

발간등록번호

11-1543000-000182-01

막걸리의 품질 표준화 및 유통기한 연장 기술 개발

A study on the quality standardization and self-life extension of *Makgeolli*

한국식품연구원

농림축산식품자료실



0018280

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “막걸리의 품질 표준화 및 유통기한 연장 기술 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 7월 30일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 안 병 학

세부연구책임자 : 박 기 재

협동연구기관명 : 샘표식품주식회사

협동연구책임자 : 허 병 석

협동연구기관명 : (주)배상면주가

협동연구책임자 : 정 창 민

요 약 문

I. 제 목

막걸리의 품질 표준화 및 유통기한 연장 기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발 목적

- 품질 표준화를 위한 막걸리 표준균주 분리 및 선발
- 미생물 및 효소 활성 제어 방법의 구명으로 막걸리의 유통기한 연장 및 저장성 향상 기술 개발
- 비가열 살균을 이용한 생막걸리의 유통기한 연장 연구
- 고품질의 막걸리를 생산하기 위한 최적 공정 개발
- 막걸리의 관능적 품질기준 및 평가기준 설정 연구
 - 국내 생산 막걸리의 관능적 품질특성의 정량적 묘사분석, 기호도 조사 및 전문가 품질평가
 - 막걸리의 관능품질평가 용어의 확립 및 종합적 관능품질평가 체계 확립
- 막걸리 안전성 확보 공정개발
 - 문헌조사와 현장조사를 통해 얻어진 결과를 바탕으로 막걸리 제조공정상 위해요인을 제어할 수 있는 교육교재(안)를 개발하여 위생관리가 부족한 영세한 막걸리제조업체의 안전성 향상을 도모

2. 연구개발 필요성

- 막걸리의 품질개선 및 고품질화를 위한 유용 균주의 도입
- 지속적인 막걸리 시장 성장과 해외수출을 위해 저장성 향상 기술이 절실히 필요하며 최근 막걸리 소비가 급증하고 있으나 막걸리 유통 품질 안정성의 과학적인 연구가 미흡하다.
- 미생물과 효소의 작용을 최소화하는 방법으로 발효공정에서 당을 완전 전환하는 완전발효 기술, 천연항균물질을 생성하는 길항미생물을 이용한 부패균과 효모 제어, 온도(cold shock)에 의한 미생물 활성 저하, 균체의 선택적 분리에 의한 미생물 제거, 나노분쇄기술에 의한 미생물 활성 제어 등의 기술개발이 필요하다.
- 가열처리는 식품산업에서 식품의 안전성을 유지하고 유통기한을 연장하기 위해 널리 사용되는 중요한 기술이다. 그러나 이러한 가열살균 기술은 신선식품의 가공에는 적합하지 않으며, 또한 식품의 품질 열화를 일으키는 주된 원인이다.
- 비열살균 처리는 영양학적 품질 뿐만 아니라 식품의 색과 향의 손실을 낮출 수 있는 가공 기술로서 다양한 기술들이 연구되고 있다. 고전압 펄스 전기장이나 광펄스 기술은 이러한 비가열 살균 기술 중 하나의 기술로서 처리 시간이 짧고 열에 의한 품질 열화를 최소화할 수 있는 기술로서 주목을 받고 있다.

- 막걸리는 기타 주류와 달리 영양학적 풍부함과 특유의 풍미를 가지는 우리나라 고유의 술로서 지역 및 가정 별로 특색 있는 가양주 문화의 근간을 이루던 중 규격화 및 획일화 과정을 거치면서 한 때 소비자의 외면을 받았으나 웰빙 열풍과 함께 급격한 성장세를 보였다. 하지만 그 비약적인 성장에 비해 낮은 소비자 인식과 시장 내 위치를 지니고 있으며, 합성 감미료인 아스파탐의 사용은 소비자의 외면을 불러일으키는 주요 요인으로 파악되고 있다. 이에 본 연구에서는 발효 공정 제어를 통하여 합성 감미료등을 첨가하지 않는 고급 막걸리 생산 및 안전성 확립을 위한 최적 공정 기술 개발에 최종 목표로 하고 있다.
- 효과적인 식품의 품질과 안전을 보증을 위해서는 food chain내에서의 구조화된 경영시스템의 틀에 따라 식품품질안전경영시스템을 수립, 운영하여야 한다.
- 막걸리의 품질 향상을 위해서는 발효기술과 균일한 품질을 관리할 수 있는 기술이 확립되어야 한다.
- 일부 중소기업의 생산업체를 제외하고는 발효 생산에 대한 품질관리 기법이 현장에서 적절히 구현되지 못하고 있기 때문에 일반화된 품질관리 수단을 확보하고 확산시켜야 할 필요성이 높다.
- 따라서 막걸리의 관능적 주질 평가기준과 평가방법을 확립하고 이를 기초로 하여 이화학적 품질지표를 도출, 생산관리, 유통관리 및 품질평가의 기준을 확립하는 것은 막걸리 산업의 품질을 향상시키는데 필수적으로 선결되어야 하는 당면과제이다.
- 이를 위해서는 생산업체가 유용하게 활용할 수 있는 제조기준과 이를 효과적으로 달성할 수 있는 표준운영절차 및 선행요건 프로그램의 가이드라인을 개발하여 보급·확산이 이루어져야 한다.
- 2009년 '한류 열풍', '웰빙 바람'에 막걸리 시장의 확대이후 2011년부터 정체기에 접어들었다. 통계청 자료에 따르면 2010년 국내 주류 출고량은 약 343만kl로 약 333만kl를 소비한 2009년보다 2.9% 증가하였고, 20세 이상 1인당 소비량은 2010년 88.2ℓ로 2009년 89.6ℓ보다 1.6% 감소하였으며, 특히 막걸리 출하량은 지난 2010년 38.6만kl에서 2011년 44.4만8kl로 크게 성장했지만 지난해 41.5만kl로 감소했다. 막걸리 열풍이 주춤한 것은 지난해 4월부터이고, 이 흐름은 올해초까지 이어지고 있다.
- 막걸리제조업계에서는 기존 업체간의 경쟁에서 품질향상, 연구개발을 통한 막걸리 시장 전체의 규모를 늘리는데 초점을 맞추고 있다. 이런 상황에서 막걸리에 대한 식품안전·위생에 대한 관심이 높다.
- 국내 막걸리제조업체의 대다수가 영세제조업소로 주류안전관리에 있어 기반 시설, 환경, 인력에 대한 역량이 부족한 실정이며, 금전적 부담으로 인한 시설 보수의 소극적 자세 등 여러 문제점을 안고 있다. 이런 상황에서 식품안전성 확보를 위해서는 종사자의 의식개선이 선행되어야 하며, 이를 위한 막걸리제조업체를 위한 표준화된 교육훈련교재가 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 막걸리 양조 전용효모 분리 및 선발
- 막걸리 양조 전용효모 특성 분석
- 막걸리 유통기한 및 저장성 영향 인자 도출 및 관련 기작 구명
 - 막걸리 품질 저하 요인/인자 도출 및 관련 기작에 따른 제어 방안 모색
 - 시판용 막걸리의 미생물/잔여효소에 의한 유통기한 비교 분석
- 막걸리의 미생물/효소 활성 제어기술 개발
 - 완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 기술 개발
 - 길항 미생물 또는 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발
- 막걸리의 미생물/효소 활성 제어기술 개발
 - Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발
 - 알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술 개발
- 막걸리의 미생물 제균 기술 개발
 - 균체의 선택적 분리 기술 및 파쇄 기술 개발
- 유통기한 연장 개발기술/공정 최적화 및 현장화
 - 유통기한 연장 / 저장성 향상 개발기술의 최적화 및 공정 구성
 - 유통기한 연장 / 저장성 향상 개발기술의 현장화
- 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균
- 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균
- 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 미생물의 살균 기작 연구
- 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균
- 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균
- 고강도 광펄스 처리에 의한 미생물의 살균 기작 연구
- 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리에 의한 막걸리의 비가열 살균
- 고급 막걸리 제조를 위한 원료 선별 기준의 확립 및 발효 조건의 검토
 - 각 지역별 쌀의 성분 조사 및 막걸리 제조 후의 성상 분석
 - 누룩 종류에 따른 막걸리의 성상 분석
 - 원료 처리 방법에 따른 향기 성분의 변화 및 유기산 성분 함량 분석
 - 쌀의 도정 비율에 따른 막걸리 성상에 미치는 영향 검토
 - 담금 급수율 및 담금수 정도에 따른 발효 양상 및 막걸리 성상 분석
 - 발효온도에 따른 막걸리 성상 분석
- 고품질 막걸리 생산을 위한 안전성 확보
 - 이화학적 위해 요인 분석 조건 확립
 - 시판 막걸리의 이화학적 위해 성상 분석

- 시판 막걸리의 저장 온도별 바이오 제닉 아민 함량 변화 검토 및 미생물 분리
- 바이오제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 담금 발효 조건의 검토
- 막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델 제시
 - 막걸리 향미 증진을 위한 담금법 확립
 - 막걸리 제품 생산에 적합한 효모 균주를 사용한 제품 생산 기술 확립 및 제조 공정 설비에 대한 모델 제시
 - 발효 공정 제어를 통한 합성 감미료 무첨가 막걸리 제조 공정의 확립
- 막걸리의 품질특성 분석, 품질지표 선정 및 위해물질 오염현황 조사·분석
 - 시판 막걸리의 이화학적 특성 분석
 - 막걸리의 대표종별 유통조건에 따른 품질 특성 변화 분석
 - 주요 시판 막걸리 제품의 안전성 관련 지표 성분 및 위해 성분의 조사·분석
- 막걸리의 위해물질 오염현황 조사·분석 및 제조기준 설정
 - 주요 시판 막걸리 제품의 안전성 관련 지표 성분 및 위해 성분의 조사·분석
 - 주요 공정별 이행 및 오염원 추적 분석
 - 주요공정별 품질 특성 변화 분석
 - 원재료 품질, 생산설비, 공정관리 기준, 제품관리 기준, 유통관리 기준 등 조사
 - 막걸리의 제조기준 도출
 - 제조기준 달성을 위한 원재료, 공정 및 최종제품 관련 표준운영절차(SOP) 설정
- 막걸리의 이화학적 품질지표와 관리기준의 설정 및 품질 향상을 위한 선행요건프로그램 (PRPs) 설정
 - 막걸리 품질지표 및 기준 도출
 - 선행요건 프로그램의 개발
- 기초조사 및 업체 현황분석
 - 국내 주류 관련 위해요소 모니터링 결과 수집 및 정리 분석을 통한 막걸리의 안전성관련 선행연구결과 수집 및 분석
 - 막걸리 제조업소(대형업소, 중소규모업소등 5개소)를 선정하여 현장중심의 공정기본자료 조사 및 정리
- 위해요인 분석
 - 선행연구 자료를 수집, 분석하고, 현장조사 자료를 바탕으로 원료 및 생산 공정에서의 발생가능성이 있는 막걸리의 제조·공정별 잠재적 위해요인 도출
 - 예방조치 방법의 수집·분석을 통한 각 방법의 현장 적합성 분석 및 적용성 검토 및 확정
- 교육교재 개발
 - 문헌 및 현장 조사 결과 반영한 공정별 위해요인 제어 교재개발

IV. 연구개발결과

1. 막걸리 양조를 위한 전용 균주의 선별을 위해 전국에서 수집한 300여점의 누룩으로부터 분리한 효모 1,000여 균주를 대상으로 스크리닝 작업을 수행하여 효모의 알코올 발효에 의한 CO₂ gas 생성 및 산, 향 생성능력을 비교, 분석하여 206균주를 1차 선별하였고, 알코올 함량, 향기성분 생성능력 등을 비교하여 80균주를 2차 선별하였으며 유기산, 유리당, 향기성분 등을 비교하여 20균주를 3차 선별하였다.
2. 선별된 막걸리 양조 전용 효모의 내당성, 내알코올성, 침강성, 탄소이용능 등 양조관련 특성을 분석하여 데이터베이스화하였고 18S rRNA gene sequencing 동정하여 고알코올 생성 효모 113-8, 113-9, 192-4, 과일 향 및 꽃 향 생성 효모 98-5, 111-5, 부드러운 바디감 생성 효모 183-2 를 막걸리 양조 전용 효모로 특성화하여 분말건조 형태로 생산하였다.
3. 완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 개발 기술은 막걸리 발효 및 숙성후 잔당을 남기지 않음으로써 산도를 증가시키는 요인을 차단하는 것이다. 잔당 잔존시 알코올과 CO₂로 전환되어 산도를 증가시킨다. 완전발효 막걸리는 잔당 함유 막걸리 보다 더 유리하였다. [누룩30%(원료기준), 급수율 200%, 효모 6%(원료기준), 발효온도 27 °C/4days]
4. 길항미생물 및 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술은 시판용 향균물질 3종을 구입하여 사용하였다. 그 중 유산균발효액의 경우 0.1% 첨가시 대조구에 비해 산도가 더 안정적인 것을 볼 수 있었으며 유산균과 초산균의 생육 유도기를 연장하는 효과를 보였다. 하지만 효소 활성화에는 거의 영향이 없었다.
5. Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술은 -20 °C에서 10days처리시 유산균수와 초산균수 활성을 감소시켰다. 산도 안정성과 관능적 측면을 고려하면 +35~+40일 저장성 향상 효과가 있었다(유통기한 10 °C에서 15days 막걸리 기준, cold shock 처리기간 제외).
6. 알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술개발은 유산균수 증식 유도기 연장, 초산균수 활성 감소 효과가 있으며 산도 안정성에도 효과적이며 효소(α -amylase, glucoamylase) 활성 감소 효과도 보였다. 알코올 함량 10% 이상 실험구의 경우 산도 안정성과 관능적 측면을 고려하면 +20일 저장성 향상 효과가 있었다(유통기한 10 °C에서 15days 막걸리 기준).
7. 자연침강법에 의한 막걸리 상등액은 대조구 대비 유산균수 10¹ cfu/mL 감소, 초산균수 10² cfu/mL 감소, 효모수 10³ cfu/mL 감소를 보였으며 산도 안정성과 관능적 측면을 고려하면 +50~+55일 연장효과가 있었다(유통기한 10 °C에서 15일 막걸리 기준).

8. 제성 시 알코올 함량을 10% 이상, 포장후 cold shock(-20 °C, 10 days) 처리할 경우 10 °C에서 70일 이상 선호도(9점 기호척도법)가 유지되는 최적의 공정을 구성하였다.
9. 회분식 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균 공정 적용의 가능성을 알아보았다. 막걸리의 초기 균수는 약 2×10^8 cfu/ml로 전기장의 세기와 처리시간이 증가할수록 사멸율은 증가하여, 30 kV/cm, 256 pulse 처리하였을 경우 약 2 log 정도의 사멸율을 나타내었다. 고전압 펄스 전기장과 열을 병합처리하였을 경우 50°C에서 20 kV/cm, 256 pulse 처리를 한 후 8 log의 높은 사멸율을 나타내었으며, 알코올 농도를 달리하였을 경우 알코올 농도가 높아질수록 높은 사멸율을 나타내어 12%의 알코올 농도에서 4.8 log의 사멸율을 보였다. 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리를 4°C와 30°C에서 4주간 저장하였을 경우 무처리막걸리에 비하여 4°C에서는 pH, 산도, 미생물의 수에 변화가 거의 없었으며, 30°C에서도 적정산도나 미생물의 증가가 일정 수준이하로 억제되어 막걸리의 비가열 살균 공정으로서의 가능성을 보였다.
10. 연속식 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 살균에서도 전기장의 세기, 처리 시간이 증가함에 따라 막걸리 효모의 사멸율이 증가하였다. 상온에서 70 kV/cm로 330 μ s 처리하였을 때 5.9 log cycle의 감소를 얻을 수 있었으며, 알코올 농도가 증가함에 따라 높은 살균 결과를 얻었는데 12 %의 알코올 농도에서 60 kV/cm, 330 μ s 처리시 약 6 log의 사멸효과를 얻을 수 있었다. 앞선 회분식 실험에서와 마찬가지로 4°C와 30°C에서 4주간 저장시에도 PEF 처리한 막걸리의 경우 pH, 산도 그리고 효모 생균수에 큰 변화를 보이지 않았다.
11. 미생물의 생리적 측면에서 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 사멸 기작을 효모를 이용하여 살펴보았다. 내염성의 변화를 측정된 결과 사멸하지 않은 세포의 90-99%이상이 세포 손상에 의해 내염성을 소실하였으며, 내염성을 회복하는데 약 4-6시간의 시간이 걸렸다. 고전압 펄스 전기장 처리 초기에는 세포 내외의 pH 구배(Δ pH)가 차이가 컸으나 처리시간이 증가함에 따라 그 차이가 감소하였다. 이는 세포의 pH 항상성을 유지시키는 H^+ -translocation 기능을 담당하고 있는 H^+ -ATPase 활성이 소실되었거나 세포막 자체가 손상되어 pH 항상성을 잃어버렸기 때문으로, 이는 고전압 펄스 전기장 처리한 세포의 H^+ -ATPase의 활성이 초기부터 크게 감소하는 것으로 확인할 수 있었다. 또한 세포의 해당 활성이 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 크게 감소하여 세포의 대사 기능이 손상되는 것을 확인하였다.
12. UV 파장이 차단된 고강도 광원을 활용한 광펄스 시스템을 이용하여 막걸리로부터 분리한 효모의 살균 효과에 대하여 연구하였다. 광펄스 처리의 주요 변수인 빛의 세기와 처

리시간 그리고 frequency에 따른 효모의 사멸 효과를 살펴 본 결과 광원의 빛의 세기(전압의 세기)가 높아질수록 그리고 처리시간이 길어질수록 높은 사멸율을 나타내어 1000 V, 50 sec 처리 후 모든 균(약 7 log cfu/mL)이 사멸하였으며, 처리시간에 따라 직선적으로 사멸하는 경향을 보였다. 일정한 빛의 세기와 처리시간에서는 펄스 수가 증가할수록 사멸 효과가 증가하였지만 실제 처리시간(처리시간×펄스수)이 같으면 펄스 수에 상관없이 같은 사멸효과를 보여 펄스 수에 따른 사멸율의 영향은 없었다. 시료내에 초기 균수 농도가 높을수록 투명도의 감소에 의해 광원의 투과력이 떨어져 사멸효과는 감소하였으며, 시료의 깊이가 증가할수록 사멸효과는 감소하여 시료의 깊이가 5 mm이상일 경우 사멸효과가 급격히 떨어졌다. 광펄스 처리중 시료의 온도는 변화가 없었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 광펄스 처리가 실제 공정에 적용될 경우 온도의 변화없이 시료내의 미생물을 사멸하는데 효과는 있으나 이를 위해서는 시료의 탁도와 초기균수 그리고 깊이를 고려하여 설계되어야 할 것으로 보인다.

13. 막걸리를 회분식 방법으로 광펄스 처리하여 살균 효과를 살펴보고, 저장 중의 품질 변화에 대하여 살펴보았다. 광펄스 처리 후 막걸리는 처리하지 않은 막걸리에 비해 2 log cycle정도의 생균수의 감소를 보였으며, 균수는 $1.8-2.7 \times 10^4$ cfu/mL 정도였다. 저장 기간 중 생균수는 4°C에서는 처리구와 무처리구 모두 효모, 세균 및 젖산균의 수가 약간 감소하는 경향을 보였으며, 저장 후 4주간 큰 변화가 없었다. 그러나 30°C에서는 광펄스 처리하지 않은 막걸리의 경우 10^6 정도 수준에서 7일간 일정하게 유지되었으며, 처리구는 2일 정도 후에 무처리구와 비슷한 생균수를 나타내었다. 저장기간 중 품질 변화를 보면 pH는 저장온도와 상관없이 무처리구와 처리구 모두 약간 감소하는 경향을 보였으나 적정산도는 4°C에서는 일정하게 유지가 되었으며 30°C에서는 무처리구의 경우 2일후부터 급격한 증가를 보였지만 처리한 시료의 경우에는 저장 6일 후까지 큰 증가를 보이지 않았다. 그리고 환원당의 경우에는 저장 온도에 따라 차이는 있으나 처리구와 무처리구 모두 저장기간동안 지속적으로 감소하였다. 이상의 결과로 보아 막걸리를 적절한 조건으로 광펄스 처리하였을 경우 품질변화를 최소화하고 생균수와 적정산도의 증가를 지연시킬 수 있을 것으로 생각된다.

14. 광펄스 처리에 의한 미생물의 불활성화 기작을 살펴보았다. 광펄스에 의한 미생물의 사멸은 빛의 세기나 처리시간에 따라 세포로부터 유출되는 자외선 흡수물질이 증가되어 세포벽이나 세포막의 손상이 원인인 것으로 보인다. 이러한 결과는 세포 내 염색 물질의 유입, 투과 전자 현미경을 통한 형태학적 관찰을 통해서도 확인할 수 있었다.

15. 고전압 펄스 전기장과 광펄스의 병합 처리에 의한 살균 효과를 살펴보고, 저장 중 품질 변화에 대해 살펴보았다. 병합 처리한 막걸리는 빛의 세기 600 V, 펄스 수 5 Hz, 처리온

도 50℃에서 임의의 시간으로 광펄스 처리한 후 전기장의 세기 50 kV/cm, 펄스 수 5 Hz, 처리온도 50℃로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 병합 처리 후 막걸리는 약 5 log 정도의 생균수 감소를 보였다. 저장 기간 중 생균수는 4℃에서는 무처리 시료와 병합처리 시료 모두 큰 변화가 없었으며, 30℃에서는 무처리 시료는 생균수가 감소하였고 병합처리시료는 저장 4일정도 후에 무처리 시료와 비슷한 생균수를 나타내었다. 저장 기간 중 품질 변화를 보면 환원당은 저장 기간이 길어짐에 따라 무처리 시료와 처리 시료 모두 감소하는 경향을 보였으며, pH는 약간 증가하는 경향을 보였다. 또한 적정산도는 무처리 시료는 약간 증가하는 경향을 보인 반면 병합 처리 시료는 큰 변화를 보이지 않았다.

16. 고품질 막걸리 생산을 위한 발효 조건 검토

가. 막걸리의 원료로서 쌀 20품종에 대하여 식미 평가 및 막걸리 담금 실험을 실시하여 최종적으로 삼광을 선정하였으며, 누룩 종류별 실험을 통하여 Isoamyl acetate 등의 ester 향기성분 생성이 뛰어난 조효소제 I (*Rhizopus* sp.)를 선정하였다.

나. 원료를 증자 및 무증자로 처리하여 담금 진행한 결과, 무증자 처리한 것이 증자 처리한 것보다 isoamyl acetate의 증가량이 2배 정도 많이 생성되는 경향을 나타내었으며, 도정율을 10%, 30% 및 50% 처리한 담금 중 기호도 면에 있어서 도정율의 차이는 없었으나, 10%에 있어서 isoamyl acetate의 함량이 높은 경향을 나타냈다. 또한 원료의 분쇄 입도를 20~60 mesh로 처리하여 담금 후, 향기 성분 분석 결과 분쇄 입도가 향기성분에는 영향을 미치지 않았으나, 발효 종료 후의 당도는 분쇄입도 40~60 mesh에서 높게 나타나, 합성 감미료 무첨가 담금에 적합할 것으로 판단된다.

다. 원료 대비 급수율별 담금 시험에 있어서는 급수율이 높아질수록 isoamyl acetate의 함량은 감소하는 경향을 나타내었으며, 150% 급수 비율에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 그러나 담금수 정도별에 따른 시험에 있어서는 담금수 정도가 발효에 미치는 영향은 미비하였다.

라. 발효 온도 비교 실험에 있어서는 15℃에서 발효 한 경우, 25℃ 발효보다 발효일수가 2배정도 길어지는 경향이 있었으나, 향기 측정 결과 25℃에서는 고급알코올류가 높게 나타났다으며, 15℃에서는 ester류의 생성이 증가하는 경향을 나타내었다.

17. 고품질 막걸리 생산을 위한 안전성 확보

가. 이화학적 위해 요인 분석 조건 확립 및 시판 막걸리의 위해 성분 분석

GC-MS 및 LC를 사용하여 에틸카바메이트 (Ethyl carbamate, $C_3H_7NO_2$) 및 바이오제닉 아민 중 Histamine, Tyramine, Putrescine 및 Spemidine에 대한 분석법을 확립하여 시판되고 있는 막걸리를 대상으로 분석하였다. 시판 막걸리 5종에 대한 에틸카바메이트 함량 분석 결과 0.888~1.940 ppb로 식약청 기준규격 신설 입안 예고(식품의약품안전청공고 제2008-25호)의 포도주의 기준인 30 ppb 보다 낮은 결과를 얻었다. 또한 7종의 시판 막걸리에 대한 바이오제닉 아민의 함량을 측정된 결과, 6.0~16.0 ppm을 나타냈다.

나. 시판 막걸리의 저장 온도별 바이오 제닉 아민 함량 변화 검토 및 미생물 분리

4종의 시판 막걸리를 이용하여 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 저장온도의 영향을 검토한 결과, 5°C와 10°C 저장 보관하는 경우에 있어서는 바이오제닉 아민 함량은 유지되는 경향을 나타냈으나 30°C에 있어서는 저장일수가 길어질수록 바이오제닉 아민의 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며, 총 13종의 미생물이 분리 동정되었다. 이 중의 Bacillus속을 이용하여 바이오제닉 아민 생성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 분리된 미생물을 접조하여 막걸리 담금을 실시하였으나, 발효중에 있어서는 바이오제닉 아민의 함량 변화는 미비하였다. 이는 발효중에 있어서 효모의 생육이 활발하여 이로 인한 일반 미생물의 생육에 억제를 받은 영향으로 생각된다. 그러나 제성한 막걸리를 5°C와 30°C에 보관하면서 바이오제닉 아민의 변화량을 검토한 결과, 5°C에 있어서 바이오제닉 아민의 경시적인 변화는 미비하였으나, 30°C에 있어서는 생성량이 증가하는 경향을 보였다.

다. 바이오제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 담금 발효 조건의 검토

막걸리 담금에 있어서 바이오제닉 아민의 생성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 발효 온도 및 초기 담금 pH에 대하여 검토한 결과, 15°C 및 25°C에서의 발효 말기에서의 함량은 유사한 경향을 나타내었으나, 초기 pH를 3.5로 조정된 경우에 있어서는 대조구(pH 4.0)에 비해 측정된 아민의 총합량이 증가하는 경향을 보였다. 이는 낮은 pH의 영향으로 초기의 효모의 증식이 지체되는 결과로 추정된다.

18. 막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델의 제시

가. 막걸리 향미 증진을 위한 담금

양조에 있어서 주요한 고급알코올류 및 ester의 향기 성분은 주질을 판단함에 있어서 주요한 판단 척도로서, 이들 향기 성분의 전구물질로서 특정 아미노산등이 거론되고 있다. 따라서 본 연구에서는 막걸리 향미 증진을 위하여 Leucine, Isoleucine 및 Phenylalanine등을 첨가하여 담금을 실시한 결과, Leucine과 Isoleucine 첨가구에 있어서는 Isoamyl acetate 생성이 증가되었으며, Phenylalanine 첨가군의 경우 Phenylethyl acetate 생성량이

증가되는 것을 확인 하였다. 따라서 본 연구는 양조에 있어서 원료의 아미노산 조성을 조사함으로써 주질에 적합한 원료 선정의 척도로서 가능할 것으로 추정된다.

나. 막걸리 제품 생산에 적합한 효모 균주를 사용한 제품 생산 기술 확립 및 공정 설비에 대한 모델 제시
주관기관인 한국식품연구원에서 막걸리 담금 적합효모로 선정된 98-5 효모 균주와 양조장에서 일반적으로 사용되는 효모 균주를 이용하여 테스트한 결과 효모 균주 98-5의 경우에 있어서 술덧에 잔존하는 ester 향기 성분 비중이 높아 기호도 면에서도 선호되는 경향을 나타냈다. 이에 따라 발효 용량별 100 L 및 1,000 L 담금에는 효모 균주 98-5를 사용하여 15℃에서 담금을 진행하였으며, 유통기한의 연장을 위하여 제성후 -2℃에서 1주일 이상 숙성 진행 후 병입하였다. 병입 후 시중에서 판매되는 막걸리와 향기 성분을 비교 검토한 결과, 향기 성분은 전체적으로 2배 정도로 풍부하였으며, 특히 Isoamyl acetate의 함량이 풍부한 품질의 막걸 리가 생산되었다. 또한, 병입한 막걸리를 10℃냉장 보관하여 60일 경과후에 막걸리의 일반성분 분석을 진행한 결과 알코올은 0.5% 상승되었으나, 당도와 산도의 변화에 있어서는 안정적이었다. 또한 이의 생산을 위하여 필요한 설비로서는 온도 조절과 청결 소독의 용이성을 위하여 발효탱크의 냉각장치를 자켓 타입이 필요하며, 또한 발효 및 숙성시의 온도 조절을 위하여 냉각 설비는 필수 조건이라 할수 있다.

다. 발효 공정 제어를 통한 당분 무첨가의 막걸리 제조 공정의 확립

아스파탐등의 합성감미료를 함유하지 않는 고품질의 막걸리를 제조하기 위하여 당화제로서 조효소제를 쌀의 당화에 필요한 양의 4배를 첨가 후 발효하여 선평도가 가장 높았던 알코올 10%로 제성하여 병입하였다. 합성 감미료가 첨가되지 않은 고품질의 막걸리에 있어서도 앞선 실험과 마찬가지로 향미성분이 시중의 막걸리에 비하여 풍부하였으며, 10℃ 냉장 저장 10일까지 알코올은 허용 기준치를 유지하였다.

19. 막걸리의 품질특성 분석, 품질지표 선정 및 위해물질 오염현황 조사·분석

가. 막걸리의 품질특성 분석 및 품질지표 선정을 위해 쌀과 다른 전분질원을 혼합하여 사용한 막걸리와 옥수수 등 다른 전분을 사용한 막걸리 12종과 쌀만을 전분질원으로 사용한 생막걸리 13점, 그리고 관능평가를 위해 생막걸리 22종과 살균 막걸리 45종을 시료로 하여 고형분, pH, 총산, 아미노태질소, 색도, 탁도, 총단, 환원당, 알코올, 유기산, 유리당, 향기성분을 이화학적 성분의 분석을 위해 실험을 실시하였고, 대표종별 유통조건에 따른 품질 특성 변화 분석을 위하여 5℃에서의 5일 및 10일에서의 탁도, 아미노산성 질소, pH, 산도, 유리당, 환원당, 에탄올, 메탄올, 색차, 미생물군수, 유기산 분석 등을 실시하여 이화학적 품질지표의 변화를 확인, 분석하였다.

나. 위해물질 오염현황을 파악하기 위하여 보존료, 아스파탐, 삭카린, 미생물군수와 병원성 미생물의 오염도를 분석하여 시중에 유통중이 제품의 전반적인 품질수준을 평가하였다. 이를 통하여 「주세법」과 「식품위생법」에서 요구하는 법정 요구 품질과 실제 제품의 품질 수준을 가늠함으로써 막걸리 생산업체에서 필수적으로 준수해야 되는 품질기준 항목을 1차적으로 선정하였다.

20. 막걸리의 위해물질 오염현황 조사·분석 및 제조기준 설정

가. 막걸리의 제조기준과 작업표준(SOP) 도출을 위하여 「주세법」과 「식품위생법」 식품공전상의 주요 요구사항을 종합적으로 분석하여 제조기준, 품질기준 및 생산기반 요구사항을 도출하였으며 막걸리의 생산기반에 대해 입지환경, 제조장 및 부대시설 현황, 원재료 관리, 생산 설비, 공정관리, 제품관리, 유통관리 등에 대한 현 제조장의 관리 현황 및 관리수단을 조사·분석하고 제품 표준 공정 조사 및 관리 기준 조사하고 원재료, 공정 및 최종제품에 대한 제조기준 도출하였다.

나, 막걸리의 위해물질 오염현황 조사 및 분석을 위하여 1차 년도에 이어 곰팡이 독소를 29종의 막걸리 시료를 대상으로 alfatoxin B₁, G₁, B₂, G₂ 및 ochratoxin 분석하였으며 33종의 시료에 대해 대장균 등 위해 미생물군을 정성시험, 부분적 정량시험 실시하였다. 또한 병원성 미생물의 오염 및 생존 가능성을 평가하기 위하여 에탄올, 유기산 및 막걸리 환경조건하에서의 생존성을 시험을 실시하였으며 인공감미료인 아스파탐과 삭카린나타륨, 보존료인 파라옥시안식향산부틸 및 소르빈산에 대해 막걸리 26종을 시료로 하여 함량 및 잔류량을 분석하였다. 이를 통해 일반적인 막걸리 제조를 위한 QC 공정도 초안과 작업표준 초안을 작성하였으며, 품질관리를 위해 필요한 오염물질의 오염도를 평가하였다.

21. 막걸리의 이화학적 품질지표와 관리기준의 설정 및 품질 향상을 위한 선행요건프로그램 (PRPs) 설정

가. 2차년도에서 병원성 미생물의 막걸리의 품질지표 및 품질기준 설정을 위하여 2차년도에서 생존성이 확인된 병원성 *Bacillus cereus*를 비롯한 병원성 미생물의 오염도를 RT-PCR로 시험분석한 결과 막걸리 시료 59종에서 *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*의 7종 미생물 및 병원성 대장균 (*Escherichia coli*)의 5종 (대장균 (EHEC), 장독소형대장균 (ETEC), 장침입성대장균

(EIEC), 장병원성대장균(EPEC), 장관흡착성대장균(EAEC))은 검출되지 않았으나 *Bacillus cereus*는 대한 59개 시료중 19개 (32.2%) 시료에서 검출되었고 독소형 *Bacillus cereus*의 최종적인 검출율은 1.7%였으며 균수로는 10^1 CFU/mL 수준으로 확인되었다.

나. 1차년도와 2차년도를 통해 검토된 품질지표를 토대로 사내기준으로 활용할 수 있는 품질지표 및 이에 대한 관리기준을 설정하였으며, 일반적인 막걸리의 생산에 필요한 작업표준(SOP)와 본 연구과제를 통해 개발된 유통기한 및 고품질 막걸리 생산에 필요한 작업표준(SOP)를 별도로 도출하였다. 또한 식의약처에서 법정 요구사항을 충족시킬 수 있는 일반적인 막걸리 생산용 위생관리기준(SSOP)를 작성하였다.

22. 시판 막걸리의 관능특성 및 이화학적 특성

가. 국내 시판 막걸리 제품으로 생막걸리 22종, 살균막걸리 45종을 수거하여 간이 테스트를 수행하였다. 쌀 함량 70% 이상의 쌀막걸리로 생막걸리 12종, 살균막걸리 10종을 선별하여 묘사분석을 이용하여 시료의 정량적 관능특성을 분석하였다. 훈련된 주류관능평가패널을 이용하여 생 및 살균 막걸리의 정량적 묘사분석을 위한 프로토콜 수립하고 관능특성 분석 항목을 도출하였다. 도출된 관능특성으로는 4개의 외관 항목(백색도, 황색도, 탁한정도, 기포정도), 7개 아로마 관련 항목으로는 알코올향, 시큼한향, 단향, 과일향, 구수한향, 효모냄새, 곰팡이냄새가 선정되었고, 6개의 맛 항목으로는 알코올맛, 단맛, 신맛, 쓴맛, 구수한맛, 효모맛이 선정되었고 마지막으로 텍스처/입안감촉에서는 뽀은맛, 바디감, 탄산미, 지속성, 목넘김으로 하였다. 생막걸리 12종 묘사분석 데이터의 주성분 분석(Principal Component Analysis) 결과는 첫 번째, 두 번째 주성분(PC)은 전체 데이터 편차의 47%와 21%를 각각 대표하였다. 관능특성 항목의 분포를 보면 PC1의 오른쪽으로 백색도, 과일향이 나타났고 반대편으로 황색도, 효모냄새가 나타나서 대비를 나타냈고 서로 가까이 분포하여 상관관계가 높은 것으로 여겨진다.

나. 기호도 조사에 사용된 살균 막걸리에 대한 기본적인 이화학적 분석과 향기성분 분석을 실시하였다. SPME법을 사용하여 향기성분을 포집한 후 GC/MS로 분석한 7개의 살균막걸리의 향기성분을 살펴보면, 총 50종으로 ester류 24종, acid류 4종, alcohol류 7종, ketone류 3종, aldehyde류 2종, volatile phenol류 1종, 미확인물질 9종이 동정되었다. 화학적 특성에 따른 성분들의 peak area%는 ester류가 51.34%, alcohol류 43.34%, aldehyde류 1.42%, acid류 0.65%, ketone류 0.23%순이었고, 미확인물질이 2.98%로 ester류와 alcohol류가 휘발성분의 대부분을 차지하였다. 그 중 ethyl decanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl dodecanoate, ethyl octanoate, 3-methyl-1-butanol(isoamyl alcohol), phenylethyl alcohol이 주요성분으로 나타났다. phenylethyl alcohol과 ethyl decanoate, isoamyl

alcohol이 전체 농도의 60% 이상을 차지하는 높은 농도를 나타내는 성분이었다.

23. 살균 막걸리의 소비자 및 전문가 기호도 분석

성별 및 연령별로 선정된 123명의 소비자를 대상으로 소비자의 주류 음용 및 소비행태에 대한 설문조사와 기호도 조사를 실시하였다. 분산분석 결과 전 기호도 항목(전체기호도, 외관기호도, 향기호도, 맛기호도, 바디감기호도)과 단맛정도, 신맛정도 항목에서 시료간의 유의차가 확인되었다 ($p < 0.001$). 향기호도의 경우 전체적인 기호도와 유사한 경향을 나타내었으나 좀 더 높은 점수를 보였다. 맛 기호도와 바디감 기호도의 경우 전체적인 기호도와 거의 동일한 경향을 나타내어서 전체적인 기호도 점수를 확인할 수 있었다. 조사 결과를 바탕으로 다양한 다변량 분석을 통하여 최적 기호도를 나타내는 관능특성 도출하였다. 전문가를 대상으로 소비자 기호도 조사에 사용된 동일시료에 대한 기호도 조사를 실시하여 전문가와 일반 소비자간의 기호도 인지 정도에 대한 격차가 나타났다. 따라서 일부 소규모 전문가의 평가 결과를 소비자 평가 결과로 예측하는 데에는 문제가 있는 것으로 여겨지고 전문가의 경우 일반 기호도 평가보다는 시료에 대한 이해가 좀 더 필요한 자세한 관능특성 항목을 바탕으로 한 품질평가에 활용하는 것이 적당한 것으로 여겨진다.

24. 막걸리의 종합적 품질평가시스템 구축을 위한 전문가 델파이 조사 결과

막걸리 관련 관련단체, 업계 및 학계전문가를 대상으로 1차년도 묘사분석 결과와 델파이 1차 설문 결과를 종합하여 품질평가 항목 설정을 위한 설문조사를 실시하였다. 1차 델파이 설문을 통해 자유기입식으로 서술한 항목을 정리하여 시각적, 후각적, 향미적, 입안감촉 항목으로 나누어 제시된 각각의 품질특성 항목에 대해 품질평가(안)에 설정 항목으로 포함여부에 대한 전문가 의견을 파악하였다. 후각적 평가 결과를 살펴보면 세부 단일 과일향의 경우 품질평가 항목으로 포함여부에 유보적인 입장을 나타내는 것으로 나타났다. 단향, 바닐라향, 발효향, 누룩향, 곡물향, 사과향, 알코올향, 신향, 꽃향에 대해서는 전반적으로 찬성의견이 높게 나타났다. 후각적 결합항목의 경우 모두 품질평가 항목 포함여부에 대다수가 찬성 의사를 표시하였다. 향미적 평가항목의 경우 파인애플맛을 제외하고 모든 항목(단맛, 쓴맛, 신맛, 알토올맛, 과일향미, 사과맛, 참외맛, 복숭아맛, 배맛, 꽃향미, 구수한맛, 누룩향미, 발효향미)에서 찬성의견이 가장 높게 나왔으나 세부항목에서는 전문가 의견이 나누어졌다. 향미적 결합항목 5개 항목에 대해서는 과반 이상이 찬성의견을 나타내었다. 입안감촉항목에서는 발열감을 제외한 모든 항목에서 찬성의사가 대다수로 나타났다. 일부 항목의 경우 세부 기준시료 선정에 유의해야 할 것으로 여겨진다. 본 조사 결과를 바탕으로 품질평가체계를 확립하고 평가방법을 개발하였다.

25. 다변량분석을 통한 이화학, 기호도, 묘사적 관능특성 분석 결과 모델링

제시된 살균탁주 8종의 소비자 기호도 조사 결과와 동일한 시료의 관능특성간의 상관관계 파악을 위하여 PLS (Partial Least Squares) regression 분석이 이루어졌다. 전반적으로 2차원적인 모델을 나타내었고 PC1, 2를 합하여 70%정도의 설명력을 나타내어 전반적으로 안정적인 모델로 여겨진다. 전체적인 기호도(기호도)는 1사분면의 위쪽에 자리 잡아 전반적으로 과일관련 관능특성과 단맛, 단향 특성과 높은 양의 상관관계를 나타냈고 특히 "단맛"과 "단향"과 매우 근접하게 분포하여 높은 관련성을 보였다. 한편 반대편에 분포한 "쓴맛(bitter)", "뚝은맛(astrin)"과는 음의 상관관계를 나타내는 것으로 나타났다. 결과적으로 본 실험에서 사용된 살균 탁주에서는 단맛, 단향, 과일맛, 과일향이 기호도에 좋은 영향을 주는 것으로 나타났고 반대로 곰팡이(누룩)향, 뚝은맛 쓴맛, 입안감촉 특성(바디감, 묵넘김, 지속성)은 기호도에 부정적인 요인으로 작용하는 것으로 여겨진다. 동일한 살균탁주 시료의 이화학적 특성 및 향기성분 분석결과와 소비자 기호도 조사 결과와의 관계를 파악하고 향후 품질지표 도출을 위해 PLS (Partial Least Squares) regression 분석을 실시하였다. 전반적으로 기호도와 이화학적 분석치 중 환원당, L값, b값과는 양의 관계, a값과는 음의 관계를 가지는 것으로 나타났으나, 시료의 갯수가 제한적이어서 명확한 품질 지표 확립을 위해 더 많은 막걸리 시료에 대한 데이터베이스 확보가 필요할 것으로 여겨진다. 향기성분 분석 결과와 기호도 의 PLS regression 분석 결과, 향기성분 분포를 살펴보면 PC1 상의 오른쪽으로 2-phenylethyl acetate, ethyl dodecanoate, ethyl decanoate, 3-methyl-1-butanol, ethyl hexanoate, phenylethyl alcohol, 3-(methylthio)-1-propanol, ethyl octanoate, ethyl dodecanoate가 분포하여 기호도 항목과 높은 양의 상관성을 나타내었다. 이들 성분은 대개 술 발효 시 생성되는 발효산물로 대표적인 발효주의 향기성분으로 볼 수 있다. 실제 기호도 분석결과와 향기성분간의 상관분석에서도 이들 성분은 높은 유의적인 상관관계가 확인되었다. 이들 향기성분은 향후 막걸리의 품질평가와 지표 설정에서 주요한 성분으로 모니터링이 필요한 것으로 여겨진다.

26. 막걸리의 종합적 품질평가 체계 설정

막걸리의 정량적 관능특성 분석과 전문가 델파이 설문 결과를 바탕으로 막걸리 의 종합적 품질 평가 방안을 수립하였다. 쌀막걸리의 품질인자로 후각강도, 후각 복합성, 향미강도, 향미 복합성, 발란스와 바디감, 시각적 평가(색상, 색상 진하기)의 7 항목을 선정하였다. 확립된 품질평가 항목에 대한 평가순서도 기존의 hall test에 비해 평가 체계를 명확하게 하기 위해 관능검사실(sensory booth) 사용을 일상화하고 이를 통해 주요 환경적 변수가 평가에 영향을 미치지 못하게 하여야 할 것이다. 평가방법도 기존의 방법에서 개선하여 시각적 평가를 마지막에 하도록 하였다. 최종적으로 쌀막걸리의 품질평가표(안)는 도출된 각각의 품질 인자에 대해 7점 척도를 바탕으로 평가하도록 하였으며 복합성의 평가에서는 묘사분석 결과 도출된 주요 관능특성의 확인여부에 따라 평가가 이루어지도록 하였다. 또한 결함 항목이 확인된 경우 1-3점으로 평가되도록 하였고 결함항목이 없는

경우 복합성을 나타내는 관능특성 항목 확인 여부에 따라 4-7점으로 평가하도록 하였다. 색상 평가에서는 기존의 색상표를 활용하여 평가가 가능하리라 여겨진다. 향후 개발된 평가표와 평가체계에 대한 전문가 및 업계의견을 반영하여 현재 각종 주류 관련 품평회와 우리술 품질 인증제에 적용이 가능하리라 여겨진다.

27. 막걸리제조공장의 기본 자료 및 현황

가. 법적서류

- 주류면허, 주류제조방법신청서 등 주세법상 점검이 이뤄지는 항목에서는 잘 관리되고 있으나 자가품질검사, 건강진단, 위생교육 등 식품위생법상 추가되는 의무에 대해서는 관리가 미흡하였다.

나. 환경 및 시설관리

- 창고, 개인위생, 검사실 관리에 있어서는 미흡하고 공정중 물리적 위해요인 발생 가능성이 높고, 방충·방서에서도 취약한 것으로 나타났다.

다. 우수관리항목

- 대부분의 업체가 위해관리와 기록관리에 있어 실행하지 않고 있어 전반적으로 모든 항목이 미흡하였다.

28. 막걸리 잠재적 위해요인과 예방조치 방법

주원료, 첨가물, 포장재, 입고, 원·부자재 보관, 연미, 세미 및 침지, 증자, 발효, 제성, 병입, 완제품 보관 및 유통에 해당하는 각 단계별 생물학적, 화학적, 물리학적 위해요소 총 109개에 대한 발생원인, 예방조치(안)을 도출하였다.

29. 공정별 교육교재(안)

막걸리 제조업체의 기본자료 및 현황과 막걸리제조 공정에서 도출된 잠재적 위해요인과 예방조치 방법을 바탕으로 현장의 종사자에 대한 교육교재(안)을 개발하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 막걸리 양조 전용효모 선발

효모No	균주명	발효제	막걸리 특성
98-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	koji	부드러운 바나나, 과일 향, 깔끔한 막걸리
111-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	koji	과일 향, 꽃 향, 단맛 있는 막걸리
113-8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	nuruk	신맛, 단맛, 탄산미, 고알코올 생성
113-9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	koji	고알코올 생성
192-4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	koji	고알코올 생성
183-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	koji	부드럽고 바디감 풍부한 막걸리

○ 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 기술은 짧은 시간에 높은 전압의 전기장이나 강한 빛을 식품에 인가 또는 조사하여 식품에 존재하는 미생물을 사멸시켜 식품의 안전한 생산과 유통을 도와줄 수 있는 기술로서 가열 살균에 의해 식품이 받을 수 있는 열적 열화나 가공 공정 중 생길 수 있는 유해 물질의 생성 등을 최소화시켜 소비자의 건강 증진에 이바지 할 수 있는 기술

○ 본 연구에서 막걸리에 대한 저장 기간 유통 연장 기술로서의 가능성을 보였으며, 향후 액체 식품이나 식품의 표면 뿐만 아니라 분말 식품, 수산물, 유아식품, 조미료, 투명한 포장 식품 그리고 의약품의 살균까지도 확장할 수 있을 것으로 보임

○ 과학적 근거를 토대로 한 합리적인 막걸리 품질 평가기준 및 평가방법의 구축

- 제조기준, 표준운용절차(SOP), 선행요건프로그램(PRPs)를 통한 막걸리 품질관리기술의 향상
- 막걸리의 합리적인 표준의 설정을 통한 생산성 향상 및 소비자 보호에 기여
- 국내 막걸리 산업의 고품질화 유도를 통한 수입 주류에 대한 경쟁력 향상에 기여

○ 과학적 근거를 토대로 한 합리적인 막걸리 품질 평가기준 및 평가방법의 구축

○ 국내 전통주 산업의 고품질화 유도를 통한 수입 주류에 대한 경쟁력 향상

○ 일괄적인 막걸리제조업체 교육을 위한 기본적인 지침서로서의 활용을 통한 표준화

- 제조환경, 제조공정, 종사자 등 일반 위생관리에 위생관리 개선방안 마련
- 막걸리 제조공정별 위생관리 개선방안 마련
- 식품위생법 상 준수하여야 하는 법규 정리

○ 막걸리제조업체의 교육을 통한 식품안전·위생관리 수준 향상

- 식품위생법에 적용에 있어 막걸리제조업체 혼선 최소화
- 막걸리제조업체 안전·위생관련 사고 및 이물제어 능력 향상

○ 활용방안

- 막걸리 등의 품평회 및 품질인증을 위한 기준 및 평가방법
- 막걸리 생산업체 및 제품개발을 위한 표준 평가기준 및 평가방법
- 전통주 산업체의 R&D 지원과 생산성 향상 및 품질개선을 위한 지침에 활용
- 전통주 산업체의 R&D 지원과 생산성 향상 및 품질개선을 위한 지침에 활용
- 우리술 산업 경쟁력 강화와 지속적 발전을 위한 실질적인 정책 수립
- 투명하고 권위를 갖춘 술 품평회 개최 가능
- 막걸리 산업체의 인력 및 기술지원 정책에 활용
- 기존 품질인증제의 문제점을 보완한 개선된 제도 운영 가능
- 막걸리 축제 개최방안을 한식세계화 촉진사업과 연계하는 아이템 구축
- 표준화된 막걸리교육교재 개발로 일관적은 교육 실시시 자료로서 활용
- 막걸리제조업체 종사자용 교육교재
 - 막걸리제조업체에서 자체적으로 교육을 실시할 수 있는 교육교재로 활용
 - 교육훈련기관에서 교육교재 개발 시 지침서 및 참고자료로 활용
- 홍보리플렛 등 막걸리 식품안전·위생 관련 리플렛 제작시 참고자료로 활용
- 주류업체의 식품안전·위생 교육 및 가이드라인을 위한 참고자료로 활용

SUMMARY

I. Title

- A study on the quality standardization and self-life extension of *Makgeolli*

II. Importance

- Introduction of valuable yeast strain for Makgeolli quality improvement
- Needs to establish and operate management system on makgeolli quality and safety through the systematic control of food chain in order to effectively assure the food quality and safety
- Needs to develop the technology on fermentation and uniform quality in order to enhance the quality of makgeollis
- Needs to establish and expand quality control plan because there is no settlement of quality control of fermentation process in field except several medium-sized manufacturers
- Strong push for the development of physicochemical quality index and the establishment of production, distribution and evaluation system regarded as prerequisites to improve the quality in makgeolli industry
- Needs for widespread uses of the production standards and the developed guidelines of SOP and PRPs to be utilized by manufacturers

III Content and Scope

- Yeast screening and selection for *Makgeolli* brewing
- Characteristic analysis of yeast for Makgeolli brewing
- Assignment 2(Collaborative)

Shelf life extension technology through control of microbial and enzyme activity

- Batch nonthermal sterilization of *Makgeolli* by high voltage pulsed electric fields treatment
- Continuous (Recycle) nonthermal sterilization of *Makgeolli* by high voltage pulsed electric fields treatment
- Inactivation mechanisms of microorganisms by high voltage pulsed electric fields treatment
- Batch nonthermal sterilization of *Makgeolli* by intense pulsed light treatment
- Continuous (Recycle) nonthermal sterilization of *Makgeolli* by intense pulsed light
- Inactivation mechanisms of microorganisms by intense pulsed light treatment

- Nonthermal sterilization of *Makgeolli* by intense pulsed light combination with high voltage pulsed electric field treatment
 1. Establishment of ingredient selection criteria for production of fine makgeolli and Examination of fermentation conditions
 - Nutritional analyses of a variety of regional rice and respectively brewed makgeolli
 - Nutritional analyses of makgeolli is made from different kinds of fermentation agents (nuruk)
 - Analyses of change in the aromatic constituent and the organic acid content
 - Examination of the influence the rice polishing ratio has on the content of makgeolli
 - Analyses of the nutritional content and fermenting condition of makgeolli with respect to brewing water ratio and brewing water hardness
 - Nutritional analyses of makgeollismade at different fermentation temperatures
 2. Securement of food safety inproduction of high-quality makgeolli
 - Establishment of analytical conditions for physicochemical hazardous content
 - Physicochemical hazardous content analysis of makgeollis sold in the market
 - Examination of biogenic amine content change in and isolation of microorganism from the available makgeollis stored at different temperatures
 - Examination of fermentation conditions that affect the biogenic amine formation
 3. Development of the optimum process for production of high-quality makgeolli
 - Establishment of a brewing method that enhances the flavor of makgeolli
 - Foundation of a manufacture technology that usesa yeast culture appropriate for makgeolli production and proposal for a model of manufacture facility
 - Installation of non-sugar additive makgeolli production facility through fermentation process control

IV. Conclusion

1. In this study, wild yeast strain isolated from *Nuruk* were characterized to identify a yeast strain that optimally produces the sensory characteristics of *Makgeolli*, such as a unique carbonated taste, sour taste and a sweet taste. To select yeasts for *Makgeolli* brewing, 1,000 yeasts isolated from 300 *Nuruks* stored at the Korea Food Research

Institute were screened. The CO₂ gas, acid, and odor production abilities of the yeasts during alcohol fermentation were analyzed and compared.

2. 206 yeasts that had a superior ability to produce odor, a fruity flavor, a sour flavor, foam, alcohol, and acids were primarily selected. The yeasts that produced an unfavorable odor such as a pungent odor, a soy sauce smell, a sour smell, and a medium smell; film-forming bacteria; and bacteria that produced floating materials during the fermentation were discarded. Then, 80 yeasts that had a superior ability to produce flavor and more than ten percent in alcohol content.

3. 18 yeast strains producing over 13% of the alcohol content including 192-4 strain showing the high alcohol content (17%) were selected. The result of sensory characteristics and physicochemical characteristics of the *Makgeolli* were selected 6 yeast strains that produced sweet taste, sweet flavor, sour taste, carbonated taste and good taste. Among them, high alcohol producing yeasts were selected 113-8, 113-9 and 192-4. Fruity flavor and flower flavor producing yeasts were selected 98-5 and 111-5. Mild and fullbody taste producing yeast was selected 183-2.

4. The goal of this study is to extend the shelf life of the rice wine through the research of how to control microbial and enzyme activity and shelf improve technology.

Completely fermented(glucose zero) could be reduced an increase in acidity during storage. [fermentation condition: Nuruk 30%(based raw materials), water rate 200%, yeast 6%(based raw materials), fermentation temperature 27 °C, period 5 days]

5. The study of the microbial activity by natural antimicrobial was used three kinds of natural antimicrobial agents(Vitamin B1 Lauryl Sulfate, Grapefruit Seed Extract, culture broth of lactic acid bacteria). Among those, the culture broth of lactic acid bacteria was the most effective in controlling microbial activity. The addition of 0.1% culture broth of lactic acid bacteria extended the lag phase of microbial growth. However, there was no effect on enzyme activity.

6. Cold shock treatment(-20 °C, 10 days) reduced the activity of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria. Considering acidity stability and sensory aspects, expiration date of the cold cock rice wine increased +30 ~ +40 days(compared to rice wine 15 days at 10 °C).

7. Microbial activity decreased by the alcohol content(10~15%) and the lag phase of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria was extended. Considering acidity stability and sensory aspects, expiration date of 10% alcohol rice wine increased +20 days(compared to rice wine 15 days at 10 °C).

8. Microbial of rice wine supernatant by natural sedimentation method decreased lactic acid bacteria 10^1 cfu/mL, acetic acid bacteria 10^2 cfu/mL, yeast 10^3 cfu/mL. Considering acidity stability and sensory aspects, expiration date of rice wine supernatant by natural sedimentation method increased +50~+55 days(compared to rice wine 15 days at 10 °C).

9. *Makgeolli*, Korean traditional turbid rice wine, was treated with pulsed electric fields (PEF) for the purpose of a development of new cold pasteurization processes. Inactivation of yeasts in *Makgeolli* increased with increase in intensity of the electric field strength and treatment time. The initial yeast count of *Makgeolli* was 2×10^8 cfu/ml. A reduction of 2D was obtained at 30 kV/cm and 256 exponential decay pulses at room temperature. The combination of PEF and conventional thermal treatment inactivated yeasts more effectively. The reductions of up to 8D were observed when the *Makgeolli* was treated with PEF of 20 kV/cm and 256 pulses at 50°C. Inactivation of yeasts in *Makgeolli* increase with increase in alcohol contents. When alcohol content in *Makgeolli* increased to 12%, PEF treatment with 30 kV/cm and 256 pulses resulted in 4.8 D reduction of yeasts. No changes in pH, acidity and the growth of yeast were observed in the PEF treated *Makgeolli* during storage at 4°C for 4 weeks.

10. Inactivation of yeasts in *Makgeolli* increased with increase in electric field strength and treatment time by continuous (recycled) PEF treatment. A reduction of 5.9 log cycle was obtained at 70 kV/cm, 330 μ s and room temperature. Reduction of yeasts in *Makgeolli* increased with increase in alcohol contents. When alcohol content in *Makgeolli* increased to 12%, PEF treatment with 60 kV/cm and 330 μ s resulted in 6 D reduction of yeasts. No changes in pH, acidity and the growth of yeast were observed in the PEF treated *Makgeolli* during storage at 4°C and 30°C for 4 weeks.

11. This research was to investigate the microbial inactivation mechanisms by high voltage pulsed electric fields (PEF) treatment in terms of physiological changes of the cells with *Saccharomyces cerevisiae*. PEF was applied at the electric field strength 50 kV/cm, treatment time 56 μ s and temperature 40°C. The microbial cells treated with high voltage

pulsed electric fields treatment showed loss of salt tolerance on cell membrane and collapse of relative pH gradient on in-out of cells. Cell death or injury resulted from the breakdown of homeostasis, the decreasing of H⁺-ATPase activity, the loss of glycolysis activity.

12. Intense pulsed light (IPL) treatment is one of the emerging non-thermal techniques investigated as an alternative to conventional thermal treatment because it has been proven to be effective for microbial inactivation on air, water and foods. The aim of this study was to evaluate the possibility of using IPL treatment for the effective inactivation of isolated yeast from *Makgeolli*. Key parameter of intense pulsed light were light intensity (input voltage), treatment time, frequency of pulse and depth of sample. The results show that there is a significant reduction of population along with an increase light intensity and IPL treatment duration. The highest level of inactivation achieved in this study was about a 7 log cfu/mL reduction. And inactivation rates of yeast cells decrease with increasing initial cell population and depth of samples. But pulse frequency did not affect inactivation

13. This work studies in the pasteurization effect of the *Makgeolli* using batch treatment of intense pulsed light and the quality changes of *Makgeolli* during storage at 4°C and 30°C. Initial total viable cells of treated *Makgeolli* was $1.8-2.7 \times 10^4$ cfu/mL, reducing 2 log cycle as compared with viable cells of untreated *Makgeolli*. Quality changes of treated *Makgeolli* were examined by IPL treatment of *Makgeolli* followed by storage at 4°C and 30°C. Reducing sugar contents were increased in both untreated and treated *Makgeolli* during storage. However, pH was maintained or decreased a little in both samples. Titratable acidity hardly changes in storage at 30°C, untreated sample increased rapidly as the storage time was extended, while IPL treated sample was gradually increased. Both samples for storage at 4°C maintained viable cells of total bacteria, lactic acid bacteria and yeast. On the other hand, treated *Makgeolli* during storage at 30°C reached the level of untreated *Makgeolli* after 2 days.

14. The microbial cells treated with intense pulsed light treatment showed the cellular membrane damages, which resulted in an increase in the leakage of UV-absorbing materials with increasing light intensity and treatment time. Cell death resulted from the membrane damage and physical rupture of cell walls or membranes. This was confirmed by the experimental results such as absorption of methylene blue dye and disruptive cytoplasmic membranes on TEM photographs, which were found in *S. cerevisiae* cells exposed to intense pulsed light treatment.

15. This research studies in the sterilization effect of the *Makgeolli* using combination treatment of IPL and PEF treatment and the quality changes of *Makgeolli* during storage at 4°C and 30°C. A reduction of 5 log cycle was obtained by PEF treatment at 50 kv/cm, frequency 5 Hz after IPL treatment at 600 V. Quality changes of treated *Makgeolli* were examined by combination treatment of *Makgeolli* followed by storage at 4°C and 30°C. Reducing sugar contents were decreased in both untreated and treated *Makgeolli* during storage. However, pH was slightly increased in both samples. Also titratable acidity changes in storage at 4°C, 30°C, untreated sample increased slightly as the storage time was extended, while combination treated sample was not changed. Both samples for storage at 4°C maintained viable cells of total aerobic bacteria, lactic acid bacteria and yeast. On the other hand, treated *Makgeolli* during storage at 30°C reached the level of untreated *Makgeolli* after 4 days.

16. Examination of the fermentation conditions for quality makgeolli

a. Samgwang was finally selected as the raw material for makgeolli through assessment of the eating quality of 20 different kinds of rice and brewing tests coenzyme I (*Rhizopus* sp.) was selected, through experiments on a variety of nuruk, for its superior generation of ester aromatic content, such as isoamyl acetate.

b. Brewing steamed and non-steamed ingredients showed that the non-steamed product tended to generate twice as much isoamyl acetate as the steamed one brewing 10%, 30%, and 50% polished rice showed that the 10% product tended to be high in isoamyl acetate even though there was no preference among them. Moreover, analyzing the aromatic content of products made from grinded particle size of 20~60mesh showed that the particle size did not seem to affect the aromatic content; sugar content after fermentation seemed to be high in 40~60mesh, which was hence evaluated appropriate for brewing without synthetic sweetener.

c. Brewing different raw material to brewing water ratio showed that high brewing water ratio tended to be low in isoamyl acetate and 150% brewing water ratio had the highest ester content. However, the water hardness had a minimal influence on fermentation.

d. Fermentation temperature comparison tests revealed that fermenting at 15°C tended to take as twice as longer than fermenting at 25°C aromatic measurement revealed increased formation of esters at 15°C and high-quality alcohol at 25°C.

17. Securement of food safety in production of high-quality makgeolli

a. Establishment of analytical conditions for physicochemical hazardous content and physicochemical hazard content analysis of makgeollis in the market: A GC-MS and LC assay method - for ethyl carbamate ($C_3H_7NO_2$) and biogenic amines, such as histamine, tyramine, putrescine and spemidine - was developed to analyze the available makgeollis. Ethyl carbamate content analyses of 5 different products measured 0.888~1.940ppb, lower than the maximum level of 15ppb for table wines in the United States. Biogenic amine content analyses of 7 different products measured 6.0~16.0ppm.

b. Examination of biogenic amine content change in and isolation of microorganism from the available makgeollis stored at different temperatures: An examination of the influence the storage temperature has on the biogenic amine content change revealed that 5°C and 10°C tended to conserve the biogenic amine content; at 30°C, the biogenic amine content tended to increase as makgeollis were stored longer and total 13 species of microorganism were separated and identified. Bacilli transformed with the isolated microorganisms were brewed to examine their influence on the biogenic amine formation, but the change was minimal during fermentation. It is speculated that the presence of fermenting yeast suppresses the growth and development of microorganism. Examination of the biogenic amine content change during storage of completed products of makgeolli at 5°C and 30°C revealed that storing at 5°C did not show any microscopic change, but storing at 30°C tended to show increased formation.

c. Examination of the fermentation conditions that affect the biogenic amine formation: Examining the influence of fermentation temperature and initial brewing pH on the biogenic amine formation during brewage showed that the content at the end of fermentation at 15°C and 25°C were similar, but the total amine content tended to increase when the initial pH level was adjusted to 3.5 as to the control pH of 4.0. It is speculated that the cause is delayed proliferation of fermenting yeast due to the low pH.

18. Development of the optimum process for production of high-quality makgeolli

a. Brewing method for enhancing the flavor of makgeolli: Particular amino acids are mentioned as the precursors of aromatic components, such as major high-quality alcohol and ester, which are the primary criteria for evaluating the quality of liquor. Therefore in this research, brewing with the addition of leucine, isoleucine, and phenylalanine confirmed that the addition of leucine and isoleucine increased the formation of isoamyl acetate and the addition of phenylalanine increased the formation of phenylethyl acetate. This study shows possibility of using amino acid composition examination of raw material as a criterion for appropriate ingredient selection.

b. Foundation of a manufacture technology that uses a yeast culture appropriate for makgeolli production and proposal for a model of manufacture facility: Testing with 98-5 fermenting yeast strain, chosen as the appropriate fermenting yeast for makgeolli brewing, and the fermenting yeast strain generally used in breweries showed that the makgeolli of 98-5 strain was high in ester type of aroma component remaining in the makgeolli mash (suldeot) and thus tended to be preferred. Consequently, 98-5 strain was used to brew 100 and 1000-liter fermentation at 15°C, and age at -2°C over 1 week until bottled. The bottled experimental makgeolli was twice richer in the overall aromatic element - especially rich in isoamyl acetate content - than the makgeollis in the market.

Furthermore, the general component analysis of the experimental makgeolli after storing for 60 days at 10°C showed 0.5% increase in alcohol, but protection against changes in the sugar content and acidity. In addition, the necessary production facility for such makgeolli includes a jacket-type cooling system in the fermentation tank for temperature control and its easiness of sterilization, and hence, such cooling installation is an essential factor for the temperature control during fermentation and aging.

c. Installation of non-sugar additive makgeolli production through fermentation process control: For the production of high-quality makgeolli without any chemical sweetener, such as Aspartame, four times the amount of coenzyme necessary for saccharification of rice was added as the saccharifying agent to brew makgeolli of 10% alcohol, which had the highest preference. Makgeolli of high-quality without artificial sweetener was richer in flavor component than the makgeollis in the market, like the above analyses, and maintained the permissible level of alcohol for 10 days at 10°C.

19. Surveys and analysis of the quality characteristics and index, and the contamination status of hazards in makgeollis.

a. To determine quality characteristics and index, the samples were tested, which included 12 miscellaneous makgeollis using cereal such as corn and wheat, 13 live rice makgeollis using only rice as a starch source, and 67 makgeollis with 22 live and 45 sterilized makgeollis for organoleptic assessment. Physicochemical assay was performed for measuring ingredients of makgeollis such as solid content, pH, total acidity, amino-nitrogen content, Hunter color value, turbidity, total sugars, reducing sugars, alcohol content, organic acids, free sugars, and volatile compounds. For analysis of the changes in makgeolli quality during distribution condition, the same assay was also performed for makgeollis stored at 5°C for 5 days and 10 days after bottling.

b. To clarify the contamination factors in makgeollis, the overall quality was examined, which included additives of sweeteners, preservatives and microbial contaminants. As a results, the gap between quality standards in law and actual status was evaluated and prerequisite quality standards were established.

20. Surveys on the contamination status of hazards in makgeollis and establishment of production standards

a. The production standards, quality index and requirements on manufacturing were developed from studies on the main requirements of 「Liquir Tax Law」 and 「Food Sanitation Act」. The production standards on raw materials, process and final products were developed after the evaluation of management on environments, plant, accessory facility, raw materials, production facility, process, quality and distribution, and the examination of process and management standards

b. To examine the hazards in makgeollis, 29 makgeolli samples were tested for mycotoxin such as alfatoxin (B₁, G₁, B₂ and G₂) and ochratoxin. Samples were analysed for the viability test of photogen under the similar condition of makgeolli composition to evaluate the contamination and survival of microbial pathogen. Twenty-six samples were analysed for the contents and residue of artificial sweetening(aspartame and saccharine) and preservatives (ethyl p-Hydroxybenzoate and sorbic acid). As a results, the drafts of QC process and operation standards were made up and the contamination level for quality control was evaluated.

21. Establishment of physicochemical quality index in makgeolli industry and development

of PRPs for quality enhancement

a. To establish quality index and standards of microbial contaminants, 59 makgeollis were examined using RT-PCR to confirm the contamination level of food pathogen including *Bacillus cereus* that was detected at makgeolli samples of Second-year study. As a result, 7 microorganism (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Yersinia enterocolitica* and *Staphylococcus aureus*) and 5 *Escherichia coli* (EHEC, ETEC, EIEC, EPEC, EAEC) were not detected in makgeolli samples. However, *Bacillus cereus* was also detected in 19 makgeollis of overall 59 samples, 1.7% of which were toxigenic *Bacillus cereus* with the level of microbial counts of 10^1 CFU/mL in samples.

b. According to the results of first-year and second-year studies, quality index and their management standards were established, which is capable to be utilized as criteria in manufacturing company. The SOP was developed for manufacturing normal makgeolli and the special SOP was prepared for the high value-added makgeolli developed as a results of this study. Moreover, the SSOP was developed for the manufacturing normal makgeolli satisfied with the legal requirements from Ministry of Food and Drug

23. Quantitative sensory profiles of twelve commercial rice wines (takju) without heat-treatment were developed using sensory descriptive analysis. Four appearance, seven aroma, six flavor/taste, and five mouthfeel related sensory attributes were evaluated duplicate by a panel of 10 judges. The descriptive data set was initially analyzed for significant overall product effect employing a three-way mixed model analysis of variance (judges, samples, and replications) and all two-way interactions with judges treated as random. In addition, correlations between mean attribute ratings were calculated and a principal component analysis (PCA) on mean attribute ratings employing the covariance matrix was conducted. The samples which were mainly made by rice (over 70%) showed significantly different sensory profiles except two sensory attributes (carbonic acidity and yeast flavor).

24. Quantitative sensory profiles of ten commercial rice wines (*Makgeolli*) with heat-treatment were developed using sensory descriptive analysis. Three appearance, seven aroma, seven flavor/taste, and four mouthfeel related sensory attributes were evaluated duplicate by a panel of 10judges. From the principal component analysis (PCA) of the

descriptive data, rice wines were primarily separated along the first principal component, which accounted for 61% of the total variance between the rice wines with high intensities of 'white color' and 'fruitiness' versus 'yellow color' and 'yeast flavor'. The volatile compounds of same rice wines were extracted and analyzed by headspace solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), respectively. A total of 50 volatile components, including 24 esters, 7 alcohols, 4 acids, 3 ketones, 2 aldehydes, and 10 miscellaneous compounds, were detected. Esters and alcohols were the largest groups among the quantified volatiles. About 60% of the total quantified volatile material was contributed by six compounds; ethyl octanoate, ethyl decanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl dodecanoate, 3-methyl-1-butanol, phenylethyl alcohol. The individual concentrations of volatile compounds such as longer chain ethyl esters, 3-methyl-1-butanol, and benzaldehyde corresponded well to the intensities of related sensory attributes by the correlation analysis.

25. The preferences of eight commercial rice wines (takju) were determined using a 9-point hedonic scale by 123 consumers. Preferences for color, aroma, taste, full-body, and overall acceptability were determined. The sweetness and sourness levels of the eight rice wines were also evaluated using a 9-point just-about-right (JAR) scale. An analysis of variance was constructed to evaluate the effect of gender, age, and samples on the preference ratings (overall acceptability, color, aroma, taste and full-body). Significant differences were observed for all the preference ratings among the eight samples. Based on the partial least square regression analysis using sensory and consumer data, rice wines with high intensities of sweet aroma, sweet taste, and fruitiness showed higher ratings in consumer preference ratings. Astringent and bitter tastes were primarily accounted for low acceptance ratings.

26. The relationship between sensory intensity ratings or consumer preference data of the rice wines and instrumental data, including physico-chemical and volatile data was modeled by partial least square regression (PLS) analysis. This PLS model using sensory (X) and preference (Y) data explained 77% of the variation in the sensory variables and 69% in preference data, respectively. Fruity sensory characters showed overall higher associations with preferences; while moldy and fermentation related, astringent, bitter sensory characteristics showed negative relationships with preferences. In a PLS model using volatile (X) and preference (Y) data, 2-phenylethyl acetate, ethyl dodecanoate, ethyl decanoate, 3-methyl-1-butanol, ethyl hexanoate, phenylethyl alcohol,

3-(methylthio)-1-propanol, ethyl octanoate, and ethyl dodecanoate showed a significant positive correlations with overall and other preferences data. These widely known volatiles from an alcohol fermentation can be used as quality indices when monitoring quality characteristic of rice wines.

27. Total sensory quality evaluation system were determined using data from sensory descriptive analysis and expert delphi survey. Sensory quality parameters were determined as an odour intensity, odour complexity, aroma intensity, aroma complexity, balance and body, colour hue, and colour intensity. In addition to describe the quality parameters, the evaluation methodology, the quality grading and the scoring criteria, this work also describes the development of references of odour, aroma, taste and mouth-feel, and appearance. This approach can be very helpful to develop specific sensory quality control methods for other certified foods.

V. Result and application

1. Yeast selection for *Makgeolli* brewing

Yeast	Species	Ferment	Characteristics
98-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>koji</i>	fruity, banana, neat makgeolli
111-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>koji</i>	fruity, flower, sweet makgeolli
113-8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>nuruk</i>	sour, sweet, carbonated flavor, high alcohol
113-9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>koji</i>	high alcohol production
192-4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>koji</i>	high alcohol production
183-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>koji</i>	mild makgeolli

2. High voltage pulsed electric field and Intense pulsed light is currently being recommended as an innovative nonthermal sterilization and/or pasteurization technology that kill microorganisms on surface of foods or in liquid food using short pulse of high voltage electric field or intense broad-spectrum electromagnetic radiation. These technology is nonthermal technology which is designed to produce stable and safe food products without those damage induced by heating. PEF and IPL results in very few residual compounds and does not involve the use of chemicals that cause environmental pollution or harm humans. In the future, both technology is applicable mainly sterilizing on the powdered food, sea food, infant food, seasoning, transparent packaging materials transparent pharmaceuticals as well as liquid foods and surface of foods.

3. It is expected that non-synthetic sweetener makgeolli with extended expiration date has sufficient value as a commodity in the makgeolli market trend for it has shown to be qualitatively stable. Also, the production of such makgeolli rich in flavor component seems to be highly possible in producing other types of liquor, and the plan to review its potential application in the production of traditional liquor is in process.
4. Establishment of criteria and methods for quality evaluation based on the scientific results
5. Enhancement of quality control in makgeolli industry under the production standards, SOP and PRPs
6. Contribution to productivity increase and consumer protection through the rational establishment of standards in makgeolli production
 - Contribution to inducement of domestic makgeilli industry into the industry with high quality products and competitiveness to imported liquors
7. Validation criteria for the contest of liquors and the quality certification of makgeollis
8. Validation criteria for products development in company
9. Utilization on the guidelines for R&D of traditional manufacturer, and the procedure of productivity increase and quality improvement

CONTENTS

I. Introduction	63
II. Recent Technological Development in the Research	68
III. Contents and Results of the Research	75
1. Materials	75
2. Methods	81
(1) Selection of yeast strains	81
(2) Selection of quality factor	83
(3) Shelf life extention technology through control of microbial and enzyme activity ..	84
(4) Batch nonthermal sterilization of <i>Makgeolli</i> by high voltage pulsed electric fields treatment	85
(5) Continuous (Recycle) nonthermal sterilization of <i>Makgeolli</i> by high voltage pulsed electric fields treatment	86
(6) Inactivation mechanisms of microorganisms by high voltage pulsed electric fields treatment	89
(7) Nonthermal sterilization of <i>Mageolli</i> by intense pulsed light (IPL) treatment	93
(8) Nonthermal sterilization of <i>Makgeolli</i> by intense pulsed light combination with high voltage pulsed electric field treatment	99
(9) Analysis of rice	100
(10) Brewing of <i>Makgeolli</i>	101
(11) Analysis of <i>Makgeolli</i>	102
(12) Analysis of the microbial	103
(13) Sensory evaluation	116
(14) Research for standard procedure of <i>Makgeolli</i>	118
(15) Development of optimized procedure for high quality <i>Makgeolli</i>	119
3.. Results	120
(1) Selection of yeast strains	120
(2) Development of high quality of <i>Makgeolli</i>	119
(3) Shelf life extention technology through control of microbial and enzyme activity	214
(4) Nonthermal sterilization of <i>Makgeolli</i>	237
(5) Development of standard manufacturing criteria for production	274
(6) Analysis of hazard components of <i>Makgeolli</i>	291
(7) Establishment of manufacturing criteria	300
(8) Development of physiochemical quality index	312
(9) Research for sensory standard manual of <i>Makgeolli</i>	419

(10) Development of optimized procedure for high quality <i>Makgeolli</i>	468
IV. Achievements and Contributions	511
V. The application plan of the current research accomplishments	517
VI. International research information and source	521
VII. Research equipment status	524
VIII. Reference	525

목 차

제1장 연구개발과제의 개요	63
제1절 연구개발의 목적	63
제2절 연구개발의 필요성	63
제3절 연구개발의 범위	66
제4절 연구개발에 따른 기대성과	67
제2장 국내외 기술 개발 현황	68
제1절 국내외 기술 현황 및 문제점	68
제3장 연구개발 수행 내용 및 결과	75
제 1절. 재료 및 방법	75
1. 재료	75
제2절 실험 방법	81
1. 막걸리 양조전용 효모선발	81
가. 입국 당화액 제조	81
나. 효모 활성과 균체 접종량	81
다. 우수균주 선발	81
(1) 우수균주 1차 선발	81
(2) 우수균주 2차 선발	81
(3) 우수균주 3차 선발	81
(4) 우수균주 4차 선발	82
라. 선발 균주의 양조 특성	82
(1) 선발 균주를 적용한 발효제별 양조	82
(2) 선발 균주를 적용한 원료별 양조	82
(3) 선발 균주를 적용한 발효 온도별 양조	82
(4) 선발 균주를 적용한 급수율별 양조	82
(5) 선발 균주의 내알코성 및 내당성	82
(6) 선발 균주의 침강성	82
(7) 선발 균주의 탄소 이용능	83
2. 막걸리 품질저하 요인 선정	83
가. 시판 막걸리의 이화학적 특성	83
나. 저장/유통 중 모니터링 및 품질저하 요인 선정	83
다. 미생물 균집변화	83
라. 고형분과 관능성 관계 구명을 위한 막걸리 제조	83
마. 현탁성 개선을 위한 유화안정성 분석	84
3. 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발	84

가. 완전발효 막걸리의 제조	84
나. Cold shock 처리 조건	84
다. 미생물의 선택적 제거 방법	84
라. 나노분쇄 방법	84
마. 막걸리 저장성 실험 방법	84
4. 고전압 펄스 전기장에 의한 막걸리의 비가열 살균	85
가. 고전압 펄스 발생 장치	85
나. 효모의 생존율 측정	86
다. 저장성 평가	86
5. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균	86
가. 사용균주	86
나. 고전압 펄스 발생 장치 및 처리 방법	87
다. 효모 생존율의 측정	88
6. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 미생물의 살균 기작 연구	89
가. 사용균주 및 배양 조건	89
나. 고전압 펄스 전기장 시스템	89
다. 생균수의 측정	90
라. 내염성의 변화 측정	90
마. 세포 내외의 상대적 pH 구배 측정	90
바. 해당활성 측정	91
사. H ⁺ -ATPase 분리 및 활성 변화 측정	91
(1) 세포막의 분리	91
(2) 무기질 phosphate의 유리	92
(3) Phosphate 측정 (ATPase 활성 측정)	92
아. 효소 활성 변화 측정	92
자. 전자현미경 분석	92
7. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균	93
가. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균	93
(1) 사용균주 및 배양조건	93
(2) 광펄스 처리 장치 및 균주 처리	93
(3) 생균수의 측정	95
(4) 색도, 당도 및 온도 측정	95
(5) pH 및 적정산도	96
(6) 환원당 함량	96
나. 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균	96

(1) 사용균주 및 배양 조건	96
(2) 광 펄스 발생 장치 및 처리방법	96
다. 고강도 광펄스에 의한 미생물의 살균 기작 연구	97
(1) 사용균주 및 배양조건	97
(2) 광펄스 처리 장치 및 균주 처리	97
(3) 자외선 흡수 물질 측정	97
(4) 세포 염색 관찰	99
(5) 전자현미경 관찰	99
(6) 세포 회복도 측정	99
8. 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리에 의한 막걸리의 비가열 살균	99
9. 쌀의 일반성분 분석	100
가. 수분	100
나. 단백질	101
다. 아밀로스	101
10. 막걸리의 제조	101
11. 주류의 분석	101
가. 고형분	101
나. pH	101
다. 총산	101
라. 아미노태 질소	102
마. 색도	102
바. 탁도	102
사. 총당	102
아. 환원당	102
자. 알코올	103
차. Glucose 함량	103
카. 향균력 시험	103
타. 효소 분석	103
(1) Glucoamylase	103
(2) α -amylase	103
파. 유리당	104
하. 유기산	104
가. 향기성분	104
(1) Solid Phase Micro Extraction(SPME)을 이용한 휘발성 향기성분 추출	105
(2) GC/MS를 이용한 향기성분의 정성 및 정량분석	105

나. 보존료	106
다. 아스파탐 및 삭카린	106
라. 물리적 특성 분석	106
(1) 탁도	106
(2) 색도	107
(3) 점도	107
(4) 총고형분 함량	107
(5) 현탁 안정성	107
12. 미생물 분석	107
가. 균수 측정	107
나. 살모넬라, 황색포도상구균 및 병원성 대장균 정량분석 및 분리	107
다. 미생물 특성 분석	108
(1) 시료로부터 DNA분리	108
(2) PCR 방법을 이용한 DNA의 증폭	108
(3) Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)	109
(4) 열기서열분석	109
라. Ethanol과 Succinic acid의 병원성균 생육저해 실험	109
(1) 표준균주 및 시약	109
(2) 균주의 배양	109
(3) Ethanol과 Succinic acid의 식중독균 생육저해	110
마. 막걸리의 식중독균 생육저해 실험	110
(1) 사용균주	110
(2) 막걸리 배양액 제조	110
(3) 균주의 배양	110
(4) 막걸리의 식중독균 생육저해 평가	110
바. 막걸리의 Ethanol 농도에 따른 <i>B. cereus</i> 생육저해 실험	111
(1) 사용균주 및 시약	111
(2) 막걸리배양액 제조	111
(3) 균주의 배양	111
(4) Ethanol농도에 따른 막걸리의 식중독균 생육저해 평가	111
사. 병원성 미생물의 확인	111
(1) 시약 및 시료	111
(2) 병원성 미생물의 확인	111
(3) 병원성 미생물중 <i>Bacillus</i> 류 동정	113
(4) 병원성 미생물 균주 선별	113

(5) <i>B. cereus</i> 독소 유전자 확인	114
(6) 독소유전자 보유 균주의 16S rRNA sequencing	115
13. 관능검사	116
가. 묘사분석 실험방법	116
(1) 심사원(judge)	116
(2) 패널훈련	116
(3) 실험계획	116
(4) 통계분석	116
나. 살균막걸리의 소비자 및 전문가 기호도 조사	117
(1) 기호도 및 설문조사 방법	117
다. 막걸리 품질평가체계 확립을 위한 전문가 델파이 조사	118
(1) 델파이 조사 방법	118
라. 통계분석 방법	118
14. 막걸리의 제조기준 설정을 위한 조사	118
15. 고품질 막걸리 생산을 위한 최적공정 기술 개발	119
가. 문헌조사	119
나. 전문가 자문회의	119
다. 방문조사	119
제3절. 결과 및 고찰	120
1. 막걸리 양조전용 효모선발	120
가. 막걸리 전용 효모 1차 선발	120
나. 막걸리 전용 효모 2차 선발	121
다. 막걸리 전용 효모 3차 선발	126
라. 막걸리 전용 효모 4차 선발	136
마. 선발효모의 양조 특성	143
(1) 선발효모를 이용한 발효계별 양조적성	143
(2) 선발효모를 이용한 원료별 양조적성	149
(3) 선발 효모를 이용한 발효 온도별 양조적성	154
(4) 선발효모를 이용한 급수율별 양조적성	167
(5) 막걸리 양조전용 효모 내알코올성, 내당성	178
(6) 막걸리 양조전용 효모 침강성	179
(7) 막걸리 양조전용 효모 oxidation-fermentation, assimilation test	180
(8) 막걸리 양조전용 효모 18S rRNA gene sequence 결과	187
2. 막걸리의 품질향상 기술개발	189
가. 시판막걸리의 특성	189

(1) 이화학적 분석	189
(2) 물리적 특성	191
(3) 향기성분 분석	192
(4) 미생물 분석	193
(5) 시판막걸리의 기호도 조사	196
(6) 시판막걸리의 저장 후 이화학적 분석	198
나. 저장/유통 중 모니터링 및 품질저하 요인 선정	201
다. 막걸리의 품질 저하 요인 도출	205
(1) 유통기한 설정 지표와 프로그램을 통한 품질저하 요인 도출	205
(2) 미생물 균수를 사용한 품질저하 요인 도출	206
라. 고형분과 관능성 관계 구명을 통한 제성 조건 확립	208
마. 현탁성 개선을 통한 유화안정성 분석	210
바. 난분해성 전분 활용	212
3. 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발	214
가. 막걸리 품질 저하 요인/인자 도출 및 관련 기작에 따른 제어 방안 모색	214
(1) 시판 막걸리의 유통기한 분석	214
(2) 시판 막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과	215
(3) 주요 시판 막걸리의 저장 경과에 따른 이화학 성분 변화	216
(4) 주요 시판 막걸리 미생물 분석 결과	216
(5) 주요 시판 막걸리 효소 분석	217
(6) 시판 막걸리 품질 저하 원인 분석	217
가) 산도(신맛) 증가 주요 원인 분석	217
나) 산도(신맛) 감소 주요 원인 분석	219
나. 완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 기술 개발	219
(1) 완전발효 조건에 따른 저장성 연구	219
가) 완전발효 막걸리의 발효 조건	220
나) 완전발효 막걸리와 잔당 함유 막걸리에 대한 저장 경과에 따른 산도비교	220
(2) 탄산 제어 조건에 따른 이화학 성분 및 미생물 활성 연구	221
(3) 잔당 제어 조건에 따른 저장성 연구	221
다. 길항미생물 및 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발	221
(1) 선택적 유용 젖산균 적용에 의한 저장성 연구	222
(2) 천연항균 및 효소실활 물질에 의한 미생물, 효소 활성 연구	222
가) 항균력 시험	222
나) 막걸리에 천연항균물질 첨가에 따른 미생물 및 이화학적 성분 변화	224
다) 막걸리에 천연항균 물질 첨가에 따른 효소 활성 분석 결과	224

라. Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술	225
(1) 냉동 및 저장온도, 시간조건에 따른 미생물 실험, lag phase 지속성 영향연구	225
가) 시판 막걸리 cold shock 처리 조건에 따른 미생물 활성 영향 분석	225
(2) Cold shock 조건에 따른 품질/관능, 저장성 연구	225
가) 시판 막걸리 cold shock 처리 조건에 따른 산도, pH 변화	225
나) Cold shock 처리후 저장 경과에 따른 관능검사 결과	226
다) Cold shock 처리에 따른 저장성 향상 효과 예측	227
마. 알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술개발	227
(1) 알코올 함량 조건에 따른 미생물 및 효소 활성에 대한 연구	227
가) 알코올 함량 조건에 따른 미생물 활성 분석 결과	227
나) 알코올 함량에 따른 효소 활성 분석 결과	228
(2) 알코올 함량 조건에 따른 품질/관능, 저장성 연구	228
가) 알코올 함량에 따른 산도, pH 분석 결과	228
나) 알코올 함량 조건에 따른 저장성 향상 효과 예측	229
바. 균체의 선택적 분리기술 및 제거 기술개발	229
(1) 단위 공정액 또는 제성액으로부터 미생물의 선택적 제거방법에 의한 균수 제어	229
가) 미생물의 선택적 제거 방법에 따른 균수 변화 및 저장성 연구	229
나) 미생물의 선택적 제거 방법에 따른(상등액) 저장성 향상 효과 예측	230
(2) 나노분쇄기술에 의한 미생물 제거 조건 확립	230
가) 나노분쇄기술에 의한 균수 변화 및 저장성 연구	230
나) 나노분쇄기술에 의한 저장성 향상 효과 예측	232
다) 발효액 전처리방법(발효액/제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 나노 분쇄법 적용에 따른 경제성 분석	232
사. 유통기한 연장개발기술/공정 최적화 및 현장화 확립	233
(1) 유통기한 연장/저장성 개발기술의 최적화, 공정 구성	233
가) 공정구성에 따른 이화학 성분 비교	234
나) 저장기간 경과에 따른 맛 선호도	234
(2) 유통기한 연장/저장성 향상 개발기술의 현장화	235
4. 비가열 살균 기술을 이용한 생막걸리의 유통기한 연장 연구	237
가. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균	237
(1) 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균	237
가) 전기장 세기 및 처리 시간에 따른 막걸리의 살균	237
나) 처리 온도에 따른 막걸리의 살균	238
다) 알코올 농도에 따른 막걸리의 살균	239
라) 처리한 막걸리의 저장성	240

(2) 고전압 펄스 전기장에 의한 막걸리의 연속식 비가열 살균	241
가) 전기장 세기 및 처리 시간에 따른 막걸리의 고전압 펄스 전기장의 살균	241
나) 알코올 농도에 따른 막걸리의 고전압 펄스 전기장 살균	242
다) Square wave pulse와 exponential decay pulse의 살균 효과 비교	242
라) 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리의 저장성 평가	243
(3) 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 살균 기작 연구	244
가) 내염성의 변화	244
나) 상대적 pH 구배	245
다) 해당활성의 변화	246
라) H ⁺ -ATPase의 활성 변화	247
마) 효소 활성 변화	248
바) 전자현미경에 의한 형태학적 관찰	249
나. 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 비가열 살균	251
(1) 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균	251
가) 빛의 세기와 처리시간에 따른 사멸 효과	251
나) Frequency에 따른 사멸 효과	252
다) 초기 균체 농도에 따른 사멸 효과	253
라) 시료의 깊이에 따른 사멸효과와 온도변화	254
마) 광펄스 처리 전후의 품질 변화	255
바) 생균수의 변화	256
사) pH 및 적정산도	257
아) 환원당의 변화	258
(2) 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 연속식 비가열 살균	259
(가) 연속식 처리용기를 이용한 효모의 회분식 살균	259
① 빛의 세기 및 처리시간에 따른 효모의 살균	259
② 처리온도에 따른 효모의 살균	260
(나) 연속식 처리용기를 이용한 효모의 연속식 살균	261
① 빛의 세기 및 처리시간에 따른 효모의 살균	261
② 처리온도에 따른 효모의 살균	261
(다) 연속식 처리용기를 이용한 막걸리의 살균	262
(3) 고강도 광펄스에 의한 미생물의 살균 기작 연구	263
(가) 광펄스 처리에 의한 세포 손상	263
(나) 세포 염색 관찰	263
(다) 전자현미경 관찰	264
(라) 손상된 세포의 회복도 측정	264

(4) 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스의 병합 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균	266
(가) 광 펄스와 고전압 펄스 전기장의 병합처리에 의한 막걸리의 살균	266
(나) 광 펄스와 고전압 펄스 전기장의 병합처리에 의한 막걸리의 저장성 연구	267
① 생균수 변화	267
② 색도의 변화	268
③ pH의 변화	271
④ 적정산도의 변화	271
⑤ 환원당의 변화	272
⑥ 관능적 특성	272
5. 고품질 막걸리 생산 및 안전성 확보를 위한 최적 공정 기술 개발	274
가. 쌀 품종별 발효	274
(1) 백미 품종별 일반 성분 분석	274
(2) 쌀 품종별 막걸리 담금 시험 분석	276
(3) 누룩 종류에 따른 막걸리 발효	279
나. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 성상 분석	281
(1) 원료 처리 방법 - 원료 증자 및 무증자 처리에 따른 막걸리 성상 비교	281
(2) 백미 도정율에 따른 막걸리 발효	283
(3) 원료 처리 방법 - 쌀 분쇄 입도 차이에 따른 막걸리 성상 비교	285
다. 막걸리 담금 급수별 발효	287
라. 막걸리 담금수 정도별 막걸리 발효	289
마. 막걸리 발효 온도별 막걸리 발효	290
6. 막걸리의 이화학적 위해 성분 분석	291
가. 시판막걸리에서의 에칠카바메이트 함량 분석	291
나. 시판 막걸리의 성상 분석 및 바이오제닉 아민 함량 측정	292
(1) 시판 막걸리의 일반 성분 분석 및 바이오제닉 아민 함량	292
(2) 시판 막걸리의 저장온도별 바이오제닉 아민 함량 변화	292
(3) 시판 막걸리의 유리 아미노산 분석	294
(4) 시판 막걸리 상온(30℃) 저장 분리 미생물의 동정	295
(5) 분리된 미생물에 의한 바이오제닉 아민 생성 검토	296
(6) 막걸리 발효 시 바이오제닉 아민 생성 확인	296
(7) 바이오제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 발효의 검토	299
7. 막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델의 제시	300
가. 막걸리 향미 증진 시험	300
나. 효모 98-5 효모를 이용한 막걸리 담금에 미치는 발효 온도의 영향 검토	302
다. 발효 용량별 막걸리 시험 담금	305

라. 막걸리 제조 공정 설비 모델	308
마. 고급 막걸리의 제조 방법 확립	309
8. 막걸리의 품질 표준화 및 품질지표 개발	312
가. 막걸리의 품질 지표 개발	312
(1) 이화학적 품질 지표 개발	312
(가) 주요 시판 막걸리 제품의 품질 특성 분석	312
(나) 막걸리의 대표종별 유통조건에 따른 품질 특성 변화 분석	328
나. 막걸리의 안전성 확보를 위한 품질 지표 개발	333
(1) 주요 시판 막걸리 제품의 안전성 관련 지표 성분 및 위해 성분의 조사·분석	333
(가) 곰팡이 독소	333
(나) 오염 위해 미생물	334
(다) 인공감미료, 보존료의 첨가물 등	335
(2) 주요 공정별 이행 및 오염원 추적 분석	338
(가) 병원성 미생물 검출	338
(나) <i>Bacillus cereus</i> 검출	339
(다) 독소 유전자 분포	339
(라) 독소 유전자 포함 균주의 동정	340
(마) 결과	340
다. 막걸리 생산 기반에 대한 표준 제조기준 개발	356
(1) 막걸리 제조기준 설정	356
(2) 막걸리 작업표준(SOP)	363
(가) 선발 효모의 보관방법, 활성화	373
(나) 검류의 종류, 사용량 및 첨가 방법	373
(다) 난분해성 전분의 종류, 사용량 및 첨가방법	374
(라) 완전발효의 방법 및 검증방법	374
(마) 탄산제어의 방법 (사용용기 및 보관방법 등)	374
(바) Cold-shock 처리방법	374
(사) 균체의 선택적 분리 및 제거 방법	376
(아) 발효 공정 제어를 통한 당분 무첨가의 막걸리 제조방법	376
(3) 막걸리 생산 기반에 대한 선행 요건 프로그램(PRPs) 개발	376
9. 막걸리의 관능적 품질기준 및 평가기준 설정 연구	419
가. 시판 막걸리의 관능 및 이화학적 특성	419
(1) 묘사분석을 이용한 생막걸리 12종의 정량적 관능특성 분석	419
(2) 묘사분석을 이용한 살균막걸리 10종의 정량적 관능특성 분석	428
(3) 기기분석을 통한 살균 막걸리의 이화학적 특성 및 휘발성분	435

나. 살균막걸리의 소비자 및 전문가 기호도 조사	441
(1) 소비자 일반설문 결과 분석	441
(2) 일반 소비자 기호도 조사 결과분석	445
(3) 전문가 대상 기호도 평가 및 소비자 결과와 비교	450
다. 막걸리의 종합적 품질평가시스템 구축을 위한 전문가 델파이 조사 결과	451
라. 다변량분석을 통한 이화학, 기호도, 묘사적 관능특성 분석 결과 모델링	456
마. 막걸리의 종합적 품질평가 체계(안) 설정	465
10. 고품질 막걸리 생산을 위한 최적공정 기술 개발	468
가. 기초조사 및 업체 현황분석	468
(1) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 방법	468
(2) 자료 내용 최근 주류 및 막걸리 관련 식품사고 사례 수집 및 원인 분석	468
(3) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 진행	468
(4) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 결과	468
(가) 최근 주류 및 막걸리 관련 식품사고 사례 수집 및 원인 분석	468
(나) 선행연구사업 주류 관련 위해요소별 정리	470
① 조사 위해요소 항목	470
② 선행연구사업 위해요소 자료 예시	470
③ 위해요소 및 이물관리 방법(음료류)	471
나. 막걸리 제조업소를 선정하여 현장중심의 공정기본자료 조사 및 정리	472
(1) 현장방문 조사항목 및 조사표 개발	472
(2) 현장방문업소 대상 선정	475
(가) 업체 선정	475
(3) 현장방문 조사결과	476
(가) 기본조사항목	476
① 업소 규모	476
② 종업원수	476
③ 생산능력	477
(나) 서류관리	477
(다) 환경 및 시설관리	478
(라) 우수관리항목	481
(마) 행정처분	482
(바) 위해요소관리 기초조사, 제품관리, 위해요소분석 항목, 평면도, 작업장 세척 청소방법 기준	482
(4) 현장방문 분석 요약결과	482
다. 막걸리 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 및 예방조치(안) 도출	483

라. 위해요소 예방조치(안)의 현장 적용성 검토	483
(1) 현장 적용성 검토	490
(2) 원료별 현장조사(인터뷰)결과	491
(가) 주원료(쌀 등 농산물)	491
(나) 첨가물(발효제, 당분, 용수)	491
(다) 포장재(PET, 마개 등)	492
(3) 공정별 현장조사(인터뷰)결과	493
(가) 입고	493
(나) 원·부자재 보관	493
(다) 연미	494
(라) 세미/침지	495
(마) 증자	495
(바) 발효	496
(사) 제성	497
(아) 병입(내포장)	498
(자) 완제품 보관 및 유통	498
(4) 기타 이화학적 품질기준 항목에 대한 검사시행 여부 조사결과	499
마. 막걸리 원료 및 공정별 위해요소 및 예방조치 최종(안) 도출	500
바. 위해요소 예방조치 세부이행사항 및 향후 관리방안	505
(1) 종사자 관리	506
(가) 개인위생관리	506
(나) 작업장 출입 관리	506
(다) 교육	506
(2) 제조환경관리	506
(가) 작업장 환경관리	506
(나) 방충·방서관리	507
(다) 식품취급시설관리	507
(라) 폐기물관리	507
(3) 생산관리	507
(가) 원·부자재 및 포장재 보관관리	507
(나) 용수관리	508
(다) 공정별 주요관리사항	508
① 입고	508
② 부자재 보관	508
③ 연미	508

④ 세미/침지, 증자	508
⑤ 발효	508
⑥ 제성	508
⑦ 병입(내포장)	509
⑧ 완제품 보관 및 유통	509
(4) 제품관리	509
사. 교육교재 제작	509
(1) 내용 구성	509
(가) 일반위생관리	509
(나) 제조공정관리	509
(다) 제품관리	510
(라) 기타	510
(2)막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재(안)	510
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	511
제1절 연구개발 목표 달성도	511
제2절 관련 분야의 기술 발전에 기여도	516
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	517
제1절 연구성과	517
1. 논문게재 성과	517
2. 학술발표	518
3. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)	519
가. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등	519
4. 연구개발 성과 활용 계획	519
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	521
제7장 연구시설·장비 현황	524
제8장 참고문헌	525
[부록 1] 일반적인 제조 시설·설비관리 기준서 예시	553
[부록 2] 일반적인 냉장·냉장·설비관리 기준서 예시	558
[부록 3] 일반적인 보관·운송관리 기준서 예시	563
[부록 4] 일반적인 검사관리 기준서 예시	570
[부록 5] 막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재(안)	579
[부록 6] 식품위생법 개정에 따른 주류제조업체 의무 법규	637

표 차례

표 1. 국내에서 생산되는 유통기한 연장 제품	68
표 2. 국가 주류안전관리 연혁	74
표 3. 식약처 담당 주류안전관리 업무	74
표 4. 실험에 사용된 쌀의 원산지 및 품명	76
표 5. 실험에 사용한 잡곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용) 제품	77
표 6. 실험에 사용된 생쌀막걸리 제품	77
표 7. 관능평가에 사용된 생막걸리 제품	78
표 8. 관능평가에 사용된 살균 막걸리 제품	79
표 9. 기호도 조사에 사용된 살균 막걸리 제품	80
표 10. PowerCheck™ 19 Pathogen Multiplex Real-time PCR kit의 시험용 병원성 미생물 목록 ...	113
표 11. <i>Bacillus cereus</i> 의 설사형 및 구토형 식중독 독소	114
표 12. 독소 유전자 검출에 사용한 primer sequemce와 PCR 반응 조건	115
표 13. 막걸리의 묘사특성 용어	117
표 14. 교육교재 구성	119
표 15. 우수균주 1차 선발	120
표 16. 우수균주 2차 선발	121
표 17. 밥알의 혼탁정도 및 침전정도(우수균주 2차 선발)	123
표 18. 2차 선발 균주의 온도별 발효특성	124
표 19. 2차 선발 균주의 발효제 입국 사용 막걸리의 이화학적 특성	127
표 20. 2차 선발 균주의 발효제 진주곡자 사용 막걸리의 이화학적 특성	130
표 21. 2차 선발 균주의 발효제 입국 사용 막걸리의 유기산 함량	132
표 22. 2차 선발 균주의 발효제 진주곡자 사용 막걸리의 유기산 함량	134
표 23. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학적 특성	136
표 24. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유리당, 유기산 함량 (mg/mL)	137
표 25. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 이화학 및 관능특성	137
표 26. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 유기산 및 유리당 함량 (mg/mL)	138
표 27. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	139
표 28. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 증자용조효소)	144
표 29. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유리당 함량 (mg/mL) (발효제: 증자용조효소)	145
표 30. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 증자용조효소)	145

표 31. 선발 호모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 무증자용조효소)	146
표 32. 선발 호모 20균주 이용 원주의 유리당 함량 (mg/mL) (발효제: 무증자용조효소)	147
표 33. 선발 호모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 무증자용조효소)	147
표 34. 선발 호모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 누룩)	148
표 35. 선발 호모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 누룩)	149
표 36. 원료별 원주의 이화학적 특성	150
표 37. 원료별 막걸리의 이화학적 특성	151
표 38. 원료별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)	151
표 39. 원료별 막걸리의 색도	151
표 40. 호모 111-5 원료별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	152
표 41. 호모 98-5 원료별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	153
표 42. 호모 111-5 원료별 막걸리의 관능특성	154
표 43. 호모 98-5 원료별 막걸리의 관능특성	154
표 44. 발효 온도별 원주의 이화학적 특성	156
표 45. 발효 온도별 막걸리의 이화학적 특성	157
표 46. 발효 온도별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)	157
표 47. 발효 온도별 막걸리의 색도	158
표 48. 호모 La Parisienne 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	159
표 49. 호모 98-5 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	160
표 50. 호모 111-5 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	161
표 51. 호모 197-13 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	162
표 52. 호모 263-4 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	163
표 53. 막걸리의 발효 온도에 따른 관능평가	164
표 54. 온도별 발효기간 원주의 이화학적 특성	165
표 55. 온도별 발효기간 막걸리의 이화학적 특성	165
표 56. 온도별 발효기간 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)	166
표 57. 온도별 발효기간 막걸리의 색도	166
표 58. 호모 98-5 온도별 발효기간 막걸리의 관능평가	167
표 59. 호모 111-5 온도별 발효기간 막걸리의 관능평가	167
표 60. 급수율별 원주의 이화학적 특성	169
표 61. 급수율별 막걸리의 이화학적 특성	169
표 62. 급수율별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)	170
표 63. 급수율별 막걸리의 색도	170
표 64. 호모 98-5 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	172
표 65. 호모 111-5 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	173

표 66. 효모 141-1 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	174
표 67. 효모 197-13 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	175
표 68. 효모 263-4 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)	176
표 69. 막걸리의 급수율에 따른 관능평가	177
표 70. 최종 선발 균주의 oxidation-fermentation test	181
표 71. 최종 선발 균주의 carbon assimilation test	183
표 72. 선발효모 18균주의 동정결과	187
표 73. 시판막걸리의 이화학적 특성분석	189
표 74. 시판막걸리의 유기산 함량	190
표 75. 시판막걸리의 물리적 특성분석	191
표 76. 시판막걸리의 휘발성 향기성분 분석	192
표 77. 시판막걸리(생주)의 미생물 분리 및 동정	194
표 78. 시판막걸리(생주)의 기호도 조사	196
표 79. 시판막걸리(살균주)의 기호도 조사	197
표 80. 시판막걸리의 저장 후 이화학적 특성분석	198
표 81. 시판막걸리의 저장 후 유기산 함량	198
표 82. 시판막걸리의 저장 후 물리적 특성분석	199
표 83. 시판막걸리의 저장 후 휘발성 향기성분 분석	200
표 84. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 이화학적 특성 변화	202
표 85. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 고형분 함량 변화 (g/ml)	202
표 86. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 유기산, 유리당 함량 변화	202
표 87. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 물리적 성분변화	203
표 88. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 미생물 변화	204
표 89. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 휘발성 향기성분 변화	205
표 90. 식품의 유통기한 설정 실험 지표	206
표 91. 시판막걸리의 저장 온도와 기간에 따른 균수 측정	207
표 92. PCR-DGGE을 통한 효모와 곰팡이의 동정 결과	208
표 93. PCR-DGGE을 통한 세균의 동정 결과	208
표 94. 조건을 달리하여 제성한 막걸리의 저장 온도 및 기간에 따른 관능특성	209
표 95. 난분해성 전분을 첨가한 막걸리의 이화학적 특성	212
표 96. 시판용 막걸리 원재료명 및 유통기한	214
표 97. 시판 막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과	215
표 98. 시판 살균막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과	215
표 99. 시판 막걸리의 주요 미생물 분석	217
표 100. 시판 막걸리의 주요 효소 분석 결과	217
표 101. 자몽종자추출물의 항균력 시험결과	223

표 102. 유산균발효액의 항균력 시험 결과	223
표 103. 비타민B1라우릴황산염의 항균력 시험 결과	223
표 104. 천연항균물질 첨가에 따른 α -amylase 활성 변화	224
표 105. 천연항균물질 첨가에 따른 glucoamylase 활성 변화	224
표 106. 알코올 함량 조건에 따른 α -amylase 활성 변화	228
표 107. 알코올 함량 조건에 따른 glucoamylase 활성 변화	228
표 108. 미생물의 선택적 제거 방법에 따른 상등액의 균수 비교	230
표 109. 균질압에 따른 미생물 활성 변화	231
표 110. 고압균질 횟수에 따른 미생물 활성 변화	231
표 111. 제성액 전처리 방법(제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 상, 하등액 비율	233
표 112. 제성액 전처리 방법(제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 고압균질 적용에 따른 경제성 분석	233
표 113. 고압균질기 압력에 따른 유액 처리량 비교	233
표 114. 고전압 펄스 전기장 처리, 가열 처리 및 병합처리에 의한 사멸을 비교	239
표 115. 고전압 펄스 전기장 처리 전후 <i>S. cerevisiae</i> 내 효소의 활성 변화.	248
표 116. 고강도 광펄스 처리에 의한 효모의 불활성화에 대한 D값	252
표 117. 고강도 광펄스 처리 시 효모의 불활성화에 대한 균체 초기 농도에 의한 투과율 및 사멸을	254
표 118. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 색도와 당도의 변화	256
표 119. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃ 저장기간 중 색도의 변화 ..	269
표 120. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 30℃ 저장기간 중 색도의 변화 ..	270
표 121. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃ 저장기간 중 관능검사 ..	273
표 122. 국내산 쌀 품종의 이화학적 분석 및 식미 기호도 비교 선정	276
표 123. 막걸리 제조 시 유기산 생성에 미치는 당화제의 영향	281
표 124. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효 유기산 성분의 경시적 변화	282
표 125. 도정율에 따른 이화학적 성분	284
표 126. 담금 급수 비율에 따른 막걸리 발효시의 유기산 성분의 경시적 변화	288
표 127. 시판 막걸리의 에칠카바메이트 함량 분석결과	291
표 128. 시판 막걸리의 일반 성분 분석	292
표 129. 시판 막걸리 4종에 대한 유리 아미노산 분석	295
표 130. 시판 막걸리의 미생물 분리동정 결과 (30℃보관조건)	295
표 131. 막걸리 멸균 발효에 따른 효모와 일반 미생물 생균수	297
표 132. 5℃ 저장에 따른 막걸리 효모와 일반 미생물 생균수	298
표 133. 30℃ 저장에 따른 막걸리 효모와 일반 미생물 생균수	298
표 134. 막걸리 담금 조건	299

표 135. 잡곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석 결과	313
표 136. 잡곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 색차 및 첨가물 분석 결과	314
표 137. 잡곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 유리당 함량 분석 결과	314
표 138. 잡곡막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 유기산 함량 분석 결과	315
표 139. 잡곡막걸리 (miscellaneous makgeollis)의 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기 성분 분석	316
표 140. 생쌀막걸리의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석결과	318
표 141. 생쌀막걸리의 색차 및 식품첨가물 분석 결과	319
표 142. 생쌀막걸리의 유리당 함량 분석 결과	319
표 143. 생쌀막걸리의 유기산 함량 분석 결과	320
표 144. 생쌀막걸리의 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기 성분 동정	321
표 145. 생쌀막걸리내 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기 성분 비교	323
표 146. 관능평가용 살균 막걸리의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석 결과	325
표 147. 관능평가용 살균 막걸리의 색차, 아스파탐 및 삭카린 분석 결과	326
표 148. 관능평가용 살균 막걸리의 유리당 함량 분석 결과	326
표 149. 관능평가용 살균 막걸리의 유기산 함량 분석 결과	327
표 150. 막걸리의 5℃ 저장중의 탁도의 변화	329
표 151. 막걸리의 5℃ 저장중의 pH의 변화	329
표 152. 막걸리의 5℃ 저장중의 아미노산성 질소함량의 변화	329
표 153. 막걸리의 5℃ 저장중의 총산의 변화	330
표 154. 막걸리의 5℃ 저장중의 총당 함량의 변화	330
표 155. 막걸리의 5℃ 저장중의 환원당 함량의 변화	330
표 156. 막걸리의 5℃ 저장중의 고형량의 변화	331
표 157. 막걸리의 5℃ 저장중의 에탄올 함량의 변화	331
표 158. 막걸리의 5℃ 저장중의 메탄올 함량의 변화	331
표 159. 막걸리의 5℃ 저장중의 색차의 변화	332
표 160. 막걸리의 5℃ 저장중의 미생물군수의 변화	332
표 161. 시중 유통 막걸리의 Aflatoxin과 ochratoxin A 수준	334
표 162. 16S RNA sequencing 결과	336
표 163. 표준균주의 막걸리에서의 생존성	336
표 164. <i>Staphylococcus aureus</i> 와 <i>Bacillus cereus</i> 표준균주의 에탄올 농도에 따른 생존성	337

표 165. <i>Staphylococcus aureus</i> 와 <i>Bacillus cereus</i> 표준균주의 succinic acid 농도에 따른 생존성	337
표 166. 시중 유통 막걸리 제품에서의 aspartame, saccharin, sorbic acid 및 butyl-p-Hydroxy-benzoate의 함량 시험분석 결과	338
표 167. 막걸리 시료에서의 RT-PCR을 이용한 병원성 미생물 검출 결과	342
표 168. 막걸리의 시료의 MYP 배지상에서의 균수	344
표 169. 59개 막걸리 시료의 <i>Bacillus cereus</i> 9개 독소 유전자 검출 결과	351
표 170. 59개 막걸리 시료에서의 <i>Bacillus cereus</i> 검출 비율	351
표 171. 독소 생산과 관련해서 알려진 <i>Bacillus cereus</i> 균주 (Burgess G and Paul Horwood P, 2006)	353
표 172. 막걸리의 제품의 품질요소 및 기준	355
표 173. 막걸리의 QC 공정도 예시	357
표 174. 작업표준(SOP)	366
표 175. 일반적인 주류 제조장에 요구되는 위생요구사항	378
표 176. 일반적인 막걸리 제조장의 위생관리기준(SSOP) 기본 요구사항 예	384
표 177. 생막걸리 묘사분석의 삼원분산분석 결과(n=2 reps×10 judges×12 samples)	422
표 178. 생막걸리의 묘사분석 결과	424
표 179. 생막걸리 묘사분석 관능특성 용어간의 상관관계 분석 결과	426
표 180. 살균막걸리 묘사분석의 삼원분산분석 결과(n = 2 reps×10 judges×10samples)	430
표 181. 살균막걸리의 묘사분석 결과(n=2reps×10 judges×10samples)	431
표 182. 살균막걸리 묘사분석 관능특성 용어간의 상관관계 분석 결과(n=2reps×10 bjudges×10samples)	434
표 183. 살균 막걸리의 기초 이화학적 특성	437
표 184. 살균 막걸리의 향기성분(ppm, mg/L)	438
표 185. 소비자 기호도 및 설문조사 대상의 일반사항 (n=123)	441
표 186. 성별에 따른 주류 소비행태 및 소비자 의식 비교	443
표 187. 주류 구입 시 고려항목의 중요도(n=123)	445
표 188. 소비자 기호도 조사 항목에 대한 분산분석 결과 (n=123)	447
표 189. 살균 막걸리의 일반 소비자 기호도 조사 결과 (n=123)	447
표 190. 관능적 요인의 기여도에 대한 관능검사 순위법의 빈도수 결과	447
표 191. 살균막걸리 관능특성 용어와 기호도간의 상관관계 분석 결과(n=8)	449
표 192. 시판막걸리의 전문가 품질 기호도 조사 결과 (n = 12)	450
표 193. 막걸리 품질평가 항목 선정을 위한 전문가 델파이 설문 결과 (N=29)	452
표 194. 막걸리 품질평가 항목 중 적정 강도 수준에 대한 전문가 설문 1결과 (N=29, 중복 응답)	455

표 195. 쌀막걸리의 품질 관련 주요 인자	466
표 196. 쌀막걸리의 품질평가 순서	466
표 197. 쌀막걸리의 품질 평가표(안)	467
표 198. 주류 관련 진행 타 기관 연구사업명	468
표 199. 식료품 품목별 이물 혼입 현황	469
표 200. 위해요소 항목	469
표 201. 조사 위해 요소 항목	470
표 202. 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 항목	470
표 203. 위해요소 발생 근거	471
표 204. 위해요소 예방조치 방법	471
표 205. 각 단계별 주요 관리 항목	471
표 206. 업소 내·외부의 방충대책	472
표 207. 조사업소 현황	476
표 208. 업소규모 현황	476
표 209. 종업원수 현황	477
표 210. 연간 생산능력 현황	477
표 211. 서류관리 세부 통계 현황	478
표 212. 환경 및 시설관리 미흡 항목 현황 등	479
표 213. 우수관리 항목 현황 등	481
표 214. 국가별 Ethyl carbamate 검출기준	484
표 215. 막걸리의 원료 및 공정별 잠재적 위해요소, 발생원인 및 예방조치(안) 1차 도출(안) ·	485
표 216. 현장조사(인터뷰) 개요	490
표 217. 품관원_이화학적 품질기준 항목 검사시행 여부	499
표 218. 막걸리 원료 및 공정별 위해요소 및 예방조치(안) 최종 도출(안)	500
표 219. 막걸리제조업체 위생·안전관리 교육교재(안) 목차 및 주요 내용	510

그림 차례

그림 1. 국내 막걸리 출하량 추이, 2007~2012, 통계청	65
그림 2. 고전압 펄스 전기장 시스템의 구성도	85
그림 3. 고전압 펄스 전기장 시스템의 개략도	85
그림 4. 고전압 펄스 전기장의 회분식 처리용기	86
그림 5. Co-field 개념의 연속식 처리용기의 개략도	88
그림 6. Co-fields 개념의 연속식 처리용기의 사진	88
그림 7. 연속식 처리용기내의 전압 및 전류의 위치별 분포	88
그림 8. 정치 조건하에서 연속식 처리 용기의 위치별 온도의 변화	88
그림 9. 고전압 펄스 전기장 장치의 펄스 파형. 1 μ s square wave 펄스	90
그림 10. 고강도 광펄스 장치의 개략도	93
그림 11. 고강도 광펄스 시스템의 전원 장치	94
그림 12. 고강도 광펄스 처리를 위한 회분식 처리 장치	94
그림 13. 고강도광펄스 시스템의 제논램프의 파장 범위 및 강도	95
그림 14. 연속식 고강도 광펄스 처리 시스템 개략도	97
그림 15. 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리 시스템 개략도	100
그림 16. 선발효모 20균주의 휘발성 향기성분 결과의 주성분 분석	143
그림 17. 효모 111-5 술의 원료별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화	149
그림 18. 효모 98-5 술의 원료별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화	150
그림 19. 효모 5종 술의 발효 온도에 따른 발효기간 중 pH 및 고형분 함량 변화	155
그림 20. 효모 5종 술의 급수율별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화	168
그림 21. 막걸리 양조 선발효모의 내알코올성	178
그림 22. 막걸리 양조 선발효모의 내당성	179
그림 23. 막걸리 양조 선발효모의 침강성	179
그림 24. 최종 선발된 3종 효모와 <i>S. cerevisiae</i> 표준균주(CBS4054), 일본청주효모(K7) 및 소주효모(S2)의 염기서열분석	188
그림 25. 분말효모 형태로 대량생산된 막걸리용 선발 효모 98-5, 111-5, 192-4	188
그림 26. 시판막걸리의 현탁안정성	192
그림 27. 시판막걸리(생주)의 기호도 조사 결과 주성분분석	197
그림 28. 시판막걸리(살균주)의 기호도 조사 결과 주성분분석	197
그림 29. 시판막걸리의 저장 후 현탁안정성	199
그림 30. 시료의 수집지역 분포	202
그림 31. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 현탁안정성 변화	203
그림 32. 막걸리 시료의 DNA	207
그림 33. PCR- DGGE에 의한 막걸리의 DNA band	207

그림 34. 안정제 첨가량에 따른 막걸리의 현탁 안전성	210
그림 35. 안정제를 사용한 막걸리의 시간 경과에 따른 현탁 안정성	211
그림 36. 난분해성 전분을 첨가한 막걸리의 기호도 결과	214
그림 37. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 산도 변화	216
그림 38. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 pH 변화	216
그림 39. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 효모수 변화	216
그림 40. 시판 C막걸리의 저장 경과에 따른 미생물 분석 결과	218
그림 41. 살균 막걸리 상에서 유산균 접종에 의한 산도 변화	218
그림 42. 시판 막걸리 상에서 초산균 접종에 의한 산도 변화	218
그림 43. A막걸리 저장 경과에 따른 미생물 분석 결과	219
그림 44. A막걸리 저장 경과에 따른 유기산 분석 결과	219
그림 45. A막걸리 밀폐, 비밀폐 용기에 따른 산도 변화 비교	219
그림 46. 발효기간 경과에 따른 잔당 함량(병행복발효법)	220
그림 47. 발효기간에 따른 효소 활성 분석 결과	220
그림 48. 완전발효 막걸리와 잔당 함유 막걸리의 산도 비교	220
그림 49. 잔당 1% 조건에서 밀폐, 비밀폐 용기에 따른 산도 비교	221
그림 50. 당첨가후 저장기간 경과에 따른 유기산 함량 변화	221
그림 51. 밀폐용기를 사용한 막걸리의 미생물 활성 변화	221
그림 52. 비밀폐 용기를 사용한 막걸리의 미생물 활성 변화	221
그림 53. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 당 함량 변화	222
그림 54. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 알코올 변화	222
그림 55. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 산도 변화	222
그림 56. 유용 젖산균 적용 막걸리의 저장 경과에 따른 산도 변화	222
그림 57. 유산균발효액에 의한 <i>Gluconoacetobacter</i> sp.의 항균활성	223
그림 58. 유산균발효액 첨가에 따른 산도 변화	224
그림 59. 저장 기간 경과에 따른 효모수 변화	224
그림 60. 저장 기간 경과에 따른 유산균수 변화	224
그림 61. 저장 기간 경과에 따른 초산균수 변화	224
그림 62. Cold shock 처리 조건에 따른 유산균 활성 변화	225
그림 63. Cold shock 처리 조건에 따른 초산균 활성 변화	225
그림 64. Cold shock 처리 조건에 따른 효모 활성 변화	225
그림 65. Cold shock 처리 조건에 따른 산도 변화 비교(lot1)	226
그림 66. Cold shock 처리 조건에 따른 pH 변화-(lot1)	226
그림 67. Cold shock 처리 조건에 따른 산도 변화 비교(lot2)	226
그림 68. Cold shock 처리 조건에 따른 pH 변화 비교(lot2)	226

그림 69. Cold shock 처리후 저장 경과에 따른 선포도 검사결과	227
그림 70. 알코올 함량에 따른 유산균 활성 변화(10 °C 저장)	227
그림 71. 알코올 함량에 따른 초산균 활성 변화(10 °C 저장)	227
그림 72. 알코올 함량에 따른 효모수 활성 변화(10 °C 저장)	227
그림 73. 저장 경과에 따른 산도 비교 결과(10 °C 저장)	228
그림 74. 저장 경과에 따른 pH 비교 결과(10 °C 저장)	228
그림 75. 선포도 검사 결과(9점 척도법)	229
그림 76. 저장 경과에 따른 상등액의 산도 변화(10 °C 저장)	230
그림 77. 저장 경과에 따른 상등액의 pH 변화(10 °C 저장)	230
그림 78. 균질압별 저장 경과에 따른 산도 변화	231
그림 79. 균질압별 저장 경과에 따른 pH 변화	231
그림 80. 균질 횟수별 저장 경과에 따른 산도 변화	232
그림 81. 균질 횟수별 저장 경과에 따른 pH 변화	232
그림 82. 대조구와 균질압 800bar/3회 균질 실험구에 대한 추세선 비교	232
그림 83. 유통기한 연장/저장성 개발기술의 공정구성도	234
그림 84. 공정구성에 따른 산도 변화 비교	234
그림 85. 공정구성에 따른 pH 변화 비교	234
그림 86. 공정구성에 따른 맛 선포도 비교	235
그림 87. 공정구성과 저장기간 경과에 따른 기본맛 강도	235
그림 88. 공정구성에 따른 향 선포도 비교	235
그림 89. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전기장의 세기의 영향	237
그림 90. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모에 대한 주파수의 영향	238
그림 91. 고전압 펄스 전기장 처리에 대한 막걸리 내 효모의 임계 처리 시간	238
그림 92. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건	239
그림 93. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 알코올 농도의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건	240
그림 94. 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리의 저장실험	241
그림 95. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전기장의 세기와 처리시간의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : square wave pulses, 상온	241
그림 96. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 알코올 농도의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 60 kV/cm, square wave pulse, 상온	242
그림 97. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 펄스 형태의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건	243
그림 98. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 pH의 변화	244

그림 99. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 산도의 변화	244
그림 100. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 효모 균수의 변화	244
그림 101. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 손상 및 회복 실험. 고전압 펄스 전기장 처리조건	245
그림 102. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 세포 내외 상대적 pH 변화건	246
그림 103. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 해당활성 변화	246
그림 104. 고전압 펄스 전기장 처리한 <i>S. cerevisiae</i> 의 H ⁺ -ATPase의 활성 변화	247
그림 105. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 <i>S. cerevisiae</i> 의 효소 활성 변화	249
그림 106. 고전압 펄스 전기장 처리 전후 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 전자현미경 사진. 고전압 펄스 전기장 처리조건	250
그림 107. 고전압 펄스 전기장 처리전후 투과 현미경 사진. 고전압 펄스 전기장 처리조건	250
그림 108. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향	251
그림 109. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 펄스 수의 영향	252
그림 110. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 초기 균체의 영향 ...	253
그림 111. 고강도 광펄스 처리에 의한 효모의 불활성화에 대한 시료 깊이의 영향	254
그림 112. 고강도 광펄스의 시료깊이에 따른 온도 변화	255
그림 113. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 균수의 변화	257
그림 114. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 pH의 변화	258
그림 115. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 산도의 변화	258
그림 116. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 환원당의 변화	259
그림 117. 연속식 처리용기를 이용한 정치식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향	259
그림 118. 연속식 처리용기를 이용한 정치식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향	260
그림 119. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향	261
그림 120. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향	262
그림 121. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 처리시간에 따른 막걸리의 균수 변화	262
그림 122. 고강도 광펄스 처리에 의한 처리시간에 따른 효모의 UV 흡수물질의 양	263
그림 123. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 세포염색 사진	264
그림 124. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 투과전자현미경 사진	264
그림 125. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 성장패턴 변화	265
그림 126. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 효모의 변화 ...	266
그림 127. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 젖산균의 변화	266
그림 128. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 일반세균의 변화	266

그림 129. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 일반세균수의 변화	267
그림 130. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 젖산균수의 변화	268
그림 131. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 효모수의 변화	268
그림 132. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃,30℃ 저장기간 중 pH의 변화	271
그림 133. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃,30℃ 저장기간 중 적정산도의 변화	271
그림 134. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃,30℃ 저장기간 중 환원당의 변화	272
그림 135. 우리나라 벼 재배지역 구분	275
그림 136. 쌀 품종이 막걸리 발효에 미치는 영향	277
그림 137. 쌀 품종이 막걸리 향기 성분 변화에 미치는 영향	278
그림 138. 막걸리 발효시 유기산 생성에 미치는 쌀 품종의 영향	278
그림 139. 쌀 품종별 제조한 막걸리 관능 평가	279
그림 140. 막걸리 제조에 미치는 당화제 종류의 영향	280
그림 141. 막걸리 제조시 향기 성분 생성에 미치는 당화제의 영향	280
그림 142. 원료 처리 방법(증자, 무증자)에 따른 막걸리 발효에 미치는 영향	282
그림 143. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효 향기 성분의 경시적 변화	283
그림 144. 도정율이 막걸리 발효에 미치는 영향	284
그림 145. 막걸리 발효 삼광 도정율이 향기 성분에 미치는 영향	285
그림 146. 원료쌀 품종의 도정별 막걸리 관능 평가	285
그림 147. 막걸리 발효에 미치는 원료쌀의 분쇄 입도별 영향	285
그림 148. 분쇄입도별에 따른 경시적 glucose 함량 변화	286
그림 149. 막걸리 발효시 향기 성분 변화에 미치는 원료쌀 분쇄 입도의 영향	286
그림 150. 막걸리 발효에 미치는 급수 비율의 영향	287
그림 151. 막걸리 담금 급수율에 따른 막걸리 향기 성분의 경시적 변화	288
그림 152. 막걸리 담금 급수율에 따른 관능 평가	288
그림 153. 담금수 정도가 막걸리 발효에 미치는 영향	289
그림 154. 담금수 정도에 따른 막걸리 발효시 향기 성분의 경시적 변화	289
그림 155. 담금수 정도에 따른 막걸리 관능 평가	290
그림 156. 막걸리 발효 온도가 막걸리 발효에 미치는 영향	290
그림 157. 막걸리 발효 온도에 따른 막걸리 향기 성분의 경시적 변화	291
그림 158. 시판 막걸리에서 바이오제닉 아민 함량 측정	292
그림 159. 5℃ 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향	293
그림 160. 10℃ 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향	293
그림 161. 30℃ 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향	294
그림 162. 막걸리 제품에 미치는 바이오제닉 아민 생성 미생물의 영향	296
그림 163. 바이오제닉 아민 생성에 미치는 원료 살균 영향 검토	297

그림 164. 5°C 저장에 따른 막걸리 바이오제닉 아민 변화	297
그림 165. 30°C 저장에 따른 막걸리 바이오제닉 아민 변화	298
그림 166. 발효조건이 바이오제닉 아민 생성에 미치는 영향	299
그림 167. 효모의 향기 성분 생성 대사 지도 (Gustav, 2011)	300
그림 168. 아미노산 첨가가 막걸리 발효에 미치는 영향	300
그림 169. 아미노산첨가에 따른 막걸리 발효 향기 성분 분석	301
그림 170. 아미노산 첨가 막걸리의 관능평가 (아미노산 첨가량 각 500 ppm)	301
그림 171. 효모 균주 98-5의 막걸리 발효에 미치는 발효 온도의 영향	302
그림 172. 98-5 효모 균주의 발효 온도에 따른 향기성분 분석	303
그림 173. 98-5 효모 균주로 제조한 막걸리 관능평가	303
그림 174. 양조장 효모 및 98-5 효모 균주의 발효 비교	304
그림 175. 효모 균주에 따른 발효 향기 성분 분석	304
그림 176. 효모 균주별로 제조한 막걸리 관능평가	305
그림 177. 100L 발효조를 이용한 막걸리 발효	305
그림 178. 1KL 규모의 막걸리 발효 패턴	306
그림 179. 막걸리 일반 성분 및 전분가에 미치는 숙성 기간의 영향	306
그림 180. 막걸리 시제품	307
그림 181. 10°C 냉장 보관상에서의 숙성 막걸리의 경시적인 변화	307
그림 182. 시판 막걸리 7종과의 막걸리 향기 성분 비교 분석	308
그림 183. 막걸리 실험주에 대한 관능검사	308
그림 184. 막걸리 생산을 위한 발효 숙성 설비 모델	309
그림 185. 누룩 첨가량이 막걸리 발효에 미치는 영향	310
그림 186. 누룩 첨가량별 막걸리 관능 결과	310
그림 187. 누룩 첨가 4배 증량된 막걸리 발효 향기 분석	311
그림 188. 10°C 냉장 보관에 따른 막걸리 변화	311
그림 189. 막걸리에서 분리한 wild type <i>Bacillus cereus</i> 의 막걸리에서의 생존성	337
그림 190. 검출용 키트를 이용한 real-time PCR의 크로마토그램	344
그림 191. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 hblA 유전자의 PCR 결과	348
그림 192. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 hblC 유전자의 PCR 결과	348
그림 193. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 hblD 유전자의 PCR 결과	348
그림 194. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 nheA 유전자의 PCR 결과	349
그림 195. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 nheB 유전자의 PCR 결과	349
그림 196. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 nheC 유전자의 PCR 결과	349
그림 197. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 cytK 유전자의 PCR 결과	350
그림 198. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 NRPS 유전자의 PCR 결과	350

그림 199. 막걸리로 분리한 <i>Bacillus cereus</i> 의 NRPS* 유전자의 PCR 결과	350
그림 200. 시료 1번으로부터 분리한 1번 및 2번 colony의 16S rDNA sequence	351
그림 201. 시료 1번으로부터 분리한 3번 및 4번 colony의 16S rDNA sequence	352
그림 202. 시료(1번)로부터 분리한 colony 1번과 2번의 상관관계를 나타내는 16S rDNA sequence의 phylogenetic tree	352
그림 203. 시료(1번)로부터 분리한 colony 1번-3번의 상관관계를 나타내는 16S rDNA sequence의 phylogenetic tree	353
그림 204. 생막걸리 12종의 묘사분석 데이터의 주성분 분석	427
그림 205. 생막걸리 12종의 향, 맛, 입안감촉 특성관련 묘사분석 데이터의 주성분 분석	427
그림 206. 생막걸리의 관능특성 평가결과 그래프 (n = 10 judges x 2 replications)	428
그림 207. 살균막걸리의 관능특성 평가결과 그래프 (n = 10 judges x 2 replications)	432
그림 208. 살균막걸리 10종의 묘사분석 데이터의 주성분 분석	435
그림 209. 살균 막걸리에 대한 just-about-right scale(JAR) 빈도수 (n=123)	448
그림 210. 막걸리의 전체적인 기호도(n=1, RED, Y)와 관능특성간(n=18, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)	459
그림 211. 18개 관능특성의 전체적인 기호도에 대한 PLS 분석	460
그림 212. 막걸리의 기호도 항목(n=5, RED, Y)과 이화학적특성간(n=42, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)	461
그림 213. 7개 관능특성의 전체적인 기호도에 대한 PLS 분석	462
그림 214. 막걸리의 기호도 항목(n=5, RED, Y)과 향기성분간(n=42, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)	463
그림 215. 42개 향기성분의 전체적인 기호도에 대한 PLS 분석	464
그림 216. 원·포재료 관리를 통한 이물 제어 방법	472
그림 217. 현장조사표 예시	475
그림 218. 서류관리 현황	477
그림 219. 환경 및 시설관리 현황	480
그림 220. 제조공정도 샘플	482
그림 221. 평면도 샘플	482
그림 222. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 - 주원료(쌀 등 농산물)	491
그림 223. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 - 첨가물(발효제, 당분/ 용수)	492
그림 224. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 - 포장재	492
그림 225. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 입고	493
그림 226. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 원부자재보관	494
그림 227. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 연미	494
그림 228. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 세미.침지	495

그림 229. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 증자	496
그림 230. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 발효	497
그림 231. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 제성	497
그림 232. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 병입(내포장)	498
그림 233. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 보관 및 유통	499

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

- 품질 표준화를 위한 막걸리 표준균주 분리 및 최적 공정 기술 개발
- 막걸리 제품의 품질 표준화 및 품질 지표 개발
- 고품질 막걸리 생산을 위한 안전성 확보 및 저장성 향상(3개월 이상) 기술 개발

제2절 연구개발의 필요성

- 현재 시중에 판매되는 막걸리의 유통기한은 10 °C 10일인 제품이 대부분으로, 유통기한이 짧아 유통기한 내 판매를 하지 못하는 제품은 회수하여 폐기해야 하는 경제적 손실이 발생하고 있다.
- 해외 수출에 있어서도 유통기한이 짧다는 제한점 때문에 살균처리 한 막걸리만 주로 수출되고 있는 실정이다.
- 막걸리의 세계화를 위한 제1선행 요건이 막걸리의 유통기한 연장 및 유통 중 품질유지이며, 이러한 기술이 개발되어야 다양한 형태의 제품이 국내 뿐 만 아니라 해외에도 유통될 것이다.
- 최근 막걸리 소비 증가 추세로 볼 때 유통 저장성 품질이 중요한 부분으로 나타날 것으로 예상되며 다양한 접근에 의한 막걸리의 미생물 및 효소 제어 방법 연구가 절실히 필요하다.
- 미생물과 효소의 작용을 최소화하는 방법으로 발효공정에서 당을 완전 전환하는 생물공정 기술, 천연항균물질을 생성하는 길항미생물을 이용한 부패균과 효모 제어, 온도(cold shock)에 의한 미생물 활성 저하, 균체의 선택적 분리에 의한 미생물 제거, 나노분쇄기술에 의한 미생물 활성 제어 등의 기술개발이 필요하다.
- 현재 막걸리의 제조에 있어서 주원료는 백미를 중심으로 제조가 이루어지고 있으나, 제조원가의 경쟁력 등을 이유로 대부분이 수입산 백미 및 고미를 사용하고 있는 실정으로 막걸리에 적합한 국내산 백미에 대한 원료 기준은 전무한 상태이다.
- 막걸리를 제조하고 있는 업체의 실태는 몇 개의 제조사를 제외하고는 영세한 업체로 막걸리 제조 설비 및 제조 공정 등이 system화 되어 있지 않은 상태이다.

- 양조장의 대량 생산에 따른 생산 방법의 획일화, 생산 제품의 판매를 위하여 유통기한 연장 및 주질 안정성을 위한 합성 감미료 첨가, 저가의 전분질 원료 사용 등으로 막걸리의 품질은 하락하는 형태가 되었으며(여수환, 2010), 2010년도 막걸리 인기가 하락하는 이유 또한 막걸리 품질 하락에 있다고 할 수 있다.
- 생막걸리의 제조에 있어서 인공 감미료인 아스파탐을 사용하여 생막걸리의 단맛의 밸런스를 유지하는 방법 등으로 제조하고 있으나, 인공 감미료 등을 사용하지 않은 막걸리의 개발은 절실히 필요한 상황이다(이진원, 2010).
- 막걸리의 전국적인 열풍이던 2011년 막걸리 출고량은 1,375 kl로 전체 국내 주류 생산량의 64.8%이나, 출고 금액 기준으로 21%로 나타나고 있다.(통계청자료) 전년도에 비하여 비약적인 막걸리 시장의 성장으로 보이나, 막걸리가 주류 중에서 가지는 포지션은 낮은 것으로 나타난다. 이에 막걸리 품질 증진 및 포지션 향상을 위하여 고품질 막걸리의 개발이 절실한 실정이다.
- 국내 쌀 생산량은 2004년 5,000,149 ton에서 2012년 4,006,185 ton으로 20% 정도 줄어들었으며, 1인당 쌀 소비량 또한 82 kg에서 69.8 kg으로 감소하는 실태를 보이고 있다(통계청자료). 1인당 쌀 소비 방법은 대부분 주식으로 사용되고 있으며, 기타 품목으로 사용되는량은 100 g 뿐이다. 또한 국내업종별 쌀 소비량은 탁주 약주 제조업에 사용하고 있는 쌀은 2011년 기준 61,022 ton 으로 전체 산업의 쌀 소비량의 9.4% 만이 소비되고 있다. 쌀 소비량 증대가 절실한 실정이다.
- 대부분의 양조장의 시설 및 규모가 영세한 실정이라 양조학에 근거한 발효 또는 제품 생산을 조절하지 못하고 있는 실정이다(지윤정, 2012). 양조장 규모에 따른 막걸리 최적 생산 모델을 제시하여 막걸리 생산의 안정성 확보 및 품질 향상이 요구된다.
- 생막걸리의 유통기한은 10일에서 30일 정도이다. 이 또한 냉장 보관 상태에서 가능한 수준이며 전국적인 냉장 영업이 가능한 대규모 양조장에서는 유통이 가능하겠지만 대부분 소규모 양조장에는 지역 내에서만 영업이 가능한 형태가 된다. 소규모 양조장에서 전국적인 영업을 가능할 수 있도록 유통기한 연장 기술 개발이 필요하다(이특재, 2009).
- 최근 막걸리 열풍이 증가되었다가 감소하는 추세를 보이고 있으며, 대부분의 소비자가 막걸리의 맛을 텅텅함, 누룩 냄새 등으로 느끼며 그 이유로 막걸리를 소비하지 않는 분위기가 형성되고 있다(이특재, 2010). 막걸리의 단점으로 보이는 부분에 대한 개선 방법으로 막걸리 향미 개선에 대한 연구 개발이 필요하다.

- 건강에 대한 소비자의 인식이 높아지면서 막걸리는 유산균을 함유한 건강식품으로 알려져 있었지만 합성감미료인 아스파탐이 막걸리에 들어 있는 것에 대하여 소비자의 반감으로 나타나고 있다. 소비자가 반감을 느끼는 합성감미료인 아스파탐은 식품첨가물이며 막걸리 사용이 가능한 원료이다. 하지만 그 부작용에 대해서 명확한 근거가 없는 실정에서 아스파탐 사용이 막걸리 소비자에게는 건강식품으로 인식하던 막걸리에 대한 불신으로 이어지는 경향을 보이고 있다. 건강식품으로서의 막걸리의 명성에 걸맞도록 합성감미료가 첨가되지 않은 막걸리 개발이 필요하다.
- 지난 2009년 '한류 열풍', '웰빙 바람'에 막걸리 시장의 확대이후 2011년부터 정체기에 접어들었다. 통계청 자료에 따르면 2010년 국내 주류 출고량은 약 343만kl로 약 333만kl를 소비한 2009년보다 2.9% 증가하였고, 20세 이상 1인당 소비량은 2010년 88.2ℓ로 2009년 89.6ℓ보다 1.6% 감소하였으며, 특히 막걸리 출하량은 지난 2010년 38.6만kl에서 2011년 44.4만8kl로 크게 성장했지만 지난해 41.5만kl로 감소했다. 막걸리 열풍이 주춤한 것은 지난해 4월부터이고, 이 흐름은 올해초까지 이어지고 있다.

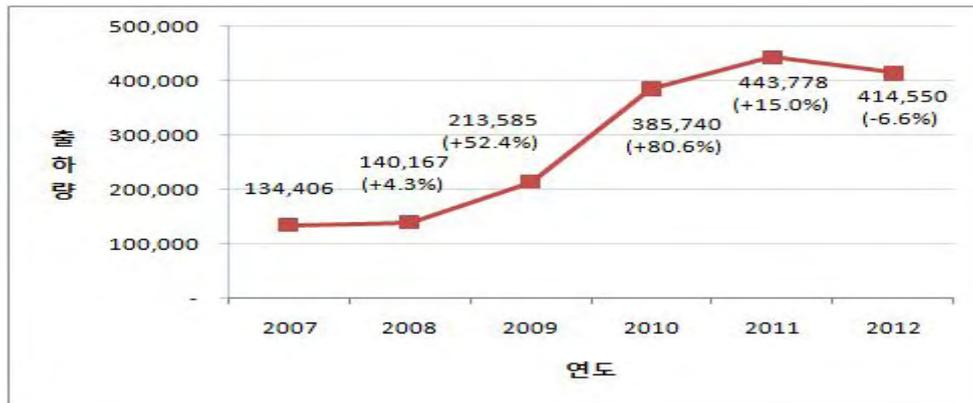


그림 1. 국내 막걸리 출하량 추이 / 2007~2012, 통계청, 단위 : kl / ()는 전년대비 증감률, 통계청

- 막걸리제조업계에서는 기존 업체간의 경쟁에서 품질향상, 연구개발을 통한 막걸리 시장 전체의 규모를 늘리는데 초점을 맞추고 있다. 이런 상황에서 막걸리에 대한 식품안전·위생에 대한 관심이 높다.
- 그러나 국내 막걸리제조업체의 대다수가 영세제조업소로 주류안전관리에 있어 기반 시설, 환경, 인력에 대한 역량이 부족한 실정이며, 금전적 부담으로 인한 시설 보수, 소극적 자세 등 여러 문제점을 안고 있다. 이런 상황에서 식품안전성 확보를 위해서는 종사자의 의식 개선이 선행되어야 하며, 이를 위한 막걸리제조업체를 위한 표준화된 교육훈련교재가 필요하다.

제3절 연구개발의 범위

- 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발
 - 막걸리 품질 저하 요인/인자 도출 및 관련 기작에 따른 제어 방안 모색
 - 완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 기술 개발
 - 길항미생물 및 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발
 - Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발
 - 알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술 개발
 - 균체의 선택적 분리 기술 및 제거 기술 개발
 - 유통기한 연장 개발기술/공정 최적화 및 현장화 확립

- 고급 막걸리 제조를 위한 원료 선별 기준의 확립
 - 각 지역별 쌀의 성분 함량 조사
 - 각 지역별 쌀을 사용한 막걸리의 성상 분석
 - 각 지역별 쌀의 도정 비율에 따른 막걸리 성상에 미치는 영향 검토
 - 원료 처리 방법에 따른 향기 성분의 변화 및 유기산 성분 함량 분석
 - 담금 급수율에 따른 막걸리 성상 분석
 - 담금수의 정도에 따른 발효 패턴 및 막걸리 성상 분석

- 고품질 막걸리 생산을 위한 안전성 확보
 - 이화학적 위해 요인 분석 조건 확립
 - 시판 막걸리의 이화학적 위해 성상 분석
 - 시판 막걸리의 저장 온도별 바이오제닉 아민 함량 변화 검토 및 미생물 분리
 - 바이오제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 담금 발효 조건의 검토

- 막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델 제시
 - 막걸리 향미 증진을 위한 담금법 확립
 - 막걸리 제품 생산에 적합한 효모 균주를 사용한 제품 생산 기술 확립 및 제조 공정 설비에 대한 모델 제시
 - 발효 공정 제어를 통한 당분 무첨가의 막걸리 제조 공정의 확립

- 막걸리 업체를 대상으로 위해요소 분석 및 교육교재 개발
 - 국내 주류 관련 위해요소 모니터링 결과 수집 및 정리 분석을 통한 막걸리의 안전성관련 선행연구결과 수집 및 분석
 - 막걸리 제조업소(대형업소, 중소규모업소등 5개소)를 선정하여 현장중심의 공정기본자료 조사 및 정리
 - 선행연구 자료를 수집, 분석하고, 현장조사 자료를 바탕으로 원료 및 생산 공정에서의 발생

가능성이 있는 막걸리의 제조·공정별 잠재적 위해요인 도출

- 예방조치 방법의 수집 및 분석을 통한 각 방법의 현장 적합성 분석 및 적용성 검토 및 확정
- 문헌 및 현장 조사 결과 반영한 공정별 위해요인 제어 교재개발

제4절 연구개발에 따른 기대성과

- 가열 살균기술에 의한 유통기한 연장이 아닌 새로운 가공기술 도입으로 막걸리의 신선한 맛과 향 유지기간 연장 가능 기술 확보
- 유통기간 연장 및 저장성 향상에 따른 내수 및 수출 시장 확대에 기여
- 막걸리의 맛과 향의 유지기간 향상으로 고객의 니즈가 충족된 전통의 막걸리 산업 확대 발전에 기여
- 막걸리 이외 전통주(약주) 및 다양한 발효식품에 저장성 향상 개발기술 접목에 따른 식품시장 확대
- 기술 특허 출원을 통한 개발기술 보호 및 국가 경쟁력 확보

제2장 국내외 기술 개발 현황

제1절 국내외 기술 현황 및 문제점

- 시판 생막걸리의 유통기한은 10℃에서 최소 10~20일 최대 30일이며, 살균 막걸리의 경우는 대부분 상온에서 12개월이다.
- 보해양조는 파스퇴르 공법(저온살균법)을 적용한 캔과 페트 제품을 출시, 파스퇴르 공법으로 막걸리의 영양과 신선함이 오래 유지 되도록 한 제품으로 유통기한은 12개월로 본 제품의 경우 유통기한 연장을 위해 ‘가열’에 의한 가공기술을 적용한 제품이다.
- 영농조합법인 ‘상생’은 고두밥 대신 팽화미, 누룩과 효모를 별도로 넣어둔 형태의 제품으로 수출용에 적합하며 유통기한은 12개월이다.

표 1. 국내에서 생산되는 유통기한 연장 제품

제조사	상품	주요 특성
보해양조		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 파스퇴르 공법(저온살균법) 적용 ▪ 유통기한 12개월
영농조합법인 ‘상생’		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 고두밥 대신 팽화미(쌀을 튀기는 방식)에 누룩과 효모를 별도로 넣어둔 형태의 제품 ▪ 내 손으로 만들어 먹는 막걸리 ▪ 유통기한 12개월

- 고전압 펄스 전기장을 1960년부터 그 기술의 적용 가능성 여부가 제기되어져 왔으며, 전기장의 세기, 처리시간, 펄스 수, 처리 온도, 식품의 종류등이 가공 공정에 영향을 미치는 것으로 밝혀졌으며, 그 이후 다양한 식품에 적용 가능성 연구가 진행되어져 오고 있다. 특히 1990년대 들어서면서 장치의 기술적 문제, 실제 식품내 미생물의 살균, 고전압 펄스 전기장 처리가 식품에 미치는 연구등이 다양하게 진행되어져 왔으며, 2000년대 들어서면서는 실제 공장 규모의 음료 가공 라인을 설치하여 산업적 적용 가능성을 보여주었다. 이후 가공 공정에 대한 미국 FDA의 승인이 이루어지고, 설비의 상업화된 제품이 판매, 보급되면서 산업화

를 위한 절차를 빠르게 밟고 있다. 고전압 펄스 전기장 기술의 최근 연구 동향을 보면 식품의 살균 이외에 유용 물질의 추출, 살균공정 확립 또는 최적화를 위한 kinetic 연구, 분말 식품에의 적용, 오염 물질 분해등 그 범위를 넓혀가고 있다. 식품의 살균에 있어서 미국의 Maxwell Lab.은 과일 주스나 액란의 살균, Washington 주립대학에서는 탈지분유나 완두콩 스프, 연세대학교는 당근 주스, 전주대학교에서는 김치소스, 음료등과 같은 식품의 살균에 대한 결과를 발표하였으며, Ohio 주립대학은 시간당 2000 L를 처리할 수 있는 pilot 규모의 연속식 PEF 처리 장치와 무균 포장 장치를 연결한 주스 생산을 통해 산업적 적용이 가능함을 보였다. 또한 살균 공정시 경제성 분석의 결과를 보면 50℃의 온도를 넘지 않는 범위에서 5 log정도의 사멸 효과를 얻기 위해서는 0.17 cent/L, 냉각 시스템 0.22 cent/L 정도로 가열 살균 공정에서 필요한 비용과 비교하였을 때 비슷하거나 낮은 비용이 발생하는 것으로 분석되었다. 식품의 살균 이외에 유용 물질의 추출에 대한 연구가 최근 들어 활발히 이루어지면서 토마토로부터 carotenoid와 anthocyanine의 추출, 오렌지로부터 항산화 물질의 추출, 과일이나 사탕수수로부터 착즙율 또는 추출율의 향상등에 대한 연구가 보고되고 있다. 또한 식품의 건조 효율 증대, 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 식품 성분 변화를 이용한 신규 물질 발굴등에 대해서도 보고가 이루어지고 있다.

- 광펄스 기술은 UV(ultraviolet)부터 근적외선 (near infrared)부분까지의 넓은 범위의 빛을 짧은 시간동안 강하게 조사하여 식품의 표면에 존재하는 미생물을 사멸시킴으로서 보존기간을 늘리는 기술로서, 'intense pulsed-light, IPL', 'plused white light, WHL', 'higt intensity broad-spectrum pulse light', 'pulsed UV light', 'pluse light' 등의 여러 가지 이름으로 불리우고 있다. 광펄스에 의한 미생물의 살균작용은 photothermal 또는 photochemical 효과에 의한 것으로 어느 하나에 의한 것이라기보다는 두 효과가 함께 영향을 미치는데, 많은 일부의 실험 결과에 의하면 IPL 처리시 온도상승은 1℃ 미만으로 photochemical 효과는 거의 없는 것으로 나타났다. 광펄스에 의한 미생물 사멸은 CW UV에 의한 미생물 사멸처럼 pyrimidine dimers의 형성에 의한 세포 복제 저해, photoproduct의 형성에 의한 single strand와 double strand의 파괴, cyclobutane의 형성 등에 의한 것으로 보고되고 있으며, photothermal 효과를 주장하는 연구결과도 있는데 Hiramoto나 Dunn등은 미생물이 열을 흡수하여 사멸하게 되고, 식품의 표면층이 광펄스의 에너지를 흡수하여 식품내의 미생물을 사멸시킨다고 보고하였으나, 이 에너지의 양이 식품전체를 가열시킬 정도의 열은 아니라고 하였다. 또한 Wekhof과 Wekhof등은 램프로부터의 나오는 에너지가 0.5 J/cm²를 넘을 경우, 세포의 변형과 파괴를 일으키는 열 사멸 효과를 보인다고 하였으며, photochemical, photothermal 효과 이외에 DNA의 구조 변화, 세포막의 손상등도 사멸 기작으로 보고되고 있다. 광펄스의 처리시 미생물의 사멸에 영향을 미치는 요인으로는 램프로부터 나오는 빛의 세기, 빛에 대한 민감성, 램프와 시료사이의 거리, 빛의 전달 매체 등으로 시료가 광원으로부터의 거리가 가까울수록 그 사멸효과는 커지며, 시료의 두께가 두꺼울

수록 효과가 감소하게 되는데 이는 UV의 투과성에 제한이 따르기 때문이며, 특히 불투명한 시료일 경우 그 효과는 더욱 감소하게 된다. 식품의 성분 조성도 사멸효과에 큰 영향을 미치게 되는데, Gómez-López등은 여러 식품 성분을 포함하는 한천 배지에 *Photobacterium phosphoreum*, *L. monocytogenes*, *Candida lambica*등을 도말하여 처리하였는데, 단백질이나 지방이 첨가되었을 경우 사멸 효과가 감소하고, 반면에 물이나 전분이 추가된 배지에서의 사멸효과는 큰 영향을 받지 않았다. 미생물의 사멸효과에 대한 연구결과를 살펴보면 MacGregor등은 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*에 512 μ s, 380 kW/cm²의 에너지를 가하였을 경우 약 6~7 log의 사멸 효과를 얻었으며, Krishbamurthy 등도 완충용액이나 평판 배지 상에서 *S. aureus*에 IPL처리를 5초동안 하였을 경우 약 7~8 log 사멸시킬 수 있다고 보고하였다. Fine과 Gervais는 glass bead와 quartz plates에 접종한 *S. cerevisiae*를 IPL 처리 하였을 경우 약 7 log 정도의 사멸율을 얻을 수 있음을 보고하였으며, Cho등은 *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*와 같은 유산균에 IPL 처리를 하여 각 7 log 이상의 사멸율을 얻었다고 보고하였다. 액체 시료에 대한 IPL 처리의 미생물 사멸 효과를 보면, *Klebsiella*는 약 7 log, 바이러스나 *Cryptosporidium parvum*은 약 4 log 정도의 사멸 효과를 보이는 것으로 보고하였으며, Ghasemi 등은 *E. coli*와 *Salmonella*를 액체에 현탁하여 약 900 J의 에너지를 가하여 9 log의 사멸율을 얻을 수 있다고 보고하였고, 광펄스 처리와 다른 처리방법과의 병합처리에 의한 사멸 효과에 대한 연구 결과도 일부 보고가 되고 있는데, MacDonald 등은 *Bacillus* spore에 pulsed UV light과 hydrogen peroxide를 병합 처리하여 pulsed UV light 단독 처리시보다 2 log 이상 사멸 상승 효과를 얻었다고 보고하였다. 광펄스 처리의 식품 적용 사례로 가장 많이 연구되고 있는 것이 과일 및 야채류에 존재하는 미생물을 사멸시키는 것으로 Hoornstra 등은 배추, 부추, 파프리카, 당근, 케일등의 야채에 0.6 J/cm²의 IPL 처리를 한 결과 1.6~2.6 log CFU/cm²의 미생물수를 감소시켰으며, 각 야채의 관능적 품질에는 큰 영향을 주지 않고, 7°C와 20°C의 온도에서 7일 이상을 유지하였다고 보고하였. Marquenie등은 딸기와 체리같은 과일류에 존재하는 곰팡이인 *B. cinerea*와 *M. fructigena*에 IPL 처리를 하여 최대 3-4 log 감소되었으며, 역시 딸기의 품질에는 아무런 영향을 주지 않았다고 보고하였다. 광펄스 처리가 분말 식품이나 종자의 오염을 처리하는 기술로서의 적용도 연구가 되고 있는데, Choi 등은 분말 이유식에 *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter sakazakii*를 접종하여 IPL 처리한 결과 각각 4 log, 5 log 이상의 사멸효과를 보이는 것으로 보고하였으며, Jun 등은 옥수수에 접종한 *A. niger* 포자를 처리하여 약 5 log, Fine and Gervais는 밀가루와 후추의 *S. cerevisiae*를 처리하여 1 log 정도의 사멸 효과를 거두었다고 보고하였다. 또 다른 적용분야로서 최근 수산물의 오염균을 저감하는 기술 개발이 이루어지고 있는데, Shin 등은 연어, 광어, 새우등에 *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*등을 접종해서 IPL을 처리했을 경우 1-3.5 log 정도 사멸하는 결과는 얻었으며, Ozer과 Demrci도 연어의 *L. monocytogenes*가 0.86-1.09 log 정도 사멸한다고 보고하였고, 이 이외에도 육류, 치즈, 케

익, 새우등에 적용하는 연구사례가 보고되고 있다.

- 막걸리에 대한 해외 연구 사례는 없으나, 막걸리와 유사한 형태의 술은 존재하고 있다. 일본에서는 청주를 발효한 술덧을 압착 과정을 거치지 않고 걸러내어 만드는 니고리사케가 있으며, 라틴 아메리카의 안데스 원주민들이 옥수수를 씹어서 뺀 발효한 옥수수 막걸리인 치차가 있다.
- 쌀을 이용하고 누룩을 사용하여 발효하는 형태의 술은 동아시아 3국인 한국, 중국, 일본의 대표적인 술 발효 방법이며, 각 지역적 특색에 맞게 조금씩 발전된 형태의 술이 만들어지고 있다.
- 일본에서는 막걸리와 유사한 니고리사케에 대한 고압 살균 방법에 대한 연구가 있으며, 대부분 청주와 관련된 원료 처리, 발효 방법, 안정성 등에 대한 연구가 체계적으로 진행되고 있다(Rikimaru Hayashi, 1996).
- 중국의 술은 대부분 수수를 주원료로 하여 멍쌀과 찹쌀을 섞어 발효하는 형태의 술이 많이 있으며 중국 전통주 품질 지표틀 만들기 위한 분석법으로 전자코를 이용한 품질 분석법 등의 연구를 진행하고 있다.(Qin Ouyang, 2013)
- 막걸리의 기능성 증진 및 향미 개선을 위한 연구로서 천연 약재나 과일을 첨가한 막걸리 품질 특성에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(양희선, 2011, 전미향, 2011, 이하나, 2013).
- 시판 막걸리에 대한 이화학적 특징 및 향기 성분, 관능적 특징 등에 관련된 연구가 진행되고 있다(박찬우, 2011, 이상진, 2011).
- 생 막걸리의 유통상의 문제점을 개선하기 위한 연구(이특재, 2009, 지윤정, 2012).
- 막걸리 발효 및 생산, 유통 과정에 대한 안정성 확보를 위한 연구(이진원, 2010, 김현주, 2013)
- 전통 막걸리로부터 효모균주 분리 및 개량에 대한 연구(전명제, 2013).
- 막걸리의 원료 처리, 발효 방법에 따른 막걸리 품질 특성에 관한 연구(김혜련, 2010, 이윤지, 2012)
- 막걸리에 관련하여 많은 연구가 진행되고 있으나 지역 양조장에서 사용할 수 있는 막걸리

담금 방법에 대한 연구는 부족한 편이다. 대부분 실험실에서 소량 발효를 진행하여 막걸리 품질 특성에 대한 규명을 하였으며, 대용량 발효에 대한 기술적 지원 등에 관한 연구는 미흡하며, 막걸리 품질 지표 중 고품질 막걸리 생산을 위하여 과실 등을 사용하는 형태 외 인공 감미료 무첨가에 대한 연구는 전혀 이루어지고 있지 않다.

- 우리나라의 전통적인 주류중 막걸리(탁주)는 담금방법과 사용원료, 생산지역과 물, 기후 등의 환경에 따라 다양한 맛을 지녔다고 한다. 막걸리는 제조 후 발효과정이 지속적으로 일어나기 때문에 품질변화가 지속적으로 발생하여 장기보존과 유통에 제약이 되고 있다. 그러나 막걸리는 이러한 원래의 다양성과 더불어 세대별로 또는 지역별로도 기호도 차가 큰 편이어서 특정 지역의 소비자들은 쌀을 원료로 한 쌀막거리보다는 밀 막걸리나 쓴 맛을 지닌 막걸리를 선호하기도 한다. 반면 젊은 세대에서는 청량감과 단맛이 강한 막걸리에 높은 기호도를 보이기 때문에 다양한 향미를 가진다는 특징이 제조자 입장에서는 가진다는 것도 막걸리의 큰 특징이며 역설적으로는 막걸리라는 술에 대한 표준화가 어려운 요인이 되기도 한다.
- 막걸리의 맛을 단맛, 쓴맛, 신맛, 청량감, 걸쭉한 맛, 향 등 대략 6가지로 구분하기도 하지만 첨가되는 원료에 따라 많은 차이를 나타낸다. 최근 전반적으로 최근 품질이나 맛이 나아졌다는 전문가들의 일반적인 평가에도 불구하고 최근의 국내외적인 막걸리 열풍에도 불구하고 막걸리의 품질 수준은 그다지 만족스럽지 못하다는 평가가 많다. 이러한 원인으로는 발효기술과 균일한 품질을 관리할 수 있는 기술의 부족이 가장 큰 요인임. 특히 자체적인 품질관리를 통한 누룩과 효모의 관리가 절대적이나 이를 관리하고 있는 업체는 거의 없는 실정이며 부족한 맛을 인공적인 맛으로 보완하는 것도 대표적인 문제점으로 대두되고 있다. 이로 인해 막걸리의 맛의 조화를 위해 각종 인공첨가물 사용이 일반화되어 있어 향이 제어되지 못한다는 지적이 제기되고 있으며, 부족한 기술력으로 인한 곰팡이취나 잡균취 등의 이취가 있는 제품도 다수 있으며 동일 생산업체에서 제조된 막걸리도 맛이 일정하지 않은 현실이다.
- 일본과 유럽의 경우 주류와 관련된 다양한 인증제도를 통해 품질을 체계적으로 관리하고 이를 국내외의 마케팅에 활용하고 있다. 유럽의 경우에는 EU 회원국이 통합적으로 운용하는 원산지 표시 보호제(Protected Designation of Origin ; PDO), 지리적 표시 보호제(Protected Geographical Indication : PGI) 및 전통 특산물 인증제(Traditional Speciality Guaranteed ; TSG)를 들 수 있다. EU의 ‘지리적 표시 및 원산지 호칭에 관한 이사회 규칙’(농산물 및 식품과 관련되는 지리적 표시 및 원산지 호칭의 보호에 관한 1992년 7월 14일의 이사회규칙 제2081/92호)를 통해 원산지 호칭을 ‘지방, 특정의 장소, 또는 예외적으로는, 국가의 명칭이며, 다음에 해당하는 농산물 또는 식품을 표현하기 위해서 사용되는 것으

로 해당 지방, 특정의 장소 또는 국가를 원산지라고 하고 있는 것, 그 품질 또는 특징이 고유한 자연적 및 인적 요인을 갖춘 특정의 지리적 환경에 기본적으로 또(은)는 배타적으로 기인하고 있는 것, 및 그 생산, 가공 및 조제가 해당 정의된 지리적 지역에 대해 행해지고 있는 것'으로 규정하고 있다. 대표적인 주종인 포도주의 경우 프랑스에서는 ① 포도의 생산 연도 ② 포도의 품종 ③ 재배국가와 지역 ④ 제품명 ⑤ 와인등급 ⑥ 와인생산회사를 표시하고 있으며 재배면적, 수확량 등도 규격화하여 제한 관리하고 있다. 프랑스 통제원산지명칭(Appellation d'Origine Controlee)에 따른 INAO(Institut National de 'origint et de la qualite, 농산물 원산지, 품질기구)의 인증 건수는 포도주, 오드비, 알코올음료 등 474개로 전체생산의 45% 차지하고, 75,000 농가, 매출액은 포도주 117억 유로, 증류주 20억 유로에 달하고 있다. 일본 청주(소주)의 경우 지역에서 생산된 고유한 쌀과 지역의 물, 제조방법 등으로 지역특산물화 한 청주를 차별적으로 유통하기 위해 일본주 원산지 호칭제도(Sake's Origin Control ; SOC)와 이를 더욱 강화한 전통적 원산지 호칭제도(Traditional Sake's Origin Control ; TSOC)를 운영하고 있다. 일본 청주와 소주의 SOC 및 TSOC 인증제도는 원료의 원산지와 제조지역에 대한 원산지 규정과 연계된 인증제도라는 측면에서 유럽의 '원산지 표시 보호제(Protected Designation of Origin ; PDO)'와 동일한 특징을 가지고 있다. 분류 기준은 국세청의 분류를 따르며, 지역내에서 생산하는 원료로 사용원료를 제한하고 있으며, 일본의 현 단위에서 운용하는 '요강'에는 원산지호칭관리위원회를 20인 규모로 구성하여 품목별로 15인 이내로 해당 품목의 생산, 유통, 소비에 대한 전문적인 지식을 갖춘 사람으로 구성하되 관능 심사회는 별도로 구성하여 운영하도록 규정하고 있다. 심사방식은 서류심사, 관능검사, 이화학적 검사, 현지심사를 실시한다.

- 우리나라의 경우에는 주세를 기준으로 모든 주류를 분류하고 제조방법을 엄격히 관리함으로써 전통적인 주류의 생산과 유통을 제한함으로써 다양성을 저해했다는 견해가 많다. 특히 일부 중소규모의 생산업체를 제외하고는 발효 생산에 대한 품질관리 기법이 현장에서 적절히 구현되지 못하고 있기 때문에 일반화된 품질관리 수단을 확보하고 확산시켜야 할 필요성이 높다.
- 우리나라의 경우 수입 주류 안전관리와 유해물질, 첨가물 기준 설정 등의 일부 업무는 식약청이 수행하였으나 주류관련 행정 및 관리의 대부분을 국세청이 주도적으로 수행하였다. 2006년 6월 국세청과 식품의약품안전청은 주류시장 변화에 적극적이고 능동적으로 대응하기 위하여 국세청은 세원·면허관리에 주력하고, 식약청은 주류 안전관리를 전담하는 내용의 업무협약(MOU)을 체결하였다.
 - 식약청의 경우 식품위생법이나 위생 관계 법령에 따른 주류의 위생 및 주류 함유물질의 유해성 여부 등 주류 안전관리 업무를 전담해서 수행
 - 이물질 혼입, 첨가물료 위반, 부적합 양조용수 등

- 국세청은 주로 주류제조방법, 알콜도수·원료의 사용량 및 여과방법, 표시사항 등 주세법에
서 정한 세원 및 면허관리와 그에 따른 분석업무를 담당함

표 2. 국가 주류안전관리 연혁

연도	내용	비고
1966 ~ 1998	국세청 개청이후 국세청에서 주류 안전관리 업무 전담	식품의약품안전청 설립 이전
1998 ~ 2006	국세청과 식약청이 유통 주류에 대한 품질검사 병행	식품의약품안전청 설립 이후
2006 ~ 2010	업무소관 불분명, 업무중복 등을 방지하기 위하여	-
2010.06 ~	주류 안전관리 업무의 전문성 제고를 위하여 식약청으로 업무 이관	업무협약 체결

표 3. 식약처 담당 주류안전관리 업무

구분	내용
제조업체 위생 점검	<ul style="list-style-type: none"> • 부패 및 변질 등 부적절한 원료 사용과 용수 등에 대한 점검 • 첨가물 사용 및 주류 성분 규격 적정 여부 점검 • 시설물에 대한 위생관리, 종사자 개인위생 등 점검
출고 후 유통 주류 관리	<ul style="list-style-type: none"> • 유통·수입 주류 유해물질 분석 및 유해 주류 수거 및 폐기 • 첨가물료 적정 사용 및 불법 첨가물료 사용 적발 • 주류 이물 조사 및 유통기한 설정·관리 • 주류 안전관리 기준 설정을 위한 분석 및 수출 주류 위생증명 발급

- 주세법에는 주류의 제조, 가공, 유통 단계 전반에 걸친 위생관련 규정이나 관리제도는 거의 없고 식품위생법에서 규정하고 있는 식품의 취급, 판매금지, 기준·규격, 공전, 평가, 검사기관, HACCP등에 대한 내용은 포함하고 있지 않다.
- 국내 주류제조업체는 대형 주류회사를 제외하고는 대부분이 영세한 시설에서 제조되고 있어 위생관리 수준이 미흡하고 기본적인 식품위생 의식이 부족한 상황이다. 하지만 최근 전통주에 대한 관심이 높아져 탁주, 약주, 과실주 등의 국내 생산 주류가 다양화되고 생산량이 증가되는 추세이기 때문에 주류에 대한 전반적인 위생관리 방안 마련이 시급하다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1절. 재료 및 방법

1. 재료

가. 막걸리 전용 표준 균주 및 품질 향상 기술 개발을 위한 실험에 사용된 효모는 본원에서 누룩으로부터 분리하여 보존하고 있는 균주를 사용하였다. 발효제 입국(sp 85)은 (주)서울장수에서 구입하여 사용하였고 누룩은 진주곡자(sp 300)를 사용하였으며 무증자, 증자용 조효소(sp 1800)는 한국효소에서 구입하여 사용하였다. 원료 쌀은 강원도 철원 오대쌀을 사용하였다. 비교균주로 청주효모, 제빵효모(La Parisienne), 소주효모 2호, *S. cerevisiae* 표준균주 ATCC 24858 균주를 사용하였다. 시료로는 시판되고 있는 막걸리 27점 (생주 15점, 살균주 12점)을 구입하여 실험에 사용하였고, 식물추출물은 한국식물추출은행과 해외 허브생물소재 허브센터로부터 분양 받아 사용하였다.

나. 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발을 위한 실험에 사용된 막걸리는 시판 막걸리를 구입하여 사용하였고(약 15종), 자체적으로 제조한 막걸리에 사용된 종균은 전통 누룩으로부터 분리, 동정한 *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus delemar*를 사용하였다. 젖산균은 전통막걸리로부터 분리, 동정한 *L.casei*를 사용하였다. 천연항균물질은 시판용 항균물질 3종(자몽종자추출물, 화분발효액과 자몽종자추출물의 혼합액, 비타민B1라우릴황산염)을 구입하여 사용하였다. 시판용 효소 α -amylase(from *Aspergillus oryzae* powder 36.0U/mg)는 Fluka사 제품을 구입하여 사용하였고, amyloglucosidase(from *Aspergillus niger* 300U/mL)는 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였다.

다. Cold shock를 위한 냉동기는 SANYO사 ULTRA LOW 모델을 사용하였다. 시판용 효소 α -amylase(from *Aspergillus oryzae* powder 36.0U/mg)는 Fluka사 제품을 구입하여 사용하였고, amyloglucosidase(from *Aspergillus niger* 300U/mL)는 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였다. 강제침강을 위한 원심분리기는 Beckman사 J2MC 모델을 사용하였고, 고압균질기는 GEA사(Italy) NS1001L 모델을 사용하였다.

라. 고전압 펄스 전기장에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균 실험에 사용된 막걸리는 시중에서 판매되고 있는 K사의 막걸리를 사용하였다. 보존기간은 10℃ 이하에서 제조일로부터 4주이었으며, 본 실험에서는 병입일로부터 이틀이내의 신선한 막걸리를 구입하여 냉장 저장한 상태에서 사용하였다. 막걸리의 여과는 cheese cloth와 Whatman No. 1 filter paper로 각각 1회씩 여과하여 사용하였다. 초기 효모수는 약 $1.5 \times 10^8 - 2 \times 10^8$ cfu/ml이고, 전기전도도는 0.70-0.76 mS/cm이었으며, pH는 3.76-3.82 범위였다. 여과 후 생균수는 변화가 없거나 약 1 log-2 log 정도의 감소가 있었으며, 전기전도도나 pH등의 변화는 없었다. 본 연구에 사용한 막걸리의 알코올 농도는 6%이며, 알코올 농도에 따른 실험에서는 알코올의 농도를 2-12%로 변화시키면서 알코올 농도에 따른 실험을 실시하였다.

마. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균과 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리에 의한 막걸리의 비가열 살균 실험에 사용될 시료의 선정을 위하여 시중에서 판매되고 있는 B, K, J, U사의 탁주를 구입하여 생균수를 측정하여, 총균수와 구입의 용이성을 고려하여 K사의 탁주를 시료로 이용하였다. 실험에 사용한 막걸리의 알코올 농도는 6%이었으며, 보존기간은 10℃ 이하에서 제조일로부터 4주이었으며, 본 실험에서 사용한 시료는 병입일로부터 이틀 이내의 신선한 막걸리를 구입하여 냉장 저장한 상태에서 사용하였다. 막걸리의 여과는 cheese cloth와 Whatman No. 1 filter paper로 각각 1회씩 여과하여 사용하였다. 여과 후 생균수는 약 1 log정도의 감소가 있었으며, 전기전도도나 pH등의 변화는 없었다. 초기 생균수는 PCA 배지에서는 4.06×10^7 , PDA 배지에서는 4.6×10^7 , MRS agar에서는 5.2×10^7 이었다. 사용된 막걸리의 전기전도도는 0.70-0.76 mS/cm이었으며, pH는 3.90-4.00 범위이었다.

바. 고품질 막걸리 생산을 위한 발효 조건 검토를 위한 실험에서는 각 지역별로 시판되는 16종의 품종과 경기 농업기술원에서 재배한 4종을 포함한 20종의 쌀을 사용하였다. 분쇄시료의 경우 쌀 분쇄기(12인치 고속 건식 분쇄기, 대용엔지니어링)을 이용하여 분쇄 후 사용하였다.

표 4. 실험에 사용된 쌀의 원산지 및 품명

지역	품종	생육시기	품명
경기	추청	중생종	이천쌀
	고시히까리	중생종	고시마을
강원	오대미	조생종	오대쌀
충청	삼광	중생종	해나루쌀
	호품	중생종	갯마을쌀
	일반계	중만생종	철새전망대쌀
경북	동진	중만생종	동진쌀
	운광	중만생종	운광쌀
	백진주	중만생종	백진주쌀
	일품	중생종	아자개쌀
전라	호평	중만생종	나비쌀
	일미	중만생종	우렁색시미
	일반계	중만생종	푸른꿈마을쌀
	히토메보레	중만생종	한눈에반한쌀
	신동진	중만생종	옥도진미
	동진	중만생종	망골애
농업기술원	보람찬		
	안다		
	드레찬		
	다산 1호		

사. 막걸리의 품질 특성 분석을 위한 시료는 전국 대형 유통점 등을 통해 판매중인 제품 중 쌀과 다른 전분질원을 혼합하여 사용한 제품과 옥수수 등 다른 전분질원을 사용한 잡곡 첨가 막걸리 제품 12점을 수거하여하여 실험에 사용하였다. 쌀만을 전분질원으로 사용한 생막걸리는 13점을 수거하여 실험에 사용하였다.

아. 관능평가를 위한 묘사분석에 사용된 시료선정을 위해 전국의 대형 할인매장, 주류도매상 등을 통해 생막걸리 제품 22종과 살균 막걸리 45종을 수거하였다. 수거된 제품에 대해 실험실

조원 6인의 벤치테스트를 통해 기호도가 매우 낮거나 제품의 이상이 있는 경우 제외하였다. 일단 묘사분석을 위해 다른 첨가물을 넣지 않고 쌀을 주 베이스로 사용한 제품(쌀 함유량 70% 이상)으로 생막걸리 12종, 살균막걸리 10종을 선정하였다. 시료로는 대형업체에서 생산되는 제품, 시장점유율이 높은 제품, 우리술 품평회에서 수상한 제품, 지역적으로 유명한 제품 등 전국에서 생산된 다양한 막걸리 시료를 포함 하도록 하였다.

표 5. 실험에 사용한 잠곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용) 제품

시료 번호	종류	알콜함량	원 료
MRW1*	생막걸리	6%	백미 30%, 소맥분 70%, 솔잎, 누룩
MRW2	생막걸리	8%	옥수수, 소맥분
MRW3	생막걸리	7%	백미 70%, 감자 20%, 물엿 10%
MRW4	생막걸리	7%	쌀 30%, 옥수수 30%, 소맥분 30%, 올리고당 10%
MRW5	생막걸리	7%	소맥분 60%, 좁쌀 20%, 전분당 20%
MRW6	생막걸리	7%	소맥분, 아스파탐
MRW7	생막걸리	7%	소맥분 60%, 옥수수30%, 전분당 10%
MRW8	생막걸리	7%	백미 40%, 소맥분 60%, 좁쌀 0.02%
MRW9	생막걸리	6%	백미, 소맥분, 말토올리고당
MRW10	살균탁주	6%	소맥 80%, 전분당 20%
MRW11	살균탁주	6%	소맥분, 백미
MRW12	살균탁주	6%	소맥분 70%, 백미 30%

*MRW: miscellaneous rice wine, 쌀 외에 다른 잠곡 첨가 막걸리 시료

표 6. 실험에 사용된 생쌀막걸리 제품

시료 번호	종류	알콜함량	원 료
RW1*	생막걸리	6 %	백미 100%(국내산), 감초
RW2	생막걸리	6 %	100% 국내산 친환경 쌀
RW3	생막걸리	7 %	쌀(미국) 90%, 입국용소맥 (미국) 10%
RW4	생막걸리	7 %	쌀 100%(국내산)
RW5	생막걸리	6 %	백미 90%(국내산), 말토올리고당 10%
RW6	생막걸리	6 %	백미(경기미 100%) 94%, 맥아당 6%
RW7	생막걸리	8 %	백미 100% (국내산)
RW8	생막걸리	6 %	쌀(국내산 100%), 발효제(개량누룩(밀), 효모
RW9	생막걸리	6 %	백미 80%(국내산), 소맥분 10%(밀수입산), 전분당 10%
RW10	생막걸리	6 %	쌀 (국내산 100%), 발효제-효모, 조효소제
RW11	생막걸리	6 %	백미(국내산) 90%, 이소말토올리고당(국내산) 10%
RW12	생막걸리	6 %	백미(국산) 90%, 이소말토올리고당 10%
RW13	생막걸리	6 %	쌀(국내산 100%), 발효제 효모, 조효소제

*RW: rice wine, 쌀만을 전분질원으로 사용된 생막걸리

표 7. 관능평가에 사용된 생막걸리 제품

시료 번호	상품명	제조사	원재료	부재료	첨가물	알코올 (%)	유통 기한
1	우리쌀로 빚은 국순당 생막걸리	(주)국순당	백미 국내산 100%	감초	아스파탐, 페닐알라닌 함유	6	30일
2	국순당생쌀막걸리	(주)국순당	백미 100% (수입산)	감초	아스파탐, 페닐알라닌 함유	6	30일
3	서울장수막걸리	서울탁주도봉 연합제조장	백미 90% (수입산)	이소말토올 리고당 10%	아스파탐, 페닐알라닌, 구연산 함유	6	10일
4	느린마을막걸리	배상면주가 (서울)	백미 국내산 100%		조효소제	6	10일
5	전주 생막걸리	(주)전주주조 (전북)	백미 국내산 100%		아스파탐, 페닐알라닌 함유	6	15일
6	덕산 썬쌀막걸리	영농조합법인 세왕	백미(국내산) 80%	소맥분10%, 전분당10%	아스파탐, 페닐알라닌 함유	6.5	30일
7	배다리막걸리	배다리술도가	백미 (2009유기농쌀)	입국		7	90일
8	배다리쌀 막걸리	배다리술도가	쌀 90%	소맥분10%		7	20일
9	부산금정산 막걸리	(유)금정산성 토산주	백미 100%(국내산)		아스파탐	8	10일
10	생술	배혜정 누룩도가	경기미 93%	맥아당7%	아스파탐, 구연산	6	10일
11	생쌀막걸리	(주)우리술	백미, 소맥분		아스파탐, 페닐알라닌 함유	6	20일
12	세종생막걸리	청주,탁주,세 종	이천쌀 100%		아스파탐, 페닐알라닌, 구연산 함유	6	20일
13	참살이 탁주	강석필주가	국내산 친환경 쌀 100%		아스파탐, 페닐알라닌 함유	6	10일
14	고향막걸리	(주)찬우물(인천)	백미 100%		아스파탐, 젖산, 구연산	6	10일
15	미담	(주)성광주조	백미 90%	이소말토올 리고당 10%	아스파탐, 구연산	6	20일
16	입장탁주	농업회사법인 입장주조(주)(충 남)	국내산 쌀 100%		아세틸팜칼슘	8	10일
17	지악산 참막걸리	원주탁주합동 제조장	소맥분70%	참쌀 20%,전분 10%	아스파탐, 페닐알라닌	7	45일
18	참쌀생동동주	(주)우리술	백미	참쌀, 소맥분	아스파탐, 페닐알라닌	6	20일
19	솔바람생막걸리	조선양조	백미100% (국내산)	생술잎	구연산, 아스파탐, 페닐알라닌, 합성감미료	6	20일
20	원조가평갯 막걸리	가평양조장	소맥분 100%		아스파탐, 갯	6	5일
21	프리미엄 가평갯 생막걸리	(주)우리술	김포금쌀 80%	소맥분 20%	아스파탐, 페닐알라닌	6	30일
22	현미막걸리	(월향)천안양 조장	현미 유기농국산 52%, 가공쌀 40%	이소말토올 리고당 8%	아스파탐, 페닐알라닌, 아세틸팜K, 젖산, 구연산	6	10일

표 8. 관능평가에 사용된 살균 막걸리 제품

시료번호	상품명	제조사	원재료	부재료	첨가물	알코올 (%)
1	대포 막걸리	배상면주가	국내쌀100%			7
2	내고향쌀명품막걸리	배상면주가	경기미100%			7
3	서울월매 막걸리	서울장수(주)	백미 국내산 90%	말토 올리고당 10%	아스파탐, 페닐알라닌, 합성감미료, 구연산함유	6
4	쌀막걸리(켄)	(주)국순당	백미수입산 100%	감초		7
5	전주 쌀 막걸리	(주)전주주조	국내산80%	국내산밀20%		6
6	초가 우리쌀	(주)초가	백미(칠원오대미)100%		아스파탐, 페닐알라닌 함유	7
7	누보막걸리	맑은내일(주)(경남)	국내산쌀100%			7
8	활막걸리	양주탁약조제조(경기)	백미 국내산 100%			6
9	배다리막걸리	(배다리술도가)	백미			7
10	쌀막걸리	배혜정도가	백미(경기미 100%)		고과당, 구연산	6
11	칠원오대쌀	이동주조	백미(칠원오대미)100%		아스파탐, 페닐알라닌 함유	6
12	쌀막걸리로	(주)우리술	백미 70% 소맥분30%	아세실펍칼륨	아스파탐	7
13	황기 쌀막걸리	용두산조은술(충북)	백미 100%	황기	효소처리스테비아	7
14	서울생생막걸리	우리생주조	쌀20%(국내산),70%(미국산)	멀티올리고10%	아스파탐, 페닐알라닌, 구연산 함유	6
15	이동동동주	이동주조 주식회사	백미80%	소맥분20%	아스파탐, 페닐알라닌 함유	7.5
16	수쌀막걸리	(주)우리술	백미80%	소맥분20%	아스파탐, 페닐알라닌 함유	7
17	운악산 쌀 막걸리	(주)우리술	백미60%	소맥분40%	아스파탐, 페닐알라닌	7
18	부자10 막걸리	배혜정 누룩도가	국내산100%			10
19	부자13 막걸리	배혜정 누룩도가	국내산쌀100%			13
20	부자13 막걸리(플라스틱)	배혜정 누룩도가	경기미100%			13
21	부자16 막걸리	배혜정 누룩도가	경기미100%			16
22	월매	서울장수(주)	백미90%	말토 올리고당 10%	아스파탐, 페닐알라닌함유, 합성감미료, 구연산	6
23	플러스쌀막걸리	(주)우리술	백미70%	소맥분30%	아스파탐, 페닐알라닌 함유	7
24	가문의 영광 배막걸리	문광주조	백미60%	소맥분30%, 전분당10%, 배농축액	아스파탐, 페닐알라닌 함유	6.5
25	강화 고향 인삼 탁주	(주)찬우물	백미80%	올리고당10%, 인삼농축액 10%,	아스파탐, 페닐알라닌함유, 젓산, 구연산	6
26	검은콩 막걸리	이동주조 주식회사	백미60%	소맥분40%, 검은콩 농축액	아스파탐, 페닐알라닌함유,	6
27	내변산복분자 막걸리	동진합동주조장	백미98.4%	복분자과실 (1.6%)	스테비아사이드 (0.009%)	6
28	대포 녹차막걸리	배상면주가	국내쌀100%	녹차(국내산)		7
29	대포 오미자 막걸리	배상면주가	국내쌀100%	오미자(국내산)		7
30	대포 헛개 막걸리	배상면주가	국내쌀100%	헛개나무열매(국내산)		7
31	대포 흑미 막걸리	배상면주가	국내쌀100%	흑미(국내산)		7
32	더덕막걸리	(주)우리술	백미70%	소맥분30%	아스파탐, 페닐알라닌 더덕 함유	7

표 8. 계속

시료 번호	상품명	제조사	원재료	부재료	첨가물	알코올 (%)
33	미봉	(주)국순당	쌀국내산 100%	인삼		7
34	배막걸리	(주)우리술	백미	소맥분, 국산배 10%		6
35	보리막걸리	(주)우리술	경기미58.5%	우리밀26.5%, 경기보리15%		7
36	복분자막걸리	(주)우리술	백미	소맥분, 복분자 6%	아스파탐, 페닐알 라닌 함유	6
37	복분자술	가야곡주조	백미	소맥분, 진분 당, 지초, 복분 자		7
38	부안 참뽕 막걸리	동진합동주조장	백미98.4%	오디과실(1.6%)	스테비오사이드 (0.009%)	6
39	새색시	배혜정 누룩도가	국내산쌀100%	포도농축액, 덩 굴월굴 농축액		9
40	오미자막걸리	배상면주가	쌀100%(국내산)	오미자		7
41	울금막걸리	(주)초가	백미100%(철원 오대미)	울금(일본산)	아스파탐, 페닐알 라닌, 합성감미료	7
42	자색고구마 막걸리	배혜정 누룩도가	경기미83.3%	자색고구마 16.7%		8
43	제주감귤 막걸리	(주)우리술	백미, 소맥분	제주산감귤10%	아스파탐, 페닐알 라닌	7
44	조곶데기 막걸리	(주)우리술	소맥분60%	백미 40%, 좁 쌀(0.02%)	아스파탐, 페닐알 라닌,	7
45	청매실 막걸리	가야곡주조	백미	소맥분, 진분 당, 매실		7

비고) 굵은체는 위탁연구과제의 묘사분석 선정 시료

자. 소비자 및 전문가 기호도 조사에 사용된 시료는 표 9와 같다. 생막걸리는 유통과정에서 제품 품질 변화가 커서 일정기간 진행되는 기호도 조사에 적합하지 않아 살균 막걸리 8종을 재료로 사용하였다. 살균 막걸리는 쌀을 주 베이스로 사용한 제품(쌀 함유량 70% 이상)으로 하였고 대형업체에서 생산되는 제품, 시장점유율이 높은 제품, 우리술 품평회에서 수상한 제품, 지역적으로 유명한 제품 등 전국에서 생산된 다양한 막걸리 시료를 포함 하도록 하였다.

표 9. 기호도 조사에 사용된 살균 막걸리 제품

시료 code	상품명	제조사	원재료	부재료	첨가물	알코올 (%)
DP	대포 막걸리	배상면주가	국내쌀100%			7
WM	서울월매 막걸리	서울장수(주)	백미 국내산 90%	밀트올리고당10%	아스파탐, 페닐알라닌, 합성감미료, 구연산함유	6
GS	쌀막걸리(켄)	(주)국순당	백미수입산100%	감초		7
JJ	전주 쌀 막걸리	(주)전주주조	국내산80%	국내산밀 20%		6
CG	초가 우리쌀	(주)초가	백미(철원오대미) 100%		아스파탐,페닐알 라닌 함유	7
BD	배다리막걸리	(배다리술도가)	백미			7
BH	쌀막걸리	배혜정도가	백미 (경기미100%)		고과당, 구연산	6
CW	철원오대쌀	이동주조	백미(철원오대미)100%		아스파탐,페닐알 라닌 함유	6

제2절 실험 방법

1. 막걸리 양조전용 효모선발

가. 입국 당화액 제조

입국 당화액은 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 62℃에서 5시간 동안 교반하여 제조하였고 6,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 14°brix로 희석하여 사용하였다.

나. 효모 활성화와 균체 접종량

효모는 Potato dextrose agar(Difco, Detroit Michigan, USA) 배지에서 29℃, 24시간으로 2차 계대 배양한 후 멸균한 0.85% NaCl 에 현탁하였고 탁도계(BIOLOG, CA, USA)를 이용하여 590 nm 에서의 흡광도를 측정하여 2×10^7 /mL 농도로 조절하여 접종하였다.

다. 우수균주 선발

(1) 우수균주 1차 선발

연구원내 보존하고 있는 효모 1,000여 균주를 대상으로 알코올 생산능력은 입국 당화액 10mL을 듀람관을 포함한 시험관에 넣고 25℃에서 3일 동안 CO₂ gas 생성 속도를 비교 · 관찰하였으며, gas생성이 인정된 것은 알코올 발효성이 있는 것으로 판정하였다. 향 생성능력은 7일 동안 발효한 후 관능적으로 비교하였다.

(2) 우수균주 2차 선발

1차 선별된 206균주를 대상으로 300mL 용량으로 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 25℃에서 7일 동안 발효시켜 알코올 함량, pH, 산도, 고형분 함량 및 향 생성능력을 비교하였다.

(3) 우수균주 3차 선발

2차 선별된 80균주를 대상으로 1,500mL 용량으로 막걸리를 제조하였다. 발효제로는 sp300의 진주곡자와 sp85의 입국을 각각 사용하였다. 멥쌀, 발효제, 효모(0.02%), 물을 넣고 25℃에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조한 후 멥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하였고 급수율은 200%였다. 또한, 2차 선별된 80균주를 대상으로 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 당화액을 제조하여 듀람관을 포함한 시험관에 넣고 발효온도를 5℃, 15℃, 35℃, 39℃로 4분화하여 각각의 온도에서 발효한 후 발생하는 gas 생성속도로 알코올 발효능을 비교하였다.

(4) 우수균주 4차 선발

3차 선별된 20균주를 대상으로 1,500mL 용량으로 막걸리를 제조하였다. 발효제로는 sp85의 입국을 사용하였다. 멥쌀, 발효제, 효모(0.02%), 물을 넣고 25℃에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조한 후 멥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하였고 급수율은 200%로 하였다. 압착 후 알코올 함량을 6%로 희석하여 막걸리를 제조하였다.

라. 선발 균주의 양조 특성

(1) 선발 균주를 적용한 발효제별 양조

선발 균주를 적용하여 누룩(sp 300), 입국미(sp 85), 증자용 조효소(sp 1800), 무증자용 조효소(sp 1800)로 발효제 종류를 달리하여 막걸리를 제조하고 양조특성을 분석하였다.

(2) 선발 균주를 적용한 원료별 양조

선발 균주를 적용하여 멥쌀, 찹쌀, 밀, 조, 옥수수로 원료 종류를 달리하여 막걸리를 제조하고 양조특성을 분석하였다.

(3) 선발 균주를 적용한 발효 온도별 양조

선발 균주를 적용하여 발효온도를 15, 20, 25, 30℃로 달리하여 막걸리를 제조하고 양조특성을 분석하였다.

(4) 선발 균주를 적용한 급수율별 양조

선발 균주를 적용하여 급수율을 원료미 대비 150, 200, 300, 400%로 달리하여 막걸리를 제조하고 양조특성을 분석하였다.

(5) 선발 균주의 내알코성 및 내당성

알코올 내성측정은 YPD(2% glucose, 0.5% yeast extract, 1% bacto-peptone: Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 액체배지에 효모 접종 직후 무수에탄올을 0, 8, 12, 16, 20%(v/v) 가 되도록 각각 첨가하여 20℃에서 72시간 배양한 후 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 비교하였다(59). 내당성 측정은 2, 30, 40, 50, 60% glucose가 함유된 각각의 YPD 액체배지를 이용하여 20℃에서 48시간 배양한 후 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 비교하였다.

(6) 선발 균주의 침강성

침강성 측정은 PDB(Difco, Detroit MI, USA) 액체배지를 이용하여 25℃에서 48시간 150 rpm으로 진탕 배양한 후 A 와 B 두 개의 시험관에 10 mL씩 나누어 처리를 달리하였다. 시료 A는 3,000 rpm에서 2.5분 동안 원심 분리하여 상층액을 제거한 침전물에 증류수와 0.5 M

EDTA solution(pH 7.0)을 첨가하여 15초 동안 혼합하였다. 시료 B는 3,000 rpm에서 2.5분 동안 원심 분리하여 상층액을 제거한 침전물에 3.75 mM CaSO₄ washing solution을 첨가하여 3,000 rpm에서 2.5분 동안 다시 원심 분리하여 상층액을 제거한 침전물에 CaSO₄ buffer solution(0.051% CaSO₄, 0.68% CH₃COONa, and 0.4% CH₃COOH, pH 4.5)을 첨가하여 15초 동안 혼합한 후 6분 동안 정치하였다. 각각의 시험관에서 1 mL씩을 취하여 10배 희석하여 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Flocculence, \%} = (A-B) \times 100/A$$

(7) 선발 균주의 탄소 이용능

미생물의 탄소 이용능에 관한 측정은 서로 다른 종류의 95개 탄소원으로 코팅된 96-well MicroPlate(BIOLOG, CA, USA)를 이용하여 MicroLog™ System(Release 4.3, BIOLOG, CA, USA)으로 분석하였다. 효모 균체는 BUY(BIOLOG, CA, USA) 배지에서 48시간 동안 배양하여 멸균 증류수에 현탁하여 탁도계(BIOLOG)로 47%T로 투과율을 맞추어 YT MicroPlate(100 μL per well)에 접종한 후 26°C에서 48, 72시간 배양하여 Microstation reader(BIOLOG)를 이용하여 590 nm 에서 optical density를 확인하였다.

2. 막걸리 품질저하 요인 선정

가. 시판 막걸리의 이화학적 특성

시판 막걸리(생주 15점, 살균주 12점)를 전국에서 구입하여 이화학적 특성(알코올함량, pH, 고형분 함량, 총산, 아미노산, 환원당, 유기산, 유리당), 물리적 특성(탁도, 색도, 점도, 가용성 고형분, 현탁 안정성), 휘발성 향기성분 분석 및 미생물을 분리, 동정하고 9점 평점법에 의해 기호도를 조사하고 7점 척도로 단맛, 신맛정도를 평가하였다.

나. 저장/유통 중 모니터링 및 품질저하 요인 선정

생주 15점을 25°C에서 2주간 저장 후 동일한 항목을 분석하여 품질저하 요인을 선정하였다.

다. 미생물 군집변화

시판막걸리를 4°C와 25°C에 각각 5병씩 저장하면서 3일 간격으로 12일까지 미생물 군집변화를 분석하였다. 시판막걸리 15병을 10°C에 저장하면서 매일 15일 동안 미생물 군집변화를 분석하였다.

라. 고형분과 관능성 관계 구명을 위한 막걸리 제조

고형분 함량을 15.0, 37.5, 75.0 g/bottle로 달리하여 10, 25, 40°C에 저장하면서 저장기간에 따른 이화학적 특성의 변화와 관능특성의 변화를 분석하였다.

마. 현탁성 개선을 위한 유화안정성 분석

선발된 효모와 입국을 사용하여 제조한 막걸리의 원주에 안정제로 tamarind gum과 xanthan gum을 첨가하여 현탁 안정성을 관찰하였다. 시료 30mL을 직경18mm의 시험관에 넣고 20℃에서 60분간 정치하면서 탁주 현탁층의 높이를 5분 간격으로 측정 한 후 전체높이 (150mm)에 대한 백분율로 나타내었다.

3. 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발

가. 완전발효 막걸리의 제조

완전발효 막걸리를 제조하여 저장성 연구를 하기 위해 누룩(입국시료) 원료기준 3%, 급수율 200%, 효모는 원료기준 6%, 발효온도 27℃에서 4일간 병행복발효법으로 발효하여 사용하였다.

나. Cold shock 처리 조건

Cold shock 처리는 냉동기를 사용하여 -20 ℃ 조건에서 10일, 20일, -40 ℃ 조건에서 10일, 20일 처리한 후 4 ℃에서 해동하여 저장실험에 사용하였다.

다. 미생물의 선택적 제거 방법

단위 공정액 또는 제성액으로부터 미생물의 선택적 제거방법은 제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법을 사용하였다. 자연침강법은 일정량과 일정용기를 사용하여 10 ℃에서 24시간 정치후 상등액과 하등액을 얻어 사용하였고, 강제침강법은 원심분리기를 사용하여 7,000rpm, 20min 처리하여 상등액과 하등액을 취하여 실험에 사용하였다.

라. 나노분쇄 방법

제성액의 나노분쇄 방법은 고압균질기를 사용하여 0~1,000bar 범위에서 1회 또는 2~3회 반복 처리하여 실험에 사용하였다.

마. 막걸리 저장성 실험 방법

본 실험에 사용한 저장 실험은 10 ℃ 온도에서 행하였다.

4. 고전압 펄스 전기장에 의한 막걸리의 비가열 살균

가. 고전압 펄스 발생 장치

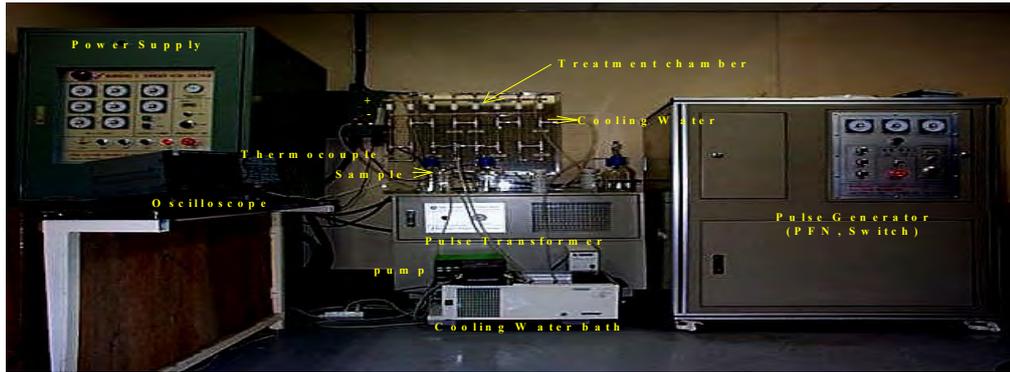


그림 2. 고전압 펄스 전기장 시스템의 구성도

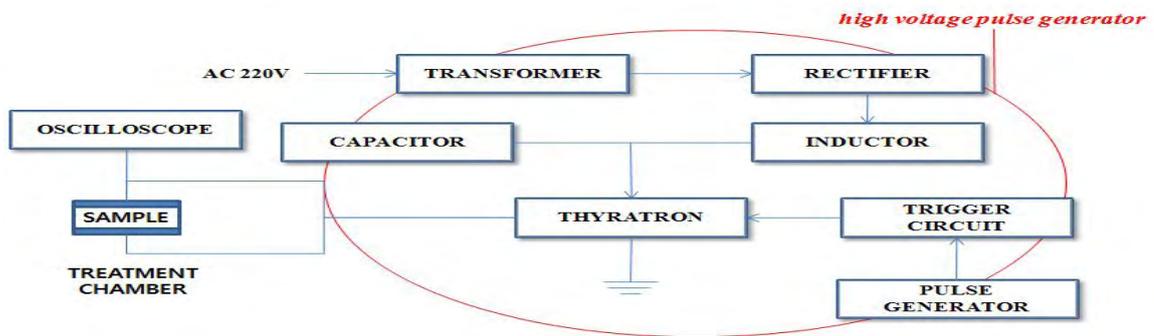


그림 3. 고전압 펄스 전기장 시스템의 개략도

전체적인 시스템은 크게 전원 공급부(power supply, Model JP-PS 2550, Japae Hi-Tec Incheon, Korea), 펄스 발생기(pulse generator, Model JP-PGT 50, Japae Hi-Tec, Incheon, Korea), 처리 용기(treatment chamber)로 구성되어 있다. 전원 공급부는 220 V AC 의 입력 전원을 고전압 변압기를 통하여 승압하고 정류하여 최대 50 kV DC 전원을 발생시킬 수 있도록 하였으며, 최대 전력 허용치는 50 kW이다. 펄스 발생기는 펄스를 구성할 수 있는 펄스 발생망(pulsed forming network, PFN)과 고전압의 전기를 순간적으로 발생시킬 수 있는 스위치로 구성되어 있다. 펄스 발생망은 펄스의 형태와 길이를 결정하는 중요한 부분으로서 전원 공급부에서 공급된 전압을 충전하고 rising time을 결정하는 축전지(capacitor), 펄스의 길이와 falling time을 조절하는 방전 지연 inductor (discharge delay inductor)로 되어있으며, exponential decay pulse와 square wave pulse를 발생시킬 수 있도록 구성되었다. 충전 방식은 resonance charging을 택하였으며, 축전지에 충전된 고전압을 순간적으로 방전하는 switch로는 열음극 방전관을 사용하였으며, 방전시 방생되는 열을 식히기 위하여 cooling device를 사용하여 열을 방출하였다. 축전지는 코로나와 arcing을 방지하기 위하여 절연유에 담겨 사용하였다. 회분식 처리에 사용한 batch treatment chamber는 가장 단순한 형태인 two disk type 을 사용하여 실험하였으며, 원통형의 electrode insulator를 다양한 형태로 만들어 전극 간극을 조절할 수 있도록 하였다.

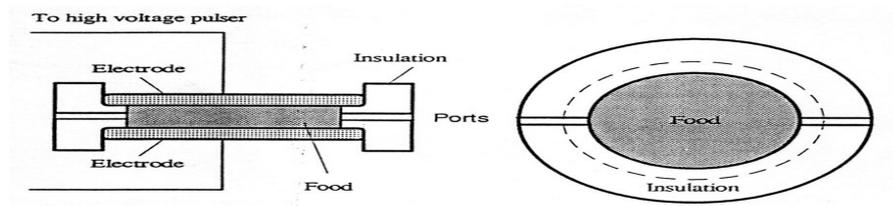


그림 4. 고전압 펄스 전기장의 회분식 처리용기

처리 용기에 인가되는 전기장의 세기와 파형은 oscilloscope (Tektronix, Model TDS 3032C 300 MHz 2 channel, USA)를 이용하여 측정하였다. 고전압 펄스 전기장 처리는 시료(막걸리 또는 효모 현탁액)를 처리 용기에 채우고 전극 양단에 정해진 시간만큼 전압을 가하는 방식으로 실시하였다.

나. 효모의 생존율 측정

고전압 펄스 전기장 처리를 마친 효모 현탁액 또는 막걸리 시료를 멸균된 생리 식염수 (0.85% NaCl) 수용액에 단계별로 희석한 후 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA; potatoes 20%, dextrose 2%, agar 1.5%)에 0.1 ml씩 도말하였다. 이를 26℃에서 48시간 동안 평판 배양한 다음 생성된 colony를 계수하여 생존수를 측정하였다. 고전압 펄스 전기장 처리에 따른 균체의 생존율은 초기 생존수 (N_0)에 대한 처리 후 생존수(N)의 비율로 표시하였으며, 최소 3회 이상의 반복 실험 결과를 평균하여 나타내었다.

다. 저장성 평가

PEF 처리구와 무처리구를 4℃와 30℃에 저장하면서 저장 기간 동안의 pH와 적정 산도, 효모의 수를 관찰하였다. pH는 pH meter (Orion 520-A, Thermo Fisher Inc., Beverly, MA, USA)를 사용하여 측정하였으며 적정 산도는 시료 10 mL를 취하여 지시약(0.1% phenolphthalein)을 사용하여 0.1N NaOH로 적정한 후 다음 식에 의거하여 산출하였다.

$$\text{적정산도} = \frac{0.1N - \text{NaOH 적정량}(ml) \times f \times 0.009}{\text{시료량}(ml)}$$

여기서 f 는 NaOH의 factor이고, 모든 측정값은 3회 반복 실험하여 그 평균값을 사용하여 표기하였다.

5. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 미가열 살균

가. 사용균주

사용 균주는 한국 종균협회 부설 한국 미생물보존센터(Korea Culture Center of

Microorganisms, KCCM, Seoul, Korea)로부터 분양받은 *Saccharmyces cerevisiae* (KCCM 12224)와 탁주로부터 순수 분리한 yeast를 사용하였다. 균주는 pH를 3.5 ± 0.2 로 맞춘 potato dextrose agar (PDA, Difco, Detroit, MI, USA)에 2주에 한번 계대배양하여 4°C의 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 실험균주의 생리적 상태를 동일하게 유지하기 위하여 접종균은 균주보관용 평판배지로부터 1-2백금이를 YM broth (Difco, Detroit, MI, USA) 50 mL가 들어있는 100 mL 삼각플라스크에 접종한 후 30°C에서 24시간 전배양하였다. 전배양액에서 1 mL를 취한 후 배양액 50 mL가 들어있는 100 mL 삼각플라스크에 접종하여 *S. cerevisiae*는 26°C에서 16시간, 순수 분리한 yeast는 30°C에서 13시간 분 배양한 후 실험에 사용하였다. 배양한 배양액은 4°C에서 4000 rpm으로 10분간 2회 원심분리(Gyro 406G, Gtrozen, Korea)하여 멸균 생리식염수 (0.85% NaCl)로 2회 세척한 후 현탁하여 사용하였다.

나. 고전압 펄스 발생 장치 및 처리 방법

전체적인 시스템은 크게 전원 공급부(power supply, Model JP-PS 2550, Japae Hi-Tec Incheon, Korea), 펄스 발생기(pulse generator, Model JP-PGT 50, Japae Hi-Tec, Incheon, Korea), 처리 용기(treatment chamber)로 구성되어 있다. 전원 공급부는 220 V AC 의 입력 전원을 고전압 변압기를 통하여 승압하고 정류하여 최대 50 kV DC 전원을 발생시킬 수 있도록 하였으며, 최대 전력 허용치는 50 kW이다. 펄스 발생기는 펄스를 구성할 수 있는 펄스 발생망(pulsed forming network, PFN)과 고전압의 전기를 순간적으로 발생할 수 있는 스위치로 구성되어 있다. 펄스 발생망은 펄스의 형태와 길이를 결정하는 중요한 부분으로서 전원 공급부에서 공급된 전압을 충전하고 rising time을 결정하는 축전지(capacitor), 펄스의 길이와 falling time을 조절하는 방전 지연 inductor (discharge delay inductor)로 되어 있으며, exponential decay pulse와 square wave pulse를 발생시킬 수 있도록 구성되었다. 축전 방식은 resonance charging을 택하였으며, 축전지에 충전된 고전압을 순간적으로 방전하는 switch로는 열음극 방전관을 사용하였으며, 방전시 방생되는 열을 식히기 위하여 cooling device를 사용하여 열을 방출하였다. 축전지는 코로나와 arching을 방지하기 위하여 절연유에 담겨 사용하였다. 처리 용기는 회분식 용기에서 문제가 되는 arc 발생이나 다량의 열이 발생하고 식품과 전극이 직접 접촉하는 방식으로 인해 생길 수 있는 여러 문제점들을 해결하고 구조가 간단한 연속 처리 용기를 설계하여 제작하였다. 본 연구에 사용된 연속식 처리 용기는 co-filed 개념을 도입하여 시료의 흐름선(flow-lines)이 뒤바뀌어 없이 직선상으로 흐르게 되어 기포의 발생 확률이 상대적으로 적으며, 식품과 전극이 직접 접하지 않아 만약에 스파크 방전이 일어나더라도 전극에서 발생할 수 있는 전기 분해 물질의 식품으로의 혼입을 방지하였다. 또한 처리 용기 내부가 부채꼴형이고 전기장이 집중되는 아주 짧은 부분(실제 고전압이 인가되는 부분)만이 직선형으로 되어 있어 가능한한 edge를 없애고 흐름의 공백이 없도록 설계되었다(그림 4, 그림 5).

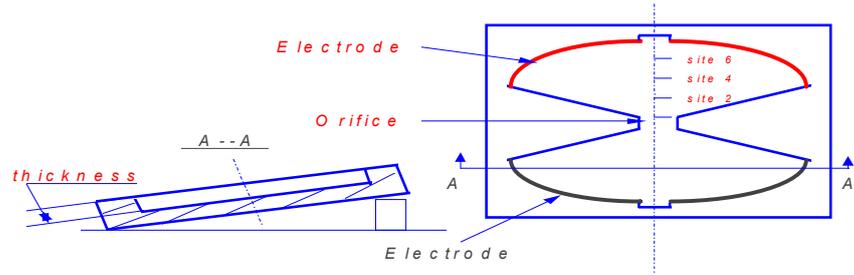


그림 5. Co-field 개념의 연속식 처리용기의 개략도



그림 6. Co-fields 개념의 연속식 처리용기의 사진

또한 이 처리 용기는 용기 내부에 전류의 흐름이 적고 높은 repetition rate를 적용할 수 있으며, 쉽게 scale-up이 가능하다. 실제 시료를 처리 용기 내에 통과시키면서 전기장을 가하였을 경우 시간에 따른 전류와 온도의 변화를 그림 7과 그림 8에 나타내었다.

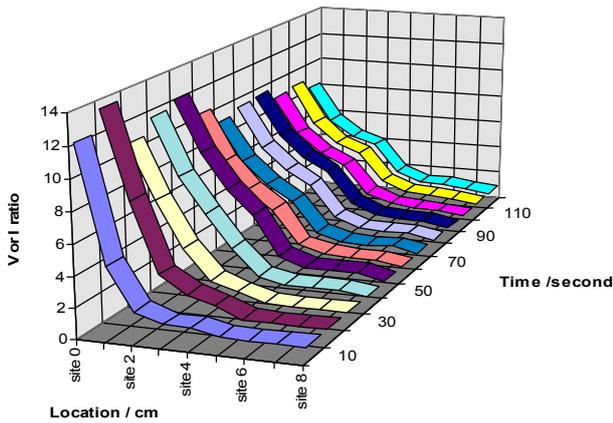


그림 7. 연속식 처리용기내의 전압 및 전류의 위치별 분포

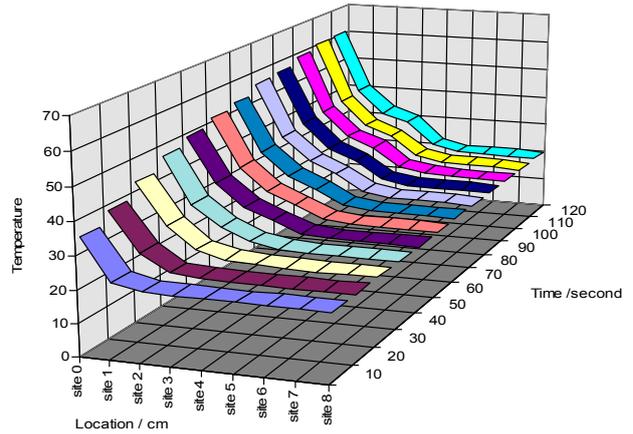


그림 8. 장치 조건하에서 연속식 처리 용기의 위치별 온도의 변화

다. 효모 생존율의 측정

효모의 생존수는 일정량의 막걸리 시료를 무균적으로 취하고 멸균 식염수(0.85% NaCl)

를 이용하여 단계적 희석법으로 희석한 후 10% tartaric acid (주석산)로 pH를 3.5로 조절된 PDA (Potato Dextrose Agar, Difco)에서 pouring method로 28°C에서 24~48시간 배양한 후 생긴 colony를 계수하여 초기 미생물수(N_0)에 대한 고전압 펄스 전기장 처리 후 미생물 수(N)의 비로 생존율을 구하였다.

6. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 미생물의 살균 기작 연구

가. 사용균주 및 배양 조건

본 연구에 사용된 *Saccharomyces cerevisiae* 균주는 ATCC 4105로 한국종균협회 (Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)로부터 분양받아 사용을 하였다. 균주 보관용 평판배양은 YM agar (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 사용하였으며, 사용전까지 4°C에 보관하였다. 실험 균주의 생리적 상태를 동일하게 유지하기 위하여 접종균은 균주보관용 평판배지로부터 2-3 백금이를 YM broth 100 mL가 들어있는 250 mL 삼각 플라스크에 접종한 후 26°C에서 24시간 전배양하였다. 전배양액 2 mL를 취하여 200 mL YM broth가 들어있는 500 mL 삼각 플라스크에 접종하여 같은 온도에서 16시간 배양하여 대수 증식기 후반의 균주를 실험에 사용하였다. 배양한 배양액은 4°C에서 4000 rpm으로 원심분리(Sorvall RC2C plus, Dupont, Newtown, CT, USA)하여 살균 증류수 및 완충용액에 1회 세척한 후 현탁하여 사용하였다. 이 때 최종 균체 농도는 2.0×10^7 ~ 3.0×10^7 수준이었으며, 본 실험에 사용된 모든 균시료액은 같은 방법으로 매번 새로이 배양한 것을 사용하였다.

나. 고전압 펄스 전기장 시스템

전체적인 시스템은 크게 전원 공급부(power supply, Model JP-PS2550, Jaepae Hi-Tec, Inchon, Korea), 펄스발생기(pulse generator, Model JP-PGT50, Jaepae Hi-Tec, Inchon, Korea), 처리용기(treatment chamber)의 세 가지로 구성되어 있다. 전원 공급부는 220V AC의 입력 전원을 고전압 변압기를 통하여 승압하고 정류하여 최대 50 kV D.C. 전원을 발생시킬 수 있도록 하였으며 최대 허용치 전력은 50 kW이다. 펄스 발생기는 펄스를 구성할 수 있는 펄스 발생망(pulse forming network, PFN)과 고전압의 전기를 순간적으로 발생할 수 있는 스위치로 구성되어 있다. 펄스 발생망은 펄스의 형태와 길이를 결정하는 중요한 부분으로서 전원 공급부에서 공급된 전압을 충전하고 rising time을 결정하는 축전지(capacitor, 1800 pF/each), 펄스의 길이와 falling time을 조절하는 방전 지연 inductor (discharge delay inductor, 2 μ H-20 μ H)로 되어 있으며, exponential decay pulse와 square wave pulse를 발생시킬 수 있도록 구성되었다. 충전 방식은 resonance charging을 택하였으며, 축전지에 충전된 고전압을 순간적으로 방전하는 switch로는 열음극 방전관(thyratron, 50 kV, 2500A)을 사용하였으며, 방전시에 발생하는 열을 식히기 위하여 cooling device를 사용하여 열을 방출하였다. 축전지는 corona와 arching을 방지하기 위하여 절연유(제 1 종 silicon oil)에 담았다. 처리 용기는 전극간격 2 mm의 처리용

기를 7개 병렬 연결하여 전체 처리 용적이 0.175 ml가 되도록 하였으며, 처리용기에 인가되는 전기장의 세기와 파형은 oscilloscope (Lecroy Digital Oscilloscope, Model 9300 AM, Dual 400 MHz, Geneva, Switzerland)로, 전류는 전압-저항 converting을 이용하여 측정할 수 있도록 자체 제작하여 측정하였다. 처리 용기는 co-field 개념을 도입하여 시료가 전극과 직접 접촉하는 면적을 최소화하여 불균일한 전기장의 형성을 없애고 시료의 흐름에 edge를 제거하여 spark에 의한 유전파괴 현상이 일어나지 않도록 설계·제작하였으며, 처리 용기에 인가되는 square wave의 파형은 그림 9와 같다.

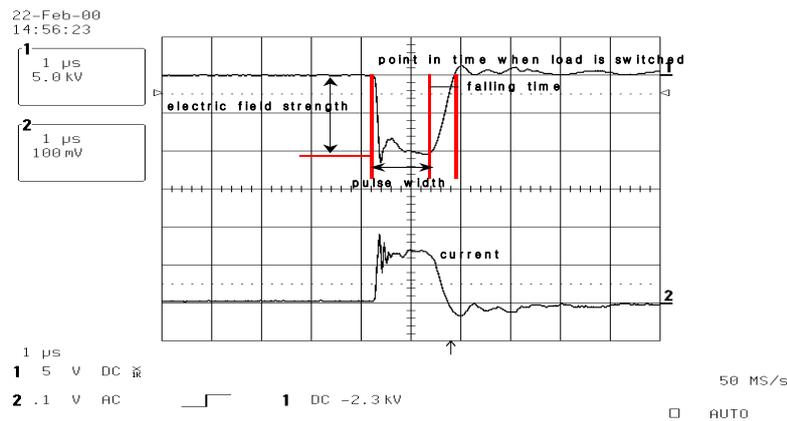


그림 9. 고전압 펄스 전기장 장치의 펄스 파형. 1 μ s square wave 펄스

다. 생존수의 측정

고전압 펄스 전기장 처리를 마친 효모 현탁액을 멸균된 생리식염수 수용액에 단계별로 희석한 후 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories)에 0.1 mL씩 도말하였다. 이를 26°C에서 48시간동안 평판 배양한 다음 생성된 균락수를 계수하여 생존수를 측정하였다. 고전압 펄스 전기장 처리에 다른 균체의 생존율은 초기 생존수 (N_0)에 대한 처리 후 생존수(N)의 비율로 표시하였으며, 최소 3회 이상의 반복 실험 결과를 평균하여 나타내었다.

라. 내염성의 변화 측정

고전압 펄스 전기장 처리에 의한 미생물 세포의 내염성 변화는 생존수 측정에 사용한 균체 시료액을 PDA에 3% NaCl을 첨가한 배지(PDAS)에 동일한 방법으로 도말하여 평판 배양한 다음 생성된 균락수를 계수하여 비교하였다.

마. 세포 내외의 상대적 pH 구배 측정

고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모 세포의 세포벽 또는 세포막의 손상을 추정할 수 있는 방법으로 세포 내외의 상대적인 pH 구배를 Slavik의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 세포 배양액을 원심분리하여 멸균 증류수에 1회 세척한 다음 완충액에 현탁하여 시료액을

준비하고 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 임의의 시간이 처리된 시료액과 처리하지 않은 시료액을 동일하게 다시 원심 분리한 다음 1 mM MgCl₂를 포함한 150 mM KCl 용액에 20 mg/cells (건조중량)/mL의 농도로 현탁하였다. 이들 현탁액의 초기 pH를 측정하여 초기 pH (pH_i)로 정하고, n-butanol을 5% (v/v) 첨가하여 세포막을 파손시켜 세포내 내용물이 완전히 유출되어 더 이상의 pH 변동이 없을 때를 최종 pH (pH_f)로 정의하였다. 균체의 상대적 pH 구배는 이와 같이 결정된 pH 값의 차이(최종 pH - 초기 pH, pH_f - pH_i)를 상대적 pH 구배인 ΔpH로 나타내었다.

바. 해당활성 측정

미생물 세포의 기본적인 대사과정인 해당활성을 측정하여 세포의 생리적 변화 여부를 측정하였다. Hong과 Pyun 의 방법에 따라 세포 배양액을 원심 분리하여 탈이온수에 1회 세척한 후 1 mM MgCl₂를 함유한 20 mM phosphate 완충액(pH 7.0)에 현탁하여 26°C에서 1시간 배양하여 세포질 내의 대사산물을 제거하였다. 이를 다시 원심분리하여 1 mM MgCl₂와 0.1%의 glucose를 함유한 50 mM phosphate 완충액(pH 7.0)에 현탁한 다음 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 시간별로 처리를 마친 균체 현탁액을 26°C에서 2시간 동안 재배양한 후 즉시 원심분리하여 상등액을 얻고, glucose 진단 시약(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하여 소모되지 않은 잔존 glucose 농도를 측정하였다. 균체의 해당활성 변화를 소모된 glucose 양을 초기 함량에 대한 백분율로 나타내었다.

사. H⁺-ATPase 분리 및 활성 변화 측정

일반적으로 모든 세포는 pH 항상성을 유지하여 세포의 생리적 상태를 일정하게 유지하려 한다. 이러한 pH 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 H⁺-ATPase를 분리하여 활성을 측정하였다.

(1) 세포막의 분리

배양액(2.8 mL)를 10000 g에서 10분 동안 원심분리하고 살균 증류수로 2회 세척한 후 상등액은 버리고, pellet 을 50 mM Tris-maleate buffer (pH 7.4)에 재현탁하였다. 현탁액에 lysozyme (0.1%, Sigma L6867)을 첨가하고 37°C에서 30분간 배양한 후 ice-water를 함유한 ependorf-tube에 넣어서 3분간 sonication (power setting 4; 40% pulsed duty cycle, Sonicator, Misonix INC, NY, USA)하였다. 처리된 시료액을 10,000 g에서 10분동안 원심분리하여 침전물(파괴되지 않은 세포와 파쇄된 세포의 큰 부분)을 제거한 후, 상등액을 4°C에서 100000 g로 1시간 동안 초원심분리(Ultracentrifuge, Centrikon T-1080, Kontron Instrument, UK)하여 세포막 단편(membrane vesicles)을 회수하였다. 회수된 세포막 단편을 100 mM Tris-maleate buffer (pH 7.4)에 재현탁하였다. 시료는 사용할 때까지 -70°C에 보관하였으며, 일반적으로 ATPase 활성은 -70°C에서 수개월동안 유지되는 것으로 보고되었다.

(2) 무기질 phosphate의 유리

ATPase 활성은 ATP로부터 inorganic phosphate가 유출되는 것으로 측정하였다. 앞에서 분리한 세포막 현탁액 100 μ l를 50 mM MgCl₂ 50 μ l와 100 mM Tris-maleate buffer (pH 7.4) 300 μ l를 포함한 반응액에 첨가한 후 ATPase 활성 최적 온도인 55°C에서 5분 동안 배양한 다음 30 mM ATP (Sigma Chemical Co., A7699) 50 μ l를 첨가하여 20분 동안 반응시키고 10% (w/v) trichloroacetic acid 250 μ l를 넣어 반응을 종결하였다.

(3) Phosphate 측정 (ATPase 활성 측정)

반응이 종결된 시료액에 증류수 3.85 mL를 첨가한 후 2500 g에서 20분간 원심분리하였다. 상등액을 깨끗한 tube에 옮긴 후 5% (w/v) ammonium molybdate 200 μ l, amidol reagent (2,4-diaminophenol 0.5 g)을 함유한 20% (w/v) sodium sulphate 200 μ l를 첨가하고 잘 섞었다. 이 시료를 80°C에서 2분 동안 배양한 후 급냉시킨 후, 830 nm에서 흡광도를 측정한다. 세포막 단백질 함량은 변형된 Lowry법을 이용하여 측정하였다. Bovine serum albumin (Sigma Chemical Co., A3059)를 standard protein으로 사용하였으며, ATPase 비활성(specific activity)은 1 mg의 세포막 단백질에 대해 1분 동안 ATP로부터 유리된 무기질 phosphate의 nmol로서 계산하였으며, H⁺-ATPase 활성 변화는 처리하지 않은 시료의 ATPase 활성에 대한 백분율로서 나타내었다.

아. 효소 활성 변화 측정

APIZYM kit (Biomerieux, Marcy-l'Étoile, France)를 사용하여 고전압 펄스 전기장 처리에 따른 효소의 활성 변화를 측정하였다. 40°C, 50 kV/cm의 고전압 펄스 전기장으로 53 μ s 처리한 균체 시료액과 무처리 시료액을 APIZYM kit에 접종하여 37°C에서 4시간 배양한 다음 ZYM A와 B 시약을 첨가하여 발색된 정도(marker 0-5)에 따라 해당 효소의 활성을 측정하였다. 그리고 색차계(CT-210, Minolta Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 처리된 시료와 무처리 시료에 대한 kit 상의 색깔 변화를 L, a, b 값으로 측정하고 이들의 상대적인 색의 차이를 각 효소의 활성 변화로 정의하여 초기값에 대한 백분율로 표시하였다.

자. 전자현미경 분석

주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM)과 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope, TEM)을 이용하여 PEF 처리에 의한 효소의 형태학적 변화를 관찰하였다. 40°C, 50 kV/cm의 전기장 세기로 53 μ s 처리한 세포 현탁액과 무처리 시료를 고정액 (5% paraformaldehyde, 5% glutaraldehyde, 0.2 M phosphate buffered saline ; PBS)에서 고정하였다. 주사현미경 관찰을 위해서 고정액으로 고정한 시료를 0.1 M PBS (pH 7.2)로 세척한 후 osmium tetroxide (2% OsO₄)로 1.5-2시간 후 고정하였다. 이 시료를 0.1 M PBS로 두 번 세척한 후 30, 50, 70, 95% ethanol로 각각 10분 동안, 그리고 100% ethanol로 15 분 동안 두 번

탈수한 다음 acetone, hexamethyl disilazane (HMDS)로 각각 30분 동안 처리하여 건조하였다. 세포 현탁액을 carbon tape을 이용하여 metal stub에 정착하고 3분 동안 금 coating한 후 주사 현미경 관찰을 하였다. 투과현미경 관찰을 위하여 고정액으로 고정한 시료를 0.1 M PBS로 세척한 후 8% bovine serum albumin (BSA)로 encapsulation 하였다. 원심분리에 의하여 PBS를 제거하고 8% BSA 0.5 mL를 첨가한 후 다시 원심분리하였다. 50% glutaraldehyde를 2-3방울 떨어뜨려 BSA를 gel화한 후 1 mm²의 크기로 잘라낸 다음 1% osmium tetroxide로 1-1.5 시간동안 후고정 시킨다. 고정 후 ethanol과 acetone으로 탈수한 후 Spurr's resin으로 혼입한 다음 유리칼(ultramicroton)으로 절단하고 uranyl acetate로 20분간, lead stain으로 10분간 처리하여 투과현미경 관찰에 사용하였다.

7. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균

가. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균

(1) 사용균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 균주는 시중에 판매되고 있는 막걸리로부터 순수 분리하여 사용을 하였다. 분리된 균주는 pH를 3.5±0.2로 맞춘 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 2주에 한번 계대배양하여 4℃의 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 실험 균주의 생리적 상태를 동일하게 유지하기 위하여 접종균은 균주 보관용 평판배지로부터 2~3 백금이를 YM broth 50 mL가 들어있는 100 mL 삼각 플라스크에 접종한 후 30℃에서 24시간 전배양하였고, 전배양액 1 mL를 취하여 50 mL YM broth가 들어 있는 100 mL 삼각 플라스크에 접종하여 같은 온도에서 13시간 배양하여 대수 증식기 후반의 균주를 실험에 사용하였다. 배양한 배양액은 4℃에서 4000 rpm으로 원심분리(Gyro 406G, Gtrozen, Daejeon, Korea)하여 살균 증류수 및 완충 용액에 각각 1회 세척한 후 현탁하여 사용하였다. 이 때 최종 균체 농도는 $2.0 \times 10^6 - 3.0 \times 10^6$ cfu/mL 수준이었으며, 본 실험에 사용된 모든 균 시료액은 같은 방법으로 매번 새로이 배양한 것을 사용하였다.

(2) 광펄스 처리 장치 및 균주 처리

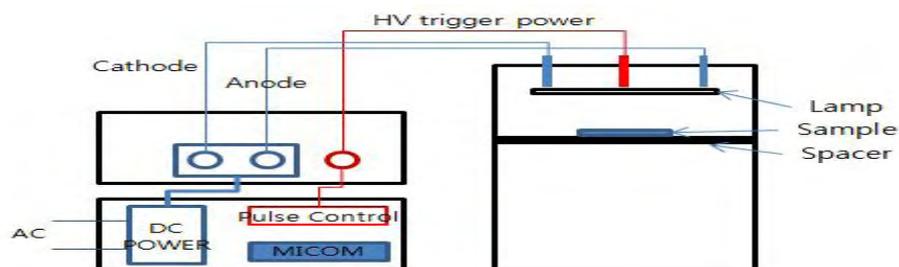


그림 10. 고강도 광펄스 장치의 개략도



그림 11. 고강도 광펄스 시스템의 전원 장치

기존에 발표되었던 광펄스 발생장치는 고전압 펄스 전기장에서 사용되었던 대용량의 고전압 발생장치를 사용하여 광원에 직접적으로 고전압을 인가함으로써 빛을 발생시키던 방식을 사용하였다. 그러나 본 실험에서는 새롭게 제작된 소형화된 장치를 사용하여 손쉽게 실험에 응용할 수 있도록 하였다. 본 연구에 사용된 고강도 광원 처리 장치(광펄스 처리장치)는 전원 공급부, 펄스 발생기, 램프 그리고 처리용기 등으로 구성되어져 있다. 전원 공급부는 일반 상용 전원을 사용할 수 있도록 구성하여 AC 220 V, 50/60 Hz의 단상의 전원을 사용하였으며, 소비 전력은 1.2 kW로 설계되었다. 출력부는 DC 전원으로 0~1,200 V의 상시 전압을 출력할 수 있도록 하였으며, 전류는 안전을 고려하여 1 A 미만이 되도록 하였다. 사용가능한 주파수 (frequency)는 1-50 Hz로 제작되었으며, 1회 작동할 수 있는 시간은 최대 60분으로하여 장치에 무리가 가지 않도록 하였다. 처리용기는 광원과 처리 시료간의 거리를 조정할 수 있도록 칸을 나누어 spacer를 활용하도록 하였다.



그림 12. 고강도 광펄스 처리를 위한 회분식 처리 장치

사용된 광원은 xenon XAP series의 flash 램프(NL 4006, Heraeus Noblelight, Cambridge, UK)로 무수은 xenon 가스로 충전되어 있어 램프로부터 빛을 이끌어내기 위해서는 xenon 가스를 여기시켜 플라즈마를 형성시켜야한다. Xenon 가스를 여기시키기 위한 triggering 최소 전압은 16 kV이며, 상시적으로 600-1200 V의 전압이 공급되어야 한다. 그리고 Xenon Lamp에서 발생하는 파장의 스펙트럼은 UV 영역의 파장을 제외하고 300-600 nm의 가시광선 영역에서 강한 빛을 발생하도록 설계되었다.

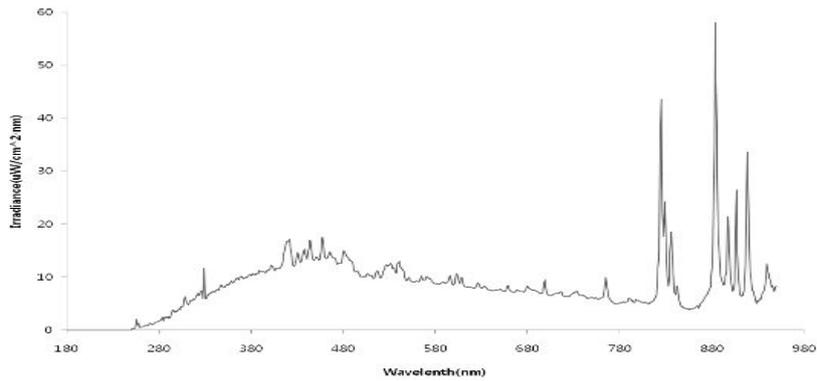


그림 13. 고강도광펄스 시스템의 제논램프의 파장 범위 및 강도

막걸리 효모의 처리는 균체가 도달된 평판배지를 전압 500-1000 V, 평판배지와 램프사이의 거리 6.0-9.7 cm, 주파수 3-10 pps의 범위에서 광펄스 처리를 하였으며, 처리시간은 10-120초 사이에서 임의의 시간을 선택하여 처리하였다. 단 시료 깊이에 따른 사멸효과의 실험에서는 막걸리 효모를 대수 증식기 후반까지 배양한 후 4000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 0.85% 생리식염수에 재현탁하고 초기균수를 약 10^7 cfu/mL로 맞춘 후 평판에 시료의 깊이를 2-7 mm로 달리하여 1000 V, 5 pps, 120초간 처리하였다.

(3) 생균수의 측정

YM 배지에서 배양한 막걸리 효모를 PDA 평판배지에 도달하고 균주가 도달된 평판 배지를 광펄스 처리한 후 30℃에서 48시간 배양하여 평판배지에 형성된 균락수를 계수하였다. 균락수는 30-300개 사이의 것을 계수하였으며 cfu/mL로 나타내었다. 광펄스 처리에 따른 균체의 생존율은 초기 균수(N_0)에 대한 처리 후 생균수(N)의 비율로 표시하였으며, 모든 실험은 각 시료당 3회 반복 실험하여 측정하였다.

(4) 색도, 당도 및 온도 측정

색도는 quartz cell에 처리 전후의 시료 10 mL를 취하여 색차계(Colorimeter CM-5, Konica Minolta Sensing, INC., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며, hunter scale에 의한 L (Lightness), a (redness) 및 b (yellowness)값을 측정하고 아래 식을 사용하여 색차(DE)를 계산하였다. 이 때 사용한 표준색판의 값은 $L=98.31$, $a=-1.01$, $b=2.32$ 이었다.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

당도는 당도계(RA-252H, Kyoto Electronics Mfg, Co. Ltd., Kyoto, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 위 실험은 모두 3번 반복 실험을 하여 자료를 정리하였다. 광펄스 처리 전과 후

의 시료의 온도의 변화는 midi datalogger (GL200-UM-851, Graphtec co., Yokohama, Japan)를 이용하여 측정하였다.

(5) pH 및 적정산도

pH는 시료 10 mL를 50 mL 삼각 플라스크에 넣고 pH meter (Docu-pH meter, Sartorius AG, Goettingen, Germany)를 이용하여 측정하였다. 적정산도는 시료 10 mL에 1%(v/v) phenolphthalein (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd., Gyonggi, Korea) 지시약을 2~3방울 떨어뜨린 후 뷰렛을 이용하여 0.1 N (w/v) NaOH 용액으로 시료가 담홍색이 될 때까지 적정(pH 8.8 내외)하였다. 적정 소비량(mL)을 측정한 후 다음 식에 의해 시료중의 총산도를 lactic acid로 환산하였다.

(6) 환원당 함량

환원당은 dinitrosalicylic acid (DNS)법에 의해 측정하였다. 환원당에 의하여 3,5-dinitrosalicylic acid이 환원되어 생성된 3-amino-5-nitrosalicylic acid의 흡광도를 측정하여 당을 정량분석하는 방법으로 탁주는 시료 농도가 0.1~1.0 mg/mL일 때 최적 흡광도를 나타낸다. 따라서 glucose 표준곡선을 이 범위에서 작성하였다. 시료 1 mL와 DNS 시약 3 mL를 시험관에 넣고 끓는 물에 5분간 중탕시킨 후 상온에서 충분히 냉각을 하였다. 냉각한 시료를 분광광도계를 이용하여 546 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이 때 당정량은 glucose를 표준물질로 사용하여 위의 방법으로 작성한 glucose 표준곡선으로부터 환산하였다.

나. 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 연속식 (순환식) 비가열 살균

(1) 사용균주 및 배양 조건

사용균주는 막걸리로부터 순수 분리한 yeast(이하 isolated yeast)를 pH 3.5±0.1로 맞춘 potato dextrose agar (PDA, Difco)에 2주에 한번 계대배양하여 4℃의 온도에 보관하면서 사용하였다. 실험균주의 동일한 생리적 상태를 유지하기 위해 균주보관용 평판배지로부터 1-2백금이름 YM broth (Difco) 50 mL가 들어있는 100 mL의 삼각플라스크에 접종한 후 30℃에서 24시간 전배양하였다. 전 배양액에서 1 mL을 취해서 배양액 50 mL이 들어 있는 100 mL의 삼각플라스크에 접종하여 30℃에서 13시간 본배양하여 대수 증식기 후반의 균주를 실험에 사용하였다. 배양한 배양액은 상온에서 4000 rpm으로 10분간 원심분리(Gyro 406G, Gtrozen, Korea)하여 멸균생리식염수(0.85% NaCl)로 1회 세척한 후 현탁하여 사용하였다.

(2) 광 펄스 발생 장치 및 처리방법

광 펄스 처리 시스템은 실험실 용량으로 제작되었으며 개략도는 그림 13에 나타낸 바와 같다. 이 장치는 AC 220 V, 50/60 Hz의 단상의 전원을 사용하도록 하였다. 출력부는 DC 전원

으로 0-600 V의 상시 전압을 출력할 수 있도록 하였으며 사용가능한 frequency는 1-20 Hz이다.

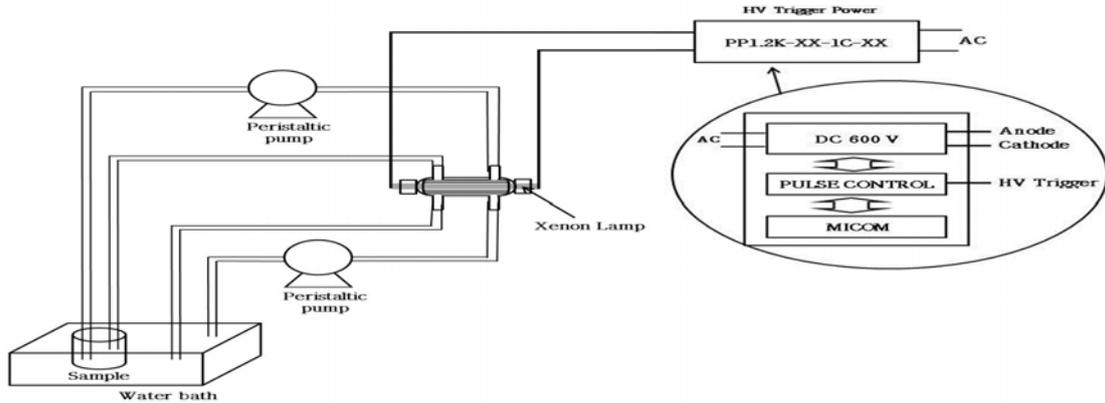


그림 14. 연속식 고강도 광펄스 처리 시스템 개략도

본 실험에 사용된 램프는 50 kPa의 압력으로 충전한 quartz 재질의 xenon 램프(NL4006, Heraeus Nobelight, UK)임. 처리 용기는 강화유리 재질로 제작하였으며, 시료의 흐름과 온도 조절을 위한 water jacket의 이중관으로 되어져 있으며, 가운데에 램프를 삽입할 수 있도록 하였고, 처리 용량 13 ml였다. Isolated yeast를 대수 증식기 후반까지 배양하여 2회 원심분리한 후 멸균생리식염수 재현탁하여 회분식과 연속식 광 펄스 처리에 사용하였다. 회분식 광 펄스 처리는 frequency 5 Hz, 처리시간 30, 60, 90, 120, 150 sec, 전압 600 V에서 처리온도 50℃에서 빛의 세기를 변화시키며 실험하였다. 연속식 광 펄스 처리는 frequency 5 Hz, 유속 1.19 ml/sec, 처리시간 30 sec, 60 sec, 90 sec, 120 sec, 150 sec으로 전압 600 V에서 처리온도 50℃에서 빛의 세기를 변화시키면서 실험하였다. 막걸리의 연속식 광 펄스 처리는 시료 150 mL를 연동 펌프(peristaltic pump)로 순환시키면서 frequency 5 Hz, 유속 4 ml/sec, 처리 전압 600 V에서 처리시간에 따른 실험을 하였다.

다. 고강도 광펄스에 의한 미생물의 살균 기작 연구

(1) 사용균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 균주는 시중에 판매되고 있는 막걸리로부터 순수 분리하여 사용하였다. 분리된 균주는 pH를 3.5±0.2로 맞춘 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 2주에 한번 계대배양하여 4℃의 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 실험 균주의 생리적 상태를 동일하게 유지하기 위하여 접종균은 균주 보관용 평판배지로부터 2-3 백금이를 YM broth 50 mL가 들어있는 100 mL 삼각 플라스크에 접종한 후 30 ℃에서 24시간 전배양하였고, 전배양액 1 mL를 취하여 50 mL YM broth가 들어있는 100 mL 삼각 플라스크에 접종하여 같은 온도에서 13시간 배양하여 대수 증식기 후반의 균주를 실험에 사용하였다. 배양한 배양액은 4℃에서 4000 rpm으로 원심분리(Gyro 406G,

Gtrozen, Daejeon, Korea)하여 살균 증류수 및 완충 용액에 각각 1회 세척한 후 현탁하여 사용하였다. 이 때 최종 균체 농도는 2.0×10^6 - 3.0×10^6 cfu/mL 수준이었으며, 본 실험에 사용된 모든 균 시료액은 같은 방법으로 매번 새로이 배양한 것을 사용하였다.

(2) 광펄스 처리 장치 및 균주 처리

본 연구에 사용된 고강도 광원 처리 장치(광펄스 처리장치)는 전원 공급부, 펄스 발생기, 램프 그리고 처리용기 등으로 구성되어 있다. 전원 공급부는 일반 상용 전원을 사용할 수 있도록 구성하여 AC 220 V, 50/60 Hz의 단상의 전원을 사용하였으며, 소비전력은 1.2 kW로 설계되었다. 출력부는 DC 전원으로 0~1200 V의 상시 전압을 출력할 수 있도록 하였으며, 전류는 안전을 고려하여 1 A 미만이 되도록 하였다. 사용가능한 주파수(frequency)는 1~50 Hz로 제작되었으며, 1회 작동할 수 있는 시간은 최대 60분으로하여 장치에 무리가 가지 않도록 하였다. 처리용기는 광원과 처리 시료간의 거리를 조정할 수 있도록 칸을 나누어 spacer를 활용하도록 하였다(그림 11). 사용된 광원은 Xenon XAP series의 flash 램프(NL 4006, Heraeus Noblelight, Cambridge, UK)로 무수은 xenon 가스로 충전되어 있어 램프로부터 빛을 이끌어내기 위해서는 xenon 가스를 여기시켜 플라즈마를 형성시켜야한다. Xenon 가스를 여기시키기 위한 triggering 최소 전압은 16 kV이며, 상시적으로 600-1200 V의 전압이 공급되어야 한다. 그리고 Xenon Lamp에서 발생하는 파장의 스펙트럼은 UV 영역의 파장을 제외하고 300-600 nm의 가시광선 영역에서 강한 빛을 발생하도록 설계되었다. 막걸리 효모의 처리는 평판배지 도말된 평판배지를 전압 500-1000 V, 평판배지와 램프사이의 거리 6.0-9.7 cm, 주파수 3-10 pps의 범위에서 광펄스 처리를 하였으며, 처리시간은 10-120 초 사이에서 임의의 시간을 선택하여 처리하였다. 단 시료 깊이에 따른 사멸효과의 실험에서는 막걸리 효모를 대수 증식기 후반까지 배양한 후 4000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 0.85% 생리식염수에 재현탁하고 초기균수를 약 10^7 CFU/mL로 맞춘 후 평판에 시료의 깊이를 2-7 mm로 달리하여 1000 V, 5 pps, 120초간 처리하였다. 광펄스 처리 시 시료의 표면온도나 시료액의 온도변화를 알아보기 위하여 datalogger (GL200, Graphtec Co., Yokohama, Japan)를 이용하여 온도를 측정하였다.

(3) 자외선 흡수 물질 측정

미생물 세포막의 손상 및 투과성의 변화에 의한 세포 물질의 유출을 측정하기 위하여 세포 외액에서 자외선 흡수 물질을 측정하였다. Isolated yeast 세포 배양액을 4000 rpm에서 10분간 원심분리하여 세포들을 침강 시킨 후 0.85% 멸균 생리 식염수로 재현탁하는 과정을 2번 반복한 후 90 mm (diameter) × 15 mm (height)의 평판에 담아 임의의 전압과 처리시간으로 처리하였다. 처리된 시료액을 4000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취한 다음 분광광도계(Optizen 2020 UV, Mecacys,co. LTC, Korea)를 이용하여 220, 260, 280 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

(4) 세포 염색 관찰

세포막의 기능이 정상적인 생균은 색소를 첨가하였을 때 이를 계속 외부로 배출하여 세포 자체가 염색이 되지 않으나, 세포막이 손상된 경우에는 세포 내부로 흡수되어 세포가 염색이 된다. 이 사실을 근거로 광 펄스 처리에 의한 효모 세포의 세포막 손상 여부를 확인하기 위하여 0.5% methylene blue (Acros Organics, Belgium)를 사용하였다. 일정한 시간동안 광 펄스 처리를 가한 다음 슬라이드 글라스 위에 균 시료액 한 방울과 0.5% methylene blue를 한 방울 떨어뜨려 염색 후 10여분 경과 후 위상차 현미경(ODEO-2003 IPONAPCM, JAPAN)을 이용하여 염색된 세포와 염색되지 않은 세포를 관찰하였다.

(5) 전자현미경 관찰

투과전자현미경 (Transmission Electron Microscope, JEM1010, JEOL, Japan)을 이용하여 광 펄스 처리 전·후 세포의 형태학적 변화를 관찰하였다. 1000 V에서 180초 동안 광펄스 처리된 세포 현탁액을 소량 취하여 2% paraformaldehyde와 2%와 2% glutaraldehyde로 4시간 동안 전고정 후에 0.05 M sodium cacodylate buffer (pH 7.2)로 10분간 3회 세척을 하였다. 후고정액으로 1% osmium tetroxide를 사용하였으며 2시간 고정하여 다시 증류수로 2번 정도 가볍게 세척을 하였다. 그 후 0.5% uranyl acetate로 4℃에서 30분간 staining하고, 탈수 용매제인 에탄올 30, 50, 70, 80, 90%에 각각 10분 동안 탈수 시킨 후 마지막으로 100%로 10분씩 3회 탈수시킨 후 100% propylene oxide로 15분간 2회 치환하였다. 이를 propylene oxide와 spurr's resin을 1:1로 혼합하여 2시간, 0:1로 혼합하여 overnight하고, 0:1로 혼합하여 2시간동안 포매하였다. 그 후 70℃에서 25시간동안 polymerization하고 ultramicrotome(MT-X, RMC, Tucson, AZ, USA)으로 sample을 1 μm 로 semisection하고, 이 절편을 2% uranyl acetate로 7분 동안 staining하여 광학 현미경으로 관찰한 다음 전자현미경으로 관찰하고자 하는 부위를 정하여 retrimming한 후 60 nm 두께로 thin section을 하고, 완성된 section을 Reynold's lead citrate로 7분간 전자 염색한 후 건조시켜 투과 전자 현미경으로 관찰하였다.

(6) 세포 회복도 측정

1000 V에서 80초간 처리한 isolated yeast 현탁액과 무처리 isolated yeast 현탁액을 YM broth에 각각 2%씩 접종하여 30℃에서 다시 배양하면서 한 시간 간격을 두고 시료를 채취한 후 분광광도계를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 growth curve를 작성해 손상된 세포의 회복 정도를 확인하였다.

8. 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리에 의한 막걸리의 비가열 살균

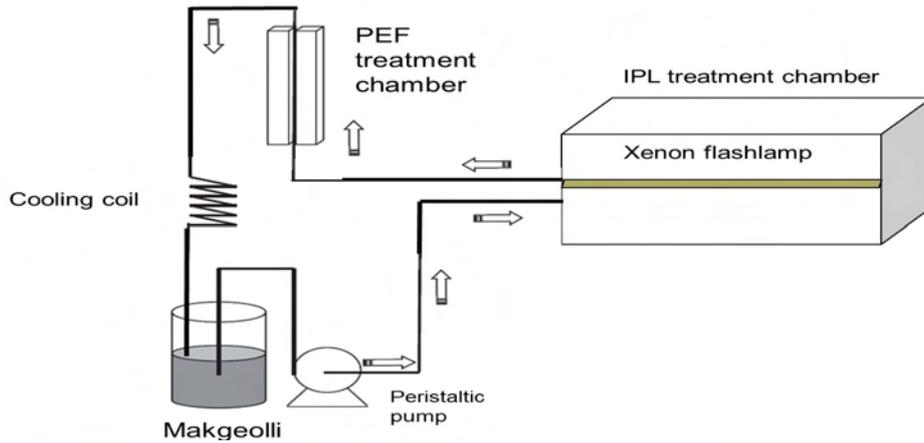


그림 15. 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스 병합처리 시스템 개략도

병합처리는 펄스 수 5 Hz, 처리전압 600 V, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 25, 50, 75, 100, 125, 150 sec 조건으로 광펄스를 먼저 처리 후 펄스 수 5 Hz, 처리전압 50 kV/cm, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30 min 조건으로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 막걸리의 저장성 평가를 위한 고전압 펄스 전기장 처리는 펄스 수 5 Hz, 처리전압 50 kV/cm, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 1800 sec 조건으로 처리하였다. 막걸리의 저장성 평가를 위한 고강도 광펄스 처리는 펄스 수 5 Hz, 처리전압 600 V, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 2884 sec 조건으로 처리하였다. 막걸리의 저장성 평가를 위한 병합처리는 펄스 수 5 Hz, 처리전압 600 V, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 481 sec 조건으로 광펄스를 먼저 처리 후 펄스 수 5 Hz, 처리전압 50 kV/cm, 처리온도 50°C, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml, 처리시간 600 sec 조건으로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 막걸리는 무처리구와 광 펄스 처리 막걸리, 고전압 펄스 전기장 처리 막걸리, 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스의 병합처리 막걸리를 4°C와 30°C에서 저장하였다. 무처리구, 광펄스 처리, 고전압 펄스 전기장 처리, 병합처리 시료를 4°C에서 30일, 30°C에서 7일간 저장하면서 4°C는 5일 간격, 30°C는 1일 간격으로 생균수(일반세균, 젖산균, 효모)와 색도, pH, 적정산도, 환원당 등을 측정하였다. 막걸리의 관능검사는 무처리구와 병합처리 시료를 4°C에서 28일간 저장하면서 7일 간격으로 실시하였다.

9. 쌀의 일반성분 분석

가. 수분

분쇄한 시료 5~10 g을 미리 중량을 측정해 놓은 칭량병에 넣고 105~110°C항온건조기 내에서 건조시켜 데시케이터에서 방량하여 칭량하는 조작을 수차례 반복하여 중량을 측정하고 건조 전후의 중량 차이로 수분함량을 구하였다.

$$\text{수분 (\%)} = \frac{\text{시료와 칭량병무게(g)} - \text{항량이 되었을 때의 무게(g)}}{\text{시료와 칭량병무게(g)} - \text{칭량병 무게(g)}} \times 100$$

나. 단백질

분쇄한 시료 1 g을 칭량하여 분해튜브에 시료, 촉매제 2정, 진한 황산 15 ml를 차례로 넣고 분해기가 420℃까지 예열된 상태에서 분해튜브를 장착하고 약 1시간 투명한 노란색이 될 때까지 분해한다. 분해가 완료되면 분해튜브를 자동증류, 적정장치(FOSS Kjeltac 2300)로 옮겨 증류 및 적정하여 조단백질을 계산하였다.

다. 아밀로스

쌀의 아밀로스함량은 곡물성분분석기(KETT)를 사용하여 측정하였다.

10. 맥걸리의 제조

맥걸리는 20종의 쌀을 사용하여 발효제의 종류 및 급수 비율, 양조용 물을 달리하여 양조하였다. 발효제로는 조효조제 2종, 개량 누룩, 전통 누룩을 사용하였다. 개량 누룩 및 전통 누룩을 사용한 실험구는 원료인 쌀을 증자하여 사용하였으며, 조효소제 2종을 사용한 실험구에 대해서는 무증자 담금법으로 25℃에서 발효를 진행하였다. 담금에 있어서 급수율은 원료 대비 150~300%의 범위 내에서 사용하였으며 효모의 접종량은 쌀 원료량 대비 0.03%를 사용하였다. 또한 누룩의 사용량은 당화력에 따라 사용량을 쌀 당화에 필요한 양으로 산정하여 사용하였다.

11. 주류의 분석

가. 고형분

해사 20 g과 유리봉을 칭량접시에 넣고 건조기(105℃)에 넣고 2시간 건조시킨 후 desiccator에서 30분 방랭한 후 칭량하였다. 다시 건조기에서 1시간 건조하고 다시 desiccator에서 30분 방랭한 후 칭량하였다. 여기에 시료 5mL을 취하여 넣고 시료와 해사를 유리봉으로 골고루 섞어준 후 건조기(105℃)에 넣고 2시간 건조시킨 후 desiccator에서 30분 방랭한 후 칭량한다. 다시 건조기에서 1시간 건조하고 다시 desiccator에서 30분 방랭한 후 칭량하였다.

나. pH

시료의 pH는 AOAC에 따라 시료 10 g에 증류수 50 mL를 가하고 pH meter (Orion 520A, MA, USA)로 PH를 측정하였다.

다. 총산

시료의 pH는 AOAC에 따라 시료 10 g에 증류수 50 mL를 가하고 pH meter (Orion 520A, MA, USA)로 PH를 측정하고 1% phenolphthalein을 2-3방울 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였다. 미적색(pH 8.3)이 될 때까지 넣은 0.1 N NaOH 용액 소비량에 0.006을 곱하

여 시료 중의 총산을 citric acid로 환산하였다.

라. 아미노태 질소

바탕시험으로 증류수를 100 mL를 비이커에 넣고 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 8.3 으로 맞추었다. 여기에 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고 다시 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 8.3 으로 맞추었다. 이 과정에서 사용된 0.1N NaOH 용액의 소비량을 확인하였다. 본 실험은 비이커에 시료 25 mL의 무게를 재고 여기에 75 mL의 증류수를 가하여 충분히 교반하였다. 여기에 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 8.3 으로 맞춘다. 여기에 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고 다시 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 8.3 으로 맞추었다. 이 과정에서 사용된 0.1N NaOH 용액의 소비량을 확인하였다.

$$\text{아미노산성 질소 (mg\%)} = \frac{(A - B) \times 1.4 \times f}{S} \times 100$$

A: 본 시험에 소비된 0.1N-NaOH 용액의 mL수

B: 바탕시험에 소비된 0.1N-NaOH 용액의 mL수

f: 0.1N-NaOH 용액의 factor

S: 시료 채취량(g)

마. 색도

Colorimeter (Ultrascan XE, VA USA)를 이용하여 Hunter' color system의 Lab값을 측정하였다.

바. 탁도

시료를 순차적으로 희석하여 660 nm에서 UV/Vis spectrophotometer (Jasco V-570, Tokyo, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

사. 총당

시료 10 g에 2.5% HCl 200 mL를 가하고 100°C에서 2시간 동안 가수분해하였다. 10% NaOH로 중화 (pH 6.8-7.2)하였다. 희석 정용한 후 0.5 mL을 취하여 흡광도를 550 nm에서 UV/Vis spectrophotometer (Jasco V-570, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정한다. 기준물질로는 glucose를 이용하여 검량곡선을 작성하고 함량으로 표시하였다.

아. 환원당

시료를 단계별로 희석하여 준비하고 DNS (Dinitrosalicylic acid) 용액을 1 mL 가하여 잘 섞은후 100°C 물에서 15분동안 중탕한다. 상온으로 충분히 식힌후 흡광도를 546 nm에서 UV/Vis spectrophotometer (Jasco V-570, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 기준물질로

는 glucose로 검량곡선을 작성한 후 환원당 함량을 %로 표시하였다.

자. 알코올

시료를 4℃, 8000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 0.45 µm membrane filter (Whatman, Maidstone, England)로 filtering 하여 GC분석을 실시하였다. 분석 조건은 다음과 같았다.

Instrument	Shimazu GC-2010
Column	SGE F2 30m X0.25 mmID-BP20 X 0.25
Temperature (℃)	
Injector	210
Detector	210
Oven program	
Initial temp	40
Initial time (min)	5.0
Rate	8.0
Final temp (℃)	200
Final time (min)	5.0
Gas flow rate	
Carrier gas	He 50 kPa
hydrogen	50 kPa
Air	50 kPa
Split ratio	1:67

차. Glucose 함량

Glucose 함량은 시료를 10mL 채취하여 14,000rpm에서 5min 원심분리 한 후, 상등액을 사용하여 BCS glucose kit(BCS corp.) 방법으로 분석하였다.

카. 항균력 시험

항균력 시험은 nutrient broth에서 24시간 동안 배양된 초산균의 배양액을 Densimat(bioMrieux)에서 McFarland 값이 0.8이 되게 조정된 배양액 200µL를 Nutrient broth와 함께 petri-dish에서 건조시켜서 직경 8mm의 구멍을 뚫고, 여기에 미리 준비한 각각의 항균물질 100µL를 분주하고 30℃ 배양기에서 48시간 동안 배양하면서 형성된 생육저해환의 크기를 측정하여 초산균에 대한 항균력을 측정하였다.

타. 효소 분석

(1) Glucoamylase

시료 100mL을 취하여 whatman사의 No.2 여과지로 여과한 후, 여과액을 사용하여 Assay of Amyloglucosidase kit(Megazyme사) 방법으로 분석하였다.

(2) α -amylase

시료 100mL을 취하여 whatman사의 No.2 여과지로 여과한 후, 여과액을 사용하여 α -amylase Assay kit(BioAssay System) 방법으로 분석하였다.

파. 유리당

시료를 4°C, 8000 rpm에서 15분간 원심분리를 한 후 0.45 μ m membrane filter (Whatman, Maidstone, England)로 filtering 하여 HPLC(Shimadzu, Tokyo, Japan) 분석을 실시하였다. 분석용 Column은 Carbohydrate analysis column (3.9X300mm, Waters, Ireland)를 사용하였고 Detector는 RI detector (RID-10A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. Mobile phase를 Acetonitrile:Water(85:15, v/v)으로 하고 flow rate는 1.0 mL/min으로 하여 run time 40 min으로 분석되었다. Injection volume은 20 μ L로 주입되었다. 기준 물질은 fructose, glucose, maltose, lactose, sucrose (Sigma, Steinheim, Germany)를 사용하여 정량하였다.

하. 유기산

시료를 4°C, 8000 rpm에서 15분간 원심분리를 한 후 0.45 μ m membrane filter (Whatman Maidstone, England)로 filtering 하였다. HPLC(Shimadzu, Tokyo, Japan) 분석을 다음의 조건으로 실시하였다. 분석용 Column은 Prevail organic acid 5u (250mm X 4.6 mm, Alltech, USA)를 사용하였고 Detector는 UV-Vis detector (DAD-M20A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. Mobile phase를 25 mM KH_2PO_4 를 제조후 phosphoric acid로 pH 2.5로 보정하여 filtering후 사용하였다. Flow rate는 0.5 mL/min으로 하여 run time 40min으로 분석되었다. Injection volume은 10 μ L로 주입되었다. 기준 물질은 oxalic acid, formic acid, malic acid, ascorbic acid, acetic acid, malic acid, citric acid, succinic acid (Sigma, Steinheim, Germany)를 사용하여 정량하였다.

가. 향기성분

시료중 휘발성 향기성분은 20mL glass vial에 시료 10mL를 넣고 Aluminum screw cap(PTFE-faced silicone septum)으로 capping후 SPME(Solid phase microextraction)방법을 이용하여 분석하였다. 수분을 잡기위해 시료를 넣을 때 Mg_2SO_4 를 5g 넣었다. SPME 분석 조건을 잡기 위해 추출 온도(30, 50, 80°C), 노출시간(20, 30, and 60 min), fiber 종류(75 μ m PA, 100 μ m DVB/PDMS, 75 μ m CAR/PDMS, 50 μ m DVB/CAR/PDMS)를 달리하여 실험을 실시하였다. 이를 통해 최종 결정된 방법인 50 μ m DVB/CAR/PDMS fibre를 사용하여 80°C에서 30분간 추출을 진행하였다. GC MSD-TOF의 운용조건은 다음과 같았다.

Instrument	GC (Agilent 7890A, China) TOF-MSD(Waters GCT premier mearomass, UK)
Column	length 30m, 0.32 mm i.d., 0.5 μm film thickness; J&W Scientific, Folsom, CA
Temperature (°C)	
Injector	220
Detector	210
Oven program	
Initial temp	35
Initial time (min)	2.0
Rate (mL/min)	1.0
Final temp (°C)	40
Final time (min)	0
Rate (mL/min)	5.0
Final temp (°C)	220
Final time (min)	20.0
Gas flow rate	He 2 mL/min
Split ratio	splitless mode

(1) Solid Phase Micro Extraction(SPME)을 이용한 휘발성 향기성분 추출

표사분석 시료 중 기호도 조사에 사용된 살균 막걸리를 대상으로 향기성분 분석을 실시하였다(분석 당시 시판이 중지된 . 시중에 판매되고 있는 살균 막걸리의 휘발성 향기성분의 추출을 위한 조건은 다음과 같다. 시료 5mL를 유리병 (15mL)에 옮긴 후, magnetic bar를 병에 넣고 crimper를 이용해 aluminum cap으로 capping하였다. 이 때 내부표준물질로는 50ppm 농도의 2-Methyl-1-pentanol을 사용하였으며, 막걸리에 1mL 첨가하고 NaCl 1g을 사용하였다. SPME(Solid phase micro extraction) 방법으로 stirrer위에 놓고, 60°C로 중탕하여 열을 보존한 후 30분간 stirring하여 시료와 용액이 잘 섞이게 하였으며, 그 내부의 온도가 고르게 전해질 수 있도록 하고 평형상태를 만들었다. 200rpm에서 30분간 stirring 한 뒤 SPME fiber를 유리병에 꽂아 30분간 stirring하여 head space의 향기성분을 fiber에 흡착한 뒤 분석하였다. SPME에 사용된 Fiber는 divinylbenzene/ carboxen/PDMS(50/30um)를 이용하여 분석하였다. Fiber에 휘발성분을 흡착한 후 GC의 주입부에 꽂아 30분간 desorption하여 분석을 실시하였다.

2) GC/MS를 이용한 향기성분의 정성 및 정량분석

살균 막걸리의 향기성분의 정성 및 정량분석을 위한 분석 조건은 다음과 같다. Head space의 향기성분을 fiber에 흡착한 뒤 Gas chromatography - MSD(GC 5975C, Agilent, CA, USA)에 auto sampler를 이용한 방식으로 injection하여 측정하였다. 220°C의 injector에서 20분간 desorption하고, splitless mode를 이용하였다. 운반기체로는 N₂ gas를 사용하고, 유속은 1.3mL/min으로 흘려주었으며, column은 Stabilwax(30m × 0.25mm × 0.25mm)를 사용하였으며 Detector의 온도는 220°C로 하였다. 모든 시료의 실험은 2회 반복 실시하였다. GC/MS에 의해

분리된 peak 성분은 mass spectra와 Wiley 275 mass spectral database(Hewlett-packard, Palo Alto, CA)의 mass spectra를 비교하고, C8-C25의 alkane(Aldrich, Milwaukee, MN, USA)을 사용하여 각각 peak의 linear retention index를 구하여(Kovats) 이를 표준시료(또는 문헌)와의 비교를 통해 두 개의 조건에 모두 맞는 경우 동정된 것으로 하였다. 휘발성 향기성분의 정량은 내부표준물질(2-Methyl-1-Pentanol)의 peak area와 동정된 휘발성분의 peak area의 비율로 나타내어 양을 비교하였다(84).

나. 보존료

식품공전 시험법에 준하여 실험하였다. 시료 5 mL를 취하여 물로 25 mL가 되게 희석한 후 이 액 5 mL를 취해 1 N 염산 0.5 mL와 0.005 M CTA (Cetyltrimethylammonium chlorid)용액 0.5 mL를 가하여 섞어준 후 메탄올 10 mL, 물 10 mL, 0.005 M CTA용액 10 mL로 차례로 흘려 씻어준 Sep-pak C₁₈ 카트리지에 시험용액을 2 mL/min의 속도로 가하였다. 이어서 물 10 mL로 카트리지를 씻고 메탄올 10 mL로 용출시켜 전량을 메탄올로 10 mL가 되게 하였다. 이 액을 0.45 μm의 막여과기로 여과하여 시험용액으로 하였다. 이 때 사용한 컬럼은 CAPCELL PAK MF C8(Shiseido Co.)이었으며 이동상은 0.1% phosphoric acid와 60% acetonitrile을 사용하였다. 검출은 PDA를 이용하여 235 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 표준물질은 소르빈산, 파라옥시안식향산부틸이었고 식품공전에 따라 각각 1.5 ppm과 1.0 ppm을 검출한계로 하였다.

다. 아스파탐 및 삭카린

시료 10 mL을 취하여 탄산가스를 제거하기 위하여 10분간 초음파 처리한 후 알코올을 증발시키기 위하여 50°C에서 증발·농축하였다. 농축된 건고물은 증류수에 용해한 후 10 mL 정용하여 최종액으로 하였다. 처리된 시료는 1,200 rpm에서 15분간 원심분리 하고 0.45um syringe filter로 여과한후 분석에 사용하였다. HPLC 운용조건은 다음과 같았다.

Column	ACE C18 (3.9mm I.d×150 mm, 5um)
Mobile phase	0.005M potassium phosphate monobasic : ACN = 9:1, 0.01M TPA-OH, pH 3.5
Detector	UV 210 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20ul

라. 물리적 특성 분석

(1) 탁도

탁도는 UV/VIS spectrophotometer (HP 8453 : Hewlett-Packard Co., USA)로 660 nm에서 측정하였다.

(2) 색도

색도는 색차계(Hunter Lab Color QUEST II, USA)를 이용하여 Hunter scale에 의해 L(명도), a(적색도), b(황색도) 값으로 나타내었다.

(3) 점도

점도는 15℃로 유지한 샘플 10mL을 점도계 (VIBROVISCOMETER. SV-1. CORE TECH.)를 사용하여 측정하였다.

(4) 총고형분 함량

총고형분 함량은 시료 10mL을 3500rpm에서 20분간 원심분리 후 가라앉은 pellet의 무게를 측정하여 나타내었다. 그 후 증류수 10mL로 washing 하여 3500rpm에서 20분간 원심분리(2번실시)하여 총고형분 함량에서 가라앉은 pellet의 무게를 뺀 값을 가용성 고형분 함량으로 나타내었다.

(5) 현탁 안정성

현탁 안정성은 시료 30mL을 직경 18mm의 시험관에 넣고 20℃에서 60분간 정치하면서 탁주 현탁층의 높이를 5분 간격으로 측정한 후 전체 높이(150mm)에 대한 백분율로 나타내었다.

12. 미생물 분석

가. 균수 측정

미생물 균수의 측정은 채취한 시료를 멸균생리식염수로 10진 희석법에 따라 희석한 후, 일반세균수는 plate count agar(5mg/mL nystatin을 1% 첨가)에 100μL 도말하여 37℃에서 24시간 배양한 후 식품공전 방법에 따라 집락을 계수한 후 측정하였고, 유산균수는 BCP plate count agar(5mg/mL nystatin을 1% 첨가)에 희석액 100μL 도말하여 37℃에서 48시간 배양후 집락을 계수하여 측정하였다. 효모수는 potato dextrose agar(Difco)에 희석액 1 mL 분주하여 25℃에서 72시간 배양한 후 계수하여 측정하였다. 초산균수는 GYP(glucose 2%, yeast extract 1%, polypeptone 1%, KH₂PO₄ 0.001%, MgSO₄·7H₂O 0.001%, (NH₄)₂SO₄ 0.001%, ethanol 4%, acetic acid 1%, agar 1.5%)배지에 희석액 100μL 도말하여 30℃에서 96시간 배양 후 집락을 계수하여 측정하였다. 대장균군은 Coliform Agar(ChromoCult®, Merck, USA)를 사용하고 37℃에 배양한 후 암적색 colony를 확인하여 계수하고 CFU/mL로 환산하였다.

나. 살모넬라, 황색포도상구균 및 병원성 대장균 정량분석 및 분리

생막걸리의 살모넬라, 황색포도상구균 및 병원성 대장균 오염도 파악을 위한 정량분석은

식품공전의 관련 시험에 따르되, CHROMagar SA 130, CHROMaga TA 670, CHROMaga EF 320를 1차 선별배지로 활용하였다. 단계회석한 시료 0.2 mL를 CHROMagar SA 130, CHROMaga TA 670, CHROMaga EF 320에서 도달하고 양성 집락을 계수한 다음 plate당 20 개의 colony를 LB agar medium으로 백금이로 transfer한 다음 30°C에서 2일간 배양하고 순수 분리를 위해 이과정을 반복하였다. 분리한 colony는 식품공전 시험법에 따라 형태학적 관찰과 생화학적 검사를 실시하여 양성 여부를 판정하고 시료 mL당 미생물수로 나타내었다. 생화학적 사는 미생물 동정장치(Vitek 2 compact)로 1차 동정, 확인하였다.

다. 미생물 특성 분석

(1) 시료로부터 DNA분리

회수한 막걸리 pellet을 액체질소를 이용하여 분쇄하여 30mL의 STES buffer(0.5 M NaCl, 0.2 M Tris-HCl [pH7.6], 0.01 M EDTA, 1% SDS)를 첨가 한 후 강하게 교반시키고, 12,000 rpm, 10분간 원심 분리하여 상층액을 수거하였다. 그 후 동량의 PCI(phenol: chloroform: isoamyl alcohol, BioNEER, Korea)를 첨가하고 4,000 rpm, 10분 원심분리 하여 회수한 상등액에 동량의 chloroform을 첨가하여 4,000 rpm, 10분 원심분리 하였고, 상등액을 회수한 후 37°C에서 1시간 RNase 처리 한 후, G-spin for Bacteria Genomic DNA Extraction Kit (iNtRON Biotechnolgy, Inc.)를 이용하여 추가적으로 정제한 후, 분자생물학적 분석의 시료 로서 사용하였다.

(2) PCR 방법을 이용한 DNA의 증폭

막걸리에서 추출한 DNA를 주형으로 하여 곰팡이와 효모의 경우 ITS1F (5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3')와 ITS4R (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') universal primer를 이용하여 1차 PCR(Bio-Rad, C1000™ Thermal cycler, USA) 한 후 GC clamp가 붙어있는 ITS1F-GC (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCT TGG TCA TTT AGA GGA AGT AA-3')와 ITS2R (5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3')을 이용하여 2차 PCR을 수행하였다(Tao et al., 1993, Valaskova et al., 2009). PCR mixture는 Maxime PCR PreMix Kit를 이용하였고, PCR조건은 95°C에서 2분 동안 pre denaturation 한 후, 95°C에서 denaturation 1분, 50°C annealing 1분, 72°C에서 extension 1분 과정을 34 cycle 반복하고, 72°C에서 10분 동안 postextension 하였다. 세균의 경우 GC clamp가 붙어있는 B357F-GC(5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC CCC TAC GGG AGG CAG CAG -3')와 U519R(5'-ACC GCG GCT GCT GGC AC -3')을 이용하여 PCR하였다. PCR조건은 95°C에서 2분 동안 pre denaturation 한 후, 95°C에서 denaturation 1분, 58°C annealing 30초, 72°C에서 extension 30 초 과정을 34 cycle 반복하고, 72°C에서 10분 동안 postextension 하였다. 증폭된 PCR

products는 1.5% agarose gel 상에서 전기영동을 실시하여 UV-transilluminator(Bio-Rad, Gel DocTM XR⁺, USA)를 이용하여 band를 확인하였다.

(3) Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

PCR 증폭산물은 DcodeTM System (Bio-Rad, Hercules, USA)을 이용하여 DGGE를 수행하여 분석하였다. Denaturing gradient gel은 10% polyacrylamide (37.5:1=acrylamide: bisacrylamide, Sigma Chemical Co.) 에 urea(Sigma Chemical Co.)와 formamide(Sigma Chemical Co.) 변성제를 20~60%까지 농도구배가 되도록 첨가한 gradient gel을 사용하였다. 이와 같이 제작된 gel에 PCR증폭산물을 20 μ L씩 loading하여 0.5 \times TAE buffer (40 mM Tris, 20 mM acetic acid, 1 mM EDTA, pH 8.0)에서 60 $^{\circ}$ C, 20 V로 10분 동안 전기영동한 후, 60 $^{\circ}$ C, 80 V로 15시간 동안 전기영동 하였다. 전기영동이 끝난 gel은 SYBR Green I (Roche, Germany)으로 염색하여 UV-transilluminator를 이용하여 band를 확인하였고, 분리된 band를 잘라내었다.

(4) 염기서열분석

Denaturing gradient gel 상에서 다른 위치에 존재하는 DNA 단편들을 회수하기 위하여 각각의 밴드를 선택한 후, 각각 잘라내어 3차 증류수 50 μ L를 첨가하고 4 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 동안 방치한 후 원심분리(6,300 \times g, 5분)하여 상등액을 취하였다. 각 밴드에서 회수한 DNA를 주형으로 효모와 곰팡이의 경우 ITS2R, ITS1F primer, 세균의 경우 B357F, U519R primer를 사용하여 PCR한 후 마크로젠에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 분석된 염기서열은 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 프로그램을 이용하여 동정하였다.

라. Ethanol과 Succinic acid의 병원성균 생육저해 실험

(1) 표준균주 및 시약

표준균주인 *Staphylococcus aureus subsp. aureus* KCCM 12214와 *Bacillus cereus* KCCM 40935 등은 (주)한국중균협회와 한국식품연구원에서 보유중인 균주를 분양받아 실험에 사용하였다. Ethanol(99.9%, SAMCHUN PURE CHEMICAL CO., Pyeongtaek, Korea)과 Succinic acid(Sigma, St. Louis, USA)는 농도별로 조제하여 0.20 μ m filter unit membrane(Advantec, Japan)으로 여과한 후 사용하였다

(2) 균주의 배양

Staphylococcus aureus subsp. aureus KCCM 12214와 *Bacillus cereus* KCCM 40935을 Tryptic Soy Agar(Difco, Baltimore, USA)에 도말하여 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 2회 계대 배양하였다. 분리된 균락은 Tryptic Soy Broth(Difco, Baltimore, USA) 60 mL에 접종하여 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하여 20 mL을 취하고 10,000rpm에서 10분 동안 원심분리한다. 상층액을 제거한 후

100 mM sodium phosphate buffer(pH 7.2) 20 mL을 가하여 2회 세척하여 사용하였고 초기 접종 균수가 10^5 CFU/mL이 되도록 희석하였다.

(3) Ethanol과 Succinic acid의 식중독균 생육저해

Ethanol은 각각 0%(v/v), 2%, 4%, 6%, 8%, 10%가 되도록 제조하였으며 *S. aureus*와 *B. cereus*를 접종하여 30°C에서 배양하였으며 0, 2, 4, 6, 8, 10일에 plate count agar(Difco, Baltimore, USA)에 접종하여 30°C에서 24~48시간 배양하여 균수를 측정하였다. Succinic acid는 각각 0%(v/v), 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%가 되도록 제조하였으며 *S. aureus*와 *B. cereus*를 접종하여 30°C에서 배양하였으며 0, 2, 4, 6, 8, 10일에 plate count agar(Difco, Baltimore, USA)에 접종하여 30°C에서 24~48시간 배양하여 균수를 측정하였다.

마. 막걸리의 식중독균 생육저해 실험

(1) 사용균주

균주는 (주)한국종균협회에서 분양받은 *Staphylococcus aureus subsp. aureus* KCCM 12214, *Bacillus cereus* KCCM 40935, *Salmonella typhimurium* KCCM 11862, *Bacillus iicheniformis* KCCM 41412, *Bacillus subtilis* BD170 KCCM 70078를 사용하였고 *Bacillus wild type*은 연구실에서 분리된 균으로 16s rRNA 염기서열분석에서 *B. cereus*로 확인된 균주 8종을 사용하였다.

(2) 막걸리 배양액 제조

시중 대형마트에서 구매한 쌀로 빚은 생막걸리를 1,200 rpm에서 30분간 원심분리하여 0.20 μ m filter unit membrane(Advantec, Japan)으로 제균한 것을 배양액으로 하였다.

(3) 균주의 배양

Staphylococcus aureus subsp. aureus KCCM 12214, *Bacillus cereus* KCCM 40935, *Salmonella typhimurium* KCCM 11862, *Bacillus iicheniformis* KCCM 41412, *Bacillus subtilis* BD170 KCCM 70078와 *Bacillus wild type* 8종을 TSA(tryptic soy agar, Difco, Baltimore, USA)에 도말하여 35°C에서 24시간 동안 2회 계대 배양하였다. 각각 분리된 균락은 tryptic soy broth(Difco, Baltimore, USA) 60mL에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하여 20 mL을 취하고 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 100 mM sodium phosphate buffer(pH 7.2) 20 mL을 가하여 2회 세척하여 사용하였고 초기 접종 균수가 10^5 CFU/mL이 되도록 희석하였다.

(4) 막걸리의 식중독균 생육저해 평가

막걸리 배양액에 *Staphylococcus aureus subsp. aureus* KCCM 12214, *Bacillus cereus* KCCM 40935, *Salmonella typhimurium* KCCM 11862, *Bacillus iicheniformis* KCCM 41412, *Bacillus subtilis* BD170 KCCM 70078와 *Bacillus wild type* 8종을 각각 접종하여 30°C에서

배양하였으며 0, 2, 4, 6, 8, 10일에 plate count agar(Difco, Baltimore, USA)에 접종하여 30℃에서 24~48시간 배양하여 균수를 측정하였다.

바. 막걸리의 Ethanol 농도에 따른 *B. cereus* 생육저해 실험

(1) 사용균주 및 시약

연구실에서 분리된 *Bacillus wild type*을 16s rRNA sequencing하여 *B. cereus*로 확인된 균주 8종을 사용하였다.

(2) 막걸리배양액 제조

시중 대형마트에서 구매한 쌀로 빻은 생막걸리를 1,200 rpm에서 30분간 원심분리하여 0.20 μm filter unit membrane(Advantec, Japan)으로 여과한 것을 감압농축하여 ethanol을 제거한 후 0.20 μm filter unit membrane으로 재균하여 막걸리배양액으로 하였다.

(3) 균주의 배양

Bacillus wild type 8종을 tryptic soy agar(Difco, Baltimore, USA)에 도말하여 30℃에서 24시간 동안 2회 계대 배양하였다. 각각 분리된 균락은 tryptic soy broth(Difco, Baltimore, USA) 60 mL에 접종하여 35℃에서 24시간 배양하여 20 mL을 취하고 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한다. 상층액을 제거한 후 100 mM sodium phosphate buffer(pH 7.2) 20 mL을 가하여 2회 세척하여 사용하였고 초기 접종 균수가 10⁵ CFU/mL이 되도록 희석하였다.

(4) Ethanol농도에 따른 막걸리의 식중독균 생육저해 평가

막걸리 배양액에 Ethanol을 가하여 농도가 2%, 4%, 6%, 8%가 되도록 제조하였다. *Bacillus sp. wild type* 8종을 각각 접종하여 30℃에서 배양하였으며 2, 4일에 plate count agar(Difco, Baltimore, USA)에 접종하여 30℃에서 24~48시간 배양하여 균수를 측정하였다.

사. 병원성 미생물의 확인

(1) 시약 및 시료

시료는 막걸리의 최종 제품인 막걸리 59종을 수거하여 원성 식중독 미생물 8종의 오염 여부를 확인하기 위해 병원성 미생물 검사를 실시하였다.

(2) 병원성 미생물의 확인

시료 59종에 대해서 Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 검사를 실시하여 병원성 미생물의 오염 여부를 확인하였다. 증균 배지인 TSB (Tryptic soy broth) 배지 5 mL에

대상 시료의 원액 200 uL를 넣고 37 °C에서 24 -48 시간 동안 진탕배양 하였다. 증균된 배양액은 1,000 uL의 증균 배양액을 1.5 mL 튜브에 취한다. 12,000 rpm 에서 1분간 원심분리 후 상층액을 버린다. 500 uL의 멸균된 3차 증류수를 넣고 1분간 강하게 vortexing 하여 잘 혼합한다. 이과정을 2회 더 반복한 후 150 uL의 멸균된 증류수를 넣고 vortexing 하여 pellet을 잘 혼합한다. 증균된 배양액에서 PowerPrep™ DNA Extraction 키트를 이용하여 genomic-DNA 유전자를 분리해서 사용하였다.

PowerCheck™ 19 Pathogen Multiplex Real-time PCR kit는 식품 및 환경가검물로부터 식중독을 유발하는 주요 병원성 박테리아를 단 한번의 테스트로 동시에 검사할수 있는 키트이다. PCR 반응에 의해 증폭되는 DNA를 실시간으로 확인하면서 전기영동 없이 샘플 내의 target DNA 유무 뿐 아니라 DNA의 양까지 정량 분석 가능한 방법이다. Forward와 reverse primer 외에 5' 말단에 형광물질 (reporter dye)을 3' 말단에는 quencher 물질 (quencher dye)을 부착된 probe를 첨가한다. 증폭과정에서 주형에 결합한 probe가 분해되어 reporter와 quencher가 분리되면서 reporter의 형광이 발현 된다. ABI 7500 장비 사용하여 증폭 및 검증을 실시하였다. Real time-PCR 장비 사용 시 Flat cap을 사용한다. 8-strip 전용 트레이를 사용한다. 분석한 시료에서 PCR 증폭이 Ct값 15-35 에서 나타났을 경우 시료는 해당 미생물에 오염된 것으로 판정한다. Threshold 값은 negative control 보다 높게 설정하고 정상적인 증폭 곡선인 부분만을 선택할 수 있게 한다. Threshold는 0.4를 통상 사용하며 가검물 시료의 경우 Ct값이 30을 넘으면 균을 확인하기 어렵다. 식품의 경우는 Ct값이 30-33인 경우 1-10 CFU 수준이다.

이 RT-PCR 제품을 이용하여 병원성 미생물에 대한 오염여부를 확인하였다. 이 제품은 주로 집단 식중독 발병시 스크리닝 검사에 사용되고 있다. 본실험에서 조사된 미생물은 *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* 8종 미생물과 병원성 대장균 (*Escherichia coli*)의 5종에 대해서 분석하였다. 병원성 대장균은 장내세균속 대장균군 내 대장균 중 소수의 병독성을 획득한 대장균으로 발병특성, 독소의 종류 등에 따라 통상 장출혈성 대장균 (EHEC), 장독소형대장균 (ETEC), 장침입성대장균 (EIEC), 장병원성대장균(EPEC), 장관흡착성대장균(EAEC)의 5가지로 분류된다. 병원성 대장균 중 8종 유전자에 대한 검사를 진행하였다.

따라서 막걸리 시료의 real time-PCR 반응은 총 13종 미생물의 16종류의 유전자 서열에 대해 진행하였다.

표 10. PowerCheck™ 19 Pathogen Multiplex Real-time PCR kit의 시험용 병원성 미생물 목록

Multiplex set*	Photogen (target gene)	Fluorescent dye
P1	<i>Campylobacter jejuni</i> (hipO)	FAM
	<i>Campylobacter coli</i> (glyA)	VIC
	<i>Clostridium perfringens</i> (alpha-toxin)	NED
P3	<i>Listeria monocytogenes</i> (prfA)	FAM
	<i>Salmonella</i> spp. (invA)	VIC
P4	<i>Bacillus cereus</i> (groEL)	FAM
	<i>Yersinia enterocolitica</i> (inv)	VIC
	<i>Staphylococcus aureus</i> (femA)	NED
P5	EHEC (VT1)	FAM
	EHEC (VT2)	NED
	ETEC (LT)	Cy5
	ETEC (ST)	VIC
P6	EAEC (aggR)	FAM
	EPEC (bfpA)	VIC
	EPEC (eaeA)	NED
	EIEC (ipaH)	Cy5

* Cogene biotechnology, PowerChek™ 19 Pathogen Multiplex Real-time PCR strip kit

(3) 병원성 미생물중 *Bacillus*류 동정

Real time-PCR에 의해 병원성 미생물로 검출된 *B. cereus*는 시료 원액을 0.1 mL을 MYP agar(MBcell, Korea)에 도말하여 30°C에서 24시간 배양한 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색의 전형적인 집락을 선별하여 TSA에 도말하여 PCR을 통한 독소유전자 확인 및 16s-rRNA 염기서열 분석을 통해 동정하였다.

(4) 병원성 미생물 균주 선별

RT-PCR 결과를 통해서 *B. cereus*가 검출된다고 확인된 시료를 MYP 배지에 접종하여 집락을 확인하였다. 시료를 1 mL 취하여 십진 단계 희석법에 따라 희석하여 도말 접종하였다. 시료의 원액 및 각 단계별 희석액을 MYP 배지에 0.1 mL씩 분주한 후 도말하고 30°C에서 24 시간 배양한 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색의 전형적인 집락을 선별하여 mL당 집락수를 계산하였다. MYP 배지에 뜬 집락을 TSA (Tryptic soy agar)에 옮겨 증균하였다. 막걸리 시료중 RT-PCR을 통해 병원성 미생물이 발견된 시료는 정확한 동정을 위해 선택배지를 이용하여 균주를 분리하였다. 8종 병원성 미생물중 검출이 확인된 *B. cereus*에 대해서는 선택배지인 MYP 배지 (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar)를 이용하여 균주를 분리하였다. 시료를 단계별로 희석하여 병원성 미생물 검출율을 확인하고 균주를 분리하였다.

(5) *B. cereus* 독소 유전자 확인

병원성 미생물의 Rt-PCR 및 MYP 배지를 통해 *B. cereus*라고 확인된 균체에 대해서 식중독을 유발하는 독소 유전자의 포함 여부를 확인하였다. 알려진 *B. cereus*의 독소 유전자는 표 11과 같다.

표 11. *Bacillus cereus*의 설사형 및 구토형 식중독 독소

Toxin	Gene/Protein	Illness associated
Hemolysin BL (HBL)	hblC/L2 hblD/L1 hblA/B	Diarrhoeal
Non-haemolytic enterotoxin	nheA/A nheB/B nheC/C	Diarrhoeal
Cytotoxin K (CytK)	CytK/CytK	Diarrhoeal
Emetic toxin (cereulides)	ces/ces	Emetic
Non-ribosomal peptide synthetase	NRPS	Emetic

우리나라에서 *B. cereus*에 의한 식중독이 대부분 설사독소이며 구토독소에 대한 보고는 거의 전무한 상태이다. *Bacillus cereus*의 가장 대표적인 enterotoxin 유전자인 bceT 유전자로 알려져 있으며, 설사 유발 독소 유전자 분석은 Guinebretiere 등과 Stenfores 등이 제안한 primer를 이용 hblA, hblC, hblD, nheA, nheB, nheC, CytK 유전자를 증폭하였고, 구토 유발 독소 유전자 분석은 Paul F. 와 Monika의 primer를 이용 nonribosomal peptide synthetase (NRPS) 유전자를 증폭하였다.

MYP에서 선별되어 TSA에서 증균된 배지에서 집락을 채취해 *Bacillus cereus*의 설사형 및 구토형 독소에 대한 유전자 분포를 파악하기 위해 primer (Table)를 사용하여 유전자를 증폭하였다. *Bacillus*에서 독소 생산과 관련하여 설사 유발 독소 유전자는 Guinebretiere et. al. Stenfores 등의 연구에 따라 hblA, hblC, hblD, nheA, nheB, nheC, cyrK 유전자에 대한 primer set을 참고하였다. 구토형과 관련된 유전자 분석은 Paul F. 와 Monika의 primer set을 참고하여 NRPS (non-ribosomal peptide synthetase) 유전자에 대한 primer를 제조하였다. 따라서 본 실험은 hblA, hblC, hblD, nheA, nheB, nheC, cyrK, NRPS, NRPS*의 9종 독소 유전자에 대한 검출 여부를 확인하였다.

PCR 반응은 commercial kit (Maxime PCR premix kit (i-Taq), Intron biotechnology, Gyung-gi Do, Korea)를 사용하여 target 균주의 colony를 취하여 PCR 반응을 진행하였다. 단백질 독소인 Hemolytic enterotoxin, non-hemolytic enterotoxin, cytotoxin K가 발현되는 독소 유전자들의 유무를 확인하기 위하여 PCR mixture는 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl₂, 40 mM KCl, 0.001% gelatin, 250 μM dNTP, primer 30 pM, 1 U Taq polymerase를 함유하도록 조제하여 사용하였다. 반응액에 5 μL의 target DNA를 가한 후 bceT 유전자 분석을 위해 95°C 3분, (94°C 20초, 63°C 25초, 72°C 45초) 40 cycle 반복하였으며 72°C 에서 5분간 정치하였으며, 기타 독소 유전자 분석은 Table 2에 따라 실험 하였다. 증폭된 DNA는 loading buffer와 혼합하여 2% agarose gel에 TAE buffer를 사용하여 110 volt로 50분간 전기영동 시키고, ethidium bromide로 염색하여 자외선 투조기 상에서 Polaroid film으로 사진을 찍어 관찰하였다. marker는 (Sizer™ 100 DNA markers solution, Intron biotechnology, Gyung-gi Do, Korea)를 사용하였다.

(6) 독소유전자 보유 균주의 16S rRNA sequencing

분리 균주의 16S ribosomal DNA sequencing은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 본 실험 균주의 chromosomal DNA을 Wizard genomic DNA purification kit(Promega, USA)를 이용해 분리한 후 16S rRNA sequencing에 사용하는 universal primer인 27F (5'-AGAGTTTGGATCATGGCTCAG-3')와 1492R (5'-GGATACCTTGTACGACTT-3')의 primer를 사용하여 MyCycler Thermal Cycler system (Bio-Rad)을 이용해 PCR 증폭하였다 (Yoon J.H.Lee, S.T., and Park, Y.H.,1996). 증폭된 PCR 산물은 Wizard SV Gel and PCR clean-up system(Promega, USA)을 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR 산물은 ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing kits (Applied Biosystems Co.)를 사용하여 ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type)를 통해 염기서열을 분석 하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 Clustal X 와 Mega 2 program을 이용하여 비교분석하였다(and Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J.1994).

표 12. 독소 유전자 검출에 사용한 primer sequence와 PCR 반응 조건

Gene	Primer	Sequence(5'→3')	Amplified fragment size (bp)	Source	Symptoms
hblA	HA F	AAGCAATGGAATACAATGGG	1154	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	HA R	AGAATCTAAATCATGCCACTGC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 56°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
hblC	HC F	GATACTCAATGTGGCAACTGC	740	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	HC R	TTGAGACTGCTCGTCTAGTTG			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 58°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
hblD	HD F	ACCGGTAACACTATTCATGC	829	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	HD R	GAGTCCATATGCTTAGATGC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 58°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
nheA	NA F	GTTAGGATCACAATCACCGC	755	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	NA R	ACGAATGTAATTTGAGTCGC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 56°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
nheB	NB F	TTTAGTAGTGGATCTGTACGC	743	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	NB R	TTAATGTTTCGTTAATCCTGC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 54°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
nheC	NC F	TGGATTCCAAGATGTAACG	683	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	NC R	ATTACGACTTCTGCTTGTGC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 54°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
cytK	CK F	GTAAC TTTCATTGATGATCC	809	Guinebretiere et al. (2002)	Diarrhea
	CK R	GAATACTAAATAATTGGTTTCC			
94°C, 2 min→ (94°C, 60 sec→ 54°C, 60 sec→ 72°C, 120 sec) 35 cycle→ 72°C, 5 min					
NRPS	CER F	ATCATAAAGGTGCGAACAAGA	188	Paul F. Horwood wt al. (2004)	Vomiting
	CER R	AAGATCAACCGAATGCAACTG			
95°C, 10min→ (94°C, 60sec→ 52°C, 60sec→ 72°C, 60sec) 35 cycle→ 72°C, 5min					
NRPS*	EMI F	GACAAGAGAAATTTCTACGAGCAAG TACAAT	635	Monika Ehling-Schulz et al. (2004)	Vomiting
	EMI R	GCAGCCTTCCAATTACTCCTTCTGC CACAGT			
95°C, 15min→ (95°C, 30sec→ 60°C, 30sec→ 72°C, 60sec) 30 cycle→ 72°C, 5min					

13. 관능검사

가. 묘사분석 실험방법

(1) 검사원(judge)

검사원은 세종대학교 학생을 대상으로 모집하였다. 참여자는 24-32세로 남성 6명, 여성 4명으로 총 10명이 참여하였다.

(2) 패널훈련

패널은 총 6회에 걸쳐 훈련하였다. 첫 세션에서는 검사원에 대한 간단한 패널설문이 있고 이어서 각자 검사원이 3종의 시료를 시음하고 묘사용어를 도출한 후 패널 간 토의가 이루어졌다. 두 번째 세션에서는 전에 도출된 향 특성에 대해서 스탠다드를 제시하고 선정된 용어와 비교하여 수정하는 과정을 가졌다. 세 번째 세션에서는 맛 특성에 대해 스탠다드를 제시하고 선정된 용어와 비교하였으며, 네 번째 세션에서는 시료의 묘사특성과 스탠다드에 대한 검토와 패널 간의 토의로 이루어 졌고 5번째 세션에서는 matching test를 통해 패널요원의 묘사특성 이해 정도 파악하고 최종적으로 시료의 묘사용어를 패널 간 합의를 통해 결정하였다. 마지막 훈련 세션에서는 본 실험을 위해 채점표와 척도에 대해 배우고 척도 사용에 익숙하도록 한 후 실제 훈련 세션을 통해 5개의 시료를 평가하였다. 각 훈련 세션은 약 40-60분 정도 소요되었다. 훈련과정을 통해 선정된 4개의 외관 항목(백색도, 황색도, 탁한정도, 기포정도), 7개 아로마 관련 항목으로는 알코올향, 시큼한향, 단향, 과일향, 구수한향, 효모냄새, 곰팡이냄새가 선정되었고, 6개의 맛 항목으로는 알코올맛, 단맛, 신맛, 쓴맛, 구수한맛, 효모맛이 선정되었고 마지막으로 텍스처/입안감촉에서는 짧은맛, 바디감, 탄산미, 지속성, 목넘김으로 그 정의는 표 13과 같다.

(3) 실험계획

본 실험에서는 시료가 세 자리 난수표로 코드화되어 투명한 플라스틱 컵에 상 $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 제시되었다. 제시된 시료는 Williams' latin square 법에 의해 랜덤화되어 순서상의 오차를 최소화하였다. 각 세션에서는 4개의 랜덤화된 시료가 검사원에게 제시되었고, 12개 시료의 2회 반복 실험을 위해 총 6회의 본 세션이 이루어졌다. 검사원에게 채점표가 나누어지고 9점 척도(0: 없음, 1: 대단히 약함, 5: 보통, 9: 대단히 강함)에 의해 각 측정 항목의 강도를 측정하도록 하였다. 실험은 각각의 부스가 분리된 관능검사실에서 이루어져 검사의 방해를 최소한으로 하였다.

(4) 통계분석

분산분석 (Analysis of variance), 상관관계분석 (correlation coefficient)과 주성분 분석 (Principal Component Analysis)은 SAS (Statistical Analysis Systems) for Windows 7.2로 이루어 졌다.

표 13. 막걸리의 묘사특성 용어

외관 (APPEARANCE) (열은-진한)	
백색정도	백색의진하기정도
누런색정도	누런색의진하기정도
탁한정도	흔들었을때탁한정도, 진한 농도, 걸쭉함
기포정도(살균 막걸리시 제외)	눈에보이는기포정도
향 (AROMA) (약한-강한)	
알코올향	자극적인 알코올 향
시큼한 향	시큼한 향
단향	단 냄새
과일향	익은과일에서오는향 (배)
구수한향	곡물에서오는구수한향 (현미, 보리 등)
효모냄새	효모를이용한발효시나느낌새(양조장)
곰팡이냄새	지하실곰팡이, 누룩 냄새
맛 (Flavor/TASTE) (약한-강한)	
알코올맛	알코올(주정)의 맛
단맛	단맛
과일맛(살균막걸리 시 포함)	
신맛	신맛
쓴맛	쓴맛
구수한맛	곡물에서오는구수한맛 (현미, 보리 등)
효모맛	효모를이용한발효시나느낌
텍스처/입안감촉(Texture/Mouthfeel) (약한-강한)	
뽀은맛	뽀은맛
바디감 (가벼움/밍밍-걸쭉함/묵직)	가벼운물과반대로막걸리의맛이깊고풍부한느낌
탄산미(살균 막걸리시 제외)	탄산의 특 쓰는 맛
지속성 (지속안됨-지속됨)	입안을비었을때도아직남아있는느낌, 잔미
목넘김 (부드러움-자극적)	목 넘긴후 자극정도

나. 살균막걸리의 소비자 및 전문가 기호도 조사

(1) 기호도 및 설문조사 방법

기호도 조사를 위해 일반 주류 소비자를 모집하여 제품에 대한 소비자 기호도 조사와 일반 설문조사가 이루어졌다. 소비자는 성별, 연령을 고려하여 층화추출법을 이용하였다. 소비자는 먼저 기호도 평가시에 고려되는 주요 관능특성인 외관, 향, 맛, 바디감에 대한 기여정도를 순위법에 의해 평가하였다. 이후 시료를 제시하여 각 시료에 대한 기호도는 9점 기호도 척도 (9점: 대단히 좋다, 1점: 대단히 싫다)에 의해 평가되었고, 기호도 평가항목으로 전체적인 기호도, 외관 기호도, 향기호도, 맛 기호도, 바디감 기호도가 평가되었다. 기호도 평가 후 각각 시료의 단맛정도, 신맛정도에 대해 JAR scale(1: 대단히 약하다, 5: 딱 좋다, 9: 대단히 강하다)을 이용하여 적정강도를 평가하도록 하였다. 시료는 상온에서 난수표로 표기되어 와인클라스에 제시되었고 검사원은 William's latin square법에 의해 랜덤하게 제시된 시료에 대해 평가하였다. 동일한 소비자에 대해 주류소비 및 음용행태에 대한 설문조사를 실시하였다. 우리술 품질인증위원회 관능검사 평가위원 12명을 대상으로 동일한 8종의 살균 막걸리를 대상으로 전문가대상 기호도 조사를 소비자조사 방법과 동일한 방법으로 실시하였다. 조사결과는 SAS (Statistical Analysis Systems) for Windows 7.2와 Unscrambler 9.1을 이용하여 분산분석(Analysis of Variance), 카이제곱검정, PLS regression 등 분석을 실시하였다.

다. 막걸리 품질평가체계 확립을 위한 전문가 델파이 조사

(1) 델파이 조사 방법

델파이법(Delphi method)은 미국의 Rand Coporation이 1950년 개발하여 1964년에 발표한 기술예측의 한 방법으로 미래의 과학기술 또는 신제품이 언제 출현하여 산업구조나 인류생활이 어떻게 변화하며 어떤 영향을 미칠 것 인가를 예측하는 것으로 각 분야의 전문가들로부터 설문을 통해 의견을 듣고, 통계 분석 결과를 다시 설문서로 응답자에게 보내 의견을 수렴 집계하는 반복 과정을 말한다. 응답자의 예상하지 못한 오류를 축소시킬 수 있다는 점에서 매우 효과적인 방법으로 알려져 있다. 이른바 합의기술(opinion technology)에 속하는 방법이며 델파이법은 의견의 영역에 대한 체계적인 접근방법으로 장기적이고 광범위하며 기술특성에 대한 통계자료가 없을 경우 장점을 갖고 있습니다. 따라서 본 연구에서는 미리 진행되었던 사전조사에서 정리된 다양한 주류의 품질평가 안을 바탕으로 막걸리관련 업계 및 학계 전문가를 대상으로 품질평가에 대한 항목 선정 및 중요도, 각 항목별 강도 정도를 조사하여 최종 품질 평가안 제작을 위한 자료로 활용하였다. 조사는 2차에 이루어져 수행되었으며 관련 1차 설문문의 경우 개방형 설문지를 이용하여 막걸리 품질평가에 필요한 시각, 후각, 향미, 입안감촉 항목과 각 부문의 주요 결함항목에 대해 자유기입식으로 선정하도록 하였고, 2차 설문에서는 1차 설문 결과 정리된 각각의 주요 항목에 대해 전문가의 찬성정도와 각 항목별 강도 수요정도에 대한 척도 평가를 수행하도록 하였다. 본 조사에는 1차 조사에 전문가 27명, 2차 조사에 21명이 참여하였다.

라. 통계분석 방법

물리·이화학적 품질 지표, 묘사분석 및 소비자 기호도 분석 결과에 대해 분산분석 (Analysis of variance)을 이용하여 시료간의 유의적 차이를 파악하였다. 각 데이터간의 관계를 파악하기 위해 상관관계분석 (correlation coefficient)을 실시하였다. 또한 묘사분석 및 기기분석 결과 시료간의 분포와 품질 특성간의 상관관계를 파악하기 위해 주성분 분석 (Principal Component Analysis)을 실시하였다. 시료의 기호도 조사결과는 분산분석 및 다중비교검정을 이용하여 분석하였다. 기기분석 결과와 기호도 조사 결과간의 관계를 파악하기 위해 partial least squares regression analysis 분석을 실시하였다. 품질 예측 모형 개발을 위해서 PLS regression 분석 결과 선발된 기기 분석 치와 소비자 기호도 조사 결과의 데이터를 이용하여 분석하였다. 통계분석에는 SAS(Statistical Analysis Systems) for Windows 7.2, Unscrambler 9.1(Camo, Norway)와 XL stat 2007(Addinsoft, new York, USA)를 이용하여 실시하였다.

14. 막걸리의 제조기준 설정을 위한 조사

막걸리의 생산 기반인 원재료 품질, 생산설비, 공정관리 기준, 제품관리 기준, 유통관리 기준 등을 현장방문조사를 병행하여 주요 공정 조건 및 관리 기준을 조사하여 생산 기반에 대한 제조기준 도출하여 이행에 필요한 공정 및 최종제품 관련 표준운용절차 분석을 통해 SOP안 작성을 위한 기초 자료로 활용하였다.

15. 고품질 막걸리 생산을 위한 최적공정 기술 개발

가. 문헌조사

(1) 막걸리의 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 및 예방조치(안) 도출을 위한 국내외 관련 연구보고서, 법령, 논문, 언론 및 식품안전 관련 기관 사이트 자료 수집 분석 및 1차년도 방문조사 결과 분석 등

(2) 조사된 제조공정 기본 자료와 도출된 막걸리의 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 및 예방조치에 대한 내용과 기발행된 교육교재, 매뉴얼을 참조하여 교재 구성안, 체계 내용을 수립·개발

나. 전문가 자문회의

- (1) 잠재적 위해요소 및 예방조치 도출(안)에 대한 적절성 검토 및 자문(1차)
- (2) 현장조사 결과 및 예방조치안의 현장 적용을 위한 세부이행사항 등의 의견 수렴 및 자문(2차)
- (3) 교육교안 구성에 대한 의견수렴
- (4) 교육교안 교수설계에 대한 의견수렴
- (5) 교재 내용의 적절성 및 난이도 조정에 대한 의견수렴
- (6) 기타 추가 사항에 대한 의견수렴

다. 방문조사

- (1) 원료 및 공정별 위해요소 및 예방조치(안)의 현장 적용을 위한 조사 및 의견 수렴(15개소)
- (2) 위해요소 분석 및 예방조치(안)의 시행여부 및 적용 가능성, 기타 관련 의견 수렴

표 14.. 교육교재 구성

구분	세부연구목표	연구개발 수행내용
일반위생관리	1. 제조환경관리	a. 작업장관리 b. 방충·방서관리 c. 식품취급시설관리 d. 폐기물관리 e. 용수관리 f. 부대시설관리
	2. 종사자관리	a. 건강진단 b. 개인위생관리 c. 작업장출입관리 d. 종사자 교육
제조공정관리	1. 입고 2. 원·부자재 보관 3. 연미 4. 세미/침지, 증자 5. 발효 6. 제성 7. 병입(내포장)	
제품관리	1. 완제품 및 유통관리	
	2. 클레임관리	a. 이물관리계획 수립 b. 소비자클레임 처리 및 기록관리

제3절. 결과 및 고찰

1. 막걸리 양조전용 효모선발

가. 막걸리 전용 효모 1차 선발

막걸리 제조를 위한 효모 선발을 위해 연구원내 보존하고 있는 누룩으로부터 분리한 효모 1,000여 균주를 대상으로 알코올 및 산 생성능력, 향 생성능력을 각 균주별로 비교, 분석하여 1차 선별하였다. 그 결과, 자극적인 향, 간장냄새, 쉰내, 먼지 냄새, 배지냄새 등 불쾌취 생성균, 산막 형성균 및 발효 중 부유물 생성균은 제외하고 단향, 과일 향, 신향, 거품 생성균 및 알코올 생산능력, 산 생성능력이 우수한 효모 206균주를 1차 선별하였다.

표 15. 우수균주 1차 선발

	yeast No.	흰색 포자	발효시간(hr)						Flavor	산막	거품
			23	27	31	48	52	56			
1	1-4		+	++	++++				포도		
2	4-5		++++						단내		
3	16-4								-		
4	18-1		++	++++					먼지, 사과		
5	19-2		++++						신향, 냄새 약함		
6	19-3		++	++++					신향, 냄새 약함		
7	21-5		++++						아세톤	O	
8	22-1		++++						단내, 신향		
9	23-1		+	+	++++				신향, 소곡주향		
10	24-3		+	++	++++				짙내	O	
11	24-4								-		
12	24-5		+	++++					단내, 쉰내		
13	26-1		++++						간장 찌든 내		
14	26-2		+++	++++					간장 찌든 내		
15	28-1				+	+	+	++++	단내, 신향		
16	28-4		+	++	++++				포도		
17	30-3		++++						달콤한 과일 향		
18	30-4		++++						모과, 과일 향		
중 략											
954	H1-1		++++						단내, 사과 향	O	
955	H1-3			+	+	++++			간장 짙내	산막	
956	H1-5		++++						사과향		O
957	H2-1								-		
958	H2-3		++++						단내, 사과	O	
959	H2-4								-		
960	H3-1		++++						단내, 신향		O
961	H3-4								-		
962	H3-5		++++						단내, 배, 신향	O	
963	H3-6		++++						단내, 신향		o
964	H3-7		++++						복숭아 향	O	
965	H4-1		++++						복숭아 향		
966	H4-2		++++						달콤한 신향, 복숭아 향	O	
967	H4-3								-		
968	H4-4		++++						달콤한 신향, 복숭아 향	O	
969	H4-5		++++						달콤한 신향, 복숭아 향		

나. 막걸리 전용 효모 2차 선발

1차 선별된 206균주를 대상으로 300mL 용량으로 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 25℃에서 7일 동안 발효시켜 알코올 함량, pH, 산도, 고형분 함량 및 향 생성능력을 비교하고 밥알의 혼탁정도 및 침전정도를 조사하여 막걸리 전용 효모를 2차 선별하였다. 향 특성에서 곰팡이 냄새, 먼지 냄새, 구린내, 아세톤 취, 암모니아, 막걸리 썩은 내, 건어물 냄새, 신 김치, 쉰 내, 부패 취를 제외하고 단내, 술내, 과일 향(파인애플, 바나나, 포도, 참외), 누룽지 사탕, 구수한향, 상큼한 신향, 맛있는 냄새, 꽃냄새를 선별하였으며 알코올 함량 10%이하 효모는 제외하여 80균주를 2차 선발하였다.

표 16. 우수균주 2차 선발

	yeast No.	발효기간(days)														산도	Alcohol (%)	Flavor
		1		2		3		4		5		8		12				
		pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도			
1	30-3	3.17	1.1	3.32	9.5	3.36	14.3	3.43	16.7	3.22	14.9	3.22	8.3	3.45	8.6	15.7	12.63	단내, 신내, 술내, 알코올향
2	30-4	3.12	3.2	3.04	6	3.18	7.3	3.14	8	3.19	8.2	3.48	8.5	3.58	8.7	13.1	13.52	바나나, 단내
3	55-2	3.17	1.1	3	7.2	3.14	7.5	3.24	8.1	3.31	8.2	3.46	8.3	3.6	8.6	13.2	12.63	요구르트, 단내, 신내, 알코올
4	64-5	3.16	2.8	3.07	7.5	3.21	7.3	3.21	8	3.41	8.7	3.36	8.6	3.61	8.8	15.3	10.89	알코올, 단내, 신향, 상큼
5	89-1-4	3.21	4.8	3.04	7.2	3.11	7.3	3.26	7.9	3.26	8.1	3.46	8.3	3.55	9	14.3	10.89	알코올향, 신향, 누룽지향,
6	89-2-2	3.16	2.8	3.32	9.5	3.38	13.2	3.44	3.5	3.44	12.6	3.27	8.9	3.51	9.1	15.6	10.72	알코올, 소곡주, 단내
7	89-2-3	3.17	1.1	2.97	6.2	3.15	7.3	3.25	8	3.32	8.1	3.48	8.3	3.61	8.8	13	13.65	단내, 술내, 신향
8	89-3-1	3.21	4.8	3.08	7.6	3.08	7.3	3.19	8	3.22	8.2	3.44	8.4	3.55	9	15.7	10.64	알코올향, 곰팡이, 먼지 냄새
9	89-5-3	3.21	4.8	3.04	6.7	3.12	7.3	3.25	7.9	3.32	8.2	3.48	8.3	3.6	8.9	12.2	10.18	알코올, 단내, 신향
10	90-3	3.17	1.1	2.94	6.4	3.11	7.2	3.22	8.1	3.28	8.2	3.5	8.3	3.62	8.6	12.7	13.29	사이다, 신향, 술내, 단내,
11	90-12	3.17	1.1	2.91	6.1	3.11	7.3	3.22	8	3.28	7.9	3.48	8.2	3.61	8.3	13.5	12.3	신내강함, 상큼, 사이다, 단내
12	91-4	3.17	1.1	2.95	6.9	3.11	7.8	3.26	8.1	3.28	8.2	3.44	8.3	3.58	8.5	13.7	13.1	구수한, 단내, 누룽지 사탕, 알코올

표 16. 계속

	yeast No.	발효기간(days)														산도	Alcohol (%)	Flavor
		1		2		3		4		5		8		12				
		pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도	pH	당도			
13	91-5	3.17	1.1	2.9	6.5	3.11	7.3	3.23	8.1	3.28	8.4	3.43	8.3	3.57	8	13.6	12.84	술내, 시큼, 신향 강함, 알코올
14	91-6	3.21	4.8	3.3	8.4	3.44	14.2	3.29	15.8	3.01	11.8	3.29	8.2	3.51	9.1	14.8	10.61	알코올, 단내, 신향, 과일에플

중 략

197	H2-1	3.12	3.2	3.05	8.2	2.98	7.7	3.04	14.3	3.11	8.4	3.37	8.7	3.62	8.6	13	13.07	단내, 신향
198	H2-4	3.12	3.2	2.96	6.2	3.03	7.2	3.17	8.3	3.19	8.3	3.39	8.6	3.66	8.6	12.5	12.58	단내, 신향
199	H3-1	3.12	3.2	3.02	5.9	2.99	7.7	3.08	8.2	3.16	8.3	3.38	8.5	3.63	8.7	11.5	12.93	단내, 신향
200	H3-5	3.12	3.2	2.94	6.2	3.01	7.5	3.12	8.2	3.15	8.2	3.4	8.5	3.66	8.7	12.5	13.17	단내, 신향
201	H3-7	3.12	3.2	3.02	6.5	3.01	8	3.1	8.2	3.18	8.4	3.38	8.7	3.59	8.8	13.3	13.36	탄산, 단내, 신향,
202	H4-1	3.12	3.2	2.92	6.9	2.98	7.6	3.09	8.2	3.1	8.3	3.37	8.7	3.6	8.7	13.8	12.63	단내, 사이타, 탄산, 향 별로 임
203	H4-2	3.12	3.2	3.01	6.8	3.01	7.6	3.07	8.2	3.15	8.2	3.38	8.7	3.61	8.7	13.2	12.51	단내, 사이타, 탄산
204	H4-3	3.12	3.2	2.89	6.1	2.98	7.7	3.08	8.1	3.12	8.1	3.37	8.6	3.6	8.6	12.5	12.63	단내, 사이타, 탄산, 향 좋음
205	H4-4	3.12	3.2	3.24	6.9	2.99	7.6	3.08	8.1	3.13	8.5	3.34	8.6	3.59	8.5	12.5	11.8	단내, 사이타, 탄산
206	app-6	3.12	3.2	2.96	6.6	3.01	7.3	3.13	8.1	3.23	8.3	3.38	8.6	3.58	8.7	12.3	11.97	누룽지, 고소함, 향 좋음

표 17. 밥알의 혼탁정도 및 침전정도(우수균주 2차 선발)

Yeast No.	발효2일		그림	발효4일		발효5일	
	혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜯 정도 (상, 중, 하)		혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜯 정도 (상, 중, 하)	혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜯 정도 (상, 중, 하)
89-1-4	강	상		강	상	중	상
91-6	약	하		약	상	강	상
129-7	중	상		약	상	약	상
중 략							
133-6	약	상		약	상	강	상
141-1	중	중		강	상	강	상
169-6	중	중		중	상	강	상
181-2	중	중		중	상	중	상
197-1	중	중		중	상	중	상

2차 선별된 80균주를 대상으로 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 당화액을 제조하여 듀람관을 포함한 시험관에 넣고 발효온도를 5℃, 15℃, 35℃, 39℃로 세분화하여 각각의 온도에서의 발효 속도를 비교하였다(표 18). 발효온도 5℃에서는 효모 89-2-3이 일주일 만에 gas를 생성하여 알코올 발효능을 보였고 효모 113-7은 9일째, 효모 98-2는 14일째 듀람관을 가득 채우는 알코올 발효능을 보였고 나머지 효모는 모두 활성을 잃은 것으로 나타났다. 발효온도 15℃에서는 효모 91-6을 제외하고 모든 균주가 7일 내에 듀람관을 가득 채우는 알코올 발효능을 보였고 25℃에서는 모든 효모가 1, 2일 만에 듀람관을 가득 채울 만큼의 gas를 발생하였다. 발효온도 35℃에서는 효모 133-5 외 8종을 제외한 대부분의 효모가 2, 3일안에 듀람관을 가득 채울 만큼의 gas를 발생해 우수한 알코올 발효능을 보였으며 39℃에서는 80균주 중 효모 30-4 외 29균주가 2, 3일안에 듀람관을 가득 채울 만큼의 gas를 발생하였다.

표 18. 2차 선별 균주의 온도별 발효특성

효모	온도 (°C)	발효기간 (day)															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
30-4	5																
	15			+++													
	25	+++															
	35	+	+++														
55-2	39		+	+++													
	5																
	15			+++													
	25	+++															
64-5	35	+	+++														
	39		+	+++													
	5																
	15	+	+++														
89-2-3	25	+++															
	35	+++															
	39	+	+++														
	5							+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
90-3	15		+	+++													+
	25	+++															
	35	+++															
	39	+	+++														
91-6	5																
	15							+	+	+	+	+	+	+++	+++		
	25	+++															
	35																
98-2	39																
	5																+++
	15			+++													
	25	+++															
98-5	35	+++															
	39	+++															
	5																+++
	15		++	+++													

표 18. 계속

효모	온도 (°C)	발효기간 (day)															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
중 략																	
105-4	5																
	15			+	+++												
	25	+++															
	35	++	+++														
	39		+	+													
106-12	5																
	15			+	+++												
	25	+++															
	35	+	+++														
	39		+	+													
111-6	5																
	15			+	+++	+++	+++	+++									
	25	+++															
	35		+	+++	+++												
	39																
113-5	5									+	+	+	+	+	+	+	+++
	15		+++														
	25	+++															
	35	+++															
	39			+													
113-7	5									+++							
	15		+	+++													
	25	+++															
	35	+++															
	39																
272-7	5																+
	15		++	+++													
	25	+++															
	35	++	+++														
	39																
291-5	5																
	15			+	+++												
	25	+++															
	35	+	+++	+++													
	39																
291-10	5																
	15			+	+++												
	25	+++															
	35	+	+++	+++													
	39																
293-2	5																
	15			++	+++												
	25	+++															
	35	+	+++	+++													
	39	+	+														
293-7	5																
	15		+	+++	+++												
	25	+++															
	35		+	+++													
	39		+	+													
293-9	5																
	15			+	+++												
	25	+++															
	35		+	+++	+++												
	39																
298-8	5																
	15			++	+++												
	25	+++															
	35	+	+++														
	39																

다. 막걸리 전용 효모 3차 선발

2차 선별된 80균주를 대상으로 1,500 mL 용량으로 맥쌀, 발효제(진주곡자sp300, 입국 sp85), 효모(0.02%), 물을 넣고 25°C에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조한 후 맥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 80균주로 발효제 입국을 사용한 술 80개와 발효제 진주곡자를 사용한 술 80개를 각각 제조하였다.

발효제로 입국을 사용한 술의 이화학적 분석결과는 표 5에 나타내었다. 당도는 효모 109-3 사용 술이 8.4 Brix로 가장 낮게, 효모 225-6 사용 술이 19.3 Brix로 가장 높게 나타났다. pH는 효모 129-6 사용 술이 3.19로 가장 낮게, 효모 133-5 사용 술이 4.06으로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 대부분 3.3-3.6 수준을 보였다. 총산은 효모 64-5 사용 술이 0.41 %로 가장 적게 나타났고 효모 129-6 사용 술이 0.89%로 가장 높게 나타났다. 알코올 함량은 효모 192-4 사용 술이 16.98 %로 가장 높게 나타났고 효모 282-7 사용 술이 5.09 %로 가장 낮게 나타났으며 이와 역의 관계로 환원당은 효모 192-4 사용 술이 4.98 mg/mL로 가장 적게, 효모 282-7 사용 술이 117.62 mg/mL로 가장 높은 함량으로 나타났다.

분석결과 알코올 함량이 13 % 이상인 고알코올 생성 효모로 16.98 %를 나타낸 효모 192-4를 포함하여 18균주를 선별하였다. 관능특성 조사결과 단맛, 단향, 신맛, 쓴맛, 탄산미가 조화를 이룬 맛 좋은 효모로 9균주를 선별하였으며 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 3균주로 나타났다. 추가적으로 과일 향을 생성하는 균주를 선별하였으며 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 3균주로 나타났다. 고알코올 생성, 과일 향, 맛 좋은 3가지 모두를 만족하는 효모는 98-2, 98-5, 126-2 균주 3개였다.

표 19. 2차 선발 균주의 발효제 입국 사용 막걸리의 이화학적 특성

Yeast NO.	당도(Brix%)	pH	총산(%)	Alcohol(%)	환원당(mg/ml)	관능결과
30-4	9.10	3.55	0.52	12.95	9.16±0.28	알코올, 신맛, 뒷맛 뽀음
55-2	9.00	3.57	0.46	11.78	8.14±0.29	향이 약함. 멍멍함. 쓴 후미
64-5	9.60	3.62	0.41	14.89	7.25±0.31	구수한 향, 단맛, 신맛, 쓴맛, 뒷맛 뽀음
89-2-3	8.90	3.53	0.59	11.48	9.72±0.36	요구르트향, 신맛, 쓴맛
90-3	8.80	3.52	0.59	10.27	8.91±0.33	요구르트향, 파인애플맛, 뽀은맛, 신맛
91-6	13.40	3.38	0.75	8.83	49.89±0.64	요구르트향 탄산강함 신맛 단맛
98-2	13.30	3.46	0.56	14.51	39.67±0.93	상큼한 과일 향 단내 단맛 누룽지맛 구수한 맑음
98-3	9.40	3.52	0.46	16.63	8.11±0.18	약주 맛 단맛 구수한 향 부드러운, 쓴맛 맑음
98-5	11.00	3.39	0.65	14.60	12.12±1.16	과일향, 단향, 단맛, 쓴맛
104-3	15.10	3.54	0.59	11.23	59.91±2.63	탄산미, 신맛, 단맛
105-4	15.80	3.38	0.81	6.95	70.35±2.70	탄산, 신맛, 단맛
106-12	15.40	3.36	0.75	9.82	67.20±1.08	단맛, 아세톤 취
107-1	13.80	3.50	0.58	12.85	37.37±0.35	단내, 탄산미, 신맛 약함
109-3	8.40	3.51	0.65	10.65	11.70±0.62	이취, 눅눅한, 신맛, 뽀음
111-5	13.70	3.52	0.57	12.72	34.92±2.24	탄산미, 신내, 신맛, 단맛
111-6	15.30	3.36	0.77	9.45	49.74±2.57	신내, 단내, 탄산, 향별로
113-5	9.20	3.58	0.46	16.12	7.73±0.53	향이 약함, 쓴맛, 약맛, 뽀음
113-7	9.20	3.56	0.49	15.24	7.50±0.28	단향, 멍멍한 맛
113-8	9.60	3.58	0.50	16.10	7.38±0.65	신맛, 쓴맛, 뽀음
113-9	9.30	3.57	0.50	14.77	9.22±0.64	단맛, 쓴맛, 멍멍함
125-7	13.90	3.55	0.58	12.71	44.93±1.27	탄산미, 상큼, 단내, 신맛
126-2	9.30	3.49	0.51	15.69	5.80±0.19	과일 향, 상큼, 단맛, 신맛, 쓴맛
129-6	15.00	3.19	0.89	9.62	50.58±0.68	아세톤
132-4	13.90	3.32	0.78	10.24	35.18±0.57	과일향, 신맛, 단맛, 쓴맛
133-5	15.40	4.06	0.43	10.96	46.98±1.09	신내, 탄산미, 단맛, 콧콧
133-6	9.90	3.33	0.59	14.17	9.50±0.86	과일 향, 단맛, 쓴맛
140-5	9.60	3.40	0.62	13.86	8.08±0.55	신맛, 쓴맛, 무향, 맑음
141-1	15.70	3.65	0.52	10.15	86.89±3.68	단향, 단맛, 탄산미, 사과맛
154-5	15.40	3.59	0.63	9.72	57.90±3.83	누룽지향, 구수한향, 탄산미, 단맛
157-1	12.90	3.54	0.55	13.67	35.93±1.79	신향 강함, 단맛, 뽀음, 신맛 강함
157-10	13.80	3.45	0.63	11.10	34.26±2.39	유기용매, 탄산미, 콧콧
161-7	14.50	3.28	0.75	10.35	33.13±1.31	단맛, 신맛, 아세톤
163-2	15.70	3.53	0.73	6.53	98.53±4.41	신향, 단맛, 신맛, 탄산미, 텃텃함
165-1	16.90	3.50	0.72	7.82	80.58±2.34	단맛, 아세톤
165-9	17.30	3.53	0.70	7.88	88.77±6.26	과일향, 단맛, 아세톤
166-1	17.10	3.40	0.81	7.64	82.53±3.60	과일향, 단맛, 멍멍
166-10	12.30	3.26	0.72	14.26	21.10±0.19	탄산, 단맛, 과일향, 쓴맛
169-4	14.00	3.30	0.72	11.39	36.44±1.31	구수한향, 단맛, 신맛
172-6	10.20	3.37	0.65	15.42	6.18±0.44	탄산, 단맛, 신맛, 쓴맛

표 19. 계속

Yeast NO.	당도(Brix %)	pH	총산(%)	Alcohol(%)	환원당(mg/mL)	관능결과
183-2	9.50	3.51	0.50	14.70	8.51±0.34	단맛, 쓴맛, 향약함, 멍멍
192-4	9.50	3.41	0.59	16.98	4.98±0.23	깔끔한 맛, 약주느낌, 무향, 쓴맛, 맑음
193-5	13.70	3.43	0.65	11.13	33.71±1.65	단향, 알코올향, 뽀은맛, 신맛
197-12	12.70	3.49	0.62	12.23	21.47±0.68	과일향, 탄산미, 단맛, 신맛
197-13	14.10	3.55	0.63	11.06	39.67±0.93	상큼한향, 탄산, 단맛, 신맛, 과일향
225-6	19.30	3.63	0.64	6.24	92.73±0.31	알코올향, 신향, 단향, 단맛, 신맛
230-4	18.70	3.64	0.65	7.27	94.68±7.80	알코올향, 단향, 단맛, 탄산미, 신맛 약함
235-13	18.10	3.61	0.63	7.88	103.44±7.91	이취, 단맛, 탄산미, 맛은 좋음
256-1	13.60	3.43	0.68	12.67	32.39±1.06	단향, 신향, 알코올 쓴맛, 단맛, 후미 뽀음
256-3	19.00	3.62	0.65	6.53	114.85±4.88	탄산향, 요구르트향, 신맛, 뽀음, 요구르트맛
256-5	16.50	3.59	0.69	7.00	72.99±3.06	이취, 탄산미, 신맛, 단맛, 맛은 좋음
257-2	18.40	3.68	0.68	5.04	96.27±2.69	신향, 단맛, 뽀음, 텁텁함
263-4	13.60	3.41	0.68	11.45	32.90±0.88	단향, 배향, 쓴맛, 단맛, 신맛 약간
265-3	13.80	3.47	0.68	10.37	36.41±0.22	이취, 뽀음, 아린맛, 신맛
268-1	10.70	3.54	0.59	13.76	9.59±0.05	단향, 과일 향, 배향, 쓴맛, 신맛, 단맛 약함
268-3	14.50	3.58	0.56	9.91	56.72±1.63	단향, 단맛
270-11	13.10	3.63	0.53	13.22	33.67±0.41	알코올향, 강함, 단맛, 쓴맛, 약맛
270-12	12.60	3.49	0.62	14.82	21.56±0.91	단향, 쓴맛, 뽀음, 단맛
272-7	12.10	3.54	0.59	14.82	21.70±0.30	알코올향, 단향, 단맛, 신맛, 쓴맛, 뽀음
274-2	9.00	3.54	0.59	11.57	11.88±0.43	상큼한향, 단향, 파인애플맛, 쓴맛
275-1	17.70	3.53	0.74	6.66	109.32±7.78	단향, 요거트향, 단맛, 짠맛
282-5	8.50	3.47	0.69	10.75	9.77±0.62	알코올향, 신향, 약함, 뽀음, 신맛, 강함, 곰팡이
282-6	8.90	3.42	0.75	10.86	60.27±2.51	신향, 쓴맛, 뽀음
282-7	18.70	3.61	0.71	5.09	117.62±8.73	신향, 약냄새, 단맛, 강함, 신맛, 탄산미
282-9	10.80	3.20	0.78	11.30	23.54±0.74	단향, 탄산미, 강함, 신맛, 강함, 단맛
284-16	15.50	3.69	0.53	8.01	54.33±1.91	약냄새, 단맛, 파인애플맛
284-4	16.80	3.56	0.65	7.06	82.41±11.65	약냄새, 단맛, 강함, 신맛, 탄산
284-5	13.50	3.44	0.73	9.27	51.15±3.43	단향, 신향, 탄산, 쓴맛
284-6	9.50	3.26	0.75	9.68	12.86±0.76	요거트향, 신향, 단향, 단맛, 쓴맛
291-10	10.70	3.43	0.68	11.84	21.61±0.42	단향, 신향, 탄산미, 쓴맛, 신맛
291-5	13.40	3.45	0.68	12.22	27.97±0.15	향, 약함, 강한 신맛, 뽀음
293-2	11.20	3.40	0.71	11.66	20.45±0.20	약냄새, 이취, 탄산미, 쓴맛, 신맛
293-7	18.10	3.55	0.66	6.42	103.05±17.02	약냄새, 단맛, 탄산미
293-9	17.60	3.61	0.65	6.31	84.94±11.58	약냄새, 단맛, 탄산, 약함
294-7	17.20	3.58	0.72	6.28	97.98±3.99	신향, 쓴내, 탄산미, 단맛
298-8	17.40	3.65	0.70	6.49	96.24±6.12	쓴내, 단맛, 강함, 신맛
APP-6	10.00	3.56	0.55	12.76	21.29±0.36	구수한향, 단맛, 쓴맛
H3-7	9.00	3.50	0.62	12.49	10.22±1.20	요거트향, 파인애플맛,
H4-3	8.90	3.51	0.59	12.28	8.69±0.92	약냄새, 신맛, 쓴맛,
Fermivin	9.20	3.35	0.71	13.20	10.11±0.23	향이 약함, 단향, 쓴맛

발효제로 진주곡자를 사용한 술의 이화학적 분석결과는 표 20에 나타내었다. 당도는 효모 89-2-3 사용 술이 7.4 Brix로 가장 낮게 나타났고 효모 298-8 사용 술이 13.6 Brix로 가장 높게 나타나 입국 사용 술보다 그 편차가 적게 나타났고 발효 후 일정한 고형분 함량을 나타냈다. pH는 효모 125-7 사용 술이 3.27로 가장 낮게, 효모 App-6 사용 술이 4.22로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 대부분 3.5-3.9 수준을 보여 입국 사용 술보다 높게 나타났다. 총산은 효모 App-6 사용 술이 0.13 %로 가장 적게 나타났고 효모 293-2 사용 술이 0.91%로 가장 높게 나타났으며 0.2 % 이하 술이 30여개로 입국 사용 술보다 낮은 경향을 보였다. 알코올 함량은 효모 113-7 사용 술이 15.04%로 가장 높게 나타났고 효모 293-2 사용 술이 6.32 %로 가장 낮게 나타났다. 환원당은 효모 172-6 사용 술이 2.50 mg/mL로 가장 적게, 효모 91-6 사용 술이 72.54 mg/mL로 가장 높은 함량으로 나타났고 입국 사용 술보다 전체적으로 낮은 함량으로 나타나 알코올 발효로 당이 이용된 것으로 여겨진다.

분석결과 알코올 함량이 13 % 이상인 고알코올 생성 효모로 15.52 %를 나타낸 효모 129-6을 포함하여 20균주를 선별하였다. 관능특성 조사결과 전체적으로 입국미 사용 술보다 좋지 않게 평가되었으며 단맛, 단향, 신맛, 쓴맛, 탄산미가 조화를 이룬 맛 좋은 효모로 5균주를 선별하였으며 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 1균주로 나타났다. 추가적으로 과일향을 생성하는 균주로 19균주를 선별하였으며 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 1균주로 나타났다. 고알코올을 생성하면서 과일 향을 내는 효모는 126-2 한 균주였고 알코올을 생성하면서 맛 좋은 효모는 113-8 한 균주였으며 과일향을 내면서 맛 좋은 효모는 133-5, 154-5, 256-1 세 균주로 나타났다.

표 20. 2차 선발 균주의 발효제 진주곡자 사용 막걸리의 이화학적 특성

Yeast NO.	당도 (Brix, %)	pH	총산 (%)	Alcohol (%)	환원당 (mg/mL)	관능결과
30-4	8.50	3.82	0.21	13.53	11.37±0.12	향이 약함, 약주쓴맛, 멍멍함
55-2	8.60	3.97	0.17	14.41	9.46±0.46	약맛, 쓴맛, 누룩맛, 신향
64-5	8.30	4.21	0.14	14.51	8.46±0.12	느끼한 향, 누룩맛, 쓴맛
89-2-3	7.40	4.14	0.16	11.30	6.44±1.03	요구르트 향, 약냄새, 단맛, 쓴맛,
90-3	7.80	4.10	0.18	11.50	6.77±0.16	약냄새, 쓴맛, 뽀은맛
91-6	13.00	3.64	0.62	6.36	72.54±2.74	요구르트 향, 쓴맛 강함, 뽀음, 탄산
98-2	8.20	4.05	0.17	14.48	6.99±0.24	알코올향 강함, 이취, 뽀음, 맑음
98-3	8.30	3.79	0.19	13.97	11.22±0.19	단맛, 쓴맛
98-5	8.50	4.15	0.19	14.88	6.68±0.10	이취, 뽀음, 맑음
104-3	10.60	3.36	0.54	11.18	16.64±0.26	탄산, 단내, 신맛 강함
105-4	11.90	3.58	0.69	10.82	17.45±0.25	아세트, 시큼
106-12	10.90	3.61	0.65	11.22	16.75±0.29	배향, 신향, 단향, 곡자향, 신맛, 뽀은맛
107-1	11.10	3.33	0.75	10.19	15.81±0.23	탄산미, 단내
109-3	8.10	4.05	0.18	12.70	6.86±0.04	약냄새, 향이 약함, 멍멍, 쓴맛
111-5	8.50	4.00	0.14	10.78	10.01±0.25	누룩취, 알코올, 쿼퀴함
111-6	10.60	3.55	0.75	10.62	15.49±0.3	신맛, 단맛, 향약함
113-5	8.20	3.94	0.18	14.58	8.62±0.26	알코올, 쓴맛, 뽀음
113-7	7.50	4.07	0.15	15.04	7.08±0.24	알코올, 쓴맛, 느끼함
113-8	8.20	3.86	0.19	14.48	7.03±0.55	단맛, 탄산, 신향, 쓴맛
113-9	8.40	4.00	0.16	13.76	9.52±0.14	알코올, 단맛, 뽀음
125-7	8.30	3.27	0.77	10.90	17.33±0.43	상큼함, 탄산미, 신맛강함
126-2	8.10	3.56	0.27	12.93	12.30±0.15	과일향, 누룩맛, 단맛, 쓴맛, 밋밋함
129-6	10.00	3.79	0.52	15.52	15.19±0.33	신향, 단맛, 신맛
132-4	9.60	3.66	0.56	10.57	9.31±0.11	탄산, 단맛, 신맛, 과일향
133-5	10.90	3.28	0.76	10.40	17.34±0.17	배향, 과일향, 단향, 신맛, 탄산미, 아린맛
133-6	9.80	3.35	0.74	9.97	13.67±0.29	배향, 신맛강함
140-5	8.70	3.85	0.19	11.67	10.52±0.26	이취(유기용매), 맛없음, 쓴맛, 흙맛
141-1	9.70	3.36	0.63	9.94	12.22±0.25	쓴맛, 강한신맛, 향 나쁨
154-5	12.70	3.61	0.69	10.85	19.08±0.35	단향, 배향, 과일향, 단맛, 약맛, 탄산미, 신맛, 배맛
157-1	7.90	3.96	0.15	14.02	6.28±0.08	향 좋음, 약맛, 쓴맛, 누룩, 약한 단맛
157-10	10.10	3.66	0.64	11.37	16.33±0.13	배향, 과일향, 단향, 배맛, 신맛강함, 단맛
161-7	10.50	3.64	0.73	9.84	16.20±0.53	신맛, 탄산미, 단맛, 약함, 신향
163-2	12.20	3.58	0.63	8.67	64.52±3.62	향이 약함, 쓴맛, 뽀은맛, 신맛, 탄산미
165-1	11.10	3.64	0.65	11.00	16.59±0.20	신맛, 단맛, 과일향
165-9	12.60	3.64	0.66	8.77	18.13±0.19	과일향, 탄산미, 단맛, 신맛
166-1	10.10	3.55	0.68	7.93	45.45±0.84	배향, 단향, 신향, 탄산미, 신맛
166-10	9.20	3.44	0.52	11.31	2.86±0.03	무향, 쓴맛, 단맛
169-4	8.40	3.45	0.53	11.25	2.92±0.10	과일향, 박하향, 신맛, 바다감, 조청단맛, 뽀음
172-6	8.40	4.02	0.19	12.14	2.50±0.03	약주향, 단맛, 약주맛, 쓴맛, 밋밋함, 맑음

표 20. 계속

Yeast NO.	당도 (Brix, %)	pH	총산 (%)	Alcohol (%)	환원당 (mg/mL)	관능결과
183-2	8.70	3.71	0.21	9.97	13.72±0.06	탄산 알코올, 신향, 단맛, 쓴맛, 바디감 약함
192-4	8.30	3.55	0.22	12.21	3.32±0.02	향 약함, 쓴맛, 멩멩함, 부드러움
193-5	9.30	3.63	0.58	11.28	7.87±0.63	과일 향, 단향, 단맛, 신맛
197-12	8.70	3.44	0.49	11.03	12.23±0.11	신맛 강함, 떫음, 알코올향
197-13	8.60	3.28	0.86	9.59	15.92±0.09	누룩향, 누룩맛, 신내, 신맛
225-6	11.90	3.56	0.76	9.51	20.72±0.53	배향, 단향, 신맛 강함, 탄산미, 떫음
230-4	10.20	3.61	0.72	9.90	17.21±0.18	향 약함, 단향, 신향, 신맛, 떫음
235-13	9.50	3.62	0.71	10.82	9.15±0.36	배향, 단향, 단맛, 탄산미
256-1	11.10	3.59	0.74	10.95	22.17±0.76	배향, 꿀향, 단향, 단맛 강함, 탄산미
256-3	9.70	3.61	0.66	10.57	9.79±0.40	배향, 꿀향, 단향, 단맛, 떫음 배맛
256-5	9.90	3.63	0.70	10.04	9.40±0.27	배향, 배맛, 신맛, 단맛
257-2	10.60	3.63	0.70	10.61	17.26±0.19	배향, 단향, 단맛, 배맛, 탄산, 쓴맛
263-4	10.30	3.71	0.64	10.32	20.05±0.39	배향, 꽃 향, 배맛, 단맛, 떫음
265-3	10.50	3.68	0.68	8.61	14.95±0.21	향 약함, 단맛, 신맛, 떫음
268-1	7.70	3.98	0.16	14.25	7.37±0.17	누룩향, 누룩맛
268-3	7.70	4.19	0.16	13.25	5.87±0.35	누룩향, 약맛, 누룩맛
270-11	8.10	4.16	0.16	13.82	6.00±0.11	단향, 알코올향, 떫은맛, 쓴맛, 알코올맛
270-12	7.80	3.98	0.15	13.62	7.25±0.18	향이 약함, 쓴맛, 약맛
272-7	7.50	3.97	0.15	13.12	6.49±0.13	향이 약함, 떫음, 밋밋함
274-2	7.90	4.13	0.16	12.78	7.35±0.05	요구르트향, 멩멩함, 쓴맛, 떫음
275-1	12.80	3.69	0.76	8.21	19.87±0.45	과일향, 신향, 쓴맛, 탄산미, 강한 신맛
282-5	8.30	3.98	0.22	13.06	6.73±0.12	누룩향, 떫은맛 강함
282-6	9.10	3.60	0.43	11.35	8.67±0.16	요구르트향, 탄산미, 떫은맛
282-7	11.40	3.64	0.73	9.20	18.83±0.25	신향, 단향, 신맛
282-9	10.40	3.70	0.59	7.90	18.12±0.58	향 약함, 강한 신맛, 탄산, 쓴맛, 떫음
284-16	11.80	3.60	0.71	9.06	17.86±0.19	탄산, 신맛, 떫음
284-4	10.70	3.67	0.63	9.07	16.86±0.21	신향, 탄산미, 신맛, 쓴맛
284-5	10.80	3.65	0.66	10.44	15.35±0.25	향 약함, 약냄새, 약맛, 신맛, 쓴맛, 단맛, 탄산미
284-6	9.20	3.75	0.56	9.82	9.04±0.23	단향, 신맛, 탄산
291-10	10.10	3.57	0.68	8.71	18.64±0.30	약냄새, 신맛 강함
291-5	10.50	3.67	0.15	10.10	17.80±0.11	배향, 탄산미 신맛, 아린맛
293-2	12.70	3.32	0.91	6.32	20.91±0.35	비누향, 요구르트향, 향 약함, 신맛, 탄산미
293-7	11.50	3.45	0.81	8.36	16.30±0.41	비누향, 향 약함, 떫은맛 강함, 탄산
293-9	12.60	3.58	0.81	7.70	17.46±0.51	신향, 강한신맛, 떫음
294-7	10.40	3.63	0.74	8.76	16.03±0.35	신향, 탄산, 시고 떫음, 아린맛
298-8	13.60	3.62	0.77	7.23	17.36±0.09	신향, 누룩향, 누룩맛, 떫음
APP-6	8.14	4.22	0.13	11.37	7.97±0.13	단향, 이취, 쓴맛
H3-7	8.20	3.98	0.21	12.30	7.65±0.41	이취, 단맛, 멩멩한맛
H4-3	8.10	4.05	0.18	13.00	6.45±0.13	향이 약함, 쓴맛
Fermivin	11.40	3.48	0.47	8.95	21.90±0.39	향이 약함, 요구르트향, 신맛, 쓴맛, 떫음

발효제로 입국을 사용한 술의 유기산은 함량은 표 21에 나타내었다. Oxalic acid는 효모 98-3 사용 술 외 32 종에서 검출되었지만 그 함량은 0.08 mg/mL 이하로 미량이었다. 상큼한 신맛을 내는 citric acid 함량이 전체적으로 가장 높게 나타났고 효모 282-7 사용 술이 4.98 mg/mL로 가장 높은 함량을 보였다. Lactic acid는 효모 133-5 사용 술에서 5.29 mg/mL로 특이적으로 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.02-1.19 mg/mL 수준을 보였다. Acetic acid 또한 효모 133-5 사용 술에서 1.49 mg/mL로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.02-1.12 mg/mL 수준을 보였다. Succinic acid는 전체적으로 0.01-0.29 mg/mL 함량으로 나타났고 malic acid는 0.02-0.47 mg/mL 함량을 보였으며 효모 282-6 사용 술에서 가장 높게 나타났다.

표 21. 2차 선발 균주의 발효제 입국 사용 막걸리의 유기산 함량

효모	Organic acid (mg/mL)					
	Oxalic	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
30-4	0.00	0.31	1.13	0.92	2.47	0.10
55-2	0.00	0.18	0.42	1.07	2.30	0.06
64-5	0.00	0.02	0.75	0.09	3.10	0.16
89-2-3	0.00	0.09	0.13	0.02	4.01	0.16
90-3	0.00	0.11	0.60	0.02	3.72	0.23
91-6	0.00	0.04	0.45	0.50	4.21	0.17
98-2	0.00	0.02	0.76	0.02	3.38	0.18
98-3	0.08	0.20	0.48	0.16	2.72	0.19
98-5	0.00	0.14	0.64	0.02	3.49	0.26
104-3	0.07	0.02	0.02	0.47	3.90	0.16
105-4	0.00	0.02	0.55	0.86	3.10	0.10
106-12	0.00	0.02	0.02	0.40	3.13	0.09
107-1	0.08	0.02	0.78	0.20	3.21	0.13
109-3	0.00	0.17	0.46	0.02	3.40	0.25
111-5	0.04	0.02	0.62	0.23	3.29	0.12
111-6	0.00	0.02	0.13	0.36	4.43	0.08
113-5	0.03	0.18	0.77	0.28	2.30	0.13
113-7	0.00	0.13	1.19	0.14	2.12	0.13
113-8	0.00	0.18	0.19	0.65	2.10	0.15
113-9	0.00	0.20	0.24	0.23	2.41	0.16
125-7	0.00	0.02	0.34	0.52	3.05	0.15
126-2	0.00	0.10	0.65	0.70	2.78	0.18
129-6	0.00	0.02	0.02	0.36	4.27	0.08
132-4	0.00	0.02	0.19	0.40	4.19	0.11
133-4	0.00	0.14	5.29	1.49	0.00	0.05
133-5	0.01	0.02	0.33	0.37	3.91	0.14
133-6	0.00	0.30	0.85	1.12	2.33	0.12
140-5	0.00	0.07	0.65	0.48	3.48	0.17
141-1	0.00	0.02	0.02	0.20	3.43	0.08
154-5	0.00	0.28	0.53	0.72	2.70	0.05
157-1	0.01	0.02	0.02	0.16	3.95	0.10
157-10	0.01	0.02	0.35	0.45	3.73	0.08
161-7	0.00	0.02	0.12	0.34	3.78	0.06
163-2	0.01	0.02	0.25	0.54	4.10	0.15
165-1	0.02	0.02	0.02	0.49	4.52	0.08

표 21. 계속

호모	Organic acid (mg/mL)					
	Oxalic	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
165-9	0.02	0.02	0.02	0.46	4.34	0.07
166-1	0.01	0.02	0.02	0.59	4.28	0.09
166-10	0.01	0.02	0.29	0.47	4.26	0.15
169-4	0.00	0.02	0.43	0.62	4.15	0.12
172-6	0.00	0.09	0.44	0.15	3.67	0.21
183-2	0.00	0.02	0.71	0.38	3.50	0.29
192-4	0.00	0.10	0.57	0.09	3.40	0.22
193-5	0.00	0.04	0.18	0.21	3.30	0.08
197-12	0.00	0.02	0.12	0.57	3.34	0.12
197-13	0.00	0.02	0.02	0.18	3.53	0.10
225-6	0.01	0.02	0.72	1.02	3.79	0.05
230-4	0.02	0.02	0.05	1.07	3.27	0.04
235-13	0.02	0.02	0.23	0.36	4.63	0.07
256-1	0.00	0.02	0.39	0.40	4.06	0.13
256-3	0.03	0.19	0.77	0.70	3.05	0.04
256-5	0.01	0.02	0.14	0.43	3.61	0.06
257-2	0.01	0.02	0.13	0.41	3.39	0.03
263-4	0.00	0.07	0.12	0.07	3.60	0.14
265-3	0.02	0.02	0.18	0.33	3.94	0.11
268-1	0.00	0.02	0.06	0.02	2.23	0.06
268-3	0.00	0.02	0.02	0.02	0.16	0.00
270-11	0.00	0.03	0.15	0.02	2.58	0.11
270-12	0.00	0.07	0.48	0.02	3.37	0.17
272-7	0.00	0.06	0.71	0.02	3.33	0.17
274-2	0.00	0.04	0.18	0.02	4.18	0.20
275-1	0.02	0.02	0.17	0.61	4.67	0.05
282-5	0.00	0.23	0.11	0.02	4.02	0.20
282-6	0.00	0.47	0.12	0.02	4.30	0.13
282-7	0.02	0.02	0.29	0.53	4.98	0.03
282-9	0.00	0.02	0.02	0.02	0.29	0.00
284-16	0.03	0.02	0.16	0.18	4.27	0.21
284-4	0.01	0.02	0.36	0.40	4.18	0.06
284-5	0.00	0.02	0.38	0.42	4.08	0.10
284-6	0.00	0.02	0.84	0.02	4.39	0.15
291-10	0.01	0.02	0.32	0.36	4.50	0.10
291-5	0.00	0.02	0.48	0.18	3.37	0.15
293-2	0.01	0.02	0.02	0.17	4.19	0.09
293-7	0.02	0.02	0.14	0.33	4.45	0.03
293-9	0.02	0.02	0.18	0.35	4.50	0.04
294-7	0.01	0.02	0.02	0.42	3.74	0.04
298-8	0.01	0.02	0.12	0.36	3.56	0.04
APP-6	0.04	0.02	0.61	0.45	4.29	0.13
H3-7	0.00	0.16	0.71	0.34	3.99	0.20
H4-3	0.03	0.13	0.31	0.02	3.53	0.19
Fermivin	0.03	0.43	0.39	0.02	3.47	0.19

발효제로 진주곡자를 사용한 술의 유기산은 함량은 표 22에 나타내었다. 진주곡자 사용 술에서는 oxalic acid는 검출되지 않았으며 입국 사용 술과는 달리 전체적으로 lactic acid 함량이 가장 높게 나타났다. Lactic acid는 효모 257-2 사용 술에서 13.63 mg/mL로 가장 높은 함량을 보였고 효모 64-5 사용 술에서 0.5 mg/mL로 가장 적은 함량을 보였다. Acetic acid는 효모 H4-3 사용 술에서 2.22 mg/mL로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.02-1.55 mg/mL 수준을 보였다. Citric acid는 전체적으로 0.1mg/mL 이하의 함량을 보였으며 효모 91-6 사용 술에서 0.33 mg/mL로 가장 높게 나타났다. Succinic acid는 효모 183-2 사용 술과 263-4 사용 술에서 0.27 mg/mL로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.01-0.24 mg/mL 수준을 보였다.

표 22. 2차 선발 균주의 발효제 진주곡자 사용 막걸리의 유기산 함량

효모	Organic acid (mg/mL)					
	Oxalic	Malic	Lactic acid	Acetic	Citric	Succinic
30-4	0.00	0.11	0.76	0.14	0.02	0.22
55-2	0.00	0.20	0.76	0.28	0.02	0.20
64-5	0.00	0.08	0.50	0.31	0.06	0.05
89-2-3	0.00	0.10	1.94	0.02	0.00	0.15
90-3	0.00	0.02	1.35	0.02	0.17	0.16
91-6	0.00	0.02	9.13	0.52	0.33	0.08
98-2	0.00	0.14	1.92	0.31	0.00	0.12
98-3	0.00	0.02	0.24	0.12	0.02	0.14
98-5	0.00	0.16	1.37	0.18	0.13	0.19
104-3	0.00	0.14	8.73	0.62	0.00	0.02
105-4	0.00	0.23	6.39	0.90	0.04	0.09
106-12	0.00	0.13	3.28	0.56	0.00	0.04
107-1	0.00	0.02	13.35	0.96	0.00	0.07
109-3	0.00	0.08	1.00	0.02	0.16	0.17
111-5	0.00	0.16	2.19	0.73	0.00	0.10
111-6	0.00	0.21	5.33	0.81	0.00	0.09
113-5	0.00	0.14	2.28	0.47	0.00	0.07
113-7	0.00	0.11	1.47	0.68	0.00	0.15
113-8	0.00	0.14	2.09	0.56	0.00	0.19
113-9	0.00	0.07	0.26	0.10	0.00	0.21
125-7	0.00	0.02	2.49	0.41	0.00	0.01
126-2	0.00	0.02	0.53	0.16	0.00	0.24
129-6	0.00	0.17	4.02	0.58	0.00	0.13
132-4	0.00	0.18	3.90	0.60	0.00	0.13
133-5	0.00	0.02	2.34	0.26	0.00	0.01
133-6	0.00	0.02	4.67	0.43	0.00	0.02
140-5	0.00	0.02	0.82	0.10	0.02	0.15
141-1	0.00	0.02	4.98	0.63	0.00	0.08
154-5	0.00	0.35	8.14	1.15	0.03	0.05
157-1	0.00	0.10	1.23	0.16	0.08	0.04
157-10	0.00	0.28	7.94	1.12	0.04	0.12
161-7	0.00	0.19	4.70	0.97	0.00	0.08
163-2	0.00	0.02	7.60	0.69	0.00	0.04
165-1	0.00	0.20	5.28	0.68	0.00	0.13
165-9	0.00	0.17	11.64	0.78	0.00	0.08

표 22. 계속

호모	Organic acid (mg/mL)					
	Oxalic	Malic	Lactic acid	Acetic	Citric	Succinic
166-1	0.00	0.02	10.81	0.77	0.00	0.06
166-10	0.00	0.02	8.40	0.75	0.00	0.02
169-4	0.00	0.20	10.44	0.88	0.00	0.07
172-6	0.00	0.13	1.73	0.15	0.00	0.23
183-2	0.00	0.02	0.62	0.06	0.02	0.27
192-4	0.00	0.02	0.72	0.24	0.01	0.12
193-5	0.00	0.22	4.46	0.79	0.00	0.05
197-12	0.00	0.02	2.85	0.39	0.00	0.12
197-13	0.00	0.02	3.51	0.11	0.00	0.10
225-6	0.00	0.25	4.74	0.71	0.00	0.04
230-4	0.00	0.18	5.52	0.56	0.00	0.06
235-13	0.00	0.24	4.58	0.52	0.00	0.05
256-1	0.00	0.18	4.64	0.55	0.00	0.07
256-3	0.00	0.22	10.71	1.01	0.00	0.04
256-5	0.00	0.33	12.42	1.24	0.00	0.08
257-2	0.00	0.42	13.63	1.55	0.00	0.07
263-4	0.00	0.34	10.03	1.24	0.00	0.27
265-3	0.00	0.17	5.77	0.85	0.00	0.09
268-1	0.00	0.02	0.79	0.10	0.02	0.22
268-3	0.00	0.13	0.66	0.08	0.00	0.20
270-11	0.00	0.05	1.16	0.04	0.00	0.10
270-12	0.00	0.02	0.86	0.09	0.03	0.16
272-7	0.00	0.02	0.02	0.02	0.03	0.14
274-2	0.00	0.02	0.40	0.10	0.00	0.12
275-1	0.00	0.02	4.40	0.31	0.00	0.02
282-5	0.00	0.02	0.74	0.02	0.00	0.18
282-6	0.00	0.02	3.32	0.18	0.00	0.06
282-7	0.00	0.02	13.56	0.76	0.00	0.08
282-9	0.00	0.02	10.25	0.24	0.00	0.12
284-16	0.00	0.02	4.03	0.13	0.00	0.07
284-4	0.00	0.02	10.38	0.35	0.00	0.08
284-5	0.00	0.02	10.19	0.43	0.00	0.08
284-6	0.00	0.02	9.98	0.99	0.00	0.09
291-10	0.00	0.02	5.45	0.15	0.00	0.14
291-5	0.00	0.25	7.44	1.02	0.00	0.11
293-2	0.00	0.02	11.10	0.11	0.00	0.01
293-7	0.00	0.02	13.23	0.25	0.00	0.02
293-9	0.00	0.02	13.29	0.73	0.00	0.05
294-7	0.00	0.02	11.91	0.77	0.00	0.10
298-8	0.00	0.02	4.76	0.45	0.00	0.01
APP-6	0.00	0.11	0.79	0.56	0.04	0.16
H3-7	0.00	0.02	0.93	0.18	0.00	0.24
H4-3	0.00	0.25	1.14	2.22	0.03	0.19
Fermivin	0.00	0.02	3.55	0.28	0.00	0.19

라. 막걸리 전용 효모 4차 선발

3차 선발된 20균주를 대상으로 1,500mL 용량으로 멥쌀, 발효제(입국sp85), 효모(0.02%), 물을 넣고 25°C에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조한 후 멥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 술을 제조한 후 알코올 함량 6%로 막걸리를 제조하였다.

분석결과 원주의 알코올 함량은 14.5% 이상으로 모두 높게 나타났고 효모 113-9 이용술이 17.22%로 가장 높은 함량을 보였다. pH는 3.35-3.51, 총산은 0.63-0.83%로 나타났고 고형분 함량은 7.2-13.0%, 환원당은 2.14-14.62 mg/mL로 나타났다. 알코올 함량을 6%로 동일하게 희석한 막걸리의 pH는 3.15-3.33 수준을 보였고 고형분 함량은 2.8-4.6%, 총산은 0.22-0.37%, 환원당 함량은 1.43-5.49%를 나타내었다. 알코올 희석 전 덧술의 확인했던 차이는 물을 섞음으로써 그 특성의 격차가 줄어들어 획일화된 양상을 보였고 희석 급수량이 상대적으로 적어 환원당 함량이 5.49%로 가장 높게 나타나고 glucose 함량이 5.44 mg/mL로 높게 나타난 효모 111-5 막걸리는 과일향과 함께 관능특성이 우수하게 나타났다. 또한 신맛이 강하고 탄산미가 느껴지는 효모 141-1과 197-13 막걸리에서는 acetic acid가 검출되었고 특히 효모 141-1 막걸리에서는 상큼한 신맛인 citric acid가 1.42 mg/mL로 가장 높은 함량으로 나타났다.

표 23. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학적 특성

No.	Yeast	Alcohol(%)	pH	Total acid (%)	Soluble solid(Brix)	Reducing sugar (mg/mL)
1	64-5	15.00	3.47	0.78	10.00	5.62±0.12
2	98-2	16.20	3.38	0.66	7.20	2.83±0.19
3	98-3	16.38	3.46	0.63	9.50	3.15±0.02
4	98-5	16.45	3.45	0.67	9.80	2.75±0.03
5	111-5	15.25	3.48	0.67	11.80	14.62±0.36
6	113-8	16.99	3.49	0.68	9.50	2.44±0.03
7	113-9	17.22	3.43	0.71	9.60	2.22±0.05
8	126-2	16.95	3.35	0.74	9.60	2.43±0.05
9	141-1	14.54	3.42	0.83	13.00	14.10±0.10
10	157-1	16.58	3.51	0.62	10.10	3.21±0.10
11	172-6	16.35	3.49	0.71	9.80	2.55±0.01
12	183-2	16.02	3.43	0.77	10.00	2.14±0.02
13	192-4	17.07	3.51	0.68	9.50	2.34±0.07
14	197-12	16.12	3.43	0.77	10.30	3.46±0.03
15	197-13	15.11	3.43	0.80	11.40	10.50±0.03
16	263-4	16.34	3.35	0.83	10.00	2.22±0.19
17	268-1	16.51	3.48	0.71	9.50	2.88±0.26
18	272-7	16.57	3.46	0.68	9.60	2.70±0.02
19	274-2	16.31	3.48	0.71	9.70	2.89±0.20
20	H3-7	16.54	3.48	0.69	10.00	2.61±0.07

표 24. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유리당, 유기산 함량 (mg/mL)

No.	Yeast	Glucose	Sucrose	Maltose	Malic	Lactic	Acetic	Citric
1	64-5	6.66	0.26	0.49	0.08	0.39	1.94	3.31
2	98-2	1.92	0.46	0.83	0.08	0.62	3.11	3.43
3	98-3	3.17	0.20	0.46	0.19	0.40	1.99	3.49
4	98-5	2.28	0.29	0.76	0.34	0.20	0.99	3.56
5	111-5	14.48	0.27	0.49	0.19	0.27	-	3.81
6	113-8	1.51	0.28	0.61	0.20	0.22	1.08	3.62
7	113-9	1.30	0.30	0.55	0.28	0.23	1.16	3.70
8	126-2	1.43	0.36	0.72	0.20	0.08	0.42	3.67
9	141-1	15.78	0.43	0.65	0.16	0.21	1.07	3.96
10	157-1	2.87	0.28	-	0.21	0.40	-	3.22
11	172-6	1.74	0.30	-	0.19	0.45	-	3.74
12	183-2	3.73	0.31	-	0.10	0.13	0.66	4.05
13	192-4	1.26	0.30	-	0.15	0.20	-	3.62
14	197-12	0.76	0.32	-	0.10	0.14	0.70	4.22
15	197-13	10.96	0.35	-	0.11	-	-	4.36
16	263-4	2.99	0.21	-	0.37	0.15	0.76	3.86
17	268-1	1.49	0.13	-	0.14	0.17	0.83	4.11
18	272-7	1.90	0.16	-	0.20	0.19	0.93	4.26
19	274-2	2.00	0.22	-	0.19	0.14	0.70	3.92
20	H3-7	2.70	0.23	-	0.12	0.16	0.79	3.37

표 25. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 이화학 및 관능특성

Yeast	pH	SS ¹⁾ (%)	TA ²⁾ (%)	Alc (%)	RS ³⁾	관능특성(제성 직후)	관능특성 (25℃ 하루 숙성 후)
64-5	3.42	3.80	0.28	6.00	2.98±0.09	달콤한 막걸리 신향 단맛 적음 신맛 강함	청량한향, 신향, 신맛, 쓴맛
98-2	3.24	3.30	0.23	6.00	1.94±0.04	달콤한 냄새 상거움 신맛 단맛(후)	향 좋음 신맛 약함 짙음 쓴맛 약함 단맛 적음
98-3	3.32	3.10	0.23	6.00	1.93±0.09	달콤한 냄새, 단맛, 신맛 약간	단향, 멍멍함, 신맛 약함, 맛이
98-5	3.3	3.1	0.28	6%	1.98±0.08	요구르트 향, 단맛, 신맛, 맛있음	향 좋음 부드러운 신맛 약함 짙음 요구르트맛
111-5	3.33	4.2	0.24	6%	5.49±0.10	누룽지향과 맛 신맛끝에 살짝, 상큼	요구르트 향 과일향 단맛 약간 신맛 약함
113-8	3.31	2.9	0.22	6%	1.43±0.05	신 향, 짙음, 신맛, 무난한 맛	단 향 신맛 중간 단맛 짙음 멍멍함
113-9	3.28	2.8	0.22	6%	1.39±0.03	멍멍함, 깨끗함, 신맛	상큼한 향, 멍멍함, 신맛중간,
126-2	3.33	2.90	0.24	6.00	1.29±0.02	물맛 상거움, 신맛 향 약함, 멍멍	신 향
141-1	3.22	4.6	0.37	6%	3.96±0.11	누룩, 신맛 강함, 상큼, 꽃 향	탄산미, 신맛, 향 약함
157-1	3.3	3.1	0.22	6%	2.28±0.33	우유 향, 단 향, 신 향, 신맛, 짙음	향이 좋음 신맛 약함 부드러운 단맛 약간
172-6	3.28	3.10	0.24	6.00	1.73±0.07	단향, 달콤한 막걸리, 풀 향, 짙음	신맛중간 향 약함 쓰고 짙음
183-2	3.18	3.4	0.27	6%	1.79±0.09	포도 맛, 신맛	청량함, 부드러움 신맛 적당, 짙음
192-4	3.25	2.8	0.22	6%	1.81±0.08	신 향 신맛 멍멍함 맛이 약함 짙음	향 좋음, 멍멍함, 신맛 약함, 짙음
197-12	3.15	3.40	0.27	6.00	1.42±0.04	상큼한 신향, 신맛, 상큼, 꽃 향	신향, 신맛 중간, 단맛 약간
197-13	3.15	4	0.32	6%	3.01±0.17	누룽지 향, 단맛, 신 향, 꽃 향	향 좋음 탄산미 신맛 중간 단맛 약간
263-4	3.15	3.3	0.30	6%	2.01±0.08	신맛, 상큼, 우유 향	향 좋음, 짙음, 신맛 중간, 꽃 향
268-1	3.22	3.60	0.35	6.00	1.92±0.07	짙음, 신맛, 멍멍함	단맛, 약한 신맛, 짙음, 쓴맛
272-7	3.21	3.00	0.29	6.00	1.78±0.07	단향 신맛 약한 요구르트, 단맛 없음	멍멍함, 신맛 약함, 부드러움, 향 약함
274-2	3.22	3.10	0.24	6.00	2.03±0.16	참외 향, 신맛 약간, 처음만 짙음	단향, 단맛, 신맛 약함, 짙음
H3-7	3.19	3.10	0.24	6.00	1.79±0.16	밋밋함, 깔끔함, 상큼, 신맛적음, 부드러움, 짙음,	짙음, 신맛 중간

¹⁾Soluble solid, % Brix

²⁾Total acid, % citric acid

³⁾Reducing sugar, mg/mL

표 26. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 유기산 및 유리당 함량 (mg/mL)

Yeast	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic	Glucose	Sucrose
64-5		0.12	0.13	1.10	0.06	1.90	0.17
98-2	-	0.19	0.05	1.26	0.10	0.90	0.21
98-3	0.06	0.10	0.10	1.07	0.07	0.95	0.11
98-5	0.12	-	-	1.15	0.07	0.77	0.15
111-5	0.07	0.06	-	1.14	0.03	5.44	0.17
113-8	0.10	-	-	0.91	0.07	0.41	0.13
113-9	0.11	-	-	1.04	0.07	0.43	0.10
126-2	0.07	0.10	-	1.15	0.10	0.64	0.11
141-1	-	0.09	0.27	1.42	0.07	3.46	0.10
157-1	0.08	0.12	-	1.14	0.05	0.90	0.12
172-6	0.08	0.19	0.07	1.27	0.09	0.85	0.33
183-2	0.04	0.08	-	1.27	0.11	0.82	0.22
192-4	0.06	0.09	-	1.04	0.06	0.58	0.26
197-12	0.04	0.07	0.05	1.02	0.05	0.15	0.21
197-13	0.03	0.10	0.05	1.11	0.05	2.26	0.07
263-4	0.14	0.10	-	1.25	0.06	0.52	0.09
268-1	0.05	0.08	-	1.27	0.07	0.47	0.09
272-7	0.06	-	-	0.97	0.05	0.50	0.09
274-2	0.05	0.08	-	1.15	0.07	0.58	0.14
H3-7	0.05	0.23	0.05	1.01	0.05	0.74	0.16

검출된 휘발성 화합물은 ethyl acetate를 포함한 ester류 36종, acetic acid를 포함한 acid류 3종, ethanol을 포함한 alcohol류 11종, dodecanal을 포함한 aldehyde류 2종 그리고 기타 2종으로 54종이 확인되었다(표 13). Ethanol을 제외하고 hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 높은 면적비율로 나타나 실제적으로 막걸리의 바디감에서 오는 입안의 creamy한 특성을 확인할 수 있었다. 과일 향 특성을 갖는 ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl caprate는 효모 종류에 따라서 그 차이가 매우 두드러지게 나타났다. 또한, 향은 거의 없고 부드럽고 달콤한 oil특성을 나타내는 ethyl myristate와 ethyl oleate, ethyl linoleate와 같은 고급지방산이 주요한 성분으로 확인되었다.

표 27. 선발 효모 20균주 이용 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	64-5	98-2	98-3	98-5	111-5
1	2.531	<1000	Ethyl Acetate	0.438	0.241	0.353	-	0.144
2	2.876	<1000	Ethyl alcohol	14.325	21.351	18.653	15.863	19.106
3	4.381	1047	Propyl alcohol	0.433	0.186	0.123	0.093	0.024
4	5.548	1109	Butanoic acid, 2-methyl-	0.097	-	0.044	0.039	-
5	5.877	1122	Isoamyl acetate	0.265	0.047	0.281	0.127	0.166
6	8.447	1222	Ethyl caproate	0.198	-	2.798	2.146	-
7	8.624	1228	1-2-Methyl-1-butanol	0.894	1.424	0.202	-	1.944
8	8.738	1232	Isoamyl alcohol	2.099	-	-	0.203	-
9	10.875	1304	2-Butanone, 3-hydroxy-	0.921	0.125	0.059	-	0.072
10	13.485	1388	3-Ethoxy-1-propanol	0.151	0.046	0.035	0.226	0.033
11	14.849	1431	Ethyl caprylate	3.046	1.133	1.156	2.568	1.191
12	15.521	1453	Isoamyl caproate	0.028	-	-	0.275	-
13	15.736	1460	Acetic acid	0.123	0.058	0.061	0.047	0.024
14	17.457	1516	Octanoic acid, propyl ester	0.030	-	-	0.022	-
15	17.993	1534	Ethyl nonylate	0.172	0.066	0.077	0.052	0.086
16	18.381	1546	2,3-Butanediol	0.493	0.290	0.160	0.185	0.068
17	21.153	1640	Ethyl caprate	8.975	4.599	3.887	4.605	4.610
18	21.455	1650	Isoamyl caprylate	0.333	0.085	0.273	4.245	0.112
19	21.818	1663	Nonanoic acid, 5-methyl-, ethyl ester	0.083	-	0.007	0.304	-
20	22.67	1692	Ethyl 9-decenoate	0.024	-	-	-	-
21	23.24	1712	Dodecanal	0.056	-	-	-	-
22	23.542	1723	Decanoic acid, propyl ester	0.128	0.042	0.028	0.093	-
23	24.034	1741	Ethyl undecanoate	0.029	-	-	-	-
24	24.425	1755	Decanoic acid, isobutyl ester	0.144	0.035	0.053	0.144	0.047
25	26.331	1825	Acetic acid, phenethyl ester	2.902	0.547	2.478	1.225	1.883
26	27.118	1855	Ethyl laurate	7.513	5.084	4.071	7.145	4.668
27	27.486	1869	Isopentyldecanoate	0.472	0.180	0.210	0.582	0.256
28	28.83	1867	Phenylethyl alcohol	5.656	2.058	4.353	3.264	3.695
29	29.177	1921	Propyl laurate	0.098	0.026	0.047	0.086	0.036
30	29.944	1934	Isobutyl laurate	0.058	0.033	0.028	0.048	0.025
31	30.111	1965	1-Tridecanol	0.018	-	-	-	-
32	31.483	2027	2-Pentadecanone	0.041	0.031	0.038	0.038	0.033
33	32.36	2063	Ethyl myristate	10.963	11.202	11.256	10.048	11.087
34	32.623	2074	Isoamyl laurate	0.166	0.151	0.202	0.283	0.167
35	34.224	2142	Octadecanal	0.165	0.217	0.376	0.438	0.338
36	34.611	2158	Ethyl pentadecanoate	0.245	0.266	0.274	0.252	0.283
37	34.876	2170	n-Butylmyristate	0.182	0.161	0.193	0.160	0.175
38	36.441	2239	2-Hexadecanol	-	-	-	-	-
39	36.798	2255	Isopropyl Palmitate	0.057	-	-	-	-
40	37.281	2276	Hexadecanoic acid, ethyl ester	21.909	30.420	28.369	25.372	28.541
41	37.486	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	0.968	1.047	1.243	1.108	1.061
42	38.862	2340	Propyl hexadecanoate	0.126	-	-	-	-
43	39.214	2354	cis-Farnesol	0.058	-	-	-	-
44	39.286	2357	Ethyl heptadecanoate	0.040	-	-	-	-
45	39.568	2368	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	0.096	-	-	-	-
46	39.776	2376	1-Heptadecanol	0.123	-	-	-	-
47	40.303	2396	Ethyl stearate	0.765	-	-	-	-
48	40.575	2406	Palmitic acid	-	-	-	-	-
49	42.928	2489	Ethyl Oleate	5.435	9.433	8.707	8.363	9.111
50	44.269	>2500	Ethyl linoleate	8.023	9.415	9.906	10.352	11.014
51	45.589	>2500	Decanoic acid, decyl ester	0.042	-	-	-	-
52	47.25	>2500	Ethyl linolenate	0.188	-	-	-	-
53	52.296	>2500	Dibutyl phthalate	0.123	-	-	-	-
54	52.512	>2500	Tetradecanoic acid	0.081	-	-	-	-
				100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

표 27. 계속

	RT	RI	Compound	113-8	113-9	126-2	141-1	157-1
1	2.531	<1000	Ethyl Acetate	0.435	0.125	0.315	0.439	0.071
2	2.876	<1000	Ethyl alcohol	18.777	14.362	15.841	14.982	18.367
3	4.381	1047	Propyl alcohol	0.329	0.140	0.090	0.015	0.147
4	5.548	1109	Butanoic acid, 2-methyl-	0.038	-	0.048	-	0.050
5	5.877	1122	Isoamyl acetate	0.120	0.107	0.096	0.073	0.121
6	8.447	1222	Ethyl caproate	0.412	-	0.827	1.413	0.106
7	8.624	1228	1-2-Methyl-1-butanol	2.265	1.897	1.697	-	0.489
8	8.738	1232	Isoamyl alcohol	-	-	-	0.044	2.225
9	10.875	1304	2-Butanone, 3-hydroxy-	-	-	-	0.020	0.037
10	13.485	1388	3-Ethoxy-1-propanol	0.166	0.170	-	-	0.078
11	14.849	1431	Ethyl caprylate	1.446	1.503	2.056	0.276	1.800
12	15.521	1453	Isoamyl caproate	-	-	-	-	-
13	15.736	1460	Acetic acid	0.030	0.030	0.079	0.169	0.028
14	17.457	1516	Octanoic acid, propyl ester	-	-	-	-	-
15	17.993	1534	Ethyl nonylate	0.076	0.057	0.092	0.058	0.069
16	18.381	1546	2,3-Butanediol	0.101	0.126	0.112	0.070	0.272
17	21.153	1640	Ethyl caprate	4.694	5.391	5.996	0.926	6.251
18	21.455	1650	Isoamyl caprylate	0.127	0.147	0.226	-	0.176
19	21.818	1663	Nonanoic acid, 5-methyl-, ethyl ester	-	-	0.018	-	0.055
20	22.67	1692	Ethyl 9-decenoate	-	-	0.017	-	-
21	23.24	1712	Dodecanal	-	0.022	-	-	-
22	23.542	1723	Decanoic acid, propyl ester	-	0.041	-	0.026	0.064
23	24.034	1741	Ethyl undecanoate	-	-	-	-	-
24	24.425	1755	Decanoic acid, isobutyl ester	0.034	0.060	0.045	-	0.083
25	26.331	1825	Acetic acid, phenethyl ester	0.842	1.245	0.447	0.844	0.959
26	27.118	1855	Ethyl laurate	3.701	5.352	4.578	1.623	6.173
27	27.486	1869	Isopentyldecanoate	0.244	0.370	0.234	0.033	0.341
28	28.83	1867	Phenylethyl alcohol	2.778	3.064	3.000	1.935	4.156
29	29.177	1921	Propyl laurate	0.040	0.064	0.031	-	0.069
30	29.944	1934	Isobutyl laurate	-	0.034	0.017	-	0.040
31	30.111	1965	1-Tridecanol	-	-	-	-	-
32	31.483	2027	2-Pentadecanone	0.035	0.033	0.039	0.038	0.038
33	32.36	2063	Ethyl myristate	8.948	9.718	9.821	12.158	9.906
34	32.623	2074	Isoamyl laurate	0.141	0.207	0.102	0.173	0.185
35	34.224	2142	Octadecanal	0.222	0.281	0.096	0.175	0.498
36	34.611	2158	Ethyl pentadecanoate	0.264	0.280	0.296	0.477	0.254
37	34.876	2170	n-Butylmyristate	0.150	0.163	0.156	0.210	0.157
38	36.441	2239	2-Hexadecanol	-	-	-	0.021	-
39	36.798	2255	Isopropyl Palmitate	-	-	-	-	-
40	37.281	2276	Hexadecanoic acid, ethyl ester	29.964	31.125	28.675	33.222	27.138
41	37.486	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	1.018	1.071	1.183	1.452	1.059
42	38.862	2340	Propyl hexadecanoate	-	-	-	-	-
43	39.214	2354	cis-Farnesol	-	-	-	-	-
44	39.286	2357	Ethyl heptadecanoate	-	-	-	-	-
45	39.568	2368	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	-	-	-	-	-
46	39.776	2376	1-Heptadecanol	-	-	-	-	-
47	40.303	2396	Ethyl stearate	-	-	-	-	-
48	40.575	2406	Palmitic acid	-	-	-	-	-
49	42.928	2489	Ethyl Oleate	10.301	10.604	10.814	13.317	8.487
50	44.269	>2500	Ethyl linoleate	12.302	12.213	12.956	15.812	10.052
51	45.589	>2500	Decanoic acid, decyl ester	-	-	-	-	-
52	47.25	>2500	Ethyl linolenate	-	-	-	-	-
53	52.296	>2500	Dibutyl phthalate	-	-	-	-	-
54	52.512	>2500	Tetradecanoic acid	-	-	-	-	-
				100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

표 27. 계속

	RT	RI	Compound	172-6	183-2	192-4	197-12	197-13
1	2.531	<1000	Ethyl Acetate	-	0.073	0.212	0.420	1.243
2	2.876	<1000	Ethyl alcohol	15.578	12.703	17.010	17.183	13.467
3	4.381	1047	Propyl alcohol	0.145	-	-	0.020	0.053
4	5.548	1109	Butanoic acid, 2-methyl-	-	-	-	-	0.069
5	5.877	1122	Isoamyl acetate	0.102	0.095	0.072	0.052	0.182
6	8.447	1222	Ethyl caproate	1.677	1.215	1.655	0.536	0.636
7	8.624	1228	1-2-Methyl-1-butanol	0.117	0.205	-	0.895	2.176
8	8.738	1232	Isoamyl alcohol	-	-	0.068	-	-
9	10.875	1304	2-Butanone, 3-hydroxy-	-	-	-	-	0.097
10	13.485	1388	3-Ethoxy-1-propanol	0.118	0.017	-	-	-
11	14.849	1431	Ethyl caprylate	1.757	1.654	0.784	0.274	-
12	15.521	1453	Isoamyl caproate	-	-	-	-	-
13	15.736	1460	Acetic acid	0.040	0.086	-	0.187	1.018
14	17.457	1516	Octanoic acid, propyl ester	-	-	-	-	-
15	17.993	1534	Ethyl nonylate	0.061	0.053	0.048	0.042	-
16	18.381	1546	2,3-Butanediol	0.200	0.539	0.042	0.127	0.427
17	21.153	1640	Ethyl caprate	5.785	5.161	2.678	1.082	-
18	21.455	1650	Isoamyl caprylate	0.118	0.121	0.530	0.029	0.035
19	21.818	1663	Nonanoic acid, 5-methyl-, ethyl ester	0.068	0.007	-	-	-
20	22.67	1692	Ethyl 9-decenoate	-	0.018	-	-	-
21	23.24	1712	Dodecanal	-	-	-	-	-
22	23.542	1723	Decanoic acid, propyl ester	0.061	-	-	0.034	0.057
23	24.034	1741	Ethyl undecanoate	-	-	-	-	-
24	24.425	1755	Decanoic acid, isobutyl ester	0.061	0.056	0.022	-	-
25	26.331	1825	Acetic acid, phenethyl ester	0.952	0.685	0.596	0.540	1.415
26	27.118	1855	Ethyl laurate	4.976	4.666	2.760	1.745	0.550
27	27.486	1869	Isopentyldecanoate	0.373	0.361	0.181	0.049	0.030
28	28.83	1867	Phenylethyl alcohol	2.901	2.655	3.283	2.117	3.488
29	29.177	1921	Propyl laurate	0.060	0.032	0.042	-	-
30	29.944	1934	Isobutyl laurate	0.028	0.029	-	-	-
31	30.111	1965	1-Tridecanol	-	-	-	-	-
32	31.483	2027	2-Pentadecanone	0.039	0.039	0.040	0.034	0.032
33	32.36	2063	Ethyl myristate	9.916	9.787	9.992	11.118	11.285
34	32.623	2074	Isoamyl laurate	0.190	0.131	0.179	0.124	0.116
35	34.224	2142	Octadecanal	0.220	0.145	0.204	0.197	0.105
36	34.611	2158	Ethyl pentadecanoate	0.314	0.322	0.337	0.447	0.384
37	34.876	2170	n-Butylmyristate	0.177	0.187	0.170	0.201	0.167
38	36.441	2239	2-Hexadecanol	-	-	0.062	-	-
39	36.798	2255	Isopropyl Palmitate	-	-	-	-	-
40	37.281	2276	Hexadecanoic acid, ethyl ester	29.053	31.054	30.802	33.312	34.319
41	37.486	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	1.450	1.580	1.238	1.385	1.398
42	38.862	2340	Propyl hexadecanoate	-	-	0.107	-	-
43	39.214	2354	cis-Farnesol	-	-	-	-	-
44	39.286	2357	Ethyl heptadecanoate	-	-	0.142	-	-
45	39.568	2368	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	-	-	0.136	-	-
46	39.776	2376	1-Heptadecanol	-	-	0.184	-	-
47	40.303	2396	Ethyl stearate	-	-	0.504	-	-
48	40.575	2406	Palmitic acid	-	-	-	-	-
49	42.928	2489	Ethyl Oleate	10.245	12.023	10.840	13.456	12.967
50	44.269	>2500	Ethyl linoleate	13.216	14.301	14.033	14.392	14.285
51	45.589	>2500	Decanoic acid, decyl ester	-	-	-	-	-
52	47.25	>2500	Ethyl linolenate	-	-	1.026	-	-
53	52.296	>2500	Dibutyl phthalate	-	-	-	-	-
54	52.512	>2500	Tetradecanoic acid	-	-	0.018	-	-
				100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

표 27. 계속

	RT	RI	Compound	263-4	268-1	272-7	274-2	H3-7
1	2.531	<1000	Ethyl Acetate	0.163	0.103	0.389	0.176	-
2	2.876	<1000	Ethyl alcohol	7.144	16.358	17.747	15.982	15.720
3	4.381	1047	Propyl alcohol	-	0.041	0.202	0.047	0.209
4	5.548	1109	Butanoic acid, 2-methyl-	-	0.050	0.112	0.022	-
5	5.877	1122	Isoamyl acetate	0.159	0.121	0.204	0.128	0.065
6	8.447	1222	Ethyl caproate	1.817	1.943	1.105	2.010	1.524
7	8.624	1228	1-2-Methyl-1-butanol	0.078	0.059	2.474	-	-
8	8.738	1232	Isoamyl alcohol	-	-	-	0.142	0.121
9	10.875	1304	2-Butanone, 3-hydroxy-	-	-	0.059	-	-
10	13.485	1388	3-Ethoxy-1-propanol	0.033	0.066	0.100	0.064	0.094
11	14.849	1431	Ethyl caprylate	1.186	0.886	1.625	1.861	1.758
12	15.521	1453	Isoamyl caproate	-	-	-	-	-
13	15.736	1460	Acetic acid	0.114	-	0.026	0.023	0.030
14	17.457	1516	Octanoic acid, propyl ester	-	-	-	-	0.019
15	17.993	1534	Ethyl nonylate	0.073	-	0.085	0.047	0.043
16	18.381	1546	2,3-Butanediol	0.112	3.639	0.127	0.246	0.234
17	21.153	1640	Ethyl caprate	4.135	3.624	5.010	5.908	6.343
18	21.455	1650	Isoamyl caprylate	0.082	0.052	0.162	0.114	0.086
19	21.818	1663	Nonanoic acid, 5-methyl-, ethyl ester	0.032	0.031	0.050	0.067	0.090
20	22.67	1692	Ethyl 9-decenoate	-	-	-	-	-
21	23.24	1712	Dodecanal	-	-	-	-	-
22	23.542	1723	Decanoic acid, propyl ester	0.024	0.030	0.045	0.026	0.091
23	24.034	1741	Ethyl undecanoate	-	-	-	0.031	0.026
24	24.425	1755	Decanoic acid, isobutyl ester	0.054	0.046	0.065	0.079	0.080
25	26.331	1825	Acetic acid, phenethyl ester	1.487	0.979	1.143	1.024	0.471
26	27.118	1855	Ethyl laurate	4.720	3.450	4.079	5.564	5.702
27	27.486	1869	Isopentyldecanoate	0.264	0.203	0.276	0.453	0.337
28	28.83	1867	Phenylethyl alcohol	2.813	3.327	3.853	2.385	1.490
29	29.177	1921	Propyl laurate	-	0.054	0.055	0.013	0.073
30	29.944	1934	Isobutyl laurate	0.037	0.026	0.028	0.044	0.041
31	30.111	1965	1-Tridecanol	-	-	-	-	-
32	31.483	2027	2-Pentadecanone	0.041	0.035	0.039	0.034	0.035
33	32.36	2063	Ethyl myristate	12.195	8.527	9.138	9.497	9.963
34	32.623	2074	Isoamyl laurate	0.207	0.180	0.154	0.228	0.245
35	34.224	2142	Octadecanal	0.150	0.415	0.542	0.281	0.350
36	34.611	2158	Ethyl pentadecanoate	0.405	0.257	0.270	0.314	0.315
37	34.876	2170	n-Butylmyristate	0.222	0.159	0.171	0.182	0.182
38	36.441	2239	2-Hexadecanol	-	0.069	-	-	-
39	36.798	2255	Isopropyl Palmitate	-	-	-	-	-
40	37.281	2276	Hexadecanoic acid, ethyl ester	34.718	27.791	28.154	28.181	28.322
41	37.486	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	1.461	1.081	1.230	1.677	1.485
42	38.862	2340	Propyl hexadecanoate	-	0.198	-	-	-
43	39.214	2354	cis-Farnesol	-	0.036	-	-	-
44	39.286	2357	Ethyl heptadecanoate	-	0.099	-	-	-
45	39.568	2368	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	-	0.224	-	-	-
46	39.776	2376	1-Heptadecanol	-	0.524	-	-	-
47	40.303	2396	Ethyl stearate	-	1.899	-	-	-
48	40.575	2406	Palmitic acid	-	0.359	-	-	-
49	42.928	2489	Ethyl Oleate	12.731	9.671	9.567	9.974	10.759
50	44.269	>2500	Ethyl linoleate	13.343	12.983	11.713	13.175	13.699
51	45.589	>2500	Decanoic acid, decyl ester	-	-	-	-	-
52	47.25	>2500	Ethyl linolenate	-	0.348	-	-	-
53	52.296	>2500	Dibutyl phthalate	-	-	-	-	-
54	52.512	>2500	Tetradecanoic acid	-	0.015	-	-	-
				100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

1) Not detected.

선발된 20균주 이용 막걸리의 휘발성 향기성분 분석결과를 주성분 분석(principal component analysis, PCA)한 결과는 그림 16에 나타내었다. 주성분 분석결과는 그림에서 보여지는 바와 같이 첫 번째, 두 번째 주성분(PC1, 2)은 전체 데이터 편차의 33.6%와 18.2%를 각각 대표하고 있다. 휘발성 향기성분의 분포를 보면 PC2상의 위쪽으로 alcohol류가 아래쪽으로 ethyl acetate류가 나타나 대비를 나타냈다. 관능특성 조사결과 단맛, 단 향, 신맛, 쓴맛, 탄산미가 조화를 이루는 맛 좋은 효모로 5균주(98-5, 111-5, 183-2, 197-13, 263-4)를 선별하였고 고알코올 생성 효모로 알코올 함량 17.7%이상인 113-8, 113-9, 126-2, 192-4 4균주를 선별하였다. 추가적으로 과일 향을 생성하는 균주로 2균주(111-5, 263-4)를 선별하였다. 과일 향과 맛 좋은 특성 모두를 만족하는 효모는 111-5와 263-4 2균주로 나타났고 신맛, 탄산미의 조화와 맛 좋은 특성을 만족하는 효모는 197-13으로 나타났다. 선발된 20균주는 이전에 수행했던 연구 과제 결과인 찹쌀을 이용한 약주용 효모 10균주와 일치하는 것이 1균주 밖에 나타나지 않았고 술을 만드는 원료와 발효제에 따라 균주의 발효특성이 확연히 달라지는 결과를 확인할 수 있었다.

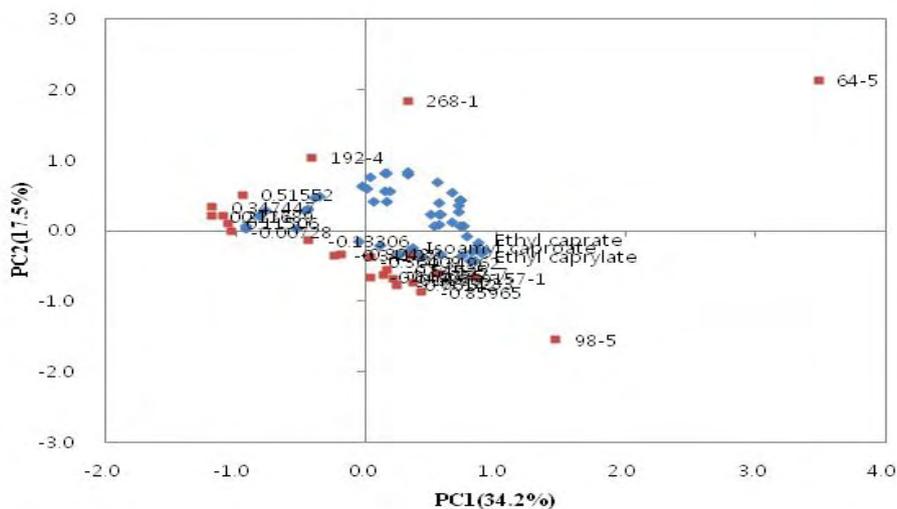


그림 16. 선발효모 20균주의 휘발성 향기성분 결과의 주성분 분석

마. 선발효모의 양조 특성

(1) 선발효모를 이용한 발효제별 양조적성

선발 20균주를 대상으로 1,500mL 용량으로 멥쌀, 효모(0.02%), 물 그리고 발효제는 입국 외에 증자용 조효소(sp1800), 무증자용 조효소(sp1800), 누룩(300sp)을 각각 사용하고 25℃에서 2일 동안 발효하여 밀술을 제조하고 멥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 20균주 효모의 발효제별 양조적성을 분석하였다.

발효제로 증자용 조효소를 사용한 술의 알코올 함량은 8.8-16.0%로 나타났고 효모 172-6이 16%로 가장 높은 함량을 보였다. pH는 3.1-4.12로 나타났고 효모 274-2가 가장 높았으며 총산은 0.14-0.65%로 효모간의 차이가 매우 크게 나타났고 pH가 가장 높았던 효모

274-2가 0.14%로 가장 낮게 나타났다. 고형분 함량은 6.6-9.1%로 나타났고 효모 141-1이 가장 높았으며 환원당은 4.59-20.93 mg/mL로 효모간 차이가 두드러졌고 263-4가 가장 높은 함량으로 나타났다. 유리당 glucose 함량은 환원당 함량과 정의 상관관계를 보였고 유기산 중 입국이 용 술에서는 검출되지 않았던 쓴맛을 나타내는 oxalic acid가 0.14-0.58 mg/mL로 검출되었으며 그 함량이 적은 술의 관능특성이 좋게 나타났다. 특히 oxalic acid 함량이 가장 적고 또한 acetic acid가 0.05 mg/mL로 가장 적게 검출된 효모 157-1 술이 달콤한 과일 향과 맛이 나서 가장 좋게 나타났고 전체적으로 모든 술에서 쓴맛이 느껴졌다.

표 28. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 증자용조효소)

Yeast No.	Alcohol (%)	pH	Total acid (%)	Soluble solid (Brix, %)	Reducing sugar (mg/mL)	관능 특성
64-5	15.20	3.93	0.16	7.20	4.74±0.48	쓴맛, 단맛, 알코올 향
98-2	11.00	3.90	0.15	7.00	5.57±0.19	신향, 쓴맛 강함, 단맛 약간
98-3	14.20	3.80	0.18	6.90	5.18±0.18	쓴맛 강함, 단맛 약간
98-5	15.80	3.79	0.19	7.60	5.78±0.05	막걸리 향 고소한 맛 끝에 신맛 짙은 맛 쓴맛 약간 알코올 향
111-5	15.60	3.92	0.16	7.00	5.32±0.21	단맛 알코올 향 쓴맛 강함 짙은 맛 탄산 신맛 강함
113-8	15.00	3.88	0.18	6.70	4.55±0.34	신맛, 짙은 맛, 알코올 향 강함, 쓴맛 약간
113-9	8.80	3.99	0.18	7.10	5.05±0.40	요구르트 신맛 약간 결착한 느낌 알코올 향 짙은 맛 쓴맛 꼭물 향
126-2	14.00	3.59	0.19	7.40	8.39±0.07	쓴맛 강함, 알코올 향
141-1	11.80	3.27	0.67	9.10	14.37±0.79	사이다 맛, 신맛, 탄산 강함, 알코올 향
157-1	11.60	3.93	0.16	6.80	4.54±0.10	과일 향 달콤한 과일 맛 단맛, 쓴맛, 짙은 맛
172-6	16.00	3.95	0.17	6.90	5.00±0.26	꼭물 향 단맛 약간 신맛 강한 쓴맛 알코올 향 약간
183-2	15.20	3.69	0.15	6.80	5.61±0.34	싱거움, 탄산 약간, 쓴맛 강함
192-4	15.00	3.68	0.18	6.60	8.59±0.20	단맛 강함, 쓴맛 신맛 강함, 알코올 향 강함
197-12	11.20	3.10	0.60	8.50	18.78±0.97	신맛, 결착함, 살짝 짙음, 단맛 약간, 탄산 조금
197-13	10.80	3.25	0.63	8.90	16.48±0.59	신맛 특 짙은 맛 단맛 약간 강함 신맛 단맛
263-4	10.40	3.09	0.65	8.80	20.93±0.72	신맛, 사이다 맛, 단맛
268-1	15.40	3.82	0.17	7.30	6.13±0.12	신향, 쓴맛 강함, 단맛 약함, 신맛 약함
272-7	14.00	3.83	0.17	7.00	6.09±0.22	쓴맛, 알코올 향 강함
274-2	15.20	4.12	0.14	6.70	4.59±0.24	알코올 향, 쓴맛 강함, 누룽지 맛
H3-7	15.20	3.85	0.22	7.90	8.47±0.52	신맛, 쓴맛 강함, 단맛, 알코올 향

표 29. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유리당 함량 (mg/mL) (발효제: 증자용조효소)

Yeast No.	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
64-5	0.28	0.66	0.19	0.37
98-2	0.22	1.17	0.20	0.38
98-3	0.20	2.33	0.20	0.37
98-5	0.25	1.96	0.22	-
111-5	0.02	0.05	0.19	-
113-8	0.21	1.18	0.26	-
113-9	0.23	0.70	0.25	-
126-2	0.23	3.60	0.21	-
141-1	1.92	5.19	0.24	-
157-1	0.22	0.55	0.24	-
172-6	0.46	1.02	0.25	-
183-2	0.29	3.20	0.23	-
192-4	0.23	2.67	0.20	-
197-12	1.74	4.48	0.19	0.80
197-13	2.39	4.81	0.20	0.81
263-4	1.51	6.39	0.24	0.82
268-1	0.23	1.44	0.21	0.37
272-7	0.27	1.48	0.21	0.44
274-2	0.24	0.44	0.25	-
H3-7	0.21	2.88	0.25	-

표 30. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 증자용조효소)

Yeast No.	Oxalic	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
64-5	0.56	0.03	0.62	0.46	0.24	0.19
98-2	0.53	0.06	0.75	0.34	0.20	0.11
98-3	0.58	0.17	0.57	0.20	0.32	0.20
98-5	0.57	0.20	0.78	0.16	0.12	0.22
111-5	0.22	0.06	0.77	0.20	0.26	0.24
113-8	0.27	0.07	0.35	0.21	0.29	0.23
113-9	0.26	0.14	0.44	0.17	0.30	0.23
126-2	0.26	0.99	0.43	0.40	0.31	0.35
141-1	0.18	0.79	4.52	0.35	0.11	0.21
157-1	0.14	0.19	0.46	0.05	0.25	0.17
172-6	0.28	0.10	0.43	0.21	0.28	0.28
183-2	0.24	0.08	0.30	0.16	0.18	0.23
192-4	0.28	0.09	0.22	0.17	0.14	0.24
197-12	0.25	0.73	4.32	0.32	0.11	0.26
197-13	0.22	0.69	4.53	0.38	0.05	0.22
263-4	0.18	0.51	4.41	0.21	0.17	0.29
268-1	0.17	0.17	0.69	0.19	0.35	0.31
272-7	0.16	0.27	0.74	0.29	0.32	0.26
274-2	0.18	0.09	0.39	0.18	0.26	0.31
H3-7	0.17	0.19	0.55	0.10	0.11	0.27

발효제로 무증자용 조효소를 사용한 술의 알코올 함량은 8.0-17.2%로 나타났고 효모 113-9가 17.2%로 가장 높은 함량을 보였다. pH는 3.18-4.2로 나타났고 효모 263-4가 가장 낮았으며 총산은 0.19-0.89%로 효모간의 차이가 매우 크게 나타났고 효모 126-2가 0.19%로 가장 낮게 나타났다. 고형분 함량은 6.1-9.0%로 나타났고 효모 157-1이 가장 높았으며 환원당은 3.47-12.77 mg/mL로 효모간 차이가 두드러졌고 고형분 함량이 가장 높았던 효모 157-1이 가장 높은 함량으로 나타났다. 유리당 glucose 함량은 환원당 함량과 정의 상관관계를 보였고 유기산 중 입국이용 술에서는 검출되지 않았던 쓴맛을 나타내는 oxalic acid가 증자용 조효소 사용 술과 마찬가지로 0.14-0.54 mg/mL로 검출되었으며 그 함량이 적은 술에서 단맛을 약간 느낄 수 있었다. 전반적으로 신맛과 쓴맛이 강하게 느껴져 막걸리 제조용 발효제로는 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

표 31. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 무증자용조효소)

Yeast No.	Alcohol (%)	pH	Total acid (%)	Soluble solid (Brix, %)	Reducing sugar (mg/mL)	관능 특성
64-5	16.00	4.20	0.22	8.10	3.74±0.22	신향, 단향, 탄산미, 쓴맛, 알코올 향
90-3	7.70	3.55	0.77	6.50	7.48±0.32	신맛 강함, 단맛 약함, 무향
98-2	15.00	4.06	0.18	6.60	5.51±0.31	요구르트 향, 막걸리향, 알코올 강함, 쓴맛
98-3	15.80	4.02	0.22	8.30	4.67±0.12	요구르트 향, 상큼한향, 알코올 맛, 탄산미 조금, 쓴맛
98-5	14.80	3.93	0.25	7.70	6.19±0.67	신맛 강함, 짙은 맛 후 단맛, 요구르트, 쓴맛 강함, 가벼운 느낌, 알코올
111-5	17.00	4.11	0.22	8.60	3.73±0.37	단맛 강함, 누룽지향, 신맛, 쓴맛 강함, 알코올 향, 가벼움
113-8	15.80	4.01	0.24	7.90	5.05±0.31	신맛 강함, 특소한 느낌, 강함, 알코올향이 강함, 단맛 약간, 청주향
113-9	17.20	3.97	0.25	8.50	4.20±0.13	향이 약함, 쓴맛 강함, 알코올 향 오래 남음, 청주향
125-7	9.20	3.48	0.24	6.70	4.86±0.70	신맛 강함, 탄산미, 단맛, 쓴맛 약간
126-2	13.10	3.99	0.19	7.70	4.94±0.08	쓴맛 강함, 단맛 약함, 신맛 약함
132-4	7.00	3.45	0.80	6.20	8.38±1.13	신맛, 단맛, 누룽지맛
133-6	7.80	3.42	0.85	6.20	9.21±0.16	신맛, 단맛
141-1	10.00	3.52	0.69	6.70	7.28±0.14	신맛, 부패취, 탄산 약간, 이취 강함
157-1	8.50	4.13	0.20	9.00	12.77±0.44	누룽지향, 단맛 매우 강함, 적당히 결죽, 쓴맛, 신맛 강함, 탄산
166-10	13.80	3.43	0.25	6.80	6.97±0.23	신맛, 짙은 맛, 단맛
172-6	15.10	3.79	0.28	7.80	4.60±0.56	누룽지향 강함, 단맛, 멍멍함, 신맛 조금, 쓴맛 강함, 알코올 향
183-2	15.80	3.98	0.22	7.70	5.87±0.48	사이다 맛, 끝맛 짙음, 쓴맛, 신맛 강함, 탄산 조금
192-4	15.60	3.95	0.24	7.40	5.35±0.31	요구르트 단맛, 결죽, 알코올 향 강함, 신맛 강함, 과일 향
197-12	8.00	3.34	0.89	6.10	3.47±0.31	신맛 강함, 식초 맛, 이취
197-13	6.90	3.43	0.80	6.40	5.12±0.57	신맛, 요구르트, 단맛
263-4	6.80	3.18	0.48	6.50	6.26±0.40	신맛 강함, 복숭아맛, 알코올 향, 단맛 약간, 쓴맛
268-1	16.80	3.93	0.25	7.70	3.53±0.02	쓴맛 강함, 단맛 약간
272-7	14.80	3.96	0.22	7.90	3.75±0.24	알코올 향 강함, 쓴맛 강함, 약맛
274-2	11.10	3.98	0.20	7.80	3.49±0.26	쓴맛 강함, 알코올 향, 약맛
H3-7	16.60	3.73	0.31	7.90	5.21±0.50	쓴맛 강함, 향 약함

표 32. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유리당 함량 (mg/mL) (발효제: 무증자용조효소)

Yeast No.	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
64-5	0.07	1.03	0.29	0.46
98-2	0.04	2.28	0.29	0.39
98-3	0.06	1.22	0.26	0.39
98-5	0.05	1.17	0.25	0.45
111-5	0.07	1.12	0.28	0.37
113-8	0.06	1.14	0.25	0.39
113-9	0.07	0.84	0.20	0.43
126-2	0.04	1.03	0.23	0.39
141-1	0.64	1.75	0.30	0.39
157-1	0.10	10.06	0.35	-
172-6	0.51	0.93	0.27	0.39
183-2	0.27	0.78	0.22	0.38
192-4	0.34	0.74	0.28	0.38
197-12	0.72	1.56	0.39	0.40
197-13	1.31	2.40	0.45	0.42
263-4	0.57	1.81	0.34	-
268-1	0.26	0.88	0.38	0.39
272-7	0.17	1.17	0.40	0.37
274-2	0.21	1.10	0.36	0.37
H3-7	0.17	1.75	0.35	0.36

표 33. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 무증자용조효소)

Yeast No.	Oxalic	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
64-5	0.50	0.05	0.71	0.63	0.16	0.14
98-2	0.47	0.11	1.06	0.26	0.27	0.19
98-3	0.49	0.21	1.10	0.02	0.53	0.24
98-5	0.47	0.09	1.63	0.18	0.13	0.17
111-5	0.25	0.14	0.80	0.12	0.02	0.17
113-8	0.23	0.04	0.62	0.12	0.27	0.12
113-9	0.22	0.60	1.13	0.18	0.43	0.19
126-2	0.24	0.15	0.36	0.30	0.25	0.20
141-1	0.54	0.34	10.42	0.44	0.10	0.22
157-1	0.48	0.04	1.70	0.20	0.81	0.16
172-6	0.21	0.22	0.72	0.18	0.38	0.16
183-2	0.24	0.14	0.49	0.11	0.31	0.18
192-4	0.25	-	0.57	0.18	0.16	0.14
197-12	0.23	0.25	7.56	0.48	0.04	0.11
197-13	0.23	0.19	5.23	0.48	0.11	0.16
263-4	0.14	0.15	8.78	0.39	0.03	0.21
268-1	0.14	0.13	1.29	0.42	0.49	0.17
272-7	0.16	0.19	0.60	0.22	0.58	0.16
274-2	0.18	0.08	0.51	0.23	0.34	0.15
H3-7	0.08	0.37	1.12	0.55	0.36	0.16

발효제로 누룩을 사용한 술의 알코올 함량은 9.59-14.88%로 나타났고 효모 98-5가 14.88%로 가장 높은 함량을 보였다. pH는 3.28-4.21로 나타났고 효모 197-13이 가장 낮았으며 총산은 0.14-0.86%로 효모간의 차이가 매우 크게 나타났고 pH가 가장 낮았던 효모 197-13이 0.86%로 가장 높게 나타났다. 고형분 함량은 7.7-10.3%로 나타났고 효모 263-4가 가장 높았으며 환원당은 3.32-20.05 mg/mL로 효모간 차이가 두드러졌고 고형분 함량이 가장 높았던 효모 263-4가 가장 높은 함량으로 나타났다. 유기산 중 쓴맛을 나타내는 oxalic acid는 검출되지 않았으며 전반적으로 누룩 냄새가 강하게 느껴져 막걸리 제조용 발효제로는 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

표 34. 선발 효모 20균주 이용 원주의 이화학 및 관능특성 (발효제: 누룩)

Yeast No.	Alcohol (%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)	Reducing sugar (mg/mL)	관능특성
64-5	14.51	4.21	8.30	0.14	8.46±0.12	느끼한 맛, 산패취 쓴맛, 누룩맛
98-2	14.48	4.05	8.20	0.17	6.99±0.24	알코올 향 강함, 이취, 뽀음, 맑음
98-3	13.97	3.79	8.30	0.19	11.22±0.19	발효유냄새, 단맛, 쓴맛,
98-5	14.88	4.15	8.50	0.19	6.68±0.10	이취, 뽀고, 유기용매 향 맑음
111-5	10.78	4.00	8.50	0.14	10.01±0.25	누룩취, 알코올, 쿼퀴한맛, 누룩맛
113-8	14.48	3.86	8.20	0.19	7.03±0.55	단맛, 신향, 탄산향, 쓴맛
113-9	13.76	4.00	8.40	0.16	9.52±0.14	알코올 향, 단맛, 텁텁함
126-2	12.93	3.56	8.10	0.27	12.30±0.15	과일 향, 누룩맛, 단맛, 쓴맛, 밋밋함
132-4	10.57	3.66	9.60	0.56	9.31±0.11	탄산, 단맛, 신맛, 과일향
141-1	9.94	3.36	9.70	0.63	12.22±0.25	쓴맛, 강한신맛, 향 나쁨
157-1	14.02	3.96	7.90	0.15	6.28±0.08	향 좋음, 약맛 쓴맛, 누룩, 약한 단맛
172-6	12.14	4.02	8.40	0.19	2.50±0.03	약주 향맛, 단맛, 쓴맛, 밋밋함, 맑음
183-2	9.97	3.71	8.70	0.21	13.72±0.06	탄산, 알코올, 신향, 단맛, 쓴맛
192-4	12.21	3.55	8.30	0.22	3.32±0.02	향 약함, 쓴맛, 멍멍함, 부드러움
197-12	11.03	3.44	8.70	0.49	12.23±0.11	신맛 강함, 뽀은맛, 알코올 향
197-13	9.59	3.28	8.60	0.86	15.92±0.09	진주곡자향, 진주곡자맛, 쓴내, 신맛
263-4	10.32	3.71	10.30	0.64	20.05±0.39	배향, 꽃향, 배맛, 단맛, 살짝 뽀은맛
268-1	14.25	3.98	7.70	0.16	7.37±0.17	누룩 향, 누룩맛
270-12	13.62	3.98	7.80	0.15	7.25±0.18	향이 약함, 쓴맛, 약맛
274-2	12.78	4.13	7.90	0.16	7.35±0.05	요구르트향, 멍멍함, 쓴맛, 뽀음
H3-7	12.30	3.98	8.20	0.21	7.65±0.41	이취, 단맛, 멍멍함

표 35. 선발 효모 20균주 이용 원주의 유기산 함량 (mg/mL) (발효제: 누룩)

Yeast No.	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
64-5	0.08	0.50	0.31	0.06	0.05
98-2	0.14	1.92	0.31	0.00	0.12
98-3	0.02	0.24	0.12	0.02	0.14
98-5	0.16	1.37	0.18	0.13	0.19
111-5	0.16	2.19	0.73	0.00	0.10
113-8	0.14	2.09	0.56	0.00	0.19
113-9	0.07	0.26	0.10	0.00	0.21
126-2	0.02	0.53	0.16	0.00	0.24
141-1	0.02	4.98	0.63	0.00	0.08
157-1	0.10	1.23	0.16	0.08	0.04
172-6	0.13	1.73	0.15	0.00	0.23
183-2	0.02	0.62	0.06	0.02	0.27
192-4	0.02	0.72	0.24	0.01	0.12
197-12	0.02	2.85	0.39	0.00	0.12
197-13	0.02	3.51	0.11	0.00	0.10
263-4	0.34	10.03	1.24	0.00	0.27
268-1	0.02	0.79	0.10	0.02	0.22
272-7	0.02	0.02	0.02	0.03	0.14
274-2	0.02	0.40	0.10	0.00	0.12
H3-7	0.02	0.93	0.18	0.00	0.24

(2) 선발효모를 이용한 원료별 양조적성

효모 111-5와 98-5를 대상으로 1,500 mL 용량으로 효모(0.02%), 발효제(입국sp85), 물과 함께 원료로 멥쌀, 찹쌀, 밀, 조, 옥수수를 각각의 효모에 사용하고 25°C에서 2일 동안 발효하여 밀술을 제조하고 멥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 두 효모에서의 원료별 양조적성을 분석하였다.

발효기간 중 pH는 담금 초기 밀과 조가 가장 높았고 멥쌀이 가장 낮았으며 담금 다음날 급격히 증가한 후 발효기간 동안 서서히 증가하는 경향을 보여 발효 종료시점에서는 3.4-3.6 수준을 보였고 밀 술이 3.8로 가장 높게 나타났다. 고형분 함량은 담금 초기 두 효모 모두 찹쌀이 가장 높았고 담금 다음날 조와 옥수수를 제외하고 2배 이상 증가하였으며 효모 111-5는 발효 6일까지, 효모 98-5는 발효 5일까지 증가한 후 변화가 없거나 조금씩 감소하게 나타났다. 특히 효모 111-5의 조와 옥수수는 고형분 함량의 증가가 7-8%에 그쳐 알코올 함량이 낮을 것으로 판단되었다.

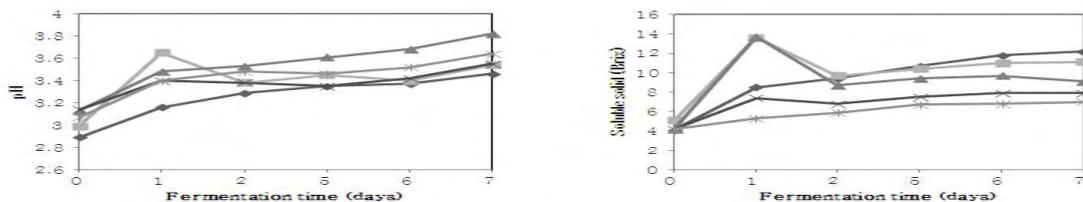


그림 17. 효모 111-5 술의 원료별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화

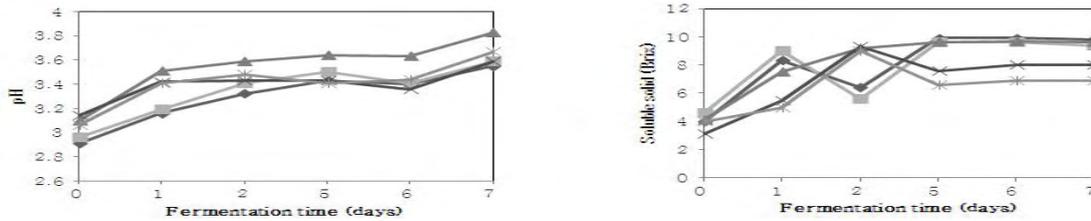


그림 18. 효모 98-5 술의 원료별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화

◆: 멍쌀, ■: 찹쌀, ▲: 밀, ×: 조, *: 옥수수

효모 111-5 사용 술의 알코올 함량은 8.9-14.8%로 나타났고 멍쌀에서의 알코올 함량이 가장 높았고 발효기간 중 예측된 결과와 같이 조와 옥수수에서 낮게 나타났으며 효모 98-5 또한 같은 경향이었지만 알코올 함량이 전체적으로 1-4% 더 높게 나타났다. pH는 효모 111-5 사용 술에서 3.46-3.82로 나타났고 멍쌀이 가장 낮고 밀이 가장 높았으며 효모 98-5는 3.55-3.83으로 나타났고 경향은 동일하였다. 총산은 효모 111-5에서는 0.61-0.72%로 옥수수가 가장 낮고 밀이 가장 높았으며 효모 98-5에서는 0.58-0.73%로 나타났다. 고형분 함량은 효모 111-5에서는 7.0-12.2%로 옥수수가 가장 낮고 멍쌀이 가장 높았으며 효모 98-5에서는 6.9-9.8%로 찹쌀과 멍쌀의 고형분 함량이 효모 111-5보다 감소하게 나타났다. 원주의 알코올 함량을 6%로 희석한 막걸리에서는 고형분과 총산 함량이 줄어들어 절반정도의 값을 보였고 pH는 3.3-3.73으로 유사한 경향을 보였다. 환원당은 효모 111-5 사용 술에서는 멍쌀과 찹쌀이 10 mg/mL 이상으로 높게 나타났고 나머지 원료에서는 4 mg/mL로 유사한 함량을 보였으며 효모 98-5에서는 2.9-4.17 mg/mL로 유사한 함량으로 나타났다. 유기산은 효모 111-5 사용 술에서 함량이 높게 나타났고 색도 측정결과 두 효모 모두에서 밝기를 나타내는 명도는 밀이 가장 낮고 찹쌀이 가장 높았으며 적색도 또한 밀이 가장 높게 나타났고 황색도는 멍쌀과 찹쌀이 낮은 경향을 보였다.

표 36. 원료별 원주의 이화학적 특성

	원료	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)
111-5	멍쌀	14.8	3.46	12.2	0.69
	찹쌀	13.8	3.54	11.1	0.68
	밀	10.8	3.82	9.1	0.72
	조	9.6	3.55	7.9	0.66
	옥수수	8.9	3.64	7.0	0.61
98-5	멍쌀	16.0	3.55	9.8	0.73
	찹쌀	15.8	3.59	9.4	0.68
	밀	14.0	3.83	9.6	0.69
	조	13.6	3.59	8.0	0.61
	옥수수	10.0	3.67	6.9	0.58

표 37. 원료별 막걸리의 이화학적 특성

	원료	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)	Reducing sugar (mg/mL)
111-5	멥쌀	6	3.36	5.1	0.28	12.95±0.19
	찹쌀	6	3.42	5.3	0.30	10.13±0.11
	밀	6	3.73	6.0	0.39	4.63±0.06
	조	6	3.49	5.3	0.39	4.07±0.03
	옥수수	6	3.61	4.7	0.39	4.05±0.05
98-5	멥쌀	6	3.3	4.6	0.29	3.29±0.02
	찹쌀	6	3.36	3.9	0.28	2.90±0.43
	밀	6	3.64	4.6	0.30	4.07±0.10
	조	6	3.46	3.6	0.28	3.60±0.05
	옥수수	6	3.65	4.1	0.33	4.17±0.07

표 38. 원료별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)

	원료	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
111-5	멥쌀	1.51	1.27	-	1.54	0.60
	찹쌀	1.60	2.46	-	1.59	1.02
	밀	1.17	3.78	-	1.44	0.75
	조	0.77	3.08	-	2.02	0.71
	옥수수	0.18	2.31	0.27	1.37	0.29
98-5	멥쌀	0.57	0.73	-	1.41	0.11
	찹쌀	0.22	0.29	-	1.19	0.12
	밀	0.16	0.23	-	1.40	0.19
	조	0.16	0.82	-	1.53	0.16
	옥수수	0.13	1.18	0.21	0.91	0.18

표 39. 원료별 막걸리의 색도

	원료	Hunter Lab values		
		L(lightness)	a(redness)	b(yellowness)
111-5	멥쌀	33.52±0.02	-0.43±0.00	16.65±0.01
	찹쌀	34.57±0.03	-0.69±0.00	16.82±0.00
	밀	21.18±0.01	4.70±0.00	25.81±0.02
	조	25.56±0.03	2.37±0.01	27.13±0.02
	옥수수	30.09±0.00	0.69±0.00	21.84±0.01
98-5	멥쌀	33.93±0.00	-0.05±0.00	14.59±0.01
	찹쌀	36.50±0.00	-0.26±0.00	12.99±0.00
	밀	25.48±0.01	2.96±0.01	23.48±0.01
	조	31.63±0.02	0.21±0.01	21.26±0.02
	옥수수	29.78±0.02	0.83±0.01	20.24±0.02

검출된 휘발성 화합물은 효모 111-5 막걸리에서는 ethyl acetate를 포함한 ester류 22종, propanoic acid를 포함한 acid류 2종, ethanol을 포함한 alcohol류 5종, hexadecanal을 포함한 aldehyde류 2종이 확인되었다(표 40). Ethanol을 제외하고 hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 높은 면적비율로 나타나 실제적으로 막걸리의 바디감에서 오는 입안의 creamy한 특성을 확인할 수 있었고 멍쌀과 찹쌀원료에서 가장 높게 나타났다. Ester류 중 강한 과일 향으로 많으면 자극적인 신향이 될 수 있는 ethyl acetate는 조에서 가장 높은 면적비율로 나타났고 사과와 같은 과일 향 특성을 갖는 ethyl caproate는 밀에서 가장 높게 나타났으며 ethyl caprylate, ethyl caprate는 원료 종류에 따라서 그 차이가 확연하게 나타났다. 또한, 향은 거의 없고 부드럽고 달콤한 oil특성을 나타내는 ethyl oleate는 옥수수에서 가장 높게 나타났고, ethyl linoleate는 밀에서 가장 높은 면적비율로 확인되었다. 효모 98-5 막걸리에서는 ethyl acetate를 포함한 ester류 23종, propanoic acid를 포함한 acid류 2종, ethanol을 포함한 alcohol류 6종, hexadecanal을 포함한 aldehyde류 2종이 확인되었다(표 41). 막걸리의 바디감에 기인하는 입안의 creamy한 특성을 나타내는 hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 높은 면적비율로 나타났고 멍쌀과 찹쌀원료에서 가장 높게 나타났으며 밀 막걸리에서 가장 적게 확인되었다. Ester류 중 가벼운 과일 향으로 top note에 성숙감과 둥근 모양을 나타내는 isoamyl acetate는 조 막걸리에서 가장 높은 면적비율로 나타났다. 과일 향과 함께 oil 특성을 갖는 ethyl caprate는 멍쌀, 찹쌀, 밀 막걸리에서 높게 나타났다.

표 40. 효모 111-5 원료별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	111-5					
			멍쌀	찹쌀	밀	조	옥수수	
1	2.449	<1000	Ethyl acetate	0.116	0.157	0.281	0.377	0.299
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	15.133	17.269	21.049	21.078	18.693
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.039	0.054	0.082	0.101	0.166
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.067	0.079	0.104	0.200	0.141
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.618	0.892	1.527	1.632	0.921
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	1.828	1.986	3.137	5.030	4.006
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.059	0.076	0.103	0.094	0.059
8	15.039	1442	Ethyl caprylate	1.108	1.150	1.269	1.125	0.896
9	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.038	0.052	0.069	0.119	0.163
10	21.186	1646	Ethyl caprate	7.250	8.250	6.113	6.181	5.846
11	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.144	0.138	0.133	0.127	0.110
12	23.094	1712	Decanoic acid, ethylester	-	-	-	-	0.018
13	24.424	1760	Isobutyldecanoate	0.021	0.023	0.017	0.019	0.024
14	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	2.962	3.488	5.466	4.542	3.067
15	26.823	1848	Dodecanoic acid ethylester	3.874	4.632	3.222	3.247	3.595
16	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.154	0.148	0.143	0.116	0.193
17	28.619	1917	Phenylethyl alcohol	3.770	4.337	4.550	5.543	5.081
18	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	8.010	7.726	2.313	2.502	3.952
19	32.296	2065	Octanoic acid	0.045	0.062	-	-	-
20	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.062	0.061	0.041	0.042	0.066
21	34.054	2139	Hexadecanal	0.109	0.113	0.031	0.028	0.032
22	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.094	0.099	0.139	0.249	0.101
23	34.699	2166	Undecanal	0.041	0.032	0.024	0.072	0.033
24	36.83	2263	Hexadecanoic acid, ethyl ester	37.032	32.314	29.881	30.054	31.712
25	37.367	2288	Ethyl 9-hexadecenoate	0.337	0.352	0.290	0.471	0.525
26	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.042	0.031	0.033	-	0.033
27	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.099	0.076	0.082	0.119	0.096
28	39.44	2380	2-Tetradecanol	0.030	0.075	0.053	0.085	0.061
29	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.495	1.728	1.473	1.813	1.463
30	41.671	2482	Ethyl Oleate	5.928	5.728	4.778	5.209	7.946
31	42.866	>2500	Linoleic acid ethyl ester	9.497	8.871	13.598	9.824	10.701
				100	100	100	100	100

표 41. 효모 98-5 원료별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	98-5					
			멥쌀	찹쌀	밀	조	옥수수	
1	2.449	<1000	Ethyl acetate	0.242	0.243	0.393	0.574	0.333
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	13.097	11.960	17.640	20.661	25.026
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.085	0.084	0.137	0.149	0.333
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.043	0.039	0.046	0.072	0.073
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.321	0.318	0.578	0.645	0.267
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	1.465	1.339	2.111	3.230	2.233
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.092	0.089	0.183	0.134	0.054
8	13.167	1381	3-Ethoxy-1-propanol	0.037	0.036	-	0.044	0.078
9	15.039	1442	Ethyl caprylate	1.748	1.289	2.384	1.268	0.818
10	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.066	0.081	0.070	0.084	0.080
11	21.186	1646	Ethyl caprate	10.920	10.447	11.990	6.918	6.694
12	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.157	0.127	0.222	0.093	0.078
13	23.094	1712	Decanoicacid,ethylester	-	-	-	-	0.016
14	23.572	1729	Decanoic acid, propyl ester	0.039	0.042	0.044	-	0.020
15	24.424	1760	Isobutyldecanoate	0.039	0.034	0.023	-	0.019
16	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	1.198	1.440	1.871	2.267	0.584
17	26.823	1848	Dodecanoicacid ethylester	6.345	7.249	6.033	4.139	4.192
18	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.326	0.320	0.272	0.099	0.204
19	28.619	1917	Phenylethyl alcohol	2.083	2.428	3.311	4.833	2.198
20	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	7.723	6.999	2.399	1.749	3.031
21	32.296	2065	Octanoic Acid	0.122	0.140	0.108	0.000	0.042
22	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.111	0.126	0.080	0.046	0.079
23	34.054	2139	Hexadecanal	0.086	0.142	0.013	0.028	0.054
24	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.110	0.121	0.136	0.207	0.122
25	34.699	2166	Undecanal	0.041	0.043	0.021	0.027	0.027
26	36.83	2263	Hexadecanoic acid,ethyl ester	36.126	34.663	29.036	32.473	31.449
27	37.367	2288	Ethyl9-hexadecenoate	0.339	0.482	0.295	0.441	0.331
28	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.090	0.106	0.088	0.083	0.095
29	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.078	0.070	0.047	0.066	0.074
30	39.44	2380	2-Tetradecanol	0.104	0.236	0.014	0.074	0.073
31	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.391	1.946	1.376	2.108	1.561
32	41.671	2482	Ethyl Oleate	5.876	6.837	4.762	6.099	8.523
33	42.866	>2500	Linoleic acid ethyl ester	9.497	10.524	14.319	11.388	11.237
				100	100	100	100	100

1) Not detected.

Data are presented as % total peak area. RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10~C25 as external reference.

관능평가 결과 효모 111-5 원료별 막걸리의 전체적 기호도는 멥쌀과 찹쌀이 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났다($p < 0.05$). 원료 특성상 막걸리의 색에도 뚜렷한 구분이 있는데 멥쌀막걸리의 색 기호도가 유의적인 차이가 있게 가장 좋게 나타났고 밀 막걸리의 색 기호성이 가장 낮게 나타났다($p < 0.05$). 향 기호도는 멥쌀과 찹쌀막걸리가 유의적인 차이가 있게 가장 높았다($p < 0.05$). 단맛강도 또한 멥쌀과 찹쌀이 유의적인 차이가 있게 5-5.5로 가장 강하게 나타났고 신맛강도는 4.5-5.5, 쓴맛강도는 3-4로 나타나 단맛은 중간이상, 신맛은 중간정도, 쓴맛

은 약간 약한 정도를 선호하는 것을 알 수 있었다($p < 0.05$). 효모 98-5 원료별 막걸리의 전체적 기호도는 멍쌀, 찹쌀과 조가 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타나 원료 조에도 응용이 가능할 것으로 판단된다($p < 0.05$). 색 기호도는 멍쌀막걸리가 유의적인 차이가 있게 가장 좋게 나타났고 밀 막걸리가 가장 낮게 나타나 효모 111-5와 같은 결과로 원료의 특성임을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

표 42. 효모 111-5 원료별 막걸리의 관능특성¹

	Color****	Flavor****	Sweetness****	Sourness**	Bitterness****	Overall****
멍쌀	7.00±1.10 ^a	7.00±1.10 ^a	5.00±0.00 ^a	4.50±0.55 ^c	3.00±1.10 ^c	6.50±0.55 ^a
찹쌀	5.50±0.55 ^b	7.50±1.64 ^a	5.50±1.64 ^a	5.50±0.55 ^{abc}	4.00±1.10 ^b	6.50±1.64 ^a
밀	3.50±0.55 ^d	5.00±0.00 ^b	3.00±0.00 ^b	6.50±0.55 ^a	7.00±0.00 ^a	3.00±0.00 ^b
조	4.00±1.10 ^c	5.50±0.55 ^b	2.50±0.55 ^b	6.00±2.19 ^{ab}	7.00±1.10 ^a	3.00±1.10 ^b
옥수수	5.50±1.64 ^b	4.00±0.00 ^c	3.00±1.10 ^b	5.00±2.19 ^{abc}	4.00±2.19 ^b	3.00±1.10 ^b

¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. ** = ($P < 0.01$), *** = ($P < 0.001$), **** = ($P < 0.0001$).

표 43. 효모 98-5 원료별 막걸리의 관능특성¹

	Color****	Flavor	Sweetness*	Sour**	Bitterness	Overall*
멍쌀	7.50±0.55 ^a	7.00±1.10	4.50±0.55 ^a	4.50±1.64 ^{ab}	3.00±1.10	6.00±1.10 ^a
찹쌀	6.50±0.55 ^b	6.50±0.55	4.50±0.55 ^a	3.50±1.64 ^c	3.00±2.19	6.00±0.00 ^a
밀	3.50±0.55 ^e	6.00±3.50	3.50±0.55 ^b	3.50±1.64 ^c	3.50±2.74	4.83±1.17 ^b
조	4.50±0.55 ^d	6.00±1.10	4.50±0.55 ^a	4.00±1.10 ^{bc}	3.00±2.19	5.83±0.75 ^a
옥수수	5.50±0.55 ^c	5.50±1.64	5.00±1.10 ^a	5.00±1.10 ^a	4.50±1.64	5.00±1.10 ^{ab}

¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

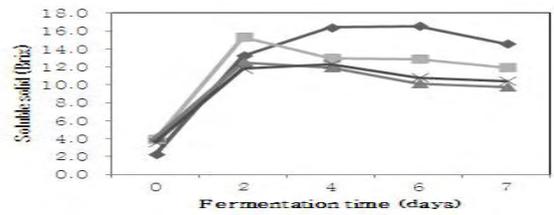
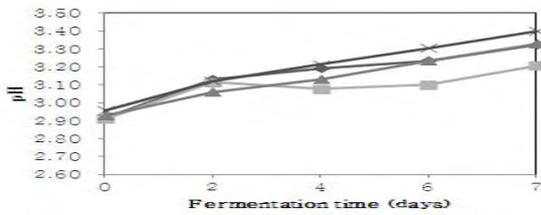
Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. * = ($P < 0.05$), ** = ($P < 0.01$), **** = ($P < 0.0001$).

(3) 선발 효모를 이용한 발효 온도별 양조적성

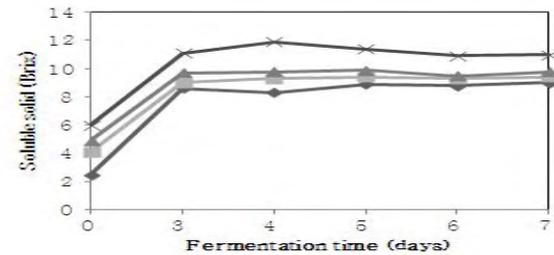
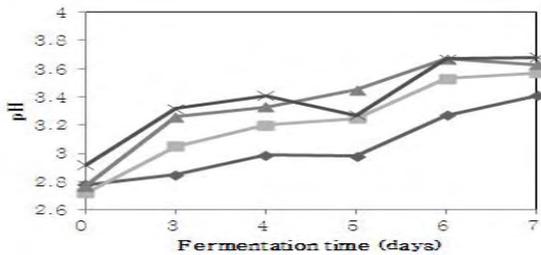
효모 98-5, 111-5, 197-13, 263-4와 대조구로 시판효모인 La Parisienne을 대상으로 1,500mL 용량으로 효모(0.02%), 발효제(입국sp85), 멍쌀, 물을 혼합하여 25℃에서 2일 동안 발효하여 밀술을 제조하고 멍쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 발효온도별 양조적성을 분석하였다.

발효 기간 중 pH는 담금 초기 2.7-3.02로 나타났고 발효기간 동안 서서히 증가하는 경향을 보였으며 효모 263-4만이 발효 4일째까지 거의 변화가 없다가 이후 조금씩 증가하였다. 발

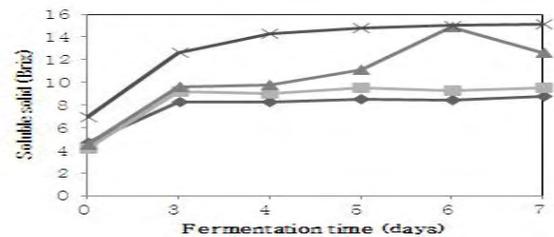
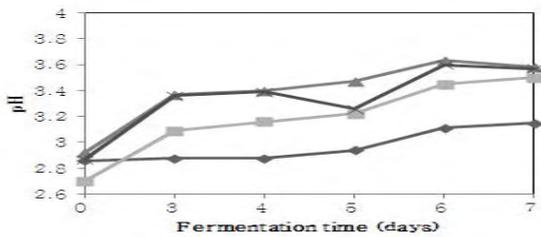
효 종료시점에서는 효모 98-5 술의 30℃ 발효가 3.68로 가장 높았고 효모 197-13과 263-4의 15℃ 발효가 3.02 수준으로 가장 낮게 나타났다. 고형분 함량은 담금 초기 효모 98-5와 111-5 술의 30℃ 발효가 6.0% 이상으로 높게 나타나 밀술과정에서 전분의 분해가 활발했던 것으로 여겨지며 담금 2-3일째 급격히 증가하여 발효기간 동안 일정한 수준을 유지하거나 감소하게 나타났다(그림 4).



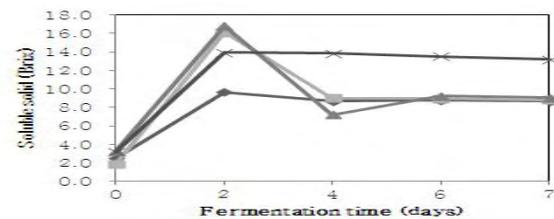
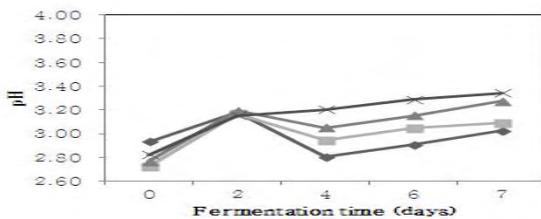
<La Parisienne>



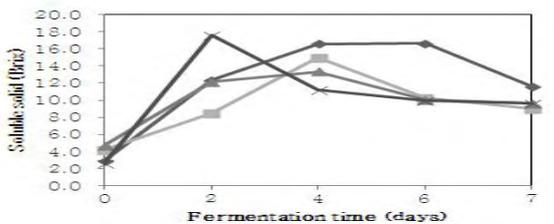
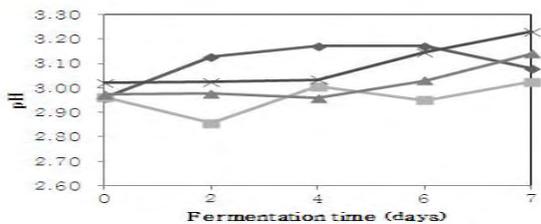
<효모 98-5>



<효모 111-5>



<효모 197-13>



<효모 263-4>

그림 19. 효모 5종 술의 발효 온도에 따른 발효기간 중 pH 및 고형분 함량 변화

◆:15℃, ■:20℃, ▲:25℃, ×:30℃

알코올 함량은 온도 15℃에서는 효모 263-4와 La Parisienne이 8.5% 이하로 낮게 나타나 발효가 잘 이루어지지 않았고 또한 효모 La Parisienne은 20℃에서도 10% 이하로 나타나 저온에서 발효가 잘 이루어지지 않음을 알 수 있었다. 반면에 선발된 효모는 263-4를 제외하고 15℃ 이상에서 13% 이상의 알코올을 생성했으며 특히 효모 111-5는 20℃에서 16.2%로 고 알코올을 생성했고 효모 98-5, 197-13과 263-4는 25℃에서 15.87%이상의 알코올 함량을 보였다. pH는 모든 효모가 발효온도가 올라갈수록 증가하는 경향을 보였고 고형분 함량은 알코올 함량과 역의 상관성을 보였다. 원주의 알코올 함량을 6%로 희석한 막걸리에서는 고형분 함량은 희석한 만큼 낮아지게 나타났고 pH는 약간 낮아지거나 유사한 경향을 보였으며 환원당은 고형분 함량과 정의 상관관계를 보였다. 유기산은 전체적으로 citric acid의 함량이 높게 나타났고 효모 98-5와 111-5에서는 부드럽고 둥근 신맛특성을 갖는 lactic acid 함량이 다른 균주에 비해 높았으며 자극적인 신맛을 나타내는 acetic acid는 25℃를 제외한 나머지 발효온도에서는 거의 검출되지 않았다. 색도 측정결과 밝기를 나타내는 명도는 발효온도가 올라갈수록 높아지는 경향을 보였고 적색도와 황색도는 희석률과 상관관계를 갖는 것으로 나타났다.

표 44. 발효 온도별 원주의 이화학적 특성

	Temp(℃)	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)
La Parisienne	15	5.67	3.32	14.6
	20	8.93	3.21	11.9
	25	14.07	3.33	9.7
	30	16.20	3.40	10.4
98-5	15	13.20	3.41	9.0
	20	13.80	3.57	9.4
	25	16.00	3.63	9.8
	30	16.00	3.68	11.0
111-5	15	13.20	3.15	8.8
	20	16.20	3.50	9.5
	25	14.50	3.58	12.6
	30	12.80	3.57	15.1
197-13	15	13.00	3.03	8.7
	20	13.80	3.09	8.8
	25	15.87	3.27	9.0
	30	12.20	3.34	13.2
263-4	15	8.33	3.08	11.6
	20	15.03	3.02	9.0
	25	16.27	3.14	9.6
	30	16.20	3.23	9.6

표 45. 발효 온도별 막걸리의 이화학적 특성

	Temp. (°C)	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid(%)	Reducing sugar(mg/mL)
La Parisienn e	15	5.67	3.38	14.93	0.73	104.99±0.23
	20	6.00	3.17	7.37	0.57	24.30±0.66
	25	6.00	3.14	4.17	0.33	4.12±0.51
	30	6.00	3.17	4.60	0.29	5.24±1.13
98-5	15	6.00	3.22	4.0	0.29	4.32±0.03
	20	6.00	3.36	4.6	0.29	3.60±0.05
	25	6.00	3.45	3.9	0.26	3.50±0.05
	30	6.00	3.43	4.3	0.27	6.03±0.04
111-5	15	6.00	3.09	4.1	0.37	4.22±0.05
	20	6.00	3.31	3.7	0.25	3.46±0.04
	25	6.00	3.37	5.3	0.28	15.63±0.32
	30	6.00	3.42	7.2	0.33	32.03±0.34
197-13	15	6.00	2.96	4.40	0.34	4.36±0.37
	20	6.00	2.98	4.57	0.35	4.63±1.36
	25	6.00	3.07	4.00	0.27	3.50±0.82
	30	6.00	3.16	6.43	0.33	20.57±3.27
263-4	15	6.00	3.05	7.77	0.55	24.75±2.18
	20	6.00	3.00	3.83	0.29	5.87±1.21
	25	6.00	2.99	3.97	0.28	3.27±0.10
	30	6.00	3.05	4.80	0.31	3.23±0.18

표 46. 발효 온도별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)

	Temp.(°C)	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
La Parisienne	15	0.01	0.10	0.90	3.78	0.89
	20	0.01	0.13	0.78	2.52	0.30
	25	0.11	0.04	0.32	1.40	0.28
	30	0.11	0.13	0.37	1.23	0.26
98-5	15	0.23	0.40	-	1.49	0.07
	20	0.23	0.47	-	1.41	0.11
	25	0.38	0.52	0.30	1.35	0.17
	30	0.27	0.32	0.08	1.23	0.14
111-5	15	1.11	0.88	-	1.31	0.11
	20	0.60	0.43	0.10	1.19	0.14
	25	0.99	0.77	0.24	1.48	0.26
	30	1.14	0.40	-	1.69	0.22
197-13	15	0.25	0.10	0.46	1.39	0.23
	20	0.22	0.10	0.46	1.37	0.35
	25	0.16	0.10	0.36	1.10	0.24
	30	0.11	0.12	0.42	1.33	0.49
263-4	15	0.01	0.09	0.40	2.60	0.44
	20	0.17	0.05	0.71	1.12	0.24
	25	0.20	0.06	0.08	0.74	0.26
	30	0.19	0.14	0.26	1.33	0.27

표 47. 발효 온도별 막걸리의 색도

	Temp. (°C)	Hunter Lab values		
		L(lightness)	a(redness)	b(yellowness)
La Parisienne	15	26.33±1.03	0.84±0.38	21.51±0.69
	20	30.78±2.36	-0.22±0.31	16.74±2.57
	25	36.52±1.20	-0.16±0.07	12.14±0.56
	30	38.77±2.06	0.00±0.03	10.61±0.88
98-5	15	32.49±0.01	-0.89±0.00	14.94±0.00
	20	31.3±0.01	0.28±0.01	15.72±0.02
	25	33.91±0.01	0.13±0.01	14.18±0.02
	30	37.04±0.01	-0.21±0.00	12.19±0.00
111-5	15	32.27±0.00	-1.04±0.00	15.78±0.01
	20	33.74±0.02	-0.41±0.00	14.53±0.01
	25	31.41±0.00	-0.23±0.01	18.24±0.02
	30	32.15±0.00	-0.85±0.01	19.58±0.01
197-13	15	38.30±0.34	-0.69±0.10	9.50±0.47
	20	38.31±0.42	-0.33±0.03	10.59±0.36
	25	40.22±4.64	-0.06±0.42	10.33±1.82
	30	40.60±0.42	0.02±0.03	10.27±0.10
263-4	15	29.47±1.18	-0.52±0.34	18.61±1.81
	20	36.53±2.45	-0.92±0.10	10.83±1.80
	25	41.05±0.38	-0.31±0.01	9.63±0.15
	30	39.73±0.41	-0.23±0.07	10.97±0.48

휘발성 화합물은 La Parisienne 막걸리에서 41종, 효모 98-5와 111-5 막걸리에서 34종, 197-13 막걸리에서 40종, 263-4 막걸리에서 43종이 검출되었고 ethyl acetate를 포함한 ester류 24-32종, acetic acid를 포함한 acid류 3-4종, ethanol을 포함한 alcohol류 4-6종, aldehyde류 0-2종 그리고 기타 1-2종이 확인되었다.. Ethanol을 제외하고 hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 높은 면적비율로 나타나 실제적으로 막걸리의 바디감에서 오는 입안의 creamy한 특성을 확인할 수 있었고 모든 효모 술에서 발효온도가 높아질수록 증가하는 경향을 보여 25, 30°C에서 가장 큰 면적비율로 나타났다. 과일 향 특성을 갖는 ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl caprate는 효모 종류에 따라서 그 차이가 매우 두드러지게 나타나 La Parisienne 막걸리에서는 발효온도가 높아질수록 증가하는 경향을 보여 25, 30°C에서 가장 큰 면적비율로 나타났고 효모 98-5와 111-5 막걸리에서는 반대로 15, 20°C의 저온에서 가장 높게 나타났다. 또한, 향은 거의 없고 부드럽고 달콤한 oil특성을 나타내는 ethyl oleate, ethyl linoleate와 같은 고급지방산이 주요한 성분으로 확인되었다.

표 48. 효모 La Parisienne 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	La Parisienne			
				15°C	20°C	25°C	30°C
1	2.521	<1000	Ethyl Acetate	0.874	0.841	0.450	0.311
2	2.849	<1000	Ethyl alcohol	21.851	10.326	8.613	8.339
3	4.306	1030	Propyl alcohol	¹	-	0.027	0.023
5	5.836	1119	Isoamyl acetate	0.129	0.093	0.124	0.264
6	8.346	1217	Ethyl caproate	0.517	0.608	1.005	1.081
7	8.529	1223	Isoamyl alcohol	0.020	-	-	-
8	15.084	1437	Ethyl caprylate	-	0.936	1.376	1.659
9	15.676	1456	Acetic acid	0.703	0.109	0.082	0.050
10	18.167	1538	Ethyl nonanoate	-	0.029	0.150	0.150
11	18.621	1553	Isobutyloctanoate	-	-	0.012	0.021
12	20.823	1627	Ethyl caprate	0.121	4.866	5.979	7.473
13	21.720	1658	Isoamyl caprylate	-	0.069	0.091	0.076
14	21.845	1662	Amyl caprylate	-	0.060	-	0.192
15	21.986	1667	á-Farnesene	0.030	-	0.052	0.079
16	22.440	1682	Ethyl 9-decenoate	-	0.010	0.014	0.050
17	22.944	1700	Decanoic acid, ethyl ester	0.018	0.010	0.033	0.073
18	23.679	1726	Decanoic acid, propyl ester	-	0.021	0.064	0.081
19	24.166	1744	Undecanoic acid, ethyl ester	-	0.013	0.040	0.076
20	24.342	1750	Isobutyldecanoate	-	0.030	0.079	0.125
21	26.307	1822	Acetic acid, phenethyl ester	-	0.214	0.573	0.581
22	26.942	1846	Ethyl laurate	0.446	4.745	4.825	5.044
23	27.440	1865	Isopentyldecanoate	-	0.258	0.330	0.353
24	28.772	1916	Phenylethyl Alcohol	1.207	1.079	2.092	1.723
25	29.591	1948	Ethyl tridecanoate	-	0.010	0.027	0.020
26	31.446	2023	2-Pentadecanone	-	0.029	0.043	0.046
27	32.292	2058	Ethyl myristate	7.698	9.764	10.011	10.300
28	34.167	2137	Tetradecanoic acid, propyl ester	-	0.022	0.050	0.044
29	34.582	2155	Ethyl pentadecanoate	0.193	0.266	0.345	0.300
30	34.842	2166	Ethyl 9-octadecenoate	0.119	0.205	0.246	0.229
31	37.254	2273	Hexadecanoic acid, ethyl ester	27.220	30.172	34.632	34.083
32	38.850	2341	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.054	0.091	0.135	0.088
33	37.509	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	0.443	1.087	0.760	0.586
34	39.274	2359	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.061	0.093	0.143	0.104
35	39.562	2371	2-Methylpropyl hexadecanoate	0.044	0.091	0.170	0.174
36	40.710	2415	Palmitic acid	0.034	4.284	0.057	1.074
37	42.289	2467	Ethyl stearate	0.718	1.214	1.468	1.363
38	42.963	2489	Ethyl Oleate	15.576	13.071	11.373	10.146
39	44.797	>2500	Ethyl linoleate	20.431	14.432	13.799	12.930
40	47.032	>2500	Ethyl linolenate	0.607	0.428	0.419	0.386
41	52.434	>2500	Tetradecanoic acid	0.718	0.425	0.311	0.305
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference.

¹Not detected.

표 49. 효모 98-5 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	98-5			
				15℃	20℃	25℃	30℃
1	2.449	<1000	Ethyl Acetate	0.353	0.243	0.272	0.181
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	15.184	13.157	14.166	12.995
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.098	0.113	0.106	0.072
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.034	0.043	0.050	0.037
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.324	0.299	0.338	0.210
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	1.286	1.395	1.785	1.247
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.195	0.119	0.084	0.038
8	13.167	1381	3-Ethoxy-1-propanol	0.022	0.040	0.046	0.020
9	15.039	1442	Ethyl caprylate	3.181	2.314	1.691	0.888
10	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.118	0.133	0.123	0.111
11	21.186	1646	Ethyl caprate	19.757	13.522	11.156	6.563
12	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.237	0.181	0.147	0.074
13	22.692	1698	Ethyl 9-decenoate	0.406	0.035	¹	-
14	23.094	1712	Decanoic acid, ethylester	0.023	0.017	0.018	-
15	23.572	1729	Decanoic acid, propyl ester	0.081	0.065	0.046	0.020
16	24.424	1760	Isobutyldecanoate	0.054	0.044	0.042	0.023
17	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	1.271	1.286	1.759	0.916
18	26.823	1848	Dodecanoic acid, ethylester	10.299	7.590	6.750	4.866
19	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.400	0.371	0.358	0.202
20	28.619	1917	Phenylethyl Alcohol	2.192	2.212	3.300	1.959
21	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	4.662	6.297	7.705	7.482
22	32.296	2065	Octanoic Acid	0.279	0.169	0.161	0.099
23	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.136	0.124	0.118	0.073
24	34.054	2139	Hexadecanal	0.045	0.128	0.095	0.055
25	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.054	0.086	0.107	0.109
26	34.699	2166	Undecanal	0.023	0.042	0.053	0.042
27	36.83	2263	Hexadecanoic acid, ethyl ester	23.561	30.290	39.626	39.555
28	37.367	2288	Ethyl9-hexadecenoate	0.523	0.583	-	0.487
29	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.055	0.100	0.112	0.098
30	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.041	0.059	0.079	0.068
31	39.44	2380	2-Tetradecanol	-	0.082	0.093	0.053
32	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.946	1.739	1.799	1.588
33	41.671	2482	Ethyl Oleate	7.059	7.294	7.655	7.557
34	42.866	>2500	Ethyl linoleate	6.100	9.827	0.162	12.314
				100	100	100	100

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

표 50. 효모 111-5 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	111-5			
				15℃	20℃	25℃	30℃
1	2.449	<1000	Ethyl Acetate	0.308	0.185	0.137	0.129
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	21.403	17.377	18.170	15.538
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.124	0.065	0.052	0.048
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.087	0.077	0.080	0.082
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.631	0.767	0.715	1.023
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	2.485	1.906	2.052	2.141
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.120	0.071	0.069	0.050
8	15.039	1442	Ethyl caprylate	2.167	1.410	1.395	1.140
9	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.158	0.092	0.075	0.097
10	21.186	1646	Ethyl caprate	14.373	10.253	8.775	6.518
11	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.180	0.119	0.107	0.090
12	22.692	1698	Ethyl 9-decenoate	0.200	¹	-	-
13	23.094	1712	Decanoic acid, ethyl ester	0.018	0.015	0.018	0.017
14	23.572	1729	Decanoic acid, propyl ester	0.026	-	-	-
15	24.424	1760	Isobutyldecanoate	0.041	0.037	0.027	0.021
16	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	2.912	4.280	4.310	3.735
17	26.823	1848	Dodecanoic acid, ethyl ester	6.547	5.400	4.615	3.384
18	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.292	0.257	0.181	0.120
19	28.619	1917	Phenylethyl Alcohol	4.069	3.242	5.321	5.717
20	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	5.224	6.811	8.604	7.948
21	32.296	2065	Octanoic Acid	0.151	0.092	0.095	0.053
22	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.087	0.089	0.077	0.055
23	34.054	2139	Hexadecanal	-	0.064	0.092	0.037
24	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.047	0.070	0.090	0.077
25	34.699	2166	Undecanal	0.016	0.042	0.054	0.041
26	36.83	2263	Hexadecanoic acid, ethyl ester	23.941	29.667	36.778	34.201
27	37.367	2288	Ethyl 9-hexadecenoate	0.411	0.447	-	0.375
28	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.035	0.030	0.033	0.035
29	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.045	0.083	0.081	0.093
30	39.44	2380	2-Tetradecanol	-	0.031	0.024	-
31	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.591	1.586	1.449	1.351
32	41.671	2482	Ethyl Oleate	6.775	6.589	6.399	6.236
33	42.653	>2500	Ethylhexanoic acid	-	-	0.023	-
34	42.866	>2500	Ethyl linoleate	5.535	8.845	0.101	9.648
				100	100	100	100

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference.

¹Not detected.

표 51. 효모 197-13 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	197-13				
			15°C	20°C	25°C	30°C	
1	2.521	<1000	Ethyl Acetate	0.457	0.212	0.303	0.217
2	2.849	<1000	Ethyl alcohol	9.066	11.343	11.421	9.516
3	4.306	1030	Propyl alcohol	0.060	0.081	¹	-
5	5.836	1119	Isoamyl acetate	0.144	0.076	0.082	0.099
6	8.346	1217	Ethyl caproate	1.104	0.813	0.579	0.794
7	15.084	1437	Ethyl caprylate	3.452	1.353	-	0.926
8	15.676	1456	Acetic acid	0.091	0.051	0.094	0.070
9	18.167	1538	Ethyl nonanoate	0.095	0.032	0.000	0.080
10	18.621	1553	Isobutyloctanoate	0.045	0.010	0.000	0.011
11	20.823	1627	Ethyl caprate	9.160	6.111	3.524	5.059
12	21.720	1658	Isoamyl caprylate	-	0.052	0.081	0.100
13	21.845	1662	Amyl caprylate	0.406	0.105	0.059	0.063
14	21.986	1667	á-Farnesene	0.102	-	-	0.028
15	22.440	1682	Ethyl 9-decenoate	0.538	0.033	0.093	-
16	22.944	1700	Decanoic acid, ethyl ester	0.046	-	0.061	0.011
17	23.679	1726	Decanoic acid, propyl ester	0.185	0.046	-	0.024
18	24.166	1744	Undecanoic acid, ethyl ester	0.086	0.022	-	0.034
19	24.342	1750	Isobutyldecanoate	0.192	0.046	0.069	0.068
20	26.307	1822	Acetic acid, phenethyl ester	-	0.223	0.264	0.391
21	26.942	1846	Ethyl laurate	8.775	4.166	3.098	4.687
22	27.440	1865	Isopentyldecanoate	0.729	-	0.307	-
23	28.772	1916	Phenylethyl Alcohol	2.428	1.265	1.318	1.471
24	29.591	1948	Ethyl tridecanoate	0.016	0.014	0.010	0.018
25	31.446	2023	2-Pentadecanone	0.037	0.020	0.033	0.040
26	32.292	2058	Ethyl myristate	7.152	5.092	6.576	10.052
27	34.167	2137	Tetradecanoic acid, propyl ester	0.028	0.031	0.053	0.023
28	34.582	2155	Ethyl pentadecanoate	0.187	0.181	0.234	0.296
29	34.842	2166	Ethyl 9-octadecenoate	0.155	0.126	0.172	0.215
30	37.254	2273	Hexadecanoic acid, ethyl ester	31.191	34.859	37.837	36.389
31	38.850	2341	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.207	0.313	0.245	0.138
32	37.509	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	1.589	1.708	1.420	1.561
33	39.274	2359	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.130	0.159	0.172	0.131
34	39.562	2371	2-Methylpropyl hexadecanoate	0.138	0.212	0.270	0.223
35	40.710	2415	Palmitic acid	1.241	4.638	1.473	0.014
36	42.289	2467	Ethyl stearate	1.680	1.860	2.408	1.201
37	42.963	2489	Ethyl Oleate	10.159	12.346	13.519	10.492
38	44.797	>2500	Ethyl linoleate	8.358	11.932	13.667	14.824
39	47.032	>2500	Ethyl linolenate	0.186	0.254	0.318	0.476
40	52.434	>2500	Tetradecanoic acid	0.365	0.215	0.241	0.258
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

표 52. 호모 263-4 발효 온도별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	263-4				
			15°C	20°C	25°C	30°C	
1	2.521	<1000	Ethyl Acetate	0.387	0.332	0.541	0.277
2	2.849	<1000	Ethyl alcohol	9.039	9.021	11.926	9.209
3	4.306	1030	Propyl alcohol	0.049	0.039	0.026	0.002
5	5.836	1119	Isoamyl acetate	0.181	0.324	0.157	0.288
6	8.346	1217	Ethyl caproate	1.360	1.092	0.886	0.913
7	8.529	1223	Isoamyl alcohol	¹	-	0.091	-
8	15.084	1437	Ethyl caprylate	5.143	2.866	1.051	1.550
9	15.676	1456	Acetic acid	0.248	0.064	0.081	0.033
10	18.167	1538	Ethyl nonanoate	0.115	0.090	0.055	0.096
11	18.621	1553	Isobutyloctanoate	0.065	0.043	-	0.025
12	20.823	1627	Ethyl caprate	-	-	4.418	2.286
13	21.720	1658	Isoamyl caprylate	0.163	-	0.082	0.070
14	21.845	1662	Amyl caprylate	-	0.353	0.014	0.186
15	21.986	1667	á-Farnesene	0.593	0.126	0.029	0.081
16	22.440	1682	Ethyl 9-decenoate	0.240	0.524	0.113	0.017
17	22.944	1700	Decanoic acid, ethyl ester	0.049	0.053	0.013	0.040
18	23.679	1726	Decanoic acid, propyl ester	0.131	0.182	-	0.059
19	24.166	1744	Undecanoic acid, ethyl ester	0.048	0.069	0.021	0.028
20	24.342	1750	Isobutyldecanoate	0.193	0.170	0.053	0.093
21	26.307	1822	Acetic acid, phenethyl ester	0.491	0.502	0.350	0.656
22	26.942	1846	Ethyl laurate	13.312	9.551	2.860	6.012
23	27.440	1865	Isopentyldecanoate	1.104	0.747	0.241	0.419
24	28.772	1916	Phenylethyl Alcohol	2.326	2.767	1.465	1.705
25	29.591	1948	Ethyl tridecanoate	0.032	0.014	-	0.022
26	31.446	2023	2-Pentadecanone	0.041	0.052	0.024	0.047
27	32.292	2058	Ethyl myristate	10.012	8.932	4.622	9.621
28	34.167	2137	Tetradecanoic acid, propyl ester	0.031	0.034	0.030	0.065
29	34.582	2155	Ethyl pentadecanoate	0.205	0.204	0.160	0.285
30	34.842	2166	Ethyl 9-octadecenoate	0.183	0.184	0.122	0.230
31	37.254	2273	Hexadecanoic acid, ethyl ester	29.275	33.751	36.211	35.480
32	38.850	2341	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.155	0.176	0.173	0.161
33	37.509	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	1.272	1.235	0.913	1.291
34	39.274	2359	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.109	0.126	0.153	0.148
35	39.562	2371	2-Methylpropyl hexadecanoate	0.130	0.157	0.239	0.224
36	39.941	2387	Oxalic acid, 2-phenylethyl tridecyl ester	0.023	0.017	-	-
37	40.710	2415	Palmitic acid	1.316	1.877	4.609	1.587
38	42.289	2467	Ethyl stearate	1.314	1.547	2.514	1.596
39	42.963	2489	Ethyl Oleate	10.678	11.823	12.461	11.952
40	44.797	>2500	Ethyl linoleate	9.293	10.096	11.901	12.641
41	47.032	>2500	Ethyl linolenate	0.239	0.226	0.258	0.322
42	50.254	>2500	Oleic Acid	-	0.117	0.881	-
43	52.434	>2500	Tetradecanoic acid	0.455	0.516	0.246	0.284
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

관능평가 결과 알코올 함량이 낮아 희석률이 적은 호모 La parisienne 15°C 막걸리의 전체적 기호도가 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났는데 이는 희석률이 적어 고형분 함량이 높고 잔당이 많아 단맛이 강하게 느껴져서인 것으로 판단된다($p < 0.05$). 호모 98-5 막걸리에서는 저온 발효를 한 15°C의 전체적 기호도와 향 기호성이 가장 좋게 나타났고 호모 111-5와 197-13은 25°C의 기호도가 가장 좋았으며 호모 263-4는 30°C만이 유의적인 차이가 있게 가장 낮은 기호성을 보였고 나머지 온도에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($p < 0.05$).

표 53. 효모에 따른 막걸리의 발효 온도에 따른 관능평가¹

	Temp.(°C)	Flavor	Sweetness****	Sourness*	Bitterness*	Overall*
La parisienne	15	5.86±1.57	6.86±0.90 ^a	6.29±1.38 ^a	6.29±1.38 ^a	6.71±1.38 ^a
	20	4.86±1.07	5.14±0.90 ^b	4.86±1.57 ^b	5.00±0.58 ^b	4.71±1.38 ^b
	25	5.29±0.76	3.86±0.69 ^c	4.43±0.79 ^b	5.00±0.82 ^b	4.86±0.69 ^b
	30	5.29±0.95	4.29±1.11 ^{bc}	5.14±0.90 ^b	4.57±0.98 ^b	4.71±1.11 ^b
98-5	15	7.50±0.55 ^a	5.50±0.55 ^a	6.00±0.00	3.50±1.64	6.00±0.00
	20	5.00±1.10 ^b	4.00±0.00 ^b	5.50±1.64	4.00±2.19	4.50±0.55
	25	7.50±0.55 ^a	5.00±1.10 ^a	6.00±0.00	4.00±1.10	5.50±0.55
	30	7.00±1.10 ^a	5.50±0.55 ^a	6.00±0.00	4.00±1.10	5.00±2.19
111-5	15	6.50±0.55	4.50±0.55	6.50±1.64	3.00±2.19 ^{bc}	5.50±1.64
	20	6.50±1.64	4.00±0.00	6.00±1.10	4.00±3.29 ^b	6.00±1.64
	25	7.50±0.55	4.00±1.10	6.00±0.00	2.50±1.64 ^c	6.50±0.55
	30	6.50±0.55	3.50±0.55	6.50±0.55	5.50±0.55 ^a	4.50±1.64
197-13	15	6.00±1.15	4.57±1.13 ^b	3.14±1.07 ^b	4.57±1.13	3.43±0.53 ^b
	20	5.29±1.11	5.57±1.13 ^a	5.14±1.95 ^a	5.43±0.79	4.71±1.60 ^{ab}
	25	6.14±1.07	4.57±1.13 ^b	5.43±1.27 ^a	5.14±0.90	5.29±0.95 ^a
	30	5.57±0.53	5.86±1.35 ^a	5.14±1.35 ^a	5.29±1.38	5.14±1.86 ^a
263-4	15	6.29±0.95	5.86±1.57	5.00±1.00	4.71±1.38	5.43±1.40 ^a
	20	5.71±1.11	5.57±0.98	5.14±1.07	5.29±1.38	5.86±0.90 ^a
	25	5.71±1.25	5.14±0.90	4.86±1.68	5.43±1.51	5.29±0.95 ^a
	30	5.71±0.95	5.00±1.41	4.00±1.15	4.71±1.50	3.71±1.11 ^b

¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. * =(P < 0.05), **** =(P < 0.0001).

발효 온도별 실험 결과 온도에 따른 효모의 양조적성을 볼 수는 있었지만 발효종료 시점을 동일하게 하여 알코올 함량과 잔당의 양이 서로 달라 제성 후 관능특성에 변수로 작용해 추가적인 실험을 진행하였다. 효모 98-5와 111-5를 대상으로 1,500mL 용량으로 효모(0.02%), 발효제(입국sp85), 멍쌀, 물을 혼합하여 25°C에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조하고 멍쌀과 물을 첨가하여 덧술을 제조한 후 알코올 함량이 더 이상 증가하지 않을 때까지 발효하여 발효 온도별 최대 알코올 함량 도달까지의 발효기간 및 양조적성을 분석하였다.

효모 98-5는 발효온도 20°C 이상에서는 발효 8일째에 모두 알코올 함량 16%에 도달했고 15°C만이 9일째 도달하였으며 효모 111-5는 발효온도 15와 20°C에서는 발효기간 10, 7일에

알코올 함량 16.2% 로 최대치를 나타냈고 반면 발효온도 25와 30℃ 에서는 발효 12일 까지 13.6, 12.2%를 나타내고 더 이상 증가하지 않아 효모 111-5의 고온에서의 실패를 판단할 수 있었다. 따라서 효모 98-5는 온도 비특이적이거나 효모 111-5는 고온에서보다 저온(15, 20℃)에서 발효가 더 잘 이루어져 저온 발효력이 더 뛰어난 것을 알 수 있었다. pH는 효모 98-5는 3.42-3.52 수준을 보였고 효모 111-5는 발효온도 20℃가 3.22로 가장 낮게 25℃가 3.67로 가장 높게 나타났다. 고형분 함량은 알코올 함량과 역의 상관성을 보였다. 원주의 알코올 함량을 6%로 희석한 막걸리에서는 고형분 함량은 절반이하로 낮아져 3.3-6.3%로 나타났고 pH는 3.22-3.47 수준을 보였으며 환원당은 고형분 함량과 정의 상관관계를 보였다. 유기산은 전체적으로 citric acid의 함량이 1.15-1.99 mg/mL로 가장 높게 나타났고 효모 111-5에서는 부드럽고 둥근 신맛특성을 갖는 lactic acid 함량이 발효온도 15℃에서 가장 높았으며 green apple과 같이 덜 익은 사과 같은 신맛특성을 나타내는 malic acid는 25, 30℃에서 1.24, 1.47 mg/mL로 높게 검출되었다. 효모 98-5에서는 lactic, malic acid 함량이 낮았으며 acetic acid가 30℃에서 높게 검출되었다. 색도 측정결과 맑기를 나타내는 명도는 효모 98-5에서는 발효온도가 올라갈수록 높아지는 경향을 보였고 효모 111-5에서는 반대로 나타났으며 이는 초기 원주의 알코올 함량이 낮아 희석률이 적어서 나타난 것으로 판단된다.

표 54. 온도별 발효기간 원주의 이화학적 특성

	Temp. (°C)	Fermentation (day)	Alcohol (%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)
98-5	15	9	16.0	3.42	9.0	0.65
	20	8	16.2	3.51	9.3	0.64
	25	8	16.0	3.52	9.7	0.69
	30	8	16.0	3.47	9.6	0.73
111-5	15	10	16.2	3.41	9.2	0.65
	20	7	16.2	3.22	9.1	0.62
	25	12	13.6	3.67	14.6	0.67
	30	12	12.2	3.54	16.0	0.68

표 55. 온도별 발효기간 막걸리의 이화학적 특성

	Temp. (°C)	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid(%)	Reducing sugar(mg/mL)
98-5	15	6	3.22	3.6	0.23	3.74±0.29
	20	6	3.28	4.0	0.23	3.72±0.18
	25	6	3.30	4.0	0.23	4.24±0.08
	30	6	3.30	4.0	0.27	3.79±0.11
111-5	15	6	3.43	3.3	0.22	3.13±0.26
	20	6	3.45	3.7	0.21	3.04±0.31
	25	6	3.46	6.3	0.28	24.94±0.78
	30	6	3.47	8.3	0.33	36.11±0.94

표 56. 온도별 발효기간 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)

	Temp. (°C)	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
98-5	15	0.23	0.09	0.21	1.50	0.03
	20	0.16	0.09	0.34	1.36	0.13
	25	0.23	0.08	0.15	1.28	0.17
	30	0.30	0.08	0.51	1.50	0.25
111-5	15	0.60	0.53	0.35	1.26	0.48
	20	0.24	0.17	0.13	1.15	0.64
	25	1.24	0.12	0.30	1.19	1.72
	30	1.47	0.24	0.19	1.99	1.17

표 57. 온도별 발효기간 막걸리의 색도

	Temp. (°C)	Hunter Lab values		
		L(lightness)	a(redness)	b(yellowness)
98-5	15	32.79±0.00	-0.14±0.00	14.76±0.01
	20	33.35±0.00	0.33±0.01	15.57±0.01
	25	34.06±0.00	0.61±0.01	16.51±0.01
	30	36.24±0.00	0.18±0.00	14.65±0.01
111-5	15	34.87±0.02	-0.35±0.01	13.67±0.02
	20	33.68±0.01	0.18±0.00	15.59±0.01
	25	31.85±0.01	0.60±0.00	19.33±0.02
	30	30.69±0.01	0.65±0.00	21.35±0.01

발효 온도별 막걸리의 발효기간을 늘려 최종 알코올 함량을 동일하게 하여 막걸리를 제조한 효모 98-5 막걸리의 관능평가 결과 발효온도 25°C의 전체적 기호도가 유의적인 차이가 있게 가장 좋게 나타났다($p < 0.05$). 알코올 함량이 동일하여 6% 막걸리로 제성하였을 때 고형분 함량이 15°C 발효 술을 제외하고 4%로 동일하였으나 25°C 발효 술의 환원당 함량이 4.24%로 가장 높았고 유기산에서 acetic acid 함량이 가장 낮게 나타난 결과로 추정된다. 효모 111-5 막걸리는 25°C 막걸리의 전체적 기호도가 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났다. 이는 발효 온도 25°C의 알코올 함량이 낮아 막걸리를 제성할 때 회석률이 적어 고형분 함량과 환원당 함량이 높아 단맛이 강하게 느껴진데서 기인한 것으로 여겨지고 30°C 술은 막걸리 제성 후에도 총산이 0.33%로 가장 높아 신맛이 강하게 느껴져 기호도가 좋지 않게 나타난 것으로 판단된다.

표 58. 효모 98-5 온도별 발효기간 막걸리의 관능평가¹

Temp.(°C)	Flavor	Sweetness	Sourness**	Bitterness***	Overall*
15	6.00±0.87	4.67±1.00	4.67±1.32 ^{ab}	2.33±0.50 ^b	5.33±1.32 ^{ab}
20	5.67±0.50	4.00±0.87	4.00±0.00 ^b	3.00±1.50 ^a	5.00±0.87 ^b
25	5.67±1.80	5.00±0.87	5.33±0.50 ^a	3.33±0.50 ^a	6.33±0.50 ^a
30	6.67±0.50	5.00±0.00	5.33±0.50 ^a	3.33±0.50 ^a	6.00±0.87 ^a

¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. *=(P < 0.05), **=(P < 0.01), ***=(P < 0.001).

표 59. 효모 111-5 온도별 발효기간 막걸리의 관능평가¹

Temp.(°C)	Flavor****	Sweetness****	Sourness****	Bitterness*	Overall****
15	6.44±0.53 ^b	5.00±0.00 ^c	5.00±0.00 ^b	2.44±0.53 ^b	5.56±0.53 ^b
20	7.00±0.00 ^a	4.00±0.00 ^d	4.00±0.00 ^c	3.44±0.53 ^a	4.56±0.53 ^c
25	5.44±0.53 ^c	6.44±0.53 ^a	4.89±1.05 ^a	3.33±1.58 ^a	6.56±0.53 ^a
30	3.56±0.53 ^d	6.00±0.00 ^b	6.89±1.05 ^b	3.78±2.11 ^a	4.11±1.05 ^d

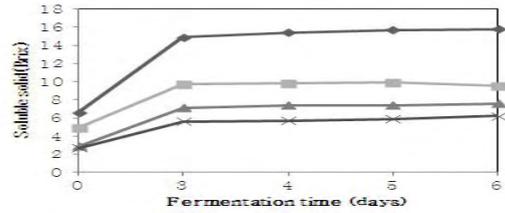
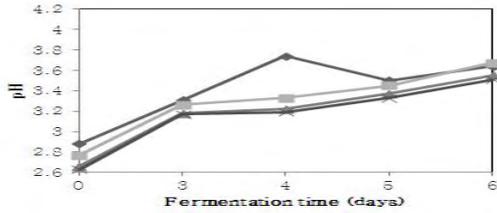
¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. *=(P < 0.05), ****=(P < 0.0001).

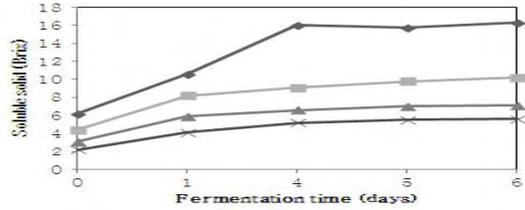
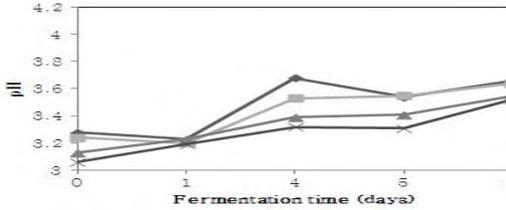
(4) 선발효모를 이용한 급수율별 양조적성

효모 98-5, 111-5, 141-1, 197-13, 263-4를 대상으로 1,500mL 용량으로 효모(0.02%), 발효제(입국sp85), 멍쌀과 물을 혼합할 때 원료쌀 대비 150, 200, 300, 400%로 급수율을 달리하여 25°C에서 2일 동안 발효하여 밑술을 제조하고 멍쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 5 균주의 급수율별 양조적성을 분석하였다.

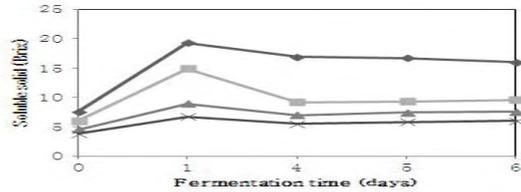
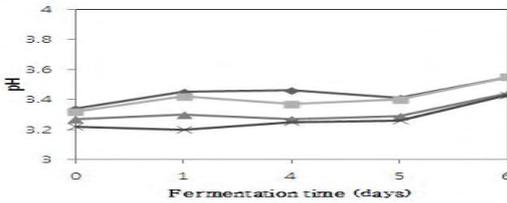
발효기간 중 pH는 담금 초기 2.6-3.3으로 나타났고 효모 98-5가 가장 낮았으며 모든 술에서 급수율이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 효모 98-5와 111-5는 발효기간 동안 서서히 증가하는 경향을 보였으며 효모 141-1, 197-13, 263-4는 발효 5일째까지 거의 변화가 없다가 이후 급격히 증가하게 나타났다. 발효 종료시점에서는 효모 111-5 술의 급수율 150, 200%가 4.0 이상으로 가장 높게 나타났고 초기 가장 낮은 pH를 보였던 효모 98-5가 3.5-3.6 수준으로 가장 낮게 나타났다. 고형분 함량은 급수율이 높아질수록 낮게 나타났고 효모 98-5와 111-5에서는 담금 2-3일째 급격히 증가하여 발효기간 동안 일정한 수준을 유지하였으며 효모 141-1, 197-13, 263-4에서는 담금 다음날 급격히 증가하여 이후 감소하는 경향을 보였다.



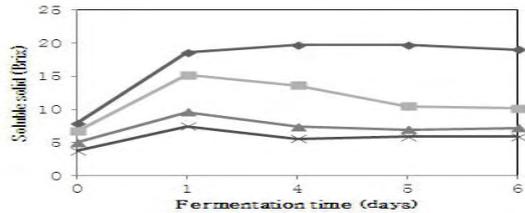
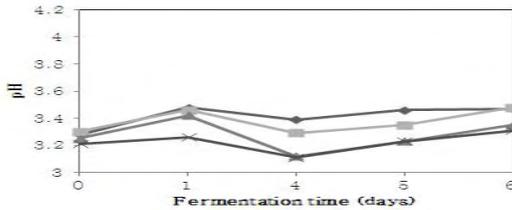
<효모 98-5>



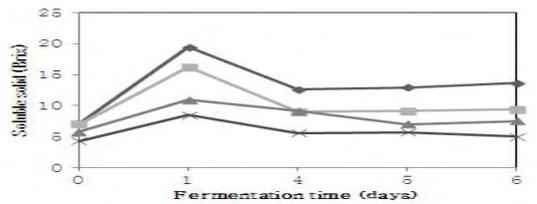
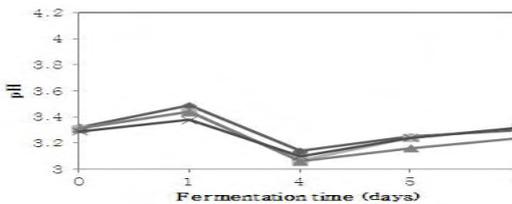
<효모 111-5>



<효모 141-1>



<효모 197-13>



<효모 263-4>

그림 20. 효모 5종 술의 급수율별 발효기간 중 pH 및 고형분함량 변화(◆:150, ■:200, ▲:300, ×:400)

알코올 함량은 효모 263-4만이 급수율 150%에서 16.1%로 가장 높게 나타났고 나머지는 급수율 200%에서 가장 높게 나타났다. pH는 급수율이 높아질수록 낮아지는 경향을 보였고 효모 263-4가 3.2-3.3으로 가장 낮았고 효모 98-5와 111-5가 3.5-3.6으로 나타났다. 고형분 함량과 총산 또한 급수율과 역의 상관관계를 보였다. 원주의 알코올 함량을 6%로 희석한 막걸리에서는 고형분 함량은 희석한 만큼 낮아지게 나타났고 pH는 0.01-0.2정도 낮아졌으며 환원당은 고형분 함량과 정의 상관관계를 보였다. 유기산은 전체적으로 citric acid의 함량이 1.21-4.85 mg/mL로 높게 나타났고 효모 98-5에서 부드럽고 둥근 신맛특성을 갖는 lactic acid 함량이 다른 균주에 비해 모든 급수율에서 전체적으로 높았으며 효모 141-1에서는 급수율 300%이상

서는 0.01 mg/mL로 급격히 감소하게 나타났다. 자극적인 신맛을 나타내는 acetic acid는 효모 98-5, 141-1, 197-13에서는 급수율이 증가할수록 감소하게 나타났고 효모 111-5와 263-4에서는 반대로 증가하는 경향을 보였다. 감칠맛을 내는 신맛특성을 갖는 succinic acid는 효모 111-5의 급수율 200%이하에서 가장 높게 나타났고 효모 98-5에서 가장 적은 함량을 보였다. 색도 측정결과 밝기를 나타내는 명도는 급수율이 증가할수록 높아지는 경향을 보였고 적색도와 황색도는 희석률에 따라 감소하게 나타났다.

표 60. 급수율별 원주의 이화학적 특성

	급수율 (원료쌀대비%)	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)
98-5	150	13.4	3.64	16.0	0.81
	200	16.0	3.67	9.8	0.72
	300	12.5	3.55	8.0	0.54
	400	9.1	3.51	6.0	0.44
111-5	150	15.0	3.66	16.6	0.68
	200	15.4	3.64	10.3	0.55
	300	12.1	3.55	7.2	0.42
	400	9.6	3.52	5.7	0.36
141-1	150	12.0	3.55	16.6	0.81
	200	15.0	3.55	9.5	0.63
	300	12.6	3.44	7.5	0.47
	400	9.6	3.43	5.8	0.42
197-13	150	9.0	3.47	18.9	0.79
	200	13.9	3.48	10.0	0.64
	300	11.3	3.35	7.2	0.48
	400	8.8	3.31	5.9	0.41
263-4	150	16.1	3.30	12.6	0.87
	200	14.6	3.32	9.3	0.66
	300	11.3	3.24	7.2	0.48
	400	8.9	3.32	5.9	0.41

표 61. 급수율별 막걸리의 이화학적 특성

	급수율(%)	Alcohol(%)	pH	Soluble solid (Brix, %)	Total acid (%)	Reducing sugar (mg/mL)
98-5	150	6	3.46	7.0	0.41	25.37±0.14
	200	6	3.45	4.6	0.26	3.60±0.05
	300	6	3.43	3.9	0.21	3.24±0.08
	400	6	3.42	4.3	0.27	3.17±0.35
111-5	150	6	3.53	6.60	0.28	30.36±0.28
	200	6	3.57	4.40	0.23	9.02±0.19
	300	6	3.50	3.60	0.22	2.55±0.07
	400	6	3.45	3.70	0.25	2.67±0.08
141-1	150	6	3.46	8.30	0.45	45.57±0.94
	200	6	3.39	4.40	0.29	5.51±0.19
	300	6	3.33	3.70	0.25	2.31±0.07
	400	6	3.37	3.90	0.28	2.44±0.04
197-13	150	6	3.57	12.80	0.59	92.31±1.16
	200	6	3.39	5.00	0.32	6.60±0.20
	300	6	3.27	4.10	0.29	2.46±0.06
	400	6	3.38	4.20	0.31	2.43±0.10
263-4	150	6	3.20	4.90	0.38	5.73±0.30
	200	6	3.26	4.40	0.28	4.52±0.26
	300	6	3.19	4.00	0.28	2.64±0.10
	400	6	3.31	4.30	0.29	2.44±0.13

표 62. 급수율별 막걸리의 유기산 함량 (mg/mL)

	급수율(%)	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
98-5	150	0.56	0.81	0.48	2.18	0.23
	200	0.38	0.52	0.30	1.35	0.17
	300	0.26	0.52	0.17	1.23	0.18
	400	0.29	0.74	-	1.48	0.19
111-5	150	0.62	0.49	0.08	1.99	1.00
	200	0.63	0.73	0.10	2.30	1.25
	300	0.31	0.62	0.17	1.29	0.68
	400	0.28	0.16	0.50	1.00	0.58
141-1	150	0.69	0.68	0.58	3.40	0.75
	200	0.71	0.61	0.26	1.56	0.52
	300	0.47	0.01	0.13	1.21	0.29
	400	0.57	0.01	0.11	1.16	0.26
197-13	150	0.44	0.09	0.35	4.85	0.58
	200	0.64	0.27	0.15	1.68	0.36
	300	0.62	0.22	0.09	1.28	0.35
	400	0.57	0.28	0.12	1.49	0.57
263-4	150	0.46	0.10	0.13	1.57	0.44
	200	0.46	0.53	0.12	1.71	0.74
	300	0.47	0.32	0.13	1.33	0.43
	400	0.40	0.84	0.28	1.30	0.45

표 63. 급수율별 막걸리의 색도

	급수율(%)	Hunter Lab values		
		L(lightness)	a(redness)	b(yellowness)
98-5	150	29.83±0.01	0.57±0.01	18.81±0.02
	200	33.91±0.01	0.13±0.01	14.18±0.02
	300	35.29±0.02	0.14±0.00	13.24±0.00
	400	34.32±0.01	0.16±0.01	14.43±0.02
111-5	150	29.51±0.01	-0.72±0.00	18.60±0.00
	200	32.84±0.02	0.05±0.00	15.62±0.00
	300	33.70±0.01	-0.46±0.00	14.59±0.00
	400	33.05±0.02	-0.33±0.02	14.56±0.00
141-1	150	28.52±0.00	-0.27±0.01	18.33±0.01
	200	33.92±0.00	-0.01±0.00	13.68±0.00
	300	36.98±0.01	-0.39±0.00	11.51±0.00
	400	36.09±0.02	-0.50±0.01	12.36±0.00
197-13	150	23.42±0.01	1.55±0.02	22.05±0.01
	200	33.81±0.00	-0.40±0.01	13.54±0.01
	300	35.43±0.01	-0.47±0.01	12.73±0.00
	400	34.37±0.00	-0.07±0.01	14.02±0.02
263-4	150	30.88±0.01	-0.90±0.01	17.07±0.02
	200	34.42±0.01	-0.72±0.01	14.33±0.00
	300	34.55±0.00	-0.74±0.00	14.34±0.00
	400	33.19±0.02	-0.71±0.02	16.27±0.03

휘발성 화합물은 효모별로 34-42종이 검출되었고 ethyl acetate를 포함한 ester류 23-32종, acetic acid를 포함한 acid류 2-4종, ethanol을 포함한 alcohol류 4-6종, aldehyde류 0-2종 그리고 기타 1-2종이 확인되었다.. Ethanol을 제외하고 hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 높은 면적비율로 나타나 실제적으로 막걸리의 바디감에서 오는 입안의 creamy한 특성을 확인할 수 있었고 모든 효모 술에서 급수량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였고 효모 98-5에서만 150%에서 가장 높은 면적비율로 나타났고 나머지 효모 술에서는 급수율 200%에서 가장 높게 나타났다. 과일 향 특성을 갖는 ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl caprate는 효모 종류에 따라서 그 차이가 매우 두드러지게 나타났고 급수율의 증가와 함께 증가하는 경향을 보였으며 효모 98-5 막걸리에서 8-16%로 가장 높게 나타났고 효모 141-1 막걸리에서 1-2%로 가장 적은 면적비율을 보였다. 또한 강한 과일 향 특성의 ethyl acetate는 효모 98-5, 111-5 막걸리에서는 급수율 150%에서 가장 적게 나타났고 효모 141-1, 197-13 막걸리에서는 급수율 150%에서 가장 높게 나타났다. 향은 거의 없고 부드럽고 달콤한 oil특성을 나타내는 ethyl myristate, ethyl oleate, ethyl linoleate와 같은 고급지방산이 또한 주요한 성분으로 확인되었다.

표 64. 호모 98-5 급수올별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	98-5			
				150	200	300	400
1	2.449	<1000	Ethyl acetate	0.224	0.272	0.307	0.295
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	19.222	14.166	15.793	16.303
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.122	0.106	0.124	0.119
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.059	0.050	0.057	0.062
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.216	0.338	0.221	0.192
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	1.509	1.785	1.851	2.042
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.057	0.084	0.109	0.128
8	13.167	1381	3-Ethoxy-1-propanol	0.085	0.046	0.023	- ¹
9	15.039	1442	Ethyl caprylate	1.257	1.691	1.997	2.770
10	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.046	0.123	0.112	0.177
11	21.186	1646	Ethyl caprate	7.156	11.156	12.097	14.035
12	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.132	0.147	0.189	0.266
13	22.692	1698	Ethyl 9-decenoate	-	-	-	0.091
14	23.094	1712	Decanoic acid, ethylester	0.012	0.018	0.017	0.016
15	23.572	1729	Decanoic acid, propyl ester	0.033	0.046	0.051	0.056
16	24.424	1760	Isobutyldecanoate	0.039	0.042	0.038	0.043
17	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	1.075	1.759	1.114	0.789
18	26.823	1848	Dodecanoic acid, ethylester	5.303	6.750	5.775	6.273
19	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.277	0.358	0.337	0.364
20	28.619	1917	Phenylethyl Alcohol	2.363	3.300	3.806	4.390
21	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	8.070	7.705	5.026	5.175
22	32.296	2065	Octanoic Acid	0.139	0.161	0.171	0.210
23	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.092	0.118	0.109	0.105
24	34.054	2139	Hexadecanal	0.046	0.095	0.112	0.049
25	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.128	0.107	0.072	0.079
26	34.699	2166	Undecanal	0.054	0.053	0.033	0.033
27	36.83	2263	Hexadecanoic acid, ethyl ester	41.526	39.626	30.446	27.316
28	37.367	2288	Ethyl 9-hexadecenoate	-	-	0.738	0.558
29	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.102	0.112	0.110	0.079
30	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.081	0.079	0.081	0.062
31	39.44	2380	2-Tetradecanol	0.053	0.093	0.118	0.072
32	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.743	1.799	1.797	1.592
33	41.671	2482	Ethyl oleate	8.607	7.655	7.421	7.468
34	42.866	>2500	Ethyl linoleate	0.170	0.162	9.747	8.793
				100	100	100	100

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

표 65. 효모 111-5 급수올별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

	RT	RI	Compound	111-5			
				150	200	300	400
1	2.449	<1000	Ethyl Acetate	0.126	0.137	0.166	0.181
2	2.771	<1000	Ethyl alcohol	16.638	18.170	20.721	22.963
3	4.135	1040	Propyl alcohol	0.050	0.052	0.084	0.095
4	5.111	1096	Propanoic acid	0.096	0.080	0.086	0.100
5	5.901	1129	Isoamyl acetate	0.755	0.715	0.640	0.468
6	8.04	1212	Isoamyl alcohol	2.087	2.052	2.501	2.934
7	8.898	1241	Ethyl caproate	0.073	0.069	0.076	0.079
8	15.039	1442	Ethyl caprylate	1.122	1.395	1.585	2.256
9	18.178	1544	Nonanoic acid, ethyl ester	0.094	0.075	0.104	0.139
10	21.186	1646	Ethyl caprate	5.668	8.775	11.179	12.971
11	21.731	1664	Isoamyl caprylate	0.110	0.107	0.182	0.255
12	23.094	1712	Decanoic acid, ethyl ester	0.037	0.018	0.017	-
13	23.572	1729	Decanoic acid, propyl ester	¹	-	0.013	0.018
14	24.424	1760	Isobutyl decanoate	0.035	0.027	0.035	0.045
15	25.512	1799	Oxalic acid, hexyl neopentyl ester	0.034	-	-	-
16	26.198	1825	Acetic acid, phenethyl ester	3.615	4.310	4.151	3.540
17	26.823	1848	Dodecanoic acid, ethyl ester	3.101	4.615	4.933	5.477
18	27.292	1866	3-Methylbutyl pentadecanoate	0.133	0.181	0.265	0.321
19	28.163	1899	Neodecanoic acid	0.094	-	-	-
20	28.619	1917	Phenylethyl Alcohol	6.652	5.321	6.474	7.354
21	32.016	2053	Tetradecanoic acid, ethyl ester	8.319	8.604	6.423	5.713
22	32.296	2065	Octanoic Acid	0.166	0.095	0.087	0.130
23	32.416	2070	Isoamyl lactate	0.088	0.077	0.079	0.089
24	34.054	2139	Hexadecanal	0.061	0.092	0.358	0.137
25	34.435	2155	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.119	0.090	0.064	0.050
26	34.699	2166	Undecanal	0.093	0.054	0.039	0.030
27	36.83	2263	Hexadecanoic acid, ethyl ester	32.777	36.778	32.050	27.332
28	37.367	2288	Ethyl 9-hexadecenoate	0.707	-	-	-
29	38.635	2343	2-Isopropoxyethyl propionate	0.042	0.033	0.032	0.033
30	39.249	2371	Hexadecanoic acid, butyl ester	0.097	0.081	0.070	0.058
31	39.44	2380	2-Tetradecanol	0.065	0.024	0.053	0.000
32	41.209	2461	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.189	1.449	1.352	1.148
33	41.671	2482	Ethyl Oleate	5.796	6.399	6.045	5.970
34	42.653	>2500	Ethylhexanoic acid	0.019	0.023	-	-
35	42.866	>2500	Ethyl linoleate	9.883	0.101	0.135	0.116
				100	100	100	100

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference.

¹Not detected.

표 66. 효모 141-1 급수올별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	141-1				
			150	200	300	400	
1	2.497	<1000	Ethyl Acetate	1.444	0.533	0.280	0.525
2	2.808	<1000	Ethylalcohol	28.468	23.341	31.132	24.445
3	5.814	1125	Isoamyl acetate	0.104	0.081	0.099	0.075
4	8.413	1225	Isoamyl alcohol	0.827	0.805	0.950	0.863
5	14.449	1423	Ethyl caprylate	1.008	0.349	0.238	0.660
6	15.614	1460	Acetic acid	0.817	0.275	0.220	0.390
7	17.757	1530	Ethyl nonanoate	0.190	0.097	0.088	0.119
8	20.645	1627	Ethyl caprate	1.147	1.087	0.837	1.513
9	21.64	1661	Isoamyl caprylate	0.016	0.021	0.017	0.021
10	22.639	1696	Ethyl 9-decenoate	0.011	0.033	0.035	0.041
11	23.44	1724	Decanoic acid, propyl ester	- ¹	0.019	0.028	0.023
12	24.223	1753	Isobutyl decanoate	0.050	-	-	0.012
13	26.116	1822	Acetic acid, phenethyl ester	0.392	0.665	0.716	0.930
14	26.602	1840	Ethyl laurate	1.287	1.465	1.216	1.877
15	27.066	1858	Isopentyl decanoate	0.027	0.039	0.039	0.054
16	28.66	1919	Phenylethyl Alcohol	1.460	1.387	1.812	2.564
17	31.358	2026	2-Pentadecanone	0.021	0.028	0.020	0.038
18	32.119	2057	Tetradecanoic acid, ethyl ester	6.346	7.866	5.589	7.341
19	32.358	2067	Ethyl undecenoate	0.082	0.097	0.064	0.122
20	32.467	2072	Isoamyl laurate	0.076	0.066	0.041	0.089
21	34.098	2141	Hexadecanal	0.076	0.265	0.185	0.096
22	34.478	2157	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.204	0.233	0.156	0.194
23	34.745	2168	(9Z)-9-Hexadecenyl myristate	0.092	0.135	0.107	0.141
24	37.027	2272	Hexadecanoic acid, ethyl ester	31.365	32.780	27.497	31.447
25	37.454	2292	Ethyl 9-hexadecenoate	0.927	1.453	4.338	4.026
26	37.213	2281	n-Decanoic acid	0.485	0.594	0.475	0.456
27	38.69	2345	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.054	0.107	0.059	0.059
28	39.07	2363	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.084	0.113	0.073	0.081
29	39.306	2374	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	0.063	0.124	0.125	0.100
30	39.493	2382	2-Hexadecanol	0.023	0.042	0.113	0.040
31	41.301	2465	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.288	1.810	2.680	2.492
32	41.794	2487	Ethyl Oleate	8.307	9.091	9.304	9.417
33	43.799	>2500	Decanoic acid, decyl ester	0.114	0.107	0.075	0.036
34	44.678	>2500	Ethyl 9-octadecenoate	-	0.291	0.121	0.111
35	44.81	>2500	Ethyl linolenate	0.305	0.358	0.236	0.189
36	43.291	>2500	Ethyl linoleate	10.982	12.790	9.825	8.820
37	48.267	>2500	Tetradecanoic acid	0.203	-	0.168	0.101
38	59.432	>2500	Hexadecanoic acid	1.632	1.451	1.044	0.492
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

표 67. 효모 197-13 급수올별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	197-13				
			150	200	300	400	
1	2.497	<1000	Ethyl Acetate	2.140	0.799	0.476	0.593
2	2.808	<1000	Ethylalcohol	31.930	22.351	17.546	20.693
3	4.392	1055	Propyl alcohol	0.024	- ¹	-	0.024
4	5.814	1125	Isoamyl acetate	0.083	0.056	-	-
5	8.413	1225	Isoamyl alcohol	0.826	0.198	1.221	0.868
6	14.449	1423	Ethyl caprylate	0.687	0.528	0.616	0.848
7	15.614	1460	Aceticacid	0.782	-	0.271	0.446
8	17.757	1530	Ethyl nonanoate	0.073	0.068	0.145	0.162
9	20.645	1627	Ethyl caprate	0.632	0.502	2.512	1.066
10	21.64	1661	Isoamyl caprylate	0.016	-	0.054	0.027
11	23.44	1724	Decanoic acid, propyl ester	0.025	0.036	0.031	0.031
12	26.116	1822	Acetic acid, phenethyl ester	0.292	0.282	1.476	0.519
13	26.602	1840	Ethyl laurate	1.003	0.625	3.236	1.760
14	27.066	1858	Isopentyl decanoate	0.012	0.019	0.124	0.049
15	28.66	1919	Phenylethyl Alcohol	1.067	1.371	3.236	3.370
16	31.358	2026	2-Pentadecanone	0.018	0.013	0.038	0.034
17	32.119	2057	Tetradecanoic acid, ethyl ester	6.686	4.401	9.045	8.451
18	32.358	2067	Ethyl undecenoate	0.080	0.041	0.169	0.137
19	32.467	2072	Isoamyl laurate	0.074	0.031	0.141	0.065
20	34.098	2141	Hexadecanal	0.051	0.084	0.132	0.042
21	34.478	2157	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.205	0.165	0.217	0.248
22	34.745	2168	(9Z)-9-Hexadecenyl myristate	0.085	0.077	0.156	0.157
23	37.027	2272	Hexadecanoic acid, ethyl ester	31.874	35.220	32.915	32.908
24	37.454	2292	Ethyl 9-hexadecenoate	0.625	2.359	2.766	2.829
25	37.213	2281	n-Decanoic acid	0.403	0.364	0.589	0.447
26	38.69	2345	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.107	0.066	0.063	0.067
27	39.07	2363	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.108	0.089	0.078	0.093
28	39.306	2374	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	0.079	0.097	0.116	0.074
29	39.493	2382	2-Hexadecanol	-	0.021	0.043	0.025
30	41.301	2465	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.039	2.681	2.793	3.078
31	41.794	2487	Ethyl Oleate	6.698	11.032	8.717	9.406
32	43.799	>2500	Decanoic acid, decyl ester	0.034	0.075	0.034	0.048
33	44.81	>2500	Ethyl linolenate	0.300	0.341	0.225	0.238
34	43.291	>2500	Ethyl linoleate	10.036	14.117	9.473	9.262
35	48.267	>2500	Tetradecanoic acid	0.208	0.244	0.211	0.256
36	59.432	>2500	Hexadecanoic acid	1.697	1.626	1.028	1.611
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

표 68. 효모 263-4 급수율별 막걸리의 휘발성 향기성분 (relative peak area, %)

RT	RI	Compound	263-4				
			150	200	300	400	
1	2.497	<1000	Ethyl acetate	0.548	0.374	0.476	0.743
2	2.808	<1000	Ethyl alcohol	25.956	23.887	29.891	29.359
3	4.392	1055	Propyl alcohol	0.048	0.028	0.058	0.058
4	5.388	1108	Isobutyl alcohol	0.013	- ¹	0.052	0.041
5	5.814	1125	Isoamyl acetate	-	-	0.097	0.157
6	8.413	1225	Isoamyl alcohol	1.160	1.125	1.911	1.878
7	14.449	1423	Ethyl caprylate	0.699	1.015	0.583	0.858
8	15.614	1460	Acetic acid	0.266	-	0.241	0.223
9	17.757	1530	Ethyl nonanoate	0.037	0.079	0.124	0.201
10	20.645	1627	Ethyl caprate	2.174	2.843	2.971	3.307
11	21.64	1661	Isoamyl caprylate	0.014	0.075	0.101	0.106
12	21.845	1668	á-Farnesene	-	0.031	0.016	0.035
13	22.352	1686	Ethyl succinate	-	-	0.073	0.063
14	22.639	1696	Ethyl 9-decenoate	0.097	0.069	0.017	0.014
15	23.44	1724	Decanoic acid, propyl ester	0.022	0.028	0.031	0.037
16	24.223	1753	Isobutyl decanoate	0.016	0.030	0.037	0.029
17	26.116	1822	Acetic acid, phenethyl ester	0.276	1.319	3.869	1.202
18	26.602	1840	Ethyl laurate	2.622	3.896	0.702	3.403
19	27.066	1858	Isopentyl decanoate	0.174	0.188	0.108	0.178
20	28.66	1919	Phenylethyl alcohol	1.228	2.092	4.336	3.717
21	31.358	2026	2-Pentadecanone	0.018	0.024	0.037	0.032
22	32.119	2057	Tetradecanoic acid, ethyl ester	5.158	7.573	5.605	6.254
23	32.358	2067	Ethyl undecenoate	0.150	0.176	0.140	0.157
24	32.467	2072	Isoamyl laurate	0.171	0.148	0.092	0.107
25	34.098	2141	Hexadecanal	0.035	0.133	0.136	0.078
26	34.478	2157	Pentadecanoic acid, ethyl ester	0.166	0.175	0.149	0.174
27	34.745	2168	(9Z)-9-Hexadecenyl myristate	0.092	0.126	0.114	0.126
28	37.027	2272	Hexadecanoic acid, ethyl ester	34.146	31.464	26.017	25.897
29	37.454	2292	Ethyl 9-hexadecenoate	1.332	1.663	3.534	4.153
30	37.213	2281	n-Decanoic acid	0.816	0.829	0.579	0.520
31	38.69	2345	Hexadecanoic acid, propyl ester	0.197	0.126	0.076	0.070
32	39.07	2363	Heptadecanoic acid, ethyl ester	0.152	0.106	0.094	0.061
33	39.306	2374	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	0.189	0.190	0.157	0.138
34	39.493	2382	2-Hexadecanol	0.055	0.149	0.141	0.096
35	41.301	2465	Octadecanoic acid, ethyl ester	1.758	2.453	1.870	1.611
36	41.794	2487	Ethyl Oleate	9.184	7.584	6.972	6.766
37	43.799	>2500	Decanoic acid, decyl ester	0.065	0.078	0.068	0.060
38	44.678	>2500	Ethyl 9-octadecenoate	0.014	0.015	0.155	0.226
39	44.81	>2500	Ethyl linolenate	0.155	0.171	0.137	-
40	43.291	>2500	Ethyl linoleate	9.452	8.417	7.449	7.116
41	48.267	>2500	Tetradecanoic acid	0.146	0.232	0.082	0.135
42	59.432	>2500	Hexadecanoic acid	1.200	1.092	0.702	0.612
				100.00	100.00	100.00	100.00

RT, Retention time; RI, Retention indices were determined using C10-C25 as external reference. ¹Not detected.

관능평가 결과 효모 98-5와 111-5 막걸리의 전체적 기호도는 급수율 150%에서 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났고($p < 0.05$). 단맛강도 또한 급수율 150%에서 유의적인 차이가 있게 가장 강하게 나타났고 신맛강도 또한 강하게 나타나 막걸리에서의 단맛과 신맛에 대한 기호성을 알 수 있었다($p < 0.05$). 효모 263-4, 141-1, 197-13 막걸리의 전체적 기호도는 급수율 200%에서 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났고($p < 0.05$), 세 균주 막걸리의 신맛강도는 앞의 두 균주보다 강하게 나타나 급수율 150%보다 신맛 강도가 적은 200%의 기호도가 높게 나타난 것으로 판단되고 또한 단맛강도는 150%가 더 강한 것으로 미루어 단맛과 신맛의 조화가 필요한 것으로 여겨진다.

표 69. 막걸리의 급수율에 따른 관능평가¹

	급수율(%)	Flavor	Sweetness***	Sour	Bitterness	Overall***
98-5	150	6.60±0.89	6.00±1.73 ^a	6.17±0.98	4.33±1.86	6.50±1.52 ^a
	200	6.50±1.38	4.17±0.75 ^b	5.00±1.90	3.50±1.22	3.67±1.03 ^b
	300	5.17±0.75	3.33±0.52 ^b	5.17±1.47	3.83±0.75	3.83±0.41 ^b
	400	5.40±1.82	3.67±0.82 ^b	5.33±1.75	4.67±1.51	4.67±1.37 ^b
111-5	150	8.10±0.78 ^a	5.00±0.71 ^a	5.60±0.53 ^a	3.00±0.87 ^b	7.00±0.87 ^a
	200	7.00±0.87 ^b	3.00±0.71 ^b	3.40±0.88 ^c	3.20±0.67 ^b	5.40±0.53 ^b
	300	5.00±1.22 ^c	2.30±0.50 ^b	3.00±0.87 ^c	6.00±0.71 ^a	3.40±0.53 ^c
	400	6.60±1.33 ^b	3.00±0.87 ^b	4.60±0.73 ^b	5.40±0.53 ^a	5.40±1.13 ^b
141-1	150	4.11±0.93 ^b	6.89±0.60 ^a	6.00±0.71 ^a	4.56±0.73 ^b	5.00±0.87 ^b
	200	5.44±0.88 ^a	3.44±0.53 ^b	5.00±0.71 ^b	4.44±1.13 ^b	6.00±0.87 ^a
	300	4.00±0.71 ^b	2.56±0.73 ^c	4.00±0.87 ^c	4.44±0.88 ^b	4.44±0.88 ^b
	400	4.00±0.71 ^b	2.00±0.71 ^c	4.44±0.88 ^{bc}	7.00±0.71 ^a	3.00±0.87 ^c
197-13	150	3.33±0.50 ^c	8.00±0.71 ^a	7.00±0.71 ^a	5.00±0.87	4.44±0.88 ^a
	200	5.00±0.71 ^a	3.00±0.71 ^b	5.11±0.78 ^b	4.78±0.67	5.00±0.71 ^a
	300	4.33±0.71 ^{ab}	2.67±0.71 ^c	4.56±0.88 ^b	4.67±1.22	3.78±0.83 ^b
	400	4.00±0.71 ^{bc}	2.00±0.71 ^c	5.00±0.87 ^b	4.89±1.36	3.44±0.53 ^b
263-4	150	6.44±0.88 ^a	3.78±0.83 ^a	6.00±0.71 ^b	5.44±0.88 ^b	6.56±0.73 ^b
	200	7.00±0.87 ^a	4.00±0.87 ^a	5.44±0.73 ^{bc}	4.00±0.87 ^c	7.56±0.88 ^a
	300	3.11±0.93 ^b	2.11±0.93 ^b	5.00±0.87 ^c	7.00±0.71 ^a	5.00±0.87 ^c
	400	3.56±0.73 ^b	1.56±0.53 ^b	7.44±0.73 ^a	7.00±0.87 ^a	2.89±0.93 ^d

¹9, like extremely; 1, dislike extremely.

Means with superscript letters(a-c) indicate significant differences at the 5% level, as determined by Duncan's multiple range test. *** =(P < 0.001).

(5) 막걸리 양조전용 효모 내알코올성, 내당성

선발 균주의 내알코올성(ethanol 0, 8, 12, 16, 20%, v/v) 및 내당성(glucose 2, 30, 40, 50, 60, 70%, w/v)을 측정 한 결과는 그림 21,22에 나타내었다. 내알코올성은 에탄올을 넣지 않은 대조구를 기준으로 에탄올 함량이 높아짐에 따른 스트레스에 의한 cell의 생존율 감소를 측정하였다. 청주효모의 경우 에탄올 농도 12%에서부터 성장이 억제된다고 보고되어 있다. 선발 균주는 에탄올 함량 8%에서 non-*Saccharomyces cerevisiae* 197-13 균주가 80%, 263-4 균주가 65%로 낮은 생존율을 보인 것을 제외하고는 모두 90% 이상의 높은 생존율을 보였다. 에탄올 함량 12%에서는 4균주를 제외하고는 모두 80% 이상의 생존율을 보였고 에탄올 16%에서는 192-4 균주가 78%로 가장 높은 생존율을 보였으며 에탄올 20%에서는 모든 선발균주가 제빵효모 La Parisienne 보다 높은 생존율을 보이는 것으로 확인되었다.

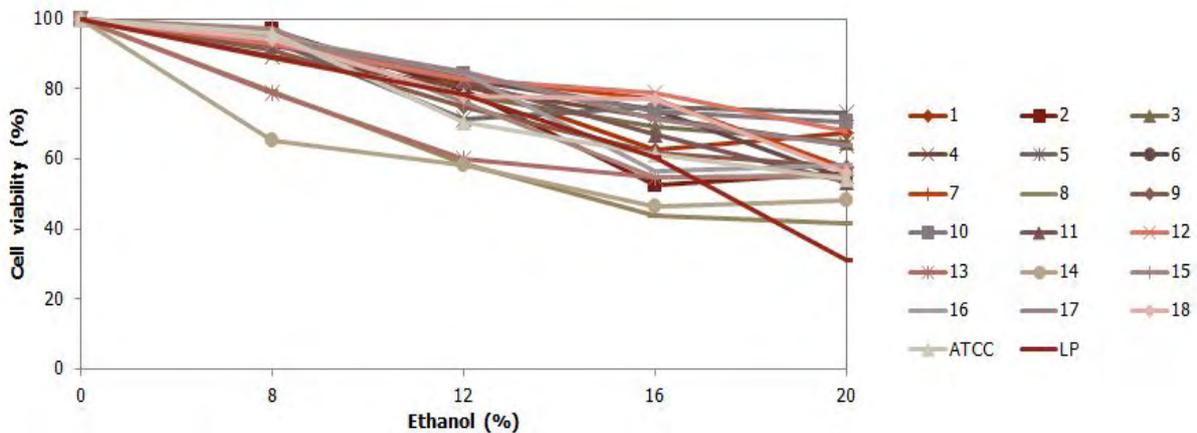


그림 21. 막걸리 양조 선발효모의 내알코올성

내당성은 포도당 함량 2%에서의 활성을 100%로 보고 각 균주의 포도당 함량이 높아짐에 따른 스트레스에 의한 생존율 감소를 확인하였다. 포도당 함량 30%에서 선발 균주는 표준 균주 *S. cerevisiae* ATCC 24858의 84% 보다 대부분 높은 생존율을 보이는 것으로 나타났고 포도당 70%의 고당함량에서까지 대부분 60% 이상의 생존율을 보였으며 균주 64-5, 141-1, 197-13, 263-4 만이 포도당 70%에서 50% 이하로 스트레스에 따른 생존율 감소를 보였다. 이러한 생존율 감소를 보인 4균주 중 64-5만이 *S. cerevisiae* 였고 나머지 3 균주는 모두 non-*Saccharomyces cerevisiae* 인 것으로 확인되었다.

이와 같은 내알코올성, 내당성과 같은 스트레스에 대한 효모의 특성 차이는 내알코올성이 강한 균주일수록 세포막의 조성 등을 변화시켜 외부의 자극에 대하여 적응하는 능력(adaptive response)이 높다고 보고되어 있다. 또한 ethanol-tolerant mutant 효모는 스트레스에 저항하는 물질의 축적으로 인한 스트레스 대응 유전자의 과다발현으로 에탄올뿐만 아니라 열, 삼투압 그리고 산소와 같은 복합적인 자극에 함께 내성을 보인다고 보고되어 있다. 따라서 선발된 효모균주의 내알코올성, 내당성에 대한 높은 저항력은 술이 발효되면서 생기는 다양한 스트레스에 대한 저항력 또한 높을 것으로 여겨진다.

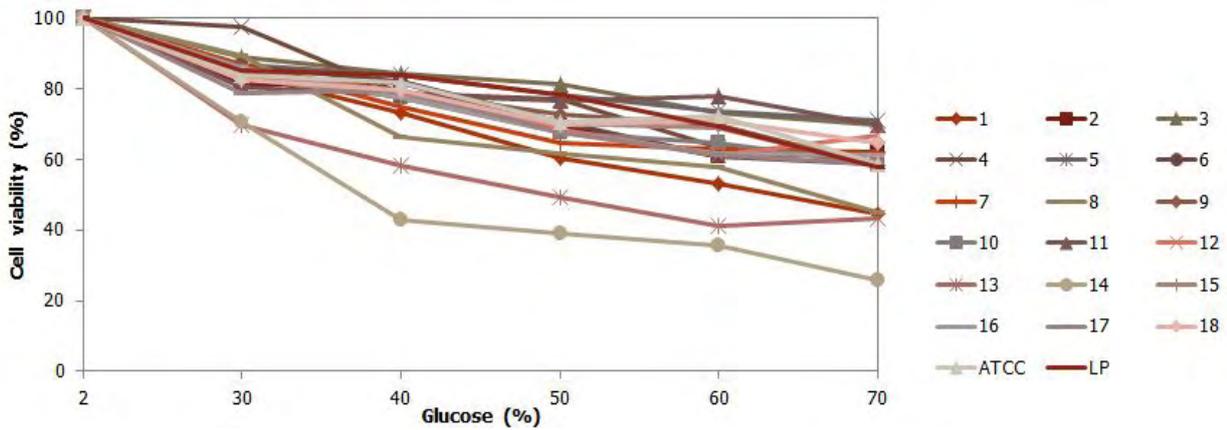


그림 22. 막걸리 양조 선발효모의 내당성

(6) 막걸리 양조전용 효모 침강성

효모의 침강성은 양조에서 매우 중요한 요소이다. 맥주양조에서 침강성이 매우 좋은 효모는 발효 종료 시점에서 맥주로부터 효모를 자연 친화적으로 간단히 비용을 들이지 않고 분리 할 수 있는 긍정적인 효과를 제공한다. 그러나 막걸리 양조에서는 효모를 분리하여 제거하지 않고 전체적으로 혼탁한 상태를 유지하기 때문에 침강성이 낮은 효모가 막걸리의 특성을 유지하는데 더 적합하다. 선발 효모의 침강성을 측정된 결과 *S. cerevisiae* 표준균주 ATCC 24858은 25.27%로 moderately flocculent 효모에 속하였다. 균주 263-4는 55%로 가장 높은 침강성을 보인 반면 균주 98-2, 98-5, 192-4, 197-13이 20% 이하로 non-flocculent 효모 특성을 보여 침강성이 매우 낮은 것으로 나타났고 이러한 특성은 막걸리의 혼탁하고 부유되는 성질에 적합할 것으로 판단되었다.

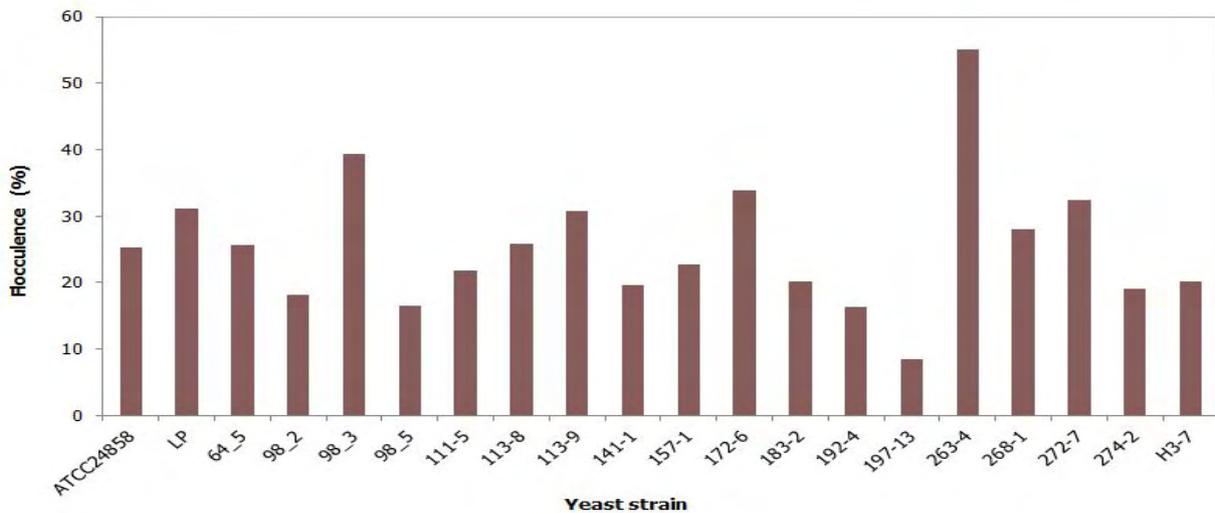


그림 23. 막걸리 양조 선발효모의 침강성

(7) 막걸리 양조전용 효모 oxidation-fermentation, assimilation test

막걸리 양조전용 효모균체의 미토콘드리아내의 호흡관여 탈수소효소에 의한 환원작용에 의해 보라색으로 바뀌는 정도를 흡광도로 측정하여 95개 탄소원 종류에 따른 효모균체의 oxidation-fermentation test를 실시하였고 균체 증식에 의한 turbidity 측정에 의해 assimilation test를 실시하였다. 데이터베이스상의 *S. cerevisiae* 와 표준균주 ATCC 24858 균주의 탄소원을 이용한 산화-발효 특성은 유사하였으나 일본소주용 2호 효모는 다른 특성을 보였다. 멜리비오스(melibiose)는 식물계에 널리 분포하는 6-O- α -D-갈락토피라노실-D-글루코오스 구조의 환원성 이당류인데, *S. cerevisiae* 는 멜리비오스를 이용하지 못하는 것으로 알려져 있다. MEL-gen을 갖고 있고, 그 결과 균체 외 효소 α -갈락토시다아제(멜리비아제)를 생성함으로써 멜리비오스를 이용할 수 있는 효모가 64-5외 11균주로 확인되었는데 이러한 특성은 일본소주용 2호 효모와 같은 특성으로 확인되었다. 따라서 분리된 효모 12균주는 *S. cerevisiae* 균주가 이용하지 못하는 것으로 알려진 D-멜리비오스를 이용하여 발효할 수 있고, D-멜리비오스를 동화하여 균체 증식을 할 수 있는 것으로 나타났다. 또한 *S. cerevisiae* 균주가 이용할 수 있는 것으로 알려진 glucose 3분자가 α -1,4 glycosidic bond를 이루고 있는 환원성 삼당류 maltotriose 와 비환원성 삼당류 melezitose 를 일본소주용 2호 효모가 이용할 수 없는 것으로 확인되었는데 선발 효모 중 192-4 균주가 동일한 특성을 보이는 것으로 확인되었다. 또한, 2분자의 글루코오스가 β -1,4 결합한 환원성 이당류인 cellobiose 를 *S. cerevisiae* 는 이용하지 못하는 것으로 보고되어 있는데 선발효모 중 113-8, 183-2, 268-1, 274-2 4균주는 완전한 양성반응으로 이용 가능한 것으로 확인되었다.

표 70. 최종 선발 균주의 oxidation-fermentation test

Carbon source	<i>S. cerevisiae</i>	ATCC2485 8	燒耐用 2号	64-5	98-2	98-3	98-5	111-5	113-8	113-9
acetic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
formic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
propionic acid	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
succinic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl succinate	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-aspartic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-glutamic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-proline	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-gluconic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dextrin	32	-	-	-	-	-	*	-	-	-
inulin	0	*	*	*	-	-	*	-	*	*
cellobiose	0	-	-	*	*	*	-	-	+	*
genstiobiose	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
maltose	100	+	+	*	-	-	+	+	-	-
maltotriose	100	+	-	+	+	+	+	+	+	+
D-melezitose	79	+	-	+	+	-	*	+	+	+
D-melibiose	0	-	+	+	+	-	-	-	+	+
palatinose	100	+	-	-	-	-	+	+	-	-
D-raffinose	100	*	+	+	+	-	+	+	+	+
stachyose	93	*	+	+	*	+	+	+	+	+
sucrose	100	+	+	+	*	+	+	+	+	+
D-trehalose	100	+	*	+	+	+	+	+	+	+
turanose	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N-acetyl-D-glucosamine	0	-	-	+	+	+	-	-	+	+
α-D-glucose	100	+	+	-	-	-	+	+	-	-
D-galactose	82	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-psicose	26	-	-	+	+	-	*	-	+	+
L-sorbose	0	-	-	*	-	-	-	-	-	-
salicin	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannitol	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-sorbitol	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabitol	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
xylitol	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycerol	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tween 80	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

표 70. 계속

Carbon source	141-1	157-1	172-6	183-2	192-4	197-13	263-4	268-1	272-7	274-2	H3-7
acetic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
formic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
propionic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
succinic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl succinate	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-aspartic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-glutamic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-proline	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-gluconic acid	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dextrin	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
inulin	-	*	-	-	*	*	-	*	*	-	*
cellobiose	-	*	-	+	-	*	*	+	*	+	*
genntiobiose	*	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-
maltose	*	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
maltotriose	*	+	+	+	-	+	*	+	+	+	+
D-melezitose	*	+	+	-	-	+	*	+	+	+	+
D-melibiose	*	+	+	-	+	+	*	+	+	+	+
palatinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-raffinose	*	+	+	-	+	+	*	+	+	+	+
stachyose	-	+	+	+	+	+	-	+	*	+	+
sucrose	-	+	+	+	+	*	-	+	*	-	+
D-trehalose	*	+	+	+	*	+	*	+	+	+	+
turanose	-	+	+	+	+	-	*	*	+	+	+
N-acetyl-D-glucosamine	*	+	+	+	-	+	*	+	+	+	+
α-D-glucose	-	-	-	-	+	-	*	-	-	-	-
D-galactose	*	+	+	+	+	+	*	+	+	+	+
D-psychose	*	+	+	+	-	+	*	+	+	+	+
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannitol	*	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-
D-sorbitol	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
xylitol	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tween 80	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

표 71. 최종 선발 균주의 carbon assimilation test

Carbon source	<i>S. cerevisiae</i>	ATCC24858	燒耐用 2号	64-5	98-2	98-3	98-5	111-5	113-8	113-9
fumaric acid	0	-	+	-	-	-	-	-	-	-
L-malic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl succinate	12	-	*	-	-	-	*	-	-	-
bromo succinic acid	0	-	+	-	-	-	-	-	-	-
L-glutamic acid	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ -amino butyric acid	0	-	+	-	-	-	*	-	-	-
α -keto-glutaric acid	0	-	-	-	-	-	*	-	-	-
2-keto-D-gluconic acid	7	-	*	-	-	-	+	-	-	-
D-gluconic acid	0	-	-	-	-	-	+	-	-	-
dextrin	9	*	+	-	-	-	*	*	-	-
inulin	0	+	+	+	*	*	+	*	*	*
cellobiose	0	-	+	*	*	*	+	-	+	*
genstiobiose	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
maltose	100	+	+	*	-	-	-	+	-	-
maltotriose	100	+	*	+	+	+	+	+	+	+
D-melezitose	81	+	-	+	+	-	+	+	+	+
D-melibiose	0	-	+	+	+	-	+	-	+	+
palatinose	100	+	-	-	-	-	*	+	-	-
D-raffinose	100	+	+	+	+	-	+	+	+	+
stachyose	93	+	+	+	*	+	+	+	+	*
sucrose	100	+	+	+	*	+	+	+	+	+
D-trehalose	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
turanose	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N-acetyl-D-glucosamine	0	-	*	+	+	+	+	-	+	+
D-glucosamine	0	-	-	-	-	-	*	-	-	-
α -D-glucose	100	+	+	-	-	-	-	+	-	-
D-galactose	86	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-psicose	0	-	*	+	+	-	+	-	+	+
L-rhamnose	0	-	*	*	-	-	+	-	-	-
L-sorbose	0	-	-	-	-	-	+	-	-	-
α -methyl D-glucoside	76	+	+	-	-	-	-	+	-	-
β -methyl D-glucoside	0	-	-	+	+	-	*	-	+	+

표 71. 계속

Carbon source	141-1	157-1	172-6	183-2	192-4	197-13	263-4	268-1	272-7	274-2	H3-7
amygdalin	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
arbutin	-	*	*	*	-	-	-	*	*	+	*
salicin	*	-	-	-	-	*	*	-	-	-	-
maltitol	*	*	-	-	-	*	+	*	-	*	-
D-mannitol	*	*	-	-	*	*	-	-	-	-	-
D-sorbitol	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
adonitol	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
xylitol	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I-erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycerol	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
tween 80	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	*	-	-	-	*	-	-	*	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	*	*	-	-	*	-	-	*	*	-
methyl succinate + D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
N-acetyl-L-glutamic acid + D-xylose	-	*	-	-	-	*	-	-	-	-	-
quinic acid + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
glucuronic acid + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
dextrin + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
α -D-lactose + D-xylose	*	*	-	-	-	*	-	*	*	*	*
D-melibiose + D-xylose	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
D-galactose + D-xylose	-	-	-	-	+	*	-	-	-	*	-
m-inositol + D-xylose	*	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
1,2-propanediol + D-xylose	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
acetoin + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	*	-

표 71. 계속

Carbon source	141-1	157-1	172-6	183-2	192-4	197-13	263-4	268-1	272-7	274-2	H3-7
fumaric acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-malic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl succinate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bromo succinic acid	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
L-glutamic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ -amino butyric acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -keto-glutaric acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-keto-D-gluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-gluconic acid	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-
dextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
inulin	-	*	-	-	-	*	*	*	*	*	*
cellobiose	-	*	*	+	+	*	+	+	+	+	*
gentiobiose	*	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
maltose	*	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-
maltotriose	*	+	+	+	+	+	*	+	+	+	+
D-melezitose	*	+	+	-	-	+	*	+	+	+	+
D-melibiose	*	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
palatinose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
D-raffinose	*	+	+	-	-	+	*	+	+	+	+
stachyose	*	+	*	+	+	+	-	+	*	+	+
sucrose	-	+	*	*	+	*	-	+	*	+	+
D-trehalose	*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
turanose	-	+	+	*	*	*	*	*	+	+	+
N-acetyl-D-glucosamine	*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucosamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
α -D-glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	*	+	+	+	*	+	+	+	+	+	+
D-psicose	*	+	*	+	+	+	+	+	+	+	+
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -methyl D-glucoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -methyl D-glucoside	*	+	+	-	+	+	-	+	+	+	*

표 71. 계속

Carbon source	141-1	157-1	172-6	183-2	192-4	197-13	263-4	268-1	272-7	274-2	H3-7
amygdalin	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
arbutin	-	*	*	*	-	-	-	*	*	+	*
salicin	*	-	-	-	-	*	*	-	-	-	-
maltitol	*	*	-	-	-	*	+	*	-	*	-
D-mannitol	*	*	-	-	*	*	-	-	-	-	-
D-sorbitol	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
adonitol	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
xylitol	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I-erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycerol	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
tween 80	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	*	-	-	-	*	-	-	*	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	*	*	-	-	*	-	-	*	*	-
methyl succinate + D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
N-acetyl-L-glutamic acid + D-xylose	-	*	-	-	-	*	-	-	-	-	-
quinic acid + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
glucuronic acid + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
dextrin + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
α -D-lactose + D-xylose	*	*	-	-	-	*	-	*	*	*	*
D-melibiose + D-xylose	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
D-galactose + D-xylose	-	-	-	-	+	*	-	-	-	*	-
m-inositol + D-xylose	*	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
1,2-propanediol + D-xylose	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
acetoin + D-xylose	-	-	-	-	-	*	-	-	-	*	-

(8) 막걸리 양조전용 효모 18S rRNA gene sequence 결과

막걸리 양조전용으로 선발된 18균주의 rRNA gene sequencing 유전자분석 결과 *S. cerevisiae* 15종(64-5, 98-2, 98-3, 98-5, 111-5, 113-8, 113-9, 157-1, 172-6, 183-2, 192-4, 268-1, 272-7, 274-2), *Wickerhamomyces* 2종(141-1, 197-13) 그리고 *Clavispora* 1종(263-4)으로 동정되었다(표 72).

표 72. 선발효모 18균주의 동정결과

	Yeast No.	Identification	Accession number	Data Base	Similarity (%)
1	64-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GU256758.1	gb	100
2	98-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AB280542.1	gb	99
3	98-3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GU256758.1	gb	99
4	98-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	99
5	111-5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	99
6	113-8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	97
7	113-9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	98
8	141-1	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	JN016737.1	gb	100
9	157-1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AB533540.1	gb	91
10	172-6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	98
11	183-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AB683055.1	gb	99
12	192-4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AB533543.1	gb	99
13	197-13	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	AY046221.1 (GenBankJX566694)	gb	98
14	263-4	<i>Clavispora lusitaniae</i>	HQ693786.1	gb	99
15	268-1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	EU789403.1	gb	98
16	272-7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN093142.1	gb	91
17	274-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN093147.1	gb	96
18	H3-7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393997.1	gb	99
19	ATCC24858	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	high ethanol tolerance strain		

최종 선발된 3종 효모와 *S. cerevisiae* 표준균주(CBS4054), 일본청주효모(K7) 및 소주효모(S2)의 염기서열 분석결과를 그림 24에 나타내었다. 선발효모 3종은 일본청주효모, 소주효모와 ITS region의 염기서열이 100% 일치하지 않아 다름을 확인하였으며 고알코올을 생성하는 선발효모 192-4 균주는 소주효모 S2와 염기서열이 가장 유사하게 나타나 고알코올 생산에 최적화 되어있는 소주효모와의 염기서열의 상관성을 확인할 수 있었다.

```

K7      TTAAGAACATTGTTTCGCCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 180
S2      TTAAGAACATTGTTTCGCCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 120
CBS4054 TTAAGAACATTGTTTCGCCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 149
Y98-5  -----AGAAAGCCTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 51
Y111-5 -----AGAAAGCCTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 52
Y192-4 -----AGAAAGCCTTCCAATAGCCTCAGTATAAAAAA--CATTAGCCCGCACTTGGTAAAA 10

CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 268
K7      CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 208
S2      CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 239
CBS4054 CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 141
Y98-5  CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 142
Y111-5 CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT 98
Y192-4 CCTAAAACCGACCCCTACTTGCATTATACCTCAAGCAGCGCAAGCAAAACCTCTCTTTGCAAAAAAAA--CATCCAATGAAAAGGCCAGCAATT

TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 358
K7      TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 298
S2      TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 329
CBS4054 TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 231
Y98-5  TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 232
Y111-5 TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA 188
Y192-4 TCAACTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCA

AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 448
K7      AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 388
S2      AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 419
CBS4054 AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 321
Y98-5  AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 322
Y111-5 AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC 278
Y192-4 AGGGCGCCCAATCTGCCTTCAAAGATTCCGATGATTACCGCAATTCGCAATTACATTACGCTATCGCATTTCCGCTCCGTTCTTCATCGATC

CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 538
K7      CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 478
S2      CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 509
CBS4054 CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 411
Y98-5  CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 412
Y111-5 CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT 368
Y192-4 CGAGAACCAAGACATCCCTTGTGAAAGTTTTTAATATTTAAAATTTCCACTTACGAAAATTCCTGTTTTGACAAAAATTTAATGAAT

AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 627
K7      AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 567
S2      AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 598
CBS4054 AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 501
Y98-5  AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 502
Y111-5 AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC 457
Y192-4 AGATAAAAATTTGTTTGTCTTTGTTA--CCTCTGGCCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAAAGAAAAGTTGCAAAGATATGAAAACGCCACAGTC

TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 716
K7      TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 656
S2      TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 688
CBS4054 TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 590
Y98-5  TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 591
Y111-5 TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT 546
Y192-4 TGTTCATTATTCAAACCGCTTTTAATTTGCTCTATAAACAAGCCACACAAATCTCTCACCGTTTTGGAATAGCAAGAAAACAACTTACAAC--CCT

AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 806
K7      AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 746
S2      AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 778
CBS4054 AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 680
Y98-5  AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 681
Y111-5 AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC 636
Y192-4 AGCAACACCCGGCCACTTAAAGCCGACGGCCCGGCTGGACTCTCCATCTCTTGTCTTCTTGCCCACTAAAAGCTCTCATGCTCTTGCCAAAAAC

AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 895
K7      AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 780
S2      AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 843
CBS4054 AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 690
Y98-5  AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 685
Y111-5 AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA 639
Y192-4 AAAAAAAT--TCCATTTTCAAATAATTATAAATTCCTTGTATGACCTCGGGCCCTCCCCCAAAAAAAGCAAAAAAGCAAAAAA

```

그림 24. 최종 선발된 3종 효모와 *S. cerevisiae* 표준균주(CBS4054), 일본청주효모(K7) 및 소주효모(S2)의 염기서열분석

최종 선정된 막걸리 제조 시 부드러운 바나나 향과 과일 향이 생성되고 깔끔한 막걸리 제조가 가능한 효모 98-5, 과일 향과 꽃향이 생성되면서 단맛이 강한 막걸리 제조가 가능한 효모 111-5, 고 알코올을 생성하는 192-4 효모 3균주는 모두 *S. cerevisiae* 로 확인되었고 분말 형태로 대량생산 하였다.



그림 25. 분말효모 형태로 대량생산된 막걸리용 선발 효모 98-5, 111-5, 192-4

2. 막걸리의 품질향상 기술개발

가. 시판막걸리의 특성

(1) 이화학적 분석

시판막걸리의 이화학적 특성 분석 결과는 표73에 나타내었다. 생주의 경우 알코올 함량은 4.6~8.6%, 살균주는 6.4~7.8%로 나타났다. pH는 대부분의 생주가 4.00이하의 값을 보였고 살균주의 경우 입국을 사용한 2번과 20번 막걸리가 4.20이상으로 높은 값을 나타내었으며 그 외 10종의 막걸리는 3.90 미만의 값을 보였다. 총산은 살균여부에 관계없이 0.1~0.2사이의 값을 보였고 당도는 여과 여부에 따른 차이는 크게 나타나지 않았고 살균주가 생주에 비하여 높은 값을 보여 2번 막걸리를 제외하고는 모두 8.0°Brix 이상의 값을 보였으며 특히 8.0°Brix 이상의 값을 나타낸 살균 막걸리의 원료는 대부분 국내산 쌀을 이용하여 제조한 것이었다. 생주는 3.3~5.9°Brix 로 낮게 나타났다. 환원당 또한 당도와 마찬가지로 살균주가 생주에 비하여 높은 함량을 나타내었다. 살균주의 경우 원료가 수입쌀인 막걸리(2, 3번)는 4.5 mg/ml 미만의 낮은 함량을 나타낸 반면 그 외 10종의 국내산 쌀을 사용한 막걸리는 26 mg/ml 이상의 높은 함량은 보였다. 이는 살균 시 가해지는 열에 의하여 제성 후에 남아있는 전분질이 분해되어 나타난 것으로 사료된다.

표 73. 시판막걸리의 이화학적 특성분석

	회사명	살균여부	알코올 함량(%)	pH	당도(°Brix)		총산 (%)	환원당 (mg/ml)	
					현탁	청정			
1	이동주조	이동막걸리(병)	생	6.0	4.01	5.9	5.3	0.3	5.8
2		이동막걸리(팩)	살균	6.4	4.24	4.9	4.9	0.1	4.3
3	배상면주가	대포	살균	7.2	3.69	8.6	9.1	0.2	3.2
4		팔도막걸리(경남)	살균	7.6	3.70	9.4	9.9	0.2	37.3
5		팔도막걸리(경북)	살균	7.7	3.69	9.4	9.9	0.2	32.4
6		팔도막걸리(전남)	살균	7.3	3.63	9.1	9.7	0.2	34.9
7		팔도막걸리(전북)	살균	7.4	3.67	9.4	9.7	0.2	31.9
8		팔도막걸리(충남)	살균	7.2	3.80	9.3	9.6	0.2	33.8
9		팔도막걸리(충북)	살균	7.4	3.76	9.5	9.7	0.2	33.0
10		팔도막걸리(경기)	살균	7.3	3.72	8.9	9.4	0.2	31.8
11		팔도막걸리(강원)	살균	7.6	3.84	9.6	9.8	0.2	35.8
12		생막걸리	생	7.6	3.35	4.3	4.4	0.3	11.7
13		신선막걸리	살균	7.2	3.76	8.3	8.6	0.2	26.9
14	내촌주조	쌀막걸리	생	6.1	3.57	5.3	4.6	0.2	9.4
15		참쌀막걸리	생	4.6	3.68	4.3	3.9	0.2	8.0
16	서울탁주	장수막걸리	생	7.6	3.36	3.5	3.5	0.2	4.2
17	국순당	생막걸리	생	7.0	3.93	3.9	3.7	0.2	3.5
18	산성막걸리	산성막걸리	생	6.6	3.66	4.9	4.5	0.3	6.9
19	참살이	참살이 탁주	생	6.3	3.69	4.9	4.4	0.2	7.6
20	우리술	보리막걸리	살균	7.8	4.27	8.3	8.1	0.1	26.2
21	광주탁주	무등산탁주	생	7.2	3.58	4.3	3.9	0.2	4.8
22	대구탁주		생	7.1	3.84	4.5	4.2	0.2	5.4
23	제주합동		생	6.7	3.71	3.6	3.5	0.2	3.0
24	군산양조공사		생	8.6	4.01	6.0	5.5	0.3	5.5
25	주덕양조장		생	8.0	4.02	4.8	5.0	0.2	5.6
26	배다리		생	7.0	3.84	5.3	5.5	0.2	4.9
27	배혜정누룩도가		생	7.8	3.67	3.3	3.7	0.1	3.5

유기산은 6종류가 검출되었으며 그 결과는 표 74에 나타내었다. Citric acid는 생주는 8개 막걸리, 살균주는 11개 막걸리에서 검출되었고 살균주의 경우 대부분이 국내산 쌀을 원료로 하여 제조한 막걸리였다. Succinic acid와 lactic acid는 살균의 여부와 원료의 종류에 관계없이 27종의 막걸리에서 모두 검출되었고 malic acid는 생주의 경우 12번과 18번에서만 검출되었으며 살균주에서는 대부분 1.0 mg/ml 이하의 함량으로 검출되었다. Acetic acid는 살균주보다 생주에서 더 많은 양이 검출되었고 이와는 반대로 pyroglutamic acid는 살균주에서 더 많이 검출되었으나 그 양은 0.05 mg/ml 미만으로 소량이었다.

표 74. 시판막걸리의 유기산 함량

no	살균여부	Organic acid (mg/ml)					
		Citric	Malic	Succinic	Lactic	Acetic	Pyroglutamic
1	생	-	-	1.16	1.25	0.41	0.01
2	살균	0.16	-	1.70	0.72	0.07	0.02
3	살균	1.58	0.56	1.67	1.14	-	-
4	살균	1.37	0.94	0.57	1.36	-	0.01
5	살균	1.38	0.90	0.57	1.38	-	-
6	살균	1.27	0.83	0.69	1.32	-	0.02
7	살균	1.37	0.88	0.55	1.38	-	-
8	살균	0.97	0.53	1.53	2.52	-	0.04
9	살균	0.93	0.45	1.15	2.56	-	0.02
10	살균	1.64	0.64	2.30	1.24	-	0.04
11	살균	0.95	0.49	2.22	2.35	-	0.04
12	생	-	0.44	0.14	3.55	-	-
13	살균	1.14	0.70	0.67	1.42	-	-
14	생	-	-	0.49	1.70	0.04	-
15	생	-	-	0.73	1.23	0.08	-
16	생	0.70	-	-	0.30	-	-
17	생	-	-	0.30	1.88	0.19	-
18	생	0.04	0.08	0.71	5.04	0.08	-
19	생	0.26	-	0.09	0.70	-	-
20	살균	-	-	3.32	0.74	0.19	-
21	생	0.63	-	0.43	0.34	-	-
22	생	0.30	-	0.83	0.44	-	-
23	생	-	-	0.42	1.17	0.17	-
24	생	0.85	-	0.94	0.76	0.04	0.02
25	생	0.66	-	0.54	0.74	-	0.02
26	생	-	-	1.64	1.61	0.53	-
27	생	0.12	-	0.22	0.66	-	-

(2) 물리적 특성

탁도는 살균 여부에 관계없이 0.05 이하의 값을 보였고 외관상 불투명하며 옅은 황색을 띠는 대부분의 막걸리의 색도는 L(lightness) 값과 a(redness) 값은 낮고 b(yellowness) 값은 높게 나타났다. 점도는 원료로 찹쌀과 소맥분을 사용한 막걸리가 그렇지 않은 경우에 비하여 높게 나타났고 살균주에 비하여 생주(약 10종)의 점도가 높게 나타났다. 고형분 함량 중 총고형분 함량은 점도와 마찬가지로 원료로 찹쌀과 소맥분을 사용한 막걸리에서 높게 나타났으며 가용성 고형분 함량은 총고형분 함량 대비 약 6~70%로 다양하게 나타났고 생주에 비하여 살균주의 함량이 더 높게 나타났다. 현탁 안정성 측정 결과 12, 17 그리고 27번 막걸리의 현탁 안정성이 50% 이하로 낮게 나타났으며 이들은 모두 생주로 현탁 안정성이 낮다는 것은 부유물의 침전이 빨리 일어남을 뜻한다. 3, 5 그리고 10번 막걸리의 현탁 안정성은 80~90%로 모두 살균주였다. 그 외 21종의 시료는 90% 이상의 높은 현탁 안정성을 보였다.

표 75. 시판막걸리의 물리적 특성분석

no	살균 여부	탁도	색도			점도 (cP)	고형분함량(g/ml)	
			L	a	b		총고형분	가용성고형분
1	생	0.01	14.14	8.73	22.12	2.40	0.15	0.08
2	살균	0.01	15.25	7.13	22.09	1.90	0.11	0.07
3	살균	0.01	28.02	1.64	18.65	1.83	0.07	0.02
4	살균	0.02	24.64	1.53	22.47	1.72	0.11	0.04
5	살균	0.01	25.31	1.40	22.33	1.46	0.11	0.03
6	살균	0.01	25.27	1.56	21.75	1.46	0.09	0.03
7	살균	0.02	24.77	1.51	22.55	1.50	0.11	0.04
8	살균	0.01	22.55	3.95	22.40	1.32	0.10	0.03
9	살균	0.02	23.72	3.56	21.97	1.63	0.11	0.04
10	살균	0.14	23.78	3.83	22.01	1.13	0.06	0.04
11	살균	0.01	21.79	4.40	23.85	1.67	0.12	0.04
12	생	0.02	27.02	1.03	15.49	1.08	0.05	-
13	살균	0.01	26.44	2.29	20.65	1.63	0.12	0.01
14	생	0.03	15.85	8.15	24.62	3.55	0.27	0.06
15	생	0.01	17.23	8.33	26.48	2.39	0.20	0.05
16	생	0.02	22.72	2.87	22.47	1.30	0.09	0.01
17	생	0.03	22.06	5.22	24.54	0.94	0.08	0.01
18	생	0.02	5.07	6.33	8.21	1.86	0.17	0.03
19	생	0.02	16.64	4.98	21.28	2.96	0.22	0.04
20	살균	0.03	10.77	6.87	15.48	1.52	0.09	0.02
21	생	0.05	19.25	6.38	27.58	1.99	0.14	0.03
22	생	0.04	18.42	6.03	27.26	2.01	0.16	0.03
23	생	0.04	23.06	3.49	24.38	1.14	0.07	0.01
24	생	0.05	13.26	9.67	21.16	1.82	0.13	0.02
25	생	0.04	10.28	9.23	16.66	1.99	0.15	0.02
26	생	0.03	19.82	5.52	25.09	1.41	0.08	0.01
27	생	0.05	20.78	2.45	19.76	1.94	0.07	0.02

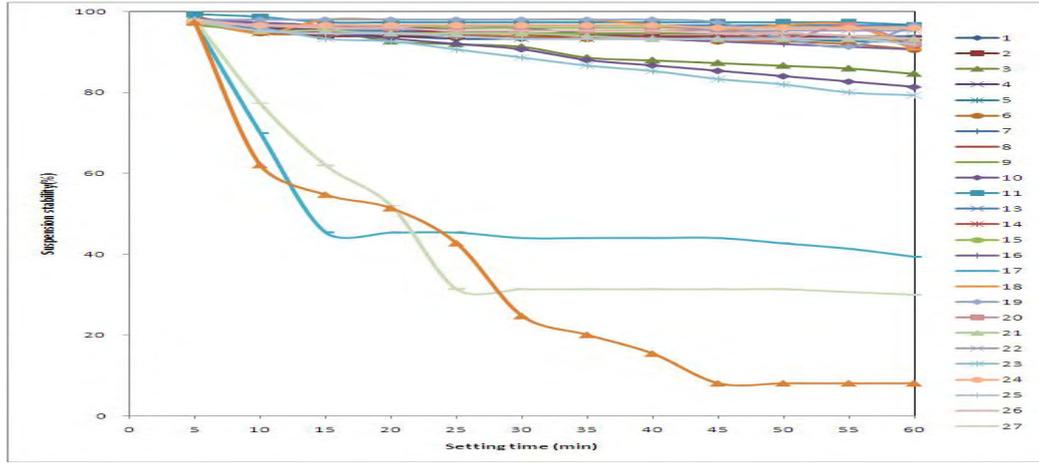


그림 26. 시판막걸리의 현탁안정성

(3) 향기성분 분석

검출된 향기성분으로는 hexadecanoic acid를 포함한 acid류 2종, ethyl caprylate를 포함한 ester류 17종, benzeneethanol를 포함한 alcohol류 3종 그리고 hydrocarbon 1종으로 23종이 확인되었다. Ethanol을 제외하고 ethyl palmitate와 ethyl oleate, ethyl linoleate와 같은 고급지방산이 주요한 성분으로 확인되었다.

표 76. 시판막걸리의 휘발성 향기성분 분석

No	compounds	RI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	Ethyl acetate	<1000	0.38	-	0.30	0.45	0.31	0.61	0.36	0.33	0.41	0.37	0.49	0.31	0.25
2	Ethanol	<1000	65.63	50.68	66.21	78.77	64.40	79.59	82.29	72.54	74.21	77.65	84.65	80.69	56.45
3	Isoamly acetate	<1000	-	0.13	0.15	0.33	0.19	0.22	0.13	0.20	0.15	0.07	0.09	0.14	-
4	Isoamyl alcohol	1213	-	1.98	3.22	4.57	2.99	4.83	3.51	3.87	4.76	0.78	0.91	0.58	2.40
5	Ethyl caproate	1239	-	0.02	0.05	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Ethyl caprylate	1435	0.04	0.09	0.34	0.25	0.12	0.31	0.10	0.10	0.15	-	0.12	-	0.06
7	Acetic acid	1463	0.62	-	-	-	-	-	-	-	0.08	0.06	0.20	0.47	-
8	2,3-butanediol	1545	0.84	-	-	-	-	0.08	0.30	-	0.15	0.30	0.45	2.08	-
9	Ethyl caprate	1640	0.12	0.19	0.57	0.42	0.32	0.69	0.29	0.26	0.30	0.14	0.23	0.16	0.13
10	Ethyl succinate	1684	-	-	-	-	-	0.05	0.02	0.08	0.17	0.13	0.37	0.10	0.05
11	Phenethyl acetate	1825	-	-	-	0.08	0.05	-	0.04	-	-	-	0.07	0.10	-
12	Ethyl laurate	1849	0.07	0.13	0.26	0.17	0.15	0.30	0.14	0.12	0.12	0.06	0.03	-	0.07
13	Benzeneethanol	1918	1.43	0.20	0.39	0.50	0.58	2.84	2.38	0.54	1.50	4.58	5.53	5.94	0.64
14	Ethyl myristate	2054	0.31	0.64	0.90	0.42	0.40	0.51	0.35	0.36	0.31	0.24	0.17	0.05	0.39
15	Ethyl pentadecanoate	2156	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	ethyl palmitate	2257	8.52	18.63	10.29	5.55	5.09	3.83	4.57	8.06	6.62	6.06	2.48	3.69	14.55
17	Ethyl heptadecanoate	2357	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Hexadecanoic acid	2424	-	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Ethyl stearate	2461	0.48	0.96	1.08	0.45	0.27	0.30	0.26	0.70	0.59	0.75	0.16	0.45	1.78
20	Ethyl oleate	2482	4.98	5.94	6.84	2.99	21.49	2.31	1.99	5.04	4.20	3.37	1.50	2.68	9.93
21	Ethyl 9-octadecanoate	2491	-	0.45	0.31	-	0.09	-	-	0.22	0.19	0.17	-	0.21	0.57
22	Ethyl linoleate	>2500	16.10	19.28	8.96	4.93	3.56	3.53	3.28	7.46	6.01	5.19	2.56	2.35	12.61
23	Ethyl linolenate	>2500	0.47	0.54	0.12	0.09	-	-	-	0.12	0.09	0.08	-	-	0.13
Total			100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

표 76. 계속

No	compounds	RI	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	Ethyl acetate	<1000	0.33	-	0.19	0.26	0.43	0.69	0.27	0.25	0.31	0.27	0.47	0.39	0.34	0.25
2	Ethanol	<1000	82.29	69.62	79.6	56.32	77.51	44.0	78.29	81.45	75.68	73.95	65.57	73.89	71.03	73.91
3	Isoamly acetate	<1000	0.07	-	0.05	-	-	0.18	-	-	0.08	0.06	0.07	0.08	0.06	0.11
4	Isoamyl alcohol	1213	0.42	2.38	0.53	2.12	-	7.31	2.46	2.46	2.68	2.57	1.75	-	-	-
5	Ethyl caproate	1239	-	-	-	-	2.13	-	-	-	-	-	-	2.24	2.26	2.64
6	Ethyl caprylate	1435	0.10	-	-	0.04	0.05	0.07	0.03	-	0.11	0.06	0.04	0.05	0.04	-
7	Acetic acid	1463	1.17	0.43	0.75	0.18	0.40	1.28	0.54	1.61	0.73	0.91	0.78	0.46	1.24	0.40
8	2,3-butanediol	1545	2.54	0.17	1.77	-	0.88	2.86	0.56	1.28	0.58	0.86	0.13	0.17	2.03	0.08
9	Ethyl caprate	1640	0.07	0.14	0.59	0.08	0.10	0.16	0.08	0.06	0.29	0.15	0.12	0.11	0.09	0.05
10	Ethyl succinate	1684	0.03	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-
11	Phenethyl acetate	1825	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-	-	0.01
12	Ethyl laurate	1849	0.03	-	-	0.05	0.03	0.05	0.04	0.03	0.16	0.07	0.05	0.04	0.05	0.01
13	Benzeneethanol	1918	3.52	0.84	6.06	0.81	2.20	6.78	2.30	4.14	1.91	1.42	1.13	1.17	2.26	3.50
14	Ethyl myristate	2054	0.02	0.19	0.07	0.44	0.22	0.38	0.24	0.02	0.11	0.18	0.08	0.03	0.38	0.11
15	Ethyl pentadecanoate	2156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	ethyl palmitate	2257	3.27	7.29	4.37	16.64	7.08	14.77	8.00	2.89	6.30	9.46	10.36	7.07	9.02	8.07
17	Ethyl heptadecanoate	2357	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Hexadecanoic acid	2424	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-	0.18	0.40	0.19	0.06	-
19	Ethyl stearate	2461	0.11	0.53	0.35	1.18	0.30	0.47	0.39	0.32	0.23	0.56	0.63	0.39	0.66	0.98
20	Ethyl oleate	2482	1.07	9.72	2.87	9.32	2.69	8.37	2.00	1.73	1.81	3.74	3.38	2.34	3.74	4.92
21	Ethyl9-octadecanoate	2491	0.07	0.31	0.15	0.48	0.13	0.38	0.11	0.19	0.17	0.20	0.31	0.20	0.19	0.33
22	Ethyl linoleate	>2500	4.88	8.31	2.64	11.90	5.86	12.19	4.69	3.51	8.73	5.34	14.40	10.97	6.50	4.62
23	Ethyl linolenate	>2500	-	-	-	0.19	-	-	-	-	0.11	-	0.33	0.22	-	-
Total			100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

(4) 미생물 분석

수집한 시료 중 15종 생주의 미생물 조사결과는 표 77에 나타내었다. 효모수는 15번 막걸리에서 4.8×10^{11} cfu/mL로 가장 많이 검출되었고 1, 14, 16, 21 그리고 24번 막걸리에서 평균 2.9×10^{10} cfu/mL, 12, 17, 18, 19, 25, 26 그리고 27번 막걸리에서 평균 5.9×10^9 cfu/mL, 22와 23번 막걸리에서 평균 5.4×10^8 cfu/mL순으로 검출되었다. 유산균은 15종의 생주 중 1번 막걸리에서 3.7×10^{10} cfu/mL로 가장 많이 검출되었고 18번과 23번 막걸리에서는 평균 2.49×10^7 cfu/mL, 12, 14, 19, 20, 21, 22, 24, 25 그리고 26번 막걸리에서 평균 2.1×10^6 cfu/mL, 27번 막걸리에서 4.5×10^2 cfu/mL순으로 검출되었다.

표 77. 시판막걸리(생주)의 미생물 분리 및 동정

no	효모수 (cfu/mL)	생균수 (cfu/mL)	유산균 (cfu/mL)	효모동정결과	세균동정결과	혐기성균 동정결과
1	2.1X10 ¹⁰	1.35X10 ⁵	3.7X10 ¹⁰	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus sp.</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus fermentum</i>
12	6.6X10 ⁹	1.47X10 ⁶	1.07X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Acetobacter indonesiensis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
14	1.6X10 ¹⁰	9.8X10 ⁵	1.04X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Acetobacter orleanensis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
15	4.8X10 ¹¹	2.1X10 ⁵	1.78X10 ⁵	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i>
16	1.2X10 ¹⁰	2.2X10 ⁵	4.0X10 ⁵	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus parabuchneri</i>
17	5.5X10 ⁹	1.95X10 ⁶	9.8X10 ⁵	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc</i> <i>pseudomesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
18	1.6X10 ⁹	2.6X10 ⁵	1.28X10 ⁷	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Acetobacter orleanensis</i> <i>Bacillus sp.</i>	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
19	8.5X10 ⁹	1.8X10 ⁵	1.5X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Acetobacter orleanensis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Sphingomonas sp.</i>

표 77. 계속

no	효모수 (cfu/mL)	생균수 (cfu/mL)	유산균 (cfu/mL)	효모동정결과	세균동정결과	혐기성균 동정결과
21	2.8X10 ¹⁰	4.3X10 ⁵	6.0X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus harbinensis</i> <i>Lactobacillus casei</i>
22	4.6X10 ⁸	2.8X10 ⁵	2.1X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
23	6.1X10 ⁸	1.3X10 ⁶	3.7X10 ⁷	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
24	7.7X10 ¹⁰	6.9X10 ⁵	5.5X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Chryseobacterium bovis</i> <i>Acetobacter orleanensis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
25	3.8X10 ⁹	1.5X10 ⁶	1.5X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sonorensis</i>	<i>Lactobacillus harbinensis</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>
26	6.5X10 ⁹	9.0X10 ⁵	3.0X10 ⁶	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Chryseobacterium bovis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Acetobacter orleanensis</i>	<i>Lactobacillus parabuchneri</i> <i>Lactobacillus casei</i>
27	8.8X10 ⁹	1.4X10 ⁶	4.5X10 ²	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

(5) 시판막걸리의 기호도 조사

생주의 기호도 조사 결과 향 기호도에서는 27번이 6.20점으로 유의적인 차이가 있게 가장 높은 점수를 얻었고 18번이 3.62점으로 유의적인 차이가 있게 가장 낮게 나타났다($p < 0.05$). 전반적인 기호도에서는 향에서 가장 낮은 점수를 얻었던 18번이 3.38점으로 가장 낮게 나타났고 21, 22번의 경우 5.55점으로 유의적인 차이가 있게 가장 높게 나타났다($p < 0.05$). 단맛기호정도에서는 16번이 2.60점으로 가장 낮은 점수를 얻었고 15, 17, 25번이 3.95점으로 “딱 좋다” 4 점과 가장 근사한 값으로 나타났다. 신맛기호정도에서는 1번의 술이 4.00점으로 가장 딱 좋게 나타났다.

살균주의 기호도 조사 결과 향 기호도에서는 3, 13번이 6.05점으로 가장 높았고 생주보다는 낮은 점수를 보였으며 전반적인 기호도에서는 향이 가장 좋았던 3번이 6.45점으로 유의적인 차이가 있게 가장 높았고 생주보다 1점정도 높게 나타났다. 단맛 기호정도는 전체적으로 생주보다 달게 느껴지며 신맛 기호정도는 생주보다 약한 정도를 보였다.

표 78. 시판막걸리(생주)의 기호도 조사

코드	향****	단맛기호정도**	신맛기호정도**	전반적인기호도***
1	5.16 ^{abcd}	3.32 ^{de}	4.00 ^{bcd}	4.74 ^{ab}
12	5.90 ^{ab}	4.10 ^{abc}	4.95 ^a	5.29 ^{ab}
14	5.40 ^{abc}	3.95 ^{abcd}	4.80 ^a	5.35 ^{ab}
15	5.00 ^{bcd}	3.35 ^{cde}	4.50 ^{abc}	5.25 ^{ab}
16	5.45 ^{abc}	2.60 ^e	3.95 ^{bcd}	3.55 ^c
17	5.05 ^{bcd}	3.95 ^{abcd}	4.32 ^{abcd}	5.32 ^{ab}
18	3.62 ^e	3.67 ^{abcd}	4.43 ^{abc}	3.38 ^c
19	5.70 ^{abc}	3.55 ^{abcd}	4.30 ^{abcd}	4.85 ^{ab}
21	5.85 ^{ab}	4.25 ^a	4.85 ^a	5.55 ^a
22	5.75 ^{abc}	3.55 ^{abcd}	4.55 ^{abc}	5.55 ^a
23	5.53 ^{abc}	3.42 ^{bcd}	3.79 ^{cd}	4.74 ^{ab}
24	5.24 ^{de}	3.19 ^{de}	4.38 ^{abc}	4.43 ^{bc}
25	5.75 ^{abc}	3.95 ^{abcd}	3.55 ^d	5.45 ^{ab}
26	4.80 ^{cd}	3.55 ^{abcd}	4.60 ^{ab}	5.05 ^{ab}
27	6.20 ^a	4.15 ^{ab}	3.55 ^d	5.30 ^{ab}
LSD(5%)	1.05	0.78	0.79	1.09

abcd 같은 줄에서 같은 알파벳은 같은 수준임

ns: Not Significant, * = (P < 0.05), ** = (P < 0.01), *** = (P < 0.001), **** = (P < 0.0001)

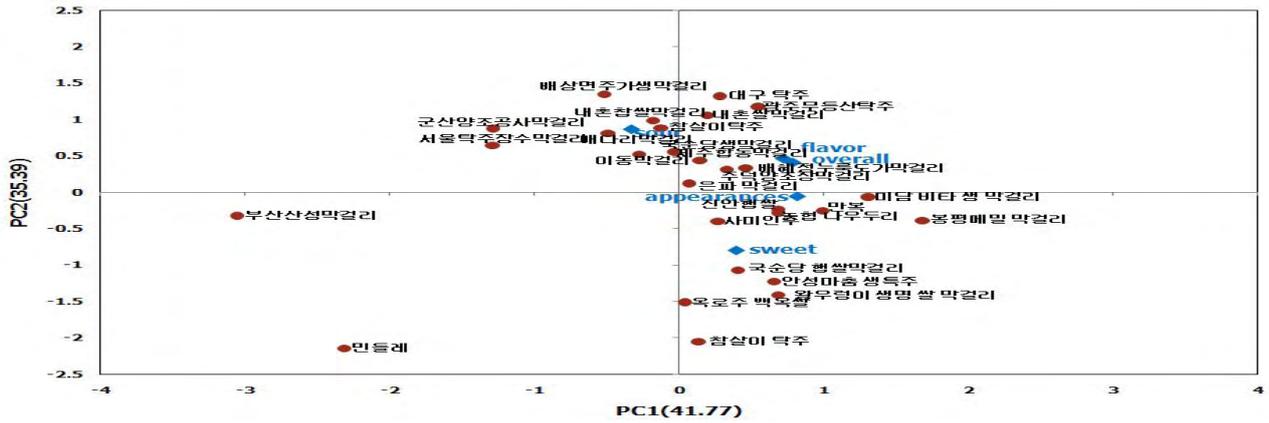


그림 27. 시판막걸리(생주)의 기호도 조사 결과 주성분분석

표 79. 시판막걸리(살균주)의 기호도 조사

코드	향****	단맛기호정도**	신맛기호정도**	전반적인기호도***
2	5.40 ^{abc}	3.45 ^{de}	3.90 ^{ab}	3.85 ^e
3	5.40 ^{abc}	4.55 ^{ab}	3.75 ^{ab}	6.10 ^{abc}
4	6.05 ^a	4.50 ^{ab}	3.80 ^{ab}	6.45 ^a
5	5.75 ^{abc}	4.55 ^{ab}	3.75 ^{ab}	5.90 ^{abc}
6	5.90 ^{ab}	4.50 ^{ab}	3.80 ^{ab}	5.65 ^{abc}
7	5.50 ^{abc}	3.75 ^{cd}	4.30 ^a	5.15 ^{cd}
8	4.95 ^{bc}	4.10 ^{bcd}	3.45 ^{bc}	4.35 ^{de}
9	4.85 ^c	4.30 ^{bc}	3.30 ^{bc}	5.35 ^{bc}
10	5.20 ^{abc}	4.35 ^{bc}	3.90 ^{ab}	5.50 ^{abc}
11	5.65 ^{abc}	4.65 ^{ab}	3.85 ^{ab}	5.65 ^{abc}
13	6.05 ^a	5.10 ^a	3.55 ^{abc}	6.25 ^{ab}
20	3.30 ^d	2.85 ^e	2.95 ^c	2.30 ^f
LSD(5%)	0.96	0.74	ns	0.99

abcd 같은 줄에서 같은 알파벳은 같은 수준임

ns: Not Significant, *=(P < 0.05),**=(P < 0.01), ***(P <0.001), ****=(P <0.0001)

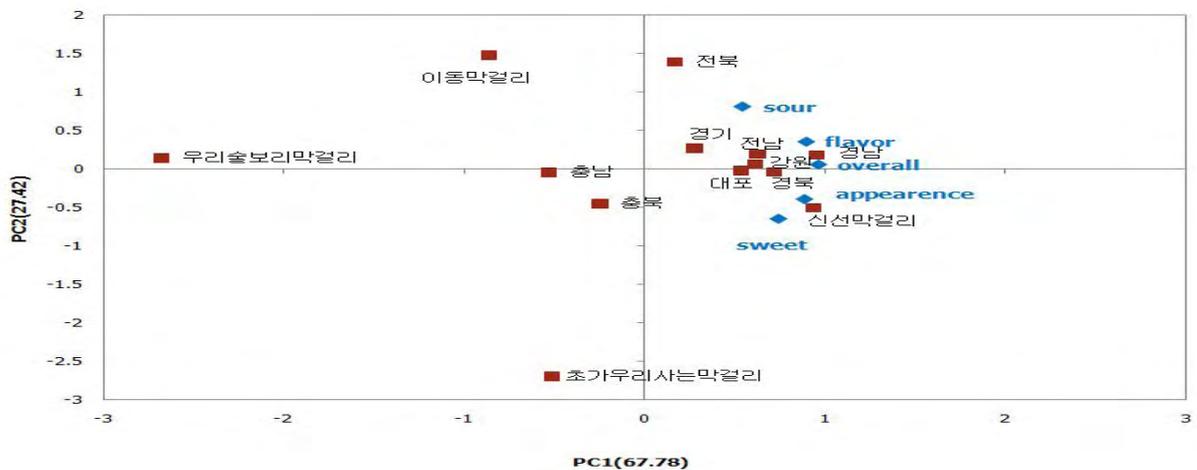


그림 28. 시판막걸리(살균주)의 기호도 조사 결과 주성분분석

(6) 시판막걸리의 저장 후 이화학적 분석

알코올 함량은 6.6~9.9%로 증가하게 나타났다. 저장 전 대부분의 생주에서 4.00이하의 값을 보였던 pH는 15종 중 5종(17, 18, 19, 25, 26번)은 감소하게 나타났고 나머지 10종은 동일하거나 증가하게 나타나 4.00 이상의 값을 나타낸 막걸리(16, 21, 24, 27번)도 나타났다. 당도는 여과의 여부에 관계없이 3.8~6.2°Brix의 값을 보였고 총산은 0.2~0.7로 2~3배 높게 나타났으며 이는 이전의 실험 결과와 비교하여 대부분의 시료에서 당도와 산도 모두 증가하여 나타났다. 환원당은 1.5~2.7mg/ml이었으며 이전의 실험결과에 비교하여 크게 감소하여 나타났다. 유기산의 정량 결과 이전의 실험에서 6종이 검출된 것에 비하여 저장 후의 실험에서는 citric acid와 malic acid를 제외한 4종의 유기산이 검출되었다. 특히 lactic acid와 acetic acid의 함량이 높게 나타났다.

표 80. 시판막걸리의 저장 후 이화학적 특성분석

no	알코올 함량(%)	pH	당도(°Brix)		총산(%)	환원당 (mg/ml)
			현탁	청정		
1	8.6	4.10	6.0	5.9	0.4	2.5
12	7.6	3.50	4.3	4.3	0.3	1.6
14	7.5	3.70	5.3	5.1	0.4	2.7
15	7.1	3.75	5.1	4.8	0.4	2.7
16	7.2	4.11	4.3	4.2	0.3	2.1
17	6.8	3.69	3.9	3.8	0.3	2.8
18	6.8	3.37	4.8	4.8	0.7	3.4
19	8.5	3.41	5.2	4.9	0.5	2.8
21	6.8	4.09	5.1	5.1	0.4	2.2
22	7.2	3.88	5.6	5.1	0.4	2.2
23	6.7	3.75	4.5	4.4	0.3	1.9
24	7.8	4.26	6.2	6.1	0.5	2.7
25	7.4	3.95	5.9	5.8	0.4	2.3
26	9.9	3.71	5.7	5.7	0.4	2.5
27	7.6	4.25	4.4	4.5	0.2	1.5

표 81. 시판막걸리의 저장 후 유기산 함량

no	organic acid (mg/ml)			
	succinic acid	lactic acid	acetic acid	pyroglutamic
1	0.46	5.69	2.46	0.12
12	0.16	6.40	0.48	0.00
14	0.64	8.43	0.99	0.05
15	0.76	7.29	1.51	0.06
16	0.10	4.54	1.38	0.03
17	0.25	4.26	0.73	0.01
18	0.06	14.85	1.09	0.03
19	0.33	11.55	0.56	0.04
21	0.59	5.18	3.17	0.17
22	0.41	5.75	1.84	0.08
23	0.32	5.98	1.48	0.07
24	0.71	5.15	3.99	0.24
25	0.47	6.67	2.08	0.18
26	0.21	7.24	1.52	0.05
27	0.20	2.04	0.98	0.04

25°C에서 2주간 저장 후 시판막걸리(생주)의 물리적 특성을 분석한 결과는 표 82, 그림 29에 나타내었다. 탁도는 0.01~0.10으로 각 시료에 따라 차이를 보였으나 저장 전에 비하여 15종 모두 감소한 결과를 나타내었다. 저장 후의 색도는 L(lightness)과 b(yellowness)가 이전의 실험에 비하여 높은 값을 보였다. 0.9~1.7 사이의 값을 보인 점도와 총고형분 함량 및 가용성고형분함량은 모두 이전 실험에 비하여 감소한 결과를 나타내었다. 현탁안정성 측정 결과 23과 24번의 막걸리가 50%로 가장 낮은 값을 보였고 16번이 60~70%로 나타났고 그 외의 12종 막걸리는 80% 이상의 현탁안정성을 보였다. 이전의 실험에서 가장 낮은 현탁안정성을 나타낸 12, 17 그리고 27번 막걸리는 저장 후에는 80%이상의 높은 현탁안정성을 보였다.

표 82. 시판막걸리의 저장 후 물리적 특성분석

no	탁도	색도			점도 (cP)	고형분함량(g/ml)	
		L	a	b		총고형분	가용성고형분
1	0.04	19.19	6.73	27.86	1.67	0.09	0.010
12	0.02	33.81	1.25	15.16	1.16	0.05	0.008
14	0.01	24.45	4.29	30.48	1.57	0.09	0.007
15	0.02	24.01	5.46	31.32	1.38	0.08	0.008
16	0.02	24.38	3.45	23.62	1.00	0.06	0.007
17	0.01	20.74	5.94	31.32	0.94	0.06	0.001
18	0.01	10.77	7.49	30.48	0.91	0.10	0.003
19	0.10	21.53	5.73	15.16	1.11	0.07	0.001
21	0.02	23.21	5.45	29.91	1.58	0.11	0.020
22	0.03	23.63	4.94	31.77	1.48	0.10	0.012
23	0.04	23.08	3.59	24.77	1.11	0.05	0.002
24	0.01	16.59	6.40	25.56	1.69	0.09	0.008
25	0.01	17.87	9.08	27.27	1.32	0.10	0.013
26	0.02	22.19	4.74	25.46	1.26	0.06	0.005
27	0.02	30.94	2.24	19.69	1.03	0.05	0.006

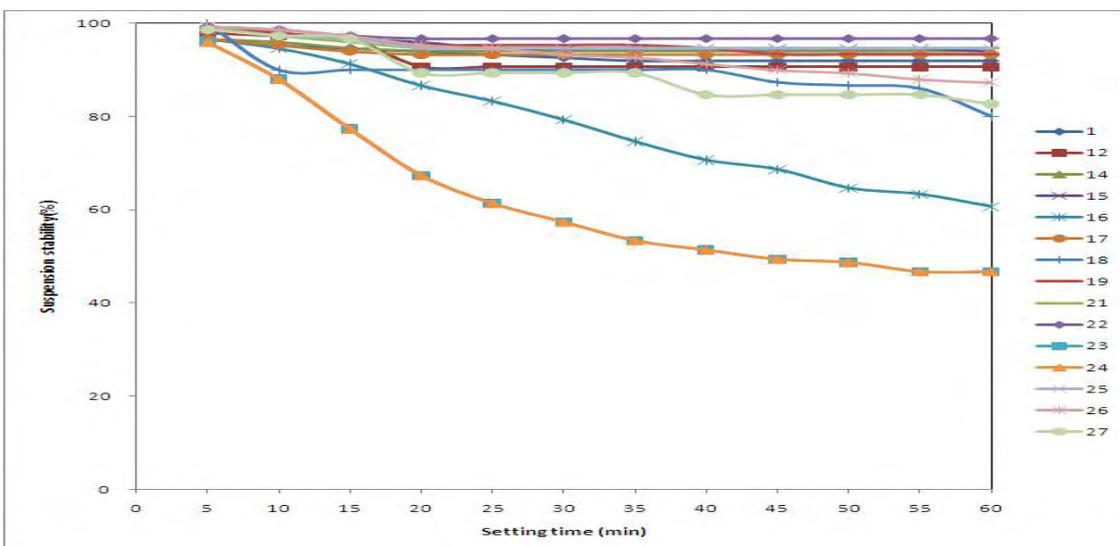


그림 29. 시판막걸리의 저장 후 현탁안정성

25°C에서 2주간 저장 후 시판막걸리(생주)의 휘발성 향기성분을 분석한 결과는 표 83에 나타내었다. Acetic acid를 포함한 acid류 3종, ethyl acetate를 포함한 ester류 12종, isoamyl alcohol를 포함한 alcohol류 3종 그리고 hydrocarbon 1종으로 19종이 확인되었다. 검출된 3종의 alcohol 중 isoamyl alcohol은 저장 전 실험에서는 검출되지 않았던 5종의 막걸리에서 검출되었다. 저장 후의 막걸리에서 검출된 acid중 propanoic acid는 이전의 향기성분에서는 검출되지 않았고 acetic acid는 저장 후 이전에 비하여 높은 % area로 검출되었다. 12종의 ester 중 ethyl acetate는 저장 후 % area가 증가하게 나타났고 저장 전 실험에서 검출되지 않았던 시료(1종)에서도 검출되었다. Ethyl acetate는 이전의 실험에서는 검출되지 않았던 11종의 막걸리에서 검출되었으며 ethyl oleate의 경우는 저장 후 감소하는 경향을 나타내었다.

표 83. 시판막걸리의 저장 후 휘발성 향기성분 분석

No	Compounds	RI	1	12	14	15	16	17	18	19
1	Ethyl acetate	<1000	0.46	1.09	0.69	0.94	0.43	0.63	0.55	0.50
2	Ethanol	<1000	75.15	76.61	79.87	75.92	78.64	56.46	81.29	73.66
3	Isoamyl alcohol	1213	1.72	2.61	2.20	2.27	2.99	2.21	2.66	3.27
4	Ethyl caprylate	1435	0.05	0.06	0.09	0.09	-	0.04	0.03	0.05
5	Acetic acid	1463	1.67	0.30	0.90	0.91	3.34	0.77	3.01	1.55
6	2,3-butanediol	1545	0.32	-	0.07	0.16	0.82	-	0.43	1.02
7	Propanoic acid	1640	1.60	0.18	0.10	0.20	1.99	1.15	3.15	-
8	Ethyl caprate	1684	0.12	0.17	0.20	0.20	0.06	0.10	0.07	0.11
9	Ethyl succinate	1825	0.04	0.03	0.04	0.05	0.02	-	0.03	0.06
10	Ethyl laurate	1918	0.06	0.08	0.05	0.06	0.02	0.06	0.02	0.04
11	Benzeneethanol	2054	1.25	1.07	1.51	1.52	3.53	1.18	3.12	-
12	Ethyl myristate	2156	0.21	0.21	0.02	0.03	0.12	0.46	0.08	0.22
13	Ethyl palmitate	2357	8.69	10.12	5.45	7.18	4.31	16.24	2.66	8.87
14	Hexadecanoic acid	2461	-	-	-	-	-	-	-	0.10
15	Ethyl stearate	2482	0.44	1.27	0.80	0.89	0.58	1.16	0.17	0.71
16	Ethyl oleate	2491	2.54	2.89	1.94	2.09	1.61	8.40	1.05	4.92
17	Ethyl 9-octadecanoate	>2500	0.25	0.22	0.28	0.30	0.10	0.42	-	0.32
18	Ethyl linoleate	>2500	5.28	3.08	5.78	7.20	1.44	10.55	1.67	4.60
19	Ethyl linolenate	>2500	0.15	-	-	-	-	0.15	-	-
Total			100	100	100	100	100	100	100	100

표 83. 계속

No	Compounds	RI	21	22	23	24	25	26	27
1	Ethyl acetate	<1000	1.02	0.77	0.51	1.85	0.67	0.76	0.58
2	Ethanol	<1000	78.50	73.97	78.29	71.06	69.82	72.42	68.53
3	Isoamyl alcohol	1213	2.60	3.94	2.98	3.21	2.82	2.72	2.87
4	Ethyl caprylate	1435	0.07	0.09	0.09	0.04	0.08	0.05	-
5	Acetic acid	1463	3.65	6.05	1.97	9.43	4.10	3.22	1.47
6	2,3-butanediol	1545	-	-	-	-	-	-	-
7	Propanoic acid	1640	1.30	1.42	0.51	3.32	1.49	1.52	0.84
8	Ethyl caprate	1684	0.16	0.22	0.17	0.07	0.16	0.11	0.07
9	Ethyl succinate	1825	0.04	0.05	0.03	0.10	0.07	0.12	0.02
10	Ethyl laurate	1918	0.08	0.13	0.07	0.06	0.10	0.05	0.05
11	Benzeneethanol	2054	2.38	2.57	1.22	2.57	1.69	2.51	2.88
12	Ethyl myristate	2156	0.04	0.09	0.19	0.04	0.04	0.33	0.23
13	Ethyl palmitate	2357	4.52	5.49	8.85	4.68	8.42	7.95	11.57
14	Hexadecanoic acid	2461	0.08	-	0.12	0.13	-	-	0.12
15	Ethyl stearate	2482	0.54	0.32	0.60	0.21	0.52	0.61	0.91
16	Ethyl oleate	2491	1.30	0.89	2.28	0.73	2.03	2.76	3.83
17	Ethyl 9-octadecanoate	>2500	0.16	0.11	0.15	-	0.22	0.14	0.20
18	Ethyl linoleate	>2500	3.56	3.89	1.98	2.45	7.66	4.73	5.73
19	Ethyl linolenate	>2500	-	-	-	0.05	0.12	-	0.08
Total			100	100	100	100	100	100	100

나. 저장/유통 중 모니터링 및 품질저하 요인 선정

전국에서 수집한 시판막걸리(생주) 15점을 25℃에서 14일 저장 후 분석한 결과 품질저하 요인을 선정하였다. 시판 막걸리 생주 15점의 영양성분으로 조단백과 조지방을 조사하였다. 조단백질은 $0.93 \pm 0.24\%$ (w/w), 조지방은 $0.08 \pm 0.05\%$ (w/w) 이었다. 알코올 함량은 저장 전 $6.8 \pm 1.1\%$ 에서 저장 후 $7.6 \pm 0.9\%$ 로 0.8% 증가하게 나타났고 반대로 환원당 함량은 $5.3 \pm 5.5\text{mg/ml}$ 에서 $2.4 \pm 0.5\text{mg/ml}$ 로 절반정도 감소하게 나타나 잔당의 효모에 의한 발효이용으로 알코올 함량이 증가했음을 알 수 있었다. 총산은 저장 전 $0.2 \pm 0.0\%$ 에서 저장 후 $0.4 \pm 0.1\%$ 로 2배정도 증가하게 나타났고 이는 유기산 함량에서 lactic acid가 저장 전 $0.93 \pm 1.09\text{mg/ml}$ 에서 저장 후 $6.73 \pm 3.08\text{mg/ml}$ 로 9배 정도 증가하고 acetic acid가 저장 전 $0.11 \pm 0.14\text{mg/ml}$ 에서 저장 후 1.62mg/ml 로 10배 이상 증가하게 나타난 결과와 일치하였다. 또한 휘발성 향기성분 분석결과 acetic acid가 4배 정도 증가하였고 propanoic acid가 검출되었다. 이러한 결과로 막걸리의 품질저하 요인은 총산의 증가, 특히 젖산과 초산의 증가로 여겨지고 이러한 결과는 초산균 *Acetobacter pasteurianus*의 저장 후 출현과 유산균 *Lactobacillus brevis* 외 5종의 증가,

Leuconotoc sp. 의 출현에서 기인한 것으로 판단된다.

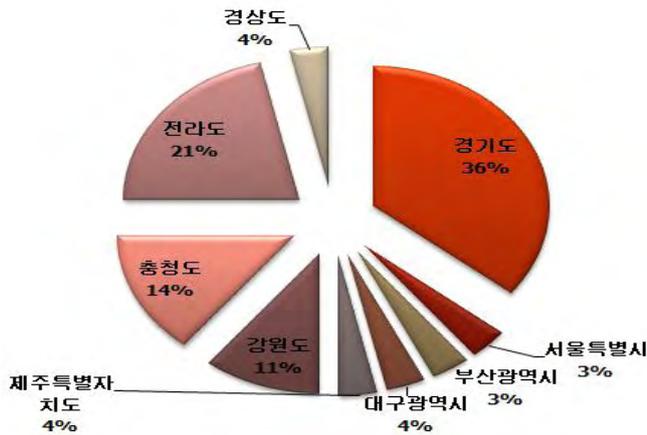


그림 30. 시료의 수집지역 분포

표 84. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 이화학적 특성 변화

		Alcohol (%)	pH	당도 (°Brix)		총산(%)	환원당 (mg/ml)
				현탁	청정		
저장 전	Mean± SD	6.8 ± 1.1	3.78 ± 0.20	4.8 ± 1.4	4.7 ± 1.4	0.2 ± 0.0	5.3 ± 5.5
	Range	4.6~9.0	3.35~4.08	3.5~10.1	3.5~10.5	0.1~0.3	1.6~29.6
저장 후	Mean± SD	7.6 ± 0.9	3.83 ± 0.29	5.1 ± 0.7	5.0 ± 0.7	0.4 ± 0.1	2.4 ± 0.5
	Range	6.7~9.9	3.50~4.26	3.9~6.2	3.8~6.1	0.2~0.7	1.5~3.4

표 85. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 고형분 함량 변화 (g/ml)

		전체		가용성	
		Mean± SD	Range	Mean± SD	Range
저장 전	Mean± SD	0.10 ± 0.06	0.05~0.27	0.02 ± 0.02	0.004~0.08
	Range	0.05~0.27	0.004~0.08	0.02 ± 0.02	0.004~0.08
저장 후	Mean± SD	0.10 ± 0.06	0.05~0.27	0.02 ± 0.02	0.004~0.08
	Range	0.05~0.27	0.004~0.08	0.02 ± 0.02	0.004~0.08

표 86. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 유기산, 유리당 함량 변화

		Organic acid (mg/mL)					Free sugar (mg/mL)			
		citric	malic	succinic	lactic	acetic	fructose	glucose	sucrose	maltose
저장 전	Mean±SD	0.22 ± 0.26	0.16 ± 0.25	0.60 ± 0.42	0.93 ± 1.09	0.11 ± 0.14	2.00 ± 3.38	1.95 ± 2.67	2.19 ± 7.03	0.30 ± 0.19
	Range	0.00~0.70	0.00~1.07	0.00~1.64	0.15~5.04	0.00~0.53	0.00~9.68	0.00~11.33	0.00~24.51	0.00~0.72
저장 후	Mean±SD	-	-	0.38 ± 0.22	6.73 ± 3.08	1.62 ± 0.98	0.17 ± 0.11	0.38 ± 0.29	0.70 ± 0.32	-
	Range	-	-	0.06~0.71	2.04~14.85	0.48~3.99	0.00~0.41	0.00~1.03	0.00~1.45	-

표 87. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 물리적 성분변화

		탁도 (660nm%T)	색도			점도(cP)
			L (lightness)	a (redness)	b (yellowness)	
저장 전	Mean± SD	0.03 ± 0.04	22.15 ± 7.76	4.06 ± 2.97	20.73 ± 4.46	1.80 ± 0.56
	Range	0.01~0.22	5.07~38.17	0.11~9.67	8.21~27.58	0.94~3.55
저장 후	Mean± SD	0.03 ± 0.02	22.43 ± 5.48	5.12 ± 2.00	25.99 ± 5.56	1.28 ± 0.27
	Range	0.01~0.10	10.77~33.81	1.25~9.08	15.16~31.77	0.91~1.69

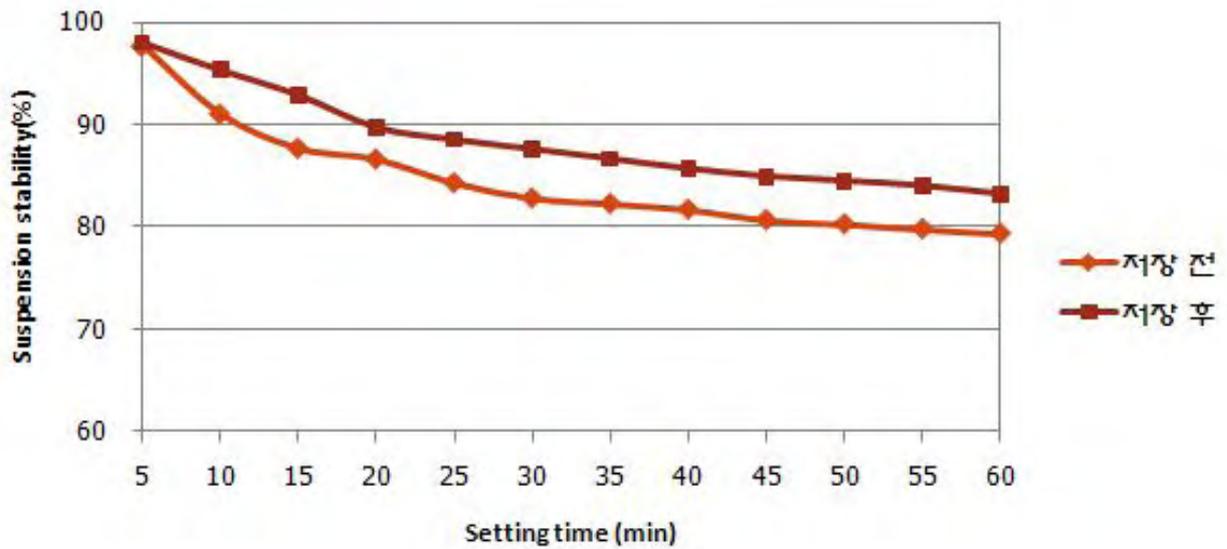


그림 31. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 현탁안정성 변화

표 88. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 미생물 변화

		효모수 (cfu/mL)		생균수 (cfu/mL)		유산균수 (cfu/mL)					
		저장 전	저장 후	저장 전	저장 후	저장 전	저장 후				
Mean± SD		$3.44 \times 10^{10} \pm 9.66 \times 10^{10}$	$1.21 \times 10^7 \pm 2.26 \times 10^7$	$2.72 \times 10^{10} \pm 8.88 \times 10^{10}$	$2.26 \times 10^9 \pm 3.34 \times 10^9$	$1.04 \times 10^{11} \pm 2.59 \times 10^{11}$	$1.48 \times 10^9 \pm 7.46 \times 10^8$				
Range		$1.85 \times 10^8 \sim 4.8 \times 10^{11}$	$1.0 \times 10^2 \sim 8.0 \times 10^7$	$1.35 \times 10^5 \sim 3.72 \times 10^{11}$	$1.30 \times 10^8 \sim 1.1 \times 10^{10}$	$4.50 \times 10^2 \sim 9.80 \times 10^{11}$	$3.30 \times 10^8 \sim 2.97 \times 10^9$				
Identification	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		100%		100%	<i>Lactobacillus plantarum</i>	35.2%	46.6%	<i>Lactobacillus plantarum</i>	61.7%	23.3%
						<i>Bacillus subtilis</i>	17.6%	4.6%	<i>Lactobacillus sp.</i>	18.8%	13.4%
						<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	13.6%	2.3%	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	7.0%	4.9%
						<i>Bacillus licheniformis</i>	3.2%		<i>Lactobacillus casei</i>	6.3%	12.0%
						<i>Bacillus sonorensis</i>	2.4%		<i>Lactobacillus paracasei</i>	2.3%	6.3%
						<i>Bacillus pumilus</i>	4.8%		<i>Lactobacillus brevis</i>	1.6%	9.2%
						<i>Acetobacter indonesiensis</i>	1.6%		<i>Lactobacillus harbinensis</i>	2.3%	
						<i>Acetobacter orleanensis</i>	9.6%		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		7.0%
						<i>Acetobacter pasteurianus</i>	-	6.1%	<i>Lactobacillus crustorum</i>		9.9%
						<i>Lactobacillus brevis</i>	0.8%	12.2%	<i>Lactobacillus sunkii</i>		5.6%
						<i>Lactobacillus casei</i>	1.6%	2.3%	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>		4.2%
						<i>Lactobacillus sp.</i>		11.5%	<i>Lactobacillus fermentum</i>		2.1%
						<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		8.4%	<i>Leuconostoc citreum</i>		1.4%
						<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	4.8%	3.7%			
						<i>Leuconostoc citreum</i>		2.3%	<i>Lactobacillus nantensis</i>		0.7%
						<i>Chryseobacterium bovis</i>	4.8%				

표 89. 시판막걸리(생주)의 저장 전 후 휘발성 향기성분 변화 (relative peak area, %)

	저장 전		저장 후	
	Mean± SD	Range	Mean± SD	Range
Ethyl acetate	0.35 ± 0.13	0.19~0.69	0.76 ± 0.36	0.46~1.85
Isoamly acetate	0.06 ± 0.06	0.00~0.18	-	
Ethyl caproate	0.62 ± 0.94	0.00~2.64	-	
Ethyl caprylate	0.04 ± 0.04	0.00~0.11	0.06 ± 0.03	0.00~0.09
Ethyl caprate	0.14 ± 0.14	0.05~0.59	0.13 ± 0.05	0.06~0.22
Ethyl succinate	0.01 ± 0.03	0.00~0.10	0.05 ± 0.03	0.00~0.12
Phenethyl acetate	0.01 ± 0.03	0.00~0.10	-	
ethyl laurate	0.04 ± 0.04	0.00~0.16	0.06 ± 0.03	0.02~0.13
Ethyl myristate	0.16 ± 0.15	0.02~0.44	0.15 ± 0.13	0.02~0.46
Ethyl palmitate	7.43 ± 4.48	2.89~16.64	7.67 ± 3.43	2.66~16.24
Ethyl stearate	0.47 ± 0.28	0.11~1.18	0.65 ± 0.32	0.21~1.27
Ethyl oleate	3.58 ± 2.59	1.07~9.32	2.62 ± 1.95	0.73~8.40
Ethyl 9-octadecanoate	0.20 ± 0.13	0.00~0.48	0.19 ± 0.12	0.00~0.42
Ethyl linoleate	7.33 ± 4.92	2.35~16.10	4.64 ± 2.52	1.98~10.55
Ethyl linolenate	0.09 ± 0.15	0.00~0.47	0.04 ± 0.06	0.00~0.15
Ethanol	72.34 ± 10.55	44.00~81.45	73.84 ± 6.13	56.46~81.29
Isoamyl alcohol	2.48 ± 1.87	0.53~7.31	2.74 ± 0.53	1.72~3.94
2,3-Butanediol	1.06 ± 0.89	0.08~2.86	0.29 ± 0.40	0.00~1.02
Benzeneethanol	2.68 ± 2.10	0.64~6.78	1.93 ± 0.95	0.00~3.53
Acetic acid	0.73 ± 0.40	0.00~1.61	2.82 ± 2.39	0.30~9.43
Propanoic acid	-		1.25 ± 1.02	0.00~3.32
Hexadecanoic acid	0.18 ± 0.14	0.00~0.40	0.11 ± 0.02	0.00~0.13

다. 막걸리의 품질 저하 요인 도출

(1) 유통기한 설정 지표와 프로그램을 통한 품질저하 요인 도출

<식품·식품첨가물 및 건강기능식품의 유통기한 설정기준> 고시에 의하면 주류의 유통기한 설정지표로 이화학적, 미생물학적, 관능적 지표가 있다. 이화학적 지표로는 pH, 에탄올, 메탄올, 알데히드, 총산이 있으며 미생물학적 지표로는 진균수와 세균수 그리고 관능적 지표로는 색상과 침전물이 있다.

표 90. [별표2]식품의 유통기한 설정 실험 지표

식품종류		설정실험 지표		
식품군	식품종류 또는 유형	이화학적	미생물학적	관능적
27. 주류	27-1 탁주 27-2 약주 27-3 청주 27-4 맥주 27-5 과실주 27-6 소주 27-7 위스키 27-8 브랜디 27-9 일반증류주 27-10 리큐르 27-11 기타 주류	pH 에탄올 메탄올 가스압(맥주) 알데히드 총산	진균수(살균탁주, 살균약주) 세균수	성상 침전물

(2) 미생물 균수를 사용한 품질저하 요인 도출

효모는 저장기간 동안 초기보다 감소하였으며 세균의 수는 저장온도 4, 25℃에서 모두 10⁵CFU/mL의 수준을 나타내었다. 젖산균은 저장 기간이 경과될수록 저장 초기에 비하여 증가하는 것을 알 수 있었는데 4, 25℃에서 저장한 막걸리는 저장 초기 3.8X10⁵CFU/mL이었던 것이 저장 12 일에는 각각 6.8X10⁷, 3.9X10⁷CFU/mL을 나타내었다.

이러한 결과를 바탕으로 저장온도와 기간별로 회수한 막걸리에서 추출한 DNA를 주형으로 하여 곰팡이와 효모의 경우 ITS1F 와 ITS4R universal primer를 이용하여 1차 PCR 한 후 GC clamp가 붙어있는 ITS1F-GC 와 ITS2R을 이용하여 2차 PCR한 후 전기영동한 결과(A)와 세균의 경우 GC clamp가 붙어있는 B357F-GC와 U519R을 이용하여 PCR 한 후 전기영동 한 결과(B)는 그림32와 같다. 세균과 효모(곰팡이포함) 이 각각 200bp, 500bp 의 크기로 증폭되었음을 알 수 있다.

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis(DGGE)를 통한 분석 결과 세균의 경우 18개, 효모(곰팡이 포함)의 경우 11개의 위치가 다른 band를 분리하였다. 효모와 곰팡이는 4℃와 25℃저장 막걸리 모두에서 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Aspergillus tubingensis*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger* 등 이 동정되었으며, DGGE band 패턴의 변화도 적었다. 세균의 경우 4℃와 25℃저장 중 미생물의 변화가 다른 것으로 나타났다. 4℃ 저장 막걸리의 경우 *Lactobacillus crustorum*, *Lactobacillus brevis*, *Microaena stipoides* 균이 , 25℃ 저장 막걸리의 경우 *Lactobacillus crustorum*, *Lactobacillus sp.* *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus similis* 균이 동정 되었다. 특히, 25℃ 저장 중 12일째 *Lactobacillus crustorum*와 *Lactobacillus plantarum*균의 band가 진해짐을 알 수 있다.

이상의 결과 막걸리의 정장시 품질을 저하시킨 요인으로 *Lactobacillus crustorum*와 *Lactobacillus plantarum*균이 관여할 것으로 판단된다.

표 91. 시판막걸리의 저장 온도와 기간에 따른 균수 측정

(CFU/mL)

Storage time (day)	4°C			25°		
	Yeast	Aerobic bacteria	Lactic acid bacteria	Yeast	Aerobic bacteria	Lactic acid bacteria
0	5.7X10 ⁷	5.4X10 ⁵	3.8X10 ⁵	5.7 X10 ⁷	5.4X10 ⁵	3.8X10 ⁵
3	6.1X10 ⁷	5.8X10 ⁵	4.9X10 ⁵	4.2X10 ⁷	4.8X10 ⁵	5.9X10 ⁵
6	7.8X10 ⁶	2.1X10 ⁶	2.1X10 ⁶	6.4X10 ⁶	5.2X10 ⁵	7.1X10 ⁶
9	6.4X10 ⁶	4.8X10 ⁶	4.9X10 ⁶	2.5X10 ⁶	1.0X10 ⁶	7.0X10 ⁶
12	6.4X10 ⁴	4.9X10 ⁶	6.8X10 ⁷	4.7X10 ⁵	3.8X10 ⁶	3.9X10 ⁷

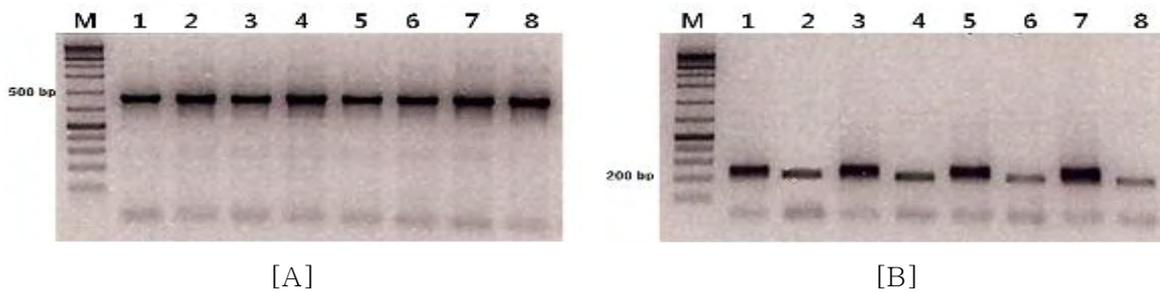


그림 32. 막걸리 시료의 DNA (A: Yeast and Fungi , B: Bacteria). Lane M, 1000 bp DNA ladder ; Lane1, 4°C 3 days; Lane2, 25°C 3 days; Lane3, 4°C 6 days; Lane4, 25°C 6 days; Lane5, 4°C 9 days; Lane6, 25°C 9 days; Lane7, 4°C 12 days; Lane8, 25°C 12 days.

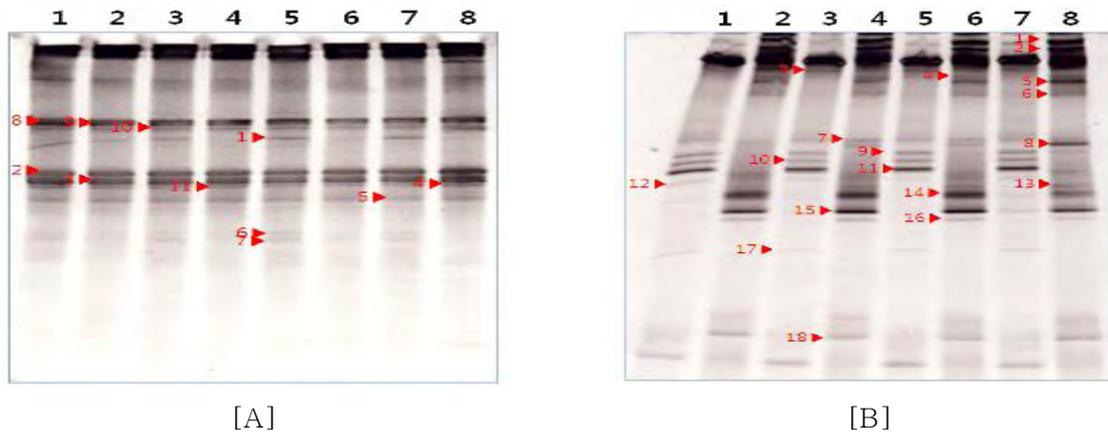


그림 33. PCR- DGGE에 의한 막걸리의 DNA band (A: Yeast and Fungi , B: Bacteria). Lane1, 4°C 3 days; Lane2, 25°C 3 days; Lane3, 4°C 6 days; Lane4, 25°C 6 days; Lane5, 4°C 9 days; Lane6, 25°C 9 days; Lane7, 4°C 12 days; Lane8, 25°C 12 days.

표 92. PCR-DGGE을 통한 효모와 곰팡이의 동정 결과

No.	Nearest neighbor strain	Similarity(%)	Data Base	Accession number
1	<i>Aspergillus tubingensis</i> strain CNU081066	96	gb	JF411067.1
2	<i>Candida glabrata</i> 18S rRNA gene (partial)	95	emb	FM178351.1
3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain ZP 541 18S ribosomal RNA gene	100	gb	EU145764.1
4	<i>Candida glabrata</i> 18S rRNA gene (partial)	95	emb	FM178351.1
5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain XSQ8-1 18S ribosomal RNA gene	100	gb	JF825468.1
6	<i>Candida glabrata</i> 18S rRNA gene (partial)	95	emb	FM178351.1
7	<i>Gibberella zeae</i> isolate Z3639	95	gb	HQ149737.1
8	<i>Candida glabrata</i> 18S rRNA gene (partial)	95	emb	FM178351.1
9	Uncultured <i>Candida</i> clone C4-G8F2-FP	93	gb	HQ646032.1
10	<i>Aspergillus niger</i> isolate South-west0094	96	gb	FJ537110.1
11	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> isolate NN691 18S ribosomal RNA gene	100	gb	EU798694.1

표 93. PCR-DGGE을 통한 세균의 동정 결과

No.	Nearest neighbor strain	Similarity(%)	Data Base	Accession number
1	<i>Lactobacillus crustorum</i> IMAU-V3002 16S ribosomal RNA gene,	95	gb	GU138496.1
2	<i>Lactobacillus</i> sp. EMML 3041 16S ribosomal RNA gene	95	gb	HQ389549.1
3	Uncultured compost bacterium partial 16S rRNA gene, clone FSI338	97	emb	FN667290.1
4	<i>Lactobacillus plantarum</i> clone WWC_C3ALM05 16S ribosomal RNA gene	96	gb	GU430806.1
5	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain C8-1 16S ribosomal RNA gene	93	gb	FJ378889.1
6	<i>Lactobacillus</i> sp. EMML 3041 16S ribosomal RNA gene	98	gb	HQ389549.1
7	<i>Lactobacillus brevis</i> strain HDRS2 16S ribosomal RNA gene	98	gb	AY974809.1
8	<i>Lactobacillus crustorum</i> gene for 16S rRNA, partial sequence	97	dbj	AB626073.1
9	<i>Microlaena stipoides</i> chloroplast, partial genome	96	gb	GU592211.1
10	Uncultured bacteria partial 16S rRNA gene, clone 380	95	emb	FN776641.1
11	Uncultured bacterium clone GB7N87002C5BJJ	100	gb	HM741099.1
12	Uncultured bacterium isolate DGGE gel band B16 16S ribosomal RNA gene	93	gb	GU301232.1
13	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> clone WWC_C3AKM079 16S ribosomal RNA gene	95	gb	GU429381.1
14	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain V92 16S ribosomal RNA gene	100	gb	JF444753.1
15	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> clone WWC_C4AKM14a 16S ribosomal RNA gene	91	gb	GU425735.1
16	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain V92 16S ribosomal RNA gene	98	gb	JF444753.1
17	Uncultured bacterium isolate DGGE gel band A7 16S ribosomal RNA gene	97	gb	GU301189.1
18	<i>Lactobacillus similis</i> gene for 16S rRNA partial sequence, strain YIT 12117	94	dbj	AB512775.1

라. 고품분과 관능성 관계 구명을 통한 제성 조건 확립

고형분의 함량과 관능성 관계 구명을 통한 제성조건을 확립하기 위하여 조건을 달리하여 제성한 막걸리를 10, 25, 40℃에서 저장하였다.

100mesh로 제성하여 저장한 막걸리의 경우 10℃에서 저장한 막걸리의 관능결과는 저장

11일 까지 5.0점 이상의 점수를 유지하였다. 반면 25℃에 저장한 막걸리는 저장 2일부터 5.0이하의 점수를 보였고 40℃에 저장한 막걸리의 기호도는 저장 실험을 시작한 다음날부터 급격히 떨어져 저장 11일에는 1.2점의 기호도를 나타내었다. 고형분의 함량이 37.5g인 120mesh로 제성한 막걸리를 10℃에 저장한 결과 기호도는 저장 6일까지 6.5점 이상의 높은 기호도를 보였으며 25℃에 저장한 경우도 저장 4일까지 5.0이상의 기호도를 나타내었다. 40℃에 저장한 막걸리의 기호도의 경우 저장 기간이 경과됨에 따라 감소하는 경향을 보였으나 기호도가 4점 이하로 떨어지는데 3일정도가 소요되었다. 150mesh로 제성한 고형분 함량 15.0g의 막걸리 경우 120mesh로 제성한 막걸리와 마찬가지로 10℃에서 저장한 경우 저장 7일까지 6.0이상의 기호도를 보였으며 25와 40℃에서 막걸리의 기호도 패턴은 120mesh로 제성한 막걸리와 유사한 경향을 보였다.

이상의 결과, 막걸리의 저장 시 고형분 함량이 적을수록, 즉 제성에 사용된 체의 mesh가 작을수록 고형분에 함유된 효모 및 전분질에 의한 후발효가 적게 일어나 막걸리의 맛이 유지되는 기간이 길게 나타나는 것을 알 수 있었다. 고형분의 함량이 많을수록 25℃와 40℃에서의 기호도 변화가 빠르게 나타났으며 10℃의 저온에서 저장 시 고형분이 많은 막걸리의 기호도는 어느 정도 일정하게 유지되는 반면 고형분이 적은 막걸리의 기호도는 저장기간이 경과됨에 따라 상승하여 나타나는 경향을 보였다.

일반적으로 사용하는 막걸리의 보관온도인 냉장온도(10℃)에서의 관능결과는 고형분 함량이 37.5g, 120mesh의 체를 사용하여 제성한 것이 우수한 것으로 나타났다. 따라서 관능특성이 우수한 막걸리의 제조를 위해서는 120mesh의 체를 사용하여 제성하는 것이 바람직한 것으로 나타났다.

표 94. 조건을 달리하여 제성한 막걸리의 저장 온도 및 기간에 따른 관능특성

제성조건(mesh)	고형분함량(g/bottle)	관능결과
100	75.0	
120	37.5	
150	15.0	

마. 현탁성 개선을 통한 유화안정성 분석

막걸리의 현탁성 개선을 위하여 안정제로 tamarind gum과 xanthan gum을 사용하여 현탁안정성을 측정하였다.

안정제란 식품의 점착성 및 점도를 증가시키고 유화안정성을 증진하며 식품의 물성 및 촉감을 향상시키기 위한 식품 첨가물이다. 실험에 사용된 안정제 중 tamarind gum은 쌀과인 타마린드(Tamarindus india LINNE) 씨앗의 배유 부분을 물 등으로 추출하여 만들거나, 효소(B-galactosidase)처리하여 생산한 것으로 과일주스, 분말 스프, 소스, 드레싱 등에 이용되고 있다. Xanthan gum은 xanthomonas Campestris균을 사용하여 탄수화물을 순수배양 발효시켜서 얻은 고분자 다당류 검물질을 이소프로필알콜에 정제하고 건조하여 분쇄한 것으로서 pH에 의한 점도 저하가 없으며 pH 2~13의 범위 내에서도 안정하며 다른 증점제에 비교하여 점도가 좋은 편이며 농도에 따라 점차 점도가 증가한다.

효모 98-5와 입국을 사용한 막걸리 원주를 앞 실험의 결과에 의거하여 120mesh로 제성하여 알코올 함량 6%의 막걸리로 만든 후 tamarind gum 0.2, 0.1, 0.05%와 xanthan gum 0.1, 0.05, 0.01%를 각각 첨가하여 60분 동안 현탁안정성을 측정한 결과는 그림#와 같다.

안정제를 사용하지 않은 control은 시간이 경과됨에 따라 차츰 감소하여 35분 이후부터는 88%의 현탁안정성을 보였다. 안정제로 xanthan gum을 사용한 막걸리의 경우 0.1%와 0.05%를 첨가하였을 때 현탁성에는 거의 변화가 나타나지 않았으며 0.01%를 첨가한 경우 30분 이후부터 90%의 현탁성을 보였다. Tamarind gum 0.2%를 사용한 막걸리는 45분까지 xanthan gum 0.01% 보다 현탁성이 높게 유지되었으나 그 후는 더 낮은 현탁성을 보였으며 0.1%와 0.05%는 유사한 경향으로 현탁성이 감소하였다.

이상의 결과 안정제를 첨가한 막걸리가 안정제를 첨가하지 않은 control에 비하여 현탁성을 유지하는데 효과적인 것으로 나타났으며 xanthan gum을 첨가한 막걸리의 고형분이 tamarind gum을 사용한 막걸리에 비하여 천천히 가라앉음을 알 수 있었다. 또한 두 안정제 모두 첨가량이 많을수록 현탁안정성은 더 오래 지속되는 것을 알 수 있었다.

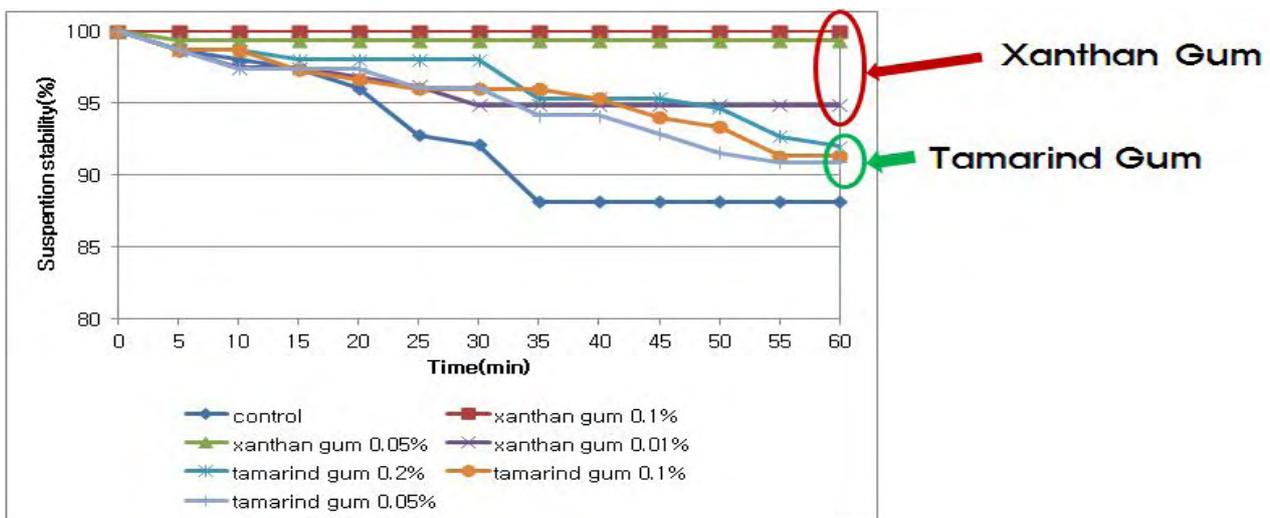


그림 34. 안정제 첨가량에 따른 막걸리의 현탁 안전성

현탁 안정성 실험이 끝난 시료의 24시간 후의 모습은 그림 35와 같다. Control의 경우 24시간이 지난 후의 시료는 고형분이 시험관 바닥에 가라 앉아 상등액은 맑은 상태를 나타내었다. Tamarind gum을 0.2, 0.1 그리고 0.05% 첨가한 막걸리의 24시간 경과 후의 모습을 관찰한 결과 상등액이 맑아져 고형분의 현탁 안정성 효과는 미비한 것으로 나타났다. 관능결과 첨가량에 따른 맛의 변화는 미비하였으나 첨가량이 많아짐에 따라 이취가 발생하였다. Xanthan gum을 0.1%와 0.05% 첨가한 경우 24시간이 지난 후에도 시험관의 모습은 변화 없이 현탁성이 그대로 유지되는 상태였으며 0.01%를 첨가한 경우에는 24시간 후에 상등액이 control과 마찬가지로 맑은 상태를 나타내었다. 관능 결과 xanthan gum을 첨가한 경우 첨가량이 증가함에 따라 막걸리의 신맛을 masking하여 막걸리에 수렴성과 바디감이 생성되어 부드러운 맛은 증가하였으나 신맛의 감소로 산뜻한 뒷맛은 느껴지지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과 고형분의 현탁성과 관능을 고려한 하여 안정제를 첨가할 경우 xanthan gum 0.05%를 첨가하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났다.

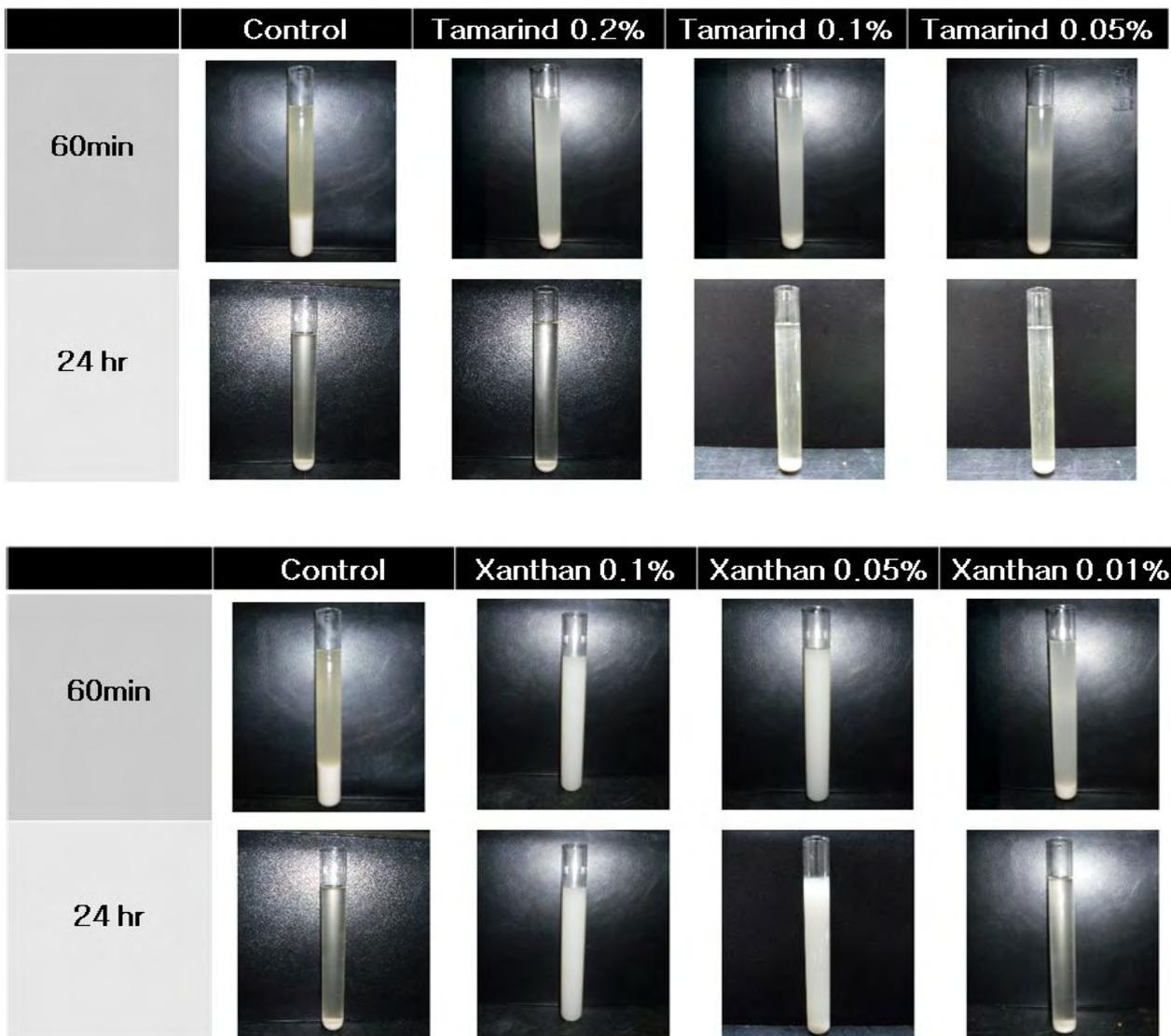


그림 35. 안정제를 사용한 막걸리의 시간 경과에 따른 현탁 안정성

바. 난분해성 전분 활용

완전 발효가 끝난 막걸리에 난분해성을 갖는 전분 2종을 2-6%로 첨가하여 4, 25, 40℃에 저장하여 7일 간격으로 특성을 분석한 결과는 다음과 같다. pH는 4℃에 저장한 경우 전분을 첨가하지 않은 막걸 리가 더 높게 나타났으며 25,40℃에 저장 한 경우 보다는 낮은 것으로 나타났다. M 전분을 첨가한 막걸 리가 F 전분을 첨가한 경우보다 높은 pH를 나타내었으며 이는 저장 온도에 관계없이 유사하게 나타났다. 총산의 함량은 전분을 첨가한 경우가 그렇지 않은 경우에 비하여 높게 나타났으며 특히 25℃에 저장한 막걸 리에서 높았으며 그 중 F전분을 첨가한 경우가 두드러지게 높은 것을 알 수 있었다. 당도의 경우 전분의 첨가량이 많아짐에 따라 높은 것을 알 수 있었는데 이는 완전 발효 후의 막걸리의 부족한 고형분을 보충해 주기 위하여 첨가하였기 때문에 본 실험의 취지와 잘 맞아 떨어지는 것을 알 수 있었다. 관능 검사 결과 M전분을 첨가한 막걸 리의 기호도가 F전분을 첨가한 막걸리에 비하여 높음을 알 수 있었으며 첨가함량에 관계없이 9점 중 5.7-6.0 사이의 값을 나타내었다.

표 95. 난분해성 전분을 첨가한 막걸리의 이화학적 특성

저장 온도(℃)	전분 첨가량	pH				
		저장 기간(일)				
		7	14	21	28	35
4	cont	4.08	4.18	4.21	4.47	4.30
	M 2%	3.88	4.08	4.13	4.30	4.12
	M 4%	3.83	4.12	4.14	4.31	4.09
	M 6%	3.86	3.98	4.15	4.32	4.12
	F 2%	3.95	4.22	4.11	4.20	3.99
	F 4%	3.97	4.18	4.12	4.21	3.95
	F 6%	3.94	4.16	4.12	4.21	3.92
25	cont	4.56	4.69	4.65	4.85	4.77
	M 2%	4.18	4.37	4.34	4.47	4.44
	M 4%	3.83	4.03	4.01	4.23	4.10
	M 6%	3.66	3.67	3.62	3.98	3.66
	F 2%	3.80	3.88	3.85	3.92	3.81
	F 4%	3.70	3.68	3.62	3.73	3.63
	F 6%	3.59	3.61	3.63	3.71	3.57
40	cont	4.40	4.59	4.52	4.74	4.52
	M 2%	4.13	4.33	4.28	4.35	4.28
	M 4%	4.12	4.24	4.26	4.41	4.22
	M 6%	4.03	4.23	4.27	4.38	4.23
	F 2%	4.10	4.20	4.26	4.33	4.18
	F 4%	4.12	4.05	4.11	4.17	4.03
	F 6%	4.04	3.91	4.08	4.20	3.91

저장 온도(℃)	전분 첨가량	총산				
		저장 기간(일)				
		7	14	21	28	35
4	cont	0.12	0.08	0.13	0.11	0.09
	M 2%	0.16	0.15	0.13	0.17	0.12
	M 4%	0.16	0.10	0.13	0.16	0.45
	M 6%	0.10	0.16	0.15	0.16	0.14
	F 2%	0.11	0.11	0.13	0.14	0.14
	F 4%	0.12	0.11	0.16	0.14	0.16
	F 6%	0.14	0.12	0.17	0.17	0.16
25	cont	0.10	0.11	0.12	0.12	0.13
	M 2%	0.15	0.17	0.21	0.22	0.18
	M 4%	0.20	0.20	0.25	0.24	0.26
	M 6%	0.26	0.33	0.41	0.28	0.39
	F 2%	0.21	0.25	0.33	0.33	0.36
	F 4%	0.28	0.31	0.38	0.42	0.48
	F 6%	0.28	0.35	0.44	0.45	0.49
40	cont	0.09	0.08	0.10	0.10	0.11
	M 2%	0.14	0.13	0.15	0.12	0.15
	M 4%	0.14	0.11	0.15	0.14	0.13
	M 6%	0.13	0.10	0.15	0.12	0.12
	F 2%	0.14	0.11	0.14	0.14	0.13
	F 4%	0.14	0.14	0.17	0.16	0.18
	F 6%	0.16	0.17	0.18	0.15	0.19

저장 온도(℃)	전분 첨가량	당도				
		저장 기간(일)				
		7	14	21	28	35
4	cont	3.1	3.2	3.4	3.5	3.2
	M 2%	4.1	3.7	3.9	3.5	3.6
	M 4%	5.7	4.7	4.2	4.3	4.1
	M 6%	7.6	6.8	5.8	5.4	4.6
	F 2%	5.2	5.2	5.2	5.1	4.9
	F 4%	7.1	6.9	7.0	7.0	6.8
	F 6%	8.4	8.4	8.3	8.5	8.2
25	cont	3.3	3.3	3.7	3.4	3.7
	M 2%	3.8	3.9	4.1	3.9	3.9
	M 4%	4.1	4.5	4.5	4.4	4.5
	M 6%	4.8	4.8	5.2	5.0	4.9
	F 2%	5.2	5.2	5.3	5.2	5.0
	F 4%	7.1	7.1	7.2	7.0	7.0
	F 6%	8.5	8.5	8.5	8.4	8.4
40	cont	3.5	3.5	3.7	3.4	3.3
	M 2%	4.4	4.4	4.5	4.4	4.5
	M 4%	6.4	6.2	8.1	6.2	6.5
	M 6%	8.0	7.9	5.6	8.1	8.2
	F 2%	5.4	5.3	7.3	5.3	5.6
	F 4%	7.2	7.2	7.3	7.2	7.4
	F 6%	8.6	8.5	8.6	8.7	8.7

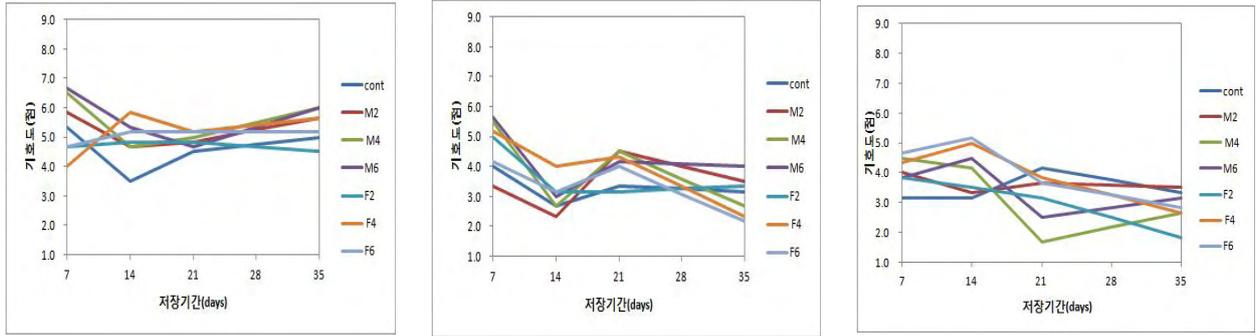


그림 36. 난분해성 전분을 첨가한 막걸리의 기호도 결과

3. 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발

가. 막걸리 품질 저하 요인/인자 도출 및 관련 기작에 따른 제어 방안 모색

시판용 막걸리를 수집하여 표시사항 및 유통기한을 조사하여 시판되고 있는 제품들의 특성을 파악하고, 문제점을 분석하고자 하였으며, 막걸리 품질저하 요인 및 저감화 방안을 모색하기 위해 시판 막걸리의 이화학 성분, 미생물, 효소 활성을 분석하고자 하였다.

(1) 시판 막걸리의 유통기한 분석

시판 생막걸리의 유통기한은 10℃에서 최소 10~20일, 최대 30일 이었고, 살균 막걸리는 대부분 상온에서 1년의 유통기한을 가지고 있었다. 생막걸리의 경우, 살균막걸리에 비해 맛과 기능이 우수하지만, 유통기한이 짧은 것이 큰 단점으로 작용하고 있으며, 따라서 유통기한 연장기술 개발이 더욱더 시급한 실정이다. 신선도가 중요한 막걸리의 경우 가열에 의하여 영양성분 파괴와 이취와 이취가 발생되기 때문에 이를 해결할 수 있는 새로운 가공기술의 개발이 필요하다.

표 96. 시판용 막걸리 원재료명 및 유통기한

제품명	업체명	원재료명	유통기한 (10℃)	
서울장수생막걸리	서울탁주	백미100% 이소말토올리고당 10% 아스파탐 0.01133% 구연산 0.003%	10일	
우곡생	국순당	백미100%(국내산), 감초, 아스파탐 0.009%	30일	
부발 생막걸리	이천 부발 주조장	백미(국산) 80% 소맥분(수입산) 20% 아스파탐 0.0125%	20일	
찰살이탁주	남한산성 소주	백미(국내산친환경)100%, 아스파탐0.0085%	15일	
미담	성광주조	백미100% 이소말토올리고당 10% 아스파탐 0.01125% 구연산 0.003%	20일	
배다리생막걸리	고양탁주	쌀90%, 소맥분10%	15일	
진주생막걸리	진주양조	쌀20%(국내산), 소맥분80%(수입산), 아스파탐 0.0117%	10일	
진주생막걸리	진주주조	백미(국내산)100% 아스파탐0.0109% 정제효소제0.06%	15일	
금정산성	금정산성토산주	백미100%(국내산), 아스파탐 0.0065%	10일	
이동생막걸리	이동주조	백미100%, 아스파탐	20일	
느린마을생막걸리	배상면주가	우리쌀 100%, 조효소제	10일	
살균막걸리	월매	서울탁주	백미90%, 말토올리고당10%, 아스파탐0.011%	상온, 1년
우리술톡쏘는막걸리	우리술	백미 국내산 100%, 아세살팜칼륨, 아스파탐	상온, 1년	
우곡주	배혜정누룩도가	국내산쌀 100%	상온, 1년	

(2) 시판 막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과

시판 막걸리의 이화학 성분 중 알코올 함량은 6.36% ~ 8.98%, glucose는 0.00% ~ 1.64%, 산도는 0.13% ~ 0.40%로 나타났다. 미생물 중 효모수는 2.1×10^7 cfu/mL ~ 1.0×10^8 cfu/mL, 유산균수는 5.0×10^2 cfu/mL ~ 2.9×10^6 cfu/mL 수준으로 나타났다.

시판 살균막걸리의 이화학 성분 중 알코올 함량은 6.32% ~ 11.88%, glucose는 0.00% ~ 10.17%, 산도는 0.19% ~ 0.31%로 나타났다. 미생물 중 효모수는 불검출(ND)로 나타났으며, 유산균수는 불검출(ND) ~ 3.8×10^2 cfu/mL 수준으로 나타났다.

표 97. 시판 막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과

제품명	Alcohol (%)	Glucose (%)	pH	산도 (%)	효모 (cfu/mL)	유산균 (cfu/mL)	분석시점 ^(*)
서울장수 생막걸리	6.96	0.01	3.56	0.27	2.2×10^7	4.3×10^5	2일
우국생	6.81	0.00	3.94	0.20	2.1×10^7	6.0×10^2	4일
부발 막걸리	6.10	0.05	4.01	0.24	2.2×10^7	5.4×10^5	3일
참살이 탁주	6.36	0.00	3.64	0.31	1.0×10^8	4.1×10^5	4일
미담	7.17	0.00	3.57	0.25	3.4×10^7	8.0×10^4	13일
배다리 생막걸리	8.52	0.07	3.71	0.20	2.4×10^7	5.0×10^2	4일
전주생막걸리 (전주양조)	8.50	0.00	4.08	0.22	8.0×10^7	2.9×10^5	2일
전주생막걸리 (전주주조)	7.69	0.00	3.98	0.13	3.7×10^7	3.0×10^4	3일
금정산성	6.97	0.01	3.68	0.40	9.5×10^7	2.3×10^6	3일
이동생막걸리	6.82	0.03	3.81	0.23	8.9×10^7	2.9×10^6	7일
느린마을 생막걸리	8.98	1.64	3.84	0.32	2.8×10^7	4.0×10^4	3일

※ ^(*) : 제조일로부터 분석한 시점을 나타냄

표 98. 시판 살균막걸리의 이화학 성분 및 미생물 분석 결과

시판 막걸리	Alcohol (%)	Glucose (%)	pH	산도 (%)	효모 (cfu/mL)	유산균 (cfu/mL)
월매	6.96	0.25	3.85	0.20	불검출	불검출
우리술 톡쏘는막걸리	7.85	0.00	3.91	0.19	불검출	불검출
우곡주	11.88	10.17	4.05	0.31	불검출	3.8×10^2

(3) 주요 시판 막걸리의 저장 경과에 따른 이화학 성분 변화

저장 경과에 따른 막걸리 품질 변화를 관찰하기 위해 주요 시판 막걸리 3종을 수거하여 저장 경과에 따른 산도, pH 변화를 관찰하였다. 그 결과 A막걸리의 저장 경과에 따른 산도는 저장 14일 시점에서 급격히 감소를 하였고, pH는 점차 증가를 보였다. B막걸리는 저장 경과에 따라 산도는 서서히 감소하는 경향을 보였으며, pH는 유지하는 경향을 보였다. C막걸리의 저장 경과에 따른 산도는 점차 증가를 하였고, pH는 감소 후 유지 경향을 보였다. 산도 안정성 측면에서는 B막걸리가 가장 안정적인 경향을 보였다. A막걸리와 C막걸리는 저장 경과에 따라 산도 변화가 크게 발생하였다.

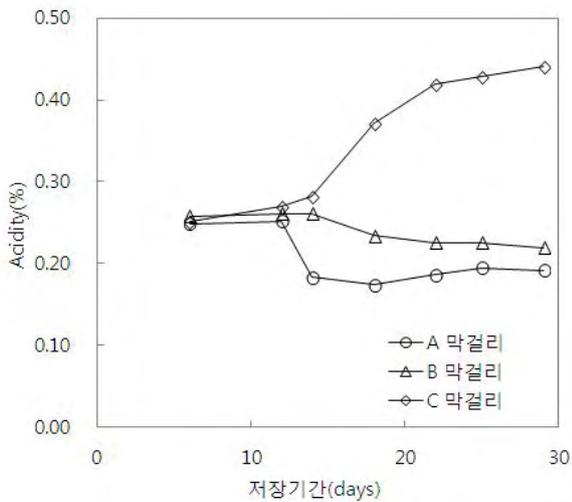


그림 37. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 산도 변화

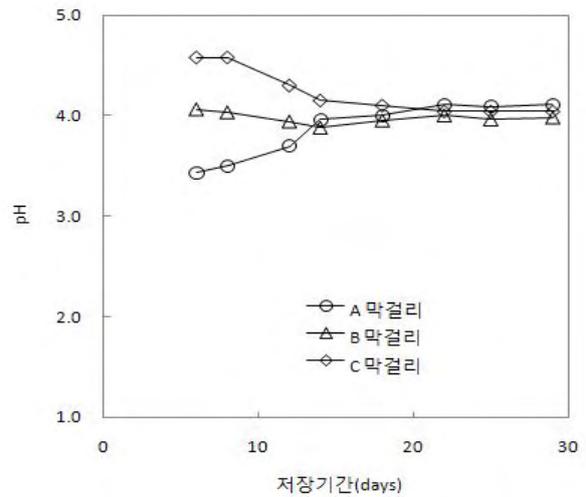


그림 38. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 pH 변화

(4) 주요 시판 막걸리 미생물 분석 결과

주요 시판 막걸리의 저장 경과에 따른 효모수 변화를 분석하였다. A막걸리는 저장 15일까지는 유지 경향, 그 이후에는 감소 경향을 보였다. B막걸리는 저장 15일부터 지속적으로 뚜렷한 감소현상을 보였으며, C막걸리는 저장 30일까지 유지하는 경향을 보였다.

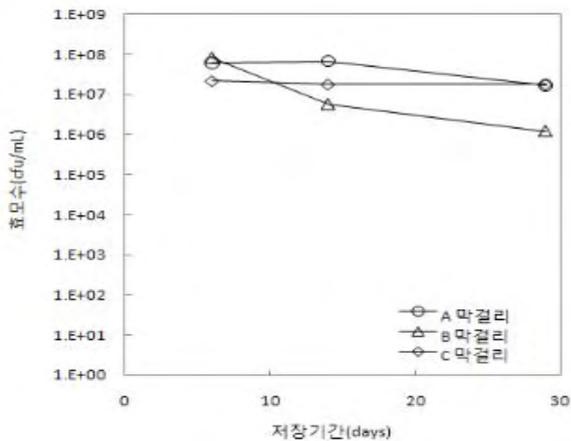


그림 39. 시판 막걸리 저장 경과에 따른 효모수 변화

주요 시판 막걸리의 일반세균수, 유산균수, 초산균수를 분석하였다. 일반세균수는 A막걸리 4.9×10^4 cfu/mL, B막걸리 2.0×10^3 cfu/mL, C막걸리 7.0×10^5 cfu/mL이었으며 B막걸리가 가장 낮았다. 유산균수는 A막걸리 3.1×10^5 cfu/mL, B막걸리 1.2×10^2 cfu/mL, C막걸리 5.4×10^5 cfu/mL로 B막걸리가 가장 낮았다. 초산균수는 A막걸리 6.9×10^2 cfu/mL, B막걸리 불검출(ND), C막걸리 6.2×10^3 cfu/mL로 나타나 B막걸리가 가장 낮았다. 미생물 분석 결과로 볼 때 저장 안정성 측면에서는 유산균수와 초산균수가 낮은 B막걸리가 가장 유리 할 것으로 사료되었으며 실제 유통기한도 가장 우수한 것으로 나타났다.

표 99. 시판 막걸리의 주요 미생물 분석

시판막걸리	일반세균수 (cfu/mL)	유산균수 (cfu/mL)	초산균수 (cfu/mL)	유통기한	분석시점
A 막걸리	4.9×10^4	3.1×10^5	6.9×10^2	10 ℃ 10일	5일 시점
B 막걸리	2.0×10^3	1.2×10^2	불검출(ND)	10 ℃ 30일	14일 시점
C 막걸리	7.0×10^5	5.4×10^5	6.2×10^3	10 ℃ 10일	3일 시점

(5) 주요 시판 막걸리 효소 분석

시판 막걸리의 주요 효소를 분석한 결과 α-amylase는 A막걸리가 0U/L, B막걸리 0U/L, C막걸리 0U/L로 나타났으며, glucoamylase는 A막걸리 250U/L, B막걸리 0U/L, C막걸리 220U/L으로 낮게 나타났다(표5). 저장 안정성 측면에서는 glucoamylase 활성이 0U/L인 B막걸리가 가장 유리 할 것으로 판단되었다.

표 100. 시판 막걸리의 주요 효소 분석 결과

시판 막걸리	주요 효소		비고
	α-amylase(U/L)	Glucoamylase(U/L)	
A 막걸리	0	250	5일 시점
B 막걸리	0	0	14일 시점
C 막걸리	0	220	3일 시점

(6) 시판 막걸리 품질 저하 원인 분석

가) 산도(신맛) 증가 주요 원인 분석

저장 경과에 따른 산도 증가의 원인을 분석하기 위해 시판 막걸리 중 C막걸리에 대한 산도 및 미생물 분석을 실시하였다. 그 결과 저장 경과에 따른 산도는 저장 초기 0.25%에서 저장 30일차에는 0.44%로 급속히 증가를 보였다. 유산균수는 저장 초기 5.4×10^5 cfu/mL 이었으며 저장 35일차에는 1.0×10^8 cfu/mL로 점차 증가하는 현상을 보였다. 또한 초산균수도 초기

6.2x10³ cfu/mL, 저장 23일에 9.5x10³ cfu/mL 수준으로 검출되었다. C막걸리의 경우 저장 경과에 따른 산도 증가의 주요 원인은 시간 경과에 따른 유산균수, 초산균수와 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다.

유산균과 산도 증가와의 연관성을 확인하기 위해 미생물이 제거된 살균 막걸리 상에서 막걸리로부터 분리한 유산균 2종을 각각 10⁵ cfu/mL 수준으로 접종하여 저장 경과에 따른 산도 변화를 관찰하였다. 그 결과 저장 기간이 경과함에 따라 대조구에 비해 산도가 급격히 증가하는 것을 관찰 할 수 있었다.

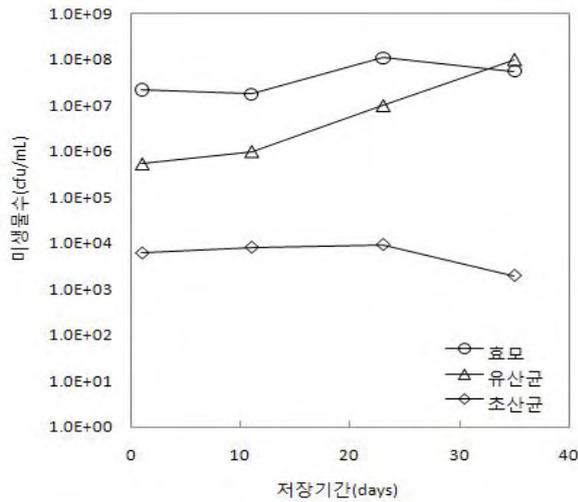


그림 40) 시판C막걸리의 저장 경과에 따른 미생물 분석 결과

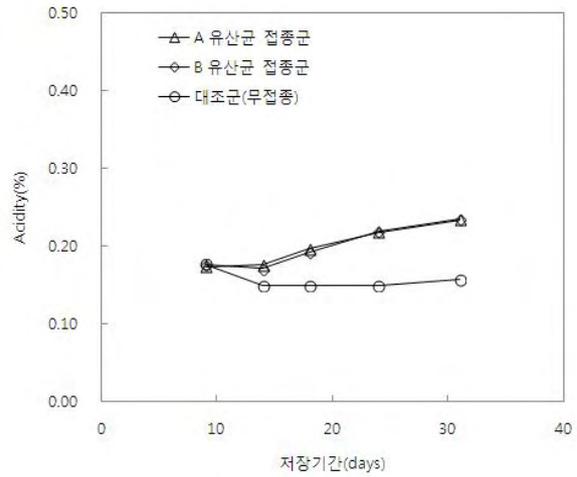


그림 41. 살균 막걸리 상에서 유산균 접종에 의한 산도 변화

초산균과 산도 증가와의 연관성을 확인하기 위해 막걸리로부터 순수 분리하여 동정한 초산균(*Gluconacetobacter* sp.) 1종을 막걸리에 10³ cfu/mL 수준으로 접종하여 저장 경과에 따른 산도 변화를 관찰하였다. 초산균을 접종한 실험구에서 산도가 유의적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 막걸리의 산도 증가 주요 원인을 분석한 결과 저장기간 경과에 따른 유산균과 초산균의 증식이 주요 원인으로 나타났다.

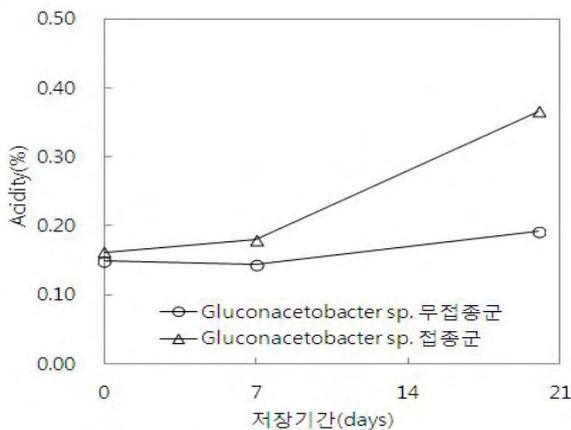


그림 42. 시판 막걸리 상에서 초산균 접종에 의한 산도 변화

나) 산도(신맛) 감소 주요 원인 분석

저장 경과에 따른 산도 감소 주요 원인을 분석하기 위해 A막걸리(저장 경과에 따라 산도가 감소)를 구입하여 미생물 및 유기산 분석을 실시하였다. 저장 경과에 따른 일반세균수와 유산균수는 점차 증가하는 경향, 초산균은 서서히 감소하는 경향을 보였다.

저장기간 경과에 따른 유기산 분석 결과를 나타내었다. 저장 경과에 따라 lactic acid와 acetic acid는 증가를 하고 citric acid, malic acid, succinic acid는 유지를 하였다. 저장기간 경과에 따라 유기산 함량은 증가를 하였지만 산도는 오히려 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 산도 감소는 저장 경과에 따라 막걸리 내에 존재하던 탄산이 점점 발산하여 감소함으로 인한 현상인 것으로 추정되었다.

막걸리에서 탄산 발산으로 인한 산도 감소 현상을 더 명확히 보기 위해 A막걸리를 밀폐, 비밀폐 용기에 넣어서 저장 경과에 따른 산도 감소를 관찰하였다. 그 결과 비밀폐균 보다 밀폐한 실험구가 유의적으로 산도 감소 현상이 작은 것을 관찰 할 수 있었다. 이것으로 볼 때 A막걸리의 저장 경과에 따른 산도 감소의 원인은 막걸리 내에 존재하던 탄산의 감소 때문인 것으로 확인되었다.

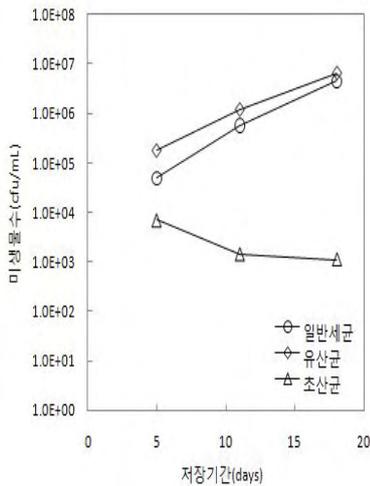


그림 43. A막걸리 저장 경과에 따른 미생물 분석 결과

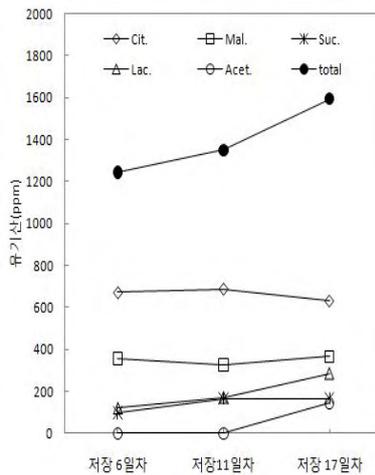


그림 44. A막걸리 저장 경과에 따른 유기산 분석 결과

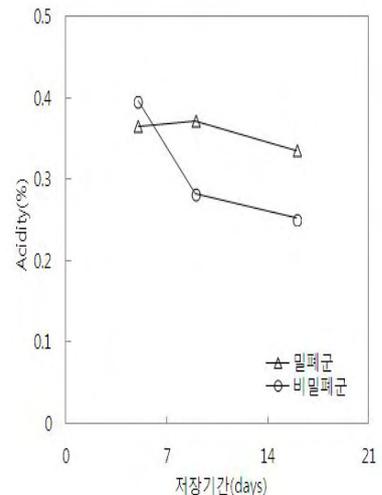


그림 45. A막걸리 밀폐, 비밀폐 용기에 따른 산도 변화 비교

나. 완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 기술 개발

(1) 완전발효 조건에 따른 저장성 연구

완전발효란 막걸리 발효 시간 경과에 따라 glucose함량이 0%인 시점까지 발효를 행한 것을 완전발효로 정의하였다. 막걸리 발효 후 잔당이 존재하면 저장, 유통기간 동안 효모에 의해 알코올과 CO₂로 전환되어 품질 변화가 생기게 된다. 잔당에 의한 품질 변화를 최소화하기 위해서 막걸리 발효시 잔당을 남기지 않고 발효하여 저장성 연구를 수행하였다.

가) 완전발효 막걸리의 발효 조건

완전발효 막걸리의 발효조건은 누룩(입국시료) 원료기준 30%, 급수율은 200%, 효모는 원료기준 6%, 발효온도 27°C에서 4일간 발효하였다. 발효기간 경과에 따라 glucose는 2일까지 17.5%로 증가한 후 발효 4일차에는 0%로 감소하였고 알코올은 발효 경과에 따라 증가하여 발효 4일차에는 15.0%로 증가하였다. 발효기간 경과에 따른 효소 활성 분석 결과는 α-amylase는 발효1일차에 0U/g, glucoamylase는 발효 1일차 15.1U/g, 발효 4일차 1U/g으로 점차 감소하였다. 발효 기간 경과에 따른 glucoamylase 효소 활성 감소는 발효 경과에 따른 알코올 생성과 밀접한 관련이 있을 것으로 추정되었다.

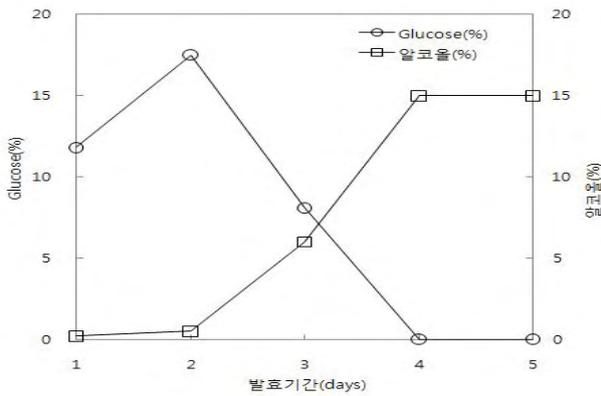


그림 46. 발효기간 경과에 따른 잔당 함량(병행복발효법)

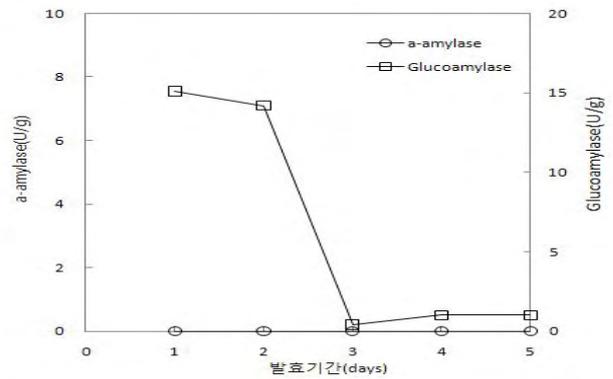


그림 47. 발효기간에 따른 효소 활성 분석 결과

나) 완전발효 막걸리와 잔당 함유 막걸리에 대한 저장 경과에 따른 산도 비교

발효 완료 후 glucose 함량이 0%(완전발효)인 막걸리와 잔당이 1.2%인 막걸리를 10°C에 저장하면서 산도 변화를 관찰하였다. 잔당 1.2%인 막걸리 보다 완전발효 막걸리의 산도 증가가 작은 것으로 나타났다. 막걸리 내 잔당을 함유할 경우 효모에 의해 알코올과 CO₂로 전환되어 산도를 증가시키는 요인으로 작용하였으며, 저장안정성 측면에서 완전발효 조건이 유리한 것으로 나타났다.

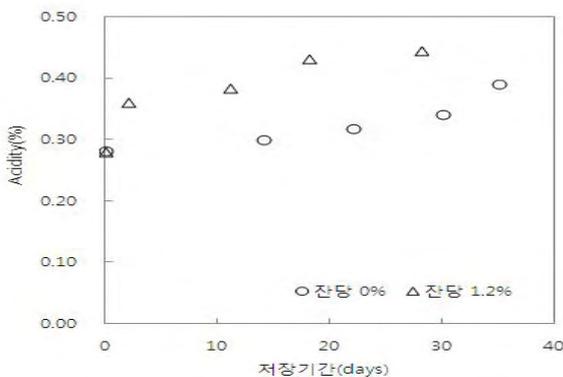


그림 48. 완전발효 막걸리와 잔당 함유 막걸리의 산도 비교

(2) 탄산 제어 조건에 따른 이화학 성분 및 미생물 활성 연구

탄산 제어에 따른 저장 안정성을 보기 위해 막걸리에 1% 당을 첨가한 후 밀폐, 비밀폐 용기에 담은 다음 10°C에 저장 하면서 이화학 성분 및 미생물 활성을 분석하였다. 아래 그림13을 보면 효모가 당을 이용함에 따라 산도가 증가하게 되고 초기 산도가 증가한 이후에는 밀폐 용기가 비밀폐 용기 보다 산도 감소가 작은 것을 볼 수 있었다. 또한 밀폐 용기의 경우 탄산이 유지되어 관능적으로도 청량감이 느껴져 관능에 더 유리 할 것으로 판단되었다.

당첨가후 산도가 급격히 증가한 원인을 분석하기 위해 저장 기간 경과에 따른 유기산 분석을 실시하였다. 저장 경과에 따른 총 유기산 함량은 증가하지 않고 오히려 약간 감소하는 것으로 나타났으며, 저장 초기 산도 증가 원인은 당이 효모에 의해 알코올과 CO₂로 전환되어 나타나는 현상이었다.

밀폐, 비밀폐 용기에 따른 미생물 활성 변화를 비교하였다. 그 결과 밀폐, 비밀폐 용기 차이에 따른 미생물 활성 변화는 거의 차이가 나타나지 않았다.

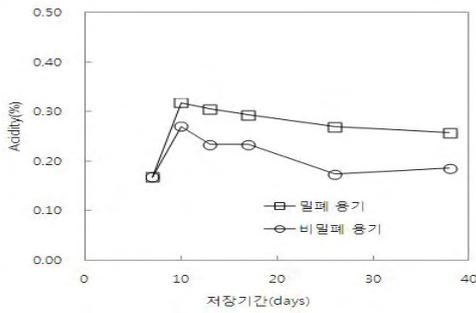


그림 49. 잔당 1% 조건에서 밀폐, 비밀폐 용기에 따른 산도 비교

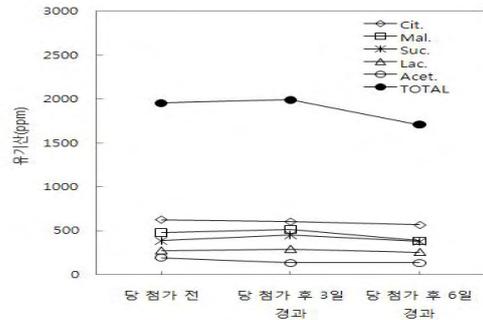


그림 50. 당첨가후 저장기간 경과에 따른 유기산 함량 변화

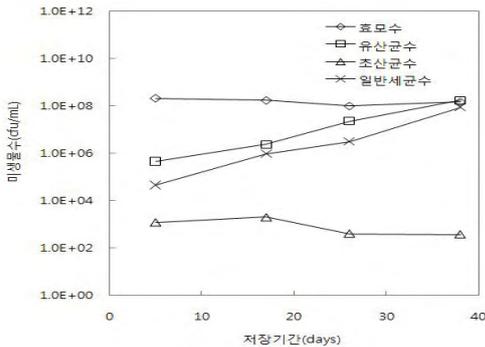


그림 51. 밀폐용기를 사용한 막걸리의 미생물 활성 변화

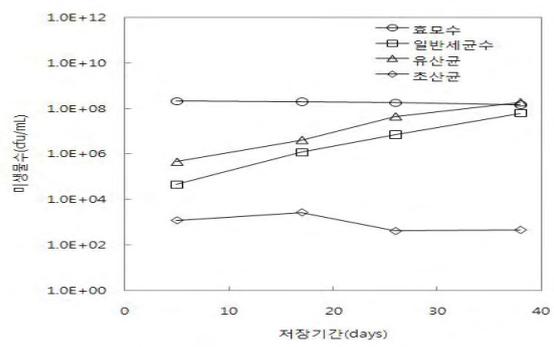


그림 52. 비밀폐 용기를 사용한 막걸리의 미생물 활성 변화

(3) 잔당 제어 조건에 따른 저장성 연구

막걸리의 잔당 제어 조건을 구명하기 위해 고알코올 막걸리 상에 glucose 5%를 첨가하여 저장 경과에 따른 당 전환 연구를 수행하였다.

알코올 16.8% 막걸리는 저장 경과에 따라 당은 점차 감소하여 저장 33일 경과시 1.7%의

당이 남았으며, 알코올은 초기 16.8%에서 저장 16일차에는 19.0%로 증가하였으며, 산도는 초기 0.50%에서 저장 7일차에는 0.58%로 증가하였다.

알코올 14.0% 막걸리는 저장 경과에 따라 당은 점차 감소하여 저장 33일차에는 0.7%의 당이 남았으며, 알코올은 초기 14.0%에서 저장 16일차에 18.4%로 증가하였으며, 산도는 초기 0.40%에서 저장 7일차에는 0.53%로 증가하였다. 막걸리의 알코올 함량이 높을수록 잔당 함량이 높게 나타났다.

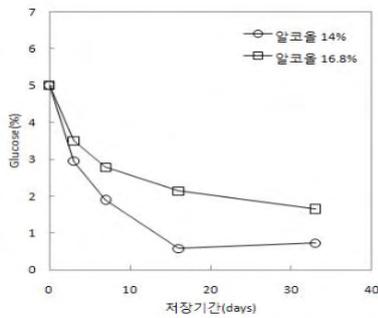


그림 53. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 당 함량 변화

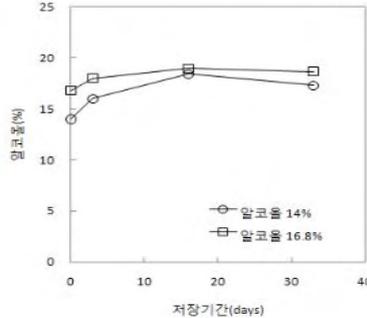


그림 54. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 알코올 변화

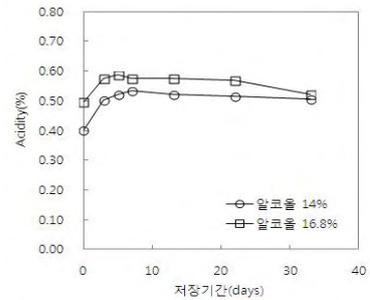


그림 55. 고알코올 막걸리 상에서 glucose 5% 첨가에 따른 산도 변화

다. 길항미생물 및 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술 개발

(1) 선택적 유용 젖산균 적용에 의한 저장성 연구

관능적으로 우수한 전통 막걸리로부터 분리, 동정한 *Lactobacillus casei*를 발효시 0.05% 접종하여 병행발효법으로 막걸리를 제조하였다. 막걸리에 존재하는 유용 젖산균은 발효시 유기산 생성으로 초기 잡균 오염을 조절하고 막걸리의 시원한 맛 부여 및 맛의 조화에 도움이 되는 것으로 알려져 있다. 막걸리 제조시 젖산균 접종한 실험군과 무접종한 실험군 간의 저장 경과에 따른 산도를 비교하였다. 그 결과 젖산균을 접종한 실험군이 무접종군에 비해 산도 증가가 작은 것으로 나타나 저장성 향상에 도움이 될 것으로 판단되었으며 젖산균의 경우 젖산균의 종류에 따라 산도를 증가 시키는 원인(*Lactobacillus brevis*)으로도 작용하기 때문에 유용 젖산균을 확보하여 막걸리에 적용하는 것이 중요할 것으로 판단되었다. 또한 젖산균 접종군이 무접종군에 비해 시원한 맛의 상승을 보여 관능 개선에도 도움이 될 것으로 판단되었다.

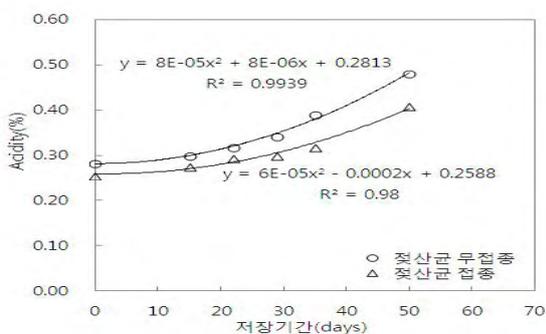


그림 56. 유용 젖산균 적용 막걸리의 저장 경과에 따른 산도 변화

(2) 천연항균 및 효소실활 물질에 의한 미생물, 효소 활성 연구

가) 항균력 시험

천연항균 물질에 의한 미생물 및 효소 활성 변화를 연구하기 위해 시판용 항균물질 3종 (자몽종자추출물, 유산균발효액, 비타민B1라우릴황산염)을 구입하여 사용하였다. 아래 표6, 7, 8 을 보면 막걸리의 변질에 관여하는 초산균 2종을 사용하여 시판용 항균물질에 대한 항균력 시험을 실시하였다. 그 결과 자몽종자추출물, 유산균발효액, 비타민B1라우릴황산염 3종 모두 MIC는 0.01%로 나타났으며, 생육저해환의 지름크기로 볼 때 자몽종자추출물, 유산균발효액, 비타민B1라우릴황산염 순으로 항균력이 나타났다.

표 101. 자몽종자추출물의 항균력 시험결과

농도(%)	생육저해환(clear zone)의 지름크기(cm)	
	<i>Gluconoacetobacter</i> sp.	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
0	ND	ND
0.01	1.6	3.2
0.02	2.0	3.8

※ 원통형 지름: 0.8cm

표 102. 유산균발효액의 항균력 시험 결과

농도(%)	생육저해환(clear zone)의 지름크기(cm)	
	<i>Gluconoacetobacter</i> sp.	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
0	ND	ND
0.01	1.3	3.0
0.02	1.5	3.2

표 103. 비타민B1라우릴황산염의 항균력 시험 결과

농도(%)	생육저해환(clear zone)의 지름크기(cm)	
	<i>Gluconoacetobacter</i> sp.	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
0	ND	ND
0.01	1.0	1.3
0.02	1.3	1.8



그림 57. 유산균발효액에 의한 *Gluconoacetobacter* sp.의 항균활성

나) 막걸리에 천연항균물질 첨가에 따른 미생물 및 이화학적 성분 변화

3종의 천연항균물질 중 유산균발효액을 시판 막걸리에 일정량 접종하여 이화학 성분 및 미생물 활성을 관찰하였다. 자몽종자추출물은 막걸리에 0.05% ~ 0.1% 접종시 자몽종자추출물 특유의 이미, 이취가 발생하여 막걸리 첨가 실험에서 제외를 하였다. 유산균발효액을 0.1% 이상 첨가시 대조구에 비해 산도가 더 안정적인 것을 볼 수 있었으며, 효모수는 첨가군 비첨가군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 유산균수와 초산균수는 생육 유도기가 연장되는 것을 볼 수 있었다(그림58. 59. 60. 61).

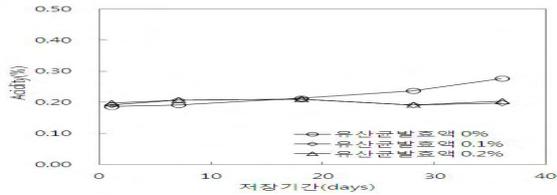


그림 58. 유산균발효액 첨가에 따른 산도 변화

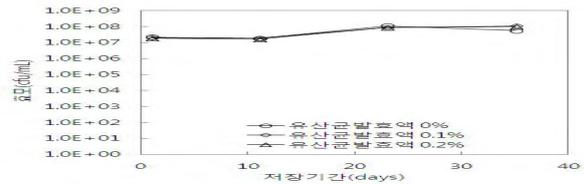


그림 59. 저장 기간 경과에 따른 효모수 변화

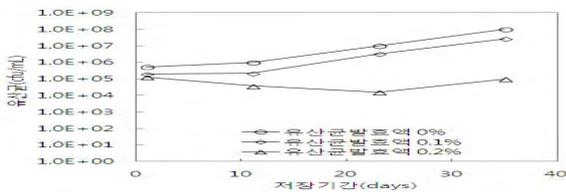


그림 60. 저장 기간 경과에 따른 유산균수 변화

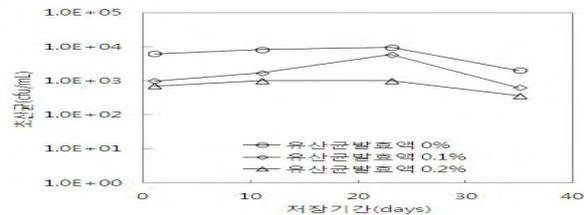


그림 61. 저장 기간 경과에 따른 초산균수 변화

다) 막걸리에 천연항균 물질 첨가에 따른 효소 활성 분석 결과

막걸리에 천연항균물질(유산균발효액) 0.1% 이상 첨가시 산도 및 미생물 활성 변화에 영향을 미치는 것을 이미 보았다. 막걸리에 천연항균물질 0.1% 첨가 시 효소 활성 변화를 보기 위해 시판효소(α -amylase, glucoamylase)2종을 막걸리에 일정량 첨가하여 10°C 정치보관에 따른 효소활성 변화를 분석하였다. 그 결과 α -amylase는 항균물질 무첨가군, 첨가군 모두 효소 활성 변화는 거의 없었으며, glucoamylase도 항균물질 무첨가군, 첨가군 모두 효소 활성 변화는 작은 것으로 나타났다.

이러한 결과로 볼 때 유산균발효액 0.1% 첨가 시에는 효소 활성에 미치는 영향은 작은 것으로 나타났다.

표 104. 천연항균물질 첨가에 따른 α -amylase 활성 변화

저장시간	0 h	48 h
항균물질 무첨가군	13.8 U/L	13.8 U/L
항균물질 0.1% 첨가군	19.8 U/L	19.1 U/L

표 105. 천연항균물질 첨가에 따른 glucoamylase 활성 변화

저장시간	0 h	48 h
항균물질 무첨가군	11.2 U/mL	9.9 U/mL
항균물질 0.1% 첨가군	11.2 U/mL	9.6 U/mL

라. Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술

(1) 냉동 및 저장온도, 시간조건에 따른 미생물 실험, lag phase 지속성 영향 연구

가) 시판 막걸리 cold shock 처리 조건에 따른 미생물 활성 영향 분석

1차년도 연구결과를 보면, 저장 경과에 따른 산도 증가의 주요 원인은 유산균수와 초산균수와 밀접한 관련이 있는 것으로 나타나 cold shock에 의한 미생물 활성 영향 분석은 유산균수와 초산균수에 초점을 맞추어 관찰 하였다. Cold shock 처리 직후의 유산균수 변화는 대조구 3.1×10^6 cfu/mL, -20°C 10 days 조건 5 cfu/mL로 감소를 하였고 저장 경과에 따라서 서서히 증가를 하다 감소 유지하는 경향을 보였다. -20°C 10 days만 처리해도 유산균 활성 제어에 효과가 큼을 알 수 있었다. 유산균 활성 제어 효과는 -20°C 10 days, 20 days 조건 보다 -40°C 10 days, 20 days 조건이 더 큼을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Shim et al.(2010.11)의 연구에서 보고한 것처럼 cold shock 처리후 저장기간이 경과함에 따라 막걸리의 유산균수 감소한다는 결과와 유사하였다. Cold shock 처리 후의 초산균수 변화는 대조구 1.2×10^3 cfu/mL, -20°C 10 days 조건 1.0×10^2 cfu/mL로 감소하였다. 저장 경과에 따라서 대조구는 저장 10일 (10°C)까지 생육 증가 현상을 보이다 점차 감소 하였고, cold shock 처리군은 모두 생육 유지 감소 경향을 보였다. 초산균 활성 제어 효과는 -20°C 10 days, 20 days 처리 보다 -40°C 10 days, 20 days 처리 조건이 더 큼을 알 수 있었다. Cold shock 처리에 따른 효모수 감소효과는 -20°C 10 days, 20 days 처리 조건 보다 -40°C 10 days, 20 days 처리군이 더 큼을 알 수 있었다.

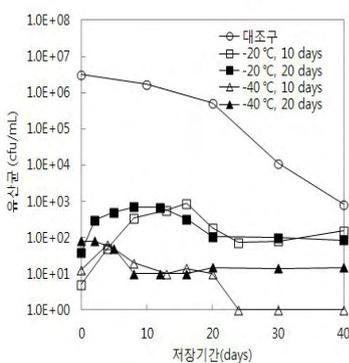


그림 62. Cold shock 처리 조건에 따른 유산균 활성 변화

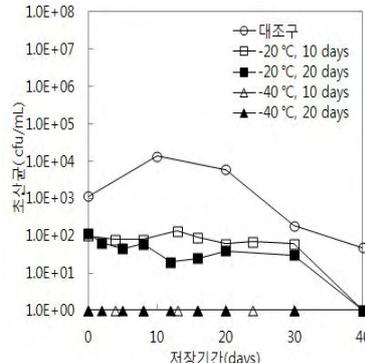


그림 63. Cold shock 처리 조건에 따른 초산균 활성 변화

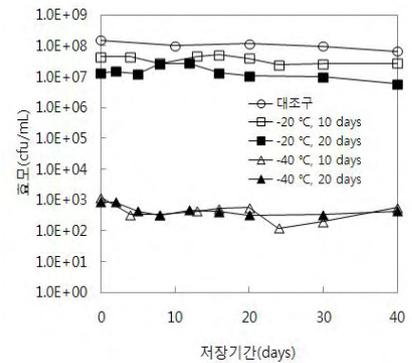


그림 64. Cold shock 처리 조건에 따른 효모 활성 변화

(2) Cold shock 조건에 따른 품질/관능, 저장성 연구

가) 시판 막걸리 cold shock 처리 조건에 따른 산도, pH 변화

Cold shock 처리 후 저장 경과에 따른 산도 변화를 관찰하였다. 대조구는 저장 초기 0.2 %에서 저장 40일 경과시 0.25 %로 증가하였고, -20°C , 10 days cold shock 처리군은 저장 초

기 0.21 %에서 저장 40일차에는 0.21 %로 대조구 보다 산도 안정성이 우수한 것을 볼 수 있었다. -20 °C, 20 days cold shock 처리군은 -20 °C, 10 days cold shock 처리군과 유사한 결과를 보였다. 그림 67, 68를 보면 lot에 따라 대조구와 실험구의 산도 증가율 차이를 보였고, 이로 인해 cold shock 효과성은 더 뚜렷하게 나타났다.

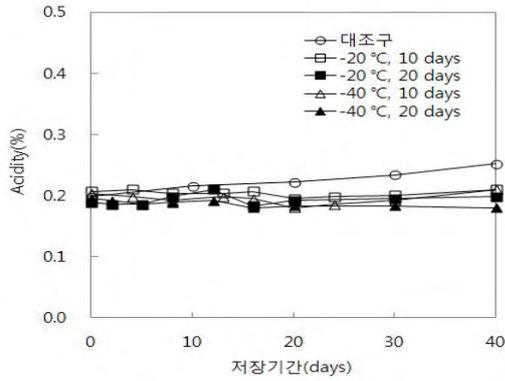


그림 65. Cold shock 처리 조건에 따른 산도 변화 비교(lot1)

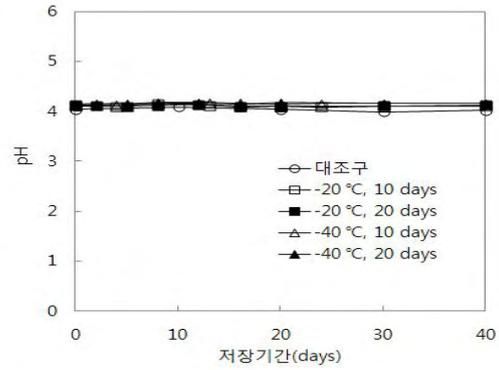


그림 66. Cold shock 처리 조건에 따른 pH 변화(lot1)

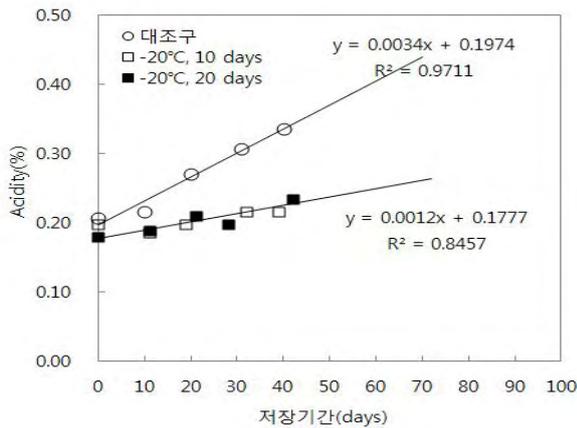


그림 67. Cold shock 처리 조건에 따른 산도 변화 비교(lot2)

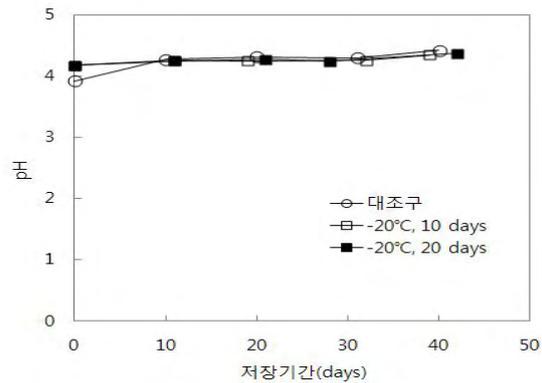


그림 68. Cold shock 처리 조건에 따른 pH 변화 비교(lot2)

나) Cold shock 처리후 저장 경과에 따른 관능검사 결과

Cold shock 처리후 저장 경과에 따른 선호도 검사를 실시하였다. 선호도 검사는 9점 척도법을 사용하였고, 관능 패널은 막걸리 관능을 위해 숙련된 선포식품 기술연구소 사내 패널을 대상으로 하였다. 대조구는 막걸리를 구입하여 즉시 선호도 검사를 실시한 결과 4.8점으로 나타났으며, -20 °C, 10days cold shock 처리군은 cold shock 처리 후 해동하여 10 °C, 50 days 경과 시료에 선호도를 검사한 결과 4.9점으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 -20 °C, 10 days cold shock를 처리하여 10 °C에 보관 할 경우 막걸리의 저장성이 향상됨을 확인하였다.

-40 °C 10 days, 20 days 처리군은 저장 경과에 따라 이미(異味) 발생이 나타났으며 -40 °C 10 days 보다 20 days 처리군이 더 강하게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이미(異味) 발생 원인을 추정해 보면 cold shock로 인한 효모수의 급격한 감소와 연관성이 높을 것으로 사

료되었다. 유산균수와 초산균수 감소를 유도하면서 효모수 감소를 최소화 할 수 있는 조건인 -20 ℃ 10 days, 20 days이 저장성 향상에 더 유효할 것으로 사료되었다.

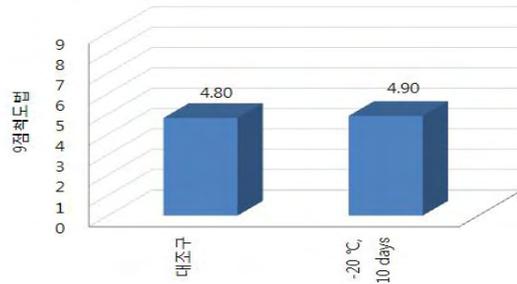


그림 69. Cold shock 처리후 저장 경과에 따른 선호도 검사결과

다) Cold shock 처리에 따른 저장성 향상 효과 예측

Cold shock 처리에 따른 저장성 향상 효과는 산도 안정성 측면과 관능적 측면을 고려 해 볼 때 +35 ~ +40일로 예상되었다(유통기한 10 ℃에서 15 days 막걸리 기준, cold shock 처리기간은 제외).

마. 알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술개발

(1) 알코올 함량 조건에 따른 미생물 및 효소 활성에 대한 연구

가) 알코올 함량 조건에 따른 미생물 활성 분석 결과

알코올 함량에 따른 유산균수 활성 변화는 알코올 6 % 실험구(대조구)는 저장 경과에 따라 점차 증가현상을 보였고, 알코올 함량 10 %, 12 %로 증가 할수록 유산균 증식 유도기가 연장되는 현상을 보였다.

그림 71은 알코올 함량에 따른 초산균수 활성 변화를 나타내었다. 알코올 6 % 실험구는 저장 경과에 따라 초산균수가 유지하는 경향을 보이는데 반해 알코올 함량 10 %, 12 % 실험구는 저장 경과에 따라 유지, 감소 경향을 보였다. 알코올 함량 증가에 따라 초산균수 활성은 감소하는 것으로 나타났다. 아래 그림36을 보면, 알코올 함량에 따른 효모수 활성 변화를 나타내었다. 알코올 함량이 증가 해도 효모수 활성 변화에는 큰 영향을 미치지 않았다.

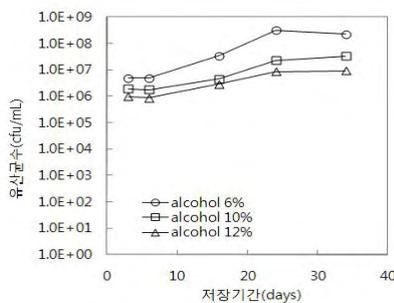


그림 70. 알코올 함량에 따른 유산균 활성 변화(10 ℃ 저장)

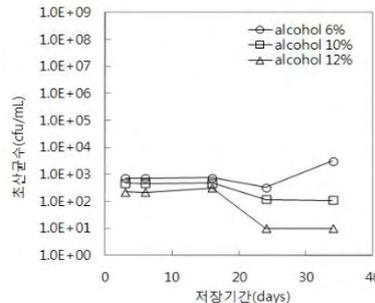


그림 71. 알코올 함량에 따른 초산균 활성 변화(10 ℃ 저장)

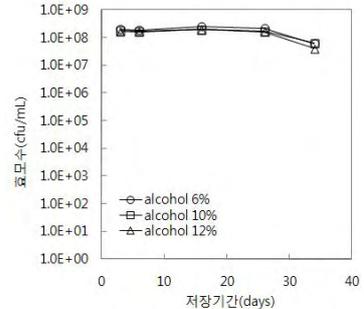


그림 72. 알코올 함량에 따른 효모수 활성 변화(10 ℃ 저장)

나) 알코올 함량에 따른 효소 활성 분석 결과

아래 표11, 12를 보면, 알코올 함량과 효소 활성과의 연관성을 보기 위해 시판 막걸리에 일정량의 시판효소(α -amylase, glucoamylase) 2종을 일정 농도 첨가하여 10 °C에서 효소 활성 변화를 관찰하였다. α -amylase와 glucoamylase는 알코올 함량이 증가함에 따라 효소 활성이 급격히 감소하는 결과를 나타내었다. 막걸리의 효소 활성 제어를 위해서는 알코올 함량이 높을수록 더 유용할 것으로 사료되었다.

표 106. 알코올 함량 조건에 따른 α -amylase 활성 변화

저장시간	0 h	48 h
대조구(알코올 6%)	31.9 U/L	23.1 U/L
알코올 10%	30.9 U/L	12.9 U/L
알코올 12%	30.5 U/L	7.9 U/L

* 저장온도: 10 °C

표 107. 알코올 함량 조건에 따른 glucoamylase 활성 변화

저장시간	0 h	48 h
대조구(알코올 6%)	25.5 U/L	20.1 U/L
알코올 10%	25.0 U/L	13.7 U/L
알코올 12%	25.1 U/L	9.8 U/L

* 저장온도: 10 °C

(2) 알코올 함량 조건에 따른 품질/관능, 저장성 연구

가) 알코올 함량에 따른 산도, pH 분석 결과

아래 그림73을 보면, 저장 경과에 따른 산도 변화는 알코올 6 % 보다는 알코올 10 %, 12 % 실험군이 더 안정한 것으로 나타났다. 알코올 6 %(대조구)는 저장초기 0.2 % 저장 26일차에는 0.28 %로 나타났으며 알코올 10% 실험구는 저장초기 0.19 % 저장 26일차에는 0.22 %로 나타나 알코올 함량이 높을수록 산도 증가율은 낮아지는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Lee et al.(1996)의 연구 결과와 유사하였다.

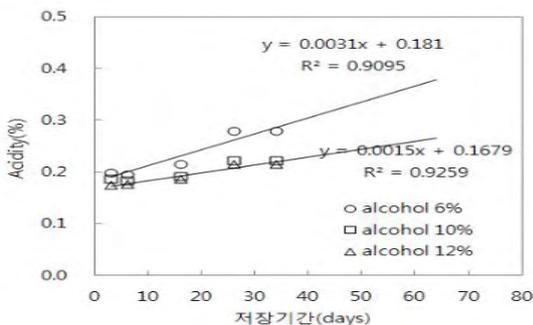


그림 73. 저장 경과에 따른 산도 비교 결과(10 °C 저장)

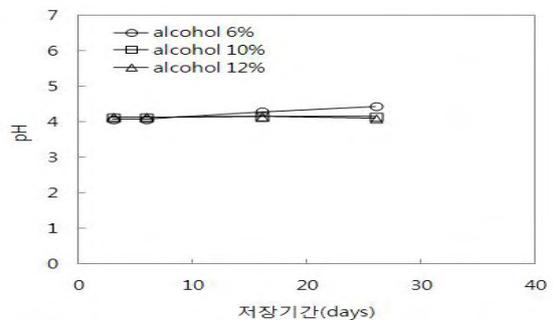


그림 74. 저장 경과에 따른 pH 비교 결과(10 °C 저장)

아래 그림39는 대조구는 유통기한 이내 제품, 알코올 함량 10 % 실험구는 10 °C 저장

34일 시점에 선포식품 기술연구소 패널 10명을 대상으로 9점 척도법으로 관능검사를 실시하였다. 그 결과 알코올 함량 10 % 실험군은 4.9점으로 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다. 대조구의 경우 제조일로부터 15일이 경과하면(유통기한 15일 제품) 부패취가 심하게 나고 신맛이 증가하는 현상을 보였지만, 알코올 10 %, 12 % 실험군은 부패취 발생이 없어 향이 유지되고 신맛 증가가 대조구 보다 낮은 것을 확인 할 수 있었다.

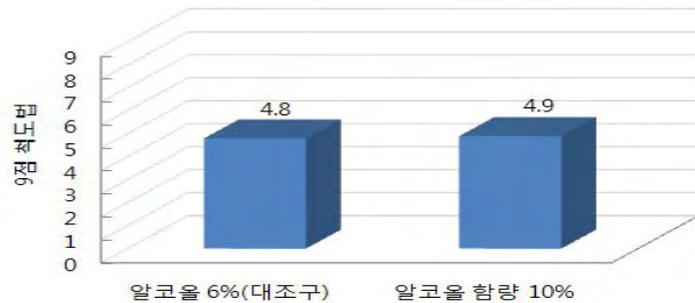


그림 75. 선호도 검사 결과(9점 척도법)

나) 알코올 함량 조건에 따른 저장성 향상 효과 예측

알코올 함량 조건에 따른 저장성 향상 효과는 산도 안정성 측면과 관능적 측면을 고려해 볼 때 +20일로 예상되었다(유통기한 10 °C에서 15 days 막걸리 기준).

바. 균체의 선택적 분리기술 및 제거 기술개발

(1) 단위 공정액 또는 제성액으로부터 미생물의 선택적 제거방법에 의한 균수 제어

가) 미생물의 선택적 제거 방법에 따른 균수 변화 및 저장성 연구

아래 표13은 미생물의 선택적 제거 방법(자연침강법, 강제침강법)에 따른 상등액의 균수를 나타내었다. 대조구(제성액 전량)는 유산균수가 3.8×10^5 cfu/mL, 초산균수가 2.4×10^3 cfu/mL, 효모수가 2.0×10^8 cfu/mL으로 분석되었다. 자연침강법에 의한 상등액의 유산균수는 8.7×10^4 cfu/mL, 초산균수가 6.0×10^1 cfu/mL, 효모수가 4.9×10^5 cfu/mL으로 나타나 초산균수와 효모수 감소가 뚜렷하게 나타났다. 강제침강법에 의한 상등액의 유산균수는 4.1×10^4 cfu/mL, 초산균수가 8.0×10^1 cfu/mL, 효모수가 1.6×10^5 cfu/mL으로 나타났으며 자연침강법과 유사하게 초산균수와 효모수 감소가 뚜렷하게 나타났다.

저장 경과에 따른 산도 변화를 나타내었다. 제성액 전량은 저장 경과에 따라 산도가 점차 증가하는 경향을 보이지만, 자연침강법 및 강제침강법에 의한 상등액의 산도 변화는 저장 47일까지 안정성을 보였다가 저장 64일 경과 시점부터 점차 증가하는 경향을 보였다. 자연침강법 및 강제침강법을 사용하여 상등액만을 분리하여 저장 할 경우 저장 안정성이 대조구 보다 우수함을 확인하였다. 이러한 결과는 Park et al.(2010.11)의 결과와 유사하였다. 또한 저장 65일 시점에 관능을 보았을 때 부패취나 신맛 측면에서도 양호한 수준으로 나타났다.

표 108. 미생물의 선택적 제거 방법에 따른 상등액의 균수 비교

구분	유산균수(cfu/mL)	초산균수(cfu/mL)	효모수(cfu/mL)
대조구(제성액 전량)	3.8×10^5	2.4×10^3	2.0×10^8
자연침강법	8.7×10^4	6.0×10^1	4.9×10^5
강제침강법	4.1×10^4	8.0×10^1	1.6×10^5

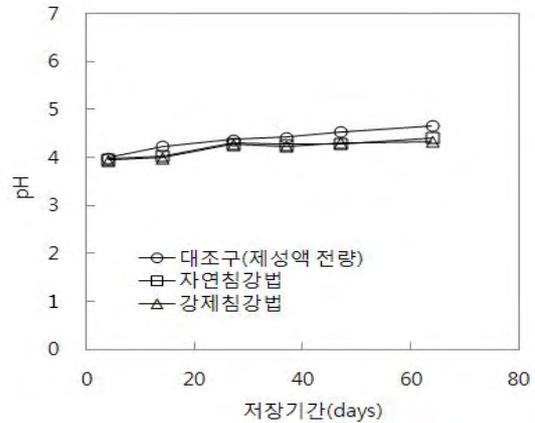
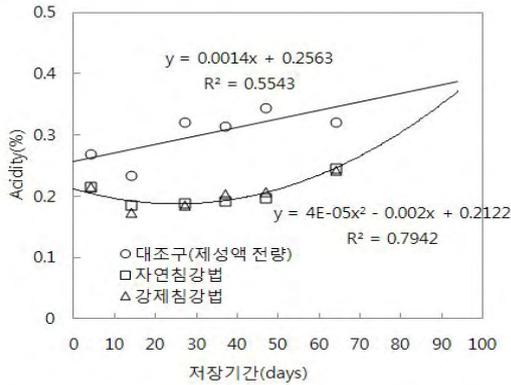


그림 76. 저장 경과에 따른 상등액의 산도 변화(10 °C 저장) 그림 77. 저장 경과에 따른 상등액의 pH 변화(10 °C 저장)

나) 미생물의 선택적 제거 방법에 따른(상등액) 저장성 향상 효과 예측

미생물의 선택적 제거 방법(자연침강법, 강제침강법)에 따른 저장성 향상 효과는 산도 안정성 측면과 관능적 측면을 고려해 볼 때 +50 ~ +55일로 예상되었다(유통기한 10 °C에서 15 days 막걸리 기준).

(2) 나노분쇄기술에 의한 미생물 제거 조건 확립

가) 나노분쇄기술에 의한 균수 변화 및 저장성 연구

아래 표14를 보면, 균질압에 따른 미생물 실퇴 정도를 관찰하였다. 균질압이 증가함에 따라 유산균수와 초산균수는 감소 경향을 보였고 효모수는 감소 경향을 보이지 않았다. 균질압 400~1,000bar, 1회 처리시 저장 경과에 따라 저장성 향상에 효과가 있는지를 보기 위해 저장 경과에 따른 산도, pH 측정을 하였다

그림 78을 보면, 균질압 400~1,000bar, 1회 처리군은 저장 경과에 따라 산도가 점차 증가하여 대조구와 유사한 경향을 보였다. 균질압 400~1,000bar 1회 처리조건으로는 저장성 향상에 큰 효과를 보이지 않는 것으로 나타났다. 균질압을 통한 저장성 향상 효과를 보이기 위해서는 일정 균질압과 반복 횟수에 대한 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

표 109. 균질압에 따른 미생물 활성 변화

구분	유산균수(cfu/mL)	초산균수(cfu/mL)	효모수(cfu/mL)
대조구	4.0×10^5	1.8×10^3	1.5×10^8
균질압 400bar/1회	3.2×10^5	3.4×10^2	1.7×10^8
균질압 800bar/1회	2.9×10^5	1.9×10^2	1.6×10^8
균질압 1,000bar/1회	1.9×10^5	1.2×10^2	1.4×10^8

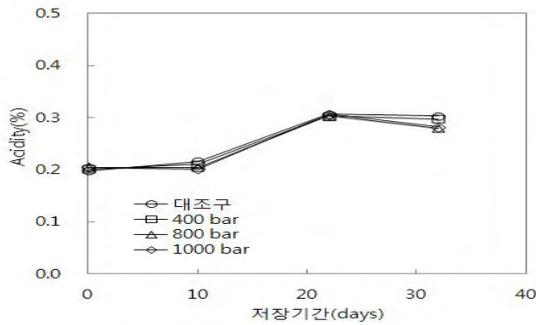


그림 78. 균질압별 저장 경과에 따른 산도 변화

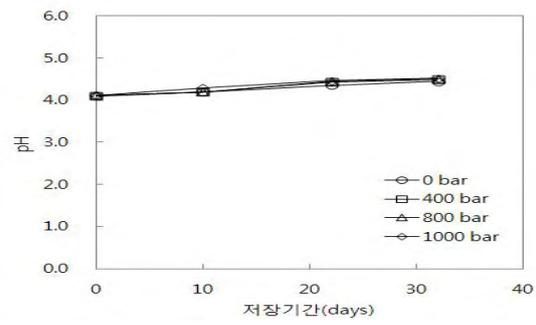


그림 79. 균질압별 저장 경과에 따른 pH 변화

고압균질 800bar 1회 처리군은 유산균수 1.3×10^5 cfu/mL, 초산균수 3.4×10^2 cfu/mL, 효모수 1.6×10^8 cfu/mL로 나타났다. 고압균질 800bar 1회 처리군은 대조구와 비교해 볼 때 미생물 활성 변화에는 큰 영향을 주지 않았다. 고압균질 800bar 2회 균질 처리군은 유산균수 3.1×10^4 cfu/mL, 초산균수 0 cfu/mL, 효모수 8.3×10^7 cfu/mL로 분석되었다. 대조구와 비교해 볼 때 유산균수, 초산균수, 효모수 감소가 뚜렷하게 나타났다. 특히 초산균수 감소가 더욱 크게 나타났다. 고압균질 3회 처리군은 유산균수 1.4×10^2 cfu/mL, 초산균수 0 cfu/mL, 효모수 9.7×10^5 cfu/mL로 분석되었다. 고압균질 800 bar 2회 처리군과 비교해 볼 때 유산균수, 초산균수, 효모수 감소가 뚜렷하게 나타나 저장성 실험을 진행 할 경우 저장성 향상이 기대되었다. 아래 그림 80, 81을 보면, 균질 횟수별 저장 경과에 따른 산도, pH 변화를 관찰하였다. 균질 횟수가 증가함에 따라 산도 안정성은 증가하는 것으로 나타났다. 산도 안정성 측면에서는 800bar, 3회 처리군이 가장 우수한 것으로 나타났다. 또한 저장 30일까지는 부패취 발생 및 신맛은 양호 하였으나, 저장 48일 시점에는 부패취가 발생하고 신맛이 상승한 것을 알 수 있었다.

표 110. 고압균질 횟수에 따른 미생물 활성 변화

구분	유산균수(cfu/mL)	초산균수(cfu/mL)	효모수(cfu/mL)
대조구	2.2×10^5	7.4×10^2	1.5×10^8
균질압 800bar/1회	1.3×10^5	3.4×10^2	1.6×10^8
균질압 800bar/2회	3.1×10^4	0	8.3×10^7
균질압 800bar/3회	1.4×10^2	0	9.7×10^5

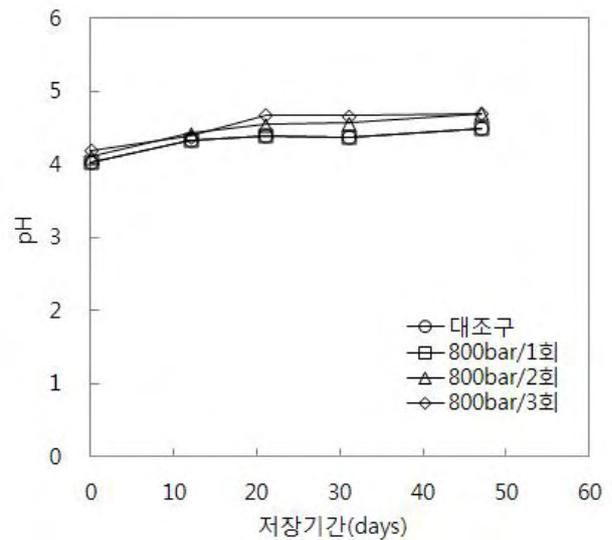
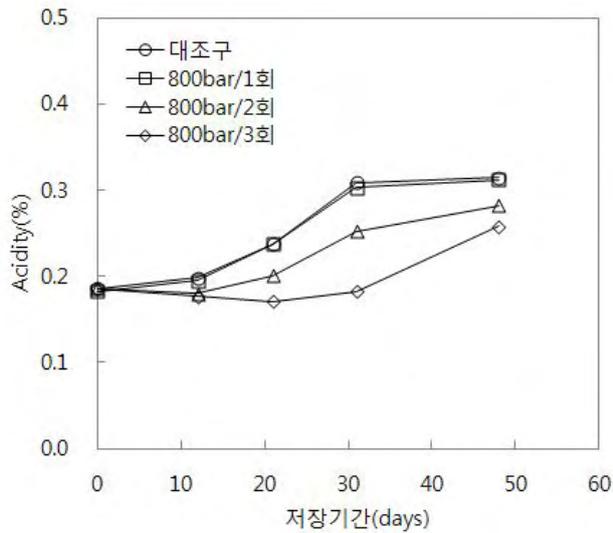


그림 80. 균질 횟수별 저장 경과에 따른 산도 변화 그림 81. 균질 횟수별 저장 경과에 따른 pH 변화

나) 나노분쇄기술에 의한 저장성 향상 효과 예측

나노분쇄기술(고압균질)에 의한 저장성 향상 효과는 산도 안정성 측면과 관능적 측면을 고려해 볼 때 +20 ~ +25일로 예상되었다(유통기한 10 °C에서 15 days 막걸리 기준).

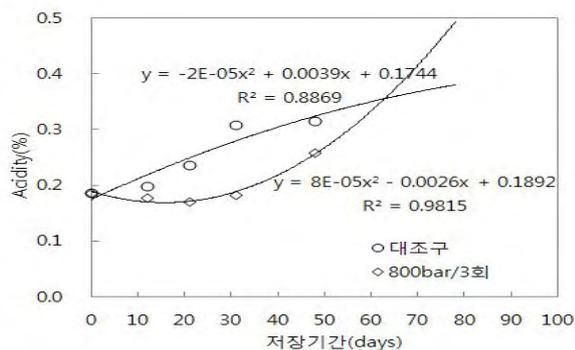


그림 82. 대조구와 균질압 800bar/3회 균질 실험구에 대한 추세선 비교

다) 발효액 전처리방법(발효액/제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 나노분쇄법 적용에 따른 경제성 분석

아래 표 111을 보면, 발효액 또는 제성액 전처리 방법별 고압균질 적용에 따른 경제성 분석을 나타내었다. 전처리를 하지 않을 경우에는 전량을 처리해야 함으로 균질 처리량은 100%, 자연침강법을 도입할 경우에는 침강량이 약 39%, 강제침강법을 도입 할 경우에는 약 6%로 고압균질 처리량이 줄어드는 것을 알 수 있었다. 표 112은 제성액 100 L를 균질 처리 할 경우 전량을 하게 되면 5 h이 소요되며(1,000 bar 처리시), 자연침강법은 1.95 h이 소요되며, 강제침강법은 0.3 h이 소요되는 것으로 나타났다. 하등액에 대한 고압균질 처리량을 고려해 볼 때, 강제침강법을 도입하는 것이 가장 효율적일 것으로 사료되었다.

표 113은 고압균질기 압력에 따른 유액 처리량을 나타내었다. 1,000bar에서 유액 처리량 (NS1001L, GEA사)은 20 l/h, 2,000bar에서는 9 l/h로 균질압이 증가 할수록 유액 처리량이 감

소하는 것을 나타내었다.

표 111. 제성액 전처리 방법(제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 상, 하등액 비율

전처리 방법	침강량	상등액	비고
제성액 전량	100 % ^(*)	-	
자연침강법	39 %	61 %	
강제침강법	6 %	94 %	8,000rpm, 10min

※ (*): 제성액 전량의 경우 고압균질 처리량이 100%임.

표 112. 제성액 전처리 방법(제성액 전량, 자연침강법, 강제침강법)별 고압균질 적용에 따른 경제성 분석

전처리 방법	제성액 하등액(L)	하등액 고압균질 처리시간 ^(*)
제성액 전량	100	5.00 h
자연침강법	39	1.95 h
강제침강법	6	0.30 h

※ (*): 고압균질압 1,000bar 처리하는 것으로 가정(설비 NS1001L, GEA사)

표 113. 고압균질기 압력에 따른 유액 처리량 비교 (* NS1001L, GEA사)

압력(bar)	유액 처리량(flow rate)(l/h)	공급전력(electrical supply)(Hz)
1,000 bar	20 l/h	50 Hz
2,000 bar	9 l/h	50 Hz

사. 유통기한 연장개발기술/공정 최적화 및 현장화 확립

(1) 유통기한 연장/저장성 개발기술의 최적화, 공정 구성

1, 2차년도 연차실적에서 저장성 향상에 효과성을 보인 개발기술을 중심으로 공정을 구성하였다. 공정구성1은 제성공정에서 알코올 10%로 제성하고 포장후 cold shock(-20 °C, 10 days)를 처리하는 조건으로 구성하였다. 공정구성1의 저장성 향상 원리는 알코올에 의한 미생물 증식 패턴의 유도기 연장과 cold shock처리에 의한 부패균의 세포 외액 탈수, 수축에 의한 세포막 장애, 세포 단백질 변성을 유도함으로써 더 효과성이 증대 되도록 하였다. 또한 알코올 10%로 제성함으로써 잔존 효소를 불활성화 시키고자 하였다. 공정구성2는 제성공정에서 유산균발효액 0.1%로 제성하고 포장후 cold shock(-20 °C, 10 days) 처리하는 조건으로 구성하였다. 공정구성2는 천연항균물질인 유산균발효액에 의한 미생물 증식 패턴의 유도기 연장과 cold shock처리에 의한 세포막 장애, 단백질 변성을 결합하여 공정을 구성하였다. 공정구성3은 제성공정에서 알코올 10%, 유산균발효액 0.1%를 처리하는 조건으로 구성하였다. 공정구성3은 알코올에 의한 미생물 증식 패턴의 유도기 연장과 천연항균물질인 유산균발효액에 의한 부패균 증식 유도기 연장 효과가 증대되도록 구성하였다.

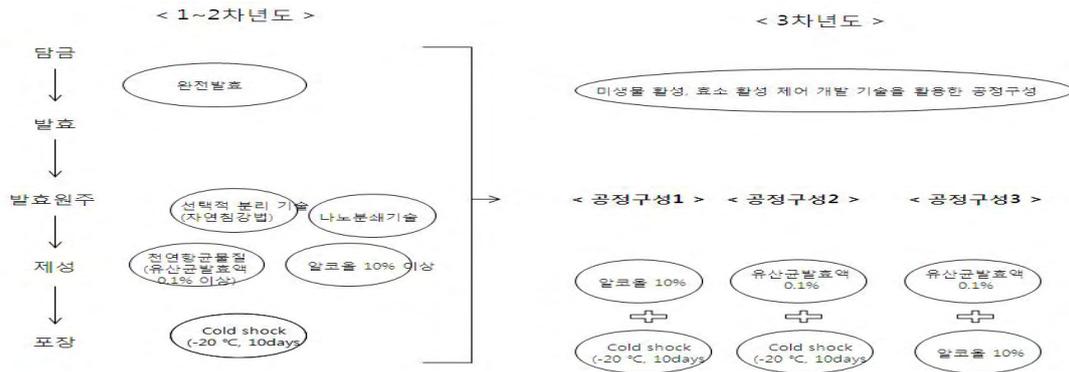


그림 83. 유통기한 연장/저장성 개발기술의 공정구성도

가) 공정구성에 따른 이화학 성분 비교

아래 그림 84를 보면, 공정구성에 따른 산도 변화를 나타내었다. 대조구는 저장기간이 경과함에 따라 산도 증가가 빠르는데 비해 공정구성1, 3은 대조구에 비해 산도 증가가 느린 것을 볼 수 있었다.

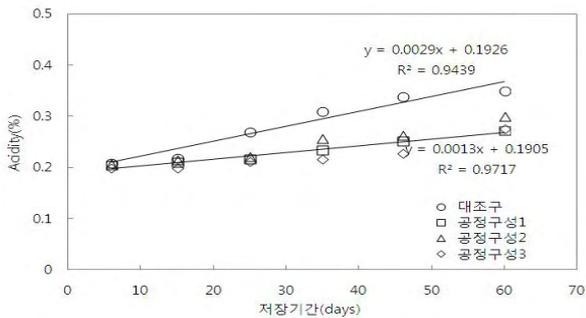


그림 84. 공정구성에 따른 산도 변화 비교

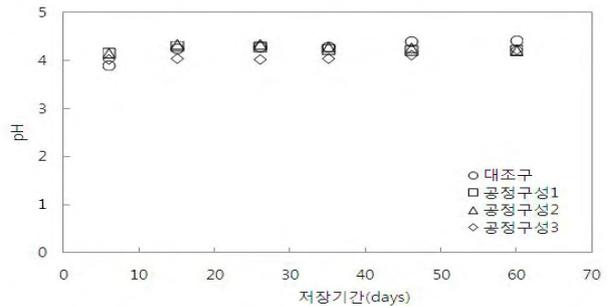


그림 85. 공정구성에 따른 pH 변화 비교

나) 저장기간 경과에 따른 맛 선호도

아래 그림 86은 공정구성에 따른 맛 선호도를 검사하여 나타내었다. 관능패널은 선편식품 기술연구소 전문패널 13명을 대상으로 9점척도법으로 하였다. 공정구성1의 저장 초기 맛 선호도는 3.9점(9점척도법)으로 나타났으며, 저장 60일차 4.4점 저장 70일차에 4.3점으로 나타나 저장 70일까지는 맛 선호도가 유지되는 것을 확인 하였다. 하지만 공정구성2와 공정구성3은 저장기간이 경과함에 따라 맛 선호도가 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 그림 87은 저장 경과에 따른 기본맛(단맛, 신맛, 쓴맛 등)의 변화를 나타내었다. 공정구성1은 저장경과에 따라 단맛만 감소할 뿐 신맛, 쓴맛, 이취 강도는 거의 변화가 없는 것으로 나타났다. 공정구성2, 3은 저장 70일차에는 단맛, 신맛, 쓴맛, 이미 강도가 모두 강해져서 맛 선호도가 낮아지는 것을 알 수 있었다.

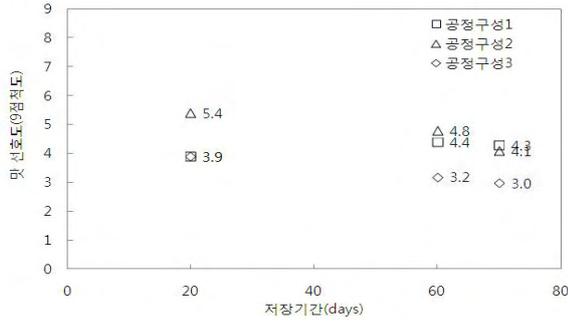


그림 86. 공정구성에 따른 맛 선호도 비교

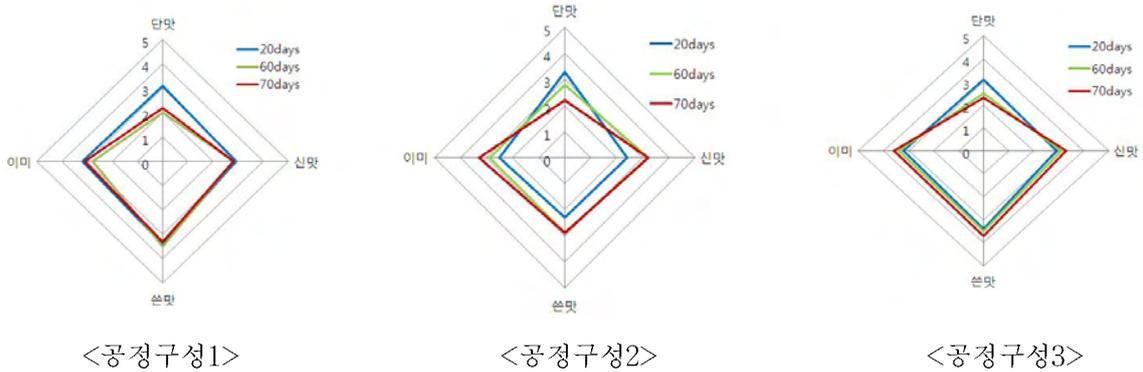


그림 87. 공정구성과 저장기간 경과에 따른 기본맛 강도

아래 그림 88을 보면, 저장경과에 따른 향 선호도 변화를 나타내었다. 공정구성1, 2, 3은 저장 70일차 까지 향 선호도 변화는 작은 것으로 나타났다. 특히 본 실험에 사용한 막걸리의 경우 저장 30일 시점에 강한 부패취가 발생하게 되는데 공정구성1, 2, 3 모두 강한 부패취는 나타나지 않았다. 이것으로 볼 때, 저장경과에 따른 향은 잘 유지되는 것으로 나타났다.

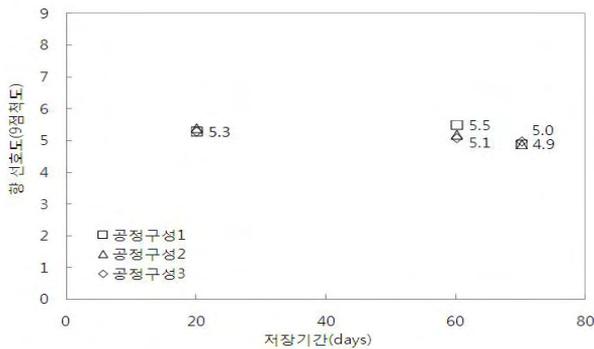


그림 88. 공정구성에 따른 향 선호도 비교

(2) 유통기한 연장/저장성 향상 개발기술의 현장화

개발기술을 적용한 시생산품(배상면주가) 시료를 취한 후 cold shock(-20 °C, 10 days) 처리하여 저장 안정성 검증 및 유통기한 설정 프로그램(KFDA, 식품유통기한설정프로그램)에 의한 유통기한을 설정 하고자 하였다(공정구성1 : 알코올 10% 제성 plus cold shock -20 °C, 10 days 처리). 공정구성1(알코올 10% 제성 plus cold shock -20 °C, 10 days 처리)의 유통기한 설정 실험 결과는 95 ~ 119 days로 산출 되었다.

[예측제품]

예측 제품명	공정구성1	식품유형	탁주
프로젝트 분류	탁주/막걸리		
품질지표	관능검사		

[품질지표 관능검사 품질 변화]

저장기간(개월)	10℃	20℃	30℃
0	4.0000	4.0000	4.0000
.33	4.5667	4.4333	4.4333
.66	4.1667	3.5000	2.7333
1	3.6667	2.9333	2.3333
1.33	3.6667	2.8667	1.1667
1.66	3.6667	2.9333	1.3333

[품질지표 관능검사 반응속도 상수]

1) 반응차수 0차 결과

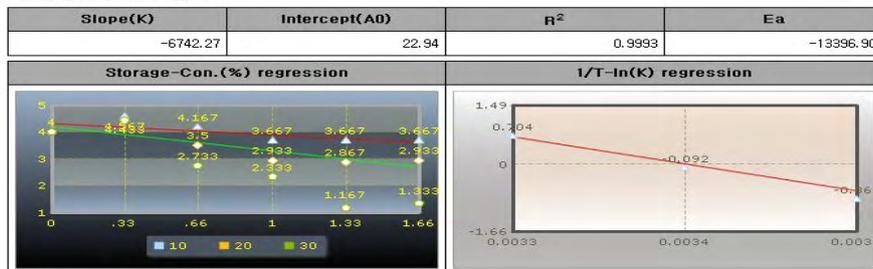
온도(℃)	Slope(K)	Intercept(A0)	R ²
10	-0.4193	4.3036	0.5077
20	-0.9119	4.2013	0.7500
30	-2.0225	4.3453	0.8756

2) 반응차수 1차 결과

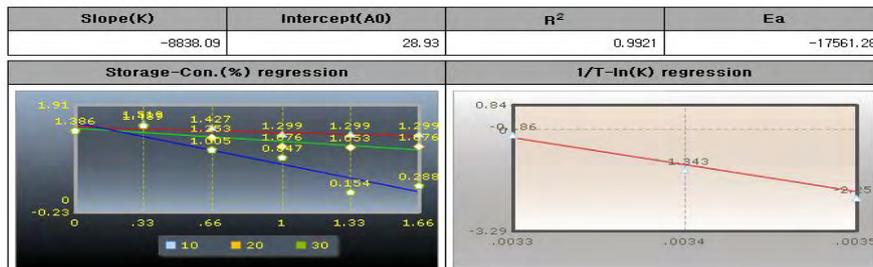
온도(℃)	Slope(K)	Intercept(A0)	R ²
10	-0.1052	1.4590	0.5274
20	-0.2611	1.4390	0.7747
30	-0.8298	1.5505	0.8770

[품질지표 관능검사 활성화 에너지와 반응식 차트]

1) 반응차수 0차 결과



2) 반응차수 1차 결과



[품질지표 관능검사 유통기한 산출]

차수	최초함량-품질규격	연간변화속도상수	유통기한(일)	유통기한(개월)
0	1.3000	4.97	95.42	3.14
1	0.3930	1.20	119.56	3.93

4. 비가열 살균 기술을 이용한 생막걸리의 유통기한 연장 연구

가. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균

(1) 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균

가) 전기장 세기 및 처리 시간에 따른 막걸리의 살균

고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 치사 효과에 미치는 가장 직접적인 영향 인자는 전기장의 세기와 처리 시간(펄스 수 × 펄스 폭)이다. 시판 막걸리를 직접 제작한 회분식 처리 용기에 넣고 밀봉한 후 상온에서 1 μ s의 펄스폭을 갖는 10-30 kV/cm의 exponential decay pulse를 8-256회 가한 결과는 다음과 같다.

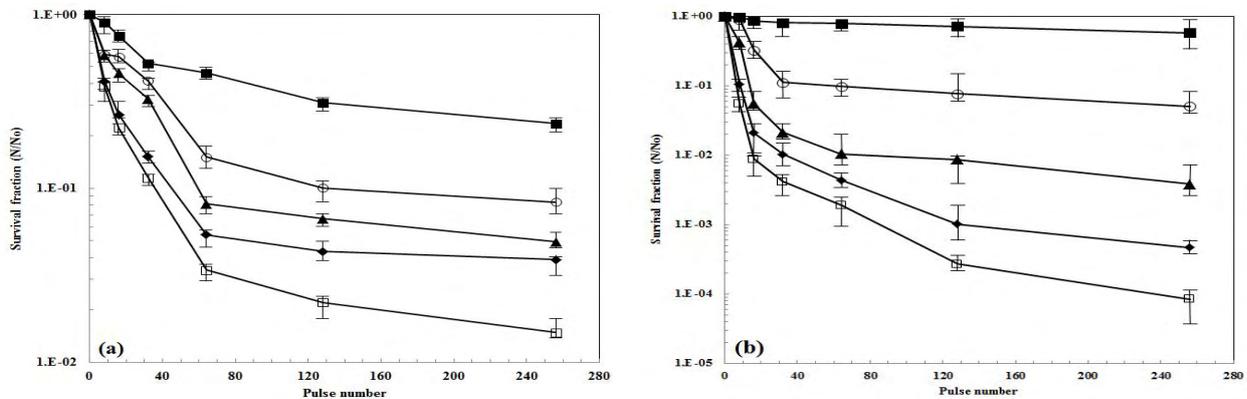


그림 89. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전기장의 세기의 영향.

(a) 여과하지 않은 막걸리, (b) 여과한 막걸리

■ 10 kV/cm, ○ 15 kV/cm, ▲ 20 kV/cm ◆ 25 kV/cm, □ 30 kV/cm

시판 막걸리의 초기 효모수는 약 2×10^8 cfu/ml였으며, 30 kV/cm, 256회의 고전압 펄스 전기장 처리 후 효모의 생존율은 약 1.8 log cycle 감소하였다. 전기장의 세기와 펄스의 수가 증가할수록 살균 효과는 증가하였으며, 처리 중 막걸리의 온도는 거의 변화가 없어서 열에 의한 살균은 일어나지 않는 것으로 보였다. 이러한 결과는 당근 주스의 살균에 있어서 전기장의 세기와 처리시간이 증가할수록 효모의 생존율이 감소하며 온도의 상승이 거의 일어나지 않는다는 Shin et al. (2007)의 결과와 일치하였다. 일반적으로 고전압 펄스 전기장 살균에 있어서 균일한 전기장의 형성은 살균 효과에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 국내에서 시판되고 있는 대부분의 막걸리는 곡류를 발효시킨 후 여과를 하지 않은 상태로 제품화가 되기 때문에 크기가 일정하지 않은 입자들이 혼입되어 있다. 따라서 고전압 펄스 전기장 처리시 혼입되어 있는 입자에 의해 살균에 영향을 받을 것으로 생각되어 시판되고 있는 막걸리를 cheese cloth와 Whatman No. 1 filter paper로 여과하여 고형분을 일부 제거한 다음 동일한 조건하에서 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 여과 후에도 막걸리의 초기 생균수, 전기 전도도, pH

등의 변화는 없었다. 그림 15(b)에 나타낸 바와 같이 여과한 막걸리의 경우, 30 kV/cm, 256회의 고전압 펄스 전기장 처리 후 효모의 생존율이 약 4.1 log의 감소를 보여서 살균 효과가 현저히 증가하는 경향을 보였으며, 이는 막걸리내의 고형분이 고전압 펄스 전기장 처리시에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 미생물이 사멸하기 시작하는 최소 전기장의 세기인 임계 전기장의 세기(E_C)는 전기장의 세기에 따른 생존율을 외삽하여 추정하였으며 여과하지 않은 막걸리의 효모의 경우 6 kV/cm이었으며, 또한 최소 임계 처리 시간(t_c)은 9 μ s인 것으로 나타났다.

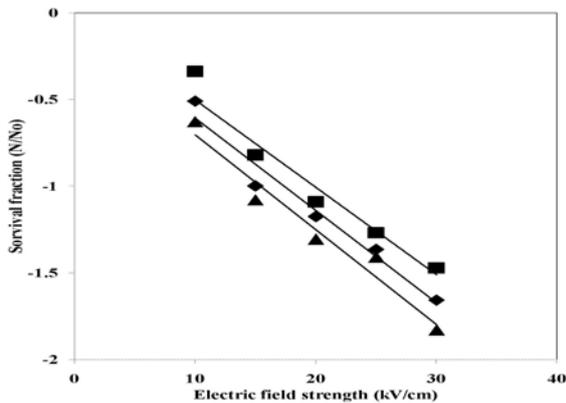


그림 90. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모에 대한 주파수의 영향
 ■ 64 pps, ◆ 128 pps, ▲ 256 pps

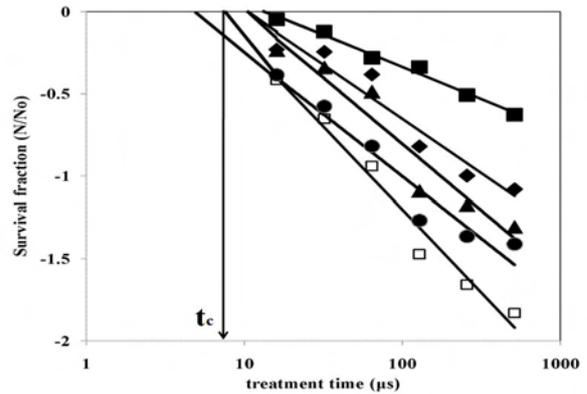


그림 91. 고전압 펄스 전기장 처리에 대한 막걸리 내 효모의 임계 처리 시간
 ■ 10 kV/cm, ◆ 15 kV/cm
 ▲ 20 kV/cm, ● 25 kV/cm, □ 30 kV/cm

나) 처리 온도에 따른 막걸리의 살균

고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 불활성화에 미치는 또 다른 인자는 미생물이 포함되어 있는 매질의 온도이다. 막걸리를 80°C 이상으로 가열 살균하면 열처리에 따라 화독 냄새와 같은 강한 이취가 발생하고 쓴 맛이 생기며 변색, 청량감의 상실 및 층이 분리되는 등의 물리적 성상 변화가 일어나 상품성이 현저히 떨어지는 문제가 있다. 따라서 막걸리의 품질에 영향을 주지 않을 정도의 온도인 55°C 이하의 온도에서 고전압 펄스 전기장 처리와의 병합 효과를 조사하였다. Exponential decay pulse를 이용하여 전기장의 세기를 20 kV/cm로 일정하게 하고 펄스의 수는 16-256회, 처리 온도는 25°C, 35°C, 45°C, 50°C, 55°C로 각각 달리하였다. 일반적으로 온도가 증가하면 전기전도도가 증가하여 저항이 낮아지므로 인가되는 전기장의 세기가 낮아지게 된다. 전기장의 세기를 앞선 실험보다 낮은 20 kV/cm로 정한 이유도 55°C에서 시료에 인가할 수 있는 장치적인 최대 전압이 20 kV/cm이었기 때문이다. 한편, 온도가 높아지면 세포막의 유동성이 증가해서 세포막의 수축이 잘 일어나 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 세포막의 파괴가 더 쉽게 일어나서 세포의 사멸이 쉽게 일어나게 된다. 그림 92는 여과하지 않은 막걸리를 20 kV/cm로 50°C에서 고전압 펄스 전기장 처리한 결과를 나타낸 것이다.

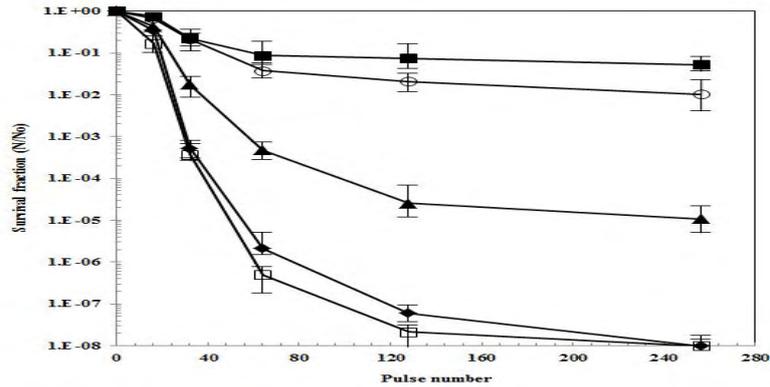


그림 92. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 20 kV/cm.

■ 25℃, ○ 35℃, ▲ 45℃, ◆ 50℃, □ 55℃

여과하지 않은 막걸리의 경우, 상온에 가까운 25℃와 35℃에서는 2 log 미만의 생존률 감소를 보여 큰 살균 효과를 얻지 못했으나 45℃이상의 처리 온도에서는 5 log 이상의 생존률 감소를 보여 높은 사멸률을 얻을 수 있었다. 특히 50℃에서 256회의 펄스를 가한 결과 거의 모든 효모가 사멸되는 것으로 나타났다. 또한 이러한 사멸효과가 열에 의한 것이 아닌지 검증하기 위하여 고전압 펄스 전기장 처리를 하지 않고 같은 시간 동안 순수하게 열처리만 한 결과, 55℃에서도 거의 균수가 줄어들지 않았다(표 114). 이로써 고전압 펄스 전기장 처리시 처리 온도가 막걸리 내 균의 사멸에 매우 큰 영향을 미치는 인자라는 사실을 알 수 있었다.

표 114. 고전압 펄스 전기장 처리, 가열 처리 및 병합처리에 의한 사멸을 비교

Treatment condition	Viable yeast cells (cfu/ml)
Before PEF treatment	2.01×10^8
After 55℃ heat treatment	1.53×10^8
After 55℃ heat and PEF treatment	ND

ND : not detected

다) 알코올 농도에 따른 막걸리의 살균

막걸리는 찌쌀과 조곡(粗鞠)으로 술미를 만든 후 찌쌀 및 조곡(粗穀)을 첨가하여 본 담금을 거친 다음 3일이 경과하면 알코올 농도는 10-12%가 되며, 이 농도의 술이 막걸리용 술덧으로 쓰인다. 그리고 숙성되기 전에 술덧을 제성실로 옮겨 알코올 농도가 6%가 되도록 물을 섞어 성긴 체를 사용하여 마구 걸러낸다. 본 실험에서는 고전압 펄스 전기장을 이용하여 막걸리를 살균할 경우 알코올 농도가 살균에 미치는 영향을 알아보았다. 우선 여과하지 않은 시판 막걸리(알코올 농도 : 6%)에 알코올을 첨가하여 농도가 8%, 10%, 12%가 되도록 하였으며

vacuum evaporator를 이용하여 알코올을 제거하여 2%, 4%로 알코올 농도를 조절하였다. 초기 효모수는 $1.2-1.9 \times 10^8$ cfu/ml로 알코올의 농도에 따라 큰 차이를 나타내지는 않았다. 전기장의 세기는 30 kV/cm로 일정하게 하고 상온에서 exponential decay pulse를 8-256회 가하였다. 알코올 농도가 12%인 막걸리의 경우 256회 펄스를 가하였을 때 효모의 수가 4.8 log cycle 감소하였고 알코올 농도 2%인 막걸리는 1.3 log 감소하여 알코올 농도가 높을수록 더 효과적인 살균이 이루어짐을 알 수 있었다. 이러한 결과는 맥주의 알코올 농도를 달리하여 고전압 펄스 전기장 살균하였을 경우 대부분 알코올 농도가 높은 쪽의 살균율이 높고, 알코올을 첨가하였을 경우 살균율이 크게 증가하였다는 Ribeiro 와 Heinz & Knorr의 연구결과와 일치하였다.

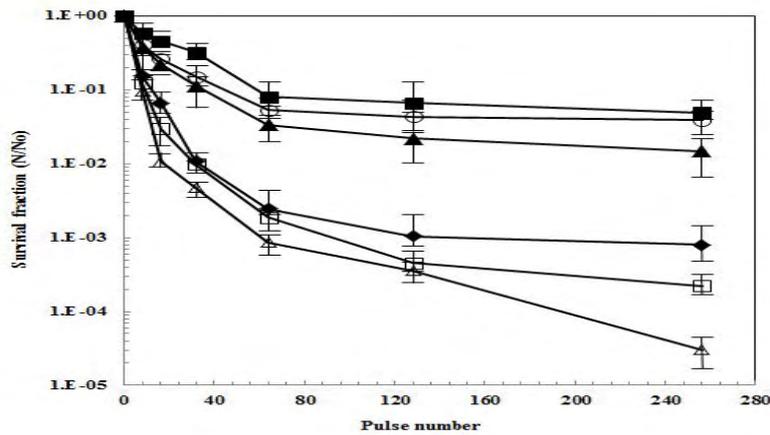


그림 93. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 알코올 농도의 영향.
 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 30 kV/cm, 상온
 ■ 2%, ○ 4%, ▲ 6%, ◆ 8%, □ 10%, △ 12%

라) 처리한 막걸리의 저장성

시장에서 구입한 신선한 막걸리를 전기장 세기 30 kV/cm, 처리온도 50°C, 256회 펄스 처리하였다. 고전압 펄스 전기장 처리로 비열 살균한 막걸리를 30°C와 4°C에 저장하면서 일정한 간격으로 시료를 채취하여 효모 균수와 산도 및 pH의 변화를 4주간 측정하였다. 그림 94에 나타낸 것과 같이 고전압 펄스 전기장 처리하지 않은 막걸리의 경우 30°C에서 생균수는 차츰 증가하여 5일이 지난 후부터는 약 1.5 log정도 증가한 7.5×10^4 cfu/ml정도였으며, 산도는 저장 3일까지 비교적 완만히 증가하였다가 그 후 저장 7일까지 급격히 증가하였으며, 그 이후는 완전히 산패되었다. 이에 비해 고전압 펄스 전기장 처리를 한 막걸리의 경우 30°C에서도 저장기간 동안 거의 변화가 없었다. 저장 온도 4°C에서는 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리의 pH와 산도 및 효모 균수에 있어서 큰 변화가 관찰되지 않았다.

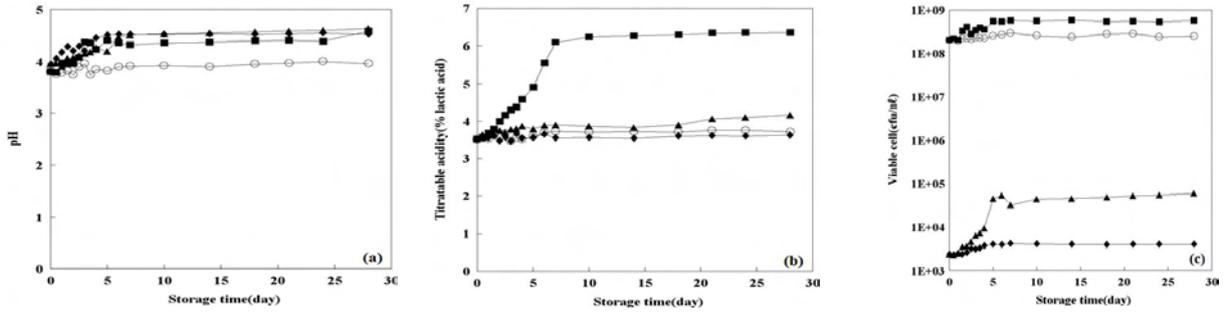


그림 94. 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리의 저장실험. (a) pH의 변화, (b) 산도의 변화, (c) 효모수의 변화.

PEF treatment : ◆ 4°C, ▲ 30°C, Without treatment : ○ 4°C, ■ 30°C

(2) 고전압 펄스 전기장에 의한 막걸리의 연속식 비가열 살균

가) 전기장 세기 및 처리 시간에 따른 막걸리의 고전압 펄스 전기장의 살균

실제 대용량 시스템 처리시 최대 효율을 나타낼 수 있는 pulse forming 과정을 거쳐 1 μ s의 펄스폭을 갖는 square wave pulse를 이용하여 자체 제작한 연속 및 단계적 처리 용기에서 PEF 살균 효과를 알아보았다. 전기장의 세기는 40, 50, 60, 70 kV/cm로, 주파수 1500 Hz, 처리 시간을 66-330 μ s까지 달리하여 상온에서 1 ml/sec의 flow rate로 여과하지 않은 막걸리를 처리 용기 내로 흘러보내면서 PEF를 가하였다. 실험 결과 전기장의 세기가 강해질수록, 처리 시간이 늘어날수록 PEF에 의한 효모의 살균 효과는 증대되었다.

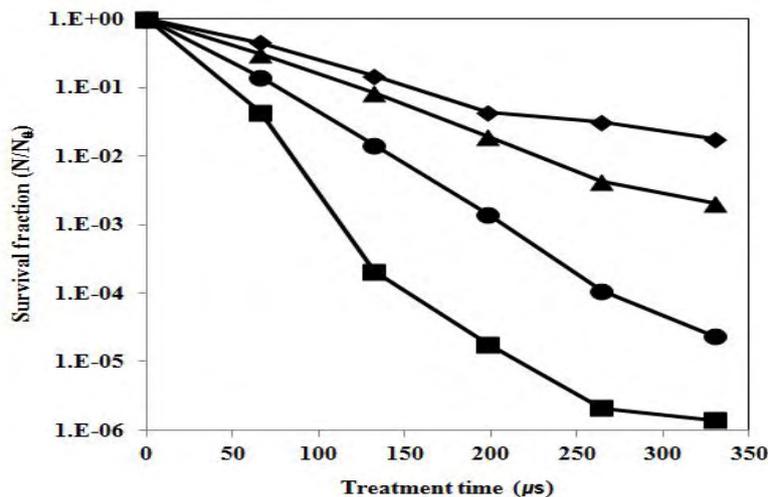


그림 95. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전기장의 세기와 처리

시간의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : square wave pulses, 상온

◆ 40 kV/cm, ▲ 50 kV/cm, ● 60 kV/cm, ■ 70 kV/cm

40 kV/cm의 전기장에서는 330 μ s 처리시 1.8 log cycle 정도의 균수 감소를 보인 반면

70 kV/cm의 높은 전기장으로 330 μ s 처리했을 때는 5.9 log cycle 감소하여 전기장의 세기와 살균 효과는 비례하였다. 또한 동일한 전기장의 세기에서는 처리 시간이 길수록 높은 살균 효과를 얻었다. 한편 PEF 처리 전의 막걸리의 온도는 상온에서 20℃이었고 70 kV/cm, 330 μ s 처리를 하면 막걸리의 온도가 26℃에 불과해 열에 의한 살균 효과는 거의 없는 것으로 보인다. 소규모 exponential pulse 실험 때와 마찬가지로 막걸리 내의 많은 고형분으로 인한 영향을 알아보기 위하여 여과한 막걸리에 대해서도 실험을 해보았다. 전기장의 세기는 60 kV/cm로 하고 66 μ s 처리하였을 때, 여과한 막걸리의 경우에는 3.5 log cycle의 효모가 감소한 반면 여과하지 않은 막걸리에서는 0.8 log cycle 감소에 그쳐서 역시 고형분의 영향이 크게 있음을 알 수 있었다.

나) 알코올 농도에 따른 막걸리의 고전압 펄스 전기장 살균

전기장의 세기는 PEF 장치에 무리가 가지 않을 정도인 60 kV/cm로 하고 flow rate은 1 ml/sec, 주파수 1500 Hz, 처리 시간은 66-330 μ s로 변화시키면서 이전에 exponential decay pulse 실험 때와 같은 방법으로 여과하지 않은 막걸리의 알코올 농도를 조절하여 상온에서 square wave pulse를 이용한 PEF 살균 효과를 조사하였다. 초기 효모수는 $1.2-1.9 \times 10^8$ cfu/ml로 알코올의 농도에 따라 큰 영향을 받지 않았으며 알코올 농도가 6%인 시판 막걸리는 330 μ s 처리시 4.6 log cycle의 균수 감소를 보였고, 12%로 알코올 농도를 높이면 6 log cycle, 2%로 알코올의 농도를 낮추면 4.1 log cycle의 효모가 감소하여 알코올의 농도가 높을수록 PEF 살균 효과가 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 실제로 알코올이 PEF를 이용한 미생물의 불활성화에 작용하는 기작에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 보인다.

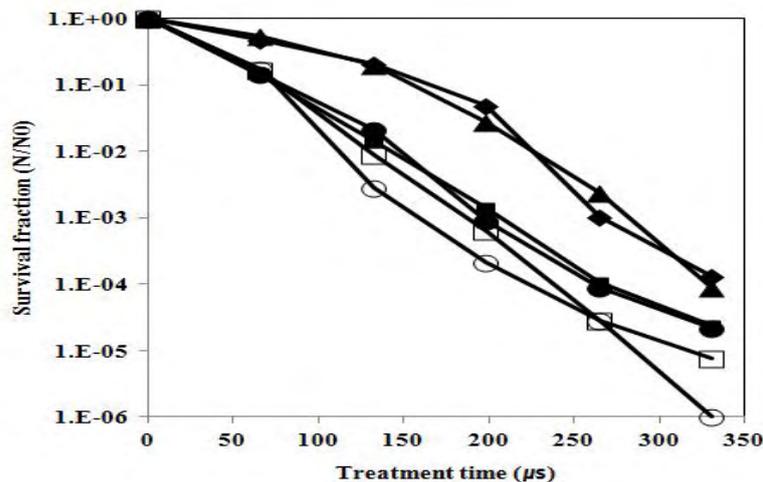


그림 96. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 알코올 농도의 영향.

고전압 펄스 전기장 처리조건 : 60 kV/cm, square wave pulse, 상온

◆ 2%, ▲ 4%, ● 6%, ■ 8%, □ 10%, ○ 12%

다) Square wave pulse와 exponential decay pulse의 살균 효과 비교

Square wave pulse는 시스템의 에너지 열로 전환되는 것을 최소화할 수 있기 때문에 미생물의 불활성화에 있어서 exponential decay pulse보다 더 효과적이다. 전기장의 세기는 50 kV/cm로 하고 연속 처리 용기에 1 ml/sec의 유속(flow rate)으로 여과하지 않은 막걸리를 흘려 보내면서 주파수 500-1500 Hz로 처리시간을 22-198 μ s까지 달리하여 동일한 처리 조건으로 pulse의 모양에 따른 살균 효과의 차이를 조사하였다. 그 결과, 198 μ s 처리시 효모의 생존율에 있어서 1 log cycle 이상의 차이를 보여 처리 시간이 길어질수록 square wave pulse를 이용한 PEF 살균 효과가 exponential decay pulse 보다 우수함을 알 수 있었다.

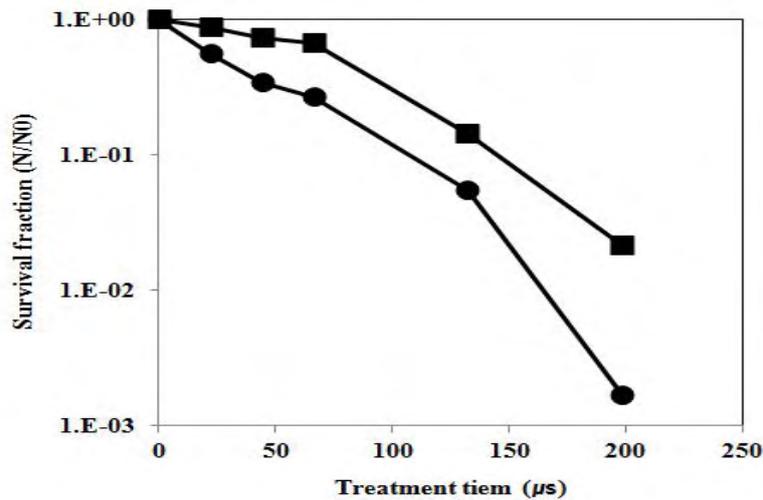


그림 97. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 펄스 형태의 영향. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 50 kV/cm.

■ Exponential Decay Pulse, ● Square wave pulse

라) 고전압 펄스 전기장 처리한 막걸리의 저장성 평가

신선한 막걸리를 구입하여 연속 처리 용기를 사용하여 전기장의 세기 60 kV/cm, 1500 Hz로 square wave 형태의 펄스를 330 μ s 길어주어 실온에서 살균하였다. 고전압 펄스 전기장 처리로 비열 살균한 막걸리를 30 $^{\circ}$ C와 4 $^{\circ}$ C의 항온조에 저장하면서 일정한 시간 간격으로 시료를 채취하여 효모 균수와 산도 및 pH 변화를 4주간 측정하였다. PEF 처리하지 않은 막걸리의 경우 30 $^{\circ}$ C에서 산도는 저장 3일까지 비교적 완만히 증가하였다가 그 후 저장 7일까지 급격히 증가하였으며 그 이후는 완전히 산패되었다. 이에 비해 고전압 펄스 전기장 처리를 한 막걸리의 경우 30 $^{\circ}$ C에서도 저장 기간 동안 거의 변화가 없었으며, 저장 온도 4 $^{\circ}$ C에서는 PEF 처리한 막걸리의 pH와 산도 및 효모 균수에 있어서 큰 변화가 관찰되지 않았다.

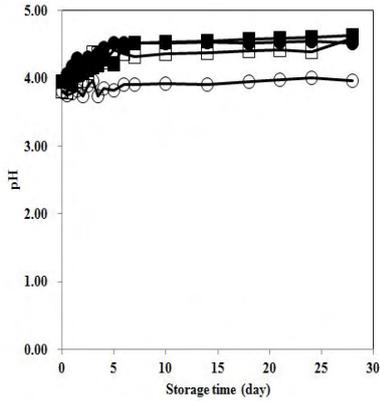


그림 98. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 pH의 변화

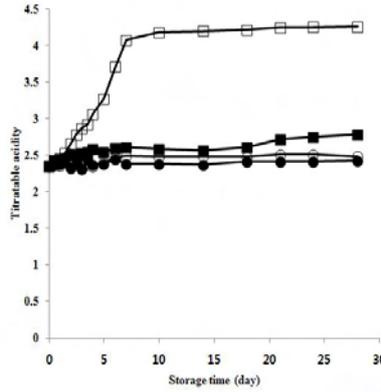


그림 99. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 산도의 변화

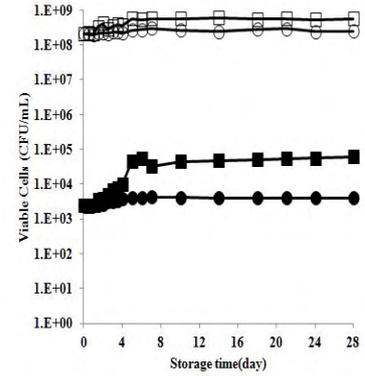


그림 100. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 막걸리의 저장기간 동안 효모 균수의 변화

PEF treated : ■ 30°C, ● 4°C; Without treatment : □ 30°C, ○ 4°C

(3) 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 살균 기작 연구

가) 내염성의 변화

일반적으로 미생물(세균 및 세포)은 적당한 외부 환경의 변화나 스트레스에 적응하여 자신의 대사 활동을 유지할 수 있도록 되어 있다. 그러나 치명적인 외부 환경에 놓이게 되면 미생물은 사멸하거나 손상(injury)을 입게 되는데, 손상이란 정상적인 세포가 생육이 가능한 조건에서 생육능력에 이상이 발생한 상태를 의미한다. 대부분 미생물의 손상 정도를 파악하기 위해서는 정상적인 세포는 생육이 가능하지만 손상된 세포는 자라지 못하는 최소 배지(minimal medium)나 선택 배지를 사용한다. 손상된 세포를 구분하기 위해 사용하는 방법 중 가장 간단하고 널리 사용하는 방법이 내염성의 측정이다. 대부분의 미생물은 약 20 atm 정도의 매우 높은 내부 삼투압을 가지고 있다. 즉, 미생물은 어느 정도의 외부 염 농도에 대해서도 상당한 저항 능력을 가지고 있어 세포 자체의 생리 활성과 대사 기능, 군락(colony) 형성 등에 크게 영향을 받지 않는다. 특히 bacteria 계열의 균주들은 상당한 외부의 염 농도와 상관없이 생장을 하는 것으로 알려져 있다. 본 실험에 사용된 *S. cerevisiae*도 어느 정도의 내염성을 갖고 있어, 일정 수준의 염 농도(<1 M NaCl, ca. 5.8% NaCl)에 대해서도 세포 자체의 생리 활성과 대사 기능, 군집 형성 능력이 영향을 받지 않는다. *S. cerevisiae* 세포 현탁액을 40°C에서 30-50 kV/cm로 고전압 펄스 전기장 처리를 하였을 때 처리 시간에 따른 세포의 내염성 변화를 potato dextrose agar (PDA)와 PDA에 NaCl이 3% 첨가된 배지(PDAS)에서 군락의 수를 비교하여 관찰하였다.

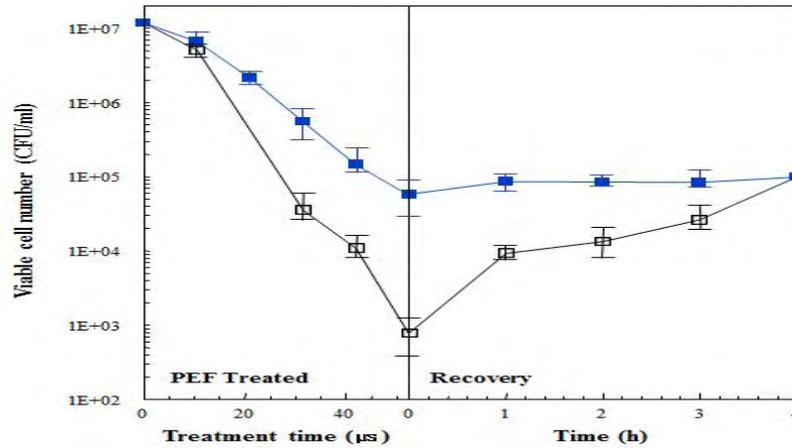


그림 101. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 손상 및 회복 실험. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 40℃, 50 kV/cm. 세포회복 조건 : YM broth, 26℃.

■ PDA, □ PDAS (+3% NaCl)

그림 27에서 보듯이 고전압 펄스 전기장 처리한 세포가 PDA에 비해 PDAS에서 생균수가 10^1 - 10^2 정도 낮게 나타났으며, 전기장의 세기가 커질수록 그 차이가 더 커지는 것을 알 수 있다. 이와 같은 현상은 정상적인 배지에서 균락을 형성하였던 세포 중 약 사멸하지 않은 세포의 90-99% 이상이 세포벽이나 세포막에 손상을 입어 외부의 stress (염)에 민감성이 높아져서 낮은 농도의 염에도 반응하여 균락 형성이 제대로 되지 않았음을 의미하며, 전기장의 세기가 커질수록, 처리시간이 길어질수록 내염성이 감소하는 세포의 수가 증가하는 것으로 생각할 수 있다. 일반적으로 외부 환경에 의한 세포의 생리적 변화는 일시적인 현상으로 최적의 조건에서 다시 생육하게 되면 원래의 생리 상태로 되돌아와 정상적인 생육과 대사활동이 가능해지기도 한다. 그림 27에서 보듯이 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 내염성의 변화가 생긴 세포를 신선한 배지에 재현탁하여 26℃에서 배양하면서 시간에 따른 내염성의 회복정도를 PDA와 PDAS에서 측정된 결과 약 4-6시간 후에는 내염성을 회복하는 것을 확인하였다.

나) 상대적 pH 구배

고전압 펄스 전기장 처리에 의한 *S. cerevisiae*의 상대적인 pH 구배 변화를 측정하였다. 그림 102에서 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 균체 현탁액의 pH_i , pH_f 변화를 살펴보면 처리시간이 증가함에 따라 각 값이 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다. 초기 pH_i 값이 6.3에서 고전압 펄스 전기장 처리가 시작되면서 6.6으로 pH가 증가하는 것은 중성에 가까운 *S. cerevisiae* 세포 내액이 외부로 유출되면서 pH의 상승을 일으킨 것으로 추측되며, 처리 후반에 세포의 pH가 떨어지는 것은 이미 세포내액이 외부로 거의 유출된 세포가 *n*-butanol의 pH (pH 5.6)에 영향을 받을 것으로 생각된다. 이러한 ΔpH 값의 감소는 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 세포의 proton motive force나 pH를 유지하는 항상성이 파괴된 것으로 생각할 수 있으며, 이는 세포막의 고유의 기능인 H^+ -translocation 기능이 상실되었거나 세포막 자체가 완전히 파손되어 생리적 기능이 소실된 것을 의미한다.

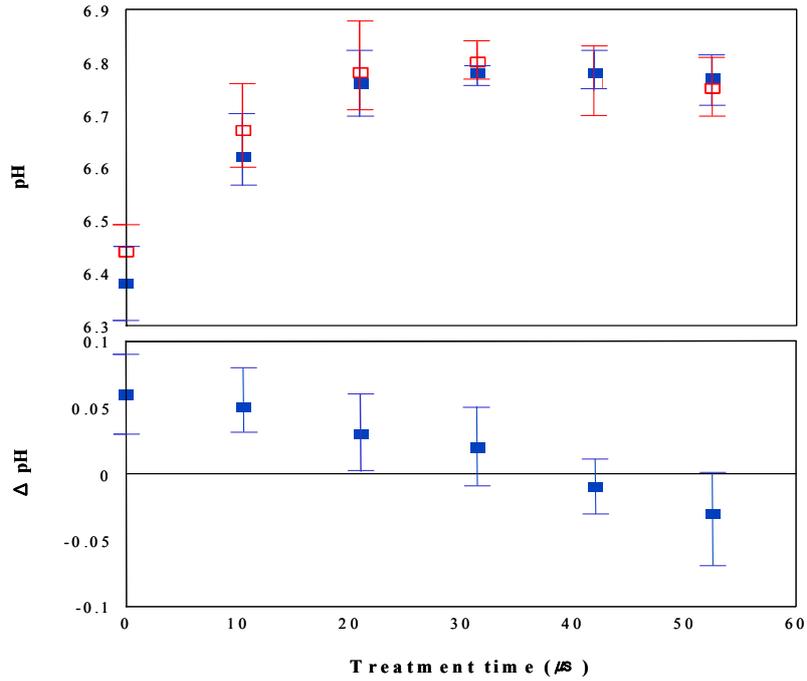


그림 102. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 세포 내의 상대적 pH 변화. 고전압 펄스 전기장 처리 조건 : 50 kV/cm, 40°C. ■ pH_i, □ pH_f

다) 해당활성의 변화

모든 미생물은 생육과 증식 활동에 필요한 에너지를 당을 분해하는 해당과정을 통해 얻어지는 ATP에 의존하게 된다. 따라서 이러한 ATP를 만들어내는 세포의 해당 활성의 변화를 측정하면 세포의 생리적 변화를 추측하는데 있어서 매우 중요한 의미를 갖는다. 그림 103은 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 *S. cerevisiae*의 해당 활성 변화와 생존수 감소 경향을 나타내었다.

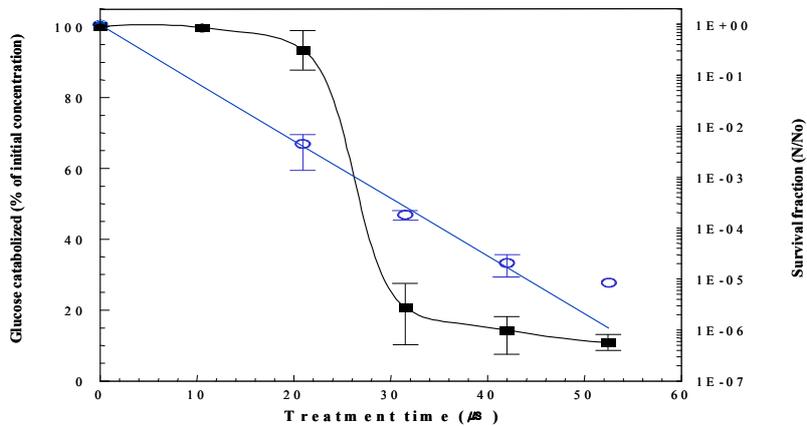


그림 103. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효모의 해당활성 변화. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 40°C, 50 kV/cm.

■ Glycolysis, ○ Survival fraction of *S. cerevisiae*

고전압 펄스 전기장 처리 초반에는 해당 활성이 큰 변화가 없었으나, 약 30 μs 처리 후에는 급격히 해당 활성이 손실되어 약 10-20%의 활성만을 나타내었다. 그러나 해당 활성이 변화되지 않았던 처리 시간 초기에도 생균수는 약 2-2.5 log 감소하였다. 이러한 사실로 미루어 볼 때 고전압 펄스 전기장 처리가 세포의 사멸에는 직접적인 영향을 미쳤으나 세포의 생리적 기능에는 직접적인 영향을 미치지 않은 것으로 판단되며, 세포의 해당 활성의 감소는 세포의 사멸이 아닌 세포의 생리 조절 시스템의 손상이나 대사과정에 참여하는 효소의 불활성화에 의한 것으로 판단된다.

라) H^+ -ATPase의 활성 변화

미생물의 세포내 산-염기 농도 조절에 의한 pH 항상성 유지를 위해서 이온 성분의 수송, 유기산 이동, 대사산물 및 기질의 이동, 수소 이온 농도 구배 등 많은 인자가 관여한다. 또한 이는 기본적으로 세포막 자체가 보유하고 있는 외부 수소 이온의 체외 배출 능력 (proton motive force, PMF)에 의해서 복합적으로 조절된다. 또한 세포막 integrity는 수소 이온의 유입 통로로 이용되는 세포막 표면의 lipid pitch 양, 단백질과 지질의 비율, 막 인지질의 지방산 조성 등에 의해 영향을 받으며, Proton motive force는 세포막에 결합되어 있는 H^+ -ATPase의 양과 고유 활성에 의해 크게 좌우되는 것으로 알려져 있다. 특히 H^+ -ATPase의 F_0 는 세포막에 결합되어 수소이온의 배출과 coupling되는 부위이고, F_1 은 세포 내부로 향해 있는 열쇠 고리 모양의 ATP hydrolase의 활성 부위로서 ATP를 소비하여 세포질의 수소 이온을 외부로 배출하는 기능으로 세포 내외의 수소 이온 농도 구배를 결정한다. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 *S. cerevisiae*의 H^+ -ATPase 활성 변화를 확인하기 위하여 세포막 vesicle을 조효소액으로하여 처리 시간별로 활성을 측정하여 실험 결과를 그림 104에 나타냈다.

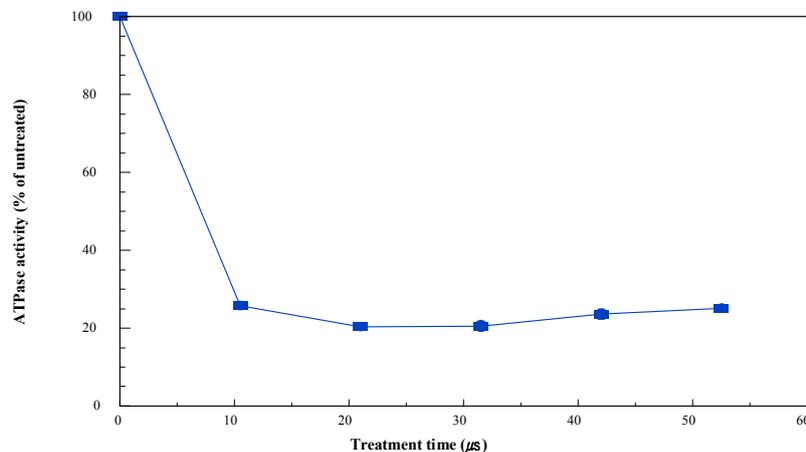


그림 104. 고전압 펄스 전기장 처리한 *S. cerevisiae*의 H^+ -ATPase의 활성 변화. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 40 $^{\circ}\text{C}$, 50 kV/cm.

그림 104에서 보는 바와 같이 H^+ -ATPase의 활성값은 처리 직후부터 급격히 감소하여 활성을 거의 나타내지 않았다. 즉, 고전압 펄스 전기장 처리를 받는 세포는 세포막의 ATPase의 활성 소실로 인하여 세포내의 항상성을 유지 못하여 사멸하게 되는 것으로 생각된다.

마) 효소 활성 변화

고전압 펄스 전기장 처리에 의한 효소의 불활성화나 활성화에 대한 다양한 실험 결과가 보고되었다. Ho 등은 시판되는 peroxidase, alkaline phosphatase, α -amylase, lipase, lysozyme, glucose oxidase, polyphenol oxidase, pepsin 등을 5-26 kV/cm의 고전압 전기장으로 30~100 μ s 처리한 후와 처리하기 전의 효소의 활성을 비교하였다. 실험 결과 peroxidase, alkaline phosphatase, α -amylase, lipase, glucose oxidase, lysozyme, polyphenol oxidase 등 대부분 효소의 활성이 크게는 90%에서 작게는 5% 정도까지 감소되었으며, pepsin의 경우에만 활성이 증가하였다. Castro 등은 alkaline phosphate를 약 70 kV/cm, 20 pulse로 고전압 펄스 전기장 처리한 결과 약 44% 활성이 감소한 것으로 보고하였다. Vega-Mercado 등은 plasmin과 protease를 각각 70% 감소하였다. 최근에는 Yeom 등은 연속 처리 장치를 이용하여 papain을 고전압 펄스 전기장 처리한 결과 최대 약 90%의 효소 활성이 감소하였을 뿐만 아니라, CD spectra를 통해 효소의 α -helix 구조가 변화한다는 사실을 보고하였다. 한편 Shin 등도 lipase를 50 kV/cm로 고전압 펄스 전기장 처리하였을 경우 효소 활성이 약 60~70% 효소 활성이 감소하였으며, K_m 과 V_{max} 값도 변화되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 *S. cerevisiae*가 생산하는 효소에 대한 고전압 펄스 전기장의 영향을 알아보기 위하여 APIZYM kit를 사용하여 효소활성 변화를 측정하였다. 40°C, 50 kV/cm로 고전압 펄스 전기장 처리한 균체와 무처리 균체를 APIZYM kit에 접종하여 배양한 후 양성 반응을 나타낸 11가지 효소의 상대적 활성 변화를 관찰할 결과를 L, a, b값으로 표 2에, 그리고 발색정도를 그림 105에 나타내었다.

표 115. 고전압 펄스 전기장 처리 전후 *S. cerevisiae* 내 효소의 활성 변화

Enzymatic activities	<i>S. cerevisiae</i> untreated			<i>S. cerevisiae</i> treated ²		
	L	a	b	L	a	b
Phosphatase alkaline	42.9±0.7	28.6±0.8	8.27±0.0	39.0±3.5	18.2±2.1	16.7±0.4
Esterase	55.0±0.6	14.8±1.2	-1.31±0.2	53.4±0.4	15.6±0.5	-3.3±0.0
Esterase lipase	47.2±2.2	19.9±2.7	-4.0±0.6	42.6±0.8	26.5±1.5	-6.0±0.5
Lipase	56.2±0.2	11.39±0.5	4.8±0.2	55.2±0.1	13.8±1.7	3.1±0.6
Leucine arylamidase	52.9±1.8	24.2±2.0	31.7±4.6	49.2±0.7	28.5±0.7	34.9±1.1
Valine arylamidase	56.3±0.7	15.4±1.2	23.7±2.9	57.3±0.5	15.2±0.7	22.2±1.2
Cystein arylamidase	56.7±0.7	15.9±1.8	32.2±4.3	57.9±1.1	12.3±1.1	16.5±2.5
Phosphatase acid	43.2±0.7	28.0±1.4	-13.6±6.2	38.9±1.8	26.9±3.6	-7.5±0.7
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	44.3±1.6	7.5±0.9	-19.8±1.3	38.4±1.9	8.9±0.2	-21.9±0.6
α -glucosidase	39.5±1.4	22.6±1.6	-3.0±0.7	32.0±1.2	17.9±0.6	-0.4±0.3
α -mannosidase	64.5±0.6	1.1±0.0	6.6±0.1	60.2±0.6	7.1±0.1	-0.0±0.0

¹ assessed by APIZYM system

² treated with PEF for 53 μ s at 40°C and 50 kV/cm

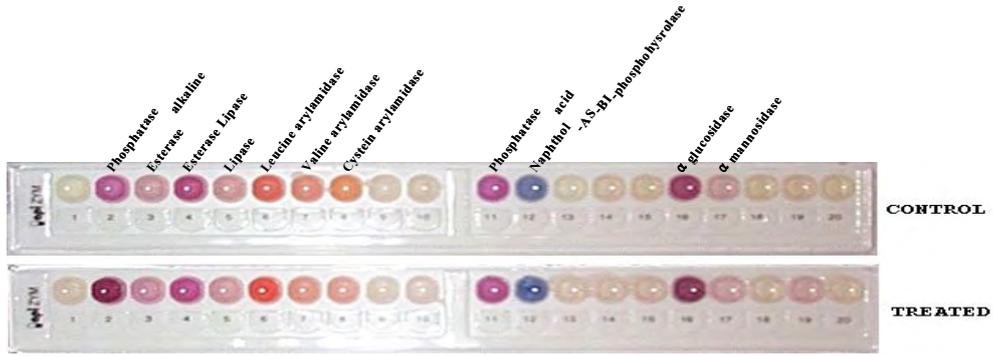


그림 105. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 *S. cerevisiae*의 효소 활성 변화. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 40℃, 50 kV/cm.

표 2와 그림 105에서 알 수 있듯이 esterase (slight activation, SA), esterase lipase (slight inactivation, SI), lipase (SI), valine arylamidase (SI), phosphate acid (SI) 등은 고전압 펄스 전기장 처리 전후의 효소 활성에 큰 변화가 없었으며, phosphatase alkaline, leucine arylamidase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, α-glucosidase, α-mannosidase 등의 효소는 활성화된 반면에, cystein arylamidase는 불활성화되는 양상을 나타내었다. 이로 미루어 볼 때, 고전압 펄스 전기장이 미생물 세포를 사멸시키는 것과는 달리 효소에 대해서는 선택적으로 작용하여 효소에 따라서 활성화와 불활성화 양상이 다르게 나타났다. 효소가 활성화되거나 불활성화되는 기작에 대해서는 아직 정확하게 밝혀진 바가 없으나 다른 연구에 의하면 고전압 펄스 전기장 처리가 효소의 구조적 변화를 가져와 불활성화를 일으키는 것으로 추측된다. 그리고 고전압 펄스 전기장 처리가 미생물이 가지고 있는 효소의 활성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 판단된다.

바) 전자현미경에 의한 형태학적 관찰

고전압 펄스 전기장 처리에 의한 미생물의 형태학적 변화에 대한 연구 결과는 많은 연구자들에 의해 보고가 되고 있다. Pothakmury 등은 *Staphylococcus aureus*를 25℃, 60 kV/cm에서 64 pulse 고전압 펄스 전기장 처리한 후 전자 현미경으로 관찰한 결과 투과 전자 현미경에서는 세포가 터져 세포내의 물질이 외부로 유출되는 현상이 관찰되었으며, 주사 전자 현미경에서는 세포 표면이 불규칙적으로 바뀌는 것을 확인하였다. 또한 Caldreon-Miranda등도 *Listeria innocua*를 고전압 펄스 전기장 처리와 bacteriocin의 일종인 nisin과 병합 처리한 후 투과 현미경을 이용하여 세포의 형태를 관찰한 결과 표면과 세포 내 물질이 상당히 변화된 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 50 kV/cm, 40℃에서 53 μs로 고전압 펄스 전기장 처리한 후 주사 현미경과 투과 현미경 관찰을 시도하였다. 주사 현미경 관찰 결과 처리하지 않은 세포는 표면이 매끄럽고 일반적인 효모의 형태인 구형의 모습을 보였다.

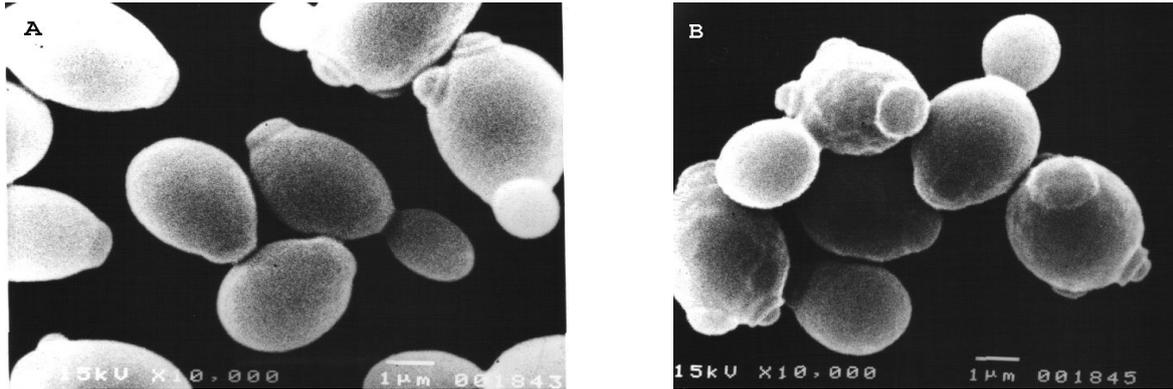


그림 106. 고전압 펄스 전기장 처리 전후 *Saccharomyces cerevisiae* 전자현미경 사진. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 53 μ s, 40 $^{\circ}$ C, 50 kV/cm. (\times 10,000) (A) Untreated (B) high voltage pulsed electric fields.

그러나 고전압 펄스 전기장 처리를 받은 세포는 처리 받지 않은 것에 비해 표면이 거칠고 굴곡이 있는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 강한 전기장에 의해 세포가 충격을 받았거나, 세포벽이나 세포막 내외에 전압차에 의해 물리적인 힘을 받아 형태의 변화를 일으킨 것으로 추측되며, 또는 세포 내 물질이 외부로 유출되면서 세포가 수축하면서 생긴 주름과 같은 형태의 것으로 추측된다. 한편, 투과 현미경 관찰에서는 처리를 받지 않은 세포는 세포 내 구성 물질, 즉 vacuole, cytoplasmic membrane, spindle reservoir, mitochondria와 같은 것들이 모두 관찰되었으며 세포의 형태도 일정한 구형의 형태를 보였다.

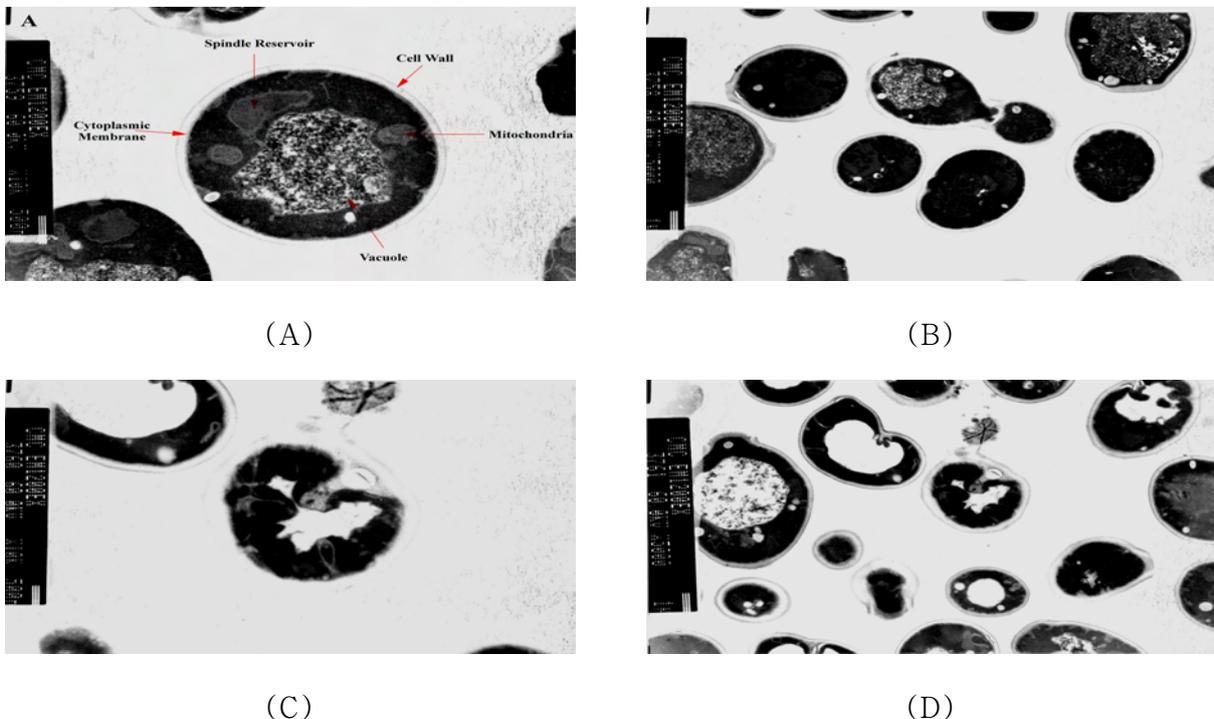


그림 107. 고전압 펄스 전기장 처리전후 투과 현미경 사진. 고전압 펄스 전기장 처리조건 : 53 μ s, 40 $^{\circ}$ C, 50 kV/cm. (A,B) untreated *S. cerevisiae* cells, (C,D) treated *S. cerevisiae* cells

고전압 펄스 전기장 처리를 받은 세포는 세포벽과 세포질막사이의 구분이 불분명해진 것들이 다수 관찰되었으며, 전형적인 세포내 물질도 상당부분 유실된 것을 볼 수 있었다. 또한 세포의 형태도 일반적인 형태에서 벗어나 안으로 함몰된 구조를 가진 것이나, bud scar부분이 터져 세포내 물질이 외부로 유출되고 있는 모습의 것도 관찰되었다. 그러나 세포막이나 세포벽의 형태가 변화가 없는 것도 다수 관찰되었는데, 이는 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 손상을 입은 세포 모두가 세포막이나 세포벽의 파괴에 의한 것이 아닌 세포막의 투과성 변화나 다른 부분의 손상에 의한 것도 존재할 수 있음을 의미한다.

나. 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 비가열 살균

(1) 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 회분식 비가열 살균

가) 빛의 세기와 처리시간에 따른 사멸 효과

광펄스 처리가 막걸리 효모의 불활성화에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 펄스 수를 5 pps로 고정하고 빛의 세기(전압의 세기)와 처리시간을 변화시키면서 효모를 광펄스 처리하였다. 빛의 세기를 500, 650, 800, 1000 V로 변화시키면서 처리 시간에 따른 사멸 효과를 살펴 본 결과를 그림 108에 나타내었다.

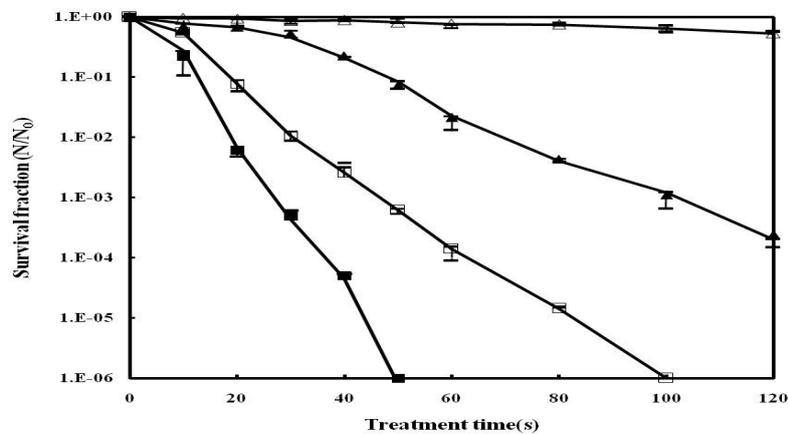


그림 108. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향

- △ 500 V ($R^2 = 0.9551$), ▲ 650 V ($R^2 = 0.9716$)
- 800 V ($R^2 = 0.9944$), ■ 1000 V ($R^2 = 0.9868$)

전원 공급 장치에서 광원에 공급하는 전압의 세기가 클수록 광원에서 나오는 빛의 세기는 강해진다. 1000 V에서 막걸리 효모는 50 sec 후 모든 균이 사멸하는 효과를 보였으며, 800 V에서는 모든 균이 사멸하는데 100 sec의 시간이 걸렸다. 그러나 상대적으로 약한 빛을 발생시키는 650 V에서는 120 sec 처리 후에 3.6 log cfu/mL, 500 V에서는 0.3 log cfu/mL만의 사멸 효과를 보였다. 본 실험의 빛의 세기와 처리시간에 따른 사멸 곡선을 보면 500 V를 제외하면 처리 시작부터 균이 사멸하기 시작하여 직선적으로 사멸이 이루어져 임계 처리시간이나

tailing 현상이 나타나지 않아 광펄스 살균이 tailing이 없다는 기존의 연구 보고와 일치하는 결과를 보였다. 가열살균에서 D 값은 온도에 따른 함수로서 표현되는데 광펄스 살균에서는 가열살균의 온도에 해당하는 변수를 빛의 세기로 볼 수 있다. 따라서 빛의 세기와 처리 시간에 의한 사멸 곡선에서 직선부분을 취하여 막걸리 효모의 D 값을 계산한 결과를 표 3에 나타내었다.

표 116. 고강도 광펄스 처리에 의한 효모의 불활성화에 대한 D값.

Voltage	Death rate (s ⁻¹)	R ²
500 V	478.50	0.9551
650 V	30.74	0.9716
800 V	15.80	0.9944
1000 V	8.23	0.9868

* Treatment condition : 500-1000 V, 5 Hz, 10-120 s.

계산된 D값을 보면 막걸리 효모는 1000 V에서는 8.2 sec, 800 V에서는 15.8 sec, 650 V에서는 30.7 sec로 전압의 세기가 커질수록 D 값은 작아지는 것으로 타나났으며, 500 V에서는 D 값이 487 sec로 살균 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

나) Frequency에 따른 사멸 효과

Frequency가 막걸리 효모의 사멸에 미치는 영향을 알아보기 위하여 빛의 세기는 1000 V로 고정하고 frequency를 3, 5, 7, 10 pps로 변화시켜 광펄스 처리를 하였다. 그림 109에 처리 시간에 따른 frequency별 사멸율을 나타내었다.

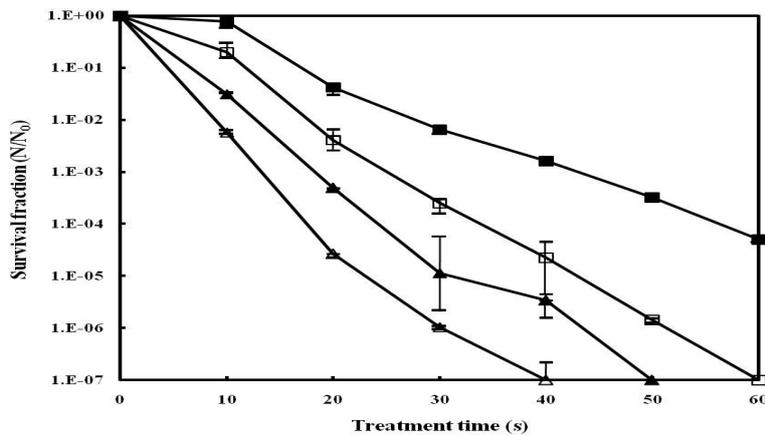


그림 109. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 펄스 수의 영향

■ 3 pps, □ 5 pps, ▲ 7 pps, △ 10 pps

Luksiene 등의 frequency에 따른 미생물의 사멸 효과를 보면 같은 시간내에서는 광펄스

처리를 하였을 경우 frequency가 높을수록 높은 사멸 효과가 나타나지만 실제 평판배지에 조사된 에너지적 측면에서 본다면 frequency는 미생물의 사멸에 큰 효과가 없다고 보고하였다. 본 실험 결과에서도 1000 V의 같은 빛의 세기에서 막걸리 효모를 처리하였을 경우 같은 시간에서는 frequency가 증가할수록 사멸율이 증가하였다. 그러나 실제 평판배지에 조사된 에너지적 측면에서 본다면 펄스 당 에너지가 같기 때문에 ‘frequency×처리시간’으로 동일한 에너지 조사량에서 살균율을 본다면 3 pps, 30sec; 5 pps 20sec; 10 pps, 10 sec에서의 막걸리 효모의 사멸율이 약 2-2.2 log cfu/mL로 거의 같게 나타나 frequency는 미생물의 사멸에는 영향을 주지 않고 조사한 에너지에 따라 사멸율이 영향을 받는다는 것을 알 수 있었다.

다) 초기 균체 농도에 따른 사멸 효과

균체의 초기 농도에 따른 광펄스 처리의 사멸 효과를 알아보기 위하여 막걸리 효모의 초기 균체량을 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 cfu/mL으로 조정하여 1000 V, 5 pps의 조건하에서 광펄스 처리를 하였다. 그림 110에서 보는 바와 같이 초기 균체 농도가 10^7 cfu/mL일 때는 120 sec 처리 후 약 3.7 log cfu/mL의 사멸정도를 보였으나 10^6 cfu/mL에서는 60 sec 처리 후에 5 log cfu/mL이상의 사멸 효과를 나타내었다.

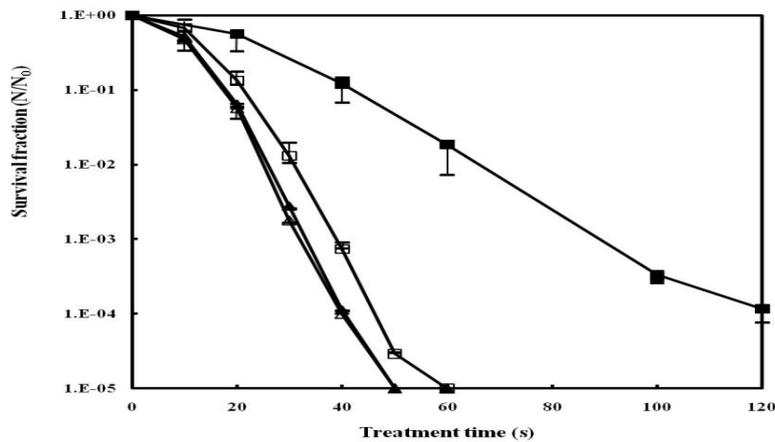


그림 110. 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 내 효모의 불활성화에 대한 초기 균체의 영향.

△ 10^4 , ▲ 10^5 , □ 10^6 , ■ 10^7

10^6 , 10^5 , 10^4 cfu/mL에서는 초기 균체 농도가 낮을수록 사멸효과가 커지는 것을 알 수 있으나 그 차이는 크지 않았다. 이처럼 균체 초기 농도에 따라 사멸 효과에 있어서 차이가 있는 것은 미생물의 높은 균체량에 의한 그림자 효과(shadow effect)에 의한 것과 처리 시료의 빛의 투과도의 차이에 따른 것으로 보인다. 실제로 표 4에서 보는 바와 같이 초기 균체량과 시료의 빛의 투과도를 보면 균체량이 낮아짐에 따라 투과도가 높아지고 투과도가 높아짐에 따라 사멸 속도가 증가하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 실제 식품을 광펄스 처리할 경우 탁도가 높은 시료를 처리할 때는 광펄스 처리만으로는 높은 살균력을 얻기 힘들 것으

로 판단된다.

표 117. 고강도 광펄스 처리 시 효모의 불활성화에 대한 균체 초기 농도에 의한 투과율 및 사멸율

Initial cell concentration (CFU/mL)	Transparency ^a		Death rate(s ⁻¹) ^d	R ^{2d}
	control ^b	IPL-treated ^c		
10 ⁴	99.96	99.98	9.84	0.9499
10 ⁵	95.82	99.98	10.90	0.9231
10 ⁶	50.01	62.29	10.75	0.9465
10 ⁷	3.91	4.00	28.16	0.9839

^a Transparency measured at 660 nm

^b Untreated

^c These samples were measured after IPL treatment at 1000 V for 40 s

^d Treatment condition : 1000 V, 5 Hz, 0-120 s.

라) 시료의 깊이에 따른 사멸효과와 온도변화

광펄스 살균은 광원에서 발생하는 강한 빛을 피사체에 조사하기 때문에 액상 시료일 경우에는 시료의 깊이가 미생물의 사멸에 큰 영향을 미친다. 따라서 본 실험에서는 시료의 깊이가 실제 미생물의 사멸에 미치는 영향을 알아보기 위하여 빛의 세기 1000 V, frequency 5 pps 에서 시료의 깊이를 2-7 mm로 변화시키면서 사멸율을 알아보았다. 그림 111에서 보는 바와 같이 시료의 깊이가 낮을수록 사멸율은 증가하였으며, 시료의 깊이가 4 mm가 넘어가면 사멸율의 변화를 보이지 않았다.

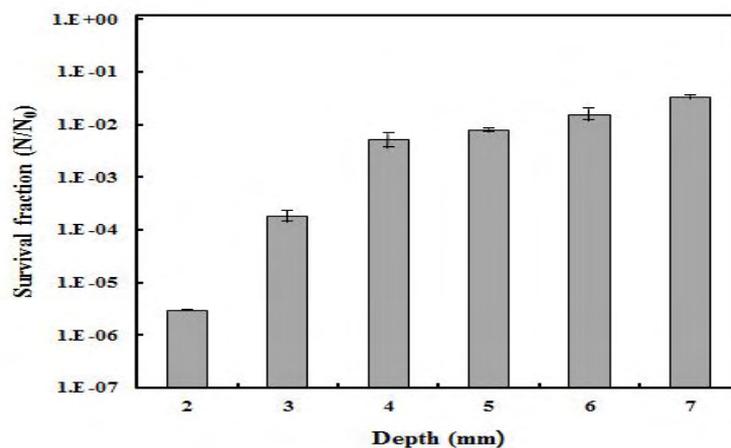


그림 111. 고강도 광펄스 처리에 의한 효모의 불활성화에 대한 시료 깊이의 영향. 고강도 광펄스 처리조건 : 1000 V, 120 s.

시료의 깊이가 2 mm일 경우에는 약 5.5 log cfu/mL의 높은 사멸율을 나타내었으며, 3, 4 mm의 경우에는 각각 3.7 log, 3 log cfu/mL의 사멸율을 나타내었다. 그러나 5, 6, 7 mm의 경우에는 각각 2.1, 1.8, 1.5 log cfu/mL로 사멸율이 큰 차이가 없었다. Keyser 등은 자외선에

의한 액상 식품의 처리시 빛의 흡수의 90%가 1 mm 깊이 이내에서 일어난다고 보고하였으며, 이는 액체의 불투명도나 점도 등에 따라 다를 수 있으나 일정 깊이 이상부터는 빛에 의한 사멸효과는 감소한다는 것을 알 수 있다. 본 실험에 사용된 광원의 경우 자외선에 비해 강한 고강도의 광원을 사용하였기 때문에 자외선보다는 높은 침투깊이를 보였지만 5 mm 이상의 깊이에서는 사멸효과가 크게 감소하는 것을 알 수 있었다. 따라서 광펄스 처리시 시료의 깊이는 5 mm 이내로 하여 처리하는 것이 효과적이라 생각된다. 그리고 대량의 시료 처리나 실제 공정의 적용을 위해서는 지름이 5 mm를 넘지 않는 pipe를 honeycomb 방식의 line을 고려하여 적용하는 것이 좋을 것으로 보인다. 회분식 처리 용기인 평판 용기에 액상 시료를 담고 광원과 시료의 거리를 7.9 cm로 하여 시료의 깊이에 따른 온도 변화를 측정하였다. 온도의 변화는 그림 38에서 보는 바와 같이 초기의 온도와 처리시간이 증가하면서 온도의 변화가 거의 없었으며 시료의 깊이에 따라서도 차이를 보이지 않았다.

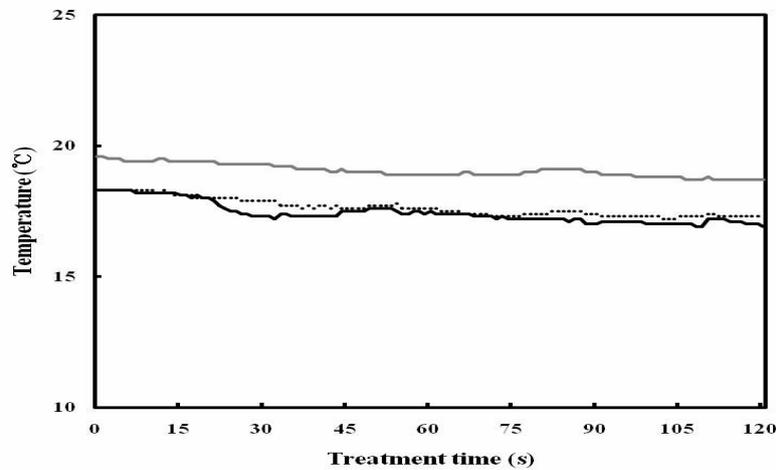


그림 112. 고강도 광펄스의 시료깊이에 따른 온도 변화

— 2mm, 3mm, — 4mm

Krishnamurthy 등은 UV 펄스로 우유를 연속식으로 처리하였을 경우 우유의 온도가 3°C까지 상승하였으며, 우유가 처리 용기에 체류하는 시간(residence time)이 길수록, 광원과 시료사이의 거리가 가까울수록 온도 상승이 컸다고 보고하였다. 반면에 Rowan 등은 광펄스 조사에 의한 처리시 식품의 온도 상승은 1°C 미만으로 실제 온도변화에 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 2분간의 처리 시간동안 온도의 변화는 2°C미만의 온도변화를 보여 본 연구에 사용된 광원은 시료의 온도상승에 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

마) 광펄스 처리 전후의 품질 변화

표 118은 광펄스 처리를 하지 않은 탁주와 임의의 조건에서 광펄스 처리한 탁주의 색도와 당도의 변화를 나타낸 것이다. 색도는 hunter scale에 따라 L, a 및 b값으로 나타내었다. 탁주를 광펄스 처리함에 따라 밝기(lightness)는 다소 감소하는 경향을 보였으며, a값도 점차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 b값은 L값이나 a값에 비해 높은 증가를 보였다. 탁주의 a와 b값

은 갈변의 정도를 나타내는 것으로 볼 수 있으며, a값은 무처리구에 비해 0.88 감소하였으며, b 값은 2.64 정도의 증가를 보였는데, 이는 탁주 속의 반응성이 큰 lysine과 같은 아미노산이 당류와 반응하여 갈색물질을 생성하는 amino-carbonyl 반응이 강한 빛에 의해 촉진되어 약간의 갈변현상이 일어나 적색도는 일부 감소하고 황색도는 증가하였기 때문으로 보여진다. 이전 연구 결과에 따르면 색의 변화가 육안으로 판별이 가능하게 되는 정도의 기준이 각지 다르지만 미국치과의사협회(ADA)에 따르면 DE의 값이 2 이상인 경우 색조의 차이가 나타나는 기준으로 규정해서 사용하고 있다. 따라서 본 연구에서는 DE값이 대조군에 비하여 7분 이상 광펄스 처리 할 경우 2 이상의 DE값을 보여 육안으로 구분할 수 있을 정도의 변화가 있는 것으로 생각된다. 탁주의 초기 당도는 3.67 °Bx이었으며, 광펄스 처리를 함에 따라 당도가 조금씩 감소하는 경향을 보였으며, 1000 V에서 10분 처리후에는 약 0.57 정도의 감소를 보였지만 유의적 차이를 보이지는 않았다. 탁주를 1000 V, 5 Hz에서 10분 동안 광펄스를 처리하면서 탁주의 온도변화를 측정 한 결과, 시료의 온도 상승은 초기온도 16.5°C에서 1°C미만의 온도변화를 보여 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

표 118. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 색도와 당도의 변화

Treatment time (min)		Hunter values ^a				°Bx
		L	a	b	DE	
Control ^b		101.83±0.00 ^d	0.03±0.00	5.28±0.02	-	3.67±0.06
Treated ^c	1	101.42±0.01	-0.49±0.28	5.23±0.01	0.66±0.14	3.53±0.12
	3	101.10±0.02	-0.70±0.01	5.90±0.03	1.20±0.01	3.47±0.06
	5	100.94±0.01	-0.79±0.00	6.71±0.01	1.87±0.01	3.37±0.06
	7	100.76±0.01	-0.88±0.01	7.51±0.01	2.64±0.02	3.30±0.10
	10	100.63±0.00	-0.91±0.01	7.92±0.01	3.05±0.00	3.10±0.10

^a L: lightness, a: redness, b: yellowness, DE: color difference

^b untreated *Takju*

^c treatment condition: 1000 V, 5 Hz, 1-10 min

^d value are mean±standard deviation

바) 생균수의 변화

탁주는 여과를 거치지 않아 물리적 성상이 불균일하고, 유통에 저장 중 발효가 계속 진행되어 품질의 균일화에 어려움이 있었으나 최근 탁주의 유통 추세의 하나로서 청주와 같이 맑지는 않지만 탁주의 맛이 살아 있도록 장시간 정치시키거나 처리의 효과를 높이기 위하여 탁주를 여과하여 실험을 하였으며, 여과 후 1 log cycle정도의 감소를 보였다. 그림 113에서 보는 바와 같이 광펄스 처리한 탁주의 생균수는 처리하지 않은 탁주의 생균수와 비교하여 보았을 때 약 1.8-2 log cycle정도의 감소를 보였다.

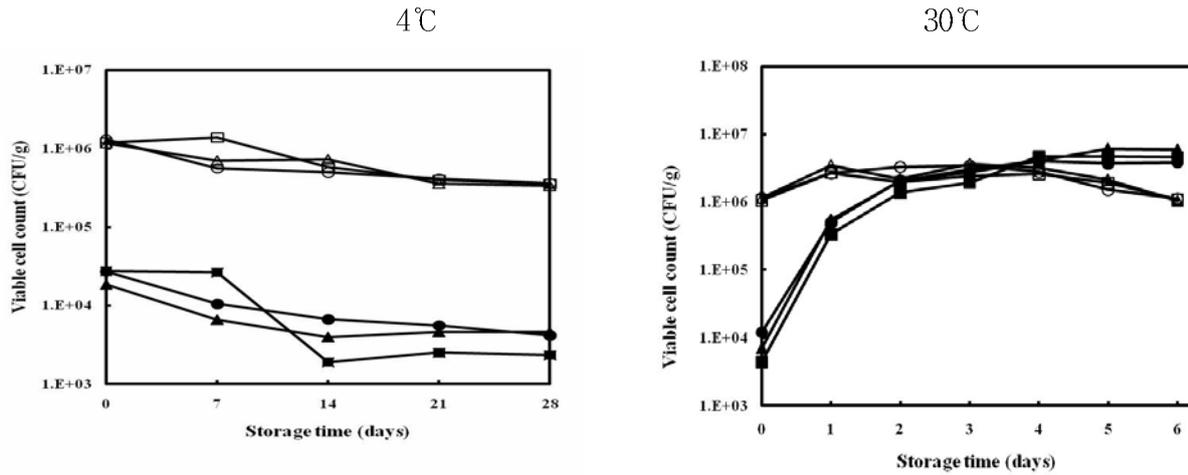


그림 113. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 균수의 변화

- Untreated yeast,
- Untreated bacteria,
- △ Untrated lactic acid bacteria,
- Treated yeast
- Treated bacteria
- ▲ Trated lactic acid bacteria

이러한 생균수의 감소는 광펄스의 파장 중 UV 영역의 광화학적 효과(photochemical effect)와 강한 빛에 의한 세포 파괴가 원인인 광물리적 효과(photophysical effect)에 의한 것으로 판단된다. 4°C에서 저장 중 탁주의 효모, 세균 및 젖산균수는 광펄스 처리하지 않은 시료가 $1.1-1.2 \times 10^6$ cfu/mL 수준에서 저장기간에 따라 약간 감소하는 경향을 보였으며, 이러한 감소의 경향은 Lee & Kim의 연구에서도 보고된 바 있다. 1 분간 광펄스 처리한 탁주는 $1.8-2.7 \times 10^4$ cfu/mL 수준이었으며, 효모는 저장기간에 따라 무처리구와 마찬가지로 약간 감소하는 경향을 보였으나 일정수준을 유지하였다. 그러나 저장 중 탁주의 일반 세균수는 7일 쯤까 지 변화가 거의 없다가 그 이후로 1.2 log cycle감소하여 효모와 비슷한 생균수의 수준을 유지하였으며, 저장 기간 28일 까지 큰 변화가 없었다. 무처리 시료와 처리한 시료를 30°C에서 저장하였을 경우 무처리구의 효모, 세균 및 젖산균수는 1.1×10^6 cfu/mL 수준에서 조금 증가하는 경향을 보이거나 거의 일정한 수준을 유지하였으며, 처리구는 초기 균체농도가 효모는 1.2×10^4 cfu/mL, 일반세균은 4.4×10^3 cfu/mL, 일반세균을 포함한 젖산균은 7.1×10^3 cfu/mL이었으며, 모두 급격히 증가하여 2일 쯤에 무처리구와 유사한 수준이 되었다.

사) pH 및 적정산도

저장 기간동안 탁주의 pH는 그림 114과 같이 저장온도에 상관없이 초기 pH 3.80에서 저장기간에 따라 약간 감소하는 경향을 보였으나 그 변화는 크지 않았다. 4°C의 경우에는 저장 3주 후까지는 무처리구와 처리구간에 pH의 차이가 거의 없었으나 4주 후에는 무처리구의 pH가 약간 낮게 나타났다. 그러나 30°C의 경우에는 저장 6일 동안에 두 시료간에 pH의 차이는 거의 나타나지 않았다. 적정산도는 발효 생성물의 정도를 나타내는 지표로서, 주로 당을 발효 원인으로 하는 각종 미생물의 대사작용에 의해 생성되는 유기산의 농도에 의해 주로 영향을 받

는다. 광펄스 처리 직후에는 적정산도는 무처리구와 처리구간에 큰 차이는 없었으나, 4℃에서 저장하는 기간 중 7일째 부터 무처리구가 처리구에 비해 약간 높은 적정산도를 나타내었으며, 30℃의 경우에는 저장 2일 째부터 무처리구의 적정산도가 증가하고 4 일 이후에는 급격한 증가를 나타내었다. 이러한 적정산도의 증가는 젖산균의 증식에 따른 산의 생성으로 인한 것으로 판단된다. 그러나 광펄스 처리한 시료의 경우에는 4℃에서는 4주간 적정산도의 변화가 거의 없었으며, 30℃에서도 5일간은 큰 변화가 나타나지 않았고 6일 째부터 증가하는 것으로 나타났

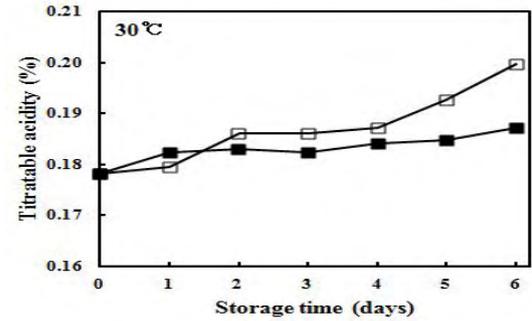
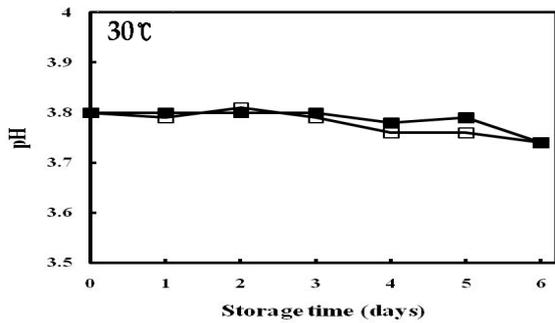
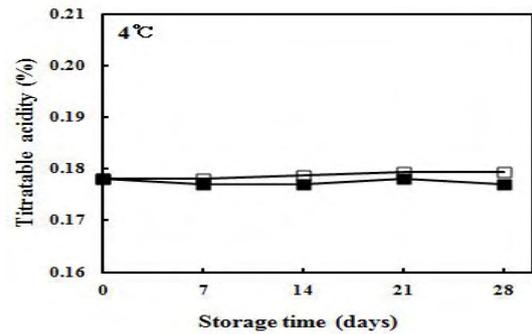
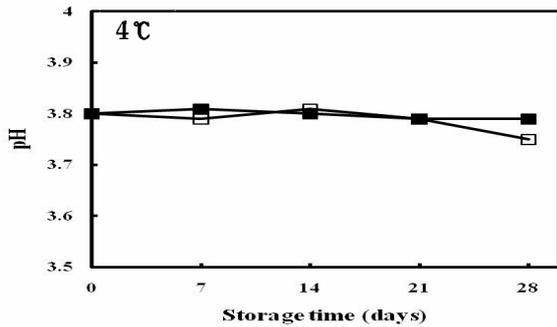


그림 114. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장 기간 중 pH의 변화

□ Untreated samples, ■ Treated samples

그림 115. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장 기간 중 산도의 변화

□ Untreated samples, ■ Treated samples

아) 환원당의 변화

탁주 중의 환원당은 알코올을 생성하는 기질로서 이용되고 주류의 향기 생성과 감미에 영향을 주는 성분이다. 그림 116은 처리구와 무처리구의 시료 저장 중 환원당 함량의 변화를 나타낸 것이다. 무처리구와 처리구 모두 4℃와 30℃에서 환원당의 함량이 감소하는 경향을 보였다. 이러한 환원당의 감소는 탁주 내에 존재하는 미생물이 생성하는 α-amylase에 의해서 전분이 분해됨으로써 생성되는 환원당보다 미생물의 영양원으로 이용되는 환원당 함량이 더 많아 전체 환원당 함량이 줄어드는 것으로 생각되어지며, 처리한 탁주의 경우 탁주 내에 존재하는 환원당이 일부 파괴가 되어 처리하지 않은 탁주에 비해 낮은 값의 함량을 나타내는 것으로 판단된다.

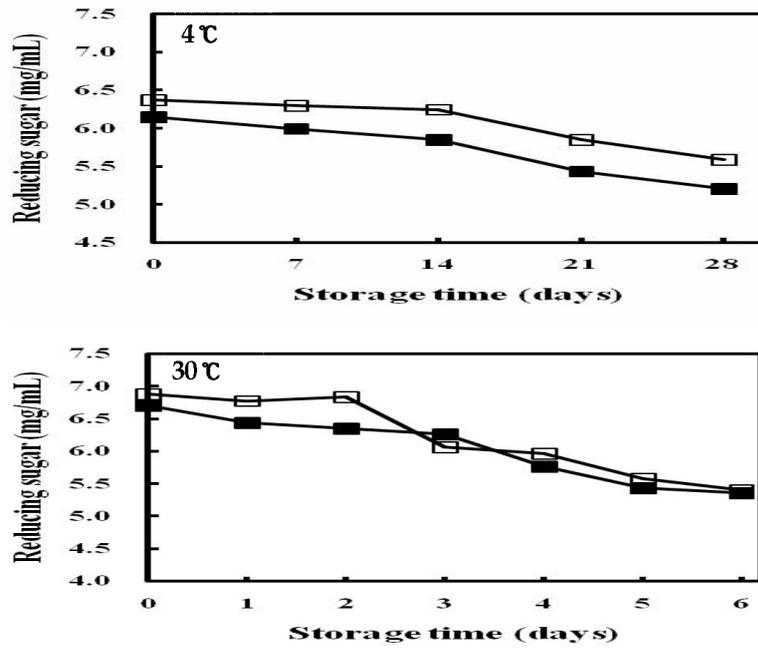


그림 116. 고강도 광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 환원당의 변화
□ Untreated samples, ■ Treated samples

(2) 고강도 광펄스에 의한 막걸리의 연속식 비가열 살균

(가) 연속식 처리용기를 이용한 효모의 회분식 살균

① 빛의 세기 및 처리시간에 따른 효모의 살균

광펄스에 의한 미생물의 사멸에 영향을 미치는 주요인자는 빛의 세기 및 처리시간이다. 막걸리에서 분리한 효모에 대한 빛의 세기 및 처리시간의 영향을 그림 117에 나타내었다.

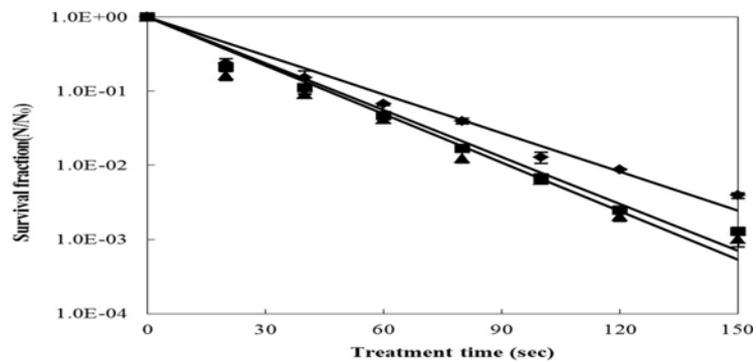


그림 117. 연속식 처리용기를 이용한 정치식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향. 고강도 광펄스 처리조건 : 30°C.

◆ 400 V, ■ 500 V, ▲ 600 V

시료의 온도는 30℃, 펄스수는 5 pps에서 빛의 세기와 처리시간에 따른 효모의 사멸효과는 120초 처리 후 400 V에서는 약 2 log cfu/mL, 500 V와 600 V에서는 각각 2.4 log, 2.6 log cfu/ml의 사멸율을 나타내었다. 회분식 처리용기를 이용한 Kim의 연구결과에서는 상온에서 500 V, 5 pps 처리 시 약 0.3 log의 사멸효과를 나타낸 것에 비해 연속식 처리용기를 이용한 회분식 살균에서는 30℃, 500 V, 5 pps 처리 시 2.4 log의 높은 사멸율을 나타내었는데 이는 회분식 살균에는 시료와 광원 사이의 거리가 7.9 cm인 것에 비해 연속식 처리용기는 시료와 광원 사이의 거리가 매우 근접한 1 cm로 에너지의 전달 정도에 따른 차이로 보인다.

② 처리온도에 따른 효모의 살균

고전압 펄스 전기장에서는 미생물의 불활성화에 미치는 중요한 인자 중 하나는 미생물이 존재하는 매질의 온도이다. 막걸리를 80℃ 이상으로 가열 살균처리하면 화독냄새와 같은 강한 이취가 발생하고 쓴맛이 생기며 변색, 청량감의 상실 및 층이 분리되는 등의 변화가 일어나 상품성이 현저히 떨어지는 문제가 있으며, 약주의 경우에는 60℃ 이상에서는 관능적 품질변화가 증가한다는 보고가 있어 본 연구에서는 50℃ 이하의 온도에서 효모의 사멸효과를 보았다. 빛의 세기 400, 500, 600 V, 펄스 수 5 pps, 처리온도 30, 40, 50℃에서 처리온도에 따른 효모의 사멸효과는 그림 118에 나타내었다. 그림 118에서 보듯이 처리온도가 증가함에 따라 효모의 사멸율도 함께 증가하는 것을 알 수 있었으며, 50℃, 400 V에서는 3.1 log, 500 V, 600 V에서는 각각 3.5 log, 4 log 정도의 사멸율을 보였다. 또한 처리온도가 높아짐에 따라 빛의 세기에 의한 사멸속도의 차이는 줄어드는 것으로 나타났다. 처리온도가 증가하면 미생물의 사멸율이 높아지는 이유는 온도의 상승에 따른 세포막의 유동성 처리에 의한 것으로 높은 온도에서 세포막의 수축 및 이완이 쉽게 일어나 세포의 사멸이 쉽게 일어나는 것으로 판단된다.

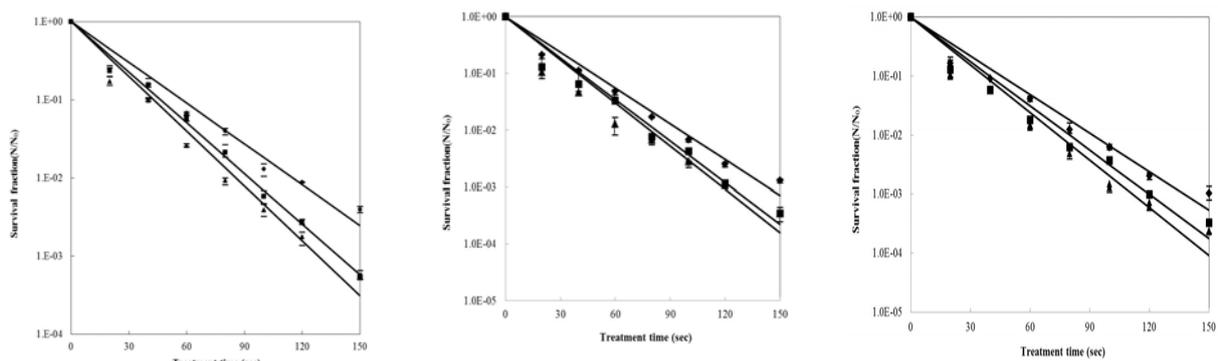


그림 118. 연속식 처리용기를 이용한 정치식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향. 고강도 광펄스 처리조건 : (400 V, 500V, 600V)

◆ 30℃, ■ 40℃, ▲ 50℃

(나) 연속식 처리용기를 이용한 효모의 연속식 살균

① 빛의 세기 및 처리시간에 따른 효모의 살균

연속식 처리용기를 이용하여 시료를 순환시키면서 빛의 세기 및 처리시간에 따른 효모의 살균정도를 알아보았다.

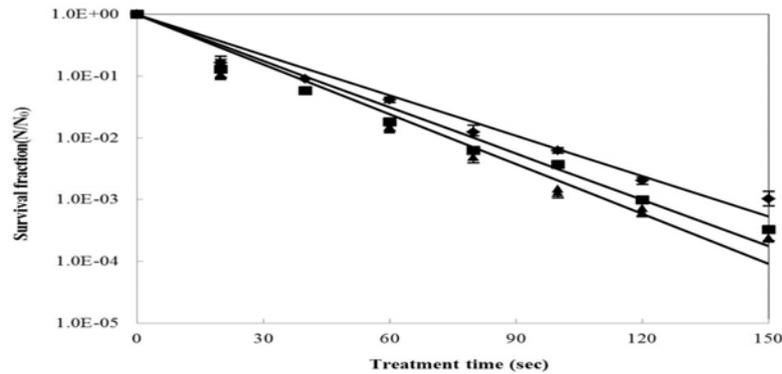


그림 119. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 전압의 세기의 영향
고강도 광펄스 처리조건 : 30℃.

◆ 400 V, ■ 500 V, ▲ 600 V

연속식 살균에서의 효모의 사멸율은 400 V에서는 약 1 log, 500 V와 600 V에서는 각각 2.1 log 와 2.5 log로 연속식 처리용기를 이용한 회분식 살균에 비해서 낮은 사멸율을 나타내었다. 이러한 사멸율의 차이는 회분식 처리의 경우에는 미생물이 광원에 연속적으로 노출되면서 휴지의 시간없이 강한 충격을 지속적으로 받는 반면에 연속식 처리의 경우에는 순환 방식의 처리방법으로 인해 미생물이 광펄스 처리를 받은 후 짧은 시간이지만 일정시간동안 휴지의 시간을 통해 충격이 완화되었기 때문인 것으로 판단된다. 순환방식의 연속처리가 아닌 continuous flow 방식의 연속처리가 이루어질 경우 실제 효모의 사멸율은 증가할 것으로 판단된다.

② 처리온도에 따른 효모의 살균

연속식 처리용기를 이용하여 빛의 세기 400, 500, 600 V, 펄스 수 5 pps, 처리시간 150 초, 처리온도는 30, 40, 50℃로 실험하여 처리온도에 따른 효모의 살균효과를 살펴보았다. 연속식 살균 시 효모의 사멸율은 150초 처리 후 600 V, 30℃에서는 약 2.3 log, 40℃, 50℃에서는 각각 3.2 log, 3.9 log의 사멸율을 나타내었다. 같은 빛의 세기인 600 V에서 회분식 처리와 연속식 처리의 사멸율을 비교하여 보면 낮은 온도인 30℃에서는 회분식의 경우 3 log, 연속식의 경우에는 2.3 log로 차이를 보였으나 40℃와 50℃에서는 사멸율의 차이가 줄어들었다. 낮은 온도에서의 사멸율의 차이는 앞선 빛의 세기에 따른 사멸율의 차이에 대한 설명과 같은 이유로 인해 발생하는 것으로 판단되며 처리온도가 상승할수록 세포의 세포막 유동성의 변화에 의한 사멸효과 증가가 휴지기간에 따른 사멸율의 효과 감소보다 크기때문인 것으로 판단된다.

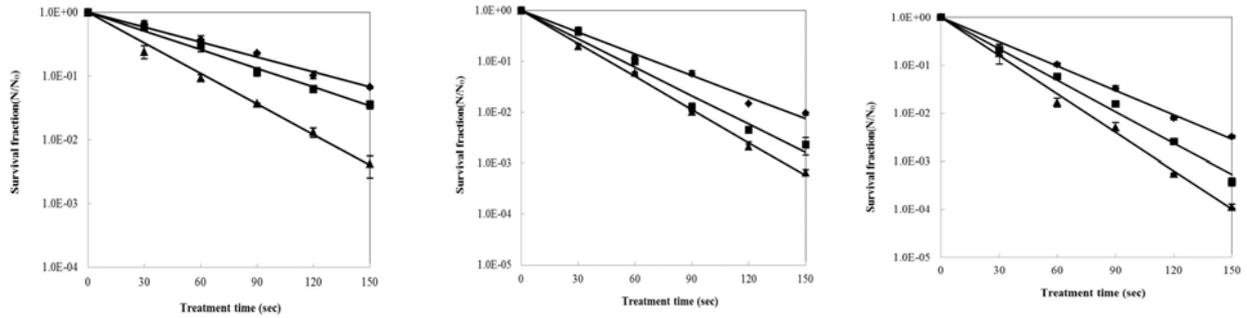


그림 120. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 막걸리 효모의 불활성화에 대한 온도의 영향. 고강도 광펄스 처리조건 : (400 V, 500V, 600v)

◆ 30℃, ■ 40℃, ▲ 50℃

(다) 연속식 처리용기를 이용한 막걸리의 살균

연속식 처리 시 빛의 세기와 처리시간에 따른 막걸리의 살균효과를 그림 121에 나타냈다. 빛의 세기 600 V, 펄스수 5 pps, 처리온도 50℃의 조건에서 25-150 sec로 처리시간을 달리 하여 막걸리의 사멸효과를 보았다. 효모, 일반세균, 젖산균에 대한 사멸율을 살펴본 결과 모두 사멸율이나 사멸속도에 있어 큰 차이는 나타나지 않았으며, 회분식 처리용기를 이용한 막걸리의 회분식 살균에는 1.5-2 log의 사멸율을 보인데 비해 연속식 살균에서는 약 3 log의 높은 살균력을 나타내었다. 살균처리 시 초기 50초 동안에 막걸리 내 미생물은 직선적으로 감소하였으며, 50초 이후에는 사멸율에 큰 변화를 보이지 않았다. 지금까지 대부분의 보고에 의하면 광펄스 처리는 미생물의 사멸에 있어서 tailing을 보이지 않는다고 보고되고 있으나, 이는 실제 식품이 아닌 model foods 순수 배양한 미생물을 대상으로 한 것으로 실제 식품에 적용하였을 경우에는 식품의 성질 즉, 구성성분, 색깔, 미생물의 분포 등에 따라 차이가 나는 것으로 최근 연구에 보고되고 있다. 연속식 처리에 의한 막걸리의 살균처리는 50초 이후에는 막걸리내의 세포들의 사멸이 일어나지 않는 tailing 현상을 보이고 있다. 이러한 tailing 현상은 막걸리내의 초기균수가 효모는 5.8×10^7 , 일반세균은 6.6×10^7 , 젖산균은 5.7×10^7 으로 약 3 log 정도 사멸 후 막걸리내의 다양한 입자나 높은 초기균수에 따른 균에 대한 그림자 효과 때문인 것으로 판단된다.

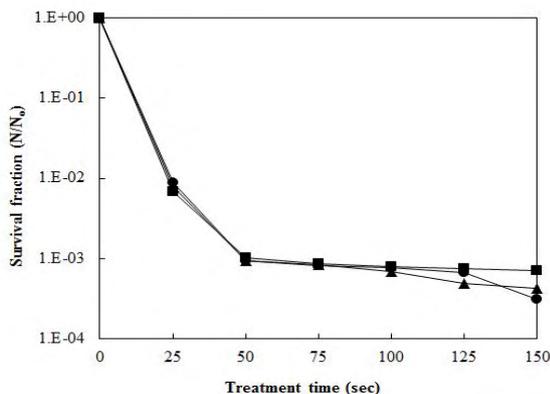


그림 121. 연속식 고강도 광펄스 처리에 의한 처리시간에 따른 막걸리의 균수 변화

● yeast, ■ total aerobic bacteria,
▲ lactic acid bacteria

(3) 고강도 광펄스에 의한 미생물의 살균 기작 연구

(가) 광펄스 처리에 의한 세포 손상

미생물이 세포벽 또는 세포막이 파괴되거나 투과성에 영향을 받아 세포 내 물질이 세포 내로 유출되게 되는데, 예를 들면 purine이나 pyrimidine과 같이 특별한 파장에서 흡광을 나타내는 물질들이 증가하게 된다. 이 방법은 매우 간편하지만 자외선을 흡수하는 물질이 시료에 공존하는 경우에는 이용할 수 없다. 220 nm에서는 peptide 결합이, 260 nm에서는 purine, pyrimidine, ribonucleotide, 280 nm에서는 tyrosin, tryptophan과 같은 물질에 의해 단백질이 최대 흡광을 나타내게 된다. 광 펄스 처리에 의한 isolated yeast의 세포막 손상 정도를 확인하기 위하여 1000 V에서 처리시간에 따른 흡광도를 그림 122에 나타내었다. 그림 122에서 보는 바와 같이 흡광도는 처리시간이 증가함에 따라 소량 증가하는 양상을 나타내어 세포의 일부에 세포막의 손상이 일어난 것을 알 수 있었다.

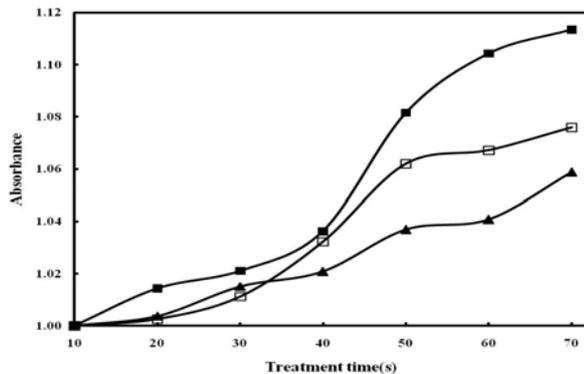


그림 122. 고강도 광펄스 처리에 의한 처리시간에 따른 효모의 UV 흡수물질의 양. 고강도광펄스 처리조건 : 1000 V, 60 s. ■ 220 nm, □ 260 nm, ▲ 280 nm

(나) 세포 염색 관찰

손상된 세포를 구분하기 위해 사용하는 방법 중 가장 간단하고 널리 사용되는 방법 중 하나인 내염성을 측정으로는 효모의 세포막 손상여부를 알 수 없어 광 펄스에 의해서 세포막이 손상되었는지 위상차 현미경을 통해서 확인하였다. 정상적인 세포는 외부에서 색소나 기타 다른 이물질이 유입되면 세포막이 이를 세포외로 배출시켜 원형질내에 축적되는 것을 방지 할 수 있다. 본 연구에서도 광 펄스에 의한 효모의 세포막의 손상 정도를 확인하기 위하여 균체농도 10^8 에서 1000 V, 5 Hz로 10분정도 광 펄스를 처리한 효모의 세포현탁액과 무처리 세포현탁액에 0.5% methylene blue 염색 시약을 첨가한 후 10분 후에 세포내로의 염색 시약의 침투 정도를 위상차 현미경을 통하여 관찰하였다. 그림. 52에서 보는 바와 같이 정상적인 세포는 침투된 염색 시약을 계속 배출하여 색소가 세포내로 유입되지 않았으며, 이를 통해 세포막의 기능이 정상적으로 작용하는 것을 알 수 있었다. 그러나 광 펄스 처리를 받은 세포는 처리 시간이 길어짐에 따라 점차 염색된 세포의 수가 많아지는 것을 알 수 있었다. 즉, 처리 시간이 길어짐에 따라서 세포막의 기능이 소실되거나 세포막 자체가 파괴되는 세포가 많아지는 것을 알 수 있다. 내염성 측정과 세포염색관찰의 결과로 미루어 볼 때, 효모의 경우 세포의 사멸 기작이 세포막의 파괴보다는 DNA 구조의 파괴 등과 같은 다른 것에 원인이 더 큰 것으로 보인다. 그

림 123에서 (a)는 광 펄스를 처리하지 않은 효모이고, (b)는 1000 V에서 10분정도 처리한 것이다.

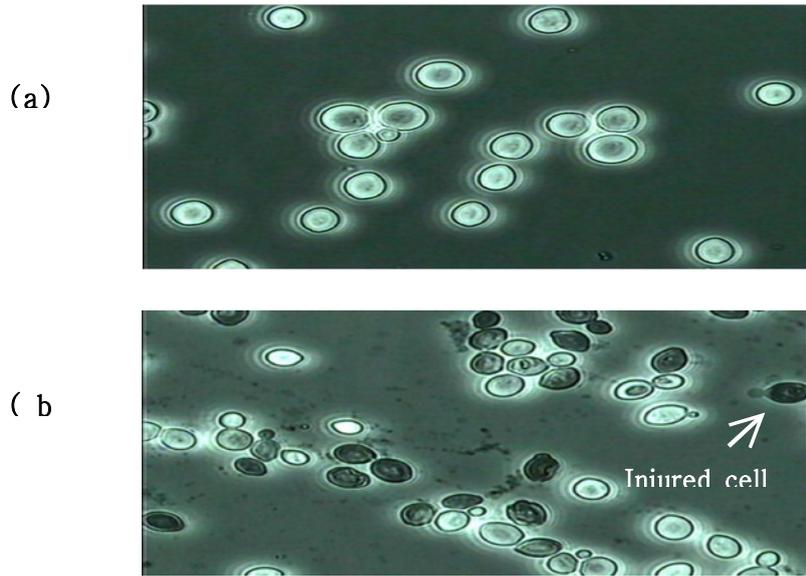


그림 123. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 세포염색 사진. 고강도광펄스 처리조건 : 10 min, 1000 V, (a) Untreated, (b) intense pulsed light.

(다) 전자현미경 관찰

광 펄스 처리 전과 처리 후 isolated yeast 세포의 형태적인 변화를 관찰하기 위해 1000 V, 5 Hz에서 180초 처리 후에 세포의 형태를 투과 전자 현미경으로 관찰하였다. 그림 124에서 보는 바와 같이 광 펄스 처리를 하지 않은 세포는 세포벽과 세포막이 온전하며, 세포 내 구성 물질이 고르게 존재하였으나, 광 펄스 처리를 받은 세포는 세포막이 손상되어 찌그러진 것을 볼 수 있고, 또한 액포가 확장된 것을 확인할 수 있었으며 이는 Takeshita 등의 연구에서 밝혀진 바와 일치하였다.

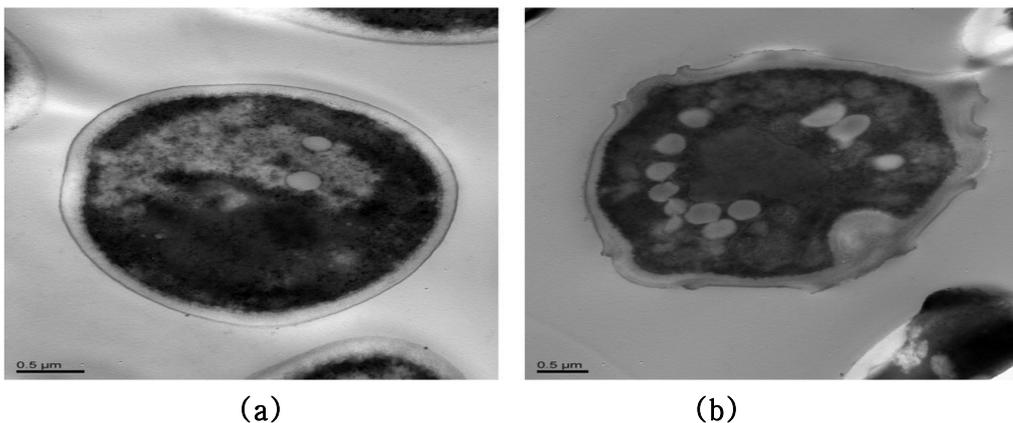


그림 124. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 투과전자현미경 사진. 고강도광펄스 처리조건 : 180s, 1000 V. (a) Untreated, (b) intense pulsed light

(라) 손상된 세포의 회복도 측정

Hurst 는 구조의 일시적인 손상을 함축하고 있는 'injury'라는 용어를 기능의 손상에 의한 것이라고 표현하였는데, 광 펄스 등의 물리적인 살균처리 후에 미생물은 크게 killed cells , surviving cells (non-injured) 그리고 injured cells의 3가지 양상을 보인다. 이 중 injured cells 은 손상된 세포를 회복시키고 성장에 필요한 단백질과 핵산을 합성하기 위해서 lag phase (유도기)가 연장된다. 광 펄스에 의해서 손상된 세포의 회복정도를 알아보기 위해 isolated yeast 를 1000 V에서 100초간 광 펄스 처리 후 YM배지에 2%접종하고 30℃에서 다시 배양하면서 1 시간 간격을 두고 시료를 채취한 후 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도로 growth curve를 작성해 손상된 세포와 그렇지 않은 세포의 성장 패턴을 확인한 결과 그림 125에서 보는 바와 같이 광 펄스를 처리하지 않은 세포의 경우 유도기가 3시간 정도인 반면 광 펄스 처리로 인한 손상된 세포는 유도기가 17시간정도 지연되었다.

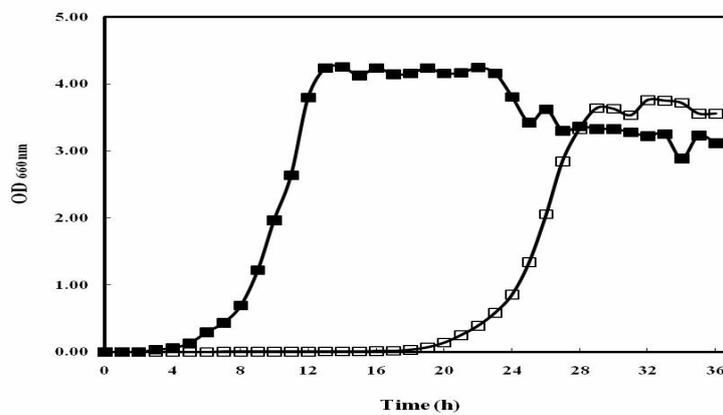


그림 125. 고강도 광펄스 처리 전후 효모의 성장패턴 변화. 고강도광펄스 처리조건 : 1000 V, 100s.

■ Untreated cells, □ Treated cells

그 후 급격히 증가하였으나 처리구의 최대 균체 농도 수준까지 도달하지 못하는 것으로 볼 때 손상되어 복구되지 않는 부분에 있어서 그 일부는 DNA손상이나 다른 기작으로 인해 회복이 일어나지 않은 것으로 생각된다. Barbosa-Canovas 는 광 펄스는 broad-spectrum light 처리 시 DNA, Proteins, macromolecules에 결정적인 손상을 주어 실활되며, 고에너지와 강한 빛으로 인해 손상된 DNA는 다시 복구되지 않는다고 보고하였다. 한편 자외선을 조사한 균에 다시 365~450 nm의 가시광선을 조사하면 조사하지 않은 것에 비하여 생존하는 균이 증가한다. 이러한 현상을 광재부활(光再賦活, photoreactivation)이라고 하는데 이것은 사멸세포와 생세포 사이는 일부지만 가역적이라는 것을 나타내고 있다. 즉, 광 펄스는 이 영역을 모두 포함하고 있기 때문에 일부는 광회복이 일어나고, 다른 일부는 DNA손상이나 다른 기작으로 인해 회복이 일어나지 않은 것으로 생각된다.

(4) 고전압 펄스 전기장과 고강도 광펄스의 병합 처리에 의한 막걸리의 비가열 살균

(가) 광 펄스와 고전압 펄스 전기장의 병합처리에 의한 막걸리의 살균

광펄스와 고전압 펄스 전기장의 병합처리 시 막걸리를 먼저 광펄스 처리한 후 고전압 펄스 전기장 처리를 하였다. 앞선 실험에서 광펄스의 경우 초기 50초 내에 상당수의 균들이 사멸되었으며 그 후에 tailing 현상이 발생한 점과 고전압 펄스 전기장 처리의 경우 tailing은 없었으나 연속식 살균시 60-75 kV의 높은 전기장을 가해야만 했다. 이러한 이유로 광펄스 처리로 먼저 일정 정도 미생물의 사멸과 손상을 일으킨 후 낮은 전기장의 세기로 고전압 펄스 전기장 처리를 하여 남은 미생물을 사멸시켜 사용되는 전력의 양을 줄이고자 하였다. 펄스 수 5 Hz, 처리온도 50℃, 유속 4 ml/sec, 시료용량 250 ml의 동일한 조건에 처리전압 600 V, 처리시간별 (25, 50, 75, 100, 125, 150 sec)로 광 펄스를 먼저 처리 후 처리전압 50 kV/cm, 처리시간별(2, 4, 6, 8, 10, 20, 30 min)로 고전압 펄스 전기장 처리를 하여 사멸율을 측정하였다. 병합처리 후 막걸리의 미생물 수의 변화를 그림 126-그림 128에 나타내었다. 광펄스의 처리시간에 따른 미생물의 사멸율은 25초를 제외하고 효모, 젖산균, 일반세균 모두 큰 차이를 보이지 않았으며, 고전압 펄스 전기장의 처리시간에 따른 미생물수의 변화는 효모의 경우 5분, 젖산균은 8분, 일반세균은 10분 정도까지 감소를 나타내었고 그 이후에는 차이를 보이지 않았다. 병합처리 시 tailing 부분을 제외하고 높은 사멸율을 보인 처리 조건은 효모의 경우 고전압 펄스 전기장 6분+광펄스 150 sec, 젖산균은 고전압 펄스 전기장 8분+광펄스 150 sec, 일반세균은 고전압 펄스 전기장 10분+광펄스 150 sec였다. 병합처리 시 광 펄스의 처리시간에 따른 사멸율은 25 sec만을 제외하고는 큰 차이는 나타나지 않았다. 광 펄스로 먼저 처리 후 고전압 펄스 전기장으로 처리 할 경우 고전압 펄스 전기장의 처리 시간이 2 min까지는 4.1~5.1 log cycle로 크게 감소하였으며 10분 이후에는 시간이 증가하여도 사멸율은 크게 증가하지 않고 거의 일정하였다. 총 세균, 젖산균, 효모 모두 비슷한 양상을 띠어 막걸리의 저장 실험을 위한 병합처리조건으로 광 펄스는 50 sec, 고전압 펄스 전기장은 10 min으로 설정하였다.

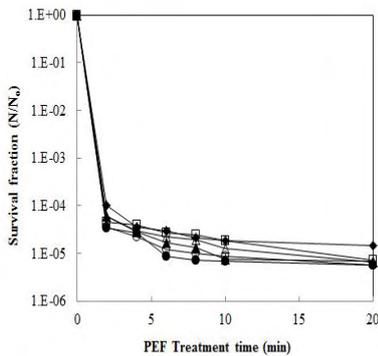


그림 126. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 효모의 변화

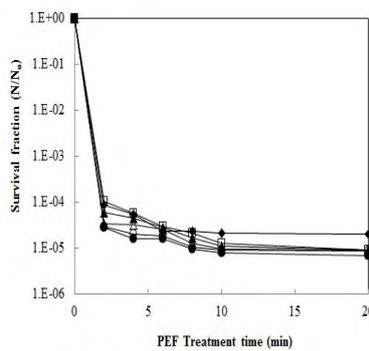


그림 127. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 젖산균의 변화

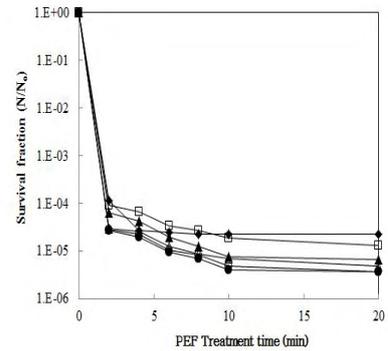


그림 128. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 병합처리에 의한 막걸리 내 일반세균의 변화

◆ 25 sec, □ 50 sec, ▲ 75 sec, △ 100 sec, ○ 125 sec, ● 150 sec

(나) 광 펄스와 고전압 펄스 전기장의 병합처리에 의한 막걸리의 저장성 연구

① 생균수 변화

병합처리에 의한 막걸리의 저장성을 보기 위하여 광펄스와 고전압 펄스 전기장 처리한 시료와 비교군으로 무처리 시료, 광펄스 처리시료, 고전압 펄스 전기장 시료를 4℃와 30℃에 저장하면서 품질변화를 살펴보았다. 고전압 펄스 전기장 처리시료와 광펄스 및 고전압 펄스 전기장 병합처리 시료의 처리조건은 광펄스 처리에 의한 막걸리의 최종균수와 비슷한 정도의 균수를 얻을 수 있는 조건을 선택하여 저장실험 시작 시 비슷한 균수에서 시작할 수 있도록 하였다. 일반세균수, 젖산균수, 효모수 모두 4℃에서 무처리 막걸리는 저장기간 동안 큰 변화가 없었는데 이는 Jwa 와 Kim 의 보고와 일치하는 결과이다. 살균 처리 후 4℃에 저장한 막걸리도 일반세균수, 젖산균수, 효모수 모두 저장기간이 증가함에 따라 변화는 없었으나 저장 15일 까지 완만한 증가를 보인 후 15일 이후부터 감소하였다. 저장 15일의 일반세균, 젖산균, 효모의 생균수는 광펄스 처리시료는 고전압 펄스 전기장 처리시료는 그리고 광펄스와 고전압 펄스 전기장 병합처리 시료는 였으며, 저장 30일 후 각 처리사멸로 최종생균수는 일반세균, 젖산균, 효모의 순서로 광펄스 처리시료는 2.4×10^4 cfu/ml, 2.8×10^4 cfu/ml, 2.8×10^4 cfu/ml, 고전압 펄스 전기장 처리시료는 5.7×10^4 cfu/ml, 5.9×10^4 cfu/ml, 5.7×10^4 cfu/ml 그리고 광펄스와 고전압 펄스 전기장 병합처리 시료는 3.2×10^3 cfu/ml, 3.2×10^3 cfu/ml, 3.7×10^3 cfu/ml였으며, 저장 30일 후 각 처리사멸로 최종생균수는 일반세균, 젖산균, 효모의 순서로 광펄스 처리시료는 1.4×10^4 cfu/ml, 1.5×10^4 cfu/ml, 1.3×10^4 cfu/ml, 고전압 펄스 전기장 처리시료는 2.0×10^4 cfu/ml, 2.5×10^4 cfu/ml, 2.4×10^4 cfu/ml, 광펄스와 고전압 펄스 전기장 병합처리 시료는 6.7×10^2 cfu/ml, 6.0×10^2 cfu/ml였다. 비살균 약주와 막걸리를 4℃와 25℃에 저장 시 두 온도 모두 효모수가 감소하는 경향을 보였고 특히 4℃에 저장한 약주와 막걸리가 더 빠른 감소를 나타내었는데 이는 저장기간 중 유기산의 생성으로 인해 미생물의 생육이 저해 받았기 때문이라고 보고하였다. 본 실험에서는 25℃에 저장한 무처리 막걸리에 비해 30℃에 저장한 무처리 막걸리의 효모수가 감소하는 경향이 더 빠르게 나타나 이전의 연구결과와 일치함을 보였다. 30℃에 저장한 무처리 막걸리의 경우에는 모든 균이 저장초기부터 생균수가 급격한 감소를 보였다. 살균처리한 막걸리는 저장초기에는 생균수의 빠른 증가를 보였으며, 2일이 지난후부터 완만한 증가를 나타내었고 6일 후 최종균수는 10^6 정도로 처리하지 않은 막걸리보다 약간 높은 생균수를 나타내었다. 살균 처리 막걸리는 완만하나 생균수의 지속적인 증가가 있는 상태이지만 무처리 막걸리의 경우는 생균수가 감소하여 균의 노화가 일어나는 것으로 보인다.

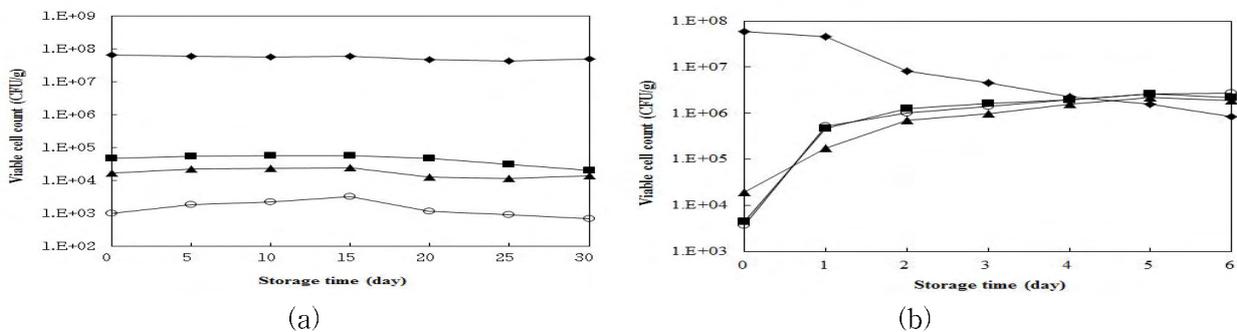
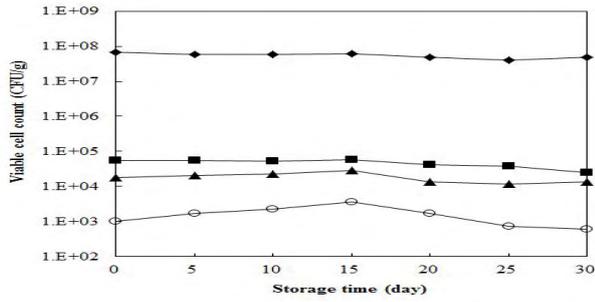
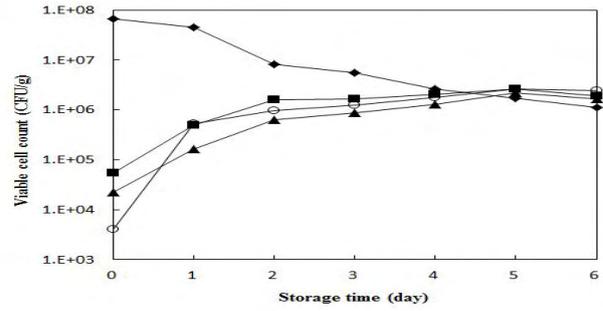


그림 129. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 일반세균수의 변화

a) 4℃, b) 30℃ ◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF



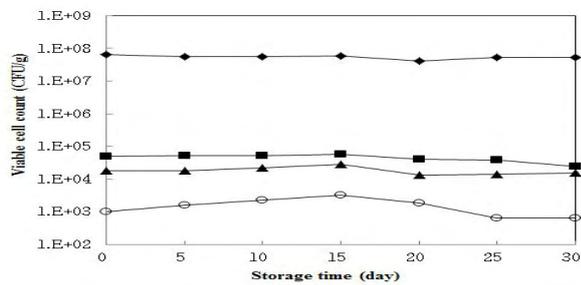
(a)



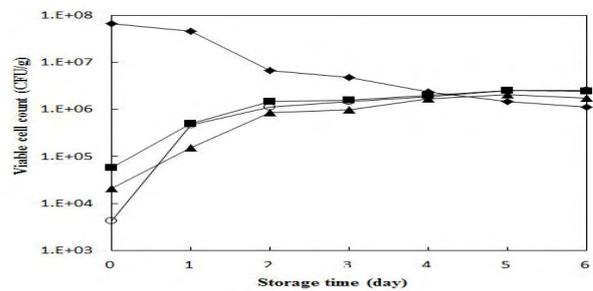
(b)

그림 130. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 젖산균수의 변화

a) 4°C, b) 30°C ◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF



(a)



(b)

그림 131. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 저장기간 중 효모수의 변화

a) 4°C, b) 30°C ◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF

② 색도의 변화

각 처리 방법에 따른 막걸리의 4°C와 30°C에서 저장 기간 중 색도 변화를 표 119와 표 120에 나타냈다. 무처리 막걸리와 처리 직후 막걸리의 색도를 보면 무처리 막걸리에 비해 살균 처리한 모든 막걸리에서 L값과 b값은 감소하였으며, a값은 증가하였다. Lee et al. 은 생탁주를 자외선 살균 시 L값은 약간 낮아지고 a와 b값은 약간 증가하였다고 하였고, Kim은 광 펄스 처리 후 L값과 a값은 감소하고 b값은 증가하였다고 하였으며 Mok & Lee은 직렬배열 다중전극 PEF 처리장치를 이용한 약주의 살균에서 L, a, b값 모두 증가하였다고 보고하여 살균처리 방법이나 조건에 따라 다른 결과를 나타내는 것으로 보인다. 4°C에 저장 시 L값은 저장기간이 길어짐에 따라 모든 시료에서 약간의 증가 경향을 나타냈지만 살균처리 막걸리 중 무처리 막걸리보다 높은 값을 나타내는 막걸리는 없었다. 4°C에 저장 시 a값은 모든 시료에서 큰 변화는 없었으며 저장 기간 동안 살균처리 막걸리 중(IPL, PEF, IPL+PEF 처리 막걸리) 무처리 막걸리보다 낮은 값을 나타내는 막걸리는 없었다. 4°C에 저장 시 b값은 모든 시료에서 저장 기간이 지남에 따라 약간씩 증가하였으며 저장 25일 쯤 모든 시료에서 1.72-2.90로 최대치를 나타내었다. 30°C에 저장 시 L값은 모든 시료에서 저장 기간 동안 다소 감소하는 경향을 보였는데 이는 탁주의 갈변반응으로 인해 색이 점차 어두워지기 때문인 것으로 생각된다. 30°C에 저장 시 a값은 모든 시료에서 시간이 증가할수록 증가한 것으로 나타났으며, b값은 뚜렷한 경향을 나타내지는 않았다.

표 119. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃ 저장기간 중 색도의 변화

Color value	Sample	Storage time(day)						
		0	5	10	15	20	25	30
L	Untreated	59.32±0.17 ^{1)Da}	59.47±0.17 ^{ab}	59.51±0.23 ^{abc}	59.52±0.20 ^{abc}	59.75±0.14 ^{bc}	60.27±0.38 ^d	59.90±0.01 ^{cd}
	IPL	58.17±0.14 ^{Ca}	59.04±0.03 ^b	59.13±0.17 ^{bc}	59.22±0.27 ^{bc}	59.08±0.34 ^{bc}	59.56±0.41 ^c	59.09±0.16 ^{bc}
	PEF	57.69±0.10 ^{Ba}	58.66±0.24 ^b	58.63±0.23 ^b	58.51±0.10 ^b	58.68±0.25 ^b	59.09±0.44 ^c	58.36±0.04 ^b
	IPL+PEF	57.27±0.80 ^{Aa}	58.06±0.17 ^b	58.15±0.09 ^{bc}	58.85±0.59 ^{bc}	58.37±0.06 ^c	58.72±0.26 ^d	58.28±0.17 ^{bc}
a	Untreated	-0.54±0.01 ^{Ca}	-0.55±0.01 ^{ab}	-0.55±0.01 ^{ab}	-0.57±0.01 ^b	-0.57±0.00 ^b	-0.54±0.02 ^a	-0.56±0.01 ^{ab}
	IPL	-0.97±0.01 ^{Aa}	-0.93±0.02 ^b	-0.93±0.01 ^b	-0.93±0.02 ^b	-0.94±0.02 ^{ab}	-0.92±0.02 ^b	-0.95±0.02 ^{ab}
	PEF	-0.76±0.01 ^{Ca}	-0.70±0.01 ^{cd}	-0.71±0.01 ^{cd}	-0.73±0.01 ^{bc}	-0.72±0.02 ^{bc}	-0.69±0.03 ^d	-0.74±0.01 ^{ab}
	IPL+PEF	-0.81±0.01 ^{Ba}	-0.78±0.02 ^{bc}	-0.78±0.01 ^{bc}	-0.79±0.01 ^b	-0.79±0.02 ^{ab}	-0.76±0.02 ^c	-0.80±0.01 ^{ab}
b	Untreated	2.59±0.08 ^{Da}	2.52±0.12 ^a	2.58±0.11 ^a	2.55±0.10 ^a	2.59±0.06 ^a	2.90±0.19 ^b	2.68±0.03 ^a
	IPL	2.21±0.08 ^{Ca}	2.46±0.06 ^b	2.63±0.06 ^b	2.67±0.11 ^b	2.57±0.14 ^b	2.91±0.23 ^c	2.68±0.07 ^b
	PEF	1.61±0.05 ^{Ba}	1.86±0.12 ^{bc}	1.94±0.06 ^{cd}	1.84±0.06 ^{bc}	1.86±0.14 ^{bc}	2.11±0.21 ^d	1.66±0.02 ^{ab}
	IPL+PEF	1.26±0.05 ^{Aa}	1.48±0.08 ^b	1.53±0.06 ^b	1.50±0.03 ^b	1.61±0.03 ^{bc}	1.72±0.14 ^c	1.48±0.08 ^b

¹⁾Mean±Standard deviation

^{A-D}Superscriptive letters in a column indicate significance at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

^{a-d}Superscriptive letters in a row indicate significance at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

표 120. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 30℃ 저장기간 중 색도의 변화

Color value	Sample	Storage time(day)						
		0	1	2	3	4	5	6
L	Untreated	59.32±0.17 ^{1Dc}	59.47±0.23 ^c	59.36±0.32 ^c	58.90±0.07 ^b	58.72±0.03 ^{ab}	58.59±0.07 ^a	58.57±0.03 ^a
	IPL	58.17±0.14 ^{Ca}	58.15±0.15 ^b	57.91±0.31 ^b	57.80±0.09 ^{ab}	57.68±0.17 ^{ab}	57.68±0.05 ^{ab}	57.80±0.22 ^{ab}
	PEF	57.69±0.10 ^{Bb}	57.49±0.16 ^b	57.40±0.39 ^b	57.06±0.08 ^a	57.17±0.05 ^{ab}	56.85±0.10 ^a	56.93±0.14 ^a
	IPL+PEF	57.27±0.10 ^{Ad}	57.09±0.09 ^d	56.84±0.29 ^c	56.73±0.03 ^{bc}	56.59±0.04 ^{abc}	56.48±0.07 ^{ab}	56.44±0.17 ^a
a	Untreated	-0.54±0.01 ^{De}	-0.65±0.01 ^d	-0.72±0.02 ^c	-0.76±0.01 ^b	-0.80±0.00 ^a	-0.82±0.01 ^a	-0.81±0.01 ^a
	IPL	-0.97±0.01 ^{Af}	-1.08±0.01 ^e	-1.14±0.02 ^d	-1.17±0.01 ^c	-1.22±0.01 ^b	-1.24±0.01 ^a	-1.26±0.02 ^a
	PEF	-0.76±0.01 ^{Cf}	-0.87±0.01 ^e	-0.97±0.02 ^d	-1.01±0.01 ^c	-1.03±0.01 ^b	-1.09±0.02 ^a	-1.08±0.00 ^a
	IPL+PEF	-0.77±0.01 ^{Bf}	-0.99±0.00 ^e	-1.08±0.02 ^d	-1.01±0.01 ^c	-1.17±0.02 ^b	-1.08±0.17 ^{ab}	-1.20±0.01 ^a
b	Untreated	2.59±0.08 ^D	2.62±0.14	2.73±0.20	2.68±0.07	2.73±0.07	2.74±0.04	2.68±0.08
	IPL	2.21±0.08 ^{Ca}	2.65±0.08 ^b	2.81±0.18 ^{bc}	2.77±0.04 ^{bc}	2.80±0.03 ^{bc}	2.83±0.04 ^c	2.82±0.08 ^c
	PEF	1.61±0.05 ^{Ba}	1.69±0.07 ^{ab}	1.87±0.23 ^{bc}	1.78±0.04 ^{bc}	1.93±0.03 ^c	1.81±0.01 ^{bc}	1.88±0.06 ^c
	IPL+PEF	1.26±0.05 ^{Aa}	1.37±0.09 ^b	1.45±0.15 ^b	1.51±0.03 ^b	1.49±0.02 ^b	1.48±0.02 ^b	1.49±0.05 ^b

¹⁾Mean±Standard deviation

^{A-D}Superscriptive letters in a column indicate significance at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

^{a-e}Superscriptive letters in a row indicate significance at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

③ pH의 변화

. 처리직후 무처리한 막걸리와 살균처리 막걸리의 pH는 3.85 내외로 차이를 나타내지 않았다. 4℃ 저장 시 무처리 막걸리는 저장기간 30이 동안 살균처리한 막걸리에 비해 낮은 pH를 나타내었으며 살균되지 않은 막걸리는 처리방법과 관계없이 모두 비슷한 pH값을 나타내었다. 30℃ 저장시에는 무처리 막걸리 및 살균처리 막걸리 모두 저장 초기에는 약간의 pH증가를 보이다 저장 2일 이후 일정하게 유지되었으며, 5일차 이후에는 감소를 보였다.

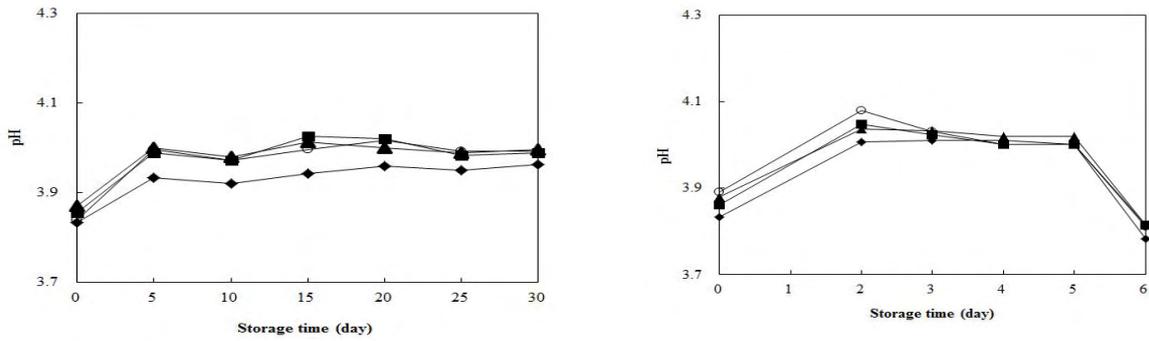


그림 132. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃,30℃ 저장기간 중 pH의 변화

◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF

④ 적정산도의 변화

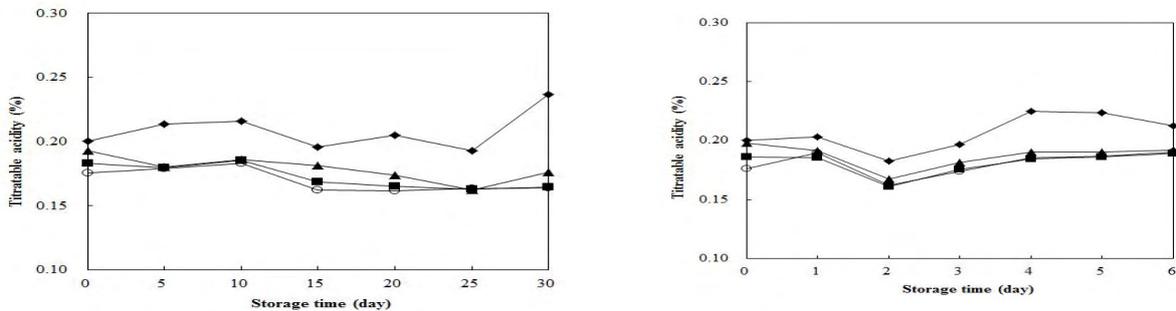


그림. 133. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃,30℃ 저장기간 중 적정산도의 변화

◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF

무처리 막걸리의 적정산도는 0.20, 처리 직후 IPL 처리 막걸리는 0.19, PEF 처리 막걸리는 0.18, IPL+PEF 처리 막걸리는 0.17로 차이는 크게 없었으나 무처리 막걸 리가 살균처리한 막걸리에 비해 높은 값을 보였다. 4℃ 저장 시 저장기간에 따른 적정산도는 큰 변화를 보이지 않았으며 무처리 막걸리가 살균처리한 막걸리에 비해 높은 값을 나타내었으며, 무처리 막걸리의 경우 저장 30일 쯤 저장초기에 비해 0.037%로 증가한 값을 보였다. 일반적으로 산도가 증가하면 pH는 감소하는데 본 실험에서는 pH의 감소없이 적정산도의 값이 증가하였는데, So & Lee 는 유기산이 탁주의 고형분에 골고루 분포되어 있고, 단백질의 분해산물인 아미노산과 펩

타이드 등이 완충력으로 작용하였을 경우 pH의 감소없이 적정산도의 증가가 이루어질 수 있음을 보고하였다. 30℃ 저장 시 저장 2일까지 약간의 감소 후 저장 기간이 지남에 따라 증가하는 경향을 나타냈는데, 이는 광펄스 처리 후 적정산도가 증가하는 경향을 보인다는 Kim의 보고와 일치하였다.

⑤ 환원당의 변화

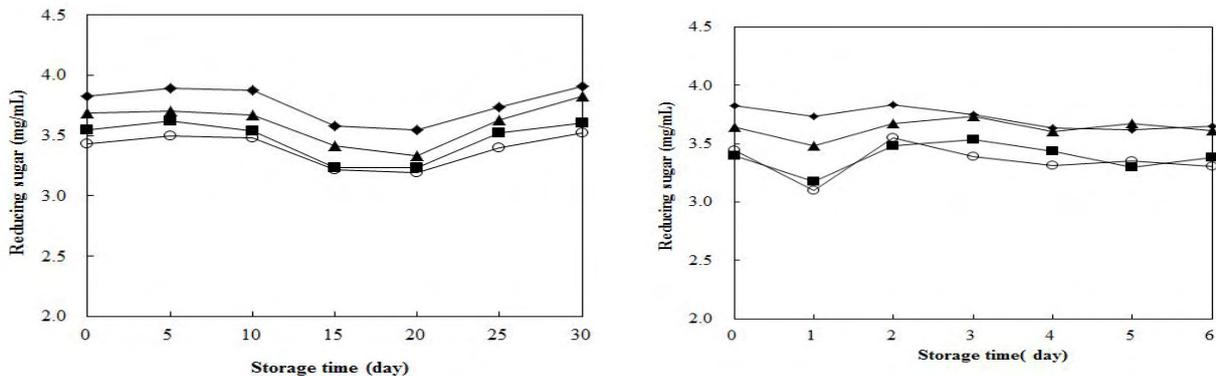


그림 134. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4℃, 30℃ 저장기간 중 환원당의 변화

◆ control, ▲ IPL, ■ PEF, ○ IPL+PEF

막걸리의 단맛과 관계있는 환원당은 저장 초기 무처리 막걸리는 3.83 mg/ml인 반면 IPL 처리 막걸리는 3.68 mg/ml, PEF 처리 막걸리는 3.55 mg/ml, IPL+PEF 처리 막걸리는 3.42 mg/ml로 살균처리 시 환원당 함량이 약간씩 감소한 것으로 나타났다. Choi는 생탁주를 UV 처리 시 환원당 함량이 저장초기에 생탁주보다 5.00 mg/ml 낮은 함량을 나타냈다고 보고하였는데, 본 실험에서는 살균처리 전 후 환원당함량에 큰 차이를 보이지 않았다. 4℃에 저장 시 저장 5일까지는 모든 시료가 약간씩 증가하였는데 이는 55℃에서 전혀 열불화되지 않는 glucoamylase에 의해 지속적인 활성을 보여 당도를 증가시키는 것으로 보인다. 저장 5일 이후부터 환원당 함량은 서서히 감소하기 시작하여 저장 20일에 최소치를 나타냈는데 이는 그림. 59-그림. 61의 저장 15일에 미생물 수가 증가하면서 환원당이 소비된 것으로 보인다. 30℃ 저장 시 저장 2-3일쯤 최대치를 나타낸 이후 환원당은 큰 변화를 보이지 않는데 이는 glucoamylase에 의해 생성되는 환원당과 미생물이 소비하는 환원당이 균형을 이룬 것으로 보인다.

⑥ 관능적 특성

막걸리를 살균처리 하지 않은 무처리구(untreated)와 유속 4 ml/sec, 주파수 5 Hz, 처리 전압 600 V, 처리시간 8분 광 펄스 처리 후 유속 4 ml/sec, 주파수 5 Hz, 처리 전압 50 kV/cm, 처리시간 10분 고전압 펄스 전기장으로 병합 처리(treated)하여 4℃에 저장하면서 색, 향, 맛, 전체적인 기호도에 대한 관능적 특성 변화를 표 8에 나타냈다. 병합처리 한 막걸리는 처리 직후 색, 향, 맛, 기호도 부분에서 모두 무처리 막걸리에 비해 낮게 나타났다. 색은 저장기간 동

안 무처리 막걸리와 병합처리 막걸리 모두 큰 변화는 없었다. 향은 무처리 막걸리와 병합처리 막걸리 모두 저장 14일째 각각 3.93, 2.73으로 낮은 값을 나타냈는데 이는 저장 15일 째 후발효에 의한 생균수(총세균, 젖산균, 효모)의 증가로 산과 알코올이 발생해 영향을 미친 것으로 보인다. 맛은 무처리구 막걸리는 저장 기간이 지남에 따라 전반적으로 약간 감소를 나타냈고 병합처리 막걸리는 저장 기간이 지남에 따라 약간 증가하는 경향을 나타낸다. 병합처리한 막걸리가 무처리 막걸리에 비해 낮은 기호도를 보였는데, 이는 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 것이라기 보다는 광펄스 처리에 의한 것으로 보인다. 연속식 광펄스 처리의 경우 lamp와 시료 사이의 거리가 가까워 램프에서 발생하는 강한 빛과 열에 의해 막걸리의 품질에 영향을 미쳤을 것으로 보여 향후 관능적 기호도의 개선을 위해서는 광펄스의 처리조건에 대한 추가적인 연구가 있어야 할 것으로 보인다.

표 121. 고전압 펄스 전기장과 고강도광펄스 처리한 막걸리의 4°C 저장기간 중 관능검사

Sensory evaluation	Sample	Storage time (day)									
		0	p-value	7	p-value	14	p-value	21	p-value	28	p-value
Color	Untreated	5.47±1.19 ^d		5.00±1.46		5.27±1.10		5.40±0.91		4.33±0.82	
	Treated	4.53±1.25	0.045	4.20±1.08	0.100	4.13±1.36	0.018	3.93±1.22	0.001	4.47±1.41	0.049
Flavor	Untreated	5.33±0.90 ^f		4.67±0.98 ^{abc}		3.93±1.67		4.00±1.13 ^{ab}		4.87±1.06 ^{bc}	
	Treated	3.47±1.30 ^a	0.000	3.20±1.66 ^a	0.006	2.73±1.44	0.044	5.13±1.24 ^b	0.015	4.87±1.41 ^b	1.000
Taste	Untreated	6.47±1.19 ^b		6.47±0.83 ^b		4.53±2.06		5.67±1.54 ^{ab}		5.67±1.50 ^a	
	Treated	4.27±2.08	0.001	3.47±1.51	0.000	4.00±1.93	0.471	4.53±1.60	0.058	4.40±1.68	0.038
Overall acceptability	Untreated	6.00±1.85		5.00±1.65		4.93±1.83		5.60±1.77		5.53±1.96	
	Treated	3.53±1.19 ^a	0.000	3.80±1.90 ^a	0.075	4.47±2.00 ^a	0.510	5.20±1.70 ^b	0.532	4.20±1.01 ^a	0.027

¹⁾Mean±Standard deviation

^{a-c}Superscriptive letters in a column indicate significance at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Comparison of responses between untreated and treated at each *Makgeolli* by paired t-test was not significant by p<0.05.

5. 고품질 막걸리 생산 및 안전성 확보를 위한 최적 공정 기술 개발

가. 쌀 품종별 발효

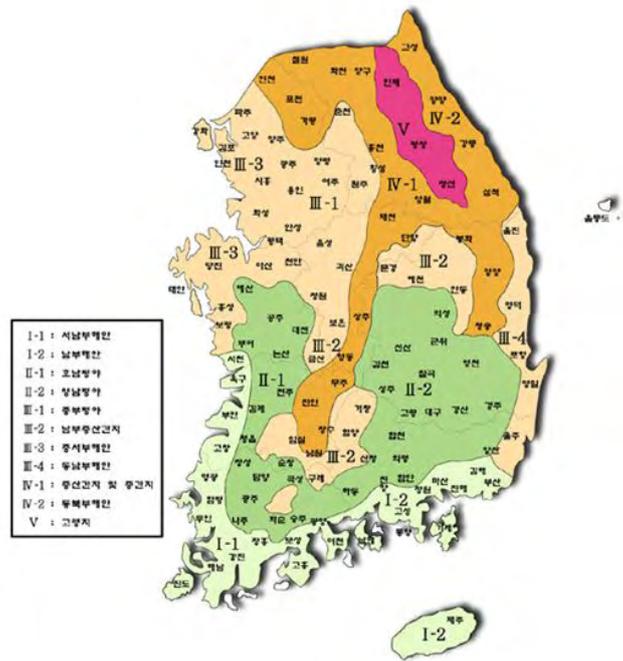
(1) 백미 품종별 일반 성분 분석

2009년 농촌진흥청 자료(NICS Online 작물정보센터)에 의하면 우리나라 벼의 총 재배면적은 917,990 ha로서 중생종이 약 70%를 차지하고 있으며, 충청, 전남, 동진1호, 남평, 일미, 호품, 일품, 운광, 삼광, 오대등의 10개 품종이 총재배면적의 약 80%를 차지하고 있다.

그림 135에서와 같이 전체 재배지역을 포괄하는 중생종과 중만생종의 16종의 쌀 품종을 지역별로 안배하여 쌀 품종을 선별하여 기본적인 이화학적 분석을 실시하였다. 표 122에서 나타내고 있는 바와 같이 백미의 이화학적 성분 분석 결과, 수분은 10.2% ~ 16.2%의 범위였으며, 조단백의 경우 쌀 품종에 따라 조단백 함량의 차이를 나타냈으며, 멥쌀의 경우 6.1% ~ 7.4%의 범위였으나, 찰쌀인 백진주 품종의 경우 조단백 함량이 8.7%로 가장 높게 나타났다. 또한 아밀로스는 경우 멥쌀의 경우 17.1% ~ 18.9% 이며, 찰쌀의 경우 15.9%로 나타났다. 아밀로스는 포도당의 1-4 결합으로 막걸리 발효에 있어서 발효 완료 후 막걸리 질감을 결정하는 요인으로 작용된다. 백도의 경우 백미의 품질 기준으로 사용되나, 도정율에 따라서 차이가 많이 발생하는 부분이며, 막걸리 품질에 미치는 영향은 미미할 것으로 판단된다.

백미의 수분 함량은 도정 전 건조율 및 도정 시기에 따른 차이로 생각되며, 막걸리 발효에서는 수분율이 높을수록 전분 함량이 낮아진다. 발효 및 알코올 생성의 측면에서는 수분이 낮을수록 알코올 생성에 유리한 측면이 있다. 하지만 낮은 수분은 도정 후 시간이 많이 경과한 쌀로서 산화 및 풍미에 좋지 못한 경향이 있어 가능한 13% ~ 15% 정도가 적절한 수분율이라 판단된다.

각 쌀 품종에 대한 8명의 연구원 패널에 의한 식미 테스트를 위하여 동일한 조건하에서 증자를 진행하여 외관, 향, 식미, 찰기, 종합평가로서 5점 만점 기준으로 5개 항목에 대한 식미테스트를 진행한 결과, 식미의 기호도가 우수한 품종은 삼광, 호품, 히토메보레, 운광, 고시히까리, 충청 등의 품종으로서 식미 우수품종과 지역적으로 우리나라 전국적으로 재배 지역이 높은 품종을 중심으로 막걸리 담금 시의 발효 패턴 및 발효 종료 후의 술덧의 향기, 유기산 분석과 관능 기호도 조사를 통하여 쌀 품종을 선택하였다.



I-1	서남부해안	주요지역 적응품종	고흥, 장흥, 무안, 고창, 부안, 서천 중만생종~만생종
I-2	남부해안	주요지역 적응품종	부산, 김해, 진해, 창원, 고성 중만생종~만생종
II-1	호남평야	주요지역 적응품종	화순, 나주, 장성, 순창, 김제, 논산 중만생종
II-2	영남평야	주요지역 적응품종	함안, 함천, 경산, 김천, 영천 중만생종
III-1	중부평야	주요지역 적응품종	안성, 평택, 여주, 원주, 용인 중생종
III-2	남부중산간지	주요지역 적응품종	보은, 예천, 안동, 구례, 함양 중생종
III-3	중서부해안	주요지역 적응품종	당진, 홍성, 인천, 김포, 강화 중생종
III-4	동남부해안	주요지역 적응품종	울주, 영일, 영덕, 포항 중생종
IV-1	중산간지 및 중간지	주요지역 적응품종	철원, 제천, 영양, 진안, 무주 조생종
IV-2	동북부해안	주요지역 적응품종	고성, 양양, 강릉 조생종
V	고령지	주요지역 적응품종	평창, 인제, 정선 극조생종

그림 135. 우리나라 벼 재배지역 구분

표 122. 국내산 쌀 품종의 이화학적 분석 및 식미 기호도 비교 선정

생육시기	지역	품종	품명	수분 (%)	조단백 (%)	아밀로스 (%)	백도	식미 기호도
Ⅲ-1, 중생종	경기	추청	이천쌀	11.8	6.7	18	40.5	3.4
Ⅲ-3, 중생종		고시히까리	고시마을	11.8	6.2	18	42.1	3.3
Ⅳ-1, 조생종	강원	오대미	오대쌀	11.9	6.9	17.9	40.9	2.2
Ⅲ-3, 중생종	충정	삼광	해나루쌀	11.7	7.1	18.3	40.3	3.5
		호품	굿라이스	10.8	6.5	17.9	41.9	3.2
I-1, 중만생종		일반계	철새진망대쌀	10.4	7.1	17.6	44.9	2.6
I-2, 중만생종	경북	동진	동진쌀	11.2	7.1	18	41.4	2.6
		운광	운광쌀	10.6	6.7	17.8	40.7	3
		백진주	백진주쌀	12.3	8.7	15.9	48.8	3.4
Ⅲ-2, 중생종		일품	아자개쌀	11.2	7.1	17.6	43.2	2.9
I-1, 중만생종	전라	호평	나비쌀	15.4	6.9	18.9	40.8	2.6
		일미	우렁색시미	16.2	7.2	18.6	42.6	2.7
		일반계	푸른꿈마을쌀	10.2	7.2	17.7	43.9	3.1
		히토메보레	한눈에 반한쌀	11.9	6.7	17.9	43.4	3
		신동진	옥토진미	13.7	6.3	18.3	43.9	2.5
		동진	땅끝애	13	7.4	17.5	40	2.5
		보람찬		13	6.2	18.2	41.5	1.8
농업기술원		안다		12.5	7.2	17.7	50	2.5
		드레찬		13.1	6.1	17.1	43.7	2.3
		다산1호		12.7	6.5	17.6	50.9	2.5

(2) 쌀 품종별 막걸리 담금 시험 분석

식미 우수 10개 품종에 대한 막걸리 발효는 발효 온도 25℃에서 진행하였으며, 최종 알코올은 15%에 도달하는 시점에 막걸리를 제성하였다. 여기서 사용한 당화제로서는 발효 제성 후의 누룩취를 배제하기 위하여 당화력이 기존 누룩의 15배정도 강한 4,500 sp의 조효소제를 사용하였다. 발효 알코올 농도 15%에 도달하는 시점은 7일이 소요되었으며, 각 품종별의 발효 패턴에 있어서 알코올 생성, 강도, 산도 등에 있어서 뚜렷한 유의차는 보이지 않았다.

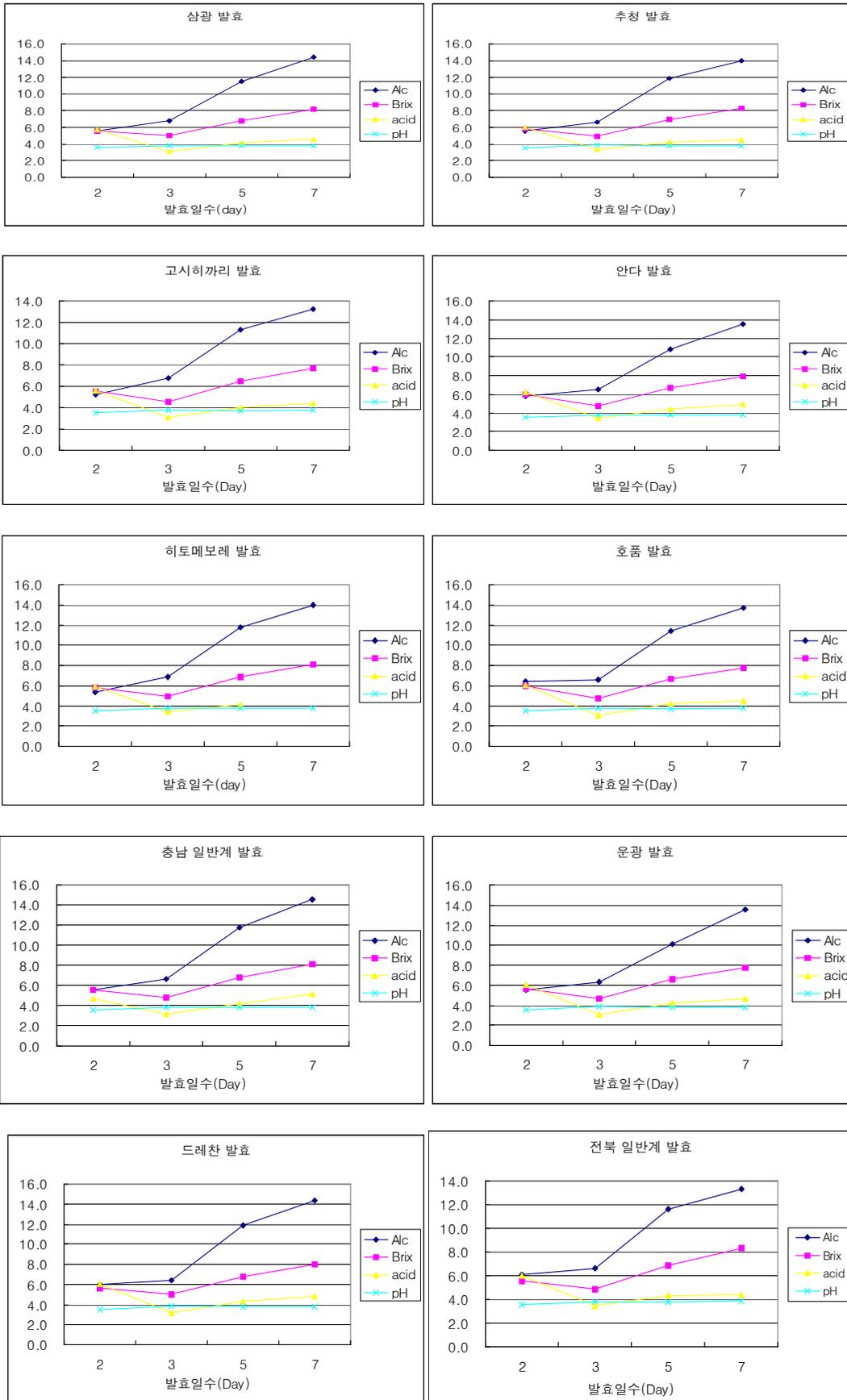


그림 136. 쌀 품종이 막걸리 발효에 미치는 영향

발효 중에 생성되는 술덧의 향기를 알아보기 위하여 GC-MS로 생성되는 향기 성분 패턴을 분석한 결과, 쌀 품종의 차이 없이 isoamyl alcohol 및 active amyl alcohol 등의 고급 알코올류가 약 80% (% 면적) 이상을 차지하였으며, 술 향기 중에서 과실향이나 꽃향기를 나타내는 ester의 향기 성분 중 바닐라향기 성분으로 알려진 isoamyl acetate의 생성량에 있어서 삼광, 추청, 안다, 히토메보레, 호품 품종을 사용한 실험구에서 높은 경향을 나타내었다.

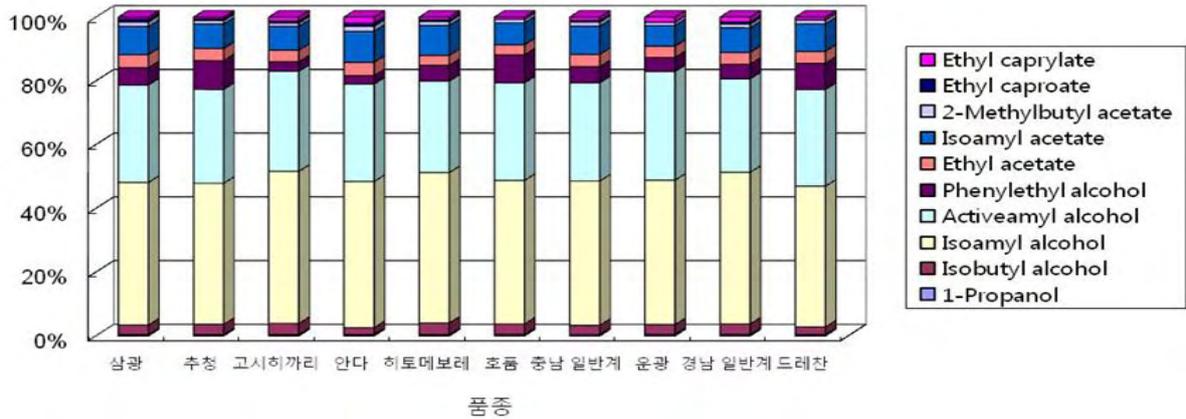


그림 137. 쌀 품종이 막걸리 향기 성분 변화에 미치는 영향

그림 138에서는 각 품종별 발효주에 대한 유기산 성분 분석 결과를 나타내고 있다. 각 품종별 시험구에서 생성된 유기산 중 식품업계에서 산미제와 안정제로 사용되고 있는 malic acid의 생성량이 전체적으로 높은 경향을 나타내었으나, 안다 품종에 있어서 오히려 젓산의 생성량이 높은 결과를 나타내고 있다. malic acid는 막걸리 발효 시 다량 함유할 경우 청량감을 높여 주는 경향을 나타내고 있으며, 본 실험구에서는 삼광, 추청, 고시히까리, 히토메보레 및 호품에 있어서 생성량이 높은 경향을 보였다.

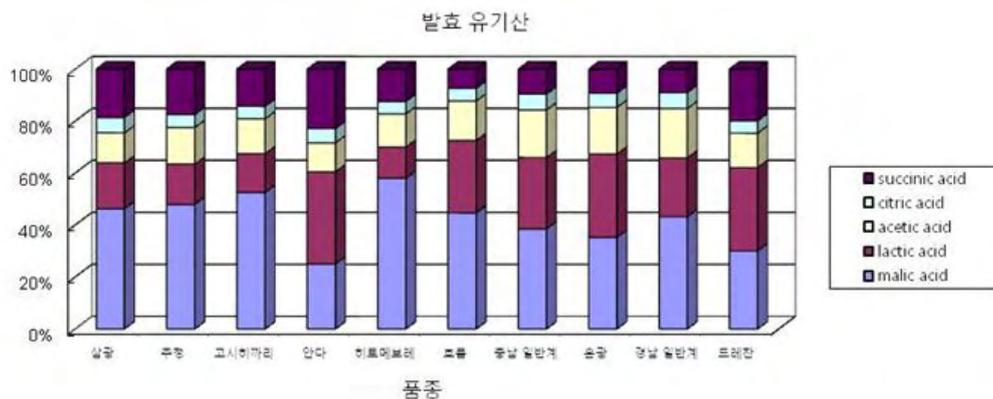


그림 138. 막걸리 발효시 유기산 생성에 미치는 쌀 품종의 영향

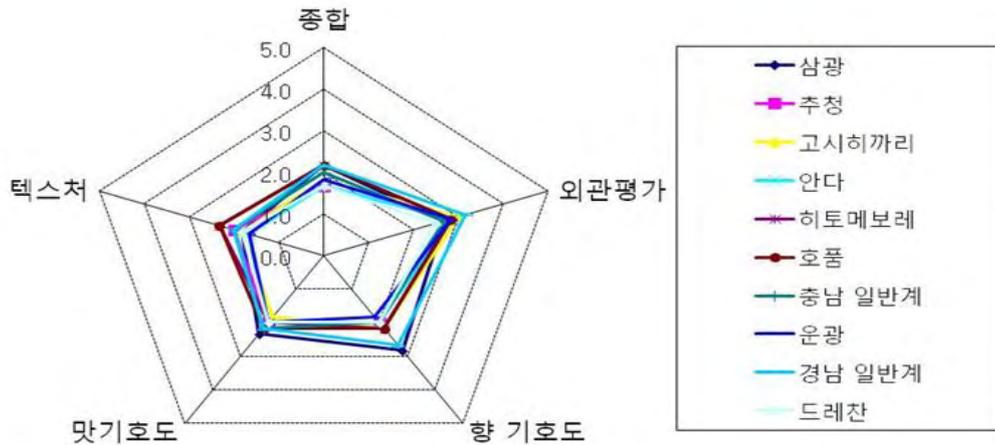


그림 139.. 쌀 품종별 제조한 막걸리 관능 평가

10가지 품종의 쌀을 사용하여 시험 제조한 막걸리의 관능검사는 8명의 연구원 패널에 의하여 진행되었으며, 발효 종료된 술덧을 일반 막걸리의 알코올 농도 6%로 제성한 후 병입하여 병입 2일 후에 동일한 막걸리 잔을 이용하여 관능검사를 수행하였다. 관능검사에는 외관, 맛, 향, 바디감에 대하여 5점 만점 기준으로 진행한 결과 종합적인 항목에 있어서 기호도는 삼광, 추청, 히토메보레, 호품의 순으로 나타났다 (그림 139.). 이는 향기 성분 분석 결과에 있어서 ester 향기 성분 함량이 높은 순서와 유사한 결과를 나타내었으며, 이는 향후의 고급 막걸리에 대한 품질 척도로 사용될 수 있는 것으로 판단된다. 따라서 향후의 고급 막걸리 제조 시험에 있어서는 isoamyl acetate의 높은 생성량 및 관능기호도에서 높은 점수를 받은 삼광을 사용하여 진행하였다.

(3) 누룩 종류에 따른 막걸리 발효

본 실험에서는 막걸리 제조에 사용되는 당화제의 영향을 확인하기 위하여 시중에서 판매되고 있는 조효소제 및 전통 누룩, 개량 누룩과 효소제를 사용하여 막걸리 담금을 진행하여, 발효 과정에서 생성되는 향기 성분의 변화와 유기산 성분 변화에 대하여 검토하였다. 조효소제 및 정제효소의 담금에 있어서는 쌀을 증자하지 않는 생쌀 담금법으로 담금을 실시하였으며, 개량 누룩 및 전통 누룩을 사용한 담금에 있어서는 쌀을 증자하여 진행하였다. 또한 본 실험에서 사용한 당화제의 당화력은 조효소제 I (*Rhizopus* sp.) 4,500 sp, 조효소제 II (*Aspergillus* sp.) 는 3,000 sp, 개량 누룩 1,500 sp, 전통누룩 200 sp 및 효소제는 50,000 sp 이었다.

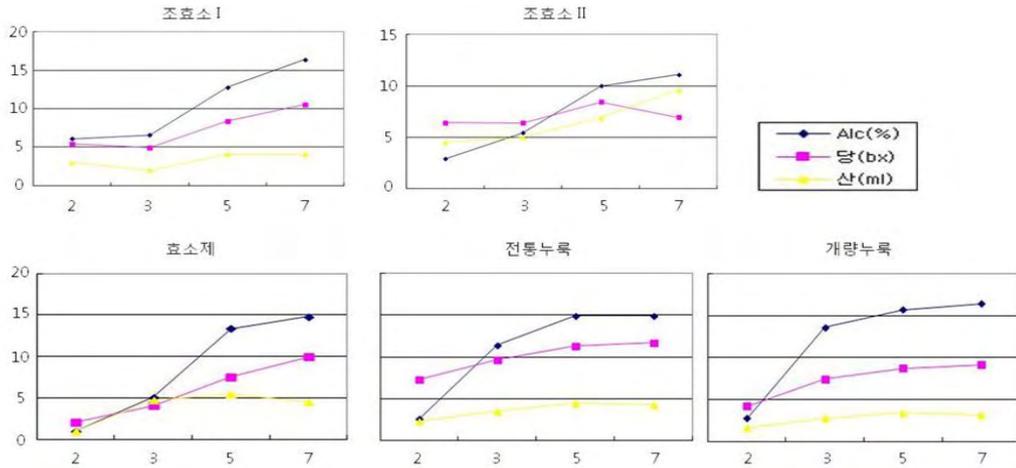


그림 140. 막걸리 제조에 미치는 당화제 종류의 영향

그림 140에 당화제 종류에 따른 발효 일자 별 알코올, 당도 및 산도에 대하여 경시적인 변화를 측정된 결과, 생쌀을 사용한 조효소제 I, 조효소제II 및 효소제 사용군에 있어서 조효소제 II 사용구는 발효 술덧 중에 생성되는 당분의 함량이 다른구에 비해 낮은 함량을 나타내었으며, 이로 인하여 동일한 기간 중에 생성되는 알코올의 함량도 가장 낮은 수치를 보이고 있다. 이는 조효소제 II 가 생쌀 담금에 필요한 Glucoamylase의 활성이 낮은 것에서 기인한 것으로 판단된다. 또한, 전통누룩 및 개량누룩을 사용한 실험구는 조효소제I 및 효소제를 사용한 실험구와 비교하였을 때 발효 알코올, 당도 및 산도에 있어서 유의한 차는 보이지 않았다.

그림 141은 발효과정 중에 생성되는 향기성분의 변화를 경시적으로 측정된 결과이다. 전통 누룩을 사용한 실험구에서는 다른 실험구와 유사하게 고급알코올의 생성량이 높은 경향을 나타내었으나, 발효가 경과할수록 고급 알코올의 함량은 감소하는 경향과 함께 Ethyl acetate의 생성이 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 조효소제 I (*Rhizopus* sp.)을 사용한 실험구에서는 다른 실험구와 달리 발효 후반으로 갈수록 isoamyl alcohol의 감소에 따른 isoamyl acetate의 증가가 뚜렷한 경향을 보였으며, 이는 막걸리에 은은한 과일향을 부여하는 것으로 판단된다.

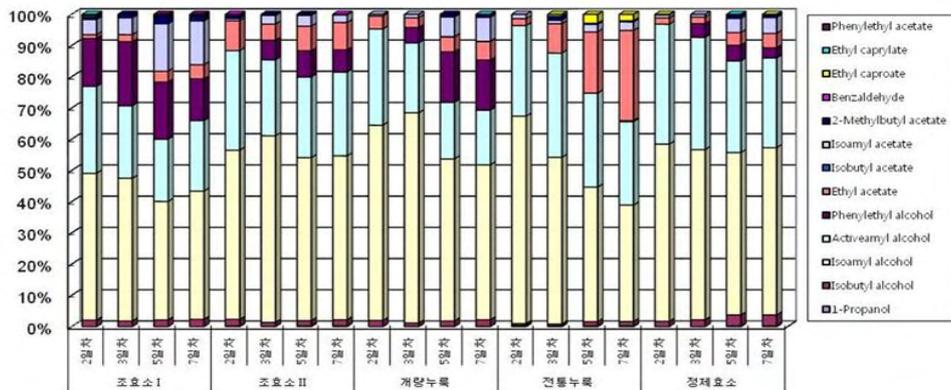


그림 141. 막걸리 제조시 향기 성분 생성에 미치는 당화제의 영향

또한 경시적인 발효경광 따른 유기산 성분 함량의 변화를 측정된 결과 (표 123), 전통 누룩 및 조효소제 II를 사용한 실험구에서 발효 종료 시점에서의 lactic acid 및 acetate 함량이 다른 실험구에 비해 다량으로 존재하는 결과를 나타내었으나, 조효소 I을 사용한 실험구에서 함량이 가장 낮은 결과를 나타냈다. 이와는 달리 슬덧에 상큼한 신맛을 유발하는 malic acid의 함량은 조효소I의 실험구에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 상기의 결과 및 관능 테스트를 종합하여 고급 막걸리의 제조에 있어서는 조효소제 I을 사용하여 다음의 실험을 진행하였다.

표 123. 막걸리 제조 시 유기산 생성에 미치는 당화제의 영향

	발효일수	유기산 분석 (단위: ppm)				
		malic acid	lactic acid	acetic acid	citric acid	succinic acid
조효소1	발효2일	1,144	4,457	486	721	433
	발효3일	166	4,543	368	505	258
	발효5일	1,858	3,141	544	606	649
	발효7일	1,430	2,972	419	588	950
조효소2	발효2일	89	4,015	849	554	480
	발효3일	1,138	9,466	750	662	361
	발효5일	1,051	9,719	1,421	434	294
	발효7일	923	7,761	1,606	188	486
개량누룩	발효2일	36	1,251	435	195	641
	발효3일	10	2,961	465	454	255
	발효5일	93	7,037	659	300	539
	발효7일	278	1,032	611	458	596
전통누룩	발효2일	8	13,113	1,285	576	1,365
	발효5일	220	14,581	586	593	1,599
	발효7일	219	18,476	1,287	645	2,536
정제효소	발효2일	268	754	332	143	612
	발효3일	66	242	639	113	568
	발효5일	127	3,945	960	248	783
	발효7일	110	4,577	853	321	883

나. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 성상 분석

(1) 원료 처리 방법 - 원료 증자 및 무증자 처리에 따른 막걸리 성상 비교

막걸리 담금 시 백미 처리 방법에 따라서 막걸리 성상 차이를 확인 하고자 먼저 조효소 I을 사용하여 쌀을 증자 또는 무증자에 따른 막걸리 발효 패턴 및 유기산 분석과 향기 성분에 대하여 비교하여 적절한 원료의 처리방법에 대하여 검토하였다. 그림 142에 발효 패턴에 대한 결과를 나타내었다.

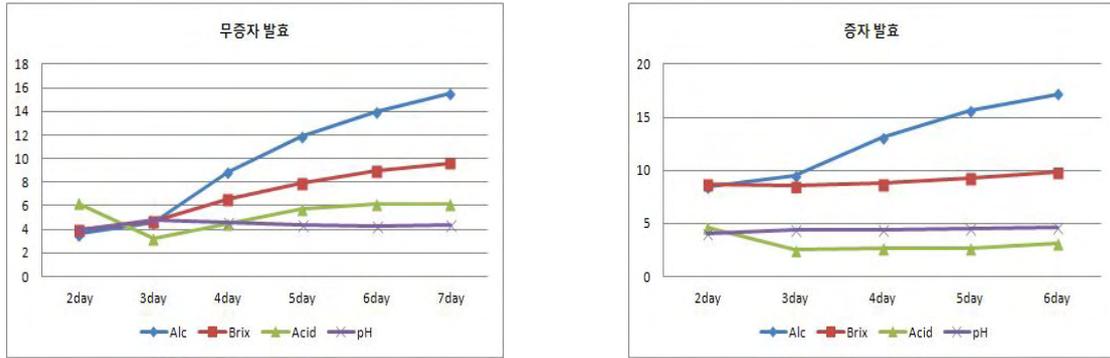


그림 142. 원료 처리 방법(증자, 무증자)에 따른 막걸리 발효에 미치는 영향

무증자 및 증자한 실험구의 발효 실험구에 있어서 무증자 발효의 경우 발효 7일차 까지 알코올 15.5% 생성이 진행 되었으나, 증자 발효의 경우 발효 6일차에 17.2%의 알코올 생성을 확인 하였다. 발효 중에 변화되는 당도에 있어서 증자한 백미를 사용한 실험구가 발효 초기부터 당도가 높은 경향을 나타내었으나, 무증자 백미를 사용한 실험구의 경우는 발효가 진행됨에 따라 증자 조건의 시험구에 비해 급격히 상승하는 경향을 나타내었다. 이는 사용한 조효소 제 I이 glucoamylase 활성 외에 높은 α -amylase 활성을 지님에 따라 호화 전분의 분해력에 차이가 생기기 때문으로 추측된다. 이와는 달리 발효 중 변화하는 산도에 있어서 증자 조건의 실험구의 산도가 낮은 경향을 나타내었다. 이는 표 124에서 보이고 있는 바와 같이 증자 막걸리의 경우는 Malic acid가, 무증자 막걸리는 Lactic acid의 높은 생성량을 나타내었으며, 전체적으로 유기산의 함량은 증자 막걸리 보다 무증자 막걸리에 있어서 높은 경향을 나타내었다. 막걸리에서 생성되는 유기산 성분에 따라서 막걸리 향미가 다르게 나타나며, 유기산 성분이 많이 발생되면 막걸리 산패의 결과로 볼 수 있으나, 적정량의 유기산은 막걸리 청량감을 부여하고 맛의 풍미를 개선시키는 효과가 있다.(이상진, 2011)

표 124. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효 유기산 성분의 경시적 변화 (단위:ppm)

원료처리	발효일수	malic acid	Lactic acid	acetic acid	citric acid	succinic acid
무증자	2day	1,152	2,006	5,609	801	1,226
	3day	479	374	3,446	201	605
	6day	254	2,732	1,557	12	974
증자	2day	4,796	399	1,012	160	741
	3day	2,849	393	1,507	143	917
	6day	1,734	348	1,611	112	1,034

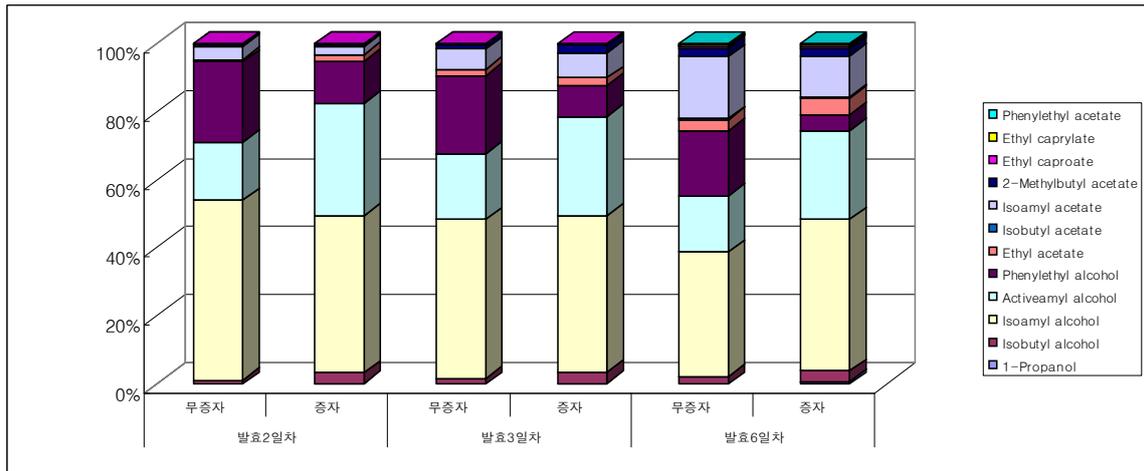


그림 143. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효 향기 성분의 경시적 변화

발효 초기에 있어서는 두 시험구 모두 고급알코올의 향기 성분이 대부분을 차지하고 있으나, 무증자 시험구에 있어서는 꽃향기의 성분인 phenylethylalcohol의 생성량이 높은 경향을 나타냈으며, 발효가 진행됨에 따라, 무증자 시험구의 쪽이 증자 시험구보다 isoamyl alcohol의 함량의 감소폭이 증가하는 경향을 나타내었으며, 또한 발효 말기에는 isoamyl alcohol의 감소와 더불어 생성되는 isoamyl acetate의 증가량이 증자 시험구보다도 무증자 시험구에 있어서 2배정도 증가하는 경향을 나타내었다. 발효 말기에 있어서의 isoamyl acetate를 포함하는 ester 향기 성분들은 막걸리 제조 시 과일향, 바닐라향, 단향을 나타내는 물질이다. 일본의 경우에 있어서는 청주에 대한 등급분류에 대한 척도로서 Isoamyl acetate 및 Ethyl caproate 등의 음향향 등으로 기준을 삼고 있는 것 (Hiroko, 1998)과 비교할 때 막걸리 제조에 있어서 과일향 등의 생성은 고급 막걸리를 제조하는 데에 있어서 중요한 척도일 것으로 판단된다. 원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효 결과 알코올 생성 및 전분질 분해 속도에서는 증자 발효법이 빨랐으나, 막걸리의 과일향 및 바닐라 향과 같은 풍미와 청량감을 가질 수 있는 막걸리 발효법으로 원료를 증자하지 않는 방법으로 향후의 실험을 진행하였다(손순기 1990).

(2) 백미 도정율에 따른 막걸리 발효

일반적으로 쌀 표면에는 조단백 및 지방 성분과 무기 성분이 많이 함유하고 있으며 안쪽에는 전분질 성분으로 구성되어 있다. 쌀 표면에 주로 함유되어 있는 단백질은 최종적으로 누룩 및 효모가 갖고 있는 protease 및 peptidase에 의해서 아미노산으로 전환되어 효모의 생육에 필요한 영양분으로 공급되기도 하나, 술덧에 과잉의 아미노산이 잔존하게 되면 술맛을 느끼하게 하는 원인으로 작용한다. 일본의 청주의 경우에 있어서는 사용하는 효모 등의 차이는 있으나, 원료쌀의 도정율에 따라서 청주의 등급을 나누고 도정율이 높은 원료를 사용하여 제조한 술에 있어서 음향향이라고 하는 꽃향 과일향을 부여하여 고급주류로 분류하고 있다.

고품질 막걸리 생산을 위한 쌀의 도정율에 따른 막걸리 차이를 확인 하고자, 식미기호도

평가에서 선정된 원료쌀 중 삼광 품종에 대하여 일본 SATAKE사 정맥기를 이용하여 10%, 30% 및 50%로 도정하여 이화학적 분석을 진행하였다. 표 125에 그 결과를 나타내었다. 도정율이 높아질수록 조단백, 조지방, 인, 마그네슘, 칼륨 등의 함량이 유의적으로 감소하였다.

표 125. 도정율에 따른 이화학적 성분

도정율 (%)	항목							
	회분 (%)	조지방 (%)	식이섬유 (%)	인 (mg/100g)	칼륨 (mg/100g)	마그네슘 (mg/100g)	조단백 (%)	수분(%)
10	0.4	0.9	6.5	92.18	87.65	20.83	5.6	14.5
30	0.2	1.0	6.2	50.92	62.60	5.09	5.0	14.2
50	0.2	0.6	5.7	49.30	57.53	4.57	4.9	13.1

각 도정율에 따른 발효 담금 시에 도정율에 따른 발효 패턴에 대하여 검토한 결과는 그림 144에 나타낸바와 같이, 도정율에 따른 알코올 농도, 산도, 당도 등의 변화를 측정된 결과 유의차는 나타나지 않았다.

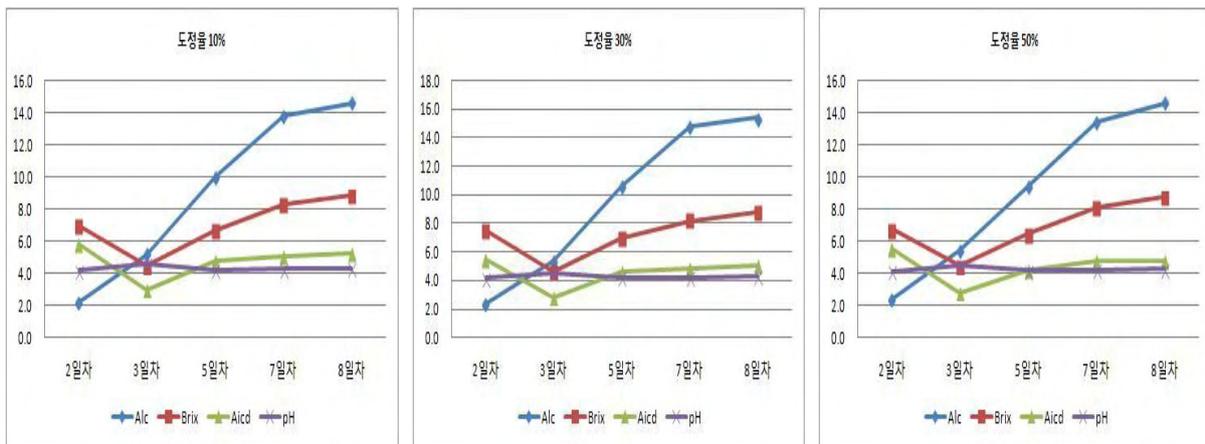


그림 144. 도정율이 막걸리 발효에 미치는 영향

도정율에 따른 발효 일자별 향기 성분의 변화를 측정된 결과는 그림 145이다. 전반적으로 각 도정율이 다른 막걸 발효 일수에 따라 향기성분은 전반적으로 고급알코올류는 전체 향기 면적의 약 50%까지 감소하는 경향을 나타내었으며, 이에 반하여 ester의 향기성분은 증가하는 경향을 나타내었다. 그중에 있어서도 도정율이 증가할수록 Ehtyl octanoate 및 ehtyl decanoate는 약간 증가하는 경향을 나타내었으나, isoamyl acetate는 도정율 10%에 있어서 가장 많은 함량을 나타내었다. 이는 도정율이 낮을수록 조단백질의 함량이 높아 isoamyl acetate의 전구물질인 isoamyl alcohol의 함량에 의한 영향인 것으로 추측된다. 이러한 향기성분의 차이가 관능적으로 어떠한 영향을 미치는지에 대하여 검토한 결과를 그림 12에 나타내었다.

관능을 위하여 발효가 종료된 술덧을 알코올 6%로 제성한 한 후, 외관(색택), 향기, 맛,

텍스처, 종합평가에 대한 5점 기호척도법으로 수행한 결과, 도정율이 높을수록 깔끔하다는 평가이외에는 각각의 항목 및 종합적인 평가에 있어서 큰 유의차를 나타내지 않았다. 이에 따라 향후의 실험에 있어서는 도정율 10%로 진행하였다.

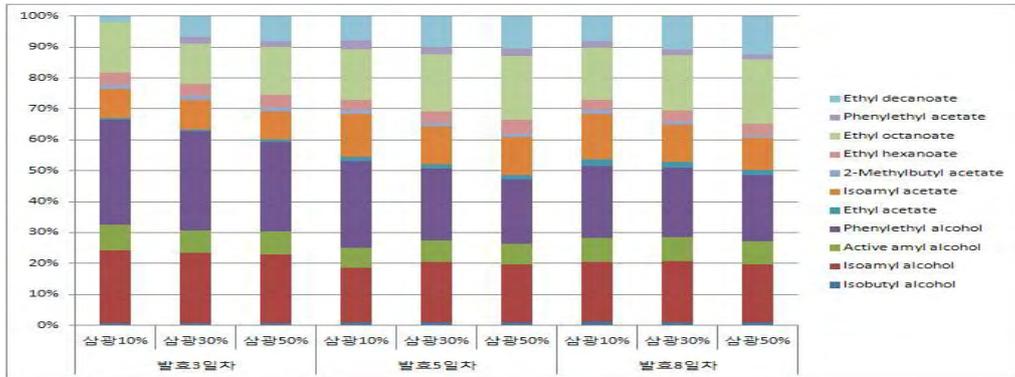


그림 145. 막걸리 발효 삼광 도정율이 향기 성분에 미치는 영향

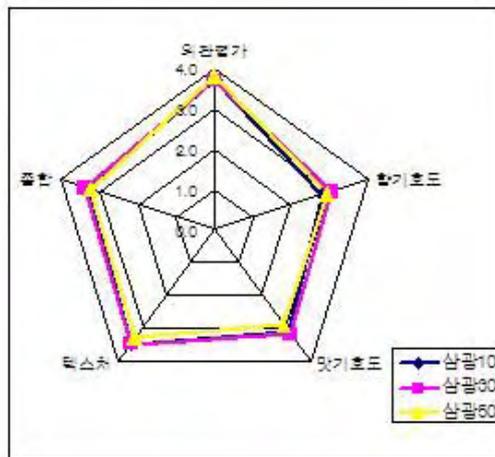


그림 146. 원료쌀 품종의 도정별 막걸리 관능 평가

(3) 원료 처리 방법 - 쌀 분쇄 입도 차이에 따른 막걸리 성상 비교

원료 처리 방법에 따른 막걸리 발효에서 무증자 발효법이 막걸리의 향미 및 청량감 개선 효과를 확인하였다. 무증자 발효 시 누룩의 효소 작용을 촉진하기 위해서 침지한 후 백미를 분쇄하는 과정에 있어서 분쇄입도가 주질에 미치는 영향을 검토하기 위하여 분쇄입도 20, 40, 60 mesh로 분쇄하여 발효 패턴 및 향미, 당 성분 변화를 확인 하였다.

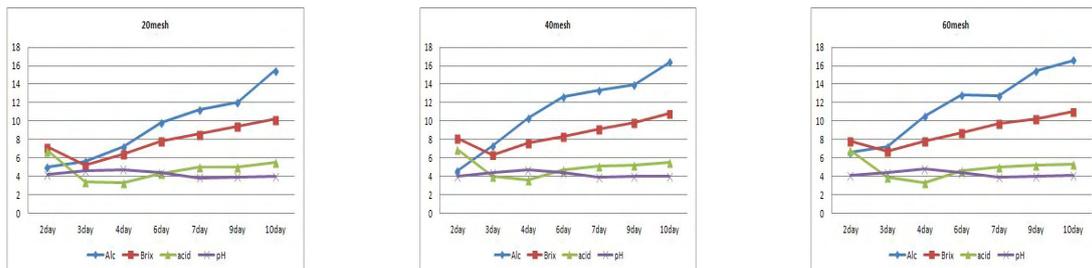


그림 147. 막걸리 발효에 미치는 원료쌀의 분쇄 입도별 영향

백미 분쇄 입도별 막걸리 발효는 발효 온도 20℃에서 한 결과, 알코올 기준으로 20 mesh 가 가장 낮은 15.7%를 보였으며 60 mesh 16.5% 알코올 생성을 나타냈다. 알코올 생성과 더불어 효소에 의해서 전분에서 전환되는 당의 생성량 또한 분쇄입도가 증가할수록 술덧에 포함되는 당분의 함량은 높아지는 경향을 나타내었으며, 이는 쌀 입자에 대한 효소의 반응 속도가 촉진되는 것으로 판단된다. 이 결과를 토대로 술덧에 잔존하는 당분의 증가는 막걸리 제조 시에 단맛의 유지를 위하여 첨가하는 아스파탐의 합성감미료를 첨가하지 않는 막걸리의 제조에 가능성이 있을 것으로 판단된다. 각 시험구에서의 효소에 의해 전분에서 전환되는 Glucose의 경시적인 변화에 대한 결과를 그림 148에 나타내었다. 발효 초기에 있어서 생성되는 Glucose의 양은 분쇄 입도가 적을수록 술덧 중에 축적되는 함량은 증가하는 경향이거나, 이는 분쇄 입도가 증가할수록 생성되는 발효 알코올이 증가하는 경향에 비추어 볼 때, 생성되는 당이 효모에 의하여 알코올로의 전환이 빠른 것에 기인되는 것으로 생각된다, 그러나 발효 말기에 술덧에 축적되어 있는 glucose의 함량은 분쇄 입도를 40 mesh 이상의 경우에 있어서는 20 mesh로 처리한 시험구 보다 높은 경향을 나타내고 있다.

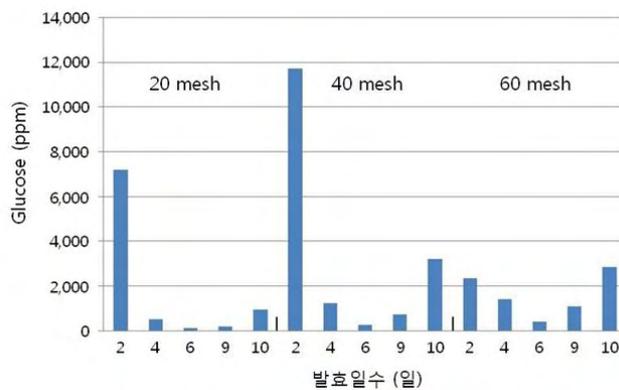


그림 148. 분쇄입도별에 따른 경시적 glucose 함량 변화

막걸리의 품질 지표로 판단되는 향기 성분의 생성은 그림 149와 같다. 쌀의 분쇄 입도에 따른 향기 성분의 경시적인 변화를 확인한 결과 모든 시험구에 있어서 발효 4일차부터 isoamyl acetate의 생성량은 증가하는 경향을 나타내고 있으며 분쇄입도에 따른 향기 성분의 변화에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 따라서 알코올 생성 및 당 생성 등의 영향을 고려하면 분쇄입도는 40 mesh 이상이 적합한 것으로 추측된다.

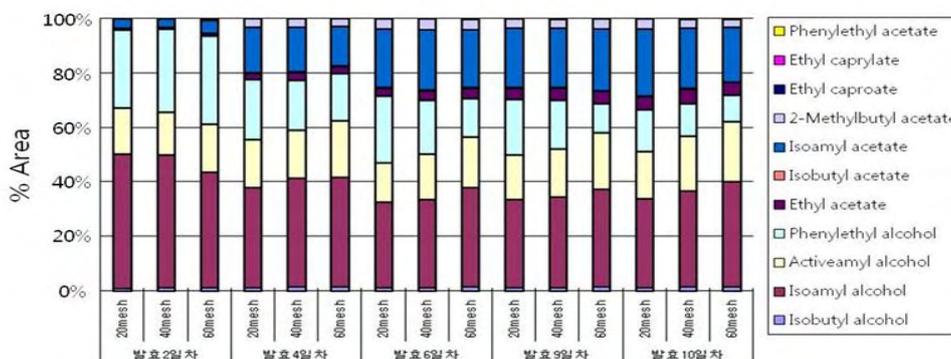


그림 149. 막걸리 발효시 향기 성분 변화에 미치는 원료쌀 분쇄 입도의 영향

다. 막걸리 담금 급수별 발효

본 실험에서는 막걸리 담금 시 원료량 대비 급수율이 막걸리 품질에 미치는 영향을 검토하기 위하여 원료 대비 급수율을 150%, 200%, 250% 및 300%로 하여 담금 시험을 진행하였다.

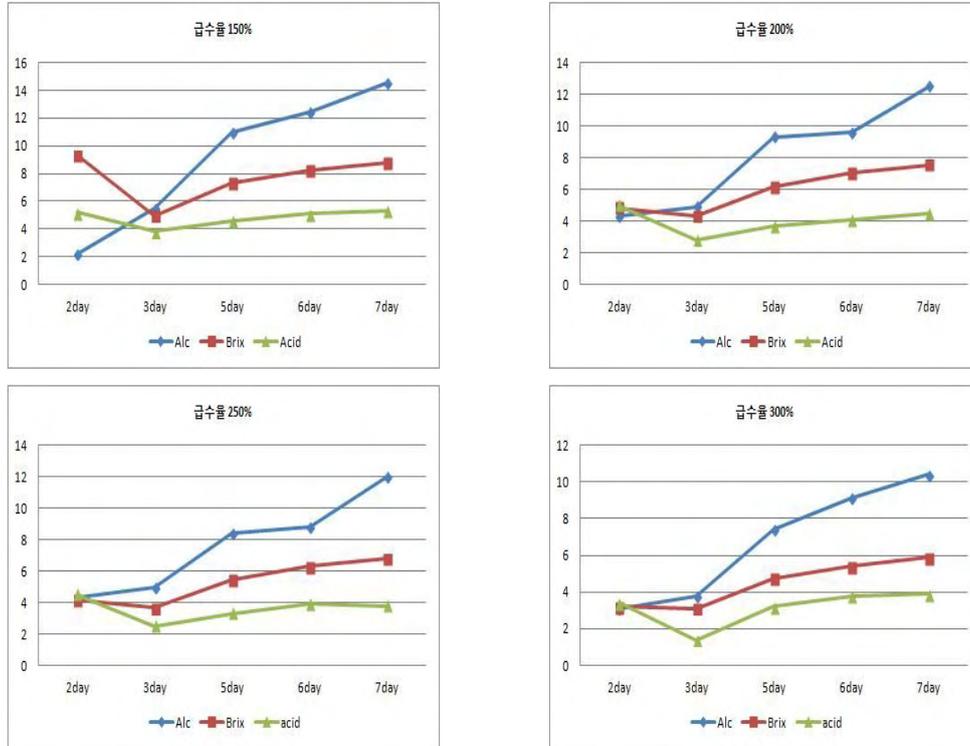


그림 150. 막걸리 발효에 미치는 급수 비율의 영향

막걸리 담금 급수별 발효는 25°C에서 7일간 발효를 진행한 결과 최종 발효 알코올은 150% 급수가 가장 높은 14.5%를 나타냈으며, 300% 급수의 경우 10.4%로 가장 낮게 나타났으나, 주정 계수(알코올% x 발효 주량L)로 환산 시 알코올 생성량은 300% 급수가 높게 나타나고 있다.

또한 담금 급수 비율별에 따른 유기산의 분석을 진행한 결과 (표 126) 유기산의 조성의 차이에 있어서는 특이한 유의차를 보이지 않았으나, 300% 급수 비율군에 있어서 측정된 유기산 함량의 합에 비례한 malic acid의 함량 비율 2.13%로 다른 시험구 (약 15%의 비율)에 비해 현저하게 낮은 비율을 나타내고 있는 반면, Lactic acid의 비율은 다른 시험구에서의 비율이 60 ~ 62%이었으나, 300% 급수군에서는 약 73%로 높은 비율을 나타내고 있었다.

급수율에 따른 막걸리 발효 향기 성분 측정은 그림 151에 나타나듯이 발효가 진행됨에 따라 Isoamyl acetate 생성량이 증가하는 경향을 나타내었으나, 급수비율이 적은 150% 시험구에서 Isoamyl acetate의 함량이 가장 높은 경향을 나타내었으며, 급수 150%의 시험구가 관능 시 향기호도가 가장 높은 실험군으로 선택된 것과 일치하는 결과를 나타내었으며 (그림 151), 맛 기호도 면에 있어서도 높게 나타났다. 다만 발효 시 소모되지 않은 쌀의 전분질이 많이 남아 있어 텍스처나 외관에서는 조금 선호도가 떨어지는 것으로 나타났다. 급수비가 낮을수록 향과 맛 선호도가 높게 나타나고 급수비가 높을수록 외관 및 텍스처에 대한 평가가 높게 나타나는 것을 경향을 나타냈다.

표 126. 담금 급수 비율에 따른 막걸리 발효시의 유기산 성분의 경시적 변화

급수율	발효일수	유기산 분석 (단위: ppm)				
		malic acid	lactic acid	acetic acid	citric acid	succinic acid
150%	발효2일	1,432	5,762	1,473	1,277	750
	발효3일	1,112	5,261	685	321	358
	발효5일	1,634	5,619	678	644	388
	발효7일	1,197	4,911	542	581	628
200%	발효2일	1,906	5,727	674	294	525
	발효3일	1,315	4,089	621	554	320
	발효5일	1,187	4,401	560	544	392
	발효7일	1,094	4,191	491	511	593
250%	발효2일	1,929	4,916	626	273	490
	발효3일	1,102	3,279	548	264	286
	발효5일	951	3,761	518	495	394
	발효7일	901	3,608	466	463	493
300%	발효2일	1,180	3,487	479	366	417
	발효3일	922	3,431	544	537	306
	발효5일	127	3,751	521	396	376
	발효7일	115	3,942	522	358	464

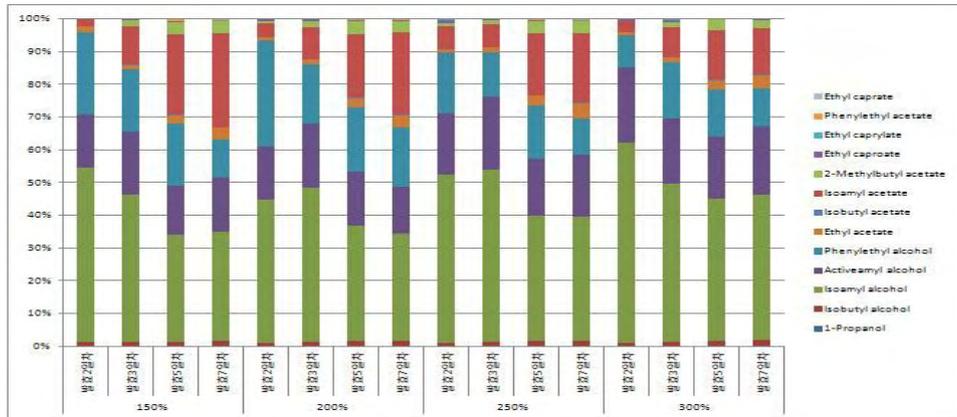


그림 151. 막걸리 담금 급수율에 따른 막걸리 향기 성분의 경시적 변화

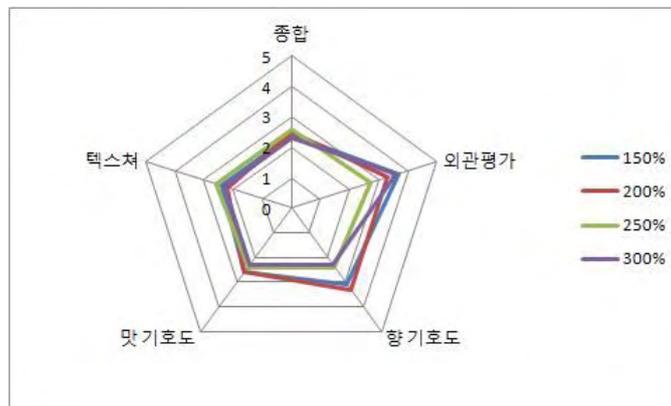


그림 152. 막걸리 담금 급수율에 따른 관능 평가

라. 막걸리 담금수 정도별 막걸리 발효

막걸리의 성분 중 80% 이상이 물로 되어 있으며 막걸리 발효 시 전분의 당화를 위한 효소 작용, 알코올 발효를 위한 효모 성장 등에 있어서 물에 함유되어 있는 미네랄 함량은 중요하다. 칼슘이온이나 마그네슘 이온을 많이 포함하는 물을 경수라 하고 그 반대 개념을 연수라 한다. 일반적으로 경수로 술을 빚으면 강한 술이, 연수로 술을 빚으면 부드러운 술이 만들어진다고 얘기되고 있는데 이는 물속에 포함되어 있는 미네랄 성분에 의한 효모 생육과도 관계가 있다.

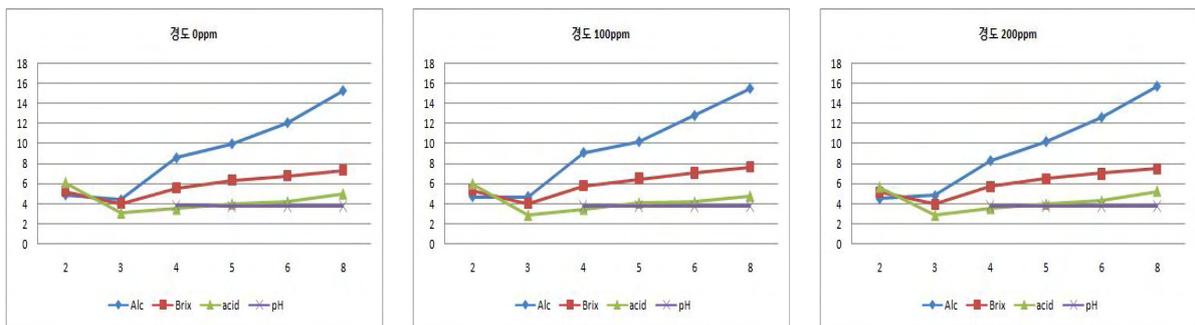


그림 153. 담금수 정도가 막걸리 발효에 미치는 영향

막걸리의 경우 사용되는 물의 경도에 따라서 발효 패턴을 확인한 결과, 막걸리 담금 시 연수에 마그네슘 첨가로 경도를 조정하여 발효를 진행한 결과 발효 시 생성되는 알코올, 당, 산도의 차이는 없는 것으로 나타났다.

또한, 발효 중의 향기 성분의 경시적인 변화를 측정해 본 결과, 그림 154에서 보이는 바와 같이 100 ppm의 시험구에서 isoamyl acetate의 생성이 다른 시험구에 비해 소량 증가한 결과를 나타내었으나, 전체적인 ester 성분에 있어서는 200 ppm 시험구와 유사한 결과를 나타냈다. 정도별 막걸리 제품의 관능평가는 그림 21에서와 같이 텍스처, 외관에서는 거의 유사하여 구별이 어려웠으나, 사용한 물의 경도가 높을수록 종합적인 척도에서 기호도가 높아지는 결과를 나타내었다.

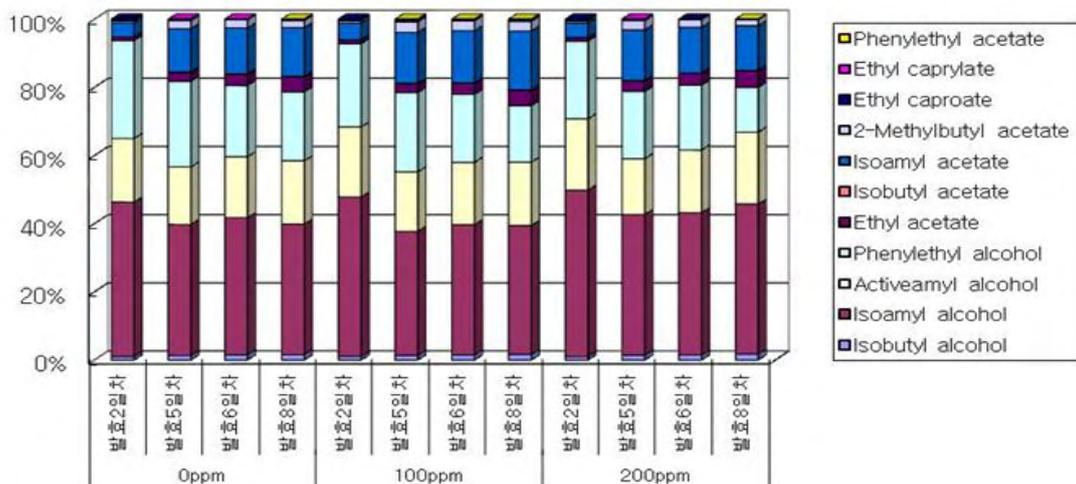


그림 154. 담금수 정도에 따른 막걸리 발효시 향기 성분의 경시적 변화

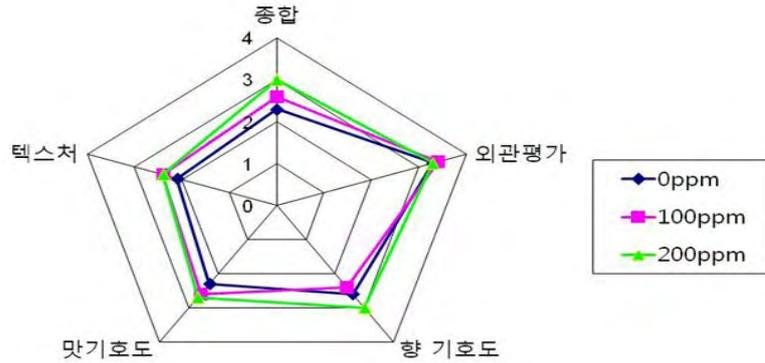


그림 155. 담금수 정도에 따른 막걸리 관능 평가

마. 막걸리 발효 온도별 막걸리 발효

일본 청주 담금에 있어서는 발효 온도를 저온으로 유지하면서 담금을 하는 것이 일반적이나 막걸리의 담금에 있어서는 일반적으로 25℃를 전후로 하여 담금을 진행하고 있다. 그러나 효모에 의한 향기성분 생성에 관여하고 있는 alcohol acetyltransferase (AATase)는 상온보다 저온에서 그 활성이 높아 막걸리 담금에 있어서는 저온 발효를 진행함으로써 ester향기 성분의 증가를 유도할 수 있을 것으로 추정할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 발효 온도를 25℃와 15℃에서 진행하면서 온도에 따른 발효 패턴 및 향기성분들의 경시적인 변화를 검토하였다.

그림 156에서 보이고 있는 바와 같이 25℃ 발효를 진행한 경우 발효 7일 만에 알코올 15.5%를 생성하였으나, 15℃ 발효의 경우 15일이 소요되었다. 또한 발효 온도는 누룩의 전분 분해효소 활성에 영향을 미치는 인자로서 15℃ 발효군에서는 당도가 서서히 상승하는 경향을 보이나 25℃ 발효군에서는 급격히 상승하는 경향을 나타내었으나, 발효말기에 있어서 측정되는 당도 및 산도에 있어서 25℃ 발효군이 보다 높은 수치를 나타내었다.

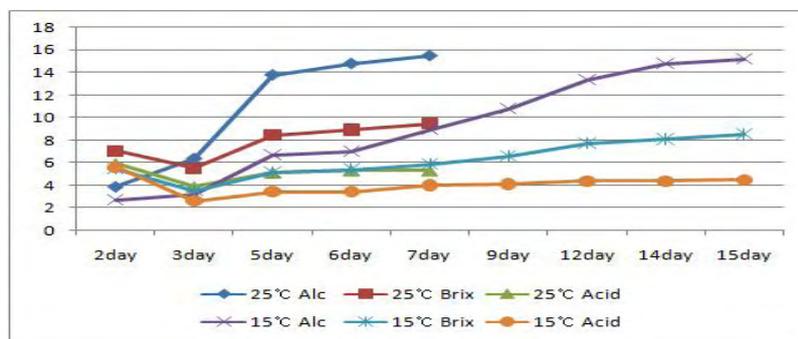


그림 156. 막걸리 발효 온도가 막걸리 발효에 미치는 영향

발효 온도별 막걸리 향기 성분 분석 결과는 그림 157과 같다. 15℃ 발효 조건과 25℃ 발효 조건에서 향기 성분의 경시적인 변화를 검토한 결과, 25℃에서는 고급알코올류의 생성이 높

은 반면, 15℃ 발효 조건에서 고급 알코올류의 감소에 따라 ester류의 생성이 증가하는 경향을 나타냈다. 특히 ester중에서도 ethyl caproate 및 ethyl caprylate의 생성이 증가하여 25℃에서 발효한 시험구 보다 15℃에서 발효한 시험구에서 보다 풍부한 과실향을 부여할 수 있었다. 이는 효모들이 갖고 있는 alcohol acetyltransfermase의 효소 활성 안정성에 있어서 고온보다는 저온에서 안정하기 때문인 것으로 생각된다.

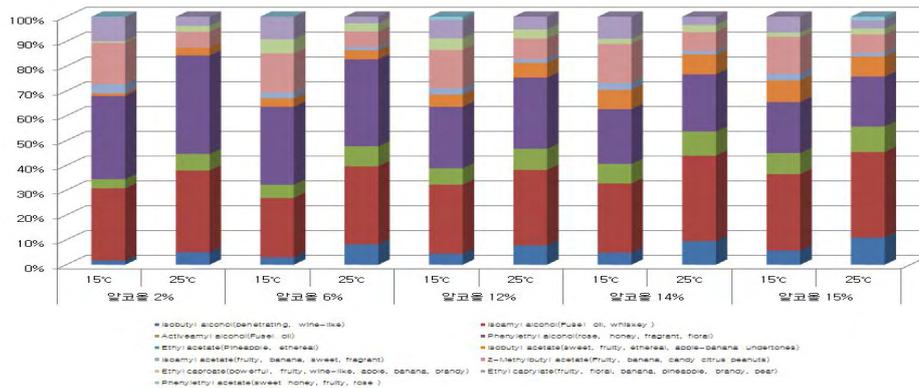


그림 157. 막걸리 발효 온도에 따른 막걸리 향기 성분의 경시적 변화

6. 막걸리의 이화학적 위해 성분 분석

가. 시판막걸리에서의 에틸카바메이트 함량 분석

에틸카바메이트는 1943년 동물에서의 발암성이 입증된 이후 발효식품에서 지속적인 관리가 수행되어 왔으며 알코올 음료의 경우 와인 및 일부 약주에서 15 ppb 농도로 검출된 사례가 있으나, 김 (김학수, 2011)은 시판되고 있는 막걸리 67 종에서 에틸카바메이트를 분석한 결과 평균 1.03~16.02 ppb이었다고 보고하고 있다. 본 실험에서도 표 127에서 보이고 있는 바와 같이 시판되고 있는 막걸리에서 검출된 에틸카바메이트의 함량은 0.888 ~1.940 ppb의 범위에 있었다. 이는 식약청 기준규격 신설 입안 예고(식품의약품안전청공고 제2008-25호)에서 고시하고 있는 포도주 기준인 30 ppb에 못 미치는 결과로 나타난다. 따라서 에틸카바메이트는 유통기한 이내 막걸리의 위해 후보요인으로 선정하기 어렵다고 판단하였다.

표 127. 시판 막걸리의 에틸카바메이트 함량 분석결과

시판 생막걸리	EC (ng/g, ppb)	제품 Alc.(%)
A사 (제조5일차)	1.012	6.4
B사 (제조2일차)	0.994	5.8
C사 (제조8일차)	0.888	6.8
D사 (제조13일차)	1.648	6.8
E사 (제조3일차)	1.940	6.4

나. 시판 막걸리의 성상 분석 및 바이오제닉 아민 함량 측정

바이오제닉 아민의 생성과 관련하여 시판 막걸리에 대한 바이오제닉 아민 함량을 분석 하였으며, 막걸리 보관 온도에 따른 바이오제닉 아민의 변화를 진행 하였다.

(1) 시판 막걸리의 일반 성분 분석 및 바이오제닉 아민 함량

7종 시판 막걸리의 일반성분의 큰 차이가 없었으며 제조사의 제조 특징에 따라 당도는 다소 차이가 있는 것으로 사료 된다. 또한, 바이오제닉 아민의 함량을 분석한 결과 Spermidine 의 함량이 높았고, 그림 158에서와 같이 총 바이오제닉 아민 함량이 높은 A(13.81 ppm), B(15.59 ppm), C(13.41 ppm), D(16.02 ppm)사의 제품을 이용하여 저장 온도별 실험 sample로 선정 하였다.

(2) 시판 막걸리의 저장온도별 바이오제닉 아민 함량 변화

저장온도 5°C에서는 4개사 제품 모두 일반 성분의 변화는 크게 없는 것으로 나타났으면 바이오제닉 아민도 증가 되지 않는 것으로 나타났다. 이는 저온의 경우 효모 및 일반 세균의 활성이 떨어져 주질에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

표 128. 시판 막걸리의 일반 성분 분석

sample	알코올(%)	총산(%)	당도(Brix°)	pH
A	5.5	0.08	11.83	5.11
B	6.4	0.17	4.07	4.18
C	6.4	0.13	3.63	4.50
D	7.1	0.16	3.71	4.27
E	6.8	0.10	3.34	4.50
F	6.8	0.08	3.54	4.83
G	7.0	0.13	3.71	4.28

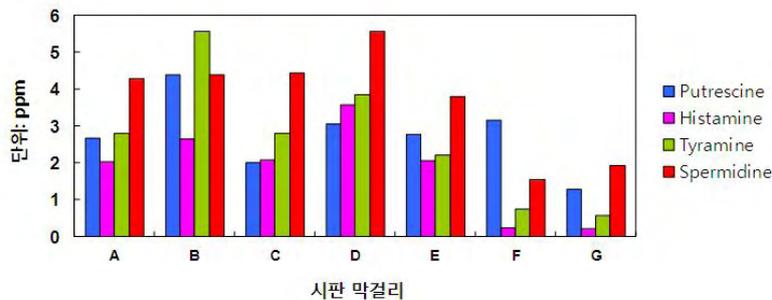


그림 158. 시판 막걸리에서 바이오제닉 아민 함량 측정

10°C 저장의 경우 5°C 보다는 일반 성분의 변화 폭이 크기는 하지만 주질에 영향을 미칠 정도로 변하지 않았다. 또한, 바이오제닉 아민 함량은 유지되거나 증가하지 않는 경향을 보였는데 이는 미생물 군수의 큰 변화가 없는 결과와 일치 하며, 막걸리의 저장 온도가 바이오제닉 아민 및 미생물의 생육, 활성에 직접적 영향을 미치는 것으로 추정된다.

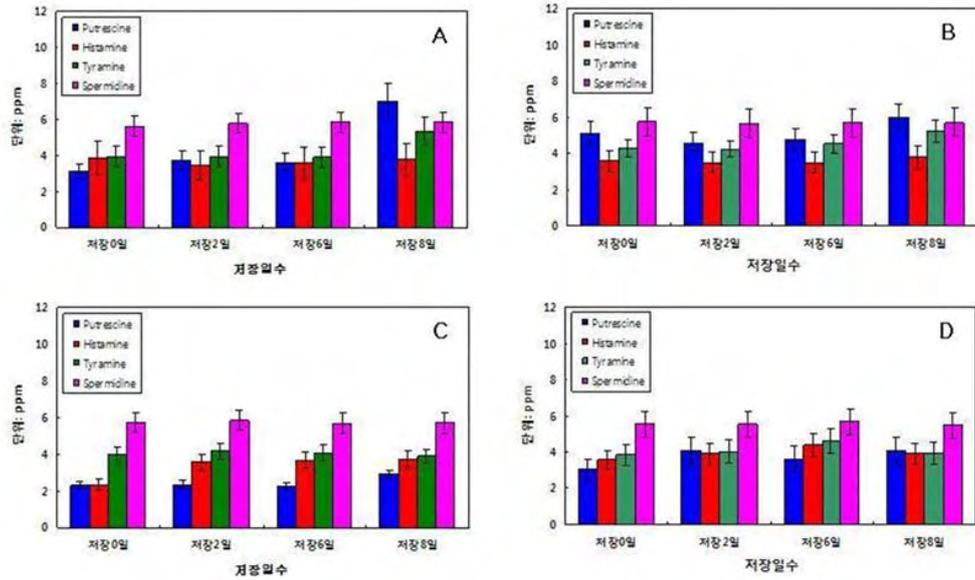


그림 159. 5°C 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향

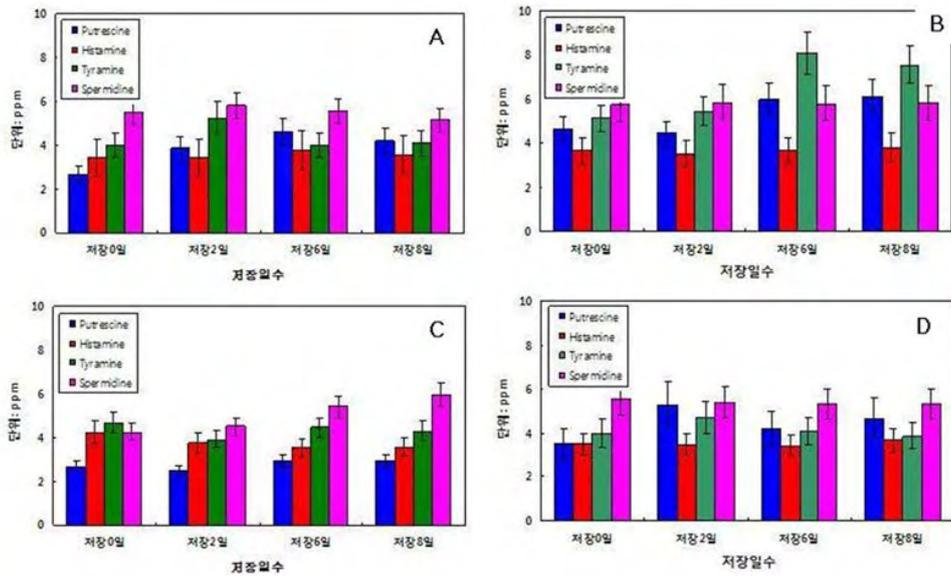


그림 160. 10°C 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향

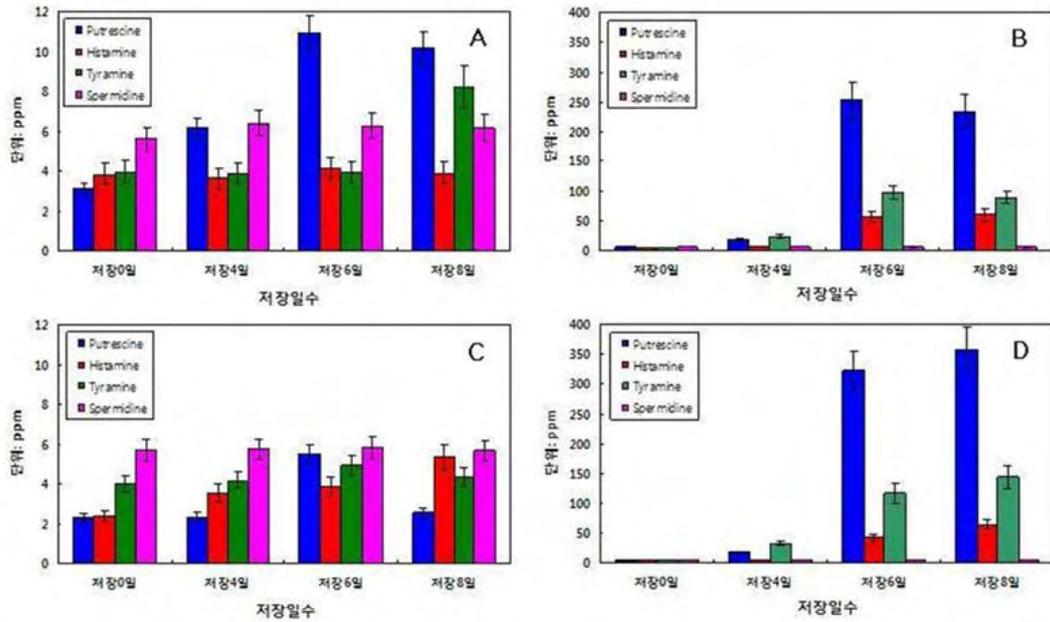


그림 161. 30°C 저장 조건이 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향

그러나, 시판 막걸리를 구매 후, 30°C에서 저장 후 바이오제닉 아민의 함량의 경시적인 변화를 측정된 결과, 샘플 B 및 샘플 D에 있어서 저장 일수가 경과함에 따라 바이오제닉 아민 중 putrescine의 함량이 급격히 증가하였으며, 또한 Tyramine, Histamine의 증가가 뚜렷이 나타났다. 그러나 샘플 A 및 샘플 C에 있어서는 그 증가량이 미미한 수준에 머물고 있었다. 이는 막걸리를 유통하는 과정에 있어서 온도 보관상의 중요성을 시사하고 있으며, 효모 등의 미생물들의 생육이 바이오제닉 아민의 증가를 유도하는 것으로 추정된다. 이는 Haraasz등 (Haraasz등, 1994)이 낮은 온도에서는 히스타민의 생성 균의 성장이 느려지므로 식품중의 아민 생성은 10°C에서는 낮아지며, 5°C에서는 생성되지 않는다고 보고한 것과 일치하는 결과를 얻었다.

(3) 시판 막걸리의 유리 아미노산 분석

시판 막걸리 4종에 대한 유리 아미노산 분석 결과는 표 129와 같이 막걸리의 유리 아미노산 함량에서 많은 차이가 보였다. 전체적인 함량에서 A사 막걸리가 가장 높게 나타났으며 다음으로 B사가 높게 나타났다. 낮은 함량을 보인 C사와 D사의 유리 아미노산의 함량은 유의차가 없는 것으로 판단된다. 막걸리의 아미노산 생성의 가장 큰 원인으로서는 원료쌀의 단백질이 누룩의 Protease에 의해서 분해 생성된 것으로 알려져 있으며, 또한 막걸리에 사용한 쌀의 품종 및 누룩에 따라서 생성되는 유리 아미노산의 종류와 양이 달라질 것으로 예상된다. 유리 아미노산의 함량만으로 바이오제닉 아민의 생성을 정확히 예측하지는 못하지만 생성 가능한 바이오제닉 아민에 대한 기초 자료로 분석을 진행하였다.

표 129. 시판 막걸리 4종에 대한 유리 아미노산 분석

Amino acid	MW of aa	Concentration(ng/ul)			
		A 사	B 사	C 사	D 사
Asp	133.100	33.577	13.025	17.890	13.656
Glu	147.130	55.058	27.046	55.854	31.719
Asn	132.120	24.108	17.585	13.684	19.069
Ser	105.090	24.111	7.419	8.249	7.584
Gln	146.140	81.070	54.264	32.607	65.718
Gly	75.070	21.337	20.892	21.835	31.404
His	155.160	33.531	34.611	19.644	26.000
Arg	174.200	88.718	53.466	37.144	33.987
Thr	119.120	21.708	5.488	8.711	8.071
Ala	89.100	71.159	78.656	82.196	85.974
Pro	115.130	61.123	73.131	45.298	64.423
Tyr	181.190	72.957	10.998	26.601	26.001
Val	117.150	67.697	16.326	28.723	22.085
Met	149.210	27.016	6.872	9.581	6.487
Cys2	240.300	6.737	5.874	6.079	16.180
Ile	131.170	49.700	8.948	13.375	10.481
Leu	131.180	108.715	27.755	50.364	35.536
Phe	165.190	70.616	14.939	21.117	14.524
Trp	204.225	28.482	42.577	27.855	17.191
Lys	146.188	26.250	18.533	15.376	12.068

(4) 시판 막걸리 상온(30℃) 저장 분리 미생물의 동정

30℃ 저장 sample의 경우 10℃ 저장 sample들 보다 바이오제닉 아민의 생성량이 급격한 증가를 나타냈다. 이는 일반적으로 일반미생물 생육의 최적 온도인 30℃ 조건에서 미생물의 활성이 강하게 나타 난 것으로 보이며 저온 저장 시 안정된 제품도 하절기 냉장 보관을 하지 않으면 바이오제닉 아민이 생성 될 수 있다는 것을 나타낸다. 바이오제닉 아민이 급격히 증가하는 조건인 30℃에서 13종의 일반 미생물을 분리, 동정한 결과는 표 130과 같다.

표 130. 시판 막걸리의 미생물 분리동정 결과 (30℃보관조건)

제조사	미생물 동정
A사	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	<i>Pseudomonas fragi</i>
	<i>Lactobacillus brevis</i>
B사	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Micrococcus antarcticus</i>
	<i>Candida xylopsoci strain</i>
C사	<i>Bacillus sp.</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
D사	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
	<i>Chryseobacterium bovis</i>
	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
	<i>Kocuria sp.</i>

(5) 분리된 미생물에 의한 바이오제닉 아민 생성 검토

막걸리에서 분리된 미생물 중에서 *Bacillus*속의 미생물을 배양하여, 그 배양액을 시중에서 판매되는 막걸리에 배양액 15ml을 접종하여 25°C에서 4일간 보관 후, 바이오제닉 아민의 생성량 변화에 대하여 검토하였다. 대조구로서는 배양액을 접종하지 않고 동일한 조건에서 보관한 것을 사용하였다. 또한 막걸리에서의 바이오제닉 아민의 함량을 알아보기 위해 구매 후 5°C에서 1일 보관한 것에 대해서도 측정하였다. 보관중의 일반 성분의 경시적인 변화 및 바이오제닉 아민 함량의 경시적인 변화는 그림 29에 나타내었다.

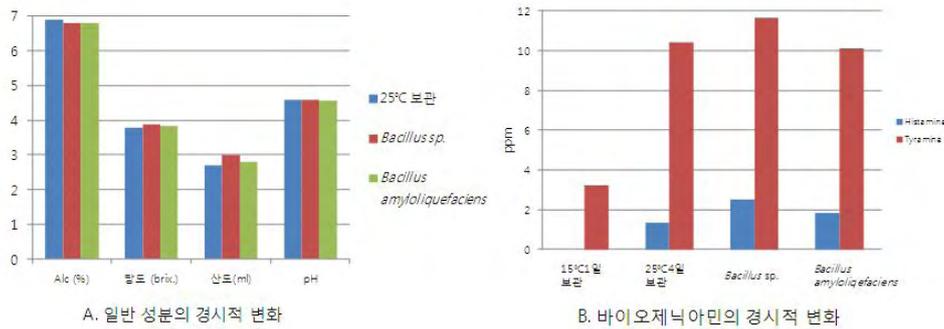


그림 162. 막걸리 제품에 미치는 바이오제닉 아민 생성 미생물의 영향

그림 162에서 나타낸바와 같이 막걸리의 일반 성분은 미생물 접종한 시험구와 대조구의 차이는 보이지 않았으며, 25°C에서 4일 보관 후 Histamine과 Tyramine은 초기치보다 상승하는 경향을 나타내었으나, 바이오제닉 아민 생성 균주를 접종한 시험구에 있어서는 *Bacillus sp.* 를 접종한 시험구에서 다른 시험구보다 Histamine과 Tyramine 모두 증가하는 경향을 나타내었다.

(6) 막걸리 발효 시 바이오제닉 아민 생성 확인

본 실험에서는 막걸리 담금 시에 효모외의 일반 미생물에 의한 바이오제닉 아민의 생성량에 미치는 영향을 배제하기 위하여 일반적인 막걸리 담금을 변형하여 검토하였다. 즉, 사용하는 원료를 액화효소와 당화효소를 이용하여 액화 당화를 진행 후, 121°C에서, 20분간 멸균 처리하여 순수 배양한 효모를 접종하여 발효가 진행됨에 따른 미생물의 생균수 및 바이오제닉 아민의 생성량의 변화에 대하여 검토하였다. 표 131에서 나타내는 바와 같이 발효 과정에 있어서 일반 미생물의 생균수는 검출되지 않았으나, 발효 일수가 경과함에 따라 바이오제닉 아민이 발생하였으며, 특히 발효 말기에 있어서 Tyramine의 생성이 급격히 증가하는 경향이 나타났다 (그림 163).

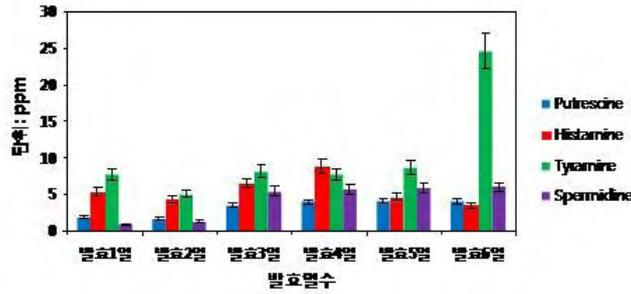


그림 163. 바이오제닉 아민 생성에 미치는 원료 살균 영향 검토

표 131. 막걸리 멸균 발효에 따른 효모와 일반 미생물 생균수

발효 일수	효모(CFU/ml)	일반 미생물 (CFU/ml)
발효 1일차	n.d	n.d
발효 2일차	1.1×10^9	n.d
발효 3일차	1.7×10^9	n.d
발효 4일차	3.9×10^9	n.d
발효 5일차	3.5×10^9	n.d
발효 6일차	1.4×10^9	n.d

발효가 종료된 막걸리를 일반 시중의 막걸리와 같이 알코올 6%로 제성, 병입하여 저장 온도에 따른 바이오제닉 아민의 함량 변화에 대하여 검토하였다. 시판 막걸리 저장 실험과 동일한 5°C 저장에 따른 바이오제닉 아민의 변화는 그림 164와 같다. 그 결과 5°C에서 저장 8일 경과 후에 있어서 Tyramine을 제외한 3종의 바이오제닉 아민의 증가는 나타나지 않았으며, Tyramine의 경우에 있어서 그 증가량은 약 3 ppm으로 나타났다. 또한 표 132에서 보이고 있는 바와 같이 효모와 일반 미생물의 생균수 측정 결과 효모의 생균수 및 일반 미생물의 생균수는 거의 변화가 없는 것으로 판단되며, 이는 바이오제닉 아민에 대한 변화량에 영향을 미치지 않은 결과로 추측된다.

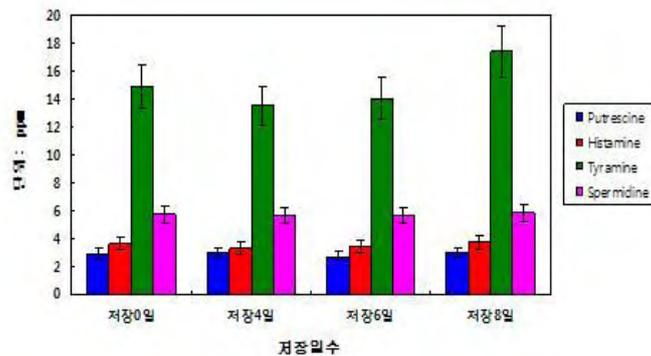


그림 164. 5°C 저장에 따른 막걸리 바이오제닉 아민 변화

표 132. 5℃ 저장에 따른 막걸리 효모와 일반 미생물 생균수

저장 일수	효모(CFU/ml)	일반 미생물 (CFU/ml)
저장 0일	1.3×10^8	n.d(10^5 이하)
저장 2일	1.1×10^8	n.d(10^5 이하)
저장 4일	4.0×10^7	n.d(10^5 이하)
저장 6일	9.0×10^7	n.d(10^5 이하)
저장 8일	1.3×10^8	n.d(10^5 이하)

저장 온도 30℃ 조건에서의 바이오제닉 아민의 변화는 그림 165과 같이 나타났다. 변화 폭이 가장 큰 Tyramine의 경우 14.87 ppm에서 저장 8일차에서 148.99 ppm로 가장 많이 증가 되었으며 Putrescine의 경우 2.85 ppm에서 4.65 ppm으로 증가 되었다. Histamin과 Spermidine의 변화는 없는 것으로 나타났다. 또한 저장 기간 중에 있어서 효모와 일반 미생물의 생균수 측정 결과(표 133) 저장 4일차에 효모의 생균수는 감소하는 경향을 나타냈으며 일반 미생물은 증가하는 경향을 보여, 바이오제닉 아민의 증가는 일반 미생물 증가에 의한 것으로 추측되었다.

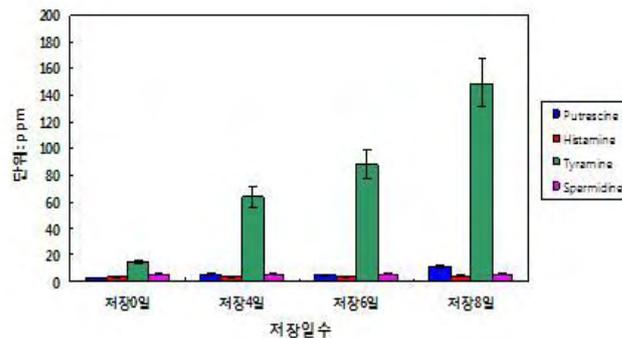


그림 165. 30℃ 저장에 따른 막걸리 바이오제닉 아민 변화

표 133. 30℃ 저장에 따른 막걸리 효모와 일반 미생물 생균수

발효 일수	효모(CFU/ml)	일반 미생물 (CFU/ml)
저장 0일	1.3×10^8	n.d(10^5 이하)
저장 2일	1.0×10^8	n.d(10^5 이하)
저장 4일	n.d(10^6 이하)	1.4×10^8
저장 6일	n.d(10^6 이하)	7.0×10^7
저장 8일	n.d(10^6 이하)	3.0×10^7

(7) 바이오제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 발효의 검토

막걸리를 고온의 조건에서 저장하는 기간 중에 바이오제닉 아민의 증가는 일반 미생물의 생성에 의한 것으로 추측되는 바, 막걸리 발효 시 일반 미생물의 성장 억제를 위한 방법으로 pH 조절 방법을 이용하여 바이오제닉 아민의 생성을 억제하고자 유기산중 젖산과 구연산으로 pH를 조정 후, 막걸리 담금을 15°C 및 25°C에서 진행하여 바이오제닉 아민의 생성에 대하여 검토하였다. 본 실험에 사용된 막걸리 담금은 표 134과 같이 진행하였다.

표 134. 막걸리 담금 조건

원료	Control	Test-1	Test-2	Test-3	Test-4
쌀	1 kg	1 kg	1 kg	1 kg	1 kg
급수	4 L	4 L	4 L	4 L	4 L
누룩	6 g	6 g	6 g	6 g	6 g
효모	3 g	3 g	3 g	3 g	3 g
젖산	-	1.5ml	3ml	-	-
구연산	-	-	-	1.5 g	3 g

젖산, 구연산 농도별 첨가를 통한 막걸리의 바이오제닉 아민 함량 변화에 미치는 영향을 검토 한 결과 발효 온도에 의한 일반 성분 분석에서 알코올(%), 당도(Brix°)에서 유의점은 없었으나, 산도에서는 젖산 0.3 ml 첨가군과 구연산 첨가군이 더 낮게 생성되는 경향을 보였다. 또한 막걸리 발효에 젖산 또는 구연산등의 첨가에 의한 초기 발효 pH를 낮추어 미생물들에 의한 바이오제닉 아민의 생성량의 감소에 대하여 검토하였으나 대조구와 비교하여 바이오제닉 아민류의 생성 억제에 대한 효과는 없었던 것으로 판단된다. 그러나 바이오제닉 아민의 총합량에 있어서는 15°C에서 pH를 조정하지 않은 대조구(pH 4.0)에 있어서 측정된 총 합량이 16.9 ppm으로 가장 낮은 결과를 나타내었다. 이는 일반 미생물의 생육을 억제하기 위하여 발효 초기 pH를 낮게 조정함에 따라 효모의 초기 생육이 지연되는 효과에 의한 것으로 추정된다.

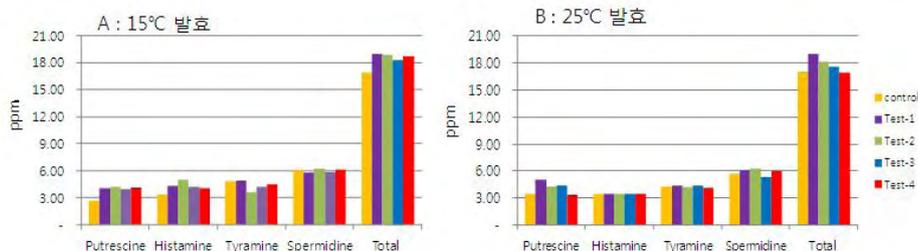


그림 166. 발효조건이 바이오제닉 아민 생성에 미치는 영향

7. 막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델의 제시

가. 막걸리 향미 증진 시험

양조에 있어서 아미노산은 효모의 생육 뿐만 아니라 술에 풍미에 중요한 역할을 하며, 그림 167에서 나타내고 있는 바와 같이 Leucine은 Isoamyl alcohol로 전환되어 Isoamyl acetate 생성에 관여하게 된다. Isoleucine은 지방산 대사에 관여하게 되어 Ethyl caproate, Ethyl caprylate, Ethyl caprate 생성량에 관여하며, 또한 Phenylalanine은 Phenylethanol과 Phenylethyl acetate 의 생성에 관련되어 있다. 이러한 아미노산은 쌀에 포함되어 있는 단백질이 누룩 등의 protease 및 peptidase의 작용에 의하여 아미노산으로 분해된다. 따라서 본 연구에서는 향미성분에 관여하는 아미노산, Leucine, Isoleucine 및 Phenylalanine을 막걸리 담금에 농도별로 첨가하여 발효과정 중에 향기성분의 경시적인 변화에 대하여 검토하였다.

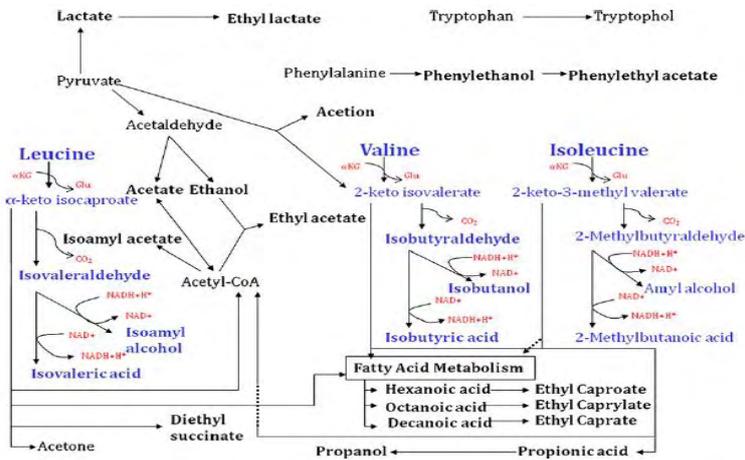


그림 167. 효모의 향기 성분 생성 대사 지도 (Gustav, 2011)

그림 168은 첨가하는 아미노산 함량이 막걸리 발효 시 알코올 생성에 미치는 영향에 대해서 검토한 결과이다. 그 결과 첨가하는 아미노산의 함량이 0~1,000 ppm의 범위 내에서는 첨가한 아미노산 종류에 무관하게 알코올 생성에는 영향을 미치지 않았다.

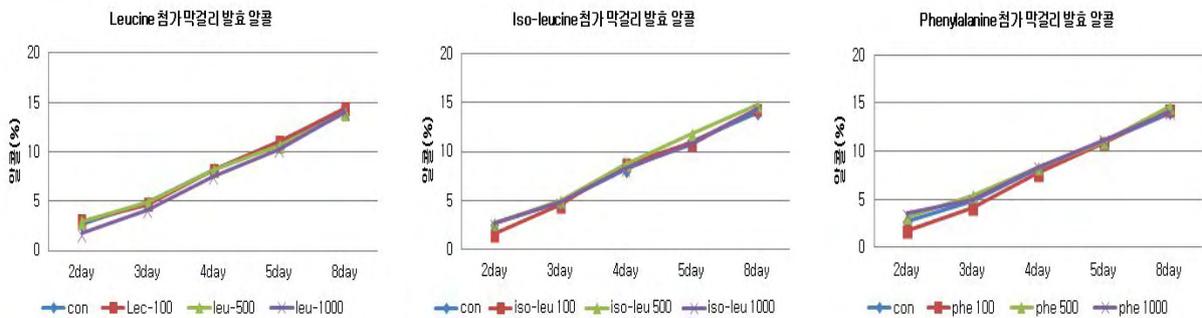


그림 168. 아미노산 첨가가 막걸리 발효에 미치는 영향

그림 169에서 보이고 있는 바와 같이, Leucine 첨가군의 경우 발효 초기 Isoamyl alcohol 생성량이 대조구에 비하여 약 3배 정도 증가되었으며, 발효 말기에 Isoamyl alcohol은 감소하고 Isoamyl acetate 생성이 증가되는 것을 확인 하였다. Isoleucine 첨가군의 경우 발효 초기 activeamyl alcohol 생성이 대조구에 비하여 6배 정도로 발효 초기 생성되는 fusel alcohol 류의 대부분을 차지하는 결과를 보였으며 발효 말기에 Isoamyl acetate 생성량이 증가되는 것을 확인 하였다. Phenylalanine 첨가군의 경우 발효 초기 Phenylethanol 생성량이 증가된 상태로 발효 말기에 Phenylethyl acetate 생성량이 증가되는 것을 확인 하였다. Phenylalanine 첨가군의 경우 다른 아미노산 첨가군과는 달리 발효 말기에도 Phenylethanol의 량이 많이 남아 있는 경향을 보였다. 대부분의 양조장에서 막걸리의 향미 증진을 위하여 과일 등의 첨가물로 막걸리 향미를 증진하려는 노력을 하고 있으나 아미노산 첨가 방법으로 효모가 생성하는 막걸리 고유의 향미를 개선할 수 있는데 Leucine과 Isoleucine 첨가는 Isoamyl acetate의 과실향과 단향의 바나나향이 증가된 막걸리 발효에 사용 가능하고 Phenylalanine 첨가는 Phenylethyl acetate 생성이 증가되어 막걸리에 과실향과 장미향을 증가시켜 과일 등의 첨가 없이 효모에 의해 생성되는 고유의 막걸리 발효 향미를 증가시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한 이러한 결과는 양조에 적합한 원료의 선별에 있어서도 원료에 포함되어 있는 아미노산 함량들을 조사함으로써 양조에 적합한 쌀 품종의 선별에도 이용 가능할 것으로 판단된다.

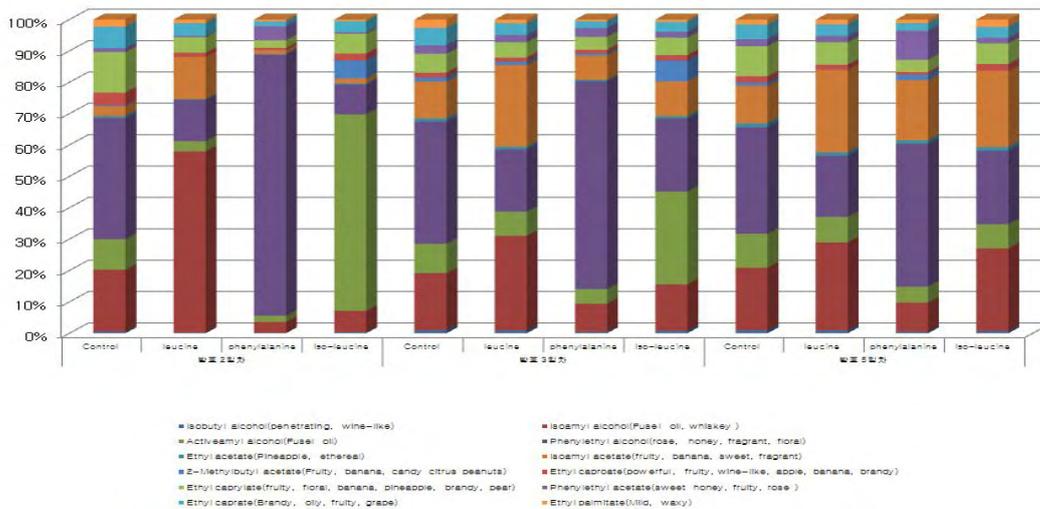


그림 169. 아미노산첨가에 따른 막걸리 발효 향기 성분 분석

그림 170은 아미노산을 첨가하여 담금 제성한 각각의 막걸리에 대한 기호도 조사를 실시한 결과이다. 아미노산을 첨가한 막걸리 전부가 아미노산 무첨가군 보다 선호도는 증가하는 경향을 나타내었으나, 아미노산 첨가군 중에서도 Leucine 첨가군의 선호도가 조금 높게 나타났으며, 당도가 같은 막걸리라 하더라도 Isoamyl acetate 함량이 높은 막걸리에서 조금 달게 느껴진다는 평과 함께 맛 기호도에서도 선호되는 경향이 있었다.

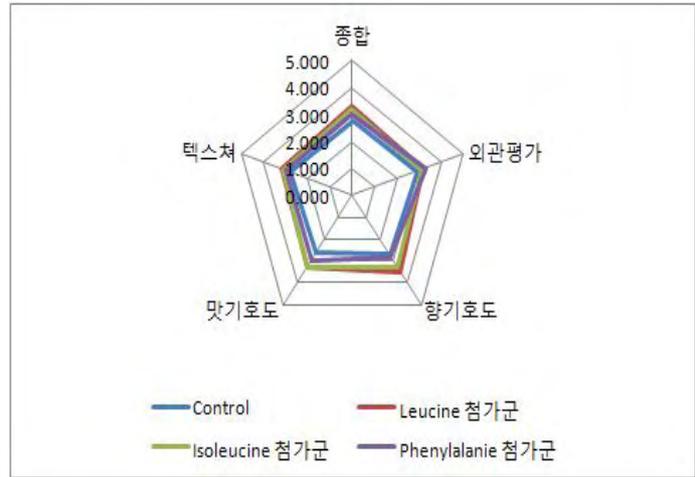


그림 170. 아미노산 첨가 맥걸리의 관능평가 (아미노산 첨가량 각 500 ppm)

나. 효모 98-5 효모를 이용한 맥걸리 담금에 미치는 발효 온도의 영향 검토

주관기관인 한국식품연구원에서 맥걸리 담금 적합효모로 선정된 98-5 효모 균주를 이용하여 맥걸리 발효 중 향미성분 생성에 있어서 적합한 발효 온도라 판단되는 15℃와 알코올 발효 최적 조건인 25℃에서의 발효 패턴을 비교하였으며, 그 결과는 그림 171와 같다.

알코올 생성에 있어서는 25℃에서 발효를 실시한 경우에 있어서는 5일정도가 소요되었으나, 15℃에서 실시할 경우에는 21일이 소요되었으며, 최종 당도에 있어서는 25℃에서 발효한 경우 15℃보다 높은 경향을 나타내었다. 그러나 산도에 있어서는 15℃에서 발효한 실험군에 있어서 최종적으로 낮은 결과로 일반 미생물의 생육에 의한 산도 증가 억제 효과에 적절한 것으로 판단된다.

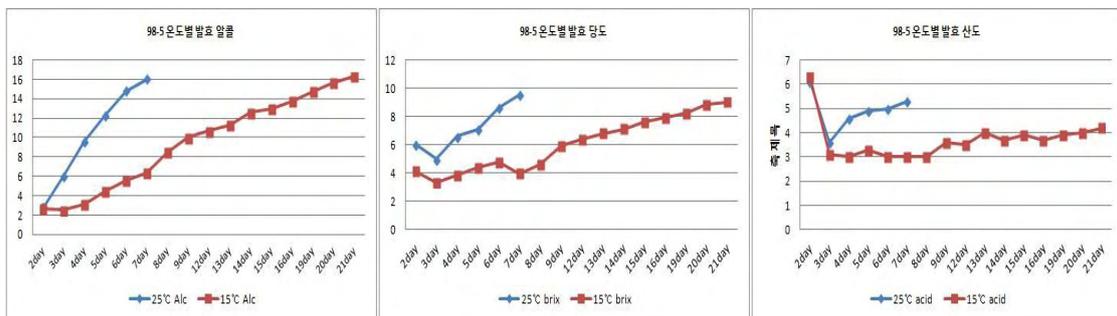


그림 171. 효모 균주 98-5의 맥걸리 발효에 미치는 발효 온도의 영향

발효 중 향기 성분의 경시적인 변화에 대하여 검토한 결과는 그림 172와 같다. 25℃ 및 15℃에서 발효일수가 맞지 않는 관계로 알코올 3%, 5%, 11%, 13% 및 16%에 도달하였을 때 향기 분석을 실시하여 경시적인 변화에 대하여 비교 분석하였다. 선발된 효모 균주 98-5의 경

우에 있어서는 일반 막걸리 양조장에서 사용하는 효모 균주와 달리 발효 초기에 있어서 isoamyl alcohol의 생성량에 비해 phenylethylalcohol의 생성량이 증가하는 경향을 나타내었으며, 또한 전체 향기 면적 비율에 있어서 발효 말기에 있어서의 isoamyl alcohol 향기 성분 면적 비율 감소가 큰 폭으로 나타났으며, 이에 따른 isoamyl acetate의 증가량이 뛰어났다. 이러한 경향은 25℃ 발효보다도 15℃ 발효군에 있어서 뚜렷이 나타났다. 또한 효모균주 98-5의 경우에 있어서는 일반 양조장 효모보다도 과실향으로 알려져 있는 Ethyl caprylate의 생성량이 급격히 증가하는 경향을 나타내었으며, 25℃보다 15℃에서 발효한 시험군에 있어서 잔존하는 향기 성분의 비율이 더 높음을 알 수 있었다. 전체적으로 25℃ 발효 보다 15℃ 발효에 있어서 술덧에 잔존하는 ester류의 향기 성분 비중이 많아지면서 그림 39에서와 같이 연구원 관능 평가에서도 선호도가 높게 나타난 것을 확인 하였다.

일반 양조장에서 사용하고 있는 효모와 효모 98-5균주를 막걸리 품질에 미치는 영향을 검토하기 위하여 온도 15℃ 발효를 진행하여 막걸리 품질에 대하여 검토하였다.

발효주 분석 결과는 그림 174와 같으며, 15℃에서의 발효 일수도 거의 동일하였으며, 발효 경과에 따른 알코올 농도, 당도, 산도 등에 있어서도 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다.

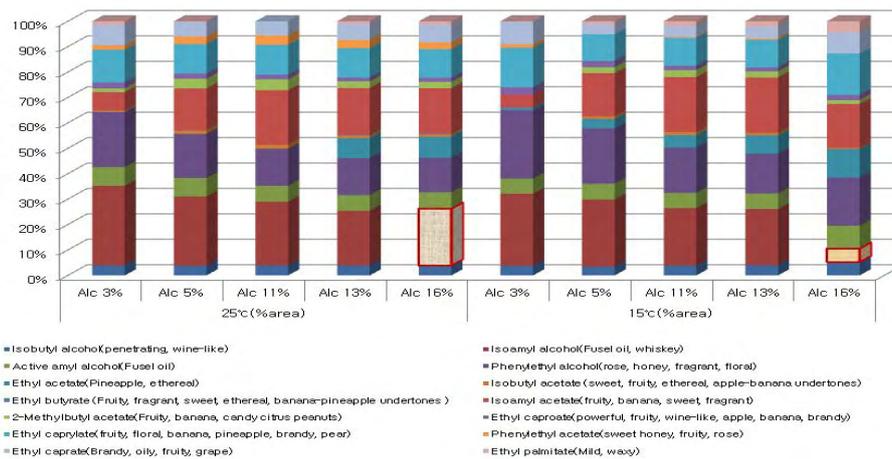


그림 172. 98-5 효모 균주의 발효 온도에 따른 향기성분 분석

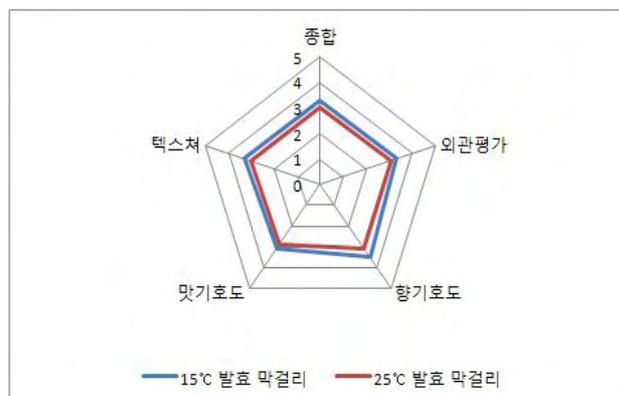


그림 173. 98-5 효모 균주로 제조한 막걸리 관능평가

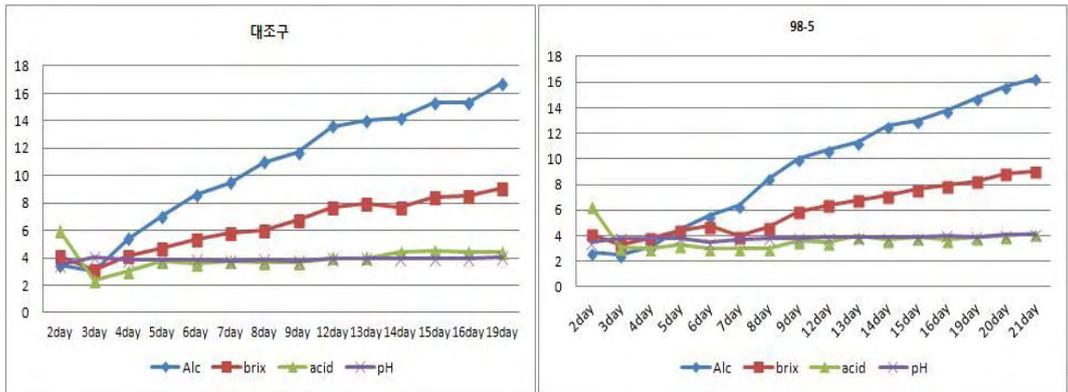


그림 174. 양조장 효모 및 98-5 효모 균주의 발효 비교

발효주 분석 결과 발효 패턴에서는 유의차 없이 발효가 진행되었으나, 98-5 효모 균주를 사용한 경우에 있어서 발효 3일차부터 발효주의 상층에 노란색의 기포가 많이 발생하고 이 기포는 발효 말기 까지 유지되는 경향을 보였으며, 막걸리 발효주 교반 진행시 바닐라향과 과실향이 강하게 느껴지는 것이 특징이 있었다.

발효 향기 분석의 경시적인 변화에 대한 결과는 그림 175와 같다. 발효 향기 성분 분석에서 두 균주의 발효 초기에 있어서는 유사한 향기 조성을 나타내었지만, 발효가 경과될수록 고급알코올류가 감소하는 반면 ester 향기 성분이 증가하는 경향을 나타내었으나, 양조장 사용 효모에 있어서는 발효 알코올 13%에 있어서 isoamyl alcohol의 생성량이 최대치를 나타내고 발효 종료시점에서는 감소하는 경향을 나타내었으나, 98-5 균주의 경우에 있어서는 발효 말기 까지 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 발효가 진행되면서 느껴졌던 바닐라향과 과실향이 나타난 원인으로 확인되었다. 또한 막걸리 관능평가 결과는 그림 176과 같다. 효모 균주 98-5을 사용하여 제조한 막걸리 가 양조장 사용 효모를 사용한 막걸리보다도 향기 및 맛기호도면에 있어서 높게 나타나는 결과를 확인 하였다. 따라서 막걸리 제조에 관한 실증 실험에 있어서는 효모 균주 98-5을 사용하여 진행하였다.

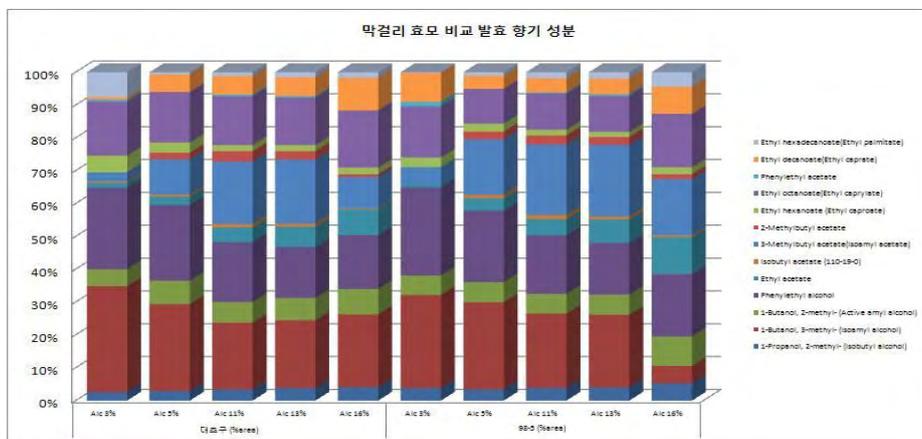


그림 175. 효모 균주에 따른 발효 향기 성분 분석

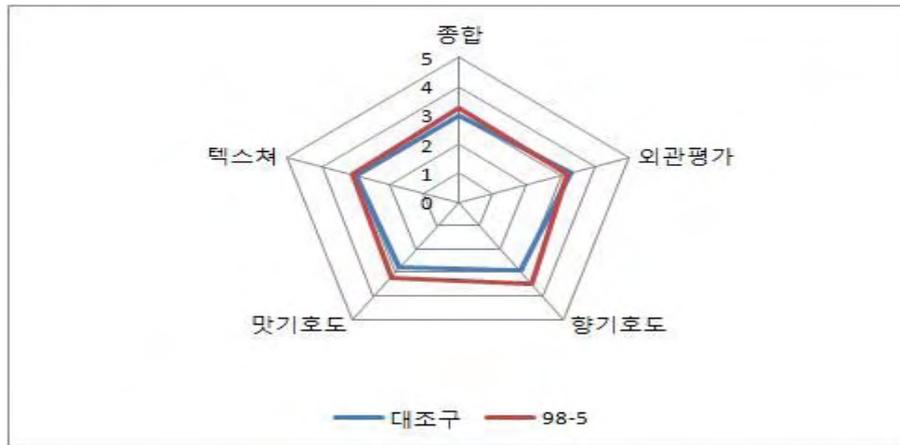


그림 176. 효모 균주별로 제조한 막걸리 관능평가

다. 발효 용량별 막걸리 시험 담금

이상의 결과를 토대로 하여 1,000 L 담금을 실시하기 전에 먼저 100 L 담금을 진행하여 소용량 담금 실험에서 나온 결과와 비교 검토하였다. 발효 온도는 막걸리 향기 성분의 최적 생산을 위하여 15°C에서 진행하였으며 효모는 ester류의 향기 성분 생성에 좋은 효모 98-5 균주를 사용하여 발효를 진행하여 결과를 그림 177에 표시하였다.

100 L 규모의 막걸리 발효에서 21일간 막걸리 발효가 진행 되었으며 발효주 분석에서도 소량 발효와 유사한 발효 패턴을 확인할 수 있었다. 이 실험을 기초로 하여 대부분 양조장에서 사용하는 규모인 1,000 L 규모로 막걸리 발효를 진행하였다.

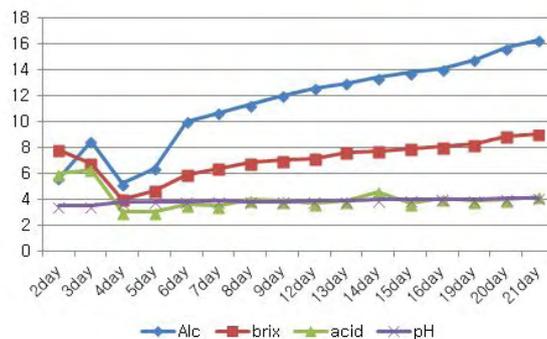


그림 177. 100L 발효조를 이용한 막걸리 발효

1,000 L 규모의 막걸리 담금 시험 담금 결과는 앞서 담금 진행한 100 L 담금 시의 발효 패턴과 유사한 결과 (그림 178)를 나타내고 있으나, 동일한 알코올 생성 일수가 2일 단축되어 19일이 소요되었다. 이는 일정 시간에 맞춰 교반하도록 컨트롤되어 있어, 교반에 의한 효모의 생육 촉진에 따른 것으로 추측된다. Imayasu 등 (Imayasu, 1986)은 분쇄 백미를 이용한 청주 양조의 연구에서 교반 속도에 따라 효모의 생육에 있어서 유도기가 짧아져서 효모의 증식속도가 증가하는 경향이 있다고 발표 한 것과 유사한 결과로 판단된다. 또한 발효 중의 술덧에 잔

존하는 Glucose 함량 및 전분가를 측정된 결과, 발효 종료 시점에 있어서의 Glucose의 잔존량은 0.96 g/L이었으며, 전분가는 1.1 g/L를 나타내었다.

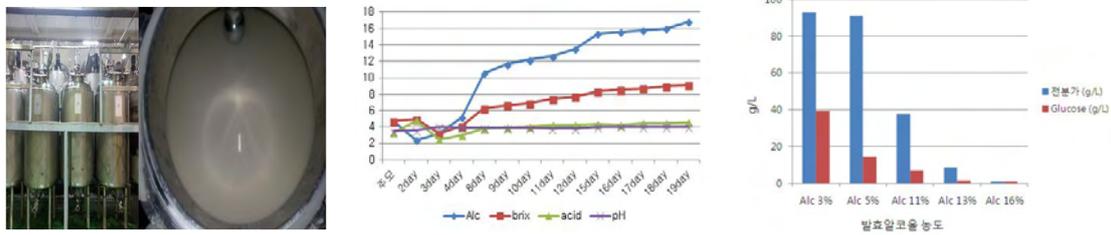


그림 178. 1KL 규모의 막걸리 발효 패턴

발효 종료된 술덧은 다음과 같이 제성하여 유통 안정성에 대한 실험을 진행하였다. 제성은 제1세부과제의 결과를 토대로, 발효가 완료된 술덧을 120 mesh의 진동체를 이용하여 균질화를 진행하였으며 술덧에 포함되어 있는 술지게미의 침전을 방지하기 위하여 Xanthan gum 0.05%을 첨가하였다. 또한 인공감미료인 아스파탐을 대체하기 위하여 천연 감미료인 Stevioside를 0.01%첨가하여 단맛을 유지토록 하였다. 또한 숙성 후 병입 시에 생막걸리의 특징인 탄산미가 생성될 수 있도록 주질에 영향을 미치지 않는 범위로 고과당 1.1 g/L를 첨가하여 Alc 6%로 제성하였다. 또한 유통 중의 품질의 안정성을 유지하기 위하여 숙성 기간을 1주~4주까지 보관하면서 잔존하는 전분가 및 알코올 당도 등의 변화에 대하여 검토하였다. 제성이 완료된 막걸리는 병입 전에 -2℃ 조건에서 숙성을 진행하였으며 숙성 기간은 4주까지 진행하였으며 숙성이 진행되는 동안 1주 간격으로 샘플을 채취하여 분석을 진행하였다. 그림 179에서 나타내고 있는 바와 같이, 숙성 기간 중에 있어서 알코올은 미미하게 증가하는 경향을 나타내었으나, glucose 함량의 변화는 미미하였다.

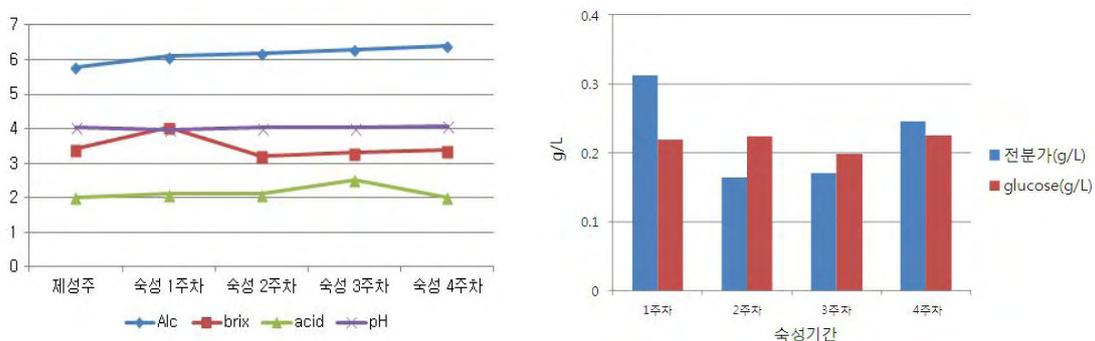


그림 179. 막걸리 일반 성분 및 전분가에 미치는 숙성 기간의 영향



그림 180. 막걸리 시제품

각각 숙성기간을 달리한 막걸리 제성주는 냉장 보관 중에 소량 생산되는 탄산에 의한 페트의 변형 예방과 탄산압에 의한 효모의 생육 저하를 유도하기 위하여 내압용 페트를 사용하였으며, 캡도 밀폐형으로 사용하여 병입하였다 (그림 180).

그림 181은 숙성1주 및 2주후에 병입한 막걸리를 10℃에서 보관하면서 막걸리의 경시적인 변화를 검토한 결과이다. 숙성 1주후에 병입한 막걸리에 있어서 알코올은 보관 30일까지 미미하게 증가하는 경향을 보이고 있으나, 보관 60일후에 측정된 알코올 함량의 변화는 측정되지 않았다. 이는 발효 종료 시에 술덧에 남아 있는 전분 및 글루코스의 잔량이 병입 후에 약간의 알코올 증가를 유발한 것으로 추측되나, 주세법에서 허용하고 있는 알코올 허용범위 내에서 증가한 것으로 유통 중에 발생하는 알코올 규격 위반에 대해서도 안전할 것으로 판단되며, 알코올 규격뿐만 아니라 60일까지 보관함에 있어서 산도 변화도 미미하여 품질적인 면에 있어서도 안정할 것으로 판단된다. 또한 숙성 2주후에 병입한 막걸리에 대한 경시적인 변화를 측정해 본 결과, 1주 숙성 후에 병입한 막걸리와 유의차 없는 것으로 판단된다. 따라서 유통 안정성을 고려한 숙성 기간은 숙성 탱크의 효율적인 면을 고려한다면 7일로 충분할 것으로 판단된다.

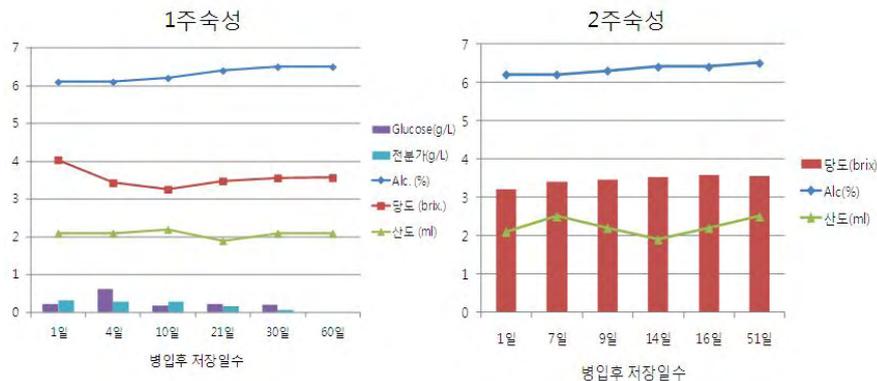


그림 181. 10℃ 냉장 보관상에서의 숙성 막걸리의 경시적인 변화

그림 182는 일반 시중에서 판매되고 있는 막걸리와 본 실험에서 병입된 막걸리에 대한 향기 성분 비교를 실시한 결과이다. 본 연구에서 병입한 막걸리의 향기성분 전체 피크 면적이

일반 시중에서 판매되고 있는 막걸리 보다 약 2배정도로 이는 시판되고 있는 막걸리보다도 향미 성분이 풍부한 것을 시사하고 있으나, 양조주에 있어서 주요한 향미 성분중의 하나인 isoamyl acetate의 피크 면적은 약 3~4배의 차이가 보이고 있다. 이는 isoamyl alcohol 및 isoamyl acetate를 제외한 다른 향미성분들의 피크 면적의 차이가 미미한 것을 고려한다면 기존의 막걸리보다 향미성분이 개선된 막걸리로서의 가치가 있을 것으로 판단된다. 손(Shon) 등에 의하면 원료에 대한 증자 및 무증자 처리하여 담금한 막걸리에 대한 잔존 아미노산 함량을 비교한 결과에 의하면, 무증자로 처리한 막걸리에 있어서 고급알코올 생성에 관여하는 Leucine, isoleucine 및 Phenylalanine의 함량이 더 높은 것으로 보고하고 있다.

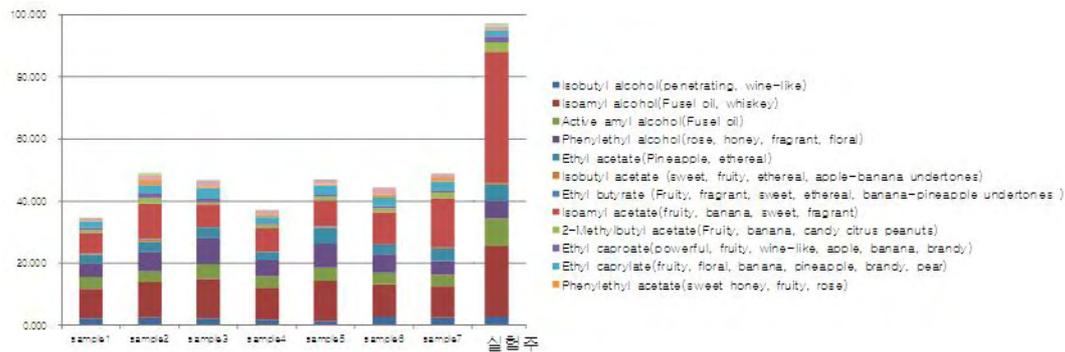


그림 182. 시판 막걸리 7종과의 막걸리 향기 성분 비교 분석

제조된 실험주에 대한 관능검사를 병입 직후, 10°C에서 10일간 보관후 및 20일 보관후에도 관능검사를 진행하여 주질 변화 등에 대하여 검토하였다. 관능검사에 샘플 연구원들 11명을 대상으로 진행하였다. 그림 183에서 나타낸바와 같이 개인적인 호불호에 따른 편차는 있으나 9점 척도로 실시한 결과 병입직후와 보관 20일 경과후의 검사에서도 평균적으로 주질변화는 없는 것으로 나타났으며, 이는 병입 후 막걸리의 경시적인 변화를 분석한 결과에서 알코올, 산도 및 당도의 변화가 미미했던 것과 일치한 것으로 판단된다.

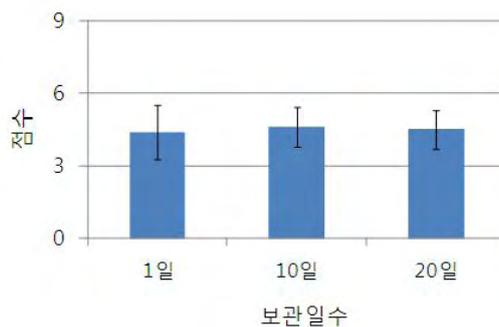


그림 183. 막걸리 실험주에 대한 관능검사

라. 막걸리 제조 공정 설비 모델

상기에서 진행한 막걸리 제조 실험에 있어서 고품질 막걸리 제조에 있어서 중요한 사항은 발효 공정에서의 온도 관리와 숙성 온도에 따른 저장기간이라 할 수 있다. 따라서 본 연구

에서 얻어진 연구 결과를 토대로 발효 및 숙성 과정에 대한 설비 모델은 그림 184와 같다.

원료는 펌프 등을 이용하여 발효 탱크로 이송하여 발효를 진행하나, 발효 탱크는 냉각을 일반적으로 냉각 사관을 사용하고 있으나, 발효 탱크의 청소 등을 고려하여 재킷 타입과 또한 원료의 혼합 및 온도 조절의 효율성을 위하여 교반기가 설치되어 있다. 또한 이 탱크들은 냉각기와 배관으로 연결되어 있어 일정한 발효 온도를 유지시킬 수 있도록 자동으로 운전 가능토록 컨트롤 패널에 의해서 작동되도록 구성되어 있다. 또한 발효가 종료된 술덧을 120mesh의 진동체로 균질화하면서 펌프로 숙성 온도로 제어되고 제성 탱크로 이송한 후 목적의 알코올 농도로 제성하며, 이 제성주를 숙성을 위하여 숙성 탱크에서 7일간 숙성을 시켜 주주기를 이용하여 병입하는 설비이다. 이때에 제성 탱크 및 숙성 탱크의 저장 온도는 발효 온도와 비교하여 저온으로 유지하고 있기 때문에 발효 탱크의 온도 관리를 위한 냉각기와 겸용으로 사용할 수 있으나, 숙성 온도를 유지하기 위한 냉각수의 온도는 영하로 유지되기 때문에 발효에 있어서 효모에게 온도 쇼크를 유발할 우려가 있어 별도의 냉각기를 사용하는 것이 바람직하다.

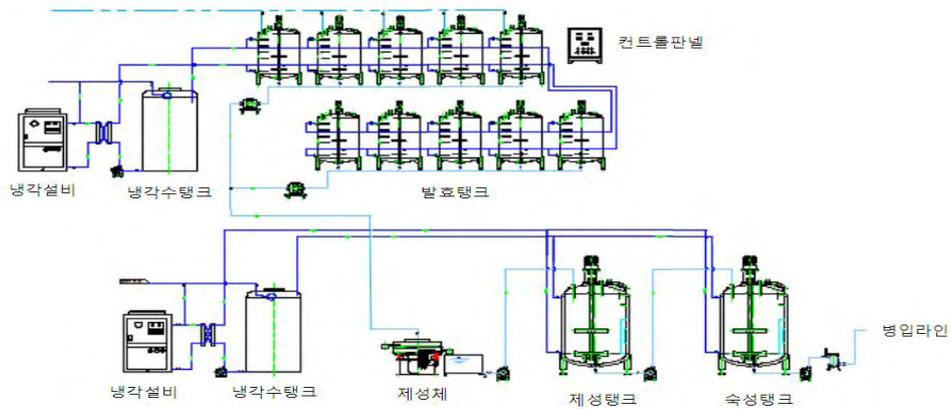


그림 184. 막걸리 생산을 위한 발효 숙성 설비 모델

마. 고급 막걸리의 제조 방법 확립

대음양주 및 음양주는 일본에 있어서도 고급 청주로 인식되어 있으며, 이의 기준은 사용하는 쌀의 규격 및 도정도를 들 수 있으나, 최종적인 산물로서 음양향이 고급 청주로서의 척도로 인식되고 있다. 따라서 본 연구에 있어서 고급 막걸리에 대한 척도로서 과실향이 풍부하면서 인공 감미료를 첨가하지 않는 막걸리로 규정하고 일반 시중에서 판매되고 있는 막걸리보다 향미 성분이 풍부하고 인공 감미료인 아스파탐 등을 사용하지 않는 막걸리를 제조하였다.

일반적으로 시중에서 판매되고 있는 막걸리에는 단맛을 유도하기 위하여 효모들의 이용성이 떨어지는 인공 감미료인 아스파탐을 사용하여 유통기한의 연장 및 적절한 단맛을 유도하기 위하여 사용되고 있다. 그러나 본 연구에서는 술맛에 적절한 단맛을 내기 위하여 일반의 누룩보다 당화력이 뛰어난 조효소제 (4,500 sp)를 사용하여 술덧에 생성되는 포도당의 함량 증가를 도모하였다. 이를 위하여 쌀 1g의 당화에 필요한 효소의 양을 대조구로 하여 필요한 당화력의 2배, 3배, 4배의 양을 사용하여 막걸리 담금을 진행하였다. 본 담금에는 막걸리 효모로 선정된 98-1 균주를 사용하였다. 또한 본 담금 시험에서는 전분분해 효소의 활성을 고려하여 발효 온도를 25℃로 하였으며, 급수율은 원료 대비 150%로 하였다.

그림 185에 막걸리 발효의 경시적인 결과를 나타낸 바와 같이, 조효소제의 첨가량이 증가할수록 술덧의 당도는 발효 경과에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, 대조구의 최종 발효 당도가 12 brix인 것에 반해 4배를 사용한 시험구의 당도는 18 brix까지 상승하였다. 그러나 대조구와 비교하여 최종 발효 알코올은 시험구 모두 동일한 결과를 나타낸 것으로 보아 술덧에 잔존하는 당분의 증가가 알코올 생성량에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다.

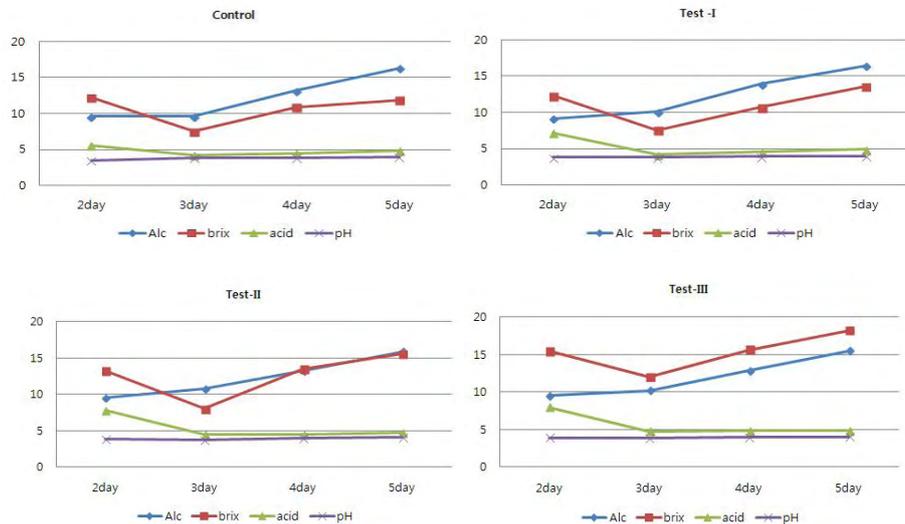


그림 185. 누룩 첨가량이 막걸리 발효에 미치는 영향

담금이 종료된 막걸리 제성을 위하여 기호도가 높은 알코올도수를 설정하기 위하여 발효 조효소제를 가장 많이 사용한 시험구를 사용하여 알코올 농도를 6~12%로 각각 제성하여 기호도 조사를 실시하여 결과를 그림 186에 나타내었다.

기호도 조사를 실시한 결과, 막걸리의 제성 알코올 농도가 높을수록 단맛이 많이 느껴져 맛의 기호도 면에서는 선호도가 높지만, 외관평가와 텍스처 부분에서는 선호도가 낮게 나타났다. 이와는 달리 일반적으로 시중에서 판매되고 있는 막걸리의 알코올 농도 6%와 같은 알코올 농도로 제성한 막걸리에 있어서는 단맛이 적은 관계로 선호도가 떨어지는 경향을 나타내었으나, 알코올 10%로 제성한 막걸리에 있어서는 텍스처, 맛 기호도, 향기 기호도 및 색도 등에 있어서 기호도가 다른 군에 비해 높은 경향을 나타냈다. 따라서 최종적인 막걸리의 알코올 농도는 10%로 설정하였다.

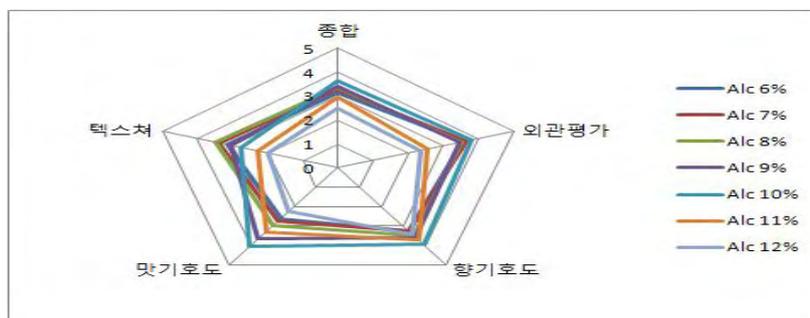


그림 186. 누룩 첨가량별 막걸리 관능 결과

그림 187에 발효 과정 중의 향기성분의 경시적인 변화와 제성 후의 향기성분에 대하여 검토한 결과를 보여 주고 있다. 고급 알코올류는 발효가 경과함에 따라 감소하는 경향을 보인

반면에 이를 기질로 하는 ester의 향기성분은 증가하는 경향을 나타내었다. 특히 Isoamyl acetate에 있어서는 발효 종료 시점보다 알코올 10%로 제성함에도 불구하고 증가하는 것으로 나타났다. 이는 isoamyl acetate의 생성에 관여하는 AATase의 효소 활성이 isoamyl alcohol에 의해 촉진되는 것에 기인하는 것으로 추측되며, 전체적으로 향미성분의 증가는 사용하는 조효소에 포함된 protease 및 peptidase의 효소활성의 증가로 인하여 술덧에 아미노산의 증가로 인하여 고급 알코올의 생성의 촉진이 ester의 생성 촉진의 원인으로 판단된다.

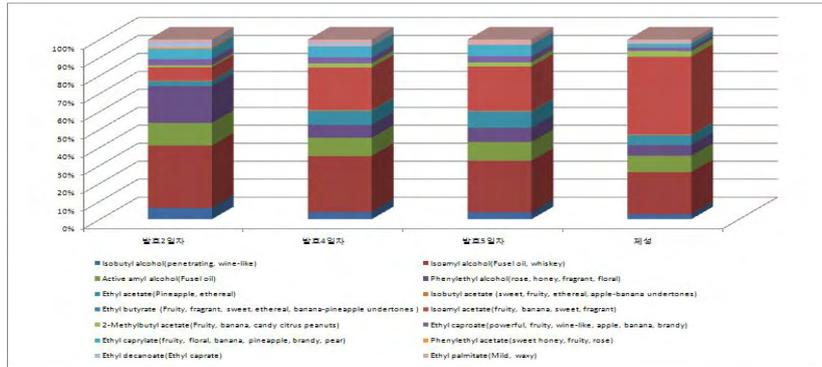


그림 187. 누룩 첨가 4배 증량된 막걸리 발효 향기 분석

그림 54는 인공감미료를 사용하지 않는 고급 막걸리 제조에 있어서 통상의 안정성을 확인하기 위하여 10°C에서의 안정성에 대하여 검토한 결과이다. 주세법에서는 알코올에 대한 기준으로서 제품의 기준 알코올에 대하여 -0.5%와 +1.0%까지 허용하고 있다. 따라서 본 실험에서도 유통 중 제품의 안정성을 알코올 기준을 품질의 안정성의 기준으로 삼아 테스트한 결과, 저장 10일까지 알코올은 허용 기준치를 유지하였으며, 저장 9일까지는 당도도 10 Brix. 이상유지하는 결과를 나타내어 유통 중 10°C 이하를 유지한다면 일반적인 막걸리 유통 기한 10일을 유지할 수 있을 것으로 판단된다.

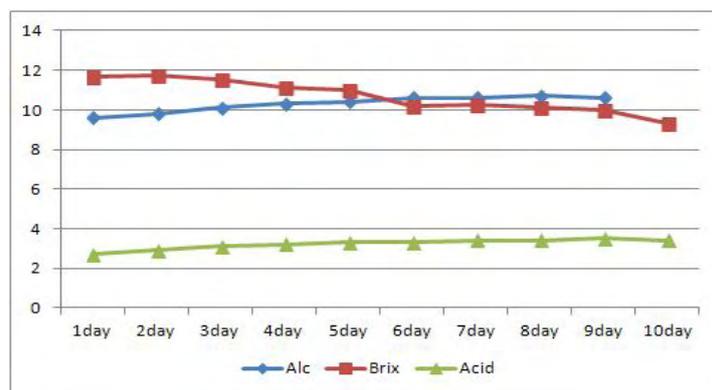


그림 188. 10°C 냉장 보관에 따른 막걸리 변화

8. 막걸리의 품질 표준화 및 품질지표 개발

가. 막걸리의 품질 지표 개발

(1) 이화학적 품질 지표 개발

(가) 주요 시판 막걸리 제품의 품질 특성 분석

시중에 유통중인 막걸리중 쌀 100% 사용 제품을 제외한 쌀과 다른 전분질원 또는 다른 전분질원만으로 제조한 잡곡 첨가 막걸리의 품질을 분석한 결과는 표 135과 같았다. 이들 제품의 전분질원은 쌀, 소맥분, 옥수수, 감자 전분, 좁쌀, 전분당 등을 단독 또는 혼합하여 사용한 제품들이었으며 pH는 표 135에서 보는 바와 같이 평균 3.63 ± 0.39 , 총산은 $0.29 \pm 0.04\%$ 였으며 대부분 실험시 생산후 5일 이내의 제품이였음에도 pH의 편차에 비해 총산은 최대 0.56%, 최소 0.24%로서 차이가 다소 큰 것으로 나타났다. 환원당 함량은 평균 $1.57 \pm 0.84\%$ 로서 최소 0.91%, 최대 3.56%로서 약 4배 이상의 차이를 나타내었다. 이것은 전분질원 등으로 물엿이나 전분당을 사용한 제품에서 편향된 경향을 나타낸 것이 아닌 것으로 보아 사용원료만에 따른 것은 아닌 것으로 판단된다. 에탄올 함량을 정량한 결과 대부분의 시료의 표시량 $\pm 0.5\%$ 를 초과하였으며 11번 12번 시료는 표시량이 6%였으나 각각 7.49%와 6.79%를 나타내어 표시량과 실제 에탄올 함량의 차이가 큰 것으로 나타났다. 실제 12종 제품의 표시량 평균은 6.67%였으나 실측값은 평균 7.61%로 14.1%를 초과하였다. 막걸리의 표면색차를 분석한 결과 L값은 평균 13.43 ± 2.34 , a값은 5.49 ± 1.23 , b값은 10.09 ± 3.41 을 나타내어 적색도를 나타내는 a값보다는 L값과 b값의 제품간 편차가 다소 컸다(표 136). 아스파탐은 전제품에서 검출되어 평균 90.7 ± 91.8 mg/L를 나타내었고 최대 검출량은 302.6 mg/L였다. 삭카린과 보존료인 소르빈산과 파라옥시안식향산부틸은 모든 제품에서 검출한계 이하로 나타났다. 제품중의 유리당 함량을 HPLC로 분석한 결과 함량은 glucose > fructose > lactose > sucrose > maltose 순이었으며 특히 fructose와 glucose는 편차가 각각 45.37.2 g/mL 및 4,969.1 g/mL로 제품간의 함량차이가 매우 크다는 특징을 나타내었으며 대부분 물엿, 전분당 등을 전분질원으로 사용한 제품에서의 함량이 높았다(표 137). 통상적으로 막걸리의 주질은 알코올 농도, 총산, 유기산, 향미성분, 잔존 당 성분 등에 의해 결정된다고 보고 있으며 막걸리의 주요 유기산으로서는 pyruvic acid, malic acid, succinic acid, tartaric acid, oxalic acid, fumaric acid, citric acid, acetic acid 등이 알려져 있다. 막걸리의 상품성을 나타내는 유기산과 pH에 대한 기준은 연구자들 마다 다르지만 pH 4.2 이내, 총산 0.8% 이내 등으로 보기도 한다. 본 연구에서 유기산을 분석한 결과 표 138에서 보는 바와 같이 가장 함량이 높았던 것은 succinic acid로 3591.2 ± 1164.7 mg/L였으며 다음으로는 malic acid로 $1,509.6 \pm 566.6$ mg/L를 나타내었다. 막걸리의 발효 과정중에서는 lactic acid와 succinic acid가 찹쌀 및 보리쌀 막걸리의 중요 유기산으로 보고된 바 있으며 이 등(The Kor. J. Microbiol., 45(5), 2009)에 따르면 막걸리의 발효과정중에서는 malic acid와 citric acid도 중요한 유기산으로 보아야 한다고 보고한 바 있다. 본 실험결과에서는 나타나는 유기산의 함량이 기존의 분석결과 다소 다른 결과를 나타낸 것은 사용 전분질원에 의한 차이인지 발효과정상의

차이인지는 추론하기는 어려운 것으로 판단되었다. 잡곡 첨가 막걸리의 향기 성분은 표 139와 같다. 성분의 종류는 alcohols 10종, esters 28종, aldehydes 2종, acid 1종, ketones 4종, phenol 1종이 검출되었다.

표 135. 잡곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석 결과

Sample No.	pH	Total acidity (acetic acid, %)	Reducing sugar (%)	Ethanol (%)
MRW1	3.57±0.01	0.32±0.01	1.00±0.01	6.65±0.90
MRW2	3.68±0.00	0.33±0.02	1.33±0.06	8.99±0.30
MRW3	3.69±0.01	0.37±0.01	3.01±0.07	7.20±0.29
MRW4	3.48±0.01	0.32±0.01	1.48±0.01	7.21±0.38
MRW5	3.46±0.01	0.31±0.01	3.56±0.04	7.85±0.23
MRW6	3.44±0.01	0.33±0.02	1.42±0.01	7.62±0.10
MRW7	3.88±0.02	0.27±0.01	1.07±0.02	7.47±0.14
MRW8	3.78±0.03	0.27±0.01	1.02±0.01	7.59±0.10
MRW9	3.71±0.01	0.33±0.01	0.91±0.02	6.12±0.19
MRW10	4.31±0.02	0.29±0.01	1.64±0.05	7.10±0.09
MRW11	2.67±0.25	0.19±0.03	0.98±0.03	7.42±0.25
MRW12	3.88±0.02	0.16±0.01	1.42±0.04	6.41±0.20
Average	3.63±0.39	0.29±0.04	1.57±0.84	7.27±0.22

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 136. 잠곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 색차 및 첨가물 분석 결과

Sample No.	Hunter's color value			Aspartame (mg/L)	Saccharin (mg/L)	Sorbic acid (mg/L)	Butyl-p-Hydroxy-benzoate (mg/L)
	L	a	b				
MRW1	13.54±0.52	5.30±0.57	8.76±0.40	28.8	ND	ND	ND
MRW2	12.40±0.19	5.37±0.08	8.13 ±0.12	11.3	ND	ND	ND
MRW3	12.00±0.17	5.41±0.06	7.92±0.11	39.7	ND	ND	ND
MRW4	10.39±0.19	7.73±0.02	6.90±0.13	45.1	ND	ND	ND
MRW5	13.65±0.20	7.49±0.06	8.92±0.12	5.2	ND	ND	ND
MRW6	18.22±0.32	3.76±0.17	10.92±0.08	12.8	ND	ND	ND
MRW7	15.22±0.41	5.02±0.01	15.41±0.10	302.6	ND	ND	ND
MRW8	14.69±0.20	4.77±0.08	16.21±0.13	158.7	ND	ND	ND
MRW9	14.69±0.20	4.77±0.08	14.47±0.11	138.1	ND	ND	ND
MRW10	14.08±0.29	5.45±0.18	9.28±0.19	58.2	ND	ND	ND
MRW11	13.10±0.15	4.08±0.09	8.13±0.09	89.8	ND	ND	ND
MRW12	9.18±0.05	6.74±0.05	6.08±0.03	198.6	ND	ND	ND
Average	13.43±2.34	5.49±1.24	10.09±3.41	90.7±91.8	-	-	-

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 137. 잠곡 첨가 막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 유리당 함량 분석 결과

Sample No.	Free sugars (mg/L)				
	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Lactose
MRW1	67.6±10.9	1,266.3±122.7	176.8±130.9	116.0±73.6	197.2±78.6
MRW2	86.6±64.4	1,852.2±200.5	248.1±136.3	117.0±71.7	260.8±169.7
MRW3	399.7±70.9	16,682.9±325.8	392.6±115.4	280.7±35.8	126.1±338.4
MRW4	67.8±19.0	2,119.1±222.5	190.2±166.8	147.5±144.0	240.0±310.1
MRW5	15,788.2±206.3	11,754.3±331.9	194.3±65.8	246.6±136.1	377.3±55.4
MRW6	3,544.6±37.7	2,414.8±204.3	193.6±100.6	127.9±136.1	380.5±140.4
MRW7	103.4±20.1	4,234.6±154.1	168.0±86.6	203.6±188.9	1,011.1±236.2
MRW8	178.9±104.1	598.6±338.1	560.6±655.2	358.9±506.6	643.2±472.8
MRW9	78.0±30.3	2,433.2±255.4	170.1±88.2	101.2±41.3	513.8±422.2
MRW10	137.4±29.7	6,439.9±47.5	225.8±123.5	212.8±57.0	588.7±393.0
MRW11	67.1±18.5	975.4±22.7	180.2±147.4	116.6±93.3	223.6±200.0
MRW12	166.0±15.1	1,760.7±44.3	226.5±138.4	220.1±299.4	664.5±254.6
Average	1,723.8±4,537.2	4,377.7±4,969.1	243.9±117.0	187.4±80.5	530.1±331.3

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 138. 잠곡막걸리(쌀 및 다른 전분질원 사용)의 유기산 함량 분석 결과

Sample No.	Organic acid (mg/L) ¹⁾							
	Oxalic acid	Formic acid	Malic acid	Ascorbic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
MRW1	187.7±12.8	597.8±60.7	2,039.9±383.9	232.9±13.3	1,985.9±323.1	672.1±235.7	757.2±676.0	6,163.7±1,796.4
MRW2	502.8±3.3	643.8±28.5	1,215.4±103.8	107.1±10.8	550.3±254.3	101.1±21.8	921.1±248.9	3,094.0±1,222.2
MRW3	1,132.1±27.1	519.8±277.5	561.9±28.1	101.2±4.4	421.5±13.5	241.6±44.3	1,744.5±348.6	4,435.1±1,651.5
MRW4	126.7±11.6	416.4±34.2	668.6± 528.9	41.9±2.4	724.2±131.4	257.0±111.5	253.1±108.3	1,947.3±617.0
MRW5	465.0±8.3	389.0±15.2	1,418.0±89.8	93.4±2.6	395.1±194.2	126.7±11.9	673.2±179.6	2,391.3±800.1
MRW6	426.1±12.5	497.4±50.3	2,146.1±280.6	117.0± 9.8	695.5±152.9	168.4±26.9	787.9±158.0	2,684.5±1,065.5
MRW7	648.1±24.5	439.4±37.8	2,501.7±451.5	60.3±7.3	954.5±282.6	422.0±178.5	1,697.7±304.2	3,301.7±1,271.4
MRW8	347.5±34.5	490.1±29.9	1,343.3±179.7	62.5±3.7	1,205.6±226.3	566.1±72.4	691.6±144.1	3,629.6±1,308.9
MRW9	460.4± 23.5	536.1±27.0	1,764.4±268.6	87.9±6.2	846.0±181.3	499.7±63.3	773.7±295.5	3,871.0±1,365.1
MRW10	225.9±15.0	512.1±80.4	1,303.0±234.4	63.8±12.1	746.0±169.9	516.4±126.4	666.0±295.7	2,810.4±1,370.1
MRW11	636.9±35.9	682.3±88.9	1,487.7±233.5	147.4±14.6	757.6±148.2	483.8±203.1	1,648.4±337.7	3,960.3±1,447.0
MRW12	964.2±39.5	678.0±47.3	1,665.6±361.7	154.4±9.6	823.0±176.4	264.9±165.2	1,872.5±326.0	4,805.0±1,913.4
Average	510.3±301.2	533.5±98.4	1,509.6±566.6	105.8±52.8	842.1± 422.9	359.9±189.5	1,040.6±542.4	3,591.2±1,164.7

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 139. 잡곡막걸리 (miscellaneous makgeollis)의 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기 성분 분석

No.	Retention time	Compound	Relative area (%)											
			MRW 1	MRW 2	MRW 3	MRW 4	MRW 5	MRW 6	MRW 7	MRW 8	MRW 9	MRW 10	MRW 11	MRW 12
1	1.45	Acetaldehyde	0.231	0.338	0.449	0.271	0.211	0.227	0.255	0.118	0.229	0.145	0.061	0.587
2	3.09	Ethyl acetate	1.259	1.003	1.282	1.368	0.818	0.764	0.205	0.233	0.320	0.183	0.403	0.224
3	4.23	ethanol	42.988	34.513	40.036	45.930	40.774	46.463	55.151	53.667	51.739	48.470	54.183	52.477
4	7.81	1-Propanol	0.198	0.137	0.097	0.323	0.101	0.235	0.230	0.089	0.158	0.098	0.127	0.178
5	10.66	3-Methyl-1-butanol acetate	4.439	6.494	3.169	3.977	3.419	3.659	0.063	0.024	0.041	0.035	0.064	0.303
6	14.17	Ethyl hexanoate	0.042	0.000	0.125	0.022	0.141	0.024	0.013	0.013	0.013	0.000	0.019	0.012
7	14.48	2-Methyl-1-Butanol	8.028	7.356	5.046	8.745	5.239	7.306	5.009	5.526	6.038	5.132	6.680	5.677
8	15.75	1-Pentanol	0.002	0.000	0.003	0.001	0.001	0.001	0.006	0.009	0.008	0.000	0.000	0.000
9	16.72	3-Hydroxy-2-butanone	0.000	0.008	0.038	0.000	0.012	0.010	0.120	0.007	0.226	0.025	0.183	0.004
10	18.24	Ethyl lactate	0.008	0.024	0.003	0.003	0.002	0.001	0.028	0.043	0.008	0.010	0.198	0.004
11	18.52	n-Hexyl formate	0.001	0.000	0.008	0.002	0.002	0.008	0.002	0.055	0.037	0.000	0.003	0.003
12	19.26	3-Ethoxy-1-propanol	0.025	0.011	0.004	0.035	0.023	0.025	0.103	0.037	0.154	0.039	0.061	0.183
13	20.28	Ethyl octanoate	0.288	0.646	0.531	0.272	0.942	0.250	0.099	0.123	0.082	0.090	0.340	0.210
14	21.09	Acetic acid	0.370	0.032	0.008	0.153	0.074	0.031	0.042	0.644	0.385	0.120	0.339	0.210
15	22.69	Benzaldehyde	0.013	0.027	0.012	0.015	0.042	0.016	0.078	0.017	0.019	0.022	0.017	0.042
16	23.38	2,3-Butanediol	0.224	0.052	0.166	0.415	0.473	0.148	0.182	0.640	0.976	0.536	0.524	0.592
17	24.65	1,2-propanediol	0.006	0.007	0.005	0.010	0.017	0.017	0.038	0.099	0.240	0.000	0.010	0.024
18	25.49	Ethyl decanoate	0.825	1.534	1.242	0.874	2.050	0.866	0.542	0.658	0.650	0.400	1.456	1.067
19	26.51	Diethyl Butanedioate	0.671	0.316	0.079	0.104	0.089	0.090	0.022	0.819	0.716	0.528	1.172	0.047
20	27.50	3-Methylthio-1-propanol	0.050	0.049	0.019	0.024	0.038	0.032	0.086	0.059	0.068	0.033	0.128	0.044
21	27.96	4-Hydroxy-2-butanone	0.019	0.012	0.035	0.012	0.016	0.014	0.020	0.000	0.042	0.018	0.014	0.046
22	30.10	Ethyl dodecanoate	0.568	1.190	1.030	0.446	0.790	0.753	1.047	1.044	0.959	0.601	2.096	1.415
23	30.45	Isopentyldecanoate	0.029	0.091	0.050	0.029	0.097	0.010	0.062	0.043	0.026	0.028	0.096	0.041
24	30.73	3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate	0.015	0.056	0.036	0.025	0.026	0.028	0.016	0.027	0.038	0.021	0.003	0.041

표 139. 계속

25	31.43	Cyclobutyl ethyl succinate	0.043	0.006	0.009	0.006	0.008	0.005	0.000	0.039	0.037	0.045	0.062	0.007
26	31.67	2-Phenylethyl alcohol	0.033	0.055	0.006	0.005	0.019	0.011	2.643	2.855	3.558	2.942	3.025	3.431
27	32.54	Isobutyl laurate	0.011	0.007	0.010	0.003	0.004	0.006	0.010	0.004	0.006	0.004	0.005	0.005
28	33.80	2-Pentadecanone	0.019	0.033	0.002	0.020	0.041	0.004	0.015	0.030	0.024	0.016	0.023	0.026
29	34.40	Ethyl tetradecanoate	0.740	0.917	3.035	0.470	0.898	0.850	3.554	1.871	2.267	2.439	1.864	1.196
30	34.69	Isoamyl laurate	0.033	0.073	0.046	0.019	0.028	0.037	0.028	0.017	0.023	0.022	0.031	0.033
31	35.66	.(1E)-1-Dodecenylacetate	0.000	0.011	0.004	0.004	0.017	0.026	0.025	0.017	0.018	0.010	0.007	0.002
32	36.28	Ethyl pentadecanoate	0.233	0.231	0.277	0.157	0.245	0.215	0.155	0.232	0.231	0.159	0.090	0.111
33	36.52	Ethyl (9E)-9-octadecenoate	0.057	0.044	0.095	0.031	0.053	0.054	0.056	0.065	0.060	0.066	0.082	0.057
34	37.11	2-Methoxy-4-vinylphenol	0.381	0.334	0.530	0.068	0.033	0.032	0.015	0.019	0.021	0.039	0.116	0.050
35	38.26	Ethyl hexadecanoate	15.262	19.791	18.329	15.841	21.646	17.770	11.972	10.794	11.501	10.720	11.204	10.691
36	39.66	n-Propylhexadecanoate	0.066	0.119	0.071	0.075	0.081	0.074	0.073	0.035	0.069	0.045	0.038	0.061
37	39.97	Ethyl heptadecanoate	0.132	0.175	0.117	0.144	0.208	0.186	0.094	0.117	0.147	0.073	0.119	0.086
38	40.14	2-Methylpropyl hexadecanoate	0.100	0.181	0.210	0.099	0.152	0.134	0.115	0.117	0.147	0.101	0.119	0.042
39	40.37	1-Hexadecanol	0.050	0.052	0.036	0.047	0.061	0.062	0.050	0.149	0.070	0.052	0.061	0.042
40	41.70	Ethyl-15-methylheptadecanoate	1.059	1.526	1.542	1.231	1.945	1.592	1.735	1.497	1.813	1.439	1.242	1.362
41	42.07	Ethyl-9-octadecenoate	5.709	7.983	7.564	6.072	6.360	5.236	6.129	5.442	5.452	8.650	6.413	5.460
42	42.88	Ethyl-9,12-octadecadienoate	14.555	13.718	13.119	11.858	12.076	11.832	9.087	11.290	10.014	15.079	5.716	12.591
43	43.95	Ethyl linolenate	0.872	0.374	1.119	0.578	0.476	0.486	0.660	1.277	1.210	1.317	1.454	1.102
44	46.00	1,1-Di-4-methylcyclohexyl dodecane	0.075	0.120	0.104	0.047	0.063	0.287	0.032	0.025	0.033	0.046	0.043	0.073
45	47.18	Isopropyl linoleate	0.175	0.242	0.221	0.106	0.146	0.104	0.083	0.093	0.110	0.130	0.080	0.105
46	47.53	.4-(Benzyloxy)phenylbenzoate	0.097	0.112	0.080	0.062	0.043	0.017	0.050	0.020	0.014	0.071	0.028	0.037

시중에 유통중인 막걸리중 생쌀막걸리 13종의 품질을 분석한 결과는 표 140와 같았다. 생쌀막걸리는 대부분 쌀만을 전분질으로 사용하거나 쌀 90%에 올리고당 등을 첨가하여 제조한 제품이었다. pH는 평균 3.86 ± 0.18 이었으며 최대는 4.12, 최소는 3.58을 나타내었으며, 총산은 최대 0.43%, 최소는 0.25%였으며 평균 $0.32 \pm 0.07\%$ 수준이었으나 분석된 pH와 총산의 결정값이 정의 상관관계를 보이지 않았다. 환원당은 평균 $1.24 \pm 0.21\%$ 로 생쌀막걸리외의 막걸리의 평균값 $1.57 \pm 0.84\%$ 에 비해서는 다소 낮고 그 편차도 다소 적었다. 이는 생쌀막걸리 외의 막걸리가 전분질원으로서 물엿이나 전분당을 사용하는 것과 관련이 있는 것으로 추정할 수 있었다. 에탄올 함량은 평균 $6.89 \pm 0.07\%$ 로, 표시량의 평균 6.3%와 비교했을 때 약 9.4% 정도 높은 값을 나타내었다. 생쌀막걸리의 표면색차를 분석한 결과 L값은 평균 15.81, a값은 3.24, b값은 8.50으로 생쌀막걸리외의 막걸리의 13.43 ± 2.34 , 5.49 ± 1.23 , 10.09 ± 3.41 에 비해 L값과 a값 및 b값 모두 높은 경향을 나타내었다. 아스파탐은 전제품에서 검출되어 평균 82.6 ± 71.3 mg/L로서 쌀막걸리 외의 막걸리의 90.7 ± 91.8 mg/L과 유사한 수준이었다. 삭카린과 보존료인 소르빈산과 파라옥시안식향산부틸은 모든 제품에서 검출한계 이하로 나타났다. 제품중의 유리당 함량을 HPLC로 분석한 결과 함량은 glucose>lactose>fructose>maltose>sucrose 순으로 생쌀막걸리 외의 막걸리에 비해 fructose의 함량이 적고, lactose의 함량이 높았으며 sucrose보다는 maltose의 함량이 높다는 특징을 가지고 있었다(표 142). 막걸리의 주질을 나타내는 중요한 지표성분중의 하나인 유기산을 분석한 결과 표 143에서와 같이 succinic acid>malic acid>lactic acid>citric acid>formic acid>acetic acid>oxalic acid 순으로 함량이 높았으며 평균적으로 각각 $1,973.9 \pm 962.9$ mg/L, $1,783.7 \pm 976.7$ mg/L, $1,140.5 \pm 850.2$ mg/L, 667.9 ± 239.0 mg/L, 623.4 ± 464.5 mg/L, 584.0 ± 338.1 mg/L, 505.4 ± 213.2 mg/L의 함량을 나타내었다. 생쌀막걸리는 쌀막걸리 외의 막걸리와는 달리 citric acid보다는 lactic acid의 함량이 다소 높다는 특징을 가지고 있었다. 하지만 전반적으로는 개별 유기산의 함량에 대한 편차가 매우 컸으며 이러한 경향은 특히 succinic acid, formic acid, lactic acid에서 높게 나타났다.

표 140 생쌀막걸리의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석결과

Sample No.	pH	Total acidity (acetic acid, %)	Reducing sugar (%)	Ethanol (%)
RW1	4.03±0.01	0.29±0.01	1.09±0.00	6.22±0.95
RW2	4.12±0.02	0.25±0.01	1.23±0.02	6.66±0.42
RW3	4.07±0.02	0.30±0.01	1.25±0.05	8.26±0.16
RW4	3.61±0.01	0.43±0.01	1.32±0.03	6.90±0.80
RW5	3.86±0.02	0.25±0.01	1.07±0.00	6.51±0.37
RW6	3.88±0.02	0.23±0.01	1.05±0.01	6.71±0.20
RW7	3.74±0.08	0.45±0.01	1.49±0.04	7.09±0.10
RW8	3.84±0.01	0.31±0.01	1.07±0.01	8.86±0.19
RW9	4.00±0.01	0.26±0.02	1.19±0.01	6.14±0.34
RW10	3.86±0.01	0.36±0.01	1.26±0.01	6.96±0.46
RW11	3.60±0.05	0.41±0.01	1.52±0.04	6.35±0.19
RW12	3.58±0.03	0.37±0.01	1.40±0.01	6.52±0.36
RW13	4.01±0.02	0.27±0.01	1.77±0.01	7.38±0.03
Average	3.86±0.18	0.32±0.07	1.28±0.21	6.97±0.64

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 141. 생쌀막걸리의 색차 및 식품첨가물 분석 결과

Sample No.	Hunter's color value			Aspartame (mg/L)	Saccharin (mg/L)	Sorbic acid (mg/L)	Butyl- ρ -Hydroxybenzoate (mg/L)
	L	a	b				
RW1	17.87±0.20	3.49±0.04	9.29±0.10	58.2	ND	ND	ND
RW2	15.85±0.19	3.14±0.12	8.74±0.15	37.7	ND	ND	ND
RW3	17.32±0.48	3.48±0.07	9.61±0.24	100.6	ND	ND	ND
RW4	12.47±0.09	3.52±0.05	7.66±0.07	20.6	ND	ND	ND
RW5	19.62±0.31	2.68±0.23	9.37±0.17	72.7	ND	ND	ND
RW6	21.98±0.89	1.31±0.24	8.67±0.29	34.1	ND	ND	ND
RW7	5.41±0.05	4.83±0.02	3.60±0.03	287.7	ND	ND	ND
RW8	16.35±0.16	3.42±0.06	9.21±0.10	71.7	ND	ND	ND
RW9	16.80±0.18	5.21±0.06	10.45±0.10	30.4	ND	ND	ND
RW10	13.99±0.07	3.27±0.07	8.43±0.06	109.7	ND	ND	ND
RW11	12.47±0.09	3.52±0.05	7.66±0.07	146.6	ND	ND	ND
RW12	18.42±0.25	1.91±0.02	9.26±0.10	48.3	ND	ND	ND
RW13	17.01±0.18	2.34±0.06	8.58±0.09	55.1	ND	ND	ND
Average	15.81±4.11	3.24±1.06	8.50±1.66	82.6±71.3	-	-	-

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 142. 생쌀막걸리의 유리당 함량 분석 결과

Sample No.	Free sugars (mg/L)				
	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Lactose
RW1	36.9±14.3	972.4±35.9	123.2±19.9	123.2±126.7	462.2±137.3
RW2	20.6±3.7	14,91.3±50.1	120.5±106.6	120.5±41.4	541.9±186.4
RW3	676.3±37.6	1,550.5±9.1	175.3±96.0	175.3±124.6	411.0±151.5
RW4	39.8±22.5	2,519.3±7.8	33.3±10.8	33.3±26.0	309.7±13.5
RW5	29.1±4.7	438.4±35.0	95.4±72.0	95.4±47.4	332.1±99.1
RW6	29.2±14.4	320.1±40.6	95.5±54.4	95.5±69.2	339.5±105.3
RW7	116.0±90.6	3,604.3±220.0	315.6±24.4	315.6±145.3	926.9±39.2
RW8	61.3±35.0	521.3±443.5	91.0±20.1	91.0±93.5	251.8±112.2
RW9	27.8±0.6	912.0±52.1	119.3±48.3	119.3±151.4	378.1±14.5
RW10	82.3±42.0	2,892.9±147.1	159.4±49.6	159.4±122.7	206.3±162.4
RW11	45.0±27.5	3,674.5±29.8	163.8±47.9	163.8±93.3	272.1±77.5
RW12	26.6±24.1	4,102.1±109.2	95.6±22.3	95.6±71.0	165.5±94.2
RW13	2,242.9±2.6	1,411.2±100.9	123.5±75.2	123.5±143.8	1,445.5±339.9
Average	264.1±620.06	1,877.7±1328.03	131.7± 66.59	209.2±153.41	464.81±352.13

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 143. 생쌀막걸리의 유기산 함량 분석 결과

Sample No.	Organic acid (mg/L)							
	Oxalic acid	Formic acid	Malic acid	Ascorbic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
RW1	717.4±46.4	693.9±626.4	1,671.4±243.0	28.5±4.6	1,315.7±359.7	345.8±77.0	828.9±228.2	2,873.5±1,344.3
RW2	613.3±33.2	263.3±56.1	576.7±323.7	18.3±12.6	634.7±378.7	481.3±253.2	595.3±32.7	1,108.0±563.9
RW3	331.7±170.2	660.5±113.2	999.2±64.3	62.2±12.8	717.6±162.5	747.9±316.0	179.8±290.9	2,035.9±1,627.9
RW4	307.8±29.4	2,039.8±242.2	2,949.0±545.1	33.6±3.9	1,240.1±208.2	1,111.2±311.7	837.1±174.8	2,215.2±1,132.3
RW5	250.5±22.6	303.0±64.6	1,641.9±317.0	31.4±8.3	755.9±334.1	368.3±106.1	829.0±189.8	1,154.5±658.2
RW6	290.1±23.9	640.9±656.7	966.8±191.7	16.8±3.6	694.4±106.1	247.4±87.7	524.1±158.6	1,509.9±857.2
RW7	763.8±22.2	773.2±83.0	2,349.9±233.1	79.9±6.8	3,624.0±617.7	1,222.4±111.1	621.7±97.6	4,349.3±1,788.4
RW8	195.4±20.9	340.4±63.9	1,023.2±200.3	24.8±10.5	1,459.5±365.1	492.0±101.4	749.1±350.4	1,184.9±927.2
RW9	769.1±490.0	424.5±69.3	1,127.6±206.1	70.9±48.9	1,115.5±542.6	441.6±131.6	797.6±266.8	2,695.9±1,539.7
RW10	485.5±39.1	615.4±195.6	4,163.5±660.1	67.4±7.5	1,604.6±365.4	1,060.8±61.1	491.8±421.7	2,649.1±2,055.7
RW11	562.8±34.5	395.1±67.0	2,328.3±342.9	35.6±6.6	413.4±117.4	417.8±182.8	1,078.5±171.9	1,463.9±710.7
RW12	773.8±46.5	246.0±46.9	1,621.3±215.2	23.5±8.9	233.0±82.0	236.0±66.7	797.7±145.1	993.9±456.4
RW13	508.6±32.5	708.8±460.0	1,769.8±259.1	30.1±15.9	1,017.5±339.9	419.7±72.5	353.3±162.9	1,426.0±988.0
Average	505.4±213.2	623.4±464.5	1,783.7±976.7	40.2±21.7	1,140.5±850.2	584.0±338.1	667.9±239.0	1,973.9±969.2

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 144. 생쌀막걸리의 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기

성분 동정

No.	Code	Type	KI ^a	Retention time	Identity ^b	Formula ^c	Exact mass ^d	Actual mass ^e	Mass error ^f		i-FIT ^g	MS fragment [EI+]
									mDa	ppm		
1	et1	ester	510	2.8	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88.0518	88.0524	-0.6	-6.8	8.6	70.0, 61.0, 43.0, 88.0
2	al1	alcohol	678	4.1	Ethanol	C ₂ H ₅ O	45.0369	45.0340	2.9	64.4	25.4	45.0, 30.9, 28.9
3	et2	ester	844	5.8	Isobutyl acetate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.0820	116.0837	-2	-14.6	NC ^h	56.0, 73.0, 43.0
4	et3	ester	911	6.8	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.0848	116.0837	1.1	9.5	10.1	88.0, 71.0, 91.0
5	al2	alcohol	938	7.2	1-Propanol	C ₃ H ₈ O	60.0583	60.0575	0.8	13.3	9.7	59.0, 42.0
6	al3	alcohol	1081	9.9	2-Methyl-1-propanol	C ₄ H ₁₀ O	74.0739	74.0732	0.5	6.8	13.2	74.0, 56.0, 97.1
7	et4	ester	1092	10.1	3-Methylbut-1-yl ethanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.0955	130.0994	-3.9	-30	11.3	70.0, 55.0, 87.0, 43.0
8	al4	alcohol	1206	13.7	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88.0875	88.0888	-1.3	-14.8	10.7	55.05, 70.0, 41.0
9	et5	ester	1227	14.2	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.1165	144.1150	1.5	10.4	10.6	88.0, 99.0, 71.0
10	et6	ester	1344	17.2	Ethyl heptanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.1300	158.1307	-0.7	-4.4	11.9	88.0, 113.0, 101.0, 70.0
11	et7	ester	1356	17.6	Ethyl-2-hydroxypropanoate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118.0668	118.0630	3.8	32.2	10.6	45.0, 75.0, 103.0
12	al5	alcohol	1389	18.6	3-Ethoxy-1-propanol	C ₅ H ₁₂ O ₂	104.0800	104.0837	-3.7	-35.5	16.6	59.0, 75.0, 86.0, 41.0
13	et8	ester	1444	20.1	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1465	172.1463	0.2	1.2	11.1	88.0, 101.0, 127.1, 70.0
14	et9	ester	1452	20.3	2-Methylbutyl caproate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.8233	186.1620	-2	-10.7	14.4	99.0, 70.0, 117.0, 43.0
15	ad1	aldehyde	1527	22.3	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106.0433	106.0419	1.4	13.2	5.9	106.0, 77.0, 117.0, 145.1
16	et10	ester	1545	22.7	Ethyl nonanoate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.1642	186.1620	2.2	11.8	11.2	88.0, 101.0, 141.1, 73.0
17	al6	alcohol	1552	22.9	2,4-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.0704	90.0681	2.3	25.5	10.6	45.0, 57.0, 75.0, 90.0
18	et11	ester	1560	23.1	Isobutyl octanoate	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.1800	200.1776	2.4	12	NC ^h	127.1, 145.1, 57.0
19	et12	ester	1647	25.2	Ethyl decanoate	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.1806	200.1776	3	15	13.6	88.0, 101.0, 155.1, 73.0
20	et13	ester	1666	25.6	Isoamyl octanoate	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214.1942	214.1933	0.9	4.2	11.7	70.0, 127.1, 145.1, 57.0
21	et14	ester	1674	25.8	Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.0673	150.0681	-0.8	-5.3	16.1	105.0, 122.0, 152.1, 51.0
22	et15	ester	1684	26.1	Diethyl succinate	C ₈ H ₁₄ O ₄	174.0882	174.0892	-0.3	-5.7	7.3	101.0, 129.0, 73.0, 55.0
23	et16	ester	1696	26.4	Ethyl trans-4-decenoate	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198.1625	198.1620	0.5	2.5	15	88.0, 135.1, 55.0, 152.1
24	al7	alcohol	1726	27.0	3-Methylthio propanol	C ₄ H ₁₀ OS	106.0471	106.0452	1.9	17.9	7.4	106.0, 61.0, 73.0, 88.0
25	et17	ester	1793	28.5	Ethyl phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.0831	164.0837	-0.6	-3.7	7	91.0, 164.0, 65.0
26	et18	ester	1813	29.0	Ethyl 2-methylbutyrate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.1000	130.0994	0.6	4.6	32.3	87.0, 102.0, 74.0, 60.0
27	et19	ester	1820	29.2	2-Phenethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.0827	164.0837	-1	-6.1	8	104.0, 91.0, 78.0
28	et20	ester	1845	29.8	Ethyl dodecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.2088	228.2089	-0.1	-0.4	7.8	88.0, 101.0, 157.1, 183.1
29	et21	ester	1861	30.1	Isopentyl decanoate	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.2251	242.2246	0.5	2.1	12.5	70.0, 155.1, 173.1, 55.0
30	et22	ester	1894	31.0	Ethyl 3-methylbutyl succinate	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216.1400	216.1362	3.8	17.6	14.5	101.0, 129.0, 71.0, 55.0

표 144. 계속

31	al8	alcohol	1902	31.2	2-Phenylethanol	C ₈ H ₁₀ O	122.0731	122.0732	-0.1	-0.8	31.2	91.0, 65.0, 122.0
32	et23	ester	2062	33.9	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.2372	256.2402	-3	-11.7	11.6	88.0, 101.0, 157.1, 213.1
33	et24	ester	2167	35.8	Ethyl pentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.2533	270.2559	-2.6	-9.6	12.5	88.0, 101.0, 157.1, 70.0
34	et25	ester	2178	36.0	Hexadec-9-enyl tetradecanoate	C ₃₀ H ₅₈ O ₂	450.4400	450.4437	-3.7	-8.2	NC ^h	88.0, 96.0, 124.1, 83.0
35	ph1	phenol	2207	36.6	4-Ethenyl-2-methoxyphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.0689	150.0681	0.8	5.3	11.8	150.0, 135.0, 107.0, 77.0
36	et26	ester	2227	37.0	10-Methoxy-10-oxo-decanoic acid	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216.1400	216.1362	3.8	17.6	10.9	152.0, 157.1, 111.0, 125.0
37	et27	ester	2263	37.7	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.2745	284.2715	3	10.6	28.1	88.0, 101.0, 73.0, 55.0
38	et28	ester	2287	38.2	Ethyl (9E)-hexadec-9-enoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.2512	282.2559	-4.7	-16.7	15.8	236.2, 194.2, 69.0, 83.0
39	tp1	terpene	2303	38.5	1,5,9,9-Tetramethyl-, Z,Z,Z-1,4,8-,cycloundecatriene	C ₁₅ H ₂₄	204.1856	204.1878	-2.2	-10.8	11.4	93.0, 121.1, 189.1, 80.0
40	ac1	acid	2318	38.8	n-Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1473	172.1463	1	5.8	11.4	123.0, 73.0, 104.0, 60.0
41	et29	ester	2351	39.5	Ethyl heptadecanoate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.2873	298.2872	0.1	0.3	15.6	88.0, 101.0, 73.0, 253.2
42	et30	ester	2431	41.2	Ethyl 15-methylheptadecanoate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.3033	312.3028	0.5	1.6	30.9	88.0, 101.0, 157.1, 269.2
43	et31	ester	2443	41.5	Ethyl (Z)-octadec-9-enoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.2867	310.2872	-0.5	-1.6	8.4	265.2, 83.0, 97.0, 55.0
44	et32	ester	2546	43.8	Ethyl-9,12-octadecadienoate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.2727	308.2715	3.5	3.9	8.9	67.0, 79.0, 95.0, 109.1
45	et33	ester	2529	43.4	Ethyl (9Z,12Z,15Z)-9,12,15-octadecatrienoate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306.2563	306.2559	0.4	1.3	13.5	79.0, 95.0, 67.0, 108.0

^a KI is the retention index calculated by the Kovats method.

^b and ^c The spectra and formula were used in the NIST MS search 2.0 program and the volatile compounds were identified by comparing with those in the NIST/EPA/NIH mass spectral database.

^d Exact mass, the theoretical mass

^e Actual mass, the measured mass. The exact mass, mass error, and i-FIT of elemental composition were calculated using the software program MassLynx 4.0.

^f Mass error (mDa and ppm), acceptable mass tolerance of the maximum difference between measured and theoretical masses.

^g i-FIT, the likelihood that an isotopic pattern of the elemental composition matches a cluster of peaks in the spectrum.

^h NC, not calculated.

표 145. 생쌀막걸리내 gas chromatography time of flight mass detector(GC-TOF MS) 및 SPME fibre (DVB/CAR/PDMS)를 이용한 향기 성분 비교

No.	Identity	Relative area(%)											
		RW1	RW2	RW3	RW4	RW5	RW6	RW7	RW8	RW9	RW10	RW11	RW12
1	Ethyl acetate	0.40	0.25	0.71	0.82	0.25	0.74	3.38	1.72	0.31	1.90	1.93	0.88
2	Ethanol	9.59	9.58	14.39	13.91	9.74	8.27	12.18	7.49	12.41	9.18	21.83	23.31
3	Isobutyl acetate	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-	-	-	-
4	Ethyl butanoate	-	-	-	-	-	0.11	-	0.04	-	0.07	-	-
5	1-Propanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.21	0.14
6	2-Methyl-1-propanol	0.74	0.48	0.36	0.10	-	0.43	-	-	0.21	-	-	-
7	3-Methylbut-1-yl ethanoate	0.57	0.39	0.60	1.01	0.71	2.78	0.12	0.77	0.55	1.42	1.77	0.60
8	3-Methyl-1-butanol	3.78	3.41	4.07	4.23	3.42	5.00	3.17	2.48	4.19	2.97	5.22	4.46
9	Ethyl hexanoate	0.18	0.90	0.55	-	0.52	0.22	0.37	1.15	-	0.92	0.46	0.51
10	Ethyl heptanoate	-	0.06	-	-	0.05	-	-	0.06	-	0.03	0.08	0.07
11	Ethyl-2-hydroxypropanoate	-	-	-	-	-	-	0.40	-	-	-	-	-
12	3-Ethoxy-1-propanol	0.07	-	-	-	-	0.05	-	-	-	0.01	0.11	0.09
13	Ethyl octanoate	0.79	6.68	6.27	5.12	5.38	1.56	5.25	7.26	5.91	4.39	5.37	4.41
14	2-Methylbutyl caproate	0.91	0.09	-	0.11	0.05	-	0.06	0.11	0.05	0.14	0.24	-
15	Benzaldehyde	0.05	0.10	-	0.03	0.08	-	0.01	0.05	0.02	0.02	0.10	0.07
16	Ethyl nonanoate	0.03	0.28	0.16	0.15	0.38	0.12	0.12	0.17	0.09	0.18	0.18	0.23
17	2,4-Butanediol	0.06	0.08	0.31	0.32	-	-	0.32	0.05	0.11	0.10	0.27	0.19
18	Isobutyl octanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-
19	Ethyl decanoate	5.76	9.91	8.23	7.93	7.86	3.77	6.85	9.47	9.61	6.82	8.55	6.31
20	Isoamyl octanoate	0.39	0.90	0.70	0.61	0.42	0.14	-	0.68	0.86	0.64	0.66	0.53
21	Ethyl benzoate	-	0.16	0.06	0.11	0.09	0.34	-	-	-	0.13	-	0.15
22	Diethyl succinate	1.42	1.17	6.15	2.86	0.15	0.13	1.66	0.42	6.79	1.93	0.35	0.29
23	Ethyl trans-4-decenoate	0.31	0.17	0.11	-	0.10	0.02	-	0.35	0.10	-	0.59	-
24	3-Methylthio propanol	0.15	0.05	0.05	0.17	0.05	0.04	0.17	0.09	0.02	0.29	0.25	0.11
25	Ethyl phenylacetate	-	-	0.03	0.15	-	0.02	0.05	0.04	0.03	0.13	-	-
26	Ethyl 2-methylbutyrate	0.49	0.47	0.35	0.73	-	0.14	0.16	0.40	0.15	0.12	0.30	1.07
27	2-Phenethyl acetate	5.87	4.31	4.01	4.25	2.98	7.45	1.13	4.44	4.21	3.65	3.82	3.14
28	Ethyl dodecanoate	4.16	5.18	3.42	3.02	4.17	2.74	2.48	5.54	4.53	6.98	4.42	0.93
29	Isopentyl decanoate	-	-	0.06	0.21	0.14	0.07	-	0.26	0.21	0.04	0.15	0.07
30	Ethyl 3-methylbutyl succinate	-	-	0.42	0.37	-	-	0.03	0.05	0.54	-	-	-

표 145. 계속

31	2-Phenylethanol	17.19	23.51	22.68	18.69	22.75	21.85	25.70	18.41	24.31	16.75	17.60	25.78
32	Ethyl tetradecanoate	6.31	3.45	2.63	4.11	4.16	2.58	5.77	5.90	1.26	6.46	2.81	1.59
33	Ethyl pentadecanoate	0.14	-	-	-	0.08	-	0.05	0.05	-	0.09	-	-
34	Hexadec-9-enyl tetradecanoate	0.08	0.14	-	-	0.03	-	-	0.04	-	-	-	-
35	4-Ethenyl-2-methoxyphenol	0.69	-	0.27	4.25	0.63	11.54	0.26	4.89	0.14	-	2.84	1.58
36	10-Methoxy-10-oxo-decanoic acid	-	-	-	0.13	0.26	0.01	-	0.04	-	-	0.07	0.20
37	Ethyl hexadecanoate	14.12	10.49	9.61	12.24	9.31	11.82	14.19	10.23	10.62	15.03	9.56	10.37
38	Ethyl (9E)-hexadec-9-enoate	-	0.30	-	0.25	0.73	0.31	0.15	0.28	-	0.33	0.11	0.53
39	1,5,9,9-Tetramethyl-, Z,Z,Z-1,4,8,-cycloundecatriene	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-
40	n-Decanoic acid	-	-	-	0.11	-	-	0.08	-	0.13	-	-	-
41	Ethyl heptadecanoate	-	0.23	-	-	0.05	-	-	-	-	0.10	-	-
42	Ethyl 15-methylheptadecanoate	1.77	0.40	0.38	0.70	0.99	0.55	0.41	0.33	0.26	0.57	0.24	0.28
43	Ethyl (Z)-octadec-9-enoate	11.16	8.03	6.49	6.24	11.73	9.00	6.13	8.13	3.70	8.19	4.84	6.10
44	Ethyl-9,12-octadecadienoate	12.49	8.75	6.44	6.87	12.62	8.08	9.06	8.54	8.49	9.92	4.95	5.85
45	Ethyl (9Z,12Z,15Z)-9,12,15-octadecatrienoate	0.27	0.04	-	-	0.11	-	0.12	0.06	0.05	0.15	-	-

^a Relative area % was calculated from the ratio of the peak area of each compounds in the total ion chromatogram %

-; not detected

관능평가에 사용된 시료 10종은 1종을 제외하고는 모두 쌀막걸리로서 관능평가와 연계된 품질지표 선정을 위해 pH, 총산, 환원당, 에탄올 함량, 색차, 아스파탐, 삭카린, 유리당, 유기산 및 향기성분에 대한 분석을 실시하였다. 표 146에서와 같이 pH는 평균 4.07 ± 0.20 , 총산함량은 평균 $0.34 \pm 0.05\%$, 환원당은 평균 $1.79 \pm 3.42\%$ 였으며, 에탄올은 $6.97 \pm 0.64\%$ 로써 표시량의 알코올 함량 6.5%에 비해 다소 높은 함량을 나타내었다. 색차는 L값 17.87 ± 3.42 , a값 2.64 ± 1.36 , b값 9.10 ± 0.69 으로써 생쌀막걸리의 L값 평균 15.81, a값 평균 3.24, b값 평균 8.50과 비교하여 L값이 다소 낮은 경향을 나타내었다(표 147). 아스파탐은 평균 432.3 mg/L의 함량을 나타내었다. 유리당은 비교적 시료간 편차가 매우 커 glucose 14,023 mg/L, fructose 7,560 mg/L, lactose 1,506.7 mg/L의 평균값을 나타내어 sucrose보다는 전반적으로 glucose나 fructose 등의 함량이 높은 경향을 보였다(표 149). 유기산을 분석한 결과(표 149)를 보면, succinic acid > malic acid > lactic acid > citric acid > formic acid > acetic acid > oxalic acid 순으로 이화학적 품질분석을 위한 생쌀막걸리 (표 143) 에서 보였던 경향과 일치하였다.

표 146. 관능평가용 살균 막걸리의 pH, 총산, 환원당 및 에탄올 함량 분석 결과

Sample No.	pH	Total acidity (acetic acid, %)	Reducing sugar (%)	Ethanol (%)
SRW1	4.01±0.03	0.27±0.01	1.75±0.11	7.64±0.20
SRW2	3.92±0.04	0.27±0.00	0.35±0.03	6.14±0.25
SRW3	3.95±0.02	0.29±0.01	3.25±0.01	7.50±0.15
SRW4	4.30±0.02	0.25±0.01	0.18±0.01	6.18±0.18
SRW5	4.10±0.03	0.25±0.02	2.80±0.10	7.15±0.22
SRW6	3.81±0.02	0.21±0.01	3.70±0.25	7.28±0.08
SRW7	4.41±0.01	0.21±0.01	3.35±0.17	6.19±0.08
SRW8	4.12±0.01	0.21±0.01	0.23±0.01	7.65±0.16
SRW9	4.02±0.07	0.22±0.00	3.34±0.10	6.50±0.17
SRW10	4.01±0.09	0.21±0.01	0.19±0.02	6.64±0.02
Average	4.07±0.20	0.23±0.03	1.79±3.42	6.89±0.07

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

SRW: Sterilized rice wine

표 147. 관능평가용 살균 막걸리의 색차, 아스파탐 및 삭카린 분석 결과

Sample No.	Hunter's color value			Aspartame (mg/L)	Saccharin (mg/L)
	L	a	b		
SRW1	18.20±0.25	2.67±0.03	9.15±0.04	182.4	ND
SRW2	17.02±0.29	3.23±0.12	8.88±0.05	205.2	ND
SRW3	20.98±0.10	1.30±0.02	10.31±0.07	789.5	ND
SRW4	14.67±0.08	4.02±0.02	8.46±0.03	883.8	ND
SRW5	15.74±0.09	3.21±0.05	8.99±0.08	385.2	ND
SRW6	23.89±0.34	0.25±0.04	8.83±0.09	54.1	ND
SRW7	15.10±0.24	3.77±0.04	8.98±0.12	691.1	ND
SRW8	15.02±0.08	3.42±0.04	8.65±0.05	281.9	ND
SRW9	20.26±0.04	1.76±0.02	10.05±0.03	408.1	ND
SRW10	16.04±0.01	3.36±0.05	8.62±0.01	144.4	ND
Average	17.87±3.42	2.64± 1.36	9.10±0.69	432.3	-

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 148. 관능평가용 살균 막걸리의 유리당 함량 분석 결과

Sample No.	Free sugars (mg/L)				
	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Lactose
SRW1	120.5±20.8	892.8±120.5	480.6±120.4	215.2±82.1	1,120.8±210.4
SRW2	40.8±12.7	2,068.7±110.3	2,068.7±10.9	79.2±15.9	1,085.8±20.1
SRW3	16,394.0±65.0	30,390.0±764.1	30,390.0±37.6	898.9±137.1	1,622.1±79.8
SRW4	13.7±3.1	212.6±160.4	212.6±72.9	40.8±12.3	601.4±68.3
SRW5	114.0±25.3	420.5±114.9	480.9±132.2	153.2±88.5	957.4±245.2
SRW6	9,892.6±114.6	35,405.1±167.9	35,405.1±69.5	658.9±156.8	875.4±43.1
SRW7	15,172.4±224.2	19,134.7±153.9	19,134.7±104.8	525.1±124.4	2,188.8±131.8
SRW8	22.7±13.6	356.3±188.4	356.3±45.2	136.0±79.5	1,991.9±180.1
SRW9	18,916.0±232.6	24,168.1±602.1	24,168.1±157.1	379.5±409.8	2,240.1±300.7
SRW10	34.1±6.0	450.1±2.7	450.1±6.8	98.3±61.8	1,447.7±127.3
Average	7,560.8±8,428.9	14,023.2±14,922.5	427.5±181.1	352.1±317.7	1506.7±615.4

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 149. 관능평가용 살균 막걸리의 유기산 함량 분석 결과

Sample No.	Organic acid (mg/L)							
	Oxalic acid	Formic acid	Malic acid	Ascorbic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
SRW1	248.5±36.4	532.8±29.4	2,042.6±182.1	66.8±2.4	785.1±29.8	435.2±59.1	880.1±82.2	1,625.8±169.1
SRW2	331.5±1.6	336.2±17.0	2,968.1±37.3	20.9±3.0	698.4±30.9	338.9±18.3	939.6±76.6	1,353.4±250.2
SRW3	893.1±4.4	754.0±45.8	1,416.7±65.2	90.2±4.9	1,239.9±39.9	593.6±37.2	1,405.1±39.2	3,086.4±53.3
SRW4	761.6±4.4	714.3±4.4	1,500.4±26.4	65.9±1.5	1,501.5±12.6	996.4±27.8	1,778.5±65.7	4,305.6±183.3
SRW5	584.3±31.1	570.8±27.1	1,820.5±31.7	41.2±2.2	721.5±62.8	620.8±26.7	966.0±38.2	1,380.0±125.4
SRW6	162.8±80.9	154.5±7.8	888.6±29.2	9.1±1.1	146.5±32.9	258.9±35.3	608.2±71.8	910.8±167.8
SRW7	1,253.3±10.5	1,025.4±21.5	2,473.5±78.2	37.8±2.7	342.8±6.0	439.3±185.5	1,177.9±28.4	1,946.0±89.2
SRW8	711.3±23.8	741.1±11.2	1,829.7±144.2	56.4±5.4	705.5±91.1	689.3±175.7	418.3±25.0	1,541.0±65.2
SRW9	937.4±138.8	565.6±6.7	795.3±39.7	82.9±3.1	1,126.5±43.9	1,094.3±39.8	876.7±62.7	2,851.3±154.3
SRW10	509.8±4.2	596.1±406.5	1,917.1±257.5	40.2±4.5	840.0±39.9	310.0±7.0	846.6±24.1	1,010.5±19.8
Average	695.1±351.3	610.9±268.9	1,723.7±742.8	50.4±28.8	825.2±454.2	590.1±316.9	1,006.4±436.8	2,125.6±188.7

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

(나) 막걸리의 대표종별 유통조건에 따른 품질 특성 변화 분석

유통조건에 따른 품질변화가 큰 생막걸리 9종과 살균막걸리 3종의 잡곡 첨가 막걸리를 대상시료로 하여 저온과 상온유통 조건에서의 품질변화를 조사·분석하였다(쌀 막걸리는 제1세부에서 수행). 대부분의 생막걸리는 통상 병입후 5일정도에 관능적으로 가장 우수하다고 알려져 있으며 유통기한을 고려할 때 병입후 10일 정도가 실제 소비는 품질유지기한인 것으로 판단하여 저장기간을 설계하였다. 생막걸리를 5℃에 저장하면서 병입후 5일과 10일에 품질을 분석한 결과 탁도는 저장 5일의 $41.55 \pm 8.57\%$ 에 비해 10일의 $42.76 \pm 7.94\%$ 로 산술적으로는 약 2.3% 정도 증가하는 경향을 나타내었으나 시료에 따라서는 감소를 나타내기도 하여 일관된 경향을 보이지 않아 유의적 변화가 발생했다고 판단하기는 어려웠다(표 150). pH는 저장 5일 3.63 ± 0.39 에서 저장 10일 3.62 ± 0.15 으로 1.1%의 감소를 보였으나 전반적으로 큰 변화가 관찰되지 않았다(표 151). 아미노산성 질소는 저장 5일의 87.07 mg%에서 저장 10일후 84.95 mg%로 평균적으로는 약 3 mg%가 감소하였으며 대부분의 시료에서 감소하는 경향을 나타내었다(표 152). 반면 총산 함량은 저장 5일 평균 $0.29 \pm 0.04\%$ 에서 $0.33 \pm 0.04\%$ 로 약 0.05%가 증가하였다(표 153). 이러한 결과는 pH 상승과는 일치하지 않는 결과로서 유기산 외의 다른 요소가 pH를 증가시켰을 가능성을 고려해 볼 수 있다. 총당은 저장 5일에 $1.36 \pm 0.50\%$ 에서 저장 10일에 평균 $1.33 \pm 0.63\%$ 로 약 0.03% 정도 감소하였는데 이러한 경향을 환원당 함량 분석결과 저장 5일의 평균 $1.57 \pm 0.84\%$ 에서 저장 10일후 평균 $1.23 \pm 0.67\%$ 로 동일하게 관찰되었다(표 154 및 표 155). 이는 저장중 생막걸리의 특성상 지속적인 미생물 대사에 따른 당의 감소가 원인인 것으로 생각되었다. 고형량의 경우 저장 5일에는 평균 $3.71 \pm 0.65\%$ 였으나 저장 10일에는 $3.53 \pm 0.66\%$ 로 약 0.18% 정도가 감소하였다(표 156). 이 역시 미생물 대사에 따른 유기물의 분해에 기인한 것으로 생각되었다. 에탄올의 경우 저장중 지속적인 발효에 의해 다소간의 증가가 관찰되어 저장 초기 평균 $7.27 \pm 0.22\%$ 에서 저장 10일 평균 $7.61 \pm 0.11\%$ 로 증가하였다(표 157). 메탄올의 경우에는 저장초기 평균 $0.0048 \pm 0.0018\%$ 에서 저장 10일후 $0.0043 \pm 0.0004\%$ 로 약 4.1%의 감소하는 경향을 보였다(표 158). 색차는 저장 5일 L값은 평균 13.43 ± 2.34 에서 저장 10일 평균 14.45 ± 2.20 로 4.5%가 증가하였으며, b값은 저장 5일 평균 5.49 ± 1.24 에서 저장 10일 평균 5.47 ± 1.34 로 0.7%가 감소하였으며, b값은 저장 5일 평균 10.09 ± 3.41 에서 저장 10일 평균 9.23 ± 1.13 로 8%가 감소하여 명도를 나타내는 L값은 증가하고 a값과 b값은 감소하였다(표 159). 저장중 총균수, 젖산균수 및 효모 및 곰팡이수는 모두 생막걸리 9종중 2종은 1 log cycle 수준의 증가를, 1종은 1 log cycle 수준의 감소를, 나머지 6종은 큰 변화를 보이지 않았으며 살균 막걸리 3종은 저장 기간 5일과 10일에서 검출한계 이하의 수준이었다(표 160).

표 150. 막걸리의 5℃ 저장중의 탁도의 변화

[unit : %]

Rice wine	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	43.28±0.57	43.78±0.58	
MRW2	51.79±4.20	46.47±1.18	
MRW3	33.64±2.97	32.24±1.20	
MRW4	60.83±1.32	50.55±0.10	
MRW5	29.11±0.30	31.44±1.15	
MRW6	36.14±0.57	38.18±0.64	
MRW7	37.86±3.10	39.24±3.99	
MRW8	41.48±2.59	49.98±1.17	
MRW9	47.88±3.43	52.97±2.24	
MRW10	37.30±2.63	38.14±1.57	
MRW11	37.30±2.63	40.2±0.85	
MRW12	37.30±2.63	38.62±1.81	
Average	41.55±8.57	42.76±7.94	102.3

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 151. 막걸리의 5℃ 저장중의 pH의 변화

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	3.57±0.01	3.52±0.05	
MRW2	3.68±0.00	3.51±0.03	
MRW3	3.69±0.01	3.63±0.02	
MRW4	3.48±0.01	3.46±0.01	
MRW5	3.46±0.01	3.42±0.02	
MRW6	3.44±0.01	3.50±0.01	
MRW7	3.88±0.02	3.78±0.09	
MRW8	3.78±0.03	3.81±0.02	
MRW9	3.71±0.01	3.72±0.02	
MRW10	4.31±0.02	4.29±0.01	
MRW11	2.67±0.25	2.65±0.03	
MRW12	3.88±0.02	3.85±0.04	
Average	3.63±0.39	3.62±0.15	98.9

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 152. 막걸리의 5℃ 저장중의 아미노산성 질소함량의 변화

[unit : mg%]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	112.79±1.63	103.37±7.10	
MRW2	86.48±4.20	90.11±7.42	
MRW3	105.99±2.55	102.45±3.59	
MRW4	77.31±3.23	75.61±1.44	
MRW5	85.42±3.96	80.58±2.25	
MRW6	86.87±2.72	83.25± 5.81	
MRW7	87.10±1.53	81.74±7.55	
MRW8	79.31±6.25	73.37±0.25	
MRW9	96.14±6.68	93.11±1.57	
MRW10	76.40±1.20	77.21±1.15	
MRW11	75.72±2.10	76.40±1.28	
MRW12	78.93±1.55	79.94±1.60	
Average	84.95±15.38	87.07±10.91	96.0

¹⁾ Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 153. 막걸리의 5℃ 저장중의 총산의 변화

[unit : %, as acetic acid]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	0.32±0.01	0.28±0.00	
MRW2	0.33±0.02	0.34±0.01	
MRW3	0.37±0.01	0.35±0.01	
MRW4	0.32±0.01	0.31±0.01	
MRW5	0.31±0.01	0.33±0.02	
MRW6	0.33±0.02	0.27±0.01	
MRW7	0.27±0.01	0.34±0.01	
MRW8	0.27±0.01	0.30±0.00	
MRW9	0.33±0.01	0.40±0.02	
MRW10	0.29±0.01	0.30±0.02	
MRW11	0.19±0.03	0.18±0.03	
MRW12	0.16±0.01	0.17±0.01	
Average	0.29±0.04	0.33±0.04	113.7

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 154. 막걸리의 5℃ 저장중의 총당 함량의 변화

[unit : %]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	0.91±0.28	1.03±0.12	
MRW2	1.25±0.80	1.61±0.03	
MRW3	1.50±0.75	2.65±0.34	
MRW4	1.33±0.77	1.08±0.08	
MRW5	2.72 ±0.24	0.87±0.07	
MRW6	1.10±0.46	0.38±0.15	
MRW7	1.33±0.11	1.56±0.01	
MRW8	0.91±0.06	1.44±0.03	
MRW9	1.31±0.01	1.32±0.01	
MRW10	1.33±0.03	1.27±0.11	
MRW11	0.88±0.12	0.90±0.04	
MRW12	1.75±0.18	1.78±0.06	
Average	1.36±0.50	1.33±0.63	97.8

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 155. 막걸리의 5℃ 저장중의 환원당 함량의 변화

[unit : %]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	1.00±0.01	0.76±0.03	
MRW2	1.33±0.06	0.96±0.02	
MRW3	3.01±0.07	2.72±0.00	
MRW4	1.48±0.01	0.99±0.02	
MRW5	3.56±0.04	0.80±0.02	
MRW6	1.42±0.01	0.70±0.03	
MRW7	1.07±0.02	0.92±0.07	
MRW8	1.02±0.01	1.34±0.04	
MRW9	0.91±0.02	1.90±0.04	
MRW10	1.64±0.05	1.55±0.09	
MRW11	0.98±0.03	1.03±0.05	
MRW12	1.42±0.04	1.39±0.06	
Average	1.57±0.84	1.23±0.67	89.2

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 156. 막걸리의 5℃ 저장중의 고풍량의 변화

[unit : %]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	3.58±0.02	3.45±0.03	
MRW2	4.28±0.03	4.04±0.01	
MRW3	4.83±0.01	4.79±0.03	
MRW4	4.40±0.03	3.72±0.05	
MRW5	4.59±0.04	3.94±0.01	
MRW6	3.44±0.01	2.75±0.06	
MRW7	3.54±0.11	2.97±0.03	
MRW8	3.15±0.05	2.83±0.03	
MRW9	3.52±0.03	3.29±0.04	
MRW10	2.85±0.04	2.79±0.06	
MRW11	3.09±0.36	3.01±0.08	
MRW12	3.28±0.01	3.25±0.02	
Average	3.71±0.65	3.53±0.66	89.7

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 157. 막걸리의 5℃ 저장중의 에탄올 함량의 변화

[unit : %]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	6.65±0.90	7.05±0.18	
MRW2	8.99±0.30	9.28±0.42	
MRW3	7.20±0.29	7.36±0.41	
MRW4	7.21±0.38	7.48±0.22	
MRW5	7.85±0.23	8.04±0.32	
MRW6	7.62±0.10	8.03±0.25	
MRW7	7.47±0.14	8.02±0.12	
MRW8	7.59±0.10	7.77±0.25	
MRW9	6.12±0.19	6.60±0.26	
MRW10	7.10±0.09	7.38±0.06	
MRW11	7.42±0.25	7.49±0.20	
MRW12	6.41±0.20	6.79±0.16	
Average	7.27±0.22	7.61±0.11	104.6

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 158. 막걸리의 5℃ 저장중의 메탄올 함량의 변화

[unit : %]

Sample No.	Storage time (days)		Ratio (%)
	5	10	
MRW1	0.0041±0.0007	0.0038±0.0021	
MRW2	0.0031±0.0008	0.0049±0.0026	
MRW3	0.0040±0.0006	0.0046±0.0014	
MRW4	0.0040±0.0006	0.0046±0.0014	
MRW5	0.0073±0.0055	0.0039±0.0005	
MRW6	0.0043±0.0008	0.0039±0.0011	
MRW7	0.0085±0.0015	0.0041±0.0015	
MRW8	0.0058±0.0005	0.0048±0.0007	
MRW9	0.0064±0.0013	0.0061±0.0009	
MRW10	0.0055±0.0017	0.0046±0.0022	
MRW11	0.0047±0.0015	0.0058±0.0010	
MRW12	0.0029±0.0007	0.0037±0.0013	
Average	0.0048±0.0018	0.0043±0.0004	95.9

1) Data represent means(standard deviations) of three measurements.

표 159. 막걸리의 5℃ 저장중의 색차의 변화

Sample No.	Storage time (days)						Ratio (%)		
	5			10			L	a	b
	L	a	b	L	a	b			
MRW1	13.54±0.52	5.30±0.57	8.76±0.40	14.16±0.14	5.65±0.03	9.19±0.08			
MRW2	12.40±0.19	5.37±0.03	8.13 ±0.12	13.24±0.04	5.29±0.06	8.66±0.02			
MRW3	12.00±0.17	5.41±0.06	7.92±0.11	14.21±0.37	4.71±0.15	9.31±0.22			
MRW4	10.39±0.19	7.73±0.02	6.90±0.13	10.22±0.36	7.75±0.03	6.79±0.24			
MRW5	13.65±0.20	7.49±0.06	8.92±0.12	13.86±0.24	7.57±0.08	9.06±0.15			
MRW6	18.22±0.32	3.76±0.17	10.92±0.08	18.32±0.15	3.83±0.07	10.94±0.04			
MRW7	15.22±0.41	5.02±0.01	15.41±0.10	15.41±0.10	4.82±0.05	9.56±0.06			
MRW8	14.69±0.20	4.77±0.08	16.21±0.13	16.21±0.13	4.59±0.06	10.19±0.08			
MRW9	14.69±0.20	4.77±0.08	14.47±0.11	14.47±0.11	5.04±0.02	9.35±0.07			
MRW10	14.08±0.29	5.45±0.18	9.28±0.19	14.22±0.12	5.51±0.12	9.30±0.08			
MRW11	13.10±0.15	4.08±0.09	8.13±0.09	12.99±0.26	4.06±0.05	8.20±0.06			
MRW12	9.18±0.05	6.74±0.05	6.08±0.03	9.07±0.13	6.79±0.11	6.01±0.05			
Average	13.43±2.34	5.49±1.24	10.09±3.41	14.45±2.20	5.47±1.34	9.23±1.13	104.5	99.3	91.0

표 160. 막걸리의 5℃ 저장중의 미생물군수의 변화

Sample No.	Microbial cell counts (CFU/mL)							
	Aerobic bacteria		Yeast & mold		Lactic acid bacteria		Coliform	
	Storage time (days)		Storage time (days)		Storage time (days)		Storage time (days)	
	5	10	5	10	5	10	5	10
MRW1	5.8×10^7	3.8×10^7	5.3×10^7	5.8×10^7	2.2×10^7	2.0×10^7	2.5×10^3	1.1×10^5
MRW2	2.5×10^7	3.0×10^9	1.4×10^8	3.3×10^9	2.4×10^8	2.4×10^9	-	-
MRW3	9.0×10^5	9.9×10^4	7.2×10^7	5.4×10^5	3.0×10^5	5.9×10^4	1.3×10^2	7.5×10^2
MRW4	1.2×10^8	2.6×10^8	1.3×10^7	2.4×10^8	2.6×10^7	1.6×10^8	3.8×10^7	4.2×10^3
MRW7	8.4×10^7	1.2×10^7	9.9×10^7	4.6×10^7	1.2×10^8	1.4×10^8	4.8×10^7	4.0×10^7
MRW9	1.2×10^8	3.1×10^7	1.5×10^8	3.5×10^7	1.3×10^8	3.3×10^7	4.7×10^7	2.0×10^3
MRW10	2.3×10^7	2.5×10^7	1.8×10^7	1.8×10^7	2.2×10^7	1.0×10^6	2.1×10^5	2.3×10^4
MRW11	2.1×10^6	3.2×10^6	1.0×10^6	2.5×10^6	9.9×10^6	1.5×10^6	1.3×10^4	4.5×10^4
MRW12	1.0×10^7	1.3×10^8	1.3×10^6	2.6×10^7	2.8×10^6	9.9×10^7	2.7×10^2	9.6×10^3

나. 막걸리의 안전성 확보를 위한 품질 지표 개발

(1) 주요 시판 막걸리 제품의 안전성 관련 지표 성분 및 위해 성분의 조사·분석

(가) 곰팡이 독소

막걸리 등의 양조에 사용되는 누룩 등은 당화에 필요한 효소의 생성등 주질에 미치는 영향이 큰 원료이다. 누룩에 존재하는 미생물의 균총에 최근의 연구결과에 의하면 세균외에도 *Trichomonascus* spp., *Pichia* spp., *Torulasporea* spp., *Wickerhamomyces* spp., *Sacharomycopsis* spp., *Lichtheimia* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. 등의 다양한 효모와 곰팡이 등의 존재한다고 보고하고 있다. 막걸리의 경우에도 누룩 등의 발효제를 사용하기 때문에 마이코톡신의 생성 가능성을 완전히 배제할 수는 없다.

마이코톡신(mycotoxin)에 대한 국내외의 연구는 한국인의 암 발생이 간장과 된장중에 존재하는 아플라톡신에 기인될 가능성이 있다고 제시한 이래 전통식품재료나 식품으로부터 아플라톡신의 오염정도, 아플라톡신 생성균의 분리, 가공중의 아플라톡신의 변화 및 안정성 등에 관한 연구가 이루어져 왔으며, 메주, 된장, 간장 등에서 *Aspergillus*속, *Penicillium*속, 및 *Paecilomyces*속을 분리하고 이들의 오크라톡신 A 생성능을 확인하기도 하였다. 한편, 곰팡이 독소의 정량법으로는 TLC, GC, GC-MS 및 HPLC를 이용한 방법들이 사용되고 있으나 기기 분석법이 지니고 있는 분석상의 한계로 마이코톡신에 대한 항원항체 반응을 이용한 면역학적 기법이 시도되고 있다. 실지로 전국 주요도시의 자가제조된 전통발효식품에서 아플라톡신을 검색한 결과 대략 7~8% 정도의 빈도로 아플라톡신이 확인되었으며 그 외의 곡류에서 오크라톡신, T-2 toxin, zearalenone, vomitoxin, patulin 및 citrinine 등의 오염이 확인되었다고 보고하고 있다. 또한 국내에서 재래적인 방법으로 생산, 시판되고 있는 간장, 된장을 수집하여 오크라톡신 생성균을 분리한 바 22균주에서 39균주가 오크라톡신 A를 생산하였고 형태학적으로 대부분 *Aspergillus*속, *Penicillium*속 및 *Paecilomyces*속인 것으로 보고하였다.

시중에 유통중인 막걸리의 aflatoxin과 ochratoxin A를 시험분석한 결과는 표 161과 같다. 30개 시료 모두에서 aflatoxin과 ochratoxin A가 모두 검출되지 않았으며 이때 시험 조건하에서의 aflatoxin과 ochratoxin A의 LOQ는 0.2 ppb, 0.2 ppb였으며, LOD는 0.04 ppb 및 0.04 ppb였다. 표준물질의 회수율은 afatoxin B1 73.75%, aflatoxin G1 88.03%, aflatoxin B2 88.34%, aflatoxin G2 97.756%였으며 ochratoxin A는 98.7%였다. 2006년 박 등이 30개 제품중 28개 제품에서 ochratoxin A가 검출되었다고 보고한 바 있으나 본 실험에서 동일한 면역침화컬럼을 사용한 HPLC법을 사용하였으나 모두 검출되지 않았다.

표 161. 시중 유통 막걸리의 Aflatoxin과 ochratoxin A 수준

Sample No.		Aflatoxin (ng/mL)				Ochratoxin (ng/mL)
		B1	G1	B2	G2	
1	RW1	ND	ND	ND	ND	ND
2	RW2	ND	ND	ND	ND	ND
3	RW3	ND	ND	ND	ND	ND
4	RW4	ND	ND	ND	ND	ND
5	RW5	ND	ND	ND	ND	ND
6	RW6	ND	ND	ND	ND	ND
7	RW7	ND	ND	ND	ND	ND
8	RW8	ND	ND	ND	ND	ND
9	RW9	ND	ND	ND	ND	ND
10	RW10	ND	ND	ND	ND	ND
11	RW11	ND	ND	ND	ND	ND
12	RW12	ND	ND	ND	ND	ND
13	SRW1	ND	ND	ND	ND	ND
14	SRW2	ND	ND	ND	ND	ND
15	SRW3	ND	ND	ND	ND	ND
16	SRW4	ND	ND	ND	ND	ND
17	SRW5	ND	ND	ND	ND	ND
18	SRW6	ND	ND	ND	ND	ND
19	SRW7	ND	ND	ND	ND	ND
20	SRW2-1	ND	ND	ND	ND	ND
21	SRW2-2	ND	ND	ND	ND	ND
22	SRW2-3	ND	ND	ND	ND	ND
23	SRW2-4	ND	ND	ND	ND	ND
24	SRW2-5	ND	ND	ND	ND	ND
25	SRW2-6	ND	ND	ND	ND	ND
26	SRW2-7	ND	ND	ND	ND	ND
27	SRW2-8	ND	ND	ND	ND	ND
28	SRW2-9	ND	ND	ND	ND	ND
29	SRW2-10	ND	ND	ND	ND	ND

- LOQ(S/N 10:1) : 0.2 ppb(aflatoxin), 0.2 ppb(ochratoxin A)
- LOD(S/N 2:1) : 0.04 ppb(aflatoxin), 0.04 ppb(ochratoxin A)
- Standard recovery : 73.75%(aflatoxin B1), 88.03%(aflatoxin G1), 78.34%(aflatoxin B2), 97.76%(aflatoxin G2), 98.7%(ochratoxin A)

(나) 오염 위해 미생물

탁·약주를 중심으로 한 미생물 관련 연구는 주로 발효에 관여하는 유용 미생물에 대한 연구가 주를 이루고 있고 주류는 그 특성상 병원성 미생물의 생존이 불가능하다는 보편적인 인식 때문에 안전성과 관련된 미생물에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 하지만 제성단계 이후의 탁주는 알코올분이 약 6~8% 수준이고 유기산도 0.25% 수준으로 완화된 상태에서 내알코올성이나 내산성을 가지는 세균의 경우에는 일정시간 동안 잔존할 가능성을 완전히 배제할 수는 없다.

막걸리의 SOP와 SSOP의 개발에 있어 안전성을 광의의 관리활동으로 정의할 경우 이러한 위해인자의 관리가 실지로 필요한가를 충분히 검토해볼 필요가 있다.

시중에 유통중인 막걸리 33개 시료를 1차 시료로 하여 식품공전 미생물시험법에 따른 정성시험을 실시한 결과 *S. aureus*는 총 33개시료중 9점이 양성으로 판정되었으며 생화학시험에서 8점이 양성으로 판정되었으나 16s RNA sequencing 결과 모두 음성으로 판정되었다. 이중 1개 균주는 *Bacillus cereus*로 판정되었다. *Salmonella* spp.는 총 33개 시료의 1차 정성시험에서 6점이 양성으로 판정되었으나 생화학시험으로 실시한 결과 모두 음성으로 판정되었다. *E. coli*는 총 33개 시료에서 33개 시료의 1차 정성시험에서 모두 음성으로 판정되어 검출되지 않았다. *Bacillus cereus*는 총 33개의 1차 정성시험에서 9점이 양성으로 판정되었고, 생화학시험, 16s RNA sequencing 결과 모두 양성으로 판정되었다(표 162). *L. monocytogenes*는 33개 시료의 1차 정성시험에서 모두 음성으로 판정되어 검출되지 않았다.

Salmonella typhimurium 등 5종의 병원성 미생물의 알코올에 대한 생존성을 분석하기 위해 제공한 막걸리(알코올 8%, 산도 0.24%)에 직접 노출시키면서 경시적인 균수의 변화를 확인한 결과 표 163에서와 같이 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538을 제외한 모든 균주를 0일에 사멸하는 것으로 나타났으며 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538는 초기 5 log CFU/mL에서 2시간후 7.8×10^3 CFU/mL로 감소한 후 2일에서 5.7×10^1 CFU/mL, 4일후에는 1 mL당 불검출로 모두 사멸하는 것으로 추정되었다. 표준균주인 *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus*의 에탄올에 대한 내성을 시험한 결과 표 164에서와 같이 5.1 log CFU/mL의 초기 균수는 2시간후 모두 2.4~2.7 log CFU/mL로 감소한 다음 경시적인 농도 의존성 감소를 나타내었다. 6% 이하의 농도에서만 2일까지 잔존하였으며 8% 이상의 농도에서는 2일 이전에 모두 검출되지 않았다. 대표적인 유기산인 succinic acid에 대한 내산성을 검토한 결과 0.1% 농도 이상에서는 모두 사멸하는 것으로 나타났다. 그러나 본 실험은 phosphate buffer내에서 실시한 결과로 무첨가에서도 viability가 지속적으로 감소했다는 점을 고려해보면 직접인 영향으로만 한정하기에는 무리가 있다고 판단되었다.

막걸리 제품에서 분리한 *Bacillus cereus* 8종을 여과하여 제공한 막걸리에 직접 노출한 경우 표준균주와는 달리 초기 1일까지는 급격한 생균수 감소를 보였으나 2일 이후에는 최대 약 1.4 log CFU/mL까지 균수가 유지되는 것으로 나타났다(그림 189)

(다) 인공감미료, 보존료의 첨가물 등

막걸리의 제조공정에 사용되는 인공감미료인 아스파탐과 삭카린의 제품 중 함유량과 sorbic acid과 butyl- ρ -Hydroxy-benzoate 함유량을 결정한 결과는 다음과 같다. 시험에 사용한 26개 제품 모두에서 Aspartame, Saccharin, Sorbic acid, Butyl- ρ -Hydroxy-benzoate이 검출한 계이하로 나타나 불검출로 판단되었다.

표 162. 16S RNA sequencing 결과

Sample No.	Accession	Description	Score (bits)	Identities (%)
1	GQ375229.1	<i>Bacillus subtilis</i> sub. <i>Subtilis</i> strain CICC 10078 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1863(940)	99
2	CP002508.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>finitimus</i> YBT-020, complete genome	1836(926)	99
3	CP002508.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>finitimus</i> YBT-020, complete genome	1840(928)	99
4	CP002508.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>finitimus</i> YBT-020, complete genome	1739(877)	99
5	CP002508.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>finitimus</i> YBT-020, complete genome	1836(926)	99
6	CP002508.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>finitimus</i> YBT-020, complete genome	1796(906)	99
7	HM224388.1	<i>Bacillus mycoides</i> strain Y7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1816(916)	99
8	AF155950	<i>Bacillus anthracis</i> strain Ames 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1871(944)	99
9	EF095218	<i>Bacillus cereus</i> strain BNM0343 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	842(425)	95
1	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1635(825)	98
2	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1840(928)	99
3	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1861(939)	100
4	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1792(904)	99
5	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1850(933)	99
6	HQ727973.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Aj080319IA-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.	1836(926)	99
7	AE017194.1	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10987, complete genome	1828(922)	99
8	GU982920.1	<i>Bacillus cereus</i> strain GXBC-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1794(905)	99

표 163 표준균주의 막걸리에서의 생존성

Bacterial strain	days		
	0	2	4
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	7,750	57	0
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i> KCTC 3587	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> BD170	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	0	0	0

표 164. *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus* 표준균주의 에탄올 농도에 따른 생존성

Bacterial strain	EtOH concentration (%, v/v)	Time(days)		
		0	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (Log CFU/mL)	0	5.1(2.7)	1.9	1.8
	2	5.1(2.5)	1.0	0.0
	4	5.1(2.6)	0.7	0.0
	6	5.1(2.7)	0.4	0.0
	8	5.1(2.5)	0.0	0.0
	10	5.1(2.4)	0.0	0.0
<i>Bacillus cereus</i> (Log CFU/mL)	0	5.3(2.5)	1.1	1.4
	2	5.3(2.2)	0.2	0.0
	4	5.3(2.2)	0.0	0.0
	6	5.3(1.9)	0.0	0.0
	8	5.3(1.7)	0.0	0.0
	10	5.3(1.2)	0.0	0.0

표 165. *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus* 표준균주의 succinic acid 농도에 따른 생존성

Bacterial strain	Succinic acid concentration (%, w/v)	Time(days)		
		0	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (Log CFU/mL)	0.0%	5.1(2.0)	1.3	1.5
	0.1%	5.1(1.9)	0.0	0.0
	0.2%	5.1(1.8)	0.0	0.0
	0.3%	5.1(1.7)	0.0	0.0
	0.4%	5.1(1.7)	0.0	0.0
	0.5%	5.1(1.5)	0.0	0.0
<i>Bacillus cereus</i> (Log CFU/mL)	0.0%	5.3(1.8)	1.9	1.1
	0.1%	5.3(0.0)	0.0	0.0
	0.2%	5.3(0.0)	0.0	0.0
	0.3%	5.3(0.0)	0.0	0.0
	0.4%	5.3(0.0)	0.0	0.0
	0.5%	5.3(0.0)	0.0	0.0

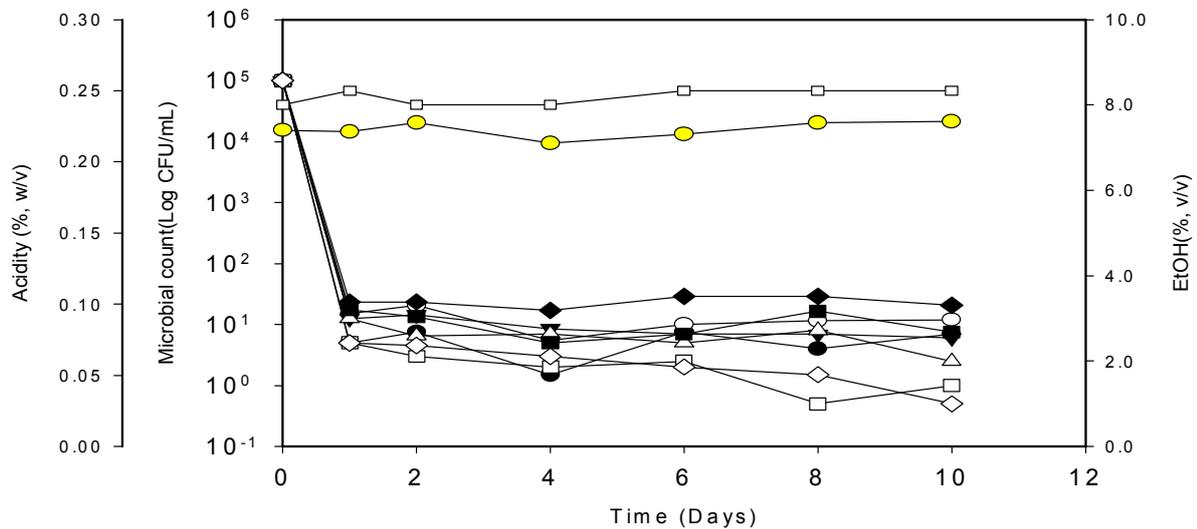


그림 189. 막걸리에서 분리한 wild type *Bacillus cereus*의 막걸리에서의 생존성. 심볼 : *Bacillus cereus* strain 1(●), *Bacillus cereus* strain 2(○), *Bacillus cereus* strain 3(▼), *Bacillus cereus* strain 4(△), *Bacillus cereus* strain 5(■), *Bacillus cereus* strain 6(□), *Bacillus cereus* strain 7(◆), *Bacillus cereus* strain 8(◇), 에탄올(●), 산도(●)

표 166. 시중 유통 막걸리 제품에서의 aspartame, saccharin, sorbic acid 및 butyl- ρ -Hydroxy-benzoate의 함량 시험분석 결과

시료번호	Aspartame (mg/L)	Saccharin (mg/L)	Sorbic acid (mg/L)	Butyl- ρ -Hydroxy -benzoate(mg/L)	비고
1	58.2	ND	ND	ND	1차
2	37.7	ND	ND	ND	"
3	100.6	ND	ND	ND	"
4	55.1	ND	ND	ND	"
5	72.7	ND	ND	ND	"
6	34.1	ND	ND	ND	"
7	287.7	ND	ND	ND	"
8	71.7	ND	ND	ND	"
9	30.4	ND	ND	ND	"
10	109.7	ND	ND	ND	"
11	146.6	ND	ND	ND	"
2	48.3	ND	ND	ND	"
13	20.6	ND	ND	ND	"
14	78.6	ND	ND	ND	2차
15	101.3	ND	ND	ND	"
16	79.5	ND	ND	ND	"
17	68.7	ND	ND	ND	"
18	109.2	ND	ND	ND	"
19	58.2	ND	ND	ND	"
20	92.7	ND	ND	ND	"
21	33.8	ND	ND	ND	"
22	112.7	ND	ND	ND	"
23	85.7	ND	ND	ND	"
24	87.3	ND	ND	ND	"
25	67.8	ND	ND	ND	"
26	120.1	ND	ND	ND	"

(2) 주요 공정별 이행 및 오염원 추적 분석

(가) 병원성 미생물 검출

국내에서 생산되고 있는 막걸리의 위생상태를 파악하기 위해 막걸리 업체로부터 59종의 시료를 수집하였다. 시료를 TSB 배지에 접종후 24-72시간을 계대 배양후 13종의 미생물의 target gene을 증폭하여 Real time -PCR kit를 실시하여 병원성 미생물의 오염여부를 확인한 결과는 표 167와 같다. 시료 48의 경우 72시간내에 증균되지 않아 증균단계에서 실험을 종료하였다. PowerCheck™ 19 Pathogen Multiplex Real-time PCR kit의 결과에서 Ct 값 30을 넘는 경우 배지 상에서 검출이 되지 않을 수 있다. 시판되는 식품의 경우 Ct 33 까지 증폭된 결과를 확인한다. 사용된 time-PCR kit는 Ct값이 15-35인 범위에서 threshold가 0.4이상일 때 시료가 오염될 가능성이 있는 것으로 알려져 있다.

Real time -PCR kit로 13종 미생물의 오염여부를 파악한 결과, *Bacillus cereus*에 대한 검사에서만 시료의 오염이 관찰되었고 나머지 미생물에 대해서는 유전자 증폭은 전혀 관찰되지 않았다. 따라서 막걸리 시료 59종의 경우 병원성 미생물은 *Bacillus cereus*만 검출된 것으

로 확인되었다. *Bacillus cereus*만 검출된 시료를 접종하여 증균후 DNA를 얻은 경우이기에 유의한 Ct값을 가지면서 threshold가 0.4이상인 경우를 포함시켜 총 19종의 시료가 *Bacillus cereus*중 오염가능성을 보였다. 19종의 시료는 1, 2, 3, 4, 11, 12, 14, 16, 20, 22, 27, 30, 31, 32, 36, 40, 51, 57, 59으로 59종중 32.2 %에 해당하였다. 이 결과는 증균된 시료에 의한 실험이므로 실제로 검출된 시료가 *Bacillus cereus*인지 검출율의 수준 및 독소형 식중독 유발 여부를 확인할 필요가 있다.

(나) *Bacillus cereus* 검출

MYP 배지는 polymyxin에 대한 저항성, 만니톨 분해능 부족 및 lecithinase의 존재에 기초해서 다른 균들로부터 *Bacillus cereus*를 감별한다. MYP Agar에는 beef extract와 peptone이 탄소, 질소, 비타민 및 미네랄 원으로 들어간다. D-Mannitol은 탄수화물원이다. Phenol red는 pH 지시제이다. 배지 구성물중 egg yolk enrichment 50%는 lecithin을 제공하며, polymyxin B antimicrobial Vial P는 대부분의 다른 균의 성장을 억제하게 된다. 만니톨을 분해하는 균은 산을 생성해서 노란색 집락을 형성한다. lecithinase를 생성하는 균은 lecithin을 가수분해해서 집락 주변에 흰색 침전물이 있는 구역을 형성한다.

*Bacillus cereus*는 전형적으로 만니톨-음성(분홍색-적색 집락)이고 lecithinase-양성(집락 주변에 침전물 구역)이다. MYP 배지에 시료를 단계별로 희석하여 접종한 결과 시료 1, 2, 4, 11, 12, 22, 32의 경우 분홍색-적색 집락을 형성하며 흰색 침전물 구역을 형성하여 *B. cereus* group으로 간주하고 독소유전자에 대한 PCR 증폭을 진행하였다. 상대적으로 시료 3, 4, 14, 16, 20, 27, 30, 31, 36, 40, 51, 57, 59의 경우 노란-주황색 환을 형성하여 *Bacillus* spp. 또는 다른 세균류로 추정된다. MYP 배지상에서 분홍색-적색 집락을 형성한 7개의 시료의 *Bacillus cereus*의 오염정도는 10^1 CFU/mL 이하로 관찰되었다. RT-PCR에서 *Bacillus cereus*로 관찰된 19종중 36.8%인 7종만이 MYP 배지에서 *Bacillus cereus*일 가능성을 보였다. 따라서 총시료 59종중 7종이므로 전체시료에선 11.9%가 *Bacillus cereus*일 가능성이 있는 것이다.

(다) 독소 유전자 분포

MYP 배지의 각 plate에 형성된 1-4개의 colony를 모두 증균하여 독소 유전자 보유를 PCR로 검증하여 병원성을 확인하였다. MYP 선택배지에서 *Bacillus cereus*로 선별된 시료 1, 2, 4, 11, 12, 22, 32의 7종에 대해서 식중독을 일으키는 독소형 유전자의 보유 여부를 확인하기 위해 독소 유전자 증폭을 실시하였다.

시료중 막걸리 시료 2, 4, 11, 12, 22, 32에서 분리된 colony에서는 독소 유전자가 전혀 보여지지 않았다. 그러나 시료 1에서 분리된 균주 4개중 2개의 colony의 유전자중 hemolytic enterotoxin gene (hbl)의 존재를 확인하였다 (그림 190). *Bacillus cereus* 외에도 *Bacillus thuringensis*도 식중독 유발 유전자를 포함하고 있을 수 있다. 현재 식중독의 원인균인 *Bacillus cereus*는 *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycodes*, *B. pseudomyces*, *B.*

weihenstephanensis 등 총6종의 균주형태학적, 유전학적, 생화학적 특성들이 기타의 다른 종간에서 보여지는 분류학적 특성보다 더 높은 근연관계를 지니고 있어 *Bacillus cereus* group으로 통칭하고 있다. 특히 이 중에서 *Bacillus cereus*, *B.anthraxis*, *B. thuringiensis*는 상당히 높은 유전적인 근연성 (genetic relationship)으로 인해 '*Bacillus cereus sensu lato*'라고 하는 하나의 새로운 종으로 분류되어야 한다고 제안되기도 한다 (Lee JS, Kim KS, Hong SY and Kwon SM, 2010). 따라서 real time PCR 및 MYP 선택배지를 통해서 *Bacillus cereus* group가 1차로 스크리닝 되었을 것으로 예상된다. 그 중 독소를 포함하고 있는 경우는 1개의 시료에서 2개의 colony 뿐이었다.

*Bacillus cereus*는 10^5 cell/g 이상이 포함된 식품을 섭취하게 되면 식중독을 일으킨다고 알려져 있는데, *B.cereus*를 검출한 샘플에서는 최대 10^2 수준에서 검출되어 식중독을 일으키기 위한 poisoning dose에 미치지 못하는 것으로 알려져 있다.

(라) 독소 유전자 포함 균주의 동정

독소유전자 검출실험에서 발견된 2개의 colonies를 16S rRNA sequencing을 실시하여 정확한 동정을 실시하였다. PCR 증폭하여 ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type)를 통해 염기서열을 분석한 후 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 Clustal X 와 Mega 2 program을 이용하여 비교분석하였다.

GENEBANK 및 상동성 검색 결과 막걸리 시료 1 (Sample 1)에서 검출된 1-2 colony의 경우 *Bacillus cereus* ATCC 14579 AE016877로 확인되었고 그리고 검출된 1-3 colony의 경우 *Bacillus cereus* ATCC 14579 AE016877로 확인되어 동일종의 colony들이며 *Bacillus cereus* 임이 확인되었다. *Bacillus cereus* ATCC 14579 의 경우 strains중에 non-emetic 균주로 알려져 있다.

Bacillus cereus group 세균이 갖고 있는 plasmid는 동일 종 내에서도 유전자의 수와 크기가 상당히 상이하고 변이가 심한 것으로 보아, plasmid만을 한정해서 *Bacillus cereus* group의 유전자 동정을 하는 것은 상당한 무리가 있다고 알려져 있다. 그래서 *Bacillus cereus* group 세균의 genome 정보는 종간, 종내 수준에서 폭넓고 상세한 핵산 비교가 가능해졌다. 6종의 *Bacillus cereus* group 세균에서 nonhemolytic enterotoxin NHE유전자, hemolytic enterotoxin HBL 유전자 및 diarrheal toxin BecT 유전자의 존재 여부는 기존에 보고된 이들 유전자에 대한 다양한 *Bacillus cereus* group 세균의 연구와 비교해 보면 종간, 혹은 종 내에서 일관성 있게 확인되지 않음을 알 수 있다. 즉 이 유전자들은 *Bacillus cereus* group 세균을 동정하는데 유용한 유전자가 아님을 genome 비교를 통해서 알 수 있다 (Lee JS, Kim KS, Hong SY and Kwon SM, 2010).

(마) 결과

막걸리 시료 59종을 수집후 병원성 미생물을 검출한 결과 병원성 미생물은 *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*의 7종 미생물 및 병원성 대장균 (*Escherichia coli*)의 5종 (대장균 (EHEC), 장독소형대장균 (ETEC), 장침입성대장균 (EIEC), 장병원성대장균(EPEC), 장관흡착성대장균(EAEC))은 검출되지 않았다. *Bacillus cereus* 에 대한 분석 결과 59개 시료중 19개 (32.2%) 시료에서 검출되었다. 그러나 16개 시료를 MYP 배지에 접종한 결과 7개 시료만이 흰색 집락을 형성하였고 독소유전자를 가지면서 *Bacillus cereus* 로 동정된 경우는 1개 시료에 불과하였다. 따라서 막걸리 59종중 *Bacillus cereus*에 의한 독소형 식중독을 일으킬 확률은 1.7%로 나타났으나 검출율이 10^1 CFU/mL 수준이어서 독성을 나타낼 수준은 아닌 것으로 확인되었다.

표 167. 막걸리 시료에서의 RT-PCR을 이용한 병원성 미생물 검출 결과

No.	C. jejuni hipO	C. coli glyA	C. parvulus α-toxin	L. monocytogenes prfA	S. aureus spp. invA	B. cereus groEL	Y. enterocolitica inv	S. aureus femA
	FAM Ct	VIC Ct	NED Ct	FAM Ct	VIC Ct	FAM Ct ^a	VIC Ct	NED Ct
1	-	-	-	-	-	14.950	-	-
2	-	-	-	-	-	16.375	-	-
3	-	-	-	-	-	16.632	-	-
4	-	-	-	-	-	13.326	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	15.658	-	-
12	-	-	-	-	-	15.681	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	14.589	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	12.138	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	14.752	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	13.831	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	12.294	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	11.163	-	-
31	-	-	-	-	-	19.926	-	-
32	-	-	-	-	-	12.359	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	15.360	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	11.842	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	15.077	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	11.583	-	-
58	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	11.236	-	-

^a cycle number at which fluorescence intensity equals a fixed threshold in real time-PCR reaction.

- : negative reaction or threshold value <0.4.

표 167. 계속

No.	EHEC VT1	EHEC VT2	ETEC LT	ETEC ST	EAEC ggR	EPEC bfpA	EPEC eaeA	EIEC ipaH
	FAM Ct	NED Ct	Cy5 Ct	VIC Ct	FAM Ct	VIC Ct	NED Ct	Cy5 Ct
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	-
58	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-	-	-

^a cycle number at which fluorescence intensity equals a fixed threshold in real time-PCR reaction.
 - : negative reaction or threshold value <0.4.

표 168. 막걸리의 시료의 MYP 배지상에서의 균수

(Unit: CFU/mL)

Sample	Makgeolli	Dilute (1/10)
1	3.0×10^1	ND
2	4.0×10^1	1.0×10^0
4	3.0×10^1	1.0×10^0
11	1.0×10^1	ND
12	3.0×10^1	1.0×10^0
22	1.0×10^1	1.0×10^0
32	ND ^a	1.0×10^0

^a not detected

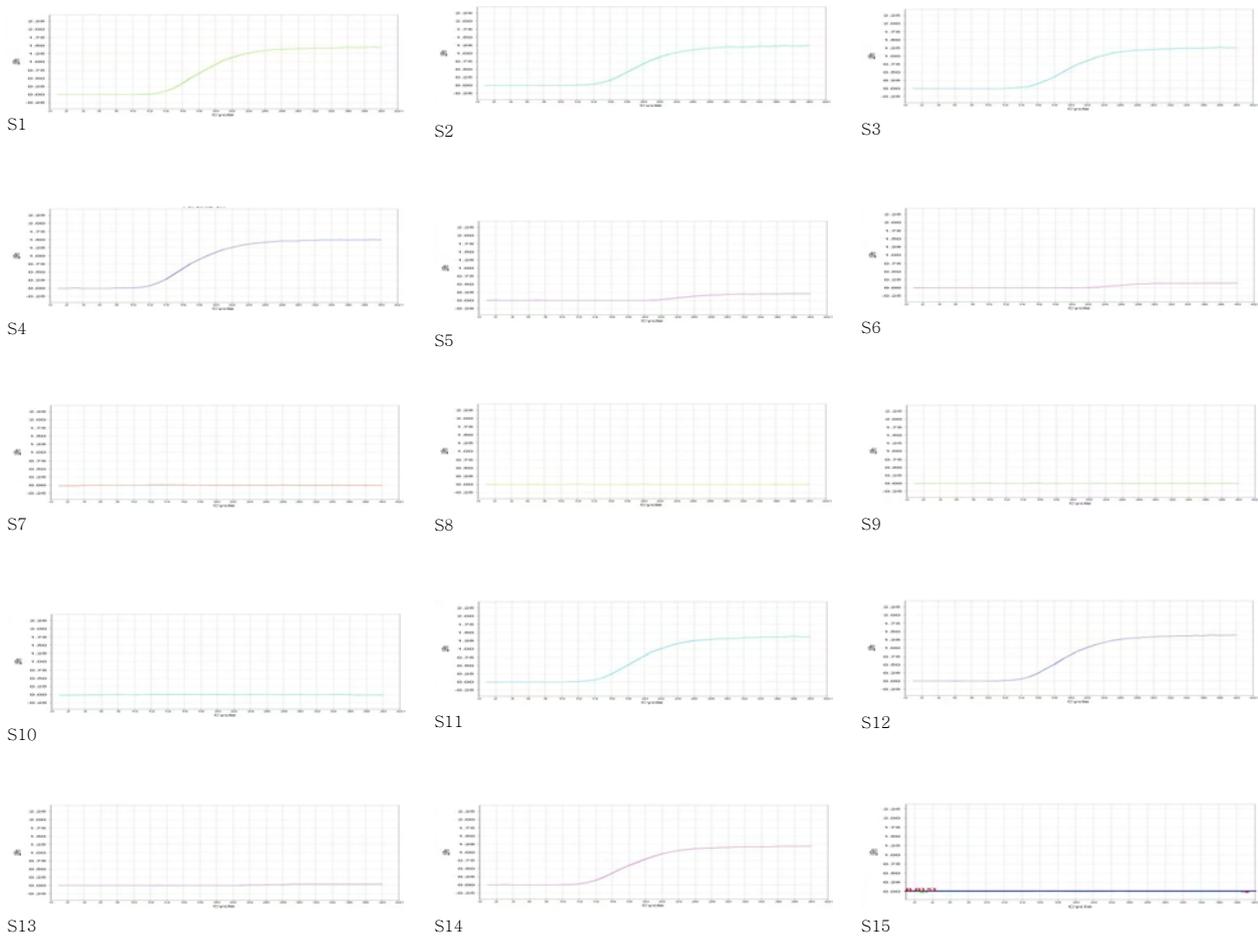
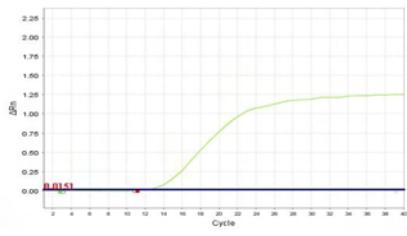
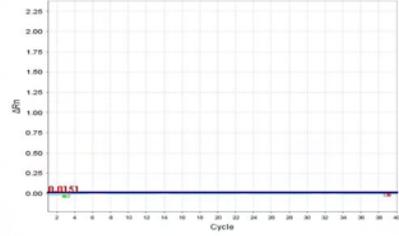


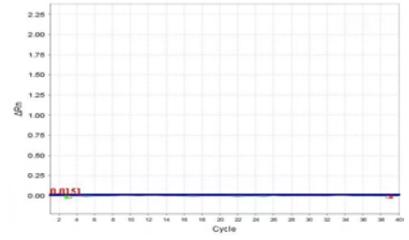
그림 190. 검출용 키트를 이용한 real-time PCR의 크로마토그램 (on *Bacillus cereus* Cogen biotechnology). S1-S59: 59 samples of makgeollis except sample 48.



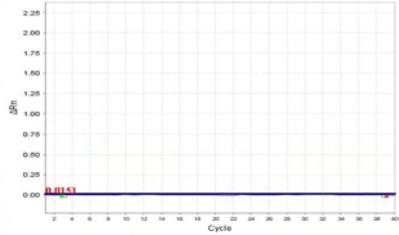
S16



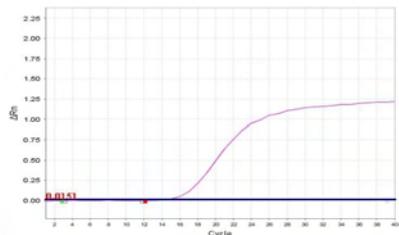
S17



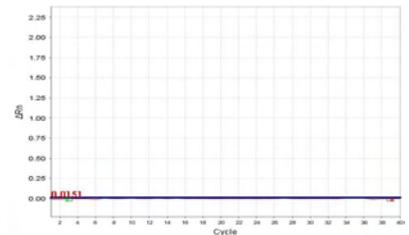
S18



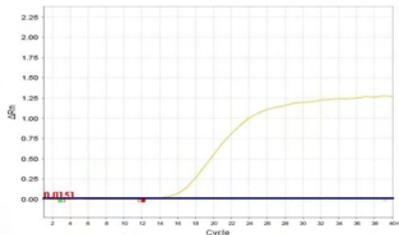
S19



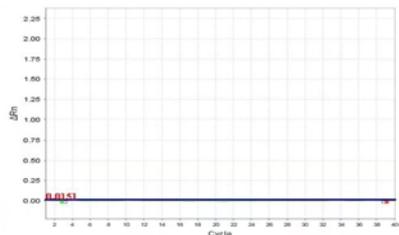
S20



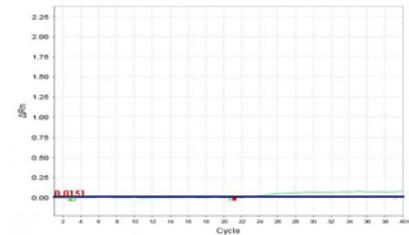
S21



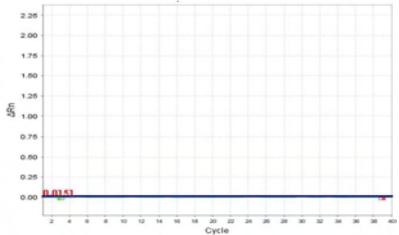
S22



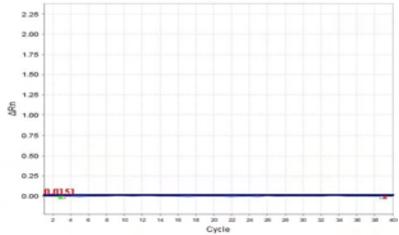
S23



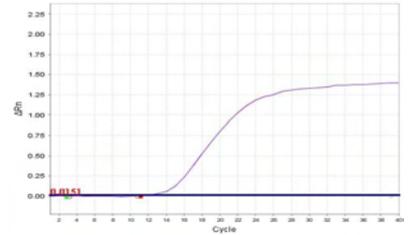
S24



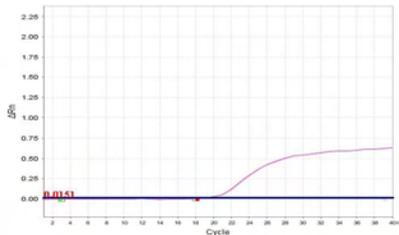
S25



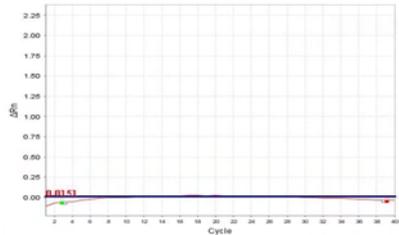
S26



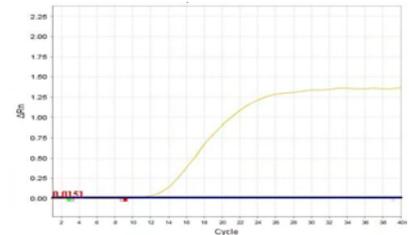
S27



S28

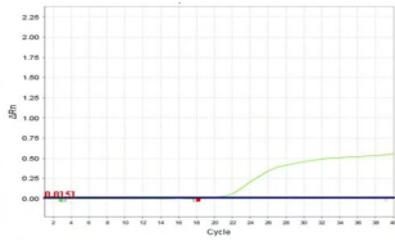


S29

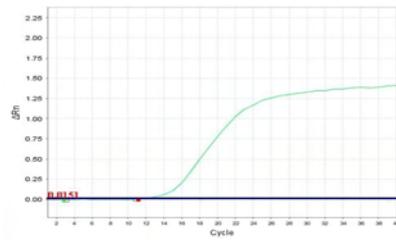


S30

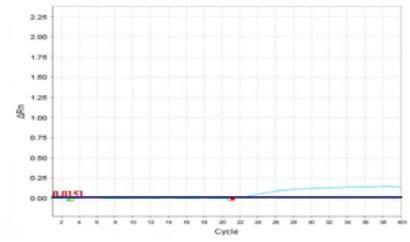
그림 190. 계속



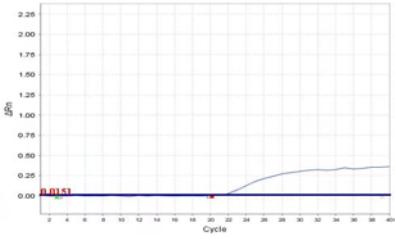
S31



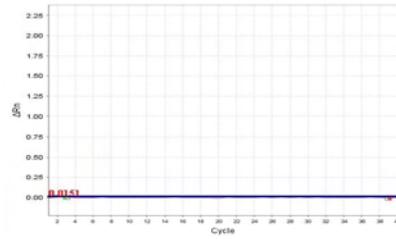
S32



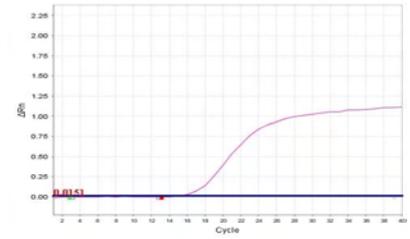
S33



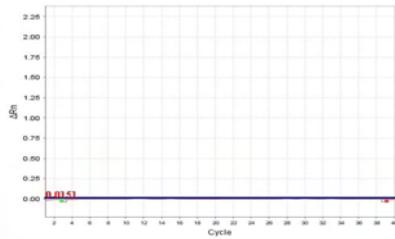
S34



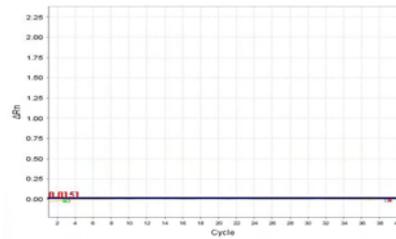
S35



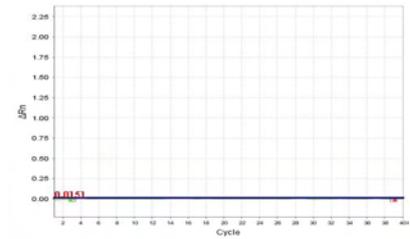
S36



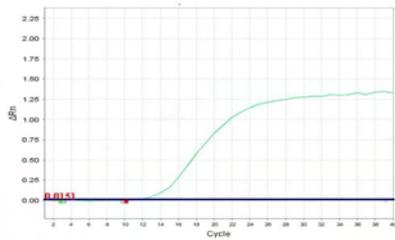
S37



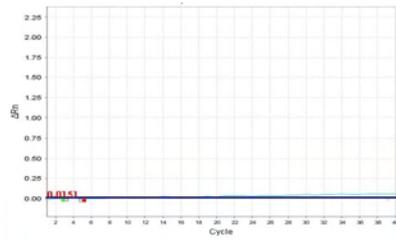
S38



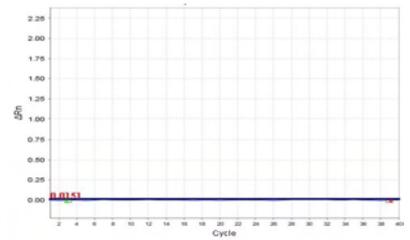
S39



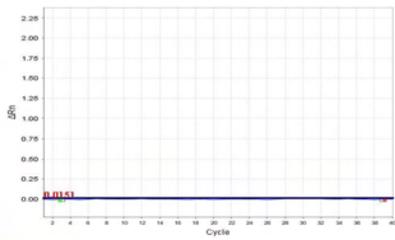
S40



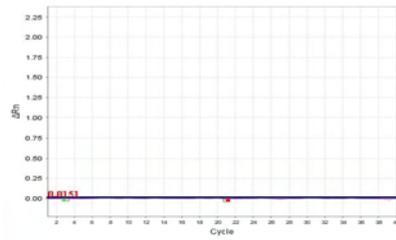
S41



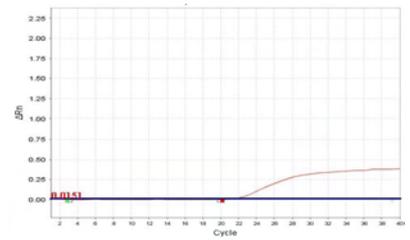
S42



S43

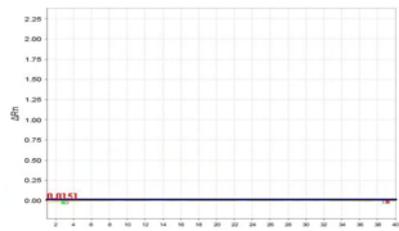


S44

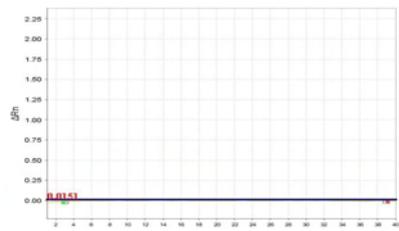


S45

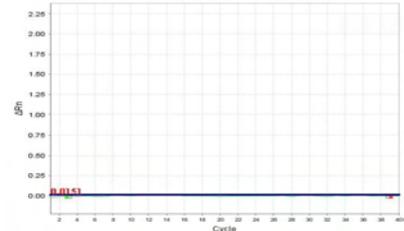
그림 190. 계속



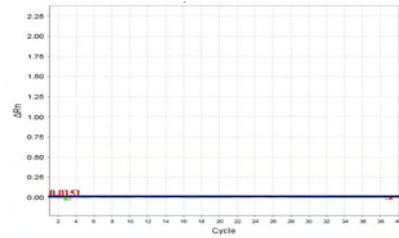
S46



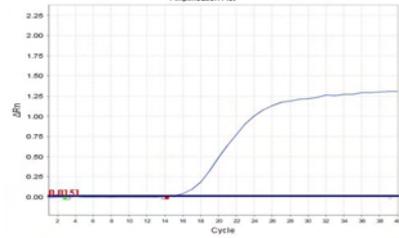
S47



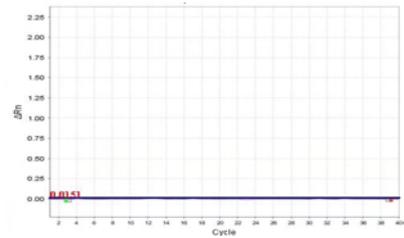
S49



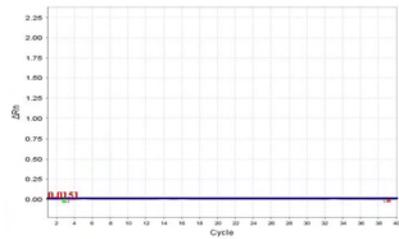
S50



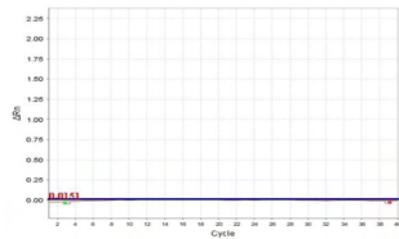
S51



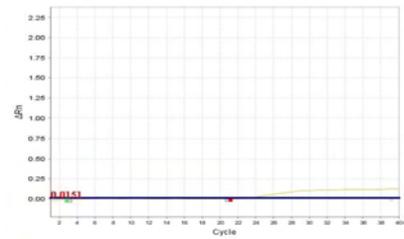
S52



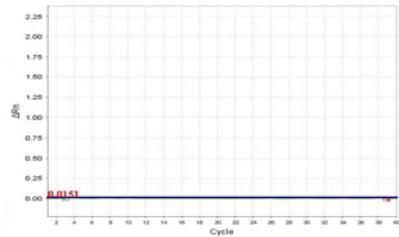
S53



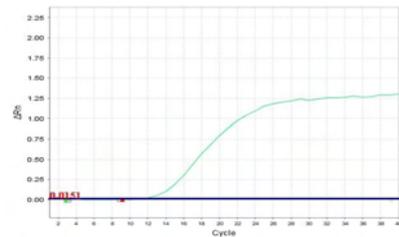
S54



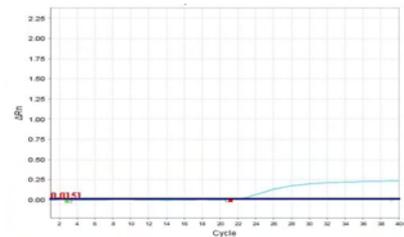
S55



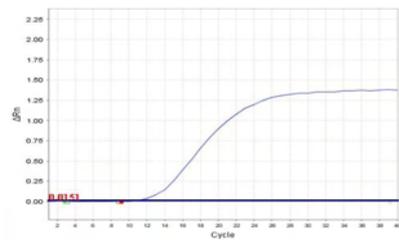
S56



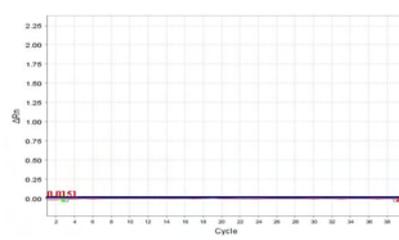
S57



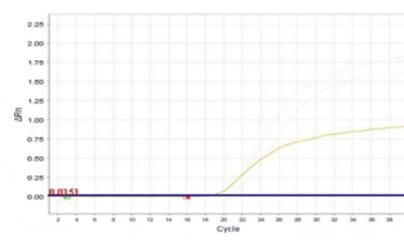
S58



S59



negative



positive

그림 190. 계속

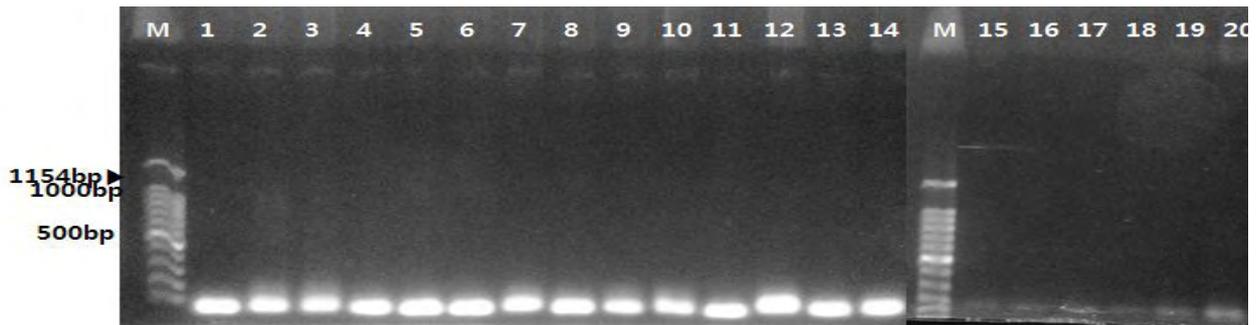


그림 191. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 hblA 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

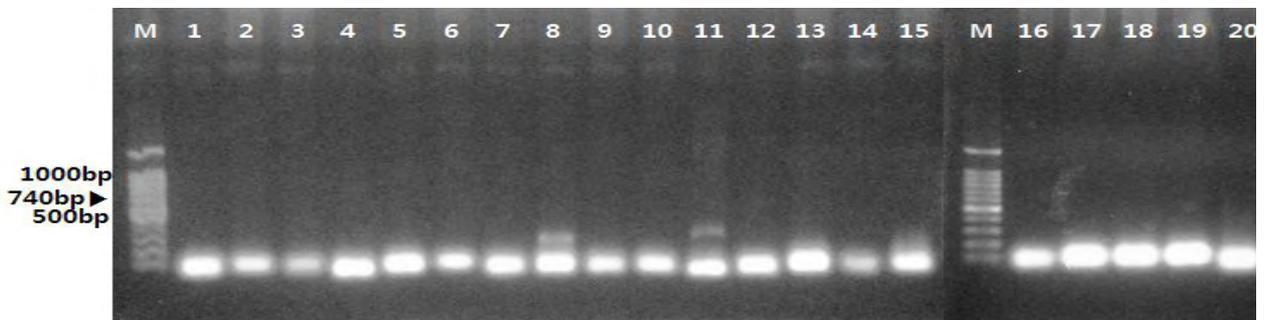


그림 192. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 hblC 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

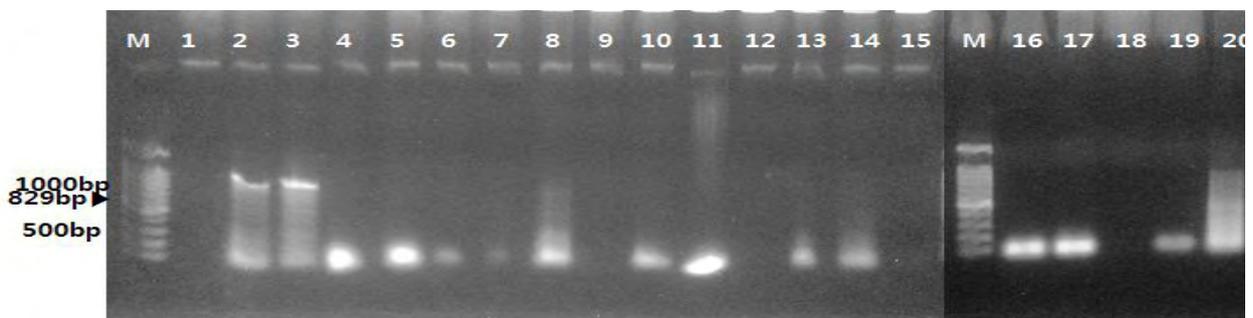


그림 193. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 hblD 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

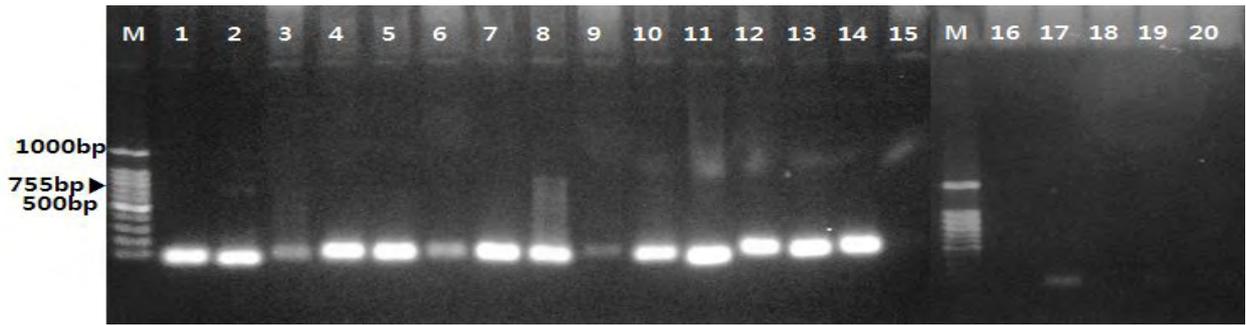


그림 194. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 nheA 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, Sizer™-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

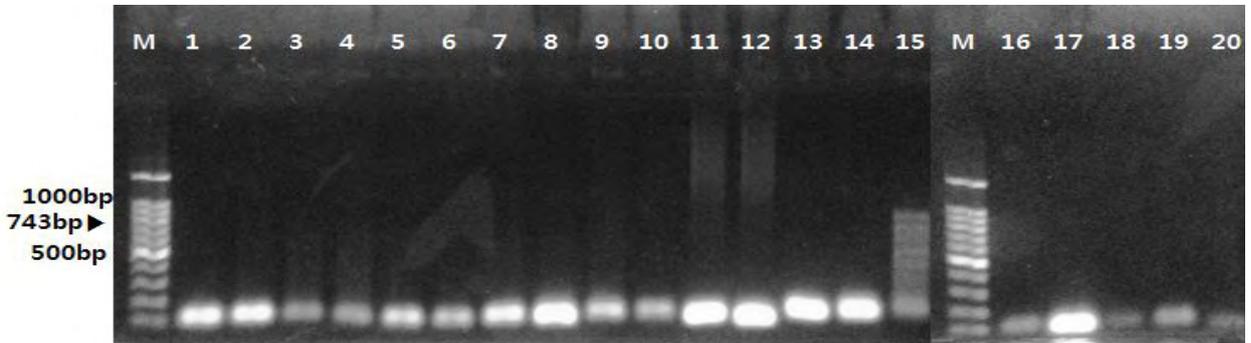


그림 195. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 nheB 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, Sizer™-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

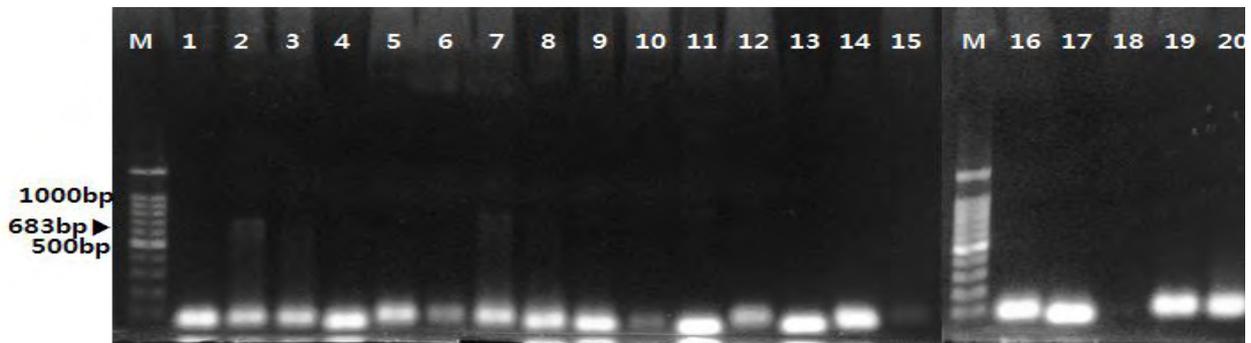


그림 196. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 nheC 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, Sizer™-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

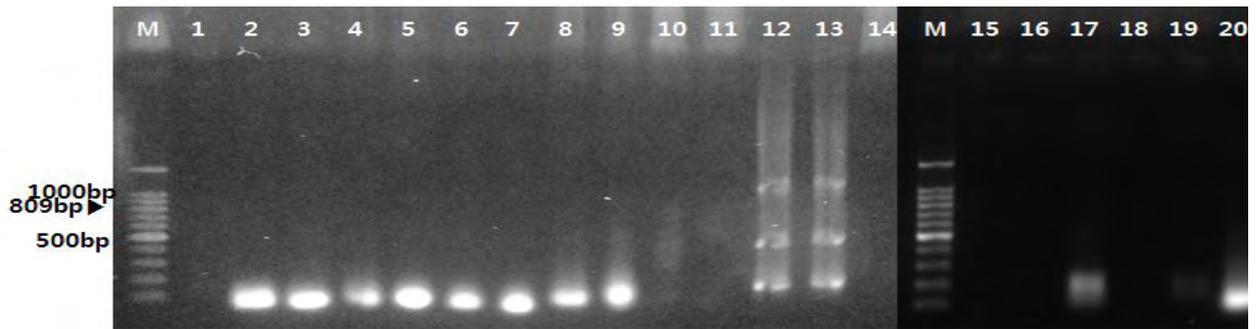


그림 197. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 *cytK* 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

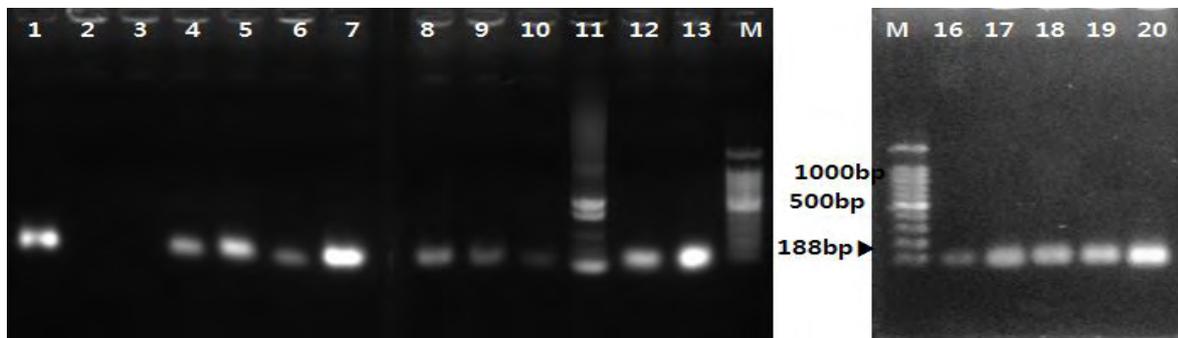


그림 198. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 NRPS 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

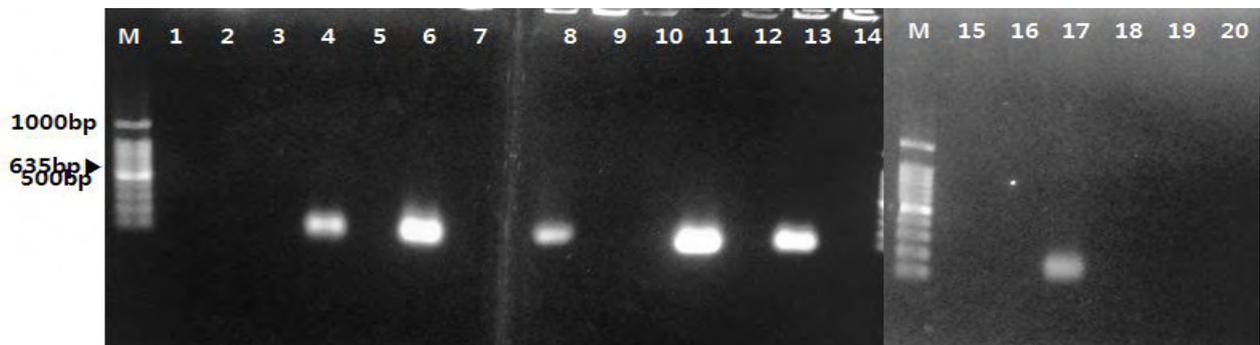


그림 199. 막걸리로 분리한 *Bacillus cereus*의 NRPS* 유전자의 PCR 결과. Lane M= marker, SizerTM-100 Intron technology; lane1-3: 3 colonies from sample#1; lane4-8: 5 colonies from sample#2; lane9-13: 5 colonies from sample#4; lane14: 1 colony from sample#11; lane9-13: 3 colonies from sample#12; lane18-19: 2 colony from sample#22; lane20: 1 colony from sample#32.

표 169. 59개 막걸리 시료의 *Bacillus cereus* 9개 독소 유전자 검출 결과

Sample	Colony	Toxin gene								
		hblA	hblC	hblD	nheA	nheB	nheC	cytK	NRPS	NRPS*
1	1-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1-2	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	1-3	-	-	-	+	-	-	-	-	-
2	2-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	11-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	12-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	22-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	32-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: with toxin band, -: without toxin band.

표 170. 59개 막걸리 시료에서의 *Bacillus cereus* 검출 비율

	Sample			colony
	RT-PCR	MYP	Toxin gene	Toxin gene
No. of test sample	59	59	59	21
No. of detection samples	19	7	1	2
Detection ratio (%)	32.2	11.9	1.7	9.5

GTTGCTATCATGCAAGTCGAGCGAATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAAGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCC
ATAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAACCGCATGGTTTCGAAATGAAAGGCGGCTTCGGCTGT
CACTTATGGATGGACCCCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCG
GCCACACTGGGACTGAGACAGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGC
CGGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGTGGCACCTTGACGGTACC
TAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGC
GCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAA
GTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGCTGTGTAAGTGCAGACTGAG
CGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGTAGTGTAGAGGGTTTCGGCCCTT
TAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGTCTTGACATCCTCTGAAAACCCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCG
GGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTACGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCCGAACCCCTTGATCTTA
GTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAAGAGCTGCAAGACCCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAAACCGTCTCAGTTTCGGA
TTGTAGGCTGCAACTCGCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCGTCACACCAGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGACC

그림 200. 시료 1번으로부터 분리한 1번 및 2번 colony의 16S rDNA sequence

TCCGAGCGAATGGATTAAGAAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATAAGAC
TGGGATAACTCCGGGAAACCGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGGGGCTTCGGCTGTC
ACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGG
TGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGGGTGCTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAA
GCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTA
TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATT
GAAAACCTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACC
AGTGGCGAAGGGCGACTTTCGTGCTGTAAGTACTGACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGGTTTCGCCCCTTTGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACG
CGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCA
TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCATCATTAAGT
TGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCGGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAAACCGTTCCTCAGTTCGGATT
GTAGGCTGCAACTCGCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCG

그림 201. 시료 1번으로부터 분리한 3번 및 4번 colony의 16S rDNA sequence

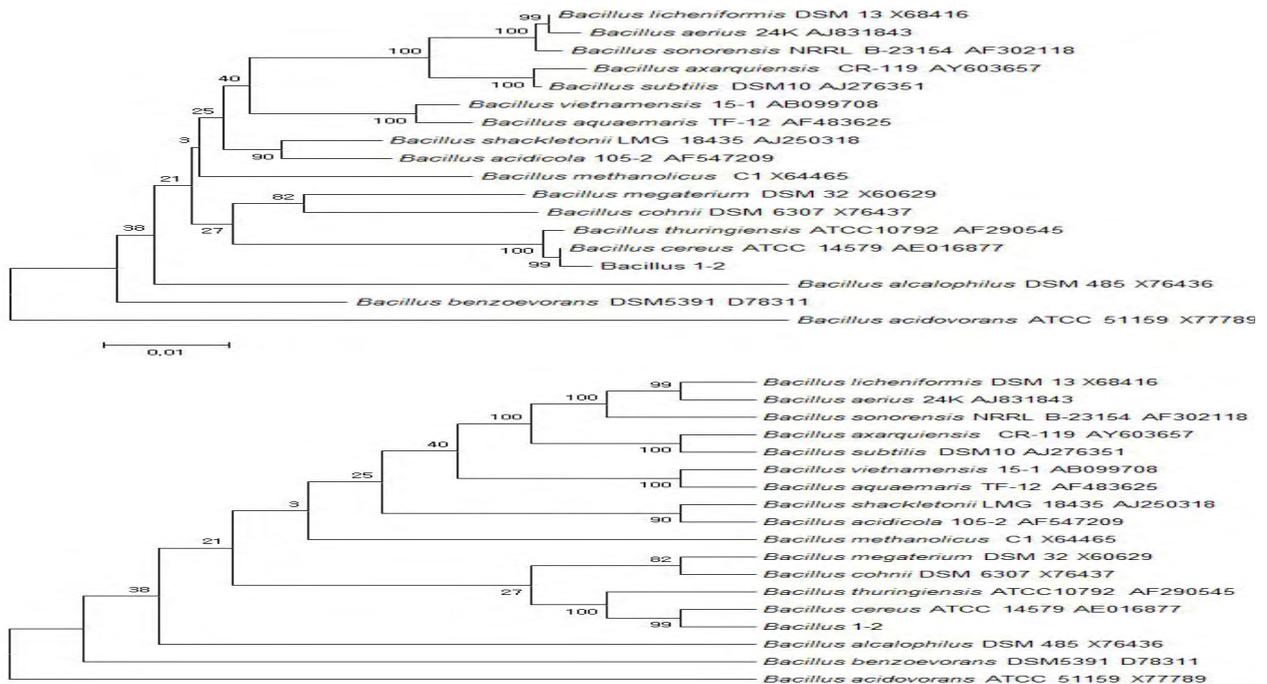


그림 202. 시료(1번)로부터 분리한 colony 1번과 2번의 상관관계를 나타내는 16S rDNA sequence의 phylogenetic tree. The accession numbers are in parentheses. The tree was constructed using the CLUSTAL-X and neighbour-joining method. Scale bar corresponds to 0.01 substitutions per nucleotide position. Numbers at nodes indicate levels of bootstrap support(%) determined from 100 resampled data.

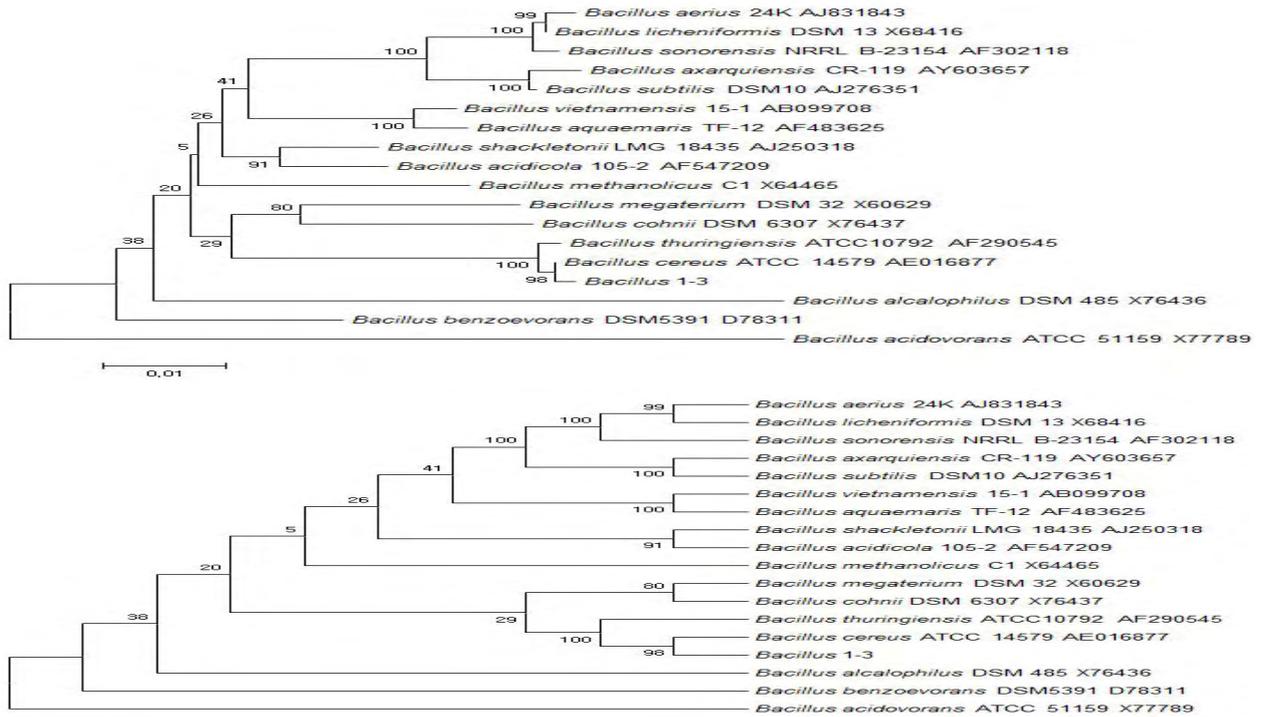


그림 203. 시료(1번)로부터 분리한 colony 1번-3번의 상관관계를 나타내는 16S rDNA sequence의 phylogenetic tree. The accession numbers are in parentheses. The tree was constructed using the CLUSTAL-X and neighbour-joining method. Scale bar corresponds to 0.01 substitutions per nucleotide position. Numbers at nodes indicate levels of bootstrap support(%) determined from 100 resampled date.

표 171. 독소 생산과 관련해서 알려진 *Bacillus cereus* 균주 (Burgess G and Paul Horwood P, 2006)

Strain Groupings*	Strains Designations
Emetic Strains	F 4094/73, F 47, F 4426, F 5881, NC 7401, 4810/72, NC F, NC G, NC Y, NC 954, NC 1044, NC 1078
Non-Emetic Strains	ATCC 14579, F 528, F 3453, 1H 41064, 1H 41385
TECRA+ve Strains	3153, 3154, 3155, 3156, 3259, 3261, 3262, 3263, 3264, 1994, 1996, 1997, 2174, 2175, 2884, 3164, 3166
Food Isolates	Tv1, Tv6, Tv9, Tv20, Tv23
Other	NVH 0075/95 (Ent FM+ve), NVH 1230/88 (HBL and Ent FM +ve), C1 (Cyt K+ve), C2 (Cyt K-ve)

* Strain groupings were based upon the information given by the researchers that supplied the strains

식품의 품질은 다음과 같은 3가지 요소로 구분한다.

- 1) 영양성(Nutrition) : 인체의 생명유지에 필요한 영양분을 제공하여 주는 식품이 갖추어야 할 1차적 품질특성의 하나이며, 단위 식품량에 존재하는 영양소의 함량 등으로 평가된다.
- 2) 건전성/완전성(Wholesomeness/Completeness) : 개별 식품이 사람의 생명유지에 필요로 하는 모든 영양성분을 고루 갖추고 있는지 여부로 결정되는 완전성과 가공/처리를 거치는 과정에서 원료에서 유래한 성분의 손실이 거의 없이 원형대로 유지될 수 있는 건전성을 총칭하는 품질특성이다.
- 3) 안전성(Safety) : 해당 식품을 섭취한 사람에게 신체 또는 인명의 손상이나 손실을 가져오지 않을 수 있음으로 평가받는 식품의 2차적 품질특성 중 하나이며, 최근 소비자에게서 특별히 높은 관심을 받는 품질특성이다.
- 4) 기호성(Organoleptic Preference) : 식품을 섭취하는 사람의 관능적 요구사항을 충족시킬 수 있는 맛, 색깔, 향, 조직감 등으로 표시되는 식품의 2차적 품질특성으로, 최초 식품선택의 1차적 기준으로 작용한다.
- 5) 기능성(Functionality) : 해당 식품을 섭취한 결과가 인체의 기능발휘에 도움을 주거나 직접 작용하게 될 수 있는 특성이나 특질을 말하는 식품의 3차적 품질특성이다.
- 6) 경제성(Economical Efficiency) : 해당 식품을 구입하는 대가로 지불한 비용에 대한 만족도로 표시되는 식품의 3차적 품질특성이며, 소비자의 경제적 능력에 따라 구입 가능한 식품이 달라질 수 있다.
- 7) 기타(Other Characteristics) : 이외에도 식품 자체의 신선도(Freshness), 구매편이성(Purchasing Convenience) 내지는 시장접근성(Market Closeness), 식품정보 표시(Food Labelling) 등도 중요한 식품의 품질특성이 될 수 있다.

이러한 다양한 품질 요소중에서 막걸리와 같은 주류는 특히 기호성이 일반소비자에게 중요한 요소가 되며 영양성이나 기능성은 특성상 특정한 제품에 한정되는 요소이다. 또한 이러한 품질요소는 제조공정이나 생산기반의 특성이 반영되는 것이므로 간접적으로는 제품을 생산하는 제조장(양조장)의 전반적인 특성과도 관련이 있다.

통상적으로 식품의 품질은 법적 요구사항을 기본적으로 충족시키고 해당 제품을 생산하는 기업이 제시하는 품질특성을 감안하여 품질관리를 위한 자가품질기준(사내품질기준)이 설정된다.

막걸리와 관련된 법정 요구사항 및 본 과제를 통해 도출된 품질요소를 요약하면 다음의 표 172과 같다. 막걸리의 품질은 영양성이나 기능성, 건전성, 완전성, 경제성, 신선도, 구매편이성, 시장접근성 등은 특성사 반영하기 어렵고 주로 기호성이나 안전성이 중요한 품질지표가 된다고 판단된다.

표 172. 막걸리의 제품의 품질요소 및 기준

	항 목	기 준	비 고
이화학적 기준	○ 알코올분(v/v%)	주세법에 적합	법정기준
	○ 총산(w/v%)	0.5 이하(초산으로서)	법정기준
	○ 잔당(w/v%)	불검출/00 이하	품질관리용 임의기준
안전기준	○ 파라옥시향산부틸	불검출	법정기준
	○ 삭카린나트륨	0.08g/kg 이하	법정기준
	○ 메탄올(mg/mL)	0.5 이하	법정기준
	○ 진균수	음성(살균 막걸리에 한함)	법정기준
	○ 병원성미생물		
	- <i>Bacillus cereus</i>	음성	법정기준
	- <i>Salmonella</i> spp.	음성	법정기준
	- <i>Staphylococcus aureus</i>	음성	법정기준
	- <i>Clostridium perfringens</i>	음성	법정기준
	- <i>Listeria monocytogenes</i>	음성	법정기준
	- <i>Escherichia coli</i> O157:H7	음성	법정기준
	- <i>Campylobacter jejuni</i>	음성	법정기준
- <i>Yersinia enterocolitica</i>	음성	법정기준	
○ 이물	불검출(단, 금속성 이물은 10.0 mg/kg 미만 크기가 2.0 mm 이상인 이물 불검출)	법정기준	
관능적 기준	○ 색상	고유의 색상을 뚜렷이 가지고 있어야 한다.	법정기준 /품질관리용 임의기준
	○ 복합향	고유의 향을 뚜렷이 가지고 이취가 없어야 한다.	법정기준 /품질관리용 임의기준
	○ 단맛	양호하여야 한다.	품질관리용 임의기준
	○ 신맛	양호하여야 한다.	품질관리용 임의기준
	○ 복합미	고유의 맛을 뚜렷이 가지고 이미가 없어야 한다.	법정기준 /품질관리용 임의기준
	○ 입안감촉	양호하여야 한다.	품질관리용 임의기준
	○ 후미	양호하여야 한다.	품질관리용 임의기준
	○ 종합적 기호도	양호하여야 한다.	품질관리용 임의기준
	○ 조직감	양호하여야 한다.	법정기준 /품질관리용 임의기준

다. 막걸리 생산 기반에 대한 표준 제조기준 개발

(1) 막걸리 제조기준 설정

막걸리의 제조기준은 크게 GMP 기준, 표준운용절차(절차서)인 SOP와 위생관리기준서인 SSOP로 구성하는 것이 바람직하다. 본 연구를 통해 제공하고자 하는 것은 중소기업의 막걸리 제조장에서 실지로 사용가능한 SOP와 SSOP의 가이드라인을 도출하는 것을 목적으로 하고 있다. 법적 요구사항인 GMP는 「주세법」과 「식품위생법」의 개별 품목에서 제조기준과 최소위생기준을 규정하고 있으므로 이를 기초로 하여 효과적인 생산 및 관리 활용이 전개될 수 있도록 세부적인 작업표준과 위생관리 표준을 마련하는 것이 유용하다고 판단된다. 통상 표준작업지침서 등으로 불리우는 SOP (Standard Operating Procedures, 이하 SOP)는 특정 업무를 표준화된 방법에 따라 일관되게 실시할 목적으로 해당 절차 및 수행 방법을 상세하게 기술한 문서를 통칭한다. 예를 들어 특정 업무를 수행하는 자에게 그 "표준작업"에 대한 상세한 지침을 제공하여 일관되게 업무를 수행하게끔 하는 문서로 규정할 수 있다. SOP는 품질관리(Quality Control)가 필요한 모든 업무에 필요하나 국제정기기술연구소 등에서 기존에 제작된 가이드라인은 실제적인 작업절차에 대한 지침보다는 교과서적인 설명에 치우쳐져 있다는 단점이 있다. 막걸리의 경우 대부분의 양조장(제조장)에서 일상적인 생산활동을 지속해 오고 있음에도 불구하고 경험적인 관리활동에 주로 의존해 온 것으로 조사되었다. 이러한 경험적 활동에 근거한 생산활동을 작업표준이 없다고 단정할 수는 없지만 넓은 범위에서의 일반화된 문서화된 작업표준을 대부분 보유하고 있지 않은 것이 현실이다. 방문조사 업체의 대부분이 이러한 체계화된 작업표준을 보유하고 있지 않았으며 국순당, 배상면주가 등 상대적으로 규모가 있는 제조장(양조장)만이 일반 가공식품에서 활용하고 있는 표준체계를 갖추고 있었다.

막걸리 생산업체의 생산 및 품질관리 현황 조사를 바탕으로 구성된 QC 공정도는 표 171과 같다. 크게 원료인 백미, 소맥분, 입국, 조효소제, 정제효소제, 배양효모, 종국, 구연산, 젖산, 당류에 대한 관리 및 검사기준 항목, 세미, 침미, 살수혼합, 증자, 냉각, 입국제조, 주모제조, 술덧제조, 제성, 살균, 조미, 포장, 살균, 검사, 입고, 출하검사, 출하 등의 일관된 개별공정의 관리 및 검사항목, 기준, 주기/방법, 방식, 담당자, 기록 등 중요요소를 결정하였다.

표 173. 막걸리의 QC 공정도 예시

공정 기호	공정명	구분		항목	기준	주기 / 방법	방식	담당자	기록	관련표준	비고
		관리	검사								
	원부재료입하							구매담당	원부재료수불부		
수입 검사	백미			<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 수분함량 • 색도 • 완전립비율 • 잔류농약 • 조단백질함량 • 정미비율 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	
	소맥분			<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 수분함량 • 조단백질 • 회분 • 사분 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	
	입국			<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 수분함량 • 당화력 • 산도 • 잡균 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	
	조효소제			<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 수분함량 • 내산성당화력 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	
	정제효소제			<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 수분함량 • 내산성당화력 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	
	배양효모			<ul style="list-style-type: none"> • 효모수 • 잡균 • 활성 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0	

중국	<ul style="list-style-type: none"> • 수분 • 잡균 • 포자수 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0
구연산	<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 함량 • 황산염 • 수산염 • 비소 • 중금속 • 칼슘 • 황산정색물 • 다핵방향족탄화수소 • 이소구연산 • 감열잔류물 • 수분 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0
젖산	<ul style="list-style-type: none"> • 정상 • 함량 • 용상 • 구연산 • 수산 • 주석산 • 인산 • 시안화물 • 비소 • 중금속 • 철 • 황산정색물 • 위발성지방산 • 메틸알콜 • 강열잔류물 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000- 0

당류	<ul style="list-style-type: none"> • 성상 • 수분 • 함량 • 회분 • pH • DE • 진분 	원부재료규격 기준	수입검사기준서에 따른다.	육안	검사담당	원·부재료 수입검사성적서	KFRI-MK-000-0
저장							KFRI-MK-000-0
세미	<ul style="list-style-type: none"> • 이물 	작업표준	세미, 침미전 1회	육안	생산담당	제조일지	KFRI-MK-000-0
침미	<ul style="list-style-type: none"> • 가수량 • 흡수율 • 침미시간 • 수온 • 이물 	작업표준	세미, 침미전 1회	온도계 저울 온도계 온도계 육안	생산담당	제조일지	KFRI-MK-000-0
살수혼합 (소맥분)	<ul style="list-style-type: none"> • 살수량 • 흡수율 • 성상 	작업표준	살수혼합후 1회	온도계 저울 육안	생산담당	제조일지	KFRI-MK-000-0
증자	<ul style="list-style-type: none"> • 온도 • 시간 • 증미중량 	공정검사기준	증자시 1회	온도계 시계 저울	실험담당	공정검사성적서	KFRI-MK-000-0
냉각	<ul style="list-style-type: none"> • 온도 • 시간 • 예정온도 	공정검사기준	냉각시 1회	온도계 시계 저울	실험담당	공정검사성적서	KFRI-MK-000-0

입국 제조	입실보쌈	<ul style="list-style-type: none"> • 국실온도 • 시간 • 품온 	작업표준	작업 중 1회	육안	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000-0
	파종	<ul style="list-style-type: none"> • 종국사용량 • 품온 	작업표준	작업 중 1회	저울 온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	1차 뒤집기	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	2차 뒤집기	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	입상	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	갈아쌓기	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	첫손질	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	2번 손질	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	출국	<ul style="list-style-type: none"> • 성상 • 품온 • 시간 	작업표준	작업 중 1회	육안 온도계 시계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0
	냉각	<ul style="list-style-type: none"> • 품온 	작업표준	작업 중 1회	온도계	생산담당	작업표준	KFRI-MK-000-0

주모 제조	담금	• •	• 배합비 품온 실온	작업표준	작업 중 1회	중량(용량)계 온도계 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	교반	• •	교반횟수 교반정도	작업표준	작업 중 1회		생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	괴어오름	• •	성상 품온	작업표준	작업 중 1회	육안	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	최고품온	• •	성상 품온	작업표준	작업 중 1회	육안 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	숙성	• • • •	품온 시간 주정분 잡균 효모의 성상	작업표준	작업 중 1회	온도계 시계 알콜측정기 미생물시험 검경	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
술덧 제조	1담 담금	• • •	• 담금배합비 품온 담금실온도 교반횟수	작업표준	작업 중 1회	중량(용량)계 온도계 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	2단 담금	• • •	품온 담금실온도 교반횟수	작업표준	작업 중 1회	온도계 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
	숙성	• • • •	성상 품온 교반횟수 숙성시간	작업표준	작업 중 1회	육안 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0
제성	제성	•	성상	작업표준	작업 중 1회	육안	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000- 0

살균	전살균 (1차 살균)	•	살균온도 살균시간 냉각온도	작업표준	매작업시	온도계 시계 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000-0
조미	조미	•	성상 알코올 비중 산도	작업표준	매작업시	관능평가 알코올계 비중계 산도측정기	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000-0
포장	병입/포장	•	포장방법 외관상태	포장표시관리 지침 작업표준	전수검사	육안	생산담당	PACKING CHECK LIST	KFRI-MK-000-0
살균	후살균 (2차 살균)	•	살균온도 살균시간 냉각온도 주입온도	작업표준	매작업시	온도계 시계 온도계 온도계	생산담당	자주검사기록지	KFRI-MK-000-0
검사	최종검사	•	성상 알코올분 총산 보존료 삭카린나트륨메탄올 진균수 대장균	최종검사기준에 따른다			실험담당	최종검사성적서	KFRI-MK-000-0
입고	제품창고입고		창고관리지침에 따른다				생산담당		KFRI-MK-000-0
출하 검사	출하검사	•	중심온도 PH	출하검사기준에 따른다		온도계 PH계	생산담당 실험담당	창고온도 체크시이트	KFRI-MK-000-0
출하	선적 및 출하			창고관리지침에 따른다.			생산담당		KFRI-MK-000-0

(2) 막걸리 작업표준(SOP)

일반적으로 작업표준(SOP)라 함은 특정된 업무를 표준화된 방법에 따라 일관되게 실시할 목적으로 업무에 대한 절차와 수행방법 등을 상세하게 기술한 문서를 칭한다. 이 작업표준은 생산업체의 품질관리를 위해 필요한 모든 업무에 적용되며 다른 업무들과 유기적으로 결합된다. 즉, 작업표준은 제품의 생산과 관련된 작업자의 신뢰성 보증(Quality Assurance)과 품질관리(Quality Control)를 위한 시스템들(작업계획, 관련자 교육, 모니터링, 데이터 검토 등 관련된 모든 활동에 대한 SOP)을 작성하여야 한다.

이 작업표준은 해당 작업자의 순차적으로 일관되게 어떠한 작업을 어떠한 절차에 걸쳐 진행해야 하는가를 쉽게 알고 숙지할 수 있도록 작성되어야 하며 이는 균일한 품질의 생산과도 밀접한 관계를 가진다. 즉, 실행자나 점검자의 수준과 능력에 적합한 수준으로 작성되어야 하며 명확하고 이해하기 쉬워야 한다. 또한 기존복으로 작업표준의 일관성이 있어야 하는 동시에 유연성을 갖추어야 하기 때문에 많은 경험을 토대로 정확한 공정과 작업절차를 분석에 기초하여 체계적인 절차서의 작성이 요구된다. 통상적으로 현장에서 사용되는 작업표준은 제목, 목적, 정책, 범위, 절차, 참고, 첨부라는 문서의 구조와 형태를 갖추어야 하고 작업표준을 위한 작업표준이 별도로 구성되는 것도 바람직하다. 작업표준을 구성하는 체계는 업무에 따라 달라지고 업무의 구분에 따라 매우 다양한 형태로 분화될 수 있다. 막걸리 제조의 경우에는 비교적 업무의 분류나 절차가 간략한 편에 속하고 실제 생산현장에서는 동일 작업자가 다양한 업무를 수행하는 경우가 대부분이기 때문에 일반적인 식품가공이나 산업에서 사용되는 작업표준으로 분류하고 체계화하는 것이 적합하지 않다고 판단된다. 일반적으로 구성되는 작업표준은 표준작업지침서의 준비, 개정 및 배포, 업무 담당자의 교육 및 훈련, 제품 개발전략과 계획의 수립, 검토 및 승인, 제품 생산계획의 수립과 세부일정 작성, 검토 및 승인, 협력업체와의 각종 계약 등이 포함된다.

새로운 작업표준은 기존 작업표준의 개정이 필요한 지를 결정하기 위해 승인된 작업표준을 최소 1-2년에 1회 정도 검토하여야 한다. 배포된 작업표준은 관계부서의 장이 검토한다. 작업표준 검토를 받은 날짜와 작업표준 번호, 검토 의견(즉시 승인, 보완 승인, 승인보류 및 해당 코멘트)을 기록하고 서명할 양식을 만들고 검토자들은 이 양식을 기입하고 서명 한다. 최종 수정된 작업표준에 대한 승인이 완료되면 이를 문서화 한다. 이 경우 관련된 모든 참고사항 등을 문서화한다. 작업표준은 유효일자 이전에 미리 배포되어 관련자들이 충분히 숙지하고 관련 교육이 실시될 수 있도록 해야 한다. 작업표준은 준수해야 할 모든 구성원들이 필요한 경우 언제든지 열람할 수 있어야 한다. 작업표준은 해당 팀(부서)에서 원본 작업표준을 보관하고, 동일한 작업표준의 복사본을 관련부서에 배포한다. 작업표준 수취인의 명단은 해당 부서에서 준비하고 관리하며, 복사본 작업표준의 번호와 복사본을 받은 자의 명단을 기록한다. 또한 문서로 된 동의 없이 사외의 사람에게 전달되지 않도록 한다. 작업표준 배포에 대한 일반적인 주의 사항은 다음과 같다. 새로운 작업표준이 만들어지거나 작업표준의 개정이 있을 때 상기 목록을 개정한다. 현 작업표준이나 예전 버전의 작업표준 모두는 점검과 실사 대상이며 사내외로 배포

된 이전 버전의 작업표준은 개정된 작업표준이 배포된 이후 수거하여 폐기하여야 한다.

표 173의 일반적인 QC 공정도에 기초하여 세부항목별 작업절차를 제시하면 다음의 표 174와 같다. 작업표준을 문서화하고 체계적으로 관리하는 것은 생산업체의 능력에 따라 상이하 게 되므로 반드시 일반적인 작업표준의 문서화 체계를 갖출 필요는 없지만 기본적인 생산공정 에 대한 전반적인 작업표준의 작성은 반드시 필요하다. 이것은 작업의 효율성 뿐만 아니라 막 걸리를 생산함에 있어 표준화된 관리와 회수조치와 같은 사고를 미연에 방지할 수 있는 수단 이되며 사내 표준화를 체계화할 수 있는 기초가 된다.

표 174의 작업표준은 일반적인 막걸리의 생산에 관련된 표준으로 세미, 침미, 탈수, 증 자, 냉각, 무증자미 분쇄, 입실보쌈, 파종, 뒤집기, 입상, 갈아쌓기 및 손질, 밑술제조, 사입, 1단 담금, 2단 담금, 제성, 1차 살균, 조미, 2차 살균, 병입, 금속검출, 포장 등으로 구성되어 있다. 막걸리의 생산에서는 개별 제조장에서 정미나 도정을 거칠 수도 있으며, 팽화미 등을 사용할 수 있고 무증자미를 사용할 수도 있다. 본 작업표준에서는 이를 감안하여 작성하였으나 정미나 도정을 자체적으로 실시하는 제조장이 거의 없기 때문에 이를 생략하였다.

세미공정 이전 원료의 구매와 입고 및 보관 절차가 있지만 이는 원료 관리 기준을 별도로 정하여 작업표준을 설정하는 것이 바람직하기 때문에 본 절차에서는 이를 생략하였으며, 이 물혼입 방지가 중요한 주의사항으로 판단되어 이에 대한 기준과 공정관리 기준과, 주기 및 방 법 등을 기술하였다.

침미공정은 정미비율과 쌀의 품종 및 수분함량과 깊은 관계가 있지만 기본적으로는 흡수 율(일반적인 흡수율 25-28%를 기준으로 작성됨) 관리되는 것이 바람직하다고 판단되었으며 이 역시 공정관리 기준으로 주기, 방법 및 기록 절차를 수록하였다.

탈수공정은 침미공정의 후속공정으로 탈수의 수분함량(흡수율)이 기본 공정으로 관리되 어야 하며 흡수율은 무게 측정으로 가능하다.

증자공정은 증미중량이 중요한 공정관리 기준이 되며, 증자시의 증자도의 온도나 가열시 간도 역시 중요한 관리공정이다. 본 작업표준 예시에서는 증자후 증미중량을 일반적인 기준인 35-42% 수준으로 설정하였다.

냉각공정은 증자한 쌀을 냉각하는 공정으로 약 25℃로 냉각되는 것을 기준으로 하였다. 이 공정에서는 품온을 중요한 기준으로 설정하였으며 25±1℃를 기준으로 하였다. 이러한 품온 은 개별 제조장에서 제품의 특성에 따라서 다소간의 차이가 있을 수 있기 때문에 개별 제조장 의 특성을 반영하여 설정할 것을 권고한다. 특히 냉각공정에서는 위생관리기준(SSOP)에서 언 급하겠으나 이물이나 주변으로부터의 미생물 오염 등에 특별한 주의가 필요하므로 가급적 분 리된 냉각실에 실시할 것을 권고한다.

무증자미를 사용할 경우 무증자미 분쇄 공정이 필수적으로 따르게 되고 이 경우 마쇄시 급수량과 입도가 중요한 공정관리 기준이 된다. 본 예시에서는 35 mesh를 기준 입도로 설정하 였으나 이 역시 제조장의 특성을 반영하여 변경하여 설정할 것을 권고한다.

인입(입실 보쌈)공정에서는 증미한 증미를 냉각실로 이송한 다음 냉각시키면서 수분을

감소시키는 것이 중요한 절차이므로 공정관리 항목으로는 품온과 국식온도 등이 관리되어야 한다.

파종과 뒤집기 공정은 종국을 산포하는 공정으로 역시 종국사용량이나 파종후 품온 등의 중요한 자주검사 항목으로 관리되어야 한다.

입상에서는 국상자를 적재한다는 전제하에 설정된 절차이며 이 경우 입상량 적재량이나 국상자의 수, 국상자간의 간격 등이 중요한 관리점이 된다.

밀술 제조공정은 담금배합비(입국, 급수량, 배양효모량, 젖산 투입량 등)와 담금품온, 담금후 품온, 최고품온 및 담금실 온도 등이 중요하게 관리되어야 한다.

사입공정에서는 사입량이, 1단담금과 2단담금에서는 급수량, 밀술량, 입국량, 성상, 입도, 담금품온 및 담금시간 등이 제조장의 특성에 맞도록 기준을 설정하고 중량 측정 등과 같은 관리수단을 사용하여 관리되어야 하고 교반횟수, 거품발생 여부 등도 중요한 관리점이다.

제성공정에서는 체질과 동시에 균질화가 이루어져야 하므로 입도와 균질기의 압력이 중요한 관리점이 되며, 주기적인 압력 변동 등이 체크되어야 한다.

1차 살균에서는 관로로 연결된 경우 위생관리를 위한 CIP 실행 여부가 확인되어야 하고 살균온도와 머무름시간, 냉매온도, 냉각시간 및 살균후 진균수의 기준 준수 여부가 검사되고 확인되어야 한다.

조미공정에서는 알코올 함량, 산도나 비중, 첨가물료 첨가량 등이 중요한 관리기준이 되며 검사빈도는 작업시에 주기적으로 확인되어야 한다.

2차 살균도 1차 살균과 동일한 관리점과 관리수준에서 실시되어야 하며, 병입공정에서는 용기변형이나 주수, 캠핑상태 등이 전수검사 수준으로 관리되는 것이 필수적이다.

이물에 대한 법정 요구사항을 충족시키기 위해서는 금속검출기를 활용한 검수검사가 필요하며, 외포장 공정에서는 1차 포장과 같은 관리수준에서 최종적인 검사사 이루어지는 것이 바람직하다.

표 174. 작업표준(SOP)

공정명	제품명	작업순서 및 작업방법	주의사항	관련설비		
세미	막걸리	①원료 쌀을 수세조에 넣는다. ②음용수를 수세조에 채운다. ③고압세척기로 세척하면서 수면위의 이물, 싹래기 등을 써고 제거한다. ④세척수를 배수한다. ⑤②~④과정을 3회 이상 반복하여 부유하는 이물질을 충분히 제거한다.	이물혼입 방지를 위해 부유 이물질을 최대한 제거한다.	세척조		
		공정관리	항목	기준	주기	방법
		성상	이물질이 없어야 한다.	일일생산량 전량	육안	자주검사기 록지
침미	막걸리	①원료 쌀을 침지조에 넣는다. ②음용수를 침지조에 채운다. ③적합한 수분흡수율에 도달하도록 침지시킨다.	침미시간은 정미비율에 따라 달라지므로 유의하여야 한다. 동절기에는 외기온도와 수온이 낮으므로 충분한 침지시간을 주어야 한다.	침지조		
		공정관리	항목	기준	주기	방법
		흡수율	흡수율이 25~28%이어야 한다.	일일생산량 전량	흡수율 무게 측정	자주검사기 록지
탈수	막걸리	①침지조 하부의 벨브를 연다. ②벨브를 통해 충분히 침지수를 배출한다.	탈수는 증자시 고두밥의 품질에 영향을 미치므로 충분한 시간을 두고 배수하여야 한다.	세척조		
		공정관리	항목	기준	주기	방법
		흡수율	흡수율이 25~28%이어야 한다.	일일생산량 전량	흡수율 무게 측정	자주검사기 록지

	<p>①증자조 하부에 천 등을 깔고 증자의 유출이 일어나지 않도록 치밀히 막는다. ②침지한 쌀을 증자조에 넣고 천으로 덮고 필요한 경우 덮개를 한다. ③40~60분간 증자하고 뜸을 들인다.</p>	증미증량은 쌀 증량의 35~42%이어야 한다.	증자조																
증자																			
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>기준</th> <th>주기</th> <th>방법</th> <th>기록</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>증자시간</td> <td>40~60분</td> <td rowspan="3">일일생산량 진량</td> <td>시간측정</td> <td rowspan="3">자주검사기 록지</td> </tr> <tr> <td>뜸시간</td> <td>20~30분</td> <td>시간측정</td> </tr> <tr> <td>증자후 증량</td> <td>35~42%</td> <td>무게측정</td> </tr> </tbody> </table>	항목	기준	주기	방법	기록	증자시간	40~60분	일일생산량 진량	시간측정	자주검사기 록지	뜸시간	20~30분	시간측정	증자후 증량	35~42%	무게측정		
항목	기준	주기	방법	기록															
증자시간	40~60분	일일생산량 진량	시간측정	자주검사기 록지															
뜸시간	20~30분		시간측정																
증자후 증량	35~42%		무게측정																
냉각	<p>①증자한 고두밥을 냉각판에 넓게 편다. ②침지한 쌀을 증자조에 넣고 천으로 덮고 필요한 경우 덮개를 한다. ③40~60분간 증자하고 뜸을 들인다.</p>	<p>뭉쳐있는 고두밥은 잘 부서 주어야 한다. 계절에 따라 사업온도가 25℃ 수준이 되도록 냉각하여야 한다.</p>	냉각판																
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>기준</th> <th>주기</th> <th>방법</th> <th>기록</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>품온</td> <td>25±1℃</td> <td>일일생산량 진량</td> <td>온도측정</td> <td>자주검사기 록지</td> </tr> </tbody> </table>	항목	기준	주기	방법	기록	품온	25±1℃	일일생산량 진량	온도측정	자주검사기 록지								
항목	기준	주기	방법	기록															
품온	25±1℃	일일생산량 진량	온도측정	자주검사기 록지															
무증자미 분쇄	<p>①침지한 쌀을 급수하면서 마쇄기로 주입한다. ②1차 마쇄한다. ③1차 분쇄한 사업액을 2차 마쇄기로 주입하여 마쇄한다. ④2차 마쇄한다.</p>	<p>일정한 크기 이하로 균일하게 마쇄되어야 한다. 작업과정중 이물 등의 혼입에 주의하여야 한다.</p>	마쇄기																
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>기준</th> <th>주기</th> <th>방법</th> <th>기록</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>급수량 성상 입도</td> <td> <p>규정량 균질하여야 함 35 mesh 이하</p> </td> <td>일일생산량 진량</td> <td>중량측정 육안</td> <td>자주검사기 록지</td> </tr> </tbody> </table>	항목	기준	주기	방법	기록	급수량 성상 입도	<p>규정량 균질하여야 함 35 mesh 이하</p>	일일생산량 진량	중량측정 육안	자주검사기 록지								
항목	기준	주기	방법	기록															
급수량 성상 입도	<p>규정량 균질하여야 함 35 mesh 이하</p>	일일생산량 진량	중량측정 육안	자주검사기 록지															
인입 (입실 보쌈)	<p>①증미한 증미를 냉각실로 옮긴다. ②덩어리를 풀로 냉각시키면서 수분을 발산시킨다.</p>	<p>증미의 경연에 따라 지나치게 굳을 때에는 국실의 습도를 높이고 지나치게 물렸을 때에는 국실의 건조차를 크게 하여야 한다.</p>	보쌈대																
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>기준</th> <th>주기</th> <th>방법</th> <th>기록</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>품온 국실온도</td> <td> <p>36±3℃ 이내 28±2℃ 이내</p> </td> <td>작업시</td> <td>온도측정 온도측정</td> <td>자주검사기 록지</td> </tr> </tbody> </table>	항목	기준	주기	방법	기록	품온 국실온도	<p>36±3℃ 이내 28±2℃ 이내</p>	작업시	온도측정 온도측정	자주검사기 록지								
항목	기준	주기	방법	기록															
품온 국실온도	<p>36±3℃ 이내 28±2℃ 이내</p>	작업시	온도측정 온도측정	자주검사기 록지															

파종	막걸리	①증미 표면에 종국을 산포한 다음 균일하게 혼합한다. ②보쌈대 위에 퇴적하고 온도 확인후 보쌈한다. ③광목 등으로 덮는다.			보쌈대	
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		종국사용량 파종후 품온	0.25% 이내 34±2℃ 이내	작업시	중량측정 온도측정	자주검사기 록지
뒤집기	막걸리	①퇴적한 증미를 덩어리를 푼다 ②외부와 내부를 균일하게 혼합한다. ③보쌈대 위에 퇴적하고 온도 확인후 보쌈한다. ④광목 등으로 덮는다.			보쌈대	
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		종국사용량 파종후 품온	0.25% 이내 38±2℃ 이내	작업시	중량측정 온도측정	자주검사기 록지
입상	막걸리	①퇴적한 증미를 덩어리를 푼다 ②외부와 내부를 균일하게 혼합한다. ③국상장에 담는다. ④국상자를 6~8장씩 적재한다. ⑤광목천 등으로 덮어 보온한다.		입상시기의 결정은 품온과 파정상태로 결정한다. 국상자간에는 5 cm 정도의 간격을 유지하여야 한다.		제국기 국상자
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		단위 입상량 적재 국상자수	1.5~2.3 kg 이내 6~8장 이내	작업시	중량측정 온도측정	자주검사기 록지
갈아쌓기 및 손질	막걸리	①입상후 약 2시간후 국상자의 상하 위치를 바꾸어 쌓는다. ②갈아쌓은 약 2시간후 상자안의 입국을 잘 혼합하고 가운데로 모아		갈아쌓기는 품온과 파정상태에 따라 달라진다. 이 조작은 생략할 수도 있다.		제국기 국상자
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		적재 국상자수	6~8장 이내	작업시	중량측정 온도측정	자주검사기 록지

막걸리	<p>①밀술담근용기에 급수 전량을 넣고 젖산과 배양효모를 첨가한 다음 균질하게 혼합한다.</p> <p>②입국을 넣고 도봉질하여 혼합한다.</p> <p>③담금후 4~6시간후 내부 물료가 완전히 수분을 흡수하였을 때 충분히 저어 교반한다.</p> <p>④6~8시간 간격(일일 평균 3~4회)으로 교반한다.</p> <p>⑤최고품온 도달후 20시간 내외부터 품온을 내린다.</p>	<p>담금후 교반은 물료의 용해 당화 및 발효상태를 감안하여 교반 정도와 회수를 조절한다.</p> <p>밀술의 괴어오름까지는 보온에 유의하고 효모 발효적온을 유지하여야 한다.</p> <p>담금후 품온이 30℃를 초과하지 않도록 하여야 한다.</p>	제국기 국상자
-----	--	--	------------

항목	기준					주기	방법	기록
밀술 제조	수국밀술					배합비	중량측정	자주검사기록지
	입국	급수	배양효모	젖산				
	10kg	14~15L	액체효모 200~300mL/분말 효모 40~60g	목표 pH 3.0~3.2				
	담금배합비							
공정 관리	누룩밀술					작업시	온도 측정	온도 측정
	증미	누룩	급수	배양효모	젖산			
	10kg	2kg	14~15L	액체효모 200~300mL/분 말효모 40~60g	120mL			
담금품온	20~25℃						온도 측정	
담금후 품온	28±1℃						온도 측정	
최고품온	30±1℃						온도 측정	
담금실 온도	22±1℃						온도 측정	

막걸리	<p>①냉각한 고두밥 또는 무증자 마쇄 사입액을 발효조로 이송한다.</p> <p>②고두밥 등의 원료가 균질하게 배합되도록 혼합한다.</p>	<p>발효조의 용량에 따라 정량으로 이송하여야 한다.</p>	이송펌프(이송기) 균질기(도구)
-----	---	-----------------------------------	----------------------

항목	기준		주기	방법	기록
공정 관리	사입량	배합기준에 따른다	일일생산량 전량	중량측정	자주검사기록지

1단 담금	막걸리	①음용수, 밀술(주모) 및 입국을 넣고 혼합한다. ②2~3회/일 교반한다.	사입후 도봉질 등으로 균질화를 충분히 하고 몽치는 현상을 최대한 억제하여야 한다. 발효실의 온도가 15~20℃로 유지되어야 한다. 담금기간중 최고품온은 30℃ 이하이어야 한다.	균질기(도구) 발효조 냉각장치	
	공정관리	항목 급수량 밀술(주모)량 입국량 성상 입도 담금품온 담금시간	기준 규정량 규정량 규정량 균질하여야 함 35mesh 이하 22~28℃ 20~48	주기 일일생산량 전량	방법 중량측정 중량측정 중량측정 육안 육안/입도측정 온도측정 시간측정
2단 담금	막걸리	①음용수, 누룩, 효소제 등을 첨가하고 혼합한다 ②1~2회/일 교반한다.	담금기간중 최고품온은 32℃ 이하이어야 한다. 담금후기에는 액과 고형분의 층분리 발생 여부를 점검하여야 한다. 조기 층분리 발생 여부를 점검하여야 한다. 잔당과 brix 등 점검을 통해 종료시점을 확인하여야 한다. 발효종료 이후 제성 직전까지는 10℃ 이하로 냉각시켜야 한다.	균질기(도구) 발효조 냉각장치	
	공정관리	항목 급수량 누룩량 조효소량 정제효소량 괴미투입량 교반횟수 최고담금품온 담금시간 성상(거품발생)	기준 규정량 규정량 규정량 규정량 1~2회/일 30℃ 이하 20~48 양호하여야 한다.	주기 일일생산량 전량	방법 중량측정 중량측정 중량측정 중량측정 중량측정 기록관리 온도측정 시간측정 육안

제성	막걸리	①발효탱크에 이송펌프를 연결한다. ②술덧을 교반한다. ③순차적으로 술덧을 체질한다. ④균질기로 균질화하고 제성조로 이송한다.	균질기의 냉각수 공급 여부를 확인하여야 한다. 운전중 주기적으로 압력 변동을 확인하여야 한다.	이송펌프 교반기 체(진동체) 균질기		
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		입도 균질기압력	120 mesh 이하 200 bar 이상	일일생산량 전량	입도측정 압력측정	자주검사기 록지
1차살균 (전살균)	막걸리	①CIP 실행 여부를 확인한다. ②제성주를 열교환기로 이송하여 살균한다. ③냉각한다.	살균전 CIP를 실시하여 살균기, 이송라인, 탱크내부의 살균을 실시하여야 한다.	이송펌프 살균기 냉각기		
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		살균온도 머무름시간 냉매온도 냉각시간 진균수	60℃ 이상 1~2시간 이상 10~12℃ 10분 이내 10 CFU/mL 이하	작업시	온도측정 시간(이송량) 측정 온도측정 시간측정 균수측정	자주검사기 록지
조미	막걸리	①CIP 실행 여부를 확인한다. ②제성주를 열교환기로 이송하여 살균한다. ③냉각한다.		조미조		
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		알코올 산도 비중 첨가물료 첨가량	규정량 규정량 규정량 배합비	작업시	알코올측정 산도측정 비중측정 첨가량	자주검사기 록지
2차살균 (후살균)	막걸리	①CIP 실행 여부를 확인한다. ②제성주를 열교환기로 이송하여 살균한다. ③냉각한다.	살균전 CIP를 실시하여 살균기, 이송라인, 탱크내부의 살균을 실시하여야 한다.	이송펌프 살균기 냉각기		
	공정관리	항목	기준	주기	방법	기록
		살균온도 머무름시간 주입온도 진균수	60℃ 이상 1~2시간 이상 20℃/58℃(규정온도) 10 CFU/mL 이하	작업시	온도측정 시간(이송량) 측정 온도측정 균수측정	자주검사기 록지

병입	막걸리 공통 공정	포장준비 병입 및 포장 마무리	포장방법 및 자세한 내용은 포장 표시관리지침 (JAS-QI-152)에 따른다.	병입·포장기			
	항목	기 준		주기	방법	기록	
	자 주 검 사	외관상 태	000000g×20	000000kg 000000kg	일일포장량 전량	육안	PACKIN G CHECK LIST
			①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함	①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함			
		수량	제조일별 포장수량				
불량은 즉시 조치 후 폐기하여야 한다							
금속 검출	막걸리	품목별 금속검출기 SETTING. 작동상태 확인. 작동	금속검출기의 금속 감지능력을 작업전 확인 하여야 하고 감지된 제품은 즉시 폐기하여야 한다.	금속검출기			
	항목	기 준		주기	방법	기록	
	자 주 검 사	금속 검출	금속검출이 없어야 한다.	일일생산량 전량	금속 검출 기	자주검사 기록지	
포장	막걸리 공통 공정	포장준비 병입 및 포장 마무리	포장방법 및 자세한 내용은 포장표 시관리지침(KFRI-QI -000)에 따른다	병입·포장기			
	항목	기 준		주기	방법	기록	
	자 주 검 사	외관상 태	000000g×20	000000kg 000000kg	일일포장량 전량	육안	포장검사 일지
			①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함	①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함			
		수량	제조일별 포장수량				
불량은 즉시 조치 후 폐기하여야 한다							

일반적인 막걸리 제조를 위한 SOP와 더불어 본 기획과제에서 도출한 고품질 막걸리와 유통기한 연장을 위해 새로이 개발된 기술에 대한 작업표준(SOP)는 다음과 같이 설정할 수 있다.

(가) 선발 효모의 보관방법, 활성화

제1세부 과제에서 선발한 효모의 보관 및 활성화를 위한 절차의 예시는 다음과 같다.

공정명	작업순서 및 작업방법		주의사항	관련설비	
선발 효모 활성화	①냉장보관중인 분말건조 효모를 개봉한다. ②양조용수에 배합비에 따라 첨가한다. ③균질하게 혼합한다.		배합비에 따라 첨가량 원료 쌀의 약 0.12%을 준수하여야 한다.	배합조 균질기	
	공정관리	항목 성상	기준 이물질이 없어야 하고 충분히 혼합되어야 한다.	주기 일일생산량 전량	방법 육안

(나) 검류의 종류, 사용량 및 첨가 방법

제1세부 과제에서 도출한 검류의 첨가를 위한 절차의 예시는 다음과 같다.

공정명	작업순서 및 작업방법		주의사항	관련설비	
검류 혼합	①제성한 막걸리에 배합비에 따라 첨가한다. ②균질하게 혼합한다.		배합비에 따라 첨가량 알코올분 6% 기준 0.05%(w/v)을 준수하여야 한다.	제성조 균질기	
	공정관리	항목 성상	기준 이물질이 없어야 하고 충분히 혼합되어야 한다.	주기 일일생산량 전량	방법 육안

(다) 난분해성 전분의 종류, 사용량 및 첨가방법

제1세부 과제에서 도출한 난분해성 전분의 첨가를 위한 절차의 예시는 다음과 같다.

공정명	작업순서 및 작업방법		주의사항		관련설비
검류 혼합	①제성한 막걸리에 배합비에 따라 첨가한다. ②균질하게 혼합한다.		배합비에 따라 첨가량 알 코올분 6% 기준 2.0%(w/v)을 준수하여야 한다.		제성조 균질기
	공정 관리	항목	기준	주기	방법
	정상	이물질이 없어야 하고 충분히 혼합되어야 한다.	일일생산량 전량	육안	자주검사기 록지

(라) 완전발효의 방법 및 검증방법

제2협동연구과제에서 실시한 완전발효에 의한 유통기한 연장기술과 관련된 본 기술의 핵심은 누룩(입국시료) 원료기준 30%, 급수율 200%, 효모는 원료기준 6%, 발효온도 27℃에서 5일간 병행복발효법으로 발효하고 완전발효의 검증방법은 담근이 종료된 막걸리를 14,000 rpm에서 5분간간 원심분리 한 후 상등액을 BCS glucose kit(BCS corp.) 등의 방법으로 정량분석하여 잔당의 존재 유무를 확인하는 것을 주된 내용으로 한다. 이와 관련된 작업표준(SOP)은 일반적인 막걸리의 작업표준을 준용하되 2단 담금후 잔당검사 항목에서 잔당의 유무를 확인하고 발효 종료시점을 설정한다.

(마) 탄산제어의 방법 (사용용기 및 보관방법 등)

제2협동연구과제에서 실시한 완전발효에 의한 유통기한 연장기술과 관련된 본 기술의 핵심은 조미공정에서 1%(w/v)의 당을 첨가하고 병입후 10℃에 저장하는 것이다.

(바) Cold-shock 처리방법

제2협동연구과제에서 실시한 완전발효에 의한 유통기한 연장기술과 관련된 본 기술의 핵심은 발효, 제성후 병입한 막걸리를 -20 ℃에서 10일간 냉동처리한후 4-10 ℃에 2일간 해동하는 것이며 이와 관련된 작업표준(SOP)의 예시는 다음과 같다.

공정명	작업순서 및 작업방법		주의사항	관련설비				
병입	일반 막걸리 제조공정과 동일							
냉동	막걸리 공통 공정	냉동 파렛트에 적재 냉동(품온 : -20℃)		냉동설비				
	자 주 검 사	항목	기 준		주기	방법	기록	
		외관상 태	000000gX20	000000kg 000000kg		일일냉동량 전량	육안	냉동검사 일지
			①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함	①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함				
			수량					
		품온	동결후 품온은 -20℃이어야 한다.					
불량은 즉시 조치 후 폐기하여야 한다								
해동	막걸리 공통 공정	해동실로 이송 해동		저온저장 설비				
	자 주 검 사	항목	기 준		주기	방법	기록	
		외관상 태	000000gX20	000000kg 000000kg		일일냉동량 전량	육안	해동검사 일지
			①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함	①용기변형이 없어야 함 ②용기파손으로 인한 내용물 누수가 없어야 함 ③캡핑상태가 양호하여야 함				
			수량					
		품온	해동실 온도는 4-10℃이어야 한다.					
불량은 즉시 조치 후 폐기하여야 한다								
금속 검출	일반 막걸리 제조공정과 동일							

(사) 균체의 선택적 분리 및 제거 방법

제2협동연구과제에서 실시한 완전발효에 의한 유통기한 연장기술과 관련된 본 기술의 핵심은 발효, 제성후 고압균질기를 사용하여 최대 1,000 bar 범위에서 1-3회 반복적으로 고압 균질화하는 것이며 이와 관련된 작업표준(SOP)의 예시는 다음과 같다.

공정명	작업순서 및 작업방법		주의사항	관련설비		
2단 담금	일반 막걸리 제조공정과 동일					
고압 균질	막걸리	①발효탱크에 이송펌프를 연결한다. ②술덧을 교반한다. ③균질기로 균질화하고 제성조로 이송한다.	균질기의 냉각수 공급 여부를 확인하여야 한다. 운전중 주기적으로 압력 변동을 확인하여야 한다.	이송펌프 교반기 고압균질기		
	공 정 관 리	항목	기준	주기	방법	기록
		압력	최대 1,000 bar	일일생산량 전량	압력측정	자주검사기록 지
횟수	1-3회	일일생산량 전량	회수측정	자주검사기록 지		
제성	일반 막걸리 제조공정과 동일					

(아) 발효 공정 제어를 통한 당분 무첨가의 막걸리 제조방법

제1협동연구과제에서 실시한 완전발효에 의한 고품질 막걸리 생산을 위한 ‘발효 공정 제어를 통한 당분 무첨가의 막걸리 생산’ 기술과 관련된 작업표준(SOP)은 기본적인 공정은 동일하나 담금시 백미의 입도를 40 mesh로 하고 발효온도를 25℃로 하는 세부적인 사항만 다르며 이하의 작업표준은 동일하게 적용한다.

(3) 막걸리 생산 기반에 대한 선행 요건 프로그램(PRPs) 개발

일반적으로 위생관리의 관점에서 적용되는 HACCP과 같은 프로그램에서 요구되는 선행 요건프로그램은 제조장 관리, 위생관리, 제조·가공 시설·설비관리, 냉장·냉동 시설·설비 관리, 용수관리, 보관·운송관리, 검사관리 및 회수 프로그램 관리에 대해 식품위생법상의 요구사항, HACCP이 고시되어 있는 경우에는 고시된 HACCP 고시에서의 요구사항, 업체특성에 따른 식품안전확보에 필요한 요구사항과 사내규격(정)에 규정된 위생관리방법과 그 절차가 관리기준서로 규정되어 있어야 한다.

본 과제가 기획될 당시에는 위생관리에 대한 전반적인 행정책임이 국세청에 있었고 식품의약품안전처에서는 위생관리에 대한 행정규제가 없었기 때문에 본 과제의 연구내용으로 막걸리의 제조에 대한 위생관리기준(SSOP)이 주요연구내용으로 포함되어 있었지만 식품의약품안전처에서 ‘탁주 해썬(HACCP) 관리(발간등록번호 11-1470000-002755-01)’로 위생관리에 대한 전반적인 사항을 제시하고 있으므로 본 연구에서 이를 재론하거나 세부사항에 대한 이견을 제시하는 것은 바람직하지 않다고 판단된다.

식품의 위생과 관련된 사항은 매우 다양하지만 크게 원재료로부터 유래하는 오염물질, 제조과정에서 유입되는 오염물질로 크게 구분할 수 있다. 주류는 다른 일반적인 식품에 비해 비교적 안전한 식품으로 여겨지지만 금속성 이물, 곰팡이류, 나무나 토사, 머리카락과 같은 이물 혼입에 신고사례는 비교적 많은 편으로 알려져 있다. 생물학적으로는 일반식품에서 요구되는 대부분의 병원성 미생물이 고려의 대상이 된다. 화학적으로는 원재료로부터 유래 가능성이 있는 잔류농약, 중금속, 보존료, 메탄올, 곰팡이 독소 등을 고려할 수 있지만 이들 대부분은 입고 검사를 통해 안전성을 확보할 수 있고 보존료나 인공첨가물 등은 제조공정에서 규정된 사용량을 준수할 경우 우려의 대상이 되지 않는다고 판단된다.

제조공정에서 발생할 수 있는 위해요소는 원재료로부터의 교차오염, 시설 및 설비로부터의 오염, 사용용수로 부터의 오염, 작업자로부터의 오염 등의 중요한 관리점이 된다. 따라서 이러한 사전예방을 위해서는 입고검사, 제조설비나 시설, 작업자에 대한 세척 및 소독·살균 등이 일상적인 관리요소로 고려되어야 한다.

막걸리 생산업체의 생산기반에 대한 현실을 감안할 때 공급업체를 통한 원부재료, 포장재 등은 입고검사를 통해 관리가 가능하지만 제조환경(작업장 및 그 주변환경), 작업도구, 폐기물, 방충, 방서 관리 등은 제조장의 시설 보관이 수반되어야 하기 때문에 단기간 내의 여건 마련은 쉽지 않다고 판단된다.

국내의 식품의 위생관리와 관련된 사항은 주로 HACCP의 요구사항을 충족하는 형태로 대부분 설정되어 있다. 그러나 HACCP은 위해요소를 품질관리체계에서 중점적으로 관리하기 위한 규정 요소를 담고 있기 때문에 막걸리 제조가 위해요소를 강조하여 관리하여야 할 품목이 아니라면 이 요구사항을 모두 반영할 필요성은 없다고 판단된다. 본 연구를 통해 제시된 바와 같이 막걸리, 특히 생막걸리가 미살균 제품이라는 하지만 고유의 특성으로 인해 대부분의 병원성 미생물 오염에 비교적 안전한 것으로 판단된다. 또한 화학적인 위해요소 또한 원재료 관리를 통해 충분히 예방할 수 있으므로 물리적인 위해를 중심으로 위생관리를 실시하고 생물학적 위해나 화학적 위해는 보편적인 기준을 적용하는 것으로 가능하리라 판단된다.

참고로 ISO/TC 34의 Food Services - Good Manufacturing Practices에서 요구하는 사항을 요약하면 다음과 같다.

- | |
|--|
| <p>1. 일반요구사항</p> <p>1.1 시설/설비 - 일반 요구사항</p> <p>1.2 작업장/구역의 구획</p> <p>1.3 식품 취급 구역</p> <p>1.4 조명과 환기</p> <p>1.5 용수공급</p> <p>1.6 폐기물처리</p> <p>1.7 저장</p> <p>1.8 창고 및 화장실</p> <p>1.9 장치 및 설비</p> |
|--|

2. 위생요구사항

- 2.1 유지 및 관리
- 2.2 청소와 소독
- 2.3 폐기물의 처리
- 2.5 방서와 방충
- 2.6 위험물질의 취급
- 2.7 반입금지요소

3. 작업중의 위생요구사항

- 3.1 원재료의 반입과 보관
- 3.2 교차오염의 방지
- 3.3 포장
- 3.4 제품보관조건
- 3.5 이송중의 위생관리
- 3.6 품질관리 시스템

4. 기타 품질 요구사항

- 4.1 문서화 및 기록관리

막걸리 제조장에서 고려되어야 할 일반적인 요구사항을 예시하면 다음과 같으며 이는 바람직한 제조장의 위생관리를 위해 권고하는 사항임을 밝혀둔다.

표 175. 일반적인 주류 제조장에 요구되는 위생요구사항

1. 일반 (위생) 요구사항

1.1 주위환경

- 제조장의 위치는 축산폐수, 화학물질 및 기타 오염물질의 발생시설(정유소, 화학공장, 제지공장, 제철소, 저탄장 등의 산업시설과 위생매립지, 소각장, 쓰레기 야적장 등), 축산시설로부터 식품에 나쁜 영향을 주지 아니하는 거리를 두어야 한다.
 - 폐기물·화학물질 등 오염물질 발생원과 완전히 구분되어 있고 최소 30 m 이상의 이격 거리가 있어야 한다.
 - 주변 농지 등으로부터 오염물질 비산 가능성이 없어야 한다. 최소 30 m 이상의 이격 거리가 있어야 한다.
 - 동물사육장 등과 완전히 구분되어 있어야 하고 최소 30 m 이상의 이격 거리가 있어야 한다.
 - 식품에 심각한 오염을 초래할 수 있는 산업활동 지역, 해충의 침입이 잦은 지역, 고형 또는 액체의 쓰레기가 효과적으로 제거될 수 없는 지역에서 멀리 떨어져 위치해야 하며 침수되지 않아야 한다.
 - 주변의 관행농업에 의한 농약 등의 비산 오염이 발생하지 않도록 충분한 이격 거리를 두어야 한다. 충분한 이격거리를 확보하지 못하거나 비산의 우려가 있는 경우에는 비산방지가 가능한 방호벽을 설치하거나 완전히 밀폐 가능한 건물구조이어야 한다.

- 제조장 제조시설 주변은 포장을 원칙으로 하며 먼지 등의 발생이 방지되어야 하고 차량운행 및 청소가 용이한 구조이어야 한다. 콘크리트나 아스팔트 등으로 주변(진출입구, 주차장, 도로 등)을 포장함으로써 차량 통행에 따른 먼지 등의 혼입과 곤충의 이동을 제한할 수 있어야 한다.
- 제조장 제조시설 주변은 고양이나 개 등의 애완동물을 사육하거나 방치하여서는 아니 된다.

1.2 건물

- 제조장은 내구력 있는 구조물이어야 하고, 건축자재는 식품제조에 적합한 재질이어야 한다.
 - 제조장의 외벽은 콘크리트(벽체 및 블록), 판넬(단열강판, ALC 판넬, 각파칼라동판 등), 점토블럭 등 같은 내구성이 있는 구조물이어야 한다.
 - 흙, 지푸라기, 슬레이트와 같은 재질을 사용하여서는 아니 된다.
- 외벽은 먼지, 누수, 설치류와 해충의 침입을 방지할 수 있도록 틈이나 구멍이 없어야 한다.
- 제조장의 지붕은 녹이 슬지 않아야 하며 틈새가 없고 청소가 용이한 구조와 재질이어야 한다.
- 인접도로의 포장 및 배수상태가 양호하여야 한다.
 - 작업장이 인접도로와 20 m 이상의 이격 거리가 있어야 한다.
- 제조장 주변에 쓰레기, 오수류 등의 오염물질의 방치 또는 고여 있지 않아야 한다.
- 폐기물·폐수처리 시설이 작업장으로부터 떨어진 곳에 설치하며 위생적으로 운영하고, 그 운영 내용을 기록 관리하여야 한다. 다만, 범정위탁 처리하는 경우에는 폐기물·폐수처리 시설을 설치하지 않아도 적합한 것으로 본다.
 - 폐기물, 폐수처리 시설이 제조장으로부터 떨어진 곳에 위치하여야 한다.
 - 폐기물, 폐수 등의 시설은 개방되어 있지 않아야 한다.
 - 위생적으로 운용되고 기록, 관리되어야 한다.
- 배수로는 배수 및 청소가 용이하고 교차오염이 발생하지 않도록 설치하고 폐수가 역류하거나 퇴적물이 쌓이지 않도록 설비하여야 한다.
 - 배수와 청소가 용이한 구조이어야 한다.
 - 악취나 폐수역류 등이 발생하는 구조이어서는 아니된다.
 - 주기적으로 세척, 소독해야하고 기록, 관리되어야 한다.
 - 작업방 외부로 개방되는 배수로는 곤충이나 설치류 등의 유입 방지를 위해 그물망 등의 시설이 갖추어져 있어야 한다.
- 내벽은 견고하고 평활하며 작업특성에 따라 내수성·내부식성 등의 적절한 재질을 사용하며 파이거나 갈라진 틈·구멍이 없어야 한다.
 - 내부식성의 재질로 청소가 용이한 구조이어야 한다.
 - 곰팡이, 거미줄 등이 없어야 한다.
 - 갈라진 틈이나 구멍 등이 없어야 한다.
- 제국실, 밀술실·발효숙성실의 천정 및 벽은 곰팡이·먼지·응결수 등이 오염되지 않도록 시설하고 위생적으로 관리하여야 한다.
 - 갈라진 틈이 없고 평탄하며 빗물 등이 유입되지 않아야 한다.
 - 도장 상태가 양호하고 부스러기, 페인트 조각 등 이물질 유입 가능성이 없어야 한다.
 - 곰팡이, 거미줄 등이 없어야 한다.
 - 적합한 환기, 경사, 높이를 두어 응결수가 맺히거나 유입 가능성이 없어야 한다.

- 출입문과 창문은 밀·개폐 및 통풍이 가능하며 방충망 등을 설치하여 방충·방서가 가능하고, 이를 정기적으로 청소하여야 한다.
 - 출입문과 창문은 밀폐가 가능한 구조이어야 한다.
 - 출입문은 견고한 내수성 재질로서 청소가 용이하여야 한다.
 - 출입문과 창문은 곤충, 쥐 등의 침입을 방지할 수 있는 방충망 등이 시설되어 있어야 한다. 방충망은 스테인레스 스틸(SUS 304, SUS 316, SUS 400), 알루미늄, 녹이 발생하지 않는 금속성 재질이 바람직하다.
 - 출입문과 창문은 잠금장치가 되어 있어야 한다.
 - 청소가 용이한 구조이어야 하고 주기적으로 청소 등을 실시하여야 한다.
- 증자실 등 작업장 안에서 악취·유해가스·매연·증기 등이 발생할 경우 이를 제거하는 환기시설을 갖추고 있어야 한다.
- 원료처리 등의 작업공정에서 분진, 분말 등이 발생할 경우 이를 제거하는 집진시설을 갖추고 있어야 한다.
- 화재 및 사고 방지를 위한 소방시설 및 설비를 갖추어야 하고 예방교육을 실시하여야 한다.
 - 제조장 내에 화기 또는 인화성 물질 등이 있을 경우 취급주의 표시하고 안전하게 관리하여야 한다.
 - 청소상태가 양호하여야 한다.
 - 종업원에게 화재예방 교육을 정기적으로 실시하고 소화기 사용법 등을 숙지시켜야 한다.
- 제조시설별 조명시설은 실내의 경우 배립형이 이상적이며 돌출형일 경우 상부를 둘러쌓아야 한다. 작업조건에 따른 작업조도는 다음과 같다.
 - 선별 및 검사구역 : 540 Lux
 - 일반 작업구역 : 220 Lux
 - 기타 부대시설 : 110 Lux

1.3 기구 및 자재

- 생산과정에서 식품과 직접 접촉하는 도구, 이송도구 및 기계류의 표면은 「식품위생법」에서 식품용 기계·기구류에 사용이 허용되는 재질이나 식품용기포장의 기준 및 규격에 적합한 재질의 것이어야 한다.
- 용기·포장을 회수하여 재사용하고자 할 때에는 「먹는물관리법」의 수질기준에 적합한 물로 깨끗이 세척하여 일체의 불순물 등이 잔류하지 아니하였음을 확인한 후 사용하여야 한다.
- 용기·포장은 용기·포장류 제조업 신고를 필한 업소에서 제조한 것이어야 한다. 다만, 그 자신의 제품을 포장하기 위하여 용기·포장류를 직접 제조하는 경우는 제외한다.
- 세척에 사용하는 용수나 도구, 기계 등의 세척을 위한 용수는 「먹는물관리법」의 먹는물 수질기준에 적합한 것이어야 한다.

1.4 검사실

- 막걸리의 기준 및 규격을 검사할 수 있는 검사실을 갖추어야 한다. 다만, 다음 각 호의 어느 하나에 해당하는 경우에는 이를 갖추지 아니할 수 있다.
 - 「식품위생법」 제31조제2항에 따라 식품위생검사기관 등에 위탁하여 자가품질검사를 하려는 경우
 - 같은 영업자가 다른 장소에 영업신고한 같은 업종의 영업소에 검사실을 갖추고 그 검사실에서 자가품질검사를 하려는 경우
 - 같은 영업자가 설립한 식품 관련 연구·검사기관에서 자사 제품에 대하여 자가품질검사를 하려는 경우
- 검사실을 갖추는 경우에는 자가품질검사에 필요한 기계·기구 및 시약류를 갖추어야 한다.

1.5 제조장 관리

- 제조장은 독립된 시설 또는 건물이거나 다른 용도로 사용되는 시설과 분리(벽·층 등에 의하여 별도의 방 또는 공간으로 구별되는 경우를 말한다. 이하 같다)되어야 한다.
- 보관창고와 출입문, 창문, 벽, 천장 등은 누수, 외부의 오염물질이나 해충·설치류 등의 유입을 차단할 수 있도록 밀폐 가능한 구조이어야 한다.
- 제조장은 청결구역(냉각실, 포장실)과 일반구역으로 분리하고, 공정에 따라 분리, 구획 또는 구분하여야 한다.

<청정도 구분에 따른 일반적인 구획계획>

지역	청정도 구분		대상	용도에
	지역	작업구역		
비오염지역	고도청결작업구역	특히 청결을 요구하는 구역	무균실, 멸균제품 등의 포장	방냉, 조리, 충전, 포장
	청결작업구역	청결 작업실	중간제품의 냉각, 분류, 포장	
	준청결작업구역	청결 작업구역에 준한 구역	성형, 조미, 가열, 가공, 건조, 숙성	
오염지역	일반작업구역	오염을 관리해야 하는 구역	원료반입, 보관, 해동, 전처리, 외포장, 식재창고, 자재보관, 제품보관, 관품보관	

- 제조장의 바닥, 벽, 천장, 출입문, 창문 등은 내수성 또는 내열성 등의 재질을 사용하거나 이러한 처리를 하여야 하고, 바닥은 파여 있거나 갈라진 틈이 없어야 하며, 필요한 경우를 제외하고는 마른 상태를 유지하여야 하며 먼지, 곰팡이, 이물 등이 끼지 아니하도록 청결하게 관리하여야 한다.
- 제조시설의 작업장은 배수가 잘 되어야 하고 배수로에 퇴적물이 쌓이지 아니 하여야 하며, 배수구, 배수관 등은 역류가 되지 아니 하도록 관리하여야 한다.
- 배관과 배관의 연결부위는 인체에 무해한 재질이어야 한다.
- 창고의 유리는 파손 시 유리 조각이 작업장내로 흩어지거나 원·부자재 등으로 혼입되지 아니 하도록 하여야 한다.
- 선별 및 검사구역 작업장 등은 육안확인에 필요한 조도(540룩스 이상)를 유지하여야 한다.
- 채광 및 조명시설은 내부식성 재질을 사용하여야 하며, 식품이 노출되거나 내포장 작업을 하는 작업장에는 파손이나 이물 낙하 등에 의한 오염을 방지하기 위한 보호장치를 하여야 한다.

1.6 원료관리

- 원료(원부재료)는 자체적으로 정한 관리기준에 적합한 것을 사용하여야 한다.
- 원부자료는 검사성적서로 확인하거나 자체적으로 정한 입고기준 및 규격에 적합한 자재만을 구입하여야 한다.

1.7 공정관리

- 막걸리의 품질이 인증기준 수준 이상으로 보증될 수 있도록 적합한 단위공정기준과 관리기법(사용설비, 작업 방법, 작업조건, 작업상의 유의사항 등)을 적용하여 중간검사 또는 공정관리 방법을 규정하고 있어야 하며, 사내표준에 따라 검사를 실시하고 그 기록을 보관하여야 하고 있어야 한다.
 - 원료처리 : 백미, 소맥분 등의 침지조건, 증자조건(온도 및 시간)
 - 입국제조 : 제국시간, 종국사용량, 국미량, 제국온도
 - 밑술제조 : 입국미, 배양효모 등의 배합비, 발효온도 및 시간
 - 1단 담금 : 온도 및 시간
 - 2단 담금 : 덧밥, 물, 발효제 등의 첨가량, 발효온도 및 시간
 - 제성 : 후수첨가량 등
 - 살균 : 살균온도 및 시간

- 병입 및 포장 : 주입량, 표시사항 등
- 금속성 이물은 쇳가루의 경우에는 10.0 mg/kg 이상 검출되어서는 아니되며, 또한 크기가 2.0 mm 이상인 금속성 이물이 검출되어서는 아니 된다.
- 원료창고는 선입선출이 가능하고 다른 재료들과 구분되도록 관리하여야 한다.
- 완제품 보관장소가 충분히 확보되어 있고, 보관상태가 양호하며, 입·출고 관리도 이루어져야 한다.

1.8 유통관리

- 유통제품의 경우에는 적절한 유통기한 및 보존 조건을 설정·관리하여야 한다.
- 운반 중인 식품은 비식품 등과 구분하여 교차오염을 방지하여야 하며, 운송차량(지게차 등 포함)으로 인하여 운송제품이 오염되어서는 아니 된다.
- 원료 및 완제품은 선입선출 원칙에 따라 입고·출고상황을 관리·기록하여야 한다.
- 원·부자재, 반제품 및 완제품은 구분관리 하고, 바닥이나 벽에 밀착되지 아니 하도록 적재·관리하여야 한다.
- 부적합한 원·부자재, 반제품 및 완제품은 별도의 지정된 장소에 보관하고 명확하게 식별되는 표식을 하여 반송, 폐기 등의 조치를 취한 후 그 결과를 기록·유지하여야 한다.
- 부적합품이나 반품된 제품의 회수를 위한 구체적인 회수절차나 방법을 기술한 회수프로그램을 수립·운영하여야 한다.
- 부적합품의 원인규명이나 확인을 위한 제품별 생산장소, 일시, 제조라인 등 해당시설내의 필요한 정보를 기록·보관하고 제품추적을 위한 코드표시 또는 로트관리 등의 적절한 확인 방법을 강구하여야 한다.

1.9 포장 및 표시관리

- 해당 제품의 내용물 보호에 적합한 재질의 식품 포장재를 사용하여야 한다.
- 광고·선전 등의 홍보 및 제품에 대한 표시를 하면서 사실과 다른 홍보나 표시를 한 사실이 없어야 한다.
- 해당 규격의 표시방법 및 기준에 맞으며, 소비자를 오인시킬 우려가 있는 표시를 하여서는 아니 된다.

1.10 용수관리

- 수도물이나 「먹는물관리법」 제5조에 따른 먹는 물의 수질기준에 적합한 지하수 등을 공급할 수 있는 시설을 갖추어야 한다.
- 지하수 등을 사용하는 경우 취수원은 화장실·폐기물처리시설·동물사육장, 그 밖에 지하수가 오염될 우려가 있는 장소로부터 20 m 이상 떨어진 곳에 위치하여야 한다.
- 용수는 「먹는물관리법」에서 규정하고 있는 수처리제를 사용하거나, 각 제품의 용도에 맞게 물을 응집침전, 여과[활성탄, 모래, 세라믹, 맥반석, 규조토, 마이크로필터, 한외여과(Ultra Filter), 역삼투막, 이온교환수지], 오존살균, 자외선살균, 전기분해, 염소소독 등의 방법으로 수처리하여 사용할 수 있다.
- 가공에 사용되거나, 식품에 접촉할 수 있는 시설·설비, 기구·용기, 종업원 등의 세척에 사용되는 용수는 다음에 따른 검사를 실시하여야 한다.
 - 지하수를 사용하는 경우에는 먹는물 수질기준 전 항목에 대하여 연1회 이상(음료류 등 직접 마시는 용도의 경우는 반기 1회 이상)검사를 실시하여야 한다.
 - 먹는물 수질기준에 정해진 미생물학적 항목에 대한 검사를 월1회 이상 실시하여야 하며, 미생물학적 항목에 대한 검사는 간이검사키트를 이용하여 자체적으로 실시할 수 있다
- 저수조, 배관 등은 인체에 유해하지 아니한 재질을 사용하여야 하며, 외부로부터의 오염물질 유입을 방지하는 잠금장치를 설치하여야 하고, 누수 및 오염여부를 정기적으로 점검하여야 한다.
- 저수조는 반기별 1회 이상 「수도시설의 청소 및 위생관리 등에 관한 규칙」에 따라 청소와 소독을 자체적으로 실시하거나, 「수도법」에 따른 저수조청소업자에게 대행하여 실시하여야 하며, 그 결과를 기록·유지하여야 한다.

1.11 환경 및 공정 위생관리

- 제조장 외부로 개방된 흡·배기구, 후드 등에는 여과망이나 방충망, 개폐시설 등을 부착하고 관리계획에 따라 청소 또는 세척하거나 교체하여야 한다.
- 제조장의 작업장내에서 해충이나 설치류 등의 구제를 실시할 경우에는 정해진 위생 수칙에 따라 공정이나 안전성에 영향을 주지 아니 하는 범위 내에서 적절한 보호 조치를 취한 후 실시하여야 한다.
- 제조장내에서 방충·방서관리를 위하여 해충이나 설치류 등의 유입이나 번식을 방지할 수 있도록 관리하여야 하고, 유입 여부를 정기적으로 확인하여야 한다.
- 폐기물·폐수처리시설은 작업장과 격리된 일정장소에 설치·운영하며, 폐기물 등의 처리용기는 밀폐 가능한 구조로 침출수 및 냄새가 누출되지 아니 하여야 하고, 관리계획에 따라 폐기물 등을 처리·반출하고, 그 관리기록을 유지하여야 한다.
- 제조장은 공정간 또는 취급시설·설비 간 오염이 발생되지 아니 하도록 공정의 흐름에 따라 적절히 배치되어야 하며, 오염이 발생하지 아니 하여야 한다.
- 해당 제품을 생산하기에 적합한 제조설비를 보유하고, 설비의 성능을 유지하기 위한 점검, 보수, 유회관리, 세척 등의 관리규정을 구체적으로 정하여 이에 따라 실시하고 있어야 한다.
 - 기계, 설비, 기구, 용기 등을 살균소독할 수 있는 시설/설비(열탕, 증기 및 소독제 등)를 구비하고 있어야 한다.
 - 살균소독 시설/설비, 기구 등은 별도로 장소에 비치하고 관리하여야 한다.
 - 세척 설비를 갖추고 있어야 한다.
 - 원료 및 가공품의 세척에 사용하는 물은 「먹는물관리법」의 음용수 수질기준에 적합하여야 한다.
 - 지정된 설비 관리자가 설비관리규정에 따라 관리할 수 있어야 한다.
- 밀술실, 국실, 원료처리실, 증미냉각실, 발효실 등의 세척 또는 소독 기준을 정하고, 그에 따라 청결하게 관리하여야 한다.
 - 밀술실, 국실, 원료처리실, 증미냉각실, 발효실 등의 세척 및 소독기준은 갖추고 기록, 관리하여야 한다.
 - 살균소독 시설/설비, 기구 등은 별도로 장소에 비치하고 관리하여야 한다.
 - 세척 설비를 갖추고 있어야 한다.
 - 원료 및 가공품의 세척에 사용하는 물은 「먹는물관리법」의 음용수 수질기준에 적합하여야 한다.
- 용기(병, 관, 통 등)의 사용 전 검사, 소독, 세척, 행균 등을 위생적으로 처리하여야 한다.
 - 병, 관, 통 등의 용기는 사용전 세척하여야 한다.
 - 검사, 소독, 세척, 행균 등이 위생적으로 관리되어야 한다.
 - 행균에 사용하는 물은 「먹는물관리법」의 음용수 수질기준에 적합하여야 한다.
 - 소독, 세척, 행균 후 잔류물에 의한 오염 가능성이 없어야 한다.

1.12 품질관리 조직 및 인력

- 품질관리 업무를 수행하는 능력을 갖추고 있어야 한다.
- 품질관리 업무 외의 업무를 수행하고 있는 경우 그 업무를 수행함으로써 품질관리 업무가 불공정하게 수행될 우려가 없어야 한다.
- 규모에 적합하고, 품질목표를 달성할 수 있도록 자격 있는 품질관리 담당자와 전문 인력을 확보하고 있어야 한다.
- 품질관리 업무를 담당하는 사람을 갖추어야 한다.
- 종업원에 대한 자체 품질관리교육을 시행(교육일지 기록유지 관리 등)하고 있고, 품질관리인의 품질관리 교육을 주기적으로 이수하여야 한다.

1.13 개인 및 작업위생관리

- 제조장내에서 작업중인 종업원 등은 위생복·위생모·위생화 등을 항상 착용하여야 하며, 개인용 장신구 등을 착용하여서는 아니 된다.
- 탈의실은 외출복장(신발 포함)과 위생복장(신발 포함)간의 교차 오염이 발생하지 아니 하도록 구분·보관하여야 한다.

이러한 위생요구사항을 달성하기 위하여 개별 제조장에서 실시하여야 할 위생관리기준을 예시하면 다음과 같다. 이와 별도로 일반적으로 적용되는 제조 시설·설비관리 기준서, 냉장·냉장·설비관리 기준서, 보관·운송관리 기준서, 검사관리 기준서의 예시를 부록 1-4에 수록하였다.

표 176. 일반적인 막걸리 제조장의 위생관리기준(SSOP) 기본 요구사항 예

<p>1. 적용 범위 ~ 4. 책임과 권한 '생략'</p> <p>5. 관리 기준</p> <p>5.1 제조장 관리 기준</p> <p>5.1.1 작업장의 구조</p> <p>1) 작업장은 해당 제품의 생산에 적합하도록 위생적인 구조를 유지하고 있어야 한다.</p> <p>① 작업장은 독립된 건물이거나 식품 취급외의 용도로 사용되는 시설과 분리되어야 한다.</p> <p>② 작업장은 누수, 외부 오염물질이나 곤충·설치류 등의 유입을 차단할 수 있도록 밀폐 가능한 구조이어야 한다.</p> <p>③ 작업장의 외부는 틈이나 구멍이 없도록 유지 관리한다.</p> <p>2) 작업장 주변은 교차오염이 발생하지 않도록 청결하게 관리한다.</p> <p>① 물이 고이거나 악취가 발생하지 않도록 한다.</p> <p>② 원·부자재, 불필요한 물품, 기구, 폐기물 등이 방치되지 않도록 한다.</p> <p>③ 풀이나 잡초 등이 자라지 않도록 정기적으로 제초작업을 실시한다.</p> <p>5.1.2 작업구역 설정</p> <p>1) 작업장은 청정도에 따라 일반구역과 청결구역(필요시 준청결구역 추가)으로 분리하여 교차오염을 방지 할 수 있도록 작업구역을 설정한다.</p> <p>2) 각 구역의 특성에 맞는 구역별 위생수칙을 설정하여 교차오염이 일어나지 않도록 위생적으로 관리한다.</p> <p>① 작업자는 지정 구역에서만 작업한다.</p> <p>② 각 구역별로 설정된 위생 수칙을 준수한다.</p> <p>③ 작업 중 다른 구역으로 이동하지 않는다.</p> <p>④ 부득이하게 다른 구역으로 이동할 경우는 세척, 소독 등을 실시하여 교차오염을 방지한다.</p> <p>5.1.3 작업장 내부 관리</p> <p>1) 작업장 재질</p> <p>① 작업장 등의 바닥, 벽, 천장, 출입문, 창문 등은 작업 특성에 따라 적절한 재질을 사용하여야 한다.</p> <p>2) 바닥</p> <p>① 바닥은 균열이 발생하거나 파손된 부분이 없어야 한다.</p> <p>② 바닥은 식품의 잔사, 오염물 등이 남아있지 않도록 정기적으로 청소하여 청결하게 관리한다.</p> <p>③ 작업 중 물 사용 및 노출을 최소화하여 바닥에 물이 떨어지거나 고이지 않도록 한다.</p> <p>④ 바닥은 주기적으로 청소를 실시하여 마른상태를 유지한다.</p> <p>3) 내벽</p> <p>① 내벽은 갈라진 틈이나 파손된 부분이 없도록 관리한다.</p> <p>② 내벽은 오물이 집적되거나 곰팡이, 미생물 등이 번식되지 않도록 청결하게 관리한다.</p> <p>4) 천장</p> <p>① 천장은 파손된 부위나 구멍, 틈이 없도록 관리한다.</p> <p>② 천장은 먼지가 쌓이거나 곰팡이 등이 번식하지 않도록 청결하게 관리한다.</p> <p>③ 천장은 빗물이 새거나 응결수가 떨어지지 않도록 관리한다.</p> <p>5) 배수로</p> <p>① 배수로 등은 배수가 넘치거나 고여 있지 않도록 관리한다.</p> <p>② 배수의 흐름이 적절치 않은 경우는 이에 상응하는 적절한 조치를 취하여 교차오염이 방지될 수 있도록 관리한다.</p> <p>③ 배수로에는 퇴적물 등이 쌓여 있지 않도록 청결하게 관리한다.</p>
--

6) 배관

- ① 배관과 배관의 연결부위는 인체에 무해한 재질이어야 한다.
- ② 배관은 누수되거나 응결수가 발생하지 않도록 관리한다.
- ③ 배관에 응결수가 발생하는 경우는 단열재 등으로 처리하거나 주기적으로 제거하며 하부에 응결수가 낙하지 않도록 물품 등을 두지 않는다.
- ④ 배관은 먼지가 쌓이거나 이물 등이 집적되지 않도록 청결하게 관리한다.

5.1.4 작업장 출입구

- 1) 작업장 외부로 연결되는 출입구에는 먼지나 곤충 등의 유입을 방지하기 위한 완충구역이나 방충설비 등을 설치한다.
 - ① 출입구는 파손된 부위나 틈이 없으며 밀폐 가능하여야 한다.
 - ② 출입구는 항상 닫혀 있어야 하며 청결하게 관리한다.
- 2) 작업장 출입구에는 위생관리를 위한 위생전실을 설치하고 위생설비를 구비한다.
 - ① 위생설비는 정상적으로 가동되며 청결하게 유지한다.
- 2) 작업자는 세척 건조 및 소독 등을 통해 오염 가능성 물질 등을 제거한 후 작업장에 입실한다.

5.1.5 통로

- 1) 작업장 내부 통로는 교차오염 방지가 가능하도록 이동경로를 표시하여 관리한다.
- 2) 이동시에는 작업자 이동경로에 따라 지정된 통로만 이용한다.
- 3) 통로는 이동에 지장을 주는 물건을 적재하거나 다른 용도로 사용하지 않는다.

5.1.6 창

- 1) 작업장 창문은 밀폐 가능한 구조로 항상 닫혀 있어야 하며 먼지 등이 누적되지 않도록 청결하게 관리한다.
- 2) 창문에 설치된 방충망은 틈이 없고 파손부위가 없도록 관리하며 먼지 등이 누적되지 않도록 청결하게 관리한다.
- 3) 창의 유리는 파손시 유리조각이 비산되지 않는 재질을 사용하거나 필름 코팅 등을 하여야 한다.

5.1.7 채광 및 조명

- 1) 작업장의 조명 등은 작업에 적합한 조도를 유지하여야 한다.
- 2) 색을 오인할 수 있는 조명은 가급적 사용하지 않는다.
- 3) 해당 작업에 적합한 조도 기준을 설정하여 관리 한다.

< 조도기준 >

구 분	조도(Lux)
세척실 선별대 상부, 완제품 생산실, 작업컨베이어/금속검출기상부, 실험실	540 이상
증자실, 밀술실, 발효숙성실, 세척실, 외포장실, 위생전실	220 이상
완제품 보관창고, 포장재 보관실, 화장실, 탈의실, 비품창고, 식당	110 이상

- 4) 작업장 조도기준에 따라 정기적으로 조도를 측정하여 온·습도, 조도점검표에 기록, 유지한다.
- 5) 조도 측정은 검수 및 선별의 경우 검수, 선별 위치에서 측정하고, 이외의 작업장은 바닥에서 80 cm 되는 곳에서 측정한다.

6) 조도 측정결과 기준에 미달한 경우에는 적정 조도가 유지되도록 개선조치를 실시한다.

7) 채광 및 조명시설은 작업에 오염을 주지 않도록 관리한다.

- ① 내부식성 재질을 사용하여 녹이 슬지 않도록 관리한다.
- ② 파손 등에 의한 오염을 방지하기 위하여 조명 보호장치를 설치한다.
- ③ 이물이나 벌레 등이 집적되지 않도록 청결하게 관리한다.

5.1.8 부대시설

1) 화장실

- ① 내부 공기를 외부로 배출할 수 있는 별도의 환기시설을 설치한다.
- ② 환기시설을 정상적으로 작동하여 청결하게 유지한다.
- ③ 벽과 바닥, 천장, 문은 내수성, 내부식성의 재질을 사용한다.
- ④ 바닥과 벽, 천정은 파손된 부위나 틈 등이 없어야 하며 정기적으로 청소를 하여 청결하게 관리한다.
- ⑤ 출입구에는 세척, 건조, 소독 설비 등을 구비하여 화장실 사용 후 교차오염을 방지한다.

2) 탈의실

- ① 내부 공기를 외부로 배출할 수 있는 별도의 환기시설을 갖춘다.
- ② 환기시설을 정상적으로 작동하여 청결하게 유지한다.
- ③ 옷장 및 신발장은 외출복장(신발 포함)과 위생복장(신발 포함)간의 교차 오염이 발생하지 않도록 구분·보관하며 청결하게 관리한다.

5.1.9 작업장 청소 관리

- 1) 작업장 및 작업장 주변은 교차오염방지를 위하여 세척/소독 기준에 따라 정기적으로 청소를 실시하여 위생적인 상태를 유지한다.
- 2) 업무지원담당자는 작업장 위생관리 점검표에 따라 정기 점검을 실시하여 결과를 기록, 유지하며 점검 결과 이상이 발생한 경우는 신속히 조치하여 항상 위생적인 상태를 유지할 수 있도록 관리 한다.

5.2 위생 관리 기준

5.2.1 작업 동선 관리

- 1) 원료입고에서 출고까지와 부자재의 입고에서부터 출고까지 물류 및 종업원의 이동 동선계획을 수립한다.
- 2) 작업자의 배치, 이동 동선, 제조설비 및 도구 등은 공정간 오염이 발생되지 않도록 배치한다.
- 3) 작업자는 정해진 이동 동선을 준수하여 교차오염을 방지한다.

5.2.2 이물 관리

- 1) 모든 단계에서 이물 혼입방지 계획을 수립하여 관리한다.
 - ① 작업자에 의한 이물혼입 방지
 - 작업자 소지품 혼입
 - 작업자는 작업장 입실 전 개인 사물 등을 보관함에 보관하고 입실한다.
 - 위생복 등에는 호주머니, 포켓 등을 만들지 않는다.
 - 위생복에는 단추, 지퍼 등을 사용하지 않는다.
 - 게시물에 압정 사용을 금지하며 서류 등에도 클립, 핀, 스테플러 등을 사용하지 않는다.
 - 볼펜 등 필기구는 개인이 소지하지 않고 끈을 달아 제조 라인에서 떨어진 장소에서만 사용할 수 있게 하며 뚜껑이 없고 눈에 잘 띄는 색으로 사용한다.

○ 작업자 모발, 체모 등의 혼입

- 작업자는 매일 출근 전에 세발과 빗질을 하여 모발이 자연적으로 탈락되지 않도록 관리한다.
- 작업자는 반드시 모자 착용 전에 hair net를 착용하며, 모자는 머리 전체를 덮을 수 있으며 끝자락이 길어 상의에 들어가는 두건타입으로 착용한다.
- 위생복은 체모 등의 탈락 방지를 위하여 겨드랑이 등에 inner net을 부착하며 소매, 발목 부위는 틈이 없도록 조이는 타입으로 착용한다.
- 위생복 상의는 하의 속으로 넣어 착용하거나 원피스형을 착용한다.
- 작업자는 출입구에서 에어샤워, 흡입장치, 끈끈이 롤러 등을 사용하여 모발 등을 제거한 후 작업장에 입실한다.
- 끈끈이 롤러는 접촉부분이 넓고 접착력이 강한 것을 사용하며, 반복 사용으로 접착 효과가 떨어지는 것은 교체 주기를 설정하여 사용 횟수별로 보관 장소를 정하여 보관한다.
- 에어샤워 사용 시는 정기적으로 필터 점검 및 청소를 실시한다.
- 작업 중에도 복장의 상호점검 및 끈끈이 롤러 실시를 주기적으로 실시한다.

○ 작업 중 작업자에 의한 혼입 방지

- 목장갑 등은 반드시 고무장갑 등을 겹쳐 착용 후 사용한다.
- 1회용 비닐장갑 등을 교환할 때는 반드시 파손이 없는지를 확인하고, 전용 쓰레기통에 폐기하도록 한다.
- 새로운 술을 사용할 경우 미지근한 물로 세정 후 털이 빠지지 않는 것을 확인한 후에 현장에서 사용한다.
- 금속제 수세미 등은 파손 조각이 금속 혼입의 가장 큰 원인이 되므로 사용하지 않도록 한다.
- 작업 중 사용하는 도구, 공구 등은 지정된 보관 위치를 정하여 식별하거나 번호 등을 붙여 누락 시 바로 확인이 가능하도록 한다.

④ 제조 공정중의 이물혼입 방지

○ 기계유(윤활유 등) 혼입 방지

- 주유 시 너무 많이 넣어 넘치거나 세어 나오지 않도록 적정량을 주유한다.

○ 제조 설비로부터 혼입

- 기계류에 대한 점검을 정기적으로 실시하여 느슨하여 탈락의 우려가 있는 나사류 등은 미리 조이고 파손우려가 있는 네트 등은 교체한다.
- 기계류 등을 분해하여 세척하거나 정비할 경우는 분해한 나사, 볼트 등의 숫자를 확인하여 누락되는 것이 없도록 한다.
- 제조 설비 등의 청소를 주기적으로 실시하여 축적된 탄화물, 기름때, 녹 등이 혼입되지 않도록 한다.
- 벨트 등이 파손되어 보푸라기가 일어 난 곳은 마감 처리를 한다.

⑤ 해충 등의 혼입 방지

- 작업장 주변의 해충의 서식지를 방지하기 위하여 환경 정리 및 청소를 주기적으로 실시하여 쓰레기, 덩불, 물웅덩이, 불용품 등이 방지되지 않도록 청결하게 관리한다.
- 해충의 작업장내 침입을 방지하기 위하여 건물 및 출입문 등에 구멍, 틈새 등을 막아 밀폐성을 강화한다.
- 작업장 외부로 연결되는 출입구 등은 항상 닫혀 있도록 유지한다.
- 부득이하게 창문 등을 열어야 하는 경우는 반드시 방충망을 설치하고 방충망의 파손여부 등을 정기적으로 확인한다.
- 작업장 및 배수로 등 청소관리를 철저히 하여 작업장 내부에서 해충이 발생하거나 서식하지 않도록 한다.
- 작업장 내에 포충등 등 포획 장비를 설치하여 포획결과 등을 기록, 관리하고 이상 발생 시 필요한 조치를 실시한다.
- 주기적으로 작업장 내 해충 서식흔적을 확인하고 정기적인 방제를 실시한다.

- 2) 필요한 경우 공정 중에 이물 제거 및 검출 장치 등을 설치한다.
 3) 정기적으로 이물의 발생 여부 등을 점검하여 이물 혼입을 방지할 수 있도록 관리한다.

< 이물 점검관리 계획 >

- 원료입고
 - 천장 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 벽 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 바닥 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 작업자 복장등 이물 확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 제조도구 파손여부 확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 해충, 설치류 포집 개체수 확인 및 기록관리, 1회/주 이상
- 제조공정
 - 천장 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 벽 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 바닥 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 작업자 복장등 이물 확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 제조도구 파손여부, 윤활유 누수확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 해충, 설치류 포집 개체수 확인 및 기록관리, 1회/주 이상
- 포장
 - 천장 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 벽 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 바닥 파손여부확인 및 기록관리, 1회/주 이상
 - 작업자 복장등 이물 확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 제조도구 파손여부 확인 및 기록관리, 1회/일 이상
 - 해충, 설치류 포집 개체수 확인 및 기록관리, 1회/주 이상

5.2.3 온/습도 관리

- 1) 선별, 포장 등의 작업실은 각 생산 공정의 특성에 따라 위생적인 작업이 이루어 질 수 있도록 적절한 온도 및 습도를 유지한다.

< 온/습도 기준 >

구분	온도기준	습도관리	비고
	1-30℃ 이하	70% 이하	실온보관
내포장실	1-30℃ 이하	70% 이하	

- 2) 온도관리가 필요한 구역에는 이를 측정할 수 있는 온도계 등을 설치하고 온/습도, 조도 점검표에 따라 정기적으로 측정하여 결과를 기록, 유지한다.
 3) 온도관리를 위하여 설치한 설비 등의 필터나 망은 정기적으로 세척, 교환하여 위생적으로 관리한다.

5.2.4 환기시설 관리

- 1) 작업장 내에서 발생하는 오염물질(유해가스, 증기 등)을 충분히 배출할 수 있는 환기시설을 설치한다.
 2) 환기시설은 정상적으로 작동되며 청결한 상태를 유지한다.
 3) 흡·배기구에 설치된 여과망이나 방충망은 파손이 없어야 하며 정기적으로 세척하거나 교체하여 청결하게 관리한다.

5.2.5 방충, 방서 관리

- 1) 해충이나 설치류 등의 유입이나 번식을 방지할 수 있는 방충, 방서계획을 수립하여 관리한다.

< 방충, 방서 관리계획 >

구분	사용약제	장소	대상해충	작업주기
살충소독		폐기물처리장, 사무실, 실험실, 화장실	위생해충	1회/월
트랩법	쥐끈끈이	작업장 내부	쥐	1회/월
	바퀴끈끈이	작업장 외부	바퀴벌레	
포충등	포충등	작업장 내부	위생해충	1회/월

2) 작업장내의 유입 및 서식 여부를 확인하기 위하여 포획장치 등을 정기적으로 확인하고 결과를 측정 관리한다.

< 해충 및 설치류 모니터링 결과에 따른 관리기준 >

구분	비례해충 개체수(마리)	보행해충 개체수(마리)	설치류 등 개체수(마리)	조치사항
청결구역	1-20	1-5	0	밀폐관리 확인 및 개보수
준청결구역	20-50	8-10	0	
일반구역	작업장내	51	>11	0
	작업장외	-	-	>2

3) 작업장내에서 해충이나 설치류 등의 구제를 실시할 경우에는 정해진 위생 수칙에 따라 실시하여 오염을 방지한다.

- ① 공정이나 식품의 안전성에 영향을 주지 않는 제한된 장소에만 실시한다.
- ② 살충제 등의 약제는 사용 방법에 따라 안전한 방법으로 사용하여야 한다.
- ③ 적절한 보호 조치를 취한 후 실시한다.
- ④ 작업 종료 후 식품취급시설 등은 세척 등을 통해 오염물질을 제거한다.

5.2.6 개인위생 관리

1) 작업자는 항상 해당 작업에 오염을 주지 않도록 위생적인 상태를 유지하여야 한다.

2) 위생복 착용방법에 따라 작업에 적합한 위생복장(위생복·위생모·위생화 등) 등을 갖춘다.

- ① 작업복장은 기준에 따라 오염을 주지 않도록 올바른 방법으로 착용한다.
- ② 작업복장은 세척/소독 기준에 따라 주기적으로 세탁, 소독 등을 하여 항상 청결한 상태를 유지한다.
- ③ 정해진 입실방법에 따라 입실한다.
 - 결정지 : 주출입구에서 위생화 착용 → 탈의실에서 위생복, 위생모, 마스크 착용 → 이물제거 (이물제거를 사용) → 손세척 → 손건조 → 손소독
 - 내포장실 : 주출입구에서 위생화 착용 → 탈의실에서 위생복, 위생모, 마스크 착용 → 위생전실 입실 → 이물제거 (이물제거를 사용) → 손세척 → 손건조 → 입실 → 손소독
- ④ 작업에 불필요한 개인 사물(목걸이, 시계 등)을 가지고 들어가지 않는다.

< 위생복착용방법 및 구역별 착용기준 >

위생복장 착용 방법	
위생복	소매, 바지등을 걷지 않고 완전히 내리며, 상의 지퍼 등을 개방하지 않음
위생모	머리전체를 감싸도록 하여 머리카락이 나오지 않아야 한다.
위생화	꺾어 신거나 접어 신지 않는다.
앞치마	가슴에서 무릎까지 가릴수 있게 착용한 후 끈을 묶는다.
마스크	호흡기(코,입)를 완전히 가리도록 착용
토시	위생복(손목부위)을 덮어 팔꿈치까지 착용
위생장갑	토시를 덮어 팔꿈치까지 착용

구역별 착용 기준				
구분	(청결구역)	(준청결구역)	(일반구역) 작업구역	(일반구역) 외포장실, 출하실
위생복	○	○	○	○
위생모	○	○	○	○
위생화	○	○	○	○
앞치마	○	○	○	×
위생장갑	○	○	○	×
면장갑	×	×	×	○
마스크	○	○	○	×
토시	○	○	○	×

- 3) 작업자는 자신의 신체를 항상 위생적인 상태로 유지한다.
- ① 두발은 항상 단정히 하고, 수염은 매일 깎음이 면도한다.
 - ② 손톱은 짧게 깎고 매니큐어나, 길은 화장 및 향수 사용을 하지 않는다.
 - ③ 작업장내에서 흡연, 껌 씹는 행위 및 음식물 반입 등의 행위를 하지 않는다.
 - ④ 매년 정기적으로 건강진단을 받아 건강상 이상 유무를 확인한다.
 - ⑤ 진단 결과 질병을 보균, 감염된 작업자는 제조업무에 투입하지 않는다.
 - 장관질병 및 피부질환자
 - 디프테리아 및 연쇄구균의 보균자
 - 엑스선(X-ray)검사에 의한 결핵환자
 - 기타 전염성 질환
- 4) 작업 중 해당 구역별 위생수칙을 준수하여 교차오염을 방지한다.
- ① 규정된 기준에 따라 손을 세척, 소독한다.
 - 작업복 착용 후 작업에 투입되기 전
 - 화장실 이용 후

- 작업장을 벗어난 후 다시 작업을 수행하기 전

- 다른 내용의 작업을 시작할 때.

- 청결도가 높은 구역으로 이동할 시

- 작업 도구 사용 전, 후

- 손에 기름등 오염물질이 묻었을 경우 등

② 손 세척은 다음 방법으로 실시한다.

- 세정대의 온수를 사용하여 알맞은 온도의 물로 비누를 이용하여 손의 전면을 깨끗이 닦아낸다.

- 물기는 손 건조기에 손을 넣어 건조시킨다.

- 손에 있는 미생물의 살균을 위하여 70% 알코올을 사용하여 손을 소독한다.

③ 세척·소독 시설에는 잘 보이는 곳에 올바른 세척 방법 등에 대한 지침을 게시한다.

④ 살균된 용기, 시설 등을 취급 할 때는 반드시 손 소독을 실시하며 오염된 손으로 포장이 안된 제품이나 소독된 용기는 만지지 말아야 한다.

5.2.7 폐기물 관리

1) 작업장 내 폐기물 처리용기는 밀폐 가능한 구조로 한다.

2) 침출수 및 냄새가 누출되지 않아야 한다.

3) 폐기물은 발생 시 가급적 빨리 반출하여 작업장 내에 적체되지 않도록 한다.

4) 폐기물 처리용기는 작업장 반입 시 세척, 소독을 실시한다.

5) 폐기물 처리장은 작업장에 교차오염을 주지 않도록 위생적으로 관리한다.

① 폐기물은 쥐, 해충 등의 서식을 막기 위해 규정된 봉투에 넣어 보관한다.

② 폐기물은 장시간 적체되지 않도록 주기적으로 처리·반출하고 폐기물처리 점검표 관리기록을 유지한다.

③ 폐기물 반출 후 폐기물처리장 주위의 청소하여 청결하게 관리하며 주기적으로 분무소독 등을 실시한다.

5.2.8 세척 또는 소독 관리

1) 위생적이고 안전한 제품을 생산할 수 있도록 다음 사항에 대한 세척 또는 소독기준을 설정하여 관리한다.

① 작업자 및 복장(위생복, 위생모, 위생화 등)

② 작업장 주변 및 작업실별 내부

③ 식품제조시설(이송배관포함) 및 냉장설비

④ 모니터링 및 검사 장비

⑤ 보관·운반시설과 운송차량, 운반도구 및 용기

⑥ 환기시설 (필터, 방충망 등 포함)

⑦ 폐기물 처리용기 및 세척, 소독도구

⑧ 기타 필요사항

2) 세척, 소독 상태를 확인하기 위하여 위생검사 기준규격에 따라 표면오염도를 검사를 실시하고 그 결과를 표면오염도 검사성적서에 기록, 유지한다.

3) 세제·소독제, 세척 및 소독용 기구나 용기는 정해진 장소에 위생적으로 보관한다.

① 세척, 소독에 사용되는 세제와 소독제는 환기장치가 있는 별도의 창고에 보관하며 잠금장치를 하여 관리한다.

② 세제와 소독제는 세제 및 소독수 사용방법에 정해진 농도로 사용한다.

③ 세제와 소독제는 사용 후 잔류물이 남지 않도록 완전히 제거한다.

④ 신규 소독제는 관련법령에 적정한 것을 사용하여야 한다.

5.2.9 위생관리 상태 점검

- 1) 업무지원담당자는 개인위생 점검표에 따라 정기 점검을 실시하여 결과를 기록, 유지하며 점검 결과 이상이 발생한 경우는 신속히 조치하여 항상 위생적인 작업이 유지할 수 있도록 관리 한다.
- 2) 작업장 청정도를 확인하기 위하여 위생검사 기준규격에 따라 공중낙하세균검사를 실시하고 그 결과를 공중 낙하세균 검사성적서에 기록, 유지한다.

5.3 제조 시설·설비 관리 기준

5.3.1 제조 시설·설비의 요건

- 1) 제조 시설·설비는 제품을 위생적으로 생산 하는데 적합한 성능과 용량을 갖추어야 한다.
- 2) 식품과 직·간접적으로 접촉 가능성이 있는 제조 시설·설비는 관련 기준규격에 적합한 것을 사용한다.
- 3) 제조 시설·설비는 위생적인 내수성, 내부식성 재질(스테인레스, 알루미늄 등)로서 씻기 쉬우며, 열탕, 증기, 살균제 등으로 소독, 살균이 가능하여야 한다.
- 4) 식품과 직·간접적으로 접촉 가능성이 있는 제조 시설·설비는 내부의 구석진 곳까지 청소 및 소독이 가능한 구조여야 한다.
- 5) 제조 시설·설비는 깨지거나, 틈이 생겨 벌어지거나, 조각나거나, 벗겨지거나, 구멍이 나거나 하는 등의 결함이 없어야 한다.
- 6) 온도를 높이거나 낮추는 제조 시설·설비는 온도변화를 측정·기록하는 장치를 설치·구비하거나 일정한 주기를 정하여 온도를 측정하고, 그 결과를 유지하여야 하며, 관리계획에 따른 온도가 유지되어야 한다.

5.3.2 제조 시설·설비의 배치

- 1) 제조 시설·설비는 공정간 또는 시설·설비간 교차오염이 발생되지 않도록 공정의 흐름에 따라 적절히 배치 한다.
- 2) 제조 시설·설비는 청소가 용이하도록 바닥, 벽, 천장과 의 공간을 확보하여 배치한다.
- 3) 오염물질의 낙하로 제품오염이 우려될 경우 뚜껑, 덮개 등 방지장치를 설치한다.
- 4) 제조 시설·설비는 공업용 윤활유나 물리적 위해요인에 의한 오염이 발생하지 않도록 한다.

5.3.3 제조 시설·설비 관리

- 1) 제조 시설·설비는 사용 후 교차오염을 방지 할 수 있도록 세척/소독 기준에 따라 세척, 소독을 하여 청결하게 관리한다.
- 2) 제조·가공에 사용되는 기구 및 용기류는 용도별로 구분하여 사용하고 세척/소독 기준에 따라 세척, 소독하여 오염되지 않도록 보관한다.
- 3) 제조 시설·설비 및 기구, 용기류는 시설/설비/제조도구 점검표에 따라 점검을 하여 작업에 적합한 상태가 유지되도록 관리하고 그 결과를 기록유지한다.

5.4 용수 관리 기준

5.4.1 수질 관리

- 1) 식품 시설·설비, 기구·용기, 종업원 등의 세척에 사용되는 용수는 수도물을 사용한다.
- 2) 청소용이나 기구세척용 용수에 대한 미생물 검사는 먹는 물 관리법의 기준에 따라 월1회 이상 실시하고 그 결과를 용수검사성적서에 기록, 유지한다.
- 3) 미생물 검사는 간이검사키트를 이용하여 자체적으로 실시한다.
- 4) 수질검사 결과 이상이 발생한 경우는 즉시 사용을 중단하고 관련 규정에 따라 필요한 조치를 실시하며 그 결과를 기록, 유지한다.

5.4.2 용수 설비 관리

- 1) 용수저장탱크, 배관 등은 인체에 유해하지 않은 재질을 사용한다.
- 2) 용수저장탱크는 청소가 용이한 재질과 형태이어야 한다.
- 3) 용수저장탱크는 외부로부터의 오염물질 유입을 방지하는 잠금장치를 설치한다.
- 4) 용수저장탱크의 누수 및 오염여부를 용수관리 점검표에 따라 점검하고 그 결과를 기록, 유지한다.
- 5) 용수저장탱크는 반기별 1회 이상 관련법령에 적합하게 청소와 소독을 실시한다.
- 6) 비음용수 배관은 음용수 배관과 구별되도록 표시하고 교차되거나 합류되지 않아야 한다.

5.5 보관·운송 관리기준

5.5.1 입고 관리

- 1) 입고되는 원·부자재는 입고검사를 실시하여 기준 및 규격에 적합한 원·부자재만을 사용한다.
- 2) 입고검사는 원부자재기준규격에 따라 실시하며 검사결과를 제품검사성적서에 기록, 유지한다.
- 3) 필요 시 검사성적서(공인 또는 자가) 확인으로 입고검사를 대체한다.
- 4) 입고검사에 합격한 원·부자재는 품목별로 지정된 보관 장소에 선입선출이 가능하도록 식별표를 부착하여 입고한다.
- 5) 입고검사에 불합격한 원·부자재는 사용하지 않고 반송, 폐기 등의 조치를 취하고 부적합품 관리점검표에 결과를 기록하여 관리한다.

5.5.2 협력업체 관리

- 1) 협력업체의 입고자재 관리 및 검사 체계, 위생관리 실태를 평가하여 일정 기준 이상의 업체를 선정하여 협력업체로 등록한다.
- 2) 선정된 협력업체는 주기적(년회 이상)으로 방문, 관련서류 확인 등을 통하여 협력업체 점검표에 따라 평가한다.
- 3) 평가 결과 일정 기준에 미달한 업체는 미흡사항에 대한 개선을 요구하거나 거래중단 등의 조치를 한다.

5.5.3 운송

- 1) 운반 중인 식품은 비식품 등과 구분하여 교차오염을 방지한다.
- 2) 운송차량(지게차 등 포함)은 정기적으로 세척, 소독 및 도색 등을 실시하여 운송제품이 오염되지 않도록 한다.

5.5.4 보관

- 1) 원료 및 완제품은 선입선출 원칙에 따라 입·출고하고 입·출고 상황을 입·출고 및 재고점검표에 기록하여 관리한다.
- 2) 원·부자재, 반제품 및 완제품은 대상별로 구분하여 관리한다.
- 3) 원·부자재, 반제품 및 완제품은 바닥과 벽에 밀착되지 않도록 적재하여 관리한다.
- 4) 부적합한 원·부자재, 반제품 및 완제품은 별도의 지정된 장소에 보관한다.
- 5) 부적합품은 명확하게 식별되는 표식을 하여 관리한다.
- 6) 부적합품은 반송, 폐기 등의 조치를 취한 후 그 결과를 부적합품 관리점검표에 기록·유지한다.
- 7) 유독성 물질, 인화성 물질 및 비식용 화학물질은 식품취급 구역으로부터 격리한다.
- 8) 유독성 물질 등은 환기가 잘되는 지정 장소에서 구분하여 보관·취급한다.

5.6 검사 관리 기준

5.6.1 제품검사

- 1) 생산된 제품은 제품검사를 실시하고 그 결과를 제품 검사성적서에 기록, 유지한다.
- 2) 필요 시 제품검사를 공인기관 등에 의뢰하고 성적서를 받아 보관, 관리한다.
- 3) 검사결과 부적합품은 재가공, 폐기 등의 조치를 취한 후 그 결과를 부적합품 관리점검표에 기록·유지한다.

5.6.2 검사장비

- 1) 냉장시설 등의 온도측정 장치, 검사 및 계량용 장비 및 기구는 정기적으로 검·교정을 실시한다.
- 2) 검·교정 주기는 대상 장치 및 장비 등의 정밀도, 중요도, 사용 빈도 등을 감안하여 설정한다.
- 3) 저울 및 온도계의 검·교정은 표준기를 이용하여 다음과 같은 방법으로 실시한다.
 - 저울
 - 편평한 곳에서 먼저 계량기의 0점을 조정한 후 최소 정밀도 단위의 분동(50~ 100g)부터 단계별로 올려 그 지시값을 측정한다.
 - 저울의 표시중량을 기록하고 표준중량(분동중량)과의 편차를 기록한다.
 - 편차가 기준(표준중량의 $\pm 1\%$)을 초과할 경우 교정을 실시하여 사용한다.
 - 온도계
 - 편평한 곳에서 100℃정도의 물(끓는물)과 10℃이하(얼음물)의 물을 준비한 후 표준온도계와 측정 온도계를 동시에 넣어 온도를 확인한다.
 - 편차가 기준(표준온도의 $\pm 1\text{℃}$)을 초과할 경우 교정을 실시하여 사용한다.
- 4) 검·교정 결과는 모니터링 및 검사장비 검·교정 점검표(첨부 5/양식5)에 기록, 관리한다.
- 5) 필요 시 외부기관에 검·교정을 의뢰하고 외부기관에서 발급한 검·교정 성적서를 보관, 관리한다.
- 6) 검·교정 결과 이상이 있는 장비는 수리, 폐기 등을 하고 처리결과를 모니터링 및 검사장비 검·교정 점검표에 기록하여 관리한다.

5.7 회수프로그램 관리 기준

5.7.1 회수의 분류 및 처리기준

1) 강제 회수

① 대상

식품위생상의 위해가 발생하였거나 발생할 우려가 있다고 인정되는 식품 등으로서 행정처분기준(시행규칙 제58조 관련)에서 당해제품 폐기에 해당되는 위반사항이 적발된 식품 등

② 처리 범위

문제가 된 당해제품 전량 또는 특정로트 제품을 회수하는 것을 원칙으로 한다.

③ 처리기준

전량 회수후 폐기한다.

④ 처리 기한

법적 회수에 대한 사항은 10일 이내 완료한다.

2) 자진 회수

① 대상

「식품위생법」 제4조 내지 제6조·제7조제4항·제8조 또는 제9조제4항의 규정을 위반한제품(식품 등의 위해와 관련이 없는 위반사항을 제외한다)

② 처리 범위

문제가 된 당해제품 전량 또는 특정로트 제품을 회수하는 것을 원칙으로 한다.

③ 처리 기준

전량 회수후 폐기한다.

④ 처리 기한

자진 회수에 대한 사항은 20일 이내 완료한다.

5.7.2 회수업무 처리의 흐름

< 회수업무 처리의 흐름도 >

1. 회수상황접수
 - 유통제품 회수상황 접수
 - 제품 회수, 상황정보 수립
 - 회수제품 위해물질 시험분석, 고객품질정보 수집
 - 자체회수 보고
2. 회수대상제품 출고 중지 및 보류조치
 - 회수 대상제품 출고 및 판매보류조치
 - 회수품목, 예상물량 및 고객사용 중지 통보 및 교환(유선,팩스)
3. 회수분류결정
 - 자진회수, 강제회수 상황 분류
 - 회수제품의 분포, 수량, 회수 범위 결정
 - 회수 명령 결정
4. 회수계획수립
 - 회수계획의 수립(회수 상황 분류, 범위, 방법)
 - 회수 공문 작성
5. 회수실시
 - 회수 계획에 의한 회수 실시
 - 유통지역, 거래선 통보
 - 회수 제품 별도 보관 관리
6. 회수제품품질 평가분석
 - 회수제품 로트 샘플 분석 평가
 - 품질 파악 및 회수 상황 확인
 - 위해물질 시험 분석
7. 회수결과
 - 회수의 실시 및 결과 보고
 - 미회수 처리 제품에 대한 사후 대책
 - 회수 처리 제품 폐기처리
 - 회수 평가서 작성
 - 법적 대응 및 조치
8. 사후관리
 - 회수 관련 제품 원인 및 대책 수립
 - 사전예방관리 체계 구축

5.7.3 회수상황의 파악

- 1) 고객으로부터 접수된 제품을 회수하여 위해물질 시험분석을 하여 회수상황을 파악한다.
- 2) 파악된 회수상황을 자진회수와 강제회수 등으로 분류하여 회수대상 제품출고 및 판매 보류 조치한다.
- 3) 회수 대상 제품으로 확정하기 전에 검체의 채취, 취급방법, 검사방법 등에 오류가 있을 경우에는 재검사를 실시하여 결정토록 하고, 고객의 검사방법, 검체의 채취 등에 잘못이 있을 경우 이의를 제기할 수 있다.
- 4) 회수 시 다음 사항을 고려하여 신중히 타당성을 조사한 후 결정한다.

- (가) 인체건강에 위해의 치명적인 결점 사항
- (나) 사회적 문제로 확대, 회사 이미지 실추 및 회사 존립문제의 사항
- (다) 식품위생법규 위반에 관한 위해, 안정성 문제 대두
- (라) 고객으로부터 위해물질 검출 또는 검증된 사항
- (마) 특정성분 잔류 검출에 의한 건강위해 우려사항

5.7.4 회수 계획의 수립 및 처리

- 1) 회수 담당자는 회수 상황 발생시 회수대상 제품의 유통을 중지시키고 효율적이고 효과적인 회수계획을 수립하여 관련부서에 통보한다.
- 2) 회수계획 시에는 다음 사항이 포함되어야 한다.
 - ① 회수대상 식품의 제품명, 제조회사, 판매경로, 판매량, 로트번호
 - ② 회수상황 분류 및 발생 이유
 - ③ 회수의 실시방법(회수기간 명시)
 - ④ 기타 필요한 회수제품 처리방법 사항
- 3) 회수 계획의 관련 내용은 관련 판매처 및 거래처에 즉시 통보하여 신속하고 체계적으로 처리될 수 있도록 한다.
- 4) 회수 담당자는 대상 품목의 유통 또는 판매를 중지시키고 회수 통보문을 작성하여 판매처에 서면으로 통지한다.
- 5) 공표문에는 다음의 사항이 포함되어야 한다.
 - ① 식품을 회수한다는 내용의 표제
 - ② 회수대상 식품의 제품명
 - ③ 회수대상 식품의 제조연월일 또는 유통기한
 - ④ 회수사유
 - ⑤ 회수방법
 - ⑥ 회수하는 영업자의 명칭
 - ⑦ 회수하는 영업자의 주소 및 전화번호
 - ⑧ 기타사항
- 6) 회수 담당자는 회수 대상 제품의 로트를 정확히 파악하여 고객으로부터 직접 또는 대리점을 통해 회수한다.
- 7) 회수된 제품은 별도구역을 정하여 보관하며 폐기 등의 필요한 절차 및 조치를 한다.
- 8) 회수 담당자는 품질관리팀장 임회하에 폐기처분을 원칙으로 하며, 이에 대한 근거자료(사진 등)을 비치하고 있어야 한다.

5.7.5 회수 결과 보고, 종료 및 사후조치

- 1) 회수 담당자는 회수 진행에 대한 최종 평가를 한 후 회수 종료 결정을 하고 이에 따른 회수실적을 검토하여, 제품회수 결과보고서를 작성하여 담당 부서장에게 보고한다.
- 2) 회수된 제품은 폐기처분함을 원칙으로 하며, 폐기품의서를 작성하여 담당 부서장에게 보고한다.
- 3) 회수 계획에 따라 회수 평가와 회수 결과 분석을 하여 미회수량이 5% 미만인 경우 고객이 소비한 것으로 간주하여 회수 종결을 한다.
- 4) 문제 재발 방지를 위하여 명확한 개선책, 회수에 대한 타당성의 조사, 회수의 효율성을 체크한다.

5.7.6 추적성 관리

- 1) 추적성 대상품목은 관리기준서의 제품설명서에 따르며, 추적성은 완제품에 사용하는 원재료도 포함하여 관리한다.
- 2) 추적성 보장을 위한 원재료 및 제품의 식별은 관리팀장이 작업 지시서에 품명, 규격, 수량 등을 기록한다.
- 3) 원재료 및 제품의 추적성은 다음과 같이 로트 번호를 부여하여 식별표시 한다.

- 4) 원료의 로트 단위체는 원료별(국산, 수입산), 날짜별을 1회 로트로 형성하며 다음과 같이 표시한다.
0000년 00월00일 000제품명 000출고처 0000작업시간
- 5) 완제품의 로트단위체는 1일 같은 시간대 생산량을 1회 로트로 형성하며 다음과 같이 표시한다.
0000년 00월 00일 000입고처 000원재료
- 6) 출고된 제품의 추적성 관리는 완제품 출고 일점검표에 기록된 제품명, 수량, 출고처 등을 근거로 한다.

6. 기록 및 보관

개별 양식별 보존년한은 다음과 같다

- 위생관리 점검표, 3년
- 온/습도, 조도 점검표, 3년
- 개인위생 점검표, 3년
- 시설/설비/제조도구 점검표, 3년
- 모니터링 및 검사장비 교정 점검표, 3년
- 시설/설비 이력카드 양식, 3년
- 폐기물 처리 점검표 양식, 3년
- 입출고 및 재고 점검표 양식, 3년
- 완제품 검사 성적서, 3년
- 공중낙하세균 검사 성적서, 3년
- 표면오염도 검사 성적서, 3년
- 부적합품 관리 점검표, 3년
- 협력업체 점검표 양식, 3년

7. 첨부

7.1 세척소독기준

부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
바닥	○ 빗자루나 진공청소기로 찌꺼기, 오물 등을 제거한다. ○ 세제를 묻힌 먼걸레, 수세미를 사용하여 이물질, 찌든 때 등을 제거한다. ○ 건조하고 소독수를 분무한다.	빗자루 진공청소기 먼걸레 소독수분무기	1회/일	작업자
내벽	○ 세제를 묻힌 먼걸레로 이물질을 제거한다. ○ 젖은 먼걸레로 세제를 닦아낸다.	먼걸레 세제	1회/주	작업자
천장	○ 소독된 먼걸레로 다시 한번 닦아낸다. ○ 세제를 묻힌 먼걸레로 먼지 등을 제거한다. ○ 소독된 먼걸레로 다시 한번 닦아낸다.	먼걸레 소독수	1회/월	작업자
문	○ 세제를 묻힌 먼걸레로 이물질 및 때를 제거한다. ○ 젖은 먼걸레로 세제 및 이물질을 제거한다. ○ 소독된 먼걸레로 다시 한번 닦아낸다.	세제 먼걸레 소독수	1회/주	작업자

7.1.1 일반구역

7.1.2 준청결구역

부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
바닥	○ 빗자루나 진공청소기로 찌꺼기, 오물 등을 제거한다. ○ 마른 마대걸레로 꼼꼼하게 문질러 닦는다. ○ 소독수를 분무한다.(주 1회)	빗자루 진공청소기 면걸레 소독수분무기	1회/일	작업자
내벽	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질을 제거한다. ○ 젖은 면걸레로 세제를 닦아낸다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	면걸레 세제 소독수	1회/주	작업자
천장	○ 세제를 묻힌 면걸레로 먼지 등을 제거한다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	면걸레 세제 소독수	1회/월	작업자
문	○ 세제를 묻힌 면걸레로 먼지 등을 제거한다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	세제 면걸레 소독수	1회/일	작업자

7.1.3 청결구역

부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
바닥	○ 빗자루나 진공청소기로 찌꺼기, 오물등을 제거한다. ○ 세제를 묻힌 면걸레, 수세미를 사용하여 이물질, 찌든 때 등을 제거한다. ○ 건조하고 소독수를 분무한다. ○ 마른 마대걸레로 꼼꼼하게 문질러 닦는다. ○ 소독수를 분무한다.(주 1회)	빗자루 진공청소기 면걸레 소독수분무기	1회/일	작업자
내벽	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질을 제거한다. ○ 젖은 면걸레로 세제를 닦아낸다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	세제 면걸레 소독수	1회/주	작업자
천장	○ 세제를 묻힌 면걸레로 먼지 등을 제거한다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	면걸레 세제 소독수	1회/주	작업자
문	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질 및 때를 제거한다. ○ 젖은 면걸레로 세제를 닦아낸다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	세제 면걸레 소독수	1회/일	작업자

7.1.4 부대시설

부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
바닥	○ 이물질을 빗자루로 쓸어낸다. ○ 소독된 면걸레로 닦아낸다.	빗자루 소독수 면걸레	1회/일	작업자
내벽	○ 소독된 면걸레로 닦아낸다.	면걸레 소독수	1회/주	작업자
천장	○ 총채로 천장 면에 부착된 먼지를 털는다. ○ 소독된 면걸레로 다시 한 번 닦아낸다.	면걸레 소독수	1회/월	작업자
문	○ 소독된 면걸레로 닦아낸다.	세제 면걸레 소독수	1회/주	작업자

7.1.5 시설/설비/도구

부위	부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
파레트	상단 하부	○ 세제를 묻힌 브러쉬로 이물질 제거하고 물 세척을 2회 이상한다. ○ 소독수를 분무한다.	세제 브러쉬 소독수 면걸레	1회/일	작업자
에어커튼	상단 하부	○ 소독된 면걸레로 먼지제거 및 소독한다.	소독수 면걸레	1회/주	작업자
운반대차	상단 하부	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질 제거하고 젖은 걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무한다	세제 면걸레 소독수	1회/월	작업자
전자저울	상단 하부	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질 제거하고 젖은 걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무한다	세제 면걸레 소독수	1회/주	작업자
폐기물용기	상단 하부	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질 제거하고 젖은 걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무한다	세제 수세미 소독수	1회/일	작업자
세척소독도구	상단 하부	○ 세제를 묻힌 수세미를 사용하여 이물질 제거하고 물로 세척(2회 이상)후 건조한다. ○ 소독수를 분무한다	세제 수세미 소독수	1회/주	작업자
포충기	상단 하부	○ 소독된 면걸레로 먼지제거 및 소독한다	소독수 면걸레	1회/월	작업자
정량컨베이어	상단 하부	○ 브러쉬로 이물질 제거하고 젖은 면걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무하고 건조한다.	브러쉬 면걸레 소독수	1회/일	작업자
선별컨베이어	상단 하부	○ 브러쉬로 이물질 제거하고 젖은 면걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무하고 건조한다.	브러쉬 면걸레 소독수	1회/일	작업자
씻가루 검출기	상단 하부	○ 소독수를 분무하고 건조한다.	브러쉬 면걸레 소독수	수시 /일	작업자
포장기	상단 하부	○ 소독된 면걸레로 먼지제거 및 소독한다.	브러쉬 면걸레 소독수	수시 /일	작업자
위생시설 (에어샤워 기 등)	상단 하부	○ 소독된 면걸레로 검은때, 먼지를 제거한다. ○ 소독수를 분무하고 건조한다. ○ 필터를 주기적으로 교환한다.	면걸레 소독수	1회/일	작업자
운송차량	상단 하부	○ 세제를 묻힌 브러쉬로 이물질 제거하고 물로 세척한다. ○ 건조후 소독수를 분무하고 건조한다.	세제 브러쉬 소독수	1회/일	작업자

부위	부위	세척, 소독방법	도구	주기	담당자
외포장박스	상단 하부	○ 세제를 묻힌 브러쉬로 이물질 제거하고 물로 세척한다. ○ 건조후 소독수를 분무하고 건조한다.	세제 브러쉬 소독수	재사용시	작업자
검사 및 모니터링 장비	상단 하부	○ 소독된 면걸레로 먼지제거 및 소독한다.	면걸레 소독수	사용시	작업자
환기시설	방 창 프 로 펠로	○ 세제를 묻힌 면걸레로 이물질 제거하고 물로 세척 (2회 이상)후 건조한다. ○ 소독수를 분무한다	세제 면걸레 브러쉬	1회/월	작업자
신발장	상단 하부	○ 위생화 보관대 내.외부의 먼지를 소독된 면걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무하고 건조한다.	면걸레 소독수	1회/주	작업자
옷장	바닥, 벽, 천 정, 문	○ 옷장 내.외부의 먼지를 소독된 면걸레로 닦아낸다. ○ 소독수를 분무하고 건조한다.	면걸레 소독수	1회/주	작업자
조명시설	커버, 조명	○ 소독된 면걸레로 먼지, 검은 때 등을 제거한다.	브러쉬 면걸레 소독수	1회/월	작업자
7.1.6 위생복 등					
부위	세척, 소독방법		도구	주기	담당자
위생복	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다.		세탁기	2회/주	작업자
위생모	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다.		세탁기	2회/주	작업자
마스크	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다. (1회용의 경우 사용 후 폐기)		세탁기	1회/일	작업자
토시	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다.		세탁기	1회/일	작업자
위생장갑	○ 1회 사용후 폐기한다.		-	-	작업자
목장갑	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다.		세탁기	1회/주	작업자
앞치마	○ 중성세제를 이용하여 세탁한다.		세탁기	2회/주	작업자
위생화	○ 연성세제를 이용하여 세탁한다. ○ 건조후 소독수를 분무하고 건조한다.		세척조	2회/주	작업자

7.2 세제 및 소독수 사용방법

제품명	용도	성분 및 함량	사용 방법 및 조제
알코올	식품기기의 살균, 손 소독기의 살균용액으로 사용	예)Ethyl alcohol 75% v/v이하. grapefruit seed ext < 0.07%, glycerin U.S.P < 0.03%	○ 원액을 분무기에 넣고 사용한다. ○ 손 소독기의 살균용액으로 사용 ○ 사용 후 곧 증발되며 인체에 무해하다. ○ 식품기기의 살균
세제	용기나 조리기구등 세척	예)계면활성제16%(고급아민계,알킬황산에스테르(음이온) 고급아민계(비이온) D-LEMONENE, 알콜에추 출물84%	○ 미온수 1L에 유니퐁 2g을 첨가하여 사용한다. ○ 작업장 및 제조설비 등을 세척하는데 사용한다.
락스	차량청소	예)차아염소산나트륨	○ 물 5L에 락스 50 mL를 희석하여 사용한다. ○ 차량바닥 청소시 사용한다.

7.3 원료 기준

7.3.1 쌀 (예)

구분	항목	단위	기준규격	검사주기
쌀	품종	OO		업고시 시험성적서수령
	수분	%	16.0 이하	
	싸라기	%	7.0 이하	
	기타 이물	%	0.3 이하	
	도정도	%	OO 이상	
	잔류농약		식품공전	
	중금속		식품공전	

7.4 부자재 기준규격

7.4.1 포장재 (예; PE)

구분	항목	단위	기준규격	검사주기
PE	재질규격	납, 카드뮴	mg/kg	100 이하
	용출규격	- 중금속(납으로서)		1.0 이하
		- 증발잔류물 (4%초산으로)	mg/L	30 이하
		- 과망간산칼륨 소비량		10 이하
	잔류용제(톨루엔)	mg/cm ²		1회/3개월 시험성적서수령

7.5 위생검사 기준규격

7.5.1 공중낙하세균 검사 기준규격

검사방법	<ul style="list-style-type: none"> · 측정 장소 : 위치도를 참조하여 검사한다. · 측정 범위 : 바닥에서 80 cm의 높이에서 측정을 한다. · 측정 시간 : 개방 시간은 5 ~ 20분으로 한다. 				
구 분	구 분	작업장명	기준(CFU/plate 이하)		
			일반세균	대장균군	진균
	청결구역	내포장실	30	음성	10
	준청결구역	작업실(세척, 증자)	50	음성	20
일반구역	검수실, 원자재창고, 실험실, 외포장실, 완제품창고, 탈의실, 화장실, 견학 및 통로	100	음성	40	
검사주기	1회/개월	기록관리	공중낙하세균 검사 성적서		

7.5.2 표면 오염도 검사 기준규격

검사방법	작업장 내 사용 중인 작업도구 및 공정 설비들을 swab contact method를 이용하여 측정한다.			
항목	일반세균		대장균군	
기준규격	10 ³ CFU/cm ² 이하		음성	
검사주기	1회/월	기록관리	표면오염도 검사성적서	

7.5.3 작업자 위생검사 기준규격

검사방법	작업자의 손, 위생복, 앞치마에 대해서 적당한 면적을 면봉 및 거즈에 멸균식염수를 묻혀 표면을 닦아 일반 배지 또는 페트리필름에 배양시킨다.				
항목	일반세균	대장균군	황색포도상구균	검사주기	기록관리
기준규격	10 ⁴ CFU/cm ² 이하	음성	음성	1회/월	

7.6 선행요건관리기준 점검표

7.6.1 위생관리 점검표

____월 ____주차 작업장 위생관리 점검표		결재	작성	검토	승인			
점검자: 생산담당								
대상	점검사항	점검일자						비고
		/	/	/	/	/	/	
작업장 주변	취, 해충의 유인물이나 번식장소가 되는 물건 또는 폐기물, 방치된 기구 또는 자르지 않은 잡초는 없는가							
기계 시설	작업전기계는 청결하고 부식된 곳은 없는가							
	작업후 기계청소상태는 양호한가							
바닥	균열이나 파손되어 있는곳은 없는가							
	청소상태는 양호하고 배수가 잘되는가							
내벽	청소상태는 양호하고 파손이나 갈라진 틈이 없는가							
	곰팡이나 거미줄 등에 의한 오염은 없는가							
천장	응결수가 떨어지거나 곰팡이등 오염이 없어야 한다.							
	청소상태는 양호하고 파손이나 갈라진 틈은 없는가							
배수로	물이 역류, 악취발생, 퇴적물은 없는가							
방충망	청소상태, 훼손여부, 개폐여부는 정상적인가							
출입구	작업장 출입문은 항상 닫아서 틈이 없도록 밀폐하고 청결하게 관리하고 있는가							
	외부 출입문에는 방충이중문 또는 완충구역이 파손된 부위가 없도록 관리되는가							
환기 시설	청소상태는 양호하고 파손된 곳이 없으며, 악취가 제거되는가							
채관 조명	채광·조명시설 및 보호장치는 파손된 곳이 없는가							
	이물이나 먼지가 쌓여있지 않은가							
점검자 확인								
이상시 조치내용								

7.6.2 개인위생 점검표

____월 ____주차 개인 위생관리 점검표		결 재	작성		검토		승인	
점검자: 생산담당								
대상	점검사항	점검일자						비고
		/	/	/	/	/	/	
작업자 건강상태	감기, 화농성 상처, 설사, 복통 증상은 없는가							
종업원 복장상태	작업복장 착용상태 및 청결상태 - 위생복, 위생모, 위생장화, 마스크, 앞치마 등 작업복장을 완벽히 착용 및 청결상태 점검							
	종업원 청결상태는 양호한가 - 손톱청결, 머리 청결상태							
	종업원 개인소지품은 착용하지않는가(담배, 라이터, 볼펜, 휴대폰 등)							
출입자 (방문객 포함) 준수사항	출입기준을 준수하고 있는가 - 손세척,소독, 에어샤워실 통과 여부							
	개인위생복장은 정확히 착용하고 입실하는가							
작업중 위생관리	작업중 위생마스크는 착용하는가							
	작업중 잡담, 음식물 섭취 등 비위생적인 행위는 없는가							
	작업중 지정된 장소를 이탈하는 경우는 없는가							
점검자 확인								
이상시 조치내용								

7.6.3 온습도 및 조도 점검표

월 온도, 습도, 조도 점검일지()								결 재	작성	검토	승인			
모니터링 담당자 :														
작업장	온도		습도		온도		습도		온도		습도		조도	비고
원료보관실														
원료처리실														
증자실 및 냉각실														
밀술실														
발효숙성실														
내포장실														
외포장실														
완제품저장고														
작업장	기 준			이탈시 조치기준										
	온도	습도	조도	1. 온습도/조도 점검시 관리기준을 초과하는 것이 발견되는 경우는 즉시 응급조치를 실시하고 담당 부서장에 보고한다. 2. 담당 부서장은 기준을 초과한 경우 해당시간에 생산된 제품에 대한 추적을 실시하여 품질이상유무를 판단하여 조치한다. 3. 설비이상시는 관련업체에 연락하여 즉시 수리조치한다.										
주) 온습도는 매일 오전 10시에 측정하여 기록하고 조도는 매월 1주 월요일 오전 10시에 측정하여 기록한다.														
이상시 조치내용														

7.6.4 시설/설비/제조도구 점검표(제조시설/설비, 위생설비 등)

____월 ____주차 시설/설비/제조도구 점검표		결재	작성	검토	승인			
점검자: 생산담당								
대상	점검사항	점검일자						비고
		/	/	/	/	/	/	
에어샤워	정상적으로 작동하며 내·외부는 청결하여야 한다.							
세척/소독 시설	냉, 온수가 공급되어야 한다.							
	손톱 세척솔, 세척용 비누, 손 건조기 등이 비치되어 있으며 손세척 시설은 청결하여야 한다.							
에어커튼	정상적으로 작동하며 내·외부는 청결하여야 한다.							
포충기	정상적으로 작동하며 내·외부는 청결하여야 한다.							
탈의실	바닥, 벽, 천장, 조명, 문등은 청결하여야 한다.							
	환기시설은 정상작동하며 청결하여야 한다.							
	위생복과 외출복은 구분하여 보관하고 탈의실내 불필요한 물건은 방치되어 있지 않아야 한다.							
실험실	바닥, 벽, 천장, 조명, 문 등은 청결하여야 한다.							
	환기시설은 정상작동하며 청결하여야 한다.							
	실험시설은 용도에 맞게 보관하고 불필요한 물건은 방치되어 있지 않아야 한다.							
화장실	바닥, 벽, 천장, 조명, 문 등은 청결하여야 한다.							
	환기시설은 정상작동하며 청결하여야 한다.							
	내부 신발과 세척용 비누, 종이 타월 등이 배치되어 있으며 변기 및 세척시설은 청결하여야 한다.							
점검자 확인								
이상시 조치내용								

7.6.5 모니터링 및 검사장비 검·교정 점검표

모니터링 및 검사장비 검· 교정 점검표		점 검 확 인	양호	○	날 짜	20 ~	결 재	작성자	검토자	승인자
			불량	X						
측정범위 검사설비명	항목	기준치	허용치	방법	주기	점검결과				비고
						3월	6월	9월	12월	
Incubator	온도	35℃	±1℃	검, 교정된 온도계를 incubator에 넣어 비교측 정	1회/ 반기					
전자저울 (실험실)	중량	420g	±0.002g	국가 공인기관 의뢰	1회/ 년					
조도계	조도 (Lux)	300	±5g	국가 공인기관 의뢰	1회/ 년					
		600								
		900								
		1,200								
		1,500								
디지털 온습도계	온도	35℃	±5℃	국가 공인기관 의뢰	1회/ 년					
	습도	70%R H	±5%							
저장고	온도	-1℃	±0.5℃	검·교정된 표준온도계와 비교대상 온도계를 각각 측정 후 결과를 비교한다.	1회/ 분기					
전자저울 (포장실)	중량	60kg	1 k g 이 하:±5% 1 k g 초 과 :±0.3%	국가 공인기관에 의 뢰	1회/ 년					
가우스 측정기	자력				1회/ 년					
비고	1. 점검결과 양호 ○, 불량 X 로 표시한다. 2. 규정된 주기로 국가 공인기관에서 공인받은 계측기로 정해진 주기마다 비교측정을 실시하고 편차이내에 들어오는지를 확인한 후 사용한다. 3. 점검은 분기 1회 실시하되 외관, 작동유무, 간단한 비교측정을 실시한다.									

7.6.6 시설/설비 이력카드

제조설비 이력카드				제작국	
설비번호		모 델			
설 비 명		규 격		제작사	
구입일자		사용범위			
설비사진					
교정 및 유지보수 이력					
일 자	교정 및 수리이력		관련기관	결 과	

7.6.7 검사설비 이력카드

검사설비 이력카드				제작국	
설비번호		모 델			
설 비 명		규 격		제작사	
구입일자		사용범위			
설비사진					
교정 및 유지보수 이력					
일 자	교정 및 수리이력			관련기관	결 과

7.6.8 시험설비 이력카드

시험설비 이력카드				제작국	
설비번호		모 델			
설 비 명		규 격		제작사	
구입일자		사용범위			
설비사진					
교정 및 유지보수 이력					
일 자	교정 및 수리이력		관련기관	결 과	

7.6.9 폐기물 관리대장

사업장폐기물관리대장

(① 폐기물의 종류 :)

(단위 : 톤)

② 발생내역			③ 자가처리 내역					④ 위탁처리 내역					⑤ 보관량	결제		
연월일	성상	발생량	연월일	처리량	중간처리		최종처리		처리량누계	연월일	위탁처리량	운반자			처리자	처리방법
					처리방법	처리량	처리방법	처리량								

7.7. 입·출고 및 재고 점검표

일·출고 및 재고 점검표					결 재	작성자	검토자	승인자			
원료					부원료						
입수일	입고량	출고량	재고량	입고일	입고처	품명	입고량	출고량	재고량		
부원료					포장재						
입고일	입고처	품명	입고량	출고량	재고량	입고일	입고처	품명	입고량	출고량	재고량
이탈발생품목		이상내용		조치내용			확인사항		확인자		

7.10. 표면 오염도 검사 성적서

표면 오염도 검사 성적서		결재	작성자	검토자	승인자
구역명	청결구역(), 일반구역()				
채취일자		검사일자			
구분 위치	검사항목	검사기준	검사결과	판정(적합/부적합)	
세척실 바닥	세균수	10 ³ CFU/cm ² 이하			
	대장균군	음성			
원료처리실 바닥	세균수	10 ³ CFU/cm ² 이하			
	대장균군	음성			
작업자(손, 앞치마, 위생복)	세균수	10 ³ CFU/cm ² 이하			
	대장균군	음성			
제품보관실 바닥	세균수	10 ³ CFU/cm ² 이하			
	대장균군	음성			
기타					
종합판정					
위의 분석결과는 당사 0000에서 시험한 결과임.					
판정일자 : 20 년 월 일			검사(판정)자 : (인)		
검체의 채취방법					
검사결과의 통지방법					

7.11. 부적합품 관리 점검표

부적합품 관리 점검표		결재	작성자	검토자	승인자
제품명					
수량		제조일자 또는 Lot No.			
부적합 내용					
조치사항	<input type="checkbox"/> 재작업 <input type="checkbox"/> 반 품 <input type="checkbox"/> 폐 기				

7.12 협력업체 점검표

협력업체 평가표			결재	작성자	검토자	승인자
협력업체명		점검자		점검일자		
구분	항목	기준		배점	점수	비고
기본요건	영업신고(허가)	식품제조 영업신고 또는 허가증을 제출해야 함		10		
	공장등록증	공장등록을 필해야 함		10		
	품목제조보고서	품목제조보고서를 제출하여야 함		10		
제품평기	원료성적서	식품규제항목 규제기준 이내여야 함		10		
	표시사항	식품표기가 적절해야 함		10		
위생	제품운반	운반시 포장을 덮어 이물질이 묻지 않아야 됨		10		
	운반차량관리	운반차량 청결상태를 유지해야 함		10		
	제품취급상태	제품손상 없음		10		
검사	제품검수	최근 6개월내 제품검수 시 불합격이 없을 것		10		
	반품처리	반품처리 즉시 시정조치할 것		10		
기타사항						

상기 하는 협력업체 정기평가 결과 당사에 원부자재자를 납품하는 회사로 (합격, 조건부 합격, 불합격) 되었으므로 다음과 같이 조치하고자 하오니 승인하여 주시기 바랍니다.

- 합격 : 계속 거래관계 유지(70점 이상)
- 조건부 합격 : 부적합항목에 대한 시정조치보고서 접수하여 평가 후 계속거래 유지(60-69점)
- 불합격 : 거래관계를 취소하고 신규 협력업체 조사, 평가, 등록(60점 이하)

7.13 공정관리 종합 점검표

공정관리 종합 점검표		결재	작성자	검토자	승인자
확인일자		점검일자			
공정명	관리사항	점검결과	개선조치		
입고	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료 및 부원료 관리는 적절한가 ? ○ 원료 및 부원료 기준 규격 검사 결과: 기록확인 				
보관	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료 및 부원료의 보관은 적절한가 ? - 보관온도 또는 습도 : 기록확인 				
부재료 관리	<ul style="list-style-type: none"> ○ 포장재, 기구 및 용기는 적절히 관리하고 있는가 - 부자재등에 대한 관리기준 작성여부 : 기록확인 - 부자재에 대한 기준 및 규격 검사결과 : 기록확인 				
공정	<ul style="list-style-type: none"> - 해당공정에서 공정관리 : 기록확인 - 해당공정에서 조도관리 : 기록확인 - 해당공정실 온도 또는 습도 : 기록확인 - 해당공정 작업자, 제조시설 위생관리상태: 기록확인 - 해당실 위생상태 : 기록확인 				
완제품 보관	<ul style="list-style-type: none"> ○ 완제품 보관은 적절히 관리하고 있는가 - 보관실 위생상태 : 기록확인 				
출고	<ul style="list-style-type: none"> ○ 운반차량은 적절히 관리하고 있는가 ? - 운반차량 위생상태 : 기록확인 				
검사관리	<ul style="list-style-type: none"> ○ 검사관리는 적절히 이루어지고 있는가 - 완제품 검사기준 및 규격: 기록확인 - 완제품 검사기준 및 규격검사결과 : 기록확인 - 검사장비등 검교정 방법 : 기록확인 - 검교정결과 : 기록확인 				

9. 막걸리의 관능적 품질기준 및 평가기준 설정 연구

가. 시판 막걸리의 관능 및 이화학적 특성

(1) 묘사분석을 이용한 생막걸리 12종의 정량적 관능특성 분석

시판중인 생막걸리 12종에 대한 관능특성 분석을 실시하였다. 묘사분석 결과의 삼원 분산분석 (three way analysis of variance) 결과는 표 177과 같다. 각 시료(sample)간에는 탄산미와 효모맛을 제외한 모든 항목에서 유의적 차이가 나타났다($p < 0.05$). 검사자와 시료간의 교호작용(Judge * sample)에서 모든 항목에서 교호작용이 나타나지 않아 패널들의 시료에 대한 평가가 동일한 경향을 보인 것으로 나타났다. 그 외의 항목(rep*sample, rep*judge)에서는 낮은 수준의 유의적 교호작용이 나타나 시료간의 평가가 다른 방식으로 이루어졌으나 시료간의 유의적 차이가 확인되어 전반적으로 패널들의 반복실험에 따라 시료에 대해 일관된 평가를 한 것으로 나타났다. 그 외 반복실험(rep)의 경우 일관된 평가를 수행한 것으로 나타났다.

12개의 생막걸리 시료의 묘사분석 결과, 10명 검사원의 2회 반복 측정된 결과의 평균점과 다중비교검정(Duncan's test) 결과는 표 178과 같다. 외관 특성에서 백색도 항목에서는 배혜정 생술이 가장 높게 나타났고 반면 전주, 배다리, 금정산, 덕산 시료가 낮은 점수를 보였다. 황색도에서는 백색도와 반대의 경향을 보였으며 덕산, 배다리 시료가 가장 높게 나타났다. 탁한 정도에서는 금정산 시료가 가장 높게 나타났고 반면 배혜정 시료가 가장 낮게 나타났다. 외관상의 기포 정도에 대해서는 고향 시료가 가장 높게 나타났고 입장, 배다리, 배혜정 시료가 낮게 나타났고 그 외의 시료는 중간 정도의 수준을 나타냈다. 향 특성 분석 결과를 살펴보면 전반적으로 본 시료의 향 특성이 5점 이하의 낮은 수준으로 나타났는데, 이는 막걸리 자체가 향이 강한 주류라기보다 입안에서의 느낌과 맛이 우세한 주류라는 특성에서 기인하는 것으로 여겨진다. 알코올향과 시큼한 향에서는 시료간의 차이가 크게 나타나지는 않았으나 알코올향은 느린마을이 가장 높게 나타났고 시큼한 향은 금정산, 입장, 전주, 참살이 제품이 높은 수준을 보였다. 단향과 과일향의 경우 전반적으로 시료가 유사한 수준을 나타냈으며 12종 시료 중에서는 배혜정이 가장 높게 나타났고 반면 다른 시료는 유사한 수준을 보였다. 과일향의 경우 관련 원료를 사용하지 않았으므로 순전히 발효 과정에서 생성된 에스터 성분에 기인하는 것으로 여겨지며 배혜정과 느린 마을 시료가 높게 나타났다. 구수한향의 경우 덕산, 참살이 시료가 높았고 입장, 고향, 느린마을 시료가 낮게 나타났다. 효모냄새와 곰팡이 냄새와 같이 기호성에 나쁜 영향을 특성의 경우 전반적으로 모든 시료에서 낮은 수준으로 나타났으나 덕산이 가장 높게 나타났다. 맛 특성을 살펴보면 모든 시료에서 강한 특성을 나타내지 않았으며 다른 맛 특성에 비해 알코올맛이 높은 것으로 나타났다. 뚝은맛과 바디감, 지속성은 유사한 경향을 나타냈으며 금정산과 배다리 시료에서 전반적으로 높게 나타났다.

표 179는 묘사분석 결과 도출된 관능특성 용어간의 상관관계를 나타낸 표이다. 백색도의

경우 누런색($r=-0.977$), 구수한향($r=-0.615$), 효모냄새($r=-0.863$), 곰팡이내(누룩)($r=-0.696$), 바디감(-0.585)과 유의적인 음의 상관관계를 나타내어 백색이 진한 경우 전반적으로 효모와 누룩관련 관능특성이 약한 것으로 평가되었다. 또한 과일향($r=0.599$)과는 유의적인 양의 상관관계를 나타내었다($p<0.05$). 일단 흰색 정도가 위의 특성과 높은 상관성을 나타낸 것은 확인되었으나 색상평가에서 오는 논리적 오차에 의한 영향일 수도 있으므로 향후 관능평가지 외관특성에 대한 평가를 후각 및 미각 평가 후에 실시하여 이의 영향을 줄이는 방안을 모색할 계획이다. 특이할 사항으로 외관평가인 탁한정도가 입안 감촉 평가 항목(뽀은맛: $r=0.668$, 바디감: $r=0.857$, 지속성: $r=0.655$, 목넘김: $r=0.622$) 모두와 유의적으로 높은 양의 상관관계를 나타내어, 탁한정도의 외관 평가결과가 실제로 입안감촉 평가 항목간의 높은 상관성을 확인할 수 있었다. 과일향은 백색도($r=0.599$), 단향($r=0.807$)과 유의적인 양의 상관관계를 나타내었고($p<0.05$), 누런색($r=-0.625$), 구수한향($r=-0.676$), 효모냄새($r=-0.763$), 곰팡이내(누룩)($r=-0.585$)와는 유의적인 음의 상관관계를($p<0.05$) 나타내어 여러 관능특성과 높은 상관성을 나타내었다. 누런색, 구수한향, 효모냄새, 곰팡이내(누룩)는 서로 간의 높은 양의 상관관계를 나타내었어, 반면 흰색정도, 과일향과는 음의 상관관계를 나타내었다. 알코올맛은 알코올향과는 유의적인 상관관계를 나타내지 않았고, 쓴맛($r=0.698$), 지속성($r=0.681$), 목넘김($r=0.603$)과는 유의적인 상관관계를 나타내어, 일반적으로 알려진 알코올맛이 쓴맛을 주는 것을 확인할 수 있었고 또한 알코올이 강하게 느껴지는 경우 지속성이 길고, 목넘김도 자극적으로 평가되었다. 단맛은 단향이나 과일향과는 상관관계가 나타나지 않아 일반적으로 막걸리에 사용되는 합성감미료(아스파탐)가 후각적 특성에는 영향을 주지 않고 미각적 특성에만 관여하는 것으로 여겨진다. 단맛은 쓴맛($r=-0.665$)과 유의적인 음의 상관관계를 나타내었다. 입안 감촉을 나타내는 뽀은맛, 바디감, 지속성, 목넘김은 서로 높은 양의 상관관계를 나타내었다.

표사분석 결과의 주성분 분석 (Principal Component Analysis) 결과는 그림 204와 같다 (분산분석 결과 유의적 차이를 나타내지 않았던 특성은 제외하였다). 그림 a)의 경우 관능특성을 점으로 제시하였고 그림 b)의 경우 시료의 분포를 나타내었다. 분석결과는 그림에서 보여지는 바와 같이 첫 번째, 두 번째 주성분(PC)은 전체 데이터 편차의 47%와 21%를 각각 대표하고 있다. 그림 a)의 관능특성 항목의 분포를 보면 PC1의 오른쪽으로 백색도, 과일향이 나타났고 반대편으로 황색도, 효모냄새가 나타나서 대비를 나타냈고 서로 가까이 분포하여 상관관계가 높은 것으로 여겨진다. PC2 상으로는 Y축 방향으로 위쪽으로 알코올향, 알코올맛, 쓴맛이 나타나고 반대편으로 단맛, 구수한향/향, 곰팡이내가 나타났다. 대각선 방향으로 원 위로 쪽에 탁한정도, 바디감, 뽀은맛, 지속성의 관능특성이 나타나 서로 높은 상관관계를 나타냈고, 신맛과 시큼한향도 유사한 경향을 보였다. 대각선 반대편으로는 기포정도와 단맛이 나타났다. 시료의 분포를 살펴보면 그림 b)에서 나타난 바와 같이 PC1의 가장 오른쪽으로 배혜정이 나타났는데 이 시료는 백색도가 높고 단향이 가장 높았던 시료이다. 반대편으로는 덕산이 분포하였는데 이 시료는 황색도가 높고 효모냄새가 강하고 구수한향이나, 곰팡이냄새도 다른 시료에 비해 높게 나타났다. 2사분면에 위치한 금정산과 배다리 시료의 경우 탁한정도와 바디감, 뽀은맛 특성

이 강한 것으로 나타났다. 그 외의 시료의 경우 적으로 관능특성에서 중간수준을 보이는 것으로 여겨진다. 느린마을 시료의 경우 단맛은 적고 신맛이 높고 반면 누룩과 효모관련 특성은 약한 것으로 나타났다. 그 외 참살이, 미단, 고향, 장수 막걸리의 경우 전반적으로 관능특성에서 유사한 수준을 보이는 것으로 여겨진다. 위의 주성분 분석에서 외관 특성인 백색도, 황색도가 시료의 관능특성 차이를 일차적으로 분리한 것으로 나타나 시료간의 좀 더 상세한 향, 맛, 입안감촉 특성에서의 차이를 확인하기 위해 외관특성 항목을 제외하고 주성분 분석을 실시하였다. 분석 결과 첫 번째, 두 번째 주성분(PC)은 전체 데이터 편차의 35%와 24%를 각각 대표하여 모든 관능특성을 사용한 것에 비해 설명력은 일부 떨어지는 것으로 나타났으나 큰 차이는 없었다. PC1은 기본적으로 단맛과 입안감촉특성(지속성, 목넘김, 뚝은맛)과의 대비로 나타났고 PC2는 과일향과 발효특성(구수한향, 효모냄새, 곰팡이내)관련 향 간의 대비로 여겨진다. 따라서 PC1은 미각과 입안감촉간의 차이를 PC2는 후각을 바탕으로 한 향 특성간의 차이를 나타내는 것으로 여겨진다. 그림 3에서는 주성분 분석 결과를 확인하기 위해 각 시료의 관능특성 분석결과를 거미줄모형으로 비교하였다. 그림 a)에서 배혜정 생술은 단향, 과일향, 단맛이 강하고 반면, 구수한향, 효모냄새, 입안감촉 특성에서는 약한 강도를 나타내었고 반면 배다리 막걸리는 배혜정 생술과 반대의 관능특성을 보였다. 고향막걸리는 관능특성에서 중간 정도의 강도를 나타냈으나 단향과 과일향을 제외하면 배혜정 생술과 유사한 관능특성을 나타냈다. 그림 b)는 PC2에서 강한 대비의 향 특성을 나타낸 입장 막걸리와 덕산 막걸리를 제시하였다. 두 시료간에 맛 특성에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 과일향과 발효 향 특성(구수한향, 효모냄새, 곰팡이내)에서 두드러진 차이를 나타내었다. 쌀을 주원료로 한 생막걸리의 경우 시료별로 다양한 특성을 보이는 것으로 나타났고 향후 관련 관능특성 기준 시료의 정립과 평가방법 정립이 필요한 것으로 여겨진다.

표 177. 생막걸리 묘사분석의 삼원분산분석 결과(n=2 reps×10 judges×12 samples)

Attribute		Rep	Judge	Sample	Judge*Sample	Rep*Judge	Rep*Sample
백색도	F value	8.92	3.32	32.922	.812	1.72	4.23
	Pr > F	*	**	***	ns	ns	***
황색도	F value	1.82	10.16	39.99	1.07	1.74	5.07
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	***
탁한정도	F value	0.90	13.95	28.67	1.41	1.43	3.98
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	***
기포	F value	4.85	4.60	6.63	0.78	2.07	3.51
	Pr > F	*	***	***	ns	*	***
알코올향	F value	3.13	15.20	4.02	1.18	2.84	1.18
	Pr > F	ns	***	***	ns	**	ns
시큼한향	F value	0.59	14.16	2.20	0.91	2.43	1.31
	Pr > F	ns	***	*	ns	*	ns
단향	F value	0.87	21.38	2.32	1.10	1.28	2.37
	Pr > F	ns	***	*	ns	ns	**
과일향	F value	1.02	16.13	4.05	0.92	1.76	1.25
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
구수한향	F value	2.14	17.21	4.36	0.99	1.76	2.71
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	**
효모냄새	F value	0.99	15.79	2.19	0.87	2.15	1.03
	Pr > F	ns	***	*	ns	*	ns
곰팡이	F value	0.40	10.47	2.16	0.96	1.16	0.87
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
<i>df</i>		1	9	11	99	9	11

† ns: not significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

표 177. 계속

Attribute		Rep	Judge	Sample	Judge*Sample	Rep*Judge	Rep*Sample
탄산미	F value	6.48	14.70	1.27	1.42	1.24	2.57
	Pr > F	*	***	ns	*	ns	**
알코올맛	F value	0.06	14.48	6.05	1.12	1.14	1.18
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
단맛	F value	0.52	14.27	9.70	1.12	1.96	2.55
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	**
신맛	F value	1.06	16.38	10.88	1.27	0.78	1.87
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
쓴맛	F value	2.79	23.69	4.45	1.71	1.22	0.64
	Pr > F	ns	***	***	**	ns	ns
구수한맛	F value	0.03	16.26	3.89	1.29	1.64	0.67
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
효모맛	F value	0.48	20.19	1.20	1.16	0.79	1.02
	Pr > F	ns	***	ns	ns	ns	ns
뽕은맛	F value	5.08	11.59	4.03	1.17	3.88	0.99
	Pr > F	*	***	***	ns	***	ns
바디감	F value	0.84	16.35	6.07	1.24	1.71	0.94
	Pr > F	ns	***	***	ns	ns	ns
지속성	F value	0.00	7.66	3.33	0.86	1.76	0.70
	Pr > F	ns	***	**	ns	ns	ns
목넘김	F value	0.14	13.52	3.26	0.79	1.79	0.79
	Pr > F	ns	***	**	ns	ns	ns
<i>df</i>		1	9	11	99	9	11

† ns: not significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

표 178. 생막걸리의 묘사분석 결과

시료 코드	외관 (Appearance)						향 (Aroma)				
	백색도	황색도	탁한정도	기포	알코올향	시큼한향	단향	과일향	구수한향	효모냄새	곰팡이
덕산	2.25 ^a	7.75 ^g	6.50 ^e	4.10 ^a	3.90 ^{abc}	4.25 ^{bc}	4.70 ^{bc}	3.65 ^{ab}	4.75 ^e	4.70 ^c	3.90 ^c
배다리	3.80 ^b	6.60 ^f	5.70 ^d	4.65 ^{abc}	4.45 ^{abcd}	4.30 ^{bc}	4.20 ^{abc}	3.05 ^a	3.95 ^{bcde}	4.45 ^{bc}	3.45 ^{bc}
전주	3.90 ^b	5.90 ^{ef}	5.60 ^d	6.25 ^{ef}	4.25 ^{abcd}	4.50 ^{bc}	3.80 ^{ab}	3.00 ^a	3.85 ^{bcde}	4.00 ^{abc}	2.95 ^{abc}
국순당	4.20 ^b	6.40 ^f	5.45 ^d	6.20 ^{de}	3.80 ^{abc}	4.00 ^{abc}	3.55 ^{ab}	3.45 ^{ab}	3.15 ^{abcd}	4.45 ^{bc}	3.70 ^{bc}
금정산	4.45 ^b	5.20 ^{de}	8.15 ^f	5.85 ^{cde}	4.85 ^{cde}	4.95 ^c	3.85 ^{ab}	3.45 ^{ab}	3.30 ^{abcd}	4.35 ^{bc}	3.25 ^{bc}
참살이	6.15 ^c	3.75 ^{bc}	5.65 ^d	5.25 ^{abcd}	4.55 ^{bcd}	4.45 ^{bc}	3.40 ^a	3.15 ^a	4.20 ^{de}	3.80 ^{abc}	2.95 ^{abc}
장수	6.15 ^c	4.50 ^{cd}	4.05 ^b	6.25 ^{de}	3.35 ^a	3.05 ^a	3.60 ^{ab}	2.95 ^a	3.90 ^{bcde}	3.95 ^{abc}	3.75 ^{bc}
미담	6.40 ^{cd}	3.85 ^{bc}	4.90 ^{cd}	6.65 ^{ef}	3.65 ^{ab}	3.80 ^{abc}	3.70 ^{ab}	3.20 ^a	4.10 ^{cde}	4.15 ^{abc}	3.20 ^{abc}
입장	6.55 ^{cd}	3.20 ^b	5.30 ^d	4.20 ^{ab}	5.25 ^{de}	4.55 ^{bc}	4.60 ^{bc}	4.45 ^{bc}	2.50 ^a	3.00 ^a	2.65 ^{ab}
고향	6.80 ^{cd}	3.60 ^b	4.35 ^{bc}	7.60 ^f	3.85 ^{abc}	4.35 ^{bc}	4.25 ^{abc}	4.15 ^{ab}	2.85 ^{ab}	3.50 ^{abc}	2.75 ^{abc}
느린마을	7.30 ^{de}	3.35 ^b	6.50 ^e	5.45 ^{bcde}	5.75 ^e	3.60 ^{ab}	4.20 ^{abc}	4.50 ^{bc}	2.50 ^a	3.35 ^{ab}	2.05 ^a
배혜정	7.95 ^e	2.05 ^a	2.60 ^a	4.95 ^{abcd}	4.70 ^{bcde}	3.55 ^{ab}	5.20 ^c	5.45 ^c	3.00 ^{abc}	2.95 ^a	2.80 ^{abc}

† Mean±SD. 9 point scale(0: none, 1: very weak, 5: normal, 9: very strong)

‡ Means with the same letter in a row are not significantly different at p<0.05 level by Fisher's least significant difference(LSD) test.

표 178. 계속

시료 코드	맛(Taste)										텍스처 / 입안감촉
	탄산미	알코올 맛	단맛	신맛	쓴맛	구수한 맛	효모맛	뽀은맛	바디감	지속성	목넘김
덕산	4.05 ^{abc}	4.80 ^{ab}	5.35 ^{bc}	4.50 ^{abc}	3.55 ^{ab}	4.90 ^d	3.95 ^{ab}	3.90 ^{cde}	5.05 ^d	5.30 ^{bcd}	4.45 ^{abc}
배다리	4.90 ^{bc}	6.60 ^c	4.70 ^b	4.30 ^{abc}	4.40 ^{bc}	4.10 ^{cd}	3.65 ^{ab}	4.50 ^e	4.45 ^{cd}	6.30 ^d	5.50 ^c
전주	4.15 ^{abc}	4.95 ^{ab}	5.70 ^{bc}	4.15 ^{ab}	2.80 ^a	3.70 ^{bc}	4.10 ^b	3.35 ^{abcd}	4.05 ^{bc}	4.55 ^{abc}	4.10 ^{ab}
국순당	4.35 ^{abc}	5.10 ^{ab}	3.50 ^a	3.50 ^a	4.15 ^{bc}	4.05 ^{bcd}	3.80 ^{ab}	2.40 ^a	3.20 ^{ab}	4.20 ^{ab}	3.85 ^{ab}
금정산	4.30 ^{abc}	4.20 ^a	3.20 ^a	7.35 ^d	3.55 ^{ab}	2.35 ^a	3.85 ^{ab}	3.80 ^{cde}	5.15 ^d	5.35 ^{bcd}	5.05 ^{bc}
참살이	3.85 ^{ab}	5.35 ^{ab}	5.20 ^{bc}	3.70 ^a	2.95 ^a	3.30 ^{abc}	3.45 ^{ab}	3.55 ^{bcde}	3.65 ^{abc}	4.90 ^{abc}	3.55 ^a
장수	4.00 ^{abc}	4.45 ^{ab}	5.30 ^{bc}	3.95 ^a	3.50 ^{ab}	4.00 ^{bcd}	3.20 ^{ab}	2.95 ^{abc}	3.55 ^{abc}	3.95 ^a	4.00 ^{ab}
미담	5.05 ^c	4.70 ^{ab}	4.95 ^{bc}	5.20 ^c	2.75 ^a	3.50 ^{bc}	2.90 ^a	3.35 ^{abcd}	3.55 ^{abc}	4.25 ^{ab}	4.05 ^{ab}
입장	4.15 ^{abc}	5.30 ^{ab}	5.40 ^{bc}	5.00 ^{bc}	3.05 ^a	3.55 ^{bc}	3.30 ^{ab}	3.20 ^{abcd}	4.05 ^{bc}	4.85 ^{abc}	4.60 ^{abc}
고향	3.65 ^a	4.75 ^{ab}	5.15 ^{bc}	4.20 ^{abc}	2.90 ^a	3.00 ^{ab}	3.15 ^{ab}	2.65 ^{ab}	3.50 ^{ab}	4.25 ^{ab}	3.50 ^a
느린마을	4.25 ^{abc}	7.05 ^c	2.95 ^a	3.80 ^a	5.05 ^c	3.15 ^{abc}	3.25 ^{ab}	4.10 ^{de}	4.45 ^{cd}	5.65 ^{cd}	5.35 ^c
배혜정	4.30 ^{abc}	4.65 ^{ab}	5.90 ^c	3.50 ^a	3.60 ^{ab}	3.80 ^{bc}	3.50 ^{ab}	2.50 ^{ab}	2.95 ^a	4.15 ^{ab}	3.70 ^a

† Mean±SD. 9 point scale(0: none, 1: very weak, 5: normal, 9: very strong)

‡ Means with the same letter in a row are not significantly different at p<0.05 level by Fisher's least significant difference(LSD) test.

표 179. 생막걸리 묘사분석 관능특성 용어간의 상관관계 분석 결과

Variables	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. 백색도	1																			
2. 황색도	-0.977	1																		
3. 탁한정도	-0.567	0.516	1																	
4. 기포	0.243	-0.170	-0.180	1																
5. 알코올향	0.313	-0.382	0.336	-0.475	1															
6. 시큼한향	-0.440	0.293	0.615	-0.135	0.270	1														
7. 단향	0.175	-0.225	-0.310	-0.516	0.356	-0.050	1													
8. 과일향	0.599	-0.625	-0.382	-0.247	0.535	-0.171	0.807	1												
9. 구수한향	-0.615	0.598	0.130	-0.134	-0.589	0.021	-0.290	-0.676	1											
10. 효모냄새	-0.863	0.897	0.528	0.042	-0.523	0.216	-0.457	-0.763	0.713	1										
11. 곰팡이(누룩)	-0.696	0.727	0.065	-0.061	-0.756	-0.055	-0.245	-0.585	0.697	0.791	1									
12. 알코올맛	0.072	0.012	0.193	-0.329	0.570	-0.084	0.061	0.094	-0.237	-0.123	-0.445	1								
13. 단맛	0.079	-0.149	-0.651	-0.136	-0.362	-0.096	0.329	0.061	0.351	-0.259	0.129	-0.363	1							
14. 신맛	-0.229	0.119	0.623	0.016	0.142	0.562	-0.079	-0.182	0.013	0.266	0.091	-0.361	-0.315	1						
15. 쓴맛	-0.053	0.174	0.248	-0.299	0.421	-0.306	0.141	0.200	-0.285	0.091	-0.092	0.698	-0.665	-0.209	1					
16. 구수한맛	-0.466	0.524	-0.284	-0.450	-0.424	-0.353	0.255	-0.120	0.519	0.335	0.586	0.066	0.432	-0.518	0.122	1				
17. 짙은맛	-0.396	0.377	0.668	-0.458	0.398	0.296	-0.032	-0.317	0.328	0.364	-0.044	0.575	-0.289	0.329	0.375	0.000	1			
18. 바디감	-0.585	0.523	0.857	-0.406	0.341	0.509	0.072	-0.231	0.224	0.443	0.098	0.194	-0.366	0.620	0.251	-0.069	0.807	1		
19. 지속성	-0.388	0.372	0.655	-0.555	0.554	0.408	0.141	-0.101	0.086	0.273	-0.110	0.681	-0.395	0.262	0.551	-0.016	0.913	0.768	1	
20. 묵넘김	-0.279	0.290	0.622	-0.451	0.556	0.183	0.142	-0.052	-0.121	0.204	-0.118	0.603	-0.535	0.407	0.649	-0.075	0.811	0.750	0.858	1

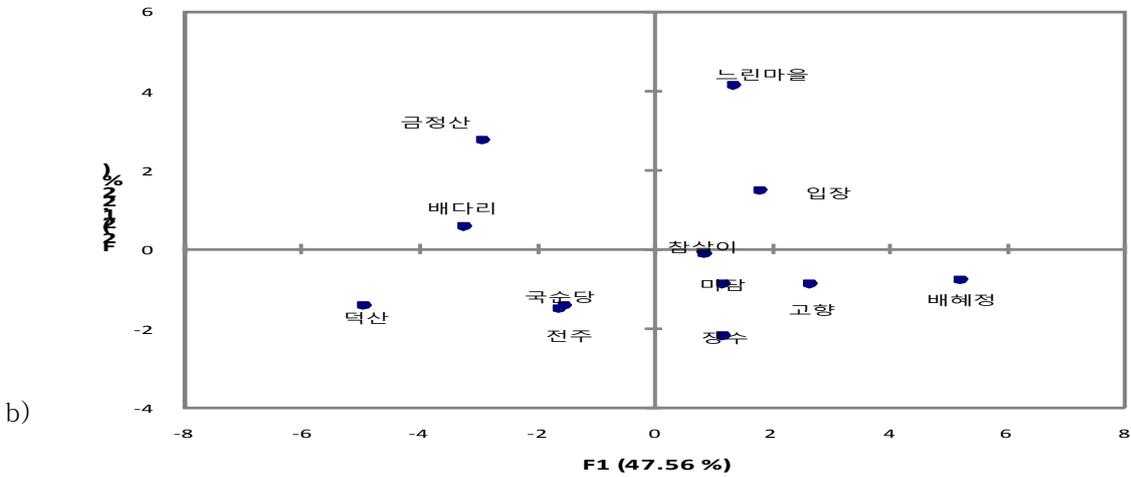
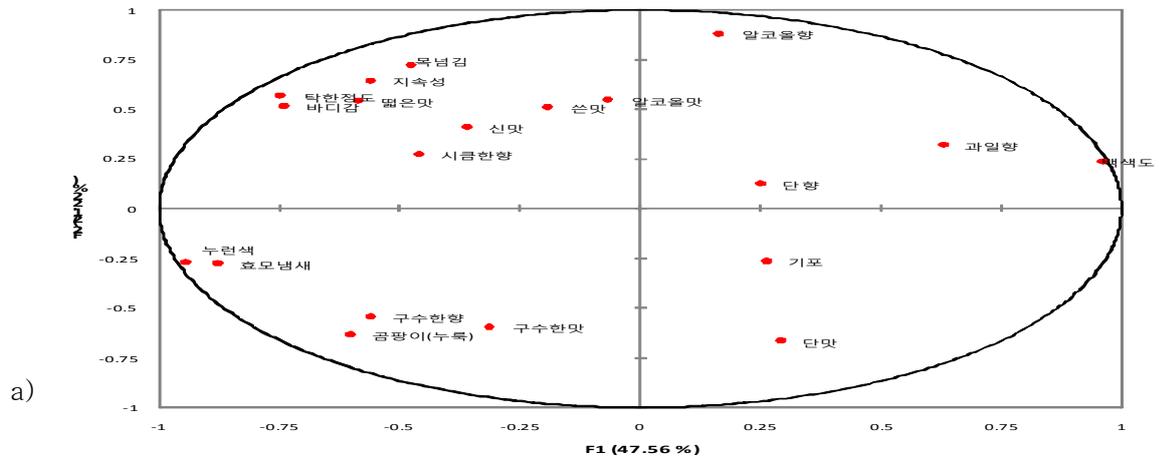


그림 204. 생막걸리 12종의 묘사분석 데이터의 주성분 분석

a) 관능특성 분포도 b) 시료 분포도

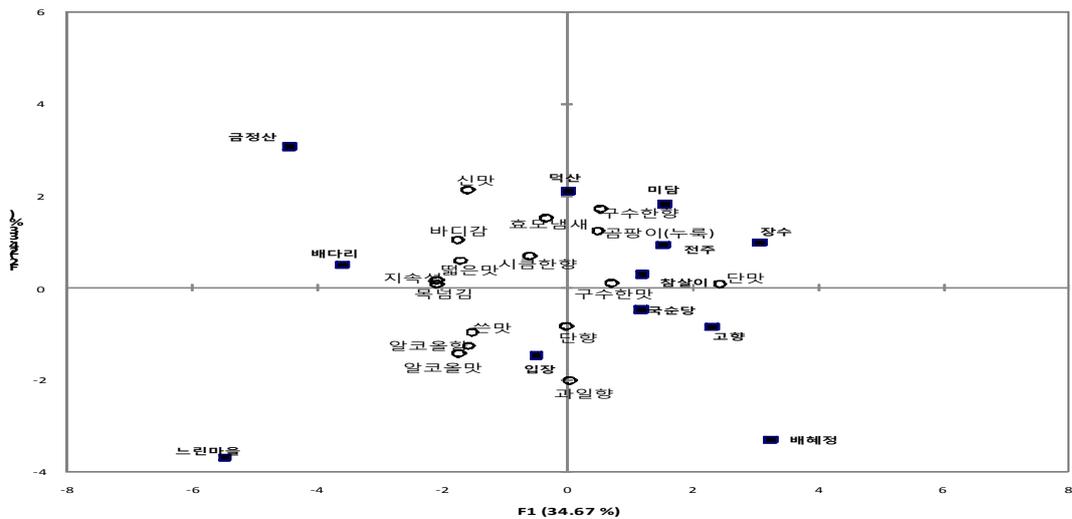


그림 205. 생막걸리 12종의 향, 맛, 입안감촉 특성관련 묘사분석 데이터의 주성분 분석

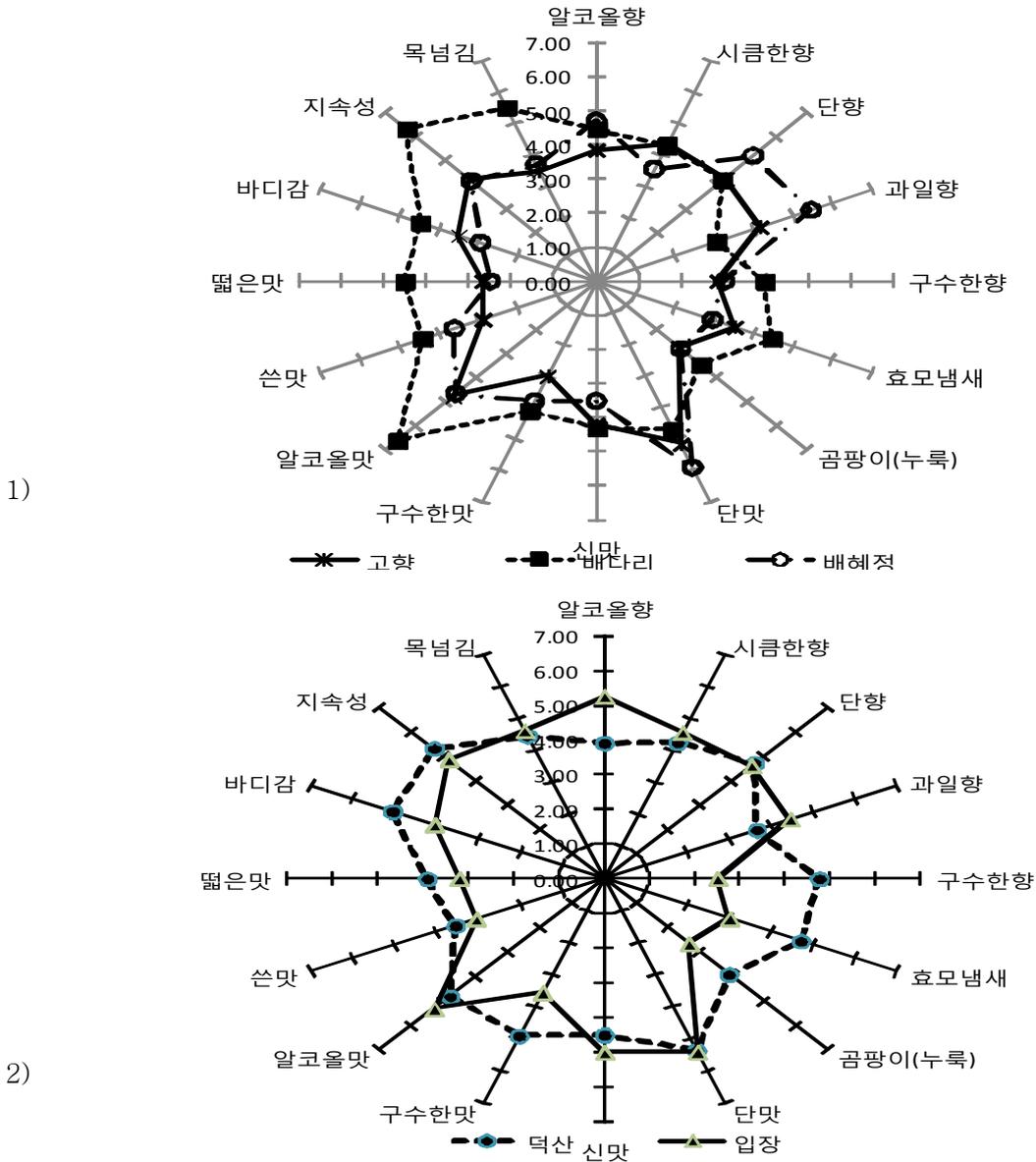


그림 206. 생막걸리의 관능특성 평가결과 그래프 (n = 10 judges x 2 replications)

- 1) 단맛, 입안 감촉 특성간의 대비를 나타내는 시료
- 2) 향기 특성(과일향, 발효관련 향)간의 차이를 나타내는 시료

(2) 묘사분석을 이용한 살균막걸리 10종의 정량적 관능특성 분석

시판중인 살균 막걸리(쌀 베이스) 10종에 대한 관능특성 분석을 실시하였다. 묘사분석 결과의 삼원 분산분석 (three way analysis of variance) 결과는 표 180과 같다. 각 시료 (sample)간에는 시큼한 향, 신맛을 제외한 모든 항목에서 유의적 차이가 나타났다($p < 0.05$). 검사자와 시료간의 교호작용(Judge * sample)이 일부 항목(백색도, 황색도, 과일향, 구수한 향, 효모냄새, 쓴맛, 효모맛)에서 확인되었으나 이러한 차이에도 불구하고 시료간의 유의적

차이가 확인되었다. 그 외의 항목(rep*sample, rep*judge)에서는 낮은 수준의 유의적 교호작용이 나타나 시료간의 평가가 다른 방식으로 이루어졌으나 시료간의 유의적 차이가 확인되어 전반적으로 패널들의 반복실험에 따라 시료에 대해 일관된 평가를 한 것으로 나타났다. 그 외 반복실험(rep)의 경우 일관된 평가를 수행한 것으로 나타났다.

10개의 살균 막걸리 시료의 묘사분석 결과, 10명 검사원의 2회 반복 측정된 결과의 평균점과 다중비교검정(Duncan's test) 결과는 표 181과 같다. 외관 특성에서 백색도 항목에서는 누보막걸리가 가장 높게 나타났고 반면 전주, 배다리 시료가 낮은 점수를 보였다. 황색도에서는 백색도와 반대의 경향을 보였으며 배다리, 전주 막걸리 시료가 가장 높게 나타났다. 탁한 정도에서는 전주, 배다리 시료가 높게 나타나 황색도와 유사한 경향을 나타내었다. 반면 초가, 누보 시료가 가장 낮게 나타났다. 향 특성 분석 결과를 살펴보면 알코올향은 초가와 누보 시료가 가장 높게 나타났고 활, 전주 시료가 낮게 나타났다. 단향과 과일향은 시료간의 차이가 크게 나타나지는 않았으나 활, 배혜정 시료가 높게 나타났고 배다리, 월매, 철원 시료가 낮은 강도를 나타냈다. 구수한향, 효모냄새, 곰팡이내는 시료에서 유사한 강도 수준을 보였고 월매, 배다리가 다른 시료에 비해 높은 강도를 나타내었고, 배혜정, 초가, 누보가 낮은 수준을 보였다. 맛 특성을 살펴보면 모든 시료에서 강한 특성을 나타내지 않았으며 다른 맛 특성에 비해 알코올맛이 높은 것으로 나타났다. 입안감촉을 나타내는 뚝은맛과 바디감, 지속성은 전반적으로 모든 시료에서 낮은 강도를 나타내었다. 누보, 활, 전주 시료가 다른 시료에 비해 약간 높은 수준을 보였다. 각 시료간 비교를 쉽게 하기 위한 cob-web 그래프는 그림 4와 같다. 비슷한 관능특성을 나타내는 시료를 함께 제시하였다. 초가와 누보는 백색도가 가장 강한 시료로 전반적으로 발효 향미가 약하게 나타났다. 국순당, 대포, 배혜정 시료의 경우 전반적인 관능특성에서 중간정도의 강도를 나타냈고 배혜정 시료의 경우 단맛이 높게 나타났다. 반면 배다리, 월매, 전주 시료의 경우 누런색, 탁한 정도가 강했고, 다른 시료에 비해 발효와 관련된 향미인 구수한향, 효모냄새, 곰팡이내, 효모맛에서 높은 강도를 나타내었다. 그 외 활 막걸리의 경우 색상은 누런색과 탁도가 강했으나, 향미에서는 단향, 과일향이 높은 강도를 보였다. 철원 막걸리는 외관에서는 누런색, 탁도가 약간 높게 나타났으나 다른 관능특성의 경우 중간 수준을 보였다.

묘사분석 평가 항목간의 상관관계(correlation coefficient) 분석결과는 표 182와 같다. 백색도는 누런색, 탁한정도, 구수한향/맛, 효모맛과 높은 음의 상관관계를 나타내었다. 탁한정도는 발효향미과 높은 양의 상관관계를 나타내었고 입안 감촉 특성인 뚝은맛, 바디감, 지속성, 목넘김은 모두 높은 양의 상관관계를 나타내었다.

묘사분석 결과의 주성분 분석 (Principal Component Analysis) 결과는 그림 208과 같다(분산분석 결과 유의적 차이를 나타내지 않았던 특성은 제외하였다). 그림 a)의 경우 관능특성을 점으로 제시하였고 그림 b)의 경우 시료의 분포를 나타내었다. 분석결과는 그림에서 보여지는 바와 같이 첫 번째, 두 번째 주성분(PC)은 전체 데이터 편차의 61%와 17%를 각각 대표하고 있다. 그림 a)의 관능특성 항목의 분포를 보면 PC1의 오른쪽으로 백색도, 알코올향이 나타났고 반대편으로 황색도, 탁한정도, 발효향미가 분포하여 강한 대비를 나타냈고

서로 가까이 분포하여 상관관계가 높은 것으로 여겨진다. PC2 상으로는 Y축 방향으로 위쪽으로 단향, 단맛, 과일향/맛이 분포하였고 반대편으로 쓴맛과 입안감촉 특성이 나타났다. 시료의 분포를 살펴보면 그림 b)에서 나타난 바와 같이 PC1의 가장 오른쪽으로 백색도가 높은 누보와 초가 시료가 나타났고 반대편으로는 전주와 배다리 시료가 분포하였는데 이 시료는 황색도가 높고 효모냄새가 강하고 구수한향이나, 곰팡이냄새도 다른 시료에 비해 높게 나타났다. 2사분면에 위치한 배혜정, 대포, 국순당의 경우 단향미와 과일향미가 높고 반면 입안감촉 향미는 약한 수준을 보인 시료였다. 살균막걸리의 경우 생막걸리보다 시료간의 차이가 좀 더 뚜렷하고 일부 시료는 매우 유사한 관능특성을 보여서 살균과정을 통해 생막걸리에 비해 시료간의 미묘한 관능특성 차이가 줄어들어는 것으로 여겨진다. 막걸리의 묘사분석을 통해 정리된 관능특성 용어 및 정의를 바탕으로 2차년도에 전문가 델파이 설문 결과에 활용하였고, 이를 바탕으로 막걸리 관능 품질 평가 항목을 선정에 자료로 사용하였다.

표 180. 살균막걸리 묘사분석의 삼원분산분석 결과(n = 2 reps×10 judges×10samples)

Attribute		Rep	Judge	Sample	Judge*Sample	Rep*Judge	Rep*Sample
백색도	F value	2.04	5.50	24.11	1.63	1.86	0.48
	Pr > F	ns	**	****	*	ns	ns
황색도	F value	0.73	1.54	10.69	2.53	2.57	0.61
	Pr > F	ns	ns	****	****	*	ns
탁한정도	F value	0.81	4.22	18.10	1.28	3.07	1.97
	Pr > F	ns	*	****	ns	**	ns
알코올향	F value	0.04	3.78	8.10	1.37	5.79	2.16
	Pr > F	ns	*	****	ns	****	*
시큼한향	F value	0.21	10.57	1.86	1.35	1.40	1.25
	Pr > F	ns	***	ns	ns	ns	ns
단향	F value	2.95	21.44	2.90	1.64	0.95	1.77
	Pr > F	ns	****	**	*	ns	ns
과일향	F value	2.17	20.82	4.92	1.68	0.39	2.35
	Pr > F	ns	****	****	*	ns	*
구수한향	F value	0.14	3.73	4.24	2.02	3.71	2.89
	Pr > F	ns	*	***	***	***	**
효모냄새	F value	0.02	4.92	2.91	3.00	3.54	2.36
	Pr > F	ns	**	**	****	**	*
곰팡이	F value	3.24	5.56	11.74	1.19	1.17	1.36
	Pr > F	ns	**	****	ns	ns	ns
df		1	9	9	81	9	9

† ns: not significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

표 180. 계속

Attribute		Rep	Judge	Sample	Judge*Sample	Rep*Judge	Rep*Sample
알코올맛	F value	0.18	20.31	4.54	1.61	1.26	1.26
	Pr > F	ns	****	****	*	ns	ns
단맛	F value	0.07	6.40	4.85	1.41	1.23	0.92
	Pr > F	ns	**	****	ns	ns	ns
과일맛	F value	0.58	44.31	4.62	1.14	0.24	1.54
	Pr > F	ns	**	****	ns	ns	ns
신맛	F value	0.37	5.95	1.51	0.85	0.68	0.58
	Pr > F	ns	ns	ns	ns	ns	ns
쓴맛	F value	0.00	14.27	2.92	1.87	1.41	0.74
	Pr > F	ns	****	**	**	ns	ns
구수한맛	F value	2.59	7.21	5.10	1.23	0.90	1.22
	Pr > F	ns	**	****	ns	ns	ns
효모맛	F value	4.20	11.26	4.66	2.25	3.00	2.14
	Pr > F	*	****	****	***	**	*
뽀은맛	F value	0.06	4.92	2.75	1.14	4.25	0.49
	Pr > F	ns	*	**	ns	***	ns
바디감	F value	0.14	57.12	2.07	1.17	0.83	0.36
	Pr > F	ns	****	*	ns	ns	ns
지속성	F value	0.57	8.19	3.37	0.97	2.88	2.13
	Pr > F	ns	**	**	ns	**	*
목넘김	F value	2.03	20.49	3.45	1.40	1.36	1.06
	Pr > F	ns	****	**	ns	ns	ns
df		1	9	9	81	9	9

† ns: not significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ****: p<0.001

표 181. 살균막걸리의 묘사분석 결과(n=2reps×10 judges×10samples)

시료 코드	외관 (Appearance)				향 (Aroma)					
	백색도	황색도	탁한정도	알코올향	시큼한향	단향	과일향	구수한향	효모냄새	곰팡이
누보	8.15 ^a	3.15 ^d	3.75 ^{ef}	6.15 ^a	4.45 ^{ab}	3.90 ^c	5.40 ^{ab}	2.80 ^d	3.45 ^{cde}	2.35 ^d
초가	7.55 ^a	2.75 ^d	3.40 ^f	6.35 ^a	4.20 ^{abc}	4.30 ^{bc}	4.00 ^{cd}	2.65 ^d	2.75 ^e	2.45 ^d
대포	5.70 ^b	4.65 ^c	5.10 ^{cd}	4.45 ^{bc}	4.75 ^a	4.85 ^{abc}	4.45 ^{bcd}	3.65 ^{bcd}	4.75 ^{ab}	3.20 ^{cd}
국순당	5.60 ^b	5.70 ^{abc}	4.50 ^{de}	5.40 ^{ab}	4.35 ^{abc}	4.70 ^{bc}	4.80 ^{bc}	3.25 ^{cd}	3.70 ^{bcd}	2.95 ^{cd}
배혜정	5.15 ^b	5.65 ^{bc}	4.70 ^d	4.30 ^c	4.90 ^a	5.20 ^{ab}	4.70 ^{bc}	2.75 ^d	3.40 ^{cde}	2.55 ^d
철원	4.80 ^{bc}	5.80 ^{abc}	5.85 ^{bc}	3.85 ^c	3.50 ^{bc}	3.95 ^c	4.15 ^{bcd}	3.05 ^d	3.75 ^{bcd}	4.50 ^b
월매	4.80 ^{bc}	5.80 ^{abc}	5.95 ^b	4.35 ^c	4.25 ^{abc}	4.00 ^c	3.60 ^{cd}	4.95 ^a	4.10 ^{abcd}	6.55 ^a
활	3.85 ^{cd}	6.60 ^{ab}	6.40 ^{ab}	3.80 ^c	3.70 ^{bc}	5.80 ^a	6.40 ^a	3.30 ^{cd}	3.20 ^{de}	3.00 ^{cd}
배다리	3.15 ^{de}	6.80 ^{ab}	6.80 ^a	3.60 ^c	3.35 ^c	4.00 ^c	3.30 ^d	4.75 ^{ab}	4.50 ^{abc}	5.10 ^b
전주	2.75 ^e	6.90 ^a	7.05 ^a	4.10 ^c	4.10 ^{abc}	4.15 ^{bc}	3.20 ^d	4.30 ^{abc}	5.20 ^a	4.00 ^{bc}

표 181. 계속

시료 코드	향미/맛(Flavor/taste)					텍스처 / 입안감촉					
	알코올맛	단맛	과일맛	신맛	쓴맛	구수한맛	효모맛	뽀은맛	바디감	지속성	목넘김
누보	5.35 ^{abc}	4.95 ^{bcde}	5.20 ^a	6.80 ^a	3.60 ^{bcd}	3.40 ^{de}	2.85 ^c	3.75 ^a	3.95 ^{ab}	5.50 ^a	3.75 ^{bcd}
초가	6.15 ^a	4.75 ^{cde}	4.20 ^{abc}	4.80 ^{ab}	4.80 ^a	3.60 ^{de}	2.90 ^c	3.60 ^{ab}	3.50 ^{abcd}	5.00 ^{ab}	3.65 ^{bcde}
대포	4.45 ^{cd}	6.00 ^{ab}	4.35 ^{ab}	4.15 ^b	2.45 ^d	4.25 ^{cd}	3.25 ^{bc}	2.70 ^{cd}	3.35 ^{bcd}	4.45 ^{bcd}	3.10 ^{cde}
국순당	5.55 ^{ab}	5.15 ^{bcd}	5.10 ^a	4.40 ^b	4.50 ^{ab}	3.05 ^e	3.05 ^{bc}	2.70 ^{cd}	3.45 ^{abcd}	4.75 ^{abc}	3.45 ^{bcde}
배혜정	4.30 ^d	6.70 ^a	5.20 ^a	3.45 ^b	2.90 ^{cd}	4.00 ^{de}	2.95 ^c	2.30 ^d	3.10 ^{cd}	3.70 ^d	2.85 ^{de}
철원	4.00 ^d	4.70 ^{cde}	3.85 ^{bcd}	3.85 ^b	3.75 ^{abc}	3.85 ^{de}	3.65 ^{bc}	2.90 ^{bcd}	3.05 ^d	4.10 ^{cd}	2.75 ^e
월매	4.75 ^{bcd}	5.45 ^{cd}	3.5 ^{bcd}	4.30 ^b	3.40 ^{bcd}	5.20 ^{abc}	4.00 ^{ab}	3.30 ^{abc}	3.80 ^{abc}	5.30 ^{ab}	4.80 ^a
활	5.30 ^{abc}	5.70 ^{abc}	5.05 ^a	4.05 ^b	3.85 ^{abc}	4.50 ^{bcd}	3.25 ^{bc}	3.50 ^{ab}	4.10 ^a	5.20 ^{ab}	4.10 ^{ab}
배다리	5.30 ^{abc}	4.20 ^{de}	2.95 ^d	3.95 ^b	4.15 ^{ab}	5.65 ^{ab}	4.85 ^a	3.20 ^{abc}	3.60 ^{abcd}	5.00 ^{ab}	3.80 ^{bc}
진주	4.05 ^d	4.00 ^e	3.10 ^{cd}	4.10 ^b	4.15 ^{ab}	5.85 ^a	4.75 ^a	3.25 ^{abc}	3.95 ^{ab}	4.85 ^{abc}	3.60 ^{bcde}

† Mean±SD. 9 point scale(0: none, 1: very weak, 5: normal, 9: very strong)

‡ Means with the same letter in a row are not significantly different at p<0.05 level by Fisher's least significant difference(LSD) test.

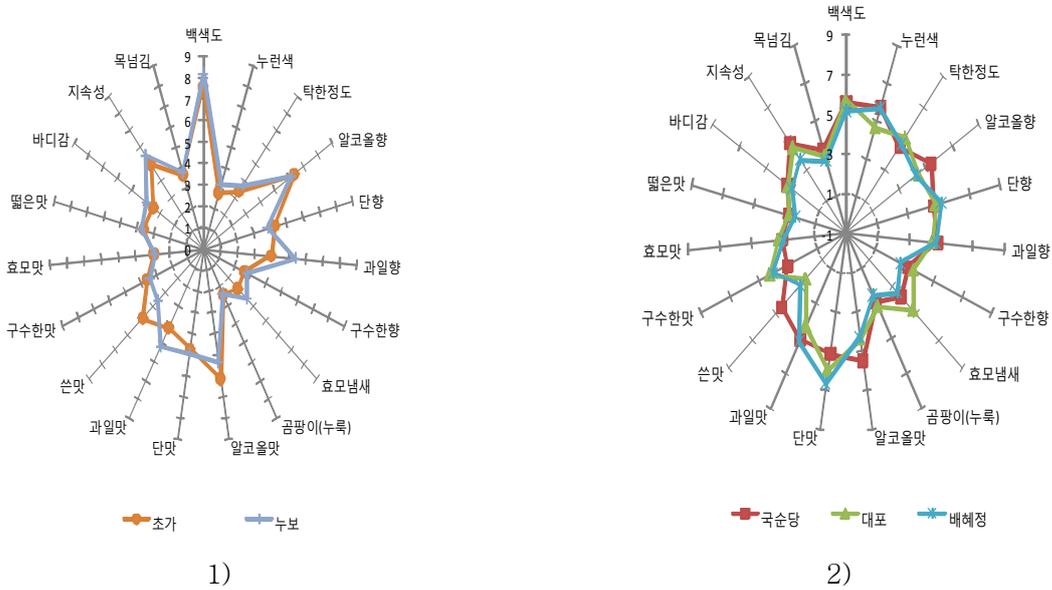
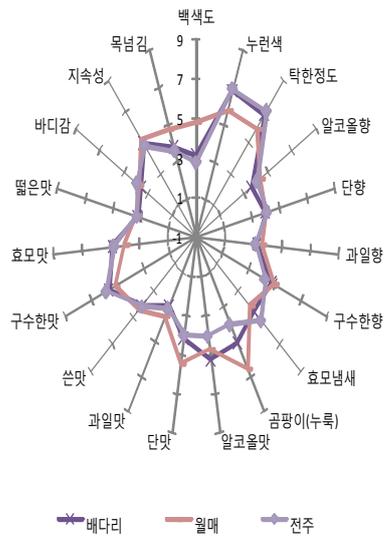
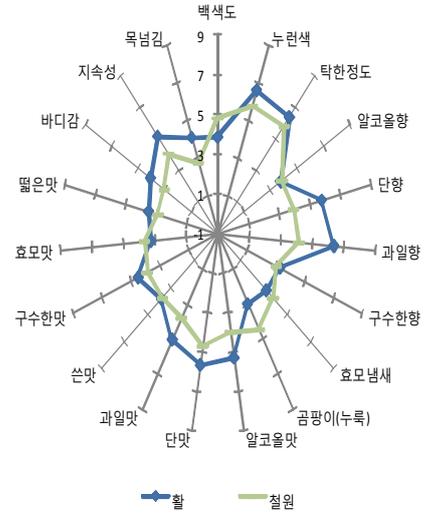


그림 207. 살균막걸리의 관능특성 평가결과 그래프 (n = 10 judges x 2 replications).

- : 1) 백색도가 강하고 발효향미 특성이 약한 시료
- 2) 묘사분석 시료 중 전반적으로 중간 특성을 보인 시료



3)



4)

그림 207. 살균막걸리의 관능특성 평가결과 그래프 (n = 10 judges x 2 replications).

: 3) 황색도, 탁도, 발효향미가 강한 시료

4) 기타 시료시료

표 182. 살균막걸리 묘사분석 관능특성 용어간의 상관관계 분석 결과(n=2reps×10 judges×10samples)

Variables	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1. 백색도	1																		
2. 누런색	-0.962	1																	
3. 탁한정도	-0.955	0.905	1																
4. 알코올향	0.895	-0.887	-0.897	1															
5. 단향	-0.149	0.213	0.015	-0.213	1														
6. 과일향	0.331	-0.187	-0.314	0.178	0.687	1													
7. 구수한향	-0.661	0.600	0.738	-0.549	-0.324	-0.596	1												
8. 효모냄새	-0.608	0.530	0.658	-0.518	-0.295	-0.584	0.723	1											
9. 곰팡이(누룩)	-0.543	0.520	0.647	-0.558	-0.466	-0.601	0.859	0.485	1										
10. 알코올맛	0.492	-0.498	-0.514	0.638	0.052	0.271	-0.227	-0.595	-0.322	1									
11. 단맛	0.226	-0.111	-0.312	-0.035	0.690	0.527	-0.342	-0.325	-0.295	-0.137	1								
12. 과일맛	0.580	-0.407	-0.648	0.450	0.594	0.861	-0.768	-0.648	-0.750	0.269	0.672	1							
13. 쓴맛	-0.038	0.011	0.023	0.276	-0.369	-0.284	0.211	-0.229	0.275	0.545	-0.632	-0.326	1						
14. 구수한맛	-0.793	0.653	0.849	-0.674	-0.173	-0.561	0.847	0.694	0.666	-0.369	-0.356	-0.800	0.082	1					
15. 효모맛	-0.800	0.689	0.849	-0.640	-0.422	-0.705	0.850	0.753	0.730	-0.357	-0.624	-0.906	0.247	0.904	1				
16. 짙은맛	0.233	-0.328	-0.041	0.359	-0.318	0.105	0.085	-0.217	0.042	0.529	-0.529	-0.164	0.525	0.135	0.090	1			
17. 바디감	-0.135	0.101	0.272	0.071	0.034	0.225	0.342	0.101	0.077	0.312	-0.310	-0.075	0.345	0.379	0.236	0.763	1		
18. 지속성	0.160	-0.190	0.013	0.331	-0.258	0.110	0.326	-0.046	0.169	0.589	-0.430	-0.122	0.531	0.174	0.140	0.877	0.863	1	
19. 목넘김	-0.100	0.087	0.220	0.045	-0.119	-0.027	0.578	-0.003	0.486	0.407	-0.179	-0.233	0.538	0.404	0.270	0.644	0.772	0.839	1

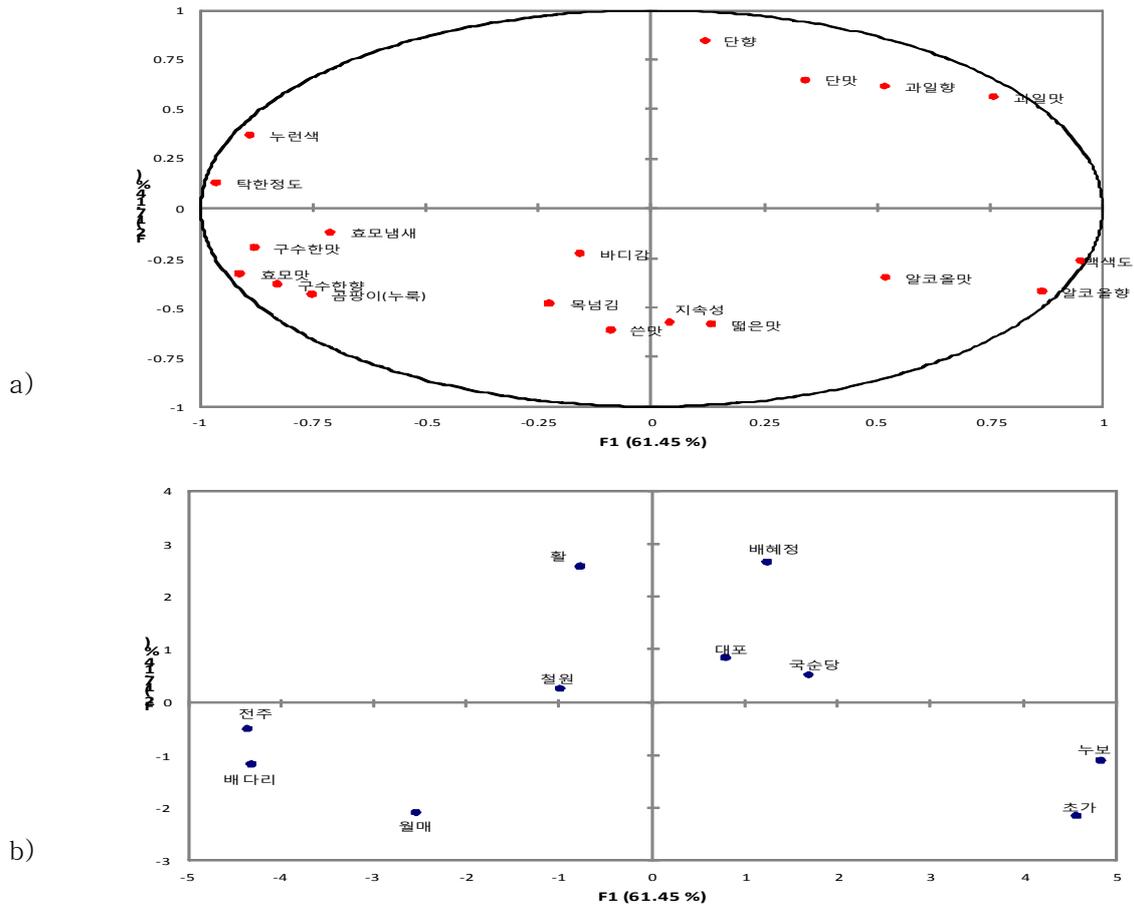


그림 208. 살균막걸리 10종의 묘사분석 데이터의 주성분 분석
(a: 관능특성 분포도, b: 시료 분포도)

(3) 기기분석을 통한 살균 막걸리의 이화학적 특성 및 휘발성분

표 183은 기호도 조사에 사용된 살균 막걸리 10종에 대한 기본적인 이화학적 분석 결과이다. pH와 총산도에서는 시료간의 차이가 크게 나타나지는 않았다. 총산도의 경우 가장 높은 시료가 0.44%, 가장 낮은 시료의 경우 0.31% 수준을 나타내었다. 환원당의 경우 시료간의 차이가 매우 크게 나타났다. 높은 경우 3.25-3.70%수준의 환원당 함량을 나타내었고 낮은 경우는 0.18-0.23% 수준으로 나타났다. 에탄올의 경우 일반적으로 알려진 6-7%보다 높게 나타났다.

SPME법을 사용하여 향기성분을 포집한 후 GC/MS로 분석한 시판 중인 살균막걸리의 시료별 향기성분에 대한 결과를 반응기 그룹으로 나누고 농도(ppm, mg/L)값을 표 184에 나타내었다. 구입을 통해 수집한 7개의 살균막걸리 시료에서 분리 및 동정을 통해 나타난 휘발성분은 ethyl alcohol을 제외하고 총 50종으로

ester류 24종, acid류 4종, alcohol류 7종, ketone류 3종, aldehyde류 2종, volatile phenol류 1종, 미확인물질 9종이 동정되었다. 시료별로는 DP 36종, GS 36종, JJ 40종, CG 35종, BH 42종, CW 35종, WM 33종의 휘발성분이 나타났다. 화학적 특성에 따른 성분들의 peak area%는 ester류가 51.34%, alcohol류 43.34%, aldehyde류 1.42%, acid류 0.65%, ketone류 0.23%순이었고, 미확인물질이 2.98%로 ester류와 alcohol류가 휘발성분의 대부분을 차지하였다. 그 중 ethyl decanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl dodecanoate, ethyl octanoate, 3-methyl-1-butanol(Isoamyl alcohol), phenylethyl alcohol이 주요성분으로 나타났다. phenylethyl alcohol과 ethyl decanoate, isoamyl alcohol이 전체 농도의 60% 이상을 차지하는 높은 농도를 나타내는 성분이었다.

본 연구에서 검출된 ester류 성분이 7종의 시료의 동정된 화합물 중에서 가장 높은 농도를 차지하였으며, 총 24종이 나타났다. BH가 20개의 ester 성분을 함유해 가장 다양하였으며, DP가 15개로 가장 적은 ester 종류를 함유하였다. 함량으로는 JJ가 925.50mg/L로 가장 많은 양을 보였으며, WM가 330.7mg/L로 가장 적은 양의 ester 함량을 보였다. ethyl acetate의 경우 강한 과일향을 내며 한국의 증류식소주나 맥주에서 주요 ester성분이나, 이의 함량이 높으면 오히려 쓴맛을 내는 것으로 알려져 있으며 누룩의 차이에 따라 함량이 달라진다는 보고가 있다. Ester류 중에서는 ethyl decanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl octanoate, ethyl dodecanoate가 각각의 시료에서 많은 함량을 보였다. 사과향의 주된 성분 중 하나인 ethyl hexanoate는 시료 중에서 CW(14.1mg/L), DP(13.3mg/L), GS(10mg/L), BH(10mg/L), JJ(9.55mg/L), CG(6.3mg/L), WM(3.5mg/L)의 순서로 확인되었으며 국내 시판탁주에서 검출되어 보고된 바가 있다. Schreier의 연구결과에 따르면 원료의 발효과정에서 생성되는 alcohol과 acid와의 esterification에 의해 ester류가 생성된다는 보고가 있으며, 이러한 ester는 주류 내에서 방향성을 가지며 미량의 향기성분으로서 알코올보다 향미에 영향을 더욱 미치는 것으로 알려져 있다.

Ethyl alcohol을 제외한 살균막걸리에서 검출된 7종의 alcohol류는 2-methyl-1-propanol (Isobutanol), 1-butanol, 3-methyl-1-butanol, ethoxy-1-propanol, 2,3-Butanediol, 3-(methylthio)-1-propanol, phenylethyl alcohol이 있었다. 3-methyl-1-butanol (iso-amyl alcohol)은 감미성의 바나나 향이 있고, 1-propanol과 isobutanol은 ethyl alcohol과 유사한 향을 갖고 있다고 알려져 있다. 그리고 탁주의 술덧 중에도 많은 양이 함유되어 있으며 맥주의 향미에 큰 영향을 준다는 보고가 있고, 이들은 원료 중에 포함되어 있는 아미노산에서 발효 시 일어나는 탈아미노, 탈카르복시 반응에 의해 생성된다고 알려져 있다. 국내 시판중인 생막걸리의 알코올 성분에서 1-propanol과 Isobutanol, iso-amyl alcohol이 검출되었고, 특히 1-propanol은 자극취를 내며, iso-amyl alcohol은 탁주, 맥주, 청주 등에서 중요한

풍미성분으로 평가된다는 연구와 유사한 경향을 보였다.

Acid는 모두 4개의 성분이 동정되었으며 octanoic acid, nonanoic acid가 7개 시료 모두에서 확인되었으며 2-Hydroxy-propanoic acid, decanoic acid는 각각 4가지 시료에서 확인되었고 이들 acid는 발효과정에서 효모와 박테리아의 합성을 통해 만들어지고, 주류의 기호도에 좋지 않은 향을 내므로 중요한 성분으로 다뤄지지 않는다. 그 외에는 발효할 때 나오는 부산물인 furfural, benzaldehyde, butyrolactone이 확인되었다. Benzaldehyde는 WM 시료에서 86.7mg/L로 가장 높은 함유량을 보였으며 달콤한 향과 맛의 특징을 갖는 성분으로서 꽃향기나 모조향의 제조에 사용된다고 알려져 있다. 가열살균처리 막걸리의 경우 저장기간에 따른 시료간의 차이는 적으나, 가열에 의한 maillard 반응산물로 추정되는 4,8-diacetyl-4H,8H-di[1,2,5] oxadiazolo- [3,4-b:3,4-E] pyrazine 등이 차이에 기여하는 성분으로 규명되었다는 보고가 있으나, 본 연구에서 이 물질은 확인되지 않았다. 또한 살균막걸리에는 존재하지만 성분이 규명되지 않은 9가지 물질이 존재했다. 7가지 물질은 7종의 막걸리에 모두 존재하는 것으로 보아 막걸리의 주요한 향미성분으로 여겨지나 미확인되어 추후 규명이 필요할 것으로 보인다.

표 183. 살균 막걸리의 기초 이화학적 특성

시료	pH	Total acidity (lactic acid, %)	Reducing sugar (%)	Ethanol (%)	Hunter's color value		
					L	a	b
대포막걸리	-	-	-	-	-	-	-
㈜국순당	3.95	0.44	3.25	12.14	20.98	1.3	10.31
배혜정도가	4.02	0.33	3.34	9.29	20.26	1.76	10.05
전주 쌀 막걸리	4.3	0.37	0.18	11.11	14.67	4.02	8.46
철원오대쌀	4.01	0.31	0.19	9.49	16.04	3.36	8.62
서울월매 막걸리	3.92	0.4	0.35	11.63	17.02	3.23	8.88
㈜초가	-	-	-	-	-	-	-
배다리막걸리	4.12	0.31	0.23	12.35	15.02	3.42	8.65
누보막걸리	3.81	0.32	3.7	10.4	23.89	0.25	8.83
활막걸리	4.41	0.31	3.35	11.29	15.1	3.77	8.98

표 184. 살균 막걸리의 향기성분(ppm, mg/L)

KI	Code	Volatile Compound	Sample							Id ⁵⁾
			DP	GS	JJ	CG	BH	CW	WM	
Esters										
872	et1	Ethyl acetate	9	3.4	6.85	9.95	9.35	7.8	2.75	A
1050	et2	Ethyl butanoate	0.2				2.6			A
1240	et3	Ethyl hexanoate	13.3	10	9.55	6.3	10	14.1	3.5	A
1347	et4	Ethyl heptanoate		0.8				1		A
1440	et5	Ethyl octanoate	161.2 5	94.5	137.5	93.1	22.65	132.0 5	39.2	A
1460	et6	Isopentyl hexanoate	3.8	2.1	2.55	2.3		1.75		B
1491	et7	Methyl nonanoate					2.75		1.8	B
1537	et8	Ethyl nonanoate	7.15	4.95	3.85	3.6	4.9	8.35	3.75	A
1595	et9	Methyl decanoate	1.45		1.05	3.8	5.7	1.3	5.9	A
1598	et10	2-Undecanone					2.1			A
1644	et11	Ethyl decanoate	330.1 5	178.7	347.3 5	205.4	196.9	284.6	103. 25	A
1694	et12	Ethyl undecanoate			1.35					B
1726	et13	Propyl decanoate			0.5					B
1824	et14	2-Phenylethyl acetate	74.95	67.2	49.55	12.8	11	45.5	15.3 5	A
1848	et15	Ethyl dodecanoate	81.2	50.4	94.85	50.35	66.9	79.6	27.6	A
2015	et16	Methyl tetradecanoate				1.2	2.15		6.45	B
2055	et17	Ethyl tetradecanoate	42.5	62.8	81.55	50	78.55	55.25	29.7 5	A
2157	et18	Ethyl pentadecanoate		0.7	1.05		1	0.65		A
2222	et19	Methyl hexadecanoate	1.15	1.35	1.65	4.1	16.25	0.7	22	B
2259	et20	Ethyl hexadecanoate	60.15	114.0 5	168.6 5	60.6	216.8 5	104	58.8 5	A

표 184. 계속

KI	Code	Volatile Compound	Sample							Id ⁵⁾
			DP	GS	JJ	CG	BH	CW	WM	
Esters										
2284	e t 21	Ethyl 9-hexadecenoate	1.45	2.9	3.35	1.2	5.3	1	1.15	A
2455	e t 22	Methyl-9-octadecenoate					0.85		2.15	B
2473	e t 23	Ethyl octadecanoate		1.4	1.25		2.75	0.9		B
2498	e t 24	Ethyl oleate	6.2	14.55	13.05	6.55	31.5	9.1	7.25	B
Acids										
1360	ac 1	2-hydroxy-Propanoic acid	1.6	1.3		4.5	5.5			B
2062	ac 2	Octanoic acid	3.8	1.95	5.2	3.7	1	6.35	0.7	B
2168	ac 3	Nonanoic acid	1.3	1.4	1.3	1	1.7	1.35	1.25	B
2273	ac 4	n-Decanoic acid	2.65		4.35	3.15		3.45		A
Alcohols										
1123	al 1	2-Methyl-1-propanol	12.6	4.5	5	10.3	6.3	2.25	3.35	A
1173	al 2	1-Butanol			2					A
1227	al 3	3-Methyl-1-butanol	272.15	188.85	206.55	178.9	205.51	169.9	157.6	A
1384	al 4	Ethoxy-1-propanol	1.6	1.4	2.1	1.35	3.2	1.1	1.15	B
1542	al 5	2,3-Butanediol	3.4	6.15	1.4	29.65	4.7	4.75	2.4	A
1720	al 6	3-(Methylthio)-1-propanol	3.3	2.05	1.35		1.25	1.4	0.9	A
1920	al 7	Phenylethyl alcohol	415.65	376.05	313.65	270.35	409.6	322.9	282.8	A

표 184. 계속

KI	Code	Volatile Compound	Sample							Id ⁵⁾
			DP	GS	JJ	CG	BH	CW	WM	
Ketones										
1196	ke 1	2-Heptanone					1.7			A
1391	ke 2	2-Nonanone			1.4	4.1	7.55		3.45	A
1633	ke 3	Butyrolactone		1				1.05		A
Aldehydes										
1473	ad 1	Furfural	1.9				0.85			A
1527	ad 2	Benzaldehyde	4.55	2.45	5.35	12.4	8.5	4.85	86.7	A
Volatile phenolics										
2208	vp 1	2-Methoxy-4-vinylphenol			3.55					A
Unknown										
1023	uk 1	Unknown	2.85	2	0.95	0.6	1.1			·
1098	uk 2	Unknown	3.85	3.25	2.6	2.2	2.55	3.1	3.65	·
1661	uk 3	Unknown	6.75	4.65	8.1	4.05	1.85	7.15	1.3	·
1682	uk 4	Unknown	4.4	2.4	2.4	19.9	4.45	1.15	0.95	·
1742	uk 5	Unknown	0.35	2.25	0.8	1.05	1.2			·
1808	uk 6	Unknown	2	3.15	2.05	4.15	4.4	2.65	4	·
1866	uk 7	Unknown	7	2.35	6.05	2.65	2.9	3.35	0.95	·
1881	uk 8	Unknown	0.85	1.2	1.2	1.05	1.15	0.75	1.05	·
2568	uk 9	Unknown	7.6	18.25	15.9	7.3	33.75	15.45	11	·

1) Average of the ppm(n=2), see table 4 for sample codes

$$2) \text{ ppm} = \left(\frac{\text{Area of each compound} \times \text{Amount of internal standard}}{\text{Area of internal standard} \times \text{Amount of sample} / 10^6} \right)$$

3) Kovats indices of unknown compounds on DB-WAX column

4) Compounds by order of their Kovats indices in a chemical class

5) Volatiles were identified based on the following criteria: A, mass spectrum and retention index consistent with those of an authentic standard; B, mass spectrum consistent with that of the Wiley 275 mass spectrum database.

6) Volatiles not used in Principal Component Analysis.

나. 살균막걸리의 소비자 및 전문가 기호도 조사

(1) 소비자 일반설문 결과 분석

본 소비자 조사에 참여한 주류 관련 소비자의 인구통계학적 특성을 살펴보면 표 185과 같다. 남,여의 비율은 약 56%와 43%로 반반 정도를 차지하였다. 연령별 분포를 살펴보면 20대와 40대 이상의 분포를 보였다. 월 소득의 경우도 100만원 이하와 400만원 이상으로 반분되는 경향을 보였다.

표 185. 소비자 기호도 및 설문조사 대상의 일반사항 (n=123)

	Category	Frequency	%
성별	남성	70	56.9
	여성	53	43.1
연령	20-29세	70	56.9
	40-49세	28	22.8
	50-59세	21	17.1
	60세 이상	4	3.3
월 평균 소득	100 만원 이하	64	52.0
	100-200 만원 미만	5	4.1
	200-300 만원 미만	6	4.9
	300-400 만원 미만	8	6.5
	400 만원 이상	40	32.5
최종학력	고졸 이하	1	0.8
	2-3년제 대졸	2	1.6
	4년제 대졸	77	62.6
	대학원졸 이상	43	35.0
월 평균 외식비	40만원 미만	78	63.4
	40-60만원 미만	31	25.2
	60-80만원 미만	9	7.3
	80-100만원 미만	3	2.4
	100만원-120만원 미만	1	0.8
	120만원 이상	1	0.8
직업	학생	69	56.1
	일반 사무관리직	13	10.6
	전문직	39	31.7
	주부	1	0.8
	기타	1	0.8

모집된 소비자의 성별에 따른 주류 소비행태와 의식관련 설문결과는 표 186과 같다. 음주빈도에서는 남녀간의 차이가 나타났다. 전반적으로는 남성의 경우 주 3-4회, 주 1-2회, 월 1-2회가 높은 응답을 보였고 주 1-2회가 전체 응답의 42.9%로 가장 높게 나타났다. 여성의 경우 주 1-2회가 41.5%, 월1-2회가 30.2%로 남성과 유사하게 높은 응답을 보였으나 주 3-4회의 경우는 1.9%로 남성 응답률에 비해 현저히 낮은 수준을 보였다. 음주량에서도 남녀의 차이는 두드러지게 나타났다. 남성의 경우 소주 1병으로 응답률이 54.3%로 가장 높았고 여성은 소주 반병이 37.7%로 가장 높게 나타났다. 선호하는 술과 주로 마시는 술에서는 남녀간의 차이가 나타나지 않았다. 가장 선호하는 술로는 맥주, 소주, 막걸리 순으로 나타났고 3위가 막걸리를 차지해 막걸리에 대한 대중의 기호도가 과거에 비해 많이 향상되었음을 알 수 있다. 실제 주로 마시는 술은 소주>맥주>막걸리 순으로 나타났다. 술 선택시 구매 태도에서는 남녀 공히 늘 마시는 술을 선택(56.1%)한다는 응답이 가장 높게 나타났고 다음으로 상황에 따라 바뀐다고(35.0%) 응답하였다. 신제품이 출시되었을 때 음용태도도 대부분 보수적으로 대중화 되었을 때 마신다고 나타났다. 막걸리의 음용 경험으로는 월 1-2회와, 3개월 1-2회가 각각 36.6%, 19.5%로 높게 나타났으나 거의 마시지 않는다고 응답한 경우도 18.7%로 아직 더 많은 소비자들에게 막걸리의 홍보가 필요한 것으로 여겨진다. 막걸리 구입 장소로는 남녀간의 차이가 있었는데 남성의 경우 식품점(일반 슈퍼)에서 구입한 다는 응답이 가장 높았고(50.0%), 여성의 경우 대형할인마트에서 구매하는 경우가 45.3%였다. 선호하는 막걸리 브랜드는 남녀간의 차이가 없었고 서울장수막걸리가 전체 응답의 58.5%로 가장 높은 선호도를 보였다. 다음으로 국순당막걸리로 30.9%로 나타났다. 그 외의 브랜드의 경우 아직 본 연구에 참여한 소비자들에게 많이 알려지지 않은 것으로 여겨진다. 일부 대기업 제품을 제외한 다양한 막걸리에 대해 소비자들이 잘 모르는 경우가 많아 홍보/마케팅이 더욱 필요한 것으로 여겨진다.

주류 구매시 고려 항목의 중요도 설문결과는 표 186와 같다. 측정항목의 분산분석 (2 way ANOVA)결과 중요도 항목 간에 유의적 차이가 있었으며 ($p < 0.05$) 유의적 차이를 보이는 항목이 다른 알파벳으로 표기되었다. 주류의 향과 맛이 역시 구매 시 유의적으로 가장 중요한 요소로 나타났고 이어 가격>구매 용이도도 나타났다. 다음으로는 주위권유, 알코올도수, 브랜드/제조사, 외관, 제품 생산지가 유의적으로 동일한 정도의 중요도를 보이는 것으로 나타났다. 반면 제품의 진열상태나 광고는 중요도가 낮은 것으로 나타났다.

표 186. 성별에 따른 주류 소비행태 및 소비자 의식 비교

항 목	분 류	남성		여성		X ² value
		빈도	%	빈도	%	
평소 음주 횟수	매일	3	4.3	0	0	15.08*
	3-4회/주	11	15.7	1	1.9	
	1-2회/주	30	42.9	22	41.5	
	1-2회/월	20	28.6	16	30.2	
	1-2회/3개월	1	1.4	4	7.5	
	1회/6개월	1	1.4	1	1.9	
	거의안마심	4	5.7	8	15.1	
	기타	0	0	1	1.9	
평소 음주량 (소주)	1-2잔	9	12.9	14	26.4	13.70**
	1/2병	16	22.9	20	37.7	
	1병	38	54.3	13	24.5	
	2병	6	8.6	3	5.7	
	2병 이상	1	1.4	3	5.7	
	기타	0	0	0	0	
선호하는 술	소주	25	35.7	12	22.6	NS
	맥주	25	35.7	21	39.6	
	막걸리	12	17.1	5	9.4	
	와인	3	4.3	6	11.3	
	복분자주	1	1.4	0	0	
	약주/청주	0	0	0	0	
	고알콜증류주	3	4.3	4	7.5	
	기타	1	1.4	5	9.4	
주로 마시는 술	소주	38	54.3	22	41.5	NS
	맥주	22	31.4	25	47.2	
	막걸리	7	10.0	0	0	
	와인	1	1.4	3	5.7	
	복분자주	0	0	1	1.9	
	약주/청주	0	0	0	0	
	고알콜증류주	1	1.4	1	1.9	
	기타	1	1.4	1	1.9	

표 186. 계속

항 목	분 류	남성		여성		X ² value
		빈도	%	빈도	%	
술 선택 태도	늘 마시는 술을 선택	41	58.6	28	52.8	NS
	상황에 따라 바뀜	24	34.3	19	35.8	
	마셔보지 않은 술 선택	0	0	0	0	
	눈에 띄는대로 선택	0	0	2	3.8	
	종업원 권유에 따라	0	0	0	0	
	가격, 품질을 보고	5	7.1	3	5.7	
	기타	0	0	1	1.9	
신제품 출시 응용태도	남보다 먼저 마셔봄	18	25.7	10	18.9	NS
	대중화 되었을 때 마심	44	62.9	40	75.5	
	기타	8	11.4	3	5.7	
막걸리 몇 회 응용하는지	매일	2	2.9	3	5.7	NS
	3-4회/주	5	7.1	1	1.9	
	1-2회/주	6	8.6	1	1.9	
	1-2회/월	28	40.0	17	32.1	
	1-2회/3개월	12	17.1	12	22.6	
	1회/6개월	7	10.0	5	9.4	
	거의 마시지 않음	10	14.3	13	24.5	
	기타	0	0	1	1.9	
막걸리 구입은 어디서	대형 할인마트	18	25.7	24	45.3	7.95*
	식품점(슈퍼)	35	50.0	15	28.3	
	편의점	5	7.1	2	3.8	
	백화점	0	0	0	0	
	우편판매	0	0	0	0	
	기타	12	17.1	12	22.6	
선호하는 막걸리 브랜드	서울장수막걸리	43	61.4	29	54.	NS
	국순당 막걸리	19	27.1	19	35.8	
	느린마을 막걸리	3	4.3	3	5.7	
	전주 막걸리	2	2.9	0	0	
	참살이 탁주	0	0	0	0	
	덕산 막걸리	0	0	0	0	
	기타	3	4.3	2	3.8	

표 187 주류 구입 시 고려항목의 중요도(n=123)

특 성	MEAN	STANDRD DEVIATION	RANK
향/맛 ^a	5.57	0.70	1
가격 ^b	4.38	1.19	2
구매용이성 ^b	4.28	1.16	3
주위권유 ^c	3.88	1.27	4
알코올도수 ^c	3.86	1.28	5
브랜드/제조사 ^c	3.81	1.38	6
외관 ^c	3.68	1.17	7
제품의 생산지 ^c	3.57	1.44	8
진열상태 ^d	3.04	1.45	9
광고 ^d	2.84	1.48	10
LSD(5%) =	0.43		

* : 6점 중요도 척도(6:매우 중요함, 1: 매우 중요하지 않음)

(2) 일반 소비자 기호도 조사 결과분석

표사분석에 사용된 동일한 8종의 살균 막걸리에 대해 123명의 일반 소비자를 대상으로 기호도 조사를 실시하였다. 각 기호도 조사 항목의 조사 결과에 대해 소비자 연령, 성별, 시료, 소비자를 분산의 요인으로 한 분산분석 결과는 표 188과 같다. 전체 기호도 및 다른 세부 기호도 항목에서 모두 시료(sample)간의 유의적 차이가 확인되었다($p < 0.0001$). 향, 맛, 바디감 기호도 평가에서 연령(age; 20대-30대/40대 이상)에 따른 차이가 있는 것으로 나타났다. 성별(gender)간에도 외관기호도를 제외하고 기호도평가에서 유의적 차이가 없는 것으로 나타났고, 성별과 시료간의 교호작용(gender * sample)에서는 모든 기호도 평가 항목에서 유의적 차이를 나타내지 않아 막걸리의 기호도 평가에서 성별에 따른 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$). 반면 연령대와 시료간의 교호작용(age * sample)은 전체적인 기호도, 외관, 맛기호도에서 유의적 차이가 나타나 연령대에 따라 시료의 기호도 평가가 다른 것으로 나타났다. 이러한 결과는 소비자 조사에서 일반적인 것으로 연령과 성별에 따른 차이 보다는 개인 간의 차이가 더 크게 시료의 기호도 평가에 작용하는 것으로 여겨진다.

8종의 살균 막걸리 제품에 대한 소비자 기호도 조사 결과는 표 189과 같다.

분산분석 결과 전 기호도 항목(전체기호도, 외관기호도, 향기호도, 맛기호도, 바디감 기호도)과 단맛정도, 신맛정도 항목에서 시료간의 유의차가 확인되었다 ($p < 0.001$). 전체적인 기호도에서는 대포가 가장 높은 점수를 나타냈고 다음으로는 국순당>배혜정>전주>철원이동>월매>초가>배다리 순으로 나타났다. 대포 막걸리의 경우 소비자 123명의 평균 값이 “5.96”으로 약간 좋다 수준으로 나타났고 “좋지도 싫지도 않다” 수준인 5점 이상을 받은 시료로 국순당과 배혜정 막걸리로 나타났고 다른 시료의 경우 5점 이하로 기호도 수준이 낮게 나타났다. “보통으로 싫다” 수준에서 분포한 것으로 나타났다. 외관기호도의 경우 다른 향과 맛 관련 기호도와 다른 특성을 나타내어 시료간의 점수 차이가 적게 나타났다. 월매 시료를 제외하고 모든 시료가 5.5-6.0 수준으로 나타났고 시료간의 유의적 차이도 월매를 제외하고 나타나지 않았다. 향기호도의 경우 전체적인 기호도와 유사한 경향을 나타내었으나 좀 더 높은 점수를 보였다. 맛 기호도와 바디감 기호도의 경우 전체적인 기호도와 거의 동일한 경향을 나타내어서 전체적인 기호도 점수를 확인할 수 있었다.

소비자 기호도 조사 시에 기호도 평가에 사용된 항목의 전체적인 기호도 평가에서의 기여정도를 순위법을 이용하여 조사하였다. 그 결과는 표 190와 같다. 외관, 향, 맛, 바디감 항목의 전체적인 기호도에 대한 기여정도는 맛>향>바디감>외관 순으로 나타났다. 소비자 간의 기호도 평가항목에 대한 기여도에 대해 인식하는 정도가 유사한 것으로 나타났고 본 결과를 참고하여 품질평가시스템 구축에 활용한 계획이다.

9점 just-about-right scale(JAR) 에 의한, 단맛, 신맛에 대한 평가 결과의 응답 분포를 살펴보았다(그림 209). DP의 경우 단맛 정도 평가점수의 분포를 보면 “딱 좋다”에 가장 많은 56명이 응답하였고, 신맛의 경우 또한 “딱 좋다”에 61명이 응답하여 단맛, 신맛이 적정수준에 있는 것으로 나타났다. WM시료의 평가 점수 분포를 보면 단맛의 경우 “딱 좋다”에 47명이 응답하여 가장 높은 응답을 보였다. 반면 신맛의 경우 신맛의 경우 30명의 응답자가 “딱 좋다”, “강하다”에 25명이 응답하여 신맛의 경우 응답이 나누어졌다. GC 시료의 경우도 단맛, 신맛 모두 “딱 좋다”에 가장 높은 응답률을 보였다. JJ와 CG 시료의 경우 단맛과 신맛 강도에 조절이 필요할 것으로 여겨진다. BD 시료는 단맛은 약하고 신맛은 강하게 응답하여 당산비의 조절이 필요하다. CW 시료의 경우 단맛, 신맛 모두 양하다에 응답률이 가장 높게 나타나 이에 대한 조절이 필요한 것으로 나타났다.

표 188. 소비자 기호도 조사 항목에 대한 분산분석 결과 (n=123)

Source of variation	Degree of Freedom	F-ratios				
		전체 기호도	외관 기호도	향 기호도	맛 기호도	바디감 기호도
Judge	119	2.60****	1.78****	2.05****	2.75****	2.60****
Sample	7	30.77****	3.23**	24.43****	37.49****	12.93****
Age	1	1.29	0.01	4.89*	8.29**	5.44*
Gender	1	0.65	12.06***	0.29	2.17	3.14
Gender*Sample	7	0.90	1.33	1.06	1.22	1.10
Age*Sample	7	3.56***	3.99***	1.79	4.33***	1.76
Gender* Age	1	0.01	1.45	0.13	0.23	0.09

*= (p < 0.05), ** = (p < 0.01), *** = (p < 0.001), **** = (p < 0.0001)

표 189. 살균 막걸리의 일반 소비자 기호도 조사 결과 (n=123)

	전체적인 기호도	외관	향	맛	바디감	단맛의 정도	신맛의 정도
Sample code	acceptability	appearance	aroma	taste	body	Sweet	Sour
DP	5.96 ^a	5.76 ^a	5.90 ^a	5.98 ^a	5.65 ^a	5.22 ^a	4.71 ^{bc}
WM	4.33 ^d	5.09 ^b	4.28 ^{de}	4.14 ^{de}	4.57 ^{de}	4.55 ^b	5.02 ^b
GS	5.47 ^b	5.57 ^a	5.94 ^a	5.59 ^a	5.32 ^{ab}	4.92 ^a	5.01 ^{bc}
JJ	4.98 ^c	5.75 ^a	5.20 ^{bc}	4.59 ^c	5.26 ^{ab}	4.50 ^{bc}	4.06 ^e
CG	4.22 ^d	5.50 ^a	4.64 ^d	3.80 ^e	4.36 ^e	4.20 ^d	4.79 ^{bc}
BD	3.59 ^e	5.87 ^a	4.24 ^e	3.22 ^f	4.20 ^e	3.80 ^e	6.42 ^a
BH	5.20 ^{bc}	5.69 ^a	5.58 ^{ab}	5.15 ^b	5.15 ^{bc}	4.98 ^a	4.24 ^{de}
CW	4.59 ^d	5.56 ^a	5.15 ^c	4.36 ^{cd}	4.80 ^{cd}	4.24 ^{bc}	4.50 ^{cd}

abcde : 같은 열에서 같은 알파벳은 95% 수준에서 유의적 차이가 없음

표 190. 관능적 요인의 기여도에 대한 관능검사 순위법의 빈도수 결과

속성	순위				빈도수합	빈도평균
	1	2	3	4		
외관	8	5	21	89	123	3.55
향	17	60	36	10	123	2.32
맛	91	19	13	0	123	1.37
바디감	7	39	53	24	123	2.76

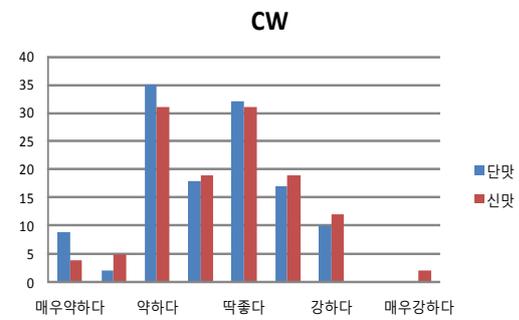
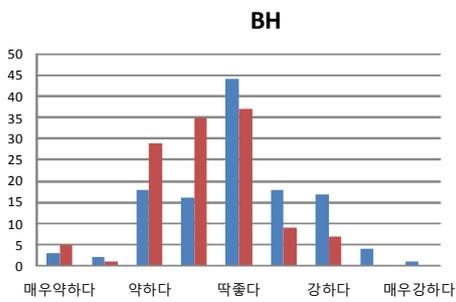
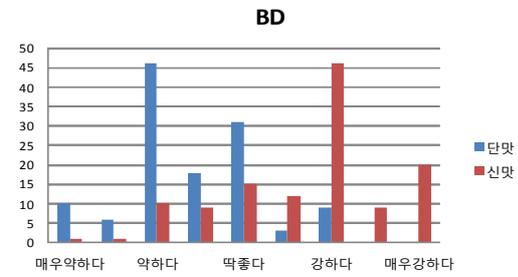
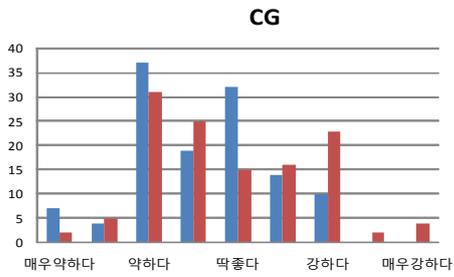
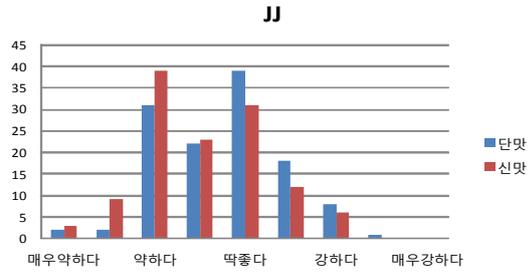
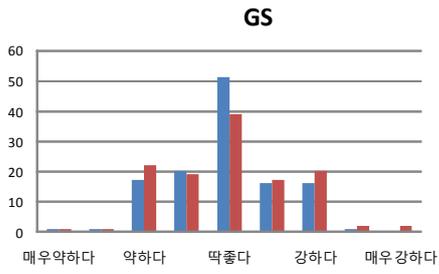
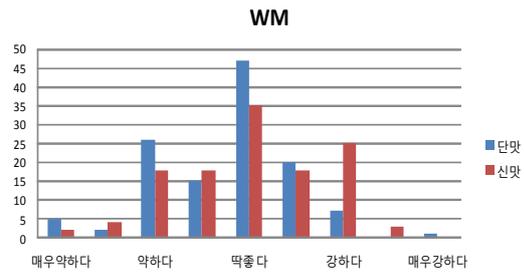
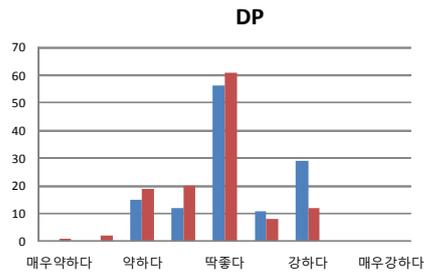


그림 178. 살균 막걸리에 대한 just-about-right scale(JAR) 빈도수 (n=123)

표 191는 관능검사 분석 항목과 기호도 항목간의 상관관계 분석 결과이다. 전체적인 기호도와 유의적 양의 상관관계를 나타낸 것은 단향으로 나타났고 다른 관능특성의 경우 높은 양, 음의 상관관계를 보였으나 유의성은 나타나지 않았다. 전체기호도와 향, 맛, 바디감 기호도는 높은 양의 상관관계를 나타내 서로 동일한 성향의 평가 결과를 나타낸 것을 확인할 수 있었다. 반면 외관 기호도는 다른 기호도 항목과 상관관계가 높지 않았다. 향, 맛기호도와 단향, 과일향, 과일맛과 유의적인 양의 상관관계를 나타내었고 짙은맛과는 음의 상관관계를 보였다.

표 191. 살균막걸리 관능특성 용어와 기호도간의 상관관계 분석 결과(n=8)

Variables	전체기호도	외관	향	맛	바디감
전체기호도	1				
외관	0.163	1			
향	0.938*	0.344	1		
맛	0.990*	0.123	0.938*	1	
바디감	0.974*	0.258	0.917*	0.953*	1
백색도	0.219	-0.346	0.209	0.237	0.003
누런색	-0.103	0.245	-0.062	-0.083	0.092
탁한정도	-0.278	0.215	-0.323	-0.301	-0.071
알코올향	0.129	-0.290	0.138	0.120	-0.035
단향	0.732*	0.283	0.753*	0.755*	0.649
과일향	0.672	0.000	0.763*	0.733*	0.530
구수한향	-0.365	-0.142	-0.537	-0.356	-0.236
효모냄새	0.184	0.359	0.061	0.141	0.367
곰팡이(누룩)	-0.522	-0.460	-0.669	-0.489	-0.436
알코올맛	-0.358	-0.137	-0.290	-0.324	-0.490
단맛	0.564	-0.163	0.474	0.617	0.443
과일맛	0.639	-0.051	0.718*	0.693	0.495
쓴맛	-0.612	-0.419	-0.557	-0.608	-0.618
구수한맛	-0.422	0.135	-0.559	-0.470	-0.251
효모맛	-0.507	0.210	-0.543	-0.541	-0.314
짙은맛	-0.669	-0.312	-0.755*	-0.724*	-0.658
바디감	-0.273	-0.189	-0.445	-0.320	-0.172
지속성	-0.470	-0.384	-0.611	-0.475	-0.457
목넘김	-0.474	-0.617	-0.679	-0.454	-0.469

*= (p < 0.05)

(3) 전문가 대상 기호도 평가 및 소비자 결과와 비교

본 연구에서는 소비자 대상의 기호도 조사에 사용된 동일한 8종의 살균탁주 시료를 가지고 우리술 품질인증 관능검사 평가 전문위원 12명을 대상으로 동일한 기호도 조사를 실시하였다. 본 조사를 통해 소비자와 전문가간의 기호도 평가관련 유사성과 차이점을 파악하고자 하였다. 전문가 대상 기호도 평가 결과는 표 192와 같다. 전문가 평가의 경우 전반적으로 소비자 평가에 비해 높은 점수를 나타내었다. 전체적인 기호도는 국순당 시료가 6.08점으로 가장 높은 점수를 나타내었고 다음은 대포>철원>배혜정>월매>초가>전부>배다리 순으로 나타났다. 소비자 조사에 비해 철원이동막걸리와 월매 막걸리에 대한 기호도가 높게 나타났다. 외관 기호도는 시료간의 크지 않았으나 월매 시료가 다른 시료에 비해 유의적으로 낮은 점수를 보였다. 향, 맛, 바디감의 경우 소비자 조사 결과와 유사하게 전체적인 기호도와 유사한 경향을 나타냈다. 전체적인 기호도 평가에서 일반 소비자와 전문가의 평가 결과를 비교한 결과, 특히 월매와 초가, 철원 시료의 경우 일반 소비자에 비해 전문가 평가에서 좋은 점수를 보였다. 본 연구에 참여한 전문가의 경우 인원이 12명으로 많지 않아 결과를 일반화하기에는 어려움이 있으나 일부 소규모 전문가의 평가 결과를 소비자 평가 결과로 예측하는 데에는 문제가 있는 것으로 여겨지고 전문가의 경우 일반 기호도 평가 보다는 시료에 대한 이해가 좀 더 필요한 자세한 관능특성 항목을 바탕으로 한 품질 평가에 활용하는 것이 적당한 것으로 여겨진다.

표 192. 시판막걸리의 전문가 품질 기호도 조사 결과 (n = 12)

Sample codes	전체적인 기호도	외관	향	맛	바디감	단맛의 정도	신맛의 정도
	acceptability	appearance	aroma	taste	body	sweet	sour
DP	6.08 ^{ab}	6.17 ^{abc}	6.00 ^a	5.83 ^{ab}	6.00 ^{ab}	6.17 ^a	4.67 ^b
WM	5.58 ^{ab}	5.50 ^c	5.50 ^a	5.83 ^{ab}	5.58 ^{ab}	5.25 ^b	5.58 ^a
GS	6.42 ^a	6.83 ^a	6.08 ^a	6.33 ^a	6.00 ^{ab}	5.75 ^{ab}	5.33 ^a
JJ	5.25 ^{bc}	6.08 ^{abc}	5.75 ^a	5.50 ^{ab}	5.33 ^{ab}	5.33 ^{ab}	4.08 ^{bc}
CG	5.33 ^{bc}	6.42 ^{ab}	5.50 ^a	5.00 ^{bc}	5.25 ^b	5.33 ^{ab}	4.00 ^{bc}
BD	4.50 ^c	5.83 ^{bc}	4.50 ^b	4.08 ^c	5.25 ^b	4.00 ^c	3.83 ^c
BH	5.58 ^{ab}	6.50 ^{ab}	5.67 ^a	5.58 ^{ab}	5.58 ^{ab}	5.67 ^{ab}	4.50 ^{bc}
CW	5.83 ^{ab}	6.58 ^{ab}	5.75 ^a	5.83 ^{ab}	6.25 ^a	5.42 ^{ab}	4.58 ^b

abcde : 같은 열에서 같은 알파벳은 95% 수준에서 유의적 차이가 없음

다. 막걸리의 종합적 품질평가시스템 구축을 위한 전문가 델파이 조사 결과

막걸리 관련 관련단체, 업계 및 학계전문가를 대상으로 1차년도 묘사분석 결과와 델파이 1차 설문 결과를 종합하여 품질평가 항목 설정을 위한 설문조사를 실시하였다. 1차 델파이 설문을 통해 자유기입식으로 서술한 항목을 정리하여 표 193의 시각적, 후각적, 향미적, 입안감촉 항목으로 나누어 제시된 각각의 품질특성 항목에 대해 품질평가(안)에 설정 항목으로 포함여부에 대한 전문가 의견을 파악하였다. 표 194의 결과를 살펴보면 시각적 평가항목으로 평가한 10개 항목에 대해 점성도와 짙은 노란색 항목을 제외하고 모두 찬성 및 적극 찬성의견이 과반을 차지하였다. 따라서 위 8개 항목을 시각적 품질평가의 주요 항목으로 선정할 예정이다. 후각적 평가 결과를 살펴보면 세부 단일 과일향의 경우 품질평가 항목으로 포함여부에 유보적인 입장을 나타내는 것으로 나타났다. 단향, 바닐라향, 발효향, 누룩향, 곡물향, 사과향, 알코올향, 신향, 꽃향에 대해서는 전반적으로 찬성의견이 높게 나타났다. 후각적 결합항목의 경우 8개의 경우 모두 품질평가 항목 포함여부에 대다수가 찬성 의사를 표시하였다. 향미적 평가항목의 경우 파인애플맛을 제외하고 모든 항목(단맛, 쓴맛, 신맛, 알토올맛, 과일향미, 사과맛, 참외맛, 복숭아맛, 배맛, 꽃향미, 구수한맛, 누룩향미, 발효향미)에서 찬성의견이 가장 높게 나왔으나 세부항목에서는 전문가 의견이 나누어져서 향후 좀 더 심도있는 의견도출이 필요할 것으로 여겨진다. 향미적 결합항목 5개 항목에 대해서는 과반 이상이 찬성의견을 나타내었다. 입안감촉항목에서는 발열감을 제외한모든 항목에서 찬성의사가 대다수로 나타났다. 일부 항목의 경우 세부 기준시로 선정에 유의해야 할 것으로 여겨진다.

표 195는 각각의 관능특성 항목에 대한 전문가들이 생각하는 일반적인 적정 수준에 대한 설문을 실시하였다. 일반적으로 정확한 기기분석을 바탕으로 한 데이터를 확인하기 전에 고품질 막걸리에 대한 전문가의 일반적인 의견을 파악하기위해 실시하였다. 전반적으로 중간수준의 강도에서 각각의 관능특성이 적합하다는 응답이 많았으나 기호도에 부정적인 영향을 주는 특성으로 여겨지는 쓴향, 알코올향, 신향의 경우 낮은 수준을 적정하다고 보는 의견도 많았다. 반면 누룩향과 발효향의 경우 중간이나 중간에서 약간 낮은 수준을 선호하는 것으로 나타났다. 곡물향이나 과일향미 관련 특성은 중간이나 약간 강한 수준이 높은 빈도를 나타내었다. 바디감의 경우 약간 묵직한 수준, 발열감은 없는 것이 좋다고 나타났으며, 조화도는 가장 높은 수준이 바람직한 것으로 나타났다. 향후 관능적 품질체계 확립시 델파이 조사 결과를 바탕으로 관능적 품질 평가 방안과 평가표 작성에 기초자료로 활용하고자 한다.

표 193. 막걸리 품질평가 항목 선정을 위한 전문가 델파이 설문 결과 (N=29)

항 목	분 류	빈도(%)				
		1 적극반대	2 반대	3 유보	4 찬성	5 적극찬성
I. 시각적 평가항목	색 상 (흰색과 황색 정도)	1(3.6)	1(3.6)	4(14.3)	17(60.7)	5(17.9)
	기포정도 (눈에 보이는 기포정도)	1(3.6)	7(25.0)	8(28.6)	10(35.7)	2(7.1)
	탁 도 (흔들었을 때 탁한 정도)	1(3.6)	0(0.0)	5(17.9)	16(57.1)	6(21.4)
	명 도 (색의 밝고 어두움)	1(3.6)	2(7.1)	7(25.0)	15(53.6)	3(10.7)
	점성도 (탁주의 흐르는 정도)	2(7.1)	4(14.3)	9(32.1)	10(35.7)	3(10.7)
	입자균질도 (탁도 성분의 입자균일성)	0(0.0)	1(3.6)	6(21.4)	12(42.9)	9(32.1)
	시각적 결점항목	짙은노란색	4(14.3)	6(21.4)	9(32.1)	5(17.9)
짙은검은색		6(21.4)	7(25.0)	0(0.0)	8(28.6)	7(25.0)
부유물의 엉킴현상		5(17.9)	4(14.3)	4(14.3)	9(32.1)	6(21.4)
산막형성유무		7(25.0)	1(3.6)	4(14.3)	5(17.9)	11(39.3)
II. 후각적 평가항목	단 향	0(0.0)	2(7.1)	6(21.4)	17(60.7)	3(10.7)
	마닐라향	0(0.0)	5(17.9)	5(17.9)	13(46.4)	5(17.9)
	쓴 향	1(3.6)	10(35.7)	8(28.6)	8(28.6)	1(3.6)
	발효향 (효모를 이용한 발효시 나는 냄새(ex. 양조장))	2(7.4)	1(3.7)	4(14.8)	15(55.6)	5(18.5)
	누룩향 (누룩에서 나는 향(곰팡이내 등))	1(3.6)	5(17.9)	6(21.4)	11(39.3)	5(17.9)
	곡물향(곡물에서 오는 구수한 향(현미, 보리 등))	0(0.0)	3(10.7)	4(14.3)	15(53.6)	6(21.4)
	과일향	0(0.0)	1(3.6)	4(14.3)	18(64.3)	5(17.9)
	사과향	0(0.0)	4(14.3)	5(17.9)	12(42.9)	7(25.0)
	참외향	0(0.0)	5(17.9)	11(39.3)	10(35.7)	2(7.1)
	복숭아향	1(3.6)	3(10.7)	11(39.3)	9(32.1)	4(14.3)
	배 향	1(3.6)	5(17.9)	10(35.7)	8(28.6)	4(14.3)
	파인애플향	1(3.6)	5(17.9)	11(39.3)	7(25.0)	4(14.3)
	알코올향	3(10.7)	9(32.1)	4(14.3)	9(32.1)	3(10.7)
	신 향	1(3.6)	5(17.9)	6(21.4)	13(46.4)	3(10.7)
	꽃 향	2(7.1)	1(3.6)	7(25.0)	13(46.4)	5(17.9)

표 193. 계속

항 목	분 류	빈도(%)				
		1 적권태	2 반대	3 유보	4 찬성	5 적극찬성
후각적 결점항목	유기용매 냄새	4(14.3)	2(7.1)	5(17.9)	10(35.7)	7(25.0)
	원재료 냄새(쌀가루, 밀가루 등)	1(3.6)	6(21.4)	6(21.4)	13(46.4)	2(7.1)
	강한 신향(초산취)	4(14.3)	3(10.7)	3(10.7)	11(39.3)	7(25.0)
	과도한 누룩향	2(7.1)	5(17.9)	3(10.7)	12(42.9)	6(21.4)
	간장냄새	7(25.0)	2(7.1)	4(14.3)	9(32.1)	6(21.4)
	노주냄새	3(10.7)	4(14.3)	4(14.3)	14(50.0)	3(10.7)
	유황냄새	6(21.4)	2(7.1)	6(21.4)	9(32.1)	5(17.9)
	열화취(탄향)	3(10.7)	5(17.9)	6(21.4)	7(25.0)	7(25.0)
Ⅲ. 향미적 평가항목	단 맛	1(3.6)	1(3.6)	5(17.9)	13(46.4)	8(28.6)
	쓴 맛	1(3.6)	4(14.3)	5(17.9)	12(42.9)	6(21.4)
	신 맛	1(3.6)	1(3.6)	3(10.7)	15(53.6)	8(28.6)
	알코올맛	1(3.6)	6(21.4)	6(21.4)	9(32.1)	6(21.4)
	과일향미	0(0.0)	2(7.4)	7(25.9)	12(44.4)	6(22.2)
	사과맛	0(0.0)	5(17.9)	5(17.9)	11(39.3)	7(25.0)
	참외맛	1(3.6)	4(14.3)	9(32.1)	11(39.3)	3(10.7)
	복숭아맛	1(3.6)	3(10.7)	9(32.1)	11(39.3)	4(14.3)
	배 맛	1(3.6)	6(21.4)	8(28.6)	9(32.1)	4(14.3)
	과인애플맛	1(3.6)	5(17.9)	10(35.7)	8(28.6)	4(14.3)
	꽃향미	0(0.0)	2(7.1)	8(28.6)	14(50.0)	4(14.3)
	구수한맛 (곡물에서 오는 구수한 맛(현미, 보리 등))	2(7.1)	1(3.6)	4(14.3)	15(53.6)	6(21.4)
	누룩향미 (누룩(곰팡이)에서 나는 향미)	2(7.1)	3(10.7)	5(17.9)	11(39.3)	7(25.0)
	발효향미 (효모를 이용한 발효시 나는 향미)	3(10.7)	2(7.1)	4(14.3)	11(39.3)	8(28.6)
향미적 결점항목	과도한 신맛	2(7.1)	1(3.6)	4(14.3)	13(46.4)	8(28.6)
	인공감미료맛	0(0.0)	4(14.3)	7(25.0)	19(32.1)	8(28.6)
	과도한 누룩향미	1(3.6)	4(14.3)	3(10.7)	11(39.3)	9(32.1)
	유기용매향미	2(7.1)	4(14.3)	3(10.7)	9(32.1)	10(35.7)
	탄 맛	3(10.7)	4(14.3)	5(17.9)	10(35.7)	6(21.4)

표 193. 계속

항 목	분 류	빈도(%)				
		1 작약반대	2 반대	3 유보	4 찬성	5 적극찬성
IV.후미/입 안감촉 평가항목	탄산미 (탄산의 툭 쏘는 맛)	0(0.0)	2(7.1)	5(17.9)	14(50.0)	7(25.0)
	뽀은맛	1(3.6)	6(21.4)	9(32.1)	12(42.9)	0(0.0)
	목넘김 (목 넘긴 후 자극정도)	0(0.0)	0(0.0)	7(25.0)	16(57.1)	5(17.9)
	바디감 (막걸리의 맛이 깊고 풍부한 느낌)	0(0.0)	0(0.0)	3(10.7)	17(60.7)	8(28.6)
	발열감 (열이 나는 정도)	3(10.7)	10(35.7)	11(39.3)	4(14.3)	0(0.0)
	지속성 (입안을 비웠을 때 향 미가 남아있는 정도)	2(7.1)	1(3.6)	5(17.9)	15(53.6)	5(17.9)
	감칠맛 (입에 당기는 맛)	0(0.0)	0(0.0)	8(28.6)	13(46.4)	7(25.0)
	조화도 (맛과 향의 전체적인 조화도)	0(0.0)	0(0.0)	2(7.1)	9(32.1)	17(60.7)

표 194. 막걸리 품질평가 항목 중 적정 강도 수준에 대한 전문가 설문 결과
(N=29, 중복 응답)

항 목	분 류	적정 강도 수준				
		1(없음)	2	3	4	5(강함)
I. 시각적 평가항목	색 상	흰색 11(28.9)	14(36.8)	9(23.7)	3(7.9)	황색 1(2.6)
	기포정도	기포없음 2(6.3)	7(21.9)	중간 14(43.8)	5(15.6)	기포많음 4(12.5)
	탁 도	맑음 2(5.7)	4(11.4)	중간 13(37.1)	10(28.6)	탁함 6(17.1)
	명 도	밝음 8(22.9)	12(34.3)	중간 10(28.6)	3(8.6)	어두움 2(5.7)
	접성도	묽음 2(5.6)	6(16.7)	중간 20(55.6)	5(13.9)	걸쭉함 3(8.3)
	입자균질도	고르다 12(31.6)	9(23.7)	중간 10(26.3)	15(13.2)	거칠다 12(5.3)
	II. 후각적 평가항목	단 향	3(8.3)	4(11.1)	16(44.4)	9(25.0)
바닐라향		3(8.3)	7(19.4)	9(25.0)	10(27.8)	7(19.4)
쓴 향		11(31.4)	11(31.4)	6(17.1)	5(14.3)	2(5.7)
발효향		5(14.3)	9(25.7)	9(25.7)	7(20.0)	5(14.3)
누룩향		3(8.6)	11(31.4)	12(34.3)	4(11.4)	5(14.3)
곡물향		1(2.7)	4(10.8)	13(35.1)	14(37.8)	5(16.5)
과일향		3(8.1)	4(10.8)	11(29.7)	14(37.8)	5(13.5)
사과향		4(11.4)	5(14.3)	8(22.9)	11(31.4)	7(20.0)
참외향		4(11.4)	7(20.0)	14(40.0)	8(22.9)	2(5.7)
복숭아향		4(10.8)	7(18.9)	11(29.7)	12(32.4)	3(8.1)
배 향		4(11.8)	7(20.6)	9(26.5)	9(26.5)	5(14.7)
과인에플향		3(9.1)	9(27.3)	7(21.2)	10(30.3)	4(12.1)
알코올향		2(5.7)	15(42.9)	9(25.7)	5(14.3)	4(11.4)
신 향		9(25.0)	10(27.8)	7(19.4)	6(16.7)	4(11.1)
꽃 향		4(11.4)	6(17.1)	8(22.9)	14(40.0)	3(8.6)

표 194. 계속

항 목	분 류	적정 강도 수준				
		1(없음)	2	3	4	5(강함)
Ⅲ. 향미적 평가항목	단 맛	0(0.0)	4(10.8)	17(45.9)	9(24.3)	7(18.9)
	쓴 맛	2(5.6)	13(36.1)	8(22.2)	7(19.4)	6(16.7)
	신 맛	2(5.7)	11(31.4)	12(34.3)	5(14.3)	5(14.3)
	알코올맛	5(13.2)	11(28.9)	10(26.3)	7(18.4)	5(13.2)
	과일향미	2(5.7)	5(14.3)	10(28.6)	12(34.3)	6(17.1)
	사과맛	3(8.3)	8(22.2)	8(22.2)	12(33.3)	5(13.9)
	참외맛	5(14.7)	7(20.6)	12(35.3)	9(26.5)	1(2.9)
	복숭아맛	4(11.8)	7(20.6)	8(23.5)	12(35.3)	3(8.8)
	배 맛	5(14.3)	8(22.9)	8(22.9)	11(31.4)	3(8.6)
	파인애플맛	3(8.8)	9(26.5)	9(26.5)	11(32.4)	2(5.9)
	구수한맛	3(8.8)	2(5.9)	9(26.5)	14(41.2)	6(17.6)
	꽃향미	1(2.9)	6(17.1)	13(37.1)	11(31.4)	4(11.4)
	누룩향미	5(14.7)	8(23.5)	9(26.5)	5(14.7)	7(20.6)
	발효향미	7(20.0)	7(20.0)	7(20.0)	6(17.1)	8(22.9)
	Ⅳ. 후미/입안감촉 평가항목	탄산미	2(5.1)	5(12.8)	14(35.9)	12(30.8)
뽀은맛		6(18.2)	10(30.3)	11(33.3)	4(12.1)	2(6.1)
목넘김		부드러움		중간		자극적
		7(18.9)	10(27.0)	10(27.0)	5(13.5)	5(13.5)
바디감		가벼움		중간		묵직함
		3(8.3)	4(11.1)	9(25.0)	15(41.7)	5(13.9)
발열감		11(33.3)	10(30.3)	5(15.2)	6(18.2)	1(3.0)
지속성		짧다		중간		길다
		2(5.4)	3(8.1)	12(32.4)	13(35.1)	7(18.9)
감칠맛		2(5.7)	5(14.3)	11(31.4)	10(28.6)	7(20.0)
조화도	없음		중간		높음	
	1(2.7)	2(5.4)	7(18.9)	11(32.4)	15(40.5)	

라. 다변량분석을 통한 이화학, 기호도, 묘사적 관능특성 분석 결과 모델링

제시된 살균탁주 8종의 소비자 기호도 조사 결과와 동일한 시료의 관능특성 간의 상관관계 파악을 위하여 PLS (Partial Least Squares) regression 분석이 이루어졌다. 결과는 그림 210과 같다. X-data는 묘사분석에서 시료간의 유의적 차이가 확인된 19개의 시료의 관능특성 평가 항목으로 하였고 Y-data는 시료의 전체적인

기호도로 하였다. 빨간 색으로 표시된 기호도가 Y-data로 소비자 123명에 의해 평가된 시료의 전체적인 기호도이고 파란색으로 나타난 것이 19개의 관능특성 항목(X-data)이다. X-data의 주성분(PC) 1과 2는 각각 전체 데이터변동의 50%와 27%를 설명하고 Y 데이터는 주성분 1과 2가 전체 데이터의 변동의 51%와 18%를 설명하였다. 관능특성 항목의 분포를 먼저 살펴보면 전반적으로 PC1 상으로 왼편에는 효모, 곰팡이등 발효관련 관능 특성이, 예로 "곰팡이(누룩)", "효모맛"과 입안 감촉 특성인 "바디감", "지속성", "뽀은맛", "쓴맛"이 분포하였고 반대편에는 과일관련 특성인 "과일향", "과일맛", "단맛", "단향"이 자리 잡아 묘사분석 결과의 PCA분석과 유사한 분포를 나타내었다. PC2 상으로는 위쪽으로 "효모냄새", "누런색", "탁한 정도"가 분포하였고 반대편으로는 "알코올맛", "알코올향", "백색도"가 자리 잡아 외관 특성간의 차이를 주로 나타낸 것으로 여겨진다. 전체적인 기호도(기호도)는 1사분면의 위쪽에 자리 잡아 전반적으로 과일관련 관능특성과 단맛, 단향 특성과 높은 양의 상관관계를 나타냈고 특히 "단맛"과 "단향"과 매우 근접하게 분포하여 높은 관련성을 보였다. 한편 반대편에 분포한 "쓴맛(bitter)", "뽀은맛(astrin)"과는 음의 상관관계를 나타내는 것으로 나타났다. PLS regression 분석결과에서의 시료의 분포를 살펴보면(그림 7. b), 묘사분석결과 시료의 분포와 유사한 양상을 나타내었다. 발효관련 향과 입안감촉 특성에서 높은 강도를 나타낸 배다리, 월매가 PC1의 왼편에 분포하였고 반대로 과일향과 단맛이 강한 배혜정, 대포가 오른편에 자리 잡아 관련 묘사분석 결과와 일치하였다. 알코올향이 다른 시료에 비해 유의적으로 강했던 초가는 2사분면 가장 밑에 위치하였다. 철원과 국순당은 관능특성이 한 쪽에 치우치지 않아서 plot의 중간에 분포하였다.

그림 211은 PLS regression 분석 결과 각 관능특성 별 기호도와와의 상관관계를 나타낸다. 백색도, 단향, 과일향, 단맛, 과일맛은 기호도에 양의 상관관계를 나타냈고 반면 누런색, 탁한정도, 구수한향, 곰팡이(누룩)향, 알코올맛, 쓴맛, 바디감, 지속성, 목넘김은 기호도와 음의 상관관계를 나타냈다. cross-validation에 의한 유의성 분석(uncertainty test) 결과 "지속성" 특성이 기호도와 유의적인 상관관계를 나타내는 것으로 나타났다. 그림 (b)는 PLS regression 분석결과 측정된 시료의 기호도와 회귀분석결과 예측된 기호도의 대비를 보여주는 도표이다. 상관계수는 0.71으로 대체로 높은 예측력을 나타내었으나 본 모델에 사용된 시료가 8개로 전체 모델 안정성 면에서 취약한 특성을 보였고 관능특성이 19개로 많이 사용된 측면이 있다. 품질특성 평가 시스템 확립을 위해 관능검사, 소비자 기호도 조사 결과, 이화학적 분석 결과를 종합하여 품질 평가시스템 확립을 위한 모델을 구축할 예정이다. 대포와 국순당, 전주 시료의 경우 예측치보다 실제 측정치보다 낮은 점수를 나타내는 것으로 나타났고 배혜정, 철원, 초가 시료의 경우 예측치에서 더 높은 기호도 점수가 나타났다. 그 원인을 살펴보면 기호도와 유의적으로 높은 상관관계를 나타내는

단맛과 단향, 과일관련 관능특성에서 높은 점수를 보인 배혜정, 철원 시료가 예측치에서 높은 점수를 나타낸 것으로 여겨진다. 결과적으로 본 실험에서 사용된 살균탁주에서는 단맛, 단향, 과일맛, 과일향이 기호도에 좋은 영향을 주는 것으로 나타났고 반대로 곰팡이(누룩)향, 뽕은맛 쓴맛, 입안감촉 특성(바디감, 묵넘김, 지속성)은 기호도에 나쁜 요인으로 작용하는 것으로 여겨진다.

동일한 살균탁주 시료의 이화학적 특성 및 향기성분 분석결과와 소비자 기호도 조사 결과와의 관계를 파악하고 향후 품질지표 도출을 위해 PLS (Partial Least Squares) regression 분석을 실시하였다. 그림 212는 X-data는 7개의 이화학적 분석 결과와 Y-data는 동일 시료의 기호도 분석 결과 5개 항목(전체적기호도, 외관, 향, 맛, 바디감)으로 하였다. X-data의 주성분(PC) 1과 2는 각각 전체 데이터변동의 64%와 12%를 설명하고 Y 데이터는 주성분 1과 2가 전체 데이터의 변동의 55%와 26%를 설명하여 2차원적인 모형을 나타내었다. 이화학적 특성 중 PC1 상으로 오른편으로 환원당(reducing sugar), L값, b값이 분포하였고, PC1 상 반대편으로 a값이 분포하여 대비를 이루었다. 전체적인 기호도는 향($r=0.938$), 맛($r=0.990$), 바디감($r=0.974$) 기호도와 PC1 상의 오른편 위쪽으로 분포하여 서로 높은 양의 상관관계가 다시 확인되었다. 반면 외관기호도는 다른 기호도 항목과 상관관계를 보이지 않았다. 전반적으로 기호도와 이화학적 분석치 중 환원당, L값, b값과는 양의 관계, a값과는 음의 관계를 가지는 것으로 나타났으나, 시료의 갯수가 제한적이어서 명확한 품질 지표 확립을 위해 더 많은 막걸리 시료에 대한 데이터베이스 확보가 필요할 것으로 여겨진다.

그림 213은 동일 막걸리 시료의 향기성분 분석 결과와 기호도 조사 결과를 바탕으로 한 PLS (Partial Least Squares) regression 분석 결과이다. X-data는 42개의 향기성분 분석 결과와 Y-data는 동일 시료의 기호도 분석 결과 5개 항목(전체적기호도, 외관, 향, 맛, 바디감)으로 하였다. X-data의 주성분(PC) 1과 2는 각각 전체 데이터변동의 30%와 21%를 설명하고, Y 데이터는 주성분 1과 2가 전체 데이터의 변동의 77%와 16%를 설명하여 2차원적인 모형을 나타내었다. 다수의 X-data가 포함되어 X-data의 설명력은 떨어졌으나, 반면 Y-data의 설명력은 올라 전반적인 모형의 설명력은 적정하였다. 그림 a)의 향기성분 분포를 살펴보면 PC1 상의 오른편으로 2-phenylethyl acetate, ethyl dodecanoate, ethyl decanoate, 3-methyl-1-butanol, ethyl hexanoate, phenylethyl alcohol, 3-(methylthio)-1-propanol, ethyl octanoate, ethyl dodecanoate가 분포하여 기호도 항목과 높은 양의 상관성을 나타내었다. 이들 성분은 대개 술 발효 시 생성되는 발효산물로 대표적인 발효주의 향기성분으로 볼 수 있다. 반면 PC1 상으로 반대편에는 benzaldehyde와 여러 개의 unknown 성분들이 분포하였다. 실제 기호도 분석결과 향기성분간의 상관분석에서도 이들 성분은 높은 유의적인 상관관계가 확인되었

다. 3-methyl-1-butanol은 전체기호도($r=0.655$), 바디감기호도($r=0.673$)와 높은 양의 상관관계를 나타내었고, phenylethyl alcohol은 전체기호도($r=0.700$), 향($r=0.764$), 맛($r=0.740$), 바디감($r=0.698$) 기호도와 모두 높은 양의 상관관계를 보였다. Ethyl hexanoate는 향 기호도($r=0.633$)와 2-phenylethyl acetate는 바디감 기호도와($r=0.639$) 높은 양의 상관관계를 나타내었다. 이들 향기성분은 향후 막걸리의 품질 평가와 지표 설정에서 주요한 성분으로 모니터링이 필요한 것으로 여겨진다.

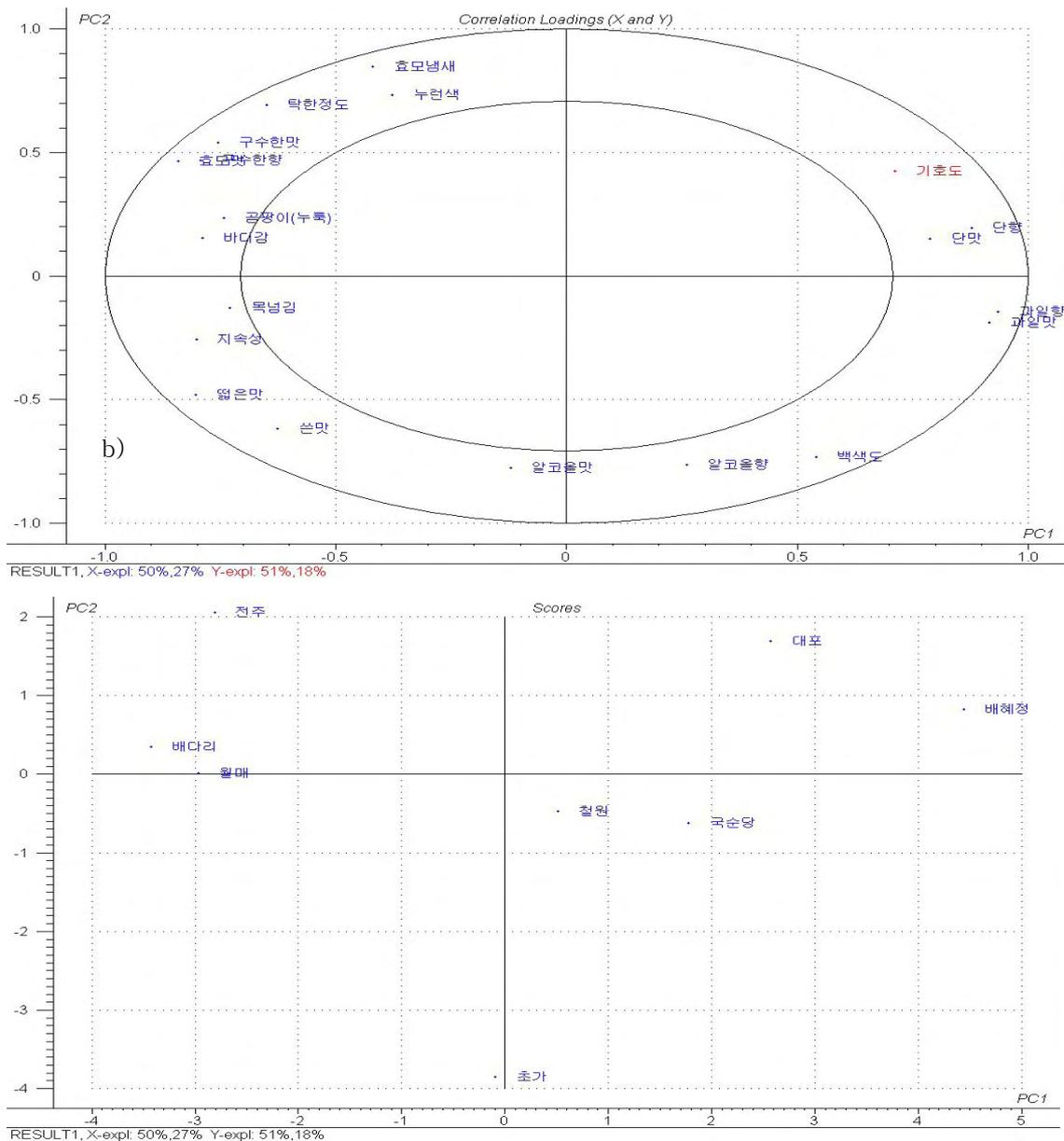


그림 210. 막걸리의 전체적인 기호도($n=1$, RED, Y)와 관능특성간($n=18$, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)

a)

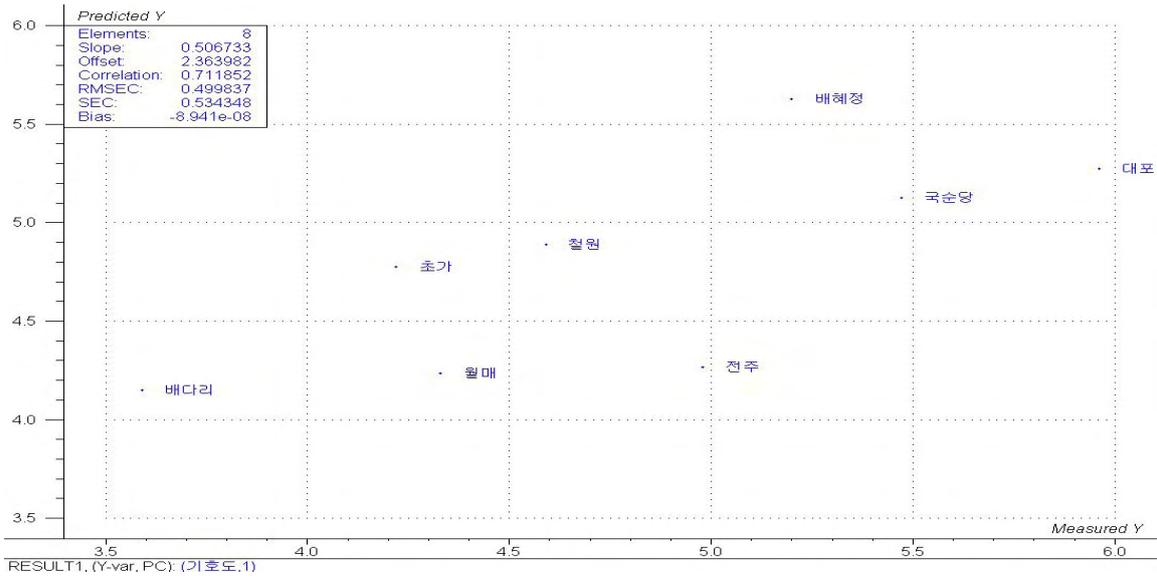
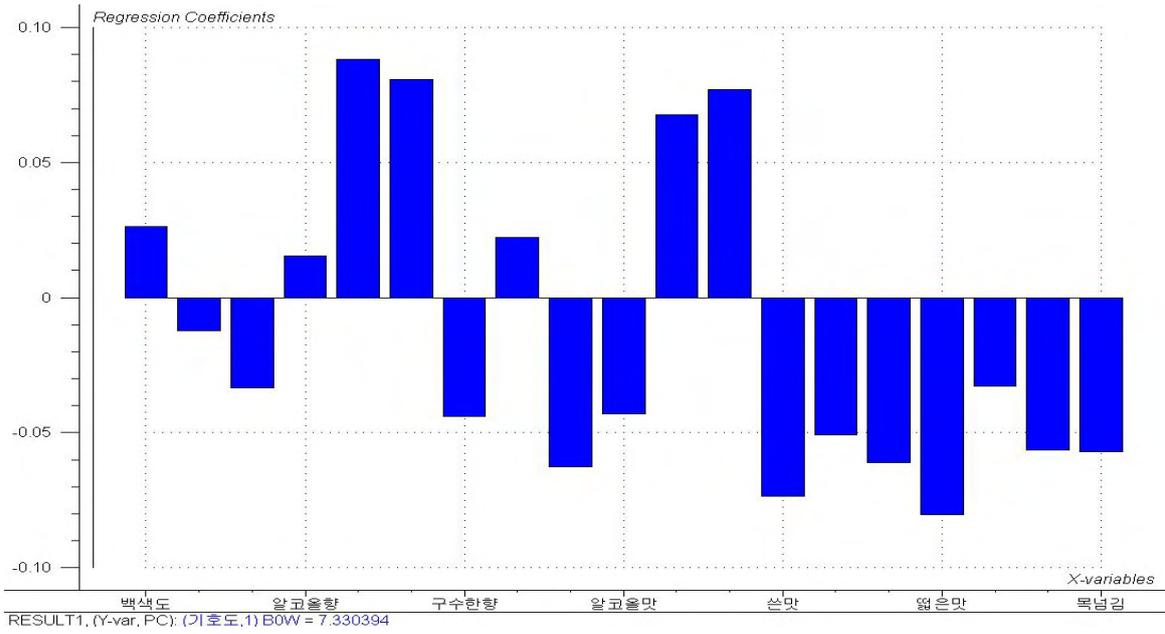


그림 211. 18개 관능특성의 전체적인 기호도에 대한 PLS 분석(그림 7) 기여도 및 예측력 모델(a: 관능특성의 표준화 회귀계수, b: 전체적인 기호도 예측모형)

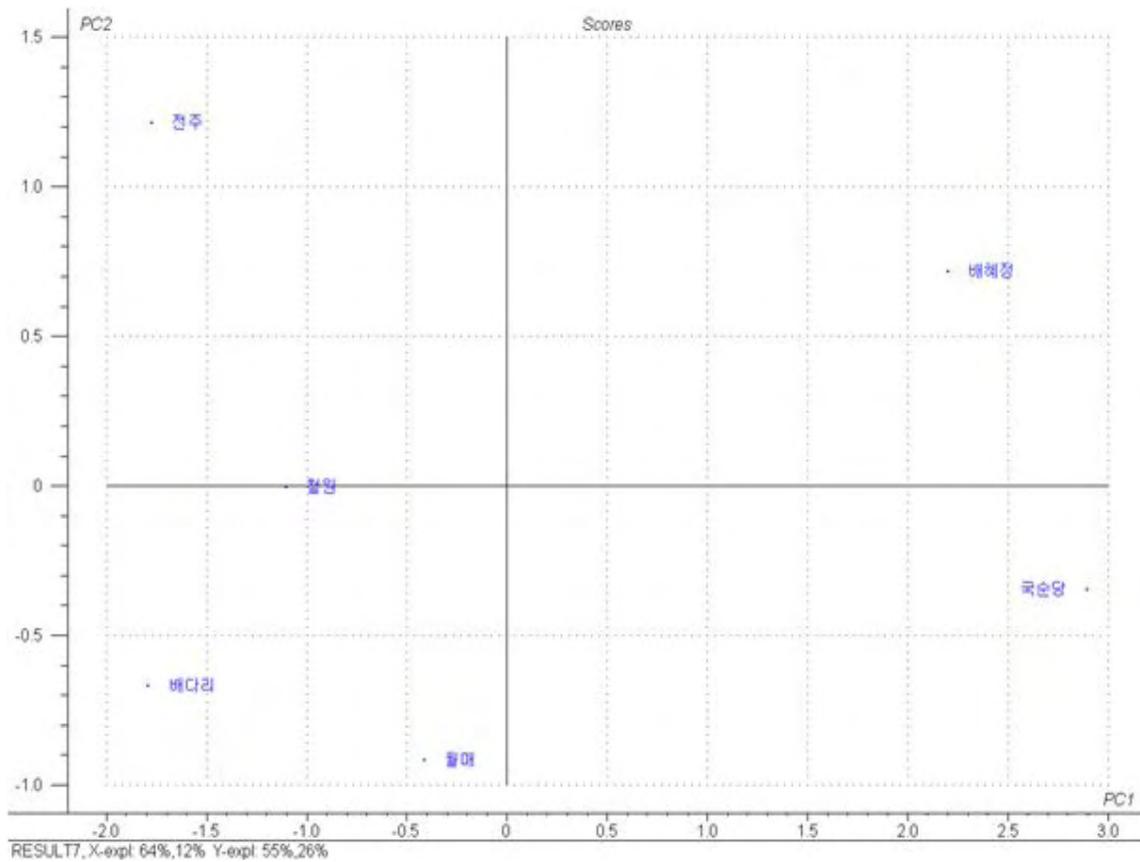
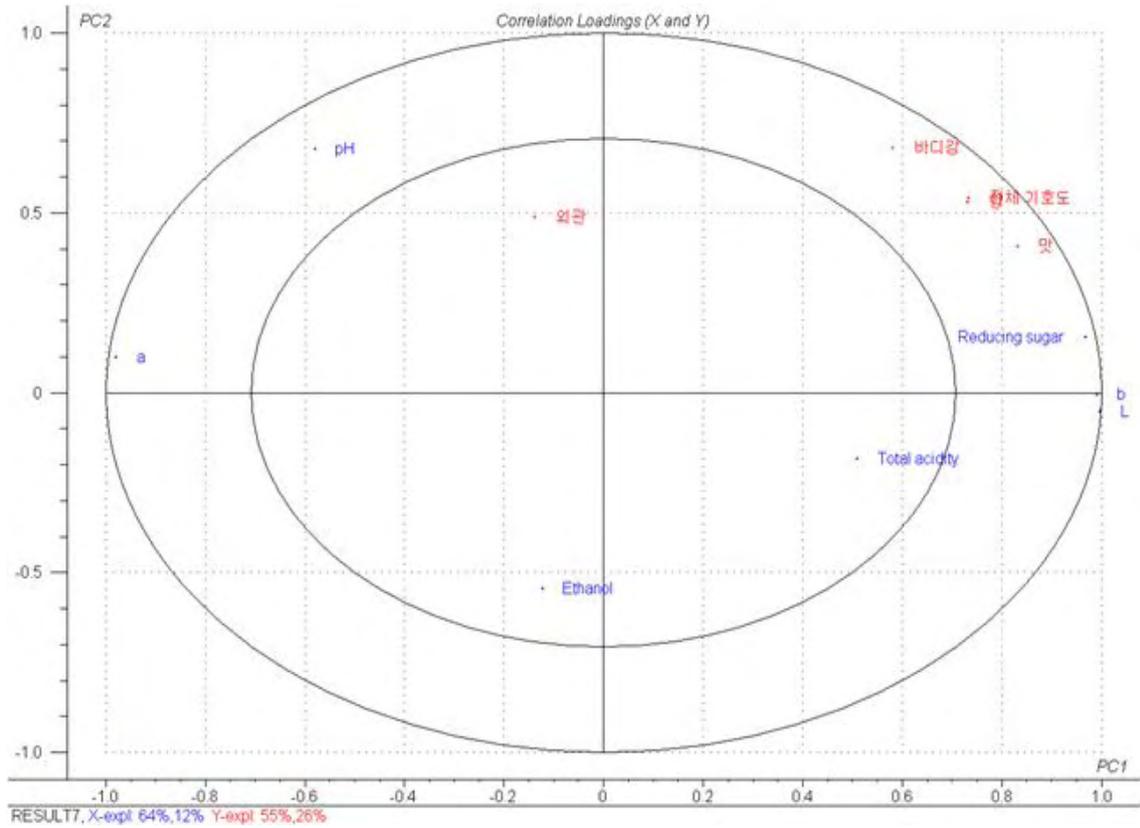


그림 212. 막걸리의 기호도 항목(n=5, RED, Y)과 이화학적특성간(n=7, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)

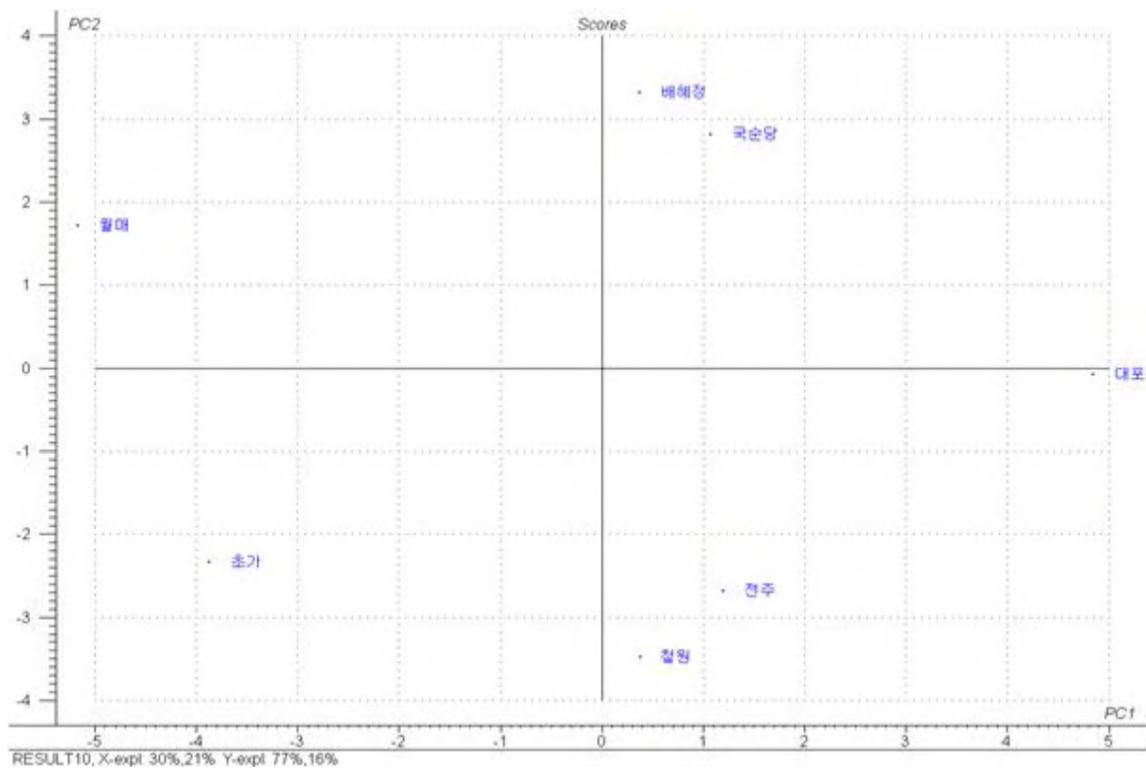
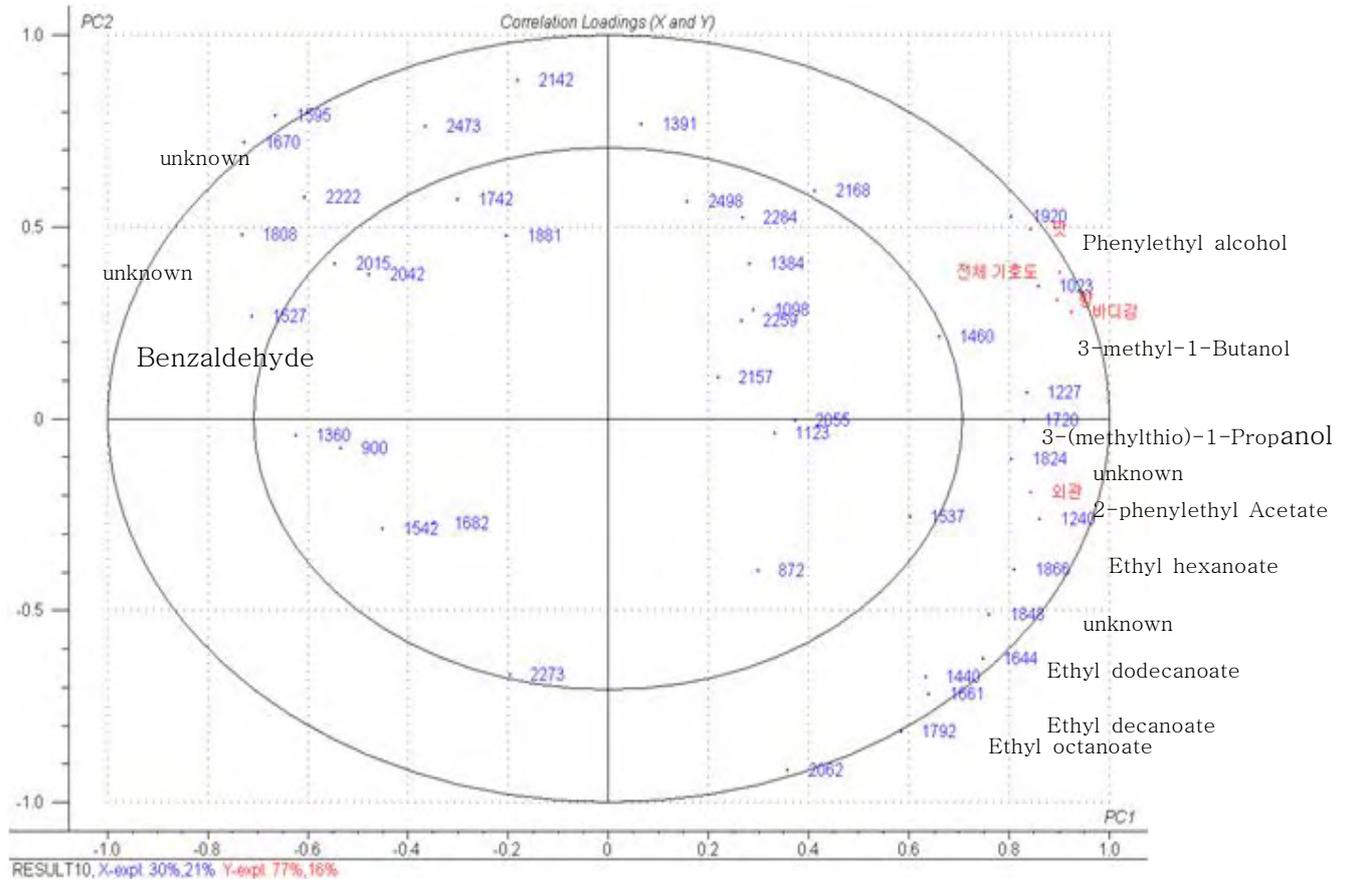


그림 214. 막걸리의 기호도 항목(n=5, RED, Y)과 향기성분간(n=42, BLUE, X)의 PLS regression analysis (a: 변수 분포도, b: 시료 분포도)

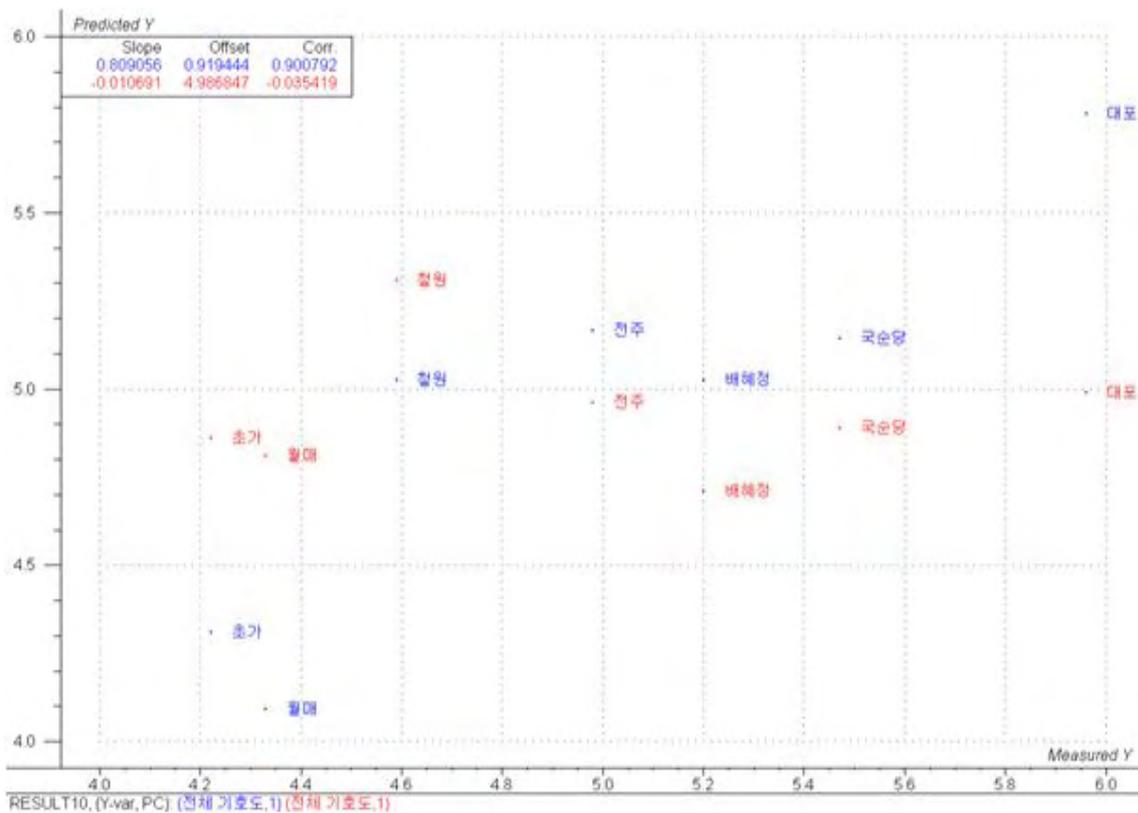
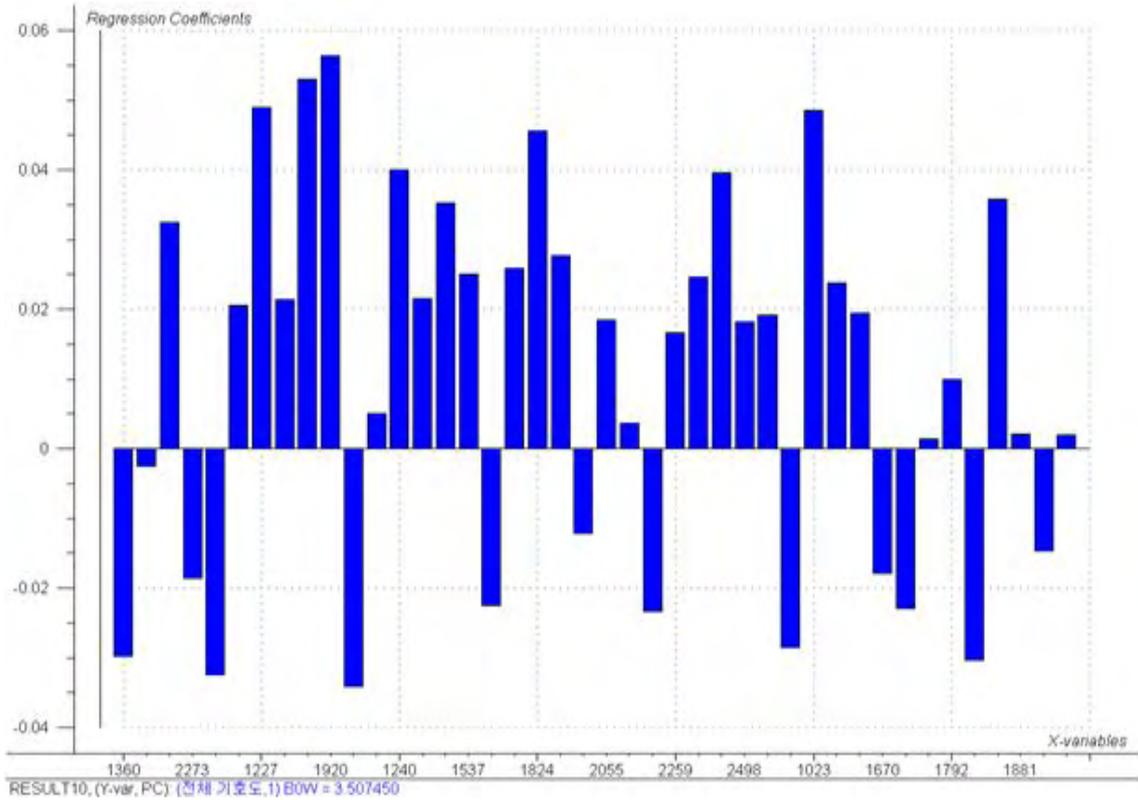


그림 215. 42개 향기성분의 전체적인 기호도에 대한 PLS 분석(그림 11) 기여도 및 예측력 모델(a: 관능특성의 표준화 회귀계수, b: 전체적인 기호도 예측모형)

마. 막걸리의 종합적 품질평가 체계(안) 설정

막걸리의 정량적 관능특성 분석과 전문가 델파이 설문 결과를 바탕으로 막걸리의 종합적 품질 평가 방안을 수립하였다. 먼저 전문가 설문, 소비자 조사, 다른 주류의 품질평가 방법을 참고하여 쌀막걸리의 품질 인자를 설정하였다(표 195). 일반적인 주류의 품질 특성에 영향을 주는 일반적인 인자를 고려하고 현재 수행중인 우리술 품질인증제 관련 품질평가 방법을 참고하여 쌀막걸리의 품질인자로 후각강도, 후각 복합성, 향미 강도, 향미 복합성, 발란스와 바디감, 시각적 평가(색상, 색상 진하기)의 7 항목을 선정하였다. 선정된 항목에 대한 평가의 명확성을 위해 각각 항목의 정의를 확립하고 추후 각 항목별 기준 시료와 표준물질도 제시하여야 할 것으로 여겨진다. 일단 묘사분석에 사용된 표준시료의 사용이 가능할 것으로 여겨진다.

확립된 품질평가 항목에 대한 평가순서는 표 196과 같다. 기존의 주류에 대한 품질평가가 관능검사실(sensory booth)보다는 일반적인 세미나실 등에서 이루어지는 것에 반해, 향후에는 관능검사실의 사용을 일상화하고 이를 통해 주요 환경적 변수가 평가에 영향을 미치지 못하게 하여야 할 것이다. 또한 최근 시각적 평가가 다른 관능특성 항목의 평가에 긍정적 또는 부정적 영향을 주는 여러 연구보고를 참조하여, 시각적 평가를 후각/미각/입안감촉 평가 후에 실시하여 이에 따른 평가 결과에 미치는 영향을 최소화하였다. 일반적인 평가인원은 7-15명 정도가 적절하리라 여겨진다. 스페인 리오하 지역의 와인 품질평가의 경우 7명의 품질평가인원으로 이루어지고 있는데, 우리나라의 대표 주류인 막걸리의 품질평가에서도 품질 평가원의 평가 결과를 모니터링하고 이를 바탕으로 평가원 훈련 및 재교육이 계속 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

최종적으로 쌀막걸리의 품질평가표(안)는 표 197와 같다. 각각의 품질 인자에 대해 7점 척도를 바탕으로 평가하도록 하였으며 복합성의 평가에서는 묘사분석 결과도출된 주요 관능특성의 확인여부에 따라 평가가 이루어지도록 하였다. 또한 결합 항목이 확인된 경우 1-3점으로 평가되도록 하였고 결합항목이 없는 경우 복합성을 나타내는 관능특성 항목 확인 여부에 따라 4-7점으로 평가하도록 하였다. 색상 평가에서는 기존의 색상표를 활용하여 평가가 가능하리라 여겨진다. 향후 개발된 평가표와 평가체계에 대한 전문가 및 업계의견을 반영하여 현재 각종 주류 관련 품평회와 우리술 품질 인증제에 적용이 가능하리라 여겨진다.

표 195. 쌀막걸리의 품질 관련 주요 인자

주요 인자(Parameters)	정의(Definition)
후각 강도 (odor intensity)	전반적인 후각을 통해 느끼는 향의 강도
후각 복합성 (Odor complexity)	후각적 감각의 종류와 정도, 통합적 특성
향미 강도(Aroma intensity)	전반적으로 향미 강도 (미각+후각)
향미 복합성(Aroma complexity)	향미 감각의 종류와 정도 (retronasal perception), 통합적 특성
밸런스 and 바디감(Balance and body)	밸런스: 산도, 짠맛, 쓴맛과 단맛 간의 조화, 특정 미각 특성이 미각적 조화에 깨지않고 과도한 강도를 나타내지 않는 상태 바디감: 맛과 입안 감촉의 정도, 지속성(Consistency), 농도(density)
색상(Colour hue)	유리컵에서 쌀막걸리의 색상
색상 진하기(Colour intensity)	유리컵에서 쌀막걸리의 색상 정도(우유빛, 누런빛 정도)

표 196. 쌀막걸리의 품질평가 순서

평가 환경 (sensory booth)	평가순서
In darkness	<p>1. 후각 강도 (Odour intensity) 글라스의 페트리디쉬를 열지 않고 5초간 대기 후 후각 강도 평가</p> <p>2. 후각 복합성 (Odour complexity) 글라스를 흔들고 수회에 걸쳐 후각 평가. 감지되는 모든 관능특성 표기 및 평가</p> <p>3. 향미 강도 및 복합성 (Aroma intensity and aroma complexity) 시료를 한 모금 마시고, 입안에서 5초 유지하고 입안의 혀를 굴려 향미 특성 평가 극대화. 감지되는 모든 관능특성 표기 및 향미 강도와 복합성 평가 입을 물과 식빵으로 가십</p> <p>4. Balance and body 시료를 한 모금 마시고 입안 전체로 굴려 최대한 입안에 접촉하게 한다. 전체적인 맛의 부조화가 감지되는 표기하고 시료의 밸런스 and 바디 평가</p>
Under white light	<p>5. 색상 (Color hue) 하얀색 용지 위에 글라스를 45도 기울여서 시료의 색상 평가</p> <p>6. 색상 진하기 (Color intensity) 색상평가와 동일한 방법으로 색상 진하기 평가</p>

표 197. 쌀막걸리의 품질 평가표(안)

쌀막걸리의 품질평가표(안)

Sample: _____ Judge number: _____ Signature: _____ Date: _____

후각적 평가항목(Nose parameters)

후각 강도 (Odour intensity)

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

후각 복합성 (Odour complexity)

관능특성:

단향 <input type="checkbox"/>	바닐라향 <input type="checkbox"/>	꽃향 <input type="checkbox"/>	발효향(효모, 양조장) <input type="checkbox"/>
누룩향(곰팡이) <input type="checkbox"/>	익은 과일향 <input type="checkbox"/>	사과향 <input type="checkbox"/>	시큼한향 <input type="checkbox"/>
기타 _____ <input type="checkbox"/>			

↓

결함항목:

유기용매 <input type="checkbox"/>	강한 초산 <input type="checkbox"/>	과도한 누룩향 <input type="checkbox"/>	노주냄새 <input type="checkbox"/>	간장냄새 <input type="checkbox"/>
유황냄새 <input type="checkbox"/>	열화취 <input type="checkbox"/>	기타 _____ <input type="checkbox"/>		

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

향미적 평가 항목(Mouth parameters)

향미 강도 (Aroma intensity)

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

향미 복합성 (Aroma complexity)

관능특성:

과일향미 <input type="checkbox"/>	꽃향미 <input type="checkbox"/>	구수한 향미 (현미, 보리 등) <input type="checkbox"/>
발효 향미(효모 등) <input type="checkbox"/>	기타 _____ <input type="checkbox"/>	

↓

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

Balance and body

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

부조화 원인:

Exc. 과도한 신맛 <input type="checkbox"/>	과도한 인공감미료맛 <input type="checkbox"/>	과도한 누룩향미 <input type="checkbox"/>
유기용매 향미 <input type="checkbox"/>	탄맛 <input type="checkbox"/>	기타 _____ <input type="checkbox"/>

시각적 평가 항목(Appearance parameters)

색상(Colour hue)

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

색상 진하기(Colour intensity)

1-Null 2-Very low 3-Low 4-Medium 5-High 6-Very high 7-Top

Other comments: _____

10. 고품질 막걸리 생산을 위한 최적공정 기술 개발

가. 기초조사 및 업체 현황분석

국내 주류 관련 위해요소 모니터링 결과 수집 및 정리 분석을 통한 막걸리의 안전성관련 선행연구결과 수집 및 분석

(1) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 방법

(가) 국내·외 인터넷 사이트(각국 식품안전사이트, 국내 식품관련 기관 등)

(나) 국내 논문 등의 문헌(산·학·연 연구논문 등)

(다) 국내 언론 등 자료(신문 등)

(라) 기타 자문

(2) 자료 내용 최근 주류 및 막걸리 관련 식품사고 사례 수집 및 원인 분석

(가) 최근 주류 및 막걸리 관련 식품사고 사례 수집 및 원인 분석

(나) 선행연구사업 주류 관련 위해요소별 정리

(3) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 진행

(가) 현재 국내·외에서 연구된 주류 분야에 대한 자료가 부족하고, 작년 말부터 주류안전 관리에 대한 관심 증대로 현재 연구사업들이 진행되고 있는 상황이다.

(나) 인터넷을 통한 주류 이물사건·사고 자료, 기존의 연구 자료 중 비가열 음료에 대한 선행 연구자료를 바탕으로 위해요소 자료를 수집 정리하였다.

(다) 현재 진행중인 연구사업 내용을 바탕으로 추후 선행연구사업 및 위해요소 분석 부분에 대한 자료를 보충할 예정이다.

표 198. 주류 관련 진행 타 기관 연구사업명

연구사업명
주류 안전관리 현황 분석 및 안전관리 방안 마련
주류 중 이물 혼입 원인 규명 및 저감화 방안 연구
주류 제조 작업장 교차 오염 원인분석 및 관리 방안 마련
막걸리 HACCP 관리 표준매뉴얼

(4) 국내 주류 관련 위해요소 자료 수집 결과

(가) 최근 주류 및 막걸리 관련 식품사고 사례 수집 및 원인 분석

표 199. 식료품 품목별 이물 혼입 현황

식료품 품목별 이물혼입 현황 (단위 : 건, %)

품목	이물혼입 건수	점유율	비고(세부품목)
유제품	85	13.7	분유(49건), 마이스크림, 우유, 요구르트, 치즈
제과류	77	12.4	과자(59건), 사탕, 초콜릿
라면	58	9.4	
음료/생수	52	8.4	음료(36건), 생수(15건)
빵류	43	6.9	빵(35건)
죽식식품류	43	6.9	김밥, 햄버거, 샌드위치 등
주류	41	6.6	맥주(27건), 소주(7건), 기타
통조림	22	3.5	장차, 스펀, 등
육류,어류 가공식품	22	3.5	햄(7건), 어묵(5건) 등
차류	14	2.3	커피, 녹차 등
건강기능식품	9	1.5	
기타	154	24.8	식재료 및 기타식품류 등
계	620	100.0	

표 200. 위해요소 항목

주류	사고 내용	원인	일자
소주	소주 이물질 혼입(담뱃재 등)	공병 미세척 사용	2010.11.22
맥주	부유물 검출	품질유지기한 초과	2010.10.20
맥주	부유물 검출	제조공정상의 실수	2009.12.10
소주	폐지 비계 검출	제조공정상의 실수	2009.05.12
소주	병속 이물질	세척상의 실수	2008.11.04
맥주	소시지 껍질 검출	고의적 외부 유입	2009.04.07
맥주	맥주병 깨짐	유통과정중 실수	2008.08.14
맥주	가래 유사 물질	온도관리 미흡	2008.07.08
중국산 주류	사용금지 인공감미료 적발	공정상 혼입	2008.06.08
소주	흰색 가루 검출	세척상의 실수	2007.12.27
맥주	이취, 이물	원인 미상	2007.12.05
맥주	메뚜기	원인 미상	2007.08.16
맥주	제조일자 1년 이상 경과	유통상 실수	2007.02.07

(나) 선행연구사업 주류 관련 위해요소별 정리

① 조사 위해요소 항목

표 201. 조사 위해 요소 항목

생물학적 위해요소	화학적 위해요소	물리학적 위해요소
일반세균수	잔류농약	금속성 이물
대장균	납	유리조각
대장균군	카드뮴	기생충 및 그 알
E.Coli O157:H7	중금속	동물의 사체
S. Aureus	보존료	곰팡이류
B. Cereus	타르색소	나무류
L.monocytogenes	메탄올함량 등	동물의 뱃조각
Salmonella spp.	곰팡이독소(아플라톡신)	돌, 모래, 토사류, 머리카락 등

② 선행연구사업 위해요소 자료 예시

표 202. 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 항목

생물학적 위해요소	화학적 위해요소	물리학적 위해요소
대장균군, 대장균	잔류농약	금속성 이물
세균수, 진균	납	유리조각
Coliform group	카드뮴	플라스틱, 돌, 흙
E.Coli O157:H7	톨루엔	나무조각
S. Aureus	곰팡이독소(아플라톡신)	벌레
B. Cereus	중금속	비닐, 종이
L.monocytogenes	-	-
Salmonella spp.	-	-
Escherichia coli	-	-
분원성 연쇄상구균	-	-
분원성 대장균군	-	-
아황산환원혐기성포자균	-	-
녹농균	-	-
취켈라	-	-

표 203. 위해요소 발생 근거

생물학적 위해요소	화학적 위해요소	물리학적 위해요소
교차오염	원료오염	가공과정의 적합성
원료오염	가공과정의 적합성	종사자 취급 부주의
환경오염	-	시설설비 오작동 및 오류
가공용수의 적합성	-	원료보관관리 부주의
분변오염	-	-

표 204. 위해요소 예방조치 방법

생물학적 위해요소	화학적 위해요소	물리학적 위해요소
입고검사	입고검사	종사자 교육
세척·소독관리	시험성적서 수령	여과공정관리
저수조 청결관리	협력업체 관리	방충방서관리
보관온도관리	소독농도관리	기계설비 청결관리
작업자 개인위생관리 점검	-	-
도구등의 CIP 매뉴얼 준수	-	-

③ 위해요소 및 이물관리 방법(음료류)

표 205. 각 단계별 주요 관리 항목

종사자 관리	교육실시, 개인위생관리, 출입관리
제조환경 관리	작업장 위생관리, 청소도구관리, 폐기물관리, 방충·방서관리,
원·포재료 관리	공급업체 관리, 검사관리, 보관관리
제조·공정 관리	원료입고, 원료보관, 계량 단계, 배합단계, 여과단계, 살균·냉각단계, 증진단계, 포장단계, 보관단계

· 현장조사를 통해 가장 우려가 되는 위해요소는 물리적 위해요소로, 특히, 방서·방충관리, 원·포재료 관리 부분에 대한 추가 자료 필요하며 방충·방서관리를 위해서는 해충의 발생원인을 잘 분석해야 하며, 외부적으로는 조명, 건물의 색, 냄새 등, 원/포재료 혼입, 주변환경을 통한 발생하며, 내부적으로는 공장내 창고서식, 보관 원료에 서식, 제조 설비에 서식, 보관 포재료에 서식, 공장내 원료나 제품의 분진 등이 쌓인 곳에 서식하여 발생한다.

표 206. 업소 내·외부의 방충대책

공장주변 (자연적 요인)	직접적 처치하지 않음
공장주변 (인위적 요인)	영양원 제거 : 청소, 세척, 정돈, 제조, 수종의 변경 숨을 곳 제거 : 청소 정리·정돈 보수 물리·화학적 처리 : 발생원 소각, 살충제 살포·도포
공장내부 (인위적 요인)	영양원 제거 : 청소, 세척, 정리, 보수, 개선, 위생적인 디자인 도입 숨을 곳 제거 : 청소, 정리정돈, 보수, 개선, 위생적인 디자인 도입 물리·화학적 처리 : 열처리, 페로몬제 살포

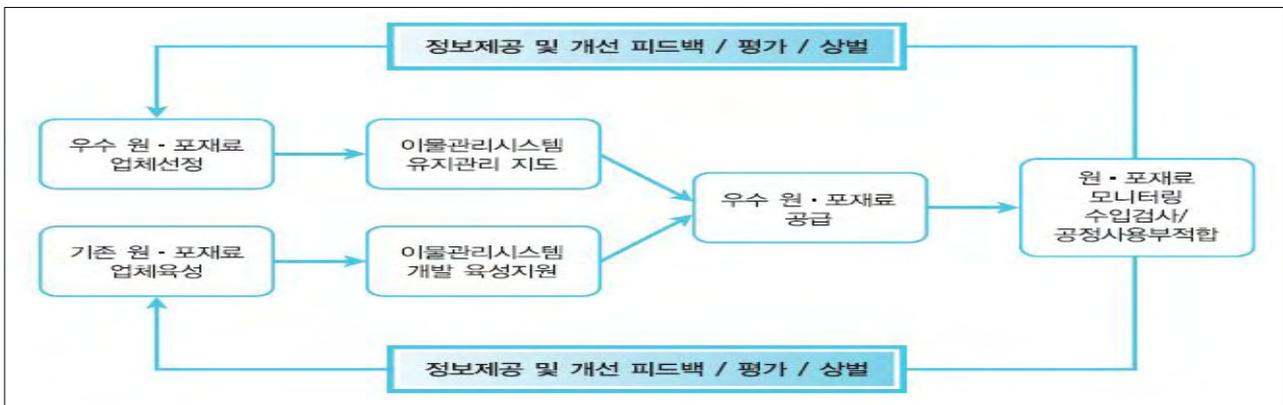


그림 216 . 원·포재료 관리를 통한 이물 제어 방법

나. 막걸리 제조업소를 선정하여 현장중심의 공정기본자료 조사 및 정리

(1) 현장방문 조사항목 및 조사표 개발

(가) 기본조사항목 : 업소현황, 업소규모, 종업원수, 위생관리책임자, 주류의 종류, 생산능력

(나) 서류관리 : 주류면허신고, 주류제조방법신청서, 생산·작업기록, 원료수불부, 제품의 거래기록, 자가품질검사, 건강진단, 위생교육, 음용수수질검사, 생산실적보고

(다) 환경 및 시설관리 : 제조장 위치 및 구조, 작업장, 식품취급시설 등, 급수시설, 화장실, 창고등의 시설, 검사실, 출고·운반관리, 개인위생관리

(라) 우수관리항목 : 공정별(입고, 해동, 계량, 세척, 배합 등) 작업장 관리, 식품취급시설 관리(청결, 유지보수, 검·교정), 창고등 시설관리(청결, 검수, 보관, 반품), 종사자관리, 현장관리(용수, 화장실, 작업장, 식품위생감시원 지적사항), 제품관리(포장, 자가품질검사, 유통기한설정, 제품 유해물질분석, 표시관리, 회수관리, 이물관리, 소비자보호관리)

(마) 행정처분 : 영업정지, 당해 제품폐기 등

(바) 위해요소관리 기초조사 : 업체 자체 실험분석 현황, 보관창고 온/습도 현황, 작업장

온/습도현황

(사) 제품관리 : 제품설명서 작성, 공정흐름도, 위해요소분석

(아) 위해요소 분석 항목 : 원료·제조공정별 제품의 사전 위해요소 분석 및 조사항목(원료, 포장, 공정)

(자) 평면도 : 작업장 평면도

(차) 작업장 세척·청소방법, 기준 : 작업장 세척·청소방법, 기계·설비류 세척, 소독 방법, 위생복장 세척·소독방법, 작업자 복장 착용방법·기준

구분	항목명	내용	비고
인수 현황	인수명		
	인수신고번호		
	인수신고일		
	영업자(대표자)명		
	주요제품명		
공정	소재지		
	소재지명		
	소재지소재지		
	소재지소재지		
	소재지소재지		
인수규모	인수위치	<input type="checkbox"/> 공장 <input type="checkbox"/> 농어촌 산업 <input type="checkbox"/> 도시 <input type="checkbox"/> 기타	년()년
	제조업종		㎡
품질관리	품질관리		명
	품질관리		명
위생관리	위생관리		명
	위생관리		명
주요제품	주요제품		
	주요제품		
기타	기타		
	기타		

평가항목	세부평가항목	평가기준	조사결과		점검사항
			배점	점수	
법규	영업자의 명명		1		
	주요제품명	영업소의 명칭 또는 상호	1		
	주요제품명	주요 제품 식별명 명칭	1		
	주요제품명	주요제품명 명칭서 작성 및 식별명 기재	4		
	생산장업	생산 및 장입기록서 작성 및 기록	4		
	유통부	유통기록서 작성 및 기록	4		
	제품의	제품의 거래기록 작성 및 3년간 기록 보관	4		
	자가품질	자가품질 관리에 따른 검사	4		
	건강관리	회사자의 건강관리 실시 및 관리기록 보관(년 1회 이상)	3		
	위생교육	영업자 위생교육 이수	3		
유용성	유용성	수출물 또는 역입물 수출입에 관한 기록	3		
	유용성	수출물 또는 역입물 수출입에 관한 기록	3		
	유용성	수출물 또는 역입물 수출입에 관한 기록	3		
기타	기타	기타 법규서 준수	3		
	기타	기타 법규서 준수	3		
소 계			38		

평가항목	세부평가항목	평가기준	조사결과	점검사항		
제조공정	위치	건물 및 시설 여부 및 오염방지시설(특수소재, 화학물질, 기타오염물질 등)과 불청거리 유지 또는 오염방지시설 등	3			
	구조	건물구조 및 환기유지	3			
	폐기	구조물의 내구력 및 건축재료의 재질	3			
		폐기물 배출의 용도로 사용되는 시설과 폐기물 배출 시설은 다른 작업장과 구분(제조공정의 자동화 설비 등)이 없다고 인정되는 경우 제외	3			
	작업실	폐기물 배출의 용도로 사용되는 시설과 폐기물 배출 시설은 다른 작업장과 구분(제조공정의 자동화 설비 등)이 없다고 인정되는 경우 제외	3			
		폐기물 배출의 용도로 사용되는 시설과 폐기물 배출 시설은 다른 작업장과 구분(제조공정의 자동화 설비 등)이 없다고 인정되는 경우 제외	3			
		폐기물 배출의 용도로 사용되는 시설과 폐기물 배출 시설은 다른 작업장과 구분(제조공정의 자동화 설비 등)이 없다고 인정되는 경우 제외	3			
		폐기물 배출의 용도로 사용되는 시설과 폐기물 배출 시설은 다른 작업장과 구분(제조공정의 자동화 설비 등)이 없다고 인정되는 경우 제외	3			
	바닥	바닥	바닥	3		
		바닥	바닥	3		
내벽	내벽	내벽	3			
	내벽	내벽	3			
벽기 및 천장	벽기 및 천장	벽기 및 천장	3			
	벽기 및 천장	벽기 및 천장	3			

평가항목	세부평가항목	평가기준	조사결과	점검사항		
제조공정	제조공정	제조공정	3			
	제조공정	제조공정	3			
	폐기	폐기	폐기	3		
		폐기	폐기	3		
	계량	계량	계량	3		
		계량	계량	3		
	배합	배합	배합	3		
		배합	배합	3		
	중량	중량	중량	3		
		중량	중량	3		
상관/열관	상관/열관	상관/열관	3			
	상관/열관	상관/열관	3			
냉각	냉각	냉각	3			
	냉각	냉각	3			
여과장치	여과장치	여과장치	3			
	여과장치	여과장치	3			
입작	입작	입작	3			
	입작	입작	3			
배합	배합	배합	3			
	배합	배합	3			
건조	건조	건조	3			
	건조	건조	3			
계정	계정	계정	3			
	계정	계정	3			
수송	수송	수송	3			
	수송	수송	3			
배합	배합	배합	3			
	배합	배합	3			

IV. 행정처분

※ '행정처분'은 조사시점 1년전부터 조사시점까지의 행정처분 받은 사항을 기재한다.

구분	행정처분 내용	단위	감정 기준	감정 점수	평가 점수
영업정지		일	영업 3점 감점 추가	-3	0
영업정지 및 말해 제류 폐기		일	영업 5점 감점 추가	-5	0
특류제조정지		일	영업 2점 감점 추가	-2	0
특류제조정지 및 말해 제류 폐기		일	영업 3점 감점 추가	-3	0
특류제조정지		일	영업 1점 감점 추가	-1	0
특류제조정지 및 말해 제류 폐기		일	영업 2점 감점 추가	-2	0
시설개선명령		건	건당 5점 감점 추가	-5	0
시정명령		건	건당 3점 감점 추가	-3	0
				총점	0

1. 현재 자체 실험분석현황

실험/분석항목	실험/분석 방법	실험/분석 방법		실험/분석 방법		실험/분석 방법		실험/분석 방법	
		실험/분석 방법							
중금속	원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형
중금속	원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형	<input type="checkbox"/> 원형

2. 보관장고 온도/습도현황

장소명	온도/습도 측정주기	온도/습도 측정방법(설비)	측정용도(°C/습도%)

3. 작업장 온도/습도현황

작업장명	온도/습도 측정주기	온도/습도 측정방법(설비)	측정용도(°C/습도%)

1. 제품관리

제품설명서 작성	유통기한 등		개별(일)		보관기준		°C
	유통기한설정근거자료	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무	<input type="checkbox"/> 자체실험	<input type="checkbox"/> 외부()	<input type="checkbox"/> 외부()	<input type="checkbox"/> 기타()	
공정흐름도	소비대상	<input type="checkbox"/> 소비자용	<input type="checkbox"/> 영업소용	<input type="checkbox"/> 기타()	<input type="checkbox"/> 기타()		
	섭취방법	<input type="checkbox"/> 비가열	<input type="checkbox"/> 가열	<input type="checkbox"/> 기타()			
	제조공정도	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무	공정별 가공방법	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무			
	도면	작업장평면도	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무	작업자 이동동선	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무		
위해요소 분석	현장과 일치성	환기/공조시설계통도	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무	원료/공정품 이동동선	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무		
	근거자료	용수/배수처리계통도	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무	폐기물 이동동선	<input type="checkbox"/> 유 <input type="checkbox"/> 무		
	실험여부	현장구원이 현장확인 을 통해 체크함	<input type="checkbox"/> 일치	<input type="checkbox"/> 불일치			
	실험수행	조각돌래임자료 등	<input type="checkbox"/> 학술문헌/전문자료	<input type="checkbox"/> 자체클래임자료 등	<input type="checkbox"/> 외부시험성적서 등	<input type="checkbox"/> 실험수행	
집재적 위해요소도출	공정	<input type="checkbox"/> 원료	<input type="checkbox"/> 공정	<input type="checkbox"/> 외부(식품위생검사기관)	<input type="checkbox"/> 외부(일반기관)	<input type="checkbox"/> 제품	<input type="checkbox"/> 유통/판매

※ 위해요소 분석 부분은 업체에서 만약 하고 있다면 인덕부 및 자료를 통해서 체크 부탁드립니다.
 ※ 위해요소 분석 항목은 업체에서 현재 관리하고 있는 항목에 대해서 기입해주시고..만약 업체에서 전혀 관리가 되고 있지 않다면 조사원께서 위해요소가 현장을 둘러보고 위해요소가 발생할 수 있는 항목에 대해서 체크 부탁드립니다.
 조사시 다음 페이지에 업체 자료인지, 조사원 현장검토인지 체크하여 주시기 바랍니다.
 ※ 제품설명서, 공정흐름도 등 자료는 업체에 이해를 구한 다음 복사드립니다
 ※ 평면도, 작업장세척, 청소방법, 작업장 복장 착용방법 기준은 업체 자료를 복사하여 주시기 부탁드립니다.
 - 만약 자료가 없을시 개략적으로라도 기입하여 주시기 바랍니다.
 - 제품설명서 또한 같이 복사 부탁드립니다.

2. 원료 제조공정별 제품의 사전 위해요소 분석 및 조사 항목

업체자료 조사원 현상검토

작성방법	항목	주제	분석항목						비고
			생물학적		화학적		물리적		
항목	주기	주제	항목	주기	주제	항목	주기	주제	
주요의 항목과 주제	생물학적, 화학적	주제	항목	주기	주제	항목	주기	주제	
분석항목	생물학적	주제	항목	주기	주제	항목	주기	주제	
물리적	항목	주기	주제	항목	주기	주제	항목	주기	

【참고 :】
 [1. 원료] * 목록에 해당하는 원료명이 있을 경우, 항목, 주기 등을 기록하고, 해당하는 원료가 목록에 없는 경우 원료명을 직접 기록하고 항목, 주기 등을 기록할 것

표 207. 조사업소 현황

지역	업소수
서울, 경기	10
강원	2
충청	1
경상	6
전라	3

(3) 현장방문 조사결과

(가) 기본조사항목

① 업소 규모

조사대상 업소 22개소 중 농어촌 지역 13개소(59.1%), 도시 및 기타 지역 9개소(40.9%)에 위치한 것으로 나타났으며, 이를 통해 농어촌 지역 업소에서는 곤충 및 벌레 등의 노출에 많은 곳에 위치한 것으로 보여 졌다. 그리고 22개 업소의 평균 작업장 년수는 18년이며, 7군데 업소는 최근 2.4년 이내에 개보수를 진행하였으나, 10년 이상의 건물로써 내·외부적으로 위해 요소가 발생할 수 있는 환경에 놓여 있게 되었다. 또한 검사실 소유는 22개소 중 8개소만이 갖추고 있어 위해요소 분석시 시설 및 인력적인 규모가 부족한 것으로 보여진다.

표 208. 업소규모 현황

업소위치		농어촌 13개소, 도시 및 기타 9개소
작업장 년수(개보수년수)		18년(2.4년)
건물소유현황		자가(18개소)/임대(1개소)/무응답(3개소)
면적	대지	2,988.5평
	사용건물	959.1평
	작업장	466.1평
	창고	241.2평
	검사실	27.9평(7개소)

② 종업원수

종업원 종사자수는 조사대상 업소 22개 중 10인 이하 업소가 6개소(27.3%), 20인 미만 업소가 6개소(27.3%), 20인 이상 ~ 50인 미만 업소가 7개소(31.8%), 50인 이상 종사업소가 3개소(13.6%)로 나타나 50% 정도가 20인 이하가 종사하는 소규모 업소인 것으로 나타났으며, 주로 생산직원의 종사자로 구성되어 있으며, 식품위생 및 식품안전 관리 전담 직원은 전무한 것으로 보여진다.

표 209. 종업원수 현황

지역	업소수
10인 이하	6개소
20인 미만	6개소
20인 이상 ~50인 미만	7개소
50인 이상	3개소

③ 생산능력

연간 생산액은 조사대상 업소 22개 중 100톤 이하 생산업체가 1개소(4.5%), 100톤~1,000톤 이내 업소가 2개소(9.1%), 1,000톤~10,000톤 이내 업소가 4개소(18.2%), 10,000톤 이상 종사업소가 10개소(45.5%)로 나타났으며, 현장조사 업소가 생산능력면에서 대규모 생산업소임을 나타내나, 생산규모에 비해 식품안전 및 식품위생관리 능력에는 취약한 것으로 보여진다. 미응답한 업소의 경우는 정확한 자사의 생산량에 대한 자료가 부족한 것으로 보였다.

표 210. 연간 생산능력 현황

지역	업소수
100톤이상 ~1,000톤 미만	2개소
1,000톤 이상 ~10,000톤 미만	4개소
10,000톤 이상 ~	10개소
기타(~100톤 미만)	1개소(5톤)
미응답	5개소

(나) 서류관리

서류관리 부분은 국세청과 식약청에서 관리하고 있는 법적 관련 서류 항목을 토대로 10개 부분에 대하여 조사를 하였다. 조사한 10개의 항목 중에서 전체적으로 업체에서 서류관리가 잘되는 것으로 보여지나, 식품위생 및 안전과 관련된 서류 부분(자가품질검사, 건강진단, 위생교육)에 대해서는 미흡한 것으로 나타났다.

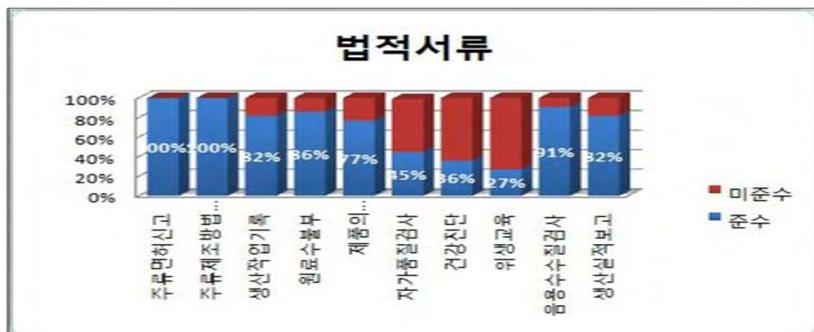


그림 218. 서류관리 현황

표 211. 서류관리 세부 통계 현황

구분	준수	준수(미흡)	미준수
주류면허신고	100%	-	-
주류제조방법신청서	100%	-	-
생산작업기록	82%	14%	4%
원료수불부	86%	14%	-
제품의 거래기록부	77%	18%	5%
자가품질검사	45%	18%	37%
건강진단	36%	14%	50%
위생교육	27%	5%	68%
음용수수질검사	91%	4.5%	4.5%
생산실적보고	82%	9%	9%

(다) 환경 및 시설관리

환경 및 시설관리 항목은 크게 제조장 위치 및 구조, 작업장, 식품취급시설 등, 급수시설, 화장실, 창고등의 시설, 검사실, 출고·운반관리, 개인위생관리 9개 항목 세부적으로는 총 45개 항목으로 나눠 조사하였다. 조사한 9개의 항목 중에서 급수시설관리(61.4% 준수), 화장실 관리(54.5% 준수)는 비교적 관리가 잘 되었으며, 제조장 관리(45.5% 준수), 작업장 관리(40.2% 준수), 식품취급시설 등 관리(44.2% 준수), 창고등의 시설(44.3% 준수), 검사실(40.9% 준수) 관리, 출고·운반관리(36.4% 준수), 개인위생관리(31.8% 준수)의 항목부분은 관리가 미흡한 것으로 나타났다. 세부적으로는 건물의 위치(72.7% 준수), 밀술실·발효숙성실 분리·구획(63.6% 준수), 식품접촉부분(위생적 내수성재질)(81.8% 준수), 냉동·냉장시설 및 가열처리의 온도계설치(68.2% 준수), 먹는물 수질검사의 적합한 수돗물 또는 지하수 사용(81.8% 준수), 정화조를 갖춘 수세식 화장실(86.4% 준수), 창고에서의 원료와 제품의 구분관리(63.6% 준수)의 항목은 비교적 잘 관리되고 있었다. 그러나 제조장 적정온도 및 환기 유지(22.7% 준수), 작업장 내수처리(22.7% 준수), 증자실 등의 충분한 환기시설 및 원료처리 등 집진시설 구비(18.2% 준수), 해당 제품의 적합한 설비 구비(27.3% 준수), 수세시설 설치(18.2% 준수), 개인 위생복, 위생모, 위생화 등의 적정 착용 및 청결유지(13.6% 준수), 개인 손, 손톱 등의 청결유지(22.7% 준수)의 항목은 관리가 미흡하여, 특히, 생물학적 위해요소가 발생할 가능성이 높은 것으로 보여진다. 조사업체들은 기본적으로 환경 및 시설에 대한 관리를 잘 진행하고 있으나, 창고 등의 관리, 개인위생관리, 검사실 등에 관리가 미흡한 것으로 나타났다. 특히, 공정별로 적합한 시설설비가 구비가 되지 않아서 제조공정 중의 물리적 위해요소가 발생할 가능성이 컸으며, 작업장 내의 방충망, 포충등 등의 설치가 미흡하여 방충방서관리 부분에 취약한 것으로 나타났다. 또한 창고의 청결 상태 및 제품 보관시 이격관리 등이 잘 안 이뤄져 이 경우에도 제품 또는 원료, 포장재에 이물이 혼입이 될 가능성이 큰 것으로 보여지며, 직원들의 청결관리 또한 철저히 이뤄져야 함을 보여졌다.

표 212. 환경 및 시설관리 미흡 항목 현황 등

구분	준수	준수(미흡)	미준수
제조장 적정온도 및 환기 유지	22.7%	31.8%	45.5%
제조장 구조물의 내구력 및 건축자재의 재질	40.9%	36.4%	22.7%
병입, 포장실/다른 작업장과 구분 분리 또는 구획(원료실~포장실)	41%	32%	27%
작업장 바닥 내수처리	46.3%	31.7%	22%
작업장 바닥 배수용이성	22.7%	45.5%	31.8%
작업장 내벽 내수성, 내부식성 재질 사용	31.8%	45.5%	22.7%
출고·운반관리(기준규격적합)	36%	36%	27%
작업장 충분한 환기시설	36%	41%	23%
작업장 문(창문, 환기구)의 밀폐성	18.2%	36.3%	45.5%
적정 환기설비구비	38.5%	-	61.5%
냉동·냉장시설 및 가열처리 시설 온도계 검·교정	18.2%	36.4%	45.4%
시설설비 청결관리	13.6%	-	86.4%
화장실 수세시설, 건조기 등 설치	22.7%	45.5%	31.8%
창고등의 시설 위생적 보관관리	18.2%	31.8%	50%
위생복, 위생모 착용 및 청결유지	34%	30%	36%
손, 손톱 등의 청결유지(손세척·소독설비 포함)	13.6%	45.5%	40.9%
	22.7%	22.7%	54.6%

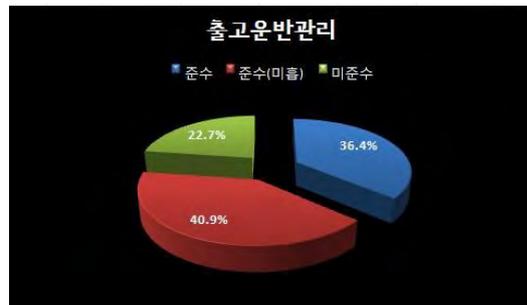
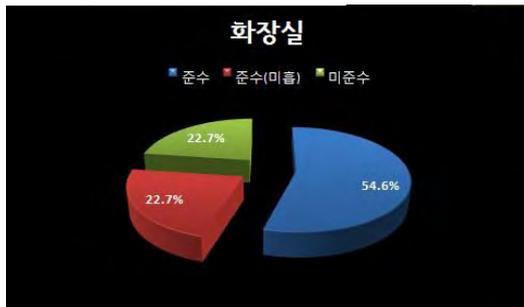
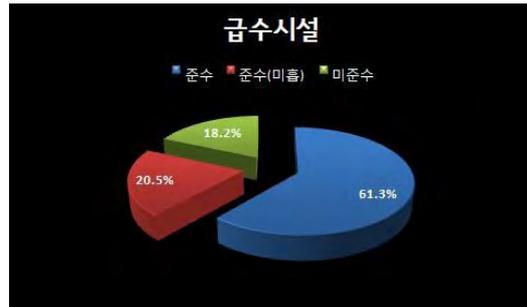
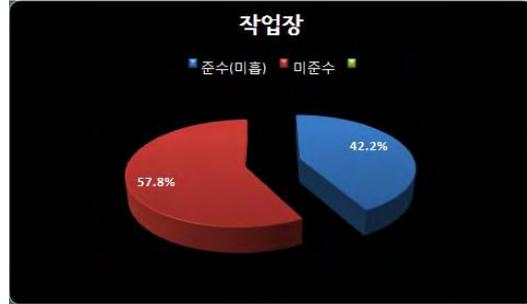


그림 219. 환경 및 시설관리 현황

(라) 우수관리항목

우수관리항목은 크게 작업장 관리, 작업표준 관리, 공정(입고, 해동, 계량, 세척/침지, 배합, 제곡/발효, 증자, 가열, 살균/멸균, 냉각, 여과, 압착, 당화, 건조, 제성, 숙성, 병입, 이물관리, 보관·출하), 방역 및 소독 관리, 청소도구 관리, 폐기물 관리, 청결관리, 검수관리, 보관·관리, 반품 등의 관리, 종사자 관리, 품질관리 담당자, 품질 및 식품위생 교육·훈련관리, 작업장의 온도, 세제 및 유해물질, 용수관리, 화장실 관리, 작업장 관리, 식품위생감시원 지적, 위생관리 책임자, 포장관리, 자가품질검사, 유통기간 설정, 제품 유해물질 분석, 표시관리, 회수관리, 소비자 보호 관리 등의 항목으로 나뉘 조사하였다. 작업장 관리, 공정별 관리점검표 관리, 원·부재료 등에 대한 생물학적/물리학적, 화학적 위해요소 도출 및 검사/기록관리, 이물종류에 따라 이물 검출장비 설치 및 관리기준에 따른 기록관리, 종사자 복장의 착용규정, 손씻기·소독상태, 개인 위생점검표 구비 및 기록관리, 작업장 에어샤워 설치 및 관리, 제품의 유통기간 설정용 근거자료 구비, 유해물질 분석 및 근거자료 구비, 이물관리 혼입 방지를 위한 검사 등에 대한 항목 부분에서 많이 미흡한 것으로 나타났다. 기본적인 공정 및 시설설비 관리를 잘 진행되고 있으나, 제품의 위해관리를 위한 내부적인 기록 관리에 대한 부분이 전반적으로 미흡한 것으로 나타났다. 기록관리 부분에 대해서는 전반적으로 체계적인 교육과 전담 인력이 필요하므로, 추후 매뉴얼을 통한 교육 및 인력관리 부분에 대한 항목도 포함시키는 방안을 제시 하도록 하겠다.

표 213. 우수관리 항목 현황 등

구분	준수	준수(미흡)	미준수
공정별 관리점검표 구비 및 기록관리	18.2%	13.6%	68.2%
입고시 원부재료 등에 대한 위해요소 도출 및 검사 관리 기준 수립	13.6%	4.5%	81.9%
원료 및 부원료 등 제품 특성에 따른 보관 기준 수립 및 준수	22.7%	9.1%	68.2%
세척/침지 관리기준 수립 및 기록관리	13.6%	13.6%	72.8%
증자관리기준 수립 및 기록관리	22.7%	13.6%	63.7%
이물검출장비 설치 및 관리기준에 따른 기록관리	18.2%	4.5%	77.3%
설비별 유지보수 점검표 구비 및 기록관리	27%	9%	64%
화장실 전용 신발 구비	22.7%	4.5%	72.8%
작업장 에어샤워 설치 및 관리	13.6%	9.1%	77.3%
유통기한 설정 근거자료 구비	22.7%	-	77.3%
제품 유해물질 분석 및 근거자료 구비	13.6%	-	86.4%
유해생물 또는 오염 미생물 등에 의한 원료, 자재,제품의 오염방지를 위한 철저한 보호조치	13.6%	9.1%	77.3%
제품이 유통과정 중 주세법 및 식품위생법 기준에 위반된 것이 확인되거나 만전에 심각한 문제가 있다고 판단된 경우에는 해당 제품을 시장에서 신속히 회수할 수 관리 체계 구축	18.2%	9.1%	72.7%

(마) 행정처분

기존의 국세청 및 기타 기관에서 관리 하는 항목에는 특별히 문제가 되는 행정처분은 없는 것으로 나타났다.

(바) 위해요소관리 기초조사, 제품관리, 위해요소분석 항목, 평면도, 작업장 세척청소방법 기준

막걸리 업소는 기존에 국세청 관할로 이뤄지다 보니, 식품위생법에서 정해진 시설 기준 등을 적용하는 것은 무리라고 보여졌다. 현재 식약청 HACCP(위해요소중점관리 기준)에 맞춰 위해요소 항목을 분석하고자 하였으나, 그 기준에 맞춰 전혀 관리 되고 있는 업소가 없었다. 또한 가장 기본적인 위생관리 항목인 작업장 청소방법 및 작업자 복장 착용방법 기준에 대해서도 몇 개 업소를 제외하고는 전혀 관리하고 있지 않았다. 이를 토대로 추후 3차년도에 매뉴얼(HACCP 및 위생관리 항목에 대한 내용을 반영하여 진행하는 것이 좋다고 여겨진다.)



그림 220. 제조공정도 샘플

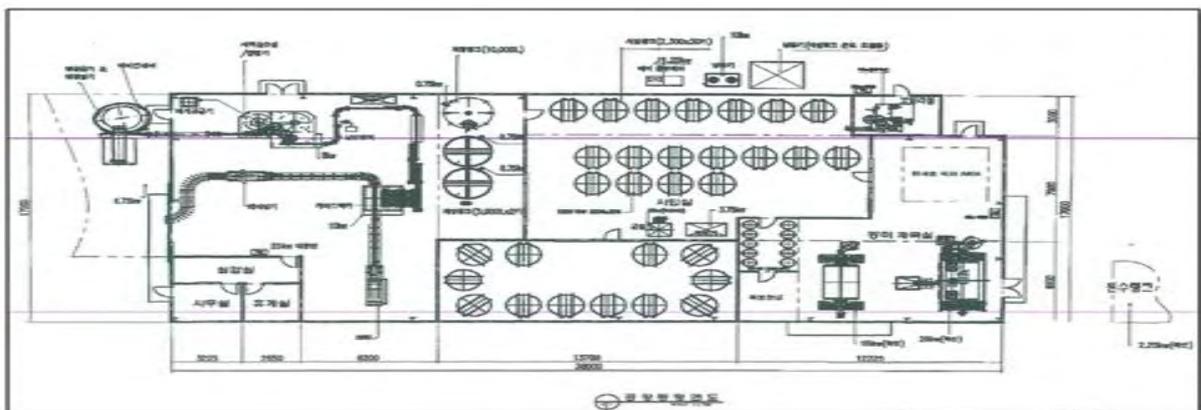


그림 221. 평면도 샘플

라. 현장방문 분석 요약결과

(1) 위해요소에 대한 자체 기준 수립 및 기록관리(특히, 원·부재료)

- 생물학적, 화학적, 물리학적 위해요소 관리 미흡에 따른 차후 위해요소 발생에 따른 즉각적인 대응 대책이 없으며, 전담 직원이 부족한 것으로 보여진다.

(2) 위생교육 및 건강진단에 대한 필요성 부재

- 제품에 대한 안전성 확보에 대한 업체들의 인식이 부족한 상태이다.
- 정확한 구역 및 동선 설정과 이에 따른 작업자 구분, 개인위생관리(위생복, 위생화, 위생모 착용 필수)가 필요하며, 작업자가 작업장 입실시 세척소독할 수 있는 손세척 및 손 소독시설을 갖추어 교차오염 예방이 필요하다.

(3) 시설·설비 노후 및 시설·설비 유지·관리 미흡에 따른 제품의 오염 가능

- 물리적 위해요소(녹, 먼지, 유리조각 등), 정기적 세척·소독 미실시에 따른 생물학적 위해요소(황색포도상구균, 바실러스 세레우스 등)가 발생할 가능성이 높다.

(4) 방충·방서관리 미흡에 따른 위해요소 발생

- 포충등, 방충망 등 미설치, 배수로 관리 미흡에 따른 설치류, 곤충 등 유입

다. 막걸리 원료 및 공정별 잠재적 위해요소 및 예방조치(안) 도출

표 215과 같이 1차 자문회의를 통해 막걸리의 원료별, 공정별 잠재적 위해요소 및 발생 원인에 따른 예방조치(안)이 수정 및 도출되었으며, 그에 따른 주요 내용은 아래와 같다.

(1) 물리적 위해요소는 연결성, 경질성, 금속, 비금속으로 구분하여 도출하는 것을 원칙으로 하였다.

(2) 주원료(쌀 등)와 관련하여 잠재할 수 있는 생물학적 위해요소관리의 필요성은 있다고 판단되었으나, 보통 업체에 입고되는 원료는 1차 도정이 이루어진 후 입고되므로 재배자가 아닌 원료 납품업체(협력업체)를 관리하는 것이 타당한 것으로 보였다.

(3) 첨가물은 입국·효모·효소제 등, 소금(정제염), 당분으로 구분하여 위해요소를 도출하였으며, 이에 대해 자문회의를 진행한 결과 소금은 주류의 첨가재료 중 해당사항이 없었으므로 삭제하기로 하였다. 또한 입국·효모·효소제 등은 ‘발효제’로 통칭하였으며, 발효제와 당분에서 도출되었던 모든 생물학적 위해요소(진균류 포함)는 막걸리의 모든 부재료에서 병원성 미생물, 대장균군, 대장균이 불검출되었다는 박기환 등(2011) 연구결과에 따라 삭제하였다.

(4) 포장재의 경우, 생물학적, 화학적 위해요소 도출의 타당성의 경우, 포장용기 및 재질에 따라 화학적 위해요소의 도출은 필요할 것으로 보이나, 선행연구 결과 생물학적 위해요소는 도출된 사례가 전무하여 생물학적보다는 물리적 위해요소(이물)에 대한 관리강화가 필요한 것으로 사료된다.

(5) 입고 시의 화학적 위해요소로 도출되었던 Mycotoxin은 원료상의 문제로 막걸리의 양조공정 중 증식하지 않으므로 삭제하였다. 반면, 원·부재료 보관 시 온·습도관리 미흡으로 Mycotoxin 증식의 우려가 있어 이에 대한 관리가 필요한 것으로 판단되었다.(생물학적 위해요소 중 진균류는 Mycotoxin 관리로 대체 가능)

(6) 석발 공정이 이루어지는 업체는 없는 것으로 나타나 연미공정으로 대체하였으며, 세미와 침지공정은 일반적으로 같은 공정에서 함께 이루어지므로 세미/침지공정으로 관리하였다.

(7) 세미/침지공정과 증자공정이 증자기 내에서 함께 이행되는 경우가 많아 함께 관리해도 무방할 것이라는 의견이 있었으나, 그렇지 않은 경우를 위해 세미/침지와 증자공정으로 구분하여 관리하기로 하였다.

(8) 세미/침지 후 증자하기 전 증자기 내에서 장시간 방치되는 경우 미생물 증식의 우려가

있어 생물학적 위해요소에 대한 관리가 필요하며, 가열 및 조리에 의해 쉽게 사멸하는 비포자형성균은 증자공정을 거치면서 사멸 가능성이 높으므로 *Bacillus cereus*와 같이 포자형성균에 대해서만 관리하는 것이 적절한 것으로 판단되었다. 또한 증자공정 중 화학적 위해요소로 Mycotoxin에 대한 관리는 발생 가능성이 낮아 삭제하였다.

(9) 앞서 언급된 바와 같이 막걸리의 발효공정 중 불검출 또는 허용치 이하로 검출되는 Ethyl carbamate와 biogenic amines는 위해요소에서 삭제하였으며, Mycotoxin과 Methanol 발생에 대한 예방관리는 기준규격을 제시하는 대신 발효공정의 온·습도 및 시간 관리를 예방조치(안)으로 마련하였다.

(10) 발효공정 중 생물학적 위해요소에 의한 교차오염의 발생 가능성은 있는 것으로 조사되었으나, 발효 시 생성되는 젖산균 등에 의해 병원성 미생물균에 대한 분석이 불가하므로 관리대상에서 삭제하였다.

(11) 주세법상 막걸리는 ‘여과하지 아니하고 제성한 것’으로 정의가 명시되어 있어 ‘여과’라는 표현은 사용하지 않으며, 연구범위상 생(비살균)막걸리에 한함으로 살균공정은 삭제하였다.

(12) 병입(내포장)공정에서 관리가 필요한 물리적 위해요소는 ‘포장재 파손에 의한 부산물’이라는 표현보다는 실질적으로 혼입 가능한 위해요소에 대해 구체적으로 제시가 필요할 것으로 판단되어 경질성, 연질성, 병 외부의 곰팡이 등으로 구분하여 제시하였다.

(13) 완제품을 밀봉 또는 박스 포장하는 외포장 공정에 대한 각 위해요소 도출은 의미가 없는 것판단되어 외포장공정의 잠재적 위해요소 도출은 생략하였다.

(14) 완제품 보관 및 유통과정에 있어 보관온도는 ‘0~10℃’가 아닌 ‘10℃ 이하’로 표현하는 것이 적합한 것으로 판단되었으며, 물리적 위해요소 중 ‘녹 발생’의 경우 현재 대부분의 업체가 플라스틱 포장용기를 사용하므로 삭제하였다.

표 214. 국가별 Ethyl carbamate 검출기준

국가 또는 기관	주종	규제 기준($\mu\text{g/L}$)	비고
한국	Wine	30	
	Table wine	30	
	Dessert wine	100	
캐나다	Whisky	150	
	Shake	200	
	Fruit wine, liquor	400	
미국	-	15~125	자율규제관리
WHO, CODEX, EU	-	-	

※ Biogenic amine 검출기준(EU) : 2~10 mg/l

표 215. 막걸리의 원료 및 공정별 잠재적 위해요소, 발생원인 및 예방조치(안) 1차 도출(안)

구분		잠재적 위해요소		
		생물학적	화학적	물리적
원료	주원료 (쌀 등)	<i>E.coli</i> O157:H7, <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	중금속 잔류농약 Mycotoxin	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 금속조각
	첨가물 (발효제, 당분, 용수)	-	[발효제] 중금속	[발효제] 비닐, 실 등 (연질), 벌레, 흙, 돌(경질), 플라스틱, 금속조각
		-	[당분] 인공감미료 (사카린나트륨 등) 이산화황 중금속	[당분] 비닐, 실 등 (연질), 벌레, 흙, 돌(경질), 플라스틱, 금속조각
		[용수] 수질관련 병원성 미생물 (살모넬라, 쉬겔라 등) 노로바이러스	[용수] 중금속(납, 비소 등) 유해물질(페놀 등) 소독제(잔류염소 등)	[용수] 흙, 돌(경질), 물끼기, 녹
포장재	-	납, 카드뮴, 톨루엔, 잔류용제 중금속(용출) 1-헥센, 1-옥텐	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 플라스틱, 금속조각	

공정	입고	<i>E.coli</i> O157:H7, <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	-	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 플라스틱, 금속조각
	원·부자재 보관	<i>E.coli</i> O157:H7, <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Mycotoxin	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 금속조각
	연미	<i>E.coli</i> O157:H7, <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Mycotoxin	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 도색박리, 금속조각
	세미(칩지)	<i>E.coli</i> O157:H7, <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	-	비닐, 실 등 (연질) 벌레 흙, 돌(경질) 금속조각
	증자	<i>Bacillus cereus</i>	-	비닐, 실 등 (연질) 벌레 금속조각
	발효	-	Mycotoxin Methanol	비닐, 실 등 (연질) 벌레, 접착테이프, 금속조각
	제성	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>		비닐, 실 등 (연질) 벌레 금속조각
	병입 (내포장)	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>		비닐, 실 등 (연질) 벌레, 곰팡이(병 외부)
	완제품 보관 및 유통			비닐, 실 등 (연질) 벌레, 플라스틱(경질) 곰팡이(병 외부)

구분		발생원인 및 예방조치(안)		
		생물학적	화학적	물리적
원료	주원료 (쌀 등)	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 재배지 퇴비관리 불량 등 협력업체 위생관리 미흡 - 포장파손으로 인한 교차오염 - 입고 전 보관상태 불량으로 인한 단위위해요소 증식 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 입고검사 - 시험성적서 확인 - 공인기관 시험의뢰 - 협력업체 보관관리 강화 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 농약의 잔류(과다 사용) - 중금속 오염(토양 등) <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 시험성적서 확인 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 협력업체 생산, 보관관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 협력업체 RPC 시설설비 관리 미흡 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 육안검사 - 협력업체 교육 및 관리
	-	<p>[발효제_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 중금속 토양 <p>[발효제_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 시험성적서 확인 	<p>[발효제_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 협력업체 원료관리 미흡 및 생산, 보관관리 미흡으로 인한 이물 혼입 <p>[발효제_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 육안검사 - 협력업체 교육 및 관리 	
	첨가물 (발효제, 당분, 용수)	-	<p>[당분_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 중금속 오염(토양 등) - 협력업체 인공감미료 인위적 사용 <p>[당분_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 시험성적서 확인 	<p>[당분_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 협력업체 원료관리 미흡으로 인한 이물 혼입 <p>[당분_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 육안검사 - 협력업체 교육 및 관리
		<p>[용수_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 주위환경 오염으로 인한 교차오염 - 배관 및 정수처리 불량 - 저수조 청결상태 불량 <p>[용수_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 주위환경 청결관리 - 저수조, 배관 세척·소독관리 - 정수처리관리 - 시험성적서 확인 	<p>[용수_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 부정, 불량 첨가물 사용 및 허용기준이상 사용으로 인한 성분 잔류 <p>[용수_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 상수도 사용 	<p>[용수_발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 배관 파손에 의한 혼입 - 저수조관리 미흡 <p>[용수_예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 시험성적서 확인 - 배관 및 저수조 관리
	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 부적절한 포장재 사용으로 인한 제품 오염 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 시험성적서 확인 - 포장재 확인 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 작업자 취급 부주의 - 협력업체 제조공정 미흡 및 보관관리 미흡 - 외포재료 파손에 의한 오염 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 육안검사 - 협력업체 교육 및 관리 	

	입고	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 운송차량 위생상태 불량 - 협력업체 원료, 제조공정관리 미흡, - 운반기구 파손으로 교차오염 - 작업자 취급 부주의로 인한 포장 파손에 의한 교차오염 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 차량 위생상태 점검 - 입고검사 - 시험성적서 확인 - 협력업체 제조공정 관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 운송차량 위생상태 불량 - 협력업체 원료, 제조공정관리 미흡 - 작업자 취급 부주의로 인한 포장 파손으로 이물 혼입 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 차량 청결상태 점검 - 입고 시 육안검사를 통한 선별작업 이행 - 협력업체 제조공정관리 - 작업자 교육 및 관리 - 금속검출기를 통한 금속성 이물 제거
공정	원·부자재 보관	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 보관공간 관리 미흡으로 인한 교차오염 - 보관공간 세척소독관리 미흡 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 보관공간 세척·소독관리 - 보관공간 온·습도관리 - 보관공간 청정도관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 원료자체에서 유래 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효공정관리 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 작업자 취급 부주의로 인한 이물 혼입 - 부적절한 온·습도 관리로 인한 해충 번식 - 쌀 등 원료의 장시간 보관 - 밀폐관리(방충망 등) 미흡 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 밀폐, 방충·방서관리 강화 - 보관품 선입선출 관리 - 작업자 관리 및 교육
	연미	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 오염된 원료의 반입 - 작업실 세척·소독관리 미흡 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 보관공간 세척·소독관리 - 보관공간 온·습도관리 - 보관공간 청정도관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 원료자체에서 유래 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효공정관리 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 오염된 원료의 반입, 이물 잔류 - 작업자 부주의에 의한 혼입 - 방충·방서관리 미흡 - 연미 과정 중의 이물혼입 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 정기적 청소관리 - 기기 세척·소독관리 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 - 연미공정관리 강화 - 작업자 관리 및 교육
	세미(침지)	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 오염된 원료의 반입 - 작업실 세척·소독관리 미흡 - 작업도구 위생관리 미흡 - 세미 불충분으로 원료 자체로부터 기인한 미생물 번식 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 작업실 및 기기 세척·소독관리 - 작업장 청정도관리 - 침지 시간·온도 관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 오염된 원료의 반입 - 작업자 부주의에 의한 혼입 - 방충·방서관리 미흡 - 세미 불충분으로 인한 잔류 이물 혼입 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기기 세척·소독관리 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 - 작업자 관리 및 교육

공정	증자	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 작업장, 제조설비, 기구용기, 운반도구 등의 세척·소독관리 - 증자 온도, 시간관리 미흡으로 단위위해요소 잔존 - 증자실 청정도 관리 미흡 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 설비 세척·소독관리 - 증자 온도·시간관리 - 작업장 청정도관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 제조설비 파손에 의한 혼입 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 강화 - 작업자 관리 및 교육
	발효	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효과정 중 생성 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효과정관리 	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 제조설비(덮개망 등) 파손에 의한 혼입 - 발효조 밀폐처리(Open 탱크) 미흡으로 인한 혼입 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 강화 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 (덮개망 처리 등) - 작업자 관리 및 교육
	제성	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비 세척·소독관리 미흡 - 공중낙하균에 의한 교차오염 - 작업자 위생관리 불량으로 교차오염 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 설비 세척·소독관리 강화 - 작업장 청정도관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 제조설비 파손에 의한 혼입 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 강화 - 제성기망(여과망) 관리 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 (밀폐형 제성탱크, In-line Process 등) - 작업자 관리 및 교육

공정	병입 (내포장)	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비 세척·소독관리 불량으로 인한 교차오염 - 공중낙하균에 의한 교차오염 - 작업자 위생관리 불량으로 교차오염 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 설비 세척·소독관리 강화 - 작업장 청정도관리 - 작업자 위생교육 및 관리 	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 공정 배관 세척 미흡에 의한 이물 잔존 - 병입실 분리구획 미비에 의한 혼입 - 포재료 부착 및 파손에 의한 혼입 - 작업자 위생교육 부족 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제조설비, 기구 등의 세척관리 강화 - 제조설비 정기점검 및 보수 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 (클린룸 관리) - 포재료 밀폐 및 적정보관관리 강화 - 작업자 관리 및 교육
	완제품 보관 및 유통	-	-	<p>[발생원인]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 포장재 파손 및 관리 미흡으로 인한 이물혼입 및 곰팡이 발생 <p>[예방조치(안)]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 보관온도(10도 이하)관리 - 포장상태 점검(육안검사) - 보관온반관리기준 준수 - 작업자 위생교육 및 관리

라. 위해요소 예방조치(안)의 현장 적용성 검토

(1) 현장 적용성 검토

원료 및 공정별 위해요소와 예방조치(안)에 대해 현재 시행 여부, 추후 현장에서의 시행 가능성 및 개선사항 의견 등을 조사하기 위해 막걸리 제조업소(1차년도 방문조사 업체, 위생관리 담당자와 자체 실험실을 갖추고 있는 15개 업소)를 선정하여 도출한 위해요소 및 예방조치(안)에 대한 현장 적용성을 검토하였다. 위해요소 및 예방조치(안)에 대한 현장조사(인터뷰)는 표 216과 같다.

표 216. 현장조사(인터뷰) 개요

목적	업체의 위해 관리 실태 파악을 통한 막걸리 원료 및 제조공정별 위해요소 예방관리 방안의 현장적용 가능성 파악 및 개선사항 의견 수렴
대상업체	국내 생(비살균)막걸리 제조업체(15곳) - 서울(4), 경기(5), 대전(1), 충북(1), 울산(1), 전북(3)
조사기간	2012년 3월 19일(월) ~ 3월 28일(수)
주요내용	1. 원료 3개 분야, 9개 공정상 발생 가능한 위해요소의 저감화를 위한 총 90개 예방조치(안) 시행여부 및 향후 현장시행 가능성에 대한 조사 2. 주세법 및 국립농산물품질관리원의 술 품질인증기준 중 이화학적 품질기준 및 인증 기준 이행 여부

(2) 원료별 현장조사(인터뷰)결과

(가) 주원료(쌀 등 농산물)

① 입고검사가 이루어지는 업체는 소수였으며, 인력문제를 호소하는 업체가 많았다.

② 업체에서 사용하는 주원료(쌀)의 경우 정부미(국가에서 지원하는 쌀)를 사용하는 경우가 대부분이었으며, 정부미의 경우 시험성적서를 별도로 제공하고 있지 않는 것으로 조사됨. 많은 업체에서 시험성적서 의뢰는 가능할 것으로 예상된다.

③ 공인기관에 의뢰하여 원료에 대한 안전성을 파악하는 업체는 20%로 낮은 수준이었다.

④ 원료 납품업체의 부주의로 발생한 위해요소에 대한 예방책(이력추적관리, 협력업체관리기준 등)이 마련되어 있는 업체는 전무하였으며, 이루어진다 하더라도 체계적인 관리가 아닌 미흡부분에 대한 지적 및 개선조치 요구 수준에서 그치는 것으로 조사되었다.

⑤ 자체적으로 협력업체를 교육, 관리하는 데에는 현실적으로 어렵다는 의견이 다수로 협력업체 관리는 추후에도 실행에 어려움이 많을 것으로 예상 되었다

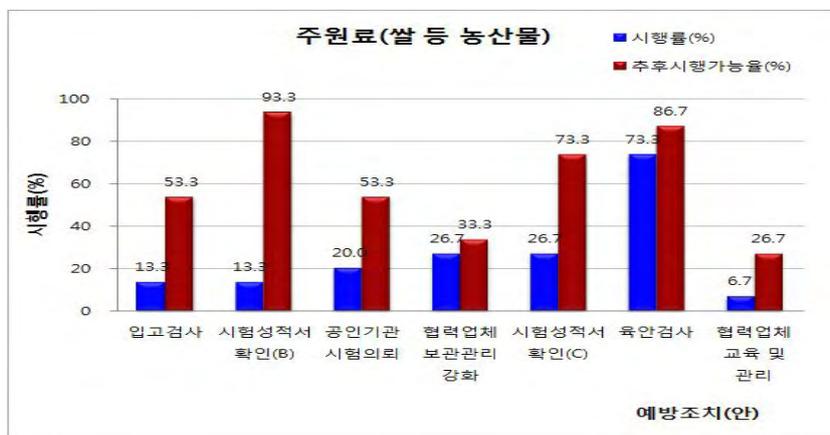


그림 191. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 - 주원료(쌀 등 농산물)

(나) 첨가물(발효제, 당분, 용수)

① 납품받는 대부분의 첨가물에 대한 시험성적서를 수령 및 보관하고 있으나, 시험성적서상의 검사항목이 '식품첨가물의 기준 및 규격' 중 일부만 포함되었다.(수출업체는 제외).

② 주원료와 마찬가지로 첨가물에 있어 협력업체 교육 및 관리가 가장 이루어지지 않는 부분으로 조사되었으며, 이는 추후에도 이행하기에 업체에서 상당한 부담감을 느끼는 사항으로 나타났다.

③ 지하수를 사용하는 업체의 경우 '먹는물관리법'에 따른 수질검사를 연 2회 이상 실시하고 그에 따른 시험성적서를 구비하고 있는 것으로 조사되어 용수검사 및 수질 부적합에 대한 큰 이슈는 없었으나, 배관 및 저수조 관리를 위한 자체적 위생관리 계획을 수립하여 관리하는 업체는 소수인 것으로 나타났다.

④ 추후 용수관리를 위하여 대부분의 업체에서 배관 및 저수조 세척·소독관리 강화에 긍정적인 입장을 보였다.

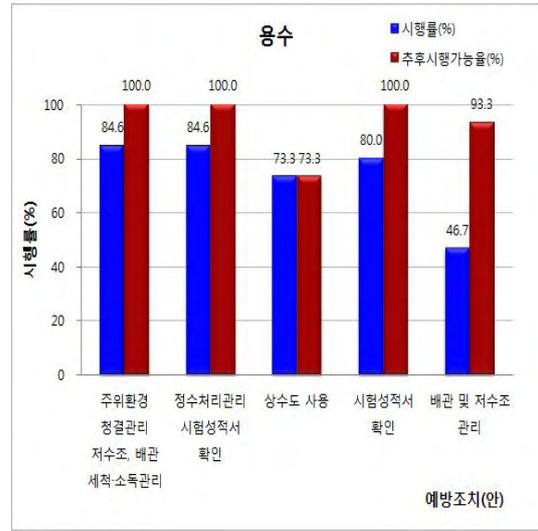
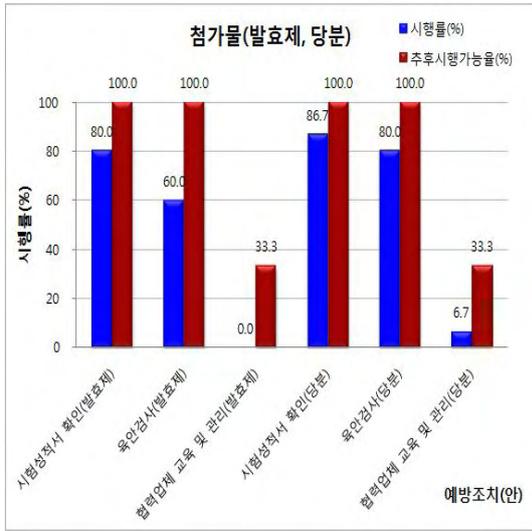


그림 223. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 -첨가물(발효제, 당분/ 용수)
 ※ 위의 통계치는 첨가물 사용 직전 육안검사를 실시하는 업체에 대한 결과임.

(다) 포장재(PET, 마개 등)

① 주류업체는 식품공전의 ‘기구 및 용기포장의 기준 및 규격’에서 정하는 재질에 대한 시험 성적서가 아닌 제품특성검사서, 외관특성검사서 등을 수령하여 포장재관리 및 확인 업무를 실시하는 것으로 조사되었다.

② PET, 마개 등은 대부분 업체에서 반투명 비닐 안에 포장된 상태로 입고되며, 조사대상의 약 70%가 포장재 입고 시 육안검사를 실시하고 있는 것으로 나타났다. 그러나 육안검사는 체계적인 검사기준에 따른 것이 아니라 이물 혼입 저감을 위한 관리의 일환으로 실시하였다.

③ 포장재 관리와 관련하여 미흡한 부분에 대해서는 모든 조사대상 업체가 강한 개선의지를 보인 반면, 협력업체 교육 및 관리업무에는 많은 부담과 어려움을 느끼는 것으로 조사되었다.



그림 224. 원료별 현장조사(인터뷰)결과 - 포장재
 ※ 위의 통계치는 첨가물 사용 직전 육안검사를 실시하는 업체에 대한 결과임.

(3) 공정별 현장조사(인터뷰)결과

(가) 입고

① 현장조사결과, 대부분의 주류업체는 일반차량으로 원료 및 부원료를 입고하는 경우가 대부분이었으며 이 중에는 냉장유통조건인 원료 및 부원료도 포함되어 있는 것으로 조사되었다. 협력업체에 대해 냉장탑차 사용에 대한 요구가 필요하며, 추후 유통·운반과정의 관리강화에 대한 개선의지가 높게 나타났다.

② 납품차량의 위생상태 확인이 필요하다고 인식하는 업체 및 추후 시행 의지를 가진 업체는 90% 이상으로 높았으며, 협력업체의 공정관리에 직접적으로 관여하기에는 현실적 어려움이 있으나, 자사 종사자들에 대한 교육을 통하여 입고공정관리에 대한 개선의지를 가진 업체가 대다수인 것으로 나타났다.

③ 현재 입고 시 금속검출기 설치를 통해 금속성 이물에 대한 관리가 이루어지는 업체는 없었으며, 공정흐름을 고려하여 입고공정보다는 제성공정 후에 x-ray를 설치하는 것이 보다 효과적으로 위해요소를 제어할 수 있는 예방조치라고 판단되었다.

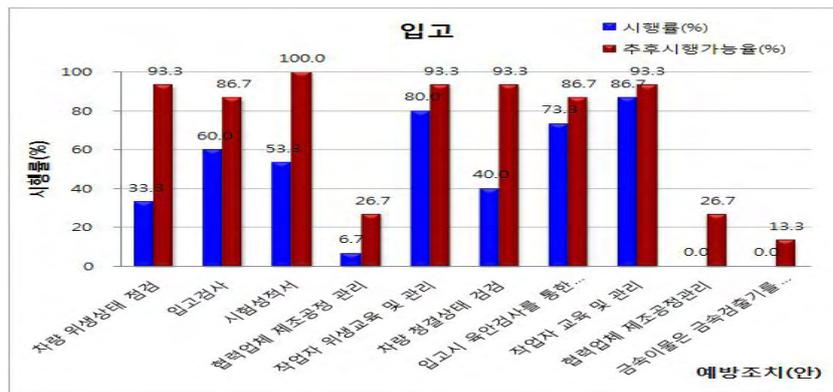


그림 225. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 입고

※ 작업자 교육의 경우, 명확한 계획수립에 따라 진행되는 교육이 아닌 종사자를 대상으로 하는 사내의 모든 교육활동에 대한 통계임.

(나) 원·부자재 보관

① 현장조사결과, 보관공간(창고 등)을 별도로 구비하여 관리하고 있는 업체도 있었으나, 작업장 외부에 적재공간을 마련하여 관리하는 경우가 대부분인 것으로 나타났다.

② 외부와 차단된 보관공간을 확보하여 관리하는 업체의 경우, 적정 온도유지를 위한 온도확인 및 점검을 실시하고 있었으나, 습도관리는 이루어지지 않고 있는 것으로 조사되었다.

③ 외부에 보관공간을 마련하고 있는 경우, 외부로부터의 밀폐 및 차단이 어려운 구조로 온·습도관리 및 세척·소독관리가 용이하지 않는 것으로 조사되었으며, 방충·방서관리, 세척·소독관리 및 온도관리를 위한 적절한 보관공간의 확보가 필요하다고 인식하였다.

④ 습도 및 표면오염도, 공중낙하균 측정을 통한 보관공간 내의 청정도 관리업무에 대하여는 현실적으로 측정이 어려우며, 추후 현장 적용에도 부정적인 것으로 조사되었다.

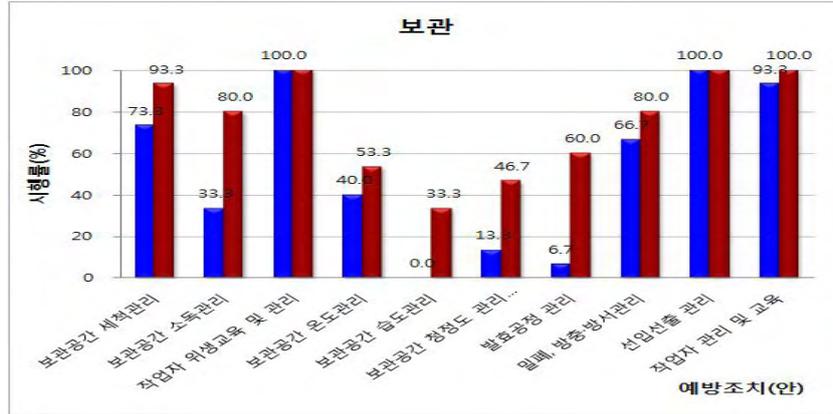


그림 226. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 원부자재보관

※ 작업자 교육의 경우, 명확한 계획수립에 따라 진행되는 교육이 아닌 종사자를 대상으로 하는 사내의 모든 교육활동에 대한 통계임.

(다) 연미

① 연미공정이 이루어지는 업체의 대부분은 작업 전 후 연미기 세척작업을 실시하고 있는 것으로 조사되었으나, 미생물균 제어를 위한 소독작업까지 실시하는 업체는 25%로 낮게 나타났다.

② 생물학적 위해요소 발생 저감화를 위한 소독관리를 이행하는 업체는 2개소, 연미공간 청정도 관리업무를 실시하고 있는 업체는 1개소로 나타났으며, 체계적인 관리방법 및 계획에 따라 이루어지는 것은 아닌 것으로 조사됨. 물리적 위해요소 발생 저감화를 위한 기기 세척관리 및 방충·방서 등의 관리는 잘 이루어지고 있는 반면, 소독 및 청정도관리에 있어 추후 개선 인식은 부정적인 것으로 조사되었다.

③ 작업공간에 대한 청정도관리가 필요하다고 인식하는 업체들도 있었으나, 현장 적용을 위해서는 검사 인력부족과 경제적 부담이 가장 큰 걸림돌로 작용하는 것으로 나타났다.

④ 추후 연미공정관리 강화 및 이물 선별작업을 위해 원료 투입 시 벌레, 곰팡이 등의 이물 혼입 여부 확인을 위한 작업 중단 및 육안검사가 현실적 대안으로 제시되었다.

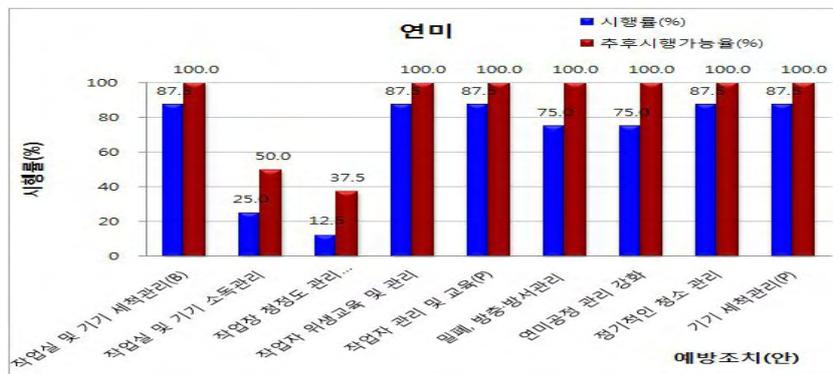


그림 227. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 연미

※ (B): 생물학적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안,

(P): 물리적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안

※ 15개 조사업체 중 8개 업체에 대한 통계그래프로 7개 업체는 연미공정 없음

(라) 세미/침지

① 현장조사결과, 증자기 내에서 이루어지는 대부분의 세미/침지공정과 관련하여 작업 전, 후 증자기 세척관리는 대체적으로 잘 이루어지고 있으며, 미흡한 부분에 대해서는 개선 의지가 높은 것으로 조사되었다.

② 연미공정과 마찬가지로 세미/침지공정 중 생물학적 위해요소 발생 저감화를 위한 소독관리 및 작업공간 청정도 관리를 실시하는 업체는 1~2개소로 나타났으며, 인력적인 문제, 경제적인 부담으로 인해 추후 현장 적용에는 부정적인 것으로 나타났다. (체계적인 관리방법 및 계획에 따라 청정도관리가 이루어지는 것은 아님)

③ 세미/침지 후 잔존한 수분에 의해 발생할 수 있는 미생물균 증식 예방을 위한 건조작업을 하는 업체는 거의 없었으며, 스팀을 사용하여 열탕소독하는 현장사례는 있었다.

④ 증자기 및 세미/침지설비 소독작업에 대한 개선 가능성을 가진 업체는 60%로 나타났다.

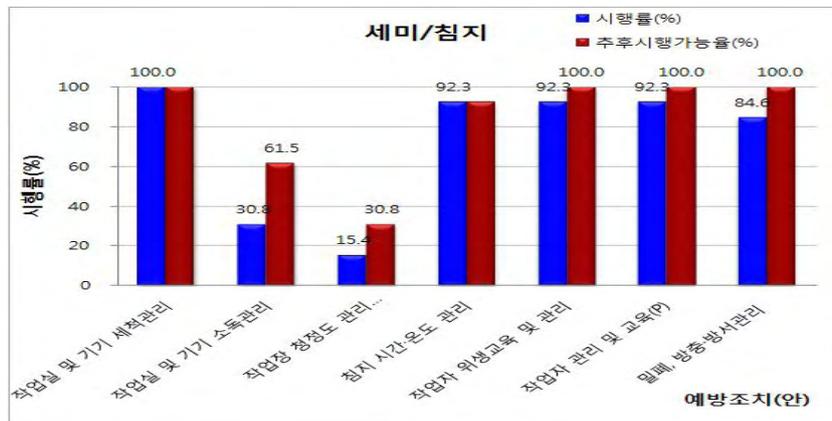


그림 228. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 세미·침지

※ (B): 생물학적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안,

(P): 물리적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안

※ 15개 조사업체 중 13개 업체에 대한 통계그래프로 2개 업체는 세미·침지공정 없음

(마) 증자

① 증자기 세척 후 소독관리가 이루어지고 있는 업체는 약 27%로 나타났으나, 소독업무의 필요성에 대한 인식이 높아 개선 가능성은 90% 이상으로 조사되었다.

② 증자공정은 증자기 내에서 밀폐된 형태로 진행되는 경우가 많아 작업장 청정도 관리는 불필요하다는 인식이 높았다.

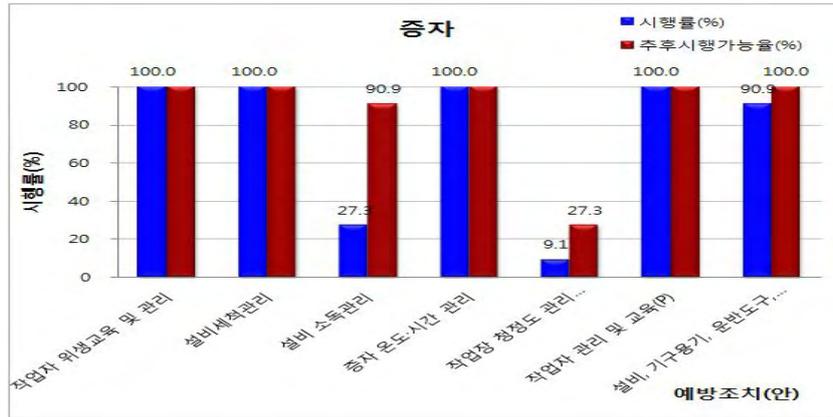


그림 229. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 증자

※ (B): 생물학적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안,

(P): 물리적 위해요소 발생원인과 관련한 예방조치안

※ 15개 조사업체 중 11개 업체에 대한 통계그래프로 4개 업체는 증자공정 없음

(바) 발효

① 현장조사결과, 발효공정 중 Sampling을 통한 Mycotoxin 검사를 실시하고 있는 업체는 없었으며, 추후 검사 실시가 가능하다는 업체는 약 73%로 나타났다.

② 현재 발효공정 중 Methanol에 대한 검사가 이루어지는 업체도 26%로 낮았으며, 검사를 실시하고 있는 업체의 경우 자체적으로 이루어지는 것이 아니라 외부기관에 의뢰하는 것으로 나타났다.

③ 80% 이상의 업체에서 기준규격에 따른 검사업무가 필요하다면 실시할 의향이 있는 것으로 조사되었으나, 주입 후 완제품에 대한 Methanol 검사 외에 발효공정상의 Methanol 검사는 대부분 불필요하다는 의견이 제시되었다.

④ 주류에 관련된 화학적 위해요인에 대한 검사가 가능한 공인기관이 한정되어 있으며, 외부 공인기관 의뢰 시 발생하는 비용에 대한 경제적 부담으로 현장 적용에 부정적인 것으로 나타났다.

⑤ 발효조 밀폐처리(덮개망 처리 미흡 등)가 이루어지지 않는 업체의 경우, 덮개망 설치에 따른 교차오염 발생, 작업상의 부하 발생 우려 등으로 인해 덮개처리를 기피하고 있는 것으로 나타났으며, 덮개망 처리보다는 발효공정 구역에 대한 밀폐, 방충·방서관리를 강화하는 것이 보다 효과적이라는 의견이 제시되었다.

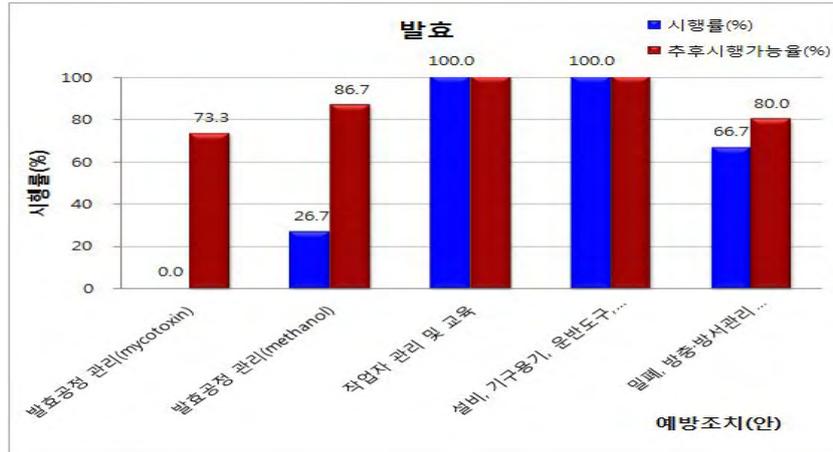


그림 230. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 발효

(사) 제성

① 제성공정의 경우, 완전 밀폐형 제성탱크를 사용하는 경우가 대부분인 것으로 나타났으며, 공정흐름상 발효 후 배관을 통해 제성탱크로 이동하는 업체가 많아 관리가 잘 이루어진다고 답하였으나, 배관에 대한 청결관리의 강화가 요구되었다.

② 제성기망(여과망)은 제성공정이 끝난 후 분리하여 세척작업을 별도로 실시하는 업체가 많은 것으로 조사되었으며, 세척 시 육안검사를 통해 파손여부 확인이 수시로 가능한 것으로 나타남. 또한 공정 중 제성기망이 파손될 시에는 작업이 중단되는 경우가 많아 제성기망 파손에 의한 이물 혼입 가능성은 현실적으로 낮다는 의견이 제시되었다.

③ 제성탱크 세척 후 소독관리가 이루어지고 있는 업체는 약 27%에 그쳐 현재 시행률은 낮았으나, 소독업무의 필요성에 대한 인식이 높아 개선 가능성이 높은 것으로 나타났다.

④ In-Line Process로 제성공정이 진행되는 업체는 작업공간 특성상 청정도 관리의 필요성에 대해서는 불필요하다는 의견이 제시되었다.

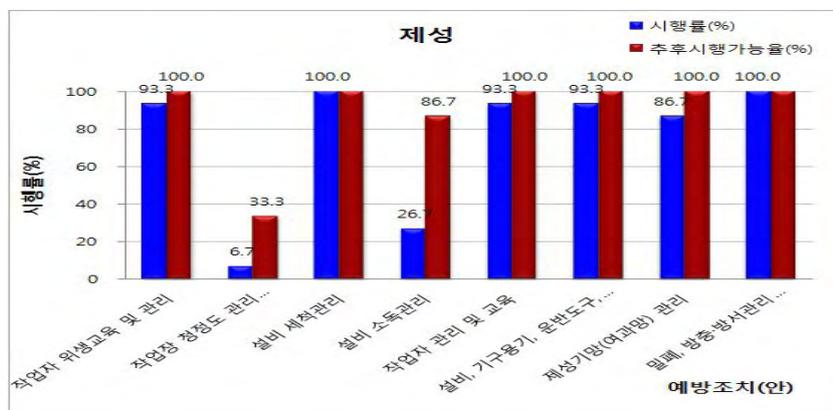


그림 231. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 제성

※ 설비, 기구용기, 운반도구 등 세척관리항목의 조사결과는 모든 형태의 세척업무에 대한 통계임.

(아) 병입(내포장)

① 주입 및 Capping이 이루어지는 충전공정의 경우, 클린룸의 형태로 공간을 분리, 구획관리 하는 업체가 70% 이상으로 나타났으며, 타 공정보다는 추후 관리 강화의 필요성에 대한 인식이 높은 것으로 조사되었다.

② 병입공정은 막걸리 양조공정 중 가장 중점적으로 관리되어야 할 공정으로 현재 업체에서도 타 공정보다는 장비 점검, 설비 세척, 작업자 교육관리 등이 잘 이루어지고 있는 것으로 나타난. 반면, 설비 소독관리, 청정도관리 등은 타 공정과 마찬가지로 관리가 미흡한 것으로 조사되었다.

③ 병입 전 대기 중인 PET, 마개 등의 보관이 적절하게 이루어지는 업체는 60%로 다른 예방조치안에 비하여 낮게 나타났으나, 추후 개선 가능성은 높은 것으로 조사되었다.

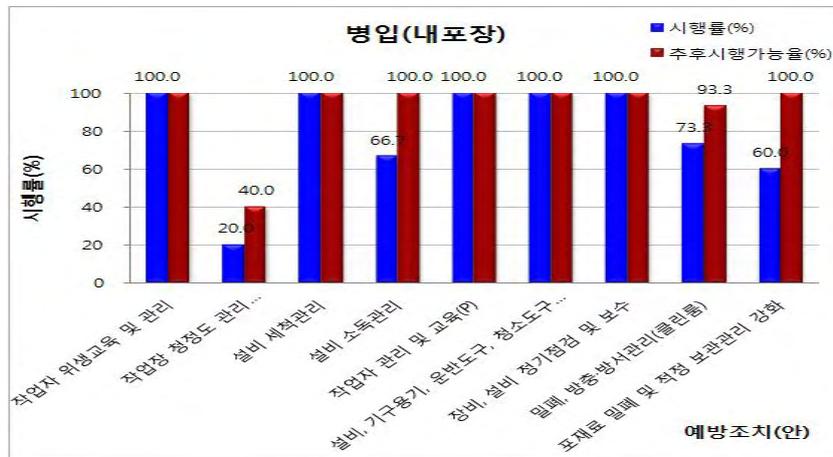


그림 232. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 병입(내포장)

(자) 완제품 보관 및 유통

① 현재 제품출고 시 냉장탑차가 아닌 일반 차량을 이용하는 경우는 40%로 나타났으며, 추후 냉장창고 설치 및 냉장탑차 사용 등을 통해 완제품 보관 및 유통과정의 온도관리에 대한 개선 가능성을 보인 업체는 약 87%로 나타났다.

② 대형마트로 납품하는 업체의 경우, 생산하는 막걸리가 냉장유통조건이 아님에도 불구하고 제품 납품에 대한 요구조건에 따라 냉장탑차를 보유 및 유통하고 있는 것으로 조사되었으며, 필요하다면 대형마트 외의 업체에 납품하는 경우에도 냉장탑차를 추후 확대 적용할 예정이라는 의견이 제시되었다.

③ 반면, 대형마트 납품 없이 냉장유통조건이 아닌 막걸리를 생산하는 업체의 경우, 냉장탑차의 필요성에 대한 인식이 낮게 조사되었다.

④ 보관 및 운반관리 기준을 자체적으로 수립하여 관리하고 있는 업체는 없었으며, 육안검사를 통해 수시로 확인 및 관리하는 업체는 약 48~67%로 나타났다.

⑤ 보관 및 운반관리 강화에 있어 자체적 기준 수립에 대한 개선의지가 높으며, 보완 필요성에 대한 인식도 높은 것으로 조사되었다.

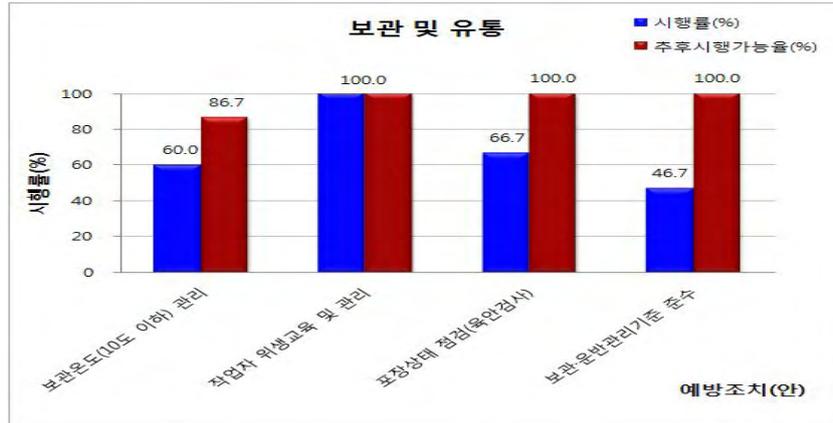


그림 233. 공정별 현장조사(인터뷰)결과 - 보관 및 유통

(4) 기타 이화학적 품질기준 항목에 대한 검사시행 여부 조사결과

15개 업체를 현장조사(인터뷰)한 결과, 실험업무가 가능한 검사실을 보유한 업체들임에도 불구하고 생물학적 위해요소에 대한 분석업무가 이루어지고 있는 업체는 전무하였으며, 화학적 위해요소 분석업무와 관련하여서는 표 217와 같이 국립농산물품질관리원의 이화학적 품질기준 항목 중 메탄올(mg/ml)에 대해 검사업무를 이행하는 업체(외부의뢰 업체 포함)가 가장 많은 것으로 조사되었다. 생물학적, 화학적 위해요소와 관련한 클레임 발생사례는 없는 것으로 조사되었으며, 소비자불만접수대장, 이물 클레임 관리대장 등을 보유하고 있는 업체는 일부로 그에 대한 기록 및 문서관리가 철저하게 이루어지는 업체는 극소수인 것으로 조사되었다.

표 217. 품관원_이화학적 품질기준 항목 검사시행 여부

항 목	기 준	시행업체		비 고
		시행	미시행	
1) 알코올분 (v/v%)	표시량 - 0.5, + 1.0 이내	15	0	
2) 총산 (w/v%)	0.5 이하(초산으로서)	12	3	많은 업체에서 시행하기는 하나, 비정기적으로 진행됨.
3) 보존료	불검출	2	13	미사용
4) 삭카린나트륨	불검출	1	14	미사용
5) 메탄올 (mg/mL)	0.3 이하 (식품위생법: 0.5 이하)	5	10	자체적 검사가 아닌 외부공인기관에 의뢰하여 시험성적서 보유
6) 진균수	음성[살균 막걸리(막걸리)에 한한다]	-	-	살균막걸리에 한함으로 해당없음
7) 대장균	음성	3	12	1개 업체 간이검사 이행

마. 딱걸리 원료 및 공정별 위해요소 및 예방조치 최종(안) 도출

현장조사결과 분석 및 2차 전문가 자문회의를 통해 도출된 예방조치(안)은 표 218와 같다.

입고 시 금속검출기를 통한 금속성 이물 제어관리보다는 제성 후, 주입 전 x-ray를 통한 이물제어관리가 효과적일 것이라는 현장조사결과와 자문결과를 반영하여, 입고 시의 금속검출기와 관련한 예방조치(안)을 제성공정에서의 예방조치(안)으로 수정하였다.

원·부자재 보관(창고 등), 연미, 세미/침지공간에 대한 청정도관리 또한 현장조사결과 추후 현실적용 가능성이 낮다는 점과 각 공간에 대한 청정도관리보다는 온습도 관리 또는 밀폐, 방충방서관리가 강화가 효과적인 것으로 판단되어 대체하였다. 또한 증자 및 발효공정을 거치며 진행되는 비포자형성균의 사멸과 발효 젖산균에 의한 타 병원성 미생물균 분석이 어려운 점을 고려하여 증자와 발효공간에 대한 청정도관리는 삭제하였다.

세미/침지, 증자공정에 있어 침지와 증자 온도·시간관리가 미생물균 증식과 관련하여 중점적으로 관리되어야 할 항목으로 도출되었으며, 이는 중요관리점 여부 검토에 중요한 참고자료가 될 것으로 보인다. 또한 침지가 오래되어 쌀에 문제가 되더라도 증자 후 열탕소독(스팀살균 등)을 통해 살균이 가능하므로 작업 후의 소독관리가 중요한 것으로 나타났으며, 소독 전 증자기 내부에 잔존하는 수분에 대한 건조관리 또한 예방조치의 중요한 항목으로 제시되었다.

세미 시 사용하는 물 투입량(충분한 세척이 이루어질 수 있는 물의 양), 세척 횟수 등에 대한 관리로 세척 미흡으로 인한 위해요소 잔존 등의 위험을 예방할 수 있으며, 증자 후 사람이 투입되어 증자기 내부를 세척하는 과정에 대한 예방조치(안) 마련이 필요한 것으로 보인다.

연미, 발효공정상 관리항목으로 도출되었던 mycotoxin은 원료자체로부터 유래 가능한 물질이므로 원료 자체에서만 관리하는 것이 타당한 것으로 보이며, 원료 보관 시 부적정한 온·습도관리에 의한 증식의 가능성은 있으므로 원·부재료 보관 시의 온·습도관리로 예방조치(안)을 도출하는 것이 타당한 것으로 보인다.

발효조의 덮개처리를 위하여 사용하는 그물망, 모기망 등은 재질의 기준 및 규격에 대한 적합 여부가 우선 고려되어야 하며, 덮개망 처리에 의한 작업상의 부하, 교차오염 발생 가능성 등에 따라 발효조 덮개처리보다는 발효공간에 대한 밀폐성 확보, 방충·방서관리와 관련한 관리 방안을 제시하는 것이 더욱 효과적일 것으로 판단되었다.

발효공정 이후 제성공정으로 이동하는 과정 중 생물학적 위해요소에 의한 교차오염 발생이 가능하므로 종사자의 개인위생관리 미흡, 취급 부주의, 작업환경관리 미흡 등에 의한 교차오염이 발생하지 않도록 생물학적 위해요소에 대한 예방책을 위생관리, 작업장 환경관리 방향으로 제시하였다.

제성공정에서 In-line Process가 아닌 업체의 경우는 특히 운반도구, 고무 호스 등의 세척·소독관리, 위생적 보관 여부, 제성기망 분리 및 세척 등에 대한 관리가 필요할 것으로 보인다.

표 218. 막걸리 원료 및 공정별 위해요소 및 예방조치(안) 최종 도출(안)

공정	위해요소	발생원인	예방조치(안)
주 원 료 (쌀 등 농산물)	<i>E. coli</i> O157:H7		
	<i>E. coli</i>		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	- 포장파손으로 인한 교차오염 - 입고 전 보관상태 불량으로 인한 단위위해요소 증식	- 입고검사 - 시험성적서 확인 - 공인기관 시험의뢰 - 협력업체 보관관리 강화
	<i>Salmonella</i> spp.		
	<i>Bacillus cereus</i>		
	<i>Clostridium perfringens</i>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>		
C	중금속	- 농약의 잔류(과다 사용) - 중금속 오염(토양 등)	- 시험성적서 확인
	잔류농약		
	Mycotoxin		
		비닐, 실 등 (연질)	
P	벌레	- 협력업체 생산, 보관관리 미흡으로 인한 이물 혼입 - 협력업체 RPC 시설설비 관리 미흡	- 육안검사 이행 - 협력업체 교육 및 관리
	흙, 돌 (경질)		
	금속조각		
C	중금속	- 중금속 오염(토양 등)	- 시험성적서 확인
첨가물 -발효제	비닐, 실 등 (연물)		
	벌레	- 협력업체 원료관리 및 생산, 보관관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 육안검사 이행 - 협력업체 교육 및 관리
	흙, 돌 (경질)		
	플라스틱, 금속조각		
첨가물 -당분	인공감미료 (사카린나트륨 등)	- 중금속 오염(토양 등) - 협력업체의 인공감미료 인위적 사용	- 시험성적서 확인
	이산화황		
	중금속		
		비닐, 실 등 (연물)	
P	벌레	- 협력업체 원료관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 육안검사 이행 - 협력업체 교육 및 관리
	흙, 돌 (경질)		
	플라스틱, 금속조각		

	위해요소	발생원인	예방조치(안)
B	수질관련 병원성 미생물 (살모넬라, 쉬겔라 등)	- 주위환경 오염으로 인한 교차오염	- 주위환경 청결관리 - 정수처리관리
	노로바이러스	- 정수처리 불량 - 배관 및 저수조 청결상태 불량	- 저수조, 배관 세척·소독관리 - 시험성적서 확인
첨가물 -용수	중금속 (납, 비소 등)	- 부정, 불량 첨가물 사용 및 첨가물 허용기준이상 사용으로 인한 성분 잔류	- 시험성적서 확인 - 상수도 사용
	유해물질 (페놀 등)		
	소독제 (잔류염소 등)		
P	흙, 돌 (경질)	- 배관 파손에 의한 혼입	- 배관 및 저수조 세척관리
	물이끼, 녹	- 저수조관리 미흡	
C	납, 카드뮴, 톨루엔	- 부적절한 포장재 사용으로 인한 제품 오염	- 시험성적서 확인 - 포장재 확인
	잔류용제		
	중금속 (용출)		
포장재	1-헥센, 1-옥텐	- 작업자 취급 부주의 - 협력업체 제조공정 미흡 및 보관관리 미흡	- 종사자 관리 및 교육 - 육안검사 이행 - 협력업체 교육 및 관리
	비닐, 실 등 (연질)		
P	벌레	- 외포재료 파손에 의한 오염	
	흙, 돌 (경질)		
	플라스틱, 금속조각		
B	<i>E. coli</i> O157:H7	- 운송차량 위생상태 불량 - 협력업체 원료, 제조공정관리 미흡, - 운반기구 파손으로 교차오염 - 작업자 취급 부주의로 인한 포장 파손에 의한 교차오염	- 차량 위생상태 점검 - 입고검사 - 시험성적서 확인 - 협력업체 제조공정 관리 - 작업자 위생교육 및 관리
	<i>E. coli</i>		
	<i>Listeria monocytogenes</i>		
	<i>Salmonella</i> spp.		
	<i>Bacillus cereus</i>		
	<i>Clostridium perfringens</i>		
입고	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	비닐, 실 등 (연물)	- 운송차량 위생상태 불량	- 차량 청결상태 점검
P	벌레	- 협력업체 원료, 제조공정관리 미흡	- 입고 시 육안검사를 통한 선별작업 이행
	흙, 돌 (경질)	- 작업자 취급 부주의로 인한 포장 파손으로 이물 혼입	- 협력업체 제조공정관리 - 작업자 교육 및 관리
	플라스틱, 금속조각		

	위해요소	발생원인	예방조치(안)
B	<i>E. coli</i> O157:H7		
	<i>E. coli</i>		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	- 보관공간 세척·소독관리 미흡	- 보관공간 세척·소독관리
	<i>Salmonella</i> spp.	- 보관공간 온·습도관리 미흡으로 인한 미생물 증식	- 보관공간 온·습도관리
	<i>Bacillus cereus</i>	- 작업자 위생교육 부족	- 작업자 위생교육 및 관리
	<i>Clostridium perfringens</i>		
원·부자재 보관	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	C	Mycotoxin	- 원료자체에서 유래 - 보관공간 온·습도관리 미흡으로 인한 증식 - 보관공간 온·습도관리
P	비닐, 실 등 (연물)		
	벌레	- 작업자 취급 부주의로 인한 이물 혼입	- 밀폐, 방충·방서관리 강화
	흙, 돌 (경질)	- 원료의 장시간 보관 및 부적절한 온·습도 관리로 인한 해충 번식 및 혼입	- 보관품 선입선출 관리 - 보관공간 온·습도관리
	플라스틱, 금속조각	- 밀폐관리(방충망 등) 미흡	- 작업자 관리 및 교육
B	<i>E. coli</i> O157:H7		
	<i>E. coli</i>		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	- 오염된 원료의 반입	- 정기적인 작업공간 및 연미기 세척·소독관리
	<i>Salmonella</i> spp.	- 작업공간 및 연미기 세척·소독관리 미흡	- 작업자 위생교육 및 관리
	<i>Bacillus cereus</i>	- 작업자 위생교육 부족	
	<i>Clostridium perfringens</i>		
연미	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	P	비닐, 실 등 (연물)	
P	벌레	- 이물 잔류한 오염된 원료의 반입	- 정기적인 기기 세척관리
	흙, 돌 (경질)	- 방충·방서관리 미흡 - 작업자 부주의에 의한 혼입	- 밀폐, 방충·방서관리 강화 - 작업자 관리 및 교육
	도색박리, 금속조각	- 연미과정 중의 이물 혼입	- 연미공정관리 강화

위해요소	발생원인	예방조치(안)	
세미 (침지)	<i>E. coli</i> O157:H7		
	<i>E. coli</i>	- 오염된 원료의 반입	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	- 작업공간 세척·소독관리 미흡	
	B <i>Salmonella</i> spp.	- 설비 및 작업도구 세척·소독관리 미흡	- 정기적인 작업공간 및 기기 세척·소독관리
	<i>Bacillus cereus</i>	- 세미 불충분으로 원료 자체로부터 기인한 미생물 번식	- 침지 온도·시간 관리
	<i>Clostridium perfringens</i>	- 작업자 위생교육 부족	- 작업자 위생교육 및 관리
P	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	비닐, 실 등 (연물)	- 오염된 원료의 반입	
	벌레	- 작업자 부주의에 의한 혼입	- 정기적인 기기 세척관리
	흙, 돌 (경질)	- 방충·방서관리 미흡	- 밀폐, 방충·방서관리 강화
	금속조각	- 세미 불충분으로 인한 잔류 이물 혼입	- 작업자 관리 및 교육
증자	<i>Bacillus cereus</i>	- 작업장, 설비, 작업도구 등의 세척·소독관리	- 정기적인 작업공간 및 기기 세척·건조·소독관리 강화
	B <i>Clostridium perfringens</i>	- 증자 온도·시간관리 미흡으로 단위위해요소 잔존 - 작업자 위생교육 부족	- 세척 시 사용되는 물의 양, 세척 횟수 등에 대한 관리 강화 - 증자 온도·시관관리 - 작업자 위생교육 및 관리
P	비닐, 실 등 (연질)	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 강화
	벌레	- 제조설비 파손에 의한 혼입	- 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
	금속조각	- 작업자 공정관리 교육 부족	- 작업자 관리 및 교육
발효	비닐, 실 등 (연질)	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 강화
	P 벌레	- 설비(덮개망 등) 파손에 의한 혼입	- 발효조 덮개망 처리 또는 발효공간 밀폐, 방충·방서관리 강화(밀폐성 확보 등)
	금속조각	- 발효조 밀폐처리(Open 탱크) 미흡으로 인한 혼입 - 작업자 공정관리 교육 부족	- 작업자 관리 및 교육

위해요소		발생원인	예방조치(안)
B	<i>E. coli</i>	- 제조설비 세척·소독관리 미흡으로 인한 교차오염	- 작업장 환경 및 설비 세척·소독관리 강화
	<i>Staphylococcus aureus</i>	- 작업자 위생관리 불량으로 인한 교차오염	- 작업자 위생교육 및 관리(개인위생관리 강화 등)
제성	비닐, 실 등 (연질)	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 설비, 작업도구, 운반도구(호스 등) 등의 세척관리 강화
	벌레	- 설비(제성기망 등) 파손에 의한 혼입	- 제성기망 관리 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 (밀폐형 제성탱크, In-line Process 등)
	금속조각	- 작업자 공정관리 교육 부족	- 작업자 관리 및 교육
B	<i>E. coli</i>	- 제조설비 세척·소독관리 미흡으로 인한 교차오염	- 작업장 환경 및 설비 세척·소독관리 강화
	<i>Staphylococcus aureus</i>	- 작업자 위생관리 불량으로 교차오염 - 공중낙하균에 의한 교차오염	- 작업자 위생교육 및 관리(개인위생관리 강화 등) - 작업장 청정도관리
병입 (내포장)	비닐, 실 등 (연질)	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 미흡으로 인한 이물 혼입	- 설비, 작업도구 등의 세척관리 강화
	벌레	- 공정 배관 세척 미흡에 의한 이물 잔존 - 병입실 분리·구획 미비에 의한 혼입	- 설비 정기점검 및 보수 - 밀폐, 방충·방서관리 강화 (클린룸 관리)
	곰팡이 (병 외부)	- 포재료 부착 및 파손에 의한 혼입 - 작업자 공정관리 교육 부족	- 포재료 밀폐보관 및 적정보관관리 강화 - 작업자 관리 및 교육
C	Methanol	- 발효과정 중 생성	- 0.3 mg/mL이하 관리
완제품 보관 및 유통	비닐, 실 등 (연질)		
	벌레	- 포장재 파손 및 관리 미흡으로 인한 이물혼입	- 포장상태 점검(육안검사) - 보관공간 온도(10℃ 이하), 습도관리
	플라스틱 (경질)	- 부적절한 온·습도관리에 의한 곰팡이 발생	- 보관운반관리기준 준수 - 작업자 위생교육 및 관리
	곰팡이 (병 외부)		

바. 위해요소 예방조치 세부이행사항 및 향후 관리방안

예방조치의 세부이행사항 및 관리 방안은 주세법, 식품위생법 등에 준하여 종사자 관리, 제조환경 관리, 생산관리, 제품관리로 구분하여 다음과 같이 제시하였다.

(1) 종사자 관리

(가) 개인위생관리

① 모든 종사자는 위생복, 위생모 착용 후 작업에 임하여야 하며, 각 위생복장에 대한 세척·소독방법 및 기준을 수립하여 위생복은 항상 청결하게 관리하고 위생모는 머리카락이 보이지 않게 착용하는 것을 원칙으로 한다.

② 각 위생복장에 대한 세척·소독방법 기준 수립 및 관리를 실시한다.

③ 위생화와 실외화를 구분, 위생복 착용 상태로 작업장 외부 출입을 금지한다.

④ 작업장 내에는 장신구나 개인용품을 소지하거나 착용을 금지하며, 작업장 외에 별도의 보관 장소를 제공한다.

⑤ 위생관리규정을 불이행하는 행위(흡연, 취사 등)를 금지한다.

(나) 작업장 출입 관리

① 손에 존재하는 이물 및 미생물 등의 혼입을 방지하기 위하여 작업장 출입 시 수립된 손 세척·소독방법 및 절차에 따라 손 세척·소독을 실시한다.

② 작업장 입실 시 이물제거 도구(접착롤러, 진공흡입기, 에어샤워 등)를 사용하여 위생복 표면의 이물, 머리카락 등의 제거를 위한 절차를 거친 후 입실하여야 한다.

③ 작업장 출입전 위생화의 이물제거를 위해 세척조를 사용한다.

④ 제성, 충전공정의 경우 청결구역으로 설정하여 위생복장관리 강화를 권고한다.

⑤ 작업장 출입 관리 절차 등을 수립하고 게시하도록 한다.

(다) 교육

① 종사자의 위생의식을 향상시키고, 현장의 위생, 품질에 대한 지식수준 및 관리능력을 향상시키고자 정기적인 종사자 위생교육이 이루어져야 한다.

② 주요사항에 대한 반복 교육과 새로운 내용을 알리는 교육이 교차 실시되어야 하며, 사진, 동영상 등을 활용한 시각적 효과를 높이는 교육이 필요하다.

③ 교육담당자는 지식교육, 품질교육, 현장교육 등 교육의 목적과 대상에 따라 연간교육계획을 세우고 교육실시 후 내용을 기록하고 유지·관리하도록 한다.

(2) 제조환경관리

(가) 작업장 환경관리

① 작업장은 외부로부터 영향을 받지 아니하는 곳에 위치하여 주변에서 발생하는 먼지, 해충, 오염물질 등의 유입차단이 가능한 외부로부터의 밀폐성이 확보된 형태이어야 하며, 다른 용도 외의 시설과 독립된 건물이어야 한다.

② 작업장은 제조·가공에 필요한 기계·기구류 등을 설치한 제조·가공실을 갖추고, 각각의 시설은 분리 또는 구획하도록 한다.

③ 작업장 바닥, 배수로 등은 내수 처리하여 배수가 잘 되도록 하며, 주기적인 세척·소독기준 및 방법을 수립하고 준수하도록 한다.

④ 작업장 내벽은 세척이 용이한 구조로 표면이 매끄러워야 하며, 갈라지거나 파손된 부분이 없도록 관리하도록 하며, 주기적인 세척이 이루어지도록 한다.

⑤ 식품 등을 취급하는 원료보관실, 제조·가공실, 포장실 등의 내부는 응축수 등이 발생하지 않도록 항상 청결한 상태를 유지하도록 한다.

⑥ 작업장의 문, 창 및 출입구는 내수성 재질로 곤충, 쥐 등의 출입을 막을 수 있도록 문의 틈새 등을 관리하여 밀폐 가능하도록 한다.

(나) 방충·방서관리

① 해충 및 유해동물의 발생원인 및 유입경로를 파악하고, 유입을 차단할 수 있도록 문, 창, 출입구에 방충망을 설치하며, 공정에 따라 덮개망, 포충등, 바퀴트랩, 쥐덫 등을 설치하고 모니터링 하도록 한다.

② 출입문은 에어커튼을 설치하거나 자동 또는 반자동 2중문으로 밀폐한다.

③ 제조과정 중 발생된 분진, 잔유물이 설비나 그 주변에 존재하지 않도록 한다.

④ 모든 배관 관통부는 틈이 없도록 밀봉 시공하도록 한다.

⑤ 주기적인 발생량 분석자료를 통해 방충 방서관리기준을 수립하도록 한다.

(다) 식품취급시설관리

① 막걸리 양조와 관련한 모든 식품취급시설은 사용 전, 후 세척 또는 소독(살균) 등으로 항상 청결하게 유지 및 관리하여야 한다.

② 설비, 작업도구, 용기 등 및 충전공정에서 사용되는 공병, 병뚜껑, 마개 등에 대한 세척·소독기 준비 및 방법을 수립하여 준수하여야 하며, 세척작업 후 완전 건조하여 설비 내 고인 물, 습기 등에 의한 교차오염이 발생하지 않도록 관리하여야 한다.

③ 급수시설은 상수도나 ‘먹는물관리법’ 수질기준에 적합한 지하수를 공급할 수 있는 용수정제시설을 구비하고, 외부 오염방지를 위해 밀폐 가능한 구조의 저수탱크를 설치하도록 한다.

④ 원재료와 포장용기 등의 보관창고는 외부와의 차단이 가능한 구조로 습기, 흙, 먼지 등에 의한 오염방지를 위해 바닥 및 벽으로부터 이격관리하도록 한다.

(라) 폐기물관리

① 공정 중 발생하는 폐기물은 별도로 관리하고 신속하게 폐기물 처리장으로 이송하도록 함.

② 폐기물 취급시설은 작업장과 격리된 장소에 밀폐가능한 보관시스템을 확보하고, 보관용기는 용도별로 구분 관리하도록 한다.

(3) 생산관리

(가) 원·부자재 및 포장재 보관관리

① 품질관리 및 안전관리에 우수한 공급업체를 선정하도록 함.

② 입고되는 모든 원·부자재 및 포장재에 대한 시험성적서를 구비하여 생물학적, 화학적 위해요소와 관련한 안전성을 확보하도록 한다.

③ 입고되는 원·부자재의 특성에 따라 적절한 온·습도관리(냉장보관 조건인 경우 10℃ 이하 관리등)가 이루어져야 하며, 보관창고는 항상 청결상태를 유지할 수 있도록 관리한다.

④ 포장재의 경우, 육안검사를 통한 1차적인 이물혼입 예방관리가 필요하며 포장재 사용 전 물세척, 오존수 세척, 에어 세척 등을 통해 생물학적, 물리적 위해요소 잔존에 의한 교차오염을 예방하여야 한다.

⑤ 보관 중인 원·부자재와 포장재는 비, 바람 등에 보호될 수 있도록 천, 비닐 등을 이용하여 밀봉시켜 파렛트, 적재대 사용을 통해 지면과 접촉하지 않도록 조치, 보관하거나 별도의 보관공간을 구비하도록 한다.

(나) 용수관리

① 막걸리 양조에 사용되거나, 양조과정 중 접촉할 수 있는 시설·설비, 기구·용기 등에 사용되는 용수는 「먹는물 관리법」 제5조의 규정에 의한 먹는물 수질기준에 적합한 지하수이어야 하며, 지하수를 사용하는 경우, 먹는물 수질기준 전 항목에 대하여 연 2회 이상 수질검사를 실시하여 그에 따른 시험성적서를 보관하도록 한다.

② 지하수 또는 상수도를 취수하는 저수조와 배관은 체계적인 세척·소독기준 및 방법에 따라 관리되어야 하며, 자체적인 실사가 어려운 경우, 외부업체에 의뢰하여 세척·소독관리를 이행하여야 한다.

(다) 공정별 주요관리사항

① 입고

㉠ 입고 시 육안검사를 통한 이물 등에 대한 선별작업이 이행되도록 한다.

㉡ 납품차량에 대한 위생상태를 확인하여 청결상태를 유지할 수 있도록 관리하여야 한다.

㉢ 협력업체관리자의 교육 및 관리가 이루어지도록 한다.

② 부자재 보관

㉠ 특정 온·습도를 조건으로 하는 원·부자재에 대한 온·습도관리가 이루어지도록 한다.

㉡ 선입선출을 관리를 통해 원료의 장시간 보관과 부적절한 온·습도 관리로 인한 해충의 번식 및 혼입의 가능성을 예방하여야 한다.

③ 연미

㉠ 작업공간 및 설비에 대한 정기적인 세척·소독관리가 필요하며, 연미작업 대기 중인 쌀로부터 벌레가 번식하지 않도록 관리하도록 한다.

④ 세미/침지, 증자

㉠ 침지, 증자 온도·시간은 공정을 거치는 동안 미생물 증식과 깊이 연관되는 사항으로 이에 대한 적정 기준을 수립하고 준수하여야 한다.

㉡ 증자공정이 끝난 후 살균을 위한 열탕소독(스팀살균) 등의 작업이 필요하며, 열탕소독이 아닌 약품을 사용한 소독을 이행할 시에는 증자기에 잔존한 물, 수분에 대한 건조작업이 완벽히 이루어진 후 소독작업을 이행하도록 한다.

㉢ 세미 시 사용되는 물의 양, 세척 횟수관리를 통해 세척 미흡으로 인한 위해요소 잔존으로부터의 위험을 예방하도록 한다.

㉣ 증자기 내부 세척·소독관리기준을 수립하고 준수하도록 함.

⑤ 발효

㉠ 발효조 덮개망 처리로 인한 작업상의 부하 발생, 덮개망에 의한 교차오염의 발생 가능성이 높아 발효조의 덮개처리보다는 발효공간에 대한 밀폐성 확보, 방충·방서관리가 강화되도록 한다.

⑥ 제성

㉠ 교차오염과 관련하여 가장 중점적으로 관리가 이루어져야 하는 공정으로 발효공정 후 제성탱크로 술이 이동하는 과정은 업체마다 설비의 특성이 매우 다양하므로 설비 특성에 맞는 세척·소독관리가 이루어져야 한다.

㉡ In-Line Process로 공정이 이루어지지 않는 업체의 경우, 운반도구, 고무 호스 등의 세척·소독관리, 위생적 보관 여부, 제성기망 분리 및 세척관리 기준을 수립하고 준수하도록 한다.

④ 제성 후, 금속검출기 또는 x-ray 검출기를 통하거나 적절한 제성기망의 mesh 사용 기준 강화를 통해 이물제어관리가 이루어지도록 한다.

⑦ 병입(내포장)

㉠ 주입실은 대부분 타 작업공간과 분리·구획된 클린룸의 형태를 갖추고 있어 분리된 공간에 대한 밀폐관리 및 적정 보관관리를 강화하여 외부로부터의 교차오염이 발생하지 않도록 관리하여야 한다.

④ 임의적인 이물투입 방지를 위한 인라인 프로세스 등의 공간작업의 차단성을 확보하도록 한다(인라인 프로세스로 진행되더라도 정기적인 세척작업 필요).

㉠ 장비, 설비 정기점검, 보수 및 설비 및 작업도구 등의 세척관리 기준을 수립하고 준수하도록 한다.

⑧ 완제품 보관 및 유통

㉠ 완제품 보관 시 제품의 특성에 맞는 적정 온·습도관리가 이루어져야 한다.

④ 유통 전 육안검사를 통한 반품 확인을 거친 후 납품차량의 적정온도관리를 통해 유통 시 곰팡이 등이 증식하지 않도록 관리하여야 한다.

(4) 제품관리

① 자체적으로 이물관리계획을 수립하여 소비자로부터 이물 혼입 등 불만사례, 클레임 등을 신고받은 경우 자사 기준에 따라 처리하여야 하며, 혼입된 이물이 보고대상인 경우 식품위생법 제 46조에 따라 보고하여야 한다.

② 기록관리와 함께 이물 혼입이 확인된 경우 혼입원인을 개선(제거)하고 최소화하는 시정 및 예방조치 계획을 수립·이행하도록 한다.

사. 교육교재 제작

막걸리 사업체, 관련 학계, 식품안전전문가 그룹으로의 충분한 검토 후 교재의 현장 적용성을 검토하여 시설과 일반위생관리항목, 제조공정별 관리항목, 식품위생법 준수사항등의 내용으로 영세규모의 막걸리 사업체에 종사자의 교육교재로 활용할 수 있는 내용으로 구성하였다.

(1) 내용 구성

(가) 일반위생관리

작업장관리, 방충·방서관리, 주류취급시설관리, 폐기물·폐수관리 등 제조환경에 관한 내용과, 건강진단, 개인위생관리, 교육·훈련 등 종사자에 관한 사항으로 구성하였다. 제조환경관리는 GMP, SSOP 등 시설요건과 위생적 관리를 위해 필요한 관리항목에 대한 해설을 수록하였고, 종사자관리는 기본적 위생수칙과 종사자의 의식개선에 대한 교육훈련 등 강조할 수 있는 관리항목을 수록하였다.

(나) 제조공정관리

1차년도 제조공정에 조사한 결과로 도출된 입고, 원·부재료 보관, 연미, 세미 및 침지, 증자, 발효, 제성, 병입 공정의 순서로 공정별로 법규에서 규정하고 있는 관리항목, 위생적 취급을 위한 관리방법, 교차오염 및 이물혼입 방지 수칙에 대한 내용을 수록하였다.

(다) 제품관리

완제품과 유통 그리고 클레임 관리를 위한 관리항목을 수록하였다.

(라) 기타

식품위생법 시행령이 개정됨에 따라 식품제조·가공업으로서 준수하여야 하는 시설기준, 표시기준, 영업자 준수사항, 건강진단 의무, 식품위생교육 의무, 위해식품 자진회수 의무, 자기품질검사, 품목제조보고 등 식품위생법에 따른 법령을 수록하였다.

(2)막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재(안)

본 교육교재는 현장에서 막걸리의 위생·안전관리를 위해 업체에서 관리항목을 쉽게 이해하여 현장에 적용할 수 있도록 작성하였다. 위생·안전에 대한 전문적인 지식이 없는 영세업체를 대상으로 일반적 위생관리항목, 제조공정별 관리항목, 제품관리에 대한 내용을 포함하고 있다. 본 교재의 주요 목차와 주요 내용은 <표 211>과 같으며, 작성된 교육교재(안)은 <첨부 1. 막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재(안)>과 <첨부 2. [부록] 막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재(안)>와 같다.

표 219. 막걸리제조업체 위생·안전관리 교육교재(안) 목차 및 주요 내용

목차		주요 내용
제1장 일반위생관리	1. 제조환경관리	a. 작업장관리 b. 방충·방서관리 c. 주류취급시설관리 d. 폐기물·폐수관리 e. 급수시설 및 용수관리 f. 부대시설관리 시설 및 설비의 위치, 구조, 재질, 밀폐관리 및 정기적 점검 관리에 대한 내용
	2. 종사자관리	a. 건강진단 b. 개인위생관리 c. 작업장출입관리 d. 종사자 교육 종사자의 건강관리, 손씻기를 포함한 개인위생관리, 작업장 입·출입와 이에 대한 교육훈련에 대한 내용
제2장 제조공정관리	1. 입고	제조공정별 관리항목, 교차오염 및 이물혼입을 방지하기 위한 관리항목에 대한 내용
	2. 원·부재료 보관	
	3. 연미	
	4. 세미/침지, 증자	
	5. 발효	
	6. 채성	
	7. 병입(내포장)	
제3장 제품관리	1. 완제품 및 유통관리	완제품의 보관, 유통시 기록 등 관리항목과 교차오염 및 이물혼입을 방지하기 위한 관리항목에 대한 내용
	2. 클레임관리	a. 이물관리계획 수립 b. 소비자클레임 처리 및 기록관리 이물발생시 이물보고절차 및 소비자로부터 클레임 등 접수시 준수사항에 대한 내용

래

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 연구개발 목표 달성도

(제1세부과제)			
구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	○막걸리 양조 전용효모 선발	100	○보유 효모 1200개에서 막걸리 전용 균주 선발 - 온도 의존성, 알코올 및 산 생성능력, 향 생성능력 등을 시험양조를 통해 단계적으로 scale-up 하면서 비교하여 막걸리 전용 균주 screening
	○ 막걸리 품질저하 요인 선정	100	○시판 막걸리의 이화학적 특성 분석 - 구분: 원료, 원료 전처리, 제조방법 별 수집 - 분석 : 성상(탁도, 색도), 알코올 함량, 총산, 총당분, 점도, 총고형분 함량, 가용성 고형분 함량, brix 도, 현탁성, 유기산, 유리당, 향기성분, pH 등 ○시판 막걸리의 관능검사 - 전통주 전문패널 훈련 - 막걸리 기호도 조사 ○저장/유통 중 모니터링 및 품질저하 요인 서 선정 - 미생물 : 호기성세균, 젖산균, 효모, 곰팡이 - 분석 : pH, 알코올 함량, 총산, 총당, 총고형분 함량, 가용성 고형분 함량, 점도, brix, 현탁성, 유기산, 유리당, 휘발성 향기성분 등을 모니터링
2차년도 (2011)	○막걸리 전용효모의 양조적성	100	○보유 효모의 막걸리 양조적성 분석 - 선발된 막걸리 전용 균주의 발효제 (전통누룩, 개량누룩, 입국미, 조효소제, 정제효소 등)별 양조적성 비교 - 선발된 막걸리 전용 균주의 원료(멥쌀, 찹쌀, 밀조, 옥수수 등)별 양조적성 비교 - 선발된 막걸리 전용 균주의 발효온도별 양조적성 비교 - 선발된 막걸리 전용 균주의 급수율별 양조적성 비교
	○ 막걸리 품질증진	100	○선정된 품질지표의 개선 및 저감화 - 품질저하 요인 도출, 생성기작 구명 및 저감화 기술 개발 ○고형분과 관능성 관계 구명을 통한 제성조건 확립 ○현탁성 개선을 위한 유화안정성 분석
3차년도 (2012)	○막걸리 전용 표준 균주 선정 및 품질증진 기술 개발	100	○선발효모의 특성 구명 - 내당성, 내산성, 내알코올성, 응집성, 침강성 등 양조관련 특성분석 - 18S rRNA gene sequence 동정 - 효모특성과 시험양조 분석결과를 database 화 ○난분해성전분의 활용성 제고

(제1세부 위탁과제) 비가열 살균 기술을 이용한 생막걸리의 유통기한 연장 연구			
구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	고전압펄스전기장 및 광펄스 기술을 이용한 막걸리의 회분식 비가열 살균 기술 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> · 회분식 살균 시스템을 이용한 살균 · 회분식 처리 용기의 개발 · 막걸리 발효 균주(효모)에 대한 살균 효과 연구 · 공정 변수 및 환경 변수에 따른 살균 효과 연구
2차년도 (2011)	고전압펄스전기장 및 광펄스 기술을 이용한 막걸리의 연속식 비가열 살균 기술 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> · 연속식 살균 시스템의 개발 · 연속식 처리 용기의 개발 · 막걸리의 품질 특성 변화 연구 · 막걸리의 저장 기한 연장 연구
3차년도 (2012)	고전압펄스전기장 및 광펄스 기술의 병합 처리에 의한 살균 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> · PEF, IPL의 병합 처리에 의한 연속 살균 연구 · 막걸리의 저장 기한 연장 연구

(제2세부과제)			
구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	막걸리의 품질특성 분석 및 품질 지표 선정	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시판제품(생막걸리 22종, 살균막걸리 45종) 수거 및 이화학적 성분의 분석 ○ 대표종별 유통조건에 따른 품질 특성 변화 분석 실시, 이화학적 품질지표의 변화를 확인, 분석
	○ 막걸리의 위해물질 오염현황 조사·분석	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 보존료, 아스파탐, 삭카린, 미생물균수와 병원성 미생물의 오염도를 분석하여 시중에 유통중이 제품의 전반적인 품질수준을 평가 ○ 「주세법」과 「식품위생법」에서 요구하는 법정 요구 품질과 실제 제품의 품질 수준을 가늠함으로써 막걸리 생산업체에서 필수적으로 준수해야 되는 품질기준 항목을 1차적으로 선정
2차년도 (2011)	○ 막걸리의 위해물질 오염현황 조사·분석	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 곰팡이 독소와 대장균 등 위해 미생물균을 정성시험, 부분적 정량시험 실시 ○ 병원성 미생물의 오염 및 생존 가능성을 평가 ○ 일반적인 막걸리 제조를 위한 QC 공정도 초안과 작업표준 초안을 작성, 품질관리를 위해 필요한 오염물질의 오염도를 평가
	○ 막걸리 제조기준 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 막걸리의 생산기반에 대해 입지환경, 제조장 및 부대시설 현황, 원재료 관리, 생산 설비, 공정관리, 제품관리, 유통관리 등에 대한 현 제조장의 관리 현황 및 관리수단을 조사·분석하고 제품 표준 공정 조사 및 관리 기준 조사하고 원재료, 공정 및 최종제품에 대한 제조기준 도출
3차년도 (2012)	○ 막걸리의 이화학적 품질지표 및 관리기준 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 병원성 미생물의 오염도를 RT-PCR로 시험분석
	○ 막걸리의 품질 향상을 위한 선행요건프로그램(PRPs) 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 막걸리의 생산에 필요한 작업표준(SOP)과 유통기한 및 고품질 막걸리 생산에 필요한 작업표준(SOP)를 도출 ○ 식의약처에서 법정 요구사항을 충족시킬 수 있는 일반적인 막걸리 생산용 위생관리기준(SSOP)을 작성

(제2세부 위탁과제)

구분	연구개발 목표	달성도	연구개발 목표의 달성도 및 내용
1차 년도	○ 막걸리의 관능 flavour profile 분석	100	○ 시판제품(생막걸리 22종, 살균막걸리 45종) 수거 및 간이 테스트 ○ 벤치 테스트 결과 스크리닝된 쌀 막걸리 쌀 함량 70% 이상, 쌀 이외의 가향재료 불포함 제품 10종, 생막걸리 12종, 살균막걸리 10종을 선정 및 정량적 주요 관능특성 분석 완료 ○ 훈련된 주류관능평가패널을 이용하여 생 및 살균 막걸리의 정량적 묘사분석을 위한 프로토콜 수립
2차 년도	○ 막걸리의 소비자 기호도 분석	100	○ 성별 및 연령별로 추출된 123명의 소비자를 대상으로 소비자의 주류 음용 및 소비행태에 대한 설문조사 및 묘사분석에 사용된 8종의 살균타주 제품에 대한 기호도 및 관능검사 항목 중요도 순위 조사 실시함.
	○ 막걸리의 전문가 품질 및 기호도 평가	100	○ 전문가를 대상으로 기호도 조사를 실시하여 전문가와 일반소비자간의 기호도 인지 정도에 대한 격차 비교.
3차년도	○ 다변량 분석을 통한 이화학적 특성, 기호도, 묘사적 관능특성 분석 결과 모델링	100	○ 다변량 분석을 통한 주요 이화학적 및 향기성분 분석 결과 향후 품질 지표로 활용이 가능한 다양한 이화학적 및 향기성분 지표 설정.
	○ 소비자 및 전문가 조사 결과를 바탕으로 막걸리의 종합적 품질 평가 체계 설정	100	○ 전문가 델파이 설문결과와 정량적 묘사분석 결과를 바탕으로 막걸리의 종합적 품질 평가체계 설정(평가방법, 평가지표, 평가지등 개발)

(제1협동과제)			
구분	연구개발의 목표	달성도	연구개발의 내용
1차년도	○고품질 막걸리 제조를 위한 원료 선별 기준 및 발효 조건의 확립	100	○각 지역별 쌀의 특성 조사 (성분분석 : 전분가, 조단백질, 조지방, 미네랄 성분, 조섬유) ○각 지역별 쌀을 사용한 막걸리 제품의 성상 분석 (향기 성분, 유기산 성분 분석, 당 성분 분석 등) ○쌀의 도정 비율이 막걸리 제품 성상에 미치는 영향 조사 (향기성분, 유기산분석) ○담금 급수비율에 따른 막걸리 제품의 성상 비교 (적합한 고품질의 규격 제시 - 관능 패럴에 의한 기호도 조사) ○담금수의 정도에 따른 발효 패턴 및 막걸리 제품의 성상 비교 ○고품질 막걸리 생산을 위한 원료의 전처리 방법 및 발효 조건의 검토
2차년도	○고품질 막걸리 생산을 위한 안전성 확보	100	○이화학적 위해 요인 분석 조건 확립 ○시판 막걸리의 이화학적 위해 성상 분석 ○시판 막걸리의 저장 온도별 바이오 제닉 아민 함량 변화 검토 및 미생물 분리 ○바이오 제닉 아민 생성에 미치는 막걸리 담금 발효 조건의 검토
3차년도	○막걸리 생산 규모에 적합한 고품질 막걸리 생산을 위한 최적 공정 모델의 제시	100	○막걸리 향미증진을 위한 담금법 확립 ○막걸리 제품 생산에 적합한 효모 균주를 사용한 제품 생산 기술 확립 및 제조 공정 설비에 대한 모델 제시 ○발효 공정 제어를 통한 합성 감미료 무첨가 막걸리 제조 공정 확립

(제1협동 위탁과제)			
구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	○기초조사 및 업체 현황 분석	100	○선행연구자료 수집 및 분석 ○제조업소 선정 ○제조공정 기본자료 조사 및 정리
2차년도 (2011)	○위해요인 분석	100	○위해요인 도출 ○예방조치 방법 조사 및 정리 ○예방조치의 현장 적용성 검토 및 확정
3차년도 (2012)	○교육교재 개발	100	○교육교재(안)개발 ○자문위원 의견수렴 ○교재제작

(제2협동과제) 미생물 및 효소 활성 제어를 통한 유통기한 연장 기술 개발

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2010)	막걸리 품질 저하 요인/인자 도출 및 관련 기작에 따른 제어 방안 모색	100	<ul style="list-style-type: none"> · 막걸리 품질 저하 요인별 주요 원인 분석 완료 · 향후 관련 제품 품질 저하 요인별 제어 방안 연구 설계시 기초자료로 활용
	완전발효 조건 확립에 따른 저장성 향상 기술개발	100	<ul style="list-style-type: none"> · 막걸리 완전발효 조건 확립 및 저장성 향상 효과 분석 완료 · 향후 관련 신제품 개발시 활용 가능
	길항 미생물 또는 그 배양액에 의한 미생물 활성 제어 기술개발	100	<ul style="list-style-type: none"> · 시판 천연항균물질 막걸리 적용에 따른 미생물 활성 제어 효과 도출 및 저장성 향상 효과 검증
2차년도 (2011)	Cold shock에 의한 미생물 활성 제어 기술	100	<ul style="list-style-type: none"> · cold shock 처리 조건 및 처리에 따른 미생물 활성, 저장성 향상 효과 도출 완료 · 내수용 뿐만 아니라 수출용 막걸리 제품에 적용 할 경우 활용적 가치가 높을 것임
	알코올 함량에 따른 미생물 활성 제어 기술개발	100	<ul style="list-style-type: none"> · 제성시 알코올 함량에 따른 미생물 활성 및 효소 활성 변화 분석, 저장성 향상 효과 도출 · 특별한 설비 투자없이 미생물과 효소활성을 제어 할 수 있는 것으로 향후 고급 막걸리 및 신제품 등에 활용 가능
	균체의 선택적 분리기술 및 제거 기술개발	100	<ul style="list-style-type: none"> · 미생물의 선택적 제거 방법에 따른 균수 변화 및 제거 후 상등액에 대한 저장성 향상 효과 도출 완료 · 선택적 제거에 의한 상등액을 활용한 막걸리 신제품에 활용 가능 · 나노분쇄에 의한 미생물 활성 변화 및 저장성 향상 효과 도출 완료
3차년도 (2012)	유통기한 연장 개발기술/공정 최적화 및 현장화 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> · 공정구성에 따른 이화학 성분 변화 및 저장경과에 따른 맛과 향 선호도 결과 도출 · 개발 기술을 접목한 시생산품에 대한 유통기한 설정 결과 도출

제2절 관련 분야의 기술 발전에 기여도

- 과실향의 향미 성분이 풍부한 고품질의 막걸리를 생산하는 발효 조건에 대하여 검토를 진행한 결과 일반 시중의 막걸리보다 향미성분이 풍부한 막걸리를 제조하였으며, 이는 전통주 제조에 있어서 향미 성분이 풍부한 주류를 제조함에 있어서 크게 기여할 것으로 생각된다.
- 합성 감미료의 첨가없이 단맛을 유지할 수 있는 방법의 제안은 일반적으로 양조에 있어서 제성 단계에서 단맛을 유지하기 위하여 사용하는 감미료를 사용하지 않는 방법을 제안하고 있어 이 또한 전통주의 제조에 있어서 제성시에 단맛을 맞추기 위하여 사용하는 감미료등을 첨가하지 않는 전통주의 제조에 응용가능 할 것으로 추정된다.
- 막걸리의 품질지표, 품질관리용 품질기준, 작업표준(SOP) 및 위생관리기준(SSOP)를 도출, 영세한 막걸리 제조업체에서 사내품질 관리를 위해 활용할 수 있는 기본적인 품질관리 체계를 제시함으로써 국내 막걸리 제조장의 품질관리를 효과적으로 달성할 수 있는 관리체계와 기술에 대한 지침을 제공할 수 있을 것으로 판단된다.
- 우리나라를 대표하는 술인 막걸리에 대해 일본, 미국 등 일부 지역에서의 관심을 바탕으로 국제화의 기틀을 마련하였으나 최근에는 관심이 줄어드는 추세이다. 관련 연구결과를 발표하여 막걸리에 대한 소비자의 관심을 제고하고 관련 업계의 활성화에도 기여하리라 여겨진다. 이러한 시점에 막걸리의 관능특성을 체계적으로 분석하고 기호도에 영향을 미치는 주요 이화학적 특성 및 향기성분 파악과 막걸리의 체계적인 품질평가기 시스템 개발을 통해 막걸리의 품질 향상과 인지도 상승효과가 기대된다. 또한 영세한 전통 민속주 업체의 시장 확대 및 관련 농가의 소득증대에도 기여하리라 사료된다.
- 일괄적인 막걸리제조업체 교육을 위한 기본적인 지침서로서의 활용을 통한 표준화
 - 제조환경, 제조공정, 종사자 등 일반 위생관리에 위생관리 개선방안 마련
 - 막걸리 제조공정별 위생관리 개선방안 마련
 - 식품위생법 상 준수하여야 하는 법규 정리
- 막걸리제조업체의 교육을 통한 식품안전·위생관리 수준 향상
- 식품위생법에 적용에 있어 막걸리제조업체 혼선 최소화
- 막걸리제조업체 안전·위생관련 사고 및 이물제어 능력 향

제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 연구성과

1. 논문게재 성과

게재 연도	논문명	저자	학술지명	SCI 구분
2011	막걸리용 효모의 분리 및 선발	김혜련, 안병학	식품과학과산업	
2012	전통누룩으로부터 막걸리용 효모의 선별 및 최적 배양조건	강향린, 이애란, 권영희, 김혜련, 김재호, 안병학	한국균학회지	
2012	시판막걸리의 저장기간에 따른 품질 특성 및 미생물의 변화	권영희, 이애란, 김혜련, 김재호, 안병학	한국균학회지	
2012	전통누룩 진균류를 이용한 입국의 제조 및 입국곰팡이의 동정	김재호, 권영희, 이애란, 안병학	한국균학회지	
2012	Microbial Dynamics of Commercial Makgeolli Depending on the Storage Temperature	김혜련, 이애란, 김재호, 안병학	Journal of Microbiology and Biotechnology	
2012	Feasibility of Brewing Makgeolli using <i>Pichia anomala</i> Y197-13, a Non- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	김혜련, 김재호, 배동훈, 안병학	Journal of Microbiology and Biotechnology	SCIE
2012	Comparison of high-intensity pulsed light treatment with ultraviolet light irradiation in nucleic acids damage of food-borne pathogenes	박미현, 박영서, 신정규, 최찬익, 정명수	Food Control	SCI
2012	광펄스 처리 조건에 의한 식중독균 사멸에 미치는 영향	신정규, 손석민, 권오연, 박민우	산업식품공학회지	
2012	회분식 고강도 광원처리에 의한 막걸리의 품질 및 저장성에 관한 연구	김병철, 신정규, 김보라, 김애진	산업식품공학회지	
2013	회분식 고강도 광원 처리에 의한 막걸리 효모의 살균	김보라, 신정규, 김애진, 홍희정	산업식품공학회지	
2013	회분식 고전압 exponential decay pulse 전기장 처리에 의한 막걸리의 비열 살균	김보라, 신정규, 정태범, 홍희정, 김진선	산업식품공학회지	
2013	방서선 저항세균 <i>Micrococcus roseus</i> 의 광펄스 살균 효과	김보라, 신정규, 김애진	한국식품과학회지	
2013	고전압 펄스 전기장 처리에 의한 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 의 생리적 변화	홍희정, 신정규, 박희란, 윤소정	한국식품과학회지	

- Characterisation of sensory attributes and volatile compounds of Korean rice wines, *Makgeollis*, Food Chemistry, (심사중)

- Chemical and sensory profiles of makgeollis, Korean commercial rice wines using descriptive, chemical, and volatile analyses. Food Chemistry (투고)
- 시판 살균 막걸리의 관능특성 및 향기성분 분석, 식품과학회지 (투고)

2. 학술발표

- Kim BR, Kim AJ, Shin JK. Batch pasteurization of Korean traditional turbid rice wine (Takju) using high voltage pulsed electric fields and intense pulse light. 2011 IFT Annual Meeting, New Orleans, USA, 2011
- Kim BR, Kim AJ, Hong HJ, Shin JK. Batch pasteurization of korean traditional turbid rice wine (Takju) using intense pulsed light, 한국식품과학회 2012 학술발표대회, 대전, 2012 (우수포스터상 시상)
- Kim BR, Hong HJ, Park HR, Yoon SJ. Shin JK. Sterilization of yeast isolated from *Makgeolli* by intense pulsed light treatment in batch system. 한국산업식품공학회 2013 춘계학술발표대회, 2013
- Kim BR, Hong HJ, Kim JS, Park HR, Shin JK. Nonthermal pasteurization of *Takju* using batch high voltage pulsed electric field with exponential decay pulse. 한국산업식품공학회 2013 춘계학술발표대회, 2013.
- 막걸리의 GC-MS 분석을 이용한 휘발성 성분 분석의 다양한 headspace parameters 최적화, 한국식품과학회 학술대회, 2010. 6.
- Chemical and microbiological characteristics of commercial Makgeolli made with rice, wheat, potato, millet and corn during distribution, 한국식품과학회 학술대회, 2011. 6.
- Descriptive Analysis of Ten Commercial Rice Wines (*takju*) with Heat Treatment. 한국식품과학회 정기 학술대회, 2011. 6. 대구 EXCO
- Sensory Characteristics of Twelve Commercial Rice Wines (*Takju*) 한국식품과학회 정기 학술대회, 2011. 6. 대구 EXCO
- 막걸리의 품질 표준화 연구현황. 한국외식산업학회 정기 학술대회, 2011. 6. 세종대
- Consumer Preferences of Commercial Rice Wines (Takju) with Sensory Characterization. 한국식품과학회 정기학술대회, 2012. 6. 대전컨벤션센터
- 국내 시판 살균 막걸리의 휘발성분 분석. 한국식품영양과학회 정기학술대회, 2012.11. 제주 국제컨벤션센터
- 시판 생막걸리의 유통기간 중 이화학적 특성 및 휘발성분의 변화. 한국식품영양과학회 정기 학술대회, 2012.11. 제주 국제컨벤션센터
- Comparison of volatile composition and sensory characteristics of Korean rice wines (*Makgeolli*). 64th American Society for Enology and Viticulture National Conference, 2013. 6. Monterey convention center

3. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

가. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

○ 특허 6건 출원

- 탁주를 저온 처리하여 유통기한을 향상시키는 방법(출원번호 10-2012-0030085)
- 고품질 막걸리의 제조방법(2012)
- 발효 효모 사카로마이세스 세레비지애 98-5 및 이를 이용하여 제조한 발효주(10-2013-0036359)
- 자몽 종자 추출물을 포함하는 저장성이 향상된 막걸리 (10-2013-0007646)
- 여주 추출물을 포함하는 저장성이 향상된 막걸리 (10-2013-0007647)
- 사카로마이세스 세레비지애 157-1의 대량 생산방법 (10-2012-0131960)

○ 특허 1건 등록

- 발효 효모 사카로마이세스 세레비지애 89-5-3 및 이를 이용하여 제조한 발효주 (10-1199544)

○ 국내 전시회 참여

- 2011년, 2012년 생명산업대전에 참여하여 포스터 발표를 통하여 막걸리의 품질 표준화 및 유통기한 연장 기술개발의 중요성을 홍보함

○ 개발기술 적용 시생산품의 유통기한 설정 결과

- 시생산품(알코올 10% 제성) 시료를 사용하여 cold shock(-20 ℃, 10 days) 처리후 유통기한 설정 실험을 한 결과 95 ~ 119 days로 산출되었음.

○ 정책자료 제공 (2건)

- 탁주(막걸리)의 인증기준 개정(안) 및 주류 제조장에 대한 일반(위생) 요구사항에 대한 정책자료 각 1건 제공[한국식품연구원 우수식품인증센터-64(2012.02.15.)호]

○ 홍보

- Studies on the Qualities of rice wine brewed with different rice varieties, 2011년 한국미생물생명공학회 국제학술대회 및 정기학술대회

○ 시제품 제작 (2건) : 유통기간 연장 및 합성 감미료 무첨가 막걸리 시제품 제작

4. 연구개발 성과 활용 계획

- 합성 감미료를 첨가하지 않고 유통기한이 연장된 막걸리는 품질적인 안정성도 유지하고 있는 바, 막걸리 시장의 추이를 판단하여 상품으로서의 가치는 충분하다고 판단

- 향미 성분이 풍부한 막걸리의 제조는 타 주종의 제조에 있어서도 적용 가능할 것으로 판단되며, 전통주의 제조에 적용 가능성에 대하여 검토를 추진할 계획
- 막걸리의 품질 표준화 및 품질지표 개발
 - 농식품부 술 품질인증제도 활성화를 위한 정책 및 교육자료로 활용
 - 개별 업체의 품질관리 시스템 도입을 위한 기술적 컨설팅 자료로 활용
- 막걸리의 정량적 분석 및 기호도 조사 결과를 바탕으로 한 품질평가 체계 개발을 관련 분야 교육 및 홍보에 활용가능하리라 여겨진다.
- 영세한 전통주업체의 시장 확대와 이를 통한 관련 농가의 소득증대에도 기여하리라 사료
- 기타 전통주 업체의 제품개발관련 자료로 활용
 - 전통주 시장 및 소비자 조사 관련 기초자료로 활용
 - 새로운 막걸리 개발을 위한 실질적 자료로 활용
 - 전통주 제조업체 설립을 위한 자료로 활용
 - 전통주 생산 벤처기업 발굴
- 표준화된 막걸리교육교재 개발로 일관적은 교육 실시시 자료로서 활용
- 막걸리제조업체 종사자용 교육교재
 - 막걸리제조업체에서 자체적으로 교육을 실시할 수 있는 교육교재로 활용
 - 교육훈련기관에서 교육교재 개발 시 지침서 및 참고자료로 활용
- 홍보리플렛 등 막걸리 식품안전·위생 관련 리플렛 제작시 참고자료로 활용
- 주류업체의 식품안전·위생 교육 및 가이드라인을 위한 참고자료로 활용

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- Research on the preparation of antioxidant peptides derived from egg white with assisting of high-intensity pulsed electric field (Food Chemistry, 2013)
Egg white protein powder에 고전압 펄스 전기장 기술을 적용하여 egg white 단백질내의 항산화 물질들의 환원력(항산화력)을 향상시킬 수 있음을 보고하고 있다.
- Lethal and sublethal injury and kinetics of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in milk by pulsed electric fields (Food Control, 2013)
대표적인 병원성 미생물인 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*의 우유 내에서의 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 살균 효과 및 살균 역학에 대한 보고로서 본 실험과 비슷하게 일정 전압에서 일부는 사멸을 그리고 사멸되지 않은 일부의 미생물은 손상을 입어 PEF의 우유 살균 적용에 대한 가능성을 제시하고 있다.
- Cocoa powder as a natural ingredient revealing an enhancing effect to inactivate *Cronobacter sakazakii* cells treated by Pulsed Electric Fields in infant milk formula (Food Control, 2013)
항산화 물질인 폴리페놀을 다량 함유하고 있는 코코아 분말을 고전압 펄스 전기장 처리하여 유아용 이유식에 포함되어져 있는 *Cronobacter sakazakii* 세포의 살균을 연구한 논문으로 고전압 펄스 전기장 기술의 기존 적용 범위를 벗어나 분말 식품에 적용이 가능할 것이라는 보고를 하였다.
- Kinetic modelling of Maillard reaction system subjected to pulsed electric field (Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013)
고전압 펄스 전기장 처리시 식품 내 전분 물질의 변화인 갈변화 반응을 통해 생성되는 항산화 물질, 색의 형성, pH 감소등에 대한 영향을 조사하여 고전압 펄스 전기장 처리가 식품의 갈변화 반응을 촉진시키는 역할을 하고 있음을 보고하였다.
- Effects of electric field strength and pulse rise time on physicochemical and sensory properties of apple juice by pulsed electric field (Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013)
고전압 펄스 전기장 처리에서 여러 가지 공정 변수가 오렌지 주스의 이화학적 그리고 관능적 품질에 미치는 영향을 조사한 논문으로 고전압 펄스 전기장 처리가 오렌지 주스의 효소적 갈변을 억제하고 향의 변화를 줄여 관능적 특성을 향상시킬 수 있음을 보고하고 있음

- Novel Decontamination Technologies for Fresh-cut Industry (Food Processing & Technology, 2012)
광펄스 기술이 fresh-cut 산업에 적용하였을 경우, 포장된 상태에서 광펄스 처리를 통해 위해세균을 감소시킬 수 있으며, 식품의 품질 특성에 영향을 미치지 않고 적은 에너지로 적용할 수 있는 비가열 살균 기술임을 보고하고 있다.
- Preservation of vegetables by light (Society for Applied Microbiology, 2002)
배추, 부추, 파프리카, 당근, 케일 등의 야채에 0.6 J/cm²의 IPL 처리를 한 결과 1.6~2.6 log CFU/cm²의 미생물수를 감소시켰으며, 각 야채의 관능적 품질에는 큰 영향을 주지 않고, 7℃와 20℃의 온도에서 7일 이상을 유지하였다.
- Bacterial inactivation in fruit juices using a continuous flow Pulsed Light (PL) system (Food Research International, 2011)
사과주스와 오렌지 주스에 *Listeria innocua*와 *E. coli* DH5-α를 접종하여 광펄스 처리하여 2.90-4.00 log cycle의 감균효과를 얻을 수 있었으며, 광펄스에 의해 세포막의 손상이 발생하였음을 확인할 수 있었다.
- Combinations of high intensity light pulses and thermosonication for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice (Food Microbiology, 2011)
광펄스 살균 기술과 thermosonication의 병합 처리에 의해 오렌지 주스에 존재하는 대장균을 처리하였을 경우 thermosonication에 의해서는 1.1 log, IPL에 의해서는 2.42 log 사멸되었으나, 병합 처리하였을 경우에는 2.5-3.93 log의 사멸 효과를 보여 병합처리에 의해 보다 높은 살균 효과를 얻을 수 있다고 보고하였다.
- Inactivation kinetics of some microorganisms in apple, melon, orange and strawberry juice by high intensity light pulse (Journal of Food Engineering, 2013)
광펄스 처리에 의해 다양한 과일 주스에 존재하는 대장균, 리스테리아, 살모넬라, 효모 등의 살균 패턴과 살균 역학에 대해 조사하고, 기존의 가열살균과는 다른 non-linear 형태의 살균 패턴을 보임을 보고하였다.
- Nonthermal sterilization of *Listeria monocytogenes* in infant foods by intense pulsed-light treatment (Journal of Food Engineering, 2010)
유아용 식품인 infant powder milk, infant beverage, infant meal 등에 존재하는 리스테리아에 대한 사멸효과를 살펴본 결과, 25 kV의 direct triggering 방식을 활용한 광펄스 처리시 4-5 log의 사멸효과를 얻을 수 있었다고 보고하였다.

- Studies on the pathogenesis and survival of different culture forms of *Listeria monocytogenes* to pulsed UV-light irradiation after exposure to mild-food processing stresses (Food Microbiology, 2012)
 낮은 수준의 일반적인 식품 공정 처리 후 광펄스 처리를 통해 여러 식품에 존재하는 리스테리아에 대한 병합 처리 살균 효과를 살펴본 결과 낮은 수준의 식품공정 처리 후 광펄스 살균 처리의 효과가 더욱 증대되어 적은 에너지로도 높은 살균 효과를 얻을 수 있었음을 보고하였다.

- 일본의 경우에 있어서는 고급 청주인 대음양주 또는 음양주의 향미 성분의 개선을 위하여 특정의 ester 향기 성분을 다량 생성하는 효모의 개량등에 대한 연구와 더불어 ester 향기의 전환에 관여하는 Alcohol acetyltransferase (AAtase)에 대한 연구등이 다수 진행되고 있다.

- 청주 담금등에 있어서 담금 조건에 따른 향미 성분의 증량에 대한 연구도 진행되고 있다. 그러나 현재 청주에 대한 소비자 인식의 결여로 인한 판매에 대한 활로 모색을 위하여 저알코올 청주등에 대한 개발도 양조 업체를 주축으로 다양한 제품 등을 출시하고 있다.

제 7 장 연구시설·장비 현황

‘해당사항 없음’

제8장 참고문헌

1. 강길진, 식품 중 곰팡이독소 안전관리 기준, 식품위생안전성학회지 25(4), pp281-288, 2010
2. 강미영, 박영서, 목철균, 장학길. membrane filtration에 의한 약주의 저장성 증진, 한국식품과학회지, 30, 1134-1139(1998)
3. 국산 과실류의 활용성 제고와 수출상품화를 위한 가공기술 개발 및 제품 다양화, 한국식품개발연구원 KFRI Report GA 0402-0260(2003c)
4. 국제청주류면허지원센터 : 주류분석규정 (2010)
5. 김근중, 인구 통계적 특징에 따른 소비자 주류 선택 행동에 관한 연구, 한국문화관광학회 문화관광 연구, 5(1), 341~358(2003)
6. 김인호, 박완수, 구영조. 원료 쌀과 누룩의 처리 및 첨가방법이 다른 전통주의 발효특성 비교, 식생활문화학회지, 11, 339-348(1996a)
7. 김인호, 박완수, 구영조. 전통주의 제조방법별 발효 특성 및 숙성 후 품질변화 비교, 식생활문화학회지, 11, 497-506(1996b)
8. 김재현, 시판 맥주 중의 biogenic amines 함량 조사, 한국식품과학회지, 34(6), pp1127-1129, 2002
9. 노기미, 국내 유통 주류 중 중금속 실태 조사, 식품위생안전성학회지 25(1), pp24-29, 2010
10. (주)롯데주류비지, 고압균질로 살균한 발효주 제조방법(2009), 공개특허
11. 목철균, 이주연, 장학길. 약주 가열살균조건의 최적화. 산업식품공학회지, 2,137-143(1998)
12. 박기환, 곡류가공품(생식)의 HACCP 적용을 위한 일반모델 개발, 식품의약품안전청 연구보고서, 2003
13. 박기환, 주류 제조 작업장 교차오염 원인분석 및 관리방안 마련, 식품의약품안전평가원 연구보고서, 2011

14. 박성국, 주류 중 에틸카바메이트 분석, 한국분석과학회 21(1), pp53-57, 2008
15. 박장우, 이진원, 분리저장 방법에 따른 막걸리의 품질특성. Food Engineering Progress, vol. 14, No. 4, pp. 346~353(2010)
16. 빵류의 HACCP 적용을 위한 일반모델 개발, 식품의약품안전청 연구보고서, 2002
17. 서승보, 김재호, 김나미, 최신양, 이종수. 아카시아 꽃의 첨가가 전통주의 생리기능성에 미치는 영향. 산업식품공학, 30, 410-414 (2002)
18. 서울특별시 : 아리수품질보고서 (2012)
19. 소규모 업체를 위한 비가열음료 HACCP 관리기준, 식품의약품안전청, 2010
20. 소명환, 이영숙, 노완섭, 개량누룩의 사용에 의한 탁주의 품질개선. Korean J. Food & Nutr. Vol. 12, No. 4, 427~432(1999)
21. 식품의약품안전청 : 유해물질 총서(에틸카바메이트, 바이오제닉 아민) (2010)
22. 신귀례, 김병철, 양지영, 김용두. 효모에 따른 약주의 품질특성(1. 분리균주의 동정 및 휘발성 향기성분). 한국식품영양과학회지, 28, 794-800(1999a)
23. 신귀례, 김병철, 양지영, 김용두, 효모에 따른 약주의 품질특성(2. 발효과정중 약주의 품질특성), 한국식품영양과학회지, 28, 801-804(1999b)
24. 심재용, 이진원, 냉동저장에 따른 막걸리의 품질특성. Food Engineering Progress, vol. 14, No. 4, pp. 328~334(2010)
25. 안병학, 전통 민속주의 연구현황과 전망, 전통식품의 현황과 품질개선 심포지움, 한국식품과학회 P.297(1995)
26. 안은숙, 김문숙, 신동화, 식용 식물로부터 얻은 추출물의 두부, 어묵, 막걸리 변질균에 대한 항균성 검색. 한국식품과학회지 제26권 제6호(1994)
27. 양지영, 식품관리 위해요소 사례분석, 식품의약품안전평가원 연구보고서, 2010

28. 양지영, 이계호, 향토주인 산성막걸리의 미생물학적 고찰과 저장성에 관한 연구. 한국식품과학회지 제 28권 제4호(1996)
29. 엄준호, 과실쥬스 및 음료에서 파툴린 오염실태 조사, 식품위생안전성학회지 24(1), pp56-62, 2009
30. 여수환, 국내 막걸리 산업의 현황과 발전 방안, 식품과학과 산업 43(4), pp55-63, 2010
31. 오원택, 주류안전관리 현황분석 및 안전관리 방안 마련, 식품의약품안전평가원 연구보고서, 2011
32. 오원택, 주류 중 이물혼입 원인 규명 및 저감화 방안 연구, 식품의약품안전평가원 연구보고서, 2010
33. 유진영, 이성, 탁주 발효에 대한 Nisin의 이용. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 25, No. 2, 203~206(1997).
34. 유혜물질 총서, 식품의약품안전청, 2010
35. 윤숙자, 장명숙. 한국의 민속주에 관한 고찰(I)-서울, 경기도, 강원도, 충청도 지방을 중심으로- 한국식생활문화학회지, 9, 341-353 (1994a)
36. 윤숙자, 박덕훈. 한국의 민속주에 관한 고찰(II)-전라도, 경상도, 제주도 지방을 중심으로-. 한국식생활문화학회지, 9, 355-367 (1994b)
37. 윤인화, 유대식, 김현수, 강선영, 박은규, 전통발효식품의 과학화연구-전통 누룩과 약·탁주의 품질향상과 산업화 기술연구, 과학기술처(1995)
38. 윤혜성, 주류의 위생관리 매뉴얼 개발 연구, 식품의약품안전평가원 연구보고서, 2011
39. 음료류의 이물 혼입 방지 가이드라인, 식품의약품안전청, 식품의약품안전평가원, 2010
40. 이강주의 세계 명주화를 위한 품질개선 연구. 한국식품개발연구원, KFRI Report G136106-0112 (2001)

41. 이대형, 김재호, 김나미, 이종수. 케모마일을 이용한 전통 민속주의 제조 및 생리 기능성. 한국식품과학회지, 34, 109-113 (2002)
42. 이미경. 누룩에 따른 약주의 품질평가. 동아시아식생활학회지, 1, 99-111(1991)
43. 이성기, 김인호, 민병용, Lysozyme 및 glycine의 첨가가 막걸리의 품질에 미치는 영향. 한국농화학회지 제33권 252~256(1990).
44. 이종수, 이성훈, 권수진, 안철, 유진영, 재래식메주에서 분리한 효모들의 각종 효소활성과 기능성, 한국산업미생물학회지 25(5):448(1997)
45. 이철호, 태원택, 김기명, 이현덕, 탁주의 저온 살균조건에 관한 연구. 한국식품과학회지 제23권 제1호(1991)
46. 이택수, 최진영. 찹쌀과 보리쌀 탁주 술덧의 발효과정 중 휘발성 향기성분의 특성, 한국식품과학회지, 30, 638-643 (1998)
47. 이특재, 황대연, 이충열, 손홍주, 한국 전통주인 막걸리의 발효 및 유통과정에서의 효모 및 총산과 유기산의 변화. The Korean Journal of Microbiology, Vol. 45, No. 4, 391~396(2009)
48. 이희덕, 어묵 및 비가열음료의 제조공정별 위해요소분석 일반모델, 식품의약품안전청 연구보고서, 2009
49. 이희덕, 제조공정별 위해요소분석 일반모델 개발, 식품의약품안전청 연구보고서, 2009
50. 인혜영, 이택수, 이동선, 노봉수. 전통 방법으로 담금한 소주 제조중의 퓨젤유 및 향기성분. 한국식품과학회지, 27, 235-240 (1995)
51. 張基重, 劉太種, 小麴酒와 市販藥酒의 分析에 關한 研究. 한국식품과학회지, 13, 307-313, (1981)
52. 정기혜, 식품 중 이물방지 현장관리 매뉴얼, 식품의약품안전청 연구보고서, 2010
53. 정동효 편저, 식품미생물 제어론, 대광서림

54. 정동효 편저, 식품천연보존료, 대광서림
55. 정지현, 정순택, 탁주 보존중 품질변화와 미생물군 소장. 한국농화학회지. Vol. 28, No. 4, Dec. 1985.
56. 정호권, 전통 민속주의 특징과 제조현황, 한국산업미생물학회 20년사, 한국산업미생물학회 P.92(1993)
57. 조덕현, 신용두: 기술연구소보, 2, 1, (1969)
58. 조태용, 국내 유통 발효식품 중 biogenic amines 함량 분석, 한국식품과학회지 38(6), pp730-737, 2006
59. 주류 중 에틸카바메이트 저감화 메뉴얼, 식품의약품안전청, 2011
60. 주현규외 3명 공저, 최신식품저장학, 수학사
61. 최선희, 김옥경, 이명환. 가스 크로마토그래피에 의한 재래주 발효 중 알코올과 유기산 분석. 한국식품과학회지, 24, 272-278(1992)
62. 최성현, 복진영, 남세현, 배정설, 최우영. 도토리의 탄닌 성분이 약주의 저장성에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 30, 1420-1425(1998)
63. 통계청 : 국가통계포털 (KOSIS), (2013)
64. Adriane BPM, Elizete FR, Maria LM. High intensity pulsed electric field for pasteurization of liquid eggs utilizing *Staphylococcus aureus* as a process indicator. B. Ceppa, Curitiba, 16: 139-148 (1998)
65. Afonso, V.L.G., Darias, J., Armas, R., Medina, M.R., Diaz, M.E. 1998. Descriptive analysis of three white wine varieties cultivatea in the Canary Islands. American Journal of Enology and Viticulture. 49, 440-444 (1998).
66. Albert SG. Biochemical aspects of yeasts. In Yeast Technology, 1973 ed. Reed G. and Pepler HJ, AVI publishing company, Westport, CN, USA (1938)

67. Aline Lonvaud-Funel : Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria : FEMS Microbiology Letters 199 9~13 (2001)
68. Also available at <<http://www.medicalfriendsofwine.org/alchowine.htm>> (2001)
69. Application of Acid Urease to prevent Ethyl Carbamate formation in Takju processing, Food Science & Technology 23(1), p34-38, 1995
70. Arctander, S. (1969). Perfume and flavor chemicals (Aroma Chemicals) I., NJ: Montclair. Chang, K. J., & Yu, T. J. (1981). Studies on the components of sokokju and commercial yakju. Korean Journal of Food Science and Technology, 13, 307 - 313.
71. Arctander S. (1969) Perfume and flavor chemicals I. USA. Monographs No. 1322-1325.
72. A survey of biogenic amines in chinese red wines, Li Zhijun, Food Chemistry 105, pp1530-1535, 2007
73. A survey of ethyl carbamate in fermented foods and beverages from Zhejiang, China, Food Control 23, pp286-288, 2012
74. Bender GR, Marquis RE. Membrane ATPases and acid tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. Appl. Environ. Microbiol. 53; 2124-2128 (1987)
75. Bender GR, Sutton SVW, Marquis RE. Acid tolerance, proton permeabilities and membrane ATPases of oral *streptococci*. Infect. Immun. 53: 331-338 (1986)
76. Biogenic amines: their importance in foods, M.H. Silla Santos, Food Microbiology 29, pp213-231, 1996
77. Bolton JR, Linden KG. Sterilization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. J. Environ. Eng. 129: 209-215 (2003)
78. Booth IR. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol. Rev. 49: 369-378 (1985)
79. Brochet, F. and Morrot, G. Influence of the context of perception and wine cognitive

- and methodological implications. *Journal Internationales Science Vigne et Vin.* 33(4): 187-192 (1999)
80. Bruce WZ, Kenneth CF, Barry HG, and Fred SN. (1995) *Wine Analysis and Production*, Chapman & Hall, New York, pp.447-449.
81. Calderon-Miranda ML, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG. Transmission electron microscopy of *Listeria innocua* treated by pulsed electric fields and nisin in skimmed mil. *Intl. J. Food Microbiol.* 51: 31-38 (1999)
82. Castro AJ, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG. Inactivation of microorganisms in liquid foods by pulsed electric fields. IFT 1993 Annual Meeting: Book of Abstracts. p 8 (1983)
83. Castro AJ, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *J. Food Proc. Preserv.* 17: 47-73 (1993)
84. Castro AJ, Barbosa-Canvas GV, Swanson BG. Pulsed electric field inactivation of alkaline phosphatase. IFT 1993 Annual Meeting: Book of Abstracts. p 105 (1993)
85. Castro AJ, Swanson BG, Barbosa-Canovas GV. Protein denaturation by strong electric fields. IFT Annual Meeting: Book of Abstracts. p 131 (1983)
86. Cheigh CI, Park MH, Chung MS, Shin JK, Park YS. Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*, 25: 654-659 (2012)
87. Chen Y, Lu A, Li A, Yip HY, An T, Li G, Jin P, Wong PK. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* by natural sphalerite suspension: Effect of spectrum, wavelength and intensity of visible light. *Cheomsphere*, 84: 1276-1281 (2011)
88. Chi Z, and Arneborg N. (2000) *Saccharomyces cerivisiae* strains with different degree of ethanol tolerance exhibit different adaptive response to produced ethanol. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 24: 75-78.
89. Cho HY, Shin JK, Pyun YR. Nonthermal processing technology using high voltage

- pulsed electric fields. Food Sci. Ind. 29: 28-35 (1996)
90. Cho Mi-hee, Bae Eun-Kyung, Ha Sang-Do and Park Ji-yong : Application of Natural Antimicrobials to Food Industry, Food Sci. Industry 38(2), 36~45 (2005)
91. Cho Young-Je, Son Myoung-Jin, Kim Seung-Mi, Park Hyun-Kyu, Yeo Hae-Kyung and Shim Kil-Bo : Effect of Storage Conditions on Biogenic Amine Levels in Dark-Fleshed Fishes, Jour. Fish. Mar. Sci. Edu., 20(1), 135~145 (2008)
92. Choi EJ, Jung JJ, Lee JW, Kang ST. Effect of UV sterilization on quality of centrifuged Takju during storage. The Korean Society of Food Science and Nutrition. 39(3): 461-466. (2010)
93. Chung, D. H. (2004). History and culture of Korean alcoholic beverage. The history of alcohol tradition in Korea. (pp.271 - 298). Seoul : Shinkwang Publishing Co.
94. Chun HH, Kim JY, Lee BD, Yu DJ, Song KB, Effect of UV-C irradiation on the inactivation of inoculated pathogens and quality of chicken breasts during storage. Food Control. 21: 276-280 (2010)
95. Dallüge, J., Roose, P., & Brinkman, U. A. T. (2002). Evaluation of a high-resolution time-of-flight mass spectrometer for the gas chromatographic determination of selected environmental contaminants. Journal of Chromatography A, 970, 213 - 223.
96. Delorme E. Transformation of *Saccharomyces cerevisiae* by electroporation. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2242-2246 (1989)
97. De Lorimier, A. A. Alcohol, wine, and health. Am. J. Surg. 180, 357361 (2000).
98. Dreyfuss HS, Chipley JR. Comparison of effects of sublethal microwave radiation and conventional heating on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus*. Appl. Environ. Microbiol 39: 13-16 (1980)
99. Dubois, P. (1983). Volatile phenols in wines. In Piggott JR (Ed.), Flavour of distilled beverages : origin and development(pp.110 - 119). London : Society of Chemical Industry.

100. Dunn JE, Clark RW, Asmus JF, Pearlman JS, Boyerr K, Painchaud F. Methods for preservation of foodstuffs. US patent 4,871,559 (1989)
101. Ebeler , S. E., Brennehan, C. A.; Kim, G.-S.; Jewell, W. T.; Webb, M. R.; Chacon-Rodriguez, L.; MacDonald, E. A.; Cramer, A. C.; Levi, A.; Ebeler , J. D. Dietary catechin delays tumor onset in a transgenic mouse model. American journal of clinical nutrition; 76, 865–872 (2002)
102. Effects of storage temperature and time on the biogenic amine content and microflora in Korean turbid rice wine, Makgeolli, Food Chemistry 128, pp87–92, 2011
103. Elisa L, Ignacio A, Javier R. Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. Innov. Food Sci. Emerg. 17: 79–84. (2013)
104. Fay, L. B., Newton, A., Simian, H., Robert, F., Douce, D., Hancock, P., Green, M., & Blank, I. (2003). Potential of Gas Chromatography–Orthogonal Acceleration Time-of-Flight Mass Spectrometry (GC-*oa*TOFMS) in Flavor Research. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51(9), 2708 - 2713.
105. Fischer, U., Roth, D., Christmann, M. The impact of geographic origin, vintage and wine estate and sensory properties of *vitis vinifera* cv. Riesling Wine. Food Quality and Preference. 10(4/5): 281–288 (1999)
106. Fiske JC, SubbaRow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66: 375–400 (1925)
107. Folwell, R.J. and Moberg, D.A. 1993. Factors in retail shelf management impacting wine sales. Agribusiness. 9, 595–603 (1993)
108. Foster JW, Cowan RM, Magg TA. Rupture of bacteria by explosive decompression. J. Bacteriol. 83: 330–334 (1962)
109. Futai M, Kanazawa H. Structure and function of proton-translocating adenosine triphosphatase (F₀F₁) biochemical and molecular biological approaches. Microbiol. Rev. 47: 285–312 (1983)

110. Garcia MJ, Rios G, Ali R, Belles JM, Serrano R. Comparative physiology of sal tolerance in *Candida tropicalis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol.* 143: 1125-1131 (1997)
111. Gil, J.M. and Sanchez, M. 1997. Consumer preferences for wine attributes: a conjoint approach. *British Food Journal.* 99, 3-11 (1997)
112. Gluckman, R.L. 1990. A consumer approach to branded wines. *European Journal of Marketing.* 24, 27-46 (1990)
113. Gomez-Lopez VM, Devlieghere F, Bonduelle V, Devereure J. Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. *Intl. J. Food Microbiol.* 103: 79-80 (2005)
114. Gustav Styger, Dan Jacobson and Florian F. Bauer : Identifying genes that impact on aroma profiles produced by *Saccharomyces cerevisiae* and the production of higher alcohols, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 91, 713 - 730 (2011)
115. Halaasz, A., Baraath, A., Simon-Sarkadi, L. and Holzapfel, W. : Biogenic amines and Their Production by Microorganisms in Food. *Trands Food Sci.* 5, 42-48.(1994)
116. Han, E. H., Lee, T. S., Noh, B.S., & Lee, D. S. (1997). Quality characteristics in mash of takju prepared by using different nuruk during fermentation. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 29, 555 - 562.
117. Han Gyn-Hong, Cho Tae-Yong, Yoo Myung-Sang, Kim Chun-Soo, Kim Jung-Min, Kim Hyun-Ah, Kim Mi-Ok, Kim Seong-Cheol, Lee Sun-Ae, Ko Yong-Suk and Kim Dae-Byoung : Biogenic Amines Formation and Content in Fermented Soygean Paste(Cheonggukjang), *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 39(5) 541~545 (2007)
118. Harrison SL. High intensity pulsed electric field and high hydrostatic pressure processing of apple juice. Ph.D. Thesis, Washington State University, USA (1996)
119. Heinz V, Knorr D. Effect of pH, ethanol and high hydrostatic pressure on the inactivation of *Bacillus subtilis* by pulsed electric fields. *Innov. Food Sci. Emerg.* 1: 151-159. (2000)

120. Heyman, H. and Noble, A. C. Descriptive analysis of commercial Cabernet sauvignon wines from California. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38, 41-44(1987)
121. Hiramoto T. Method of sterilization, US patent 4,464,336 (1984)
122. Hiroko Mizohuchi-Fujiki, Mutsumi Watanabe, Hideo Nagai, Akira Nishimura and Kyoichi Kondo : Isolation of Fluazifop-Resistant Sake Yeast Mutants Producing Higher Amounts of Isoamyl Acetate, *J. Brew. Soc. Japan*, 93(8), 665-670, (1998)
123. Ho SY, Mittal GS, Cross JD. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *J. Food Eng.* 31L 69-84 (1997)
124. Hong SI, Pyun YR. Membrane damage and enzyme inactivation of *Lactobacillus plantarum* by high pressure CO₂ treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 63: 19-28 (2001)
125. Hong SI. Sterilization technology of food by High pressure treatment. *Food Sci. Ind.* 33: 36-49. (2000)
126. Hong SI. Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by high pressure carbon dioxide. Ph. D. Thesis, Yonsei University, Korea (1997)
127. Huh Chang-Ki, Lee Jung-Won, Kim Yong-Doo : Quality Characteristics of Rice Wine according to the Rice Wine Seed Mash with Lactic Acid Concentration, *Korean J Food Preserv*, 19(6), 933-938 (2012)
128. Humble MW, King A, Phillips I. APIZYM: a simple rapid system for the detection of bacterial enzymes. *J. Clin. Pathol.* 30: 275-277 (1977)
129. Hurst A. Bacterial injury: a review. *Can. J. Microbiol.* 23: 936-944 (1977)
130. Hutkins RW, Nannen NL. pH homeostasis in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 76: 2354-2365 (1993)
131. Iandolo JJ, Ordal ZJ. Repair of thermal injury of *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 91: 134-142 (1966)

132. Inoue T, Iefuji H, and Katsumata H. 2012. Characterization and isolation of mutant producing increased amounts of isoamyl acetate derived from hygromycin B-resistant sake yeast. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 76: 110470-1-7.
133. Isabel OS, Ingrid AA, Robert SF, Olga MB. Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plant-based foods. *Trend Food Sci. Technol.* 29: 98-107. (2013)
134. Jaw MK, Lim SB, Song SJ, Kim BO. Quality changes of commercial Yakju and Takju during storage. *Cheju Journal of Life Science.* 3(3): 3-9 (2000)
135. Jeon Mi-Hyang and Lee Won Jong : Characteristics of Blueberry Added Makgeolli, *J Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 40(3) 444~449 (2011)
136. Jeon Myong-Je, Jang Min-Kyung, Lee Sol-Jee, Park Sung-Hwan, Kim Mi-hyang, Sohn Jae-Hak, Lee Han-Seung, Lee Dong-Geun and Lee Sang-Hyeon : Variations of Properties and Microbial Community during Fermentation of Makgeollies by Isolated Yeasts from Traditional Makgeollies, *J. Life Sci.* 23(6) 796~803 (2013)
137. Jeong JW, Park KJ, Kim MH, Kim DS. Changes in quality of spray dried and freeze-dried Takju powder during storage. *Korean Society of Food Science and Technology.* 28(4): 513-520 (2006)
138. Ji Yun-jeong and Chung Hai-Jung : Changes in Quality Characteristics of Makgeolli during Storage Time, *Kor. J. Food CULTURE* 27(4) 383~390 (2012)
139. Jung S, Lowe SE, Hollingsworth RI, Zeikus JG. *Sarcina ventriculi* synthesizes very long chain dicarboxylic acids in response to different forms of environmental stress. *J. Biol. Chem.* 286: 2828-2835 (1993)
140. Kashket ER. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiol. Lett.* 46: 233-244 (1987)
141. Keyser M, Muller LA, Cilliers FP, Nel W, Gouws PA. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innov. Food*

Sci. Emerg. Tech. 9: 348-354 (2008)

142. Khalil H, Villota R. Comparative study on injury and recovery of *Staphylococcus aureus* using microwaves and conventional heating. J. Food Protect. 51: 181-186 (1988)
143. Kim BC, Kim BR, Kim AJ, Shin JK. A study of quality and shelf-life of Korean traditional turbid rice wine (Takju) by batch intense pulsed light. Food Eng. Prog. 16: 58-63. (2012)
144. Kim Byeong-Cheol, Kim Bo-Ra, Kim Ae-Jin and Shin Jung-Kue : A Study of Quality and Shelf-life of Korean Traditional Turbid Rice Wine (Takju) by Batch Intense Pulsed Light, Food Eng. Pro. 16(1) 58~63 (2012)
145. Kim, C. J., Kim, K. C., Kim, D. Y., Oh, M. J., Lee, S. K., Lee, S. O., Chung, S. T., & Chung, J. H. (1990). Fermentation Technology (pp.79 - 103). Seoul : Sunjinmynwhasa.
146. Kim CJ, Oh MJ, Kim SY. Studies on the induction of available mutants of Takju yeast by UV light irradiation(Park 1). Journal of the Korean Agricultural Chemical Society. 18(1): 10-15 (1975)
147. Kim Hak-Su : Analysis of Ethyl Carbamate Levels in Domestic makgeolli Products and Risk Assessment, 고려대학교학위논문 (2011)
148. Kim HR, and Ahn BH. (2011) Screening and selection of yeasts for *makgeolli*. Food Sci. Industry. 44: 12-17.
149. Kim, H. R., Jo, S. J., Lee, S. J., & Ahn, B. H. (2008). Physicochemical and Sensory Characterization of a Korean Traditional Rice Wine Prepared from Different Ingredients. Korean Journal of Food Science and Technology, 40, 551 - 557.
150. Kim, H. R., Kim, J. H., Bae, D. H., & Ahn, B. H. (2010). Characterization of Yakju brewed from glutinous rice and wild-type yeast strains isolated from Nuruks. Journal of Microbiology and Biotechnology, 20, 1702 - 1720.
151. Kim HR, Kim JH, Bai DH and Ahn BH. (2010) Characterization of yakju brewed from

- glutinous rice and wild type yeast strains isolated from *nuruks*. J. Microbiol. Biotechnol. 20: 1702-1710.
152. Kim, H. R., Kwon, Y. H., Jo, S. J., Kim, J. H., & Ahn, B. H. (2009). Characterization and Volatile Flavor Components in Glutinous Rice Wines Prepared with Different Yeasts of *Nuruks*. Korean Journal of Food Science and Technology, 41, 296-301.
153. Kim HR, Baek SH, Seo MJ and Ahn BH. (2006) Feasibility of *cheonghju* brewing with wild type yeast strains from *nuruks*. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 34: 244-249.
154. Kim, H. R., Lee A. R., Kwon, Y. H., Lee, H. J., Jo, S. J., Kim, J.H., & Ahn, B. H. (2010). Physicochemical characteristics and volatile compounds of glutinous rice wines depending on the milling degrees. Korean Journal of Food Science and Technology, 42, 75 - 81.
155. Kim Hye-Ryun, Kwon Young-Hee, Jo sung-jin, Kim Jae-ho and Ahn Byung-Hak : Characterization and Volatile Flavor Components in Glutinous Rice Wine Prepared with Different Yeasts of *Nuruks*, Kor. J. FOOD SCI. TECHNOL. 41(3) 296~301, (2009)
156. Kim Hye-Ryun, Lee Ae-Ran, Kwon Young-Hee, Lee Hyang-Jeong, Jo sung-jin, Kim Jae-ho and Ahn Byung-Hak : Physicochemical Characteristics and Volatile Compounds of Glutinous Rice Wines Depending on the Milling Degrees, Kor. J. FOOD SCI. TECHNOL. 42(1) 75~81, (2010)
157. Kim Hyun-Joo, Lee Kyung-Haeng, Yong Hae-In and Jo Cheo-Hun : Effect of UV-C and Electron Beam Irradiation of on the Quality of Rice Wine (Makgeolli), Kor. J. Food Preserv. 20(1) 45~51 (2013)
158. Kim Jea-Hyun, Ahn Hyun-Joo, Hong Jin-Hwan, Han Dang-Bae and Byun Myung-Woo : Survey of Biogenic Amines Contents in Commercial Beers, Kor. J. Food. Sci. Technol. 34(6) 1127~1129 (2002)
159. Kim Ji-Young and Yi Young-Hyoun : pH, Acidity, Color, Amino Acids, Reducing Sugars, Total Sugars, and Alcohol in Puffed Millet Powder Containing Millet Takju during Fermentation, Kor. J. FOOD Sci. TECHNOL. 42(6) 727~732 (2010)

160. Kim, J. Y., Kim, D., Park, P., Kang, H. I., Ryu, E. K., & Kim, S. M., (2011). Effects of storage temperature and time on the biogenic amine content and microflora in Korean turbid rice, Makgeolli. *Food Chemistry*, 12, 87 - 92.
161. Kim SH. Preservation method of bottled Yakju and Takju. Korea Patent 10-1971-0001136. (1971)
162. Kim Soon-Mi and Han A-ra Storage Properties and Biogenic Amines Production of Makgeolli Brewed with Different Proportions of Rice and Wheat Flour, *Kor. J. Food Sci. TECHNOL.* 44(5) 583~591 (2012)
163. Kim, S.Y., Kim, E.K., Yoon, S. J., Jo, N. J., Jung, S. K., Kwon, S. H., Chang, T. H., & Jeong, Y. H. (2011). Physicochemical and microbial properties of Korean traditional rice wine, makgeolli, supplemented with cucumber during fermentation. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40, 223 - 228.
164. Kim TH. Microbial diversity analysis of Makgeolli and Nuruk. Master's Thesis, Pai-Chai University. (2011)
165. Kiyoshi, Y. (1999). Sake: Production and flavor. *Food Review sInternational*, 15, 83 - 107.
166. Knorr D, Geulen M, Grahl T, Sitzmann W. Food application of high electric field pulses. *Trend in Food Sci. Technol.* 5: 71-75 (1994)
167. Kobayashi H, Suzuki T, Unemoto T. Streptococcal cytoplasmic pH is regulated by changes in amount and activity of a proton-translocating ATPase. *J. Biol. Chem.* 261: 627-630 (1986)
168. Koh CM, Choi TH, Lew J. Microbiological studies on the Takju brewing: The Korean local wine. *Korean J. Microbiol.* 11: 167-174. (1973)
169. Korea alcohol liquor industry association. *Alcoholic beverage News*, march, pp. 11. (2001)

170. Kovats, E. (1965). Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advanced chromatography*, 1, 229 - 247.
171. Ko Yu-Jin, Kang Sang-Dong, Kang Sang-Tae and Ryu Chung-Ho : Quality Properties and Anti-allergic Effect of Makgeolli Added with Garlic, *J. Life Sci.* 21(11) 1592~1598 (2011)
172. Krishnamurthy K, Demirci A, Inrudayaraj J. 2004, Inactivation of *Staphylococcus aureus* by pulsed UV-light sterilization. *J. Food Prot.* 67: 1027-1030 (2004)
173. Kuribayashi T, Kaneoke M, Hirata D, and Watanabe K. (2012) Analysis of free fatty acids in sake by an enzymatic method and its application for estimating ethyl caproate and selecting yeast with high productivity of the ester. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 76: 110698-1-4.
174. Kwon Seung-Jik, Ahn Tae-Young and Sohn Jae-Hak : Analysis of Microbial Diversity in Makgeolli Fermentation Using PCR-DGGE, *J. Life Sci.* 22(2) 232~238 (2012)
175. Kwon, Y. H., Jo, S. J., Kim, J. H., & Ahn, B. H. (2010). Fermentation characteristics and volatile compounds in yakju made with various brewing conditions ; glutinous rice and pre-treatment. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38, 46 - 52.
176. Kwon YH, Lee AR, Kim JH, Kim HR, Ahn BH. Changes of physicochemical properties and microbial during storage of commercial *Makgeolli*. *Kor. J. Mycol.* 40: 210-214. (2012)
177. Kwon Young-Hee, Lee, Ae-Ran, Kim Hye-Ryun, Kim Jae-Ho and Ahn Byung-Hak : Quality Properties of Makgeolli Brewed with Various Rice and Koji, *Kor. J. Food Sci. TECHNOL.* 45(1) 70~76 (2013)
178. Kwon Young-Hee, Lee Ae-Ran, Kim Jae-Ho, Kim Hye-Ryun and Ahn Byung-Hak : Changes of Physicochemical Properties and Microbial during Storage of Commercial Makgeolli, *Kor. J. Mycol.* 40(4), 210-214 (2012)
179. Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma

- a review. South African Journal for Enology and Viticulture, 21, 97 - 129.

180. Lee CH, Kim KM. Determination of the shelf-life of pasteurized Korean rice wine, yakju, in a septic packaging. Korean Society of Food Science and Technology. 27(2): 156-163 (1995)
181. Lee CH, Lee HD, Kim JY, Kim KM. Sensory quality attributes of Takju and their changes during pasteurization. Kor. J. Diet. Cult. 4: 405-401. (1989)
182. Lee CH, Tae WT, Kim GM, Lee HD. Studies on the pasteurization conditions of Takju. Kor. Soc. Food Sci. Technol. 23(1): 44-51 (1991)
183. Lee CH, Tae WT, Kim GM, Lee HD. Studies on the pasteurization conditions of Takju during storage by honey comb type-UV sterilizer. Kor. J. Food Sci. Technol. 41: 652-656. (1991)
184. Lee, D. H., Kim, J. H., & Lee, J. S. (2009). Effect of pears on the quality and physiological functionality of Makgeoly. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 22, 606 - 611.
185. Lee Ha-Na, Lee Jang-Mi and Chang Yun-Hee : Quality Characteristics of Makgeolli Supplemented with Cranberries, J East Asian Soc Dietary Life, 23(1), 085~091 (2013)
186. Lee Hee-Seok, Yeon Ji-Hye, Ha Sang-Do, Park Chul-Soo, Woo Moon-Jae, Lee Sang-Hun, Kim Jin-Soo and Lee Chan : Evaluation of Antifungal Activity of Natural Antimicrobials in Functional. J. Fd. Hyg. Safety. 24(3) 262~266 (2009)
187. Lee Hyun-Sook, Kwak Hee-Jung, Kim Jae-Young, Cho Wook-youn, Kim Soon-Mi Kim : A Survey of Drinking Habits and Health Perception of Makgeolli, Kor. J. Food CULTURE 25(5) 544~557 (2010)
188. Lee Jin-Won and Park Jang-Woo : Quality Characteristics of Makgeolli during Separation Storage Methods, Food Engineering Progress 14(4) 346~353 (2010)
189. Lee Jin-Won and Shim Jae-Yong : Quality Characteristics of Makgeolli during

Freezing Storage, Food Engineering Progress, 14(4) 328~334 (2010)

190. Lee, J. S., Choi, J. Y., Lee, D. S., & Lee, T.S. (1996). Volatile flavor components in mash of nonglutinous rice takju during fermentation. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 39, 249 - 254.
191. Lee JS, Lee Tae. Studies on the microflora of Takju brewing. J. Microbiol. 8: 116-133. (1970)
192. Lee JW, Jung JJ, Choi EJ, Kang ST. Changes in quality of UV sterilized Takju during storage by honeycomb type-UV sterilizer. Korean Society of Food Science and Technology. 41(6): 652-656 (2009)
193. Lee JW, Park JW. Quality characteristics of Makgeolli during freezing storage. Food Engineering Progress. 14(4): 328-334 (2010)
194. Lee JW, Park JW. Quality characteristics of Makgeolli during separation storage methods. Food Engineering Progress. 14(4): 346-353 (2010)
195. Lee Sang-Jin, Kim Ji-Hye, Jung Yong-Woo, Park Sun-young, Shin Woo-Chang, Park Cheon-Seok, Hong Sung-young and Kim Gye-Won : Composition of Organic Acids and Physiological Functionality of Commercial Makgeolli, Kor. J. Food Sci. TECHNOL. 43(2) 206~212 (2011)
196. Lee Seung-Joo and Ahn Byung-Hak : Sensory Profiling of Rice Wines Made with Nuruks Using Different Ingredients, Kor. J. FOOD SCI. TECHNOL. 42(1) 119~123, (2010)
197. Lee, S-J. and Noble, A C.: Characterization of odor-active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-Olfactometry and GC-Mass Spectrometry, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 8036-8044 (2003a)
198. Lee, S-J.; Finding key odorants in foods Gas Chromatography Olfactometry (GC/O), Food Science and Biotechnology, 12, 245-538 (2003b)

199. Lee, S. R. (1986). Korean fermented foods (pp.222 - 294). Seoul : Ewha Women's University Press.
200. Lee, S. S., Kim, K. S., Eom, A. H., Sung, C. K., & Hong, I. P. (2002). Production of Korean traditional rice-wines made from cultures of the single fungal isolates under laboratory conditions. *The Korean Journal of Mycology*, 30, 61 - 65.
201. Lee Teug-Jae, Hwang Dae-Youn, Lee Chung-Yeol and Son Hong-Joo : Changes in Yeast Cell Number, Total Acid and Organic Acid during Production and Distribution Processes of Makgeolli, Traditional Alcohol of Korea, *Kor. J. Microbiology*, 45(4) 391~396 (2009)
202. Lee, T. J., Hwang, D. Y., Lee, C. Y., & Son, H. J. (2009). Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processes of Makgeolli, traditional alcohol of Korea. *The Korean Journal of Microbiology*, 45, 391 - 396.
203. Lee Yoon-ji, Yi Hae-chang, Hwang Keum-Taek, Kim Dong-Ho, Kim Hyun-Jung, Jung Chang-Min and Choi Yoon-Ho : The Qualities of Makgeolli (Korean Rice Wine) Made with Different Rice Cultivars, Milling Degrees of Rice, and Nuruks, *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 41(12) 1785~1791 (2012)
204. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
205. Luciana IG, Ana MRP, Rosa JJ. Effect of the sequence of nisin and pulsed electric fields treatments and mechanisms involved in the inactivation of *Listeria innocua* in whey. *J. Food Eng.* 79: 188-193 (2007)
206. Luksiene Z, Gudelis V, Buchovec J, Raudeliuniene J. Advanced high-power pulsed light device to decontaminate food from pathogens: effects on *Salmonella typhimurium* viability in vitro. *J. Food Microbiol.* 103: 1545-1552 (2007)
207. Maga, J. A. (1978). Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 10, 323 - 372.

208. Magnus G, Hannes H. Effect of high intensity electric field pulses on solid foods. pp 141-153. In: Emerging technology for food processing. Sun DW(1 ed). Academic press, Inc. SanDiego, CA, USA (2005)
209. Markwell MAK, Hass SM, Bieber LL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. Anal. Biochem. 87: 206-210 (1978)
210. Marquenie D, Lammertyn J, Geeraerd AH, Van Impe JF, Nicolai BM, Michiels CW. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. Intl. J. Food Microbiol. 74 27-35 (2002)
211. Martens, H.; Martens, M. Multivariate analysis of quality : an introduction J. Wiley: Chichester England ; New York (2001)
212. Martens, M.; Martens, H. Partial Least Squares Regression. In Statistical Procedures in Food Research P. J.R., Ed.; Elsevier Applied Science: London, pp. 292-359 (1986)
213. Marx G, Moody A, Bermudez-Aguirre. A comparative study on the structure of *Saccharomyces cerevisiae* under nonthermal technologies: High hydrostatic pressure, pulsed electric fields and thermo-sonication. Intl. J. Food Microbiol. 151: 327-337 (2011)
214. McEwan, J.A. 1998. Cluster analysis and preference mapping. Campden and Chorleywood Food Research Association. Review No. 12. Project No. 29742. pp. 1-74 (1998)
215. M. Coton, A. Romano, G. Spano. K. Ziegler, C. Vetrana, C. Desmarais, A. Lonvaud-Funel, P. Lucas, E. Coton : Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider, Food Microbiology 27 1078~1085 (2010)
216. Mendoza I, Rubio F, Rodriguez-Navarro A, Pardo JM. The protein phosphatase calcineurin is essential for NaCl tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem. 296: 8792-8796 (1994)
217. Mhemdi H, Grimi N, Bals O, Lebovka NI, Vorobiev E. Effect of apparent density of

- sliced food particles on the efficiency of pulsed electric field treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* In press (2013)
218. MIFAFF, Mascom Release Report by MIFAFF, 2011. 07. 05
219. Miller GL. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
220. Min JH, Baek SY, Lee JS, Kim HK. Changes of yeasts and bacterial flora during the storage of Korean traditional Makgeolli. *Kor. J. Mycol.* 39: 151-153. (2011)
221. Mitchell P. Moyle J. Osmotic structure and function in bacteria. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* 6: 150-180 (1956)
222. Mohammad FT, Catherine B. Eugene V. Alain B. Continuous pulsed electric field treatment of French cider apple and juice expression on the pilot scale belt press. *Innov. Food Sci. Emerg.* 14: 61-69. (2012)
223. Monfort S, Saldana G, Condon S, Raso J, Alvarez I. Inactivation of *Salmonella* spp. in liquid whole egg using pulsed electric fields, heat, and additives, *Food Microbiol.* 30L 393-399 (2012)
224. Nam JY, Kim JH, Lee JW, Kim JK. Growth-inhibitory effect of the sun-dried salts and gamma rays on microorganisms isolated from Korean traditional raw rice wine. *Korean J. Environ. Biol.* 28: 218-222. (2010)
225. Noble, A. C., & Ebeler, S. E. (2002). Use of multivariate statistics in understanding wine flavour. *Food Reviews International*, 18, 1 - 21.
226. NTSTS institute. (1997) Textbook of Alcoholic Beverage-Making, National Tax Service Technical Service Institute, Korea, pp.368-370.
227. Nykänen, L. (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 84 - 96.

228. Otaki M. Okuda A. Tajima K. Iwasaki T. Kinoshita S. Ohgaki S. Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps. *Water Sci. Technol.* 47: 185-190 (2003)
229. Park Chan-Woo, Jang Se-Young, Park Eun-Ji, Yeo Soo-Hwan, and Jeong Yong-Jin : Quality Characteristics of Rice Makgeolli Prepared by Mashing Types, *Kor. J. Food SCI. TECHNOL.* 44(2) 207~215 (2012)
230. Park Chan-Woo, Jang Se-Young, Park Eun-Ji, Yeo Soo-Hwan, Kim Ok-Mi and Jeong Yong-Jin : Comparison of the Quality Characteristics of Commercial Makgeolli Type in South Korea, *Korean J Food Preserv*, 18(6), 884-890 (2011)
231. Park, J. H., Bae, S. M., Yook, C., & Kim, J. S. (2004). Fermentation characteristic of Takju prepared with old rice. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 36, 609 - 615.
232. Park Ji-Hye, Yeo Soo-Hwan, Choi Ji-Ho, Jeong Seok-Tae and Choi Han-Seok : Production of Makgeolli Using Rice Treated with Gaeryang-Nuruk (for Non-steaming Process) Extract, *Kor. J. Food Preserv.* 19(1) 144~152 (2012)
233. Park Sung-Kug, Yoon Tae-hyung and Choi Dong-mi : Analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverages, *ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY*, 21(1) 53~57 (2008)
234. Pina-Perez MC, Rodrigo D, Lopez AM, Sub-lethal damage in *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii* cells after different pulsed electric field treatments in infant formula milk. *Food Control*, 20: 1145-1150 (2009)
235. Pollman B. Energy transduction in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 12: 125-148 (1993)
236. Poole RK. The isolation of membranes from bacteria. vol. 19, pp 109-122. In: *Biomembrane protocols*. Graham J and Higgins J. Humana Press Inc., New York, NY, USA (1993)
237. Popper, R., Heymann, H., Rossi, F. Three Multivariate Approaches to Relating

- Consumer to Descriptive Data. In: Munoz, A.M. (Ed.) Relating Consumer, Descriptive and Laboratory Data to Better Understand Consumer Response. ASTM, West Conshohocken, PA. Pp. 78-91(1997)
238. Pothakamury UR. Preservation of food by nonthermal processes. Ph.D. Thesis, Washington State University, USA (1995)
239. Przybylski KS, Witter LD. Injury and recovery of *Escherichia coli* after sublethal acidification. Appl. Environ. Microbiol. 37: 261-265 (1979)
240. Puertolas E, Cregenzan O, Luengo E, Alvarez I, Raso A. Pulsed electric field assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshe potato. Food Chem. 136: 1330-1336 (2013)
241. Qin BL, Pothakamury UR, Vefa H, Martin O, Barbosa-Canovas GC, Swanson BG. Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. Food Technol. 49: 55-60 (1995)
242. Qin Ouyang, Jiewen Zhao, Quansheng Chen and Hao Lin : Classification of rice wine according to different marked ages using a novel artificial olfactory technique based on colorimetric sensor array, Food Chemistry, 138(2-3) 1320~1324 (2013)
243. Ribeiro MW, Gonzalez OR, Jayaram SH, Griffiths MW. Processing temperature, alcohol and carbonation levels and their impact on pulsed electric fields (PEF) mitigation of selected characteristics miroorganisms in beer. Food Res. Intl. 44: 2524-2533. (2011)
244. Rikimaru Hayashi : An overview of the use of high pressure in bioscience and biotechnology, Progress in Biotechnology, 13 1~6 (1996)
245. Rowan NJ, MacGregor SJ, Anderson JG, Fouracre RA, Mcllvaney L, Farish O. Pulsed light inactivation of food-related microorganisms. Appl. Eviron. Microbiol. 65: 1312-1315 (1999)
246. Rozes N, Peres C. Effect of oleuropein and sodium chloride on viability and metabolism of *Lactobacillus plantarum*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45, 839-843 (1996)

247. Santos, F. J., & Galceran, M. T. (2003). Modern developments in gas chromatography - mass spectrometry based environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 1000, 125 - 151.
248. Satoshi Imayasu, Akiutsygu Kawato, Kaoru Oishi, and Koji Suginami : Moderate Agitation in Sake Brewing/Powdered Polished Rice as Raw Material, *Nipon Nogeigakaku Kaishi*, 60(9), 697-703, (1986)
249. Schenk M, Raffellini S, Guerrero S, Blaco GA, Alzamora SM. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* by UV-C light: Study of cell injury by flow cytometry. *LWT-Food Sci. Tech.* 44: 191-198 (2011)
250. Schmidt, J.O. and Noble, A.C. Investigation of the effect of skin contact time on wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture.* 34, 135-138 (1983)
251. Schneider E, Altendorf K. Bacterial adenosine 5'-triphosphate synthase (F₀F₁): purification and reconstitution of F₀ complexes and biochemical and functional characterization of their subunits. *Microbiol. Rev.* 51: 477-497 (1987)
252. Seo Weon-Taek, Cho Hyeon-Kook, Lee Ju-Young, Kim Baolo and Cho Kye Man : Quality Characteristics of Wheat-Rice Makgeolli by Making of Rice Nuruk Prepared by *Rhizopus oryzae* CCS01, *Kor. J. Microbiology*, 48(2) 147~155 (2012)
253. Shin JK, Cho HY, Pyun YR. Inactivation of Lipase by high voltage pulsed electric fields. 1998 The Korean Society of Food Science and Technology Abstract Book, pp 5-9 (1998)
254. Shin JK, Chung MS, Park YS. High intensity pulsed light treatment for preservation and shelf-life extension of seafoods. Ministry for FAFF Research Report, JeonJu University (2010a)
255. Shin JK, Chung MS, Park YS. High intensity pulsed light treatment for preservation and shelf-life extension of seafoods. Unreported report. (2010b)
256. Shin JK, Ha KY, Pyun YR, Choi MS, Chung MS. Pasteurization of carrot juice by

- hing voltage pulsed electric fields with square wave pulse and quality change during storage. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 506-415. (2007)
257. Shin JK, Kim BR, Kim AJ. Nonthermal food processing technology using electric power. Food Sci. Ind. 43: 21-34 (2010b)
258. Shin JK, Kim BR, Kim AJ. Nonthermal food processing technology using electric power. Food Science and industry. 43(1): 9-22 (2010a)
259. Shin JK, Kwon OY, Park MW, Son SM. Effect of high intensity pulsed light treatment conditions on inactivation of pathogens. Food Eng. Prog. 16: 393-398. (2012)
260. Shin JK, Pyun YR. Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed microwave irradiation. J. Food Sci. 62: 163-166 (1997)
261. Shin JK, YR Pyun. Sterilization of food by high voltage pulsed electric field treatment. Food Sci. Ind. 33: 27-35. (2000)
262. Shin JK. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage pulsed electric fields. MS thesis, Yonsei University, Seoul. (2000)
263. Shin JK. The effect of operation parameters on inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage pulsed electric fields. Food Eng. Prog. 12: 90-97. (2008)
264. Shin JK. Development of special food by irradiation technology. Food Stor. Proc. Ind. 9: 65-69. (2010)
265. Shin YD. A studies on the microflora changes during Takju brewing. MS Thesis, Seoul National University. (1970)
266. Shon, Soon-Ki, Young-Heun Rho, Hun-Jin Kim and Sang-Myun Bae : Takju Brewing of Uncooked Rice Starch Using Rhizopus Koji, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 18(5), 506-510 (1980).
267. Simpson RK, Whittington R, Earnshaw RG, Russell NJ. Pulsed high electric field

- causes 'all or nothing' membrane damage in *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, but membrane H⁺-ATPase is not a primary target. Intl. J. Food Microbiol. 48: 1-10 (1999)
268. Slavik J. Intracellular pH of yeast cells measured with fluorescent probe. FEBS Lett. 140: 22-26 (1982)
269. Slieman TA, Nicholson WL. Artificial and solar UV radiation induces strand breaks and cyclobutane dimer in *Bacillus subtilis* spore DNA. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1977-1983 (2000)
270. Somolinos M, Manas P, Condon S, Pagan R, Garcia D. Recovery of *Saccharomyces cerevisiae* sublethally injured cells after pulsed electric fields. Intl. J. Food Microbiol. 125L 352-356 (2008)
271. Son SM, Shin JK. The effect of environmental factors on inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage pulsed electric fields. Food Eng. Prog. 12: 154-162. (2008)
272. Song Jae-Chul and Park Hyun-Jeong : Takju Brewing Using the Uncooked Germed Brown Rice at Second Stage Mash, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 32(6), 847-854. (2003)
273. Song, J., Gardner, B. D., Holland, J. F., & Beaudry, R. M. (1997). Rapid Analysis of Volatile Flavor Compounds in Apple Fruit Using SPME and GC/Time-of-Flight Mass Spectrometry. Journal of Agricultural Food Chemistry, 45(5), 1801 - 1807.
274. Tanino T, Sato S, Oshige M, Ohshima T. Analysis of the stress response of yeast *Saccharomyces cerevisiae* toward pulsed electric field. J. Electrostat. 70: 212-216 (2012)
275. Thorn JA. (2004) ASBC Methods, 9th Ed. Microbiology Yeast-11, ed. Kneen E, The American Society of Brewing chemists, USA, pp.1-2.
276. Turk MF, Vorobiev E, Baron A. Improving apple juice expression and quality by pulsed electric field on an industrial scale. LWT-Food Sci. Tech. 49: 245-250 (2012)
277. Vega-Mercado H, Powers J, Barbosa-Canovas GV, Swansson BG. Effect of high

- voltage pulsed electric fields on plasmin. IFT 1994 Annual Meeting: Book of Abstracts. p 21 (1994)
278. Vega-Mercado H, Powers JR, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG, Luedecke L
Inactivation of a protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 using high voltage pulsed electric fields. 1995 IFT Annual Meeting: Book of Abstracts. p 267 (1995)
279. Vega-Mercado H, Powers JR, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG. Plasmin inactivation with pulsed electric fields. *J. Food Sci.* 60: 1143-1146 (1994)
280. Wang T, MacGregor SJ, Anderson JG, Woolsey GA. Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. *Water Res.* 39: 2921-2925. (2005)
281. Wekhof A, Trompeter FJ, Franken O. Pulse UV disintegration (PUVD): A new sterilization mechanism for packaging and broad medical-hospital applications. The 1st International conference on ultraviolet technologies, Washington D.C., USA (2001)
282. Wekhof A. Disinfection with flash lamp. *PDA J. Pharm. Sci. Tech.* 54: 264-276 (2000)
283. White TJ, Bruns T, Lee S, and Taylor J. (1989) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: A guide to methods and applications*, eds. Innis M, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ, Academic Press, USA, pp.315-322.
284. Yang Hee-Sun, Hwang Su-Jung, Lee Sung-Hee and Eun Jong-Bang : Fermentation Characteristics and Sensory Characteristics of Makgeolli with Dried Citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Peel, *Kor. J. FOOD SCI. TECHNOL.* 43(5), 603~610. (2011)
285. Yang JY, Lee KH. Shelf-life and microbiological study of Samsung Takju. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 779-785. (1996)
286. Yang, S., Lee, J., Kim, K., Seo, M., & Lee, Y. W. (2011). Fungi associated with the traditional starter cultures used for rice wine in Korea. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54, 933 - 943.

287. Yeates C, Gillings MR, Davison AD, Altavilla N, and Veal DA. (1998) Methods for microbial DNA extraction from soil for PCR amplification. *Biol. Proced. Online* 1: 40-47.
288. Yegge, J. M. and Noble, A. C.: Proceedings Am Soc Enol Vitic 50th Anniversary Annual meeting, Seattle, WA., *Am. J. Enol. Vitic.*, special edition, 28-31(2001)
289. Yeo Soo-Hwan, Jeong Yong-Jin : Current Trends and Development a Plan in the Korean Makgeolli Industry, *Food Sci. indu.*, 43(4) 55~64, (2010)
290. Yeom HW, Zhang QH, Dunne CP. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. *Food Chem.* 67: 53-59 (1999)
291. Yoo Ki-Seon, Shin So-Yeon, Seo Jin-Ho, Kim Myoung-Dong and Han Nam-Soo : Sensory Test Results of Commercial Wines and Fermentation Technologies for High Quality Wine-making, *Food Sci. Industry* 44(12) 87~95 (2011)
292. Zhao W, Yang R, Shen X, Zhang S, Chen X. Lethal and sublethal injury and kinetics of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in milk by pulsed electric fields. *Food Control*, 32: 6-12 (2013)
293. Zhao W, Yang R, Zhang HQ. Recent advances in the action of pulsed electric fields on enzymes and food component proteins. *Trend in Food Sci. Technol.* 27: 83-96 (2012)
294. Zhou Z, Bals O, Grimi N, Ding L, Vorobiev E. Qualitative characteristics and dead-end ultrafiltration of chicory juice obtained from pulsed electric field treated chicories. *Ind. Crops Prod.* 46: 8-14 (2013)
295. Zimmermann U, Pilwat G, Reimann F. Dielectric breakdown of cell membranes. *Biophys. J.* 14: 881-899 (1974)

[부록 1] 일반적인 제조 시설·설비관리 기준서 예시

1. 적용범위

본 기준서는 ○○○○(주)(이하“회사”라 한다.)의 막걸리에 대한 위생관리기준 적용에 있어 식품의 안전 및 제조시설 설비의 정상적인 가동상태를 유지 관리하기 위하여 당사의 제조 시설전반에 대한 위생적인 관리기준과 점검방법 및 절차에 대하여 적용한다.

2. 목적

본 기준서는 당사의 생산 활동에 사용되는 제조시설 전반을 체계적이고 효율적으로 관리하여 설비의 성능저하를 방지하고 항상 안정된 상태를 유지하여 제조시설·설비 및 그 환경에서 발생될 수 있는 위해 요소를 사전에 예방하여 생산 제품의 안전성을 향상시키는데 그 목적이 있다.

3. 용어의 정의

3.1 제조시설

제품을 생산하기 위해 사용되는 제조설비, 유틸리티설비 등 생산/부대설비를 말하며 이와 관련되는 부속설비 및 기계장치, 작업 도구 등을 포함하여 말한다.

3.2 제조설비

제품의 제조에 사용되는 독립된 기능을 갖고, 그 기능을 발휘하는 장치 및 기계로 생산 설비를 말한다.

3.3 작업도구

작업자가 작업 중 사용하는 기구로써 작업대, 도봉, 계량용기, 운반구(핸드카) 등을 말한다.

3.4 정비

제조시설·설비 고유의 성능과 용도에 적합하도록 시설, 설비 자체에 대하여 행하는 점검, 주유, 조정 수리 등의 제반조치 활동을 말한다.

3.5 점검

설비의 위생상태 및 열화 상태나 경향을 조사, 예측하는 활동으로 설비의 상태를 점검하는 것을 말한다.

3.6 설비이력

설비의 구입부터 현 사용 상태까지의 기록을 표시한 것으로 제작처, 용도, 규격, 정비사항 등 설비의 모든 정보를 기록한 것을 말한다.

3.7 모니터링 기구

계량저울, 온도계, 시험기 등을 총칭하여 단위량을 기준으로 원·부재료, 공정품 및 제품

의 척도를 판정하는 기기를 말한다.

3.8 검정

규정된 허용공차 내에 들어오는지 아닌지를 판별하여 합격, 불합격을 판정하는 것을 말한다.

3.9 교정

표준기 또는 기준기를 이용하여 계측기의 지시값을 참값에 일치하도록 조정하는 것을 말한다.

3.10 필터

외부 또는 내부의 공기를 제어하기 위하여 설치된 망으로 공기 중에 포함되어 있는 부유 먼지를 제거 또는 제어하는 물체를 말한다.

4. 책임과 권한

4.1 위생관리팀장

- 1) 설비투자 계획을 승인한다.
- 2) 신규 제조 시설·설비의 도입 및 폐기에 대하여 승인한다.
- 3) 제조시설·설비의 운영 업무를 총괄하고 승인한다.
- 4) 설비투자 계획 및 신규 설비의 도입을 검토 주관한다.
- 5) 생산 및 부대설비의 제반 점검 및 정비 계획을 승인한다.
- 6) 설비이력카드, 시설·도구점검표, 설비점검표를 승인한다.
- 7) 제조 시설·설비 관리기준서를 승인한다.

4.2 생산팀장

- 1) 설비의 점검 및 정비계획을 검토한다.
- 2) 설비의 이력 카드 및 이력사항을 검토 관리한다.
- 3) 생산에 필요한 제조시설 및 기구의 구비, 관리를 작성한다.
- 4) 제조설비의 전반적 위생관리와 일상 점검활동 결과를 검토·확인한다.
- 5) 제조시설의 취급방법 등 사용자에게 대한 직무교육을 실시한다.
- 6) 제조시설의 예비부품을 구입, 관리를 검토한다.
- 7) 위생관리점검표를 검토한다.
- 8) 공무담당자가 작성한 설비점검표를 검토한다.
- 9) 제조 시설·설비 관리 기준서를 작성한다.

4.3 공무담당자

- 1) 제조설비의 이력카드를 작성 관리한다.
- 2) 설비를 주간점검을 실시하여 설비점검표를 작성 관리한다.

4.4 품질관리팀장

- 1) 제조설비 계측기의 검·교정사항을 관리한다.
- 2) 관리기준 이탈 사항에 대한 개선조치 및 재발 방지 대책을 검토한다.
- 3) 제조시설, 작업도구 등에 대한 청결도(기구 표면 미생물 등)를 확인한다.
- 4) 제조 시설·설비 관리기준서를 검토한다.

4.8 품질관리담당자

- 1) 제조시설의 계측기의 검·교정을 교정기관에 의뢰 실시하고 기록, 유지한다.
- 2) 제조시설, 작업도구 등에 대한 청결도 검사를 실시한다.

5. 업무 절차

5.1 제조시설·설비 요건

- 1) 제품 생산에 필요한 제조시설은 식품위생법에서 정하는 기준에 적합하여야 하며 제품 생산에 충분한 규모와 수량을 확보하여야 한다.
- 2) 식품과 접촉하는 취급시설·설비는 인체에 무해한 내수성·내부식성 재질로 열탕·증기·살균제 등으로 소독·살균이 가능하여야 하며, 기구 및 용기류는 용도별로 구분하여 사용·보관하여야 한다.
- 3) 제품에 직접 닿는 제조설비는 제품의 일부가 잔류되지 않고 이물 혼입을 방지 하는 구조이어야 한다.
- 4) 제조설비의 표면은 평활하고 깨진 곳이나 균열부위 및 결함이 없어야 한다.
- 5) 제조설비는 견고하고 도색이 벗겨진 곳이 없어야 하며 표면은 청소 및 소독이 용이한 구조로 한다.
- 6) 식품과 직·간접적으로 접촉 우려가 있는 제조설비는 내부 가장자리 구석진 곳까지 청소 및 소독이 가능한 구조로 한다.
- 7) 온도를 높이거나 낮추는 처리시설에는 온도변화를 측정, 기록하고 관리계획에 따른 온도가 유지되어야 한다.

5.2 제조시설의 구입, 등록, 폐기

1) 관리 기준

- (1) 생산팀장은 신규설비 입고 시 관련 매뉴얼, 도면 등을 수령하고 시운전을 실시하여 설비의 성능 및 위생상의 적합여부를 점검·확인 한다.
- (2) 생산팀장은 신규설비의 해당 작업자에게 신규설비의 제어, 가동순서, 사용방법, 청소 및 소독방법, 준수사항 등의 교육을 실시한다.
- (3) 생산팀장은 제조설비의 폐기사유 발생 시 부서 간 사전 협의를 거쳐 품의 하여 위생 관리기준팀장의 승인을 득한 후 시행한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 공무 담당자는 신규설비에 대하여 설비이력카드를 작성하여 생산팀장의 검토와 위생 관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지·보수사항 등을 기록, 관리한다.

(2) 관리 기준 이탈시 조치사항

- ① 생산팀장은 신규설비 시운전 시 제품생산에 직접적인 문제가 있는 사항이 발생 시

에는 즉시 설치 및 운전을 정지하고, 요건을 충족할 때까지 시정토록하고 재검사를 실시하여 적합 시 입고한다.

5.3 제조시설의 배치 및 설치

1) 관리 기준

- (1) 식품취급시설, 설비는 공정간 또는 취급시설, 설비간 오염이 발생되지 않도록 공정의 흐름에 따라 적절히 배치하며, 다음 항목을 만족해야 한다.
 - ① 바닥, 벽의 구석진 곳, 천장, 설비상부의 청소 및 소독이 가능하도록 설비의 크기, 청소방법 등을 고려하여 설치한다.
 - ② 작업자 이동, 점검구 개폐에 필요한 공간을 확보하여 설치한다.
 - ③ 오염물질의 낙하로 제품오염이 우려될 경우 뚜껑, 덮개 등 방지장치를 설치한다.
 - ④ 작업자 이동에 의한 2차 오염을 방지할 수 있도록 설치한다.
 - ⑤ 사용되는 설비의 부품이나 기기는 쉽게 탈락하지 않도록 보호대를 설치한다.
 - ⑥ 금속끼리 맞는 부분은 금속가루가 혼입되지 않도록 철저히 관리한다.
- (2) 공업용 윤활유나 물리적 위해 요소에 의한 오염이 발생하지 않도록 위생적으로 설치, 운영하여야 한다.

5.4 제조시설의 유지·보수 관리

1) 관리 기준

- (1) 식품취급시설·설비는 관리계획에 따라 유지, 보수하여 제조시설, 설비관리기준에 적합하여야 한다.
 - ① 일상점검
생산팀장은 기본적 작동 상태 및 위생 상태에 대하여 일상점검을 실시토록 한다.
 - ② 정기점검
공무담당자는 제조설비의 예방보전, 개량보전, 사후보전을 위하여 정기점검을 실시한다.
- (2) 공무 담당자는 제조설비의 윤활유 적정유무를 점검하고 필요시 보충 또는 교환한다.
- (3) 식품과 접촉이 우려되는 설비에 윤활유 보충 시 식품용 윤활유를 사용한다.
- (4) 윤활유가 식품과 접촉되지 않도록 하며 과도한 주유나 누유 부위가 없도록 관리한다.
- (5) 점검자는 점검 실시 후 주변을 깨끗이 정리하여 오염을 예방한다.
- (6) 정비 시 사용되는 부품은 청소를 실시하여 정비하고 정비 후에는 정비부위를 청결히 유지하여야 한다.
- (7) 고장수리 및 보수
생산팀장은 보수가 필요한 경우 자체보수가 가능한 것은 자체적으로 수리, 보수하고 불가능한 것은 외부 협력업체에 수리, 보수토록 한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 공무담당자는 주 1회 설비의 점검을 실시하여, 설비점검표에 그 결과를 기록 하여 생산팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 관리 유지토록 한다.
- (2) 공무 담당자는 설비의 고장, 수리, 보수 등의 이력사항을 설비 이력카드에 기록 하여 관리 유지한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 공무담당자는 설비의 점검결과 관리기준 이탈사항에 대하여 대책을 수립 하여 조치하고 필요한 경우에는 생산팀장에게 보고하여 대책방안을 협의하여 최대한 빠른 시간 내에 개선 조치 한 후 설비 점검표, 설비이력카드에 조치 결과를 기록 하여 생산팀장의 검토와 위생관리기준팀장의 승인을 득한다.

5.5 기구, 용기 및 작업도구류 등의 위생관리

1) 관리기준

- (1) 원료의 처리와 제품의 제조에 사용되는 기구 및 용기는 용도별로 구분하여 청결하게 관리되어야 한다.
- (2) 기구 및 용기류는 제품의 교차 오염을 방지하기 위하여 반드시 정해진 곳에서 지정된 용도로만 사용되어야 한다.
 - ① 일반구역에서 사용하는 기구 및 용기는 준청결 또는 청결구역으로 이동하지 않으며 공정상 부득이한 경우 세척 또는 소독 후 이동한다.
 - ② 기구와 용기의 내면에는 원·부재료와 제품의 일부가 잔류되지 않게 하여야 하며 깨지거나 녹이 발생되지 않는 재질이어야 한다.
 - ③ 제조에 사용되는 기구는 파손 시 즉시 교환한다.
- (3) 즉시 사용하지 않는 기구는 건조하여 보관한다.
- (4) 작업 공구는 혼용되지 않도록 용도별로 지정된 장소에 구분하여 관리한다.
- (5) 기구, 용기 및 작업도구류 등의 위생관리에 대한 세부사항은 위생관리 기준서에 따른다.

2) 점검방법 및 주기

- (1) 생산팀원은 일 1회 제조에 필요한 기구, 용기 및 작업도구를 점검하여 위생관리점검표에 기록하여 유지 관리한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 생산팀장은 기구 위생 점검 결과 오염되거나 마모된 기구 및 도구는 즉시 세척, 소독하거나 교체하여 사용할 수 있도록 한다.

6. 기록 및 보관

7. 관련 문서

7.1 위생관리 기준서

7.2 검사관리 기준서

[부록 2] 일반적인 냉장·냉동·설비관리 기준서 예시

1. 적용범위

본 기준서는 ○○○○(주)(이하 “회사”라고 함)에서 생산되는 막걸리의 위생관리기준 시스템 적용과 관련하여 원료나 제품 등을 냉장, 냉동·냉동 관리하기 위하여 설치된 냉장·냉동설비의 운영에 대하여 적용한다.

2. 목적

이 기준서는 당사의 위생관리기준의 적용에 있어 원료나 제품의 냉장·냉동에 관련된 냉장·냉동설비의 운영방법과 절차를 체계화함으로써 안전하고 위생적인 냉장·냉동관리가 이루어져 제품의 품질저하를 예방하고 오염의 가능성을 사전에 방지하는 것이 그 목적이다.

3. 용어의 정의

3.1 냉장·냉동 시설

냉동설비를 이용하여 냉장·냉동에 필요한 적정온도를 유지함으로써 냉장·냉동 제품의 위해요소 저하 및 오염을 방지하기 위한 시설을 말한다.

3.2 냉동설비

제품의 냉장 및 냉장·냉동 창고온도를 유지하기 위해 압축, 응축, 팽창, 증발의 사이클로 반복 운전하는 냉매시설(R-22, R-502)을 말한다.

3.3 제상

증발기관내의 냉매액과 냉장창고내의 습공기와 열 교환으로 습공기 중의 수분이 응결되어 냉각관에 부착되어 전열효율을 현저히 저하시켜 냉동고내 온도를 낮추기가 곤란해지므로 냉각관(핀)에 상이 많이 부착되면 수시로 상을 제거시켜 주어야 한다.

3.4 압축기

왕복 동 및 스크루 냉동기로서 저온저압의 냉매가스를 압축기의 흡입부로 흡입하여 고온고압의 가스로 압축한다.

3.5 응축기

압축기에서 고온 고압으로 압축된 냉매가스가 응축기와 열교환기 표면을 흐르면서 냉매가스는 응축되어 고압의 액 냉매로 액화한다.

3.6 팽창밸브

응축기에서 응축 액화하여 넘어온 고온고압의 액냉매를 증발하기 쉽도록 교축작용을 말한다.

3.7 증발기

팽창밸브에서 압력과 온도를 내린 저온저압의 액 냉매가 미 냉각 물질로부터 열을 흡수하

여 증발함으로서 냉동목적을 직접 달성한다.

3.8 오버홀(OVER-HAUL)

압축기의 장시간 사용으로 인한 각 부의 마모로 기밀유지가 곤란하여 압축기 효율이 낮아져 냉동고 온도를 유지 관리하는데 어려움이 있으므로 일정시간 사용 후 내부 부품을 교환 정비함으로서 압축기의 효율을 높이는 정비 작업이다.

4. 책임과 권한

4.1 위생관리팀장

- 1) 냉장·냉동시설·설비의 운영업무 총괄 및 예산집행을 총괄 승인한다.
- 2) 냉장·냉동시설·설비의 개선, 증설, 노후설비 등의 교체를 승인한다.
- 3) 냉장·냉동시설·설비의 종합적 보전 계획을 승인 한다.
- 4) 냉장·냉동시설·설비 기준서를 승인한다.

4.2 생산팀장

- 1) 냉장·냉동시설·설비의 안전 및 유지관리 업무를 검토 주관한다.
- 2) 냉장·냉동시설·설비의 예방 보전계획 및 예산계획을 검토 관리한다.
- 3) 냉장·냉동시설·설비의 위생 사항을 검토한다.
- 4) 냉장·냉동시설·설비의 점검 및 운전일지의 제반 기록을 검토 관리한다.
- 5) 냉장·냉동시설·설비 기준서를 검토한다.

4.3 공무 담당자

- 1) 냉장·냉동설비의 점검일지를 기록 유지하고 정비사항을 기록 유지 관리한다.
- 2) 냉장·냉동시설·설비의 운전상 문제점을 개선 조치하고 기록 유지한다.

4.4 품질관리팀장

- 1) 냉장·냉동 창고의 온도유지에 대한 모니터링 결과를 검토하고 검증한다.
- 2) 냉장·냉동시설·설비에 부착된 계측기의 검·교정 사항을 검토 관리한다.
- 3) 냉장·냉동시설·설비 기준서를 검토한다.

4.5 품질관리담당자

- 1) 냉장·냉동설비에 부착된 계측기에 대한 검·교정을 관리한다.
- 2) 냉장·냉동시설·설비 기준서를 작성한다.

5. 업무 절차

5.1 냉장·냉동시설·설비

1) 관리 기준

- (1) 냉장·냉동·냉각설비는 원료와 제품을 효과적으로 수용할 수 있도록 보관온도 등이 조절 가능한 구조와 기능을 갖추고 오염시킬 우려가 없어야 한다.
- (2) 냉장·냉동실 등의 온도상황은 보관품의 특성에 따라 적절히 관리될 수 있어야 한다.

- (3) 냉장·냉동실은 총 보관량의 한도를 초과하지 않는 범위 내에서 냉장·냉동실을 운영한다.
- (4) 냉장·냉동·냉각시설·설비는 관리계획에 따라 점검, 정비, 청소를 실시하여 그 결과를 기록 유지 하여야 한다.
- (5) 냉장·냉동시설·설비의 오염방지 및 안정된 출력을 위한 냉장·냉동실의 청소주기 및 방법은 위생관리기준서의 세척·소독기준에 따른다.
 - ① 바닥, 벽, 비닐커튼, 문턱 등을 청결히 관리하고 파손 시 즉시 보수하여 냉 손실을 막아야 한다.
 - ② 유니트 쿨러, 냉각팬은 항상 청결하게 유지, 관리하여야 한다.
- (6) 냉장·냉동실 내는 원료나 제품의 이동이 용이하도록 정리 정돈한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 공무 담당자는 주 1회 냉장·냉동 설비의 가동상태를 점검하여 냉장·냉동 설비 점검일지에 기록하여 생산팀장의 검토와 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 공무 담당자는 냉장·냉동 설비의 가동 상태를 점검 실시 후 이탈사항이 발생 시 즉시 처리 가능한 경우 선 처리 후 냉장·냉동 설비점검일지의 이탈 발생 란에 기록하여 생산팀장에게 보고하고 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 공무 담당자는 점검 실시 후 이탈 사항 발생 시 즉시 조치가 어려울 경우 생산팀장에게 보고한 후 관련 부서와 협의하여 대책을 수립하고 개선조치 실시 후 실행 여부를 확인하여 냉장·냉동 설비 점검일지에 기록하여 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

5.2 온도관리기준

1) 관리 기준

- (1) 냉장시설은 내부온도를 5℃ 이하로 유지하고, 외부에서 온도변화를 관찰 할 수 있어야 하며, 온도 감응 장치의 센서는 고내의 온도가 가장 높은 곳 또는 냉각원 으로부터 가장 멀리 위치하도록 한다. 단 제상 시에는 보관 시 기준 온도 상태를 제외할 수 있다.
- (2) 냉장·냉동실 외부에는 밖에서 온도를 볼 수 있는 디지털 온도표시계가 부착되어 있어 온도에 대해 관리가 용이하여야 한다.
- (3) 냉장·냉동실내부 온도계의 검·교정은 검사 관리 기준서에 따른다.
- (4) 정전발생 시에는 아래와 같이 조치를 취한다.
 - ① 정전 발생 시 냉장·냉동고 출입자는 정전상황을 생산팀장에게 즉시 통보한다.
 - ② 생산팀장은 관련팀에 상황을 통보한다.
 - ③ 냉장·냉동실의 출입문은 생산팀장의 승인 없이 열어서는 안 된다.
 - ④ 생산팀장은 냉장·냉동실의 온도상황을 점검하여 변동사항이 있을 경우 위생관리기준팀장에게 보고한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 품질관리 담당자는 일 1회 원료 보관 중인 냉장·냉동실내의 온도를 측정하여 온도점검일지에 기록하여 품질관리 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.
- (2) 공무 담당자는 주 1회 냉장·냉동실내의 온도를 측정하여 냉장·냉동 설비 점검일지

에 기록하여 생산팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리 담당자 및 공무 담당자는 냉장·냉동실내의 온도를 측정 결과 이탈 사항 발생 시 즉시 처리 가능한 경우 선 처리 후 냉장·냉동 설비 점검일지의 이탈 발생 란에 기록 하여 생산팀장에게 보고하여 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 공무 담당자는 점검 실시 후 이탈 사항 발생 시 즉시 조치가 어려울 경우 생산팀장에게 보고한 후 관련 부서와 협의하여 대책을 수립하고 개선조치 실시 후 실행 여부를 확인 하여 냉장·냉동 설비 점검일지에 기록하여 생산팀장의 검토와 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

5.3 냉동설비 운전 및 보전관리

1) 관리 기준

(1) 압축기

① 운전 시 주의사항

- 압축기는 냉동설비에서 가장 위험하고 또한 가장 중요한 역할을 하므로 그 관리에 특히 주의하여야 한다.
- 압축기는 운전 전에 윤활유의 양, 각 압력계의 이상 유무, 액관의 냉매상태 등을 세심하게 살핀 후 운전을 하도록 해야 한다.
- 압축기 운전 중에는 압력계의 이상 유무, 윤활유의 양, 이상소음이나 진동유무 등을 주기적으로 관찰해야 한다.
- 압축기의 운전에서 주의해야할 점은 액압축과 고온에 의한 윤활유의 열화 및 탄화에 의한 압축기의 파손이므로 과부하 등에 주의한다.

(2) 응축기

① 운전 시 주의사항

- 응축기와 압축기간의 배관진동에 유의하고 주변 환기에 지장을 주는 물건적재 등이 없도록 한다.
- 공냉식 응축기는 압력에 따라 웬가동 자동제어의 이상 유무를 확인한다.

② 보전관리

- 공냉식 응축기는 항상 청결을 유지할 수 있도록 월 1회 이상 핀코일의 청소를 해야 한다.
- 송풍기는 날개의 파손이나 모터의 이상 유무를 수시로 점검하여 이상이 없도록 한다.

(3) 유니트 쿨러

① 운전 시 주의사항

- 유니트 쿨러는 실제로 냉동효과를 발생시키는 장치로써 냉각관에 의해 열 교환된 공기를 송풍기에 의해 냉동실 전체에 고루 순환시킴으로써 목적을 달성한다.
- 냉동기 운전 중 냉장실내 온도유지가 곤란할 때는 수시로 제상작업을 함으로써 유니트 쿨러가 효율적으로 운전될 수 있도록 한다.

② 보전관리

- 유니트 쿨러는 냉동목적을 직접 달성하는 장치로서 항상 청결하게 유지 관리하여 냉동 효율을 최상의 상태로 한다.
- 송풍기는 날개의 파손이나 모터의 이상 유무를 수시로 점검하여 이상이 없도록 한다.
- 각종 자동 밸브류의 작동상태를 수시로 확인한다.

2) 점검방법 및 주기

- (1) 공무 담당자는 냉장·냉동시설·설비 점검 기준표에 의해 정해진 주기에 따라 점검을 실시하여 냉장·냉동 설비 점검일지에 기록하여 생산팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 공무 담당자는 기계정비 후와 작업 전에 냉매 등 누수 여부를 확인하여 그 결과를 냉장·냉동 설비점검일지에 작성하여 유지 관리한다.
- (3) 공무 담당자는 냉장·냉동실 적정온도를 유지하기 위하여 온도를 측정하여 냉장·냉동 설비점검일지에 기록하여 생산팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 공무 담당자는 냉장·냉동 설비의 상태를 점검 실시 후 이탈사항이 발생 시 즉시 처리 가능한 경우 선 처리 후 냉장·냉동 설비 점검일지의 이탈 발생 란에 기록 하여 생산팀장에게 보고하여 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 공무 담당자는 점검 실시 후 이탈 사항 발생 시 즉시 조치가 어려울 경우 생산팀장에 보고한 후 관련 부서와 협의하여 대책을 수립하고 개선조치 실시 후 실행 여부를 확인하여 냉장·냉동 설비 점검일지에 기록하여 생산팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (3) 생산팀장은 필요시 관련팀장에게 이탈사항을 통보하여 대책을 강구하고 보관기준이탈이 장시간일 경우 냉장·냉동실의 출입을 최대한 통제하고, 냉 손실을 막아 실내온도를 보존하여야 한다.

6. 기록 및 보관

7. 관련 문서

7.1 검사 관리 기준서

[부록 3] 일반적인 보관·운송관리 기준서 예시

1. 적용범위

본 기준서는 ○○○○(주)(이하 “회사”라 한다)에서 생산되는 막걸리의 위생관리를 위하여 회사에서 사용되는 원·부재료, 완제품, 반품 및 부적합품 등의 취급, 보관 및 운송관리 전반에 대하여 관리 기준, 방법 및 절차에 관한 사항을 범위로 한다.

2. 목 적

본 기준서는 제품의 품질향상을 위해 제조에 사용되는 원·부재료, 제품, 반품 등의 취급, 보관 및 운송과 부적합품에 대한 업무절차를 규정하여 원·부재료 및 제품의 처리 과정에서 유발될 수 있는 위해요소를 사전에 제거함으로써 안전하고 위생적인 제품을 제조 공급 하는데 목적이 있다

3. 용어의 정의

3.1 원료

제품 생산 시 완제품을 구성하는 성분 배합상의 주재료로 들어가는 모든 원료를 통틀어 말한다.

3.2 부재료

제품을 포장하기 위하여 사용되는 골판지박스, PVC상자, 비닐포장지(PE) 등을 말한다.

3.3 보관

작업장에서 사용되는 자재 및 물건을 보관 조건에 따라 일정한 장소에 두고 관리하는 것을 말한다.

3.4 제품

원·부재료에 제조·가공처리를 가하여 판매를 목적으로 만들어진 물건으로 모든 제조 공정을 끝내고 출고 대기하고 있는 제품을 말한다.

3.5 부적합품

해당 품목이 검사규격기준, 표준의 특성 및 판정기준을 만족시키지 못하여 품질에 영향을 주는 즉 각각의 품질 규격에 어긋나는 원·부재료, 공정중의 공정품 및 제품을 말한다.

3.6 폐기

공정검사 및 최종검사결과 결함정도가 심하여 요구품질을 충족시키지 못하는 경우의 조치사항을 말한다.

3.7 식별표시

타 물품과의 구분 및 물품의 현 상태를 인식할 수 있도록 스티커, 꼬리표, 스템프, 인식

(식별)표 등 적절한 수단으로 표시하는 것을 말한다.

3.8 협력업체

제품 생산에 필요한 원·부재료의 납품 및 기타 용역을 제공하는 업체를 말한다.

4. 책임과 권한

4.1 위생관리기준팀장

- 1) 협력 업체 평가 결과를 승인한다.
- 2) 보관 및 운송관리 운영업무를 총괄한다.
- 3) 보관 및 운송설비 관련의 정비·점검계획을 확정하고 승인한다.
- 4) 부적합품의 처리 및 품질검사를 승인한다.
- 5) 보관·운송 관리 기준서를 승인한다.

4.2 품질관리팀장

- 1) 원·부재료에 대한 협력업체의 시험 성적서를 검토한다.
- 2) 공정 중에 발생한 부적합의 원인분석 및 개선조치를 검토한다.
- 3) 작업장내의 입고관리, 공정품, 제품의 보관 및 출고 상태를 검토 관리한다.
- 4) 입고된 원·부재료, 제품검사 내역을 검토한다.
- 5) 원·부재료, 제품의 창고관리 및 상, 하차장 주변의 위생 상태를 검토 관리한다.
- 6) 원·부재료, 제품의 입고·보관·출고 및 반품 처리 내역을 검토 관리한다.
- 7) 부적합의 식별표시 및 창고 온도 점검상태를 검토 확인한다.
- 8) 원·부재료, 제품의 적정재고 및 선입선출 유무를 검토 관리한다.
- 9) 제품 운송차량의 청결 및 정비 유무를 검토 확인한다.
- 10) 협력 업체의 평가 결과를 검토한다.
- 11) 제품 운송 차량의 내·외부 청결 및 위생상태, 적재상태, 온도 등의 점검 사항을 승인한다.
- 12) 보관·운송 관리 기준서를 검토한다.

4.4 품질관리팀원

- 1) 원·부재료에 대한 협력업체의 시험 성적서를 점검한다.
- 2) 입고된 원·부재료 검사를 실시한 후 원부재료입고검사일지를 작성한다.
- 3) 부적합품의 품질검사 및 처리여부를 일지에 작성한다.
- 4) 원·부재료의 추적성을 위하여 일별 입·출고 내역을 수불장에 작성한다.
- 5) 원·부재료의 적정재고 및 선입·선출 유무를 점검한다.

4.2 영업팀장

- 1) 제품 운송 차량의 내·외부 청결 및 위생상태, 적재상태, 온도 등의 점검 사항을 검토한다.
- 2) 제품의 적정재고 및 선입·선출 유무를 검토한다.

3) 제품의 추적성을 위하여 일별 재고현황을 검토한다..

4.6 물류담당자

- 1) 제품 운송 차량의 내·외부 청결 및 위생상태, 적재상태, 온도 등의 점검 사항을 차량위생점검표에 확인 기록한다.
- 2) 제품의 추적성을 위하여 제품출하관리일지를 작성한다.

4.7 생산팀장

- 1) 작업장내에서 발생된 부적합 원·부재료의 처리 내역을 검토한다.
- 2) 작업장내의 원·부재료, 포장재, 반제품의 보관 정리정돈 상태를 검토 확인한다.
- 3) 현장 내 제품의 포장 용기 청결상태를 관리 한다.
- 4) 보관 중인 부적합품의 식별 표시 및 처리를 검토 확인한다.
- 5) 보관·운송 관리 기준서를 검토한다.

4.8 생산담당자

- 1) 작업장내의 부적합 원·부재료를 관리 담당자에게 인계한다.
- 2) 원·부재료의 부적합품 발생시 식별표 부착 및 격리조치를 취한다.
- 3) 원·부재료, 제품의 창고관리 및 위생 상태를 점검 기록한다.

5. 업무 절차

5.1 구매 및 입고 관리

1) 관리 기준

(1) 원·부재료 구매는 다음과 같이 이루어진다.



- (2) 원·부재료의 구매 시 생산 계획 및 재고 현황에 의거하여 품질관리 담당자가 협력 업체에 통보한다.
- (3) 원·부재료 구입 시에는 검사성적서의 확인 또는 검사를 통하여 입고기준 및 규격에 적합한 원·부재료만을 구입하여야 한다.
- (4) 품질관리담당자는 검사성적서의 확인 및 검사관리기준서의 (원·부재료 규격(별첨2))에 따라 입고검사를 실시하며 부적합사항이 없어야 한다.

- (5) 품질관리담당자는 부적합한 원·부재료는 부적합품식별표식을 한 후 적절한 절차에 따라 반품 또는 폐기처분하여야 한다.
- (6) 원·부재료의 검수 및 입고검사는 품질관리담당자는 검사관리 기준서에 따라 실시한다.
 - ① 원·부재료의 검수는 납품 시 실시하며, 부득이 검수가 늦어질 경우에는 “입고검사 대기중” 이란 식별표시를 하여 원·부재료별 정해진 냉장·냉동실에서 임시 보관하도록 한다.
 - ② 품질관리담당자는 합격통보를 받은 원·부재료를 원·부재료 보관 기준표(별첨1)에 의거하여 품목 별로 보관창고에 입고시킨다.
 - ③ 입고과정 중에는 청결하고 적절한 운반용구를 사용하며 취급 및 운반 중 품질에 손상이 가지 않도록 규정된 파레트에 적재 운반한다.
- (7) 입고검사에 필요한 장비(저울, 줄자, 확대경, 검체채취용 샘플백, 알콜분무기, 면장갑 등)를 구비하며 청결히 관리 유지하여 교차오염을 방지한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 품질관리담당자는 매 입고 시 마다 원·부재료의 입고상태(포장상태 청결·파손여부)를 점검하여 원·부재료 입고검사일지에 기록하여 품질 관리 팀장의 검토와 위생관리 기준팀장의 승인을 득한 후 관리 유지한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리담당자는 입고 검사 후 부적합한 원부재료에 대하여 관리담당자에게 통보하며, 관리담당자는 부적합한 원·부재료에 대해서는 식별 표시 후 별도 장소에 구분 격리시켜 보관 후 신속히 반품 조치하고 품질관리팀장의 승인을 득한 후 부적합품처리 보고서에 기록 유지 관리 한다.

5.2 협력업체 관리

1) 관리기준

- (1) 영업자는 관리계획에 따라 원·부재료 공급업체 등 협력업체의 입고자재 관리 및 검사체계를 총괄 한다.
- (2) 품질관리 팀장은 협력 업체 평가에 의하여 평가 항목 설정 및 평가 방법 , 점검 주기를 설정하여야 한다.
- (3) 신규업체 선정 시 협력 업체 사전 점검 평가 결과를 토대로 선정하여야 한다.
- (4) 기존 업체 역시 정기 점검을 실시하여 관리 하여야 하며 법적 서류 (영업(허가)증, 제품 시험성적서, 품목제조 보고서 등)을 구비하여야 한다. 특히 다음과 같은 상황 발생 시 특별 점검을 통해 관리 하여야 한다.
 - ① 원·부재료로 인하여 클레임 발생시
 - ② 위해 요소 발생으로 인하여 점검이 필요할시
- (5) 업체 평가 방식은 부적합품 발생 건수, 및 납기 준수 여부 , 업체 위생상태 등을 종합하여 평가하며 , 평가 점수를 토대로 하여 3번 부적합 받은 업체는 거래를 중단한다.

2) 점검방법 및 주기

- (1) 품질관리팀장은 신규 및 기존 협력업체를 점검관리하며, 협력업체점검표를 작성하여

위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리팀장은 점검 결과에 따라 협력업체에 개선 조치 및 지도를 강화하며 위생관리기준팀장에게 보고하고 지시내용에 따라 조치를 취한 후 그 결과를 유지 관리 한다.

5.3 보관 관리

1) 원부재료 및 제품의 관리 기준

- (1) 검사에 합격한 원·부재료 및 제품은 품목별로 지정된 보관 장소에 선입선출이 가능하도록 창고별 적재를 원칙으로 하여 관리한다.
- (2) 원·부재료 및 제품을 보관하는 장소 창고 및 지정장소는 야적, 우천에 따른 품질변화나 손상으로부터 품질 보호되어야 한다.
- (3) 품질관리담당자는 지정된 보관 장소의 원·부재료 및 제품에 대해 수시로 아래의 기준에 따라 점검하고 이상이 발생하였을 경우 즉시 품질의 이상 유무 검사를 실시한다.

■ 보관적재방법			
구 분		원·부재료	제 품
적정단 수	P-박스	7단 이하	7단 이하
	팔레트	2단 이하	2단 이하

- (4) 원·부재료 및 제품 적재 시 교차오염을 방지하기 위하여 명확하게 구분하여 바닥이나 벽에 밀착되지 않도록 충분한 거리를 확보하여 적재·관리 하여야 한다.(팔레트 위에 적재하여 벽과 바닥에서 10 cm이상 이격시켜 적재 관리한다.)
- (5) 원료에 직접 접촉하는 내포장재의 경우에는 보관창고에 오래 보관하지 않아야 하며 내용 물이 손상이 되어 교차오염이 발생하는 경우 그 포장재는 폐기한다.
- (6) 원·부재료는 작업장 내 투입 시 선입선출을 기본으로 하며 해당 원부재료의 투입 전 위생상태를 파악한다. 만일 오염이 발견되었을 시에는 다른 로트의 원부재료를 투입한다.
- (7) 주기적으로 보관창고에 대한 청소를 실시하여 보관 원·부재료 및 제품을 청결하게 관리하고 출입문은 오염물질, 해충, 쥐 등이 침입할 수 없도록 밀폐가 가능한 구조로 되어있고 입·출고 시 이외에는 항상 닫혀져 있어야 한다.
- (8) 품질관리담당자는 제품보관 창고내의 제품이 손상되는 것을 방지하여야 하며 원재료 및 제품의 유통 기간 경과 유무 등 보존 상태를 점검하여야 한다.
- (9) 원·부재료 및 제품은 식별표시를 하여 선입선출이 가능하도록 하고 입고·출고 상황을 관리 기록하여야 한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 생산팀원(공무/환경담당자)는 원·부재료 및 제품의 보관 창고의 온도를 일 1회 점검하여 온도점검일지에 기록한 후 관리 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 품질관리담당자는 원·부재료 의 입출고 내역을 선입선출대장에 기록하여 품질 관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

(3) 영업팀장은 제품의 입고내역과 내역을 제품출하관리일지에 기록하여 관리한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

(1) 입고 완료 후 창고 보관 중에 부적합 판정을 받은 원·부재료 및 제품은 별도의 장소에 명확하게 식별 표시를 하여 보관하며 품질관리팀장에게 보고하여 반송, 폐기 등의 조치를 취한 후 부적합품처리보고서에 작성하여 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

(2) 보관중인 원·부재료 및 제품의 반품 등으로 부적합 발생 시 이를 구분 관리하여 유통기한 경과 등의 일반 반품은 외부용역 업체를 통해 폐기 시키고 사진, 반출확인서 등의 증빙서류를 비치하여야 한다.

4) 유해 물질의 보관 관리

(1) 유독성 물질, 인화성 물질 및 비식용 화학 물질은 식품 취급 구역으로부터 격리된 환기가 잘되는 지정된 장소에서 구분하여 보관, 취급한다.

(2) 보관 창고의 청결을 위하여 주기적으로 청소를 실시하며 청소 사용되는 화학물질(세제, 알콜 등)은 별도의 보관 장소를 지정하여 구분 보관한다.

5.4 부적합품 관리

1) 부적합품의 보관

(1) 원·부재료 및 제품의 규격 이탈로 인하여 부적합 발생 시 식별표시를 하여 부적합품 보관 장소에 격리·보관하여야 하며, 식별표시가 된 부적합품은 처리방법이 결정되기 전까지는 사용, 출하하지 않도록 한다.

2) 부적합품의 처리

(1) 제품 출고 전 규격 이탈시 품질관리담당자는 부적합품처리보고서에 기록, 품질 관리 팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득하여 관리하고 다음과 같은 방법으로 처리한다.

① 선별 또는 재포장 등으로 상품가치를 회복할 수 있다고 판단된 경우에 재작업을 실시한다.

② 변색 및 변질되어서 상품으로 회복될 수 없다고 판단된 경우 부적합품을 지정된 폐기물 수거 장소로 이동시킨 후 적법하게 폐기 처리한다.

(2) 원·부재료 입고검사 결과 부적합품 발생 시 품질관리담당자는 부적합품처리보고서에 기록, 품질 관리 팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득하여 관리하고 다음과 같은 방법으로 처리한다.

① 선별 등으로 제품 생산에 위해가 없다고 판단된 경우에 사용하도록 한다.

② 제품에 위해가 되어 사용이 불가능하다고 판단된 경우 협력업체에 통보하여 반품처리 하도록 한다.

(3) 출고된 제품의 반품 발생 시 영업 팀장은 품질관리 담당자에게 발생원인 및 처리 방안을 요구한다.

① 품질 관리담당자는 원인 분석을 파악한 후 제품을 확인하여 처리방안을 강구한다.

② 제품을 선별하여 위해에 전혀 문제가 없다고 판단되는 경우 재 출고하도록 하며, 제품으로 부적합하다고 판단되는 제품은 부적합품처리보고서에 기록 한 후 폐기처리 한다.

3) 부적합품의 재발방지 대책

- (1) 품질관리팀장은 부적합 관련 발생내용을 검토하고 관련팀과 협의하여 처리방안을 확정하고 즉시 조치를 취한다.
- (2) 원·부재료의 부적합품에 대하여 재발방지대책을 협력업체에 요구하여 개선이 이루어지도록 한다.

5.5 운송 관리

1) 관리기준

- (1) 운송차량(지게차 등 포함) 으로 인하여 운송제품이 오염되어서는 안 된다.
- (2) 운송차량은 세척 및 소독이 용이하고 운송 제품 취급 시 오염과 부패 손실이 방지되도록 적재함을 설치하여야 한다.
- (3) 운송차량은 제품에 대한 입출고의 경우 0~10℃를 유지할 수 있어야 하며 외부에서 온도 변화를 확인할 수 있도록 임의 조작성 방지된 온도 기록 장치를 부착하여 관리한다.
- (4) 운송 중인 제품은 비식품 등과 구분하여 교차오염을 방지하여야 한다.
 - ① 운송차량 적재함은 제품 운송 전 이물질(허가된 물건 외 것)을 제거 후 제품을 상차한다.
 - ② 유해성 물질이나 보관조건이 다른 타 물품의 적재를 금한다.
- (5) 운반도구 및 용기는 관리계획에 따라 세척·소독을 실시하여야 하며 세부 사항은 위생 관리기준서에 따른다.

2) 점검방법 및 주기

- (1) 영업 및 품질관리 담당자는 차량의 운행 전에 반드시 청결상태 및 차량의 이상 유무를 확인 및 운송차량의 온도 기록지를 차량 위생 점검표에 기록 및 부착한 후 품질관리 팀장의 승인을 득하여 유지 관리한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 제품 운송 중 차량의 이상으로 납품이 지연 시 차량의 위생상태가 확인된 차량으로 신속히 배차하여 제품의 안전성을 확보한다.
- (2) 차량 내·외부 청결 및 위생상태, 적재상태, 온도 등의 이탈 발생 시 즉시 개선조치하고 이를 차량 위생 점검표에 기록하여 품질관리 팀장에게 보고 승인을 득한 후 유지 관리한다.

6. 기록 및 보관

7. 관련 문서

- 7.1 검사 관리 기준서
- 7.2 위생 관리 기준서

[부록 4] 일반적인 검사관리 기준서 예시

1. 적용범위

본 기준서는 ○○○○(주)(이하 "회사"라고 함)에서 생산되는 막걸리의 위생관리를 위해 원·부재료 및 포장재, 반제품 및 완제품 등의 검사 전반에 대한 관리기준, 방법 및 절차에 관한 사항을 적용범위로 한다.

2. 목 적

본 기준서는 생산에 관련된 원·부재료, 공정품, 제품 및 기타 공정단계에 대한 검사 절차 및 방법, 조치사항을 규정하여 생산 공정 및 제품에 이르기까지 철저한 검사를 통해 위해 요소를 사전 예방하여 제품에 대한 신뢰성 향상을 목적으로 한다.

3. 용어의 정의

3.1 검사

원·부재료 또는 공정품, 제품 등을 규격기준에 의거 오감에 의한 관능검사와 그 이상의 품질특성을 시험하여 적합 여부를 판정하는 것을 말한다.

3.2 검사규격

원·부재료의 구입에서부터 제조과정을 거쳐 제품이 완성되기까지의 생산 활동 각 단계에서 얻은 결과를 미리 정한 품질특성 기준과 비교하여 합격·불합격의 판정을 내릴 수 있도록 구체적인 검사방법의 기준을 말한다.

3.3 로트

검사나 조사 분류를 위하여 원·부재료, 제품 등의 단위체 또는 단위량을 하나로 종합하여 구분지은 집단을 말하며 제품의 경우 품목별 1일 생산량을 각각의 로트로 한다.

3.4 부적합품

해당규격, 기준, 표준의 품질특성 및 판정기준을 만족시키지 못하는 원·부재료 및 공정품, 제품, 반품을 말한다.

3.5 입고검사

제품의 생산에 사용되는 모든 원·부재료가 입고되었을 때 당사 검사 규격에 의해 적합 유무를 검사하는 것을 말한다.

3.6 한도 견본 (표준 견본)

입고검사 및 공정검사 시 성상 등의 검사용으로 사용, 비교되는 표준 샘플을 말하며 포장재의 색상디자인 표기사항도 이에 포함한다.

3.7 공정검사

생산 공정 중 생산 팀 검사자가 위해요소 항목을 스스로 점검하여 관리하는 검사를 말한

다.

3.8 제품(최종)검사

완제품에 대해 제품검사규격에 의거 검사항목을 체크하여 법률적 요건과 고객이 요구하는 품질수준을 만족 시키는지 확인하는 것으로 제품 출하 전에 행하는 검사를 말한다.

3.9 폐기

유효(사용)기간이 경과한 것, 오염된 것, 사용이 불가능한 원·부재료, 제품 등 시험결과 부적합으로 판정된 것을 당사 승인권자의 승인을 득한 후 폐기시키는 것을 말한다.

3.10 반품

출하 후 제품의 이상 및 소비자의 요구 그 밖의 사유에 의해 재 입고되는 제품 및 원·부재료 입고 검사에서 부적합품으로 판정된 것을 협력업체로 되돌려 보내는 것을 말한다.

3.11 클레임

당사 제품에 대한 고객으로부터의 모든 불만사항 및 당사가 사용하는 원·부재료에 대한 내부 관련 팀의 모든 불만 사항을 말한다.

3.12 검·교정

검정 표준기기와의 소급성 유지를 위해 하위급 검사설비의 정도변이를 소정의 절차에 따라 오차도, 신뢰도를 확인, 비교 검사하는 것을 말함.

3.13 표준기

일반검사설비의 검·교정의 기준이 되는 기기로 국가 검·교정공인기관에서 검·교정을 받은 검사설비를 말한다.

4. 책임과 권한

4.1 위생관리팀장

- 1) 검사 설비의 구매를 승인한다.
- 2) 각종 검사(위생검사, 제품검사, 용수검사 등)를 승인 한다.
- 3) 외부공인기관의 각종검사 및 시험 의뢰를 관리한다.
- 4) 각종 관리기준 이탈시 조치사항에 대해 승인한다.
- 5) 부적합품의 폐기 및 검사 설비의 구매 폐기를 승인 한다.
- 6) 검사관리 기준서를 승인한다.

4.2 품질관리 팀장

- 1) 각종 검사(위생검사, 제품검사, 용수검사 등)를 검토 관리한다.
- 2) 검사업무에 사용되는 시약 및 검사설비에 대해 점검 관리한다.
- 3) 보유중인 검사기기, 신규 입고되는 검사기기를 관리한다.

- 4) 원·부재료 등의 입고검사를 검토하고 관리 감독한다.
- 5) 생산 공정의 단계에 걸쳐 일반 분석에 대한 적·부 여부를 검토·결정한다.
- 6) 외부공인기관에 검사 및 시험 의뢰사항을 승인한다.
- 7) 부적합품에 대한 판정을 검토하고, 부적합품에 대하여 개선조치를 관리한다.
- 8) 계측기 검·교정관리 기록을 검토하고 관리한다.
- 9) 검사설비의 규정된 주기에 따른 검사계획을 수립·검토한다.
- 10) 검사관리 기준서를 검토한다.

4.3 품질관리 팀원

- 1) 검체의 채취 및 각종 검사(위생검사, 제품검사, 용수검사 등)를 실시하고 기록한다.
- 2) 실험실의 검사기기, 신규 입고되는 검사설비의 이력카드를 작성한다.
- 3) 원·부재료에 대하여 해당 검사 규격에 의거 검사를 실시하도록 한다.
- 4) 생산 공정의 단계에 걸쳐 일반 검사에 대한 분석을 실시하고 적·부 여부를 판단한다.
- 5) 입고검사 시 원료 및 부재료에 대한 시험 성적서를 수집한다.
- 6) 외부공인기관에 제품에 대한 자가 품질 검사를 의뢰한다.
- 7) 부적합품에 대한 판정을 실시하고, 부적합품의 조치사항을 점검한다.
- 8) 검사 설비에 대한 점검계획 수립, 점검실시, 기록유지, 검·교정을 실시한다.
- 9) 검사 관리 기준서를 작성한다.
- 10) 제품의 출하 검사를 실시하여 작성 유지한다.

4.4 생산팀장

- 1) 생산 공정별 검사 결과를 승인 한다.
- 2) 공정품, 부적합품 등의 처리업무를 검토 관리한다.
- 3) 검사 관리 기준서를 검토한다.

4.5 생산담당자

- 1) 생산 공정별 검사를 실시하여 공정일보에 기록 유지 한다.
- 2) 공정품, 부적합품등의 처리를 수행한다.

5. 업무 절차

5.1 검체의 채취 및 취급 방법

- 1) 검체의 채취 및 취급 방법은 검사 관리 기준에 따라 실시하도록 한다.

5.2 원·부재료 입고 검사

1) 관리 기준

- (1) 입고 검사가 불가능한 야간이나 휴일의 원·부재료 납품은 가급적 금지하되 부득이한 경우 보관 창고에 식별표시를 한 후 선 입고하여 구분 보관하고 차후에 검사를 실시한다.
- (2) 관리 담당자는 원·부재료의 입고 시 품명, 수량, 규격 등이 거래명세표와 일치하는지 확인한다.
- (3) 원·부재료 규격에 따라 입고 검사를 실시하고 입고검사일지에 기록하여 품질 관리 팀장

의 검토와 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 관리 유지한다.

- (4) 품질관리담당자는 입고 시 해당 품목의 원·부재료는 시험 성적서를 받아 관리 한다.
 - ① 입고 시 시험성적서는 협력 업체로부터 수령하여 내용이 당사의 해당 규격 기준과 일치하는 지 여부를 확인 한다.
 - ② 협력 업체의 사정으로 시험 성적서를 제출하지 못한 경우는 추후 반드시 송부 받아 관리한다.
 - ③ 최초로 납품하는 경우는 영업 허가증, 사업자 등록증, 품목 제조보고서, 시험 성적서를 수령하여 이상 유무를 확인 한다.
 - ④ 수입산 원·부재료의 경우는 최초 납품시 수입신고필증, 수입면장, 시험성적서를 수령하여야 한다.
- (5) 제품 포장상태, 파손여부, 표기사항 및 인쇄상태, 유통기한 등의 외관 검사를 실시한다.
- (6) 입고검사는 협력업체로부터 공급된 업체시험성적서와 공인성적서로 일부 또는 전체 항목을 대신할 수 있다.
- (7) 입고 시 운송차량에 대해 확인 한다.
 - ① 청결상태, 적재상태(과적, 적재단수 이행), 교차오염 가능성, 보호조치(비, 바람, 열화) 이행유무를 확인한다.
 - ② 냉동, 냉장 차량에 대하여는 규정온도 유지, 내부 청결상태를 확인한다.
 - ③ 유독물질, 오염물질 등을 운반하였을 경우 교차오염이 위험성이 있으므로 납품금지 등을 요청한다.
- (8) 입고되는 원·부재료는 매 입고시마다 입고검사를 실시하는 것을 원칙으로 하며 다만 동일 로트 제품이 재 입고 될 경우 이전 검사로 대신 할 수 있다.
- (9) 원·부재료에 대해 입고 시 오염 및 관리의 필요성이 있다고 판단될 경우 미생물 검사를 실시한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 품질관리담당자는 입고 시 마다 입고 검사를 실시하여 원·부재료 입고검사일지에 기록하여 품질관리 팀장의 확인을 득한 후 유지 관리한다.
- (2) 품질관리담당자는 필요시 원·부재료에 대하여 미생물 검사를 실시한 후 제품 검사기록서에 기록하여 품질 관리 팀장의 확인 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.
- (3) 검사 결과 적합한 원·부재료는 입고시키고 세부 사항은 보관·운송 관리 기준서에 따른다.
- (4) 품질관리담당자는 입고된 원·부재료의 시험 성적서를 회수하여 시험성적서 보관철에 보관한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리담당자는 검사결과가 원·부재료 규격에 부적합한 경우 공정에 투입되지 않도록 식별 표시를 하며 세부 사항은 보관·운송 관리 기준서에 따른다.

5.3 공정 검사

1) 관리 기준

- (1) 각 공정은 위생관리기준 관리 기준서 공정별 가공방법에 따라 관리 되어져야 한다.
- (2) 생산 담당자는 매 품목별로 공정 검사를 실시한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 각 공정별 생산 담당자는 위생관리기준 관리 기준서 공정별 가공방법에 따라 해당공정별로 점검하여 그 결과를 공정일보에 기록하여 생산팀장의 검토와 위생관리기준팀장의 승인을 얻은 후 유지 관리한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 생산 담당자의 검사결과 규격에 이탈한 경우는 생산을 중지하고 해당 제품을 부적합품으로 식별표시를 하며 세부 사항은 보관·운송 관리 기준서에 따른다.
- (2) 부적합품으로 구분 보관중인 제품에 대하여 생산 팀장에게 보고하고 품질관리팀과 협의 하여 처리방법을 결정하고 그 결과를 부적합품처리보고서에 작성하여 해당 팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

5.4 제품 검사

1) 관리 기준

- (1) 품질 관리팀의 품질관리담당자는 아래의 검사기준에 따라 검사를 실시한다.
- (2) 영업 및 물류담당자는 출고되는 제품에 대하여 외관검사(성상, 포장상태, 표시사항, 제조일자, 유통 기한 등)를 실시하여 합격품만 출고 시킨다.
- (3) 제품의 LOT는 품목별 1일 생산량을 1LOT로 정한다.
- (4) 품질관리담당자는 제품에 대하여 매일 모든 품목에 대한 자체검사를 실시하여 그 결과를 제품검사기록서에 기록하고 6개월마다 법적규격에 대한 위탁검사를 실시한다.

[제품의 검사기준]

항 목	기준규격		검사주기	검사방법
	법적규격	자체규격		
타르색소, 보존료	불검출	불검출	6개월	자체(위탁)
납	0.3mg/Kg이하	0.3mg/Kg이하	6개월	자체(위탁)
카드뮴	0.2mg/Kg이하	0.2mg/Kg이하	6개월	자체(위탁)
사분	-	0.03% 이하	6개월	자체(위탁)
성상	-	적합	매주	자체(위탁)
기생충(란)	-	불검출	매주	자체(위탁)
염도	-	1.8±0.5%	매주	자체(위탁)
pH	-	3.8 이상	매주	자체(위탁)
산도	-	1.0 이상	매주	자체(위탁)
이물	-	불검출	매주	자체(위탁)
E.coli O157:H7	-	음성	1회/3개월(1년)	자체(위탁)
L.monocytogenes	-	음성	1회/3개월(1년)	자체(위탁)
B.cereus	-	음성	1회/3개월(1년)	자체(위탁)
Salmonella	-	음성	1회/3개월(1년)	자체(위탁)

2) 점검 방법 및 주기

품질관리담당자는 6개월마다 외부위탁검사를 실시하고 위탁검사성적서를 유지, 보관하

여야 하며, 매월 제품에 대하여 미생물 검사를 실시하여 그 결과를 제품 검사기록서에 기록 하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리 담당자는 제품에 부적합 발생 시 출고를 금지하고 별도의 식별 표시를 한 후 부적합품으로 식별표시 하며 세부 사항은 보관·운송 관리 기준서에 따른다.
- (2) 품질관리담당자는 검사 결과 규격에 이탈한 경우는 출고를 금지하고 해당 제품을 부적합품으로 식별표시 한 후 재검사를 실시하고 그 결과를 제품 검사기록서에 기록하며 재검사 후 합격품에 대해 출고 금지를 해제하도록 하며 불합격품에 대해서는 보관·운송 관리 기준서에 따른다.

5.5 검사기록서의 작성 및 통보

1) 원 · 부재료, 제품에 대한 검사는 식품공전에 준하여 관리계획에 따라 실시 후 품질관리담당자는 검사 결과를 검사 기록서에 작성하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지관리 하여야 한다.

2) 검사 기록서에는 다음의 내용이 구체적으로 기록되어야 한다.

- (1) 제조번호 및 제조년월일
- (2) 검사번호
- (3) 접수 및 검사 연월일
- (4) 검사항목, 검사기준 및 검사성적
- (5) 판정결과 및 판정년월일
- (6) 검사자 및 판정자의 서명날인
- (7) 기타 필요한 사항

5.6 용수 검사

1) 관리 기준

(1) 품질관리담당자는 월 1회 미생물 검사 및 관능적 항목 (냄새, 맛 등)에 대하여 검사를 실시한다.

① 용수는 세척실, 기타농산물세척실, 박스세척실의 수도꼭지에서 채취 하여 검사를 실시한다.

(2) 품질관리담당자는 년 1회 먹는물 수질 기준에 정해진 항목에 대하여 외부 공인 검사기관에 의뢰 하여야 한다.

2) 점검 방법 및 주기

(1) 품질관리담당자는 월 1회 용수에 대한 미생물 검사 및 관능검사를 실시하여 결과를 용수검사결과기록서에 기록하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

(2) 품질관리담당자는 년 1회 외부 공인 기관에 검사를 의뢰한 시험성적서를 수령하여 유지 관리하여야 한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

(1) 검사 결과 관리 기준 이탈 발생 시 용수 관리 기준서에 따라 조치를 취한다.

5.7 위생 검사

1) 관리 기준

- (1) 작업장의 청정도 유지를 위하여 공중낙하세균 등을 관리계획에 따라 측정·관리 한다.
- (2) 작업장별 공중낙하 미생물 기준은 위생검사 기준규격(별첨3)에 의거 관리한다.
- (3) 제조시설 및 작업자의 미생물 오염 측정 기준은 위생검사 기준규격(별첨3)에 의거 관리 한다.

2) 검사결과의 기록

- (1) 품질관리담당자는 월 1회 위생검사 기준규격에 의거 작업장별 공중낙하 미생물 검사를 실시하도록 하며 그 결과를 낙하균 검사 기록서에 기록하여 품질관리 팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 품질관리담당자는 월 1회 위생검사 기준규격에 의거 작업자에 대하여 위생 검사를 실시하며 그 결과를 표면균검사기록서(작업자)에 기록 하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (3) 품질관리담당자는 월 1회 위생검사 기준규격에 의거 제조시설에 대해서 표면균 검사를 실시하며 그 결과를 표면균검사기록서(시설)에 기록하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

3) 관리기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리담당자는 공중 낙하균 검사를 실시하여 이탈 발생 시 담당팀과 협의를 통해 개선 조치 후 재검사를 실시하고 그 결과를 기록하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (2) 품질관리담당자는 표면균 검사를 실시하여 이탈 발생 시 생산팀장 및 품질관리팀장에게 보고하여 즉시 청소 및 소독을 실시 한 후 재검사를 실시하고 그 결과를 기록하여 품질 관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.
- (3) 품질관리담당자는 위생 검사를 실시하여 이탈 발생 시 생산 팀장 및 품질관리 팀장에게 보고하고 관련 작업자에게 시정 조치 및 위생 교육을 실시한 후 재 검사를 실시하고 그 결과를 기록하여 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

5.8 검사 설비의 관리

1) 관리 기준

(1) 검사설비 구매

- ① 품질관리담당자는 검사설비를 구매하고자 하는 경우, 검사설비사양을 파악 한 후 검사설비 구매견적서, 카달로그 등을 첨부하여 품의서를 작성한다.
- ② 품질관리팀장은 검사설비 구매품의서를 받아 사용빈도 및 구매사유의 적정평가를 확인, 작성하고 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 구매 한다.

(2) 검사설비 입고 및 확인

- ① 검사설비가 입고되면 품질관리담당자는 첨부된 관련서류 등을 참조하여 검사설비사양에 일치 하는지에 대하여 적정성을 확인하여야 한다.
- ② 확인결과 관련서류의 미흡, 일부부품 누락 등이 발생된 경우 업체에 통보하여 미흡

한 관련 서류를 입수하거나, 부품입수, 반품, 교환, 수리 등 합당한 조치를 취하도록 한다.

(3) 검사설비 등록 및 이관

- ① 품질관리담당자는 확인 완료된 검사설비에 대하여 등록번호를 부여하고 검사설비 이력카드에 등록하여 관리 유지토록 한다.
- ② 품질관리담당자는 검사설비 등록 후 다음 사항을 작성 및 확인한다.
 - 필요시 검.교정성적서 또는 시험성적서 사본
 - 사용설명서 사본 또는 검사설비 사용지도서(해당되는 경우)
- ③ 품질관리담당자는 검사설비의 청결을 유지하여야 하며, 녹슬기 쉬운 것은 방청 또는 보호 커버 등을 사용하여 보관한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 품질관리담당자는 검사 설비의 수리, 검·교정 등 이력사항을 검사설비이력카드에 기록하여 유지 관리한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 품질관리담당자는 이상이 발견되면 사용을 중단하고 사내 수리가 불가능할 경우 외부기관에 수리의뢰를 하고 수리 완료 후 검사 설비 이력카드에 기록한다.

5.9 검 교정

1) 관리 기준

- (1) 품질관리담당자는 검사설비의 정밀도와 정확도를 보정하기위해 온도계와 저울, 대표급 표준기를 년 1회 국가공인기관에 검. 교정을 의뢰 한다.
- (2) 품질관리담당자는 교정대상 검사설비를 6개월에 1회 자체교정을 실시한다.
- (3) 품질관리담당자는 공인기관에서 검교정한 검사설비에 “검교정필증”을 부착한다.

2) 점검 방법 및 주기

- (1) 품질관리담당자는 3개월에 1회 교정 대상에 설비에 대하여 자체 검교정을 실시하고 그 결과를 사내 검·교정 성적서에 기록하여 품질관리팀장의 승인 후 관리 유지한다.
- (2) 품질관리담당자는 자체 교정을 위해 사용하는 대표급 표준기 및 온도계, 저울을 년 1회 국가 공인기관에 검 교정을 실시하여 검교정 성적서를 수령하여 유지하며 ,검사설비 이력카드에 기록하고 품질관리팀장의 검토 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리한다.

3) 관리 기준 이탈시 조치사항

- (1) 자체 검 교정 실시 후 이탈 사항 발생 시 검사 설비를 외부 공인 기관에 검 교정을 의뢰하여 검교정성적서를 토대로 사용 여부를 결정하고 그 결과를 검사설비 이력카드에 기록하여 품질관리팀장의 확인을 득한 후 유지 관리한다.
- (2) 외부 공인 기관 검 교정 의뢰 결과 부적합 판정 시 수리 및 재 교정을 의뢰하며 수리가 불가능 할 경우 폐기 등의 조치를 취하여야 한다.

5.10 검사 교육

1) 관리기준

(1) 품질관리담당자는 사외에서 미생물 교육을 수료한다.

2) 점검 방법 및 주기

(1) 품질관리담당자는 사외에서 실시한 미생물 교육 결과를 교육 결과 보고서에 작성하여 품질관리 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

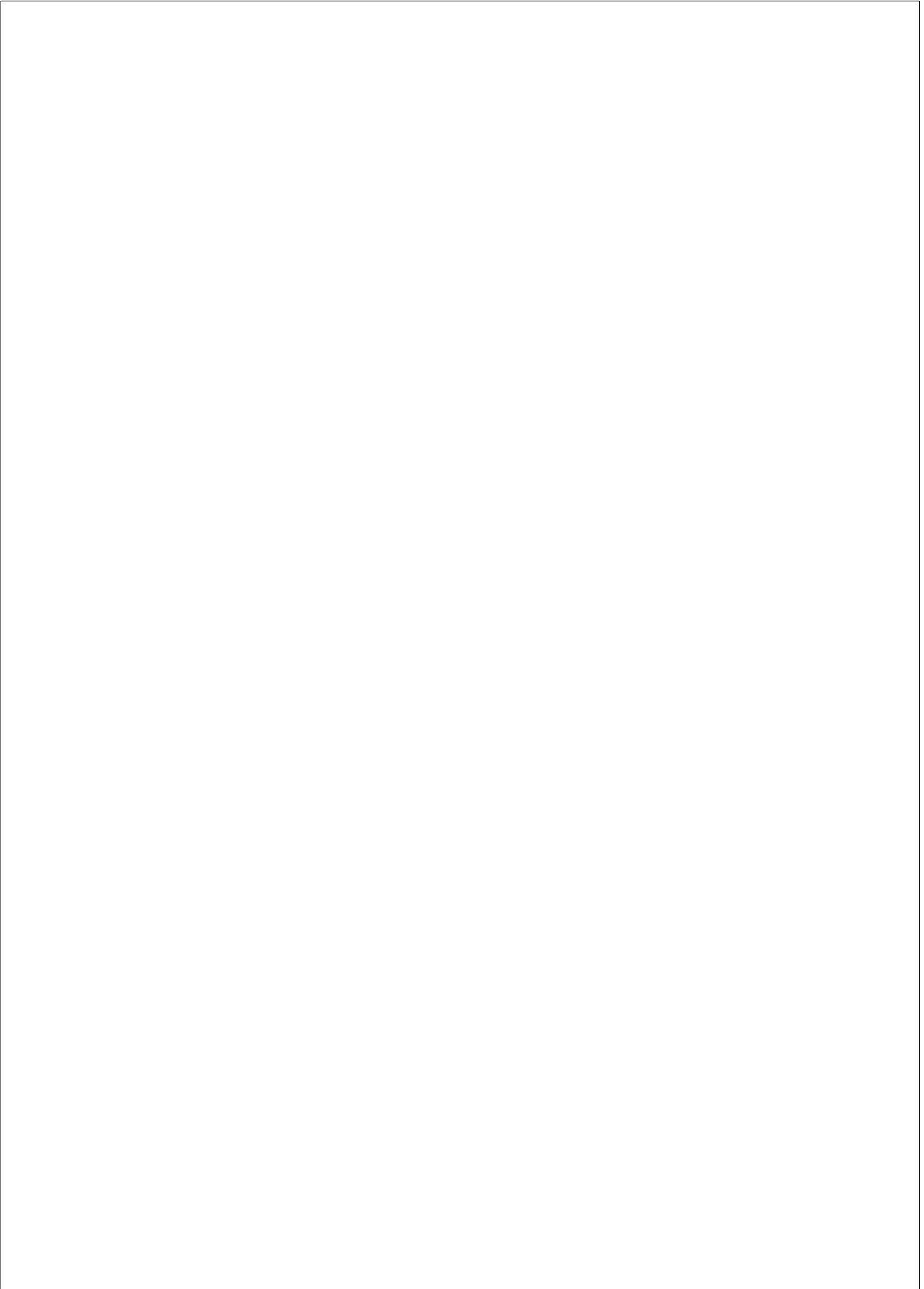
3) 관리 기준 이탈시 주의사항

(1) 품질관리담당자는 교육 미 수료시 재 계획을 수립하여 교육을 실시하도록 하며 그 결과를 기록하여 품질 관리 팀장 및 위생관리기준 팀장의 승인을 득한 후 유지 관리 한다.

6. 기록 및 보관

[부록 5]

막걸리 제조업체
위생·안전관리 교육교재(안)





contents

막걸리 제조업체 위생·안전관리 교육교재

제1장 일반위생관리

1. 제조환경관리	3
a. 작업장관리	3
b. 방충·방서관리	7
c. 주류취급시설관리	7
d. 폐기물·폐수관리	10
e. 급수시설 및 용수관리	11
f. 부대시설관리	12
2. 종사자관리	15
a. 건강진단	15
b. 개인위생관리	17
c. 작업장출입관리	21
d. 종사자 교육	21

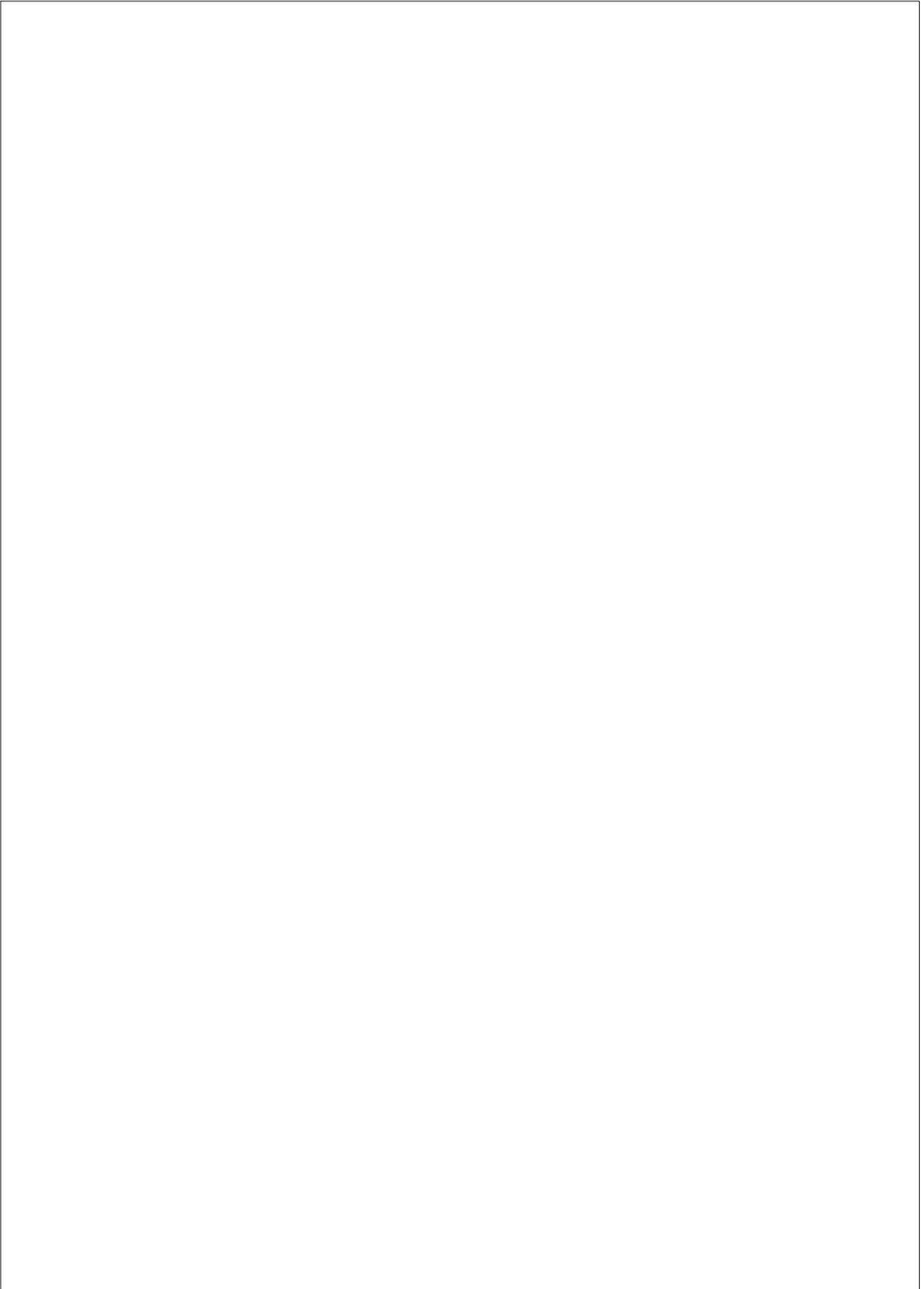
제2장 제조공정관리

1. 입고	25
2. 원·부재료 보관	29
3. 연미	33
4. 세미/침지, 증자	36
5. 발효	39
6. 체성	42
7. 병입(내포장)	45

제3장 제품관리

1. 완제품 및 유통관리	49
2. 클레임관리	52
a. 이물관리계획 수립	52
b. 소비자클레임 처리 및 기록관리	54

부록. 식품위생법 개정에 따른 주류제조업체 의무 부과





제1장 일반위생관리

1. 제조환경관리
2. 종사자관리

1 제조환경관리

□ 작업장관리

○ 외부 환경관리

- 작업장 주변은 항상 위생적이고 청결하게 관리하여야 한다.
 - 녹지는 설치류, 해충, 조류 등의 은신처를 제공하므로 가능한 건물로부터 먼 곳에 조성하여야 하며, 정기적인 방역을 실시하여 해충, 설치류 등의 혼입을 차단 및 예방
 - 작업장 주변의 인근도로는 먼지발생을 최소화하고 청소를 용이하게 하기 위하여 아스팔트, 콘크리트 등으로 포장

○ 작업장

- 작업장을 포함한 건축물은 외부로부터 영향을 받지 않는 곳에 위치하여야 한다.
 - 건축물은 침수가 가능하지 아니한 곳에 위치하여야 하며, 축산폐수, 화학물질, 기타오염물질 등 오염발생원으로부터 일정거리를 유지
- 작업장은 외부환경의 영향을 받지 않는 재질 및 구조이어야 한다.
 - 작업장은 다른 용도 외의 시설과 독립된 건물로 건축
 - 누수 및 외부의 오염물질 등으로부터 영향을 받지 아니하고 제품을 오염시키거나 나쁜 영향을 주지 않는 식품위생법 제36조(시설기준)에 적합한 재질(내수성, 내열성, 내약품성, 항균성, 내마찰성, 평활성 등 막걸리 제조공정에 특성에 적합한 재질)을 사용

TIP. 작업장의 재질

바닥, 벽, 천장의 재질은 식품의 특성에 따라 유동적임.

바닥: 일반적으로 콘크리트 건조 후 합성수지인 에폭시 도장으로 마감하는 경우가 많음. 건식공법에 의한 에폭시, 우레탄, 하드너와 같은 건식공법 외 무기질 계열의 모르타르, 스톤타일 등의 습식공법은 물을 많이 사용하는 작업장에 적합하지 않음.

내벽: 판넬을 가장 많이 사용하고, 콘크리트와 기타 자재로 마감하는 경우도 있음.

- 판넬은 저비용으로 짧은 공사기간으로 선호되고 있으나 판넬 사이의 틈 발생, 실링제의 불량 또는 처리 불량으로 수분이 침투하거나 곰팡이 발생 등의 위생적 문제가 발생하지 않도록 하여야 함.
- 콘크리트는 판넬과 달리 틈이 발생하지 않는 장점은 있으나 생산라인의 변경에 따른 공간활용이 원활하지 않고, 침투성의 재질로 별도의 방수 처리가 필요하며, 마감재로 사용되는 타일, SUS재질 등과의 접하면 불량으로 인한 수분 침투, 마감재 파손 등의 문제가 있음.

천장: 주로 판넬을 많이 사용하고, 콘크리트재질, 불연강판재, 리빙우드재질 등을 사용함. 리빙우드는 철판재에 불연성분의 재질을 코팅한 재질로 습도가 높은 작업장에서는 곰팡이, 녹 등의 문제가 발생 가능함. 응결수의 발생은 재질보다는 환기 및 단열재의 문제일 가능성이 높음.

- 작업장은 밀폐가능한 구조여야 하며, 틈 또는 파손되어 작업장 내부와 통하는 곳은 없는지 확인

※ 작업장 주변에서 발생하는 먼지, 해충, 오염물질 등의 유입 차단 목적

● 제조공정상 발생할 수 있는 교차오염을 최소화하기 위하여 각 작업실은 분리 또는 구획되어야 한다.

- 원료처리실, 증자실, 발효실, 제성실, 주입실, 포장실, 제품 보관창고 등

- 각 작업실은 벽, 층 등에 의해 분리되거나 칸막이, 커튼 등에 의해 구획되어야 함. 단, 자동화 시설 또는 공정의 연속성 및 특수성으로 인하여 분리 또는 구획할 필요가 없다고 인정되는 경우 선·출 등에 의한 구분도 가능

TIP. 분리, 구획, 구분

분리: 다른 건물이거나 동일 건물일 경우에는 격벽을 설치하여 모든 작업실이 별개의 장소로 구별되어 작업원의 출입이나 공조장치가 별도로 되어 있는 상태

구획: 칸막이, 이동 가능한 벽 등에 의하여 구별된 장소로 교차오염이나 혼입이 방지될 수 있는 상태

구분: 선, 줄, 그물 등으로 간격을 두어서 혼동이 되지 않도록 구별하여 관리할 수 있는 상태

○ 바닥관리

- 작업장 바닥은 갈라지거나 파손된 곳이 없어야 하고, 내수처리가 가능한 내수성 재질(콘크리트 등)로 청결하게 관리하여야 한다.
 - 정기적인 바닥 청소를 통해 바닥에 고인 물, 습기 등에 의한 곰팡이, 오래된 찌꺼기, 기름때, 발효잔류물, 주박 등이 묻어나지 않도록 관리
- 작업장 바닥은 적절한 배수시설을 갖추어 배수가 용이하여야 한다.
 - 배수로, 배수구 등에는 찌꺼기 등 퇴적물이 쌓이지 않도록 관리가 필요하며, 악취 등이 발생하지 않도록 정기적인 청소 및 관리 이행
 - 배수구는 역류되지 않도록 역류 방지 장치를 설치
 - 배수로는 적절한 경사를 유지하도록 설치하여 물이 고이지 않도록 관리
 - 배수관은 내부식성으로 세척을 위한 분해가 가능한 구조의 것을 설치
 - 작업장의 배수시설은 내수성, 내열성, 내약품성 등 세척 및 살균소독이 용이한 재질을 사용
 - ※ 배수로 및 배수구는 물, 습기 또는 퇴적물 등에 의한 곰팡이 등 미생물 번식으로 인한 교차오염이 발생 가능함.

○ 내벽 및 천장관리

- 작업장 내벽은 바닥으로부터 1.5m까지 밝은 색의 내수성 재질로 설치하거나 세균방지용 페인트로 도색하여 곰팡이 등 미생물이 번식하지 않도록 관리하여야 한다.
 - 내벽은 표면이 매끄러워 세척과 소독이 용이한 구조로 밝은 색의 도료를 사용
 - ※ 먼지, 연기, 오물 등에 의한 오염여부를 육안으로 쉽게 하기 위한 것임.
 - 또한, 내벽은 파손되어 분리 또는 구획된 다른 작업실과 통하는 부분이 없는지 정기적인 점검 필요

- 작업장 천장은 파손 또는 훼손되지 않아야 하며, 응축수의 발생 여부, 오래된 먼지, 거미줄 등의 해충 유입 흔적 여부 등을 정기적으로 확인하여야 한다.
 - 먼지 퇴적, 녹 발생 등 불결인자 제거를 위한 정기적 세척관리 이행
 - 천장에 발생하는 응축수는 곰팡이 발생원인 중 주요 원인으로 응축수 낙하로 인해 발생하는 제품상의 위생문제 관리 필요

TIP. 응축수

- 작업장 내의 환기 부적절 등 다양한 원인으로 공기 중의 수분 또는 수증기가 천장에 물로 맺히는 현상

○ 작업장 내부 온·습도 및 환기관리

- 작업의 특성상 온·습도관리가 필요한 경우 작업장 내부에서 발생하는 악취, 유해가스, 매연, 증기 등을 배출 및 환기시키기에 충분한 환기시설 또는 급·배기시설을 갖추어 온·습도를 유지하여야 함.
 - 특정 온·습도관리가 필요한 공정의 경우 정기적인 온·습도기록을 통한 관리점검을 이행하고 관련기기(온·습도계, 온도기록장치 등)는 정기적인 검·교정을 통해 고장여부를 확인
 - 내부에서 발생하는 분진(예: 원료투입 시 발생하는 분진), 유해물질 등을 외부로 배출하기 위한 환기 및 급·배기시설의 올바른 작동여부에 대한 정기점검 이행
 - 환풍기, 환기구, 급·배기시설 등에는 묵은 때, 오물, 기름때 등이 쌓여 이로 인한 교차오염 및 공중낙하세균에 의한 오염이 발생하지 않도록 관리

TIP. 공중낙하세균

- 공기 중에 떠다니고 있는 미생물이 일정시간 내에 낙하하여 발육하는 균 또는 먼지 등에 포함된 균

□ 방충·방서관리

○ 문, 창 및 출입구관리

- 작업장의 문, 창 및 출입구는 내수성, 내부식성 재질로 해충, 설치류, 조류 등의 유입을 방지하기 위하여 외부와 완벽히 차단될 수 있도록 관리하여야 한다.
 - 작업장의 출입구에는 방충망 또는 에어커튼 등 밀폐관리를 위한 설비 설치
 - ※ 방충망이 설치되지 않은 문, 창 등은 작업 종료 후에도 개방 금지
 - 외부와의 완벽 밀폐가 이루어질 수 있도록 문, 창, 출입구 등의 틈새 관리
 - ※ 문, 창 등에 설치된 방충망의 훼손 및 파손 여부를 수시 확인하여 적절한 유지보수가 이루어지도록 관리
- 방충·방서관리계획을 수립하여 실시하고, 정기적으로 점검 및 관리하여야 한다.
 - 정기적인 작업장 방역 및 소독작업 실시
 - ※ 필요에 따라 방역업체 외주 가능
 - 공정에 따라 포충등, 바퀴트랩, 쥐덫 등을 설치하고 모니터링을 통해 유입된 해충, 설치류 등의 개체수 확인 및 유입여부 확인

□ 주류취급시설관리

○ 시설기준 및 재질관리

- 작업장 내 모든 시설 및 취급시설은 <표 1. 주류제조장의 시설기준>에 적합하여야 한다.

<표 1 주류제조장의 시설기준>

1. 일반적 시설기준

주류별	시설구분	일반적 시설기준
나. 탁주 및 약주	1) 담금·저장·제성용기 가) 담금(발효)조 총용량 나) 제성조 총용량	3kl 이상 2kl 이상
	2) 시험시설 가) 간이증류기 나) 주정계	1대 0.2도 눈금 0 ~ 30도 1조

2 제9조제2항제2호나목에 해당하는(지역 농산물을 주원료로한) 주류의 제조장 시설기준

주류별	시설구분	시설기준
가. 탁주·약주 및 청주	1) 건물 가) 담금실	10㎡ 이상
	2) 시험시설 가) 간이증류기 나) 주정계	1대 0.2도 눈금 0 ~ 30도 1조

[출처: 주세법 시행령 [별표 3], 2013]

- 위와 같이 주류제조장의 시설기준에 적합한 기계, 용기, 기구류 등의 구비를 통해 적합한 부대시설 및 시험시설을 구비
- 주류의 담금·저장·제성용기 중 합성수지 용기는 식품위생법에 따른 식품위생검사기관의 시험분석에서 사용적격 판정을 받은 것을 사용
- 주류와 직접 접촉하는 주류취급시설은 인체에 무해한 재질로 식품위생법 제9조(기구 및 용기·포장에 관한 기준 및 규격)에 적합하여야 한다.
 - 인체의 건강을 해칠 우려가 있는 기구, 도구, 용기 등은 사용 불가
 - 주류취급시설은 스테인레스·알루미늄·에프알피(FRP)·테프론 등 물을 흡수하지 않는 내수성, 내부식성 재질을 사용
 - 또한 증기·열탕·살균제 등으로 살균소독이 가능한 내열성 재질을 사용

○ 세척·소독관리

- 주류취급시설은 사용 전·후 정기적인 세척·소독관리로 항상 위생적으로 청결하게 유지 및 관리하여야 한다.
 - 주류취급시설에 대한 세척·소독기준, 방법, 계획은 <표 2. 주류취급시설 세척·소독기준 및 방법 수립 예시>와 같이 수립
 - ※ 눈에 잘 띄는 곳에 세척·소독기준 및 방법 등의 지침을 게시
 - 세척·소독 실시에 대한 기록관리 및 준수 여부 확인
 - 세척작업 후 완전 건조하여 설비 내 고인 물, 습기 등에 의한 교차오염 방지

<표 2 주류취급시설 세척·소독기준 및 방법 수립 예시>

대상	부위	세척 및 소독방법	사용도구	주기
저울	모니터	1. 스위치를 끈 후 물 적신 면행주로 이물질을 닦아낸다. 2. 소독액을 적신 면행주로 닦고, 물 적신 면행주로 깨끗이 닦는다.	면행주 소독액	1회/일
	밑바닥	1. 물 적신 면행주로 이물질을 제거한다. 2. 소독액을 적신 면행주로 소독한다. 3. 물 적신 면행주로 깨끗하게 닦아낸다.		
	표면	1. 물 적신 면행주로 이물질을 제거한다. 2. 소독액을 적신 면행주로 소독한다. 3. 물 적신 면행주로 깨끗하게 닦아낸다.		

- 세척·소독작업을 위한 화학물질, 기구, 용기 등은 정해진 장소에 보관하여야 한다.
 - 세척·소독제 보관을 위한 장소를 별도 구비하고, 원료, 제품과 구별될 수 있도록 식별표시

□ 폐기물·폐수관리

○ 폐기물·폐수 처리

- 공정 중 발생하는 폐기물·폐수는 정해진 관리계획에 따라 신속하게 처리한다.
 - 작업 중 발생하는 폐기물은 최대한 단시간 내에 외부로 반출시켜 작업장의 오염을 방지
 - 종류별로 분리하여 처리(예: 재사용 가능, 재사용 불가능, 폐기물 등)
 - 폐기물 처리용기는 침출수 및 냄새가 누출되지 않도록 밀폐 가능한 형태의 처리용기를 사용

○ 폐기물·폐수 보관

- 폐기물·폐수 처리시설은 작업장에 영향을 주지 않는 일정간격 격리된 장소에 설치·운영하여 한다.
- 폐기물은 반드시 정해진 장소에 보관하여야 한다.
 - 폐기물 보관소는 세척이 용이한 재질 및 구조로 바닥에 배수구를 설치
 - 폐기물로 인한 냄새 등이 누출되지 않도록 밀폐 가능한 구조의 보관소 설치
 - 정기적인 세척 실시 및 이행여부 관리

□ 급수시설 및 용수관리

○ 급수시설 및 저수조관리

- 수돗물이나 먹는물관리법 제5조에 따른 먹는 물의 수질기준에 적합한 지하수 등을 공급할 수 있는 시설을 갖추어야 한다.
 - 수돗물이나 먹는물관리법 수질기준에 적합한 지하수를 공급할 수 있는 용수정제시설 구비
 - 필요에 따른 저수탱크, 활성탄 탱크, 마이크로 여과기, 기타 정수장치 등 설치
- 수돗물을 사용하지 않는 경우 지하수 취수원은 화장실·폐기물처리시설·동물사육장, 그 밖에 지하수가 오염될 우려가 있는 장소로부터 20m 이상 떨어진 곳에 위치하여야 한다.
 - 저수조, 배관 등은 인체에 유해하지 아니한 재질을 사용
 - 밀폐성 확보를 위하여 잠금장치를 설치하고, 누수 및 오염여부를 정기적으로 점검
- 지하수 사용 시 수질에 영향을 줄 수 있는 환경변화 시 사용을 자제하여야 한다.
 - 장마철, 홍수 시 지하수 사용 자제
- 저수조는 수도시설의 청소 및 위생관리 등에 관한 규칙에 따라 반기 1회 이상 청소와 소독을 자체적으로 실시 또는 저수조 청소업자에 대하여 실시할 수 있다.
 - 청소와 소독의 실시 결과는 별도 기록보관
- 급수시설은 정해진 세척·소독기준 및 방법에 따라 청결하게 관리되어야 한다.
 - 시설주변 청결관리
 - ※ 세척·소독작업 실시에 따른 문서 기록관리
 - ※ 물고임 또는 습기 등에 의한 곰팡이 증식 여부 및 저수탱크 물때, 흙 등의 축적 여부 확인

○ 수질검사 및 용수관리

- 주류 제조·가공에 사용되는 용수는 먹는물관리법에서 규정하고 있는 수처리제를 사용하거나 용도에 맞게 수처리하여 사용하여야 한다.
 - 응집침전, 여과(활성탄, 모래, 세라믹, 맥반석, 규조토, 마이크로필터, 한외여과, 역삼투막, 이온교환수지), 오존살균, 자외선살균, 전기분해, 염소소독 등의 수처리 방법 이용

TIP

- 해양심층수의 개발 및 관리에 관한 법률에 적합한 미네랄탈염수는 장류, 주류의 제조에 사용 가능 [출처: 식품공전 제2. 3. 2]

- 주류 제조·가공에 사용되거나, 주류와 접촉할 수 있는 시설·설비, 기구·용기 등의 세척에 사용되는 용수는 먹는물 관리법 제5조의 규정에 의하여 수질검사를 실시하여야 한다.
 - 지하수를 사용하는 경우, 먹는물 수질기준 전 항목에 대하여 연1회 이상(음료류 등 직접 마시는 용도의 경우는 반기 1회 이상)검사 실시
 - 먹는물 수질기준에 정해진 미생물학적 항목에 대한 검사를 월1회 이상 실시
 - ※ 미생물학적 항목검사는 간이검사키트를 이용하여 자체적으로 실시 가능
 - 상수도 사용 시 수질검사 생략 가능

□ 부대시설관리

○ 화장실

- 화장실은 작업장에 영향을 미치지 않는 곳에 위치하여야 하고, 정화조를 갖춘 수세식화장실이어야 한다.
- 식품위생법 시행규칙 제36조 관련 [별표 14] 업종별 시설기준에 따라 화장실은 콘크리트 등으로 내수처리를 하여야 하고, 바닥으로부터 1.5m까지 타일을 붙이거나 방수페인트로 도색하여야 한다.
- 화장실은 내부 공기를 외부로 배출할 수 있는 별도의 환기시설을 갖추어야 한다.

- 화장실에서 발생한 냄새가 작업장에 영향을 주지 않도록 환기시설은 작업장과 반대 방향으로 설치

- 화장실에는 손씻는 시설을 갖추어야 한다.

- 손세척, 건조, 소독이 가능하도록 손세정제, 종이타올, 손소독제를 비치

- 화장실은 세척·소독방법 및 기준을 수립하고 정기적인 청소작업을 통하여 아래의 사항에 대해 청결하게 관리하여야 한다.

- 바닥, 바닥과 벽의 연결부, 벽 하단부의 묵은 때, 이물 등의 발생 여부

- 배수구의 머리카락, 먼지 등의 퇴적물 발생 여부

- 환풍기, 환기구(방충망 포함) 청결 여부

- 밀폐 가능 구조의 쓰레기통 구비 및 정기적인 폐기물 반출 처리 여부

- 악취 발생 여부 등

○ 탈의실

- 탈의실은 외부와 밀폐된 구조로 외출복장(신발 포함)과 작업복장(신발 포함)간의 교차오염이 발생하지 아니하도록 구분·보관하여야 한다.

- 외부로부터의 이물 혼입 방지를 위한 밀폐성 확보(틈새 관리 등)

- 탈의실 내 외출복, 작업복 구역 구분

- 개인용 사물함, 신발보관함 등의 설치

○ 창고 등의 시설

- 식품위생법 시행규칙 제36조 관련 [별표 14]업종별 시설기준에 따라 생산주종의 특성과 생산량에 따라 원료와 제품을 위생적으로 보관·관리할 수 있는 충분한 규모의 창고 등의 보관시설을 갖추어야 하며, 창고로 갈음할 수 있는 냉동·냉장시설을 따로 갖춘 업장에서는 이를 설치하지 아니할 수 있다.
 - 위생적이고 적절한 보관관리를 위하여 제품보관법을 숙지하고 아래의 사항에 대한 정기적 점검관리 필요
 - ▶ 정기적 세척(청소)작업 이행
 - ▶ 방충·방서 및 밀폐관리(해충, 설치류 등의 유입 여부 확인)
 - ▶ 출입문, 창문 등의 청결관리
 - ▶ 방충망 훼손 여부 확인
 - ▶ 창고 바닥 물고임 발생 여부 확인
 - ▶ 시설·설비 파손 및 부식 여부 확인
 - 원료와 제품을 보관 시에는 아래의 유의사항에 대한 숙지 필요
 - ▶ 바닥, 벽으로부터의 이격관리: 습기, 흙, 먼지 등에 의한 오염방지 목적
 - ▶ 사용 중 또는 사용 대기 중인 원·부재료 및 반제품 등의 밀봉처리
 - ▶ 세척·소독제 등 화학물질은 환기가 잘되는 별도의 지정된 장소에 보관
- 원재료 및 생산주종의 특성상 냉장(냉동)보관 또는 냉장(냉동)유통이 필요한 경우 보관시설에 대한 온도관리가 이루어져야 한다.
 - 온도측정장치 등 외부에서 내부온도확인이 가능한 장치 설치
 - ※ 냉장창고 10℃ 이하, 냉동창고 -18℃ 이하 관리: 문서기록 및 대장관리
 - 정기적인 관련기기 검·교정 이행
- 창고의 바닥에는 양탄자 등 물기를 흡수하고 세척에 용이하지 않은 재질의 것을 설치하여서는 아니 된다.

2 종사자관리

□ 건강관리

○ 건강진단

- 주류 제조자 및 종사자는 식품위생법 제40조(건강진단), 동법 시행규칙 제 49조(건강진단 대상자)에 따라 건강진단을 받아야 한다.

TIP. 건강진단 대상자

- 식품 또는 식품첨가물을 채취·제조·가공·조리·저장·운반 또는 판매하는 일에 직접 종사하는 사람은 모두 건강진단 대상자에 해당된다.
- 따라서 현장에 출입하는 모든 사람(일용직 포함)은 건강진단을 받아야 한다.
- 단, 포장된 완제품을 운반하는 종사자, 작업장의 외곽이나 주변만을 관리하는 종업원, 업체의 경비와 같이 원료, 공정품 등을 직접 접촉하지 않는 경우는 예외로 한다.

- 건강진단은 가까운 보건소에서 입사 전에 실시하고 입사 후에는 연 1회 정기적으로 실시하여야 한다. 또한 건강진단 증빙서류(건강진단결과서 등)를 유효기간까지 보관 및 관리하여야 한다.

<표 3. 건강진단 시 참고사항>

구분	내용
유효기간	<ul style="list-style-type: none"> • 검진일로부터 1년 ※ 분실 또는 추가 필요에 의한 재발급: 검진일로부터 1년 이내 가능
비용	<ul style="list-style-type: none"> • 1,500원(분실 또는 추가 필요에 의한 재발급 시: 수수료 300원)
검사항목	<ul style="list-style-type: none"> • 장티푸스, 이질(해당자에 한함), 폐결핵, 전염성 피부질환
준비물	<ul style="list-style-type: none"> • 신분증(주민등록증, 여권, 운전면허증, 학생증) ※ 외국인일 경우: 여권 또는 외국인 등록증
처리기간	<ul style="list-style-type: none"> • 접수일로부터 5일 후 1층 민원실에서 교부(신분증 또는 영수증 지참) • 인터넷발급은 최초 1회에 한하여 발급 [공공보건포탈: http://phi.mw.go.kr] - 본인 공인인증서 필요 ※ 분실 또는 추가 필요에 의한 재발급 시: 즉시 처리

<표 4. 정기 건강진단 항목 및 횟수>

대 상	건강진단 항목	횟 수
식품 또는 식품첨가물(화학적 합성품 또는 기구 등의 살균·소독제는 제외한다)을 채취·제조·가공·조리·저장·운반 또는 판매하는 데 직접 종사하는 사람. 다만, 영업자 또는 종업원 중 완전 포장된 식품 또는 식품첨가물을 운반하거나 판매하는 데 종사하는 사람은 제외한다.	1. 장티푸스(식품위생 관련 영업 및 집단급식소 종사자만 해당한다) 2. 폐결핵 3. 전염성 피부질환(한센병 등 세균성 피부질환을 말한다)	1회/년

[출처: 위생분야 종사자의 건강진단규칙 [별표 2] 정기 건강진단 항목 및 횟수, 2013]

<표 5. 건강진단 과태료>

위반행위	과태료 금액
건강진단을 받지 아니한 영업자	20만
건강진단을 받지 아니한 종업원	10만원
건강진단을 받지 아니한 자를 영업에 종사시킨 영업자	
1) 종업원 수가 5명 이상인 경우	
가) 건강진단 대상자의 100분의 50 이상 위반	50만원
나) 건강진단 대상자의 100분의 50 이상 위반	30만원
2) 종업원 수가 4명 이하인 경우	
가) 건강진단 대상자의 100분의 50 이상 위반	30만원
나) 건강진단 대상자의 100분의 50 미만 위반	20만원
건강진단결과 다른 사람에게 위해를 끼칠 우려가 있는 질병이 있다고 인정된 자를 영업에 종사 시킨 영업자	100만원

[출처: 식품위생법 시행령 [별표 2] 과태료 부가기준, 2013]

- 건강진단 결과, 위의 <표 4. 정기 건강진단 항목 및 횟수>에서 언급하는 질병 또는 타 종사자에게 영향을 미칠 수 있는 질병에 걸린 경우 영업에 종사하지 못하도록 하여야 한다.

□ 개인위생관리

○ 위생복장 관리

- 주류를 취급하는 모든 종사자는 <표 6. 위생복장 착용방법 및 기준의 예시>와 같이 자체적으로 수립된 ‘위생복장 착용방법 및 기준’에 따라 위생복, 위생모 등을 올바르게 착용하고 <표 7>과 같은 방법으로 청결하게 유지 및 관리하여야 한다.

- 각 위생복장에 대한 세척방법 및 기준 수립
- 세척방법 및 기준준수 여부 확인 필요

<표 6 위생복장 착용방법 및 기준의 예시>

구분	내용
위생복	- 손, 발 등 일부를 제외한 신체부위가 최대한 노출되지 않도록 착용 - 위생복은 항상 청결하게 관리
위생모	- 위생모는 머리카락이 보이지 않도록 착용
위생화	- 위생화(장화) 착용 시 실외화와 구분 - 꺾어신거나 접어신지 않도록 착용
마스크 (해당 시)	- 입, 코를 완전히 가리도록 착용 - 매일 교체

<표 7. 위생복장 세척방법>

항 목	세척·소독방법	주기	작업도구
고무장갑	- 오염되었을 시 세척제로 세척한다.(수시로) - 세척 후 표면에 소독수를 분무한다. - 살균/건조 소독기에 보관한다.	사용후 즉시	세척제 소독수분무기
면장갑	- 작업종료 후 일괄 수거하여 세척한다. - 건조실에서 건조 후 면장갑 보관함에 보관한다.	1회/일	세제 세탁기
위생화	- 세척제와 세척솔을 사용하여 세척한다. - 세척 후 표면에 소독수를 분무한다. - 장화건조기에 보관한다.	1회/일	세척솔 세척제 소독수분무기
앞치마/토시	- 세척제와 수세미를 사용하여 세척한다. - 세척 후 표면에 소독수를 분무한다. - 살균/건조 소독기에 보관한다.	1회/일	수세미 세척제 소독수분무기
위생복/모	- 작업종료 후 일괄 수거하여 세척한다. - 건조실에서 건조 후 위생복 보관함에 보관한다.	1회/일	세제 세탁기

- 주류를 취급하는 사람은 위생모 착용 등 개인위생관리를 철저히 하여야 한다.
- 작업장 내에서 착용하는 위생(작업)복은 오염된 위생(작업)복 등에 의한 교차오염이 이루어지지 않도록 구분·보관하여야 한다.
 - 사용 전·후 위생(작업)복 구분·보관
 - 위생복 착용 상태로 작업장 외부 출입 금지
 - 각 위생복장에 대한 세척방법 및 기준 수립

○ 행동지침 수립

- 종사자는 작업장에서의 개인위생관리를 위한 행동지침을 정하고 이를 준수하여야 한다.
 - 청결한 손 관리(상처관리, 손톱관리, 매니큐어 금지 등)
 - 복장관리 방법
 - 작업장 주변 혹은 작업장 내에서의 비위생적 행동(흡연, 취식 등) 금지

○ 종사자 손 관리

- 종사자는 작업장 출입 시 또는 작업 중 필요할 때에는 반드시 수립된 절차에 따라 손 세척을 실시하여야 하며, 손 세척관리의 필요성을 항상 숙지하고 있어야 한다.



[출처: 식품의약품안전처, 식중독 예방 3대 요령, 2010]

<그림 1 손 세척방법 및 절차>

TIP.

손 세척·소독관리의 필요성

- 손에 존재하는 이물 제거 및 미생물로부터의 교차오염 방지

손 세척·소독의 효과

- 액상비누를 사용하여 흐르는 물로 20초 이상 손을 세척한 후 물기를 완벽히 제거한 뒤 소독하면 99.8%의 세균제거 가능

손 세척·소독을 하여야 하는 경우

- 출근 후 작업시작 전
- 원료 및 폐기물 등 취급 후
- 코를 풀거나 재채기를 한 후
- 전화 통화 후
- 머리나 몸을 만진 후
- 작업의 특성이 다른 행동을 한 경우
- 작업 중 스위치 등을 만진 후
- 화장실 사용 후
- 세척·소독제 등 화학물질 사용 후
- 그 외 오염 가능성이 있다고 여겨지는 경우

- 종사자는 손톱을 항상 청결하게 관리하여야 하며, 상처부위가 발생하는 경우 적정처리 후 작업에 임하여야 한다.

- 손톱길이 관리
- 손톱 밑 청결관리
- 매니큐어 사용 금지
- 상처부위 노출금지를 위한 밴드, 고무골무 등의 밴딩처리 등

○ 장신구 및 개인 소지품관리

- 종사자는 작업장 내 교차오염을 일으킬 수 있는 장신구를 착용하거나 개인용품을 소지하여서는 안된다.
 - 반지, 시계, 목걸이, 귀걸이, 머리핀 등의 장신구
 - 휴대폰, 시계, 동전 등의 개인용품
 - 압정, 클립, 스테이플러 등은 이물혼입의 원인이 될 수 있는 물품 사용 금지
- 작업장 외의 장소에 해당 개인용품을 안전하게 보관할 수 있는 개인사물함, 캐비닛 등을 제공하여야 한다.

□ 작업장 출입관리

○ 작업장 출입구

- 작업장 출입구에는 작업특성에 맞는 복장 착용방법 및 기준 등을 게시하고 이에 따라 올바른 작업장 출입이 이루어질 수 있도록 관리하여야 한다.
 - 작업장 출입 시 지급되는 위생복, 위생모, 위생화(장화) 등을 착용
 - 작업장 출입 시 이물제거도구(접착롤러, 진공흡입기 등)를 통해 위생복 표면의 이물, 머리카락 등 제거 후 입실
 - 청결구역인 경우 강화된 위생복장 기준 마련
- 작업장 출입구에는 물비누, 종이타올, 손 소독기 등 세척·소독설비를 구비하고, 효과적인 손 세척·소독이 이루어질 수 있도록 손 세척·소독방법 및 절차 관련 게시물을 게시하여야 한다.
 - 수립된 손 세척·소독방법 및 절차에 따라 세척·소독 후 입실
 - 작업장 재출입시(화장실 이용 후 등 기타 오염요소가 발생된다고 판단될 때)에도 반드시 손을 깨끗이 세척

□ 종사자 교육

○ 교육·훈련

- 종사자에 대한 자체교육 또는 개인위생교육을 정기적으로 실시하여 주류위생관리의 필요성을 이해시키고 식품위생에 대한 지식과 의식을 갖추어 지식수준 및 관리능력을 향상시킬 수 있도록 관리하여야 한다.

TIP. 위생교육의 필요성

- 종사자의 이물관리 및 위생의식수준 향상 도모
- 위생복장 착용방법 이해 도모 및 필요성 부각
- 세척방법 및 청결관리방법 이해 도모 및 필요성 부각

- 교육 책임자는 교육의 내용 및 방법을 <표 8. 교육체계 예시>와 같이 체

계적이고 구체적으로 계획하고 수립하여야 한다.

- 교육 대상, 목적, 내용, 주기, 평가방법 등에 대한 구체적인 계획 수립
- 연간교육계획에 따른 체계적인 교육 실시
- 종사자 눈높이에 맞는 교육, 사진이나 동영상 등을 통한 시각적 효과를 높이는 교육 등 효과적인 교육 실시

<표 8. 교육체계 예시>

구분	지식교육	품질교육	현장교육
목적	제품에 대한 정보 제공	현장의 위생, 품질에 대한 지식수준 및 간리능력 향상	종사자 위생의식 향상
대상	생산근무자, 관리자	생산근무자	생산근무자
내용	<ul style="list-style-type: none"> - 제품지식 습득 - 관련 법령 습득 - 이물 혼입 및 개선사례 	<ul style="list-style-type: none"> - 품질수준 향상 - 작업표준 설정 및 작업의 중요성 인식 - 자체검사 활동 	위생의식 고취
주기	각 교육에 맞는 주기 설정, 원레조회시간 활용 이 바람직		
평가방법	<ul style="list-style-type: none"> - 평가방법(구두, 문서형식) - 포상 방법(일회성, 종사자평가반영) - 효과분석(의견접수, 설문지 작성) 		



제2장 제조공정관리

1. 입고
2. 원·부재료 보관
3. 연미
4. 세미/침지, 증자
5. 발효
6. 제성
7. 병입(내포장)
8. 완제품 보관 및 유통

1 입고

□ 일반관리

○ 적합한 원·부재료 및 포장재의 사용

- 주류 제조에 사용하는 원·부재료 및 포장재는 식품위생법 기준 및 규격에 적합하고 인체에 해를 주지 않는 것을 사용하여야 하며, 안전성이 확보되지 않아 일시적으로 사용이 금지된 원료는 사용하지 않아야 한다.
 - 납품받는 원·부재료 및 포장재의 시험성적서 등 제품의 안전성 확보를 위한 증빙서류 구비
 - 주류 제조에 사용하는 식품첨가물(주세법에서는 '첨가재료'로 표기)는 식품위생법 및 주세법 대통령령에서 정하는 사용 허용된 식품첨가물만 사용

TIP. 허용된 식품첨가물 예시

- 아세실팜 칼륨: 사용기준량 초과 불가
- 아스파탐: 제한없음 등

[출처: 식품첨가물의 기준 및 규격 고시전문 중 화학적합성품]

- 식품위생법 제7조제1항 제조·가공·사용·조리·보존 방법에 관한 기준에 따라 기준 및 규격이 고시되지 아니한 화학적 합성품인 첨가물 및 이를 함유한 물질을 식품첨가물로 사용 불가
- ※ 식품위생법 기준 및 규격에 부적합한 식품 및 식품첨가물

TIP. 식품위생법 제4조(위해식품 등의 판매 등 금지)

- 썩거나 상하거나 설익어서 인체의 건강을 해칠 우려가 있는 것
- 유독·유해물질이 들어 있거나 묻어 있는 것 또는 그러할 염려가 있는 것. 다만, 식품의약품안전처장이 인체의 건강을 해칠 우려가 없다고 인정하는 것은 제외
- 병을 일으키는 미생물에 오염되었거나 그러할 염려가 있어 인체의 건강을 해칠 우려가 있는 것
- 불결하거나 다른 물질이 섞이거나 첨가된 것 또는 그 밖의 사유로 인체의 건강을 해칠 우려가 있는 것
- 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가 대상인 농·축·수산물 등 가운데 안전성 평가를 받지 아니하였거나 안전성 평가에서 식용으로 부적합하다고 인정된 것
- 수입이 금지된 것 또는 식품위생법 제19조제1항에 따른 수입신고를 하지 아니하고 수입한 것
- 영업자가 아닌 자가 제조·가공·소분한 것

[출처: 식품위생법 제4조(위해식품 등의 판매 등 금지)]

TIP. 원·부재료 및 포장재 관련 법규

- 식품위생법 제2장 식품과 식품첨가물
- 식품위생법 제3장 기구와 용기·포장
- 주세법 시행령 [별표 1] 주류별 첨가재료(제2조제1항 관련)
- 주세법 시행령 [별표 2] 첨가재료의 종류(제2조제2항 관련)
- 식품공전 [별표 1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록
- 식품공전 [별표 2] “제한적 사용 원료”

- 주정은 주세법에 의한 품질기준에 적합한 것을 사용
- 원·부재료 및 포장재는 선도가 양호하고 부패 혹은 변질되었거나 이물 등에 오염되지 아니한 것을 사용하여야 한다.
 - 이물혼입 여부 육안검사 실시(파쇄분을 사용하는 경우 검사 강화)
 - 부패 혹은 변질의 우려가 있는 재료 반품 처리 또는 별도 보관
 - 이물선별도구(색채선별기 등)를 활용한 이물 혼입 여부 검사

○ 협력(공급)업체 선정 및 관리

- 자사 공정관리에 우수한 원재료 및 포장재 공급업체를 아래의 항목 등을 고려하여 선정하고, 선정된 공급업체와는 제품의 품질 및 안전성관리를 위한 지속적인 커뮤니케이션과 피드백이 이루어져야 한다.
 - 견실하고 신뢰할 수 있는 공급업체 여부(인허가 사항 포함) 확인
 - 공정 상의 위생관리 및 안전성관리 실시 여부 확인
 - 작업장, 종사자의 위생관리 및 건강관리 실시 여부 확인
 - 원·부재료 및 포장재 보관장고시설 및 보관상태의 적정여부 확인
 - 품질, 관리능력, 작업성(생산성), 단가, 과거의 품질 및 납기 등 실적 확인

○ 운반 및 유통관리

- 원·부재료는 제품의 특성에 따라 보존 및 유통기준에 적합하도록 운반 및 유통이 이루어져야 하며, 이에 따른 온도관리가 잘 이루어지고 있는지 확인하여야 한다.
 - 상온유통, 냉장유통, 냉동유통 등 제품의 특성에 따른 유통기준 숙지
 - 냉장 또는 냉동유통의 경우, 냉장·냉동시설을 탑재한 운반차량을 구비하여 법적인 온도 준수
 - ※ 운반차량 온도기준: 냉장차량 10℃ 이하, 냉동차량 -18℃ 이하
 - 운반차량 외부에서 차량 내부의 온도확인이 가능한 온도장치를 부착하여 관리
- 원·부재료 및 포장재를 운반하기 위한 차량, 운반도구 및 용기는 식품과 접촉할 경우 인체 무해하며 내수성·내부식성을 갖춘 재질을 사용하여야 한다.
- 원·부재료 및 포장재를 납품하는 차량은 세척작업 등을 통해 항상 청결하게 관리하여야 하고, 방충·방서가 가능한 형태의 운반차량을 구비하여 외부로부터 발생 가능한 이물 혼입 등을 사전에 예방할 수 있어야 한다.
 - 제품의 운반 및 유통과정에서 손상, 파손, 노화, 비 등으로부터 보호하기 위하여 보호대, 비닐, 천막 등 적절한 보호도구를 사용하여 운반 또는 상차하여야 한다.

○ 종사자관리

- 종사자 취급 부주의에 의한 교차오염 및 이물혼입 등이 발생하는 경우가 많으므로 각 공정 주요관리사항에 대한 교육이 정기적으로 이루어져야 한다.
 - 입고관리의 필요성 및 입고 시의 주요 관리사항에 대한 교육
 - 사용가능한 원·부재료 및 포장재의 기준 및 규격에 대한 교육
 - 육안검사방법 및 주요 확인사항 숙지

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 협력(공급)업체 제조공정관리 미흡으로 인한 발생한 이물혼입 방지를 위하여 적합한 협력(공급)업체 선정 및 관리 이행
- 운반차량 위생상태 불량으로 인한 교차오염 예방을 위한 정기적 차량 위생상태 점검
- 운반기구 위생상태 불량 및 파손으로 인해 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 운반기구 상태 점검 및 교체
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 작업자 위생교육 및 수립된 절차에 따른 적정 육안검사 이행

2 원·부재료 보관

□ 일반관리

○ 원·부재료 및 포장재 적정 보관방법

- 보관하는 원·부재료 및 포장재는 바닥, 벽으로부터 일정간격 이격관리하여야 하며, 외부 오염발생원으로부터 영향을 받지 아니하도록 보관하여야 한다.
 - 팔레트(플라스틱 재질), 적재대 등을 사용하여 지면과 직접 접촉하지 않도록 조치
 - ※ 나무재질의 팔레트는 파손되어 원료에 혼입될 가능성이 높고 세척이 용이하지 않아 곰팡이, 곤충 등의 번식이 쉬우므로 사용을 금지
 - 원·부재료 및 포장재의 야적을 원칙적으로 금지
 - 공간협소 등 부득이하게 야적이 필요한 경우 비, 바람 등으로부터 보호될 수 있도록 천막 또는 비닐 등을 사용하여 밀봉보관
- 입고되는 원·부재료의 특성에 따라 적절한 온도관리가 이루어져야 하며, 보관창고는 항상 위생적으로 청결하게 관리 및 유지하여야 한다.
 - 곰팡이독(진균류 포함) 증식의 우려가 있는 원료 보관 시 적정 온도습도관리를 이행하는 등 원료의 특성에 적합한 보관조건 설정
 - 예) 보관방법이 냉장보관인 경우 10℃ 이하 설정 등
 - 보관장소는 세척작업이 용이하도록 배수시설 완비
- 선입선출관리를 통해 장시간 보관된 원료와 부적절한 보관공간 환경관리로 해충 번식 등의 교차오염이 발생한 제품은 반품 및 폐기처리하여야 한다.
 - 선입선출관리가 용이하도록 일정 간격을 두고 적재

TIP. 선입선출 원칙

- 먼저 입고된 원료부터 사용하고, 후에 입고된 원료는 나중에 사용함으로써 원료나 제품의 신선도를 유지하기 위한 관리원칙
- 원·부재료의 유효기간을 파악하고 기간경과 및 품질이상이 예상되는 제품은 사용금지 처리

- 반품 및 부적합 제품 등의 사용불가한 제품은 혼용을 예방하기 위하여 식별표 시 후 별도의 장소에 구분 보관
- 교차오염 및 혼용방지를 위하여 원·부재료, 반품, 완제품, 미식용 화학물질 (세척제, 소독제 등)은 구분·보관하여야 하며, 외관상 유사한 원료는 구역 구분 또는 포장 및 표시를 정확하게 하여 보관하여야 한다.
 - 원재료보관 시 부패 및 변질이 쉬운 원료의 구분·보관
 - 식품·비식품 구분·보관

TIP. 식품과 비식품의 예시

- 식품: 원료, 식품첨가물 등
- 비식품: 페트병, 병뚜껑, 포장재 등의 부재료

- 식품위생법 시행규칙 제55조 관련 [별표 16] 영업자 준수사항의 제3항에 따라 유통기한이 경과된 제품은 진열, 보관 또는 사용하지 않아야 한다.
 - 제조일자 또는 유통기한이 올바르게 표시된 적합제품만 사용
 - 표시사항이 없는 제품, 표시가 훼손되어 식별이 가능하지 않은 제품은 진열, 보관 또는 사용 금지
 - 원·부재료에 대한 정기적인 제조일자 또는 유통기한일자 점검관리 이행
 - 사용 중이거나 사용하고 남은 재료에 대해서는 '사용 중' 등의 식별표시로 선 입선출에 따라 사용

○ 보관공간 밀폐관리

- 입고 시 육안검사를 통한 1차 이물혼입 예방관리가 이루어져야 하며, 보관 시 외부로부터의 이물 혼입이 발생하지 않도록 밀봉하거나 보관장소에 대한 적절한 밀폐관리가 이루어져야 한다.(예: 사일로 등)
 - 개방 금지
 - 보관시설에 대한 창, 문 등에 대한 틈새관리 및 방충·방서관리를 위한 방역 실시
 - 방충·방서시설(포충등, 트랩 등)에 대한 정기적 점검 실시

TIP. 보관시설의 구비요건

- 축산폐수, 화학물질, 기타오염물질 등 오염발생원으로부터 영향을 받지 않는 곳에 위치하여야 함.
- 바닥 및 벽은 내수성으로 세척작업이 용이하여야 함.
- 쥐, 벌레 등이 침입하지 못하도록 밀폐성이 확보되어야 함.
- 외부 조명등은 출입문에서 가능한 멀리 위치하도록 함.
- 햇빛이 제품에 직접 영향을 주지 않도록 함.
- 온도(필요시 습도 포함) 조절장치를 설치하여 원료의 특성에 맞게 보관함 (필요시 냉장·냉동시설 구비)
- 보관제품이 직접 바닥에 닿지 않도록 함.

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 선입선출원칙에 따른 제품보관 및 사용
- 보관공간 세척관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 수립된 절차 및 방법에 따른 정기적 세척작업 이행
- 보관공간 해충 유입 및 번식 방지를 위한 방충·방서시설(방충망, 포충 등 등) 설치, 틈새관리 및 정기적 방역작업 실시
- 보관공간 내 미생물 및 곰팡이독(진균류 포함) 증식을 예방하기 위하여 제품의 특성에 따른 적정 온·습도관리 이행과 온도기록관리 및 온도조절장치 설치
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 실시

<표 9. 원료보관 중 발생가능한 주요 이물 및 위해요소 예방조치(안)>

구분	발생원인	예방조치(안)
미생물, 곰팡이	- 적정 온도 및 습도관리 미흡	- 온·습도 조절장치의 정기적 점검 및 보수 - 벽으로부터 일정간격 이격하여 제품 보관 - 원료 보관창고 세척
곤충, 동물 사체 및 배설물	- 창문, 환기구의 방충망 파손 또는 미설치 - 구충·구서 대책 마련 미비	- 밀폐관리 강화 - 방충·방서시설 구비(창문, 환기구 등의 방충망, 포충등, 트랩 설치 등)
흙, 돌, 금속, 플라스틱, 머리카락 등	- 원료 포장재 파손 - 취급 시 부주의 및 관리 소홀 - 나무재질의 팔레트 사용	- 원료보관 전 이물혼입 여부 확인 - 플라스틱 재질의 팔레트 사용

3 연미

□ 일반관리

○ 원료 전처리

- 연미 전 주원료인 쌀은 육안으로 상태를 확인 후 흙, 모래, 돌맹이 등의 이물이 있을 경우 석말기를 활용하여 이물을 제거한 후 사용하여야 한다. 단, 연미하지 않는 식물원료는 필요한 경우 제조용수로 깨끗이 씻어 비가식 부분을 충분히 제거한 후 사용하여야 함.

※ 연미작업 후 연미기 자체 내에서 이물이 제거되는 경우 연미기의 여과망관리, 밀폐관리 강화 필요

- 연미작업을 위하여 대기 중인 원료에서의 부패 및 변질이 발생하지 않도록 빠른 시간 내에 처리 및 작업하여야 한다.

※ 주원료인 쌀에서의 쌀벌레 번식, 곰팡이, 진균류 등의 증식 예방 차원

○ 시설·설비 취급관리

- 이송과정 및 작업 중 발생 가능한 이물 혼입 방지를 위하여 육안검사를 통해 설비내부의 파손여부를 수시로 점검 및 확인하여야 한다.

- 컨베이어 등의 이동수단 및 작업도구 등의 파손여부를 정기적으로 점검
- 작업공간 내의 파손여부와 설치된 방충·방서시설에 대한 정기적 점검 실시

○ 작업공간 및 시설·설비 밀폐관리

- 연미 작업공간에 대한 밀폐 및 방충·방서관리를 강화하여야 한다.

- 작업장 개방 금지(작업이 없는 경우 포함)
- 포충등, 트랩 등의 방충·방서시설 설치
- 천장, 벽면, 문의 틈새 등 해충, 설치류의 유입가능 경로 차단

- 전처리된 원료를 설비(세척조, 증자기 등)에 투입할 때 덮개처리 등 밀폐성 확보를 위한 조치를 취하여 외부로부터의 이물 혼입을 최소화할 수 있도록 관리하여야 한다.

○ 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리

- 작업공간 및 시설·설비에 대한 자체적인 세척·소독기준 및 방법을 수립하고 이에 따라 청결하게 유지관리하여야 한다.
 - 기구 세척·소독에 허가된 제품의 유통기한을 확인 후 유통기한이 경과하지 않은 세척제, 살균소독제 등을 사용
 - 작업공간 내부에 설치된 부가시설(창, 환기시설 등)에 대한 세척·소독관리 필요
 - 설비 내부에 설치된 부가설비(여과망 등)에 대한 세척·소독관리 필요

TIP. 세척·소독 절차 및 효과

온수세척 → 잔존한 수분, 물기 등 완전 건조 → 살균소독 실시 → 살균소독 잔존 여부 확인(리트머스 확인 등)

- ▶ 세척 후 잔존한 물기에 대한 완전 건조 후의 살균소독이 가장 효과적임

- 분진이 많이 발생하는 형태의 설비를 갖추고 있는 경우 집진기를 설치하고, 설치가 어려운 경우 환풍 및 환기시설에 대한 관리를 강화하여야 한다.
 - 작업 중 발생하는 분진제거 및 세척작업 이행

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 화랑곡나방과 같은 해충의 증식 방지를 위하여 연미기 내부에 잔류하는 부산물을 정기적으로 제거
- 이물이 잔류하거나 오염된 원료의 반입으로 인한 교차오염 방지를 위하여 적절한 원료 전처리작업 이행
- 내수성, 내부식성 등 기준 및 규격에 적합한 재질의 주류취급시설 사용
- 작업공간 및 시설·설비 내 해충 유입 방지를 위한 밀폐, 방충·방서관리 강화, 설비 덮개처리, 방충시설(방충망, 포충등 등) 설치
- 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 자사 차원에서 수립한 절차 및 방법에 따른 정기적 세척·소독작업 이행
- 대기 중인 원료에서의 벌레 번식 및 곰팡이, Mycotoxin(진균류 포함) 등의 증식을 예방하기 위하여 작업공간의 온도관리 및 원료 대기시간 준수
- 제조설비 파손에 의한 이물 혼입 방지를 위하여 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 실시 및 원료투입 시 육안검사가 병행될 수 있도록 교육

4 세미/침지, 증자

□ 일반관리

○ 원료취급관리

- 원료를 세척할 때에는 깨끗한 용수를 사용하여 흙, 모래, 티끌 등의 같은 이물이 충분히 제거될 때까지 수차례 반복하여 세척하여야 한다.

TIP. 하절기 세척용수 관리

- 하절기에 세척용수를 재사용할 경우 수온이 높아 미생물 번식의 가능성이 높아 지므로 세척용수는 항시 교체

- 세미/침지, 증자공정에 있어 침지와 증자 온도 및 시간에 대한 적정 기준을 수립하고 준수하여야 한다.

- 자사 노하우에 적합한 특정 온도 및 시간기준 수립

TIP. 세미/침지, 증자 시의 온도 및 시간관리

- 미생물 증식과 관련하여 중점적으로 관리하여야 할 항목으로 구분

○ 시설·설비 취급관리

- 원료를 세미/침지할 때에는 주류취급시설 기준 및 규격에 적합한 재질의 세척조 등을 사용하여야 한다.

- 원료를 증자할 때에는 주류취급시설 기준 및 규격에 적합한 재질의 증자기를 사용하여야 하며, 많은 양의 증기가 발생하므로 증기를 외부로 배출할 수 있는 환기시설(환풍기, 환기구 등)을 설치하여야 한다.

TIP. 증기 배출의 필요성

- 증기로 인한 작업장 내부의 온도 및 습도 상승으로 미생물 번식의 가능성이 높아지므로 증기 배출 필요

- 외부로 연결되는 환기구의 경우 외부로부터의 해충 유입을 방지하기 위하여 방충망 등의 설치 권고

○ 작업공간 및 시설·설비 밀폐관리

- 각 작업공간에 대한 밀폐 및 방충·방서관리를 강화하여야 한다.
 - 작업장 개방 금지(작업이 없을 시 포함)
 - 천장, 벽면, 문의 틈새 등 해충, 설치류의 유입가능 경로를 차단하고 방충·방서 시설(포충등, 트랩 등)을 설치
 - 작업공간 내의 파손여부와 설치된 방충·방서시설에 대한 정기적 점검 실시
 - 가스 배출을 위한 환기구의 방충망 등에 대한 점검관리
- 1차 작업된 원료를 설비(세척조, 증자기 등)에 투입할 때 밀폐성 확보를 위한 조치를 취하여 외부로부터의 이물 혼입을 최소화할 수 있도록 관리하여야 한다.
 - 적합 재질의 덮개처리

○ 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리

- 작업공간은 세척이 용이한 구조여야 하며, 수립된 세척·소독기준 및 방법에 따라 위생적으로 청결하게 유지관리하여야 한다.
- 작업 후 잔존한 위해요소로 인한 위험을 예방하기 위하여 세척·소독 및 건조작업에 대한 관리기준을 수립하고 준수하여야 한다.
 - 세미 시 사용하는 물 투입량(충분한 세척이 이루어질 수 있는 물의 양), 세척 횟수 등에 대한 기준 수립
 - 침지가 오래되어 원료에 문제가 생기는 경우 증자공정 후의 열탕(스팀 포함)소독 등의 살균작업 필요
 - 열탕(스팀 포함)소독이 아닌 소독제를 이용한 약품소독을 이행할 시에는 증자기 내부 바닥에 잔존한 수분에 대한 건조작업을 완벽히 실시한 후 이행

TIP. 세척·소독제

- 기구 세척·소독에 허가된 제품의 유통기한을 확인한 후 유통기한이 경과하지 않은 세척제, 살균소독제 등을 사용

TIP. 세척·소독 절차 및 효과

온수세척 → 잔존한 수분, 물기 등 완전 건조 → 살균소독 실시 → 살균소독 잔존 여부 확인(리트머스 확인 등)

▶ 세척 후 잔존한 물기를 완전히 건조시킨 후 실시한 살균소독이 가장 효과적임

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 오염된 원료의 반입, 세미작업 불충분으로 원료 자체로부터 기인한 미생물 번식 등에 의한 교차오염 방지를 위하여 적정 공정관리기준 수립
- 작업공간 및 시설·설비 내 해충 유입 방지를 위한 밀폐, 방충·방서관리 강화를 위한 설비의 덮개처리, 방충시설(방충망, 포충등 등) 설치
- 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 자사 차원에서 수립한 절차 및 방법에 따른 정기적 세척·소독작업 이행
- 내수성, 내부식성 등 기준 및 규격에 적합한 재질의 주류취급시설 사용
- 제조설비 파손에 의한 이물 혼입 방지를 위하여 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 및 공정관리교육 실시

5 발효

□ 일반관리

○ 원료취급관리

- 발효작업 전 발효조 내의 이물 혼입 및 부착 여부를 확인하고 사전에 제거하여야 한다.
 - 세척작업을 통한 부착이물 제거
 - 체별기, 자석 등을 이용한 금속성 이물 제거
- 발효실의 경우 온도를 낮추기 위한 냉각수사용으로 응축수가 발생하기 쉬우므로 발효조 내 낙하되지 않도록 관리하여야 한다.
 - 발효실, 발효조의 정기적 세척·소독
 - 환풍기 등 환기시설 및 공조시설을 설치하여 충분한 환기 실시
- 발효공정 이후 제성공정으로 이동하는 과정 중 생물학적 위해요소에 의한 교차오염 발생이 가능하므로 이에 대한 예방책이 마련되어야 한다.
 - 종사자의 개인위생관리, 종사자 교육관리, 작업환경관리 강화 등을 통한 예방 대책 마련

○ 시설·설비 취급관리

- 발효과정 중의 술의 특성상 발효조 및 양조도구 등의 부식이 야기될 우려가 높으므로 내부식성 재질을 사용하여야 한다.
 - ※ 나무재질은 미생물 번식의 우려가 높고, 플라스틱 재질은 파손으로 인한 이물 혼입의 우려가 높으므로 사용을 피하도록 한다.

- 발효공정 이후 이물 제거를 위한 진동체, 필터 등에 대한 정기적인 관리가 이루어져야 한다.

- 진동체, 필터 등에 대한 관리 부족으로 미세 이물 혼입 가능

○ 작업공간 및 시설·설비 밀폐관리

- 발효 및 숙성이 진행되는 동안 발생하는 탄산가스, 초산 등은 해충 유입을 유인하므로 주류취급시설 기준 및 규격에 적합한 재질의 덮개를 사용하여 해충 유입을 예방하여야 한다.

- 오픈형 발효조를 사용하는 경우, 발효공정 시 발생하는 가스의 배출이 용이하면서 동시에 해충 유입 차단이 가능한 그물망, 금속성 덮개 등으로 덮개 처리

- 덮개망 설치에 따른 교차오염 발생, 작업상의 부하 발생 우려 등으로 공정 특성상 덮개처리가 용이하지 않은 경우 발효공정 작업공간에 대한 밀폐 및 방충·방서관리를 강화하여야 한다.

- 작업장 개방 금지(작업이 없을 시 포함)

- 천장, 벽면, 문의 틈새 등 해충, 설치류의 유입가능 경로를 차단하고 방충·방서 시설(포충등, 트랩 등)을 설치

- 작업공간 내의 파손여부와 설치된 방충·방서시설에 대한 정기적 점검 실시

- 가스 배출을 위한 환기구의 방충망 등에 대한 점검관리

○ 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리

- 작업공간은 세척이 용이한 구조여야 하며, 수립된 세척·소독기준 및 방법에 따라 위생적으로 청결하게 유지관리하여야 한다.

- 작업 후 고착된 이물질에 의해 미생물 번식 또는 이미·이취 발생이 야기될 수 있으므로 작업종료 후 수립된 세척·소독기준 및 절차에 따라 적절한 세척·소독 및 건조작업을 실시하여야 한다.

- 기구 세척·소독에 허가된 제품의 유통기한을 확인 후 유통기한이 경과되지 않은 세척제, 살균소독제 등을 사용

- 발효 이후 제성탱크로의 이동수단(배관, 호스 등)에 대한 세척·소독관리기준 수립 및 실시

TIP. 세척·소독 절차 및 효과

온수세척 → 잔존한 수분, 물기 등 완전 건조 → 살균소독 실시 → 살균소독 잔존 여부 확인(리트머스 확인 등)

▶ 세척 후 잔존한 물기를 완전히 건조시킨 후 실시한 살균소독이 가장 효과적임

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 작업공간 및 시설·설비 내 해충 유입 방지를 위한 덮개처리, 방충시설 (방충망, 포충등 등) 설치 등 밀폐, 방충·방서관리 강화
- 내수성, 내부식성 등 기준 및 규격에 적합한 재질의 주류취급시설 사용
- 작업공간 및 시설·설비 세척관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 자사 차원에서 수립한 절차 및 방법에 따른 세척·소독 및 건조작업 이행
- 제조설비 파손에 의한 이물 혼입 방지를 위하여 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 및 공정관리교육 실시

6 제성

□ 일반관리

○ 원료취급관리

- 발효 후 제성탱크로 이송되어 온 술의 교차오염 방지를 위하여 투입 전 제성탱크 내의 이물 혼입 및 부착 여부를 확인하고 사전 제거 후 작업하여야 한다.
 - 세척작업을 통한 술 지게미, 부착이물, 잔존 이물 등 제거
- 식품첨가물 및 당류 등을 혼합하는 경우 이에 대한 육안검사 또는 체별기 등을 사용한 1차적인 이물 제거를 실시 후 투입하여야 한다.

○ 시설·설비 취급관리

- 발효된 술의 특성상 발효조 및 양조도구 등의 부식이 야기될 우려가 높으므로 내부식성 재질의 제성탱크, 필터 등의 주류취급시설을 사용하여야 한다.
- 제성기망 등을 분리하여 세척작업을 실시하는 경우 세척 시 육안검사를 통해 설비내부의 파손여부를 수시로 점검 및 확인하여야 한다.
- 제성 후 제성기망의 mesh 기준 강화를 통해 금속성 이물 및 미세 이물 등에 대한 제어관리가 이루어지도록 관리하여야 한다.
 - 금속검출기, x-ray 검출기를 통한 제어 시 효율적 관리가 가능

○ 작업공간 및 시설·설비 밀폐관리

- 작업공간에 대한 밀폐 및 방충·방서관리를 강화하여야 한다.
 - 작업장 개방 금지(작업이 없을 시 포함)
 - 천장, 벽면, 문의 틈새 등 해충, 설치류의 유입가능 경로를 차단하고 방충·방서 시설(포충등, 트랩 등)을 설치
 - 작업공간 내의 파손여부와 설치된 방충·방서시설에 대한 정기적 점검 실시
- 완전 밀폐형 제성기를 사용하지 않는 경우 그물망, 금속성 덮개 등으로 덮개 처리하여 외부로부터의 해충, 설치류 등의 혼입을 예방하여야 한다.

○ 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리

- 작업공간은 세척이 용이한 구조여야 하며, 수립된 세척·소독기준 및 방법에 따라 위생적으로 청결하게 유지관리하여야 한다.
- 발효 후 제성탱크로 이송되어 온 술은 고착된 이물질에 의해 이미·이취가 발생하거나 변질될 수 있으므로 수립된 세척·소독기준 및 절차에 따라 제성 공정 전·후 제성탱크에 대한 적절한 세척·소독 및 건조작업이 이루어져야 한다.
 - 기구 세척·소독에 허가된 제품의 유통기한을 확인한 후 유통기한이 경과하지 않은 세척제, 살균소독제 등을 사용
 - 설비 내부에 설치된 부가설비(제성기, 제성기망 등)에 대한 세척·소독관리 필요
 - 내부설비의 분리가 어려운 경우 고압세정기 등을 이용하여 제성기망에 잔존하는 미세 이물을 완벽히 제거
 - 발효 후 제성공정이 In-line Process로 진행되지 아니하거나 CIP system을 갖추지 아니한 경우, 운반도구, 고무 호스 등의 세척·소독관리, 위생적 보관 여부, 제성기망 분리 및 세척 등에 대한 세척·소독관리기준 수립 필요
 - 이송용 배관 및 펌프는 내부의 부착된 이물 및 미세 이물을 완벽 제거하기 위하여 분해하여 세척 및 건조

TIP. 세척·소독 절차 및 효과

온수세척 → 잔존한 수분, 물기 등 완전 건조 → 살균소독 실시 → 살균소독 잔존 여부 확인(리트머스 확인 등)

▶ 세척 후 잔존한 물기를 완전히 건조시킨 후 실시한 살균소독이 가장 효과적임

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 작업공간 및 시설·설비 내 해충 유입 방지를 위한 덮개처리, 방충시설 (방충망, 포충등 등) 설치 등 밀폐, 방충·방서관리 강화
- 내수성, 내부식성 등 기준 및 규격에 적합한 재질의 주류취급시설 사용
- 작업공간 및 시설·설비 세척관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 자사 차원에서 수립한 절차 및 방법에 따른 세척·소독 및 건조작업 이행
- 제조설비 파손에 의한 이물 혼입 방지를 위하여 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 및 공정관리교육 실시

7 병입(내포장)

□ 일반관리

○ 원료 및 포장재 취급관리

- 제성 후 주입기로 이송된 술의 교차오염 방지를 위하여 이송 전 주입기 내의 이물 혼입 및 부착 여부를 확인하고 사전 제거 후 작업하여야 한다.
 - 세척작업을 통한 술 지게미, 부착이물 등 제거
- 공병을 납품하는 용기·포장류제조업체는 별도의 세척공정없이 포장재를 제공하므로 대기 중인 PET, 마개 등은 작업 전 세척작업을 통해 사전 이물제거를 실시한 후 사용하여야 한다.
 - 물 세척, 오존수 세척, 에어 세척 등을 통해 생물학적, 물리적 위해요소 잔존에 의한 교차오염을 예방
- 충전 전·후의 이물혼입 여부를 확인하기 위하여 EBI(주입 전 공병검사기, Empty Bottle Inspector), FBI(주입 후 제품검사기, Filled Bottle Inspector) 등의 이물검출기를 설치한다.
 - 이물검출기 설치가 어려울 시에는 병입 후의 완제품 육안검사 판넬을 통한 검사도 가능

TIP. 이물검출기 종류

EBI(주입 전 공병검사기, Empty Bottle Inspector)

- 병입 전 공병의 이물을 검색하는 이물검출기로 병입공정 전에 설치하여 구동

FBI(주입 후 제품검사기, Filled Bottle Inspector)

- 포장하기 직전 완제품 내의 이물을 검색하는 이물검출기로 병입공정 후에 설치하여 구동

- 병입공정 담당자는 개인위생관리를 철저히 하여 작업에 임하여야 한다.
 - 입실 전 손 세척·소독 실시 및 이물 제거
 - 위생복장 기준 준수, 개인소지품 미소지

○ 작업공간 및 시설·설비 밀폐관리

- 병입공정은 완제품의 이물혼입과 연관된 중요한 공정으로서 반드시 밀폐된 공간에서 작업이 이루어져야 하며 이물혼입 방지를 위한 밀폐 및 방충·방서 관리를 강화하여야 한다.
 - 클린룸 형태로 외부와의 차단성 및 밀폐성 확보
 - 임의적인 이물 투입 방지를 위한 인라인 프로세스 등의 공간작업의 차단성 확보

○ 작업공간 및 시설·설비 세척·소독관리

- 작업공간은 세척이 용이한 구조여야 하며, 수립된 세척·소독기준 및 방법에 따라 위생적으로 청결하게 유지관리하여야 한다.
- 병입공정이 In-line Process로 이루어져 CIP system으로 내부 세척·소독작업이 이루어진다 하더라도 그 외 설비 및 작업도구에 대한 세척·소독기준 및 절차를 수립하고 이에 따라 작업을 실시하여야 한다.
 - CIP system 효과 확인
 - 기구 세척·소독에 허가된 제품의 유통기한을 확인한 후 유통기한이 경과하지 않은 세척제, 살균소독제 등을 사용
 - 주입기 배관 내부의 부착이물을 완벽 제거하기 위한 세척·소독작업 실시
 - 주입구는 별도로 분해하여 세척·소독작업 실시

TIP. 세척작업의 종류

- **Clean-in-place(CIP):** 조립 설치된 기계를 이동없이 물, 세제 또는 기타 화학물질을 분사 또는 순환시켜 내부를 세척하고 헹구어 내는 시스템
- **Clean out of place(COP):** 설치되어 있는 장소에서 기기 내외부 세척을 위하여 옮기거나 일부를 분해하여 수작업으로 세척하는 것
- **Washing in place(WIP):** 설치된 장소에 기계를 그대로 두고 세제사용없이 물로만 세척하는 것
- **Steam(sterillization) in place(SIP):** CIP와 같은 개념이지만 증기(스팀)를 사용하여 멸균하는 시스템

- 용기를 회수하여 재사용하는 경우 먹는물관리법에 적합한 물로 깨끗이 세

척하여 이물(불순물) 및 병원성미생물 등이 잔류하지 아니함을 확인하여야 한다.

- 올바른 세정작업관리계획 수립
- 정기적인 점검 및 검사 필요

TIP. 세척·소독 절차 및 효과

운수세척 → 잔존한 수분, 물기 등 완전 건조 → 살균소독 실시 → 살균소독 잔존 여부 확인(리트머스 확인 등)

- ▶ 세척 후 잔존한 물기를 완전히 건조시킨 후 실시한 살균소독이 가장 효과적임

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 클린룸 형태로 분리구획하여 작업공간 및 시설·설비 내 해충 유입 방지를 위한 밀폐, 방충·방서관리 강화
- 내수성, 내부식성 등 기준 및 규격에 적합한 재질의 주류취급시설 사용
- 작업공간 및 시설·설비 세척관리 미흡으로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위하여 수립된 절차 및 방법에 따른 세척·소독작업 이행
- 제조설비 파손에 의한 이물 혼입 방지를 위하여 정기적인 제조설비 점검 및 유지보수
- 작업자 취급 부주의로 인한 교차오염 및 이물혼입 방지를 위한 작업자 위생교육 및 공정관리교육 실시



제3장 제품 관리

1. 완제품 및 유통관리
2. 클레임관리

1 완제품 및 유통 관리

□ 일반관리

○ 완제품 보관 및 유통방법

- 보관하는 제품은 바닥, 벽으로부터 일정간격 이격관리하여야 하며, 외부 오염발생원으로부터 영향을 받지 아니하도록 관리하여야 한다.
 - 팔레트(플라스틱 재질), 적재대 등을 사용하여 지면과 직접 접촉하지 않도록 조치
 - ※ 나무재질의 팔레트는 파손되어 원료에 혼입될 가능성이 높고 세척이 용이하지 않아 곰팡이, 곤충 등의 번식이 쉬우므로 사용을 금지
 - 완·부재료 및 포장재의 야적을 원칙적으로 금지
 - 공간협소 등 부득이하게 야적이 필요한 경우 비, 바람 등으로부터 보호하기 위하여 천막 또는 비닐 등을 사용하여 밀봉보관
- 완제품의 특성에 따라 적절한 온도관리가 이루어져야 하며, 보관창고는 항상 위생적으로 청결하게 관리 및 유지하여야 한다.
 - 제품의 특성에 따른 냉장보관조건 설정 또는 냉장탑차 보유
- 완제품의 장시간 보관과 부적절한 온·습도 관리로 곰팡이 증식 및 해충 번식 등에 의한 교차오염이 발생한 제품은 반품 또는 폐기처리하여야 한다.
 - 선입선출이 용이하도록 제품 출고현황 등을 기록관리
 - 주입 후 병 외부에 묻은 슬에 의한 곰팡이 증식이 가능하므로 완제품 보관 시 적정 온도관리 필요
 - 변질된 제품은 혼용을 예방하기 위하여 식별표시를 정확하게 한 후 별도의 장소에 구분 보관하거나 폐기처리
- 정기적인 제조일자 또는 유통기한일자 점검관리로 유통기한 경과 제품을 보관 또는 사용하지 않도록 관리하여야 한다.
 - 생산기록일지 및 제품 출고현황 기록관리
 - 유통기한경과 제품은 별도 구분 보관하거나 폐기처리

○ 보관공간 밀폐관리

- 완제품 보관 시 외부로부터의 이물 혼입이 발생하지 않도록 밀봉하거나 보관장소에 대한 적절한 밀폐관리가 이루어져야 한다.
 - 보관장소 개방 금지
 - 보관시설에 대한 창, 문 등에 대한 틈새관리 및 방충·방서관리를 위한 방역 실시
 - 방충·방서시설(포충등, 트랩 등)에 대한 정기적 점검 실시

□ 교차오염 및 이물혼입 방지관리 수칙

- 보관공간 내 곰팡이 증식을 예방하기 위하여 제품의 특성에 따른 적정 온·습도관리 이행와 온도기록관리 및 온도조절장치 설치
- 제품 특성에 맞는 보관 및 유통방법 준수(냉장보관 또는 냉장유통 시)
- 수립된 절차 및 방법에 따른 보관공간 정기적 세척작업 이행
- 보관공간 해충 유입 및 번식 방지를 위한 방충·방서시설(방충망, 포충 등 등) 설치, 틈새관리 및 정기적 방역작업 실시

2 클레임 관리

□ 이물관리계획 수립

○ 이물보고

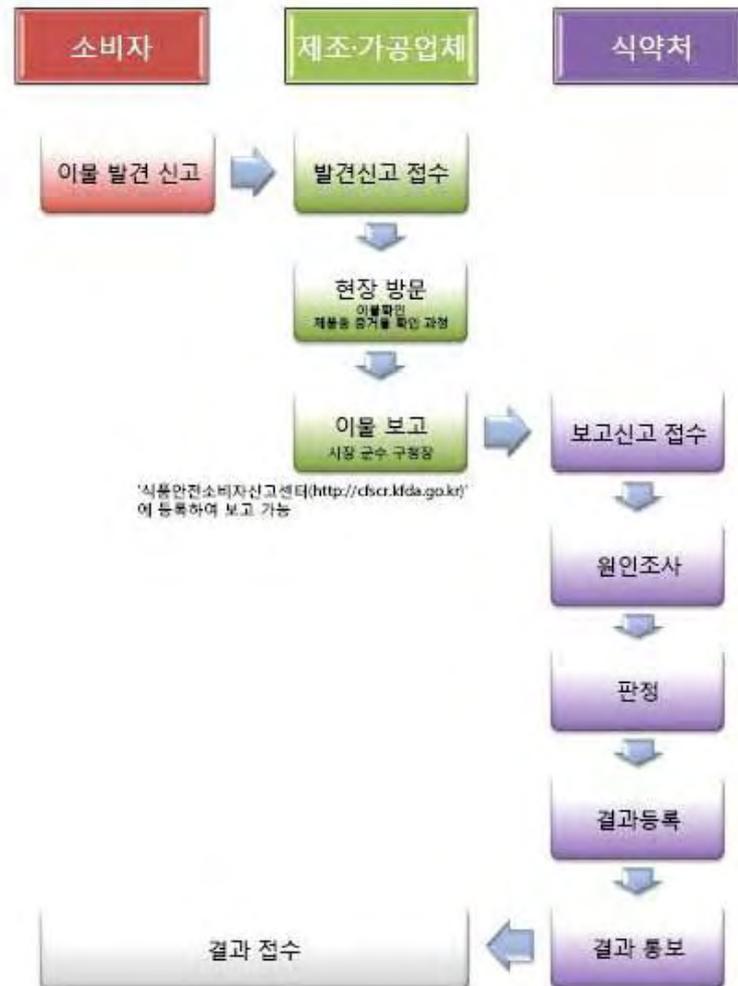
- 소비자로부터 신고된 이물 중 <표 10. 이물보고의 대상>에 해당하는 이물인 경우 이물보고(신고) 절차에 따라 식품의약품안전처장 등에게 보고하여야 한다.

<표 10. 이물보고의 대상>

구 분	이물의 종류
보고 대상 이물	<ol style="list-style-type: none"> 1. 금속성 이물, 유리조각 등 섭취과정에서 인체에 직접적인 위해나 손상을 줄 수 있는 재질이나 크기의 이물 2. 기생충 및 그 알, 동물의 사체 등 섭취과정에서 혐오감을 줄 수 있는 이물 3. 그 밖에 인체의 건강을 해칠 우려가 있거나 섭취하기에 부적합한 이물 가. 곰팡이류(다만, 유통중 파손되거나 개봉하여 보관중인 식품에서 발견되는 경우는 제외한다) 나. 컨베이어벨트 등 고무류 다. 이쑤시개(전분재질은 제외) 등 나무류 라. 동물의 뺏조각, 이빨 마. 돌, 모래 등 토사류
보고 대상 제외 이물	<ol style="list-style-type: none"> 1. 머리카락(동물의 털을 포함한다) 2. 비닐 3. 씨앗 등 풀씨류 및 줄기 4. 참치껍질·가시 또는 혈대(혈관) 5. 종이류 6. 실, 끈류(금속성 재질은 제외한다), 낚싯줄 7. 고압멸균 등의 가공과정을 거쳐 연화(軟化)된 동물의 뺏조각 또는 연골로서 위해 우려가 없는 것 8. 통조림이나 열장 제품에서 발견되는 원생물에 기생하는 기생충으로서 제조·가공과정에서 사멸되어 인체의 건강을 해칠 우려가 없는 것 9. 제조과정 또는 유통중에 원료성분의 변화 등으로 발생하여 침전·응고되거나 뭉쳐있는 형태의 이물로서 인체 건강을 해칠 우려가 없는 것 10. 식품등의 제조·가공 과정에서 발생한 탄화물

[출처: 식품위생법 시행규칙 제60조(이물보고의 대상) 제1항, 보고 대상 이물의 범위와 조사 절차 등에 관한 규정]

<그림 2 이물신고 절차>



- 생산된 제품에서 이물 혼입 또는 검출이 발생하지 아니하도록 원료 입고에서부터 제품 생산까지의 전 공정에 대해 자사의 이물관리계획을 수립하고 이물 준수할 수 있도록 관리하여야 한다.
 - 각 공정의 특성 및 이물발생가능 요인을 파악하여 그에 따른 방지대책을 수립
 - 이물검출기, x-ray 등 이물제어설비를 구비하여 생산공정 또는 제품 내에서

발생할 수 있는 이물 방지

- 이물혼입 원인을 제거(개선)하고 유사사례 재발 방지 및 이물발생 최소화를 위한 시정 및 예방조치계획을 수립하고 이행하여야 한다.

□ 소비자클레임 처리 및 기록관리

○ 소비자클레임 기록 및 관리

- 소비자로부터 이물 검출 등 불만사례 등을 신고 받은 경우 소비자가 제시한 이물 등의 증거품을 보관하여 자사의 클레임 처리절차에 따라 처리하여야 한다. 다만, 절차가 수립되어 있지 않은 경우에는 불만사례 등을 기록하여 관련서류를 보관하여야 한다.
 - 소비자가 제시한 이물과 증거품(사진, 해당 식품 등)은 6개월간 보관
 - ※ 부패·변질의 우려가 있는 이물이나 증거물은 2개월간 보관
 - 클레임 처리절차가 수립되어 있지 않은 경우 불만사례 등을 기록하여 2년간 보관
- 소비자클레임 처리 후 해당제품은 회수 및 폐기조치하여야 한다.

[첨부 2]

[부록 6]

[부록]

식품위생법 개정에 따른 주류제조업체 의무 법규

붙임 1. 시설기준

붙임 2. 표시기준

붙임 3. 영업자준수사항

붙임 4. 건강진단 의무

붙임 5. 자가품질검사 기준

붙임 6. 품목제조보고

식품위생법 시행령(개정 2012.11.17, 시행 2013.07.01, 대통령령 제24202호)의 개정된 내용은 식품제조·가공업 중 주세법 제6조에 따라 주류 제조면허를 받아 주류를 제조하는 경우 식품안전처장에게 등록하도록 하고(단, 기존 영업자는 등록된 것으로 같음.) 식품위생법상 영업자로 포함되어 식품위생법에 따른 법령을 준수하여야 합니다.

법규	내용	참고
시설기준 법 제36조 및 규칙 제36조, 별표 14	- 식품제조 영업자에게 요구하는 시설 기준 - (건물의 위치, 작업장의 요건, 식품취급시설에 대한 요건) - 시행시기 : 2년 유예(2015년 7월 1일)	붙임 1. 시설기준
표시기준 법 제10조, 고시	- 표시대상, 표시사항, 표시방법에 대한 기준 - 시행시기 : 2014년 1월 1일부터	붙임 2. 표시기준
영업자준수사항 법 제36조 및 규칙 제36조, 별표 16	- 생산 및 작업기록 서류, 원료수불관계서류, 제품 거래기록 - 유통기한 경과제품 사용금지, 이물 접수 기록 및 증거품 보관 - 지하수 수질검사 의무	붙임 3. 영업자 준수사항
건강진단 법 제40조 및 규칙 제49조 식품위생 분야 종사자의 건강진단 규칙 별표 2	- 영업 종사 전 장티푸스, 폐결핵, 전염성 피부질환 검사 의무	붙임 4. 건강진단 의무
식품위생교육 법 제41조	- 영업 등록 전 8시간 교육, 등록 후 매년 3시간 교육	
이물보고 법 제46조 및 규칙 제60조	- 이물보고의 의무	
위해식품자진회수 법 제17조	- 자사제품의 위해사실을 확인한 경우 자진회수 의무	
자가품질검사 법 제31조 및 규칙 제31조, 별표 12	- 6개월 1회 항목별 검사 실시	붙임 5. 자가품질검사 기준
품목제조보고 법 제37조 제6항 및 규칙 제45조	- 새로운 품목 제조시 품목제조보고서 제출	붙임 6. 품목제조보고

붙임 1. 시설기준

식품위생법 시행규칙 [별표 14] 업종별시설기준

[별표 14] <개정 2013.3.23>

업종별시설기준(제36조 관련)

1. 식품제조·가공업의 시설기준

가. 식품의 제조시설과 원료 및 제품의 보관시설 등이 설비된 건축물(이하 "건물"이라 한다)의 위치 등

- 1) 건물의 위치는 축산폐수·화학물질, 그 밖에 오염물질의 발생시설로부터 식품에 나쁜 영향을 주지 아니하는 거리를 두어야 한다.
- 2) 건물의 구조는 제조하려는 식품의 특성에 따라 적절한 온도가 유지될 수 있고, 환기가 잘 될 수 있어야 한다.
- 3) 건물의 자재는 식품에 나쁜 영향을 주지 아니하고 식품을 오염시키지 아니하는 것이어야 한다.

나. 작업장

- 1) 작업장은 독립된 건물이거나 식품제조·가공 외의 용도로 사용되는 시설과 분리(별도의 방을 분리함에 있어 벽이나 층 등으로 구분하는 경우를 말한다. 이하 같다)되어야 한다.
- 2) 작업장은 원료처리실·제조가공실·포장실 및 그 밖에 식품의 제조·가공에 필요한 작업실을 말하며, 각각의 시설은 분리 또는 구획(칸막이·커튼 등으로 구분하는 경우를 말한다. 이하 같다)되어야 한다. 다만, 제조공정의 자동화 또는 시설·제품의 특수성으로 인하여 분리 또는 구획할 필요가 없다고 인정되는 경우로서 각각의 시설이 서로 구분(선·줄 등으로 구분하는 경우를 말한다. 이하 같다)될 수 있는 경우에는 그러하지 아니하다.
- 3) 작업장의 바닥·내벽 및 천장 등은 다음과 같은 구조로 설비되어야 한다.
 - 가) 바닥은 콘크리트 등으로 내수처리를 하여야 하며, 배수가 잘 되도록 하여야 한다.
 - 나) 내벽은 바닥으로부터 1.5미터까지 밝은 색의 내수성으로 설비하거나 세균방지용 페인트로 도색하여야 한다.
 - 다) 작업장의 내부 구조물, 벽, 바닥, 천장, 출입문, 창문 등은 내구성, 내부식성 등을 가지고, 세척·소독이 용이하여야 한다

- 4) 작업장 안에서 발생하는 악취·유해가스·매연·증기 등을 환기시키기에 충분한 환기시설을 갖추어야 한다.
- 5) 작업장은 외부의 오염물질이나 해충, 설치류, 빗물 등의 유입을 차단할 수 있는 구조이어야 한다.
- 6) 작업장은 폐기물·폐수 처리시설과 격리된 장소에 설치하여야 한다.

다. 식품취급시설 등

- 1) 식품을 제조·가공하는데 필요한 기계·기구류 등 식품취급시설은 식품의 특성에 따라 식품등의 기준 및 규격에서 정하고 있는 제조·가공기준에 적합한 것이어야 한다.
- 2) 식품취급시설 중 식품과 직접 접촉하는 부분은 위생적인 내수성재질[스테인레스·알루미늄·에프알피(FRP)·테프론 등 물을 흡수하지 아니하는 것을 말한다. 이하 같다]로서 씻기 쉬우며, 열탕·증기·살균제 등으로 소독·살균이 가능한 것이어야 한다.
- 3) 냉동·냉장시설 및 가열처리시설에는 온도계 또는 온도를 측정할 수 있는 계기를 설치하여야 한다.

라. 급수시설

- 1) 수돗물이나 「먹는물관리법」 제5조에 따른 먹는 물의 수질기준에 적합한 지하수 등을 공급할 수 있는 시설을 갖추어야 한다.
- 2) 지하수 등을 사용하는 경우 취수원은 화장실·폐기물처리시설·동물사육장, 그 밖에 지하수가 오염될 우려가 있는 장소로부터 20미터 이상 떨어진 곳에 위치하여야 한다.
- 3) 먹기에 적합하지 않은 용수는 교차 또는 합류되지 않아야 한다.

마. 화장실

- 1) 작업장에 영향을 미치지 아니하는 곳에 정화조를 갖춘 수세식화장실을 설치하여야 한다. 다만, 인근에 사용하기 편리한 화장실이 있는 경우에는 화장실을 따로 설치하지 아니할 수 있다.
- 2) 화장실은 콘크리트 등으로 내수처리를 하여야 하고, 바닥과 내벽(바닥으로부터 1.5미터까지)에는 타일을 붙이거나 방수페인트로 색칠하여야 한다.

바. 창고 등의 시설

1) 원료와 제품을 위생적으로 보관·관리할 수 있는 창고를 갖추어야 한다.
다만, 창고에 갈음할 수 있는 냉동·냉장시설을 따로 갖춘 업소에서는 이를 설치하지 아니할 수 있다.

2) 창고의 바닥에는 양탄자를 설치하여서는 아니 된다.

사. 검사실

1) 식품등의 기준 및 규격을 검사할 수 있는 검사실을 갖추어야 한다. 다만, 다음 각 호의 어느 하나에 해당하는 경우에는 이를 갖추지 아니할 수 있다.

가) 법 제31조제2항에 따라 식품위생검사기관 등에 위탁하여 자가품질검사를 하려는 경우

나) 같은 영업자가 다른 장소에 영업신고한 같은 업종의 영업소에 검사실을 갖추고 그 검사실에서 법 제31조제1항에 따른 자가품질검사를 하려는 경우

다) 같은 영업자가 설립한 식품 관련 연구·검사기관에서 자사 제품에 대하여 법 제31조제1항에 따른 자가품질검사를 하려는 경우

라) 「독점규제 및 공정거래에 관한 법률」 제2조제2호에 따른 기업집단에 속하는 식품관련 연구·검사기관 또는 같은 조 제3호에 따른 계열회사가 영업신고한 같은 업종의 영업소의 검사실에서 법 제31조제1항에 따른 자가품질검사를 하려는 경우

2) 검사실을 갖추는 경우에는 자가품질검사에 필요한 기계·기구 및 시약류를 갖추어야 한다.

아. 운반시설

식품을 운반하기 위한 차량, 운반도구 및 용기를 갖춘 경우 식품과 직접 접촉하는 부분의 재질은 인체에 무해하며 내수성·내부식성을 갖추어야 한다.

자. 시설기준 적용의 특례

1) 선박에서 수산물을 제조·가공하는 경우에는 다음의 시설만 설비할 수 있다.

가) 작업장

작업장에서 발생하는 악취·유해가스·매연·증기 등을 환기시키는 시설을 갖추어야 한다.

나) 창고 등의 시설 등

냉동·냉장시설을 갖추어야 한다.

다) 화장실

수세식 화장실을 두어야 한다.

- 2) 식품제조·가공업자가 제조·가공시설 등이 부족한 경우에는 식품제조·가공업의 영업신고를 한 자에게 위탁하여 식품을 제조·가공할 수 있다.
- 3) 하나의 업소가 둘 이상의 업종의 영업을 할 경우 또는 둘 이상의 식품을 제조·가공하고자 할 경우로서 각각의 제품이 전부 또는 일부의 동일한 공정을 거쳐 생산되는 경우에는 그 공정에 사용되는 시설 및 작업장을 함께 쓸 수 있다. 이 경우 「축산물가공처리법」 제22조에 따라 축산물가공처리업의 허가를 받은 업소, 「먹는물관리법」 제21조에 따라 먹는샘물제조업의 허가를 받은 업소, 「주세법」 제6조에 따라 주류제조업의 면허를 받아 주류를 제조하는 업소 및 「건강기능식품에 관한 법률」 제5조에 따라 건강기능식품제조업의 허가를 받은 업소 및 「양곡관리법」 제19조에 따라 양곡가공업 등록을 한 업소의 시설 및 작업장도 또한 같다.
- 4) 「농어촌발전 특별조치법」 제2조제2호에 따른 농업인등, 「농업·농촌 및 식품산업 기본법」 제3조제4호에 따른 생산자단체 또는 「수산물품질관리법」 제2조제16호에 따른 생산자단체가 국내산 농산물과 수산물을 주된 원료로 식품을 직접 제조·가공하는 영업에 대하여는 시장·군수·구청장은 그 시설기준을 따로 정할 수 있다.
- 5) 의약품제조업과 식품제조·가공업을 함께 허가받거나 신고한 영업자는 식품의약품안전처장이 의약품제조시설에 대하여 의약품이 식품에 전이될 우려가 없어 식품의 제조·가공시설로 적합하다고 인정하여 지정·고시하는 경우에는 해당 시설을 식품제조·가공시설로 이용할 수 있다.

붙임 2. 표시기준

식품등의 표시기준(식품의약품안전처 고시 제2013-132호)

제1조(목적) 이 고시는 식품위생법 제10조의 규정에 따라 식품, 식품첨가물, 기구 또는 용기·포장(이하 “식품등”이라 한다)의 표시기준에 관한 사항 및 같은 법 제11조제1항의 규정에 따른 영양성분 표시대상 식품에 대한 영양표시에 관한 필요한 사항을 규정함으로써 식품등의 위생적인 취급을 도모하고 소비자에게 정확한 정보를 제공하며 공정한 거래의 확보를 목적으로 한다.

제2조(정의) 이 고시에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

1. “제품명”이라 함은 개개의 제품을 나타내는 고유의 명칭을 말한다.
2. “식품의 유형”이라 함은 식품위생법(이하 “법”이라 한다) 제7조의 규정에 의한 식품등의 기준 및 규격의 최소분류단위를 말한다.
3. “제조연월일”이라 함은 포장을 제외한 더 이상의 제조나 가공이 필요하지 아니한 시점(포장후 멸균 및 살균 등과 같이 별도의 제조공정을 거치는 제품은 최종공정을 마친 시점)을 말한다. 다만, 캡셀제품은 충전·성형완료시점으로, 소분판매하는 제품은 소분용 원료제품의 제조연월일로, 원료제품의 저장성이 변하지 않는 단순 가공처리만을 하는 제품은 원료제품의 포장시점으로 한다.
4. “유통기한”이라 함은 제품의 제조일로부터 소비자에게 판매가 허용되는 기한을 말한다.
- 4의2. “품질유지기한”이라 함은 식품의 특성에 맞는 적절한 보존 방법이나 기준에 따라 보관할 경우 해당식품 고유의 품질이 유지될 수 있는 기한을 말한다.
5. “원재료”는 식품 또는 식품첨가물의 제조·가공 또는 조리

사용되는 물질로서 최종 제품내에 들어있는 것을 말한다.

6. “성분”이라 함은 제품에 따로 첨가한 영양소 또는 비영양소이거나 원재료를 구성하는 단일물질로서 최종제품에 함유되어 있는 것을 말한다.

7. “영양소”라 함은 식품에 함유된 성분으로서 에너지를 공급하거나 신체의 성장, 발달, 유지에 필요한 것 또는 결핍시 특별한 생화학적, 생리적 변화가 일어나게 하는 것을 말한다.

7의2. “당류”라 함은 식품내에 존재하는 모든 단당류와 이당류의 합을 말한다.

7의3. “트랜스지방”이라 함은 트랜스구조를 1개 이상 가지고 있는 비공액형의 모든 불포화지방을 말한다.

8. “1회 제공량”은 4세 이상 소비계층이 통상적으로 1회 섭취하기에 적당한 양으로서 1회 제공기준량에 따라 산출한 양을 말한다. 이 경우 1회 제공기준량은 『별지 3』과 같다.

9. “영양성분표시”라 함은 제품의 일정량에 함유된 영양소의 함량을 표시하는 것을 말한다.

10. “영양강조표시”라 함은 제품에 함유된 영양소의 함유사실 또는 함유정도를 “무”, “저”, “고”, “강화”, “첨가”, “감소”등의 특정한 용어를 사용하여 표시하는 것으로서 다음의 것을 말한다.

가. “영양소 함량강조표시” : 영양소의 함유사실 또는 함유정도를 “무○○”, “저○○”, “고○○”, “○○함유”등과 같은 표현으로 그 영양소의 함량을 강조하여 표시하는 것을 말한다.

나. “영양소 비교강조표시” : 영양소의 함유사실 또는 함유정도를 “덜”, “더”, “강화”, “첨가”등과 같은 표현으로 같은 유형의 제품과 비교하여 표시하는 것을 말한다.

11. “영양소 기준치”라 함은 소비자가 하루의 식사중 해당식품이

차지하는 영양적 가치를 보다 잘 이해하고, 식품간의 영양소를 쉽게 비교할 수 있도록 식품표시에서 사용하는 영양소의 평균적인 1일 섭취 기준량을 말한다.

12. “주표시면”이라 함은 용기.포장의 표시면중 상표, 로고 등이 인쇄되어 있어 소비자가 식품 또는 식품첨가물을 구매할 때 통상적으로 소비자에게 보여지는 면을 말한다.
13. “주원료”라 함은 법 제7조의 규정에 의한 식품의 기준 및 규격에서 정한 성분배합기준이상의 원재료 또는 각각의 식품의 주용도, 제품의 특성 등을 고려하여 다른 식품과 구별, 특징있게 하기 위하여 사용되는 원료를 말한다.
14. “복합원재료”라 함은 2종류 이상의 원재료 또는 성분으로 제조.가공한 식품으로써 다른 식품의 원료로 사용되는 것을 말한다.

제3조(표시대상) 표시대상 식품등은 다음과 같다.

1. 식품 또는 식품첨가물

가. 식품위생법시행령(이하 “영”이라 한다) 제21조제1호의 규정에 의한 식품제조.가공업 및 동조제2호의 규정에 의한 즉석판매제조.가공업의 신고를 하여 제조.가공하는 식품. 다만, 식용얼음의 경우에는 5킬로그램이하의 포장 제품에 한한다.

나. 영 제21조제3호의 규정에 의한 식품첨가물제조업의 허가를 받아 제조.가공하는 식품첨가물

다. 영 제21조제5호가목의 규정에 의한 식품소분업으로 신고를 하여 소분하는 식품 또는 식품첨가물

라. 방사선으로 조사처리한 식품

마. 수입식품 또는 수입식품첨가물

바. 유기가공식품

사. 자연상태의 식품 중 다음에 해당하는 식품. 다만 식품의 보존을 위하여 비닐랩(Wrap) 등으로 포장(진공포장 제외)하여 관능으로 내용물을 확인할 수 있도록 투명하게 포장한 것은 제외한다.

1) 가목부터 바목까지 해당하는 식품 외의 용기.포장에 넣어진 식품

2) 수입 농.임.축.수산물로서 용기.포장에 넣어진 식품

2. 기구 또는 용기.포장(수입제품을 포함한다)

가. 법 제9조제1항 및 제2항의 규정에 의하여 기준 및 규격이 정하여진 기구 또는 용기.포장

나. 용기류

제4조(표시사항) 식품등의 표시사항은 다음과 같다.

1. 제품명(기구 또는 용기.포장은 제외한다)
2. 식품의 유형 (따로 정하는 제품에 한한다)
3. <삭 제 99. 2. 18>
4. 업소명 및 소재지
5. 제조연월일(따로 정하는 제품에 한한다)
6. 유통기한 또는 품질유지기한(식품첨가물과 기구 또는 용기.포장은 제외한다)
7. 내용량(내용량에 해당하는 열량) : 내용량은 기구 또는 용기.포장 제품을 제외하며, 내용량에 해당하는 열량은 영양성분 대상 식품에 한하여 표시한다.
8. 원재료명(기구 또는 용기.포장은 재질로 표시한다) 및 함량(원 재료를 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하는 경우에 한한다)

9. 성분명 및 함량(성분표시를 하고자 하는 식품 및 성분명을 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하는 경우에 한한다)
10. 영양성분 (따로 정하는 제품에 한한다)
11. 기타 식품등의 세부표시기준에서 정하는 사항

제5조(표시방법) 식품등(수입되는 식품등을 포함한다. 이하 같다)의 표시방법은 다음과 같다.

1. 소비자에게 판매하는 제품의 최소 판매단위별 용기.포장에는 제4조에 따른 표시사항을 표시하여야 한다. 다만, 포장된 과자류 중 캔디류.추잉껌, 초콜릿류 및 잼류는 최소판매 단위 제품의 주표시면 면적이 30cm² 이하이고 여러 개의 최소판매 단위 제품이 하나의 용기.포장으로 진열.판매할 수 있도록 포장된 경우에는 그 용기.포장에 대신 표시 할 수 있다.
- 1의2. 최소 판매단위 포장 안에 내용물을 2개 이상으로 나누어 개별포장(이하 “내포장”이라 한다)한 제품의 경우에는 소비자에게 올바른 정보를 제공할 수 있도록 내포장별로 제품명, 내용량 및 내용량에 해당하는 열량, 유통기한 또는 품질유지기한, 영양성분을 표시할 수 있다.
2. 표시는 지워지지 아니하는 잉크.각인 또는 소인 등을 사용하여 한글로 하여야 하나 소비자의 이해를 돕기 위하여 한자나 외국어는 혼용하거나 병기하여 표시할 수 있으며, 이 경우 한자나 외국어는 한글표시 활자와 같거나 작은 크기의 활자로 표시하여야 한다. 다만, 수입되는 식품등과 상표법에 의하여 등록된 상표는 한자나 외국어를 한글표시활자보다 크게 표시 할 수 있다.
3. 표시사항을 표시함에 있어 소비자가 쉽게 알아볼 수 있도록 눈에 띄게 바탕색과 구별되는 색상으로 주표시면, 일괄표시면

(소비자가 쉽게 알아 볼 수 있도록 모아서 표시하는 면을 말한다) 및 기타표시면(주표시면과 일괄표시면 등을 포함한 모든 표시면을 말한다)으로 구분하여 다음 각 목과 같이 표시하여야 한다. 다만, 회수하여 재사용하는 병마개 제품의 경우에는 그러하지 아니하다.

가. 표시장소별 표시사항 및 활자크기

표시장소	표시사항	활자크기 (포인트)
1) 주표시면	가) 제품명	6 이상
	나) 내용량(내용량에 해당하는 열량)	12 이상
2) 일괄표시면	가) 식품의 유형	8 이상
	나) 제조연월일	10 이상
	다) 유통기한, 품질유지기한	10 이상
	라) 원재료명 및 함량	7 이상
	마) 성분명 및 함량	7 이상
3) 기타 표시면	가) 업소명 및 소재지	8 이상
	나) 영양성분	8 이상
	다) 주의사항 표시	10 이상
	라) 기타사항 표시	6 이상

나. 가목 2)의 표시사항 중 식품의 유형, 제조연월일, 유통기한 및 품질유지기한은 주표시면에 표시할 수 있다.

다. 포장면적이 200cm² 이하인 제품의 경우 원재료명은 5포인트 이상, 영양성분은 6포인트 이상, 주의사항은 8포인트 이상의 활자크기로 표시할 수 있다.

라. 제5조제1의2호에 해당하는 내포장한 제품의 표시사항 및 활자크기는 가목의 규정을 따르지 아니할 수 있다.

4. 용기나 포장은 다른 제조업소의 표시가 있는 것을 사용하여서는 아니 된다. 다만, 식품에 유해한 영향을 미치지 아니하는 용기로서 일반시중에 유통 판매할 목적이 아닌 다른 회사의 제품

원료로 제공할 목적으로 사용하는 경우와 「자원의 절약과 재활용촉진에 관한 법률」에 따라 재사용되는 유리병(같은 식품유형 또는 유사한 품목으로 사용한 것에 한한다)의 경우에는 그러하지 아니할 수 있다.

5. 시각장애인을 위하여 제품명, 유통기한 등의 표시사항을 알기 쉬운 장소에 점자로 표시할 수 있다. 이 경우 점자표시는 스티커 등을 이용할 수 있다.

6. 주문자상표부착방식 위탁생산(OEM, Original Equipment Manufacturing) 식품 및 식품첨가물(유통전문판매업소가 표시된 제품은 제외한다)은 주표시면 제품명 주위에 「대외무역법」에 따른 원산지 표시의 국가명 옆에 괄호로 위탁생산제품임을 다음과 같이 표시하여야 한다. 이 경우 활자크기는 제품명 활자크기 1/2이상 또는 주표시면 면적별 활자크기로 한다.

“원산지 : ○○ (위탁생산제품)”, “○○ 산 (위탁생산제품)”,
 “원산지:○○(위탁생산)”, “○○ 산(위탁생산)”, “원산지:○○ (OEM)” 또는 “○○ 산(OEM)”

주표시면 면적	활자크기 (포인트)
35㎠ 미만	12 이상
35㎠ 이상 100㎠ 미만	16 이상
100㎠ 이상 200㎠ 미만	24 이상
200㎠ 이상 450㎠미만	30 이상
450㎠ 이상	36 이상

제6조(소비자 안전을 위한 주의사항 표시) 제3조의 규정에 따른 표시대상이 되는 식품등을 제조·가공·수입·소분·판매하는 영업자는 다음 각 호에 해당하는 식품등에 소비자의 안전을 위한 주의 사

항을 표시하여야 한다.

1. 식품

가. 육류 등 냉동식품에 대하여는 “이미 냉동된 바 있으니 해동 후 재 냉동시키지 마시길 바랍니다” 등의 표시 다만, 제조업체가 냉동식품인 빵류 및 젓갈류를 해동하여 출고할 때에는 “이 제품은 냉동식품을 해동한 제품이니 재냉동시키지 마시길 바랍니다” 등의 표시

나. 과일.채소류음료, 우유류 등 개봉 후 부패.변질될 우려가 높은 식품에 대하여는 “개봉 후 냉장보관하거나 빨리 드시기 바랍니다” 등의 표시

다. 개봉시 상해 우려가 있는 “원터치캔” 통조림 제품에 대하여는 “개봉시 캔 절단부분에 손이 닿지 않도록 주의하십시오” 등의 표시

라. 음주전후, 숙취해소 등의 표시를 하는 제품에 대하여는 “과다한 음주는 건강을 해칩니다” 등의 표시

마. 아스파탐을 첨가 사용한 제품에 대하여는 “페닐알라닌 함유”라는 내용의 표시

바. “선천성대사이상환자용”으로 수입하는 식품에 대하여는 “선천성대사이상환자용식품”과 “의사의 지시에 따라 사용하여야 합니다” 등의 표시

사. 특수용도식품 중 “특수의료용도등식품”에 대하여는 “의사의 지시에 따라 사용하여야 합니다” 등의 표시

아. 당알코올류를 주원료로 한 제품에 대하여는 해당 당알코올의 종류 및 함량을 표시하여야 하고, “과량섭취시 설사를 일으킬 수 있습니다” 등의 표시

자. 한입크기로서 작은 용기에 담겨져 있는 젤리제품(소위 미니

컵젤리 제품)에 대하여는 잘못 섭취에 따른 질식을 방지하기 위한 경고문구 표시

(예시) “열려서 드시지 마십시오. 한번에 드실 경우 질식의 위험이 있으니 잘 씹어 드십시오. 5세 이하 어린이 및 노약자는 섭취를 금하여 주십시오” 등의 표시

차. 알레르기 유발 성분을 사용하는 제품과 그렇지 않은 제품과 같은 제조 시설 등을 통하여 생산하게 될 경우 불가피하게 혼입 가능성이 있다는 내용의 표시. 다만, 혼입의 가능성이 전혀 없는 경우에는 그러하지 아니하다.

(예시) “이 제품은 메밀을 사용한 제품과 같은 제조 시설에서 제조하고 있습니다” 등의 표시

카. 식품의 품질관리를 위하여 별도 포장하여 넣은 선도유지제에는 “습기방지제(방습제)”, “습기제거제(제습제)” 등 소비자가 그 용도를 쉽게 알 수 있도록 표시하고 “먹어서는 아니 된다”는 등의 주의문구도 함께 표시

타. 해당 식품에 대한 불만이나 소비자의 피해가 있는 경우 신속하게 신고하도록 하기 위해 식품의 용기.포장에 “부정.불량식품 신고는 국번없이 1399”의 표시를 하여야 한다.

파. 카페인 함량을 mL 당 0.15 mg 이상 함유한 액체식품은 “어린이, 임산부, 카페인 민감자는 섭취에 주의하여 주시기 바랍니다.” 등의 문구를 표시하여야 한다.

2. 식품첨가물

가. 수산화암모늄, 초산, 빙초산, 염산, 황산, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 차아염소산나트륨, 표백분 등 식품첨가물에는 “어린이 등의 손에 닿지 않는 곳에 보관하십시오”, “직접 섭취하거나 음용하지 마십시오”, “눈.피부에 닿거나 마실 경우 인체에

치명적인 손상을 입힐 수 있습니다” 등의 취급상 주의문구 표시

3. 기구 또는 용기.포장

가. 식품포장용 랩을 식품포장용으로 사용할 때에는 100℃를 초과하지 않은 상태에서만 사용하도록 표시

나. 식품포장용 랩은 지방성분이 많은 식품에는 직접 접촉되지 않게 사용하도록 표시

다. 폴리스티렌, 멜라민수지, 페놀수지 및 요소수지 재질의 기구 및 용기.포장은 식품가열.조리시 전자레인지에 넣어 사용하지 않도록 표시

라. 유리제 가열조리용 기구에는 “표시된 사용 용도 외에는 사용하지 마십시오” 등을 표시하고 가열조리용이 아닌 유리제 기구에는 “가열조리용으로 사용하지 마십시오” 등을 표시

제7조(소비자가 오인.혼동하는 표시 금지) 제3조의 규정에 따른 표시대상이 되는 식품등을 제조.가공.수입.소분.판매하는 영업자는 식품의 용기.포장 등에 다음 각 호의 소비자가 오인.혼동하는 표시를 하여서는 아니 된다.

1. 식품첨가물공전으로 해당 식품에 사용하지 못하도록 한 합성보존료, 색소 등의 식품첨가물에 대하여 사용을 하지 않았다는 표시

(예시) 면류, 김치 및 두부제품에 “무보존료” 등의 표시

2. 영양소의 함량을 낮추거나 제거하는 제조.가공의 과정을 하지 아니한 원래의 식품에 해당 영양소 함량이 전혀 들어 있지 않은 경우 그 영양소에 대한 강조표시

3. 합성착향료만을 사용하여 원재료의 향 또는 맛을 내는 경우

그 향 또는 맛을 뜻하는 그림, 사진 등의 표시

제8조(표시사항의 적용특례) 다음 각호의 식품에 대하여는 그 식품의 특성을 고려하여 제4조 및 제5조의 규정에 불구하고 다음과 같이 표시할 수 있다.

1. 즉석판매제조·가공업의 영업자가 「식품위생법 시행규칙」 별표 15에 따른 즉석판매제조·가공대상식품을 판매하는 경우로서 표시사항을 진열상자에 표시하거나 별도의 표지판에 기재하여 게시하는 때에는 개개의 제품별 표시를 생략할 수 있다.
2. 다음 각 목에 해당하는 경우에는 스티커, 라벨(Label) 또는 꼬리표(Tag)를 사용할 수 있으나 떨어지지 아니하게 부착하여야 한다.
 - 가. 제품포장의 특성상 잉크·각인 또는 소인 등으로 표시하기가 불가능한 경우
 - 나. 통·병조림 및 병제품 등의 경우
 - 다. 소비자에게 직접 판매되지 아니하고 식품제조·가공업소 및 식품첨가물제조업소에 제품의 원료로 사용될 목적으로 공급되는 원료용 제품의 경우
 - 라. 허가(신고)권자가 변경신고 수리한 업소명 및 소재지를 표시하는 경우
 - 마. 제조연월일, 유통기한 또는 품질유지기한을 제외한 식품의 안전과 관련이 없는 경미한 표시사항으로 관할 허가 또는 신고관청에서 승인한 경우
 - 바. 제조업체가 냉동식품인 빵류 및 젓갈류를 해동하여 제조연월일, 해동연월일, 냉동식품으로서의 유통기한 또는 품질유지기한 이내로 설정한 해동 후 유통기한 또는 품질유지기한(젓

갈류에 한한다), 해동 후 보관방법 및 주의사항을 표시하는 경우

사. 별지 4에 따른 방사선조사 관련 문구를 표시하고자 하는 경우

아. 식품제조·가공업소에서 제조·가공하여 식품접객업소 또는 집단급식소에만 납품 판매되는 제품으로써 “식품접객업소용” 또는 “집단급식소용”으로 표시한 경우에는 제4조에서 정하는 표시사항 중 원재료명, 성분명 및 함량의 표시

3. 제3조제1호사목에 해당하는 식품은 제품명(내용물의 명칭 또는 품목), 업소명(생산자 또는 생산자단체명), 제조연월일(포장일 또는 생산연도), 내용량, 보관방법 또는 취급방법만을 표시할 수 있다.

4. 절임식품(단무지에 한한다), 두부류 또는 묵류를 운반용 위생상자를 사용하여 판매하는 경우에는 그 운반용 위생상자에 업소명 및 소재지만을 표시할 수 있다.

5. 영양성분 표시를 생략할 수 있는 식품은 「식품위생법 시행규칙」(이하 “시행규칙”이라 한다) 제6조제2항의 규정을 따른다.

6. 수출식품에 대하여는 수입자의 요구에 따라 표시할 수 있다.

7. 수입식품 등에 대한 표시방법

가. 수출국에서 유통되고 있는 식품 등의 경우에는 수출국에서 표시한 표시사항이 있어야 하고, 한글이 인쇄된 스티커를 사용할 수 있으나 떨어지지 아니하게 부착하여야 하며, 원래의 용기·포장에 표시된 제품명, 원재료명, 유통기한 등 일자표시에 관한 사항 등 주요 표시사항을 가려서는 아니 된다. 다만, 한글로 표시된 용기·포장으로 포장하여 수입되는 식품등의

- 경우에는 표시사항을 스티커로 부착하여서는 아니 된다.
- 나. 수출국 및 제조회사의 표시는 한글표시 스티커에 당해 제품수출국의 언어로 표시할 수 있다.
- 다. 주표시면에 표시하여야 하는 표시사항을 주표시면에 표시할 수 없는 경우에는 일괄표시면에 12포인트이상의 활자로 표시하여야 한다.
- 라. 자사의 제품을 제조·가공에 사용하기 위한 식품 및 식품첨가물의 경우에는 제품명, 제조업소명과 제조연월일·유통기한 또는 품질유지기한만을 표시할 수 있고, 그 식품등에 영어 또는 수출국의 언어 등으로 표시된 경우 한글표시를 생략할 수 있다.
- 마. 수입되는 식품등 중 다음에 해당하는 것은 한글표시를 생략할 수 있다.
- 1) 용기·포장에 넣어지지 아니한 자연상태의 농·임·축·수산물
 - 2) 「대외무역법 시행령」 제26조의 규정에 의하여 외화획득용으로 수입하는 식품 등. 다만, 같은 법 시행령 제26조제1항제3호의 규정에 따라 관광사업용으로 수입되는 식품등은 제외한다.
8. 식품제조·가공업자가 최종소비자에게 판매되지 아니하는 식품을 「가맹사업거래의 공정화에 관한 법률」에 의한 가맹점에 제조·가공, 조리를 목적으로 공급하는 경우에는 제품명, 제조일자 또는 유통기한, 보관방법 또는 취급방법, 업소명 및 소재지만을 표시할 수 있다.

제9조(식품등의 세부표시기준 등) 식품등의 세부표시기준 등은 다음 각호와 같다.

1. 제4조 표시사항에 따른 식품등의 세부표시기준 : 『별지 1』
2. 제3조제1호 라목에 따른 방사선 조사식품의 세부표시기준 : 『별지 4』
3. 제3조제1호 바목에 따른 유기가공식품의 세부표시기준 : 『별지 5』

제10조(중량등의 허용오차) 제4조제7호의 규정에 의하여 중량 또는 용량을 표시함에 있어 그 용기·포장에 표시된 양과 실제량과의 부족량의 허용오차는『별지 2』와 같다.

제11조(재검토기한)「훈령·예규 등의 발령 및 관리에 관한 규정」(대통령훈령 제248호)에 따라 이 고시 발령 후의 법령이나 현실여건의 변화 등을 검토하여 이 고시의 폐지, 개정 등의 조치를 하여야 하는 기한은 2015년 12월 31일까지로 한다.

『별지1』

식품등의 세부표시기준(제9조 관련)

1. 식품등의 일반기준

가. 식품(수입식품을 포함한다)

1) 제품명

가) 제품명은 그 제품의 고유명칭으로서 허가관청(수입식품의 경우 신고관청)에 신고 또는 보고하는 명칭으로 표시하여야 한다.

나) 제품명에 상호.로고 또는 상표 등의 표현을 함께 사용할 수 있다.

다) 원재료명 또는 성분명을 제품명 또는 제품명의 일부로 사용할 수 있는 경우는 다음과 같다.

(1) 식품의 제조·가공시에 사용한 원재료명이나 성분명을 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하고자 하는 경우와 2가지 이상의 원재료명칭을 서로 합성하여 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하고자 하는 경우에는 해당 원재료명 또는 성분명과 그 함량을 주표시면에 12포인트 이상의 활자로 표시하여야 한다. 다만, 제품명의 활자크기가 22포인트 미만인 경우에는 7포인트 이상의 활자로 표시하여야 한다.

(2) 과실·채소·생선·해물·식육 등 여러 원재료를 통칭하는 명칭을 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하고자 할 때에는 2가지 이상(예 : 과일의 경우 사과·배·포도 등)의 원재료 합계량이 생물을 기준으로 하여 15퍼센트(%) 이상이어야 한다. 이 경우 2가지 이상의 원재료명과 그 함량을 원재료명 표시란에 표시하여야 한다.

(3) “맛” 또는 “향”을 내기 위하여 사용한 합성착향료를 제품명 또는 제품명의 일부로 사용하고자 하는 때에는 원재료명 또는 성분명 다음에 “향” 자를 사용하되, 그 활자크기는 제품명과 같거나 크게 표시하고, 제품명 주위에 “합성OO향 첨가(함유)” 또는 “합성착향료 첨가(함유)” 등의 표시를 하여야 한다.

(예시) 딸기향캔디

(합성딸기향 첨가)

(4) 오곡밥, 수정과, 식혜 등과 같은 식품으로서 동 제품에 전래적으로 사용된 원료가 적정량 함유되어 통상 고유명칭으로 사용되고 있는 성분 또는 전통적인 식생활관습에 따라 제조되는 “김밥”중 “김”과 같은 성분은 제품명 또는 제품명의 일부로 표시할 수 있다.

라) 수입식품 중 제품명을 한글로 표시함에 있어 외국어의 제품명을 한글로 번역하여 표시할 수 있으며, 한글로 번역한 제품명은 기준에 적합하여야 한다. <후단삭제 2009. 5. 18>

마) 제품명에는 다음의 표현 등을 사용하여서는 아니 된다.

- (1) 소비자를 오도.혼동시키는 표현
- (2) 다른 유형의 식품과 오인.혼동할 수 있는 표현. 이 경우 「건강기능식품에 관한 법률」, 「축산물위생관리법」 등 다른 법률에서 정한 유형도 포함한다.
- (3) 시행규칙 제8조의 규정에 따른 허위.과대의 표시.광고에 해당하는 표현

2) 식품의 유형

가) 다음의 식품에 대하여는 식품의 유형을 표시하여야 한다. 다만, 식품의 유형을 제품명이나 제품명의 일부로 사용하였을 때에는 표시하지 아니할 수 있다.

- (1) 다류
- (2) 음료류(기타음료에 한한다)
- (3) 특수용도식품
- (4) <삭 제 2005. 3. 7>
- (5) 기타 식품류중 추출가공식품
- (6) 식품별 기준 및 규격 이외의 일반가공식품
- (7) 식품의 특성이나 유형과 관련이 없는 가상의 명칭을 제품명 또는 그 일부로 사용한 식품
- (8) 식품별 개별기준에 의하여 식품유형을 표시하도록 한 식품

나) 가) (6)의 규정에 의한 식품별 기준 및 규격 이외의 일반가공식품은 식품의 유형에 따라 곡류가공품, 두류가공품, 서류가공품, 전분가공품, 식

용유지가공품, 당류가공품, 수산물가공품, 기타가공품으로 표시하여야 하고, 법 제7조의 규정에 의한 식품별 기준 및 규격상의 식품군, 식품종, 식품유형의 명칭을 표시하여서는 아니 된다.

3) 업소명 및 소재지

가) 업종별 업소명 및 소재지의 표시사항은 다음과 같다.

(1) 식품등 제조·가공업 : 영업신고 시 신고관청에 제출한 업소명 및 소재지를 표시하여야 한다. 이 경우 업소의 소재지 대신 반품교환업무를 대표하는 소재지를 표시할 수 있다.

(2) 식품소분·판매업, 유통전문판매업 : 영업신고 시 신고관청에 제출한 업소명 및 소재지를 표시하고 해당 식품의 제조·가공업의 업소명(수입식품의 경우 식품등의 수입판매업소명) 및 소재지를 함께 표시하여야 한다. 이 경우 영업신고 시 신고관청에 제출한 업소의 소재지 대신 반품교환업무를 대표하는 소재지를 표시할 수 있다.

(3) 식품등의 수입판매업 : 영업신고시 신고관청에 제출한 업소명 및 소재지를 표시하되, 해당 수입식품의 제조업소명을 표시하여야 한다. 이 경우 제조업소명이 외국어로 표시되어 있는 경우에는 그 제조업소명을 한글로 따로 표시하지 아니할 수 있다.

나) 그 밖에 판매업소의 업소명 및 소재지를 표시하고자 하는 경우에는 가)의 규정에 의한 제조업소명의 표시활자와 크기가 같거나 작게 표시하여야 한다.

4) 제조연월일(이하 “제조일”로 표시할 수 있다)

가) 표시대상 식품

- (1) 즉석섭취식품중 도시락, 김밥, 햄버거, 샌드위치
- (2) 설탕
- (3) 식염
- (4) 병과류
- (5) 주류(다만, 유통기한 표시대상인 맥주, 탁주 및 약주는 제외한다)

나) 표시방법

- (1) 제조일은 “○○년○○월○○일”, “○○.○○.○○”, “○○○○년○○월○

○일” 또는 “○○○○.○○.○○”의 방법으로 주표시면 또는 일괄표시면에 표시하여야 한다.

- (2) 제조일을 주표시면 또는 일괄표시면에 표시하기가 곤란한 경우에는 해당위치에 제조일의 표시위치를 명시하여야 한다.
- (3) 수입되는 식품등에 표시된 수출국의 제조일의 “연월일”의 표시순서가 (1)의 기준과 다를 경우에는 소비자가 알아보기 쉽도록 “연월일”의 표시순서를 예시하여야 한다.

다) 표시대상 식품별 세부표시기준

- (1) 즉석섭취식품중 도시락, 김밥, 햄버거, 샌드위치 : 제조일과 제조시간을 함께 표시하여야 한다.
- (2) <삭제 2009. 5. 18>
- (3) 음료류(유산균음료 및 살균유산균음료는 제외한다) : 병마개에 표시하는 경우에는 제조 “연월” 만을 표시할 수 있다.
- (4) <삭제 2009. 5. 18>
- (5) 병과류 : 제조 “연월” 만을 표시할 수 있다.
- (6) 주류 : 제조번호 또는 병입연월일을 표시한 경우에는 제조일자를 생략할 수 있다.
- (7) 자연상태의 농·임·수산물 등 제조일자 표시대상 식품이 아닌 식품에 제조일자를 표시한 경우에는 표시된 제조일자를 지우거나 변경하여서는 아니 된다.

5) 유통기한 또는 품질유지기한

- 가) 표시대상 식품 : 제조·가공·소분·수입한 식품(자연상태의 농·임·수산물은 제외한다). 다만, 설탕, 병과류, 식용얼음, 과자류 중 껌류(소포장 제품에 한한다), 식염과 주류(맥주, 탁주 및 약주를 제외한다) 및 품질유지기한으로 표시하는 식품은 유통기한 표시를 생략할 수 있다.

나) 표시방법

- (1) 유통기한은 “○○년○○월○○일까지”, “○○.○○.○○까지”, “○○○○년○○월○○일까지” 또는 “○○○○.○○.○○까지”로 주표시면 또는 일괄표시면에 표시하여야 한다.

- (2) 유통기한을 주표시면 또는 일괄표시면에 표시하기가 곤란한 경우에는 해당위치에 유통기한의 표시위치를 명시하여야 한다.
- (3) 수입되는 식품등에 표시된 수출국의 유통기간의 “연월일”의 표시순서가 (1)의 기준과 다를 경우에는 소비자가 알아보기 쉽도록 “연월일”의 표시순서를 예시하여야 하며, “연월”만 표시되었을 경우에는 “연월일” 중 “일”의 표시는 제품의 표시된 해당 “월”의 1일로 표시하여야 한다.
- (4) 제조일을 사용하여 유통기한을 표시하는 경우에는 “제조일로부터 ○○일까지”, “제조일로부터 ○○월까지” 또는 “제조일로부터 ○○년까지”로 표시할 수 있다.

다) 세부표시기준

- (1) 즉석섭취식품중 도시락, 김밥, 햄버거, 샌드위치는 “○○월○○일○○시까지”, “○○일○○시까지” 또는 “○○.○○.○○ 00:00까지”로 표시하여야 한다.
- (2) 제품의 제조·가공과 포장과정이 자동화 설비로 일괄처리되어 제조시간까지 자동표시할 수 있는 경우에는 “○○월○○일○○시까지” 또는 “○○.○○.○○ 00:00까지”로 표시할 수 있다.

(3) 품질유지기한 대상식품 및 표시방법

(가) 품질유지기한 대상식품

- ㉠ 장기보관식품
- ㉡ 레토르트식품
- ㉢ 통조림식품
- ㉣ 식품유형에 따른 대상식품
 - ㉣① 짬류
 - ㉣② 당류(포도당, 과당, 엿류, 당시럽류, 덱스트린, 올리고당류에 한한다)
 - ㉣③ 다류 및 커피류(액상제품은 멸균에 한한다)
 - ㉣④ 음료류(멸균제품에 한한다)
 - ㉣⑤ 장류(메주를 제외한다)
 - ㉣⑥ 조미식품(식초와 멸균한 카레제품에 한한다)
 - ㉣⑦ 김치류, 젓갈류 및 절임식품

㉞ 조림식품(멸균에 한한다)

㉟ 주류(맥주에 한한다)

㊱ 기타식품류(전분, 벌꿀, 밀가루에 한한다)

(나) 품질유지기한은 “○○년○○월○○일”, “○○.○○.○○”, “○○○○년○○월○○일” 또는 “○○○○.○○.○○”로 표시하여야 하고, 그 밖의 표시사항은 나) (2)부터 (4)까지의 규정을 준용하여 표시하여야 한다.

(4) 유통기한 또는 품질유지기한의 표시는 사용 또는 보존에 특별한 조건이 필요한 경우 이를 함께 표시하여야 한다. 이 경우 냉동 또는 냉장보관·유통하여야 하는 제품은 『냉동보관』 또는 『냉장보관』으로 표시하여야 한다.

(5) 유통기한이나 품질유지기한이 서로 다른 각각의 여러 가지 제품을 함께 포장하였을 경우에는 그중 가장 짧은 유통기한 또는 품질유지기한을 표시하여야 한다. 다만 유통기한 또는 품질유지기한이 표시된 개별제품을 함께 포장한 경우에는 가장 짧은 유통기한만을 표시할 수 있다.

(6) 자연상태의 농·임·수산물 등 유통기한 표시대상 식품이 아닌 식품에 유통기한을 표시한 경우에는 표시된 유통기한이 경과된 제품을 수입·진열 또는 판매하여서는 아니 되며, 이를 변경하여서도 아니 된다.

6) 내용량

가) 내용물의 성상에 따라 중량·용량 또는 개수로 표시하여야 한다. 이 경우 내용물이 고체 또는 반고체일 경우 중량으로, 액체일 경우 용량으로, 고체와 액체의 혼합물(직접 음용하지 아니하는 액체를 포함한다)일 경우 중량 또는 용량으로 표시하고, 개수로 표시할 때에는 중량 또는 용량을 괄호 속에 표시하여야 한다.

나) 섭취전에 버리게 되는 액체(제품의 특성에 따라 자연적으로 발생하는 액체 제외)와 함께 포장되는 식품은 액체를 뺀 식품의 중량을 표시하여야 한다.

다) 정제형태로 제조된 제품의 경우에는 판매되는 한 용기·포장내의 정제수와 총중량을, 캡슐형태로 제조된 제품의 경우에는 캡슐수와 피포제 중량

을 제외한 내용량을 표시하여야 한다. 이 경우 피포제의 중량은 내용물을 포함한 캡슐 전체 중량의 50%미만이어야 한다.

라) 영양성분 표시대상식품에 대하여 내용량을 표시하는 경우에는 그 내용량에 괄호로 하여 해당하는 열량을 함께 표시하여야 한다.

(예시) 100 g(240 kcal)

7) 원재료명 및 함량

가) 식품에 대한 표시는 다음과 같이 하여야 한다.

- (1) 식품의 제조·가공시 사용한 모든 원재료명(최종제품에 남지 않는 정제수는 제외한다. 이하 같다)을 많이 사용한 순서에 따라 표시하여야 한다. 다만, 법 제7조에 따른 「식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전청 고시)에서 정한 주원료의 원료명을 우선 표기할 수 있으며, 중량비율로서 2% 미만인 경우에는 함량 순서에 따르지 아니하고 표시할 수 있다.
- (2) 복합원재료를 사용한 경우에는 그 복합원재료 명칭을 표시하고 괄호로 정제수를 제외하고 많이 사용한 5가지 이상의 원재료명 또는 성분명을 표시하여야 한다. 다만, 복합원재료에 포함된 식품첨가물이 해당 제품에 효과를 발휘하는 경우에는 그 첨가물의 명칭을 표시하여야 한다.

나) 식품첨가물에 대한 표시는 다음과 같이 하여야 한다.

- (1) [표 4]에 해당하는 용도로 식품을 제조·가공시에 직접 사용·첨가하는 식품첨가물은 그 명칭과 용도를 함께 표시하여야 한다. [예시 : 삭카린 나트륨(합성감미료) 등]
- (2) [표 5]에 해당하는 식품첨가물의 경우에는 「식품첨가물 기준 및 규격」에서 고시한 명칭이나 같은 표에서 규정한 간략명으로 표시하여야 한다.
- (3) [표 6]에 해당하는 식품첨가물의 경우에는 「식품첨가물 기준 및 규격」에서 고시한 명칭이나 같은 표에서 규정한 간략명 또는 주용도(중복된 사용 목적을 가질 경우에는 주요 목적을 주용도로 한다.)로 표시하여야 한다. 다만, [표 6]에서 규정한 주용도가 아닌 다른 용도로 사용한 경우에는 고시한 식품첨가물의 명칭 또는 간략명으로 표시하여야 한다.
- (4) 혼합제제류 식품첨가물은 혼합제제류의 구체적인 명칭을 표시하고

괄호로 혼합제제류를 구성하는 식품첨가물 등을 모두 표시하여야 한다.
이 경우 식품첨가물의 명칭표시 등은 (2)의 규정을 따를 수 있다. [예시 : 면류첨가알칼리제(탄산나트륨, 탄산칼륨)]

다) 다음에 해당하는 경우에는 가)와 나)의 규정에 불구하고 다음과 같이 표시할 수 있다.

(1) <삭제 2009. 5. 18>

(2) 복합원재료가 당해 제품의 원재료에서 차지하는 중량 비율이 5%미만에 해당하는 경우와 복합원재료를 구성하고 있는 복합원재료의 경우에는 그 복합원재료의 명칭 또는 해당 식품의 유형(가상의 제품명일 경우에 한한다)만을 표시할 수 있다.

(3) 식용유지는 “식용유지명” 또는 “동물성 유지, 식물성 유지(올리브유 제외)”로 표시할 수 있다. 다만 수소첨가로 경화한 식용유지에 대하여는 경화유 또는 부분경화유임을 표시하여야 한다.[예시 : 식물성유지(부분경화유) 또는 대두부분경화유 등]

(4) 전분은 “전분명(OOO전분)” 또는 “전분”으로 표시할 수 있다.

(5) 껌 베이스 제조에 사용되는 식품첨가물 중 에스테르검, 폴리부텐, 폴리이소부틸렌, 초산비닐수지, 글리세린지방산에스테르, 자당지방산에스테르, 소르비탄지방산에스테르, 탄산칼슘, 석유왁스, 천연검, 탭크, 트리아세틴은 “껌기초제” 또는 “껌베이스”로 표시할 수 있다.

(6) 총 중량비율이 10%미만인 당절임과일은 “당절임과일”로 표시할 수 있다.

(7) 식품공전 제1. 3. 식품원재료 분류 1), 2)〔(12)기타 제외〕에 해당하는 원재료 중 개별 원재료의 중량비율이 2%미만인 경우에는 분류명칭으로 표시할 수 있다.

(8) 당해 제품에 직접 사용하지 않았으나 식품의 원료에서 이행(carry-over)된 식품첨가물이 당해 제품에 효과를 발휘할 수 있는 양보다 적게 함유된 경우에는 그 식품첨가물의 명칭을 표시하지 아니할 수 있다

(9) 식품의 가공과정중 첨가되어 최종제품에 제거되는 식품첨가물의 경우에는 그 명칭을 표시하지 아니할 수 있다.

(10) 주표시면의 면적이 30cm² 이하인 것은 정제수를 제외한 5가지 이상의 원재료명만을 표시할 수 있다.

(11) 식품첨가물 중 천연착향료를 사용한 경우 “천연착향료” 또는 구체적인 명칭으로, 합성착향료를 사용한 경우 “합성착향료와 그 향의 명칭”으로 표시[예시 : 합성착향료(○○향)]할 수 있다.

라) 다)의 규정에 불구하고 한국인에게 알레르기를 유발하는 것으로 알려져 있는 난류(가금류에 한한다), 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토, **아황산류**를 함유하거나 이들 식품으로부터 추출 등의 방법으로 얻은 성분과 이들 식품 및 성분을 함유한 식품 또는 식품첨가물을 원료로 사용하였을 경우에는 함유된 양과 관계없이 원재료명을 표시하여야 한다. **다만, 아황산류의 경우 이를 첨가하여 최종제품에 SO₂로 10mg/kg 이상 함유한 경우에 한한다.** [예) 계란을 함유한 과자 : 계란, 계란을 원료로 하여 추출한 난황을 원료로하여 제조한 과자 : 난황(계란), 계란이나 난황을 원료로 하여 제조한 과자를 원료로 제조한 가공식품 : 계란·난황(계란), 식품첨가물 : 카제이나트륨(우유), 레시틴(대두) 등]

마) 1) 제품명의 규정에 의하여 원재료명 또는 성분명과 함량을 표시하여야 하는 경우에는 그 함량을 백분율로 표시하여야 한다.

바) 식품의 원재료로서 사용한 가용성 성분(또는 추출물)의 함량을 표시하는 때에는 제품중에 함유하는 각각의 원재료 고형분 함량(백분율)을 함께 표시하여야 한다.

8) 성분명 및 함량

제품에 직접 첨가하지 아니한 제품에 사용된 원재료중에 함유된 성분명을 표시하고자 할 때에는 그 명칭과 실제 그 제품에 함유된 함량을 중량 또는 용량으로 표시하여야 한다. 다만, 이러한 성분명을 영양소 강조표시에 준하여 표시하고자 하는 때에는 영양소 강조표시 관련 규정을 준용할 수 있다.

9) 영양성분등

10) 기타 표시사항

가) <삭 제 2008.10.08>

나) 식품소분업소에서 식품을 소분하여 재포장한 경우 및 즉석판매제조·가공업소에서 식품제조·가공업 영업자가 제조·가공한 식품을 최종 소비자에게 떨어져 판매하는 경우 해당 식품의 원래표시사항을 변경하여서는 아니된다.

다) 2) 나)의 규정에 의한 식품별 기준 및 규격이외의 일반가공식품의 식품유형을 표시하여야 하는 대상식품 중 유당·유처리식품은 “유당·유처리식품”으로 살균제품, 멸균제품은 “살균제품” 또는 “멸균제품”으로 각각 표시하여야 한다.

라) 제품에 사용되는 합성수지제의 용기 또는 포장지에는 포장재질을 다음과 같이 표시하여야 한다.

(1) 합성수지제의 재질에 따라 염화비닐수지, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리염화비닐리덴, 폴리에틸렌테레프탈레이트, 페놀수지 등으로 각각 구분하여 표시

(2) 「자원의 절약과 재활용 촉진에 관한 법률」에 따라 폴리에틸렌(PE), 폴리프로필렌(PP), 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET), 폴리스티렌(PS), 염화비닐수지(PVC)가 표시되어 있으면 별도 재질표시를 생략할 수 있다.

마) 이온수, 생명수, 약수 등의 용어를 사용하여서는 아니된다.

바) “천연”의 표시는 인공(조합)향·합성착색료·합성보존료 또는 어떠한 인공이나 수확후 첨가되는 합성성분이 제품내에 포함되어 있지 아니하고, 비식용부분의 제거나 최소한의 물리적 공정 이외의 공정을 거치지 아니한 식품 또는 법 제7조의 규정에 의한 식품첨가물의 기준 및 규격에 고시된 천연첨가물의 경우에는 표시가 가능하다.

사) “100%”의 표시는 표시대상 원재료를 제외하고는 어떠한 물질도 첨가하지 아니한 경우에 한하여 표시할 수 있다. 다만, 농축액을 희석하여 원상태로 환원하여 사용하는 제품의 경우에는 환원된 표시대상 원재료의 농도가 100%이상이면 제품내에 식품첨가물이 포함되어 있다 하더라도 100%의 표시를 할 수 있다.

아) 카페인을 인위적으로 첨가하였거나 카페인을 함유한 원재료를 사용하여

제조·가공한 액체식품은 카페인 함량이 mL당 0.15mg이상 함유한 경우에 주표시면에 “고카페인함유”와 이와 나란히 당해 제품의 총 카페인 함량을 “OOO mg”으로 표시하여야 한다.

자) 인삼 또는 홍삼 등을 원료로 사용하여 인삼 및 홍삼성분을 함유한 제품에 대한 표시기준은 다음과 같다.

(1) <삭 제 2008.10.08>

(2) 제품설명문 또는 포장에 인삼의 유래를 표기하고자 하는 때에는 [표 1]의 인삼의 유래 기본문안을 준용하여야 한다.

(3) 인삼제품 포장의 색상 및 색도는 전체적으로 조화를 이루어 제품의 품위를 높이고 타인이 제조하여 생산하고 있는 제품과 혼동되지 않도록 하여야 한다.

(4) 인삼 또는 홍삼을 제품명 또는 제품명의 일부로 사용할 수 있으며, 이 경우 제품명은 한자로 표시할 수 있다.

(5) 국내 시판제품에는 “대한민국특산품”이라는 자구를 한글 또는 한자로 표시할 수 있고, 수출품에는 “대한민국특산품”이라는 자구를 영어 또는 수입국의 언어로 표시할 수 있다.

(6) 인삼 성분이 함유된 제품에는 인삼 또는 인삼을 나타내는 명칭(제품명을 포함한다), 도안 및 그림 등을 표시하거나 사용할 수 있다.

(7) (6)에 해당되는 경우, 가용성인삼성분 또는 가용성홍삼성분을 원료로 사용한 때에는 해당 식품에 각각 인삼성분함량(mg/g) 또는 홍삼성분함량(mg/g)을 표시하여야 한다.

차) 밀, 호밀, 보리를 사용하지 않으면서 글루텐 함량이 20mg/kg 이하인 식품은 무글루텐(Gluten Free)의 표시를 할 수 있다.

나. 식품첨가물(수입식품첨가물을 포함한다)

다. 기구 또는 용기·포장(수입기구 또는 용기·포장을 포함한다)

3. 식품별 개별표시기준

식품 유형		개별 표시 기준
27) 주류	가) 탁주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 살균제품은 “살균탁주”로 표시하여야 한다.
	나) 약주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 살균제품은 “살균약주”로 표시하여야 한다.
	다) 청주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 발효시켜 얻은 에탄올 모두가 백미에서 기인한 때에는 “순”이라는 용어를 표시할 수 있다.
	라) 맥주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 제품의 색상에 따라 담색맥주 또는 흑맥주로 표시할 수 있으며, 열처리하지 않은 것은 생맥주로 표시할 수 있다. 3) 제품 100 밀리리터(ml)당 열량이 30킬로칼로리(kcal)이하인 제품은 “라이트”라는 용어를 표시할 수 있다.
	마) 과실주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 주원료의 종류에 따라 포도주, 사과주, 딸기주 등으로 구분 표시할 수 있고, 포도주는 색상에 따라 적포도주, 백포도주, 홍포도주 등으로 표시할 수 있다. 3) 탄산가스를 함유한 제품은 그 내용을 표시하여야 한다.
	바) 소주	1) 식품의 유형에 따라 증류식 소주, 희석식 소주로 구분 표시하여야 한다. 2) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다.
	사) 위스키	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 원료주를 사용한 제품은 원료주 함량 비율을 표시하여야 한다. 3) 원료주의 조성이나 산지에 따라 특정한 고유명칭 등을 표시할 수 있다.
	아) 브랜디	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 원료주를 사용하는 제품은 원료주 함량 비율을 표시하여야 한다. 3) 원료주의 조성이나 산지에 따라 특정한 고유명칭 등을 표시할 수 있다.
	자) 일반증류주	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 원료주를 사용하는 제품은 원료주 함량 비율을 표시하여야 한다. 3) 원료주의 조성이나 산지에 따라高粱주, 림, 보드카, 진 등의 특정한 고유명칭을 표시할 수 있다.
	차) 리큐르	1) 에탄올의 함량을 표시하여야 한다. 2) 원료주의 조성이나 산지에 따라 인삼주, 매실주, 오가피주 등의 특정한 고유명칭을 표시할 수 있다.
카) 기타주류	에탄올의 함량을 표시하여야 한다.	

『별지2』

표시된 양과 실제량과의 부족량의 허용오차(범위)

적용 분류	표시량	허용오차
중량	5g 이상 50g 이하	9%
	50g 초과 100g 이하	4.5g
	100g 초과 200g 이하	4.5%
	200g 초과 300g 이하	9g
	300g 초과 500g 이하	3%
	500g 초과 1kg 이하	15g
	1kg 초과 10kg 이하	1.5%
	10kg 초과 15kg 이하	150g
	15kg 초과	1%
용량	5mL 이상 50mL 이하	9%
	50mL 초과 100mL 이하	4.5mL
	100mL 초과 200mL 이하	4.5%
	200mL 초과 300mL 이하	9mL
	300mL 초과 500mL 이하	3%
	500mL 초과 1L 이하	15mL
	1L 초과 10L 이하	1.5%
	10L 초과 15L 이하	150mL
	15L 초과	1%

* %로 표시된 허용오차는 표시량에 대한 백분율임.
단, 두부류는 500g 미만은 10%, 500g 이상은 5%로 한다.

붙임 3. 영업자준수사항

식품위생법 시행규칙 [별표 16] 식품 및 식품첨가물
제조·가공업자 및 종업원의 준수사항

[별표 16] <개정 2012.12.17>

식품 및 식품첨가물 제조·가공업자 및 종업원의 준수사항(제55조 관련)

1. 생산 및 작업기록에 관한 서류와 원료의 입고·출고·사용에 대한 원료수불 관계서류를 작성하여야 하고, 최종 기재일부터 3년간 보관하여야 한다.
2. 식품제조·가공업자는 제품의 거래기록을 작성하여야 하고, 최종 기재일부터 3년간 보관하여야 한다.
3. 유통기한이 경과된 제품은 판매목적으로 진열·보관·판매(대리점을 통하여 또는 직접 진열·보관하거나 판매하는 경우만 해당한다)하거나 이를 식품 등의 제조·가공에 사용하지 아니하여야 한다. 다만, 폐기용 또는 교육용이라는 표시를 명확하게 하여 진열·보관하는 경우는 제외한다.
4. 식품을 텔레비전·인쇄물 등으로 광고하는 경우에는 제품명 및 업소명을 포함하여야 하고, 유통기한을 확인하여 제품을 구입하도록 권장하는 내용을 포함시켜야 한다. 다만, 유통기한과 제조연월일이 따로 표시되지 아니한 제품에 대한 광고의 경우에는 그러하지 아니하다.
5. 식품제조·가공업자는 장난감 등을 식품과 함께 포장하여 판매하는 경우 장난감 등이 식품의 보관·섭취에 사용되는 경우를 제외하고는 식품과 구분하여 별도로 포장하여야 한다. 이 경우 장난감 등은 「품질경영 및 공산품안전관리법」 제14조제3항에 따른 제품검사의 안전기준에 적합한 것이어야 한다.
6. 식품제조·가공업자 또는 식품첨가물제조업자는 별표 14 제1호아목2)에 따라 식품제조·가공업 또는 식품첨가물제조업의 영업신고를 한 자에게 위탁하여 식품 또는 식품첨가물을 제조·가공하는 경우에는 위탁한 그 제조·가공업자에 대하여 분기별 1회 이상 위생관리상태 등을 점검하여야 한다. 다만, 다음 각 목의 어느 하나에 해당하는 자에게 위탁하는 경우는 제외한다.
 - 가. 위탁하려는 식품과 동일한 식품에 대하여 법 제48조에 따라 위해요소중점관리기준 적용업소로 지정받거나 「어린이 식생활안전관리 특별법」 제14조에 따라 품질인증을 받은 영업자
 - 나. 법 제50조에 따라 우수등급 영업소로 결정된 영업자
7. 식품제조·가공업자 및 식품첨가물제조·가공업자는 이물이 검출되지 아니하도록 필요한 조치를 하여야 하고 소비자로부터 이물 검출 등 불만사례 등을 신고 받은 경우 그 내용을 기록하여 2년간 보관하여야 하며 이 경우 소비자가

제시한 이물과 증거품(사진, 해당 식품 등을 말한다)은 6개월간 보관하여야 한다. 다만, 부패하거나 변질될 우려가 있는 이물 또는 증거품은 2개월간 보관할 수 있다.

8. 식품제조·가공업자는 「축산물위생관리법」 제12조에 따라 검사를 받지 아니한 축산물 또는 실험 등의 용도로 사용한 동물을 식품의 제조 또는 가공에 사용하여서는 아니 된다.
9. 수돗물이 아닌 지하수 등을 먹는 물 또는 식품의 제조·가공 등에 사용하는 경우에는 「먹는물관리법」 제43조에 따른 먹는 물 수질검사기관에서 1년(음료류 등 마시는 용도의 식품인 경우에는 6개월)마다 「먹는물관리법」 제5조에 따른 먹는 물의 수질기준에 따라 검사를 받아 마시기에 적합하다고 인정된 물을 사용하여야 한다.
10. 모유대용으로 사용하는 식품, 영·유아의 이유 또는 영양보충의 목적으로 제조·가공한 식품(이하 "이유식등"이라 한다)을 신문·잡지·라디오 또는 텔레비전을 통하여 광고하는 경우에는 조제분유와 동일한 명칭 또는 유사한 명칭을 사용하여 소비자가 혼동할 우려가 있는 광고를 하여서는 아니 된다.
11. 법 제15조제2항에 따라 위해평가가 완료되기 전까지 일시적으로 금지된 제품에 대하여는 이를 제조·가공·유통·판매하여서는 아니 된다.
12. 식품제조·가공업자가 자신의 제품을 만들기 위하여 수입한 반가공 원료 식품 및 용기·포장과 「대외무역법」에 따른 외화획득용 원료로 수입한 식품 등을 부패하거나 변질되어 또는 유통기한이 경과하여 폐기한 경우에는 이를 증명하는 자료를 작성하고, 최종 작성일부터 2년간 보관하여야 한다.
13. 법 제47조제1항에 따라 우수업소로 지정받은 자 외의 자는 우수업소로 오인·혼동할 우려가 있는 표시를 하여서는 아니 된다.

붙임 4. 건강진단 의무

식품위생 분야 종사자의 건강진단 규칙 [별표 2]

[별표 2]

정기 건강진단 항목 및 횟수(제4조 관련)

대 상	건강진단 항목	횟 수
식품 또는 식품첨가물(화학적 합성품 또는 기구 등의 살균·소독제는 제외한다)을 채취·제조·가공·조리·저장·운반 또는 판매하는 데 직접 종사하는 사람. 다만, 영업자 또는 종업원 중 완전 포장된 식품 또는 식품첨가물을 운반하거나 판매하는 데 종사하는 사람은 제외한다.	1. 장티푸스(식품위생 관련 영업 및 집단급식소 종사자만 해당한다) 2. 폐결핵 3. 전염성 피부질환(한센병 등 세균성 피부질환을 말한다)	1회/년

붙임 5. 자가품질검사 기준

식품위생법 시행규칙 [별표 12] 자가품질검사기준

[별표 12] <개정 2013.3.23>

자가품질검사기준(제31조제1항 관련)

1. 식품등에 대한 자가품질검사는 판매를 목적으로 제조·가공하는 품목별로 실시하여야 한다. 다만, 식품공전에서 정한 동일한 검사항목을 적용받은 품목을 제조·가공하는 경우에는 식품유형별로 이를 실시할 수 있다.
2. 기구 및 용기·포장의 경우 동일한 재질의 제품으로 크기나 형태가 다를 경우에는 재질별로 자가품질검사를 실시할 수 있다.
3. 자가품질검사주기의 적용시점은 제품제조일을 기준으로 산정한다. 다만, 법 제44조제4항에 따른 주문자상표부착식품등과 식품제조·가공업자가 자신의 제품을 만들기 위하여 수입한 반가공 원료식품 및 용기·포장은 「관세법」 제248조에 따라 관할 세관장이 신고필증을 발급한 날을 기준으로 산정한다.
4. 자가품질검사는 식품의약품안전처장이 정하여 고시하는 식품유형별 검사항목을 검사한다. 다만, 식품제조·가공 과정 중 특정 식품첨가물을 사용하지 아니한 경우에는 그 항목의 검사를 생략할 수 있다.
5. 영업자가 다른 영업자에게 식품등을 제조하게 하는 경우에는 식품등을 제조하게 하는 자 또는 직접 그 식품등을 제조하는 자가 자가품질검사를 실시하여야 한다.
6. 식품등의 자가품질검사는 다음의 구분에 따라 실시하여야 한다.

가. 식품제조·가공업

- 1) 과자류(과자, 캔디류 및 츄잉껌만 해당한다), 코코아가공품류, 초콜릿류, 잼류, 설탕, 포도당, 과당, 엿류, 당시럽류, 올리고당류, 다류, 커피, 김치류, 젓갈류, 절임식품, 두부류, 목류, 조림식품, 건포류, 면류, 조미식품(고춧가루, 실고추 및 향신료가공품만 해당한다), 떡류, 만두류, 장류, 즉석섭취·조리식품, 기타식품류(캡슐류, 전분, 조미김, 모조치즈, 식물성크림, 추출가공식품, 팝콘용옥수수가공품, 식염 및 밀가루만 해당한다), 규격 외 일반가공식품, 선박에서 통·병조림을 제조하는 경우와 단순가공품(자연산물을 그 원형을 알아볼 수 없도록 분해·절단 등의 방법으로 변형시키거나 1차 가공처리한 식품원료를 식품첨가물을 사용하지 아니하고 단순히 서로 혼합만 하여 가공한 제품이거나 이 제품에 식품제조·가공업의 허가를 받아 제조·포장된 조미식품을 포장된 상태 그대로 첨부

한 것을 말한다)만을 가공하는 경우: 6개월마다 1회 이상 식품의약품안전처장이 정하여 고시하는 식품유형별 검사항목

2) 식품제조·가공업자가 자신의 제품을 만들기 위하여 수입한 반가공 원료식품 및 용기·포장

가) 반가공 원료식품: 6개월마다 1회 이상 식품의약품안전처장이 정하여 고시하는 식품유형별 검사항목

나) 용기·포장: 동일재질별로 6개월마다 1회 이상 재질별 성분에 관한 규격

3) 빵류, 식육 또는 알가공품, 음료류(비가열음료는 제외한다), 식용유지류(들기름만 해당한다): 3개월마다 1회 이상 식품의약품안전처장이 정하여 고시하는 식품유형별 검사항목

4) 1)부터 3)까지의 규정 외의 식품: 1개월마다 1회 이상 식품의약품안전처장이 정하여 고시하는 식품유형별 검사항목

5) 보건복지부장관이 식중독 발생위험이 높다고 인정하여 지정·고시한 기간에는 1) 및 2)에 해당하는 식품은 1개월마다 1회 이상, 3)에 해당하는 식품은 15일마다 1회 이상, 4)에 해당하는 식품은 1주일마다 1회 이상 실시하여야 한다.

붙임 6. 품목제조보고

식품위생법 시행규칙 서식 43 식품(식품첨가물) 품목제조보고서

■ 식품위생법 시행규칙 [별지 제43호서식] <개정 2011.8.19>

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명 영업자의 성명 기입	생년월일 영업자의 생년월일 기입
	주소 영업자의 주소 기입	전화번호 영업자의 전화번호 기입
		휴대전화 영업자의 휴대전화번호 기입
영업소	명칭(상호) 영업신고종 상 업소명 기입(주 포함 기입)	
	소재지 영업신고종 상 주소 기입	

제품정보	식품의 유형	식품공전 상 최소 식품 분류(예:빙과류)	영업신고 번호	영업신고종 신고번호 기입	
	제품명	제품의 명칭을 기입(예:파이애플수정바)			
	유통기한 품질유지기한	제조일부터 제조일부터	일(월, 년) 일(월, 년)	품질유지기한을 사용 가능한 식품 의 경우 유통기한 미기입 가능	
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	사용되는 모든 원재료를 함량순으로 기입하고 식품등의 기준·규격이 정해진 원재료는 함량(배합비율)을 기입(식품의 표시기준과 일치 확인)			
	용도 용법	간식용, 식사대용, 소비자 판매용, 타식품 원재료용, 가열 섭취, 그대로 섭취등의 용도, 용법을 기입			
	보관방법 및 포장재질	보관방법은 제품의 특성에 맞는 냉장, 냉동, 실온, 상온, 냉암소 등을 기입(식품공전 용어의 정의 참조) 포장재질은 내포장과 외포장으로 구분하여 작성하고 PP, PE, 골판지 등 재질을 기입 (용기·기구등의 기준 및 규격 참조)			
	포장방법 및 포장단위	포장방법은 내포장 포장단위는 '500g, 1kg, 350ml, 50L'와 같이 실제 포장되는 단위를 기입			
	성상	제품의 색, 풍미, 물리적형태(액상, 고상, 분말, 페이스트상) 및 외관에 대해 기술			
	고열량·저영양 식품 해당 여부	[]에 []아니오	[✓]해당 없음	고열량·저영양 식품영양성분 기준(식약 청 고시) 참고	

기타	기타 제품 설명에 필요한 사항(알레르기 유발물질, GMO 등)
----	------------------------------------

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 제조 사항을 보고합니다.

년 월 일

보고인

(서명 또는 인)

특별자치도지사 · 시장 · 군수 · 구청장 귀하

첨부서류	1. 제조방법설명서 1부 : 자유형식으로 공정도 및 공정별 가공방법에 대한 해설을 포함 2. 식품위생감사기관이 발급한 식품등의 한시적 기준 및 규격 검토서 1부 3. 식품의약품안전청장이 정하여 고시한 방법에 따라 설정한 유통기한의 설정사유서 1부
------	---

유의사항

1. 품목제조보고서는 제품생산의 개시 전이나 개시 후 7일 이내에 제출하여야 합니다.
2. 배합비율 표시는 식품공전 및 식품첨가물공전에 사용기준이 정하여져 있는 원재료 또는 성분의 경우만 해당합니다.

210mm×297mm[일반용지 60g/m² (제할용품)]