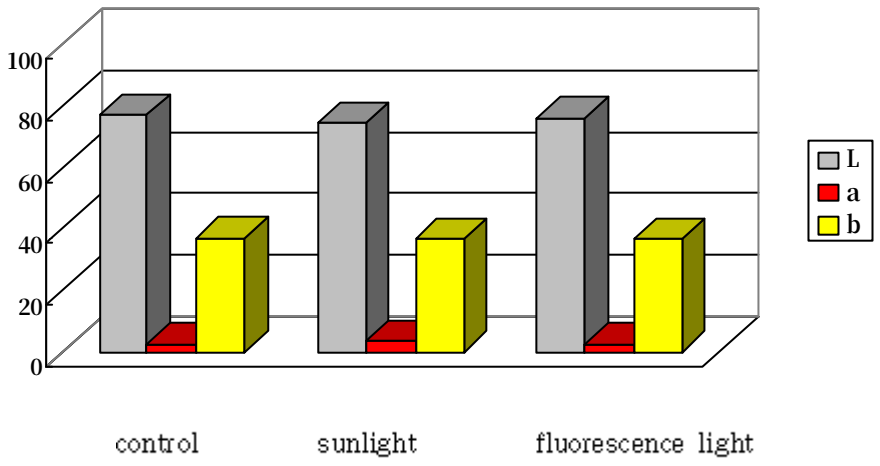


Fig. 5-2. Comparison of colors according to light in acorn vinegars.

다. 공기 접촉의 영향

공기를 차단한 대조군에 비해 공기와 접촉한 시료의 경우 L 값은 75.66으로 낮아진 반면, a 값과 b 값은 3.2와 37.23으로 더 높아져 외관상 좋지 않았으므로 공기를 차단하여 숙성시키는 것이 바람직할 것으로 보인다(Fig. 5-3).

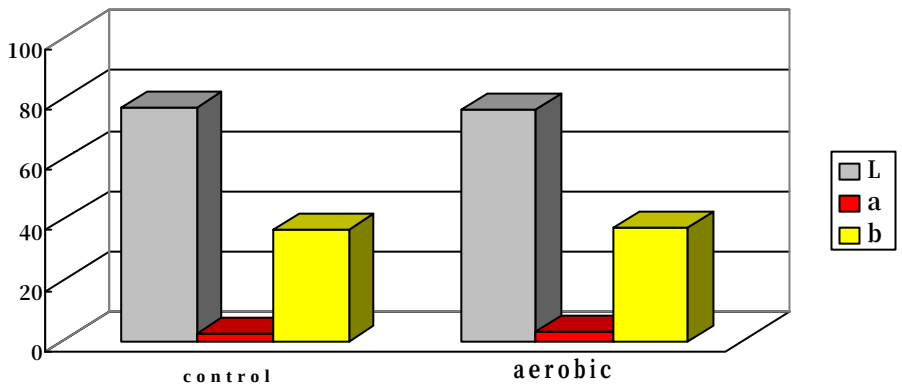


Fig. 5-3. Comparison of colors according to light in acorn vinegars.

라. 청징제의 영향

발효가 완료된 도토리 식초에 청징제의 종류 및 농도를 달리하여 10℃에서 4일간 처리한 후 여과하여 30일간 숙성시킨 시료의 색도를 측정한 결과는 다음과 같다. bentonite를 0.25%의 농도로 처리한 경우 L값 83.98으로 가장 높은 수치를 나타낸 반면, a값은 -3.91으로가장 낮은 수치를 나타내였다. 그러나 그 외의 농도에서는 오히려 대조군보다 L값이 모두 감소되었고, gelatin을 처리한 시료에서도 마찬가지로 0.1%의 농도를 제외하고는 모든 농도에서 L값이 감소되었다(Fig. 5-4).

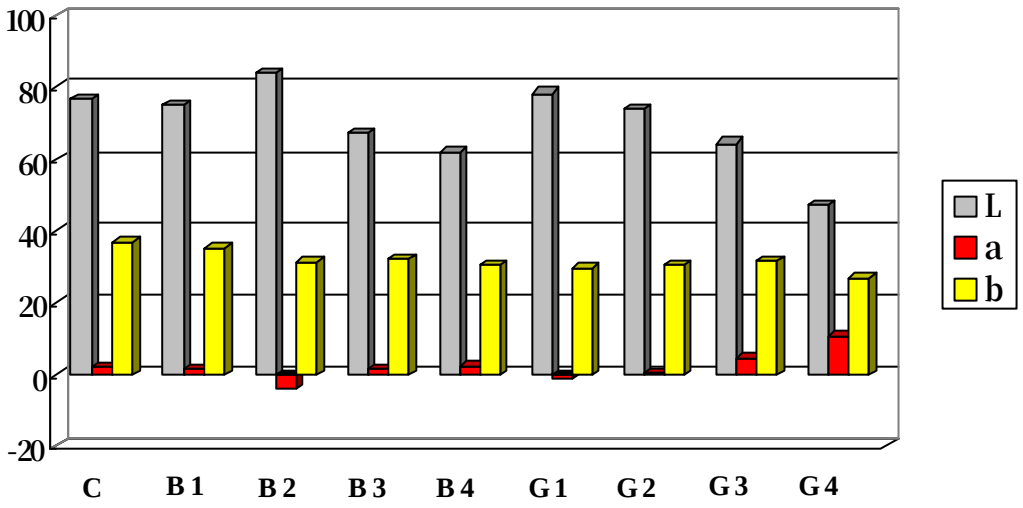


Fig. 5-4. Effect of clarifiers on color of acorn vinegars.
C: control B1: bentonite0.1% B2: bentonite0.25% B3: bentonite0.5% B4: bentonite1%
G1: gelatin0.1% G2: gelatin0.25% G3:gelatin 0.5% G4: gelatin1%

마. Ascorbic acid의 영향

발효가 완료된 도토리 식초에 ascorbic acid를 다양한 농도로 첨가하여 반응시킨 후 여과하여 30일간 숙성시킨 시료의 색의 변화를 측정한 결과는 다음과 같았다. ascorbic acid를 처리하지 않은 대조군에 비하여 0.5%와 1.0%의 농도로 처리한 시료의 L 값이 증가되었는데, 0.5% 처리 시료의 경우 77.78로 가장 높게 측정되었다. 1.0% 처리 시료에서 a 값이 가장 낮게 측정되었고 b 값이 가장 높았으며 0.25%로 처리한 시료는 L, a, b 값 모두 바람직하지 않게 나타났다(Fig. 5-5).

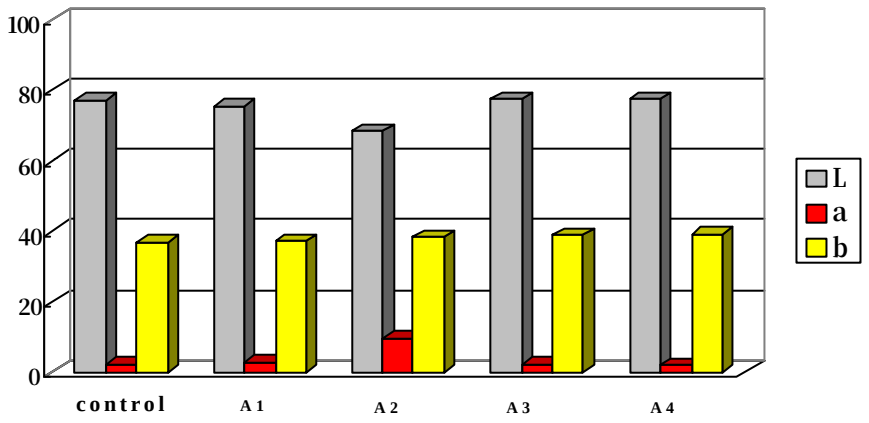


Fig. 5-5. Effect of ascorbic acid on color of acorn vinegars.
A1: ascorbic acid 0.1% A2: ascorbic acid 0.25% A3: ascorbic acid 0.5% A4: ascorbic acid 1%

2. 도토리 식초의 숙성 조건에 따른 탁도

가. 온도의 영향

발효가 완료된 액을 온도를 달리하여 30일간 숙성시킨 후 각 시료의 탁도를 측정한 결과는 다음과 같았다. 30℃에서 숙성시킨 시료를 제외한 모든 시료가 실온 저장한 시료(90.45%)보다 높은 수치를 나타내었고, 그 중 10℃ 저장 시료가 95.99%로 가장 높은 투과율을 나타내었는데, 색도 측정 결과에서도 마찬가지로 10℃시료의 수치가 가장 바람직했던 점으로 보아 숙성에 가장 적합한 온도로 판단되었다(Fig. 5-6).

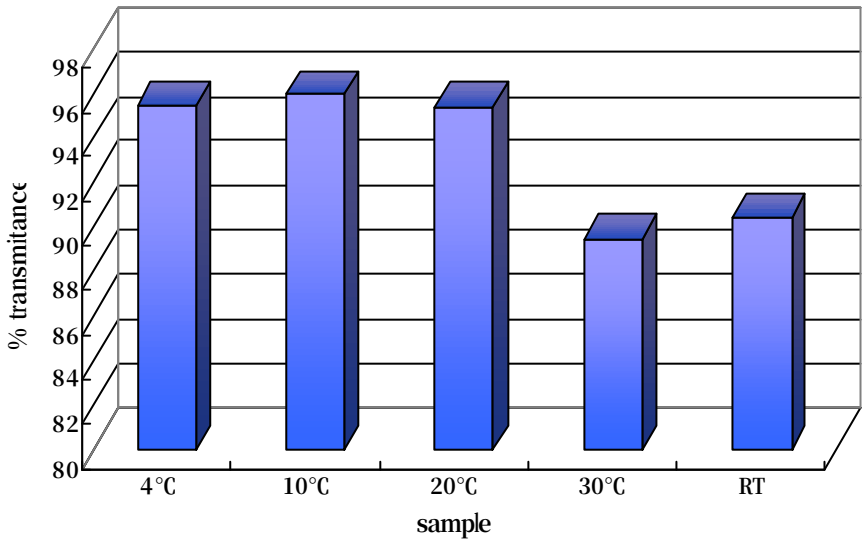


Fig. 5-6. Comparison of clarification according to temperature in acorn vinegars.

RT = room temperature (20~30℃)

나. 빛의 영향

햇빛과 형광등에 노출될 경우 이를 차단해서 숙성시킨 시료보다 모두 투과율이 감소된 점으로 보아 숙성시 빛을 차단하는 것이 바람직할 것으로 사료되었다(Fig. 5-7).

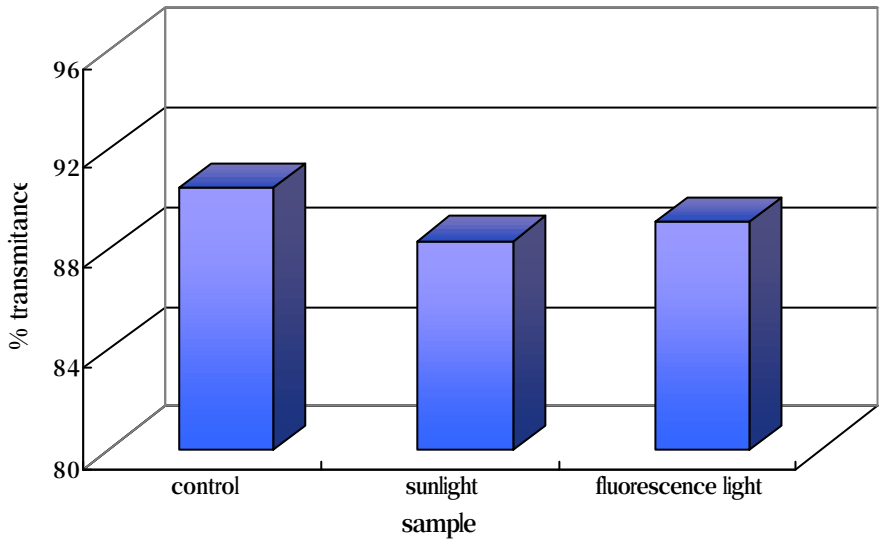


Fig. 5-7. Comparison of clarification according to light in acorn vinegars.

다. 공기 접촉의 영향

숙성 중 공기에 노출되었을 경우 투과율이 감소되어 식초의 청징에 영향을 미침을 알 수 있었으므로 숙성 중에는 공기를 차단하는 것이 바람직할 것으로 보였다(Fig. 5-8).

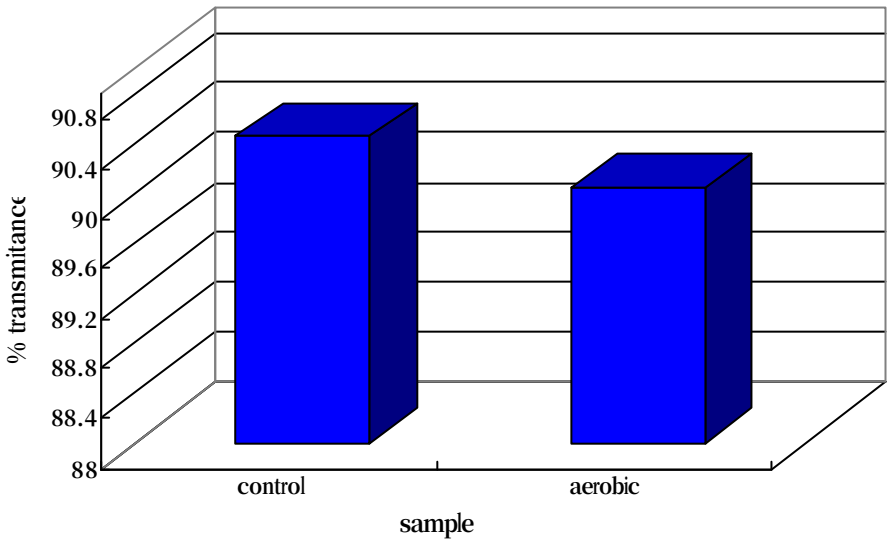


Fig. 5-8. Comparison of clarification according to aerobic condition in acorn vinegars.

라. 청징제 처리의 영향

숙성 중 청징제의 청징 효과를 검토하고자 발효가 끝난 액에 청징제의 종류와 농도를 달리하여 첨가한 후 10℃에서 4일간 반응시켜 여과, 숙성 시킨 시료의 탁도를 측정한 결과는 다음과 같았다. bentonite 0.25% 첨가시 투과율 96.5%의 수준으로 맑은 식초를 얻을 수 있었고 다음으로 bentonite 0.1% 첨가시료가 양호하였다. 그 외 시료에서는 그다지 청징 효과가 나타나지 않았다(Fig. 5-9).

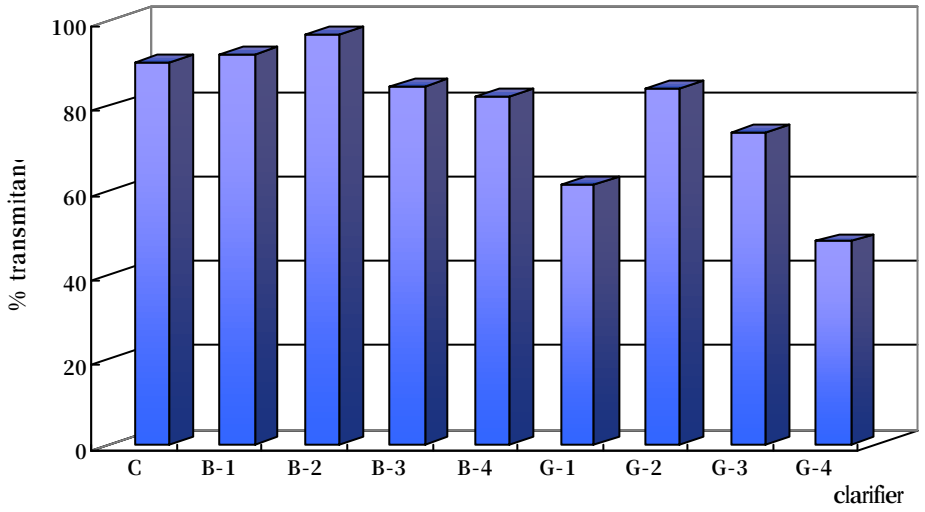


Fig. 5-9. Effect of clarifiers on clarification of acorn vineger.
C=control, B-1=bentonite 0.1%, B-2=bentonite 0.25%, B-3=bentonite 0.5%, B-4=bentonite 1.0%, G-1=gelatin 0.1%, G-2=gelatin 0.25%, G-3=gelatin 0.5%, G-4=gelatin 1.0%

마. Ascorbic acid 처리의 영향

발효가 끝난 도토리 식초에 ascorbic acid의 농도를 달리하여 첨가한 후 반응시켜 숙성시킨 시료의 탁도를 측정한 결과 모든 시료에서 높은 투과율을 나타내었는데, 특히 1.0%의 농도로 처리한 시료의 투과율이 97.38%로 측정되어 청징효과가 가장 뛰어남을 알 수 있었다(Fig. 5-10).

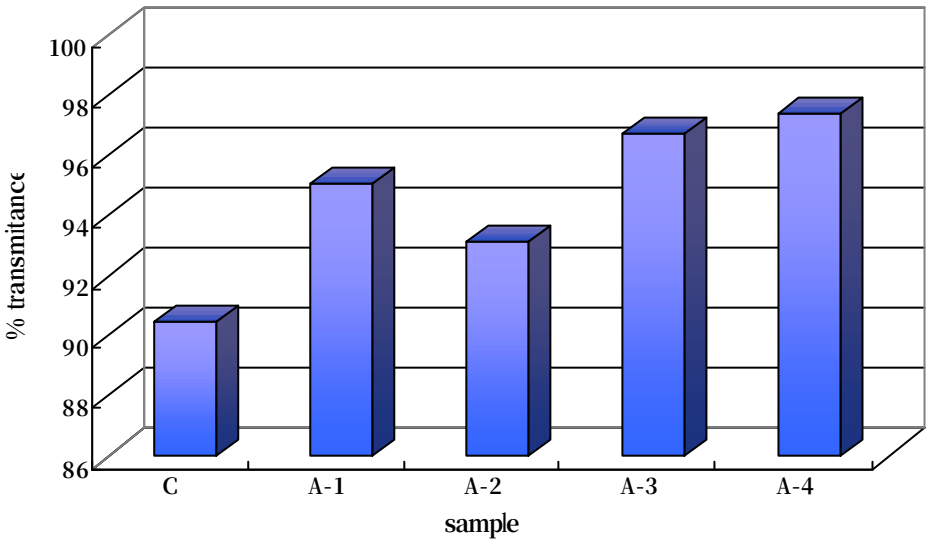


Fig. 5-10. Effect of ascorbic acid on clarification of acorn vinegars. C=control, A-1=ascorbic acid 0.1%, A-2=ascorbic acid 0.25%, A-3=ascorbic acid 0.5%, A-4=ascorbic acid 1.0%

따라서, 발효가 완료된 도토리 식초를 숙성시키는 과정에서 tannin 성분으로 인해 발생하기 쉬운 변색 및 침전을 방지하지 위한 방안을 검토한 결과는 다음과 같았다. 1. 10℃에서 숙성시키고, 빛과 공기에 노출되지 않으며, bentonite를 0.25%의 농도로 처리하거나 ascorbic acid를 0.5%, 1.0%로 처리한 시료에서 변색 방지 효과가 우수한 것으로 나타났다.

2. 저온(4~10℃)에서 숙성시키고 빛과 공기를 차단하며 , bentonite 0.1%, 0.25%처리 시료 및 ascorbic acid의 모든 농도에서 투과율이 증가되었는데, 이 중 ascorbic acid 1.0% 처리 시료가 97.38%로 가장 높은 청징 효과를 나타내였다.

제 4절 참고문헌

1. Kim, D.H.: Studies on the production of vinegar from fig. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 53-60, 1999

2. Hwang, O.S., Park, H.J., Chun, H.K and Chang, C.M. : A Study on the manufacturing of vinegar from fallen apples. Res. Rept. RDA, 32, 40-47, 1990

3. 김동환 : 무화과를 이용한 식초 제조에 관한 연구, 한국식품영양과학회지, 28(1), 53-60, 1999

4. 김동환, 이정성 : 난지과실을 이용한 식초 제조, 한국식품영양과학회지, 29(1), 68-75, 2000

5. 이기동, 정용진, 서지형, 이진만 : 반응표면분석에 의한 감자의 알콜 및 초산발효 조건 모니터링, 한국식품영양과학회지, 29(6), 1062-1067, 2000

6. 이동상, 류일환, 이갑상, 신용서, 전승호 : *Acetobacter* sp.를 이용한 알로에 식초의 발효조건 및 Lipaseg활성 저해효과, 한국농화학회지, 42(2), 105-110, 1999

7. 정용진, 이기동, 이명희, 여명재, 이경훤, 최신양 : 감식초 청징화를 위한 pectinase 처리조건의 모니터링, 한국식품영양과학회지, 28(4), 810-815, 1999

8. 한 억: 전통 식초의 산업화 기술과 전망, 식품기술, 10(1), 69-77, 1997

9. 正井博之 : 食品 の 熟成 (佐藤信 監修), 光琳, 218, (1989)

제 6 장 도토리를 이용한 식초음료 제조

제 1 절 서론

식초는 동서양을 막론하고 오랫동안 우리의 식생활과 밀접한 관계를 가져온 발효식품으로 산미료 이외에도 식품보존효과와 의약용으로 이용되어 왔다 .최근에 발효식초[8]는 소화액의 분비촉진, 피로회복, 당뇨병과 비만, 혈압상승, 노화방지와 혈중 알콜농도 상승지연, 항종양 효과등 그 기능성이 주목을 받고 있다. 더불어 독특한 풍미를 갖는 발효식초는 식생활의 다양화로 그 수요는 날고 증가 추세에 있다. 이에 따라 과실의 향이나 유효성분을 이용한 포도[1], 사과[2], 단감[3], 유자[9], 무화과[10], 배[11] 등의 과실초 발효과 쌀, 맥아, 보리당화액, 감자등의 곡물식초, 인삼성분이나 마늘, 양파, 알로에를 이용한 기능성 식초[13]의 제조가 시도되고 있다. 따라서 본 연구에서는 도토리를 이용한 건강 별미 식초 음료 개발의 일환으로 도토리 식초를 이용하였다.

도토리는 구내염, 대장염, 설사, 위장병 인후통, 강장 주름 제거 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져있으며(구황식물도감, 호남작물시험장), 도토리가 함유한 주요 탄닌 성분중에 하나인 gallic acid는 우수한 천연항산화제로 알려져 있다. 도토리를 이용한 식품으로는 주로 묵, 국수등의 구황식품으로 이용되고 있으며, 그 외의 도토리에서 탄닌분해효소 생상균주로 탄닌을 분해하고 알코올 발효를 하여 술제조 가능성을 연구한 실험도 보고되어지고 있다. 그러나, 도토리를 이용한 식초발효에 관한 연구는 없는 실정이다. 따라서 탄닌 성분에 의한 기능성이 인정되고 있는 전통감식초와 같이 기능성을 가진 도토리를 이용한 건강 별미 식초 음료를 개발하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

발효가 완료된 도토리 식초, glucose, ascorbic acid(Showa, Japan), 12ℓ bottle, 500ml bottle, water bath(CHANG SHIN Scientific Co, Korea), incubator(SAM IK Science, Korea), No.2 여과지, Spectrocolorymeter(Hunter lab, USA), UV/VIS Spectrophotometer(Jasco, V-550, Japan), HPLC(Jasco, PU-980, Japan)

2. 실험방법

가. 유기산 재배합

도토리 식초를 이용한 과일식초 제조는 HPLC 분석 및 문헌상의 유기산 조성을 응용하여 도토리식초의 유기산을 재조정하였다.

나. 식초음료의 관능검사

「시큼한 냄새」,「전체적인 기호도」에 대하여 9점척도로 검사한 후, one-way ANOVA로 분석하여 유의성이 있는 항목에 대해서는 DMRT(Duncan's Multiple Range Test)로 검증하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 과일형 도토리식초의 제조

가. 유기산 재배합

문헌에 따른 각 과실초의 유기산 조성은 Table 6-1과 같다.

Table 6-1. Organic acid profile of fruits vinegar(mg%)

Grape vinegar[1)]		Apple vinegar[2)]		Persimmon vinegar[3)]	
Oxalic acid	28.2	Oxalic acid	64.8	Acetic acid	4233.0
Tartaric acid	340.0	Tartaric acid	38.3	Tartaric acid	47.3
Lactic acid	186.3	Malic acid	427.1	Lactic acid	32.6
Acetic acid	5305.6	Lactic acid	41.2	Citric acid	20.5
Citric acid	141.4	Acetic acid	4601.7	Fumaric acid	0.6
Succinic acid	21.9	Citric acid	89.9	β-GA*	290.0
		Succinic acid	67.8		

* β-GA: β-galacturonic acid

증류수에 Table 6-1의 과실초의 유기산 함량대로 재배합하여 용액을 만들어 신맛, 향, 전체적인 기호도에 대해서 5명의 관능요원에게 실험목적 및 평가항목들에 대해 설명하고 9점척도법으로 검사를 실시하였다. 9점은 매우좋거나, 강함이고, 0점은 매우싫거나, 약함이었으로 평가하였다. 결과의 통계처리는 SAS 8.3을 사용하였으며, 신뢰수준 5%에서 분산분석(ANOVA: Analysis of variance)를 하여 다중검증법(DMART: Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검정하였다(Table 6-2).

Table 6-2. Acceptability of fitting solution with the contents of organic acid by fruits vinegar

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Grape	9.17±0.75	2.67±1.37^{a}	4.00±2.37^{a}
Apple	8.83±0.98	1.50±0.84^{ab}	1.50±0.84^{b}
Persimmon	8.83±0.98	1.17±0.42^{b}	1.33±0.52^{b}
p-value (df, F value)	0.77 (2, 0.27)	0.04 (2, 4.09)	0.01 (2, 6.12)

Values are Means±S.D.

a and b means in a column by different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's test.

각 과실초의 유기산만을 재배합하여 관능검사를 실시한 결과는 Table 6-2와 같았다. 신맛이 매우 강하고, 향과 전체적인 기호도는 매우 낮아 평가가 어려웠다. 신맛의 경우 유의적인 차이는 없었으나 포도의 경우가 사과와 단감에 비해 신맛을 더 느끼는 것으로 나타났고, 향과 전체적인 기호도는 유의적인 차를 보였으나 모두 기호성이 매우 낮음을 알 수 있었다. 그러나 포도의 경우가 전체적으로 우수한 경향(Fig. 6-1)을 보였다.

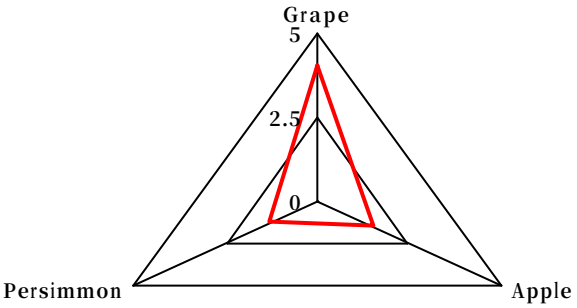


Figure1. QDA profile's acceptability of acorn vinegar

나. 당 첨가 효과

식초의 성분중 당의 함량은 약 5%[4]로 기술되어 있다. 각 과실초의 유기산을 재배합하여 만든 용액에 보당을 하여 관능검사를 실시하였다. 평가방법은 1)과 같다.

Table 6-3. Acceptability of fitting solution with sugar by frits vinegar

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Grape	7.80±0.83	4.20±1.30	5.20±1.48
Apple	7.00±1.00	3.00±0.71	3.80±1.30
Persimmon	6.40±1.14	2.80±0.84	3.60±1.67
p-value (df, F value)	0.13 (2, 2.47)	0.09 (2, 2.97)	0.22 (2, 1.70)

Values are Means±S.D.
Means are not significantly different at $p<0.05$.

가 항에서 유기산만을 재배합하여 만든 용액에 당(설탕)을 5% 첨가하여 관능검사를 실시한 결과 Table 6-3과 같았다. 신맛, 향, 전체적인 기호도 모두 유의적인 차

이를 보이지 않았으나, 유기산만을 재배합하여 만든 용액보다 기호성은 높아진 것으로 나타났다. 또한 포도의 경우가 사과, 단감의 보당보다 기호성이 좋은 것으로 나타났다.

다. 알콜 첨가 효과

과실초는 알코올 발효로 제조되어 본 연구에서는 식초와 비슷한 맛을 내기 위하여 알코올을 5%[4]첨가하여 관능검사를 실시하였다(Table 6-4). 평가방법은 가항과 같다.

Table 6-4. Acceptability of fitting solution with alcohol on grape vinegar

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Grape	7.80±0.84	4.20±1.30	3.60±1.81
Apple	7.00±1.00	3.00±0.70	4.40±0.89
Persimmon	6.60±1.14	2.80±1.30	4.00±1.22
p-value (df, F value)	0.20 (2, 1.87)	0.15 (2, 2.21)	0.66 (2, 0.43)

Values are Means±S.D.
Means are not significantly different at $p<0.05$.

유기산과 보당이 재배합된 용액에 알코올을 첨가하여 관능검사를 한 결과는 Table4와 같다. 신맛, 향, 전체적인 기호도 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다. 유기산만을 재배합한 용액보다는 기호성은 향상되었으나, 보당을 한 관능검사와는 비슷한 수준이였다. 1), 2)에서와 마찬가지로 알코올 첨가의 결과에서도 포도의 경우가 기호성이 높은 것으로 나타났다.

라. 인공향 첨가 효과

유기산 재배합, 보당, 알코올첨가 용액에서 기호성이 가장 좋았던 포도에 여러종류의 인공향을 0.1%첨가하여 기호성을 살펴보았다. 인공향의 종류에는 포도향(RFE-0436), 사과향(AFA-0505), 오렌지향(LFE-0363), 복숭아향(HFE-0446), 과일혼합향(LFE-03145)이였으며, 모두 삼화향료(주)의 제품을 사용하였다. 향의 선호도에 대해서 평가하였으며, 통계분석은 1)과 같다.

Table 6-5. Acceptability of fitting solution with artificial flavor on grape vinegar

Artificial flavor	Flavor preference
Grape	7.60±1.14
Apple	6.80±1.30
Orange	5.60±2.30
Peach	6.00±1.58
Fruits mix	5.20±0.45
p-value (df, F value)	0.11 (4, 2.11)

Values are Means±S.D.
Means are not significantly different at $p<0.05$.

과일향이 나는 인공향미의 종류별로 1), 2), 3)에서 기호성이 가장 좋았던 포도의 재배합용액에 대하여 향의 기호성을 평가한 결과 유의적이지 않았다. 그러나 포도향이나, 사과향에서 기호성이 높은 것으로 나타났고, 과일믹스향은 단독 과일향에 비해 기호성이 낮은 것으로 나타났다.

2. 도토리 식초 음료 제조

가. 유기산 재배합

개발되어진 도토리 식초의 유기산과 시판되고 있는 과실초중 포도, 사과, 매실, 유자, 스시용 식초의 유기산을 분석하여 도토리식초에서 부족되어진 유기산을 각 과실초에의 유기산으로 보충시킨 후 신맛, 향, 전체적인 기호도에 대하여 5명의 관능요원에게 실험목적 및 평가항목들에 대해 설명하고 9점척도법으로 검사를 실시하였다. 9점은 매우좋거나, 강함이고, 0점은 매우싫거나, 약함이었으로 평가하였다. 결과의 통계처리는 SAS 8.3을 사용하였으며, 신뢰수준 5%에서 분산분석(ANOVA; Analysis of variance)를 하여 다중검증법(DMRT; Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검정하였다.

유기산 분석은 Jeong 등[1]의 방법에 따라 도토리 식초와 시판용 과실초에 hexane처리하여 지질성분을 제거하고 0.45㎛ membrane filter와 Sep-pak C18로 색소와 단백질 성분을 제거하여 HPLC(Agilent 1100, HP U.S.A)로 분석하였다. Column은 XDB-C18(4.6×250mm)을 이용하였고, UV detector(Agilent DAD 210nm)를 사용하였으며, Water(0.01N H_2SO_4함유)를 Eluent로 하여 flow rate 1.0ml/min로 실험하였다. Injection volume은 5㎕로 하여 동일한 조건으로 표준품을 측정한 후 각 유기산을 정량하였다.

도토리 식초는 40일 발효가 된 것을 이용하였고, 각 과실초는 포도식초가 Aceto Balsanico grape vinegar(CREMONINI, Italy), 사과식초가 ハチミツりんご酢(ヨコキ, 日本), 매실식초가 すだち酢(木頭, 日本), 유자식초가 ゆずぽん酢(三ツカソ, 日本), 스시용식초가 すし酢(三ツカソ, 日本)인 제품을 시중에서 구입하여 분석시료로 사용하였다(Table 6-6).

Table 6-6. Organic acid profile of acorn vinegar and commercial vinegar(mg%)

Compounds	Control**	Grape	Apple	Ume	Citron	Fish
Acetic acid	3859.31	5482.77	1732.62	261.15	114.20	2931.81
Citric acid	25.64	271.10	26.42	4842.92	4922.90	248.79
α-KG*	15.62	22.70	5.61	7.04	7.09	6.54
Lactic acid	226.62	625.21	54.20	277.37	385.79	94.35
Malic acid	107.17	293.04	26.47	585.41	423.23	50.90
Succinic acid	242.60	96.90	49.84	278.12	266.32	260.11

* α-KG: α-ketoglutaric acid

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days

도토리 식초와 시판용 과실초의 유기산을 분석한 결과 Table1과 같았다. 포도의

경우 Acetic acid와 Citric acid, α-ketoglutaric acid, malic acid양은 도토리 식초의 유기산 함량보다 많아 도토식 식초에 보충이 필요하였고, 전체적으로 citric acid, malic acid의 함량 보충이 필요하였다.

Table 6-7. Acceptability of fitting acorn vinegar with the organic acid on fruits vinegar(mg%)

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Control**	4.80±1.30^{c}	3.40±0.89^{d}	2.60±0.89^{b}
Grape	6.80±1.30^{b}	5.20±0.84^{bc}	3.20±0.84^{b}
Apple	8.60±0.55^{a}	7.00±0.71^{a}	4.80±0.84^{a}
Ume	5.40±1.14^{c}	6.00±0.71^{ab}	2.60±1.14^{b}
Citron	6.00±1.22^{c}	4.40±1.14^{cd}	2.80±1.30^{b}
Fish	6.60±1.14^{b}	3.20±1.10^{d}	2.60±0.55^{b}
p-value (df, F value)	0.01 (5, 6.73)	0.00 (5, 13.31)	0.01 (5, 4.08)

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid supplement
Values are Means±S.D.
a, b, c and d means in a column by different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's test.

도토식 식초에 각 과실초의 유기산을 보충하여 관능검사를 한 결과는 Table 6-7와 같다. 신맛, 향, 전체적인 기호도 모두 유의적으로 나타났으며, 모든 항목에 대하여 사과식초의 유기산 조성으로 보충한 도토리식초의 경우가 기호성(figure2)이 가장 좋았다. 유기산을 보충하지 않은 Control과 비교한 결과 각 과실초의 유기산을 보충한 항목들이 기호성은 좋은 것으로 나타나 과실음료처럼 도토리 식초를 음료로서의 가능성을 볼 수 있었다. 그러나 유기산만으로 보충한 것의 점수는 전체적인 기호도에서 중간수준에도 못 미치는 것으로 전반적으로 낮은 경향을 보여 당, 기능성 물질등의 보충이 필요되어짐을 시사하였다(Fig. 6-2).

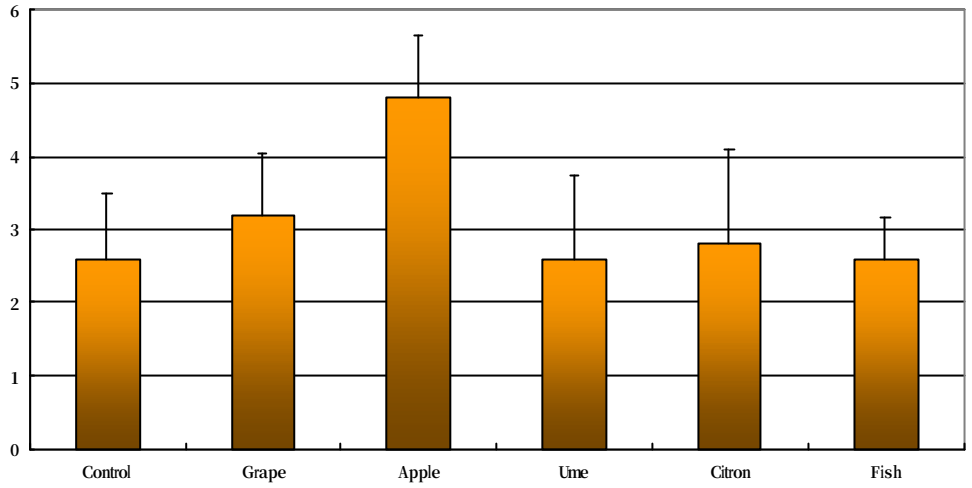


Figure2 Acceptability of acorn vinegar + organic acid supplement

나. 당 첨가 효과

도토리 식초의 당함량은 2~3%로 대부분의 식초 당함량인 약 5%[4]수준에 미치지 못하여 본 연구에서는 5%수준으로 당을 첨가하였다. 관능검사방법과 통계분석은 1)과 같았다.

Table 6-8 . Acceptability of fitting acorn vinegar with the sugar on fruits vinegar(mg%)

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Control**	5.40±0.55	5.60±0.89^{b}	4.20±0.84^{bc}
Grape	7.00±0.71	5.40±0.55^{b}	5.20±0.84^{b}
Apple	7.00±1.58	7.40±0.55^{a}	6.60±1.14^{a}
Ume	6.00±1.41	5.60±1.14^{b}	4.20±0.84^{bc}
Citron	6.00±1.58	5.80±0.84^{b}	5.20±0.84^{b}
Fish	6.40±1.14	6.40±1.14^{ab}	3.40±1.14^{c}
p-value (df, F value)	0.29 (5, 1.31)	0.01 (5, 6.93)	0.01 (5, 3.62)

각 과실초의 유기산을 보충한 도토리 식초에 당을 5%수준으로 보충한 관능검사 결과 Table3와 같았다. 보당의 효과는 향과 전체적인 기호도에서 유의적으로 나타났으며, 유기산 보충의 결과와 마찬가지로 사과초의 조성으로 보충한 것이 기호성이 좋게 나타났다. 위의 합성식초의 기호도에서는 포도초의 조성보충이 좋은 것으로 나타난반면, 도토리식초에서는 사과초의 조성 보충이 기호성이 더 좋은 것으로 나타났다(Figure 6-3). 따라서 도토리 식초음료 제조 개발에 있어서 사과식초음료로서 접근하는 것이 바람직하다고 생각하였다.

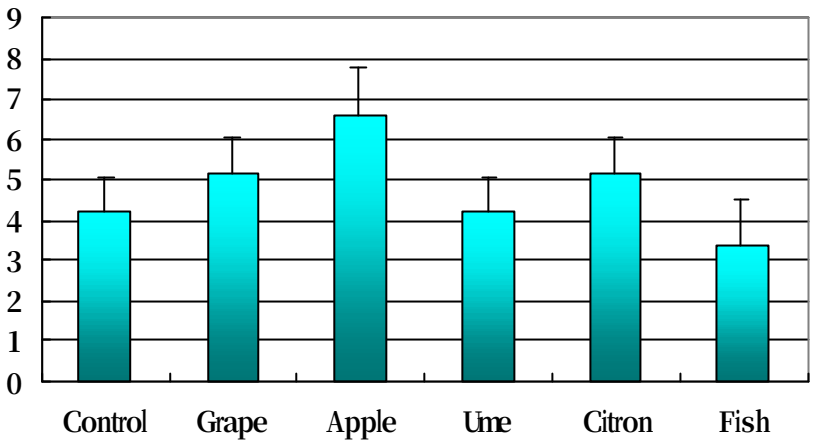


Figure3. Acceptability of acorn vinegar + organic acid, sugar

다. 인공향 첨가 효과

각 과실초 유기산 보충과 보당을 통해 기호성이 가장 좋았던 사과초의 조성에 여러 종류의 인공향을 0.1% 첨가하여 기호성을 살펴보았다. 인공향의 종류에는 포도향(RFE-0436), 사과향(AFA-0505), 오렌지향(LFE-0363), 복숭아향(HFE-0446), 과일혼합향(LFE-03145)이였으며, 모두 삼화향료(주)의 제품을 사용하였다. 향은 선호도에 대해서 평가하였으며, 통계분석은 가 항과 같다.

Table 6-9 . Acceptability of fitting acorn vinegar with the artificial flavor on apple vinegar(mg%)

Artificial flavor	Flavor preference
Control**	5.40±0.55^{bc}
Grape	5.00±1.41^{c}
Apple	7.80±0.45^{a}
Orange	6.40±1.52^{abc}
Peach	5.80±1.30^{bc}
Fruits mix	6.80±1.30^{ab}
p-value (df, F value)	0.01 (5, 3.80)

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid, sugar supplement + artificial adding

Values are Means±S.D.

a, b and c means in a column by different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's test.

인공향 0.1%를 첨가하여 도토리식초의 기호성을 평가한 결과 사과향이 다른 과일향에 비해 우수한 것으로 나타났다. 앞서 유기산보충과 당보충의 결과에서 사과의 기호성이 좋은 것(Figure4)과 일치하는 것으로 사과식초음료로서의 제조개발이 하여야 한다고 사료되었다.

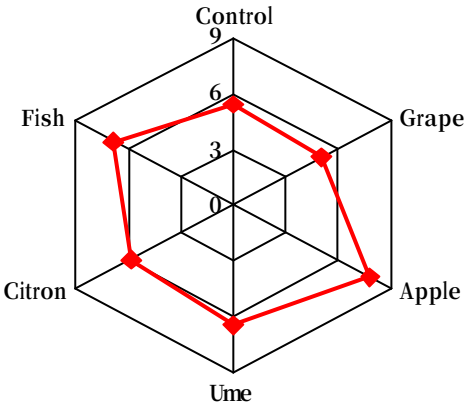


Figure4 QDA profile's acceptability of control**

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid, sugar supplement + artificial adding

라. 적정 음용 희석배수 설정

도토리 식초 음료개발을 위하여 유기산 보충, 보당, 인공향첨가의 도토리 식초를 음료로서의 적합성을 평가하기 위하여 적정희석배수를 알아보았다. 사과식초의 조성으로 유기산과 당을 보충하고, 인공향도 사과향을 첨가하여 2배, 4배, 5배, 6배로 희석하여 적정 희석배수를 설정하였다. 관능검사과 통계분석은 1)과 같았다.

Table 6-10. Acceptability of diluted acorn vinegar

Sample	Sour	Flavor	Overall preference
Control	7.67±0.58^{a}	5.33±0.58	1.67±0.58^{c}
double dilution	5.67±0.58^{b}	5.00±1.00	4.67±1.53^{b}
4times dilution	5.67±0.58^{b}	7.00±1.00	7.00±1.00^{a}
6times dilution	4.00±0.00^{c}	6.33±2.89	4.33±0.58^{b}
p-value (df, F value)	0.01 (2, 27.00)	0.46 (3, 0.95)	0.01 (3, 14.31)

** Control: The optimum dilutde times of acorn vinegar of fermentation during 40 days
+ organic acid, sugar supplement + artificial adding

Values are Means±S.D.

a and b means in a column by different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's test.

도토리 식초를 희석하여 음료로서의 적합성을 알아보기 위하여 관능검사를 통해 최적의 희석배수를 알아본 결과 Table 6-10과 같았다.

희석배수에 따라 신맛은 유의적으로 약한 것으로 나타났으며, 향은 유의적인 차가 없었다. 전체적인 기호도는 4배희석한 도토리식초음료가 가장 좋은 것으로 평가되어 도토리 식초를 음료로 희석하는 적정 농도는 4배희석한 것으로 나타났다.

마. 기능성물질 첨가 효과

가~나 항의 연구를 통해 최적의 도토리 식초 음료는 사과식초의 유기산 보충과 당 보충, 사과향, 4배의 희석된 적합것으로 나타나 그 음료로 기능성 물질을 첨가하여 건강별미 음료제조하였다.

기능성 물질중 항고혈압, 항균작용 및 다이어트 효과로 잘 알려진 키토산[5]과 비피더스균의 증식인자로 알려진 갈락토올리고당[6]을 각각 0.1% 첨가하여 도토리식초 음료에 기능성을 첨가하여 기호성을 살펴보았다. 또한 검질의 한 성분인 Sodium Alginate(藥理化學, Japan)를 농도별로 첨가하여 음료의 점성과와 기호성을 살펴봄으로서 건강 별미 도토리 식초음료를 개발하였다.

키토산과 올리고당을 각각 0.1% 첨가하여 비교한 결과는 Table6과 같다. 유의적

인 차는 없었으나, 키토산과 올리고당을 첨가하지 않은 시료와 비교하여 볼 때, 키토산과 올리고당을 첨가한 시료가 선호도가 높았음을 알 수 있었다.

Table 6-11. Acceptability of acorn vinegar beverage with chitosan and galacto oligosaccharides

Sample	Overall preference
Control**	6.40±1.14
chitosan+oligosaccharides 0.1%	7.60±1.14
p-value (df, t value)	0.13 (4, 1.66)

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid, sugar supplement + artificial adding + functional materials adding
Values are Means±S.D.

Gum질[7]은 점도가 크며 특유한 성질을 가진 다당류에 속하는 물질을 가져 식품 가공에 널리 이용되어 왔다. Sodium alginate는 물에 잘 녹는 성질을 가지고 있으며, 치즈, 시럽, 아이스크림, 샤벳등의 안정제, 농화제, 맥주의 거품안정제로 쓰이고 있는 물질이다. 기호성을 더 향상시키기 위해서 검류를 농도별로 첨가하여 점성과 기호성을 살펴본 결과 Table 6-12과 같았다.

Table 6-12. Acceptability of acorn vinegar beverage with gum

Sample	Viscosity	Overall preference
Control**	1.40±0.54^{c}	5.00±0.71^{b}
Sodium alginate 0.5%	2.00±0.71^{c}	5.80±0.84^{b}
Sodium alginate 1.0%	3.40±0.89^{b}	7.00±1.00^{a}
Sodium alginate 1.5%	5.00±0.71^{a}	5.20±0.84^{b}
p-value (df, t value)	0.00 (3, 24.48)	0.01 (5, 5.59)

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid, sugar supplement + artificial adding + functional materials adding
Values are Means±S.D.
a and b means in a column by different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's test.

Sodium alginate의 농도가 진할수록 점성은 증가하는 것으로 유의적으로 나타났다. 기호성도 유의적인 결과를 보였으나, sodium alginate 1.0%를 첨가했을 경우 기호성이 가장 높은 것(Figure5)으로 나타났다.

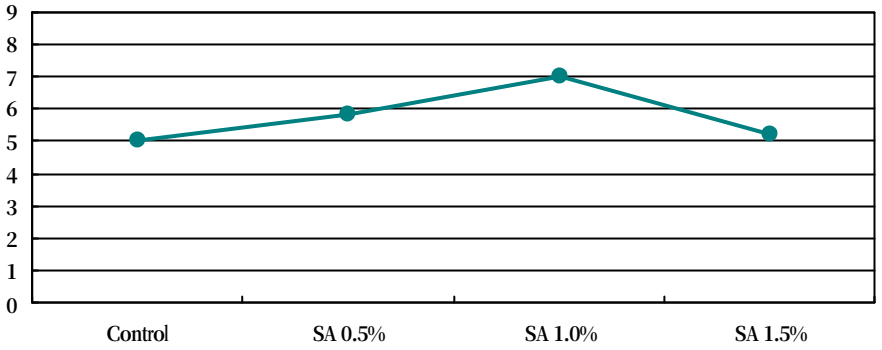


Figure5. Acceptability of control**

** Control: Acorn vinegar of fermentation during 40 days + organic acid, sugar supplement + artificial adding + functional materials adding

따라서, 각 과실초 성분들의 최적 배합비를 알아보기 위하여 문헌에 분석된 결과로서 유기산, 당, 알코올을 재배합하여 제조한 결과 유기산만을 재배합한 경우 기호성이 매우 낮아 평가하기가 매우 어려웠으나, 포도의 경우가 기호성이 사과, 단감에 비해 좋은 것으로 나타났으며, 보당과 알코올의 첨가로 유기산만을 재배합한 용액의 기호성보다 2~3배가량 높게 나타났고, 역시 포도의 경우가 기호성이 가장 좋았다. 연구되어진 것은 기기적 분석으로 식초의 주성분만을 재배합하여 만든 용액은 과실엑기스와 그 외 미량성분이 빠져 있어 실제 식초의 맛을 내지는 못하였다. 그러나, 전반적으로 포도의 유기산 성분과 인공향미에 있어서 포도향과 사과향을 선호하는 것으로 나타나 도토리 식초음료 개발에 적용할 수 있는 자료로서 활용하였다.

과실초의 유기산을 보충한 결과 사과식초의 유기산 성분을 보충한 것이 기호성이 높게 나타나 사과식초 유기산중 malic acid가 식초의 맛에 주요 기인하는 것으로 사료되었다. 보당의 효과로는 유의적이지 않았으나, 유기산만을 보충했던 시료보다 기호성은 향상된 것으로 나타났으며, 유기산 보충 실험과 마찬가지로 사과식초의 기호성이 높은 것으로 나타났다. 5가지 인공향을 0.1% 첨가한 결과에서는 사과향 > 과일믹스향 > 오렌지향 > 복숭아향 > 포도향의 순서로 사과향을 선호하는 것으로 나타났다. 음료로서 개발하기 위하여 적정희석배수를 설정한 결과 4배로 희석한 시료를 선호한 것으로 나타났다.

식초음료로서 제조한 시료에 대해서 기능성 물질을 첨가하여 기호성 향상을 한 결과 키토산과 올리고당을 각각 0.1% 첨가한 시료는 대조군보다 기호성이 높게 나

타났으며, 검질을 농도별로 첨가한 결과 1.0% 첨가한 시료에서 가장 높게 선호한 것으로 나타났다.

제 4절 참고문헌

1. 정용진, 이명희, 서권일, 김주남, 이용수: 2단계 발효에 의한 포도식초와 재래식 포도식초의 품질비교, 동아시아식생활학회지 Vol 8(4), 1998
2. 정용진, 서지형, 이기동, 박난영, 최태호: 2단계 발효에 의한 사과시초와 시판 사과식초의 품질비교, 한국식품영양학회지 Vol 28(2), 1999
3. 홍정화, 이기민, 허성호: 저온저장 중 품질이 저하된 단감을 이용한 식초의 제조, 한국식품영양학회지 Vol 25(1), 1996
4. 식품기술 제10권 제1호 1997 3월
5. 오세욱: 키토산 올리고당의 항고혈압/항균작용 및 Cellulase를 이용한 키토산 올리고당 생산, 고려대학교 박사학위논문 1999
6. 다이어트 영양물 조성, 공개특허 특1998-026245
7. 한명규: 식품화학 형설출판사 1997
8. Kim D.H.: Studies of the production of vinegar from fig. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 53-60, 1990
9. 김용택, 서권일, 정용진, 심기환: 유자과즙을 이용한 식초제조 및 이화학적 특성, 한국식품과학회지 포스터(PN51)
10. 김동환: 무화과를 이용한 식초 제조에 관한 연구, 한국식품영양학회지, 28(1), 53-60, 1999
11. 오영준: 배를 이용한 식초의 발효조건에 관한 연구, 한국식품영양학회지 21(4), 1992
12. 정석태, 김지강, 장현세, 김영배, 최종옥: 감식초 제조를 위한 초산 발효 최적 조건 및 감식초의 품질특성, Korean J. Post-Harvest Sci. technol Agri. products Vol.3(2), 1996
13. 이동상, 류일환, 이갑상, 신용서, 전승호: *Acetobacter sp.*를 이용한 알로에 식초의 발효조건 및 Lipase활성저해 효과, 한국농화학회지 42(2), 1999

제 7 장 도토리를 이용한 요구르트 제조

제 1 절 서론

요구르트는 유(乳)를 젖산균 또는 효모로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 것이다. 주원료인 원유 성분 이외에 젖산균의 작용에 의하여 생성된 유효성분(lactate, peptone, peptide, 미량활성물질) 및 젖산균 균체 성분, 젖산균의 정장 작용에 의하여 영양적 측면뿐만 아니라 생리 활성도 우수한 기호성이 높은 식품이다. 또한, 도토리는 산야에서 생산되는 특산물로서 우리 나라에서는 옛날부터 도토리를 구황식품으로 권장해왔고 영양학적으로도 손색이 없는 식품이지만 오늘날에는 거의 묵의 원료로 제한되어 사용되고 있다. 이는 도토리에 tannin이 6.7~9.3% 가량 함유되어 있어 떫은 맛과 갈변 및 혼탁을 일으켜 가공에 적합하지 않기 때문이다.

이에 본 연구에서는 탄닌 함량이 많아 식품 가공 적성이 떨어지는 도토리를 이용하여 배양 기질, 처리 조건 및 배양균에 따른 영향을 조사함으로써 요구르트 제조 가능성을 검토하고자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

가. 배양 기질 : 도토리가루(신평농업협동조합), 쌀가루(옥천농협), 찹쌀가루(사임당)

나. 배양 종균 : 전분분해 젖산균 단독(SN106) 및 혼합균
(*L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*)

다. 기 타 : MRS agar (Difco U.S.A), pH meter(pH meter 340, Corning, U.S.A), 굴절당도계(Brix, U.S.A), 점도계(CSC Scienfitic Co. 1-800-458-2558, U.S.A), water bath(CHANG SHIN Scientific. Co. Korea), incubator(SAM IK Science, Korea), pH meter(pH meter 340, Corning, NY 14831, USA)

2. 실험방법

가. 균주 배양

전분분해 젖산균 SN106, *L. lactis* SKD 1011, *L. casei* AP6, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*을 각각 MRS broth(Merck, U.S.A.)에 접종하여 30℃에서 24~48시간 1차 배양하였다.

나. 요구르트 제조

도토리가루와 쌀가루 및 찹쌀가루 단독 처리군(20%)과 각 기질을 같은 비율로 섞어 20%가 되도록 처리한 혼합 처리군(도토리·쌀, 도토리·찹쌀, 쌀·찹쌀, 도토리·쌀·찹쌀) 그리고 단독 처리군을 호화 처리한 호화군의 크게 3 그룹으로 나누어 배양 기질로 하였다. 배양 종균은 1차 배양한 전분 분해 젖산균(전분 분해 젖산균 SN106)과 기존의 요구르트 젖산균(*L. lactis* SKD 1011, *L. casei* AP6, *L. bulgaricus, S. thermophilus*)을 혼합하여 각 시료에 1ml씩 접종하였다.(Schem참고)

Group 1. 전분분해 젖산균 SN106
Group 2. SN 106 + *L. lactis* SKD 1011
Group 3. SN 106 + *L. casei* AP6
Group 4. SN 106 + 요플레 *L. bulgaricus* + *S. thermophilus*

1ml 접종

생전분 처리군
쌀(A)
찹쌀(B)
도토리(C)
(20%)

혼합 생전분
쌀+도토리(D)
찹쌀+도토리(E)
쌀 + 찹쌀(F)
쌀+찹쌀+도토리(G)
(20%)

호화
쌀(H)
찹쌀(I)
도토리(J)
(20%)

30℃, Incubation

Fig. 7-1. Schem of yoghurt manufacturing with acorn or acorn mixtures.

다. 당도 측정

각 발효 기간 별 시료를 굴절당도계(Brix U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

라. pH 및 산도 측정

pH는 pH meter(pH meter 340, Corning, U.S.A)를 이용하여 측정하였고, 산도는 시료의 여액 10ml를 중화시키는 데 소요된 0.1N NaOH용량(ml)를 총산 함량(%)으로 표시하였다.

마. 점도 측정

점도계(CSC Scienfitic 1-800-458-2558 U.S.A)의 수평을 잘 유지시키고, 각 시료를 부어 흐르게 한 후 벽면에 닿는 순간의 시간을 측정하였다.

바. 균수 측정

발효액을 무균적으로 1ml 취하여 멸균수로 단계 희석한 후, MRS agar(Difco lab. U.S.A)에 0.1ml 씩 pouring culture method로 접종한 후 30℃ 배양기(Incubator, DO-GB, SAM IK Science)에서 72시간 배양하여 나타난 colony를 colony forming unit(CFU/ml)로 표시하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 기질에 따른 환원당 생성

배양 기질과 배양 종균을 달리한 시료의 배양 기간별 당도의 변화를 측정하였다. 모든 그룹에서 찹쌀 호화군이 8~9°로 가장 높은 당도를 나타내였고, 쌀 호화군과 도토리 호화군에서의 당도 수치는 4~7°로 유사한 수준을 나타내였으며, 젖산 전분 분해균 SN 106만 단독 접종한 G1에서는 도토리 호화군이 더 높은 당도를 나타내였다. 혼합 생전분군의 경우, 쌀·찹쌀군과 쌀·찹쌀·도토리군에 비해 도토리에 각각 쌀과 도토리를 혼합한 경우 당도가 매우 낮게 측정되었으며, 도토리 생전분만을 이용하여 제조한 요구르트에서 가장 당도가 낮게 측정되었다. 또한, 그룹별 당도 수치간의 큰 차이는 보이지 않았으나 전반적으로 SN 106과 *L. lactis* SKD 1011를 혼합 접종한 G2에서의 당도가 높은 경향을 나타내였다(Fig. 7-2, 3, 4, 5).

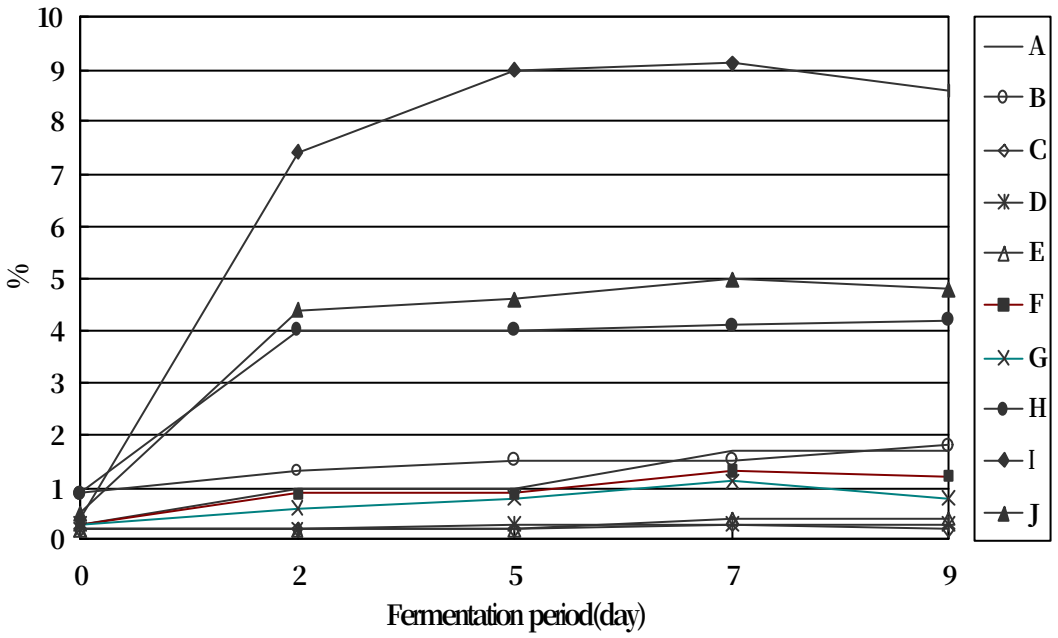


Figure 7-2. Changes in sugar concentration during fermentation of acorn yogurt. (G1 = SN 106)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

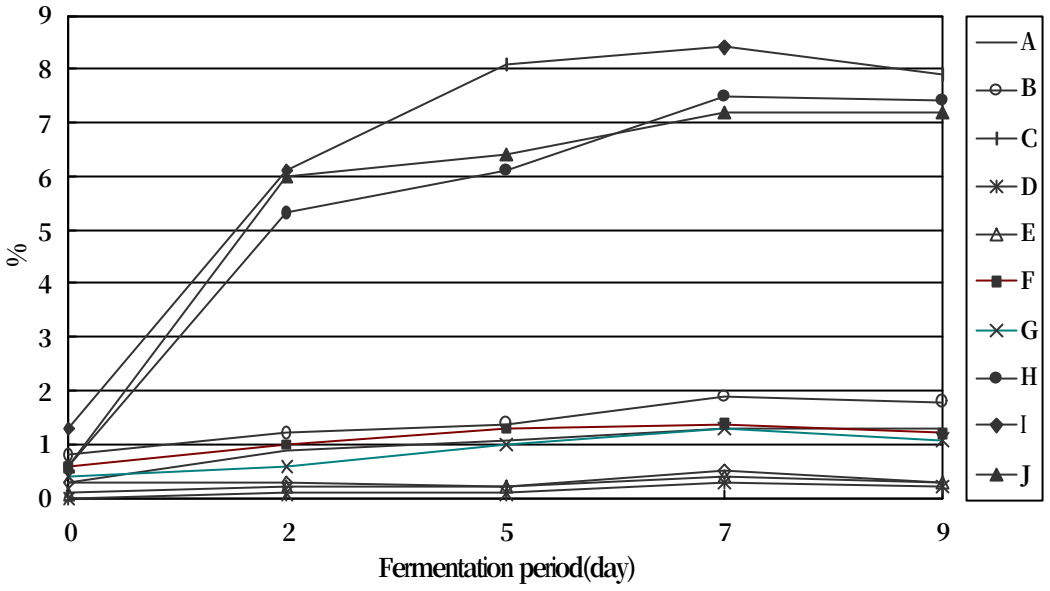


Figure 7-3. Changes in sugar concentration during fermentation of acorn yogurt. (G2 = G1 + *L. lactis* SKD 1011)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)

호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

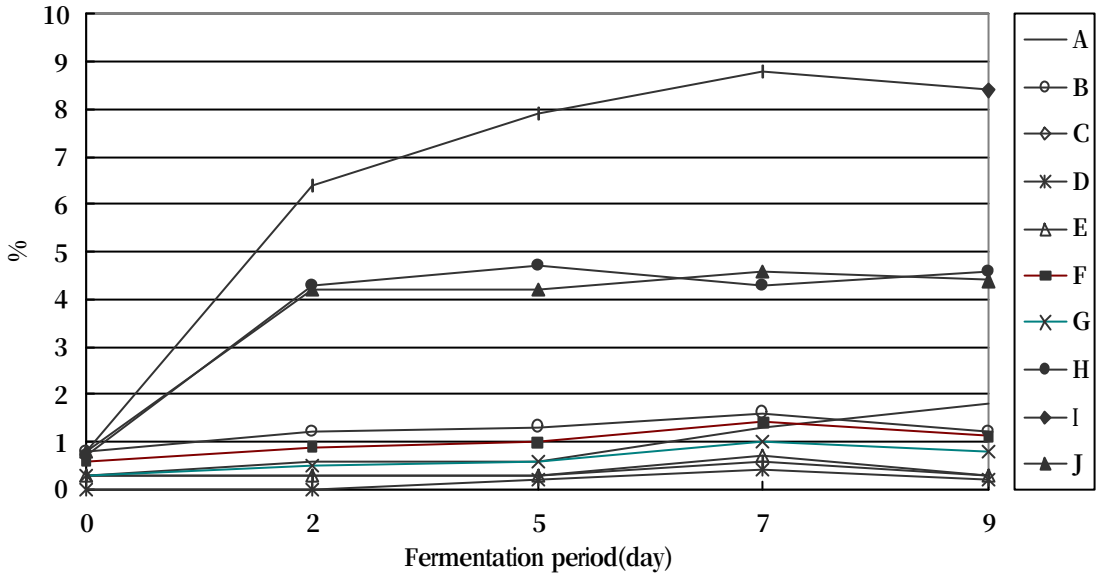


Figure 7-4. Changes in sugar concentration during fermentation of acorn yogurt (G3 = G1 + *L. casei* AP6)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

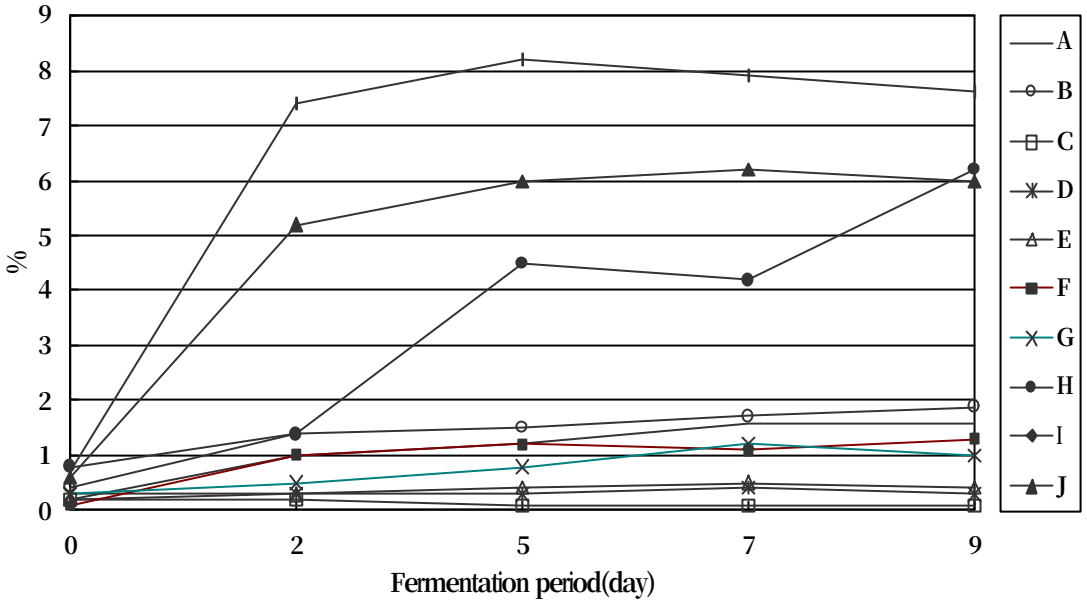


Figure 7-5. Changes in sugar concentration during fermentation of acorn yogurt. (G4 = G1 + *L. bulgaricus, S. thermophilus*)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

2. pH 및 산도 변화

배양 기질 과 배양 종균이 젖산 발효 기간 중의 pH 저하와 산도 증가에 어떤 영향을 미치는 지를 알아본 결과는 다음과 같았다.

SN 106만을 접종한 G1에서 pH 저하와 산도의 증가가 가장 두드러졌고, 다른 그룹간에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 발효 7일 이후부터는 pH가 오히려 약간 높아졌으며 산도의 증가율도 감소되는 경향을 보였다. 배양 기질별 산도의 증가를 관찰한 결과, 호화 처리군, 혼합생전분군, 생전분군의 순으로 호화 처리군에서 가장 높은 산도를 나타내었는데, 찹쌀 호화군의 산도가 가장 높게 측정되었으며 쌀 호화군과 도토리 호화군간에는 큰 차이를 보이지 않았다. 기질을 혼합하여 발효시킨 시료에서는 도토리와 쌀 및 찹쌀을 각각 혼합한 시료를 제외하고는 양호한 수준의 산도를 나타내였으며, 쌀과 찹쌀, 도토리를 모두 혼합하여 발효시킨 시료의

산도가 가장 높았다. 이상으로 쌀과 찹쌀, 도토리를 모두 혼합하여 호화시킨 시료에 SN 106만을 단독으로 접종해서 발효시킬 경우 발효 효율이 높을 것으로 예상되었다(Fig. 6, 7, 8, 9).

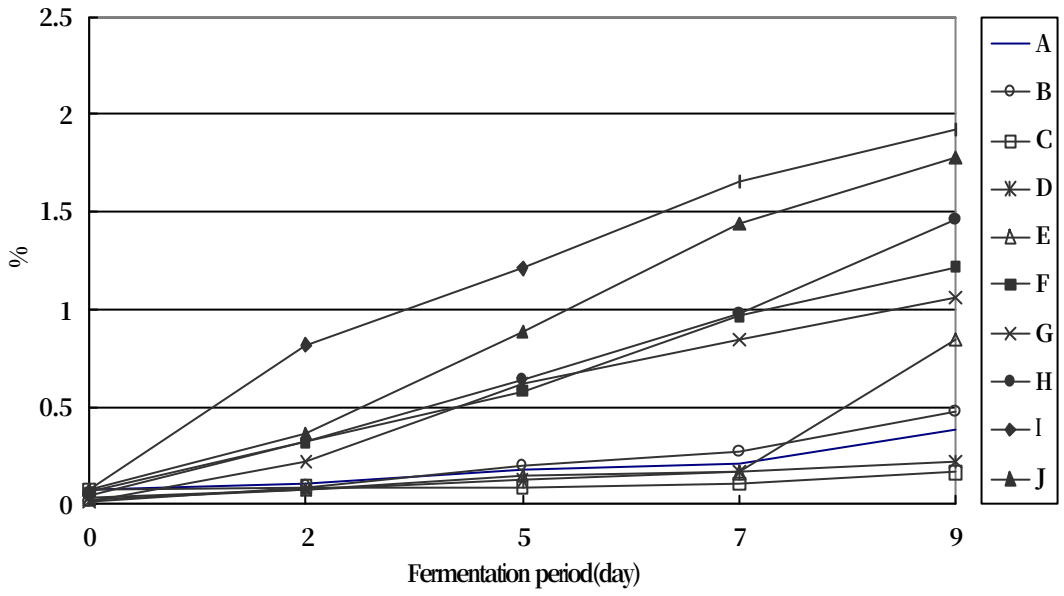


Figure 7-6. Changes in acidity during fermentation of acorn yogurt.
(G1 = SN 106)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

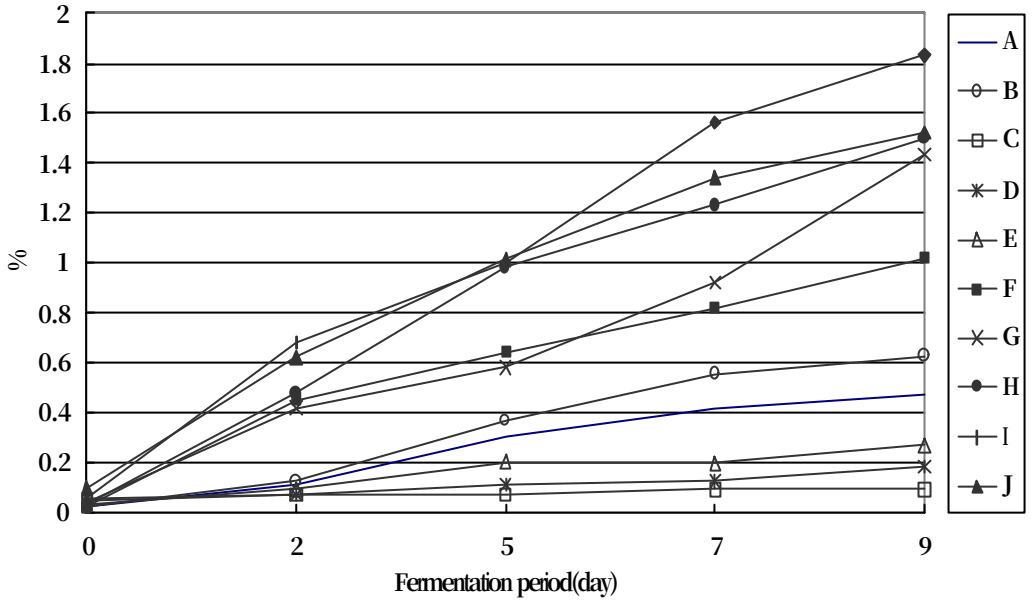


Figure 7-7. Changes in acidity during fermentation of acorn yogurt.

(G2 = G1 + *L. lactis* SKD 1011)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

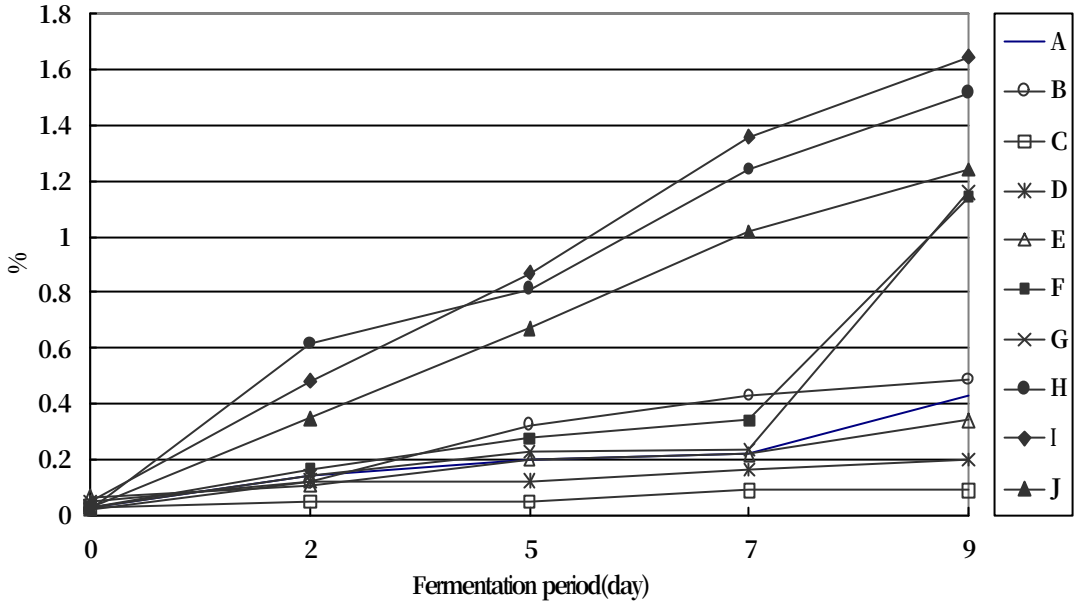


Figure 7-8. Changes acidity during fermentation of acorn yogurt.
(G3 = G1 + *L. casei* AP6)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

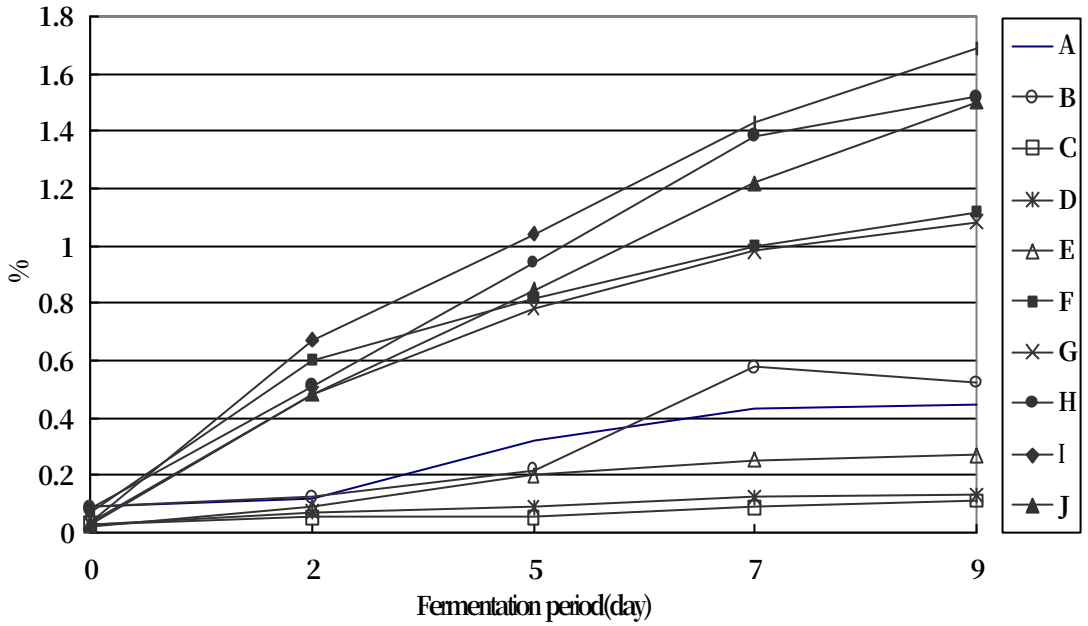


Figure 7-9. Changes in acidity during fermentation of acorn yogurt.
(G4 = G1 + *L. bulgaricus, S. thermophilus*)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

3. 점도변화

9일간 발효 시킨 시료의 점도를 측정하여 배양 기질 및 종균에 따른 영향을 관찰한 결과, table 3에서와 같이 호화 처리군을 제외하고는 거의 점성을 나타내지 않았다. 쌀 호화군에 SN 106과 *L. casei* AP6을 혼합 접종한 시료와 도토리 호화군에 SN 106과 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 혼합 접종한 시료에서 매우 높은 점성을 나타내였으며, 도토리 호화군의 경우 다른 종균을 접종한 시료에서도 모두 점성이 높은 것으로 나타났다(Fig. 7-10, 11, 12, 13).

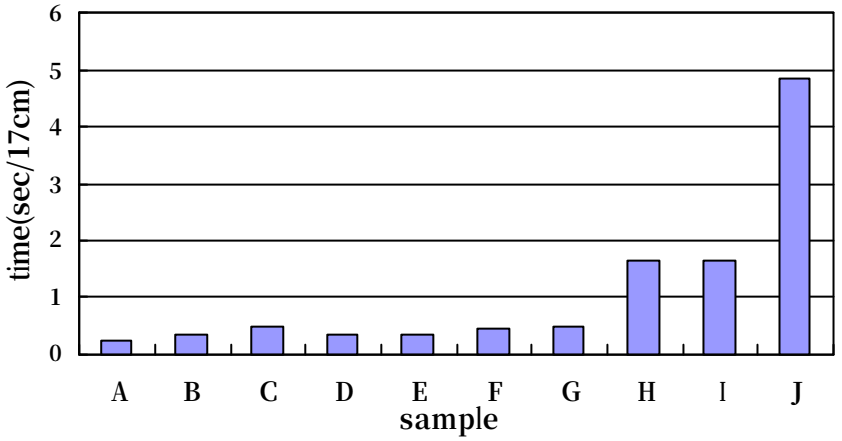
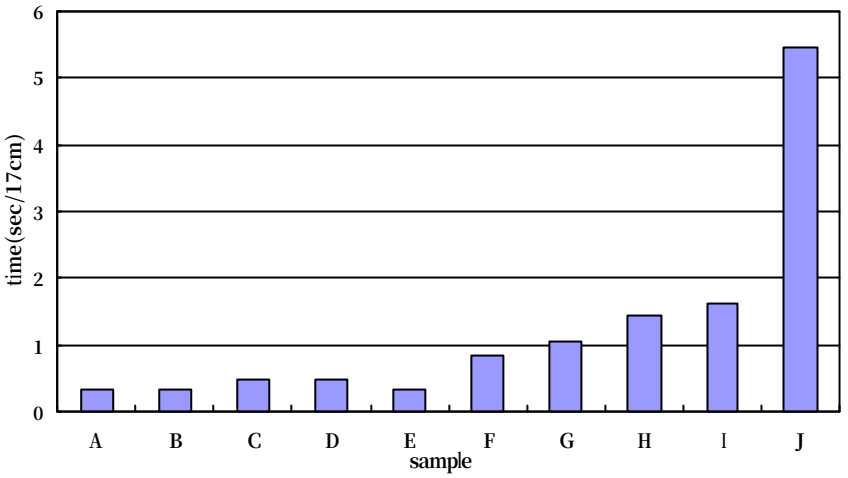


Figure 7-10. Changes of viscosity in acorn yogurt during lactic acid fermentation. (GI = SN 106). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

Figure 7-11. Changes of viscosity in acorn yogurts during lactic acid fermentation. (G2 = G1 + *L. lactis* SKD 1011). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)



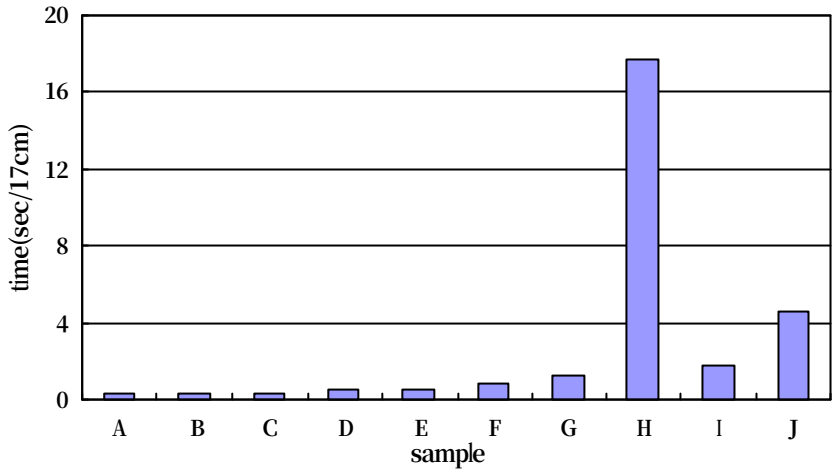


Figure 7-12. Changes of viscosity in acorn yogurts during lactic acid fermentation. (G3 = G1 + *L. casei* APB). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

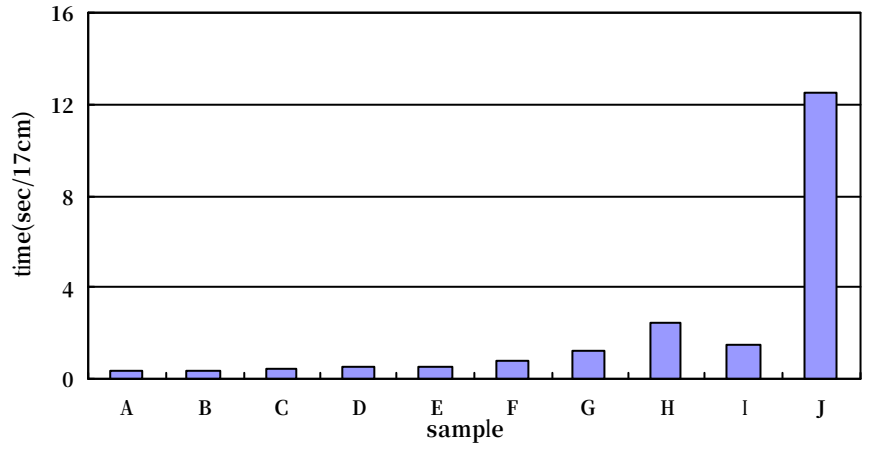


Figure 7-13. Changes of viscosity in acorn yogurt during lactic acid fermentation. (G4 = G1 + *L. bulgaricus, S. thermophilus*). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

4. 균수변화

배양 기질과 배양 종균을 달리하여 젖산 발효시킨 시료의 젖산균 생육 변화를 측정한 결과는 table 4와 같았다. 모든 시료에 1.0×10^{4}~5.7×10^{5} 정도로 접종되었고, 발효 2일에 1.2×10^{5}~7.1×10^{6}으로 급격히 증가되었으며 그 후 점차 감소하다가 발효 1.1×10^{4}~1.5×10^{6}의 균수가 측정되었다. 모든 Group에서 호화 처리군의 균수가 대체적으로 높게 측정되었고 발효 기간에 따른 균수의 감소가 적게 나타났으며, 생전분을 기질로 한 시료에서의 균수 감소폭이 크게 나타났다. SN 106과 L. bulgaricus, S. thermophilus를 접종한 Group 4와 SN 106만을 단독 접종한 Group 1의 생육이 활발한 반면, SN 106과 L. lactis SKD 1011을 접종한 Group2에서 균수가 가장 적게 측정되었다(Fig. 7-14, 15, 16, 17).

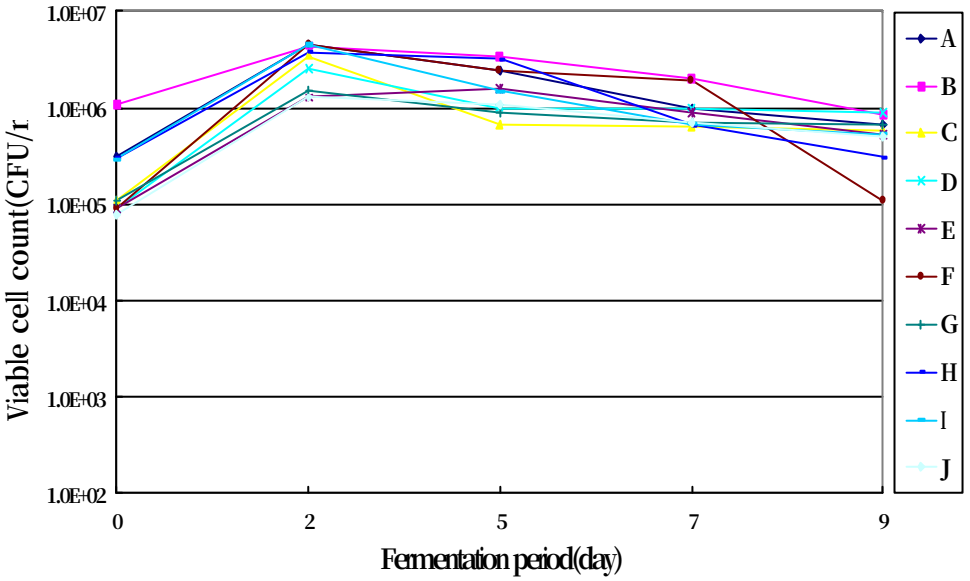


Figure 7-14. Changes in viable cell count of lactic acid bacteria during fermentation of acorn yogurt. (G1 = SN 106). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

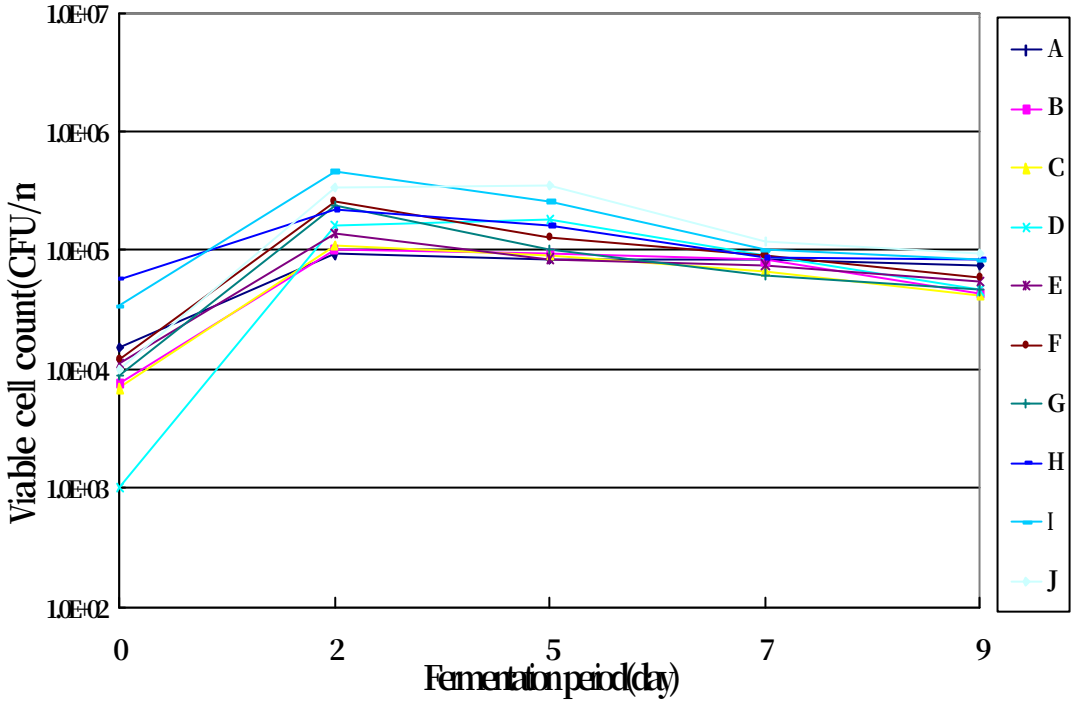


Figure 7-15. Changes in viable cell count of lactic acid bacteria during fermentation of acorn yogurt. (G2 = G1 + *L. lactis* SKD 1011). 생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리), 혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀), 호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

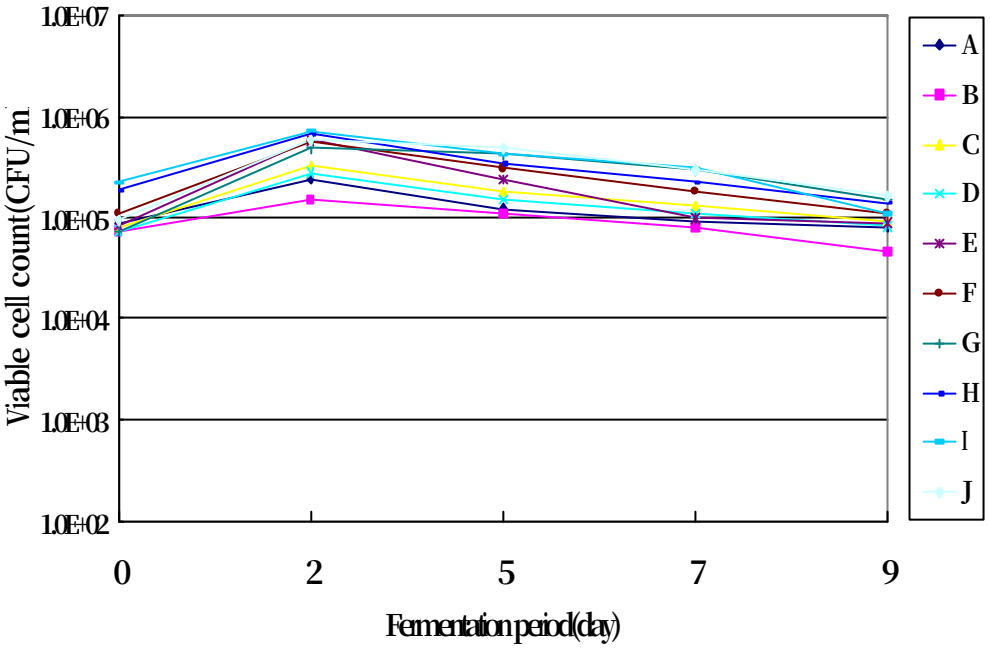


Figure 7-16. Changes in viable cell count of lactic acid bacteria during fermentation of acorn yogurt .(G3 = G1 + *L. casei* AP6)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

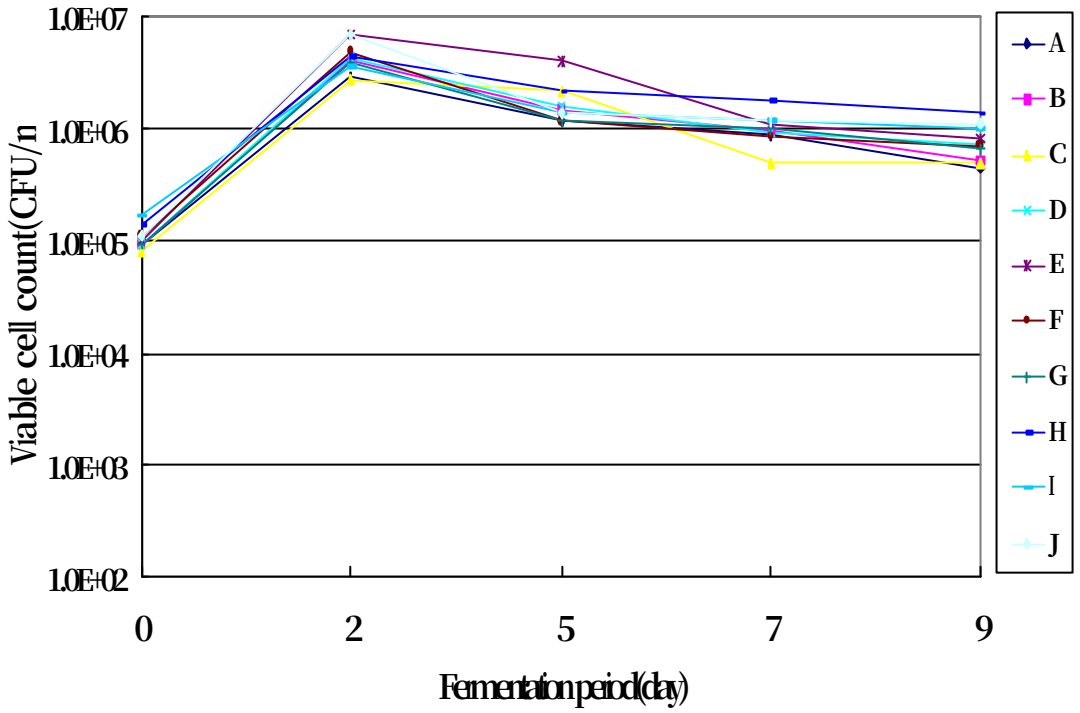


Figure 7-17. Changes in viable cell count of lactic acid bacteria during fermentation of acorn yogurt. (G4 = G1 + *L. bulgaricus, S. thermophilus*)

생전분처리구 (A: 쌀 B: 찹쌀 C: 도토리)
혼합 처리구 (D: 쌀+도토리 E: 찹쌀+도토리 F: 쌀+찹쌀 G: 쌀+도토리+찹쌀)
호화 처리구 (H: 쌀 I: 찹쌀 J: 도토리)

따라서, 본 실험의 결과는 다음과 같았다.

1. 배양 기질과 배양 종균을 달리한 시료의 배양 기간별 당도의 변화를 측정한 결과, 모든 그룹에서 찹쌀 호화군이 가장 높은 당도를 나타내였고, 쌀 호화군과 도토리 호화군에서의 당도 수치는 유사한 수준을 나타내였으며, Group별 당도 수치간의 큰 차이는 보이지 않았으나 전반적으로 SN 106과 *L. lactis* SKD 1011를 혼합 접종한

Group에서의 당도가 높은 경향을 나타내였다.

2. 젖산 발효 기간 중의 pH와 산도를 측정한 결과, SN 106만을 접종한 G1에서 pH 저하와 산도의 증가가 가장 두드러졌고, 다른 그룹간에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 호화 처리군에서 가장 높은 산도를 나타내었으며, 생전분 중에는 쌀과 찹쌀·도토리를 모두 혼합한 시료의 산도가 가장 높게 나타났다.

3. 발효가 완료된 시료의 점도를 측정한 결과, 호화 처리군을 제외하고는 거의 점성을 나타내지 않았고, 쌀 호화군에 SN 106과 *L. casei* AP6을 혼합 접종한 시료와 도토리 호화군에 SN 106과 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 혼합 접종한 시료에서 매우 높은 점성을 나타내였으며, 도토리 호화군의 경우 배양 종균에 상관없이 높은 점성을 나타내였다.

4. 젖산 발효 기간중의 젖산균 생육 변화를 측정한 결과, 모든 시료에서 발효 2일에 급격히 증가한 후 점차 감소하였고, 호화 처리군의 균수가 대체적으로 높게 측정되었고으며, SN 106과 *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*를 접종한 Group과 SN 106만을 단독 접종한 Group에서의 생육이 활발하게 나타났다.

제 4절 참고문헌

1. 전기숙, 김연중, 박신인 : 두유와 현미를 첨가한 요구르트의 제조 및 특성, *Korean J, Food Sci. Technol, Vol. 27(27)*, 1995

2. 이신호, 구영조, 신동화 : *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 단독 및 혼합배양에 의한 요구르트의 이화학적 미생물학적 특성, *Korean J, Food Sci. Technol, Vol. 20(140)*, 1988

3. Richardson, G.H. : Standard method for the examination of dairy products, *American public health association*, 1985

4. 박재영, 구성자: 도토리 전분의 Tannin 성분과 생리적 특성에 관한 연구, *Korean J, Nutr Vol 17(1)*, 1984

5. 정동효, 유태종, 최병규 : 도토리 녹말의 이용에 관한 연구, 제1보 도토리 녹말 특성, *J. Korean Agricultural Chemistry Society Vol. 18(2)*, 1975

제 8 장 도토리를 이용한 탁주 제조

제 1 절 서론

도토리는 그 종류와 양이 막대하여 경제적인 식품 원료일 뿐만 아니라 영양적 가치도 인정받았으나, tannin 함량이 많아서 식품 가공에 적합하지 않아 다양한 식품에의 응용이 이루어지고 있지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 탄닌 저항성이 높고 관능미가 우수한 발효 균주를 선별하여 도토리와 기존 탁주 원료에 대한 발효성을 조사함으로써 탁주 제조 원료로서의 가능성을 검토하고자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

도토리가루(신평농업협동조합), 쌀가루(옥천농협), 찹쌀가루(사임당식품), 누룩(증자용, 한국효소주식회사), *Saccharomyces cerevisae*, Ethanol kit(R-Biopharm GmbH, Germany), PDA agar(Difco lab. U.S.A), water bath(CHANG SHIN Scientific. Co. Korea), incubator(SAM IK Science, Korea), pH meter(pH meter 340, Corning, NY 14831, USA), UV/VIS Spectrophotometer(V-550, USA)

2. 실험방법

가. 균주배양

냉장 보관중이던 *Saccharomyces cerevisiae*를 YM broth에 접종한 후 30℃에서 24시간 1차 배양한 후 찐쌀 10% 용액에 재접종하여 shaking incubator에서 30℃로 24~48시간 2차 배양하여 접종하였다.

나. 탁주제조

쌀 단독처리구(20%), 도토리 단독시료(10%, 20%, 30%), 쌀 ·도토리 혼합구(2:1, 2:2, 2:3), 찹쌀· 도토리 혼합구(2:1,2:2,2:3)로 처리구를 설정한 후 80℃에서 40분간 증자시키고 증자용 누룩을 5%로 첨가하여 65℃에서 24시간동안 당화시키고, 2차 배양한 효모를 각각 5%가 되도록 첨가하여 30℃에서 10일간 알콜발효시켰다. (Schem참고)

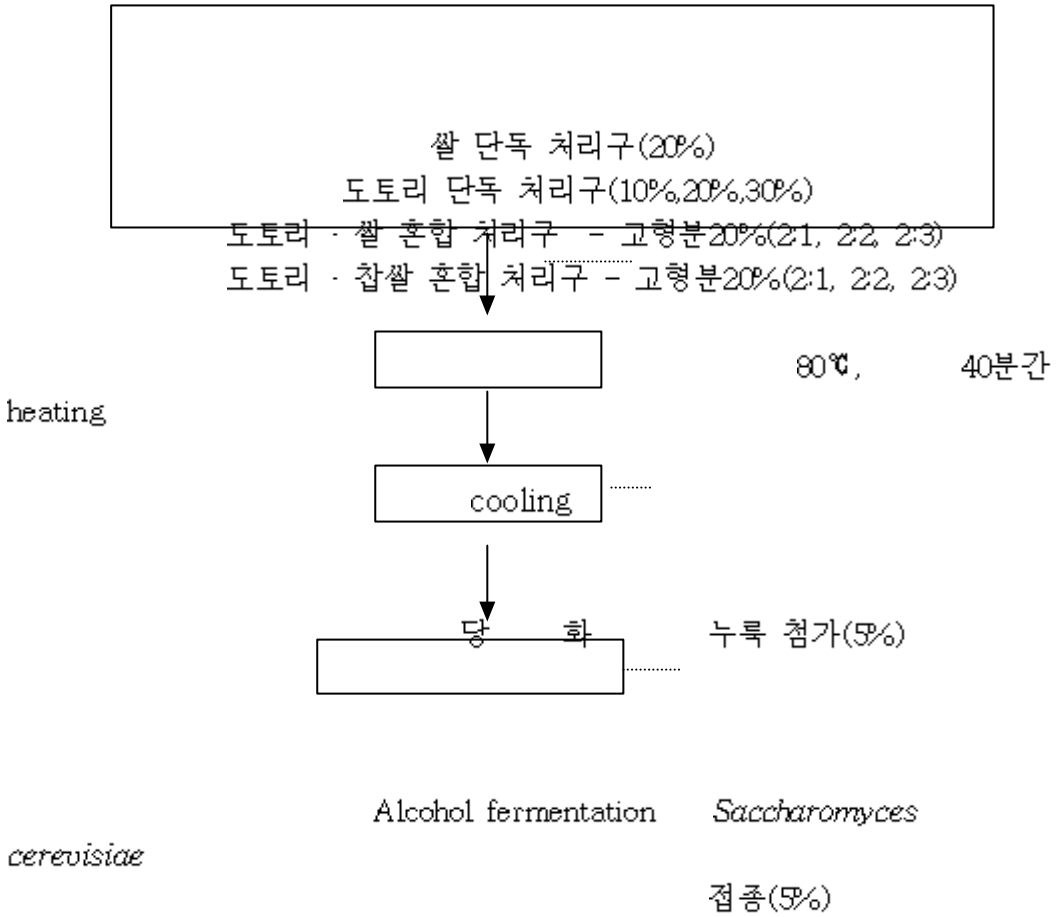


Figure 8-1. Schem of acorn wine manufacturing.

다. pH 및 산도 측정

pH는 pH meter(pH meter 340, Corning, NY 14831, USA)를 이용하여 측정하였고, 산도는 시료의 여액 10ml를 중화시키는 데 소요된 0.1N NaOH용량(ml)를 총산 함량(%)으로 표시하였다.

라. Alcohol 함량 측정

발효액에 함유된 알코올은 Ethanol kit(R-Biopharm GmbH, Germany)를 이용하여 측정하였고, cuvette 당 ethanol 함량을 0.3~6.0㎍이 되도록 조절하여 UV/VIS Spectrophotometer(V-550, USA)로 NAD+, ADH(alcohol dehydrogenase) 및 Al-DH(aldehyde dehydrogenase)에 의해 ethanol로부터 생성되는 NADH를 340nm에서의 absorbance로 측정하였다.

마. 균수 측정

발효액을 무균적으로 1ml 취하여 멸균수로 단계 희석한 후, PDA agar(Difco lab. U.S.A)에 0.1ml 씩 pouring culture method로 접종한 후 30℃ 배양기(

Incubator, DO-GB, SAM IK Science)에서 72시간 배양하여 나타난 colony를 colony forming unit(CFU/ml)로 표시하였다.

바. 관능 평가

10일 동안 알코올 발효시킨 후 여과하여 10명의 panel을 대상으로 외관, 풍미 및 알코올의 강도를 scoring test(10점)를 이용하여 품질 평가하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 발효액의 경시적 환원당 변화

Alcohol 발효 기간 중 생성되는 환원당을 측정한 결과, 모든 처리구에서 발효 1일에 최고수치를 나타낸 후 감소되었고, 도토리와 찹쌀 혼합처리구(2:3)가 발효1일에 12.8%로 가장 높은 수치를 나타내었으나 발효 2일에 5.2~6.1% 수준으로 감소되어쌀 단독시료보다(6.2~6.9%) 낮은 수치를 나타내였고, 모든 시료에서 발효 2일에서 10일 사이의 큰 변화를 보이지 않았다. 도토리와 쌀 및 찹쌀 혼합 처리구의 경우 쌀과 찹쌀의 비율이 높아질수록 당도가 높아지는 경향을 보였으며, 도토리 10% 시료는 1.4~3.3%수준으로 가장 낮은 수치를 나타내였다(Fig. 8-2).

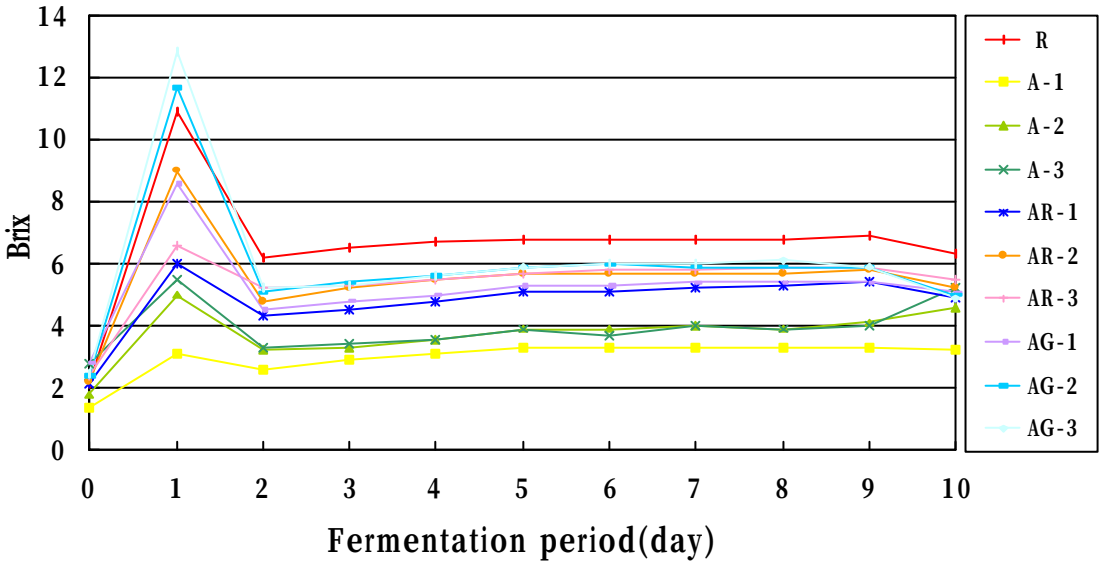


Figure 8-2. Changes of sugar concentration during alcohol fermentation of acorn.

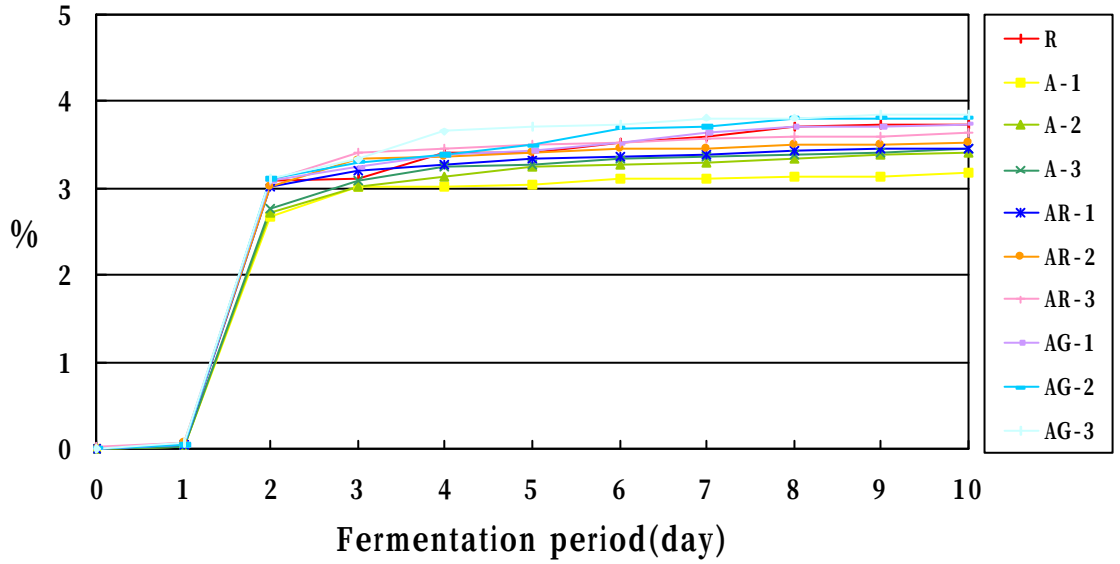
R=쌀20%, A-1=도토리10%, A-2 =도토리20%, A-3=도토리30%,
AR-1=도토리·쌀(2:1), AR-2=도토리·쌀(2:2), AR-3=도토리·쌀(2:3),
AG-1=도토리·찹쌀(2:1), AG-2=도토리·찹쌀(2:2), AG-3=도토리·찹쌀(2:3)

여 백

2. 발효액의 경시적 알콜 변화

Alcohol 측정 결과, 도토리 단독 시료들을 제외하고는 모두 발효 2일에 3% 이상의 수치를 나타내였으나 그 이후에 매우 완만한 증가율을 보여 발효 10일째에 3.18~3.86%으로 alcohol 함량이 대체로 낮게 측정되었다. 도토리 · 찹쌀 2:3 혼합구, 도토리 · 찹쌀 2:2 혼합구, 쌀 단독처리구, 도토리 · 찹쌀 2:1 혼합구의 순으로 도토리와 찹쌀을 혼합한 처리구에서 alcohol 생성이 높았으며, 도토리 10% 시료에서 가장 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 8-3).

Figure 8-3. Changes of alcohol content during alcohol fermentation of



acorn

R=쌀20%, A-1=도토리10%, A-2 =도토리20%, A-3=도토리30%, AR-1=도토리·쌀(2:1), AR-2=도토리·쌀(2:2), AR-3=도토리·쌀(2:3), AG-1=도토리·찹쌀(2:1), AG-2=도토리·찹쌀(2:2), AG-3=도토리·찹쌀(2:3)

여 백

3. 발효액의 경시적 산도 변화

Alcohol 발효 기간 중의 산도를 측정한 결과, 발효 1일에 약 4~10배의 산이 생성된 후 점차 증가되었는데, 쌀 10% 시료가 0.88%로 가장 높게 측정되었고, 도토리·쌀 혼합 처리구(2:3), 도토리·찹쌀 혼합 처리구(2:3), 도토리 · 찹쌀 혼합 처리구(2:2)의 순으로 높게 나타났으며, 도토리 10% 시료가 가장 낮게 나타났다. 따라서, 당도 및 alcohol 측정 결과와 마찬가지로 쌀이나 찹쌀의 함량이 높을수록 산생성이 많아졌음을 높게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 8-4).

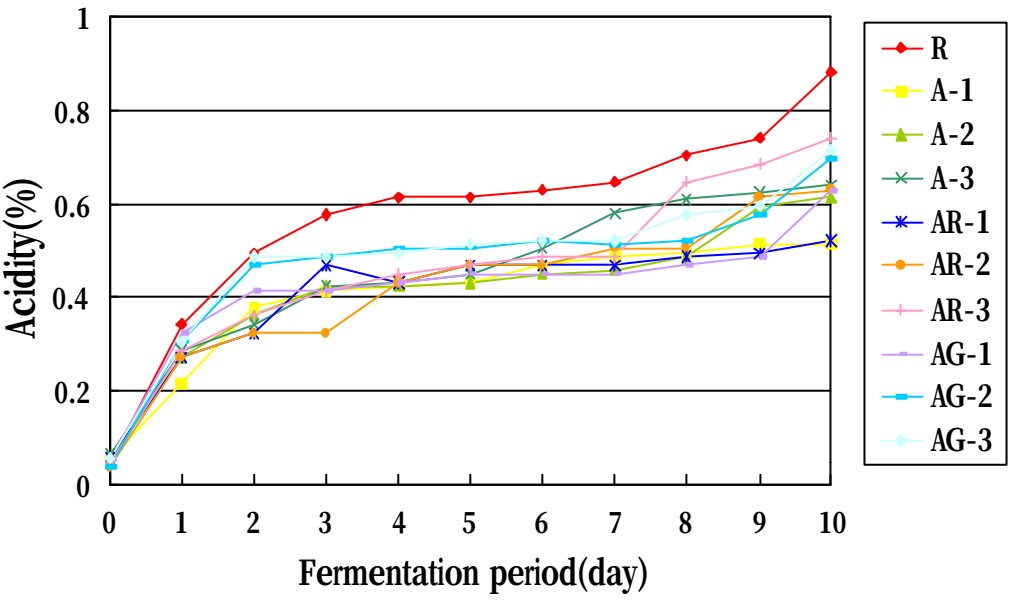


Figure 3. Changes of acidity during alcohol fermentation of acorn

R=쌀20%, A-1=도토리10%, A-2 =도토리20%, A-3=도토리30%,
AR-1=도토리·쌀(2:1), AR-2=도토리·쌀(2:2), AR-3=도토리·쌀(2:3),
AG-1=도토리·찹쌀(2:1), AG-2=도토리·찹쌀(2:2), AG-3=도토리·찹쌀(2:3)

4. 발효액의 경시적 균수 변화

발효 기간 중 yeast의 생육 변화를 측정한 결과, 발효 0일에 1.6~3.1×10^7로 접종된 것으로 나타났고, 모든 처리구에서 발효 1일에 3.8×10^7~3.1×10^8으로 균수가 증가하여 가장 높은 균수를 나타낸 후 1.2×10^6~1.0×10^7으로 점차 감소하였다. 쌀 단독처리구, 도토리와 찹쌀 혼합구, 도토리와 쌀 혼합구, 도토리 단독처리구의 순으로 쌀 단독 처리구의 균수가 가장 높게 측정되었는데, 도토리와 쌀 및 찹쌀의 혼합 비율별 시료간의 차이는 그다지 나타나지 않았으나, 도토리 단독 시료의 균수는 현저하게 낮게 나타났다(Fig. 8-5).

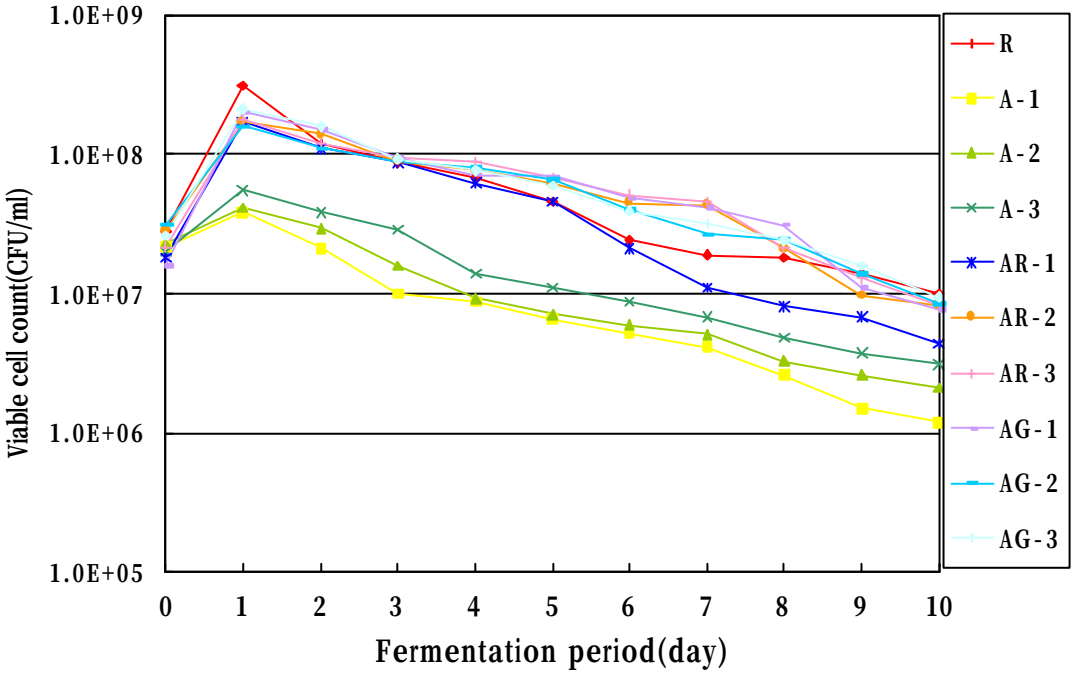


Figure 8-5. Changes in viable cell count of yeast during alcohol fermentation of
acorn.

R=쌀20%, A-1=도토리10%, A-2 =도토리20%, A-3=도토리30%,
AR-1=도토리·쌀(2:1), AR-2=도토리·쌀(2:2), AR-3=도토리·쌀(2:3),
AG-1=도토리·찹쌀(2:1), AG-2=도토리·찹쌀(2:2), AG-3=도토리·찹쌀(2:3)

5. 발효액의 관능 평가

발효가 완료된 탁주를 관능검사한 결과, 도토리와 찹쌀 혼합구에서 색이 가장 진하게 나타났는데, 찹쌀의 함량이 높을수록 색이 흐려지는 경향을 나타내었다. 그 외도토리 · 쌀 혼합처리구, 도토리 단독 처리구, 쌀 단독 처리구의 순으로 나타나 쌀 단독시료의 색이 가장 흐리게 나타났다. 패널들이 느끼는 알코올 강도는 2.3 ~4.0 정도로 전반적으로 낮게 나타났으며 도토리·쌀(2:3)>도토리·쌀(2:1)> 도토리30%> 도토리·쌀 혼합 처리구(2:2)의 순이였다. 향은 도토리·쌀(2:1), 도토리·찹쌀(2:1), 도토리 20%, 도토리 · 찹쌀(2:2)의 순으로, 탁주의 맛은 도토리·쌀(2:3), 도토리10%, 쌀 20%, 도토리·쌀(2:2)의 순으로 우수하였다(Fig. 8-6, 7, 8).

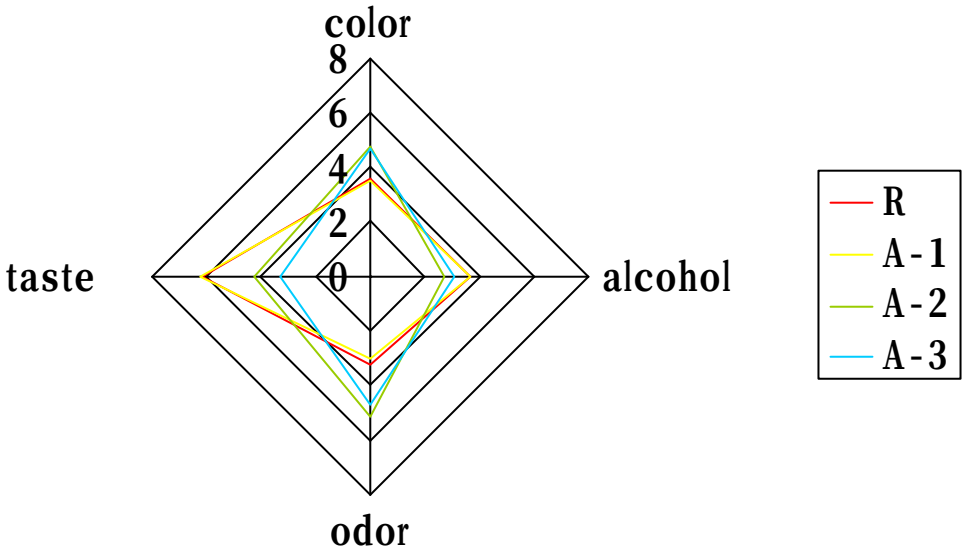


Figure 8-6. Sensory evaluation scores of unrefined wine with various ingredients.
R=쌀20%, A-1=도토리10%, A-2 =도토리20%, A-3=도토리30%

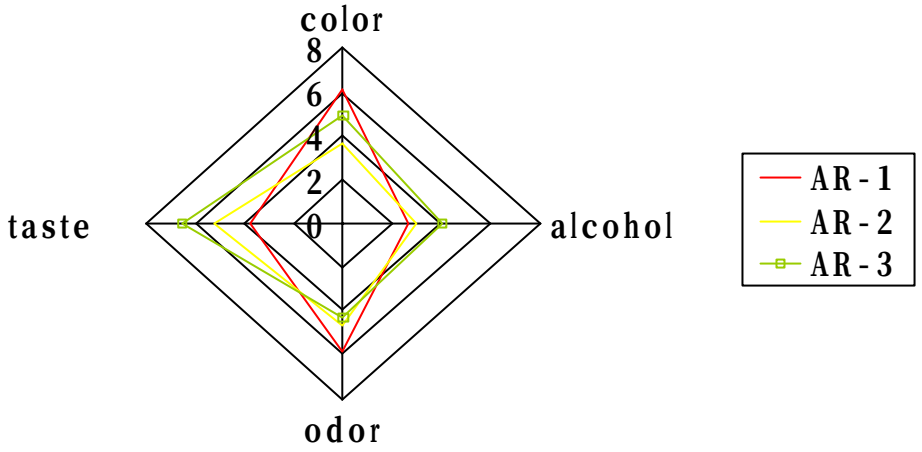


Figure 8-7. Sensory evaluation scores of unrefined wine with various ingredients.
AR-1=도토리·쌀(2:1), AR-2=도토리·쌀(2:2), AR-3=도토리·쌀(2:3)

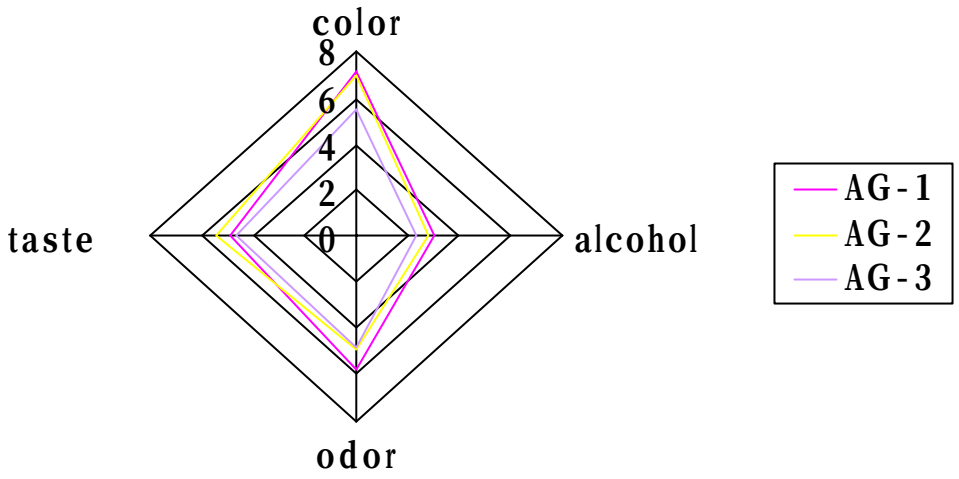


Figure 8-8. Sensory evaluation scores of unrefined wine with various ingredients.
AG-1=도토리·찹쌀(2:1), AG-2=도토리·찹쌀(2:2), AG-3=도토리·찹쌀(2:3)

탄닌 저항성이 높고 관능미가 우수한 발효 균주를 이용하고 도토리와 기존 탁주 원료에 대한 발효성을 조사함으로써 탁주 제조 원료로서의 가능성을 검토한 결과는 다음과 같았다.

1. 발효 기간 중 당도 생성량을 측정한 결과, 도토리 · 찹쌀 혼합 처리구(2:3)에서 가장 높은 수치를 나타내였고, 쌀 및 찹쌀의 함량이 높을수록 당도가 높아지는 경향을 보였다.

2. 발효 기간 중 알콜 생성량을 측정한 결과, 3~4%의 낮은 수치가 측정되었는데, 도토리와 찹쌀 혼합 처리구에서 가장 많은 알콜이 생성된 반면 도토리 단독 처리구에서의 생성량이 가장 적게 나타났다.

3. 발효 기간 중 산 생성량을 측정한 결과, 쌀이나 찹쌀의 함량이 높아질수록 산도가 높아지는 경향을 나타내였다.

4. 발효 기간 중 효모의 생육변화를 측정한 결과, 쌀 및 찹쌀 혼합 처리구간의 큰 차이는 보이지 않았으나 도토리 단독 처리구에서 현저히 낮아지는 결과가 나타났다.

5. 발효가 완료된 탁주를 관능검사한 결과, 도토리와 찹쌀 혼합구에서 색이 가장 진하게 나타났는데, 찹쌀의 함량이 높을수록 색이 흐려지는 경향을 나타내었다. 패널들이 느끼는 알코올 강도는 2.3~4.0 정도로 전반적으로 낮게 나타났으며 도토리·쌀(2:3)>도토리·쌀(2:1)> 도토리30%> 도토리·쌀 혼합 처리구(2:2)의 순이였다. 향은 도토리·쌀(2:1), 도토리·찹쌀(2:1), 도토리20%, 도토리 · 찹쌀(2:2)의 순으로, 탁주의 맛은 도토리·쌀(2:3), 도토리10%, 도토리·쌀(2:2), 쌀 20%시료의 순으로 우수하였다.

따라서, 탁주의 기존 원료인 쌀로 제조한 시료보다 도토리와 쌀을 혼합해서 제조한 탁주의 경우 훨씬 맛과 향이 탁월하다는 평이 있었을 뿐만 아니라 도토리만을 사용하여 제조한 탁주에서도 기대 이상의 점수를 얻음으로써 도토리를 이용하여 알콜 강도가 약하고 맛과 향이 우수한 탁주의 개발이 가능하다고 사료되었다.

제 4 절 참고문헌

1. Davis, J. G.: Unhopped beer wort as a mediun for yeast and mold count, *Laboratory Practice*, 31, 219(1982)

2. Hayashida, S., Ohta, K., P. Q. Flor, N. Nanri and I. Miyahara : *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1947 (1982)

3. Ronald, M. A., Lawrence, C. P. and Alfred, E. B. Laboratory manual of experiments microbiology, Mosby, 65-76, (1995)

4. 오평수, 차두종, 서항원 : 쌀보리의 무증자 알코올 발효에 관한 연구, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* Vol.14, No. 5, 415-429(1986)

5. Jean-Louis Puech, Philippe Rabier : Alcoholic beverages, J. Assoc. Off. Anal. Chem. (Vol., 73, No. 4, (1990)

6. 김창식, 신영태: 한국산 도토리의 이용에 관한 연구, *Korean J. Appld. Microbiol. Bioeng.* Vol. 3, No. 1 January, (1975)

7. 김복남 : 도토리에 대한 국내의 연구 동향, *Korean J. SOC. FOOD SCI.*, Vol. 11, No. 2, May, (1995)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.