

발간등록번호

11-1543000-000776-01

고품질의 발효차 생산을 위한 산업화 공정 및 제품 개발

(Development of manufacturing process and products
for high quality Korean microbial fermented tea)

목포대학교 산학협력단

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고품질의 발효차 생산을 위한 산업화 공정 및 제품 개발” 과제(세부과제 “발효차 제조공정 및 상품화 기술개발”, 협동과제 “개발 발효차의 우수성 검증”, “HACCP 기반 발효차 생산·품질관리 기준 및 프로토콜 개발”)의 보고서로 제출합니다.

2014년 9월 28일

주관연구기관명 : 목포대학교

주관연구책임자 : 마 승 진

세부연구책임자 : 마 승 진

연 구 원 : 박 용 서

연 구 원 : 백 종 우

협동연구기관명 : 전남대학교

협동연구책임자 : 박 수 현

협동연구기관명 : 푸드원택

협동연구책임자 : 오 원 택

요 약 문

I. 제 목

고품질의 한국산 발효차 생산을 위한 산업화 공정 및 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 최근 국산 녹차 재고량이 증가하여 심각한 문제가 되고 있다. 녹차 재고 누적의 원인은 국내 찻잎의 과잉생산에도 일부 원인이 있으나 이보다 저가의 차 제품과 보이차를 비롯한 발효차의 수입이 증가한 것이 주된 원인이다. 특히, 미생물발효차는 과학적인 근거가 부족한 상태임에도 불구하고 항비만, 항고혈압 등의 기능성 있다고 알려지면서 수입이 급격히 증가하고 있다. 반면, 국내에서는 찻잎의 90%이상을 녹차로만 가공하고 있는 실정이다.
- 이에 대한 대처와 함께 국내 재고 녹차 해소를 위하여 우리나라의 찻잎을 이용한 표준화되고 과학화된 국산 발효차 제조기술 확립이 필요하다고 생각하였다. 특히, 발효차는 녹차제품에 비해 10배 이상의 고부가가치를 가지고 있기 때문에 국내의 잉여 찻잎을 이용하여 미생물발효차로 개발함으로써 새로운 블루오션 시장 창출이 가능하며 이를 통해 차 재배농가 및 국내 제다업체의 수익창출과 지역경제 활성화에 크게 이바지 할 수 있다고 생각되었다.
- 이를 위하여 본 연구에서는 발효차의 발효 우수 균주 및 한국 전통 발효 종균을 이용하여 과학적이고 위생적인 산업화 공정을 개발함으로써 기능성, 안전성, 관능적 기호도 면에서 기존의 외국산 발효차를 능가하는 우수한 제품을 국내산 찻잎을 이용하여 상품화 하며 향후, HACCP 기반 생산·품질 관리 시스템을 도입을 통해 세계시장에서 통용될 수 있는 한국형 미생물발효차 제품을 생산, 유통하고 동시에 다양한 가공 산업과 연계할 수 있는 기반을 구축하고자 하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

- 미생물발효차 발효 우수 균주 및 한국 전통 발효 종균을 이용한 고품질 미생물발효차 생산기술 개발 및 산업화
 - 미생물발효차 생육미생물의 최적 생육조건 및 발효 조건 규명
 - 미생물발효차의 발효 우수 균주의 선별 및 접종 방식 검토
 - 한국 전통 발효식품의 주요 종균으로부터 미생물발효차에 응용 가능한 균주 선발
 - 선별된 우수 균주를 이용한 최적 발효 공정 개발
 - 미생물발효차 종균과 전통 발효식품 종균을 이용한 한국형 미생물발효차의 생산 기술을 개발 및 산업화
- 다양한 재고 차(녹차, 홍차)를 이용한 미생물발효차 생산기술 개발
 - 확보된 발효기술을 바탕으로 현재 재고로 남아있는 저급의 묵은 녹차를 이용한 발효차 생산기술 개발
 - 효소발효차(황차, 홍차)을 이용한 발효차 생산기술 개발
- 발효차 품질향상을 위한 저장 및 포장 용기 개발
 - 숙성 중 품질향상을 위한 저장용기 및 포장 소재 탐색
 - 한국시장에 적합한 성형방법 및 제품 형태 탐색
 - 미생물발효차 성형 형태에 따른 포장 용기 및 디자인 개발
- 미생물발효차의 비만 억제 고기능성 균 선발, 지방간 예방 효과, 항당뇨 효과 탐색
 - 발효차 추출물의 조건별 항비만 효과 검색 및 고기능성균 선발(*in vitro*)
 - 발효차 추출물의 지방간 예방 효과 탐색(*in vitro*)
 - 다양한 발효차 및 재고 녹차를 원료로 제조한 미생물 발효차의 *in vitro* 효능 분석
 - 확인된 기능성 평가에 대한 정보를 미생물 발효차 제조기술에 피드백
- 동물 생체실험에서 개발 미생물발효차의 비만 억제, 지방간 예방 효과 검증
 - 선발된 개발 발효차의 항비만 효과 검색(*in vivo*) : 지방 식이, 지방 합성 및 분해 효소 발현 변화
 - 선발된 개발 발효차의 항당뇨 효과 검색(*in vivo*) : db/db mouse
 - 개발 발효차 추출물의 지방간 예방 효과(*in vivo*) : 지방간 유도, 지방간 조직학적 현

상 규명, 지방 손상 효소 검사 (AST, ALT, g-GT)

- 본 사업팀 개발 발효차의 동물 생체 효능 분석
- 미생물 발효차의 이화학적 성분 분석
 - 미생물 발효차 및 새로 개발된 미생물 발효차의 이화학적 특성조사에 의한 품질평가
 - 확인된 이화학적 특성 분석 및 품질평가 지표에 대한 정보를 미생물 발효차 제조기술에 피드백
- 기초조사 및 업체 현황 조사
 - 국내·외 발효차관련 선행연구결과 조사 및 분석
 - 미생물발효차 업소 현장 중심의 현황 조사
 - 미생물발효차 HACCP 기본자료 수집 및 분석
- HACCP 기반 발효차 제조공정 개발 및 HACCP 프로토콜 개발
 - 미생물발효차 표준 제조공정 개발
 - 미생물발효차 현장 관리를 위한 선행요건 관리기준 개발
 - 위해요소분석
 - CCP(중요관리점), CL(한계기준), 모니터링, 개선조치 등 결정
 - HACCP Plan 개발
- 미생물발효차 생산 및 품질관리의 표준화 및 규격화
 - 생산관리의 표준화 및 규격화
 - 품질관리의 표준화 및 규격화
 - 생산 및 품질관리 매뉴얼 개발

IV. 연구개발결과

1. 미생물발효차 유래의 우수 균주를 이용한 발효차 제조공정 개발

- 국내외 다양한 미생물발효차 완제품 및 발효과정 중 시료로부터 54종의 미생물을 분리하였으며 이 중 기능성과 관능적, 이화학적 품질을 향상시킬 것으로 기대되는 15종의 주요 균주를 선발하고 균주 등록을 통해 권리를 확보하였다.
- 선발된 15종의 균주를 이용하여 최적의 미생물 조합 및 발효기간 설정을 통한 고품질 발효차 제조 공정을 확립하기 위해 균주의 특성 및 제조조건을 고려하여 다양한 균주 조합을 통한 미생물발효차를 제조하고 품질을 평가하였다.
- 연구결과, 기능성과 품질 향상에 기여할 것으로 판단된 4종의 주요 미생물(AN092, AF212, PC091, RS201) 및 이를 이용한 발효차 제조에 대해서 특허권을 출원하였다.
- 품질평가 결과, 향당뇨 및 항비만 활성이 뛰어나다고 인정되었던 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 포함하는 10종 또는 15종의 균주를 혼합한 조합이 가장 좋은 것으로 나타났다. 또한 발효방법은 수분함량 45%로 조절한 모차를 습도 95% 조건에서 30℃와 45℃에서 각각 발효한 후 혼합하는 방식이 바람직한 것으로 나타났다. 발효기간에 따른 평가는 1주 발효 < 3주 발효 ≤ 5주발효로 나타나 발효기간이 길수록 좋은 평가를 얻었다.

2. 전통 발효식품 유래 미생물을 이용한 미생물발효차의 개발

- 지금까지의 연구 결과, 국내외 유통 및 제조과정 중 미생물발효차로부터 분리한 균주를 이용하여 현재 유통되고 있는 유명발효차에 기능성과 품질 면에서 뒤지지 않는 미생물발효차를 제조할 수 있음이 확인 되었다.
- 여기에 현재 유통 중인 외국산 미생물발효차보다 품질과 기능이 뛰어나면서도 독창적인 특성을 갖는 국내산 미생물발효차를 개발하기 위하여 전통발효식품 유래의 균주 중에서 발효차의 제조에 이용 가능한 균주를 선발, 이용하고자 하였다.
- 이를 위해 먼저, 전통발효식품으로부터 분리된 미생물을 대상으로 연구보고를 분석하여 기능성과 품질개선 가능성이 높은 균주 39종을 선발하였으며 이들 균주를 대상으로 발효차 제조과정에 따른 최적 발효조건을 탐색하였다.

- 선발된 각각의 균주를 탐색된 최적 발효조건에서 발효시켜 미생물발효차를 제조하고 품질을 평가한 결과, 세균 중에는 고초균인 BSa49, BSa50과 젖산균인 LBa53, 효모 중에는 SCa08, 곰팡이 중에는 ANa80, AOhj01, ROm85 등이 미생물발효차의 관능적 품질을 향상시킬 수 있는 균주로 선발되었다. 특히 세균류인 BSa49, BSa50, LBa53를 접종한 발효차는 수차례의 관능평가 결과 확실한 기호도 상승효과를 보였다.

3. 전통발효식품 유래 종균과 미생물발효차 유래 종균의 혼합 접종을 이용한 한국형 미생물발효차의 생산기술 개발

- 한국산 미생물발효차의 산업화를 위한 최적의 균주 조합을 선발하여 외국산과 차별화된 고품질의 제품을 개발하고자 하였다.
- 이를 위해, 먼저 국내·외 미생물발효차로부터 분리한 균주 중 선발된 미생물을 대상으로 발효차 제조 적용실험을 진행한 현재까지의 연구결과를 종합하여, 기능성과 품질이 뛰어난 발효차를 제조할 수 있다고 판단되는 총 10종의 균주조합(Base F)과 15종의 균주조합(Base T)을 최종 선발하였다.
- 또한, 한국 전통식품 유래의 균주 중 기능성과 품질을 향상시킬 수 있다고 판단되어 선발한 균주들을 대상으로 세균의 조합인 S1(BSa49+BSa50+LBa53), 곰팡이와 효모의 조합인 S2(ANa80+AOhj01+ROm85), 미생물발효차에서 선발된 균주와 같은 종에 포함되는 균주 중 의미 있다고 판단되는 균주의 조합인 F1(AFa89+PCa69+RSa05+RSm86+MRa66)을 최종 선발하고 다양한 조합에 의해 미생물발효차를 제조하고 기능적, 관능적, 이화학적 품질특성을 조사하였다.
- 그 결과, 선발된 전통식품 유래의 미생물과 기존의 발효차 유래의 미생물을 혼합하여 미생물발효차를 제조할 경우 발효차 유래 또는 발효식품 유래 혼합균주만을 이용하여 제조한 발효차 보다 월등히 좋은 평가를 받아 두 균주 균의 혼합접종을 통해 품질이 뛰어나면서도 독창적인 특성을 갖는 국내산 미생물발효차를 개발 가능성이 강하게 제시되었다.
- 발효방식은 저온발효보다 고온에서 발효시킨 시료의 평가가 높았으며 높은 평가를 받았던 발효차 유래 균주 15종을 포함하는 FHC3 시료와 발효차 유래 균주 10종을 사용한 FHC4 시료는 서로 우열을 가리기가 어려웠다.

- 제품화 대상 제품을 결정하기 위해, 지금까지 도출된 제조방법(FHC1~4)으로 기술이 전 대상 기업(보성발효차 영농조합)의 발효차 제조 공장에서 직접 발효차를 제조한 후 조합원들을 대상으로 관능평가를 실시하였다.
- 그 결과, FHC3와 FHC4의 제품에 대한 평가가 중국 보이차보다 월등히 높아 산업적 가치가 높다는데 의견을 같이 하였으며 보다 대중 친화적인 평가를 받은 FHC4을 우선 상품화하고 이후에 전통적인 느낌을 주는 FHC3을 상품화하기로 결정하였다.

4. 재고차를 이용한 발효차 생산 기술 개발

- 재고차를 이용한 발효차의 생산 기술을 개발하기 위해서 먼저 재고차(두물차)를 이용하여 홍차로 개발하고 여기에 미생물발효차로부터 확보된 균주를 선별, 접종하여 미생물발효 홍차와 황차로의 개발 가능성을 타진하였다.
- 그 결과, 미생물 발효 황차는 시판 발효차보다 품질이 떨어졌지만, 미생물발효 홍차의 경우 시판 유명 발효차와 경쟁할 수 있는 품질을 확보할 수 있었다.
- 홍차 최적 제다공정은 선별→ 20분마다 뒤집어 주면서 실내위조 20시간→ 10분마다 뒤집어 주면서 일광위조 3시간→ 유념기 유념(15분) 2회→ 유념후 털기 2회→ 발효기 숙성(40℃, 70% 상대습도) 40분 3회→ 일광 숙성 3시간→ 실내숙성 4시간→ 건조기(80℃) 건조 4시간→ 용기와 디자인 개발→ 품질평가→ 용기주입과 포장→ 제품개발이었다. 한편, 미생물발효 홍차의 최적 제다 공정은 개발한 홍차→ 선발된 균주(효모 조합) 접종→ 발효차 향아리 주입→ 발효처리(온도 45℃, 상대습도 85%)→ 10일간 발효→ 건조기 건조(80℃, 6시간)→ 용기와 디자인 개발→ 품질평가→ 용기주입과 포장→ 제품개발이었다.
- 미생물발효 홍차를 개발한 후 유통 중인 발효차(기문, 우바, 다아질링 홍차)와 맛을 상호 비교한 결과, 맛은 우바와 기문홍차에서 높은 경향을 나타냈고, 다아질링 홍차는 개발한 홍차, 미생물발효 홍차와 비슷한 수준을 나타냈다. 개발한 홍차와 미생물발효 홍차 맛은 각각 3.08~3.51, 3.02~3.32로 상호 비슷한 수준을 나타냈다. 색도(b 값과 L 값), 비타민 C와 클로로필함량은 개발한 홍차와 미생물발효 홍차가 유통중인 발효차보다 높았다. 카테킨함량은 유통중인 발효차가 개발한 홍차와 미생물발효 홍차에 비해 현저히 높았고, 주요 카테킨은 EGCG로 나타났다. 무기물함량은 유사한 수준을 나타냈고, 주요무기물은 칼리였다. 발효차는 발효 중 카테킨이 감소하면서 2

차대사물질(TF, TR)이 생성되는데, 유통중인 발효차가 개발한 홍차와 미생물발효 홍차에 비해 현저히 높았다. 개발한 홍차와 미생물발효 홍차에서 테아플라빈(TF)는 각각 6.40~7.90, 5.80~8.20umol, 테아루비긴(TR)은 각각 11.80~14.80, 12.60~14.40%로 비슷한 수준을 보였고 유통중인 발효차의 60% 수준을 나타냈다.

- 유통중인 발효차와 항산화도 비교(ABTS, FARP, DPPH)에서, 항산화도는 우바, 기문, 다아질링, 홍차, 미생물발효 홍차 순으로 높았다. 개발한 홍차와 미생물발효 홍차는 상호 유사한 수준을 나타냈다. 유통중인 발효차에서 높은 항산화도는, 국내 발효차는 소엽종인데 비해 이들 제품은 대엽종이기 때문으로 사료된다.
- 발효차와 미생물 발효차 디자인을 개발한 다음 스테인레스 용기에 40g 용량 2봉지를 넣고 밀봉해서 제품을 개발하였다. 개발한 발효차의 맛과 품질은 다아질홍차 수준으로 시장성이 있는 것으로 평가되었다
- 따라서, 두물, 세물차잎을 이용한 고품질 발효차 제조를 위해서는 홍차제다공정 매뉴얼을 개발하여 미생물처리와 발효 공정을 참여기업에 현장 적용할 경우 생산비를 절감하면서 맛과 품질이 우수한 홍차와 미생물발효 홍차를 생산함으로써 기업의 부가가치를 증대시킬 것으로 판단된다.
- 또한 최종 개발된 미생물발효차 제조 방식(전통식품 유래의 미생물과 발효차 유래의 미생물을 혼합)으로 재고 증청 차잎을 대상으로 미생물발효차를 제조할 경우 관능적 기호도는 5월의 고급 차잎으로 제조하는 경우 보다 떨어지지만 기능성을 오히려 뛰어난 경향을 보여 향후 기능성 원료로서 사용 가능성이 제시 되었다.

5. 미생물발효차의 기능성 연구

- 개발된 미생물 발효차의 in vitro 기능성 검증
 - 단일 균주 미생물 발효차의 항당뇨 효과 검증을 췌장 세포에서 검사한 결과 AN091, AN092, AF212, AT011, RS201, PC091, PC151등이 활성이 강한 것으로 관찰되었다. 혼합 균주의 경우 BIN107, 113, 115, 116, 136, 138, 146등 에서 항당뇨 효과가 큰 것으로 나타났다.
 - 단일 균주 미생물 발효차의 지방간 효과 검증을 간 세포에서 검사한 결과 AN091, 092, RS201, LR011, ECa4, Ba49, Ba25, Ba50, LMa44, Ma66, La44등의 활성이 강한 것으로 관찰되었다. 혼합 균주의 경우 MSI-A, MSI-B, MSI-C, MSI-D에서 지방

간 예방 효과가 큰것으로 나타났다.

- 지방세포에서 PC091과 LR011군에서 효과가 강한 것으로 관찰되었다. 혼합 군주에서는 MSI-A, MSI-B, MSI-C, MSI-D에서 비만 예방 효과가 큰것으로 나타났다
- 최종 선발된 FHC1~FHC4의 경우 지방간 예방 효과면에서 중국산 보이차와 비슷한 양상을 보이는 것으로 나타났다. JHC4의 경우는 중국산 보이차에 비해 유의성 있는 지방간 예방효과를 보이는 것으로 관찰되었다.
- 개발된 미생물 발효차의 in vivo 동물 기능성 검증
 - 단일 군주인 AN091 및 AN092를 처리하였을 때 STZ에 의한 당뇨 효과를 억제하는 것으로 관찰되었다. 즉 STZ에 의한 혈당치를 감소 시켰으며, 혈장 지질단백을 완화시키는 것으로 관찰되었다. 간에서는 지방합성 효소를 억제하고 산화성 스트레스를 억제하고 지방 축적을 억제시키는 것으로 관찰되었으며 신장에서는 당뇨에 의한 사구체 경화증을 억제시키는 것으로 확인되었다.
 - 단일 군주인 AN091 및 AN092를 처리하였을 때 고지방 식이에 의한 당뇨 효과를 억제하는 것으로 관찰되었다. 즉 고지방 식이에 의한 체중 증가를 감소 시켰으며, 혈장 지질단백을 완화시키는 것으로 관찰되었다. 간에서는 지방합성 효소를 억제하고 산화성 스트레스를 억제하고 지방 축적을 억제시키는 것으로 관찰되었으며 신장에서는 고지방 식이에 의한 사구체 경화증을 억제시키는 것으로 확인되었다.
 - 혼합군주 1 (FHC3) 및 2 (FHC4) 를 처리하였을 때 STZ에 의한 당뇨 효과를 억제하는 것으로 관찰되었다. 즉 STZ에 의한 혈당치를 감소 시켰으며, 혈장 지질단백을 완화시키는 것으로 관찰되었다. 간에서는 지방합성 효소를 억제하고 산화성 스트레스를 억제하고 지방 축적을 억제시키는 것으로 관찰되었으며 신장에서는 당뇨에 의한 사구체 경화증을 억제시키는 것으로 확인되었다.
 - 혼합군주 1 (FHC3) 및 2 (FHC4)를 처리하였을 때 고지방 식이에 의한 당뇨 효과를 억제하는 것으로 관찰되었음. 즉 고지방 식이에 의한 체중 증가를 감소 시켰으며, 혈장 지질단백을 완화시키는 것으로 관찰되었다. 간에서는 지방합성 효소를 억제하고 산화성 스트레스를 억제하고 지방 축적을 억제시키는 것으로 관찰되었으며 신장에서는 고지방 식이에 의한 사구체 경화증을 억제시키는 것으로 확인되었다.

- 개발된 미생물 발효차의 인체 기능성 검증
 - 혼합균주(FHC4 조건)를 사용하여 인체 기능성 실험을 한 결과 신체 계측 지표에는 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다.
 - 활력지표의 경우에도 영향이 없는 것으로 관찰되었다.
 - 지질 단백질의 경우 total cholesterol 및 LDL-cholesterol의 감소를 유발하였으나 triglyceride 및 HDL에는 영향을 미치지 않았다.
- 본 연구과제의 기능성 평가 결과는 미생물 발효차의 기능성 식품소재 개발을 통한 농가 신소득 창출에 기여할 것으로 기대되고 있다.

6. 미생물발효차의 이화학적 특성 및 성분 분석

- 미생물발효차 유래의 균주를 이용하여 제조한 발효차와 전통발효식품 유래의 균주를 각각 접종하여 제조한 발효차의 이화학적 특성을 조사하기 위해 색도, 가용성 고형분 함량 및 총 페놀 함량, gallic acid, theaflavin, thearubigin, tocopherols 및 유리당 함량을 분석하였다.
- 미생물발효차 유래의 균주를 혼합하여 제조한 발효차의 색도를 측정된 결과 찻잎의 색도는 큰 차이를 보이지 않았으나 발효기간이 길어짐에 따라 찻잎과 추출물 모두 색도가 감소하였다. 가용성 고형분 함량은 0.70~1.05 °Brix로 나타났으며 발효기간이 1주에서 3주로 갈수록 고형분 함량이 늘어다가 5주차에 가용성 고형분 함량이 적어지는 경향이 나타났다. 총 페놀 함량은 101~206 mg/100g 범위였으며 항당뇨 및 항비만 기능이 높다고 알려진 균주의 조합(AN092+AF212+PC151+RS201)으로 제조된 발효차에서 가장 높게 나타났다. Gallic acid는 항당뇨 및 항비만 기능이 높다고 알려진 균주의 조합(AN092+AF212+PC151+RS201)으로 제조된 발효차에서 가장 높게 나타났지만 다른 시료와의 차이는 크지 않았다. Theaflavin 및 Thearubigin 함량은 혼합균주 접종 발효차에서 발효기간 3주째 다소 증가하는 경향을 보였으며, 발효기간 5주째에는 감소하였다. Tocopherols 함량은 발효기간이 길수록 감소하는 경향을 나타냈으며 접종 미생물의 수가 증가할수록 높은 경향을 나타냈다.
- 전통식품 유래의 개별균주를 접종하여 제조한 미생물발효차의 이화학 특성 및 성분 분석 결과, 찻잎의 색도는 PCm84를 접종한 발효차에서 높게 측정되었고, 추출물은 AOa71, PCm84를 접종한 발효차에서 높게 측정되었다. 함량이 높을수록 맛이 진해

진다고 알려져 있는 가용성 고형분은 0.55~1.05 ° Brix 범위였으며 ANa97균주를 접종한 발효차 추출물이 1.05 ° Brix로 가장 높게 나타났다. Total phenol 함량은 RS201를 접종한 찻잎에서 가장 높게 나타났으며 Galic acid 함량은 DH011, ECa44를 접종한 발효차에서 가장 높게 측정되었다. TF/TR은 AFa89, MRa66, MPt20, SCa08, PC151의 균주를 접종한 발효차에서 가장 높게 나타났다. Tocopherols 중 α -tocopherol 함량은 RSa05, RS201, LMa44을 접종한 미생물에서 높았으며 β -tocopherol과 γ -tocopherol 함량은 RSa05, RS201을 접종한 발효차에서 높았다. 또한 δ -tocopherol의 함량은 ECa44, EC181, LBa53, LBa21을 접종한 미생물발효차에서 높게 측정되었다. 반면 AOj01, BSa49, BSa, BSa50, BSa69 등을 접종한 미생물발효차에서는 δ -tocopherol이 전혀 검출되지 않았으며 BSa49, BSa50을 접종한 미생물 발효차 추출물에서는 α -tocopherol가 검출되지 않았고, DH011, LPa51번 시료에서는 β -tocopherol과 γ -tocopherol이 검출되지 않았다. 유리당 함량은 젖산균과 효모를 배양하였을 때 상대적으로 높게 나타났다.

- 한편, 지금까지의 연구 데이터를 바탕으로 미생물발효차의 관능검사 결과와 이화학적 특성 및 성분과의 상관관계를 조사한 결과, 전체적인 기호도에 긍정적인 영향을 주는 요인은 색도(a, b값), 총 페놀 함량, theaflavin, thearubigin 등으로 나타났으며 향후 품질평가 지표 성분으로 사용될 수 있을 것으로 생각되었다.

7. 미생물발효차 품질향상을 위한 용기 개발 및 성형 방법 탐색

- 미생물발효차는 제품 특성 상 숙성과정을 필수적으로 거치게 된다. 따라서 이러한 숙성 및 저장 중 미생물발효차의 품질향상을 기대할 수 있는 용기를 개발할 목적으로 먼저 6종의 기본 소재를 이용하여 봉투를 만들고 제조된 미생물발효차를 넣은 후 밀봉하였다. 이것을 실온에서 6개월간 숙성시킨 후 관능적 품질을 평가 한 결과 통기성과 원적외선 기능이 있는 소재가 품질향상에 도움을 주는 것으로 나타났다.
- 따라서 이들 기능이 있는 기본소재 3종(SMi, SMc, SMR)을 선별하고 각 소재의 첨가율(0.4%, 1.2%, 2%, 2.8%, 4%)을 달리하여 용융수지(Polypropylene 베이스)와 혼합한 후 사출성형 방식으로 용기를 제작하였다. 제작된 각각의 용기에 제조된 미생물발효차와 온·습도 측정기를 넣고 다양한 조건에서 60일간 저장하면서 용기 내의 온·습도 변화와 저장 후의 발효차 품질을 평가하였다.

- 그 결과, 용기 내의 온도는 크게 차이가 없었으나 제작된 용기 내의 습도가 10%이상 감소되었고 습도의 변화량 역시 크게 줄어드는 경향을 보였다. 또한, 관능적으로도 용기 내에서 숙성된 시료가 숙성전의 시료 및 용기를 사용하지 않은 시료보다 좋은 평가를 받았으며 SMi와 SMR을 2~4% 첨가하여 제조한 용기에서 숙성시킨 발효차가 비교적 좋은 평가를 얻었으며 SMR을 4% 가장 좋았다.
- 이를 바탕으로 최적의 소재 및 배합비율을 설정하고 발효차 숙성 용기를 개발하였다. 이 용기는 발효차의 저장, 유통 중 품질을 향상 시킬 수 있는 획기적인 형태로 상품화 가능성이 매우 높다고 생각되었으며 한국산 발효차의 고급화 및 산업화에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단되었다.
- 한편, 현재 유통되고 있는 미생물발효차의 형태는 산차와 긴압차이며 이중 전통적으로 긴압차로 유통되는 경우가 많다. 한국시장에 적합한 성형형태 및 제조 가능성을 알아보기 위하여 국내산 찻잎으로 제조한 미생물발효차를 이용하여 각각 병차, 타차, 산차, 삼각티백 등의 형태로 제조하고 이를 기술이전 대상기업과 협의를 통해 제품의 형태를 결정하였다.
- 또한, 성형이 잘 되지 않는 국내산 성숙 찻잎의 문제점을 해결하기 위해 펙틴 첨가에 따른 성형 방법의 개선 가능성을 탐색한 결과, 펙틴 첨가에 의해 미생물발효차의 성형 강도가 증가하는 것을 확인하여 펙틴 첨가에 의한 제품의 성형 개선이 가능성이 확인되었다.

8. 산업화를 위한 공정기술 개발

- 산업화를 위한 공정기술 최적화 방안의 일환인 종균 적용 최적화 방안 탐색으로 균주 접종용 스타터의 개발 방법을 검토하였으며, 그 결과 분말화 한 모차를 과립형태로 재가공하여 스틱 형태의 용기에 주입하고 균을 접종시켜 스타터로 사용하는 것이 균주의 생육 및 완제품의 품질 균일화 면에서 가장 바람직 한 것으로 판단되었다.
- 또한 한국산 발효차의 산업화 공정에 필수적인 기계라 생각되는 포자제거기와 성형기를 공정기계 제조업체와 함께 개발하였다.

7. HACCP 기반 발효차 생산·품질관리 기준 및 프로토콜 개발

- HACCP 기반 발효차의 생산·품질 관리 기준의 표준화 및 규격화를 수립하기 위한

기초적 과정으로 산업체 현황 조사를 하였고 이를 근거로 미생물 발효차의 제조공정 별 발생 가능한 잠재적 위해요소 도출하였으며 발효차 표준 공정도 및 레이아웃을 작성하여 생산관리 및 품질관리 표준화 범위를 잠정적으로 예측하였다.

- 업체 현황 조사를 실시하여 녹차 또는 발효차를 생산하는 국내 업체의 실정을 파악 하였고 미생물발효차의 산업화 발전 가능성을 진단할 수 있었다.
 - 업체현황조사를 위한 조사표를 개발하였다. 조사항목으로는 업체의 규모 등의 기본조사, 서류관리, 제조공정, 환경 및 시설관리, 제품관리, 위해요소분석 등과 작업장의 낙하균 실험을 실시하였다.
 - 조사된 업체의 대부분은 소규모의 가내식 생산방식으로 운영되고 있으며 생산기록부 등 서류관리가 미비하고 작업장의 방충방서 관리가 취약하여 시설 설비의 청결한 관리가 이루어지지 않아 제조공정 중에 물리적 또는 생물학적 위해요소의 발생가능성이 큰 것으로 나타났다.
 - 제품의 제조공정법은 업체의 따라 차이가 있으며 경험적 제조 공정법에 의해 다양한 변수가 생성되므로 산업화 가능성은 없으나 표준화된 미생물발효차의 제조공정법 개발은 산업화 가능성을 보여주었다
- 발효차와 Pilot 방식의 미생물발효차에서 공정별로 발생 가능한 잠재적 위해요소를 도출하였다
 - 발생 가능한 잠재적 위해요소에서 물리적인 요소로는 머리카락, 금속조각 등이 있고 생물학적 요소로는 개인위생 관리 소홀에 의한 *Staphylococcus aureus* 증식 가능성이 있었다.
 - 미생물발효차의 제조공정으로부터 위해요소, 위해원인, 발생가능성 그리고 예방관리 등을 도출하였고 pilot 방식의 제조공정에서 발생 가능한 잠재적 위해요소를 분석- 여러 기 때문에 실제 공장의 변수 가능성이 높았다.
- 미생물 발효차의 제조공정 레이아웃의 가이드 제시
 - 청결구역과 일반구역을 설정하고 교차오염은 최소화할 수 있는 물류이동동선과 작업자의 이동 동선을 도출하였다.
 - 현행 Pilot 방식의 미생물발효차 제조공정은 시설 및 장소의 제약성이 있었다.
- 발효차 현장 관리를 위한 선행요건 관리 기준 개발
 - 고품질 한국산 발효차의 선행요건에 대하여 식품위생법 HACCP 고시 선행요건을

근거로 보성군 녹차생산자조합에서 구축하는 발효차 공장을 사전 현장 진단하고 이를 기초로 선행요건 관리 자료를 분석하여 중소기업체의 눈높이에 맞는 선행요건 관리기준서를 구축하였다.

○ HACCP Plan 개발

- Pilot 방식의 미생물 발효차에서 공정별로 발생 가능한 잠재요소를 도출하여 공정별 위해요소 목록을 개발하고 중요관리점 결정, 한계기준 설정, 모니터링 체계 확립, 개선조치 방법 수립, 검증절차 방법 수립 그리고 문서화 및 기록 유지에 대한 HACCP Plan을 개발하였다.
- 주요 위해요소로는 생물학적 요인으로 나타났으며 이는 미생물 발효차의 제조 특성에 기인 할 수 있는 것으로 지속적인 위생적 시설 설비 관리를 필요함을 확인하였다.
- 미생물 발효차에 대한 총아플라톡신과 오크라톡신의 검출량은 거의 미비한 상태여서 안전성에는 문제가 되지 않음을 확인하였다.
- 제조공정 중에서 증기 및 포장 공정을 중요관리점으로 결정하고 한계기준을 설정하여 을 미생물 발효차의 위생적으로 관리 예방할 수 있는 가능성을 제시하였다.

○ 발효차 생산 및 품질 관리의 표준 초안 제시

- 미생물발효차의 현장 이전시 균일한 품질의 생산을 위한 품질관리 및 생산관리 표준을 작성하기 위한 일환으로 발효차 생산 및 품질 관리의 표준 초안 제시하였다.
- Pilot 방식의 미생물 발효차에서 공정에 따라 발효차 생산 및 품질 관리의 표준 초안 제시하였으므로 실제 공장의 제조공정에 대한 구체적인 관리 현황에 있어서는 다양한 변수에 기대되어진다.

○ 생산관리 표준화 및 매뉴얼 개발

- 발효의 특성 상 미생물의 증식 양상, 균종 그리고 시설 설비 상태에 따라서 다양한 형태의 제품이 생산될 수 있는 경향이 크다, 그래서 일관된 발효차를 생산하는데 가장 주요하게 고려해야 할 항목을 분석하고 이를 토대로 생산관리 표준화를 시도하였다.
- 생산관리의 표준화를 위한 공정별 주요 관리 항목으로는 미생물 균주 선택, 발효

와 건조의 온습도 조절 그리고 포자털기 공정의 차이에 따라 모차에 가수된 수분의 감소율이 다르게 나타나서 생산량에 영향을 주었다.

- 소규모의 발효차 생산 공정을 통하여 생산관리 표준화를 분석하기에는 시설 및 설비의 부족함과 수동적의 작업에 의한 원료의 손실량이 크게 작용하였다.
- 열악한 생산 환경에서 가장 기본적으로 고려하고 확인해야 하는 항목을 분석하여 생산관리 매뉴얼을 작성하였다.

○ 품질관리 표준화 및 매뉴얼 개발

- 발효차의 품질을 가장 크게 좌우할 수 있는 요인으로는 우수 균주의 선택과 무균적으로 우수 균주를 접종할 수 있는 적절한 시설 설비가 중요한 관리 항목임을 확인하였다.
- 미생물 발효차의 품질관리 요소는 종균의 오염방지와 발효 및 제품 생산 공정 중의 교차오염을 방지하는 것으로 기기 및 기구 사용 전후의 살균 처리가 중요하다.
- 미생물 발효차에 교차 오염 우려가 있는 세균, 곰팡이 및 효모를 대상으로 실험실 클리벤치의 UV fluence 조사 처리 시간에 따라 그 균수의 감소량을 측정하였다. 10분이상의 UV조사량에 의해 현저하게 균수가 감소함을 확인하였다.
- 그 이외에도 위생적인 관리에 의한 품질 개선을 위해서는 개인위생 등의 관리가 필요함을 확인하였다.
- 시설 설비 및 공정에서 품질관리를 위한 중요 항목을 검토하고 이에 대한 효율적인 관리를 위한 품질관리 매뉴얼을 작성하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구 성과

- 기술이전 및 사업화 (3건)
 - 사업화: 보성발효차영농조합(한국형 미생물발효차), 신명(미생물 발효차 용기), 목포대학교 학교기업(삼기차, 브랜딩 병차)
 - 기술이전: 보성발효차영농조합(1건), 신명(1건)

- 특허출원 (6건)
 - 미생물 발효차 용기 및 그 제조방법, 출원번호 10-2014-0129735 (2014.09.28)
 - 미생물 발효 홍차의 제조방법, 출원번호 10-2014-0129733 (2014.09.28.)
 - 미생물 발효차로부터 분리된 아스퍼질러스 속 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2012-0082850 (2012.07.28.)
 - 미생물 발효차로부터 분리된 리조푸스 스토로니퍼 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022536 (2013.02.28.)
 - 미생물 발효차로부터 분리된 페니실리움 시트리눔 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022534 (2013.02.28)
 - 미생물 발효차로부터 분리된 아스퍼질러스 퓨미가터스 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022484 (2013.02.28)

- 특허등록 (1건)
 - 미생물발효차 발효시설, 특허번호 10-1367377 (등록일: 2014.02.19)

- 디자인출원 (1건)
 - 차(茶) 용기, 출원번호 30-2014-0046798 (2014.09.24)

- 상표등록 (3건)
 - 띄울, 등록번호 40-0948646 (등록일: 2013.1.14.)

- 발효습, 등록번호 40-0948886 (등록일: 2013.1.15.)
- 마루향, 등록번호 40-0948643 (등록일: 2013.1.14.)

- 균주등록: 17종

- 논문: 3편
 - K. Rajendra, *et. al.*, Chungtaejeon, a Korean fermented tea, scavenges oxidation and inhibits cytokine induced proliferation and migration of human aortic smooth muscle cells. *Plant Foods Hum Nutr.* 66, 27-33 (2011)
 - S.Y. Park *et. al.*, Green tea catechins protect formaldehyde-induced cell death in human retinal pigment epithelial cells. *Kor. J. Tea. Soc.* 18(4), 92-96 (2012)
 - S.J. Ma *et. al.*, Comparative in vitro Analysis of Microbial Fermented Teas in Korea and China: Anti-diabetic effect in podocytes. *Kor. J. Tea. Soc.* 19(3), 85-90 (2013)

2. 활용계획

- 고품질 한국산 미생물발효차 제품 생산: 보성발효차 영농조합
- 발효차용 용기 생산: (주)신명
- 향후 보성발효차 영농조합 발효차 생산 공장의 HACCP 도입 유도
- 선발된 균주와 미생물발효차 제조 기술을 기능성 식품 원료 개발 연구에 활용

SUMMARY

I. Title: Development of manufacturing process and products for high quality Korean microbial fermented tea

II. Objectives and Significance

- Recently a risk is raised because of the increasement of the total stock of domestic green tea. The cause of the total stock accumulation is partly in the over production of domestic tea leaves but mainly in the rise of import of lower-priced tea products and fermented teas including puer tea.
- As the citizen's interest in health rises, the import of foreign microorganism fermented tea which is known to have the function of anti-obesity, antihypertensives is increasing dramatically. On the other hand, within our country generally over 90% of tea products are green tea based.
- With a measure for this and for the reduction of domestic green tea stockpile, an establishment of standardization and scientific manufacturing technique using Korean tea leaves for Korean microbial fermented tea is needed. Because this fermented tea has over 10 times the high value compared to green tea products, creating a new blue ocean market is possible by developing surplus tea leaves into microbial fermented tea and this would contribute greatly to the tea cultivating farmhouses, the gains of domestic tea manufacturing industry and activation of regional economy.
- For this, in this research, it is intended to establish manufacturing process based on scientific analysis about fermenting mechanism, functional superiority, confirmed safety, etc of microbial fermented tea using microorganisms derived from the fermented tea and Korean traditional food.
- The objectives of this studies are to revitalize tea industry through advancement in practicality of domestic tea leaves and expansion of world tea market is the purpose by developing high quality Korean microbial fermented tea.

III. Results

1. Development of manufacturing process for high quality Korean microbial fermented tea with strains derived from microbial fermented tea and Korean fermented food.

- Development of the manufacturing process of the fermented tea with strains isolated from microbial fermented tea.
 - The 15 kinds of major strains were selected to improve functionality and quality from the 54 kinds of species of microorganisms isolated from various microbial fermented teas.
 - Chemical and functional properties of various microbial fermented teas prepared with the strains were evaluated to decide optimal combination and fermentation condition. As the results, the combination of a mixture of 10 species or 15 strains including four kinds of major microorganisms (AN092, AF212, PC091, RS201) which showed strong anti-diabetic and anti-obesity activities determined to contribute to the improvement of functionality and quality.
- Development of microbial fermentation tea using microorganisms derived from Korean traditional fermented food.
 - In the previous study, strains isolated from microbial fermentation tea can improve functionality and quality in the manufacturing. The optimal fermentation condition and properties of 39 kinds of available strains derived from Korean traditional fermented food were investigated in order to develop a Korean microbial fermentation tea with ingenious characteristics and high qualities. The results showed BSA49, BSA50, LBA53, SCA08, ANA80, AOJ01, ROM85 can improve the functional and sensory quality of microbial fermentation tea.
- Development of Korea microbial fermentation tea using a mixed inoculation with strains derived from microbial fermented tea and Korean traditional fermented food.
 - The best combinations of inoculation stains derived from microbial fermented tea and Korean traditional fermented food were investigated for the development of differentiated high quality microbial fermented tea.
 - Two types of combination (Base F, Base T) from strains of the fermented tea and three types of combination (S, S2, F1) composed with and the Korean traditional fermented food were selected and microbial fermented teas inoculated with various combinations of

stains were investigated in functionality, sensory evaluation, physical and chemical quality.

- As the results, two kinds of fermentation methods (FHC3 and FHC4) were evaluated to accord ingenious characteristics and excellent quality in microbial fermented tea.

Consequently, the products prepared with FHC3 and FHC4 showed the higher industrial value than that of Pu'er tea of China.

2. Development of fermented tea production technology using the inventory tea

- In order to develop the semi-fermented(yellow tea, oolong tea) and fermented teas(black tea) product using 2nd plucked tea leaves, we developed the optimal tea processing procedure including withering, steam, rolling, maturation, fermentation and dry. We also developed yellow tea and black tea treated microorganism following yellow and black tea making.
- In tea extract from developed tea product, sensory evaluation, vitamin C, chlorophyll, catechin, mineral, thearubigin theaflavin were analyzed for quality evaluation. In tea product developed in this experiment, tasty and nutrient content compared to against imported semi- fermented and fermented tea.
- In our results, sensory tasty is much better in black tea than those of oolong tea or yellow tea, but there was no difference tasty and its quality between microorganism treatment and non-treatment teas. Among various tea product, tea quality is a little bit lower in developed tea product than those of imported tea regardless of tea kinds. Korean semi-fermented and fermented tea product will be sold to consumer due to its good tasty and low price compared to imported tea product.
- In addition, the microbial fermented tea with inventory green tea showed strong functional effects, it was possible to use as a health functional material.

3. Functional analysis of Korean Fermented tea: Anti-diabetic and anti-obesitic effect

- To develop the high value-added products of Korean Fermented tea, which is retained in primary industry, and maximize the export of Korean Fermented tea. It is necessary that the industry of Korean Fermented tea should be promoted to high value-added products of Korean tea. Korean puerh tea should be equipped with the function of anti-obesity and

anti-diabetes. Therefore, this study was designed to examine the functional role of monostrain and mixed strain in fermented tea, especially in anti-diabetes, anti-obesity, and anti-fatty liver. This study was conducted as three strategies : in vitro, in vivo animal study, and human study.

- In vitro analysis of Korean Fermented tea
 - In mono strain, the fermented tea with A. Niger 091, 092, AF212, AT011, RS201, PC151 have anti-diabetic effect in vitro pancreatic beta cells. In mixed strain, the fermented tea with BIN107, BIN 113, 115, 116, 136 have anti-diabetic effect in vitro pancreatic beta cells.
 - In mono strain, the fermented tea with A. Niger 091, 092, RS201, LR011, ECa4, Ba49, Ba25, Ba50, LMa44, Ma66, La44 have anti-fatty liver effect in vitro hepatocyte. In mixed strain, the fermented tea with MSI-A, MSI-B, MSI-C, MSI-D have anti-fatty liver effect in vitro hepatocytes.
 - In adipocytes, the fermented tea with Penicillium C091(PC091) and Lichtheimia R011(LR011) have anti-obesity effect in vitro. In mixed strain, the fermented tea with MSI-A, MSI-B, MSI-C, MSI-D have anti-obesity effect in vitro.
 - The tea fermented with the condition of FHC showed the similar preventive effect against fatty liver compared to Chinese fermented tea. In the case of JHC4 condition, the fermented tea showed the more preventive effects against fatty liver compared to Chinese fermented tea.
- In vivo animal study of Korean Fermented tea
 - In mono strain, the fermented tea with A. Niger 091 and 092 have anti-diabetic effect against STZ-induced diabetic rats. They prevented STZ-induced blood glucose, ameliorated STZ-induced plasma lipoproteins. In addition, they also blocked STZ-induced liver fatty liver and kidney glomerulosclerosis.
 - In mixed strain, the fermented tea with FHC3 (Fermented tea 1) and FHC4 (Fermented tea2) have anti-diabetic effect against STZ-induced diabetic rats. They prevented STZ-induced blood glucose, ameliorated STZ-induced plasma lipoproteins. In addition, they also blocked STZ-induced liver fatty liver and kidney glomerulosclerosis.
 - In mono strain, the fermented tea with A. Niger 091 and 092 have both anti-fatty liver and anti-obesity effect against high fat diet-induced mice. They prevented high fat diet-induced body weight and plasma lipoproteins and prevented lipid accumulation and

lipid peroxidation. In addition, they also blocked high fat diet-induced kidney glomerulosclerosis such as TGF-beta 1 and collagen.

- In mixed strain, the fermented tea with FHC3 (Fermented tea 1) and FHC4 (Fermented tea2) have both anti-fatty liver and anti-obesity effect against high fat diet-induced mice. They prevented high fat diet-induced body weight and plasma lipoproteins and prevented lipid accumulation and lipid peroxidation. In addition, they also blocked high fat diet-induced kidney glomerulosclerosis such as TGF-beta 1 and collagen.
- In vivo human study of Korean Fermented tea (FHC4 condition)
 - There was no significant effect on BMI and WHR, although the decrease of tendency is manifest
 - There was no significant effect on blood pressure and pulse.
 - There was significant effect on total cholesterol and LDL-cholesterol in groups treated with Mixed Korean Fermented tea. However, the levels of triglyceride and HDL-cholesterol were not different between two groups.
- Taken together, the extracts of Korean Fermented tea exhibited preventive effect against diabetes, fatty liver and obesity in in vitro model and in vivo models. These results can contribute to create new high value-added products of Korean Fermented Tea.
- Expected contribution
 - The superiority of Korean Fermented Tea on the analysis of body function can increase the export of Korean Fermented Tea.
 - The elucidation of prevention of obesity, diabetes, fatty liver, of Korean Fermented tea pears in cell and animal models can be useful to expand the international market of tea in foreign countries.

4. Investigations of physicochemical characteristics and analysis of components of microbial fermented tea by manufacture with various microorganisms

- The fermented tea extract inoculation of mixed strain culture such as AF211, AOa71, PCm84 strains culture also have highest in color. The fermented tea extract inoculation of ANa97 strain culture has highest in soluble solid content.
- The fermented tea from tea leaf extract inoculation of RS201 strain has highest in total phenol content at 363.06 mg/100g. Gallic acid content of tea leaf extract inoculation of

DH011, ECa44 strains have highest value at 24.76 and 20.52 mg/L.

- The tea leaf extract inoculation of AFa89, MRa66, MPt20, SCa08, PC151 strains have more TF/TR content.
- In tocopherol content, α -, β - and γ -tocopherol content of fermented tea extract inoculation of RSa05, RS201, L Ma44 strains have more detected. The δ -tocopherol content of fermented tea extract inoculation of ECa44, EC181, LBa53, LBa21 strains also have highest values compared other strains with fermented tea extract.
- Soluble solid content of fermented tea inoculation of mixed strain culture were ranged 0.70 to 1.05 °Brix. Total phenol content of fermented tea extract inoculation of AN092+AF212+PC151+RS201 mixed strains have highest value during fermented for 1, 3 and 5 weeks.
- Gallic acid content of fermented tea extract inoculation of AN092+AF212+PC151+RS201 strains have highest value at 8.39 mg/L. The gallic acid content of fermented tea inoculation of mixed strains culture also have decreased during fermented from 1 to 5 weeks.
- Theaflavin and thearubigin content of fermented tea inoculation of mixed strains culture have increased during fermented 1 to 3 weeks, but after 3 weeks, the theaflavin and thearubigin content were decreased. Tocopherol content of fermented tea decreased during fermented 1 to 5 weeks.

5. Development of standardization of production and quality control for microbial fermented teas on HACCP system

- Actual condition investigation of enterprises was done, comprehending state of domestic enterprises that make green tea or fermented tea. Was able to diagnose the possibility of development of micro-organism fermented tea. Survey report for actual condition investigation of enterprises was developed. The guide for the manufacture process of micro-organism fermented tea was suggested.
- Supply movement line and laborer movement line was concluded to minimize intersecting pollution. The Current Pilot method of the production process of micro organism fermented tea turned out to have facility and spacial problems.
- Prerequisite requirements were developed through supervision of the manufacturing process

of micro organism fermented tea. Potential hazard factors for each manufacturing process were derived when the Pilot method for manufacturing microorganism fermented tea was used and were arranged in chart form such as critical control point, limit criteria, monitoring, improvement measures, verification procedures and record and documentation for the HACCP plan was established. Drafted standard of production and quality control for fermented teas was compiled

- Based on the drafted standard of production and quality control, standardization and manual development of production management was developed for standardization.

CONTENTS

Chapter 1. Introductions	1
1. Objective and necessity	1
Chapter 2. Current status of technology	5
1. Current status of tea industry	5
2. Current status of technology of microbial fermented tea	16
Chapter 3. Contents and results	17
1. Purposes and contents	17
2. Methods	20
3. Results	48
(1) Development of the manufacturing process of the fermented tea with strains isolated from microbial fermented tea	48
(2) Development of microbial fermentation tea using microorganisms derived from Korean traditional fermented food	187
(3) Development of Korea microbial fermentation tea using a mixed inoculation with strains derived from microbial fermented tea and Korean traditional fermented food	245
(4) Development of fermented tea production technology using the inventory tea	280
(5) Development of manufacturing technology for industry	321
(6) Development of storage and packaging container for improving quality	332
(7) Development of standardization of production and quality control for microbial fermented teas on HACCP system	350
Chapter 4. Development results and application plans	558
1. Utilization and industrialization	558
2. Products and plans for diffusion of education & technology	559
3. Products and plans for acquisitions of IPRs	559
Chapter 5. Reference	561

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	1
1.	연구개발의 목적과 필요성	1
제 2 장	국내외 기술개발 현황	5
1.	국내외 차 관련 산업 현황	5
2.	미생물발효차에 대한 국내외 기술 현황	16
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	17
제 1 절.	연구의 목표 및 내용	17
제 2 절.	연구방법	20
제 3 절.	연구결과	48
1.	미생물발효차 유래 발효 우수균주 선발 및 발효 공정 개발	48
2.	한국 전통발효식품 유래 미생물로부터 우수 발효균주의 선발과 발효차의 제조	187
3.	전통발효품과 발효차 유래 종균을 이용한 미생물발효차의 생산	245
4.	재고차를 이용한 발효차 생산기술 개발	280
5.	산업화를 위한 공정기술 개발	321
6.	미생물발효차 품질 향상을 위한 용기 개발	332
7.	HACCP기반 발효차 생산, 품질관리 기준 및 프로토콜 개발	350
제 4 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	558
1.	실용화·산업화 계획(기술실시)	558
2.	교육·지도·홍보 등 기술확산 성과 및 계획	559
3.	특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보 성과 및 계획	559
제 5 장	참고문헌	561

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적과 필요성

1) 연구의 필요성

- 국내 차 생산량은 2005년 3,309톤, 2006년 4,080톤, 2007년 4,352톤으로 점차적으로 증가하는 추세에 있으나 잔류 농약 과잉 및 소비자 기호 다양화 등의 영향으로 국내 소비량이 감소함에 따라 국산 녹차 재고량이 2005년 130톤, 2006년 900톤, 2007년 1,200톤에 이르는 등 해마다 증가하는 심각한 문제에 직면하고 있음
- 녹차 재고 증가의 원인은 국내 찻잎의 과잉생산보다 저가의 차 제품과 중국산 보이차를 비롯한 발효차의 수입이 증가한 것이 주된 원인임
- 자료(농산물유통공사 및 한국차생산자연협회)에 따르면 2007년 기준 공식적으로 수입된 발효차만 900톤이며 비공식적으로 수입된 양을 합하면 1,200톤 이상의 발효차가 국내로 유입되고 있는 것으로 추정되어 이에 대한 대처와 대외 경쟁력 강화 방안이 절실히 필요한 상황임
- 특히 외국산 미생물발효차(보이차)가 항비만 등의 기능성이 있다고 알려지면서 최근 그 판매량이 급증하고 있을 뿐 아니라 터무니없이 고가로 판매되고 있어 국고낭비와 함께 국가적 위상을 저하시키는 요인으로도 작용하고 있음
- 반면, 국내에서는 찻잎의 90%이상이 녹차로 가공되고 있는 녹차 일변도의 가공시스템을 유지하고 있어 이에 대한 대처가 시급한 실정임
- 또한, 발효차는 녹차제품에 비해 10배 이상의 고부가가치를 가지고 있기 때문에 국내의 잉여 찻잎을 이용하여 미생물발효차로 개발함으로써 4,000억원 규모의 새로운 블루오션 시장 창출이 가능함
- 따라서 발효차 수입 억제, 국민건강의 보호, 국내 차 생산량의 수급 조절 및 관련 산업 활성화 측면에서 국내산 찻잎을 이용한 국산 미생물발효차의 개발이 필요함

2) 발효차 제조공정 및 상품화 기술개발의 필요성

- 현재 발효차 제조에 주로 사용되는 품종은 중국 운남성이나 열대 지방에서 재배되고 있는 대엽종으로 소엽종인 국내품종으로 발효차를 제조하였을 경우 맛이나 수량에서 크게 뒤질 것이라는 우려가 있으므로 국내에서 현재 재배되고 있는 품종에 알맞은 처리 방법을 탐색할 필요가 있음
- 또한 외국의 발효차와 차별화된 고품질의 미생물발효차를 생산하여 차 재배농가 및 국내 제다업체의 수익창출과 지역경제 활성화에 이바지하기 위해서는 함께 국내산 차잎을 이용한 표준화되고 과학화된 국산 미생물발효차의 제조 기술 개발이 필요함
- 이를 위해서는 과학적인 연구를 바탕으로 미생물발효차의 공정 중 가장 중요한 발효공정에서 생육미생물을 control할 수 있는 기술 개발이 필요함
- 특히, 김치, 장류 등의 한국 전통 발효식품은 면역증강, 항암, 장기능개선, 고혈압예방 등의 건강기능성이 뛰어나다는 것은 잘 알려진 사실임. 따라서 기존의 미생물발효차 제조기술에 한국 전통 발효 식품의 종균과 발효 기술을 적용한다면 세계시장에서 등용될 수 있는 고품질의 한국형 미생물발효차의 개발이 가능하다고 판단됨
- 또한, 미생물발효차는 비교적 고가이며 저장 기간이 길수록 가치가 높다고 인식되고 있기 때문에 효과적인 숙성 기술 및 숙성 용기의 개발이 필요함. 또한 유통, 저장 중에도 계속 숙성이 진행되기 때문에 소비자들은 구매 후에도 장시간 저장하면서 소비하는 성향이 있음. 따라서, 유통 중 적절한 숙성이 진행되어 품질이 향상되더라도 소비자들의 구매 욕구를 향상 시킬 수 있는 포장용기의 개발이 필요하며 한국시장에 적합한 제품(성형) 형태 및 포장 디자인 개발을 통한 제품의 고급화 및 차별화 역시 필요함

3) 개발된 발효차 우수성 검증의 필요성

- 미생물발효차에 소비자들의 선호 이유 중 가장 큰 것 중 하나가 건강기능성에 대한 기대이기 때문에 부가가치가 높은 미생물발효차를 생산하기 위해서는 기능성 향상을 기대할 수 있는 공정 기술의 개발과 함께 개발된 제품의 건강기능성에 대한 과학적인 규명이 이루어져야 함

- 비만은 동 서양을 막론하고 다양한 성인병 질환 발병에 중요한 역할을 담당하며 세계적으로 120억달러의 시장을 형성하고 있으며 간기능 개선 기능성 소재 시장은 세계적으로 5조원(국내 시장은 2500억원) 규모로 추정되는 등 세계적으로 큰 시장을 형성하고 있음
- 본 연구진의 선행연구 결과, 미생물발효차 추출물로부터 항비만, 항당뇨 등의 효과가 인정되었으며 국내산 찻잎을 이용하는 경우에서도 중국 보이차에 뒤떨어지지 않는 효과가 확인되어 이 분야로의 개발 가능성이 높다고 판단됨
- 한편, 미생물발효차의 기능성은 발효과정 중 미생물이 생산한 2차 대사산물과 찻잎의 본래성분이 생물전환을 일으켜 생성되는 물질에 의한 것으로 추정되고 있으나 그 본체에 대한 해명은 이루어지지 않은 상태이므로 보다 과학적인 해명을 위해서는 기능성에 대한 연구와 의미 있는 연구가 필요함
- 따라서 선행연구 결과와 시장성을 고려하여 항비만, 항당뇨, 지방간 예방 효과가 뛰어난 미생물발효차를 개발한다면 높은 상품적 가치를 부여할 수 있을 것임
- 우리 미생물 발효차의 이화학적 성분 분석 및 품질평가를 통하여 얻어진 정보를 발효차 제조기술 개발에 피드백 함으로써 기능성과 품질이 우수한 제품개발이 가능할 것임
- 아울러 기존의 재외국 발효차 제품과의 품질비교를 통하여 개발된 미생물 발효차의 우수성 검증이 필요함

4) HACCP 기반 발효차 생산-품질관리 기준 및 프로토콜 개발의 필요성

- HACCP는 국가식품안전정책과 규정에 의하며 국내 내수 및 해외 수출시 기본적 요건이 되고 있음
- 제품의 시장 진출 및 확대는 안정적 생산을 통한 일정한 고품질 제품의 공급이 필요하고, 지속적인 생산관리, 품질보증 능력의 확보가 요구됨
- 현지답사를 통한 본 연구진의 외국의 미생물발효차 생산 환경과 공정의 분석 결과 안전성이 대단히 취약한 환경이었으며, 기술자의 감각에 의존한 대단히 낙후된 공정에 의하여 제조되고 있었음
- 또한 시중에 유통되고 있는 외국산 미생물발효차의 안전성 분석 결과, 일부의 시료에서 미생물 유해대사 산물 및 환경 오염 물질에 대한 노출 가능성이 시사되었음

- 따라서, 확보된 미생물발효차 제조기술을 이용하여 세계시장에 통용될 수 있는 레벨의 안전성을 확보함으로써 외국산 미생물발효차와 차별화된 제품을 생산하기 위한 HACCP system의 도입과 과학적인 분석을 통한 품질평가의 지표 설정 품질관리 조건의 표준화와 규격화가 필요함
- 이에 국내 미생물발효차 업체에 보급·적용할 수 있는 식품위생, HACCP 및 생산·품질관리 표준기준 및 매뉴얼을 개발하고 이를 지원하는 지침을 개발하고자 함

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내외 차 관련 산업 현황

1) 일본의 현황

(1) 일본의 차 생산 감소 추세

- 일본은 생산자의 고령화 등으로 인해 영예 차 농원을 중심으로 재배면적이 감소함에 따라 생산량이 감소되는 추세이다. 이에 따라 황차 가공 공장 수가 매년 감소하고 있으나, 소규모 개인차 공장이 법인화된 대형 차공장으로 재편성되면서 규모화 방향으로 진전되고 있다.

(2) 일본의 차 수입 실적 감소

- 일본 차 수입은 1970년 63억엔에서 2001년 254억엔으로 최고 수치를 보이다가 그 이후로 최근에는 감소세로 전화하여 2012년 156억엔을 나타냈다.
- 또한 일본의 연도별 주요 녹차 수입 연혁을 보면 다음과 같다. 1962년에 대만산 녹차를 처음 수입하였고 2001년까지는 계속적으로 수입이 증가되었다. 최근에는 소비자의 안전하고 안심할 수 있는 식품을 요구함에 따라 녹차 음료 원료의 국산차 및 전환으로 수입량이 감소되었다.

표. 일본의 차 적채면적 및 생산추이 (한국농촌경제연구원 2014)

단위: ha, 톤

	적채면적	생엽 수확량	황차 생산량	완성차 생산량
2002				133,554
2003				132,114
2004	43,900	465,000	100,700	139,165
2005	41,500	451,200	97,800	106,990
2006	41,300	421,200	89,900	104,295
2007	40,900	430,200	92,100	101,945
2008	40,600	437,000	93,500	95,084
2009	39,900	389,100	83,900	95,260
2010	39,000	384,700	83,000	82,480
2011	38,600	382,200	82,100	
2012	38,489	401,293	85,938	
시즈오카(静岡)	17,300	150,300	33,400	52,923
아이치(愛知)	489	4,170	841	2,435
미에(三重)	2,900	36,100	7,740	1,383
교토(京都)	1,400	14,400	3,170	10,595
나라(奈良)	656	8,080	1,950	592
후쿠오카(福岡)	1,500	11,800	2,430	4,012
시가(佐賀)	877	7,210	1,590	897
구마모토(熊本)	1,280	7,340	1,490	625
미야자키(宮崎)	1,320	19,200	4,060	425
가고시마(鹿兒島)	7,990	127,600	26,000	5,195
기타	2,777	15,093	3,267	3,397
계	38,489	401,293	85,938	82,480

자료: 日本 農林水産省(各 年度). 「作物統計」, 「茶生産量」; 經濟産業省(各 年度). 「工業統計表(品目編)」.

표. 일본의 전체 차 수입 실적 추이

단위: 톤, 백만 엔

	녹차		홍차		우롱차 등 기타 차		계	
	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액
1970	9,063	2,154	6,435	4,125	54	37	15,552	6,317
1975	8,860	3,177	7,494	5,605	437	386	16,791	9,168
1980	4,396	1,998	7,599	7,880	4,471	4,478	16,467	14,356
1985	2,215	1,030	8,086	8,787	12,568	10,516	22,870	20,333
1990	1,941	667	14,102	10,197	17,154	8,280	33,197	19,144
1995	6,467	1,464	17,834	8,772	20,996	6,970	45,297	17,206
2000	14,328	4,180	17,950	9,471	25,495	8,747	57,773	22,398
2001	17,739	5,695	15,222	9,446	27,136	10,241	60,097	25,382
2002	11,790	3,841	15,029	9,056	24,668	9,537	51,487	22,433
2003	10,242	2,655	15,500	8,378	21,389	7,585	47,132	18,618
2004	16,995	4,797	16,299	8,650	22,903	7,500	56,197	20,947
2005	15,187	4,421	15,445	8,667	20,730	6,919	51,362	20,007
2006	11,254	3,406	17,128	10,445	19,714	7,055	48,096	20,906
2007	9,591	2,815	16,603	10,646	21,110	7,746	47,303	21,208
2008	7,326	2,201	17,860	10,446	17,922	6,133	43,107	18,779
2009	5,863	1,571	17,399	8,855	16,844	4,977	40,106	15,403
2010	5,906	1,626	19,757	10,116	17,612	5,336	43,274	17,078
2011	5,393	1,619	19,802	9,948	16,776	4,937	41,972	16,504
2012	5,473	1,792	16,638	8,933	15,624	4,880	37,735	15,605

자료: 日本財務省.

표. 일본의 연도별 주요 녹차 수입 연혁

	주요 수입 동향
1962	녹차수입 개시(대만산 13톤)
1970	국내 가격의 급격한 상승으로 안전한 국외 녹차 수입 증가(특히, 대만산) * 대만산 차의 수입이 용이했던 이유 ① 전쟁 전부터 밀접한 관계이며, 업계 상호 간 안면식 ② 저렴한 수출경비 ③ 손쉬운 기술지도 ④ 일본보다 차 생산 비용이 저렴하여 판매 조건 유리
1973	녹차 수입량 12,799톤에 달하였으나, 이후부터 감소로 전환된 후 급감 * 녹차 수입량 감소 이유 ① 국내 생산체제 준비 ② 저가격의 하급차가 주축 ③ 대만차의 북아메리카용 수출 급증
1979	중국·대만에서 우롱차 등 수입 급증
1982	우롱차 붐의 진정으로 수입량 감소, 엔화 안정, 국내산 차 과잉 재고 등으로 녹차 수입 감소
1988	홍차 드링크 붐의 조성으로 홍차 수입 증가
1992	홍차 드링크와 함께 성분 추출 등 다용도 수요 확산으로 하급차가 부족해짐에 따라 녹차 수입이 11년 만에 4,000톤대 초월
1996	국내 녹차의 감산(특히, 하급차)에 의해 수입 급증
1998	국내 차 가격 하락으로 수입량 반감
1999~2001	수입량 급증(2001년의 녹차 수입은 역사상 최고 기록)
2002	국내 시장에 하급차 과잉으로 수입량 급감
2003~2004	드링크 수요 영향으로 인한 국내산 하급차의 시세 상승으로 수입량 증가
2005	드링크 업계의 사재기, 산지표시나 소비자의 안심·안전 요구로 인해 녹차 음료 원료의 국산차 일 전환으로 수입량 감소

(3) 일본 차 생산 증대 및 발전을 위한 연구 동향

- 차의 우량품종 전환과 고품질화를 진행하기 위해 생산지에서 개식 등을 실시 할 경우 미수익 기간에 대한 지원과 함께 개식에 필요한 경비지원을 시리하고 있다. 이런 지원사업에 의해 품종전환이 이루어지고 이전의 품종에 비해 제품을 비싸게 판매할 수 있게 되는 사례가 나타나고 있다.
- 산지활성화 종합대책사업으로 생산자와 차상인 등 차 산업 관계자와 연계하여 실시하며, 부가가치 향상을 위한 생산기술·설비 등의 도입, 잎녹차 수요 확대를 위한 상품개발 등에 대한 지원을 한다.
- 생산에서 유통까지 강한 농업 만들기에 필요한 공동이용시설 정비 등을 지원하는 ‘강한 농업 만들기 교부금’을 책정한다.
- 차후계자 육성 확보에 필요한 기계 등 도입 지원, 우량 품종 개발, 차 함유 성분의 기능성이나 에너지 절약 제다 기술 등에 관한 연구 개발 등이 추진되고 있다.

2) 중국의 현황

(1) 중국의 차 생산 현황

- 중국은 일본과는 다르게 중국의 차 생산 현황을 보면 2000년대 이후 계속적으로 증가되는 추세를 보인다.

표. 중국의 차 생산 현황

단위: 천 ha

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
면적	1,089.0	1,140.7	1,134.2	1,207.3	1,262.3	1,351.9	1,431.3	1,613.3	1,719.4	1,849.0	1,970.2	2,112.6

자료: 中國農村統計年鑑.

(2) 중국의 차 소비 현황

- 중국의 차 소비 추이를 보면 중국의 차 생산량의 증가와 비례하여 중국 국민의 차 소비 추세도 계속적으로 증가되는 경향을 보인다. 2000년에 45.43만톤으로 전세계의 22.5%를 차지한다. 지속적인 증가 추세로 2010년에는 110만톤에 이르고 있어 중국의 차 소비는 활발히 진행된다고 본다.

표. 중국의 차 소비 추이

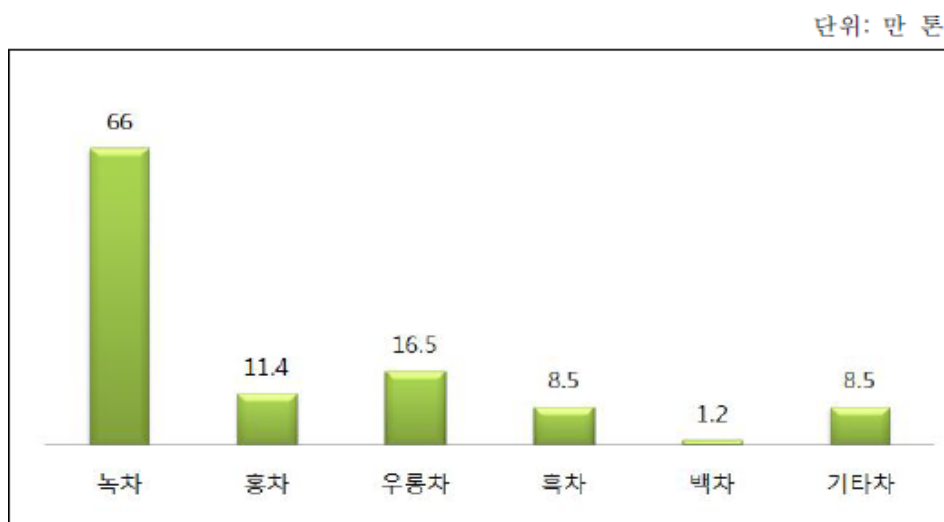


자료: 中國茶業年鑑.

(3) 중국의 차 종별 소비현황

- 중국의 차 종별 소비현황을 2011년을 기준으로 하여 볼 때 녹차가 66만톤으로 가장 많이 소비되었고 그 다음으로 우롱차, 홍차, 흑차, 기타차, 백차 순으로 소비가 되는 경향을 보였다. 이와 같이 녹차 다음으로 발효차가 많이 소비되고 있는 추세로 차의 고급화가 이루어지고 있으며 다양한 형태의 차류를 선호하는 경향을 띤다. 이에 따라 국내의 발효차의 생산 및 품질 기술 향상을 더욱더 활발히 진행함으로써 차 문화에 대한 인식을 변화 시킬 수 있는 계기가 될 수 있다.

표. 중국의 차종별 소비현황 (2011년)



자료: 中國茶業年鑑

(4) 중국의 차 수출 현황

- 중국의 차 수출량을 2003년부터 2012년까지의 통계를 보면 계속적으로 증가되는 경향을 보이고 있다. 물량으로는 2003년에 25.99억톤으로 3.67억달러에 해당하였고 수출 증가로 인해 2011년에는 최고의 물량으로 32.26만톤, 9.65억달러에 이르렀으며 2012년에는 물량은 2011년보다 약간 감소한 31.35만 톤이었으나 수출금액은 10.42억달러로 활발한 수출 강세를 보이고 있다.

가. 중국의 차 수출 추이

- 중국의 차 수출은 그 역사가 깊고 오래되었으며, 최근 101년간 차 수출량이 안정적으로 증가하고 있어 수출물량이 2003년 26만톤에서 2012년 31만톤으로 10여년간 6만 톤 정도 증가하였다. 수출액도 2003년 3.7억 달러에서 2012년 10.4억 달러로 7억 달러 내외로 증가되었다. 차 산업의 지속적인 발전으로 수출시장은 더욱 급속도로 확대되었다.

표. 중국의 차 수출 추이

단위: 만 톤, 억 달러

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
물량	25.99	28.02	28.66	28.66	28.94	29.69	30.30	30.25	32.26	31.35
금액	3.67	4.37	4.84	5.47	6.07	6.82	7.05	7.84	9.65	10.42

자료: 中國茶業年鑑.

나. 중국의 주요국별 차 수출 현황

- 현재 중국의 주요 수출국은 모로코, 일본, 우즈베키스탄, 미국, 러시아, 유럽 등이다. 모로코에는 대략 5만톤정도의 차를 수출하고 있다.

(5) 중국의 차 수입현황

단위: 톤, 달러

	2009		2010	
	물량	금액	물량	금액
모로코	58,484.66	14,282.50	61,308.51	15,667.66
미국	19,334.83	4,019.70	24,820.70	5,565.64
러시아	20,627.48	3,553.86	21,271.26	4,668.26
일본	18,982.81	5,024.47	19,456.20	5,630.88
우즈베키스탄	22,329.28	2,638.51	18,577.70	2,349.40
알제리	12,743.86	3,467.84	11,881.29	3,069.14
모리타니	10,332.23	3,242.42	11,750.13	3,979.55
홍콩	9,856.00	3,891.26	11,466.43	5,255.96
독일	5,936.04	1,787.78	9,056.85	2,632.50
토고	8,105.98	2,380.68	8,764.07	2,466.97
파키스탄	14,827.64	1,598.73	8,463.35	1,254.44

자료: 中國茶業年鑑, 中國海關統計年鑑.

가. 중국의 차 수입 추이

- 중국은 차를 세계적으로 수출하기도 하지만, 수입하기도 한다. 주로 수입하는 차종은 홍차와 녹차이며, 최근 구제 차 시장의 개방이 가속화되면서 중국으로 수입되는 차의 종류도 지속적으로 증가하고 있을 뿐만 아니라 수입범위도 확대되고 있는 추세이다. 2000년에 2,500톤에서 2010년에 12,700톤으로 6배가 늘었다. 중국과 세계 차 시장의 완전개방과 중국의 무역관계 진전에 의한 것이라 본다.

단위: 톤, 만 달러

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
물량	2,449.3	1,688.2	1,700.6	2,885.7	2,337.4	2,786.2	3,242.5	5,273.8	5,373.1	4,133.8	12,665.5
금액	416.2	293.7	270.1	448.5	604.0	742.7	808.2	1,262.1	1,766.8	1,709.4	4,759.3

자료: 中國海關統計年鑑.

나. 중국의 주요국별 차 수입현황

- 중국의 주요 차 수입국은 스리랑카가 가장 큰 비중을 차지하며 그 다음으로 인도네시아, 인도, 대만, 케냐, 일본, 영국, 베트남 등의 순으로 나타난다. 여러 나라로부터 다양한 차종이 중국으로 들어옴으로써 중국 내의 차 시장이 신속하게 발전되고 있다.

표. 중국의 주요 국별 차 수입 현황

단위: 톤, 달러

	2009		2010	
	물량	금액	물량	금액
스리랑카	1,217.08	453.41	2,396.56	1,322.68
인도네시아	504.31	71.75	4,740.45	847.83
인도	211.44	194.82	1,176.48	723.73
대만	452.35	322.50	506.15	604.79
케냐	643.38	198.91	1,143.83	296.68
일본	66.20	52.40	116.84	142.13
영국	97.26	80.36	167.17	134.61
베트남	296.06	38.18	880.86	110.71

자료: 中國茶業年鑑.

(5) 중국의 차 산업 발전을 위한 추진 방향

- 차나무의 품종이 노화되어 생산량이 갈수록 약화되어가는 실정으로 우량 품종의 개발 보급 확대한다.
- 다원은 노인들이 경영하거나 겸업하는 식으로 차 산업의 경영효율성이 저하되고 경영이 방만하여 생산량과 품질 제고에 큰 영향을 미치므로 정부의 장려 정책이나 우대 정책을 수립한다.
- 중국의 산간지역 차 농가는 여전히 농약을 대량으로 살포하여 살충하기 때문에 차의 농약 잔류가 낮아지지 않고 있다. 따라서 독성이 낮은 농약을 살포할 수 있도록 전문가의 지도와 관리 등의 안전성을 제고한다.
- 가공 위생 환경을 개선할 수 있도록 유도하기 위한 지속적인 노력으로 가공의 위생 수준 제고를 위한 지원사업을 고려한다.
- 전통 명차와 국제 브랜드 육성을 위한 연구를 지원한다.

3) 홍콩의 현황

(1) 홍콩의 차 산업 현황

- 2014년 8월 제6회 홍콩 국제 차 박람회 개최에서 동향 차의 각축장 홍콩시장을 확인할 수 있다.
- 2012년 홍콩의 차 시장규모는 4178만 달러로, 2009~2013년까지 연평균 약 5.3%의 꾸준한 증가세를 보인다.
- 홍콩의 차 문화와 더불어 건강에 대한 소비자의 의식 향상, 노화를 방지하는 산화방지제 함유와 같은 이점이 알려지면서 2012년부터 녹차는 가장 높은 성장률을 보이고 있다.
- 홍콩은 차를 재배할 만한 토지가 부족해 차 생산량은 극히 소량이며 대부분 수입에 의존하고 있음. 홍콩의 전체 차 수입량은 2011년과 2012년 증가세를 보이다 2013년 소폭 감소했다.
- 홍콩의 차 시장은 Unilever Hong Kong Ltd.와 Multipak Ltd.가 각각 약 35%, 약 20%의 점유율을 차지하며 홍콩의 차 시장을 주도한다.
- 이 밖에 Birmingham Food Products Ltd., Twining & Co Ltd, Kampery Development Ltd. 등이 각각 약 9%, 약 5%, 약 3%를 차지하며 홍콩의 중위권 차 시장을 구축하고 있다.
- Unilever Hong Kong Ltd, Birmingham Food Products Ltd., Twining & Co., Ltd. 등 글로벌 회사가 홍콩의 차 소매시장을 대부분 점유하고 있으며 홍콩 로컬 회사로는 Multipak Ltd.가 두 번째로 차 소매시장을 점유하고 있다.

(2) 홍콩 내 한국 차 진출 동향

- 2014년 1~6월까지 홍콩의 차 수입은 중국산이 1억2400만 홍콩 달러로 총수입량에서 46.6%를 차지해 가장 많았음. 다음으로는 스리랑카·대만·일본·인도산 차가 그 뒤를 잇고 있다.
- 한국차는 2012년 홍콩 전체 차 수입액에서 0.4%를 차지하는 데 그쳤으나 2014년 1~6월까지 통계에서는 총 수입액의 0.8%를 차지해 점유율이 소폭 상승한다.
- 홍콩에서 판매되는 한국차는 유자차, 대추차, 모과차, 생강차 등 액상차이다.

홍콩 차 주요 수입대상국 및 수입금액

(단위 : 천 홍콩달러, %)

순위	국가	2011년		2012년		2013년		2014년 1-6월	
		금액	점유율	금액	점유율	금액	점유율	금액	점유율
1	중국	236,229	48.9	242,814	48.2	222,545	44.2	124,000	46.6
2	스리랑카	141,564	29.3	125,245	24.9	136,593	27.1	72,542	27.3
3	대만	15,533	3.2	23,800	4.7	30,604	6.1	16,437	6.2
4	일본	29,713	6.2	35,541	7.1	27,995	5.6	13,953	5.2
5	인도	15,978	3.3	15,455	3.1	17,420	3.5	6,866	2.6
11	한국	3,058	0.6	2,203	0.4	3,595	0.7	2,016	0.8
	합계	482,736	100	503,673	100	503,174	100	265,959	100

주 : HS Code 0902 - 차(茶)

자료원 : HKTDC

4) 국내 현황

- 우리나라의 2009년 다류 생산 현황을 보면(2010년식품유통연감), 다류가 총233,313톤이 생산되었고, 이중 침출차(녹차) 생산량이3,860톤이고 고품차(녹차)는539톤이었다. 수출은 침출차(녹차)가 69톤이었고 고품차(녹차)는 단1톤에 불과하였다.
- 최근 5년간 보성 녹차 재배 현황은 다음과 같다. 녹차의 인기가 높았던 2007년 재배 면적은 11.64km²에 달했다. 재배 농가가 2005년 982가구에서 2006년 1358가구, 2007년에는 1363가구로 급증했다. 그런데 2008년 이후로는 하향세가 뚜렷하다. 지난해에는 2007년에 비해 재배 면적은 1.01km², 농가 수는 357가구가 줄었다.
- 최근 커피 소비의 증대로 인해 녹차 소비가 감소되는 경향이 있으나 우리나라에서도 한국인이 좋아하는 녹차 뿐만 아니라 발효차에 대한 제조 방법 연구가 이루어져 다양한 제품이 개발되어야한다. 더불어 우리나라의 녹차 생산여건이 일본이나 중국보다 불리해 생산가가 비싸기 때문에 차의 수 종 개량 등이 요구된다.

최근 5년간 보성 녹차 재배 현황 자료:보성군

	2007년	2008년	2009년	2010년	2011년
재배 면적(km ²)	11.48	11.64	10.97	10.97	10.63
농가수 (가구)	1363	1097	1097	1097	1006
건엽 생산량(t)	1410	1327	1266	1224	891

- 한편 국내의 녹차 및 발효차 산업을 진작하기 위해서는 녹차의 생산성을 높이고 설비 자동화를 통해 가격의 인하가 필요하다. 또한 판매와 유통 구조까지도 문제점을 파악하여 개선이 필요하다.
- 또한 녹차 산업의 발전은 지역 사회의 경제에 크나큰 영향력을 주는 것으로 판단된다.
- 2005년 순천대의 연구 결과에 의하면 보성의 녹차 생산이 지역 경제에 크나큰 영향을 끼치는 원동력이 된다는 것이다. 녹차 산업의 다양화에 따른 발효차에 대한 지속적인 연구 및 기술 개발을 통해 농업·산업·문화·관광 등 산업 간의 종합콘텐츠 구성과 종합물류유통시스템을 구축할 수 있는 기반을 마련할 수 있다.

보성 녹차산업이 지역경제에 미치는 효과

단위 : 백만 원

	생산액	파급효과	합계
생업	40,025	8,451	48,476
보성녹돈	1,229	-	1,229
녹차관광	120,747	7,382	128,129
가공식품	117,258	217,145	334,403
해수녹차탕 (1,683명)		-	(1,683명)
산업 파급효과	-	620	620
합계	279,259	233,598	512,857
고용효과	-	1,727명	1,727명

※보성 녹차의 지역경제적 역할(2005년, 순천대)

2. 미생물발효차에 대한 국내외 기술개발 및 연구 현황

1) 국외 현황

- 미생물발효차의 주 생산국은 중국으로 운남, 사천, 호남성을 중심으로 생산되고 있으며 1973년 운남성 곤명차창에서 속성발효법을 개발한 이후로 현재까지 이 방법을 주로 이용하여 생산하고 있다.
- 미생물발효차에 대한 연구는 중국 운남성 농업과학원 맹해 다엽시험장을 중심으로 제다기술개발, 육종 등의 연구를 진행하고 있으나 과학적인 제조기술을 아직 완성하지 못한 단계로 품질의 표준화 안정성 등의 문제를 해결하고 있지 못한 상태이다.
- 최근의 중국내 미생물발효차 생산은 점차 기업화 방향으로 발전하고 있으며 베트남 등지에서도 미생물발효차 생산 공장이 들어서는 등 점점 확대되고 있는 추세이나 제조 기술 및 생산 환경은 대부분 매우 낙후되어 있는 실정이다.
- 미생물발효차에 대한 연구보고 역시 최근 들어 활발해지고 있으나 미생물발효차에서 생육하고 있는 미생물에 대한 일부 보고와 간단한 성분분석 등이 대부분인 수준이어서 아직 과학적인 해명은 실정이다.
- 기능성 연구에 있어서도 최근 들어 매우 활발해지고 있는 추세이나 활성분체 구명을 비롯한 과학적인 성과는 미비한 편이다

2) 국내 현황

- 연구를 막 시작하는 기초단계로 전통적인 미생물발효차 제조 기술을 재현하기 위하여 일부 개인과 사업체, 연구회 등에서 시도한 바 있으나 극히 초보적인 단계다.
- 국내에도 중국의 미생물발효차와 비슷한 전통 떡차가 있으나 중국의 미생물발효차와는 차이가 있으며 일부 기업에 의하여 보이차를 이용한 콜레스테롤 저하용 조성물 및 보이차가 함유된 액상차의 제조 등 단순한 부분에 대하여 특허 출원을 한 바 있으나 이를 이용한 실질적인 활용은 아직 미비한 실정이다.
- 국내에서도 화학적인 성분 및 과학적인 품질 기준에 대하여 일부 연구 흔적은 보이나 이에 대한 의미 있는 연구 성과는 아직 도출되지 못한 것으로 판단된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구의 목표 및 내용

1. 연구 목표

- 본 연구를 통해 발효차의 발효 우수 균주 및 한국 전통 발효 종균을 이용하여 과학적이고 위생적인 산업화 공정을 개발함으로써 기능성, 안전성, 관능적 기호도 면에서 기존의 외국산 발효차를 능가하는 우수한 제품을 국내산 차잎을 이용하여 상품화하며
- 향후, HACCP 기반 생산·품질 관리 시스템을 도입을 통해 세계시장에서 통용될 수 있는 한국형 미생물발효차 제품을 생산, 유통하고 동시에 다양한 가공 산업과 연계할 수 있는 기반을 구축하고자 함.

2. 연구 내용

- 미생물발효차 발효 우수 균주 및 한국 전통 발효 종균을 이용한 고품질 미생물발효차 생산기술 개발 및 산업화
 - 미생물발효차 생육미생물의 최적 생육조건 및 발효 조건 규명
 - 미생물발효차의 발효 우수 균주의 선별 및 접종 방식 검토
 - 한국 전통 발효식품의 주요 종균으로부터 미생물발효차에 응용 가능한 균주 선별
 - 선별된 우수 균주를 이용한 최적 발효 공정 개발
 - 미생물발효차 종균과 전통 발효식품 종균을 이용한 한국형 미생물발효차의 생산 기술을 개발 및 산업화
- 다양한 재고 차(녹차, 황차, 홍차)를 이용한 미생물발효차 생산기술 개발
 - 확보된 발효기술을 바탕으로 현재 재고로 남아있는 저급의 묵은 녹차를 이용한 발효차 생산기술 개발
 - 효소발효차(황차, 홍차)을 이용한 발효차 생산기술을 개발

- 발효차 품질향상을 위한 저장 및 포장 용기 개발
 - 숙성 중 품질향상을 위한 저장용기 및 포장 소재 탐색
 - 한국시장에 적합한 성형방법 및 제품 형태 탐색
 - 미생물발효차 성형 형태에 따른 포장 용기 및 디자인 개발
- 미생물발효차의 비만 억제 고기능성 균 선발, 지방간 예방 효과, 항당뇨 효과 탐색
 - 발효차 추출물의 조건별 항비만 효과 검색 및 고기능성균 선발 (*in vitro*)
 - 발효차 추출물의 지방간 예방 효과 탐색(*in vitro*)
 - 다양한 발효차 및 재고 녹차를 원료로 제조한 미생물 발효차의 *in vitro* 효능 분석
 - 확인된 기능성 평가에 대한 정보를 미생물 발효차 제조기술에 피드백
- 동물 생체실험에서 개발 미생물발효차의 비만 억제, 지방간 예방 효과 검증
 - 선발된 개발 발효차의 항비만 효과 검색 (*in vivo*) : 지방 식이, 지방 합성 및 분해 효소 발현 변화
 - 선발된 개발 발효차의 항당뇨 효과 검색 (*in vivo*) : db/db mouse
 - 개발 발효차 추출물의 지방간 예방 효과 (*in vivo*) : 지방간 유도, 지방간 조직학적 현상 규명, 지방 손상 효소 검사 (AST, ALT, g-GT)
 - 본 사업팀 개발 발효차의 동물 생체 효능 분석
- 미생물 발효차의 이화학적 성분 분석
 - 미생물 발효차 및 새로 개발된 미생물 발효차의 이화학적 특성조사에 의한 품질평가
 - 확인된 이화학적 특성 분석 및 품질평가 지표에 대한 정보를 미생물 발효차 제조기술에 피드백
- 기초조사 및 업체 현황 조사
 - 국내·외 발효차관련 선행연구결과 조사 및 분석
 - 미생물발효차 업소 현장 중심의 현황 조사
 - 미생물발효차 HACCP 기본자료 수집 및 분석

- HACCP 기반 발효차 제조공정 개발 및 HACCP 프로토콜 개발
 - 미생물발효차 표준 제조공정 개발
 - 미생물발효차 현장 관리를 위한 선행요건 관리기준 개발
 - 위해요소분석
 - CCP(중요관리점), CL(한계기준), 모니터링, 개선조치 등 결정
 - HACCP Plan 개발

- 미생물발효차 생산 및 품질관리의 표준화 및 규격화
 - 생산관리의 표준화 및 규격화
 - 품질관리의 표준화 및 규격화
 - 생산 및 품질관리 매뉴얼 개발

제 2 절 연구방법

1. 실험재료

1) 미생물 분리를 위해 사용한 미생물발효차 시료

- 생육미생물의 분리를 목적으로 사용된 미생물발효차 시료는 중국 현지 또는 국내 발효차 전문점에서 구입한 유통 중인 시료(표 1), 중국의 현지 공장에 의뢰하여 확보한 제조(발효)과정 중 채취한 시료(표 2), 중국의 발효차 제조기술자를 초청하여 국내에서 중국의 현지 제조방법을 재현하는 실험과정 중 채취된 시료(표 3)를 사용하였다. 연구에 사용된 주요 미생물발효차의 이력을 표 1~3에 나타내었다.

표 1. 생육 미생물 분리를 위해 사용된 유통 미생물발효차 시료

제조장소	시료번호	제조년도	특징
중국사천	PT-1	2001	고급숙병
중국사천	PT-2	2005	고급숙병
중국운남	PT-3	2002	고급숙병
중국운남	PT-4	1987	고급숙병
중국운남	PT-5	1991	고급숙병
중국운남	PT-6	1982	고급숙병
중국운남	PT-7	2007	고급숙병
중국운남	PT-8	2007	저급숙병
중국운남	PT-9	2008	보이청병
중국운남	PT-10	2009	보이청병
중국운남	PT-11	2008	고급숙병
중국사천	PT-12	2007	고급숙병
중국사천	PT-13	2007	고급숙병
중국운남	PT-14	2009	보이청병
중국운남	PT-15	2009	보이청병
중국운남	PT-16	2008	보이산차
중국운남	PT-17	2009	보이산차
중국운남	PT-18	2008	보이청병
중국운남	PT-19	2008	보이청병
중국운남	PT-20	2008	보이청병
중국운남	PT-21	2008	보이청병
중국운남	PT-22	2008	보이청병
중국사천	PT-23	2007	보이산차
중국사천	PT-24	2009	보이산차
중국사천	PT-25	2009	보이청병
중국사천	PT-26	2009	보이산차
중국운남	PT-27	2008	고급숙병
중국운남	PT-28	2008	보이청병
중국운남	PT-29	2009	보이청병
중국운남	PT-30	1999	보이녹전
중국하관	PT-31	1954	보이철병
중국운남	PT-32	2010	보이녹병

중국호남	PT-33	2007	복진차
중국운남	PT-34	2008	고급숙차
중국해남	PT-35	2008	고급숙차
중국해남	PT-36	2004	고급숙차
중국해남	PT-37	2004	저급숙차
중국해남	PT-38	2008	고급숙차
중국운남	PT-39	2008	고급숙차
중국운남	PT-40	2003	고급숙차
중국운남	PT-41	2003	고급숙차
중국맹해	PT-42	2008	저급숙차
중국맹해	PT-43	2008	저급숙차
중국맹해	PT-44	2006	꿀피숙차
중국운남	PT-132	2008	보이숙차
중국운남	PT-133	2008	보이숙차
중국운남	PT-134	2008	보이숙차
중국운남	PT-135	2008	보이숙차

표 2. 중국 현지 제조(발효)과정 중 채취 시료

제조장소	시료번호	발효기간	발효조건
A공장 (중국, 운남)	PT113	모차(발효전)	·원료의 수분함량을 35%로 조절 한 후 10t 규모로 퇴적, 약퇴.
	PT45	1주	
	PT46	2주	
	PT47	3주	
	PT48	4주	
	PT49	5주	
	PT50	건조	
	PT213	모차(발효전)	
	PT63	1주	
	PT64	2주	
	PT65	3주	
	PT66	4주	
	PT67	5주	
	PT68	건조	
	B공장 (중국, 운남)	PT114	
PT57		1주	
PT58		2주	
PT59		3주	
PT60		4주	
PT61		5주	
PT62		건조	
PT100		모차(발효전)	
PT94		1주	
PT95		2주	
PT96		3주	
PT97		4주	
PT98		5주	
PT99		건조	
PT94	1주		
PT95	2주		
PT96	3주		
PT97	4주		
PT98	5주		
PT99	건조		

표 3. 중국 현지 제조방법의 국내 재현 실험(발효)과정 중 채취 시료

제조장소	시료번호	발효기간	발효조건
보성	P1	모차(발효전)	
	P1-1	1일	·원료 : 중국산 모차 3급 ·원료의 수분함량을 43%로 조절한 후 200 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P1-3	7일	
	P1-7	14일	
	P1-11	21일	
	P1-15	28일	
	P1-19	35일	
	P1-23	건조	
보성	P2	모차(발효전)	
	P2-1	1일	·원료 : 증청녹차 ·원료의 수분함량을 50%로 조절한 후 200 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P2-2	7일	
	P2-7	14일	
	P2-11	21일	
	P2-15	28일	
	P2-19	35일	
	P2-23	건조	
보성	P3	모차(발효전)	
	P3-1	1일	·원료 : 재래종 I (180℃에서 8분 동안 살청 후, 8분 동안 유념) ·원료의 수분함량을 50%로 조절한 후 200 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P3-2	7일	
	P3-6	14일	
	P3-10	21일	
	P3-14	28일	
	P3-19	35일	
	P3-23	건조	
보성	P4	모차(발효전)	
	P4-1	1일	·원료 : 재래종II(180℃에서 8분 동안 살청 후, 8분 동안 유념) ·원료의 수분함량을 45%로 조절한 후 200 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P4-2	7일	
	P4-6	14일	
	P4-10	21일	
	P4-14	28일	
	P4-18	35일	
	P4-22	건조	
보성	P5	모차(발효전)	
	P5-1	1일	·원료 : 재래종III(180℃에서 8분 동안 살청 후, 10분 동안 유념) ·원료의 수분함량을 50%로 조절한 후 200 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P5-2	7일	
	P5-5	14일	
	P5-10	21일	
	P5-14	28일	
	P5-18	35일	
	P5-22	42일	
P5-26	49일		
보성	P6	모차(발효전)	
	P6-1	1일	·원료 : 대차 12호(180℃에서 8분 동안 살청 후, 8분 동안 유념) ·원료의 수분함량을 50%로 조절한 후 45 kg 규모로 퇴적, 약퇴
	P6-2	7일	
	P6-6	14일	
	P6-10	21일	
	P6-14	28일	
	P6-18	35일	
	P6-22	건조	
보성	P7	모차(발효전)	

P7-1	1일	
P7-2	7일	
P7-6	14일	동안 살청 후, 8분 동안 유
P7-10	21일	념)
P7-14	28일	·원료의 수분함량을 50%로 조
P7-18	35일	절한 후 200 kg 규모로 퇴적,
P7-22	42일	악퇴
P7-26	49일	
P7-30	건조	

2) 찻잎

- 미생물발효차 제조에 필요한 원료인 모차의 제조를 위해 국내산 찻잎을 보성군과 해남군 일대 다원에서 5월말, 6월말, 7월말에 직접 채취하여 사용하였다.

3) 시약 및 배지

- 기능성 평가 실험에 사용된 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), ascorbic acid, 4-nitrophenyl phosphate bis(cyclohexyl-ammonium) salt, bovine serum albumin, ursolic acid, kojic acid, Tyrosinase(from mushroom), 3,4-Dihydroxyphenylalanine(L-DOPA), elastase (pancreatic from porcine pancrea), N-succinyl-L-(Ala)³-*p*-nitroanilide 등의 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA)사로부터 구입하였으며, 미생물 분리 배양에 사용된 PDA(potato dextrose agar) YMA(yeast mould agar), NA(nutrient agar, Gibco)은 Gibco(USA)사에서 구입하였다. 항고혈압 실험에 사용된 cyano-(2-methoxy naphthalen-6-yl)methyl(3-phenyloxiran-2-yl) methyl carbonate(CMNPC)는 합성을 통해 제조하였으며, 재조합 sEH는 insect cell을 이용하여 생산한 것을 정제하여 사용하였다. 사용된 모든 시약 및 용매는 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

4) 차

대조구로 사용된 다질링, 우바 등의 홍차는 광주광역시 소재 차전문 판매처(다반사)에서 구입하였으며, 일본에서 개발된 미생물발효차(JFST)는 일본현지에서 제공받았다.

2. 실험방법

1) 미생물발효차 시료로부터 생육 미생물의 분리 및 동정

- 발효차 시료 1 g에 멸균수 10 mL을 첨가하여 균질화 시킨 시료액을 분리원으로 하여 10배, 100배, 1000배로 희석한 후 200 μ L씩 배지에 도말 및 접종 하였다. 분리 배지로는 곰팡이, 효모, 세균에 따라 각각 PDA(potato dextrose agar, Gibco) YMA(yeast mould agar, Gibco), NA(nutrient agar, Gibco)를 사용하였으며, 곰팡이 및 효모의 경우 28°C에서 4일간, 세균의 경우 37°C에서 2일간 배양 후 형성된 여러 종류의 균주를 순수 분리 하였다.
- 분리된 곰팡이류의 유전학적 동정을 위하여 18S ribosomal DNA sequencing은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 균주의 외부 형태상 곰팡이로 분리된 균주의 18S rRNA 분석을 하기 위하여 PDA에서 고체상 배양을 실시한 후 배양 균사와 균체에서 Genomic DNA를 추출(Genomic DNA extraction kit, Qiagen)하였으며, 18S rRNA sequencing에 사용하는 universal primer인 NS1(5'-GTAGTACATATGCTTGTCTC-3')primer를 사용하여 PCR증폭하였다. 증폭된 산물은 전기영동장치(Wizard SV Gel)와 PCR clean-up system(Promega,USA)로 정제하였고 염기서열을 분석하였다.
- 분리된 효모와 세균의 유전학적 동정을 위하여 각각 YMA 및 NA에 배양한 후 Genomic DNA을 추출하여 28S rRNA sequencing 및 16S rRNA sequencing을 이용하여 분석하였다.
- 분석 결과는 NCBI의 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였다. Sequence의 상동성은 Clustal X와 Mega 2 program을 이용하여 비교 분석하였다.

2) 모차의 제조

(1) 찻잎

- 미생물발효차의 원료가 되는 모차를 가공하기 위해 5월, 6월 그리고 7월에 찻잎을 채취하였다. 5월과 6월의 찻잎은 손채엽을 하였고, 7월의 찻잎은 기계채엽과 손채엽을 병행하여 채취하였다.



<손 채엽>

<기계채엽>

(2) 위조 및 살청

- 생엽을 채취하여 바람이 잘 통하는 그늘에 넓게 펼쳐 찻잎의 표면에 있는 수분이 없을 정도로 시들리기(위조)를 한 후 살청을 하였다.
- 살청은 찻잎 10 kg를 회전 원통형 기계를 사용하여 240℃ ~250℃ 에서 5~6분간 실시하였다. 찻잎의 색깔이 신선한 녹색에서 어두운 녹색으로 되었을 때 살청을 멈추었다.



<위조>



<살청>

(3) 유념

- 기계식 디스크 방식의 유념기를 사용하여 찻잎의 상태에 따라 압력을 조절하면서 35~45분간 실시하였다.



(4) 건조

- 유념이 끝난 찻잎을 잘 풀어 햇빛 건조 하였다. 건조된 찻잎이 어두운 녹색이나 진한 녹색이 될 때까지 건조하였으며 수분함량은 10%이하가 되도록 하였다.

3) 미생물발효차의 제조

(1) 수분공급(加水)

- 원료(모차) 찻잎의 수분함량을 적외선 수분 측정기(i-thermo 163L, USA)를 이용하여 측정한 후 일정량의 물을 첨가하여 수분함량을 조절하였다.

$$* \text{가수량(\%)} = \text{원료(모차)량} \times \frac{\text{예정 수분함량(\%)} - \text{원료(모차)수분함량(\%)}}{1 - \text{예정 수분함량(\%)}}$$

(2) 균주접종

- 원료(모차)에 물을 첨가하여 수분함량을 보정한 후 균주를 접종하였다. 접종이 끝나면 습한 면포를 덮고 항온·항습 조절이 가능한 발효실에 넣고 발효를 진행하였다.



(3) 발효 및 뒤섞기(혼합)

- 15균주 찻잎 모배양 혼합접종된 원료(모차)가 발효기간 동안 발효가 균일하게 이루어지도록 찻잎을 일주일에 1회씩 뒤섞기를 하여 혼합한 다시 발효시키는 방법을 이용하였다.
- 각 온도(30℃, 45℃)에서 발효시킨 후 혼합할 경우 +, 혼합하지 않고 해당온도에서 발효시킨 경우는 해당온도를 기입하였다.

(예. +, +, 30 : 1주; 30℃와 45℃에서 1주일간 각각 발효 후 혼합, 2주; 혼합된 차를 나누어서 30℃와 45℃에서 1주일간 각각 발효 후 혼합, 3주; 혼합된 차를 30℃에서 1주일간 발효)



(4) 건조 및 포자제거

- 발효가 완료된 미생물발효차는 더 이상 발효가 진행되지 않도록 온도 40℃~50℃의 건조기를 이용하여 수분이 6% 이하가 되도록 건조하였다. 건조된 미생물발효차에 남아있는 포자는 선별기를 이용하여 제거하였다.

4) 미생물발효차 제조과정 중 주요 미생물의 생육도 측정

- 발효를 진행시키면서 채취한 검체 시료 1 g에 멸균수 10 mL을 첨가하여 균질화 시킨 시료액을 분리원으로 하여 10배, 100배, 1000배 이상으로 희석한 후 200 μ L씩 배지에 도말 및 접종 하였다. 분리 배지로는 PDA(potato dextrose agar, Gibco) YMA(yeast mould agar, Gibco), NA(nutrient agar, Gibco)를 각각 사용하였으며, 곰팡

이 및 효모 분리 시료의 경우 28℃에서 4일간, 세균 분리 시료의 경우 37℃에서 2일간 배양 후 배양 후 형성된 주요 생육미생물을 각각 counting하여 균주의 생육도를 관찰하였다.

5) 모배양용 스타터 제조

(1) 포자 스타터 제조

가. 곰팡이 포자 스타터의 제조

- 단일 분리된 곰팡이를 사면배지에 배양한 후 5% Tween 80을 10 mL를 첨가하고 30초간 sonication 하였다. 포자와 5% tween 80 혼합액을 취하여 멸균된 conical tube에 담은 후 4000 rpm, 15분 동안 centrifuge를 실시하였다. centrifuge가 완료된 후 상층액을 제거하고 멸균수를 이용하여 5% tween 80을 완전히 제거하여 곰팡이 포자 스타터를 제조하였다.

나. 효모 및 세균 스타터의 제조

- 액체배지에 배양된 각각의 효모 및 세균 배양액을 4000 rpm, 15분 동안 centrifuge하여 pellet만 남도록 상층액을 완전히 제거한 후 멸균수에 동량의 균수로 희석하여 효모 포자 스타터를 제조하였다.

(2) 찻잎 스타터 제조

- 각각의 포자 스타터를 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/200g으로 접종한 후 각 균주의 최적 생육조건에서 3주 동안 발효시킨 뒤 발효된 찻잎을 동결건조시켜 스타터를 제조 하였다.

6) 이화학적 특성 및 성분분석

(1) 색도

- 미생물 발효차 시료 2.2 g을 증류수 100 mL로 95℃에서 15분간 추출한 후 여과한 차 증류수 추출액을 Color spectrophotometer (CM-3500d, Minolta Co Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 L*, a*, b*값을 각각 측정하였다

(2) 가용성 고형분

- 미생물 발효차 시료 2.2 g을 증류수 100 mL로 95°C에서 15분간 추출한 후 여과한 차 증류수 추출액을 Refractometer(PR-1, ATAGO Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

(3) 총 페놀 성분

- 미생물 발효차 시료 2.2 g을 증류수 100 mL로 95°C에서 15분간 추출한 후 추출액을 Whatman filter paper (Whatman No. 1)로 여과하였다. 여과한 추출액 1 mL을 100배 희석한 용액 125 μ L에 증류수 500 μ L 첨가하고 10% Folin 시약 125 μ L 첨가한 후 잘 혼합하여 5분간 방치한 후 7% Na₂CO₃ 125 μ L를 서서히 가한 후 최종 부피를 3 mL로 조절하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 방치하여 UV Spectrophotometer (Optizen 2120UV, Daejeon, Korea)로 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 Gallic acid를 이용하여 표준곡선을 작성하여 함량을 구하였다.

(4) Free sugar

- 찻잎 시료 1 g에 80% ethanol을 50 mL를 가하여 heating block에서 70°C로 약 5시간 동안 당 성분을 추출하였다. 추출액은 Whatman filter paper로 여과한 후 evaporator로 ethanol을 휘발시켜 시료용액을 10 mL로 농축, 정용하여 이온크로마토그래피를 이용하여 분석하였다.

표 4. 유리당 측정 방법

유리당	
Model	DX-600 IC system Dionex Co., USA
Column	CarboPac TM -PA10 Analytical, 4×250mm
Guard	CarboPac TM -PA10, 4×50mm
ELUENT	18mM NaOH
Flow rate	1.0 mL/min
Inj. Volume	20 μ L
Detection	ED50 Intergrated Amperometry

(5) Gallic acid

- 미생물 발효차 시료 0.5 g을 100 mL 메스플라스크에 넣고 1% phosphoric acid로 정용 한 후 60°C 항온수조에서 1시간 0.45 μ m를 membrane filter로 여과하여 이를 HPLC 분석 시료로 사용하였다. 사용한 HPLC는 Waters 510 HPLC pump , UV detector Waters 2487 Dual Absorbance detector를 사용하여 측정 column은 Hyperclone 5u ODS (250×4.6 mm i.d., 5 μ m)를 사용하였으며, UV 270 nm 파장에서 측정하였다. 이동상으로는 mobile phase 0.04%, phosphoric acid solution을 사용하였으며 유속은 0.5 mL/min 속도로 측정하였다. 표준품으로 Gallic acid 를 이용하여 표준곡선을 작성하여 함량을 구하였다.

(6) Theaflavin 및 Thearubigin

- 미생물 발효차 시료 2.2 g을 증류수 100 mL로 95°C 에서 15분간 추출한 후 추출액을 Whatman filter paper (Whatman No. 1)로 여과하였다. Theaflavin 시료는 여과한 추출액 20 mL 에 1% Na₂HPO₄ 6 mL를 첨가한 후 ethly acetate 20 mL를 잘 혼합하여 10 mL 상층액을 취하고 용량을 25 mL까지 methanol를 가하였다. Thearubigin는 여과한 추출액에 1 mL의 10% oxalic acid와 8 mL의 증류수를 가한 후 용량을 25 mL가 될 때까지 methanol를 가하여 만들었다. Theaflavin 및 Thearubigin 시료는 UV Spectrophotometer (Optizen 2120UV, Daejeon, Korea)로 380 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정한 Theaflavin 수치는 E₁로 Thearubigin 수치는 E₂로 표기하였다. Theaflavin 및 Thearubigin 함량은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$TF(\%) = 2.25 \times E_1$$

$$TR(\%) = 7.06 \times (4E_2 - E_1)$$

(7) Tocopherols

- 찻잎 0.5 g을 취한 후 1% NaCl 0.5 mL와 3% pyrogallol 10 mL를 가하여 5분 동안 초음파 추출을 하였다. 다음 60% KOH 1 mL를 첨가한 후, 70°C 에서 30분 동안 검화하였다. 검화가 끝난 후 실온에서 냉각하고, 1% NaCl 22.5 mL를 가한 후,

EtOAc/n-hexane=1:9 (v/v) 혼합 용액 15 mL를 첨가하여 2회 반복하여 용매분획을 행하였다. 상층액을 취해 농축 후, MeOH 2 mL에 용해시켜 HPLC (5 mg eq./20 μ L)로 분석하였다. 본 분석법을 그림 1에 나타냈다. 사용한 HPLC는 Waters 510 HPLC pump , UV detector Waters 2487 Dual Absorbance detector를 사용하여 측정 column은 Ultracarb 5 ODS (150 \times 4.6 mm i.d., 5 μ m)를 사용하였으며, UV 298 nm 파장에서 측정하였다. 이동상으로는 mobile phase = n-hexane : EtOAc : AcOH = 97.3 : 1.8 : 0.9로 사용하였으며 유속은 1.0 mL/min 속도로 측정하였다.

(8) Catechin 분석

- 시료 10 g에 100% MeOH 500 mL를 넣고 homogenization (12,000 rpm, 5 min) 한 후 1 hr 동안 추출하였다. 추출물은 Whatman No. 2로 여과한 후 감압농축하여 100% MeOH 추출물을 얻었다. 추출물을 1 mL의 60% acetonitrile으로 용해한 후 0.2 μ m Syr. filter로 여과하여 HPLC분석용 시료로 사용하였으며 11종의 차의 주요 화합물에 대한 분석을 표 2의 조건으로 실시하였다.

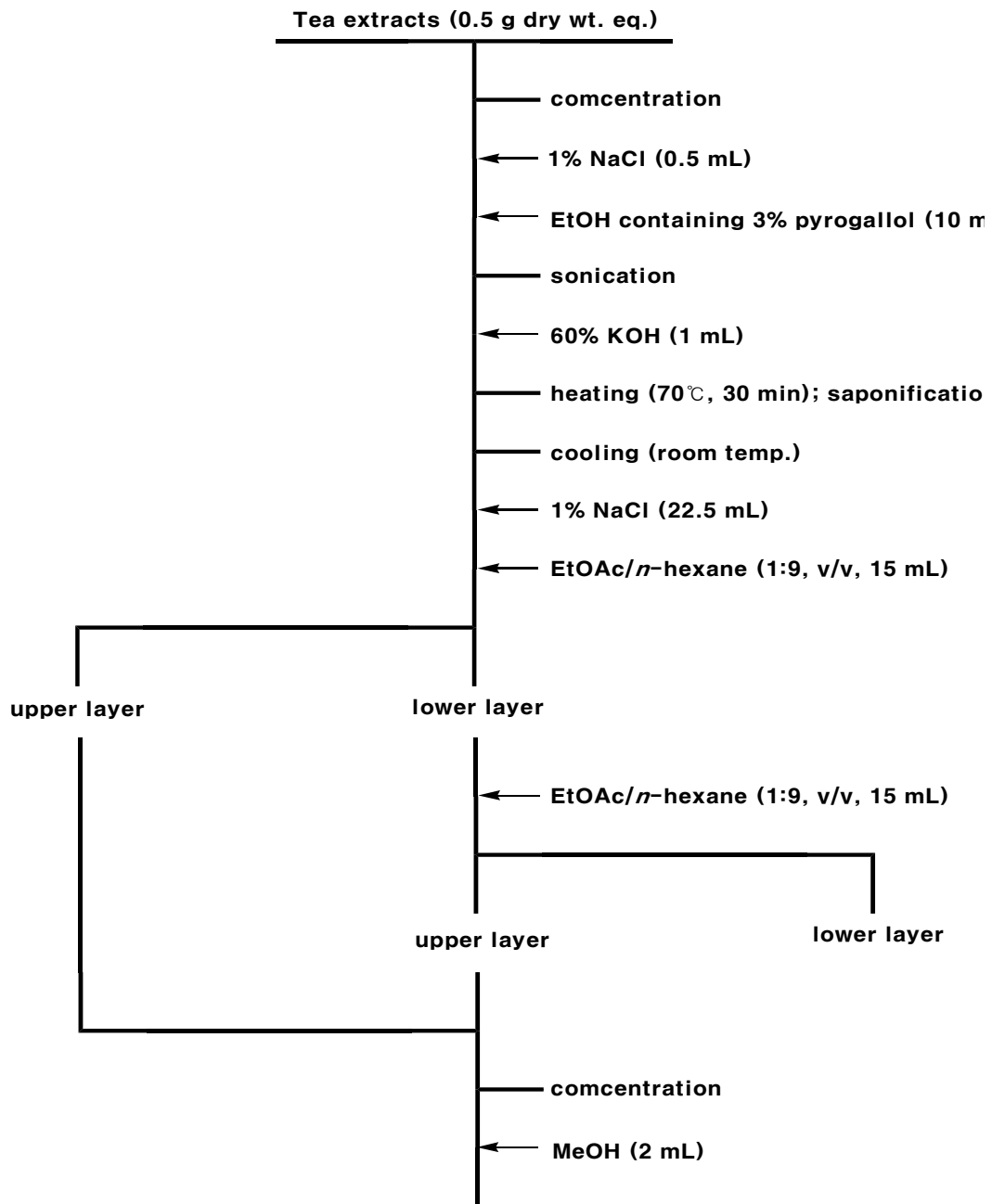


그림 1. 차 시료들의 Tocopherols 추출과정.

표 5. Catechin 화합물 분석 조건

Item	Conditions
Column	Nacalai Cosmosic, C ₁₈ AR-II
Flow rate	1 mL/min
Wave length	275 nm
Mobile phase (gradient)	Sol. A : 100% MeCN Sol. B : 20 mM KH ₂ PO ₄ Sol. A(%) ; 0min, 7% ; 5min, 7% ; 50min, 25% ; 70min, 25%.

(9) 향기성분 추출 및 분석

- 시료의 휘발성 향기성분 추출에는 열탈착 시스템(Thermal desorption unit: TDU)을 사용하였다. 추출된 시료의 휘발성 향기성분의 분석 및 동정은 Agilent 7890A GC 에 의해 분리 하였으며, Column은 ZB-1 (30 mm x 250 μm x 1.0 μm film, Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 사용하였다. 초기 오븐 온도는 40°C 에서 20분 간 유지한 후에 8°C/min의 속도로 250°C 까지 승온 하였으며, 운반기체로는 질소가 스를, 칼럼 내 유속은 1 mL/min 으로 유지 하였다. 분석은 GC-MSD (Agilent 5975C, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 MPS (multipurpose autosampler) 2 XL, TDU, CIS 4 (cooled injection system version 4)를 이용하였다. 휘발성성분의 동정은 NIST 08 mass spectral library (Gaithersburg, MD)에 의한 검색으로부터 물질을 추정하고, 유의성이 50%이상 일치에 의해 정성분석 하였다. Peak의 값은 내부표준물질(tridecane)과의 상대적인 비율로 나타내었다.

6) 미생물발효차의 관능검사와 이화학적 특성과의 상관관계 조사

- 관능검사 결과의 변화를 설명하는 설명변수가 두 개 이상인 경우 회귀모양인 다중 회귀모형(multiple regression model)을 사용하였다. 다중회귀모형을 일반적으로 아래와 같은 식과 같이 정의된다.

$$y = b_0 + b_1X_{i1} + b_2X_{i2} + \dots + b_pX_{ip}$$

- 또한, 고려되는 회귀모형 또는 추정된 회귀식의 적합성 여부를 확인하기 위하여 SPSS 통계프로그램 ver 18.0을 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 실시하여 그 유의성을 검증하였다.

7) 미생물발효차의 in vitro 항당뇨, 지방간 예방 및 항비만 효과 검증

(1) 세포 배양

- HIT-T15 및 HepG2 세포들은 10에서 20 passage의 것을 사용하였으며 5%를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's 배지(Life Technologies, Grand Island, NY)에 배양하였다. 이들 세포들이 70% confluence되었을 때 세포성장을 정지시키기 위해 무혈청 배지에서 이들을 배양하여 세포의 성장을 동기화 시켜서 실험에 이용하고자 하였다.

(2) 3T3-L1 세포 배양

- 3T3-L1 pre-adipocyte cell은 ATCC에서 구입하였다. 3T3-L1 세포는 5%를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's 배지(Life Technologies, Grand Island, NY)에 배양하였다. 이들 세포들이 60 mm dish에서 seeding을 하였으며 이틀후에 1 M dexamethasone, 5 ug/ml insulin, 0.5 mM IBMX와 함께 지방세포로 1주일 동안 분화 유도하였다.

(3) MTT 측정

- 세포 사멸 효과를 측정하기 위하여 MTT 환원 실험을 실시하였다. 세포를 96-well plate에 1×10^5 cells/mL의 농도로 100 μ L씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 벤젠을 처리하여 24시간 배양하였다. 반응 후 well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO 100 μ L 첨가하여 ELISA reader(Model 680, BioRad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구 세포수를 100%로 하여 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

(4) Lipid peroxide (LPO)형성

- LPO 형성은 malondealdehyde의 양으로 측정하였으며, 간략히 요약하면 다음과 같다. 샘플들을 수확한 후 초음파로 세포를 분쇄한 후, 반응용액 [8% SDS 100 μ L, 0.8% 2-thiobarbituric acid (TBA) 200 μ L, 20% acetic acid 200 μ L]을 넣은 후 95°C

에서 60분간 반응시켰다. 이후, 얼음으로 차게한 물에 식힌 후, 비특이적인 적색 색소를 제거하기 위하여 n-butanol-pyridine 혼합액(15:1, v/v)을 첨가한 후 4,000 × g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 수합하였다. 이 시료를 spectrofluorometer(emission 파장 553 nm, excitation 파장 515 nm)로 측정하여 nmol/mg protein으로 표시하였다.

(5) SDS-PAGE 및 immunoblot analysis

- 단백질 시료는 95℃에서 5분간 열을 가한 후 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 분석하였다. SDS-PAGE는 8% acrylamide gel에서 실시하여 polyvinylidene difluoride membranes 으로 transfer하여 Novex wet transfer unit을 이용하여 100 V에서 2 시간 동안 하였다. 면역검출은 horseradish peroxidase (HRP) 방법을 이용하여 실시하였다. 간략히 요약하면, membrane은 5%(w/v) nonfat dried milk가 함유된 TBS [0.01 % (v/v) Tween 20을 함유한 PBS]로 12시간 차단시켰다. 연속해서 TBS에 1차항체 (1:1,000)로 2시간 배양한 후 HRP-conjugated 이차항체로 1 시간 배양한 후 enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham Life Science, Inc.)를 이용하여 현상하였다.

(6) 실험동물

- 실험에는 6주령의 웅성 C57BL-6 마우스 및 랫드를 (주)오리엔트(Sungnam, Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 Plastic mouse cage에 보관하여 동물실험실에서 온도 22±2℃, 상대 습도 50±5%, light/dark cycle(12h/12h)의 조건하에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 1주일 후 고지방식이(high fat diet)로 식이를 대체하였으며, 식이 1주일 후 체중을 측정하여 고지방식에 잘 적응한 마우스만을 선별하여 그룹을 분리하였다. 아울러 랫드의 경우는 STZ를 유도하여 당뇨를 유발시켜 실험을 실시하였다.

(7) 혈액화학치 분석

- 혈액지표분석을 위한 혈액채취는 12시간 절식 후 실시하였다. Ethyl Ether로 마취시킨 후 복대정맥에서 혈액을 채취한후 상온에서 약 1시간 정치시켰다. 그 후 혈액을 고속 냉장원심분리기(Mega 17R, Hanil, Korea)로 3,000rpm 20분간 원심분리하여 혈청을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당(Glucose), 총 콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 고밀도지단백(HDL-cholesterol), 저밀도지단백(LDL-cholesterol), ALT, AST를 시판 시약 (Sentron GmbH, Dresden, Germany)을 구입하여 생화학분석기 (METROLAB 1600DR, USA)를 이용하여 측정하였다.

8) 인체 기능성 시험

- 본 인체적용시험은 총 10명의 피험자를 대상으로 하는 단일군, 탐색적 인체적용시험이다. 피험자는 전남대학교병원 임상시험지원센터에 방문하여 자의적 서면동의서를 작성한 후 신체검진, 진단검사의학 검사 등을 포함한 스크리닝 검사를 받았으며 스크리닝 방문일로부터 3주 이내에 1차 방문하여 선정 및 제외기준을 재검토 받고 인체적용시험에 등록되었다. 피험자는 1차 방문일까지 기초평가(Baseline)를 완료한 후 시험용제품을 하루 3회씩 매일 복용하면서 6 동안 인체적용시험에 참여하였다.

(1) 피험자 동의서(Informed Consent Document, ICD)

- 연구자는 인체적용시험 전반에 걸쳐 피험자가 가질 수 있는 질문에 대해 답변해야 한다. 또한 피험자의 인체적용시험 참여 지속 의사에 중요할 수 있는 새로운 정보가 입수되는 대로 적절한 시한 내에 이를 공유하는 것을 포함하여 피험자가 인체적용시험 참여로 인한 위험 및 이익을 이해하도록 확인하는 책임이 있다. ICD가 새로운 정보에 따라 갱신되는 경우 연구자는 갱신된 ICD를 사용하여 피험자의 인체적용시험 참여 지속 의사를 다시 한번 확인하였다. ICD는 피험자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 쉬운 용어를 사용하여 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익을 피험자에게 설명하기 위해 사용되었고, 피험자가 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익에 대해 만족 할 만큼 이해하고 인체적용시험에

참여하고자 하는지 문서화 하기 위해 사용되었다. 연구자는 각 피험자가 제출한 피험자 동의서를 확인할 책임이 있다. 여기에는 모든 인체적용시험계획서 상의 절차수행 및 시험제품의 섭취 이전에 적절한 서명 및 날씨가 기재되어야 하는 점이 포함되었다.

(2) 스크리닝 번호 및 피험자 번호 부여

- 인체적용시험에 참여하고자 서면 동의한 자원자에게 스크리닝 번호를 부여하였다. 스크리닝 번호는 S001로 시작하며, 뒤 숫자 세 자리로 구성되며, 동의서를 받은 순서대로 부여하였다. 피험자 번호 부여방법은 스크리닝 검사를 시행하여 본 인체적용시험의 피험자로서 적합하다고 판단되는 자를 선정하고, 1차 방문 시 최종 통과 되면 통과된 순서대로 무작위배정 하여 피험자 번호를 부여하였다. 피험자 번호는 R01로 시작하며, 뒤 숫자 두 자리로 일정한 규칙을 갖는다. 피험자 번호 숫자부분의 의미는 다음과 같다. 첫 번째와 두 번째 숫자는 참여한 피험자의 순서를 나타내며 01~99까지 나타낼 수 있다. 각 피험자에게 부여된 피험자 번호는 인체적용시험이 끝날 때까지 피험자를 인식하는 피험자식별코드(subject identification code)로 사용되었다.

(3) 인구학적 정보

- 피험자의 신분증을 통해 성명, 성별, 생년월일, 연령 등 인구학적 정보를 확인하였다. 연령은 만 나이로 기록하였다. 피험자의 음주, 흡연력을 조사하였다.

(4) 병력 및 약물 투여력 조사

- 피험자가 동의서에 서명한 시점에서, 과거 3년 이내 병력을 확인하고, 증례기록서의 해당 페이지에 기록하였다. 인체적용시험기간 동안 질환이 처음으로 발생하거나 병발질환이 시험기간 동안 악화된 경우에는 이상반응으로 간주하고 기록하였다. 또한 모든 병용약물의 일반명, 용량, 용법, 투여기간 등을 상세히 기록하였다.

(5) 활력징후

- 활력징후는 좌위 혈압, 맥박수 항목을 측정하였다. 피험자의 팔이 심장 높이에 위치하도록 하여 측정하며, 단위는 mmHg이고 정수로 표기한다. 급격한 체위 변동 없이 5분 이상 좌위 자세를 유지한 상태에서 혈압, 맥박수를 측정하였다.
- 활력징후 측정시기가 채혈시기와 일치할 경우, 가급적 활력징후를 먼저 측정한 후 채혈을 하였다. 불가피하게 채혈 후 활력징후를 측정할 경우, 가급적 5분 이상 시간 간격을 두고 활력징후를 측정하도록 하였다.

(6) 신체계측

가. 신장, 체중 및 체질량지수(BMI)

- 매 측정 시 동일한 신장계와 체중계를 이용하여 신장과 체중을 측정하였다. 신장은 스크리닝 방문 시 측정치를 12주 동안의 기준치로 하였으며, 단위는 cm로 소수점 첫째 자리에서 반올림하여 정수로 표기하였다. 체중은 단위를 kg로 소수점 첫째 자리까지 표기하였다. 체질량지수 (Body Mass Index; BMI, kg/m^2)는 체중(단위: kg)을 신장(단위: m)의 제곱으로 나눈 값이며, 소수점 둘째 자리에서 반올림하여 소수점 첫째 자리까지 표기하였다

나. 허리둘레, 엉덩이둘레 및 허리 · 엉덩이 둘레비

- 허리둘레와 엉덩이둘레는 단위를 cm로 하며 줄자를 이용하여 각각 소수점 첫째 자리까지 3회 측정하였으며 측정치의 평균을 소수점 둘째 자리에서 반올림하여 소수점 첫째 자리까지 표기하였다. 허리둘레는 배꼽을 기준으로 측정하였으며, 피험자가 측정 중에 자연스럽게 호흡하도록 하여 호기 마지막에 측정하였다. 엉덩이둘레는 측면에서 보아 엉덩이 뒷부분 중 가장 돌출된 부분을 수평으로 측정하였다. 허리/엉덩이둘레비(waist hip ratio, WHR)는 허리둘레를 엉덩이둘레로 나눈 값으로 소수점 셋째 자리에서 반올림하여 소수점 둘째 자리까지 표기하였다.

(7) 신체검진

- 신체검진은 피험자가 오한을 느끼지 않을 정도의 장소에서 문진, 시진, 청진, 타진, 촉진 등을 수행하였다. 신체검진 시 피험자의 과거병력(past history), 가족력

(family history) 등을 확인하였다.

(8) 지질대상지표검사

- 원칙적으로 12시간 이상 공복을 유지한 상태에서 실시하였다. 상완정맥 등 정맥에서 채혈하여 Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol을 측정하였으며, 채혈한 샘플은 분석 후 모두 폐기하였다.

9) 미생물발효차의 in vitro 심혈관계 개선효과 검증

(1) hsEH저해활성 측정

- 미생물발효차 각 추출물을 12.5~250 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 DMSO에 녹인 후 형광기질 CMNPC[Cyano-(2-methoxynaphthalen-6-yl) methyl(3-phenyloxiran-2-yl) methyl carbonate], 재조합 hsEH(human soluble epoxide hydrolase produced by baculovirus expression system from insect cell)와 반응하여 sEH의 저해활성을 측정하였다.
- 측정 방법은 Morisseau 등¹⁾의 방법을 변형, 이용하였다. 구체적으로 black 96-well plate에 25 mM bis/Tris-HCl buffer(pH 7.0, BSA 0.1 mg/mL 포함) 용액 145 μL 을 넣고, blank well에 DMSO 5 μL 와 천연생물자원 추출물·DMSO 용액을 농도별로 5 μL 씩 취하였다. Microplate reader를 이용하여 30°C에서 5분간 warm-up한 다음, blank well에 25 mM bis/Tris-HCl buffer 20 μL 을 넣고, activity well에는 baculovirus expression system에 의해 얻어진 재조합 hsEH(0.6 mg/L in 25 mM bis/Tris-HCl buffer) 20 μL 씩 넣었다. 이 black 96-well plate를 microplate reader에 넣고 10초 동안 mix한 후 30°C에서 5분간 warm-up하였다. 이어서 기질인 CMNPC 용액 30 μL 를 넣어 final 농도를 5 μM 로 조절한 다음 30°C에서 10분 동안 형광 microplate reader(excitation 340 nm, emission 460 nm)를 이용하여 측정하였다. soluble epoxide hydrolase의 저해활성은 soluble epoxide hydrolase의 활성을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(Inhibition concentration, IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)로 표기하였다.

(2) Statin 화합물 (항콜레스테롤 기능성분) 탐색

가. Statin 유도체 구입 및 합성

- 본 실험에 사용된 Statin (lovastatin-L, compactin-L, simvastatin-L, pravastatin-H) 은 SIGMA에서 구입하였고, atorvastatin-H은 (주)현대약품에서 지원받아 사용하였다.
- Lactone form의 statin (lovastatin, compactin, simvastatin)을 hydroxyl acid form으로 합성하기 위하여 Brown et al.의 방법을 사용하였다²⁾. 각각 lactone form의 statin 5 mg을 100% acetonitrile 500 μ L로 용해한 다음 0.1N NaOH (50% acetonitrile)를 ice bath상에서 천천히 첨가하고 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 여기에 0.1N HCl (50% acetonitrile)을 첨가하여 pH 7~8이 되도록 하였다. 반응물을 농축한 뒤 MeOH/EtOAc (1:1) 용매 2 mL로 녹이고 여과하여 hydroxy acid form의 statin을 얻었다. 합성된 시료는 각 ampule에 N₂ gas로 농축 충전한 후 -80°C 냉동고에 보관 실험에 사용하였다.

나. Statin 화합물 분석

- 시료 50 g에 100% MeOH 1 L를 넣고 homogenization (12,000 rpm, 5 min) 한 후 1 hr 동안 추출하였다. 추출물은 Whatman No. 2로 여과한 후 감압농축하여 100% MeOH 추출물을 얻었다.
- 시료 10 g에 상당하는 MeOH 추출물을 2 mL의 MeOH로 용해하여 Sep-Pak (Waters C₁₈ Cartridge, 12 cc)에 charge한 후 solid-phase extraction 정제하였다. Sep-pak내에 추출물을 전부 흡착시킨 후 질소가스를 이용해 Sep-pak 내의 MeOH 증발시켜 주었다. 여기에 100% H₂O을 흘려보내주어 흡착되지 않는 성분을 세척하였다. Sep-pak에 흡착된 성분은 100% MeOH을 가하여 색의 변화가 없을 때까지 충분히 용출하였다. 용출된 100% MeOH 희분을 감압농축 한 후 MeOH 1 mL로 용해하고, 0.20 μ m syringe filter로 여과한 후 HPLC 분석을 실시하였다. Statin 분석에 사용된 시료의 양은 전체 volume의 1/20 (50 μ L)을 injection하였다.

표 6. Statin 분석 조건

Item	Conditions
Instrument	Waters Autosampler(LC module I plus)
Column	Waters C ₁₈ Bondapak™ 3.9 × 150mm
Flow late	1.0 mL/min
Mobile Phase	Acetonitrile/1%Acetic acid (55:45, v/v)
UV detector	237nm

10) 미생물발효차의 항산화효과 검증

(1) DPPH free radical scavenging activity 측정

- DPPH를 이용한 radical scavenging activity의 측정은 Terao 등³⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 96well plate에 200 μ M DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl in ethanol) 용액 196 μ L와 시료용액 4 μ L를 넣어 최종농도가 25, 50, 100, 200 μ g/mL가 되도록 하였다. 10분간 암소에서 반응시킨 후 ELISA reader 517nm에서 absorbance를 측정하였다. Positive control로는 vitamin C를 사용하였고, DPPH radical activity는 %와 SC₅₀ 값으로 나타내었다.

(2) ORP 측정

- 미생물 발효차 추출물에 대한 산화환원전위는 ORP METER RM-20P (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 측정하였다. 즉, combination electrode 부위를 증류수로 수회 세척한 후 28℃에서 각각의 시료에 3분 동안 정치시켜 더 이상 산화환원전위의 수치가 변하지 않는 점을 측정하였다. Positive control로 대표적인 천연항산화제인 ascorbic acid(Sigma, USA)와 녹차 추출물을 사용하여 시료의 활성과 비교하였다.

11) 미생물발효차의 피부미용효과 검증

(1) Tyrosinase inhibition assay를 통한 미백활성 측정

- 미생물 발효차의 미백효과를 측정하기 위하여 melanin의 생합성에 관여한다고 알려

진 tyrosinase 저해실험을 실시하였다. 실험에 사용된 효소는 tyrosinase(from mushroom, Sigma)를 기질은 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA, Sigma)를 사용하였다. 1mL의 phosphate saline buffer (0.1M, pH 6.8), 0.1mL의 sample, 0.3mL의 distilled water 그리고 0.1mL의 tyrosinase solution(in 0.1M PBS, pH 6.8, 500unit/mL)을 cuvette 담은 후 이것을 25°C에서 6분 동안 pre-incubation 하였다. 0.5mL의 substrate(in distilled water, 10mM)를 cuvette에 첨가 후 25°C에서 반응시켰다. 시료에 의한 tyrosinase 저해활성은 475nm에서 product의 양을 측정하여 계산하였다.

(2) Elastase inhibition assay를 통한 주름개선 효과 측정

- 피부 주름의 생성 원인 중 하나로 알려진 elastase에 대한 시료의 저해활성을 측정하기 본 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 elastase는 돼지에서 유래된 효소이며, 기질은 N-succinyl-L-(Ala)³- ρ -nitroanilide를 사용하였다.
- 96 well plate에 50mM Tri-HCl buffer(pH 8.0) 60 μ L, 20mM 의 기질 10 μ L, 농도별로 DMSO에 희석한 시료 10 μ L를 차례로 첨가 한 후 37°C에서 5분간 preincubation 하였다. 그 다음 1unit/mL의 농도로 조제한 elastase를 각 well에 20 μ L씩 첨가한 후 15분 동안 37°C에서 반응 시켰다. 반응 종료 후 415nm에서 흡광도 값을 측정하여 미리 구해놓은 검량선에 측정값을 대입하여 생성물의 농도를 구하였다. 대조구로는 시료대신 DMSO를 사용하였다.

(3) Sirius red dye binding assay를 통한 총 collagen 함량 측정

- Normal human dermal fibroblast (CCD-1064Sk, ATCC CRL-2079, USA)가 생성하여 세포외로 유리되어 나온 총 collagen량을 측정하기 위하여 sirius red dye binding assay를 일부 변형하여 실시하였다.
- 24 well plate에 CCD-1064Sk (normal human dermal fibroblast, ATCC CRL-2076)를 1×10^5 cells/mL의 농도로 300 μ L씩 분주한 후 24시간 동안 37° C, 5 % CO₂ 조건에서 배양한 후 함초 추출물을 세포독성을 나타내지 않는 범위 내에서 농도별로 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 IMDM (iscove's modified dulbecco's medium)에 첨가하여 각 well에 300 μ L씩 넣어주었다. 37° C, 5% CO₂ 조건에서 48

시간동안 배양해 주었으며, 배양 중 교환되는 배지는 배지내로 유리 된 총 collagen 함량을 구하기 위하여 4℃에서 냉장 보관하였다. 배지내로 유리된 collagen 함량을 구하기 위하여 배양배지 600 μ L에 50 μ M sirius red solution (0.5 M acetic acid) 6 mL을 가한 후 상온에서 20분 동안 반응시켜주었다. 반응액을 5000 \times g에서 20분 간 원심분리 한 후 상등액을 제거한 다음 침전물에 0.5 M NaOH 200 μ L를 가하여 5분 동안 collagen을 용출시켰다. 용출된 collagen dye 액을 96well plate에 옮겨 담은 후 540 nm에서 흡광도 값을 측정하여 미리 collagen Type I (Sigma-Aldrich)을 이용하여 구한 검량선에 대입하여 세포외로 유리 된 총 collagen 함량을 구하였다.

12) 통계처리

- 실험 결과의 통계적 처리는 Student's t test 및 Analysis of Variance (ANOVA)로 하였으며, P-value < 0.05을 유의한 차이의 한계로 하였고, 실험결과의 표현은 means \pm S.D 로 하였다.

13) 숙성 중 품질 향상을 위한 저장 용기 소재 탐색

- 저장용기 기본 소재 탐색을 위해 1차로 Sma, Smin-F, SMmin, SMC, SMm, SMl 등 6종의 소재로 제작한 봉투에 제조된 미생물발효차와 온·습도 측정기(GT171 Temp. & Humidity Datalogger, Gilwoo, Korea)를 넣고 밀봉한 후, 실온(일반 건물의 사무실내)에서 2013년 1월부터 6월까지 6개월간 숙성하면서 포장 내의 온·습도 변화를 측정하였으며 6개월 숙성 후의 발효차 품질을 관능평가단에 의해 평가하였다.
자연조건과 비슷한 25℃, 발효차의 저장이 많이 이루어지고 있는 홍콩 등지의 온도인 35℃ 등의 온도 조건과 건창 습도로 알려진 70%, 습창 습도로 알려진 85% 등의 습도 조건에서 포장소재에 따른 품질변화를 관찰하였다.
- 1차 선발 소재를 대상으로 최적 소재 및 배합비를 결정하기 위하여 1차 연구에서 선발된 SMi, SMC, SMR 등 3종의 소재에 대하여 각 소재의 첨가율(0.4%, 1.2%, 2%, 2.8%, 4%)을 달리하여 용융수지(polypropylene 베이스)와 혼합한 후 사출성형 방식으로 용기를 제작하였다.
- 제작된 각각의 용기에 제조된 미생물발효차와 온·습도 측정기를 넣고 고온다습한 조

건(30℃ 전후, 습도 85%전후)과 일반 건물의 사무실 및 황토방 등 총 3곳의 조건에서 2013년 5월부터 저장하면서 포장 내의 온·습도 변화와 60일 저장 후의 발효차 품질을 관능평가단에 의해 평가하였다. 또한 각각의 용기와 함께 차의 저장에 전통적으로 사용되고 있는 옹기항아리, 황토항아리, 편백상자 등도 동일한 조건에서 온·습도 변화를 측정하여 비교하였다.

14) 성형 형태 및 성형 방법 탐색

- 미생물 발효차의 성형 형태 및 방법을 탐색하기 위하여 세계적으로 유통 중인 발효차의 형태를 참고하여 압력을 가하여 성형(긴압)을 한 덩어리차인 병차 및 타차, 긴 성형을 하지 않은 잎차 상태의 산차, 그리고 산차를 티백에 담아 제조한 티백차 등을 제조하였다.

(1) 병차 및 타차 제조

- 발효가 완료된 미생물 발효차를 계량한 후 30초간 증기스팀을 이용하여 찻잎을 부드럽게 만든 다음, 자체 개발한 중량 30 ton 압력의 긴압성형기(DNP-15T, 다농기공주식회사)를 이용하여 성형틀에 차를 넣고 2분 정도 압력을 준 다음 성형기에서 꺼내어 그늘진 곳에서 건조하여 제조하였다.

(2) 티백 제조

- 발효가 완료된 미생물 발효차를 계량한 후 삼각티백 포장기계(FPG-SH, 2,145W×1,115D×2,450H)를 이용하여 실링 및 커팅 과정을 통해 미생물 발효차 삼각(피라미드)티백을 제조하였다.

15) 관능평가

(1) 관능평가 방법

- 관능검사는 색, 맛, 향, 전체적 기호도의 항목으로 평가하였으며 색, 맛, 향을 점수법으로 ‘매우 좋다’가 10점, ‘매우 나쁘다’가 1점, ‘보통이다’가 5점의 척도를

사용하였다. 전체적 기호도는 1등을 10점으로 하고 순위가 낮아질 때마다 1점씩 낮아지는 순위법을 사용하였다. 관능검사 결과 통계처리는 다중범위 검정 (Duncan's multiple range test)에 의해 유의성 검정을 하였으며 통계자료는 통계 Package IBM SPSS statistics 19.를 사용 하였다.

(2) 관능평가 장소

- 혜산초당(서울 인사동), 목포대학교 차전문 다도실

(3) 패널 선정

- 미생물발효차에 대한 전문지식과 10년 이상의 경험이 있는 전문가를 대상으로 1년 이상 훈련을 거쳐 선발한 16명으로 관능평가단을 구성하여 패널로 활용



(4) 미생물발효차 품질평가단 profile

번호	이름	주요경력 및 활동
1	강○○	· 동양화가:개인전 9회 · 난과 생활, 월간다도 발행인
2	김○○	· (사)한국차문화협회 사무처장 · 한국 차학회 상임이사
3	김○○	· 저서)중국차의 이해, 중국차의 세계 · 명가원 및 혜산초당 대표
4	강○○	· 차(茶)동호회 차사랑 회장 · 제주 다드림 대표
5	김○○	· 사)한국전례연구원 부원장 · Tea world 위원장
6	조○○	· (주)미창 패키이지 이사
7	추○○	· 중국 광둥성 동방명주학교, 한림자마학교 이사 · 다도반 강사
8	오○○	· 한국차문화협회 사법과정,대학원 중국차 강사 · 동양 차예 연구소 소장

9	박○○	· 보이차 전문가 · 보이차, 운남보이차 등 역자
10	손○○	· 목포대학교 국제차문화학과 박사 · 미생물발효차 연구자
11	유○○	· 목포대학교 국제차문화학과 박사 · 짙유화보이차 연구소 이사
12	홍○○	· 목포대학교 국제차문화학과 강사 · 발효차 전문가
13	박○○	· 한국다도문화원장
14	윤○○	· 목포대학교 국제차문화학과 박사 · 발효차 전문가
15	김○○	· 목포대학교 국제차문화학과 박사 · 다례원 원장
16	정○○	· 목포대학교 국제차문화학과 강사 · 한국다도문화원 교육부장

16) 재고차(두물차)를 이용한 발효차 생산기술 개발

- 전남 보성군 소재 보성차생산자연합 소속 다원에서 2012년 5월 29일 채엽한 두물 찻 잎을 이용 홍차, 청차와 황차를 제다하였다. 제다과정에서 위조, 숙성, 유념, 건조조건에 따라 차의 맛과 향이 달라지는 특성을 파악하고, 제다공정을 4단계로 각각 구분해서 차를 제다하였다. 제다후 차는 다관에 90℃ 물 100mL를 넣은 다음 발효차 3g을 넣고 3분간 각각 3회 추출하였다. 관능평가는 남도다류연구원(사) 소속 연구원을 이용 쓴맛, 떫은맛, 단맛, 향에 대해 관능평가를 실시한 다음 각 항목별 5점 (1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음)척도로 품질을 평가하였다.
- 품종에 따른 황차 맛 및 주요특성 조사를 위해, 재래종(야생 찻잎)은 2012년 5월 15일 전남 장흥읍 안양면 소재 해발 200m 내외 야산에서 채엽 하였다. 야부기다와 대엽종은 5월 15일 전남 해남군 옥천면 해록(주) 다원에서, 재래종(재배찻잎)은 5월 15일 전남 보성군 백록 다원에서 채엽하였다. 모든 품종에서 1창 2-3엽을 손으로 채엽하였다.
- 채엽한 잎은 하룻밤 동안 위조해 두었다가 실험 1의 제다공정으로 황차를 제다하였다. 개발한 황차에서 맛, 당색 색도, 클로로필, 비타민 C, 카테킨, 무기물함량을 조사, 분석하였다.

- 채엽기별 발효차 맛과 주요 특성을 조사하기 위해, 재래종(야생 찻잎)은 2012년 4월 23일, 4월 28일, 5월 12일, 5월 9일, 6월 2일, 6월 28일, 8월 28일 전남 함평군 소재 주변 해발 200~500m 야산에서 채엽하였다. 재래종(재배 찻잎)은 같은 시기, 보성군 소재 백록다원에서 채엽 하였다.
- 차 추출물에서 맛, 색도, 비타민 C, 총폴리페놀, 카테킨과 무기물함량을 조사 분석하였다.

제 3 절 연구결과






1. 미생물발효차 유래 발효 우수균주 선발 및 발효 공정 개발





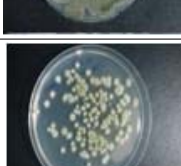

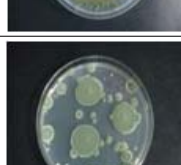
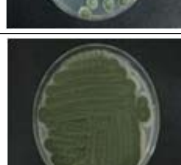
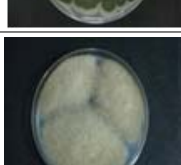

1) 미생물발효차 유래의 생육 미생물의 확보 및 거동

(1) 미생물발효차 유래의 생육 미생물 확보

- 국내외에서 유통 중인 다양한 미생물발효차 완제품 시료, 중국의 현지 공장에 의뢰하여 채취한 제조(발효)과정 중 시료, 중국의 발효차 제조기술자를 초청하여 국내에서 중국의 현지 제조방법을 재현하는 실험과정 중 채취된 시료 등 총 800여종의 시료로부터 54종의 미생물을 분리, 확보하였다.



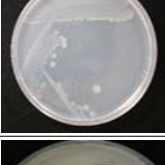

표 1-1. 미생물 발효차로부터 분리된 미생물 54종 리스트

Scientific name	Picture	Source	Character
AN091		중국산 숙병에서 검출 중국산 청병에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 중온고온균(45~50℃) 토양, 퇴비더미에서 발견
AN092		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 27℃ 중온균(20~45℃) 유기산 생성균.
AF211		중국산 숙병에서 검출 중국산 청병에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 중온고온균(45~50℃) 토양, 퇴비더미에서 발견
AT011		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 27℃ 간장, 된장 발효에 사용 Kojic acid 생산
AO031		한국산 미생물발효차 제다과정 시료 중 일부 모차에서 검출	최적 성장조건 : 24~31℃ 저장곡류, 견과류, 훈연식품 건조식품에서 발견

Scientific name	Picture	Source	Character
AH051		중국모차와 증청모차를 제외한 한국산 미생물발효차 제다과정 시료에서 일부 검출되며 발효 중후반에 관여	최적 성장조건 : 24℃ Ergosterol 생성
PO031		중국산 미생물발효차 제다과정 시료에서 일부 검출	최적 성장조건 : 29℃ 자연계에 널리 분포 α -galactosidase 생성
PV051		중국산 미생물발효차 제다과정 시료에서 일부 검출 국내 미생물발효차 제조과정 중 검출되며 발효 중후반에 관여	최적 성장조건 : 30℃ 자연계 널리 존재하며 농산물 분해효소 생성, D-xylanase 생성
PP211		국내 미생물발효차 제다과정 시료에서 일부 검출 국내 미생물발효차 제조과정 중 검출되며 발효 중후반에 관여	최적 성장조건 : 24℃ 식물병원체로 토양에서 분리 Citroviridin 생성
PG051		중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최근 동정된 균주 균주정보 없음
PC091		중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 저장곡류에서 주로발견
PC151		중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 24℃ Ochratoxin 생성균주
PG121		중국산 숙병에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 24℃ 식물, 식품 부패균
MR011		중국 모차와 증청 모차를 제외한 5종의 찻잎에서 국내 미생물 발효차 제다과정 시료에서만 소량 검출	최적 성장조건 : 24℃ 전통장류 및 메주에서 분리 단백질 분해효소 생성
CC121		국내 미생물 발효차 제다과정 시료 중 야부키다 모차에서만 일부 검출	최적 성장조건 : 24℃ 곡류, 육류, 섬유소 등 부패 자연계 널리 분포

Scientific name	Picture	Source	Character
CC151		국내산 미생물 발효차에서 검출	최적 성장조건 : 25℃ 자연계 널리분포 곰팡이 독소 생성 피부 및 발톱 감염 관련균주
CB151		중국산 보이차 중 안차, 2000년도 호남성 제품 총 2 종에서 소량 검출 중국산 및 국내산 미생물 발효차 제다과정 시료는 검출되지 않음	최적 성장조건 : 24℃ 토양에서 분리 식물 병원체
EC081		중국 보이차 중 전차, 안차 등 총 3종의 시료에서 검출	최적 성장조건 : 26℃ Pullulan생성(점착성 식품첨가물) Gliotoxin 생성
EC181		주로 중국산 청병 보이차에서 검출되나 복전차, 강전 등 일부 중국 숙병 보이차에서도 검출됨.	최적 성장조건 : 25℃ Amylase, 산화효소 생성 차내의 전분, 단백질, 페놀화합물을 인체에 유익한 물질로 바꿈
LR011		중국산 숙병에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 24℃ 고온균(45℃ 이상에서 성장가능)
RP211		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 25℃ 고온균(45~70℃에 생육)
RS201		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	검은빵곰팡이 15~80℃에서 생육.
SB181		극소수 발견된 균주로 주로 중국 숙병 보이차에서 검출되나 일부 청병에도 존재	최적 성장조건 : 27℃ 메주에서 분리 단백질분해효소인 α -galactosidase 생성
TC151		중국 모차를 제외한 국산 미생물 발효차 제다과정 시료 중 대부분 검출 대부분의 샘플에서 발효 중반(발효시작 30일 후)이후에 관여	최적 성장조건 : 24℃ 나무 부패균 발효균주로 사용
RP011		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 24℃ Urea 생성균, 해양효모

Scientific name	Picture	Source	Character
CT181		국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 27°C 사람의 피부, 동물의 비강, 기도, 소화관에 많이 분포
DH011		중국 미생물발효차 제조과정에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정에서 검출	최적 성장조건: 24°C 내염성 산막효소(NaCl 20~24% 생육가능) 흙, 건초, 곡류 등
DA211		국내 미생물발효차 제다과정에서 검출 발효 후반에 대차와 야부키다 모차 발효 시료에서 소량 검출	최적 성장조건 : 28°C 내염성 효모 식물 병원균
SC091		국내에서 발효한 발효차에서 검출됐으며, 5월 모차로 발효시킨 시료의 우점종	최적 성장조건 : 30°C 토양에서 분리 탄저균과 역병균에 대한 항균력
SA121		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 전 반적으로 발효과정에 우점종으로 작용	최적 성장조건: 26°C
SG011		중국 미생물발효차 제조과정 시료에서 발효 초반에 일부검출	최적 성장조건: 37°C 피부, 닭 aerobic 분류 : bacteria, 근충병원성세균
BF011		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 발효 중·후반에 검출	최적 성장조건: 30°C 착유기
AE181		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 발효 중·후반에 검출되며 국내산 찻잎에서 다량 확인	최적 성장조건: 30°C 토양, erythromycin생성균주
BC051		6월, 7월 모차에서 극소량 검출	토양, 바닷물, 칠면조, 닭고기, 30°C, aerobic, 분류 : bacteria, α -amylase분비
PP121		국내에서 제조한 발효차 발효 중·후반에 검출	은어, 28°C

Scientific name	Picture	Source	Character
MB011		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 검출	생활오수, 30°C, aerobic, 분류 : actinomycetes(방선균류)
PA071		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 극소량 검출	무릎상처, 치아플라그, 30-37°C, Facultative anaerobic 분류 : bacteria
AA041		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 발효 초·중반에 검출된 후 후반에 감소	토양, 25°C, aerobic 분류 : yeast
BS211		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 발효 중반에 소량으로 검출	최적 성장조건: 30°C 건초, 토양, aerobic 분류 : bacteria
ST081		국내에서 제조한 발효차 시료의 발효 후반에 일부 검출	최적 성장조건: 45°C 신선한 말고기와 돼지 비료, 고온
BF011		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 발효 중·후반에 소량 검출	최적 성장조건: 30°C 토양, aerobic
BM011		중국산 숙병 보이차에서 극소량 검출	최적 성장조건: 30°C 토양, aerobic
TH011		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 일부 시료에서 극소량 검출	최적 성장조건: 4-45°C aerobic 분류 : bacteria
PI121		발효 초·중반에 극소량 검출	최적 성장조건: 37°C 토양, anaerobic 분류 : bacteria
BM051		국내에서 수행한 발효차 제조과정 시료 중 일부에서 검출	최적 성장조건: 30°C 토양

Scientific name	Picture	Source	Character
BG091		국내에서 제조한 발효차 시료 중 발효 초반에 검출	최적 성장조건: 30°C 인삼발 토양, aerobic 분류 : bacteria
BA131		중국산 숙병 보이차에서 극소량 검출 국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 모차 및 발효 중·후반에 일부 검출	최적 성장조건: 30°C 토양, aerobic 분류 : bacteria amylase, protease분비
BM251		중국에서 수행한 미생물발효차 제다과정 시료 중 발효 중반에 일부 시료에서 검출	최적 성장조건: 25°C 토양, aerobic 분류 : bacteria
BP211		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 극소량 검출되며 발효 초반에 나타남	최적 성장조건: 30°C 지하철 공기, 김치, aerobic 분류 : bacteria
OI141		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 극소량 검출	최적 성장조건: 28°C 혈액배양물, aerobic 분류 : bacteria
BL091		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 일부 시료에서 검출	최적 성장조건: 30-45°C 토양, aerobic 분류 : bacteria, alkaline
B0121		국내에서 수행한 발효차 제조과정 중 일부 시료에서 검출	최적 성장조건: 30°C 흰개미소화관 분류 : bacteria
BM012		중국산 숙병 보이차에서 극소량 검출 국내에서 수행한 발효차 제조과정 시료 중 발효 초·중반에 검출	최적 성장조건: 37°C 적수, aerobic 분류 : bacteria

(2) 미생물발효차 발효 과정 중의 pyrosequencing에 의한 미생물의 다양성 확인

가. 중국 현지 발효과정 중 시료의 미생물 다양성 확인

가) 중국 현지 A공장

- 중국 현지의 미생물발효차의 제조과정 중 차에 생육하는 미생물 중 fungi 군집의 변화를 알아보고자, 발효 1주, 3주 그리고 5주째의 시료들로부터 DNA를 추출하여 증폭하여 염기서열 분석을 행하였다.
- 발효 과정 중 미생물발효차에 존재하는 fungi 군집들을 속(genus) 수준으로 변화양상을 분석한 결과(표 1-2-A), 발효 1주째에는 *Aspergillus*속이 76.02%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 *Neosartorya*속(9.33%), *Debaryomyces*속(4.70%)과 *Penicillium*속(4.89%) 이었다. 발효 3주째에는 *Aspergillus* 속이 59.99%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 *Neosartorya*속(17.45%), *Debaryomyces*속(8.84%)과 *Wallemia*속(5.62%) 이었다, 그리고 *Thermomyces*속(4.42%) 등의 순으로, 총 9속이 존재하고 있었다. 발효 5주째에서는 *Aspergillus*속(46.92%), *Neosartorya*속(19.31%), *Debaryomyces*속(18.68%), *Thermomyces*속 (6.97%)과 *Penicillium*속(4.07%) 등의 순으로 관찰되었다.
- 미생물발효차 제조과정 중 우점속으로 나타난 3종의 속들을 대상으로 발효과정 중 그 변화 양상을 보다 면밀히 검토해 본 결과, Ascomycota문에 속하는 *Aspergillus* 속은 발효 1주째에 가장 많이 존재하고 있었고 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하였으나 발효차 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다. Ascomycota문에 속하고 발효 1주째에 *Aspergillus*속 다음으로 많았던 *Neosartorya*속은 발효 3주째 증가 하였고, 발효기간이 경과함에 따라 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. *Debaryomyces*속은 발효 5주째 급격히 증가 하였고, 발효기간이 경과함에 따라 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이상의 연구 결과로부터 미생물발효차에 관여하는 곰팡이들이 매우 다양하고 특히 발효기간이 경과함에 따라 우종속인 *Aspergillus*속, *Neosartorya*속, 그리고 *Debaryomyces*속을 중심으로 크게 변화됨을 확인하였다.

표 1-2-A. Changes of genus-level abundance(%) for fungi communities in fermented tea during fermentation

communities	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Aspergillus	76.02	59.99	46.92
Neosartorya	9.33	17.45	19.31
Debaryomyces	4.70	8.84	18.68
Penicillium	4.89	0.65	4.07
Gliocladium	1.00	1.17	1.08
Wallemia	1.21	5.62	0.07
Rhizomucor	0.43	1.03	0.34
Thermomyces	0.00	4.42	6.97
Microascus	0.00	0.12	1.80

가) 중국 현지 B공장

- 미생물발효차의 제조과정 중 차에 생육하는 미생물 중 fungi 군집의 변화를 알아보고자, 발효 1주, 3주 그리고 5주째의 시료들로부터 DNA를 추출하여 증폭하여 염기서열 분석을 행하였다.
- 발효 과정 중 미생물발효차에 존재하는 fungi 군집들을 속(genus) 수준으로 변화 양상을 분석한 결과(표 1-2-B), 발효 1주째에는 Aspergillus속이 81.47%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Rhizomucor속(8.20%), Penicillium속(3.34%), 그리고 Neosartorya속(3.27%) 이었다. 발효 3주째에는 Aspergillus속이 82.52%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Neosartorya속(4.42%), 그리고 Penicillium속(3.05%)등의 순으로, 총 9속이 존재하고 있었다. 발효 5주째에서는 Aspergillus속(69.65%), Penicillium속(8.62%), Neosartorya속 (6.84%), Debaryomyces속(5.07%), Thermomyces속(4.69%)과 Gliocladium속(1.20%)등의 순으로 총 8속이 관찰되었다.
- 미생물발효차 제조과정 중 우점속으로 나타난 5종의 속들을 대상으로 발효과정 중 그 변화 양상을 보다 면밀히 검토해 본 결과, Ascomycota문에 속하는 Aspergillus속은 발효 1주째에 가장 많이 존재하고 있었고 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하였으나 발효차 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다.

Ascomycota문에 속하는 Penicillium속은 3주째에 감소하였으며, 5주째 다시 증가하는 경향을 나타내었다. Mucorales_p문에 속하고 발효 1주째에 Aspergillus속 다음으로 많았던 Rhizomucor속은 발효 3주째에 감소하였으며, 5주째에 다시 증가하였다. Neosartorya속은 발효기간이 경과함에 따라 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

표 1-2-B. Changes of genus-level abundance(%) for fungi communities in fermented tea during fermentation

communities	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Aspergillus	81.47	82.52	69.65
Neosartorya	3.27	4.42	6.84
Debaryomyces	1.07	2.01	5.07
Penicillium	3.34	3.05	8.62
Gliocladium	0.78	1.24	1.20
Rhizomucor	8.20	0.40	0.96
Wallemia	1.25	0.00	0.11
Thermomyces	0.00	2.69	4.69

나. 국내 자연 발효과정 중 시료의 미생물 다양성 확인

가) 국내 자연발효 A조건(국내 소엽종, 국내에서 중국 현지조건 재현)

- 국내 소엽종 찻잎을 이용하여 제조한 모차를 이용하여 중국 현지조건인 방법과 동일하게 국내에서 재현하여 미생물발효차를 제조하는 과정 중에 존재하는 fungi 군집을 속(genus)수준으로 분석하였으며, 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 속들을 표 1-3에 제시하였다.
- 미생물발효차에서 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 fungi 군집은 총 5속이었으며, 이 중 Aspergillus속, Debaryomyces속, Filobasidiella속, Penicillium속 등이 많이 분포하고 있어, 미생물발효차에 존재하는 우점속으로 해석되었다.
- 또한, 발효 과정 중 미생물발효차에 존재하는 fungi 군집을 속(genus) 수준으로 변화 양상을 분석한 결과, 발효 1주째에는 Aspergillus 속이 83.81%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Filobasidiella속(15.02%) 이었다. 발효 3주째에는 Aspergillus

속이 72.56%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Debaryomyces속 (21.26%), Neosartorya속(4.65%), 그리고 Penicillium속(0.26%)등의 순으로, 총 4속이 존재하고 있었다. 발효 5주째에서는 Aspergillus속(91.17%), Penicillium속(7.51%), Neosartorya속(0.20%)과 Debaryomyces속(0.09%) 등의 순으로 총 4속이 관찰되었다.

- 미생물발효차 제조과정 중 우점속으로 나타난 4종의 속들을 대상으로 발효과정 중 그 변화 양상을 보다 면밀히 검토해 보았다. 그 결과, Ascomycota문에 속하는 Aspergillus속은 발효 5주째에 가장 많이 존재하고 있었고 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하였으나 발효 5주째에는 급격히 증가하여 발효차 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다. Basidiomycota문에 속하고 발효 1주째에 Aspergillus속 다음으로 많았던 Filobasidiella속은 발효 1주째 이후로 검출되지 않았다. Ascomycota문에 속하는 Debaryomyces속은 발효 1주째까지 0.3% 이하로 낮은 분포를 보였으며, 발효 3주째에 크게 증가하다가 이후 감소하였다. Ascomycota문에 속하는 Penicillium속은 1주와 3주째에 0.3% 이하로 낮은 분포를 보였으며, 발효 5주째에 증가하였다.

표 1-3. Changes of genus-level abundance(%) for fungi communities in fermented tea during fermentation

communities	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Aspergillus	83.81	72.56	91.17
Neosartorya	0.02	4.65	0.20
Debaryomyces	0.27	21.26	0.09
Penicillium	0.29	0.26	7.51
Filobasidiella	15.02	0.00	0.00

나) 국내 자연발효 B조건(중국 대엽종, 국내에서 중국 현지조건 재현)

- 중국 대엽종 차잎을 이용하여 제조한 모차를 이용하여 중국 현지조건을 동일하게 국내에서 재현하여 미생물발효차를 제조하는 과정 중에 존재하는 fungi 군집을 속(genus)수준으로 분석하였으며, 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 속들을 표 1-4에 제시하였다.

표 1-4. Changes of genus-level abundance(%) for fungi communities in fermented tea during fermentation

communities	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Aspergillus	3.13	19.97	9.11
Neosartorya	0.03	4.22	3.37
Debaryomyces	64.12	62.10	50.35
Penicillium	22.12	7.11	32.23
Candida	9.86	4.55	1.74
Thermomyces	0.01	1.07	0.41







- 미생물발효차에서 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 fungi 군집은 총 6속이 있으며, 이 중 Debaryomyces속, Penicillium속, Aspergillus속, 그리고 Candida속이 발효기간이 다른 미생물발효차 내에 많이 분포하고 있어, 미생물발효차에 존재하는 우점속으로 해석되었다.
- 발효 과정 중 미생물발효차에 존재하는 fungi 군집의 변화 양상을 분석한 결과, 발효 1주째에는 Debaryomyces속이 64.12%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Penicillium속(22.12%), Candida속(9.86%), Aspergillus속(3.13%)등의 순으로 관찰되었다. 발효 3주째에는 Debaryomyces 속이 62.10%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Aspergillus속(19.97%), Penicillium속(7.11%), Candida속(4.55%)등의 순이었다. 발효 5주째에는 Debaryomyces속이 50.35%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 Penicillium속 (32.23%), Aspergillus속(9.11%), Candida속(1.74%) 등의 순으로 관찰되었다.
- 미생물발효차 제조과정 중 우점속으로 나타난 4종의 속들을 대상으로 발효과정 중 그 변화 양상을 보다 면밀히 검토해 보았다. 그 결과, Ascomycota문에 속하는 Debaryomyces속은 발효 1주째에 가장 많이 존재하고 있었고 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하였으나 발효차 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다. Ascomycota문에 속하는 Penicillium속은 발효 5주째에 가장 많이 존재하고 있었고 발효 3주째에 감소하다가 발효 5주째에 다시 증가하였다. Aspergillus속은 발효 3주째에 증가하다가 발효 5주째에 다시 감소하였으며, Candida속은 발효기간이 경과함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다.







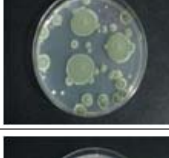


2) 미생물발효차 유래 주요 생육미생물의 선발과 균주별 최적 생육조건, 발효조건 탐색

(1) 미생물의 선발

- 국내외 다양한 미생물발효차 완제품, 미생물 발효과정 및 저장과정 중 시료부터 분리한 총 54종의 미생물로부터 문헌검색, 검출빈도수, 선행연구(농림수산식품부 농림기술개발사업, 한국산 미생물발효차의 제조기술개발, 목포대학교 산학협력단, 2008.6-2011.6), pyrosequencing에 의한 미생물의 다양성 결과 등 고려하여 미생물 발효차 발효시험 후보균주로 15종을 선택하였다(표 1-5).
- 또한 이들 15종의 균주는 유전자원등록(균주등록)을 통해 지적 재산을 확보하였다.

표 1-5. 주요 미생물 15종 리스트

scientific name	Picture	Source	Character
AN091		중국산 숙병(6종)에서 검출 중국산 청병(1종)에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정(59종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(417종)에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 중온고온균(45~50℃) 토양, 퇴비더미에서 발견
AN092		국내 미생물발효차 제조과정(201종)에서 검출	최적 성장조건: 27℃ 중온균(20~45℃) 유기산 생성균.
AF211		중국산 숙병(6종)에서 검출 중국산 청병(1종)에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정(59종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(417종)에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 중온고온균(45~50℃) 토양, 퇴비더미에서 발견
AF212		국내 미생물발효차 제조과정(5종)에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 중온고온균(45~50℃)
PG051		중국 미생물발효차 제조과정(11종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(105종)에서 검출	최근 동정된 균주 균주정보 없음
RP211		국내 미생물발효차 제조과정(417종)에서 검출	최적 성장조건: 25℃ 고온균(45~70℃생육 가능)

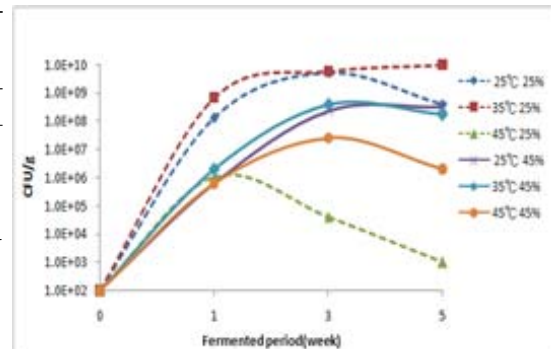
scientific name	Picture	Source	Character
LR011		중국산 숙병(6종)에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정(13종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(164종)에서 검출	최적 성장조건: 24℃ 고온균(45℃이상에서 성장가능)
DH011		중국 미생물발효차 제조과정(52종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(119종)에서 검출	최적 성장조건: 24℃ 내염성 산막효소(NaCl 20~24℃ 생육가능) 흙, 건초, 곡류 등
PG121		중국산 숙병(19종)에서 검출 중국 미생물발효차 제조과정(5종)에서 검출	최적 성장조건: 24℃ 식물, 식품 부패균
PC091		중국 미생물발효차 제조과정(35종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(82종)에서 검출	최적 성장조건: 26℃ 저장곡류에서 주로 발견
RS201		국내 미생물발효차 제조과정(70종)에서 검출	검은빵곰팡이 15~80℃에서 생육.
AT011		국내 미생물발효차 제조과정(8종)에서 검출	최적 성장조건: 27℃ 간장, 된장 발효에 사용 Kojic acid 생산
PC151		중국 미생물발효차 제조과정(21종)에서 검출 국내 미생물발효차 제조과정(47종)에서 검출	최적 성장조건: 24℃ Ochratoxin 생성균주
RP011		국내 미생물발효차 제조과정(7종)에서 검출	최적 성장조건: 24℃ Urea 생성균, 해양효모
CT181		국내 미생물발효차 제조과정(4종)에서 검출	최적 성장조건: 27℃ 사람의 피부, 동물의 비강, 기도, 소화관에 많이 분포

(2) 주요 미생물의 최적 생육조건 및 발효조건 탐색

가. AN091

- AN091의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 온도의 경우 동일한 수분함량에서는 25℃와 35℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 또한, 45℃에서 발효한 경우 1~3주 사이에 다른 온도 조건에 비해 성장률이 급격히 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 AN091의 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

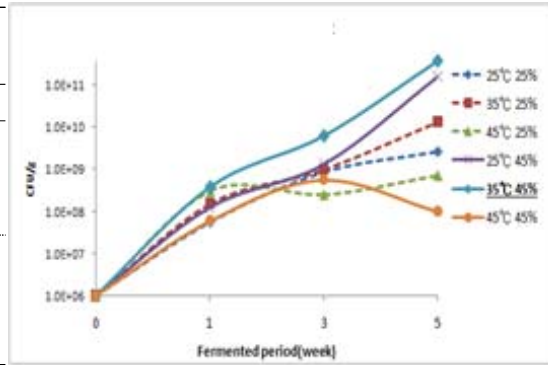
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.3×10^8	5.2×10^9	4.0×10^8
	35℃	7.0×10^8	6.0×10^9	1.0×10^{10}
	45℃	1.1×10^6	2.0×10^2	-
45%	25℃	6.4×10^5	2.4×10^8	3.2×10^8
	35℃	2.0×10^6	3.9×10^8	1.7×10^8
	45℃	6.2×10^5	2.6×10^7	2.0×10^6



나. AN092

- AN092의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 동일한 수분함량에서는 25℃와 35℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 또한, 45℃에서 발효한 경우 3주가 지나면서 다른 온도 조건에 비해 성장률이 급격히 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 AN092의 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

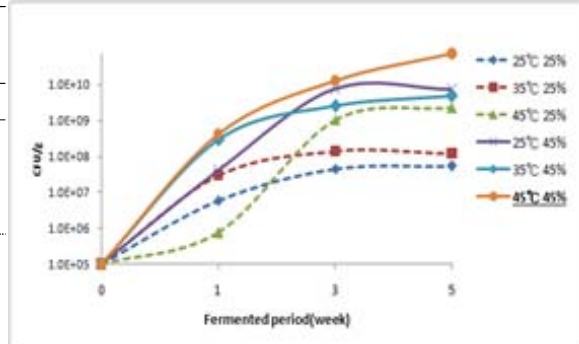
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	5.7x10 ⁷	8.5x10 ⁸	2.7x10 ⁹
	35°C	1.6x10 ⁸	1.0x10 ⁹	1.3x10 ¹⁰
	45°C	3.1x10 ⁸	2.5x10 ⁸	7.2x10 ⁸
45%	25°C	1.3x10 ⁸	1.3x10 ⁹	1.6x10 ¹¹
	35°C	4.0x10 ⁸	6.4x10 ⁹	3.7x10 ¹¹
	45°C	6.1x10 ⁷	5.6x10 ⁸	1.0x10 ⁸



다. AF211

· AF211의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 45°C의 조건에서 우수한 성장률을 보였으며, 25°C와 35°C에서 발효한 경우 대부분 1주까지는 급격히 성장하다가 그 이후 둔화되는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 AF211의 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 45°C임을 확인할 수 있었다.

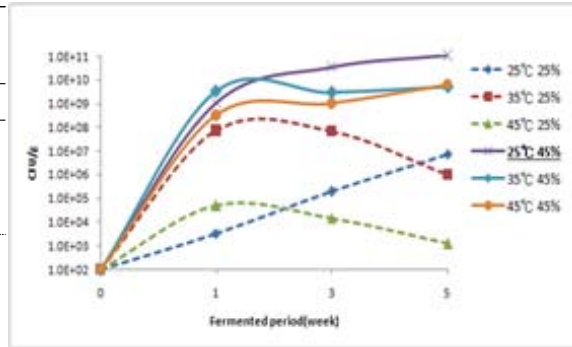
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	5.9x10 ⁶	4.5x10 ⁷	5.4x10 ⁷
	35°C	3.0x10 ⁷	1.4x10 ⁸	1.2x10 ⁸
	45°C	7.6x10 ⁵	1.0x10 ⁹	2.3x10 ⁹
45%	25°C	4.1x10 ⁷	7.8x10 ⁹	7.5x10 ⁹
	35°C	2.9x10 ⁸	2.5x10 ⁹	4.8x10 ⁹
	45°C	4.3x10 ⁸	1.3x10 ¹⁰	7.1x10 ¹⁰



라. AF212

· AF212의 최적생육 조건을 알아보기 위해 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량과 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분함량 45%에서 25%의 수분함량보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 25°C의 발효온도에서 가장 우수한 성장률을 보였다. 이상의 결과를 토대로 AF212의 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25°C임을 확인할 수 있었다.

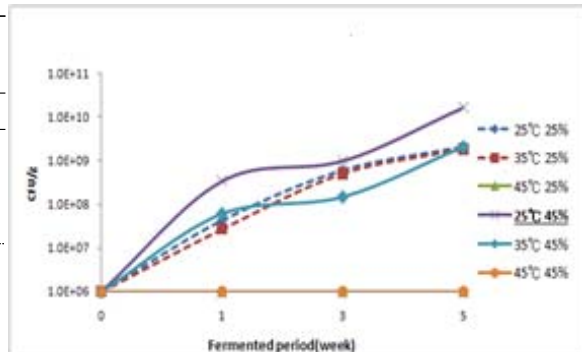
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	3.2x10 ³	1.9x10 ⁵	7.6x10 ⁶
	35°C	7.3x10 ⁷	7.0x10 ⁷	1.0x10 ⁶
	45°C	4.9x10 ⁴	1.5x10 ⁴	1.2x10 ³
45%	25°C	1.1x10 ⁹	3.4x10 ¹⁰	1.1x10 ¹¹
	35°C	3.4x10 ⁹	3.0x10 ⁹	5.0x10 ⁹
	45°C	3.2x10 ⁸	1.0x10 ⁹	6.5x10 ⁹



마. AT011

- AT011의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C의 발효온도 하에서 균주 생육이 관찰되지 않았으며, 수분함량 45%, 발효온도 25°C의 조건에서 가장 우수한 성장률을 나타내 수분함량 45%, 발효온도 25°C가 최적 생육조건임을 확인하였다.

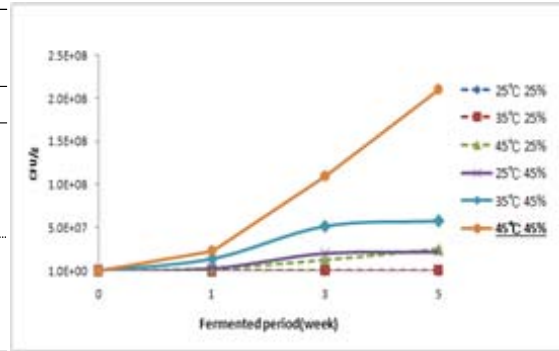
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	4.3x10 ⁷	6.0x10 ⁸	2.1x10 ⁹
	35°C	2.7x10 ⁷	5.0x10 ⁸	1.8x10 ⁹
	45°C	-	-	-
45%	25°C	3.5x10 ⁸	1.0x10 ⁹	1.7x10 ¹⁰
	35°C	6.0x10 ⁷	1.5x10 ⁸	2.2x10 ⁹
	45°C	-	-	-



바. RP211

- RP211의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량과 발효온도가 높을수록 균주의 성장률이 우수한 경향을 보여 수분함량 45%, 발효온도 45°C가 RP211의 최적 생육조건임을 확인할 수 있었다.

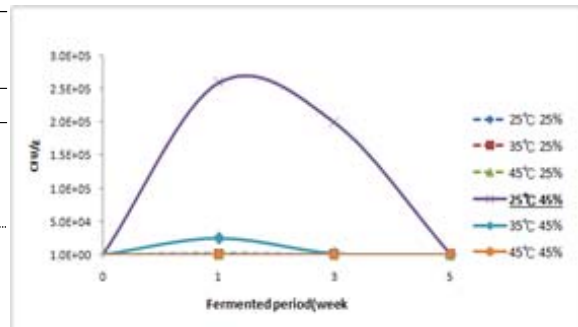
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	1.9x10 ³	5.0x10 ³	3.0x10 ²
	35°C	1.4x10 ⁵	4.0x10 ⁵	5.2x10 ⁵
	45°C	3.2x10 ⁶	1.3x10 ⁷	2.5x10 ⁷
45%	25°C	3.0x10 ⁶	2.0x10 ⁷	2.2x10 ⁷
	35°C	1.4x10 ⁷	5.2x10 ⁷	5.8x10 ⁷
	45°C	2.3x10 ⁷	1.1x10 ⁸	6.1x10 ⁸



사. RS201

- RS201의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 생장률을 측정하였다. 그 결과, 수분함량 45%, 발효온도 25°C 이외의 조건에서는 생육이 되지 않거나 미비하였다. 따라서 RS201의 최적 생육 조건은 수분함량 45%, 발효온도 25°C 인 것으로 판단되었다.

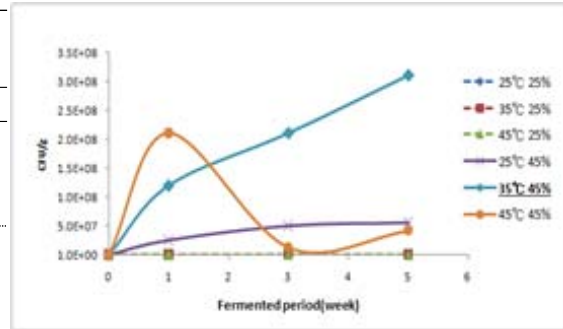
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	2.0x10 ³	1.5x10 ²	-
	35°C	-	-	-
	45°C	-	-	-
45%	25°C	2.6x10 ⁶	2.0x10 ⁵	1.5x10 ²
	35°C	2.5x10 ⁴	1.5x10 ³	-
	45°C	-	-	-



아. LR011

- LR011의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 생장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량 조건보다 45%의 수분함량 조건에서 생육이 활발한 것으로 나타났다. 또한, 수분함량 45% 조건에서 발효온도가 45°C 일 때는 발효 1주까지 균주 생장률이 가장 우수했으나 1주 이후 급격히 균수가 감소하는 반면, 수분함량 45%, 발효온도 35°C 조건의 경우 5주까지 균주 생장률이 꾸준히 증가하는 경향을 나타내 LR011의 최적 생장 조건은 수분함량 45%, 발효온도 35°C 인 것으로 확인되었다.

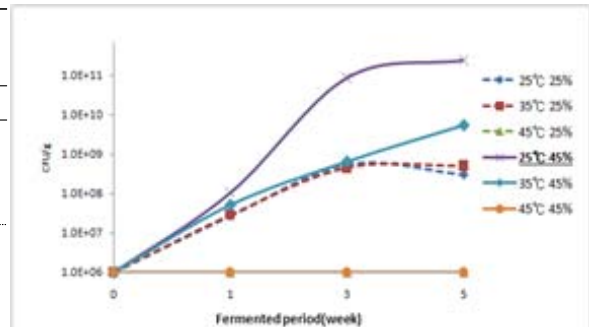
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	2.5x10 ⁴	1.1x10 ³	1.0x10 ³
	35°C	4.8x10 ⁵	1.3x10 ⁶	3.0x10 ⁵
	45°C	-	3.3x10 ⁵	2.3x10 ⁴
45%	25°C	2.5x10 ⁷	5.0x10 ⁷	5.5x10 ⁷
	35°C	1.2x10 ⁸	3.0x10 ⁸	6.1x10 ⁸
	45°C	2.1x10 ⁸	1.3x10 ⁷	4.2x10 ⁷



차. PG051

- PG051의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량 25% 조건보다 45% 조건에서 발효시킬 때 생육이 활발한 것으로 나타났다. 또한, 발효초기인 1주까지는 발효온도 45°C를 제외한 모든 조건에서 성장률이 비슷하였으나 3주부터 수분함량 45%, 발효온도 25°C의 조건에서 균수가 급격히 증가하는 경향을 보여 PG051의 최적 성장 조건임을 확인할 수 있었다.

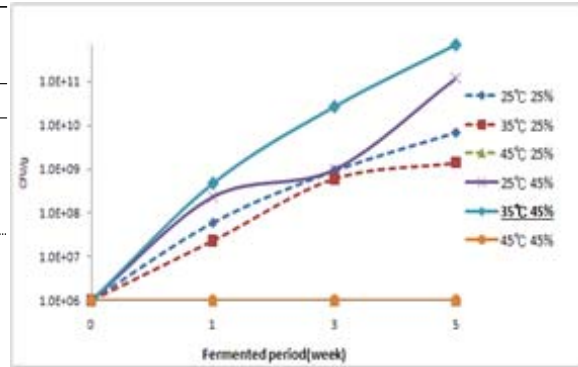
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	2.7x10 ⁷	5.5x10 ⁸	3.1x10 ⁸
	35°C	2.8x10 ⁷	4.5x10 ⁸	5.0x10 ⁸
	45°C	-	-	-
45%	25°C	1.0x10 ⁸	8.6x10 ¹⁰	2.4x10 ¹¹
	35°C	5.1x10 ⁷	6.5x10 ⁸	5.4x10 ⁹
	45°C	-	-	-



차. PG121

- PG121의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량 45%, 발효온도 35°C 조건으로 발효시킬 경우 다른 조건들보다 발효 5주까지 균수가 꾸준히 증가하는 경향을 보여 PG121의 최적 성장 조건임을 확인할 수 있었다.

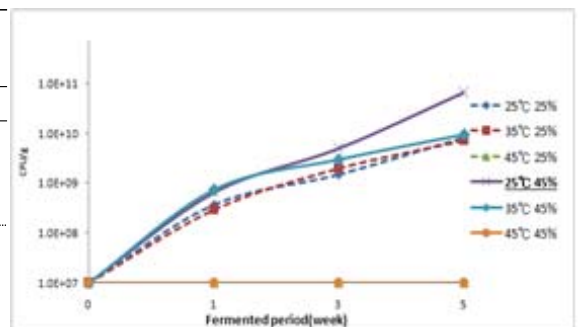
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	6.0x10 ⁷	9.0x10 ⁸	6.8x10 ⁹
	35°C	2.3x10 ⁷	6.0x10 ⁸	1.4x10 ⁹
	45°C	-	-	-
45%	25°C	2.3x10 ⁸	1.0x10 ⁹	1.2x10 ¹¹
	35°C	4.8x10 ⁸	2.8x10 ¹⁰	7.0x10 ¹¹
	45°C	-	-	-



카. PC091

· PC091의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 그 이외의 조건에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 수분함량 45%, 발효온도 25°C의 조건에서 발효시킬 경우 발효 3주까지 그 외의 조건과 유사한 경향을 보이다 3주 이후부터는 다른 조건에 비해 균수보다 증가폭이 커지는 경향을 보여 이 조건을 PC091의 최적 성장 조건으로 판단하였다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	3.7x10 ⁷	1.5x10 ⁹	8.1x10 ⁹
	35°C	3.0x10 ⁸	2.0x10 ⁹	7.4x10 ⁹
	45°C	-	-	-
45%	25°C	6.6x10 ⁸	5.0x10 ⁹	6.6x10 ¹⁰
	35°C	7.4x10 ⁸	3.0x10 ⁹	9.4x10 ⁹
	45°C	-	-	-

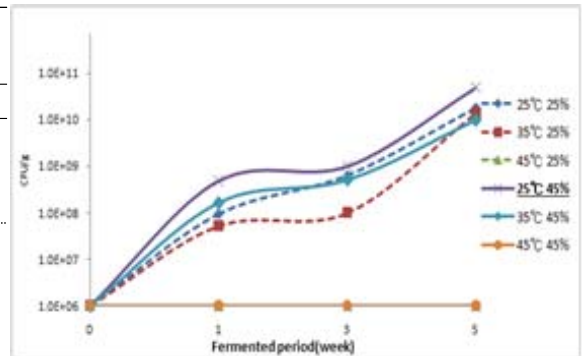


타. PC151

· PC151의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량에 따른 성장률의 차이 또한 미세한 수준이었다. 발효온도의 경우 35°C보다 25°C의 조건에서 발효된 시료에서의 균수가 많았으며 전체적으로 수분함량 45%, 발효온도 25°C에서 발효된 시료의 성장률이 가장 높아 이 조건을 PC151의 최적 성장 조건

임으로 판단하였다.

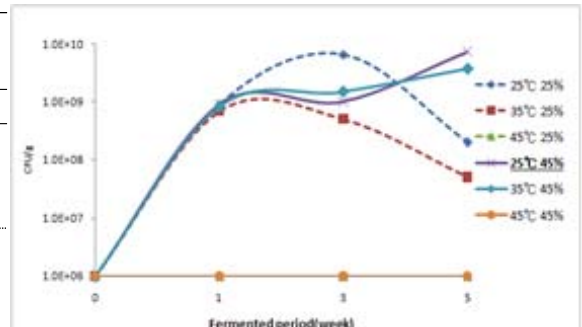
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	9.4.x10 ⁷	6.5x10 ⁸	1.8x10 ¹⁰
	35°C	5.2x10 ⁷	1.0x10 ⁸	1.4x10 ¹⁰
	45°C	-	-	-
45%	25°C	4.8x10 ⁸	1.0x10 ⁹	4.9x10 ¹⁰
	35°C	1.7x10 ⁸	5.0x10 ⁸	1.0x10 ¹⁰
	45°C	-	-	-



과. DH011

· DH011의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량에 따른 성장률의 차이 또한 발효 1주까지 미세한 수준이었다. 발효온도의 경우 35°C보다 25°C의 조건에서 발효된 시료의 균수가 많았으며, 수분함량 25%, 발효 온도 25°C에서는 발효된 시료의 성장률이 3주까지는 가장 높았으나 3주 이후 급격히 감소하는 경향을 보였다. 반면 수분함량 45%, 발효온도 25°C에서 발효된 경우 발효 5주까지 성장률이 꾸준히 증가하는 경향을 보여 DH011의 최적 성장 조건임을 확인할 수 있었다.

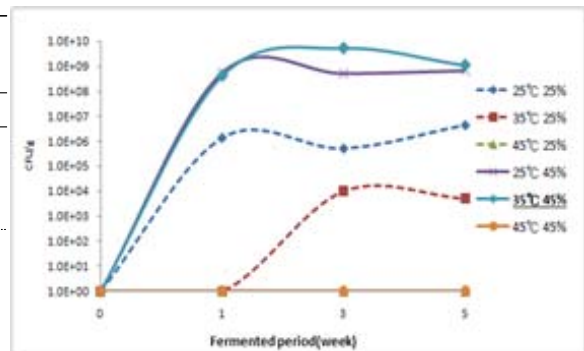
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	9.1.x10 ⁸	6.6x10 ⁹	2.0x10 ⁸
	35°C	6.9x10 ⁸	5.0x10 ⁸	5.0x10 ⁷
	45°C	-	-	-
45%	25°C	9.2x10 ⁸	1.0x10 ⁹	7.4x10 ⁹
	35°C	8.5x10 ⁸	1.5x10 ⁹	3.7x10 ⁹
	45°C	-	-	-



하. RP011

- RP011의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량에 따른 성장률의 차이는 45%가 25%보다 우수했다. 발효온도의 경우 수분함량 45%에서 발효 1주까지 25℃와 35℃에서 발효된 시료의 균수가 유사했으나, 이후 35℃에서 발효된 시료의 성장률이 증가하는 경향을 보였다. 따라서 수분함량 45%, 발효 온도 35℃의 조건이 RP011의 최적 성장 조건임을 확인할 수 있었다.

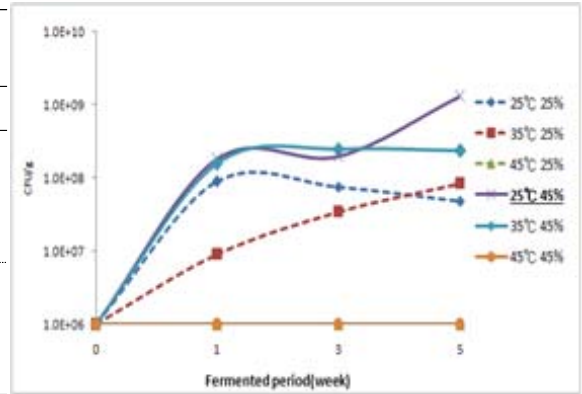
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.3×10^6	5.0×10^5	4.3×10^6
	35℃	-	1.0×10^4	5.1×10^3
	45℃	-	-	-
45%	25℃	5.5×10^8	5.0×10^8	6.5×10^8
	35℃	4.2×10^8	5.3×10^9	1.1×10^9
	45℃	-	-	-



가. CT181

- CT181의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 cfu/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분 함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량에 따른 성장률의 차이는 45%가 25%보다 우수했다. 발효온도의 경우 수분함량 45%에서의 조건에서 발효 3주까지 25℃와 35℃에서 발효된 시료에서의 균수가 유사했으나, 이후 25℃에서 발효된 시료의 성장률이 증가하는 경향을 보였다. 따라서 수분 함량 45%, 발효 온도 25℃의 조건을 CT181의 최적 성장 조건으로 판단하였다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	8.9.x10 ⁷	7.5x10 ⁷	4.8x10 ⁷
	35°C	9.1.x10 ⁶	3.5x10 ⁷	8.5x10 ⁷
	45°C	-	-	-
45%	25°C	1.8x10 ⁸	2.0x10 ⁸	1.3x10 ⁹
	35°C	1.6x10 ⁸	2.5x10 ⁹	2.4x10 ⁸
	45°C	-	-	-



3) 미생물발효차 유래 주요 생육미생물을 이용한 발효공정 탐색

(1) 미생물발효차 유래 주요 생육미생물을 이용한 미생물발효차 제조

가. 모차의 제조

가) 찻잎

- 미생물발효차의 원료가 되는 모차를 가공하기 위해 5월말, 6월말, 7월말에 찻잎을 채취하였다.
- 5월말, 6월말의 찻잎은 손 채엽을 하였고, 7월말의 찻잎은 기계채엽과 손채엽을 병행하여 채취하였다.



<기계채엽>



<손 채엽>

나) 위조 및 살청

- 생엽을 채취하여 바람이 잘 통하는 그늘에 넓게 펼쳐 찻잎의 표면에 있는 수분이 없을 정도로 시들리기(위조)를 한 후 살청을 하였다.
- 살청은 찻잎 10 kg를 회전원통형 기계를 사용하여 240°C ~250°C 에서 5~6분간 실시하였다. 찻잎의 색깔이 신선한 녹색에서 어두운 녹색으로 되었을 때 살청을 멈추었다.





다) 유념

- 기계식 디스크 방식의 유념기를 사용하여 찻잎의 상태에 따라 압력을 조절하면서 35~45분간 실시하였다.



라) 건조

- 유념이 끝난 찻잎을 잘 풀어 햇빛 건조 하였다. 건조된 찻잎이 어두운 녹색이나 진한 녹색이 될 때까지 건조하였으며 수분함량은 10%이하가 되도록 하였다.



나. 미생물발효차의 제조

가) 15종 개별 균주를 이용한 미생물 발효차 제조

- 5월, 6월, 7월에 채취한 찻잎을 이용하여 제조한 모차의 수분함량을 적외선 수분 측정기(i-thermo 163L, USA)를 이용하여 측정한 후 레토르트 파우치에 각각의 모차를 200g씩 넣은 다음 밀봉하였다. 이를 레토르트 멸균장치(HX196, Hansin medical co. LTD, Korea)를 이용하여 121℃로 20분간 멸균 처리하였다. 멸균처리된 레토르트파우치 내의 모차에 1g의 단일균주 모배양 찻잎 또는 1×10^5 CFU/200g의 포자배양액을 접종한 후 모차의 수분함량을 25% 및 45%로 조절하기 위하여 멸균수를 첨가하였다. 각각의 균주가 접종된 모차를 각 균주의 최적생육 온도에서 1주, 3주, 5주 동안 발효시켰으며 발효가 종료된 후 55℃의 온도 조건에서 상압 건조하여 미생물 발효차를 제조하여 균주, 접종방식, 원료, 발효기간 등이 다른 90종의 미생물 발효차 시료를 확보하였다(표 1-6).

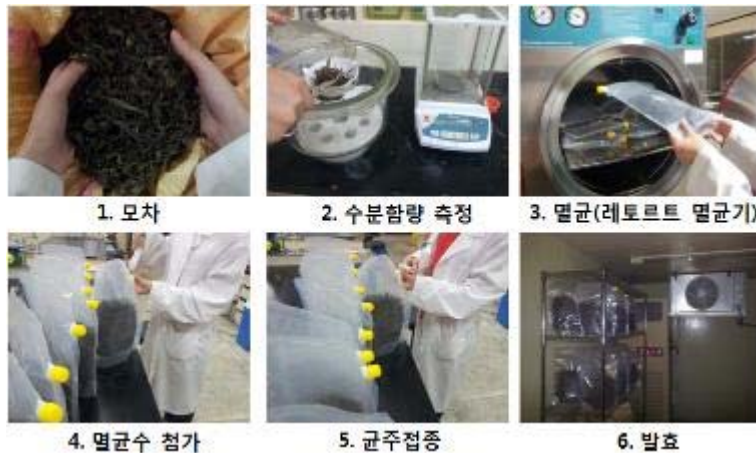


표 1-6. 15종 균주의 개별 접종을 통해 제조된 미생물 발효차 리스트

접종균주	발효 조건				
	채취시기(월)	접종방식	온도(℃)	수분함량(%)	발효기간(주)
AN091	6	포자접종	35	25	1, 3, 5
AN092	6	포자접종	35	45	1, 3, 5
AF211	6	포자접종	45	45	1, 3, 5
AF212	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
AT011	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
PG051	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
PC091	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
PC151	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
PG121	6	포자접종	35	45	1, 3, 5
RS201	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
RP211	6	포자접종	45	45	1, 3, 5
LR011	6	포자접종	35	45	1, 3, 5
DH011	6	포자접종	25	45	1, 3, 5
RP011	6	포자접종	35	45	1, 3, 5
CT181	6	포자접종	35	45	1, 3, 5
AN091	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	25	5
AN092	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	45	5
AF211	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	45	45	5
AF212	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
AT011	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
PG051	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
PC091	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
PC151	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
PG121	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	45	5
RS201	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
RP211	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	45	45	5
LR011	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	45	5
DH011	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	25	45	5
RP011	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	45	5
CT181	5, 6, 7	모배양 찻잎 접종	35	45	5

나) 15종 혼합 균주 첨가 발효를 이용한 미생물 발효차 제조

- 5월, 6월, 7월에 각각 채취한 찻잎을 이용하여 제조한 모차를 이용하여 다양한 제조 조건을 통해 15종의 혼합 균주를 첨가하여 발효시킨 발효차의 특성을 알아보기 위하여 다음과 같은 방법으로 미생물 발효차를 제조하여 미생물발효차 시료 46종(BIN-101~BIN-146)을 확보하였다(표 1-7).

(가) 수분공급(加水)

- 원료(모차) 찻잎의 수분함량을 적외선 수분 측정기(i-thermo 163L, USA)를 이용하여 측정한 후 일정량의 물을 첨가하여 수분함량을 조절하였다.

$$* \text{가수량(\%)} = \text{원료(모차)량} \times \frac{\text{예정 수분함량(\%)} - \text{원료(모차)수분함량(\%)}}{1 - \text{예정 수분함량(\%)}}$$



<원료(모차)>



<수분공급 전>



<수분공급(加水)>

(나) 균주접종

- 5 kg의 원료(모차)에 물을 첨가하여 수분함량을 보정한 후 균주 스타터를 접종하였다. 접종이 끝나면 습한 면포를 덮고 항온·항습 조절이 가능한 발효실에 넣고 발효를 진행하였다.



<발효실>



< 발효실 내부>



< 5kg/1batch >

(다) 뒤섞기(혼합)

- 15균주 찻잎 모배양 혼합접종된 원료(모차)가 발효기간 동안 발효가 균일하게 이루어지도록 30℃ 에서 발효된 찻잎과 45℃ 에서 발효된 찻잎을 일주일에 1회씩 뒤섞기를 하여 혼합한 후 각 30℃, 45℃ 에 다시 발효시키는 방법을 이용하였다 (표 1-7).
 - 각 온도에서 발효시킨 후 혼합할 경우 +, 혼합하지 않고 해당온도에서 발효시킨 경우는 해당온도를 기입하였다.
- (예. +, +, 30 : 1주; 30℃ 와 45℃ 에서 1주일간 각각 발효 후 혼합, 2주; 혼합된

차를 나누어서 30℃와 45℃에서 1주일간 각각 발효 후 혼합, 3주; 혼합된 차를 30℃에서 1주일간 발효)

(라) 건조 및 포자제거

- 발효가 완료된 미생물발효차는 계속하여 발효가 진행되지 않도록 온도 40℃ ~ 50℃의 건조기를 이용하여 수분이 6% 이하가 되도록 건조하였다. 건조된 미생물발효차에 남아있는 포자는 풍력선별기를 이용하여 제거하였다.



<풍력선별기>

<포자제거 및 찻잎선별>

<선별된 미생물발효차>

표 1-7. 15종 혼합 균주 첨가 발효를 통해 제조된 미생물 발효차 리스트

시료명	원료	접종 방식	평균 유무	수분함량	발효조건	
					발효방식(℃)	발효기간
BIN-101	5월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-102	5월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-103	5월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-104	5월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-105	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-106	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-107	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-108	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-109	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,45	21일(7x3회)
BIN-110	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,45,30	28일(7x4회)
BIN-111	7월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-112	7월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-113	7월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-114	7월	모배양 찻잎 접종	○	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-115	6월	모배양 찻잎 접종	○	45%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-116	6월	모배양 찻잎 접종	○	45%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-117	6월	모배양 찻잎 접종	○	45%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-118	6월	모배양 찻잎 접종	○	45%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-119	5월	모배양 찻잎 접종	○	40%	45 - 45	35일(7x5회)
BIN-120	6월	모배양 찻잎 접종	○	40%	45 - 45	35일(7x5회)
BIN-121	7월	모배양 찻잎 접종	○	40%	45 - 45	35일(7x5회)
BIN-122	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,+,+,30	28일(7x4회)
BIN-123	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-124	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-125	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-126	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,45	21일(7x3회)
BIN-127	5월	모배양 찻잎 접종	X	40%	+,45,30	28일(7x4회)

BIN-128	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-129	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-130	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-131	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-132	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,45	21일(7x3회)
BIN-133	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,45,30	28일(7x4회)
BIN-134	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-135	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-136	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-137	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-138	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,45	21일(7x3회)
BIN-139	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	+,45,30	28일(7x4회)
BIN-140	6월	모배양	찾잎	접종	X	45%	+,+,+,+	28일(7x4회)
BIN-141	6월	모배양	찾잎	접종	X	45%	+,+,+,45	35일(7x5회)
BIN-142	6월	모배양	찾잎	접종	X	45%	+,+,45	28일(7x4회)
BIN-143	6월	모배양	찾잎	접종	X	45%	+,+,45,30	35일(7x5회)
BIN-144	5월	모배양	찾잎	접종	X	40%	45 - 45	35일(7x5회)
BIN-145	6월	모배양	찾잎	접종	X	40%	45 - 45	35일(7x5회)
BIN-146	7월	모배양	찾잎	접종	X	40%	45 - 45	35일(7x5회)

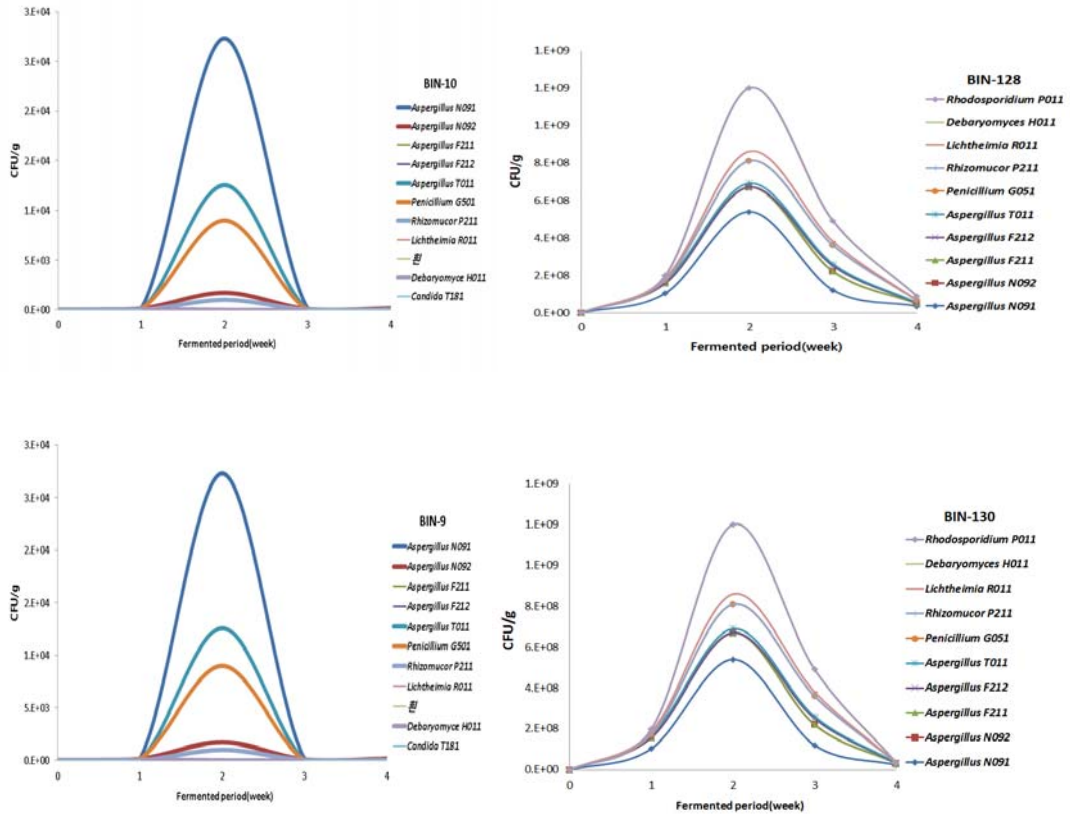
(2) 발효과정 중의 미생물 거동 확인

가. 균주 접종방식에 따른 미생물 거동

· 균주 접종 방법에 따른 미생물발효차의 발효과정 중 균주의 거동을 측정한 결과, 15균주를 각각 찾잎에 모배양하여 혼합 접종한 균(BIN-141, BIN-128, BIN-130)과 15균주의 포자를 혼합 접종한 균((BIN-31, BIN-10, BIN-9) 모두에서는 미생물 생육이 고르게 관찰되어 접종방법에 따른 발효 정도는 큰 차이가 없는 것으로 확인 되었다. 다만, 찾잎 모배양 혼합 접종이 포자혼합 접종보다 균수가 고르게 증가되는 경향을 보였으며 이는 모배양 혼합접종 시 균주가 완전히 성장한 상태라 포자혼합 접종에서처럼 포자가 균체로 받아하는 시간이 단축돼서 나타나는 결과로 추측되었다. 따라서 산업화에 적용할 경우 보다 간편한 모배양 찾잎의 혼합 접종이 적합할 것으로 판단되었다.

표 1-8. 균주 접종 방법에 따른 발효과정 중 미생물 거동

Sample	접종	모차(월)	수분함량(%)	온도 조건(℃)	비고
BIN-10	포자 혼합접종	6	40	+, +, +, +	28일(7일×4회)
BIN-128	찾잎 모배양접종	6	40	+, +, +, +	28일(7일×4회)
BIN-9	포자 혼합접종	6	40	+, +, +, 45	28일(7일×4회)
BIN-130	찾잎 모배양접종	6	40	+, +, +, 45	28일(7일x회)



나. 모차의 멸균 유무 및 발효방법에 따른 발효 미생물의 거동

- 모차의 멸균 유무에 따른 주요발효 미생물의 거동에는 큰 차이가 발견되지 않았으며, 전반적으로 2주 발효까지 최고 생육을 나타낸 후, 3주 발효부터 급격하게 생육이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.
- 멸균 유무에 따른 세균류의 생육여부를 확인한 결과, 발효과정의 일부시료에서 *Bacillus fusiformis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Aeromicrobium erytheum* 등이 검출되었으나 생육균수는 높지 않았으며, 멸균 유무에 따른 큰 차이를 보이지 않았다.
- 또한, 45°C 에서 계속 발효했을 때(BIN-120, 145)보다 1주일간격으로 30°C 와 45°C 발효에서 발효된 찻잎을 섞어주면서 진행(BIN-106, 129)할 때 균주의 생장이 골고루 진행되는 경향을 보였다.

표 1-9. 원료 모차의 멸균 여부에 따른 발효과정 중 미생물 거동

Sample	모차	접종	멸균유무	수분함량(%)	온도 조건(°C)	비고
BIN-106	6월	찻잎모배양 혼합접종	멸균○	40	+, +, +, +, 45	35일(7일×5회)
BIN-129	6월	찻잎모배양 혼합접종	멸균×	40	+, +, +, +, 45	35일(7일×5회)
BIN-120	6월	찻잎모배양 혼합접종	멸균○	40	45-45	35일(7일×5회)
BIN-145	6월	찻잎모배양 혼합접종	멸균×	40	45-45	35일(7일×5회)

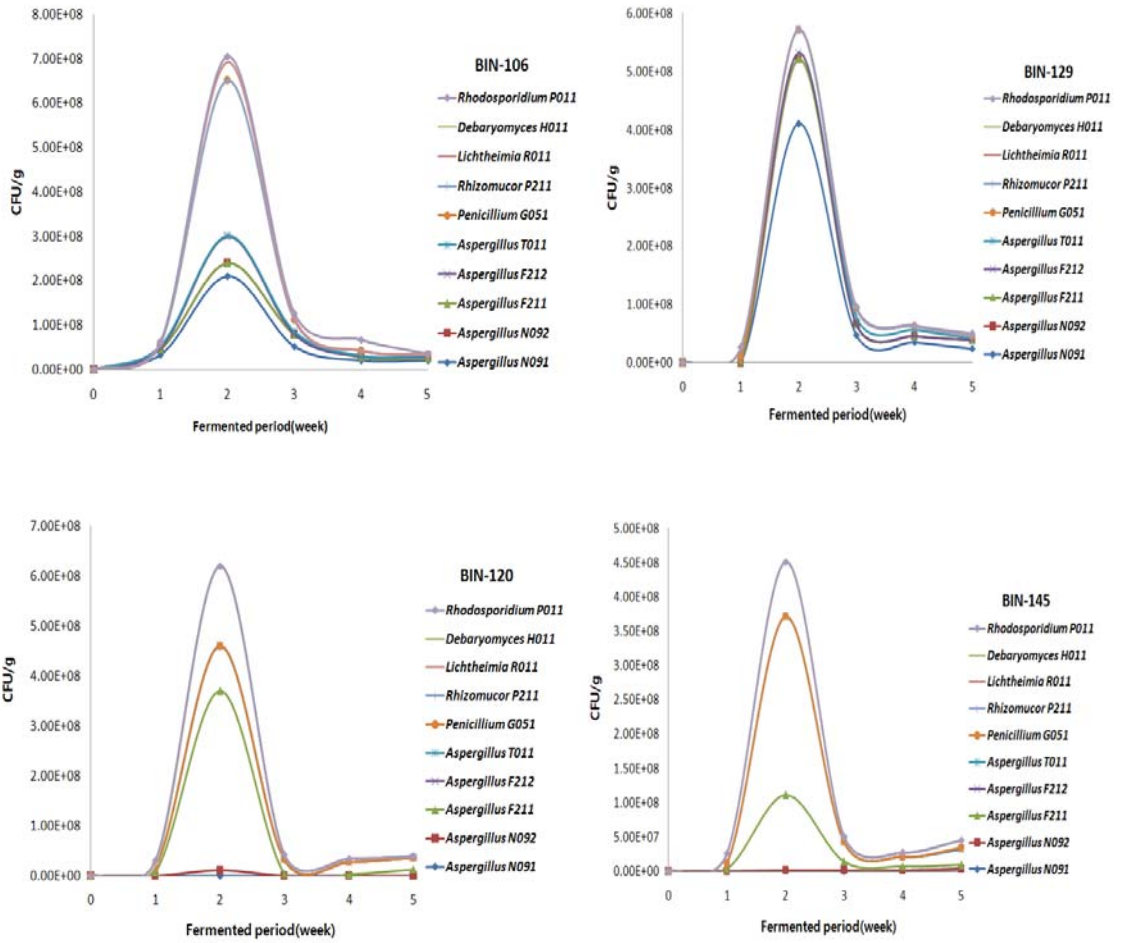


표 1-10. 원료 모차의 멸균 여부에 따른 발효과정 중 세균의 생육

시료명	원료	접종	멸균 유무	수분 함량	발효조건		Bacteria ($\times 10^5$ CFU/g)				
					발효방식 (°C)	발효 기간	1주	2주	3주	4주	5주
BIN-106	6월	모배양 찾잎접종	○	40%	+,+,+,+,45	35일 (7×5회)	-	-	-	-	1.8 ¹⁾
BIN-129	6월	모배양 찾잎접종	×	40%	+,+,+,+,45	35일 (7×5회)	-	-	-	-	-
BIN-120	6월	모배양 찾잎접종	○	40%	45 - 45	35일 (7×5회)	-	-	-	-	-
BIN-145	6월	모배양 찾잎접종	×	40%	45 - 45	35일 (7×5회)	-	-	-	-	-

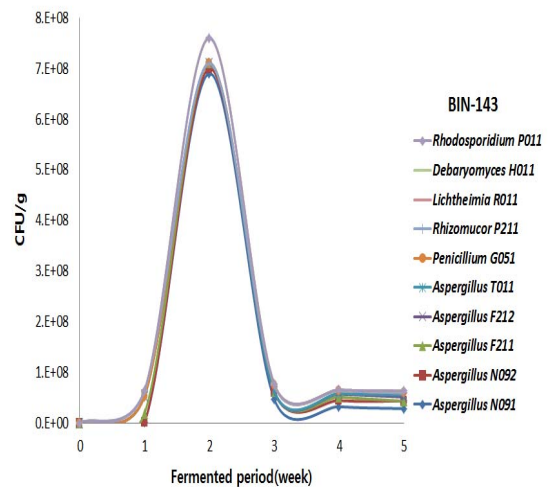
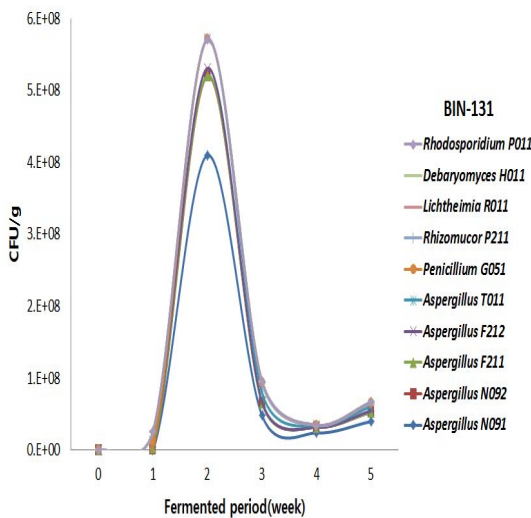
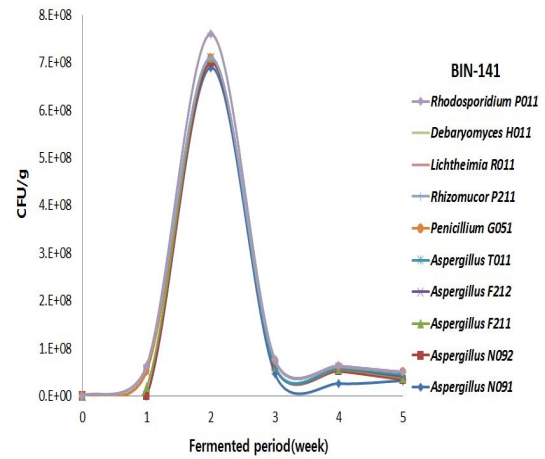
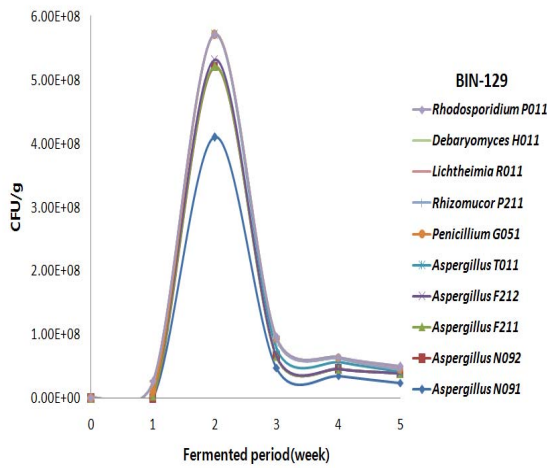
¹⁾ *Staphylococcus gallinarum*

다. 수분함량을 달리한 발효조건에 따른 미생물의 거동

- 수분함량에 따른 생육정도를 확인한 결과, 수분함량 40%보다 45%로 발효할 때 다양한 미생물이 균등하게 생육하는 경향을 보였으나 큰 차이는 나타내지 않았다.

표 1-11. 모차의 수분함량을 달리한 발효과정 중 생육미생물 거동

Sample	모차	집종	수분함량(%)	온도 조건(°C)	비고
BIN-129	6월	찾잎모배양 혼합집종	40	+, +, +, + 45	35일(7일×5회)
BIN-141	6월	찾잎모배양 혼합집종	45	+, +, +, + 45	35일(7일×5회)
BIN-131	6월	찾잎모배양 혼합집종	40	+, +, +, 45, 30	35일(7일×5회)
BIN-143	6월	찾잎모배양 혼합집종	45	+, +, +, 45, 30	35일(7일×5회)



(3) 선발된 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차의 관능적 품질 특성

가. 발효균주에 따른 미생물발효차의 관능적 품질 특성

- 찻잎 모배양 접종방식으로 각 개별 균주를 발효하여 제조한 발효차의 관능적 품질 특성을 평가한 결과(표 1-12), 색은 PG051, PC091, PC151, PG121의 균주를 배양한 발효차가 좋았으며, 맛은 RS201, RP211, LR011균주를 배양한 발효차가 좋았다. 향은 각 균주별 큰 차이가 없었으나. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 색, 향은 *Aspergillus. Penicillium* 속에 의해 발효시킬 때 좋았으며 맛은 효모에 의해 발효되었을 때 좋은 경향을 보였다.
- AT011, DH011, PC151 등의 균주를 이용하여 발효된 발효차는 관능적으로 좋은 평가를 받지 못했다.

표 1-12. 발효균주에 따른 미생물발효차의 관능적 품질 특성

Sample	Sensory characteristic		
	Color	Taste	smell
AN091	7.44±0.73 ^d	8.00±1.12 ^d	7.33±1.23 ^{cd}
AN092	9.00±1.23 ^e	6.78±0.83 ^{bc}	7.56±1.24 ^{cd}
AF211	6.44±0.53 ^c	6.44±0.88 ^{bc}	6.56±0.53 ^{bc}
AF212	8.33±0.71 ^e	8.11±1.36 ^d	8.22±1.09 ^d
AT011	5.67±0.71 ^b	4.56±0.53 ^a	5.56±1.42 ^{ab}
DH011	4.89±0.78 ^a	5.89±1.05 ^b	5.11±0.60 ^a
RP011	6.89±0.78 ^{cd}	7.33±0.71 ^{cd}	7.11±1.05 ^c
CT181	5.22±0.97 ^a	6.00±1.23 ^{ab}	6.33±1.12 ^a
PG051	7.56±0.73 ^c	6.33±1.58 ^{abc}	6.78±1.64 ^a
PC091	7.22±0.67 ^{bc}	6.44±1.24 ^{abc}	7.00±0.71 ^a
PC151	6.67±0.71 ^{bc}	5.67±1.50 ^a	6.44±1.59 ^a
PG121	8.67±0.87 ^d	8.00±1.00 ^d	7.67±1.23 ^a
RS201	6.33±0.50 ^b	7.11±0.60 ^{bcd}	6.67±1.00 ^a
RP211	6.78±1.09 ^{bc}	7.33±1.12 ^{cd}	6.78±0.67 ^a
LR011	7.56±1.24 ^c	7.00±1.23 ^{bcd}	7.00±1.80 ^a

* All value are mean±SD.

**Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c

나. 균주 접종 방식을 달리하여 제조한 미생물발효차의 관능적 품질특성

- 균주가 모배양된 찻잎을 접종하여 제조(BIN-106, 109)와 균주의 포자를 접종하여 제조한 시료(BIN-27, 23)의 관능적 품질특성을 평가하였다. 그 결과(표 1-13), 포자 접종하여 5주 동안 발효한 시료의 색이 가장 좋았고, 맛은 모배양 찻잎 접종하여 5주간 발효한 시료가 가장 좋은 평가를 받았으나 그 차이는 크지 않았다. 따라서 산업화 적용 시 편의성을 감안한다면 찻잎 모배양 접종 방식이 바람직하다고 판단되었다.

표 1-13. 선발된 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차의 관능적 특성

Sample	발효온도	발효기간	접종방식	Sensory characteristic		
				Color	Taste	smell
BIN-27	+,+,+,45	7×5	포자	8.00±1.32 ^b	6.89±1.90 ^a	7.67±1.58 ^a
BIN-23	+,+,45	7×3	포자	6.67±1.23 ^a	6.89±1.45 ^a	7.11±1.27 ^a
BIN-106	+,+,+,45	7×5	모배양찻잎	7.56±0.88 ^{ab}	7.11±0.93 ^a	7.33±1.00 ^a
BIN-109	+,+,45	7×3	모배양찻잎	7.56±1.01 ^{ab}	6.89±1.17 ^a	7.11±0.93 ^a

다. 발효기간 및 멸균 유무에 따른 관능적 품질 특성

- 발효기간 및 멸균유무에 따른 관능적 품질 특성을 평가하였다. 그 결과(표 1-14), 멸균한 시료는 비교적 색이 좋은 것으로 평가되었고, 멸균하지 않은 시료는 맛과 향이 비교적 좋은 평가를 얻었으나 유의적 차이는 보이지 않아 멸균유무는 발효차의 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다.
- 발효기간에 따른 관능적 품질특성은 멸균하지 않고 5주간 발효된(+,+,+,45)와 3주간 발효된(+,+,45) 시료에서 향과 맛이 가장 좋은 평가를 받아, 5주간 발효시킨 숙성기간을 짧게 하는 제조법과 3주간 발효시키고 숙성기간을 길게 하는 방안 중 어떤 것이 산업화에 적당할지에 대한 심도 있는 고찰이 필요하다고 판단되었다.

표 1-14. 발효기간 및 멸균 유무에 따른 관능적 품질 특성

Sample***	Sensory characteristic					
				Color	Taste	smell
BIN-106	+,+,+,45	멸균○	7×5	7.00±1.50 ^a	6.67±0.87 ^a	6.56±0.53 ^a
BIN-107	+,+,+,45	멸균○	7×4	7.44±1.33 ^a	7.00±0.50 ^a	7.00±0.50 ^a
BIN-108	+,+,+,45,30	멸균○	7×5	7.55±1.01 ^a	6.67±1.11 ^a	6.44±0.73 ^a
BIN-109	+,+,45	멸균○	7×3	6.22±1.61 ^a	6.78±1.56 ^a	6.78±0.97 ^a
BIN-129	+,+,+,45	멸균×	7×5	6.78±1.30 ^a	6.78±1.39 ^a	7.11±1.05 ^a
BIN-130	+,+,+,45	멸균×	7×4	6.11±1.83 ^a	6.67±0.87 ^a	6.44±0.73 ^a
BIN-131	+,+,+,45,30	멸균×	7×5	6.67±1.80 ^a	6.89±1.27 ^a	6.78±0.83 ^a
BIN-132	+,+,45	멸균×	7×3	6.67±1.87 ^a	7.67±0.71 ^a	7.22±0.67 ^a

* All value are mean±SD.

**Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c

*** : 15균 찻잎 모배양 스타터 접종

라. 발효방식(발효조건, 모차의 수분함량)을 달리하여 제조한 발효차의 관능적 품질 특성

- 미생물발효차를 발효기간 및 수분 변화하여 발효한 미생물발효차를 황토방에서 3개월간 숙성한 후 관능적 품질 특성을 평가하였다. 그 결과(표 1-15), 발효기간에 따른 관능적 품질특성은 수분함량과 상관없이 5주간 발효(+,+,+,45,30)시킬 경우 4주간 발효보다 색, 향, 미에서 좋은 평가를 받았다.
- 또한, 모차의 수분함량을 40%와 45%로 달리 조절하여 발효시킨 미생물발효차에서 수분함량 40%의 미생물발효차 시료보다 수분함량 45% 조건에서 발효시킨 미생물 발효차 시료가 5주간 발효한 시료에서 색, 향, 미 가 모두 좋은 평가를 얻어 수분 함량 45%로 조절하여 5주간 발효시키는 것이 바람직하다고 판단되었다.
- 다만 3주간 발효시킨 후 장기간 숙성시키는 경우와 5주간 발효시키고 숙성기간을 줄이는 경우 중 어떤 방법이 산업화에 더 적절한지에 대하여 추가 진행이 필요하다고 생각되었다.

표 1-15. 발효기간 및 수분함량 변화에 따른 관능적 품질 특성

Sample***	발효조건	수분 (%)	발효 기간	Sensory characteristic		
				Color	Taste	smell
BIN-105-HA	30+,+,+,30+	40%	7×4	7.00±2.35 ^a	7.11±1.27 ^a	6.56±1.13 ^a
BIN-106-HA	45+,+,+,45	40%	7×5	6.78±1.48 ^a	6.67±1.00 ^a	7.11±0.93 ^a
BIN-107-HA	30+,+,+,45	40%	7×4	6.67±1.87 ^a	6.67±1.22 ^a	6.78±0.97 ^a
BIN-108-HA	45+,+,+,45,30	40%	7×5	7.56±0.73 ^a	6.67±1.32 ^a	7.11±0.78 ^a
BIN-115-HA	30+,+,+,30+	45%	7×4	7.22±1.09 ^a	7.11±1.05 ^a	6.78±0.97 ^a
BIN-116-HA	45+,+,+,45	45%	7×5	7.44±1.24 ^a	6.89±1.83 ^a	7.11±0.78 ^a
BIN-117-HA	30+,+,+,45	45%	7×4	7.22±2.03 ^a	7.22±1.64 ^a	7.22±1.39 ^a
BIN-118-HA	45+,+,+,45,30	45%	7×5	7.89±0.60 ^a	7.67±1.00 ^a	6.89±0.78 ^a

* All value are mean±SD.

**Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c

*** : 15균 찻잎 모배양 스타터 접종

마. 채엽시기에 따른 관능적 품질 특성을 평가

· 5월, 6월, 7월 찻잎을 채취하여 원료(모차)를 제조하여 수분 45%로 미생물 발효하여 관능적 품질 특성을 평가하였다. 그 결과(표 1-16), 발효조건에 따라서 5월 찻잎은 색, 6월 찻잎은 맛, 7월 찻잎은 향이 가장 좋은 평가를 얻었으며 6월, 7월 찻잎은 5주간 (45+,+,+,45,30) 발효하였을 때 색 과 향이 좋은 평가를 얻어 비교적 채엽 시기가 늦은 찻잎은 색, 향이 좋고 채엽 시기가 비교적 빠른 찻잎으로 발효한 미생물발효차는 색이 좋은 것으로 판단되었다.

표 1-16. 채엽시기에 따른 관능적 품질 특성 평가

Sample	발효조건	채엽 시기	발효기 간	Sensory characteristic		
				Color	Taste	smell
BIN-102	45+,+,+,45	5월	7×5	8.00±0.87 ^b	7.56±0.53 ^a	7.00±0.87 ^a
BIN-103	30+,+,+,45	5월	7×4	8.11±0.78 ^b	7.44±1.13 ^a	7.00±1.12 ^a
BIN-104	45+,+,+,45,30	5월	7×5	7.44±1.74 ^b	7.33±1.00 ^a	6.67±1.00 ^a
BIN-106	45+,+,+,45	6월	7×5	7.44±0.88 ^b	7.78±0.83 ^a	6.78±1.20 ^a
BIN-107	30+,+,+,45	6월	7×4	7.67±0.87 ^b	7.11±0.78 ^a	7.22±1.39 ^a
BIN-108	45+,+,+,45,30	6월	7×5	7.78±1.30 ^b	7.22±0.67 ^a	7.22±1.09 ^a
BIN-111	30+,+,+,+	7월	7×5	5.89±1.27 ^a	7.00±1.41 ^a	7.00±1.00 ^a
BIN-112	45+,+,+,45	7월	7×4	7.22±1.56 ^b	7.22±1.09 ^a	7.11±0.93 ^a
BIN-113	30+,+,+,45	7월	7×5	7.56±1.74 ^b	6.89±1.17 ^a	7.44±0.88 ^a

* All value are mean±SD.

**Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c

*** : 15군 차이 모배양 스타터 접종

4) 개발된 미생물발효차의 기능성 검증

(1) 미생물발효차 추출물의 in vitro 항당뇨 효과 검증

가. 단일균주에서의 in vitro 항당뇨 효과 검증

- AN091 및 AN092 포자 접종 시 모차의 발효시간이 클수록 (3주와 5주에서) 항당뇨 효능이 큰 것으로 나타났다. 이러한 효능은 AN092 경우에서 유의성 있게 증가하였다.

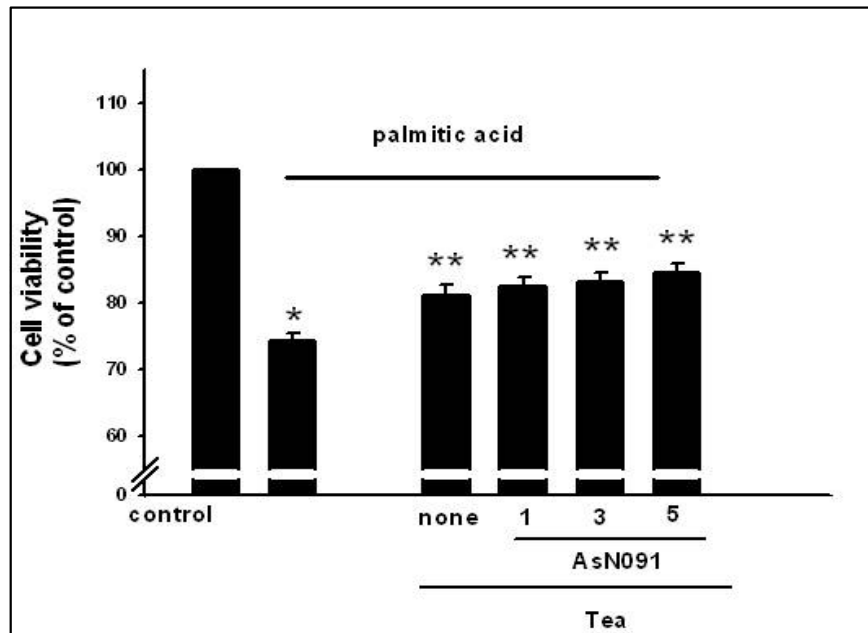


그림 1-1. 췌장세포에서 항당뇨 활성

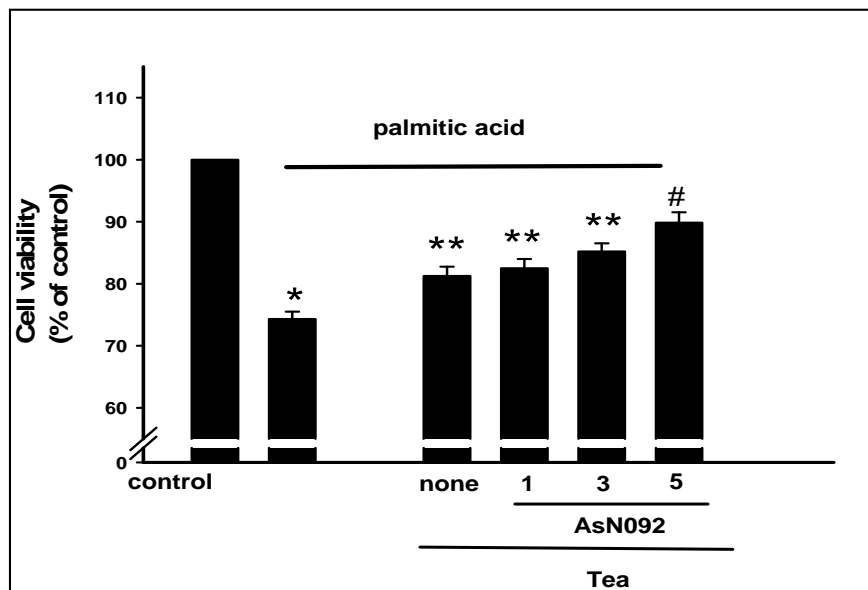


그림 1-2. 췌장세포에서 항당뇨 활성

- AF211 포자 접종 시 모차의 발효시간이 클수록 (3주와 5주에서) 항당뇨 효능이 큰 것으로 나타났다. 이러한 효능은 AF212의 경우에서도 유의성 있게 증가하였다.

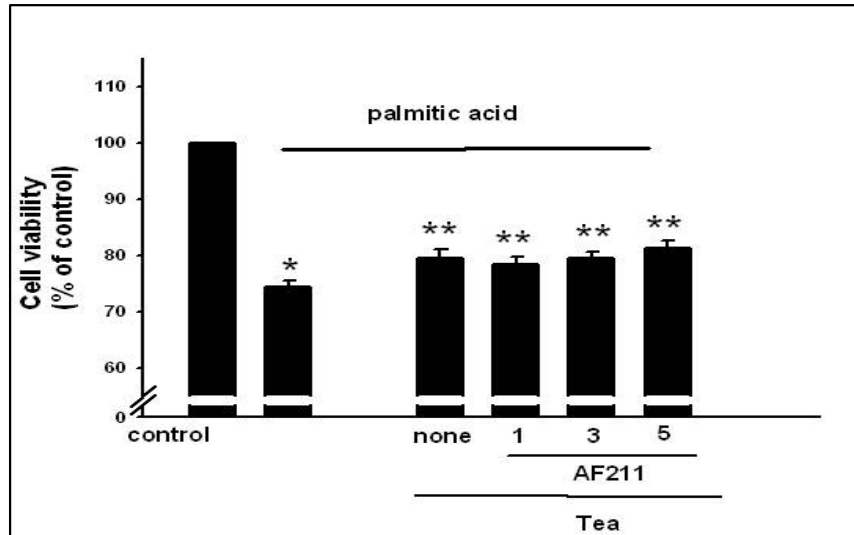


그림 1-3. 취장세포에서 항당뇨 활성

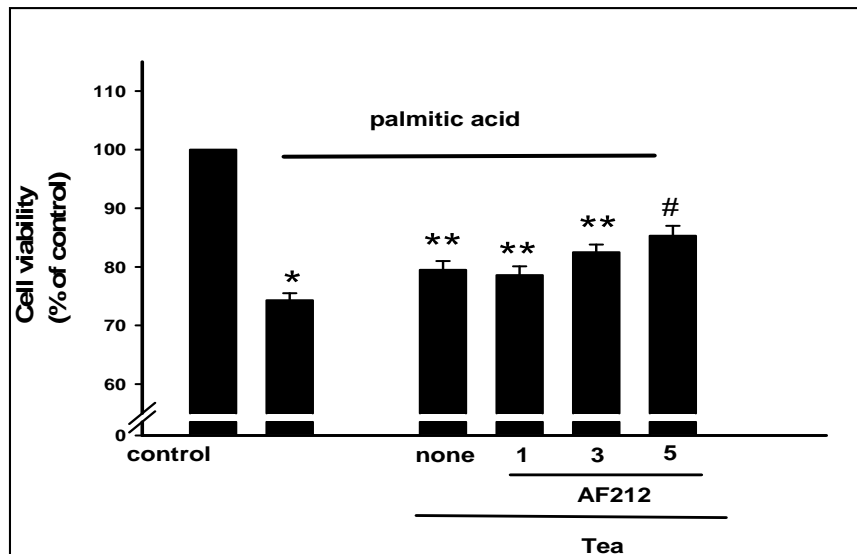


그림 1-4. 취장세포에서 항당뇨 활성

- AT011 및 RS201 포자접종 시 모차 발효시간이 (3주 및 5주에서) 클수록 항당뇨 효능이 큰 것으로 나타났다.

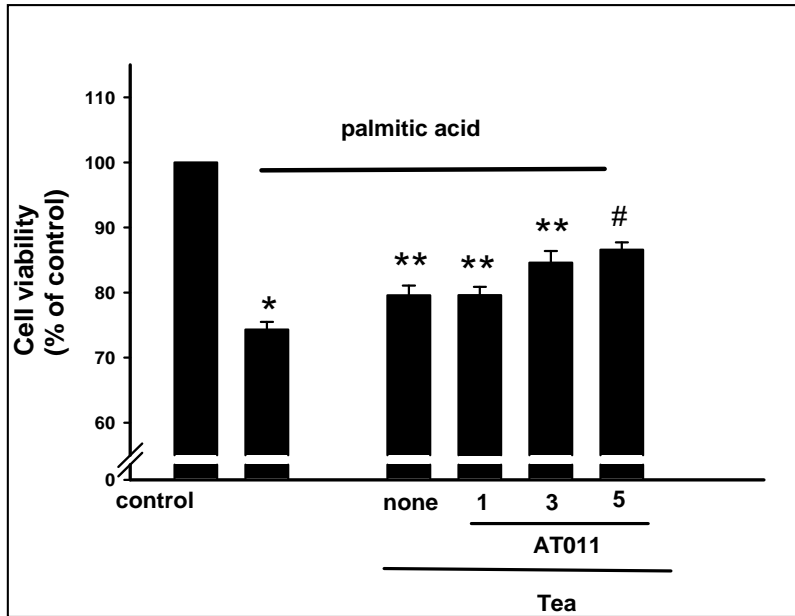


그림 1-5. 췌장세포에서 항당뇨 활성

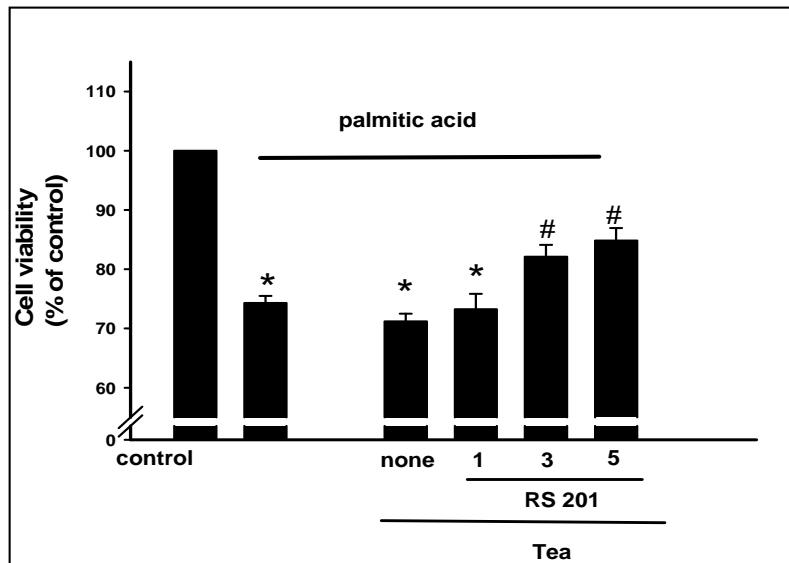


그림 1-6. 췌장세포에서 항당뇨 활성

- PC091 포자 접종 시 항당뇨 효과가 크게 나타났으며 이 역시 발효시간이 클수록 항당뇨 효능이 큰 것으로 나타났다. PG051, PC151 및 PG121의 경우는 미약하게 증가하는 것으로 나타났다.

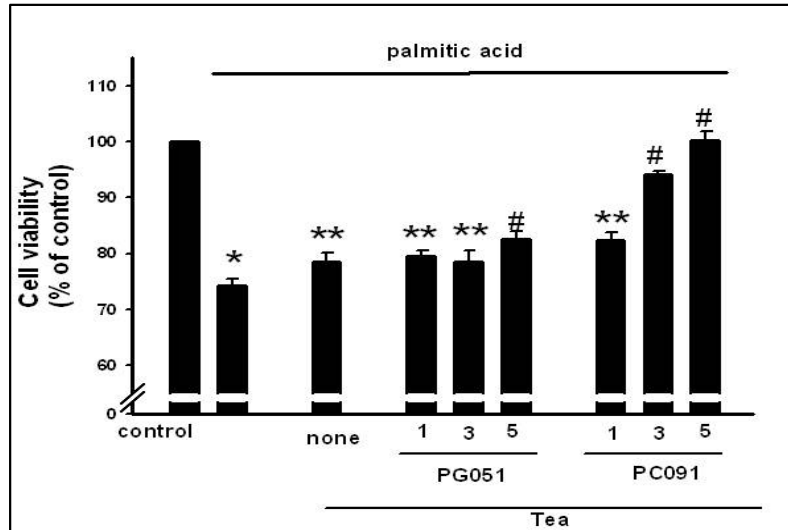


그림 1-7. 취장세포에서 항당뇨 활성

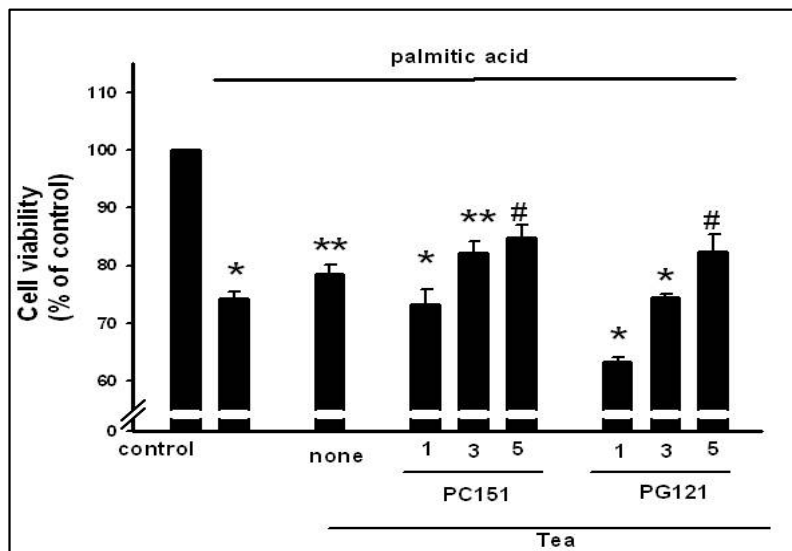


그림 1-8. 취장세포에서 항당뇨 활성

- RS201 및 LR011에서 5주간 포자 접종 시 모차에 비해 항당뇨 효과가 인정이 되었으며 RP211에서는 전혀 효과가 인정이 되지 않았다. DH011의 경우 전반적으로 차단하였다.

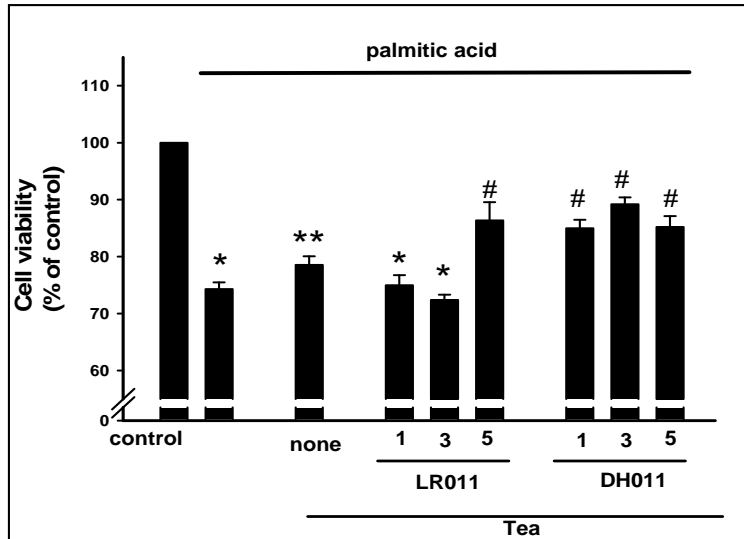


그림 1-9. 췌장세포에서 항당뇨 활성

- RP011에서는 모차와 별다른 차이가 인정이 되지 않았으나 CT181의 경우는 모차에 비해서 약간 항당뇨 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

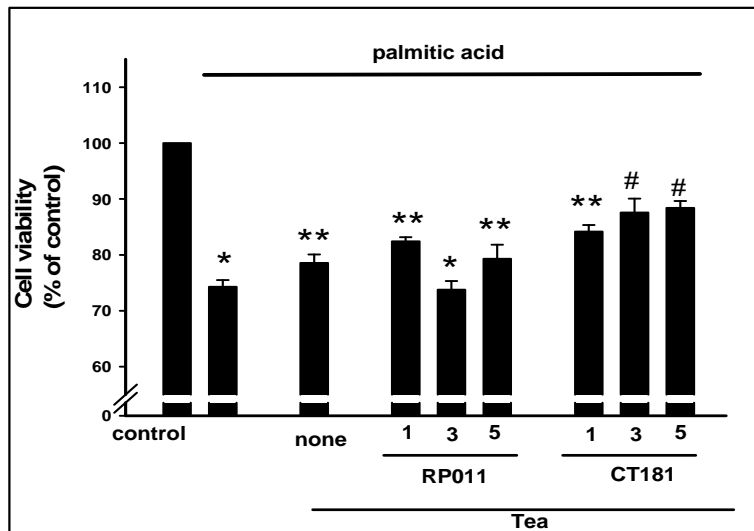


그림 1-10. 췌장세포에서 항당뇨 활성

나. 혼합균주에서의 in vitro 항당뇨 효과 검증

- 혼합균주의 경우 BIN107, BIN113, 115, 116, 120, 123, 127, 128, 에서 항당뇨 효과가 큰 것으로 나타났다. 이를 정리해보면 멸균의 차이는 인정되지 않는 것으로 나타났으며 수분 함량은 40-45%를 하는 것이 좋을 것으로 나타났으며 조건이 +,+,+,45 조건이 항당뇨 활성이 강한 것으로 나타났다.

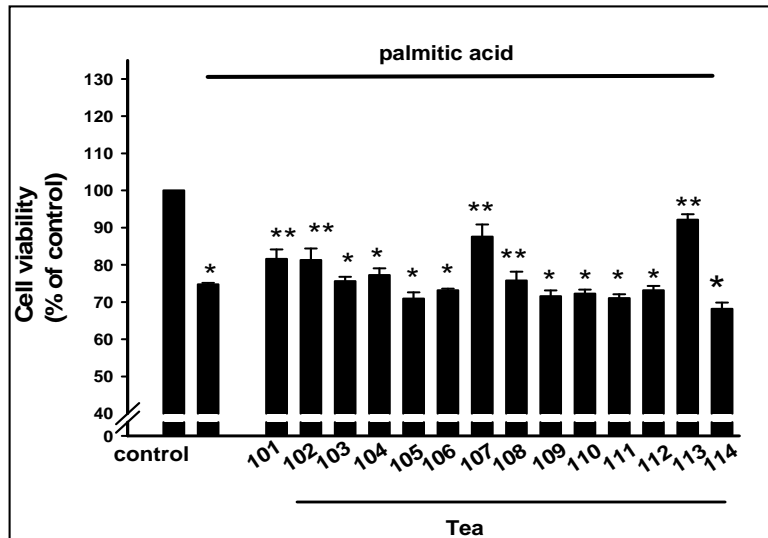


그림 1-11. 혼합균주의 조건별 항당뇨 활성

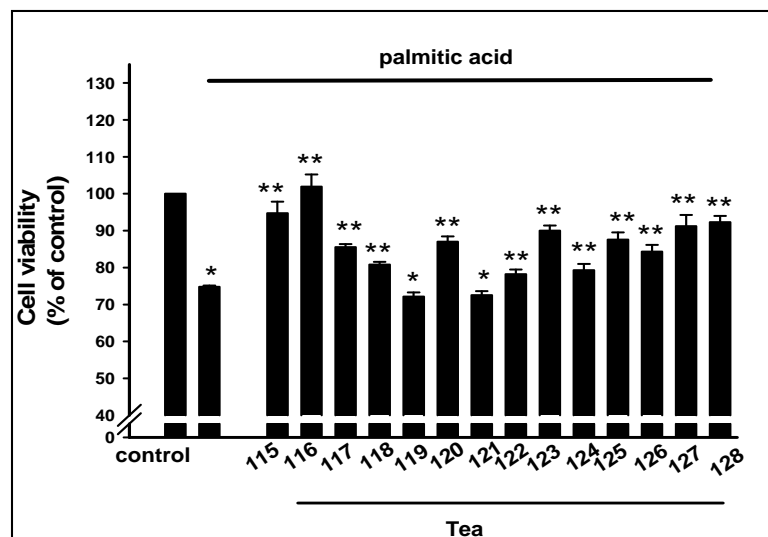


그림 1-12. 혼합균주의 조건별 항당뇨 활성

- 혼합균주의 경우 BIN133, 136, 137, 138, 139, 144, 146에서 항당뇨 효과가 큰 것으로 나타났다. 이를 정리해보면 멸균의 차이는 인정되지 않는 것으로 나타났으며 수분 함량은 40-45%를 하는 것을 좋을 것으로 나타났으며 조건이 +,+,+,45 조건이 항당뇨 활성이 강한 것으로 나타났다.

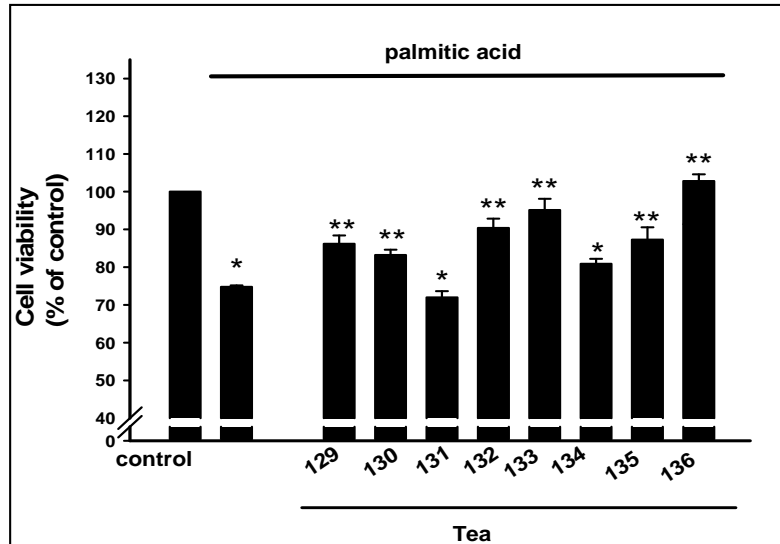


그림 1-13. 혼합균주의 조건별 항당뇨 활성

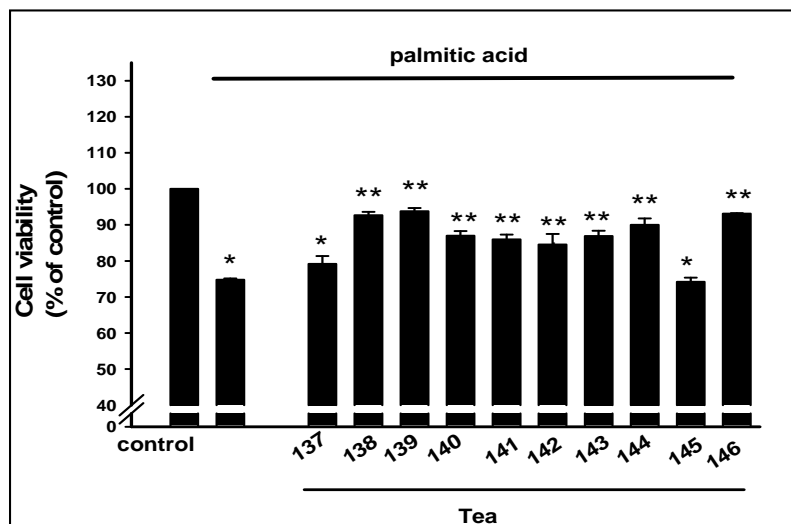


그림 1-14. 혼합균주의 조건별 항당뇨 활성

- 이들에 대한 실험 결과가 western immunoblotting 결과로 확인하여본 결과 대체적으로 같은 양상을 보였다. 이들은 본 연구결과가 다양한 세포 사멸에 관련되는 단백질들 (caspase-9, CHOP, Bax, Bcl-2, Grp78 및 eIF-2 alpha)의 발현 조절을 통해 작용하는 것으로 나타났다.

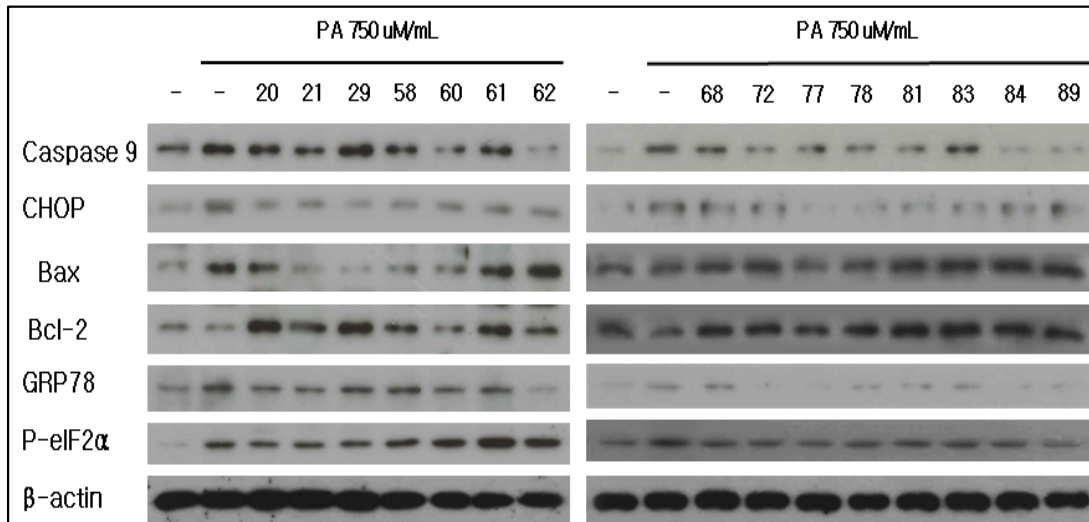


그림 1-15. 췌장세포에서 PA에 의한 세포사멸 단백질 발현에 대한 미생물 발효차의 단일균주 및 혼합 균주 조건별에 대한 차단작용

다. 단일균주에서의 월별 조건에 대한 in vitro 항당뇨 효과 검증

- 단일균주에서 월별 조건 즉 5, 6, 7월 모차에 대한 항당뇨 활성을 살펴보았다. 실험 결과 월별에 따른 차이에서는 6월 모차의 활성이 상대적으로 약간 강하게 인정되었으며 균주보다는 균주 자체에 대한 효과가 강한 항당뇨 활성을 갖는 것으로 나타났다. AF211 (10, 11, 12)가 항당뇨 효과가 강하게 인정되는 것으로 나타났다. 이외에도 AF212 (14) 및 AT011 (17) 등도 효과가 있는 것으로 나타났다.

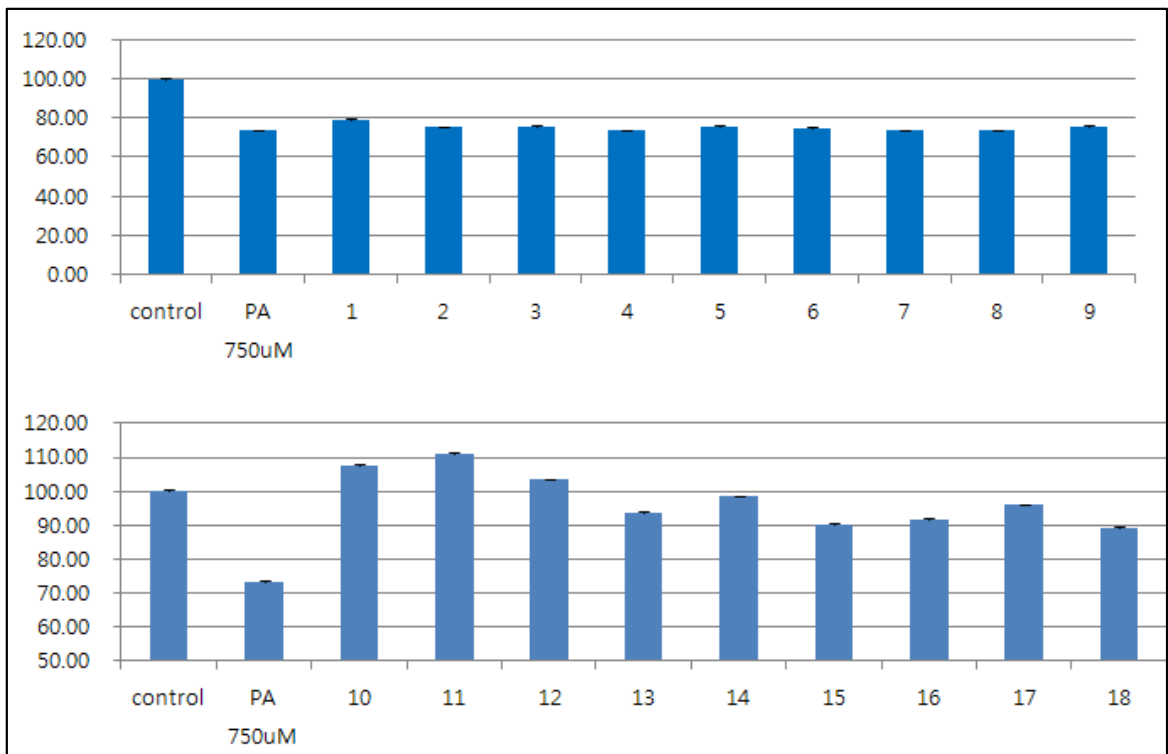


그림 1-16. 단일균주의 월별 조건에 대한 항당뇨 활성 변화

- 단일균주에서 월별 조건 즉 5, 6, 7월 모차에 대한 항당뇨 활성을 살펴보았다. 실험 결과 월별에 따른 차이에서는 6월 모차의 활성이 상대적으로 약간 강하게 인정되었으며 균주보다는 균주 자체에 대한 효과가 강한 항당뇨 활성을 갖는 것으로 나타났다. RS201 (28, 29, 30) 및 EC081, EC181 (46, 47)가 항당뇨 효과가 인정되는 것으로 나타났다.

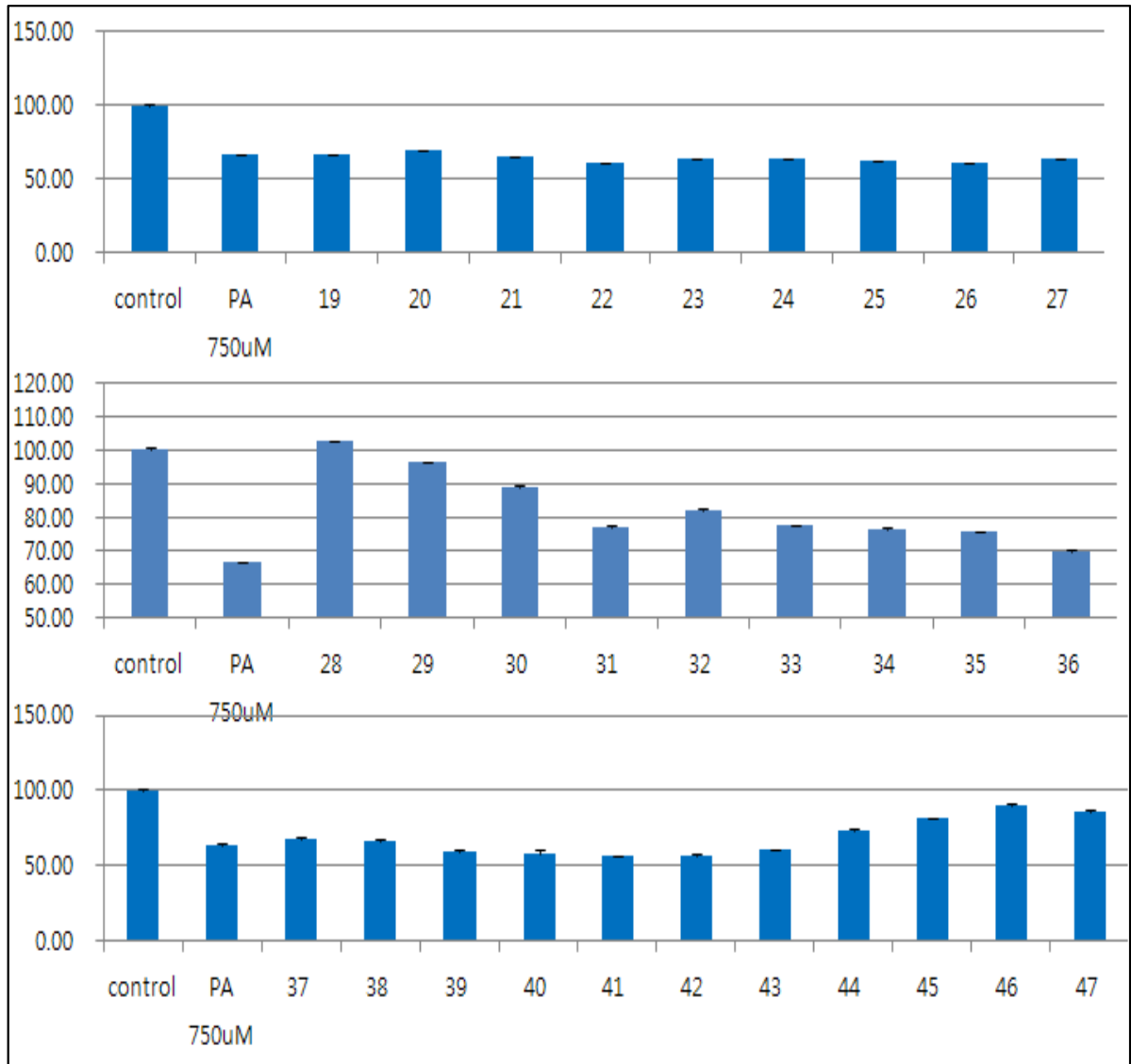


그림 1-17. 단일균주의 월별 조건에 대한 항당뇨 활성 변화

(2) 미생물발효차 추출물의 in vitro 지방간 예방 효과 검증

가. 단일균주에서의 in vitro 지방간 예방 효과 검증

- AN092 포자 접종 시 모차의 발효시간이 클수록 (5주에서) 지방간 예방효과가 큰 것으로 나타났다. AN091의 경우는 인정되지 않았으며, AF211 및 AT011 경우에서 활성이 인정 되었다. 이는 항당뇨 활성과 비슷한 양상을 보였다.

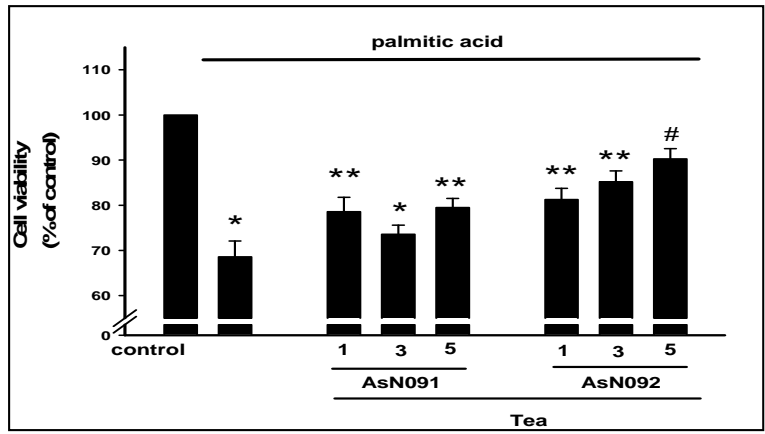


그림 1-18. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

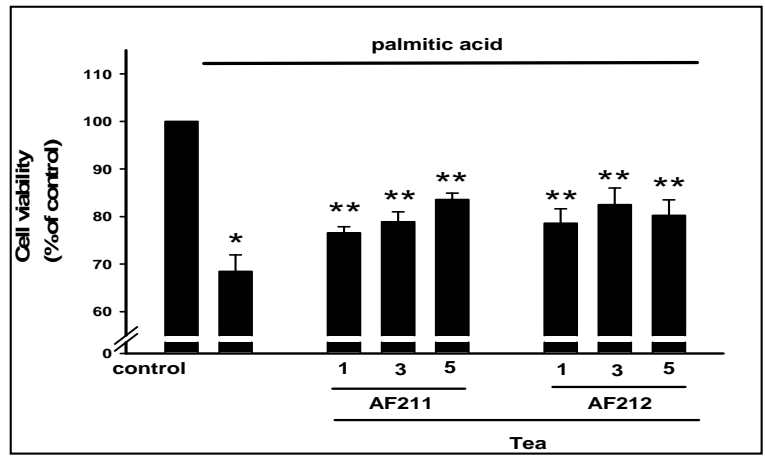


그림 1-19. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

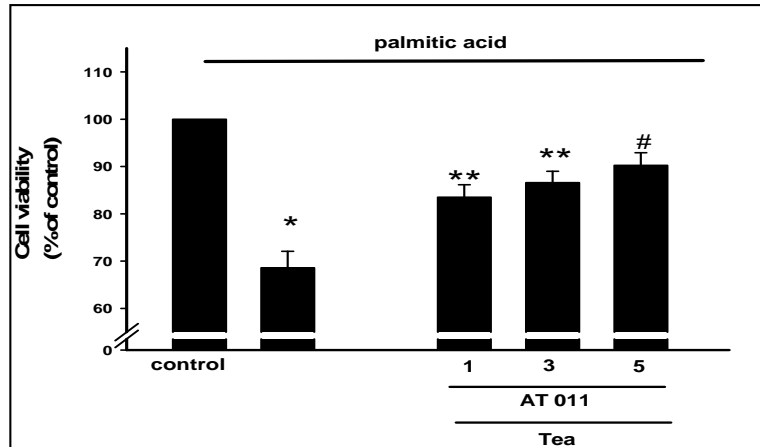


그림 1-20. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

- PC091 포자 접종 시 지방간 예방 효과가 크게 나타났으며 PC151에서도 약간의 효과가 인정되었으며 이 역시 발효시간이 클수록 지방간 세포 사멸 차단 효능이 큰 것으로 나타났다

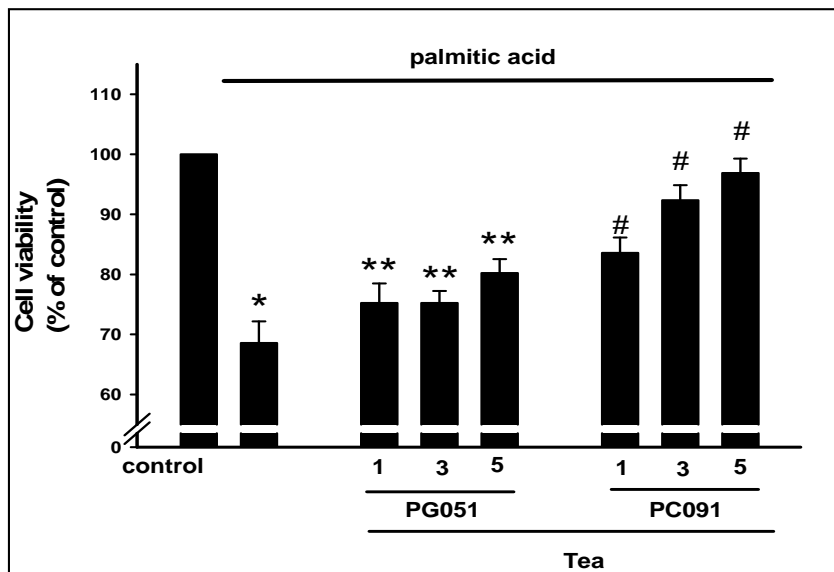


그림 1-21. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

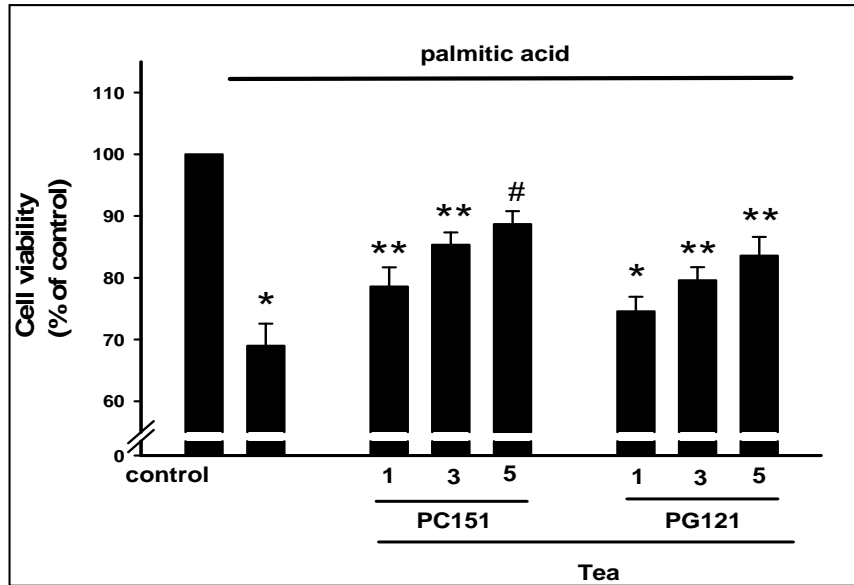


그림 1-22. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

- RS201 및 LR011에서 5주간 포자 접종시 지방간 예방효과가 인정이 되었으며, DH011의 경우 전반적으로 간세포 사멸을 차단하였다.

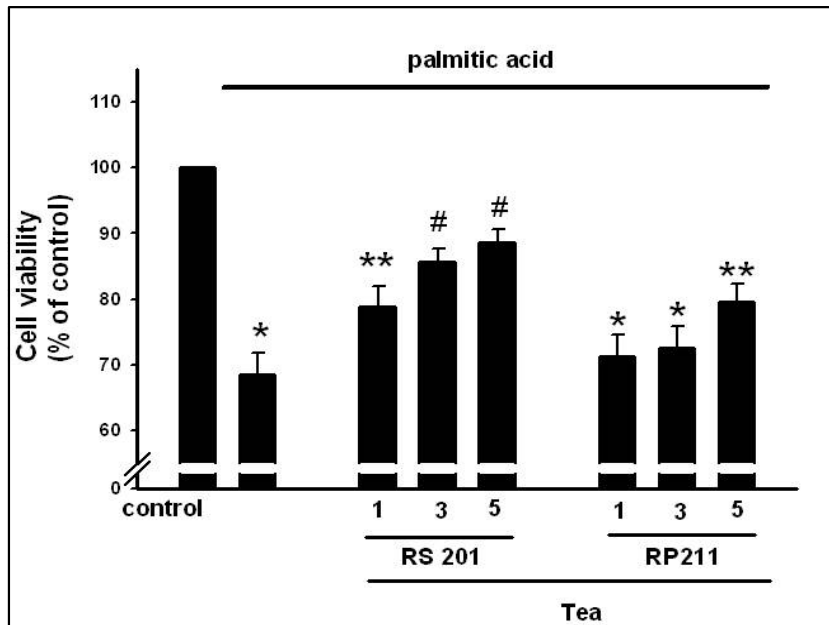


그림 1-23. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

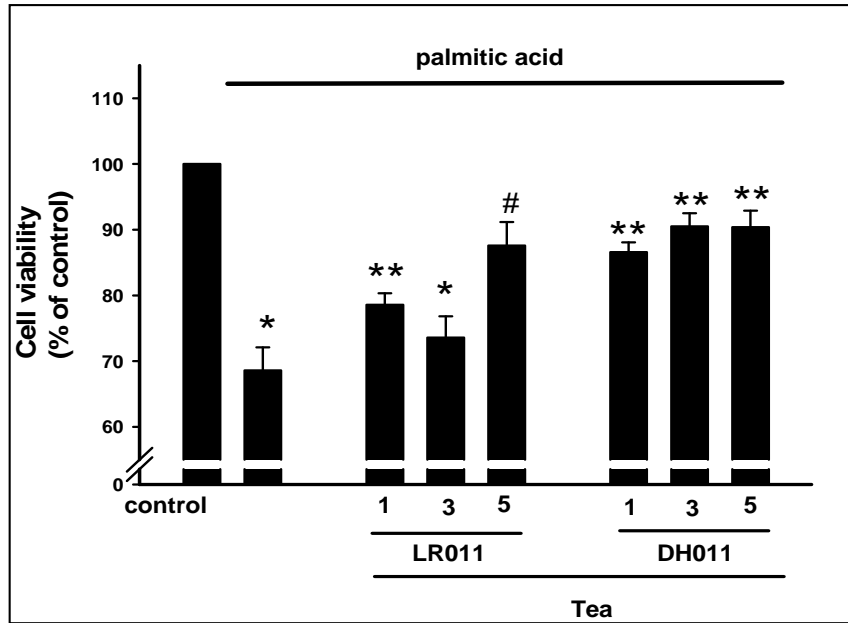


그림 1-24. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

- RP011 및 CT181의 경우는 간세포 사멸을 차단하는 지방간 예방 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

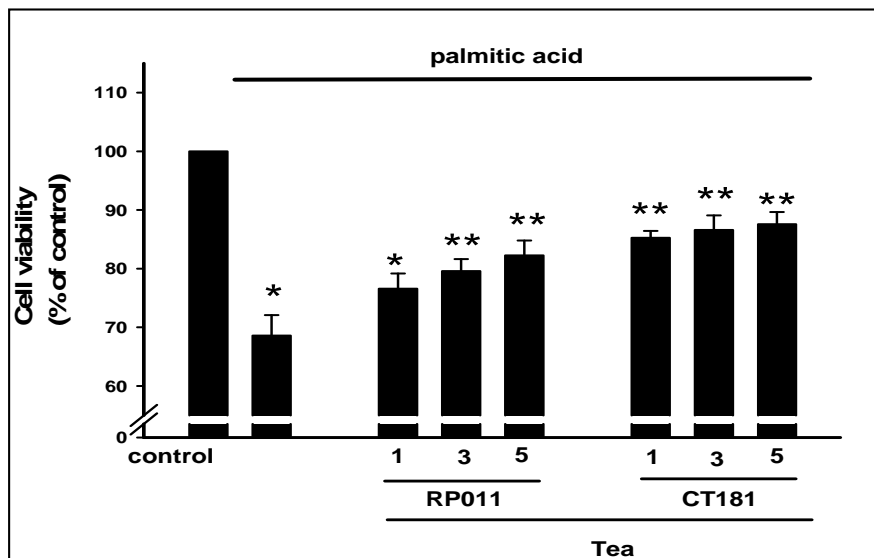


그림 1-25. 간세포에서 PA에 의한 지방간 예방활성

나. 혼합균주에서의 in vitro 지방간 예방 효과 검증

- 혼합균주의 경우 BIN101, 102, 107, 113, 115, 116, 117, 123, 127, 128에서 간세포 사멸효과가 차단되는 것으로 나타났다. 이를 정리해보면 멸균의 차이는 인정되지 않는 것으로 나타났으며 수분 함량은 40-45%를 하는 것이 좋을 것으로 나타났으며 조건이 +,+,+,45 조건이 항당뇨 활성이 강한 것으로 나타났다. 일부균에서 차이는 있었지만 대체적으로 항당뇨 활성과 비슷한 양상을 보였다.

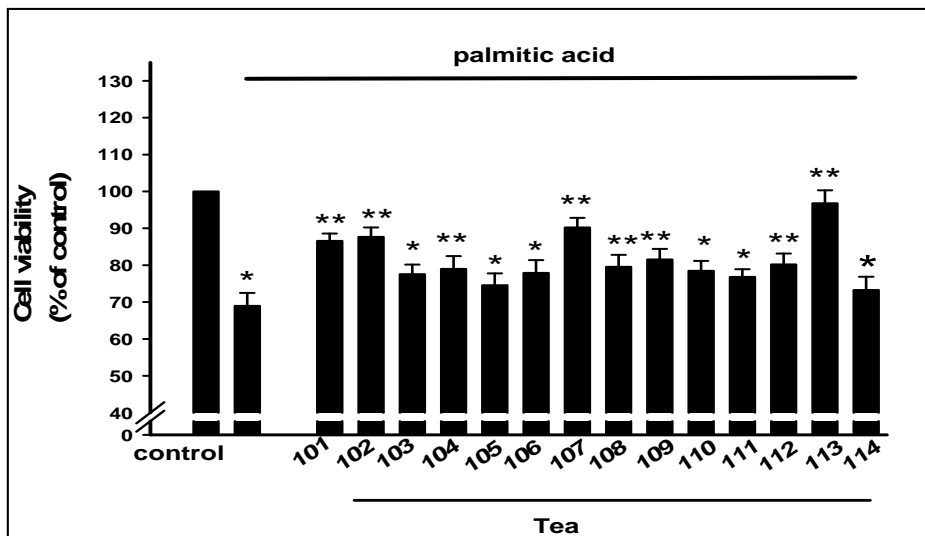


그림 1-26. 혼합균주의 조건별에 대한 PA의 지방간 예방 활성 변화

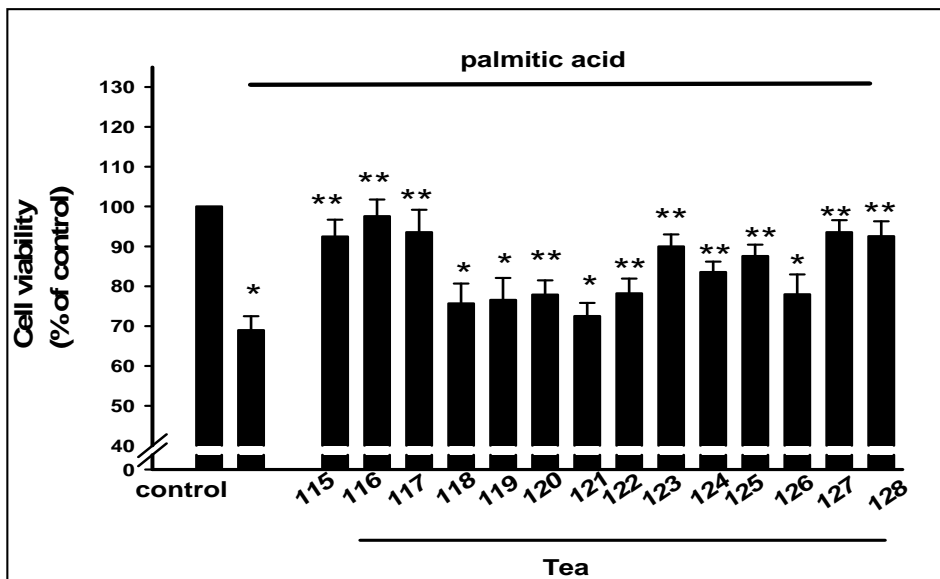


그림 1-27. 혼합균주의 조건별에 대한 PA의 지방간 예방 활성 변화

- 혼합균주의 경우 BIN 132, 133, 136, 137, 138, 139, 146에서 간세포 사멸 차단 효과가 큰 것으로 나타났다. 이를 정리해보면 평균의 차이는 인정되지 않는 것으로 나타났으며 수분 함량은 40-45%를 하는 것을 좋을 것으로 나타났으며 조건이 +,+,+,45 조건이 항당뇨 활성이 강한 것으로 나타났다. 일부군에서 차이는 있었지만 대체적으로 항당뇨 활성과 비슷한 양상을 보였다.

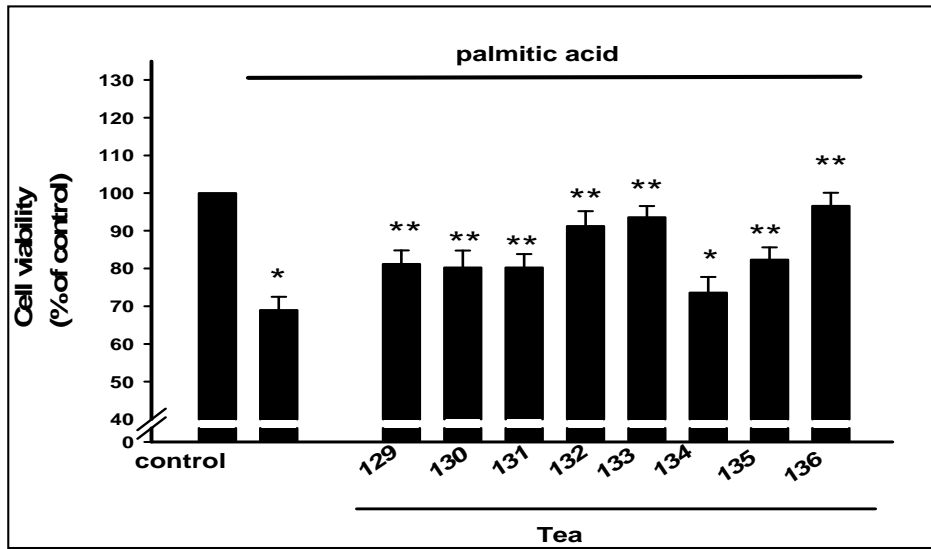


그림 1-28. 혼합균주의 조건별에 대한 PA의 지방간 예방 활성 변화

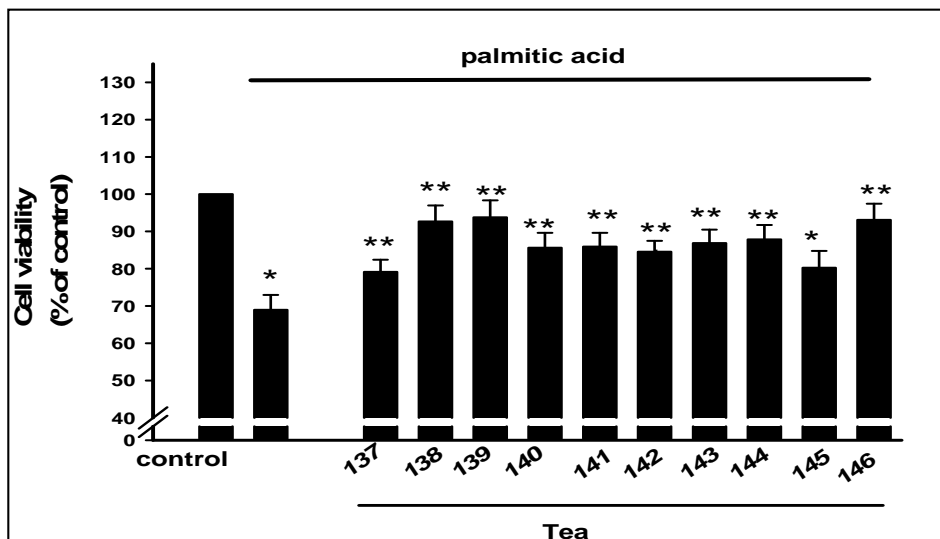


그림 1-29. 혼합균주의 조건별에 대한 PA의 지방간 예방 활성 변화

다. 단일균주에서의 월별 조건에 대한 in vitro 항당뇨 효과 검증

- 단일균주에서 월별 조건 즉 5, 6, 7월 모차에 대한 지방간 예방 활성을 살펴보았다. 실험 결과 월별에 따른 차이보다는 균주 자체에 대한 효과가 강한 항당뇨 활성을 갖는 것으로 나타났다. AF211(11, 12)가 PA에 의한 지방간 예방 효과가 큰 것으로 인정되는 것으로 나타났다.

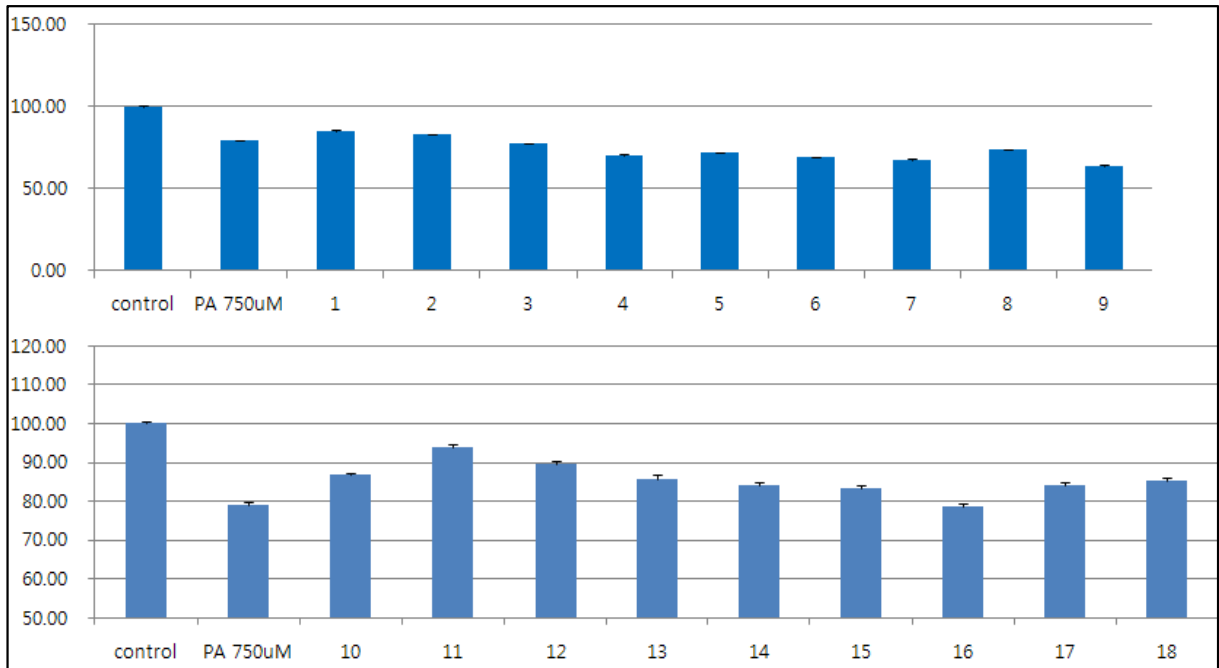


그림 1-30. 단일균주의 월별 조건에 대한 PA의 지방세포 사멸에 대한 예방효과

- 단일균주에서 월별 조건 즉 5, 6, 7월 모차에 대한 지방간 예방 활성을 살펴보았다. 실험 결과 월별에 따른 차이에서는 6월 모차의 활성이 상대적으로 약간 강하게 인정되었으며 균주보다는 균주 자체에 대한 효과가 강한 지방세포 사멸 차단효과를 갖는 것으로 나타났다. RS201(28, 29, 30) 및 DH011(37, 38), EC081(41, 42), EC181(46, 47)가 간세포 사멸 차단 효과가 인정되는 것으로 나타났다.



그림 1-31. 단일균주의 월별 조건에 대한 PA의 지방세포 사멸에 대한 예방효과

(3) 미생물발효차 추출물의 in vitro 비만 예방 효과 검증

가. 단일균주 및 혼합균주에서의 in vitro 지방세포 사멸 효과 검증

- 3T3L1 세포 사멸을 유도하는 경우는 일차적인 비만 예방 효과 스크리닝 지표로 사용될 수 있다는 보고에 근거하여 실험한 결과 몇몇 균들을 제외하고는 약간의 지방세포 사멸을 유도하는 것으로 나타났다. 이 결과는 일차적인 의의가 있다고 판단이 된다.

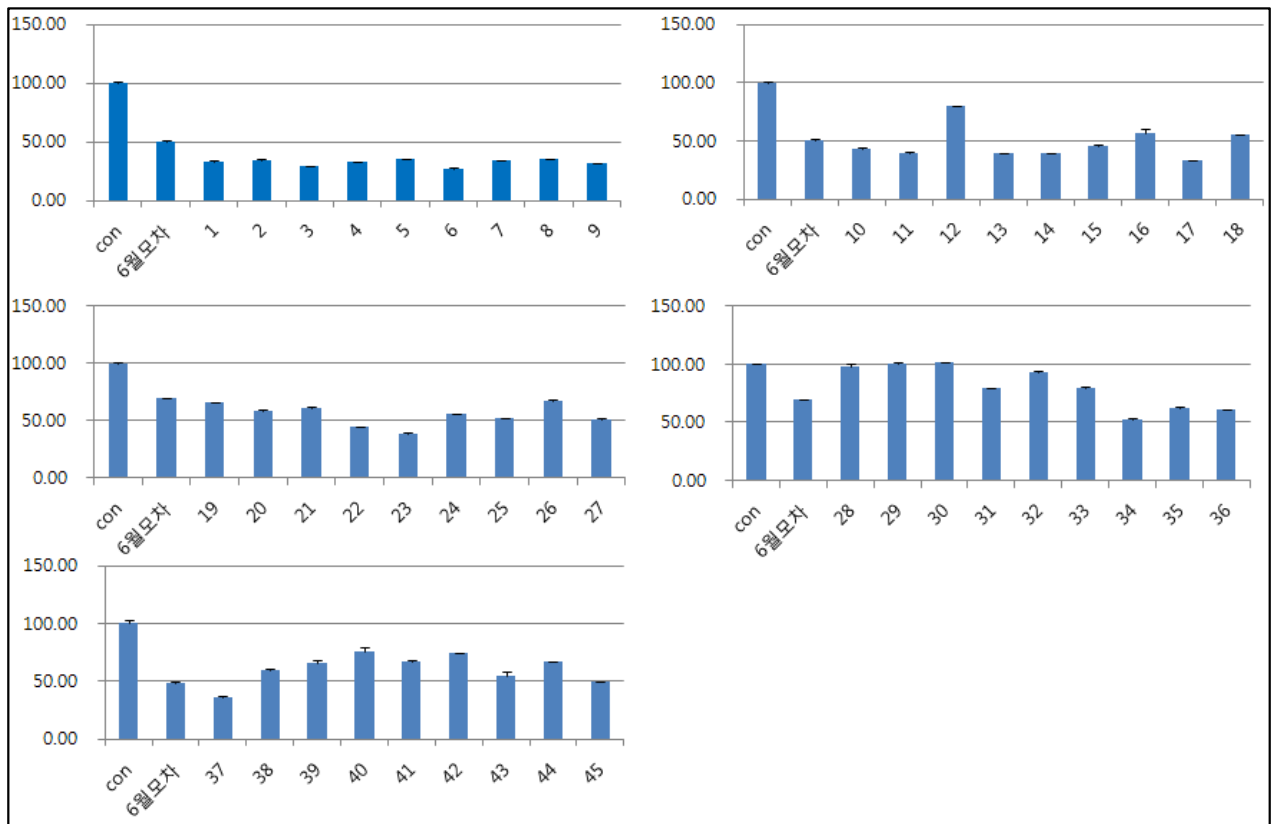


그림 1-32. 3T3L1세포에서 단독균주 처리시 자체에 미치는 영향

- 항당뇨 및 지방간 예방 효과에서 좋았던 부분과 3T3-L1 세포에서 세포 사멸이 있는 분획을 함께 고려하여 의미가 있는 분획만을 선별하여 세포 사멸 관련 단백질 발현을 측정하였다. 전반적으로 3T3-L1세포의 사멸 관련 단백질 발현이 증가하는 것으로 나타났다. 특히, PC091과 LR011균에서 효과가 강한 것으로 나타났다

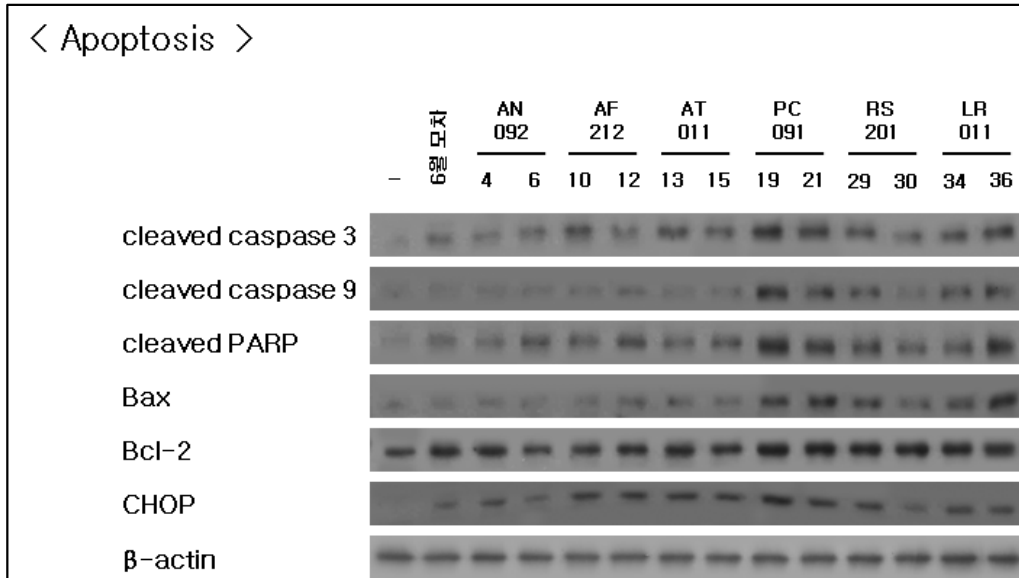


그림 1-33. 효과 추정 미생물 추출물의 세포 사멸 관련 단백질의 발현변화

· 혼합 균주의 경우에서도 같은 양상을 볼 수 있었다.

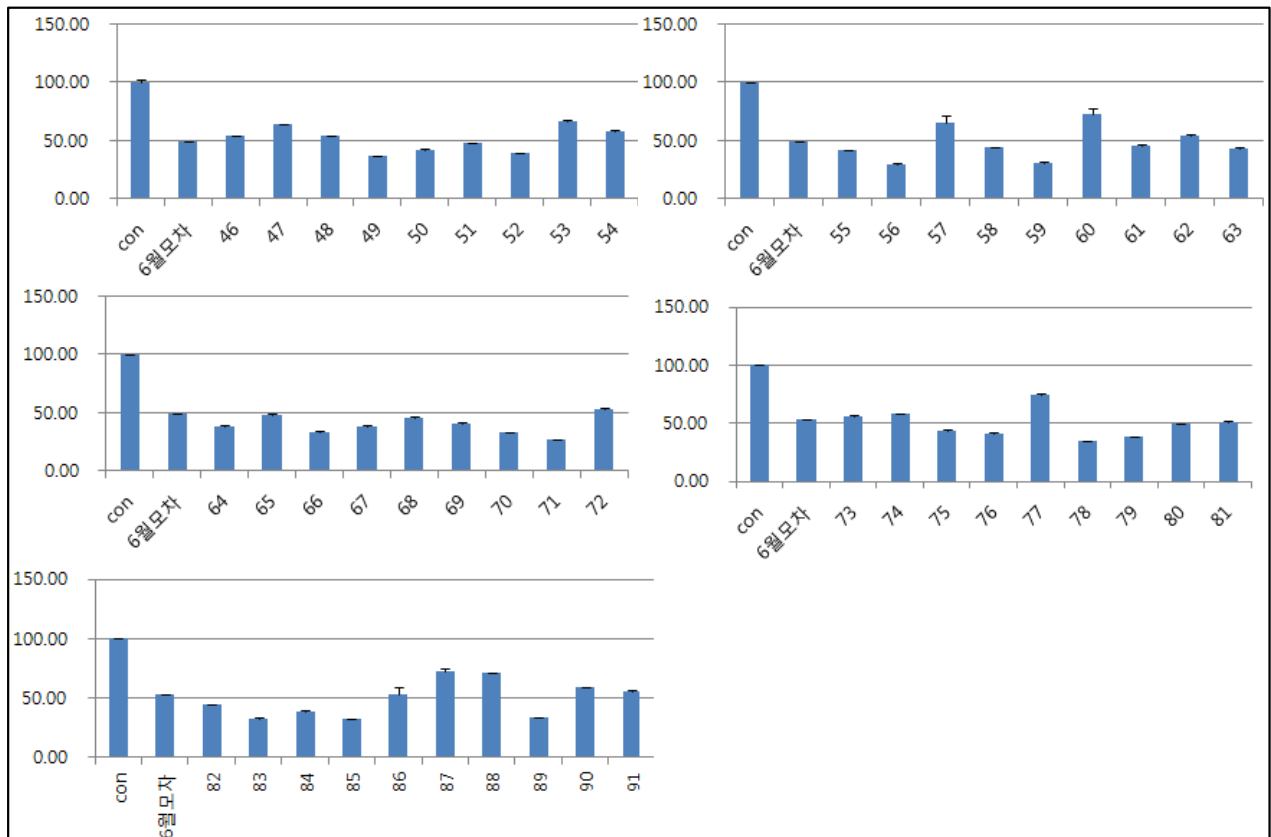


그림 1-34. 3T3L1세포에서 혼합 균주 처리시 자체에 미치는 영향

- 직접적으로 지방세포에서 비만 예방 효과가 있을 것으로 생각되는 미생물 추출물 분획 후보군(AN092, AF212, AT011 및 RS201)을 처리하여 실험을 실시하였다. 실험결과 6월 모차균에 비해 지방 합성 효소인 Fatty acid synthase (FAS)의 발현 및 leptin의 발현은 감소되는 것으로 나타났으며 항비만 단백질인 Adiponectin 및 AMPK 인산화 form은 증가하는 것으로 나타났다.

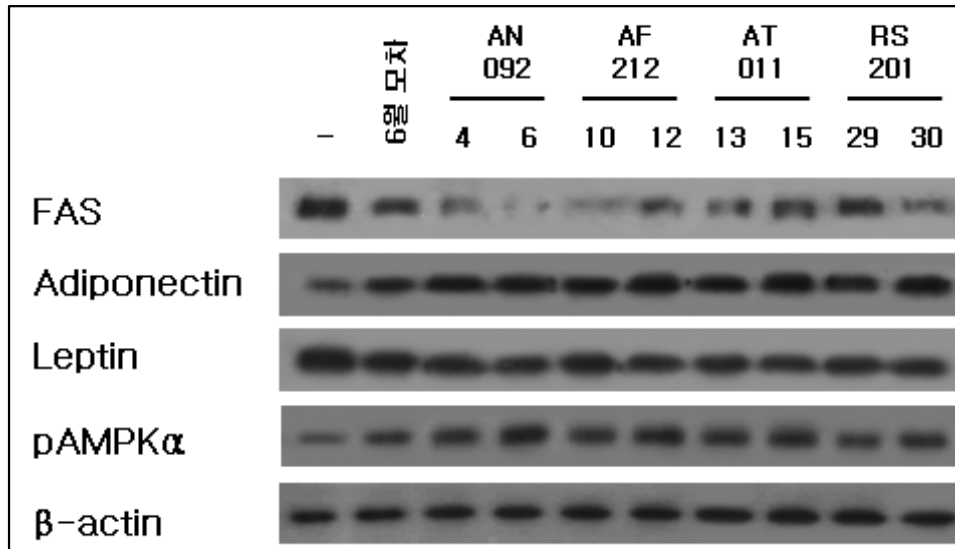


그림 1-35. 지방세포에서 미생물 발효차 후보군의 지방합성 및 항비만 단백질의 발현 변화

(4) 미생물발효차 추출물의 in vivo 효과 검증

가. 단일균총(AN091, AN092) 미생물발효차의 고혈당증에 의한 1형 당뇨 예방 효과

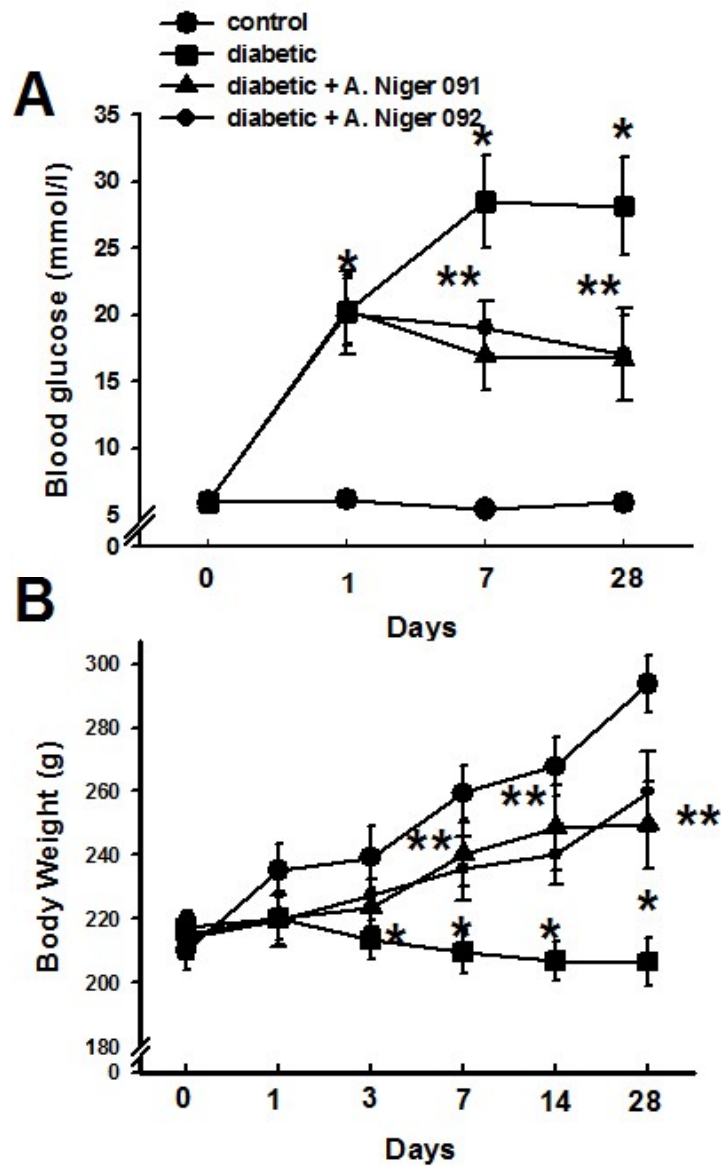


그림 1-36. AN091 및 AN092 접종 미생물발효차의 STZ에 의해 유도된 당뇨쥐의 혈중 포도당 농도 및 체중 변화.

- AN091 및 AN092 미생물 발효차 투여(150 mg/kg) 시 STZ에 의해 유도되었던 혈당 및 체중 감소 효과는 현저하게 억제되는 것으로 1형 당뇨 예방 효과가 인정되었다(그림 1-36).

표 1-17. STZ- 유도된 당뇨 rat에서 생리 활성 지표

Parameters	Groups			
	Control	diabetic untreated	AN091 treated diabetic	AN092 treated diabetic
Total protein(g/100ml)	7.65 ± 0.51	6.40 ± 0.34*	7.32 ± 0.32**	7.45 ± 0.35*
Albumin (g/100 ml)	4.42 ± 0.45	2.80 ± 0.25*	3.98 ± 0.29**	3.96 ± 0.26**
triglyceride (mg/100ml)	63.7 ± 6.15	161.5 ± 10.5*	102.1 ± 10.28**	120.4 ± 8.53**
total cholesterol (mg/100ml)	60.3 ± 7.05	171.4 ± 10.42*	94.4 ± 13.2**	108.0 ± 20.3**
SGOT (mU/ml)	26.7 ± 2.05	36.80 ± 3.41*	29.1 ± 2.12**	30.1 ± 2.43**
SGPT (mU/ml)	23.04 ± 3.1	37.3 ± 4.1*	25.2 ± 2.43**	28.2 ± 3.61**

*p<0.05 vs. control, **p<0.05 vs. STZ-induced diabetic alone.

- STZ에 의해 단백질, albumin은 감소 하였으며 triglyceride, total cholesterol, SGOT, 및 SGPT는 증가하였다. 이러한 작용은 AN091 및 AN092 접종 미생물발효차의 투여(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(표 1-17).

표 1-18. STZ- 유도된 당뇨 rat에서 간장 및 신장의 TBARS 변화 및 catalase 활성

	Groups			
	Control	diabetic untreated	AN091 treated diabetic	AN092 treated diabetic
Kidney TBARS (nmol/g wet tissue)	1.2 ± 0.21	2.40 ± 0.31*	1.6 ± 0.14**	1.7 ± 0.13**
Liver TBARS (nmol/g wet tissue)	7.04 ± 0.7	17.3 ± 1.7*	10.2 ± 1.53**	10.4 ± 1.76**
Kidney Catalase (Units/mg protein)	45.21 ± 2.11	31.10 ± 2.33*	40.1 ± 2.22**	39.31 ± 2.11**
Liver Catalase (Units/mg protein)	63.42 ± 3.9	41.3 ± 4.9*	58.5 ± 5.33**	54.2 ± 3.6**

*p<0.05 vs. control, **p<0.05 vs. STZ-induced diabetic alone.

- STZ에 의해 신장 및 간장의 산화성 스트레스 발생에 의해서 야기되는 lipid peroxidation 형성을 측정된 결과 유의성있게 증가하는 것으로 나타났으며 항산화 효소의 경우는 활성이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 작용은 AN091 및 AN092 미생물 발효차 투여(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(표 1-18).

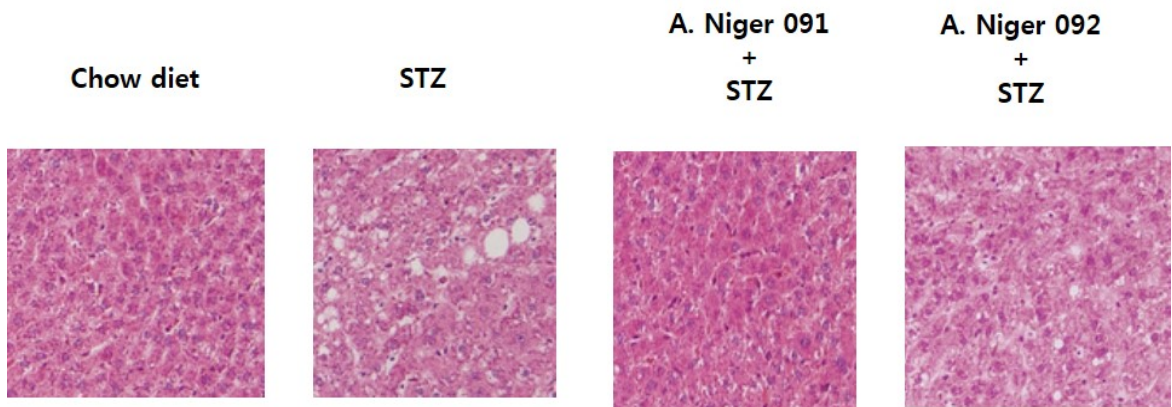


그림 1-37. STZ에 의해 유도된 간장에서의 미생물 발효차에 의한 조직학적 변화 차단 효과

- STZ에 의해 간장의 경우 현저한 공포화 현상에 의해서 손상이 많이 일어났으나, 이러한 작용은 AN091 및 AN092 미생물 발효차 투여(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(그림 1-37).

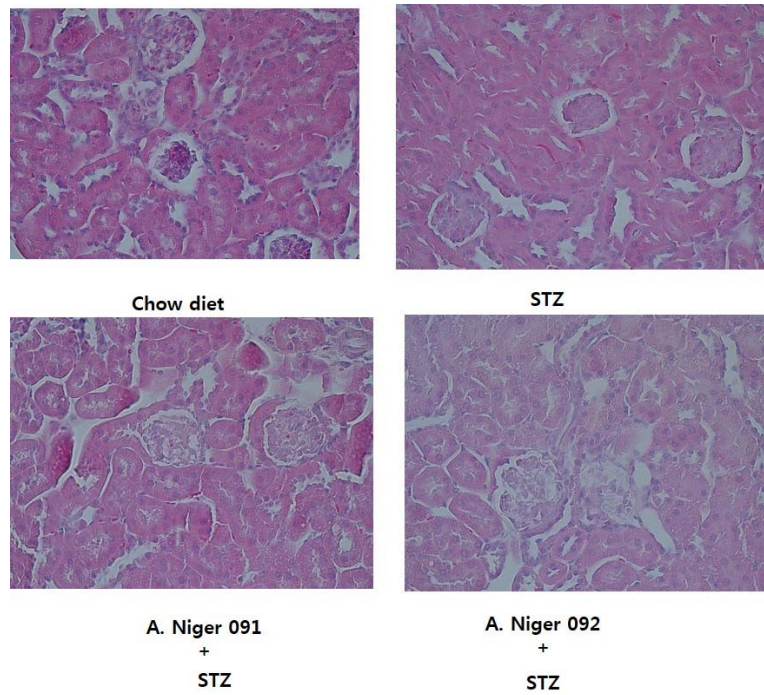


그림 1-38. STZ에 의해 유도된 신장에서의 미생물 발효 차에 의한 조직학적 변화 차단효과

- STZ에 의해 신장의 경우에서도 STZ 처리시 신장 피질 부위의 사구체 경화증이 관찰되었으나, 이러한 작용은 AN091 및 AN092 미생물 발효차 투여(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(그림 1-38).

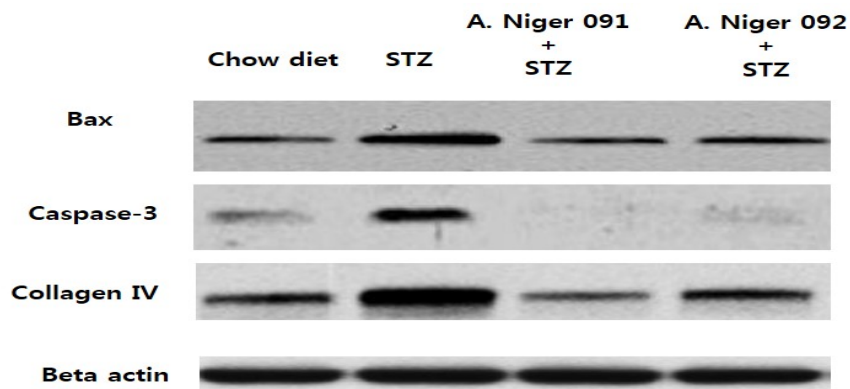


그림 1-39. STZ에 의해 유도된 신장에서의 미생물 발효차에 의한 사구체 경화증 및 세포 사멸 관련 단백질 발현 효과

- STZ에 의해 신장의 경우에서도 사구체 경화증에 관련된 Collagen IV의 경우 증가 하였으며 이러한 작용은 AN091 및 AN092 미생물 발효차에 의해 차단되었다. 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax 및 세포 사멸 단백질인 caspase-3의 증가 작용 역시 차단하는 것으로 나타났다(그림 1-39). 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다. 이러한 결과들은 생체 실험에서도 1형 당뇨병에 대한 차단 작용이 인정되고 있음을 말해 주고 있다.

나. 단일균총(AN091, AN092) 미생물발효차의 고지방 식이에 의한 비만 예방 효과

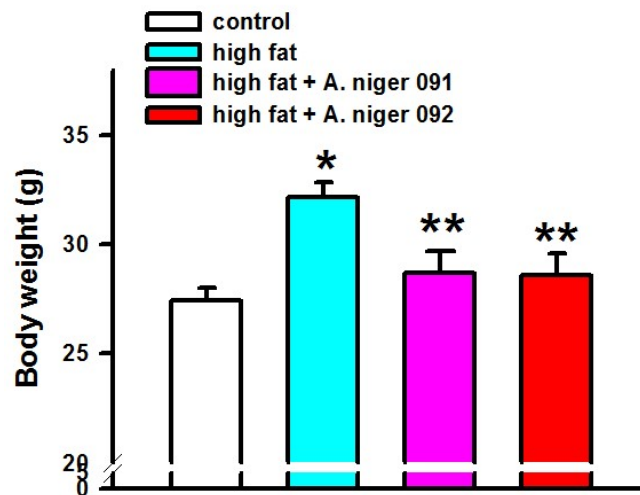


그림 1-40. 고지방 식이에 의한 미생물 발효차의 체중 감소 효과. *p<0.05 vs. control, **p<0.05 vs. high fat alone.

- 고지방 식이에 의해서 유도된 약간의 체중 증가 작용은 AN091 및 AN092 미생물 발효차에 의해 차단되는 것으로 나타났다(그림 1-40).

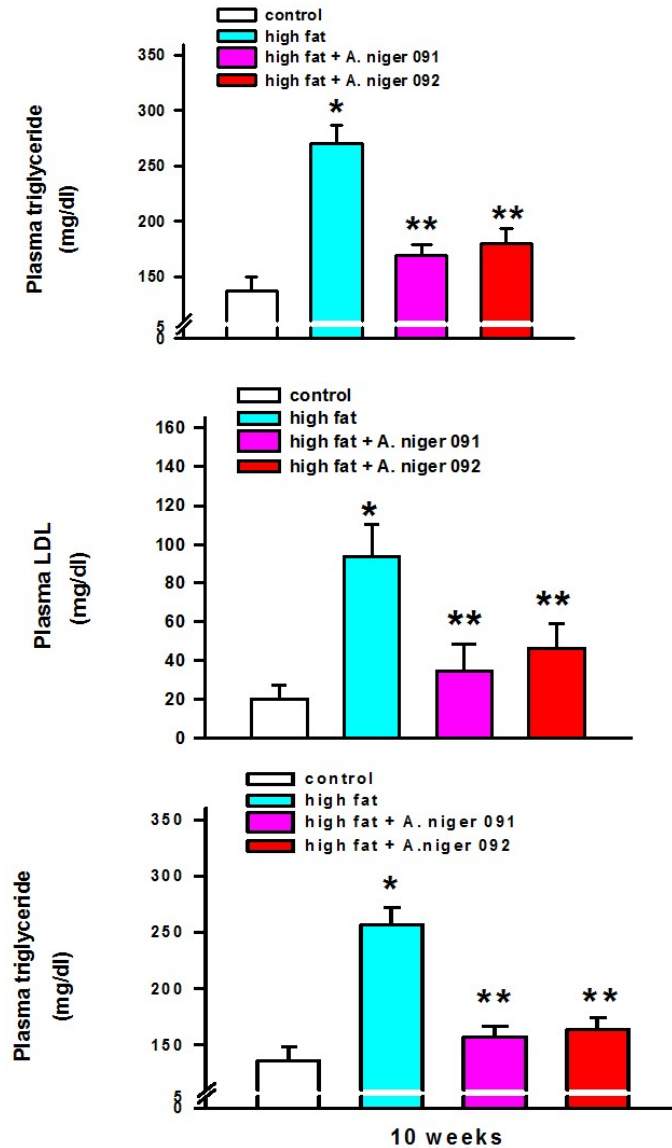


그림 1-41. 고지방 식이에 의한 단일균종 미생물 발효차의 혈장 지질단백 감소 효과. * $p < 0.05$ vs. control, ** $p < 0.05$ vs. high fat alone.

- 고지방 식이에 의해서 유도된 LDL, total cholesterol 및 triglyceride의 경우 유의성 있게 회복시키는 것으로 나타났다(그림 1-41).

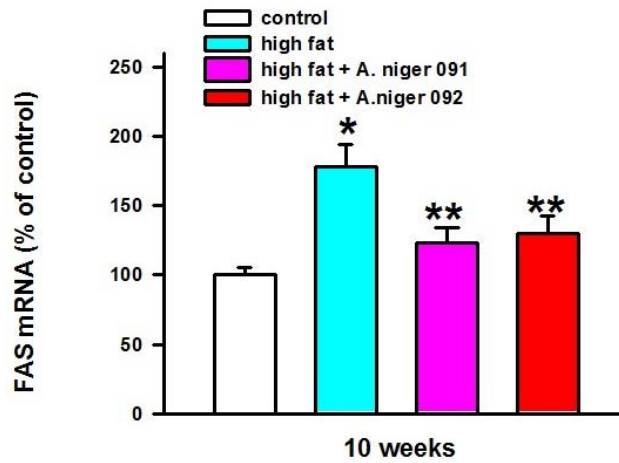
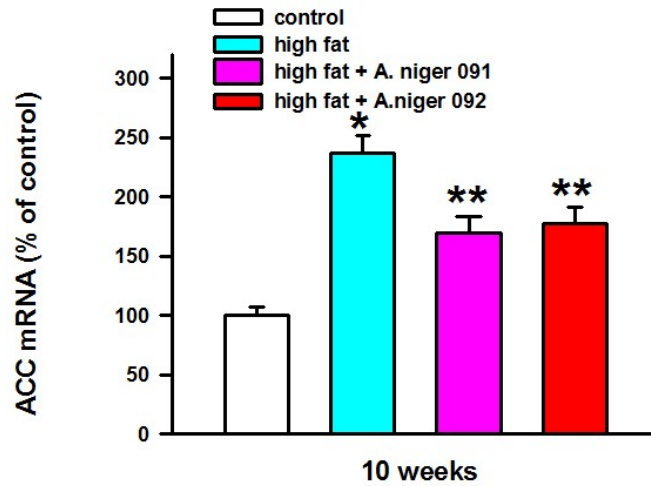


그림 1-42. 고지방 식이에 의한 단일균종 미생물 발효차의 지방합성 유전자 발현 변화. * $p < 0.05$ vs. control, ** $p < 0.05$ vs. high fat alone.

- 간장에서 고지방 식이에 의해서 유도된 지방 합성 촉진 관련 유전자 (ACC, FAS)의 경우도 역시 차단되는 것으로 관찰되었다(그림 1-42).

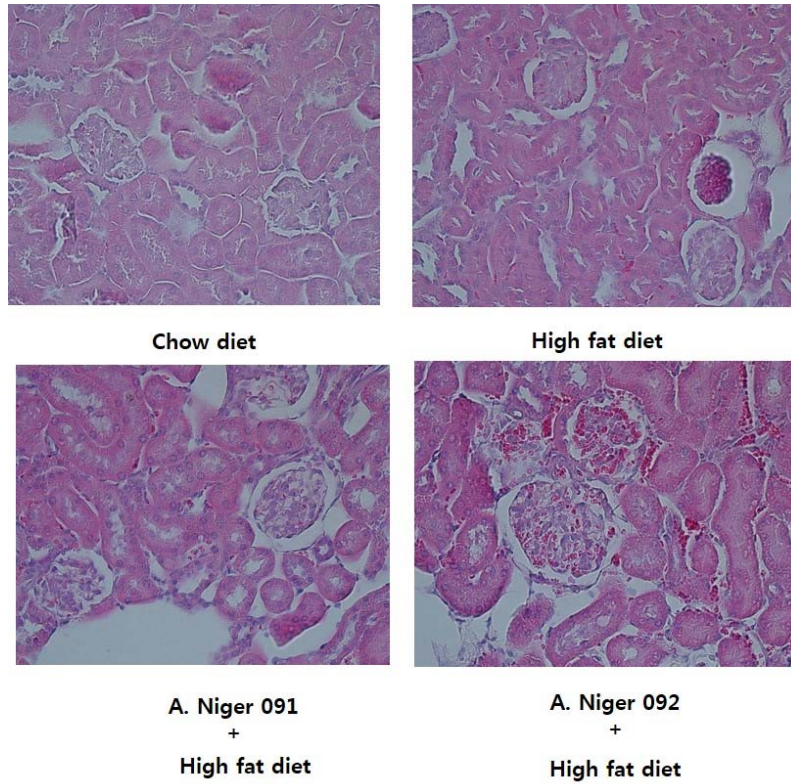


그림 1-43. 고지방 식이에 의한 단일균종 미생물 발효차의 신장 사구체 경화증 감소 효과.

- 신장에서도 역시 고지방 식이시 사구체 경화증이 유도되었으며 AN091 및 AN092 투여시 회복 되는 것으로 관찰되었다(그림 1-43).

(5) 미생물발효차 추출물의 *in vitro* 항고혈압 효과 검증

가. hsEH 저해활성 측정

- 최근의 항고혈압, 항염증, 진정효과에 대한 일련의 연구결과에 의하면 soluble epoxide hydrolase(sEH)라는 효소의 활성을 저해하는 저해제(sEH inhibitors, sEHIs)가 혈압강하, 항염증 등의 강한 효과가 있음을 보고되고 있으며, arachidonic acid cascade와 밀접한 관련이 있다는 것이 밝혀졌다.
- 포유류 sEH는 두 개의 domain으로 구성된 homodimer이다. 이중 C-terminal domain은 epoxide 가수분해에 촉매작용을 하는 역할을 하며, N-terminal domain은 인산가수분해효소 역할을 하며, sEH는 고혈압, 염증과 관련이 있는 epoxyeicosatrienoic acids(EETs)와 같은 epoxy fatty acid 중간물질을 가수분해하는 것으로 알려져 있다. sEH에 의해 EETs에서 dihydroxyeicosatrienoic acids(DHETs)로 분해되면 그 생화학적 활성을 잃게 되고, sEH 저해에 의한 *in vivo*상에서 EETs의 농도를 유지하게 되면 항고혈압, 항염증 효과가 있으며, 진정 효과가 높은 것으로 보고되고 있다.

가) 15종 단일균주 미생물발효차 추출물의 hsEH 저해활성

- 15종 단일균주 접종 미생물발효차 열수추출물의 hsEH 저해활성 측정 결과, AN091, AN092 균주의 미생물 발효차 추출물이 141.30 $\mu\text{g/mL}$, 118.60 $\mu\text{g/mL}$ 으로 단일균주 미생물발효차 열수추출물 중 가장 좋은 hsEH저해 활성을 보였다(표 1-19).
- 한편, 발효전 원료인 6월 모차의 경우 201.37 $\mu\text{g/mL}$ 의 IC_{50} 값을 보여 발효가 진행될수록 활성이 증가되는 경향을 보였다.
- 또한, AN091, AN092에 의해 발효된 차추출물의 경우 본 연구그룹의 연구결과, 탐색된 천연생물자원소재 중 가장 높은 활성을 보인 감송향 추출물(123.50 $\mu\text{g/mL}$)과 비슷한 정도의 활성을 보였으며, 대부분의 천연생물자원 열수추출물의 경우 hsEH저해 활성에 대해 상당히 낮은 활성($\geq 500 \mu\text{g/mL}$)을 보이는 반면 미생물 발효차의 경우 $\leq 250 \mu\text{g/mL}$ 의 IC_{50} 값을 보여 좋은 hsEH 저해 활성 나타났다.
- 에탄올 추출물의 경우도 감송향 추출물(7.00 $\mu\text{g/mL}$)에 비해 낮은 활성을 보였지만 녹차(126.30 $\mu\text{g/mL}$)에 비해 단일 균주를 이용하여 미생물 발효차를 제조하였

을 때 hsEH 저해 활성이 더 증가 되는 것을 확인하였고, 시료 중 열수추출물과 동일하게 AN091, AN092 균주의 미생물 발효차 추출물이 37.23 $\mu\text{g/mL}$, 41.33 $\mu\text{g/mL}$ 으로 단일균주 미생물발효차 에탄올 추출물 중 가장 좋은 hsEH 저해 활성을 보였다. 또한, 모차에 비해 발효가 진행됨에 따라 추출물의 hsEH 저해활성이 증가함을 확인하였다.

표 1-19. 단일균주 접종 미생물발효차 추출물의 hsEH 저해활성 측정결과

Sample list	sEH inhibitory activity(IC50: $\mu\text{g/mL}$)	
	Water extract	Ethanol extract
AN091	141.30 \pm 17.05 ^a	37.23 \pm 6.30 ^b
AN092	118.60 \pm 2.05 ^a	41.33 \pm 2.78 ^{bc}
AF211	197.57 \pm 12.23 ^{bcde}	55.63 \pm 6.39 ^{de}
AF212	216.67 \pm 8.62 ^{ef}	94.70 \pm 5.27 ^g
AT011	188.43 \pm 12.48 ^{bcd}	47.80 \pm 8.00 ^{cd}
PG051	239.70 \pm 22.33 ^{fg}	95.53 \pm 5.45 ^g
PC091	201.77 \pm 8.72 ^{bcde}	56.97 \pm 3.40 ^{de}
PC151	202.80 \pm 10.95 ^{cde}	56.60 \pm 6.26 ^{de}
PG121	247.67 \pm 19.22 ^g	66.30 \pm 5.51 ^{ef}
RS201	212.13 \pm 10.37 ^{de}	59.20 \pm 2.91 ^e
RP211	186.10 \pm 3.90 ^{bcd}	89.90 \pm 3.12 ^g
LR011	221.20 \pm 21.86 ^{ef}	96.43 \pm 3.59 ^g
DH011	201.93 \pm 17.96 ^{bcde}	75.13 \pm 9.27 ^f
RP011	184.40 \pm 7.75 ^{bc}	76.20 \pm 7.14 ^f
CT181	175.90 \pm 15.30 ^b	55.77 \pm 2.20 ^{de}
Control: 6월 모차	201.37 \pm 6.00 ^{bcde}	126.30 \pm 11.09 ^h
Positive control: 감송향	123.50 \pm 11.09 ^a	7.00 \pm 0.78 ^a

*발효기간: 5주

나) 15종 혼합균주 미생물발효차 추출물의 hsEH 저해활성

- 측정 결과 감송향 추출물 경우 IC₅₀ 값이 4.50 $\mu\text{g/mL}$ 인데 비하여, 홍차는 63.33 $\mu\text{g/mL}$ 의 값을 보였다. 특히 중국산 미생물발효차의 경우 IC₅₀ 값은 42.57 $\mu\text{g/mL}$ 의 값을 보였다. 15종 혼합균주에 의해 제조된 미생물발효차 메탄올 추출물 중 BIN-105, BIN-108 시료의 IC₅₀ 값은 41.90 $\mu\text{g/mL}$, 40.57 $\mu\text{g/mL}$ 으로 중국산 미생물발효차 메탄올추출물보다 좋은 hsEH 저해 활성을 보였다. 특히 BIN-105, BIN-108의 경우 발효조건 중 45°C 온도조건과 발효기간이 35일(7일 \times 5회)이라는

공통점이 있어 발효온도, 발효기간이 hsEH저해 활성에 영향을 미치는 것으로 생각되었다. 또한 홍차의 IC₅₀ 값이 63.33 μ g/mL일 때 BIN-107, BIN-115, BIN-117의 시료를 제외한 나머지 시료에서 낮은 IC₅₀ 값으로 더 좋은 hsEH 저해 활성을 보여 홍차와 같은 효소발효차보다 미생물을 이용한 발효차가 인체의 생리 기능성이 우수한 성분을 만드는데 유리할 것으로 생각되었다.

표 1-20. 혼합균주 접종 미생물발효차 추출물의 hsEH 저해활성 측정결과

시료	메탄올추출물
	IC ₅₀ (μ g/mL)
감송향	4.50 ± 0.72 ^a
홍차	63.33 ± 5.10 ^{ef}
중국산 미생물발효차(PT41, 고급)	42.57 ± 2.06 ^b
BIN-105	52.83 ± 4.88 ^{cd}
BIN-106	41.90 ± 3.34 ^b
BIN-107	63.30 ± 4.52 ^{ef}
BIN-108	40.57 ± 4.15 ^b
BIN-110	53.17 ± 7.17 ^{cd}
BIN-115	63.10 ± 4.18 ^{ef}
BIN-116	44.90 ± 10.95 ^{bc}
BIN-117	68.53 ± 8.60 ^f
BIN-118	44.07 ± 4.41 ^b
BIN-120	58.30 ± 4.65 ^{de}

All values are mean ± SD. ^{a-f}Values within different superscripts are different within the same column at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

나. 고지혈증 개선 지표성분으로서의 statin화합물 탐색 결과

- Statin화합물은 현재 고지혈증 치료물 시장의 80%를 차지하고 있으며 미생물에 의해 생성되는 HMG-CoA 환원효소 억제제(HMG CoA reductase inhibitor, Statin)로서 콜레스테롤 합성의 속도조절 단계인 HMG CoA reductase를 경쟁적으로 억제하여 간세포(Hepatocyte)에서 콜레스테롤 합성을 감소시키고, 조세포의 LDL수용체의 활성도를 증가시키므로써 혈중 LDL-콜레스테롤의 제거를 촉진하여 혈중 콜레스테롤의 농도를 감소시킨다고 알려져 있다.

가) 15종 단일균주 미생물발효차 추출물의 statin화합물 탐색 결과

- 15종의 균주를 각각 개별 접종하여 발효시켜 제조한 발효차 내의 고지혈증 개선 지표 성분인 statin 화합물의 함량을 측정한 결과, 각각의 15균주를 접종해 발효시킨 모든 미생물 발효차시료에서 statin 화합물이 확인되었으며, 특히 AF121을 접종하여 발효시킨 시료의 함량이 가장 높은 것을 확인하였다.

표 1-21. 단일균주 접종 미생물발효차 추출물의 statin화합물 탐색 결과

Sample	Statins contents(ng/g dr. wt. eq.)								Total
	Prava statin- H	Atova statin- H	Com pactin -H	Com pactin -L	Lova statin -H	Lova statin -L	Simva statin- H	Simva statin- L	
	AF121-5	216.1	40.2	-	-	15.4	-	-	
AF211-5	451.8	126.3	-	-	81.6	0.1	-	-	659.8
AN091-5	191.7	60.9	-	-	18.8	01.1	-	-	272.6
AN092-5	60.2	36.0	-	-	-	-	-	-	96.2
AT011-5	142.0	40.7	-	-	26.8	-	-	-	209.5
PC091-5	287.2	51.2	-	-	138.7	-	-	-	477.0
PC151-5	198.3	46.2	-	-	24.0	-	-	-	268.5
PG051-5	238.8	57.2	-	-	42.7	-	-	-	338.6
PG121-5	234.9	59.7	-	-	-	-	-	-	294.5
RP011-5	205.7	54.9	-	-	62.9	-	-	-	323.5
RP211-5	207.0	-	-	-	-	-	-	-	207.0
RS201-5	226.4	61.6	-	-	57.9	-	-	-	346.0
CT181-5	22.2	7.5	-	-	0.6	-	-	-	30.3
DH011-5	95.2	37.5	-	-	-	-	-	-	132.7
LR011-5	318.2	86.0	-	-	-	-	-	-	404.2

나) 15종 혼합균주 미생물발효차 추출물의 statin화합물 탐색 결과

- 선발된 15종의 균주를 혼합하여 각각의 조건으로 발효시켜 제조한 발효차를 대상으로 statin 화합물의 함량을 측정된 결과, 모든 미생물 발효차시료에서 statin 화합물이 확인되었으며, 수분함량 40% 시료(BIN-105~BIN-110) 보다 수분함량 45%로 발효시킨 시료(BIN115~BIN-120)에서 검출된 statin 화합물의 함량이 높았지만 그 양 차이는 미미한 수준이었다. 또한 발효 온도에 따른 statin화합물의 검출량을 비교해본 결과, 30℃에서 섞어가며 배양하는 시료의 함량이 다른 온도조건보다 생성량이 현저히 낮았으며, 30℃에서 발효를 하다 45℃로 온도 변화를 주는 시료의 statin 생성량이 수분함량이 다른 두 조건 모두에서 가장 높은 함량을 나타내 statin 생성에 효과적인 발효 조건을 찾을 수 있었다.

표 1-22. 혼합균주 접종 미생물발효차 추출물의 statin화합물 탐색 결과

Sample	Statins contents(ng/g dr. wt. eq.)								Total
	Prava statin	Atova statin	Com pactin	Com pactin	Lova statin	Lova statin	Simva statin	Simva statin	
	-H	-H	-H	-L	-H	-L	-H	-L	
BIN 105	-	11.73	-	-	-	-	-	-	11.73
BIN 106	-	29.68	-	-	-	-	-	-	29.68
BIN 107	344.88	9.79	-	-	-	-	-	-	354.67
BIN 108	271.12	6.77	-	-	0.88	-	-	-	278.78
BIN 110	304.11	6.87	-	-	0.99	-	-	-	311.97
BIN 115	-	13.61	-	-	2.33	-	-	-	15.94
BIN 116	311.52	8.13	-	-	1.42	-	-	-	321.07
BIN 117	357.35	7.94	-	-	1.06	-	0.02	-	366.38
BIN 118	338.52	8.44	-	-	1.24	-	-	-	348.19
BIN 120	111.25	3.00	-	-	-	-	-	-	114.25

(6) 피부 개선관련 기능성

가. 미백 기능성

- 15균주 포자 단일 접종 미생물발효차의 water, ethanol 추출물의 피부 미백활성을 측정된 결과, 전반적으로 두 추출물 모두 대조구로 사용한 모차(6월)보다 높은 미백활성을 나타냈으며, 두 추출물간에 큰 활성 차이는 나타나지 않았다.

- 시료들 간에는 AN092, AT011, CT181 시료에서 높은 미백활성을 나타냈으며, 이중 AT011의 경우 미백활성에 효과가 있다고 알려진 kojic acid를 생산하는 균주로 알려져 있어, 추후 활성 본체에 대한 추가적인 실험이 필요할 것이라 생각되었다

표 1-23. Tyrosinase 저해활성 측정결과

Inoculum	Tyrosinase inhibitory activity(IC50:μg/mL)	
	Water extract	Ethanol extract
AN091	287.6	326.5
AN092	259.2	275.6
AF211	463.5	402.6
AF212	312.8	365.2
AT011	260.8	284.6
PG051	297.7	306.6
PC091	291.5	285.6
PC151	400.5	385.6
PG121	382.8	415.3
RS201	458.8	423.6
RP211	427.6	385.6
LR011	273	296.5
DH011	315.6	336.5
RP011	298.5	278.6
CT181	268.6	311.6
Control: 6월 모차	457	498.2
Positive control: Kojic acid		156

*발효기간: 5주

나. 항주름 기능성

- 15균주 포자 단일 접종 미생물발효차의 water, ethanol 추출물의 피부 주름개선 효과를 측정한 결과, 전반적으로 추출물 모두 대조구로 사용한 모차(6월)보다 더 높은 주름개선 효과를 나타냈으며, 추출물간에 큰 활성 차이는 나타나지 않았다.
- 시료들 간에는 AN092 시료가 추출물에서 가장 높은 주름개선 효과를 나타냈다.

표 1-24. Elastase 저해활성 측정결과

Inoculum	Elastase inhibitory activity(IC50;μg/mL)	
	Water extract	Ethanol extract
AN091	281.5	302.6
AN092	198.6	211.6
AF211	509.8	489
AF212	369.8	396.5
AT011	206.5	225.8
PG051	336.7	300.9
PC091	306.9	336.5
PC151	487.5	475.2
PG121	436.2	402.3
RS201	615.2	587
RP211	427.6	411.8
LR011	215.8	268.5
DH011	405.6	457.3
RP011	298.5	308.6
CT181	281.6	269.5
Control: 6월 모차	623.8	453.4
Positive control: Ursoric acid		18.6

*발효기간: 5주

(7) 항산화 활성

가. DPPH radical scavenging assay를 통한 항산화 활성 측정

- 선발된 미생물 15균주를 모차에 각각 접종하여 최적 생육조건하에 제조한 미생물 발효차의 water, ethanol 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과, 추출물에 따른 활성은 크게 차이가 나지 않았으나, 비교적 ethanol 추출물에서 더 높은 항산화 활성을 나타냈다.
- 각각의 균주들의 비교 시 AN092, AT011, RP211 시료에서 비교적 높은 항산화 활성을 나타냈으나 모든 시료에서 대조구로 사용한 모차(6월)보다 낮은 항산화 활성을 나타냈다.

표 1-25. DPPH radical scavenging activity 측정결과

Inoculum	DPPHradicalscavenging(SC ₅₀ : μ g/mL)	
	Water extract	Ethanol extract
AN091	39.1	28.6
AN092	32.7	22.3
AF211	56.8	46.8
AF212	41.7	36.8
AT011	33.4	25.4
PG051	80.9	71.6
PC091	44.1	40.6
PC151	350.1	296.5
PG121	142.7	115.8
RS201	763.9	568.1
RP211	40	20.3
LR011	106.7	88.6
DH011	38	21.5
RP011	51.9	32.6
CT181	57.2	50.2
Control: 6월 모차	26.8	19.9
Positive control: Ascorbic acid		8.97

*발효기간: 5주

나. ORP(Oxidation Reduction Potential)측정은 통한 환원력 측정

- 산화환원전위 측정을 이용한 15균주 포자 단일 접종 미생물발효차의 water, ethanol추출물의 환원력을 측정한 결과, 추출물간의 환원력은 전반적으로 큰 차이를 나타내지 않았으나, 일부 AN092, RP211 시료에서 water 추출물이 ethanol 추출물보다 높은 환원력을 나타냈으며, PC151의 경우 ethanol 추출물이 water 추출물보다 높은 환원력을 나타냈다.
- 시료들 간의 환원력을 비교할 시 AF211, RP211, DH011, CT181 시료에서 높은 환원력을 나타냈으며, 전반적으로 대조구로 사용한 모차(6월)와 큰 차이를 나타내지 않았다.

표 1-26. Oxidation&Reduction Potential 측정결과

Inoculum	OxidationReductionPotential(mV)	
	Water extract	Ethanol extract
AN091	4	8
AN092	-2	13
AF211	-9	-5
AF212	1	21
AT011	11	15
PG051	17	14
PC091	4	2
PC151	12	-13
PG121	1	6
RS201	8	8
RP211	-24	-15
LR011	-11	-8
DH011	-19	-11
RP011	1	3
CT181	-18	-12
Control: 6월 모차	6	2
Positive control: Ascorbic acid		-34

*발효기간: 5주

5) 개발된 미생물발효차의 이화학적 특성 및 성분 분석

(1) 균주별 접종 발효차의 품질 특성 분석

가. 색도

- 찻잎 중의 식물성 색소는 외관과 수색에 직접적인 영향을 주며 맛과 향미에도 약간의 영향을 준다. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차 찻잎의 색도는 표 1-27에 나타내었다.
- 찻잎의 표면의 밝기를 나타내는 L^* 값은 24.75-36.92로 PC091를 접종하여 5주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 낮은 값을 보여 제일 어두운 것을 알 수 있었고, 발효기간이 증가함에 따라 감소하였으며, 1주-3주에 비해 3주-5주에서 변화의 폭이 크게 나타났다. a^* 값은 3.15-5.70으로 발효기간이 증가함에 따라 약간의 변화는 나타났으나, 크게 변화하지는 않았다. 황색도를 나타내는 b^* 값도 발효기간이 증가함에 따라 감소하는 경향이 나타났으며 RP011를 접종하여 1주간 발효시킨 발효차에서 18.00으로 가장 높게 나타났고, 발효기간 5주에서 9.94로 다른 균에 비해 발효기간에 따른 황색도의 감소의 폭이 크게 나타났다.
- 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차 찻잎의 색도는 표 1-28에 나타내었다. L^* 값은 5월에 채엽하여 DH011를 접종하여 제조한 발효차에서 35.43으로 가장 높게 나타났다. a^* 값과 b^* 값은 채엽시기 따른 차이가 거의 나타나지 않았으며 전체적으로 6월에 채엽하여 제조한 발효차에서 L^* , a^* , b^* 값이 높게 나타났다.
- 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도는 표 1-29에 나타내었다. L^* 값은 56.24-85.58로 AT011을 접종하여 1주간 발효시킨 미생물발효차에서 85.58로 가장 높게 나타났고, PG121를 접종하여 5주간 발효시킨 미생물 발효차에서 56.24로 가장 낮게 나타났다. RS201, RP211, RP011, CT181에서는 발효기간이 증가함에 따라 증가하였고, 4가지 접종균주를 제외한 나머지 균에서는 발효기간이 증가함에 따라 감소하였다. AN091, AN092, AF211, AF212, AT011, PC091, PC151, PG121 접종균주에서는 발효기간에 증가함에 따라 명도는 감소, 적색도와 황색도의 증가가 뚜렷한 경향이 나타났으나, 이를 제외한 나머지 접종균주에서는 일정한 경향이 나타나지 않고 발효기간에 따른 변화가 미비하였다. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차 찻잎의 색도는 표 1-30에 나타

내었다. 채엽시기에 따른 L*, a*, b*값에서 일정한 경향은 나타나지 않았다.

표 1-27-1. 개별균주 접종(포자접종)시 발효기간에 따른 찻잎의 색도(L value)

Inoculum	L* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	35.82±0.01 ^{Aa}	32.55±0.01 ^{Kb}	30.77±0.02 ^{Ec}
AN092	26.45±0.00 ^{Lb}	32.94±0.01 ^{Ja}	26.33±0.01 ^{Mc}
AF211	33.75±0.02 ^{Fb}	34.59±0.01 ^{Ea}	29.11±0.02 ^{Gc}
AF212	35.08±0.01 ^{Da}	31.91±0.00 ^{Lb}	26.65±0.01 ^{Kc}
AT011	31.47±0.01 ^{Kb}	33.87±0.01 ^{GHa}	29.00±0.01 ^{Hc}
PG051	35.20±0.01 ^{Bb}	36.92±0.01 ^{Aa}	26.50±0.02 ^{Lc}
PC091	33.61±0.02 ^{Gb}	33.93±0.01 ^{Fa}	24.75±0.01 ^{Oc}
PC151	33.02±0.00 ^{Hb}	36.50±0.01 ^{Ba}	28.78±0.02 ^{Ic}
PG121	26.43±0.01 ^{Nc}	33.85±0.01 ^{Ha}	32.51±0.01 ^{Db}
RS201	31.98±0.01 ^{Jb}	33.68±0.01 ^{Ia}	28.15±0.01 ^{Jc}
RP211	32.13±0.02 ^{Jc}	36.49±0.03 ^{Ba}	34.46±0.01 ^{Bb}
LR011	26.41±0.01 ^{Oc}	33.88±0.02 ^{Gb}	34.89±0.01 ^{Aa}
DH011	26.91±0.01 ^{Mc}	29.25±0.02 ^{Mb}	29.85±0.01 ^{Fa}
RP011	35.18±0.02 ^{Cb}	35.58±0.01 ^{Da}	26.19±0.00 ^{Nc}
CT181	34.53±0.02 ^{Eb}	36.42±0.01 ^{Ca}	33.56±0.00 ^{Cc}

표 1-27-2. 개별균주 접종(포자접종)시 발효기간에 따른 찻잎의 색도(a value)

Inoculum	a* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	3.39±0.02 ^{Kc}	4.23±0.02 ^{Fa}	4.12±0.01 ^{Jb}
AN092	4.42±0.02 ^{Da}	4.15±0.01 ^{Gb}	3.64±0.02 ^{Nc}
AF211	3.48±0.01 ^{Jb}	3.50±0.01 ^{Lb}	4.09±0.03 ^{JKa}
AF212	3.33±0.01 ^{Lc}	4.51±0.01 ^{Cb}	4.76±0.01 ^{Ga}
AT011	4.00±0.01 ^{Hb}	3.67±0.02 ^{Jc}	5.11±0.02 ^{Ca}
PG051	3.77±0.02 ^{Ib}	3.28±0.01 ^{Nc}	4.07±0.03 ^{Ka}
PC091	3.15±0.02 ^{Mc}	3.56±0.02 ^{Kb}	5.06±0.01 ^{Da}
PC151	4.11±0.03 ^{Gb}	3.33±0.02 ^{Mc}	5.22±0.02 ^{Ba}
PG121	4.76±0.02 ^{Bb}	4.64±0.02 ^{Bc}	4.99±0.02 ^{Ea}
RS201	4.23±0.02 ^{Fb}	3.93±0.01 ^{Hlc}	5.70±0.01 ^{Aa}
RP211	4.50±0.01 ^{Ca}	3.95±0.01 ^{Hc}	4.26±0.01 ^{Ib}
LR011	4.75±0.03 ^{Ba}	3.92±0.03 ^{Ib}	3.74±0.01 ^{Mc}
DH011	4.13±0.02 ^{Gc}	4.82±0.02 ^{Aa}	4.39±0.04 ^{Hb}
RP011	4.33±0.01 ^{Ec}	4.44±0.01 ^{Dc}	4.91±0.03 ^{Fc}
CT181	4.82±0.01 ^{Aa}	4.40±0.01 ^{Ea}	4.03±0.03 ^{Lc}

표 1-27-3. 개별균주 접종(포자접종) 시 발효기간에 따른 찻잎의 색도(b value)

Inoculum	b* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	15.61±0.06 ^{Da}	14.17±0.03 ^{Mb}	12.02±0.04 ^{Hc}
AN092	15.61±0.06 ^{Jb}	14.63±0.02 ^{Ja}	10.07±0.01 ^{Lc}
AF211	14.10±0.01 ^{Ha}	13.94±0.02 ^{Nb}	10.34±0.04 ^{Hc}
AF212	13.83±0.01 ^{Ib}	14.53±0.04 ^{Ka}	9.40±0.05 ^{Ec}
AT011	14.68±0.03 ^{Fb}	15.04±0.01 ^{Ia}	11.16±0.04 ^{Ac}
PG051	15.65±0.04 ^{Db}	16.13±0.02 ^{Da}	9.52±0.01 ^{Ic}
PC091	13.15±0.02 ^{Kb}	14.25±0.04 ^{La}	9.52±0.04 ^{Bc}
PC151	14.31±0.02 ^{Gb}	15.23±0.03 ^{Ga}	11.59±0.01 ^{Ic}
PG121	12.28±0.02 ^{Mc}	15.88±0.01 ^{Ea}	13.76±0.04 ^{Cb}
RS201	15.04±0.03 ^{Eb}	15.83±0.02 ^{Fa}	11.66±0.04 ^{Hc}
RP211	15.71±0.03 ^{Cb}	17.15±0.01 ^{Ea}	14.57±0.02 ^{Gc}
LR011	12.62±0.06 ^{Lc}	15.27±0.02 ^{Ha}	14.80±0.01 ^{Kb}
DH011	12.03±0.04 ^{Nb}	13.85±0.02 ^{Ob}	11.97±0.04 ^{Fb}
RP011	17.49±0.04 ^{Ab}	17.99±0.01 ^{Ac}	9.94±0.02 ^{Dc}
CT181	16.73±0.02 ^{Bb}	17.32±0.01 ^{Ba}	14.47±0.08 ^{Jc}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-28-1. 개별균주 접종(모배양 찻잎접종) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 찻잎의 색도(L value)

Inoculum	L* value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	31.19±0.01 ^{Hc}	31.94±0.00 ^{Ka}	31.82±0.01 ^{Hb}
AN092	26.60±0.01 ^{Nc}	31.31±0.01 ^{Ma}	28.73±0.01 ^{Mb}
AF211	27.82±0.02 ^{Mc}	31.42±0.00 ^{La}	28.67±0.02 ^{Nb}
AF212	31.03±0.02 ^{Jc}	32.81±0.01 ^{Ga}	31.67±0.01 ^{Ib}
AT011	30.93±0.01 ^{Jc}	32.50±0.01 ^{Ia}	32.50±0.01 ^{Fa}
PG051	30.71±0.01 ^{Kc}	32.72±0.01 ^{Ha}	32.41±0.01 ^{Eb}
PC091	33.31±0.02 ^{Cb}	35.29±0.01 ^{Aa}	32.96±0.02 ^{Cc}
PC151	32.04±0.00 ^{Fc}	34.41±0.01 ^{Ba}	32.09±0.01 ^{Gb}
PG121	31.02±0.01 ^{Ia}	28.91±0.01 ^{Nc}	30.07±0.02 ^{Lb}
RS201	34.09±0.02 ^{Ba}	32.47±0.01 ^{Jc}	33.96±0.01 ^{Ab}
RP211	28.31±0.02 ^{Lc}	33.48±0.01 ^{Ea}	30.50±0.01 ^{Kb}
LR011	31.84±0.01 ^{Gc}	33.95±0.01 ^{Ca}	32.83±0.01 ^{Db}
DH011	35.43±0.01 ^{Aa}	31.94±0.00 ^{Kb}	31.43±0.01 ^{Jc}
RP011	32.39±0.02 ^{Ec}	33.21±0.02 ^{Fa}	32.98±0.01 ^{Bb}
CT181	32.68±0.01 ^{Db}	33.78±0.01 ^{Da}	28.39±0.01 ^{Oc}

표 1-28-2. 개별균주 접종(모배양 찾아집중) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 찾아의 색도(a value)

Inoculum	*a value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	2.91±0.01 ^{Jc}	3.78±0.02 ^{Ha}	3.21±0.02 ^{Cb}
AN092	3.49±0.03 ^{Cc}	5.07±0.02 ^{Aa}	3.95±0.02 ^{Ab}
AF211	3.39±0.03 ^{Dc}	4.09±0.2 ^{Ea}	3.51±0.01 ^{Bb}
AF212	3.60±0.02 ^{Bb}	4.19±0.02 ^{Da}	3.49±0.03 ^{Bc}
AT011	2.72±0.02 ^{Lb}	3.69±0.01 ^{ac}	3.69±0.01 ^{Da}
PG051	3.01±0.03 ^{Bb}	4.07±0.02 ^{Ea}	2.99±0.01 ^{Fc}
PC091	2.77±0.01 ^{Kc}	3.68±0.01 ^{la}	2.97±0.01 ^{Fb}
PC151	2.77±0.01 ^{Kc}	3.64±0.03 ^{Ja}	2.99±0.01 ^{Fb}
PG121	3.24±0.01 ^{Gc}	4.29±0.04 ^{Ca}	3.49±0.01 ^{Bb}
RS201	3.33±0.01 ^{Ea}	3.16±0.04 ^{Lb}	2.73±0.02 ^{Hc}
RP211	3.28±0.01 ^{Fb}	3.89±0.03 ^{Fc}	3.50±0.01 ^{Ba}
LR011	3.41±0.02 ^{Db}	3.91±0.01 ^{Fc}	3.06±0.03 ^{Ea}
DH011	3.06±0.02 ^{Hb}	3.82±0.01 ^{Ga}	3.03±0.02 ^{Ec}
RP011	3.88±0.03 ^{Ab}	4.44±0.01 ^{Ba}	3.03±0.02 ^{Ec}
CT181	3.40±0.03 ^{Db}	3.56±0.03 ^{Ka}	2.98±0.03 ^{Gc}

표 1-28-3. 개별균주 접종(모배양 찾아집중) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 찾아의 색도(b value)

Inoculum	*b value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	12.33±0.02 ^{Eb}	12.86±0.05 ^{Ga}	12.01±0.04 ^{Ec}
AN092	10.37±0.14 ^{Kc}	12.77±0.05 ^{Ha}	11.07±0.03 ^{Jb}
AF211	10.88±0.06 ^{Jb}	12.61±0.03 ^{Ha}	10.74±0.01 ^{Lb}
AF212	11.23±0.04 ^{Ib}	11.58±0.03 ^{Ka}	11.53±0.04 ^{Ha}
AT011	11.97±0.03 ^{Gb}	13.43±0.01 ^{Ea}	13.35±0.05 ^{Aa}
PG051	11.86±0.02 ^{Hc}	13.42±0.04 ^{Ea}	12.06±0.02 ^{Db}
PC091	12.20±0.04 ^{Fb}	13.95±0.02 ^{Ba}	12.42±0.01 ^{Bb}
PC151	11.95±0.01 ^{Gc}	14.31±0.03 ^{Aa}	12.07±0.02 ^{Db}
PG121	11.26±0.01 ^{Ib}	10.33±0.02 ^{Mc}	11.38±0.01 ^{la}
RS201	12.37±0.01 ^{Ea}	11.34±0.02 ^{Lb}	10.95±0.02 ^{Kc}
RP211	9.75±0.01 ^{Lc}	12.00±0.04 ^{Ja}	11.71±0.02 ^{Gb}
LR011	13.02±0.03 ^{Db}	13.88±0.05 ^{Ca}	12.28±0.03 ^{Cc}
DH011	14.70±0.03 ^{Aa}	12.72±0.02 ^{Hb}	11.89±0.04 ^{Fc}
RP011	13.38±0.05 ^{Ca}	13.70±0.01 ^{Da}	11.34±0.01 ^{Ib}
CT181	13.60±0.05 ^{Ba}	12.93±0.00 ^{Fb}	9.61±0.01 ^{Mc}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-29-1. 개별균주 접종(포자접종) 시 발효기간에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도(L value)

Inoculum	L* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	74.61±0.05 ^{la}	73.23±0.01 ^{Jb}	65.33±0.03 ^{Mc}
AN092	80.25±0.01 ^{Fa}	70.87±0.01 ^{Lb}	64.74±0.01 ^{Nc}
AF211	84.48±0.11 ^{Ba}	79.70±0.12 ^{Db}	70.25±0.01 ^{Fc}
AF212	80.91±0.02 ^{Da}	78.28±0.02 ^{Eb}	69.19±0.03 ^{Ic}
AT011	85.58±0.01 ^{Aa}	81.43±0.01 ^{Cb}	66.81±0.02 ^{Kc}
PG051	83.428±0.01 ^{Ca}	82.95±0.02 ^{Ab}	66.68±0.02 ^{Lc}
PC091	80.54±0.01 ^{Ea}	75.51±0.01 ^{Ib}	70.19±0.03 ^{Gc}
PC151	76.04±0.01 ^{Gb}	81.64±0.02 ^{Ba}	70.89±0.02 ^{Ec}
PG121	76.00±0.02 ^{Ga}	73.27±0.01 ^{Jb}	56.24±0.02 ^{Oc}
RS201	68.37±0.01 ^{Mc}	76.09±0.01 ^{Hb}	76.66±0.01 ^{Ba}
RP211	73.65±0.01 ^{Jc}	77.97±0.03 ^{Fa}	75.27±0.03 ^{Cb}
LR011	70.15±0.02 ^{Lb}	72.25±0.01 ^{Ka}	69.60±0.01 ^{Hc}
DH011	75.08±0.01 ^{Ha}	69.56±0.02 ^{Mb}	68.88±0.01 ^{Jc}
RP011	67.52±0.00 ^{Nb}	64.28±0.03 ^{Nc}	77.15±0.02 ^{Aa}
CT181	70.27±0.02 ^{Kc}	76.47±0.02 ^{Ga}	75.17±0.02 ^{Db}

표 1-29-2. 개별균주 접종(포자접종) 시 발효기간에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도(a value)

Inoculum	a* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	11.82±0.04 ^{Ic}	14.90±0.01 ^{Fb}	24.09±0.01 ^{Da}
AN092	9.41±0.02 ^{Lc}	17.34±0.02 ^{Db}	23.08±0.02 ^{Ea}
AF211	6.07±0.03 ^{Nc}	11.18±0.03 ^{Lb}	21.87±0.02 ^{Ha}
AF212	10.37±0.02 ^{Jc}	12.85±0.02 ^{Kb}	22.72±0.01 ^{Fa}
AT011	4.69±0.01 ^{Oc}	8.77±0.01 ^{Mb}	25.45±0.01 ^{Ba}
PG051	7.37±0.01 ^{Mc}	7.63±0.02 ^{Ob}	24.30±0.01 ^{Ca}
PC091	9.59±0.01 ^{Kc}	13.05±0.01 ^{Jb}	21.10±0.02 ^{Ia}
PC151	13.70±0.02 ^{Hb}	8.25±0.01 ^{Nc}	19.89±0.01 ^{Ka}
PG121	13.76±0.03 ^{Gc}	15.53±0.01 ^{Eb}	32.74±0.02 ^{Aa}
RS201	22.19±0.02 ^{Aa}	13.90±0.01 ^{Ib}	13.70±0.02 ^{Oc}
RP211	16.78±0.01 ^{Ea}	13.98±0.03 ^{Hc}	16.84±0.04 ^{Lb}
LR011	21.02±0.03 ^{Ba}	18.33±0.01 ^{Cc}	20.05±0.03 ^{Jb}
DH011	15.22±0.01 ^{Fc}	19.88±0.02 ^{Ab}	22.51±0.00 ^{Ga}
RP011	19.68±0.02 ^{Ca}	19.32±0.02 ^{Bb}	13.92±0.01 ^{Nc}
CT181	18.92±0.02 ^{Da}	14.34±0.00 ^{Gc}	14.52±0.01 ^{Mb}

표 1-29-3. 개별균주 접종(포자접종) 시 발효기간에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도 (b value)

Inoculum	b* value during fermentation		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	72.94 ± 0.04 ^{Ha}	73.46 ± 0.01 ^H	75.95 ± 0.12 ^{Ga}
AN092	64.72 ± 0.01 ^{Nc}	76.78 ± 0.03 ^C	72.14 ± 0.02 ^{Ha}
AF211	65.71 ± 0.08 ^{Mb}	65.45 ± 0.09 ^N	71.97 ± 0.05 ^{Jc}
AF212	69.79 ± 0.02 ^{Cc}	72.78 ± 0.02 ^I	70.73 ± 0.04 ^{Ja}
AT011	70.73 ± 0.01 ^{Oc}	67.07 ± 0.02 ^M	74.09 ± 0.13 ^{Db}
PG051	70.32 ± 0.01 ^{Kb}	68.05 ± 0.00 ^K	73.16 ± 0.03 ^{Ec}
PC091	70.67 ± 0.03 ^{Jb}	74.63 ± 0.03 ^E	68.35 ± 0.04 ^{Ka}
PC151	75.01 ± 0.02 ^{Ea}	67.31 ± 0.04 ^L	64.42 ± 0.04 ^{Lb}
PG121	72.40 ± 0.05 ^{Jc}	73.67 ± 0.03 ^G	80.66 ± 0.03 ^{Ab}
RS201	85.50 ± 0.14 ^{Aa}	76.66 ± 0.04 ^D	56.58 ± 0.08 ^{Mb}
RP211	73.65 ± 0.01 ^{Ga}	72.65 ± 0.03 ^I	68.42 ± 0.04 ^{Kb}
LR011	80.26 ± 0.05 ^{Da}	79.21 ± 0.04 ^A	76.76 ± 0.02 ^{Cb}
DH011	73.94 ± 0.02 ^{Fc}	77.89 ± 0.03 ^B	78.81 ± 0.12 ^{Bb}
RP011	82.98 ± 0.04 ^{Ba}	76.71 ± 0.04 ^D	55.87 ± 0.04 ^{Nb}
CT181	81.14 ± 0.03 ^{Ca}	73.97 ± 0.07 ^F	73.05 ± 0.01 ^{Fb}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-30-1. 개별균주 접종(모배양 찻잎접종) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도(L value)

Inoculum	L* value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	82.06 ± 0.08 ^{Aa}	77.83 ± 0.06 ^{Ec}	80.40 ± 0.42 ^{Cb}
AN092	74.62 ± 0.38 ^{Ec}	79.14 ± 0.27 ^{Db}	82.68 ± 0.42 ^{Ba}
AF211	82.06 ± 0.04 ^{Aa}	76.44 ± 0.17 ^{Fc}	78.48 ± 2.06 ^{DEb}
AF212	64.02 ± 0.46 ^{Jc}	81.57 ± 0.86 ^{Bb}	84.28 ± 0.11 ^{Aa}
AT011	82.58 ± 2.81 ^{Aa}	82.32 ± 0.21 ^{Aa}	82.86 ± 0.08 ^{Ba}
PG051	81.92 ± 0.03 ^{Ab}	81.70 ± 0.21 ^{Bc}	82.59 ± 0.04 ^{Ba}
PC091	82.85 ± 0.07 ^{Aa}	80.54 ± 0.03 ^{Cb}	79.25 ± 0.02 ^{Dc}
PC151	80.10 ± 0.01 ^{Bb}	80.84 ± 0.02 ^{Ca}	78.56 ± 0.02 ^{DEc}
PG121	76.40 ± 0.02 ^{Da}	70.43 ± 0.03 ^{Jc}	75.88 ± 0.02 ^{Gb}
RS201	72.67 ± 0.01 ^{Gb}	76.11 ± 0.01 ^{Fa}	71.92 ± 0.08 ^{Jc}
RP211	73.47 ± 0.01 ^{FGb}	71.10 ± 0.02 ^{Hc}	77.38 ± 0.03 ^{Fa}
LR011	70.87 ± 0.02 ^{Hc}	75.22 ± 0.01 ^{Gb}	77.89 ± 0.01 ^{EFa}
DH011	79.03 ± 0.02 ^{Ca}	77.64 ± 0.01 ^{Eb}	77.46 ± 0.03 ^{Fc}
RP011	72.67 ± 0.01 ^{Ga}	71.26 ± 0.01 ^{Hb}	70.93 ± 0.02 ^{Jc}
CT181	74.32 ± 0.01 ^{EFc}	77.55 ± 0.02 ^{Ea}	74.50 ± 0.03 ^{Hb}

표 1-30-2. 개별균주 접종(모배양 첫잎접종) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도(a value)

Inoculum	a* value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	8.44 ± 0.01 ^{lc}	12.17 ± 0.37 ^{la}	9.30 ± 0.10 ^{kb}
AN092	19.95 ± 0.34 ^{BCa}	12.72 ± 0.22 ^{Hb}	9.24 ± 0.03 ^{Kc}
AF211	10.29 ± 0.38 ^{Hc}	14.72 ± 0.04 ^{Fa}	10.96 ± 0.05 ^{Jb}
AF212	28.61 ± 0.64 ^{Aa}	9.58 ± 0.05 ^{Lb}	5.56 ± 0.16 ^{Nc}
AT011	8.18 ± 0.76 ^{la}	7.95 ± 0.27 ^{Na}	6.88 ± 0.08 ^{Ma}
PG051	8.58 ± 0.62 ^{lb}	10.31 ± 0.02 ^{Ja}	8.22 ± 0.06 ^{Lb}
PC091	9.05 ± 0.01 ^{lc}	9.80 ± 0.03 ^{Kb}	12.04 ± 0.01 ^{la}
PC151	10.78 ± 0.02 ^{GHb}	9.23 ± 0.02 ^{Mc}	12.97 ± 0.03 ^{Ha}
PG121	15.70 ± 0.01 ^{Fc}	23.12 ± 0.01 ^{Aa}	17.53 ± 0.02 ^{Cb}
RS201	19.38 ± 0.01 ^{Ca}	14.97 ± 0.01 ^{Ec}	18.24 ± 0.11 ^{Bb}
RP211	17.10 ± 0.01 ^{Eb}	20.67 ± 0.02 ^{Ba}	13.10 ± 0.01 ^{Gc}
LR011	21.00 ± 0.02 ^{Ba}	16.64 ± 0.02 ^{Db}	13.76 ± 0.02 ^{Fc}
DH011	11.51 ± 0.01 ^{Gc}	12.96 ± 0.02 ^{Gb}	14.36 ± 0.02 ^{Ea}
RP011	18.94 ± 0.11 ^{CDc}	20.17 ± 0.01 ^{Ca}	19.90 ± 0.03 ^{Ab}
CT181	18.15 ± 0.02 ^{DEa}	12.29 ± 0.02 ^{lc}	16.01 ± 0.01 ^{Db}

표 1-30-3. 개별균주 접종(모배양 첫잎접종) 시 원료 채취시기에 따른 발효차 증류수 추출액의 색도(b value)

Inoculum	b* value related to harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	63.73 ± 0.59 ^{Gb}	67.73 ± 0.45 ^{Ja}	63.22 ± 0.24 ^{Ib}
AN092	80.88 ± 1.17 ^{CDa}	65.73 ± 0.08 ^{Lb}	61.85 ± 0.06 ^{Jc}
AF211	57.09 ± 4.62 ^{Hb}	66.74 ± 0.21 ^{Ka}	60.97 ± 0.34 ^{Kb}
AF212	87.68 ± 0.19 ^{Aa}	66.67 ± 0.07 ^{Kb}	57.43 ± 0.89 ^{Lc}
AT011	67.79 ± 7.26 ^{Fa}	66.47 ± 1.45 ^{Ka}	63.60 ± 0.25 ^{la}
PG051	70.46 ± 3.23 ^{Fb}	76.22 ± 0.17 ^{Fa}	69.44 ± 0.11 ^{Gb}
PC091	75.18 ± 0.11 ^{Eb}	72.55 ± 0.05 ^{Gc}	79.45 ± 0.04 ^{Da}
PC151	81.20 ± 0.05 ^{CDa}	71.47 ± 0.02 ^{Hc}	80.06 ± 0.02 ^{Cb}
PG121	82.80 ± 0.02 ^{CDb}	84.06 ± 0.07 ^{Ba}	81.95 ± 0.07 ^{Bc}
RS201	88.25 ± 0.04 ^{Aa}	77.60 ± 0.07 ^{Dc}	82.80 ± 0.03 ^{Ab}
RP211	82.73 ± 0.05 ^{CDa}	77.06 ± 0.07 ^{Eb}	66.44 ± 0.03 ^{Hc}
LR011	84.35 ± 0.04 ^{BCa}	78.60 ± 0.05 ^{Cb}	74.66 ± 0.04 ^{Fc}
DH011	81.10 ± 0.03 ^{CDb}	76.70 ± 0.01 ^{EFc}	81.78 ± 0.05 ^{Ba}
RP011	78.99 ± 0.09 ^{Dc}	84.72 ± 0.05 ^{Aa}	83.08 ± 0.09 ^{Ab}
CT181	81.99 ± 0.05 ^{CDa}	68.77 ± 0.02 ^{lc}	76.73 ± 0.01 ^{Eb}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

나. 가용성 고형분 함량

· 가용성분은 차탕에 용출되는 성분, 예를 들면 아미노산, 차 폴리페놀, 카페인, 당류 펙틴, 가용성 비타민과 무기질 등이 있고 차탕의 맛을 좌우한다. 가용성분이 많은 경우 맛은 진해지고 풍부해진다. 거꾸로 가용성분이 적어지면 맛은 얇아진다. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차 증류수 추출액의 가용성 고형분 함량은 표 1-31에 나타냈고, 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 가용성 고형분 함량은 표 1-32에 나타냈다. 가용성 고형분 함량은 0.50-1.03 °Brix로 나타났으며, RP211를 접종하여 5주간 발효시킨 미생물발효차에서 1.03 °Brix로 가장 높게 나타났으며, RS201를 접종하여 5주간 발효시킨 미생물 발효차에서 0.50 °Brix로 가장 낮게 나타났다. 발효기간, 균주, 접종방식에 따른 가용성 고형분 함량의 일정한 경향은 나타나지 않았으며, 품질평가지표로서는 부적절하다고 생각된다.

표 1-31. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 가용성 고형분 함량

(Unit: °Brix)

Inoculum	Fermentation periods		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	1.00±0.00 ^{Aa}	0.97±0.06 ^{ABa}	0.80±0.00 ^{CDb}
AN092	0.70±0.00 ^{DEb}	0.70±0.00 ^{Bb}	0.90±0.10 ^{Ba}
AF211	0.90±0.00 ^{Ba}	0.97±0.06 ^{ABa}	0.73±0.06 ^{DEb}
AF212	1.00±0.00 ^{Aa}	1.00±0.00 ^{Aa}	0.60±0.00 ^{Fb}
AT011	0.73±0.06 ^{Dc}	0.80±0.00 ^{Db}	0.90±0.00 ^{Ba}
PG051	0.80±0.00 ^{Cb}	0.90±0.00 ^{BCa}	0.80±0.00 ^{CDb}
PC091	0.90±0.00 ^{Ba}	0.87±0.06 ^{Ca}	0.70±0.00 ^{Db}
PC151	0.60±0.00 ^{Fb}	0.90±0.00 ^{BCa}	0.60±0.00 ^{Fb}
PG121	0.60±0.00 ^{Fc}	0.70±0.00 ^{Eb}	0.90±0.00 ^{Ba}
RS201	0.67±0.06 ^{Ea}	0.67±0.06 ^{Ea}	0.50±0.00 ^{Gb}
RP211	0.60±0.00 ^{Fc}	0.80±0.00 ^{Db}	1.03±0.06 ^{Aa}
LR011	0.90±0.00 ^{Ba}	0.90±0.00 ^{BCa}	0.87±0.06 ^{BCa}
DH011	0.87±0.06 ^{Ba}	0.73±0.06 ^{Eb}	0.73±0.06 ^{DEb}
RP011	0.73±0.06 ^{Da}	0.67±0.06 ^{Ea}	0.70±0.00 ^{Ea}
CT181	0.70±0.00 ^{DEb}	0.80±0.00 ^{Da}	0.90±0.00 ^{BCa}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-32. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 가용성 고형분 함량

(Unit: °Brix)

Inoculum	Harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	0.85±0.06 ^{Ea}	0.70±0.00 ^{Eb}	0.80±0.00 ^{Da}
AN092	1.00±0.00 ^{B^{Ca}}	0.80±0.00 ^{Db}	0.98±0.05 ^{B^{Ba}}
AF211	0.80±0.00 ^{Fb}	0.85±0.06 ^{Cb}	1.00±0.00 ^{A^{Ba}}
AF212	0.90±0.00 ^{Da}	0.90±0.00 ^{Ba}	0.75 0.10 ^{D^{Eb}}
AT011	1.10±0.00 ^{Aa}	1.00±0.00 ^{Ab}	0.98±0.05 ^{B^b}
PG051	0.98±0.05 ^{Ca}	1.00±0.00 ^{Aa}	1.00±0.00 ^{A^{Ba}}
PC091	1.02±0.05 ^{Ba}	0.90±0.00 ^{Bb}	1.05±0.06 ^{Aa}
PC151	1.10±0.00 ^{Aa}	1.00±0.00 ^{Ab}	1.00±0.00 ^{A^{Bb}}
PG121	1.00±0.05 ^{B^{Ca}}	0.82±0.05 ^{C^{Db}}	1.00±0.00 ^{A^{Ba}}
RS201	1.02±0.05 ^{Ba}	0.80±0.00 ^{Dc}	0.90±0.00 ^{Cb}
RP211	1.00±0.00 ^{B^{Ca}}	0.90±0.00 ^{Bb}	0.88±0.05 ^{Cb}
LR011	1.10±0.00 ^{Aa}	0.80±0.00 ^{Db}	0.80±0.00 ^{D^b}
DH011	0.82±0.05 ^{E^{Fa}}	0.70±0.00 ^{Eb}	0.70±0.00 ^{E^b}
RP011	0.80±0.00 ^{Fb}	0.80±0.00 ^{D^b}	0.90±0.00 ^{C^a}
CT181	0.90±0.00 ^{Da}	0.10±0.00 ^{F^c}	0.48±0.00 ^{F^b}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

다. 총페놀 함량

- 차의 페놀성분은 차의 색, 향, 맛을 결정하는 중요인자 중의 하나이다. 만약 함량이 많을 경우 차는 쓴맛을 나타내고 감칠맛이 적어져서 풍미저하의 원인이 되기도 한다. 폴리페놀 성분의 변화는 주로 polyphenoloxidase에 의한 것으로 갈변의 원인⁷⁾이 되기도 한다. 또한 페놀 화합물은 항암, 혈압강하작용, 간 보호작용, 진정작용, 항산화작용 등의 여러 가지 작용을 하는 것으로 알려져 있다고 하였다. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 총 페놀 함량은 표 1-33에 나타냈고, 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 총 페놀 함량은 표 1-34에 나타냈다. 개별균주 포자 접종하여 1주간 발효시킨 발효차의 평균 총 페놀 함량은 3204 mg/100 g로 나타났고, 3주간 발효시킨 미생물발효차는 3296 mg/100 g, 5주간 발효시킨 발효차는 2539 mg/100 g로 나타났다. 발효기간 1주와

3주에는 총 페놀 함량이 증가하였으나, 5주간 발효시킨 발효차에서는 감소하였다. 1주간 발효시킨 미생물발효차 중 PG051, RP011를 포자접종하여 제조한 발효차에서 가장 높은 함량이 나타났으며, 3주간 발효시킨 미생물발효차는 PC091, PC151를 포자접종하여 제조한 발효차에서 5주간 발효시킨 미생물발효차는 LR011, DH011에서 가장 높은 함량이 나타났다. 채엽시기에 따른 총 페놀 함량은 일정한 경향이 나타나지 않았으나, 포자접종 발효차보다 찻잎접종 발효차에서 많은 총 페놀 함량이 나타났다. 찻잎의 페놀 함량에 차이가 큰 이유는 채엽시기, 당해 연도 기상조건, 재배 환경 조건, 실험 분석 등에 의한 것으로 생각되었다.

표 1-33. 개별균주 접종 시 원료 발효기간에 따른 발효차의 총 페놀 함량

(Unit: mg/100g)

Inoculum	Fermentation periods		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	2842.86 ± 20.62 ^{DEc}	3557.14 ± 20.62 ^{Ca}	3200.00 ± 166.24 ^{Bb}
AN092	2851.79 ± 106.65 ^{DEc}	3458.93 ± 53.57 ^{CDa}	3048.21 ± 34.19 ^{Bb}
AF211	3825.00 ± 182.11 ^{Aa}	2780.36 ± 34.19 ^{FGb}	2592.86 ± 46.11 ^{Cc}
AF212	3333.93 ± 196.43 ^{Ba}	3217.86 ± 29.16 ^{Ea}	2175.00 ± 20.62 ^{EFb}
AT011	3280.36 ± 200.71 ^{Ba}	3244.64 ± 173.44 ^{Ea}	1771.43 ± 255.05 ^{FGb}
PG051	3976.79 ± 200.71 ^{Aa}	3396.43 ± 41.24 ^{CDEb}	2191.07 ± 60.99 ^{Dc}
PC091	3164.29 ± 144.34 ^{BCb}	3860.71 ± 136.78 ^{Aa}	2155.36 ± 237.57 ^{Dc}
PC151	3146.43 ± 164.96 ^{Bb}	3842.86 ± 107.14 ^{Aa}	1637.50 ± 17.86 ^{Gc}
PG121	2762.50 ± 53.57 ^{Ea}	2601.79 ± 239.36 ^{Ga}	2530.36 ± 114.34 ^{Ca}
RS201	2878.57 ± 35.71 ^{DEb}	3771.43 ± 35.71 ^{ABa}	1994.64 ± 17.86 ^{DEc}
RP211	2967.86 ± 167.51 ^{CDEb}	3583.93 ± 249.79 ^{BCa}	3066.07 ± 217.00 ^{Bb}
LR011	2932.14 ± 50.51 ^{DEb}	3217.86 ± 29.16 ^{Ea}	3217.86 ± 101.02 ^{Aa}
DH011	3030.36 ± 60.99 ^{CDb}	2780.36 ± 118.00 ^{FGb}	3441.07 ± 292.15 ^{Aa}
RP011	3789.29 ± 71.43 ^{Aa}	3307.14 ± 261.63 ^{DEb}	1628.57 ± 61.86 ^{Gc}
CT181	3280.36 ± 60.99 ^{Bb}	2825.00 ± 112.94 ^{Fc}	3441.07 ± 89.29 ^{Aa}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

표 1-34. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 총 페놀 함량

(Unit: mg/100g)

Inoculum	Harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	3464.29 ± 177.38 ^{Ca}	3455.36 ± 73.63 ^{CDEa}	2839.29 ± 121.99 ^{EFb}
AN092	3205.36 ± 34.19 ^{Db}	2598.21 ± 89.29 ^{Jc}	3339.29 ± 68.39 ^{BCa}
AF211	2866.07 ± 155.33 ^{Eb}	3223.21 ± 60.99 ^{EFGa}	2232.14 ± 61.86 ^{Gc}
AF212	2553.57 ± 205.16 ^{Fb}	3178.57 ± 29.16 ^{FGHa}	3151.79 ± 309.12 ^{CDa}
AT011	3633.93 ± 232.14 ^{Ca}	2357.14 ± 41.24 ^{Kb}	3633.93 ± 110.56 ^{Ba}
PG051	3598.21 ± 118.00 ^{Cab}	3839.29 ± 215.28 ^{Aa}	3375.00 ± 207.22 ^{Cb}
PC091	3732.14 ± 322.75 ^{ABa}	3767.86 ± 303.75 ^{ABa}	3910.71 ± 61.86 ^{Aa}
PC151	3767.86 ± 303.75 ^{Aa}	2937.50 ± 248.08 ^{HJb}	3544.64 ± 237.57 ^{Ba}
PG121	2642.86 ± 123.72 ^{EFa}	2455.36 ± 228.45 ^{La}	2642.86 ± 199.91 ^{Fa}
RS201	2696.43 ± 221.12 ^{EFb}	3321.43 ± 29.16 ^{DEFa}	2651.79 ± 228.45 ^{Fb}
RP211	2125.00 ± 61.86 ^{Gc}	2830.36 ± 84.39 ^{IJb}	3205.36 ± 84.39 ^{CDa}
LR011	1883.93 ± 73.62 ^{Gc}	3607.14 ± 295.95 ^{ABCa}	2794.64 ± 53.57 ^{EFb}
DH011	2741.07 ± 89.29 ^{EFb}	3535.71 ± 174.96 ^{BCDa}	3553.57 ± 275.87 ^{Ba}
RP011	2866.07 ± 34.19 ^{Eb}	2973.21 ± 114.34 ^{GHIb}	3366.07 ± 218.95 ^{BCa}
CT181	2669.64 ± 272.58 ^{EFa}	2142.86 ± 77.15 ^{KLb}	2937.21 ± 189.82 ^{DEa}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

라. Gallic acid 함량

- Gallic acid는 미생물발효차에 있어서 카테킨류의 감소와 역행하여 미생물 발효의 진행에 따라 다량 생성되어지는 대표적인 성분 중의 하나이다. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 gallic acid 함량은 표 1-35에 나타냈고, 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 gallic acid 함량은 표 1-36에 나타냈다. PC151를 접종하여 5주간 발효시킨 발효차에서 27.53 mg/L로 가장 높은 함량이 나타났으며, RP211를 접종하여 제조한 발효차는 발효기간 동안 큰 변화가 나타나지 않고 가장 낮은 함량이 나타났다. 발효기간 1주에서 3주 사이에는 gallic acid의 함량이 증가하는 경향이 나타났고 3주 이후에는 약간 증가하거나 감소하는 경향이 나타났다. Gallic acid의 형성은 차 폴리페놀 몰식자에스테르가 미생물에 관여한 후 발효 과정중의 분해와 연관이 있다. 최근의 보도에 의하면 일부 누룩 곰팡이는 탄닌효소 정도가 증가하고, 기질 탄닌산 분해와 gallic acid의 형성을 촉진하는 작용이 있다. 채엽시기에 따른 gallic acid의 함량은 증가하거나 감소하였으나, 일정한 경향이 나타나지 않았으며, 개별균주 포자접종 방식으로 제조한 미생물발효차에 비해 찻잎접종 방식으로 제조한 미생물발효차에서 전체적으로 gallic acid 함량이 증가하는 것으로 나타났다.

표 1-35. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 gallic acid 함량

(Unit: mg/L)

Inoculum	Fermentation periods		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	11.49 ± 0.05 ^{Gc}	14.09 ± 0.24 ^{Fb}	22.07 ± 0.42 ^{Aa}
AN092	15.28 ± 0.32 ^{Bc}	16.01 ± 0.22 ^{Db}	22.32 ± 0.02 ^{Aa}
AF211	15.02 ± 0.06 ^{Cb}	15.39 ± 0.10 ^{DEa}	12.66 ± 0.00 ^{Gc}
AF212	16.54 ± 0.14 ^{Ab}	23.14 ± 0.06 ^{Ba}	13.97 ± 0.42 ^{Fc}
AT011	14.68 ± 0.15 ^{Db}	20.41 ± 1.47 ^{Ca}	22.16 ± 0.85 ^{Aa}
PG051	16.66 ± 0.16 ^{Ab}	15.00 ± 0.25 ^{EFc}	17.52 ± 0.06 ^{Da}
PC091	14.15 ± 0.10 ^{Eb}	14.86 ± 0.40 ^{EFb}	16.66 ± 0.07 ^{Ea}
PC151	12.27 ± 0.10 ^{Fc}	27.53 ± 0.17 ^{Aa}	20.61 ± 0.19 ^{Bb}
PG121	8.54 ± 0.01 ^{Kc}	14.59 ± 0.11 ^{EFb}	18.70 ± 0.81 ^{Ca}
RS201	8.66 ± 0.03 ^{Kb}	8.81 ± 0.08 ^{Hb}	9.58 ± 0.01 ^{Ia}
RP211	8.22 ± 0.02 ^{Lb}	8.00 ± 0.07 ^{Hc}	8.55 ± 0.03 ^{Ja}
LR011	10.09 ± 0.02 ^{Ib}	8.60 ± 0.01 ^{Hc}	11.07 ± 0.01 ^{Ha}
DH011	10.18 ± 0.01 ^{Ic}	11.12 ± 0.02 ^{Gb}	13.28 ± 0.14 ^{FGa}
RP011	9.48 ± 0.06 ^{Ic}	10.99 ± 0.02 ^{Ga}	10.02 ± 0.05 ^{Ib}
CT181	10.83 ± 0.02 ^{Hb}	14.79 ± 0.61 ^{EFa}	9.53 ± 0.03 ^{Ic}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-36. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 gallic acid 함량

(Unit: mg/L)

Inoculum	Harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	17.58 ± 1.25 ^{EFa}	12.58 ± 0.11 ^{Hb}	18.18 ± 0.28 ^{EFa}
AN092	19.73 ± 0.03 ^{Db}	21.43 ± 0.47 ^{Da}	22.03 ± 0.02 ^{Ca}
AF211	17.48 ± 0.15 ^{EFb}	24.13 ± 0.60 ^{Ca}	25.00 ± 0.24 ^{Ba}
AF212	27.06 ± 0.06 ^{Aa}	26.06 ± 0.90 ^{Ba}	25.88 ± 1.52 ^{ABa}
AT011	24.12 ± 0.17 ^{Bb}	33.03 ± 0.45 ^{Aa}	22.69 ± 1.06 ^{Cb}
PG051	22.98 ± 0.17 ^{BCb}	21.89 ± 0.01 ^{Dc}	25.36 ± 0.04 ^{Ba}
PC091	21.77 ± 0.16 ^{Ca}	21.60 ± 0.08 ^{Da}	19.75 ± 0.08 ^{Db}
PC151	21.99 ± 0.39 ^{Cb}	16.88 ± 0.15 ^{Fc}	26.60 ± 0.28 ^{Aa}
PG121	15.36 ± 0.05 ^{Gc}	20.62 ± 0.17 ^{Eb}	25.93 ± 0.07 ^{ABa}
RS201	18.00 ± 0.13 ^{Ea}	11.63 ± 0.02 ^{Ic}	17.57 ± 0.03 ^{Fb}
RP211	12.84 ± 0.01 ^{Ha}	11.58 ± 0.00 ^{Ib}	13.26 ± 0.23 ^{Ga}
LR011	23.88 ± 0.14 ^{Ba}	8.62 ± 0.02 ^{Jc}	9.28 ± 0.07 ^{Ib}
DH011	18.45 ± 1.73 ^{DEa}	20.10 ± 0.16 ^{Ea}	19.02 ± 0.62 ^{DEa}
RP011	16.28 ± 0.63 ^{FGa}	12.00 ± 0.42 ^{HIb}	12.07 ± 0.06 ^{HIb}
CT181	25.93 ± 0.61 ^{Aa}	15.52 ± 0.17 ^{Gb}	13.68 ± 0.05 ^{Gc}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

마. Theaflavin 및 Thearubigin 함량

- 찻잎중의 색소는 지용성색소와 수용성 색소로 나누는데 함량은 마른 찻잎 중에 1%정도로 차지한다. 마른 찻잎의 색을 결정하는 주요성분인 지용성 색소는 물에 용해되지 않은 엽록소, 엽황소 카로틴 등이 있고, 수용성 색소는 flavinoid류 물질, cyanidin, phenol, 산화물질을 생성시키는 물질은 theaflavin, thearubigin 등이 있다. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 theaflavin 및 thearubigin의 함량은 표 1-37 및 1-38와 같다. 또한 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 theaflavin 및 thearubigin 함량은 표 1-39과 1-40에 나타났다. 개별균주 포자접종 발효차에서 theaflavin 함량은 발효기간 3주째 다소 증가하는 경향을 보였으며, 발효기간 5주째에는 감소하였다. Thearubigin 함량은 발효기간이 증가함에 증가하였으나 PG051, RS201, LR011, CT181를 접종한 발효차에서는 감소하였다. 이는 색도의 변화와 유사한 경향을 보였다. 채엽 시기에 따른 큰 차이는 나타나지 않았으며, 차입접종 미생물발효차가 포자접종 미생물발효차보다 theaflavin과 thearubigin 함량에서 2~3배 정도 높게 나타났다.

표 1-37. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 theaflavin 함량 (Unit: g/kg)

Inoculum	Fermentation periods		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	5.34±0.05 ^{Ab}	6.92±0.08 ^{Ba}	5.26±0.03 ^{Ab}
AN092	3.03±0.01 ^{CDc}	4.35±0.02 ^{DEFa}	3.84±0.02 ^{CDb}
AF211	3.40±0.03 ^{BCDb}	4.21±0.01 ^{DEFGa}	3.60±0.01 ^{DEb}
AF212	4.25±0.01 ^{Bc}	4.75±0.01 ^{CDEb}	5.22±0.03 ^{Aa}
AT011	2.77±0.07 ^{Db}	3.93±0.05 ^{EFGa}	2.16±0.01 ^{Gb}
PG051	4.06±0.11 ^{Bc}	5.00±0.08 ^{CDa}	4.43±0.02 ^{Bb}
PC091	2.77±0.05 ^{Db}	4.15±0.04 ^{EFGa}	4.15±0.04 ^{BCa}
PC151	3.86±0.13 ^{BCb}	11.46±0.05 ^{Aa}	3.08±0.09 ^{Fb}
PG121	2.65±0.09 ^{Db}	5.46±0.21 ^{Ca}	5.16±0.05 ^{Aa}
RS201	2.68±0.02 ^{Db}	3.76±0.06 ^{EFGHa}	0.93±0.02 ^{Hc}
RP211	3.92±0.02 ^{BCb}	3.83±0.14 ^{EFGb}	4.26±0.02 ^{BCa}
LR011	3.30±0.02 ^{BCDb}	3.30±0.02 ^{FGHb}	4.03±0.02 ^{BCDa}
DH011	3.50±0.04 ^{BCDa}	2.77±0.04 ^{Hb}	3.34±0.03 ^{EFab}
RP011	3.00±0.02 ^{CDb}	3.26±0.00 ^{GHa}	3.26±0.00 ^{Gc}
CT181	4.13±0.00 ^{Ba}	3.88±0.00 ^{EFGb}	3.22±0.00 ^{EFc}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-38. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 thearubigin 함량
(Unit: g/kg)

Inoculum	Fermentation periods		
	1 week	3 weeks	5 weeks
AN091	60.77 ± 0.29 ^{BCb}	58.47 ± 0.92 ^{BCDb}	70.48 ± 0.20 ^{Aa}
AN092	38.78 ± 0.95 ^{Fb}	54.54 ± 0.78 ^{CDEFa}	55.23 ± 0.64 ^{CDEa}
AF211	43.27 ± 0.16 ^{EFb}	48.48 ± 0.13 ^{FGa}	48.82 ± 0.23 ^{FGHa}
AF212	58.03 ± 0.74 ^{BCb}	64.67 ± 0.42 ^{CDEa}	64.67 ± 0.33 ^{ABa}
AT011	43.26 ± 0.22 ^{EFc}	48.17 ± 0.17 ^{FGb}	53.44 ± 0.07 ^{DEFa}
PG051	70.58 ± 0.37 ^{Aa}	64.98 ± 0.08 ^{ABb}	51.56 ± 0.34 ^{EFc}
PC091	57.87 ± 0.45 ^{BCa}	60.19 ± 0.13 ^{BCDa}	60.40 ± 1.50 ^{BCDa}
PC151	36.59 ± 0.43 ^{Fa}	17.99 ± 0.15 ^{Hb}	38.34 ± 0.85 ^{HIJa}
PG121	53.53 ± 1.06 ^{CDa}	47.41 ± 0.63 ^{FGa}	54.91 ± 0.50 ^{CDEa}
RS201	42.08 ± 0.50 ^{EFab}	50.20 ± 0.22 ^{EFGa}	36.48 ± 0.43 ^{IJb}
RP211	48.56 ± 0.08 ^{DEb}	52.88 ± 0.14 ^{DEFGa}	19.31 ± 0.07 ^{EFKb}
LR011	52.23 ± 0.11 ^{CDa}	52.49 ± 1.22 ^{DEFGa}	62.39 ± 0.06 ^{BCa}
DH011	53.27 ± 0.14 ^{CDc}	61.12 ± 0.15 ^{ABCb}	70.08 ± 0.08 ^{Aa}
RP011	69.79 ± 0.06 ^{Aa}	68.64 ± 0.04 ^{Ab}	43.14 ± 0.04 ^{GHIc}
CT181	62.59 ± 0.03 ^{ABa}	46.21 ± 0.05 ^{Gb}	34.51 ± 0.04 ^{Ic}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-39. 개별균주 접종 시 발효기간에 따른 발효차의 theaflavin 함량

(Unit: g/kg)

Inoculum	Harvest periods		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	7.70 ± 0.07 ^{Hla}	6.65 ± 0.06 ^{Hla}	6.65 ± 0.06 ^{Hla}
AN092	7.59 ± 0.07 ^{Hla}	7.94 ± 0.03 ^{Fa}	7.94 ± 0.03 ^{Fb}
AF211	14.91 ± 0.02 ^{Aa}	10.78 ± 0.02 ^{Bb}	10.78 ± 0.02 ^{Bb}
AF212	10.94 ± 0.01 ^{Ca}	7.38 ± 0.01 ^{FGc}	7.38 ± 0.01 ^{FGb}
AT011	9.50 ± 0.04 ^{DEFa}	9.56 ± 0.05 ^{DEa}	9.56 ± 0.05 ^{DEb}
PG051	5.61 ± 0.05 ^{Jb}	6.35 ± 0.04 ^{IJa}	6.35 ± 0.04 ^{IJb}
PC091	7.98 ± 0.01 ^{GHIb}	9.24 ± 0.02 ^{Ea}	9.24 ± 0.02 ^{Ec}
PC151	8.72 ± 0.03 ^{FHGC}	10.90 ± 0.03 ^{Bb}	10.90 ± 0.03 ^{Ba}
PG121	10.64 ± 0.01 ^{CDb}	9.80 ± 0.01 ^{DEc}	9.80 ± 0.01 ^{GEa}
RS201	7.68 ± 0.01 ^{Hlb}	7.22 ± 0.01 ^{GHIb}	7.22 ± 0.01 ^{GHa}
RP211	9.10 ± 0.05 ^{EFGb}	10.46 ± 0.01 ^{BCa}	10.46 ± 0.01 ^{BCb}
LR011	7.15 ± 0.02 ^{Ia}	11.55 ± 0.05 ^{Ab}	11.55 ± 0.05 ^{Aa}
DH011	13.44 ± 0.07 ^{Ba}	10.05 ± 0.04 ^{CDb}	10.05 ± 0.04 ^{CDa}
RP011	10.42 ± 0.05 ^{CDEa}	5.78 ± 0.05 ^{Jc}	5.78 ± 0.05 ^{Jb}
CT181	10.29 ± 0.28 ^{CDEa}	3.75 ± 0.09 ^{Kb}	3.75 ± 0.09 ^{Ka}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-40. 개별균주 접종 시 원료 채취시기에 따른 발효차의 thearubigin 함량

(Unit: g/kg)

Inoculum	Harvest period		
	MAY	JUNE	JULY
AN091	147.13±1.27 ^{BCa}	126.62±0.96 ^{CDb}	116.47±2.96 ^{DEc}
AN092	134.25±0.85 ^{CDa}	88.53±0.50 ^{FGc}	117.13±0.76 ^{DEb}
AF211	171.93±0.58 ^{Ac}	156.87±0.43 ^{Ab}	139.68±1.33 ^{BCDa}
AF212	139.68±0.42 ^{Fb}	83.24±0.52 ^{Gc}	149.21±0.21 ^{BCa}
AT011	109.91±0.25 ^{EFb}	121.59±0.98 ^{CDa}	76.95±1.08 ^{Fc}
PG051	81.6±0.9 ^{Gc}	103.2±0.96 ^{EFb}	119.12±0.64 ^{DEa}
PC091	112.08±0.43 ^{EFc}	159.31±0.84 ^{Aa}	134.18±0.65 ^{BCDEb}
PC151	146.8±0.89 ^{BCb}	137.09±1.16 ^{BCb}	156.84±0.36 ^{Ba}
PG121	87.54±0.57 ^{Gc}	113.49±0.17 ^{DEb}	147.78±1.84 ^{BCa}
RS201	110.52±1.62 ^{EFc}	122.58±3.33 ^{CDa}	119.12±1.42 ^{DEb}
RP211	125.35±1.08 ^{DEb}	167.20±0.3 ^{Aa}	113.75±2.32 ^{Eb}
LR011	110.08±0.11 ^{EFb}	126.83±1.22 ^{CDa}	124.49±0.14 ^{DEa}
DH011	170.25±1.98 ^{EFb}	152.23±0.70 ^{ABc}	181.14±2.60 ^{Aa}
RP011	152.57±1.07 ^{Ba}	103.01±1.18 ^{EFc}	137.46±0.34 ^{BCDEb}
CT181	106.45±0.70 ^{Fb}	75.01±0.39 ^{Gc}	128.17±0.52 ^{CDEa}

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

바. Tocopherols함량

· 표 1-41은 개별 균주 접종, 혼합 균주 접종 발효차와 개별 찻잎 접종 발효차의 tocopherol 함량을 측정한 결과이다. 채엽 시기가 6월인 발효차에서 α -tocopherol과 β -tocopherol가 모두 검출되지 않은 반면, 7월에 채엽한 대부분의 발효차에서는 α -tocopherol과 β -tocopherol이 검출되었다. 또한 모든 발효차에서 α -tocopherol이 검출되지 않은 발효차에서는 β -tocopherol이 검출되지 않았으며, α -tocopherol이 검출된 발효차에서는 β -tocopherol이 검출됨을 알 수 있었다. 채엽 시기가 6월인 개별 균주 접종 발효차에서 낮은 tocopherol함량을 보였으며, 채엽 시기가 7월인 개별 균주 찻잎을 접종한 발효차에서 높은 tocopherol함량이 나타났다. α -tocopherol은 산화에 매우 민감한 화합물로 보이차의 품질특성 또는 보존 기간의 정도를 제시할 수 있는 한 유용지표 성분으로써의 활용가능성을 시사된바 있다. 따라서 본 연구 결과에서는 6월에 채엽한 모

든 발효차에서 α -tocopherol이 검출되지 않았으므로 산화가 이루어진 것으로 판단되었다.

표 1-41. 개별 균주 접종 발효차의 tocopherol 함량

Sample	α -tocopherol	β -tocopherol	γ -tocopherol	δ -tocopherol	Total (mg/L)
RIS1(6)-AN091-5	-	-	9.86±0.13	6.03±0.44	15.89±0.31
RIS1(6)-AN092-5	-	-	11.07±1.84	-	11.07±1.84
RIS1(6)-AN211-5	-	-	14.31±0.37	5.39±0.02	19.70±0.35
RIS1(6)-AF212-5	-	-	4.53±0.58	4.33±0.22	8.86±0.80
RIS1(6)-AT011-5	-	-	14.54±1.88	7.14±1.31	21.68±0.57
RIS1(6)-PG051-5	-	-	15.32±0.77	5.96±0.35	21.28±1.12
RIS1(6)-PC091-5	-	-	10.48±0.68	7.32±0.84	17.79±0.16
RIS1(6)-PC151-5	-	-	12.54±0.10	5.93±1.20	18.47±1.10
RIS1(6)-PG121-5	-	-	11.28±1.37	-	11.28±1.37
RIS1(6)-RS201-5	-	-	3.73±0.11	6.80±2.04	10.53±2.15
RIS1(6)-RP211-5	-	-	8.18±0.44	4.31±5.48	4.89±0.83
RIS1(6)-LR011-5	-	-	-	-	-
RIS1(6)-DH011-5	-	-	-	5.49±0.08	5.49±0.08
RIS1(6)-RP011-5	-	-	-	6.31±0.10	6.31±0.10
RIS1(6)-CT181-5	-	-	-	-	-
RIT2(7)-AN092	9.66±0.03	18.66± 0.13	-	-	28.31±0.17
RIT2(7)-AF211	33.16±1.65	32.47±2.83	-	4.30±0.03	69.93±1.15
RIT2(7)-AF212	20.74±0.20	18.71±0.23	-	3.67±0.12	43.12±0.31
RIT2(7)-AT011	46.25±1.93	32.78±0.55	5.89±0.10	4.13±0.09	89.05±2.29
RIT2(7)-PG051	18.23±0.43	21.36±0.30	-	4.03±0.10	43.62±0.88
RIT2(7)-PC091	24.78±0.15	18.42±0.41	-	3.91±0.04	47.11±0.2
RIS1(7)-PC151	47.18±13.42	25.57±2.06	-	-	74.75±11.35
RIT2(7)-PG121	-	-	5.58±0.26	4.51±0.21	10.06±0.06
RIT2(7)-RS201	-	-	14.39±4.25	4.82±0.29	46.21±4.55
RIT2(7)-RP211	-	-	9.49±2.38	3.73±0.02	13.22±2.36
RIT2(7)-LR011	36.12±2.95	44.42±1.63	0.00±0.00	-	80.54±4.58
RIT2(7)-DH011	-	-	17.03±0.99	4.32±0.15	21.34±1.15
RIT2(7)-RP011	-	-	0.00±0.00	4.36±0.23	4.36±0.23
RIT2(7)-CT181	-	-	2.14±0.21	-	2.14±0.21
RIT2(6)-CT181	-	-	0.53±0.47	3.75±0.28	4.28±0.75

사. 향기 성분 분석

- 미생물 발효차의 휘발성 향기성분을 분석한 GC chromatogram은 그림 2-12에, 각각의 주요 향기 성분을 분석한 결과는 표 1-42~1-52에 나타내었다. 모든 발효차에서 acetic acid, caffeine, palmitic acid, 9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- 10% 이상으로 큰 비중을 차지하고 있었다. 11개의 발효차 중 8개 이상 공통적으로 나타나는 향기 성분은 palmitic acid, acetic acid, caffeine, 9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-, phytol, formic acid, furfuryl alcohol, maltol, glycerine, 9,12,15-octadecatrienoic acid, methyl ester (Z,Z,Z)-, Bicyclo[3.1.1]heptane 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-로 총 11개 성분으로 나타났고, 발효차의 주요 향기 성분 중 acid류가 큰 비중을 차지하는 것으로 판단된다. 미생물에 의해서 향기 성분의 함량의 차이는 나타났으나 주요 향기 성분은 큰 차이를 보이지 않은 것으로 생각된다.

표 1-42. 군주 개별 접종 발효차 AN091의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Caffeine	36.127	3,235,076,710
Palmitic acid	21.950	1,965,611,705
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	17.330	1,551,885,717
Ethanamine, N-ethyl-	10.125	906,644,127
Glycerine (Glycerol)	6.911	618,889,124
1,2,3-Benzenetriol	4.107	367,735,464
1,2-Benzenediol	3.072	275,064,891
Phytol	1.478	132,324,998
Furfuryl alcohol	1.300	116,431,945
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.207	108,052,879
3-Pyridinol	1.163	104,134,872
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.054	94,396,851
2,3-Butanediol	0.971	86,910,720
Chicory furanone	0.921	82,448,655
Formic acid	0.918	82,207,539
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.838	75,031,613
Stearic acid	0.816	73,098,045
1,2,3-Propanetriol, monoacetate	0.753	67,409,529
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	0.736	65,897,932
Methyl laurate (Methyl Dodecanoate)	0.613	54,900,903
Benzyl alcohol	0.572	51,251,316

표 1-43. 균주 개별 접종 발효차 AN092의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Palmitic acid	15.543	1,500,231,567
Acetic acid	14.853	1,433,564,270
Caffeine	14.445	1,394,177,287
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	9.576	924,283,326
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	6.056	584,526,483
Phytol	3.053	294,708,429
Formic acid	1.996	192,694,373
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.840	177,544,734
1,2,3-Benzenetriol	1.349	130,164,920
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.307	126,160,861
Furfuryl alcohol	1.100	106,142,594
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	1.038	100,158,952
9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	1.006	97,077,380
Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	1.000	96,486,505
2(1H)-Pyridinone	0.888	85,722,050
2(5H)-Furanone	0.887	85,560,634
9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	0.780	75,276,685
Ethyl palmitate	0.766	73,968,460
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.704	67,955,965
Maltol	0.703	67,824,512
Glycerine (Glycerol)	0.637	61,511,429

표 1-44. 균주 개별 접종 발효차 AF211의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Acetic acid	12.948	1,109,562,703
Palmitic acid	11.524	987,486,198
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	9.756	836,053,398
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	4.116	352,721,880
Phytol	3.180	272,459,204
Furfuryl alcohol	2.934	251,411,940
Glycerine (Glycerol)	2.112	181,014,510
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-,(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	2.017	172,830,092
Formic acid	1.668	142,928,364
3-Pyridinol	1.146	98,171,407
2-Propanone, 1-hydroxy-	1.031	88,352,564
Methyl-2-Pyrrolyl Ketone	1.016	87,056,429
4(1H)-Pyridone	0.861	73,802,473
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	0.850	72,875,094
2(5H)-Furanone	0.836	71,603,201
Stearic acid (Octadecanoic acid)	0.826	70,807,848
Chicory furanone	0.811	69,468,680
Maltol(Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	0.785	67,248,266
1,2-Benzenediol, 3-methoxy-	0.782	66,972,291
5-Nonadecen-1-ol	0.710	60,868,869
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	0.710	60,803,863

표 1-45. 군주 개별 접종 발효차 AF212의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Caffeine	17.808	1,560,896,642
Ethanamine, N-ethyl-	13.350	1,170,101,836
Palmitic acid	12.050	1,056,190,187
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	6.886	603,554,552
Glycerine (Glycerol)	4.951	433,987,276
Furfuryl alcohol	3.202	280,650,165
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	3.201	280,563,237
Phytol	3.155	276,529,851
Formic acid	2.733	239,536,328
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.741	152,571,540
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.486	130,281,901
Phenol	1.318	115,523,011
Maltol (Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	1.112	97,491,213
2(5H)-Furanone	1.029	90,182,415
Acetic acid	1.016	89,010,539
3-Pyridinol	1.009	88,458,470
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.965	84,572,356
1,2,3-Propanetriol, monoacetate	0.868	76,067,874
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.838	73,422,227
9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	0.763	66,886,828
1,2,3-Benzenetriol	0.716	62,784,341

표 1-46. 군주 개별 접종 발효차 AT011의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Palmitic acid	14.349	1,760,508,546
Acetic acid	13.862	1,700,719,308
Caffeine	12.296	1,508,609,093
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	8.748	1,073,303,114
(Z)6,(Z)9-Pentadecadien-1-ol	5.581	684,716,607
Phytol	3.135	384,580,499
Formic acid	2.871	352,200,674
9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2.272	278,687,111
Phenol	1.903	233,414,344
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.594	195,599,343
1,2,3-Benzenetriol	1.506	184,726,076
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.347	165,263,335
Furfuryl alcohol	1.342	164,659,748
Furfural	1.045	128,178,329
Maltol (Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	1.043	127,898,724
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.978	119,981,086
2(5H)-Furanone	0.954	116,985,807
9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	0.893	109,578,473
Glycerin	0.777	95,366,424
Ethyl palmitate	0.735	90,136,818
2,3-Butanediol	0.726	89,062,926

표 1-47. 군주 개별 접종 발효차 PG051의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Caffeine	15.406	1,391,677,197
Acetic acid	14.884	1,344,506,530
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	13.605	1,228,922,653
Palmitic acid	12.989	1,173,306,240
Formic acid	4.165	376,253,508
Phytol	3.132	282,915,445
Furfural	2.499	225,694,280
Diglycerol	2.183	197,146,392
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.615	145,897,765
2-Furancarboxylic acid, hydrazide	1.470	132,821,691
2(5H)-Furanone	1.309	118,264,123
Furfuryl alcohol	1.288	116,381,021
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.286	116,139,944
5-Methyl furfural	1.067	96,388,345
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.995	89,895,346
2H-Pyran-2,6(3H)-dione	0.939	84,777,463
1,2,3-Benzenetriol	0.883	79,777,740
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.881	79,618,442
Maltol (Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	0.873	78,863,427
Chicory furanone	0.800	72,295,832
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	0.785	70,869,776

표 1-48. 군주 개별 접종 발효차 PG091의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Acetic acid	18.741	1,493,046,012
Caffeine	15.368	1,224,306,700
Palmitic acid	11.611	924,986,128
9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	6.571	523,483,209
Formic acid	5.276	420,292,228
Phytol	3.236	257,800,048
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	2.827	225,255,776
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	2.197	175,009,070
2-Furancarboxylic acid, hydrazide	1.799	143,279,126
Furfural	1.635	130,271,944
Furfuryl alcohol	1.598	127,301,198
2(5H)-Furanone	1.448	115,373,588
Maltol (Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	1.184	94,314,535
Glycerine (Glycerol)	1.172	93,400,296
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.144	91,138,903
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	1.024	81,542,874
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.985	78,500,175
Chicory furanone	0.772	61,521,296
5-Methyl furfural	0.743	59,158,575
1,2-Benzenediol	0.545	43,433,139
9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	0.539	42,915,853

표 1-49. 균주 개별 접종 발효차 PC151의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Palmitic acid	16.222	1,578,457,677
Acetic acid	15.259	1,484,807,443
Caffeine	13.983	1,360,616,618
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	10.129	985,596,872
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	5.167	502,764,182
Formic acid	3.660	356,147,123
Phytol	3.612	351,471,603
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	2.097	204,030,589
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.812	176,303,365
Furfural	1.577	153,446,127
2(1H)-Pyridinone	1.451	141,169,159
Furfuryl alcohol	1.232	119,855,234
Glycerine (Glycerol)	1.073	104,459,623
2(5H)-Furanone	0.950	92,412,796
Maltol (Veltol. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	0.920	89,499,772
1,2,3-Benzenetriol	0.855	83,185,018
5-Methyl furfural	0.852	82,847,029
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.850	82,739,901
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.824	80,206,445
1,2-Benzenediol	0.678	65,990,403
Methyl laurate	0.623	60,639,216

표 1-50. 균주 개별 접종 발효차 PG121의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Caffeine	18.988	1,843,229,621
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	15.061	1,462,036,894
Acetic acid	14.906	1,446,948,819
Palmitic acid	13.657	1,325,778,385
1,2,3-Benzenetriol	3.430	332,924,326
1,2-Benzenediol, 3-methoxy-	2.769	268,806,567
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	2.282	221,556,162
Phytol	1.916	185,950,841
Glycerine (Glycerol)	1.857	180,281,525
Formic acid	1.536	149,120,138
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1.495	145,164,655
Furfuryl alcohol	1.143	110,938,462
Stearic acid	1.058	102,673,058
Chicory furanone	0.801	77,741,869
11-Hexadecen-1-ol, acetate, (Z)-	0.798	77,417,446
2(1H)-Pyridinone	0.776	75,320,697
9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-	0.602	58,471,013
Methyl laurate	0.578	56,127,361
4(1H)-Pyridone	0.540	52,393,215
1,2-Benzenediol	0.539	52,289,075
3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	0.521	50,592,080

표 1-51. 균주 개별 접종 발효차 RS201의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Acetic acid	17.626	950,922,140
Palmitic acid	17.275	931,995,809
Caffeine	13.080	705,674,849
9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	7.417	400,120,622
Formic acid	3.953	213,249,693
Phytol	2.868	154,700,662
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	2.630	141,870,651
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	2.217	119,596,803
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	1.832	98,839,682
Furfuryl alcohol	1.449	78,157,401
2,3-Butanediol	1.217	65,666,487
1,2-Benzenediol	1.190	64,215,997
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	1.152	62,148,180
4-Pyridinol	1.121	60,453,600
5-Methyl furfural	1.000	53,947,120
2(5H)-Furanone	0.991	53,441,819
2-Propanone, 1-hydroxy-	0.946	51,047,696
Propylene Glycol	0.826	44,560,500
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	0.804	43,375,355
2,3-Butanediol	0.793	42,805,779
Maltol (Velto. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone)	0.765	41,281,826

표 1-52. 균주 개별 접종 발효차 RP211의 주요 향기 성분

Compounds	Area (%)	Area
Caffeine	23.448	1,257,957,576
Ethanamine, N-ethyl-	11.894	638,115,772
9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	10.495	563,031,462
Palmitic acid	8.245	442,365,910
Phytol	6.879	369,048,232
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	2.392	128,312,027
2-Propanone, 1-hydroxy-	2.243	120,314,255
3-Pyridinol	2.066	110,815,115
Furfuryl alcohol	1.778	95,381,636
Benzyl alcohol	1.133	60,759,878
Formic acid	1.068	57,297,795
Stearic acid	1.028	55,131,625
4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	1.008	54,085,055
5-Nonadecen-1-ol	0.938	50,302,369
Furfural	0.803	43,074,418
Phenylethyl alcohol	0.737	39,534,180
Maltol	0.735	39,450,979
1,2,3-Benzenetriol	0.727	38,993,622
Propylene Glycol	0.704	37,755,229
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.635	34,049,485
3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	0.585	31,401,607

(2) 혼합균주 접종 발효차의 품질 특성 분석

가. 색도

- 혼합균주 접종 발효차 찻잎의 색도는 표 1-53~1-54과 같다. 평균하지 않은 찻잎 표면의 명도를 나타내는 L* 값은 30.07-33.91, 적색도인 a* 값은 3.45-4.63, 황색도인 b* 값은 10.81-12.96으로 측정되었다. 반면 평균한 찻잎의 L* 값은 30.68-33.57, a* 값은 3.65-4.99, b* 값은 10.91-14.03으로 평균하지 않은 찻잎과 평균한 찻잎의 L* 값, a* 값, b* 값은 큰 차이를 보이지 않았으며, 수분함량 40%와 45%에 따른 차이는 약간 나타났으나, 일정한 경향은 없었다.
- 혼합균주 접종 발효차 증류수 추출액의 색도는 표 1-55~1-56과 같다. 채엽시기 5월, 수분함량 40%, 발효방식 +,+,+,45로 제조한 발효차에서 L* 값 73.94, a* 값은 50.24로 다른 발효차에 비해 높게 나타났으며, b* 값 78.15로 가장 낮게 나타났다. 발효방식과 채엽시기에 따른 큰 차이는 없었으나, 수분함량이 40%~45%으로 증가함에 따라 명도는 감소하고 적색도가 증가하는 것으로 나타났다. 평균 처리에 따른 차이는 미비한 것으로 생각된다.

표 1-53. 찻잎을 평균 처리 후 혼합균주 접종 발효차 찻잎의 색도

Moisture content	Material	Method	L*	a*	b*
40%	May	+,+,+,+	33.84±0.02 ^a	3.73±0.01 ^c	12.39±0.03 ^a
40%	June	+,+,+,+	32.19±0.00 ^c	4.04±0.02 ^b	11.85±0.00 ^c
40%	July	+,+,+,+	32.26±0.01 ^b	3.62±0.02 ^d	12.08±0.02 ^b
45%	June	+,+,+,+	32.03±0.02 ^d	4.10±0.01 ^a	11.43±0.04 ^d
40%	May	+,+,+,45	32.05±0.00 ^b	4.17±0.02 ^b	12.22±0.08 ^a
40%	June	+,+,+,45	30.45±0.02 ^d	4.46±0.03 ^a	11.72±0.05 ^c
40%	July	+,+,+,45	30.49±0.01 ^c	3.79±0.02 ^c	11.30±0.04 ^d
45%	June	+,+,+,45	32.44±0.01 ^a	4.45±0.03 ^a	11.88±0.05 ^b
40%	May	+,+,+,45	33.91±0.03 ^a	3.95±0.01 ^b	12.17±0.02 ^b
40%	June	+,+,+,45	30.93±0.01 ^d	3.98±0.03 ^b	11.30±0.05 ^d
40%	June	+,+,+,45	32.34±0.01 ^c	4.45±0.01 ^a	12.96±0.02 ^a
40%	July	+,+,+,45	30.50±0.03 ^e	3.79±0.04 ^c	11.32±0.04 ^d
45%	June	+,+,+,45	32.44±0.01 ^b	4.43±0.02 ^a	11.96±0.03 ^c
40%	May	+,+,+,45,30	33.12±0.03 ^a	4.45±0.01 ^b	12.85±0.01 ^a
40%	June	+,+,+,45,30	31.75±0.03 ^c	4.63±0.04 ^a	12.13±0.04 ^b
40%	June	+,+,+,45,30	31.51±0.01 ^d	4.06±0.01 ^d	11.88±0.03 ^c
40%	July	+,+,+,45,30	30.07±0.01 ^e	3.45±0.02 ^e	11.25±0.03 ^d
45%	June	+,+,+,45,30	32.08±0.02 ^b	4.39±0.01 ^c	11.90±0.01 ^c
40%	May	45 - 45	32.90±0.01 ^a	4.45±0.01 ^b	11.91±0.06 ^a
40%	June	45 - 45	30.78±0.03 ^c	4.49±0.01 ^a	10.81±0.03 ^c
40%	July	45 - 45	31.94±0.02 ^b	4.19±0.02 ^c	11.81±0.03 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

표 1-54. 혼합균주 접종 발효차 찻잎의 색도

Moisture content	Material	Method	L*	a*	b*
40%	May	+,+,+,+	31.09±0.01 ^d	3.76±0.03 ^c	11.01±0.04 ^d
40%	June	+,+,+,+	33.57±0.02 ^a	4.09±0.01 ^a	13.59±0.02 ^a
40%	July	+,+,+,+	32.34±0.02 ^b	3.83±0.02 ^b	12.38±0.04 ^b
45%	June	+,+,+,+	31.26±0.01 ^c	3.65±0.05 ^d	11.79±0.04 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	32.25±0.01 ^c	4.28±0.01 ^b	12.32±0.04 ^d
40%	June	+,+,+,+,45	33.12±0.02 ^d	4.28±0.01 ^b	14.03±0.02 ^a
40%	July	+,+,+,+,45	33.41±0.01 ^a	3.83±0.03 ^c	12.86±0.03 ^b
45%	June	+,+,+,+,45	31.92±0.00 ^b	4.34±0.03 ^a	12.43±0.03 ^c
40%	May	+,+,+,45	33.25±0.02 ^a	4.15±0.03 ^b	12.65±0.03 ^b
40%	June	+,+,+,45	33.35±0.01 ^b	4.06±0.02 ^c	12.98±0.03 ^a
40%	July	+,+,+,45	31.57±0.03 ^c	3.73±0.01 ^d	12.28±0.02 ^c
45%	June	+,+,+,45	31.07±0.01 ^d	4.59±0.03 ^a	11.51±0.01 ^d
40%	May	+,+,45	33.25±0.01 ^b	4.08±0.03 ^b	13.04±0.03 ^b
40%	June	+,+,45	31.65±0.01 ^c	4.03±0.02 ^c	12.31±0.05 ^c
40%	July	+,+,45	33.83±0.13 ^a	4.15±0.01 ^a	13.40±0.02 ^a
40%	May	+,+,+,45,30	30.68±0.02 ^d	4.10±0.01 ^b	11.26±0.01 ^d
40%	June	+,+,+,45,30	32.51±0.28 ^a	4.06±0.01 ^c	12.74±0.07 ^a
40%	July	+,+,+,45,30	31.02±0.01 ^c	3.69±0.02 ^d	12.09±0.04 ^b
45%	June	+,+,+,45,30	31.36±0.01 ^b	4.69±0.02 ^a	11.98±0.04 ^c
40%	May	+,+,45,30	32.51±0.02 ^b	3.66±0.01 ^a	12.42±0.03 ^c
40%	June	+,+,45,30	33.13±0.02 ^a	4.25±0.02 ^a	12.79±0.01 ^a
40%	July	+,+,45,30	31.84±0.01 ^c	4.20±0.18 ^c	12.51±0.05 ^b
40%	May	45 - 45	32.99±0.02 ^a	4.66±0.02 ^b	12.49±0.02 ^a
40%	June	45 - 45	31.71±0.17 ^b	4.99±0.02 ^a	11.66±0.02 ^b
40%	July	45 - 45	31.27±0.02 ^c	3.68±0.03 ^c	10.91±0.05 ^c

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

표 1-55. 찻잎을 멸균 처리 후 혼합균주 접종 발효차 증류수 추출액의 색도

Moisture content	Material	Fermentation method	L*	a*	b*
40%	May	+,+,+,+	61.39±0.01 ^c	32.86±0.02 ^b	94.79±0.12 ^a
40%	June	+,+,+,+	65.03±0.10 ^a	27.77±0.04 ^d	88.27±0.10 ^d
40%	July	+,+,+,+	64.15±0.01 ^b	28.87±0.03 ^c	91.44±0.11 ^b
45%	June	+,+,+,+	59.30±0.02 ^d	33.19±0.02 ^a	90.76±0.12 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	61.52±0.03 ^c	33.28±0.02 ^b	95.32±0.11 ^a
40%	June	+,+,+,+,45	64.38±0.02 ^b	28.56±0.03 ^c	87.28±0.12 ^d
40%	July	+,+,+,+,45	65.39±0.02 ^a	27.41±0.01 ^d	88.49±0.12 ^c
45%	June	+,+,+,+,45	56.52±0.06 ^d	36.11±0.05 ^a	89.85±0.20 ^b
40%	May	+,+,+,45	73.94±0.10 ^a	50.24±0.03 ^e	78.15±0.08 ^e
40%	June	+,+,+,45	58.89±0.01 ^d	33.83±0.02 ^d	91.41±0.23 ^b
40%	June	+,+,+,45	62.77±0.01 ^c	30.80±0.01 ^b	92.06±0.19 ^a
40%	July	+,+,+,45	67.02±0.00 ^b	26.12±0.02 ^c	87.94±0.08 ^d
45%	June	+,+,+,45	57.38±0.01 ^e	35.13±0.03 ^a	90.72±0.10 ^c
40%	May	+,+,+,45,30	57.67±0.01 ^d	36.18±0.02 ^b	95.92±0.14 ^a
40%	June	+,+,+,45,30	55.40±0.00 ^e	36.32±0.02 ^a	88.94±0.10 ^e
40%	June	+,+,+,45,30	63.18±0.01 ^b	28.89±0.001 ^d	89.64±0.09 ^d
40%	July	+,+,+,45,30	65.78±0.02 ^a	27.29±0.02 ^e	90.09±0.11 ^c
45%	June	+,+,+,45,30	58.94±0.02 ^c	34.42±0.02 ^c	91.43±0.16 ^b
40%	May	45 - 45	60.78±0.01 ^b	34.51±0.02 ^b	93.32±0.09 ^a
40%	June	45 - 45	59.90±0.02 ^c	34.61±0.04 ^a	92.36±0.22 ^b
40%	July	45 - 45	66.37±0.03 ^a	28.73±0.03 ^c	89.89±0.02 ^c

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-56. 혼합균주 접종 발효차 증류수 추출액의 색도

Moisture content	Material	Fermentation method	L*	a*	b*
40%	May	+,+,+,+	60.56±0.03 ^d	34.70±0.01 ^a	97.23±0.14 ^a
40%	June	+,+,+,+	69.01±0.02 ^a	23.99±0.01 ^d	89.93±0.09 ^d
40%	July	+,+,+,+	60.74±0.01 ^c	30.31±0.01 ^b	89.93±0.09 ^b
45%	June	+,+,+,+	64.53±0.05 ^b	28.03±0.03 ^c	97.23±0.14 ^c
40%	May	+,+,+,45	59.90±0.02 ^d	35.36±0.02 ^a	96.39±0.17 ^a
40%	June	+,+,+,45	65.49±0.02 ^b	26.84±0.02 ^c	89.93±0.17 ^b
40%	July	+,+,+,45	65.26±0.04 ^c	27.83±0.03 ^b	90.59±0.12 ^b
45%	June	+,+,+,45	66.45±0.02 ^a	26.47±0.02 ^e	85.73±0.07 ^c
40%	May	+,+,45	60.42±0.03 ^c	34.18±0.03 ^b	95.52±0.13 ^a
40%	June	+,+,45	63.84±0.01 ^a	28.28±0.03 ^e	90.66±0.15 ^c
40%	July	+,+,45	61.81±0.01 ^b	30.31±0.01 ^c	92.03±0.07 ^b
45%	June	+,+,45	57.50±0.02 ^d	34.71±0.02 ^a	90.09±0.09 ^e
40%	May	+,45	82.78±0.06 ^a	9.04±0.05 ^c	58.80±0.06 ^c
40%	June	+,45	66.06±0.02 ^b	26.68±0.01 ^b	89.44±0.04 ^b
40%	July	+,45	64.45±0.02 ^c	30.91±0.02 ^a	98.06±0.27 ^a
40%	May	+,+,45,30	58.56±0.02 ^c	36.06±0.01 ^a	94.58±0.15 ^a
40%	June	+,+,45,30	65.800±0.02 ^a	27.57±0.01 ^e	92.43±0.18 ^c
40%	July	+,+,45,30	60.64±0.01 ^b	31.64±0.01 ^c	92.94±0.09 ^b
45%	June	+,+,45,30	57.66±0.00 ^d	34.92±0.02 ^b	90.05±0.09 ^e
40%	May	+,45,30	71.25±0.27 ^a	18.24±0.10 ^c	77.56±0.07 ^c
40%	June	+,45,30	62.18±0.02 ^c	30.37±0.03 ^a	91.46±0.08 ^a
40%	July	+,45,30	65.40±0.08 ^b	26.85±0.02 ^b	88.34±0.03 ^b
40%	May	45 - 45	62.22±0.02 ^a	33.31±0.01 ^c	92.44±0.21 ^a
40%	June	45 - 45	59.20±0.02 ^b	34.96±0.02 ^b	90.99±0.16 ^b
40%	July	45 - 45	56.64±0.01 ^c	36.10±0.02 ^a	90.88±0.03 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

나. 가용성 고형분 함량

- 혼합균주 접종 발효차의 가용성 고형분 함량은 표 1-57~1-58에 나타냈다. 가용성 고형분 함량은 멸균처리 발효차는 0.70-1.00 °Brix로 나타났으며, 비 멸균처리 발효차는 0.70-1.20 °Brix로 나타났다. 멸균처리에 따른 가용성 고형분 함량에 차이는 적은 것으로 판단된다. 5월에 채엽하여 제조한 발효차에서 높은 함량이 나타났으며, 수분함량에 따른 차이는 나타났으나 일정한 경향이 나타나지 않았다.

표 1-57. 찻잎을 멸균 처리 후 혼합균주 접종 발효차의 가용성 고형분 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	Total soluble solid content(°Brix)
40%	May	+,+,+,+	0.90±0.00 ^a
40%	June	+,+,+,+	0.80±0.00 ^b
40%	July	+,+,+,+	0.80±0.00 ^b
45%	June	+,+,+,+	0.77±0.06 ^b
40%	May	+,+,+,45	0.87±0.06 ^a
40%	June	+,+,+,45	0.70±0.00 ^b
40%	July	+,+,+,45	0.70±0.00 ^b
45%	June	+,+,+,45	0.70±0.00 ^b
40%	May	+,+,45	1.00±0.00 ^a
40%	June	+,+,45	0.80±0.00 ^b
40%	June	+,+,45	0.80±0.00 ^b
40%	July	+,+,45	0.80±0.00 ^b
45%	June	+,+,45	0.80±0.00 ^b
40%	May	+,+,45,30	0.80±0.00 ^a
40%	June	+,+,45,30	0.70±0.00 ^b
40%	June	+,+,45,30	0.70±0.00 ^b
40%	July	+,+,45,30	0.80±0.00 ^a
45%	June	+,+,45,30	0.73±0.06 ^b
40%	May	45 - 45	0.80±0.00 ^a
40%	June	45 - 45	0.70±0.00 ^b
40%	July	45 - 45	0.70±0.00 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-58. 혼합균주 접종 발효차의 가용성 고형분 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	Total soluble solid content(°Brix)
40%	May	+,+,+,+	0.90±0.00 ^b
40%	June	+,+,+,+	1.00±0.00 ^a
40%	July	+,+,+,+	1.00±0.00 ^a
45%	June	+,+,+,+	0.80±0.00 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
40%	June	+,+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
40%	July	+,+,+,+,45	0.80±0.00 ^b
45%	June	+,+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
40%	May	+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
40%	June	+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
40%	July	+,+,+,45	0.90±0.00 ^a
45%	June	+,+,+,45	0.70±0.00 ^b
40%	May	+,+,45	1.20±0.00 ^a
40%	June	+,+,45	0.80±0.00 ^c
40%	July	+,+,45	1.00±0.00 ^b
40%	May	+,+,+,45,30	1.00±0.00 ^a
40%	June	+,+,+,45,30	0.90±0.00 ^b
40%	July	+,+,+,45,30	0.90±0.00 ^b
45%	June	+,+,+,45,30	0.70±0.00 ^c
40%	May	+,+,45,30	1.00±0.00 ^a
40%	June	+,+,45,30	0.90±0.00 ^b
40%	July	+,+,45,30	0.70±0.00 ^c
40%	May	45 - 45	0.70±0.00 ^b
40%	June	45 - 45	0.70±0.00 ^b
40%	July	45 - 45	0.80±0.00 ^a

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

다. 총 페놀 함량

- 혼합균주 접종 발효차의 총 페놀 함량은 표 1-59~1-60과 같다. 멸균 처리한 발효차의 총 페놀 함량은 5, 6, 7월에 채엽하여 발효방법 +,+,+ 및 +,+,+,+로 제조한 발효차에서 가장 높게 나타났고, 수분함량이 40%에서 45%로 증가함에 따라 총 페놀 함량은 감소하는 것으로 나타났다. 채엽시기가 5월 보다는 6월, 7월에 채엽하여 제조한 발효차에서 높은 총 페놀 함량을 보였다.
- 비 멸균 처리한 발효차의 총 페놀 함량은 5월에 채엽하여 제조한 발효차는 발효방식 +,+,+,45, 6월에 채엽하여 제조한 발효차에서는 발효방식 45-45, 7월에 채엽하여 제조한 발효차는 발효방식 +,+,+,+에서 가장 높은 함량이 나타났다. 수분함량에 따른 차이는 수분 함량이 증가함에 따라 총 페놀 함량이 증가하였으며, 멸균처리 발효차와 반대의 경향이 나타났다.

표 1-59. 찻잎을 멸균 처리 후 혼합균주 접종 발효차의 총 페놀 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	TPC(mg/L)
40%	May	+,+,+,+	1976.79 ± 125.00 ^d
40%	June	+,+,+,+	2512.50 ± 137.94 ^b
40%	July	+,+,+,+	2637.50 ± 34.19 ^a
45%	June	+,+,+,+	2200.00 ± 20.62 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	1369.64 ± 155.33 ^c
40%	June	+,+,+,+,45	2566.07 ± 34.19 ^a
40%	July	+,+,+,+,45	1155.36 ± 118.00 ^c
45%	June	+,+,+,+,45	1860.71 ± 186.19 ^b
40%	May	+,+,+,45	1878.57 ± 94.49 ^c
40%	June	+,+,+,45	2244.64 ± 220.88 ^b
40%	June	+,+,+,45	2530.36 ± 53.57 ^a
40%	July	+,+,+,45	1512.50 ± 295.05 ^d
45%	June	+,+,+,45	1092.86 ± 61.86 ^e
40%	May	+,+,+,45,30	1896.43 ± 157.03 ^c
40%	June	+,+,+,45,30	2378.57 ± 155.67 ^b
40%	June	+,+,+,45,30	2610.71 ± 29.16 ^a
40%	July	+,+,+,45,30	1842.86 ± 35.71 ^c
45%	June	+,+,+,45,30	1485.71 ± 111.04 ^d
40%	May	45 - 45	1887.50 ± 34.19 ^c
40%	June	45 - 45	2664.29 ± 20.62 ^a
40%	July	45 - 45	2423.21 ± 110.56 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-60. 혼합균주 접종 발효차의 총 페놀 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	TPC(mg/L)
40%	May	+,+,+,+	2342.86 ± 248.29 ^b
40%	June	+,+,+,+	1762.50 ± 89.29 ^c
40%	July	+,+,+,+	2619.64 ± 73.63 ^a
45%	June	+,+,+,+	1958.93 ± 53.57 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	2369.64 ± 44.94 ^a
40%	June	+,+,+,+,45	1869.64 ± 114.34 ^b
40%	July	+,+,+,+,45	2548.21 ± 17.86 ^a
45%	June	+,+,+,+,45	1950.00 ± 271.21 ^b
40%	May	+,+,+,45	1914.29 ± 94.49 ^c
40%	June	+,+,+,45	1485.71 ± 20.62 ^d
40%	July	+,+,+,45	2182.14 ± 170.03 ^a
45%	June	+,+,+,45	1851.79 ± 93.93 ^c
40%	May	+,+,45	1557.14 ± 85.02 ^d
40%	June	+,+,45	2405.36 ± 53.57 ^c
40%	July	+,+,45	2842.86 ± 35.71 ^a
40%	May	+,+,+,45,30	1762.50 ± 79.19 ^e
40%	June	+,+,+,45,30	1691.07 ± 17.86 ^f
40%	July	+,+,+,45,30	2101.00 ± 53.57 ^{ab}
45%	June	+,+,+,45,30	2182.14 ± 170.03 ^a
40%	May	+,+,45,30	1985.71 ± 185.58 ^{bc}
40%	June	+,+,45,30	1985.71 ± 20.62 ^d
40%	July	+,+,45,30	2485.71 ± 35.71 ^b
40%	May	45 - 45	2030.36 ± 17.86 ^d
40%	June	45 - 45	2601.79 ± 17.86 ^a
40%	July	45 - 45	1655.36 ± 60.99 ^c

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

라. Gallic acid 함량

- 혼합균주 접종 발효차의 gallic acid 함량은 표 1-61~1-62과 같다. 멸균 처리한 발효차의 gallic acid 함량은 7.52-9.28 mg/L로 나타났으며, 비 멸균 처리한 발효차는 7.74-10.23 mg/L로 나타났다. 5월에 채엽하여 제조한 발효차에서 6월 7월에 비해 높은 함량이 나타났으며, 6월에 채엽한 발효차에서 가장 낮은 함량이 나타났다. 그러나 개별균주 접종 방식에 비해 매우 낮은 수치였으며, 발효차 간 차이가 매우 낮은 것으로 나타났다. 따라서 혼합균주 접종 발효차의 gallic acid의 함량은 채엽시기, 발효방법, 수분함량, 멸균처리에 따른 영향이 미비한 것으로 판단된다.

표 1-61. 찻잎을 멸균 처리 후 혼합균주 접종 발효차의 gallic acid 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	gallic acid content (mg/L)
40%	May	+,+,+,+	8.00±0.02 ^b
40%	June	+,+,+,+	7.95±0.01 ^c
40%	July	+,+,+,+	8.11±0.00 ^a
45%	June	+,+,+,+	7.52±0.00 ^d
40%	May	+,+,+,45	8.34±0.04 ^a
40%	June	+,+,+,45	7.93±0.01 ^b
40%	July	+,+,+,45	7.73±0.00 ^c
45%	June	+,+,+,45	7.72±0.01 ^c
40%	May	+,+,45	8.15±0.01 ^a
40%	June	+,+,45	7.49±0.01 ^d
40%	June	+,+,45	7.61±0.00 ^c
40%	July	+,+,45	8.16±0.01 ^a
45%	June	+,+,45	7.79±0.00 ^b
40%	May	+,+,45,30	8.44±0.01 ^a
40%	June	+,+,45,30	7.66±0.00 ^e
40%	June	+,+,45,30	7.93±0.01 ^d
40%	July	+,+,45,30	8.03±0.01 ^b
45%	June	+,+,45,30	8.00±0.01 ^c
40%	May	45 - 45	9.28±0.03 ^a
40%	June	45 - 45	7.77±0.00 ^c
40%	July	45 - 45	8.10±0.00 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-62. 혼합균주 접종 발효차의 gallic acid 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	gallic acid content (mg/L)
40%	May	+,+,+,+	8.64 ± 0.02 ^a
40%	June	+,+,+,+	8.00 ± 0.05 ^b
40%	July	+,+,+,+	7.83 ± 0.00 ^c
45%	June	+,+,+,+	8.62 ± 0.02 ^a
40%	May	+,+,+,45	8.28 ± 0.01 ^a
40%	June	+,+,+,45	7.90 ± 0.03 ^b
40%	July	+,+,+,45	7.78 ± 0.03 ^c
45%	June	+,+,+,45	7.85 ± 0.00 ^b
40%	May	+,+,45	8.71 ± 0.01 ^a
40%	June	+,+,45	8.11 ± 0.00 ^b
40%	July	+,+,45	8.12 ± 0.00 ^b
45%	June	+,+,45	7.61 ± 0.00 ^c
40%	May	+,+,45	10.23 ± 0.02 ^a
40%	June	+,+,45	7.85 ± 0.01 ^c
40%	July	+,+,45	9.71 ± 0.01 ^b
40%	May	+,+,45,30	8.71 ± 0.27 ^a
40%	June	+,+,45,30	7.96 ± 0.01 ^b
40%	July	+,+,45,30	8.51 ± 0.00 ^a
45%	June	+,+,45,30	7.79 ± 0.00 ^b
40%	May	+,+,45,30	8.40 ± 0.00 ^b
40%	June	+,+,45,30	8.24 ± 0.00 ^b
40%	July	+,+,45,30	7.92 ± 0.01 ^c
40%	May	45 - 45	8.20 ± 0.06 ^a
40%	June	45 - 45	7.74 ± 0.01 ^b
40%	July	45 - 45	7.84 ± 0.01 ^b

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

마. Theaflavin 및 Thearubigin 함량

- 혼합균주 접종 발효차의 theaflavin 및 thearubigin 함량은 표 1-63~1-64과 같다. Theaflavin 함량은 멸균처리 발효차에서 1.43-4.36 g/kg로 나타났고, 5월에 채엽한 발효차 중 발효방법 +,+,+ 및 +,+,+,45으로 제조한 발효차에서 4.20 g/kg, 6월에 채엽한 발효차는 발효방법 45-45에서 3.70 g/kg, 7월에 채엽한 발효차는 발효방법 +,+,+,45,30에서 5.32 g/kg으로 가장 높은 함량이 나타났다. Thearubigin 함량은 멸균처리 발효차에서 43.73-63.68 g/kg으로 나타났다. 채엽시기별 가장 높은 함량을 보면 5월은 발효방법 +,+,+,45, 6월은 발효방법 +,+,+,45,30, 7월은 발효방법 +,+,+,+에서 나타났다. 수분함량에 따른 일정한 경향은 나타나지 않았다. Theaflavin 함량은 비멸균처리 발효차에서 1.55-4.98 g/kg으로 나타났으며, 멸균처리에 따른 큰 차이는 나타나지 않았다. 채엽시기별 가장 높은 함량을 보면 5월은 발효방법 +,+,45, 6월은 발효방법 45-45, 7월은 +,+,+,45,30으로 나타났다. Thearubigin 함량은 비멸균처리 발효차에서 42.98-105.62 g/kg으로 나타났고, 멸균처리에 비해 thearubigin 함량이 증가하였다. 채엽시기별 가장 높은 함량을 보면 5월은 +,+,+,45 발효방법, 6월은 +,+,+,45,30 발효방법, 7월은 +,+,45,30 발효방법으로 제조한 발효차에서 나타났다.

표 1-63. 찻잎을 멸균 처리 후 혼합균주 접종 발효차의 theaflavin 및 thearubigin 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	Theaflavin (g/kg)	Thearubigin (g/kg)
40%	May	+,+,+,+	4.20±0.05 ^a	60.03±0.15 ^a
40%	June	+,+,+,+	2.35±0.00 ^b	51.86±0.05 ^c
40%	July	+,+,+,+	3.39±0.01 ^b	57.01±0.07 ^b
45%	June	+,+,+,+	2.03±0.00 ^c	55.21±0.26 ^b
40%	May	+,+,+,45	4.20±0.03 ^a	60.47±0.03 ^a
40%	June	+,+,+,45	1.43±0.01 ^c	48.94±0.03 ^e
40%	July	+,+,+,45	2.26±0.00 ^b	50.37±0.02 ^c
45%	June	+,+,+,45	2.59±0.00 ^a	56.13±0.07 ^b
40%	May	+,+,+,45	2.77±0.03 ^b	63.68±0.07 ^a
40%	June	+,+,+,45	3.53±0.05 ^a	62.69±0.18 ^{ab}
40%	June	+,+,+,45	3.34±0.04 ^a	62.46±0.22 ^{ab}
40%	July	+,+,+,45	3.45±0.00 ^a	50.87±0.05 ^c
45%	June	+,+,+,45	2.21±0.02 ^b	63.19±0.02 ^b
40%	May	+,+,+,45,30	2.36±0.00 ^b	63.42±0.08 ^a
40%	June	+,+,+,45,30	2.63±0.05 ^b	63.06±0.12 ^a
40%	June	+,+,+,45,30	2.47±0.02 ^b	57.77±0.08 ^a
40%	July	+,+,+,45,30	5.32±0.40 ^a	44.73±1.18 ^b
45%	June	+,+,+,45,30	2.30±0.00 ^b	57.40±0.25 ^a
40%	May	45 - 45	2.67±0.16 ^a	63.13±0.45 ^a
40%	June	45 - 45	3.70±0.09 ^a	56.96±0.17 ^b
40%	July	45 - 45	4.36±0.00 ^a	51.98±0.02 ^c

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-64. 혼합균주 접종 발효차의 theaflavin 및 thearubigin 함량

Moisture content	Material	Fermentation method	Theaflavin (g/kg)	Thearubigin (g/kg)
40%	May	+,+,+,+	3.21±0.00 ^a	58.33±0.21 ^{bc}
40%	June	+,+,+,+	2.19±0.01 ^c	66.70±1.04 ^{ab}
40%	July	+,+,+,+	2.53±0.02 ^b	70.16±0.46 ^a
45%	June	+,+,+,+	2.19±0.01 ^c	56.59±0.10 ^c
40%	May	+,+,+,+,45	2.21±0.02 ^b	63.19±0.05 ^b
40%	June	+,+,+,+,45	2.53±0.00 ^a	83.08±0.73 ^a
40%	July	+,+,+,+,45	2.27±0.01 ^b	66.95±0.55 ^b
45%	June	+,+,+,+,45	2.12±0.01 ^b	55.84±0.22 ^b
40%	May	+,+,+,45	1.90±0.04 ^b	60.63±0.20 ^a
40%	June	+,+,+,45	1.82±0.03 ^b	55.65±0.71 ^{ab}
40%	July	+,+,+,45	2.70±0.02 ^a	49.35±0.46 ^b
45%	June	+,+,+,45	1.49±0.00 ^b	50.27±0.09 ^b
40%	May	+,+,45	3.28±0.01 ^b	62.71±0.97 ^a
40%	June	+,+,45	2.60±0.03 ^c	51.96±0.17 ^b
40%	July	+,+,45	3.77±0.00 ^a	87.84±0.11 ^{ab}
40%	May	+,+,+,45,30	2.68±0.03 ^b	62.71±0.97 ^b
40%	June	+,+,+,45,30	1.94±0.02 ^c	42.98±0.17 ^c
40%	July	+,+,+,45,30	2.98±0.01 ^a	52.30±0.10 ^{bc}
45%	June	+,+,+,45,30	1.55±0.01 ^e	105.62±2.00 ^a
40%	May	+,+,45,30	3.35±0.03 ^a	77.52±0.48 ^a
40%	June	+,+,45,30	2.14±0.01 ^c	57.38±0.23 ^b
40%	July	+,+,45,30	2.49±0.01 ^b	46.68±0.10 ^c
40%	May	45 - 45	2.59±0.06 ^b	54.77±0.10 ^a
40%	June	45 - 45	4.98±0.07 ^a	66.63±0.28 ^b
40%	July	45 - 45	2.53±0.03 ^b	52.63±0.35 ^a

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

바. Tocopherols 함량

- 표 1-65는 혼합균주 접종 발효차의 tocopherol 함량을 측정한 결과이다. 모든 혼합균주 접종 발효차에서 α -tocopherol와 β -tocopherol은 검출되지 않았다. 채엽 시기 7월, 수분함량 40%, 발효방법 ++,45,30, 비멸균 처리한 발효차에서는 모든 tocopherol이 검출되지 않았다. 채엽시기 6월, 수분함량 45%, 발효방법 +,+,+,45, 비멸균 처리한 발효차에서 29.52 mg/L로 가장 높은 함량이 나타났다. 멸균처리에 따라 감소하거나 증가하는 경향이 나타났으며, 개별균주 접종에 비해 다소 감소하였다.

표 1-65. 혼합균주 접종, 개별 차있 접종 발효차의 tocopherol 함량

Sample	α -tocopherol	β -tocopherol	γ -tocopherol	δ -tocopherol	Total (mg/L)
BIN-115	-	-	9.79±0.20	6.43±0.18	16.22±0.02
BIN-116	-	-	11.14±1.86	4.90±0.19	16.04±1.67
BIN-117	-	-	19.78±2.91	7.86±0.45	27.61±3.36
BIN-118	-	-	0.00±0.04	5.53±0.16	5.53±0.20
BIN-120	-	-	4.94±0.70	4.70±0.19	9.61±0.51
BIN-140	-	-	-	-	-
BIN-141	-	-	17.77±0.93	7.95±1.58	25.72±2.52
BIN-142	-	-	0.93±0.17	5.40±0.51	6.33±0.35
BIN-143	-	-	21.48±0.60	8.04±0.11	29.52±0.71
BIN-145	-	-	13.33±0.59	6.97±0.51	20.31±1.10

6) 미생물발효차 유래 주요 미생물을 이용한 최적 발효공정 개발

(1) 미생물발효차 유래 주요 미생물의 최적 조합 선발

· 1차년도 연구를 통해 선발된 15종의 균주를 이용하여 최적의 미생물 조합을 선발하고 이 조합을 통해 최적의 발효공정을 확립할 목적으로 1차년도에 도출한 균주의 특성을 고려하여 다음과 같이 다양한 조합의 균주 혼합액(①~⑤)을 조제하였다.

- ① 향당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주의 조합 (AN092, AF212, PC091, RS201)
- ② 다양한 기능이 인정된 균주들의 조합 (AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011)
- ③ 향당뇨, 항비만 활성 우수 균주와 관능적, 이화학적 품질 우수 균주의 혼합 조합(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)
- ④ 선발된 모든 주요균주의 혼합 조합(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)
- ⑤ 향당뇨, 항비만 활성 우수균주와 문헌상 보고된 주요 균주의 혼합 조합(AN092, AF212, RS201, LR011, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211)

· 조제된 다양한 조합의 균주혼합액을 국내산 찻잎을 이용하여 제조한 모차에 접종, 발효시켜 다음의 표 1-66와 같은 조건으로 미생물발효차를 제조하였으며 발효방식은 모차를 2개로 나누어 35℃와 45℃에서 각각 발효시킨 후 혼합하고, 다시 나누어 각각의 온도에서 발효시키는 조작을 1주일 단위로 반복하였다.

표 1-66. 혼합균주 접종을 통해 제조된 미생물 발효차 리스트

시료명	발효기간	발효조건		
		수분함량	발효온도	혼합균수
MSI-A(1,3,5)	(1)7일, (3)21일-7×3회, (5)35일-7×5회	45%	35℃+45℃	4
MSI-B(1,3,5)	(1)7일, (3)21일-7×3회, (5)35일-7×5회	45%	35℃+45℃	8
MSI-C(1,3,5)	(1)7일, (3)21일-7×3회, (5)35일-7×5회	45%	35℃+45℃	9
MSI-D(1,3,5)	(1)7일, (3)21일-7×3회, (5)35일-7×5회	45%	35℃+45℃	15
MSI-E(1,3,5)	(1)7일, (3)21일-7×3회, (5)35일-7×5회	45%	35℃+45℃	9

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Fermentation period: (1) 1week, (3)3week, (5)5week

발효방식은 모차를 2개로 나누어 35℃와 45℃에서 각각 발효시킨 후 혼합하고, 다시 나누어 각각의 온도로 발효시키는 조작을 1주일 단위로 반복.

(2) 국내의 미생물발효차 유래 균주를 조합하여 제조한 미생물발효차의 관능적 특성분석

- 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 향당뇨, 향비만 효과가 특히 뛰어난 균주를 조합하여 제조한 발효차(MSI-A), 다양한 기능성이 인정된 균주들을 조합하여 제조한 발효차(MSI-B), 향당뇨, 향비만 활성 우수 균주와 관능적, 이화학적 특징 우수 균주를 혼합한 조합으로 제조한 발효차(MSI-C), 선발된 15종의 전체를 혼합한 조합으로 제조한 발효차(MSI-D), 향당뇨, 향비만 활성 우수 균주와 문헌상 보고된 주요 균주를 혼합한 조합으로 제조한 발효차(MSI-E)를 제조하였으며 제조된 발효차의 관능특성을 10점 척도법으로 평가 하였다.
- 그 결과, 향당뇨, 향비만 효과가 특히 뛰어난 균주를 조합하여 제조한 발효차 MSI-A(3)의 최종기호도가 9.40 ± 0.84 로 가장 우수하게 평가됐으며, 다음으로 선발된 15종의 전체를 혼합한 조합으로 제조한 발효차 MSI-D(3)가 8.70 ± 1.33 로 우수하게 나타났다.
- 시료의 색은 향당뇨, 향비만 효과가 특히 뛰어난 균주를 조합하여 제조한 발효차 MSI-A(3)이 가장 우수했으며, 향과 맛은 MSI-A(3)과 MSI-D(3)이 가장 좋은 것으로 평가되어 관능적으로 우수한 미생물 발효차 개발에 적합한 균주 조성은 향당뇨, 향비만 효과가 특히 뛰어난 균주 혼합처리 방법 또는 선발된 15종의 전체를 혼합처리 방법이 적합한 것으로 판단되었다.

표 1-67. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물 발효차의 관능특성

Sample*	Color	Smell	Taste	Total preference
MSI-A(3)	8.15±1.76 ^a	6.80±1.39 ^a	7.10±2.13 ^a	9.40±0.84 ^a
MSI-B(3)	6.20±2.25 ^{ab}	6.10±1.37 ^a	6.45±1.77 ^a	7.80±0.78 ^{bc}
MSI-C(3)	5.80±2.30 ^b	5.95±1.57 ^a	5.90±1.72 ^a	7.10±1.66 ^d
MSI-D(3)	6.65±1.70 ^{ab}	6.30±1.56 ^a	7.00±1.15 ^a	8.70±1.33 ^{ab}
MSI-E(3)	6.40±2.06 ^{ab}	6.70±1.56 ^a	5.70±2.26 ^a	7.80±1.03 ^{bc}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

*All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c.

Fermentation period: (3) 3week

- 위의 결과로 MSI-A(3)와 MSI-D(3)을 선별하였으며 선별된 2가지 시료에 대하여 발효기간에 따른 관능특성을 평가하였다. 그 결과(표 1-68), 기능성 균주 4종을 혼합 접종하여 발효 후 3일 경과된 시료인 MSI-A(0)는 최종 기호도 값이 5.57±2.69로 시작하여 1주차에 6.29±2.21, 3주차 6.29±1.49, 5주차 8.14±2.54를 나타내 발효기간이 길어짐에 따라 관능적 품질도 좋아지는 경향을 나타냈다. MSI-D경우도 5.43±1.27에서 7.29±3.03로 최종기호도가 상승하는 결과를 보여 발효기간이 길어짐에 따라 관능적 품질이 좋아지는 경향을 나타냈다.
- 국내산 차잎으로 제조한 미생물발효차를 대조구인 JSFT(일본 시즈오카에서 2012년 상품화된 보이차)와 비교 시 국내 미생물발효차가 시즈오카 보이차에 비해 관능으로 우수한 품질 특성을 지닌 것으로 나타났다.
- 따라서, 관능적 특성이 우수한 미생물 발효차를 제조할 경우 전년도 연구결과 선별된 15종의 균주를 이용하여 향당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주(AN092, AF212, PC091, RS201) 혼합 접종 방식 또는 선별된 15종의 전체를 혼합한 조합(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011) 혼합 접종 방식으로 발효하는 방법이 효율적인 것으로 판단되었다.

표 1-68. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물 발효차의 발효 기간별 관능특성

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
MSI-A(0)	5.43±2.14 ^a	6.29±1.70 ^{ab}	6.57±2.14 ^a	5.57±2.69 ^{ab}
MSI-A(1)	7.14±1.06 ^a	7.00±1.15 ^a	6.29±1.89 ^a	6.29±2.21 ^{ab}
MSI-A(3)	5.86±1.34 ^a	5.71±2.62 ^{ab}	6.57±1.98 ^a	6.29±1.49 ^{ab}
MSI-A(5)	6.43±3.30 ^a	6.86±1.57 ^{ab}	7.14±1.77 ^a	8.14±2.54 ^a
MSI-D(0)	6.14±1.21 ^a	6.57±1.39 ^{ab}	6.14±1.57 ^a	5.43±1.27 ^{ab}
MSI-D(1)	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^b	5.86±1.46 ^a	5.29±2.05 ^{ab}
MSI-D(3)	7.00±2.16 ^a	6.71±0.95 ^{ab}	7.00±1.63 ^a	7.00±2.30 ^{ab}
MSI-D(5)	6.29±2.43 ^a	6.86±1.46 ^{ab}	7.00±2.30 ^a	7.29±3.03 ^{ab}
JSFT	5.00±2.23 ^a	5.86±1.34 ^{ab}	5.71±2.36 ^a	4.71±3.14 ^b

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151+LR011+DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

JSFT: Japanese microbial fermented tea.

*All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c.

Fermentation period: (0) 3day, (1) 1week, (3) 3weekl, (5) 5week

(3) 미생물발효차 유래 균주 혼합액을 이용해 제조된 미생물발효차의 생리활성

가. 지방간 예방효과

- 국내의 미생물발효차 유래의 균주를 이용하여 제조된 미생물 발효차를 대상으로 in vitro 지방간 예방 효과를 검증한 결과 40번(MSI-A), 41번(MSI-B), 42번(MSI-C), 43번(MSI-D), 44번(MSI-E) 모두에서 지방간 예방 효과가 탁월한 것으로 관찰되었다. 이는 본 실험 결과가 재현성있게 진행되고 있음을 시사해 주고 있다(그림 1-44). 또한 이들 시료가 직접적으로 지방 축적을 억제하는 지를 알아본 결과 모차에 비해 효능이 강한 것으로 나타났다(그림 1-45).

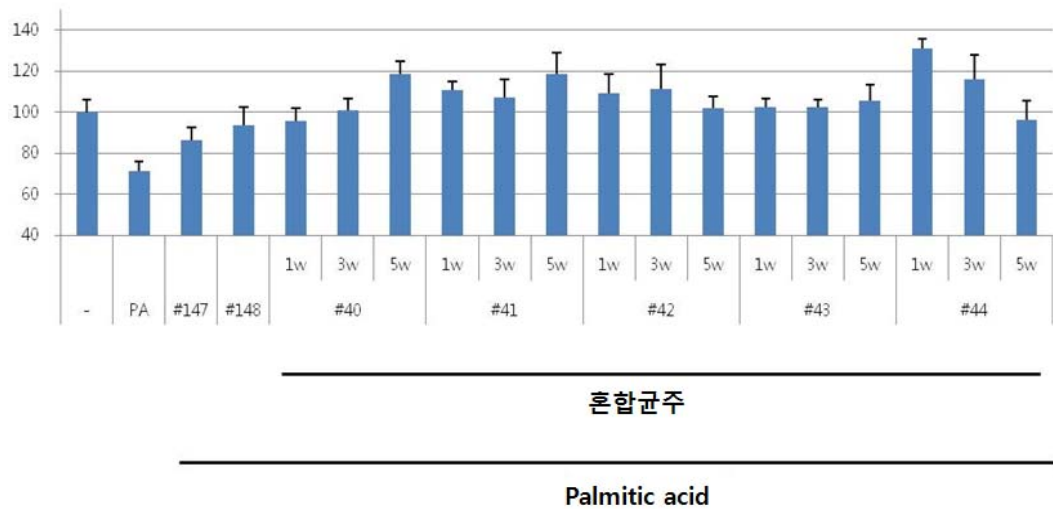


그림 1-44. 혼합 균주에 의한 지방간 예방 효과

#40: MSI-A(AN092 + AF212 + PC091 + RS201)

#41: MSI-B(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151+LR011+DH011)

#42: MSI-C(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181)

#43: MSI-D(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011)

#44: MSI-E(AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211)

PA=Palmitic acid, #147=Raw tea, #148=JSFT ; Japanese microbial fermented tea.

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

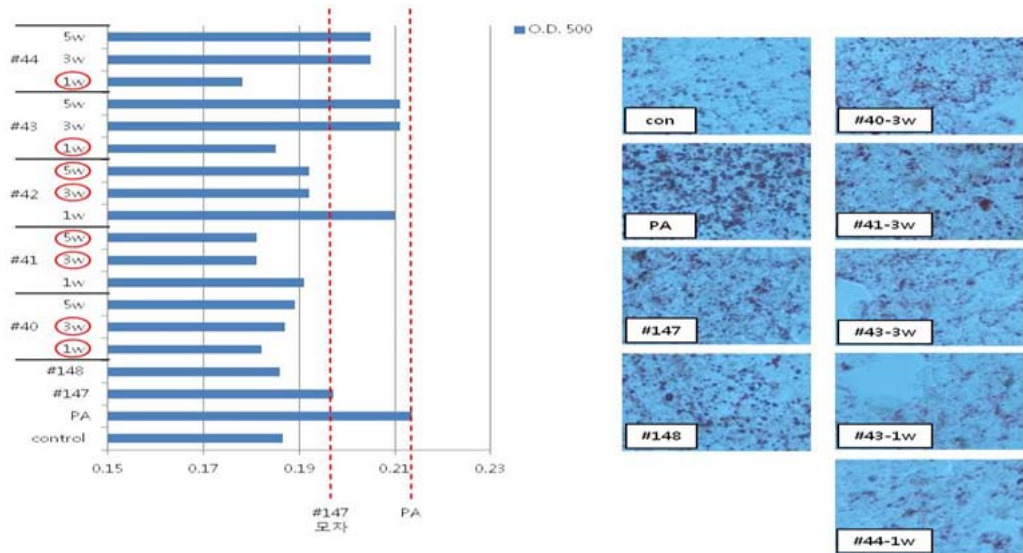


그림 1-45. 혼합균주에 의한 지방간 예방 효과

#40: MSI-A(AN092 + AF212 + PC091 + RS201)

#41: MSI-B(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151+LR011+DH011)

#42: MSI-C(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181)

#43: MSI-D(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011)

#44: MSI-E(AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211)

PA=Palmitic acid, #147=Raw tea, #148=JSFT ; Japanese microbial fermented tea.

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

나. 항당뇨 효과

- 국내외 미생물발효차 유래의 균주를 이용하여 제조된 미생물 발효차를 대상으로 in vitro 항당뇨 효과를 검증한 결과, 대체적으로 췌장 세포의 항당뇨 효능이 그리 높지 않았다. 주별로 분석을 한 결과에서도 비슷한 결과를 볼 수 있었다(그림 1-46). 이러한 결과는 놀라운 효과를 보였던 전년도 연구결과와 약간 다른 양상을 보이는 것으로 추가적인 재확인이 필요하다고 생각되었다.
- 췌장세포에서 단백질 발현 변화를 검증한 결과는 MTT 결과에서 보였던 양상과 비슷한 양상을 보이는 것으로 나타났다(그림 1-47). 즉 세포 사멸을 담당하는 PARP 및 caspase-3의 cleaved form의 발현을 억제하였으며 CHOP의 발현도 약간 억제하는 것으로 나타났다.

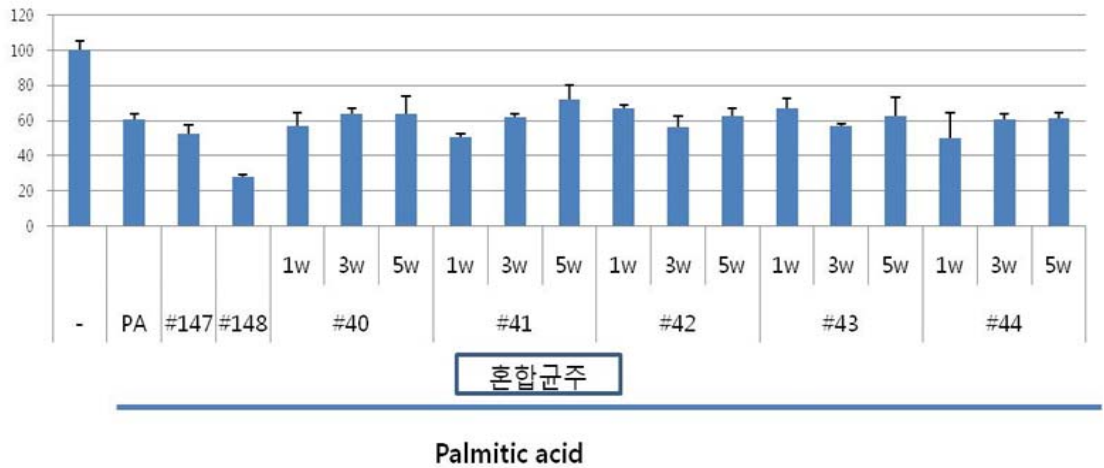


그림 1-46. 췌장 세포에서 혼합균주의 주별 항당뇨 효능 분석

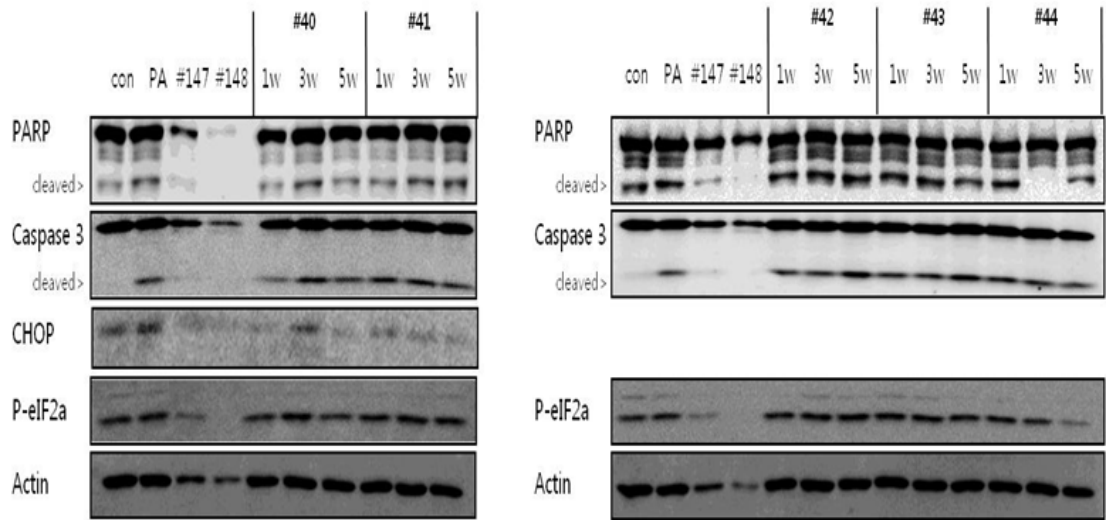


그림 1-47. 췌장세포에서 혼합균주의 항당뇨 활성에 대한 단백질 분석

#40: MSI-A(AN092 + AF212 + PC091 + RS201)

#41: MSI-B(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151+LR011+DH011)

#42: MSI-C(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181)

#43: MSI-D(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011)

#44: MSI-E(AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211)

PA=Palmitic acid, #147=Raw tea, #148=JSFT ; Japanese microbial fermented tea.

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

다. 항비만 효과

- 국내외 미생물발효차 유래의 균주를 이용하여 제조된 미생물 발효차를 대상으로 3T3L1세포에서 지방 전구 세포를 죽이는 효능 즉 지방을 줄이는 효과가 있는지를 알아본 결과, MSI-A의 1주 및 5주균에서 효능이 인정이 되었다(그림 1-48).
- 또한, 지방 축적 단백질과의 관련성을 검토한 결과, 대체적으로 지방 합성을 억제하는 결과를 볼 수 있었다(그림 1-49).

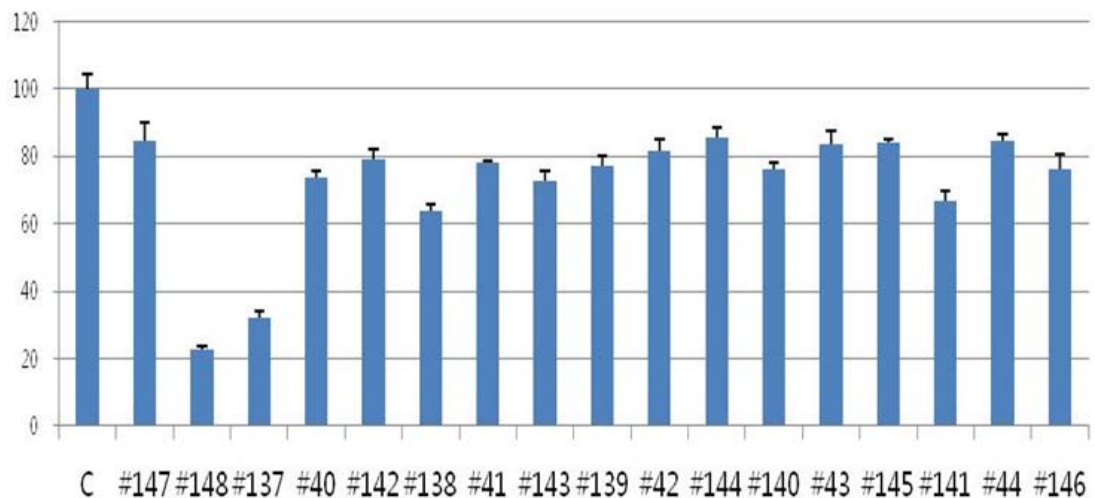


그림 1-48. 혼합균주의 3T3 L1 세포 사멸의 주별 효능 비교 분석

- #40: MSI-A(AN092 + AF212 + PC091 + RS201)
 - #41: MSI-B(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011)
 - #42: MSI-C(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181)
 - #43: MSI-D(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011)
 - #44: MSI-E(AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211)
 - #147: Raw tea, #148: JSFT: Japanese microbial fermented tea.
 - #137: MSI-A(1), #40: MSI-A(3), #142: MSI-A(5)
 - #138: MSI-B(1), #41: MSI-B(3), #143: MSI-B(5)
 - #139: MSI-C(1), #42: MSI-C(3), #144: MSI-C(5)
 - #140: MSI-D(1), #43: MSI-D(3), #145: MSI-D(5)
 - #141: MSI-E(1), #44: MSI-E(3), #146: MSI-E(5)
- Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

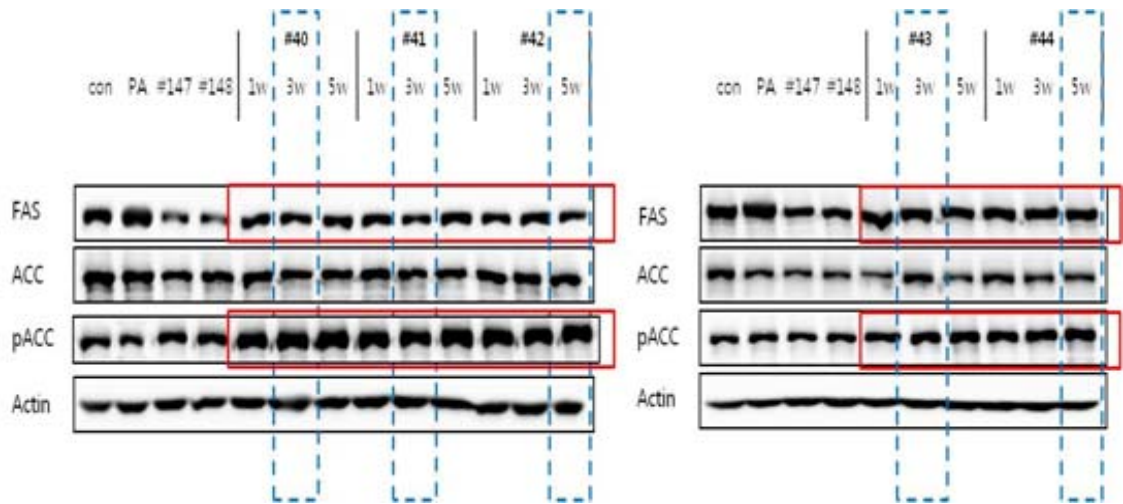


그림 1-49. 혼합 균주의 지방합성 관련 단백질 발현 작용

#40: MSI-A(AN092 + AF212 + PC091 + RS201)

#41: MSI-B(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011)

#42: MSI-C(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181)

#43: MSI-D(AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011)

#44: MSI-E(AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211)

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

라. 고지혈증 개선 지표성분으로서의 statin 화합물 분석 결과

- Statin화합물은 현재 고지혈증 치료물 시장의 80%를 차지하고 있으며 미생물에 의해 생성되는 HMG-CoA 환원효소 억제제(HMG CoA reductase inhibitor, Statin)로서 콜레스테롤 합성의 속도조절 단계인 HMG CoA reductase를 경쟁적으로 억제하여 간세포(Hepatocyte)에서 콜레스테롤 합성을 감소시키고, 조세포의 LDL수용체의 활성도를 증가시키므로써 혈중 LDL-콜레스테롤의 제거를 촉진하여 혈중 콜레스테롤의 농도를 감소시킨다고 알려져 있다.
- 선발된 15종의 균주를 다양하게 혼합 접종시켜 제조한 발효차를 대상으로 statin 화합물의 함량을 측정한 결과, 15종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)를 혼합 접종시킨 MSI-D(1)의 함량이 가장 우수했으며, 다음으로 MSI-B(1), MSI-C(1), MSI-A(3)의 순으로 나타났다.
- 발효 기간에 의한 함량변화는 MSI-B(1), MSI-C(1), MSI-D(1)의 경우 발효 1주차에

가장 높은 함량을 보이다 3주, 5주로 발효 기간이 증가함에 따라 함량이 감소하는 경향을 보였으며, MSI-A(1) 및 MSI-E(1)는 발효 3주차까지 함량이 증가하다 5주차 때 감소하는 경향을 나타냈다.

따라서, statin 생성효과가 우수한 미생물 발효차를 제조할 경우, 기능성이 뛰어나다고 보고한 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201) 혼합 접종 방식 또는 유통 및 제조과정 중 미생물발효차로부터 주요균주로 분리된 15종 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011) 혼합 접종 방식을 이용하는 방법이 효율적인 것으로 판단되었다.

표 1-69. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 statin 화합물 함량

NO	Sample	Statins contents(ng/g dr. wt. eq.)								Total
		Pravas tatin-H	Atovas tatin-H	Compa ctin-H	Compa ctin-L	Lovast atin-H	Lovast atin-L	Simvas tatin-H	Simvas tatin-L	
1	MSI-A(1)	217	25	N.D.	N.D.	19	N.D.	N.D.	N.D.	261
2	MSI-B(1)	250	N.D.	N.D.	69	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	319
3	MSI-C(1)	227	68	N.D.	N.D.	15	N.D.	N.D.	N.D.	311
4	MSI-D(1)	246	87	N.D.	71	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	404
5	MSI-E(1)	170	22	N.D.	N.D.	11	N.D.	N.D.	N.D.	202
6	MSI-A(3)	249	N.D.	N.D.	55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	305
7	MSI-B(3)	186	27	N.D.	N.D.	5	N.D.	N.D.	N.D.	218
8	MSI-C(3)	186	22	N.D.	N.D.	11	N.D.	N.D.	N.D.	219
9	MSI-D(3)	196	31	N.D.	N.D.	10	N.D.	N.D.	N.D.	237
10	MSI-E(3)	194	30	N.D.	N.D.	7	N.D.	N.D.	N.D.	231
11	MSI-A(5)	195	31	N.D.	N.D.	9	N.D.	N.D.	N.D.	236
12	MSI-B(5)	186	32	N.D.	N.D.	9	N.D.	N.D.	N.D.	228
13	MSI-C(5)	163	26	N.D.	N.D.	10	N.D.	N.D.	N.D.	200
14	MSI-D(5)	169	25	N.D.	N.D.	9	N.D.	N.D.	N.D.	202
15	MSI-E(5)	163	25	N.D.	40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	228
16	JSFT	154	N.D.	N.D.	35	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	188

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

JSFT: Japanese microbial fermented tea.

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

마. 미백활성

- 균주혼합액 접종 미생물발효차 추출물의 피부 미백활성을 측정한 결과, 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 항당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 조합하여 제조한 발효차 MSI-A(5)의 활성이 가장 우수했으며, 다음으로 항당뇨, 항비만 활성 우수 균주와 문헌상 보고된 주요 균주(AN092, AF212, RS201, LR011, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211)를 혼합한 조합으로 제조한 발효차 MSI-E(5)의 활성이 높게 나타났다.
- 발효기간에 따른 tyrosinase 저해활성의 변화를 살펴본 결과, 5종의 시료 모두 발효 5주차의 활성이 1주 및 3주보다 증가되는 경향을 나타내 5주 이상의 발효가 활성증가에 유리한 것으로 판단되었다.
- 따라서, tyrosinase 저해효과가 우수한 미생물 발효차를 제조할 경우 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 항당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 혼합 접종 방식에 5주 이상 발효하는 방법이 효율적인 것으로 판단되었다.

바. 항주름 활성

가) Elastase 저해활성

- 혼합균주접종 미생물발효차 추출물의 주름개선 활성을 측정한 결과, 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 항당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 조합하여 제조한 발효차 MSI-A의 활성이 가장 우수했으며, 다음으로 15종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)를 혼합 접종하여 제조한 MSI-D의 활성이 높게 나타났다.
- 발효기간에 따른 elastase 저해활성의 변화를 살펴본 결과, 5종의 시료 모두 발효 5주차의 활성이 1주 및 3주보다 증가되는 경향을 나타내 5주 이상의 발효가 elastase 저해활성증가에 유리한 것으로 판단되었다.
- 따라서, elastase 저해효과가 우수한 미생물 발효차를 제조할 경우 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 항당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주

(AN092, AF212, PC091, RS201)를 혼합 접종 방식 또는 유통 및 제조과정 중 미생물발효차로부터 주요균주로 선발된 15종의 균주를 이용하여(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011) 혼합 접종 방식에 5주 이상 발효하는 방법이 효율적인 것으로 판단되었다.

표 1-70. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 tyrosinase 저해효과

NO.	Sample	Tyrosinase inhibition activity (IC ₅₀ , μ g/mL)
1	MSI-A(1)	259.59
2	MSI-B(1)	182.75
3	MSI-C(1)	293.61
4	MSI-D(1)	207.80
5	MSI-E(1)	218.23
6	MSI-A(3)	549.01
7	MSI-B(3)	197.67
8	MSI-C(3)	242.93
9	MSI-D(3)	218.24
10	MSI-E(3)	212.07
11	MSI-A(5)	145.36
12	MSI-B(5)	180.00
13	MSI-C(5)	200.06
14	MSI-D(5)	201.62
15	MSI-E(5)	169.04
16	대조구(발효전 모차)	165.27

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

표 1-71. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 elastase 저해효과

NO.	Sample	Elastase inhibition activity(%)
1	MSI-A(1)	N.D
2	MSI-B(1)	N.D
3	MSI-C(1)	17.80
4	MSI-D(1)	21.91
5	MSI-E(1)	25.19
6	MSI-A(3)	24.53
7	MSI-B(3)	26.45
8	MSI-C(3)	10.52
9	MSI-D(3)	31.91
10	MSI-E(3)	7.71
11	MSI-A(5)	33.09
12	MSI-B(5)	27.17
13	MSI-C(5)	31.74
14	MSI-D(5)	30.76
15	MSI-E(5)	17.74
16	대조구(발효전 모차)	41.12

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011+ DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

나) Collagen 생성 효과

- 혼합균주접종 미생물발효차 추출물의 주름개선 활성을 측정한 결과, 1차년도 연구결과 선발된 15종의 균주를 이용하여 항당뇨, 항비만 효과가 특히 뛰어난 균주 (AN092, AF212, PC091, RS201)를 혼합 접종 방식으로 제조된 MSI-A의 활성이 가장 우수했으며, 다음으로 15종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)를 혼합 접종하여 제조한 MSI-D의 활성이 높게 나타났다.
- 발효기간에 따른 collagen 생성률의 변화를 살펴본 결과, MSI-A와 MSI-D의 경우 다른 3종의 시료에서 발효 5주차에 생성효과가 감소한 경향과 달리 1주 및 3주보다 증가되는 경향을 나타냈다.
- 따라서, collagen 생성효과가 우수한 미생물 발효차를 제조할 경우 1차년도 연구결과 기능성이 뛰어나다고 보고한 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201) 혼합 접종 방식 또는 유통 및 제조과정 중 미생물발효차로부터 주요균주로 분리된 15종 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011) 혼합 접종 방식에 5주 이상 발효하는 방법이 효율적인 것으로 판단되었다.

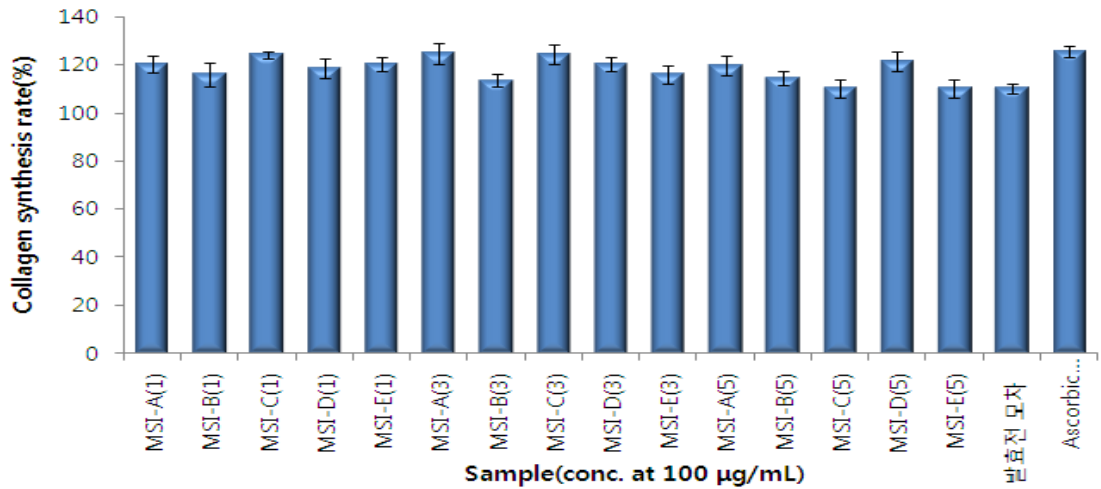


그림 1-50. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 collagen 생성효과

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

다. DPPH free radical 소거활성

- 혼합균주접종 미생물발효차 추출물의 DPPH free radical 소거활성을 측정한 결과, 선행연구에서 생리활성이 우수한 것으로 나타난 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 혼합 접종하여 제조된 MSI-A의 활성이 전반적으로 우수하게 나타났다.
- 발효기간에 따른 DPPH free radical 소거활성의 변화를 살펴본 결과, MSI-A의 경우 발효 3주차가 가장 우수한 소거활성을 나타낸 반면 다른 4종의 시료들은 발효기간이 증가함에 따라 소거활성이 소폭 감소하였으나 변화폭이 미미하여 발효기간에 따른 변화양상은 확인할 수 없었다.

표 1-72. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 DPPH free radical 소거활성

NO.	Sample	DPPH free radical scavenging activity (IC ₅₀ , μ g/mL)
1	MSI-A(1)	56.899
2	MSI-B(1)	68.053
3	MSI-C(1)	92.312
4	MSI-D(1)	69.309
5	MSI-E(1)	70.264
6	MSI-A(3)	33.025
7	MSI-B(3)	69.161
8	MSI-C(3)	92.162
9	MSI-D(3)	87.910
10	MSI-E(3)	97.942
11	MSI-A(5)	76.900
12	MSI-B(5)	77.926
13	MSI-C(5)	85.598
14	MSI-D(5)	83.749
15	MSI-E(5)	83.236
16	대조구(발효전 모차)	27.659
17	양성 대조구(Ascorbic acid)	10.01

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

(4) 미생물발효차 유래 균주 혼합액을 이용해 제조된 미생물발효차의 품질특성 분석

가. 색도 분석

- 찻잎 중의 식물성 색소는 외관과 수색에 직접적인 영향을 주며 맛과 향미에도 약간의 영향을 준다(1)고 알려져 있어 국내외 미생물발효차 유래 균주를 이용해 제조한 미생물 발효차의 색도를 측정하였다.
- 발효기간에 찻잎의 L*value 살펴보면, 발효기간 1주차에는 15종의 균주를 이용하여 향당뇨, 향비만 효과가 특히 뛰어난 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 혼합한 미생물발효차의 찻잎이 24.50으로 가장 높게 나타났으며, 발효기간 3주에는 15종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 23.40으로 가장 높게 나타났고, 발효 5주에는 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 23.54로 가장 높게 나타났다.
- a*value의 경우에는 발효기간 1주, 3주에 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 3.82, 34.46으로 높게 나타났으며, 발효 5주에는 2.76으로 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 가장 높게 나타났다.
- 황색도를 나타내는 b*value는 발효 1주차에 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 11.34로 가장 높게 나타났으며, 발효기간 3주에는 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 6.84로 가장 높게 나타났으며, 5주에는 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 찻잎이 7.76으로 가장 높게 나타났다.
- 미생물 발효차의 혼합균주의 추출물의 L*value 살펴보면, 발효기간 1주에는 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 74.91로 가장 높게 나타났으며, 발효기간 3주에는 8종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 61.10으로 가장 높게 나타났고, 발효 5주에는 9종의 균주(AN092, AF212, PC091,

RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 59.83으로 가장 높게 나타났다.

- a* value의 경우에는 발효기간 1주에는 8종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 19.12로 가장 높게 나타났고, 발효 3주에는 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 33.58으로 높게 나타났으며, 발효 5주차에는 30.06으로 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 가장 높게 나타났다.
- 황색도를 나타내는 b* value는 87.04, 88.20, 86.68로 발효 1주, 3주, 5주 모두 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 가장 높게 나타났다.

표 1-73. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 찻잎의 L* value

Sample	L* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	24.50 ± 0.00 ^{Aa}	23.01 ± 0.01 ^{Bb}	23.03 ± 0.01 ^{Ec}
MSI-B	27.84 ± 0.01 ^{Ba}	22.73 ± 0.03 ^{Dc}	24.61 ± 0.01 ^{Cb}
MSI-C	27.08 ± 0.02 ^{Da}	23.76 ± 0.06 ^{Ec}	23.54 ± 0.02 ^{Ab}
MSI-D	23.91 ± 0.01 ^{Ab}	23.40 ± 0.13 ^{Ac}	25.28 ± 0.00 ^{Da}
MSI-E	27.51 ± 0.01 ^{Cb}	23.74 ± 0.03 ^{Cc}	24.48 ± 0.01 ^{Bb}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-74. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 찻잎의 a* value

Sample	a* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	3.30±0.01 ^{Ea}	3.50±0.17 ^{Cb}	2.76±0.02 ^{Ac}
MSI-B	3.08±0.01 ^{Ca}	3.71±0.04 ^{Ba}	3.62±0.03 ^{Bb}
MSI-C	3.82±0.05 ^{Aa}	3.46±0.03 ^{Ab}	3.55±0.03 ^{Bc}
MSI-D	3.20±0.03 ^{Db}	2.98±0.09 ^{Ba}	2.79±0.03 ^{ABc}
MSI-E	4.42±0.04 ^{Ba}	3.11±0.02 ^{Cc}	3.78±0.05 ^{Bb}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-75. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 찻잎의 b* value

Sample	b* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	7.83±0.03 ^{Da}	6.84±0.03 ^{Ab}	5.72±0.03 ^{ABc}
MSI-B	10.75±0.04 ^{Ca}	6.67±0.04 ^{Cc}	7.24±0.02 ^{Cb}
MSI-C	11.58±0.04 ^{Ba}	7.20±0.05 ^{Db}	6.19±0.05 ^{Dc}
MSI-D	7.83±0.04 ^{Da}	6.20±0.10 ^{Bb}	6.26±0.01 ^{Bc}
MSI-E	11.34±0.02 ^{Aa}	7.49±0.03 ^{Ec}	7.76±0.02 ^{Ab}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-76. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 L* value

Sample	L* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	74.91±0.10 ^{Da}	56.57±0.01 ^{Ab}	56.37±0.15 ^{Ec}
MSI-B	74.28±0.02 ^{Aa}	61.10±0.02 ^{Bb}	58.43±0.11 ^{Cc}
MSI-C	68.20±0.22 ^{Ca}	57.47±0.02 ^{Dc}	59.83±0.02 ^{Ab}
MSI-D	75.15±0.24 ^{Ea}	54.81±0.01 ^{Ac}	58.18±0.14 ^{Db}
MSI-E	71.04±0.03 ^{Ba}	59.15±0.0 ^{Cb}	58.82±0.03 ^{Bb}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-77. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 a* value

Sample	a* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	16.69±0.02 ^{Cc}	34.86±0.07 ^{Eb}	30.06±0.01 ^{Aa}
MSI-B	19.66±0.01 ^{Ec}	33.47±0.03 ^{Cb}	28.50±0.02 ^{Ba}
MSI-C	24.72±0.10 ^{Bc}	33.58±1.18 ^{Ab}	30.72±0.00 ^{Ba}
MSI-D	19.12±0.08 ^{Ac}	34.42±0.07 ^{Db}	33.99±0.01 ^{ABa}
MSI-E	23.39±0.04 ^{Dc}	33.56±0.04 ^{Bb}	29.84±0.01 ^{Ba}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-78. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 b* value

Sample	b* value during fermentation		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	78.63±0.09 ^{BCc}	87.89±0.35 ^{Db}	85.22±0.05 ^{ABa}
MSI-B	84.22±0.03 ^{Bc}	86.94±0.22 ^{Cb}	85.33±0.04 ^{Ca}
MSI-C	85.31±0.25 ^{Cb}	86.37±0.06 ^{Bb}	85.14±0.06 ^{Da}
MSI-D	84.30±0.23 ^{Dc}	87.59±0.13 ^{Cb}	84.79±0.09 ^{Ba}
MSI-E	87.04±0.10 ^{Ab}	88.20±0.13 ^{Ac}	86.68±0.13 ^{Aa}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

나. 가용성 고형분 함량

- 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액을 접종시켜 제조한 발효차를 대상으로 가용성 고형분을 측정된 결과를 표 1-79에 나타냈다.
- 발효기간 1주와 3주에는 8종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 각각 1.05 °Brix로 높게 나타났고, 발효기간 5주에는 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 각각 0.85 °Brix로 높게 나타났다.
- 또한, 전반적으로 발효기간이 1주에서 3주로 갈수록 고형분 함량이 늘어나다가 5주차로 갈수록 가용성 고형분 함량이 적어지는 경향을 나타냈으나 차이는 크지 않았다.

표 1-79. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 가용성 고형분 함량

(Unit: °Brix)

Sample	Fermentation periods		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	0.90 ± 0.00 ^{Cb}	0.95 ± 0.06 ^{Bc}	0.85 ± 0.00 ^{Aa}
MSI-B	1.05 ± 0.06 ^{Aa}	1.05 ± 0.06 ^{Ac}	0.75 ± 0.06 ^{Bb}
MSI-C	0.85 ± 0.06 ^{Ca}	0.95 ± 0.06 ^{Bc}	0.75 ± 0.06 ^{Bb}
MSI-D	0.95 ± 0.06 ^{Ba}	0.75 ± 0.06 ^{CDc}	0.75 ± 0.06 ^{Bb}
MSI-E	0.88 ± 0.10 ^{BCa}	0.75 ± 0.06 ^{CDc}	0.70 ± 0.00 ^{Bb}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

다. 총페놀 함량

- 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액을 접종시켜 제조한 발효차를 대상으로 총페놀 함량을 측정한 결과를 표 1-80에 나타냈다.
- 총 페놀 함량은 101-206 mg/100g로 나타났다. 발효기간인 1주, 3주, 5주 모두 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 148.57 mg/100g, 205.43 mg/100g, 120.91 mg/100g로 가장 높게 나타났으며, 다음으로 3주차에 8종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011)를 접종한 미생물발효차 추출물의 총페놀 함량이 206.52 mg/100g로 높게 나타났다.

표 1-80. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 총페놀 함량

(Unit: mg/100g)

Sample	Fermentation periods		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	148.57 ± 7.85 ^{Ab}	205.43 ± 4.91 ^{Aa}	120.91 ± 1.50 ^{Ac}
MSI-B	145.30 ± 1.34 ^{Bb}	206.52 ± 7.10 ^{Aa}	113.93 ± 4.84 ^{ABc}
MSI-C	127.80 ± 14.04 ^{Ca}	134.54 ± 6.93 ^{Ba}	101.96 ± 0.95 ^{Bb}
MSI-D	147.85 ± 6.76 ^{Ba}	142.04 ± 2.72 ^{Ba}	113.47 ± 14.32 ^{ABb}
MSI-E	120.14 ± 4.28 ^{Ca}	143.85 ± 7.35 ^{Ba}	107.40 ± 8.53 ^{Bb}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

라. Gallic acid 함량

- Gallic acid는 미생물발효차에 있어서 카테킨류의 감소와 역행하여 미생물 발효의 진행에 따라 다량 생성되어지는 대표적인 성분 중의 하나이다. Gallic acid의 형성은 차 폴리페놀 몰식자에스테르가 미생물에 관여한 후 발효 과정중의 분해와 연관이 있다. 최근의 보도에 의하면 일부 누룩 곰팡이는 탄닌효소 정도가 증가하고, 기질 타닌산 분해와 gallic acid의 형성을 촉진하는 작용이 있다(7).
- 국내의 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 gallic acid 함량은 표 1-81와 같다.
- Gallic acid는 4종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201)를 접종한 미생물발효차의 추출물이 1주, 3주, 5주 모두 8.39 mg/L로 높게 나타났다. 전반적으로 모든 시료에서 발효기간 증가함에 따라 gallic acid함량은 감소하는 경향을 보였다.

표 1-81. 국내의 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 gallic acid 함량

(Unit: mg/L)

Sample	Fermentation periods		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	8.39 ± 0.01 ^{Aa}	3.39 ± 0.05 ^{Ab}	2.01 ± 0.13 ^{Ac}
MSI-B	7.09 ± 0.10 ^{Ca}	3.07 ± 0.08 ^{Cb}	1.28 ± 0.01 ^{Bc}
MSI-C	6.07 ± 0.08 ^{Ea}	1.22 ± 0.01 ^{Eb}	0.97 ± 0.06 ^{Cc}
MSI-D	8.24 ± 0.05 ^{Ba}	1.59 ± 0.01 ^{Db}	1.24 ± 0.01 ^{Bc}
MSI-E	6.31 ± 0.08 ^{Da}	3.32 ± 0.04 ^{Bb}	1.17 ± 0.03 ^{Bc}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

바. Theaflavin 및 Thearubigin 함량

- 찻잎중의 색소는 지용성색소와 수용성 색소로 나누는데 함량은 마른 찻잎 중에 1%정도로 차지한다. 마른 찻잎의 색을 결정하는 주요성분인 지용성 색소는 물에 용해되지 않은 엽록소, 엽황소 카로틴 등이 있고, 수용성 색소는 flavinoid류 물질, cyanidin, phenol, 산화물질을 생성시키는 물질은 theaflavin, thearubigin 등이 있다.
- 국내의 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 theaflavin 및 thearubigin 함량은 표 1-82~1-83과 같다. 혼합균주 포자접종 발효차에서 theaflavin, thearubigin 함량은 발효기간 3주째 다소 증가하는 경향을 보였으며, 발효기간 5주째에는 감소하였다. 이는 색도의 변화와 유사한 경향을 보였다

표 1-82. 국내의 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 theaflavin 함량

(Unit: g/kg)

Sample	Fermentation periods		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	0.06 ± 0.01 ^{NSb}	0.30 ± 0.04 ^{NSa}	0.06 ± 0.01 ^{Ab}
MSI-B	0.04 ± 0.02 ^b	0.27 ± 0.05 ^a	0.04 ± 0.02 ^{Cb}
MSI-C	0.05 ± 0.03 ^b	0.30 ± 0.07 ^a	0.05 ± 0.03 ^{BCb}
MSI-D	0.03 ± 0.01 ^b	0.25 ± 0.03 ^a	0.03 ± 0.01 ^{Cb}
MSI-E	0.07 ± 0.06 ^{NSb}	0.21 ± 0.09 ^a	0.07 ± 0.06 ^b

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

표 1-83. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 thearubigin 함량

(Unit: g/kg)

Sample	Fermentation periods		
	1 weeks	3 weeks	5 weeks
MSI-A	8.99±0.86 ^{Cb}	9.48±2.98 ^{Ca}	9.59±3.72 ^{Ba}
MSI-B	9.64±0.20 ^{Bc}	12.60±0.11 ^{Ba}	10.40±0.20 ^{Bb}
MSI-C	9.42±0.39 ^{Bb}	13.51±0.37 ^{Ba}	13.57±2.95 ^{Aa}
MSI-D	9.20±0.26 ^{Bc}	12.85±0.50 ^{Ba}	10.89±0.05 ^{Bb}
MSI-E	11.28±1.06 ^{Ab}	15.44±0.37 ^{Aa}	10.11±0.02 ^{Bc}

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

사. Tocopherols 함량

- Tocopherol (vitamin E)은 항산화, 신경세포 보호, 심장질환예방, 암세포 증식 억제 및 노화방지 등의 효과가 있으며, 그림 1-51는 혼합 균주 접종 발효차의 tocopherol 함량을 측정한 결과이다. α -tocopherol은 12-235 mg/kg의 범위로 측정되었다. α -tocopherol은 catechin류, gallic acid을 혼합하여 사용하였을 때, 각 화합물을 단독으로 사용하였을 때보다 더 효과적인 항산화능이 발휘되어진다고 알려져 있다.(8)
- 또한 발효기간이 1주에서 5주로 증가할 수록 α -Tocopherol은 감소하는 경향을 나타냈는데 이는 α -Tocopherol이 대표적인 지용성 항산화제로써 산화에 매우 민감한 화합물이기 때문이다. β -tocopherol + γ -tocopherol도 발효기간이 1주에서 5주로 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었는데 이들 성분 역시 위의 α -tocopherol의 경우와 같은 가능성들이 추측되어진다.
- δ -tocopherol의 경우에는 9종의 균주(AN092, AF212, PC091, RS201, PC151, LR011, AN091, PG121, CT181)를 접종한 미생물발효차와 15종의 균주(AN092,

AF212, PC091, RS201, AT011, PC151, LR011, DH011, AN091, PG121, CT181, AF211, PG051, RP211, RP011)를 접종한 미생물발효차가 발효기간 1주에서 5주 까지 모두 높게 측정되었다.

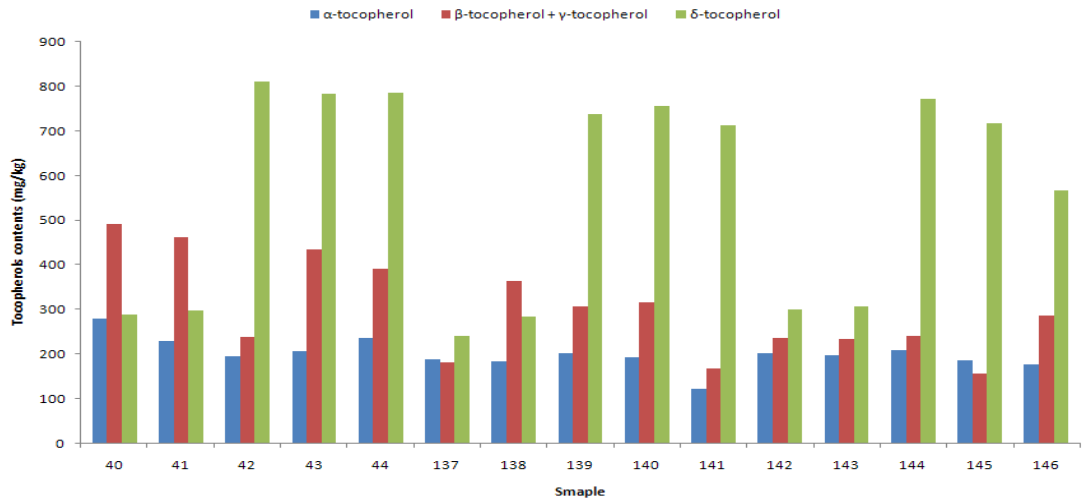


그림 1-51. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 tocopherol 함량

40: MSI-A(3), 41: MSI-B(3), 42: MSI-C(3), 43: MSI-D(3), 44: MSI-E(3), 137: MSI-AB(1), 138: MSI-B(1), 139: MSI-C(1), 140: MSI-D(1), 141: MSI-E(1), 142: MSI-A(5), 143: MSI-B(5), 144: MSI-C(5), 145: MSI-D(5), 146: MSI-E(5)
 Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

아. 유리당 함량

- 혼합균주를 접종시킨 미생물발효차 추출물의 유리당 함량은 Fucose, Rhamnose, Galactose, Glucose, Mannose, Fructose, Ribose 등의 7가지 당이 확인되었고, 유리당 중 Glucose, Galactose, Mannose의 함량이 다른 4가지의 당에 비해 높은 함량을 나타냈다. 또한, 발효가 진행되면서 전체적으로 줄어드는 경향이 확인되었다.

표 1-84. 국내외 미생물발효차 유래 균주 혼합액 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 발효기간에 따른 추출물의 free sugar 함량

Sample	Monosaccharide(mg/L)							
	Fucose	Rhamnose	Galactose	Glucose	Mannose	Fructose	Ribose	Total
MSI-A(1)	23.91	62.21	1,172.66	3,532.12	121.26	652.77	13.5	5578.43
MSI-B(1)	29.43	83.45	1,110.57	3,105.63	170.08	52.83	33.07	4585.06
MSI-C(1)	31.32	89.73	1,410.11	3,970.24	191.82	77.16	45.51	5815.89
MSI-D(1)	27.00	82.81	1,186.84	3,067.81	193.2	94.83	29.84	4682.33
MSI-E(1)	38.6	91.57	1,377.95	3,993.03	218.64	85.97	64.79	5870.55
MSI-A(3)	27.46	64.53	1,139.79	2,564.92	262.86	66.27	44.04	4169.87
MSI-B(3)	19.77	58.92	873.48	2,149.79	145.57	37.92	27.32	3312.77
MSI-C(3)	25.72	50.14	983.58	2,178.52	159.96	33.8	27.67	3459.39
MSI-D(3)	23.91	65.98	657.51	1,893.09	153.96	28.49	17.53	2840.47
MSI-E(3)	30.96	93.45	964.06	2,070.84	182.52	32.95	27.00	3401.78
MSI-A(5)	27.56	96.54	1,060.47	2,290.83	172.86	24.36	61.35	3733.97
MSI-B(5)	24.38	86.14	942.83	2,125.31	152.99	23.59	63.67	3418.91
MSI-C(5)	13.78	74.93	959.07	1,758.61	144.34	15.61	42.68	3009.02
MSI-D(5)	13.45	74.65	709.45	1,846.61	133.71	20.33	35.58	2833.78
MSI-E(5)	17.23	63.3	624.76	1,336.33	128.48	24.06	38.86	2233.02

* N.D. : Not Detected

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-B: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011

MSI-C: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + PC151 + LR011 + AN091 + PG121 + CT181

MSI-D: AN092 + AF212 + PC091 + RS201 + AT011 + PC151 + LR011 + DH011 + AN091 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211 + RP011

MSI-E: AN092 + AF212 + RS201 + LR011 + PG121 + CT181 + AF211 + PG051 + RP211

Dissimilar capital alphabets within the same column are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Dissimilar small alphabets within the same row are significantly different (p<0.05, Duncan's multiple range test).

Fermentation period: (1) 1week, (3) 3week, (5) 5week

2. 한국 전통 발효식품 유래 미생물로부터 우수 발효균주 선발 및 이를 이용한 미생물발효차의 제조

1) 한국 전통 발효식품 유래 우수 발효균주 선발 및 균주별 최적 생육조건 탐색

(1) 주요 미생물의 선발

- 지금까지의 연구 결과, 국내외 유통 및 제조과정 중 미생물발효차로부터 분리한 균주를 이용하여 현재 유통되고 있는 유명발효차에 기능성과 품질 면에서 뒤지지 않는 미생물발효차를 제조할 수 있음이 확인 되었다.
- 여기에 현재 유통 중인 외국산 미생물발효차보다 품질과 기능이 뛰어나면서도 독창적인 특성을 갖는 국내산 미생물발효차를 개발하기 위하여 한국의 전통발효식품 유래의 균주 중에서 발효차의 제조에 이용 가능한 균주를 선발, 이용하고자 하였다.
- 한국 전통발효식품 유래 균주는 메주, 홍주, 청주, 김치, 안동식혜 등의 우리나라의 전통발효식품으로부터 분리된 균주를 중심으로 연구논문의 분석결과, 기능성과 품질 개선 가능성이 높은 균주를 선발하여 총 38종의 균주를 구입하였으며 미생물발효차로부터 추가로 분리된 3종의 균주를 포함시켜 총 41종의 균주를 선발하였다.

표 2-1. 전통 발효식품 유래 주요 미생물 41종 리스트

NO.	Scientific name	Classification	Source	Purchasing place
1	ANa80	Mold	와인누룩	KACC
2	ANa97	Mold	메주	KACC
3	ANm65	Mold	토양	KCCM
4	AFa88	Mold	콩재배토양	KACC
5	AFa89	Mold	고추재배토양	KACC
6	AFm27	Mold	unknown	KACC
7	AOa71	Mold	메주	KACC
8	AOhj01	Mold	홍주	산업체
9	AOsj01	Mold	청주	산업체
10	AKhj02	Mold	홍주	산업체
11	AKm60	Mold	술	KCCM
12	AKm60	Mold	포도	KACC
13	PCm84	Mold	unknown	KCCM
14	PCa11	Mold	옥수수	KACC
15	ROm85	Mold	산업적알콜생산	KCCM
16	ROa02	Mold	산업적알콜생산	KCCM
17	RSa05	Mold	메주	KACC
18	RSm86	Mold	메주	KCCM
19	MPT20	Mold	홍국미	KCTC
20	MRa66	Mold	메주	KACC
21	SCa08	Yeast	빵	KACC
22	SChj03	Yeast	홍주	산업체
23	BSfc01	Bacteria	발효차	-
24	BSa74	Bacteria	된장	KACC
25	BSa39	Bacteria	간장	KACC
26	BLa25	Bacteria	고추장	KACC
27	BLa85	Bacteria	메주	KACC
28	BSa49	Bacteria	고추장	KACC
29	BSa25	Bacteria	메주	KACC
30	BSa50	Bacteria	나또	KACC
31	BSa69	Bacteria	메주콩	KACC
32	LMa13	Bacteria	김치	KACC
33	LMa17	Bacteria	안동식혜	KACC
34	LMa44	Bacteria	메주	KACC
35	LMa52	Bacteria	김치	KACC
36	LBa53	Bacteria	발효맥주	KACC
37	LBa21	Bacteria	안동식혜	KACC
38	LPa51	Bacteria	김치	KACC
39	EC081	Mold	발효차	-
40	ECa44	Mold	메주	KACC
41	EC181	Mold	발효차	-

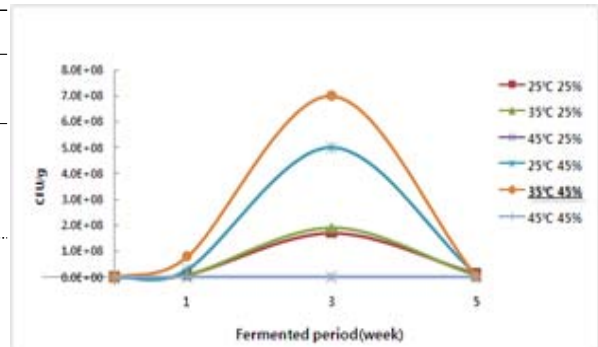
(2) 전통발효식품 유래 균주의 최적 생육조건 및 발효조건 탐색

- 먼저, 전통발효식품 유래 균주들의 미생물발효차 적용가능성 및 발효차 제조 과정 중 최적발효조건을 탐색하기 위하여 구입한 주요 균주를 모차에 접종하여 25℃, 35℃, 45℃의 온도조건 및 25%, 45%의 수분함량조건에서 1주, 3주, 5주(곰팡이, 효모) 또는 1주, 2주, 3주(세균)간 발효시킨 후 균주 성장률을 측정하였다.

가. ANa80

- 와인 제조용 누룩에서 유래된 ANa80의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 온도의 경우 동일한 수분함량에서는 25℃와 35℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 실험 결과를 토대로 ANa80을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

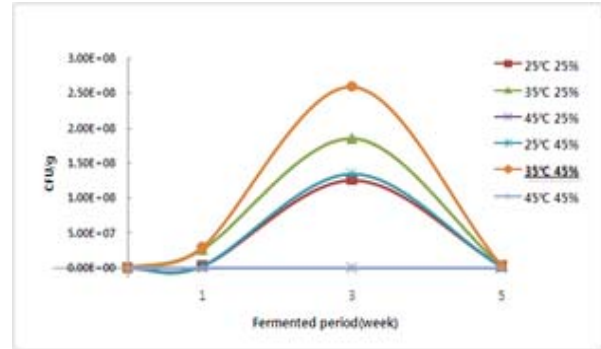
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.0×10^7	1.7×10^8	5.3×10^6
	35℃	1.0×10^7	1.9×10^8	1.3×10^7
	45℃	4.8×10^4	9.3×10^4	1.0×10^2
45%	25℃	3.0×10^7	5.0×10^8	8.0×10^6
	35℃	7.0×10^7	7.0×10^8	1.6×10^6
	45℃	3.2×10^4	2.0×10^3	1.1×10^3



나. ANa97

- 메주에서 유래된 ANa97의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 온도의 경우 동일한 수분함량에서는 25℃와 35℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 또한, 45℃에서 발효한 경우 1~3주 사이에 다른 온도 조건에 비해 성장률이 급격히 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 ANa97을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

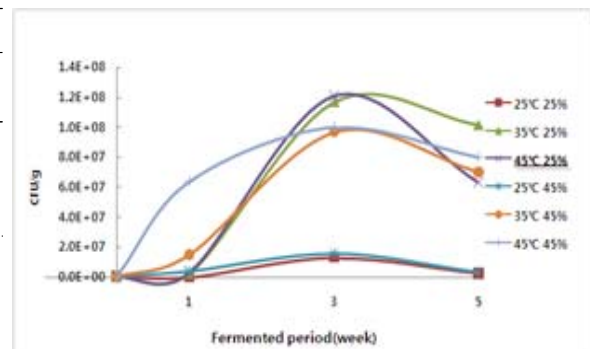
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	3.1x10 ⁶	1.26x10 ⁸	2.31x10 ⁶
	35℃	2.6x10 ⁷	1.85x10 ⁸	2.89x10 ⁶
	45℃	4.0x10 ⁴	1.0x10 ²	-
45%	25℃	3.0x10 ⁶	1.34x10 ⁸	1.13x10 ⁶
	35℃	2.9x10 ⁷	2.59x10 ⁸	1.95x10 ⁶
	45℃	8.0x10 ³	1.0x10 ²	-



다. AFa89

- 토양에서 유래된 AFa89의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량에서는 35℃와 45℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 35℃와 45℃에서 발효한 경우 대부분 3주까지는 급격히 성장하다가 그 이후 둔화되는 경향을 나타냈다. 1주 발효 시 수분함량 45%, 발효온도 45℃의 조건에서 다른 온도 조건에 비해 성장률이 급격히 증가하였다. 실험 결과를 토대로 AFa89을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 45℃임을 확인 할 수 있었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	2.3x10 ⁴	1.3x10 ⁷	2.5x10 ⁶
	35℃	2.7x10 ⁶	1.1x10 ⁸	1.0x10 ⁸
	45℃	3.2x10 ⁶	1.2x10 ⁸	6.3x10 ⁷
45%	25℃	4.3x10 ⁶	1.6x10 ⁷	3.6x10 ⁶
	35℃	1.5x10 ⁷	9.7x10 ⁷	7.0x10 ⁷
	45℃	6.4x10 ⁷	1.0x10 ⁸	8.5x10 ⁷

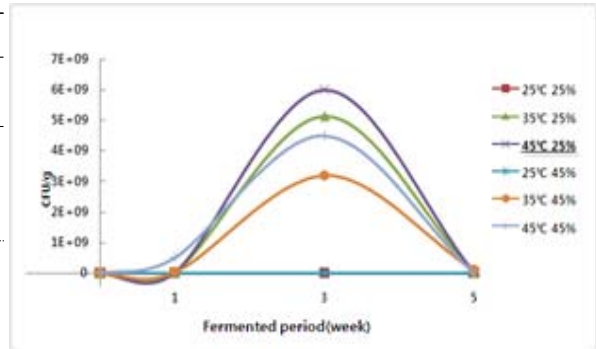


라. AFm27

- 토양에서 유래된 AFm27의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장

률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 45℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였으며, 대부분 3주까지 급격히 성장하다가 3주 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 AFm27의 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 45℃임을 확인할 수 있었다.

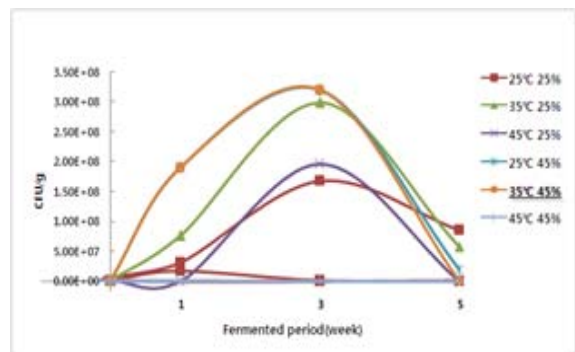
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	5.8x10 ⁵	1.0x10 ⁷	2.5x10 ⁶
	35℃	3.0x10 ⁷	5.1x10 ⁸	1.7x10 ⁷
	45℃	4.5x10 ⁷	6.0x10 ⁹	3.5x10 ⁷
45%	25℃	1.3x10 ⁶	1.0x10 ⁵	2.5x10 ⁵
	35℃	4.3x10 ⁷	3.2x10 ⁹	9.0x10 ⁷
	45℃	5.2x10 ⁸	4.5x10 ⁹	5.4x10 ⁶



마. AOA71

· 메주에서 유래된 AOA71의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 수분함량에 따른 성장률의 차이는 45%가 25%보다 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 35℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 이상의 결과를 토대로 AOA71을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

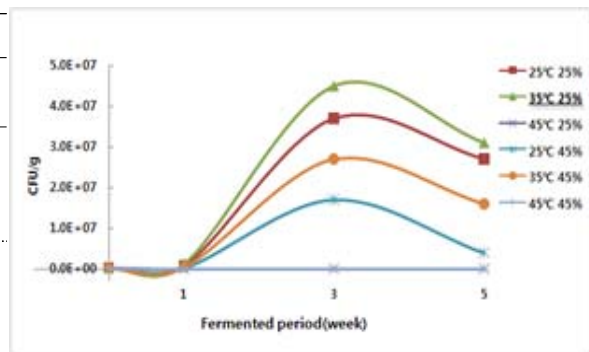
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	3.0x10 ⁶	1.68x10 ⁸	8.6x10 ⁷
	35℃	7.6x10 ⁷	2.99x10 ⁸	5.76x10 ⁷
	45℃	-	-	-
45%	25℃	4.3x10 ⁷	1.96x10 ⁸	2.5x10 ⁷
	35℃	1.9x10 ⁸	3.2x10 ⁸	1.77x10 ⁸
	45℃	-	-	-



바. AOs01

- 청주에서 유래된 AOs01의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 35℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였으며, 대부분 3주까지 급격히 성장하다가 3주 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 AOs01을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

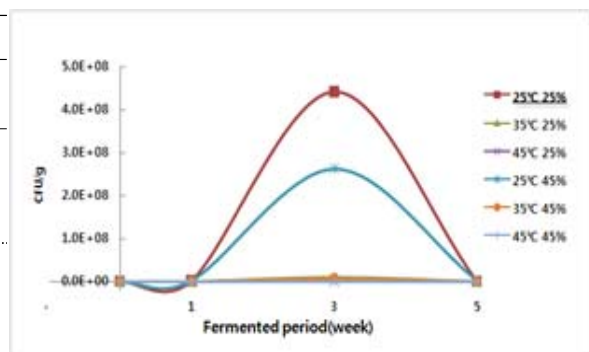
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	8.3×10^5	3.7×10^7	2.7×10^7
	35℃	1.3×10^6	4.5×10^7	3.1×10^7
	45℃	4.0×10^2	1.5×10^3	-
45%	25℃	2.7×10^5	1.7×10^7	4.0×10^6
	35℃	6.8×10^5	2.7×10^7	1.6×10^7
	45℃	2.0×10^2	6.0×10^2	-



사. AKhj02

- 홍주에서 유래된 AKhj02의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였으나, 45℃ 조건에서는 균이 생육이 되지 않거나 미비하였다. 이상의 결과를 토대로 AKhj02을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 25℃임을 확인할 수 있었다.

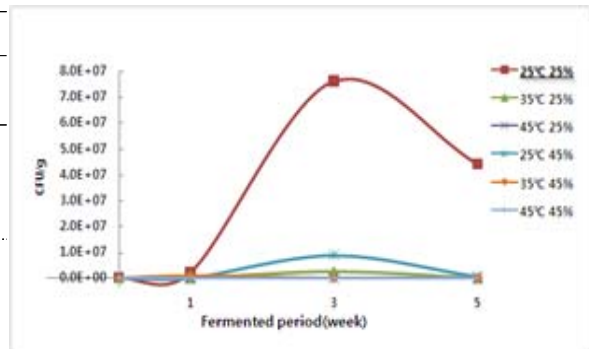
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.4×10^6	4.4×10^8	7.7×10^5
	35℃	4.9×10^5	1.0×10^7	9.6×10^5
	45℃	1.0×10^2	4.4×10^3	-
45%	25℃	2.9×10^5	2.6×10^8	2.2×10^6
	35℃	1.0×10^5	8.0×10^6	7.7×10^5
	45℃	-	1.0×10^2	-



아. AKm60

· 술에서 유래된 AKm60의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25°C의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 또한 수분함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 미비하게 관찰되었으며, 대부분 3주까지는 급속히 성장하다가 5주부터 25°C 이외의 온도 조건에서는 균주가 관찰되지 않았다. 이상의 결과를 토대로 AKm60을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 25°C임을 확인할 수 있었다.

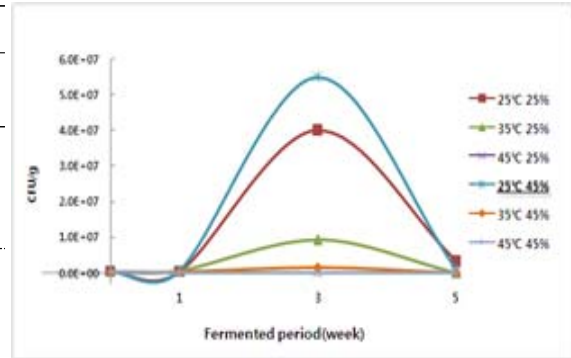
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	2.3×10^6	7.6×10^7	4.4×10^7
	35°C	2.8×10^6	8.0×10^6	-
	45°C	-	4.0×10^2	-
45%	25°C	2.0×10^5	8.8×10^6	4.6×10^5
	35°C	8.0×10^5	2.9×10^5	-
	45°C	-	2.0×10^2	-



자. PCm84

· PCm84의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25°C의 조건에서 우수한 성장률을 보였으며, 대부분 3주까지 급격히 성장하다가 3주 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 또한 수분함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 그 이외의 조건에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과를 토대로 PCm84을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25°C임을 확인할 수 있었다.

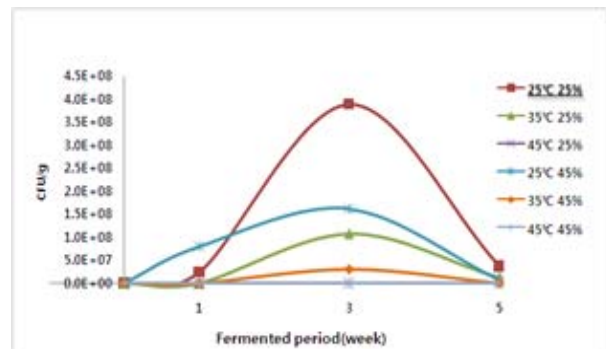
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	3.0x10 ⁵	4.0x10 ⁷	3.2x10 ⁶
	35℃	7.0x10 ⁵	9.3x10 ⁶	2.6x10 ⁴
	45℃	-	-	-
45%	25℃	5.0x10 ⁵	5.5x10 ⁷	8.5x10 ⁵
	35℃	3.0x10 ⁵	1.5x10 ⁶	4.0x10 ²
	45℃	-	-	-



차. PCa69

- 포도에서 유래된 PCa69의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였으며, 대부분 3주까지 급격히 성장하다가 3주 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 또한 수분함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 그 이외의 조건에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과를 토대로 PCa69을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 25℃임을 확인할 수 있었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	2.5x10 ⁷	3.9x10 ⁸	3.7x10 ⁷
	35℃	-	1.1x10 ⁸	1.2x10 ⁸
	45℃	-	-	-
45%	25℃	8.0x10 ⁷	1.6x10 ⁸	7.0x10 ⁶
	35℃	-	3.1x10 ⁷	5.0x10 ²
	45℃	-	-	-

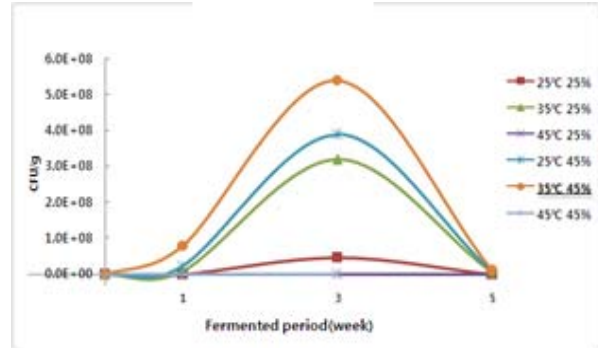


카. ROa02

- 산업적 알콜 생산에 사용되는 ROa02의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 35℃의 조건

에서 우수한 성장률을 보였으며, 대부분 3주까지 급격히 성장하다가 3주 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 ROa02을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었다.

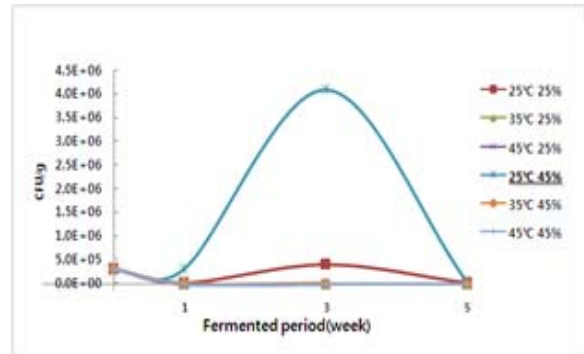
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	6.1x10 ⁵	4.7x10 ⁷	1.1x10 ⁶
	35℃	1.0x10 ⁷	3.2x10 ⁸	7.3x10 ⁶
	45℃	1.0x10 ⁴	4.3x10 ⁴	4.0x10 ³
45%	25℃	2.3x10 ⁷	3.9x10 ⁸	8.1x10 ⁶
	35℃	8.0x10 ⁷	5.4x10 ⁸	1.1x10 ⁷
	45℃	1.0x10 ⁴	6.4x10 ⁴	1.0x10 ³



타. RSa05

· 메주에서 유래된 RSa05의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 수분함량 45%, 발효온도 25℃ 이외의 조건에서는 생육이 되지 않거나 미비하였다. 따라서 RSa05을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육 조건은 수분함량 45%, 발효온도 25℃인 것으로 판단되었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	2.1x10 ⁶	4.0x10 ⁵	9.0x10 ³
	35℃	1.0x10 ²	-	-
	45℃	-	-	-
45%	25℃	3.1x10 ⁵	4.1x10 ⁶	1.37x10 ⁴
	35℃	3.0x10 ²	-	-
	45℃	-	-	-

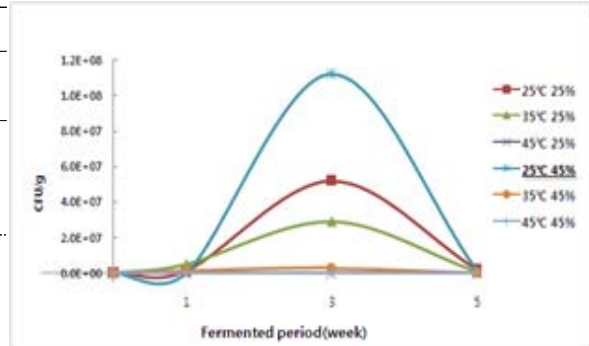


파. EC081

· 발효차에서 분리한 EC081의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 또한 수분함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 다른 조건

에 비해 균주의 성장률이 낮게 관찰 되었으며, 대부분 3주까지 급속히 성장하다가 3주 이후부터 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과를 토대로 EC081을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25℃임을 확인할 수 있었다.

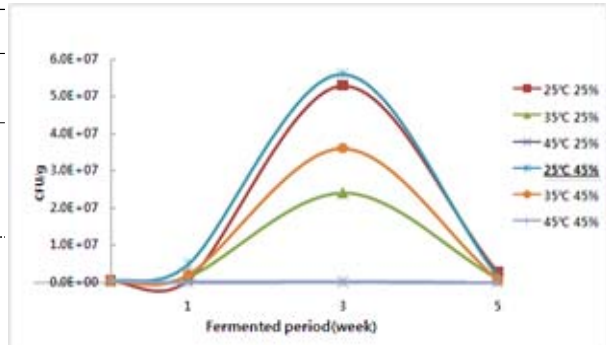
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.1x10 ⁶	5.2x10 ⁷	2.2x10 ⁶
	35℃	5.3x10 ⁶	2.9x10 ⁷	9.2x10 ⁵
	45℃	6.1x10 ²	3.0x10 ⁴	1.7x10 ³
45%	25℃	2.6x10 ⁵	1.1x10 ⁸	1.7x10 ⁶
	35℃	1.3x10 ⁶	2.9x10 ⁶	3.9x10 ⁵
	45℃	3.0x10 ²	7.1x10 ³	5.4x10 ³



하. ECa44

· 메주에서 분리한 ECa44의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 또한 수분함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 다른 조건에 비해 균주의 성장률이 낮게 관찰 되었으며, 대부분 3주까지 급속히 성장하다가 3주 이후부터 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과를 토대로 ECa44을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25℃임을 확인할 수 있었다.

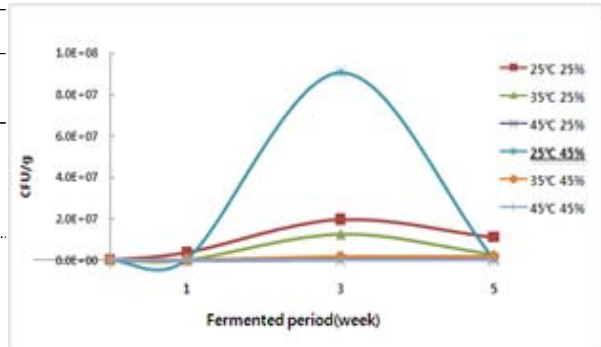
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	7.1x10 ⁵	5.3x10 ⁷	2.7x10 ⁶
	35℃	1.6x10 ⁶	2.4x10 ⁷	8.8x10 ⁵
	45℃	2.0x10 ²	4.1x10 ³	5.0x10 ²
45%	25℃	5.0x10 ⁶	5.6x10 ⁷	1.6x10 ⁶
	35℃	2.1x10 ⁶	3.6x10 ⁷	5.8x10 ⁵
	45℃	5.0x10 ²	1.1x10 ⁴	9.0x10 ²



가. EC181

- 발효차에서 유래된 EC181의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25°C의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 또한 수분함량에 관계없이 45°C로 발효할 경우 다른 조건에 비해 균주의 성장률이 낮게 관찰 되었으며, 대부분 3주까지 급속히 성장하다가 3주 이후부터 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과를 토대로 EC181을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25°C임을 확인할 수 있었다.

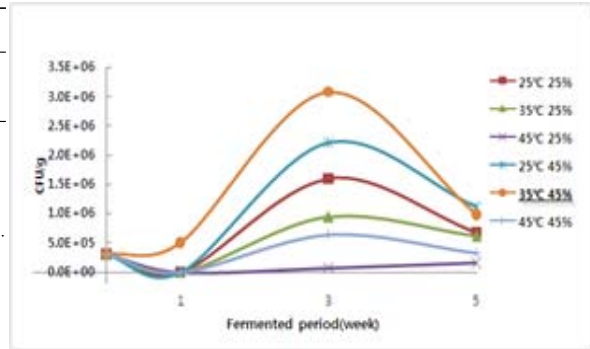
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25°C	4.1×10^6	2.0×10^7	1.1×10^7
	35°C	4.5×10^5	1.3×10^7	3.0×10^6
	45°C	1.1×10^3	1.6×10^4	2.0×10^4
45%	25°C	8.9×10^5	9.1×10^7	9.6×10^5
	35°C	1.2×10^5	1.6×10^6	1.6×10^6
	45°C	3.0×10^2	1.1×10^4	2.9×10^3



나. MRa66

- 메주에서 유래된 MRa66의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 동일한 수분함량에서는 25°C와 35°C의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 또한 수분조건 45% 35°C 조건을 제외한 나머지 조건에서는 배양기간이 긴 균주의 특성상 발효 1주 이후부터 균주가 관찰 되었으며, 대부분 3주까지는 급격히 성장하다가 3주 이후 완만하게 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 MRa66을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35°C임을 확인할 수 있었다.

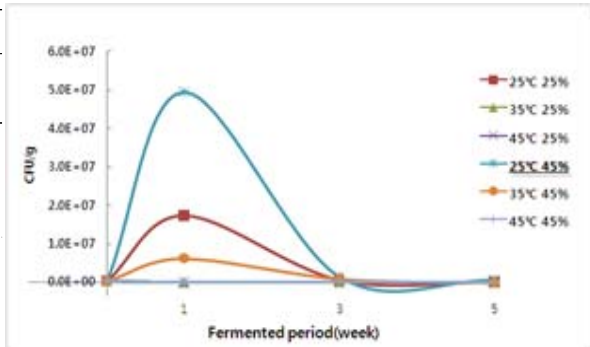
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	-	1.6X10 ⁶	6.8X10 ⁵
	35℃	-	9.4X10 ⁵	6.1X10 ⁵
	45℃	-	7.0X10 ⁴	1.5X10 ⁵
45%	25℃	-	2.21X10 ⁶	1.11X10 ⁶
	35℃	5.0X10 ⁵	3.08X10 ⁶	9.8X10 ⁵
	45℃	-	6.4X10 ⁵	3.2X10 ⁵



다. Sca08

· 빵에서 유래된 Sca08의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 온도의 경우 동일한 수분함량의 조건하에서는 25℃의 조건에서 우수한 성장률을 보였다. 또한 수분함량에 관계없이 45℃로 발효할 경우 균의 생장이 관찰되지 않았으며, 대부분 1주까지는 급격히 성장하다가 그 이후 둔화되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과를 토대로 Sca08을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 25℃임을 확인할 수 있었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	3 week	5 week	
25%	25℃	1.73x10 ⁷	4.7x10 ⁵	3.3x10 ³
	35℃	1.0x10 ⁷	1.4x10 ⁵	-
	45℃	-	-	-
45%	25℃	4.95x10 ⁷	1.43x10 ⁶	6.6x10 ⁵
	35℃	6.2x10 ⁶	9.4x10 ⁵	-
	45℃	-	-	-

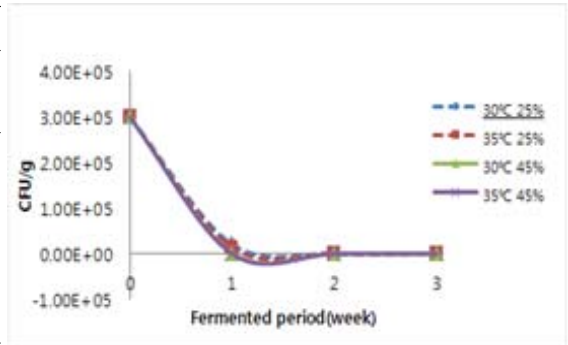


라. BSfc01

· 미생물 발효차에서 분리된 BSfc01의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10^5 CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 곰팡이와는 달리 세균은 문헌의 내용을 참고하여 30℃와 35℃를 기준으로 비교 배양하였고, 배양기간 또한 1주~3주까지 확인하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했

으며, 온도의 경우 동일한 수분함량에서는 30℃와 35℃의 조건에서 비슷한 성장률을 보였다. 또한, 45%에서 발효한 경우 다른 습도 조건에 비해 성장률이 현저히 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 BSfc01을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 30℃임을 확인할 수 있었다.

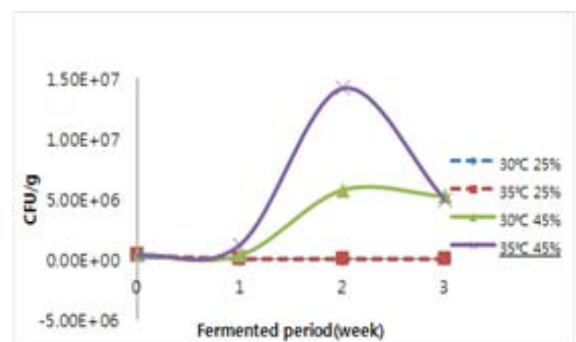
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	2.1x10 ⁴	2.0x10 ²	5.0x10 ²
	35℃	1.3x10 ⁴	1.0x10 ²	4.0x10 ²
45%	30℃	1.0x10 ³	-	-
	35℃	-	1.0x10 ²	-



마. BSa25

· 메주에서 분리된 BSa25의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했으며, 25%에서 발효한 경우 다른 습도 조건에 비해 성장률이 현저히 감소하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 BSa25을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었고, 수분함량 45%, 발효온도 30℃에서도 유사하게 잘 자라는 것을 확인했다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	-	2.0x10 ²	-
	35℃	1.2x10 ³	1.0x10 ³	1.0x10 ²
45%	30℃	3.0x10 ⁵	5.7x10 ⁶	5.2x10 ⁶
	35℃	1.1x10 ⁶	1.4x10 ⁷	4.9x10 ⁶

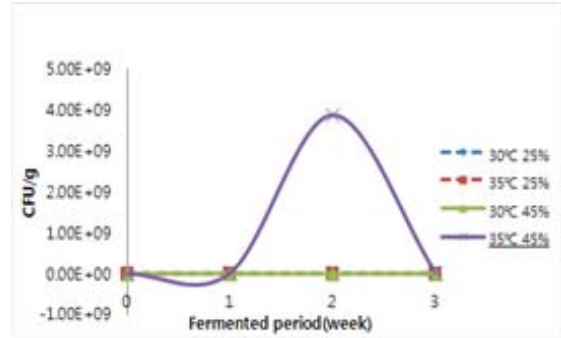


바. BSa74

· 된장에서 분리된 BSa74의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 생

장률이 우수했으며, 25%에서 발효한 경우 다른 습도 조건에 비해 생장률이 현저히
 균수가 적은 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 BLa74을 이용한 발효차 제조
 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 35℃임을 확인할 수 있었고, 수분함
 량 45%, 발효온도 30℃에서도 유사하게 잘 성장하는 것을 확인했다.

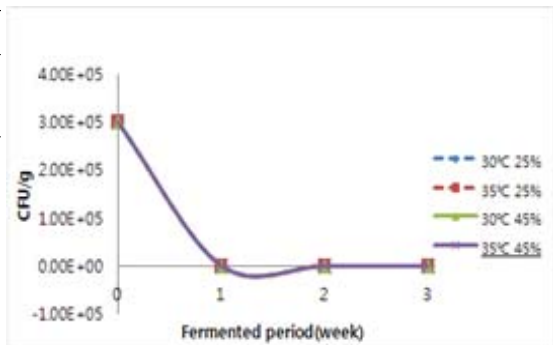
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	1.0x10 ²	3.0x10 ²	-
	35℃	1.6x10 ⁴	6.0x10 ²	2.7x10 ³
45%	30℃	1.0x10 ⁵	1.5x10 ⁸	-
	35℃	1.6x10 ⁷	3.8x10 ⁹	4.9x10 ⁶



샤. BLa85

- 메주에서 분리된 BLa85의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 생장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 균주의 생장률이 우수했으며, 45%에서 발효한 경우 2주부터 균이 성장하지 않았다. 이상의 결과를 토대로 BLa85을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 25%, 발효온도 30℃임을 확인할 수 있었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	6.0x10 ²	1.0x10 ²	1.0x10 ²
	35℃	2.0x10 ²	1.0x10 ²	-
45%	30℃	3.0x10 ²	-	-
	35℃	5.0x10 ⁵	-	-

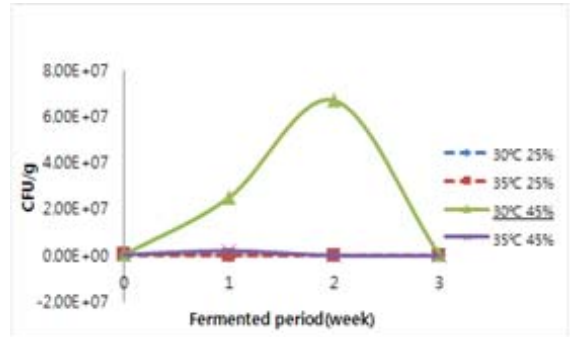


야. LBa21

- 안동 식혜에서 분리된 LBa21의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 생장률을 측정하였다. 그 결과, 30℃의 온도일 때가 35℃의 온도일 때보다 균주의 생

장률이 우수했으며, 25% 습도 조건에서 발효한 경우 45% 습도조건에 비해 장률이 균수가 적은 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 LBa21을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 30℃임을 확인할 수 있었다.

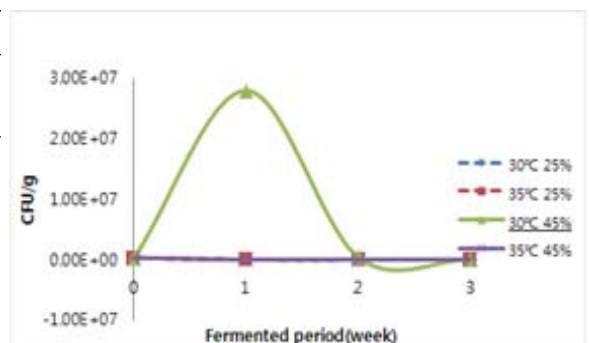
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	2.1x10 ⁵	2.0x10 ²	-
	35℃	7.6x10 ⁴	-	-
45%	30℃	2.5x10 ⁷	6.7x10 ⁷	5.6x10 ⁵
	35℃	2.0x10 ⁶	-	-



자. LMa44

· 메주에서 분리된 LMa44의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 장률을 측정하였다. 그 결과, 25%의 수분함량일 때가 45%의 수분함량일 때보다 전반적인 균주의 장률이 우수했지만, 45%에서 발효한 경우 1주에 균수가 25%에 비해 많은 균수를 나타냈다. 이상의 결과를 토대로 LMa44을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 30℃로 기준 하였다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	1.0x10 ²	-	-
	35℃	-	-	-
45%	30℃	2.8x10 ⁷	3.7x10 ⁵	2.1x10 ⁴
	35℃	-	2.1x10 ⁴	-

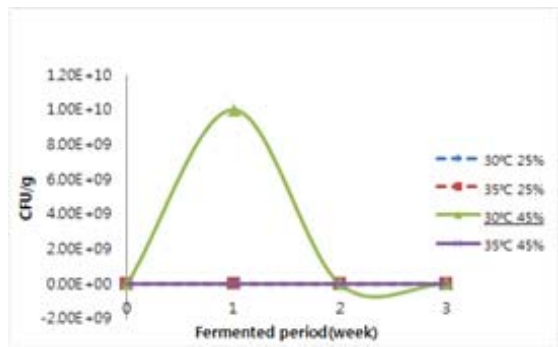


차. LMa52

· 김치에서 분리된 LMa52의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 장률이 우수했다. 25%에서 발효한 경우 균이 성장하지 않았다. 이상의 결과를 토대로 LMa52을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발

효온도 30℃임을 확인할 수 있었다.

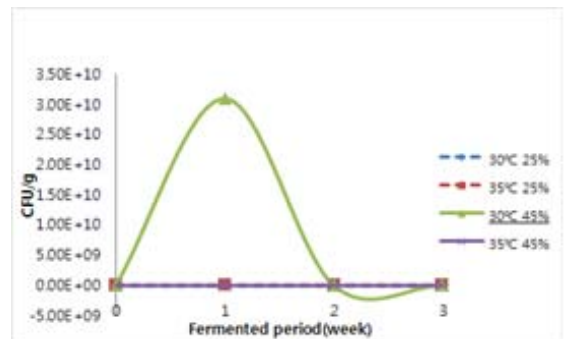
Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	-	-	-
	35℃	-	-	-
45%	30℃	1.0x10 ¹⁰	1.1x10 ⁶	2.8x10 ⁴
	35℃	-	1.0x10 ²	-



카. LPa51

· 김치에서 분리된 LPa51의 최적생육 조건을 알아보기 위하여 멸균된 모차에 1×10⁵ CFU/g의 기준으로 포자를 접종한 후 수분함량 및 발효온도를 달리하여 성장률을 측정하였다. 그 결과, 45%의 수분함량일 때가 25%의 수분함량일 때보다 균주의 성장률이 우수했다. 또 30℃일 경우에 비교적 잘 성장하였고, 35℃에서 발효한 경우 균이 성장하지 않았다. 이상의 결과를 토대로 LPa51을 이용한 발효차 제조 시 최적 생육조건은 수분함량 45%, 발효온도 30℃임을 확인할 수 있었다.

Fermented condition	Colony forming unit(CFU/g)			
	1 week	2 week	3 week	
25%	30℃	5.0x10 ⁸	1.0x10 ⁵	-
	35℃	-	-	-
45%	30℃	3.1x10 ¹⁰	2.6x10 ⁸	3.8x10 ⁷
	35℃	2.0x10 ³	1.0x10 ³	0.5x10 ³



2) 발효식품 유래 균주를 이용한 최적 발효공정 개발

(1) 발효식품 유래 균주를 이용한 미생물발효차의 제조

가. 미생물발효차 제조

· 채취한 국내산 찻잎을 이용하여 제조한 모차의 수분함량을 적외선 수분 측정기 (i-thermo 163L, USA)를 이용하여 측정한 후 1400 cc 용량의 배양통에 각각의 모차를 100 g씩 넣은 다음 밀봉하였다. 이를 레토르트 멸균장치(HX196, Hansin medical co. LTD, Korea)를 이용하여 121℃로 15분간 멸균 처리하였다. 멸균처

리 된 배양통 내의 모차에 1×10^5 CFU/g의 농도로 조제된 단일균주 포자배양을 접종한 후 모차의 수분함량을 45%로 조절하기 위하여 멸균수를 첨가하였다. 각각의 균주가 접종된 모차를 각 균주의 최적생육 온도에서 1주, 3주, 5주 동안 발효시켰으며 발효가 종료된 후 55°C의 온도 조건에서 건조하여 미생물발효차 시료를 확보하였다(표 2-2).

표 2-2. 발효식품 유래 균주를 이용한 미생물발효차 리스트

시료명	발효기간	발효조건	
		수분함량	발효온도(°C)
ANa80(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
ANa97(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
ANm65(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AN091(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AN092(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AFa89(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	45
AFm27(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	45
AF211(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	45
AF212(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
AOa71(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AOhj01(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AOsj01(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AKhj02(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AKm60(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
AT011(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
PCa69(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
PCm84(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35

PC091(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
PG051(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
PC151(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
ROm85(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
RSa05(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
RS201(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
RP211(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	45
LR011(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
DH011(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
ECa44(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
EC181(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
MPt20(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
MRa66(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
SCa08(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	25
BSa49(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
BSa25(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
BSa50(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
BSa69(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	35
LMa44(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
LMa17(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
LMa52(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
LBa53(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
LBa2(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30
LPa5(1,3,5)	(1)7일, (3)21일;7일×3회, (5)35일;7일×5회	45%	30

(2) 발효식품 유래 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차의 관능적 품질 특성

가. 접종균주에 따른 미생물발효차의 관능적 품질 특성

- 41종의 발효식품 유래 개별 균주 중 전년도 관능평가 결과 색, 향, 맛, 최종 기호도 등의 평가 기준에서 우수한 결과를 나타냈던 종과 동일 속의 균주, 주류, 장류 등 균주 출처가 다른 균주를 4개의 그룹으로 나누어 평가를 실시했으며, 각각의 관능평가에서 우수한 성적을 나타낸 시료를 선별하여 토너먼트 방식으로 평가하여 최종 시료를 선별하였다.
- 한국 전통발효식품 유래 개별 균주를 이용하여 제조한 미생물발효차의 관능적 품질 특성은 10점 척도법으로 평가 하였으며 색, 맛, 향은 점수법, 종합적 기호도는 순위법으로 측정하였다.
- 그룹 A(표 2-3)에서 곰팡이 3종[AN092(3), AOsj01(3), AKm60(3)], 효모 1종[SCa08(3)], 세균 2종[BSa49(3), LMa52(3)]의 관능적 특성을 비교한 결과, 젖산균인 LMa52(3)의 최종기호도가 9.10 ± 0.99 로 가장 우수했다. 다음으로 고초균인BSa49(3)가 8.50 ± 1.43 로 높게 나타났으며 최종 기호도가 7.50이상으로 나타난 시료 2종을 더 선택하여 그룹 A에서 총 4종을 1차 선별하였다.

표 2-3. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 A)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
AN092(3)	3.55 ± 1.42^d	5.20 ± 1.75^a	3.90 ± 1.19^c	6.10 ± 1.66^c
AOsj01(3)	5.40 ± 2.06^{bc}	5.50 ± 2.06^a	5.30 ± 1.33^{abc}	7.50 ± 1.58^b
AKm60(3)	4.95 ± 1.67^{cd}	4.70 ± 2.11^a	4.80 ± 1.31^{bc}	6.00 ± 1.49^c
SCa08(3)	6.80 ± 2.04^{ab}	5.20 ± 1.97^a	5.50 ± 1.97^{abc}	7.50 ± 1.08^b
BSa49(3)	7.75 ± 2.07^a	5.70 ± 1.63^a	5.95 ± 2.24^{ab}	8.50 ± 1.43^{ab}
LMa52(3)	7.55 ± 2.08^a	5.45 ± 2.00^a	6.50 ± 1.78^a	9.10 ± 0.99^a

* All value are mean \pm SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test =a<b<c

Fermentation period: (3) 3week

- 그룹 B(표 2-4)에서 곰팡이 5종의 관능적 특성을 비교한 결과, 색과 향에서 관능적 특성 우수한 ANa80(3)의 최종기호도가 8.86 ± 1.67 로 가장 우수했다. 다음으로 맛이 우수했던 AOa71(3)가 8.83 ± 1.16 로 높게 나타나 그룹 B에서 총 2종을 1차 선별하였다.

표 2-4. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 B)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
AN091(3)	5.00±0.93 ^c	5.30±0.94 ^a	5.00±0.47 ^a	6.33±2.42 ^a
AKhj02(3)	7.00±1.94 ^{ab}	5.40±1.57 ^a	5.30±1.41 ^a	8.17±1.72 ^a
ANa80(3)	7.70±1.16 ^a	6.50±1.65 ^a	6.20±1.68 ^a	8.86±1.67 ^a
ANa97(3)	6.80±1.54 ^{ab}	6.30±1.76 ^a	5.00±1.70 ^a	7.50±2.58 ^a
AOa71(3)	6.15±1.15 ^{bc}	6.40±1.26 ^a	6.30±1.49 ^a	8.83±1.16 ^a

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

· 그룹 C(표 2-5)에서 곰팡이 2종[AN091(3), EC181(3)], 세균 4종[BSa50(3), LMa44(3), LPa51(3), LBa53(3)]의 관능적 특성을 비교한 결과, 고초균인 BSa50(3)의 최종기호도가 9.17±1.16로 가장 우수했다. 다음으로 젖산균인 LBa53(3)가 8.50±1.64로 높게 나타나 그룹 C에서 총 2종을 1차 선별하였다.

표 2-5. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 C)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
AN091(3)	4.90±0.31 ^b	5.20±0.63 ^b	5.10±0.31 ^b	6.40±1.51 ^c
EC181(3)	8.00±1.24 ^a	7.60±0.96 ^a	7.70±0.82 ^a	7.83±1.83 ^{abc}
BSa50(3)	7.30±1.49 ^a	7.65±1.49 ^a	7.70±1.25 ^a	9.17±1.16 ^a
LMa44(3)	6.90±1.91 ^a	6.50±1.95 ^{ab}	6.50±1.50 ^a	7.00±0.89 ^{bc}
LPa51(3)	6.90±2.02 ^a	6.40±2.01 ^{ab}	6.70±1.88 ^a	7.17±1.32 ^{bc}
LBa53(3)	7.85±2.18 ^a	7.55±2.24 ^a	7.45±2.11 ^a	8.50±1.64 ^{ab}

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

· 그룹 D(표 2-6)에서 곰팡이 6종의 관능적 특성을 비교한 결과, RSa05(3)의 최종기호도가 9.43±0.78로 가장 우수했다. 다음으로 RS201(3)가 8.50±1.64로 높게 나타났으며 비교적 최종 기호도 값이 높았던 RSm85(3)를 포함한 시료 3종을 그룹 D에서 1차 선별하였다.

표 2-6. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 D)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
AN091(3)	4.90±0.31 ^c	5.10±0.31 ^b	4.90±0.31 ^b	6.57±1.61 ^b
ROm85(3)	6.40±1.48 ^b	6.80±0.78 ^a	6.90±0.73 ^a	8.00±1.63 ^{ab}
RSa05(3)	8.30±1.05 ^a	7.50±1.26 ^a	7.30±1.63 ^a	9.43±0.78 ^a
RS201(3)	8.10±0.69 ^a	6.25±2.12 ^{ab}	6.20±1.61 ^{ab}	8.14±1.06 ^{ab}
PC091(3)	6.00±1.15 ^b	6.45±1.86 ^{ab}	6.70±2.21 ^a	7.71±0.95 ^b
PCa69(3)	6.60±1.15 ^b	6.05±1.89 ^{ab}	6.20±1.87 ^{ab}	6.71±1.70 ^b

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

- 그룹 A~D에서 1차 선별된 11종의 균주와 동종 또는 유사한 부류의 균주를 대상으로 8~9종의 균주를 3개의 그룹으로 나눈 후 관능적 특성을 평가하였다.
- 그룹 I(표 2-7)에서는 8종의 세균에 대한 관능특성을 평가하였으며 그 결과, 젖산 균인 LBa53(3)의 최종기호도가 8.67±1.96으로 가장 높게 나타났다. 다음으로 B Sa49(3)의 최종기호도가 8.50±2.25로 높았으며, 색과 향은 고초균인 B Sa50(3)가 우수하게 평가 되어 총 3종을 선별하였다.

표 2-7. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 I)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
B Sa49(3)	5.57±2.76 ^b	6.00±1.41 ^a	7.00±1.15 ^a	8.50±2.25 ^a
B Sa25(3)	6.29±2.81 ^{ab}	7.43±0.97 ^a	4.71±1.25 ^b	7.00±2.82 ^{ab}
B Sa50(3)	8.00±1.15 ^a	7.71±0.75 ^a	4.57±1.98 ^b	7.67±2.73 ^{ab}
B Sa69(3)	6.00±1.91 ^{ab}	6.29±1.79 ^a	5.29±2.21 ^{ab}	6.67±1.96 ^{ab}
LMa52(3)	6.29±1.70 ^{ab}	6.57±1.39 ^a	5.57±1.98 ^{ab}	7.00±1.54 ^{ab}
LBa53(3)	7.29±1.38 ^{ab}	6.57±2.07 ^a	6.71±2.05 ^{ab}	8.67±1.96 ^a
LBa21(3)	7.43±0.78 ^{ab}	5.86±2.11 ^a	5.00±1.82 ^{ab}	6.33±2.06 ^{ab}
L Pa51(3)	7.29±1.49 ^{ab}	5.71±2.62 ^a	4.57±1.39 ^b	5.33±1.86 ^b

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

- 그룹 II(표 2-8)에서는 8종의 균주에 대한 관능특성을 평가하였으며 그 결과, DH011(3)의 최종기호도가 9.17±0.98로 가장 높게 나타났다. 다음으로 S Ca08(3)의 최종기호도가 8.67±0.51로 높았으며, 일반적으로 미생물발효차의 관능특성에 영

향을 미치는 것으로 알려진 균주 3종[RP211(3), ROm85(3), RSa05(3)]을 추가 선택하여 총 5종을 선별하였다.

표 2-8. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 II)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
ROm85(3)	6.86±1.34 ^a	6.43±2.14 ^a	5.86±1.57 ^{ab}	7.00±1.41 ^{ab}
RSa05(3)	6.57±0.97 ^a	6.57±1.27 ^a	4.71±1.38 ^b	6.17±1.47 ^b
RS201(3)	4.29±1.49 ^c	4.86±1.46 ^a	5.29±2.13 ^b	5.33±1.03 ^b
RP211(3)	4.57±2.07 ^{bc}	6.57±1.13 ^a	6.71±2.21 ^{ab}	6.00±2.09 ^b
DH011(3)	8.00±2.51 ^a	6.71±1.60 ^a	7.57±1.13 ^a	9.17±0.98 ^a
SCa08(3)	7.29±0.95 ^a	6.14±2.34 ^a	6.43±0.97 ^{ab}	8.67±0.51 ^a
BSa49(3)	6.43±1.71 ^{ab}	5.86±1.95 ^a	6.00±2.30 ^{ab}	7.33±2.16 ^{ab}
LBa53(3)	6.14±1.46 ^{abc}	5.00±2.51 ^a	6.14±2.19 ^{ab}	5.83±3.25 ^b

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

· 그룹 III(표 2-9)에서는 9종의 곰팡이에 대한 관능특성을 평가하였으며 그 결과, ANa80(1)의 최종기호도가 7.86±1.67로 가장 높게 나타났다. 다음으로 홍주제조에 사용되는 AOj01(1)의 비교적 우수한 관능특성을 나타내 총 2종을 선별하였다.

표 2-9. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 III)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
ANa80(3)	6.57±2.50 ^{abc}	6.43±1.81 ^a	7.29±1.60 ^a	7.86±1.67 ^a
AFa89(3)	6.14±1.57 ^{bcd}	6.71±2.21 ^a	5.71±1.79 ^{abc}	6.71±2.75 ^{ab}
AOa71(3)	5.57±1.81 ^{cd}	6.71±1.25 ^a	6.57±1.51 ^{ab}	7.00±1.63 ^{ab}
AOj01(3)	8.43±1.13 ^a	6.00±1.52 ^a	6.00±2.23 ^{abc}	7.29±2.28 ^{ab}
AOsj01(3)	4.29±2.43 ^{de}	4.00±2.16 ^b	4.00±2.64 ^c	4.86±2.85 ^{bc}
AKhj02(3)	7.14±0.90 ^{abc}	7.00±0.81 ^a	6.57±1.13 ^{ab}	6.57±1.71 ^{ab}
ECa44(3)	8.00±1.52 ^{ab}	6.14±1.57 ^a	6.71±0.75 ^{ab}	7.57±1.27 ^a
EC181(3)	3.43±1.39 ^e	5.14±2.11 ^{ab}	5.00±2.08 ^{bc}	4.00±1.91 ^c

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

· 전통발효식품 유래 미생물의 그룹별 관능평가 검정(그룹A~D, 그룹I~III) 결과를 바탕으로 우수균주로 1차 선발된 세균류에 대한 관능 특성을 평가한 결과(표 2-10), 고초균인 BSa50(3)의 최종기호도가 9.25±1.03로 가장 높게 나타났으며 다

음으로 젖산균인 LBa53(3) 및 고초균인 BSa49(3)가 비교적 우수한 관능특성을 나타내어 관능적 품질을 향상시킬 수 있는 발효식품 유래의 세균으로 총 3종(BSa50, Ba49, LBa53)을 선별하였다. 또한, 이들 균주를 이용하여 제조한 발효차는 기존의 발효차 유래 균주를 이용하여 제조한 발효차(MIS-D)보다 월등하게 좋은 평가를 얻었다.

표 2-10. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 IV)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
BSa49(3)	6.75±2.12 ^{cd}	6.75±0.70 ^a	6.50±1.77 ^{ab}	8.00±0.92 ^{ab}
BSa50(3)	8.38±0.74 ^{ab}	7.38±1.59 ^a	7.63±2.44 ^a	9.25±1.03 ^a
BSa69(3)	7.63±1.18 ^{bc}	7.50±1.19 ^a	5.00±2.20 ^b	7.38±1.50 ^{bc}
LBa53(3)	9.50±0.75 ^a	6.25±2.49 ^{ab}	6.13±1.80 ^{ab}	8.50±1.69 ^{ab}
LMa52(3)	5.38±2.44 ^{de}	6.75±0.88 ^a	6.88±1.80 ^{ab}	6.50±0.92 ^{cd}
MSI-D(3)	5.00±0.00 ^e	5.00±0.00 ^b	5.00±0.00 ^b	5.50±1.06 ^d

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

· 표 2-11은 우수균주로 1차 선발된 효모 및 곰팡이를 접종하여 제조한 미생물발효차의 관능평가 결과로 선발된 균주를 이용하여 제조한 발효차 모두 기존의 발효차(MIS-D)보다 좋은 평가를 얻었다. 또한 기존의 발효차 유래의 균주(RP211, DH011)외에 발효식품 유래 균주인 RSa05, ROm85, SCa08을 접종하였을 때 좋은 평가를 얻었다.

표 2-11. 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차의 관능특성(그룹 V)

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
RSa05(3)	4.67±2.34 ^{ab}	5.44±1.94 ^a	4.00±2.12 ^a	7.11±1.61 ^b
DH011(3)	4.22±2.10 ^{ab}	4.11±2.20 ^a	4.56±2.24 ^a	6.67±1.11 ^b
ROm85(3)	3.78±2.22 ^b	4.56±1.87 ^a	5.00±2.00 ^a	7.11±1.76 ^b
SCa08(3)	4.78±1.78 ^{ab}	5.11±2.80 ^a	5.00±2.29 ^a	7.44±1.74 ^{ab}
RP211(3)	6.00±2.55 ^a	5.67±1.87 ^a	5.78±1.64 ^a	8.89±1.26 ^a
MSI-D(3)	5.00±1.00 ^{ab}	5.00±1.00 ^a	5.00±0.33 ^a	5.83±1.12 ^b

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

나. 전통발효식품 유래 균주로 제조된 미생물발효차의 혼합에 따른 관능적 품질 특성

· 전통발효식품 유래 균주를 이용한 미생물발효차의 적용가능성 및 제조방법 탐색을 위해 선발된 발효식품 유래 미생물을 접종하여 미생물발효차를 제조하고 이들 시료를 혼합하여 관능특성을 조사하였다. 그 결과, 세균과 효모에 *Rhizopus* 곰팡이로 제조된 발효차를 혼합한 시료(BSa49+Bsa50+LBa53+DH011+SCa08+RP211+Rom85)와 여기에 *Aspergillus* 곰팡이로 제조된 발효차를 첨가한 시료(BSa49+LBa53+RSa05+RP211+SCa08+ROm85+ANa80+AOhj01+BSa50)가 관능적으로 좋은 평가를 얻어 이들 균주들이 관능적 품질에 미치는 영향이 우수함을 확인하였다.

표 2-12. 전통발효식품 유래 균주의 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 혼합조성에 따른 관능특성

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
BSa49+Bsa50+LBa53+DH011+SCa08+RP211+Rom85	7.22±1.92 ^{ab}	5.78±2.38 ^{ab}	7.22±1.30 ^a	8.22±1.64 ^a
BSa49+LBa53+RSa05+RP211+SCa08+ROm85+ANa80+AOhj01+BSa50	7.67±1.87 ^a	7.00±2.00 ^a	7.67±1.80 ^a	8.89±1.61 ^a
BSa49+LBa53	5.22±2.16 ^{cd}	6.00±1.58 ^{ab}	5.22±1.39 ^c	6.22±1.39 ^{bc}
BSa49+LBa53+RSa05+RP211+SCa08	6.56±1.81 ^{abc}	6.89±1.76 ^a	5.56±1.59 ^{bc}	7.44±1.33 ^{ab}
BSa49+BSa50	4.78±2.27 ^{cd}	5.56±1.33 ^{ab}	6.78±1.85 ^{ab}	5.67±1.22 ^{bc}
BSa49+LBa53+SCa08+ROm85	4.44±2.00 ^d	5.67±1.50 ^{ab}	5.11±1.90 ^c	5.33±2.59 ^c
LBa53	5.78±1.56 ^{bcd}	6.00±1.80 ^{ab}	5.22±1.30 ^c	6.00±2.55 ^{bc}
MSI-A1078(3)	5.00±0.00 ^{cd}	5.00±0.00 ^b	5.00±0.00 ^c	5.44±2.45 ^{bc}

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

2) 발효식품 유래 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차의 생리활성

(1) 발효식품 유래 균주의 지방간 예방효과

- 발효식품유래 균주를 이용하여 제조된 발효차의 지방간 예방 효과를 검증 하였다. 지방간 예방효과는 먼저 1차년도 연구수행 결과, 효과가 높았던 균주인 AN092, AF212, PC091, RS201과 동일한 속의 미생물을 선발하여 그 효과를 비교하였다.
- 그 결과, AN 계열균주 중 AN092를 접종하여 제조된 발효차의 지방간 예방 효과가 가장 큰 것으로 나타났다(그림 2-1). 이는 이전의 결과와 비슷한 결과로 발효기간에 따른 변화는 3주 동안 발효한 시료에서 가장 크게 인정이 되었다(그림 2-2).

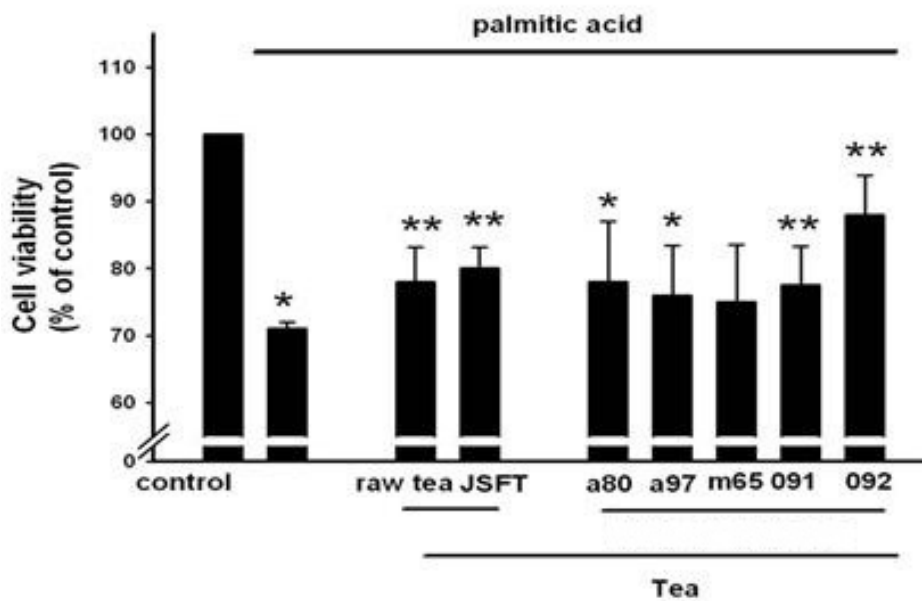


그림 2-1. AN계열 미생물의 지방간 예방효과

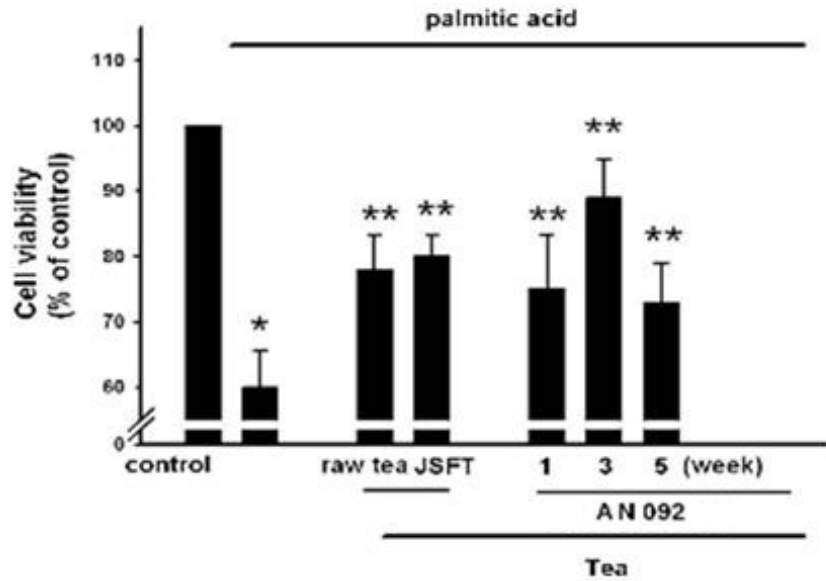


그림 2-2. AN092의 발효기간에 따른 지방간 예방효과

- AF 계열 균주의 지방간 예방 효과를 분석한 결과 1차년도 연구결과와 마찬가지로 AF212에서 효과가 인정이 되었다. 한편 AF시리즈 균주 중에서는 구입균주인 AFm27 경우가 가장 강한 지방간 예방 효과가 인정이 되었으며 이들 균주의 지방간 예방 효과는 양성 대조군으로 사용된 JSFT(일본에서 개발 시판되고 있는 미생물 발효차)의 경우보다 훨씬 탁월한 것으로 나타났다(그림 2-3).

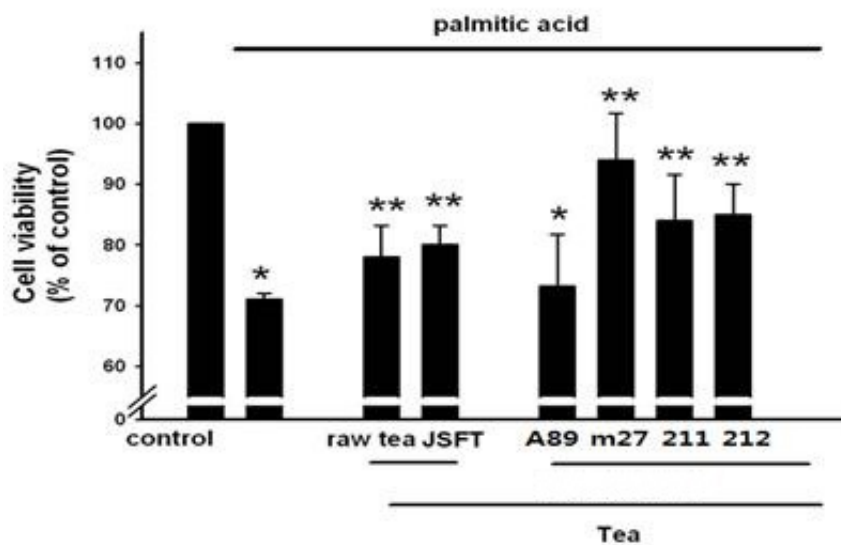


그림 2-3. AF계열 미생물의 지방간 예방 효과

- 이에 반해 PC계열 미생물 발효차의 경우는 지방간 예방 효과가 인정이 되지 않았다. 이 결과는 이전의 결과에서 나타난 PC091의 지방간 예방효과와 일치하지 않는 것으로 나타나 확인이 필요하다고 판단되었다(그림 2-4).

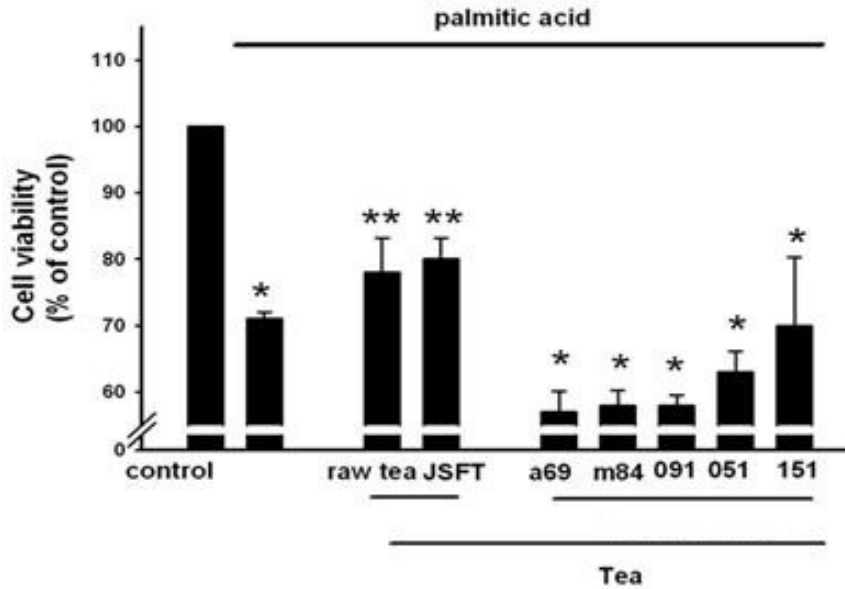


그림 2-4. PC계열 미생물 발효차의 지방간 예방 효과

- RS계열의 미생물 발효차 효능을 검증한 결과, 이전의 결과와 동일하게 RS201의 활성이 가장 강한 것으로 나타나 재현성이 확인되었으며 향후 미생물 발효차의 우수 균주 선발군에 들 수 있을 것으로 판단이 되었다(그림 2-5).

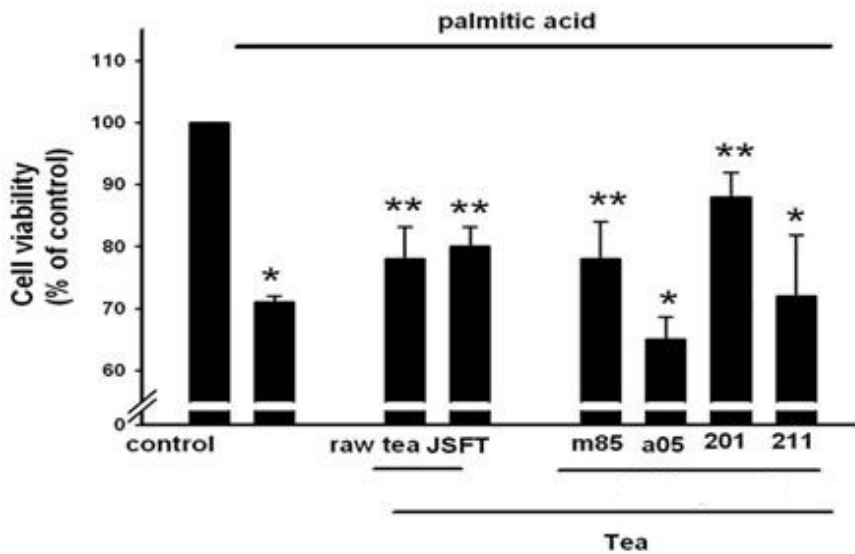


그림 2-5. RS계열 미생물 발효차의 지방간 예방 효과

- 이어서 AO계열의 지방간 예방효과를 검증하였다. 그 결과, AOhj02 분획이 가장 주요한 효과를 나타냈으나 나머지의 경우는 활성이 인정되지 않았다(그림 2-6).

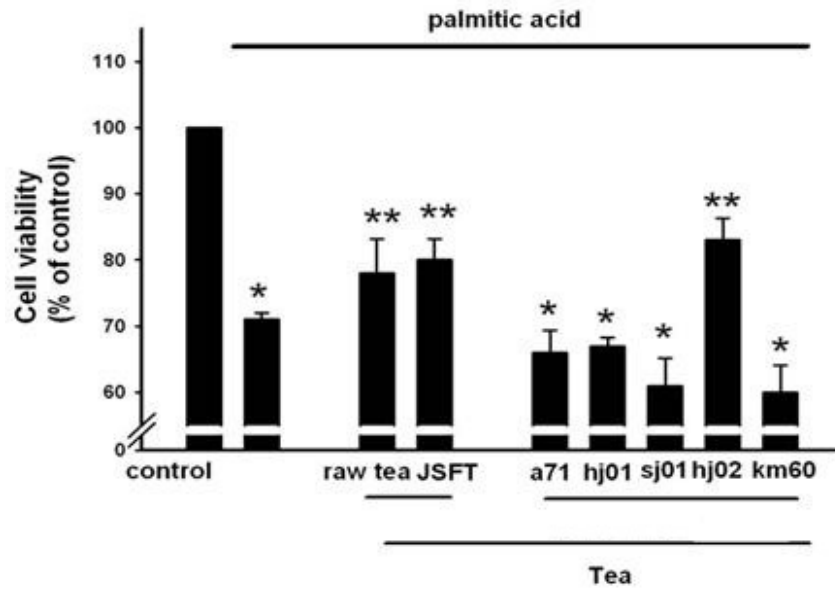


그림 2-6. AO계열의 지방간 예방 효과

- LR011, DH011, ECa44 및 EC181의 경우는 LR011에 의해서는 지방간 예방효과가 나타났으나, ECa44 및 EC181에 의해서는 차단되지 않았다(그림 2-7).

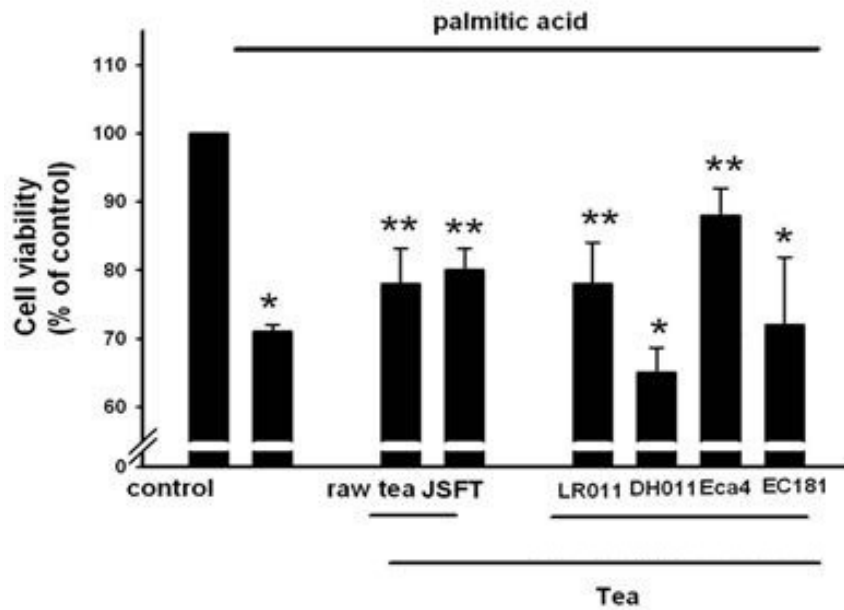


그림 2-7. LR, DH, EC계열 처리 미생물 발효차에 의한 지방간 예방 효과

- BS균을 처리한 미생물 발효차의 경우 지방간 예방 효과가 탁월한 것으로 나타났다 (그림 2-8). 따라서, 이군도 향후 우수균주 선발군에 포함을 시키고자 하였다.

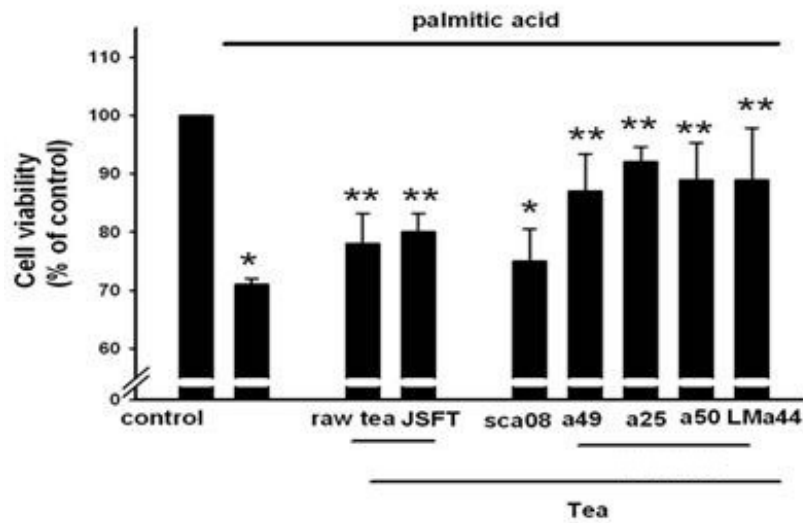


그림 2-8. BS처리 미생물 발효차에 의한 지방간 예방 효과

- LM 및 LB균을 처리한 발효차의 지방간 예방효과 검증 결과, LMa44의 경우는 지방간 예방 효과가 큰 것으로 나타났으나, LMa17, LMa52 및 LBa21 및 LPa51의 경우는 전혀 효과가 인정이 되지 않았다(그림 2-9).

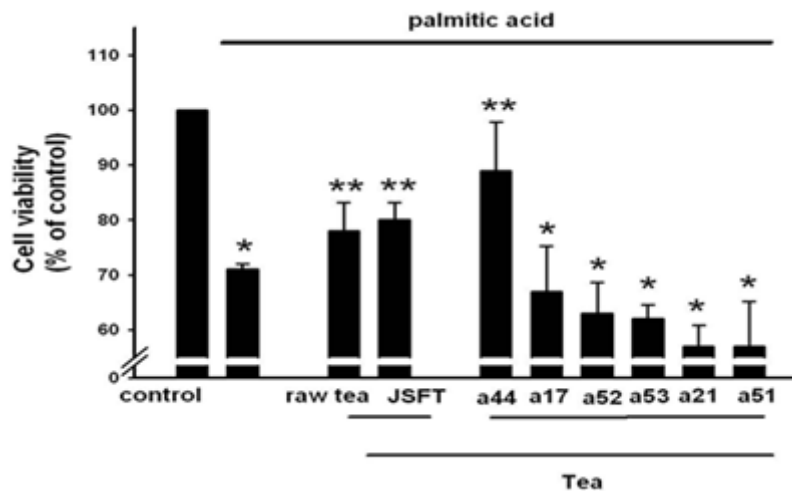


그림 2-9. LM 및 LB 처리 미생물 발효차의 지방간 예방효과

- MP 및 MR경우 MPt20에서는 지방간 예방 효과가 전혀 인정이 되지 않았으나 MRa66의 경우 지방간 예방 효과가 탁월한 것으로 판단이 되어 우수균주 선발 소재로 분류하였다(그림 2-10).

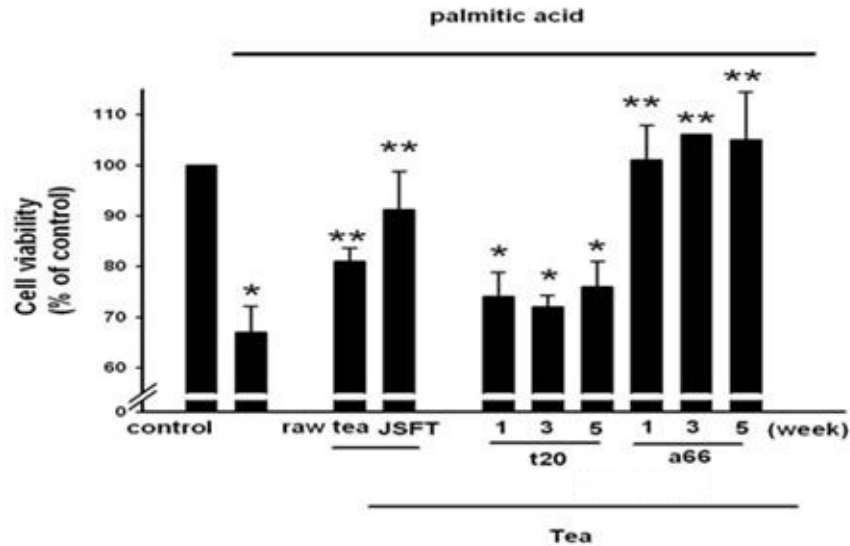


그림 2-10. MP 및 MR 처리 미생물 발효차의 지방간 예방 효과

(2) 발효식품 유래 균주의 항당뇨 효과

- Pancreatic beta세포인 HIT cell을 이용하여 실험하였다. 먼저 이전의 연구 결과 효과가 높았던 균주와 동일한 속의 미생물에 대하여 효과를 검증한 후 다른 발효식품 유래 균주의 효과를 검증 하였다. 모차의 경우 예방 효과가 인정이 되지 않았으며 대조구인 JSFT(일본에서 개발한 미생물 발효차) 자체는 독성이 심한 것으로 판단되었다. ANa97을 제외한 ANa80, ANm65, AN091 및 AN092의 경우 차단효과가 유의성 있는 형태를 유지하였다(그림 2-11). ANa97의 경우는 항당뇨 효과가 인정이 되지 않아서 발효기간별 실험에서는 제외를 하였다. 발효기간에 따른 활성 검정 결과, ANa80의 경우는 3주에서 ANm65의 경우는 1주, 3주, 5주에서 항당뇨효과가 미약하게 인정이 되었다(그림 2-12). 또한 AN091의 경우는 1, 3, 5주에서 AN092의 경우는 3주 이상에서 항당뇨 효과가 인정이 되었다(그림 2-13).

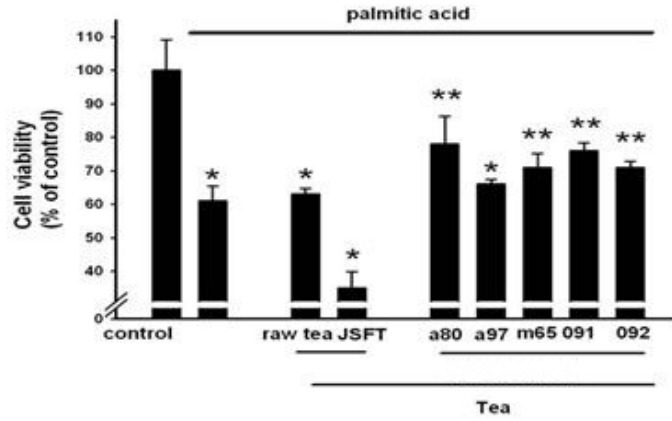


그림 2-11. HIT cell에서 AN계열의 항당뇨 활성

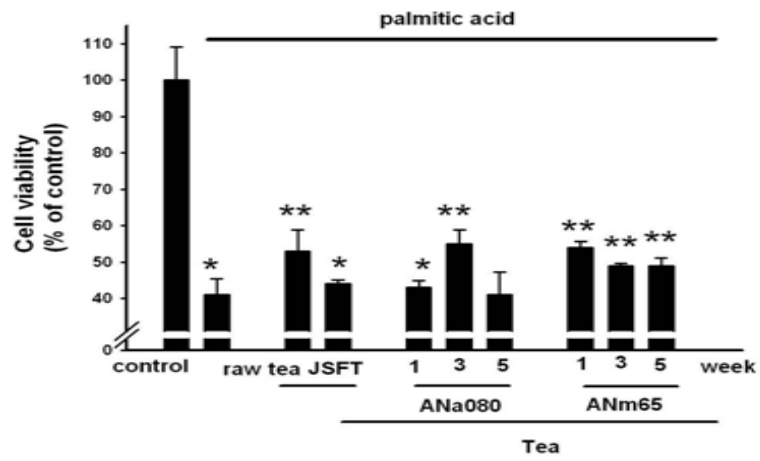


그림 2-12. HIT 세포에서 ANa80 및 ANm65의 항당뇨 효과 검증

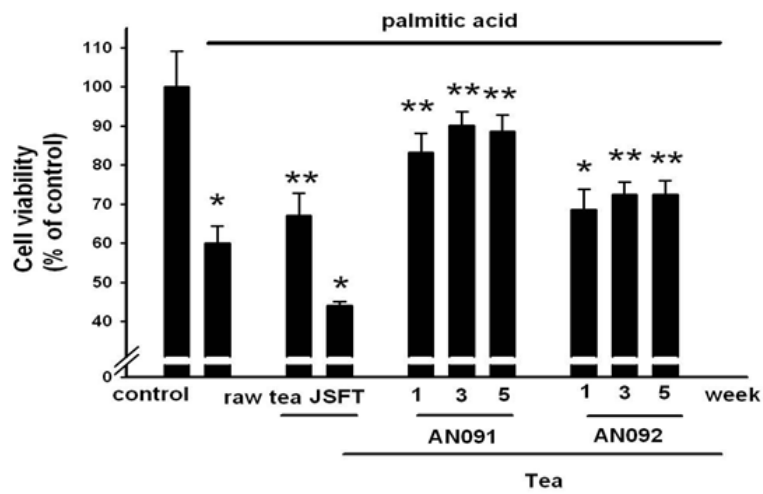


그림 2-13. HIT세포에서 AN091 및 AN092의 항당뇨 효과

- AF계열 미생물의 췌장세포를 이용한 항당뇨 효과를 분석한 결과, 이전의 연구에서는 AF212의 효과가 강하였는데 이번 시료의 경우에서도 AFa89와 AF212에서 효과가 인정이 되었다(그림 2-14). 또한 AFm27번 및 AF211번의 경우는 효과가 인정되지 않았다. JSFT의 경우 자체가 효과가 없는 이유는 췌장 세포에 손상을 너무 많이 시키는 것으로 판단이 되었다.

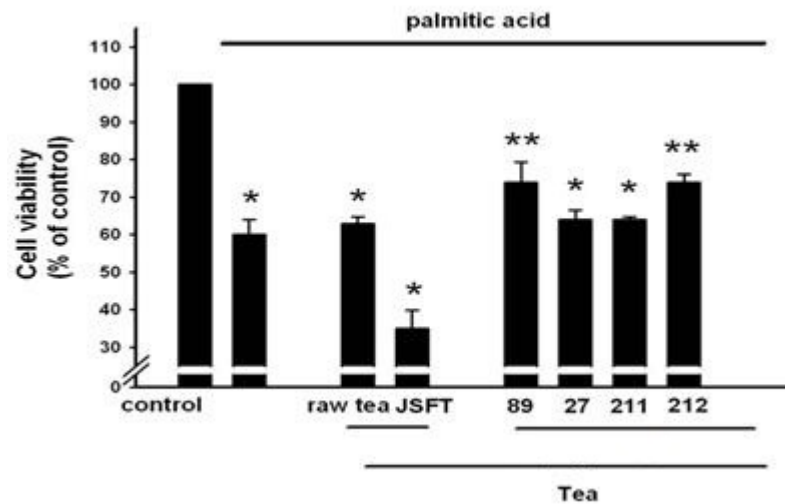


그림 2-14. HIT 세포에서 AF계열 미생물의 항당뇨 효과

- PC계열 미생물 발효차의 경우는 지방간 예방 효과가 인정되지 않았듯이 췌장세포에서도 항당뇨 효과가 인정되지 않았다(그림 2-15). 이 결과는 이전의 결과에서 나타난 PC091의 항당뇨 효과와 일치하지 않는 것으로 나타나 확인이 필요하다고 생각되었다.

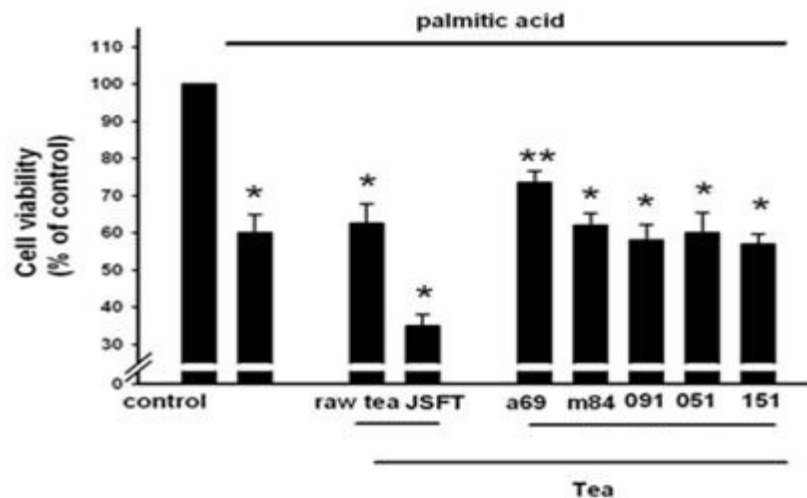


그림 2-15. 췌장세포에서 PC계열 미생물에 의한 항당뇨 효과

- RS계열의 경우 ROm85에서 강한 항당뇨 효과가 인정되었으며 RS201에서도 항당뇨 효과가 인정이 되었다(그림 2-16).

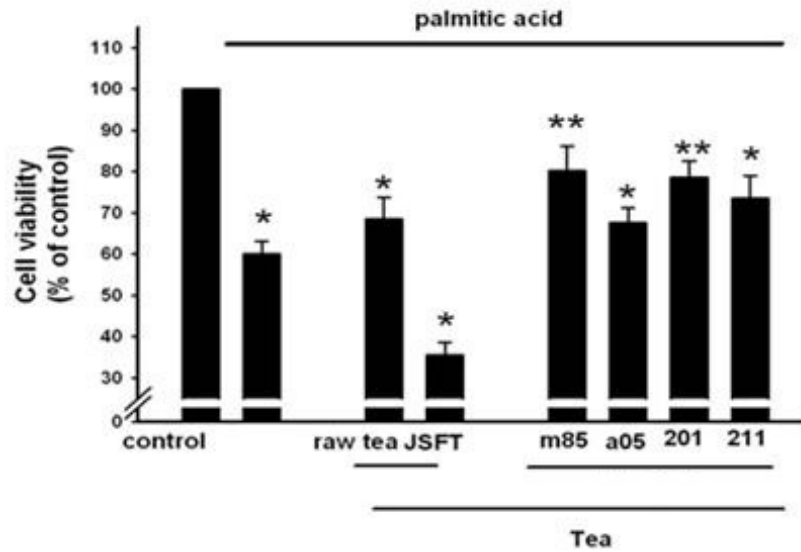


그림 2-16. 췌장세포에서 RS계열에 의한 항당뇨 효과

- 그 외 LR011, DH011, 및 EC181 미생물 발효차 실험을 한 결과 췌장세포에서 항당뇨 효과는 미미하게 나타났다(그림 2-17).

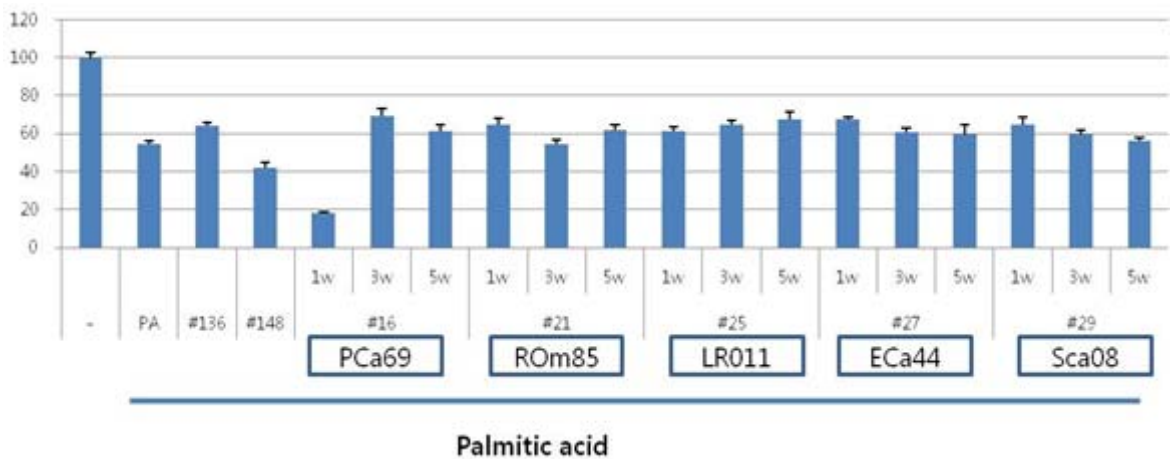


그림 2-17. 췌장 세포에서 단일균주의 주별 항당뇨 비교 분석.

PA: Palmitic acid, 136: Raw tea, 148: JSFT: Japanese microbial fermented tea.

(3) 발효식품 유래 균주의 항비만 효과

- 3T3-L1세포에서 지방 전구 세포를 죽이는 효능 즉 지방을 줄이는 효과가 있는지를 알아본 결과 AN계열(#1, #2, #3, #5)군 및 AFm27 (#7), AT011 (#15), PC계열(#17, #18, #19) 미생물이 지방전구세포를 유의성 있게 감소시켜 항비만 효능이 있는 것으로 나타났다.

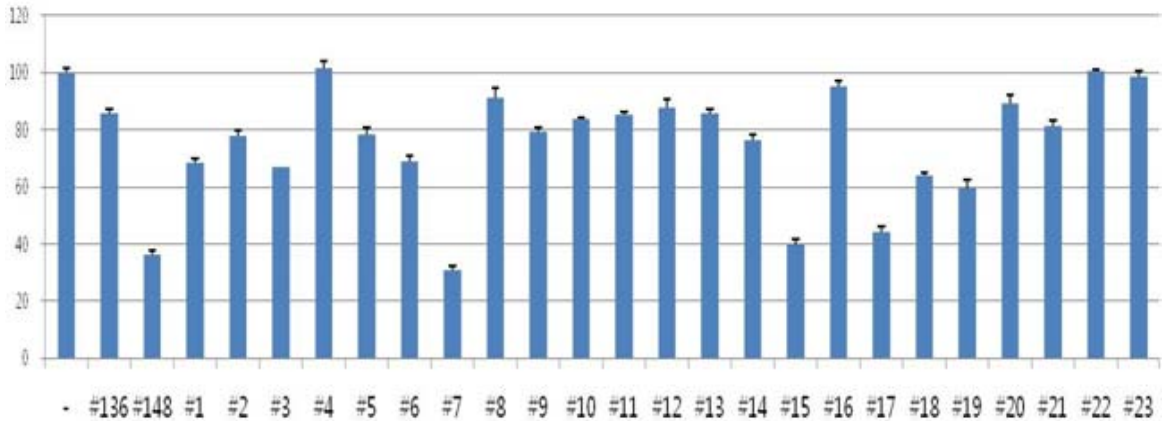


그림 2-18. 3T3L1세포에 단일균주의 세포 사멸에 대한 효과

#136: Raw tea, #148: JSFT: Japanese microbial fermented tea, #1: ANa80, #2: ANa97, #3: ANm65, #4: AN091, #5: AN092, #6: AFa89, #7: AFm27, #8: AF211, #9: AF212, #10: AOa71, #11: AOj01, #12: AOsj01, #13: AKhj01, #14: AKm60, #15: AT011, #16: PCa69, #17: PCm84, #18: PC091, #19: PG051, #20: PC151, #21: ROM85, #22: RSa05, #23: RS201.

- 아올러 ECa44 (#27) 균주처리 시 그 효능이 양성 대조군과 비슷한 효능을 보이는 것으로 나타났다(그림 2-19)

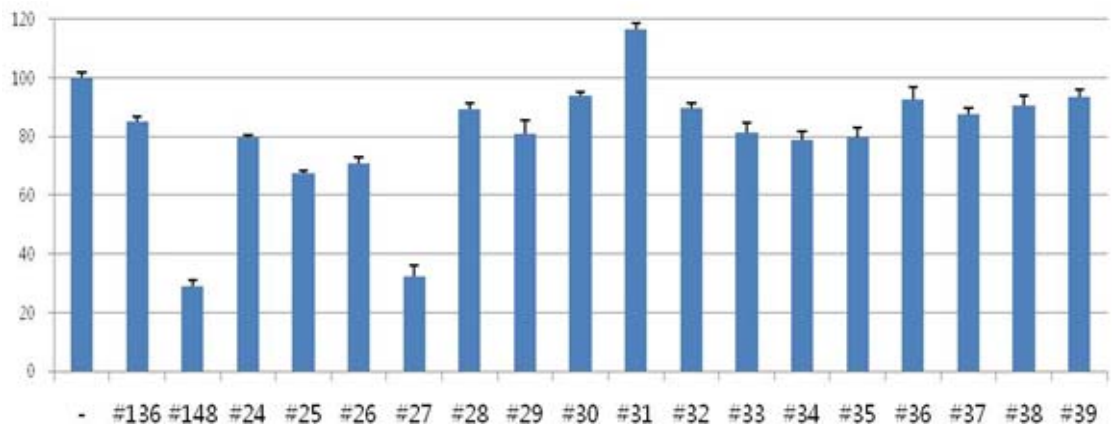


그림 2-19. 3T3-L1세포에 단일균주의 세포 사멸에 대한 효과

#136: Raw tea, #148: JSFT: Japanese microbial fermented tea, #1: ANa80, #2: ANa97, #3: ANm65, #4: AN091, #5: AN092, #6: AFa89, #7: AFm27, #8: AF211, #9: AF212, #10: AOa71, #11: AOj01, #12: AOsj01, #13: AKhj01, #14: AKm60, #15: AT011, #16: PCa69, #17: PCm84, #18: PC091, #19: PG051, #20: PC151, #21: ROM85, #22: RSa05, #23: RS201.

- 지방전구세포 감소 효과를 보인 발효식품 유래 균주를 대상으로 항비만 효과를 확인하기 위해 해당 미생물을 처리해 제조한 미생물 발효차 추출물의 지방 축적 단백질과의 관련성을 검토하였다. 실험 결과 단일 균주의 경우 대체적으로 앞에서 살펴보았던 결과와 비슷한 지방 합성을 억제하는 양상을 보였다(그림 2-20).

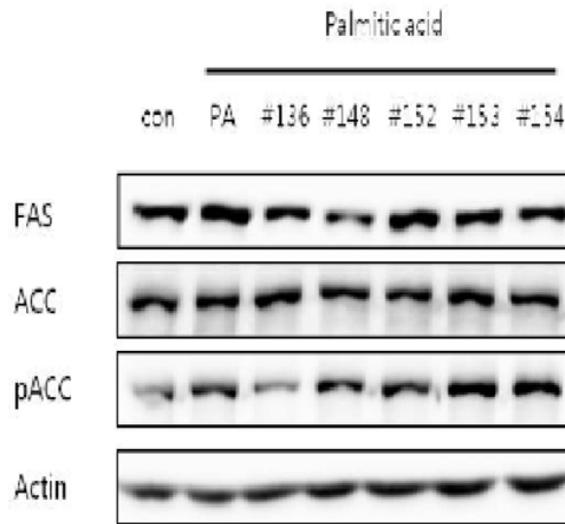


그림 2-20. 단일균주에서의 지방 합성억제 효과

PA: Palmitic acid, #136: Raw tea, #148: JSFT(Japanese microbial fermented tea), #152: MRa66(1), #153: MRa66(3), #154: MRa66(5),

- 또한 지방간 예방 효과가 있다고 판단되는 균주를 중심으로 해서 발효 기간(1주, 3주, 5주)에 따른 효능 분석을 실시하였다. 실험 결과 기능성 면에서는 대체적으로 3주에서 지방간 예방 효과가 큰 것으로 나타났다(그림 2-21,2-22).

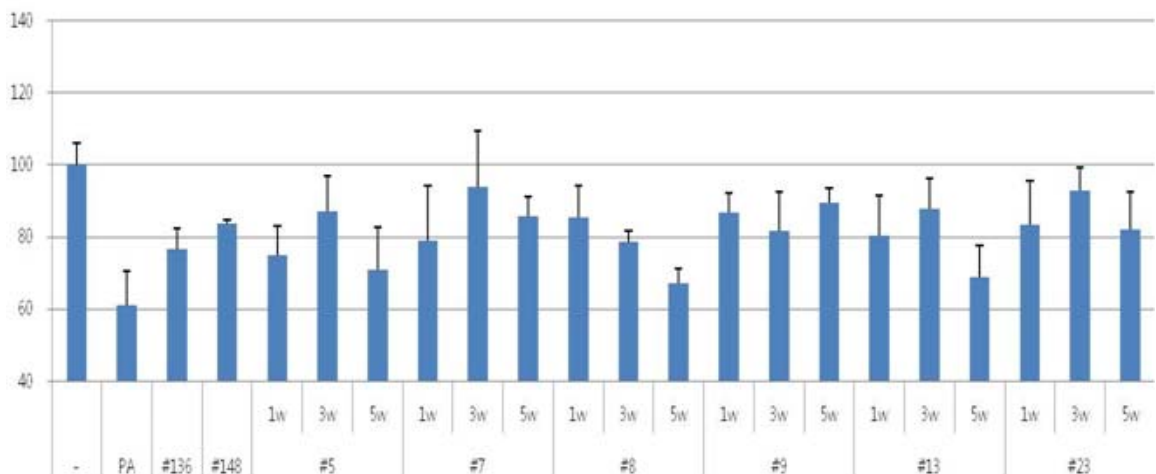


그림 2-21. 지방간 예방 효능 샘플의 발효 기간에 따른 지방간 예방 효과

PA: Palmitic acid, #136: Raw tea, #148: JSFT(Japanese microbial fermented tea), #5: AN092, #7: AFm27, #8: AF211, #9: AF212, #13: AKhj01, #23: RS201

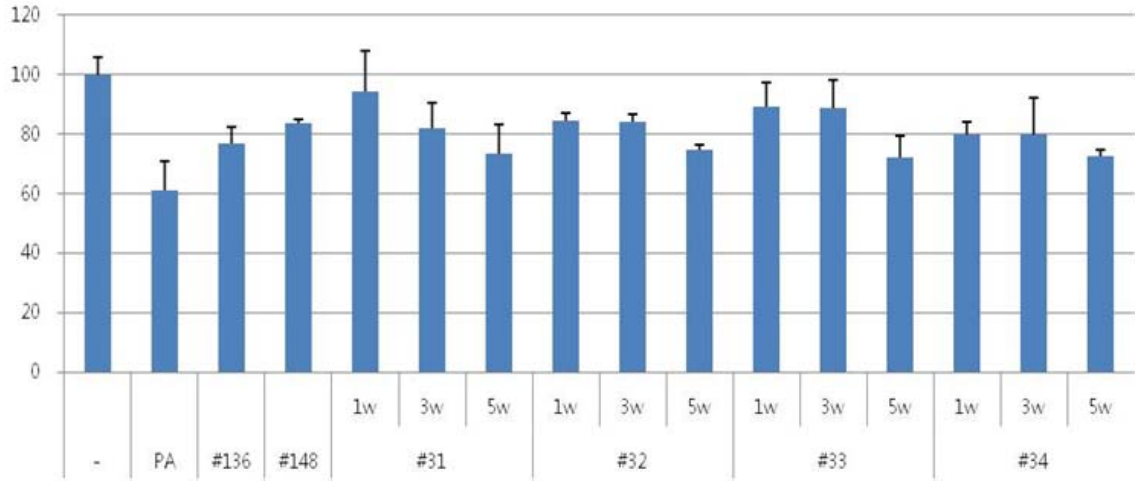


그림 2-22. 지방간 예방 효능 샘플의 발효 기간에 따른 지방간 예방 효과

PA: Palmitic acid, #136: Raw tea, #148: JSFT(Japanese microbial fermented tea), #31: BSa25, #32: BSa50, #33: BSa69, #34: LMa44.

- 또한 직접적으로 palmitic acid에 의한 지방 축적이 시료에 의해서 차단되는지를 확인하였다. 실험 결과, MR 시리즈의 경우 발효기간이 지날수록 지방간 예방 효과가 큰 것으로 나타났다(그림 2-23).

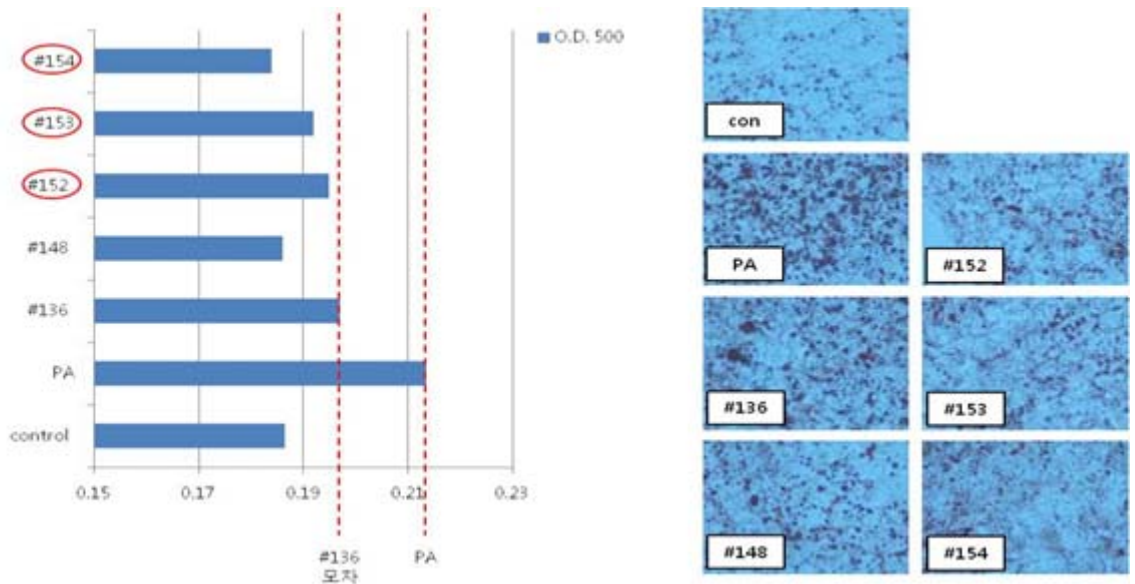


그림 2-23. MR시리즈의 지방간 예방효과

PA: Palmitic acid, #136: Raw tea, #148: JSFT(Japanese microbial fermented tea), #154: MRa66(5) #153: MRa66(3) #152: MRa66(1)

(4) 미백활성

- 발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물발효차 추출물의 피부 미백활성을 측정한 결과, AOhj01의 활성이 가장 우수했으며, 전반적으로 전통발효식품 유래 균주 중 일부시료를 제외한 대부분의 곰팡이 접종 시료는 대조구로 사용한 모차(6월)와 비슷하거나 낮은 미백활성을 나타냈다. 전반적으로 세균 접종 시료의 활성이 대조구보다 높게 나타났으나 시료간의 큰 활성 차이는 나타나지 않았다.

표 2-13. 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 tyrosinase 저해효과

NO.	Sample	Tyrosinase inhibition activity (IC ₅₀ , μ g/mL)
1	ANa80(3)	410.48
2	ANa97(3)	362.19
3	ANm65(3)	301.73
4	AN091(3)	342.61
5	AN092(3)	583.67
6	AFa89(3)	351.97
7	AFm27(3)	282.47
8	AF211(3)	441.81
9	AF212(3)	576.67
10	AOa71(3)	660.85
11	AOhj01(3)	154.73
12	AOsj01(3)	305.98
13	AKhj02(3)	298.82
14	AKm60(3)	344.05
15	AT011(3)	570.66
16	PCa69(3)	200.70
17	PCm84(3)	282.58
18	PC091(3)	400.73
19	PG051(3)	353.14
20	PC151(3)	678.16
21	ROm85(3)	592.08
22	RSa05(3)	450.71
23	RS201(3)	439.20

24	RP211(3)	707.43
25	LR011(3)	555.94
26	DH011(3)	609.79
27	ECa44(3)	379.15
28	EC181(3)	624.30
29	SCa08(3)	358.55
30	BSa49(3)	422.47
31	BSa25(3)	532.62
32	BSa50(3)	311.26
33	BSa69(3)	778.49
34	LMa44(3)	308.16
35	LMa17(3)	279.93
36	LMa52(3)	262.26
37	LBa53(3)	273.38
38	LBa21(3)	309.38
39	LPa51(3)	265.28
40	MPt20(3)	234.83
41	MRa66(3)	222.94
42	대조구(발효전 모차)	303.89

Fermentation period: (3) 3week,

(5) 항주름 활성

가. Elastase 저해활성

- 전통발효식품 유래 균주 접종 미생물발효차 추출물의 elastase 저해활성을 측정한 결과, ANa97(3)의 활성이 가장 우수했으며, 전반적으로 전통발효식품 유래 균주 중 저해활성이 관찰된 시료는 대부분 대조구로 사용한 모차(6월)보다 높은 주름개선활성을 나타냈다.

표 2-14. 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 elastase 생성효과

NO.	Sample	Elastase inhibition activity(%)
1	ANa80(3)	N.D
2	ANa97(3)	30.88
3	ANm65(3)	N.D
4	AN091(3)	16.10
5	AN092(3)	N.D
6	AFa89(3)	N.D
7	AFm27(3)	N.D
8	AF211(3)	N.D
9	AF212(3)	N.D
10	AOa71(3)	22.00
11	AOhj01(3)	N.D
12	AOsj01(3)	N.D
13	AKhj02(3)	30.74
14	AKm60(3)	N.D
15	AT011(3)	N.D
16	PCa69(3)	N.D
17	PCm84(3)	N.D
18	PC091(3)	N.D
19	PG051(3)	N.D
20	PC151(3)	N.D
21	ROm85(3)	24.18
22	RSa05(3)	27.31
23	RS201(3)	16.10
24	RP211(3)	N.D
25	LR011(3)	N.D
26	DH011(3)	N.D
27	ECa44(3)	N.D
28	EC181(3)	N.D
29	SCa08(3)	19.52
30	BSa49(3)	15.38
31	BSa25(3)	2.90
32	BSa50(3)	13.14
33	BSa69(3)	4.95
34	LMa44(3)	N.D
35	LMa17(3)	10.12
36	LMa52(3)	9.98
37	LBa53(3)	24.76
38	LBa21(3)	31.60
39	LPa51(3)	22.54
40	MPt20(3)	N.D
41	MRa66(3)	24.78
42	대조구(발효전 모차)	4.77

Fermentation period: (3) 3week,

나. Collagen 생성효과

· 전통발효식품 유래 균주 접종 미생물발효차 추출물의 collagen 생성효과를 측정한 결과, ANa97(3)와 AF211(3)의 활성이 각각 135.1%, 132.1%로 가장 우수했으며, 전반적으로 전통발효식품 유래 균주 중 저해활성이 관찰된 시료는 대부분 대조구로 사용한 모차(6월)보다 높은 주름개선활성을 나타냈다. 곰팡이 및 효모 접종 시료의 경우 양성 대조구인 ascorbic acid보다 높거나 유사한 활성을 대부분의 시료에서 나타냈으나 세균의 경우 전반적으로 ascorbic acid보다 낮은 활성을 나타냈다.

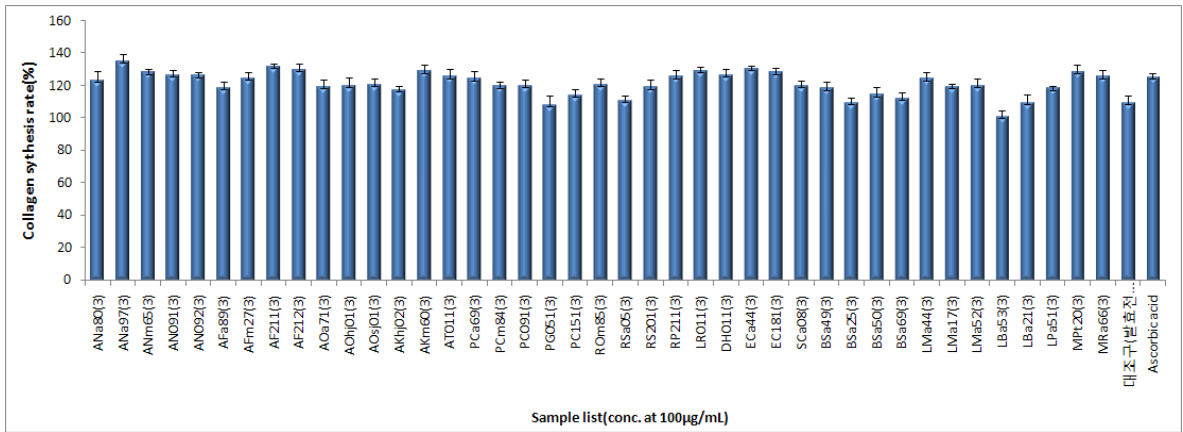


그림 2-24. 전통발효식품 유래 균주로 제조된 미생물발효차의 collagen 생성효과
Fermentation period: (3) 3week,

(6) 항산화 활성

· 전통발효식품 유래 균주 접종 미생물발효차 추출물의 DPPH free radical 소거활성을 측정한 결과, AF211(3)의 활성이 각각 13.247 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 우수했으며, 전반적으로 전통발효식품 유래 균주 중 소거활성이 관찰된 시료는 대부분 대조구로 사용한 모차(6월)보다 일부 시료를 제외하고는 낮은 항산화활성을 나타냈다.

표 2-15. 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 항산화효과

NO.	Sample	DPPH free radical scavenging activity(IC ₅₀ , μ g/mL)
1	ANa80(3)	53.096
2	ANa97(3)	74.985
3	ANm65(3)	42.602
4	AN091(3)	92.899
5	AN092(3)	106.823
6	AFa89(3)	62.245
7	AFm27(3)	42.395
8	AF211(3)	13.247
9	AF212(3)	78.056
10	AOa71(3)	600.491
11	AOhj01(3)	927.299
12	AOsj01(3)	116.451
13	AKhj02(3)	98.882
14	AKm60(3)	42.668
15	AT011(3)	77.413
16	PCa69(3)	434.271
17	PCm84(3)	N.D
18	PC091(3)	5996.810
19	PG051(3)	73.689
20	PC151(3)	156.333
21	ROm85(3)	89.957
22	RSa05(3)	62.943
23	RS201(3)	24.593
24	RP211(3)	60.338
25	LR011(3)	62.245
26	DH011(3)	29.609
27	ECa44(3)	56.297
28	EC181(3)	71.974
29	SCa08(3)	30.368
30	BSa49(3)	29.821
31	BSa25(3)	81.181
32	BSa50(3)	27.463
33	BSa69(3)	311.517
34	LMa44(3)	29.542
35	LMa17(3)	18.611
36	LMa52(3)	22.940
37	LBa53(3)	31.341
38	LBa21(3)	25.195
39	LPa51(3)	49.186
40	MPt20(3)	397.439
41	MRa66(3)	380.903
43	대조구(발효전 모차)	59.517
44	Ascorbic acid	9.327

Fermentation period: (3) 3week,

(7) 전통발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물 발효차 추출물의 statin화합물 함량

· 전통발효식품 유래 균주를 접종하여 제조한 미생물발효차를 대상으로 statin 화합물의 함량을 측정된 결과, 모든 미생물 발효차시료에서 statin 화합물이 확인되었으며, LPa51(3)의 함량이 3.7 mg/g으로 가장 높았다. AN, AF, PC 등을 접종하여 발효한 경우 균주마다 일부 차이는 존재했으나 전반적으로 statin화합물의 함량이 높게 나타났다.

표 2-16. 전통발효식품 유래 균주를 이용해 제조된 미생물 발효차의 statin 함량

NO.	Sample	Statins contents(mg/g)								Total
		Pravastatin-H	Atovastatin-H	Compac tin-H	Compac tin-L	Lovasta tin-H	Lovasta tin-L	Simvastatin-H	Simvastatin-L	
1	ANa80(3)	1.14	0.13	N.D.	0.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.29
2	ANa97(3)	2.03	N.D.	0.10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.13
3	ANm65(3)	1.88	0.41	0.08	0.03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.40
4	AN091(3)	N.D.	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.01
5	AN092(3)	1.28	N.D.	0.07	0.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.37
6	AFa89(3)	2.01	0.42	0.07	0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.52
7	AFm27(3)	2.38	0.45	N.D.	0.03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.87
8	AF211(3)	1.45	0.20	N.D.	0.33	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.99
9	AF212(3)	0.37	0.14	0.06	0.10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.67
10	AOa71(3)	0.63	N.D.	N.D.	0.57	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.20
11	AOhj01(3)	0.56	N.D.	0.00	0.19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.75
12	AOsj01(3)	1.30	N.D.	0.07	0.24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.61
13	AKhj02(3)	2.64	N.D.	N.D.	0.42	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.07
14	AKm60(3)	2.15	N.D.	0.15	0.36	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.65
15	AT011(3)	0.37	N.D.	0.06	0.14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.57
16	PCa69(3)	2.34	0.62	0.12	0.06	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.14
17	PCm84(3)	2.07	0.26	0.11	0.27	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.71
18	PC091(3)	0.51	0.48	0.05	0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.09
19	PG051(3)	0.55	0.65	0.07	0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.31
20	PC151(3)	1.44	0.49	0.09	0.92	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.94
21	ROm85(3)	2.28	0.55	0.12	0.39	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.34
22	RSa05(3)	2.50	0.74	N.D.	0.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.49
23	RS201(3)	2.28	0.73	0.13	0.29	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.43
24	RP211(3)	1.81	0.39	0.08	0.32	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.60
25	LR011(3)	0.96	N.D.	N.D.	0.11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.07
26	DH011(3)	1.40	N.D.	N.D.	0.18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.58
27	ECa44(3)	1.71	N.D.	N.D.	0.32	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.03
28	EC181(3)	2.03	0.67	0.20	0.27	0.00	N.D.	N.D.	N.D.	3.17

29	SCa08(3)	1.30	0.41	N.D.	0.04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.76
30	BSa49(3)	1.69	N.D.	N.D.	0.36	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.05
31	BSa25(3)	1.96	0.36	N.D.	0.22	0.06	N.D.	N.D.	N.D.	2.59
32	BSa50(3)	2.19	0.14	N.D.	0.24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.57
33	BSa69(3)	2.01	0.42	N.D.	0.16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.59
34	LMa44(3)	2.58	0.69	N.D.	0.29	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.56
35	LMa17(3)	1.04	0.78	N.D.	0.19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.02
36	LMa52(3)	1.36	0.72	N.D.	0.19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.27
37	LBa53(3)	1.36	0.75	N.D.	0.31	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.41
38	LBa21(3)	1.33	N.D.	N.D.	0.49	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.82
39	LPa51(3)1	2.59	0.78	N.D.	0.33	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.70
40	MPt20(3)	0.82	N.D.	N.D.	0.38	0.18	N.D.	N.D.	N.D.	1.39
41	MRa66(3)	1.37	N.D.	N.D.	0.44	0.24	N.D.	N.D.	N.D.	2.05

Fermentation period: (3) 3week,

3) 발효식품 유래 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차의 성분분석

(1) 색도

- 3주 동안에 발효시킨 미생물 발효차들의 찻잎의 L , a , b 값을 각각 측정하여 전통 발효식품 유래 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차 찻잎의 색도는 표 2-17에 나타냈다.
- 그 결과, 찻잎의 표면의 밝기를 나타내는 L^* 값은 33.25로 PCm84를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 나타냈으며, BSa25를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 18.42로 가장 낮은 값을 나타냈다.
- a^* 값은 6.63으로 AF211을 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 보였으며, ECa44를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 1.52로 가장 낮은 값을 보였다.
- 황색도를 나타내는 b^* 값은 각각 13.55와 13.67로 AT011, PC151를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 보였으며, LPa51를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 3.94로 가장 낮은 값을 나타냈다.
- 3주 동안에 발효시킨 미생물 발효차들의 증류수 추출물의 L , a , b 값을 각각 측정하여 전통발효식품 유래 균주를 이용하여 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 색도는 표 2-18에 나타내었다.
- 그 결과 찻잎의 표면의 밝기를 나타내는 L^* 값은 78.97로 LMa44를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 나타냈으며, AT011을 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서는 26.66으로 가장 낮은 값을 나타냈다.
- a^* 값은 41.17로 AOa71를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 보였으며, BSa49를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 11.45로 가장 낮은 값을 보였다.
- 황색도를 나타내는 b^* 값은 각각 97.69로 PCm84를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 가장 높은 값을 보였으며, BSa50를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서는 36.73으로 가장 낮은 값을 나타냈다.

표 2-17. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 차트의 색도

No.	Inoculum	L*	a*	b*
1	ANa80	28.58 ± 0.01 ^{fg}	3.94 ± 0.04 ^{fg}	9.92 ± 0.09 ^d
2	ANa97	27.34 ± 0.14 ⁱ	4.12 ± 0.05 ^{cdef}	10.27 ± 0.05 ^b
3	ANm65	25.89 ± 0.07 ^{kl}	4.12 ± 0.05 ^{cdef}	9.15 ± 0.19 ^f
4	AN091	24.12 ± 0.07 ^q	3.85 ± 0.14 ^{gh}	6.90 ± 0.19 ^{op}
5	AN092	25.10 ± 0.02 ^{mn}	3.23 ± 0.29 ^{jk}	6.68 ± 0.23 ^{pq}
6	AFa89	28.89 ± 0.01 ^f	4.22 ± 0.12 ^{cd}	10.22 ± 0.24 ^b
7	AFm27	25.74 ± 0.26 ^{lm}	4.17 ± 0.17 ^{cde}	9.48 ± 0.23 ^e
8	AF211	29.35 ± 0.12 ^e	6.63 ± 0.01 ^a	8.69 ± 0.06 ^{hij}
9	AF212	31.57 ± 0.01 ^d	3.33 ± 0.01 ^{jk}	6.54 ± 0.20 ^{qr}
10	AOa71	24.89 ± 0.00 ^{op}	3.35 ± 0.12 ^j	7.36 ± 0.10 ^m
11	AOhj01	26.42 ± 0.15 ^j	4.20 ± 0.12 ^{cde}	9.19 ± 0.12 ^f
12	AOsj01	25.51 ± 0.04 ^{mn}	4.26 ± 0.13 ^c	8.88 ± 0.11 ^{gh}
13	AKhj02	26.18 ± 0.49 ^{jk}	3.38 ± 0.12 ^j	6.30 ± 0.18 ^{rst}
14	AKm60	29.45 ± 0.15 ^e	3.99 ± 0.03 ^{efg}	8.38 ± 0.03 ^k
15	AT011	27.99 ± 0.19 ^h	6.08 ± 0.05 ^b	13.55 ± 0.14 ^a
16	PCa69	32.01 ± 0.12 ^c	1.99 ± 0.04 ⁿ	10.39 ± 0.10 ^b
17	PCm84	33.25 ± 0.19 ^a	1.97 ± 0.03 ⁿ	8.72 ± 0.20 ^{hij}
18	PC091	29.41 ± 0.17 ^e	3.22 ± 0.13 ^{jk}	8.48 ± 0.14 ^{jk}
19	PG051	29.56 ± 0.01 ^e	2.61 ± 0.08 ^m	8.53 ± 0.07 ^{ijk}
20	PC151	32.54 ± 0.08 ^b	4.20 ± 0.02 ^{cde}	13.67 ± 0.07 ^a
21	ROm85	21.78 ± 0.06 ^t	2.93 ± 0.08 ^l	5.13 ± 0.23 ^u
22	RSa05	24.88 ± 0.25 ^o	3.89 ± 0.20 ^{gh}	8.78 ± 0.19 ^{ghi}
23	RS201	26.23 ± 0.04 ^{jk}	4.05 ± 0.07 ^{defg}	10.19 ± 0.05 ^b
24	RP211	25.92 ± 0.18 ^{kl}	3.24 ± 0.04 ^{jk}	7.08 ± 0.11 ^{no}
25	LR011	28.17 ± 0.36 ^{gf}	4.03 ± 0.09 ^{defg}	10.34 ± 0.13 ^b
26	DH011	28.55 ± 0.08 ^{fg}	3.37 ± 0.03 ^j	9.03 ± 0.2 ^{fg}
27	ECa44	24.57 ± 0.03 ^p	1.52 ± 0.04 ^o	4.93 ± 0.02 ^{uv}
28	EC181	25.20 ± 0.16 ^{no}	3.38 ± 0.10 ^j	9.56 ± 0.09 ^e
29	SCa08	20.88 ± 0.12 ^u	3.11 ± 0.08 ^k	4.65 ± 0.09 ^w
30	BSa49	22.96 ± 0.59 ^r	3.71 ± 0.08 ^{hi}	7.19 ± 0.34 ^{mn}
31	BSa25	18.42 ± 0.02 ^x	3.35 ± 0.08 ^j	6.24 ± 0.04 st
32	BSa50	22.49 ± 0.12 ^s	3.26 ± 0.11 ^{jk}	6.22 ± 0.21 ^t
33	BSa69	27.80 ± 0.02 ^h	4.27 ± 0.06 ^c	10.60 ± 0.21 ^b
34	LMa44	23.27 ± 0.52 ^r	3.26 ± 0.29 ^{jk}	6.11 ± 0.11 ^t
35	LMa17	22.02 ± 0.51 ^t	3.65 ± 0.13 ^j	6.51 ± 0.02 ^{qrs}
36	LMa52	23.34 ± 0.52 ^r	3.85 ± 0.02 ^{gh}	7.83 ± 0.16 ^l
37	LBa53	20.19 ± 0.44 ^v	3.19 ± 0.10 ^{jk}	4.72 ± 0.31 ^{vw}
38	LBa21	23.07 ± 0.15 ^r	4.05 ± 0.02 ^{defg}	7.37 ± 0.15 ^m
39	LPa51	19.48 ± 0.49 ^w	2.72 ± 0.12 ^m	3.94 ± 0.10 ^x
40	MPt20	27.72 ± 0.01 ^{gh}	3.89 ± 0.01 ^{gh}	9.84 ± 0.08 ^{de}
41	MRa66	26.73 ± 0.01 ^{no}	4.29 ± 0.02 ^c	10.32 ± 0.02 ^b

Small letters (a-zf¹) represented significant differences within the same columns.
 Fermentation period: (3) 3week,

표 2-18. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 색도

No.	Inoculum	L*	a*	b*
1	ANa80	50.97 ± 0.02 ^x	37.63 ± 0.09 ^f	84.02 ± 0.02 ^l
2	ANa97	56.00 ± 0.07 ^s	31.34 ± 0.02 ^l	89.68 ± 0.12 ^h
3	ANm65	68.92 ± 0.12 ⁱ	21.69 ± 0.05 ^x	87.98 ± 0.16 ⁱ
4	AN091	31.95 ± 0.11 ^{zh}	36.72 ± 0.03 ^h	53.11 ± 0.17 ^{zd}
5	AN092	29.00 ± 0.08 ^{zi}	40.25 ± 0.03 ^b	48.27 ± 0.15 ^{ze}
6	AFa89	60.82 ± 0.13 ^o	30.90 ± 0.01 ^m	94.77 ± 0.24 ^d
7	AFm27	72.25 ± 0.05 ^f	14.80 ± 0.04 ^z	81.05 ± 0.05 ⁿ
8	AF211	45.23 ± 0.07 ^{zd}	41.18 ± 0.01 ^a	75.21 ± 0.06 ^s
9	AF212	52.64 ± 0.16 ^w	36.68 ± 0.06 ^h	86.52 ± 0.34 ^j
10	AOa71	27.63 ± 0.02 ^{zk}	41.17 ± 0.03 ^a	45.86 ± 0.22 ^{zg}
11	AOhj01	46.44 ± 0.14 ^{zb}	39.44 ± 0.01 ^e	76.93 ± 0.02 ^p
12	AOSj01	53.67 ± 0.18 ^v	34.73 ± 0.02 ^k	86.15 ± 0.11 ^k
13	AKhj02	46.12 ± 0.01 ^{zc}	35.19 ± 0.02 ^j	75.19 ± 0.12 ^s
14	AKm60	36.67 ± 0.02 ^{zg}	39.79 ± 0.01 ^d	61.14 ± 0.15 ^{zc}
15	AT011	26.66 ± 0.01 ^{zl}	39.83 ± 0.01 ^{cd}	44.45 ± 0.03 ^{zh}
16	PCa69	62.86 ± 0.02 ⁿ	27.22 ± 0.01 ^q	95.11 ± 0.03 ^c
17	PCm84	64.95 ± 0.01 ^l	25.93 ± 0.02 ^s	97.69 ± 0.05 ^a
18	PC091	28.20 ± 0.01 ^{zi}	39.98 ± 0.04 ^c	47.03 ± 0.01 ^{zf}
19	PG051	39.14 ± 0.01 ^{zf}	39.76 ± 0.01 ^d	65.15 ± 0.03 ^{zb}
20	PC151	49.23 ± 0.01 ^z	37.21 ± 0.02 ^g	81.52 ± 0.09 ^m
21	ROm85	45.00 ± 0.01 ^{ze}	36.39 ± 0.00 ⁱ	73.60 ± 0.12 ^v
22	RSa05	66.21 ± 0.01 ^k	24.08 ± 0.02 ^v	91.20 ± 0.09 ^g
23	RS201	68.21 ± 0.01 ^j	22.15 ± 0.03 ^w	94.60 ± 0.11 ^d
24	RP211	55.22 ± 0.01 ^u	34.59 ± 0.02 ^k	89.70 ± 0.07 ^h
25	LR011	60.54 ± 0.02 ^p	29.60 ± 0.01 ^o	91.73 ± 0.16 ^f
26	DH011	57.35 ± 0.01 ^r	31.45 ± 0.01 ^l	92.73 ± 0.06 ^e
27	ECa44	55.58 ± 0.01 ^t	29.85 ± 0.02 ⁿ	81.51 ± 0.07 ^m
28	EC181	63.56 ± 0.01 ^m	26.83 ± 0.01 ^r	96.39 ± 0.04 ^b
29	SCa08	58.54 ± 0.01 ^q	25.11 ± 0.57 ^r	78.86 ± 0.10 ^o
30	BSa49	77.55 ± 0.02 ^b	11.45 ± 0.02 ^{zf}	69.32 ± 0.02 ^z
31	BSa25	49.53 ± 0.01 ^y	27.78 ± 0.01 ^u	76.32 ± 0.15 ^q
32	BSa50	77.26 ± 0.01 ^c	12.15 ± 0.01 ^{ze}	36.73 ± 0.03 ^{zi}
33	BSa69	46.83 ± 0.01 ^{za}	28.91 ± 0.03 ^p	75.91 ± 0.09 ^r
34	LMa44	78.97 ± 0.04 ^a	9.90 ± 0.02 ^{zg}	66.18 ± 0.04 ^{za}
35	LMa17	75.17 ± 0.01 ^f	14.47 ± 0.02 ^{za}	73.94 ± 0.02 ^u
36	LMa52	76.61 ± 0.01 ^d	12.99 ± 0.02 ^{zd}	72.84 ± 0.03 ^w
37	LBa53	73.13 ± 0.03 ^h	16.35 ± 0.02 ^y	74.36 ± 0.04 ^t
38	LBa21	75.94 ± 0.02 ^e	13.71 ± 0.01 ^{zc}	73.43 ± 0.01 ^v
39	LPa51	74.32 ± 0.01 ^g	14.26 ± 0.02 ^{zb}	70.55 ± 0.03 ^x
40	MPt20	55.85 ± 0.00 ^t	36.01 ± 0.02 ^f	88.19 ± 0.20 ^{hi}
41	MRa66	39.31 ± 0.10 ^{zf}	40.89 ± 0.05 ^b	65.35 ± 0.08 ^{zb}

Small letters (a-zf^h) represented significant differences within the same columns.
Fermentation period: (3) 3week,

(2) 가용성 고형분 함량

- 차에 함유된 가용성 고형분 중 차탕에 용출되는 성분인 아미노산, 차 폴리페놀, 카페인, 당류 펙틴, 가용성 비타민과 무기질 등은 맛에 영향을 미치는 요인으로 알려져 있으며 가용성분의 함량에 따라 맛이 진해지고 풍부해지거나 얇아지는 것으로 알려져 있다.
- 따라서 관능적 품질에 영향을 미치는 요인 중 하나인 가용성 고형분 함량을 측정하였으며, 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 가용성 고형분 함량을 표 2-19에 나타냈다.
- 가용성 고형분 함량은 0.55~1.05 °Brix로 나타났으며, ANa97를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물발효차에서 1.05 °Brix로 가장 높게 나타났다. 반면, ROm85와 PG051를 접종하여 3주간 발효시킨 미생물 발효차에서 0.55 °Brix로 가장 낮게 나타나 일부 특정 접종 균주에 따른 가용성 고형분의 추출함량 차이를 확인 할 수 있었다.

(3) 총페놀 함량

- 차의 페놀성분은 차의 색, 향, 맛을 결정하는 중요인자 중의 하나이다. 함량이 많을 경우 차는 쓴맛을 나타내고 감칠맛이 적어져서 풍미저하의 원인이 되기도 한다.
- 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 총 페놀 함량은 표 2-20에 나타냈다.
- RS201를 접종한 발효차의 증류수 추출물의 총페놀 함량이 363.06 mg/100g으로 가장 높게 나타났고, PG051를 접종한 발효차의 증류수 추출물은 90.53 mg/100g으로 가장 낮은 값을 나타냈다.

표 2-19. 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 가용성 고형분 함량

No.	Inoculum	Soluble solids(°Brix)
1	ANa80	0.85 ± 0.06 ^c
2	ANa97	1.05 ± 0.06 ^a
3	ANm65	0.95 ± 0.06 ^b
4	AN091	0.75 ± 0.06 ^{cd}
5	AN092	0.75 ± 0.06 ^{cd}
6	AFa89	0.75 ± 0.06 ^{cd}
7	AFm27	0.75 ± 0.06 ^{cd}
8	AF211	0.75 ± 0.06 ^{cd}
9	AF212	0.75 ± 0.06 ^{cd}
10	AOa71	0.65 ± 0.00 ^{fg}
11	AOhj01	0.70 ± 0.12 ^{df}
12	AOsj01	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
13	AKhj02	0.75 ± 0.06 ^{cd}
14	AKm60	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
15	AT011	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
16	PCa69	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
17	PCm84	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
18	PC091	0.75 ± 0.06 ^{cd}
19	PG051	0.55 ± 0.06 ^g
20	PC151	0.75 ± 0.06 ^{cd}
21	ROm85	0.55 ± 0.06 ^g
22	RSa05	0.75 ± 0.06 ^{cd}
23	RS201	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
24	RP211	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
25	LR011	0.75 ± 0.06 ^{dfg}
26	DH011	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
27	ECa44	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
28	EC181	0.75 ± 0.06 ^{cd}
29	SCa08	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
30	BSa49	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
31	BSa25	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
32	BSa50	0.55 ± 0.06 ^{dfg}
33	BSa69	0.75 ± 0.06 ^{cd}
34	LMa44	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
35	LMa17	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
36	LMa52	0.75 ± 0.06 ^{cd}
37	LBa53	0.70 ± 0.00 ^{df}
38	LBa21	0.65 ± 0.06 ^{dfg}
39	LPa51	0.70 ± 0.12 ^{df}
40	MPt20	0.25 ± 0.06 ^h
41	MRA66	0.75 ± 0.06 ^{cd}

Small letters (a-zf) represented significant differences within the same columns.
 Fermentation period: (3) 3week,

표 2-20. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 총페놀 함량

No.	Inoculum	Total phenolic contents(mg/100g)
1	ANa80	140.77 ± 10.83 ^{opqr}
2	ANa97	179.13 ± 0.66 ^{fgh}
3	ANm65	169.79 ± 5.88 ^{hij}
4	AN091	119.91 ± 2.57 ^{tu}
5	AN092	137.14 ± 7.45 ^{pqrs}
6	AFa89	153.56 ± 7.97 ^{lmn}
7	AFm27	147.39 ± 9.31 ^{mnop}
8	AF211	142.49 ± 4.63 ^{nopq}
9	AF212	127.98 ± 6.09 st
10	AOa71	107.67 ± 0.51 ^{vw}
11	AOhj01	143.49 ± 12.11 ^{nopq}
12	AOsj01	152.20 ± 2.22 ^{lmno}
13	AKhj02	134.51 ± 10.16 ^{qrs}
14	AKm60	136.96 ± 4.98 ^{pqrs}
15	AT011	110.75 ± 5.72 ^{uvw}
16	PCa69	115.56 ± 6.85 ^{uv}
17	PCm84	129.62 ± 4.02 ^{rst}
18	PC091	100.87 ± 10.75 ^w
19	PG051	90.53 ± 1.66 ^x
20	PC151	147.48 ± 7.06 ^{mnop}
21	ROm85	162.90 ± 1.40 ^{ijkl}
22	RSa05	203.17 ± 11.21 ^d
23	RS201	363.06 ± 8.88 ^a
24	RP211	193.28 ± 3.92 ^{de}
25	LR011	213.60 ± 13.78 ^c
26	DH011	221.12 ± 1.40 ^c
27	ECa44	184.76 ± 6.30 ^{ef}
28	EC181	242.25 ± 4.77 ^b
29	SCa08	174.15 ± 1.08 ^{fghi}
30	BSa49	184.76 ± 6.00 ^{ef}
31	BSa25	139.86 ± 5.58 ^{pqr}
32	BSa50	172.60 ± 1.80 ^{ghij}
33	BSa69	144.40 ± 8.71 ^{nopq}
34	LMa44	183.30 ± 3.34 ^{efg}
35	LMa17	173.69 ± 2.28 ^{fghi}
36	LMa52	166.26 ± 12.42 ^{ijk}
37	LBa53	158.55 ± 4.80 ^{klm}
38	LBa21	158.37 ± 9.25 ^{klm}
39	LPa51	161.81 ± 12.40 ^{ijkl}
40	MPt20	134.51 ± 7.58 ^{qrs}
41	MRa66	217.04 ± 18.88 ^c

Fermentation period: (3) 3week,

(4) Gallic acid 함량

- Gallic acid는 미생물발효차에 있어서 카테킨류의 감소와 역행하여 미생물 발효의 진행에 따라 다량 생성되어지는 대표적인 성분 중의 하나로 gallic acid의 형성은 차 폴리페놀 몰식자에스테르가 미생물에 관여한 후 발효 과정중의 분해와 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 발효 품질 지표로서 적용가능성을 알아보기 위하여 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 gallic acid 함량을 측정하여 표 2-21에 나타냈다.
- DH011를 접종한 발효차 증류수 추출물의 gallic acid 함량이 24.76 mg/L로 가장 높게 나타났으며, PG051를 접종한 발효차의 증류수 추출물은 0.14 mg/L로 가장 낮은 값을 나타냈다.
- 전반적으로 미생물발효차의 gallic acid 함량이 발효를 통해 증가하는 것으로 나타났으며, ANm65, AFm27, DH011, LR011, BSa50 등의 균주의 경우 동종의 균주보다 gallic acid 생성량이 증가되는 경향을 보였다.

표 2-21. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 gallic acid 함량

No.	Inoculum	gallic acid contents(mg/L)
1	ANa80	2.41 ± 0.03 ^s
2	ANa97	3.24 ± 0.04 ^q
3	ANm65	5.58 ± 0.13 ^j
4	AN091	0.32 ± 0.01 ^z
5	AN092	0.24 ± 0.01 ^z
6	AFa89	7.33 ± 0.01 ^h
7	AFm27	8.51 ± 0.01 ^g
8	AF211	0.14 ± 0.00 ^{za'}
9	AF212	1.74 ± 0.01 ^u
10	AOa71	0.28 ± 0.01 ^z
11	AOhj01	0.33 ± 0.01 ^z
12	AOsj01	1.65 ± 0.03 ^u
13	AKhj02	1.24 ± 0.01 ^v
14	AKm60	2.15 ± 0.05 ^t
15	AT011	1.08 ± 0.01 ^w
16	PCa69	0.97 ± 0.01 ^x
17	PCm84	2.07 ± 0.02 ^t
18	PC091	0.59 ± 0.01 ^y
19	PG051	0.14 ± 0.01 ^{za'}
20	PC151	0.66 ± 0.02 ^y
21	ROm85	2.71 ± 0.01 ^r
22	RSa05	4.08 ± 0.14 ^m
23	RS201	4.55 ± 0.02 ^k
24	RP211	3.28 ± 0.02 ^{pq}
25	LR011	15.03 ± 0.14 ^c
26	DH011	24.76 ± 0.01 ^a
27	ECa44	20.52 ± 0.00 ^b
28	EC181	9.56 ± 0.03 ^f
29	SCa08	7.17 ± 0.03 ⁱ
30	BSa49	3.40 ± 0.06 ^o
31	BSa25	1.68 ± 0.01 ^u
32	BSa50	13.31 ± 0.01 ^d
33	BSa69	2.77 ± 0.01 ^r
34	LMa44	12.09 ± 0.05 ^e
35	LMa17	4.10 ± 0.01 ^m
36	LMa52	3.37 ± 0.02 ^o
37	LBa53	4.26 ± 0.01 ^l
38	LBa21	3.51 ± 0.08 ⁿ
39	LPa51	3.21 ± 0.07 ^q
40	MPt20	0.95 ± 0.01 ^x
41	MRa66	1.01 ± 0.01 ^w

Fermentation period: (3) 3week,

(5) Theaflavin 및 Thearubigin 함량

- 찻잎중의 색소는 지용성색소와 수용성 색소로 나누는데 함량은 마른 찻잎 중에 1% 정도로 차지한다. 마른 찻잎의 색을 결정하는 주요성분인 지용성 색소는 물에 용해되지 않은 엽록소, 엽황소 카로틴 등이 있고, 수용성 색소는 flavinoid류 물질, cyanidin, phenol, 산화물질을 생성시키는 물질은 theaflavin, thearubigin 등이 있다.
- 따라서 미생물발효차의 품질 지표로 탕색에 영향을 미치는 요인 중 하나인 theaflavin 및 thearubigin의 함량을 측정하여 표 2-22, 2-23에 나타냈다.
- 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 theaflavin의 함량은 AN091, AN092를 접종한 발효차 증류수 추출물에서 0.73 g/kg 가장 높게 나타났다. Thearubigin의 함량은 MRa66를 접종한 발효차의 증류수 추출물에서 23.05 g/kg으로 가장 높게 나타났으며, PCa69를 접종한 발효차 증류수 추출물에서 6.64 g/kg으로 가장 낮은 값을 나타냈다.

표 2-22. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 theaflavin 함량

No.	Inoculum	Theaflavin contents(g/kg)
1	ANa80	0.05±0.00 ^{ij}
2	ANa97	0.03±0.00 ^j
3	ANm65	0.03±0.00 ^j
4	AN091	0.73±0.00 ^a
5	AN092	0.73±0.00 ^a
6	AFa89	0.03±0.07 ^a
7	AFm27	0.36±0.05 ^{bcd}
8	AF211	0.29±0.08 ^{bcd}
9	AF212	0.22±0.22 ^{defghi}
10	AOa71	0.09±0.01 ^{hij}
11	AOhj01	0.10±0.02 ^{hij}
12	AOsj01	0.13±0.06 ^{efghij}
13	AKhj02	0.17±0.01 ^{efghij}
14	AKm60	0.13±0.03 ^{efghij}
15	AT011	0.12±0.06 ^{efghij}
16	PCa69	0.25±0.04 ^{bcdefgh}
17	PCm84	0.29±0.18 ^{bcdef}
18	PC091	0.11±0.05 ^{ghij}
19	PG051	0.13±0.02 ^{efghij}
20	PC151	0.12±0.00 ^{ghij}
21	ROm85	0.14±0.01 ^{efghij}
22	RSa05	0.09±0.04 ^{hij}
23	RS201	0.07±0.03 ^{ij}
24	RP211	0.12±0.01 ^{ghij}
25	LR011	0.10±0.05 ^{hij}
26	DH011	0.11±0.04 ^{ghij}
27	ECa44	0.12±0.02 ^{efghij}
28	EC181	0.21±0.01 ^{defghi}
29	SCa08	0.14±0.01 ^{efghij}
30	BSa49	0.13±0.01 ^{efghij}
31	BSa25	0.07±0.01 ^{ij}
32	BSa50	0.14±0.00 ^{efghij}
33	BSa69	0.16±0.00 ^{efghij}
34	LMa44	0.27±0.20 ^{bcdefg}
35	LMa17	0.26±0.04 ^{bcdefgh}
36	LMa52	0.34±0.03 ^{bcd}
37	LBa53	0.41±0.02 ^b
38	LBa21	0.38±0.11 ^{bc}
39	LPa51	0.40±0.13 ^{bc}
40	MPt20	0.12±0.03 ^{efghij}
41	MRa66	0.08±0.00 ^{hij}

Fermentation period: (3) 3week,

표 2-23. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 thearubigin 함량

No.	Inoculum	Theaflavin contents(g/kg)
1	ANa80	11.65±1.05 ^{abcd}
2	ANa97	10.61±5.73 ^{bcde}
3	ANm65	9.46±1.31 ^{cde}
4	AN091	12.08±0.79 ^{abcd}
5	AN092	12.66±0.05 ^{abc}
6	AFa89	8.98±0.94 ^{cde}
7	AFm27	8.56±0.96 ^{cde}
8	AF211	11.44±0.15 ^{abcd}
9	AF212	11.13±0.52 ^{bcde}
10	AOa71	10.09±1.72 ^{bcde}
11	AOhj01	8.60±1.35 ^{cde}
12	AOsj01	8.37±1.04 ^{cde}
13	AKhj02	9.76±0.64 ^{cde}
14	AKm60	11.51±1.68 ^{abcd}
15	AT011	9.40±4.32 ^{cde}
16	PCa69	6.64±0.19 ^e
17	PCm84	8.98±4.66 ^{cde}
18	PC091	10.70±2.65 ^{bcde}
19	PG051	11.61±3.87 ^{abcd}
20	PC151	14.64±0.06 ^{ab}
21	ROm85	9.49±0.80 ^{cde}
22	RSa05	10.52±0.55 ^{bcde}
23	RS201	11.78±0.20 ^{abcd}
24	RP211	12.03±0.18 ^{abcd}
25	LR011	9.83±0.73 ^{cde}
26	DH011	11.91±0.09 ^{abcd}
27	ECa44	12.66±0.66 ^{abc}
28	EC181	14.66±1.48 ^{ab}
29	SCa08	15.99±0.18 ^{ab}
30	BSa49	9.05±1.03 ^{cde}
31	BSa25	8.74±0.08 ^{cde}
32	BSa50	9.75±0.18 ^{cde}
33	BSa69	9.64±0.01 ^{bcde}
34	LMa44	8.60±1.01 ^{cde}
35	LMa17	11.67±4.20 ^{abcd}
36	LMa52	11.27±3.63 ^{abcde}
37	LBa53	7.73±0.31 ^{de}
38	LBa21	9.17±0.41 ^{cde}
39	LPa51	9.29±0.16 ^{cde}
40	MPt20	16.34±1.63 ^{ab}
41	MRA66	23.05±4.82 ^a

Fermentation period: (3) 3week.

(5) Tocopherols 함량

- 전통발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 α -tocopherol 함량은 그림 2-25에 나타냈으며, RSa05, RS201, LMa44을 접종한 미생물 발효차 추출물에 α -tocopherol 함량이 가장 많았다. 반면, BSa49, BSa50을 접종한 미생물 발효차 추출물에서는 α -tocopherol 함량이 검출되지 않았다.
- β -tocopherol과 γ -tocopherol 함량은 그림 2-26에서 나타낸 바와 같이 RSa05, RS201을 접종한 미생물 발효차 추출물에 가장 많은 함량을 나타냈으며 DH011, LPa51을 접종한 시료에서는 β -tocopherol와 γ -tocopherol 함량이 검출되지 않았다.
- 그림 2-27에서는 δ -tocopherol의 함량을 나타냈으며 ECa44, EC181, LBa53, LBa21을 접종한 미생물발효차 추출물에 δ -tocopherol의 함량이 가장 많은 반면 AOhj01, BSa49, Bacillus Sa, BSa50, BSa69을 접종한 미생물 발효차 추출물에서는 δ -tocopherol이 검출되지 않았다.

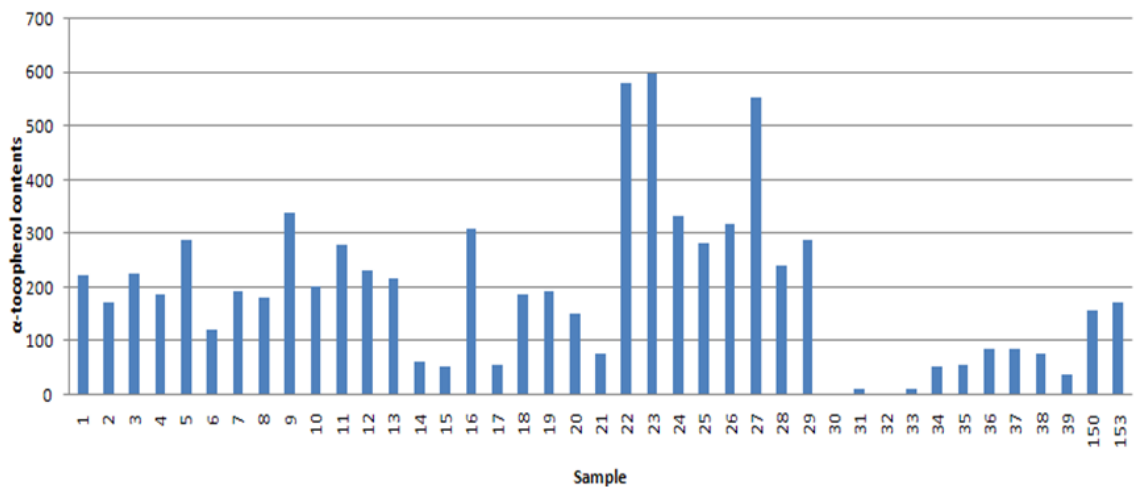


그림 2-25. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 α -tocopherol 함량(mg/kg)

1: ANa80, 2: ANa97, 3: ANm65, 4: AN091, 5: AN092, 6: AFa89, 7: AFm27, 8: AF211, 9: AF212, 10: AOa71, 11: AOhj01, 12: AOsj01, 13: AKhj01, 14: AKm60, 15: AT011, 16: PCa69, 17: PCm84, 18: PC091, 19: PG051, 20: PC151, 21: ROM85, 22: RSa05, 23: RS201, 24: RP211, 25: LR011, 26: DH011, 27: ECa44, 28: EC181, 29: SCa08, 30: BSa49, 31: BSa25, 32: BSa50, 33: BSa69, 34: LMa44, 35: LMa17, 36: LMa52, 37: LBa53, 38: LBa21, 39: LPa51, 150: MPT20, 153: MRa66

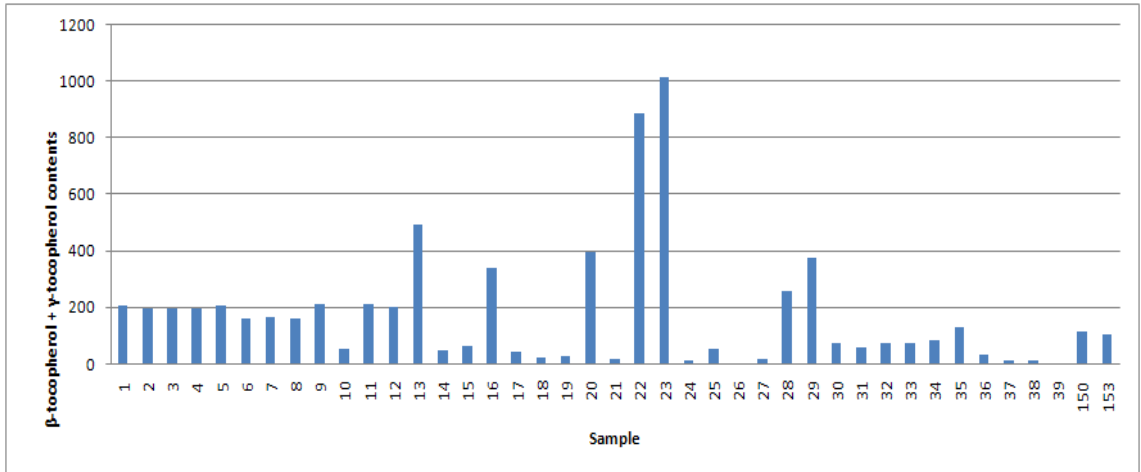


그림 2-26. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 β -, γ -tocopherol 함량(mg/kg)

1: ANa80, 2: ANa97, 3: ANm65, 4: AN091, 5: AN092, 6: AFa89, 7: AFm27, 8: AF211, 9: AF212, 10: AOa71, 11: AO hj01, 12: AOsj01, 13: AKhj01, 14: AKm60, 15: AT011, 16: PCa69, 17: PCm84, 18: PC091, 19: PG051, 20: PC151, 21: ROm85, 22: RSa05, 23: RS201, 24: RP211, 25: LR011, 26: DH011, 27: ECa44, 28: EC181, 29: SCa08, 30: BSa49, 31: BSa25, 32: BSa50, 33: BSa69, 34: LMa44, 35: LMa17, 36: LMa52, 37: LBa53, 38: LBa21, 39: LPa51, 150: MPT20, 153: MRa66

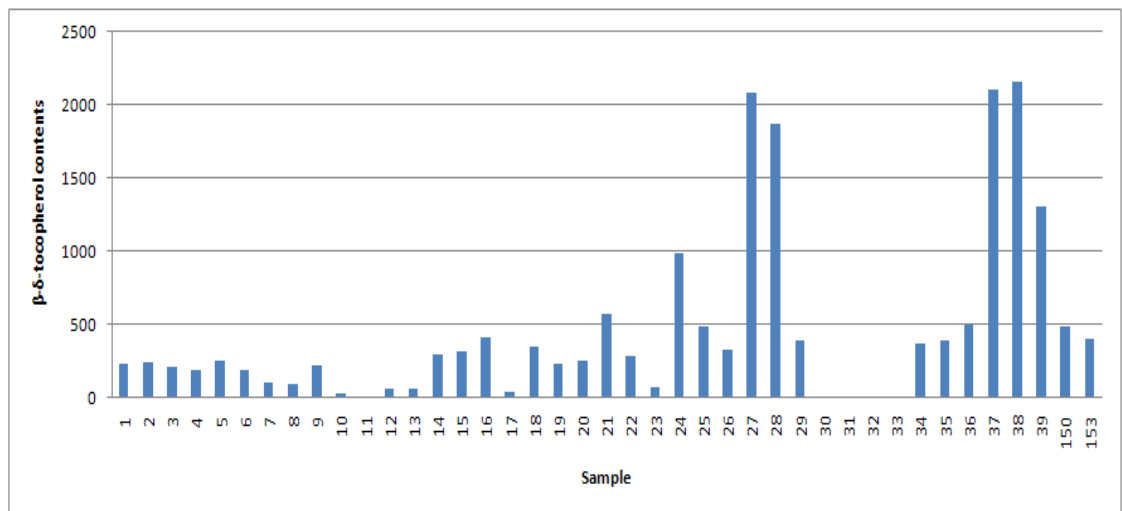


그림 2-27. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 증류수 추출액의 δ -tocopherol 함량(mg/kg)

1: ANa80, 2: ANa97, 3: ANm65, 4: AN091, 5: AN092, 6: AFa89, 7: AFm27, 8: AF211, 9: AF212, 10: AOa71, 11: AO hj01, 12: AOsj01, 13: AKhj01, 14: AKm60, 15: AT011, 16: PCa69, 17: PCm84, 18: PC091, 19: PG051, 20: PC151, 21: ROm85, 22: RSa05, 23: RS201, 24: RP211, 25: LR011, 26: DH011, 27: ECa44, 28: EC181, 29: SCa08, 30: BSa49, 31: BSa25, 32: BSa50, 33: BSa69, 34: LMa44, 35: LMa17, 36: LMa52, 37: LBa53, 38: LBa21, 39: LPa51, 150: MPT20, 153: MRa66

표 2-24. 발효식품 유래 균주 접종을 통해 제조된 미생물발효차 추출물의 free sugar 함량

NO.	Sample	Monosaccharide(mg/L)							Total
		Fucose	Rhamnose	Galactose	Glucose	Mannose	Fructose	Ribose	
1	ANa80	8.526	53.62	205.52	1053.53	135.53	42.26	10.23	1509.22
2	ANa97	8.623	52.25	253.61	1046.37	134.95	43.26	11.52	1550.58
3	ANm65	9.061	51.56	246.23	1123.69	140.62	41.23	11.62	1624.01
4	AN091	9.29	57.62	253.75	1293.6	147.85	43.65	14.53	1820.29
5	AN092	9.39	58.61	258.78	1,361.72	149.93	50.87	12.88	1902.18
6	AFa89	3.95	60.2	321.59	1,352.58	79.23	146.26	8.65	1972.46
7	AFm27	3.85	61.23	345.58	1,403.26	75.02	143.25	9.05	2041.24
8	AF211	4.02	63.12	365.19	1,300.26	80.30	140.23	9.11	1962.23
9	AF212	4.19	65.00	366.18	1,481.03	83.60	149.23	9.60	2158.83
10	AOa71	2.92	78.55	243.34	854.91	106.56	85.56	10.56	1382.40
11	AOhj01	3.80	80.96	254.43	864.84	123.74	93.42	12.84	1434.03
12	AOSj01	3.06	81.23	232.23	852.46	119.23	90.06	11.23	1389.50
13	AKhj02	2.56	165.32	219.23	899.23	80.23	89.56	9.60	1465.73
14	AKm60	2.95	201.23	269.23	954.53	78.56	90.01	9.50	1606.01
15	AT011	1.66	177.25	226.69	1,104.78	56.53	69.10	44.04	1680.05
16	PCa69	N.D.	45.23	199.23	1,106.65	60.26	75.65	11.23	1498.25
17	PCm84	N.D.	48.06	206.23	1,095.26	65.46	75.91	13.59	1504.51
18	PC091	N.D.	48.35	207.25	1,160.03	67.56	76.65	15.63	1575.47
19	PG051	5.03	15.23	29.23	115.26	11.46	80.56	N.D.	256.77
20	PC151	5.12	16.54	28.54	195.46	15.02	85.23	N.D.	345.91
21	ROm85	3.53	17.23	30.05	238.16	14.92	345.94	2.95	652.78
22	RSa05	3.46	18.23	29.46	246.19	14.13	346.73	4.05	662.25
23	RS201	3.08	20.9	30.23	258.92	15.97	361.96	3.00	694.06
24	RP211	5.16	20.46	28.46	308.13	16.85	364.46	50.85	794.37
25	LR011	5.91	21.23	30.01	384.46	18.46	359.16	56.46	875.69
26	DH011	6.31	23.08	581.16	2,294.49	81.9	1,651.14	58.87	4696.95
27	ECa44	9.65	48.23	506.23	1,652.13	80.13	593.23	15.82	2905.42
28	EC181	9.06	49.13	546.23	1,534.69	79.32	549.12	15.23	2782.78
29	SCa08	5.26	45.23	60.26	499.53	45.23	80.13	11.23	746.87
30	BSa49	5.13	49.23	59.41	498.32	44.23	79.23	N.D.	735.55
31	BSa25	6.23	35.16	58.13	501.49	50.23	80.30	N.D.	731.54
32	BSa50	N.D.	36.78	56.23	507.43	55.28	81.89	4.90	742.51
33	BSa69	N.D.	30.23	56.23	501.23	49.23	79.99	N.D.	716.91
34	LMa44	15.05	35.46	999.99	2654.23	264.23	1955.23	71.26	5995.45
35	LMa17	13.23	38.23	1000.23	3546.23	205.23	2046.16	69.53	6918.84
36	LMa52	15.73	39.21	1,077.03	3,759.29	255.67	2,206.97	73.17	7427.07
37	LBa53	13.32	30.23	753.46	3,052.33	205.23	2,013.23	50.23	6118.03
38	LBa21	14.37	31.19	797.81	3,292.68	245.87	2,055.11	58.6	6495.63
39	LPa51	14.02	31.00	458.13	2654.12	213.12	1983.16	49.23	5402.78
40	MPt20	16.23	40.23	985.23	1056.23	302.23	80.23	40.23	2520.61
41	MRa66	17.23	41.23	952.23	1156.23	299.23	79.23	35.26	2580.64

* N.D. : Not Detected
 Fermentation period: (3) 3week,d.

(7) 유리당 함량

- 발효식품 유래 균주 집종을 통해 제조된 미생물발효차 추출물의 유리당 함량은 Fucose, Rhamnose, Galactose, Glucose, Mannose, Fructose, Ribose 등의 7가지 당이 확인되었고, 유리당 중 Glucose, Galactose의 함량이 다른 5가지의 당에 비해 높은 함량을 나타냈다. 또한 젖산균과 효모를 배양하였을 때 상대적으로 높게 나타났다.

3. 전통발효식품 유래 종균과 미생물발효차 유래 종균을 이용한 한국형 미생물발효차의 생산기술 개발

- 지금까지 연구 결과, 국내외 미생물발효차로부터 선발한 균주와 한국 전통식품 유래의 균주로부터 선발한 균주를 사용하였을 때 품질이 뛰어난 발효차를 생산할 수 있음이 확인되었다. 따라서 본 연구에서는 한국산 미생물발효차의 산업화를 위한 최적의 균주 조합을 선발하여 외국산과 차별화된 고품질의 제품을 개발하고자 하였다.

1) 미생물발효차 및 전통발효식품 유래 균주를 이용한 최적 발효공정 개발

(1) 발효차 및 전통발효식품 유래 균주의 혼합에 따른 품질향상 가능성 검토

- 미생물발효차 유래의 균주와 전통발효식품 유래 균주제조 발효차와 발효차 유래 균주제조 발효차의 혼합에 따른 관능적 품질 향상 가능성을 확인하고자 국내외 미생물발효차로부터 유래된 균주의 혼합액을 접종하여 제조된 미생물발효차 중 관능특성이 우수했던 2종의 시료[MSI-A, MSI-D]와 전통발효식품유래 균주를 각각 접종하여 제조한 미생물발효차를 혼합한 후 관능특성을 평가하였다.
- 그 결과(표 3-1), 전통발효식품 유래 균주로 제조된 발효차와 기존의 발효차 유래 균주로 제조된 발효차를 적정비율로 혼합하였을 때(MSI-A+BSa49+BSa50+LBa53+SCa08+ANa80+AOhj01+ROm85 또는 MSI-D+BSa49+BSa50+LBa53), 기존의 발효차 유래 균주만을 이용하여 제조한 발효차(MSI-A, MSI-D)보다 월등히 좋은 평가를 얻어 이들의 혼합이 관능특성에 미치는 영향이 큰 것으로 판단되었다.
- 따라서, 전통식품 유래 미생물과 미생물발효차 유래의 균주를 혼합함으로써 관능적 특성이 보다 향상된 우수한 미생물발효차 제조가 가능한 것으로 확인되었다.

표 3-1. 전통발효식품 유래 균주의 접종을 통해 제조된 미생물발효차의 혼합조성에 따른 관능특성

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
MSI-A+BSa49+BSa50+LB53 ¹⁾	7.00±2.06 ^a	6.11±1.53 ^{ab}	5.56±1.81 ^{cd}	5.67±1.73 ^{cd}
MSI-A+BSa49+BSa50+LB53+SCa08+ANa80+AOhj01+ROm85 ²⁾	8.44±2.00 ^a	7.11±1.90 ^a	8.22±1.78 ^a	9.11±1.45 ^a
MSI-D+BSa49+BSa50+LB53 ³⁾	7.89±1.87 ^a	7.33±1.65 ^a	7.33±0.70 ^{ab}	8.78±1.09 ^a
MSI-D+BSa49+BSa50+LB53+SCa08+ANa80+AOhj01+ROm85 ⁴⁾	7.09±1.05 ^a	6.78±1.98 ^a	7.00±1.65 ^{abc}	8.22±1.30 ^{ab}
MSI-A ⁵⁾	5.00±0.00 ^b	5.00±0.00 ^b	5.00±0.00 ^d	5.22±1.92 ^d
MSI-D ⁶⁾	4.89±2.52 ^b	6.11±1.45 ^{ab}	5.56±1.66 ^{cd}	5.22±0.97 ^d

MSI-A: AN092 + AF212 + PC091 + RS201

MSI-D: AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011+AF212+PG051+PC151+RP011+CT181

¹ MSI-A(50%) + BSa49(12.5%) + BSa50(25%) + LB53(12.5%)

² MSI-A(33.6%) + BSa49(8.3%) + BSa50(16.6%) + LB53(8.3%) + SCa08(8.3%) + ANa80(8.3%) + AOhj01(8.3%) + ROm(8.3%)

³ MSI-D(50%) + BSa49(12.5%) + BSa50(25%) + LB53(12.5%)

⁴ MSI-D(33.6%) + BSa49(8.3%) + BSa50(16.6%) + LB53(8.3%) + RS201(4.1%) + RP211(4.1%) + DH011(4.1%) + SCa08(4.1%) + ANa80(5.6%) + AOhj01(5.6%) + ROm85(5.6%)

⁵ MSI-A(3) (100%)

⁶ MSI-D(3) (100%)

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c
Fermentation period: (3) 3week

(2) 미생물발효차와 전통발효식품 유래 균주의 선발

- 국내·외 미생물발효차로부터 분리한 균주 중 선발된 미생물을 대상으로 발효차 제조 적용실험을 진행한 현재까지의 연구결과를 종합하여, 기능성과 품질이 뛰어난 발효차를 제조할 수 있다고 판단되는 총 10종의 균주조합(Base F)과 15종의 균주조합(Base T)을 최종 선발하였다.
- 또한, 한국 전통식품 유래의 균주 중 기능성과 품질을 향상 시킬 수 있다고 판단되어 선발한 균주들을 대상으로 세균의 조합인 S1(BSa49+BSa50+LBa53), 곰팡이와 효모의 조합인 S2(ANa80+AOhj01+ROm85), 미생물발효차에서 선발된 균주와 같은 종에 포함되는 균주 중 의미 있다고 판단되는 균주의 조합인 F1(AFa89+PCa69+RSa05+RSm86+MRa66)을 최종 선발하였다(표 3-2).

표 3-2. 최종 선발된 미생물발효차와 발효식품 유래의 균주 리스트

조합명	균주명	균주수	유래
Base T	AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011+AF212+PG051+PC151+RP011+CT181	15	미생물발효차
Base F	AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011	10	미생물발효차
S 1	BSa49+BSa50+LBa53	3	전통식품
S 2	Na80+AOhj01+ROm85S+Ca08	4	전통식품
F 1	AFa89+PCa69+RSa05+RSm86+MRa66	5	전통식품

(3) 미생물발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 이용한 미생물발효차의 제조

- 먼저 분말 녹차를 과립으로 제조한 후 각각의 선발된 균주를 배양하여 제조한 스타터를 제조한 후, 이들을 혼합하여 접종 균주별에 따라 각각의 조합을 제조하였다. 이어, 5월 채취한 국내산 찻잎을 이용하여 제조한 모차에 물을 가하여 수분함량을 45%로 조정한 후 각 균주 조합에 따른 스타터를 접종하였다. 발효온도는 FHC1~4와 HBT, HBF, N3(고온발효)의 경우 30℃+45℃에서, FLC1~4(저온발효)의 경우 25℃+40℃에서 1주일 간격으로 각 온도에서 발효한 후 다시 혼합하는 방식으로 5주간 발효하였다. 발효가 끝난 시료는 포자를 제거한 후 건조한 황토방에서 6개월간 숙성시킨 후 평가에 사용하였다.
- 발효차 시료 MC1~4는 멸균과정을 거친 5월 모차에 멸균수를 가하여 수분함량을 45%로 조절한 후 각각의 균주를 접종하여 5주간 발효시켜 제조한 각각의 발효차를 균주 조합에 근거하여 혼합하여 제조하였다(표 3-3).

표 3-3. 미생물발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 이용하여 제조한 미생물 발효차 리스트

시료명	접종균주	발효온도	제조방법
FHC1	Base T + S1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
FHC2	Base F + S1 + S2	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
FHC3	Base T + S1 + S2 + F1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
FHC4	Base F + S1 + S2 + F1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
FLC1	Base T + S1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
FLC2	Base F + S1 + S2	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
FLC3	Base T + S1 + S2 + F1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
FLC4	Base F + S1 + S2 + F1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
HBT	Base T	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
HBF	Base F	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
M3	S1 + S2 + F1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
MC1	Base T + S1	균주별 최적생육온도	개별균주접종 5주발효 후 혼합
MC2	Base F + S1 + S2	균주별 최적생육온도	개별균주접종 5주발효 후 혼합
MC3	Base T + S1 + S2 + F1	균주별 최적생육온도	개별균주접종 5주발효 후 혼합
MC4	Base F + S1 + S2 + F1	균주별 최적생육온도	개별균주접종 5주발효 후 혼합

Base T(발효차 유래 균주 15종): AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011+AF212+PG051+PC151+RP011+CT181

Base F(발효차 유래 균주 10종): AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011

S1(전통식품 유래 균주 3종, 세균): BSa49+BSa50+LBa53

S2(전통식품 유래 균주 4종, 곰팡이+효모): Na80+AOhj01+ROm85S+Ca08

F1(전통식품 유래 균주 5종, 곰팡이): AFa89+PCa69+RSa05+RSm86+MRa66

(4) 미생물발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 이용한 제조된 미생물발효차의 관능적 품질 특성

가. 접종균주에 따른 미생물발효차의 관능적 품질 특성

- 5월에 채취한 찻잎으로 제조한 모차에 미생물발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 접종, 발효하여 제조한 미생물발효차 11(FHC1~4, FLC1~4, HBT, HBF, N3) 종의 시료에 대하여 관능평가를 실시하였다. 그 결과(표 3-4), 발효차 유래 혼합균주 15종(Base T) 또는 10종(Base F)에 전통식품 유래 혼합균주를 모두 합하여(S1 + S2 + F1) 접종한 발효차(FHC3, FHC4, FLC3, FLC4)가 다른 발효차 시료보다 뛰어난 것으로 나타났다. 또한 이들 발효차는 발효차 유래 또는 발효식품 유래 혼합균주만을 접종한 시료(HBT, HBF, M3) 보다 월등히 좋은 평가를 받았다. 발효방식은 저온발효(FLC3, FLC4)보다 고온에서 발효시킨 시료(FHC3, FHC4)의 평가가 높았으

며 높은 평가를 받았던 발효차 유래 균주 15종을 포함하는 FHC3 시료와 발효차 유래 균주 10종을 사용한 FHC4 시료는 서로 우열을 가리기가 어려웠다.

표 3-4. 미생물발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 이용하여 제조한 미생물발효차의 관능특성

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
FHC1	6.09±2.67 ^{abc}	8.02±1.73 ^a	6.64±0.83 ^{abc}	5.53±1.73 ^{abc}
FHC2	5.53±0.48 ^{abc}	8.30±1.66 ^a	7.47±2.20 ^{ab}	5.53±0.48 ^{abc}
FHC3	7.75±0.48 ^{bc}	9.96±0.00 ^a	8.85±1.27 ^{ab}	9.13±0.80 ^c
FHC4	7.47±4.31 ^{bc}	9.41±0.48 ^a	9.41±0.96 ^{abc}	9.13±1.44 ^c
FLC1	3.04±0.96 ^a	4.15±2.49 ^a	3.60±1.27 ^a	3.32±0.83 ^{ab}
FLC2	3.60±0.48 ^a	5.26±1.27 ^a	4.70±0.48 ^a	3.32±1.44 ^{ab}
FLC3	8.30±1.66 ^c	7.47±1.44 ^a	8.30±1.66 ^{ab}	8.58±1.27 ^{bc}
FLC4	8.30±1.44 ^c	6.64±0.83 ^a	7.75±1.27 ^{ab}	7.75±0.96 ^{abc}
HBT	2.67±1.15 ^a	4.00±2.65 ^a	4.00±2.65 ^a	4.00±2.65 ^a
HBF	2.33±2.31 ^a	3.33±1.53 ^a	4.00±1.00 ^a	3.00±0.00 ^a
M3	6.83±0.00 ^{abc}	5.00±1.00 ^a	5.23±1.73 ^a	5.67±0.58 ^a

- FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 HBT: Base T(발효차 유래 균주 15종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 HBF: Base F(발효차 유래 균주 10종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 M3: S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

나. 균주혼합 발효방식과 개별 균주 발효 후 혼합에 따른 관능적 품질 평가

- 한편, 균주를 혼합한 후 접종하여 발효시켜 제조한 차(FHC1~4)와 균주를 개별 접종하여 각각의 발효차를 제조한 후 이를 혼합하여 제조한 발효차(MC1~4) 간의 관능적 차이를 평가한 결과(표 3-5), 두 균간의 차이를 발견하기가 어려웠다.
- 그러나, 균주를 개별 접종하여 각각의 발효차를 제조할 때, 서로 교차오염의 빈도가 높아 현장에서 활용하기가 쉽지 않다고 판단되었다. 따라서 현장 상황을 고려할 때 균주를 혼합하여 접종하는 방식이 현 단계에서는 바람직한 방식으로 생각되었다.

표 3-5. 균주혼합 발효방식으로 제조한 발효차와 개별 균주 발효 후 혼합하여 제조한 발효차의 관능적 평가

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
FHC1	7.86±1.34 ^a	6.43±2.14 ^a	5.86±1.57 ^{ab}	6.57±1.61 ^a
FHC2	7.57±0.97 ^a	6.57±1.27 ^a	4.71±1.38 ^a	6.17±1.47 ^a
FHC3	8.30±1.05 ^a	7.14±0.90 ^{ab}	7.30±1.63 ^b	8.67±1.41 ^b
FHC4	8.10±0.69 ^a	8.00±1.52 ^b	7.20±1.61 ^b	8.00±0.51 ^b
MC1	7.43±1.71 ^a	5.86±1.95 ^a	6.00±2.30 ^{ab}	7.00±0.82 ^{ab}
MC2	7.14±1.46 ^a	5.00±2.51 ^a	6.14±2.19 ^{ab}	7.67±0.73 ^{ab}
MC3	8.00±1.24 ^a	7.60±0.96 ^{ab}	7.70±1.08 ^b	8.17±1.72 ^b
MC4	7.30±1.49 ^a	7.65±1.49 ^{ab}	7.70±1.25 ^b	8.76±1.67 ^b

FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

MC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

MC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

MC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

MC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

다. 제품화 대상 제품 결정을 위한 기술이전 기업의 관능적 품질평가

- 제품화 대상 제품을 결정하기 위해, 지금까지의 연구 결과를 바탕으로 관능적 품질이 뛰어난 발효차를 제조할 수 있다고 판단된 제조방법(FHC1~4)을 대상으로 기술이전 대상 기업으로 결정된 보성발효차 영농조합의 발효차 제조 공장에서 직접 발효차를 제조한 후 조합원들을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 또한, 대조구로는 현재 세계적으로 가장 널리 판매되고 있는 중국산 보이차(D사) 제품을 사용하여 비교하였다.
- 그 결과(표 3-6), FHC3와 FHC4의 제품에 대한 평가가 중국 보이차보다 월등히 높아 산업적 가치가 높다는데 의견을 같이 하였다. 또한, FHC3와 FHC4 제품에 대해서는 서로 이견이 있었으나 FHC3의 경우 전통적인 중국 보이차와 비슷한 느낌이 있어 중국 보이차에 익숙한 사람들에게 선호도가 높으며, FHC4의 경우 보다 대중적 친화적인 느낌이 있다는 데에 의견이 모아졌다. 이에 따라 우선 FHC4를 상품화하고 이후에 FHC3 제품을 상품화하기로 최종 결정되었다.

표 3-6. 기술이전 기업을 대상으로 한 관능적 품질평가 결과

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
FHC1	5.0±2.76 ^a	4.3±3.20 ^{ab}	4.7±2.42 ^a	4.3±1.03 ^a
FHC2	6.7±3.27 ^{ab}	7.0±2.10 ^{bc}	6.3±1.97 ^{ab}	7.3±3.01 ^b
FHC3	7.7±1.51 ^{ab}	9.0±1.10 ^c	7.2±3.37 ^{ab}	9.0±1.10 ^b
FHC4	8.7±3.27 ^b	9.7±3.20 ^a	8.3±1.97 ^b	9.7±1.97 ^b
중국보이차(D사)	7.3±1.36 ^{ab}	7.3±2.07 ^{bc}	6.0±1.79 ^{ab}	7.0±1.67 ^b

FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

2) 개발된 발효차의 이화학적 특성 및 성분 분석

(1) Theaflavin 및 Thearubigin 함량

- 차잎중의 색소는 지용성색소와 수용성 색소로 나누는데 함량은 마른 차잎 중에 1%정도로 차지한다. 마른 차잎의 색을 결정하는 주요성분인 지용성 색소는 물에 용해되지 않은 엽록소, 카로틴 등이 있고, 수용성 색소는 flavinoid류, cyanidin, phenol, 산화물질을 생성시키는 물질은 theaflavin, thearubigin 등이 있다.
- 따라서 미생물발효차의 품질 지표로 탕색에 영향을 미치는 요인 중 하나인 theaflavin 및 thearubigin의 함량을 측정하여 표 3-7에 나타냈다.
균주를 혼합하여 제조한 미생물 발효차 추출물의 theaflavin의 함량은 FHC3균이 증류수 추출물에서 14.32 μ mol/g 가장 높게 나타났다. Thearubigin의 함량 또한 FHC3균의 발효차의 증류수 추출물은 51.30% 가장 높게 나타났으며, MC1균의 발효차 증류수 추출물에서 24.93% 가장 낮은 값을 나타냈다.
- 선행연구의 결과에 의하면 보통 품질이 뛰어난 미생물발효차의 경우, theaflavin을 7~8 μ mol/g 이상, thearubigin이 30% 이상 함유되어 있다고 보고되고 있는데, 본 연구에 의해 최종 개발된 미생물발효차의 경우, theaflavin 10 μ mol/g 이상, thearubigin이 40% 이상 함유되어 있어 품질이 매우 뛰어난 발효차임이 확인되었다.

표 3-7 . Theaflavin와 Thearubigins의 함량

No.	Sample	Theaflavin contents($\mu\text{mol/g}$)	Thearubigins contents(Total %)
1	FHC1	7.93	36.60
2	FHC2	4.70	48.01
3	FHC3	14.32	51.30
4	FHC4	11.14	43.30
5	FLC1	1.59	28.57
6	FLC2	4.78	36.63
7	FLC3	4.76	43.13
8	FLC4	11.15	35.82
9	MC1	6.38	24.93
10	MC2	6.34	29.10
11	MC3	11.04	27.69
12	MC4	6.33	29.89

FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효
 FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효
 FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효
 FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효
 FLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효
 FLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효
 FLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효
 FLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효
 MC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합
 MC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합
 MC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합
 MC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

(2) Gallic acid

- Gallic acid는 미생물발효차에 있어서 카테킨류의 감소와 역행하여 미생물 발효의 진행에 따라 다량 생성되어지는 대표적인 성분 중의 하나로 gallic acid의 형성은 차 폴리페놀 몰식자에스테르가 미생물에 관여한 후 발효 과정중의 분해와 연관이 있는 것으로 알려져 있어 발표정도의 판단지표로 사용할 수 있다.
- 따라서 제도된 발효차의 발효도를 평가하기 위해 제조된 미생물발효차 증류수 추출물의 gallic acid 함량을 측정하였다.
- 그 결과(표 3-8), 전반적으로 고온 발효군(FHC군)이 저온발효군(FLC군) 보다 gallic acid 함량이 높아 발효가 고온발효시 더 활발히 일어남을 알 수 있었으며, 개별발효군(MC군)도 발효가 활발히 일어남을 알 수 있었다. 분석한 발효차 제품 중에는 FHC3, FHC4, FLC3, MC4군의 gallic acid 함량이 높게 나타났다. 특히, 발효차 증류수 추출물의 gallic acid 함량이 27.61 mg/L로 가장 높게 나타났으며, FLC1군을 접종한 발효차의 증류수 추출물은 1.85 mg/L로 가장 낮은 값을 나타냈다.
- 선행연구결과에 의하면 미생물발효차 완성품의 경우, gallic acid 함량이 지나치게 높거나 낮거나 하였을 때 관능적 평가가 좋지 않을 수 있다고 하였으며 gallic acid가 4~40 mg/L 정도 함유되어 있을 때 관능적으로 가장 좋은 평가를 받는다고 보고된 바 있다. 본 연구에 의해 최종 개발된 미생물발효차의 경우, gallic acid 함량이 4~30 mg/L 함유되어 있어 품질이 매우 뛰어난 발효차임이 확인되었다.

표 3-8 . Gallic acid 함량

No.	Sample	Gallic acid contents(mg/L)
1	FHC1	5.53
2	FHC2	4.39
3	FHC3	6.44
4	FHC4	6.35
5	FLC1	1.85
6	FLC2	3.05
7	FLC3	6.37
8	FLC4	2.72
9	MC1	15.58
10	MC2	23.68
11	MC3	26.14
12	MC4	27.61

FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

FLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효

FLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효

FLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효

FLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25°C+40°C) 발효

MC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 개별균주 접종 제조 후 혼합

MC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

MC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

MC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

(3) 유리아미노산

- 차에 함유되어 있는 아미노산은 차의 향과 맛에 관여하는데, 이 중에서도 특히 아미노산 조성이 차의 품질과 맛에 관여한다. 미생물 발효차의 중에서 HBT > M3 > MC4 > FHC4 > FHC3 순으로 각각 20.53mg/g, 13.81mg/g, 4.54mg/g, 4.03mg/g 총 아미노산 함량이 나타났다.

표 3-9. 혼합 균주를 이용한 미생물 발효차의 유리아미노산 함량

Free amino acid	mg/g						
	FHC3	FHC4	MC4	HBT	HBF	M3	
P-Ser	0.32	0.36	0.34	0.87	1.32	1.00	
Tau	0.13	0.16	0.22	0.91	1.27	1.00	
PEA	-	-	-	-	-	-	
Urea	-	-	8.44	-	10.69	-	
Asp	0.33	0.35	0.48	0.64	1.23	0.66	
Thr	0.09	0.10	0.06	0.07	0.16	0.04	
Ser	0.10	0.12	0.13	0.13	0.22	0.11	
Glu	0.27	0.31	0.39	0.96	1.61	7.34	
Sar	0.22	0.28	2.05	9.63	11.55	0.16	
a-AAA	-	-	-	-	-	0.09	
Gly	0.08	0.09	0.05	0.10	0.17	0.23	
Ala	0.27	0.29	0.20	0.22	0.49	0.11	
Cit	-	-	-	0.16	-	0.01	
a-ABA	-	-	-	0.04	0.02	0.13	
Val	0.27	0.39	0.20	0.16	0.62	0.63	
Cys	-	-	-	-	-	-	
Met	-	-	-	-	-	-	
Cysthi	-	-	-	-	-	-	
Ile	0.41	0.59	0.10	0.36	0.72	0.44	
Leu	0.31	0.36	0.11	0.33	0.70	0.25	
Tyr	0.20	0.16	0.19	0.35	0.81	0.12	
Phe	0.27	0.14	0.26	0.28	0.74	0.14	
b-Ala	0.11	0.11	0.15	0.12	0.62	0.28	
b-AiBA	-	-	-	-	0.52	0.23	
g-ABA	0.02	0.02	0.18	0.23	0.52	0.20	
EOH ₂ NH	-	-	-	0.18	0.30	0.13	
NH ₃	0.49	0.55	0.16	1.50	1.40	0.81	
Hyl ₂ s	-	-	-	-	-	-	
Orn	-	-	-	0.35	0.27	0.28	
Lys	0.07	0.08	0.05	0.74	1.05	0.50	
1Mehis	-	-	-	-	-	-	
His	-	-	-	0.08	0.13	-	
3Mehis	-	-	-	-	-	-	
Ans	-	-	-	-	-	-	
Car	-	-	-	-	-	-	
Arg	0.06	0.08	0.05	2.11	2.87	1.90	
Hypro	-	-	-	-	-	-	
Pro	-	-	-	-	0.23	-	
Total	4.03	4.54	13.81	20.53	40.23	16.82	

FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

MC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 접종 발효차 제조 후 혼합

HBT: Base T(발효차 유래 균주 15종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

HBF: Base F(발효차 유래 균주 10종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

M3: S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30°C+45°C) 발효

(4) 향기 성분

- 차를 만드는 과정에서 향기 성분이 변화하여 여러 가지 향기 성분이 조화된 복합적인 향을 만들어내는데, 차의 향기는 휘발성의 화합물로 품종에 따라 다를 수도 있으며 품종이 같아도 생산지나 제조 공정에 따라서도 달라진다. 향기성분 분석 결과(표 3-10), M3 15종, HBT 19종, FHC3, FHCS3, MC4, JHC4, HBF는 23종, FHC4, JHC1은 24종의 향기 성분이 있는 것으로 나타났다.

표 3-10. 혼합 균주를 이용한 미생물 발효차의 향기 성분 함량

Compounds	Unit : peak Area(%)								
	FHC3	FHC4	MC3	MC4	JHC1	JHC4	HBT	HBF	M3
Valproic Acid	12.80	10.27	2.40	1.96	8.05	8.95	0.83	2.17	-
6-Benzylaminopurine	2.40	3.48	1.84	-	-	-	-	-	-
4-Hexen-1-ol	1.25	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Heptanol	10.91	9.53	2.66	4.12	8.62	-	-	3.18	-
1-Hexen-3-yne, 2,5,5-trimethyl-	2.31	-	-	2.50	-	2.64	-	-	-
Benzyl mandelate	2.24	2.34	2.61	3.58	2.02	2.71	-	1.05	-
(n)-Lavandulol	0.91	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanal, 3-methyl-	0.67	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptanal	1.13	-	-	-	-	0.91	-	-	-
Benzaldehyde	1.35	1.63	-	-	-	1.75	-	-	-
Furan, 2-pentyl-	5.93	3.48	1.78	1.44	3.52	6.49	-	-	-
Furan, 2-pentyl-	6.80	5.03	2.31	3.06	5.94	7.93	-	1.50	-
7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane	1.16	-	1.31	-	0.91	-	-	-	-
1-Octen-3-ol	0.56	0.42	-	-	-	-	-	-	-
4-Aminobenzoic acid	0.99	0.68	-	-	-	-	-	3.62	-
3-Carene	1.03	1.05	1.65	0.66	-	-	-	1.28	-
2-Carene	2.30	2.69	2.84	3.41	-	-	-	2.91	-
Nonanal	1.14	-	-	-	-	0.78	-	-	-
1-Octanol	0.82	0.63	1.61	0.61	1.04	0.82	0.65	0.66	-
2-Octanol	0.70	0.62	0.98	1.07	1.25	-	0.97	1.03	0.58
2-Ethyl-1-hexanol	1.46	1.10	1.51	1.57	1.55	2.18	1.71	1.20	1.28
Butylated Hydroxytoluene	2.01	2.00	7.02	8.70	-	3.92	-	-	-
6-Methyl-2-heptanol	1.13	0.93	1.03	0.86	0.81	0.88	1.61	0.96	1.21
3-Ureidopropionic acid	-	0.46	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	-	1.68	-	-	1.71	-	-	2.73	4.29
Guanidine	-	0.56	-	-	-	-	-	-	-
DL-3-Methyl-2-butanol	-	0.90	-	-	-	-	-	-	-
Methylhydroquinone	-	0.75	-	-	-	-	-	-	-
Ethylene oxide	-	0.50	-	-	-	-	-	-	-
Glycerol 1-myristate	-	1.13	-	-	-	-	-	-	-
Methanol-D4	-	0.41	-	-	-	-	-	-	-
4,6-Octadiyn-3-one, 2-methyl-	-	-	0.86	-	-	-	-	-	-
Ethylbenzene	-	-	0.81	-	-	-	-	-	-
1-Hexanone, 5-methyl-1-phenyl-	-	-	0.92	0.50	-	-	-	-	-
2-Decanol	-	-	0.76	-	-	-	-	-	0.58
1-Hexanone, 5-methyl-1-phenyl-	-	-	1.22	-	-	-	-	-	-
1,3,5-Triazine,	-	-	0.89	-	-	-	-	-	-
1,3,5-tricyclohexylhexahydro-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1-Hexanol, 2-ethyl-	-	-	0.81	-	-	-	-	-	-
2,6-Diaminopimelic acid	-	-	1.37	-	-	-	-	0.58	-
Ibuprofen	-	-	1.83	0.88	-	-	-	-	-
Cyclobutene, 2-propenylidene-	-	-	-	2.29	1.74	1.61	1.94	1.97	1.34
5-Hexen-1-ol	-	-	-	0.50	-	-	-	-	-
Cyclopropanemethanol, à-methyl-à-propyl-	-	-	-	0.50	-	-	-	-	-
Sinapic acid	-	-	-	0.56	-	-	-	-	-
Cyclohexanone, 2,2,6-trimethyl-	-	-	-	1.55	-	-	-	-	-
3-Hydroxy-2-butanone	-	-	-	0.49	-	-	-	0.59	-
(Z)-4-Decen-1-ol	-	-	-	0.49	-	-	-	-	-
3-Octanol	-	-	-	0.61	-	-	-	-	-
1-Pentene	-	-	-	-	-	1.65	-	-	-
Hexyl alcohol	-	-	-	-	-	0.88	-	-	-
1-Heptanol	-	-	-	-	1.20	7.38	-	-	-
1,1,1-Tris(hydroxymethyl)propane	-	-	-	-	-	1.50	-	-	-
3-Methyl-1-butanol	-	-	-	-	1.01	0.98	-	-	-
2-Pentanol	-	-	-	-	1.03	0.89	-	-	-
5-Hexen-1-ol	-	-	-	-	-	2.45	-	-	-
2,3-Hexanedione	-	-	-	-	-	0.84	-	-	-
N,N-Dimethylaniline	-	-	-	-	-	0.98	-	-	-
Bicyclo[2.2.1]heptane, 7,7-dimethyl-2-methylene-	-	-	-	-	-	1.56	-	-	-
Prazosin	-	-	-	-	-	-	1.31	-	-
2-Furoic acid	-	-	-	-	-	-	2.19	1.99	1.01
3-Octanol	-	-	-	-	-	-	3.15	-	-
4-Hydroxyphenylacetic acid	-	-	-	-	-	-	0.57	-	-
Malonamic acid	-	-	-	-	-	-	0.71	-	-
3-Aminobutanoic acid	-	-	-	-	-	-	0.50	-	-
Hydrocinnamic acid	-	-	-	-	-	-	0.52	0.96	-
Benzeneacetaldehyde	-	-	-	-	-	-	0.50	-	-
2-Isopropylmalic acid	-	-	-	-	-	-	0.84	-	-
2-Cyclopenten-1-one, 2,3,5-trimethyl-4-methylene-	-	-	-	-	-	-	2.91	-	-
Amfetamine	-	-	-	-	1.21	-	1.71	1.51	1.16
Potassium chlorate	-	-	-	-	-	-	0.49	-	-
1-Butanol, 2,3-dimethyl-	-	-	-	-	-	-	0.58	-	-
Ethanone, 2-(formyloxy)-1-phenyl-	-	-	-	-	1.26	-	-	0.49	-
4-Dimethylaminopyridine	-	-	-	-	-	-	-	1.43	-
2-Phenoxyethanol	-	-	-	-	-	-	-	1.42	-
1,3-Propanediol	-	-	-	-	-	-	-	0.68	-
2-Aminoethyl dihydrogen phosphate	-	-	-	-	-	-	-	0.50	-
Hexanal	-	-	-	-	-	-	-	-	1.58
2-Methyl-1-pentanol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.48
Ethyl pyruvate	-	-	-	-	-	-	-	-	0.62
Phenyl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	0.67
4-Methylcatechol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.95
3-Methylglutaric acid	-	-	-	-	-	-	-	-	0.90
Dextroamphetamine	-	-	-	-	-	-	-	-	1.11
Octane, 4-methyl-	-	-	-	-	1.34	-	-	-	-
1,2-Diamino-2-methylpropane	-	-	-	-	1.65	-	-	-	-
Phencyclidine	-	-	-	-	0.86	-	-	-	-
8-Chloro-1-octanol	-	-	-	-	0.99	-	-	-	-
1-Octen-3-ol	-	-	-	-	1.78	-	-	-	-
5-Methyl-2-hexanol	-	-	-	-	1.35	-	-	-	-
2-Cyclohexen-1-one	-	-	-	-	0.93	-	-	-	-

(5) 색도(a, b값)

- 품질지표 설정을 위하여 관능평가가 끝난 200개의 시료에 대하여 색도(L, a, b값)을 측정하고 관능검사 등급별로 정리하였다. 그 결과(그림 3-1), 보통 L값이 높을수록 평가등급이 높은 편이었으나 정확한 상관관계를 설정하기는 어려웠다. 반면, a값과 b값은 비교적 정확히 그 상관관계가 확인되었다. 최상등급인 A등급의 경우 모든 시료가 a값: 0.01~1.1, b값:6~10의 범주(이때 L값은 45~51)에 속하였으며, 최하등급인 F등급은 a값: -0.15~-0.4, b값:1~2.5의 범주였다.
- 상품화 대상 제품으로 결정된 FHC3과 4의 경우 모두 최상등급인 A등급의 범위 안에 속하여 관능적 품질이 매우 뛰어난 제품임이 확인되었다.

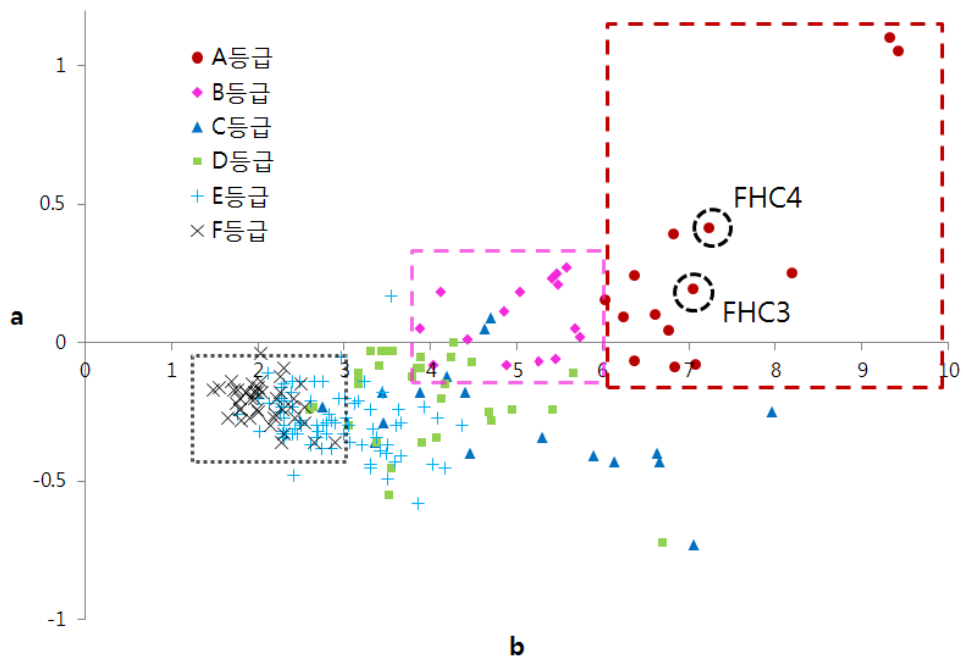


그림 3-1. 탕색에 대한 관능등급과 색도(a, b값)와의 상관관계 및 최종 상품화 제품의 색도

3) 최종 제품의 발효과정 중 pyrosequencing에 의한 미생물의 다양성 분석

- 최종 제품으로 결정된 FHC3 제품을 보성군의 발효차 제조공장에서 생산하면서 발효 과정 중 시료에 대하여 pyrosequencing에 의한 미생물의 다양성 분석을 실시하였다.
- 보성군에서 국내산 모차를 이용해 제조된 미생물발효차에 생육하는 fungi 군집을 Chao 1 richness index에 따라 예측해 볼 때, fungi 종수는 발효 1주째에서 44 OTUs, 발효 3주째에서 95 OTUs, 5주째에서 101 OTUs로 측정되었다. 즉 발효 1주째에서 가장 낮은 세균 종수를 나타냈으며, 발효기간이 경과함에 따라 fungi 군집의 다양성 분포가 증가함을 나타냈다. 또한 Coverage 결과에서도 99.8%로 높은 수치를 나타내 미생물발효차 내 대부분의 fungi 군집이 분석되었음을 확인할 수 있었다(표 3-11).

Table 3-11. fungi diversity indices of a microbial-fermented tea

communities	BS31W	BS33W	BS35W
	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Total reads	6192	13171	12753
Number of reads analyzed	6148	13076	12652
Average length(bp)	354	350	351
Maximum length(bp)	397	422	435
Number of phylotypes			
OTUs	44	95	101
Chao 1 estimation	59	112	116
Shannon index	1.055	2.117	2.270
Simpson index	0.588	0.229	0.270
Coverage(%)	99.8	99.8	99.8

* The operaton taxonomic units (OTUs) were defined by 3% dissimilarity.

- 또한, rarefaction curve 분석 결과로부터 발효기간 별 미생물발효차의 fungi 군집은 total reads(6192-13171)로 나타나 우점종 분석을 위한 분석시료의 대표성을 보였다. 발효 과정 중 미생물발효차 내에 생육하는 fungi 군집의 분석 결과를 살펴보면, 발효 1주째에는 총 2문 5강 5목 7과 10속 23종, 발효 3주째에는 총 3문 6강 6목 7과 9속 21종, 발효 5주째에서는 총 3문 7강 8목 10과 13속 41종으로 확인되었다.

표 3-12 . Phylum-level abundance for fungi communities for fungi communities in fermented tea during fermentation.

Phylum	FHC 3 conditions					
	Fermentation period (week)					
	1		3		5	
	No.	Abund.	No.	Abund.	No.	Abund.
Ascomycota	5928	95.74	13098	99.45	12752	99.78
Mucorales_p	264	4.26	70	0.53	3	0.02
Fungi_uc	0	0.00	2	0.02	0	0.00
Basidiomycota	0	0.00	0	0.00	24	0.19
Total	6192	100.0	13170	100.0	12779	100.0

No. : Number of phylum

Abund. : Abundance (%)

- 미생물발효차에 생육하는 fungi 군집을 문(phylum) 수준으로 살펴보면, Ascomycota, Basidiomycota, Mucorales_p 그리고 미분류된 Fungi_uc 등 총 4문으로 나타났다. 이 중 Ascomycota 1문이 대부분을 차지하였다(표 3-12). 발효기간이 경과함에 따라 미생물발효차 내 fungi 군집을 문(phylum) 수준으로 살펴보면, 발효 1주째에서는 Ascomycota가 전체 95.74%로 발효차내의 거의 대부분을 차지하였으며, 그 다음으로는 Mucorales_p(4.26%) 이었다. 발효 3주째에는 Ascomycota가 발효 1주째보다 증가하였으며, 전체의 98.99%로 발효차내의 거의 대부분을 차지하였다. 발효 5주째에도 Ascomycota가 전체의 99% 이상으로 거의 대부분을 차지하였으며, Basidiomycota와 Mucorales_p는 Ascomycota에 비하면 거의 미비한 수준으로 발견되었다.

표 3-13. Changes of genus-level abundance(%) for fungi communities in fermented tea during fermentation

communities	BS31W	BS33W	BS35W
	Fermentation period (week)		
	1	3	5
Aspergillus	91.99	45.30	73.12
Neosartorya	1.29	52.85	11.67
Gliocladium	1.87	1.24	1.89
Rhizomucor	4.18	0.52	0.02
Penicillium	0.02	0.00	11.33
Alternaria	0.00	0.00	1.11

· 발효 과정 중 미생물발효차에 존재하는 fungi 군집을 속(genus)수준으로 분석하였으며, 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 속들을 표 3-13에 제시하였다. 미생물발효차에서 전체 총균수의 1% 이상으로 존재하는 fungi 군집은 총 6속이었으며, 이 중 *Aspergillus*속, *Neosartorya*속, 그리고 *Penicillium*속이 발효기간이 다른 미생물발효차 내에 많이 분포하고 있어, 미생물발효차에 존재하는 우점속으로 해석되었다. 또한 *Rhizomucor*속, *Gliocladium*속, 그리고 *Alternaria*속이 그 다음을 차지하였다. 발효 과정 중 미생물 발효차에 존재하는 fungi 군집을 속(genus) 수준으로 변화 양상을 분석한 결과, 발효 1주째에는 *Aspergillus* 속이 91.99%로 가장 높았으며, *Rhizomucor*속이 4.18%로 관찰 되었다(표). 발효 3주째에는 *Neosartorya*속이 52.85%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 *Aspergillus*속(45.30%)등의 순으로 총 4속이 존재하고 있었다. 발효 5주째에는 *Aspergillus*속이 73.12%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 *Neosartorya*속(11.67%), *Penicillium*속(11.33%)등의 순으로, 총 6속이 관찰되었다. 미생물발효차 제조 과정 중 우점속으로 나타난 3종의 속들을 대상으로 발효과정 중 그 변화 양상을 보다 면밀히 검토해 보았다. 그 결과, Ascomycota문에 속하는 *Aspergillus*속은 발효 1주째에 가장 많이 존재하고 있었고, 발효 3주째에 감소하였으나 발효 5주째에 다시 증가하여 발효차 내에서 가장 높은 비율을 차지하고 있었다. Ascomycota문에 속하는 *Neosartorya*속은 발효 3주째 급격히 증가 하였으나, 발효 5주째에 다시 감소하였다. Ascomycota문에 속하는 *Penicillium*속은 발효 1주와 3주째까지 0.1% 이하로 낮은 분포를 보였으나, 발효 5주째에 증가하는 경향을 보였다.

4) 개발된 미생물발효차의 기능성 검증

(1) 간세포에서 palmitic acid에 의한 지방간 억제 효과(in vitro)

- 미생물발효차 유래의 균주와 전통발효식품 유래 균주를 혼합 접종하여 제조한 발효차에 대하여 간세포에서 **palmitic acid**에 의한 지방간 억제 효과를 알아보았다. 간의 경우는 최근에 당뇨에서 중요한 역할을 담당하며 지방간에 의한 비만과의 관련성이 많이 보고되고 있고 **palmitic acid**는 비만의 중요한 **factor**인 포화 지방산의 주요한 원인체이기 때문에 이들 체계에서 미생물 발효차의 효능 평가를 실시하는 것은 본 과제와 주요한 기능성인 당뇨 및 비만을 함께 볼수 있는 장점을 가지고 있다.
- 앞의 표 3-2에서 나타낸 바와 같이 5월에 채취한 찻잎으로 제조한 모차에 미생물 발효차와 발효식품 유래의 혼합균주를 접종, 발효하여 제조한 미생물발효차 시료 (FHC1~4, FLC1~4)와 균주를 개별 접종하여 각각의 발효차를 제조한 후 이를 혼합하여 제조한 발효차(MC1~4)에 대하여 간세포에서 **palmitic acid**에 의한 지방간 억제 효과를 알아보았다(그림 3-2과 3-3).
- 그 결과, 중국산 보이차와 5월 찻잎으로 제조한 모차를 이용하여 혼합균주를 접종하여 제조한 미생물발효차의 지방간 예방 효과는 중국산 보이차와 비슷하거나 약간 뛰어난 정도로 관찰되었다. 혼합균주 접종 미생물 발효차 사이에는 미비하나마 고온에서 발효한 **FHC** 계열이 저온에서 발효한 **FLC** 계열에 비하여 조금 더 효과가 높은 경향을 보였다(그림 3-2).
- 반면, 각각의 균주를 접종하여 발효차를 제조한 후 이를 혼합하여 제조한 발효차인 **MC**계열의 국내산 발효차의 경우는 중국산 보이차보다 효과가 강한 것으로 조사되었다(그림 3-3).

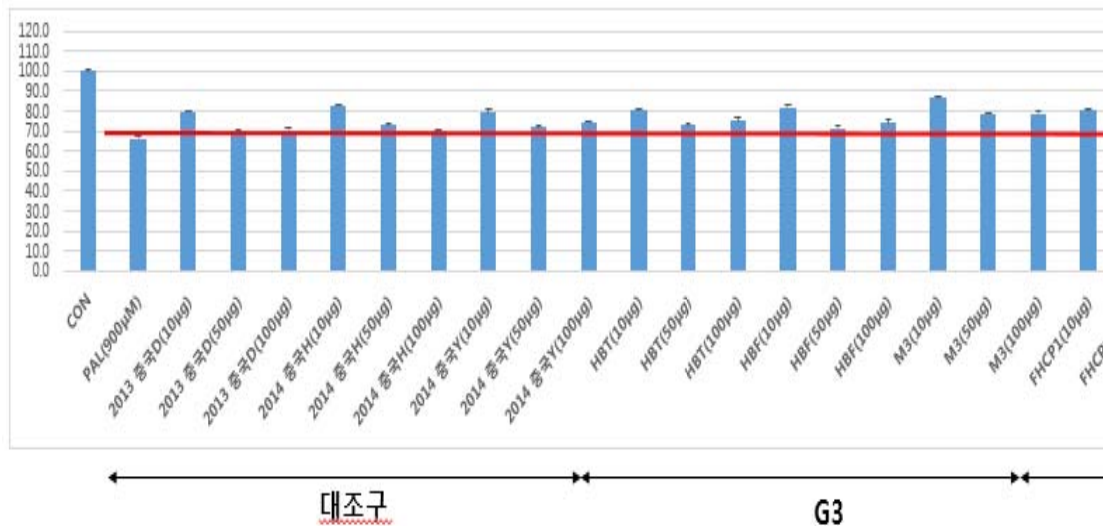
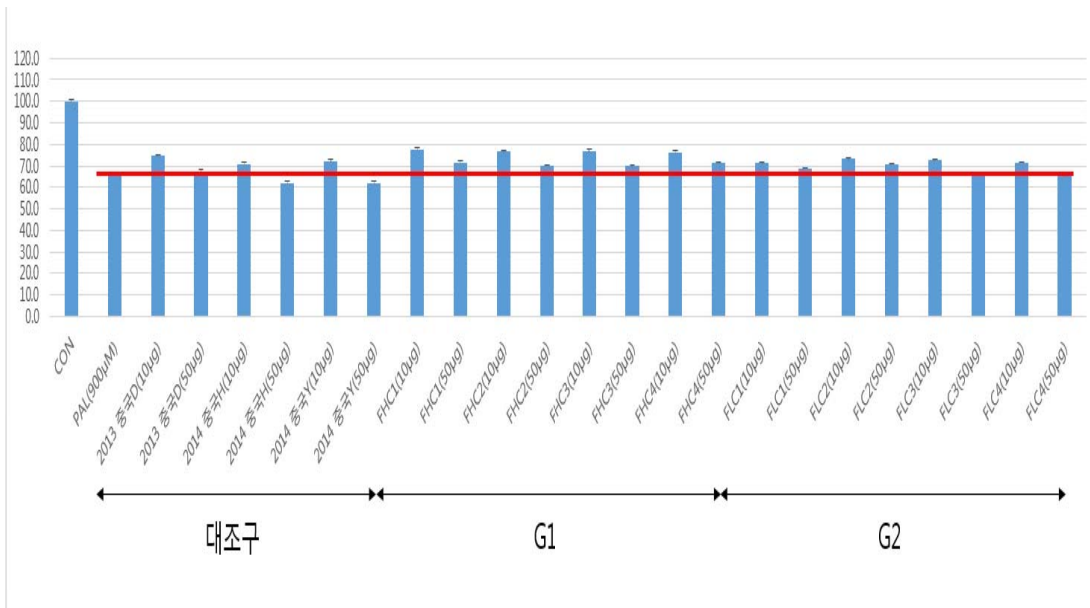


그림 3-2. 중국산 보이차와 미생물발효차 유래의 균주와 전통발효식품 유래 균주를 혼합 접종하여 제조한 미생물발효차의 지방간 예방 효과 비교

- FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- FLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
- FLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
- FLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
- FLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
- HBT: Base T(발효차 유래 균주 15종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- HBF: Base F(발효차 유래 균주 10종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
- M3: S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효

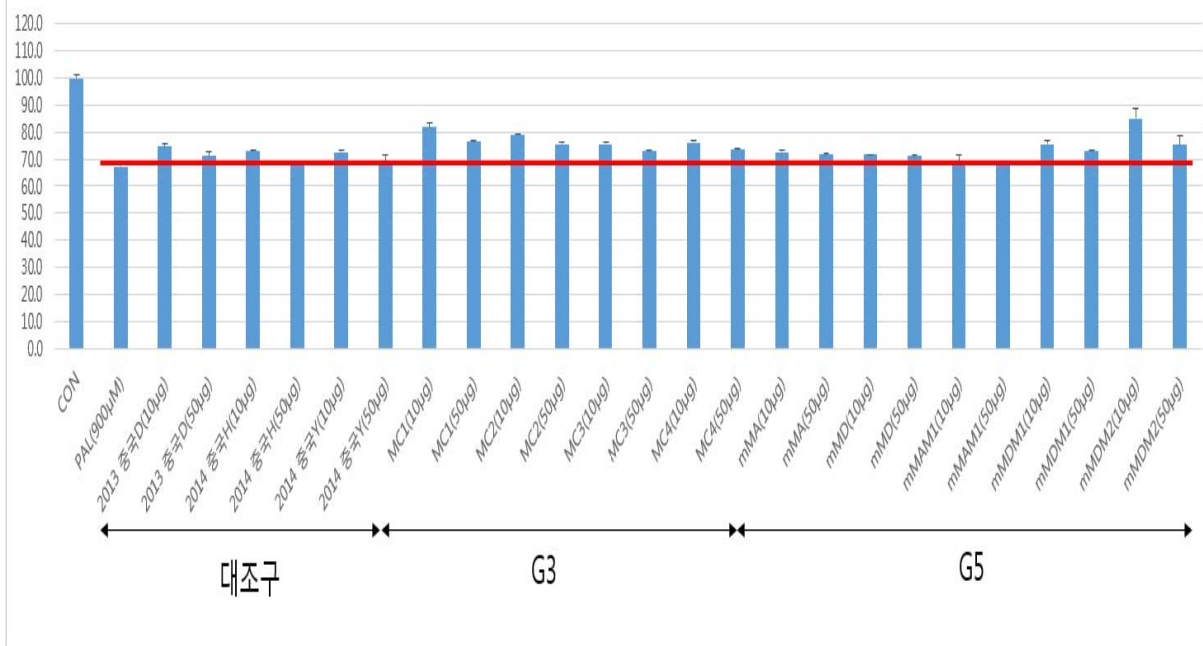


그림 3-3. 중국산 보이차와 균주를 개별 집중하여 각각의 발효차를 제조한 후 이를 혼합하여 제조한 발효차의 지방간 예방 효과 비교 분석

- MC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 개별균주 집중 발효차 제조 후 혼합
- MC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 개별균주 집중 발효차 제조 후 혼합
- MC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 집중 발효차 제조 후 혼합
- MC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 개별균주 집중 발효차 제조 후 혼합

(2) 혼합 균종 미생물 발효차의 고혈당증에 의한 1형 당뇨 예방 효과 (in vivo, 동물실험)

- STZ에 의해 단백질, albumin은 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 감소 하였으며 triglyceride, total cholesterol, SGOT, 및 SGPT는 증가하였다. 이러한 작용은 혼합 미생물 미생물 발효차 1 및 2 투여시 (150 mg/kg) 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(표 3-14).

표 3-14. 개발된 미생물 발효차의 STZ- 유도된 당뇨 rat에서 생리 활성 지표

Parameters	Groups			
	Control	diabetic untreated	Mixed Fermentation Tea1(FHC3) treated diabetic	Mixed Fermentation Tea2(FHC4) treated diabetic
Total protein(g/100ml)	6.45±0.41	5.20±0.44*	6.32±0.42**	6.45±0.52*
Albumin (g/100 ml)	4.32±0.35	2.90±0.35*	3.88±0.31**	3.76±0.36**
triglyceride (mg/100ml)	52.6±7.16	143.5±13.5*	98.1±13.28**	100.4±9.53**
total cholesterol (mg/100ml)	70.3±8.05	161.4±14.42*	104.4±16.2**	109.0±18.3**
SGOT (mU/ml)	24.8±5.05	48.80±5.41*	30.1±3.12**	33.1±3.43**
SGPT (mU/ml)	22.04±3.5	36.3±4.8*	27.2±3.43**	27.9±3.41**

*p<0.05 vs. control, **p<0.05 vs. STZ-induced diabetic alone.

- STZ에 의해 신장 및 간장의 산화성 스트레스 발생에 의해서 야기되는 lipid peroxidation 형성을 측정 한 결과 유의성있게 증가하는 것으로 나타났으며 항산화 효소의 경우는 활성이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 작용은 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(표 3-15).

표 3-15. STZ- 유도된 당뇨 rat에서 간장 및 신장의 TBARS 변화 및 catalase 활성

	Groups			
	Control	diabetic untreated	Mixed Fermentation Tea1(FHC3) treated diabetic	Mixed Fermentation Tea2(FHC4) treated diabetic
Kidney TBARS (nmol/g wet tissue)	1.3±0.21	2.30±0.51*	1.73±0.24**	1.81±0.33**
Liver TBARS (nmol/g wet tissue)	6.04±0.9	15.3±1.8*	10.3±1.34**	10.5±1.63**
Kidney Catalase (Units/mg protein)	35.12±3.31	21.10±3.43*	30.1±3.52**	31.31±3.31**
Liver Catalase (Units/mg protein)	73.28±4.9	51.2±4.6*	68.5±6.12**	66.7±4.7**

*p<0.05 vs. control, **p<0.05 vs. STZ-induced diabetic alone.

- STZ에 의해 신장의 경우에서도 STZ 처리시 신장 피질 부위의 사구체 경화증이 관찰되었으나, 이러한 작용은 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리(150 mg/kg) 시 차단되는 것으로 나타났다. 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다(그림 3-4).

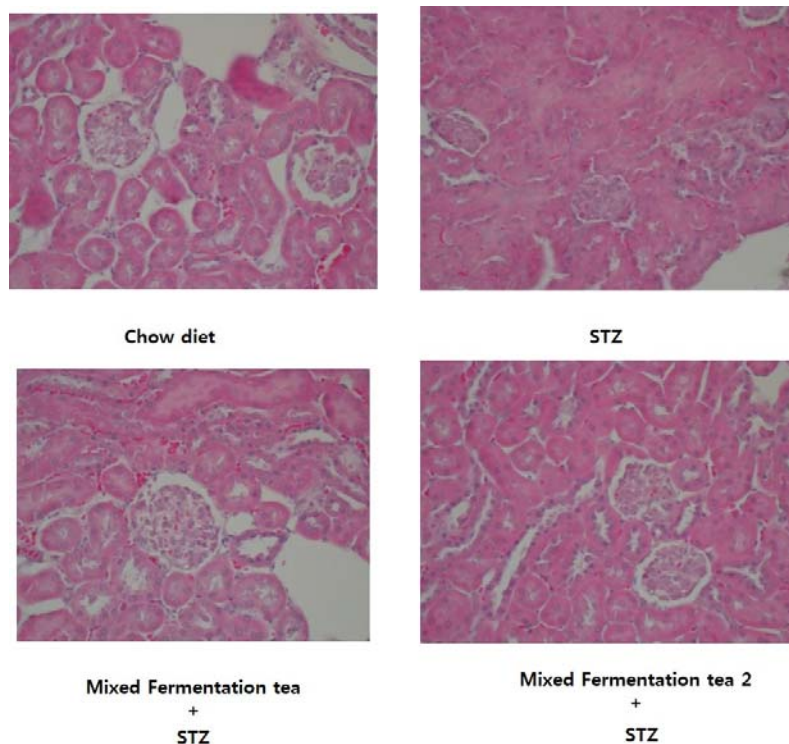


그림 3-4. 개발된 미생물 발효차의 STZ에 의한 신장 사구체 경화증 감소 효과.

- STZ에 의해 신장의 경우에서도 사구체 경화증에 관련된 Collagen IV의 경우 증가 하였으며 이러한 작용은 이러한 작용은 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 차단되었다(그림 3-5). 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax 및 세포 사멸 단백질인 caspase-3의 증가 작용 역시 차단하는 것으로 나타났다(그림 3-6). 양군간의 차이는 인정이 되지 않았다. 이러한 결과들은 생체 실험에서도 1형 당뇨병에 대한 차단 작용이 인정되고 있음을 말해 주고 있다.

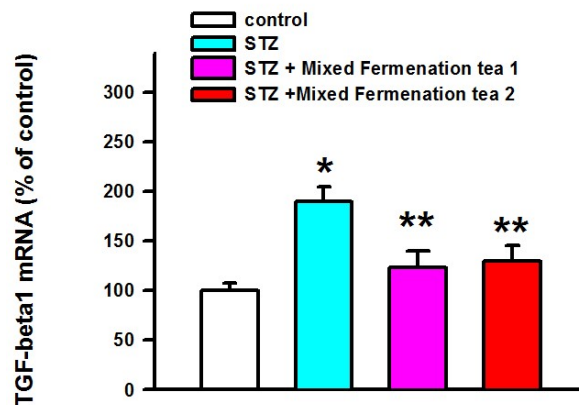
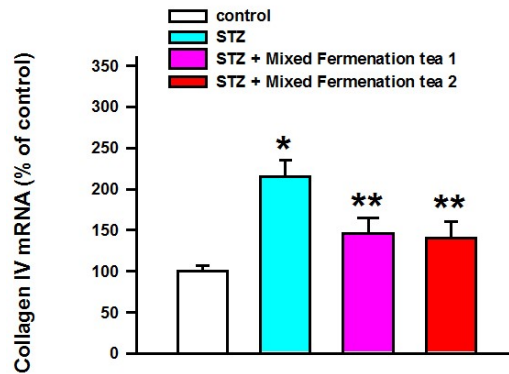


그림 3-5. 개발된 미생물 발효차의 STZ에 의해 유도된 신장에서의 사구체 경화증 및 세포 사멸 관련 단백질 발현 효과

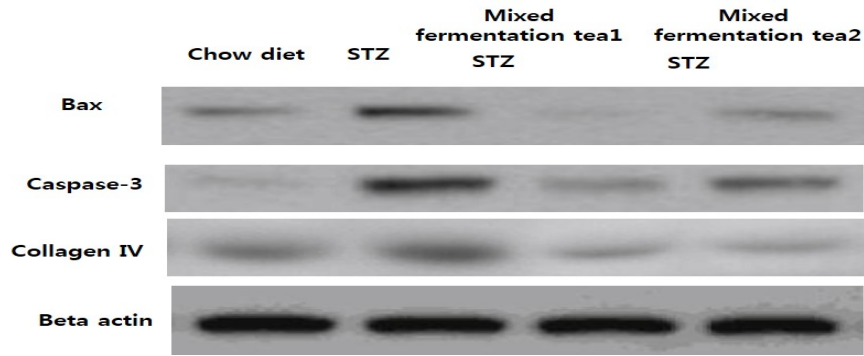


그림 3-6. 개발된 미생물 발효차의 STZ에 의해 유도된 신장에서의 사구체 경화증 및 세포 사멸 관련 단백질 발현 효과

(3) 혼합 균종 미생물 발효차의 고지방 식이에 의한 비만 예방 효과 (in vivo, 동물실험)

- 고지방 식이에 의해서 유도된 약간의 체중 증가 작용은 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 차단되는 것으로 나타났다(그림 3-7).

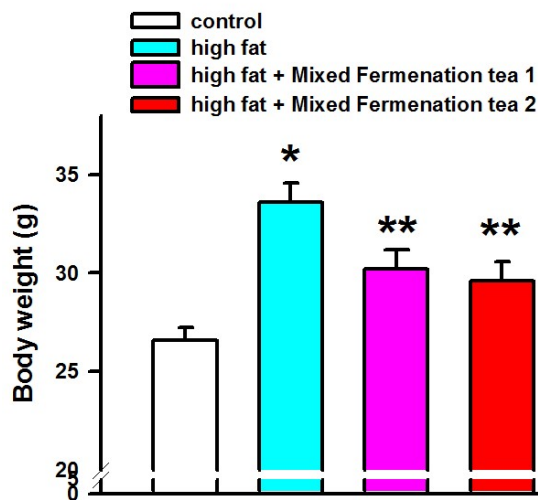


그림 3-7. 개발된 미생물 발효차의 고지방 식이에 의한 체중 감소 효과.

* $p < 0.05$ vs. control, ** $p < 0.05$ vs. high fat alone.

- 고지방 식이에 의해서 유도된 LDL, total cholesterol 및 triglyceride의 경우 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 유의성있게 회복시키는 것으로 나타났다(그림 3-8).

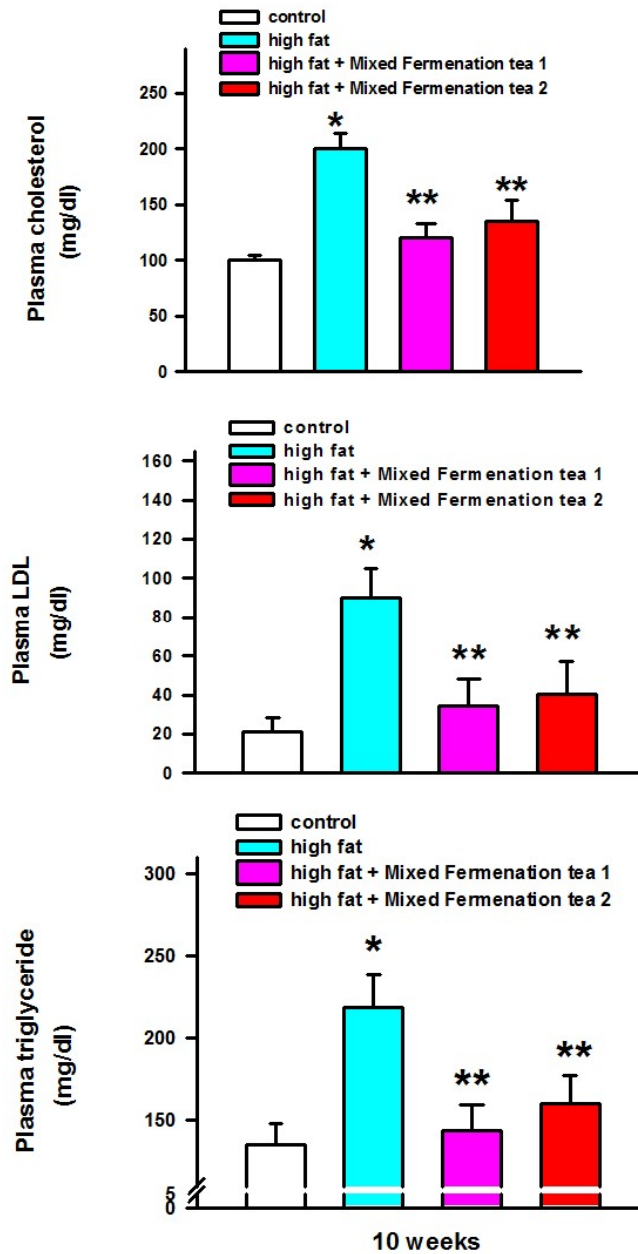


그림 3-8. 개발된 미생물 발효차의 고지방 식이에 의한 혈장 지질단백 차단작용.

- 간장에서 고지방 식이에 의해서 유도된 지방 합성 촉진 관련 유전자 (ACC, FAS)의 경우도 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3 :H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 역시 차단되는 것으로 관찰되었다(그림 3-9).

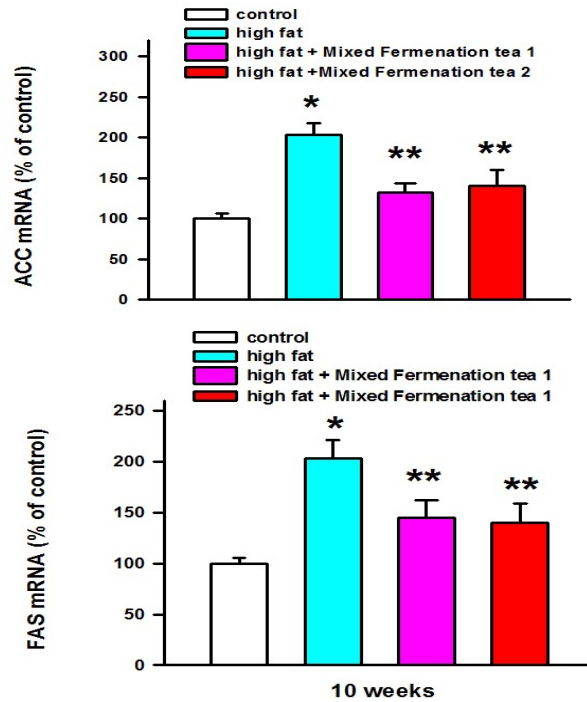
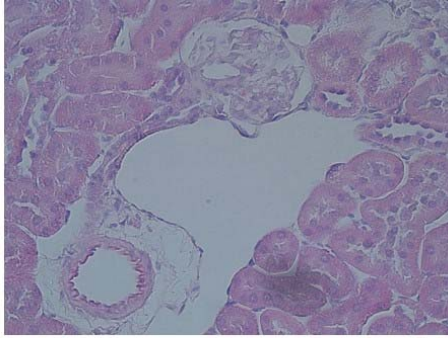
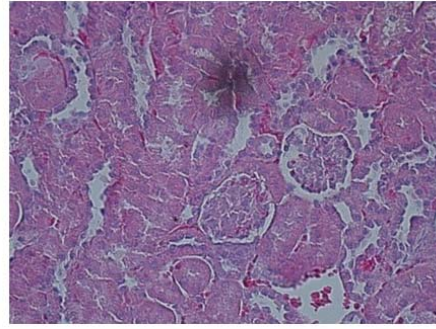


그림 3-9. 개발된 미생물 발효차의 고지방 식이에 의한 지질 합성 유전자 차단작용.

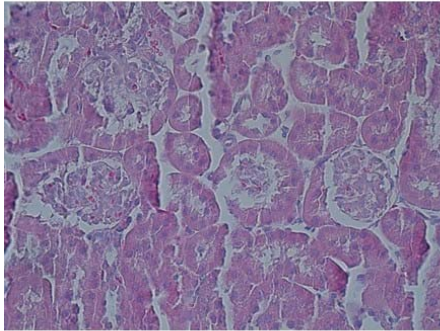
- 신장에서도 역시 고지방 식이시 사구체 경화증이 유도되었으며 혼합 균종 미생물 발효차 1 (FHC3: H3 조건: Base T + S1+ S2+ F1) 및 혼합균종 미생물 발효차 2 (FHC4: H4 조건: Base F + S1 + S2+ F1) 처리 시 회복 되는 것으로 관찰되었다(그림 3-10).



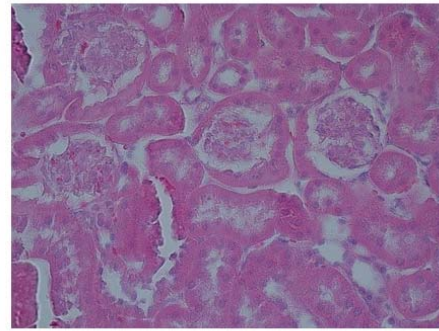
Chow diet



High fat



**Mixed Fermentation tea
+
High fat**



**Mixed Fermentation tea 2
+
High fat**

그림 3-10 고지방 식이에 의한 혼합균종 미생물 발효차의 신장 사구체 경화증 감소 효과.

(2) 인체적용시험 연구 결과: 예비 실험

가. 피험자의 인체적용시험 참여 실태 및 분석대상

- 본 인체적용시험에서 총 10명의 자원자가 서면동의서를 자의적으로 작성한 후 스크리닝 검사를 받았고, 피험자 적합성 평가를 통해 10명이 적격 피험자로 선정되었다. 선정된 피험자는 환으로 만들어진 열수 추출물로부터 동결 건조된 미생물 발효차 (3000 mg/day, 즉 500 mg 타블렛 2알, 하루에 세 번)를 본 인체적용시험에 적용하였다.

나. 피험자의 기본 정보

- 본 연구에 참여한 피험자 10명의 자세한 기본정보를 표 3-16에 요약하였다.

표 3-16. 피험자의 기본정보

	미생물 발효차 군 (n=10)
Age(years)	27.50±4.52
Sex(M/F)	4/6
Height(cm)	166.83±7.84
Weight(kg)	64.30± 7.9
BMI(kg/m ²)	30.45± 4.44
WHR	0.98±0.05

Values are presented as mean±SD

Abbreviation: The BMI is Body mass index. The WC is Waist Circumference. The HC is Hip circumference. The WHR is Waist to hip ratio.

다. 피험자의 진단 검사 의학

본 연구에 참여한 피험자 10명의 진단 검사의학을 실시한 결과 유의성 있는 차이는 인정이 되지 않았다(표 3-17).

표 3-17. 진단검사의학 검사

	미생물 발효차 군(n=10)	
	Screening	Week 6
Δ Hematology		
WBC ($4.8\sim 10.8 \times 10^3/\mu\text{L}$)	7.3 ± 2.7	7.4 ± 1.2
RBC ($4.7\sim 6.1 \times 100^3/\mu\text{L}$)	4.3 ± 0.5	4.4 ± 0.5
Hemoglobin (13~18 g/dL)	13.2 ± 0.9	13.1 ± 0.7
Hematocrit (42~52 %)	40.3 ± 2.5	39.9 ± 2.2
Platelet ($130\sim 450 \times 10^3/\mu\text{L}$)	314.3 ± 30.6	304.7 ± 43.1
Δ Chemistry		
ALP (45~129 IU/L)	62.6 ± 15.6	60.0 ± 8.8
GGT (12~73 IU/L)	28.0 ± 12.9	23.3 ± 15.8
AST (12~33 IU/L)	19.8 ± 1.3	17.5 ± 2.3
ALT (5~35 IU/L)	19.4 ± 5.3	16.2 ± 2.4
Total bilirubin (0.2~1.2 mg/dL)	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.4
Total protein (6.7~8.3 g/dL)	7.4 ± 0.4	7.2 ± 0.3
Albumin (3.5~5.3 g/dL)	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.3
BUN (8~23 mg/dL)	13.4 ± 2.8	12.3 ± 4.1
Creatinine (0.7~1.7 mg/dL)	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2
Glucose (74~106 mg/dL)	93.4 ± 5.6	94.3 ± 5.0
Creatine Kinase (50~200 IU/L)	84.1 ± 20.3	75.3 ± 20.1
LDH (218~472 IU/L)	340.9 ± 29.4	327.5 ± 40.3
Δ Urinalysis		
SG (1.005~1.030)	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
pH (4.5~9.0)	6.4 ± 0.5	6.3 ± 0.7

라. 유효성 평가

- 본 인체적용시험에서 유효성 평가는 피험자 10명을 대상으로 분석하였다. 유효성 평가항목인 신체계측지표와 지질대사지표 변화를 섭취 전·섭취 6주 후 비교하였다.

가) 신체계측 지표

- 시험용제품 섭취 전·섭취 6주 후 피험자들의 신체계측 지표 변화에 대한 분석 결과를 표 3-18에 요약하였다. 분석 결과, 체중, 체질량지수, 허리둘레, 엉덩이둘레, 허리-엉덩이둘레비 모든 항목에서 수치상으로는 감소한 경향을 보였지만 시험용제품 섭취 전·섭취 6주 후 의미 있는 변화가 없었다($P>0.05$). 이는 향후 실험 샘플수를 늘리고 place bo 효과등을 적절히 조절한다면 비만 억제 효과에 유의한 결과를 낼수 있는 가능성을 시사해 주고 있다.

표 3-18 미생물 발효차 섭취 전·섭취 6주 후 신체계측 지표

	미생물 발효차 처리군 (n=10)	
	week 0	week 6
Weight (kg)	64.30± 5.9	60.43± 4.72
BMI (kg/m ²)	31.45± 5.44	28.62±4.84
Waist circumference (cm)	95.10±5.25	96.02±5.20
Hip circumference (cm)	104.21±4.47	103.38±3.34
WHR	0.98±0.05	0.94±0.05

Values are presented as mean±SD

Abbreviation: The BMI is Body mass index(체질량지수). The WC is Waist circumference. The HC is Hip circumference. The WHR is Waist to hip ratio(허리-엉덩이둘레비).

나) 지질대사지표

- 시험용 제품 섭취 전· 섭취 6주 후 피험자들의 지질대사지표 변화에 대한 분석 결과를 표 3-19에 요약하였다. 분석 결과, Total Cholesterol과 LDL-cholesterol은 감소하는 것으로 관찰되었다.
- Total cholesterol 및 LDL-cholesterol 수치는 섭취전에 비해 유의성있게 감소하는 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$). 이에 반해 triglyceride 및 HDL-cholesterol의 수치는 유의성있는 차이는 인정이 되지 않는 것으로 확인되었다. 이는 향후 실험 샘플수를 늘리고 place bo 효과등을 적절히 조절한다면 비만 억제 효과에 유의한 결과를 낼수 있는 가능성을 시사해 주고 있다.

표 3-19. 미생물 발효차 섭취 전 · 섭취 6주 후 지질대사지표 변화

	미생물 발효차 군 (n=10)	
	week 0	week 6
Total Cholesterol(mg/dL)	146.40± 11.72	120.20±11.20*
Triglyceride(mg/dL)	110.00± 23.44	115.00±22.92
HDL-cholesterol(mg/dL)	49.40± 6.23	50.34±7.54
LDL-cholesterol(mg/dL)	113.25± 10.70	87.80± 13.50*

마. 안전성 평가

가) 활력징후

- 시험용제품 섭취 전 · 섭취 6주 후 활력징후 변화에 대한 분석 결과를 표 3-20에 요약하였다. 분석 결과, 모든 항목이 시험용제품 섭취 전 · 섭취 6주 후 의미있는 변화가 없었다.

표 3-20. 시험용제품 섭취 전· 섭취 6주 후 활력징후

	미생물 발효차 군 (n=10)	
	week 0	week 6
SBP (mmHg)	113.60±10.14	115.20±12.96
DBP (mmHg)	80.20±8.20	82.57±7.30
Pulse (회/분)	72.00±7.44	71.20± 4.85

Values are presented as mean±SD

¹⁾Analyzed by Wilcoxon signed-rank-test

Abbreviation: SBP is Systolic blood pressure. DBP is Diastolic blood pressure.

- 비만관련 지표에는 체질량지수(body mass index: BMI), 체지방량(%), Percent Body Fat: %BF), 허리둘레(WC), 허리엉덩이 둘레비율(waist/hip ratio: WHR) 등이 있는데) 외래에서 간편하게 신체 계측을 통해 측정할 수 있는 체질량지수와 허리둘레가 주로 사용되어지고 있다. 본 실험에서는 체질량 지수등에 대한 변화는 인정이 되지 않는 것으로 관찰되었다.
- 비만기준으로 체질량지수를 사용하는 경우 혈중 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 미생물 발효차 혼합 미생물발효차에 의해서 total cholesterol 및 LDL 수치는 감소하는 것으로 관찰되었다.
- LDL은 간이나 장의 콜레스테롤을 조직으로 운반하는 지단백질의 한 부분으로 분류되어 있다. apolipoprotein B-100과 Apo E, 비타민 E 및 카로티노이드와 같은 항산화 비타민을 포함하고 있으며 조직세포에서 세포막, 호르몬을 합성 또

는 저장한다. LDL은 세포막에 있는 수용체와 결합하여 세포내로 운반되며 리소좀에서 가수분해 되는데, 수용체에 이상이 생기면 선천성 고콜레스테롤 혈증을 유발하게 된다. LDL은 나쁜 콜레스테롤이라고 보고되어 있으며, 콜레스테롤을 많이 함유하고 있으므로 혈액 내에 증가하게 되면 관상동맥질환과 심장발작의 위험이 높아질 수 있다.

- HDL(고비중리 포단백)에 포함되는 콜레스테롤을 말하는 것이고 측정은 혈장 또는 혈청에서 HDL을 분획하며 이어서 그 분획의 콜레스테롤을 측정한다. HDL-C의 평균치는 20~50세의 남성의 경우 43~45mg/dl, 같은 연령의 여성의 경우에는 51~58mg/dl. HDL-C가 낮은 자(남성 40mg/dl 이하, 여성 45mg/dl 이하)는 관상질환발생율이 명백히 높다. HDL-C는 항동맥경화작용이 강한 것으로 생각되고, 저치는 동맥경화의 위험을 암시하는 것으로 주목되고 있다. 이러한 HDL은 콜레스테롤 등의 지방 수송 기능을 하는데, 간으로부터 조직으로 콜레스테롤을 보내는 역할을 하는 LDL과 달리, HDL은 동맥혈관 벽을 포함한 여러 세포에 존재하는 지방과 콜레스테롤을 간으로 이동시킨다. 본 연구에서는 미생물 발효차를 섭취하였을 때
- 비만 환자들에게서 HDL 수치가 낮아지는데, HDL을 높이면 HDL은 골격근의 포도당 흡수를 증가시킨다(Barter, 2013). 더욱이 고지방식이를 한 쥐에 HDL을 혈관에 주입하면, 염증의 감소와 더불어 인슐린 감수성이 개선되고, 간에서 지방 합성관련 유전자들의 발현이 억제된다고 보고되었다(McGrath, 2013). 하지만 본 실험에서는 HDL에 대한 영향은 없는 것으로 관찰되었다.
- 따라서 혼합 미생물 발효차 섭취에 의해 감소하는 LDL 수치는 심혈관계의 건강에 도움이 될 뿐 아니라, 인슐린 감수성 증가에 따른 대사성 질환 개선까지 유익한 기능을 할 것으로 예상된다.

바. 인체 실험 결론 및 고찰

- 본 인체적용시험은 체지방 감소에 대한 혼합 균종 미생물 발효차의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 단일군, 탐색적 연구이다.
- 본 인체적용시험의 중간분석 결과, 미생물 발효차가 비만 피험자에서 신체계측지표에 있어서 개선 효과를 확인하지 못하였으나 지질대사지표에 있어 간이인체적용시험으로서 피험자 수가 적고 중간 분석임에도 불구하고 LDL 및 cholesterol을 감소시키는 유효성 있는 결과를 나타냈다. 이는 향후 실험 샘플수를 늘리고 placebo 효과등을 적절히 조절한다면 비만 억제 효과에 유의한 결과를 낼 수 있는 가능성을 시사해 주고 있다. 향후 미생물 발효차 섭취 후, total cholesterol 및 LDL-cholesterol 감소 등의 지질대사 지표에 대한 결과에 있어 유의미한 결과가 기대된다.

4. 재고차를 이용한 발효차 생산 기술 개발

1) 두물차(재고차)를 이용한 부분발효차와 발효차 개발

(1) 두물차 이용 부분발효차와 발효차 제다공정 개발

가. 홍차 제다공정 개발

- 전날 채취한 두물차 잎을 햇볕이 나는 오전 9시부터 3시간동안 20분 간격으로 일광위조한 다음 실내에서 위조하였다. 일광과 실내(낮 20℃, 밤 15℃)에서 20분, 2시간마다 뒤집으면 위조와 함께 선별도 동시에 하였다. 위조, 유념과 숙성(온도 40℃, 상대습도 70%)을 달리해서 차를 제다하였다. 홍차 제다공정을 달리해서 제다한 차에서 관능평가를 한 결과, 맛은 공정 가, 다, 나, 라 순으로 높게 나타났는데, 제다공정 라에서 4.28로 가장 우수하게 평가되었다(표 4-1). 홍차 제다시 실내와 일광에서 위조, 발효기에서 숙성정도가 맛을 결정하는 주요요소인 것을 알수 있었다. 차 맛은 차 잎 상태, 제다방법과 솜씨, 날씨, 경험과 숙련도 등에 따라 다른데, 이러한 조건을 잘 반영해서 홍차를 개발시 맛은 다소 향상 될 것으로 생각된다.

표 4-1. 두물 차 잎에서 홍차 제다 공정별 맛 변화

제다 공정 ^z	관능평가 ^y				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
공정 가	3.40±0.20	3.80±0.20	3.50±0.15	3.30±0.10	3.50±0.15
공정 나	3.90±0.20	4.00±0.20	3.80±0.10	4.00±0.20	4.08±0.10
공정 다	4.00±0.20	3.90±0.20	3.70±0.20	3.70±0.10	3.83±0.20
공정 라	4.20±0.15	4.60±0.20	4.30±0.20	4.00±0.20	4.28±0.20

^z가: 선별→ 일광위조 2시간↔ 실내위조 10시간→ 유념기유념(40분)→ 일광숙성→ 건조
 나: 선별→ 일광위조 2시간↔ 실내 위조 10시간→ 유념기 유념(40분)→ 발효기 숙성(40℃, 70% 상대습도) 40분 3회→ 일광숙성→ 건조
 다: 선별→ 일광위조 3시간↔ 실내 위조 20시간→ 유념기유념(40분)→ 일광숙성→ 건조
 라: 선별→ 일광위조 3시간↔ 실내 위조 20시간→ 유념기 유념(40분)→ 발효기 숙성(40℃, 70% 상대습도) 40분 3회→ 일광숙성→ 건조

^y1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

나. 청차 제다공정 개발

- 채엽한 잎은 선별한 다음 오후 2시부터 실외에서 20분, 실내에서 40분동안 2-3회 교대로 얇게 펴서 위조하였다. 찻잎은 엽맥이 상하지 않게 조심스럽게 실내 선반에서 위조하였다. 80℃ 살청기에서 잎을 살며시 모은 후 요청(흔들어 중)한 다음 실내에 두었다가 다시 2회 요청하였다, 요청이 끝난 차는 180℃ 살청기에서 5분간 살청하였다. 살청이 끝난 차는 등글게 멍쳐 비비기를 3-7회 반복 해서 건조한 다음 차를 제다하였다.
- 제다공정별 맛(표 4-2)은 공정 다에서, 4.08로 높게 나타났는데 특히 향이 높은 경향을 나타냈다. 청차에서 향은 멍쳐 비비기와 멍친 것을 펼치기 하는 정도와 횟수에 영향을 받는 것으로 나타났다. 따라서, 청차는 위조와 함께 멍쳐비비기와 멍친 것을 펼치는 과정을 5회 반복시 향이 높았는데, 향후 이러한 과정을 좀 더 많이 해서(6-7회) 제다시 향과 맛이 좋아질 것으로 판단된다.

표 4-2. 두물 찻잎에서 청차 제다 공정별 맛 변화

제다 공정 ^z	관능평가 ^y				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
공정 가	3.10±0.20	3.00±0.20	3.30±0.15	3.00±0.10	3.10±0.10
공정 나	3.40±0.20	3.40±0.20	3.30±0.10	3.20±0.20	3.33±0.15
공정 다	3.80±0.20	3.90±0.20	3.90±0.20	4.10±0.10	4.08±0.15
공정 라	3.90±0.10	3.95±0.20	3.80±0.20	4.00±0.20	3.91±0.17

^z가: 선별→ 일광위조 30분↔ 실내위조 1시간→ 기계요청 2회→ 살청→ 멍쳐비비기 1회→ 건조

나: 선별→ 일광위조 30분↔ 실내위조 1시간→ 기계요청 2회→ 살청→ 멍쳐비비기 3회→ 건조

다: 선별→ 일광위조 30분↔ 실내위조 1시간→ 기계요청 4회→ 살청→ 멍쳐비비기 5회→ 건조

라: 선별→ 일광위조 30분↔ 실내위조 1시간→ 기계요청 4회→ 살청→ 멍쳐비비기 5회→ 민황숙성→ 건조

^y1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

다. 황차 제다 공정 개발

- 두물찻잎을 채취한 다음 황차는 다소 서로 다른 4가지 제다 과정을 이용 해서 차를 제다하였다. 제다 공정별 황차를 제다해서 관능평가를 한 결과, 맛은 공정 나, 라, 다, 가 순으로 높게 나타났다(표 4-3). 황차 제다시 일광과 실내에서 위조, 가마솥에서 튀음, 숙성기, 민황(무명 천)에서 숙성은 숙성과 발효가 진전되어 차 맛이 부드럽고 단맛이 높은 경향을 나타냈다. 차 맛은 찻잎 상태, 위조조건에 따

라 차이를 나타내는데, 이러한 조건을 잘 반영해서 황차를 제다할 경우 상품성이 있을 것으로 판단되었다.

표 4-3. 두물 찻잎에서 황차 제다 공정별 맛 변화

제다 공정 ^z	관능평가 ^y				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
공정 가	3.40±0.20	3.80±0.20	3.50±0.15	3.30±0.10	3.50±0.15
공정 나	4.20±0.20	4.20±0.20	4.30±0.10	4.00±0.20	4.18±0.15
공정 다	4.00±0.20	3.90±0.20	3.70±0.20	3.70±0.10	3.83±0.20
공정 라	3.95±0.15	3.95±0.20	3.80±0.20	4.00±0.20	3.92±0.20

^z가: 선별→일광위조 1시간↔실내 위조 1시간→유념기 유념(12분)→뒤음→민황(무명 천) 숙성 2시간→뒤음→건조

나: 선별→일광위조 1시간↔실내 위조 1시간→유념기 유념(12분)→뒤음→발효기 숙성(38℃, 70% 상대습도) 2시간→건조

다: 선별→일광위조 2시간↔실내 위조 1시간→유념기 유념(20분)→뒤음→민황 4시간→건조

라: 선별→일광위조 2시간↔실내 위조 1시간→유념기 유념(20분)→뒤음→발효기 숙성(38℃, 70% 상대습도) 1시간→건조

^y1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

라. 부분발효차와 발효차 맛과 품질 특성 비교

- 부분발효차와 발효차를 제다한 다음 맛을 상호 비교한 결과(표 4-4), 맛은 홍차, 황차, 청차순으로 높은 경향을 나타냈다. 국내에서 찻잎을 이용한 발효차는 상품화되어 일부 유통되고 있으나 두물차 제품의 특성이나 기준에 대한 언급은 없는 실정이다. 본 연구에서는 지금까지 개발한 제조 공정을 최적화 해서 발효차를 제조하였는데, 황차, 청차와 홍차에서 우수한 맛을 나타냈다. 소비자들의 다양한 요구에 부응하고, 차 재배농가의 소득 증대를 위해서는 앞으로 다양한 발효차 개발에 대한 연구가 지속적으로 필요하다.

표 4-4. 부분발효차와 발효차 추출물에서 맛 비교

구분	관능평가 ^z				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
홍차	4.20±0.20	4.20±0.20	4.40±0.15	3.80±0.10	4.15±0.15
청차	4.10±0.20	3.80±0.20	4.10±0.10	4.20±0.20	4.05±0.15
황차	4.10±0.20	4.10±0.20	4.20±0.20	3.90±0.10	4.08±0.20

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

- 발효차 색도(자료 미제시)에서, 탕색의 밝기를 나타내는 'L'값은 황차, 청차, 홍차순으로 높게 나타났다. 붉은 색을 나타내는 'a'값은 홍차에서 높았고, 노랑색을 나타내는 'b'값은 청차에서 높았다. 발효차에서 적색과 홍색은 숙성과 발효과정에서 카테킨이 폴리페놀옥시다아제 작용으로 테아플라빈과 테아루부리젠으로 전환되기 때문인데, 홍차는 이러한 발효과정이 상대적으로 높게 진행되었기 때문에 사료된다. 발효차 외관, 탕색, 엽저 특성(그림 4-1)에서, 홍차는 붉은 탕색과 암적색의 엽저를 나타내 홍차로서 품질 특성을 비교적 우수하게 나타냈다. 청차는 푸른빛의 탕색과 청녹색의 엽저를, 황차는 황색과 암갈색의 엽저를 나타냈다.
















구분		홍차	청차	황차
외관				
탕색	1번째 추출			
	2번째 추출			
	3번째 추출			
엽저				

그림 4-1. 부분발효차(청차, 황차)와 발효차(홍차)에서 외관, 탕색과 엽저

- 카테킨함량(표 4-5)에서, 주요 카테킨은 EGC와 GC로 나타났고, 이들 함량은 홍차, 청차, 황차순으로 낮았다. 발효차는 발효 중 카테킨이 감소하면서 2차대사물질이 생성되는데, 발효가 진전될수록 카테킨함량은 감소한다. 붉은색을 나타내는 색소는 테아플라빈과 테아루비긴이라는 2차 대사물질인데, 이들 전구물질은 EC와 EGC이다.

표 4-5. 부분발효차와 발효차 추출물에서 카테킨 함량 비교

구분	카테킨함량 ²								합계
	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	
홍차	25.10 ±3.80	24.30 ±3.04	13.06 ±1.52	12.71 ±1.22	2.41 ±0.30	3.01 ±0.22	17.20 ±2.15	18.42 ±3.20	116.22 ±12.30
청차	30.10 ±3.30	24.62 ±2.60	20.40 ±2.44	12.04 ±1.26	5.42 ±0.68	2.26 ±0.30	20.40 ±2.54	20.40 ±3.04	129.14 ±13.60
황차	29.44 ±3.40	18.04 ±1.50	26.34 ±1.30	15.10 ±1.50	5.70 ±0.24	7.20 ±0.90	14.15 ±1.64	28.53 ±3.84	144.40 ±13.20

²GC = galliccatechin, EGC = epigallocatechin, C = catechin, EC = epicatechin, EGCG = epigallocatechin-3-gallate, GCG = galliccatechingallate, ECG = epicatechingallate and CG = catechin gallate

- 발효차에서 2차대사물질인 테아플라빈과 테아루비긴 함량(표 4-6) 변화에서, 티아플라빈은 홍차에서 5.41umol/건물중 g 로 청차나 황차에 비해 높게 나타났다. 테아루비긴함량도 홍차에서 다소 높게 나타났다. 발효차는 당색에 따라 홍차, 청차, 황차로 구분하는데 당색을 나타내는 이들 2차 대사물질도 차이를 나타냈다. 앞으로 이들 2차대사물질 함량과 조성에 따라 발효차를 구분하는 기준설정이 필요할 것으로 사료된다. 본 실험에서 전통방법으로 발효차를 제다할 경우, 홍차에서 맛과 당색이 우수해 이 제품을 상품화한다면 시장성과 경제성이 있을 것으로 사료된다

표 4-6. 부분발효차와 발효차 추출물에서 테아플라빈과 테아루비긴 함량 비교

구분	테아플라빈(umol/건물중 g)	테아루비긴(%)
홍차	5.41±0.60	15.55±1.80
청차	5.02±0.54	15.35±1.60
황차	4.99±0.50	14.40±1.54

(2) 찻잎 품종에 따른 부분발효차(황차) 맛과 주요 영양소 비교

- 재래종(야생, 재배), 야부기다, 중국 대엽종을 이용해서 제다한 황차 맛 비교(표 4-7)에서, 맛은 추출횟수에 따라 야생종 4.05-4.20, 재배종 4.00-4.25, 야부기다 3.80-4.00, 대엽종 3.60-3.80으로 맛은 재배종, 야생종, 야부기다, 대엽종순으로 좋은 경향을 나타냈다. 야부기다는 야생종과 재배종에 비해 떫은맛이 다소 높았고, 대엽종은 떫은맛과 함께 쓴맛이 다소 강하게 나타났다. 중국 대엽종은 카테킨 함량이 높고 잎이 큰 품종으로 보이차 제조에 널리 이용되고 있으나, 우리나라에서 재배되고 있는 대엽종은 품종 고유의 특성이 잘 발현되지 않는 것으로 판단된다. 따라서, 발효차 제조를 위해서는 대엽종에 맞는 제다기술 개발이 필요한 것으로 사료된다.
- 품종별 추출물 당색 비교(자료미제시)에서, 'L'값은 추출횟수에 따라 야생종 13.09-13.25, 재배종 14.26-14.81, 야부기다 13.66-13.95, 대엽종 12.20-12.63으로 재배종에서 높아 당색이 맑은 것으로 나타났다. 'b'값은 1.82-1.88, 1.98-2.12, 1.92-2.76, 2.25-3.10으로 대엽종에서 높았는데, 이것은 카테킨 함량과 갈변정도와 관련성이 있는 것으로 생각된다.
- 황차 추출물에서 클로로필함량 비교(표 4-8)에서, 야생종 8.20-18.20, 재배종 4.10-21.65, 야부기다 4.46-18.95, 대엽종 4.20-16.34mg/100mL 으로, 야부기다와 대엽종에 비해 야생종과 재배종에서 다소 높았다. 비타민 C는 2.20-4.04, 0.82-5.12, 3.30-5.47, 1.38-4.17mg/100mL로 재배종과 야부기다에서 다소 높은 경향을 나타냈다. 비타민 C는 필수 비타민으로 인체에서 합성되지 않기 때문에 반드시 음식으로 섭취해야 한다. 일중 권장 소비량은 200mg으로, 발효차를 통해 필요한 비타민 C를 흡수할 경우 20잔 정도가 필요하다.
- 황차 추출물 카테킨 함량 비교(표 4-9)에서, 야생종은 60.39-106.22, 재배종

64.22-133.94, 야부기다 89.44-141.10, 대엽종 86.34-227.60mg/100mL으로, 대엽종에서 현저히 높았다. 추출횟수별로는 2, 3회로 추출횟수가 진전될수록 야생종에서 카테킨함량은 첫번째에 비해 각각 30%, 44% 감소하였는데, 이러한 감소 추세는 재배종, 야부기다, 대엽종에서도 비슷한 경향을 나타냈다. 주요 카테킨은 야생종, 재배종에서 EGC, GC와 CG로 나타났고, 야부기다, 대엽종에서는 GC, EGCG, EGC, GC, CG로 나타나 대엽종은 우리나라에서 재배되고 있는 품종과는 다른 특성을 나타냈다. 맛 평가에서, 대엽종은 떫은맛이 강하게 나타났는데 이는 높은 카테킨함량과 관련성이 있는 것으로 사료된다.

- 부분발효차 추출물 무기물함량 비교(자료미제시)에서, 야생종 13.10-19.91, 재배종 19.62-26.10, 야부기다 14.04-31.17, 대엽종 14.92-34.64mg/100mL로 야생종과 재배종에 비해 야부기다와 대엽종에서 높은 경향을 나타냈다. 품종별로 무기물함량에 차이를 나타낸 것은 유전적 소질과 함께 시비, 토질, 관수, 수체영양상태 등 재배관리 측면과 관련성이 있는 것으로 사료된다. 무기물은 온탕에서 잘 추출되지 않을 것으로 생각되었으나 많은 양이 추출됨으로써, 발효차는 카테킨과 함께 알카리성 음료로 건강을 증진시키는 것으로 사료된다.
- 국내에 재배되고 있는 차의 대부분은 실생종자로부터 얻은 야생과 재배차다. 자연에서 교잡이 된 잡종으로, 생장이 균일하지 않고 주요 영양소 함량에도 차이가 있다. 반면, 야부기다와 대엽종은 수체 생장뿐만 아니라 맛과 영양소 함량이 균일하다. 국제화시대 맛의 균일화와 품질 고급화를 위해서는 우수한 품종을 선발한 다음 영양번식을 통해 재배하는 것이 시급히 요구되고 있다.

표 4-7. 찻잎 품종에 따른 황차 맛 비교

품종	추출조건			맛 ²			
	온도(°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
재래종 (야생)	90	첫번째	4.20±0.20	3.80±0.20	4.20±0.10	4.10±0.10	4.10±0.15
		두번째	4.10±0.10	4.20±0.20	4.30±0.20	4.20±0.20	4.20±0.18
		세번째	3.80±0.20	4.00±0.10	4.30±0.10	4.00±0.10	4.05±0.13
재래종 (재배)	90	첫번째	4.20±0.10	4.20±0.20	4.60±0.20	4.00±0.10	4.25±0.15
		두번째	3.90±0.20	4.10±0.20	4.40±0.10	4.00±0.10	4.10±0.15
		세번째	3.80±0.20	4.10±0.20	4.20±0.20	3.90±0.10	4.00±0.17
야부기다	90	첫번째	4.00±0.10	3.80±0.20	4.20±0.20	3.90±0.20	4.00±0.17
		두번째	3.60±0.20	3.80±0.20	4.00±0.20	3.80±0.20	3.80±0.20
		세번째	4.10±0.20	3.90±0.20	4.00±0.20	3.60±0.20	3.90±0.20
대엽종	90	첫번째	3.70±0.10	3.60±0.20	3.90±0.20	4.00±0.10	3.80±0.15
		두번째	3.70±0.20	3.60±0.15	3.50±0.15	3.80±0.10	3.65±0.15
		세번째	3.50±0.15	3.40±0.15	3.60±0.20	3.90±0.20	3.60±0.17

²1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-8. 찻잎 품종에 따른 황차 클로로필 및 비타민 C 함량 비교

품종	추출조건		함량(mg/100mL)	
	온도 (°C)	횟수	클로로필	비타민 C
재래종 (야생)	90	첫번째	18.20±1.66	4.04±0.31
		두번째	13.09±1.20	3.10±0.22
		세번째	8.20±0.88	2.20±0.32
재래종 (재배)	90	첫번째	21.65±2.04	5.12±0.51
		두번째	8.81±0.94	3.40±0.42
		세번째	4.10±0.34	0.82±0.05
야부기다	90	첫번째	18.95±1.80	5.47±0.60
		두번째	8.71±0.64	3.10±0.42
		세번째	4.46±0.30	3.30±0.43
대엽종	90	첫번째	16.34±1.78	4.17±0.60
		두번째	7.80±0.94	3.10±0.25
		세번째	4.20±0.42	1.38±0.14

표 4-9. 찻잎 품종에 따른 황차 카테킨함량 비교

품종	추출조건		카테킨 ² 함량(mg/100mL)								
	온도(°C)	횟수	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	합계
재래종 (야생)	90	첫번째	28.11 ±3.20	24.31 ±2.04	17.06 ±1.82	12.70 ±1.02	0.20 ±0.0	2.01 ±0.02	2.61 ±0.14	19.22 ±3.10	106.22 ±11.08
		두번째	15.68 ±1.40	13.31 ±1.40	6.33 ±0.80	11.44 ±1.24	11.78 ±1.60	2.47 ±0.12	0.96 ±0.10	13.84 ±1.40	75.81 ±6.44
		세번째	5.95 ±0.62	14.90 ±1.00	10.59 ±0.86	5.95 ±0.60	9.59 ±0.44	31.67 ±3.02	2.71 ±0.23	7.00 ±1.68	60.39 ±5.80
재래종 (재배)	90	첫번째	33.10 ±3.10	26.62 ±2.40	20.40 ±1.44	11.44 ±1.16	14.80 ±1.28	1.86 ±0.30	3.42 ±0.24	22.40 ±3.04	133.94 ±12.62
		두번째	20.20 ±1.40	21.40 ±2.20	16.40 ±1.40	8.20 ±0.88	11.20 ±1.14	1.02 ±0.16	1.84 ±0.10	12.20 ±2.40	92.46 ±8.87
		세번째	11.00 ±1.13	20.20 ±2.24	6.80 ±0.20	8.60 ±0.48	4.82 ±0.78	0.80 ±0.14	1.20 ±0.13	10.80 ±1.12	64.22 ±5.16
야부기다	90	첫번째	29.40 ±3.22	14.68 ±1.80	13.15 ±1.32	16.13 ±1.50	21.31 ±1.20	8.29 ±1.00	4.61 ±0.60	23.53 ±3.80	141.10 ±12.86
		두번째	21.82 ±1.70	13.38 ±1.42	12.00 ±1.24	10.94 ±1.10	18.02 ±0.92	5.89 ±0.32	3.80 ±0.12	10.20 ±2.40	96.05 ±8.60
		세번째	18.31 ±1.66	3.54 ±0.60	2.86 ±0.20	6.67 ±0.70	17.19 ±0.60	14.20 ±1.40	11.54 ±0.83	14.61 ±1.40	89.44 ±8.40
대엽종	90	첫번째	28.95 ±2.32	29.94 ±2.44	15.97 ±1.62	16.05 ±1.12	36.25 ±2.40	33.96 ±2.42	26.18 ±2.44	40.30 ±6.10	227.60 ±18.70
		두번째	12.06 ±1.27	21.23 ±2.42	10.91 ±1.20	10.95 ±1.04	22.44 ±1.60	12.66 ±1.34	11.83 ±1.80	20.24 ±3.84	122.32 ±10.70
		세번째	17.10 ±1.68	11.59 ±1.20	7.39 ±0.86	4.01 ±0.48	17.39 ±0.68	7.93 ±0.72	2.07 ±0.24	18.86 ±2.40	86.34 ±9.42

²GC = galliccatechin, EGC = epigallocatechin, C = catechin, EC = epicatechin, EGCG = epigallocatechin-3-gallate, GCG = galliccatechingallate, ECG = epicatechingallate and CG = catechin gallate

(3) 찻잎 채엽기에 따른 부분발효차(황차) 맛과 주요 특성

- 채엽기에 따른 황차 추출물 맛 비교 (표 4-10, 4-11)에서, 찻잎을 4월23일, 4월 28일, 5월 12일, 5월 18일, 6월 2일 채엽한 야생차에서 맛은 각각 4.04-4.28, 4.00-4.16, 3.60-4.04, 3.20-3.83, 3.00-3.30로 채엽기가 늦어질수록 맛이 감소하는 경향을 나타냈다. 맛은 채엽기가 늦을수록 쓴맛과 떫은 맛이 증가하면서, 단맛과 향 감소로 맛이 다소 감소하는 경향을 나타냈다. 반면, 6월 2일 채엽한 황차는 특히 단맛과 향 저하로 품질이 감소하였다. 재배차에서 맛은 채엽시기에 따라 4.10-4.40, 4.00-4.20, 3.80-4.00, 3.50-3.85, 3.20-3.40으로 채엽시기가 늦을수록 맛

도 감소하였고, 특히 6월 2일 채엽기에서 맛이 감소하였다.

- 동일한 시기 채엽한 야생과 재배차를 기준으로, 맛은 재배차에서 맛과 향 증가로 다소 높은 경향을 보였다. 야생차와 재배차에서 맛은 채엽기가 늦을수록 감소하는 경향을 보여, 고 품질의 발효차 제조를 위해서는 야생과 재배차를 늦어도 5월 말까지는 채엽하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.
- 찻잎을 봄, 여름, 가을철에 채엽해서 발효차를 제조하기도 한다. 비교적 상품성이 낮은 여름철과 가을철 찻잎을 이용, 발효차 제조 가능성을 검토하기 위해 4월 28일, 6월 28일, 8월 28일 채엽한 찻잎에서 맛을 조사하였다. 채엽기별 맛은 각각 4.00-4.46, 2.75-3.23, 2.38-3.19로 채엽기별 큰 차이를 나타냈다(표 4-12). 봄에 채엽한 황차는 품질이 극히 우수하였으나, 여름철과 가을철에 채엽한 것은 보통수준 이하로 평가되었다. 따라서, 고품질 발효차 제조를 위해서는 장마철이 시작되기 전에 채엽하는 것이 바람직 한 것으로 판단되었다. 그러나, 찻물차는 찻잎 가격이 너무 높아 발효차 소재로서 바람직하지 않다(2만-3만원/kg). 찻잎 가격이 현저히 낮은 두물차나 세물차(600-1,000원/kg)를 이용해서 발효차를 개발시 차의 부가가치는 현저히 높일수 있다.
- 야생과 재배차 추출물 색도 비교(자료미제시)에서, 4월 23일, 5월 12일, 6월 2일 채엽한 야생차 추출물에서 'L'값은 각각 17.43-18.45, 14.60-16.80, 15.07-16.16으로 채엽기가 빠를수록 명도 값 증가로 당색이 맑아지는 경향을 나타냈다. 재배차에서도 'L'값은 15.80-17.20, 14.10-16.05, 14.24-14.65로 채엽기가 빠를수록 높아져 당색이 맑아지는 경향을 나타냈다. 황차 맛은 6월 2일 채엽기에서 야생과 재배차 모두 감소하였는데(표 4-10, 4-11), 당색도 이들 채엽기에서 저하되는 경향을 나타냈다.
- 클로로필과 비타민 C함량 비교(자료미제시)에서, 야생차 4월 23일, 5월 12일, 6월 2일 채엽시 클로로필 함량은 각각 8.40-16.10, 6.64-20.80, 8.40-20.10mg/100mL으로 채엽기가 늦을수록 함량이 다소 증가하는 경향을 보였다. 재배차에서 이들 함량도 각각 8.60-20.64, 4.80-24.29, 3.40-25.50mg/100mL로 채엽기가 늦을수록 다소 높았다. 야생차와 재배차에서 추출횟수에 따른 함량은 첫 번째에서 현저하게 높은 경향을 나타냈다. 또, 이들 함량은 야생차 보다는 재배차에서 다소 높은 경향을 나타냈는데 이것은 질소 시비와 관련이 있는 것으로 사료된다. 색도에서 'L'

값은 채엽기가 빠를수록 높은 경향을 나타낸 사실로 봐(자료 미제시), 클로로필은 명도를 저하시키는 것으로 판단된다.

- 비타민 C함량은 야생차에서 채엽기별로 각각 1.80-4.50, 1.60-4.30, 1.20-4.03mg/100mL, 재배차에서 각각 1.88-4.97, 1.48-4.50, 2.24-4.40mg/mL로 채엽기가 빠를수록 다소 높아지는 경향을 보였다. 따라서, 채엽기가 빠를수록 당색의 명도 증진과 함께 비타민 C함량 증가로 발효차 품질을 향상시키는 것으로 추정된다.
- 채엽기에 따른 카테킨함량 비교(표 4-13)에서, 주요 카테킨은 EGC, CG, GC로 나타났고 이들 함량은 야생과 재배차 모두에서 채엽기가 늦어질수록 다소 증가하는 경향을 나타냈다. 이들 함량은 야생차 보다 재배차에서 높았고, 추출횟수별로는 첫 번째 추출에서 높았다. 카테킨은 인체에서 항산화 억제를 통한 노화지연으로 건강을 증진시키는 것으로 널리 알려져 있다. 기능성 증대를 위해서는 채엽기를 늦추는 것이 바람직하나, 높은 량의 카테킨은 쓴맛과 떫은맛 증가로 맛을 저하시키는 것으로 조사되었다(표 4-10). 따라서 차 맛과 기능성과의 관련성에 대한 평가도 향후 필요할 것으로 사료된다.
- 채엽기에 따른 무기물 함량 비교(자료미제시)에서, 야생과 재배종에서 주요 무기물은 K이었고 그 다음은 Ca, Mg, Na 순이었다. 채엽시기별 무기물 함량은 채엽기가 늦어질수록 점진적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서, 채엽기를 빨리 할수록 무기물 함량 증가로 차의 기능성을 증진시키는 것으로 나타났다.
- 결론적으로, 채엽기가 빠를수록 맛, 당색, 비타민과 무기물 증가로 부분발효차 품질이 향상되는 경향을 나타냈다. 따라서, 고품질 발효차 제조를 위해서는 찻잎의 채엽기가 빠를수록 좋으나, 찻잎 가격이 너무 높아 산업화를 위해서는 5월 초 전후 두물 또는 세물차를 이용해서 발효차를 생산하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

표 4-10. 재래종(야생차) 채엽기에 따른 황차 맛 비교

찾잎 채엽기	추출조건			맛 ^z			평균
	온도 (°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	
4월 23일	90	첫번째	4.55±0.22	3.65±0.20	4.10±0.14	4.50±0.18	4.20±0.19
		두번째	4.57±0.17	3.46±0.14	4.50±0.15	4.60±0.15	4.28±0.16
		세번째	4.00±0.15	3.68±0.16	4.45±0.14	4.37±0.14	4.04±0.15
4월 28일	90	첫번째	4.00±0.16	3.68±0.16	4.50±0.17	4.46±0.17	4.16±0.17
		두번째	4.25±0.16	4.11±0.16	4.00±0.15	4.12±0.16	4.12±0.16
		세번째	3.85±0.16	3.95±0.14	4.20±0.14	4.00±0.15	4.00±0.16
5월 9일	90	첫번째	4.00±0.15	4.03±0.14	4.00±0.14	4.13±0.13	4.04±0.14
		두번째	3.94±0.16	3.95±0.14	3.88±0.14	3.75±0.14	3.88±0.14
		세번째	3.43±0.13	3.42±0.13	3.75±0.13	3.80±0.13	3.60±0.13
5월 18일	90	첫번째	3.85±0.16	3.47±0.16	3.90±0.16	4.10±0.13	3.83±0.15
		두번째	3.58±0.14	3.22±0.15	3.30±0.13	3.50±0.13	3.40±0.14
		세번째	3.00±0.15	3.20±0.13	3.40±0.14	3.00±0.13	3.20±0.14
6월 2일	90	첫번째	3.20±0.14	3.30±0.15	3.30±0.13	3.10±0.14	3.30±0.14
		두번째	3.10±0.14	3.00±0.12	3.20±0.12	3.10±0.11	3.10±0.12
		세번째	3.10±0.14	3.10±0.13	3.20±0.13	3.00±0.12	3.00±0.13

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-11. 재래종(재배차) 채엽기에 따른 황차 맛 비교

찾잎 채엽기	추출조건			맛 ^z			평균
	온도 (°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	
4월 23일	90	첫번째	4.40±0.20	4.00±0.20	4.40±0.16	4.50±0.12	4.30±0.17
		두번째	4.10±0.16	4.40±0.14	4.50±0.16	4.60±0.10	4.40±0.14
		세번째	3.95±0.12	4.15±0.16	4.10±0.14	4.20±0.14	4.10±0.14
4월 28일	90	첫번째	3.99±0.16	3.91±0.16	4.30±0.10	4.20±0.14	4.10±0.17
		두번째	4.15±0.16	4.15±0.16	4.10±0.12	4.40±0.16	4.20±0.15
		세번째	4.10±0.16	4.00±0.14	4.20±0.14	3.90±0.15	4.00±0.16
5월 9일	90	첫번째	4.20±0.10	3.80±0.10	4.00±0.10	4.00±0.10	4.00±0.10
		두번째	4.00±0.16	3.80±0.12	3.60±0.14	3.80±0.14	3.80±0.14
		세번째	3.80±0.10	4.00±0.10	4.00±0.13	3.60±0.13	3.80±0.12
5월 18일	90	첫번째	3.75±0.10	4.00±0.10	3.90±0.16	3.80±0.13	3.85±0.12
		두번째	3.40±0.14	3.80±0.14	3.40±0.12	3.60±0.13	3.60±0.13
		세번째	3.10±0.15	3.60±0.13	3.80±0.14	3.50±0.16	3.50±0.15
6월 2일	90	첫번째	3.50±0.14	3.30±0.12	3.60±0.10	3.20±0.10	3.40±0.12
		두번째	3.00±0.14	3.20±0.12	3.20±0.12	3.00±0.10	3.10±0.12
		세번째	3.10±0.10	3.30±0.10	3.10±0.20	3.30±0.10	3.20±0.13

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-12. 여름과 가을철 수확한 재래종(야생차)에서 황차 맛 비교

채엽시기	추출조건			맛 ^z			
	온도 (°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
4월 28일	90	첫번째	4.50±0.16	4.33±0.16	4.80±0.17	4.66±0.17	4.46±0.17
		두번째	4.25±0.16	4.12±0.16	4.00±0.15	4.12±0.16	4.12±0.16
		세번째	4.25±0.16	4.00±0.14	3.75±0.14	4.00±0.15	4.00±0.16
6월 28일	90	첫번째	3.55±0.16	3.25±0.16	3.33±0.16	2.70±0.13	3.23±0.15
		두번째	2.88±0.14	3.00±0.15	2.50±0.13	2.63±0.13	2.75±0.14
		세번째	3.00±0.15	2.63±0.13	2.88±0.14	2.50±0.13	2.75±0.14
8월 28일	90	첫번째	3.38±0.17	3.13±0.16	2.88±0.14	3.38±0.17	3.19±0.16
		두번째	2.88±0.14	2.38±0.12	2.63±0.13	2.50±0.13	2.60±0.13
		세번째	2.50±0.13	2.38±0.12	2.38±0.12	2.25±0.11	2.38±0.12

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-13. 재래종에서 채엽기에 따른 황차 카테킨함량 비교

구분	차잎 채엽 기	추출조건		카테킨함량 ^z								
		온도 (°C)	횟수	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	합계
재래종 (야생)	4월 23일	90	첫번째	14.30 ±1.22	21.10 ±2.04	16.81 ±1.22	2.08 ±0.02	4.01 ±0.40	1.18 ±0.12	9.45 ±1.14	23.00 ±3.10	91.93 ±9.03
			두번째	7.80 ±0.40	21.77 ±2.42	9.95 ±0.80	2.05 ±0.04	3.42 ±0.60	10.60 ±0.14	7.30 ±0.60	14.70 ±1.40	77.59 ±8.40
			세번째	8.00 ±0.80	11.94 ±0.40	8.60 ±0.86	1.50 ±0.18	5.88 ±0.88	4.0 ±0.02	3.20 ±0.23	10.80 ±1.12	41.50 ±4.40
	5월 12일	90	첫번째	13.10 ±1.30	25.70 ±2.42	5.80 ±0.44	1.01 ±0.06	16.20 ±1.88	9.80 ±0.60	12.14 ±0.14	21.00 ±4.04	104.71 ±10.61
			두번째	10.00 ±1.40	24.00 ±2.20	2.34 ±0.20	0.98 ±0.08	11.40 ±1.14	11.80 ±0.16	8.02 ±0.10	14.50 ±2.40	83.04 ±6.80
			세번째	10.00 ±0.13	10.97 ±0.14	1.35 ±0.20	0.80 ±0.08	8.20 ±0.58	9.80 ±0.14	10.30 ±0.13	8.40 ±0.12	59.82 ±0.18
	6월 2일	90	첫번째	14.10 ±0.12	33.40 ±3.80	2.96 ±0.32	1.10 ±0.10	17.95 ±3.80	14.00 ±1.20	5.35 ±0.20	23.23 ±3.40	112.09 ±12.40
			두번째	14.00 ±0.70	23.40 ±2.52	3.17 ±0.24	1.20 ±0.10	18.40 ±1.12	18.90 ±2.00	6.80 ±0.12	14.04 ±2.00	99.91 ±10.80
			세번째	8.40 ±0.64	15.21 ±1.60	2.82 ±0.20	1.10 ±0.10	11.2 ±1.00	11.00 ±1.20	5.00 ±0.03	6.80 ±0.40	61.53 ±7.20

재래종 (재배)	4월 23일	90	첫번째	19.60 ±1.62	21.31 ±1.64	1.31 ±0.22	1.60 ±0.12	14.60 ±1.40	3.83 ±0.42	15.30 ±1.11	17.67 ±3.10	95.22 ±10.20
			두번째	13.94 ±1.57	13.38 ±1.42	2.20 ±0.20	1.09 ±0.04	8.02 ±0.60	2.89 ±0.34	7.93 ±0.80	17.50 ±1.84	66.95 ±8.74
			세번째	12.77 ±1.45	3.50 ±0.20	0.48 ±0.06	0.60 ±0.08	7.10 ±0.88	1.42 ±0.122	3.15 ±0.23	12.40 ±1.10	41.50 ±4.52
	5월 12일	90	첫번째	13.40 ±1.35	30.81 ±3.42	13.09 ±1.44	0.90 ±0.06	12.43 ±1.88	3.85 ±0.30	4.10 ±0.35	28.91 ±6.04	107.49 ±11.61
			두번째	12.00 ±1.40	19.00 ±1.00	10.58 ±1.20	0.74 ±0.08	9.40 ±0.44	2.30 ±0.26	0.70 ±0.10	26.14 ±4.40	80.86 ±1.11
			세번째	10.00 ±0.13	16.12 ±1.04	7.24 ±0.60	6.49 ±0.48	7.05 ±0.58	1.28 ±0.14	0.10 ±0.03	8.25 ±2.12	56.53 ±6.18
	6월 2일	90	첫번째	13.03 ±0.12	27.40 ±2.40	22.14 ±2.22	3.78 ±0.40	20.83 ±1.40	3.98 ±0.20	4.04 ±0.40	26.80 ±4.10	122.00 ±13.41
			두번째	12.00 ±0.10	15.08 ±1.24	14.88 ±1.60	2.98 ±0.32	12.10 ±0.60	1.90 ±0.06	2.41 ±0.20	16.58 ±1.04	77.93 ±8.65
			세번째	8.40 ±0.40	10.76 ±1.10	11.63 ±1.48	7.60 ±0.60	11.40 ±0.04	2.30 ±0.22	5.40 ±0.40	1.40 ±1.20	58.89 ±5.68

²GC = gallic acid, EGC = epigallocatechin, C = catechin, EC = epicatechin,
EGCG = epigallocatechin-3-gallate, GCG = gallic acid gallate, ECG =
epicatechin gallate and CG = catechin gallate

2) 재고차(두물차)를 이용한 미생물발효홍차 생산 기술 개발

(1) 재고차(두물차)를 이용한 홍차 개발

- 전남 보성군 소재 보성차생산자연합 소속 다원에서 2013년 5월 10일 채엽한 두물 찻잎을 이용 홍차와 미생물발효차를 제다하였다. 홍차는 위조, 숙성, 유념, 건조 등 조건을 달리해서(4 제다공정) 제다하였다. 미생물 발효차는 상기 제다공정 중 맛과 품질이 우수한 공정으로 제다한 홍차에 미생물을 처리하였다. 처리한 미생물 균주는 주관연구기관에서 분리 배양한 진균(RS201), 흑국균(AN091, PC151), 효모(DH011, RP011, CT181) 등 13종을 단독과 조합처리해서 발효시켰다.
- 제다한 홍차와 발효미생물차는 각각 추출해서 관능평가, 색도, 테아플라빈(theaflavin), 테아루비긴(thearubigin)함량 등을 측정하였다.

가. 발효차(홍차) 제다공정별 맛과 주요 특성

- 채취한 찻잎은 실내(낮 20℃, 밤 15℃)에서 하룻밤 동안(20시간) 2시간마다 뒤집어 주면서 선별과 함께 위조시켰다. 그 다음날 아침 햇볕이 나는 오전 9시부터 3시간동안 20분 간격으로 뒤집어주면서 실외에서 위조시켰다. 위조가 끝난 찻잎은 유념과 발효(온도 40℃, 상대습도 70%), 실외에서 숙성과 건조기에서 건조공정을 달리 해서 차를 제다하였다. 이러한 제다공정별 홍차 관능평가를 한 결과, 맛은 공정 나, 라, 다, 가 순으로 높게 나타났는데, 제다공정 나에서 4.39로 가장 우수하게 평가되었다(표 4-14).
- 홍차 제다시 실내와 일광숙성 시간과 뒤집는 간격, 유념시간과 횟수, 발효시간과 횟수, 발효 중 일광숙성 정도에 따라 차 맛은 차이를 나타냈는데 이러한 조건을 제다기간 날씨, 찻잎 숙성정도에 따라 잘 적용하는 것이 중요한 것으로 나타났다.
- 홍차 추출물에서 색도(자료미제시)에서, 제다공정 가와 나에서 'L'값이 높으면서, 'b'값도 높아 탕색이 선명하면서 적갈색으로 탕색이 좋은 경향을 나타냈다.
- 테아플라빈과 테아루비긴함량도 제다공정에 따라 차이를 나타냈는데(표 4-15), 테아플라빈은 제다 공정별 4.69~6.51umol/건물중 g, 테아루비긴은 공정별 13.40~

16.55%로, 테아플라빈은 공정 가에서, 테아루비긴은 공정 나에서 높은 경향을 나타냈다. 홍차에서 2차대사물질인 테아플라빈과 테아루비긴은 폴리페놀옥시다아제 (PPO) 활성으로 카테킨에서 생성되는데, 이 효소 활성이 너무 강해도 맛과 색이 감소하는 것으로 알려져 있다. 홍차 맛 평가에서 공정 나가 높았는데, 맛에도 이러한 2차 대사물질이 향과 당색에 어느 정도 관여하는 것으로 추정된다.

- 따라서, 두물차를 이용 홍차를 제다시, 찻잎 선별, 실내에서 뒤집어주면서 20시간 위조, 일광에서 10분마다 뒤집어 주면서 위조 3시간, 유념기 유념과 유념후 털기 각각 2회, 발효기에서 발효와 털기 각각 3회, 일광과 무명천내에서 숙성 1시간, 마지막으로 건조기에서 건조는 맛과 품질을 향상시켰다.

표 4-14. 발효차(홍차) 제다 공정별 맛 변화

제다 공정 ^z	관능평가 ^y				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
가	3.50±0.20	3.70±0.20	3.80±0.15	3.80±0.10	3.70±0.20
나	4.50±0.20	4.40±0.20	4.30±0.10	4.30±0.20	4.39±0.14
다	4.20±0.20	3.90±0.20	3.80±0.20	3.90±0.10	3.95±0.12
라	3.80±0.15	3.90±0.20	3.80±0.20	3.90±0.20	3.85±0.20

가: 선별→ 일광위조 3시간→ 실내 위조 20시간→ 유념기 유념(15분) 1회→ 유념후 털기 1회
→ 발효기 발효(40℃, 70% 상대습도) 40분 3회→ 일광숙성→ 건조기 건조

나: 선별→ 실내 위조 20시간→ 일광위조 3시간→ 유념기 유념(15분) 2회→ 유념후 털기 2회
→ 발효기 발효(40℃, 70% 상대습도) 40분 3회→ 일광숙성→ 건조기 건조

다: 선별→ 일광위조 3시간→ 실내 위조 20시간→ 유념기 유념(30분) 1회→ 실내숙성→ 건조기 건조

라: 선별→ 일광위조 3시간→ 실내 위조 20시간→ 유념기 유념(30분) 2회→ 일광숙성→실내숙성→ 건조기 건조

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-15. 발효차(홍차) 제다공정별 테아플라빈과 테아루비긴 함량

제다공정	테아플라빈(umol/건물중 g)	테아루비긴(%)
가	6.51±0.60	16.55±1.50
나	6.32±0.40	16.05±1.60
다	4.99±0.50	13.40±1.54
라	4.69±0.50	13.99±0.50

(2) 미생물 발효차 개발을 위한 발효미생물 탐색

- 홍차를 제다한 다음, 발효 미생물 탐색을 위한 미생물발효차에서 맛(자료미제시)은, 미생물처리전 3.88, 처리 10일 2.70~3.00, 처리 20일은 2.83~3.03, 처리 30일에는 2.78~2.95로 발효기간이 경과함에 따라 맛은 감소하는 경향을 보였다. 반면, 대조구에서 미생물처리전 맛은 3.88에서 발효 10, 20, 30일 경과후 3.68~3.90 내외로 별다른 차이를 나타내지 않았다. 미생물발효차에서 맛은 향과 함께 단맛이 특히 감소하는 경향을 나타냈고, 발효기간이 길어지면서 검은분말과 함께 탕색도 검푸른 색을 나타냈다. 따라서, 이들 곰팡이처리는 발효차 맛과 품질을 보통수준 이하로 나타내 곰팡이처리는 발효차 품질을 떨어뜨리는 것으로 나타났다.
- 효모 단독 및 조합처리에서 맛(자료미제시)은, 처리전 3.53이었으나, 효모처리 5, 10, 15, 20, 25, 30일에서 맛은 각각 3.04~3.45, 3.13~3.63, 2.68~3.01, 2.45~2.90, 2.33~2.78, 2.50~2.68로 처리 10일째 최대치에 도달되었다가 발효기간이 진전되면서 맛도 크게 감소하는 경향을 나타냈다. 효모 균주별로는 DH011+RP011, RP011, CT181 순으로 단일균주보다는 2균주 조합처리에서 높은 경향을 나타냈다.
- 효모처리에서 맛은 발효 15일 이후부터 발효와 함께 찻잎이 부스러지면서 탕색이 흑색으로 변해 이취와 함께 단맛 감소로 품질이 감소하는 경향을 보였다. 따라서, 효모 조합 처리와 함께 발효기간을 15일 이내로 할 경우 발효차 맛과 품질이 향상될 것으로 판단된다.
- 효모 조합처리에 따른 맛(표 4-16)에서, 맛은 발효기간이 경과함에 따라 증가하다가 발효 10일째부터 감소하는 경향을 나타냈다. 균주별로는 효모 3종(DH011+RP011+CT181)조합처리에서 발효 5일째 단맛과 함께 향 증가로 품질이 우수하게 평가되었다. 따라서, 효모를 조합처리해서 10일 정도 발효 시킬 경우 발효차 맛과 탕색이 증진되는 것으로 나타났다.

표 4-16. 미생물(효모) 조합처리에 따른 발효차 맛 변화

효모 처리 ^z	발효기간 (일)	관능평가 ^y				
		쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
처리전	0	3.40±0.10	3.70±0.10	3.40±0.20	3.30±0.10	3.38±0.13
DH011+RP011	5	3.92±0.10	3.84±0.10	3.50±0.10	3.38±0.10	3.75±0.10
DH011+CT181		3.54±0.10	3.57±0.10	3.14±0.10	3.09±0.20	3.38±0.13
RP011+CT181		3.38±0.20	3.46±0.10	2.93±0.10	2.85±0.10	3.20±0.13
DH011+RP011+CT181		4.05±0.10	4.11±0.10	4.22±0.20	3.94±0.20	4.08±0.15
DH011+RP011	10	3.72±0.20	3.65±0.10	3.69±0.10	3.9±0.10	3.68±0.13
DH011+CT181		3.54±0.20	3.58±0.20	3.36±0.10	3.23±0.10	3.45±0.15
RP011+CT181		2.93±0.10	2.87±0.20	2.73±0.20	2.66±0.20	2.83±0.7
DH011+RP011+CT181		3.96±0.10	3.92±0.20	3.84±0.20	3.50±0.20	3.88±0.18
DH011+RP011	15	2.89±0.10	2.78±0.10	2.56±0.10	2.63±0.10	2.75±0.10
DH011+CT181		2.73±0.10	2.67±0.20	2.54±0.10	2.58±0.20	2.65±0.15
RP011+CT181		3.25±0.10	2.85±0.10	2.90±0.20	2.55±0.20	2.89±0.15
DH011+RP011+CT181		4.10±0.10	4.03±0.10	4.07±0.20	3.74±0.10	3.98±0.13

^zDH011=*Debaryomyces hansenii*, RP011=*Rhodosporidium paludigenum*, CT181=*Candida tropicalis*

^y1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

(3) 발효차(홍차)와 미생물발효차 제다공정 개발

- 두물чат잎을 이용해서 제다공정, 미생물처리별 맛과 주요영양소 평가를 통해 홍차와 미생물 발효차 제다공정을 각각 개발하였다.
- 홍차 제다공정을 요약하면, 두물чат잎(재고차) 기계채엽→ 이물질, 목본 줄기, 성엽 등 선별과 함께 실내에서 뒤집어 주면서 위조 20시간, 일광조건에서 10분마다 뒤집어 주면서 위조 3시간, 유념기에서 유념(15분)과 유념후 털기 각각 2회, 발효기에서 발효(40℃, 70% 상대습도) 40분과 일광조건에서 10분간 숙성 각각 3회, 건조기에서 건조(70℃, 6시간), 용기와 디자인 개발, 용기 주입, 포장 공정이다(그림 4-2).

- 미생물 발효차는 개발한 홍차에 효모 균주 3종(DH011, RP011, CT181)처리, 향아리주입과 습도 처리(상대습도 70%), 발효기 발효(10일), 건조기 건조, 용기와 디자인 개발, 용기 주입, 포장 공정이다(그림 4-3).

			
두물차 채엽 (5월 10일)	실내 위조(20시간), 뒤집기(20분마다)	일광위조(3시간), 뒤집기(10분마다)	유념기 유념(15분, 2회)
			
유념후 털기(2회)	1차숙성 (40℃, 40분)	2차숙성 (40℃, 40분)	3차숙성 (40℃, 40분)
			
일광숙성 (3시간)	실내 숙성(4시간)	PVC 필름 밀봉	건조기 건조((80℃, 4시간)
			
용기와 디자인 개발	홍차 품질평가	용기 주입과 포장	홍차 개발

그림 4-2. 두물차맛을 이용한 홍차 제다공정 개발

			
두물차 채엽 (5월 10일)	실내 위조(20시간, (20분마다 뒤집기)	일광위조(3시간, (20분마다 뒤집기)	유념기 유념(40분)
			
유념후 털기	1차숙성 (40℃ 40분)	2차숙성 (40℃ 40분)	3차숙성 (40℃ 40분)
			
일광숙성 (6시간) (무명천내)	실내 숙성(4시간)	PVC 필름 밀봉	효모 처리
			
차 향아리 주입	향아리 온, 습도처리 (45℃, 상대습도 70%)	발효기 발효(10일)	건조기 건조 (80℃, 6시간)
			
용기와 디자인 개발	품질평가	용기 주입과 포장	미생물발효차 개발

그림 4-3. 두물차잎을 이용한 미생물 발효차 제다공정 개발

(4) 홍차, 미생물발효차 유통중인 발효차에서 맛과 주요 품질 특성

- 개발한 홍차와 미생물발효차 외국산 발효차와 품질비교를 위해 우바, 기문, 다아질링 홍차는 'Dilmah'회사를 통해 구입하였다.
- 발효차 추출물 맛, Hunter값, 비타민 C, 클로로필, 테아플라빈과 테아루비긴함량, 항산화도 등을 조사, 분석하였다.
- 개발한 홍차와 미생물발효차, 시중에 많이 유통되고 있는 기문, 우바, 다아질링 홍차에서 맛은 각각 3.08~3.51, 3.02~3.54, 3.60~3.88, 3.30-3.90, 3.00-3.30 수준으로 우바와 기문홍차에서 높게 나타났다(표 4-17). 우리나라 두물차잎을 이용해서 개발한 발효차에서, 맛은 미생물 발효차와 유사한 수준을 나타냈다. 추출횟수에서 맛은 모든 발효차에서 두 번째 추출물이 높은 경향을 나타냈다.
- 발효차에서 가장 높은 맛을 나타낸 우바홍차는 향과 단맛에서 개발한 홍차나 미생물발효차보다 현저히 높은 경향을 나타냈다. 반면, 다아질링 홍차는 우리 발효차와 비슷한 수준을 나타냈는데, 이는 강한 향이 우리 식미와 다소 맞지 않았기 때문으로 판단된다.
- 개발한 홍차와 미생물 발효차 맛은 우바 홍차의 83- 88% 수준을 나타내, 우리나라에서 두물차를 이용해 홍차를 개발한다면 맛과 품질면에서 경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 판단된다.
- 홍차 추출물 색도 비교(자료미제시)에서, 색도 'L'값과 'a'값은 제품에 따라 별다른 차이를 나타내지 않아, 추출물 당색의 명도(밝기)에서는 차이를 나타내지 않았다. 색도 'b'값과 Hue값은 홍차가 타 제품에 비해 다소 높아 짙은 황색을 나타내는 경향을 나타냈다. 발효차에서 맛과 품질은 당색(외관), 내질(맛), 엽저 항목으로 평가되는데, 홍차와 미생물발효차는 색도면에서 유통중인 발효차와 차이를 나타내지 않았다. 따라서, 두물차를 이용해서 발효차 개발시 당색은 우수하게 평가되었다.
- 홍차 추출물 비타민 C와 클로로필 함량 비교(자료미제시)에서, 비타민 C는 기문, 우바, 다아질링 홍차에 비해 홍차와 미생물발효차에서 현저히 높았다. 클로로필함량도 유통중인 홍차에 비해 홍차와 개발한 미생물발효차에서 높았다
- 비타민 C와 클로로필함량은 발효가 진전됨에 따라 감소하는 경향을 나타내는 것으로 알려져 있다. 비타민 C는 수용성 필수 비타민으로서, 사람에서 궤혈병예방,

항산화도로 성인병을 예방하는데 관여하는 것으로 알려져 있고, 클로로필은 에너지대사, 치석예방, 이취제거에 관여하는 기능성물질로 알려져 있다.

- 따라서, 홍차와 개발한 미생물발효차는 영양소와 기능성면에서 유통중인 발효차에 비해 우수하게 평가되었다.
- 홍차 추출물 카테킨 함량 비교(표 4-18)에서, 카테킨은 우바 홍차, 기문 홍차, 다아질링 홍차, 홍차, 미생물 발효차 순으로 높았다. 카테킨은 국내산 홍차보다 외국산 홍차에서 현저히 높았는데, 이것은 발효정도 차이라기 보다는 대엽종이 갖고 있는 품종적 특성 때문으로 사료된다. 홍차 추출횟수가 진전될수록 모든 제품에서 카테킨함량은 감소하는 경향을 나타냈다.
- 카테킨은 항산화와 함께 항비만, 항당뇨 예방에 효과가 있는 생리활성 물질로 알려져 있는데, 카테킨중에서는 EGCG가 가장 높은 생리활성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다. 카테킨 함량은 국내산 발효차 보다 외국산 발효차에서 현저히 높은 경향을 나타냈다.
- 홍차 추출물 무기물 함량 비교(자료미제시)에서, 홍차와 미생물발효차의 주요 무기물은 K이었고 그 다음은 Ca, Na, Mg 순이었다. 홍차는 미생물발효차에 비해 무기물 함량이 다소 높은 경향을 나타냈다. 유통중인 발효차와 비교에서, 우바 홍차에서 높은 경향을 나타냈고 기문홍차는 비슷한 수준, 다아질링은 다소 낮은 경향을 나타냈다. 따라서, 홍차와 미생물 발효차 무기물 함량은 유통중인 발효차와 유사한 수준을 나타냈다.
- 무기물은 알카리로서 필요한 미량요소 공급, K는 나트륨흡수억제, Ca은 뼈 건강 증진 등을 통해 건강을 증진시키는 것으로 알려져 있다.
- 홍차 추출물 테아플라빈과 테아루비긴 함량 비교(표 4-19)에서, 홍차와 미생물발효차에서 테아플라빈은 6.40~7.90, 5.80~8.20umol/건물중 g, 테아루비긴은 11.80~14.80, 12.60~17.40%로 미생물발효차에서 높은 수준을 보였다. 유통중인 발효차에서, 우바홍차는 테아플라빈과 테아루비긴이 가장 높은 경향을 나타냈고, 기문 홍차, 다아질링 홍차순으로 높았다.
- 테아플라빈과 테아루비긴함량은 발효차에 따라 차이를 나타냈는데, 이것은 카테킨함량과 함께 제다공정에 따른 차이로 사료된다.
- 홍차 추출물 항산화도 비교(자료미제시)에서, 항산화도는 홍차와 미생물발효차에

비해 유통중인 발효차에서 현저히 높았다. 다만, 홍차와 미생물발효차에서 항산화도는 차이를 나타내지 않았다.

- 결론적으로, 국내산 두물참잎을 이용해서 발효차 제다공정을 최적화할 경우, 홍차와 미생물발효차는 우바 홍차에 비해 맛과 품질이 떨어졌으나, 기문홍차나 다아질링 홍차와 비교해서는 유사한 수준을 나타냈다. 홍차와 미생물 발효차는 맛, 영양소, 생리활성에서 유사한 수준을 나타냈다. 고품질 발효차 제다를 위해서는 참잎의 채엽기가 빠를수록 좋으나, 참잎 가격이 너무 높아 산업화를 위해서는 두물 또는 세물참잎을 이용해서 발효차를 생산하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

표 4-17. 홍차, 미생물 발효차와 유통중인 발효차에서 맛 비교

구분	추출조건			맛 ²			
	온도 (°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
홍차	90	첫번째	3.30±0.17	3.20±0.10	3.10±0.15	3.20±0.15	3.20±0.16
		두번째	3.40±0.20	3.25±0.20	3.10±0.10	3.50±0.10	3.32±0.15
		세번째	3.00±0.20	3.18±0.20	3.15±0.10	2.80±0.10	3.08±0.15
미생물 발효홍차	90	첫번째	3.25±0.10	3.30±0.10	3.50±0.15	3.22±0.10	3.32±0.12
		두번째	3.60±0.16	3.58±0.16	3.50±0.17	3.40±0.17	3.54±0.17
		세번째	3.00±0.16	3.05±0.14	3.00±0.14	3.00±0.15	3.02±0.16
기문홍차	90	첫번째	3.50±0.15	3.80±0.15	3.80±0.15	3.70±0.15	3.70±0.15
		두번째	3.94±0.16	3.95±0.14	3.88±0.14	3.75±0.14	3.88±0.14
		세번째	3.43±0.13	3.42±0.13	3.75±0.13	3.80±0.13	3.60±0.13
우바홍차	90	첫번째	4.00±0.10	3.90±0.10	3.90±0.15	4.10±0.15	4.00±0.11
		두번째	3.80±0.14	3.70±0.15	3.80±0.13	3.90±0.13	3.80±0.14
		세번째	3.30±0.15	3.20±0.13	3.20±0.14	3.50±0.13	3.30±0.14
다아질링 홍차	90	첫번째	3.20±0.14	3.30±0.15	3.30±0.13	3.10±0.14	3.30±0.14
		두번째	3.10±0.14	3.00±0.12	3.20±0.12	3.10±0.11	3.10±0.12
		세번째	3.10±0.14	3.10±0.13	3.20±0.13	3.00±0.12	3.00±0.13

²1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-18. 홍차, 미생물 발효차와 유통중인 발효차에서 카테킨 함량 비교

구분	추출조건		카테킨 ² 함량(mg/100mL)								
	온도(°C)	횟수	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	합계
홍차	90	첫번째	14.30 ±1.22	4.01 ±0.04	16.81 ±1.22	2.08 ±0.02	21.10 ±1.40	1.18 ±0.12	9.45 ±1.14	23.00 ±3.10	91.93 ±8.05
		두번째	7.80 ±0.40	3.42 ±0.42	9.95 ±0.80	2.05 ±0.04	21.77 ±2.60	10.60 ±0.14	7.30 ±0.60	14.70 ±1.40	77.59 ±7.30
		세번째	8.00 ±0.80	5.88 ±0.40	8.60 ±0.86	1.50 ±0.18	11.94 ±0.88	4.0 ±0.02	3.20 ±0.23	10.80 ±1.12	41.50 ±4.40
미생물 발효차	90	첫번째	8.10± 0.50	16.20 ±1.42	5.80 ±0.44	1.01 ±0.06	10.66 ±1.20	9.80 ±0.60	12.14 ±1.14	21.00 ±2.04	84.71 ±7.60
		두번째	9.00± 0.50	10.40 ±1.20	2.34 ±0.20	0.98 ±0.08	10.00 ±1.14	9.80 ±1.16	10.02 ±0.90	10.50 ±1.40	63.04 ±6.80
		세번째	8.00± 0.13	10.97 ±0.14	1.35 ±0.20	0.80 ±0.08	7.20 ±0.58	9.80 ±0.14	10.30 ±0.13	8.40 ±0.12	56.80 ±5.18
기문 홍차	90	첫번째	18.10 ±1.12	20.90 ±1.40	5.50 ±0.32	4.10 ±0.40	43.40 ±5.80	14.00 ±1.20	5.35 ±0.20	33.23 ±3.40	144.58 ±13.80
		두번째	14.00 ±0.70	18.40 ±1.52	3.17 ±0.24	1.20 ±0.10	33.40 ±3.12	18.90 ±2.00	6.80 ±0.12	14.00 ±2.00	109.80 ±10.80
		세번째	8.40 ±0.64	15.21 ±1.60	2.80 ±0.20	1.10 ±0.10	11.20 ±1.00	11.00 ±1.20	5.00 ±0.03	6.80 ±0.40	61.50 ±7.20
우바 홍차	90	첫번째	29.60 ±3.62	14.6 ±1.64	9.30 ±0.82	1.60 ±0.12	71.30 ±7.40	13.80 ±1.42	15.30 ±1.11	27.60 ±3.10	183.10 ±15.20
		두번째	23.90 ±1.57	13.30 ±1.42	7.20 ±0.50	1.09 ±0.04	38.00 ±3.60	2.89 ±0.34	17.90 ±1.80	22.50 ±3.84	126.70 ±11.70
		세번째	12.70 ±1.45	8.50 ±0.80	0.48 ±0.06	0.60 ±0.08	22.10 ±2.80	1.40 ±0.12	13.15 ±1.20	12.40 ±1.10	71.33 ±7.50
다아질 링 홍차	90	첫번째	13.40 ±1.35	12.40 ±1.42	13.05 ±1.44	0.90 ±0.06	38.81 ±1.88	3.85 ±0.30	6.10 ±0.35	28.90 ±6.04	117.40 ±11.80
		두번째	14.00 ±1.40	9.40 ±1.00	13.52 ±1.20	0.74 ±0.08	24.00 ±0.44	2.30 ±0.26	0.70 ±0.10	26.14 ±4.40	88.80 ±7.70
		세번째	12.00 ±1.13	7.05 ±0.04	7.24 ±0.60	6.49 ±0.48	19.12 ±1.58	1.28 ±0.14	0.10 ±0.03	8.22 ±1.12	61.50 ±5.60

²GC = gallic catechin, EGC = epigallocatechin, C = catechin, EC = epicatechin, EGCG = epigallocatechin-3-gallate, GCG = gallic catechingallate, ECG = epicatechingallate and CG = catechin gallate

표 4-19. 홍차, 미생물 발효차와 유통중인 발효차에서 테아플라빈과 테아루비긴 함량 비교

구분	추출조건		함량	
	온도 (°C)	횟수	테아플라빈 ($\mu\text{mol}/\text{건물중 g}$)	테아루비긴 (%)
홍차	90	첫번째	7.90 ± 1.10	14.80 ± 0.60
		두번째	6.44 ± 0.40	12.60 ± 0.28
		세번째	6.40 ± 0.70	11.80 ± 0.16
미생물발효 홍차	90	첫번째	8.80 ± 3.60	17.40 ± 0.30
		두번째	5.80 ± 2.40	12.80 ± 0.30
		세번째	6.80 ± 1.13	12.60 ± 0.15
기문 홍차	90	첫번째	15.10 ± 3.20	20.80 ± 0.90
		두번째	11.24 ± 1.70	16.04 ± 0.60
		세번째	8.40 ± 0.94	13.20 ± 0.03
우바 홍차	90	첫번째	20.64 ± 2.80	21.97 ± 0.90
		두번째	13.80 ± 1.65	15.88 ± 0.25
		세번째	8.60 ± 0.52	13.20 ± 0.40
다아질링 홍차	90	첫번째	14.29 ± 3.40	18.50 ± 0.64
		두번째	12.80 ± 0.86	16.20 ± 0.46
		세번째	7.80 ± 0.54	13.48 ± 0.30

(5) 홍차, 미생물발효 홍차 용기와 디자인 개발

- 홍차와 미생물발효차 제다공정을 개발해서, 발효차를 생산한 다음 용기와 디자인을 개발하였다(그림 4-4). 개발한 발효차는 홍차와 미생물처리를 한 미생물발효차로 구분하였다. 디자인에서 발효차 잎과 탕색을 넣어 발효차 고유의 차잎 외관과 탕색을 살렸다. 발효차 용기는 외국에서 주요발효차로 많이 사용되고 있는 스테인레스 제질로 용량은 100g으로 하였다. 발효차 유통에서, 지금까지 발효차 가격이 높았던 점을 고려해 2만원선에서 유통이 가능할 것으로 판단되었다.

	
<p>홍차 디자인</p>	<p>미생물발효차 디자인</p>
	
<p>발효차 용기</p>	<p>개발한 발효홍차와 미생물차</p>

그림 4-4. 홍차와 미생물발효차 용기 및 디자인

3) 재고차(두물)를 이용한 황차와 미생물발효 황차 제조공정 개발

- 전남 보성군 소재 보성차생산자연합 소속 다원에서 2014년 5월 15일 채엽한 두물 찻잎을 이용 황차와 미생물처리 발효황차를 제다하였다. 황차는 위조, 숙성, 유념, 건조 등 조건을 달리해서(4 제다공정) 제다하였다. 미생물처리 발효황차는 상기 제다공정 중 맛과 품질이 우수한 공정으로 제다한 황차에 미생물을 처리하였다. 처리한 미생물 균주는 주관연구기관에서 분리 배양한 진균(RS201), 흑국균(AN091), (PC151), 효모 (DH011, RP011, CT181) 등 13종을 단독과 조합처리해서 선발한 균주 DH011, RP011, CT181 3종을 조합처리해서 발효시켰다.
- 제다한 황차와 발효미생물차는 각각 추출해서 관능평가, Hunter값, 클로로필, 테아플라빈(theaflavin, 테아루비긴(thearubigin)함량을 측정하였다.

(1) 황차 제다공정별 맛과 주요 특성

- 채취한 찻잎은 맑은 날 실외위조 2회, 실내위조 1회(낮 20°C, 밤 15°C)를 10-30분 마다 뒤집어 주면서 선별과 함께 위조시켰다. 위조가 끝난 찻잎은 유념과 발효(온도 40°C, 상대습도 70%), 실외에서 숙성과 건조기에서 건조공정을 달리 해서 차를 제다하였다. 이러한 제다공정별 황차 관능평가를 실시한 결과, 맛은 공정 라, 나, 다, 가 순으로 높게 나타났는데, 제다공정 라에서 4.25로 가장 우수하게 평가되었다(표 4-20).
- 황차 제다시 실내와 실외에서 위조 시간과 뒤집는 간격, 유념시간과 횟수, 발효시간과 횟수, 건조와 민황처리 정도에 따라 차 맛은 차이를 나타냈는데, 이러한 조건은 제다기간 날씨, 찻잎 숙성정도에 따라 달리 적용하는 것이 중요한 것으로 나타났다.
- 황차 추출물 색도(자료미제시)에서, 제다공정 가와 나에서 'L'값이 높으면서, 'b'값도 높아 탕색이 선명하면서 황갈색으로 탕색이 좋은 경향을 나타냈다.
- 테아플라빈과 테아루비긴함량도 제다공정에 따라 차이를 나타냈는데(표 4-21), 테아플라빈은 제다 공정별 4.69~6.51umol/건물중 g, 테아루비긴은 공정별 13.40~16.55%로, 테아플라빈은 공정 가에서, 테아루비긴은 공정 나에서 높은 경향을 나타냈다. 황차에서 2차대사물질인 테아플라빈과 테아루비긴은 폴리페놀옥시다아제

(PPO) 활성으로 카테킨에서 생성되는데, 이 효소 활성이 너무 강해도 맛과 색이 감소하는 것으로 알려져 있다. 황차 맛 평가에서 공정 나가 높았는데, 맛에도 이러한 2차 대사물질이 향과 당색에 어느 정도 관여하는 것으로 추정된다.

표 4-20. 두물 찻잎에서 황차 제다 공정별 맛 변화

제다 공정	관능평가 ^z				
	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
공정 가	3.40±0.20	3.80±0.20	3.50±0.15	3.30±0.10	3.50±0.16
공정 나	4.10±0.20	4.10±0.20	4.00±0.10	4.20±0.20	4.10±0.18
공정 다	3.90±0.20	4.00±0.20	4.10±0.20	4.00±0.10	4.00±0.18
공정 라	4.10±0.15	4.20±0.20	4.40±0.20	4.30±0.20	4.25±0.19

^z1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

제다공정 가: 선별→ 일광위조 1시간→ 실내 위조 0.5시간→ 일광위조 1시간→ 유념기 유념

(12분)→ 덩음→ 발효기 숙성(38℃, 50% 상대습도) 2시간→ 덩음→ 건조

제다공정 나: 선별→ 일광위조 1시간→ 실내 위조 0.5시간→ 일광위조 1시간→ 유념기

유념(12분)→ 덩음→ 민황(무명 천) 숙성 2시간→ 건조

제다공정 다: 선별→ 일광위조 2시간→ 실내 위조 1시간→ 일광위조 1시간 20분→ 유념기 유념 (15

분)→ 퇴적(10분)→ 유념기 유념(10분)→ 덩음→ 민황 2시간→ 건조

제다공정 라: 선별→ 일광위조 2시간→ 실내 위조 1시간→ 일광위조 1시간 20분→ 유념기 유념(15분)

→ 퇴적 10분→ 유념기 유념(10분)→ 덩음→ 민황 2시간→ 덩음→ 민황→ 건조

표 4-21. 황차 제다공정별 테아플라빈과 테아루비긴 함량

제다공정	테아플라빈(umol/건물중 g)	테아루비긴(%)
가	6.51±0.60	16.55±1.50
나	6.32±0.40	16.05±1.60
다	4.99±0.50	13.40±1.54
라	4.69±0.50	13.99±0.50

(2) 두물차에서 발효미생물 탐색

- 제다한 황차에 진균(RS201), 흑국균(AN091, PC151)을 각각 처리후 발효기에서 30일간 발효시킨 다음 관능평가를 실시하였다(자료미제시).
- 미생물처리전 발효차 맛은 3.88로 발효기간 3.68~3.90와 별다른 차이를 나타내지 않았다. 반면, 미생물처리차에서 맛은 처리 10일 2.70~3.00, 처리 20일은 2.83~3.03, 처리 30일에는 2.78~2.95로 보통 이하의 수준을 나타냈다. 이들 미생물차에서 맛은 향과 함께 단맛이 특히 감소하는 경향을 나타냈고, 발효기간이 길어지면서 검은분말과 함께 탕색도 검푸른 색을 나타냈다.
- 발효차 맛 향상을 위한 효모처리에 따른 맛 특성(자료미제시)에서, 처리전 맛은 3.53이었으나, 효모처리 5, 10, 15, 20, 25, 30일에서 맛은 각각 3.04~3.45, 3.13~3.63, 2.68~3.01, 2.45~2.90, 2.33~2.78, 2.50~2.68로 처리 10일째 최대치에 도달되었다가 발효기간이 진행되면서 맛도 크게 감소하는 경향을 나타냈다. 효모균주별로는 DH011+RP011, RP011, CT181 순으로 높았는데, 단일균주보다는 균주 조합처리에서 높은 경향을 나타냈다.
- 효모처리에서 맛은 발효 15일부터 현저하게 나빠지는 경향을 나타냈는데, 이는 발효와 함께 찻잎이 부스러지면서 흑색으로 변해 향과 맛을 감소시키기 때문인 것으로 나타났다. 따라서, 효모를 조합해서 처리하면서 발효기간도 15일 이내로 할 경우 발효차 맛과 품질은 향상 될 것으로 판단된다.
- 발효차 맛 향상을 위한 효모 조합처리에 따른 맛 특성(표 4-22)에서, 처리전 맛은 3.38이었으나, 효모처리 5, 10, 15일에서 맛은 각각 3.20~4.08, 2.83~3.88, 2.75~3.98로 처리 5일째 최대치에 도달되었다가 발효기간이 진행되면서 맛도 점진적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 효모균주별로는 DH011+RP011+CT181에서 높았는데, 두 균주보다는 세균주 조합처리에서 높은 경향을 나타냈다.

표 4-22. 황차에서 미생물(효모) 조합처리에 따른 맛 변화

효모 처리	발효기간(일)	관능평가 ^y				
		쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
처리전	0	3.40± 0.10	3.70± 0.10	3.40± 0.20	3.30± 0.10	3.38± 0.13
DH011+RP011	5	3.92 ±0.10	3.84 ±0.10	3.50 ±0.10	3.38 ±0.10	3.75 ±0.10
DH011+CT181		3.54± 0.10	3.57± 0.10	3.14 ±0.10	3.09 ±0.20	3.38 ±0.13
RP011+CT181		3.38 ±0.20	3.46 ±0.10	2.93 ±0.10	2.85 ±0.10	3.20 ±0.13
DH011+RP011+CT181		4.05 ±0.10	4.11 ±0.10	4.22 ±0.20	3.94 ±0.20	4.08 ±0.15
DH011+RP011	10	3.72 ±0.20	3.65 ±0.10	3.69 ±0.10	3.9 ±0.10	3.68 ±0.13
DH011+CT181		3.54 ±0.20	3.58 ±0.20	3.36 ±0.10	3.23 ±0.10	3.45 ±0.15
RP011+CT181		2.93 ±0.10	2.87 ±0.20	2.73 ±0.20	2.66 ±0.20	2.83 ±0.7
DH011+RP011+CT181		3.96 ±0.10	3.92 ±0.20	3.84 ±0.20	3.50 ±0.20	3.88 ±0.18
DH011+RP011	15	2.89 ±0.10	2.78 ±0.10	2.56 ±0.10	2.63 ±0.10	2.75 ±0.10
DH011+CT181		2.73 ±0.10	2.67 ±0.20	2.54 ±0.10	2.58 ±0.20	2.65 ±0.15
RP011+CT181		3.25 ±0.10	2.85 ±0.10	2.90 ±0.20	2.55 ±0.20	2.89 ±0.15
DH011+RP011+CT181		4.10 ±0.10	4.03 ±0.10	4.07 ±0.20	3.74 ±0.10	3.98 ±0.13

^y1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

(3) 황차와 미생물발효황차 제다공정 개발

- 두물참잎을 이용해서 제다공정, 미생물처리별 맛과 주요영양소 평가를 통해 황차와 미생물 발효황차 제다공정을 각각 개발하였다.
- 황차 제다공정을 요약하면, 두물참잎(재고차) 기계채엽, 선별과 함께 실내에서 뒤집어 주면서 실내와 일광조건에서 10-30분분마다 뒤집어 주면서 위조 3시간, 유념기에서 유념 2회(10분, 15분)과 퇴적과 민황처리, 용기와 디자인 개발, 용기 주입, 포장 공정이다(그림 4-5).
- 미생물 발효차는 개발한 황차에 효모 균주 3종(DH011, RP011, CT181)조합 처리, 향아리주입과 습도 처리(상대습도 70%), 발효기 발효(10일), 건조기 건조, 용기와 디자인 개발, 용기 주입, 포장 공정이다(그림 4-6).
















			
채엽	선별	실내 위조	일광 위조
			
민황	뒤음	유념	숙성
			
건조	제조	용기제작	디자인 개발
			
품질평가	용기주입	황차개발	

그림 4-5. 재고 녹차를 이용한 황차 제조 공정





















			
채엽	선별	실내 위조	일광 위조
			
민황	뒤음	유념	숙성
			
건조	제조	PVC필름 밀봉	효모 처리
			
효모 혼합	발효용기주입	발효기 발효	발효 종료한 차
			
용기제작	디자인개발	용기 주입과 포장	미생물 발효 황차

그림 4-6. 재고 녹차를 이용한 미생물 발효 황차 제조 공정

(4) 외국산 부분발효차와 맛과 주요 품질 특성 비교

- 개발한 황차, 미생물발효황차와 함께 유통중인 외국산 부분발효차 무이정암차, 미남오롱, 봉황단총, 대만오롱차는 국내 유통업자를 통해 구입하였다.
- 황차 추출물에서 관능평가, 비타민 C, 클로로필, Hunter값, 테아플라빈과 테아루비긴, 항산화도를 조사, 분석하였다.
- 개발한 황차와 미생물황차, 시중에 많이 유통되고 있는 부분발효차에서 맛은, 무

이정암차 3.8~4.0로 가장 좋은 경향을 나타냈고, 황차와 미생물 황차는 각각 3.1~3.4, 3.0~3.2로 가장 낮은 수준을 나타냈다 (표 4-23). 우리나라 두물 찻잎을 이용해서 개발한 황차에서, 맛은 미생물 황차 보다는 황차에서 다소 높은 경향을 나타냈다. 추출횟수에 따른 맛은 모든 부분발효차에서 첫번째 추출물에서 높은 경향을 나타냈다.

- 개발한 황차와 미생물 황차 맛은 중국 무이정암차의 각각, 80-85% 수준을 나타내, 우리나라에서 두물차를 이용해 황차를 개발한다면 맛과 품질면에서 경쟁력을 어느정도 확보할 수 있을 것으로 판단된다.
- 황차 추출물 색도 비교(자료미제시)에서, 색도 'L'값과 'a'값은 제품에 따라 별다른 차이를 나타내지 않아, 추출물 탕색의 명도(밝기)에서는 차이를 나타내지 않았다. 색도 'b'값과 Hue값은 무이정암차가 타 제품에 비해 다소 높아 황갈색을 나타내는 경향을 나타냈다. 발효차에서 품질은 탕색(외관)에 어느정도 영향을 받는데, 황차와 미생물황차는 색도면에서 유통중인 발효차와 차이를 나타내지 않았다.
- 부분발효차 추출물 비타민 C와 클로로필 함량 비교(자료미제시)에서, 비타민 C는 황차에서 현저히 높았다. 클로로필함량도 유통중인 부분발효차에 비해 홍차와 개발한 미생물발효차에서 차이가 없었다
- 부분발효차 추출물 카테킨 함량 비교(표 4-24)에서, 카테킨은 무이정암차 봉황단 총, 미남오룡 순으로 높았는데, 이들 함량은 개발한 황차와 미생물 황차에 비해 높았다. 카테킨은 국내산 황차보다 외국산 부분발효차에서 현저히 높았는데, 이것은 발효정도 차이라기 보다는 대엽종이 갖고 있는 품종적 특성 때문으로 사료된다. 부분발효차 추출횟수가 진전될수록 모든 제품에서 카테킨함량은 감소하는 경향을 나타냈다.
- 부분발효차 추출물 테아플라빈과 테아루비긴 함량 비교(표 4-25)에서, 황차와 미생물황차에서 테아플라빈은 8.40~18.11, 7.50~15.09umol/건물중 g, 테아루비긴은 1.65~3.08, 1.23~2.99%로 유사한 수준을 보였다. 유통중인 부분발효차에서, 테아플라빈은 국내산 차에서 높은 반면, 테아루비긴은 외국산차에서 높았다.
- 테아플라빈과 테아루비긴함량은 발효차에 따라 차이를 나타냈는데, 이것은 카테킨함량과 함께 발효정도에 차이가 있었기 때문으로 사료된다.

- 부분발효차 추출물 항산화도 비교(표 4-26)에서, 항산화도는 황차와 미생물황차에 비해 유통중인 발효차에서 높거나(무이정암차) 낮았다(대만오룡차). 이것은 차가 갖고 있는 카테킨 수준과 밀접한 관련이 있었다.
- 결론적으로, 국내산 두물참잎을 이용해서 발효차 제다공정을 최적화할 경우, 황차와 미생물황차는 외국산 부분발효차에 비해 맛과 품질이 떨어졌다. 황차와 미생물 황차는 비타민 C와 클로로필함량은 높았으나, 카테킨함량은 낮은 경향을 나타냈다. 카테킨 2차대사 산물인 테아플라빈은 황차와 미생물황차에서 높았으나, 테아루비긴은 외국산 부분발효차에서 높았다. 따라서, 황차와 미생물황차는 유통중인 부분발효차에 비해 맛과 품질면에서 다소 낮은 경향을 나타내, 추후 부분발효차 품질향상을 위해서는 지속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

표 4-23. 미생물 발효 황차와 유통중인 부분발효차에서 맛 비교

구분	추출조건			맛 ²			
	온도 (°C)	횟수	쓴맛	떫은맛	단맛	향	평균
황차	90	첫번째	3.3±0.26	3.3±0.20	3.6±0.20	3.4±0.20	3.4±0.20
		두번째	3.0±0.20	3.2±0.20	3.4±0.30	3.244±0.20	3.2±0.22
		세번째	3.2±0.20	3.0±0.20	3.3±0.20	3.2±0.20	3.1±0.20
미생물 황차	90	첫번째	3.2±0.20	3.0±0.20	3.7±0.10	3.0±0.10	3.2±0.15
		두번째	2.9±0.20	3.1±0.20	3.0±0.20	3.0±0.20	3.0±0.20
		세번째	3.1±0.20	3.1±0.20	3.0±0.10	3.2±0.10	3.1±0.15
무이정암차	90	첫번째	3.8±0.15	4.0±0.15	4.0±0.15	4.1±0.15	4.0±0.15
		두번째	3.9±0.16	3.8±0.14	3.7±0.14	4.0±0.14	3.9±0.14
		세번째	3.5±0.13	4.0±0.13	3.7±0.13	4.0±0.13	3.8±0.13
미남오룡	90	첫번째	3.7±0.10	3.5±0.10	3.6±0.15	4.0±0.15	3.7±0.14
		두번째	3.3±0.14	3.0±0.15	3.2±0.13	3.6±0.13	3.3±0.13
		세번째	3.1±0.15	3.0±0.13	3.2±0.14	3.5±0.13	3.2±0.14
봉황단총	90	첫번째	4.0±0.14	3.8±0.15	3.6±0.13	3.7±0.14	3.8±0.14
		두번째	3.6±0.14	3.3±0.12	3.2±0.12	3.3±0.11	3.4±0.12
		세번째	3.1±0.14	3.1±0.13	3.2±0.13	3.0±0.12	3.1±0.13
대만오룡차	90	첫번째	3.7±0.10	3.5±0.10	3.6±0.10	3.4±0.10	3.6±0.15
		두번째	3.4±0.10	3.1±0.10	3.5±0.10	3.2±0.10	3.3±0.10
		세번째	3.5±0.15	3.3±0.15	3.1±0.15	3.0±0.20	3.2±0.15

²1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5= 매우 좋음.

표 4-24. 미생물 발효 황차와 유통중인 부분발효차에서 카테킨 함량 비교

구분	추출조건		카테킨 ² 함량(mg/100mL)								
	온도 (°C)	횟수	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	합계
황차	90	첫번째	3.06 ±0.22	0.35 ±0.04	33.61 ±4.22	0.67 ±0.02	0.17 ±0.01	0.56 ±0.12	1.15 ±0.14	0.42 ±0.10	39.99 ±4.26
		두번째	2.05 ±0.40	0.52 ±0.42	26.09 ±3.80	0.36 ±0.04	0.25 ±0.02	0.37 ±0.04	0.53 ±0.10	0.18 ±0.04	35.35 ±3.40
		세번째	1.50 ±0.20	0.18 ±0.01	6.43 ±0.86	1.34 ±0.12	0.15 ±0.18	1.66 ±0.06	0.64 ±0.23	0.33 ±0.02	12.23 ±1.49
미생물 황차	90	첫번째	3.06 ±0.20	0.38 ±0.02	22.21 ±3.44	0.34 ±0.06	0.26 ±0.02	0.80 ±0.20	1.15 ±0.14	0.18 ±0.04	30.40 ±2.60
		두번째	3.26 ±0.20	0.72 ±0.10	20.18 ±2.20	0.43 ±0.08	0.66 ±0.04	0.56 ±0.06	0.53 ±0.02	0.27 ±0.01	27.57 ±3.80
		세번째	4.04 ±0.13	0.25 ±0.01	4.57 ±0.40	0.40 ±0.08	0.19 ±0.01	0.38 ±0.04	0.64 ±0.03	0.07 ±0.00	10.22 ±1.18
무이 정암차	90	첫번째	19.10 ±1.12	22.90 ±2.40	5.50 ±0.32	4.10 ±0.40	46.40 ±5.80	14.00 ±1.60	5.35 ±0.20	29.20 ±3.40	154.50 ±15.80
		두번째	16.00 ±0.70	18.40 ±1.52	3.17 ±0.24	1.20 ±0.10	35.40 ±3.12	18.90 ±2.00	6.80 ±0.12	16.00 ±2.00	115.80 ±11.80
		세번째	8.40 ±0.64	15.21 ±1.60	2.80 ±0.20	1.10 ±0.10	11.20 ±1.00	11.00 ±1.20	5.00 ±0.03	6.80 ±0.40	61.50 ±7.20
미남 오롱	90	첫번째	19.60 ±2.22	14.6 ±1.64	9.30 ±0.82	1.60 ±0.12	31.30 ±3.40	13.80 ±1.42	5.30 ±0.60	17.60 ±2.10	103.10 ±10.20
		두번째	13.90 ±1.26	13.30 ±1.42	7.20 ±0.50	1.09 ±0.04	18.00 ±1.60	2.89 ±0.34	17.90 ±1.80	12.50 ±1.84	86.70 ±9.70
		세번째	12.70 ±1.45	8.50 ±0.80	0.48 ±0.06	0.60 ±0.08	12.10 ±1.80	1.40 ±0.12	13.15 ±1.20	12.40 ±1.10	41.33 ±4.50
봉황 단총	90	첫번째	13.40 ±1.35	12.40 ±1.42	13.05 ±1.44	0.90 ±0.06	38.81 ±3.88	3.85 ±0.30	6.10 ±0.35	28.90 ±6.04	117.40 ±11.80
		두번째	14.00 ±1.40	9.40 ±1.00	13.52 ±1.20	0.74 ±0.08	24.00 ±3.44	2.30 ±0.26	0.70 ±0.10	26.14 ±2.40	88.80 ±7.70
		세번째	12.00 ±1.13	7.05 ±0.04	7.24 ±0.60	6.49 ±0.48	19.12 ±1.58	1.28 ±0.14	0.10 ±0.03	8.22 ±1.12	61.50 ±5.60
대만 오롱차	90	첫번째	22.10 ±2.12	24.90 ±2.40	6.50 ±0.32	3.10 ±0.40	30.80 ±4.88	5.85 ±0.30	4.10 ±0.35	22.90 ±3.04	120.25 ±13.80
		두번째	19.00 ±2.20	21.40 ±1.52	4.17 ±0.24	1.40 ±0.10	17.00 ±1.60	1.30 ±0.20	1.70 ±0.10	24.14 ±2.40	90.11 ±8.80
		세번째	18.40 ±1.64	15.21 ±1.60	2.80 ±0.20	1.10 ±0.10	22.10 ±1.20	1.28 ±0.14	0.10 ±0.03	20.22 ±2.12	81.21 ±7.20

²GC = galliccatechin, EGC = epigallocatechin, C = catechin, EC = epicatechin, EGCG = epigallocatechin-3-gallate, GCG = galliccatechingallate, ECG = epicatechingallate and CG = catechin gallate

표 4-25. 미생물 황차와 유통중인 부분발효차에서 테아플라빈과 테아루비긴 함량 비교

구분	추출조건		함량	
	온도 (°C)	횟수	테아플라빈 ($\mu\text{mol}/\text{건물중 g}$)	테아루비긴 (%)
황차	90	첫번째	18.11 ± 1.80	3.08 ± 0.61
		두번째	12.04 ± 1.10	2.20 ± 0.28
		세번째	8.40 ± 0.70	1.65 ± 0.16
미생물 황차	90	첫번째	15.09 ± 1.41	2.99 ± 0.35
		두번째	10.80 ± 1.00	2.17 ± 0.30
		세번째	7.50 ± 0.60	1.23 ± 0.16
무이정암차	90	첫번째	6.10 ± 0.40	20.80 ± 0.90
		두번째	5.24 ± 0.50	16.04 ± 0.60
		세번째	3.40 ± 0.30	13.20 ± 0.03
미남오롱	90	첫번째	10.64 ± 1.80	21.97 ± 0.90
		두번째	6.80 ± 0.65	15.88 ± 0.25
		세번째	3.60 ± 0.52	13.20 ± 0.40
봉황단총	90	첫번째	9.29 ± 0.40	18.50 ± 0.64
		두번째	6.80 ± 0.56	16.20 ± 0.46
		세번째	7.80 ± 0.54	13.48 ± 0.30
대만 오롱차	90	첫번째	7.11 ± 0.62	3.08 ± 0.61
		두번째	7.04 ± 0.11	2.20 ± 0.28
		세번째	4.40 ± 0.41	1.65 ± 0.16

표 4-26. 미생물 황차와 유통중인 부분발효차에서 항산화도 비교

구분	추출조건		항산화도		
	온도 (°C)	횟수	ABTS	FARP	DPPH (%RSA)
황차	90	첫번째	10.10 ± 1.10	8.50 ± 0.60	15.82 ± 1.92
		두번째	10.40 ± 0.80	5.20 ± 0.44	10.24 ± 1.05
		세번째	8.80 ± 0.90	4.80 ± 0.46	8.75 ± 0.75
미생물 황차	90	첫번째	11.80 ± 1.20	12.30 ± 1.35	18.69 ± 1.34
		두번째	9.80 ± 1.10	10.88 ± 1.00	12.95 ± 1.20
		세번째	6.64 ± 0.60	8.60 ± 0.53	10.53 ± 1.11
무이정암차	90	첫번째	19.10 ± 1.80	16.03 ± 1.60	16.20 ± 1.60
		두번째	14.24 ± 1.70	14.04 ± 1.40	17.70 ± 1.80
		세번째	11.40 ± 1.44	13.20 ± 1.30	10.09 ± 1.00
미남오롱	90	첫번째	14.64 ± 1.10	18.97 ± 1.90	10.03 ± 1.70
		두번째	10.80 ± 1.00	13.88 ± 1.25	7.90 ± 1.10
		세번째	7.60 ± 0.52	12.20 ± 1.20	5.10 ± 0.80
봉황단총	90	첫번째	8.29 ± 0.90	5.50 ± 0.50	11.10 ± 0.90
		두번째	6.80 ± 0.70	3.20 ± 0.40	10.90 ± 0.80
		세번째	3.88 ± 0.30	1.48 ± 0.30	8.80 ± 0.50
대만오롱차	90	첫번째	7.20 ± 0.60	4.50 ± 0.30	9.05 ± 0.80
		두번째	6.20 ± 0.40	3.50 ± 0.20	7.03 ± 0.70
		세번째	4.22 ± 0.40	3.00 ± 0.20	4.00 ± 0.30

(5) 미생물 발효 황차 용기와 디자인 개발

- 황차와 미생물발효 황차 제다공정을 개발해서, 발효차를 생산한 다음 용기와 디자인을 개발하였다(그림 4-7). 상표는 전통방식으로 제다한 황차와 미생물처리한 미생물발효황차로 구분하였다. 디자인에서 발효차 잎과 탕색을 넣어 발효차 고유의 찻잎 외관과 탕색을 살렸다. 발효차 용기는 외국에서 주요발효차로 많이 사용되고 있는 스테인레스 제질로 용량은 100g으로 하였다.



그림 4-7. 황차와 미생물발효황차 용기 및 디자인

- 최근 녹차 소비량 감소로 두물차와 세물차는 수확되지 않고 있어 이들 찻잎을 이용한 농가 소득 증대 방안이 시급히 요구되고 있다. 본 연구에서 두(세)물 찻잎을 이용해서 맛과 품질이 우수한 황차와 홍차제다 공정을 개발해서 제품을 개발하였다. 또, 황차와 홍차에 효모를 처리해 발효미생물차도 개발하였다. 개발한 발효차 제다 공정과 제다기술은 참여기업 기술이전, 현장적용을 통해 제품을 생산할 계획이다.
- 보성군은 녹차 주산지이면서 군에서 차를 전략식품산업으로 육성중에 있다. 현재 유통되고 있는 유통매장, 거래처, 관광객 대상 홍보와 함께 판매를 시도하고 점진적으로 전국적인 유통이 될 수 있도록 노력 할 계획이다.

4) 재고차(증청 녹차)를 이용한 미생물발효차의 개발

(1) 재고 증청 녹차를 이용한 발효차의 제조

- 상기의 연구결과 확립된 FHC 및 FLC 조건을 가을 찻잎으로 대량 증청 제조되어 전년도의 재고로 쌓아둔 증청 녹차에 적용하여 미생물발효차(JHC1~4, JLC1~4)를 제조하였다(표 4-27)

표 4-27. 재고 증청녹차를 이용하여 제조한 미생물 발효차 리스트

시료명	접종균주	발효온도	제조방법
JHC1	Base T + S1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
JHC2	Base F + S1 + S2	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
JHC3	Base T + S1 + S2 + F1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
JHC4	Base F + S1 + S2 + F1	고온 (30℃+45℃)	혼합균주접종, 5주발효
JLC1	Base T + S1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
JLC2	Base F + S1 + S2	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
JLC3	Base T + S1 + S2 + F1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효
JLC4	Base F + S1 + S2 + F1	저온 (25℃+40℃)	혼합균주접종, 5주발효

Base T(발효차 유래 균주 15종):AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011+AF212+PG051+PC151+RP011+CT181

Base F(발효차 유래 균주 10종): AN091+AN092+AF211+AT011+PG121+PC091+RP211+RS201+LR011+DH011

S1(전통식품 유래 균주 3종, 세균): B Sa49+BSa50+LBa53

S2(전통식품 유래 균주 4종, 곰팡이+효모): Na80+AOhj01+ROm85S+Ca08

F1(전통식품 유래 균주 5종, 곰팡이): AFa89+PCa69+RSa05+RSm86+MRa66

(2) 재고 증청 녹차를 이용한 발효차의 관능적 특성

- 재고 증청 찻잎을 이용하여 제조한 미생물발효차의 관능적 특성을 5월 채취한 고급찻잎을 원료로 동일한 방법으로 제조한 미생물발효차와 비교하였다. 그 결과(표 4-28), 관능적 평가는 5월 채취한 고급찻잎을 원료로 제조한 발효차가 재고 증청 찻잎으로 제조한 발효차 보다 뛰어난 것으로 확인되었다.

표 4-28. 재고 증청녹차를 이용하여 제조한 미생물 발효차의 관능특성

Sample	Color	Smell	Taste	Total preference
JHC1	3.60±1.52 ^{ab}	4.20±1.10 ^a	4.00±0.71 ^a	3.75±0.50 ^a
JHC2	3.00±1.22 ^{ab}	3.80±1.30 ^a	4.00±0.71 ^a	3.25±0.50 ^a
JHC3	6.00±1.8 ^b	4.80±1.92 ^a	5.00±2.00 ^a	6.50±2.08 ^a
JHC4	5.60±2.61 ^{ab}	5.60±1.14 ^a	5.40±2.41 ^a	6.50±2.38 ^a
JLC1	2.20±0.84 ^a	4.40±2.07 ^a	4.00±1.41 ^a	4.00±2.45 ^a
JLC2	2.20±1.10 ^a	3.80±1.79 ^a	4.00±2.71 ^a	4.00±2.65 ^a
JLC3	6.00±1.22 ^b	3.60±2.30 ^a	4.00±1.22 ^a	4.50±1.73 ^a
JLC4	5.20±0.84 ^{ab}	3.00±2.12 ^a	4.00±1.41 ^a	4.25±1.71 ^a
FHC1	2.71±1.70 ^a	6.00±2.16 ^a	3.00±1.63 ^a	4.00±2.16 ^a
FHC2	3.43±1.81 ^{ab}	6.14±2.12 ^a	3.43±1.81 ^{ab}	4.14±1.68 ^{ab}
FHC3	6.29±2.63 ^c	5.71±2.21 ^a	5.57±1.81 ^d	6.71±1.98 ^b
FHC4	6.57±2.07 ^c	5.43±2.94 ^a	5.57±2.23 ^{cd}	5.29±2.81 ^{ab}
FLC1	3.29±2.43 ^{ab}	3.86±1.86 ^a	3.00±1.15 ^a	4.00±2.45 ^a
FLC2	5.43±2.94 ^{bc}	4.57±2.70 ^a	3.71±1.60 ^{abc}	3.71±0.49 ^a
FLC3	4.29±0.76 ^{abc}	4.00±1.83 ^a	4.57±0.98 ^{abcd}	5.00±2.53 ^{ab}
FLC4	6.86±2.04 ^c	5.00±2.16 ^a	5.14±1.68 ^{bcd}	4.71±2.50 ^{ab}

* All value are mean±SD. Values within a column with different superscripts are significantly each groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test =a<b<c

<재고증청 찾임>

- JHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 JHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 JHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 JHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 JLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 JLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 JLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 JLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효

<5월채취 찾임으로 제조한 모차>

- FHC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FHC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 고온(30℃+45℃) 발효
 FLC1: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC2: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC3: Base T(발효차 유래 균주 15종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효
 FLC4: Base F(발효차 유래 균주 10종) + S1(전통식품 유래 세균 3종) + S2(전통식품 유래 곰팡이+효모 4종) + F1(전통식품 유래 균주 곰팡이 5종), 혼합균주접종 저온(25℃+40℃) 발효

(3) 재고 증청 녹차를 이용한 발효차의 기능적 특성(지방간 예방 효과)

- 재고 증청 찻잎을 이용하여 제조한 미생물발효차(JHC군, JLC군)의 지방간 예방효과를 검증하여 고급 모차를 이용하여 동일한 조건에서 제조한 미생물발효차(FHC군 및 FLC군), 중국산 보이차와 비교하였다. 그 결과(그림 4-8, 4-9), 고급 모차를 이용하여 동일한 조건에서 제조한 미생물발효차에서는 중국산 보이차에 비하여 그리 큰 효과가 보이지 않았지만 증청찻잎으로 제조한 발효차에서는 중국산 보이차에 비하여 높은 효과가 인정되었다.

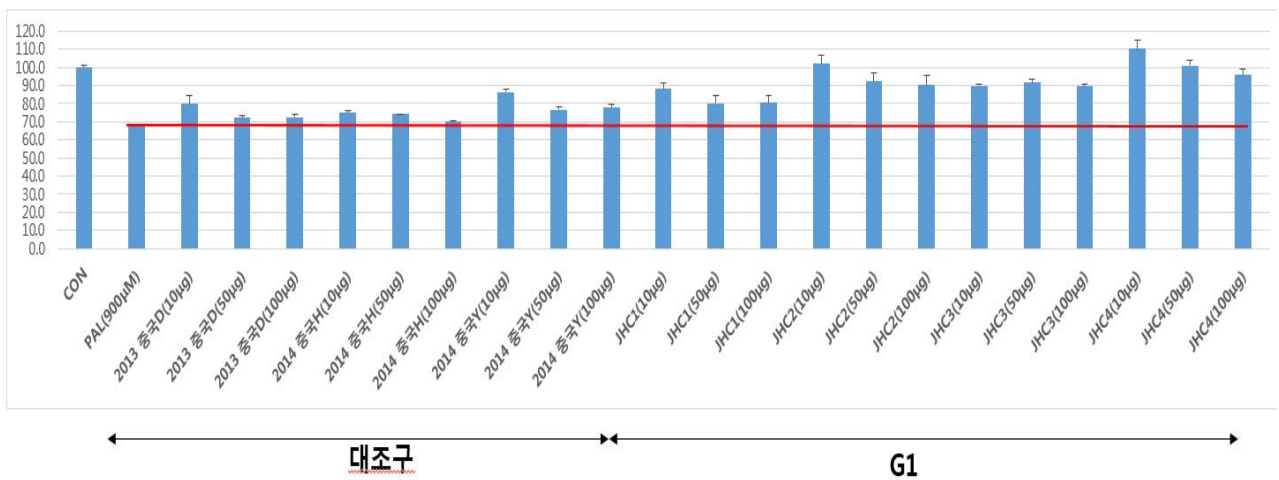


그림 4-8. 중국산 발효차와 재고차에 대한 혼합 균주의 지방간 예방 효과

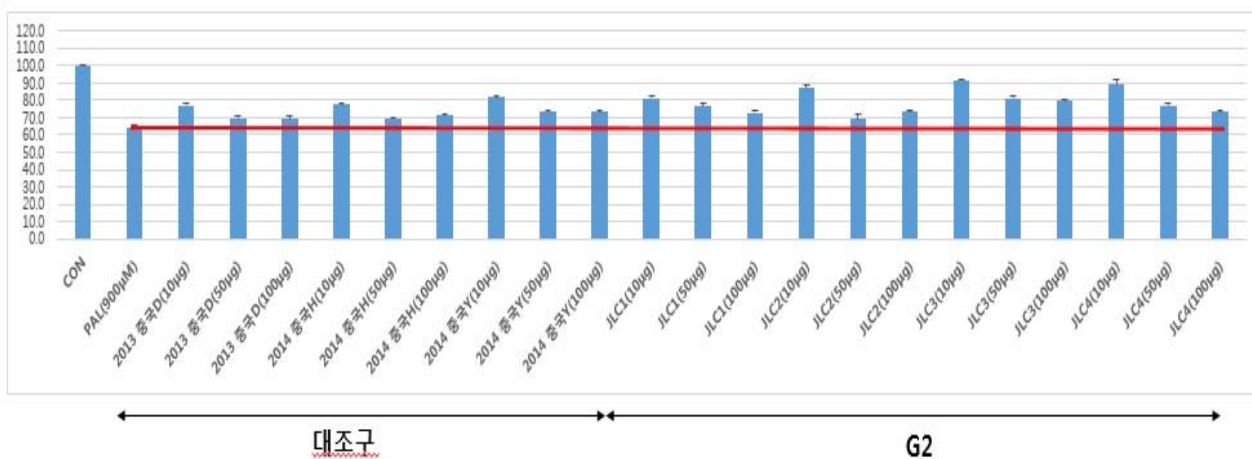


그림 4-9. 중국산 발효차와 재고차에 대한 혼합 균주의 지방간 예방 효과

- 특히, JHC 군의 경우는 JHC2, 3, 4군에서 중국산 미생물 발효차에 비해 예방 효과가 강하게 인정이 되었으며(그림 4-8), JCL 군의 경우는 중국산 보이차에 비해 다소 지방간 예방 효과가 강하게 인정이 되었다(그림 4-9). JCL3 및 JCL4에서 그 효과가 더 큰 것으로 관찰되었다.

5. 산업화를 위한 공정기술 최적화 방안 탐색

1) 균주 접종용 스타터 개발

- 지금까지의 연구결과, 포자접종 방식과 찻잎을 이용한 스타터 접종방식 모두 균의 성장에 영향이 없는 것으로 나타남에 따라 산업화를 위한 최적의 균주접종 방식을 검토하기 위하여 스타터의 제조방법을 검토하였다.

(1) 스타터 제조 및 제조된 스타터의 균주 생육도 비교

가. 접종용 균주 제조

- 단일 분리된 곰팡이를 사면배지에 배양한 후 5% Tween 80을 이용하여 포자를 추출한 뒤 tween 80을 제거하여 접종용 균주를 제조하였다.
- 세균과 효모는 액체배지에 배양한 후 원심분리하여 pellet 상층액을 완전히 제거하여 접종용 균주를 제조하였다.

나. 스타터 제조

가) 배양통을 이용한 찻잎 스타터 제조

- 배양통에 모차를 넣고 밀봉한 후 멸균 처리하였다. 멸균처리된 모차에 각각의 균주를 1×10^5 CFU/g의 농도로 접종한 후 각 균주의 최적 생육조건하에서 2주 동안 배양시켜 제조하였다.

나) 스틱형 찻잎 스타터의 제조

- 직사각형 스틱에 미리 분쇄시킨 모차를 크기별로 대, 중, 소로 구별하고 소형분말은 과립으로 재가공하여 사용하였다. 멸균된 모차 2 g에 각각의 균주를 1×10^5 CFU/g의 농도로 접종한 후 각 균주의 최적 생육조건하에서 2주 동안 배양하여 스틱형 찻잎 스타터를 제조하였다.



그림 5-1. 스타터 제조용 용기

다. 제조된 스타터별 균주 생육도 비교

가) 배양통 찻잎 스타터내 균수 측정

- 제조된 배양통 찻잎 스타터내의 균주 생육도 및 오염여부를 측정한 결과, 전반적으로 포자 스타터와 유사한 수준의 균수가 확인되어 배양통 스타터의 활용가능성은 확인되었으나 오염도 측정 결과 용기의 특성 상 외부환경과 완벽한 차단이 이루어 지지 않아 오염이 쉽게 발생하는 것이 확인되었다. 또한 배양 시 배양용기 하단으로 균주 및 침출액 등이 묻치는 현상이 발견되어 산업현장에 적용을 위해서는 개선이 필요한 것으로 판단되었다.

표 5-1. 배양통 찻잎 스타터내 균주 생육도 및 오염도

Strain	Count(× 10 ⁴ CFU/g)	
	동결건조 전	동결건조 후
AN091	8000	10453
AN092	3000	19450
AT011	129993	4550
AF211	15	21
AF212	672	160
PG121	12600	14900
PC151	17000	19250
PC091	83000	99200
PG051	39000	124650
LR011	500	280
RP211	420	140
RS201	Contamination	Contamination
RP011	4	0.05
CT181	Contamination	Contamination
DH011	23000	39450

Small letters (a-zf') represented significant differences within the same columns
 Fermentation period: 2week,

나) 스틱형 찻잎 스타터 내 균수 측정

- 제조된 스틱형 찻잎 스타터내의 균주 생육도 및 오염여부를 측정한 결과, 전반적으로 동결건조 후에 측정된 균수가 동결건조 전보다 적은수준으로 확인되었다.
- 스타터의 소재인 모차의 크기에 따른 균수측정 결과는 일부 균주를 제외한 대부분의 균주에서 소>대≥중의 순으로 모차분말의 크기에 따라 균주 생육도가 다

르게 나타나 스틱형 균주스타터 제조 시 소형 또는 대형의 모차 분말이 균주 생육에 비교적 유리한 것으로 판단되었다.

표 5-2. 스틱형 찻잎 스타터내 균주 생육도 및 오염도

Strain		Count(× 10 ⁴ CFU/g)	
		동결건조 전	동결건조 후
AN091	소	2100	900
	중	1450	900
	대	55	600
AN092	소	4000	200
	중	3100	80000
	대	400	90000
AT011	소	260000	2700
	중	64000	4300
	대	80000	2800
AF211	소	40000	400
	중	4900	5500
	대	7800	11500
AF212	소	1700	302
	중	44500	29500
	대	420000	100000
PG121	소	500	200
	중	200	220
	대	160	0.03
PC151	소	160000	33400
	중	190000	26100
	대	160000	22500
PC091	소	490000	32600
	중	450000	36000
	대	270000	110000
PG051	소	830000	230000
	중	560000	53700
	대	470000	48700
LR011	소	10000	20000
	중	40000	20000
	대	5000	30000
RP211	소	25000	10000
	중	25000	6000
	대	15000	6000
RS201	소	7000	900
	중	2700	600
	대	6000	800
RP011	소	100	20
	중	150	10
	대	5000	40
CT181	소	25000	60000
	중	90000	70000
	대	64000	40000
DH011	소	380000	82200
	중	440000	240000
	대	180000	98200

Fermentation period: 2week,

- 특히, 소형 모차 분말의 경우 분말가루차를 과립형태로 제조한 것으로 스틱형 용기에 충전이 쉽고 입자사이에 공간이 있어 스타터 제조 시 균이 고루 자라는 장점이 있어 품질균일화 측면에서 유리한 것으로 생각되었다.
- 대형 분말의 경우 균의 생육도가 비교적 높았으나 입자가 커서 균일한 양을 용기 안에 담을 수 없는 단점이 나타나 대량 생산용 시설에 적용되는 스타터의 용도보다는 고품질의 소량 생산품목에 적용하는 방식으로 이용하는 것이 유리한 것으로 판단되었다.



그림 5-2. 스틱형 포자 스타터 균주 생육 사진

(2) 제조된 스타터를 이용한 미생물발효차 제조

- 스틱형 차잎 스타터를 이용해 제조한 미생물 발효차의 균주 생육도를 확인한 결과 소형 및 대형 분말의 생육도가 우수했으며, 중형분말의 경우 상대적으로 미생물의 생육도가 소형 및 대형분말보다 적은 것으로 관찰되었다.



그림 5-3. 스틱형 포자 스타터를 이용해 제조한 미생물발효차 사진

- 또한, 분말가루를 제조한 스타터의 경우, 과립형태로 제조한 후 균을 접종하여 미생물 발효차 제조 후 최종제품 출하 전 포자제거 공정에서 소형분말이 제거되어 완제품에 영향을 주지 않는 것으로 확인되어 미생물발효차의 산업화에는 소형 분말의 모차를 이용한 스타터를 사용하는 것이 유리한 것으로 판단되었다.



<대>

<중>

<소>

그림 5-4. 미생물발효차로부터 체분리기를 이용해 분리한 스틱형 포자 스타터분말 및 찻잎 사진

2) 산업화를 위한 공정기계 개발

- 미생물 발효차의 산업화를 위해서 본 연구진이 개발한 미생물발효차 제조 공정 프로토콜은 다음의 그림 5-5과 같이 찻잎채취 → 살청 → 유념 → 일광건조 → 원료차(모차) → 수분공급(물첨가) → 균주접종 → 발효 → 건조 → 선별 및 포자제거 → 숙성 → 성형 → 제품의 과정이다.



그림 5-5. 개발된 미생물발효차 제조 공정 프로토콜

- 이러한 제조과정을 산업화 공정으로 적용하기 위해서는 해당 공정에 필요한 공정기계의 확보도 필수적이라 생각되었다. 따라서 제조과정 중 다른 식품제조 과정에서 찾아보기 힘든 미생물발효차만의 특수한 공정인 포자제거 및 성형과정에 필요한 기계의 개발이 필요하다고 생각되어 기계제작 업체(주. 다농기공)와 함께 공정기계를 개발하였다.

(1) 포자제거기의 개발 및 제작

- 미생물발효차의 특성 상 발효과정에서 생육되었던 곰팡이류는 발효가 끝나고 건조과정을 거친 후에도 포자 형태로 제품에 남게 된다. 따라서 이 제품을 상품화하기 위해서는 남아있는 포자를 제거해야 할 필요가 대두 되었다.
- 또한 일반적으로 산업적 다류 제조 공정에서는 제품의 균일화를 위해서 찻잎의 크기에 따라 선별하는 과정이 필요하다.
- 따라서, 본 연구에서는 산업화 시 제조공정의 단순화 및 공간 활용도를 감안하여 포자제거 과정과 선별이 동시에 이루어질 수 있도록 흡인 풍력을 이용한 포자제거기를 개발하였다.



<포자제거기 사진>

(2) 성형기의 개발 및 제작

- 녹차 및 홍차와 같은 일반적인 차제품은 잎차인 산차 상태로 유통되는 것이 일반적이다. 반면, 미생물발효차는 전통적으로 산차를 압축하여 덩어리 형태로 만든 긴압차로의 유통이 50% 이상 차지하고 있어 덩어리 형태의 긴압차는 미생물발효차 특유의 제품 형태로 인식되고 있다.
- 이에 따른 시장의 특성 상 개발된 한국산 미생물발효차도 긴압된 병차 또는 타차의 형태로 제조해야 기존의 유통 시장에 진입이 가능할 것으로 판단되었다. 그러나 국내산 소엽종의 특성



<성형기 사진>

상 앞이 두껍고 결착력이 낮아 덩어리 형태로 긴압하는데 기존의 중국에서 사용하고 있는 기계를 수입하여 사용하기에는 충분하지 못하다는 단점이 있다.

- 또한 중국에서는 차 357 g을 긴압한 지름 25 cm 내외의 병차 형태로 주로 제조, 유통되고 있으나 한국 시장의 특성 상 차 100 g을 긴압한 15 cm 내외의 병차 또는 2~5 g의 소형 타차 형태로 제조하는 것이 바람직하다는 관련 유통업체의 자문에 따라 국내산 발효차의 성형에 적합하면서도 해당 크기의 병차와 타차로의 제조가 모두 가능한 형태의 성형기를 개발하였다.

3) 미생물발효차 품질향상을 위한 제품형태 개발

(1) 한국 시장에 적합한 성형 형태 탐색

- 현재 유통되고 있는 미생물발효차의 형태는 산차와 긴압차이며 이중 전통적으로 긴압차로 유통되는 경우가 많다. 산차는 미생물발효차가 완성되어 긴압하기 전의 형태이며, 긴압은 산차를 긴압하여 모양을 만드는 방법으로 긴압형태에 따라 둥근 떡모양의 병차, 벽돌모양의 전차, 버섯머리 모양의 타차 등으로 분류할 수 있다. 현재 가장 많이 유통되고 있는 형태는 병차로 1개당 375 g으로 제조되고 있는 것이 일반적이다.
- 한국시장에 적합한 성형형태 및 제조 가능성을 알아보기 위하여 5월, 6월, 7월에 채취한 국내산 찻잎으로 제조한 미생물발효차를 이용하여 병차(100g), 타차(5g, 3g), 산차, 삼각티백(3g) 등의 형태로 제조하였다.
- 병차 제조 시 증차(蒸茶, steam tea) 필요 시간은 7월 > 5월 순서로 30초~2분이 소요 되었다.
- 또한, 긴압할 때 소요되는 시간은 1분~3분 정도 소요되었으며 동일한 시간으로 긴압하였을 때 5월에 채취한 찻잎으로 제조된 미생물발효차는 한번 긴압으로 단단하게 표면이 매끄럽게 되었으나, 7월 미생물발효차는 건조되는 과정에서 긴압의 단단한 정도가 풀어지는 경향을 보였다.
- 본 연구에서 제작된 병차, 타차, 산차, 삼각티백 등의 형태를 대상으로 기술이전 및 산업화 주체인 보성발효차영농조합과 검토를 마친 결과, 우선 제조가 간편한 산차 및 티백형태도 상품화를 전개하되 병차(100g), 타차(5g, 3g)의 경우 소비자 선호도 조사를 실시하여 상품화하기로 하였다.



(2) 국내산 미생물발효차의 성형방법 개발

- 한편, 병차 및 타차 형태로 성형할 때, 7월 국내산 찻잎은 잎이 비교적 단단하여 성형이 잘 되지 않는 문제점을 나타냈다. 이를 보완하기 위해 식품용 펙틴을 이용한 성형방법 개선 방안을 검토하고자 펙틴 첨가가 미생물발효차의 성형 후 강도에 미치는 영향을 측정하였다.
- 그 결과(그림 5-6), 미생물발효차에 펙틴 희석액(1g/350mL)을 차 150 g당 45 mL의 비율로 혼합한 후 건조(55°C, 24h) 시킨 시료에서 가장 높은 강도를 나타냈다. 펙틴 희석액 무처리 시료에 비해 식품용 펙틴을 첨가한 시료들의 강도가 더 높아졌으며, 펙틴 희석액의 경우 1 g/350 mL과 1 g/35 mL의 농도로 조제한 희석액을 각각 첨가한 시료를 비교 시 시료 5g당 2 μ g의 비율로 펙틴 농도가 낮은 시료의 강도가 우수한 것으로 나타나 적정 농도의 펙틴 희석액의 첨가로 미생물발효차의 성형 강도를 개선할 수 있는 것으로 판단되었다.
- 특히, 성형 시 강도가 약하게 나타났던 7월 채엽 모차를 이용한 제품 개발의 경우 펙틴 희석액을 첨가하는 방법을 통해 성형 시 품질 개선에 유리한 것으로 판단되어 있었다.

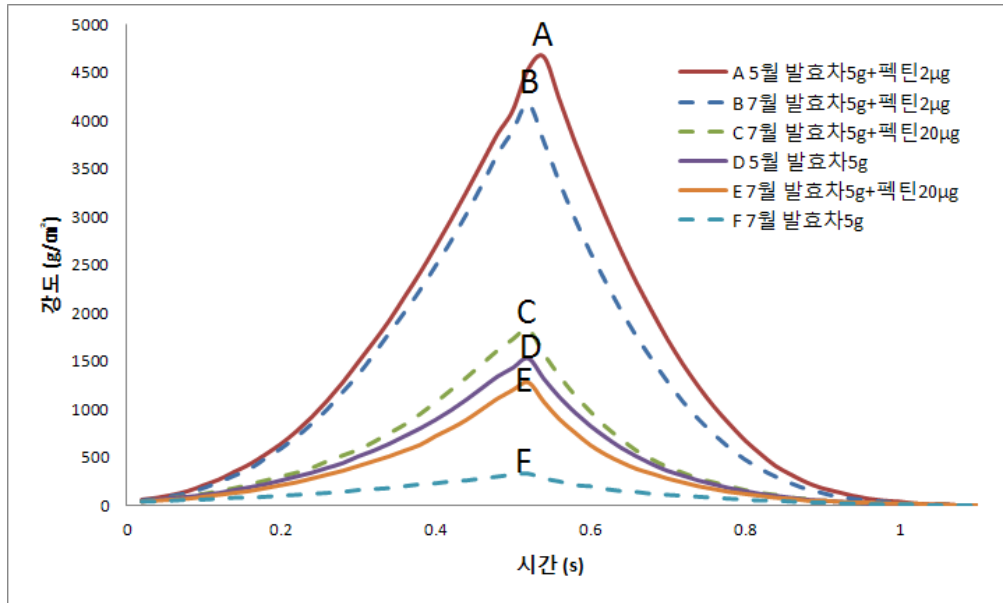


그림 5-6. 펙틴 첨가에 따른 미생물발효차 강도 변화

· 또한, 펙틴의 첨가가 미생물발효차의 관능특성에 미치는 영향을 알아보기 위해 펙틴 첨가 농도에 따른 관능특성을 평가하였다. 10점 척도법을 사용하여 관능특성을 확인한 결과, 5월 찻잎의 경우 상대적으로 7월보다 펙틴의 첨가 여부에 관계없이 관능적 품질이 전반적으로 우수하게 나타났다(표 5-3). 펙틴 원액을 첨가한 시료의 경우 차로 음용 시 약간의 혼탁함을 나타내 시각적인 부분에서 감점요인이 되었으나 전반적으로 펙틴의 소량 첨부는 관능적인 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서, 펙틴의 첨가량, 첨가 시기 등에 대한 추후연구가 필요한 것으로 판단되었다.

표 5-3. 펙틴 첨가에 따른 미생물발효차의 관능적 품질 평가

펙틴 첨가량	채엽	Sensory result
무첨가	5월 발효	8.75±1.58 ^a
2μg/5g	5월 발효	8.75±0.95 ^a
20μg/5g	5월 발효	8.25±2.36 ^{ab}
무첨가	7월 발효	6.25±1.25 ^b
2μg/5g	7월 발효	6.00±0.81 ^b
20μg/5g	7월 발효	7.00±1.63 ^{ab}

6. 미생물발효차 품질 향상을 위한 용기 개발

1) 저장용기 기본 소재 탐색

- 저장용기 기본 소재를 탐색하기 위하여 포장 소재를 달리하여 그 차이를 알아보고자 먼저 제조된 미생물발효차와 온·습도 측정기를 6종의 기본 포장 소재로 만든 봉투에 넣고 밀봉한 후 실온(일반 건물의 사무실내)에서 2013년 1월부터 6월까지 6개월간 숙성하면서 포장 내의 온·습도 변화를 측정하였으며 6개월 숙성 후의 발효차 품질을 관능평가단에 의해 평가하였다.
- 포장 소재는 단층필름(LDPE)에 특히 Ag 성분을 보강하여 항균성을 강화시킨 Sma, 방담제를 첨가한 단층필름(LDPE)으로 원적외선기능에 방담효과가 있는 Smin-F, 다층필름(LDPE + 나일론)에 원적외선 기능이 있는 SMmin, 단층필름(LDPE)에 항균성을 첨가하고 원적외선의 기능이 있는 SMi, 단층필름(LDPE)에 공기의 흐름을 원활하게 하는 통기성 기능이 있는 SMC, 다층필름(LDPE + 나일론)과 O₂, CO₂ 공기를 차단하는 효과가 있는 SMm 등 6종의 기본소재를 사용하였다(표 6-1).

표 6-1. 기본 소재 탐색을 위한 포장 소재의 특성

포장 소재	특징	주성분
Sma	항균처방 / 단층필름(LDPE) ¹⁾	Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , Ag, Zn
Smin-F	원적외선 + 방담제 / 단층필름	Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , 방담제
SMmin	원적외선 / 다층필름 (LDPE + 나일론(polyamide))	Al ₂ O ₃ , SiO ₂
SMi	원적외선 + 항균 / 단층필름	Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , ZnO
SMC	통기성필름 / 단층필름	Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , CaCO ₃
SMm	차단성필름 / 다층필름	LLDPE ²⁾ + EVOH + 나일론(polyamide)

¹⁾ : LDPE : Low Density Poly ethylene

²⁾ : LLDPE : Linear Low Density Poly ethylene

· 발효차가 담긴 6종의 기본 포장 소재로 제작한 밀봉된 포장 봉투를 실내에 저장하면서 6개월간(2013년2월~7월)의 온·습도 변화를 측정한 결과를 표 6-2와 그림 6-1에 나타내었다. 포장 봉투 내의 온·습도는 6시간 단위로 하루에 4번(3시, 9시, 15시, 21시) 측정되도록 설정하였다. 그 결과, 온도의 경우 포장 봉투 바깥의 실내보다 봉투 안의 온도가 약간 낮은 경향을 보였으나 그 차이는 매우 미미하여 의미를 부여하기 어려웠다. 반면, 습도의 경우 봉투 바깥의 실내에 비하여 봉투 내의 습도가 8%에서 최대 25%까지 감소하는 경향을 보였으며 습도변화의 폭도 7%에서 최대 70%까지 감소되는 경향을 보였다. 특히, SMi과 SMc 소재의 경우 내부 습도와 습도의 변화를 크게 감소시키는 것으로 나타나 이들 소재를 이용하여 저장 및 숙성 용기를 제작하는 경우 발효차의 숙성, 저장 과정 중 긍정적인 영향을 미칠 수도 있을 것으로 생각되었다.

표 6-2. 기본포장소재로 제작한 밀봉 봉투내의 온·습도 변화(2013.2~2013.7, 6개월)

A) 고온다습조건

sample	Temperature(°C)		Humidity(%)	
	Average	Range	Average	Range
Room ¹⁾	35.17	1.20	90.86	9.71
Sma	35.56	0.72	88.99	10.52
Smin-F	35.26	0.80	88.35	9.23
SMnin	35.37	0.70	86.51	10.21
SMi	35.27	0.58	86.43	8.62
SMc	35.64	0.71	89.27	8.51
SMm	35.65	0.73	77.53	9.00

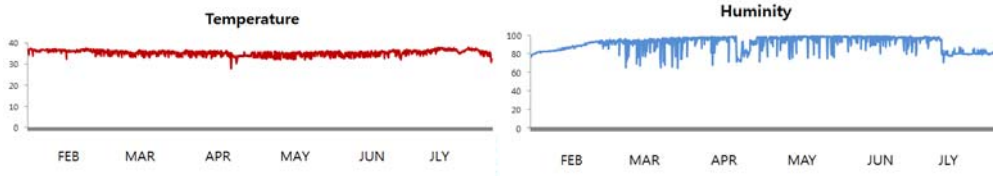
B) 상온조건

sample	Temperature(°C)		Humidity(%)	
	Average	Range	Average	Range
Room ¹⁾	20.09	4.57	48.79	15.53
Sma	19.44	4.40	40.52	14.17
Smin-F	19.39	4.37	38.07	11.88
SMnin	19.44	4.41	44.77	13.98
SMi	19.32	4.43	36.61	4.43
SMc	19.27	4.46	37.84	9.42
SMm	19.68	4.43	41.73	12.24

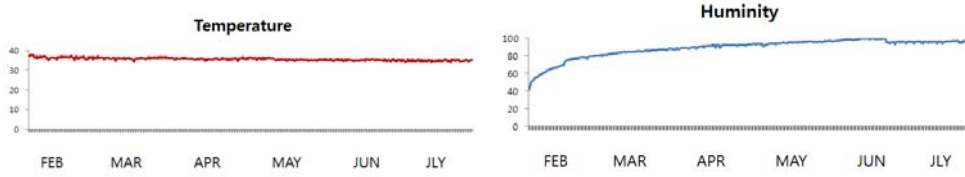
¹⁾: Temperatures and humidities of the room with the stored packages including microbial fermented tea.

(A) 고온다습조건(6개월간)

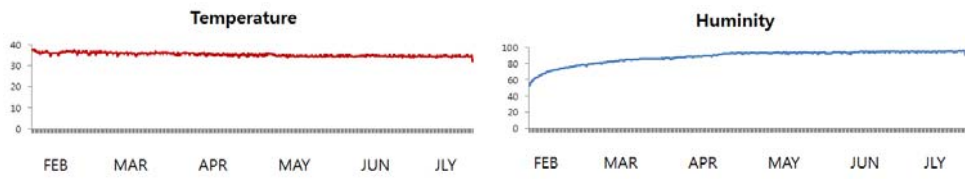
(a) Room



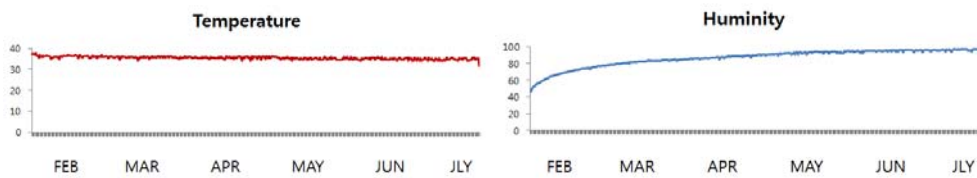
(b) Sma



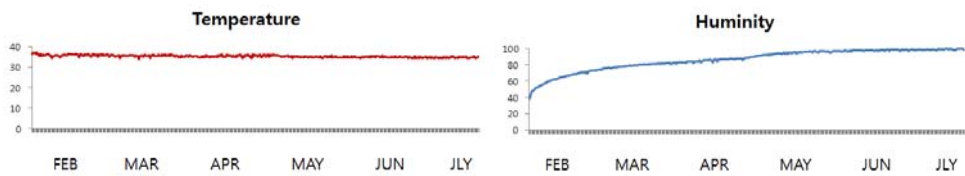
(c) Smin-F



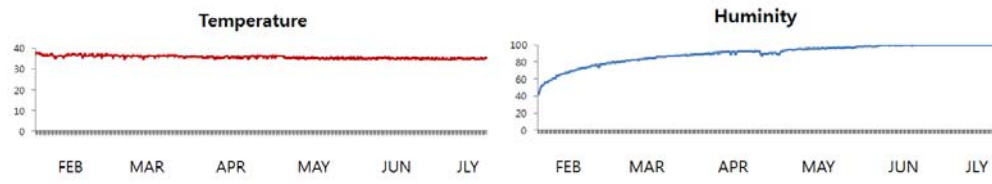
(d) SMnin



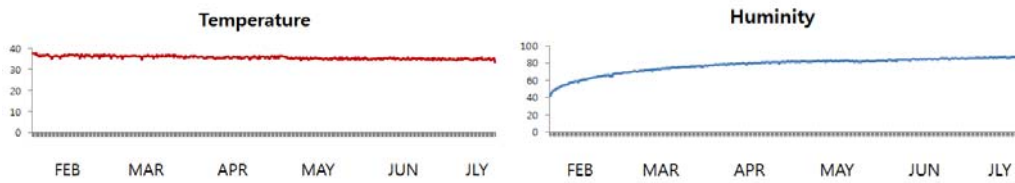
(e) SMi



(f) SMC

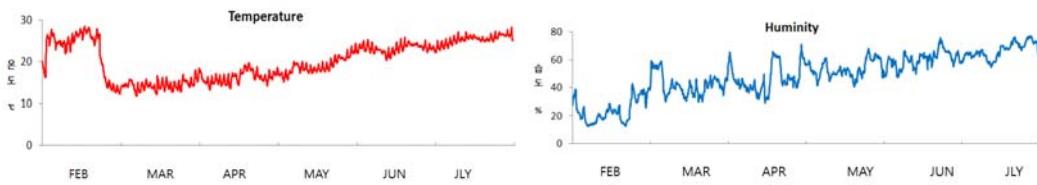


(g) SMm

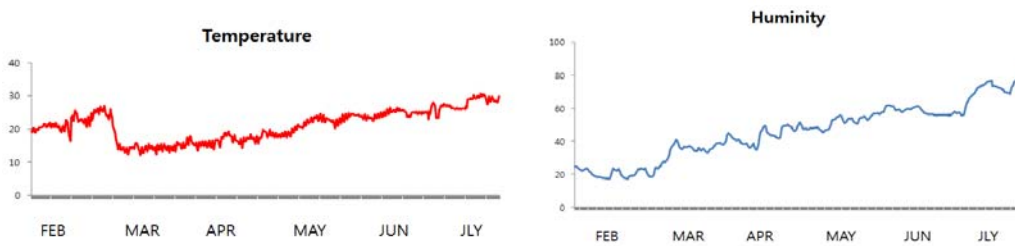


(B) 상온조건(6개월간)

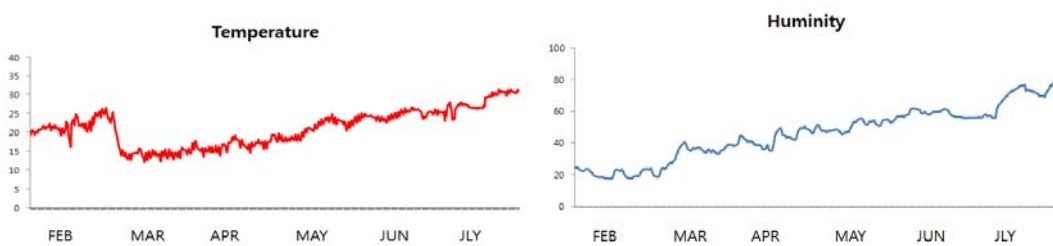
(a) Room



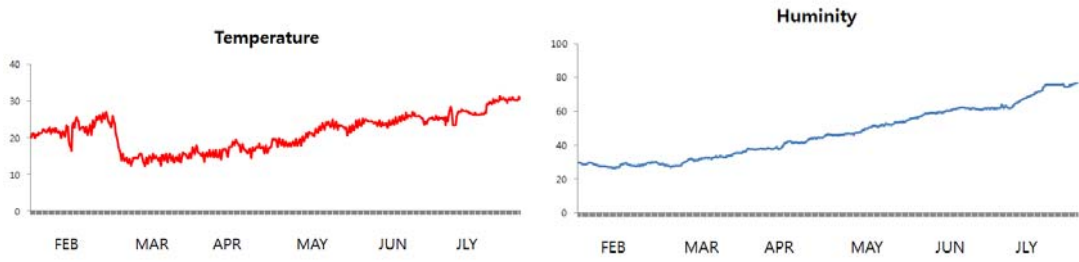
(b) Sma



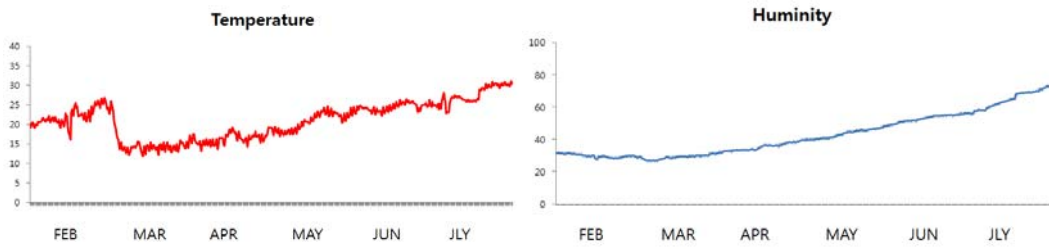
(c) Smin-F



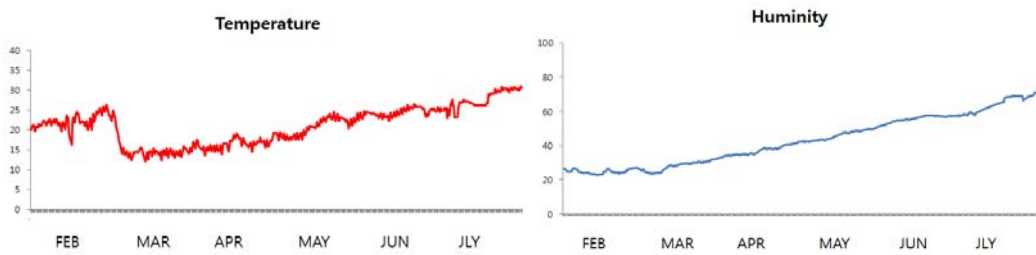
(d) SMnin



(e) SMi



(f) SMc



(g) SMm

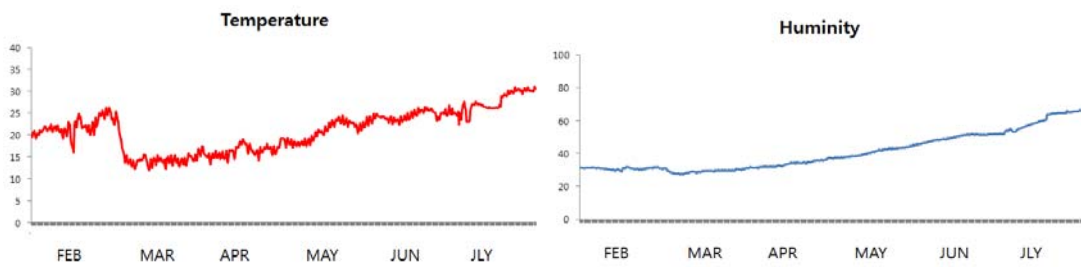


그림 6-1. 기본 포장 소재로 제작한 봉투내 저장(6개월) 중 온습도의 변화 양상
(2013.2~2013.7)

- 또한 6종의 기본소재로 제작한 밀봉 봉투에 발효차를 넣고 실내에서 6개월간 저장·숙성시킨 후 관능적 품질특성을 평가한 결과(표 6-3), SMi, SMc, SMnin-F가 색, 향, 미에

서 비교적 좋은 평가를 얻어 단층필름에 통기성 및 원적외선 기능을 가지고 있는 소재가 바람직 한 것으로 나타났다. 비교적 좋은 평가를 얻은 포장 소재에 대한 전체적인 기호도는 $SMi \geq SMc > SM_{min-F}$ 의 순이었다.

- 특히 이들 소재 중 SMi 과 SMc 소재의 경우 관능평가 뿐 아니라 용기 내의 습도를 낮추어 주고 습도의 급격한 변화를 감소시키는 것으로 나타나 이들 소재를 이용하여 품질에 긍정적인 영향을 주는 발효차 저장 및 숙성 용기의 개발 가능성이 시사되었다. 또한, 용기내의 온·습도의 변화를 측정하는 것이 발효차의 저장 숙성에 효과적인 소재를 선택하는 지표로 사용될 수 있는 가능성도 아울러 시사되었다.

표 6-3. 각 기본 포장 소재로 제작한 봉투내에서 저장(실내, 6개월)한 미생물발효차의 관능적 품질 평가

sample	Sensory characteristic			
	Color	Taste	smell	전체적기호도
Sma	7.06 ± 1.32^a	6.95 ± 0.67^b	6.89 ± 1.23^a	6.29 ± 1.23^{ab}
Smin-F	7.95 ± 0.67^{bc}	7.23 ± 1.04^b	7.00 ± 1.41^a	7.00 ± 1.24^{ab}
SMnin	7.00 ± 0.97^a	7.33 ± 1.64^b	6.72 ± 1.24^a	6.57 ± 1.24^{ab}
SMi	7.79 ± 1.39^b	7.50 ± 1.23^b	7.39 ± 1.45^a	8.00 ± 1.52^a
SMc	8.12 ± 1.01^c	7.34 ± 1.50^b	7.11 ± 1.66^a	7.79 ± 2.26^a
SMm	6.72 ± 1.12^a	6.03 ± 1.20^a	6.16 ± 1.09^a	5.76 ± 1.69^b

2) 저장용기 최적 소재 선발 및 배합비 탐색

- 발효차의 품질 향상을 위한 저장용기의 기본 소재를 탐색하기 위해 6종 다양한 포장 소재로 제작한 밀봉 봉투에 발효차를 6개월간 숙성하면서 포장 내의 온·습도 변화와 숙성 후 발효차 품질을 평가한 결과, 단층필름에 통기성 및 원적외선 기능을 가지고 있는 소재인 SMi , SMc 가 비교적 좋은 소재로 판단되었다.
- 따라서 1차로 선발된 소재 중 최적의 소재를 선발하고 이들 소재의 최적 배합비를 결정하기 위하여 다음의 표 6-4에 나타낸 바와 같이 항균성과 원적외선의 기능이 있는 SMi , 공기의 흐름을 원활하게 하는 통기성 기능이 있는 SMc , 원적외선과 통기성에 황토 기능을 새로 추가한 SMR 등 3종의 소재를 선발(SMi , SMc 은 1차 선발 소재, SMR은 새로 추가)하고 각 소재의 첨가율(0.4%, 1.2%, 2%, 2.8%, 4%)을 달리하여 용융수지(Polypropylene 베이스)와 혼합한 후 사출성형 방식으로 용기를 제작하였다(표 6-5).

표 6-4. 최적 소재 및 배합비 탐색을 위한 용기의 소재 특성

용기소재	주성분	특징
PSMi	PP + SMi(Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , ZnO) 0.4~4%	원적외선+항균
PSMc	PP + SMc(Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , CaCO ₃) 0.4~4%	통기성
PSMR	PP + SMR(Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , Fe ₂ O ₃) 0.4~4%	원적외선+통기성+황토

* PP: Polypropylene

표 6-5. 최적 소재 및 배합비 탐색을 위해 제작된 용기 리스트 및 소재 첨가율

소재 첨가율	제작 용기명		
	SMi	SMc	SMR
0.4%	PSMi1	PSMc1	PSMR1
1.2%	PSMi3	PSMc3	PSMR3
2.0%	PSMi5	PSMc5	PSMR5
2.8%	PSMi7	PSMc7	PSMR7
4.0%	PSMi10	PSMc10	PSMR10

- 제작된 각각의 용기에 제조된 미생물발효차와 온·습도 측정기를 넣고 고온다습한 조건 (30℃ 전후, 습도 공급)과 미생물발효차 저장 가능성이 높은 일반 건물의 사무실 및 실외의 황토로 만들어진 창고(황토방) 등 총 3곳의 조건에서 2013년 5월부터 저장하면서 포장 내의 온·습도 변화와 60일 저장 후의 발효차 품질을 관능평가단에 의해 평가하였다. 또한 각각의 용기와 함께 차의 저장에 전통적으로 사용되고 있는 용기항아리, 황토항아리, 편백상자 등도 동일한 조건에서 온·습도 변화를 측정하여 비교하였다.



<고온다습 조건>



<일반 건물의 사무실>



<황토방>

그림 6-2. 미생물발효차 숙성 용기 최적 소재 탐색을 위한 저장실험 사진

- 그 결과(표 6-6, 그림 6-3), 온도의 경우 선행되었던 포장 봉지를 이용한 저장 실험의 결과와 동일하게 실내와 용기 안의 온도 및 온도 변화의 큰 차이는 발견되지 않았다. 반면, 습도의 경우 고온다습한 조건, 일반 건물의 사무실, 황토방 모두의 조건에서 소재의 종류 및 첨가 비율에 상관없이 실내 보다 선택된 포장소재로 제작된 용기 내의 습도가 10%이상 감소되었고 편차 역시 크게 줄어드는 경향을 보였다. 전통용기 중에서는 황토항아리와 편백나무상자의 경우 실내의 온·습도와 차이를 보이지 않았으나 용기항아리의 경우 습도 및 습도의 변화를 감소시키는 효과가 있음이 확인되었다.
- 포장 소재 종류 및 첨가비율에 따른 효과는 저장 기간이 비교적 짧아 정확한 차이를 규정하기 어려웠으나 포장 소재 모두 전통 용기 중 습도 감소 효과가 가장 높았던 용기항아리 보다 더 효과가 있었으며, 고온다습 조건에서는 SMi와 SMR 소재를 첨가한 용기가, 실온에 가까운 사무실 및 황토방에서는 SMi와 SMC를 첨가한 소재를 첨가한 용기가 습도 감소에 보다 효과적으로 나타났다. 그러나 이들 효과를 좀 더 확실히 파악하기 위해서 보다 장기간 저장을 진행하면서 계속 모니터링 해야 할 필요가 있다고 판단되었다.

표 6-6. 최적 소재 및 배합비 탐색을 위한 용기 내의 온-습도 변화(2013.7~2014.6.)

(A) 고온다습조건(12개월간)

sample	Temperature(°C)		Humidity(%)	
	Average	Range	Average	Range
Room ¹⁾	29.51	2.03	86.89	8.74
PSMi1	29.67	2.18	73.18	0.85
PSMi5	29.51	0.52	67.78	0.77
PSMi10	29.91	2.02	67.14	0.58
PSMc1	29.57	2.08	68.75	1.68
PSMc5	29.67	2.10	73.18	1.25
PSMc10	29.76	2.48	66.33	0.88
PSMR1	29.68	2.00	75.54	0.86
PSMR5	29.79	2.00	67.75	0.71
PSMR10	30.06	2.09	66.87	0.68
Korean pottery	29.72	1.97	79.09	6.28
Clay pot	29.82	1.83	85.05	7.03
Wood box	30.54	2.41	86.24	11.27

¹⁾: Temperatures and humidities of the room with the stored pots including the tea.

(B) 일반 건물의 사무실(12개월간)

sample	Temperature(°C)		Humidity(%)	
	Average	Range	Average	Range
Room ¹⁾	27.51	1.64	77.07	4.75
PSMi1	27.14	1.34	68.02	0.62
PSMi5	27.29	1.33	69.69	1.04
PSMi10	27.17	1.46	69.02	0.96
PSMc1	27.34	1.49	65.44	0.34
PSMc5	27.10	1.41	71.15	0.82
PSMc10	27.32	1.42	65.88	0.48
PSMR1	27.27	1.49	67.99	0.52
PSMR5	26.52	1.46	71.90	0.39
PSMR10	27.27	1.50	72.13	2.56
Korean pottery	26.95	1.21	75.21	3.13
Clay pot	29.82	1.28	85.05	3.21
Wood box	27.69	1.50	74.28	2.50

¹⁾: Temperatures and humidities of the room with the stored pots including the tea.

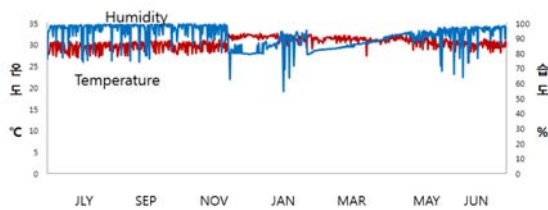
(C) 황토방(12개월간)

sample	Temperature(°C)		Humidity(%)	
	Average	Range	Average	Range
Room ¹⁾	21.76	5.90	59.39	19.57
PSMi1	22.31	5.12	68.56	3.95
PSMi5	23.26	4.08	64.69	6.23
PSMi10	22.84	4.63	65.13	4.19
PSMc1	22.32	5.06	66.56	5.82
PSMc5	22.79	4.42	72.58	10.61
PSMc10	22.08	5.11	71.00	3.02
PSMR1	22.58	5.18	69.55	4.72
PSMR5	22.64	4.96	67.72	4.98
PSMR10	22.31	4.83	66.26	4.05
Korean pottery	26.14	4.86	47.86	25.98
Clay pot	24.22	4.93	52.98	23.14
Wood box	23.45	4.00	55.25	21.99

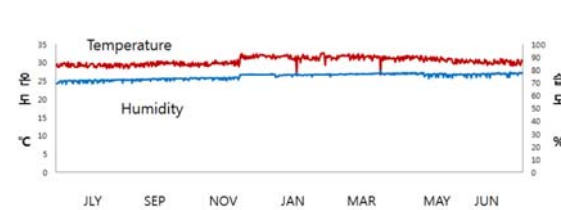
¹⁾: Temperatures and humidities of the room with the stored pots including the tea.

(A) 고온다습조건(12개월간)

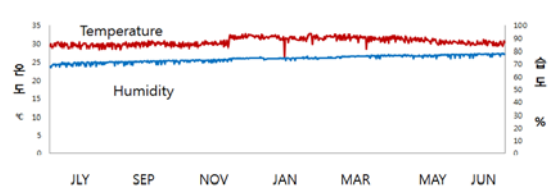
a) Room



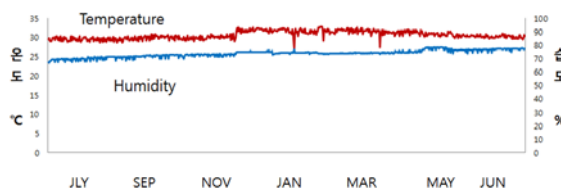
b-1) PSMi1(PP 99.6% + SMi 0.4%)



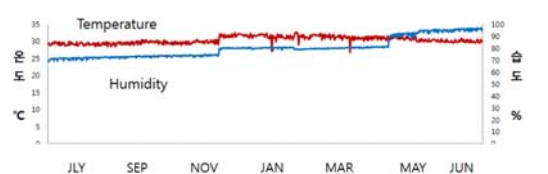
b-2) PSMi5(PP 98.0% + SMi 2.0%)



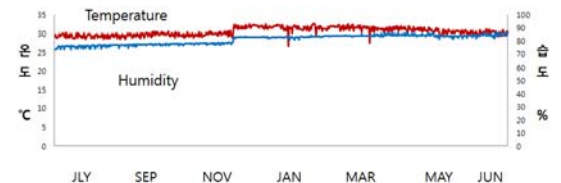
b-3) PSMi10(PP 96.0% + SMi 4.0%)



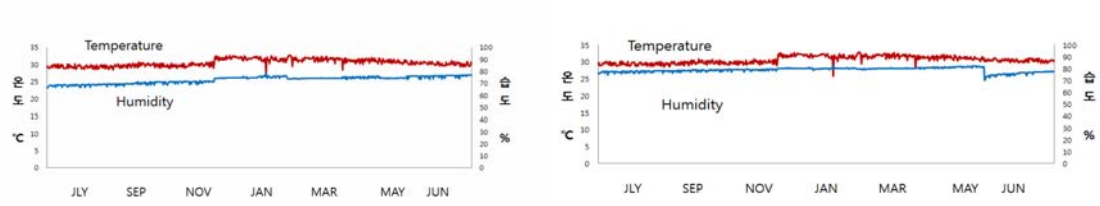
c-1) PSMc1(PP 99.6% + SMC 0.4%)



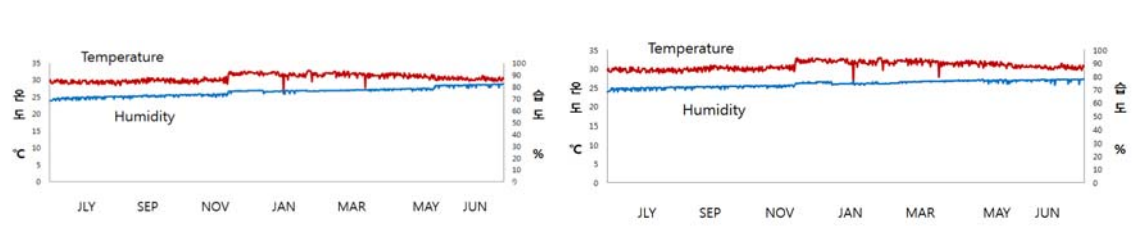
c-2) PSMc5(PP 98.0% + SMC 2.0%)



c-3) PSMc10(PP 96.0% + SMc 4.0%) d-1) PSMR1(PP 99.6% + SMR 0.4%)

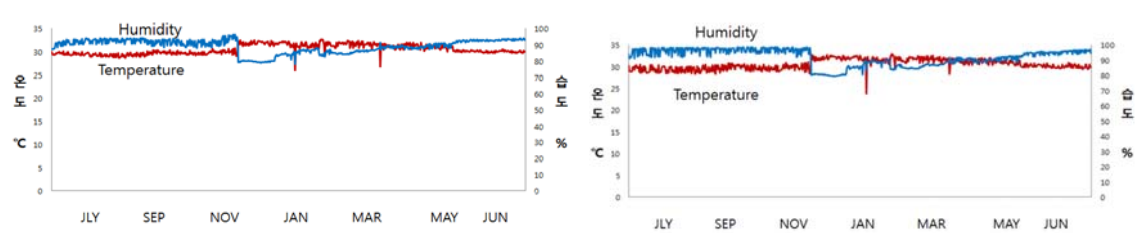


d-2) PSMR5(PP 98.0% + SMR 2.0%) d-3) PSMR10(PP 96.0% + SMR 4.0%)

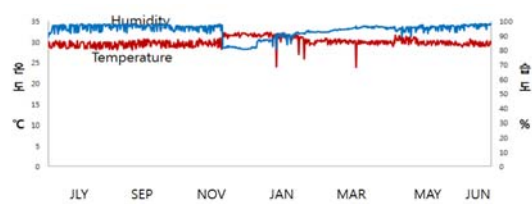


e) Korean pottery(옹기항아리)

f) Clay pot(황토항아리)

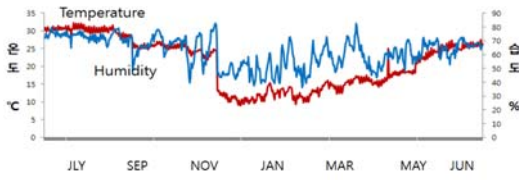


g) Wood box(편백상자)

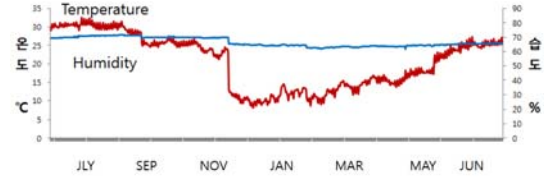


(B) 사무실(12개월간)

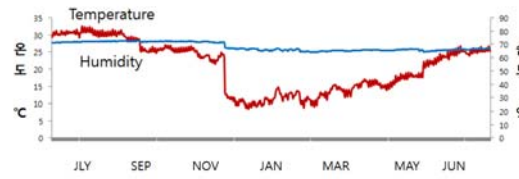
a) Room



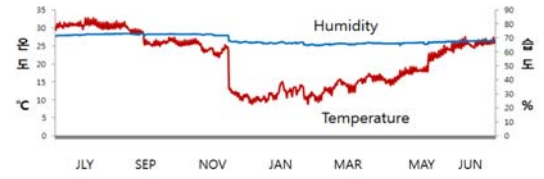
b-1) PSMi1(PP 99.6% + SMi 0.4%)



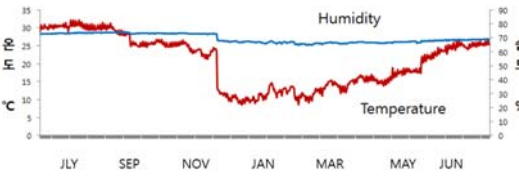
b-2) PSMi5(PP 98.0% + SMi 2.0%)



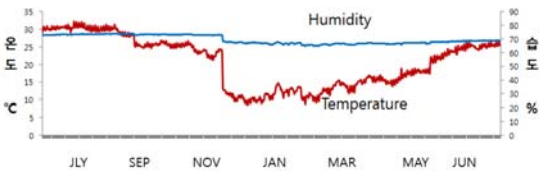
b-3) PSMi10(PP 96.0% + SMi 4.0%)



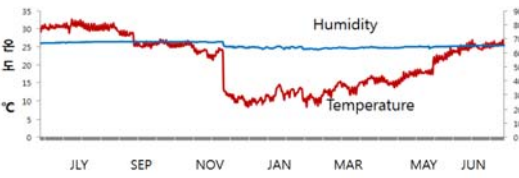
c-1) PSMc1(PP 99.6% + SMc 0.4%)



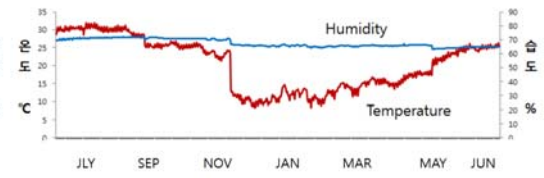
c-2) PSMc5(PP 98.0% + SMc 2.0%)



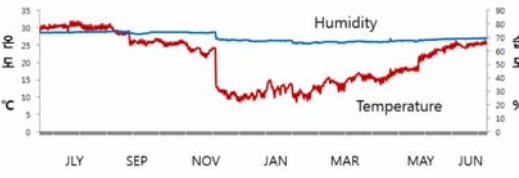
c-3) PSMc10(PP 96.0% + SMc 4.0%)



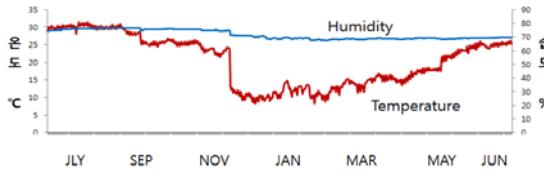
d-1) PSMR1(PP 99.6% + SMR 0.4%)



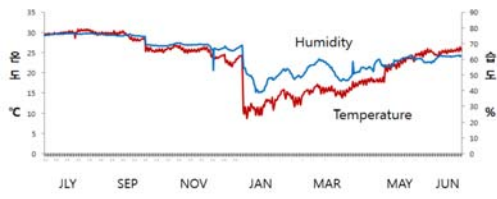
d-2) PSMR5(PP 98.0% + SMR 2.0%)



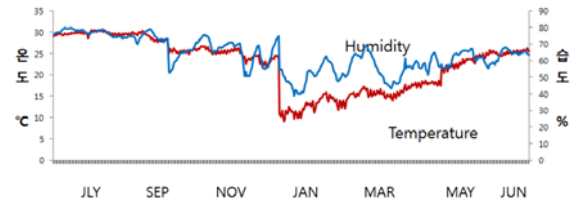
d-3) PSMR10(PP 96.0% + SMR 4.0%)



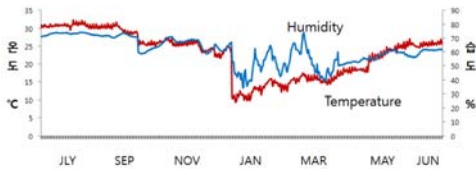
e) Korean pottery(옹기항아리)



f) Clay pot(황토항아리)

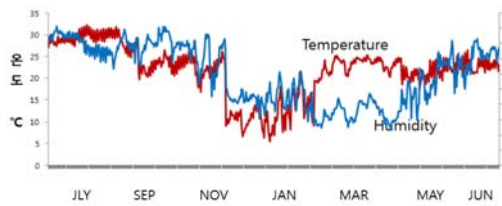


g) Wood box(편백상자)

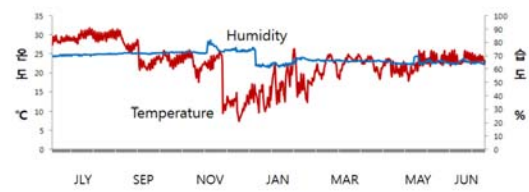


(C) 황토방 (6개월간)

a) Room



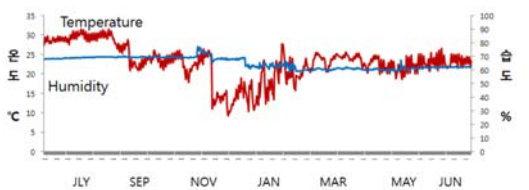
b-1) PSMi1(PP 99.6% + SMi 0.4%)



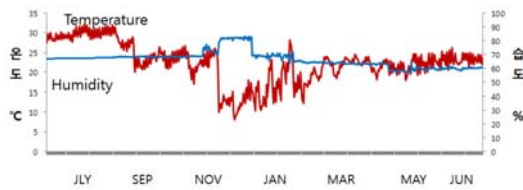
b-2) PSMi5(PP 98.0% + SMi 2.0%)



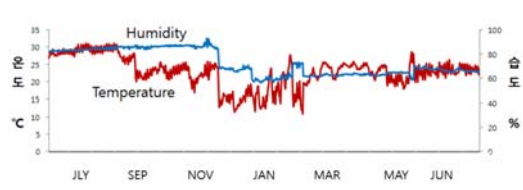
b-3) PSMi10(PP 96.0% + SMi 4.0%)



c-1) PSMc1(PP 99.6% + SMc 0.4%)

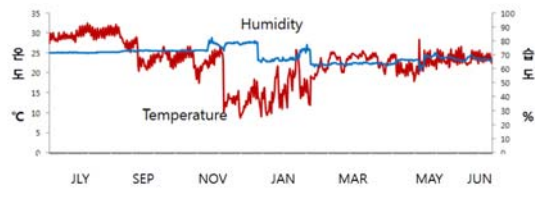
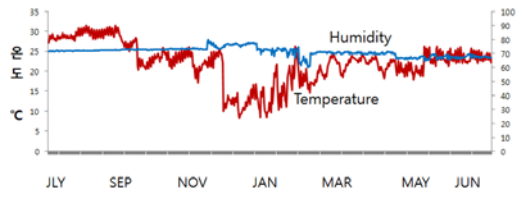


c-2) PSMc5(PP 98.0% + SMc 2.0%)

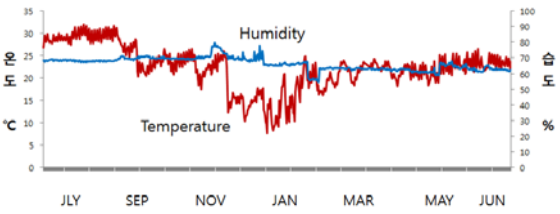
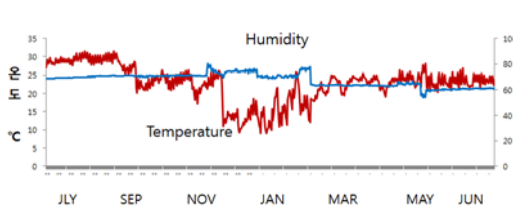


c-3) PSMc10(PP 96.0% + SMc 4.0%)

d-1) PSMR1(PP 99.6% + SMR 0.4%)

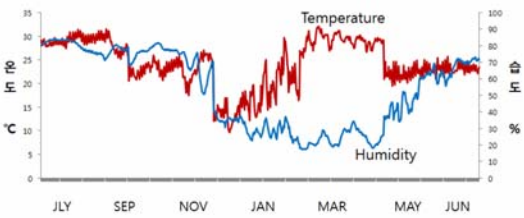
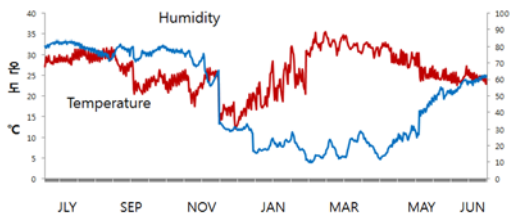


d-2) PSMR5(PP 98.0% + SMR 2.0%) d-3) PSMR10(PP 96.0% + SMR 4.0%)



e) Korean pottery(옹기항아리)

f) Clay pot(황토항아리)



g) Wood box(편백상자)

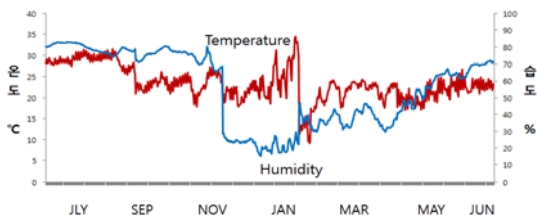


그림 6-3. 최적 소재 및 배합비 탐색을 위한 용기 내의 온-습도 변화의 변화 양상 (2013.7~2014.6, 12개월간)

표 6-7. 소재 및 배합비를 달리하여 제작한 용기에서 숙성(고온·다습조건, 60일)시킨 미생물발효차의 관능적 품질 평가

sample	Sensory characteristic			
	Color	Taste	smell	전체적기호도
Room ¹⁾	7.30 ^b ±1.27	6.03 ^{ab} ±1.78	6.20 ^a ±2.57	6.29±2.23 ^a
PSMi1	6.90 ^{ab} ±1.29	5.90 ^a ±2.23	6.10 ^a ±2.18	7.00±2.24 ^a
PSMi5	6.90 ^{ab} ±1.91	6.20 ^a ±2.30	6.90 ^a ±2.42	7.00±1.83 ^a
PSMi10	7.75 ^b ±0.71	6.43 ^a ±1.81	7.00 ^b ±1.41	7.70±2.33 ^a
PSMc1	6.30 ^{ab} ±1.70	6.50 ^{ab} ±1.72	6.20 ^a ±1.40	6.57±2.49 ^a
PSMc5	7.10 ^b ±1.00	5.80 ^a ±2.44	6.00 ^a ±1.76	7.00±1.69 ^a
PSMc10	6.20 ^{ab} ±2.10	5.90 ^a ±1.91	5.70 ^a ±2.36	7.69±2.26 ^a
PSMR1	5.25 ^a ±1.49	4.63 ^a ±1.19	6.25 ^{ab} ±1.98	7.00±1.94 ^a
PSMR5	7.38 ^b ±1.51	7.38 ^b ±0.92	6.75 ^{ab} ±0.89	7.57±2.04 ^a
PSMR10	7.50 ^b ±1.07	6.50 ^{ab} ±1.41	7.00 ^b ±0.76	7.80±1.82 ^a
Korean pottery	7.13 ^b ±1.13	5.37 ^a ±1.06	6.50 ^{ab} ±1.69	7.79±2.26 ^a
Clay pot	6.63 ^{ab} ±1.30	5.63 ^a ±1.69	6.62 ^{ab} ±1.41	6.57±1.24 ^a
Wood box	7.00 ^{ab} ±1.56	5.70 ^a ±1.57	6.70 ^a ±1.83	6.07±1.54 ^a
대조구(숙성전)	6.43 ^{ab} ±1.89	5.50 ^a ±1.51	5.29 ^a ±1.55	5.76±1.69 ^a

- 또한 선발된 SMi, SMc, SMR의 소재의 배합비를 달리하여 제조한 용기에 발효차를 넣고 고온 다습한 실내에서 60일간 저장한 후 관능적 품질특성을 평가한 결과(표 6-7), 숙성 전의 시료보다는 숙성을 진행시킨 차에 대한 평가가 좋았다 또한, PSMi10, PSMR5, PSMR10 등의 용기에서 숙성시킨 발효차가 비교적 좋은 평가를 얻었으나 다른 시료와의 차이를 구별하기 쉽지 않으며 다른 저장 장소에서 숙성시킨 시료 역시 유의적인 차이를 구별하기 쉽지 않았다. 이는 저장 기간이 60일로, 상대적인 관능적 차이를 구별하기에 충분하지 않았던 것에 기인한 것으로 보이며 좀 더 장시간 저장한 발효차 시료에 대하여 다양한 품질 평가를 실시할 필요성이 제기되었다.
- 따라서 1차 선발된 SMi, SMc, SMR의 소재 및 이들의 배합비에 따른 차이를 구별하기 위하여 6개월간 (3개월 고온다습조건, 3개월 실온) 저장한 시료에 대하여 관능평가를 실시하였다(표6-8). 평가는 10점법으로 하였으며 대조구는 숙성전 시료를 사용하여 5점으로 기준을 설정하고 평가하였다.

표 6-8. 소재 및 배합비를 달리하여 제작한 용기에서 6개월간(고온·다습조건 3개월, 실온 3개월) 숙성시킨 미생물발효차의 관능적 품질 평가

sample	Sensory characteristic			
	Color	Taste	smell	전체적기호도
SMC5	3.33±1.03 ^a	3.60±1.52 ^a	3.00±1.22 ^a	2.83±1.47 ^a
SMC7	4.83±1.72 ^{abc}	4.00±1.87 ^a	4.20±1.30 ^a	3.67±1.51 ^a
SMC10	4.17±0.75 ^{ab}	5.20±1.30 ^a	4.60±1.82 ^a	4.67±2.07 ^a
SMI5	7.17±1.94 ^{bc}	6.20±2.59 ^a	5.40±2.61 ^a	6.00±2.76 ^a
SMI7	7.33±1.03 ^{bc}	5.80±1.79 ^a	5.40±2.07 ^a	6.50±1.52 ^a
SMI10	5.50±1.22 ^{abc}	4.60±1.14 ^a	4.20±1.64 ^a	4.33±1.75 ^a
SMR5	4.83±2.14 ^{abc}	3.80±1.64 ^a	3.40±0.89 ^a	3.83±2.14 ^a
SMR7	4.83±2.23 ^{abc}	4.00±1.58 ^a	3.80±2.17 ^a	3.83±1.94 ^a
SMR10	8.33±1.37 ^c	6.80±3.11 ^a	5.60±2.41 ^a	6.67±3.01 ^a
대조구(숙성전)	5.00±0.00 ^{ab}	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^a

- 그 결과, SMI5, SMI7, SMR10에서 품질상승이 확인되었다. 이들의 결과를 종합하여 SMI7, SMR10을 소재로 한 발효차 숙성용기 시제품을 제작하였으며 최종 양산제품은 SMR10을 이용하여 생산하기로 결정하였다.

<시제품 사진>

- 용기



- 속포장(용기내부)



- 외포장



- 삼각티백 제품



- 소형 고품 제품



7. HACCP기반 발효차 생산·품질관리 기준 및 프로토콜 개발

1) 기초 자료 조사

(1) 차류의 국내업체 현황조사

- 요즘에는 식문화 등의 소비 추세가 웰빙을 추구하는 경향으로 변화됨에 따라 성인병을 예방할 수 있는 여러 기능성식품에 대한 소비자의 관심도가 높아지고 있음. 이러한 사회적 분위기에서 과거에 비해 녹차의 소비가 급격히 증가하고 있음. 이러한 경향을 설명할 수 있는 것으로 표 7-1의 차엽(생엽) 생산 면적 및 생산량을 보면 1900년대 이후에 녹차의 급격한 소비가 이루어지고 있음을 확인할 수 있다.

표 7-1. 차엽(생엽) 생산 면적 및 생산량

년도	면적(ha)	생산량(t)
1975	825	72
1980	520	21
1985	449	116
1990	448	296
2000	1,530	1,434
2004	2,509	2,703
2005	3,042	3,309
2006	3,692	4,080
2007	3,800	3,888
2008	3,774	3,936
2009	3,616	3,266
2010	3,264	3,586

* 자료 : 농림수산물 주요통계(2011)

- 차엽(생엽) 생산면적 및 생산량을 보면 1975년의 차엽 생산면적이 825ha이고 생산량은 72톤이나 2010년에 이르러서는 차엽 생산면적이 3,264ha이고 생산량은 3,586톤으로 차엽 생산의 뚜렷한 증가가 나타났다. 그러나 2000년대를 비교해 보면 지속적으로 차엽 생산량이 증가하여 최고치를 이루는 것은 2006년이고 그 이후로는 차엽 생산 면적 및 생산량은 정체 또는 소폭 감소하는 경향을 보임. 이는 1900년대 이후에 급격한 재배면적의 확대가 최근에 와서는 정체상태에 이르고

있어 최근의 국내 차엽 면적 및 생산량의 증가가 미비한 것으로 보이고 있음 이는 외국으로부터 들어오는 수입품의 녹차 및 발효차의 물량이 증가되고 녹차류 이외의 기타 여러 다양한 차 종류의 소비가 증가함에 따라 녹차에 대한 소비계층 미흡한 것으로 분석되었다(김경희, 2011)

표 7-2. 차류 생산 현황

구분	2008년도	2009년도
생산능력(톤)	4,141,485	2,717,990
연간생산량(톤)	236,987	233,313
생산금액(백만)	478,500	441,836

- 위의 표 7-2에서는 차류의 생산 현황에 관한 것으로 차류의 생산능력을 보면 2008년에는 4,141,485톤이었으나 2009년에는 2,717,990톤으로 현저하게 감소되었고 차류의 연간생산량은 2008년에 236,987톤이고 2009년에는 233,313톤으로 소폭으로 감소되었으며, 생산금액에서는 2008년의 478,500에서 2009에는 441,836으로 약간 증가된 것으로 나타났다. 차류의 생산능력이 급격하게 감소하는 이유는 국내에서 차류를 생산하는 것보다는 외국으로부터 차류를 수입해와서 국내에서 유통 판매하는 방식으로 이루어지고 있게 때문이다. 이와 같이 국내 생산보다는 국외제품의 판매가 많아지므로 수입된 제품에 대한 위생적으로 안전하고 품질적으로 우수한 제품을 유통할 수 있는 엄격한 관리체계가 필요하다

표 7-3. 차류 생산업체 현황

년도	업체수
2006년	628
2007년	681
2008년	918
2009년	888

- 위의 표 7-3는 차류의 생산업체 현황에 관한 것으로 2006년에서 2009까지의 차류 생산업체의 현황을 보면 2006년에는 628개의 업체가 2008년에는 918개의 업소로 급격한 증가가 이루어졌다가 2009년에는 888개의 업체로 2008년을 기점으로 생산업체가 감소하는 경향을 보임. 이는 표7-2에서 제시된 차류의 생산현황 결과와 일맥상통하는 것으로 차류의 생산량과 차류 생산업체의 소폭의 감소함을 확인할 수 있음. 국내 차류 산업의 활성화를 위한 여러 가지 관리방안에 대한 연구가 지속적으로 이루어져서 국내 차류 산업체의 경쟁기반을 확고해주어야 한다고 판단됨.

표 7-4. 지역별 차류 제조업체 현황 (2009년)

지역	서울	부산	대구	인천	광주	대전	울산	경기	강원	충북	충남	전북	전남	경북	경남	제주
업체수	98	262	15	5	47	3	9	121	25	37	20	44	63	15	19	115

- 위의 표 7-4에 명시된 2009년의 지역별 차류 제조업체 현황을 보면 부산은 262개소로 가장 많고 그 다음으로 경기(121개소), 제주(115개소) 서울(98개소) 그리고 전남(63개소) 등의 순으로 나타난 것으로 보아 국내의 차류 제조업체는 지역별로 다르게 나타나고 있음. 본 연구에 참여하는 전남 지역의 차류 제조업체는 경기, 제주 그리고 서울 다음으로 많이 분포되어 있어 차류에 관련한 연구가 활성화 될 수 있는 여건을 가지고 있음

표 7-5. 국내 녹차 재고 현황

단위:톤

년도	전국합계	보성	하동	구례	순천	광양	기타
2005	130	50	30	10	20	10	10
2006	900	350	300	30	50	20	150

자료 : 한국농촌경제연구원(2008)

- <표 7-5>는 국내 녹차 재고 현황에 관한 것으로 2005년에는 130톤이 2006년에는 900톤으로 재고량이 급격히 증가하였음. 이는 값싼 차의 수입량이 많아짐으로써 품질이 우수한 국산이 재고로 남게 되는 것으로 재배농가와 제조업체의 제품 생

산 의욕 저하되고 있음

(2) 업체 현황 조사

- 전남 보성군내의 녹차 및 자연발효차를 생산하는 제조업소(대형업소, 중소기업소 등 12 개소)를 선정하여 현장중심의 공정 기본 자료를 조사하고 정리하였음.

가. 현장 방문 조사 항목 및 조사표 개발

가) 기본조사 항목

- 기본조사 항목으로는 업소현황, 업소규모, 종업원수, 위생관리책임자, 차류의 종류 그리고 생산능력 등에 대해 조사하였음

나) 서류관리

- 서류관리 조사항목으로는 영업신고, 품목제조보고, 생산작업기록, 원료수불부, 제품의 거래기록, 자가품질검사, 건강진단, 위생교육, 음용수 수질검사 그리고 생산실적보고에 대해 조사하였음

다) 차류의 분류

- 차류의 분류로는 불발효차, 반발효차, 발효차, 후발효차로 분류하여 제조업소에서 생산 하고 있는 제품의 종류에 대해 조사하였음

라) 제조공정

- 제조공정 조사 항목은 차의 종류에 따라 제조공정의 차이를 확인하기 위해서 제조공정을 조사하였음

마) 환경 및 시설관리

- 제조장 위치 및 구조, 작업장, 식품취급시설 등, 급수시설, 화장실, 창고등의 시설, 사설, 출고·운반관리, 개인위생관리에 대해 조사하였음

바) 제품관리

- 제품설명서 작성, 공정흐름도, 위해요소분석에 대해 조사하였음

사) 위해요소 분석 항목

- 원료·제조공정별 제품의 사전 위해요소 분석 및 조사항목(원료, 포장, 공정)으로 물리적, 화학적, 생물학적 요소를 조사하였음

표 7-6. 업체 현장 방문의 목적 및 일반 사항

목적	녹차 또는 발효차 업체의 생산 제품 관리 현황을 조사하여 제품의 원료 및 제조공정별 위해요소 예방관리 방안의 현장적용 가능성 파악 및 개선사항 의견 수렴을 하고자 함
대상업체	국내 녹차 및 자연발효차 제조업체(11곳) - 전남 보성군 소재
조사기간	2012년 3월 ~ 6월
주요내용	1. 업체 현황, 서류관리, 제품의 제조공정, 작업장의 환경 및 시설관리, 제품관리 등에 관한 실태 파악 2. 위해요소분석 가능 여부 평가

나) 선정 업체 현황

- 목포대학교 산학협력단의 자문을 받아 전남 보성군에 있는 차류 제조업소 리스트 작성
- 15개 업소의 목록을 받아 각 업소의 사전 유선연락을 통하여 방문조사 협조 등을 구하여 허락한 업소
- 12개 업소를 방문하였으나 그 중 1개 업소는 조사에 불응하여 11개 업소에 대해서 조사를 실시하였음

표 7-7. 대상 선정 업소 현황

보성군 지역	업소수
회천면	4
용문리	2
용치면	1
을어면	1
봉산리	1
문덕면	1
검백면	1

라) 현장 방문 조사 프로세스

다음과 같은 절차에 의해 업체의 현장 방문을 실시하여 업체의 일반 사항과 환경 등의 실제 현황을 파악하고 이를 토대로 미생물 발효차의 HACCP 적용에 있어서 고려해야 할 전반적 사항에 대해 미리 예측하고 원료 및 제조공정별 잠재적인 위해요소 등에 대해 대략적인 경향을 알아보고자 실행하였음

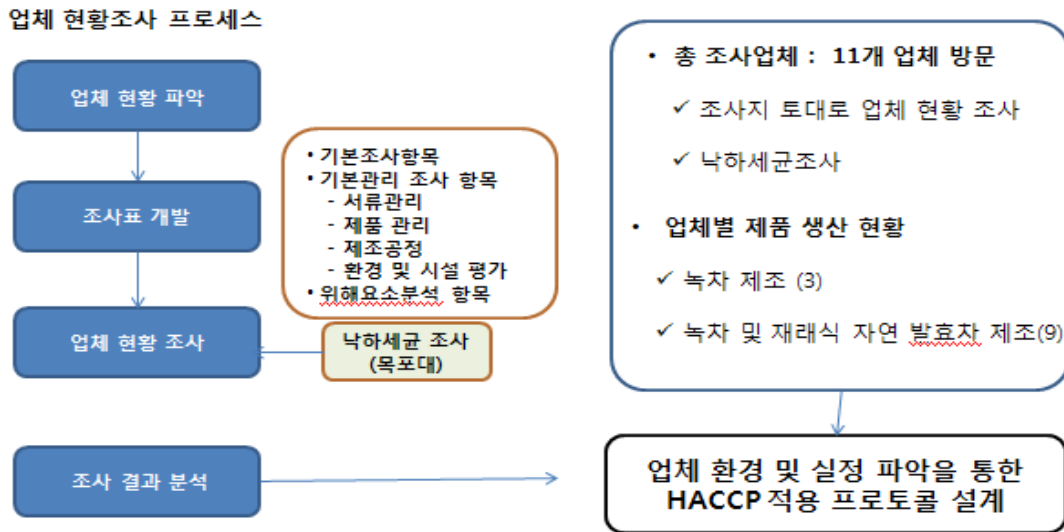


그림 7-1. 현장방문 조사 프로세스

마. 현장 방문 조사 결과

가) 기본조사항목

(가) 업소규모

조사대상 업소 11개소는 전남 보성군에 위치하고 농어촌 산간지역에 해당하므로 유충 등의 노출이 많은 곳에 위치에 있고 업소의 평균 작업장 년수는 10년 내외이고 소규모의 가내식의 형태가 대부분이어서 내·외부적으로 위해요소가 발생할 수 있는 환경에 놓여 있음. 검사실을 소유한 업소는 전무하여 위해요소 분석을 할 수 없는 상황임

(나) 종업원 수

종업원 수는 조사대상 업소 11개에서 모두 정규직원이 10명이내이고 제품 제조 공정이 있을 경우에 임시 일용직을 작업에 투입하고 있음. 이와 같이 적은 수의 종업원에 의해 업체의 관리가 이루어지고 있어 작업장 및 시설 설비에 대한 위생적인 관리를 체계적으로 운영하기는 어려울 것으로 판단됨. 그리고 작업 기간 동안에 임시 일용직에 의해 제품을 생산 제조하기 때문에 업체의 담당자께서 작업하는 과정에서 수시로 일용직에게 제품의 제조공정에 대한 정확한 정보와 개인위생에 관한 교육을 해 주지 않으면 제품의 생산에 여러 가지 변동 상황을 유발할 수 있고 철저하지 않은 개인 위생 관리의 허술함으로 인해 제품에 대한 교차오염 등이 발생할 우려가 있음

(다) 영업장 및 작업장 규모

조사한 업체의 영업장과 작업장의 규모는 공장방식으로 생산하는 1개업체를 제외하고는 약 88평 정도의 영업장과 50평 정도의 작업장을 사용하고 있어 대부분의 업체가 소규모 방식으로 제품을 생산하고 있음

(라) 시설 및 기기 보유

11개 업소에 대해 보관창고와 냉장창고 등의 보유여부를 확인한 결과 3개 업체가 보관 창고를 보유하고 있었고 2개 업체가 냉장창고를 보유하고 있어 그 이외의 업체의 보관창고와 냉장창고 등의 지정하여 구분하여 사용하지 있지 않은 상태여서 제품의 적절한 보관관리에 필요한 시설 설비가 필요한 상태임.

(마) 생산능력

조사한 업체의 생산능력은 대략적으로 4~5톤 정도이고 대부분의 업체가 생산실적상황을 기록하지 않고 있어 생산능력을 산출하기 어려운 상태로 나타남.

- 영업장 현황
 - 공장의 규모 : 67평 ~ 600평 규모
 - 600평 제외 시 약 88평 규모
- 작업장 현황
 - 작업장의 규모 : 약 20평 ~100평
 - 100평 제외 시 약 50평 규모
- 보관 창고 보유업체 : 3개 업체
- 냉장창고 보유업체 : 2개 업체
- 품질 관리 등에 위한 검사실 보유업체 : 없음
- 종사자 수 : 1~ 9명(한시적 임시직 포함)
- 생산능력 : 4~5톤 (생산능력 산출이 어려움)
- 매출액 :
 - 1개업소 50억
 - 기타업소는 4천 ~1억 수준/년
- 자체 브랜드 사용업체 : 2개업소
 - OEM 방식 및 위탁가공 형태에 의존

나) 서류 관리

- 선정된 업체에 대한 서류관리 현황을 파악하고자 조사표를 이용하여 업체의 영업 신고, 품목제조보고, 생산작업기록, 원료수불부, 제품 거래내역, 자가품질검사 기록, 건강진단, 위생교육, 음용수수질 검사, 생산실적보고 등에 관한 관리사항을 조사하였음.
- 표 7-8은 업체의 서류관리 현황에 관한 것으로 11개업체에 대해 서류관리 현황을 준수, 준수(미흡) 그리고 미준수로 구분하여 평가하였음. 준수는 서류의 기록관리가 잘 되어진 상태이고 준수(미흡)은 지정된 서류는 비치하고 있으나 기록 관리에 있어서 기간 경과 또는 미기록 상태인 경우에 해당하며 미준수는 필요 서류가 비치되어 있지 않아 서류관리 현황을 확인할 수 없는 상태로 구분하여 업체의 서류관리현황을 파악하였음.

- 이에 대한 결과를 표 7-8에서 보면 서류관리가 잘 되어진 항목은 영업신고와 품목제조 보고서로서 준수율이 81.8%로 서류관리를 잘 하고 있었음. 가장 관리가 되지 않는 항목은 생산실적보고에 해당됨. 이는 대부분의 업체가 가내식으로 원료를 자급자족하여 제품을 생산하고 있음을 알 수 있었음.
- 개인위생에 관련된 서류 항목으로 종사자의 건강진단서 보유 현황은 27.3%로 나타나 작업장의 종사자중에서도 건강진단 확인여부를 알 수 없는 상태에서 작업을 하고 있었음.
- 위생교육은 조사한 업체 중 27.3% 정도가 종사자에 대한 위생교육을 실시하고 있었으나 위생교육을 했다는 기록은 남아있지 않고 정기적으로 위생교육을 실시하고 있는지를 확인할 수 없었음.
- 이상의 서류 관리 결과에 따르면 영업신고서는 대부분의 모든 업체가 보유하고 있으나 개인위생 관리 및 기구 위생관리에 해당하는 건강진단 또는 음용수수질검사 등이 미비한 업체가 많아 업체의 자발적인 개인위생관리 및 기기 시설 관리가 절실히 함을 확인하였음

표 7-8. 서류관리 현황

구분	준수	준수(미흡)	미준수
영업신고	81.8%	18.2%	-
품목제조보고	81.8%	18.2%	-
생산작업기록	36.4%	45.5%	18.2%
원료수불부	18.2%	54.5%	18.2%
제품의 거래기록부	18.2%	45.5%	27.3%
자가품질검사	27.3%	27.3%	36.4%
건강진단	27.3%	18.2%	36.4%
위생교육	27.3%	27.3%	36.4%
음용수수질검사	54.5%	18.2%	9.0%
생산실적보고	9.0%	54.5%	27.3%

다) 환경 및 시설관리 현황

- 조사업체들은 기본적으로 환경 및 시설에 대한 관리를 잘 진행하고 있으나, 창고 등의 관리, 개인위생관리, 검사실 등에 관리가 미흡한 것으로 나타났다. 특히, 공정별로 적합한 시설설비가 구비가 되지 않아서 제조공정 중의 물리적 위해요소

가 발생할 가능성이 컸으며, 작업장 내의 방충망, 포충등 등의 설치가 미흡하여 방충방서 관리 부분에 취약한 것으로 나타났음. 또한 창고의 청결 상태 및 제품 보관 시 이격관리 등이 잘 안 이뤄져 이 경우에도 제품 또는 원료, 포장재에 이물이 혼입이 될 가능성이 큰 것으로 보여지며, 직원들의 청결관리 또한 철저히 이뤄져야 함을 보여줬음.

표 7-9. 환경 및 시설관리 현황

구분	적절	미흡
제조장 적정 위치	36.4%	63.6%
제조장의 적정온도와 환기	27.3%	72.7%
제조장 구조물의 내구력 및 건축자재의 재질	45.5%	54.5%
포장실/다른 작업장과 구분	-	100%
분리 또는 구획(원료실~포장실)	-	100%
작업장 바닥 내수처리	9.0%	91%
작업장 바닥 배수용이성	9.0%	91%
작업장 내벽 내수성, 내부식성 재질 사용	54.5%	45.5%
작업장 충분한 환기시설	18.2%	81.8%
작업장 문(창문, 환기구)의 밀폐성	9.0%	91%
적정 환기설비구비	18.2%	81.8%
냉동·냉장시설 및 가열처리 시설 온도계 검·교정	27.3%	72.7%
시설설비 청결관리	9.0%	91%
화장실 위치, 건조기 등 설치	36.4%	63.7%
창고등의 시설 위생적 보관관리	27.3%	72.7%
위생복, 위생모 착용 및 청결유지	18.2%	81.8%
손, 손톱 등의 청결유지(손세척·소독설비 포함)	18.2%	81.8%

- 다음은 여러 업체의 환경 및 시설 관리에 대해서 일반적으로 나타난 상황을 제시한것임. 가장 취약한 부분은 작업장 문의 밀폐여부로서 작업을 하는 과정에서 작업장문을 열고 작업하는 경우가 많아 작업중에 외부로부터 유충 등의 유입가능성이

크고 외부의 바람이 부는 방향에 따라 많은 양의 분진 등의 작은 먼지 등이 작업장 안으로 유입될 가능성이 큼

5. 환경 및 시설평가

평가 항목	평가 기준	유무		점검사항
		○	×	
제조장	위치		X	
	구조		X	
	구조층의 내구력 및 인화재료의 개			
분리	신공작업의 용도로 사용되는 시설과 분리	○		
	방화, 폭발안전 다른 작업장과 구분		X	
작업실	방화벽			
	내벽, 바닥		X	
	방화벽의 용량(연기, 열, 음향 포함)			
	기타			
	방화벽의 구조를 위해 방화벽을			
바닥	방화벽(유공시설, 온도조절장치, 난방시설 및 음향 유입 방지 시설) 구비			
	방화벽, 속성기는 온도 및 습도 조절 장치로 구비			
내벽	건축물에 필요한 시설을 갖추고, 방화, 음향 시에 제품의 연질 방지를 위한 적절한 조치			
	방화벽, 속성기 등 시설 및 장비 보유		X	
환기 및 집진설비	필요한 내수설, 개질소터민리스, 필터유기, 여과필터, 회수장치			
	기구, 방화, 음기 등 「식품위생법」에 서 정하는 기호에 적합한 것 사용			
냉동 냉장시설 및 가열 처리시설	냉동냉장설비			
	전열 온도 유지			

○ 제조장의 위치, 구조
 ○ 작업장의 분리, 작업실, 바닥, 내벽, 환기 및 집진시설, 방충방서, 청결관리 등
 ○ 식품취급시설 등의 재질, 온도 등의 관리
 ○ 급수시설관리
 ○ 보관/출고관리 등

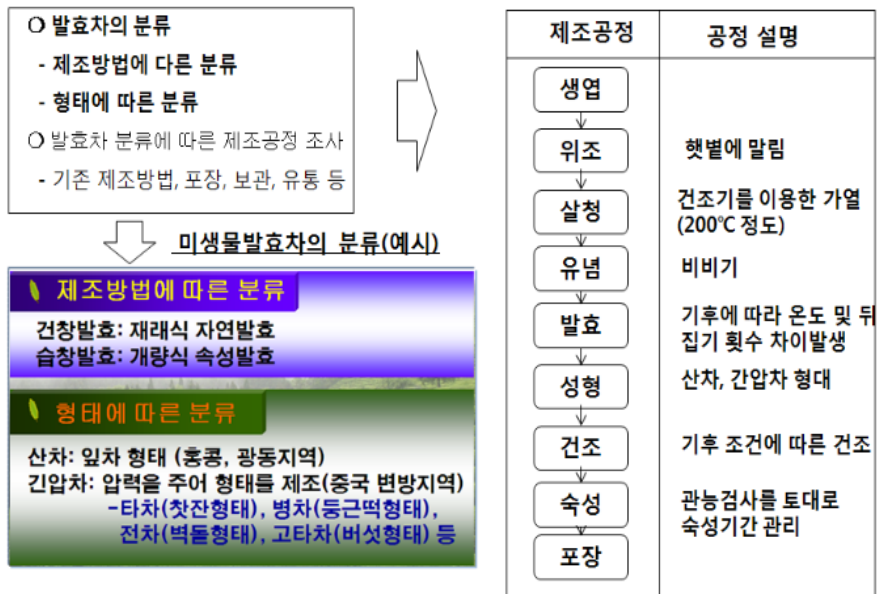
↓

○ 작업장의 분리 및 구조, 방충방서, 창고관리 등 발효차의 위생적 생산을 위한 시설적 관리가 매우 취약함

발효차 제조기술의 현장화를 위하여는 위생적 생산을 위한 기본 인프라의 구축방안의 제시 필요

- 라) 발효차 생산업체의 제조공정 현황
- 9개의 업소에서 발효차를 생산하고 있으며 기본공저의 프로세스는 자연발효 방식으로 동일한 프로세스로 이루어지고 있음
 - 각각의 제조방법은 업체별 제품의 특성에 따라 공정 조건 및 방식의 차이를 보이고 있음
 - 특히 살청, 발효, 숙성 과정을 제조업자의 경험에 의한 방식으로 생산되어지기 때문에 동일한 장소의 업체에서 제품을 생산해도 제조 당시의 기후적인 변화에 의해서 상당히 다른 제품이 생산되어질 수 있는 변수가 많음

- 유념과정에서는 대부분의 업체가 수작업을 통해서 이루어지기 때문에 개인적 위생 관리를 철저히 하지 않으면 손이나 착용한 의복 등에서 유입될 수 있는 오염물질에 의해 교차오염 등에 일어날 수 있는 가능성이 큼
- 포장과정에서는 포장재의 재질에 따라서 포장재를 청결하게 보관관리하지 않으면 포장재에 유충알 등이 생육하여 벌레 등이 증식할 변수가 있음. 그러므로 포장재의 청결한 관리 보관이 중요하고 제품에 충전하는 경우에 제품의 특성에 적합한 포장재를 선정하는 것으로 위생관리의 중요 요소라 하겠음

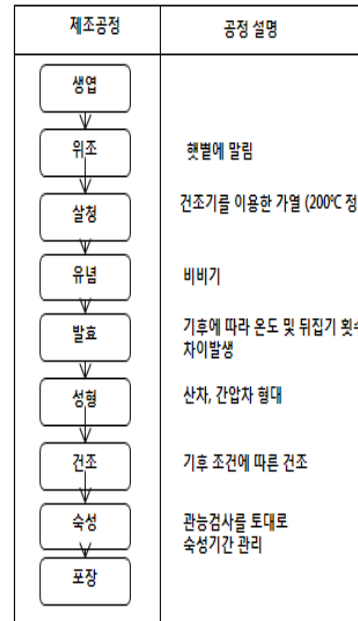


기타 분류	종류	생업	위조	살청	유념	발효 조건(온도/시간)					생업	건조	숙성	포장	기타
						1차	2차	3차	4차	5차					
	주조	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
음료															
음료															
음료															
음료															

원재료 종류	공정도(공정조건/방법)
1. 생업	생업→ ①양말기 (당에 생업 넣어서 자연건조, 약 1주일)
2	→ ②유념기(10kg 정도 넣고 비비기, 30-40분)
3	→ ③ 손으로 다시 비비기
4	→ ④ 말기 및 건조
	→ ⑤ 건조기(100°C, 40분) 또는 야외 건조(자연건조법)
	→ ⑥ 발효(35°C, 40분)- 발효상태는 색깔로 확인
1. 생업	생업→ ① 살청+술에서 볶기(350°C)
2	→ ② 1차 유념
3	→ ③ 유념
4	→ ④ 말기
	→ ⑤ 2차 유념
	→ ⑥ 3차 유념
	→ ⑦ 성형
	→ ⑧ 건조

○ 발효차 생산업체 9개 업체의 제조공정 현황

- 기본공정의 프로세스는 자연발효 방식으로 동일한 프로세스로 이루어 지고 있음
- 각각의 제조방법은 업체별 제품의 특성에 따라 공정조건 및 방식의 차이를 보이고 있음



• 살청조건
• 발효조건
• 숙성조건
의 차이발생

마) 발효차 생산업체의 제품관리 현황

III. 제품관리

	유통기한 등	■ 발효차	개월(일)	보관기준	°C		
제품설명서 작성	유통기한설정근거자료	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 자체실험	<input type="checkbox"/> 외부()			
	소비대상	■ 소비자용	<input type="checkbox"/> 업소용	<input type="checkbox"/> 기타()			
	섭취방법	■ 뜨겁게	<input type="checkbox"/> 차게	<input type="checkbox"/> 기타()			
공정흐름도	제조공정도	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 공정별 가공방법	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무		
	도면	작업장평면도	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무	작업자 이동동선	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무
		환기/공조시	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무	원료/공정품 이동동선	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무
	용수/배수처	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무	폐기물 이동동선	<input type="checkbox"/> 유	<input type="checkbox"/> 무	
	현장과 일치성*	<input type="checkbox"/> 일치	<input type="checkbox"/> 불일치	* 조사연구원이 현장확인을 통해 체크함			
위해요소 분석	근거자료	<input type="checkbox"/> 학술문헌	<input type="checkbox"/> 자체클레임자료	<input type="checkbox"/> 외부시험성적서	<input type="checkbox"/> 실험수행		
	실험여부	<input type="checkbox"/> 원료	<input type="checkbox"/> 공정	<input type="checkbox"/> 환경	<input type="checkbox"/> 제품		
	실험수행	<input type="checkbox"/> 자체	<input type="checkbox"/> 외부(식품위생검)	<input type="checkbox"/> 외부(일반기관)			
	잠재적 위해요소도출	<input type="checkbox"/> 원료	<input type="checkbox"/> 공정	<input type="checkbox"/> 제품	<input type="checkbox"/> 유통/판매		

○ 제품의 품질 및 안전성관리를 위한 제품 설명서의 이해 및 공정흐름의 파악, 위해요소의 분석을 위한 제품관리가 이루어 지고 있지 않음

- 추후 제품현장화시 제품관리를 위한 기준 등의 제시 필요

바) 방문업체의 작업장 시설 및 위생관리 현황

업체 현황 조사에서 확인하였던 제조업체의 시설 및 위생적 관리 상태를 제시함

(가) 작업장/부대시설 관리 상태



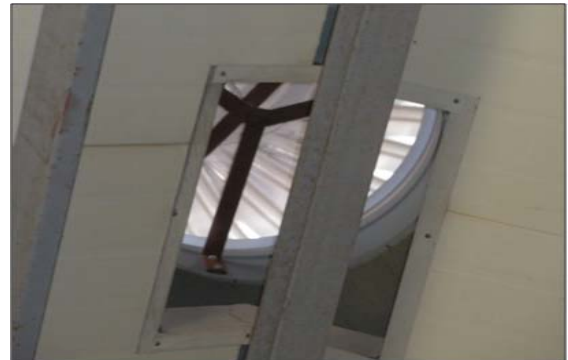
- 작업장 주변에는 수목이 있으면 유충 등이 작업장 내로 유입되어 제품을 생산 또는 보관 중에 원료 또는 기기에 혼입되어 이물이 발생하거나 교차오염에 의한 위생적 관리에 문제가 될 수 있음
- 작업 중에 작업장 문을 열고 선풍기를 틀어놓고 작업을 하게 되면 외부의 먼지 등이 작업장 내로 유입하게되어 제품에 먼지 등이 혼입되어 제품이 오염될 가능성이 있음

• 개인위생관리



• 작업자 위생복 미착용

• 방충방서 관리



• 환기통에 방충망 미설치

- 모든 작업자는 위생복, 위생모, 착용하여 머리카락 등이 제품에 혼입되지 않도록 해야 하나 작업자가 위생복, 위생화 등을 착용하지 않고 작업을 함

- 환기통에 방충망을 설치하여 유충의 유입되지 않도록 해야 하나 환기통에 방충망이 없어 유충혼입 가능성이 큼

(나) 이물질



• 제조 설비의 거미줄 제거 필요

• 세척 소독관리



• 제조설비의 세척 소독 관리 필요

- 작업에 사용되는 기기 및 기계는 항상 청결하게 관리해야 하는데 기기에 거미줄이 끼어 있음
- 작업 후에는 사용한 기기 및 기계는 깨끗하게 청소를 하고 위생적으로 청결한 상태를 유지해야하나 사용하였던 마포가 그대로 방치되어 있어 청결한 관리가 필요함

• 입고 보관 관리



• 제품을 표기 사항 없이 보관



• 제품의 이격 관리 미흡과 미표기 상태

- 생산한 제품을 보관할 때에는 제품명, 제조일자 등을 표기하여 선입선출이 가능하도록 해야 하는데 위의 예시에서는 제품에 표기사항이 없이 보관하고 있어 제품의 보

관 상태를 확인 할 수 없음

- 생산을 보관하는 경우 보관 창고에 이격되지 않고 제품이 초과 적재가 되는 경우에는 환기가 잘 되지 않아 제품의 보관기간보다 훨씬 빨리 변질이 일어날 수 있는데 위의 예시에서는 제품의 이격관리가 되지 않고 미표기상태로 제품을 보관하고 있어 제품의 위생적 관리가 미흡함

(다) 작업장 내의 낙하균 실험 결과

표 7-10. 업체의 작업장내 낙하균

업체명 [㉠]	낙하균 측정결과 [㉡]				측정조건 [㉢]		
	Aerobic bacteria [㉣]	Moulds [㉤]	Coliforms [㉥]	측정시간 [㉦]	작업유무 [㉧]	기타 [㉨]	
A 업체 [㉠]	29 [㉣]	22 [㉤]	9 [㉥]	15 min [㉦]	○ [㉧]	출입문이 닫힌상태에서 측정 [㉨]	
B 업체 [㉠]	36 [㉣]	140 [㉤]	10 [㉥]	15 min [㉦]	○ [㉧]	출입문이 열린상태에서 측정 [㉨]	
C 업체 [㉠]	34 [㉣]	159 [㉤]	19 [㉥]	15 min [㉦]	○ [㉧]	출입문이 열린상태에서 측정 [㉨]	
D 업체 [㉠]	2 [㉣]	107 [㉤]	ND [㉥]	15 min [㉦]	× [㉧]	출입문이 열린상태에서 측정 [㉨]	
E 업체 [㉠]	입고실 [㉣]	7 [㉣]	60 [㉤]	4 [㉥]	15 min [㉦]	× [㉧]	출입문이 닫힌상태에서 측정 [㉨]
↓	작업실 [㉣]	11 [㉣]	17 [㉤]	10 [㉥]	15 min [㉦]	× [㉧]	출입문이 닫힌상태에서 측정 [㉨]
↕	창고 [㉣]	3 [㉣]	26 [㉤]	ND [㉥]	15 min [㉦]	× [㉧]	출입문이 닫힌상태에서 측정 [㉨]

※ ND : Not Detected[㉩]

○ 5개 업체의 작업장청정도 분석을 위한 공중낙하세균 분석 결과 곰팡이류의 수치가 가장 높게 나타났음

- 발효차 생산에 의한 자연적 곰팡이류의 수치로 파악되며 추후 선택적 균의 배양 집중 시 이를 제어할 수 있는 청정도관리 수단의 구축 예정

(3) 발효차의 잠재적 위해 요소 도출

가. 국내 · 외 발효차 위해관련 자료 조사

국내외 미생물 발효녹차에 대한 위해요소 자료 조사 결과 발효녹차로 정의된 제품과 관련된 위해요소를 확인할 수 없었으며 주로 녹차와 녹차추출물에 대한 기준 · 규격을 설정하여 관리하고 있는 것으로 조사되었음.

가) 국내 자료조사

- 국내 녹차관련 위해발생 현황을 조사 결과 2007년 9월 이마트에서 판매하고 있는 녹차에서 잔류농약 검출사례(식품음료 2007.09.05)와 2007년 8월 시중 농약검출 가루 녹차에 대한 수거(해럴드경제 2007.08.13)의 사례가 조사되었음

- 이와 관련한 식품의약품 안전청의 기준을 살펴보면 식품공전상 녹차의 기준·규격은 타르색소, 납, 주석, 세균수, 대장균군을 관리하고 있으며, 식품공전 상 차제품 및 녹 차 추출물의 농약 잔류허용기준에 대하여 137. 차(Tea leaves)의 경우 아미트라즈 10.0ppm의 25종, 138 녹차추출물(Green tea Extract)는 비펜스린 0.7ppm 의 12종에 대하여 관리하고 있는 것으로 나타났음.
- 식품공전상 식육(제조, 가공원료는 제외한다), 살균 또는 멸균처리 하였거나 더 이상의 가공, 가열 조리를 하지않고 그대로 섭취하는 가공식품에서는 특성에 따라 살모넬라, 클로스트리디움 뿔리젠스, 리스테리아 모노사이토제네스, 대장균 O157:H7, 캄필로박터 제주니, 여시니아 엔테로클리티카 등 식중독균이 검출되어서는 아니된다고 규정하고 있어 미생물발효녹차의 경우도 이러한 생물학적 위해요소에 대한 발생 가능성 확인이 필요한 것으로 사료된다.
- 또한 식품의약품 안전청의 식품별 유해물질 리스크프로파일개발-국민다소비 식품 200종 대상(2009년)에 의하면 녹차추출물의 경우 가공 공정 중 Staphylococcus aureus의 오염이 가능하다고 조사되어 지고 있음.

나) 국외 자료조사

- 국외의 녹차 유사제품에 대한 기준·규격에 대한 조사 결과 중국의 경우 차잎에 대하여 회토류금속(게르마늄, 하프늄 등)에 대하여 허용량 기준 2.0mg/kg을 규정하고 있으며, 대만의 경우 아래의 표와 같이 납, 비소, 주석, 구리, 아연 안티몬 등의 허용량을 커피, Tea, 코코아에서 관리하고 있음

표 7-11. 중국의 차류 중 관리대상 물질

관리대상물질	품목	허용량
회토류 금속 (예, 게르마늄, 하프늄)	차잎	2.0mg/kg

표 7-12. 대만의 커피 등의 관리대상 물질

관리대상물질	품목	허용량
납	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	0.3ppm
비소	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	0.2ppm
주석	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	250ppm
구리	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	5.0ppm
아연	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	5.0ppm
안티몬	음료 커피- 천연 및 농축과일주스 및 야채주스들은 제외	0.15ppm

- 또한 건강기능식품 기준 및 규격 선진화에 관한 연구(2009.09, 식품의약품안전청) 녹차와 관련된 제품의 경우 일본은 녹차엑기스에 대하여 비소, 중금속 및 대장균 균, 세균 수를 관리하고 있으며, 캐나다의 경우 살모넬라 등의 병원성 미생물에 대하여 관리하고 있는 것으로 조사되었음.

표 7-13. 일본의 녹차엑기스 규격

품목명	JECFA 규격	
	허용량	
녹차 엑기스 식품	비소	0.3ppm
	중금속(pb)	0.2ppm
	대장균균	250ppm
	세균수	5.0ppm

나. 잠재적 위해요소의 도출

국내 발효녹차제조업체 현장조사 및 국내외 발효녹차 유사제품 위해관리 기준 물질 등에 대한 조사 결과 미생물 발효차에서 발생할 있는 잠재적 위해요소를 도출하였다.

가) 발효녹차 원료(생잎 및 모차) 유래 발생 가능 위해요소

발효녹차의 원료에서 유래가 가능한 위해요소를 화학적, 물리적, 생물학적 위해요소

로 구분하여 도출하였으며 향후 도출된 위해요소의 발생현황 실험은 2차년도에 실시 계획임.

표 7-14. 발효녹차 원료 유래 발생 가능 위해요소 도출 항목

구분	물리적	화학적	생물학적
중요관리 위해요소	경질성 이물 - 금속, 돌, 유리, 플라스틱 등 연질성 이물 - 머리카락, 비닐 등	잔류농약 - Chlorfenapyrene, EPN 중금속 - 납, 카드뮴	- <i>Bacillus cereus</i> - <i>Salmonella</i> spp - <i>Clostridium perfringens</i> - <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>E coli</i> 0157:H7 - 대장균 - 진균

나) 사용 음용수 발생 가능 위해요소 도출

미생물발효녹차제조 중 공정에 사용되는 음용수에 의하여 발생 가능 위해요소를 도출하였음

표 7-15. 사용 음용수에서 발생 가능한 위해요소 항목

원료명	원료성분	위해요소		
		물리적	화학적	생물학적
물 (정제수 : 용수)	상수도 (정제수)	연질이물 : 침전부유물	먹는 물 수질기준 에 의한 항목 47 종(유기물, 무기물 등)	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Salmonella</i> spp - 분원성대장균군 - 대장균군 - 대장균

(4) 미생물발효차 제조공정 분석



가. 미생물발효차 산업화 프로토콜





⑦균주접종



⑧발효전



⑨발효실로 옮기기



⑩발효



⑪발효실로 옮기기



⑫ 발효 선별 및 포자제거



⑬숙성(황토방)



⑭ 성형



⑮제품(시제품)

가) 원료(모차) 만들기

① 생엽

채엽한 찻잎은 깨끗한 바닥(시멘트바닥 또는 갑바를 이용)에 펼쳐 이물질들을 골라냄.

② 위조

일정하게 준비된 생엽은 바닥에 펼쳐 약간 수분을 날려주는 위조(시들리기)과정을 함

③ 살청

위조가 된 생엽은 대나무 채반에 일정량을 담아 살청을 한다. 살청의 온도는 250℃에 5-6분 정도이며 찻잎의 상태(채엽시기등)에 따라 다름

④ 유념

살청이 다된 찻잎은 대나무 채반에 담아 유념기에 옮겨 담는다. 유념기의 강약을 조절하여 30분 정도 유념을 함

⑤ 건조

유념이 다된 찻잎은 대나무 채반에 담아 햇빛이 있는 외부로 가지고 나와 갑바나 그물

망 위에 얇게 펼쳐 놓는다. 수분 6%이하가 되도록 햇빛건조 함

나) 청병

⑥ Steaming

원하는 일정량의 원료(모차)에 steam을 가해 다음 공정인 성형(긴압)공정을 준비함.

steam은 定量한 차를 적당한 크기의 면포에 담아 약 100℃에서 30초 정도(차잎 종류에 따라 다를 수 있음)로 함.

* 준비물:면포

⑦ 성형(긴압)

steam(부드럽고 따뜻한 차잎)이 끝난 차는 크린랩에 담아 바로 긴압기 mold에 넣고 약 3분간 압력을 준다. 알맞게 굳혀진 병차(덩이차)를 꺼내 크린랩을 벗겨내고, 준비해온 대나무 채반에 올려놓음.

* 준비물:대나무채반

⑧ 건조

성형을 마쳐 대나무 채반에 올려진 병차(긴압이 완성된 덩이차를 말함)를 선반에 올려 따뜻하고 그늘지고 냄새가 없는곳에서 2~3일 건조함.

⑨ 포장

건조가 완성된 병차는 천연소재(인체에 해가 없는 소재, 한지 등)로 포장 한 다음 숙성 과정을 준비함.

⑩ 저장숙성

잘 포장된 발효차(병차, 산차)는 황토방, 발효실, 저장용기(옹기, 황토, 상자등)에 담아 저장숙성함.

다) 숙병

⑥ 발효

- 잘 건조된 원료(모차)는 깨끗한 넓은 용기에 담고 알맞은 수분함량(加水)으로 조절한다. 균주를 접종할때는 정량된 균주를 넣고 다음에 가수 한다. 깨끗한 면포에 가수한

원료차를 담고 포로 덮은 다음 스텐레스 바구니에 담아 발효실에 넣음.

- 미생물 접종 장소는 발효실이 가까운 근처 실내(공장동)에서 이루어지며, 보성에서는 생산공장시설에서 접종한다음 바구니를 발효실로 옮겼음

* 준비물 : 넓은용기, 면포, 증류수, 스텐레스 바구니, 메스실린더,

⑦ 건조

발효가 다된 미생물발효차는 그늘지고 서늘하며 바람이 통하는 곳에서 2~3일 정도 음건(陰乾)한다. 수분이 10%이하가 되도록 건조함.

- * 발효가 완료된 미생물발효차를 발효실에서 꺼내 그늘지고 바람이 통하는 실내로 옮겨와 펼쳐놓음. 또는 건조기(약40℃)를 이용하여 건조함.-보성은 생산시설공간 이용, 학교는 열풍건조기 이용함

⑧ 포자제거

음건을 마친 미생물 발효차는 풍력 선별기를 이용하여 포자를 제거한다. 미생물발효차 외관 상태를 보고 2~3회 정도 선별하여 육안으로 확인될 정도의 깨끗함으로 포자를 제거함.

- * 풍력선별기를 보유하지 못해 업체 방문하여 이용하고 있음. 학교에서 건조된것을 차로 이동, 보성 업체에서 포자 제거 한 다음 비닐봉투에 담음.

⑨ Steaming

포자가 깨끗이 제거된 미생물발효차는 steam을 하여 성형(긴압)과정을 준비한다.

(청병 steam과 동일...)

-비닐봉투에 담긴 미생물발효차는 긴압기가 있는 선다원에서 Steaming한다.

⑩ 성형(긴압) - Steam과 긴압, 건조는 보성 선다원에서 이루어짐.

⑪ 건조

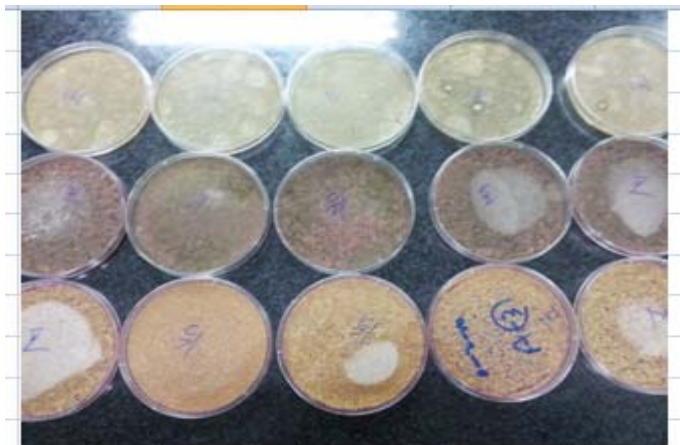
⑫ 포장

⑬ 저장숙성

- * ⑩~⑬ 과정은 청병과 같음.

나. 미생물발효차 낙하균 실험 결과

	낙하균 측정결과			측정조건		
	Aerobic bacteria	Moulds	Coliforms	측정시간	작업유무	기타
포장실	측정불가	측정불가	측정불가	15 min	○	발효공정(뒤집기) 중 실시
발효실(30°C)	측정불가	측정불가	측정불가	15 min	○	발효공정(뒤집기) 중 실시
발효실(45°C)	측정불가	측정불가	측정불가	15 min	○	발효공정(뒤집기) 중 실시
저장실						
※ 측정불가 사진자료 참조						
	낙하균 측정결과			측정조건		
	Aerobic bacteria	Moulds	Coliforms	측정시간	작업유무	기타
포장실	44.3	카운트(전)	ND	15 min	X	출입문이 열린상태에서 측정
발효실(30°C)	27	카운트(전)	ND	15 min	X	출입문이 열린상태에서 측정
발효실(45°C)	8	카운트(전)	ND	15 min	X	출입문이 열린상태에서 측정
저장실	카운트(전)	카운트(전)	카운트(전)	15 min	X	출입문이 열린상태에서 측정 저장실 온도 30°C, 습도 80% 전 후 (공정별 사진참조)
※ ND : Not Detected						



Pilot 형식의 미생물 발효차 제조공정시에 작업장의 낙하균실험을 한 결과 균을 셀 수 없을 정도로 많은 양의 세균, 곰팡이, 효모가 나타나는 것으로 보아 발효에 의한 균의 증식 및 작업장 내의 시설 설비의 위생상태에 따라 변수가 있을 것으로 봄

다. 발효차 제조공정 중 발생 가능한 위해요소 항목 도출

일반 발효녹차 제조공정 상 발생 가능한 위해요소를 발생 가능원인을 기초로 도출하였으며 제조공정의 구분은 1차년도 확정된 미생물발효녹차 제조공정일 기초로 현장 조사 대상 발효녹차 제조업체의 공정을 기초로 도출하였음

가) 건조공정

공정	구분	위해요소	발생원인
건조	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

나) 내포장 공정

공정	구분	위해요소	발생원인
내포장	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

다) 가열 공정

공정	구분	위해요소	발생원인
가열	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella spp</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>E coli 0157: H7</i> <i>Clostridium perfringens</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

라) 냉각공정

공정	구분	위해요소	발생원인
냉각 (선별)	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

마) 유념공정

공정	구분	위해요소	발생원인
유념 (비비기)	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

(5) Pilot 방식의 미생물발효차에서 발생 가능한 잠재적 위해요소와 예방 조치(안)

일반 발효차의 잠재적 위해요소를 근거로 하여 pilot방식으로 미생물발효차를 제조하는 공정에 대한 잠재적 위해요소와 예방관리(안)을 모색하였음

공정명	잠재적 위해요소	위해 원인	발생가능성	예방관리
생엽	병원성미생물 또는 유충 등의 혼입	채취 후 바로 사용하지 않고 상온에 방치	있음(높음)	종사자 위생교육 채취 후 보관 관리 주의
살청	이물 혼입	살청용 솔등의 제다 장비를 청결하게 관리하지 않아 이물 혼입	있음(높음)	종사자 위생교육 제다 장비의 세척 관리 준수
유념	병원성미생물 오염 병원성미생물 증식	유념용 면포 세척 /살균미비로 교차오염	있음(높음)	종사자 위생교육 작업 전 손 세척
건조	병원성미생물 혼입	자연건조 경우에 외부의 환경에 의해 병원성미생물 혼입	있음(보통)	종사자 위생교육 건조기 사용
발효	균주 접종 불량 변종의 균주 증식	균주 접종 기기 및 기구에 의한 균주 오염 발생	있음(높음)	종사자 위생교육 무균실 청결한 관리
성형	이물 혼입	개인위생불량으로 이물 혼입	있음(보통)	종사자 위생교육 작업 전 손 세척
건조	병원성미생물 혼입	건조기 내가 청결하지 않아 교차 오염 발생	있음(보통)	종사자 위생교육 건조실 온도와 습도 관리
숙성	병원성 미생물 증식	숙성실의 온도와 습도 조절이 적절하지 않아 병원성 미생물 증식	있음(높음)	종사자 위생교육 숙성실 온도와 습도관리
포장	이물 혼입 병원성 미생물 증식	계량용 용기 및 도구의 위생 물량으로 교차오염 포장실 위생환경 미비	있음(높음)	종사자 위생교육 포장실 청결한 관리
보관	이물 혼입 제품 변형	보관실 온도와 습도관리 미비 이격보관 안되어 제품에 이물 혼입	있음(높음)	종사자 위생교육 보관실 청결한 관리

(6) 위해요소 예방조치 세부이행사항 및 향후 관리방안

예방조치의 세부이행사항 및 관리 방안은 식품위생법 등에 준하여 종사자 관리, 제조 환경 관리, 생산관리, 제품관리로 구분하여 다음과 같이 제시함.

가. 종사자 관리

가) 개인위생관리

- 모든 종사자는 위생복, 위생모 착용 후 작업에 임하여야 하며, 각 위생복장에 대한 세척·소독방법 및 기준을 수립하여 위생복은 항상 청결하게 관리하고 위생모는 머리카락이 보이지 않게 착용하는 것을 원칙으로 함.
- 각 위생복장에 대한 세척·소독방법 기준 수립 및 관리를 실시함.
- 위생화와 실외화를 구분, 위생복 착용 상태로 작업장 외부 출입을 금지함.
- 작업장 내에는 장신구나 개인용품을 소지하거나 착용을 금지하며, 작업장 외에 별도의 보관 장소를 제공함.

- 위생관리규정을 불이행하는 행위(흡연, 취사 등)를 금지함.

나) 작업장 출입 관리

- 손에 존재하는 이물 및 미생물 등의 혼입을 방지하기 위하여 작업장 출입 시 수립된 손 세척·소독방법 및 절차에 따라 손 세척·소독을 실시함.
- 작업장 입실 시 이물제거 도구(접착롤러, 진공흡입기, 에어샤워 등)를 사용하여 위생복 표면의 이물, 머리카락 등의 제거를 위한 절차를 거친 후 입실하여야 함.
- 작업장 출입전 위생화의 이물제거를 위해 세척조를 사용함.
- 포장공정의 경우 청결구역으로 설정하여 위생복장관리 강화를 권고함.
- 작업장 출입 관리 절차 등을 수립하고 게시하도록 함 교육
- 종사자의 위생의식을 향상시키고, 현장의 위생, 품질에 대한 지식수준 및 관리능력을 향상시키고자 정기적인 종사자 위생교육이 이루어져야 함.
- 주요사항에 대한 반복 교육과 새로운 내용을 알리는 교육이 교차 실시되어야 하며, 사진, 동영상 등을 활용한 시각적 효과를 높이는 교육이 필요함.
- 교육담당자는 지식교육, 품질교육, 현장교육 등 교육의 목적과 대상에 따라 연간교육 계획을 세우고 교육실시 후 내용을 기록하고 유지·관리하도록 함.

나. 제조환경관리

가) 작업장 환경관리

- 작업장은 외부로부터 영향을 받지 아니하는 곳에 위치하여 주변에서 발생하는 먼지, 해충, 오염물질 등의 유입차단이 가능한 외부로부터의 밀폐성이 확보된 형태이어야하며, 다른 용도 외의 시설과 독립된 건물이어야 함.
- 작업장은 제조·가공에 필요한 기계·기구류 등을 설치한 제조·가공실을 갖추고, 각각의 시설은 분리 또는 구획하도록 함.
- 작업장 바닥, 배수로 등은 내수 처리하여 배수가 잘 되도록 하며, 주기적인 세척·소독기준 및 방법을 수립하고 준수하도록 함.
- 작업장 내벽은 세척이 용이한 구조로 표면이 매끄러워야 하며, 갈라지거나 파손된 부분이 없도록 관리하도록 하며, 주기적인 세척이 이루어지도록 함.

- 식품 등을 취급하는 원료보관실, 제조·가공실, 포장실 등의 내부는 응축수 등이 발생하지 않도록 항상 청결한 상태를 유지하도록 함.
- 작업장의 문, 창 및 출입구는 내수성 재질로 곤충, 쥐 등의 출입을 막을 수 있도록 문의 틈새 등을 관리하여 밀폐 가능하도록 함.

나) 방충·방서관리

- 해충 및 유해동물의 발생원인 및 유입경로를 파악하고, 유입을 차단할 수 있도록 문, 창, 출입구에 방충망을 설치하며, 공정에 따라 덮개망, 포충등, 바퀴트랩, 쥐덫 등을 설치하고 모니터링 하도록 함.
- 출입문은 에어커튼을 설치하거나 자동 또는 반자동 2중문으로 밀폐함.
- 제조과정 중 발생한 분진, 잔유물이 설비나 그 주변에 존재하지 않도록 함.
- 모든 배관 관통부는 틈이 없도록 밀봉 시공하도록 함.
- 주기적인 발생량 분석자료를 통해 방충·방서관리기준을 수립하도록 함.

다) 식품취급시설관리

- 발효차와 관련한 모든 식품취급시설은 사용 전, 후 세척 또는 소독(살균) 등으로 항상 청결하게 유지 및 관리하여야 함.
- 사용하는 포장재는 청결한 곳에 보관하고 보관실은 습기가 적고 환풍이 잘되는 곳이어야 함
- 급수시설은 상수도나 ‘먹는물관리법’ 수질기준에 적합한 지하수를 공급할 수 있는 용수정제시설을 구비하고, 외부 오염방지를 위해 밀폐 가능한 구조의 저수탱크를 설치하도록 함.
- 원재료와 포장용기 등의 보관창고는 외부와의 차단이 가능한 구조로 습기, 흙, 먼지 등에 의한 오염방지를 위해 바닥 및 벽으로부터 이격관리하도록 함.

라) 폐기물관리

- 공정 중 발생하는 폐기물은 별도로 관리하고 신속하게 폐기물 처리장으로 이송하도록 함.
- 폐기물 취급시설은 작업장과 격리된 장소에 밀폐가능한 보관시스템을 확보하고, 보관용기는 용도별로 구분 관리하도록 함

다. 생산관리

가) 원·부자재 및 포장재 보관관리

- 품질관리 및 안전관리에 우수한 공급업체를 선정하도록 함.
- 입고되는 모든 원·부자재 및 포장재에 대한 시험성적서를 구비하여 생물학적, 화학적 위해요소와 관련한 안전성을 확보하도록 함.
- 입고되는 원·부자재의 특성에 따라 적절한 온·습도관리(냉장보관 조건인 경우 10℃ 이하 관리 등)가 이루어져야 하며, 보관창고는 항상 청결상태를 유지할 수 있도록 관리함.
- 포장재의 경우, 육안검사를 통한 1차적인 이물혼입 예방관리가 필요하며 포장재 사용 전 물 세척, 오존수 세척, 에어 세척 등을 통해 생물학적, 물리적 위해요소 잔존에 의한 교차오염을 예방하여야 함.
- 보관 중인 원·부자재와 포장재는 비, 바람 등에 보호될 수 있도록 천, 비닐 등을 이용하여 밀봉시켜 파렛트, 적재대 사용을 통해 지면과 접촉하지 않도록 조치, 보관하거나 별도의 보관공간을 구비하도록 함.

나) 용수관리

- 시설·설비, 기구·용기 등에 사용되는 용수는 「먹는물 관리법」 제5조의 규정에 의한 먹는물 수질기준에 적합한 지하수이어야 하며, 지하수를 사용하는 경우, 먹는물 수질기준 전 항목에 대하여 연 2회 이상 수질검사를 실시하여 그에 따른 시험성적서를 보관하도록 함.
- 지하수 또는 상수도를 취수하는 저수조와 배관은 체계적인 세척·소독기준 및 방법에 따라 관리되어야 하며, 자체적인 실시가 어려운 경우, 외부업체에 의뢰하여 세척·소독관리를 이행하여야 함.

(7) 미생물 발효녹차 생산을 위한 제조공정의 레이아웃 도출

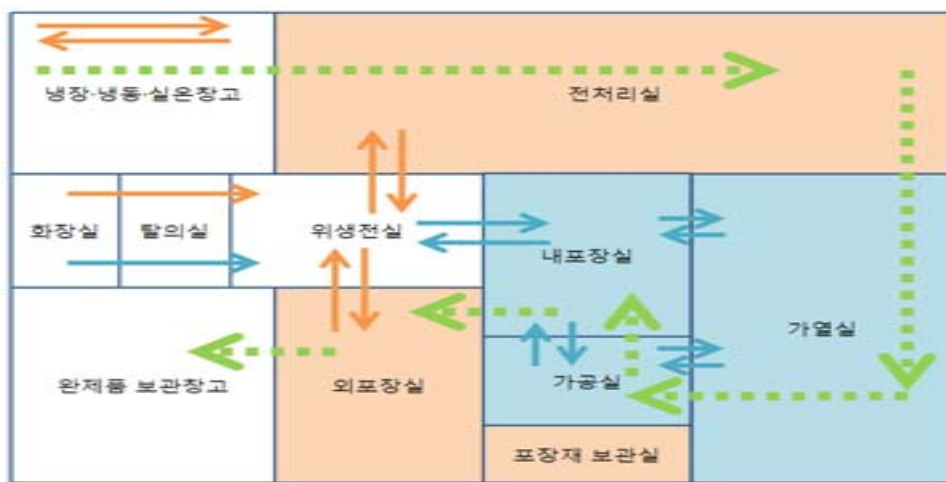
가. 발효녹차 생산을 위한 제조공정의 레이아웃의 가이드 제시

앞에서 제시된 발효녹차 생산을 위한 제조공정을 기초로하여 HACCP 시스템도입 및 운영을 위한 기본적인 공정의 배치 및 공장의 분리방안을 제시하고자 도출하였

으며 발효녹차 전단계인 모차의 제조공정 레이아웃과 발효녹차 제조를 위한 레이아웃 2종을 도출하였음

가) 모차 제조를 위한 제조공정의 레이아웃

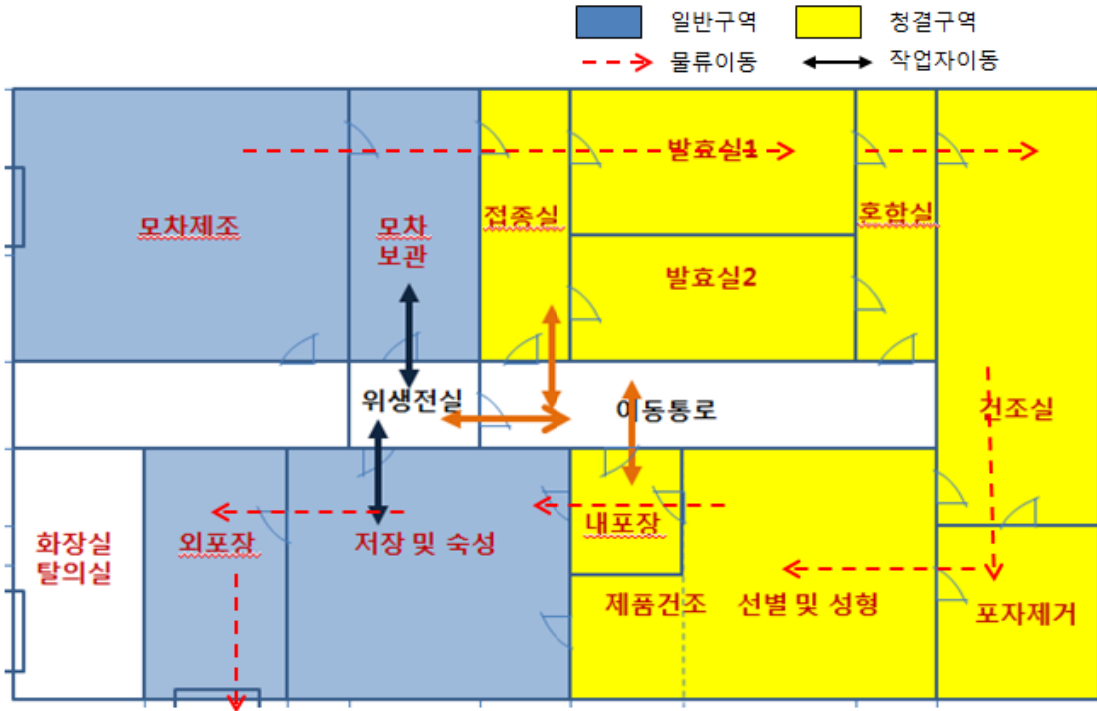
- 발효녹차의 경우 생엽으로 부터 발효녹차까지 동일장소에서 생산하는 방법과 제조되어진 모차를 원료로한 발효녹차 제조방법 으로 구분하여 생산이 가능하며
- 그 중 제조된 모차를 원료로 사용할 경우 원료의 위해 안전성을 확보하기 위한 모차 제조공정의 경우 식품의약품안전청에서 제시하고 있는 고휘녹차의 제조공정 레이아웃을 기초로 적용하여 생산함으로 원료 모차의 안전성의 확보가 필요함.



< 고휘녹차 생산을 위한 작업장 기본 레이아웃, 식약청 2011년 >

나) 발효녹차 제조를 위한 제조공정의 레이아웃

- 발효녹차의 제조시 모차의 공간이 별도로 확보된 경우 이를 기초로 모차의 보관에서부터 각각의 공정의 흐름배치 및 작업자의 교차오염을 방지 할 수 있는 작업자 이동 동선, 청결구역과 일반구역의 설정을 아래의 그림과 같이 도출 하였음.
- 이 경우는 국내 대부분의 발효녹차 제조업체의 작업장 면적을 고려하여 495㎡를 기본으로 하여 도출하였음



- 청결구역과 일반구역의 설정은 모차의 제조 및 보관과 발효녹차의 내포장 이후공정인 저장이후공정을 일반구역으로 설정관리하고 접종부터 내포장공정을 청결구역으로 관리하는 방안이 전체 공정흐름상 교차오염에 의한 위해발생을 최소화 할 수 있는 것으로 조사됨
- 물류이동동선(원료 및 반제품 이동동선)은 모차에서부터 접종, 발효, 혼합, 건조, 포자 제거, 선별 및 성형, 내포장 저장 및 숙성, 외포장 순으로 배치하여 앞공정으로부터 이후 공정의 오염을 최소화 할수 있도록 배치하는 방안이 가장 적절한 것으로 도출
- 작업자 이동동선의 경우는 위생전실을 통하여 일반구역으로 이동하고 청결구역과 교차되지 않도록 관리함으로 작업자에 의한 교차오염을 최소화 하였음.
- 제조를 위한 각각의 공정별 제조설비의 배치, 세척 및 소독조의 위치, 용수 및 배수 처리, 환기 및 공조시스템의 관리를 위한 검토사항은 제조공정별 작업방법이 좀더 면밀히 확정되고 작업 표준이 설정되면 이를 기초로 2차년도에 도출될 것임.

(8) 미생물 발효녹차 생산을 위한 생산관리 및 품질관리 표준 설정 범위

- 발효녹차 생산업체 현장 조사 결과 기존 발효녹차 제조업체의 경우 작업자의 구성이 단순생산을 위한 작업자가 모두 10명 이하로 조사되었고 품질관리 및 생산관리를 위한 인력을 확보하고 있는 업체는 거의 없는 것으로 나타나 본 연구사업의 결과물인 미생물발효녹차의 현장 이전시 균일한 품질의 생산을 위한 품질관리 및 생산관리 표준을 작성하여 제공하지 않으면 산업화에 많은 문제가 있는 것으로 조사되었다.
- 이러한 현실을 반영하여 본 연구에서는 최종적으로 개발되어질 미생물발효녹차의 생산관리와 품질관리를 위한 표준을 작성하여 제공함으로써 연구결과의 산업화가 효과적으로 이루어지게 하고자 하고 있으며
- 연구사업이 종료되는 3차년도 제공될 품질관리 및 생산관리 표준화를 위하여 현장 조사를 기초로 제조업체에 제공할 생산관리, 품질관리 표준의 범위를 설정하여 추진하고자 함.
- 생산관리, 품질관리의 표준의 범위는 국제품질규격인 ISO 시스템을 기초로 현장조사업체의 수준을 반영하여 설정하고자함

(9) 생산관리, 품질관리 표준의 설정 범위

표준의 범위	세부 표준 설정 항목	표준설정에 따른 결과물(예측)
품질시스템의 개요	대표자의 책임 및 품질방침 조직의 구조 직원의 교육 훈련	품질매뉴얼 교육훈련 절차서
문서 및 기록관리	문서관리 기록관리	문서,기록관리 절차문서
제품표준서	제품일반사항	제품표준서(안)
공정, 생산관리	식별 및 추적성 프로세스의 유효성 포장 제품관리	작업표준 QC공정도 공정,생산관리 절차 문서
시설관리	제조설비의 유지활동	제조설비 관리 표준
구매, 자재관리	구매 및 자재관리	구매절차서 자재관리 절차서 원료입고기준 등
고객관리	고객불만처리 절차	고객불만처리 양식 등

- 생산관리, 품질관리의 표준의 설정은 2차년도 현 발효녹차 생산업체 의견을 취가 반영하여 확정되고 연구사업의 결과로 도출될 발효녹차의 결과물을 반영하여 구체화 되고 도출될 것임.

2) 발효차 현장 관리를 위한 선행 요건 관리 기준 개발

(1) 선행요건 기준 수립 및 관리의 필요성

가. 선행요건(Pre-requisite)프로그램의 유래

선행요건은 HACCP을 도입하는 식품제조가공 현장에서 우선적으로 준수해야하는 요건으로 우수제조시설기준을 포함하는 위생운영 조건이나 절차이다. 다시 말하면, 선행요건프로그램은 안전한 식품을 생산하기 위해 지켜야하는 기본적인 위생조건 및 행위를 규정하는 위생관리기준이다.

선행요건은 HACCP도입의 실효성을 높이는데 필수적인 전제요건이며, 위생적인 식품 원재료 사용 및 작업환경의 위생확보를 위한 프로그램으로서 그 중요성이 더욱 강조되고 있다. 2003년 국제식품규격위원회(CODEX)는 식품위생관리의 기본원칙으로서 식품위생의 일반원칙」을 발표하였는데 대부분이 선행요건프로그램에 해당된다.

우리나라에서 적용하고 있는 HACCP SYSTEM은 HACCP를 도입하기 이전에 선행요건의 도입을 요구하고 있으며 선행요건은 1993년 캐나다 농업식품성(AAFC)의 식품안전성 강화프로그램(Food Safety Enhancement Program)에서 유래되어 식품의약품안전청(현 식품의약품안전처)은 2005년 10월 개정된 HACCP 고시에서 선행요건을 도입하고 있다.

나. 선행요건(Pre-requisite)기준의 구성

우리나라의 선행요건 기준은 식품위생법 등 관련법적 요구사항의 준수 및 미국, 우리나라의 식품업체가 주로 도입하여 운영하고 있는 일반위생관리기준(SSOP) 과 건강 기능식품의 우수제조기준(GMP)의 준수 등의 기준이 포함되어 영업장관리, 위생관리, 제조시설설비관리, 냉장·냉동시설 설비관리, 용수관리, 보관운송관리, 검사관리, 회수프로그램으로 분류되어 식품제조가공업소의 경우 총 52개 기준으로 구성되어 있고 (2013년 식품위생법, HACCP 고시) HACCP SYSTEM을 도입하고자 하는 제조업체는 선행요건 관리기준서를 작성 비치하도록 요구되고 있다.(식품의약품안전



그림 7-2. NFDA HACCP 고시 선행요건의 구성 및 세부요건 요약

다. 고품질의 한국산 발효차 산업화에 따른 선행요건 기준 설정 필요

고품질의 한국산 발효차 생산을 위한 산업화 연구의 특성상 연구 개발된 발효차를 기술·이전하여 산업화 과정에 있어 1차년도 연구조사 결과(표7-1)에서 보여주듯이 기존 발효차 생산업체(11개 현장 조사업체)의 제조환경 및 관리 방법이 안전한 발효차를 생산함에 있어 개선되어야 하는 많은 부분이 확인되어 향후 본연구의 성과인 고품질 한국형 발효차의 산업화시 생산업체의 HACCP SYSTEM을 기반으로 안전한 제품을 생산하기 위한 선행요건의 관리기준을 구축함으로써 효과적인 산업화에 기여하고자 발효차 제조공장의 선행요건 기준을 구축하여 제공할 필요성이 대두되었다.

이에 고품질 한국산 발효차의 선행요건에 대하여 식품위생법 HACCP 고시 선행요건을 근거로 보성군 녹차생산자조합에서 구축하는 발효차 공장을 사전 현장 진단하고 이를 기초로 선행요건 기준서를 구축하였다.

표 7-16. 보성군 녹차 제조업체의 환경 및 시설관리 현황 조사결과
(1차년도 결과활용)

구분	적절	미흡
제조장 적정 위치	36.4%	63.6%
제조장의 적정온도와 환기	27.3%	72.7%
제조장 구조물의 내구력 및 건축자재의 재질	45.5%	54.5%
포장실/다른 작업장과 구분	-	100%
분리 또는 구획(원료실~포장실)	-	100%
작업장 바닥 내수처리	9.0%	91%
작업장 바닥 배수용이성	9.0%	91%
작업장 내벽 내수성, 내부식성 재질 사용	54.5%	45.5%
작업장 충분한 환기시설	18.2%	81.8%
작업장 문(창문, 환기구)의 밀폐성	9.0%	91%
적정 환기설비구비	18.2%	81.8%
냉동·냉장시설 및 가열처리 시설 온도계 검·교정	27.3%	72.7%
시설설비 청결관리	9.0%	91%
화장실 위치, 건조기 등 설치	36.4%	63.7%
창고등의 시설 위생적 보관관리	27.3%	72.7%
위생복, 위생모 착용 및 청결유지	18.2%	81.8%
손, 손톱 등의 청결유지(손세척·소독설비 포함)	18.2%	81.8%

개선요구사항



✓ 작업장 밀폐관리가 이루어지고 있지 않아 작업장 내부에 해충의 유입 및 거미줄이 발생되어 있음

개선요구사항



✓ 작업장 외부로 통하는 도어에 에어 커튼이 설치되어 있지 않아 작업장 내부에 해충의 유입 및 거미줄이 발생되어 있음

개선요구사항



✓ 작업장 전체에 분진에 의한 먼지가 쌓여 있음

개선요구사항



✓ 작업장 내부에 해충이 유입되어 있음

개선요구사항



✓ 제조시설 설비에 대한 세척, 소독 관리 필요 및 페인트 박리에 대한 이물 관리 필요

개선요구사항



✓ 작업장 내부에 위생전실이 별도로 구분되어 있지 않으며 신발장만 있음

개선요구사항



✓ 제조설비에 도색이 박리되어 있어 이물 혼입 가능성 있음

개선요구사항



✓ 작업도구가 바닥에 발치되고 있어 교차오염에 의한 이물 혼입 가능성 있음

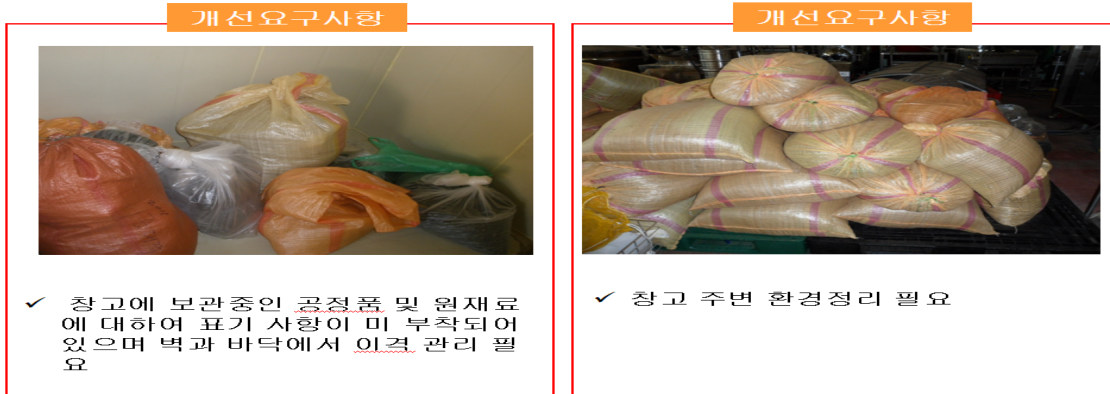


그림 7-3. 선행요건 구축 대상 업체의 현장 진단 결과

(2) 고품질 한국산 발효차 제조업체 기초용 선행요건 기준서 개발

가. 선행요건 기준서의 적용 양식

본 연구를 위한 선행요건의 기준서 양식은 식품의약품안전처의 지정을 받은 기존 업체의 양식과 ISO 22000인증 업체의 사용 업체의 양식을 참고로 그림7-4과 같이 샘플을 제시하였다.

선행요건 관리기준서 예시

선행요건 관리기준서

조사부고	HACCP관리기준서	도시번호	
	재정어벽	재(개정)번호	
		개정번호	
		타어지	

제정이력

재정 번호	년월일	재정내역	재정사유
0			HACCP 관리제도 도입

구분	부서	성명	시점	년월일
소인	HACCP팀장			
검도	품질팀장			
검도	생산팀장			
검도	공무팀장			
작성	품질관리팀장			

선행요건 관리기준서 표지 샘플
선행요건 재·개정 현황 요약표 샘플

그림 7-4. 선행요건 관리기준서 표지 샘플

선행요건 관리기준은 재정 시 작성자, 검토자, 승인자로 구성하여 회사 전체적으로 기준서의 내용을 검토하고 승인의 절차를 통하여 확정되어지고 이를 업체수준에서 현장화 시키고 지속적으로 업체 상황에 적합하도록 개선되어져야 한다. 업체의 특성과 규모에 따라 선행요건관리기준서는 통합본으로 재정·운영·관리되거나 영업장관리 등 선행요건 8개지 요구사항에 대하여 각자의 기준서를 작성하여 운영할 수 있다. 본 연구에서의 발효차 생산업체의 규모가 초·소규모 업체인 점을 감안하여 영업장관리부터 회수프로그램관리까지 통합된 통합 기준서를 제시하고자 하였다. 선행요건 관리기준서의 목차는 적용범위, 목적, 용어의정의, 책임과 권한을 규정하고 세부적으로 영업장관리기준, 위생관리기준, 제조시설·설비관리의 순으로 표7-16. 선행요건 관리기준서의 양식으로 구성하였다.

표 7-17. 선행요건 관리기준서의 목차 구성

회사로고	선행요건관리기준서	문서번호	
		제/개정일자	
	제·개정이력	개정번호	
		페이지	

목 차

NO	내 용	페이지
1	적용범위	348
2	목적	348
3	용어의 정의	348
4	책임과 권한	355
5	영업장 관리기준	356
	위생 관리기준	362
	제조시설·설비 관리기준	376
	냉장·냉동 시설·설비 관리기준 (발효차 생산 시 적용하지 않음)	377
	용수 관리기준	378
	보관·운송 관리기준	380
	검사 관리기준	384
	회수 프로그램 관리기준	386
6	기록 및 보관	391
7	첨 부	

나. 고품질 한국산 발효차 생산 영업장의 선행요건 기준 구축

1. 적용 범위

본 선행요건관리기준서(이하 “기준서”라 한다)는 000 발효차가공공장(이하 “당사”라 한다)의 HACCP적용 사업장 및 관련 시설에서의 영업장 등을 포함한 선행요건에 대한 관리기준, 점검방법 및 절차 등에 대하여 적용한다.

2. 목 적

본 기준서는 당사의 영업장관리, 위생관리, 제조시설·설비관리, 용수관리, 보관·운송관리, 검사관리, 회수프로그램관리를 포함한 선행요건에 관련된 관리, 운영방법 절차 등에 관한 사항을 규정함으로써 제품 생산에서 발생할 수 있는 위해를 사전에 예방함을 목적으로 한다

3. 용어의 정의

3.1 영업장

식품을 제조, 가공, 포장 및 보관시설과 탈의실, 화장실 등 부대시설을 포함한 공간.

3.2 작업장

생산에 필요한 접종실, 발효실, 건조실, 포자제거실, 선별·성형실, 내포장실, 숙성실, 외포장실, 완제품창고 등 기타 식품제조 가공에 필요한 작업실을 총칭한다.

3.3 작업실

제품을 제조 또는 가공하기 위한 단위공정의 장소를 말한다.

1) 원재료창고

검수가 완료된 원재료(모차)를 보관하는 공간을 말한다

2) 부재료창고

검수가 완료된 내·외포장재를 보관하는 공간을 말한다.

3) 접종실

검수가 완료되어 보관된 원재료(모차)에 선택되어 배양된 발효미생물을 투입·혼합하는 작업이 수행되는 장소를 말한다.

4) 발효실

발효미생물이 접종된 반제품을 일정조건에서 일정기간 배양하는 작업공간을 말한다.

5) 건조실

발효가 완료된 발효미생물차를 수분을 제거하여 건조하는 작업장을 말한다.

6) 포자 제거실

건조가 완료된 발효미생물차를 풍력 등을 이용하여 발생된 포자를 제거하는 작업장을 말한다.

7) 선별·성형실

포자가 제거된 발효미생물차를 선별하고 증기 등을 이용하여 압력을 가하여 제품 형태를 만드는 작업장을 말한다.

8) 내포장실

가공이 완료된 제품을 계량 및 내포장하는 공간을 말한다.

9) 숙성실

내포장된 제품을 온도 등 일정 조건을 맞추어 숙성하는 공간을 말한다.

10) 외포장실

숙성된 제품을 최종 포장하는 공간을 말한다.

3.4 부대시설

작업에 직접적인 시설은 아니며 작업자의 환경에 영향을 미칠 수 있는 장소를 말한다.(작업장, 용수시설을 제외한 탈의실, 화장실 등)

3.5 건물

식품의 제조시설과 원재료 및 제품의 보관 등 설비된 건축물을 말한다.

3.6 일반구역

제품의 제조 또는 가공에 있어서 위생 및 안전에 직접적인 영향을 주지 않는 장소로 정기적인 청소가 필요한 장소를 말한다.

3.7 청결구역

오염에 극히 민감하여 제품의 위생 및 안전에 직접적인 영향을 미치는 장소로서 미생물 관리가 필요한 장소를 말하며 필요에 따라 청결구역과 준청결구역을 둘 수 있다.

1) 청결구역

제품의 위생 및 안전에 직접적인 영향을 미치는 곳으로 현장소독 및 미생물적인 관리가 특히 요망되어 공중낙하균 검사를 정기적으로 실시하여 관리하는 작업장을 말한다.

2) 준청결구역

제품의 위생 및 안전에 영향을 미칠 수 있는 곳이지만, 청결구역보다는 다소 덜 민감한 구역으로 현장 소독 등 관리가 필요한 작업장을 말한다.

3.8 식 품

모든 음식물을 말한다. 다만, 약품으로서 섭취하는 것은 제외한다.

3.9 위생

공장에서 제조·사용되는 식품, 기구, 용기, 포장 및 제조활동을 하는 작업자에 관한 위생을 말한다.

3.10 교차오염

일반구역과 청결구역 간에 사람 또는 물건의 이동에 따른 오염의 전이가 발생하는 것을 말한다.

3.11 식품의 안전

식품을 섭취한 인체에 대하여 물리적, 화학적, 생물학적 위해로부터 보호되는 것을 말한다.

3.12 시설

식품을 취급하는 모든 건물이나 지역 및 동일한 경영관리 하에 있는 주위환경으로 모든 영업장 및 탈의실, 화장실 등의 장소에 설치된 것을 말한다.

3.13 설비

식품과 직·간접적으로 접촉되는 기계, 장비류 등을 말한다.

3.14 기구류

식품의 제조, 가공, 저장, 운반, 진열 또는 섭취에 사용되는 것으로서 제품에 직접 접촉 되는 기계·도구 기타의 물건을 총칭한다.

3.15 분리

벽, 층 등에 의하여 별도의 방 또는 공간으로 구별되는 경우를 말한다.

3.16 구분

선, 줄 등에 의하여 구별되는 경우를 말한다.

3.17 구획

칸막이, 커튼 등에 의하여 구분되는 경우를 말한다.

3.18 조도

일정한 면적에 대해 일정 시간동안 조사되는 빛의 양을 말하며 단위는 룩스(LUX)로 표기한다.

3.19 공정

기계 공업에서 계획적인 대량 생산을 위하여 여러 가지로 나눈 가공 단계의 하나 하나를 말한다.

3.20 소독

물건에 묻어있는 병원균을 약품, 열, 빛 등으로 죽이는 일을 말한다.

3.21 내수성

물이 묻어도 젖거나 배어들지 않는 성질을 말한다.

3.22 내부식성

녹이 슬거나 썩지 않는 성질을 말한다.

3.23 방충·방서

해충이나 설치류 등을 막는 일을 말한다.

3.24 환기(시설)

탁한 공기를 맑은 공기로 순환하거나 그 장치를 말한다.

3.25 공조

공기의 급·배기량을 조절하여 오염된 공기의 흐름을 조절하는 것을 말한다.

3.26 검사

검사” 라 함은 원·부자재 , 반제품, 완제품, 포장재 등의 선정된 검사 대상로트 (LOT)가 오감에 의한 관능검사와 측정 또는 계측 및 분석 실험결과가 설정된 규격기준에 적합한지 여부를 비교 판정하는 활동을 말한다.

3.27 시험

“시험” 이라 함은 선정된 검사 대상 로트의 관능적·이화학적 또는 생물학적 품질 특성을 평가하는 활동을 말한다.

3.28 입고검사

“입고검사” 라 함은 제품의 생산에 소요되는 모든 원재료 및 포장재가 당사가 설정한 규격·기준에 적합한지 여부를 판정하기 위해 반입 시점에서 실시되는 검사를 말한다.

3.29 공정검사

“공정검사” 라 함은 제품 생산 활동의 공정 단계별로 해당 공정품이 당사가 설정한 규격·기준에 적합 한지 여부를 판정하기 위해 해당 공정·단계의 진행 중 또는 종료시점에서 실시되는 검사를 말한다.

3.30 최종 완제품검사

“최종 완제품검사” 라 함은 제품생산 활동이 종료된 완제품이 법률적 요건을 포함한 당사가 설정한 규격·기준에 적합한지 여부를 판정하기 위해 실시되는 검사를 말한다.

3.31 검사규격

“검사규격”이라 함은 원재료 및 포장재의 구입에서부터 제조과정을 거쳐 완제품이 완성되기까지의 생산 활동 각 단계에서 얻은 결과를 미리 정한 품질판정 기준과 비교하여 합격·불합격의 판정을 내릴 수 있도록 구체적인 검사방법의 기준을 말한다.

3.32 로트(LOT)

“로트(LOT)”라 함은 검사의 대상이 되는 모집단을 말하며 1일 생산량을 1LOT로 한다.

3.33 품질검사원

“품질검사원”이라 함은 로트별로 시료를 채취하여 검사를 실시하고 그 결과를 판정할 수 있도록 선임된 담당자를 말한다.

3.34 선별

“선별”이라 함은 검사결과가 설정된 규격·기준을 충족시키지 못한 모집단에 대해 설정된 규격·기준을 충족시킨 개체를 구분하는 조치를 말한다.

3.35 재작업

“재작업”이라 함은 검사결과가 설정된 규격·기준을 충족시키지 못한 모집단에 대해 설정된 규격·기준을 충족시킬 수 있도록 다시 작업하는 조치를 말한다.

3.36 폐기

“폐기”라 함은 검사결과가 설정된 규격·기준을 충족하지 못한 상태에서 3.26항 특채 조치를 취할 수 없는 경우 취하는 조치를 말한다. (단 원재료 및 포장재의 경우에는 공급자에게 반품시키는 것이 포함 된다.)

3.37 검사장비

“검사장비”라 함은 제품생산 및 품질을 관리함에 있어 필요한 검사 측정, 계량 및 시험장비를 총칭하며 단위량을 기준으로 원재료 및 포장재, 반제품 및 완제품의 품질 척도를 판정하는 기기를 말한다.

3.38 표준기

“표준기”라 함은 일반검사설비의 검·교정의 기준이 되는 국가 검·교정공인기관에서 검·교정을 받은 검사 설비를 말한다.

3.39 원재료

“원재료”라 함은 제품생산 시 완제품을 구성하는 주원료를 말한다.

3.40 포장재

“포장재”라 함은 제품을 포장하기 위하여 사용되는 재료를 말한다.

3.41 반제품

“반제품”이라 함은 원재료를 처리하여 가공이 진행 중인 또는 대기 중인 단계의 물품을 말한다.

3.42 완제품

“완제품”이라 함은 원재료에 가공처리를 가하여 판매를 목적으로 만들어진 물건으로 모든 제조공정을 끝내고 출고 대기하고 있는 제품을 말한다.

3.43 입고

“입고”라 함은 검사에 합격한 원·부자재 및 제품을 보관창고에 적재하는 것을 말한다.

3.44 출고

“출고”라 함은 제조에 사용하기 위하여 원·부자재를 제조공정으로 이송 하거나 판매를 위하여 제품을 납품처로 운반하는 것을 말한다.

3.45 부적합품

“부적합품”이라 함은 해당 품목의 검사규격 특성 및 판정기준을 만족시키지 못하여 품질에 영향을 주는 원재료 및 포장재, 최종제품을 말한다.

3.46 협력업체

“협력업체”라 함은 제품생산에 필요한 원·부자재를 공급하는 모든 업체를 일컫는다.

3.47 식별표시

“식별표시”라 함은 타 물품과의 구분 및 물품의 현 상태를 인식할 수 있도록 꼬리표 부착 등의 적절한 수단으로 표시하는 것을 말한다.

3.48 반품

“반품”이라 함은 유통 중인 제품이 고객으로부터 항의, 교환요청 등의 불만 접수로 수거 반입하기로 한 제품을 말한다.

3.49 용수

“용수”라 함은 제조에 사용되는 물로서 먹는 물 관리법의 기준에 적합한 자연상태의 물을 말한다.

3.50 상수도

“상수도”라 함은 먹는 물 관리법의 기준에 적합하도록 정부기관에서 관리되어 일반 가정이나 공장으로 공급되는 음용수를 말한다.

3.51 개인위생

“개인위생”이라 함은 작업자의 건강상태와 두발, 손톱, 손 세척·소독 등의 청결상태를 말한다.

3.52 복장위생

“복장위생”이라 함은 위생복, 위생모, 위생화, 앞치마, 위생장갑 등의 복장규격과 착용방법, 청결상태 등을 말한다.

3.53 환경위생

“환경위생”이라 함은 구충, 구서, 방제, 음용수 수질관리, 미생물 등의 오염방지를 말한다.

3.54 건강진단

“건강진단”이라 함은 작업자의 건강상태를 국가지정 의뢰기관에서 정기적으로 확인 실시하는 것을 말한다.

3.55 세척

“세척”라 함은 작업장 내·외부의 모든 곳을 깨끗이 쓸고, 닦고, 털어내어 눈으로 보거나 만져보아도 항상 청결을 유지하는 것을 말한다.

3.56 소독

“소독”이라 함은 소독약제, 열탕으로 제품을 유해한 세균으로부터 보호하기 위하여 병원균을 사멸하는 것을 말한다.

3.57 세정

“세정”이라 함은 제조설비가 위생적으로 관리되어 제품에 교차오염이 되지 않도록 세제로 조치하는 수단을 말한다.

3.58 위생 점검

“위생 점검”이라 함은 작업자의 개인위생 및 현장위생 상태를 주기적으로 점검하여 지적내용을 조치하는 수단을 말한다.

3.59 유틸리티(Utility)

“유틸리티(Utility)”라 함은 제품의 생산에 사용되는 동력, 용수 등을 말한다.

3.60 폐기물

“폐기물”이라 함은 부산물을 포함한 쓰레기 및 폐자재 등 다른 용도로 활용할 수 없는 물질을 말한다.

3.61 방제/방역작업

“제품을 생산하는데 있어 제품의 오염이나 소비자 클레임이 발생할 수 있는 취나 해충의 서식을 방지하거나 없애는 작업을 말한다

3.62 제품회수(Recall)

당사의 제품으로 인한 위생상의 위해가 발생하였거나 발생할 우려가 있을 경우, 뿐만 아니라 오염, 변질 또는 상표가 잘못 부착되어 식품위생법 위반이나 소비자

인체위해가 있는 제품을 회수하여 처리하는 것을 말한다.

3.63. 회수위원회

회수 상황의 발생시 회수 전반에 관하여 효과적으로 운영할 수 있도록 구성된 팀을 말한다.

4. 책임과 권한

※ 기준서상에 언급되는 업무내용에 대하여 팀 구성원별로 업무를 분배한다.(회사의 조직 및 규모에 따라 조정할 수 있다)

4.1 HACCP팀장

- 1) 선행요건 관리에 대한 업무를 총괄 관리한다.
- 2) 작업장 위생관리에 대한 업무를 승인한다.
- 3) 작업장내의 보수관리 계획을 승인한다.
- 4) 선행요건 관리상의 문제점에 대한 대책 안을 승인한다.
- 5) 선행요건 관리기준서의 제·개정에 대한 사항을 승인한다.

4.2 품질관리팀장

- 1) 작업장 관리상의 문제점에 대한 개선대책을 수립한다.
- 2) 공장용수 수질관리를 위한 미생물검사 실시 및 외부공인검사를 의뢰한다.

4.3 품질관리팀원

- 1) 작업장내 기계·기구표면의 잔존세균 및 공중 낙하균 검사를 실시하고 그 결과를 기록 보관한다.
- 2) 작업장의 포충등에 대한 점검을 실시하고 해충의 포획정도를 기록 보관한다.

4.4 생산관리팀장

- 1) 제조시설의 위생관리를 한다.
- 2) 작업장 위생관리를 작업장관리 일점검표에 의해 관리한다.
- 3) 작업장 온도점검 및 작업장 출입 통제관리를 한다.
- 4) 작업장의 위생관리와 관련한 교육훈련을 실시한다.

4.5 기술팀장

- 1) 작업장 환경점검 실시 및 환기설비 관리를 한다.
- 2) 작업장 조도점검기준표와 작업장온도점검표를 작성한다.
- 3) 작업장(부대시설)월점검표를 작성한다.
- 4) 작업장(부대시설)관리 주간점검표를 작성한다.

4.6 생산팀담당자

- 1) 공장 건축물 유지에 필요한 보수관리를 한다.
- 2) 화장실, 탈의실 등 부대시설의 위생관리를 한다.
- 3) 작업장 외부의 오염근원에 대한 청소·소독 등의 관리업무를 수행한다.
- 4) 방충·방서 대책수립 및 방역업체를 관리한다.
- 5) 작업장 출입자관리대장을 작성한다.

5. 관리 기준

5.1 영업장 관리 기준

5.1.1 작업장의 구조

- 1) 작업장은 해당 제품의 생산에 적합하도록 위생적인 구조를 유지하고 있어야 한다.
 - ① 작업장은 독립된 건물이거나 식품 취급외의 용도로 사용되는 시설과 분리되어야 한다.
 - ② 작업장은 누수, 외부 오염물질이나 곤충·설치류 등의 유입을 차단할 수 있도록 밀폐 가능한 구조이어야 한다.
 - ③ 작업장의 외부는 틈이나 구멍이 없도록 유지 관리한다.
- 2) 작업장 주변은 교차오염이 발생하지 않도록 청결하게 관리한다.
 - ① 물이 고이거나 악취가 발생하지 않도록 한다.
 - ② 원·부자재, 불필요한 물품, 기구, 폐기물 등이 방치되지 않도록 한다.
 - ③ 풀이나 잡초 등이 자라지 않도록 정기적으로 제초작업을 실시한다.

5.1.2 작업구역 설정

- 1) 작업장은 청정도에 따라 일반구역과 청결구역(필요 시 준청결구역 추가적으로 분리하여 교차오염을 방지 할 수 있도록 작업구역을 설정한다.
- 2) 작업장 구역설정 (※ 자사의 작업 특성에 맞춰 구역을 설정한다.)

표 7-18. 발효차 작업장의 구역설정 예시

구 분		작 업 실
청결 구역	청결구역	선별, 성형실, 제품건조실, 내포장실
	준청결구역	발효실, 건조실, 포자제거실
일반구역		원·부재료 창고, 저장 및 숙성실, 외포장실, 완제품창고

- 3) 각 구역의 특성에 맞는 구역별 위생수칙을 설정하여 교차오염이 일어나지 않도록 위생적으로 관리한다.
- ① 작업자는 지정 구역에서만 작업한다.
 - ② 각 구역별로 설정된 위생 수칙을 준수한다.
 - ③ 작업 중 다른 구역으로 이동하지 않는다.
 - ④ 부득이하게 다른 구역으로 이동할 경우는 세척, 소독 등을 실시하여 교차오염을 방지한다.

5.1.3 작업장 내부 관리

1) 작업장 재질

- ① 작업장 등의 바닥, 벽, 천장, 출입문, 창문 등은 작업 특성에 따라 적절한 재질을 사용하여야 한다.

2) 바닥

- ① 바닥은 균열이 발생하거나 파손된 부분이 없어야 한다.
- ② 바닥은 식품의 잔사, 오염물 등이 남아있지 않도록 정기적으로 청소하여 청결하게 관리한다.
- ③ 작업 중 물 사용 및 노출을 최소화하여 바닥에 물이 떨어지거나 고이지 않도록 한다.
- ④ 바닥은 주기적으로 물기를 제거하여 마른상태를 유지한다.

3) 내벽

- ① 내벽은 갈라진 틈이나 파손된 부분이 없도록 관리한다.
- ② 내벽은 오물이 집적되거나 곰팡이, 미생물 등이 번식되지 않도록 청결하게 관리한다.

4) 천장

- ① 천장은 파손된 부위나 구멍, 틈이 없도록 관리한다

- ② 천장은 먼지가 쌓이거나 곰팡이 등이 번식하지 않도록 청결하게 관리한다.
- ③ 천장은 빗물이 새거나 응결수가 떨어지지 않도록 관리한다.

표 7-19. 발효차 작업장별 재질 예시

작업실	바닥	벽	천장
원재료창고	에폭시	평판넬	평판넬
포장재창고	에폭시	평판넬	평판넬
접종실	에폭시	평판넬	평판넬
발효실	우레탄 평판넬	우레탄 평판넬	우레탄 평판넬
건조실	에폭시	평판넬	평판넬
포자제거실	에폭시	평판넬	평판넬
선별 및 성형실	에폭시	평판넬	평판넬
제품건조실	에폭시	평판넬	평판넬
내포장실	에폭시	평판넬	평판넬
숙성실	에폭시	평판넬+ 000	평판넬+ 000
외포장실	에폭시	평판넬	평판넬
완제품창고	에폭시	평판넬	평판넬

5) 배수로 및 배수구

- ① 배수로 등은 배수가 넘치거나 고여 있지 않도록 관리한다.
- ② 배수로 등은 청결구역에서 일반구역으로 흐르도록 한다.
- ③ 배수의 흐름이 적절치 않은 경우는 이에 상응하는 적절한 조치를 취하여 교차오염이 방지될 수 있도록 관리한다.
- ④ 배수로 등은 찌든 때, 퇴적물 등이 쌓여 있지 않도록 청결하게 관리한다.
- ⑤ 배수로 등은 파손되거나 부식이 발생하지 않도록 관리한다.
- ⑥ 배수로 등에는 트랩(U자관)을 설치하여 해충 등의 침입을 방지하고 폐수의 역류나 냄새 등이 나지 않도록 관리한다.

6) 배관

- ① 배관과 배관의 연결부위는 인체에 무해한 재질이어야 한다.
- ② 배관은 누수되거나 응결수가 발생하지 않도록 관리한다.
- ③ 배관에 응결수가 발생하는 경우는 단열재 등으로 처리하거나 주기적으로 제거하

며 하부에 응결수가 낙하하지 않도록 물품 등을 두지 않는다.

④ 배관은 먼지가 쌓이거나 이물 등이 집적되지 않도록 청결하게 관리한다.

5.1.4 작업장 출입구

1) 작업장 외부로 연결되는 출입구에는 먼지나 곤충 등의 유입을 방지하기 위한 완충구역이나 방충설비 등을 설치한다.

① 출입구는 파손된 부위나 틈이 없으며 밀폐 가능하여야 한다.

② 출입구는 항상 닫혀 있어야 하며 청결하게 관리한다.

2) 작업장 출입구에는 위생관리를 위한 위생설비를 구비한다.

① 위생설비는 정상적으로 가동되며 청결하게 유지한다.

3) 작업자는 세척 또는 소독 등을 통해 오염 가능성 물질 등을 제거한 후 작업장에 입실한다.

5.1.5 통로

1) 작업장 내부 통로는 교차오염 방지가 가능하도록 이동경로를 표시하여 관리한다.

2) 이동시에는 작업자 이동경로에 따라 지정된 통로만 이용한다.

3) 통로는 이동에 지장을 주는 물건을 적재하거나 다른 용도로 사용하지 않는다.

5.1.6 창

1) 작업장 창문은 밀폐 가능한 구조로 항상 닫혀 있어야 하며 먼지 등이 누적되지 않도록 청결하게 관리한다.

2) 창문에 설치된 방충망은 틈이 없고 파손부위가 없도록 관리하며 먼지 등이 누적되지 않도록 청결하게 관리한다.

3) 창의 유리는 파손시 유리조각이 비산되지 않는 재질을 사용하거나 필름 코팅 등을 하여야 한다.

5.1.7 채광 및 조명

1) 작업장의 조명 등은 작업에 적합한 조도를 유지하여야 한다.

2) 색을 오인할 수 있는 조명은 가급적 사용하지 않는다.

3) 해당 작업에 적합한 조도 기준을 설정하여 관리 한다

※ 자사의 작업 특성에 따라 적합한 조도기준을 설정한다.

4) 작업장 조도기준에 따라 정기적으로 조도를 측정하여 조도점검표(표 7-20. 참조)에 기록, 유지한다.

표 7-20. 발효차 작업장의 조도점검표 예시

	작업장 조도 점검기록서				결	작	검	승
					재	성	토	인
점검 일자	20 . .				점검자			
구 분		조도 기준	측정조도(Lux)		판 정			
작업장	배양실	110 Lux 이상	/	/	<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	발효실	110 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	건조실	220 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	포자제거실	220 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	성형실	220 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	선별실(검수원위치)	540Lux 이상	/	/	<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	내포장실	220 Lux 이상	/	/	<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	숙성실	110 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
부대시설	검수실	540 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	위생전실(중앙)	220 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	탈의실(남/여)	220 Lux 이상	/		<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	화장실(남/여)	110 Lux 이상	/		<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
	자재창고	110 Lux 이상			<input type="checkbox"/>	합	<input type="checkbox"/>	부
측정방법	조도 측정은 검수 및 선별의 경우에는 검수, 선별 위치에서 측정하고 이외의 작업장은 중앙부 또는 작업이 이루어 지는 위치에서 바닥으로부터 80cm되는 곳에서 조도계를 이용하여 측정한다.							
이상 발생 내용	일시	장소	내용	조치내용 및 결과	조치완료 일시	조치자	확인자	

- 5) 조도 측정은 검수 및 선별의 경우 검수, 선별 위치에서 측정하고, 이외의 작업장은 바닥에서 80cm 되는 곳에서 측정한다.
- 6) 조도 측정결과 기준에 미달한 경우에는 적정 조도가 유지되도록 개선조치를 실시한다.

7) 채광 및 조명시설은 작업에 오염을 주지 않도록 관리한다.

- ① 내부식성 재질을 사용하여 녹이 슬지 않도록 관리한다.
- ② 파손 등에 의한 오염을 방지하기 위하여 조명 보호장치를 설치한다.
- ③ 이물이나 벌레 등이 집적되지 않도록 청결하게 관리한다.

5.1.8 부대시설

1) 화장실

- ① 내부 공기를 외부로 배출할 수 있는 별도의 환기시설을 설치한다.
- ② 환기시설을 정상적으로 작동하여 청결하게 유지한다.
- ③ 벽과 바닥, 천장, 문은 내수성, 내부식성의 재질을 사용한다.
- ④ 바닥과 벽, 천정은 파손된 부위나 틈 등이 없어야 하며 정기적으로 청소를 하여 청결하게 관리한다.
- ⑤ 출입구에는 세척, 건조, 소독 설비 등을 구비하여 화장실 사용 후 교차오염을 방지한다.

2) 탈의실

- ① 내부 공기를 외부로 배출할 수 있는 별도의 환기시설을 갖춘다.
- ② 환기시설을 정상적으로 작동하여 청결하게 유지한다.
- ③ 옷장 및 신발장은 외출복장(신발 포함)과 위생복장(신발 포함)간의 교차 오염이 발생하지 않도록 구분·보관하며 청결하게 관리한다.

5.1.9 작업장 점검기록

- 1) 담당자는 작업자 점검표(표 7-20. 참조)에 따라 정기 점검을 실시하여 결과를 기록, 유지하며 점검 결과 이상이 발생한 경우는 신속히 조치하여 항상 원래의 상태를 유지할 수 있도록 관리 한다.

표 7-21. 발효차 작업장의 점검기록서 예시

작업장 점검기록서										
점검 기간		20 . . . - . . .			점검 자					
구 분	점검사항		관리기준		점검일자 및 점검결과 (적합: 부적합:)					
					/	/	/	/	/	/
접종 실	바닥/벽/문/천 장 상태		파손없음, 청결함							
	조명 상태		작동함							
	배기 상태		집진기 작동함							
발효 실	바닥/벽/문/천 장 상태		파손없음, 청결함							
	조명 및 환기 상태		작동함							
000 실										
확 인			작 성(점검자)							
			승 인							
발 생 내 용	일 시	장 소	내 용	조치내용 및 결과	조치완료 일시	조 치 자	확 인 자			

5.2 위생 관리 기준

5.2.1 작업동선관리

1) 관리기준

- ① 원·부재료의 입고에서부터 출고까지 물류 및 종업원의 이동 동선을 설정하고 이를 준수하여야한다.
- ② 청결구역, 준청결구역, 일반구역별로 각각 출입, 복장, 세척·소독기준 등을 포함하는 위생수칙을 설정하여 관리하여야 한다.
- ③ 작업자의 배치, 이동 동선, 제조설비 및 도구 등은 공정간 오염이 발생되지 않도록 배치한다.
- ④ 작업자는 정해진 이동 동선을 준수하여 교차오염을 방지한다.
- ⑤ 작업·청소도구 및 기구의 경우 색깔, 모양, 표식 등을 하여 교차오염이 발생하

지 않도록 한다.

2) 작업자 이동 동선 계획

① 기본 원칙

- 물건과 사람의 동선은 가능한 구분한다.
- 동선은 일방향 통행을 원칙으로 한다.
- 작업구역이 다른 곳을 빈번히 왕래하는 것은 피한다.
- 청결도가 다른 것이 서로 교차하는 동선은 피한다.
- ※ 청결도가 높은 곳으로 이동시에는 세척, 소독 등 필요 조치를 실시한다.
- 출입구는 구역별로 전용으로 분할하여 사용한다.

② 이동 동선 계획

※ 예시 내포장실(청결구역) 업체의 작업장 구조에 따라 수정사용

표 7-22. 청결구역 입실 방법 예시

입실	<p>탈의실에서 청결구역 복장착용 기준에 따라 위생복 착용</p> <p>↓</p> <p>복장 착용 후 통로의 이동 동선에 따라 위생전실로 입실</p> <p>↓</p> <p>위생전실에서 정해진 순서에 따라 위생처리 (끈끈이 롤러로 이물제거→손 세척→손 건조→에어샤워기 통과→손 소독)</p> <p>↓</p> <p>통로의 이동 동선에 따라 청결구역으로 입실</p>
퇴실	<p>작업 종료 후 내포장실 출입문으로 퇴실</p> <p>↓</p> <p>통로의 이동 동선에 따라 퇴실문으로 이동</p> <p>↓</p> <p>위생전실을 통하여 퇴실하여 탈의실로 이동</p> <p>↓</p> <p>탈의실에서 위생복 탈의</p> <p>↓</p> <p>탈의실에서 이동 동선에 따라 주출입구로 퇴실</p>

5.2.2 이물 관리

- 1) 원료의 입고에서부터 제조, 가공, 보관, 운송에 이르기까지 모든 단계에서 혼입될 수 있는 이물에 대한 관리계획을 수립하고 이를 준수하여야 하며 필요한 경우 이를 관리할 수 있는 시설, 장비를 설치하여야 한다.

※ 자사의 상황에 맞는 사항을 선정하여 이물관리 계획을 수립한다.

① 원료중의 이물 제거

- 원재료
 - 원재료입고검사를 실시한다.
 - 공기·브러쉬세척공정과 이물선별공정(작업자에 의한 전수 선별)으로 이물을 제거한다.
- 부재료
 - 부재료 반입 시 물품 외부의 이물을 제거하기 위하여 랩핑, 외박스 등을 제거 후 반입한다.

② 원료 투입 중의 이물 혼입 방지

- 원료 개봉 시 봉합사, 잘려진 지대 등이 혼입되지 않도록 한다.
- 원재료나 계량품의 비닐 포장은 혼입 시 눈에 잘 띄도록 원재료와 다른 색을 사용한다.
- 계량 용기 등은 이물혼입을 방지하기 위하여 파손된 부분이 없어야 한다.
- 계량이 끝났거나 투입 대기 중인 물품은 밀봉, 뚜껑, 커버 등을 사용하여 외부 이물이 혼입되지 않도록 관리한다.

③ 작업자에 의한 이물혼입 방지

> 작업자 소지품 혼입

- 작업자는 작업장 입실 전 개인 사물 등을 보관함에 보관하고 입실한다.
- 위생복 등에는 호주머니, 포켓 등을 만들지 않는다.
- 위생복 에는 단추, 지퍼 등을 사용하지 않는다.
- 게시물에 압정 사용을 금지하며 서류 등에도 클립, 핀, 스테플러 등을 사용하지 않는다.
- 볼펜 등 필기구는 개인이 소지하지 않고 끈을 달아 제조 라인에서 떨어진 장소에서만 사용할 수 있게 하며 뚜껑이 없고 눈에 잘 띄는 색으로 사용한다.

> 작업자 모발, 체모 등의 혼입

- 작업자는 매일 출근 전에 세발과 빗질을 하여 모발이 자연적으로 탈락되지 않도록 관리한다.
- 작업자는 반드시 모자 착용 전에 hair net를 착용하며, 모자는 머리 전체를

덮을 수 있으며 끝자락이 길어 상의에 들어가는 두건타입으로 착용한다.

- 위생복은 체모 등의 탈락 방지를 위하여 겨드랑이 등에 inner net을 부착하며 소매, 발목 부위는 틈이 없도록 조이는 타입으로 착용한다.
- 위생복 상의는 하의 속으로 넣어 착용하거나 원피스형을 착용한다.
- 작업자는 출입구에서 에어샤워, 흡입장치, 끈끈이 롤러 등을 사용하여 모발 등을 제거한 후 작업장에 입실한다.
- 끈끈이 롤러는 접착부분이 넓고 접착력이 강한 것을 사용하며, 반복 사용으로 접착 효과가 떨어지는 것은 교체 주기를 설정하여 사용 횟수별로 보관 장소를 정하여 보관한다.
- 에어샤워 사용 시는 정기적으로 필터 점검 및 청소를 실시한다.

※ 에어샤워기 설치는 의무사항이 아니므로 필요한 경우만 설치 운영한다.

> 작업 중 작업자에 의한 혼입 방지

- 목장갑 등은 반드시 고무장갑 등을 겹쳐 착용 후 사용한다.
- 1회용 비닐장갑 등을 교환할 때는 반드시 파손이 없는지를 확인하고, 전용 쓰레기통에 폐기하도록 한다.
- 새로운 솔을 사용할 경우 미지근한 물로 세정 후 털이 빠지지 않는 것을 확인한 후에 현장에서 사용한다.
- 금속제 수세미 등은 파손 조각이 금속 혼입의 가장 큰 원인이 되므로 사용하지 않도록 한다.
- 작업 중 사용하는 도구, 공구 등은 지정된 보관 위치를 정하여 식별하거나 번호 등을 붙여 누락 시 바로 확인이 가능하도록 한다.

④ 제조 공정중의 이물혼입 방지

> 기계유(윤활유 등) 혼입 방지

- 주유 시 너무 많이 넣어 넘치거나 세어 나오지 않도록 적정량을 주유한다.

> 제조 설비로부터 혼입

- 기계류에 대한 점검을 정기적으로 실시하여 느슨하여 탈락의 우려가 있는 나사류 등은 미리 조이고 파손우려가 있는 네트 등은 교체한다.
- 기계류 등을 분해하여 세척하거나 정비할 경우는 분해한 나사, 볼트 등의 숫자를 확인하여 누락되는 것이 없도록 한다.
- 제조 설비 등의 청소를 주기적으로 실시하여 축적된 탄화물, 기름때, 녹 등이 혼입되지 않도록 한다.

- 벨트 등이 파손되어 보푸라기가 일어 난 곳은 마감 처리를 한다.

⑤ 해충 등의 혼입 방지

- 작업장 주변의 해충의 서식지를 방지하기 위하여 환경 정리 및 청소를 주기적으로 실시하여 쓰레기, 덩불, 물 웅덩이, 불용품 등이 방치되지 않도록 철저히 관리한다.
- 해충의 작업장내 침입을 방지하기 위하여 건물 및 출입문 등에 구멍, 틈새 등을 막아 밀폐성을 강화한다.
- 작업장 외부로 연결되는 출입구 등은 항상 닫혀 있도록 유지한다.
- 부득이하게 창문 등을 열어야 하는 경우는 반드시 방충망을 설치하고 방충망의 파손여부 등을 정기적으로 확인한다.
- 작업장 및 배수로 등 청소관리를 철저히 하여 작업장 내부에서 해충이 발생하거나 서식하지 않도록 한다.
- 작업장 내에 포충등 등 포획 장비를 설치하여 포획결과 등을 기록, 관리하고 이상 발생 시 필요한 조치를 실시한다.
- 주기적으로 작업장 내 해충 서식흔적을 확인하고 정기적인 방제를 실시한다.

2) 필요한 경우 공정 중에 이물 제거 및 검출 장치 등을 설치한다.

3) 정기적으로 이물의 발생 여부 등을 점검하여 이물 혼입을 방지할 수 있도록 관리한다.

- 이물 점검관리 계획 (※ 자사의 제조공정 특성에 맞게 점검 기준을 설정한다.)

표 7-23. 발효차 작업장의 이물질점검 계획 예시

공정	세부항목	관리방법	관리주기	담당자
원료입고	천장	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	벽	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	바닥	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	작업자	복장등 이물 확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	제조도구	파손여부 확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	해충,설치류	포집 개체수 확인 및 기록관리	1회/주 이상	
제조공정	천장	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	벽	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	바닥	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	작업자	복장등 이물 확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	제조도구	파손여부, 유효유 누수확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	해충,설치류	포집 개체수 확인 및 기록관리	1회/주 이상	
포장 (내,외)	천장	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	벽	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	바닥	파손여부확인 및 기록관리	1회/주 이상	
	작업자	복장등 이물 확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	제조도구	파손여부 확인 및 기록관리	1회/일 이상	
	해충,설치류	포집 개체수 확인 및 기록관리	1회/주 이상	

5.2.3 온/습도 관리

- 1) 작업실은 각 생산 공정의 특성에 따라 위생적인 작업이 이루어 질 수 있도록 적절한 온도 및 습도(필요 시 설정)를 유지한다.
 - 온/습도 기준 (※ 자사의 작업 중 온도(필요 시 습도)관리가 필요한 구역을 공정 특성 및 상황에 맞게 설정한다.)

표 7-24. 발효차 작업장의 온·습도 관리계획 예시

구 분		온 도 기 준	습도 기준
보관실	냉동보관	- 18℃ 이하(설치업체 한함)	-
	냉장보관	105℃ 이하(설치업체 한함)	-
	상온보관	20℃ 이하	-
발효실		업체별 발효온도 설정	
내포장실		28℃ 이하	

- 2) 온도(필요 시 습도)관리가 필요한 구역에는 이를 측정할 수 있는 온도계 등을 설치하고 온/습도, 조도 점검표 따라 정기적으로 측정하여 결과를 기록, 유지한다.
- 3) 온도(필요 시 습도)관리를 위하여 설치한 설비 등의 필터나 망은 정기적으로 세척, 교환하여 위생적으로 관리한다.

5.2.4 환기시설 관리

- 1) 작업장 내에서 발생하는 오염물질(유해가스, 증기 등)을 충분히 배출할 수 있는 환기시설을 설치한다.
- 2) 환기시설은 정상적으로 작동되며 청결한 상태를 유지한다.
- 3) 흡·배기구에 설치된 여과망이나 방충망은 파손이 없어야 하며 정기적으로 세척하거나 교체하여 청결하게 관리한다.

5.2.5 방충, 방서 관리

- 1) 해충이나 설치류 등의 유입이나 번식을 방지할 수 있는 방충, 방서계획을 수립하여 관리한다.
 - 방충, 방서 관리계획 (※ 자사의 특성에 맞게 관리계획을 수립한다.)

표 7-25. 발효차 작업장의 방충, 방서 관리계획 예시

시설종류	설치위치	점검주기	점검자
트랩(쥐먹이), 살충등	공장 주변, 작업장 입구, 원료, 제품 창고, 폐기물 처리장	1회/주	방역담당
유인 포충등	작업장 내부 (필요시 설치)		
분무소독	작업장 주변 소독	1회/월(10~5월) 2회/월(6~9월)	

- 2) 작업장내의 유입 및 서식 여부를 확인하기 위하여 포획장치 등을 정기적으로 확인하고 결과를 측정 관리한다.
- 해충 및 설치류 모니터링 결과에 따른 관리기준 (예시) (※ 자사의 특성에 맞게 개체수 및 조치사항에 대한 기준을 수립한다.)

표 7-26. 발효차 작업장의 방충, 방서 관리기준 예시

비래해충 개체수	보행해충 개체수	설치류등 개체수	조치사항
1~10개	1~5개	-	작업장내 밀폐관리 확인 및 개보수
10~50개	6~10개	1~2마리	작업장내 밀폐관리 확인 및 개보수 서식장소 및 취약지역 확인 및 개보수
51개 이상	11개이상	3마리 이상	작업장내 밀폐관리 확인 및 개보수 서식장소 및 취약지역 확인 및 개보수 작업장내 살충제, 구서제 투여

- 3) 작업장내에서 해충이나 설치류 등의 구제를 실시할 경우에는 정해진 위생 수칙에 따라 실시하여 오염을 방지한다.
- ① 공정이나 식품의 안전성에 영향을 주지 않는 제한된 장소에만 실시한다.
 - ② 살충제 등의 약제는 사용 방법에 따라 안전한 방법으로 사용하여야 한다.
 - ③ 적절한 보호 조치를 취한 후 실시한다.
 - ④ 작업 종료 후 식품취급시설 등은 세척 등을 통해 오염물질을 제거한다.

5.2.6 개인위생 관리

- 1) 작업자는 항상 해당 작업에 오염을 주지 않도록 위생적인 상태를 유지하여야 한다.
- 2) 위생복 착용방법에 따라 작업에 적합한 위생복장(위생복·위생모·위생화 등) 등을

갖춘다.

- ① 작업복장은 기준에 따라 오염을 주지 않도록 올바른 방법으로 착용한다.
- ② 작업복장은 세척/소독 기준(첨부 1)에 따라 주기적으로 세탁, 소독 등을 하여 항상 청결한 상태를 유지한다.
- ③ 정해진 입실방법에 따라 입실한다.
- ④ 작업에 불필요한 개인 사물(목걸이, 시계 등)을 가지고 들어가지 않는다.
 - 위생복착용방법 및 구역별 착용기준 (※ 자사의 특성에 맞게 기준을 수립한다.)

표 7-27. 위생복착용방법 및 구역별 착용기준 예시

위 생 복 착 용 방 법	
위생복	소매, 바지 아래 등을 걷지 않고 완전히 내리며, 상의 단추 등을 개방하지 않음
위생모	머리 전체를 감싸도록하여 머리카락이 나오지 않아야 한다.
위생화	꺾어 신거나 접어신지 않는다
앞치마	가슴에서 무릎까지 가릴 수 있게 착용한 후 뒤에 끈을 묶는다
위생장갑	손목부위 작업복소매를 덮어 착용
마스크	호흡기(입, 코)를 완전히 가리도록 착용
토시	위생장갑(손목부위)을 덮어 팔꿈치까지 착용

구 역 별 착 용 기 준				
구 분	원·부자재창고	발효실	내포장실	외포장실
위생복	×	○	○	○
위생모	×	○	○	○
위생화	×	○	○	○
앞치마	×	○	○	×
위생장갑	×	○	○	×
목장갑	○	○	○	×
마스크	×	○	○	×
토시	×	○	○	○

3) 작업자는 자신의 신체를 항상 위생적인 상태로 유지한다.

- ① 두발은 항상 단정히 하고, 수염은 매일 깔끔이 면도한다.
- ② 손톱은 짧게 깎고 매니큐어나, 길은 화장 및 향수 사용을 하지 않는다.
- ③ 작업장내에서 흡연, 껌 씹는 행위 및 음식물 반입 등의 행위를 하지 않는다.

- ④ 매년 정기적으로 건강진단을 받아 건강상 이상 유무를 확인한다.
- ⑤ 진단 결과 질병을 보균, 감염된 작업자는 식품 제조업무에 투입하지 않는다.
 - 장관질병 및 피부질환자
 - 디프테리아 및 연쇄구균의 보균자
 - 엑스선(X-ray)검사에 의한 결핵환자
 - 기타 전염성 질환

4) 작업 중 해당 구역별 위생수칙을 준수하여 교차오염을 방지한다.

① 규정된 기준에 따라 손을 세척, 소독한다.

- 작업복 착용 후 작업에 투입되기 전
- 화장실 이용 후
- 작업장을 벗어난 후 다시 작업을 수행하기 전
- 다른 내용의 작업을 시작할 때.
- 청결도가 높은 구역으로 이동할 시
- 작업 도구 사용 전, 후
- 손에 기름등 오염물질이 묻었을 경우 등

② 손 세척은 다음 방법으로 실시한다.

- 냉수 쪽지를 사용하여 알맞은 온도의 물로 비누를 이용하여 손의 전면을 깨끗이 닦아낸다.
- 물기는 종이 타월을 사용하여 닦거나 손 건조기에 손을 넣어 건조시킨다.
- 손에 있는 미생물의 살균을 위하여 70% 알코올을 사용하여 손을 소독한다.

③ 세척·소독 시설에는 잘 보이는 곳에 올바른 세척 방법 등에 대한 지침을 게시한다.

④ 살균된 용기, 시설 등을 취급 할 때는 반드시 손 소독을 실시하며 오염된 손으로 포장이 안 된 제품이나 소독된 용기는 만지지 말아야 한다.

5.2.7 폐기물 관리

- 1) 작업장 내 폐기물 처리용기는 밀폐 가능한 구조로 한다.
- 2) 침출수 및 냄새가 누출되지 않아야 한다.
- 3) 폐기물은 발생 시 가급적 빨리 반출하여 작업장 내에 적체되지 않도록 한다.
- 4) 폐기물 처리용기는 작업장 반입 시 세척, 소독을 실시한다.
- 5) 폐기물 처리장은 작업장에 교차오염을 주지 않도록 위생적으로 관리한다.

- ① 폐기물은 쥐, 해충 등의 서식을 막기 위해 규정된 봉투에 넣어 보관한다.
- ② 폐기물은 장시간 적체되지 않도록 주기적으로 처리·반출하고 폐기물처리 대장 관리기록을 유지한다.

표 7-28. 폐기물처리대장 예시

폐기물 처리대장							
발생일자	폐합성수지 (kg)	폐수오니 (kg)	재활용품 (종이류, 고철)	업체 및 담당자 (서명)	결재		비고
					담당	확인	

- ③ 폐기물 반출 후 폐기물처리장 주위의 청소하여 청결하게 관리하며 주기적으로 분무소독 등을 실시한다.

5.2.8 세척 또는 소독 관리

- 1) 위생적이고 안전한 제품을 생산할 수 있도록 다음 사항에 대한 세척 또는 소독기준을 설정하여 관리한다.
 - ① 작업자 및 복장(위생복, 위생모, 위생화 등)
 - ② 작업장 주변 및 작업실별 내부
 - ③ 식품제조시설(이송배관포함) 및 냉장·냉동설비
 - ④ 용수저장시설
 - ⑤ 보관·운반시설과 운송차량, 운반도구 및 용기
 - ⑥ 모니터링 및 검사 장비
 - ⑦ 환기시설 (필터, 방충망 등 포함)
 - ⑧ 폐기물 처리용기 및 세척, 소독도구
 - ⑨ 기타 필요사항
- 2) 세척, 소독 상태를 확인하기 위하여 위생검사 기준규격에 따라 표면오염도를 검사를 실시하고 그 결과를 표면오염도 검사성적서에 기록, 유지한다.

표 7-29. 설비 세척·살균 기록서 예시

설비 세척·살균 기록서		작 성		검 토		승 인	
		결	재				
작업장 : 발효실			작성일자 : 20 년 월 일				
설 비 명	(시작 ~ 종료)	세척상태		살 균		작업자	
		육안확인	pH점검	시간	온도		
발효 보관대	: ~ :	적 / 부		/	/		
발효트레이	: ~ :	적 / 부		:	℃		
				:	℃		
발효용 천	: ~ :	적 / 부		:	℃		
				:	℃		
온도 조절기	: ~ :	적 / 부		:	℃		
				:	℃		
설비별 세척 · 살균 · 소독 기준							
설 비 명	세척 · 살균 · 소독 방법						비고
보관대, 트레이, 조절기	물세척(5분) ▶ 프린스플 순환(30분) ▶ 물세척(5분) ▶ 최종 물세척후 pH확인(6~8)						COP
이상 발생 내용	일 시	장 소	내 용	조치내용 및 결과	조치완료 일시	조치 자	확인 자

3) 세제·소독제, 세척 및 소독용 기구나 용기는 정해진 장소에 위생적으로 보관한다.

- ① 세척, 소독에 사용되는 세제와 소독제는 환기장치가 있는 별도의 창고에 보관하며 잠금장치를 하여 관리한다.

표 7-30. 세척·소독 기준 설정 예시

작업장 청소·소독 기준표 - 성형, 선별, 내포장실 -				
구분	주기	방 법	청소소독 도 구	담 당
천장	1회/월	① 봉걸레의 패드에 물을 묻혀 이물을 닦아낸다. ② 봉걸레의 패드에 0.24% 크랜즈액티브 소독수를 묻혀 세척 부위를 소독한다. ③ 손이 닿지 않는 높은 곳은 사다리를 미끄러지지 않게 안전하게 설치하여 닦는다.	봉+패드, 사다리, 크랜즈액티브 소독수	해당 작업원
벽, 출입문, 창문	내포장 1회/일	① 젖은 일회용 면티슈와 봉걸레로 벽의 이물을 닦아낸다.	일회용 면티슈, 봉+패드, 크랜즈액티브 소독수	해당 작업원
	성형실 1회/주	② 일회용 면티슈와 봉걸레 패드에 0.24%로 희석한 크랜즈액티브 소독수를 묻혀 닦아낸다. ※ 벽의 경우 1.5M 높이 이상은 1회/월 청소를 실시한다.		
포충등	1회/주	① 포충지를 제거하고 일회용 면티슈에 알콜을 묻혀 먼지, 검은 때 등을 제거한다. ② 세척 소독시는 전원을 끄고 작업한다.	일회용 면티슈, 알콜(알팻SP-4)	품질관 리담당
바 닥	내포장 1회/일	① 저압세척기를 통하여 벽에서 배수구 방향으로 물을 분사하여 이물을 제거하고 거품세척제(퀴럼엘로우 686)를 분무한다. ② 바닥세척술을 이용 힘있게 문질러 닦아낸다. ③ 저압세척기로 물을 뿌려 깨끗이 헹궈낸다. ④ 0.24%로 희석한 크랜즈액티브 소독수를 바닥에 분무한다. ⑤ 고무밀대를 이용하여 바닥에 남은 소독수 물기를 제거한다.	저압세척기, 거품세척제, 바닥세척술, 크랜즈액티브 소독수, 고무밀대	해당 작업원
	선별실 1회/일			
	성형실 1회/일	① 젖은 일회용 면티슈로 바닥의 이물제거 한다. ② 일회용 면티슈에 0.24%로 희석한 크랜즈액티브 소독수를 묻혀 닦아낸다.	일회용 면티슈, 크랜즈액티브 소독수	해당공 정 작업원

- ② 세제와 소독제는 세제 및 소독수 사용방법에 정해진 농도로 사용한다.
- ③ 세제와 소독제는 사용 후 잔류물이 남지 않도록 완전히 제거한다.
- ④ 신규 소독제는 관련법령에 적정한 것을 사용하여야 한다.

5.2.9 위생관리 상태 점검

1) 담당자는 개인위생 점검표(표7-31. 참조)에 따라 정기 점검을 실시하여 결과를 기록, 유지하며 점검 결과 이상이 발생한 경우는 신속히 조치하여 항상 위생적인 작업이 유지할 수 있도록 관리 한다.

표 7-31. 위생관리 점검일지 예시

		위생관리 점검일지		결 재	작성	검 토		승 인
작업실 : 내포장실		점검 일자 : 20 년 월 일			점검 자 :			
구 분	점 검 시 간	점 검 사 항	관 리 기 준	판 정				
작 업 시 작 전	개 인 위 생	감기, 화농성 상처, 설사, 복통 증상 여부	증상없음					
		규정 복장 착용 여부 (위생복, 위생장화, 위생모, 위생장갑, 마 스크 및 토시)	착용함					
		착용한 복장의 청결 상태	청결함					
		장신구 착용 여부	착용없음					
		개인 소지품 작업장 반입 여부	반입없음					
	작 업 장 위 생	작업장 온도 기록	25℃이하					
		세척, 소독용 기구 및 용기의 지정된 장소 보관·관리 여부	지정장소 보관					
		작업장내 이취 발생 여부	발생없음					
		작업장내 해충 존재 여부	존재없음					
		작업장의 내벽, 천장, 배관, 바닥에 물기 및 이물 등 제품의 교차오염 요소 잔류 여부	잔류없음					
작 업 중	개 인 위 생	위생장갑의 청결상태/주기적 손소독 여부	청결함 소독함					
		규정된 복장 착용의 준수 여부	준수함					
		작업장내에서 껌 및 음식물의 반입 여부	반입없음					
		마스크 착용 및 잡담 금지 여부	준수함					
	작 업 장 위 생	작업장 온도 기록	25℃이하					
		사용기구 및 도구의 방치 여부	지정장소 비치함					
		작업시 제조설비 및 작업도구에 물기, 이물 등 제품의 교차오염 요소 잔류 여부	잔류없음					
		작업시 바닥에 물기 및 이물의 잔류 여부	잔류없음					
		배수로의 배수 상태 및 배수구 청결 여부	청결함					

5.3 제조 시설·설비 관리 기준

5.3.1 제조 시설·설비의 요건

- 1) 제조 시설·설비는 제품을 위생적으로 생산 하는데 적합한 성능과 용량을 갖추어야 한다.
- 2) 식품과 직·간접적으로 접촉 가능성이 있는 제조 시설·설비는 관련 기준규격에 적합한 것을 사용한다.
- 3) 제조 시설·설비는 위생적인 내수성, 내부식성 재질(스테인레스, 알루미늄 등)로서 씻기 쉬우며, 열탕, 증기, 살균제 등으로 소독, 살균이 가능하여야 한다.
- 4) 식품과 직·간접적으로 접촉 가능성이 있는 제조 시설·설비는 내부의 구석진 곳 까지 청소 및 소독이 가능한 구조여야 한다.
- 5) 제조 시설·설비는 깨지거나, 틈이 생겨 벌어지거나, 조각나거나, 벗겨지거나, 구멍이 나거나 하는 등의 결함이 없어야 한다.
- 6) 온도를 높이거나 낮추는 제조 시설·설비는 온도변화를 측정·기록하는 장치를 설치·구비하거나 일정한 주기를 정하여 온도를 측정하고, 그 결과를 유지하여야 하며, 관리계획에 따른 온도가 유지되어야 한다.


5.3.2 제조 시설·설비의 배치

- 1) 제조 시설·설비는 공정간 또는 시설·설비간 교차오염이 발생되지 않도록 공정의 흐름에 따라 적절히 배치한다.
- 2) 제조 시설·설비는 청소가 용이하도록 바닥, 벽, 천장과 의 공간을 확보하여 배치한다.
- 3) 오염물질의 낙하로 제품오염이 우려될 경우 뚜껑, 덮개 등 방지장치를 설치한다.
- 4) 제조 시설·설비는 공업용 윤활유나 물리적 위해요인에 의한 오염이 발생하지 않도록 한다.

5.3.3 제조 시설·설비 관리

- 1) 제조 시설·설비는 사용 후 교차오염을 방지 할 수 있도록 세척/소독 기준)에 따라 세척, 소독을 하여 청결하게 관리한다.
- 2) 제조·가공에 사용되는 기구 및 용기류는 용도별로 구분하여 사용하고 세척/소독 기준에 따라 세척, 소독하여 오염되지 않도록 보관한다.
- 3) 제조 시설·설비 및 기구, 용기류는 시설/설비/제조도구 점검표를 작성하고, 점검을 하여 작업에 적합한 상태가 유지되도록 관리하고 그 결과를 기록·유지한다.

표 7-32. 제조설비 이력카드 예시

제조설비 이력카드					
설비번호	2				
설비명	증기기				
규격 및 성능	000 L				
제조회사	0000				
구입처	상 동				
A / S 연락처	0000				
구입가격					
구입일자	000		설치장소	선별 및 성형실	
중요 구성 부품					
품명	규격	제조원	품명	규격	제조원

정비결과기록						
날짜	정비개소(Part)	정비내용	작업자	비고(부품No, 규격)	작성	확인

5.4. 냉장·냉동 시설·설비 관리 기준(해당 업체에 한함)

5.4.1 온도 유지

- 1) 냉장시설은 내부의 온도를 5℃ 이하, 냉동시설은 -18℃ 이하로 유지한다.
- 2) 외부에 온도계를 설치하여 내부의 온도 변화를 관찰할 수 있어야 한다.
- 3) 온도 감응 장치의 센서는 온도가 가장 높게 측정되는 곳에 설치한다.
- 4) ○○담당자는 냉장·냉동고의 온도를 점검하고 결과를 기록, 유지한다.

5.4.2 설비 관리

- 1) 냉장·냉동고는 원재료 및 제품을 효과적으로 수용하고 보관할 수 있는 구조와 기능을 가져야 한다.
- 2) 냉장·냉동고는 정상적으로 유지될 수 있도록 점검, 정비를 실시하고 그 결과를 시설/설비이력카드(표 7-32 참조)에 기록, 유지한다.

5.5 용수 관리 기준

5.5.1 용수 관리

- 1) 작업장에서 제품 생산에 사용하는 용수는 수돗물이나 먹는물 관리법 제5조의 규정에 의한 먹는물 수질기준에 적합한 지하수이어야 하며, 지하수를 사용하는 경우 필요에 따라 물 살균·소독장치를 갖추어야 한다.
- 2) 지하수의 취수원인 관정은 화장실, 폐기물·폐수처리시설, 동물 사육장 등 기타 지하수가 오염될 우려가 없도록 관리 하여야 한다.
- 3) 작업량에 맞는 충분한 수량을 공급할 수 있는 설비를 구비하여야 하며, 작업에 불편함이 없도록 필요한 위치에 공급되어야 한다.
- 4) 먹는물 수질기준 전 항목에 대하여 정기적으로 공인기관에 검사의뢰를 실시하며, 먹는물 수질기준에 정해진 미생물학적 항목에 대한 검사는 자체적으로 검사주기를 설정하여 실시한다.
- 5) 식품에 직접 접촉되는 시설표면, 기구, 용기, 손 세척 등에 사용되는 용수는 먹는물의 수질기준에 적합하여야 한다.
- 6) 품질관리담당자는 용수에 대한 먹는 물 수질기준 전 항목에 대하여 년1회 이상 공인기관에 수질검사를 의뢰하여 수질검사성적서를 비치한다.
- 7) 품질관리담당자는 용수에 대한 미생물학적 검사를 월1회 이상 자체적으로 실시하여 그 결과를 용수수질 검사 기록서에 기록하여 유지 관리한다.
- 8) 생산담당자는 주1회 용수시설에 대한 점검을 실시한 후 용수시설 점검일지에 결과를 기록 관리하며 이상발생시 품질관리담당 및 공무담당에게 통보한다.
- 9) 품질관리담당자는 용수의 미생물 검사를 실시하여 관리기준 이탈사항이 발생하면 품질관리팀장에게 보고 후 해당 부서에 통보하여 시정조치토록 한다.
- 10) 생산담당자는 관리기준 이탈 내용에 대한 대책을 공무와 협의하여 수립하고 용수의 수질 개선조치를 실시한다.

표 7-33. 용수 수질 검사기록서 예시

용수 수질 검사기록서				결	작성	검토	승인		
				제					
부 서	품질관리팀		검 사 자						
검 체 명	<input type="checkbox"/> 수돗물	<input type="checkbox"/> 지하수	검체 채취 위치						
검체 채취일	200	년	월	일	시험 판정일	200	년	월	일
시험항목	기 준	결 과	판 정	비 고					
일반세균	100 이하 CFU/ml		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
총대장균군	불검출 / 100ml		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
분원성대장균군	불검출 / 100ml		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
pH	5.8 - 8.5		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
맛(이미)	없을 것		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
냄새(이취)	없을 것		<input type="checkbox"/> 합 <input type="checkbox"/> 부						
검 사 기 준	먹는 물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙 제2조								
검 사 주 기	1회 이상 / 월								
이 상 발 생 내 역	발생일시	발생장소	이상발생 내역	조치내역 및 결과	조치완료 일시	조치자	확인자		

5.5.2 용수 설비 관리

- 1) 용수저장탱크, 배관 등은 인체에 유해하지 않은 재질을 사용한다.
- 2) 용수저장탱크는 청소가 용이한 재질과 형태이어야 한다.
- 3) 용수저장탱크는 외부로부터의 오염물질 유입을 방지하는 잠금장치를 설치한다.
- 4) 용수저장탱크의 누수 및 오염여부를 용수관리 점검표(첨부 5/양식15)에 따라 점검하고 그 결과를 기록, 유지한다.
- 5) 용수저장탱크는 반기별 1회 이상 관련법령에 적합하게 청소와 소독을 실시한다.
- 6) 비음용수 배관은 음용수 배관과 구별되도록 표시하고 교차되거나 합류되지 않아야 한다.

표 7-34. 용수 저장시설 점검일지 예시

용수 시설 점검일지				결	작	검 토		승
				재	성			인
부서 : 생산팀		점검일자 : 20 . .		점검자 :				
번호	점검사항			기준	점검결과		비고	
1	지하수 관정 맨홀의 청결상태			오염물 없이 청결함				
2	지하수 관정 뚜껑 잠금 장치 잠금 상태			잠금 상태 유지				
3	집수조의 청결 상태			청결함				
4	집수조의 누수 여부			누수 없음				
5	집수조 뚜껑 잠금 장치 잠금 상태			잠금 상태 유지				
6	집수조 통기관의 방충망 상태			파손 없음				
7	고가수조의 청결 상태			청결함				
8	고가수조의 누수 여부			누수 없음				
9	고가수조 뚜껑 잠금 장치 잠금 상태			잠금 상태 유지				
10	고가수조 통기관의 방충망 상태			파손 없음				
11	상수조의 청결 상태			청결함				
12	상수조의 누수 여부			누수 없음				
점검주기		1회/주		평가	양호 ○/ 불량 ×			
이상 발생 내용	일시	장소	내용	조치내용 및 결과	조치완료 일시	조치 자	확인 자	

5.6 보관·운송 관리 기준

5.6.1 입고 관리

- 1) 입고되는 원·부자재는 입고검사를 실시하여 기준 및 규격에 적합한 원·부자재만을 사용한다.
- 2) 입고검사는 원·부자재 기준규격에 따라 실시하며 검사결과를 제품검사성적서에 기록, 유지한다.
- 3) 필요 시 검사성적서(공인 또는 자가) 확인으로 입고검사를 대체한다.
- 4) 입고검사에 합격한 원·부자재는 품목별로 지정된 보관 장소에 선입선출이 가능하도록 식별표를 부착하여 입고한다.

표 7-35. 원료 식별표 예시

대기 식별표	
품 명	
제조일자	20 년 월 일
입고일자	20 년 월 일
수 량	
비 고	
※취급자의 동선 방향으로 부착하여 혼입 입고를 방지 할 것	

5) 입고검사에 불합격한 원·부자재는 사용하지 않고 반송, 폐기 등의 조치를 취하고 부적합품 관리점검표에 결과를 기록하여 관리한다.

원·부자재 검수일지											검	작	검	승	
											재	업	트	인	
입고 일자		20 . .		검 수 자							평가		양호 ○ / 불량 ×		
품 명 (원산지)	도착시간	로트(LOT)	수 량	별리 있지 않	외관 상태	포장 상태	인쇄 상태	유류 기한	표시 사항	시험 성적서 첨부	온도(℃)		차량 점검 상태	판정결과	보관장소
											차량	제품			
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
:														<input type="checkbox"/> 조 <input type="checkbox"/> 부	
이 상 발 생 내 용	품 명		내 용		조치내용 및 결과						조치완료일시		조치자	확인자	

그림 7-5. 원·부자재 검수일지 예시

5.6.2 협력업체 관리

- 1) 협력업체의 입고자재 관리 및 검사 체계, 위생관리 실태를 평가하여 일정 기준 이상의 업체를 선정하여 협력업체로 등록한다. 다만, 협력업체가 “식품위생법”이나 “축산물가공처리법”에 따른 HACCP적용업소일 경우에는 이를 생략할 수 있다.
- 2) 선정된 협력업체는 주기적(년1회 이상)으로 방문, 관련서류 확인 등을 통하여 협력업체 점검표에 따라 평가한다.
- 3) 평가 결과 일정 기준에 미달한 업체는 미흡사항에 대한 개선을 요구하거나 거래중단 등의 조치를 한다.

표 7-36. 협력업체 평가표 예시

협력업체 평가표				결	작성	검토	승인
				재			
평가일자	20		부서			평가자	
업체명				점검주기	1회 / 년		
구분	평가항목				점수	비고	
적요	항목	기준	배점	평가기준			
기본요건	영업신고 (허가)	보유 및 철	10	보유:10, 미보유:0			
	공장 등록증	보유 및 철	10	보유:10, 미보유:0			
	품목제조보고	보유 및 철	10	보유:10, 미보유:0			
생산능력	원료수불 문서 표시사항	작성 및 보유	10	작성:10, 미작성:0			
		현행법 준수	10	준수:10, 미준수:0			
위생	건강진단	사원 정기 건강검진 및 보건증 보유	10	보건증 보유 : 10 보건증 미보유 : 0			
	위생교육	12시간 / 연 이상 실시	10	12시간:10, 10시간 이상:5, 그 외 : 0			
	수질검사	연 1회 이상 공인기관 검사실시	10	실시:10, 미실시:0 (상수도사용 : 10)			
	공장위생 상태	청결유지 및 기록유지	10	청결:10, 보통:5~9			
	설비관리 상태	유지보수 및 기록유지	10	불결:0			
	원부재료 검사	공인기관 또는 자가 실시	10	실시:10, 미실시:0			
검사	제품 검사	공인기관 또는 자가 실시	10	실시:10, 미실시:0			
	검사 능력	실험실 운영	10	운영:10, 미운영:0			
	검사원	실험실 상주 요원 보유	10	보유:10, 미보유:0			
운반	차량 위생상태	보관온도 준수차량 보유	10	보유:10, 미보유:0			
		운송차량 청결여부	10	청결:10, 보통:5~9 불결:0			
	행정처분 실적	최근 1년간 실적 없을 것	10	무:10, 유:0			
행정처분의 내용							
총 점		점	산출 점수		점		
점수산출 근거		(총점 + 170) × 100 ☞ 배점이 10점 항목의 경우라도 그 실시가 미비할 경우라고 판단될 경우 평가자의 판단하에 점수를 차등 지급한다. (1~9점)					
평가결과						
판정		<input type="checkbox"/> 합격 <input type="checkbox"/> 불합격					

5.6.3 운송

- 1) 운반 중인 식품은 비식품 등과 구분하여 교차오염을 방지한다.
- 2) 운송차량(지게차 등 포함)은 정기적으로 세척, 소독 및 도색 등을 실시하여 운송제품이 오염되지 않도록 한다.
- 3) 운송차량은 냉장의 경우 10℃ 이하, 냉동의 경우 -18℃ 이하를 유지할 수 있도록 한다.
- 4) 운송차량은 외부에서 온도변화를 확인할 수 있는 온도 기록장치를 부착한다.

5.6.4 보관

- 1) 원료 및 완제품은 선입선출 원칙에 따라 입·출고하고 입·출고 상황을 입·출고 및 재고 점검표에 기록하여 관리한다.
- 2) 원·부자재, 반제품 및 완제품은 대상별로 구분하여 관리한다.
- 3) 원·부자재, 반제품 및 완제품은 바닥과 벽에 밀착되지 않도록 적재하여 관리한다.
- 4) 부적합한 원·부자재, 반제품 및 완제품은 별도의 지정된 장소에 보관한다.
- 5) 부적합품은 명확하게 식별되는 표식을 하여 관리한다.
- 6) 부적합품은 반송, 폐기 등의 조치를 취한 후 그 결과를 부적합품 관리점검표에 기록·유지한다.
- 7) 유독성 물질, 인화성 물질 및 비식용 화학물질은 식품취급 구역으로부터 격리한다.
- 8) 유독성 물질 등은 환기가 잘되는 지정 장소에서 구분하여 보관·취급한다.

5.7. 검사 관리 기준

5.7.1 제품검사

- 1) 생산된 제품은 제품검사를 실시하고 그 결과를 제품 검사성적서에 기록, 유지한다.
- 2) 필요 시 제품검사를 공인기관 등에 의뢰하고 성적서를 받아 보관, 관리한다.
- 3) 검사결과 부적합품은 재가공, 폐기 등의 조치를 취한 후 그 결과를 부적합품 관리점검표에 기록·유지한다

제품 검사기록서															검 재	작성	검토	승인		
검 사 일 자					검 사 조															
검 사 결 과																				
공정명	검정 시간	공도	조달·내용량 (kg·일)	성 상 (맛, 냄새, 외관)	이유	산도	pH	비중	전도	당도 (Brix)	지방 (%)	수분	Lid 전투강도	광조명개시 일체중량	용 액	품질결과				
:																	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
:																		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
이 상 발 생 내 역	공정명		검정세부사항		내 용				조치내용 및 경과				조치완료 일시		조치자		확인자			

그림 7-6. 제품 검사기록 예시

5.7.2 검사장비

- 1) 냉장·냉동 및 가열처리 시설 등의 온도측정 장치, 검사용 장비 및 기구는 정기적으로 검·교정을 실시한다.
- 2) 검·교정 주기는 대상 장치 및 장비 등의 정밀도, 중요도, 사용 빈도 등을 감안하여 설정한다.
- 3) 검·교정은 표준기를 이용하여 다음과 같은 방법으로 실시한다.

- 저울
 - 편평한 곳에서 먼저 계량기의 0점을 조정한 후 최소 정밀도 단위의 분동(50g ~ 100g)부터 단계별로 올려 그 지시값을 측정한다.
 - 저울의 표시중량을 기록하고 표준중량(분동중량)과의 편차를 기록한다.
 - 편차가 기준(표준중량의 $\pm 1\%$)을 초과할 경우 교정을 실시하여 사용한다.
- 온도계
 - 편평한 곳에서 100℃ 정도의 물(끓는물)과 10℃ 이하(얼음물)의 물을 준비한 후 표준온도계와 측정 온도계를 동시에 넣어 온도를 확인한다.
 - 편차가 기준(표준온도의 $\pm 1^\circ\text{C}$)을 초과할 경우 교정을 실시하여 사용한다.

- 4) 검·교정 결과는 모니터링 및 검사장비 검·교정 점검표(첨부 5/양식5)에 기록, 관리한다.
 - 5) 필요 시 외부기관에 검·교정을 의뢰하고 외부기관에서 발급한 검·교정 성적서를 보관, 관리한다.
 - 6) 검·교정 결과 이상이 있는 장비는 수리, 폐기 등을 하고 처리결과를 모니터링 및 검사장비 검·교정 점검표에 기록하여 관리한다.
- ※ 나머지 검사장비, 모니터링 장비등은 자체 검교정 방법을 수립하여 외부 또는 자체 검교정 하여야 함.

표 7-37. 검사장비 검·교정 점검표

검사장비 검·교정 점검표				결	작	검	승
				재	성	토	인
점검 일자	20 . .			점검 자			
종합 판 정							
측정 기준	온도계	1. 약 100℃의 물 (끓는 물)과 10℃이하의 물 (얼음 물)을 준비한 후 표준 온도계와 측정용 온도계를 동시에 넣어 온도 비교 확인 2. 실험실내에서 검·교정 작업을 수행하기 어려운 작업장 Room 온도계, 컨트롤판넬 매립형 온도계, 제품창고(냉동) 온도계 등은 공인기관 출장검교정 또는 공인기관 검·교정된 표준온도계를 대상검사기기의 센서부위에 맞추어 두 개의 값을 비교 검·교정 한다.					
	저울	편평한 곳에서 먼저 저울의 영점을 조정한 후 최소 정밀도 단위의 분동 (100g 및 1000g)부터 단계별로 올려 그 지시값을 측정					
허용 오차	온도계 : 표준값의 ± 1℃ / 저울 : 표준중량의 1%						
공인기관 검·교정의뢰	실험실 표준온도계 #1, #2 표준분동 #1, #2 휴대용 조도계 => 국가공인기관에 의뢰하여 1회/년 검·교정을 실시한다.						
이상 발생 내용	일시	검사설비명	내용	조치내용 및 결과	조치완료 일자	조치자	확인자

5.8 회수프로그램 관리 기준

5.8.1 회수의 분류 및 처리기준

1) 강제 회수

① 대상

식품위생상의 위해가 발생하였거나 발생할 우려가 있다고 인정되는 식품 등으로서

행정처분기준(시행규칙 제58조 관련)에서 당해제품 폐기에 해당되는 위반사항이 적발된 식품 등

② 처리 범위

문제가 된 당해제품 전량 또는 특정로트 제품을 회수하는 것을 원칙으로 한다.

③ 처리기준

전량 회수후 폐기한다.

④ 처리 기한

법적 회수에 대한 사항은 10일 이내 완료한다.

2) 자진 회수

① 대상

식품위생법 제4조 내지 제6조·제7조제4항·제8조 또는 제9조제4항의 규정을 위반한 제품(식품 등의 위해와 관련이 없는 위반사항을 제외한다)

② 처리 범위

문제가 된 당해제품 전량 또는 특정로트 제품을 회수하는 것을 원칙으로 한다.

③ 처리 기준

전량 회수후 폐기한다.

④ 처리 기한

자진 회수에 대한 사항은 20일 이내 완료한다.

5.8.2 회수업무 처리의 흐름 (※ 자사의 특성에 맞게 수정 보완 할 것)

○ 회수업무 처리의 흐름도



5.8.3 회수상황의 파악

- 1) 고객으로부터 접수된 제품을 회수하여 위해물질 시험분석을 하여 회수상황을 파악한다.
- 2) 파악된 회수상황을 자진회수와 강제회수 등으로 분류하여 회수대상 제품출고 및 판매 보류 조치한다.
- 3) 회수 대상 제품으로 확정하기 전에 검체의 채취, 취급방법, 검사방법 등에 오류가 있을 경우에는 재검사를 실시하여 결정토록 하고, 고객의 검사방법, 검체의 채취 등에 잘못이 있을 경우 이의를 제기할 수 있다.
- 4) 회수 시 다음 사항을 고려하여 신중히 타당성을 조사한 후 결정한다.

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 인체건강에 위해의 치명적인 결점 사항 2. 사회적 문제로 확대, 회사 이미지 실추 및 회사 존립문제의 사항 3. 식품위생법규 위반에 관한 위해, 안정성 문제 대두 4. 고객으로부터 위해물질 검출 또는 검증된 사항 5. 특정성분 잔류 검출에 의한 건강위해 우려사항 |
|---|

5.8.4 회수 계획의 수립 및 처리

- 1) 회수 담당자는 회수 상황 발생시 회수대상 제품의 유통을 중지시키고 효율적이고 효과적인 회수계획을 수립하여 관련부서에 통보한다.
- 2) 회수계획 시에는 다음 사항이 포함되어야 한다.
 - ① 회수대상 식품의 제품명, 제조회사, 판매경로, 판매량, 로트번호
 - ② 회수상황 분류 및 발생 이유
 - ③ 회수의 실시방법(회수기간 명시)
 - ④ 기타 필요한 회수제품 처리방법 사항
- 3) 회수 계획의 관련 내용은 관련 판매처 및 거래처에 즉시 통보하여 신속하고 체계적으로 처리될 수 있도록 한다.
- 4) 회수 담당자는 대상 품목의 유통 또는 판매를 중지시키고 회수 통보문을 작성하여 판매처에 서면으로 통지한다.
- 5) 공표문에는 다음의 사항이 포함되어야 한다.
 - ① 식품을 회수한다는 내용의 표제
 - ② 회수대상 식품의 제품명
 - ③ 회수대상 식품의 제조연월일 또는 유통기한
 - ④ 회수사유
 - ⑤ 회수방법
 - ⑥ 회수하는 영업자의 명칭
 - ⑦ 회수하는 영업자의 주소 및 전화번호
 - ⑧ 기타사항
- 6) 회수 담당자는 회수 대상 제품의 로트를 정확히 파악하여 고객으로부터 직접 또는 대리점을 통해 회수한다.
- 7) 회수된 제품은 별도구역을 정하여 보관하며 폐기 등의 필요한 절차 및 조치를 한다.

- 8) 회수 담당자는 품질관리팀장 입회하에 폐기처분을 원칙으로 하며, 이에 대한 근거 자료(사진 등)을 비치하고 있어야 한다.

5.8.5 회수 결과 보고, 종료 및 사후조치

- 1) 회수 담당자는 회수 진행에 대한 최종 평가를 한 후 회수 종료 결정을 하고 이에 따른 회수실적을 검토하여, 제품회수 결과보고서를 작성하여 HACCP 팀장에게 보고한다.
- 2) 회수된 제품은 폐기처분함을 원칙으로 하며, 폐기품의서를 작성하여 HACCP 팀장에게 보고한다.
- 3) 회수 계획에 따라 회수 평가와 회수 결과 분석을 하여 미회수량이 5% 미만인 경우 고객이 소비한 것으로 간주하여 회수 종결을 한다.
- 4) 문제 재발 방지를 위하여 명확한 개선책, 회수에 대한 타당성의 조사, 회수의 효율성을 체크한다.

6. 기록 및 보관

선행요건의 모든 기록은 문서번호와 보관년한을 수립하여 관리하여야 한다.

표 7-38. 문서관리 대장의 예시

양식번호	기 록 명	점검 주기	작성보관 부서	작성	검토	승인	보관 년한
	원·부자재 검사기록서	입고시	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년
	미생물 검사기록서	매로트	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년
	제품 검사기록서	매로트	품질관리팀	담당자	품질관리 팀장	품질관리팀 장	2년
	검사장비 이력카드	월1회/ 교체시	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	영구
	공중 낙하세균 검사결과서	월1회 이상	품질관리팀	담당자	품질관리 팀장	HACCP팀 장	2년
	제조설비 표면오염도 검사결과서	월1회 이상	품질관리팀	담당자	품질관리 팀장	HACCP팀 장	2년
	작업원 위생 검사결과서	월1회 이상	품질관리팀	담당자	검토자	HACCP팀 장	2년
	공정관리 점검기록서	매일	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년
	검사장비 검·교정 점검표	1회/ 2개월, 교체시	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년
	검사장비 점검기록서	주1회	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년
	자가시험성적서	매로트	품질관리팀	담당자	품질관리 팀장	HACCP팀 장	2년
	시약수불부	주1회	품질관리팀	담당자	검토자	품질관리팀 장	2년

3) HACCP Plan 개발

(1) 위해요소분석

HACCP 관리계획의 개발을 위한 첫 번째 원칙은 위해요소 분석을 수행하는 것이다.

위해요소(Hazard) 분석은 HACCP팀이 수행하며, 이는 제품설명서에서 파악된 원·부재료 별로, 그리고 공정흐름도에서 파악된 공정/단계별로 구분하여 실시한다. 이 과정을 통해 원·부재료별 또는 공정/단계별로 발생 가능한 모든 위해요소를 파악하여 목록을 작성하고, 각 위해요소의 유입경로와 이들을 제어할 수 있는 수단(예방수단)을 파악하여 기술하며, 이러한 유입경로와 제어수단을 고려하여 위해요소의 발생 가능성과 발생 시 그 결과의 심각성을 감안하여 위해(Risk)를 평가한다.

위해요소 분석을 위한 첫 번째 단계는 원료별·공정별로 생물학적·화학적·물리적 위해요소와 발생원인을 모두 파악하여 목록화하는 것이 도움이 된다.

위해요소 분석을 수행하기 위한 두번째 단계는 파악된 잠재적 위해요소(Hazard)에 대한위해(Risk)를 평가하는 것이다. 파악된 잠재적 위해요소에 대한 위해 평가는 위해 평가 기준을 이용하여 수행할 수 있다.

위해요소 분석을 수행하기 위한 마지막 단계는 파악된 잠재적 위해요소의 발생원인과 각 위해요소를 안전한 수준으로 예방하거나 완전히 제거, 또는 허용 가능한 수준까지 감소시킬 수 있는 예방조치방법이 있는 지를 확인하여 기재하는 것이다. 이러한 예방 조치방법에는 한 가지 이상의 방법이 필요할 수 있으며, 어떤 한 가지 예방조치방법으로 여러 가지 위해요소가 통제될 수도 있다. 예방조치방법은 현재 작업장에서 시행되고 있는 것만을 기재한다.

가. 위해요소의 예방조치방법

위해요소의 예방조치방법에는 생물학적, 화학적, 물리적 위해요소별로 다음과 같은 것이 있다. 위해요소의 예방조치방법은 앞의 선행요건의 구축시 반영되어지고 이를 통하여 위해요소의 예방조치가 현실적으로 이루어 질수 있도록 선행요건을 구축하여야 효과적이다.

가) 생물학적 위해요소

- ① 시설기준에 적합한 개·보수
- ② 원·부자재 협력업체로부터 시험성적서 수령
- ③ 입고되는 원·부자재의 검사
- ④ 보관, 가열, 포장 등의 가공조건(온도, 시간 등) 준수
- ⑤ 시설·설비, 종업원 등에 대한 적절한 세척·소독 실시
- ⑥ 공기 중에 식품노출 최소화
- ⑦ 종업원에 대한 위생교육

나) 화학적 위해요소

- ① 원·부자재 협력업체로부터 시험성적서 수령
- ② 입고되는 원·부자재의 검사
- ③ 승인된 화학물질만 사용
- ④ 화학물질의 적절한 식별표시, 보관

- ⑤ 화학물질의 사용기준 준수
- ⑦ 화학물질을 취급하는 종업원의 적절한 훈련

다) 물리적 위해요소

- ① 시설기준에 적합한 개·보수
- ② 원·부자재 협력업체로부터 시험성적서 수령
- ③ 입고되는 원·부자재의 검사
- ④ 육안선별, 이물질검출기 등 이용
- ⑤ 종업원 훈련

나. 위해요소 분석 절차

위해요소 분석절차는 잠재적위해요소 도출 위해요소 평가 및 확정 예방조치방법 결정 을 통하여 실행되어지며 최종적으로 위해요소분석표가 작성되어진다.



그림 7-7. 위해요소 분석 절차

가) 위해요소 도출 및 원인 규명을 위한 검토 사항

위해요소 도출 및 원인 규명을 위한 검토 사항으로는 먼저 잠재적위해요소를 도출하기 위한 자료조사를 통하여 발생가능한 위해요소를 도출하여야 한다.

(가) 자료조사

- 식품에서의 농약, 중금속 잔류관련 자료
- 제품클레임 및 잠재클레임 자료
- 관련 연구 및 REVIEW문헌
- 식중독사고관련 자료 (기사 등)
- 관련법규 및 규격기준
- 원재료 및 제조환경의 오염실태
- 현장 분석(측정) 자료 (실험자료)
- 작업자 인터뷰 및 작업실태의 육안조사
- 제품 보존시험 규격설정시험 등 제품 개발자료
- 기타 필요 자료
- 1차년도 자료조사 결과를 기초로 발생가능성이 있는 위해요소를 도출하였다 (세부내용 1차년도 결과 참조)

표 39. 잠재적 위해요소 도출(1차년도 결과 활용)

원·부재료명	구분	위해요소	발생원인
모차	생물학적	대장균군	원료자체 및 관리 부족으로 오염 협력업체(생산자) 관리 부족으로 교차 오염
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	
		<i>Salmonella</i>	
		<i>Bacillus cereus</i>	
		<i>Listeria.monocytogenes</i>	
		<i>E Coli O157:H7</i>	
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
	진균		
	화학적	항생물질	협력업체(생산자)의 교육/관리 부족으로 오염
		잔류농약	
물리적	나사, 못, 칼날	협력업체(생산자)의 관리 부족으로 혼 입	
	돌, 모래, 플라스틱		
	머리카락, 비닐, 지푸라기		

공정	구분	위해요소	발생원인
건조	물리적	머리카락, 실등 경질플라스틱 금속조각	<ul style="list-style-type: none"> • 종사자로부터 머리카락 등 연질이물 혼입 • 작업 도구 등으로부터 금속 이물 혼입
	생물학적	<i>Staphylococcus aureus</i>	• 작업환경(종사자, 작업도구 등) 으로부터 식중독균 교차오염

- 또한 위해요소에 대한 명확한 이해를 위해 위해요소 범례를 작성하여 각각의 위해요소의 발생경로, 심각성, 예방방법 등을 위한 기초자료로 활용하였다.

표 7-40. 도출위해요소의 범례(생물학적 위해요소)

위해요소	<i>Staphylococcus aureus</i>	
특 성	그람양성 구균, 내열성 독소 생성	
증 상	구토, 구역질, 복부경련, 근육경련, 쇠약감, 두통	
잠복기	6~10시간(26시간) 독소 0.5~8시간((6~24시간)	
감 염 량	균(100,00), 독소(1mg) <황색포도상구균의 4가지 용혈독소>	
	외독소	세균이 증식할 때 균체외로 분비하는 독소로 황색포도상구 균은 조직을 괴사시키는 피부괴사독, 용혈소, 벽혈구용해소 등이 있다.
	장독소	포도상구균 중 일부 균주가 생산하는 물질로 식중독의 원 인 독소이다.

감염원	피부의 화농, 여드름, 먼지, 하수, 도시락, 김밥 등 복합조미식품
예방법	냉장보존, 피부화농성질환자 조치, 손 조리기구 청결유지
관련 사고	<p>인사동 등 일부 음식점 물컵서 식중독균 검출(메디컬투데이) 한국소비자연맹, 음식점 100개소 중 18곳 위생불량 음식점의 물컵에서 식중독균이 검출되는 등 위생관리가 형편없는 것으로 나타났다.</p> <p>한국소비자연맹은 서울시와 함께 서울시내 음식점 100개소에 대해 업소의 위생실태 및 이들 업소에서 사용하는 물컵에 대한 미생물검사를 2회(상·하반기) 실시한 결과 18개소에서 식중독균 등이 검출됐다고 15일 밝혔다.</p> <p>소비자연맹에 따르면 조사대상 100개소 중 29개소는 위생상태가 우수했으나, 18개소에서 사용하는 물컵에서는 황색포도상구균 또는 일반세균(10,000군)이 검출됐다.</p> <p>황색 포도상구균(<i>staphylococcus aureus</i>)은 화농성질환의 원인균으로서 가열하면 쉽게 사멸하지만 이 균이 음식물에 증식하면 엔테로톡신을 생산하게 되는데, 이 독소는 가열해도 쉽게 파괴되지 않고 음식에 남아 식중독을 일으킬 수 있다.</p> <p>조사대상 업소 중 물컵 전용 자외선소독기를 설치한 업소는 41개소였으며, 열탕소독을 실시하는 업소는 53개소였다. 자외선소독기를 사용할 경우 물컵이 자외선 등을 향해 똑바로 세워져 있어야 높은 소독 효과를 낼 수 있으나 이런 정확한 사용방법을 숙지하지 않고 사용함으로써 4개소에서 미생물(일반세균 및 황색포도상구균)이 검출된 것으로 판단된다.</p> <p>1차 실태조사 실시 후(2008.7.14~2008.7.18) 부적합 사항이 발견된 65개소를 대상으로 이들 부적합 사항에 대한 시정을 요구했으며, 이들 업소를 대상으로 2차조사(2008.10.20~10.24)를 실시한 바 51개소에서 부적합 사항이 시정됐다.</p> <p>음식점내 두루마리 화장지 사용 등 위생상태 실태조사에서는, 7개소에서 두루마리 화장지를 식탁 냅킨으로 사용하고 있었다. 물수건으로 식탁을 닦는 업소가 17개소(1차 13개소, 2차 4개소), 맨손으로 이용자의 신발을 정리하는 업소가 16개소(1차 20개소)로서 위생에 대한 전체적인 교육 및 훈련이 잘 돼 있었지만 일부 업소에서는 개선 및 교육이 요구된다.</p> <p>주방 근무 종사자 및 기구에 대한 조사에서는 적극적으로 위생복 및 위생모 착용 등을 실천하는 업소가 12개소였으며, 육류, 생선류, 채소류 등 취급 식품군에 따른 도마, 칼 등을 구분해 사용하는 업소가 8개소로서 종사자 및 주방 위생에 대한 적극적인 의식개선 및 실천 노력이 필요한 것으로 판단된다.</p> <p>소비자연맹은 “특히 자외선 소독기를 설치했거나 열탕 소독을 실시하는 업소에서도 이들 미생물이 검출된 점을 미뤄볼 때 자외선소독기 또는</p>

	<p>열탕소독에 대한 정확한 사용 방법에 대한 교육이 필요하다“고 지적했다. 한편 서울시는 이번 실태조사 결과를 관련 단체에 알려 위생교육 실시에 반영토록 할 계획이며, 식품접객업소 지도·점검 시 관련 사항을 중점 점검할 계획이다.</p> <p>김밥·샐러드 등 식중독균 기준 현실화(식품의약품안전청) 즉석요리·편의식품류 황색포도상구균 g당 100이하로 식품의약품안전청은 샐러드, 김밥류 등 즉석섭취·편의식품류에 대해 식중독균 ‘불검출’ 기준을 적용해 오던 것을 현실에 맞게 개선해 식중독균 정량기준을 신설한다고 20일 밝혔다. 이로써 이들 식품의 위생이 소비자에게는 위해하지 않으면서 현실적인 관리가 가능하게 됐다. 정량기준이 설정되는 식중독균은 황색포도상구균(<i>Staphylococcus aureus</i>)과 바실러스 세레우스(<i>Bacillus cereus</i>)로서, 그동안 식품제조과정에서 완벽한 제어가 어려워 불검출 기준은 비현실적이라며 개정이 필요하다는 문제가 제기돼 왔다. 식약청은 즉석섭취·편의식품류의 황색포도상구균은 g당 100이하로 정량기준을 설정하고, 바실러스 세레우스는 별도의 개별기준이 정해지지 않은 가공식품에 대해서는 g당 1000이하로 정량기준을 추가로 신설했다. 색포도상구균은 공기, 토양 등의 자연계와 사람의 피부 등에 광범위하게 분포하고 있으며 식품에 쉽게 오염될 수 있는 반면, 균이 증식하면서 생성하는 독소에 의해 식중독이 발생하기 때문에 캐나다, 스페인, 호주 등 제외국에서도 정량기준을 설정해 관리하고 있다. 독소는 균이 100,000~1,000,000균 정도로 증식되었을 때 생성된다.그 동안 식중독균은 인체위해성과 무관하게 검출됐다는 사실만으로 종종 소비자의 불안감이 야기돼 왔다. 이번 식중독균 정량기준 신설은 이러한 소비자의 불필요한 불안감을 해소하고 업계에게도 현실적인 안전관리기준을 제시하기 위한 것으로 평가된다. 식약청은 지난 19일 조미건어포류(조미취치포 등)에 대한 황색포도상구균 정량기준을 g당 100 이하로 신설 입안예고 하는 등 향후에도 지속적인 모니터링, 위해평가 등을 통해 점진적으로 정량기준을 확대 설정해 나갈 방침이라고 밝혔다.</p>
사 멸 은 도	60℃에서 30~60분

(나) 현장조사

① 발효차 제조과정별 위해요소

발효차 제조과정 중에서 위해요소 발생가능성과 심각성을 나타내는 공정을 확인하고 위해요소 도출 범위를 파악하였다.

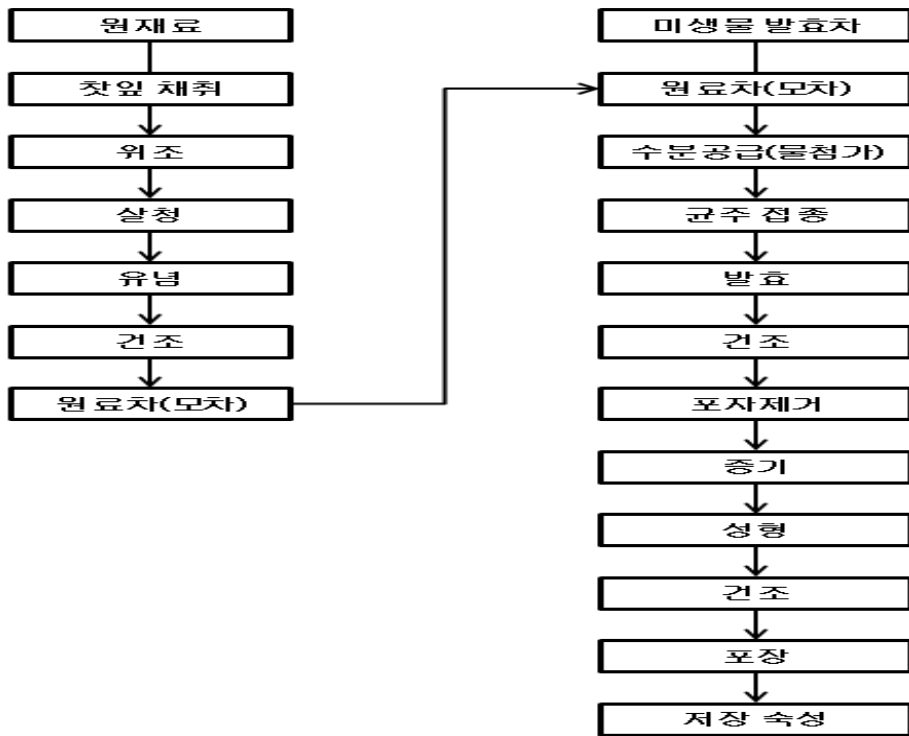


그림 7-8. 발효차 제조과정

② 발효차의 생물학적 위해요소 분석

발효차 제조 공정 중에서 모차에 균을 접종하고 발효하는 공정에 대한 위해요소를 분석하기 위해 낙하균을 측정된 결과는 다음과 같다, 균을 접종하는 접종실에서는 세균 및 진균 등의 낙하균이 검출되지 않았다. 이는 위생적으로 청결한 상태의 접종실에서 작업을 하는 것으로 판단되었다. 그리고 발효실에 대한 공중 낙하균을 측정된 결과, 약간의 진균의 검출되었다. 이는 모차에 균을 접종하고 발효하는 과정에서 특정 진균의 증식에 의한 결과로 여겨지므로 이를 생물학적 위해요소로 판단하기 어렵다고 본다.

표 7-41. 발효차의 생물학적 위해요소 분석

시설	검사항목	검사결과
접종실	<i>Bacillus cereus</i>	ND
	<i>Staphylococcus.aureus</i>	ND
	<i>Salmonella</i>	ND
	<i>Listeria.monocytogenes</i>	ND
	<i>E Coli O157:H7</i>	ND
	대장균군	ND
	진균	ND
발효실	<i>Bacillus cereus</i>	ND
	<i>Staphylococcus.aureus</i>	ND
	<i>Salmonella</i>	ND
	<i>Listeria.monocytogenes</i>	ND
	<i>E Coli O157:H7</i>	ND
	대장균군	ND
	진균	5.0

③ 발효차의 화학적 위해요소분석

Enzyme-linked Immunosorbent Assay kit를 이용하여 모차에 여러 균종을 접종하여 발효한 미생물발효차에 대한 곰팡이독소 성분을 측정하여 화학적 위해요소를 분석하였다.

표 7-42. 발효차의 화학적 위해요소 분석

Sample Name	Total aflatoxin		Ochratoxin A	
	Results (ppb)	Pass/Fail (15ppb)	Results (ppb)	Pass/Fail (5ppb)
<i>ANa80</i>	1.91	PASS	0.000	PASS
<i>AFa89</i>	1.87	PASS	0.328	PASS
<i>AOa71</i>	2.39	PASS	0.341	PASS
<i>AOhj01</i>	2.16	PASS	0.000	PASS
<i>AOsj01</i>	2.96	PASS	0.000	PASS
<i>AKhj02</i>	4.88	PASS	0.786	PASS
<i>AKm60</i>	2.51	PASS	0.470	PASS
PCa69	3.72	PASS	0.361	PASS
<i>ROm85</i>	2.57	PASS	0.000	PASS
RP211	1.42	PASS	0.000	PASS
<i>ECa44</i>	2.26	PASS	0.373	PASS
<i>EC181</i>	2.10	PASS	0.000	PASS
<i>SCa08</i>	1.87	PASS	0.000	PASS
<i>BSa49</i>	2.44	PASS	0.000	PASS
<i>BSa25</i>	3.32	PASS	0.000	PASS
<i>BSa50</i>	1.77	PASS	0.000	PASS
<i>BSa69</i>	3.34	PASS	0.000	PASS
<i>LMa44</i>	4.11	PASS	0.408	PASS
<i>LMa17</i>	3.48	PASS	0.000	PASS
<i>LMa52</i>	3.27	PASS	0.000	PASS
<i>LBa53</i>	3.41	PASS	0.000	PASS
<i>LBa21</i>	1.88	PASS	0.000	PASS
<i>LPa51</i>	4.24	PASS	0.333	PASS
MSI-A	2.10	PASS	0.000	PASS
MSI-D	2.06	PASS	0.000	PASS
MPt20	3.58	PASS	0.418	PASS
<i>MRa66</i>	1.27	PASS	0.000	PASS

표 7-42의 결과를 보면 여러 균을 접종하여 발효한 미생물 발효차의 제품에 대한 검출된 곰팡이독소인 총아플라톡신과 오크라톡신 A의 검출량은 아주 극소량에 해당되어 인체에 위해가 되지 않는 것으로 나타났다. 미생물 발효차에서 검출되어진 총아플라톡신과 오크라톡신 A의 양은 식품공전에 명시된 허용기준치인 총아플라톡신은 15.0ppb 이하 그리고 오크라톡신 A는 5.0ppb이하로 설정된 것에 근거를 하면 아주 미비한 것으로 여겨지며 위생적으로 안전하다고 판단되어진다.

표 7-43. 곰팡이독소의 기준 및 규격 (식품공전)

총 아플라톡신(B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂ 의 합)	
대 상 식 품	기 준(μg/kg)
곡류, 두류, 팥콩, 견과류 및 그것을 단순 처리한 것(분쇄, 절단 등)	15.0 이하 (단, B ₁ 은 10.0 이하이어야 한다)
곡류가공품 및 두류가공품 (규격외 일반가공식품)	
장류 및 고춧가루 및 카레분	
육두구, 심황(강황), 건조고추, 건조파프리카 및 이를 함유한 천연향신료	
밀가루	
건조과실류	

오크라톡신 A(Ochratoxin A)	
대 상 식 품	기 준(μg/kg)
곡류 및 그것을 단순 처리한 것(분쇄, 절단 등)	5.0 이하
커피콩, 볶은커피	
인스턴트커피	10.0 이하
메주	20 이하
고춧가루	7.0 이하
포도주스, 포도주스농축액(원료용 포함, 농축배수로 환산하여), 포도주	2.0 이하
건조과실류	10.0 이하
영아용 조제식, 성장기용 조제식, 영·유아용 곡류 조제식, 기타 영·유아식	0.50 이하

나) 위해 요소파악

원·부자재별 · 공정별로 생물학적 · 화학적 · 물리적 위해요소와 발생원인을 모두 파악하여 위해요소분석을 위한 질문사항을 작성한다

(가) B(Biological hazards):생물학적 위해요소

곰팡이, 세균 바이러스 등의 미생물과 기생충 등을 포함한다. 생물학적 위해요소는 원·부자재의 생산 및 유통과정에서 작업장으로 유입될 수 있으며, 작업장 환경, 종업원, 식품성분, 제조·가공 과정 그 자체에 의하여 오염될 수 있다.

(나) C(Chemical hazards):화학적 위해요소

식품에서 자연적으로 존재하는 위해요소와 식품의 제조·가공·포장, 보관·유통 등의 과정에서 오염되는 위해요소로 구분된다. 식품의 생산 및 가공 중에 오염되는 화학적 위해요소는 의도적 또는 비의도적으로 첨가되거나 오염되는 독성 물질 또는 유해물질로서 허용외 식품첨가물, 세척제, 중금속, 잔류농약, 알러지 유발물질 등이 식품 생산시설, 장비, 기구 등에 사용되는 화학 물질들이 포함된다.

(다) P(Physical hazards):물리적 위해요소

원료와 제품에 내재하면서 인체의 건강을 해할 우려가 있는 인자 중에서 돌조각, 유리조각, 쇧조각, 플라스틱조각, 머리카락 등 단위위해요소

다) 위해 요소 평가

(가) 심각성 평가

원·부재료 및 공정별로 확인된 위해요소를 아래의 심각성 판단기준에 따라 해당 위해요소에 대한 심각성을 평가한다. 평가방법은 도출된 위해요소가 영향을 주는 최종소비자를 대상으로 심각성을 평가하여야 하며 같은 위해요소의 심각성은 소비자기준으로 동일한 위해요소임으로 같은 평가기준을 적용하였다. 위해평가 기준은 Codex 기준을 근거로 하였으며, Codex 기준에 없는 항목에 대해서는 FAO(1998), NACMCF 및 알기 쉬운 HACCP관리(식약청, 2009) 기준을 근거로 하였다.

• 심각성 평가기준

표 7-44. 위해요소 심각성 평가 기준

평가 기준		대상 항목		기준 점수
구분	기준내용	종류	내용	
높음	사망을 포함하여 건강에 중대한 영향을 미침 (급성장애: 위해수준이 높음)	B	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Clostridium botulinum</i> type A, B, E 및 F - <i>Salmonella typhi</i>; paratyphi A, B - <i>Shigella dysenteriae</i> - <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>Escheichia coli</i> O157:H7 - <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Vibrio vulnificus</i> - Hepatitis A,E virus - <i>Brucella spp.</i> - <i>Trichinella spiralis</i> 	3
		C	<ul style="list-style-type: none"> - 화학오염물질(이산화황) - 유해 중금속 - 자연독(패독,독버섯,복어독,botulinum toxin 등) - 아플라톡신 - 환경호르몬 	
		P	<ul style="list-style-type: none"> - 소비자에게 치명적인 해 또는 상처를 입힐 수 있는 물질 (급속성 이물, 유리조각 등) 	
보통	잠재적으로 넓은 전염성이 있는 것으로 입원(만성장애: 위해수준이 보통)	B	<ul style="list-style-type: none"> - 장내병원성 <i>Escheichia coli</i>(예; enterotoxin 생성균) - 분원성대장균군 - <i>Salmonella spp.</i> - <i>Shigell spp.</i> - <i>Vibrio parahaemolyticus</i> - Rota virus - Norwalk virus - <i>Campylobacter spp.</i> - <i>Streptococcus type A</i> - <i>Yersinia enterocolitica</i> - <i>Cryptosporidium parvum</i> - 진균 	2
		C	<ul style="list-style-type: none"> - 타르색소 - 잔류농약 - 잔류용제(톨루엔, 프탈레이트 등) - 잔류훈증약제 - 잔류세제 - Mycotoxins - Ciguatera toxin - 제조공정 중 생성되는 화학반응물질 - Solanine(감자 순에 들어있는 독) 	
		P	<ul style="list-style-type: none"> - 소비자에게 일반적인 위해 상처를 입힐 수 있는 물질 (경질이물 : 돌, 나무조각, 플라스틱 등) 	
낮음	제한적인 전염성이 있는것으로 개인에 제한된 질병 (무증상, 잠재적 장애: 위해수준이 낮음, 건강에 가벼운 영향, 질환)	B	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacillus cereus</i> - <i>Clostridium perfringens</i> - <i>Campylobacter jejuni</i> - <i>Yersinia enterocolitica</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - Most parasites - Coliforms 	1
		C	<ul style="list-style-type: none"> - Somnolence(졸음) 또는 일시적인 allergy 등의 증상을 유발하는 화학물질 오염 등(Histamine-like substances) - Toxin(enterotoxin) - 인공감미료 	
		P	<ul style="list-style-type: none"> - 소비자에게 단순한 위해 또는 상처를 입힐 수 있는 물질 또는 건전성에 위배되는 물질 (연질이물 : 탄화물, 머리카락, 실, 비닐, 벌레, 흙, 종이, 먼지, 불순물 등) 	

(나) 발생가능성 평가

발생가능성 근거는 아래의 자료를 활용하여 평가한다. 단 본 연구에서는 생물학적 위 해요소에 대하여 실험실 조건의 발효차 생산 시 도출된 위해요소의 5회 반복 실험을 통하여 발생 가능성을 도출하였다. 향후 산업화 단계에서 발효차 생산업체의 위해요소 발생 가능성은 제조현장의 실험을 통한 유효성이 평가되어야 할 것이다.

- 국내외의 발생 사례 및 문헌상의 발생가능성 조사자료
- 제조공정중의 소비자 불만 통계자료 등
- 작업장에서의 위생관리수준, 제품의 형태 및 용도, 대상 소비자 규제 요건 만족도
- 소비자불만·회수반품 불량 발생상황 등 기록
- 원·부자재, 제조공정에서 위해요소별 제공품, 완제품 등에 대한 공정 평가 통계 자료
- 발생가능성의 적용기준

표 7-45. 위해요소 발생가능성 평가 기준

구 분	발생가능성(빈도)	내 용	기준점수
높음	자주발생 (2건이상/월)	- 식품의 오염 또는 변질, 한계기준 이탈 가능성이 높은 결합사항	3
보통	가끔발생 (1건/월)	- 발생가능성 구분이 낮음 혹은 높음에 해당되지 않는 경우 모두 포함	2
낮음	발생안함 (0건/월)	- 작업장에서 식품의 오염 또는 변질, 기준 이탈 위험을 일으킬 수 있는 결합이 발견되지 않는 상태이거나, 예상되는 식품의 오염 또는 변질 가능성이 낮은 결합항	1

(다) 위해요소 평가방법으로 Codex는 Risk Matrix 방법을 사용하길 요구하고 있으며 그 방법으로는 3*3, 3*4, 3*5 방법을 제시하고 있다 본 연구에서의 위해요소 평가 방법은 식의약품안전처에서 요구하는 3*3방법을 활용하였다.

(라) 위해 평가표

발생가능성 (Likelihood of Occurrence)	높음(3)	3	6	9	[Preliminary Hazard Analysis "Classic Risk Level Matrix" 인용]
	보통(2)	2	4	6	
	낮음(1)	1	2	3	
		낮음(1)	보통(2)	높음(3)	

심각성(Severity)

- 1) 1 - 2점 = “No Hazard“
- 2) 3 - 9점 = “Hazard“
- 3) Hazard 해당 부분을 중요관리점 결정도에 적용하여 CCP와 CP로 구분한다.
- 4) 심각성 높음 및 실제 공정에서 발생하는 위해요소는 CCP결정도에서 DT(Decision tree)평가 대상으로 선정한다.

그림 7-9. 적용 Risk Matrix

라) 위해요소 분석표 작성

잠재적위해요소의 도출 및 발생원인을 분석하였고 이를 앞에서 제시한 심각성과 발생 가능성 평가를 통하여 식품의약품안전처에서 요구하는 평가방식에 의거 위해요소를 평가하여 그 결과로 다음의 위해요소 분석표를 작성하였다. 본 위해요소 분석표는 현재 개발 중인 한국산 발효차의 산업체 생산이 이루어지고 있지 않아 실험실 수준의 개발 실험 시 발생가능성을 실험을 통하여 진행하였으므로 향후 산업화가 이루어진다면 생산 현장에서의 발생 가능성은 현장조건으로 분석되어야 할 것이다.

(가) 원재료(모차) 위해 평가 결과

본 연구에 사용되어진 원료 모차를 대상으로 도출된 위해요소의 평가 결과 생물학적 위해요소인 E Coli O157:H7 와 물리적 위해요소인 나사, 못, 칼날이 심각성이 높아 위해로 확정되었다.

표 7-46. 원료 모차의 위해요소 평가 결과

원 부재료	구분	위해요소 (생물학적:B 화학적:C 물리적:P)	위해 평가		
			심각성	발생가능성	평가결과
모차	B	<i>Bacillus cereus</i>	1	1	1
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	3	1	3
		<i>Salmonella</i>	3	1	3
		<i>Listeria.monocytogenes</i>	3	1	3
		<i>E Coli O157:H7</i>	3	1	3
		대장균군	2	1	2
		진균	1	1	1
	C	항생물질	2	1	2
		납, 카드뮴	2	1	2
	P	나사, 못, 칼날	3	1	3
		돌, 모래, 플라스틱	2	1	2
		머리카락, 비닐, 지푸라기	1	2	2

(나) 위해요소 분석표

본 연구 결과 도출된 위해요소 분석표는 표 7-47과 같이 분석되어 졌다. 향후 발효차 산업화시 본 연구 결과를 기초로 생산 현장에서의 위해요소 분석에 도움이 될 것으로 기대되어진다.

표 7-47 한국산 발효차의 위해요소 분석표

원료명	구분 B, C, P	위해요소		위해 평가			예방조치 및 관리방법
		명칭	발생원인	심각성	발생 가능성	종합 평가	
원재료 입고 (모차)	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터의 오염 보관 환경 온도 습도 미흡 비위생적인 운반 작업자의 위생관리 소홀	1	1	1	보관창고 청결 상태 유지 보관 운송 관리 작업자 위생관리 입고검사 CCP-1B 증기공정
		<i>Staphylococcus.aureus</i>		3	2	3	
		<i>Salmonella spp.</i>		3	1	3	
		<i>Listeria.monocytogenes</i>		3	1	3	
		<i>E Coli O157:H7</i>		3	1	3	
		대장균군		2	1	2	
		진균		1	2	2	
	C	항생물질	원료자체에서 기인	3	1	3	매 입고시 공급업체 시험성적서 수령확인 1회/6개월 외부분석 확인
		중금속	원료 생산자의 작업조건 미준수	3	1	3	
	P	경질성 이물 (나사, 못, 칼날)	작업자의 위생관리 소홀 원료자체 유래	3	1	3	CCP-2P 금속검출공 정 입고검사 입고 시 이물 제거 이물 선별공정 관리 조도관리 작업자 위생교육
		경질성 이물 (돌, 모래, 플라스틱)		2	1	2	
		연질성 이물 (머리카락, 비닐, 지푸라기)		1	1	1	
	용수	B	대장균	부적절한 수처리로 잔존 주위환경부적합 배관 노후 및 물탱크 오염	2	1	2
분원성대장균			2		1	2	
C		이물 오염	1		1	1	
P		중금속	3		1	3	
포장재 (PET)	B	대장균	관리소홀 작업자 위생관리 미흡	2	1	2	협력업체 관리 검사관리(포장재 검 사) CCP-1B 증기공정
		<i>Staphylococcus.aureus</i>		3	1	3	
	C	잔류용제	포장재 기준치 초과 포장재 제조업체의 부적절 한 원료사용으로 용출	2	1	2	협력업체 관리 시험성적서 수령 및 확인 외부공인기관 검사의 뢰
		중금속		3	1	3	
	P	이물(머리카락, 곤충)	포장재료 취급 부적절	1	1	1	입고검사
포장재	P	이물(머리카락, 곤충)	포장재료 취급 부적절	1	1	1	입고 검사

• 공정별 위해분석표

원료명	구분 B, C, P	위해요소		위해 평가			예방조치 및 관리방법
		명칭	발생원인	심각성	발생 가능성	종합 평가	
원재료 입고	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터의 오염 보관 환경 온도 습도 미흡 비위생적인 운반 작업자의 위생관리 소홀	1	1	1	보관창고 청결 상태 유지 보관 운송 관리 작업자 위생관리 입고검사 CCP-1B 증기공정
		<i>Staphylococcus.aureus</i>		3	1	3	
		<i>Salmonella spp.</i>		3	1	3	
		<i>Listeria.monocytogenes</i>		3	1	3	
		<i>E Coli O157:H7</i>		3	1	3	
		대장균군		2	1	2	
		진균		1	1	1	
	P	경질성 이물 (나사, 못, 칼날)	작업자의 위생관리 소홀 원료자체 유래	3	1	3	CCP-2P 금속검출공정 입고검사 입고 시 이물 제거 이물 선별공정 관리 조도관리 작업자 위생교육
		경질성 이물 (돌, 모래, 플라스틱)		2	1	4	
		연질성 이물 (머리카락, 비닐, 지푸라기)		1	1	1	
용수 입고	B	대장균	부적절한 수 처리로 잔존 주위환경부적합 배관 노후 및 물탱크 오염	2	1	2	검사관리(수질검사) 년1회 정기수질 검사공인 기관에 의뢰 월1회 자체수질검사
		분원성대장균		2	1	2	
	C	이물 오염		1	1	1	
	P	중금속, 잔류염소		2	1	2	
포장재 입고	B	대장균	관리소홀 작업자 위생관리 미흡	2	1	2	협력업체 관리 검사관리(포장재 검사) CCP-1B 증기공정
		<i>Staphylococcus.aureus</i>		3	1	1	
	C	잔류용제	포장재 기준치 초과	1	1	1	협력업체 관리 시험성적서 수령 및 확인 외부공인기관 검사의뢰
		중금속	포장재 제조업체의 부적절 한 원료사용으로 용출	3	1	3	
	P	이물(머리카락, 곤충)	포장재료 취급 부적절	1	1	1	입고검사

• 공정별 위해분석표

원료명	구분 B, C, P	위해요소		위해 평가			예방조치 및 관리방법
		명칭	발생원인	심각성	발생 가능성	종합 평가	
발효	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터 오염	1	3	3	작업장 관리
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	작업환경으로부터 오염	1	1	1	작업자 위생관리
		대장균	제조시설, 설비로부터 오염	2	1	2	작업자 위생교육
		진균	운반도구에 의한 오염 낙하균에 의한 교차 오염	1	3	3	세척 소독 관리 발효시간 관리
	P	경질성 이물(금속조각)	취급 부주의로 발생	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)	부적절한 작업관리	1	1	1	작업자 위생교육
	C	총아플라톡신	원료의 부적절한 보관관리	3	1	3	완제품 검사1회/2개월
		오크라톡신 A	부적절한 발효 온·습도	3	1	3	(선행요건 제품검사)
건조	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터 오염	1	1	3	작업장 관리
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	작업환경으로부터 오염	3	1	3	작업자 위생관리
		대장균	제조시설, 설비로부터 오염	2	1	2	작업자 위생교육
		진균	운반도구에 의한 오염 낙하균에 의한 교차 오염	1	1	1	세척 소독 관리 발효시간 관리
	P	경질성 이물(금속조각)	취급 부주의로 발생	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)	부적절한 작업관리	1	1	1	작업자 위생교육 CCP-2P 금속검출공정
포자제거	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터 오염	1	1	1	작업장 세척 소독 관리
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	작업환경으로부터 오염	3	1	3	운반도구 세척 소독
		대장균	제조시설, 설비로부터 오염	2	1	2	작업자 위생교육
		진균	운반도구에 의한 오염 낙하균에 의한 교차 오염	1	2	2	청정도 관리
	P	경질성 이물(금속조각)	제조시설 설비로부터 유래	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)		1	1	1	작업자 위생교육
증기	B	<i>Bacillus cereus</i>	살균공정 관리 미흡으로 잔류	1	2	2	증기시설 기구 세척 소독
		<i>Staphylococcus.aureus</i>		3	1	3	운반도구 세척 소독
		대장균	부적절한 증기 시설 관리	2	1	2	증기실 청정도 관리
		진균	로 교차오염	1	2	2	
	P	경질성 이물(금속조각)	제소설비, 운반도구으로 교차오염	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)		1	1	1	작업자 위생교육
성형	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터 오염	1	1	1	작업장 세척 소독 관리
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	작업환경으로부터 오염	3	1	3	운반도구 세척 소독
		대장균	제조시설, 설비로부터 오염	2	1	2	작업자 위생교육
		진균	운반도구에 의한 오염 낙하균에 의한 교차 오염	1	2	2	청정도 관리
	P	경질성 이물(금속조각)	제소설비, 운반도구으로 교차오염	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)		1	1	1	작업자 위생교육
내포장	B	<i>Bacillus cereus</i>	작업자로부터 오염	1	2	2	작업장 관리
		<i>Staphylococcus.aureus</i>	작업환경으로부터 오염	3	1	3	작업자 위생관리
		대장균	제조시설, 설비로부터 오염	2	1	2	작업자 위생교육
		진균	운반도구에 의한 오염 낙하균에 의한 교차 오염	1	3	3	세척 소독 관리
	P	경질성 이물(금속조각)	취급 부주의로 발생	3	1	3	작업자 위생관리
		연질성 이물(끈, 끈충)	부적절한 작업관리	1	1	3	작업자 위생교육

(2) 중요관리점 결정

위해요소 분석결과 확정되어진 위해요소인 Staphylococcus.aureus, Salmonella spp., Listeria.monocytogenes, E Coli O157:H7, 중금속, 항생물질 등에 대하여 관리하기 위한 중요관리점의 결정은 Codex에서 권고하고 있는 CCP 결정표에 따라 실시하였다.

(가) 중요관리점(CCP) 결정 방법

중요관리점이란 위해요소 분석에서 파악된 위해요소를 예방, 제거 또는 허용 가능한 수준까지 감소시킬 수 있는 최종 단계 또는 공정을 말한다.

가) 중요관리점(CCP) 결정

(가) 중요관리점 결정도

중요관리점 결정도를 이용하여 위해요소분석(원칙1)의 위해평가 결과에서 중요 위해 (3점 이상)로 선정된 위해요소에 대하여 적용한다.

중요관리점(CCP) 결정도에 따라 중요관리점을 결정한다.

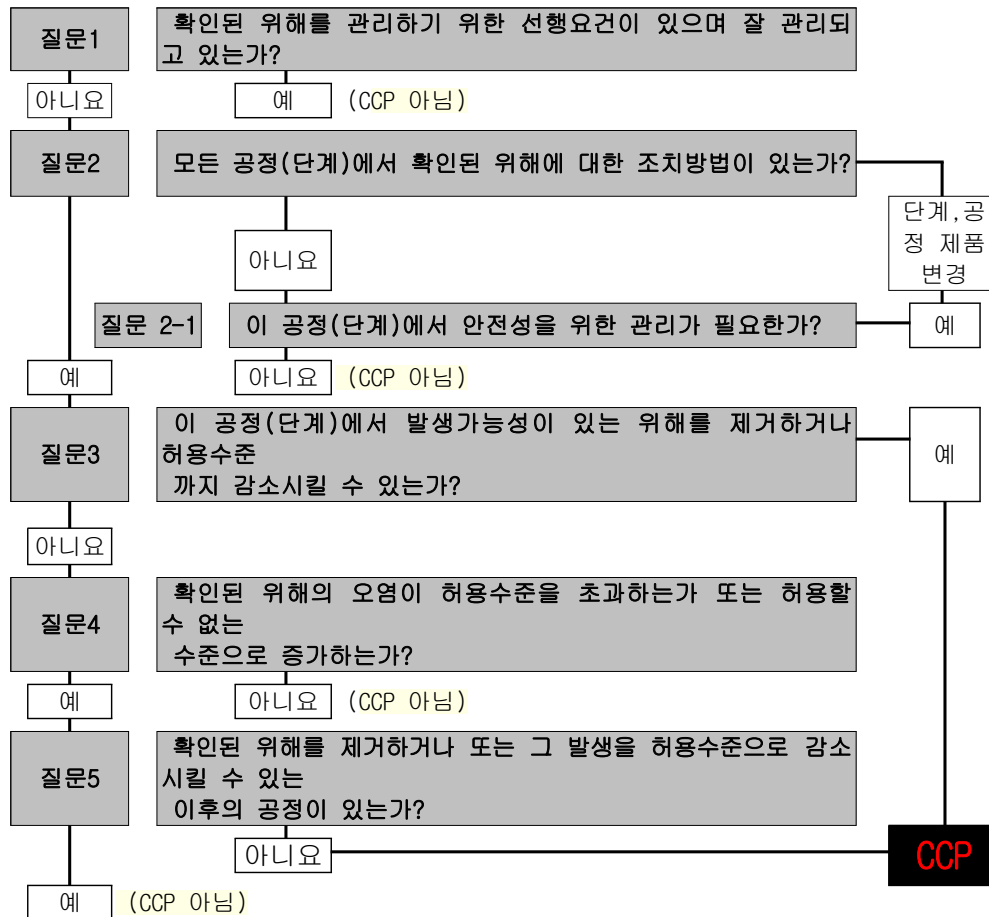


그림 7-10. 적용 CCP 결정표

(나) 중요관리점(CCP) 결정표 작성

위해요소 분석결과, 위험도가 높은 항목(Hazard)만 중요관리점(CCP) 결정도에 적용하고 그 결과를 중요관리점(CCP) 결정표에 작성하였다.

표 7-48. 중요관리점 결정표 양식

공정 단계	위해요소	질문1	질문2	질문2-1	질문3	질문4	질문5	중요관리점 결정
		예→CP 아니오→질문2	예→질문3 아니오→질문2-1	예→질문2 아니오→CP	예→CCP 아니오→질문4	예→질문5 아니오→CP	예→CP 아니오→CCP	

나) 중요관리점(CCP) 결정표

앞의 중요관리공정 결정표 및 방법을 이용하여 중요관리점(CCP) 결정표에 작성하였다.

(가) 원·부재료 CCP 결정표

표 7-49. 중요관리점 결정표(원·부재료)

원/부재료 공정명	구분 BCP	위해요소	질문1	질문2	질문2-1	질문3	질문4	질문5	중요 관리점 결정	
			확인된 위해요소를 관리하기 위한 선형요건 프로그램이 있으며 잘 관리되고 있는가?	이 공정이나 이후의 공정에서 확인된 위해의 관리를 위한 예방 조치 방법이 있는가?	이 공정에서 안전성을 위한 관리가 필요한가?	이 공정은 발생 가능한 위험수준까지 감소시키는가?	확인된 위해의 허용수준을 초과할 수 있는가? 또는 그 허용수준을 초과할 수 있는가?	이후의 공정에서 확인된 위해를 제거하거나 수준을 감소시킬 수 있는가?		
			Y:CCP아님 N:질문2	Y:질문3 N:질문2-1	Y:공정,제품 변경→질문2 N:CP임	Y:CCP임 N:질문4	Y:질문5 N:CP임	Y:CP임 N:CCP임		
모차	B	<i>E-coli O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
	P	금속성이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP	
포장재	B	<i>E-coli O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
		<i>Bacillus cereus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP	
			잔류용제	Yes					시험성적서	CP
			중금속	Yes					시험성적서	CP
		P	금속성이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP

(나) 제조공정 CCP 결정표

표 7-50. 중요관리점 결정표(제조공정)

공정 단계	위해 요소	질문1	질문2	질문2-1	질문3	질문4	질문5	중요 관리점 결정	
		선행요건 프로그램에 의해 관리 되고 있는 가?	확인된 위해에 대한 예 방조치 방법이 있는가?	해당공정 에서의 관리가 안정성 을 위해 여 필요 한가?	해당고정 은 식별 된 위해 요소를 제거 또는 허용수 준까지 감소 시키기 위하여 특별 히 고안 된 것 인가?	확인된 위해의 오염이 허용수 준을 초과 하지 않거나 또는 허용 할 수 없는 수준 으로 증가 하는 가?	확인된 위해를 제거 하거나 또는 그 발 생 을 허용 수준 이하 로 감소 시키 는 이 후의 공정 이 있 는가?		
		예→CP 아니오→ 질문2	예→질문3 아니오→ 질문2	예→질문2 아니오→ CP	예→CCP 아니오→ 질문4	예→질문5 아니오→ CP	예→CP 아니오→ CCP		
입고	B	<i>E - coli</i> <i>O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylo</i> <i>coccus.a</i> <i>ureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
보관	B	<i>E - coli</i> <i>O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylo</i> <i>coccus.a</i> <i>ureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
접종	B	<i>E - coli</i> <i>O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylo</i> <i>coccus.a</i> <i>ureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
발효	B	<i>E - coli</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes	CP

		<i>O157:H7</i>						증기공정	
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CPCP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
진조	B	<i>E - coli O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
포자제거	B	<i>E - coli O157:H7</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
		<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Yes	-	No	Yes	Yes 증기공정	CP
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
증기	B	<i>E - coli O157:H7</i>	No	Yes	-	Yes	-	-	CCP-1B
		<i>Listeria monocytogens</i>	No	Yes	-	Yes	-	-	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Yes	-	Yes	-	-	
	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP

성형	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
내포장	P	금속이물	No	Yes	-	No	Yes	Yes 금속검출	CP
금속 검출	P	금속이물	No	Yes	-	Yes	-	-	CCP-2P

나. 한계기준의 설정

한계기준은 CCP에서 취해져야 할 예방조치에 대한 한계기준을 설정하는 것이다. 한계기준은 CCP에서 관리되어야 할 생물학적, 화학적 또는 물리적 위해요소를 예방, 제거 또는 허용가능한 안전한 수준까지 감소시킬 수 있는 최대치 또는 최소치를 말하며, 안전성을 보장할 수 있는 과학적 근거에 기초하여 설정되어야 한다. 본 연구에서는 실험실 조건에서의 실험을 근거로 한계 기준을 수립하였다.

가) 한계기준 수립근거

(가) 증기공정(CCP-1B)

위해로 확정된 생물학적 위해에 대하여 CCP결정표에 의하여 증기공정이 중요관리 공정으로 결정되었으며 증기공정의 한계기준을 수립하기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

단 현재 개발이 진행 중인 제품인 관계로 생산 현장 조건이 아닌 실험실 조건에서 실험을 수행하였다.

- ① 미생물학적 위해로 설정된 *Listeria monocytogenes*, *E.coli* O157:H7의 사멸기준은 아래와 같다.

구 분	사멸 조건	참고자료
<i>Listeria monocytogenes</i>	70℃에서 최소 2분 정도 가열	위해요소 선형조사 결과 (식품nara, 식품안전정보서비스)
<i>E.coli</i> O157:H7	74℃에서 1분 이상 가열	소비자식품위생감시원 교육교재 (식품의약품안전청, 2009)

② 증기온도

- * 증기온도에 따른 미생물 살균 실험
(실험실 Water Bath 온도별 살균실험)

표 7-51. 증기공정 한계기준 설정 실험

구 분		살 균 시 간	대장균 (cfu/ml)	일반세균 (cfu/ml)	진균 (cfu/ml)	<i>Listeria monocytogene s</i>	<i>E.coli</i> 0157:H7
증기 살균전	선별반제품	-	음성	165군	309군	음성	음성
증기공정 후	증기온도 90℃	60 초	음성	5군	121군	음성	음성
	증기온도 95℃		음성	음성	67군	음성	음성
	증기온도 100℃		음성	음성	1군	음성	음성

증기가열 시간을 60초로 정하고 증기온도에 따른 살균효과실험에서 100℃ 증기온도에서는 진균 1군으로 나타났고 다른 미생물은 모두 사멸되어 음성으로 확인되었다. 따라서 증기공정의 한계기준 온도를 100℃ 이상으로 살균하는 것이 가장 안전성을 확보할 수 있는 이상적인 살균온도로 판단된다.

(나) 금속검출공정(CCP-2P)

금속검출 공정의 한계기준 수립을 위하여 타 제조업체의 금속검출기(나우시스템, NMD-430D)를 대상으로 실험하였으며 아직 포장의 재질 및 형태가 확정되지 않은 관계로 PE 재질의 포장을 인위적으로 실시하고 금속 테스트피스를 제품 포장 내부에 혼입하여 실험 하였다.

표 7-52. 금속검출공정 한계기준 설정 실험

구 분	재 질 (테스트피스)	사이즈 (\varnothing ,mm)	측정 횟수	검출 횟수	검출 정도
금속검출기	Fe	0.8	10	0	검출못함
		1.0	10	0	검출못함
		1.2	10	5	50%
		1.5	10	8	8%
		2.0	10	10	100%
	SUS	1.5	10	0	검출못함
		2.0	10	9	90%
		2.5	10	10	100%

제품에 테스트피스를 넣고 금속검출기에 통과시켜 100% 검출되는 테스트피스의 크기를 한계기준으로 설정 하였다.

- 금속검출기 한계기준: Fe \varnothing 2.0mm, SUS \varnothing 2.5mm 이상 불검출

나) 한계기준 수립

한계기준 설정을 위한 실험 결과 표 7-52와 같이 한계기준을 수립하였다 이는 실험실 조건임을 감안하고 향후 산업화 단계에서는 작업 현장 조건에서 직접 실험을 통하여 한계기준의 유효성을 보장하여야 할 것으로 판단된다.

표 7-53. 발효차 한계기준

CCP No.	제조공정	위해요소		발생원인	한계기준
		구 분	명 칭		
CCP-1 B	증기	B	- <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>Escheichia coli</i> <i>O157:H7</i>	- 공정 중 오염 - 작업자에 의한 오염	●증기온도: 100℃ 이상 ●증기시간: 60초 이상
CCP-2 P	금속검출	P	- 금속성 이물(Fe, SUS)	- 제조공정중 유입 - 원료에서 잔존 - 금속검출기 감도불량으로 금속이물 혼입	●테스트피스 제품 -Fe: \varnothing 2.0mm 이상 불검출 -SUS: \varnothing 2.5mm 이상 불검출

다. 중요관리점에 대한 모니터링 체계 확립

모니터링이란 CCP에 해당하는 공정이 한계기준을 벗어나지 않고 안정적으로 운영 되도록 관리하기 위하여 작업자 또는 기계적인 방법으로 수행하는 일련의 관찰 또는 측정수단이다.

모니터링 체계를 수립하여 시행하게 되면, 첫째, 작업과정에서 발생하는 위해요소의 추적이 용이하며, 둘째, 작업공정중 CCP에서 발생한 기준 이탈(Deviation) 시점을 확인할 수 있으며, 셋째, 문서화된 기록을 제공하여 검증 및 식품사고 발생시 증빙자료로 활용할 수 있다.

가) 모니터링 시 유의점

- ① CCP를 모니터링하는 담당자는 해당 CCP에서의 모니터링 항목과 모니터링 방법을 효과적으로 올바르게 수행할 수 있도록 기술적으로 충분히 교육·훈련되어야 한다.
- ② 모니터링 결과에 대한 기록은 예/아니오 또는 적합/부적합 등이 아닌 실제로 모니터링한 결과를 정확한 수치로 기록해야 한다.

나) 모니터링 체계 확립을 위한 방법

- ① 각 원료와 공정별로 가장 적합한 모니터링 절차를 파악한다.
- ② 모니터링 항목을 결정한다.
- ③ 모니터링 위치/지점, 방법을 결정한다.
- ④ 모니터링 주기(빈도)를 결정한다.
- ⑤ 모니터링 결과를 기록할 서식을 결정한다.
- ⑥ 모니터링 담당자를 지정하고 훈련시킨다.

다) 모니터링 방법 효과성 판단 방법

- ① 모든 CCP가 포함되어 있는가?
- ② 모니터링의 신뢰성이 평가되었는가?
- ③ 모니터링 장비의 상태는 양호한가?
- ④ 작업현장에서 실시하는가?
- ⑤ 기록서식은 사용하는데 편리한가?
- ⑥ 기록은 정확히 이루어지는가?
- ⑦ 기록은 실시간으로 이루어지는가?
- ⑧ 기록이 지속적으로 이루어지는가?

- ⑨ 모니터링 주기가 적절한가?
- ⑩ 시료채취 계획은 통계적으로 적절한가?
- ⑪ 기록결과는 정기적으로 통계처리하여 분석하는가?
- ⑫ 현장 기록과 모니터링 계획이 일치하는가?

라. 발효차의 모니터링 방법 설정

모니터링 시 유의사항 및 모니터링 체계확립 절차, 효과성 파악 근거를 반영하여 발효차 제조공정의 모니터링 방법은 표 7-54. 와 같이 수립하였다.

표 7-54. 발효차 모니터링 방법 수립

공정명	CCP	한계기준	모니터링 방법			
			대상	방 법	주기	담당자
증기	CCP-1B	-증기온도: 10 0℃ 이상 -증기시간: 60초 이상	가열 시간, 온도	1. 가열기의 정상작동 유무를 확인한다 2. 가열기에서 가열 온도와 가열 시간을 모니터링 일지에 기록한다. 3. 모니터링 일지를 HACCP 팀장에게 승인받는다.	작업 전 후/ 2시간 마다 등	공정담당
금속검출	CCP-2P	-Fe: ø 2.0mm 이상 불검출 -SUS: ø 2.5mm 이상 불검출	금속 검출 기 감도	1. 금속검출기에 테스트피스를 좌, 우, 중간에 통과시켜 검출 여부를 CCP-4P 모니터링일지에 기록하고 HACCP팀장에게 보고한다 2. 제품의 상, 중, 하에 테스트피스를 첨가하여 금속검출기를 통과시켜 검출여부/ 통과되는 공정품의 검출여부를 모니터링 일지에 기록하고 HACCP팀장에게 보고한다	작업 전 후/ 2시간 마다 등	공정담당

마. 개선조치 계획의 수립

가) 개선조치의 개요

HACCP 계획은 식품으로 인한 위해요소가 발생하기 이전에 문제점을 미리 파악하고 시정하는 예방체계 이므로, 모니터링 결과 한계기준을 벗어날 경우 취해야 할 개선 조치방법을 사전에 설정하여 신속한 대응조치가 이루어지도록 하여야 한다. 일반적으로 취해야할 개선조치 사항에는 공정상태의 원상복귀, 한계기준 이탈에 의해 영향을 받은 관련식품에 대한 조치사항, 이탈에 대한 원인규명 및 재발방지 조치,

HACCP 계획의 변경 등이 포함된다.

나) 개선조치 방법 설정에 대한 질문사항

- ① 이탈된 제품을 관리하는 책임자는 누구이며, 기준 이탈시 모니터링 담당자는 누구에게 보고 하여야 하는가?
- ② 이탈의 원인이 무엇이며, 어떻게 결정할 것인가?
- ③ 이탈의 원인이 확인되면 어떤 방법을 통하여 원래의 관리상태로 복원시킬 것인가?
- ④ 한계기준이 이탈된 식품(반제품 또는 완제품)은 어떻게 조치할 것인가?
- ⑤ 한계기준 이탈시 조치해야 할 모든 작업에 대한 기록·유지 책임자는 누구인가?
- ⑥ 개선조치 계획에 책임있는 사람이 없을 경우 누가 대신 할 것인가?
- ⑦ 개선조치는 언제든지 실행가능한가?

다) 개선조치 방법 확립 절차

- ① 각 CCP별로 가장 적합한 개선조치 절차를 파악한다.
- ② CCP별로 잠재적 위해요소의 심각성에 따라 차등화하여 개선조치 방법을 결정한다.
- ③ 개선조치 결과의 기록서식을 결정한다.
- ④ 개선조치 담당자를 지정하고 교육·훈련시킨다.

라) 개선조치 완료 후 확인해야 할 기본사항

- ① 한계기준 이탈의 원인이 확인되고 제거되었는가?
- ② 개선조치후 CCP는 잘 관리되고 있는가?
- ③ 한계기준 이탈의 재발을 방지할 수 있는 조치가 마련되어 있는가?
- ④ 한계기준 이탈로 인해 오염되었거나 건강에 위해를 주는 식품이 유통되지 않도록 개선조치 절차를 시행하고 있는가?

마) 개선조치 계획의 수립

발효차의 CCP 공정인 증기공정과 금속검출 공정의 한계기준 모니터링 결과 한계기준 이탈시의 개선조치 방법의 수립은 개선조치의 방법대로 조치 시 안전한 식품의 생산이 확보되어야한다. 발효차 제조공정의 CCP공정 개선조치계획은 표 7-55와 같이 수립하였다.

표 7-55. 발효차 개선조치 계획 수립

공정명	CCP	개선조치 방법
증기	CCP-1B	<ol style="list-style-type: none"> 1. 한계기준 [가열 온도(품온), 가열시간(품온 유지시간) 등] 이탈 시 <ul style="list-style-type: none"> ○ 공정 담당자는 즉시 작업을 중지한다. ○ 해당 제품은 즉시 재가열하고 CCP 모니터링 일지에 이탈사항과 개선조치사항을 기록하고 생산관리팀장, HACCP팀장에게 보고한다. ○ 해당로트 제품을 품질관리 팀장에게 공정품 검사를 의뢰한다. 2. 기기 고장인 경우 <ul style="list-style-type: none"> ○ 공정 담당자는 즉시 작업을 중지하고 공정품을 보류한 뒤 CCP 모니터링 일지에 이탈사항을 기록하고 공무팀에 수리를 의뢰한다. ○ 수리완료 후 공정품은 재가열한다. ○ CCP 모니터링 일지에 개선조치사항을 기록하고 생산관리팀장, HACCP팀장에게 보고한다. ○ 해당로트 제품을 품질관리 팀장에게 공정품 검사를 의뢰한다.
금속검출	CCP-2P	<ol style="list-style-type: none"> 1. 제품에 금속 혼입될 경우 <ul style="list-style-type: none"> ○ 공정 담당자는 즉시 작업을 중지한다. ○ 해당 제품을 재 통과하여 확인하고 혼입이 확인 될 경우 CCP 모니터링 일지에 이탈사항과 개선조치사항을 기록하고 생산관리팀장, HACCP팀장에게 보고한다. ○ 해당로트 제품을 품질관리 팀장에게 공정품 검사를 의뢰한다. 2. 기기 고장인 경우 <ul style="list-style-type: none"> ○ 공정 담당자는 즉시 작업을 중지하고 공정품을 보류한 뒤, CCP 모니터링 일지에 이탈사항을 기록하고 공무팀에 수리를 의뢰한다. ○ 수리완료 후 CCP 모니터링 일지에 개선조치사항을 기록하고 생산관리팀장, HACCP팀장에게 보고한다. ○ 해당로트 제품은 재통과시킨다. 3. 감도 저하의 경우 <ul style="list-style-type: none"> ○ 공정 담당자는 즉시 작업을 중지하고 공정품을 보류한 뒤, CCP 모니터링 일지에 이탈사항을 기록하고 기기 감도를 측정하여 한다. ○ 감도 확인 후 CCP 모니터링 일지에 개선조치사항을 기록하고 생산관리팀장, HACCP팀장에게 보고한다. ○ 해당로트 제품을 품질관리 팀장에게 공정품 검사를 의뢰한다.

(바) 검증절차 및 방법설정

가) 적용범위

본 기준서는 당사에서 생산하여 공급하는 빙과류 제품의 안전성 보증을 위해 실시하는 HACCP 관련 제반 관리활동의 적절성과 효과성을 평가하기 위한 일련의 관리 절차와 방법에 대하여 적용한다.

나) 목적

본 기준서는 당사의 HACCP 관리체제의 적절성과 효과성을 평가하여 항상 효율적인 HACCP 관리 체계가 수립 및 운영되게 함으로써 빙과류의 안전성을 보증하게 함에

그 목적이 있다.

다) 용어의 정의

(가) 유효성(Validation)

수립된 관리체계 및 그 운영의 결과가 과학적 타당성을 유지하면서 효과적으로 적절히 운용되는 상태를 말한다.

(나) 검증(Verificattion)

식품위해요소중점관리계획이 적절한지 여부를 정기적으로 평가하는 일련의 활동 (적용방법과 절차, 확인 및 기타 평가 등을 수행하는 행위를 포함한다.)을 말한다.

(다) 내부검증

당사에서 자체적으로 검증원을 구성하여 실시하는 검증을 말한다.

(라) 외부검증

정부 또는 적격한 제3자가 검증을 실시하는 경우로 식품의약품안전청에서 HACCP 적용업소에 대하여 연1회 실시하는 사후 조사·평가를 포함한다.

(마) 검증원

검증에 관한 업무를 수행한다.

(바) 일상검증

일상적으로 발생하는 HACCP 기록문서 등에 대하여 검토·확인하는 것을 말한다.

(사) 특별 검증

새로운 위해정보가 발생시, 해당식품의 특성 변경시, 원료·제조공정 등의 변동시, HACCP 계획의 문제점 발생시 실시하는 검증을 말한다.

(아) 최초검증

HACCP 계획을 수립하여 최초로 현장에 적용할 때 실시하는 HACCP 계획의 유효성평가(Validation)를 말한다.

(자) 정기검증

정기적으로 HACCP 시스템의 적절성을 재평가하는 검증을 말한다.

라) 책임과 권한

(가) HACCP 팀장

- 검증팀의 구성과 검증팀장, 검증원을 선임 임명한다.
- HACCP Plan 및 선행요건 프로그램 유효성평가 실시계획 및 결과를 승인한다.
- HACCP Plan 및 관리체제의 특별검증 결과를 검토 및 승인한다.

- 유효성 평가결과 부적합 사항의 신속한 개선조치를 지원한다.
- 검증활동에 대한 유효성 확인을 실시한 결과를 검토하여 승인한다.

(나) 검증팀장

- 각 검증원에 대한 자격인증과 검증임무를 부여한다.
- HACCP Plan 및 HACCP 관리체제 특별검증을 실행한다.
- 검증후 HACCP팀 회의시 검증 결과를 보고한다.

(다) 검증원

- 승인된 검증계획에 의거하여 검증을 수행한다.
- 해당 검증항목에 대한 검증 결과 보고서를 작성한다.

(라) 품질관리팀

- 정기 검증계획을 수립하여 HACCP 팀장의 승인을 득한다.
- 유효성 평가관련 개선조치의 확인 및 결과기록을 보관·관리한다.

(마) 각 부서장(팀장)

- HACCP 관리체제의 해당 부문 유지관리 및 일상검증을 시행한다.
- 검증으로 확인된 부적합사항에 대한 개선대책 수립후 시행한다.

마) 검증의 실시 시기

(가) 최초검증

HACCP 계획의 최초 실행과정, 즉 해당 계획서가 작성된 이후 현장에 적용하면서 실제로 해당 계획이 효과가 있는지 확인하며, 다음 사항에 대하여 실시한다.

- ① 선행요건프로그램의 개정 필요성
- ② 문서화된 HACCP Plan의 유효성
- ③ 문서화된 HACCP Plan에 따른 실행의 효과성(기록·분석 및 실증시험)
- ④ 제품별 HACCP 관리계획이 완성되면, 다음 사항에 대하여 실시한다.
 - 대상제품의 기초정보 파악결과의 적절성(제품설명서, 공정흐름도, 설비배치도 등)
 - 대상제품관련 선행요건프로그램의 적절성(위생관리, 검사업무, 보관관리 등)
 - 대상제품 HACCP Plan의 합리성 및 적절성(위해분석, 중요관리점, 모니터링, 개선 조치방법, 검증방법, 기록관리방법 등)
 - HACCP 관리계획 검증시 식품의약품안전청이 고시한 HACCP 실시상황평가표를 이용하여 실시하며 시험결과 또는 검증 결과 보고서를 첨부한다.

(나) 일상검증

- ① 일상검증은 각 기준서에서 정한 해당 모니터링 활동을 관리하는 팀장이 실시함을 원칙으로한다.
- ② 일상검증은 다음 중 하나 이상의 방법으로 실시한다.
 - 모니터링 활동 결과 기록의 검토(한계기준 이탈여부, 개선조치 실시여부 등)
 - 현장 입회관찰
 - 모니터링 항목이 의도하는 안전성 목표에 대한 검증시험(미생물 시험 등)
 - 일상검증 실시결과는 해당 팀장의 검토와 HACCP 팀장의 승인으로 종결 처리한다.

(다) 정기검증

- ① 정기검증은 각 기준서에서 정한 모니터링 활동의 유효성과 효과성을 평가하기 위하여 연간검증 계획서에 의거 HACCP 팀장이 실시함을 원칙으로 한다.
- ② 정기검증은 다음중 하나 이상의 방법으로 실시한다.
 - 모니터링 활동 결과 기록의 통계적 분석(Data 분석, 그래프 분석 등)
 - 독립된 인원에 의한 해당 모니터링 항목의 입회관찰
 - 안전성 목표 달성에 관한 검증시험(미생물 시험, 기기분석, 공인기관시험의뢰 등)

(라) 특별검증

- ① HACCP 관리계획의 식품이나 공정상에 실질적인 변경사항이 있는 경우, 또는 기존 계획서가 충분히 효과적이지 못할 수 있음을 나타내는 경우마다 실시한다.
- ② 새로운 위해정보가 발생시, 해당식품의 특성 변경시, 원료·제조공정 등의 변동시, HACCP 계획의 문제점 발생시 실시한다.
- ③ 다음과 같은 상황이 발생될 시 특별검증(재평가)을 실시한다.
 - 해당식품과 관련된 새로운 안전성 정보가 있을 때
 - 해당 식품이 식중독, 질병 등과 관련 될 때
 - 설정된 한계기준이 맞지 않을 때
 - HACCP 계획의 변경시(신규원료 사용 및 변경, 원료 공급업체의 변경, 제조공정의 변경, 신규 또는 대체 장비도입, 작업량의 큰 변동, 섭취대상의 변경, 공급체계의 변경, 종업원의 대폭 교체)

바) 검증의 내용

(가) 유효성 평가

- ① 수립된 HACCP 계획이 해당식품이나 제조라인에 적합한지 즉, HACCP 계획이 유효

바르게 수립되어 있어 충분한 효과를 가지는 지를 확인하는 것이다.

② 유효성 평가는 다음과 같은 사항을 점검한다.

- 발생가능한 모든 위해요소를 확인·분석하였는지 여부
- 제품설명서, 공정흐름도의 현장 일치 여부
- CP, CCP 결정의 적절성 여부
- 한계기준이 안전성을 확보하는데 충분한지 여부
- 모니터링 체계가 올바르게 설정되어 있는지 여부

③ HACCP 계획의 유효성 평가에서는 설정한 CCP 및 한계기준이 적절한지, HACCP 계획이 효과적 인지 확인하기 위한 수단으로 미생물 또는 잔류 화학물질 검사 등을 이용한다.

(나) HACCP 계획의 실행성 검증

① HACCP 계획이 수립된 대로 효과적으로 이행되고 있는지 여부를 확인한다.

② 실행성 검증은 다음과 같은 방법으로 시행한다.

- 작업자가 CCP 공정에서 정해진 주기로 측정이나 관찰을 수행하는지 현장 입회 관찰한다.
- 한계기준 이탈시 개선조치를 취하고 있으며, 개선조치가 적절한지 확인하기 위한 기록을 검토한다.
- 개선조치 실제 실행여부와 개선조치의 적절성 확인을 위하여 기록의 완전성·정확성 등을 자격 있는 사람이 검토하고 있는지 확인한다.
- 검사·모니터링 장비의 주기적인 검·교정실시 여부 등을 확인한다.

사) 검증의 실행

(가) 검증 계획의 수립

① 품질관리팀은 전 년도에 실시한 검증결과를 근거로 당해연도의 연간 검증계획서를 작성한다.

② 당해 년도 계획수립은 매년 1월에 작성하여 검토 및 HACCP 팀장의 승인을 받는다.

표 7-56. 연간검증 계획 수립 예시

년 간 검 증 계 획 서				결 재													
				작 성	검 토	승 인											
부서 :			확인자 :			작성일자 :						범례 : 검증계획 ○, 검증실시 ●					
검증종 류	검증주 기	검증항 목	세부 검증항목	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10 월	11 월	12 월		

③ 계획수립시 검증종류, 검증원, 검증항목, 검증일정 등을 포함하여 수립한다.

(나) 검증원 선임

① 검증원 자격

HACCP 팀장은 연간 검증계획서에 근거하여 아래 항목에 1항목 이상 갖춘 자를 선임하여 임명하고 검증원 자격 인증서를 발부한다.

- 회사의 대리급 이상의 간부
- 품질업무와 검사 및 실험업무를 1년 이상 담당한 자
- HACCP 전문가 과정 또는 팀장과정을 공인기관에서 수료한 자
- 공인기관 전문 검증자 또는 식품관련 연구원
- 현장관련 업무를 2년이상 담당한 자
- 동종 업종에서 2년 이상 경력을 갖추고 당사에서 1년 이상 근속하고 공정흐름을 이해한 자

② 검증팀장은 HACCP 팀장이 검증원 가운데서 선임한다.

(다) 검증팀 회의

- ① HACCP팀장은 HACCP 계획의 관리체계에서 식품의 위해요소가 발생했을 시 검증원을 소집하여 검증 실행 계획을 논의한다.
- ② 정기검증은 정해진 일과 대상, 방법에 따라 세부 계획을 논의한다.
- ③ 비정기검증(특별검증)은 발생 부적합에 따라 현장 상황을 고려하여 검증일, 검증대상, 검증 방법을 논의한다.
- ④ 검증팀 회의 후 검증실시 5일전에 피검증부서에 검증일, 검증장소, 검증팀원 등을 통보하고 필요한 문서 및 자료를 요청하여 원활한 검증이 이루어지도록 한다.

(라) 검증 항목 설정

검증원은 검증점검표의 검증항목란에 검증항목을 정한다. 주요 항목의 검증시 고려해야 할 사항은 다음과 같다.

① 위해요소 분석결과의 검증

- 선형요건 프로그램은 최종 위해요소 분석 수행 시와 동일한 신뢰수준을 유지하면서 운영, 관리되고 있는가?
- 제품설명서, 유통경로, 용도와 소비자 등이 정확히 기술되어 있으며, 작업장 평면도, 환기 및 공조 시설계통도, 용수 및 배수 처리계통도 등이 현장과 일치하는가?
- 예비단계에서 수집된 위해관련 정보가 충분하며, 정확한가?
- 원료별, 공정별, 발생가능성과 심각성을 고려하여 평가한 위해평가결과가 동일한수준으로 판단되는가?
- 위해요소를 관리하기 위한 예방조치방법이 이 식품 및 공정에서 가장 적합한 방법인가?
- 관리방법이 신뢰할 수 없거나 또는 효과적이지 않다는 것을 나타내는 모니터링 기록이나 개선조치 기록이 있는가?
- 보다 효과적으로 관리할 수 있는 새로운 정보가 있는가?

② CCP의 검증

- 현행 CCP가 위해요소 관리를 위한 공정상의 최적의 선택인가?
- 생산제품, 제조공정, 작업장 환경변화 등으로 인하여 현행 CCP가 위해를 관리하기에 충분하지 않은가?
- CCP에서 관리되는 위해요소가 더 이상 심각한 위해가 아니거나 또는 다른 CCP에서 보다 효과적으로 관리되고 있는가?

③ 한계기준의 평가

- 설정된 한계기준이 과학적인 근거를 충분히 가지고 있는가?
- 관련된 새로운 위해관련 정보가 있는가?
- 위항의 정보가 기존의 한계기준을 변경하도록 요구하는가?
- 한계기준 변경시 생산제품에 대한 응용연구 결과, 문헌보고 내용, 식품안전관련 관계법령 변경 등 모든 정보, 자료를 근거로 한계기준에 대한 재평가를 수행 후 변경하였는가?

④ 모니터링 활동의 재평가

- 개별 CCP에서의 감시활동 내용이 정확한가?
- 모니터링 활동은 해당 공정이 한계기준 이내에서 운영되고 있는지를 판정할 수 있는가?
- 모니터링 활동은 관리활동이 보증될 수 있는 충분한 빈도로 실시하고 있는가?
- 안정적인 관리상태 유지를 위해서 공정조정 혹은 개선조치가 얼마나 자주 요구되는가?
- 보다 좋은 모니터링 방법이 있는가?
- 모니터링 도구 및 장비가 제대로 기능을 발휘하고 있으며, 교정된 상태를 유지하는가?
- 빈번한 이탈현상이 자동화된 모니터링 체계에 따른 문제점으로 밝혀진 경우에는 수동 모니터링 체계 및 다른 방법을 강구하였는가?

⑤ 개선조치의 평가

- 현행 개선조치가 모니터링 활동 내지는 한계기준 이탈 현상을 개선하고 관리하는데 적절한가?
- 이탈사항 발생시 개선조치 수립 내용이 반영되고 있는가?

⑥ 그 외 검증 대상에 따라 검증항목을 달리 정할 수 있으며 발생 가능한 모든 항목을 상세히 기록하여 누락되지 않도록 한다.

⑦ 선행요건프로그램의 검증항목은 식품의약품안전청이 발행한 선행요건평가표를 활용할 수 있다.

(마) 검증 활동

피검증부서는 검증에 필요한 모든 자료를 제공해야 한다. 검증활동은 크게 1)기록의 확인, 2)현장조사, 3) 시험·검사로 구분 할 수 있다.

① 기록의 확인

- 현행 HACCP 계획, 이전 HACCP 검증보고서(선행요건프로그램 포함), 모니터링

활동(검·교정기록 포함), 개선조치사항 등의 기록을 검토한다.

- 정기·특별검증 시에는 모든 기록을 광범위하게 검토하기 보다는 당사의 특성을 고려하여 특히 중요한 부분에 해당되는 모니터링 활동 및 CCP 기록만을 검토한다.
- 모니터링 활동의 누락, 결과의 한계기준 이탈, 개선조치 적절성, 즉시 이행 및 유지에 대해 검토한다.

② 현장조사

- 설정된 CCP의 유효성 확인
- 담당자의 CCP 운영, 한계기준, 감시활동 및 기록관리 활동에 대한 이해 확인
- 한계기준 이탈시 담당자가 취해야 할 조치사항에 대한 숙지 상태 확인
- 모니터링 담당 종업원의 업무 수행상태 면담 및 입회 관찰 확인
- 공정중의 모니터링 활동 기록의 일부 확인

③ 시험·검사

- CCP가 적절히 관리되고 있는지 검증하기 위하여 주기적으로 시료를 채취하여 실험분석을 실시한다.
- 검증점검표의 검증항목에 의한 검증활동 사항을 검증점검표의 점검 내용란에 기입한다.

(바) 부적합 보고서 작성

① 다음 각 호의 사항에 해당하는 경우에는 경부적합으로 판정한다.

- 선형요건프로그램에 따른 과업의 우발적 실수 또는 누락.
- HACCP Plan 개발 관련의 정보과약이 누락되었지만 제품 안전성에는 문제가 없는 것으로 판단되는 경우
- 기타 제품의 안전성에 직접 영향을 미치지 않는 작업실수 또는 누락으로 7일 이내에 개선 조치의 완료가 가능한 부적합

② 다음 각 호의 사항에 해당하는 경우에는 중부적합으로 판정한다.

- 선형요건프로그램에 따른 과업의 의도적 누락 또는 반복적 실수
- 제품의 안전성에 직접 영향을 미치는 관련 정보의 누락
- HACCP Plan의 CCP에 대한 감시활동 또는 검증활동의 누락
- HACCP Plan에 따른 모니터링 또는 검증절차가 한계기준을 벗어났음에도 개선 조치를 취하지 못한 경우
- HACCP Plan에 따른 감시활동 결과 이상경향을 나타내고 있음에도 개선조치를

취하지 않고 있는 경우

- ③ 검증팀은 관찰된 부적합 사항을 검증 부적합 보고서의 부적합 사항란에 기입하고, 개선조치 방법에 대하여 개선조치 계획란에 기입한다.
- ④ 부적합 내용은 사실에 근거하여야 하며, 반드시 객관적 증거가 있어야 한다. 증거자료로 일지 및 사진, 실험 값 등을 첨부한다.
- ⑤ 부적합 내용은 6차 원칙에 의거하여 누구나 그 내용을 명확히 알 수 있도록 기술하여야 한다.
- ⑥ 검증원은 검증 부적합 보고서를 발행하여 피검증부서의 확인 서명을 받아 1부는 피검증부서에 발부하고 1부는 품질관리팀에 보관한다.

(사) 개선조치

- ① 피 검증부서는 검증 부적합 보고서에는 지적된 사항에 대하여 발행일로부터 30일 내에 개선조치를 실시하여야 한다.
- ② 피 검증부서는 검증 부적합 보고서에서 지적한 부적합 사항의 원인을 파악한다.

표 7-57. 검증 부적합 보고서 예시

	검증 부적합 보고서			결	작성	검	승
				재	성	토	인
부서명 :	작성자 :			작성일자 : 20 . . .			
검증종류	<input type="checkbox"/> 최초 검증 <input type="checkbox"/> 정기 검증 <input type="checkbox"/> 수시 검증 <input type="checkbox"/> 특별 검증						
검증팀	검증팀장		검증원		검증원		
	검증원		검증원		검증원		
구분	부적합 내용				개선조치 계획		
	검증 항목	부적합 사항					

- 피 검증부서는 개선조치의 계획을 수립하고 수립된 계획에 따라 검증 개선조치 결과 보고서에 개선조치 내용을 작성한다.
- 피 검증부서는 작성한 검증 개선조치 결과 보고서를 검증팀장에게 승인을 받아 조치한다.
- 개선조치가 30일 이내에 이루어질 수 없는 경우 피 검증부서는 검증팀장과 협의하여 개선조치 기간을 연장할 수 있다.
- 피 검증부서는 작성된 검증 개선조치 결과 보고서 1부는 검증팀에 송부하고 1부는 품질관리팀에 제출한다.

- 검증원은 검증 개선조치 결과 보고서 검토결과가 미흡할 경우 재 개선을 요구할 수 있으며 피검증부서는 재 개선조치를 실시하고, 그 결과를 검증팀에게 검토 받아야 한다.

(아) 사후관리

- ① 검증팀은 검증 결과 보고서를 작성한다.
- ② 검증팀은 개선조치 결과에 대한 유효성을 확인하여 검증 결과 보고서에 기록한다.
- ③ HACCP 팀장은 검증 결과 보고서를 검토하여 검증의 유효/적합성 평가실시후 검증 결과보고서의 검증 적합성 평가 확인란에 기록한다.
- ④ 품질관리팀은 검증활동 중 발생한 HACCP 계획의 개(수)정 사항을 확정하고 개정된 내용은 해당부서에 통보하고, 해당 부서에서는 관련 내용을 교육한 후 사내 교육·훈련 보고서를 작성하여 기록을 유지한다. 해당 부서는 검증내용에 따라 관리함으로써 검증활동을 종결한다.
- ⑤ HACCP 팀장은 검증팀의 검증자료 일체를 품질관리팀에 이관하도록 조치하여 사후 관리업무의 일관성을 유지하도록 한다.

사. 문서화 및 기록 유지

가) 문서 및 기록유지 [원칙7]

나) 적용범위

본 기준서는 당사에서 발생한 문서의 작성, 수·발신, 결재, 보관방법 등에 대한 책임 사항 및 요구사항에 대하여 규정한다.

다) 목적

본 기준서는 당사의 문서작성, 처리, 보관, 보존, 열람, 폐기에 관한 기준을 정함으로써 문서의 작성 및 취급의 능률화와 통일을 기함을 목적으로 한다.

라) 용어의 정리

(가) 문서

사무 행위, 요건, 절차 또는 결과를 보고 및 정보보관을 목적으로 글이나 그림으로 표현한 것과 전자매체에서 작성한 것을 말한다.

(나) 기록

제품의 특성 및 성능 또는 환경요인에 영향을 미치는 행위의 결과나 그에 대한 객관적 증빙을 제공하는 완결된 문서를 말한다.

(다) 보관

업무수행 중 작성된 문서 또는 입수한 자료가 보고 및 참고의 절차가 끝난 후 빈번하게 열람하거나 참고할 목적으로 각 부서내 지정된 장소에 집합하여 관리하는 것을 보관이라고 한다.

(라) 보존

사무실내에 보관중인 문서중 활용도는 낮으나 추후 증거의 역할 및 기타 장래 업무에 필요하여 회사가 정한 장소에 보존 년한에 의거하여 관리하는 경우를 보존이라고 한다.

(마) 기안

회사의 의사를 결정하기 위한 구체안을 성문화한 것을 말한다.

(바) 결재

회사업무의 수행에 필요한 모든 문서 및 기록의 내용을 검토 후 그 문서의 내용이 적절함을 공식적으로 인정하는 승인행위로 제출된 문서에 서명 또는 날인하는 것을 말한다.

(사) 원본

문서 및 기록의 요건에 부합되게 작성한 유일한 문서를 말한다.

(아) 사본

원본으로부터 내용이 동일하게 복사 또는 복제하여 만든 문서 및 기록을 의미한다. 인쇄를 한 경우는 가장 양질의 것 1부를 원본으로 하고 기타수량은 사본으로 간주한다.

마) 책임과 권한

(가) 생산관리팀장

문서의 수, 발신, 배포 및 통제를 하여야 한다.

(나) 문서작성자

문서를 작성하고자 하는 자는 본 기준서에 따라 작성하며 작성된 문서는 검토와 승인을 받아야 한다.

바) 문서의 관리형태

(가) 관리본(Controlled Copy)

문서의 배부처가 배부대장에 기록되어 배포 관리되며, 발행 이후 그 개정본이 계속적으로 배부됨으로써 항상 최신본으로 유지되는 문서를 말한다.

(나) 비관리본(Uncontrolled Copy)

발행 당시에는 최신본이나 그 후 개정본이 배부되지 않는 문서를 말하며 제품의 특성에 영향을 미치는 업무에 직접 적용할 수 없고 단순히 참고용으로 활용한다.

사) 문서의 작성

(가) 문서의 식별표시

문서는 그 사용목적에 따라 작성자, 발행일, 부서, 페이지 표시 등 해당문서의 식별이 가능 하도록 각 문서별로 규정 된 형식을 갖추어 작성하여야 한다.

(나) 문서의 내용기술

문서의 내용은 일의 내용이나 처리절차 순으로 기술하여 사용자가 쉽게 이해할 수 있는 형태로 작성하고 수행업무의 준수여부를 쉽게 판단할 수 있도록 수행 요건을 명확히 하여야 한다. 약자를 사용하는 경우 그 문서에서 한번은 약자를 설명하도록 한다.

- ① 문서는 해당되는 규정에 정해진 바에 따르며 읽기 쉽게 작성되어야 한다.
- ② 문서는 연필로 작성되어서는 안 된다. (단, 연필로 작성하였을 경우와 Fax 기록의 원본은 그 복사본만 문서로 관리할 수 있다.)
- ③ 서식을 활용한 경우 모든 항목은 공란을 남기지 않고 채워져야 한다. 즉, 해당 내용이 없는 경우에는 줄을 긋거나 “해당사항 없음” 또는 “이하야백” 을 표기하여 기록의 승인 후에 내용이 추가로 기록될 수 없도록 하여야 한다.
- ④ 문서의 일부분을 수정할 경우에는 해당 부위에 두 줄을 긋고 여백에 수정 또는 추가사항을 기입하고 수정, 추가한 곳에 해당 검토자나 승인자는 날인 또는 서명을 하여야 한다.

(다) 문서의 작성방법

① 항목구분

문서의 내용을 둘 이상의 항목으로 구분할 필요가 있을 때 다른 규정에 별도로 명시된 경우 외에는 다음과 같이 나누어 표시한다.

- 첫째 항목의 구분은 1, 2, 3,.....으로 표시한다.
- 둘째 항목의 구분은 1.1, 2.2, 3.1,.....으로 표시한다.

- 셋째 항목의 구분은 (1), (2), (3),.....으로 표시한다.
- 넷째 항목의 구분은 1), 2), 3),.....으로 표시한다.
- 다섯째 항목의 구분은 ①, ②, ③,.....으로 표시한다.

② 조항부호 부여 방법

- 문서의 내용중 제목이 있는 것에 대해서는 그 제목 앞에 다음과 같은 계통적인 조항부호를 부여하며 그 결합은 최대 2개로 한다.(N: 숫자)

N. 대조항 부호

N.N 중조항 부호

※ 이때 조항부호는 좌측을 기준으로 하여 맞추며 마지막 조항부호의 뒤에는 점을 찍지 않는다. 단, 대조항 부호인 경우에는 조항부호 뒤에 점을 찍는다.

- 한 조항의 내용과 다른 조항의 내용은 서로 쉽게 구별하기 위하여 한 행 띄우고 기술하여야 한다.

③ 세별부호 부여방법

- 조항 안에 들어 있는 개개의 내용을 분류하여 순서적으로 나열할 경우 그 내용 앞에 다음과 같이 세별 부호를 부여하여야 한다.

예) 1.1

(1)

1)

2)

- 조항 부호와 세별 부호의 배열은 조항부호의 끝자리 수와 맞추어 세별부호를 기재한다. 단, 대조항인 경우에는 조항부호 뒤의 점에 맞춘다.
- 조항부호와 세별부호의 사이 및 세별부호의 내용 간에는 띄우지 않을 수 있다.
- 내용상의 분류를 나타내기에는 하나 순서를 지정할 필요가 없는 경우에는 “○”, “—” “☆” 등의 기호를 사용할 수 있다. 이때 세별부호 간에는 행을 띄우지 않는다.

④ 이하여백 및 끝의 표시

- 본문의 내용을 기술할 때 그림, 표 등의 사용으로 부득이하게 해당페이지에 여백을 남기고 다음 페이지에 기술하여야 할 경우 기술 된 마지막 행의 다음 행의 중앙 옆에 다음과 같이 “이하여백” 표시를 한다.
- 문서의 내용이 모두 기술되면 최종 페이지의 끝 행에는 “끝” 이라 쓰고, 첨부서류가 있을 경우에는 첨부명 다음에 “끝” 이라 쓴다.

⑤ 페이지 표시

표지를 포함하여 페이지의 순서를 기재하며, 페이지의 번호는 문서의 우측 상부 또는 중간 하단에 1, 2, 3 의 순서로 “페이지/총 페이지” 로 표시한다.

⑥ 인용시 기재방법

- 타 문서를 인용할 경우에는 인용된 문서의 명칭과 분류번호를 함께 기재한다. 이때 문서 번호는 ()안에 기재한다. 다만 반복할 경우에는 명칭만 기재할 수 있다.
- 타 문서의 서식을 인용할 경우에는 해당 문서명칭과 서식의 명칭을 기재하여야 한다. 이때 서식 번호는()안에 기재한다.
- 첨부서식을 인용할 때는 첨부서식 제목과 첨부번호를 기재하여야 한다. 이때 첨부번호는 ()안에 기재하며 반복하여 사용할 경우에는 첨부양식의 제목만 기재할 수 있다.

(라) 작성용지의 크기

작성용지의 크기는 A4(210mm× 297mm)를 사용함을 원칙으로 하고 A4사용시 내용을 나타내기 곤란할 경우에는 타 A, B 계열의 용지사용이 가능하다.

아) 문서의 접수 및 발송

(가) 문서의 접수

- ① 모든 대외문서는 관리담당자가 일괄 접수하여 배부한다. 접수는 우편, 인편, FAX 등의 방법을 말한다.
- ② 생산관리담당자는 접수된 문서에 대해서는 문서접수대장(DDK-H-201-15)에 기록 후 담당자에게 전달한다.
- ③ 생산관리담당자 이외의 자가 대외 문서를 접수할 때에는 지체 없이 문서관리담당자에게 인계하여 문서를 접수 시킨다.
- ④ 개봉하기에 부적당하다고 인정되는 문서는 개봉하지 않고 해당자에게 배포한다.

(나) 문서의 발송

- ① 문서관리담당자는 승인이 완료된 문서를 문서발송대장(DDK-H-201-16)에 기록한 후 발송절차에 따른다.
- ② 발송번호는 다음과 같이 작성한다.
 - 사외문서에는 원칙적으로 발송번호를 기입하여야 한다.
 - 문서의 발송번호는 문서발송대장상의 년도 일련번호로 구성된다

예) 0000 100205 - 01호 (발송사업장약호)

100205-01호(년월일 발송일련번호)

자) 기록의 수정 또는 복원

- ① 보관 중인 기록의 내용을 수정 할 필요가 생긴 경우 담당자는 그 정당성을 검토하여야 한다. 수정을 요청한 자는 그 정당성을 입증하여야 하고, 그 정당성이 인정될 경우 수정을 할 수 있다.
- ② 승인 시에는 수정 또는 복원된 자료의 우측 상단 여백에 “수정자료” 또는 “복원자료” 라고 명시하고 승인 일을 기재하여 서명 또는 날인하며 수정기록에 대해서는 수정이 필요한 부위에 두 줄을 긋고 여백에 수정내용을 기입한 후 수정일자와 서명 또는 날인하여야 한다.
- ③ 수정 또는 복원된 기록은 정당성 입증자료와 수정 전 또는 복원 전 기록과 함께 보관되어야 한다.

차) 문서의 보존

① 수립기준

- 보존 년한은 각종 법적 보존 년한 등을 기준으로 지금까지의 사용경험과 향후 이용 가능성 (법적문제, 정보로서의 활용가치)등을 고려하여 설정한다.
- 보존 년한은 영구, 10년, 5년, 3년, 1년의 5종류 사용을 원칙으로 한다. 단 HACCP관련 기록은 최소 2년 이상으로 한다.
- HACCP과 관련된 문서의 보존 년한은 각 기준서의 “기록 및 보관” 에 언급된 기한을 우선 적용한다.

② 보존 년한

- 보존 년한은 최소한으로 보존하여야 할 기간이며 문서내용의 중요도에 따라 명시된 보존 년한 이상은 사용할 수 있으나 그 이전에는 폐기할 수 없다.
- 보존 년한 산정의 시작시점은 별도 정한 경우가 없는 한 문서가 발생한 다음 사업 년도 부터 기산한다.

표 7-58. 문서 접수 대장 예시

문서 접수 대장						
성 명		(직위 :)		부 서		
접수번호	접수일 시	문 서 제 목	발송처	해당부서		비 고
				전달일시	접수자	

(3) 발효차 생산 및 품질관리의 표준 초안 구축

- 녹차 생산업체 현장 조사 결과 기존 녹차 제조업체의 경우 작업자의 구성이 단순 생산을 위한 작업자가 모두 10명 이하로 조사되었고 품질관리 및 생산관리를 위한 인력을 확보하고 있는 업체는 거의 없는 것으로 나타나 본 연구사업의 결과물인 미생물발효차의 현장 이전시 균일한 품질의 생산을 위한 품질관리 및 생산관리 표준을 작성하여 제공하지 않으면 산업화에 많은 문제가 있는 것으로 조사되었다.
- 이러한 현실을 반영하여 본 연구에서는 최종적으로 개발되어질 미생물발효차의 생산 관리와 품질관리를 위한 표준을 작성하여 제공함으로써 연구결과의 산업화가 효과적으로 이루어지게 한다.
- 연구사업이 종료되는 3차년도 제공될 품질관리 및 생산관리 표준화를 위하여 현장 조사를 기초로 제조업체에 제공할 생산관리, 품질관리 표준의 범위를 설정하여 추진하고자 한다.
- 생산관리, 품질관리의 표준의 범위는 국제품질규격인 ISO 시스템을 기초로 현장조사업체의 수준을 반영하여 설정하고자 한다.

표 7-59. 생산관리, 품질관리 표준의 설정 범위

표준의 범위	세부 표준 설정 항목	표준설정에 따른 결과물(3차년도 성과물)
품질시스템의 개요	대표자의 책임 및 품질방침 조직의 구조 직원의 교육 훈련	품질매뉴얼 교육훈련 절차서
문서 및 기록관리	문서관리 기록관리	문서,기록관리 절차문서
제품표준서	제품일반사항	제품표준서(안)
공정, 생산관리	식별 및 추적성 프로세스의 유효성 포장 제품관리	작업표준 QC공정도 공정,생산관리 절차 문서
시설관리	제조설비의 유지활동	제조설비 관리 표준
구매, 자재관리	구매 및 자재관리	구매절차서 자재관리 절차서 원료입고기준 등
고객관리	고객불만처리 절차	고객불만처리 양식 등

- 생산관리, 품질관리의 표준의 설정은 3차년도 현 발효차 생산업체 의견을 취가 반영하여 확정되고 연구사업의 결과로 도출될 발효녹차의 결과물을 반영하여 구체화되고 도출될 것이다.

가. 품질시스템 관리 범위 설정

3차년도 연구를 통하여 개발되어질 발효차를 기준으로 제품의 개요(설명서), 제조 공정중의 검사방법, 제조공정 방법, 제조단위 및 공정별 이론 생산량, 원료, 반제품, 완제품의 기준규격, 포장재 기준규격 등이 수립되어질 것임.

가) 제품의 개요(설명서)는 아래의 표7-60과 같이 개발되어질 발효차의 상세한 제품 설명으로 이루어질 계획이다.

표 7-60. 발효차 제품의 개요 구성 예시

제 품 설 명 서			
1. 제품명			
2. 식품유형 및 성상			
3. 품목제조보고연월일			
4. 작성자 및 작성연월일			제 품 사 진
5. 성분배합비율			
6. 제조(포장)단위			
7. 완제품의 규격	구 분	법 적 규 격	사 내 규 격
8. 보관·유통상의 주의사항			
9. 제품용도 및 유통기한			
10. 포장방법 및 재질			
11. 표시사항			
12. 기타 필요한 사항			

나) 제조공정중의 검사방법은 각각의 공정 중 제품의 품질을 유지하기위한 검사항목과 주의사항으로 구성되어질 계획이다.

표 7-61. 발효차 제조공정중의 검사방법 구성 예시

공정명	세부공정	검사항목	주의사항
입고 검체 보관	납품서 확인	• 발주여부, 수량, 품목명, 표시사항, 규격	• 납품된 원·부원료, 내·외포장재의 거래명세서, 시험성적서를 수령 • 발주량과 실 납품량 일치 확인
	대기실 이동 후	• 외관검사 : 파손, 오염	• 각 전실에서 작업장으로 입고 전 표면의 먼지, 이물 제거 및 소독 실시
	시험의뢰	• 원료 : [제품표준서(NCP)]의 5.1항 원료의 기준, 규격 및 시험방법 • 내·외포장재 : [제품표준서(NCP)]의 6.항 내·외포장재의 기준 규격 및 시험방법 • 품질관리팀에서 발행된 시험성적서 확인	• 검체 채취 시 오염이 되지 않도록 주의한다. • 부적합품 발생시 구분구역에 별도 보관한다.
칭량	칭량준비	• 칭량실 청결 상태 • 저울 청결 및 수평과 영점 • 칭량용기 청결 상태 • 칭량실 온·습도 점검	• 검사항목의 이상이 없을시 칭량한다.
	원료칭량	• 적합라벨 부착 여부 확인 • 제조지시기록서 내용 확인 • 원료명 및 입고일 확인 • 정량 계량 확인	• 제조관리담당자와 제조관리책임자의 2중 점검 실시 • 칭량기록표 작성 부착 • 칭량 후 용기 뚜껑 밀폐

다) 제조단위 및 공정별 이론 생산량은 제품의 수율을 위주로 원료투입 대비 제품의 생산량의 이론치 수율과 실제 수율을 검토하여 현장에서 공정표준을 수립하고자 한다.

표 7-62. 발효차 공정별 이론 생산량 구성 예시

공정명	이론생산량	이론수율	생산량
발효	100Kg	94%	94.0Kg
건조	94.0Kg	78%	73.3Kg

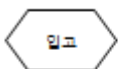
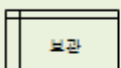

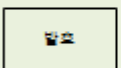
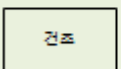

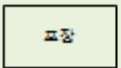
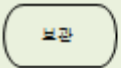
라) 그 외에 원료, 반제품, 완제품의 기준규격, 포장재 기준규격 등이 수립되어질 것이다

(가) 공정 생산 표준(안) 설정

공정 생산 표준은 ISO 9001을 기초로 발효차 생산업체의 공정 작업 표준을 도출하여 산업화 시 균일한 제품의 발효차 1 생산을 sahr적으로 도출되어질 것이다.

표 7-63은 공정의 표준 예시를 보여주고 이를 기초로 3차년도에 수립되어질 것이다.

표 7-63. 발효차 공정의 작업표준 구성 예시

공정명		제조공정도			결과	사항
정품번호		[공정번호: 2018-001-002]			생산	
정·가공현수						
정·가공일						
작성일자						
공정구분	Flow	관련기호	세부 내용	비고		
링그			1. 40kg/가마			
보관		종도 : 기안 :	1. 8가마당+4만(일레트) 40kg/가마 2. 10 판헤트+9판 3. 품보관할: 24 판	참고		
관찰		관찰할 : 0.01%	1. 장대할 100 kg/킬 2. 2월이 순장격으로 국한	국한대 품보관할		
발포		종도 시간 품기할		발포실 8U8-Box		
건조		종도 : 시간 : 수출 : 80%	1. 건조 수분 함량 12%	건조기		
선별		기호 :				
포장		관할 :	1. 포장 할당	발포실		
품관 리 출라		품출기할 :				

(나) 시설 관리 표준(안) 설정

시설관리산 표준은 발효차 생산화 시 개발되거나 요구되는 각각의 생산 시설에 대하여 가동방법 과 관리 표준을 수립하므로 설비에 의한 제품 부적합을 최소화 하고 동일한 조건의 설비가동을 통하여 균일 제품의 생산을 유도하고자 함이 목

적이다.

따라서 차기년도에는 개발되어진 각각의 공정별로 사용 장비의 특성, 가동조건, 장비관리방법, 보수현황 등을 파악하고, 제시함으로 산업화 시 효과적인 제품 생산이 이루어질수 있도록 할 계획이다.

표 7-64. 발효차 공정의 장비 관리 구성 예시

시설명	장비 특성	가동 조건	사진	관리방법	설비보수현황
접종	균주 스타터 접종	UV, Fan		접종 전후 세척 소독	-
발효	항온·항습 가능 상태로 발효	온습도 조절 장치		항온·항습 조절, 통기 관리	-
건조	수분 함량 감소	온도 장치		온도 시간 관리	-
포자제거	발효차에 남아 있는 포자 제거	풍력 선별		포자 제거 정도 확인 선별기 세척 소독	-
증기	일정한 스팀 가해 성형 공정 준비	전자동 스팀 장치		스팀 가동 여부 확인	-
성형	발효차 입자 크기 조절	모터장치 압력		성형기 작동 관리	-
포장	완성 제품 포장	실링장치		실링 상태 확인	-

3) 생산 관리 표준화

(1) 생산 관리 자료조사

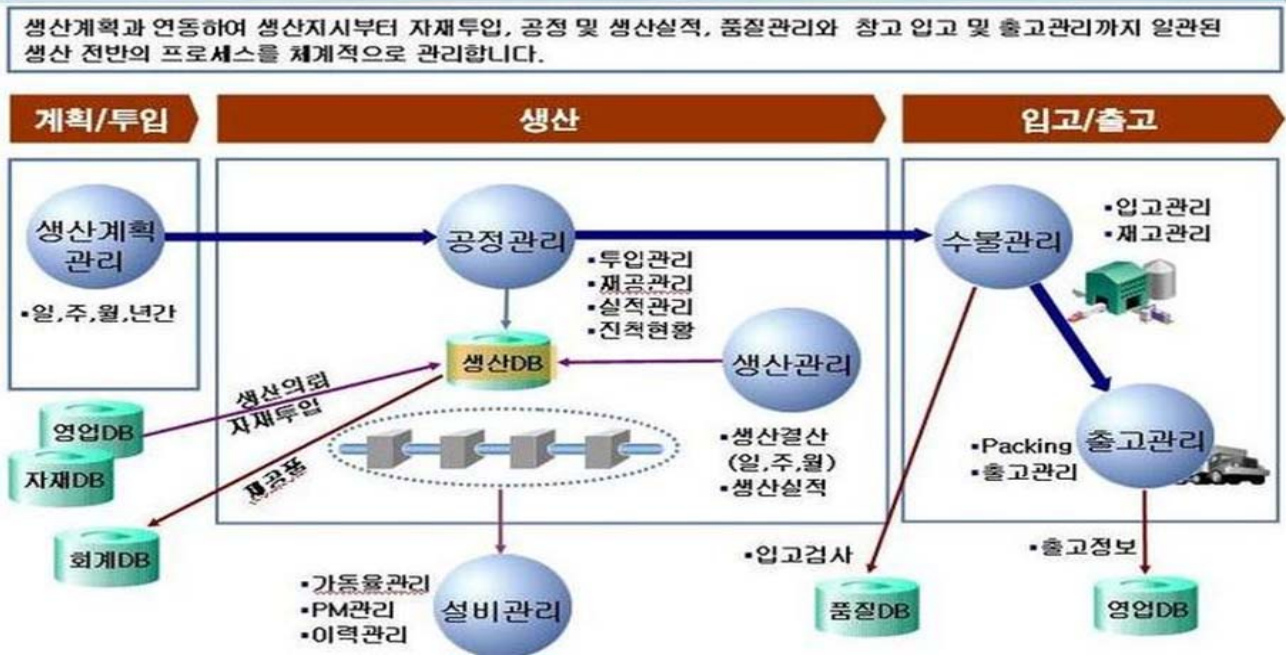
생산관리의 업무 흐름도에 따르면 생산계획에서부터 생산지시, 자재투입, 공정 및 생산 실적, 품질관리 등의 일련의 과정을 체계적으로 관리 하여야 한다.

계획적인 원료 투입을 위한 정기적인 점검이 필요하고 영업, 자재, 회계 등의 데이터

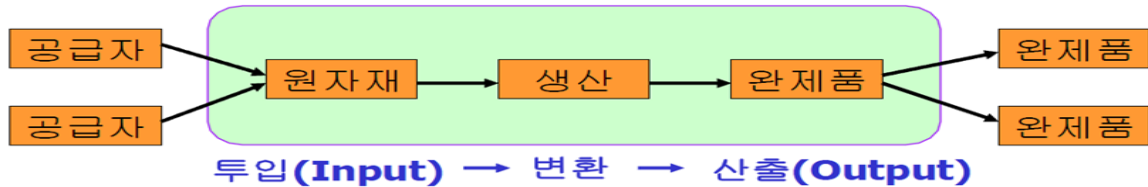
베이스가 요구된다.

생산라인에서는 투입관리, 재공관리, 실적관리, 진척 현황이 확인되고 입고 및 출고의 정확한 관리 체계가 생산량에 밀접한 영향을 끼친다.

생산관리-업무흐름도



❖ **생산시스템** : 자원을 유용한 재화 및 service로 변환시키는 과정



- 투입 - 생산을 위한 필요한 자원
- 산출 - 생산활동의 결과 얻어지는 제품과 서비스
- 변환 - 자원(5M)을 이용하여 원하는 제품이나 서비스로 전환하는 프로세스





* 5M: 인간(men)·기계(machines)· 자재(materials)·방법(methods)·자금(money)

그림 7-11. 생산관리 흐름도

(2) 생산 관리 현황

목포대학교 실험실 및 보성신축공장에서 작업하는 과정에서 생산관리의 표준화를 위한 점검 항목을 제조공정별 및 시설 설비 상황에 따라 분류 하여 분석하였다.

표 7-65. 현장 생산 관리 현황

제조공정	공정 특성	시설 설비 조건	사진	부적합 여부	생산관리 표준지표
원료 입고	모차 제조업체로부터 운반	원료입고용 차량		일반차량 이용	차량내의 위생상태
원료 보관	작업실 내의 일반 구역에 보관	원료보관고		공장출입구에 보관	지정 원료 보관고
접종	균주 스타터 접종	UV, Fan		접종 전 후 무균 처리 관리 미흡	접종 전 후 UV조사 시간 확인
발효	항온·항습 가능 상태로 발효	온습도 조절 장치		항온·항습 조절, 통기 관리	온도, 습도 점검
건조	수분 함량 감소	온도 장치		온도 시간 관리	온도, 습도 점검
포자제거	발효차에 남아 있는 포자 제거	풍력 선별		포자제거 정도 확인 선별기 세척 소독	중량 감소 확인
증기	일정한 스팀 가해 성형 공정 준비	전자동 스팀 장치		작업별 구역 구분없이 일반구역에서 작업	기계 작동 관리
성형	발효차 입자 크기 조절	모터장치 압력		작업별 구역 구분없이 일반구역에서 작업	기계 작동 관리
포장	완성제품 포장	실링장치		작업별 구역 구분없이 일반구역에서 작업	실링 상태 확인

(3) 생산 관리에 필요한 기록 서류

체계적인 생산관리의 일원화를 위해서 원료 입고부터 매일 작성해야하는 서류로는 원료수분일보, 생산일보 그리고 제품수분일보 등이 있다

원료수불일보는 모차의 입고, 사용, 재고 등 또한 사용되는 포장재 등의 입고 사용, 재고량을 기록 관리한다.

가. 원료수불일보

원료 수불 일보								
원료명 구분	모차(녹차)				내포장재			
	입고(kg)	사용(kg)	재고(kg)	비고	입고(매)	사용(매)	재고(매)	비고
2013-12-06		-	100			-	9,800	
2013-12-07		-	100			-	9,800	
2013-12-08		-	100			-	9,800	
2013-12-09		-	100			-	9,800	
2013-12-10		-	100			-	9,800	
2013-12-11		-	100			-	9,800	
2013-12-12		-	100			-	9,800	
2013-12-13		-	100			-	9,800	
2013-12-14		-	100			-	9,800	
2013-12-15		-	100			-	9,800	
2013-12-16		-	100			-	9,800	
2013-12-17		-	100			-	9,800	
2013-12-18		-	100			-	9,800	
2013-12-19		-	100			-	9,800	
2013-12-20		-	100			-	9,800	
2013-12-21		-	100			-	9,800	
2013-12-22		-	100			-	9,800	
2013-12-23		-	100			-	9,800	
2013-12-24		-	100			-	9,800	
2013-12-25		-	100			-	9,800	
2013-12-26		-	100			-	9,800	
2013-12-27		-	100			-	9,800	
2013-12-28		-	100			-	9,800	
2013-12-29		-	100			-	9,800	
2013-12-30		-	100			-	9,800	
2013-12-31		-	100			-	9,800	
합계	200	150			10,000	1,200		

나. 생산일보

생산일보는 발효차의 사용량, 생산량 그리고 수율 등을 기록관리하여 생산 실적 등을 확인하다.

생산 일보							
제품명	발효차		단량(g/p)	100		40 P/Box	
구분	사용량		생산량			수율	
일자	모차(kg)	내포장재(매)	개	Box(40p)	kg	발효차	내포장재
2013-12-04			-		-		
2013-12-05			-		-		
2013-12-06			-		-		
2013-12-07			-		-		
2013-12-08			-		-		
2013-12-09			-		-		
2013-12-10			-		-		
2013-12-11			-		-		
2013-12-12			-		-		
2013-12-13			-		-		
2013-12-14			-		-		
2013-12-15			-		-		
2013-12-16			-		-		
2013-12-17			-		-		
2013-12-18			-		-		
2013-12-19			-		-		
2013-12-20			-		-		
2013-12-21			-		-		
2013-12-22			-		-		
2013-12-23			-		-		
2013-12-24			-		-		
2013-12-25			-		-		
2013-12-26			-		-		
2013-12-27			-		-		
2013-12-28			-		-		
2013-12-29			-		-		
2013-12-30			-		-		
2013-12-31			-		-		
합계	150	1,500	1,200	30	120	80.0%	80.0%

다. 제품수불일보

제품수불일보는 제품의 생산, 출고, 재고량을 기재하고 출고처, 유통기한 등을 기록관리한다.

제품 수불 일보

제품명	발효차				
	생산(Box)	출고(Box)	재고(Box)	출고처	유통기한
전월재고			100		
2013-12-01	30	25	105		
2013-12-02	-		105		
2013-12-03	-		105		
2013-12-04	-		105		
2013-12-05	-		105		
2013-12-06	-		105		
2013-12-07	-		105		
2013-12-08	-		105		
2013-12-09	-		105		
2013-12-10	-		105		
2013-12-11	-		105		
2013-12-12	-		105		
2013-12-13	-		105		
2013-12-14	-		105		
2013-12-15	-		105		
2013-12-16	-		105		
2013-12-17	-		105		
2013-12-18	-		105		
2013-12-19	-		105		
2013-12-20	-		105		
2013-12-21	-		105		
2013-12-22	-		105		
2013-12-23	-		105		
2013-12-24	-		105		
2013-12-25	-		105		
2013-12-26	-		105		
2013-12-27	-		105		
2013-12-28	-		105		
2013-12-29	-		105		

(4) 시설·설비·공정별 생산관리 분석

(가) 목포대학교 기능성실험실 제조공정



모차 보관



가수 및 균주 접종



가수 및 균주 접종 완료



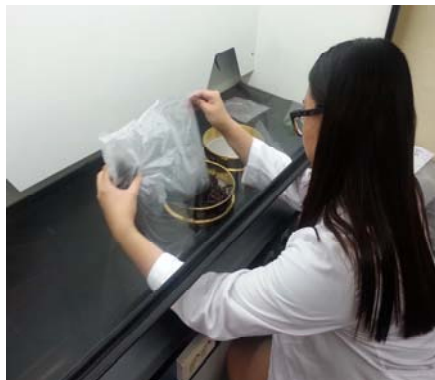
발효실



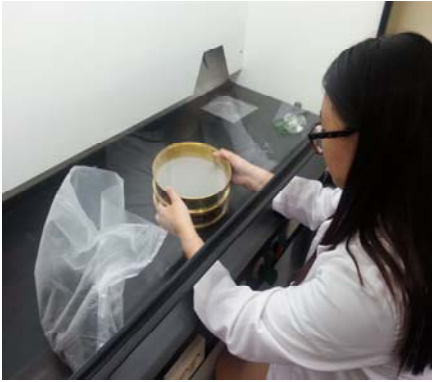
건조 공정



건조 공정



건조 공정



포자털기 공정



저장

포자털기 공정



포자털기 완료



저장



(나) 보성군 발효차 신축공장 제조과정



모차



가수



균주 접종



혼합



면포 이동



가수 및 균주 접종 완료



발효



건조

(다) 발효차 생산 공정 분석

발효차 생산 공정의 모차와 급수, 균주 양은 발효 용기에 따라 각각 달리 적용되었으며, 공정별 조건과 시간, 작업인원은 표 7-66과 같다. 급수는 모차의 수분 함량을 45%로 조절하기 위해 추가적으로 수분을 공급하는 공정으로 봄, 가을, 겨울의 건기에는 모차의 평균 수분함량이 6%이며, 습기인 여름철에는 10%로 발효차 제조 시기별로 물의 첨가량을 조절하여야 함. 이에, 제조 공정의 표준화를 위해 발효차 제조 전 현장에서 모차의 수분함량 분석을 위해 수분측정장치가 배치되어야 할 것으로 판단된다.

표 7-66. 발효차 생산 공정별 조건

No.	공정	조건		작업 소요시간	작업인원
		목포대학교 실험실	보성군 신축공장		
1	원료(모차)	300 or 800 g	5 kg	5 min	1~2
2	급수	45% (200 or 562 mL)	45%	2 min	1~2
3	균주 접종	1 or 2 × 10 ⁶ CFU/g	1 or 2 × 10 ⁶ CFU/g	10 min	1~2
4	발효	25, 35 °C, humidity 95%	30, 45 °C, humidity 95%	1, 3, 5 week	2~3
5	건조	60 °C	60 °C	3 day	1~2
6	포자제거			20~30 min	1~2
7	증기			3~5 min	1~2
8	성형	100 g 기준		1 min	1~2
9	건조				
10	포장				
11	저장 및 숙성				

라) 주요 생산 공정별 수분감소율 평가

발효 용기를 면포와 버섯봉지 두 가지로 나누고, 찻잎은 보성모차와 증청찻잎을 이용 하여 실험을 진행하였다. 면포를 용기로 하여 보성모차는 3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)과 4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)으로 찻잎 5 kg을 2 개로 나누고 5 kg당 3.5 L를 가수하였고, 증청찻잎은 1조건 (Base T(15균주) + S1), 2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2), 3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1), 4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)으로 찻잎 무게를 2.5 kg씩 2개로 나눈 후 5 kg당 3.5 L를 가수하여 발효를 진행하였다. 버섯봉지를 용기로 하여 보성 모차는 1조건 (Base T(15균주) + S1), 2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)으로 찻잎 100 g씩 2개로 나누어 100 g당 80 mL를 가수하였고, Base T, Base F, S1 + S2 + F1, SCa08 + S2 + F1, BSa49 + BSa50 + LBa53을 조건으로 찻잎 800 g씩 2개에 800 g당 600 mL을 가수하여 발효를 진행하였다. 버섯봉지를 용기로 하여 진행한 발효에는 보성모차와 증청찻잎에 균주 4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)과 pectin을 더하여 찻잎 400 g씩 2개에 400 g당 300 mL을 가수하여 발효를 진행하였다.

표 7-67. 미생물발효차 생산 조건

용기	찾잎 종류	균주 조건	찾잎무게	가수량
면포	보성모차	3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	5 kg × 2	3.5L (5 kg)
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	5 kg × 2	3.5L (5 kg)
	증청찾잎	1조건 (Base T(15균주) + S1)	2.5 kg × 2	3.5L (5 kg)
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	2.5 kg × 2	3.5L (5 kg)
버섯 봉지	보성모차	3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	2.5 kg × 2	3.5L (5 kg)
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	2.5 kg × 2	3.5L (5 kg)
	보성모차	1조건 (Base T(15균주) + S1)	100 g × 2	80 mL (100 g)
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	100 g × 2	80 mL (100 g)
		Base T	800 g × 2	600 mL (800 g)
		Base F	800 g × 2	600 mL (800 g)
		S1 + S2 + F1	800 g × 2	600 mL (800 g)
		SCa08 + S2 + F1	800 g × 2	600 mL (800 g)
	보성모차	BSa49 +BSa50 + LBa53	800 g × 2	600 mL (800 g)
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	400 g × 2	300 mL (400 g)
증청찾잎	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	400 g × 2	300 mL (400 g)	

미생물 발효차의 수율은 발효공정이 1, 3, 5주가 진행된 이후 일정량의 샘플을 채취하여 건조공정과 포자털기공정을 진행한 이후의 무게차를 비교하여 각 주차별로 실시하였다.

1주 동안 면포에서 발효한 찾잎은 건조 공정 전후로 무게의 차가 보성모차와 증청찾잎 모두 40% 내외였으나, 버섯봉지의 발효공정 이후에 비해 50% 정도가 건조되어 감소하였다. 버섯봉지 발효 중 조건이 박테리아만으로 하는 BSa49 + BSa50 + LBa53 조건은 30%의 차이를 보였다. 포자털기 공정 이후에 면포에서 발효한 보성모차는 건조 후 무게에 40%내의 감소를 보였으나, 증청찾잎은 50%를 넘는 차이를 보여 더 많은 찾잎의 손실이 있었다. 버섯봉지에서 발효한 찾잎은 포자털기 공정을 한후에 모두 40% 내외의 무게 차이를 보였다. 면포에서 발효한 증청찾잎은 많은 수율의 감소를 보였는데 이는 보성모차에 비해 크기가 작아 뒤집기 공정과 포자털기 공정에서 잘게 부숴져 차이를 보인 것으로 판단된다.

표 7-68. 미생물발효차 생산 조건에 따른 공정별 수율 평가(1주차)

용기	찾잎 종류	균주 조건	공정 후 중량 (kg) (수분감소율)		
			발효	건조	포자 털기
	보성모차	3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	0.806	0.495 (38.6% ↓)	0.300 (39.4% ↓)
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	1.256	0.771 (38.6% ↓)	0.500 (35.1% ↓)
면포	증청찾잎	1조건 (Base T(15균주) + S1)	0.351	0.219 (37.6% ↓)	0.100 (54.3% ↓)
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	0.697	0.431 (38.1% ↓)	0.200 (53.6% ↓)
		3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	0.366	0.228 (37.7% ↓)	0.100 (56.1% ↓)
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	0.833	0.503 (39.6% ↓)	0.200 (60.2% ↓)
버섯봉지	보성모차	1조건 (Base T(15균주) + S1)	0.230	0.110 (52.1% ↓)	0.060 (45.5% ↓)
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	0.245	0.140 (42.9% ↓)	0.080 (42.9% ↓)
		Base T	0.830	0.490 (41.0% ↓)	0.300 (38.8% ↓)
		Base F	0.490	0.235 (52.0% ↓)	0.140 (40.4% ↓)
		S1 + S2 + F1	0.610	0.335 (45.1% ↓)	0.200 (40.3% ↓)
		SCa08 + S2 + F1	0.385	0.175 (54.5% ↓)	0.100 (42.9% ↓)
		BSa49 + BSa50 + LBa53	0.290	0.200 (31.0% ↓)	0.120 (40.0% ↓)
	보성모차	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin			
	증청찾잎	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin			

3주간 발효 후 공정별로 수율을 측정한 결과 발효용기에 따라 면포에서는 건조 공정 후 25% 내외 정도의 수분이 감소하였으나 버섯봉지의 경우 50% 내외의 무게 차이를 보였으며, 박테리아만으로 발효하는 조건에서는 32%의 감소를 보여 1주와 비슷한 감

소를 보였다. 포자털기 공정 이후 면포에서 발효한 찻잎은 증청찻잎이 보성모차에 비해 건조 공정 후 감소량이 20% 정도 많은 것으로 측정되어 큰 손실을 보인 것으로 측정되었다. 버섯봉지에서 발효한 보성모차는 포자털기 후 40% 정도의 무게차이를 보였으나 증청찻잎은 70% 정도로 높은 감소율을 보였다. 발효 공정 이후 포자털기 공정에서 버섯봉지보다 면포에서 많은 무게차를 보여 수율이 떨어진 것으로 측정되었는데 이는 발효 중 공기 중에 노출되어 있는 비중이 높아 수분이 증발하고 뒤집기 공정에서 찻잎이 작게 부서져 차이를 보인 것으로 판단된다.

표 7-69. 미생물발효차 생산 조건에 따른 공정별 수율 평가(3주차)

용기	차잎 종류	균주 조건	공정 후 중량 (kg) (수분감소율)			
			발효	건조	포자털기	
면포	보성모차	3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	0.820	0.621 (27.8% ↓)	0.350 (43.6% ↓)	
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	0.628	0.465 (26.0% ↓)	0.250 (46.2% ↓)	
	증청찻잎	1조건 (Base T(15균주) + S1)	0.394	0.297 (24.6% ↓)	0.100 (66.3% ↓)	
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	0.567	0.436 (23.1% ↓)	0.150 (65.6% ↓)	
		3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	0.627	0.468 (25.4% ↓)	0.150 (67.9% ↓)	
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	0.862	0.616 (28.5% ↓)	0.150 (75.6% ↓)	
	버섯봉지	보성모차	1조건 (Base T(15균주) + S1)	0.195	0.101 (48.2% ↓)	0.060 (40.6% ↓)
			2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)		0.102 (53.0% ↓)	0.060 (41.2% ↓)
증청찻잎		Base T	0.485	0.247 (49.1% ↓)	0.150 (39.3% ↓)	
		Base F		0.179 (54.2% ↓)	0.100 (44.1% ↓)	
		S1 + S2 + F1		0.310 (44.6% ↓)	0.190 (38.7% ↓)	
		SCa08 + S2 + F1		0.169 (61.1% ↓)	0.100 (40.8% ↓)	
보성모차		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	0.435	0.163 (58.4% ↓)	0.050 (69.3% ↓)	
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	0.392			

면포에서 5주간 발효한 찻잎은 수분 함량이 많이 감소하여 건조 공정 후 무게 감소량이 10% 내로 측정 되었으며, 버섯봉지 발효차는 45% 이상의 수분 감소량을 보였고, 그 중 박테리아만으로 발효시킨 찻잎은 31%의 건조 후 무게 감소율을 보였다. 포자털기 공정 후 면포에서 발효한 보성모차는 40% 내외의 무게차이를 보였고, 증청 찻잎은 감소량이 50% 이상으로 측정되었다. 버섯봉지 발효차는 포자털기 공정 이후 증청찻잎이 보성모차에 비해 10% 이상 무게차이를 보인 32% 정도 감소하여 수율의 차이를 보였다.

표 7-70. 미생물발효차 생산 조건에 따른 공정별 수율 평가(5주차)

용기	찻잎 종류	Condition	공정 후 중량 (kg) (수분 감소율)			
			발효	건조	포자털기	
면포	보성모차	3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	8.500	7.782 (8.4% ↓)	4.400 (43.5% ↓)	
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	8.250	7.582 (8.0% ↓)	4.700 (38.1% ↓)	
	증청찻잎	1조건 (Base T(15균주) + S1)	4.900	4.556 (7.0% ↓)	2.200 (51.7% ↓)	
		2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)	4.250	4.011 (5.6% ↓)	2.000 (50.1% ↓)	
		3조건 (Base T(15균주) + S1 + S2 + F1)	4.150	3.850 (7.2% ↓)	1.900 (50.6% ↓)	
		4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1)	3.410	3.129 (8.2% ↓)	1.200 (61.6% ↓)	
		버섯봉지	1조건 (Base T(15균주) + S1)	0.950	0.510 (46.3% ↓)	0.450 (11.8% ↓)
			2조건 (Base F(10균주) + S1 + S2)			
Base T						
Base F						
보성모차	Base T	1.010	0.477 (52.8% ↓)	0.400 (16.1% ↓)		
	Base F					
	S1 + S2 + F1					
	SCa08 + S2 + F1					
증청찻잎	BSa49 +BSa50 + LBa53	0.950	0.655 (31.1% ↓)	0.350 (16.7% ↓)		
	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin					
면포	보성모차	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	0.440	0.188 (57.3% ↓)	0.150 (20.2% ↓)	
	증청찻잎	4조건 (Base F(10균주) + S1 + S2 + F1) + pectin	0.490	0.222 (54.7% ↓)	0.150 (32.4% ↓)	

주요 공정별 수율을 측정한 결과 면포에서 발효한 균주가 공기 중에 노출되어 있는 부분이 많아 발효가 진행됨에 따라 건조 공정이후의 무게 감소율이 낮게 측정 되었으며, 버섯봉지에서 발효를 진행할 경우에는 공기의 순환이 적어 수분의 함량이 변화가 없어 건조 공정에서 많은 양의 수분이 증발하여 무게의 감소가 크게 나타났다. 포자털기 공정 후 무게의 변화는 찻잎의 종류에 따라 다르게 나타났는데, 증청찻잎이 건조과정과 뒤집기 공정에서 부서져 크기가 작아져 보성모차에 비해 감소율이 높았다. 무게의 변화를 측정한 결과 곰팡이의 생육에 따라 발효 3주까지 포자의 양이 증가하다가 5주차에 감소하는 것도 확인할 수 있었으며, 버섯봉지에서 박테리아만으로 발효시킨 찻잎의 경우 건조 후 무게의 감소율이 거의 동일한 것을 확인할 수 있었다. 전체적으로 용기에 관계없이 발효공정 이후 건조공정과 포자털기 공정까지 진행하였을 때 초기 찻잎의 무게에 비하여 50%의 수율도 되지 못하는 것으로 측정 되었다. 이는 포자털기 공정에서 다른 공정에 비해 많은 손실이 생겨 수율이 낮아진 것으로 사료되어 포자를 새로운 방법으로 터는 것을 모색하여야 할 것으로 보인다.

4) 생산관리 매뉴얼 개발

(1) 생산관리 표준 설정

가. 생산관리의 합리화원칙

기계 한대가 50인이나 100명이상이 할 수 있는 일을 해낼 수도 있다. 그러나 그 작업에 꼭 필요한 한 사람이 없을 때에는 어떤 기계도 작업을 할 수가 없다.(One man can do the work of 50 ordinary men. No machine can do the work of one extraordinary man). 그러므로 생산관리에 있어서도 훌륭한 인재가 합리적인 절차와 방법에 의해서 작업을 수행할 수 있도록 하여야 한다.

가) 표준화

표준화(standardization)란 제품이나 작업과정이나 관리과정을 통일된 형태로 만드는 것이다. 미시간대학의 무어(F. G. Moore)교수에 의하면 표준화는 규격, 치수, 원재료 등을 일정한 규격으로 통일하고 필요한 표준을 설정하여 이를 고정시킴으로써 생산과 유통에 요하는 비용을 절감시키고 물가를 절감하여 대량 생산을 가능하게 하는 것이라고 하였다. 이는 생산목적을 합리적으로 달성하기 위한 수단으로 생산 활동을

단일화하기 위해서 의식적으로 규제해 놓은 표준의 설정을 말한다.

표준화에는 제품의 표준화(치수, 형, 규격, 종류, 단위, 품질 등), 작업방법표준화(작업방법, 작업조건, 사무처리 방법), 관리표준화(생산, 판매, 재무, 경리, 인사, 기술연구) 등이 있다. 표준화의 효과로서는 (1) 대량생산, 품질향상의 실현, (2) 부분품의 호환성 증가, (3) 종업원 교육훈련의 용이, (4) 작업·사무능률의 향상, (5) 생산비의 저하 등을 들 수 있다.

나) 단순화

단순화(simplification)란 제품의 품목이나 작업절차를 간소화 시키는 것을 말하며, 구체적으로는 제품과 부분품의 낭비를 제거하기 위해 제품의 불필요한 종류와 품목, 형태, 크기, 등급 등 품종을 감소시키는 것을 뜻한다. 이것은 품목의 표준화라고 할 수도 있다. 이의 목적은 제조과정에서 사용되는 불필요한 재료를 제거하여 대량생산을 가능하게 하고, 나아가서 원가절감에 의한 경제성을 제고시키는데 있다.

생산수단 및 방법이 단순화되면, (1) 노동력·설비·재료·공구·임금 등의 비용절감, (2) 제품설계·계획 및 생산기간의 단축, (3) 작업자의 숙련도 향상, (4) 품질향상, 구매사무의 간소화, 자재절감, (5) 창고 및 재고관리의 용이성 등 다수의 효과를 얻을 수 있다.

그러나 이것은 다양화(diversification)가 가져다주는 경영상의 이점을 누릴 수 없는데, 이 경우 경영 회사의 이점이란 시장에 있어서의 위험의 분산(dispersion of market risk)을 통해서 기업을 보다 안전하게 이끌어 갈 수 있는 이점을 말한다.

다) 전문화

기업의 생산 활동에서 분업에 의하여 생산성이 향상된다는 것이 전문화의 기본 개념이다. 전문화(specialization)는 어느 개별기업으로 하여금 특정 제품을 전문적으로 생산하는 과정을 의미한다. 각 기업의 생산방법은 기술면에서 각기 특수한 장점을 지니고 있을 수 있으므로 전문분야별로 집중적으로 제품생산을 한다면 숙련도가 높아질뿐만 아니라, 질적으로나 양적으로 그 성과를 증대시킬 수 있다.

다시 말하면 분업의 원리(division of labor)를 기초로 한 공장 상호간의 전문화에 따라 생산의 합리화를 기대할 수 있다.

공장 상호간에 전문화가 행해질 경우, 두 가지를 생각할 수 있다. 그 하나는 작업공

정에 의한 전문화(specialization by process ; vertical specialization)이고, 또 다른 하나는 제품에 의한 전문화(specialization by product : horizontal specialization)이다.

이와 같은 전문화는 다음과 같은 점에서 경영상 유리한 점이 많다.

- (1) 자기공장에 일정한 시설이 없을 경우 하청기업의 특수한 가공기술을 이용할 수 있다.
- (2) 자기공장에서 제조하는 것보다도 원가가 절감될 수 있다.
- (3) 단위비용을 줄임으로서 이윤의 극대화를 이룰 수 있다.

그러나 전문화를 기하기 위하여서는 다음과 같은 점을 해결하여야 한다. 전문화를 이루기 위하여서는 모든 작업을 전문부문별로 세분하여야 하며, 공장도 제품별로 전문화할 필요가 있다. 또한 사용하는 기계공구 역시 전문기계와 공구로 대치되어야 한다.

따라서 이와 같은 전문화가 실제로 이루어지기 위해서는 무엇보다도 표준화가 전제요건이 되어야 한다. 표준화에 따른 대량연속생산에 의하여 원가절감을 이룩하려면 분업 생산을 전제로 단순화된 제품 및 부품을 집중적으로 생산토록 하여야 한다. 그리하여 개별기업으로 하여금 단일제품을 집중적으로 생산 하도록 하는 체제로 되어야 한다. 손 버거와 노트는 생산관리의 합리화 원칙으로서 다음 16가지를 열거하고 있다.

- (1) 고객과 경쟁자를 이해하려 노력 한다.
- (2) 대 기선을 최소화하고 생산시간을 줄이며, 흐름거리를 단축한다.
- (3) 조립 · 전환시간을 단축한다.
- (4) 고객 사용비율에 맞추어 생산하고 공급한다. 로트사이즈와 회전기간을 단축한다.
- (5) 공급선의 수를 최우수의 것으로 최소화한다.
- (6) 제품과 서비스의 부품수를 줄인다.
- (7) 첫 시도에 과오 없이 제품을 만들도록 한다.
- (8) 여러 통로를 단일통로로 전환시켜 흐름라인을 단순화한다.
- (9) 탐색시간을 최소화할 수 있도록 작업장 배치를 한다.
- (10) 다양한 수련을 할 수 있도록 교차훈련을 시킨다.
- (11) 작업장에 있어서의 생산량, 품질 및 문제가 되는 자료에 대한 기록을 하고

또 보존한다.

- (12) 문제해결을 전문 스텝이 아닌 라인담당자들이 하도록 한다.
- (13) 새로운 시설보다는 현재의 시설, 인력을 개선토록 노력한다.
- (14) 간단하고 저렴하며 이 동 가능한 시설을 찾아본다.
- (15) 자동화를 기한다.
- (16) 지속적 이고 신속한 개선을 하도록 한다.

나. 생산관리의 기능

생산관리의 기능은 매우 많을 수밖에 없다. 어느 제품을 제조하기 위하여서는 공장을 짓기 위한 입지선정 문제로부터 제품이 제조되어 그 제품의 재고를 관리하는 기능까지 그 내용은 다양하다.

가) 생산계획 · 집행 및 통제기능

생산관리는 생산계획에서 시작한다. 생산계획은 제품별 · 공정별의 제조계획으로 구체화됨으로써 생산 활동의 실행을 위한 지침이 된다. 그리고 생산계획에 기초해서 구체적으로 실행되어야 할 작업이 일정한 공정의 순서에 따라 서열화 되어야 한다. 또한 그것에 따라 각 작업을 수행하는데 필요한 기계가 결정되고 작업시간 계획이 수립되어야 한다.

그런데, 이와 같은 생산 활동이 보다 효율적으로 이루어지기 위해서는 생산 활동에 필요한 모든 정보가 효과적으로 사용될 수 있어야 한다. 예를 들면, 제품을 직접 생산할 것인가 아니면 하청을 주어서 생산할 것인가를 결정하는 경우, 제품의 수요가 불규칙하기 때문에 작업시간을 초과해서 조업을 하지 않으면 안 될 경우에 있어서 초래되는 이해득실과 재고품의 저장에서 생기게 되는 재고유지비 문제 및 고용의 안정화 문제 등에 결정할 정보를 활용하여야 한다.

나) 공장의 규모 및 입지선정기능

성장 가능성이 큰 기업에 있어서는 공장의 크기와 그에 따른 부속공장들이 적절히 유지되어야 한다. 또한 공장의 부지도 공장의 규모가 확대될 것을 고려하여 장기적인 계획으로 결정되어야 한다. 그리고 공장의 입지선정은 가능하면 운송비가 최소로 되

는 곳을 선택하여야 한다.

다) 설비선택과 대체기능

제품별로 생산에 대한 양적·질적 계획이 수립되면, 이를 생산할 시설에 대한 투자 계획을 세우고 자기회사의 생산 활동에 알맞은 설비를 선택하여야 한다. 그리고 생산 과정에서 이들 시설을 보완하고 또 필요시 이를 대체할 계획도 아울러 세워두어야 한다.

현재의 기계시설이 노후하여 그 성능이 떨어졌다거나 아니면 아주 성능이 좋은 새로운 기계시설이 개발되었을 경우에도 기업 전체적인 차원에서 이의 대체 여부를 위해 계획을 다시 수립토록 해야 한다.

라) 설비배치 및 구조유지기능

설비배치 (plant layout)는 어떤 시설을 어떤 형태로 어느 정도 설치하는 것이 자기회사에 가장 적당할 것인가에 초점을 두고 의사결정을 하여야 하는데 경제적인 면을 고려해야 된다.

또한 생산과정에서 선행공정과 후속공정 간의 처리능력을 감안하여 공정의 흐름이 일관성을 유지할 수 있도록 라인의 균형(line balancing)이 지켜져야 하고, 공정 간의 대기현상(waiting line)에서 오는 애로공정을 최소화 할 수 있도록 하여야 한다.

마) 설비보전기능

공장에서 제조활동을 계속적으로 하기 위하여서는 그 부대시설의 보수유지를 잘하여야 하는데 그러기 위하여서는 사전에 보수 유지에 대한 계획과 방침을 세우고 그에 의하여 실행되도록 하여야 한다. 보수방법에는 사전의 예방보수(preventive repairment)와 보전보수(maintenance repairment)가 있는데 어떤 방법을 강구하는 것이 자기회사에 경제적으로 가장 유리 할 것인가 따라 결정되어야 한다.

일반적으로 시설의 보수유지는 치료보수격인 보전보수방법보다는 예방보수의 방법이 더 유익하다. 그리고 일반 보수의 방침이 결정되면 그의 집행을 위한 절차가 확립되어야 하고 보수정책의 통제를 위해 필요한 정보가 수집되어야 한다.

또한 보수요원을 몇 명으로 유지하여야 할 것이며, 사전보수는 어느 시점에서 실시하

는 것이 가장 효과적일 것인지에 대해서도 신중한 검토를 하여야 한다.

바) 작업방법과 표준설정기능

제품의 제조과정에서 작업 방법 (work method)과 표준설정 (standard setting) 기능은 생산관리에서 다루어져야 할 가장 중요한 기능이다. 이는 기계를 다루는 작업자의 작업방법이나 태도(method or manner)라든지 원료배합의 노하우(know-how) 등에 의해서 효과적으로 수행될 수 있다. 그러나 그 경우에도 가장 중요한 것은 작업개선 의 경제성이 이룩되어야 한다는 점이다.

사) 품질관리 및 검사기능

생산관리의 기능 중에서 가장 중요한 목표는 원가절감과 품질향상에 있다고 할 수 있다. 따라서 좋은 제품을 낮은 가격으로 적기에 생산 공급하기 위한 품질관리 (quality control)와 검사기능(inspection function)은 전사적인(company wide) 노력으로 전개 되어야 한다.

아) 재고관리의 기능

생산관리 활동은 원재료-제조과정-완제품생산 등의 일련의 과정을 거쳐서 실행된다. 이러한 생산 활동이 정상적으로 이루어지려면 언제나 원재료, 재공품, 반제품의 재고량을 적절하게 유지하는 것은 생산관리에 있어서 대단히 중요한 일이다. 그러므로 항상 재고량이 정확히 파악될 수 있도록 기록 보존되어야 한다.

그리고 재고량은 그것이 최적수준으로 유지될 수 있도록 하여야 하는데, 이는 재고부족에 의한 조업의 중단이나 재고과잉에 의한 자본과 비용의 낭비를 최소화하기 위해서이다. 따라서 이와 같은 재고량의 결정에 있어서는 필요 원자재 및 부품의 구매와 그것의 생산 투입상황이 지속적으로 검토되어야 한다.

자) 전사적 자원관리의 기능

전사적 자원관리(enterprise resource planning)는 정보통합을 위하여 기업의 모든 자원을 최적으로 관리하자는 데에 그 주요 목적이 있다. 이것을 통하여 업무부문 간 정보교환을 원활히 함으로써 통합된 정보를 활용케 함은 물론, 업무흐름에 따라 시간별

· 요소별 정보량도 충분히 갖춘 소프트웨어 패키지 개발도 가능하게 한다.

전사적 자원관리는 생산, 자재, 영업, 인사, 회계 등 기업 전 부문에 걸쳐 있는 인력, 자금 등 각종 경영자원을 하나의 체계로 통합 재구축함으로써 생산성을 극대화하는 대표적인 기업 리엔지니어링운동이라고 할 수 있다. 전사적 자원관리체계를 구축하게 될 경우 기업의 생산, 영업, 구매, 재고관리, 회계팀 모두가 기업에 필요한 정보를 동시에 갖게 됨으로써 기업 전 부문을 통합적으로 운영 가능하게 한다. 또한 이를 통하여 기업은 생산시간의 손실을 최소화하게 되며, 전 공정에서 재고수준의 정확도를 지속적으로 높이는 효과를 거둘 수 있다.

특히, 제조업체들은 제품가의 60-70%를 차지하는 부품조달을 합리적으로 확보함으로써 긴급주문(rush order)에 따른 생산수주에도 거뜰히 부응할 수 있는 자재확보를 할 수 있다. 뿐만 아니고, 1년에 한두 번 실시하던 총 실사방식에서 탈피하여 순환실사를 수시로 할 수 있게 됨으로써 회계 상황을 투명하게 파악할 수 있고 또 재고부족이나 과잉 순환의 흐름도 주기적으로 쉽게 알아낼 수 있다.

차) 적기 생산 인도의 기능

적기 생산인도시스템(just in time scheduling)은 일본에서 시작된 것으로 일반적으로 재고가 없는 생산시스템으로 알려져 있다. 이 시스템은 작업장이나 시설에 자재가 적기에 조달되도록 함으로써 가장 효과적으로 생산 활동을 할 수 있게 하는 통제 기법이다.

이를 위해서 필요한 방법의 하나는 곧 경제적 주문량(E.Q.A)의 유지이다. 이 제도를 성공적으로 유지하기 위해서는 다음과 같은 점이 중요시되어야 한다.

- 1> 수준 높은 공급선 (좋은 품질을 공급할 수 있는)을 확보한다.
- 2> 관리 가능한 공급선의 수를 유지하고 또 그들 간에 네트워크를 구축한다.
- 3> 지역적으로 집중화를 기함으로써 자재확보의 수월성을 확보한다.
- 4> 효과적인 운송 및 자재관리시스템을 유지한다.
- 5> 강력한 관리적 참여를 유도함으로써 스스로 실행하도록 한다.

카) 원가관리기능

기업에서 제품을 제조하는 과정에서 가장 중요한 것은 품질개선과 원가절감이다. 기

업의 목표를 이윤추구라고 한다면 생산과정에서 원가절감은 가장 중요한 목표가 될 수 있다. 그러므로 원가절감은 전략적 차원에서 이루어져야 한다.

(2) 생산관리 매뉴얼 작성

가. 생산관리 매뉴얼 목차 구성

회사로고	생산계획 및 공정관리 절차서	문서번호	
		개정번호	
		페이지	

개정 이력		적합성 검토		
번호/일자	사유 및 내용	작성	검토	승인
0	제정	생산담당	생산부서장	공장장
201. 5.1				
4				
5				

<목 차>

1. 목적
2. 적용 범위
3. 용어의 정의
4. 책임과 권한
5. 생산 지시
 - 5.1. 생산계획 수립
 - 5.2. 생산계획 확인, 배포
 - 5.3. 생산지시 실시
 - 5.4. 생산계획 변경
6. 생산준비
 - 6.1. 생산 작업자의 배치
 - 6.2. 자재입고/불출계획 수립 운영
 - 6.3. 자재불출 준비
 - 6.4. 작업 전 청소 및 설비점검
 - 6.5. 작업조건 설정(품목 교체시 등)
 - 6.6. 원료 계량준비
7. 공정관리 및 운전
 - 7.1. 공정 조건의 설정
 - 7.2. 공정 운전의 실시
 - 7.3. 배합 공정 시 투입원료 확인
 - 7.4. 생산 공정 확인
 - 7.5. 공정품 검사 및 시행
8. 공정이상 발생시의 조치
 - 8.1. 공정조건 이상 발생시의 조치
 - 8.2. 설비 이상 발생시의 조치
9. 교대 작업 인수인계
 - 9.1. 작업자 간의 인수인계
10. 생산협력 관련 업무운영
 - 10.1. 생산협력 업체와의 의사소통
 - 10.2. 생산협력 업체의 선정 및 평가

11. 기록관리

12. 관련문서

13. 별첨

1. 목적

이 절차는 OOOO(이하 ‘당사’ 라 한다)의 제조공장에서 제품을 안정적으로 생산하여 납기준수와 품질유지를 하기위한 공정관리 및 생산성을 향상하는 것을 목적으로 한다.

2. 적용 범위

이 절차는 당사의 제품 생산과 관련하여 생산지시, 준비 및 공정관리활동에 적용한다.

3. 용어의 정의

3.1. 공정관리

공정의 이탈 여부를 확인하여 이탈을 방지하는 행위를 말하며 [QC공정도] 및 [작업표준]의 관리 항목으로 확인할 수 있다.

3.2. 공정관리기준

제품생산 시 공정 및 품질관리를 위해 설정한 관리기준으로 다음의 사항을 말한다.

- 공정단계별로 품질에 영향을 미치는 인자를 설정하여 부적합품이 생산되지않는 범위를 설정한 값
- 공정단계별로 공정이 적절히 수행되는지 확인하기 위하여 설정한 값

3.3. 공정품 검사

검사자가 생산중인 제품을 대상으로 정해진 시간에 관리기준의 이탈여부를 검사하는 행위를 말한다.

3.4. 완제품 검사

모든 공정이 끝나고 제품 인수인계 시 최종적으로 출하여부를 결정하기 위하여 행하는 검사를 말한다.

3.5. Q.C공정도

제품의 제조공정순서에 따라 각 공정단계에서 관리되거나 검사되어야 할 사항을 계획한 표로서 [작업 표준], [공정품검사규격], [완제품검사규격]에 따라 공정이 안정 여부를 확인할 수 있다.

3.6. 협력사

당사와 어느 일을 완성할 것을 약정하고 업무를 수행하는 업체로 협력사의 재량과 책임 하에 협력사가 고용한 근로자를 사용하여 업무를 수행한다.

3.7. 생산일보

일별/주별 생산량 및 생산실적 등을 기록한 것

3.8. 공정관리일지

공정의 작업조건을 기준으로 공정의 작업상태를 기록한 문서로 작업일지, OO점검표, OO생산일보 등을 말한다.

4. 책임과 권한

직 책	내 용
공장장	생산업무에 대한 총괄 생산 협력관련 업무의 평가 결과 및 계약에 대한 승인
생산부서장	해당 생산업무에 대한 총괄 생산계획서/지시서 및 공정관리 내역에 대한 승인 이상 발생보고서의 적절성 판단 및 승인 이상조치 진행 사항 및 조치 결과 확인 생산 협력관련 업체의 평가 실시
생산담당	[생산지시서] 작성 및 배포, 생산에 대한 작업지시 생산작업자에 대한 교육 실시 및 기록관리 공정 모니터링 결과 확인 및 이상 시 조치대책 수립 및 보고 이상 조치방법에 대한 기록관리 이상 발생보고서 작성 및 관련부서 협의 사항 관리
공무담당	제조설비 이상발생시 정비 및 수리
자재담당(생산)	원부자재 입고계획 수립 및 입고계획서 작성 원부자재 입출고 현황 기록관리 원부자재 준비 안전관리자 안전교육 실시 및 결과 기록관리
품질부서장	생산제품의 품질 전반에 대하여 총괄관리 [QC 공정도] 개정여부 파악 및 승인 공정검사와 시험검사의뢰건의 결과(시험성적서)에 대한 승인
품질담당	[QC공정도] 개정 공정품 및 완제품의 검사 항목 및 규격 설정 이상발생시 등 필요 시 시료채취 후 시험검사 의뢰
검사원	QC 공정상의 점검항목에 대한 점검과 결과 기록관리 생산중인 공정품검사 또는 완제품 검사 실시 시험원 시험 의뢰된 공정품 또는 완제품에 대한 시험 실시
생산작업자	공정관리 일지 작성 작업개시전 설비운전상태, 청결 여부 점검 실시 작업표준, QC공정에 기반한 생산 실시 생산인수인계서 작성 및 보고

5. 생산지시

5.1. 생산계획 수립

- (1) 생산담당은 고객의 주문(FS점포의 전산주문 포함), 영업부서의 판매계획 및 재고상황등을 감안하여 생산계획을 수립한 후 생산부서장에게 보고한다.
- (2) 생산부서장은 설비능력, 가용일정 및 원부자재 수급일정을 감안하여 생산계획을

확정한다.

5.2. 생산계획 확인, 배포

- (1) 생산담당은 생산부서장으로부터 확정된 [생산계획서]를 인수하고, 라인별/제품별 작업량을 현장에 통보한다.
- (2) 생산담당은 [생산계획서]를 자재, 구매, 품질, 생산기획 부서 및 필요시 타기업 개발부서에 이를 배포하여 업무에 활용토록 한다.

5.3. 생산지시 실시

- (1) 생산담당은 생산계획을 확인하여 [생산지시서]를 작성, 제품생산을 할 수 있도록 생산작업자에게 지시한다.
- (2) [생산지시서]에는 아래의 내용이 포함되어야 한다.

- 제품생산명	- 배합지시(배합실, 작업실별)
- 제조지시(공정별, 반제품)	

- (3) 생산담당은 생산제품의 작업공정 등이 변경되었을 경우 해당 제품에 대한 [QC공정도] 및 [작업 표준]을 생산작업자에게 배포하여 변경된 생산조건에 대한 사항을 명확히 이 해시킨다.
- (4) 생산담당은 원료배합비가 변경되었을 경우 신규 [계량 지시서] 및 [배합지시서]를 배포 하고, 관련된 변경사항을 생산작업자에게 교육시킨다.
- (5) 생산담당은 제품 출하계획을 감안하여 포장작업 필요내역을 파악하여, 포장 작업자에게 포장작업량을 지시한다.

5.4. 생산계획 변경

- (1) 생산담당은 생산계획을 확정된 이후 생산 계획의 변경이 있을 경우에는 생산계획 변경에 대한 사항을 관리하여야 한다.
- (2) 생산계획의 변경은 영업 담당 부서장의 변경 요청 또는 고객의 주문변경 등으로 해당 생산부서장의 승인에 의해서 이루어지는 것을 원칙으로 한다. 단, 생산 부서의 원인으로 생산계획의 변경이 수행되는 경우에는 영업담당 부서 또는 주문 고객에게 생산계획의 변경에 대해 유선이나 e-mail등을 통해서 생산계획의 변경을 통보하여야 한다.
- (3) 다음과 같은 사유로 생산 계획이 변경될 경우 해당 생산부서장은 영업담당 부서장 또는 고객에게 사전 통보 및 협의 후 생산계획을 변경 할 수 있다.

1) 긴급 오더의 발생

영업담당 부서에서 긴급한 오더 발생으로 인하여 생산계획의 변경이 발생될 경우

2) 생산 설비의 이상

생산 설비의 이상이 발생되어 제품에 대한 생산을 할 수 없는 경우

3) 품질의 이상

제품의 품질 이상 또는 원료의 품질 이상으로 인하여 생산계획의 변경이 필요할 경우

6. 생산준비

6.1. 생산 작업자의 배치

생산담당은 생산 진행을 위하여 작업자를 배치하여야 하며, 작업자 배치 시 [별첨1. 생산 및 품질관리작업자 적격성 관리기준]에 규정된 적격성 기준에 맞게 작업자를 배치하여야 한다.

6.2. 자재입고 / 불출 계획 수립 운영

(1) 자재담당은 월간 및 주간 생산계획에 맞추어 필요한 원료, 포장재의 입고 계획을 수립하고, 구매부서 또는 공급업체에 발주하여 납품을 요청한다. 세부사항은 [구매업무절차]에 따른다.

(2) 자재담당은 생산의 돌발상황에 의해 생산계획이 변경될 시 필요한 긴급 자재의 입고를 추진한다.

6.3. 자재 불출 및 준비

(1) 자재 담당은 생산용 자재의 불출 시 구획 보관된 자재를 선입선출에 의해 불출하며 [원료수불부] 및 [창고입출고현황]에 일별 입고, 불출 내역을 기록하고 [RNFG시스템]>자재관리>매입관리/출고관리>원자재 입고확정/자재 요청 마감에 등록한다.

(2) 원부자재의 출고는 [원부자재 관리 절차]에 따라 관리한다.

6.4. 작업 전 청소 및 설비점검

(1) 작업자는 작업 개시 전에 설비의 운전상태, 청결여부 등을 점검하고 필요한 조치를 한다.

(2) 설비의 청소는[위생관리 기준서]에 따른다.

(3) 생산담당은 수시로 설비관리상태를 확인하고 부적합 시 작업자에게 조치를 지시한다.

(4) 안전관리자(또는 안전협회)는 월1회 이상 작업자를 상대로 안전교육을 실시한 후 이를 [안전교육일지] 또는 [안전교육결과보고서]에 기록하여야 한다.

6.5. 작업조건 설정 (품목 교체시 등)

작업자는 품목교체 등 작업조건 변동요인이 발생할 경우에는 [작업 표준]에 따라 설비의 작업조건을 설정 운영하며 해당 내용을 [공정관리일지]에 기록한다.

6.6. 원료 계량 준비

- (1) 계량 작업자는 작업 지시서 및 계량 지시서에 따라 작업할 원부재료를 [계량작업표준]에 의하여 계량을 준비한다.
- (2) 계량 작업자는 계량의 결과를 계량 작업일지 등에 기록/관리 하여야 한다.

7. 공정관리 및 운전

7.1. 공정조건의 설정

- (1) 생산담당은 제품 생산 전에 해당 공정조건의 변경이 필요한 경우 생산부서장과 협의 및 승인 후 설정시점 및 작업방법을 [작업 표준]에 근거하여 생산작업자에게 지시하고 이행 여부를 확인할 책임이 있다.
- (2) 생산작업자는 지시 받은 공정조건을 해당 시점에 공정제어 및 모니터링 설비에 설정하고 [QC공정도] 및 [작업표준]에 따라 생산을 실시 하여야 한다.

7.2. 공정운전의 실시

- (1) 생산담당은 해당 [작업 표준] 및 [QC공정도]에 따라 공정 운전조건 및 품질상태를 확인하고 제조설비를 점검하며 이상발생시 조치를 취할 책임이 있다.
단, 이상발생시 스스로 조치를 취하기 어려울 경우 생산부서장에게 보고한 후 지시에 따른다.
- (2) 생산작업자는 운전 중 발생한 이상발생 사항 및 실시한 작업결과를 [공정관리 일지]에 기록, 유지하고 차기 근무조 생산작업자에게 인수인계 하여야 한다.
- (3) 생산작업자는 생산담당의 지시에 따라 [작업 표준]을 준수하여 작업을 실시하고 공정운전 조건 및 품질상태를 확인하고 [공정관리일지]에 확인 결과를 기록하여야 한다.
- (4) 생산작업자는 운전 중 제조설비에 대해서 정상가동 및 이상상태를 수시로 확인 하고 제조설비에 이상이 있을 시에는 [제조설비관리절차]에 따라 생산담당 및 공무담당에게 통보하여 조치를 받아야 한다.
- (5) 생산작업자는 [공정관리일지]를 생산완료 후 생산담당에게 제출하여야 한다.
- (6) 생산담당은 [공정관리일지]를 검토, 확인하고 [생산일보]를 작성 결과를 생산부서장에게 보고하여야 한다.

7.3. 배합공정시 투입원료 확인

- (1) 생산작업자는 배합공정에 원료를 배합할 경우 [배합지시서]에 따라 배합순서 및 정확한 원료가 투입되는지를 확인하고, 원료 투입현황을 기록한 후 생산담당에게 제출 하여야 한다.
- (2) 원료 추적성이 필요한 제품의 경우 [배합지시서]의 확인란 또는 [(배합)공정관리일지]의

기록란에 투입원료의 제조일자 또는 LOT NO 등을 기록 관리한다.

(3) 생산담당은 생산작업자가 배합현황을 기록한 [배합지시서]를 검토 확인한다.

7.4. 생산공정 확인

(1) 생산작업자는 공정조건을 확인하여야 한다.

(2) 생산담당은 [작업 표준] 또는 [QC공정도]를 기준으로 공정관리기준이 벗어나 지 않도록 유지할 책임이 있으며 이상발생시 해당 [작업 표준]에 따라 조치하여야 한다.

(3) 생산담당은 [공정관리일지] 및 [생산일보]의 특이사항란에 작업 수행 시 발생한 기록사항을 확인할 책임이 있다.

(4) 생산담당은 [공정관리일지] 및 [생산일보]에 기록한 내용 중 이상여부를 확인하고 필요시 생산부서장에게 보고하여야 한다.

(5) 생산작업자는 공정운전 수행결과를 다음 생산작업자에게 인계하고 생산담당에게 보고하기 위하여 다음의 사항을 [공정관리일지] 또는 [업무 인수·인계서]에 기록할 책임이 있다.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">- 제조설비 별 생산제품명- 인원현황- 생산현황 및 특이사항- 생산담당의 지시사항 실시현황- 제조설비 이상발생 현황 및 정비현황 |
|---|

7.5. 공정품 검사 및 시행

7.5.1. 공정품 검사

(1) [QC공정도]에 규정된 해당 작업자는 공정관리 및 공정품 검사를 실시하고 결과를 해당 일지에 기록관리하여야 한다.

(2) 생산담당은 해당 공정관리작업자에게 공정관리를 수행할 수 있도록 교육을 수행한 후 이에 대한 기록을 유지, 관리하여야 한다.

(3) 공정품 검사자는 [QC공정도]에 정의된 점검항목에 대해서 점검하고 그 결과를 해당일지에 기록하여 관리한다.

(4) 공정품 검사의 세부사항은 [검사업무절차]에 따라 실시하며, 공정품 검사결과 부적합이 발생한 경우 [부적합품관리절차]에 따른다

7.5.2. 시험검사에 의한 모니터링

(1) 품질담당은 이상발생시 또는 필요하다고 판단되는 경우 시료를 채취하여 시험원에게 시험검사를 의뢰할 수 있다.

(2) 시험원은 시험검사의뢰를 접수하면 시험을 실시하여 [시험성적서]에 기록한 후 결과를

생산담당과 품질담당에게 통보 하여야 한다.

(3) 생산담당은 시험결과를 접수한 후 결과의 영향을 파악 및 조치한 후 생산부서장에게 보고한다.

8. 공정이상 발생시의 조치

8.1. 공정조건 이상시의 조치

(1) 생산작업자는 작업 중 또는 모니터링 중 공정의 이상이 발생하였을 경우 [작업표준]에 따라 조치를 취하여야 한다. 생산작업자가 조치를 취할 수 없는 경우에는 즉시 생산담당에게 이상상황을 구두 또는 유선으로 보고하여야 한다.

(2) 생산담당은 공정조건이 공정관리기준에서 벗어날 경우 [작업표준]에 따라 조치하고 조치를 취할 수 없는 경우에는 이를 생산부서장에게 보고하여야 한다.

(3) 생산부서장은 공정운전 중 다음과 같은 이상이 발생되면 생산담당으로 하여금 [이상 발생보고서]를 작성하도록 지시한다.

- 공정 가동정지 - 부적합 LOT 발생
- 심각한 공정이상으로 인한 생산 차질이 예상될 경우
- 기타 필요하다고 판단되는 이상 발생시

(4) [이상발생보고서]에는 다음의 사항 중 필요한 사항을 작성하여야 한다.

- 사고공정 - 사고명
- 사고일시 - 조치사항
- 사고원인 - 사고내용
- 예방대책 - 기타

(5) 생산부서장은 [이상발생보고서]의 적절성여부를 판단하여 필요하다고 판단되는 내용을 기록하여 생산담당에게 지시하고 다음 사항을 실시할 책임이 있다.

1) [이상발생보고서]에는 이상조치의 진행 및 결과를 확인하여 원인 및 대책이 기록되도록 하여야 하며, 미결중인 이상에 대하여는 대책시행 실시자를 선임하여 조치가 완료될 수 있도록 하여야 한다.

2) 사고원인 분석 시 다음과 같은 항목을 모두 분석해야 한다.

- 생산 설비의 문제
- 생산 작업자의 문제
- 생산 원부자재의 문제
- 생산 방법의 문제

3) 원인 불명 또는 조치가 불가능한 이상의 경우 원인불명 또는 조치불가로 완료할 수 있다.

4) 이상의 원인이 생산작업자의 부주의 또는 작업미숙으로 인한 경우 해당 생산작업자

- 의 필요한 교육을 식별하여 교육을 실시하고 교육결과를 기록한 후 완료할 수 있다.
- (6) 생산담당은 필요시 이상발생에 대한 대책을 관련 부서와 협의 하여 수립 할 수 있으며 협의사항은 회의록으로 작성하여 기록을 유지 관리 하여야 한다.
 - (7) 생산부서장은 생산담당으로부터 이상내용, 조치방안 및 조치결과를 보고 받으면 이를 확인하고 미 해결된 이상내용에 대하여 적절한 조치방안을 수립하여 지시하여야 한다.
 - (8) 생산부서장은 조치결과에 따른 작업방법의 변경 시 [작업표준]의 개정여부를 파악하여 필요시 이를 개정 후 생산작업자에 대한 교육을 실시할 책임이 있다.
 - (9) 생산담당은 이상발생시 조치방법을 품질담당과 협의하여 [QC공정도] 또는 [작업표준]에 작성하여 관리할 책임이 있다.
 - (10) 생산담당은 모니터링 결과 확인 및 검토결과 이상에 대한 조치대책수립 및 조치결과를 확인하고 공정이상의 집계, 경향분석을 실시하여 공정이 안정된 상태를 유지하도록 할 책임이 있다.
 - (11) [작업표준]의 개정은 [표준문서 관리절차] 에 따른다.

8.2. 설비이상 발생시의 조치

- (1) 생산담당은 설비이상 발생시에는 공무담당에게 [작업의뢰서]를 작성하여 해당설비 정비 를 요청하여야 한다. 단, 긴급한 설비이상 발생시에는 생산작업자가 공무담당에게 우선 유선으로 정비요청 후 생산담당에게 보고할 수 있다.
- (2) 정비 요청 및 설비 수리의 의뢰절차는 [제조설비관리절차] 에 따른다.

9. 교대작업 인수인계

9.1. 작업자간의 인수인계

- (1) 인계 작업자는 [공정관리일지] 또는 [업무 인수·인계서]에 따라 인수작업자에게 근무시 간 전에 작업 중 발생사항, [생산 지시서]상의 내용, 공지사항, 인원배치, 생산계획 등의 내용을 설명한다.
- (2) 필요시 문제발생현장을 방문하여 충분한 의사교환이 이루어지게 한다.
- (3) 인계작업자는 인수작업자에게 인수인계 종료 후 현장으로 복귀하여 작업 중 발생사항 및 조치결과, 작업지시 받은 내용, 작업우선 순위 등을 전달한다. 작업지시가 명확하지 않은 경우에는 생산담당에게 재문의 한다.
- (4) 생산담당은 근무투입 전 생산작업자를 대상으로 주요작업지시, 작업 중 발생사항, 공지 사항, 인원배치, 생산계획 등의 내용을 지시한다. 전달 사항이 끝난 후 안전구호 제창 등을 실시한다.

10. 생산협력 관련 업무운영

10.1. 생산협력 업체와의 의사소통

(1) 생산팀장은 다음 사항의 발생하는 경우 협력사와 의사 소통하여 문제를 즉시 해결하여야 한다.

- 1) 생산공정관리에 소홀하거나 주어진 작업지침대로 수행하지 않는 경우
- 2) 식품위생관련 법규의 위반사항 발견 시
- 3) 산업안전수칙을 준수하지 않는 경우
- 4) 고의적인 직무태만, 비협조 등의 사유로 생산에 차질이 발생 시

(2) 의사 소통의 방법은 다음과 같다.

- 1) 일일 조회
- 2) 정기 회의체 운영 (예: 월,년,분기 1회)
- 3) 특별 회의체 운영 (생산 중대 ISSUE 발생 시)
- 4) 통신문 등의 회람 등

(3) 의사 소통의 결과와 개선결과는 협력사 운영일지, 회의록, 일보 등으로 기록관리하여야 한다.

10.2. 생산 협력업체의 선정 및 평가

[용역업체 관리절차서]에 따라 선정 및 평가 한다.

11. 기록관리

기록명	양식번호	보존기한	보관방법
공정관리일지		3년	캐비닛
생산일보		3년	캐비닛
생산지시서		3년	출력매체
계량/배합지시서		3년	출력매체
원료수불부		3년	RNGF 시스템
창고입출고현황		1년	RNGF 시스템
안전교육일지		3년	캐비닛
시험성적서		3년	캐비닛
이상발생보고서		3년	캐비닛
생산 계획서		3년	출력매체
작업 의뢰서		1년	캐비닛

12. 관련문서

12.1. 구매업무절차

12.2. 원부자재관리절차

12.3. 부적합품관리절차

12.4. Q.C공정도

12.5. 작업표준

12.6. 공정품검사규격

12.7. 완제품검사규격

12.8. 제품관리절차

12.9. 위생관리 기준서

5) 품질관리 표준화

(1) 품질 관리 자료 조사

품질관리 프레임워크개념도는 프로젝트의 품질목표인 요구사항 부합을 달성하기 위한 품질관리활동체계이다.

Y 개발의 각 단계별로 활동, 산출물, 도구 및 기법 등의 표준과 이에 대한 교육을 제공하고,

사업 수행 중 품질을 모니터링하고 검토한다.

Y개발된 산출물에 대한 검사와 시험을 통해 품질 수준을 지속적으로 개선해 갈 수 있어야 한다.

품질을 위한 공정을 계획하고 이를 실시하는 과정에서 적합성 및 적절성여부를 검토하고 확인하여 개선해야 하 사항에 대해서는 계획을 수정하여 지속적인 품질관리 사이클을 실행한다.



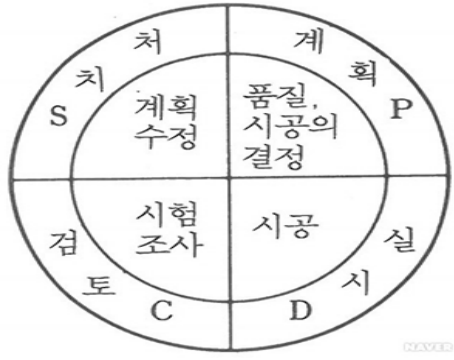
그림 7-12 품질관리 프레임 워크의 개념도

■ 품질관리 활동의 주요 내용

구분	주요 내용	주요 산출물
품질시스템 (QMS ¹⁾)준비	제안 및 계약 단계에서 개발자가 제안 수립을 하는 동안 품질관리자는 해당 사업에 적용할 품질시스템을 준비	(회사/조직) 품질시스템
품질계획(QP ²) 수립	착수 및 계획 단계에서 개발자가 개발 준비를 하는 동안 품질관리자는 해당 사업에 대한 품질계획을 수립함	품질관리계획서
품질보증(QA ³) 및 품질통제(QC ⁴) 수행	실행 및 통제 단계에서 개발자가 분석, 설계, 구축, 시험, 전개 등의 개발활동을 하는 동안 품질관리자는 해당 사업에 대한 품질보증과 품질통제를 실시함	품질관리활동내역서 품질관리결과보고서
품질시스템 개선	종료 및 전환 단계에서 개발자가 정보시스템을 설치 및 전개하는 동안 품질관리자는 해당 사업에 대한 품질관리를 마감하고, 향후 정보화 사업에 보다 효과적으로 적용할 수 있도록 품질시스템을 개선함	(회사/조직) 품질시스템

- 1) QMS : Quality Management System
- 2) QP : Quality Planning
- 3) QA : Quality Assurance
- 4) QC : Quality Control

PDCA 관리체계 수행



관리	제안/계약	착수/계획	실행/통제	종료/전환	
개발	제안수립	개발준비	분석⇄설계⇄구현⇄시험	설치⇄전개	
품질	활동	QMS 준비	품질관리 계획수립	품질관리 활동 전개	QMS개선
	산출물	<ul style="list-style-type: none"> ·품질방침 ·품질목표(제안) ·QMS(적용) 등 	<ul style="list-style-type: none"> ·품질목표 ·품질표준 ·품질지표 ·품질관리계획서 ·품질체크리스트 등 	<ul style="list-style-type: none"> ·품질계획 보완 및 구체화 ·품질평가 및 부적합 보고서 ·결함 및 시정조치 보고서 ·문제 및 예방조치 보고서 ·오류 및 변경요청서 ·품질지표분석 보고서 등 	<ul style="list-style-type: none"> ·품질요구사항 달성 및 표준준수 보고서 ·품질지표검토 보고서 ·QMS개선 이슈
	도구·기법	<ul style="list-style-type: none"> ·품질시스템 ·전사 품질조직 ·조직프로세스 자산 	<ul style="list-style-type: none"> ·비용/효과 분석 ·양식/템플릿 ·체크리스트 ·벤치마킹 ·품질비용검토 	<ul style="list-style-type: none"> ·홍보/교육훈련 등 품질마인드 제고 ·검토(관리자/전문가/검사/워크스루) ·통계기법(컨트롤차트, 파레토도, 동계샘플링, 추이분석 등) ·테스트(시나리오, 케이스데이터) 	<ul style="list-style-type: none"> ·품질시스템 ·전사 품질조직 ·프로세스 개선기법

그림 7-13. 품질관리 프레임 전개도

표 7-73. 업체내의 3자간의 역할 및 책임

구분	역할
관리자	<ul style="list-style-type: none"> - 품질 관련한 요구사항과 제약사항 제시 - 품질보증과 품질통제에 필요한 자원 공급 - 품질 요구사항의 달성 여부를 확인하여 개선이슈를
개발자	<ul style="list-style-type: none"> - 품질 목표 달성에 적합한 개발 전략을 수립 - 품질 목표 및 품질표준에 입각한 산출물을 개발 및 - 지적된 산출물 결함의 해결과 시정조치의 이행 및 - 변경경 처리 등을 수행 - 품질 표준 및 품질활동의 문제점과 개선사항을 제시
품질관리자	<ul style="list-style-type: none"> - 품질 목표를 정함 - 품질 목표 달성 전략과 구체적인 품질관리계획을 수립 - 품질보증과 품질통제를 통해 달성함으로써 고객의 - 요구사항을 만족시킴 - 품질 표준 및 품질활동의 개선사항을 제시하여 - 품질 시스템의 지속적 개선을 도모



그림 7-14. 업체내의 3자간의 역할과 책임관점에서 품질관리 프레임 워크

(2) 품질 관리 현황

가. 발효차 제조 시의 주요 시설 설비 공정별 품질관리현황

가) 우수 균주의 사용 가능성 확인

식품의약품안전처의 식원재료데이터베이스(<http://fse.foodnara.go.kr/origin/dbindex.jsp>)를 검색하여 발효차 제조에 관련한 균주의 사용 여부를 확인하였다. 실험에 사용된 균주는 순수분리에 의해 동정된 것으로 단일균주로써 대부분의 균주에서 사용가능성이 높은 것으로 나타났다.

표 7-74. 단일균주 발효차 제조에 관련한 균주의 사용 여부 확인(59종)

균주명	사용가능	제한적 사용
AN091	○	
AN092	○	
ANa80	○	
ANa97	○	
ANm65	○	
AF211		
AF212		
AFa88		
AFa89		
AFm27		
AT011		○
AOhj01	○	
AOsj01	○	
AOa71	○	
AKhj02	○	
AKm60	○	
CT181		
DH011		
EC181		
EC081		
ECa44		
LR011		
MPa30		○
MPt20		○
MRa66		○
PCa11		

PCa69		
PC091		
PCm84		
PG051		
PC151		
PG121		
RP211		
RSa05		
RS201		
RSm86		
ROa02		○
ROm85		○
RP011		
SChj03	○	
SCa08	○	
SCa19	○	
SCa68	○	
BSfc01	○	
BSa49	○	
BSa74	○	
BSa39	○	
BSa25	○	
BSa50	○	
BSa69	○	
BLa25		○
BLa85		○
LMa13	○	
LMa44	○	
LMa17	○	
LMa52	○	
LBa53	○	
LBa21	○	
LPa51	○	

나) 발효실의 품질관리 현황

발효차 제조 시의 시설 설비 공정별 품질관리의 표준 지표를 설정하기 위한 방안으로 시설 설비에 대한 단위 공정의 특성 및 점검 항목을 검토하였다. 그 중 가장 중요 공정에 해당하는 발효 공정 시 발효실 환경 및 발효차의 품질 상태를 확인하였다. 25℃ 발효실은 바닥에 물기가 있고, 신발을 신고 들어가 흙탕물이 되어 있고 35℃ 발효실은 바닥에 물기가 없고 깨끗한 상태였다.



[작업자 및 작업대 위생상태 불량]



[작업장 환기시설 미설치]



[방충망 설치상태 불량]

[25℃ 발효실 - 바닥]



[배수시설 상태 불량]

[35℃ 발효실 - 발효중]



그림 7-15. 발효실의 작업 현황

다. 발효차 제조 시의 시설 설비 공정별 품질관리 표준 지표 설정 현황

표 7-75. 발효차 제조의 시설 설비 공정별 품질관리를 위한 표준지표 설정

제조공정	공정과정	공정 특성	사진	검사 및 서류	품질관리 표준 지표
모차	모차 업체에서 입고	정량 측정		육안 확인 원료 원산지 증명서	색깔, 형태
접종	균주 스타터 접종	접종 전후 세척 소독		사용 가능 균주여부 확인 접종실 위생관리 UV 조사량 및 조사 시간 측정	사용 가능 균주 UV 조사 살균 효과
발효	항온·항습 가능 상태로 발효	항온·항습 조절, 통기 관리		항온·항습 조절, 통기 관리	온도 및 습도
건조	수분 함량 감소	온도 시간 관리		온도 시간 관리	건조시간
포자제거	발효차에 남아 있는 포자 제거	포자제거 정도 확인		포자제거 정도 확인 선별기 세척 소독	사용기구 위생성
증기	일정한 스팀 가해 성형 공정 준비	스팀 가동 여부 확인		스팀 가동 여부 확인	기계 작동 적정성
성형	발효차 입자 크기 조절	성형기 작동 관리		성형기 작동 관리	기계 작동 적정성
포장	완성 제품 포장	실링 상태 확인		실링 상태 확인	기계 작동 적정성
제품	최종 제품 보관 출하	표시 확인		포장 상태 확인	표시 및 포장상태

또한 각 시설 설비 공정로 품질관리의 표준화를 위한 관리방안에서 문제점이 될 사항을 고려검토하였다.

- 기구 및 기자재의 안전성 문제를 생각하는가
- 식품공정상 허가된 재질 및 품목인가
- 고열처리(멸균 및 실링)에 따른 유해물질의 방출은 없는가
- 기존 면포를 이용한 방법과 발효 시간, 발효차의 성분 및 품질 변화는 없는가
- 실험기자재인 실리스트퍼가 식품기자재로 적합한가
- 발효봉투가 작업중 손상되어 제품이 방출되거나 이물질이 유입될 수 있지 않는가
- 멸균기의 멸균온도 및 시간에 대한 정기점검이 이루어지고 있는가
- 멸균 후 확인 실험을 진행하였는가
- 물 주입 및 발효 균주 접종시 무균적으로 처리된 무균실에서 진행되는가
물(식용수로 가능한 물인가? - 수질검사를 받았는가?)
- 발효실의 조건이 완벽하게 컨트롤 되고 있는가? (온도 및 습도 확인)
- 온풍기 및 습도조절장치의 성능평가 및 오작동 여부를 확인하였는가?
- 실제 내부 온도 및 습도 측정하였는가?
- 발효후 건조 공정을 위해 실리스트퍼를 제거하고 거즈로 교체할 때 멸균실에서 진행하는가?
- 멸균된 거즈를 사용하는가?
- 건조기 내부의 멸균처리는 방법은?
- 작업장 및 작업자의 위생상태는 잘 되었는가

(3) 시설·설비·공정별 품질 관리 분석

가) 급수 및 균주 접종

급수 및 균주 접종시 목포대학교에서는 클린벤치에서 무균 상태로 진행되었으며, 보성군 발효차 신축공장에서는 클린벤치와 같은 무균 시설이 아닌 오픈된 발효실 앞 테이블에서 진행되어 추후 균주 접종실 또는 무균실이 마련되어야 할 것으로 판단된다.

표 7-76. 급수 및 접종실 낙하균 측정 결과

목포대학교 실험실.		보성군 신축공장	
Standard plate count (CFU/plat)	Yeast and Fungal (CFU/plat)	Standard plate count (CFU/plat)	Yeast and Fungal (CFU/plat)
ND ¹⁾	ND	51	335

¹⁾ND: not detected. Unit : CFU

발효 용기는 발효 과정 중 다른 균주에 의한 오염 방지와 발효 후 생산된 차의 품질을 고려하여 3종류의 발효 용기를 적용하였다. 발효 용기로 사용된 면포는 통풍이 잘되어 발효 시 효과적이나 외부 환경에 의한 교차오염이 발생할 가능성이 높고, 새롭게 시도된 비닐 재질의 발효 용기들은 교차오염의 가능성은 낮으나 통풍이 원활하지 못하고, 사용되는 비닐 및 실리스토퍼의 재질이 식품 용기로 사용이 적합한지가 검토되어야 할 것으로 판단된다.



그림 7-16. 발효차 제조 공정중 발효시 적용 용기

나) 발효 공정

목포대학교에 실시된 발효 공정은 접종 균주별로 각각 1, 3, 5주씩 95% 습도의 25 ℃와 35 ℃ 발효실에서 진행되었다. 25 ℃ 발효실은 바닥에 물이 고여 있고, 벽면에 물방울이 맺혀 있었으며, 바닥에는 흙탕물이 되어 있어 작업자 출입시 위생관리가 미비한 것으로 확인되었으나, 35 ℃ 발효실의 내부 청결 상태 및 발효차 적재 상태는 양호하였다.

각각의 발효실에서 20분간 온도와 습도를 측정한 결과 온도는 적합하게 나타났으나, 습도는 82~85%로 발효차 제조 조건으로 제시된 95%에는 미치지 못하는 것으로 확인되었다.



25 °C



35 °C

그림 7-17. 목포대학교 공장동 발효실

보성군에 신축된 발효차 공장은 30, 45 °C 발효실을 가동하고 있었으며, 30 °C 발효실에 많은 물방울이 맺혀 있는 것이 육안으로 확인되었다. 높은 습도로 인하여 발효차 적재 선반의 용접 부분 등에 녹이 생성되는 것이 확인 되었으며, 발효실의 높은 습도로 인하여 공장 내부의 천장과 벽면에 곰팡이가 번식하였고, 바닥 방수페인트가 벗겨져 콘크리트가 노출되어 있어 시멘트 가루 등 위해 요소가 제품으로 혼입될 가능성이 있는 것으로 사료된다.



30 °C



45 °C

그림 7-18. 보성군 발효차 신축 공장 발효실



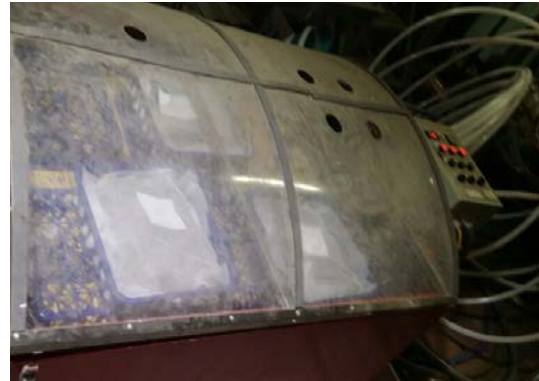
그림 7-19. 발효실의 높은 습도로 인한 공장 내부 위해요소 발생

표 7-77. 발효실 낙하균 측정 결과

	목포대학교 실험실		보성군 신축공장	
	25 ℃	35 ℃	30 ℃	45 ℃
Standard plate count (CFU/plat)	23	27	4	29
Yeast and Fungal (CFU/plat)	98	48	74	166

다) 건조

건조 공정은 60 °C에서 3일간 진행되었다. 목포대학교 공장동에 설치된 건조기에서는 발효 후 거즈를 바구니에 깔고 그 위에 발효 공정이 완료된 제품을 옮겨 넓게 펼친 후 다시 거즈를 위에 덮고 3일간 건조하였으며, 보성의 발효차 공장에서는 면포를 교체하여 건조하였다.



목포대학교 공장동



보성군 발효차 신축 공장

그림 7-20. 각 제조 시설별 뒤집기 및 건조 공정

발효가 완료된 시료를 건조기에 넣기 전에 뭉쳐 있던 찻잎을 풀어 뒤집는 과정에서 낙하균을 측정 한 결과 많은 부유미생물이 발생하는 것으로 나타났으며, 공정 완료 후 30분간 환기하여 측정 한 결과 일반미생물 44 CFU/plat, 진균 47 CFU/plat로 나타났다. 공정이 건조기가 위치한 공간에서 진행됨에 따라 건조기 내부와 호흡기를 통해 체내로 유입될 수 있어 환기시설이 설치된 별도의 작업실에서 마스크 등 안전장비를 갖춘 후 진행되어야 할 것으로 판단된다.

표 7-78. 뒤집기 공정의 낙하균 측정 결과

목포대학교 실험실		보성군 신축공장	
Standard plate count (CFU/plat)	Yeast and Fungal (CFU/plat)	Standard plate count (CFU/plat)	Yeast and Fungal (CFU/plat)
TNTC ¹⁾	TNTC	TNTC	TNTC

¹⁾TNTC: too numerous to count. Unit : CFU

라) 포자털기 공정

포자털기 공정은 목포대학교 공장동 설치된 후드에서 진행되었다. 뒤집기 공정과 달리 환기시설이 설치된 공간에서 진행되어 공정 전·후 및 공정 중 작업장의 낙하균은 크게 차이를 나타내지 않았다.



목포대학교 공장동

그림 7-21. 포자털기 공정

표 7-79. 포자털기 공정의 낙하균 측정 결과

	작업 전	작업 전	작업 후
Standard plate count (CFU/plat)	47	77	59
Yeast and Fungal (CFU/plat)	48	53	41

목포대학교와 보성군에 신축된 발효차 공장의 생산 공정별 개선 사항으로 급수 및 균주 접종시 무균실에서 진행되어야 하며, 공정 전후의 공간 살균을 위한 공간살균장치 설치되어야 할 것으로 사료된다. 또한, 높은 습도가 유지되어야 하는 발효실의 경우 제품 적재 선반은 녹에 강한 스테인리스강 재질의 구조물과 벽면과 천장 및 바닥의 적절한 방수 처리가 되어야 하며, 단일 균주의 발효차 생산만이 아닌 여러 균주

를 사용할 경우 발효실 내부의 공간살균장치도 필요할 것으로 판단된다. 건조기 또한 순환식 건조기의 사용으로 여러 균주가 접종된 발효차를 동시에 처리할 경우 교차오염이 발생될 수 있으며, 외부에서 유입되는 공기를 정균할 수 있는 필터와 건조 후 건조기 내부의 살균처리를 위한 장치가 추가로 설치되어야 할 것으로 판단된다.

미생물 발효차는 특정 미생물을 인위적으로 접종하여 발효시켜 제조하는 것으로 접종 미생물에 따라 특유의 색과 향, 맛을 갖는다. 이에 미생물 발효차의 제조 공정 중 가장 중요한 품질관리 요소는 종균의 오염방지와 발효 및 제품 생산 공정 중 다른 미생물의 혼입을 방지하는 것이 가장 중요할 것으로 판단되므로 생산 공장 공간 살균설비 및 제조 공정별 사용 기기 및 기구의 사용 전후 살균처리가 가장 중요할 것이다.

마) UV 크린벤치의 교차오염도 확인

1. Clean Flu무균접종기크린 베Ultraviolet irradiation의 발효차 접종미생물에 대한 살균효과 발효차 접종미생물은 효율이 높은 종을 선정하여 TSB(tryptic soy broth) 배지에서 균주의 종류에 따라 활성이 달라 최소 24시간에서 최대 72시간을 최적 온도인 25, 30, 35, 45 °C에서 배양한 후, TSA(tryptic soy agar) 배지에 도말하였다. 도말한 배지를 조사량 0.420 A의 clean bench(JSR, Korea, JSCB-1500SL)에서 시간별로 처리 하여 최적온도에서 최대 48시간을 배양한 후 미생물수를 측정하였다.

가) BS에 대한 ultraviolet irradiation의 살균효과

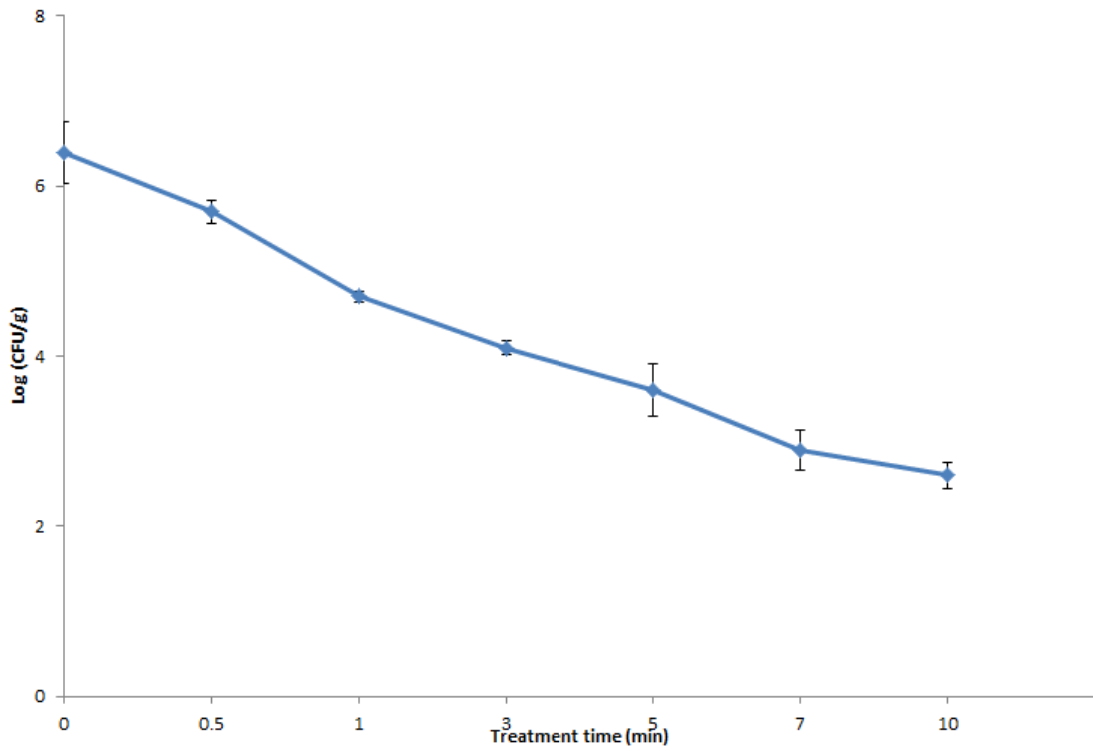


그림 7-22. Effect of UV fluence on inactivation of BSA49

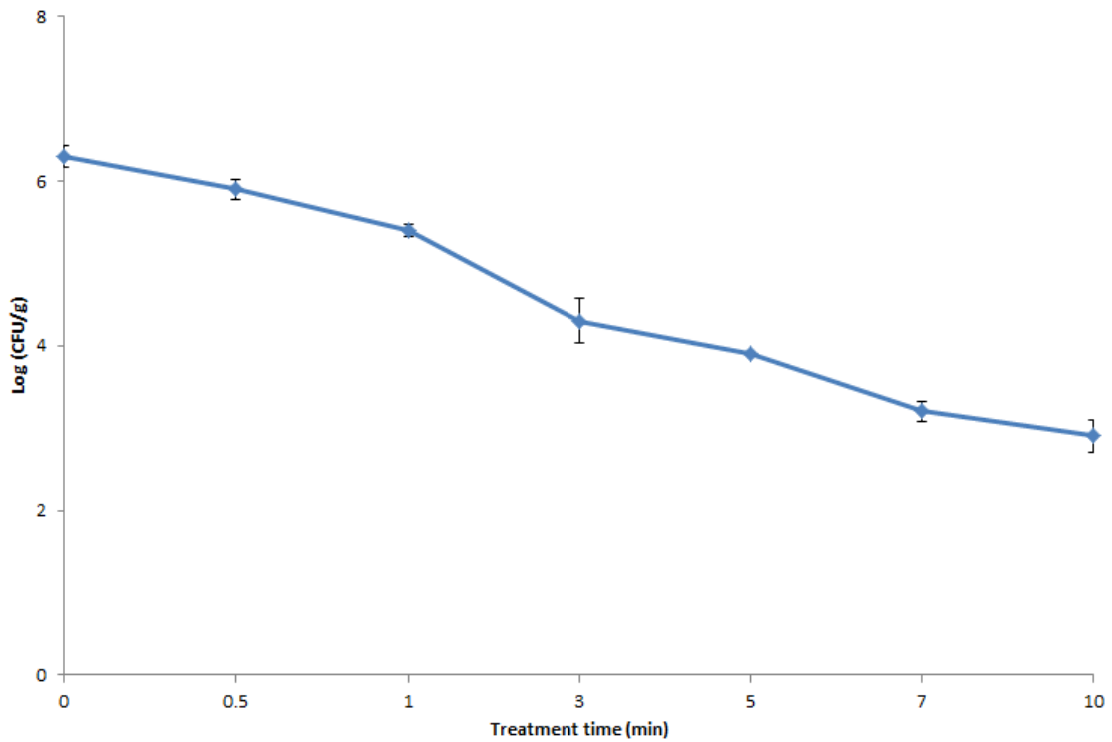


그림 7-23. Effect of UV fluence on inactivation of BSA50

세균인 BSa49을 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 7.4 log를 나타내었다. Ultraviolet을 0.5, 1, 3, 5, 7, 10분간 처리하였을 때 6.7, 5.7, 5.1, 4.6, 3.9, 3.6 log로 나타났으며, 시간이 지남에 따라 지속적으로 감균시켜 살균효과를 확인하였다.

BSa50을 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 7.3 log를 나타내었다. Ultraviolet을 0.5, 1, 3, 5, 7, 10분간 처리하였을 때 6.9, 6.4, 5.3, 4.9, 4.2, 3.9 log로 나타났으며, 시간이 지남에 따라 10분 후 3.4 log를 감균시켜 살균효과를 확인하였다.

나) LMa44에 대한 ultraviolet irradiation의 살균효과

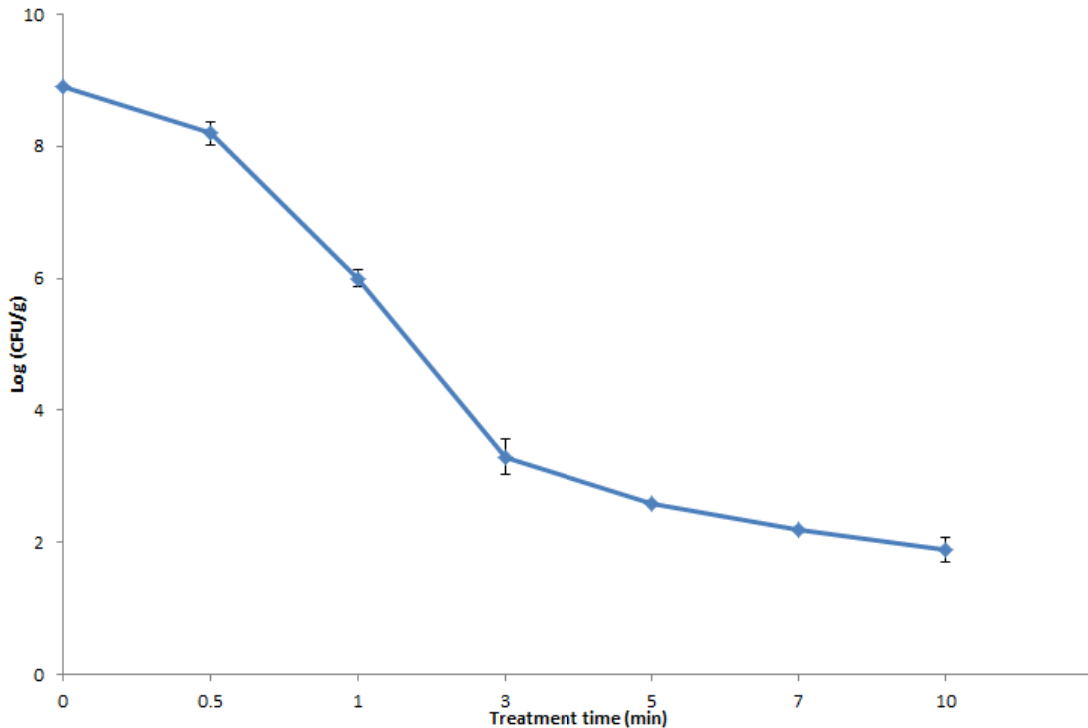


그림7-24 . Effect of UV fluence on inactivation of LMa44

세균인 LMa44를 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 9.9 log를 나타내었다. Ultraviolet을 0.5, 1, 3, 5, 7, 10분간 처리하였을 때 9.2, 7.0, 4.3, 3.6, 3.2, 2.9 log로 나타났으며, 시간이 지남에 따라 3분까지 2 log가 감소하여 높은 살균력을 보였고 이후로도 지속적으로 감균시켜 살균효과를 확인하였다.

다) AF211에 대한 ultraviolet irradiation의 살균효과

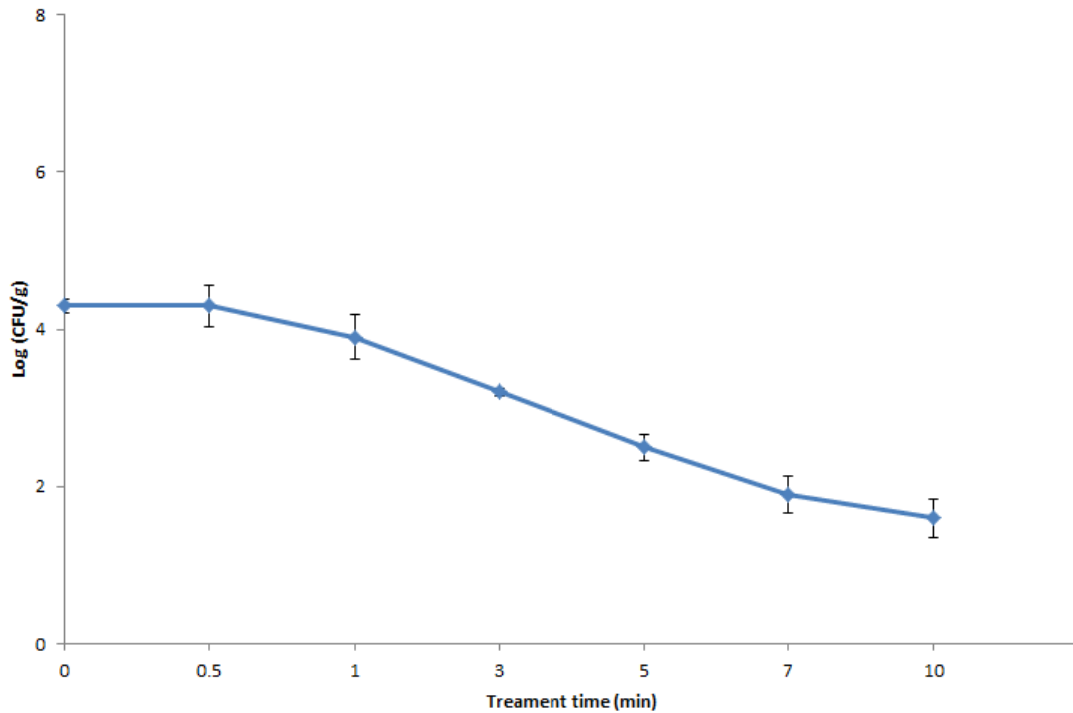


그림 7-25. Effect of UV fluence on inactivation of AF211

곰팡이인 AF211을 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 5.3 log를 나타내어 다른 발효차 접종미생물에 비해 낮은 활성을 보였다. Ultraviolet을 0.5, 1, 3, 5, 7, 10분간 처리하였을 때 5.3, 5.1, 4.2, 3.5, 2.9, 2.6 log로 나타났으며, 처음에는 1분까지는 살균효과가 다른 시간에 비해 낮았으나 10분간 처리하였을 때 2.7 log 감균시켜 살균효과를 확인하였다.

라) AN092에 대한 ultraviolet irradiation의 살균효과

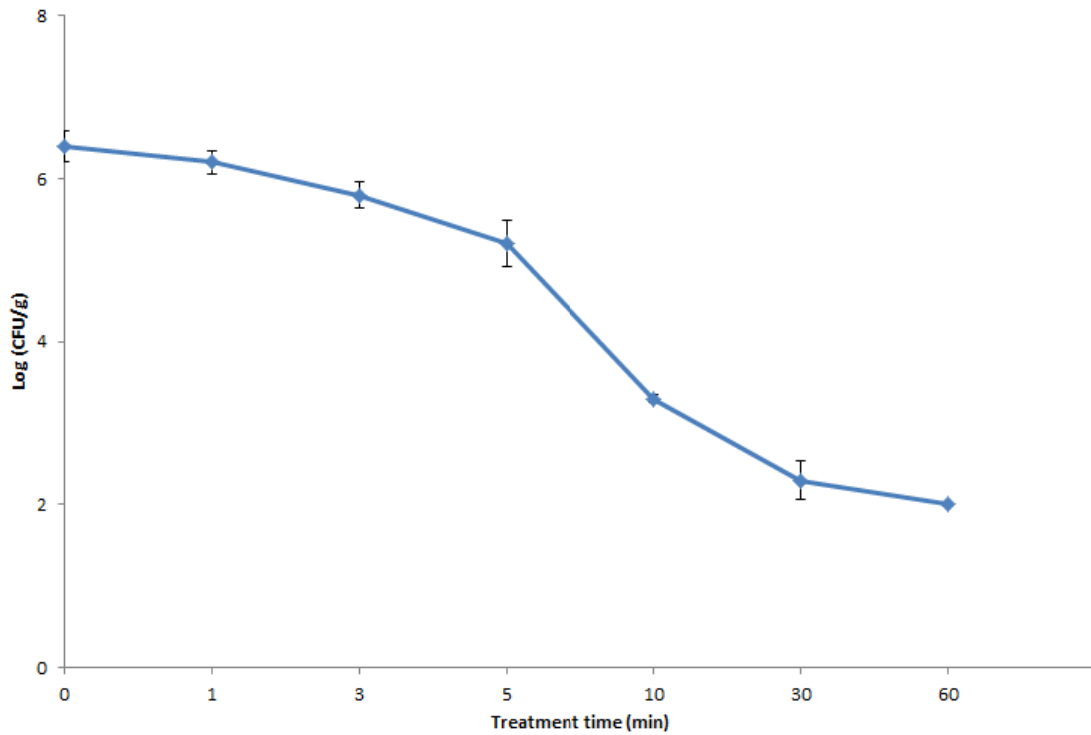


그림 7-26. Effect of UV fluence on inactivation of AN092

곰팡이인 AN092를 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 7.4 log를 나타내었다. Ultraviolet을 1, 3, 5, 10, 30, 60분간 처리하였을 때 7.2, 6.8, 6.2, 4.3, 3.3, 3 log로 나타났으며, 5분 이후부터 30분까지 2.9 log 감균시켜 높은 살균효과를 확인하였다. 이는 2분 동안 2 log 감균을 보인다는 다른 보고에 비해 초기 높은 살균효과를 보이지 않았으나 이는 초기 균의 활성도에 따른 차이로 보인다.

마) DH011에 대한 ultraviolet irradiation의 살균효과

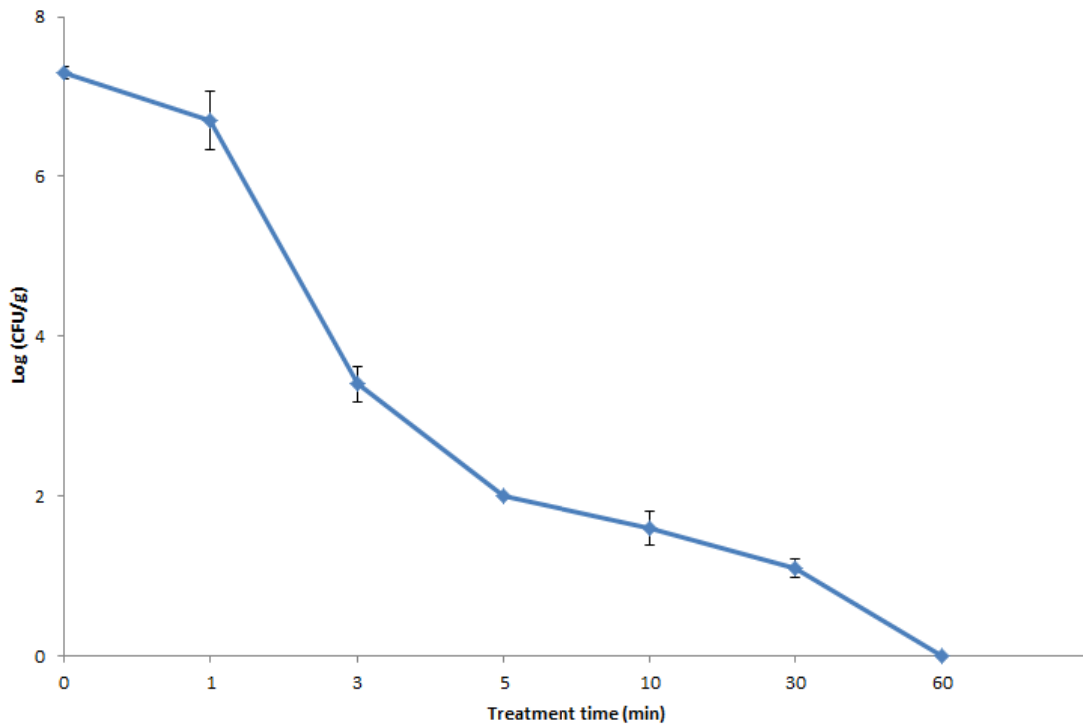


그림 7-27. Effect of UV fluence on inactivation of DH011

효모인 DH011을 도말한 후 시간별로 자외선 처리 후 측정된 결과 처리하지 않은 대조구는 8.3 log를 나타내었다. Ultraviolet을 1, 3, 5, 10, 30분간 처리하였을 때 7.7, 4.4, 3.0, 2.6, 2.1, log로 나타났으며, 60분간 처리하였을 때는 측정되지 않았다. 처리 후 1분에서 5분까지 4.7 log 감소하여 높은 살균효과를 확인하였다.

발효차에 쓰이는 미생물을 ultraviolet을 이용하여 살균 효과를 실험한 결과 세균 (BSa49, BSa50, LMa44)의 경우 3분 동안 조사하였을 때 2 log 이상의 감균을 보였고, 그중 LMa44의 경우 5.6 log의 감균을 보여 가장 높은 살균효과를 확인할 수 있었다. 곰팡이(AF211, AN092)는 종에 따라 약간의 차이가 있었으나 초기에는 큰 효과를 보이지 않다가 10분이 지났을 때 2.7 log 이상의 감균을 보였고, 효모(DH011)는 1분 동안 처리하였을 때 2.9 log, 10분 처리시 검출되지 않아 가장 높은 살균효과를 보이는 것으로 판단되었다. 이를 통해 보았을 때 발효차에 사용하는 미생물 중 세균과 효모는 충분한 시간동안 ultraviolet 처리를 통해 살균이 가능하지만 곰팡이는 포자를 생성하기 때문에 공정이후 충분한 시간동안 처리하여야 하며 처리를 하여도 포자상태로 존재하다가 생육에 적당한 습도나 온도가 되면 다시 성장한다. 이를 방지하기 위하여 발효실의 습도와 온도 조절 및 다른 공정에서 공기 중에 날리거나 포자상태의

균주들이 존재할 수 있기 때문에 전 공정별로 미생물 제어를 위한 관리가 필요할 것으로 보인다.

6) 품질관리 매뉴얼 개발

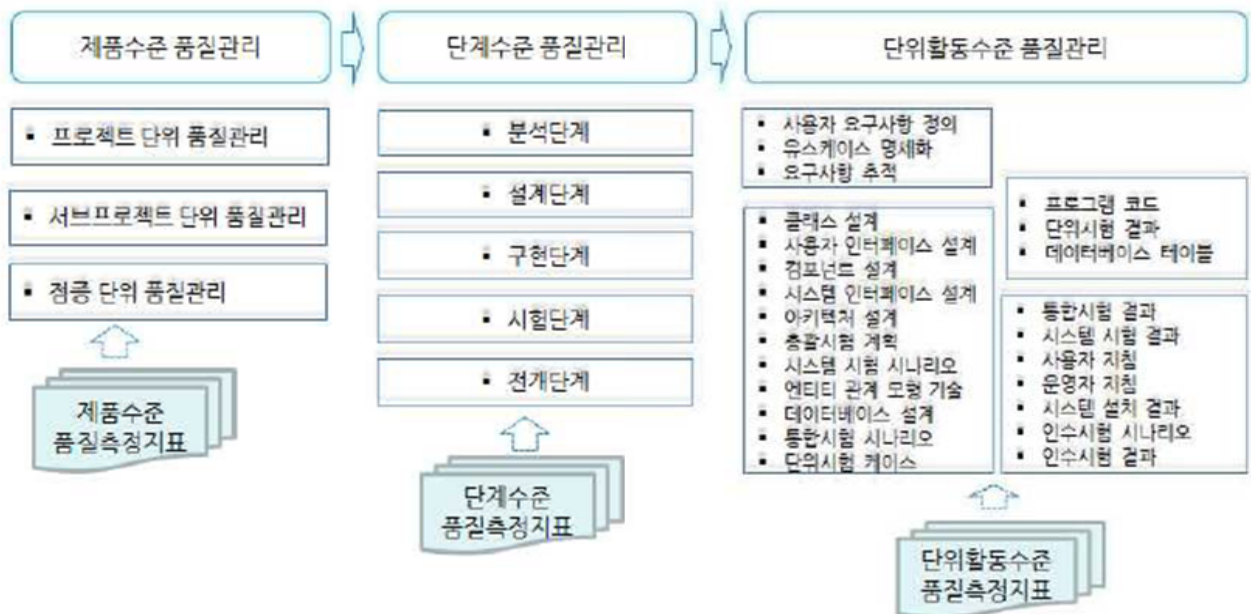
(1) 시설 · 설비 · 공정별 품질 관리 표준 설정

가. 이상적인 품질관리 지표 설정

아래와 같이 이상적인 품질관리 지표 설정을 위해서는 제품 수준 품질관리에서 제품 수준에 따른 품질 측정 지표를 설정하고 관리한다, 단계수준 품질관리에서는 분석, 설계, 구현, 시험, 전개단계로 구분하여 단계적 품질 측정지표를 설정한다. 단위활동 수준 품질관리에서는 사용자 요구 사항 및 추적, 통합적인 시나리오 등을 구상하여 단위시험 절차, 데이터베이스 테이블, 통합시험 결과 등을 도출하여 단위활동 중 품질 측정을 지표로 한다.

표 7-80. 이상적인 품질관리 지표 설정

• 품질관리 수준과 품질측정 지표 연관성



나. 발효차의 제조 시 시설 · 설비 · 공정별 품질관리를 위한 표준 지표 설정 분석

제품의 단위공정별 일원화가 이루어지지 않아 품질관리 표준 지표 설정에 어려움이 있었고 소규모의 제조 공정에 의한 원료의 손실량에 대한 정확한 검토가 확인될 수

없었다. 그래서 처해진 환경에서 최대한 품질관리를 표준화하여 일반화 할 수 있는 방안을 모색하였다.

다. 제품 품질 관리를 위한 법규 관련 사항 서류

가) 영업등록

- 관할 지자체 위생과 방문
 - 식품()영업등록신청서 작성(식품위생법 시행규칙 별지 제41호의2 서식)
 - 첨부서류
 - 교육이수증
 - 제조방법설명서 : 특별한 양식없음. 공정순서, 제조방법, 설비에 대해 기술
 - 수질검사(시험)성적서 : 지하수 사용에 한함.
 - 건강진단결과서 : 보건소 등에서 발급
- ※ 건축물대장, 토지이용계획확인서를 열람 확인하도록 되어 있음. 따라서 건축법 등 기타 법규에 대한 검토가 필요함.

나) 품목제조보고

- 영업등록시 같이 하면 됨.
 - 첨부서류
 - 제조방법설명서 : 특별한 양식없음. 공정순서, 제조방법, 설비에 대해 기술
 - 유통기한설정사유서 : 식품의 유통기한 설정 프로그램
(<http://www.foodnara.go.kr/foodshelf/>) 활용
- ※ 유통기한설정은 논문, 연구보고서 등에서의 실험결과로 산정 가능
※ 식품유형 잘 설정할 것(담당공무원과 충분히 상의)

다) 생산 및 작업기록

- 3년간 보관
 - 매일 제품명, 생산량, 원료투입량 등 기록
- ※ 별도 양식 첨부

라) 원료수불관계서류

- 3년간 보관
- 입고시마다 입고량, 사용량, 재고량 기록

※ 별도 양식 첨부

마) 제품거래기록

- 3년간 보관
- 거래처명, 제품명, 납품량, lot/유통기한 기록
- 거래처 연락처 첨부할 것

바) 자가품질검사

- 식품유형이 다류(침출차 or 고행차) 된 경우
- 검사항목 : 타르색소, 납에 대해서 실시
- 검사주기 : 6개월 1회 이상

사) 건강진단

- 영업자 및 종사자 모두 실시
- 검사항목 : 장티푸스, 전염성피부질환, 폐결핵
- 검사주기 : 년 1회 이상(검진일 기준)

아) 위생교육

- 한국식품산업협회의 교육 이수
- 교육종류 : 신규교육(영업등록시 첨부), 보수교육(매 년도별 1회 실시)

자) 수질검사

- 식약처에서 지정된 위생검사기관에서 실시(지하수의 경우에만 실시)
- 검사주기 : 년 1회 이상

차) 생산실적보고

- 매년 통계를 위해 지자체에서 요청 공문이 오면 작성 후 제출

카) 표시기준

- 식품등의 표시기준을 참조

타) 원부재료의 적법성

- 시험성적서, 영업신고증, 사업자등록증, 품목제조보고서 수령

※ 포장재의 경우 시험성적서 수령가능하여야 함.

(2) 품질 관리 매뉴얼 작성

가. 품질관리 매뉴얼 목차 구성

회사로고	품질 관리 매뉴얼	문서번호	
		개정번호	
		페이지	

개정 이력		적합성 검토		
번호/일자	사유 및 내용	작성	검토	승인
0	제정	품질담당	품질부서장	공장장
201. 5,1				
4				
5				

목차

1. 목적
2. 적용 범위
3. 용어의 정의
4. 책임과 권한
5. 검사 종류
 - 5.1. 원.부자재 입고검사
 - 5.2. 공정품 검사
 - 5.3. 완제품 검사
 - 5.4. 장기재고품에 대한 검사
 - 5.5. 생산제품 보존검사
 - 5.6. 관능검사
 - 5.7. 용수검사
 - 5.8. 위생 및 환경 검사
6. 한도건본 관리
7. 검사결과의 활용
8. 검사담당의 자격관리
9. 기록관리
10. 관련문서
11. 별첨

1. 목적

이 절차는 000(이하 “당사” 라 한다.)의 제조공장에서 원.부자재의 입고부터 제품이 완성되어 출고되기까지 원.부자재, 공정품, 완제품 등의 검사업무를 체계화하여 부적합 원인을 사전에 방지하고, 품질이 보증된 제품만 제공하여 고객이 요구하는 품질수준 달성 및 신뢰성을 높이는데 목적이 있다.

2. 적용 범위

이 절차는 당사에서 실시하는 원·부자재, 공정품, 완제품 및 용수, 위생/환경의 검사업무에 대하여 적용한다.

단, HACCP적용 작업장의 경우 선행요건관리기준서의 [검사관리기준서]의 세부적인 내용을 적용할 수 있다.

3. 용어의 정의

3.1. 검사

개개의 물품 또는 LOT에 대하여 요구되는 품질조건이 적합한지를 측정, 조사, 시험하여 그 결과와 판정기준을 비교하여 적합, 부적합 판정을 내리는 행위

- (1) 입고검사: 제품에 사용되는 원·부자재가 공급업체로부터 입고되었을 때 당사 원·부자재 검사규격에 의거하여 적합 여부를 검사하는 것을 말한다.
- (2) 공정품 검사: 생산공정 진행중인 제품에 대하여 공정품 검사가 필요한 제품의 경우 공정품 검사규격에 의거 적합여부를 검사하는 것을 말한다.
- (3) 완제품검사: 생산공정이 끝난 제품에 대하여 완제품검사규격에 의거 검사항목을 체크하여 고객이 요구하는 품질 수준을 만족시키는지 확인하는 검사를 말한다.
- (4) 관능검사: 관능 검사자에 의해 제품의 맛, 냄새, 색깔, 외관 등을 검사하는 것을 말한다.
- (5) 보존검사: 생산제품을 정해진 유통기한 동안 적절한 조건하에 보관하면서 품질변화 경향을 파악하여 제품의 유통기한 및 제품 품질을 검증하기 위한 검사를 말한다.

3.2. 분석검사

해당 검사규격에 설정된 검사항목 중 미생물, 이화학 검사와 같이 분석 및 실험장비를 활용하여, 장시간 검사시간이 소요되는 검사를 분석검사라 한다.

3.3. LOT

원·부자재 및 완제품을 묶는 단위로서, 제조일이 동일하거나, 입고일이 동일한 경우 등 품질의 유사성을 대표하는 하나의 집단으로 나누는 것을 말한다.

3.4. 시료

동일한 LOT로부터 무작위로 추출한 한 개 이상의 검사용 샘플을 뜻한다.

3.5. 검체

검사 대상으로부터 채취된 시료를 말한다.

3.6. 시험표준

원·부자재 검사규격서, 공정품 검사규격서 및 완제품 검사규격서 등에 정하여진 검사항목 중 적부판정을 위한 시험이 필요한 경우 시험방법 등을 구체적으로 기술한 표준을 말한다.

3.7. 완제품

모든 제조공정이 완료되어, 더 이상 가공처리가 필요 없는 제품으로 완제품검사규격에 적합한 경우 최종소비자에게 판매할 수 있는 제품을 말한다.

3.8. 가공용수

사람이 음용 하는 물과 제품의 생산과정.청소 작업등에서 사용되는 물로서 기준에 적합한 것이며 수돗물, 지하수를 말한다.

4. 책임과 권한

직 책	내용
공장장	부적합품 판정에 대한 승인 권한을 갖는다.
생산부서장	관리기준 이탈에 대한 개선 조치를 취하고 재발 방지 대책을 수립한다
품질부서장	원.부자재, 공정품, 완제품 등의 검사에 관한 사항을 결정한다. 부적합품 판정에 대한 처리 결정을 한다. 모든 검사업무에 대한 최종 승인 권한을 갖는다
품질담당	검사규격을 설정하고, 관리한다. 부적합품에 대하여 해당 부서/업체에 시정 및 예방조치를 요구 하고 그 결과를 확인한다 주기적으로 검사데이터를 분석하여 검사
입고검사원	원부자재 입고검사에 따른 검사실시 및 관련일지를 작성, 검토한다. 부적합 원부자재에 대하여 식별표시 및 반품조치를 취한다.
공정검사원	공정품 검사규격에 따른 검사를 실시 및 관련일지를 작성, 검토한다. 부적합 제품에 대하여 식별 표시 및 관련일지를 작성, 검토한다.
제품검사원	완제품 검사규격에 따른 검사 실시 및 관련일지를 작성, 검토한다. 부적합제품에 대한 식별표시 및 관련일지를 작성, 검토한다.
분석검사원	원자재및 부자재, 완제품, 공중 낙하균, 표면오염도 등의 검사를 실시한다. 각 검사담당에게 의뢰 받은 분석실험을 [식품공전] 및 [시험표준]에 따라 실시하고 그 결과를 해당 검사담당에게 통보한다. 실험과 관련한 [실험일지], [소모품관리내역]을 작성하고 유지, 관리한다. 식품위생법의 자가품질검사 기준에 의거 해당 제품에 대한 법적검사 항목에 대한 검사를 실시한다. 단, 회사 자체적으로 검사가 불가능한 경우 외부 공인검사기관에 검사를 의뢰하여 그 결과를 확인한다.

5. 검사 종류

5.1. 원.부자재 입고검사

(1) 입고검사 준비

- 1) 입고검사담당은 자재담당으로부터 익일 원부자재의 입고현황이 기재되어 있는 [원.부자재 입고계획서]를 전달 받거나, 신제조시스템[R&G시스템]에서 일일입고현황을 조회하여 원부자재 입고현황을 확인한다.
- 2) 자재담당은 원.부자재 입고계획서 작성시 다음과 같은 항목을 기재하여야 한다.

- 원.부자재명	- 제조업체/납품업체명
- 발주수량	- 입고예정일
- 사용용도	- 특기사항

- 3) 입고검사담당은 자재담당으로부터 접수 받은[원.부자재 입고계획서]를 확인하여, 입고되는 원부자재 검사항목 등을 파악하고, 해당 원부자재의 검사를 위한 [원.부자재 규격서]과 [시험표준]을 사전에 준비하여야 한다.

(2) 입고검사 접수

- 1) 경비실 근무자는 협력업체에서 원.부자재가 입고되면, 입고검사를 받을 수 있도록 해당차량을 입고검사실로 안내하여야 한다.
- 2) 자재담당은 입고된 원.부자재의 품명, 업체명 등 납품현황을 확인하여 [원.부자재 입고계획서]의 발주내역과 적합여부를 파악하고, 해당 사항이 적합할 경우 입고검사를 의뢰한다.
- 3) 자재담당은 입고된 원.부자재의 내용이 [원.부자재 입고계획서]의 내용과 불일치할 경우 구매담당에게 통보하여, 그 사실을 확인한 후 입고검사실시여부를 진행한다.
- 4) 자재담당은 신제품의 시험생산 등으로 기 입고된 원.부자재가 본 생산용으로 출하 시에는 품질부서에 통보하여 입고검사를 실시 후 출하 하여야 한다.

(3) 검체 채취

- 1) 입고검사담당은 입고된 원.부자재에 대하여 [원.부자재규격서]에 설정된 검사로트와 시료채취방법에 의하여 시료를 채취한다.
- 2) 입고검사담당은 타 품목이 입고 되었거나 파손/변형/변질된 품목이 입고된 경우 입고검사를 실시하지 않고 불합격 처리할 수 있다.

(4) 검사실시

- 1) 입고검사담당은 입고된 원.부자재의 검사를 [원.부자재규격서]에 설정된 검사항목에 대하여 검사를 실시한다.
- 2) 검사방법은 해당 검사항목의 방법으로 검사를 실시하며, 정상검사의 경우 승인된 한도조건을 활용하여 검사를 실시한다.

- 3) 입고검사담당은 검사항목 중 이화학 또는 미생물학적 분석시험이 필요한 경우 분석담당에게 의뢰하여 그 결과를 통보 받는다.
- 4) 입고검사담당은 원.부자재의 입고검사 결과를 [원,부자재 입고검사표]에 기록하고 품질부서장의 승인을 득한다.
- 5) [원,부자재 입고검사표]에는 다음사항을 포함하여야 한다.

-검사일자	-제품명	입고량
- 입고처	- 판정	- 검사자
- 품은(필요시)	- 원산지(필요)	- 품종(필요시)
- 표시사항	- 용기상태	- 운송차량
- 제조일자/ 유통기한(필요)	- 검사항목 (원,부자재 규격서 참조)	- 보관방법(필요)

- 6) [부자재입고검사일지]에는 다음사항을 포함하여야 한다.

-검사일	- 부자재명	- 입고량
- 업체명	- 판정결과	- 검사자
- 제조일자	- 표시사항	- 인쇄상태(성상)
- 보관기준	- 성상	- 규격
- LOT	- 시험성적서	

- 7) 입고검사담당은 필요시 수취서류(시험성적서, 원산지증명서, 수입신고필증 등)를 확인하여야 한다.
- 8) 검사항목에 따라 납품업체의 시험성적서에 기재된 검사결과로 입고검사를 대신할 수 있다.

(5) 합부판정 및 결과 통보

- 1) 입고검사담당은 검사규격에 따라 검사실시 후 합부판정 결과를 [원,부자재 입고검사표]에 기록하여 품질담당자의 검토 후 품질부서장의 승인을 득한다.
- 2) 입고검사담당은 해당자재의 검사결과를 자재담당에게 통보하고, 합격인 경우 하차할 수 있도록 적합한 하차장소를 납품기사에게 알려주고, 불합격인 경우 [부적합품 관리절차]에 따라 처리한다.

(6) 자재입고

- 1) 자재담당은 입고검사결과 합격인 원.부자재에 대해서, 하차 후 합부표시 및 거래명세서에 서명을 하여 납품기사에게 전달한다.
- 2) 자재담당은 입고된 원.부자재에 대하여 [원부자재 관리절차서]에 따라 입고 및 보관관리 한다.

(7) 불합격품 처리

입고검사담당 및 자재담당은 불합격품에 대하여 [부적합품관리절차]에 따라 필요한 조치를 취한다.

5.2. 공정품검사

(1) 공정품검사 대상과약

공정검사담당은 일일 생산계획 및 [공정품규격서]에 따라 검사대상 LOT와 품목을 결정한다.

(2) 검체 채취

공정검사담당은 해당 [공정품규격서]에 의거 필요한 시료를 채취한다.

(3) 공정품검사 실시 및 합부판정

- 1) 공정검사담당은 채취한 시료를 검사하며, 검사항목 및 기준은 [공정품규격서] 따른다.
- 2) 공정검사담당은 검사항목 중 이화학 또는 미생물학적 분석시험이 필요한 경우 분석검사담당에게 시험의뢰 하여 그 결과를 통보 받는다.
- 3) 공정검사담당은 검사결과를 [공정검사표]에 기록하고 품질담당자의 검토 후 품질부서장의 승인을 득한다.

4) [공정검사표]는 다음의 사항을 포함하여야 한다.

- 제조일자 또는 유통기한	- 공정품명
- 검사일	- 검사항목
- 판정결과	- 검사자

(4) 검사결과 통보 및 부적합품처리

- 1) 공정검사담당은 공정품검사 결과를 생산담당에게 통보하여야 한다.
- 2) 불합격 판정 시에는 [부적합품관리절차]에 따라 처리한다.

5.3. 완제품검사

(1) 완제품검사 대상과약

제품검사담당은 일일생산계획 및 [완제품검사규격]에 따라 검사대상 LOT와 품목을 결정한다.

(2) 검체채취

제품검사담당은 [완제품검사규격]의 검체 채취 방법에 따라 검사용 검체를 채취한다.

(3) 검사실시

제품검사담당은 채취된 검체에 대하여 [완제품검사규격]의 제품규격 및 합부판정기준에 따라 검사를 실시하고, 그 결과를 [완제품검사일지 또는 공정검사표]에 기록하고 품질부 서장의 승인을 득한다.

(4) 제품검사담당은 검사항목 중 이화학 또는 미생물학적 분석시험이 필요한 경우 분석검사담당에게 시험의뢰하여 그 결과를 통보 받는다.

(5) [완제품검사표]에는 다음의 사항을 포함하여야 한다.

- 검사일	- 제품명
- 합, 부판정	- 검사항목
- 유통기한(필요시)	- 검사자

(6) 검사의 판정

1) 제품검사담당은 완제품검사 결과를 생산담당에게 통보하여야 한다.

2) 제품검사담당은 다음 사항에 해당되는 경우 불합격으로 판정한다.

① 제품규격 및 합부 판정기준에 벗어났을 경우

② 식품위생상 결함이 발견된 경우

③ 제조공정상 검사/확인 공정이 생략/누락되어 그 제품의 품질이 의심스러울 경우

3) 제품검사담당은 불합격품에 [부적합품 스티커]를 부착하여 식별표시하고, 구분하여 부적합 품 보관장소에 보관한다.

4) 불합격품 처리의 세부업무절차는 [부적합품관리절차]에 따른다.

5.4. 장기재고품에 대한 검사

(1) 구매, 물류, 생산의 자재/제품관리담당은 유통기한이 1개월 이상인 제품 중 2/3이상 경과한 제품에 대하여 장기재고품으로 분류하고, 해당제품의 출고전에 품질부서에 재검사를 하여 품질적합성 여부를 확인한다.

(2) 검사담당은 재검사 의뢰 품목에 대하여 해당 검사 규격을 준용하여 검사를 실시하되 부식, 열화, 변질 등 장기 보관에 따라 품질저하가 있었는가에 중점을 두어 검사한다. 단, 식품 유통기한이 경과된 경우 재검사 없이 폐기한다.

(3) 자재/제품검사담당은 검사결과를 품질부서장의 승인을 득한 후 기록으로 유지하며, 필요시 의뢰부서에 검사결과를 통보한다.

(4) 제품검사담당은 장기재고품에 대한 제품검사결과 부적합발생시 자재/물류의 제품관리담당에게 통보하고, [부적합품관리절차]및 [회수관리기준서] 에 따라 부적합처리한다.

5.5. 생산제품의 보존검사

(1) 목적

제품의 중요 품질문제 발생시 동일 제품의 추적성, 변화추이 및 보존기간 유효성의 비교 확인을 하기 위해서이다.

(2) 생산제품 보관관리 장소의 환경

1) 보관실에서는 냄새가 나서는 안 된다. 생산제품보관실은 금연지역이고 출입자는 향수, 방향제, 로션 등 화장품을 사용해서는 안 된다.

2) 실내의 온도와 습도는 쾌적한 상태로 한다.

3) 보존 샘플의 보관조건은 [제품설명서]에 명시된 조건과 일치 하여야 한다.

(3) 보존검사 기준은 품질부서에서 제품별 보존검사 기준을 수립하여 운영하며, 검사담당은 검사결과를 품질부서장의 승인을 득한 후 기록으로 유지한다.

(4) 보존검사 결과 부적합 발생시, 동일 생산 LOT의 제품에 대하여 [부적합품관리절차] 및 [회수관리지침]에 따라 해당 제품을 부적합처리 한다.

5.6. 관능검사

(1) 관능검사의 주관

관능검사는 품질부서에서 주관한다.

(2) 관능검사요원의 선정

관능검사요원은 신체적 및 정신적으로 건강하여야 하며, 식품에 대한 편견과 선입관이 없어야 하고 관능검사에 적극적이고 흥미를 갖는 사람으로 정상적인 미각과 후각을 갖고 있어야 한다.

(3) 관능검사요원의 훈련

관능검사요원은 훈련된 인원으로서 자격이 부여되어야 한다. 관능검사요원의 자격 기준은 다음에 따른다.

(향미검사 방법 및 검사실무교육 8HR 이상 이수자로서 관능검사 테스트에 합격한 자)

(4) 관능검사실의 환경

1) 검사실에서 냄새가 나서는 안된다. 따라서 관능검사 장소는 금연지역으로 하고 출입자는 향수, 방향성 로션 등 화장품을 사용해서는 안된다.

2) 너무 어둡거나 너무 밝지 않도록 검사실내 조도는 540룩스 이상으로 한다.

3) 실내의 온도와 습도는 쾌적한 상태로 한다.

(5) 관능검사 샘플의 제시 및 준비

1) 샘플의 크기는 맛을 보는 데 충분한 양이면 되나 샘플과 대조품의 양은 같아야 한다.

- 2) 같은 샘플이라도 온도에 따라 미각의 예민도가 달라지는 경우 검사샘플의 온도는 일정해야 한다.
- 3) 샘플을 담은 용기의 크기, 모양, 색깔 등은 샘플, 대조품 모두 동일해야 하며 특히 냄새가 없어야 한다.
- 4) 관능검사는 식사 전. 후의 공복시나 만복시에는 피하는 것이 좋으며 오전 10시전후, 오후 3시 전후에 실시한다.

(6) 기록관리

관능검사 후 검사담당은 [관능검사 Check Sheet]를 작성하여 해당부서장의 결재를 득한 후 기록, 보관한다.

5.7. 용수검사

- (1) 품질부서는 [먹는물 수질기준] 전항목에 대하여 연1회 이상 (음료류 등 직접 마시는 용도의 경우는 반기 1회 이상) 검사를 실시하여야 한다.
- (2) [먹는물 수질기준]에 정해진 관능검사 및 미생물에 대한 검사는 생산작업장에서 제품생산에 직접 사용하는 물을 기준으로 월1회 이상 실시하여야 한다
단, 미생물학적 항목에 대한 검사는 간이검사키트를 이용하여 자체적으로 실시할 수 있다.
- (3) 용수의 살균, 여과, 소독 장치 및 저장 시설의 관리 및 점검을 별도의 [용수관리기준서]에 따라 관리한다.
- (4) 품질부서는 용수검사의 결과를 기록으로 유지 관리 하여야 한다.

5.8. 위생 및 환경 검사

- (1) 작업자의 개인위생검사는 [위생관리기준서]에 따라 관리한다.
- (2) 생산설비 및 작업도구의 검사는 [제조가공시설설비관리기준서]에 따라 관리한다.
- (3) 작업장에 공중 낙하균 검사는 [검사관리기준서]에 따라 관리한다.
- (4) 검사기준 설정시에는 다음의 사항을 고려하여 설정한다.

- 법적요구사항 - 동종업계 및 동종제품의 검사기준	- 고객요구사항
---------------------------------	----------

6. 한도건본 관리

6.1. 원자재

- (1) 검사담당은 필요시 구매 과정에서 개발실과 합의된 원자재에 한해서 정해진 용기에 담아 스티커(별첨 1)를 부착하여 [한도건본 관리대장]에 기록 후 한도건본 보관장소에 비치하고, 입고검사 시 활용한다.

(2) [한도견본관리대장]에는 다음 사항이 포함 되어야 한다.

- 고유번호 - 구분(원.부자재, 포장재, 완제품)
- 제품명 - 제조업체
- 한도견본제작일 - 유통기한
- 한도견본 유효기간

(3) 생산담당 및 검사담당은 제조년월일만 부착되어 있는 원자재의 경우 제조업체로부터 유통기한 및 보관방법을 확인하여 보관관리 하여야 한다.

(4) 한도견본의 비치 기한은 “유통기한의 2/3” 이상을 넘지 않도록 설정하여야 한다.

6.2. 포장재

(1) 고객으로부터 승인된 협력업체에서 제작한 표준견본을 입수한다.

(2) 검사담당은 전달 받은 표준견본을 품질담당부서장의 승인을 득한 후 한도견본을 원, 부자재검사실에 비치하고 [한도견본관리대장]에 기록 후 입고 품에 대하여 비교 검증한다.

6.3. 제품

(1) 검사담당은 한도견본이 필요하다고 판단되는 제품의 경우 사진, 규격서 또는 실물을 품질부서장의 승인 및 생산부서장의 합의를 득한 후 해당 검사장소에 비치하고 [한도견본관리대장]에 기록 후 비교 검증한다.

6.4. 한도견본의 교체

(1) 한도견본 변경

1) 검사담당은 해당부서로 변경된 한도견본이 통보되거나 한도견본의 유효기간이 임박하면 새로운 한도견본을 담당부서장의 승인을 득하여 보관하고 변경 전 한도견본은 폐기한다.

2) 검사담당은 [한도견본관리대장]에서 기존 한도견본을 삭제하고 신규 한도견본을 등록한다.

(2) 한도견본의 파손, 변색 및 변질

검사담당은 한도견본이 파손 또는 변색이 되었을 경우 합격되어 입고된 원, 부자재 및 완제품으로 교체하여 부서장의 승인을 득한 후 해당검사실에 비치한다.

7. 검사결과의 활용

7.1. 품질담당은 검사업무 수행에 따른 검사결과를 주기적으로 분석하여 품질관리기준 설정 및 품질 개선 자료로 활용한다.

7.2. 분석검사원은 당사 유관부서 또는 외부 공급업체, 관공서 등에서 검사결과 통보를 요청 받았을 경우, 적합한 양식에 기재하여 해당 부서장의 승인을 득한 후 요청부서에 송부하여야 한다.

8. 기록관리

기록명	양식번호	보존기한	보관방법
원,부자재입고검사표		3년	캐비닛
공정검사표		3년	캐비닛
완제품검사표		3년	캐비닛
관능검사 Check Seet		3년	캐비닛
한도건본관리대장		3년	캐비닛

9. 관련문서

9.1. 원,부자재 규격서

9.2. 시험표준

9.3. 원,부자재관리절차서

9.4. 부적합품관리절차서

9.5. 공정품규격서

9.6. 완제품규격서

9.7. 제품설명서

9.8. 회수관리지침

9.9. 먹는물수질기준

10. 별첨

No.	
품 명	
제 조 원	
채 취 일	
제 조 일	
기 한	
비 고	

제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 실용화·산업화 성과 및 계획(기술실시 등)

1) 기업 기술이전을 통한 산업화 (2건) : 기술이전 3건

○ 한국산 미생물발효차 제조 및 판매

- 업체명: 보성발효차영농조합법인
- 제품명: 띠울(한국산 미생물발효차)
- 사업화 내용: 발효차 및 한국 전통 식품으로부터 분리한 우수 종균과 국내산 찻잎을 사용하여 발효과정을 제어함으로써 고품질 한국산 미생물발효차를 제조, 판매
- 사업화형태: 사업화 업체인 보성발효차영농조합법인은 2012년에 미생물발효차의 산업화에 참여를 희망하는 보성군의 차 생산자들로 결성된 영농조합법인으로 본 연구에서 개발된 기술을 이용한 산업화를 위해 2013년 2월 미생물발효차 생산 공장을 착공, 2014년 9월에 완공하였음. 현재, 본 주관기관으로부터 이전 받은 기술을 이용하여 한국산 미생물발효차를 제조하고 있으며 2015년 상반기부터 판매를 시작할 계획임. 향후 HACCP 도입 예정.

○ 미생물발효차 숙성 및 포장 용기 제조

- 업체명: (주) 신명
- 제품명: 발효차 포장 용기
- 사업화 내용: 발효차의 유통, 소비 중에 품질을 향상시키고 차별화를 두기위해 개발한 발효차 전용 포장용기를 제작하여 미생물발효차 사업화 주체에 판매
- 사업화 형태: 미생물발효차는 비교적 고가이며 저장 기간이 길수록 가치가 높다고 인식되고 있기 때문에 효과적인 숙성 용기의 개발이 필요함. 또한 유통, 저장 중에도 계속 숙성이 진행되기 때문에 소비자들은 구매 후에도 장시간 저장하면서 소비하는 성향이 있음. 따라서, 유통 중 적절한 숙성이 진행되어 품질이 향상되는 포장용기를 개발하고 원천기술을 이전하였음. 현재 디자인 개발을 통해 소비자들의 구매 욕구를 향상 시킬 수 있는 포장용기 개발을 완료하고 제품 양산을 준비 중에 있음.

2) 주관기관 자체 사업화 (1건)

- 발효차를 활용한 브랜딩 병차 상품화 및 유통
 - 업체명: 목포대학교 학교기업 바이오플러스
 - 제품명: 삼기차
 - 사업화 내용: 발효차를 활용한 브랜딩 차(삼기차)를 개발하여 티백과 병차 형태로 제조, 판매 중.

2. 교육·지도·홍보 등 기술확산 성과 및 계획

1) 교육 및 지도

- 미생물발효차 제조 기술 교육(4회)
 - 미생물발효차 원료(모차) 가공기술 교육: 보성발효차영농조합(16명), 2013. 9.
 - 미생물발효차 원료(홍차) 가공기술 교육: 보성발효차영농조합(16명), 2013. 10.
 - 미생물발효차 제조기술 교육(1차): 보성발효차영농조합(16명), 2014. 8 ~ 2014. 9
 - 미생물발효차 제조기술 교육(2차): 보성발효차영농조합(16명), 2014. 11 ~ 2014. 12

2) 홍보

- 미생물발효차 기술설명회(3회)
 - 년도 및 대상: 2013. 8.(하동군 40명), 2014. 4.(보성군 80명), 2014. 10.(서울, 200명)
 - 내용: 한국산 미생물발효차의 특징과 산업적 가치

3. 특허·품종·논문 등 지식재산권 확보계획

1) 특허

- 특허출원 (6건)
 - 미생물 발효차 용기 및 그 제조방법, 출원번호 10-2014-0129735 (2014.09.28.)
 - 미생물 발효 홍차의 제조방법, 출원번호 10-2014-0129733 (2014.09.28.)
 - 미생물 발효차로부터 분리된 아스퍼질러스 속 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2012-0082850 (2012.07.28.)

- 미생물 발효차로부터 분리된 리조푸스 스토로니페 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022536 (2013.02.28.)
- 미생물 발효차로부터 분리된 페니실리움 시트리눔 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022534 (2013.02.28.)
- 미생물 발효차로부터 분리된 아스퍼질러스 푸미가터스 균주 및 그의 용도, 출원번호 10-2013-0022484 (2013.02.28.)
- 특허등록 (1건)
 - 미생물발효차 발효시설, 특허번호 10-1367377 (등록일: 2014.02.19.일)
- 디자인출원 (1건)
 - 차(茶) 용기, 출원번호 30-2014-0046798 (2014.09.24.)
- 상표등록 (3건)
 - 띄울, 등록번호 40-0948646 (등록일: 2013.1.14.)
 - 발효숨, 등록번호 40-0948886 (등록일: 2013.1.15.)
 - 마루향, 등록번호 40-0948643 (등록일: 2013.1.14.)

2) 유전자원 등록

- 균주등록: 17종

3) 논문 (3편)

- K. Rajendra, *et. al.*, Chungtaejeon, a Korean fermented tea, scavenges oxidation and inhibits cytokine induced proliferation and migration of human aortic smooth muscle cells. *Plant Foods Hum Nutr.* 66, 27-33 (2011)
- S.Y. Park *et. al.*, Green tea catechins protect formaldehyde-induced cell death in human retinal pigment epithelial cells. *Kor. J. Tea. Soc.* 18(4), 92-96 (2012)
- S.J. Ma *et. al.*, Comparative in vitro Analysis of Microbial Fermented Teas in Korea and China: Anti-diabetic effect in podocytes. *Kor. J. Tea. Soc.* 19(3), 85-90 (2013)

제 5 장 참고문헌

01. Sakata, K. et. al., The dark tea. food style 21(6), 106-141 (2002)
02. Sano, M. et. al., Effects of pu-erh tea on lipid metabolism in rats. Chem. Pharm. Bull 34, 221-228 (1986)
03. Medina, A. et. al., Study of spanish grape mycobiota and ochratoxin A production by isolates of *Aspergillus tubingensis* and other members of *Aspergillus* section *Nigri*. Environmental Microbiology, 4696-4702 (2005)
04. AOAC. *Official methods of analysis*. 18th ed. Association of official analytical Chemists. Washington DC. USA (2005)
05. SPSS. SPSS for Windows. Rel. 17.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA (2008)
06. Kuhr, S. et. al., Determination of flavoanols, theogallin, gallic acid and caffeine in tea using HPLC. *Z Lebensm Unters Forsch.* 192(6), 526-529 (1991)
07. Green, et al., Analysis of nitrate, nitrite and [15N]nitrite in biological fluids. Biochem. 126, 131-138 (1982)
08. Mohammed, R. et. al., Improvements in the determination of urea using diacetyl monoxime; methods with and without deproteinisation. Clinica Chimica Acta 107(23), 3-9 (1980)
09. Michiharu, A. et. al., Characteristic fungi observed in the fermentation process for puer tea. International Journal of Food Microbiology 124, 199-203 (2008)
10. Terao, J. et. al., HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of goods by 1,1-diphenyl-2-2-picrylhydrazyl. Biosci. Biothch. Biochem. 62(6), 1201-1204, (1998)
11. Duh, P.-D. et. al., Effects of pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging. J. Agric. Food Chem 52, 8169-8176 (2004)
12. Brown, M.C. et. al., Clinical and laboratory phenotype of patients experiencing statin intolerance due to myalgia. J. of Investigative Medicine 49(2), 1081-5589 (2001)
13. Seong Hwa, P. et. al., An Investigation on establishment of index for estimation of quality and preservation period of pu-erh tea. J. Kor. Tea Soc. 15(3), 59-67 (2009)
14. Abellana, M. et. al., Water activity and temperature effects on growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* on a sponge cake analogue.

- International Journal of Food Microbiology 52, 97-103 (1999)
15. Ranci'c, A. et. al., Isolation and structural elucidation of two secondary metabolites from the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron* with antimicrobial activity. Environmental Toxicology and Pharmacology 22, 80-84 (2006)
 16. Guoxiang, X. et. al., Characterization of pu-erh tea using chemical and metabolic profiling approaches. *J. Agric. Food Chem.* 57, 3046-3054 (2009)
 17. Giancarlo, P. et. al., Ochratoxin A production and amplified fragment length polymorphism analysis of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tubingensis*, and *Aspergillus niger* strains isolated from grapes in Italy. Environmental Microbiology Jan, 680-85 (2006)
 18. Ventra, M. et. al., Determination of aflatoxin B1, G1, B2 and G2 in medicinal herbs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1048, 25-29 (2004)
 19. Timperio, A. M. et. al., Assay of ochratoxin A in grape by high-pressure liquid chromatography coupled on line with an ESI-mass spectrometry. Journal of Chromatography B 832, 127-133 (2006)
 20. SK, P. et. al., Survey of ochratoxin A in cereal-based Korean traditional foods by HPLC. Korean J. Food Sci. Technol. 36(1), 158-161 (2004)
 21. Kee-Ching, J. et. al., Effect of microbial fermentation on content of statin, GABA, and polyphenols in pu-erh tea. *J. Agric. Food Chem.* 55, 8787-8792 (2007)
 22. Lin-Cheng, C. et. al., Production by *Clonostachys compactiuscula* of a lovastatin esterase that converts lovastatin to monacolin. J. Enzyme and Microbial Technology 39, 1051-1059 (2006)
 23. Arai. et. al., *Free Rad. Biol. Med.* 20, 361-365 (1996)
 24. 최성희, 추출법을 달리한 운남 보이산차의 향기성분, 한국차학회지 6, 103-110 (2000)
 25. 농예화학회지(일), 61(4), 457 (1987)
 26. 김영찬 외 5명, 수삼의 증숙횟수에 따른 페놀산 함량 변화와 라디칼 소거활성. J. Ginseng Res 31, 230-236 (2007)
 27. 김용재 외 3명, 향산화성분의 분리. 한국식품과학회지 29, 38-43 (1997)
 28. 박성화 외 4명, 보이차의 품질 및 보존기간 판별을 위한 평가지표 검토. *J. Kor. Tea Soc.* 15(3), 59-67 (2009)
 29. 박성화, 미생물발효차의 품질 및 보존기간 판별을 위한 평가지표 검토. 전남대학교 석사

- 학위 청구 논문 (2010)
30. 정영희 외 1명, 국내산 발효차의 이화학적 성분에 관한 연구. 한국식품영양학회지 18(1), 94-101 (2005)
 31. 한선경 외 7명, 미생물발효차(*Camellia sinensis* L.) 제조과정 중의 품질특성 변화. 한국식품과학회지 42(1), 21-26 (2010)
 32. 조은자 외 2명, 발효 시간에 따른 소엽종(*Camellia sinensis* var. *sinensis*) 차의 아미노산 함량 변화 및 관능 특성. 17(6), 911-918 (2007)
 33. 황경아 외 3명, 제조방법에 따른 생강나무(*Lindera obtusiloba* BL.) 잎차의 특성변화. 한국식품영양학회지 16(4), 365-371 (2009)
 34. 김종숙 외 4명, 동충하초 균사체로 발효시킨 백련잎차의 품질특성. 한국식품영양과학회지 38(5), 594-600 (2003)
 35. 은종방 외 2명, 식인성질병원인균에 대한 녹차추출물의 항균작용. 한국차학회지 15(1), 1-11 (2009)
 36. 이민석 외 9명, 한국 재래종 차나무(*Camellia sinensis*)의 작물학적 특성 및 품질관련 성분 변이. 한국작물학회 53(3), 333-338 (2008)
 37. Dalluge, J. J., Nelson, B. C., Thomas, J. B., and Sander, L. C., Selection of column and gradient elution system for the separation of catechins in green tea using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography* 793, 265-274 (1998)
 38. Hertog, M. G. L., Freskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., and Kromhout, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. *Lancet* 342, 1007 (1993)
 39. 농림수산식품부, 다류 전문가 양성 교육 과정. 목포대학교 산학협력단 (2009)
 40. Lee, M.K. and Y.S. Park., Changes of taste quality and catechin content in tea extracts according to elapsed time an ambient temperature. *Kor. Soc. Hort. Sci.* 48, 298-302 (2007)
 41. Lee, M.K. and Y.S. Park., Changes in sensory quality and catechin content in tea extracts as influenced by infusion temperature and times. *Kor. Soc. Hort. Sci.* 48, 422-428 (2007)
 42. 짱유화, 차 과학개론. 도서출판 보이세계 (2010)
 43. 허복구, 조정일, 박용서, 박운점, 조자용, 균주를 접종하여 제조한 청태전 차의 관능적 특성과 생리활성 효과. 한국지역사회지 21, 139-148 (2010)
 44. 박용서, 이미경, 유현희, 허복국, 청태전과 녹차 추출물의 이화학적 성분과 생리활성. 동

- 아시아식생활지 18, 391-396 (2008)
45. 박용서, 이미경, 유현희, 허복구, 장홍지역 청태전과 녹차의 성분분석. 한국지역사회지 19, 55-61 (2008)
 46. 박용서, 유현희, 이미경, 허복구, 찻잎의 수확시기, 돈차 숙성기간 및 추출온도가 생리활성에 미치는 영향. 한국지역사회지 19, 365-371 (2008)
 47. 박용서, 유현희, 이미경, 박운점, 허복구, 찻잎의 수확시기를 달리하여 제조한 돈차의 관능적 특성과 화학성분. 한국차학회지 15, 87-92 (2009)
 48. Park, Y.S. et al., Bioactive compounds and antioxidant and antiproliferative activities of Korean white lotus cultivar. J. Medicinal Food 12, 1057-1064 (2009)
 49. Park, Y.S. et al., Comparison of the nutrient and chemical contents of traditional Korean Chungtaejeon and green teas. Plant Foods Nut. 65, 186-191 (2011)
 50. Yamauchi, Y., A. Nakamura, I. Kohno, K. Hatanaka, M. Kitai, and T. Tanimoto., Quasi-flow injection analysis for rapid determination of caffeine in tea using the sample pre-treatment method with a cartridge column filled with polyvinylpyrrolidone. J. Chromatography 1177, 190-194 (2008)
 51. Yang, X. R., C.X. Ye, J.K. Xu, and Y.M. Jiang, Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia assamica* var. Kucha by HPLC. Food Chemistry 100, 1132-1136 (2007)
 52. 유현희, 박용서, 이미경, 허복구, 1,000년 신비의 돈차 청태전. 중앙생활사 (2008)
 53. 이희덕, 제조공정별 위해요소분석 일반모델 개발. 식품의약품안전청 연구보고서 (2009)
 54. 류필열, 국산 전통차류의 식중독 원인균에 대한 항균활성도 조사연구. 식품의약품안전청 연구보고서 (2004)
 55. 박기환, 곡류가공품(생식)의 HACCP 적용을 위한 일반모델 개발. 식품의약품안전청 연구보고서 (2003)
 56. 양지영, 식품관리 위해요소 사례분석. 식품의약품안전평가원 연구보고서 (2010)
 57. 김경희, 녹차소비자의 선택 속성과 만족이 충성도에 미치는 영향: 관여도의 조절효과. 성신여자대학교 대학원 박사논문 (2011)
 58. 김형점, 전통수제녹차에 위해요소중점관리기준 적용을 위한 연구. 목포대학교 대학원 석사논문 (2012)
 59. 식품안전국 식중독예방관리과, 소규모업체를 위한 다류해첩(HACCP)관리. 식품의약품안전청 (2011)
 60. 유해물질 총서. 식품의약품안전청 (2010)

61. 소규모 업체를 위한 비가열음료 HACCP 관리기준. 식품의약품안전청 (2010)
62. 빵류의 HACCP 적용을 위한 일반모델 개발. 식품의약품안전청 연구보고서 (2002)
63. 이희덕, 어묵 및 비가열음료의 제조공정별 위해요소분석 일반모델. 식품의약품안전청 연구보고서 (2009)
64. 한선경, 후발효차 제조과정 중의 생화학적 성분 변화. 전남대학교 대학원 식품공학과 석사논문 (2008)
65. 박성선, 녹차산업에서 HACCP 적용과 HACCP인지가 지각품질에 미치는 영향에 관한 연구. 성신여자대학교 대학원 식품영양학과 박사논문 (2010)
66. 박금옥, 보성녹차의 복합산업호를 위한 마케팅 전략. 목포대학교 대학원 (2010)
67. 최윤정, 효소발효차의 발효 최고점 구명. 전남대학교 대학원 석사논문 (2010)
68. 김용식, 후발효차의 화학성분 분석 및 생리활성. 충주대학교 산업대학원 석사논문 (2010)
69. 이민석, 장류(고추장, 된장, 간장)제조 가공업소 HACCP 적용 일반모델 개발. 식품의약품안전청 연구보고서 (2006)
70. 마승진, 발효차의 안전성 평가에 관한 연구. 식품의약품안전청 연구보고서 (2007)
71. 이승주, HACCP 일반모델개발에 FTA(Fault Tree Analysis)기법의 시범적 도입. 식품의약품안전청 연구보고서 (2007)
72. 식품의약품안전평가원, 음료류의 이물 혼입 방지 가이드라인. 식품의약품안전청 (2010)
73. 오원택, 주류안전관리 현황분석 및 안전관리 방안 마련. 식품의약품안전평가원 연구보고서 (2011)
74. 오원택, 주류 중 이물혼입 원인 규명 및 저감화 방안 연구. 식품의약품안전평가원 연구보고서 (2010)
75. 박기환, 주류제조 작업장 교차오염 원인분석 및 관리방안 마련. 식품의약품안전평가원 연구보고서 (2011)
76. 정기혜, 식품 중 이물방지 현장관리 매뉴얼. 식품의약품안전청 연구보고서 (2010)
77. 이정대, 발효차 자동제조방법. 대한민국특허청 (2010)
78. 천석조, HACCP 방식의 도입과 위생관리 지침의 작성 예. 한국식품연구소 (1993)
79. 알기쉬운 해섫관리. 식품의약품안전청 (2010)
80. 탁주 해섫 관리. 식품의약품안전청 (2012)
81. HACCP 바로알기. 식품의약품안전청 (2011)
82. HACCP 검증가이드. 식품의약품안전청 (2010)
83. 식품공전. 식품의약품안전처 (2013)

84. 식품사고위기대응매뉴얼. 식품의약품안전처 (2013)
85. 한약내 GMP 해설서. 식품의약품안전처 (2013)
86. 생약의 품질관리 가이드라인. 식품의약품안전처 (2013)
87. 전자정부사업 품질관리 매뉴얼. 안전행정부 (2013)