

11-15430  
00-00292  
3-01

○ 농식품부-농협 역매칭 시범사업 제1차 연도 최종 보고서

발간등록번호

11-1543000-002923-01

# 젓산균과 맥주 제조기술을 응용한 쌀가루 알코올음료 개발 최종보고서

2019. 12. 05.

주관연구기관 / 세종대학교 산학협력단  
협동연구기관 / 엠비션  
참여연구기관 / 농업회사법인  
농협식품 주식회사

농림축산식품부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

젓산균과  
맥주  
제조기술을  
응용한  
쌀가루  
발효  
알코올음료  
개발  
최종보고서

2019

농림식품기술기획평가  
농림축산식품부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “젓산균과 맥주 제조기술을 응용한 쌀가루 발효 알코올음료 개발”(개발기간 : 2018. 9. ~ 2019. 9.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 12. 17.

주관연구기관명 : 세종대학교 산학협력단 (대표자) 백성욱



협동연구기관명 : 엠비션 (대표자) 김민태



참여연구기관명 : 농업회사법인 농협식품주식회사 (대표자) 조완규



주관연구책임자 : 정장호

협동연구책임자 : 김민태

참여연구책임자 : 윤덕한

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	318076-1	해 당 단 계 연 구 기 간	1년	단 계 구 분	(총 단 계 )
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품부-농협 역매칭 시범사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	젓산균과 맥주 제조기술을 응용한 쌀가루 발효 알코올음료 개발			
연구책임자	정장호	해당단계 참여연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	총 연구개발비	정부:50,000천원 민간: 33,334천원 정부외 출연 금:50,000천원 계:133,334천원
연구기관명 및 소속부서명	세종대학교 산학협력단, 식품조리의식경영학과 식품발효연구실			참여기업명 엠비션	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및	
-------------------	--

사유	
----	--

9대 성과 등록·기탁번호

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

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

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

보고서 면수 : 82

■ 주요 연구성과

- 적정 온도 및 시간 최적화 당화 공정 확립
- 쌀가루 입자에 따른 당화 후 여과 공정 특성 연구
- 젖산균 발효를 통한 공정 확립
- Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 발효 특성 연구
- 젖산발효 과정에 따른 특성 연구
- 효모 종류에 따른 발효 공정 성분 비교
- 효모 발효 및 숙성 과정 특성 분석
- Lab scale을 통한 맥주 발효 특성 분석
- Pilot scale 적용 및 생산 공정 표준화
- Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 대량 생산 표준화 확립
- 쌀맥주 상품화 추진을 통한 홍보영상물 제작 및 온라인 소비자조사 실시
- 개발된 쌀맥주의 제품 이름, 라벨 선정
- 관능검사를 통한 최종 제품의 소비자기도 조사 실시
- 페스티벌 및 제품 출품을 통한 마케팅 실시
- SNS(유투브, 블로그, 인스타, 밴드 등) 및 언론(신문기사) 홍보

## <요약문>

연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 김치에서 분리한 이형발효 젖산균을 이용하여 발효과정 중 기능성 올리고당인 이소말토올리고당(isomaltooligosaccharides)의 생성량을 증가시킨 발효 음료 개발</li> <li>○ 쌀가루를 이용한 발효 알코올 음료 개발은 주세감면을 통해 가격 면에서 수입 맥주와 견주어 경쟁을 갖출 수 있고 또한, 젖산균발효를 통해 쌀가루첨가에 따른 청주취를 감소시켜 관능 측면에서 기존의 맥주와 유사하면서도 독특한 풍미의 경쟁력 있는 쌀맥주 제조가 가능하여 이의 제조기술을 확립하고자 하였음.</li> </ul>				
연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 국내산 쌀가루첨가에 따른 당화 공정을 최적화 및 특성연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 당화 공정 중 전분 분해 성분 변화 특성 확인</li> <li>• 온도 및 시간 조절을 통한 효율적 당화 공정 구축</li> <li>• 엷기름의 당화력 성분 변화 특성 연구</li> <li>• 시제품 개발 및 기존 소재와의 소비자 조사를 통한 제품 출시</li> </ul> </li> <li>2. 젖산균 발효과정을 통한 기능성 올리고당 생성 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 발효 과정에 따른 일반 성분 및 기능성 성분 변화 특성 연구</li> <li>• 균주별 발효 특성을 확인하고 제품 가능성 연구</li> <li>• 젖산균 발효 경향성 파악과 대사산물 수율 공정 확립</li> </ul> </li> <li>3. 효모의 2차 발효를 통한 맥주의 상품화 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 호프를 첨가한 적정 recipe를 통한 공정 표준화</li> <li>• 이스트 발효 후 3-5% 알코올 함량의 쌀맥주 개발</li> <li>• 김치 젖산균과 맥주 발효 조합에 따른 기호도 향상 발효 맥주 제품 가능성 연구</li> <li>• 알코올 발효 음료의 소비자 관능검사</li> <li>• 개발된 소재에 대한 식품 적용 가능성 확인 및 상품화 적용 범위설정</li> </ul> </li> </ol>				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 젖산발효를 통한 기능성과 소비자 기호성이 높은 쌀 맥주를 제품 개발되어 쌀이용 쌀맥주 시장 확대가 될 수 있음.</li> <li>• 본 기술의 확대사용을 통해 국내산 쌀가루 활용하여 장건강에 유익한 기능성 올리고당 생산을 맥주음료 뿐 아니라 다양한 발효식품이나 음료(식혜, 발효유 등)의 상품군으로 확대할 수 있음.</li> <li>• 관세율 인하에 따른 수입 맥주의 증가로 무역수지 적자를 내고 있는 상황에서 개발 쌀맥주의 국내 소비가 증가할 경우 수입맥야양을 감소시키는 대체 효과와 국내 쌀소비 촉진을 증진시킬수 있음.</li> </ul>				
국문핵심어 (5개 이내)	쌀가루	발효	젖산균	맥주	올리고당
영문핵심어 (5개 이내)	rice flour	fermentation	lactic acid bacteria	beer	oligosaccharide

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	7
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	9
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	18
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	79
붙임. 참고 문헌 .....	81

## 1. 연구개발과제의 개요

### 1-1. 연구개발 목적

- 김치 젖산균을 활용한 기능성 올리고당의 생성량을 증가시킨 발효 음료 및 국내산 쌀가루를 이용한 알코올 음료를 개발하고자 함.
- 쌀가루를 이용한 발효 알코올 음료 개발은 가격 면에서 수입맥주와 견주어 경쟁을 갖출 수 있고 쌀을 첨가한 맥주가 관능 측면에서 기존의 맥주와 유사하여 쌀가루 맥주에 대한 소비자의 인식을 개선시키고자 함.

### 1-2. 연구개발의 필요성

- 쌀은 전 세계 전체 식품의 34%를 차지하는 주곡으로 대표적인 식량작물이나, 국민 1인당 쌀 소비량은 매년 감소하여 1970년 136.4 kg에서 2016년 61.9 kg으로 절반 이상 감소하였고, 쌀 소비 및 쌀 가공식품 산업도 규모 있게 성장하지 못하는 실정임.
- 이에 정부에서는 2012년 [쌀 가공산업 육성 및 이용촉진에 관한 법]을 제정하여 쌀의 수요 증진 및 쌀을 이용한 쌀 가공산업 육성 및 쌀 이용 촉진으로 쌀 가격의 안정과 쌀가공 산업의 경쟁력 강화를 목적으로 법적 체계를 구축하였음. 그러나, 이와 같은 노력에도 불구하고 쌀 소비 및 쌀 가공식품 산업도 규모 있게 성장하지 못하는 실정임.
- 음료는 사람이 마실 수 있는 모든 액체를 총칭하며, 갈증해소 기호충족, 심리적 위안, 원만한 분위기 조성 등 다양한 기능적 역할을 수행함.
  - 전통음료는 산업화와 함께 새로운 형태의 음료가 등장하기 시작하면서, 90년대 후반에 음료 시장의 규모가 2조원대를 넘어서면서 우리 전통음료인 식혜, 수정과, 대추차가 선보이기 시작하였고, 2015년 기준 음료류는 전체 생산규모 3조 9108억원에 이르고 있음.
  - 전통 음료인 식혜는 대표적인 쌀 가공식품으로, 엿기름을 추출한 물에 멥쌀을 이용해 지은 밥을 넣어 엿기름의 amylase에 의해 당화되어 glucose, maltose 등이 생성되면서 고유한 감미와 독특한 풍미를 가지는 것이 특징임.
  - 하지만 식혜의 고농도의 설탕(sucrose)이 포함되어 있어 음료로서의 인기가 줄어들고 있음.
  - 현대인들은 라이프스타일의 변화로 건강에 대한 관심이 고조되고 바쁜 일상 속에서 음료에 대한 역할을 중요시 인식하여 그 수요가 증가하고 있으며, 건강을 촉진시키는 기능성 제품과 관련된 식품 산업에서 급속한 성장을 이끌어감.
- 프리바이오틱(prebiotic)이란 장관 내 유익균이 정착하도록 도와주는 역할을 하는 물질로, 대부분 당류물질로 올리고당이 대표적임.
  - 이소말토올리고당(IMO)을 포함한 올리고당은 비소화성 내지 난소화성으로, 프로바이오틱을 포함한 유익한 균총의 생육에 도움을 주며, 모유나 발효제품의 첨가제로 주목받고 있음.
  - 김치에서 유래된 젖산균은 발효에 적극적으로 참여하여 소화를 돕고 면역자극, 병원체 배제, 생리활성 물질 생성, 일반 장내 건강 등의 다양한 역할을 수행함.
  - 김치에서 유래하는 젖산균(LAB)으로는 *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella* 속이 해당되며, 발효 과정 중 젖산, 초산, 이산화탄소, 만니톨과 같은 부산물을 생성함.
  - 또한, 발효과정 중 설탕(sucrose)과 함께 존재 시 glucose와 fructose를 고분자 형태인 dextran과 같은 고분자 다당류를 생성함.
  - 1940년 이래로 작은 분자량의 dextran들은 혈량 증량제로 사용되고 있으며, 고분자 형태의 텍스트란은 의료 및 화장품, 식품 등 다양한 분야에 적용되어 항균물질, 설탕 중합체, 감미료, 방향족 화합물, 비타민 등의 이점을 가지고 있음.

- 맥주와 같은 알코올 음료의 적당량 (light-to-moderate) 소비는 단백질, 비타민 B, 셀레늄과 같은 무기질, 항산화성분인 폴리페놀, 에탄올, 식이섬유, probiotics 성분 등에 의해 이뇨 및 다이어트 효과, 스트레스 해소로 인한 심장 문제 감소 등 인간의 건강에 도움을 줌.
  - 항돌연변이 및 항암효과, 심혈관 질환의 경감, 항고지혈증 효과, 면역계 자극, 항골다공증 효과 등이 있음.
  - 2002년 주세법이 개정되면서 소규모 맥주제조 면허제도가 도입되어 하우스 맥주가 시장에 진입하기 시작함.
  - 2018년 4월 소규모주류제조자 및 중소기업 주류제조자에 대한 관세표준을 낮추어 세제 지원을 강화하는 주세법 개정
  - 또한, 맥주의 원료인 곡류 중 쌀의 사용증량이 녹말이 포함된 재료, 당분(또는 캐러멜)의 증량과 발아된 맥류의 합계증량을 기준으로 하여 100분의 20이상인 경우에는 출고 수량별 100분의 30을 곱하여 산정하도록 세제 지원을 강화함.
  - 소규모 주류제조자의 경우 백화점·슈퍼마켓·편의점 또는 이와 유사한 상점에서 주류를 소매하는 자들에게 주류를 판매할 수 있도록 허용함으로써 맥주 시장의 성장과 안정성을 확보함.
  - 국내 주류시장은 경제 발전과 함께 꾸준한 성장세를 이루고 있으며, 그 중 맥주는 국세청 기준 2016년도 전체 주류 출고량의 53.5%로 가장 높은 비율을 차지함.
  - 2017년 기준 6년 사이 수입량이 가장 많이 늘어난 품목이 맥주로 해당 기간 동안 343% 증가하여 수입맥주시장이 급성장하였고 맥주의 수입액은 관세청 추산 2억 6천만불 규모로 전년도 대비 44.9%로 증가함.
- 김치 젖산균을 활용한 기능성 올리고당의 생성량을 증가시킨 발효음료 및 국내산 쌀가루를 이용한 발효 알코올음료 개발에 중점.
- 쌀가루를 이용한 발효알코올 음료개발은 가격 면에서 수입맥주와 견주어 경쟁을 갖출 수 있고 쌀을 첨가한 맥주가 관능 측면에서 기존의 맥주와 유사하여 쌀가루 맥주에 대한 소비자의 인식을 개선하는 효과가 기대됨.
- 김치 젖산균을 활용한 기능성 올리고당을 증가시킨 발효 알코올음료 개발은 건강의 중요성을 인식한 현대인들에게 기능성 이미지를 각인시켜 마케팅 효과가 큰 제품으로 성장할 것으로 기대됨.
  - 젖산균에서 생성되는 기능성 생물질(bio-ingredients)들로는 대표적으로 dextran, mannitol, isomaltooligosaccharides, lactic acid, acetic acid 등 다양한 organic acid가 생성되어 고부가가치 창출이 가능한 기능성 제품으로 맥주 산업에 활용될 것임.
  - Dextran은 점도, 내열성 및 흡습성이 뛰어나 식품산업에서 음료, 맥주의 향기와 포지성 첨가제, 보습성 증진 등에 사용
  - Mannitol은 설탕에 비해 50%의 당도를 가지고 혈중 포도당 농도를 증가시키지 않아 대체 감미료로 널리 사용
  - Isomaltooligosaccharides는 기능성 올리고당 중 하나로 소화되지 않고 대장의 유익균 증식을 돕는 저칼로리 감미료로 음료, 유제품, 제과 등의 식품 산업 분야에 사용되며, 충치 예방효과가 있음.

### 1-3. 연구개발 범위

#### 가. 주관기관 (세종대학교)

- (1) 당화공정 및 발효공정 연구
- (2) 발효공정 후 프리바이오틱 특성 연구
- (3) 기능성 강화 맥주 연구
- (4) 최종제품인 알콜 발효음료 맥주의 소비자 관능조사



나. 협동연구기관 (엠비션)

- (1) 쌀가루 당화 공정 및 젖산발효 대량 생산 공정 표준화 확립
- (2) 알콜 발효음료인 맥주의 제품화 상품 개발

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 연구개발의 최종목표

		코드번호	
구분	내용		
최종목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 쌀가루를 이용한 최적 당화공정을 확립하고 젖산균 발효를 통한 고부가가치 알콜발효 음료(맥주) 제품개발 및 상업화 제시</li> <li>- 당화과정 중 20% 이상 첨가한 쌀가루 이용 전분 분해 공정 확립</li> <li>- 젖산균 발효를 통한 일반 성분 및 기능성 특성 연구</li> <li>- 최종제품인 알콜 발효음료 맥주의 소비자 관능조사</li> </ul>		
세부목표	<p>주관기관 (세종대학교)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 쌀의 품종과 쌀가루 제조 방법에 따른 특성 분석 및 소재 연구</li> <li>○ 엿기름과 국내산 쌀가루 당화공정 개선 및 알콜 수율의 최적화 기술개발</li> <li>○ 당화공정 완료 목표 후 Brix 8~15%, 환원당 8~12%를 통해 알콜 수율 개선</li> <li>○ 발효공정 최적화 기능성 소재 습득을 위한 젖산균 제어시스템 구축 확립</li> <li>○ 발효공정 적용처리 후 기호도 개선</li> <li>○ 최종 발효 후 제품의 조성 및 특성 조사</li> <li>○ 균주별 특성을 연구한 3종의 알콜 발효 음료 개발</li> <li>○ 최종제품인 알콜 발효음료 맥주의 소비자 관능조사</li> </ul> <p>협동연구기관 (엠비션)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pilot scale 적용 및 생산</li> <li>○ Pilot 및 공장 단위 규모 생산 표준화</li> <li>○ 제품 규격 설정, 상품화 추진</li> <li>○ 페스티벌 및 전시회 참가를 통한 마케팅 실시</li> </ul>		

### 2-2. 연차별 개발목표 및 내용

	코드번호	
가. 1차년도		<ul style="list-style-type: none"> <li>① 개발 목표</li> <li>- 주관연구기관(세종대학교) : 당화공정 및 발효공정 연구, 발효공정 후 프리바이오틱 특성연구, 기능성 강화 맥주 연구, 최종제품인 알콜 발효음료 맥주의 소비자 관능검사</li> </ul>

- 협동연구기관(엠비션) : 쌀가루 당화와 젖산발효 대량생산 공정 표준화 확립, 발효 음료인 맥주 제품화 상품개발

## ② 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관(세종대학교)

(1) 당화공정 적용을 위한 쌀가루 적정 온도 및 시간 최적화 연구

- 쌀가루첨가량 및 이에 따른 전분분해 능력을 최적 조건으로 확립하여 당화공정 구축
- 쌀가루의 경우 이화학적 성분 특성 자료와 정립된 가공처리 공정확립과 당화액 특성조사

연구 방법

### ① 쌀가루 전처리 공정 확립

: 쌀가루 전처리를 달리한 전분 분해 차이 분석을 통한 전처리 조건 효율성 확인.

- 쌀가루 제조 방법에 따른 특성 분석 및 소재 연구

쌀가루를 사용하여 맥주를 제조할 경우에는 여과공정이 느려지는 문제점이 발생할 수 있어 호화조건, 쌀가루 첨가량, 쌀가루 입자크기 등의 연구를 통해 오리온-농협(주) 쌀가루 공장에서 생산되는 쌀가루제품(60-200 mesh)를 이용한 실험결과를 획득하였음.

### ② 당화공정법

: 쌀가루의 전처리 별 당화 과정을 거침. 당화액을 원심분리하여 시료를 얻었으며 이들 시료에 대한 HPLC 분석을 통한 구성당, 유기산 분석 등을 통해 당화공정의 효율성을 확인하였음.

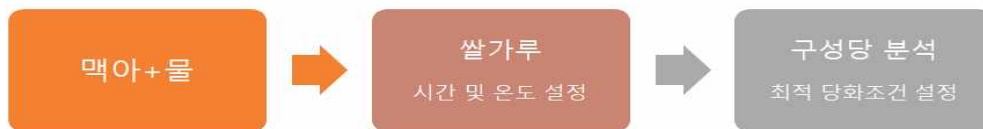


그림 1. 당화공정

당화 후 목표치 : 당화 공정 완료 후 당화농도 Brix (8-15%), 환원당(7-12%이하)

## (2) 젖산균 발효공정 적용 및 이에 따른 발효액의 특성연구

- 선발 균주별 처리방식(3가지)을 달리한 발효를 진행하였고 얻어진 발효액 특성분석

### ① 연구 방법

맥주의 알코올 함량은 맥아의 당화에 따라 생성되는 당용액을 효모의 발효에 따라 결정되며 일반맥주 알코올함량의 경우 2-10% 범위를 가질 수 있으나 대개는 4-6%의 알코올 함량이 일반적임.

맥주품질에서 나타내는 쓴맛 정도는 주로 홉에서 나오는 유도체인 iso- $\alpha$ -acid 함량에 따라 나타나며, 맥주의 iso-octane으로 산성화되어 추출된 bitter substances를 측정하여 결정하게 된다(Kim et al., 2016. J. Inst. Brew. 122:500 - 507). 일반 상업적 생산맥주의 경우는 약 10-50 BU를 나타낸다. 맥주의 색도는 양조용수, 맥즙 제조공정 및 발효공정 등에 영향을 받아 페놀화합물 및 메일라드 반응(Maillard reaction)에 의하여 변화한다고 알려져 있는데(Sung and Lee. 2017. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers. Korean J. Food Sci. Technol. 49: 35-43), SRM (Standard Reference Method) 색도의 경우 2-50정도의 범위를 가지며 Berliner

Weisse 의 경우 2, IPA는 6 내외, 흑맥주의 경우는 30 정도의 수치를 나타낸다.

맥주의 pH의 범위는 3.2-5.0의 범위를 나타내며 3.9-4.3의 경우가 일반적인 맥주의 pH의 범위이나 *Lactobacillus*를 사용하는 sour beer의 예인 Berliner Weisse의 경우는 3.2까지도 나타낼 수 있다.

맥주의 가장 기본적인 품질 조건인 알코올함량(% by volume), pH, 쓴맛(Bitter Unit) 및 색도(Standard Reference Method)을 측정하였음.

- 발효공정 적용처리 후 기호도 개선

발효 중 다량의 젖산을 생산하게 되면 특유의 시큼한 맛과 향 등의 풍미가 문제시 되는데 이는 대부분 동형젖산발효 균주에 의할 수 있다. 하지만 본 연구의 경우는 과도한 젖산을 생성하지 않는 이형젖산발효균주이기 때문에 일부 젖산발효의 풍미가 있을 수는 있으나 맥주생산 공정 중 자비공정(끓임)에서 일부 젖산균이 휘발하고, 참여기업의 상업적인 경험을 바탕으로 사용되는 bitter hop 와 aroma hop의 적정한 배합을 통해 이를 상쇄시켜 수제 맥주 본연의 맛을 유지하고 과도하지 않은 유기산 등을 통한 산미유지를 실현하였음.

(3) 최종제품인 알콜 발효음료(쌀맥주)의 소비자 관능조사

▶ 조사방법 및 조사 목적

① 국내 시판 중인 맥주 간 소비자의 선호도를 파악 및 비교하고, 맥주의 구매영향력 및 구매의도 등을 조사. 또한 조사 데이터를 통한 2차 분석을 진행하여 소비자의 쌀맥주에 대한 인식 및 마케팅 전략 수립의 근거를 제시하였음.

② 수제 맥주의 소비행태 및 소비자 의식 파악.

·관능적 기호성을 알아보기 위해 소비자 기호도 평가(일반인대상, 설문조사)와 전문가집단의 제품평가를 실시하였고, 맥주 및 쌀축제 참여를 통한 판매가능성과 마케팅 시장 확인.

- 협동연구기관(엠비선)

(1) 쌀가루 당화 공정 확립

① 대량 생산 공정에 따른 당화 공정 확립

: 쌀가루를 사용하여 맥주를 제조할 경우에는 여과공정이 느껴지는 문제점을 해결하기 위해 세종대학교 식품발효연구실에서 연구한 결과를 이용하여 당화공정을 확립하였고 쌀가루 입자의 경우 오리온-농협(주) 쌀가루 중 40 mesh를 이용한 실험을 진행하였음.

당화 후 목표치 : 당화 공정 완료 후 당화농도 Brix (8-15%), 환원당(7-12%이하)

(2) 젖산 발효 공정 표준화 확립

-기능성올리고당 생성의 극대화를 위해 선발 이형젖산균주를 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 고정화하여 이용한 젖산발효공정을 생산공정에 포함하여 새로운 쌀맥주 생산공정을 제시하였음.

① 연구 방법

맥주의 알코올 함량은 맥아의 당화에 따라 생성되는 당용액을 효모의 발효에 따라 결정되며 일반맥주 알코올함량의 경우 2-10% 범위를 가질 수 있으나 대개는 4-6%의 알코올 함량이 일반적임.

맥주품질에서 나타내는 쓴맛 정도는 주로 홉에서 나오는 유도체인 iso- $\alpha$ -acid 함량에 따라 나타나며, 맥주의 iso-octane으로 산성화되어 추출된 bitter substances를 측정하여 결정하게 된다 (Kim et al., 2016. J. Inst. Brew. 122:500 - 507). 일반 상업적 생산맥주의 경우는 약 10-50 BU를

나타냄.

맥주의 색도는 양조용수, 맥즙 제조과정 및 발효과정 등에 영향을 받아 페놀화합물 및 메일라드 반응(Maillard reaction)에 의하여 변화한다고 알려져 있는데(Sung and Lee, 2017. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers. Korean J. Food Sci. Technol. 49: 35-43), SRM (Standard Reference Method) 색도의 경우 2-50정도의 범위를 가지며 Berliner Weisse 의 경우 2, IPA는 6 내외, 흑맥주의 경우는 30 정도의 수치를 나타냄.

맥주의 pH의 범위는 3.2-5.0의 범위를 나타내며 3.9-4.3의 경우가 일반적인 맥주의 pH의 범위이나 Lactobacillus를 사용하는 sour beer의 예인 Berliner Weisse의 경우는 3.2까지도 나타낼 수 있음.

맥주의 가장 기본적인 품질 조건인 알코올함량(% by volume), pH, 쓴맛(Bitter Unit) 및 색도(Standard Reference Method)을 측정하여 제시하였음.

- 상업적 제품의 생산 균질화를 위한 측정 실험방법 (주관기관과 공동실험)

## ② 실험방법

-당도(총가용성고형분)

맥주 시료의 가용성 고형분의 함량 측정은 각 시료 1 mL를 micro-tube에 넣고 8,200×g-force에서 10분 동안 원심분리기(centrifuge 5415C, Beckman instruments inc, Germany)에서 원심분리한 후 사용. 그 후 굴절당도계를 사용하여 당도측정(°Brix%).

알코올 함량, pH

쌀 품종에 따라 제조한 맥주의 알코올 함량은 HPLC로 분석, pH는 pH meter기로 측정.

-쓴맛

쓴맛(Bitterness Unit)의 측정은 ASBC (American Society of Brewing Chemists) 방법에 따라 측정. 맥주 10 mL를 넣고 octyl alcohol 20 μL, 6 N HCl 0.5 mL 와 20 mL 2,2,4-trimethylpentane을 넣은 후 250 rpm의 일정한 속도를 유지하며 좌우로 움직이는 항온수조에 넣고 15분간 섞어준 후 원심분리(1,036g, 3분)한다. 용액의 상층액을 자외선분광광도기(Du730, Beckman coulter, Inc, CA, USA)를 이용하여 275 nm에서 흡광도를 측정.

Bitterness(BU)= 50 x Absorbance value

-색도

맥주의 색은 맥주 5 mL를 색차계(Chroma Meter, CR-300, Minolta, Japan)를 사용해 명도를 나타내는 L값(lightness), 적색을 나타내는 a값(redness), 황색을 나타내는 b값(yellowness)을 측정해 나타냈다. 색도(Standard Reference Method;SRM)는 주류분석규정과 ASBC 방법을 응용해 맥주의 흡광도를 430 nm에서 측정하여 그 값에 10을 곱한 값으로 계산하였음.

쌀맥주의 목표제품의 품질설정치를 아래와 같이 제시하였음.

Ambition 맥주제조과정 순서

맥주 style; Ale type

맥아선정; 20% 이상의 쌀가루를 이용하여도 맥아향이 풍부할 수 있는 맥아선정 (Pilsner malt) 호프; 일반 Ale계 호프를 사용(cascade 및 centennial, willamette, kent golding, sorachi ACE)

효모; Standard Yeast (*S. cerevisiae*; 제품명; Saison 또는 S-04, US-05)

젖산균; *Leuconostoc mesenteroides* 나 *Weissella ciberia*

최종제품 사양

알코올함량: 5% by volume

pH: 4.17

쓴맛(Bitter Unit): 20 BU

색도(SRM #): 13 이하

(3) 발효 음료인 맥주 제품화 및 상품 개발

대량생산 공정에 맞는 생산라인 구축 후 sour beer인 고제, 베를리너 바이세를 타겟으로 한 새로운 쌀맥주 제품으로 생산 및 상품화를 제시하였음.

2-3. 연차별 개발목표 및 내용요약

1) 주관기관(세종대학교)

구분	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	쌀가루 전처리 공정 확립	-쌀가루 전처리 방법에 따른 차이분석 -쌀가루 함량에 따른 당화액 비교
	당화 공정 확립	- 당화 공정 열처리 조건 수립 lab-scale 조건 수립 - 쌀가루 입자 크기에 따른 당화공정 차이 분석 - lab-scale 여과 공정 확립
	젖산발효를 통한 공정 확립	- pH 중화제로 이용한 CaCO <sub>3</sub> bead 첨가에 따른 당화액의 변화 확인 - CaCO <sub>3</sub> bead 첨가량에 따른 최적화 공정 확인 - Ebcapsulated CaCO <sub>3</sub> -alginate bead의 제조 - CaCO <sub>3</sub> -alginate bead와 균주혼합 또는 균주 고정화된 Encapsulated CaCO <sub>3</sub> -alginate bead의 첨가에 따른 비교분석
	당화액을 이용한 젖산발효를 통한 isomalto-oligo당 생산 제조	- 당화액, CaCO <sub>3</sub> -alginatebead 제조 및 젖산 발효를 통한 발효액의 성분 분석
	효모 발효 공정 확립 및 aging 공정 구축	- 효모 종류 및 발효기간에 따른 맥주 제조 및 성분 비교 - GC-MS를 이용한 휘발성 향기 성분 분석 - lab-test를 통한 쌀맥주 기호도 조사
	효모 발효 기간에 따른 맥주의 특성 및 성분 비교	- 효모 발효 기간에 따른 맥주의 이화학적 특성 확인
	효모 발효, 숙성 및 저장성 평가	- 쌀맥주의 제조 및 이화학적 특성 연구
	Lab-scale 제조 맥주의 품질 특성 분석 및 관능평가	- lab-scale을 통해 생산된 맥주의 분석 색도, SRM, BU, 아미노산, 알코올 함량, 칼슘 함량 측정 - 소비자 기호도 조사를 통한 관능적 특성 비교

Pilot scale 적용 및 생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pilot scale 공정에 따른 당화 공정 및 여과 공정 확인</li> <li>- Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 대량 생산에 따른 생산 조건 확립</li> <li>- 상품화 추진을 위한 사전 소비자설문조사 실시 후 홍보 전략 수립</li> <li>- 제품 및 상품화 추진을 위한 제품명 및 라벨 선정</li> <li>- 팜플렛 제작</li> </ul>
상업적 대량생산 표준화	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 상업용 맥주 생산(1차)</li> <li>- 페스티벌 및 전시회 참가를 통한 마케팅 실시</li> </ul>
제품 품질 향상을 위한 소비자 IPA 조사	- 쌀 맥주의 소비자 기호도 조사를 통한 맥주 선택시 중요도와 만족도를 평가하여 비교 분석함.
상업적 맥주 생산 (2차)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 상업용 맥주 양조 (1차)를 보완한 공장 단위 규모의 상업 양조를 제조하여 이화학적 분석 및 맥주 특성 분석</li> <li>- 2019 우리 쌀 가공식품, 전통주 WITH 米 페스티벌 출품하여 쌀맥주 미미 홍보</li> </ul>
홍보 영상물 제작	제품의 영상물을 제작하여 유튜브, 엠비션 블로그, 인스타 등 홍보
SNS 등을 통한 게시 및 언론 홍보	SNS 마케팅 및 언론(신문기사) 홍보

2-4. 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계

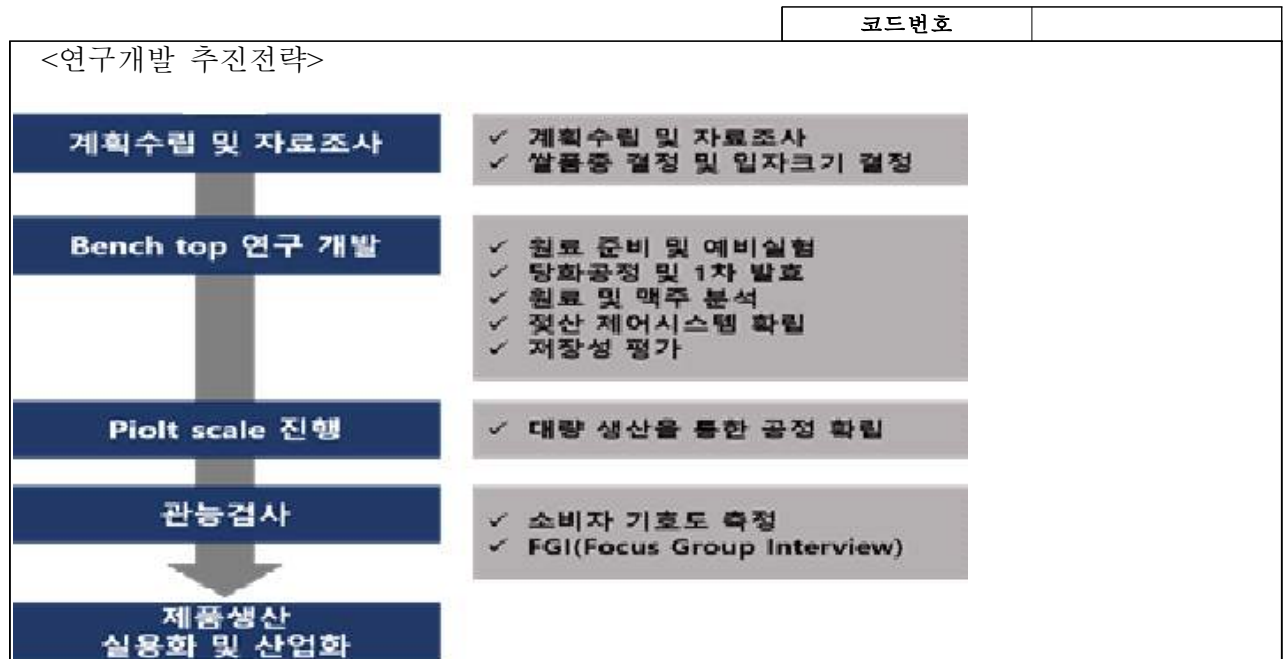


그림 2. 연구개발 추진전략

○ 쌀 품종과 쌀가루 제조 방법 표준화 조건 확립

- 양조용 쌀은 알코올 수율이 높고, 잡미와 쓴맛이 적으며 담백한 맛이 나는 쌀이 적합함. 연질미 (쌀

품종 예: 한가루, 설갱벼)는 쌀알 내부의 공극이 많아 발효 미생물 번식이 왕성하고 더불어 알코올 수율이 일반 쌀보다 30% 높고 술맛에 잡미와 쓴맛이 적어 생쌀 발효용에 좋은 품종으로 보고된 바 있음(농진청, 쌀가공이용). Quality Characteristics of Rice Cultivars Suitable for Rice Beer. Korean J. Crop Sci., 62(2):113~117(2017)참조).

현재 유통되고 있는 쌀 품종((예: 오대, 고시히카리, 추청, 일반계, 삼광, 신동진, 히토메보레) 중 오리온-농협(주)에서 생산되는 쌀가루제품(현재 가공용으로는 신동진품종을, 일반대중미의 경우 추청일미 품종을 많이 사용하고 있음)중에서 쌀가루의 가공과정 (분쇄도; 현재 오리온농협의 경우 60-200 mesh 까지 분쇄) 조건의 실험을 통해 쌀맥주 생산에 적합한 오리온-농협(주) 쌀가루제품을 사용하였음. 실험 방법은 “Quality Characteristics of Rice Cultivars Suitable for Rice Beer. Korean J. Crop Sci., 62(2): 113~117(2017)”을 참조하였음.

### ○ 쌀 맥주 제조

쌀 맥주를 양조하기 위해 맥아, 홉은 선별하여 사용, 효모는 건조된 에일용 효모(SAFALE US-05 Dry Ale Yeast, Fermentis, France)를 사용. 쌀 맥주의 제조공정은 일반적 맥주 제조공정을 사용하였음.

#### - 알코올 함량, pH, 쓴맛

쌀 품종에 따라 제조한 맥주의 알코올 함량은 HPLC로 분석, pH는 pH meter기로 측정. 맥주의 쓴맛 측정은 American Society of Brewing Chemists (ASBC) 주류분석규정을 토대로 분석.

#### - 색도

쌀 품종에 따라 제조한 맥주의 색도 변화를 측정하기 위해 시료를 50 mm의 투명용기에 옮겨 담은 후 색차계(Color Differencemeter)를 이용하여 측정.

#### - 통계분석

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 12.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program 을 사용하여 각 실험구간의 유의성을 검증한 후 Duncan's multiple range tests에 의해 실험군 간의 차이를 5% 유의수준에서 분석.

따라서, 쌀가루 맥주 제조 시 쌀가루 입도(mesh)가 크고 입자분포함량이 낮을수록 응집현상이 발생하지 않아 공정상 용이하였음. 쌀가루를 사용하여 맥주를 제조할 경우에는 여과공정이 느려지는 문제점이 발생할 수 있어 차후 상업용 효소의 사용 여부를 결정하려 하였으나 여과속도나 당화의 경우에서 이의 사용이 필요치 않을 것으로 판단하였음 (여과에서도 40%까지 환원당에서도 10-40%차이가 없어 따로 상업적 효소사용이 필요치 않음). 쌀가루 입자는 선행연구들과 오리온농협(주) 쌀가루 공장에서 생산되는 쌀가루 제품(60-200 mesh)을 이용한 실험을 통해 제공된 40, 80, 청정원 (150-200 mesh)을 사용한 결과 입자가 가장 큰 40 mesh 오리온-농협 쌀가루를 선별하였음.

### ○ 젖산 발효 공정 최적화 및 발효과정에 따른 성분 분석

- 정성정량 분석(HPLC)을 통한 기능성분 분석

○ 본 연구를 원활히 수행하고자 맥주 생산을 위한 공정 단계를 포함한 시제품 생산 부분과 이의 전반적인 일반 분석 및 기능성 성분 분석을 통한 신개념의 기능성 제품으로서 기존 맥주와 비교한 관능 특성을 조사하였음.

## 2-5. 추진 일정





최종목표		1			1		1	350		1				1				2
1 차 년 도	목 표	1			1		1	50		1				1				1
	실 적	1					1	0		1				1				2
소 계	목 표	1			1		1	50		1				1				1
	실 적	1			1		1	0		1				1				2
종료 1차년도								10 0										1
종료 2차년도								20 0										
종료 3차년도																		
소 계								30 0										1
합 계		1			1		1	35 0		1				1				2

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

(단위 : 건수)

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용 홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치	1			1		1	350		1				1				2		
최종목표	1			1		1	350		1				1				2		

#### 3-2. 목표 달성여부

	코드번호
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 특허출원 (1건)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- “맥주 제조 방법, 특허출원번호(10-2108-0165749)</li> </ul> </li> <li>○ 기술실시 (이전, 1건)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 농업회사법인 농협식품 주식회사 기술이전</li> </ul> </li> <li>○ 제품화 (1건)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 쌀 맥주 ”미미“ 제품</li> </ul> </li> <li>○ 고용창출 (1건)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 엠비션</li> </ul> </li> <li>○ 학술발표 (1건)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2019년 한국식품과학회 국제학술대회 (2019. 6.26-28, 인천 송도컨벤시아)                                      ”Characterization of fermented beverage containing maltosyl-isomaltooligosaccharides by hetero lactic acid bacteria“</li> </ul> </li> <li>○ 홍보전시 (2건)</li> </ul>	

- 속초비어페스티벌 (속초시, 2019. 8. 1 - 8. 2, 속초해수욕장) : 1건
- 2019 우리 쌀 가공식품, 전통주 WITH 米 페스티벌 (서울시와 농협식품, 2019. 9. 25 - 9. 26, 서울 시청광장) : 1건

제 1장 당화공정

가. 당화공정 최적화 연구

1) 쌀가루 전처리 공정 확립

가) 호화

[연구목적]

고분자 전분인 쌀가루는 맥아의 효소에 의해 고분자의 전분이 이당류와 단당류로 분해되는 정도에 따라 발효에 효율적인 당으로 이용되며 여기에는 포도당, 맥아당 등이 포함됨. 이에 쌀가루를 효과적으로 분해할 수 있는 최적 전처리 조건을 찾고자 쌀가루 전처리 조건을 확립하기 위해 호화여부가 당화에 미치는 효과를 확인하였음.

[연구방법]

당화공정 중 쌀가루 조건으로 생쌀가루와 호화쌀가루(쌀 중량의 2배의 물, 60℃에서 20분 호화)를 각각 맥아와 함께 당화하였으며, 가용성 고형분과 환원당을 측정하였음. 가용성 고형분 함량 측정은 시료 1 mL를 micro tube에 넣고 10,000 rpm(xg-force)에서 10분동안 원심분리하여 사용하여 상등액을 당도계(refractometer, ATAGO, PR-101, Japan)로 측정하였고, 환원당은 100배 희석하여 여과한 시료 용액 1 mL에 DNS reagent 3 mL를 혼합한 뒤 끓는 물에서 5분 동안 반응시킨 후, 방랭한 것을 96well마이크로플레이트를 이용하여 540 nm 흡광도를 측정하였으며, Glucose(Sigma Chemical Co. U.S.A)를 표준물질로 사용하였음.

[연구결과]

전처리 조건을 확립하기 위하여 두 가지 조건으로 당화한 결과(표 1), 생쌀가루보다 호화한 쌀가루가 가용성 고형분의 함량이 약 2%, 환원당이 1.56% 높게 나타났으며, 호화한 쌀가루가 당 생성이 높은 것으로 확인됨. 환원당은 당화 과정 중 맥아의 전분분해효소에 의해 고분자의 전분이 이당류와 단당류로 분해되는 정도를 나타내고 포도당, 맥아당 등의 농도를 측정하는데 사용할 수 있음. 이를 통해 가용성 고형분과 환원당은 당화 정도를 나타내는 중요한 척도로 볼 수 있으며, 당화에 있어 당 생성이 높을수록 맥주 발효에 유용함.

표 1. 쌀가루 전처리 방법에 따른 가용성 고형분과 환원당 함량 분석 결과

공정	soluble solids(brix °)	reducing sugar(%)
생쌀가루	7.98±0.21	6.62±0.11
호화한 쌀가루	9.97±0.27	8.18±0.07

나) 쌀가루 함량

[연구 목적]

맥주제조 시 맥아를 이용하여 당화한 후 분해되지 않은 맥아 껍질층이 증력에 따라 가라 앉아 침전되면서 자연필터 역할을 하여(Routring) 맥아즙액(wort)을 얻게 되는데 쌀가루 첨가함량에 따른 여과속

도의 차이를 확인하여 여과정도를 측정하고자 하였음.

[연구 방법]

쌀가루 함량은 맥아비율의 중량비로 10-60% 까지 비율적으로 첨가하였음(표 2). 여과방법은 분액여과기에 wort를 첨가하여 여과층이 충분히 가라앉은 뒤 벨브를 열어 시간별로 여과액을 회수하면서 여과속도를 측정하였음. 여과액의 이화학적 특성은 pH, 적정산도, 가용성고형분, 환원당(DNS법), 색도(색차계), 탁도(590nm)를 측정하였음.

표 2. 쌀가루 함량별 당화액 제조(unit:g)

sample	rice	malt	water
Rice 10%	3	27	200
Rice 20%	6	24	200
Rice 30%	9	21	200
Rice 40%	12	18	200
Rice 50%	15	15	200
Rice 60%	18	12	200

[연구 결과]

쌀가루 첨가량에 따른 여과성능을 실험하기 위해 시간 경과에 따른 당화액의 양을 측정한 결과(그림 3), 쌀가루 함량이 증가할수록 여과속도가 감소하는 경향성을 나타냈으며, 쌀가루 함량이 50% 이상 첨가 시 여과속도는 크게 감소하는 것을 확인하였음. 이를 통해 쌀가루 50% 이상 첨가할 경우 상업용 양조인 대량 생산 적용 시 여과를 느리게 하여 문제가 있을 것으로 확인되어, 쌀가루 40% 이하로 첨가하는 것이 당화 공정에 적합한 것으로 확인되었음. 20%의 경우는 당화공정의 여과속도에 큰 영향이 나타내지 않을 것으로 판단하였음.

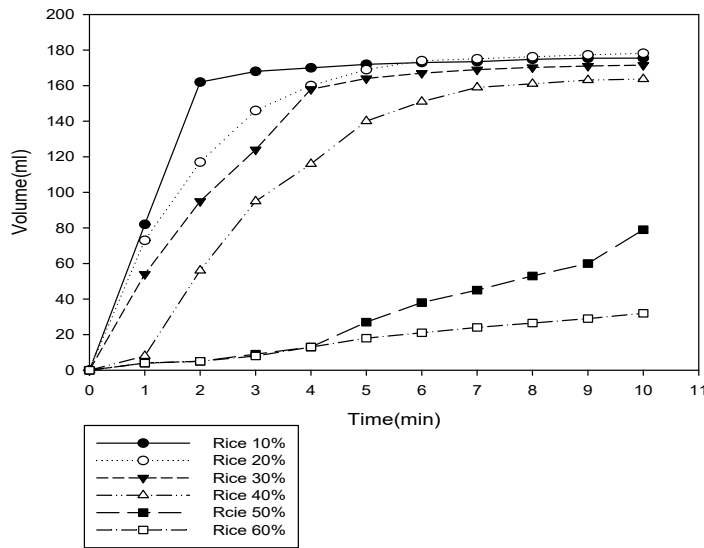


그림 3. 쌀가루 함량에 따른 당화액의 시간에 따른 여과액량

쌀가루 첨가량에 따른 당화액의 이화학적 성분을 분석한 결과(표 3), 쌀가루 함량이 증가할수록 pH의 증가와 적정산도는 감소하는 경향을 보였으며, 가용성고형분 및 환원당은 맥아 양 대비 쌀가루 함량이 증가하였음에도 가용성 고형분의 함량의 변화는 없었다. 환원당의 함량은 맥아량 대비 쌀가루 함량

40% 까지 증가하는 경향을 보이다 쌀가루 함량 50%에서 유의적으로 감소하는 경향성을 나타내었음. 이는 쌀가루 대비 맥아함량이 감소하면서 상대적으로 당화력 감소에 의해 환원당 함량이 감소하는 것으로 판단됨. 따라서, 맥아 대비 쌀가루 함량 40%까지는 유사한 가용성 고형분의 함량을 나타내고 있고 환원당 함량이 최대치를 나타내므로, 쌀가루 함량 40%까지는 당화에 큰 영향을 미치지 않는 것을 확인할 수 있었음. 이에 따라 쌀가루 40%까지는 전분분해효소를 추가로 첨가할 필요는 없을 것으로 판단하였음.

색도 측정 결과(표 4), 쌀가루 함량이 증가할수록 명도(lightness; L)는 증가하고, 황색도(yellowness; b)는 감소하는 경향성을 나타내었음. 쌀가루 함량이 증가할수록 탁도가 증가하는 경향을 보였음.

표 3. 쌀가루 첨가량에 따른 당화액의 이화학적 성분 분석 결과

sample	pH	titratable acidity(%)	soluble solids(brix°)	reducing sugar(%)
Rice 10%	5.68±0.03 <sup>e</sup>	0.12±0.01 <sup>ab</sup>	10.1±0.0 <sup>c</sup>	7.96±0.42 <sup>a</sup>
Rice 20%	5.72±0.00 <sup>d</sup>	0.13±0.01 <sup>a</sup>	10.4±0.0 <sup>a</sup>	7.96±0.18 <sup>a</sup>
Rice 30%	5.74±0.00 <sup>d</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	10.3±0.0 <sup>b</sup>	8.08±0.03 <sup>a</sup>
Rice 40%	5.78±0.01 <sup>c</sup>	0.09±0.00 <sup>c</sup>	10.0±0.0 <sup>d</sup>	8.00±0.01 <sup>a</sup>
Rice 50%	5.81±0.00 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>d</sup>	10.1±0.0 <sup>c</sup>	7.58±0.43 <sup>ab</sup>
Rice 60%	5.85±0.00 <sup>a</sup>	0.07±0.00 <sup>d</sup>	10.4±0.0 <sup>a</sup>	7.16±0.09 <sup>b</sup>
F-value	70.400 <sup>***</sup>	36.533 <sup>***</sup>	174.400 <sup>***</sup>	5.332 <sup>**</sup>

표 4. 쌀가루 첨가량에 따른 당화액의 색도 및 탁도

sample	Hunter color values			turbidity(ABS)
	L	a	b	
Rice 10%	39.67±0.48 <sup>e</sup>	0.22±0.04 <sup>bc</sup>	11.99±0.21 <sup>a</sup>	0.40±0.00 <sup>d</sup>
Rice 20%	42.03±0.19 <sup>d</sup>	0.05±0.02 <sup>d</sup>	9.08±0.08 <sup>b</sup>	0.65±0.08 <sup>c</sup>
Rice 30%	44.89±1.44 <sup>c</sup>	0.41±0.17 <sup>a</sup>	10.17±1.22 <sup>b</sup>	0.65±0.08 <sup>c</sup>
Rice 40%	48.53±0.75 <sup>b</sup>	0.35±0.10 <sup>ab</sup>	9.33±0.49 <sup>b</sup>	0.94±0.01 <sup>b</sup>
Rice 50%	45.39±0.45 <sup>c</sup>	0.10±0.02 <sup>cd</sup>	7.12±0.65 <sup>c</sup>	0.96±0.02 <sup>b</sup>
Rice 60%	53.71±1.77 <sup>a</sup>	-0.34±0.05 <sup>e</sup>	6.98±0.12 <sup>c</sup>	1.31±0.01 <sup>a</sup>
F-value	70.774 <sup>***</sup>	29.231 <sup>***</sup>	29.263 <sup>***</sup>	130.692 <sup>***</sup>

#### 다) 온도변화

##### [연구 목적]

일반적으로 맥주의 당화방식은 온도를 순차적으로 올려가며 맥아에 있는 전분분해효소 ( $\alpha$ -,  $\beta$ -amylase 등)의 활성을 극대화하는 방식을 사용하는데 쌀가루 첨가(맥아중량 대비 50%) 시 이러한 맥주 승온방식과 일정 당화온도처리 시의 당화의 차이를 확인하고자 하였음.

##### [연구방법]

당화 공정의 열처리 조건에 따라 당이 추출되는 정도의 차이가 있는지를 확인하고, 당 수율 및 발효 공정 중 젖산균 발효 공정의 prebiotic oligosaccharides 합성에 기여하는 maltose와 glucose의 고농도 추출 조건을 확립하기 위해 60 °C 항온 수조(4시간), 순차적 승온방식(45°C에서 30분, 63°C에서 80분, 70°C에서 30분, 78°C에서 10분; 총2시간 30분)으로 당화하면서 나타나는 특성을 확인하였음. 당화액의 이화학적 특성은 가용성고형분, pH, 적정산도 및 유리당을 측정하였음. 유리당 측정방법은 초순수로 희석한 후 0.2  $\mu$ m membrane filterpaper를 이용해 여과하고, 그 용액을 HPLC(2487, Waters Co., Milford, MA, U.S.A)를 이용하여 분석하였음. Detector는 Waters W410으로 분석하였고, column은

Aminex HPX-87c(300mm x 7.8mm, BIO-RAD, Hercules, CA., U.S.A)를 사용하였다. Column oven의 temperature는 85℃로 설정하였으며, mobile phase는 0.01M potassium sulfate in water로 하여 flow rate는 0.6 mL/min으로 사용하고 시료는 20 µL를 injection하였음.

[연구결과]

당화 공정 조건을 확립하기 위하여 두 가지 조건으로 당화한 결과, 표 4와 같이 나타났음. 당화과정 중 순차적 승온방식이 다른 조건에 비해 가용성 고형분 함량이 높고 maltose 및 glucose 등 free sugar 함량이 높게 나타남. 즉, 전분 분해는 호화, 액화, 당화의 3단계를 거쳐 분해되며, 60℃의 일정한 온도로 당화를 하는 기존의 당화 방식과 다르게 액화 및 당화 공정에 따라 온도와 시간을 달리하여 효소활성을 극대화한 결과 짧은 시간으로도 가용성 고형분과 maltose, glucose 등의 함량이 높아 젓산균 발효과정 중 prebiotic oligosaccharides 함량 및 효모발효를 통한 알코올 수율을 높일 수 있음을 확인함.

표 4. 당화 공정 열처리 조건에 따른 차이 분석 결과

sample	soluble solids (Brix °)	pH	titratable acidity(%)	free sugar		
				maltose(%)	glucose(%)	total(%)
60℃ 항온	9.45±0.50	6.02±0.04	0.06±0.00	2.66±0.53	0.20±0.05	2.85
순차적 승온방식	9.95±1.06	5.96±0.01	0.06±0.00	3.01±0.18	0.21±0.06	3.30

라) 입자크기

[연구 목적]

쌀가루 입자크기에 따른 수율을 측정하고 당화 시 나타날 수 있는 현상을 확인하고자 하였음.

[연구방법]

참여기업인 오리온농협(주)에서 생산되는 쌀가루 제품 중 가공공정(분쇄도; 현재 오리온농협의 경우 40-200 mesh까지 분쇄)에 따른 조건을 확립하고자 3가지 타입의 입자별 쌀가루(40, 80, 150 mesh)를 제공받아 실험에 사용하였음.

[연구결과]

당화 공정을 쌀가루 제품의 입자별 3가지 타입을 lab 실험한 결과, 당화 후 수율은 표 5, 일반성분 특성은 표 6에 나타냈으며, 그림 4와 같다. 쌀가루 입자 중 40 mesh의 수율이 95.51%로 가장 높았음. 나타낸 바와 같이 40 mesh는 쌀가루가 응집되는 현상이 나타나지 않았으나, 150 mesh는 응집현상이 가장 큰 것으로 나타남 (b. 당화액 분리 후 (바닥면) 참조). 따라서, 전분 입자가 둥글고 치밀하지 않은 두꺼운 입자가 당화 후 여과시 용이한 것으로 확인하였고, 가용성 고형분과 환원당이 40 mesh와 80 mesh가 150 mesh보다 높은 수치를 나타내었음. 이는 80 mesh 이하의 쌀가루가 당화공정에 적합한 하고 입자의 크기가 클수록 당화율이 증가하는 것으로 확인하였음.



a: 당화 후



b. 당화액 분리후 (바닥면)



c 당화액

40 mesh

80mesh

150mesh

그림 4. 쌀가루 mesh별(40, 80, 150(농협쌀가루 이용)) 당화과정

표 5. 당화 후 입자별 쌀가루의 수율 비교

sample	당화액 중량(%)*
40 mesh	95.51
80 mesh	90.00
150 mesh	83.68

\* 당화액 중량수율= 원심분리(8000rpm, 20분) 후 당화액의 중량 x 100 / 총 중량

표 6. Change in Brix, Reducing sugar, pH and Titratable acidity of saccharification.

sample	soluble solids(Brix °)	reducing sugar (%)	pH	titratable acidity (%)
40 mesh	10.40±00	7.72±0.16	6.02±0.04	0.14±0.00
80 mesh	10.40±00	7.26±0.39	6.00±0.01	0.14±0.00
150 mesh	9.60±00	6.62±0.11	6.00±0.02	0.14±0.00

## 제 2장 젓산균 발효

### 가. 젓산균 발효 공정 최적화

#### 1) pH 중화를 위한 CaCO<sub>3</sub> alginate bead 제조

##### [연구 목적]

이형젓산발효균주의 이소말토올리고당 생성을 극대화하기 위해 당생성효소인 dextransucraae의 활성 pH를 유지하기 위한 alginate를 피복물질로 CaCO<sub>3</sub>를 고정화한 bead를 제조하여 pH 조절을 통해 이소말토올리고당으로의 전환가능성 및 최적 발효 시간을 확인하고자 함.

##### [연구방법]

Alginate를 피복물질로 CaCO<sub>3</sub>를 고정화한 bead를 제조하여 pH 조절을 통해 이소말토올리고당으로의 전환가능성 및 최적 발효 시간을 확인하기 위해 36시간동안 실험하였음. Bead의 제조는 그림 5와 같이 sodium alginate 2%(w/v)가 되도록 증류수에 넣고 교반기를 이용하여 충분히 녹인 후 CaCO<sub>3</sub> 20%를 섞일 때까지 200 rpm으로 균질화하였다. 충분히 섞인 혼합 콜로이드 액은 주사기를 이용하여 주사바늘(Gauge 18)을 통하여 혼합 콜로이드 액을 0.1M CaCl<sub>2</sub> 용액에 적하하여 1.0-2.0 mm정도의 직경을 가진 bead를 제조하였으며, 1시간을 방치하여 bead를 강화시킨 다음 멸균수로 3회 세척한 후 사용하였음. 균주는 MRS Broth에 순수·분리하여 배양한 *Weissella cibaria*(W.C.B)와 *Leuconostoc mesenteroides*(L.M.B)를 접종하고 30°C에서 48시간 배양하여 배양액을 10,000 rpm, 10분간 원심분리한 후 상등액을 버리고 균체를 모은 뒤 saline buffer로 2회 세척하여 사용하였음. 당화시킨 당화액에 제조한 bead 2%와 균주를 각각 넣고 30°C의 항온기에서 발효하며 3시간 간격으로 관찰하였음. 당화액은 시간에 따른 pH의 변화와 TLC 분석하였음. TLC 분석은 희석한 시료를 TLC plate(Merck, TLC Silica gel 60 F254, Germany)에 점적하고 완전히 건조시킨 후 1번째 전개 용매(nitromethane : ethanol : water : iso-propanol = 3:3:4:5, v/v/v/v)에 2시간 30분 전개시킨 후 완전히 건조하고, 다시 2시간 30분 전개시켜 건조하였고, 다시 전개용매(acetonitrile : water = 85:15, v/v)에 3번 전개를 시켰다. 이를 발색시약, 0.3% n-(1-naphthyl)-ethylenediamine와 0.5% sulfuric acid를 혼합한 methanol)으로 처리하여 120°C에서 10분간 건조시켰음.

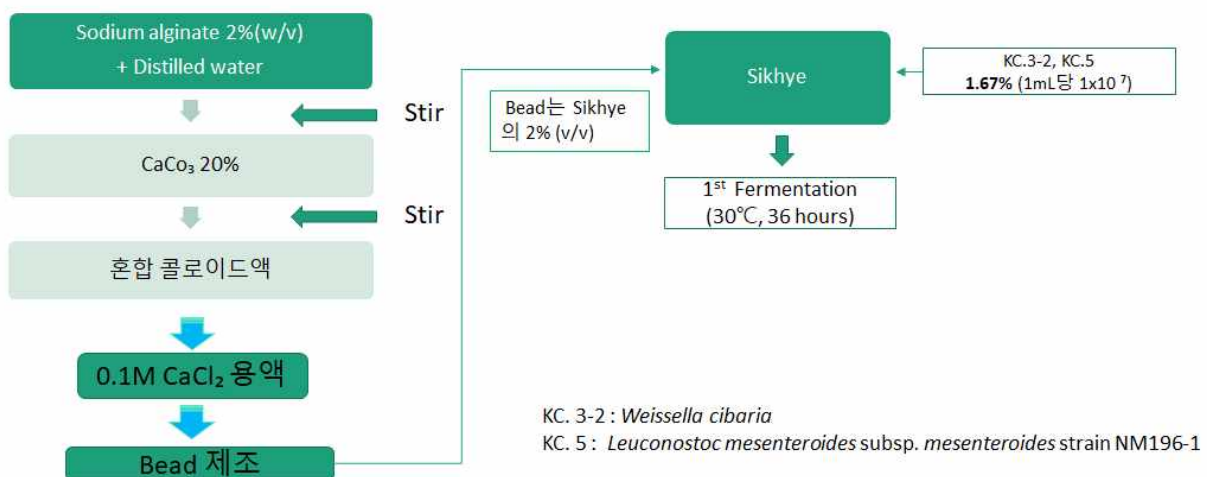


그림 5. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 제조 공정

##### [연구결과]

당화액에 균주 및 bead를 넣고 발효하는 동안 pH를 측정한 결과는 표 7에 나타내었음. Bead 무첨가



균인 control과 비교한 결과, 발효 24시간 control의 pH가 3.71로 떨어졌으며, bead를 첨가한 시료는 5.29로 나타났음. 또한, 발효 36시간 후 pH를 관찰한 결과 control의 pH가 3.50, bead 첨가한 시료는 각각 4.88, 4.66으로 나타나 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead가 pH 완충 제어 역할을 하는 것으로 나타났음. 이는 그림 6과 같이 TLC로 측정된 결과, control은 발효하는 36시간 동안 sucrose와 maltose가 소모되지 않고 isomalto-oligosaccharides가 생성되지 않았으나, W.C.B(KC.3-2)는 sucrose와 maltose의 점적이 거의 없어진 것을 확인하였고, isomalto-oligosaccharides의 점적 또한 열게 나타났음. L.M.B(KC.5)는 발효 36시간에 sucrose와 maltose의 점적이 모두 소모된 것을 확인하였고, isomalto-oligosaccharides의 점적이 짙게 생겨 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 효과가 큰 것을 확인하였음.

표 7. Change in pH of LAB fermentation

hour	control(균주 첨가)	W.C.B(KC.3-2)	L.M.B(KC.5)
0 hr	6.03	6.06	6.06
3 hr	5.96	6.12	6.10
6 hr	5.92	6.17	6.16
9 hr	5.90	6.24	6.30
12 hr	5.80	6.14	5.27
15 hr	4.68	5.20	5.36
18 hr	4.61	5.38	5.22
36 hr	3.50	4.66	4.88

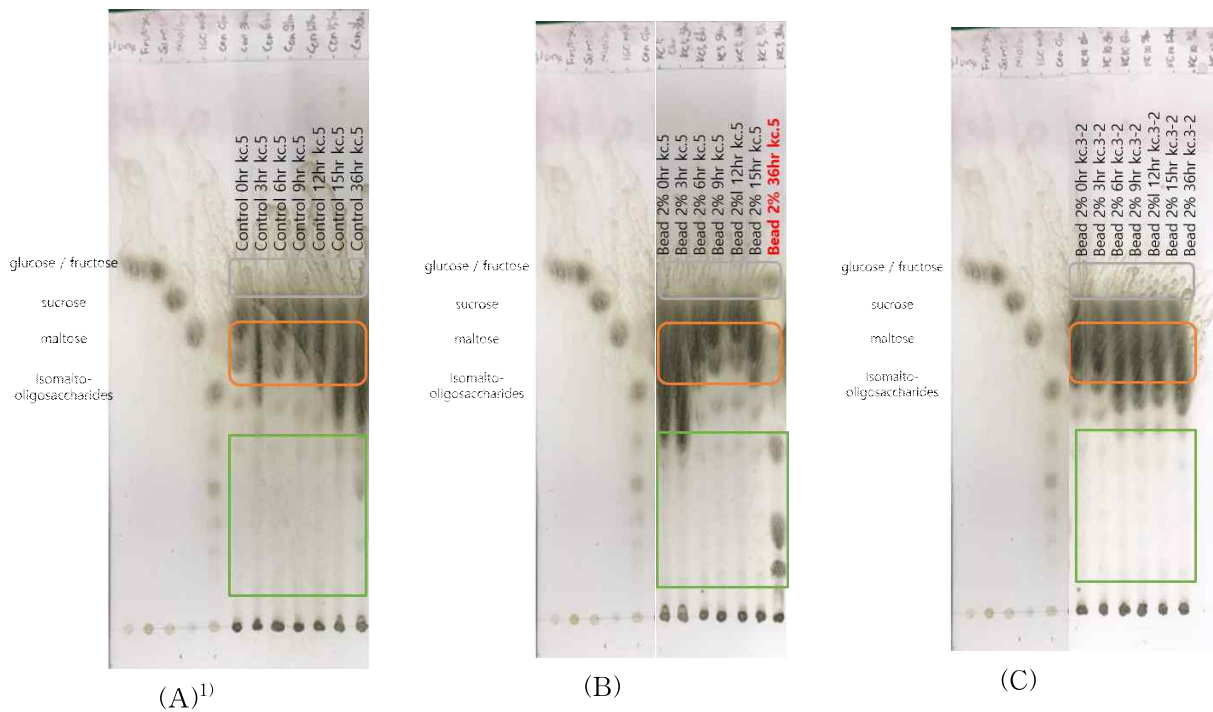


그림 6. 젖산균 발효시간별 TLC

1) (A): control, (B): L.M.B(KC.5) (C): W.C.B(KC.3-2)

## 2) CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 첨가량

[연구 목적]

CaCO<sub>3</sub>-alginate bead가 pH를 완충 조절하는 효과가 있어 이를 isomalto-oligosaccharides로 전환된다는 것을 확인하였고, 당화액에 첨가한 bead의 양에 따른 효과를 측정하고자 함.

[연구방법]

위 연구에서 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead가 pH를 완충 조절하는 효과가 있어 이를 isomalto-oligosaccharides로 전환된다는 것을 확인하였고, 당화액에 첨가한 bead의 양에 따른 효과를 측정하기 위하여, 각각 bead 1%, 2%를 첨가하여 실험하였음(그림 7).

[연구결과]

Bead의 첨가량에 따라 발효하는 동안 pH를 측정한 결과(표 8), 발효 10시간 control은 pH 4.82 이하로 떨어졌으나, bead를 첨가한 시료인 W.C.B(KC.3-2), L.M.B(KC.5), W.C.B(KC.3-2)와 L.M.B(KC.5)의 혼합한 W.L.B(KC.3-2+KC.5)는 5.20 이상을 유지하는 결과를 보였고 bead의 첨가량에 따른 pH의 차이는 나타나지 않았음. 이러한 pH 완충 작용의 효과를 확인하기 위하여 TLC를 측정한 결과(그림 8), 발효 15시간부터 bead를 첨가한 시료에서는 isomalto-oligosaccharides의 점적이 나타났고, 발효 24시간에 sucrose와 maltose의 점적이 열어지는 것으로 보아 dextransucrase에 의해 maltose를 수용체로 glucose를 probiotic oligosaccharides로 합성한 것을 확인할 수 있었음.

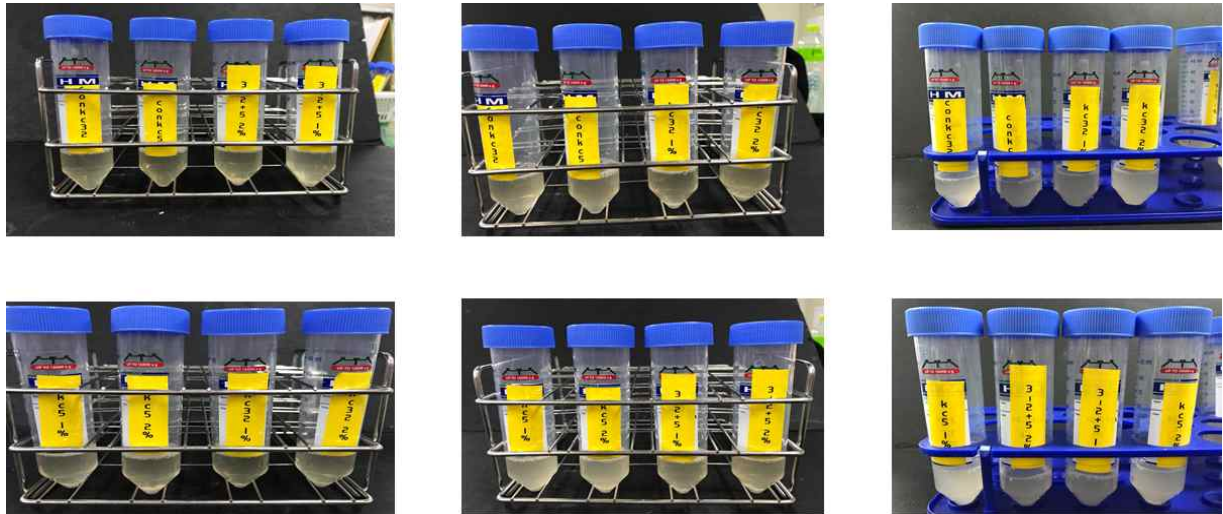


그림 7. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가량에 따른 실험 sample

표 8. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가량에 따른 pH 변화 측정 결과

sample	Control		W.C.B(KC.3-2)		L.M.B(KC.5)		W.L.B(KC.3-2+KC.5)	
	KC.3-2	KC.5	Bead 1%	Bead 2%	Bead 1%	Bead 2%	Bead 1%	Bead 2%
	Bead 0%	Bead 0%						
0hr	6.02	6.04	6.02	6.05	6.04	6.03	6.03	6.04
10hr	4.73	4.82	5.23	5.22	5.47	5.52	5.40	5.42
15hr	4.32	4.13	4.35	4.34	4.16	4.21	4.28	4.25
18hr	4.30	4.10	4.31	4.27	4.19	4.24	4.28	4.20
24hr	4.10	4.05	4.40	4.37	4.32	4.63	4.42	4.52

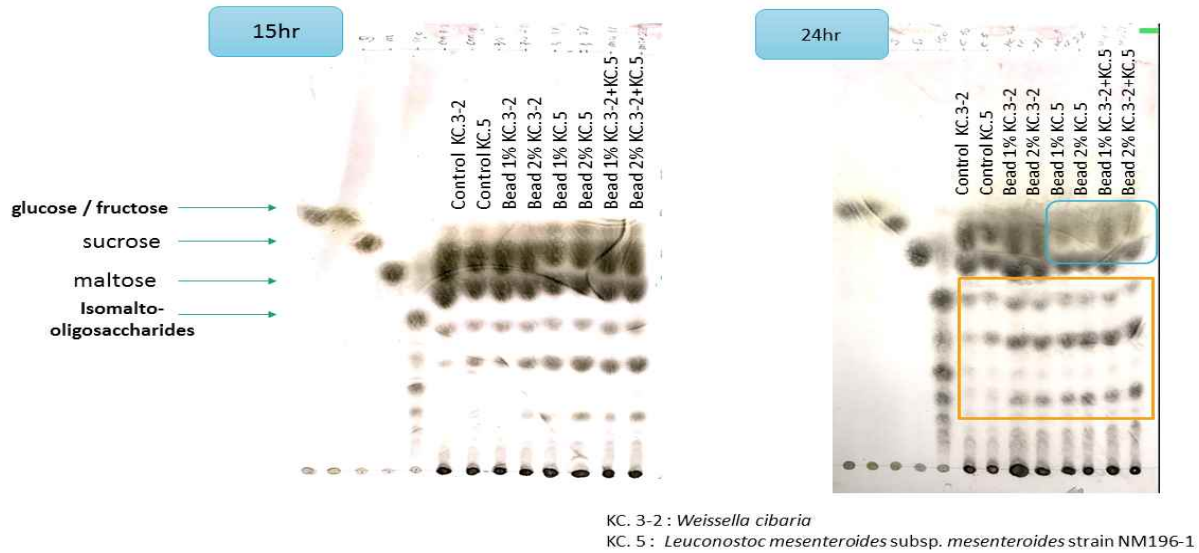


그림 8. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가량에 따른 TLC 측정 결과

### 3) Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 제조

#### [연구 목적]

균주 고정화를 위한 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead를 제조하고 함.

#### [연구방법]

Sodium alginate 2%(w/v)가 되도록 증류수에 넣고 교반기를 이용하여 충분히 녹인 후 CaCO<sub>3</sub> 20%와 *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 각각 투입하여 섞일 때까지 200 rpm으로 균질화하였다. 충분히 섞인 혼합 콜로이드 액은 주사기를 이용하여 주사바늘(Gauge 18)을 통하여 혼합 콜로이드 액을 0.1M CaCl<sub>2</sub> 용액에 적하하여 1.0-2.0 mm 정도의 직경을 가진 bead를 제조하였으며, 1시간을 방치하여 bead를 강화시킨 다음 멸균수로 3회 세척한 후 사용하였음.

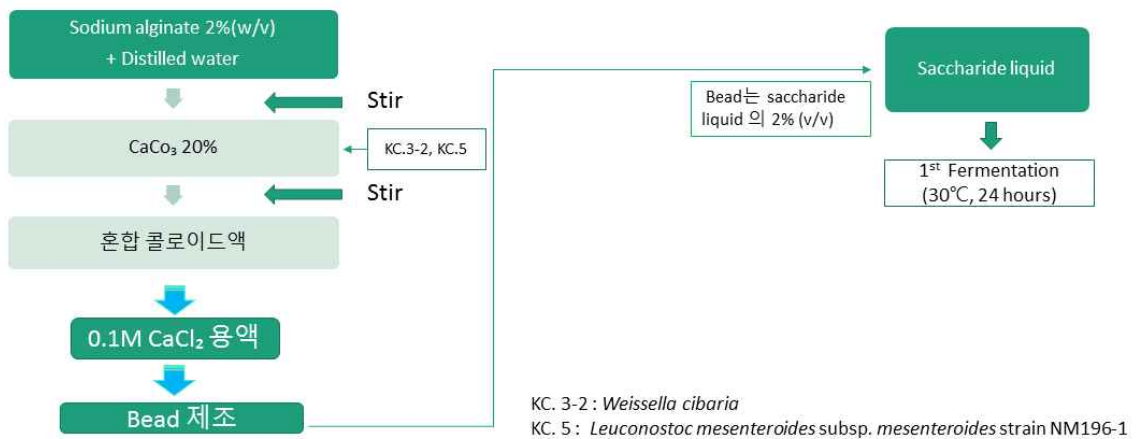


그림 9. Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 제조 공정

#### [연구결과]

시료간의 발효기간별 pH 변화는 표 8에 제시하였음. Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead는 bead를 첨

가하지 않은 control군과 비교하였을 때, 발효 12시간 pH 5.0 이하로 떨어지기 시작하였으나, encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead를 첨가한 시료들은 발효 12시간까지 pH 6.0 이상 유지하는 것을 확인할 수 있었음. 이처럼 균주를 고정화한 bead도 pH 완충효과가 있는 것을 확인하였음. 이를 TLC로 분석한 결과, 발효 24시간 sucrose 및 maltose가 모두 소모된 것을 확인하였으며, isomalto-oligosaccharides의 점적이 진하게 나타난 것을 확인하였음.

표 9. Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가에 따른 pH 변화 측정 결과

sample	control		E.W.C	E.M.L	E.W.L
	KC.3-2	KC.5	(KC.3-2)	(KC.5)	(KC.3-2+KC.5)
0 hr	5.99	6.03	6.41	6.26	6.26
5 hr	5.90	6.00	6.31	6.31	6.36
9 hr	5.83	5.99	6.38	6.44	6.44
12 hr	4.98	4.96	6.24	6.40	6.22
20 hr	4.07	4.00	4.26	4.11	4.17
24 hr	3.85	3.90	4.04	4.09	4.13
28 hr	3.75	3.99	4.23	4.37	4.18
32 hr	3.30	3.33	4.19	4.36	4.39

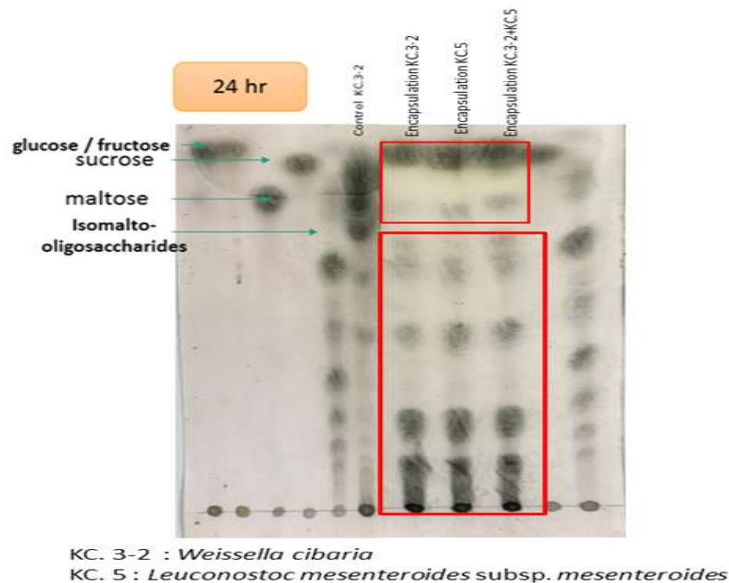


그림 10. Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 24시간 발효한 시료 TLC 측정 결과

#### 4) 균주의 Encapsulation 효과

##### [연구 목적]

균주의 Encapsulation에 따른 isomalto-oligosaccharides로 전환효과를 측정하고자 함

##### [연구방법]

CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 와 젖산균주를 Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 첨가에 따라 그 차이를 비교 측정하기 위해 비교 분석하였고, bead의 첨가량에 따른 차이도 분석하기 위해 pH, 가용성 고용분, 유리당 함량을 측정하였음.

[연구결과]

발효시간별 pH 및 soluble solids 변화는 표 10과 11에 제시하였음. Bead 첨가량에 따른 발효 시간별 pH 변화는 발효 0시간 때 bead 첨가량이 증가할수록 pH가 6.18-6.57로 증가하는 경향을 보이며, 발효 12시간 pH는 5.12-5.31로 pH가 감소하는 것을 확인할 수 있고, 발효 24시간에 pH 3.88-4.50으로 감소하였음. 이는 dextranase의 활성은 pH 5.0 이하에서 활성이 저지되는 바, 발효 12시간까지 isomalto-oligosaccharides 합성이 완료되었을 것으로 보임. 또한, encapsulated bead는 발효 12시간 bead 첨가량에 따른 차이는 없으나 pH 6.18-6.25를 나타냈으며, 이는 dextranase의 활성이 발효 12시간 이후에도 증가하여 isomalto-oligosaccharides 합성이 증가하였을 것으로 판단됨. 또한, 가용성 고형분의 차이를 분석한 결과, 시료간의 가용성 고형분 차이는 1brix° 이하의 차이를 나타냈고, 발효시간동안 모든 실험군에서 0.2-0.3 brix° 감소하는 경향을 보였음.

표 10. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead와 젖산균주 Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead에 따른 pH 변화 측정 결과

sample	control		CaCO <sub>3</sub> -alginate bead					Encapsulated CaCO <sub>3</sub> -alginate bead				
	KC.5	1%	2%	3%	4%	5%	1%	2%	3%	4%	5%	
0hr	5.78	6.18	6.18	6.12	6.36	6.57	6.38	6.36	6.37	6.4	6.39	
12hr	4.08	5.12	5.11	5.27	5.21	5.31	6.18	6.20	6.25	6.25	6.19	
24hr	3.61	3.88	4.20	4.42	4.40	4.50	3.97	4.27	4.50	4.91	5.20	

표 11. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead와 젖산균주 Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead에 따른 soluble solids 변화 측정 결과

sample	control		CaCO <sub>3</sub> -alginate bead					Encapsulated CaCO <sub>3</sub> -alginate bead				
	KC.5	1%	2%	3%	4%	5%	1%	2%	3%	4%	5%	
0hr	8.6	8.6	8.6	8.6	8.5	8.5	8.5	8.5	8.4	8.4	8.4	
12hr	8.5	8.5	8.5	8.5	8.4	8.4	8.5	8.5	8.5	8.3	8.4	
24hr	8.3	8.4	8.3	8.3	8.2	8.2	8.3	8.3	8.3	8.3	8.2	

[연구결과]

또한, 발효시간별 HPLC로 유리당 측정결과를 그림 11-14에 제시하였음. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 무첨가군인 control의 HPLC의 유리당 측정 결과(그림 11), 발효 0시간과 발효 24시간 sucrose와 maltose 등 유리당의 변화가 거의 없는 것으로 나타났음.

그러나, 균주와 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead를 따로 첨가한 시료와 젖산균주를 encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead는 발효 초기 sucrose의 함량은 6%로 검량되었고, maltose는 2%로 측정되었음. 균주와 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead를 따로 첨가한 시료는 발효 24시간 후 유리당을 검량한 결과 bead의 첨가량이 증가할수록 sucrose 함량은 2.1-5.2%로 감소하였고, maltose 함량은 1.3-1.9%로 감소하였으며, mannitol의 함량은 0.9-2.0%로 나타났음. 반면 젖산균주를 Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead는 발효 24시간 bead 1% 첨가군은 sucrose 함량이 1.0% 정도 잔존하였고, bead 2% 이상 첨가한 시료에서는 sucrose가 모두 소모된 것을 확인하였음. 또한, encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 모든 첨가군에서 maltose도 0.5-0.8%만이 남아 isomaltoligosaccharides 합성에 더 효과적임을 알 수 있으며, mannitol 함량도 1.8-2.4%로 나타나 mannitol생산도 효과적임을 나타냈음. 이에 젖산균 제어 방법으로 encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead이 효과적인 방법임을 확인하였으며 발효시간은 sucrose가 모두 소모되는 시점이 24시간으로 확인되었으며, 젖산균주를 encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가량은 sucrose와 모두 소모된 시점인 2% 첨가량으로 확립하였음.

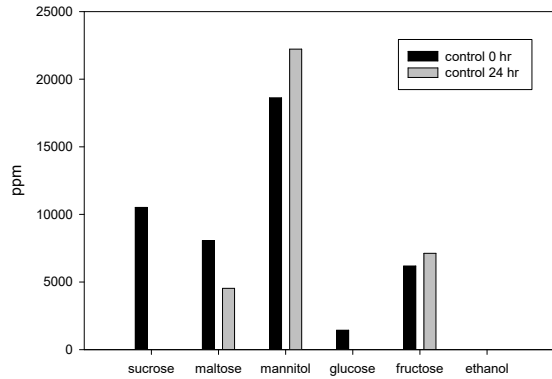


그림 11. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 무첨가군인 control의 발효 0시간과 24시간 유리당 변화 측정 결과

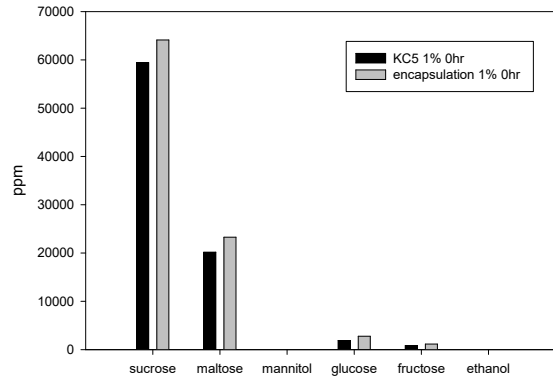


그림 12. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead와 encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 발효 0시간 유리당 변화 측정 결과

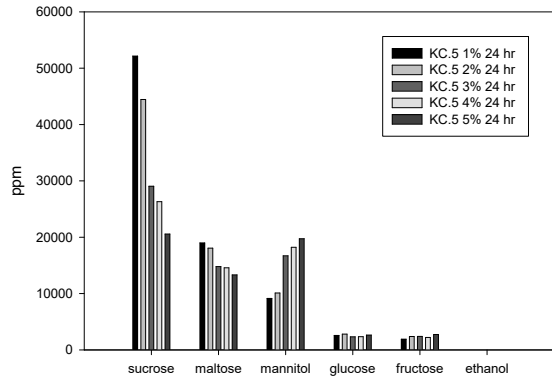


그림 13. CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 첨가량에 따른 발효 24시간 유리당 변화 측정 결과

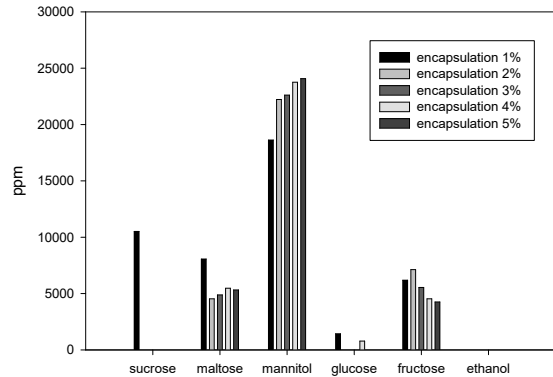


그림 14. Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 첨가량에 따른 발효 24시간 유리당 변화 측정 결과

## 5) 당화액을 이용 젖산발효를 통한 isomalto-oligo당 생산

### [연구 목적]

당화공정에서 최적화된 조건들과 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead에 고정화된 젖산균을 이용한 젖산발효를 통해 isomalto-oligo당 생산을 확인하고자 함.

### [연구 방법]

#### ○ 당화액의 제조

당화액의 제조과정은 그림 15와 같음. 쌀가루는 2배의 물을 붓고 60°C 온도에서 30분간 호화시키고, 맥아와 물은 1:10의 비율로 혼합한 후 호화한 쌀가루와 함께 혼합하였음. 이를 45°C에서 30분, 63°C에서 80분, 70°C에서 30분간 당화시킨 다음, 78°C에서 10분간 활성을 정지시켰음. 당화액은 8000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 여과시킨 후 6%의 sucrose를 첨가하고, autoclave에서 121°C, 15분간 멸균을 시킨 다음 5°C까지 방냉하여 사용하였음.

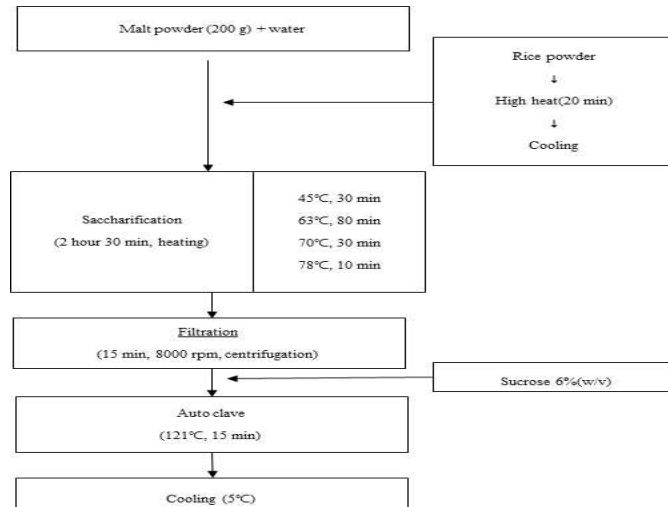


그림 15. Flow diagram of saccharide liquid preparation for experimental samples

○ CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 제조 및 젖산 발효

[연구 방법]

CaCO<sub>3</sub>-alginate bead 제조 및 젖산 발효과정은 그림 16과 같음. 즉, MRS Broth에 순수·분리하여 배양한 *Weissella cibaria*와 *Leuconostoc mesenteroides*를 접종하고 30°C에서 48시간 배양하여 배양액을 10,000 rpm, 10분간 원심분리한 후 상등액을 버리고 균체를 모은 뒤 saline buffer로 세척하였음. Sodium alginate 2%(w/v)가 되도록 증류수에 넣고 교반기를 이용하여 충분히 녹인 후 CaCO<sub>3</sub> 20%와 *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 각각 투입하여 섞일 때까지 200 rpm으로 균질화하였음. 충분히 섞인 혼합 콜로이드 액은 주사기를 이용하여 주사바늘(Gauge 18)을 통하여 혼합 콜로이드 액을 0.1M CaCl<sub>2</sub> 용액에 적하하여 1.0-2.0 mm정도의 직경을 가진 bead를 제조하였으며, 1시간을 방치하여 bead를 강화시킨 다음 멸균수로 3회 세척한 후 사용하였음.

당화시킨 식혜 400 mL에 Encapsulated *Weissella cibaria*(E.W.C) 접종(2%, w/v), Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides*(E.L.M) 접종(2%, w/v), Encapsulated *Weissella cibaria*(1%, w/v) and Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides*(1%, w/v)를 혼합 접종한 처리구(E.W.L)와 무처리구인 control을 30°C의 항온기에서 24시간 발효하였음. 이처럼 2종의 젖산균주를 이용하여 control을 제외한 총 3종의 발효제품을 만들어 최종 기능성과 소비자기도면에서 높은 제품군을 선정하고자 함.

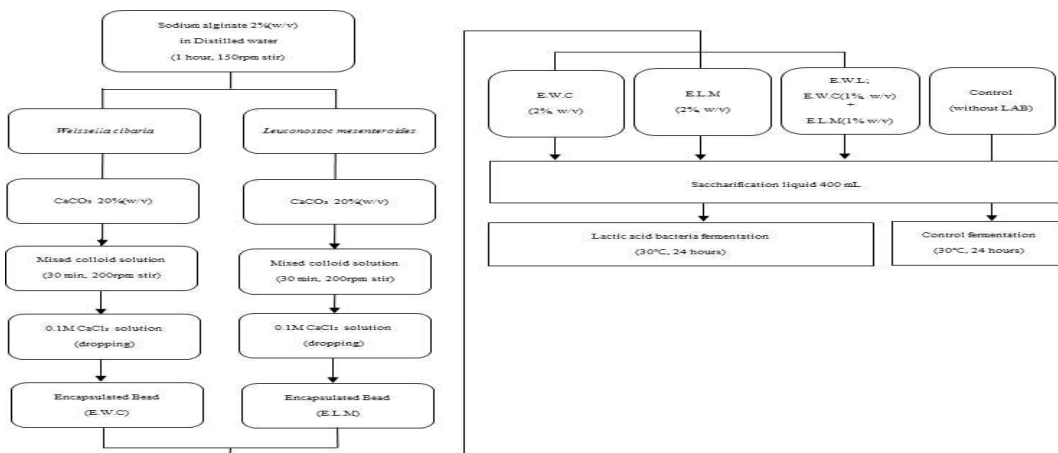




그림 16. Flow diagram of CaCO<sub>3</sub>-alginate bead preparation and lactic acid bacteria fermentation for experimental samples

[연구 결과]

- 가용성 고형분 및 환원당 함량 측정

젖산발효 과정 중 가용성 고형분의 함량을 측정한 결과는 그림 17과 같음. 발효 전 모든 시료가 16.80-16.96 °Brix인 가용성 고형분은 발효 24시간 후 젖산균을 무첨가한 control이 16.92 °Brix를, 젖산균을 첨가한 E.W.C는 16.62 °Brix, E.W.L은 16.73 °Brix, E.L.M이 16.80 °Brix로 각 시료 간의 가용성 고형분은 유의적으로 낮은 값을 나타내었음.

젖산균을 달리 제조한 시료의 발효 과정 중 환원당의 변화는 그림 18과 같음. 발효 직후 control이 9.35로 높은 값을 나타냈고, 다른 시료들은 8.64-8.91을 나타냈음. 발효 18시간에 control을 제외한 시료들은 9.93-10.57으로 1% 이상 유의적으로 증가하는 경향이었고, 이후 발효 완료 시점인 24시간에는 감소하여, 18시간보다 낮은 환원당 값을 나타내었음. E.L.M과 혼합균주를 사용한 E.W.L 시료는 발효 18시간에 각각 10.42%, 10.47%로 E.W.C보다 높은 값을 나타내었고, 발효 24시간 9.41-9.55%로 비슷한 수치를 보였음. 이는 *Leu. mesenteroides* 균주 생성이 *W. cibaria*보다 빠르게 생성되어 dextransucrase 활성이 높아져 고분자 생성에 이용된 것으로 보이며, 젖산균의 발효 시간이 경과함에 따라 젖산균이 생성되고, 이에 당전이효소인 dextransucrase의 효소활성도 증가되어, sucrose를 가수분해하여 fructose와 glucose가 증가된 결과로 환원당 값이 증가한 것으로 보임.

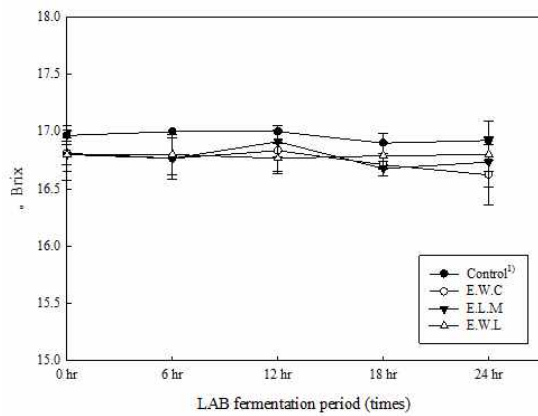


그림 17. Changes in total soluble solids during lactic acid bacteria fermentation

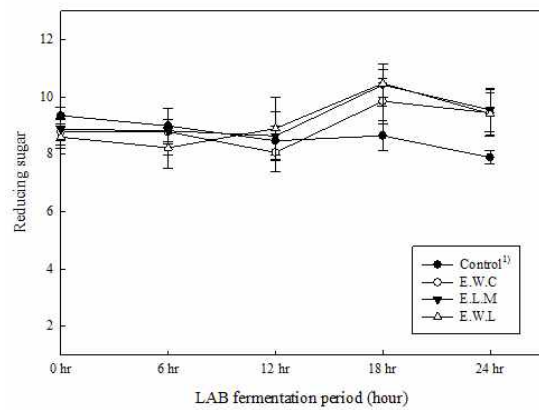


그림 18. Changes in reducing sugars during lactic acid bacteria fermentation

1) Control : Sample without LAB

E.W.C: Sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)

E.L.M: Sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)

E.W.L: Sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

1) Refer to 그림 17. for sample legends.

- pH 및 적정산도(Titratable acidity) 측정 결과

젖산균 발효과정의 pH는 그림 19에 나타내었음. 모든 시료의 초기 pH는 5.98-6.04에서 시작하여 control을 제외하고 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead를 첨가한 시료들은 발효 6시간에 pH 6.27로 상승하는 경향을 보였는데, 이는 CaCO<sub>3</sub>-alginate bead가 중화작용에 기인한 완충효과가 나타난 것임. 발효 18시간에



pH 4.98-5.10으로 떨어졌고, 젖산균 발효가 끝나는 24시간에는 pH 4.1-4.2에 도달하였음. 이는 발효를 시작하여 CaCO<sub>3</sub> 중화작용에 의한 최적의 pH로 인하여 젖산균의 활성이 높아졌고, 발효시간 이 경과함에 따라 생육하는 젖산균의 작용으로 유기산 생성량이 증가되어 pH가 저하된 것으로 판단됨.

젖당(Lactic acid)으로부터의 적정산도 측정결과는 그림 20과 같이 나타내었음. 젖산균을 첨가하지 않은 control은 발효 24시간 동안 산도 0.06-0.08% 로 거의 변화가 없었으며, 젖산균을 첨가한 시료들은 젖산균의 대사과정으로 인해 발효가 활발하게 일어나는 12시간부터 산도가 지속적으로 증가하여 발효 24시간 E.W.C, E.L.M, E.W.C의 산도는 각각 0.40%, 0.44%, 0.43%로 비슷한 산도를 보였음. 발효 후 12시간부터 높아지는 산도와 pH가 저하되는 시점이 일치하는 것을 알 수 있음.

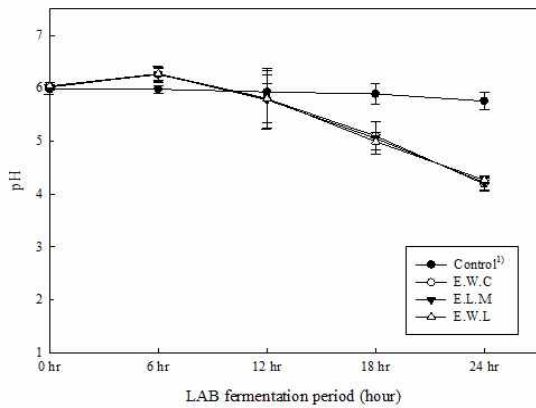


그림 19. Changes in pH during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

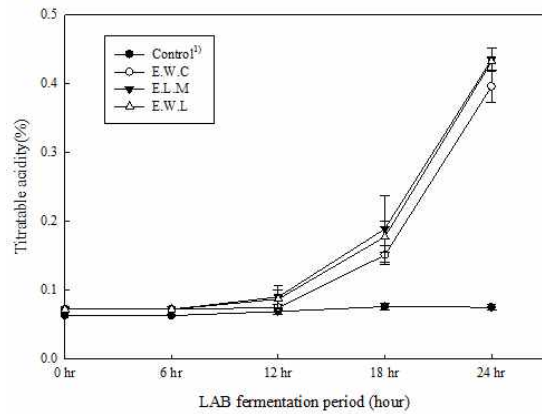


그림 20. Changes in titratable acidity during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

- 총 균수 및 젖산균 수 측정 결과

젖산 발효하는 동안 총 균수와 젖산균을 확인한 결과는 각각 그림 21, 그림 22와 같음. 젖산균을 첨가하지 않은 control은 두 배지에서 균이 나타나지 않았고, 나머지 시료는 두 배지에서 균주가 비슷하게 나타났으며, 모두 젖산균으로 확인되었음. 발효 6시간 때 E.L.M과 E.W.L은 10<sup>3</sup> CFU/mL의 균수로 증가하였고, E.W.C는 균이 나타나지 않았으나, 발효 12시간 이후 대조군(control)을 제외한 모든 시료들은 10<sup>6</sup> CFU/mL의 비슷한 균수로 증가하였음. 발효 24시간에 10<sup>9</sup> CFU/mL까지 증가하는 결과로 보아 pH 5.5 부근에서 대수적으로 균수가 증가하는 것을 확인할 수 있었음.

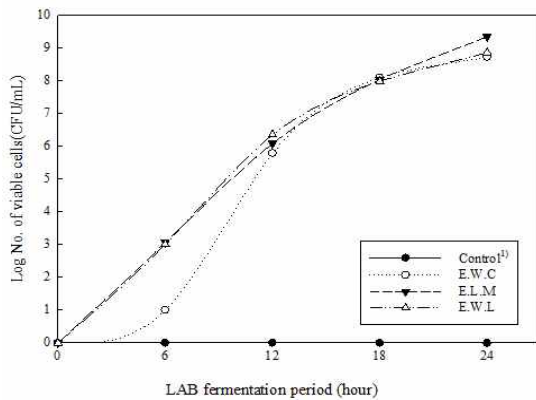


그림 21. Changes in total viable cell counts during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

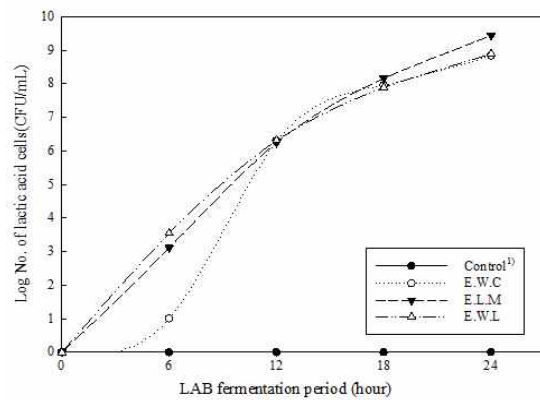


그림 22. Changes in lactic acid bacteria cell counts during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

#### - HPLC을 이용한 유리당 함량

발효과정 중 유리당 함량을 HPLC로 분석한 결과, sucrose 함량은 그림 23, maltose 함량은 그림 24, glucose 함량은 그림 25, fructose 함량은 그림 26, mannitol 함량은 그림 27과 같음. 유리당은 젖산균의 발효과정에서 생성된 효소 작용에 의하여 전분질이 당분으로 분해되면서 생성되고, 생성된 유리당은 젖산균 또는 유기산 발효 기질로 이용되면서 증가 또는 감소하게 되며, 이러한 당은 발효와 맛 성분 에 영향을 줌. Sucrose 함량은 발효 초기 5.81-5.94%(w/v)로 발효 6시간까지 비슷한 수치를 유지하다가 발효 12시간부터 젖산균 무첨가군인 control을 제외하고 3.02-4.31%(w/v)로 감소하기 시작하여 발효 18시간에 1.12-1.84%(w/v)로 급격히 감소하였으며, 24시간에는 sucrose가 완전히 소모되었음. Maltose 함량은 발효 초기 4.81-4.95%(w/v)로 발효 12시간부터 젖산균을 접종한 시료들은 감소하였으나, 시료 간 유의적인 차이를 보이지 않았고, 18시간에 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며, 24시간에 1.76-1.97%(w/v)까지 급격하게 감소하였음. 이는 sucrose가 가수분해되어 glucose가 maltose와 반응하여 이소말토올리고당과 같은 수용체 산물로 전환하게 됨으로써, sucrose와 maltose 함량 변화가 감소하는 경향을 보임. 또한, Glucose 함량은 발효 초기 0.57-0.69%(w/v)에서 발효 12시간에 약간 증가하는 경향을 보이다 control을 제외한 젖산균 첨가군은 점차 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없었음. 가수분해된 glucose는 중합반응에 이용된 것으로 판단되며, fructose 함량은 control을 제외하고 모든 시료 에서 발효 6시간부터 증가하기 시작하여 18시간과 24시간에 fructose 값이 높게 증가하는 경향을 보였고, 최종 1.69-1.75%의 값을 나타내었음. 이는 18시간부터 sucrose의 가수분해로 인하여 sucrose 함량은 감소하고, fructose의 함량이 증가한 것으로 보임. 발효 12시간, sucrose와 fructose는 *Leu. mesenteroides*이 각각 3.02%, 1.43%였고, *W. cibaria*는 각각 4.31%, 0.94%의 값을 보였는데 *Leu. mesenteroides*가 *W. cibaria*보다 sucrose를 분해하는 능력이 높다는 것을 알 수 있음. Fructose 함량의 증가는 발효 12시간에 그 수치가 증가하면서 mannitol이 생성되는 것을 확인하였고, 2균주가 mannitol을 생성한다는 것을 확인하였음. 이처럼 가수분해된 fructose는 NADPH를 환원제로 사용하여 mannitol로 전환시켜 세포 외로 배출시킴으로써 mannitol 함량을 증가시킴. 발효 후 12시간부터 mannitol이 생성되기 시작하여, 발효 24시간에 *Leu. mesenteroides* 균주인 E.L.M이 1.24%로 가장 높은 수치를 나타냈고, 혼합 균주를 사용한 E.W.L이 1.13%, *W. cibaria* 균주인 E.W.C가 0.99%로 나타나 유의적 차이를 보였음.

본 연구에서 젖산 발효 기간 중 glucose 분해 속도는 E.L.M > E.W.L > E.W.C 순으로 나타내는데, 이를 통해 *W. cibaria* 균주보다 *Leu. mesenteroides*가 glucose 흡수속도가 빠른 것으로 생각되며, 이

러한 결과로 만니톨 생성량이 높은 것으로 보여짐.

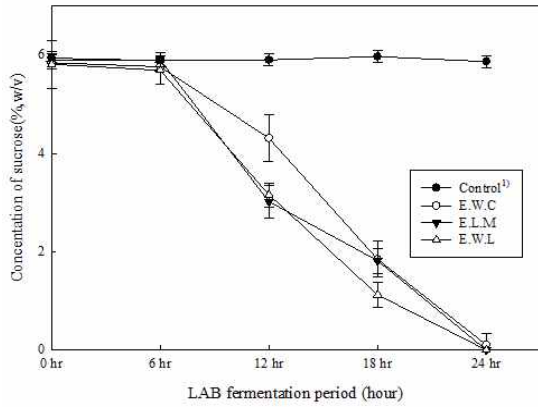


그림 23. Changes in sucrose during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

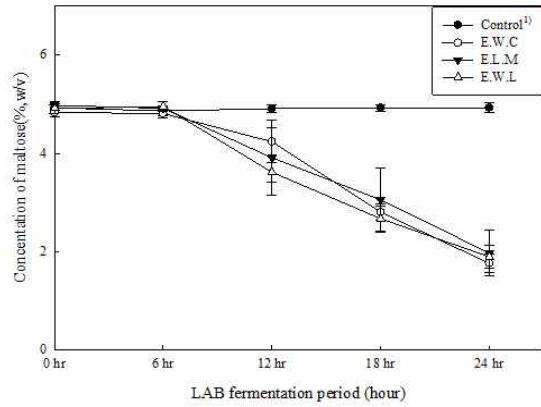


그림 24. Changes in maltose during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

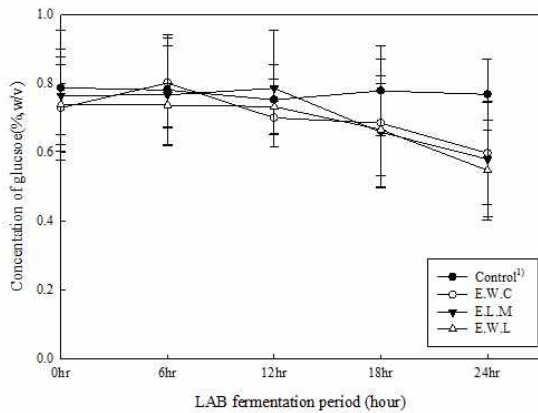


그림 25. Changes in glucose during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends

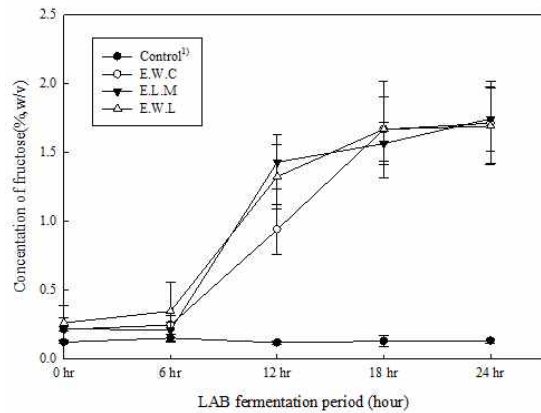


그림 26. Changes in fructose during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends

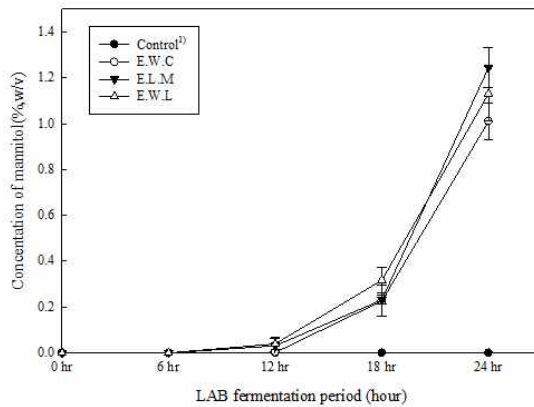


그림 27. Changes in mannitol during lactic acid bacteria fermentation

<sup>1)</sup> Refer to 그림 17. for sample legends.

- 올리고당 함량 분석 결과

시간별 올리고당의 함량 변화는 표준품의 HPLC 면적 값을 이용하여 측정 하였고, 그 결과 D-panose, Branched Degree of Polymerization(BDP) 4는 각각 그림 28-32에 나타냄.

젖산균을 첨가한 시료에서는 발효 12시간에 D-panose, BDP4 수치가 증가하기 시작하였고, E.W.C, E.L.M, E.W.L는 각각 4.10%, 4.14%, 3.96%로 최대 수치를 나타내었다. 그러나, 발효 24시간, 각각 3.59%, 3.90%, 3.78%로 그 함량이 감소한 것으로 보아, D-panose 말단에  $\alpha$ -1-6 이 결합함으로써 더 큰 중합도(DP)의 올리고당으로 전환된 결과라고 판단됨. 따라서, BDP4는 발효 18시간, 0.60-1.18%에서 24시간 1.77-2.22%로 그 함량이 증가하였음. 반응 초반 panose가 생성되지만, 최고 함량에 도달한 이후부터는 그 함량이 감소하였는데, 이는 반응물질로 작용한 것으로 판단됨.

발효 24시간, D-panose와 BDP4 함량은 E.L.M > E.W.L > E.W.C 순으로 높았으며, 젖산균에 의한 전이 올리고당 형성의 가장 중요한 과정은 glucose의 자유성과 관련되어 있으며, 이러한 젖당의 이성질체인  $\alpha$ -1,3,  $\alpha$ -1, 4와  $\alpha$ -1,6 결합은 젖산균에 의해 생성되는 다양한 전이 올리고당들이 젖당의 가수분해 속도와 분자 내 결합 회전축의 차이에 의해서 생성되는 바와 같이 *Leu. mesenteroides*가 *W. cibaria*보다 활성이 우수하고, 단당류 분해속도 및 당전이 반응속도가 빠른 것에 의한 차이로 보여짐.

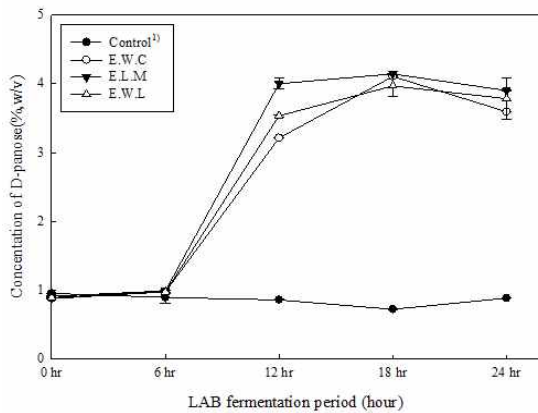


그림 28. Changes in D-panose during lactic acid bacteria fermentation

1) Refer to 그림 17. for sample legends.

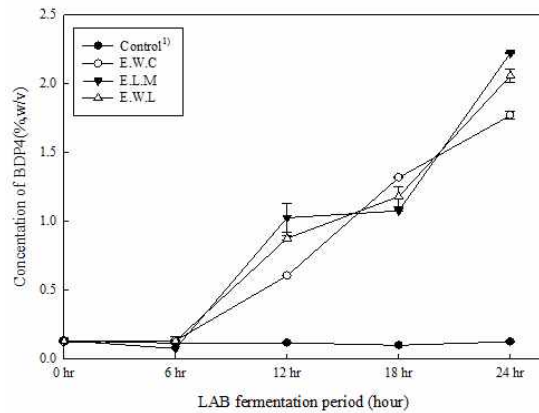


그림 29. Changes in BDP4 during lactic acid bacteria fermentation

1) Refer to 그림 17. for sample legends.

- 유기산 함량 분석 결과

이형젖산균에 의해 발효되는 유기산은 주로 lactic acid, acetic acid이며, 젖산에 의해 발효음료의 풍미와 향의 향상에 도움을 주므로 발효알코올음료인 맥주에 중요함.

Lactic acid 함량의 변화는 그림 30, acetic acid 함량의 변화는 그림 31에 나타내었음. 젖산균을 첨가하지 않은 control은 lactic acid가 검출되지 않았고, 다른 시료들은 젖산균 증식이 급격하게 증가하는 12시간에 lactic acid가 생성되는 것을 관찰할 수 있었음. 발효 완료 24시간에 E.W.C, E.L.M, E.W.L 시료가 각각 0.120%, 0.123%, 0.117%로 증가하였음.

이형젖산발효의 주요 유기산인 acetic acid 함량은 발효 직후 젖산균을 첨가하지 않은 control을 포함한 모든 시료에서 0.058-0.063% 값을 나타냈음. 이는 발효 초기 acetic acid 함량은 젖산균에 의해 생성된 것이 아니라, 당화 과정에서 쌀의 첨가에 따른 수치로 볼 수 있음. Acetic acid의 함량의 변화는 발효 24시간에 E.W.C, E.L.M, E.W.L 값이 각각 0.148%, 0.141%, 0.105% 로 증가하는 양상을 보였으며( $p < 0.001$ ), 혼합 균주를 사용한 E.W.L 에서 가장 낮은 수치를 보였음.

젖산은 발효음료로 제조 시 제품의 상쾌한 신맛과 보존성을 향상시키며, 유단백질의 소화력 향상 및 칼슘, 철, 인 등의 이용성을 향상시키는 장점을 가지고 있어 발효 제품으로써 가치가 있을 것으로 판단되며, 적당한 lactic acid는 발효 음료로써 상큼하고, 시원한 맛을 줌으로써 기호성을 증진시킬 수 있을 것이라 기대됨.

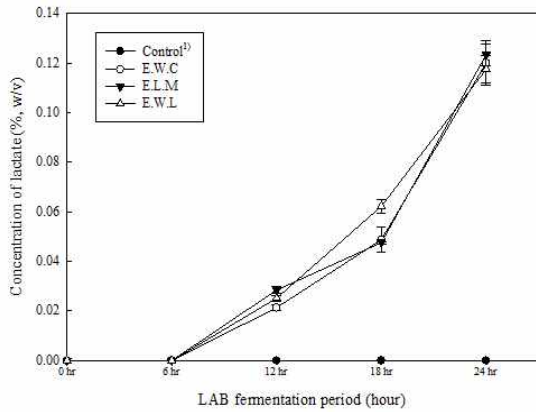


그림 30. Changes in lactic acid during lactic acid bacteria fermentation

1) Refer to 그림 17. for sample legends.

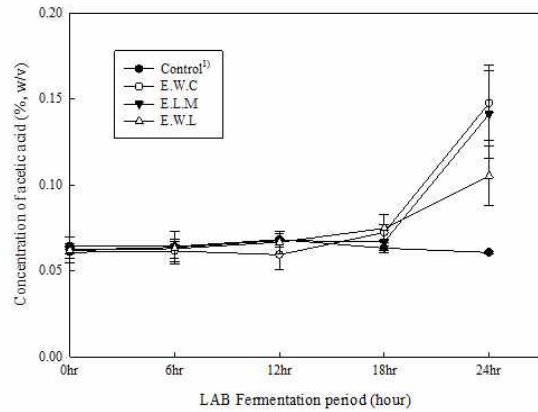


그림 31. Changes in acetic acid during lactic acid bacteria fermentation

1) Refer to 그림 17. for sample legends.

### 제 3장 효모발효 공정

#### 가. 맥주 효모발효 공정 확립

##### 1) 효모 발효 공정 확립 및 숙성(aging) 공정

##### 가) 효모 종류 및 발효기간에 따른 맥주 비교

#### [연구목적]

알코올 수율을 높이기 위해 효모발효 및 숙성 공정은 매우 중요함. 특히, 쌀가루를 첨가한 후 효모 발효 공정 중 쌀가루 특유의 칭주취 등의 발효취가 강하게 나는 것을 저감화하기 위해 효모 종류에 따른 발효 특성을 파악하고 최적의 효모를 선별하고자 하였음. 효모의 종류는 표 12에 나타냄.

표 12. 효모(yeast)의 종류 및 스타일

sample	균주	스타일	적정 온도(℃)	형태	제조사 및 원산지
S-04	<i>Saccharomyces</i>	ale(english)	15-20	dry	Fermentis(England)
US-05	<i>cerevisiae</i>	ale(american)	18-28		Fermentis(England)
Saison		saison	26-32		Mangrove Jack's(England)

#### [연구방법]

젖산균 발효물에 양조 효모 3종류를 각각 투입하여 발효 기간 5일과 10일을 실험하여 이화학적 성분을 비교 분석하였음.

#### [연구결과]

시판 맥주 양조 효모 3종류; French Sasion(mangrove jack's, BGGi NZ Ltd, Newzealand), Safale S-04(Fermentis, Lesaffre, England), Safale US-05(Fermentis, Lesaffre, England)를 선정하여 각 효모

의 발효 기간별 맥주를 제조하여 이화학적 분석 결과는 다음과 같다(표 13). 3종류의 효모를 발효한 결과, 효모간의 발효양상의 차이는 크게 나타나지 않았음.

맥주의 양조 시 효모 발효 경우 알코올 수율을 위해 잔여당을 모두 소모할 때 까지 발효시키는 것이 일반적이며 이는 통상 발효 10일 정도 소요가 됨. 본 연구에서 효모 발효 5일의 각 시료들은 발효 10일에 비해 잔여당을 남겨놓고 발효를 멈추었기 때문에, 환원당 및 가용성 고형분 함량이 높았으나, pH 및 적정산도에서는 차이가 나타나지 않았음.

표 13. 효모 종류에 따른 쌀맥주 이화학 성분 비교

Sample	pH	Titratable acidity(%)	Soluble solid (Brix°)	Reducing sugar(%)	
효모 발효 5일	Saison_5D <sup>1)</sup>	3.93±0.01	0.40±0.01	9.8±0.0	2.86±0.06
	S-04_5D	3.97±0.00	0.34±0.00	10.1±0.0	3.28±0.10
	US-05_5D	3.76±0.01	0.35±0.02	10.2±0.0	2.64±0.01
효모 발효 10일	Saison_10D	4.00±0.00	0.46±0.02	7.7±0.0	1.00±0.00
	S-04_10D	4.03±0.02	0.36±0.02	9.1±0.0	1.74±0.06
	US-05_10D	3.83±0.00	0.36±0.00	8.8±0.0	1.57±0.01

1)Sasion\_5D: Fermented for 5 days with French Saison  
 S-04\_5D: Fermented for 5 days with Safale S-04  
 US05\_5D: Fermented for 5 days with Safale US-05  
 Sasion\_10D: Fermented for 10 days with french Saison  
 S-04\_10D: Fermented for 10 days with Safale S-04  
 US05\_10D: Fermented for 10 days with Safale US-05

○ GC-MS를 이용한 휘발성 향기성분 정성분석

[연구 방법]

쌀맥주의 제조 시 효모발효 기간이 늘어남에 따라 특유의 막걸리 또는 청주에서 느끼는 이취가 발현되었으며, 이를 비교하기 위해 휘발성 향기성분을 분석하였음. 대조군은 시판 청주(C1, L사)와 시판 막걸리(C2, S사), 시판 맥주(B3, O사)를 사용하였으며, 효모발효기간(5일 및 10일)에 따른 시료 2종(B1, B2), 총 5개의 시료를 비교 분석하였음. 분석 방법은 탄산가스를 제거하기 위해 전처리로 시료 100ml를 초음파처리(sonication)하였으며, 27g NaCl을 넣은 후 8분간 교반하였음. 30ml air-tight vial에 전처리한 시료 10ml을 넣고 상온에서 10분간 교반하여 평형시킨 후 30분간 PDMS fiber로 포집하였음. 휘발성 향기성분은 GC-MS로 분석하였으며, 분석 조건은 표 14와 같음. 분리된 peak는 library와 80% 이상 매치를 보일 때 동정된 성분으로 정하였음. 이후 각 시료에서 동정된 휘발성 성분은 전체 피크면적(peak area)에서 차지하는 백분율(%)로 나타냈음.

표 14. GC-MS 분석 조건

GC condition	
instrument	Agilent Technologies 7890A (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA.)
column	DB-WAX(60 m x 320 µm x 0.5 µm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)
carrier gas	Helium, 1 ml/min
split ratio	10:1
oven temp	40°C (2 min) → 10°C/min → 160°C (6 min)

inlet heater	250℃
Aux heater	250℃
MS condition	
instrument	Agilent Technologies 5977A (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA.)
solvent delay	3.0 min
scan mode	10-500 m/z

[연구결과]

시판 청주, 막걸리, 맥주와 쌀맥주의 휘발성 향기성분을 분석한 결과(표 15), 알데히드 1종, 알코올 4종, 휘발성 유기산 2종으로 총 7종의 휘발성 향기성분이 검출되었음. 시판맥주(B3)에서는 검출되지 않았으나, 시판 막걸리(C2)에서 검출된 acetaldehyde같은 경우 알코올음료에서 주로 효모나 세균에 의해 아세트산, 에탄올 및 페놀 화합물의 자동 산화에 의해 형성되며, 낮은 함량에서는 과일향을 나타내나, 높은 함량에서는 자극적인 냄새를 나타냄. 쌀맥주의 경우 효모발효기간 5일 시료보다 10일 발효 시료에서 약 2.33배 높은 면적 비율을 나타냈으며, 본 연구의 제조방법에 따르면 막걸리에서 나타나는 이취와 유사한 것으로 판단됨. 또한 휘발성 유기산은 주류의 향기 특성에서 부정적인 향미특성을 가져 적합하지 않은 향 특성으로 알려져 있음. Acetic acid는 세균 및 효모의 발효작용으로 생성되는 자극취로 효모발효기간 5일 시료보다 10일 발효 시료에서 높은 면적값이 측정됨. 따라서 효모발효기간이 길어짐에 따라 쌀맥주에서 나타나는 부정적 향기특성이 늘어나는 것으로 사료되며, 약 5일간의 발효기간이 적합한 것으로 판단됨.

표 15. 시판(청주, 막걸리, 맥주)제품과 쌀맥주의 휘발성 향기성분 분석 결과

K1 <sup>1)</sup>	Volatile compound	Retention Time(min)	Peak area(Unit: %)				
			C1 <sup>2)</sup>	C2	B1	B2	B3
726	acetaldehyde	7.147	ND	0.48	0.12	0.28	ND
1121	Acetic acid, ethyl ester	9.382	0.09	0.34	0.38	0.65	0.40
1255	ethyl alcohol	10.134	97.05	89.10	95.88	94.04	94.24
1705	1-propanol	12.661	0.72	2.10	0.60	0.67	0.75
1927	pthenylethy alcohol	13.885	ND	0.62	ND	0.36	0.51
2041	1-Butanol,	14.548	2.13	7.35	2.84	4.01	4.10
2801	3-methyl-Octanoic acid, ethyl ester	18.816	ND	ND	0.19	ND	ND

1) Kovats retention index of unknown compounds on DB-WAX column.

2) C1: 시판 청주(L사), C2: 시판 막걸리(S사), B1: 쌀맥주\_2F5D, B2: 쌀맥주\_2F10D, B3: 시판 맥주(O사)

3) Not detected



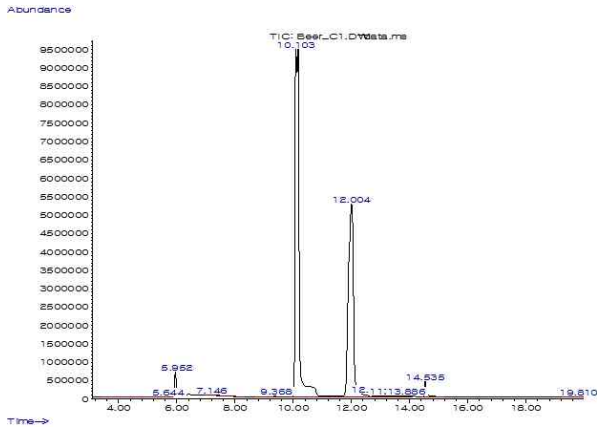


그림 32. 시판 청주의 GC-MS chromatogram

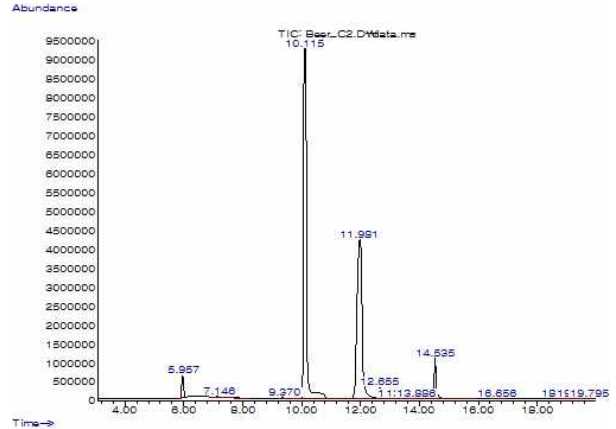


그림 33. 시판 막걸리의 GC-MS chromatogram

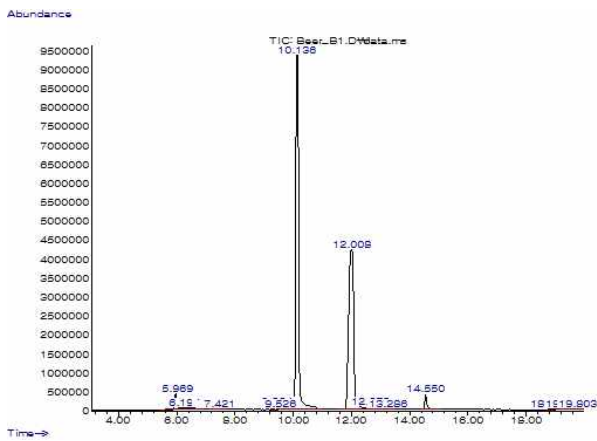


그림 34. 쌀맥주2F\_5D의 GC-MS chromatogram

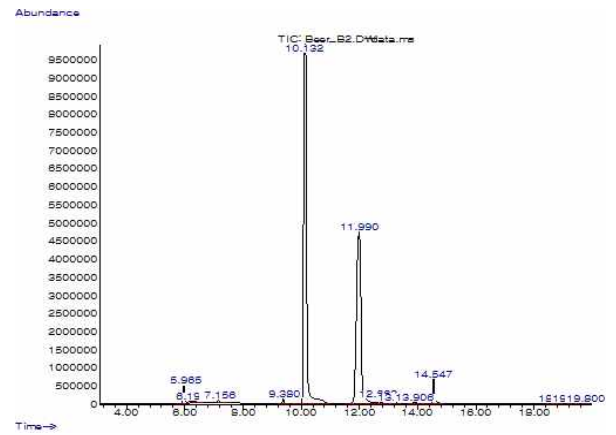


그림 35. 쌀맥주2F\_10D의 GC-MS chromatogram

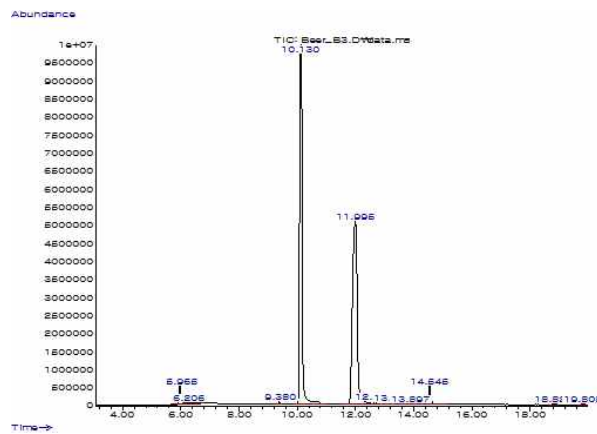


그림 36. 시판 맥주의 GC-MS chromatogram

○ 숙성 7일 후 기호도 조사

기호도 조사(lab-test)를 통한 관능검사 결과(표 16), 효모 발효 10일의 시료에서 청주취 등의 이취가 존재한다는 의견이 있었음. 그러나, 효모 발효 5일의 시료들은 향과 맛이 전반적으로 청주취가 나지 않고 부드러운 단맛을 느낄 수 있으며 전반적인 기호도가 높은 경향성을 나타내었음. 따라서 잔여 당이 남아있는 효모 발효 기간을 5일로 설정하여 최종제품의 기호도를 위해 보완하였음. 또한, 시판 맥



주 양조 효모 2종류; French Sasion(mangrove jack's, BGGi NZ Ltd, Newzealand), Safale US-05(Fermentis, Lesaffre, England)가 쌀 맥주 발효에 적합한 것으로 확인됨.

표 16. Preference test of beer by yeast type and fermentation period.

	Sample <sup>1)</sup>	flavor	Overall acceptable
효모발효 5일	Saison_5D <sup>1)</sup>	청주취가 없이 발효향	맛이 부드럽고, 탄산감이 좋음. 미세한 청주 맛이 느껴짐. 일반적인 맥주와 맛이 유사하고, 부드러운 단맛이 느껴짐.
	S-04_5D	청주취가 미세하게 나타남.	
	US-05_5D	청주취가 나타나지 않고, 부드러운 향이 나타남.	
효모발효 10일	Saison_10D	청주취가 나타남.	청주 맛이 나고, 멍멍한 맛이 났으며, 발효취가 남. 강한 약주 맛이 나며, 쓴 맛이 강함. 청주 맛이 나고, 풋내가 남.
	S-04_10D	강한 청주취가 나타남	
	US-05_10D	청주취가 나타남.	

1)Sasion\_5D: Fermented for 5 days with French Saison

S-04\_5D: Fermented for 5 days with Safale S-04

US05\_5D: Fermented for 5 days with Safale US-05

Sasion\_10D: Fermented for 10 days with french Saison

S-04\_10D: Fermented for 10 days with Safale S-04

US05\_10D: Fermented for 10 days with Safale US-05

나) 효모 발효 기간에 따른 맥주의 특성 및 성분 비교

[연구목적]

위의 실험에서와 같이 효모발효 시 잔여당을 모두 소모한 경우 청주취와 같은 발효취가 나타나는 것을 확인하였고, 이에 최적의 발효기간에 따른 이화학적 특성을 확인하고자 함.

[연구방법]

시판 양조 효모 중 청주취가 없고 발효향이 없는 French Sasion(mangrove jack's, BGGi NZ Ltd, Newzealand)를 쌀 맥주 발효에 적용하여 최적의 발효 기간을 찾고자 하였음. 대규모 양조에서 발효 완료 점인 전날과 비중 변화가 없는 시점까지 발효를 하는 것이 상업적으로 사용되고 있어, 발효 5일 부터 최대 발효 기간인 11일까지 발효하여 그 차이를 분석하였음.

[연구 결과]

효모발효 기간에 따른 맥주의 이화학적 특성을 비교한 결과(표 17), pH의 변화는 나타나지 않았으나, 적정산도가 높아지는 것을 확인하였음. 또한, 발효함에 따라 당이 효모에 의해 이용된 결과로 가용성 고형분과 환원당이 감소하는 것을 확인하였음. HPLC로 유리당을 정량한 결과는 표 18에 제시한 바와 같이 발효가 진행됨에 따라 maltose는 증가하는 경향을 보였고, TLC 측정결과 발효 5일부터 D-panose의 점적이 짙게 나타났고, 이는 발효하는 5일에서 11일까지의 점적은 비슷하였음(그림. 37). 이를 HPLC로 정량한 유리당은 표 18과 같이 발효기간이 증가함에 따라 maltose, glucose, fructose 함량이 감소하였음. 기능성 올리고당인 D-panose(표 20)는 젖산발효 후 효모발효한 5일에서 11일까지 1.80-2.26%를 나타내었음. 또한, 효모발효 동안 생성된 유기산(표 19)은 lactic acid, acetic acid, maltic acid로 발효 기간에 따른 함량은 차이가 없었고 총 유기산의 함량이 0.31-0.33%를 나타내었음.

표 17. 효모 발효기간에 따른 쌀맥주 이화학 특성 비교

sample <sup>1)</sup>	pH	titratable acidity(%)	soluble solid(Brix°)	specific gravity	reducing sugar(%)
2F_0D	3.98±0.00 <sup>a</sup>	0.45±0.00 <sup>c</sup>	17.6±0.1 <sup>a</sup>	1.066	10.28±0.15 <sup>a</sup>
2F_5D	3.88±0.01 <sup>b</sup>	0.55±0.01 <sup>b</sup>	13.1±0.0 <sup>b</sup>	1.038	5.65±0.06 <sup>b</sup>
2F_6D	3.88±0.03 <sup>b</sup>	0.55±0.01 <sup>b</sup>	12.4±0.0 <sup>c</sup>	1.032	4.87±0.13 <sup>c</sup>
2F_7D	3.87±0.01 <sup>b</sup>	0.54±0.01 <sup>b</sup>	11.4±0.0 <sup>d</sup>	1.026	3.91±0.08 <sup>d</sup>
2F_8D	3.86±0.03 <sup>b</sup>	0.56±0.02 <sup>b</sup>	10.6±0.0 <sup>e</sup>	1.022	3.07±0.03 <sup>e</sup>
2F_11D	3.88±0.00 <sup>b</sup>	0.60±0.01 <sup>a</sup>	9.2±0.0 <sup>f</sup>	1.016	1.98±0.07 <sup>f</sup>
F-value	23.342 <sup>***</sup>	65.542 <sup>***</sup>	44994.400 <sup>***</sup>		2833.067 <sup>***</sup>

- 1) 2F\_0D: Fermented for 0 days with French Saison  
 2F\_5D: Fermented for 5 days with French Saison  
 2F\_6D: Fermented for 5 days with French Saison  
 2F\_7D: Fermented for 5 days with French Saison  
 2F\_8D: Fermented for 5 days with French Saison  
 2F\_11D: Fermented for 5 days with French Saison

표 18. 효모 발효기간에 따른 쌀맥주의 유리당 함량 비교(unit: %)

Sample <sup>1)</sup>	Maltose	Mannitol	Glucose	Fructose	Total
2F_0D	4.22	0.50	0.97	0.56	6.25
2F_5D	2.83	0.57	0.22	0.19	3.81
2F_6D	2.78	0.66	0.21	0.22	3.87
2F_7D	1.99	0.66	0.17	0.21	3.03
2F_8D	1.63	0.71	0.17	0.20	2.72
2F_11D	0.44	0.64	0	0.20	1.32

- 1) Refer to 표 14. for sample legends.

표 19. 효모 발효기간에 따른 쌀맥주의 유기산 함량 비교(unit: %)

Sample <sup>1)</sup>	Lactic acid	Acetic acid	Malic acid	Total
2F_0D	0.11	0.11	0.12	0.33
2F_5D	0.10	0.11	0.11	0.32
2F_6D	0.10	0.11	0.10	0.31
2F_7D	0.10	0.11	0.12	0.33
2F_8D	0.10	0.11	0.11	0.33
2F_11D	0.10	0.11	0.10	0.31

- 1) Refer to 표 14. for sample legends.

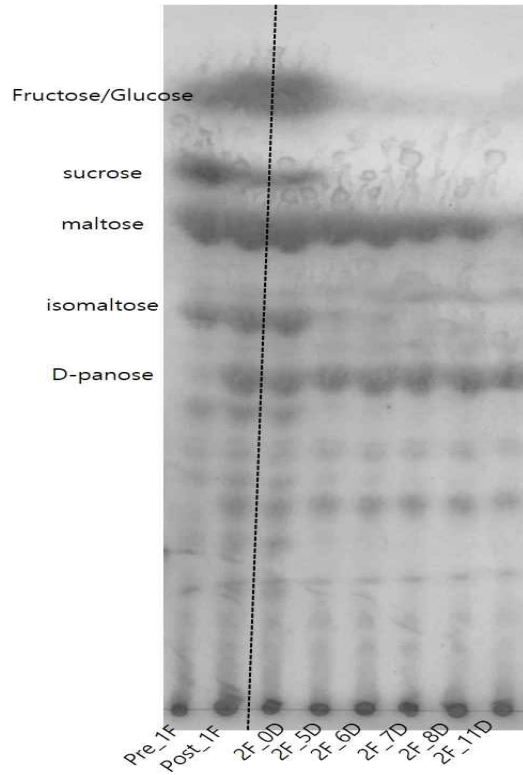


그림 37. yeast 발효기간에 따른 쌀맥주 TLC

- 1) pre\_1F: preparation lactic acid bacteria fermentation
- post\_1F: post lactic acid bacteria fermentation
- 2F\_0D: Fermented for 0 days with French Saison
- 2F\_5D: Fermented for 5 days with French Saison
- 2F\_6D: Fermented for 5 days with French Saison
- 2F\_7D: Fermented for 5 days with French Saison
- 2F\_8D: Fermented for 5 days with French Saison
- 2F\_11D: Fermented for 5 days with French Saison

표 20. 효모 발효기간에 따른 쌀맥주의 D-panose 함량

Sample <sup>1)</sup>	D_panose(%)
Pre 1F	1.95
Post 1F	2.35
2F_0D	3.63
2F_5D	2.14
2F_6D	2.26
2F_7D	2.16
2F_8D	2.14
2F_11D	1.80

1) Refer to 그림 40. for sample legends.

2) 효모 발효, 숙성 및 저장성 평가

가) 맥주의 제조

[연구 방법]

맥주의 제조는 그림 38과 같음. 젖산 발효된 발효물을 여과한 후 ale계 맥주제조법으로 100℃ 온도에서 warrior hop(0.9%, w/v)를 넣고 15분간 가열하고, centennial hop(0.14%, w/v)를 넣어 30분간 더 가열함. 다시 centennial hop(0.14%, w/v)를 넣고 10분간 가열한 후, 불을 끄고 simcoe hop(0.14%, w/v)를 넣어 5℃로 냉각한 다음 *Saccharomyces cerevisiae*(Safale us-5)의 효모활성을 높이기 위해 1 mL당  $1 \times 10^7$ 의 Colony Forming Unit(CFU)조건으로 0.014% 첨가하였음. 효모발효는 20℃에서 5일간 배양기(incubator)에서 발효시켰고, 동일한 온도에서 7일간 숙성을 시킨 다음 4℃에서 4주간 저장하였음.

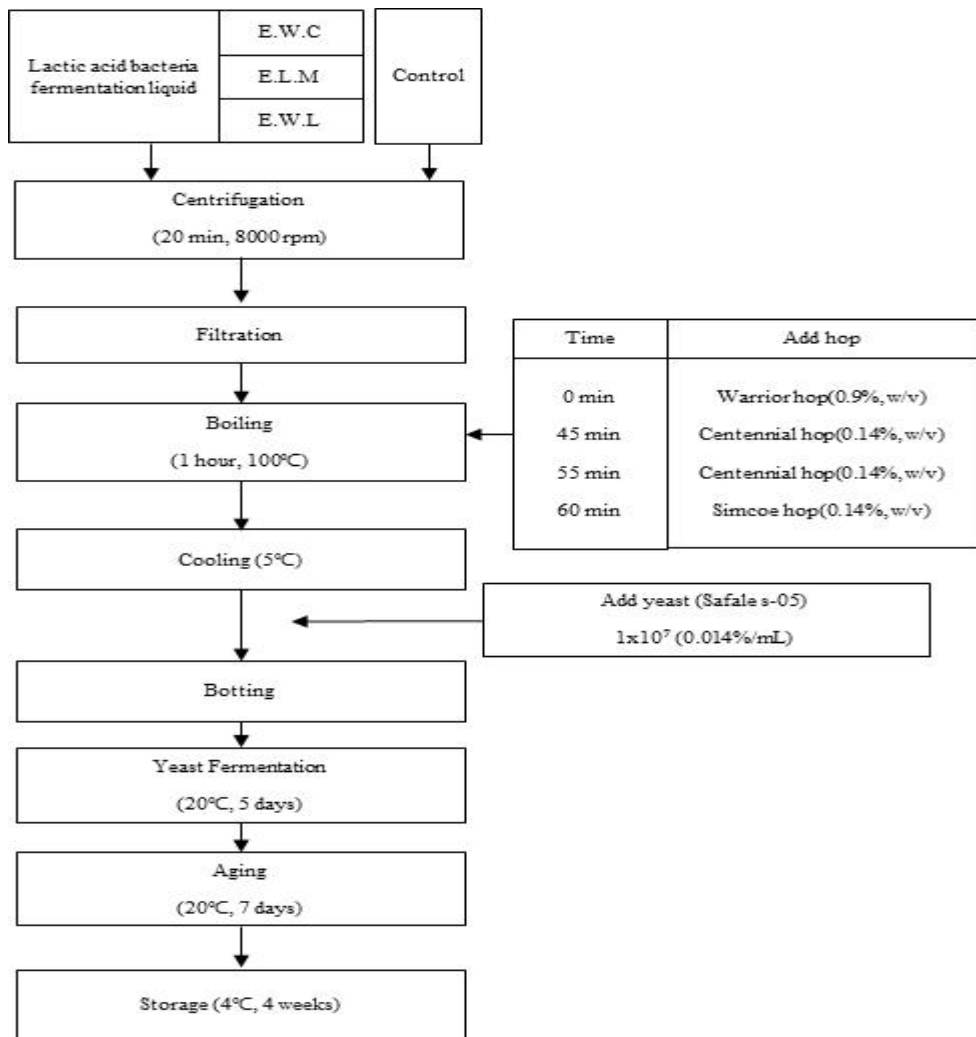


그림 38. Flow diagram of beer production

나) 맥주의 이화학적 특성

[연구 결과]

- 가용성 고형분과 환원당 측정 결과

맥주의 가용성 고형분 함량을 측정한 결과는 그림 39에 나타내었음. 맥주 효모 발효 시작 초기 16.62-16.92 °Brix로 시작하여 발효 마지막 5일에는 control이 9.82 °Brix, 젖산균을 첨가한 시료가 12.72-12.83 °Brix로 감소하여 시료간 유의적인 차이를 보였음. 발효 초기 감소한 당은 효모의 에너지 원으로서 사용된 결과로서 발효성 당류(glucose, fructose, sucrose, maltose, maltotriose)가 에탄올 및 CO<sub>2</sub> 로 전환된 것으로 판단됨. 젖산균 첨가균들은 젖산균을 첨가하지 않은 control보다 2.90-3.01 °Brix 높게 나타났으며 이는 젖산균 발효 후 이소말토올리고당과 같은 고분자 다당류가 존재하여 효모가 사용할 발효성 당류의 함량이 적어 control보다 가용성 고형분 감소가 적었음. 또한, 맥주의 효모 발효가 끝나고 숙성 7일 동안 control과 젖산균 첨가균은 각각 9.78 °Brix, 12.46-12.83 °Brix로 약간 감소하였으며, 시료간 유의적인 차이를 보였음. 또한, 발효성 당류가 줄어들면서 4주의 저장기간 동안 °Brix 함량 변화는 거의 일어나지 않았음. 이처럼 젖산균 첨가균은 가용성 고형분 함량은 시판 맥주보다 높은 값을 나타내었는데, 이는 난소화성으로 분해되지 않아 저칼로리 감미료인 이소말토올리고당의 생성이 당도에 영향을 미친 것으로 나타남.

원료인 전분은 당화 amylase작용에 의해서 큰 전분분자가 작은 전분 분자로 분해되고 다시 glucose로 분해됨. 이때 분해된 glucose는 알코올 발효의 기질로 이용되고, 감미도에 영향을 주는 중요한 성분이며, 산미, 감칠맛 등과 조화되어 술에 독특한 맛을 부여함.

맥주 발효 과정 중 환원당의 변화는 그림 40과 같음. Control은 맥주 발효 1일에 환원당 함량이 12.25%로 급격하게 증가하였는데, 이는 젖산균 발효를 하지 않아 잔존하고 있는 sucrose가 효모에 의해 가수분해 되어 증가한 것으로 보임. 환원당의 감소는 알코올이 증가하는 시점과 일치하였으며, 4주 저장기간에 환원당 함량은 control이 1.58%, 젖산균 첨가균은 3.42-3.72%를 나타내었으며, 시료 간 유의적인 차이를 보였음. 시판 상면발효 맥주의 환원당 함량은 0.81-1.75%로, 본 연구의 control과 비슷한 값을 나타내었고, 젖산균 첨가균은 2배 이상의 차이를 보였음.

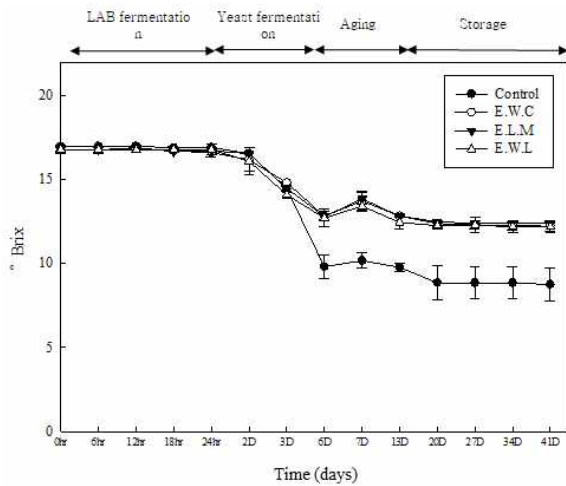


그림 39. Changes in total soluble solids during beer fermentation, aging and storage

- 1) Control : Beer sample without LAB
- E.W.C: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)
- E.L.M: Beer sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)
- E.W.L: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

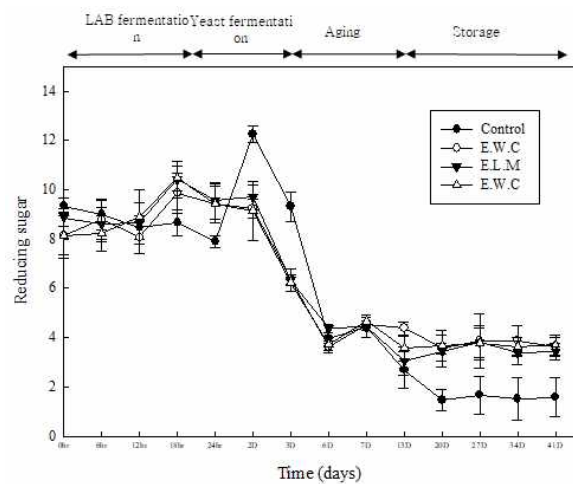


그림 40. Changes in reducing sugars during beer fermentation, aging and storage

<sup>1)</sup> Refer to 그림 39 for sample legends.

- pH 및 적정산도 측정

맥주의 pH는 맛, 물리적 및 미생물학적 안정성에 영향을 주고, 효모의 성장과 맥아즙 완충 능력을 자

극함. 또한, 맥주의 맛, 잠재적인 혼탁 안정성을 주는 것으로 알려져 있으며, 당화 효소 또는 단백질 분해 효소의 작용과 흡의 쓴맛 성분의 용출 등 공정에서 중요한 요소라고 할 수 있음. 맥주발효의 pH 변화는 그림 41과 같음. 본 연구결과 효모발효 초기, control은 pH 5.76에서 발효 1일 pH 4.93으로 떨어졌으며, 발효 5일째 pH 4.28까지 감소한 후 숙성, 저장기간 동안 pH 변화없이 일정하였음. 젖산균 첨가균들은 발효 1일 pH는 시료 간 유의적 차이는 있었으나, pH 변화없이 일정하게 유지하였고, control을 포함한 모든 맥주는 숙성과 저장기간까지 일정한 pH를 유지하는 경향을 보였으며, 시료 간 유의적인 차이를 보였음.

- 효모는 알코올 발효 과정 중 요구하는 온도와 pH 조건이 따뜻하고 산성인 환경에서 번식하며, 상면 발효를 하는 대부분의 *Saccharomyces cerevisiae* 균주는 20-30°C, pH 4.5-6.5에서 잘 자란다고 하였으며, 발효 맥주의 pH는 4.2-4.4로, 맥주가 완성되었을 때의 pH가 4.0이거나 더 낮은 경우도 있다고 보고 하였음. 이처럼, 본 연구의 젖산발효를 통한 발효액의 낮은 pH 환경은 효모가 발효하는데 있어 저해되지 않는 것으로 보임.

효모 발효 중 적정산도의 변화는 그림 42와 같음. 산도는 주류의 풍미와 저장성에 영향을 미치는 인자로서 발효가 진행되면서 효모 등의 미생물 작용으로 생성된 다양한 유기산에 영향을 받는 것으로 알려져 있음. 발효 직후에는 대조군(control)이 0.08%, 젖산균 첨가균들은 초기 산도가 0.40-0.44%를 나타냈으며, 시료간 유의적인 차이를 보였음. 모든 시료에서 발효 2일까지 증가하였고, 숙성, 저장기간 동안 control은 0.21-0.25%를 나타냈으며, 젖산균 첨가균은 큰 변화없이 유지되는 경향을 보여 최종 산도가 0.52-0.54%를 나타내었음.

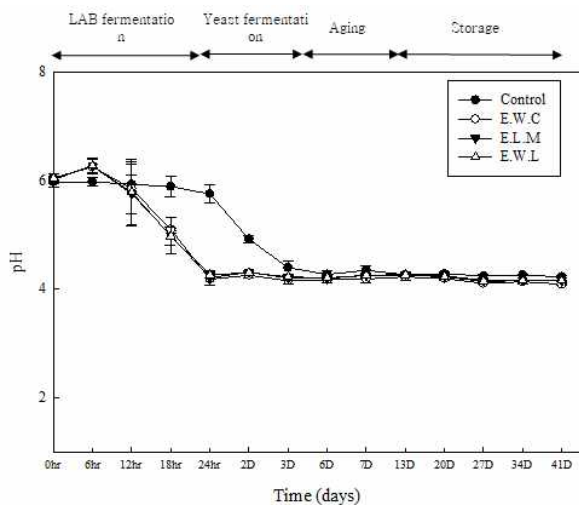


그림 41. Changes in pH during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39 for sample legends.

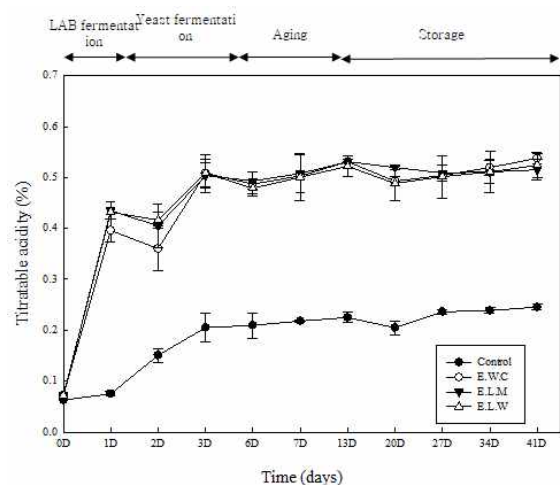


그림 42. Changes in titratable acidity during beer fermentation

1) Refer to 그림 39 for sample legends.

- 총 균수 및 효모균 수 측정 결과

총 균수와 효모균을 발효, 숙성, 저장 기간에 따른 균의 성장을 관찰한 결과는 그림 43 및 그림 44와 같음. 모든 시료는 발효 1일부터 급격한 효모 증가율을 보여 총 균수는  $1.11 \times 10^6$  -  $3.12 \times 10^6$  CFU/mL로 성장하였으며, 발효 5일째까지  $10^6$  CFU/mL 수준을 유지하였음. 본 실험에 쓰인 효모는 주로 ale계 맥주에 쓰이는 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*로 발효 속도가 빠르고 내당성과 내알코올성이 우수하여 단시간에 효모수가 증가한 것으로 보여짐. 또한, control과 젖산 발효한 시료의 균수가 유사한 것으로 보아, 젖산발효를 한 발효액은 효모가 발효를 하는 환경에 있어 저해받지 않는 것으로 보여짐. 숙성 1일째 control은  $10^6$  CFU/mL이었고, 다른 시료 들은  $10^5$  CFU/mL로 1 log cycle 감소하는 경향

을 보였고, 숙성 7일에는  $10^4 - 10^5$  CFU/mL으로 감소하였으며, 4주 저장기간 동안  $10^3 - 10^4$  CFU/mL 수준을 유지하였음. 효모균은 발효 1일부터  $1.59 \times 10^6 - 4.69 \times 10^6$  CFU/mL로 급격하게 증가하였고, 발효 5일까지  $10^6$  CFU/mL을 유지하였음. 숙성 1일째 control은  $10^6$  CFU/mL로 나타났고, 젖산발효한 시료는  $10^5$  CFU/mL로 1 log cycle 감소하는 경향을 보였으며, 총 균수에서 관찰된 균은 모두 효모균으로 확인되었음. 효모 발효 시작 후 발효 5일까지 ethanol 증가가 급증하였는데, 이러한 ethanol 생성은 효모 세포의 성장과 생존을 억제하여 결과적으로 효모 발효기간이 길어진 것으로 보이며, 효모균은 4주 저장기간 동안  $10^3 - 10^4$  CFU/mL 수준을 유지하였음.

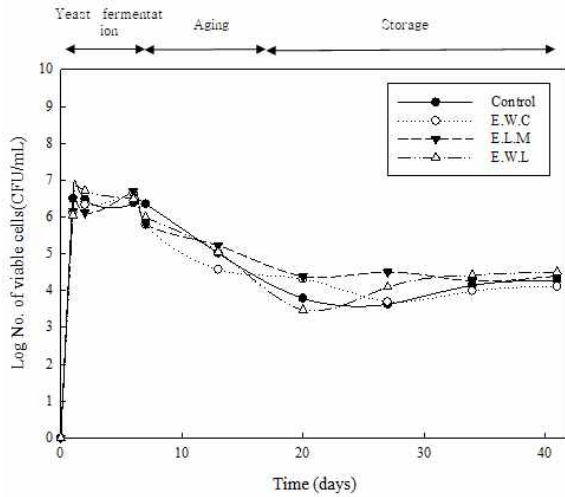


그림 43. Changes in total viable cell counts during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39 for sample legends.

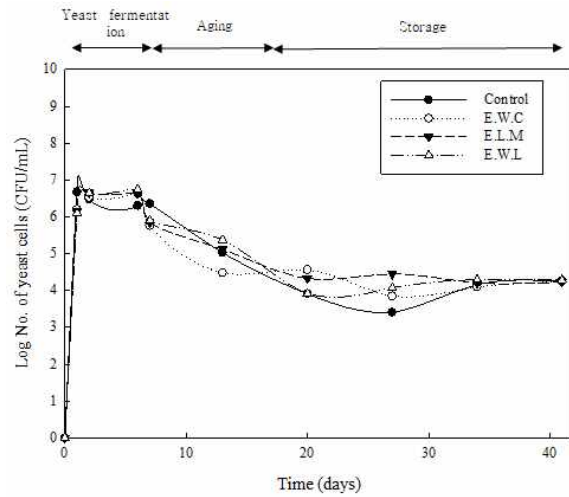


그림 44. Changes in yeast cell counts during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39 for sample legends.

#### -TLC 함량 측정 결과

맥주의 구성당 및 올리고당 생성여부를 확인하기 위해 TLC로 젖산발효, 효모발효, 숙성 및 저장기간 별로 분리한 결과는 그림 45와 같음. TLC 분석결과, control을 제외한 시료에서 발효 24시간 후 sucrose가 모두 소비된 것을 확인하였고, fructose 및 glucose의 점적은 진해졌으며, maltose는 점적이 떨어진 것을 확인하였음. 또한, 발효 24시간 E.W.C, E.L.M, E.W.L 시료 모두에서 maltose가 소비된 것을 확인하였으며, D-panose, branched IMO의 점적은 젖산발효 완료 후 진하게 표시되었음을 알 수 있음. 효모발효 및 숙성, 저장기간 동안에 이 점적은 변화가 없는 것으로 보아, 효모가 branched IMO를 이용하지 못하는 것으로 판단됨. 이 결과로 dextransucrase에 의해 fructose와 glucose로 가수분해되고, maltose를 수용체로  $\alpha$ -1,4결합의 종말에  $\alpha$ -1,6이 결합된 maltosyl-isooligosaccharide(MIMO)인 D-panose, BDP4 등이 증가하였음을 확인하였으며, *Leu. mesenteroides*, *W. cibaria*는 수용체인 맥아당이 존재할 경우 MIMO의 생성에 관여한다는 것이 증명되었음.

$\alpha$ -1,6 결합된 isomaltose, isomaltotriose, isomaltotetraose 등은 발효 시작부터 그 점적이 확인되어, 당화과정 중 생성된 것으로 보임. Isomaltose의 점적이 시간의 경과에 따라 떨어지는 것을 확인할 수 있으며, 이를 통해 효모가 isomaltose를 탄소원으로 소비하는 것으로 추측할 수 있으며, branched한 IMO는 소비하지 못하는 것으로 판단됨.

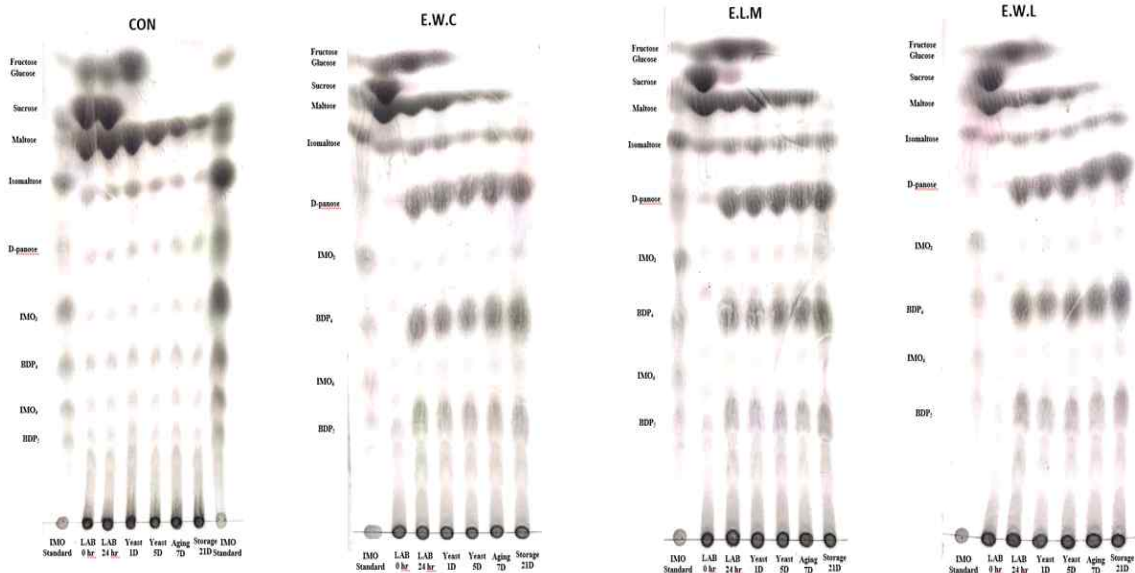


그림 45. TLC of isomaltooligosaccharides during fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39. for sample legends.

IMO Standard, Commercial isomaltooligosaccharides (Wako Pure Chemical Industry Ltd., Osaka, Japan); Glucose; maltose; Isomaltose; D-panose; IMO<sub>3</sub>, Isomaltotriose; BDP<sub>4</sub>, branched DP<sub>4</sub>; IMO<sub>5</sub>, Isomaltotetraose; BDP<sub>5</sub>, branched DP<sub>5</sub>

-유리당과 알코올 함량 측정 결과

효모 발효 과정 중 유리당과 알코올의 함량 변화는 그림 46 - 51에 나타내었음.

Control은 효모 발효 직전의 sucrose 함량이 5.87% 였고, 발효 1일에 sucrose가 완전히 분해되었으며, 이는 효모가 에너지원으로 발효성 당인 sucrose를 먼저 분해한다는 것을 확인할 수 있었음. Control의 maltose 함량 변화는 효모 발효 직후 4.93%, 발효 1일째 4.37% 소모되었고, 발효, 숙성, 저장기간 동안 감소하는 경향을 보였으며, 최종 maltose 함량은 0.50%로 나타났음. Control의 glucose와 fructose 함량은 발효 1일에 각각 3.03%, 2.92%로 급속하게 증가하였는데, 이는 sucrose가 invertase 효소에 의해 glucose와 fructose로 가수분해 되어 그 값이 증가한 것으로 판단됨. Glucose는 sucrose 다음으로 발효 2일에 1.81%로, 발효 5일에는 완전하게 소모되었음. Fructose는 maltose와 마찬가지로 발효, 숙성, 저장기간 동안 함량이 감소하였고, 최종 0.11%를 나타냈음.

젖산균 첨가균은 젖산 발효 직후 maltose는 1.76-1.97%로 발효, 숙성, 저장기간 동안 감소하는 경향을 보였고, 저장기간의 3주째 모두 소모되었으며, glucose는 E.L.M과 E.W.L은 발효 1일, E.W.C는 발효 2일 이후에 완전히 소모되었음. Fructose는 발효 및, 숙성, 저장기간을 거쳐 감소하였고, 저장기간 3주에 완전히 소모하였으며, 그에 반해 ethanol의 함량은 약간 증가하는 경향을 보였음.

Mannitol은 control에서는 검출되지 않았고, 젖산균 첨가균에서 젖산 발효하는 동안 생성된 mannitol 함량은 큰 변화없이 그 값을 유지하였음.

알코올 발효는 당을 에탄올과 CO<sub>2</sub> 로 분해하는 것으로 알코올 농도를 결정하는 중요한 요소임. 발효 이후 남은 잔당인 fructose와 maltose를 숙성 및 저장기간에 소비하면서 ethanol의 함량이 증가하면서 control이 최종 5.77%로 가장 높았고, 젖산균을 첨가한 시료는 3.17-3.45%로 시료간 함량의 차이가 크지는 않았으나, 유의적인 차이를 보였음.



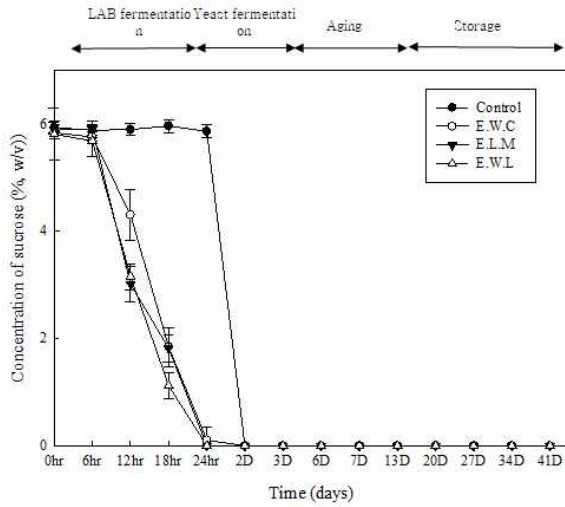


그림 46. Changes in sucrose during beer fermentation, aging and storage  
 1) Refer to 그림 39. for sample legends.

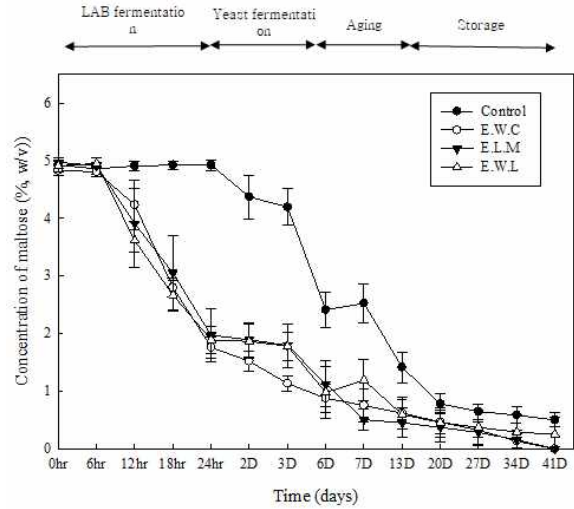


그림 47. Changes in maltose during beer fermentation, aging and storage  
 1) Refer to 그림 39. for sample legends.

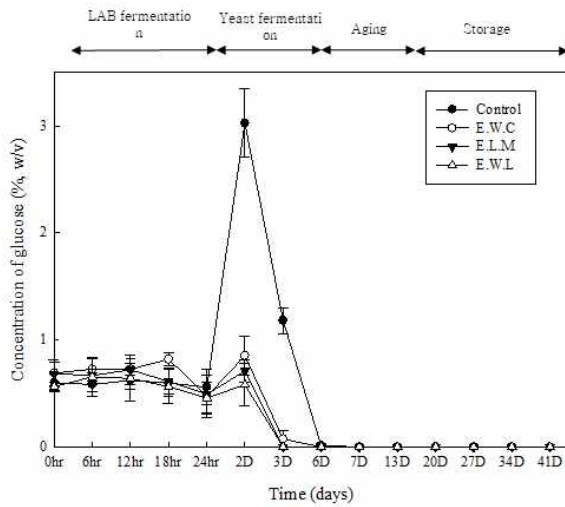


그림 48. Changes in glucose during beer fermentation, aging and storage  
 1) Refer to 그림 39. for sample legends.

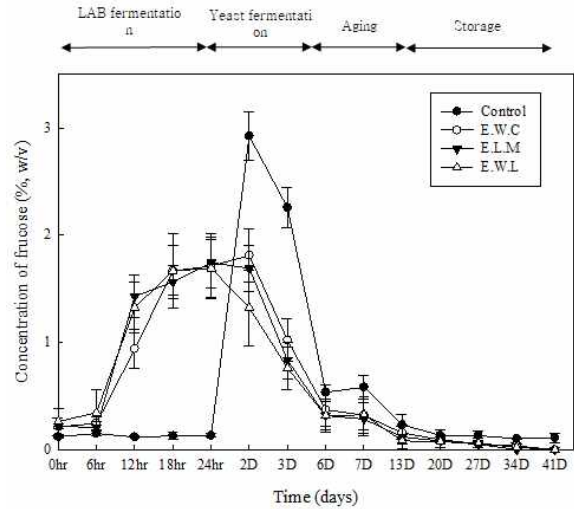


그림 49. Changes in fructose during beer fermentation, aging and storage  
 1) Refer to 그림 39. for sample legends.

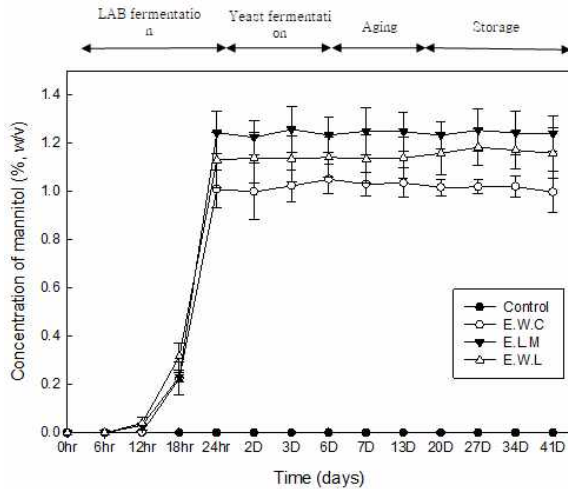


그림 50. Changes in mannitol during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39. for sample legends

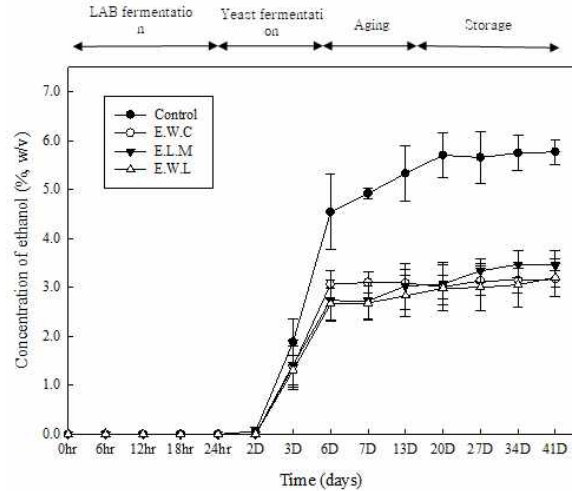


그림 51. Changes in ethanol during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39. for sample legends

- 올리고당 함량 측정 결과

효모 발효 및 숙성, 저장기간에 따른 올리고당 함량의 변화를 측정 한 D-panose, BDP4의 결과는 그림 52-53과 같음.

효모 발효 1일차, D-panose는 발효 1일에 control 0.85%, E.W.C 3.49%, E.L.M 3.62%, E.W.L 3.46%를 나타내었고, 저장기간 동안 그 함량의 차이가 있었고, BDP4의 함량도 효모 발효 및 숙성, 저장기간 동안 그 함량의 변화가 약간씩 차이가 있었으나, 큰 차이를 보이지 않은 것으로 보아 젖산 발효 후 maltosyl-isooligosaccharide(MIMO)인 D-panose 및 BDP4가 효모에 의하여 소모되거나 생성되지 않았음을 확인할 수 있었음. 최종 D-panose 함량은 E.W.C, E.L.M, E.W.L이 각각 3.45%, 3.54%, 3.57% 나타났고, BDP4는 1.68%, 2.07%, 2.03%로 나타나 E.L.M과 E.W.L이 MIMO가 높게 생산됨을 확인하였음. 이로서 MIMO를 고농도 함유한 발효음료를 제조하기 위해서는 *Leu. mesenteroides*를 단독 사용하거나, 혼합하여 제조하는 것이 효과적임을 확인하였음.

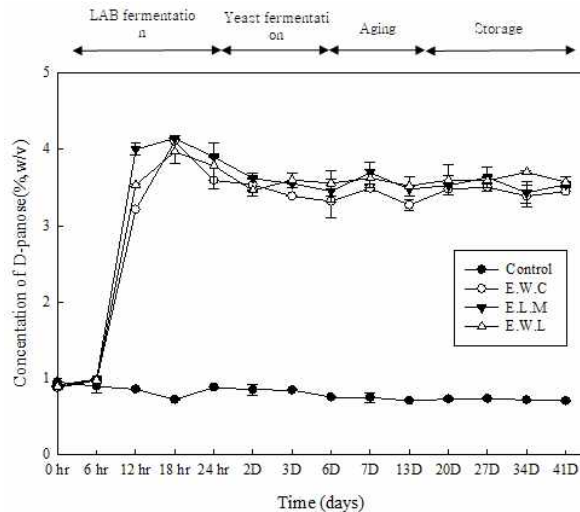


그림 52. Changes in D-panose during fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39. for sample legends

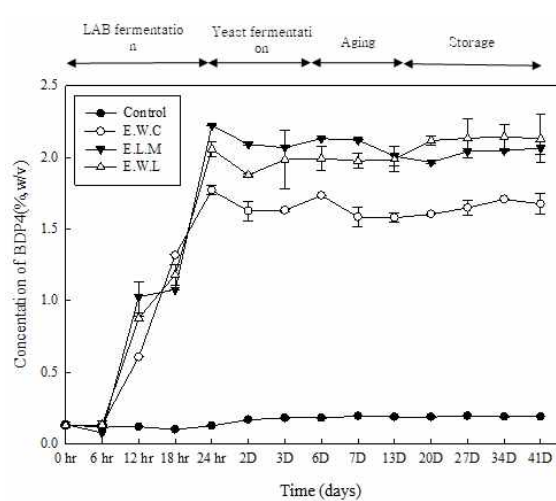


그림 53. Changes in BDP4 during fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 39. for sample legends

- 주요 유기산 함량 측정 결과

발효기간에 따른 유기산의 함량변화로 lactic acid는 그림 54, acetic acid는 그림 55에 나타냈고, malic acid 변화는 그림 56과 같음.

Control은 lactic acid가 효모발효 및 숙성, 저장기간 동안 그 함량이 증가하지 않았고, 젖산발효한 시료의 lactic acid 함량은 0.120-0.123%로 효모발효 및 숙성, 저장기간을 거치는 동안 E.W.C, E.L.M, E.W.L의 lactic acid 함량은 각각 0.105%, 0.114%, 0.117%로 유의적인 차이를 나타냈음. Acetic acid는 당화액에서 0.061-0.054%로 검출되어, 저장기간이 완료될 때까지 control은 약간 증가한 경향을 보였고, E.W.C, E.L.M, E.W.L 시료는 젖산 발효 후 저장기간 동안 E.W.C 시료가 0.146%, E.L.M은 0.135%, E.W.L은 0.124%로 변화없이 유지되었음. 효모발효기간에 생성된 유기산은 malic acid로 *S. cerevisiae*에 의한 알코올 발효 과정 중 malic acid가 생성되며, 다른 연구보고에 의하면 설탕이 존재 시 malic acid의 양이 증가한다고 하였으며, 산도가 높은 경우 malic acid의 양이 적게 생산된다고 함. 따라서, 본 연구의 control이 발효 초기 설탕의 양이 많아 malic acid의 수치가 높고, 산도가 높은 다른 시료에서는 낮은 값이 나타난 것으로 보인다. 발효 2일째 control이 0.028%로 가장 높은 값을 나타냈고, 발효 5일째 control이 0.120%로 가장 높은 수치를 보였으며, E.W.C, E.L.M, E.W.L은 0.055-0.081%로 나타났음. 발효 완료 후 숙성 저장 기간까지 유사한 수치를 보여( $p < 0.001$ ), 숙성과 저장동안 malic acid는 큰 변화가 없는 것으로 보여짐.

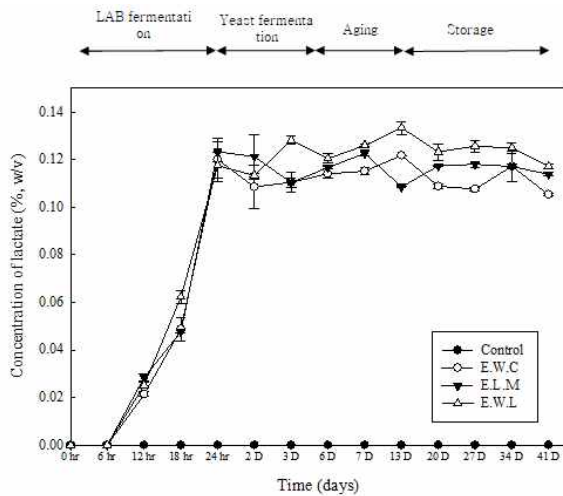


그림 54. Changes in lactic acid during beer fermentation, aging and storage

1) Control : Beer sample without LAB

E.W.C: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)

E.L.M: Beer sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)

E.W.L: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

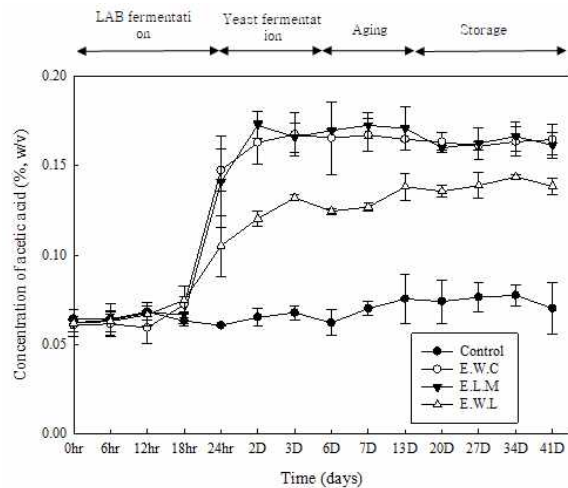


그림 55. Changes in acetic acid during beer fermentation, aging and storage

1) Refer to 그림 54. for sample legends.

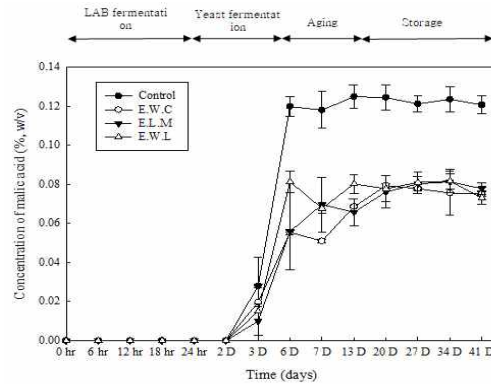


그림 56. Changes in malic acid during beer fermentation, aging and storage  
1) Refer to 그림 54. for sample legends.

### 3) 맥주의 품질특성 분석 및 관능 평가

#### [연구 결과]

##### - 색도 측정

본 연구의 발효, 숙성, 저장기간에 따른 색도의 차이는 표 21에 나타냈으며, 4개의 시료 모두에서 L, a, b값 모두 유의적인 차이를 보였음. 젖산발효를 통한 명도를 나타내는 L값과 적색도인 a값은 큰 변화 없이 초록색에 가까운 값을 보였으며, 황색도인 b값은 control을 제외하고 낮아지는 경향을 보였음. 이는 젖산발효 초기 당화액인 맥즙에 의한 것으로, control과 젖산발효한 시료(24 hr)가 L값과 a값이 유사한 것으로 보아 이를 뒷받침해줌. Hop를 첨가하여 끓인 색의 변화에서 L값은 낮아졌고, a값과 b값은 높아지는 경향을 보였음. 이와 같이 맥주의 색은 기본적으로 맥아에 의해 결정되며, 당화 및 맥즙을 끓이는 동안 맥아에서 melanoidins 반응으로 형성되어짐. 이러한 열 중심의 발색 반응으로 보리의 껍질 또는 홉에서 유래한 폴리페놀이 산화하고 숙성과 저장기간 동안 맥주의 색 형성에 기여하기 때문임.

효모발효를 거친 맥주의 숙성과 저장기간 동안 L값은 유의적으로 감소하는 경향을 보였고, a값과 b값은 증가하는 경향을 보였음. 맥주의 숙성공정은 나쁜 맛을 부여하는 화합물의 농도를 감소시키고, CO<sub>2</sub>를 만들어 최종 맥주의 혼탁을 방지하기 때문에 숙성 및 저장기간을 거치면서 색도의 결과가 다양하게 나오는 것으로 보여짐.

표 21. Changes in color during fermentation, aging and storage

Samples <sup>1)</sup>	Day	Lactic acid bacteria Fermentation		Yeast Fermentation		Aging		Storage		F-value
		0hr	24hr	1day	5day	1day	7day	7day	28day	
L	Control <sup>2)</sup>	61.08±0.03 <sup>a2)</sup>	60.43±0.40 <sup>b3)</sup>	58.19±0.09 <sup>B</sup>	56.29±0.45 <sup>dB</sup>	56.12±0.33 <sup>d</sup>	56.52±0.19 <sup>d</sup>	56.44±0.44 <sup>d</sup>	56.44±0.04 <sup>d</sup>	187.628***
	E.W.C	61.15±0.11 <sup>a</sup>	61.39±0.25 <sup>aA</sup>	57.78±0.29 <sup>BC</sup>	57.81±0.21 <sup>bA</sup>	56.21±0.18 <sup>cd</sup>	56.32±0.24 <sup>cd</sup>	56.49±0.15 <sup>c</sup>	55.82±0.62 <sup>d</sup>	170.136***
	E.L.M	61.15±0.25 <sup>a</sup>	61.12±0.30 <sup>aA</sup>	57.46±0.05 <sup>BC</sup>	57.69±0.08 <sup>bA</sup>	56.36±0.16 <sup>c</sup>	56.57±0.10 <sup>c</sup>	56.70±0.17 <sup>c</sup>	56.28±0.42 <sup>c</sup>	247.314***
	E.W.L	61.17±0.15 <sup>a</sup>	61.08±0.47 <sup>aA</sup>	58.91±0.14 <sup>bA</sup>	57.60±0.44 <sup>cA</sup>	56.68±0.45 <sup>d</sup>	56.35±0.28 <sup>d</sup>	56.34±0.31 <sup>d</sup>	56.19±0.31 <sup>d</sup>	161.707***
F-value		0.995 <sup>ns</sup>	7.677 <sup>*</sup>	40.289 <sup>*</sup>	13.480 <sup>**</sup>	1.967 <sup>ns</sup>	0.974 <sup>ns</sup>	1.859 <sup>ns</sup>	1.266 <sup>ns</sup>	
a	Control	-0.53±0.02 <sup>c</sup>	-0.50±0.02 <sup>de</sup>	-0.35±0.02 <sup>C</sup>	-0.42±0.03 <sup>cdB</sup>	-0.45±0.04 <sup>deC</sup>	-0.42±0.08 <sup>cdB</sup>	-0.26±0.04 <sup>4bB</sup>	-0.16±0.10 <sup>a</sup>	19.399***

E.W.C	-0.49±0.02 <sup>f</sup>	-0.50±0.01 <sup>f</sup>	-0.49±0.04 <sup>dB</sup>	-0.35±0.04 <sup>dB</sup>	-0.28±0.01 <sup>dB</sup>	-0.20±0.02 <sup>cA</sup>	-0.14±0.03 <sup>bA</sup>	-0.04±0.01 <sup>a</sup>	146.842 <sup>***</sup>
E.L.M	-0.54±0.04 <sup>c</sup>	-0.52±0.06 <sup>c</sup>	-0.35±0.04 <sup>bA</sup>	-0.20±0.02 <sup>aA</sup>	-0.18±0.01 <sup>aA</sup>	-0.16±0.02 <sup>aA</sup>	-0.15±0.02 <sup>aA</sup>	-0.14±0.07 <sup>a</sup>	56.670 <sup>***</sup>
E.W.L	-0.55±0.01 <sup>d</sup>	-0.52±0.04 <sup>d</sup>	-0.47±0.04 <sup>cB</sup>	-0.19±0.06 <sup>bA</sup>	-0.17±0.02 <sup>bA</sup>	-0.17±0.02 <sup>bA</sup>	-0.16±0.01 <sup>bA</sup>	-0.08±0.02 <sup>a</sup>	109.513 <sup>***</sup>
F-value	2.072 <sup>ns</sup>	0.813 <sup>ns</sup>	29.597 <sup>**</sup>	26.998 <sup>***</sup>	90.255 <sup>***</sup>	27.091 <sup>***</sup>	13.797 <sup>**</sup>	0.155 <sup>ns</sup>	
Control	6.67±0.22 <sup>c</sup>	6.67±0.19 <sup>cA</sup>	12.24±0.11 <sup>aA</sup>	11.19±0.19 <sup>bA</sup>	12.25±0.55 <sup>aA</sup>	11.40±0.14 <sup>bA</sup>	11.78±0.72 <sup>abA</sup>	12.38±0.56 <sup>aA</sup>	111.667 <sup>***</sup>
E.W.C	6.58±0.03 <sup>d</sup>	5.26±0.08 <sup>EB</sup>	9.72±0.31 <sup>dB</sup>	10.70±0.12 <sup>bAB</sup>	10.48±0.37 <sup>bcB</sup>	10.92±0.20 <sup>dB</sup>	11.22±0.19 <sup>bA</sup>	12.33±1.26 <sup>aA</sup>	74.198 <sup>***</sup>
E.L.M	6.50±0.13 <sup>d</sup>	5.55±0.10 <sup>EB</sup>	9.49±0.22 <sup>dB</sup>	10.08±0.12 <sup>abBC</sup>	10.38±0.13 <sup>dB</sup>	10.06±0.25 <sup>abD</sup>	9.84±0.28 <sup>bcB</sup>	9.58±0.50 <sup>EB</sup>	164.688 <sup>***</sup>
E.W.L	6.66±0.10 <sup>c</sup>	5.53±0.24 <sup>dB</sup>	8.69±0.25 <sup>bc</sup>	9.82±0.81 <sup>cC</sup>	10.51±0.46 <sup>dB</sup>	10.52±0.21 <sup>cC</sup>	10.05±0.17 <sup>dB</sup>	10.52±0.55 <sup>dB</sup>	65.838 <sup>***</sup>
F-value	1.108 <sup>nsd</sup>	44.559 <sup>***</sup>	128.619 <sup>***</sup>	6.331 <sup>*</sup>	14.540 <sup>**</sup>	23.870 <sup>***</sup>	9.344 <sup>**</sup>	15.543 <sup>**</sup>	

<sup>1)</sup> Mean ± S.D(n=3)

<sup>2)</sup> Different superscriptive letters in a column(a-f) indicate significant difference among samples at  $p<0.05$  level by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup> Different superscriptive letters in a column(A-D) indicate significant difference among samples at  $p<0.05$  level by Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup> NS: not significant, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$

<sup>5)</sup> Control : Beer sample without LAB

E.W.C : Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)

E.L.M : Beer sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)

E.W.L: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

- SRM, BU, 아미노산, 알코올 함량, MIMO 함량, 칼슘 함량 측정

맥주의 SRM, BU, 아미노산, 알코올 함량, 칼슘 함량을 측정한 결과는 표 22에 나타내었음. 맥주의 SRM(색)은 주류분석 규정에 따른 것으로 control이 7.26으로 가장 높은 값을 나타냈는데, 이는 젖산 발효를 한 시료들과의 차이로 젖산발효가 맥주의 색상을 열게 하는 것으로 보여짐. 맥주의 쓴맛은 control 39.72, E.W.C 29.18, E.L.M 31.12, E.W.L 32.40로 나타나 control보다 젖산발효한 시료들이 낮은 BU값을 나타냈음. 젖산발효에 의한 효소 반응으로 생성된 당 성분의 함량이 높아 쓴맛이 상쇄되는 것으로 보임. 특히, IMO는 부드러운 단맛이 있고, branch IMO는 가볍고 부드러운 단맛을 준다는 연구가 있는데, IMO가 쓴맛을 저감시키는 것으로 판단됨. 쓴맛은 맥주 1L당 포함되어 있는 iso- $\alpha$ -acids의 mg 양으로, 이는 쓴맛의 정도에 따라 맥주 스타일이 결정되며, 미국 및 영국의 ale, larger 맥주는 5-25 정도의 BU를 갖고 있고 ale계 IPA의 경우는 50 이상으로 쓴맛을 가지고 있음.

아미노산은 시료 간의 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 선행연구보다 낮은 값을 나타냈음. 쌀은 엿기름(malt)보다 단백질 함량이 낮아, malt(엿기름)로만 사용한 맥주의 아미노산도가 0.08%로 쌀을 첨가하여 제조한 아미노산(0.04%)보다 높은 결과를 나타내었음. 이처럼 맥주 제조 시 사용되는 원료에 따른 단백질 함량 및 부원료의 특성에 따라 아미노산 함량에 차이가 있음을 알 수 있었음.

젖산균을 달리한 맥주의 알코올 함량은 젖산발효를 하지 않은 control이 4.80%로 가장 높고, 젖산발효 시료는 2.7-2.9%로 나타났음. 이는 젖산균 발효 시 효모가 알코올 발효로 사용되는 당 성분을 isomaltooligosaccharide로 합성하여, 효모가 사용할 수 없는 고분자 당으로 전환되었기에 저알코올 맥주로 제조된 것으로 보임.

최종 제품인 맥주의 칼슘 농도를 측정한 결과, control의 경우 5.90 mg/100 g에 비해 젖산발효를 한 맥주에서 71.38-84.55 mg/100 g의 높은 함량을 나타냈음. 이는 우유의 칼슘함량이 105.0 mg/100 g인 것과 비교해 적지 않은 함량을 보여줌. 이처럼 탄산칼슘을 이용한 젖산발효를 통해 칼슘을 이온상태로

섭취할 수 있고 장내에서 분해 속도가 빠르고 용해도가 높아 흡수율이 증가할 것으로 판단되며, 당화액에 젖산발효를 하여 고객의 입맛에 맞춘 sour 음료를 제공한다면 어린이 및 노인층을 대상으로 한 갈습강화음료로도 손색이 없을 것으로 판단됨.

표 19. Properties(SRM, Bitterness, Amino acid, Alcohol content and Calcium content) of beers

Sample1)	Beer properties				
	SRM (color)	Bitterness unit (BU)	Amino acid (%)	Alcohol content (%,v/v)	Calcium content (mg/100 g)
Control	7.26±0.01 <sup>a2)</sup>	39.72±2.22 <sup>a</sup>	0.016±0.000	4.80	5.09
E.W.C	5.39±0.01 <sup>c</sup>	29.18±3.87 <sup>c</sup>	0.019±0.000	2.80	84.55
E.L.M	5.94±0.01 <sup>b</sup>	31.12±1.20 <sup>ab</sup>	0.020±0.000	2.90	71.38
E.W.L	5.18±0.01 <sup>d</sup>	32.40±0.77 <sup>b</sup>	0.020±0.000	2.70	82.25
F-value	48.674 <sup>***3)</sup>	42.501 <sup>***</sup>	1.333 <sup>NS</sup>		

<sup>1)</sup> Mean ± S.D(n=3)

<sup>2)</sup> Different superscriptive letters in a column(a-d) indicate significant difference among samples at  $p < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup> NS: not significant, <sup>\*\*\*</sup> $p < 0.001$

<sup>4)</sup> Control : Beer sample without LAB

E.W.C: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)

E.L.M: Beer sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)

E.W.L: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

#### - 소비자 기호도 조사

젖산균주를 달리하여 제조한 맥주에 대한 소비자기호도 결과는 표 20과 같다. 시료는 4℃에서 보관되었으며, 제조된 맥주와 시판 ale계 맥주에 대한 관능적 특성을 비교·분석하였음.

색(color)은 젖산균을 첨가하지 않은 control이 6.58로 가장 높은 기호도를 나타냈고, 시료 간의 유의적인 차이가 있었음. 발효 완료 색도의 a값인 적색도는 control이 녹색 빛을 띠며, SRM이 7.26으로 진한 색상을 지니고 있어 가장 높은 기호도를 나타낸 것으로 판단된다. 향미(Flavor)는 E.L.M이 높은 기호도를 나타내었으나, 시료 간의 유의적 차이를 나타내지는 않았음. 단맛(sweetness)의 경우 control이 가장 낮은 기호도를 나타냈는데, 이는 젖산발효를 하지 않아 isomaltooligosaccharide가 생성되지 않았으며, 효모가 유리당을 발효물로 소비하여 잔당이 거의 소멸되었기 때문으로 보여짐. 단맛은 E.W.C > E.L.M > E.W.L 순으로 높게 나타났는데, 이는 이형 젖산균에 의해 생성된 isomaltooligosaccharide는 단맛을 가지고 있고, branched oligosaccharide는 가볍고(mild) 부드러운(soft) 맛을 준다는 선행연구 결과와 같이 기호도에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보이며, control은 IMO에 의한 단맛이 부족하여 낮은 기호도를 나타낸 것으로 판단됨. 또한, 쓴맛(bitterness)도 control이 가장 낮은 기호도를 나타냈음. 신맛은 쓴맛이나 짠맛과 같은 다른 맛을 내는 것으로 맥주에 중요한 성분으로, 본 시료의 신맛(sourness)은 control을 제외한 모든 시료는 5.13-5.38이며, control이 가장 낮은 기호도를 나타냈음. 이러한 신맛은 이형젖산에 의해 생성된 lactic acid와 acetic acid에 의한 것으로 젖산발효를 하지 않은 G 제품(시중제품)과 비교했을 때 비슷한 기호도 값을 보인 것으로 보아, 신맛이 불쾌하거나, 기호도에 부정적인 영향을 보이지 않는 것으로 판단됨.

또한, 모든 시료의 hop 종류 및 첨가량, 첨가시간 등이 동일하게 제조 되었음에도 control인 쓴맛 수치를 나타내는 BU값이 39.72로 높은 값을 나타냈으며, 쓴맛 기호도에서는 낮은 값을 보였음. 이는 hop에 의해 생성된 쓴맛은 control을 제외한 시료들이 IMO와 젖산 발효를 통한 유기산에 의해 쓴맛을 저감시켜주는 것으로 보여지며, 바디감, 신맛, 목넘김(aftertaste) 및 전체적인 기호도에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 생각됨.

표 20. 젓산균주별 생산 쌀맥주 소비자 기호도

Samples <sup>1)</sup>	Sensory characteristics							
	Color	Flavor	Sweetness	Bitterness	Sourness	Body	Aftertaste	Overall acceptance
Control <sup>4)</sup>	6.58±1.72 <sup>a2)</sup>	5.53±2.05	3.05±1.48 <sup>b</sup>	3.85±1.61 <sup>b</sup>	4.18±1.75 <sup>b</sup>	4.08±1.69 <sup>b</sup>	3.88±2.00 <sup>b</sup>	3.73±1.41 <sup>b</sup>
E.W.C	4.97±1.80 <sup>c</sup>	6.08±1.49	5.10±1.69 <sup>a</sup>	4.48±1.88 <sup>ab</sup>	5.13±1.76 <sup>a</sup>	5.55±1.08 <sup>a</sup>	5.35±1.59 <sup>a</sup>	5.98±1.53 <sup>a</sup>
E.L.M	5.68±1.10 <sup>bc</sup>	6.20±1.51	4.95±1.57 <sup>a</sup>	4.60±1.77 <sup>ab</sup>	5.38±1.43 <sup>a</sup>	5.55±1.08 <sup>a</sup>	5.50±1.65 <sup>a</sup>	5.90±1.39 <sup>a</sup>
E.W.L	4.95±1.89 <sup>c</sup>	5.63±1.58	4.73±1.68 <sup>a</sup>	5.28±1.60 <sup>a</sup>	5.13±1.56 <sup>a</sup>	5.33±1.58 <sup>a</sup>	5.23±1.78 <sup>a</sup>	5.65±1.56 <sup>a</sup>
G product (commercial)	5.85±1.10 <sup>b</sup>	5.98±1.94	4.68±1.58 <sup>a</sup>	5.18±2.47 <sup>a</sup>	5.50±1.59 <sup>a</sup>	5.63±1.56 <sup>a</sup>	5.75±1.56 <sup>a</sup>	6.03±1.62 <sup>a</sup>
F-value	7.496 <sup>***3)</sup>	1.138 <sup>ns</sup>	10.707 <sup>***</sup>	3.731 <sup>**</sup>	4.131 <sup>**</sup>	7.994 <sup>**</sup>	7.240 <sup>***</sup>	16.848 <sup>***</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± S.D(n=3)

<sup>2)</sup> Different superscriptive letters in a column(a-d) indicate significant difference among samples at  $p < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup> NS: not significant, \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

<sup>4)</sup> Control : Beer sample without LAB

E.W.C: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* (E.W.C)

E.L.M: Beer sample with Encapsulated *Leuconostoc mesenteroides* (E.L.M)

E.W.L: Beer sample with Encapsulated *Weissella cibaria* and *Leuconostoc mesenteroides* (E.W.L)

G product(commercial): Commercial Ale(Green blaze IPA) beer

## 협동연구기관(엠비션)과 공동 연구

### 제 4장 Pilot scale

#### 가. Pilot scale 적용 및 생산

##### 1) lab-scale 당화 후 여과 공정 확인

#### [연구 목적]

선행 연구 결과에 따르면 맥주 공정 중 쌀가루를 사용 시 여과 공정이 느려진다는 문제점이 발생할 수 있다는 결과들이 다수를 이루고 있음. 이에 lab-scale로 쌀가루 입자 크기에 따른 여과공정을 적용한 결과 150 mesh가 떡처럼 멍치는 현상이 발생하는 것을 확인할 수 있었고, 40 mesh와 80 mesh는 큰 문제가 없는 것으로 나타났으나, pilot scale에서의 공정을 적용하여 여과가 용이한 쌀가루 제품 2개를 선별하여 pilot scale 공정을 실시하였음.

#### [연구방법]

Pilot scale 공정은 20 L 양조로 생산하였고, 당화 후 여과공정을 확인하였으며, 당화액의 이화학적 특성을 분석하였음.

#### [연구결과]

쌀가루 입자에 따른 여과 공정의 용이성을 검증하기 위해 실험한 결과, 표 21과 그림 57에 나타내었음. 상업용 양조에서는 알콜도수를 예측하고, 목표 알콜도수로 맞추기 위해 비중을 체크하는 것이 일반적으로 이는 효모가 당을 분해하는 발효 과정에서 당 성분이 감소하게 되므로 비중이 줄어들게 됨.



Pilot scale 결과 40 mesh의 비중이 1.034로 높게 나타났고, 가용성 고형분과 환원당도 80 mesh보다 높게 나타나 알콜도수를 높이는데 긍정적인 영향을 줄 것으로 판단됨. 또한, 그림 58과 같이 40 mesh와 80 mesh 공정에서는 쌀가루 첨가에 다른 여과 공정이 느려지거나 어려움이 없는 것을 확인하였음.

표 21. Gravity, soluble solid , reducing sugar, pH, titratable acidity of saccharification

sample	비중 (Gravity)	soluble solids(Brix °)	reducing sugar (%)	pH	titratable acidity (%)
40 mesh	1.034	10.70 ±0.00	7.90 ±1.33	5.86 ±0.02	0.07 ±0.01
80 mesh	1.032	9.93 ±0.12	6.13 ±0.88	5.87 ±0.01	0.07 ±0.01



그림 57. 쌀가루 40 mesh 당화 후 여과공정



그림 58. 쌀가루 80 mesh 당화 후 여과공정

- Lab-scale 실험 결과를 토대로 참여기업인 엠비션과 협의한 결과, 시제품으로 1종인 제품을 상품화 생산 및 대량화하기 수월하다는 의견을 종합하여 발효 쌀맥주 3종 중 이소말토올리고당의 함량과 기호도면에서 우수한 E.L.M을 pilot scale에 적용하기로 결정함. 또한, 설탕은 구성하는 당인 포도당이 다른 당에 전달하는 반응을 촉매하여 새로운 구조의 올리고당을 생성하는데, 이렇게 생성된 올리고당은 부드러운 단맛을 주는 게 특징이며, 기존 lab-scale에서 6% 함량을 첨가하였음. 그러나, 단맛이 높다는 의견이 있어 설탕의 함량을 2%로 감소시켜 2-3%인 올리고당 생성하기로 함.

상큼한 맛과 쓴맛이 적은 saison의 스타일인 standard recipe 개발을 위해 수정·보완하여 제조함(표 21-22). Pilot 생산 공정은 그림 58에 나타내었음.

표 21. Pilot scale 적용을 위한 standard recipe

Ingredient	Weight(Volume)	백분율(%)
rice powder	550	21.29
pilsner malt	2,033	78.71



표 22. Pilot scale 적용을 위한 hop 종류

Hop type	Weight	백분율(%) 15L 기준	Addition Time
Willamette	7.5g	0.05	10min
Kent golding	5g	0.03	80min
Lemon drop	5g	0.03	80min



쌀가루 호화

맥아투입

온도 control

filter 과정

filter 후



젖산균 투입

발효과정

숙성 과정

그림 58. Pilot scale 적용한 맥주 생산 공정

[연구 결과]

Pilot 생산 결과(표 23), lab-scale보다 가용성 고형분 및 환원당 함량은 유사한 경향을 나타내었음. 최종 발효한 맥주의 pH와 적정산도는 비슷한 수치를 나타내어 이화학적 특성에는 차이가 없었음.

표 23. Pilot scale 적용한 맥주의 이화학적 특성 변화

Sample	Soluble solid (Brix)	Reducing sugar(%)	pH	Titratable acidity(%)
당화 (sparging 전)	10.63±0.006	10.27±0.10	5.74±0.02	0.10±0.00
sparging 후 (sucrose 2%첨가)	12.37±0.06	10.92±0.06	5.57±0.02	0.09±0.00

젖산발효	11.57±0.26	6.21±0.01	4.04±0.01	0.39±0.01
Hop Heating (100°C, 80min)	15.17±0.05	8.10±0.06	4.06±0.02	0.38±0.01
Yeast 발효 (2 <sup>nd</sup> ermentation)	9.57±0.05	2.14±0.02	4.01±0.00	0.56±0.01

2) 생산공정 계획, 젖산균 발효 공정 대량 생산 적용 및 생산 공정 표준화

가) 품질향상을 위한 pilot 생산 공정 표준화

[연구 방법]

엠비션의 pilot scale 생산을 통한 공정 적용 및 발효·숙성을 통해 우수한 품질의 맥주를 생산하기 위하여 엠비션의 pilot scale 장비로 생산 및 표준화를 위한 작업을 함.

[연구 결과]

Pilot scale 생산을 통해 당화 공정 중 여과공정에 문제가 없음을 확인하였으며, 따로 효소처리 없이 순차적 온도 처리 방식을 통한 당화공정이 대규모 상업양조의 생산 적용에 문제되지 않음을 확인 함. Pilot scale 공정은 그림 59-62에 나타내었음.



그림 59.쌀가루를 투입하여 당화 공정 start



그림 60. 당화 공정 완료 시점



그림 60. 당화 공정 여과 후 잔여물



그림 62. 발효 후 병입하여 숙성 중인 맥주 sample

나) Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 대량 생산 표준화 확립

[연구목적]

Encapsulated CaCO<sub>3</sub>-alginate bead의 lab-scale 제조(그림 63)는 syringe를 통해 생산하였으나, 대량

생산화에 어려움이 있어 규모 증대를 위해 연동형 (peristaltic) 펌프를 이용하였음. 연동형펌프 (Peristaltic pump)를 이용한 생산 조건은 표 24와 같으며, bead를 이용한 젖산균 발효는 30℃에서 24시간 발효하였음. bead 생산과 젖산균 발효 후 차이점을 bead의 외형 변화는 현미경, 발효물의 이화학적 성분 분석은 TLC 및 가용성 고형분 측정을 통해 비교하였음.

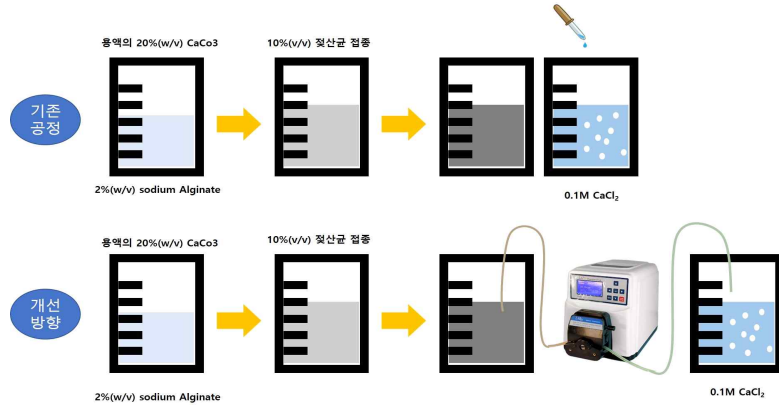


그림 63. peristaltic pump를 활용한 CaCO<sub>3</sub> Bead 생산 모형

표 24. peristaltic pump를 이용한 CaCO<sub>3</sub>-bead 생산 조건

Variable		Condition
tube	material	tygon
	I.D	3.2 mm
	O.D	6.4 mm
	wall	1.6 mm
peristaltic pump	pump model	S 600, Dongseo science CO., Ltd. Korea
	head	DP-100, (PPS/PS), 3roller 1channel
	flow	600 rpm
output		1,440g/h

[연구결과]

Syringe bead 및 pump bead의 직경은 0.89mm, 1.7mm로 약 1.9배 차이가 있었음. 외형을 현미경으로 100배 확대 관찰한 결과(그림 64), 발효 전 syringe bead의 경우 단면적이 원형에 가깝고, pump bead는 타원형에 가까웠음. 발효 후 두 bead 모두 외형이 굴곡진 모양으로 변형되었으며, 외관상으로 경화 시간에 따라서는 큰 차이를 보이지 않았음.

젖산균 발효 전 시료와 bead를 첨가 후 발효물의 가용성 고형분(표 25)의 함량은 11.8-11.9 brix°로 나타났으며, TLC 비교 결과(그림 65), 제조방법 및 경화시간에 따른 sucrose 소모 및 oligosaccharide 생산은 큰 차이를 보이지 않았음. 따라서 상업적 적용 시 문제가 되지 않는 것으로 판단됨.

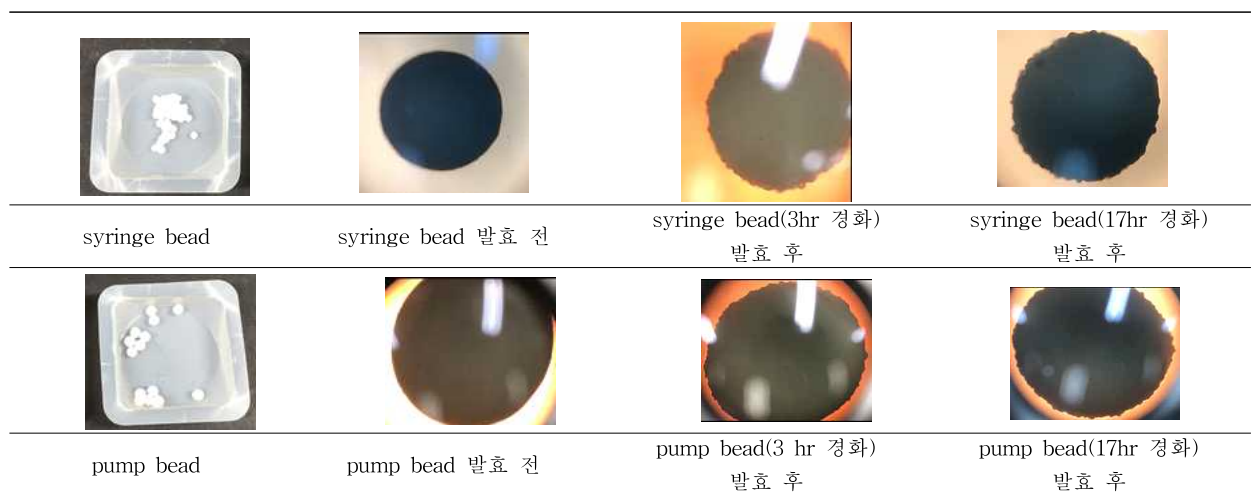


그림 64. Syringe bead와 pump bead의 젖산균 발효 전,후 외형 비교

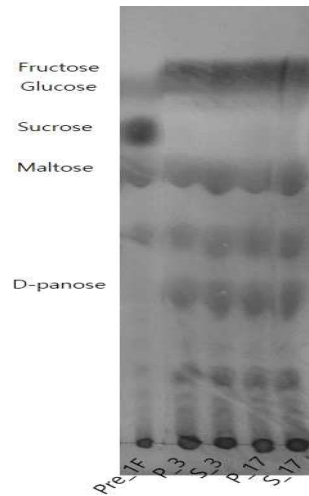


그림 65. TLC를 통한 젖산균 발효전(Pre\_1F)과 bead 첨가 후 발효물의 비교

표 25. 젖산균 발효전(Pre\_1F)과 Bead 첨가 후 발효물의 가용성 고형분

sample	soluble solid(brix°)
Pre_1F	12.0
P_3	11.9
S_3	11.8
P_17	11.9
S_17	11.9

<sup>1)</sup>pre\_1F: 젖산균 발효 전 당화액

P\_3: sample with Encapsulated pump bead harding for 3 hour

S\_3: sample with Encapsulated syringe bead harding for 3 hour

P\_17: sample with Encapsulated pump bead harding for 17 hour

S\_17: sample with Encapsulated syringe bead harding for 17 hour

다) 발효 시간에 따른 맥주 제조

[연구 목적]

참여기업과 lab-scale 제품을 관능 평가를 진행한 결과, 젖산발효 시 낮은 pH로 발효하게 되면, 효모발효 시 pH가 더 감소하여 최종 제품의 산미가 너무 강해 제품의 풍미에 영향을 줄 수 있다는 의견이 나옴. 젖산 발효 시 두 조건인 pH 4.50과 pH 4.00 까지 떨어트리고 이를 효모발효한 후 이화학적 특성을 측정하였으며, 관능은 lab-test를 실시함.

[연구 방법]

젖산균 발효 시 발효시간이 길어질수록 pH의 감소 및 적정산도 증가함에 따라 맥주제품의 관능적 및 이화학적 성분에 영향을 미침. 따라서 CaCO<sub>3</sub>-bead를 이용한 젖산균 발효 시간을 달리하여(18시간 :L18, 24시간 :L24) 당화액을 제조하였으며, 이후 효모를 첨가하여 5일간 20℃에서 동일하게 발효, 두 제품의 맥주를 비교 분석하였음.

[연구 결과]

CaCO<sub>3</sub>-bead를 활용한 젖산균 발효 맥주의 이화학적 분석 결과(표 26), 효모 발효 전 가용성 고형분 및 환원당은 젖산균 발효 시간이 증가하면서 감소하는 경향성을 보였으며, 비중은 상대적으로 젖산 발효 시간이 짧은 시료가 높았음. 효모 발효 후, pH는 3.98-4.10, 적정산도는 0.48%로 두 시료간 차이가 상대적으로 줄어들었음. 비중은 1.028-1.030으로 효모발효에 의해 감소되었으며, 각 시료의 초기 비중에 따라 상대적으로 젖산발효시간이 짧은 시료가 A.B.V가 높았음.

Lab-test 결과, 젖산발효 시 pH 4.50에서 멈추고 효모발효를 한 시료가 산뜻한 신맛이 있어 젖산발효 포인트를 pH 4.50으로 pilot scale에 적용함.

표 26. 젖산균 발효시간 따른 맥주의 이화학적 성분 분석

Sample		pH	titratable acidity(%)	soluble solids(brix°)	Reducing sugar	specific gravity	A.B.V(%)
효모 발효 전	L18	4.47±0.00	0.23±0.02	16.87±0.05	11.56±0.08	1.068	-
	L24	4.07±0.00	0.27±0.03	14.93±0.05	9.73±0.13	1.060	-
효모 발효 후	L18	4.10±0.00	0.48±0.03	11.97±0.05	5.40±0.07	1.030	5.37
	L24	3.98±0.00	0.48±0.02	10.80±0.02	5.64±0.11	1.028	4.72

1) L18: fermented for 18 hour with lactic acid bacteria  
L24: fermented for 24 hour with lactic acid bacteria

3) 상품화 추진을 위한 사전 소비자설문조사 실시

[연구 목적]

일반 소비자를 대상으로 쌀맥주에 대한 인식도를 명확하게 파악하고, 소비자가 원하는 needs를 검토하였음. 쌀맥주의 다양한 선택속성에 따라 태도, 이미지, 이용의도, 추가지불의사, 구전의도의 관계를 규명하고 이를 마케팅 전략으로 활용할 수 있도록 하고자 하였음. 설문지 구성은 인구통계학적 특성, 맥주소비특성, 쌀맥주 및 기능성 인지정도, 건강기능성 함유 쌀맥주 홍보내용, 맥주의 선택속성, 식생활라이프스타일 특성, 태도, 이미지 분석을 포함한 총 8개 문항으로 구성하였으며, 그림 66-67에 연구모형을 제시하였음.



[연구 방법]

조사대상자는 일반소비자를 대상으로 맥주를 주 1회 이상 음용하는 음료로 선택한 응답자 총 648부의 설문지를 회수하였으며, 실험결과는 SPSS(Statistics package for the social science, ver. 21.0 for window) program을 사용하여 일원배치 분산분석(ANOVA)으로 통계 처리하였음. 실험은 3회 반복하여 평균과 표준편차를 구하였으며,  $p < 0.05$  수준에서 t-test 및 duncan's multiple range test(Duncan의 다중범위검정)를 실시하여 각 시료 간의 유의적인 차이를 검사하였음.

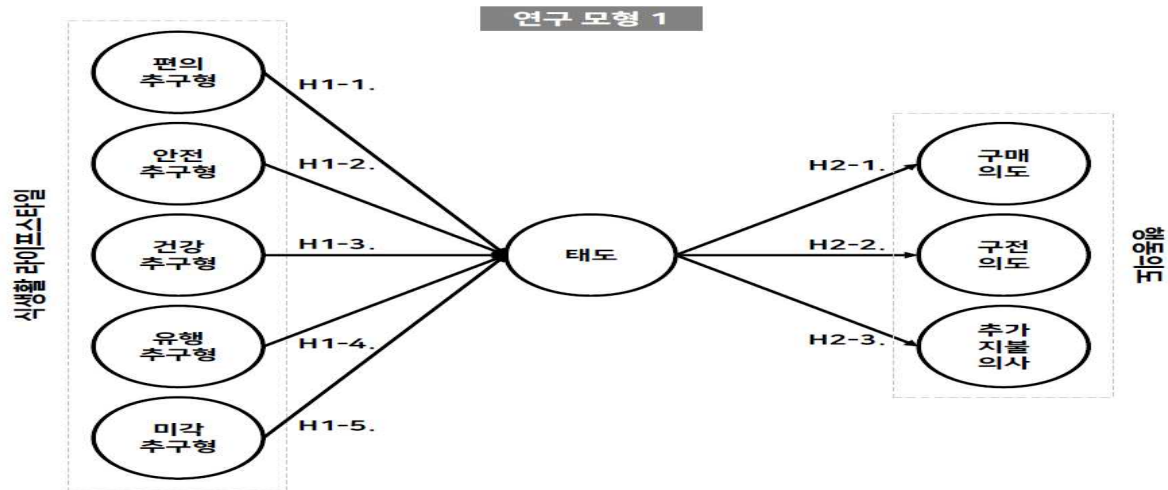


그림 66. 식생활 라이프스타일 중 쌀맥주에 대한 태도 연구모형

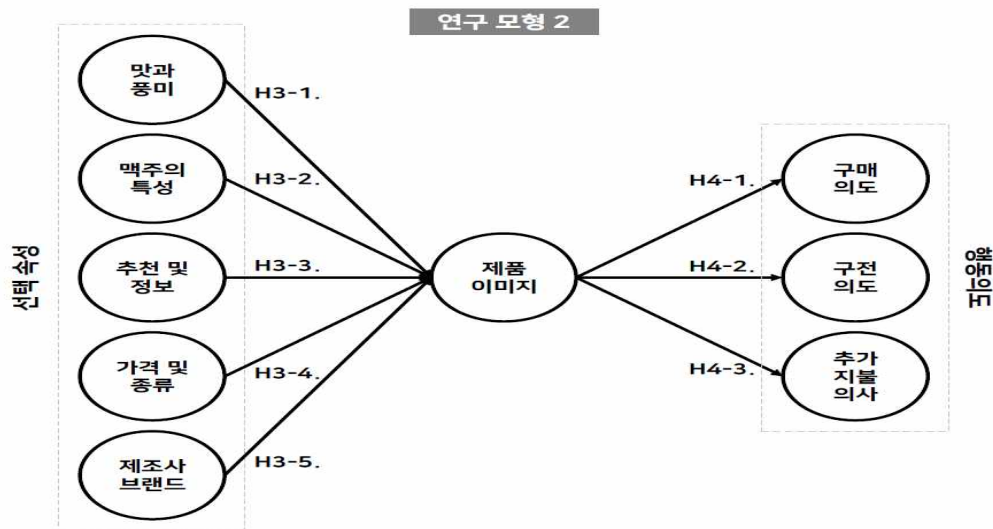


그림 67. 쌀맥주에 대한 선택속성 중 제품이미지 연구모형

[연구 결과]

○ 인구통계학적 특성

총 648명 응답자의 인구통계적 특성을 SPSS 빈도분석을 통한 결과(표 27), 남성이 49.8%(n=323), 여성은 50.2%(n=325)로 비슷한 구성비율을 보였으며, 연령별 구성은 20대 및 30대가 29.6%(n=192),

29.9%(n=194)로 과반수를 차지하였음. 거주지역은 서울 지역이 가장 많았으며(36.9%, 239) 다음으로 경기도의 분포가 높았다(24.1%, 156). 설문 응답자의 72.7%(n=471)가 4년제 대학교 졸업자였으며, 월평균 소득 200-300만원 응답자가 28.1%(n=182)였다. 직업의 경우 회사원의 비율이 가장 높았으며(61.6%, 399), 응답자의 과반수(51.2%, 332)가 기혼이었음.

표 27. 조사대상자의 인구통계학적 특성 (n=648)

구분	내용	빈도(명)	비율(%)
성별	남성	323	49.8
	여성	325	50.2
연령	20대	192	29.6
	30대	194	29.9
	40대	132	20.4
	50대	130	20.1
거주지	서울특별시	239	36.9
	경기도	156	24.1
	인천광역시	45	6.9
	부산광역시	42	6.5
	경상도	28	4.3
	대구광역시	27	4.2
	대전광역시	26	4.0
	전라도	22	3.4
	충청도	21	3.3
	광주광역시	16	2.5
	울산광역시	6	0.9
	세종특별자치시	4	0.6
제주특별자치시	3	0.5	
최종학력	고등학교 졸업 이하	67	10.3
	대학교 재학	55	8.5
	대학교 졸업	471	72.7
	대학원 재학	9	1.4
	대학원 졸업 이상	46	7.1
월평균 소득	100만원 미만	57	8.8
	100-200만원	101	15.6
	200-300만원	182	28.1
	300-400만원	113	17.4
	400-500만원	97	12.2
	500만원 이상	116	17.9
직업	회사원	399	61.6
	학생	64	9.9
	자영업	46	7.1
	주부	42	6.5
	판매/서비스/운수업	30	4.6
	무직	23	3.5
	공무원	20	3.1
	기타	24	3.7
결혼 여부	미혼	316	48.8
	기혼	332	51.2

○ 맥주소비 특성

조사대상자의 맥주소비특성을 확인한 결과(표 28), 수제맥주를 음용해 본 응답자가 75.3%(n=488)로 과반수였으며, 42.6%(n=276)가 캔맥주를 선호하는 맥주종류로 선택하였음. 구입 장소는 주로 대형마트

(48.6%, 315)이며, 주 1-2회 음용자가 71.3%(n=462), 음용 장소는 주로 집(70.1%, 454)으로 응답하였음.

표 28. 조사대상자의 맥주소비 특성 (n=648)

구분	내용	빈도(명)	비율(%)
수제맥주(craft beer) 음용 여부	<b>예</b>	<b>488</b>	<b>75.3</b>
	아니오	160	24.7
선호하는 맥주 종류	<b>캔맥주</b>	<b>276</b>	<b>42.6</b>
	생맥주	242	37.3
	병맥주	130	20.1
주된 맥주 구입 장소	<b>대형마트</b>	<b>315</b>	<b>48.6</b>
	편의점	208	32.1
	맥주전문주점	83	12.8
	일반음식점	34	5.2
	호텔 및 레스토랑	2	0.3
	기타	6	0.9
맥주 음용 빈도	<b>주 1-2회</b>	<b>462</b>	<b>71.3</b>
	주 3-4회	146	22.5
	주 5-6회	31	4.8
	매일	9	1.4
주된 맥주 음용 장소	<b>집</b>	<b>454</b>	<b>70.1</b>
	맥주전문 주점	111	17.1
	일반음식점	70	10.8
	편의점	6	0.9
	레스토랑	3	0.5
	호텔	2	0.3
	기타	2	0.3

○ 쌀맥주 및 기능성 인지정도

쌀맥주 및 기능성 인지정도에 관한 결과를 표 29에 나타내었음. 쌀맥주에 대해 이전에 들어본 적이 있는 응답자는 27.5%(n=178)으로, 이 중 음용해 본적 있는 대상자는 64명으로 전체 응답자의 9.9%를 차지하였음. 쌀맥주에 대한 관심정도는 과반수(57.1%, 370)가 관심을 보였으며, 기능성에 대한 인지정도는 47.5%(n=308)가 알고 있다고 답하였음. ‘건강기능성 함유 맥주’에 대한 관심정도는 응답자의 과반수(53.6%, 347)가 관심이 있음을 나타내었음. 이는 ‘건강기능성 함유 쌀맥주’ 제품에 대한 긍정적이며, 이를 라벨 및 팜플렛 제작 등에 활용함.

표 29. 쌀맥주 및 기능성 인지정도

구분	내용	빈도(명)	비율(%)
쌀맥주에 대해 이전에 들어본 적이 있는가	<b>예</b>	<b>178</b>	<b>27.5</b>
	아니오	470	72.5
쌀맥주를 음용해 본 적이 있는가	<b>예</b>	<b>64</b>	<b>36.0(9.9)</b>
	아니오	114	64.0(17.6)
쌀맥주에 대한 관심 정도	전혀 관심이 없다	8	1.2
	관심이 없다	56	8.6
	보통이다	214	33.0
	<b>관심이 있다</b>	<b>312</b>	<b>48.1</b>
	<b>매우 관심이 있다</b>	<b>58</b>	<b>9.0</b>
기능성에 대한 인지 정도	전혀 알지 못 한다	13	2.0
	알지 못 한다	87	13.4
	보통이다	240	37.0
	<b>알고 있다</b>	<b>278</b>	<b>42.9</b>
	<b>매우 잘 알고 있다.</b>	<b>30</b>	<b>4.6</b>



‘건강기능성 함유 맥주’에 대한 관심 정도	전혀 관심이 없다	15	2.3
	관심이 없다	83	12.8
	보통이다	203	31.3
	관심이 있다	281	43.4
	매우 관심이 있다	66	10.2

○ 건강기능성 함유 쌀맥주 홍보내용

건강 기능성 함유 쌀맥주 홍보의 필요성을 파악하고자, 국내산 쌀 사용 및 쌀 함유량을 표기하는 것은 7점 척도 중 5.27-5.28로 나타나 홍보가 중요하다고 나타났음(표 30). 또한, 건강기능성 물질 함유를 홍보하는 것에 대한 척도가 5.30으로 나타나 긍정적인 것을 확인하였음. 따라서, 마케팅 및 제품의 라벨 제작 시 이와 관련된 문구를 활용하는 것이 적합한 것으로 판단하였음.

표 30. 건강기능성 함유 쌀맥주 홍보내용에 대한 기술통계

내용	평균	표준편차
국내산 쌀 사용 여부	5.28	1.284
쌀 함유량	5.27	1.219
건강기능성 물질 함유 여부	5.30	1.305

○ 맥주 선택속성 분석

맥주의 선택속성에 대한 요인분석 결과(표 31)에서 변수들이 5 개의 요인인 맥주의 특성, 제조사·브랜드, 가격, 맛과 풍미, 추천 및 정보로 묶였으며, 음식과의 조화, 종류(라거, 에일 등)는 공통성 분석에서 0.5 이하로 측정되어 맥주의 선택속성을 설명하기에 충분하지 않은 것으로 나타나 제외되었음. 맥주의 선택속성 중에서는 맥주의 특성이 가장 중요한 것으로 나타났으며 제조사·브랜드, 가격, 맛과 풍미, 추천 및 정보 순으로 소비자가 중요하게 생각하는 것으로 확인되었음. 맥주의 특성으로 영양성분(칼로리 등)을 가장 중요하게 생각하고 있었으며 제조사·브랜드에서는 브랜드를, 가격에서는 가격할인, 맛과 풍미에서는 맛(taste), 추천 및 정보에서는 주변인의 추천이 가장 영향력이 있는 변수였음.

표 31. 맥주 선택속성에 대한 요인분석 결과

요인 (Mean±S.D)	측정변수	적재값	고유값	분산설명력	Cronbach's alpha
맥주의 특성 (4.60±1.02)	영양성분(칼로리 등)	0.789	3.005	17.676	0.842
	맥주의 색상	0.771			
	알코올 도수	0.706			
	원료의 함량	0.661			
	원료의 종류(밀, 호밀 등)	0.660			
제조사·브랜드 (4.53±1.24)	브랜드	0.893	2.692	15.834	0.883
	상품명	0.811			
	제조사	0.789			
가격 (5.41±1.04)	가격할인	0.904	2.422	14.246	0.867
	가격	0.845			
	프로모션	0.774			
맛과 풍미 (5.53±0.87)	맛(taste)	0.791	2.360	13.880	0.762
	향(aroma)	0.782			
	거품(탄산 함량)	0.731			
추천 및 정보 (4.31±1.13)	주변인의 추천	0.863	2.095	12.322	0.820
	전문가나 매장직원의 추천	0.846			
	광고나 홍보활동	0.567			

총 분산 설명력 = 73.958%, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 값 = .854, Bartlett의 구형성 검정 (p < .001)

○ 식생활 라이프 스타일 분석

소비자의 식생활 라이프스타일에서 ‘나는 식료품을 구매할 때 인지도 있는 제조업체를 선호한다’ 변수는 공통성 분석에서 0.5 이하로 측정되며 식생활 라이프스타일을 설명하기에 충분하지 않은 것으로 나타나 제외되었음(표 32).

소비자의 식생활 라이프스타일은 유행추구형, 건강추구형, 편의추구형, 미각추구형, 안전추구형으로 나타났으며, 유행추구형의 소비자는 익숙하지 않은 음식을 먹어보고자 하는 성질이 두드러지며 건강추구형의 소비자는 유기농 제품이나 친환경 제품을 사용하고자 하는 특성을 보였음. 편의 추구형의 소비자는 인스턴트 음식을 자주 섭취하며 미각추구형의 소비자는 맛있는 음식을 즐기는 유형이며, 안전추구형의 소비자는 식료품을 구매할 때 품질보증마크를 가장 중요하게 생각함.

표 32. 식생활 라이프스타일에 대한 요인분석 결과

요인 (Mean±S.D)	측정변수	적재값	고유값	분산 설명력	Cronbach's alpha
유행추구형 (4.59±1.18)	나는 익숙하지 않은 음식을 먹어보고 싶다.	0.899	3.106	18.272	0.882
	나는 다양한 음식을 체험하고자 한다.	0.829			
	나는 새로운 음식을 도전하는 것을 선호한다.	0.803			
	나는 새로운 레스토랑에 방문해 음식을 먹어보는 것을 즐긴다.	0.690			
건강추구형 (4.45±1.09)	나는 유기농 제품이나 친환경 제품을 사용하고자 한다.	0.812	2.958	17.399	0.851
	나는 지방질이 많은 음식을 피하는 편이다.	0.794			
	나는 건강한 음식을 선호한다.	0.779			
	나는 맛보다 영양이 더 중요하다.	0.774			
편의추구형 (4.38±1.23)	나는 자주 인스턴트 음식을 먹는다.	0.919	2.497	14.686	0.891
	나는 자주 조리된 음식을 구매한다.	0.900			
	나는 패스트푸드를 먹는 경향이 있다.	0.874			
미각추구형 (5.00±1.05)	나는 맛있는 음식을 즐긴다.	0.810	2.200	12.944	0.773
	나는 맛있는 레스토랑에 찾아가는 편이다.	0.700			
	나는 음식의 맛에 예민한 편이다.	0.634			
안전추구형 (4.92±1.08)	나는 식료품을 구매할 때 품질보증마크를 확인한다.	0.811	1.813	10.662	0.757
	나는 식료품을 구매할 때 원재료를 확인한다.	0.782			
	나는 식료품을 구매할 때 유통기한을 확인한다.	0.561			

총 분산 설명력 = 73.963%, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 값 = .853, Bartlett의 구형성 검정 (p < .001)

○ 제품에 대한 태도 , 이미지, 행동의도 요인 분석 결과  
쌀떡주 제품에 대한 분석 결과는 표 33-35와 같음.

표 33. 제품의 대한 태도 요인분석 결과

요인 (Mean±S.D)	측정변수	적재값	고유값	분산 설명력	Cronbach's alpha
태도 (5.01±1.14)	건강 기능성 함유 쌀맥주는 전반적으로 좋다.	0.957	2.714	90.458	0.947
	건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 전반적으로 긍정적인 편이다.	0.954			
	건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 전반적으로 호의적이다.	0.941			

Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 값 = .769, Bartlett의 구형성 검정 (p < .001)

표 34. 제품의 대한 이미지 요인분석 결과

요인 (Mean±S.D)	측정변수	적재값	고유값	분산 설명력	Cronbach's alpha
이미지 (4.93±1.13)	전반적으로 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 좋은 이미지를 가지고 있다.	0.957	2.702	90.053	0.945
	건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 내가 가지고 있는 전반적인 이미지는 훌륭하다.	0.951			
	건강 기능성 함유 쌀맥주의 이용에 대한 전반적인 이미지는 좋다.	0.939			

Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 값 = .768, Bartlett의 구형성 검정 (p < .001)

표 35. 행동의도에 대한 요인분석 결과

요인 (Mean±S.D)	측정변수	적재값	고유값	분산 설명력	Cronbach's alpha
추가지불의사 (4.16±1.35)	건강 기능성 함유 쌀맥주를 다소 비싸더라도 구매할 것이다.	0.857	2.897	32.184	0.952
	건강 기능성 함유 쌀맥주를 추가적인 비용을 지불하더라도 이용할 의사가 있다.	0.838			
	건강 기능성 함유 쌀맥주에 추가적인 비용을 지불할 용의가 있다.	0.778			
이용의도 (4.76±1.17)	건강 기능성 함유 쌀맥주를 향후에도 이용할 것이다.	0.819	2.840	31.553	0.942
	건강 기능성 함유 쌀맥주를 지속적으로 이용할 의도가 있다.	0.815			
	건강 기능성 쌀맥주를 이용하려고 노력할 것이다.	0.763			
구전의도 (4.56±1.19)	친구에게 건강 기능성 함유 쌀맥주를 마셔보도록 권유할 것이다.	0.773	2.427	26.965	0.947
	다른 사람들에게 건강 기능성 함유 쌀맥주를 권유할 것이다.	0.736			
	다른 사람들에게 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 좋게 이야기할 것이다.	0.719			

총 분산 설명력 = 90.701%, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 값 = .926, Bartlett의 구형성 검정 (p < .001)

○ 맥주의 선택속성과 이미지 간의 가설 검증

맥주의 선택속성과 제품에 대한 이미지간의 회귀분석 결과(표 36), 맥주의 선택속성 중, 맛과 풍미, 맥주의 특성만이 건강기능성 함유 쌀맥주의 이미지에 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났으며 맛과 풍미가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었음. 또한 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 형성된 우호적인 이미지는 이용의도, 구전의도, 추가지불의사에 모두 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났음. 이를 요인분석 결과와 종합해보면 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 우호적인 이미지를 형성하기 위해서는 맥주의 맛과 향을 향상시키고 이를 강조하여 나타낼 필요성이 있으며 소비자가 선호하는 알코올도수로 맥주를 양조하고 기존의 맥주와는 차별화되는 건강 기능성 함유 쌀맥주만의 영양성분을 강조하여 표시해야 함을 시사함.

표 36. 맥주의 선택속성과 이미지 간의 가설 검증

				Coefficient	t-value	R <sup>2</sup>	Hypothesis
H3-1	맛과 풍미	→	이미지	0.264	6.511***	0.203	채택
H3-2	맥주의 특성	→	이미지	0.179	3.840***		채택
H3-3	추천 및 정보	→	이미지	0.061	1.377		기각
H3-4	제조사 브랜드	→	이미지	0.037	0.806		기각
H3-5	가격	→	이미지	0.062	1.535		기각
H4-1	이미지	→	이용의도	0.851	41.115***	0.723	채택
H4-2	이미지	→	구전의도	0.773	30.968***	0.597	채택
H4-3	이미지	→	추가지불의사	0.671	23.014***	0.450	채택

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

○ 식생활 라이프스타일과 태도 간의 가설 검증

식생활 라이프스타일과 태도 간의 회귀분석 결과(표 37), 식생활 라이프스타일 중 안전추구형, 건강추구형, 미각추구형만이 건강 기능성 함유 쌀맥주의 태도에 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났으며 건강추구형이 태도에 가장 큰 상관관계를 나타냈음. 또한 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 형성된 우호적인 태도는 이용의도, 구전의도, 추가지불의사에 모두 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났음. 건강을 중시하는 소비자들이 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대해 우호적인 상관관계를 형성한다는 점에서 건강 기능성 쌀맥주의 제조에 사용되는 원재료(쌀 등)를 유기농 혹은 친환경 농작물로 대체하고 기존의 맥주와 비교하여 쌀맥주만이 가지는 건강 기능성을 강조하여 표시할 필요성이 있음을 시사함. 이는 평균(4.0)을 상회하여 측정되어 소비자들이 중요하게 생각하는 것으로 측정된 국내산 쌀 사용 여부(5.28), 건강기능성 물질 함유 여부(5.30)의 결과를 통해서도 강조해야할 특성임을 알 수 있었음. 또한 맥주의 제조와 관련하여 제조업체는 안전을 보증할 수 있는 HACCP과 같은 품질보증마크를 획득하고 원재료와 유통기한의 올바른 표기를 통해 안전에 대한 소비자 신뢰도를 높여야 할 것으로 보여짐. 건강 기능성 함유 쌀맥주에 대한 우호적인 태도의 형성을 위해 맥주의 맛을 강조하여 맥주의 미각적인 특성을 드러내는 것도 필요하지만 건강 기능성 쌀맥주가 기존의 맥주와 차별화되는 sour한 맛을 가지고 있다는 점에서 맥주의 sour한 맛에 대한 소비자들의 미각적 평가 및 보편적인 태도에 대한 추가적인 측정이 필요하며 이에 따라 미각적 특성의 강조여부를 결정할 수 있을 것으로 사료됨.

표 37. 식생활 라이프스타일과 태도 간의 가설 검증

				Coefficient	t-value	R <sup>2</sup>	Hypothesis
H1-1	편의추구형	→	태도	0.032	0.863	0.182	기각
H1-2	안전추구형	→	태도	0.139	3.012**		채택
H1-3	건강추구형	→	태도	0.238	5.136***		채택
H1-4	유행추구형	→	태도	0.069	1.516		기각
H1-5	미각추구형	→	태도	0.110	2.364*		채택
H2-1	태도	→	이용의도	0.840	39.357***	0.705	채택
H2-2	태도	→	구전의도	0.759	29.613***	0.575	채택
H2-3	태도	→	추가지불의사	0.644	21.375***	0.413	채택

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

3) 제품 및 상품화 추진

가) 개발된 쌀맥주의 제품명 선정

일반소비자 조사를 통해 얻어진 결과를 반영하여 풍미와 건강성을 강조한 제품명을 선정하기 위해 상업적 시판의 경험을 가지고 있는 참여기업 앰비션과 협의하여 아래의 3가지 이름을 선정하였음(표 38).

표 38. 완성된 맥주의 제품이름 선정

이름	부연 설명
美올리고	맛(味)도 올리고, 기능성 올리고당으로 건강 기능성을 강조
올米고당	쌀(米)을 이용하여 만든 맥주이자, 올리고당 함유한 맛 강조
美味	미미(美味)는 ‘아름다운 맛’으로 쌀이 들어가 더 가치 있고, 기능성 올리고당을 함유한 맛 강조

- 이를 20대 S대학교 대학생 대상으로 이름설명과 함께 선호도를 확인한 결과 표 39와 같이 나타났고, ‘아름다운 맛’의 의미를 가진 미미(美味)가 가장 많은 선호도를 보여 제품명을 미미(美味)로 선정하게 되었음(그림 68. 참조).

표 39. 완성된 맥주의 제품명 투표 결과

구분	美올리고	올米고당	미미(美味)	합계
투표	23명	15명	34명	72명

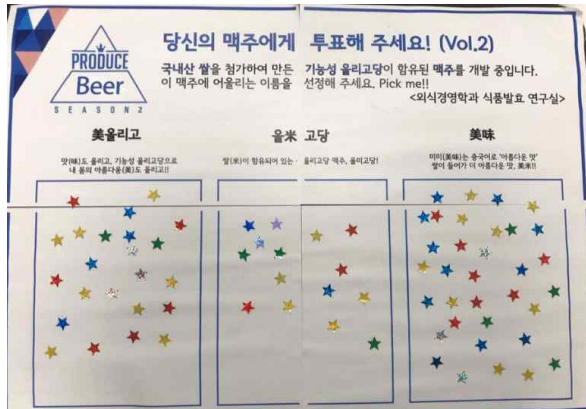


그림 68. 쌀맥주 이름 선정을 위한 투표

나) 개발된 쌀맥주의 라벨 선정

- 미미 제품의 라벨링을 선정하기 위하여 디자인 업체인 썸브랜더스에 의뢰하여 그림 69의 4개의 라벨링 시안을 받았음. 이 중 전문가 협의를 통하여 라벨링 시안 1을 선택하여 병제품 상표를 제작하였으며(그림 67), 이를 병입한 미미 제품에 부착한 제품 사진은 그림 68과 같음.



그림 67. 미미 제품의 라벨링 시안



그림 69. 라벨링 부착 후 제품 사진

다) 팜플렛 제작

일반 소비자 조사를 통해 얻어진 결과, 국내산 쌀 사용 및 쌀 함유량과 건강기능성 물질을 함유한 맥주 홍보에 긍정적임을 확인하였고, 이러한 문구를 활용한 팜플렛을 제작하였음(그림 70).



그림 70. 팜플렛 제작

제 5장 상업 양조 생산

가. 상업적 대량생산 표준화

1) 상업용 맥주 생산 (1차)

표준화된 pilot scale 생산 공정을 거쳐 수제맥주 상업용 양조(300-1000L 이하)로 시험 생산을 진행하였고, 대량 생산을 위한 표준작업 레시피는 표 40과 같음.

표 40. 생산 공정 표준화를 위한 작업 레시피

Ingredients		합량(g)	비율(%)
malt	쌀가루	22,000	21.57
	pilsner	80,000	78.43
	고형분 함량(g)	102,000	100
Ingredients		합량(g)	
hop	willamette(bitter)	500	
	kent golding(aroma)	500	
	sorachi ACE(aroma)	200	
물 함량(mL)	물	600,000	
	스파이징	150,000	
총 물 함량(mL)		800,000	
물/고형분(가수 배율)		5.88	
최종 맥주(mL)		400,000	

- 생산된 시제품의 이화학적 성분 및 성분 분석은 표 41-44에 나타내었음. 최종 가용성 고형분 함량은 8.9 brix이고, 환원당은 5.19%이며, pH와 적정산도는 4.23, 0.56을 나타내었음. HPLC 정량 결과, 기능성올리고당인 D-panose는 2.29%, mannitol 함량은 0.33%를 나타내었으며 최종 제품의 ethanol은 3.41% 함량을 나타내었음. 유기산을 분석한 결과, 총 유기산 함량은 0.61%를 나타냈으며, 그 중 아세트산이 0.34%로 가장 높은 유기산이었음.

- 시제품을 병입 후 저장한 다음 개봉한 결과, 거품이 넘치는 현상이 나타나 유통하는데 문제가 있다는 것을 발견함. 이는 잔여당이 완전히 제거되지 않은 효모에 의해 후발효되는 현상으로 탄산 등 거품이 넘쳐 제품으로서 유통되는데 문제점이 발생함. 이에 2차 상업적 양조시 숙성 및 발효한 다음 냉각시키고 상온온도로 올려 후발효를 통해 잔여당을 소모하게끔 공정을 수정함.

표 41. 생산된 시제품의 가용성 고형분, 환원당, pH, 적정산도

Sample	Soluble solids(Brix°)	Reducing sugar(%)	pH	Titrateable acidity(%)
상업용 양조	8.9±0.00	5.19±0.03	4.23±0.01	0.56±0.01

표 42. 생산된 시제품의 올리고당(D-panose), 유리당 및 올리고당 함량(unit: %)

Sample	D-panose	mannitol	maltose	glucose	fructose	ethanol
상업양조	2.29±0.01	0.33±0.00	0.41±0.00	2.36±0.03	0.51±0.00	3.41±0.03

표 43. 생산된 시제품의 유기산 함량(unit: %)

Sample	L-malic acid	D-malic acid	acetic acid	lactic acid	total
상업양조	0.05±0.00	0.12±0.00	0.34±0.01	0.14±0.00	0.61±0.04

표 44. 생산된 시제품의 쓴맛 및 색도

Sample	bitterness unit(BU)	Hunter color values		
		L	a	b
상업양조	14.02±1.44	35.31±0.03	0.67±0.02	10.85±0.13

## 2) 페스티벌 및 전시회 참가를 통한 마케팅 실시

### 가) 맥주 축제 참가를 통한 홍보 실시

#### ○ 속초비어샤워페스티벌 참가

: 2019년 08월 02일부터 동년 08월 03일까지 속초시가 주관한 ‘속초비어샤워페스티벌’에 참가했으며, 협업한 엠비션브루어리와 젓산균을 이용한 쌀가루 발효알콜음료 ‘미미’를 홍보하였음.

대중들의 의견을 알아보기로 간단한 설문조사를 하였으며 총 31명의 답변을 들을 수 있었고, 대부분 단맛과 쓴맛을 더 조화롭게 조절한다면 더 나은 발효알콜음료가 될 것 같다고 함. 그 외 답변으로 “산뜻한 수박향이 난다”, “떡을 먹은 후에 느껴지는 단맛”, “막걸리향과 맛을 조금 줄였으면 좋겠다“ 등 다양한 반응을 보였음.





그림 71. 속초비어샤워페스티벌 홍보부스 모습



그림 72. 속초비어샤워페스티벌 미미 제품 홍보

#### 나) 제품품질 향상을 위한 소비자 IPA(Importance-Performance Analysis) 조사

##### [연구방법]

시제품으로 생산된 쌀맥주의 소비자 기호도 조사를 진행하였으며, 제품을 이용하는 소비자들의 만족도를 측정하기 위해 조사방법으로 시음 전 중요도(기대)와 시음 후 만족도를 평가하고 이를 상대적 중요도와 성취도를 동시에 비교 분석하는 방식인 IPA(Importance-Performance Analysis) 분석 방법을 이용하였음. 설문 항목으로는 맥주의 특성 중 색상, 향, 단맛, 신맛, 쓴맛, 거품, 후미, 알코올도수 등 8개를 조사하였으며, 총 100명을 대상으로 설문을 실시하였음. 소비자들의 만족도를 측정하기 위해 맥주를 이용 전 중요도를 측정케 하였고, 쌀맥주 미미를 시음한 다음 만족도를 평가하여 상대적 중요도와 성취도를 동시에 비교·분석하는 IPA 분석을 실시하였음.

##### [연구결과]

인구통계학적 분석 결과(그림 73) 성별은 여성이 55%, 남성이 45%였으며, 연령대는 20대가 46.67%로 가장 많았으며, 30대가 28.33%를 차지하였음. 거주지역은 서울 및 수도권 거주자가 과반수였음. IPA 분석 결과(그림 74), 맥주의 특성 중 향, 후미, 거품의 경우 소비자의 중요도 및 만족도 모두 높은 영역으로 인식되어 본 제품이 상대적으로 타 제품에 비해 우위를 가질 수 있는 영역으로 추후 중점적으로 개발할 필요가 있는 항목으로 판단됨. 알코올도수, 단맛, 색상의 경우 중요도는 낮으나, 제품에 대한 만족도가 높아 현 제품의 특성을 현상 유지시키는 방향으로 가는 것이 좋은 것으로 보여짐. 쓴맛과 신맛의 경우 중요도 및 만족도 모두 낮았음. 쓴맛의 경우 '맥주의 쓴맛 내지는 호프의 향이 부족한 것 같다' 등의 의견이 있었으며, 신맛의 경우 '산미가 강하나 부정적으로 느껴질 만큼 거부감이 드는 것은 아니다', '신맛이 좀 적었으면 좋겠다' 등의 의견이 있었음. 이는 현 시장에서 sour 맥주에 대한 소비자

들의 인식도가 낮음에 따라 제품에 대한 중요도 및 만족도가 낮은 것으로 판단되었음. 따라서 홍보 및 인식 개선 등을 통해 중요하게 인식하도록 하거나 현상을 유지하는 방향으로 설정하는 것이 좋다고 판단됨.



그림 73. 소비자 기호도 조사의 인구통계학적 특성

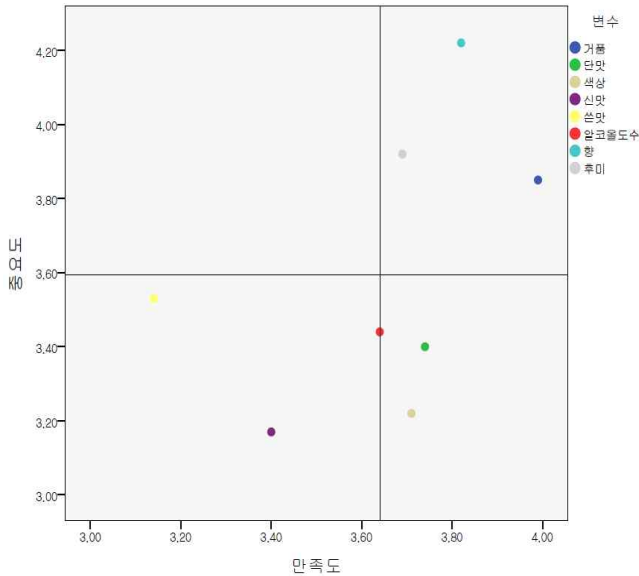


그림 74. 소비자 기호도 조사 IPA 분석 matrix

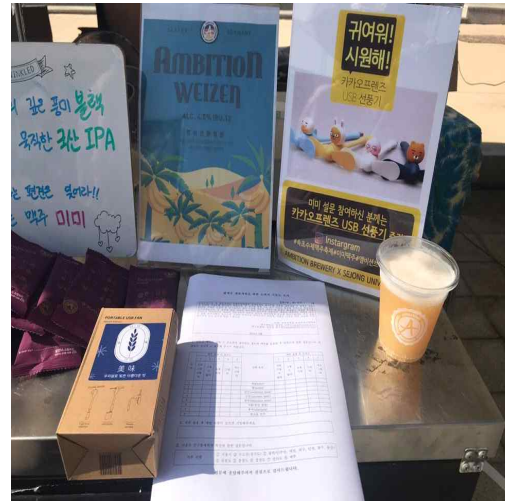


그림 75. 쌀맥주 시음과 IPA조사 설문지

나. 공장 단위 규모의 대량 생산

1) 상업적 맥주 생산 (2차)

시험 생산을 거친 시제품의 공정을 수정·보완하여 대량 생산하였음(표 45).

표 45. 공장 단위 규모의 상업 양조 제조

Ingredients		합량(g)	비율(%)
쌀가루		33,000	20.89
malt	pilsner	125,000	79.11
고형분 합량(g)		125,000	100
Ingredients		합량(g)	
hop	willamette(bitter)	750	

	kent golding(aroma)	750
	sorachi ACE(aroma)	300
물 함량(mL)	물	650,000
	스파이징	150,000
총 물 함량(mL)		800,000
물/고형분(가수 배율)		5.06
최종 맥주(mL)		600,000

- 이를 통해 제품을 생산을 생산한 결과 시험 생산한 제품을 보완하여 문제점이 해결된 제품이 생산되었으며, 상업용 양조에 적용한 제품으로 표준화하였음. 또한, 개발된 제품은 식품의약품안전청에 식품 품목제조보고서를 제출하였음.

생산된 시제품은 후발효를 통해 표 46에 나타난 바와 같이 가용성고형분이 함량이 7.9 brix, 환원당은 1.60%로 잔여당이 거의 소모되었으며, pH와 적정산도는 기존 pilot 생산을 통한 제품들과 유사한 수치를 나타냈음. HPLC 정량 결과(표 47), 최종 제품의 ethanol이 5.05% 함량을 나타낸 것은 숙성 후 상온온도로 올려 후발효를 통해 ethanol 수치가 올라간 것이며 기능성올리고당인 D-panose는 2.02%, mannitol 함량은 0.23%를 나타내었음. 유기산을 분석한 결과(표 48), 총 유기산 함량은 0.61%를 나타냈으며, 그 중 아세트산이 0.34%로 가장 높은 유기산이었음. 생산된 제품의 BU 값은 20.68로 ale 계 맥주의 범주에 속하며 명도는 38.88, 적색도는 0.31, 황색도는 14.70의 색도를 나타냈음(표 49).

표 46. 생산된 시제품의 가용성 고형분, 환원당, pH, 적정산도

Sample	Soluble solids(Brix°)	Reducing sugar(%)	pH	Titrateable acidity(%)
상업용 양조	7.9±0.00	1.60±0.02	4.17±0.01	0.47±0.01

표 47. 생산된 시제품의 올리고당(D-panose), 유리당 및 올리고당 함량(unit: %)

Sample	D-panose	mannitol	maltose	glucose	fructose	ethanol
상업양조	2.02±0.03	0.23±0.00	ND	ND	0.49±0.00	5.05±0.06

표 48. 생산된 시제품의 유기산 함량(unit: %)

Sample	L-malic acid	acetic acid	lactic acid	total
상업양조	0.07±0.00	0.35±0.00	0.12±0.00	0.54±0.00

표 49. 생산된 시제품의 쓴맛 및 색도

Sample	bitterness unit(BU)	Hunter color values		
		L	a	b
상업양조	20.68±3.05	38.88±0.01	0.31±0.03	14.70±0.17

## 2) 2019 우리 쌀 가공식품, 전통주 WITH 米 페스티벌 출품

2019년 9월 25일부터 9월 26일(2일)간 서울시청 광장에서 서울시와 농협식품이 주관하는 페스티벌에 쌀맥주 미미를 출품함. 2일간 행사에 참여한 시민 및 쌀이용 제품 관계자들에게 개발된 쌀맥주를 소개하였고, 많은 참여자들이 쌀맥주에 대한 호감을 나타내었음. 쌀맥주 미미를 총 600명을 시음 및 홍보물로 증정하였으며, 시음을 통해 우리 쌀로 만든 맥주가 기존의 맥주와 품질면으로도 견줄만하다는 호평을 받았음.



그림 76. 2019 우리쌀 가공식품, 전통주 WITH 米 페스티벌

### 3) 홍보 영상물 제작

제품의 홍보 영상물을 제작하기 위한 사전 미팅을 실시하여 영상 컨셉 결정 및 모델 섭외 등을 통해 홍보영상을 촬영하였고, 후작업 (편집, CG작업, 색보정 및 효과음 음향삽입 등)하여 최종 홍보영상물을 제작하였음. 현재 Youtube 및 세종대학교 홈페이지 홍보영상, 앰비션 블로그 및 인스타 등의 SNS 등을 통해 마케팅을 실시하였음(그림 77).



그림 77. 영상물을 활용한 SNS 홍보

### 다) SNS 등을 통한 홍보 및 언론(신문) 홍보

쌀맥주로 만든 '미미'를 젊은 맥주소비자들에게 인식시키고, 적극적으로 SNS마케팅을 위해 파워블로거의 시음평 등을 게시하였고, 적극적으로 SNS 등을 통해 홍보하고 있으며, 한국농업신문 및 세종대학교 홈페이지 기사를 통해 언론 홍보가 됨.





그림 76. SNS를 통한 홍보

[MTH 미 페스티벌·엔비전브루어리]세종대학교 발효식품연구소 국내산 쌀가루로 만든 발효 맥주 美欸

세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr | 승인: 2019.10.22. 15:09

새롭고 건강한 맥주 문화 확산을 위한 '국내산 쌀가루 발효 맥주'를 소개합니다.

한국농업신문은 '국내산 쌀가루 발효 맥주'를 소개하며, 국내 맥주 시장에서 유색맥주의 점유율이 지속적으로 상승하고 있다고 보도했다.

이처럼 증가하고 있는 유색 맥주의 소비에 힘입어 농촌진흥청도 '국내산 쌀'에 대한 소비 촉진을 위한 '국내산 쌀가루 발효 맥주'를 개발하는 등의 노력을 기울이고 있다.

정부 기관뿐만 아니라 각 대학원과 대학 산하 연구소에서도 소비자의 입맛을 사로잡을 만한 발효식품을 내기 위해 노력 중이다.

지난 10월 22일에서 24일까지 세종대학교 발효식품연구소가 공동으로 선보인 발효 맥주 '미(美欸)'는 100% 국내산 쌀가루로 가래진 쌀가루, 기능성 올리고당을 함유하고 있으며, 사탕무와 쌀을 주원료로 하고 있다. 당분량, 알코올도, 발효시간은 연구실내에 적합한 실온을 유지했다.



100% 국내산 쌀가루로 만든 맥주

국내산 쌀가루 맥주, 국내산 쌀가루 발효 맥주

발효 맥주는 쌀가루를 발효시키는 과정에서 쌀의 영양과 향미가 생성된다. 세종대학교 발효식품연구소는 '미(美欸)'가 맛과 향미가 달리고 달콤한 술이라고 소개하고 있다고 밝혔다. 발효된 쌀가루는 '미(美欸)'가 맛과 향미가 달리고 달콤한 술이라고 소개하고 있다고 밝혔다. 발효된 쌀가루는 '미(美欸)'가 맛과 향미가 달리고 달콤한 술이라고 소개하고 있다고 밝혔다.

- 반대사
- 1. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 2. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 3. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 4. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 5. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 6. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 7. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 8. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 9. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr
  - 10. 10월 22일 15:09 세종대 기자: ssk@sejong.ac.kr

세종대 조리외식경영학과 김선영 박사 연구팀, 국내산 '쌀 맥주' 개발

2019-10-27 | 제 101



▲국내산 쌀가루를 활용한 쌀 맥주 개발을 축하하는 연구진

세종대학교 조리외식경영학과 김선영 박사 연구팀은 '국내산 쌀가루를 활용한 쌀 맥주'를 개발했다.

김선영 박사 연구팀은 '국내산 쌀가루'를 활용한 쌀 맥주 개발을 위해 '국내산 쌀'을 주원료로 사용하고, 사탕무와 쌀을 주원료로 사용하며, 발효시간은 연구실내에 적합한 실온을 유지했다. 당분량, 알코올도, 발효시간은 연구실내에 적합한 실온을 유지했다.

이전 연구는 '국내산 쌀가루'를 활용한 쌀 맥주 개발을 위한 '국내산 쌀'에 대한 소비 촉진을 위한 '국내산 쌀가루 발효 맥주'를 개발하는 등의 노력을 기울이고 있다.

이전 연구결과를 통해 쌀 맥주 개발을 위한 '국내산 쌀'에 대한 소비 촉진을 위한 '국내산 쌀가루 발효 맥주'를 개발하는 등의 노력을 기울이고 있다.

김선영 박사는 '발효식품학과 연구기획'의 지원을 받아 '국내산 쌀'을 주원료로 사용하고, 사탕무와 쌀을 주원료로 사용하며, 발효시간은 연구실내에 적합한 실온을 유지했다.

그림 77. 신문기사글 (한국농업신문(좌), 세종대학교 홈페이지 기사(우))

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
쌀가루 전처리 공정 확립		100	·쌀가루 전처리 방법, 쌀가루 함량에 따른 차이 분석을 통해 전처리 공정 확립
당화 공정 확립		100	·당화 공정 열처리 방법, 쌀가루 입자 크기에 따른 차이 분석을 통해 당화 공정 확립
젖산발효를 통한 공정 최적화		100	·pH neutralizer로 이용한 CaCO <sub>3</sub> bead 첨가에 따른 젖산발효 공정 최적화
젖산발효과정에 따른 특성 연구		100	·젖산발효 공정에 따른 이화학적 특성 분석을 통한 기능성 성분 확인
효모 발효 공정 및 aging 공정 구축		100	·효모의 종류 및 발효 기간에 따른 분석을 통한 최적 공정 확인
효모 발효, 숙성 및 저장성 평가		100	·효모 발효 및 숙성 과정을 통한 맥주의 특성 및 저장 기간에 따른 변화 확인
Lab scale를 통한 맥주 특성 분석		100	·색도, SRM, BU, 아미노산, 알코올 함량, MIMO 함량, 칼슘 함량 측정
Lab scale를 통한 맥주의 소비자 기호도		100	·젖산균주를 달리하여 제조한 맥주에 대한 소비자기호도를 조사함.
Pilot scale 적용 및 생산		100	·당화 공정, 젖산발효 공정 pilot scale 적용 및 생산 표준화 확립
Pilot 및 공장 단위 규모 생산 표준화		100	·Pilot 및 현장생산 공정 정립
상업 양조(시제품) 분석		100	·시제품인 쌀맥주 미미 성분 분석
사전소비자 온라인 설문조사 실시		100	·사전 소비자 온라인 설문조사를 실시하여 마케팅 및 홍보 전략 제시
제품 및 상품화 추진		100	·개발된 쌀맥주의 제품명, 라벨 선정
홍보 영상물 제작		100	·홍보 영상물을 제작하여 SNS 홍보 적극 활용
쌀맥주 시음을 통한 소비자 기호도 조사 실시		100	·시제품으로 생산된 쌀맥주의 소비자 기호도 조사를 통한 IPA 분석
페스티벌 및 전시회 참가를 통한 마케팅 실시		100	·속초비어샤워페스티벌 참가 및 2019 우리 쌀 가공식품, 전통주 WITH 米 페스티벌 출품하여 개발된 제품인 미미 마케팅을 실시함. · SNS 게시 및 언론 홍보

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

가. 매출액

- 농기평-농협 역매칭 과제로 생산된 제품이 매출실적이 나올 경우 이익 배분이나 실무적 과제관리 등의 애로사항 등이 생겨 중간평가에서 과제 종료 전까지 매출 실적이 발생하지 않도록 하고 농협의 홍보행사 요청에 상품을 제공하여 홍보하는 것으로 과제 협의가 있어 매출액 없이 과제를 마무리하였음.
- 과제 완료 후 제품 생산 준비 중이며, 농협과 같은 대형 발주처에서 발주물량 요청과 마케팅 지원 및 판로 개척의 도움이 필요한 상태임. 매출액의 경우 2020년에 발생될 것으로 예상됨.

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 연구개발 결과의 활용방안

	코드번호
<p>○ 원천기술 확보, 제품화 및 신산업 창출 방안</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 국내산 쌀가루 소재 생산 공정 개발 : 쌀을 소재로 효모발효 시 청주취와 같은 발효취 저감화 공정 개선. 발효를 통한 당화 공정 방법 최적화를 통해 기능성 함량 연구의 기초자료와 쌀 소재 연구에 큰 도움이 될 수 있을 거라 판단됨. 이와 같은 접근은 맥주를 활용한 기능성 기술이 많이 보고되어 있지 않은 점을 보면 관련 연구분야 확대에 학문적 기여를 하였음.</li> <li>▶ 쌀산업 시장에 적용 : 우리쌀 소비 촉진을 위해 쌀 이용성을 다양화하여 차별화와 고급화를 위한 발효음료소재로 적용하였음. 기능성 올리고당을 포함한 수제 쌀맥주의 경우는 현재까지 생산된 바가 없으며 유사한 제품은 출시된 바 없음. 따라서, 이러한 점을 강조해서 차별화 전략을 세우는 것이 가능함.</li> </ul>	

4-2. 기대성과 및 파급효과

	코드번호
<p>○ 기술적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 쌀을 활용한 수제맥주로써의 고부가가치 식품 활용 범위를 확장하고, 전통적 발효 공법을 통해 기능성 소재가 생성되었고, 이는 고기능성 소재를 확보할 수 있으며, 대량 생산 상품화가 가능함.</li> <li>▶ 쌀가루를 첨가한 맥주의 품질을 유지하고 젖산균의 제어시스템을 구축하여 유익한</li> </ul>	

성분들을 최적으로 발효시켜 수제맥주시장의 고급 맥주와 견주어도 손색이 없는 고품질의 전통 알콜 발효음료를 생산함.

○ **경제적·산업적 측면**

▶ 국내산 쌀 첨가비율에 따라 사용되는 수입맥아의 양도 줄어들어 따라 수입되는 맥아의 양을 줄이고 국내산 쌀이용도 촉진할 수 있음.

▶ 급증하는 수입용 맥주들에 대한 구매 대안 기회를 제시함으로 침체되는 국내 맥주 산업에 대한 고부가가치 소재로서의 가능성이 있으며, 국내산 또는 생산지역을 강조한 지역 생산쌀을 활용한 브랜드 차별화도 가능하여 지역쌀 이용 대책으로 이용 가능함.



## 붙임. 참고 문헌

K Kim, M J Lee, J H Kim and Y H Shim. 1998. A study on weight control attempt and related factors among college female students. *Korean Journal of Community Nutrition*, 3(1), 21-33.

H J Kim. 2004. The survey of beverage preference and sales trends. Masterate thesis Sookmyung Women's University, 1-2.

S Lim and D Im. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *J Microbiol Biotechnol*, 19(2), 178-186.

G R Gibson and M B Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.

M D Collins and G R Gibson. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American journal of clinical nutrition*, 69(5), 1052-1057.

M J Kim, H N Seo, T S Hwang, S H Lee and D H Park. 2008. Characterization of exopolysaccharide (EPS) produced by *Weissella hellenica* SKkimchi3 isolated from kimchi. *The Journal of Microbiology*, 46(5), 535-541.

C W Bamforth. 2002. Nutritional aspects of beer—a review. *Nutrition Research*, 22(1-2), 227-237.

S Sohrabvandi, A Mortazavian and K Rezaei. 2012. Health-related aspects of beer: a review. *International Journal of Food Properties*, 15(2), 350-373.

농림축산식품부. 2017. 양정 자료. pp. 46

한국농축산식품유통공사. 2016. <2015 가공식품세분시장현황조사(주류).pdf>.

통계청. 2017. pp. 15-17.

S M Lim, D S Im. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *J Microbiol Biotechnol*, 19(2),178-186.

H Y Lee, J Y Kim, H Park, J Leel. 2011. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1),155-161.

S K Hwang, J T Hong, K H Jung, B C Jang, K S Hwang, J H Shin, et al. 2008. Process Optimization of Dextran Production by *Leuconostoc* sp. strain YSK. Isolated from Fermented Kimchi. *Journal of life science*, 18(10), 1377-1383.

Y Wang. 2009. Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 42(1),8-12.

S I Mussatto and I M Mancilha. 2007. Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydratepolymers*, 68(3),587-597/

J H Park, H J Ahn, S g Kim and C H Chung. 2013. Dextran-like exopolysaccharide-producing *Leuconostoc* and *Weissella* from kimchi and its ingredients. *Food Science and Biotechnology*, 22(4), 1047-1053.

K A Min and C H Chung. 2016. Yogurt Production Using Exo-polysaccharide-producing *Leuconostoc* and *Weissella* Isolates from Kimchi. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 48(3), 231-240.

W Yu, J Y Kim , K Y Lee , T R Heo. 2002. <High cell density cultivation of *Bifidobacterium longum* using a calcium carbanate-alginate beads system.pdf>. *J Microbiol Biotechnol*, 12(3), 444-448.

S J Jo, S M Oh, E K Jang, K Hwang and S P Lee. 2008. Physicochemical properties of carrot juice fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 37(2), 210-216.

J H Choi, J A Jeon, S T Jung, J H Park, S Y Park, C H Lee, et al. 2011. Quality characteristics of Seoktanju fermented by using different commercial Nuruks. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 39(1), 56-62.

C S Park and T S Lee. 2002. Quality characteristics of takju prepared by wheat flour nuruks. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 34(2), 296-302.

S Lee and T Lee. 2000. Effect of roasted rice and defatted soybean on the quality characteristics of Takju during fermentation. *J Nat Sci*, 12, 71-79.

S Sung and S LEE. 2017. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers. *Korean J Science Technology*, 49(1), 35-43.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.