

발간등록번호

11-1543000-002467-01

유기가공식품용 첨가물소재 및 수출전략상품개발 최종보고서

2018. 11. 11.

주관연구기관 / 대상주식회사
협동연구기관 / 차의과학대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “유기가공식품용 첨가물 소재 및 수출 전략상품 개발”(개발기간 : 2015. 10. ~ 2018. 10.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 11. 11.

주관연구기관명 : 대상주식회사 임정배 (인)
협동연구기관명 : 차의과학대학교 산학협력단(인)
위탁연구기관명 : 차의과학대학교 산학협력단(인)

주관연구책임자 : 김성필
협동연구책임자 : 이진희
위탁연구책임자 : 조형용

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	315066-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2015.10.12. - 2017.10.11	단 계 구 분	(총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	고부가가치 식품기술 개발사업			
	사 업 명	고부가가치 식품기술 개발사업			
연구과제명	대 과 제 명				
	세 부 과 제 명	유기가공식품용 첨가물 소재 및 수출 전략상품 개발			
연구책임자	김성필	해당단계 참여연구원 수	총: 16명 내부: 16명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 200,000천원 계: 500,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 28명 내부: 28명 외부: 명	총 연구개발 비	정부: 900,000천원 민간: 600,000천원 계: 1,500,000천원
연구기관명 및 소속부서명	대상주식회사 차의과대학교 산학협력단			참여기업명	
국제공동연구 위탁연구	상대국명: 연구기관명: 차의과학대학교 산학협력단			상대국 연구기관명: 연구책임자: 조형용	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유					

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허
등록·기탁 번호	DOI 10.1007/s13765-017-0280-1 DOI 10.1080/08905436.2017.1331451 DOI 10.1111/jfbc.12581	제10-1842152호 제10-1709957호

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

1. 유기가공식품용 소재 및 제품 개발, 소재 및 제품안정성 연구수행 (소재 5건, 제품5건)	18-247
2. 지적재산권 특허 출원 및 등록 (2건/2건)	248-254
3. SCIE급 논문 투고	244-255
4. 학술발표 및 인력양성	255-256
5. 사업화 현황	256

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 협동기관(차의과대학교)의 유기가공용 첨가물 대체 소재 개발의 기초연구를 바탕으로 소재개발 및 연구기반지표 달성, 주관 연구기관(대상)은 유기가공식품 소재를 적용한 응용연구 기반의 제품을 개발 및 사업화지표 달성, 위탁기관을 통한 제품 안전성, 안정성 확보 <ul style="list-style-type: none"> 1) 유기가공식품용 소재 5건 개발 2) 수출용 유기가공식품 5종 개발 3) 소재 및 제품 안정성 검토 ○ 소재 및 제품 연구 기반의 지적재산권 및 학술성과 확보 <ul style="list-style-type: none"> 1) 특허 등록 2건, 특허 출원 2건, SCI논문 2건, 비SCI 1건 ○ 해당 과제 기술실시 1건 및 매출발생 1건
<p>연구개발성과</p>	<p><핵심성과></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 사업화 지표 <ul style="list-style-type: none"> 1. 지식재산권 <ul style="list-style-type: none"> 1) 특허 등록 2건 완료 <ul style="list-style-type: none"> - 10-1709957 : 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법 - 10-1842152 : 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도 2) 특허출원 2건 완료 <ul style="list-style-type: none"> - 10-2017-0092613 : 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도 - 10-2016-0108886 : 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법 2. 기술실시 <ul style="list-style-type: none"> 1) 자가 기술 실시 보고완료 3. 사업화 <ul style="list-style-type: none"> 1) 제품화 5건 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 유기농 잼, 유기농 음료, 염도낮은 유기농 간장, 유기농 식초, 유기농 커피음료 - 매출발생 2.8백만원 - 유기농식초 ○ 연구기반지표 <ul style="list-style-type: none"> 1. SCI 논문 2건 / 비SCI 논문 1건 <ul style="list-style-type: none"> 1) SCI 논문 3건 <ul style="list-style-type: none"> - SCI(E)급 논문 ‘<i>Appl Biol Chem</i>’ 게재(‘Effect of fermented vinegar on the reduction in trimethylamine in konjac glucomannan gel’) - SCI(E)급 논문 ‘<i>Food Biotechnology</i>’ 게재 (Enhanced stability of crude protease from kiwifruit(<i>Actinidia deliciosa</i>) by adding hydrocolloid for organic processed food useds) - SCI(E)급 논문 ‘<i>Food Biotechnology</i>’ 게재 (Saccharification and alcohol fermentation characteristics of barley malt preparations for use in organic processed food)

연구개발성과	<p>2. 학술발표</p> <p>1) 학술발표 10건 (한국식품과학회 국제 학술대회 포스터 발표)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2016. 08 한국식품과학회 2016 국제학술대회 포스터발표 5건 - 2017. 06 한국식품과학회 2017 국제학술대회 포스터발표 3건 - 2018. 06 한국식품과학회 2018 국제학술대회 포스터 발표 2건 <p>3. 교육지도 및 인력양성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 교육지도 5건, 인력양성 4명 <p>4. 소재개발</p> <p>1) 소재개발 5건</p> <ul style="list-style-type: none"> - 칼로리조정 글루코만난겔, 짠맛증진제, 단백분해효소제, 당화효소제, 유화제 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<p>○ 본 연구는 유기가공식품용 첨가물 대체소재를 개발함으로써 일반 첨가물/소재에 한정된 기술개발을 한단계 끌어올려 프리미엄 가공식품 시장인 유기가공식품 및 유기가공식품용 첨가물 대체 소재를 개발, 고부가가치 시장의 확대를 가져올 것으로 판단되나 경쟁력 있는 소재 및 제품의 상용화를 위해 가격, 시장 등의 추가적인 세부검토는 지속적으로 이루어져야 함.</p> <p>○ 시장성 및 가격 경쟁력 있는 소재 및 제품은 대상(주)의 글로벌화 사업전략에 부합하여 기업매출에 활용 및 기여할 것으로 판단됨. 또한, 유기가공식품 제조시 원료 관련 협력기업 및 농가 소득 증대가 기대되며, 수출용 유기가공식품 및 지역 특성(Halal, Natural 등)에 맞는 프리미엄 가공식품을 만들 수 있는 기초 소재 연구 테마자로서 미래 먹거리 창출에 기여 할 것으로 판단됨.</p>				
국문핵심어 (5개 이내)	유기가공식품	대체제	첨가물	동등성 협정	유통안정성
영문핵심어 (5개 이내)	organically processed food	substitutes,	additives,	equivalency arrangement,	shelf-stability

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

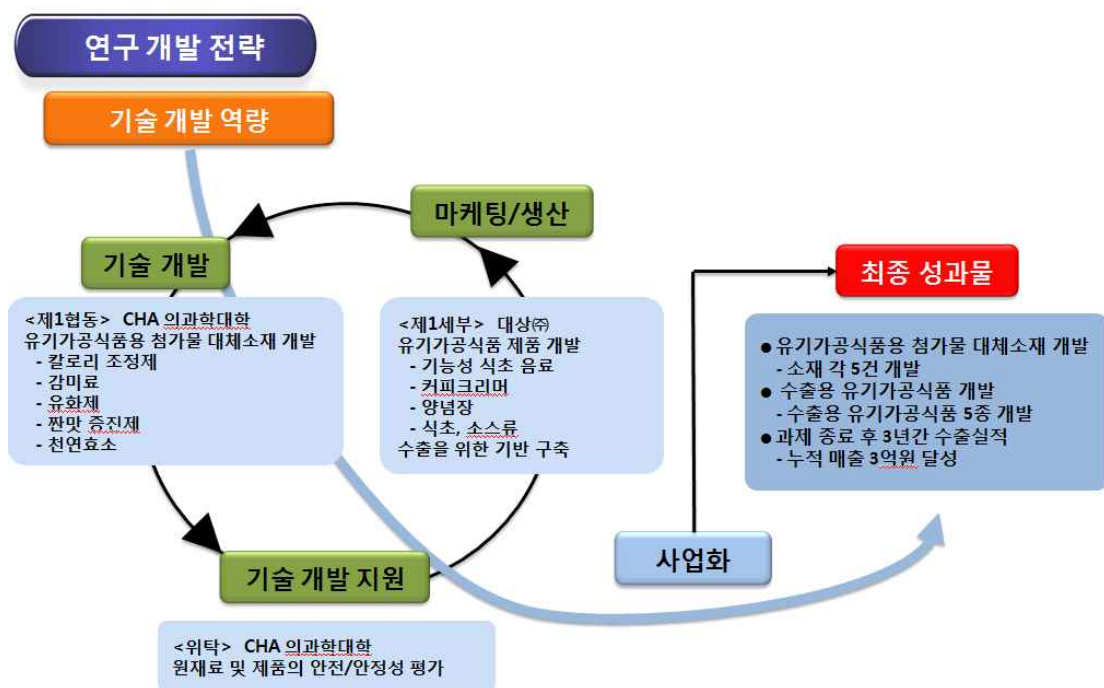
< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	1
1-1 연구개발 목적	1
1-2 연구개발 필요성	1
1-3 연구개발 범위	2
2. 연구수행 내용 및 결과	5
가. 유기가공식품 연구개발 추진전략방법	5
나. 세계 유기농식품 시장	11
다. 유기가공 식품 소재 및 제품개발 연구수행내용	18
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	257
4. 연구결과의 활용 계획 등	257
붙임. 참고 문헌	258

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 가. 한정된 국내 프리미엄 식품시장의 한계를 극복하고, 한국의 유기가공식품 제조가공기술의 우수성을 검증하여 유기가공식품 및 유기가공식품용 첨가물 대체소재 개발을 통해 국내 유기가공식품의 해외 진출에 기반을 마련하고자 함.
- 나. 대상(주)은 수출 대상국 시장 조사 및 시장분석을 통한 제품 개발 연구, 제품 수출을 위한 제반(유통, 통관 등) 연구를 진행하여 유기가공식품 및 소재 수출을 위한 기반을 구축
- 다. 차의과학대학은 산업현장에서 개발요구도 및 범용성이 높은 유기가공식품용 첨가물 대체소재의 핵심 기술개발 및 생산 공정개발, 품질관리 표준화, 원료 수급에 관하여 연구하고 대량생산 공정 확립 및 생산효율 극대화를 위한 소재별 공정 표준화 연구등을 통해 개발
- 라. 연구개발 목표 및 결과



1-2. 연구개발의 필요성

가. 유기가공식품 개발 필요성

(1) 시장규모 및 현황(국내/외)

- (가) 국내 : 프리미엄 농산물, 식품안전에 대한 관심 증대로 유기가공식품 시장의 규모는 '13년 4,908억 원이며, 지속 확대 전망
- (나) 국외: '15년에는 '10년 대비 약 48.4% 증가한 881억불 규모의 시장이 형성(농림축산식품부 자료)

(2) 유기가공식품용 첨가물 소재 개발 및 필요성

- (가) 현재의 소비자 트렌드는 건강한 삶을 지향하는 욕구가 증대되고 식품안전 및 건강식품 등 프리미엄 식품, 특히 유기농 및 유기가공식품에 대한 소비가 증가하고 있으나, 유기가공식품 개발에 필요한 기초연구는 미비한 실정이다. 따라서 이러한 사회적 소비자 트렌드 변화에 발맞춰 미래식품 성장 동력으로 유기가공식품 및 첨가물의 개발이

절실

- (나) 유기가공식품에 대한 법적인 규제는 각국 및 지역의 특성(Halal 등)에 따라 매우 상이 따라서, 유기가공식품의 현지화 전략에 있어 친환경 소재를 활용한 유기가공식품용 첨가물소재의 개발은 필수적
- (다) 국내 유기가공식품 시장은 (유기가공식품 인증업체 667개소 중 181개 업체 설문조사 결과 81.4%가 10억원 미만의 매출 규모 기업, 농림축산식품부 자료) 나타나 있으며, 운영자금 조달과 원료 구입 등에 어려움을 겪고 있는 것으로 나타나 있음
- (라) 따라서 중견기업인 대상(주)과 차의과학대학과 함께 수출용 유기식품 소재/제품을 공동 연구, 개발함으로써 국내 유기 원재료 생산/공급 농가의 애로사항을 해결하고, 국내 유기식품의 우수성을 해외에 알릴 수 있을 것으로 판단됨

(2) 정책현황

- (가) 한미 FTA, 동등성 인정 협정 등으로 유기가공식품에 대한 신뢰도가 한층 높아진 계기가 됨.
- (나) 따라서, 유기가공식품의 신시장인 동남아, Halal 지역 등 신흥개발도상국의 수출제품을 개발함으로써 농식품 수출확대(K-Food 정책 등)라는 정부 정책에도 기여할 것으로 판단됨.

1-3. 연구개발 범위

가. 유기가공식품 국내 시장현황

- (1) 유기가공식품의 국내 생산, 유통, 소비 등의 현황을 구체적으로 파악하기는 쉽지 않지만, 유기가공식품 인증 현황과 수입 현황을 통하여 간접적으로 이해할 수 있으며 2013년 말까지 유기가공식품은 '표시제'와 '인증제'가 병행되어 사용되어 왔는데, 이 중 유기가공식품 품질인증 건수는 2004년 38건에서 2010년 378건으로 10배정도 증가 하였고, 품목수도 2007년 100개에서 2010년 1,290개로 크게 증가.
- (2) 2014년부터 유기가공식품은 '인증제'로 일원화되었는데, 2013년 8월부터 2014년 7월까지 최근 1년간 유기가공식품의 인증건수는 총 647건이고, 인증계획량은 4.9백만 톤 수준.
- (3) 2013년 8월~2014년 7월까지 1년간 유기가공식품 인증현황을 월별로 살펴보면 인증건수는 최소 19건에서 최대 167건, 인증계획량은 최소 8천 톤에서 최대 2.3백만 톤으로 그 편차가 상당히 심한 편으로 2013년 8월부터 2014년 7월까지 최근 1년간의 유기가공식품 인증현황을 품목별로 살펴보면, 출하계획물량 기준 우유 및 유제품류 2.3백만 톤, 두부류 및 묵류 1.2백만 톤, 기타식품 64만톤, 차(茶)류 26만 톤 수준.
- (4) 2013년 8월~2014년 7월까지 1년간의 국내, 외 유기가공식품 인증현황 총 647건 중 국내인증 88%, 해외인증 12%이고, 출하계획량인 총 4.9백만톤 중에는 국내인증 98%, 해외인증 2% 수준으로 식품의약품안전처의 연도별 '수입식품 등 검사연보'를 통하여 유기가공식품의 수입현황을 살펴보면 2010년 약 25,473톤에서 2011년 28,716톤으로 증가하였다가 다시 2012년 25,496톤으로 감소.
- (5) 2010년부터 2012년까지 유기가공식품의 국별 수입금액은 미국, 중국, 브라질, 멕시코, 호주 등의 순으로 나타났으며 2012년 유기가공식품의 수입금액을 국별로 살펴보면 미국이 약 1천 7백만 달러로 가장 높고, 중국이 5백80만 달러로 2번째로 높으며, 브라질이 5백 31만 달러로 3번째로 높다, 이외에도 멕시코, 터키, 호주, 콜롬비아, 캐나다 등에서 유기가공식품을 수입하고 있으며 국가별 수입금액의 추세를 살펴보면 미국과 중국, 멕시코, 브라질 등에서 유기가공식품의 수입이 지속적으로 증가하고 있음.

<표1. 국내 유기가공식품 제품>

제품명	제품사진	원료명	제품특징	가격/제조원
유기농 돈카츠소스		유기농 케찹, 유기농설탕, 유기농식초, 천일염, 유기농 참깨, 펙틴, 카라기난 등		3,300원(250g) /대상
유기농 불고기양념		유기농 설탕, 유기농 간장, 유기농 마늘, 유기농 양파, 구아검 등		4,900원(228g) /대상
트라피스트 수녀원 유기농 꿀잼		유기농 꿀, 유기농 설탕		8,900원(410g) /트라피스트
유기농 어린이 치즈		유기농 치즈(유기농 우유), 밀크칼슘 등		4,680원(180g) /이마트

나. 유기가공식품 국외 시장현황

(1) 미국

(가) 미국 농림부가 발표한 자료에 의하면, 미국의 유기식품 판매액은 2011년 257억 달러였으며, 2014년에는 약 348억 달러로 예상, 품목별로 살펴보면 2014년 기준, 과일 및 채소 43.3%, 유제품 14.6%, 음료수 11.0%, 포장 및 조리식품 10.6%, 빵과 곡물 9.1%, 스낵류 4.9%, 고기 및 생선 3.3%, 조미료 3.2%를 차지.

(나) 미국의 유기식품 판매액 중 유제품, 음료수, 포장 및 조리식품, 스낵류, 조미료 등은 유기가공식품으로 볼 수 있는바, 2011년 시장규모는 약 117억 달러(약 11조 9천억 원)이고, 2014년 약 154억 달러(약 15조 7천억 원) 규모로 미국의 유기식품 수입현황을 살펴보면 2011년 약 6.7억 달러 수준에서 2013년 13.8억 달러(약 1조 4천억 원)로 최근

2년 만에 2배로 증가.

(2) 중국

- (가) 중국의 '유기식품'은 우리나라의 유기농산물과 유기가공식품을 포함한 것으로 국제표준에 근접한 기준을 가지고 있으며, 국무원 중국국가인증인가감독관리위원회(CNCA)가 총괄하여 관리.
- (나) 2014년 4월 1일부터 지난 2013년 11월에 공포된 '유기제품인증관리방법'을 시행하였는데 특히 '유기제품수입' 부분을 추가하여 수입되는 유기식품에 대한 관리감독을 보다 강화
- (다) 세계유기농협회(IFOAM)에서 발간하는 자료에 의하여 중국 유기농 재배면적을 살펴보면, 2012년 약 1.9백만 ha로 다른 아시아 국가보다 월등히 많은데, 이는 아시아에서 유기가공식품의 생산능력이 그만큼 크다는 것을 의미
- (라) 중국의 '유기식품' 시장규모는 공식적인 연구결과가 부재하여 파악하기 어렵지만, ITC(2011)에서 Zeijang Zhou(2010)를 인용하여 발표한 자료에 의하면 2008년 약 75억 위안(약 1조 2,452억 원) 규모로 알려져 있고 2009년 기준 중국의 '유기식품' 수입 규모는 약 최소 3백만~8백만 달러(약 81억 원에서) 최대 2천만 달러(약 200억 원) 수준, 이 중 절반은 가공용으로 활용되며, 절반은 시중에 판매.
- (마) 국외 유기가공식품은 냉동된 즉시취식식품(ready to eat; RTE)등도 유기가공식품으로 출시되며, 스파게티, 피자 소스 등 다양한 소스류 등의 제조 공정이 가해진 제품들의



그림1. 해외 유기가공식품 (출처: 각제조사 홈페이지)
비중이 많음.

다. 유기가공 식품용 소재 및 제품개발

- (1) 유기가공식품용 첨가물 대체 소재 개발 연구
 - (가) 총 5종, 유화제, 짠맛증진제, 천연효소, 감미료, 칼로리조정제
 - 1) 생산 공정개발 및 품질관리 표준화, 원료 수급 연구
 - 2) 유기농 기준에 맞는 원재료 수급 방안 마련, 기존 보유기술 최적화를 통한 공정개발
 - (나) 대량생산 공정 확립 및 생산 효율 극대화를 위한 소재별 공정 표준화 및 안정화 연구
 - 1) 제품 개발 전략에 맞는 소재 개발 및 연구를 통해 대량생산 공적 확립에 기여
 - (다) 사업화가 가능하고 수익을 창출할 수 있는 유기가공제품군을 선정하고 제품화를 이루기 위해 맞춤형 유기가공용 첨가물을 개발
- (2) 유기가공식품(소재) 수출을 위한 기반 구축
 - (가) 유기가공식품 제품 개발을 위한 수출 대상국 시장 조사
 - (나) 시장 분석을 통한 제품 개발 연구
 - (다) 제품 수출을 위한 제반(유통, 통관 등) 연구
- (3) 개발 제품의 품질 안전성 및 포장 제반 연구

(가) 제품 수출을 위한 유통기한 연장기술 등을 포함한 제품의 유통 안정성 연구

2. 연구수행 내용 및 결과

가. 유기가공식품 연구개발 추진 전략 방법

(1) 연구팀 수행방법

(가) 프리미엄 농산물, 식품안전에 대한 관심 등으로 유기가공식품 시장규모는 급속히 성장
(나) 대상(주)과 차의과학대학의 유기적 협력을 토대로 해외시장 정보 확보, 신규 제품 및 소재발굴을 기반으로 한 시장 경쟁력 우위 전략 연구 실시

(다) 대상(주)의 해외 판매 거점 등을 활용한 시장 및 제품 동향 분석, 국내외 우수 연구자료 DB 등을 활용한 최신 연구 및 개발 동향 분석 및 해외 시장조사

(라) 소재탐색을 위한 decision tree 개발

유기가공식품의 경우 사용할 수 있는 원료의 범위가 다양하고, 개발방향에 따라 표시사항이 달라지므로 개발자의 혼란을 최소화하기 위한 방법으로 유기인증 및 표시사항 decision tree를 개발함

(마) 농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 및 시행규칙과 해양수산부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 및 시행규칙, 친환경 농축산물 및 유기식품 등의 인증에 관한 세부실시 요령 등을 검토하여 이를 표로 제작함

1) 국내에서 재배 또는 제조한 식품인지 해외에서 수입된 식품인지를 검토함

2) 국내에서 재배된 경우에는 “생산 농축수산물 원산지 확인서”, 국내에서 제조된 경우에는 “식품 품목제조보고서”를 확인함

3) 국내에서 재배된 농축수산물의 경우 유기인증 농축수산물인지 검토함.

4) 국내법에 따라 농축수산물이 유기인증을 받은 경우에는 인증기관에서 발급한 “유기농축수산물 인증서”를 확인함

5) 국내에서 제조된 식품으로 유기농축수산물을 사용하여 제품이 제조된 것을 검토함

6) 제조된 식품의 “품목제조보고서”를 확인한 후 제조를 위해 사용된 유기농축수산물이 있을 경우 인증기관에서 발급한 “유기농축수산물 인증서”를 확인함

7) 유기가공식품 제조시 사용이 적합한 가공보조제와 식품첨가물을 사용하였는지 검토함

8) 아래 그림2, 표2를 이용하여 사용된 가공보조제와 식품첨가물의 허용여부 및 허용범위를 확인

그림2. 사용된 가공보조제와 식품첨가물의 허용여부 및 허용범위

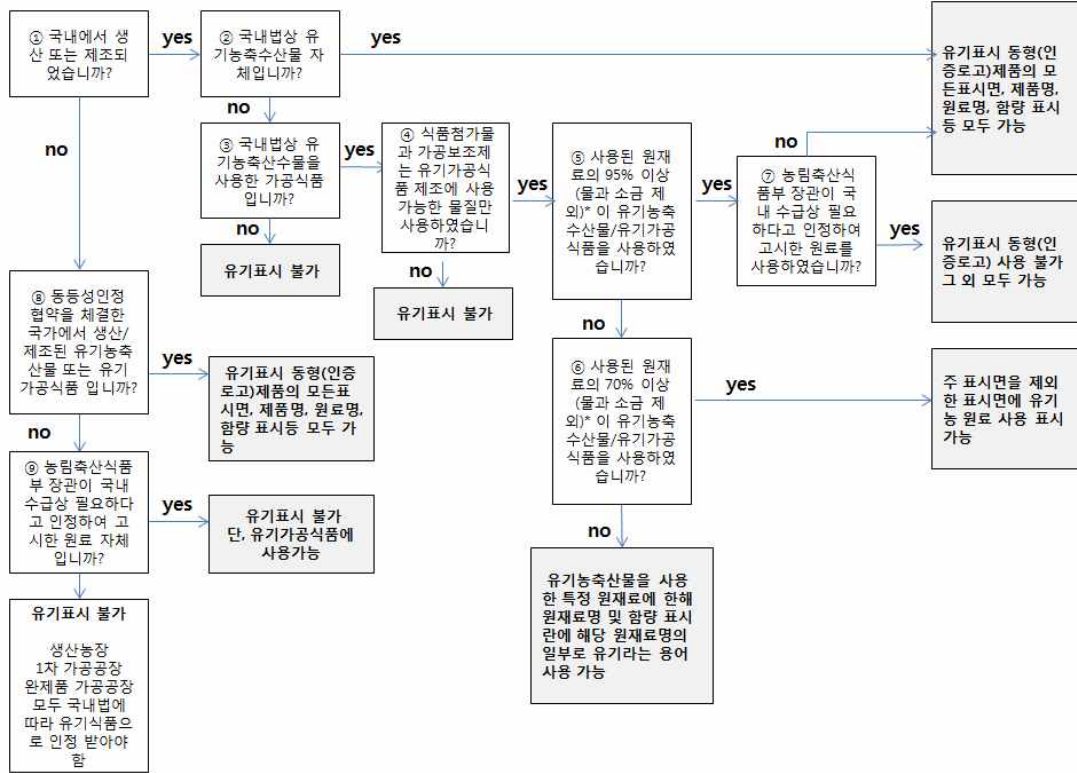


표2. 사용된 가공보조제와 식품첨가물의 허용여부 및 허용범위

명칭(한)	명칭(영)	국제 분류번호 (INS)	식품첨가물로 사용 시		가공보조제로 사용 시	
			허용 여부	허용범위	허용 여부	허용범위
과산화수소	Hydrogen peroxide		×		○	식품 표면의 세척·소독제
구아검	Guar gum	412	○	제한 없음	×	
구연산	Citric acid	330	○	제한 없음	○	제한 없음
구연산삼나트륨	Trisodium citrate	331 (iii)	○	소시지, 난백의 저온살균, 유제품, 과립음료	×	
구연산칼륨	Potassium citrate	332	○	제한 없음	×	
구연산칼슘	Calcium citrate	333	○	제한 없음	×	
규조토	Diatomaceous earth		×		○	여과보조제
글리세린	Glycerin	422	○	제한 없음 (가수분해로 얻어진 식물 유래의 글리세린만 사용할 수 있음)	×	
퀼라야추출물	Quillaia Extract	999	×		○	설탕 가공
레시틴	Lecithin	322	○	제한 없음 (다만, 표백제 및 유기용매를 사용하지 않고 얻은 레시틴만 사용할 수 있음)	×	
로커스트콩검	Locust bean gum	410	○	식물성제품, 유제품, 육제품	×	
무수아황산	Sulfur dioxide	220	○	과일주	×	
벤토나이트	Bentonite	558	×		○	청징(clarification) 또는 여과보조제
비타민 C	Vitamin C	300	○	제한 없음	×	
DL-사과산	DL-Malic acid	296	○	제한 없음	×	
산소	Oxygen	948	○	제한 없음	○	제한 없음
산탄검	Xanthan gum	415	○	지방제품, 과일 및 채소제품, 케이크, 과자, 샐러드류	×	
수산화나트륨	Sodium hydroxide	524	○	곡류제품	○	설탕 가공 중의 산도 조절제, 유지 가공
수산화칼륨	Potassium hydroxide	525	×		○	설탕 및 분리대두단백 가공 중의 산도 조절제
수산화칼슘	Calcium hydroxide	526	○	토르티야	○	산도 조절제
아라비아검	Arabic gum	414	○	식물성 제품, 유제품, 지방제품	×	
알긴산	Alginic acid	400	○	제한 없음	×	
알긴산나트륨	Sodium alginate	401	○	제한 없음	×	
알긴산칼륨	Potassium alginate	402	○	제한 없음	×	
염화마그네슘	Magnesium chloride	511	○	두류제품	○	응고제

염화칼륨	Potassium chloride	508	○	과일 및 채소제품, 비유화소스류, 거자제품	×	
염화칼슘	Calcium chloride	509	○	과일 및 채소제품, 두류제품, 지방제품, 유제품, 육제품	○	응고제
오존수	Ozone water		×		○	식품 표면의 세척·소독제
이산화규소	Silicon dioxide	551	○	허브, 향신료, 양념류 및 조미료	○	겔 또는 콜로이드 용액제
이산화염소 (수)	Chlorine dioxide	926	×		○	식품 표면의 세척·소독제
차아염소산수	Hypochlorous Acid Water		×		○	식품 표면의 세척·소독제
이산화탄소	Carbon dioxide	290	○	제한 없음	○	제한 없음
인산나트륨	Sodium phosphate (Mono-,Di-,Tribasic)	339 (i)(ii)(iii)	○	가공치즈	×	
젖산	Lactic acid	270	○	발효채소제품, 유제품, 식용케이싱	○	유제품의 응고제 및 치즈 가공 중 염수의 산도 조절제
젖산칼슘	Calcium Lactate	327	○	과립음료	×	
제일인산칼슘	Calcium phosphate, monobasic	341 (i)	○	밀가루	×	
제이인산칼륨	Potassium Phosphate, Dibasic	340 (ii)	○	커피화이트너	×	
조제해수염화 마그네슘	Crude Magnesium Chloride (Sea Water)		○	두류제품	○	응고제
젤라틴	Gelatin		×		○	포도주, 과일 및 채소 가공
젤란검	Gellan Gum	418	○	과립음료	×	
L-주석산	L-Tartaric acid	334	○	포도주	○	포도주 가공
L-주석산나트 륨	Disodium L-tartrate	335	○	케이크, 과자	○	제한 없음
L-주석산수소 칼륨	Potassium L-bitartrate	336	○	곡물제품, 케이크, 과자	○	제한 없음
주정 (발효주정)	Ethanol (fermented)		×		○	제한 없음
질소	Nitrogen	941	○	제한 없음	○	제한 없음
카나우바왁스	Carnauba wax	903	×		○	이형제
카라기난	Carrageenan	407	○	식물성제품, 유제품	×	
카라야검	Karaya gum	416	○	제한 없음	×	
카제인	Casein		×		○	포도주 가공
탄닌산	Tannic acid	181	×		○	여과보조제
탄산나트륨	Sodium carbonate	500 (i)	○	케이크, 과자	○	설탕 가공 및 유제품의 중화제
탄산수소 나트륨	Sodium bicarbonate	500 (ii)	○	케이크, 과자, 액상 차류	×	
세스퀴탄산나 트륨	Sodium sesquicarbonate	500 (iii)	○	케이크, 과자	×	

탄산마그네슘	Magnesium carbonate	504 (i)	○	제한 없음	×	
탄산암모늄	Ammonium carbonate	503 (i)	○	곡류제품, 케이크, 과자	×	
탄산수소암모 늄	Ammonium bicarbonate	503 (ii)	○	곡류제품, 케이크, 과자	×	
탄산칼륨	Potassium carbonate	501 (i)	○	곡류제품, 케이크, 과자	○	포도 건조
탄산칼슘	Calcium carbonate	170 (i)	○	식물성제품, 유제품 (탄산칼슘을 착색료로는 사용하지 말 것)	○	제한 없음
d-토코페롤 (혼합형)	d-Tocopherol concentrate, mixed	306	○	유지류(d-토코페롤은 산화방지제로만 사용할 것)	×	
트라가칸스검	Tragacanth gum	413	○	제한 없음	×	
퍼라이트	Perlite		×		○	여과보조제
펙틴	Pectin	440	○	식물성제품, 유제품	×	
활성탄	Activated carbon		×		○	여과보조제
황산	Sulfuric acid	513	×		○	설탕 가공 중의 산도 조절제
황산칼슘	Calcium sulphate	516	○	케이크, 과자, 두류제품, 효모제품	○	응고제
천연착향료	Natural flavoring substances and preparations		○	제한 없음(다만, 「식품위생법」 제7조제1항에 따라 식품의약품안전처장이 식품첨가물의 기준 및 규격에 관하여 고시한 천연 착향료로서 물, 발효주정, 이산화탄소 및 물리적 방법으로 추출한 천연 착향료만 사용할 수 있다)	×	
미생물 및 효소제제	Preparations of Microorganisms and Enzymes		○	제한 없음 (「식품위생법」 제7조제1항에 따라 식품의약품안전처장이 식품첨가물의 기준 및 규격에 관하여 고시한 미생물 및 효소제제만 사용할 수 있다)	○	제한 없음 (「식품위생법」 제7조제1항에 따라 식품의약품안전처 장이 식품첨가물의 기준 및 규격에 관하여 고시한 미생물 및 효소제제만 사용할 수 있다)
영양강화제 및 강화제	Fortifying nutrients		○	「식품위생법」 제7조제1항 및 「축산물위생관리법」 제4조제2항에 따라 사용이 의무화된 제품 (「식품위생법」 제7조제1항에 따라 식품의약품안전처장이	×	

				식품첨가물의 기준 및 규격에 관하여 고시한 영양강화제 및 강화제만 사용할 수 있다)		
--	--	--	--	--	--	--

9) 국내에서 제조된 유기가공식품의 원재료 중 유기농축산물 또는 유기가공식품의 함량에 따라 분류함. 유기가공식품을 제조하기 위해서는 ①국내법에 따라 인증을 받은 유기식품, ②우리나라와 동등성 인정협약을 체결한 국가로부터 수입된 유기가공식품, ③농림축산식품부 장관이 국내 수급상 필요하다고 인정하여 고시한 해외생산 유기가공식품 중 어느 하나에 해당하는 원료를 95%이상(물과 소금 제외)하여 사용되어야 함. 단, 이에 해당하는 원료를 70%이상 사용된 경우엔 표시기준이 달라짐.

10) 유기원료 사용비율 계산법

$$WS = \frac{I_o}{I_o + I_c + I_a} \geq 0.95$$

G: 제품(포장재, 용기 제외)의 중량($G = I_o + I_c + I_a + WS$)

I_o : 유기원료(유기농산물+유기축산물+유기수산물+유기가공식품)의 중량

I_c : 비유기 원료(유기식품인증 표시가 없는 원료)의 중량

I_a : 비유기 식품첨가물(가공보조제 제외)의 중량

WS: 인위적으로 첨가한 물과 소금의 중량

11) 농림축산식품부 장관이 국내 수급상 필요하다고 인정하여 고시한 원료인지 검토함. 고시된 원료는 아래 표3과 같으며, 이 경우 수입된 원료는 수입국에서 유기원료로 인정 받은 원료이어야 하므로 해당원료에 대해 수입국에서 발급한 “유기원료 인증서”를 확인함.

표3. 유기가공 허용 고시된 원료

번호	식품유형	번호	식품유형	번호	식품유형	번호	식품유형
1	버터	18	기준규격외 축산물 (유단백분말)	35	채종유(유채유 또는 카놀라유)	52	전분
2	반경성치즈	19	코코아가공품류	36	해바라기유	53	기타전분
3	전지분유	20	초콜릿류	37	올리브유	54	과채가공품류
4	탈지분유	21	잼	38	팜유류	55	별꽃
5	혼합분유	22	마멀레이드	39	야자유	56	밀가루
6	농축유청	23	기타 잼류	40	혼합식용유	57	영양강화밀가루
7	유청분말	24	백설탕	41	쇼트닝	58	기타밀가루
8	유청단백분말	25	갈색설탕	42	기타 식용유지	59	건조효모
9	유당	26	액상포도당	43	다류	60	건조효모제품

10	유단백가수분해물가 공식품	27	분말, 결정포도당	44	커피(볶은커피)	61	효모추출물제품
11	건조저장육류	28	텍스트린	45	과채주스	62	곡류가공품
12	전란액	29	당시럽류	46	두유액	63	두류가공품
13	난황액	30	프락토올리고당	47	분말두유	64	서류가공품
14	난백액	31	이소말토올리고당	48	발효식초	65	기타가공품(당밀, 맥 아추출액)
15	전란분	32	말토올리고당	49	카레분	66	감마리놀렌산함유유 지
16	난황분	33	콩기름(대두유)	50	향신료가공품	67	대두레시틴
17	난백분	34	옥수수기름(옥배유)	51	땅콩 또는 견과류가 공품		

12) 해외 생산되어 국내로 수입되는 식품 중 우리나라와 동등성 인정 협정을 체결한 국가에 서부터 수입된 유기식품 또는 유기가공식품인지 검토함. 우리나라와 동등성 인정 협정을 체결한 국가는 농림축산식품부 및 국립농산물품질관리원 홈페이지에 게시됨. 동등성 인정 협정을 체결한 국가에서부터 수입되는 유기식품 또는 유기가공식품의 경우 수입증명서인 “NAQS import certificate”를 확인함.

나. 세계 유기농식품 시장

(1) 세계 유기농 식품 시장 동향

(가) 시장 개요

- 1) 세계 유기농 식품 시장은 2009년과 2013년 사이에 연평균 8.1%의 성장률을 보임
- 2) 과일과 채소 부문은 2013년 276억 190만 달러의 수익을 기록, 이는 시장 전체 수익의 36.9%를 차지
- 3) 가공식품은 13,4억 7,830만 달러의 수익을 내어 식품 시장 전체 수익의 18.0%를 기록
- 4) 2018년까지 시장 전체의 규모가 998억 8,160만 달러에 달할 것으로 전망

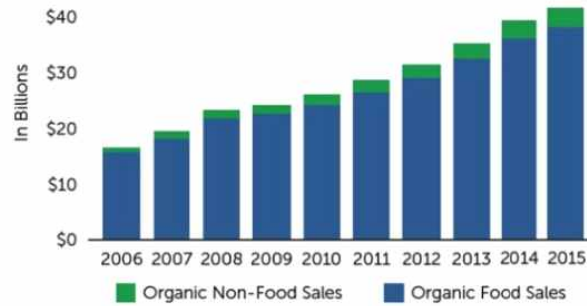
(나) 유기농 식품 시장의 세분화

- 1) 미국은 세계 유기농 시장 가치의 52.2%를 차지, 유럽이 41.5%로 그 뒤를 잇고 ‘13년도 세계 유기농 시장 수익별 점유율은 아래 그림과 같다.



2) 미국의 유기농 식품 시장

- 가) 한국농수산물유통공사(aT)에 따르면 미국 유기농 무역협회(Organic Trade Association)의 조사 결과, 2017년 미국의 유기농 식품시장 매출은 52억 달러(51조)로, 2016년에 비해 6.4% 증가
- 나) 이는 미국내 식품 시장의 5.5%에 해당하는 규모이며 '20년까지 5년간 약 80억 달러가 넘는 증가액이 예측
- 다) 미국 유기농 제품 시장규모 추이 자료는 아래 그림과 같다



미국 유기농 제품 시장규모 추이, 자료: OTA(Organic Trade Association)

- 라) 한국과 미국은 유기가공식품의 상호동등성 인정으로 한국의 유기가공식품을 타 국가 대비 비교적 수출이 용이함
- 마) 관련 정책으로 5년 기준으로 개정·적용되는 Farm Act(2014년)에서는 2000년 이후 수립된 유기농 기준의 유기농 인증, 조사, 기술개발, 곡물보험등 프로그램을 보장하기 위해 약 2천만 달러의 예산을 추가함
- 바) 미국 내 식품안전 관련 새로운 기준인 「식품안전현대화법(FSMA, Food Safety Modernization Act)」을 통해 수입식품에 대한 식품안전규제를 강화함
- 사) 미국인들이 당분을 과다 섭취하여 건강을 해치고 있다는 연구결과들이 쏟아지면서 설탕소비가 2010년 이후로 감소하고 있지만 여전히 설탕 소비의 감축을 위한 다양한 정책이 도입되고 있음

3) 미국시장의 소비 트렌드

가) 웰빙(Well-Being)과 건강(Health) 트렌드

- 건강에 좋은 식품들을 선호하는 소비자 경향이 증가하여, 소비자들의 65%가 식품의 선택 시 건강한 식품을 기준으로 저열량, 저염, 저당, 저가공, 고섬유질, 적은 인공성분, 적은 트랜스 지방, 무방부제 등을 확인하는 것으로 나타남
- 지나치게 변형된 식품이 건강에 좋지 않다는 인식으로 Non-GMO와 유기농 여부를 확인하는 비율도 각각 26%와 20%에 달함

나) 다양한맛의 추구 에스닉 푸드

- 특정 이민자들의 그룹에서 에스닉 식품들이 소비되었던 경향이 전체 시장으로 확대되면서 에스닉 식품의 소매매출은 2013년의 10.9백만 달러에서 2018년에는 12.5백만 달러까지 증가할 것으로 전망

다) 떠오르는 밀키트 시장

- 밀 키트란 한 끼 식사를 만들 수 있는 재료들을 손질된 상태로 레시피와 함께 배송하는 서비스로, 신선 하고 건강한 재료를 사용해 외식보다 ‘건강한

식사'라는 이미지가 강하고, 새로운 요리를 쉽게 접할 수 있고 재료를 구입하는 쇼핑시간과 재료를 손질하는 시간을 절약할 수 있다는 장점 때문에 1인 가구나 맞벌이 가구에서 특히 인기를 끌고 있음

라) 식품안전과 환경보호 사회적 책임 및 로컬푸드

○식품안전과 친환경 생산·제조·유통과 환경 쓰레기 줄이기 등 환경보호, 기업의 사회적 책임도 소비자들의 식품 선택기 기준으로 부상, 이는 식품의 투명성, 환경의 지속성이라는 트렌드와 부합

○소비자들은 '클린 라벨(Clean Label)'을 요구하기 시작, 이는 단순히 식품의 성분을 밝히는 것 외에 생산지 정보와 유통, 가공과정 등을 투명하게 알기 원하는 경향을 나타냄

4) 미국시장의 유통

가) 샘스 클럽(Sam's Club)을 포함한 월마트는 '17년 미국에서는 3.5% 증가한 2,662억 달러, 전 세계적으로는 4,972억 달러의 매출을 기록, 식품 유통업계 1위(MS 15%)

나) 크로거는 '17년 식품부문 매출 약 1,179억 달러로 2위, 코스트코는 전년비 5.3% 증가한 661 달러의 식품매출로 3위 고수

다) '17년 식품 유통업계의 큰 변화는 8월 아마존이 홀푸드 마켓을 인수

라) 식품 유통업체들은 자체 생산품인 PB 상품 개발에 많은 투자 '27년까지 8% 증가된 25.7%에 이를것으로 전망

2017년 식품 도·소매업체 시장매출과 순위

(단위: 십억 달러(USD))

구분	업체명	계열사	총매출[2017-2018년]
1위	Wal-Mart Stores	Wal-Mart, Sam's Club	266.21
2위	The Kroger Co.	Kroger, QFC, Fry's, Fred Meyer etc.	117.92
3위	Costco	Costco	66.10
4위	Albertsons	Albertsons, Safeway, Vons, Jewel-Osco, Shaw's, Acme, Tom Thumb, Randall's, United Supermarket, Pavilions, Star Market, Carrs and Haggen	60.15
5위	Ahold Delhaize	Stop & Shop, Giant, Peapod, Everything Fresh, Food Lion, Hannaford	42.93
6위	Loblaws	Loblaws, Provigo, Zehrs, Real Canadian Superstore and Maxi, T&T, Wholesale Club, Fortinos and Arz	35.20
7위	Publix	Publix Super Markets	34.34
8위	Target	Target	32.69*
9위	C&S Wholesale	-	31.48
10위	Walgreens Boots	Walgreens	26.71*
11위	H-E-B	H-E-B	23.12
12위	CVS	-	19.71*
13위	Meijer	Meijer	18.94
14위	Sobeys	Sobeys, Safeway, Thirty Foods, FreshCo, Price Chopper	18.92*
15위	Dollar General	Dollar General	18.02*
16위	Seven Eleven	Seven Eleven	16.90
17위	ALDI	ALDI	16.80
18위	WAKEFERN	ShopRite	16.30*
19위	SuperValu	Cub Foods, Jewel Osco	15.94
20위	Amazon	-	14.00*

출처: Supermarket News, 2018 Top 75 Retailers and Wholesalers

매출액 * 표기하는 소모품 기준(Consumables Only)

가업 또는 슈퍼마켓에서 추정된 2018년 8월 30일 이전의 회계연도 포함

5) 미국 현지 시장조사

가) 개요

- ▶ 출장 일정 : 2018.03.7(수) – 2018.03.13(화)
- ▶ 방문 장소 : Natural products Expo.(anaheim)
- ▶ 방문자 : 김청혜, 김성필
- ▶ 방문 목적 : 유기농박람회 참석 및 유기농시장조사(국책사업)

일자	방문장소	세부내용	비고																																										
03 / 07	출국	인천 → LA → 에너하임 숙소	숙소 : Days Inn																																										
03 / 08	Ethnic 한인 마켓 시장조사	한국) galleria, zion, california, super1 mart 한남체인	각 100만불 매출(E)																																										
03 / 09	Natural Products EXPO WEST	박람회 참관																																											
03 / 10	Natural Products EXPO WEST	박람회 참관 (오전)																																											
	Ethnic (중국, 히스패닉)	중국) Ranch market 히스패닉) Northgate Market																																											
03 / 11	Conventional	Alberson's, Target	<table border="1"> <caption>2018년 100대 슈퍼마켓 (단위: 백만 달러, 미국내 매출액 기준)</caption> <thead> <tr> <th>순위</th> <th>기업명</th> <th>매출액</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>Wal-Mart Stores</td><td>\$363.10</td></tr> <tr><td>2</td><td>The Kroger Co.</td><td>\$103.87</td></tr> <tr><td>3</td><td>Costco</td><td>\$83.54</td></tr> <tr><td>4</td><td>The Home Depot</td><td>\$79.29</td></tr> <tr><td>5</td><td>Walmart</td><td>\$76.80</td></tr> <tr><td>6</td><td>Target</td><td>\$73.32</td></tr> <tr><td>7</td><td>CVS</td><td>\$72.15</td></tr> <tr><td>8</td><td>Aldi</td><td>\$61.61</td></tr> <tr><td>9</td><td>Albertsons</td><td>\$58.44</td></tr> <tr><td>10</td><td>Low's</td><td>\$57.48</td></tr> <tr><td>11</td><td>McDonald's</td><td>\$56.83</td></tr> <tr><td>12</td><td>Best Buy</td><td>\$36.14</td></tr> <tr><td>13</td><td>Apple Stores</td><td>\$34.94</td></tr> </tbody> </table>	순위	기업명	매출액	1	Wal-Mart Stores	\$363.10	2	The Kroger Co.	\$103.87	3	Costco	\$83.54	4	The Home Depot	\$79.29	5	Walmart	\$76.80	6	Target	\$73.32	7	CVS	\$72.15	8	Aldi	\$61.61	9	Albertsons	\$58.44	10	Low's	\$57.48	11	McDonald's	\$56.83	12	Best Buy	\$36.14	13	Apple Stores	\$34.94
	순위	기업명		매출액																																									
	1	Wal-Mart Stores		\$363.10																																									
2	The Kroger Co.	\$103.87																																											
3	Costco	\$83.54																																											
4	The Home Depot	\$79.29																																											
5	Walmart	\$76.80																																											
6	Target	\$73.32																																											
7	CVS	\$72.15																																											
8	Aldi	\$61.61																																											
9	Albertsons	\$58.44																																											
10	Low's	\$57.48																																											
11	McDonald's	\$56.83																																											
12	Best Buy	\$36.14																																											
13	Apple Stores	\$34.94																																											
Speciality (유기농마트)	Wholefoods, Trader Joe's																																												
창고형 마트	Costco, Walmart																																												
03 / 12	입국	에너하임 숙소 → LA → 인천 (+1)																																											

나) 상세내용

일자	방문장소	세부내용	Image
03 / 08	Ethnic 한인 마켓 시장조사	<ul style="list-style-type: none"> • 한인타운에 위치한 한인마켓으로 당사 주요 납품처 • Galleria market, Zion market, California market plaza, Super1. 한남체인 • LA 인구 200만명 중 한인인 약 70만명 분포 • 주요 제품 구성 및 특징 <ul style="list-style-type: none"> - 한국제품 구성 90% 이상을 차지하며 한국 슈퍼와 유사 - 마트내 반찬 및 양념류 포장 판매가 이루어짐 - 당사 유기농 및 일반제품 입점 <ul style="list-style-type: none"> : 된장, 고추장, 간장, 홍초, 식초, 당류, 김류, 면류, 차류 등 : 미국현지내 장류의 트렌드는 "Reduced sodium" (마루코메 Reduced sodium Organic 미소 이금기/기꼬망 Less sodium soy sauce - 스시식초와 회간장(사시미간장) 다수 진열 - 액젓 매대에 멸치육수 병행 진열(액젓취 최소화) 	

일자	방문장소	세부내용	Image						
03 / 09 ~ 03 / 10	에너지하임 컨벤션센터	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>Grocery</td> <td>Gluten Free</td> <td>Organic</td> </tr> <tr> <td>Power Protein</td> <td>김치, 고추장 Chips</td> <td>Immunity Antioxidants Plant based power</td> </tr> </table> <ul style="list-style-type: none"> Natural & Specialty Food & Organic 제품 전시 음료류 기능성 음료류의 segmentation의 분류 세분화 (for immune health, for exercise) 발효식품 + 식초를 활용한 음료 제품류 : 김부차, Kefir culture base, 수박 flavor 제품 수박과 진저 Flavor의 제품이 많 레몬, 리치, 패션푸룻, 복숭아, 배, 망고등이 일반적인 flavor 포트폴리오 변화 : 원물의 다양화 → 기능성의 다양화 (Fat burner/Detox/Cleanse/Rise Up/Memory Up/Probiotic...) Collabo 제품류 동일 컨셉의 영양바+단백질 음료류 병행 진열 김치 핫소스 2종(spicy, sweet&spicy) Snack mates 다양 CJ의 편의식 강화 bibigo 및 annie Chun's 브랜드의 편의식 추가 출시 (Soup & Noodle Bowls, Coconut/Soy Garlic/Yakisoba 출시) 만두, 비빔밥, 미초 제품을 시식 및 시음 풀무원의 미국 브랜드로 WILDWOOD, nasoya 으로 구분운영 	Grocery	Gluten Free	Organic	Power Protein	김치, 고추장 Chips	Immunity Antioxidants Plant based power	
Grocery	Gluten Free	Organic							
Power Protein	김치, 고추장 Chips	Immunity Antioxidants Plant based power							

일자	방문장소	세부내용	Image
03 / 10	Ethnic (중국, 히스패닉)	<ul style="list-style-type: none"> 중국) Ranch market 한류에 의한 한국 제품이 많음 : 김치, 라면, 스낵, 음료의 경우 한국제품이 아니나 한글로 표기 차류의 음료가 많 히스패닉) Northgate Market 멕시코계열 마켓 Instant Lunch(간편 CUP제품) 많 소스의 종류가 다양한 점이 특징 Writing Gel 많 : Color별(squeezable용기) Mate 음료류 많 식초의 경우 Apple Cider Vinegar가 주를 이루며, Spiced Vingar가 다양하며, 식초와 간장을 동일 디자인, 용기에 포장하여 P2판매함. 	

다) 시장조사 제품분석

제품명	제조원/판매원	용량 (ml)	제품특징	원재료명	제품사진
Malibu. CA KOR shots	Kor shot Inc.	50 1.7floz	Locally sourced Cold pressed organic	(대표) Wheatgrass juice, 스피루리나, 파인애플주스, 레몬주스, 진저주스	
Getorade Organic	Pepsico	500 17floz	유기농 전해질 공급	물, 사탕수수, 구연산, 천연향료, 바다소금, Na, Cl	
Red ace	Red Ace LLC Boulder	60 2Floz	Organic 면역력 증진 클렌징 & 해독기능	정제수, 유기농비트 농축액, 당근 농추액, 사과농축액, 레몬농축액, 셀러리 파우더, 진저 파우더, 강황, 레몬 추출물, 진저향	
French vanilla Naturally & Artificially Flavored Coffee Enhancer	Betterliving brands LLC	48 1.62Floz	커피 인헨서 농축형태 (24servings)	정제수, 프루필렌그리콜, 천연&합성향, 수크랄로스, 아세살팜포타슘, 소디움베조익, 포타슘 소르베이트, 카라멜 색소.	

제품명	제조원/판매원	용량 (ml)	제품특징	원재료명	제품사진
A L'OLIVIER MANGO PULP VINEGAR	A L'OLIVIER (France) / De Medici Imports Ltd. (USA)	200 (6.7 FL.oz)	신선하고 펄프가 들어있는 농축된 과일 식초로 요리에 사용(샐러드, 새우 또는 돼지고기) 식초와 과일농축 퓨레만을 사용	주정식초 43%, 망고퓨레40%(망고펄프 90%,설탕10%), 그레놀설탕, 농축사과 펙틴	
A L'OLIVIER RASPBERRY PULP VINEGAR	A L'OLIVIER (France) / De Medici Imports Ltd. (USA)	200 (6.7 FL.oz)	신선하고 펄프가 들어있는 농축된 과일 식초로 요리에 사용(송아지 고기, 오리가슴살, 헤이즐넛 오일과 함께 샐러드 드레싱) 식초와 과일농축 퓨레만을 사용	주정식초 43%, 라즈베리퓨레40%(라즈베리 펄프90%,설탕10%), 그레놀설탕, 농축사과펙틴	
A L'OLIVIER PASSION FRUIT PULP VINEGAR	A L'OLIVIER (France) / De Medici Imports Ltd. (USA)	200 (6.7 FL.oz)	신선하고 펄프가 들어있는 농축된 과일 식초로 요리에 사용(생선의 레몬주스대신 사용, 생선요리 마리네이드 원료로 사용, 샐러드 드레싱) 식초와 과일농축 퓨레만을 사용	주정식초 43%, 라즈베리퓨레40%(라즈베리 펄프90%,설탕10%), 그레놀설탕, 농축사과펙틴	
Citrus Champagne California Vinegar	Olvie Oil	200 (6.7 FL.oz)	삼페인식초를 사용 캘리포니아 오크에 숙성 샐러드용으로 사용, 살아있는 프로바이오틱, 설탕 무첨가	캘리포니아 삼페인식초, 레몬, 레몬 에센스	

제품명	제조원/판매원	용량 (ml)	제품특징	원재료명	제품사진
Citrus Champagne California Vinegar	Olvie Oil	200 (6.7 FL.oz)	2년 오크숙성(palomino grapes) 구운야채, 고기등과 함께 섭취	숙성 캘리포니아 웨리 식초, 숙성 살구 와인 식초	
(Organic) KEVITA APPLE CIDER VINEGAR TONIC	KEVITA, INC.	450 (15.2floz)	USDA 100% 유기농제품 Non GMO Probiotics 사과식초를 활용한 탄산음료	탄산수, 사과식초, 케피어 배액액, 사과주스 농축액, 레몬Extract, 생강 extract, Bacillus coagulans GB1-306086, VitC, 젤산, 스테비아잎, 레몬글라스 extract, 라벤더향, 알로에베라 extract, lacto bacillus plantarum	
(Organic) KEVITA APPLE CIDER VINEGAR TONIC	KEVITA, INC.	450 (15.2floz)	USDA 100% 유기농제품 Non GMO Probiotics 사과식초를 활용한 탄산음료	탄산수, 사과식초, 케피어 배액액, 사과주스 농축액, 강황농축액, 생강 extract, Bacillus coagulans GB1-306086, VitC, 젤산, 스테비아잎, 라임 extract, cardamom extract, Black pepper extract, lacto bacillus plantarum	

제품명	제조원/판매원	용량 (ml)	제품특징	원재료명	제품사진
SNOW'S BUMBLE BEE CLAM JUICE	BUMBLE BEE FOODS, LLC	236 8 oz	조개를 활용한 음료 천연 100%	클램주스(물, 조개주스), 소금	

제품명	제조원/ 판매원	용량 (ml)	제품특징	원재료명	제품사진
(유기농) KIMCHI JUICE	Gold mine natural food company	947	유기농 김치주스 켈트해소금 사용, 비살균 항아리숙성	김치주스(배추김치), 당근, 파, 켈트해 소금, 마늘, 생강, 고춧가루, 고추	
(유기농) YERBA MATE Shot	guayaki	59 2 fl oz	천연 카페인 기원의 에너지 음료 코서	(대표) 정제수, 유기농설탕, 유기농 농축액, 구연산, 유기농 향, 유기농 구아김, 히말리아 소금	
Moringa Green Energy	Kuli Kuli, Inc.	74 2.5fl Oz	모링가 나무 에너지 음료	(대표) 정제수, 타피오카 시럽, 천연라임향, 천연 코 코넛향, 레몬주스 농축액, 녹차 추출물, 해바 라기 레시틴, 스테비아 추출물	
365 Eney shot	Whole food	59 2 fl oz	에너지 shot Caffeine + Vitamin 홍무드 PB상품	정제수, 비정제당, 천연향, 사과산, 잔탄검, 스 테비아 추출물	

Discover
What's next

The END



 DAESANG

다. 유기가공 식품 소재 및 제품 개발 연구수행 내용

(1) 칼로리 조정제 적용 유기농 딸기잼

(가)-1. 소재개발 - 칼로리 조정제(글루코만난 껍질)

1) 유기식품 곤약 원료

가) 구약나무로부터의 곤약정분을 수급하기위해 구약나무의 줄기 뿌리 부분을 건조하여 분말로 판매되고 있는 원료를 선택하고 수입, 판매되고 있는 곤약 가루 중 곤약 건조 원물 100%의 원료를 선택하였고, 여러 곳의 업체 중 경제성과 수급 용이성 등을 고려하여 한우리약초의 곤약정분을 구매하여 수급. 수급한 곤약 정분 원료의 성분 및 특징과 곤약정분 제조 과정은 다음 표4, 그림3~5와 같음.

표4. 곤약정분(한우리약초)



제품명	곤약가루
식품의 유형	석류가공품
성상	분말
용량	200g
원재료명 및 함량	곤약 100%
포장 형태	PET/PE
제조원	YUNNAN GOLDTOWER INDUSTRIAL CO.LTD
수입원	(주) 경단실업
판매처	한우리약초
보관	상온

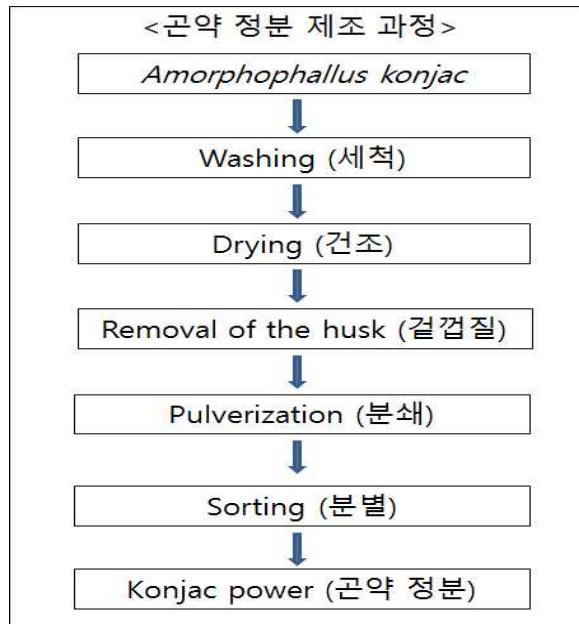


그림3. 곤약 정분 제조 과정

그림4. 수입신고증 및 수입신고 확인증

Jel|jonbio 0313998732 p.02

(공부크업업)

수입신고필증

(2)
 北 北미리업 : 3월

① 신고번호 41001-16-4006671-	② 신고일 2015/07/29	③ 세관,과 033-10	④ 입항일 2015/07/25	⑤ 입항지 2015/07/27	⑥ 입항번호 2015/07/27
⑦ 신고번호 2015073180	⑧ 신고번호 130.8205584-7000-028	⑨ 신고번호 130.8205584-7000-028	⑩ 신고번호 2015/07/27	⑪ 신고번호 2015/07/27	⑫ 신고번호 2015/07/27
⑬ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		⑭ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	⑮ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	⑯ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	⑰ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
⑱ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		⑲ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	⑳ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉑ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉒ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㉓ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㉔ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉕ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉖ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉗ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㉘ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㉙ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉚ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉛ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉜ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㉝ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㉞ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㉟ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊱ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊲ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㊳ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㊴ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊵ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊶ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊷ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㊸ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㊹ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊺ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊻ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊼ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㊽ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㊾ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㊿ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋀ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋁ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋂ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋃ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋄ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋅ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋆ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋇ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋈ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋉ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋊ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋋ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋌ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋎ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋏ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋐ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋑ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋒ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋓ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋔ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋕ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋖ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋗ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋘ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋙ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋚ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋛ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋜ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋝ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋞ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋟ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋠ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋡ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋢ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋣ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋤ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋥ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋦ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋧ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋨ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋩ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋪ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋫ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋬ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋭ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋮ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋯ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋰ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋱ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋲ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋳ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋴ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋵ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋶ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋷ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋸ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋹ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋺ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋻ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋼ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㋽ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㋾ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㋿ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌀ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌁ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌂ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㌃ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㌄ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌅ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌆ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌇ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㌈ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㌉ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌊ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌋ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌌ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물
㌍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물		㌍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물	㌍ 신고품명 유아나트르세발인 결빙진장물

양산세관
THE REPUBLIC OF KOREA

발행번호 : 2015494066448(2015.07.29) 세관,과 033-10 신고번호 11901-15-4006671 Page 1/1
 * 수입신고증은 발행 후 세관이나 통관 기관, 수검관 주 관으로 제공한 내용을 발행번호 등을 이용하여 관세동 전자통관시스템
 (http://sps11.customs.go.kr)에서 확인하시기 바랍니다.
 * 본 수입신고증은 세관에서 형식적 요건만을 심사한 것이므로, 신고내용의 사실과 다를 때에는 신고인 또는 수검관에게 확인을 해야 합니다.

(주)젤론바이오
 Tel: 031)399-8730
 Fax: 031)399-8732

10/12 2015 11:37AM FAX 03180165807
PURUN
2015-DEC-10 11:37 From: 201507165807
Page: 1/3

[금루코만난]

* 동 문서는 사본입니다.

송백일과 2015-07-30 16:22:10

식품등의 수입신고확인증

신고번호	20150271669	신고일	2015년 07월 28일
수리번호	147D15820180641039	수리일	2015년 07월 28일
수리번호	항목	대표자	
주소			
제조	항목	대표자	
가공업자	주소		
제조사명	GLUDMANNAN		
총수량	(단위: GT)	순량	(단위: Kg)
과세가격	(단위: US\$)	통관관리번호	15DJSC05847008008
출산지(국가)	중국	수출국	중국
제조사	HUBEI YIZHI KONJAC BIOTECHNOLOGY CO LTD	수출회사	
H S K 번호	8932090050	검사관명	서유
출도	만해출	유출기한일	2017년 06월 01일
유출자재조파식용표시	표시함()	표시하지함()	해당사항없음(O)
수입신고확인증발급조건	검사관리수입신고명승교부		

No	제조사명	과세관리번호	수량 (단위: GT)	순량 (단위: Kg)	과세가격 (단위: US\$)
1	GLUDMANNAN	15DJSC05847008008			

* 식품위생법 제10조 및 같은 법 시행규칙 제12조제2항에 따라 이와 같이 신고하여야함을 통보합니다.

2015년 07월 30일

부산지방식품의약품안전청장

(주)젤론바이오
 Tel: 031)399-8730
 Fax: 031)399-8732

그림5. 곤약정분의 일반성분분석표

Jelljono bio 0313998732 p.03

(글루코만난)

Hubei Yizhi Koutac Biotechnology Co., Ltd
Certificate of Analysis

Product		NO. Y20708		
Batch number		Glucomannan		
Manufacture date		43 201506 012		
Expiry Date		June 2,2016		
Test date		June 1,2017		
Sample	Total amount of product			

Test Result					
Item	Unit	standards	Test result	Conclusion	
1	Appearance	-	White fine particle size, free flowing and odorless powder	Conforms	Qualified
2	Particle size	%	(x120 Mesh) 80%	91.1	Qualified
3	Viscosity	mPa.s	≥2000	3200	Qualified
4	Moisture content	%	≤10	8.0	Qualified
5	Glucomannan content	%	≥82	82.2	Qualified
6	Transparence	%	≥80	86.5	Qualified
7	pH	-	6.0-7.0	6.0	Qualified
8	Ash	%	≤3.0	1.40	Qualified
9	Protein	%	≤1.6	Conforms	Qualified
10	Pb	ppm	≤0.8	0.2	Qualified
11	As	ppm	≤1.0	0.2	Qualified
12	SO ₂	g/kg	≤0.3	0.204	Qualified
13	Total plate count	cfu/g	≤1000	600	Qualified
14	Yeasts and Moulds	cfu/g	≤100	Conforms	Qualified
15	coliform	MPN	Negative	Negative	Qualified
16	Salmonella	-	Negative	Negative	Qualified
17	Isopropyl alcohol	ppm	≤500	330	Qualified

Viscosity test conditions: 1% solution, permanent 30°C temperature, BROOKFIELD rotating viscometer (RVDV-II+P), No.7 rotor, 12 r/min.

Transparence test condition: 0.5% solution, cuvette 1cm * 1 cm, 550 nm wave length

Note: Recommended storage conditions: Temperature is equal to or below 10°C ± 1°C, Humidity is less than or equal to 50%.

Conclusion

The goods of the seized targets in line with customer's technical standards, allowed the factory July 14, 2015

Approver: 叶晓玲 Analyst: 米乐艳 Q.M.: 伍丽蓉

(주) 젤 존 바이오
Tel: 031) 399-8730
Fax: 031) 399-8732

10/12 2015 11:37AM FAX 03180165807 PURRN 2015-DEC-10 11:38 From: 03180165807 0002/0003 Page: 3/3

2) 글루코만난의 정량법 확립

가) 식이섬유의 일종인 글루코만난의 함량을 정량하기 위해 건강기능식품공전 상에 명시되어 있는 분석법인 3-26-1 식이섬유 제 1법을 통해 분석을 실시하였고 분석 장비는 FOSS Kjeltac 8400 Analyzer Unit을 사용함. 다음 계산식을 통해 식이섬유함량을 계산 한 결과는 총 식이섬유 양은 3반복 하여 87.53%로 정량됨.

$$\text{식이섬유함량(\%)} = \frac{\text{검체의 평균잔사무게 (mg)} - \text{단백질량 (mg)} - \text{회분량 (mg)} - \text{공시험값 (mg)}}{\text{체의 평균무게}} \times 100$$

(* 공시험 값(mg) = 공시험평균 잔사무게(mg) - 공시험 단백질량(mg) - 공시험 회분량(mg))

3) 곤약 성분 글루코만난의 이미 이취 제거 방법 개발

가) 이취 성분 추출

- 휘발성 성분 추출 방법으로 많이 사용되는 SPME(고상마이크로추출)방법을 이용하여 추출. (CAR-PDMS fiber 사용) Equilibration(평형)과정(40℃, 30분)을 통해 분석할 vial 안에 휘발성 성분이 평형을 이루도록 한 후, SPME fiber를 꽂고 40℃에서 20min에서 흡착과정을 실시. 그 후 GC 기기 injector에 꽂은 후 5분 간 탈착과정을 거침.
- 최적 흡착 시간을 결정하기 위한 실험은 일정 무게(1g ± 0.2g)의 곤약 샘플을 20mL headspace vial에 넣고 40℃에서 30분의 평형과정을 거친 후 흡착시간 별(5, 10, 15, 20분)의 TMA의 peak area로 결정하였고 실험은 3반복을 실시함.



그림6. SPME 추출 장비

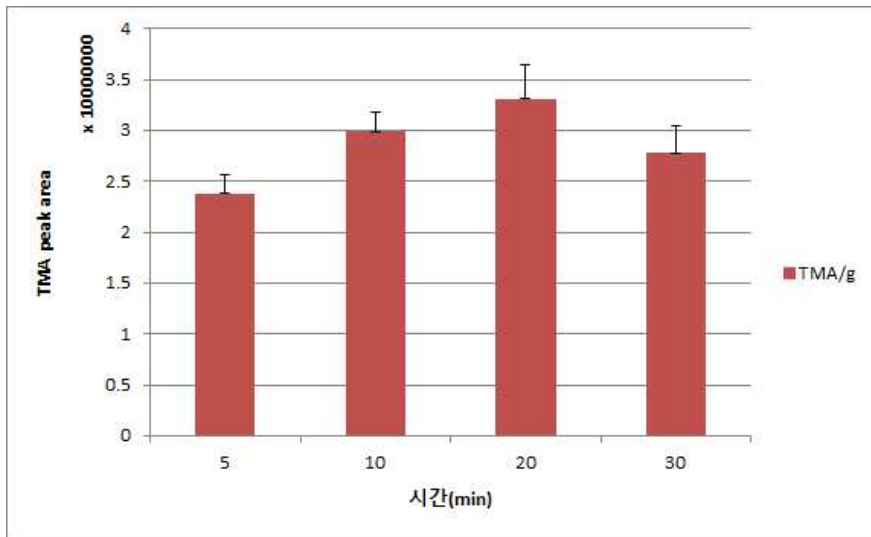


그림7. 최적 흡착 시간 결과

나) GC-MS 분석

- 식초 처리의 따른 TMA의 양을 정량하기 위하여 농도별로 deionized water에 희석하여 standard curve를 그린 후 정량실험을 진행함. standard curve을 그릴 때에는 standard solution인 TMA와 IS(Internal standard, 내부표준물질)인 1-octanol 100ppm을 20mL headspace vial에 1:1 비율로 넣고 휘발성 성분이 휘발되지 않도록 빠르게 PTFE-coated silicone rubber septa로 sealing하고 SPME 방식으로 추출하여 분석함.
- sample은 일정 무게의 곤약을 앞과 동일한 방법으로 vial에 넣고 IS를 spiking하여

sealing 한 후 SPME 방식으로 추출하여 분석함.

○standard curve식은 $y=0.0027x+0.0193$ 를 가지고 $R = 0.994$ 이고, standard curve는 figure 와 같음. 식초 농도 별 (1,2,3,4%)로 10분 침지 후 10분 동안 행균 후 TMA 함량을 측정하여 기존 곤약 대비 이취 성분인 TMA함량이 1%이상에서 감소하는 경향을 보이고 2% 부터는 일정한 양상을 보이는 것을 figure와 같이 확인함.

표5. GC-MS 분석 조건

Instrument	Agilent 6890N/5973N (GC-MS)
Column	HP-5MS (30m x 0.25 mm x 0.25 μm)
Carrier gas	Helium (Ultra high purity grade, 99.999%)
Flow rate	1.0mL/min
Injection type and temperature	Splitless/230℃
Oven temperature	80℃ (5min) → 10℃/min → 250℃(5min) Post run : 280℃ (5min) Run time : 27min
MS source and MS quadrupole temperature	230℃/150℃
Fragmentation mode	Electron impact at 70eV
Detection mode	SIM mode
MS library	NIST, weily7n.1

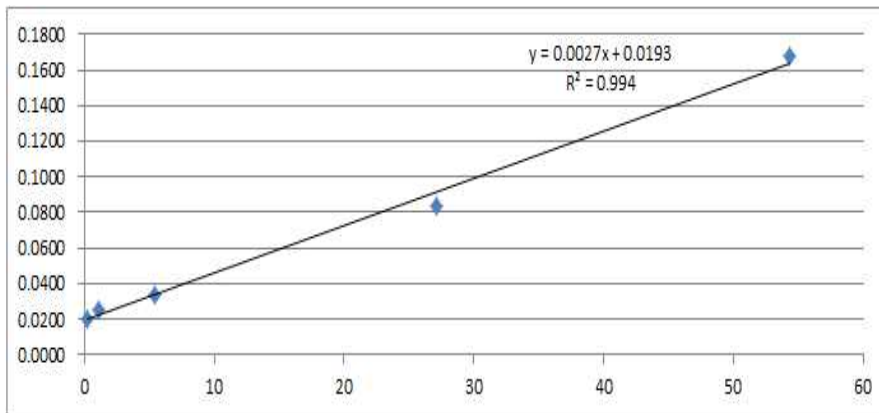


그림8. TMA standard curve

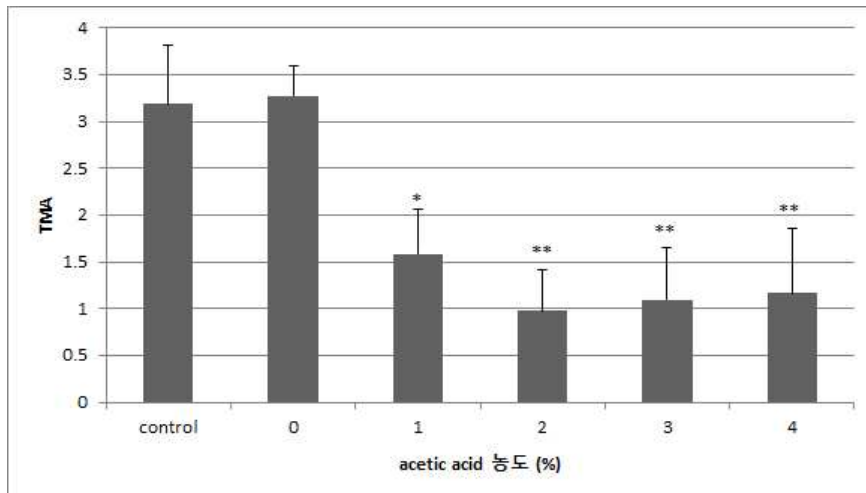
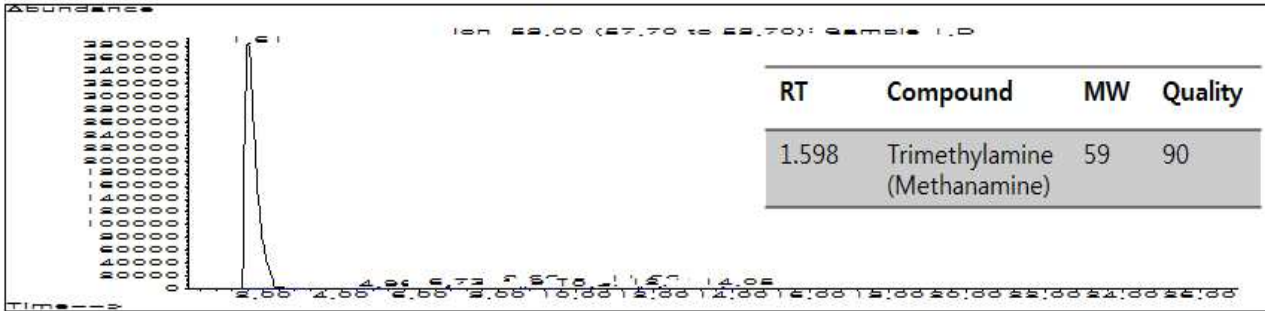


그림9. 식초(acetic acid)농도 별 TMA함량

다) 글루코만난의 호환적 이취 제거 물질 선정을 위한 이취 성분 파악

- 곤약의 여러 가지 이취 성분 중 대표적인 성분인 TMA(Trimethylamine)을 문헌을 통해 확인한 가설을 GC-MS 분석을 통해 Standard solution과 retention time을 비교하여 확인
- standard solution은 sigma사에서 구매한 98% TMA-HCl 분말을 구매하여 deionized water에 녹여서 사용함.

➤ Standard solution 1000ppm
(98% Trimethylamine hydrochloride (sigma)+ Deionized water)



➤ 제조 곤약 Sample

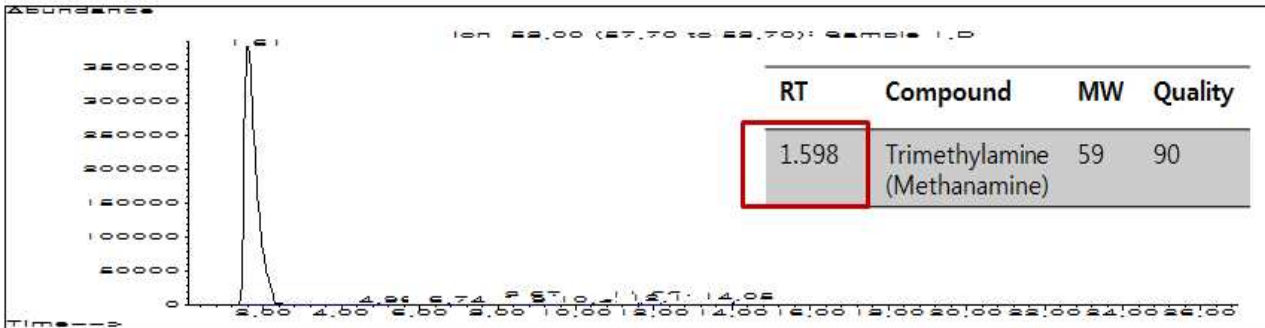


그림10. 곤약의 이취성분 retention time 비교에 의한 TMA(Trimethylamine) 확인

라) 아세트산과 TMA의 화학적 반응에 의한 이취 제거

- 문헌을 통해 아세트산은 적극적인 양성자 주개(proton donor) 역할을 하여 생성된 불휘발성 염을 안정화시키는 메커니즘으로 이취 억제 효과가 있을 수 있고, 또는 식초의 방향 효과에 의한 가리움(masking)효과로 인한 이취 억제 효과가 있을 수 있는 가설 확인
- 이러한 가설 하에 본 연구에서도 아세트산으로 이루어진 유기농발효식초를 이용하여 곤약의 이취를 억제시키는 연구를 진행.

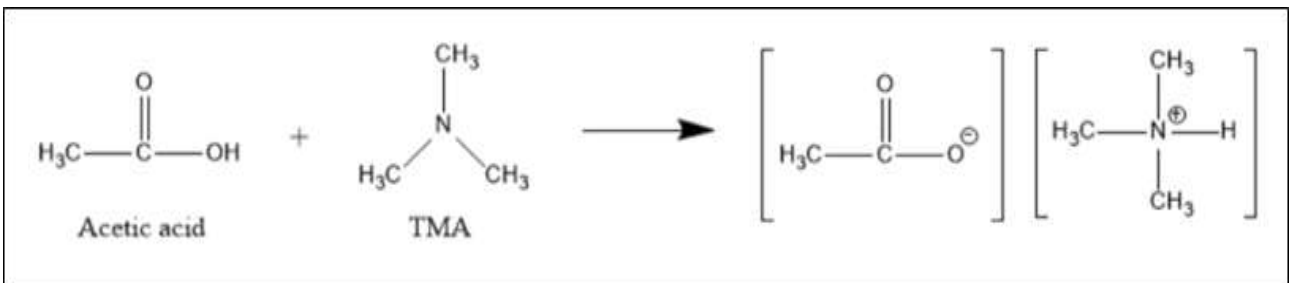


그림11. 아세트산과 TMA의 결합 메커니즘

4) 글루코만난의 겔화 방법 개발

- 글루코만난인 곤약 성분은 흔히 판곤약 형태로 겔화되어 식용에 사용되어짐.
- 글루코만난 겔화 방법은 곤약정분(한우리약초)과 정수(물) 그리고 응고제인 수산화칼슘 ((주)이에스기술연구소)을 사용함. 수산화칼슘은 유기가공기준 상에 허용 가능한 물질이므로 이를 이용하여 겔화를 시켰음.
- 문헌을 통해 제조 조건을 설정하였고, 곤약 성분 첨가 농도(정수 대비 3,4%)와 수산화칼슘 첨가농도(3,5,7,9%)별로 곤약을 제조 하여 texture meter(Model : Brookfield , CT3 4500)를 사용하여 분석한 결과 TPA(Hardness, Cohesiveness, Chewiness, Springiness)를 비교하여 시중과 가장 유사한 겔화 조건을 설정함(곤약 정분 정수 대비 4%, 수산화칼슘 곤약 정분 대비 5%).
- TPA(Texture Profile Analysis) 측정 조건은 Cylindrical probe(P/2.5)를 사용하여 Test speed는 1mm/s, trigger force는 1N, deformation level은 30%로 설정하여 측정함.
- 글루코만난 겔화 제조 방법은 곤약 정분 4%(정수 대비)와 65-70℃ 정수를 넣고 교반기 (MS5010D)를 이용하여 500rpm에서 3분 동안 교반 시켜줌.
- 1차 겔화 된 곤약을 45℃ 이하로 냉각 시킨 후 수산화칼슘 용액(수산화칼슘분말 곤약 정분의 5% + 정수 5%)를 넣고 300rpm에서 골고루 섞일 때 까지 교반시킴
- 완전히 응고되기 전에 mold에 넣고 평평하게 눌러줌
- 보관은 4℃ 냉장고에서 지퍼백에 넣어 보관함.

표6. 조건 별 TPA 결과

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	시중 곤약 (대림 선)
	KP 3%	KP 3%	KP 3%	KP 3%	KP 4%	KP 4%	KP 4%	KP 4%	
	Ca 3%	Ca 5%	Ca 7%	Ca 9%	Ca 3%	Ca 5%	Ca 7%	Ca 9%	
Hardness	1.56 ±0.25 ^{ab}	1.39 ±0.13 ^a	1.74 ±0.69 ^{bc}	1.78 ±0.49 ^{bcd}	1.66 ±0.43 ^{bc}	1.86 ±0.47 ^{cd}	1.73 ±0.41 ^{bc}	1.60 ±0.36 ^{ab}	2.01 ±0.46 ^d
Cohesiveness	1.22 ±1.04 ^{ab}	1.68 ±1.06 ^b	1.19 ±1.55 ^{ab}	1.11 ±0.62 ^{ab}	1.24 ±1.03 ^{ab}	1.01 ±0.71 ^a	1.08 ±0.47 ^{ab}	0.73 ±1.68 ^a	1.07 ±0.58 ^{ab}
Springiness	0.93 ±0.14 ^b	0.94 ±0.14 ^b	0.75 ±0.37 ^a	0.75 ±0.22 ^a	0.94 ±0.29 ^b	0.91 ±0.09 ^b	0.89 ±0.11 ^b	0.77 ±0.30 ^a	1.07 ±0.58 ^b
Chewiness	1.80 ±1.51 ^{ab}	2.20 ±1.52 ^b	1.72 ±2.18 ^{ab}	1.38 ±0.75 ^{ab}	2.04 ±1.72 ^{ab}	1.61 ±1.05 ^{ab}	1.57 ±0.60 ^{ab}	1.30 ±1.18 ^a	1.07 ±0.58 ^{ab}

* KP : 곤약정분(konjac powder) /Ca : 응고제(수산화칼슘, Ca(OH))

5) 최종 규격

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00
	유기가공식품용 곤약	제정일자	페이지
		개정일자	1/2

1. 적용범위

이 규격은 당사의 제품인 유기가공식품용 곤약의 제품검사규격에 대하여 규정한다.

2. 제품설명

유기가공식품용 곤약이라 함은 곤약 정분 4%(정수 대비)와 65-70℃ 정수를 교반하여 1차 겔화한 뒤 45℃ 이하로 냉각 시켜 수산화칼슘 용액(수산화칼슘분말 곤약 정분의 5% + 정수 5%)를 넣고 300rpm에서 골고루 섞일 때 까지 교반시킴. 완전히 응고되기 전에 mold에 넣고 평평하게 성형함. 이취 제거를 위해 1% 발효 초산에 10분 간 침지 한 후 정제수로 10번 세척함. 다시 1% 발효 초산을 충전제로 곤약을 침지시켜 지퍼백에 보관한 제품을 칭함.

3. 원재료명

곤약분말, 물, 수산화칼륨, 발효초산

4. 제품규격기준

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	
기준 및 규격	성 상	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시	
	중금속					3.0 이하
	대장균군					음성 (충전, 밀봉한 제품에 한한다.)
	타르색소					검출되어서는 아니된다.
	pH					pH 5 이하
	포장(실링)상태					포장지에 불량, 누설, 파손과 포장상태에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 곤약 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어있어야함.
표시 기준	내용량	표시중량 100% 이상				
	유통기한	4℃ 보관 시 제조일로부터 1년				

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간

- 보관 온도 : 4℃
- 보존 기간 : 1년

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

(나) 제품화 - 유기농 딸기잼 (주관)

1) 개발목적

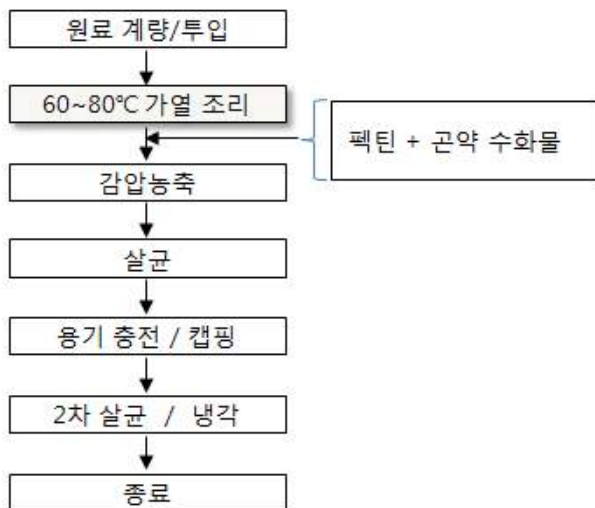
- 가) 잼 시장은 '14년 444억 규모, 최근 3년 CAGR -2.4%로 정체형 감소
- 나) 오투기 M/S 28.1%로 시장 1위를 유지, 당사+복음자리 점유율 지속적인 동반 상승(합계 38.6%)
- 다) 한정된 국내 프리미엄 식품시장의 한계를 극복하고, 한국의 유기가공식품 제조가공기술의 우수성을 검증하여 유기가공식품의 해외 진출 기반을 마련하고자 함
- 라) 해외 무설탕 잼의 국내 수입판매 증가(영국 슈퍼잼, 프랑스 상달프잼 등 백화점 채널 위주 판매 확대) → 프리미엄 제품의 확대
- 마) 유기농 딸기, 유기농 설탕을 기본으로 곤약을 적용하여 프리미엄화 Concept 적용
- 바) 곤약을 사용하여 이수현상을 방지하고, 제품의 점성을 유지함(특히 출원)

2) 원재료 배합비

원재료명	배합비율	유기농함량 (정제수제외)	비 고
유기농 딸기	58.00	58.00	국산, Whole
유기농 설탕	41.57	41.57	
펙틴		-	
곤약		-	
구연산		-	
합 계	100.000	99.57	

3) 제조공정도

< 제조공정 >



4) QC공정도

QC 공정도					페이지	1/2				
청정원 유기농딸기잼					작성	검토	승인	2		
									2015.07.25	
분류	공정명		사용설비명	공정내용	관리종 - : CP * : CCP	공정 및 품질관리				결과 부서
	순서	세부공정				항목	기준	방법	주기	
원료처리 및 이송	1	원료포장	냉동장고 상온장고	-냉동원료 냉동냉고에 보관 -기타 상온원료 원료장고 보관	-부패 및 이물, 이취 -폐일종검사 -이물종류(벌레, 포자조각, 공구조각, 채모 등)	온도상태 온일종검사	-18℃	시용표준	일고시 1회/1개월	QA팀
	2	해동	해동장고	-해동장고에서 보관	-온도불일치	온도일종검사	15℃이하 12~16시간	시용표준	대 BT 1회/1개월	QA팀
	3	선별	선별대	-폐일종에서 원료일부를 선별대에 올려 수작업 선별	-이물종류 방지 및 제거 (벌레, 포자조각, 공구조각, 채모, 원과의 열기 부분 등)	원료해기검사 이물종류	순상이후일종 연종제거	확인체크 제거도구	대 BT	QA팀
	4	원료이송	토트통	-프리실로 이송	-이물종류 방지 및 제거 (벌레, 포자조각, 공구조각, 채모, 원과의 열기 부분 등)	이물종류	불검출	작업표준	대 BT	QA팀
제조	5	계량 투입	실량계량자통 공급기 조리병크	-계량 및 투입	-정량 투입 -이물종류 방지 및 제거 (벌레, 포자조각, 공구조각, 채모, 원과의 열기 부분 등)	계량분류일종검사 이물종류	불검출	작업표준	1회/6개월 대 BT	QA팀
	6	가열 및 혼합	농축기 리휴트믹서	-원료 혼합 및 가열	-온도 준수 -순환관리 및 부속 교체	온도상태 순환일종검사	60~100℃ 교체	작업표준	대 BT 1회/6개월	QA팀
	7	농축	농축기	-칼날농축	-온도 및 압력 관리	압력 시간	450~620mmHg 90±5분	작업표준	대 BT	QA팀
	8	검사	당도계 관능검사 pHmeter		-제품 품질이상 검사	당도 관능검사 pH	90~100℃ 83±200Pa 현도기준 3.0±0.5	시용표준	대 BT	QA팀
	9	저장 및 이송	반포병크	-실량적 저장	-이물종류(벌레, 포자조각, 공구조각, 채모 등)	확인일종검사	불검출	시용표시기준	1회/LOT	QA팀
	10	공속제거	자석	-공속제거이물 제거	-공속제거이물 제거 3회	제거일종검사	불검출	시용표준	3회/BT	QA팀

QC 공정도					페이지	2/2					
제조	11	살균	살균장치	-살균장치를 통과하며 살균	-살균온도 불량 -온도관리	온도상태 온도계일종검사	87℃이상	작업표준	대 작업시 1회/1개월	QA팀	
	12	충전	충전전기	-300g 제품 충전	-정량 충전 확인 -미생물오염도 -충전온도이상	중량검사 온도상태 미생물종류 속박	제품검사규격 85~90℃ 제품검사규격	작업표준	대 작업시 1회/월	QA팀	
	13	캡핑	캡핑머신	-자동캡핑	-진공불량에 의한 세균증식 방지 -낙하관 방지	미생물종류 속박	제품검사규격	작업표준	1회/월	QA팀	
	14	냉각	냉각기	-냉수 사육식 냉각 -1차, 2차로 냉각	-냉각온도 불량		1차온도 2차온도	55℃±5 35℃이하	시용표준	대 작업시	QA팀
	15	라벨링	자동라벨러	-라벨 부착 및 유통기한 기입	-라벨불량 -유통기한 오류	유통기한 표시	2년후 제조일전일	확인체크	대 작업시	QA팀	
	16	검사	진공도테스터 기	-진공불량 자동 검사	-진공불량에 의한 세균증식	작업일종검사	정상작동	확인체크	대 작업시	QA팀	
	17	제형	제형기	-박스에 제품 명인	-부착 및 구겨짐 불량관리						
	18	제품박스인	케이사								
	19	간지투입	수동공급								
	20	박스레이핑	레이핑기								
포장	21	박스날인	BoxDot프린터	-박스에 유통기한 날인	-유통기한 오류	유통기한 표시	2년후 제조일전일	확인체크	대 작업시	QA팀	
	22	중재	자동중재		-표준중재 규정에 의한 일기				대 작업시	QA팀	
	23	저장	제품장고								

5) 표기사항

제품명	청정원 유기농 딸기잼
원재료명 및 함량	[유기농 원료 함량 : 99.57%] 유기농딸기 58%(국산), 유기농 설탕 41.57%, 펙틴, 곤약, 구연산
식품의 유형	잼
제조업소명 및 주소	(주)복음자리 / 충남 논산시 성동면 산업단지로3길 28
유통기한	제조일로부터 24 개월
내용량	300g
영양성분 함량표시	있음
알레르기 유발물질 표시	토마토, 복숭아, 대두, 우유, 밀, 닭고기, 쇠고기
보관방법	- 개봉 후에는 냉장고에 보관하시고 빨리 드시기 바랍니다. (합성보존료를 첨가하지 않아 곰팡이가 발생할 수 있습니다.) - 잼의 색상변화는 딸기의 안토시아닌 성분이 시간 경과에 따라 자연적으로 변화하는 현상으로 안심하고 드셔도 좋습니다.
포장재질	용기 : 유리, 캡 : 철



6) 완제품규격서

대 상 주식회사	완제품검사규격		문서번호	Rev.00																																																
	형정원 유기농 딸기잼		제정일자	2008.12.30	페이지																																															
			개정일자	2015.07.25	1/2																																															
<p>1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 형정원 유기농딸기잼의 제품검사규격에 대하여 규정한다.</p> <p>2. 제품설명 형정원 유기농딸기잼이란 함은 유기농딸기에 식품 또는 식품첨가물을 가한 후 가열/농축하여 불화한 것으로서, 향 등 식품표면에 바를 수 있는 결성에 취식할 수 있도록 만든 것을 말한다.</p> <p>3. 원재료명 유기농딸기 58%(국산), 유기농설탕 41.57%, 흑탄, 쓴약구분, 구연산</p> <p>4. 제품규격기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>기준</th> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사 방식</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사 주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">공통 기준</td> <td>성 상</td> <td>고유의 색과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 함. 식별가능한 과육이 있으며, 부드러운 식감(신맛 등)의 표현을 인상시키지 않고 바를 수 있는 점도성이 있어야 함.</td> <td rowspan="3">채크 검사</td> <td rowspan="3">N=1</td> <td rowspan="3">식품공전 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="3">생산 시</td> </tr> <tr> <td>이 물</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>멜라민(mg/kg)</td> <td>불검출이어야 한다. (아래참조)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">개별 기준</td> <td>타르색소</td> <td>불검출</td> <td rowspan="2">채크 검사</td> <td rowspan="2">N=1</td> <td rowspan="2">식품공전 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="2">생산 시</td> </tr> <tr> <td>보존료</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td rowspan="8">자가 기준</td> <td>Brix(%)</td> <td>63 ± 2</td> <td rowspan="8">채크 검사</td> <td rowspan="8">N=1</td> <td rowspan="8">식품공전 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="8">생산 시</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>3.0 ± 0.5</td> </tr> <tr> <td>건포</td> <td>개별시 제품 표면 및 내부에 잔류물(곰팡이 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.</td> </tr> <tr> <td>세균수</td> <td>100 이하</td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>음성</td> </tr> <tr> <td>병원성대장균</td> <td>음성</td> </tr> <tr> <td>Salmonella spp.</td> <td>음성</td> </tr> <tr> <td>E.Coli 0157</td> <td>음성</td> </tr> </tbody> </table>					기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	공통 기준	성 상	고유의 색과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 함. 식별가능한 과육이 있으며, 부드러운 식감(신맛 등)의 표현을 인상시키지 않고 바를 수 있는 점도성이 있어야 함.	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시	이 물	불검출	멜라민(mg/kg)	불검출이어야 한다. (아래참조)	개별 기준	타르색소	불검출	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시	보존료	불검출	자가 기준	Brix(%)	63 ± 2	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시	pH	3.0 ± 0.5	건포	개별시 제품 표면 및 내부에 잔류물(곰팡이 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.	세균수	100 이하	대장균군	음성	병원성대장균	음성	Salmonella spp.	음성	E.Coli 0157	음성
기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기																																														
공통 기준	성 상	고유의 색과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 함. 식별가능한 과육이 있으며, 부드러운 식감(신맛 등)의 표현을 인상시키지 않고 바를 수 있는 점도성이 있어야 함.	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시																																														
	이 물	불검출																																																		
	멜라민(mg/kg)	불검출이어야 한다. (아래참조)																																																		
개별 기준	타르색소	불검출	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시																																														
	보존료	불검출																																																		
자가 기준	Brix(%)	63 ± 2	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시																																														
	pH	3.0 ± 0.5																																																		
	건포	개별시 제품 표면 및 내부에 잔류물(곰팡이 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.																																																		
	세균수	100 이하																																																		
	대장균군	음성																																																		
	병원성대장균	음성																																																		
	Salmonella spp.	음성																																																		
	E.Coli 0157	음성																																																		

자가 기준	Listeria monocytogenes	음성	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	검출량 (Kg/cm)	20 ± 10 (참고사항)				
표시 기준	포장(실질)상태	우종이 불량, 누설, 파손과 포장상태에 더할 것 없이 깨끗해야 함. 개봉시 잔류상태 유지를 확인할 수 있어야 함.	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	내용량	표시중량 100% 이상				
표시 기준	유통기한	제조일로부터 24개월로 변질일이 뚜렷하게 인식가능해야 함.	채크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	유통기한	제조일로부터 24개월로 변질일이 뚜렷하게 인식가능해야 함.				

* 이 규격은 별첨, 포장조각, 공구조각, 재고, 복장의 일부 등.

5. 로트의 크기
- 1회 생산분량을 1 검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법
- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정
- N=1, C=0 인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위
- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영양허가번호, 원료명, 포장재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간
- 상온보관 시 24개월

10. 멜라민
- 밀오시 검사하며, 불검출을 기준으로 하나 분석장비의 검출한계치 이하를 불검출로 판정한다.

11. 보존료(g/kg)

소르비산	1.0 이하(소르비산으로서)
소르비산알루미늄	1.0 이하(소르비산으로서)
소르비산칼륨	1.0 이하(소르비산으로서)
안식향산	1.0 이하(안식향산으로서)
안식향산나트륨	1.0 이하(안식향산으로서)
안식향산칼륨	1.0 이하(안식향산으로서)
안식향산알루미늄	1.0 이하(안식향산으로서)
파라옥시안식향산메틸	1.0 이하(파라옥시안식향산으로서)
파라옥시안식향산에틸	1.0 이하(파라옥시안식향산으로서)
프로피온산	1.0 이하(프로피온산으로서)
프로피온산나트륨	1.0 이하(프로피온산으로서)
프로피온산칼륨	1.0 이하(프로피온산으로서)
상기의 보존료를 병용 사용시	1.0 이하(소르비산, 안식향산, 파라옥시안식향산 및 프로피온산의 합으로서)

* 위의 사항 외 식품공전 관련 기준에 준하여 관리 하며, 당 원료에 대하여 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

7) 원재료 규격서

○유기농 딸기

대 상 주식회사	원재료검사규격		문서번호	Rev. 0																																																	
	유기농딸기		제정일자	2008.10.01	페이지																																																
			개정일자	2016.06.10	1/1																																																
<p>1. 적용범위 이 규격은 당사의 원재료인 유기농딸기들의 수입검사에 적용한다.</p> <p>2. 제품설명 미숙과, 위축과 없이 알맞은 국산 유기농 딸기를 선별한 후 세척하여 급속냉동한 제품임. (냉해 피해가 없어야 함)</p> <p>3. 검사기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>기준</th> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사 방식</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사 주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">공통 기준</td> <td>성 상</td> <td>고유의 색택과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 한다</td> <td rowspan="3">채크 검사</td> <td rowspan="3">N=1</td> <td rowspan="3">식품공전과 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="3">인고시</td> </tr> <tr> <td>이 물</td> <td>불 검 출</td> </tr> <tr> <td>멜라민(mg/kg)</td> <td>2.5 이하</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">개별 기준</td> <td>대장균(cfu/g)</td> <td>음 성</td> <td rowspan="2">채크 검사</td> <td rowspan="2">N=1</td> <td rowspan="2">식품공전과 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="2">인고시</td> </tr> <tr> <td>타르색소</td> <td>불 검 출</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">자가 기준</td> <td>세균수 (cfu/g)</td> <td>n=5, c=2, m=100,000, M=500,000</td> <td rowspan="4">채크 검사</td> <td rowspan="4">N=1</td> <td rowspan="4">식품공전과 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="4">인고시</td> </tr> <tr> <td>대장균군 (cfu/g)</td> <td>n=5, c=2, m=10, M=100</td> </tr> <tr> <td>당도(Brix)</td> <td>9 이상</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>3.0 - 4.5</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">자가 기준</td> <td>효모/곰팡이 (cfu/g)</td> <td>5,000 이하</td> <td rowspan="2">채크 검사</td> <td rowspan="2">N=1</td> <td rowspan="2">식품공전과 시험방법에 따른다.</td> <td rowspan="2">인고시</td> </tr> <tr> <td>잔류농약</td> <td>허용치 이하</td> </tr> </tbody> </table> <p>3-2. 검사주기 : 공급처에서는 매 PALLET 를 기준으로 검사하고, 복용자리는 매 PALLET 마다 1PAIL 씩 검사한다.</p> <p>4. 포장 및 포장단위 4-1. 내용량 : 13kg, 14kg 4-2. 포장방법 : 1 차 식용용 비닐 포장후 2 차 PAIL 포장, 3 차 PALLET 포장. 4-3. 포장단위 : 13kg, 14kg/Pail, 60PAIL/PALLET(플라스틱)</p> <p>5. 로트의 크기 1회 납품되는 1 차 분량을 1 검사 로트로 한다.</p>					기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	공통 기준	성 상	고유의 색택과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 한다	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시	이 물	불 검 출	멜라민(mg/kg)	2.5 이하	개별 기준	대장균(cfu/g)	음 성	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시	타르색소	불 검 출	자가 기준	세균수 (cfu/g)	n=5, c=2, m=100,000, M=500,000	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시	대장균군 (cfu/g)	n=5, c=2, m=10, M=100	당도(Brix)	9 이상	pH	3.0 - 4.5	자가 기준	효모/곰팡이 (cfu/g)	5,000 이하	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시	잔류농약	허용치 이하
기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기																																															
공통 기준	성 상	고유의 색택과 향미를 가지고 이디, 이취가 없어야 한다	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시																																															
	이 물	불 검 출																																																			
	멜라민(mg/kg)	2.5 이하																																																			
개별 기준	대장균(cfu/g)	음 성	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시																																															
	타르색소	불 검 출																																																			
자가 기준	세균수 (cfu/g)	n=5, c=2, m=100,000, M=500,000	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시																																															
	대장균군 (cfu/g)	n=5, c=2, m=10, M=100																																																			
	당도(Brix)	9 이상																																																			
	pH	3.0 - 4.5																																																			
자가 기준	효모/곰팡이 (cfu/g)	5,000 이하	채크 검사	N=1	식품공전과 시험방법에 따른다.	인고시																																															
	잔류농약	허용치 이하																																																			

6. 시료채취방법 일고차량 별 1PAIL 을 채취한 후 시료로 한다.
7. 로트의 합부 판정 N=1, C=0 인 경우 합격으로 한다.
8. 보관 및 보존기간 -35℃에서 급속냉동 후 -18℃이하 냉동보관하고 유통기한은 24 개월

* 위의 사항 외 식품공전 관련 기준에 준하여 관리 하며, 당 원료에 대하여 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.



문서확인번호 : MVA-KUN1-ONX3-1WTN

시험·검사성적서

발행번호	R20160504-0002	접수번호	160100802-002
검사완료일	2016-05-03	입수완료일	2016-04-19
제품명	유기농출물(가우가담)		
(목적)제조번호			
유형·재질·품목명	과채/과류류		
제조(수입)일	2016-04-16	유형(종류)유지기간	
의뢰자	성명	영업명	담당자명(인·세니(주))
소재지	(3024)충청남도 논산시 양촌면 이매길 232 (양촌리) 전화번호: 041-741-3377 팩스번호: 041-741-3032 전자우편:		
제조원	업체명	소재지	제조국
시험·검사목적	식품 자가품질위탁검사		
시험·검사 항목 및 결과			
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	판정
대항균	음성	음성	적합
다르메스	불검출	불검출	적합
석회수	n=6, c=2, m=1000000, M=5000000	150, 80, 1800, 7400, 110	적합

Research Institute of Environment

총합판정 : 적합

시험장사원 : 이희정, 조영욱

시험기사책임자 : 강연희, 남희식, 최태연

비고 :

- * 위 판정은 위법된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
- * 시험이 부족한 경우 시험·검사 항목 및 결과만을 표시할 수 있습니다.
- * 검사결과를 보고하거나 용기·포장 등에 표시할 때에는 시험·검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.
- * 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」 제11조제2항 제1항규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험·검사성적서를 발급합니다.

2016년 05월 04일

(주)우송환경연구원

(인)

29131 충청북도 영동군 대덕로 310 영동대학교 고품질농산물인증센터3층 (실제 T: 043742-0751 F: 043742-0752 리 54)

본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통해 이 증명서의 진위를 확인할 수 있습니다. 또한, 본 증명서의 내용으로 진위확인(스캐너를 통한 문자확인프로그램)을 할 수 있습니다. http://lms.mfds.go.kr Page 1 of 1

중요 문서 무단 전송사 및 제3자를 알 수 있으며 무단 출력·복사·배포를 금지합니다.

[의견생략]

잔류농약 정밀검사 결과 통보서

접수번호	중2016-03-002	접수일	2016년 03월 15일					
의뢰처	농업회사법인 씨니빌 주식회사	전화	041-741-3377 FAX 041-741-3032					
주소	충청남도 논산시 양촌면 이매길 231							
검사방법	잔류농약정밀검사(326성분) 검사 담당자 임재윤(042-585-1147)							
<input type="checkbox"/> 검사내용 (단위 : mg/kg)								
NO	품목명	생산지 주소	인증 번호	생산지 친환경	검출농약	검사 결과	허용 기준	판정
1	딸기	경북 고령군 향림면 신리교길 4	43-1-30	국농유기	-	-	-	적합
2	딸기	충남 논산시 은진면 태평로 66(태평리)	-	경태유기	물부오리핀 프로시미어분	0.02 0.03	3.0 10.0	적합
○결과 "-" : 검출한계 미만								
의뢰하신 농산물의 잔류농약 정밀검사 결과를 위와 같이 통보합니다. 2016년 03월 17일 농협식품연구원 본 기관은 농산물 안전관리인증기준(지침)의 적용 대상인 것으로 여겨 유해 위험을 지을 수 없습니다. 우135084 대전광역시 중구 태종로 199(한남 43, 농협중앙회 식품연구원 중무관측용인증센터) 전화 : 042-585-1147 / 전송 : 042-585-1148 / 담당 : 임재윤 (lmy1931@hanmail.net)								

인증번호 : 제 43-1-30 호

인증서

<생산자용>

인증구분 유기농산물 유효기간 2015.12.1 ~ 2016.11.30

생산자 라봉구 사업자등록번호(생년월일) 1972년 4월 4일

주소 경상북도 고령군 향림면 신곡교길 4

소재지 경상북도 고령군 향림면 귀현리 69-1 외 1번지

인증품목 딸기 재배면적 6,050 m²

인증
부가조건

「친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제20조(제34조) 및 「농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제13조(제41조제1항)에 따라 위와 같이 유기농산물·임산물, □유기축산물, □무항생제축산물의 인증기준에 적합함을 인증합니다.

2015년 11월 24일

국립농산물품질관리원 지정 제 43호 인증기관

에 버 그 린 농 우 회 대표이사

2015.11.24

- 1

인증번호 제43-1-30호

인증기간 2015.12.1 ~ 2016.11.30

생산자	재배필지주소	재배면적(m ²)
라봉구	인증품목 딸기	
	경상북도 고령군 향림면 귀현리 179	2,420
	경상북도 고령군 향림면 귀현리 69-1	3,630
소 계		6,050
총 계		6,050

2015.11.24

- 2

(다) 제품안정성 - 칼로리조정제와 유기농 딸기잼(위탁)

1차년도 협동기관과 주관기관에서 제공한 칼로리조정제(곤약)와 이를 적용한 유기농 딸기잼의 화학적, 물리적 위해요소 및 저장안정성을 평가하였고 이를 활용하여 소재의 물질안전보건자료(MSDS)와 딸기잼의 HACCP guide line을 제시함.

1) 칼로리조정제(무취곤약)

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

- 개발완료된 칼로리조정제(제품명: 무취곤약)에 대한 정보(제품규격기준, 원재료 및 함량, 외관 및 공정도)는 아래 표와 그림과 같이 제공받았으며
- 곤약은 식품공전 상에서 목류로 분류되어 첨가물 등의 소재라기보다는 식품 원료로 판단하여 식품공전상의 기준 및 규격에 따라 화학적·물리적 위해요소를 설정하였고 유기농식품 원료로 사용하기 위해서는 화학적 위해요소로서 잔류농약 검사가 필요하나 잔류농약은 곤약을 제조하는데 사용된 원료가 유기농으로 인증된 것과 법적으로 허용된 것을 사용하였으므로 화학적 위해요소로 설정하지 않았음.

표 7. 유기농식품용 곤약의 제품규격기준

기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기
기준 및 규격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	중금속(mg/kg)	3.0 이하				
	대장균군	음성(충전, 밀봉한 제품에 한한다.)				
	타르색소	검출되어서는 아니된다.				
	pH	pH 5 이하				
	포장(실링)상태	포장지에 불량, 누설, 파손과 포장상태에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 곤약 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어있어야함.				
표시 기준	내용량	표시중량 100% 이상				
	유통기한	120일(냉장유통)				

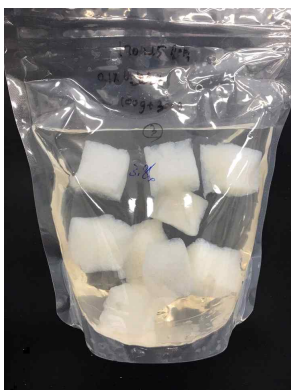


그림12. 유기농식품용 곤약외관.

표 8. 유기농식품용 곤약의 원재료명 및 함량

성분	함량(%)
곤약 분말	4
물	95.8
수산화칼슘	0.2

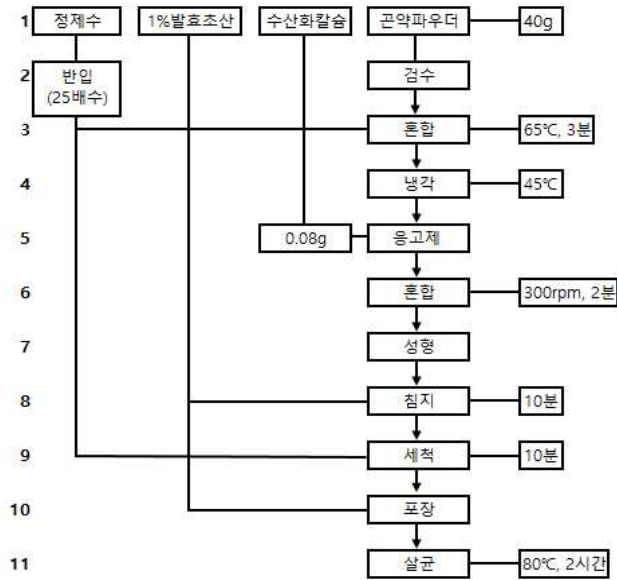


그림13. 유기가공식품용 곤약의 제조 공정도.

○ 저장안정성에 대한 품질 지표는 제 1협동에서 제시해준 항목에 대하여 평가하였으며 미생물학적 위해요소는 식품공전상의 기준 및 규격에 따라 실시함.

○ 결론적으로, 본 연구에서 설정한 화학적·물리적 위해요소 및 저장안정성(Storage stability) 지표는 아래와 같음.

- 화학적/물리적 위해요소: 중금속, 타르색소, 이물
- 미생물학적 위해요소 및 저장안정성에 대한 품질 지표: 일반세균수, 대장균군수, 색도, 수분함량, 수분활성도, pH

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

○ 선정된 지표에 따라 첫째로, 제공받은 곤약이 유기가공식품에 적합한지 기준 적합성 판단을 실시하고 둘째, 소재의 화학적·물리적 위해요소 평가 셋째, 소재에 대한 물질 안전보건자료(MSDS)를 제시하였음

① 개발소재에 대한 기준 적합성 판단

- 소재의 품질 안정성 및 미생물학적 안전성 평가에 앞서 곤약소재가 유기가공식품에 적합한지 확인하기 위하여 1차년도 1협동에서 제시한 decision tree에 따라 분석한 결과는 다음과 같음.

원재료 원산지 확인

- 국내에서 재배된 경우: "생산 농축수산물 원산지 확인서" 필요
- 국내에서 제조된 경우: "식품 품목제조보고서" 필요

국내에서 재배된 농축수산물의 경우 유기인증 농축수산물인지 검토함

- 국내법에 따라 농축수산물이 유기인증을 받은 경우에는 인증기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함

국내에서 제조된 식품으로 유기농축수산물을 사용하여 제품이 제조된 것을 검토함.

- 제조된 식품의 "품목제조서"를 확인한 후 제조를 위해 사용된 유기농축수산물이 있을 경우 인증기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함



국내 제품의 수입신고확인증.

유기가공식품 제조 시 사용이 적합한 가공 보조제와 식품 첨가물을 사용하였는지 검토함

- 사용된 가공보조제와 식품 첨가물의 허용여부 및 허용범위를 확인함

사용된 원재료의 95% 이상(물과 소금 제외)이 유기농축수산물/유기가공 식품을 사용했는지 아래 계산법을 이용해 확인

- 그림 2에 곤약 추출물 제조 공정도를 나타냄
- 유기원료 사용비율 계산법

$$\frac{I_0}{G - II_3} = \frac{I_0}{I_0 + I_1 + I_2} \geq 0.95$$

G: 제품(포장재, 용기 제외)의 중량
(G = I₀ + I₁ + I₂ + II₃)

I₀: 유기원료(유기농산물+유기축산물+유기수산물+유기가공식품)의 중량

I₁: 비유기 원료(유기식품인증 표시가 없는 원료)의 중량

I₂: 비유기 식품 첨가물(가공보조제 제외)의 중량

II₃: 인위적으로 첨가한 물과 소금의 중량

농림축산식품부 장관이 국내 수급상 필요하다고 인정하여 고시한 원료인지 검토함.

품목제조보고서를 구하지 못해 앞서 제시한 그림 2, 개발 곤약의 품목제조 공정도를 통해 국내에서 제조된 것을 확인함.

재배된 농축수산물이 아님.



국내 제품의 수입신고필증.

사용된 수산화칼슘이 식품첨가물과 가공보조제로 허용된 것을 확인함.

사용된 원재료의 95% 이상이 유기농축수산물/유기가공 식품을 사용했음을 확인함.

$$\frac{I_0}{I_0 + I_1 + I_2} = \frac{40}{40 + 0 + 0.05} = 0.995 \geq 0.95$$

→ 해당 없음

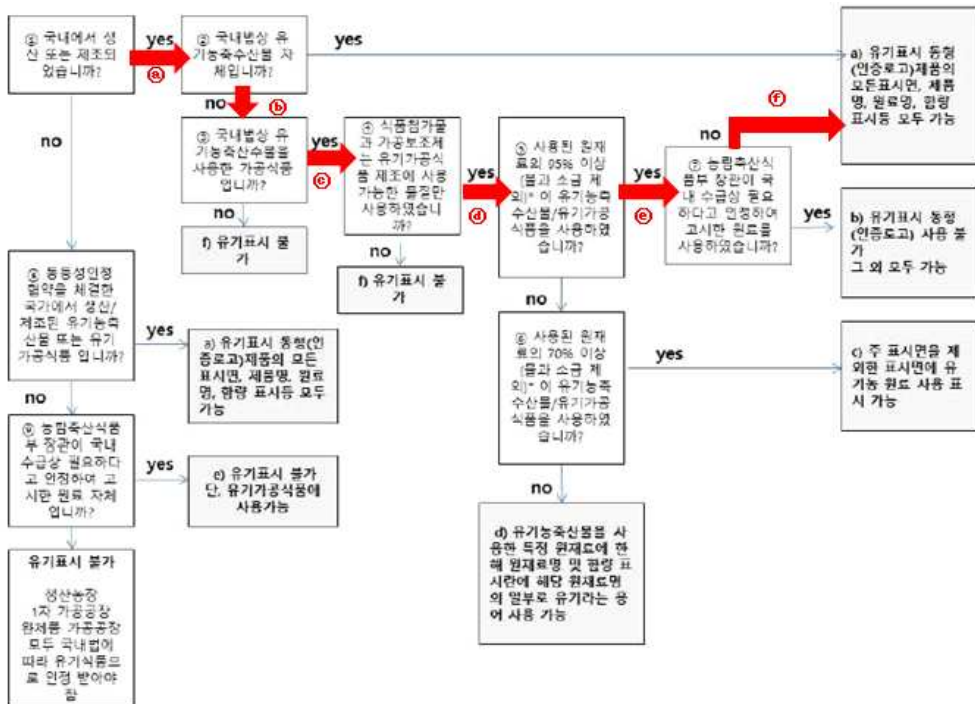


그림14. 무취곤약의 유기가공식품 적합성 판단(1차년도 연구개발계획서 내).

- Decision tree에 따라 곤약의 경우 ㉠ → ㉡ → ㉢ → ㉣ → ㉤ → ㉥ 과정을 거쳐 ‘유기표시 동형(인증로고)제품의 모든 표시면, 제품명, 원료명, 함량 표시 등 모두 가능’한 것을 확인 할 수 있었음.
- 이에 유기가공식품으로서 곤약(칼로리조정제)이 적합한 것으로 판단되었음.

② 화학적 물리적 위해요소 평가실험

- 중금속, 색소 및 이물에 대한 실험은 식약처 일반시험법에 따라 실시하였으며 자세한 평가방법은 1차년도 연차실적계획서에 제시함.

표 9. 화학적·물리적 위해요소 평가 결과

항목	시험·검사 결과
납 (mg/kg)	0.0024
타르색소	불검출
이물	불검출

- 화학적 위해요소 분석 결과 식약처 식품공전 글루코만난(곤약, 곤약만난) 기준 및 규격인 납(mg/kg) 2.0이하에 만족하였고 타르색소는 검출되지 않았음. 또한, 물리적 위해요소인 이물 도 관찰되지 않아 소재에 대하여 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단 할 수 있었음.

③ 물질안전보건자료(MSDS) 제시

- 물질안전보건자료(MSDS, Material Safety Data Sheet)란 물질의 안전한 취급·사용을 위해 유해성·위험성 정보를 사용자에게 알려주는 설명서를 말하며 앞선 평가결과 및 물질에 관한 정보를 조사하여 곤약 소재의 안전성에 대한 자료로써 MSDS를 제시하고자 하였음.
- 물질에 관한 정보는 그 물질의 이름, 성분, 유해성, 위험성, 보관방법, 취급 시 주의할 점, 필요한 보호구, 몸에 묻거나 먹었을 때 등의 응급조치 등 여러 가지 정보가 포함 됨.
- 물질안전보건자료에 포함되는 정보는 총 16개 항목으로 해당 항목은 아래와 같음.

번호	구분	정보
1	화학제품과 회사에 관한 정보	제품명, 제품의 권고용도와 사용상의 제한 등
2	유해·위험성 정보	유해·위험성 분류, 예방조치문구를 포함한 경고표지 항목 등
3	구성 성분의 명칭 및 함유량	화학물질명, 관용명 및 이명, CAS 번호 또는 식별번호, 함유량
4	응급조치 요령	눈에 들어갔을 때, 피부에 접촉했을 때, 흡입했을 때 등 적절한 소화제, 화재 진압 시 착용할 보호구 및 예방 조치 등
5	폭발·화재 시 대처방법	인체 보호를 위한 조치사항 및 보호구, 정화 또는 제거방법 등
6	누출 사고 시 대처방법	안전취급요령, 안전한 저장방법
7	취급 및 저장방법	노출기준, 적절한 공학적 관리, 개인 보호구 등
8	노출방지 및 개인보호구	외관, 냄새, 인화점, 인화 또는 폭발한계 상·하한, 자연발화 온도 등
9	물리화학적 특성	화학적 안정성, 유해반응의 가능성, 피해야할 조건 등
10	안정성 및 반응성	가능성이 높은 노출경로에 대한 정보, 단기 및 장기노출에 의한 영향 등
11	독성에 관한 정보	수생·육생 생태독성, 잔류성과 분해성, 생물 농축성 등
12	환경에 미치는 영향	폐기방법, 폐기 시 주의사항
13	폐기 시 주의사항	유엔번호(UN No.), 유엔 적정 운송명, 운송 시의 위험 등급 등
14	운송에 필요한 정보	산업 안전보건법에 의한 규제, 유해화학물질관리법에 의한 규제 등
15	법적 규제 현황	자료의 출처, 최초 작성일자, 개정횟수 및 최종 개정일자 등
16	기타 참고사항	

그림15. 물질안전보건자료에 포함되는 정보(출처: 안전보건공단).

- 해외 글루코만난 MSDS 자료(Clearsynth®, Soectrum®, FOODCHEM®, ScienceLab.com 등) 및 국내 안전보건공단 자료 검토 및 참고하여 위 그림18 에 제시한 항목에 대하여 조사하였고 간단한 lab test를 수행하여 작성에 필요한 자료를 수집하였음.
- 항목에 따라 유기농 칼로리 조정제(곤약)의 물질안전보건자료(MSDS)를 제시함.(2차년 연구개발계획서 19~24쪽)

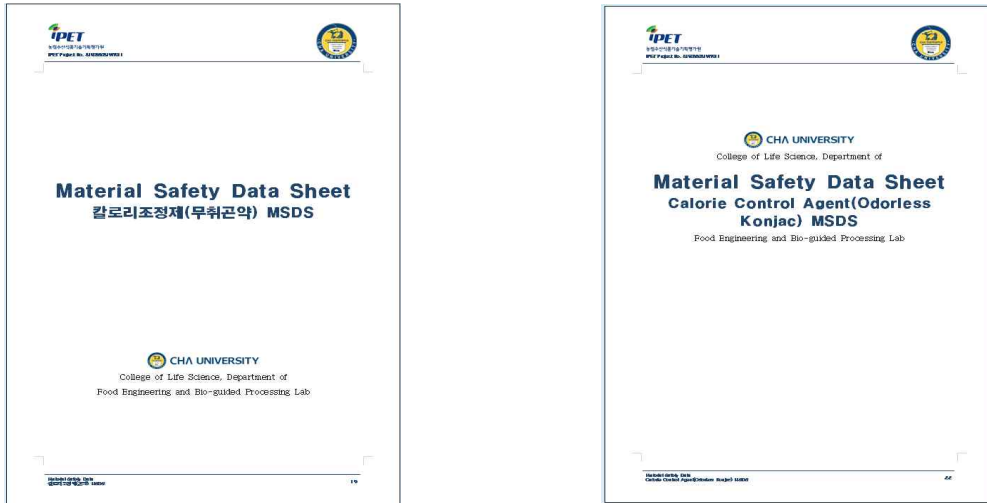


그림16. 물질안전보건자료(MSDS) 작성본_2차년연차실적계획서 위탁 p19-24
참조. (좌)국문, (우)영문

다) 제형에 따른 품질 및 미생물학적 안전성 평가

- 1협동에서 제시한 무취 곤약은 냉장저장으로 유통기한은 3개월의 목류에 속하므로, 4℃에서 냉장 저장하며 곤약소재의 유통기한(3개월)동안 저장안정성에 대한 품질 평가 및 미생물학적 안전성 평가를 실측실험으로 진행함.
- 시료는 0.02~0.1% acetic acid 수용액에 직육면체 모양의 곤약젤이 담긴 유통 상 제품의 형태로 4℃에서 냉장 보관하면서 3개월 동안 총 11회 걸쳐 포장된 시료를 채취하여 분석용 시료로 사용함.
- 개별 포장된 시료를 개봉한 후 시료를 일정량씩 취하여 선정된 지표인 수분함량 및 수분활성도, 색도 및 pH를 측정하였음.
- 미생물학적 안전성실험은 식품공전 제 9. 일반시험법 3.5.1 일반세균수와 3.7.2 대장균군에 따라 실시함, 모든 실험은 3회 반복하였으며 아래 실험 결과 값을 제시함.

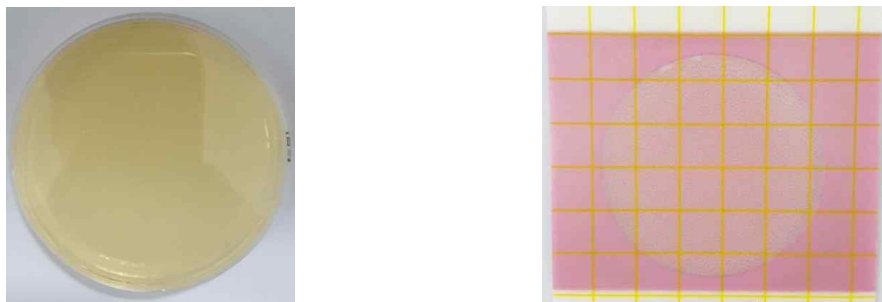


그림17. 곤약소재의 일반세균 및 대장균군 검사결과.(91일 저장 후)

- 미생물학적 안전성 확인을 위하여 저장기간 동안 관찰한 결과 총 9회 채취 시료 모두에서 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았음.
- 제공받은 소재의 제품규격서와 식품공전 상 글루코만난(곤약, 곤약만난)의 규격에 포함되어 있는 대장균군 음성에 만족함을 확인할 수 있었음
- 또한 개발소재의 경우 냉장유통제품으로 일반적으로 위해미생물의 성장이 지연되는 온도범위(7℃ 이하, Marth EH, 1998) 에 속하며 실측시험 기간 동안에도 지표미생물 검출이 확인되지 않았으므로 실험한 유통기한인 3개월 동안 미생물학적 안전성이 확보될 수 있을 것이라 판단되었음.

2) 유기농 딸기잼

주관 기관에서는 기존의 유기농 딸기잼(생산처: 복음자리)을 수출용 전략상품으로 개발하기 위한 방안으로 기존 제품이 갖고 있는 이수현상으로 인한 미생물 오염 및 물성 불안정을 해결하고자 협동에서 개발한 곤약을 가공보조제로서 첨가하여 품질이 개선된 제품을 개발하고자 하였고 이에 대하여 화학적, 물리적 위해요소, 저장안정성 및 공정분석을 실시함.

가) 품질안전성/저장 안정성 시험 지표 선정

- 제품은 기존에 생산되고 있는 제품에서 가공보조제의 아주 미미한 일부를 개발 소재(곤약)로 대체하여 품질을 개선한 것으로 유통기한설정보고서를 새롭게 작성할 사유가 없어 저장안전성 시험의 필요성은 없다고 사료됨
- 수분활성도가 0.713으로서 미생물 생육이 억제됨으로 미생물학적 안전성 시험은 무의미 하나 소비자가 제품을 개봉 한 후에 관리 소홀에 의한 곰팡이 오염의 위험은 존재
- 새로운 Quality 요소 측정 제안하고자 하였음
 - 제품의 개발 배경에서 곤약을 첨가하여 점성 및 이수현상을 개선
 - 제품 규격서에서 성상에 대한 규격으로 점조성(consistency)을 제시
 - 따라서 이러한 특성을 측정하는 방법으로 개발 제품에 대하여 rheological properties, hysteresis loop area 등을 측정할 수 있는 시험으로 Rheometer를 이용한 shear rate sweep test, 점탄성을 측정할 수 있는 oscillatory test 및 관능검사(9점 척도) 및 장기 저장을 통한 이수현상 관찰 등을 권고함
- 화학적/물리적 위해요소는 식약처 식품공전 잼류 기준 및 규격에 따라 설정하였음.
- 결론적으로, 본 연구에서 설정한 화학적·물리적 위해요소 및 저장안정성(Storage stability) 지표는 아래와 같음.
 - 화학적/물리적 위해요소: 납, 타르색소, 보존료, 이물
 - 미생물학적 위해요소 및 저장안정성에 대한 품질 지표: 곰팡이, 점성 및 이수현상, 점조성(consistency)

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

- 선정된 지표에 따라 물리화학적 위해요소 평가 실험을 실시하여 이에 대한 실험결과를 아래에 제시함.

표10. 화학적·물리적 위해요소 평가 결과

항목	시험·검사 결과
납 (mg/kg)	0.0024
타르색소	불검출
보존료	불검출
이물	불검출

- 화학적 위해요소 분석 결과 식약처 식품공전 잼류 기준 및 규격인 납(mg/kg) 1.0 이하에 만족하였고 타르색소와 보존료는 검출되지 않았음. 또한, 물리적 위해요소인 이물도 관찰되지 않아 소재에 대하여 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.

다) 미생물학적 안전성 및 저장안정성 평가

- 측정 제안에 따른 시험 결과
 - 6월 29일 대상에서 시제품을 제조하여 제공한 시료를 상온에서 건조하고 빛의 영향을 받지 않는 어두운 곳에서 보관하면서 이수현상을 관찰하고 있음(현재까지는 이수현상이 확인되지 않음)
 - 시료 약 10 g을 원심분리기(1248R, Labogene, Denmark)에서 4,000 rpm, 10분간 돌려 이수현상을 확인해 본 결과 아래 표와 같이 이수현상이 확인되지 않음
 - 시판되는 유기농 딸기잼과 개발 유기농 딸기잼의 색, 향, 맛, 텍스처, 전반적인 기호도검사를 9점척도로 차의과학대학교 연구원 14명을 대상 실시하여 그 결과를 아래 그림에 제시함.
 - 전반적 기호도를 포함한 향기, 맛, 텍스처는 세 제품 모두 비슷하였으나, 색깔은 뚜렷하게 대상의 개발 제품이 더 높은 평가를 받음.

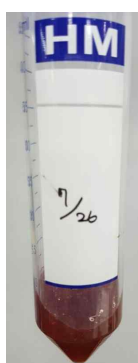


그림18. 이수현상 확인.
(2016년 7월26일)

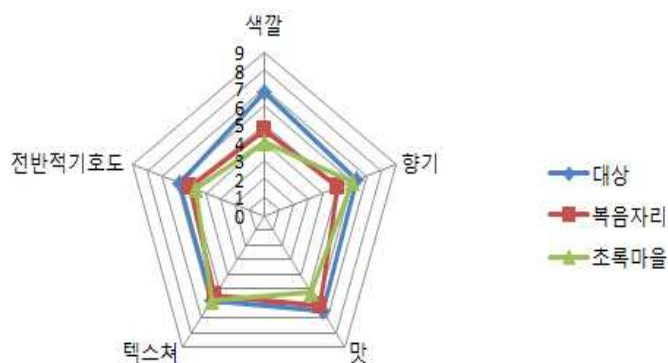


그림19. 제품 간 기호도 검사.

- 시판되는 유기농 딸기잼과 개발 유기농 딸기잼의 조직감은 시료 약 30 g을 지름 4 cm, 길이 5 cm의 원통형 용기에 담아 Texture analyzer (Brookfield, USA)에 probe는 지름 2.5 cm, stainless 재질의 flat and probe를 사용하여 시료를 2회 연속적으로 침입시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 조직감을 측정하였다. 사용기기의 측정조건은 아래 표와 같고, 총 5회 반복 측정 하였음.

표 11. TPA 측정 조건

Test speed	1 . 0 mm/s
Pre test speed	2 . 0 mm/s
Post test speed	1 . 0 mm/s
Strain deformation	50%
Load cell	0.067 N

표 12. 제품 간 조직감 측정 결과

제품명	Hardness (N)	Cohesiveness	Springiness (mm)	Gumminess (N)	Chewiness (mJ)	Adhesiveness (mJ)
개발 유기농 딸기잼	4.63 ±2.91	0.57 ±0.21	21.49 ±28.08	2.37 ±0.9	47.34 ±58.54	8.15 ±3.51
복음자리 유기농 딸기잼	3.25 ±0.43	0.45 ±0.05	8.04 ±0.15	1.46 ±0.24	11.76 ±2.07	8.08 ±0.51
초록마을 유기농 딸기잼	5.55 ±4.72	0.54 ±0.10	22.56 ±26.5	2.77 ±1.88	53.92 ±54.19	10.56 ±1.01

- 시판되는 유기농 딸기잼과 개발 유기농 딸기잼의 유동특성 데이터는 30℃로 설정된 ometeter(MCR102, Anton paar, Austria)의 plate-plate system(직경 2.5 cm, 간격: 1 mm)을 이용하여 150초 동안 0.1~150 s⁻¹ 범위의 전단속도에서 얻어졌다. 또한 점탄 특성 데이터는 0℃로 설정된 rheometer(MCR102, Anton paar, Austria)의 plate-plate system(직경 2.5 cm, 간격: 1 mm)을 이용하여 0.01% strain에서 진동수(frequency, ω) 0.01-10 Hz 범위에서 저장탄성률(storage modulus, G'), 손실탄성률(loss modulus, G'')를 이용하여 tan δ (loss factor, G''/G')를 측정하였고 유동특성과 점탄특성은 각각 5회 반복 측정하여 평균값을 아래 그래프로 나타내었음.

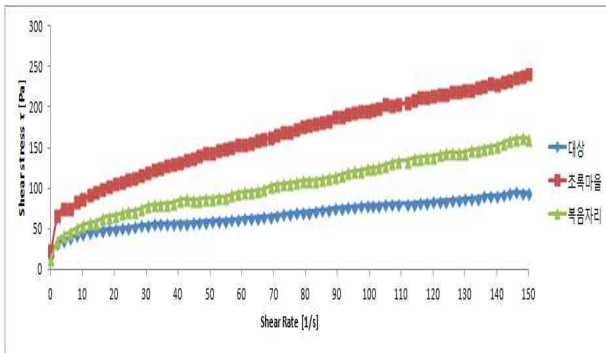


그림20. 제품 간 유동특성.

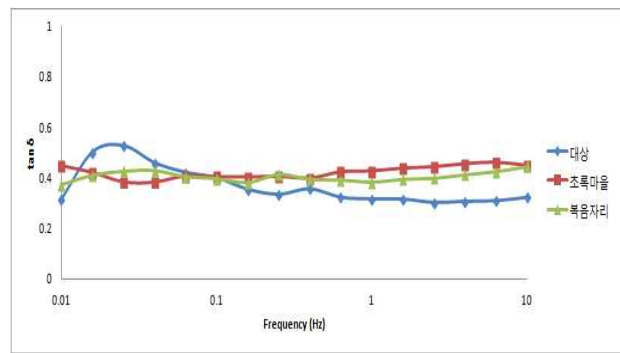


그림21. 제품 간 점탄특성.

- 유동특성은 아래 그림과 같이 세 제품 모두 비슷한 경향을 보이나, 대상의 개발 유기농 딸기잼 제품이 가장 흐름성이 큼을 알 수 있었음.
- 점탄특성은 아래 그림과 같이 세 제품이 비슷한 경향을 보이지 않고, 대상의 개발 유기농 딸기잼 제품이 초기 진동수에서부터 가장 큰 변화폭을 보이는 것은 과육의 크기가 커서 고르지 못한 것으로 보임.

- 이에, 개발된 유기가공 기준에 따라 제품규격서와 QC공정도의 분석 → 문제점/개선 방향 제시하였음.
- 제품 규격서 분석 결과,
 - 잼류에 대한 식품공전 및 CODEX 규격에 적합하게 제조되었으며
 - 유기가공식품 인증을 유지원료 비율 계산을 계산한 결과 0.9957로서 기본 요건은 충족
 - 그러나 품질 및 미생물학적 위해요소에 대한 관리를 강화하기 위하여 시장조사, 분석 및 문헌조사를 실시하고 연구팀이 설정한 유기가공방법 기준에 적합 여부의 판단을 하고자 QC공정도의 분석을 실시함
- 국내에서 유통되고 있는 제품에 대한 시장조사
 - 국내 유기농딸기잼 제조사 및 제품을 분석하여 아래 표에 제시함
 - 주로 대기업보다는 농가 인근 지역에서 중소기업에서 제품이 출시되고 있음

표13 국내 유기농 딸기잼 주요 회사 및 제품





제품명	제품 사진	제품유형	내용량	원재료 및 함량	유통기한	제조원
오기닉 스토리 유기농 딸기잼		잼류	600g	유기농딸기 60%(국내산), 유기농살당 48%	제조일로부터 24개월	복음거리
복음거리 유기농 딸기잼		잼류	500g	유기농딸기 57%(국내산), 유기농살당 48%	제조일로부터 24개월	복음거리
브라임얼 유기농 딸기잼		잼류	300g	유기농딸기 63%(국내산), 유기농살당 34.75%, 락틴, 구연산	제조일로부터 24개월	복음거리
홍문티스 유기농 딸기잼		잼류	300g	유기농딸기 68%(국내산), 비경제유기농살당 31.75%, 락틴, 구연산	제조일로부터 24개월	복음거리
유기농 딸기잼		잼류	600g	유기농딸기 60%(국내산), 유기농살당 48%	제조일로부터 24개월	복음거리
오목마을 유기농 딸기잼		잼류	195g	딸기 62%(국내산, 유기농), 유기농살당 33%, 유기농소말도말물엿고당 29%(유기농물 66.55%(국내산, 토스) 100%)	제조일로부터 24개월	농업회사법인 89에스농산
자연주의 100% 유기농 딸기잼		잼류	400g	유기농딸기 57%(국내산), 유기농살당 48%	제조일로부터 24개월	수정생소 프라임스프444원
같이든 유기농 딸기잼		잼류	88g	유기농딸기 62%(국내산), 유기농살당 23%(브라임얼)	제조일로부터 24개월	망 사탕 딸기잼
망사탕 유기농 딸기잼		잼류	80g	유기농딸기 75%(국내산), 살당 25%(브라임얼)	제조일로부터 24개월	망 사탕 딸기잼
유기농 딸기농장		잼류	1.2kg	유기농딸기 75%, 황비늘말 30%	제조일로부터 24개월	박주영 농부님
이기네 유기농 딸기잼		잼류	300g	딸기 75%(국내산), 아가페시럽 23%	제조일로부터 24개월	경신북도 고령군 15인순
말농촌 유기농 딸기잼		잼류	600g	국내산딸기 75%, 유기농물엿당 23%	제조일로부터 12개월	고령특산물

- 대부분의 제품이 제품 중량 대비 60%이상의 유기농딸기를 사용하여 제조함
- 따라서 제품 규격에 딸기 최소 사용량으로 제품 kg당 과일 g을 규정할 것을 권함

○ 시판 제품 분석

- 시판 제품을 구매하여 수분활성도(aw), pH, Brix, 색도 등 이화학적 품질 특성을 측정함
- pH는 5 g의 잼에 10배의 증류수를 넣고 BagMixer(W11011157, Interscience, Japan)로 교반한 다음, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(1248R, Labogene, Denmark)하고, 여과지(Whatman No.1)로 여과 한 여액을 사용함. pH는 실온에서 pH meter(B36697, Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치로 나타냄, Brix는 pH 측정과 같은 방법으로 시료를 전처리하고 굴절당도계(HI96801, HANNA, USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치로 나타냄, aw는 2 g의 잼을 shell에 넣고 수분활성도 측정기(AQS-31, NAGY, Germany)를 이용하여 측정하고, 색도는 색차계(CM-3500d, Minolta, Japan)를 이용하여 명도(L), 적색도(a), 황색도(b) 값을 측정. 측정은 3회 이상 반복하여 평균치로 나타냄. 이 때 사용한 표준 백색판은 L=32.51, a=11.11, b=5.56 임
- 분석결과. 수분활성도 0.641~0.744, pH 3.73~3.88 및 60.5~72.5 brix 범위값을 나타냄.

표 14. 국내 유기농딸기잼 시판제품의 이화학적 분석결과

제품명	제품 사진	a_w	pH	Brix	색도
오가닉 스토리 유기농 딸기잼		0.681	3.88	68	L:32.51±0.31 a:11.11 ± 0.03 b:5.56 ± 0.4
초록마을 설탕을 넣지않은 유기농 딸기잼		0.744	3.73	60.5	L:32.16±0.01 a:8.6 ± 0.09 b:4.49 ± 0.04
초록마을 유기농 딸기잼		0.658	3.825	68.5	L:32.13±0.12 a:11.52 ± 0.81 b:5.32 ± 0.24
복음자리 유기농 딸기잼		0.641	3.875	72.5	L:33.28±0.02 a:14.89 ± 0.27 b:7.32 ± 0.23

- 미생물의 생육과 수분활성도는 밀접한 관계를 갖고 있으므로 수분활성도를 규격에 포함시킬 것을 권함
 - 제품의 성상을 비교한 결과, 성상에 대한 규격에서 “식용 가능한 과육이 있으며”라는 표현은 잘못된 것으로 판단되어 수정을 권함
- 문헌조사 및 개발 제품 분석
- 일반적으로 수분활성도를 0.8 이하로 낮추면 미생물 번식이 억제되어 미생물학적 안전성이 높아진다고 보고되어짐
 - 또한 딸기잼의 붉은 색 특징은 소비자의 구매 결정에 큰 영향을 주는 중요한 품질 특성 중 하나이므로 잼의 가공공정에서 색의 안정성은 가장 중요한 요소임.
 - 살균 된 딸기 잼에서, 안토시아닌과 총 페놀의 변성으로 인해 붉은 색소 및 갈색 색소가 감소되어 갈변현상이 일어나기 때문에 안토시아닌과 총 페놀은 색 품질 연구에서 중요한 요소가 됨
 - 딸기의 색상을 좌우하는 안토시아닌 색소는 열에 민감하기 때문에 열 분해로 인해 소실되거나 중합되어 갈변물질을 형성함. 따라서 딸기 잼 가공 시 필수적인 가열공정으로 인한 딸기잼의 색상변화는 불가피하다고 보여짐. 또한, 유통 및 저장 중에도 여러 변화가 예상되므로 색을 저장안전성 시험의 품질지표로 권함
 - 개발된 유기농 딸기잼 제품의 수분활성도와 색도를 측정하여 아래에 제시함

표 15. 개발제품의 수분활성도 및 색도

수분활성도	색도
0.713	L=31.62 ± 0.35 a=11.95 ± 0.24 b=4.08 ± 0.84

- 그러나 제품의 색상은 특히 원료가 갖고 있는 특성을 표준화하기 어려우므로 제품 규격으로 설정하기에는 부적합

- 개발 유기농 딸기잼 완제품 규격서에 제시된 미생물학적 안전성을 나타내는 허용 기준은 제품의 생물학적 안전성(병원성 미생물 및 곰팡이 독소 등)을 확보하기에 부족하다 판단되어 EU에서 제시하고 있는 식료품에서의 병원성 미생물과 bacterial toxins 및 mycotoxin의 최대 허용 기준을 조사하여 제시함

표 16. 식료품에서의 병원성 미생물 최대 허용 기준(EU)

미생물	최대허용기준
<i>Bacillus cereus</i>	10,000 /g
<i>Campylobacter jejuni</i>	음성/25 g
<i>Clostridium botulinum</i>	음성/10 g
<i>Escherichia coli</i> O 157:H 7 and other verotoxin producing strains	음성/25 g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,000 / g
<i>Shigella sp.</i>	음성/25 g
<i>Yersinia enterocolitica</i> (enteropathogenic serotypes)	음성/25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	음성/25 g

(출처_Haccp case study fruit jam)

표 17. 식료품에서 bacterial toxins and mycotoxins 최대 허용 기준 (EU)

Toxin	최대허용기준
Staphylococcal enterotoxins	음성
Enterotoxin (<i>Clostridium perfringens</i>)	음성
Enterotoxin(<i>Bacillus cereus</i>)	음성
Verocytotoxin 1 and 2 (<i>E. coli</i> O 157:H 7)	음성
Botulinum toxin	음성
Ochratoxin A	0.01 mg/kg
Sterigmatocystin	0.005 mg/kg

(출처_Haccp case study fruit jam)

- 제시된 내용을 참고하여 제품에 맞게 설계하기를 권함
- 이 외에도 화학적 위해요소로서 잔류농약은 원료가 유기농으로 인증된 원료와 법적으로 허용된 원료만을 사용함으로써 안전성 확보가 가능함
- 제조 공정 상의 교차오염 및 세정제 등의 화학물질 오염은 공정에서 다룸
- 설정된 유기농공방법 기준에 따른 QC공정도의 분석
 - 잼류를 생산할 '복음자리'는 유기농 제품을 생산하고 있으며, 생산 관련 HACCP 보유 업체로서 4가지 일반요건은 충족되리라 사료됨
 - 가공원료에 대한 6가지 기준을 검토한 결과, 유기농 인증 원료를 사용하고 있으므로 잔류 농약의 문제는 없다고 판단되었고, 다만 새로이 개발된 곤약 역시 첨가물 및 가공보조제 개발 기준(천연물 유래)에 적합하며 사용량이 아주 미미하므로 기준에 적합하다고 판단
 - 가공방법에 대한 기준을 검토한 결과 가공기술뿐만 아니라 5가지 기준을 모두 충족

함

- 그러나 CCP를 규정하고 있지 않음
- CCP를 규정하기 위하여 제시된 QC공정도를 재구성하여 공정 단계를 아래와 같이 제안

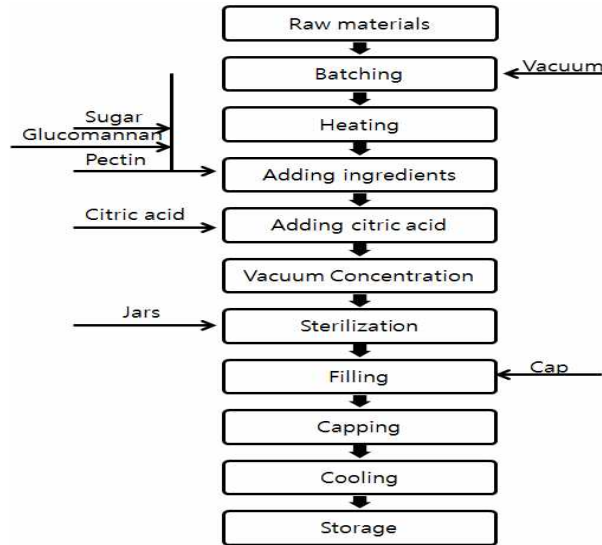


그림 25. Flow diagram of organic strawberry jam production.

- 제안된 공정 단계별로 위해요소를 생물학적(B: Biological), 화학적(C: Chemical), 물리적(P: Physical) 요소를 구분하여 다음과 같이 제시함

표 18. 공정 단계별 위해요소 분석

번호	공정 단계	잠재적 위해 요소	관리 방안
1	원료	B-미생물 오염 -원료 보관창고(냉동,상온) 온도 불일치 -해동 온도 및 시간 불일치 P-이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등)	-원료 유통기한 관리 -원료 보관창고(냉동,상온) 및 해동창고 청결 관리 -원료 보관창고(냉동,상온) 온도관리 및 해동 온도 및 시간관리 -이물혼입 방지 및 제거
2	계량 및 투입	B-미생물 오염, 원료상태확인 P-이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등) -정량투입	-계량기 분동 교정 -원료 투입 시 이물혼입 방지 및 제거
3	60~80℃ 가열	B-온도 준수 P-설비 관리 및 부속 교체	-온도상태 관리(60~100℃) -설비 관리
4	유기농 설탕, 펙틴 및 곤약 투입	B-미생물오염 -원료 유통기한 P-이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등) -정량투입	-원료 유통기한 관리 -계량기 분동 교정 -이물혼입 방지 및 제거
5	구연산 투입	B-미생물오염 -원료 유통기한 P-이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등) -정량투입	-원료 유통기한 관리 -계량기 분동 교정 -이물혼입 방지 및 제거

6	감압농축	B-온도, 시간 및 압력 -설비 관리 및 부속 교체	-온도(60~100℃) -시간(30~110 min) -압력(450~620 mmHg) -설비 관리 및 부속 교체
7	살균	B-온도 및 시간	-온도(87℃ 이상) -시간(100 Hz 이하, 1 min 이상)
8	충진	B-미생물오염 -충진온도미달 P-정량충진 -이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등)	-온도(85~90℃) -병 파손 발생 시 주변 1m 폐기처리 -중량검사(300 g) -위생적인 작업 환경 -육안검사 -미생물검사
9	캡핑	B-진공불량에 의한 세균증식 -공중낙하균	-미생물검사 -소독
10	냉각	B-냉각 온도 -냉각속도에 의한 미생물적 부패 (포자형성)	-1차온도(55±5℃) -2차온도(35℃ 이하) -미생물검사
11	저장	B-저장공간 환경에 따른 미생물적 오염 P-이물혼입 (벌레,포제조각,공구조각,체모 등)	-저장 공간 위생관리 -이물혼입 방지 및 제거

○ 따라서, 2차년도 연차실적계획서 p 228~“Guideline of HACCP Plan for Organic Strawberry Jam”를 제시하여 CCP 결정하는 절차와 CCP를 제시함 → 살균 및 충전/캡핑 공정으로 설정하여 제안함

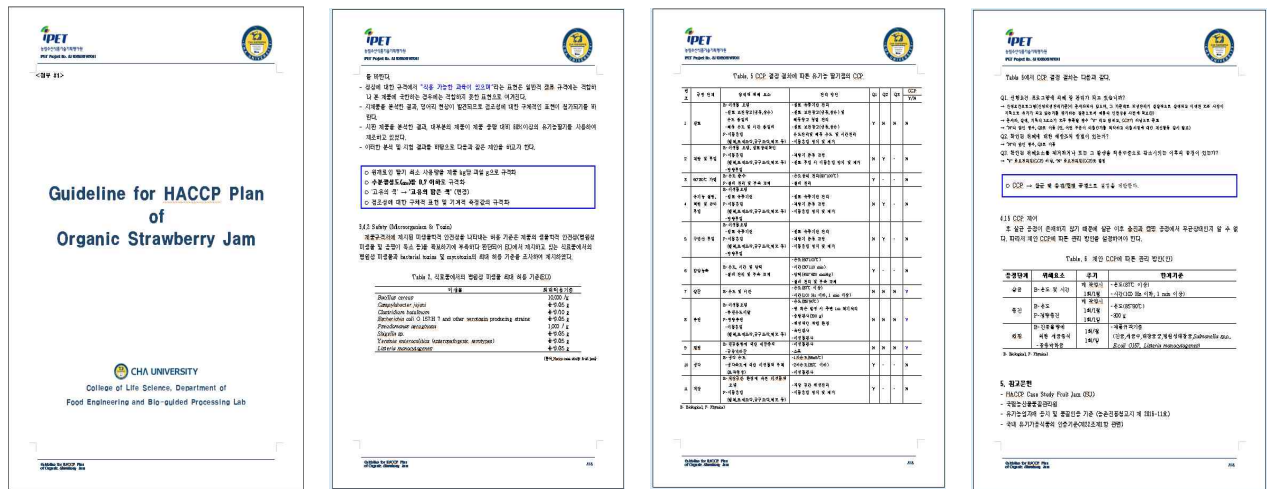


그림26. HACCP Plan for Organic Strawberry Jam(2차년도 연차실적계획서 내).

- (2) 알룰로스 적용 유기농 음료
 (가) 소재 - 감미료 (알룰로스)
 1) 유기원료 자일로스의 수급

- 국내에서 수급 가능한 생산처는 다니스코(Danisco)사의 자일로스가 있음.
- 제조시 사용되는 원료는 핀란드산 자작나무 또는 미국산 자작나무를 사용함.
- 그 외 자일로스를 생산, 공급하는 대부분의 회사는 중국에 있으며, 중국은 아직까지 우리나라와 동등성 인정 협정이 체결되어 있지 않음.

표19. Xylose(xylitol) 시장규모(2011~12년, 출처: 유로모니터 global polyol report 중)

Leading and main global polyol producers -2011/12

Company	Erythritol	Sorbitol	Lactitol	Maltitol liq	Crystalline Maltitol	Mannitol	Sorbitol liq	Sorbitol powder	Xylitol	Total	%
Cargill	21	28		39	20	11	373	62	1	554	17.9%
Ingredion				14	2	11	128	33	3	192	6.2%
Danisco			2						51	53	1.7%
Mitsubishi/TOWA				1	24		12	3	1	41	1.3%
Roquette				24	40	25	396	94	5	584	18.9%
Shandong Tianli						1	180			181	5.9%
Others	26	47		148	40	20	1077	57	68	1483	48%
TOTAL	47	75	2	226	125	68	2166	249	129	3087	

2) 자일로스 제조공정의 확인 및 변경사항 분석

- 자일로스의 제조공정은 자일리톨 생산시 중간산물로 나오는 자일로스를 국내 수급 자세한 제조공정은 Receiving -> Filtration -> Separation -> Evaporation -> Crystallization -> Centrifuging -> Drying -> xylose가 만들어 짐.
- 제조과정상으로 유기농식품으로의 가능성 있고, 우리나라와 동등성 인정 협정을 체결한 국가인 미국 또는 EU로부터 수입된 식품이긴 하지만, Danisco사 확인 결과 자일로스의 제조를 위해 사용된 원재료(자작나무)가 유기식품이라는 확신을 할 수 없으며, 유기자작나무를 공급할 수 없음.

그림27. 다니스코사 D-Xylose CT의 유기가공식품과 관련된 Statement

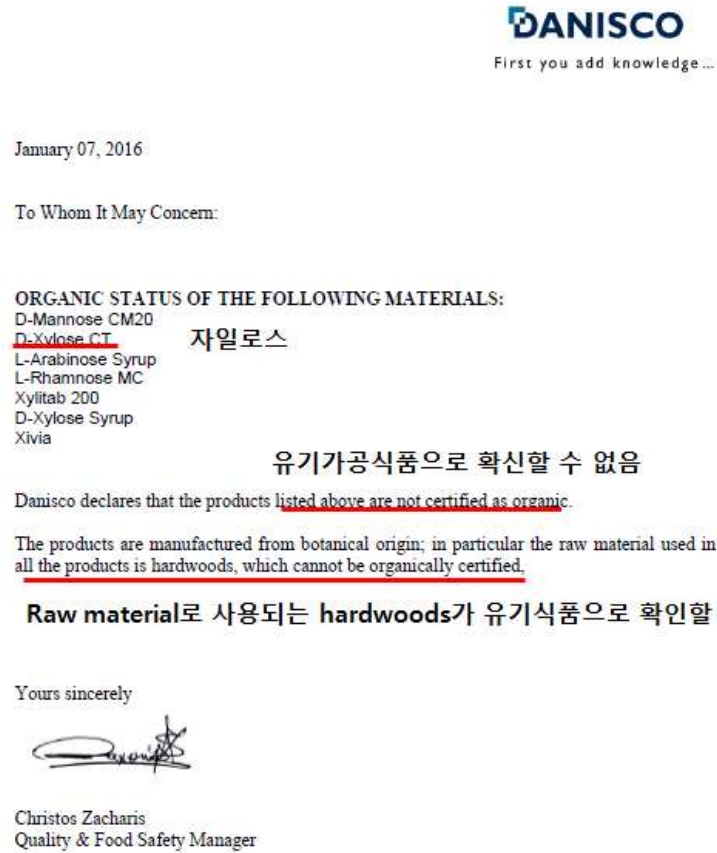
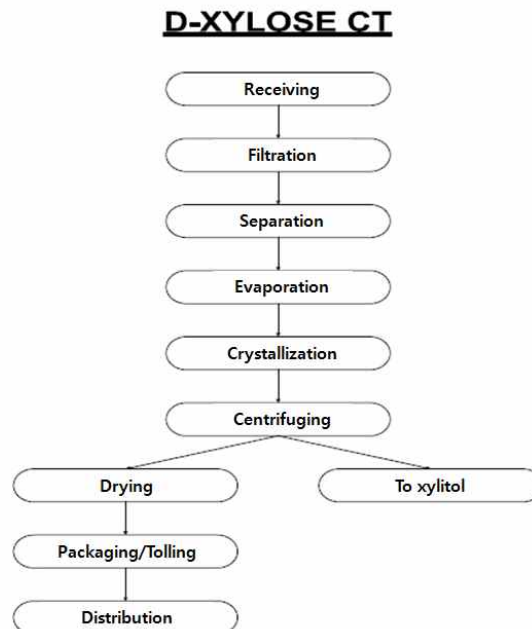


그림28. 자일로스(다니스코사 D-Xylose CT) 제조공정도



3) 유기원료 알룰로스의 수급

- 국내 알룰로스의 수급은 두업체로 함축됨.
- 현재 알룰로스는 국내에서 식품등의 한시적 기준규격을 득한 한국마쓰다니(주)와 CJ제일제당(주)의 제품이 있으며, 생산공정이 다소 상이함.

표20. 국내 D-Allulose 한시적기준규격 획득 상황(출처 : 식품안전정보포탈 식품원료 한시적 인정 인정현황)

기준	한국마쓰다니(주)	CJ제일제당(주)
원료명	D-알룰로오스(D-allulose, D-psicose)	D-Allulose
인정번호	제 2015-6호	제 2015-8호
인정일	2015. 04. 09	2015. 06. 17
제조기준	과당의 알칼리화에 의한 이성화 방법	과당의 효소반응에 의한 이성화 방법
제조공정	액상과당 -> 수산화나트륨 혼합 -> 탈색, 탈나트륨, 탈염 -> 정제 -> 농축(Brix 75이상)-> 여과	과당 -> 용해 -> 효소반응 -> 탈색, 여과 -> 정제 -> 농축 -> 분리 -> 농축 -> 포장
기타	D-알룰로오스 수율 5% 이상	함량은 95%이상(무수물기준)

4) 알룰로스 제조공정의 확인 및 변경사항 분석

- 알룰로스는 Fructose(과당)의 이성질체로 C-3 epimer of D-fructose로 명명되기도 하며, 과당을 원료로 화학적 전환 또는 효소적 전환을 통해 제조됨.
- 자세한 제조공정은 결정과당투입 -> 용해(염화마그네슘 또는 염화망간) -> 효소반응(마쓰다니코리아와 CJ제일제당간 상이한 공정) -> 탈색/여과 -> 이온정제 -> 농축/분리 -> allulose가 만들어 짐.

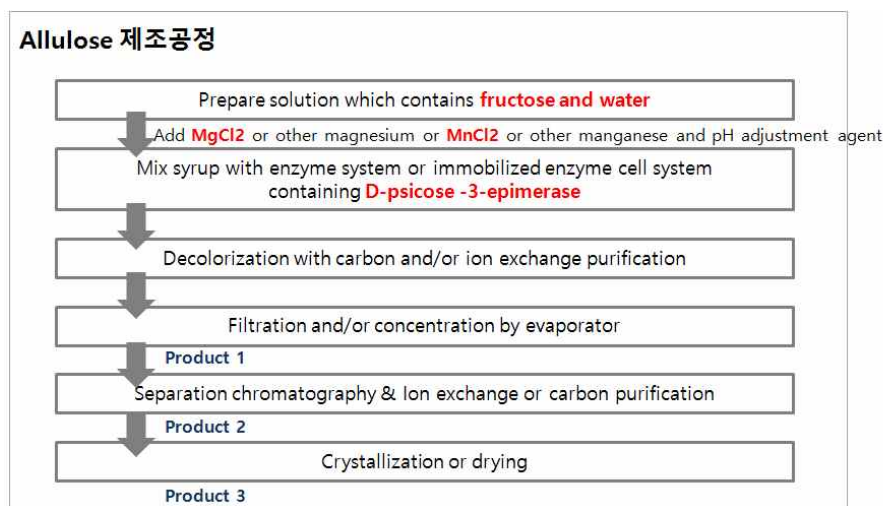


그림29. 한국마쓰다니(주)의 알룰로스 제조공정도

- CJ제일제당의 알룰로스의 경우 국내에서 제조되고 있으며, 제조공정상에서 사용되는 식품첨가물로는 염화마그네슘 또는 염화망간을, 공정의 원재료는 과당을 사용하고 있음. 국내 생산시 국내법에 따라 인증을 받은 유기식품에 사용가능한 식품첨가물을 사용하고 있으며, 과당은 유기설탕을 이용하여 공정개발이 가능함. 물량 및 생산단가만 확정되면 유기가공식품 알룰로스의 수급이 가능할 것으로 보임.
- 즉, 과당은 유기가공식품 원료로 사용가능한 해외인증 유기가공식품 고시 24번 백설탕을 활용할 수 있으며, 이 외에도 2015년 한-유럽연합 유기가공식품 상호 동등성인정 협정에 따라 덴마크의 다니스코사의 원료를 활용하는 방법도 있음. 염화마그네슘은 국내법에 따라 인증을 받은 유기식품 중 사용가능한 식품첨가물에 포함되는 것으로 응고제 목적의 가공보조재료의 사용이 가능함. D-psicose-3-epimerase는 국내 허가를 득한 상황이므로 사용가능 할 것으로 보임.
- 마쓰다니코리아의 알룰로스의 경우 일본에서 생산하여 국내 수입되는 원료로 제조공정상에서는 유기가공식품으로 생산이 가능할 것으로 보이나, 일본은 아직 우리나라와 동등성 인정 협정을 체결한 국가가 아니므로 유기가공식품으로의 인정은 국가적 차원에서의 지원이 필요함.
- 지금까지 협동기관인 차의과학대학교에서 검토한 xylose와 allulose의 제품적용성을 평가한 결과 주관기관인 대상(주)에서 알룰로스를 사용하여 유기가공식품 음료제품을 개발함.

(나) 제품화 - 유기농 포도주스

1) 개발목적

- 가) 한정된 국내 프리미엄 식품시장의 한계를 극복하고, 한국의 유기가공식품 제조가공기술의 우수성을 검증하여 유기가공식품의 해외 진출 기반을 마련하고자 함.
- 나) 세계적으로 ISSUE가 되고 있는 비만과 당섭취에 대한 칼로리가 거의 없는 D-알룰로스 감미료를 적용하고자 함.
- 다) 과즙함량 100% 이상 유기농 과채주스에 D-알룰로스의 기능성 당류를 적용하여 프리미엄화 Concept 적용.
- 라) 프리미엄화 Concept에 걸맞는 콩코드 품종의 포도 농축액을 적용하여 향을 사용하지 않고 포도주스의 관능을 확보.

2) 제품의 원재료 배합비

원재료명	배합비율	유기농함량 (정제수제외)	원산지	비고
유기농 콩코드 주스농축액	15.8	51.8	미국산	
유기농 적포도 주스농축액	10.2	33.4	터키산	
유기농 황설탕	3.0	9.8	브라질산	
알룰로스	1.5	-	일본산	D-알룰로스
정제수	69.5	-		
합계	100.0	95.0		

3) 제조공정도

DAESANG		제조공정도			
제품명		등록번호	등록일자	등록장	공정명
[가칭] 청정원 유기농포도주스		2016.07.01			
[가칭] 청정원 유기농포도주스		0			
시험의 유형	표준주스	내용량	100 mL	유통기한	1년
당도	21.4±0.2	pH	3.5±0.3	비중	1.082±0.002
<p>제조공정 1. 원료보관 2. 운반 3. 계량 4. 원료투입 5. 배합 6. 검사 7. 여과 8. 살균 9. 냉각 10. 여과 11. 충전 및 밀봉 12. 냉각 13. 검사 14. 유통기한 15. 제품검사 16. 출하</p>		<p>공정도 1. 원료보관 2. 운반 3. 계량 4. 원료투입 5. 배합 6. 검사 7. 여과 8. 살균 9. 냉각 10. 여과 11. 충전 및 밀봉 12. 냉각 13. 검사 14. 유통기한 15. 제품검사 16. 출하</p>			
참고 사항					

4) QC공정도

DAESANG		QC공정도		검토	합의	승인	문서이력			
(가칭)청정원 유기농포도주스		파트장	로제트	팀장	문서번호: 2016.07.01 페이지: 1/1 작성일자: 2016.07.01 개정일자: - 개정번호: -					
no	세부공정	사용설비명	공정내용	관리점		공정 및 품질관리				점검부서
				- CP	* : CCP	항목	기준	방법	주기	
1	원료보관	냉장고	- 입고된 원료를 냉장고에 보관한다.(충진기 상온보관)	- 냉장고 보관온도	- 보관장치 온도, 습도관리	냉장온도	1~10°C	온도기록표	매 Lot	지원팀
		냉장소	- 분말원료는 적정 온도 습도(상온보관)를 유지하여 원료창고에 보관한다.	- 보관장치 방충, 방서관리		방충방서	적합여부	트랩점검	매 Lot	QA팀
2	운반	지게차	- 농축액, 분말원료 계량실로 이송한다.	- 분말원료 이송시 포재 파손 주의		포재파손	적합여부	작업일지	매 Lot	생산팀
3	계량	저울	- 배합지시서에 맞게 분말원료를 계량	- 정량 계량 준수	- 계량시 이물혼입 주의	계량량	배합비	작업일지	매 BT	생산팀
4	원료투입	첨가물탱크 본배합탱크	- 일부 정제수+계량된 분말원료 투입 및 충분히 교반 (왕은 규격검사 후 마지막단계투입) - 원료의 비중확인 후 정량계량된 원료 투입 - 정제수 투입 후 교반	- 최종 정제수 투입시 반드시 정량투입, 여 불렌더믹스 → 본배합탱크로 이송.		투입량	배합비	작업일지	매 BT	생산팀
5	배합	교반기	- 배합탱크내 투입한 원료가 모두 용해될 때까지 교반한다.	- 교반시간 준수		교반시간	15분	작업일지	매 작업시	생산팀
6	검사	규격검사	- 배합액의 규격검사 및 보정을 실시한다.	- Bx, pH, 비중, 관능 검사		공정검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀
7	여과	필터	- 배합액여과 - 저장탱크이송			위생상태	40mesh 파손이없고 깨끗할것	CCP일지	매 작업시	생산팀
8	살균	튜브리베관	- 배합액을 살균한다.		* 매 BT별 살균온도 확인 및 기록	살균온도	110±3°C 살균시간 30초	CCP일지	매 BT	생산팀
9	냉각	서비스탱크	-98°C±3°C 로 냉각 한다.			냉각온도	98°C±3°C		매 작업시	QA팀
10	여과	필터	- 배합액여과 - 저장탱크이송			위생상태	40mesh 파손이없고 깨끗할것	CCP일지	매 작업시	생산팀
11	충진 및 밀봉	액주입기	- 제품을 용기에 충전한다. - 용량에 맞게 충전한다.			충진온도	85°C	작업일지	매 작업시	생산팀
12	냉각	냉각기	- 품온 40~45°C되게한다.			냉각온도	15°C이하 (냉각수)	작업일지	매 작업시	생산팀
13	검사	공정검사	- 배합액의 공정검사를 실시한다.	- Bx, pH, 비중, 미생물 검사		공정검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀
14	유통기한 날인 및 포장	라벨러 날인기	- 유통기한을 라벨상에 표기한다.	- 유통기한은 날인은 정확 선명하게 인쇄		유통기한		작업일지	매 작업시	생산팀
15	제품검사	규격검사	- 품질검사를 행한다	- 이물, 유통기한, 표기사항, 용량 등을 검사		제품검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀
16	출하 보관	제품창고	- 제품창고에 보관한다	- 선입선출이 용이하도록 적재 - 누수에 의한 오염이 되지않도록 보관		제품창고	적합여부	작업일지	매 작업시	생산팀

5) 제품의 표기사항

제품명	假) 청정원 유기농 포도주스
원재료명 및 함량	유기농 콩코드 주스 농축액 15.8 %(콩코드 포도 100%, 68 Brix / 미국산), 유기농 적포도주스 농축액 10.2 % (포도 100 %, 65 Brix / 터키산), 유기농 황설탕, 레어슈가스위트
특정성분 및 함량	유기농 원료함량 95.08 %, 유기농 포도 과즙으로 100 %
식품의 유형	과채주스
업소명 및 소재지	제조원: (주)로제트 / 경기도 성남시 중원구 순환로 214번길 15 유통전문판매원 : 대상(주) 서울특별시 동대문구 천호대로 26 http://www.daesang.com
유통기한	제조일로부터 12개월
내용량	100 ml
알레르기 유발물질 표시	이 제품은 우유, 메일, 대두, 밀, 계, 새우, 복숭아, 토마토 등을 사용한 제품과 같은 제조시설에서 제조하고 있습니다.
보관방법	직사광선을 피하여 서늘한 곳에 얼지 않도록 보관하시고 빨리 드시기 바랍니다.
섭취시 주의사항	전자렌지에 직접 넣어 데우지 마십시오 개봉시 내용물이 흘러 나올 수 있으므로 주의하십시오. 포장이 변형, 팽창, 손상되었거나 내용물이 변질되었을 경우 음용하지 마십시오. 제품의 개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하시기 바랍니다. 약간의 침전물은 포도농축액의 천연성분이므로 안심하고 드셔도 됩니다.

6) 완제품 규격서

완제품검사규격		문서번호			
		제정일자	2016.06.21		
(假) 청정원 유기농 포도주스		개정일자			
		페이지	1/1		
1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 (假) 청정원 유기농 포도주스에 대하여 규정한다.					
2. 식품유형: 과채주스					
3. 과채주스 음료정의 과일 재사용료라 함은 과일 또는 재스를 주원료로 하여 가공한 것으로서 직접 또는 회석하여 용해하는 것으로 농축과, 재즙, 과채주스, 과채 음료를 말한다. 과 채주스는 과일 또는 재스를 알착, 분쇄, 착즙 등 물리적으로 가공하여 얻은 과재즙(농축과재즙, 과채즙 또는 과일분, 재스분, 과재분을 함유한 과재즙, 과채유래 펄프(스트 포함) 또는 이에 식용되는 식품첨가물을 가함 것(과 재즙 95% 이상)을 말한다.					
4. 제품설명 (假) 청정원 유기농 포도주스라 함은 학교급식 후식용 음료를 말한다					
5. 유통정보 정제수, 유기농 콩코도 포도주스농축액, 유기농 적포도 주스농축액, 유기농 황설탕, 레어슈가스위트.					
6. 제품규격기준					
항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주기
성상	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다	체크검사 / 성적서 대체	N=1	식품공전 시험 방법에 따른다	1 회/ 생산시
이물	불검출				
Brix(%)	21.4±0.2				
pH	3.5±0.3				
비중	1.082±0.002				
본존료(g/kg)	아래표첨조 1) 이외의 본존료가 검출되어서는 아니 된다.				
납(mg/kg)	0.05 이하				
카드뮴(mg/kg)	0.1 이하				
일반세균수(cfu/ml)	100 이하				
대장균수(cfu/ml)	음성				

오크라톡신 A(원료용 포함, 농축배수로 환산하여)(µg/kg)	2.0 이하			
내용량	표시량의 4.5%			
1) 본존료(g/kg)				
안식향산 안식향산나트륨 안식향산칼륨 안식향산칼슘	0.6 이하(안식향산으로서, 다만, 가열하지 아니한 제품은 검출되어서는 아니된다.)			
파라옥시안식향산메틸 파라옥시안식향산에틸	0.1 이하(파라옥시안식향산으로서, 다만, 가열하지 아니한 제품은 검출되어서는 아니된다.)			
소르빈산 소르빈산칼륨 소르빈산칼슘	1.0 이하(소르빈산으로서, 다만, 농축과즙에 한한다)			
※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요 시 검사 실시				
7. 포장 및 포장단위 - 품목제조보고서항변경보고서 포장단위에 적합하도록 조질하여 포장한다. - 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영입허가번호, 원료명, 포장재질 등)이 올바르게 표시되어져 있어야 한다.				
8. 보관 및 보존기간 - 냉장보관 - 유통기한: 12개월				

7) 원재료 규격서

○ 레어슈가 스위트 (D-알룰로스)

원재료검사규격		문서번호			
		제정일자	2016.06.20		
레어슈가 스위트		개정일자			
		페이지			
1. 적용범위 당사에서 사용하는 레어슈가 스위트의 검사에 적용한다.					
2. 제품설명 약산과당 100%(포도당, 과당, D-알룰로스) [식품의 유형 : 당류(가공류)]					
3. 검사기준					
항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주기
성상	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.	체크검사 / 성적서 대체	N=1	HPLC 분석	1 회/ 생산시
이물	불검출				
Brix(%)	75 이상				
pH	3.5~8.0				
당 조 성 (%)	과 당				25 이상
	포도당				38 이상
	프시코스(알룰로스)				5.0 이상
탁도	0.1 이하				
중금속(ppm)	5.0 이하				
납(mg/kg)	0.5 이하				
비소(ppm)	1.0 이하				
일반세균(cfu/ml)	300 이하				
대 장 균	음 성				
※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요시 검사 실시					
4. 보존 및 보존기간 실온보관(냉장온도 25~30℃) / 6개월					



MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.
 5-3 KITA-ITAMI, ITAMI CITY, HYOGO, JAPAN 664-8508

PHONE : +81-72-771-2013
 FAX : +81-72-784-6979

Certificate of Analysis Rare Sugar Syrup

June 2, 2015

Invoice No. : MKK-046/15
 Product Name : Rare Sugar Syrup
 Lot No : 50724BHP
 Number of Cans : 12
 Manufacturing date : July 24, 2015
 Shelf life : January 23, 2016

Ingredient	Analysis Results	Specifications
	Glucose	38% min
Fructose	25% min	Conform
Psicose	5% min	Conform
Appearance	Clear or slightly yellowish color liquid	Conform
Taste and Odor	Slightly sweet without unpleasant taste and odor	Conform
Brix	75% min	75.2
pH	3.5 - 6.0	4.8
Ash	0.1 max	Conform
Coloring	0.25 max	0.01
Turbidity	0.1 max	0
Heavy metal	5 ppm max	Conform
Arsenic	1 ppm max	Conform
Standard Plate Count	300 cfu/g max	<300
Coliforms	Negative	Conform



○유기농 콩코드 포도주스 농축액

	원재료검사규격		문서번호																																																										
	유기농 콩코드 포도주스농축액		제정일자	2016.06.24																																																									
<p>1. 적용범위 당사에서 사용하는 유기농 콩코드포도주스농축액의 검사에 적용한다.</p> <p>2. 제품설명 유기농 콩코드포도주스농축액 100% [식품의 유형 : 과채가공품]</p> <p>3. 검사기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사방법</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성 상</td> <td>고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.</td> <td rowspan="10">채크검사 /정격서 대체</td> <td rowspan="10">N=1</td> <td>육안/분류검사</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>이 율</td> <td>물 권 출</td> <td></td> <td></td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>Brix(%)</td> <td>68 이상</td> <td></td> <td>당도계법</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>3.0~3.5</td> <td></td> <td>유리전극법 (원액)</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>산도(%)</td> <td>2.0~3.0</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>말발세균 (cfu/ml)</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>대 장 균</td> <td>음 영</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>광범이 (cfu/g)</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)</td> <td>2.0 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>효모(cfu/g)</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요시 검사 실시</p> <p>4. 보관 및 보존기간 냉동보관 /3년</p>					항 목	규 격	검사방법	조건	시험 및 검사방법	검사주기	성 상	고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.	채크검사 /정격서 대체	N=1	육안/분류검사	일고시	이 율	물 권 출			일고시	Brix(%)	68 이상		당도계법	일고시	pH	3.0~3.5		유리전극법 (원액)	일고시	산도(%)	2.0~3.0		식품공전	일고시	말발세균 (cfu/ml)	10 이하		식품공전	일고시	대 장 균	음 영		식품공전	일고시	광범이 (cfu/g)	10 이하		식품공전	일고시	오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)	2.0 이하		식품공전	일고시	효모(cfu/g)	10 이하		식품공전	일고시
항 목	규 격	검사방법	조건	시험 및 검사방법	검사주기																																																								
성 상	고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.	채크검사 /정격서 대체	N=1	육안/분류검사	일고시																																																								
이 율	물 권 출					일고시																																																							
Brix(%)	68 이상				당도계법	일고시																																																							
pH	3.0~3.5				유리전극법 (원액)	일고시																																																							
산도(%)	2.0~3.0				식품공전	일고시																																																							
말발세균 (cfu/ml)	10 이하				식품공전	일고시																																																							
대 장 균	음 영				식품공전	일고시																																																							
광범이 (cfu/g)	10 이하				식품공전	일고시																																																							
오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)	2.0 이하				식품공전	일고시																																																							
효모(cfu/g)	10 이하				식품공전	일고시																																																							



○유기농 적포도 농축액

	원재료검사규격		문서번호																																																															
	유기농 적포도 농축액		제정일자	2016.06.24																																																														
<p>1. 적용범위 당사에서 사용하는 유기농 적포도 농축액의 검사에 적용한다.</p> <p>2. 제품설명 유기농 적포도 농축액 100% [식품의 유형 : 과채가공품]</p> <p>3. 검사기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사방법</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성 상</td> <td>고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.</td> <td rowspan="10">채크검사 /정격서 대체</td> <td rowspan="10">N=1</td> <td>육안/분류검사</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>이 율</td> <td>물 권 출</td> <td></td> <td></td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>Brix(%)</td> <td>65±1</td> <td></td> <td>당도계법</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>2.8~3.9</td> <td></td> <td>유리전극법 (원액)</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>산도(%)</td> <td>0.7~2.0</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>탁도</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>말발세균 (cfu/ml)</td> <td>100 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>대 장 균</td> <td>음 영</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>광범이 (cfu/g)</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> <tr> <td>오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)</td> <td>2.0 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>효모(cfu/g)</td> <td>10 이하</td> <td></td> <td>식품공전</td> <td>일고시</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요시 검사 실시</p> <p>4. 보관 및 보존기간 냉동보관 /3년</p>					항 목	규 격	검사방법	조건	시험 및 검사방법	검사주기	성 상	고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.	채크검사 /정격서 대체	N=1	육안/분류검사	일고시	이 율	물 권 출			일고시	Brix(%)	65±1		당도계법	일고시	pH	2.8~3.9		유리전극법 (원액)	일고시	산도(%)	0.7~2.0		식품공전	일고시	탁도	10 이하		식품공전	일고시	말발세균 (cfu/ml)	100 이하		식품공전	일고시	대 장 균	음 영		식품공전	일고시	광범이 (cfu/g)	10 이하		식품공전	일고시	오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)	2.0 이하				효모(cfu/g)	10 이하		식품공전	일고시
항 목	규 격	검사방법	조건	시험 및 검사방법	검사주기																																																													
성 상	고유의 색향과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.	채크검사 /정격서 대체	N=1	육안/분류검사	일고시																																																													
이 율	물 권 출					일고시																																																												
Brix(%)	65±1				당도계법	일고시																																																												
pH	2.8~3.9				유리전극법 (원액)	일고시																																																												
산도(%)	0.7~2.0				식품공전	일고시																																																												
탁도	10 이하				식품공전	일고시																																																												
말발세균 (cfu/ml)	100 이하				식품공전	일고시																																																												
대 장 균	음 영				식품공전	일고시																																																												
광범이 (cfu/g)	10 이하				식품공전	일고시																																																												
오크라톡신 (ug/kg)(최요용 프항, 농축액수 로 환산하여)	2.0 이하																																																																	
효모(cfu/g)	10 이하		식품공전	일고시																																																														



GÖKNUR Gıda Maddeleri Enerji İmalat
İth. İhr. ve Tic. San. A.Ş. İrfan Başbuğ Cad. No: 71
Subayevleri Ankara/TURKEY www.goknur.com.tr
TEL: 90 312 317 2753 FAX: 90 312 317 2585

CERTIFICATE OF ANALYSIS


Göknur Batch No : 5082833
Product Description : ORGANIC RED GRAPE JUICE CONCENTRATE, FOOD GRADE
Production Date : 01.10.2015
Applicant : -
Issue Date : 15.10.2015

ANALYSIS	RESULTS
MICROBIOLOGICAL ANALYSIS	
Staphylococcus aureus , cfu/g	Negative
Salmonella , cfu/g	Negative
Listeria Monocytogenes , cfu/g	Negative
Bacillus Cereus , cfu/g	Negative
Enterohemorrhagic E.coli (EHEC), cfu/g	Negative
SENSORIAL ANALYSIS	
Typical fresh fruit	
EVALUATION : Results are consistent with pure grape concentrate	

Prepared by : EMINE AKTAŞ

Approved by Quality Assurance Manager


○ 유기농 황설탕



T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
MSM ÖZEL GIDA KONTROL LABORATUVARI
 (TURKISH REPUBLIC MINISTRY OF FOOD, AGRICULTURE AND LIVESTOCK
 MSM PRIVATE FOOD CONTROL LABORATORY)
MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
 (ANALYSIS REPORT)

Rapor No (Report No.) : 51311009
 Analiz Alanı (Private Request) : ÖZEL İSTEK (PRIVATE REQUEST)
 Numaralı Gönderen / Adres (Sample sent by / Address) : ÖZEL İSTEK (PRIVATE REQUEST)
 Numaralı Alınan Teslimatın Tarihi / Sayısı (Date and Number of Consignment Packet) : - / -
 Numaralı Gönderen / Adres (Sample No. / Lot No. / Brand No.) : - / - / -
 Ürün Adı (Product Name) : Ürün Adı (Product Name)
 Üretim Yeri ve Tarihi (Production and Date of Origin) : - / -
 Numaralı Alınan Teslimatın Tarihi / Sayısı (Date and Number of Consignment Packet) : - / -
 Analiz Yeri ve Tarihi (Location and Date of Analysis) : 06.10.2016 / 10.02.2016
 Laboratuvar Gözlem ve Tarihi (Observation and Date of receipt) : 06.10.2016 / 10.02.2016 13:43

Yapılan Analizler (Analyses)	Sonuç (Result)	Ölçim Limiti (LOD) (mg/kg)	Birim (Unit)	Denetim Yöntemi (Reference Method)	Analiz Yöntemi (Analysis Method)
1-Mikroorganizmalar (1-Microorganisms)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
2-Azotlu Amino Asitler (2-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
3-Azotlu Amino Asitler (3-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
4-Azotlu Amino Asitler (4-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
5-Azotlu Amino Asitler (5-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
6-Azotlu Amino Asitler (6-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
7-Azotlu Amino Asitler (7-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
8-Azotlu Amino Asitler (8-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
9-Azotlu Amino Asitler (9-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
10-Azotlu Amino Asitler (10-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
11-Azotlu Amino Asitler (11-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
12-Azotlu Amino Asitler (12-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
13-Azotlu Amino Asitler (13-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
14-Azotlu Amino Asitler (14-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
15-Azotlu Amino Asitler (15-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
16-Azotlu Amino Asitler (16-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
17-Azotlu Amino Asitler (17-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
18-Azotlu Amino Asitler (18-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
19-Azotlu Amino Asitler (19-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
20-Azotlu Amino Asitler (20-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS



T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
MSM ÖZEL GIDA KONTROL LABORATUVARI
 (TURKISH REPUBLIC MINISTRY OF FOOD, AGRICULTURE AND LIVESTOCK
 MSM PRIVATE FOOD CONTROL LABORATORY)
MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
 (ANALYSIS REPORT)

Rapor No (Report No.) : 51311009
 Analiz Alanı (Private Request) : ÖZEL İSTEK (PRIVATE REQUEST)
 Numaralı Gönderen / Adres (Sample sent by / Address) : ÖZEL İSTEK (PRIVATE REQUEST)
 Numaralı Alınan Teslimatın Tarihi / Sayısı (Date and Number of Consignment Packet) : - / -
 Numaralı Gönderen / Adres (Sample No. / Lot No. / Brand No.) : - / - / -
 Ürün Adı (Product Name) : Ürün Adı (Product Name)
 Üretim Yeri ve Tarihi (Production and Date of Origin) : - / -
 Numaralı Alınan Teslimatın Tarihi / Sayısı (Date and Number of Consignment Packet) : - / -
 Analiz Yeri ve Tarihi (Location and Date of Analysis) : 06.10.2016 / 10.02.2016
 Laboratuvar Gözlem ve Tarihi (Observation and Date of receipt) : 06.10.2016 / 10.02.2016 13:10

Yapılan Analizler (Analyses)	Sonuç (Result)	Ölçim Limiti (LOD) (mg/kg)	Birim (Unit)	Denetim Yöntemi (Reference Method)	Analiz Yöntemi (Analysis Method)
1-Mikroorganizmalar (1-Microorganisms)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
2-Azotlu Amino Asitler (2-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
3-Azotlu Amino Asitler (3-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
4-Azotlu Amino Asitler (4-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
5-Azotlu Amino Asitler (5-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
6-Azotlu Amino Asitler (6-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
7-Azotlu Amino Asitler (7-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
8-Azotlu Amino Asitler (8-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
9-Azotlu Amino Asitler (9-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
10-Azotlu Amino Asitler (10-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
11-Azotlu Amino Asitler (11-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
12-Azotlu Amino Asitler (12-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
13-Azotlu Amino Asitler (13-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
14-Azotlu Amino Asitler (14-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
15-Azotlu Amino Asitler (15-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
16-Azotlu Amino Asitler (16-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
17-Azotlu Amino Asitler (17-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
18-Azotlu Amino Asitler (18-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
19-Azotlu Amino Asitler (19-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS
20-Azotlu Amino Asitler (20-Nitrogenous Amino Acids)	Tespit Edilmedi (NR) (Not Detected)	0.010	mg/kg	LC-MS/MS	LC-MS/MS

인증번호 : 제 2-1-262 호

인증서

< 생산자용 >

인증구분 유기농산물	유효기간	2015.12.12 - 2016.12.11
생산자 Goiasa-Goiatuba Alcool Ltda	사업자등록번호	CNPJ02.773.950/0001
주소 Rod. GO 040 Km194-Zona Rural (caixa postal) -84	전화번호	-84
사업장소재지 Rod. GO 040 Km 194-Zona Rural Vereda II - Parte I 위 37절지	면적	73,361,098.63 m²

인증품목 사탕수수 채배면적

「친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제20조(제34조) 및 「농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제13조(제41조제1항)에 따라 위와 같이 유기농산물·원산물, 유기농축산물, 무농약농산물, 무항생제축산물의 인증기준에 적합함을 인증합니다.

2015년 12월 15일

국립농산물품질관리원 지정 제 2호 인증기관

(유) 둘 나라 유기인증코리아 대

한국식품과학연구원

시험 성적서


품명	유기농 황설탕	대표자	책임자
회사명	(주)츄플리인	주소	경기도 고양시 일산동구 성석로 332-17(성석동)
시험항목	인공광미료 외 2항목	시험일자	2015.09.03
제출번호	2015.09.03	유효기간	2010.08.02

귀하가 우리 연구원에 검사 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.


의뢰인: 검체의 기원 분말임
 인공광미료 (g/kg): 불검출
 이산화황 (g/kg): 불검출

2016년 02월 12일

한국식품과학연구원


 **검정증명서**
(Certificate of Analysis)

신청인 (Applicant)	성명 : (주)휴슬라임 (박성준)	생년월일 : -	
	주소(Address) : 경기 고양시 일산동구 성석로 332-17		전화번호 : -
접수번호	CP16-00404	접수일자	2016-02-27
검정 품목 (Name of Product)	유기농살림		
시료 량수 및 중량 (Quantity of Samples)	-		
검정 항목 (Analytical Items)	잔류농약검사245샘본		
검정 목적 (Analytical Purpose)	참고용		
검정 결과 (Analytical Results)	시험내용에 해당하는 과사항목 모두 불검출		



「농수산물 품질관리법」 제28조 및 같은 법 시행규칙 제126조에 따라 검정한 시료에 대한 검정성리임을 위와 같이 증명합니다.
(We hereby certify that the above mentioned samples have been analyzed in accordance with the provisions of Article 28 of the Agricultural and fishery Products Quality Management Act, and Article 126 of the Enforcement Rule of the Act.)

2016년 3월 3일

다산생명과학원 

환경과 생명을 소중히 하는 아름다운 기업 분석과학을 선도하는 기업 다산생명과학원(주)

(다) 제품안정성 - 알룰로스과 유기농 포도주스(위탁)

1차년도 두 번째 소재 및 제품으로써 학교 급식용으로 제품화하기 위하여 유기인증 과일 농축액(여러 품종의 포도, 동결상태)을 배합 및 희석하여 유기농 포도주스를 개발하고, 협동기관에서 유기농에 적용 가능성을 시사한 첨가물 알룰로스를 첨가하여 개발하였음. 이에 따라, 알룰로스의 유기인증판단 및 이를 적용한 유기농 포도주스의 화학적, 물리적 위해요소 및 비등온 가속화실험을 통하여 저장안정성을 평가함.

1) 알룰로스

알룰로스의 경우, 알루로스는 천연물 유래 성분으로 첨가물 개발 기준에 적합하며 사용량이 아주 미미(3% 이하)하므로 기준에 적합하다고 판단되므로 생략됨.

2) 유기농 포도주스

본 제품은 학교 급식용으로 제품화하기 위하여 유기인증 과일 농축액을 배합 및 희석하여 개발된 유기농 포도주스로서 협동기관에서 제시한 첨가물 알룰로스를 첨가하여 개발된 제품으로 이에 대한 화학적 물리적 위해요소와 저장안정성 평가 및 공정분석을 실시하여 개선방안을 제시함.

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

○저장안전성 실험에 필요한 품질지표로 식약처 고시 내용과 분석 내용을 근거로 다음과 같이 설정함

9-3 과일·채소류용료	
1) 정의	과일·채소류용료라 함은 과일 또는 채소를 주원료로 하여 가공한 것으로서 직접 또는 희석하여 응용하는 것으로 농축과·채즙, 과·채주스, 과·채용료를 말한다.
2) 원료 등의 구비요건	
3) 제조기준	(1) 과일 및 채소류는 물로 충분히 세척하여야 한다.
4) 식품유형	(1) 농축과·채즙(또는 과·채분) 과일즙, 채소즙 또는 이들을 혼합하여 30% 이하로 농축한 것 또는 이것을 분말화한 것을 말한다(다만, 원료로 사용되는 제품은 제외한다). (2) 과·채주스 과일 또는 채소를 압착, 분쇄, 착즙 등 물리적으로 가공하여 얻은 과·채즙(농축과·채즙, 과·채즙 또는 과일분, 채소분, 과·채분을 완전한 과·채즙, 과·채류액·케이스트 포함) 또는 이에 식품 또는 식품첨가물을 가한 것(과·채즙 95% 이상)을 말한다. (3) 과·채용료 농축과·채즙(또는 과·채분) 또는 과·채주스 등을 원료로 하여 가공한 것(과일즙, 채소즙 또는 과·채즙 10% 이상)을 말한다.
5) 규격	(1) 납(mg/kg) 0.05 이하 (2) 카드뮴(mg/kg) 0.1 이하 (3) 수은(mg/kg) 150 이하(알루미늄 캔 이외의 캔제품에 한한다) (4) 세균수 n=5, c=1, m=100, M=1,000(다만, 가열하지 아니한 제품 또는 가열하지 아니한 원료가 함유된 제품은 제외한다) (5) 대장균군: n=5, c=1, m=0, M=10(다만, 가열하지 아니한 제품 또는 가열하지 아니한 원료가 함유된 제품은 제외한다) (6) 대장균: n=5, c=1, m=0, M=10(가열하지 아니한 제품 또는 가열하지 아니한 원료 함유제품에 한한다) (7) 보존료(g/kg): 다음에서 정하는 것 이외의 보존료가 검출되어서는 아니 된다.

- 규격서 상의 위해요소를 생물학적, 물리적 및 화학적 위해요소로 분류한 결과,
 - 생물학적(미생물학적 및 미생물이 생성하는 독소류) 위해요소: 일반세균수(100 이하), 대장균수(음성) 및 오크라톡신 A(2.0 이하)
 - 화학적 위해요소: 보존료(규격서 참조), 납(0.05 mg/kg 이하), 카드뮴(0.1 mg/kg 이하)
 - 물리적 위해요소: 이물
- 미국 FDA에서 2012년 조사한 주스류에서 ochratoxin A , arsenic(비소)의 오염 실태 중 포도 주스에서도 발견됨

Product	Country-of-origin labeling (COOL)	Juice type (RTD = ready-to-drink package)	Package type	Size (fl. oz.)	Lot #	Total arsenic (ppb)	Total inorganic arsenic species (ppb) †1	Total organic arsenic species (ppb) †1	Total lead (ppb)
Gold Emblem 100% Grape Juice (CVS)	USA, Argentina	RTD	Plastic bottle	64	1	7.47	6.80	1.54	8.64
	Spain, USA	RTD	Plastic bottle	64	2	7.05	5.97	0.89	7.15
	USA, Spain	RTD	Plastic bottle	64	3	5.89	4.06	0.63	6.45
Walgreens 100% Grape Juice	USA, Spain	RTD	Plastic bottle	64	1	17.4	15.49	1.81	14.7
	USA, Argentina, Italy, Spain	RTD	Plastic bottle	64	2	9.71	6.82	0.67	15.9
	Not on label	RTD	Plastic bottle	64	3	24.7	20.48	1.71	10.1
Welch's 100% Grape Juice	USA	RTD	Plastic bottle	64	1	12.4	9.77	0.98	9.23
	USA	RTD	Plastic bottle	64	2	7.06	4.52	0.92	3.45
	USA	RTD	Plastic bottle	64	3	10.7	7.72	0.79	7.13

그림 30. 포도주스에서의 ochratoxin A , arsenic(비소)의 오염실태.

- 뿐만 아니라 FDA의 HACCP Guideline 에 따르면 pH 4.6 이하의 주스의 경우 병원성 미생물이 발견된다고 보고되었으며, 다양한 Salmonella 종, E. coli O157:H7, Cryptosporidium parvum과 같은 병원성 미생물 등이 은 식품 매개 질병을 일으킴. Listeria monocytogenes는 자연에서 이동 가능한 질병유발 미생물이기 때문에 주스 안에서 전염가능성이 있음이 증명되었고, 산성주스의 저장성을 평가할 때 Salmonella가 강한 미생물학적 위해요소로 보고 됨(FDA)

- 본 개발 제품은 유기농 인증을 득한 원료를 사용하여 희석하는 주스로서 위에 열거한 위해요소는 원료 입고 시 충분이 제어가 가능함
- 다만, 공정 상에서 발생 가능한 위생 및 교차오염 그리고 가공 적합성 여부에 따라서 *L.monocytogenes* 및 *S. aureus* 등의 식중독 균이 발생할 수 있으므로 공정 분석에서 이들 미생물을 지표로 설정할 것을 권하고 좀 더 면밀하게 공정을 기 개발된 유기농 기준에 따라 분석하고자 함
- 화학적/물리적 위해요소: 납, 카드뮴, 보존료, 이물
- 유통기한 품질지표(식약처 고시 내용 포함)
 - 이화학적 품질지표: pH, 산도, Brix, vitamin C content
 - 미생물학적 품질지표: 세균수, 대장균군
 - 관능적 품질지표: 색상, 침전물(Insoluble solid), particle size distribution

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

선정된 지표에 따라 식품공전에 따라 제시한 방법과 동일하게 수행하였으며 보존료는 분석기관에 의뢰하여 실시함.

○이에 대한 실험결과를 아래에 제시함.

표 21. 화학적·물리적 위해요소 평가 결과

항목	시험·검사 결과
납 (mg/kg)	0.05이하
카드뮴 (mg/kg)	0.1이하
보존료 (g/kg)	불검출
이물	불검출

○화학적 위해요소 분석 결과 식약처 식품공전 과채주스 기준 및 규격인 납(mg/kg) 0.05이하에 만족하였고 카드뮴과 보존료는 검출되지 않았음. 또한, 물리적 위해요소인 이물도 관찰되지 않아 소재에 대하여 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.

다) 미생물학적 안전성 및 저장안정성 평가

- 품질 및 미생물학적 안전성 평가를 위하여 최적 가열처리 조건 및 유통기한설정에 관한 computer simulation 을 실시함
 - 기준 미생물에 대한 P value 계산
 - 현 조건에서의 P value 및 냉장 유통 조건에서의 유통기한 simulation
- 비등온 가속화 실험 조건 설계
 - Initial temperature (초기온도): 20~30℃
 - Increasing temperature : 7℃/hr
 - Treatment time: 10~12 시간
- 앞서 연구방법론에 제시한 비등온 가속화 실험장치를 이용하여 실시하였으며, 표 22에 는 실험방법을 정리하여 제시하였음.

표 22. 비등온가속화 실험내용

항목	내용																								
시료	유기농 포도주스																								
실험조건	초기온도 20℃에서 90℃까지(3시간당 7℃씩)																								
	<table border="1"> <tr> <td>point</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> <td>6</td> <td>7</td> <td>8</td> <td>9</td> <td>10</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>온도(℃)</td> <td>20</td> <td>27</td> <td>34</td> <td>41</td> <td>48</td> <td>55</td> <td>62</td> <td>69</td> <td>76</td> <td>83</td> <td>90</td> </tr> </table>	point	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	온도(℃)	20	27	34	41	48	55	62	69	76	83	90
	point	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11													
온도(℃)	20	27	34	41	48	55	62	69	76	83	90														
실험항목	포인트별로 시료를 채취하여 즉시 품질 지표인 관능검사, 수분함량, pH, 색도, Brix, Vitamin C, Particle size distribution을 측정																								
관능 검사	전체적인 기호도에 관한 5 점 척도법																								
수분 함량	시료 2 g을 취해 수분측정기(HB43-s, Mettler Toledo, USA)로 측정																								
pH	시료 10 ml을 취해 실온에서 pH meter(Orion 4-star Plus, Thermo Sci., USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치를 측정																								
Brix	시료 10 ml 을 취해 굴절당도계(HI96801, HANNA, USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치를 측정																								
색도	페트리디쉬에 적정량을 담아, 색차계(color reader, CR-10, MINOLTA CO., JAPAN)을 이용하여 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)값을 측정. 측정은 3회 이상 반복하여 평균치로 나타냄. 이 때 사용한 표준 백색판은 L=1.80, a=12.04, b=2.96임.																								
Vitamin C	<p>시료 50 g과 2.5% metaphosphoric acid 50 mL을 섞어 4℃에서 2시간 냉각시킨 후 10,000 rpm에서 15분 동안 원심분리 후 0.45 μm syringe filter를 이용하여 분석시료로 사용하였다. Vitamin C 분석에 이용된 HPLC 시스템은 2695 separations Modules, 2487 Dual & Absorbance Detector (Waters Corporation, Milford, MA, USA)로 구성하였다. 분석 칼럼으로는 YMC Triart C18 (4.6 x 150 mm, 3 μm, 12 nm) 컬럼을 사용하였고, 그 외 조건은 아래에 나타냄. Temp.30, Eluent:A-0.3%TFA in water, B:0.3% TFA in (Water/Acetonitrile (80/20), Sample temp: 10℃, injection vol.:5 μl</p> <p style="text-align: center;">[Conditions of gradient]</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Min</th> <th>A</th> <th>B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Min	A	B	0	100	0	7	100	0	25	0	100	30	0	100									
Min	A	B																							
0	100	0																							
7	100	0																							
25	0	100																							
30	0	100																							
Particle size distribution	입도 분포를 분석하기 위해 Microtac S3500 Laser Diffraction Analyzer (S3500, Microtac, Korea)을 이용하여 건식분석을 실시하여 D_{50} 을 측정함. D_{50} 은 해당되는 크기보다 작은 입자가 50% 존재함을 나타냄.																								

	 <p>[실험에 사용된 입도분석기 (S3500, Microtac, Korea)]</p>																								
비 등 온 가 속 화 실 험 장 치	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>Volume</td> <td>Chamber: 150 L Batch: 2 L</td> </tr> <tr> <td>Electrocal Requirements</td> <td>220 V, 60 Hz</td> </tr> <tr> <td>Temperature Range</td> <td>-20 ~ 100℃</td> </tr> <tr> <td>Temperature Stability</td> <td>± 0.5℃</td> </tr> <tr> <td>Humidity Range</td> <td>30 ~ 98%RH</td> </tr> <tr> <td>Humidity Stability</td> <td>± 1.0%RH</td> </tr> <tr> <td>Light source</td> <td>Xenon Lamp</td> </tr> <tr> <td>Lighting Intensity</td> <td>0 ~ 20,000 Lx</td> </tr> <tr> <td>Interior Dimension (mm)</td> <td>500 x 500 x 600</td> </tr> <tr> <td>W x D x H</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Overall Dimension (mm)</td> <td>1,050 x 1,000 x 1,800</td> </tr> <tr> <td>W x D x H</td> <td></td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">[실험에 사용한 비등온 실험장비 및 specofocation]</p>	Volume	Chamber: 150 L Batch: 2 L	Electrocal Requirements	220 V, 60 Hz	Temperature Range	-20 ~ 100℃	Temperature Stability	± 0.5℃	Humidity Range	30 ~ 98%RH	Humidity Stability	± 1.0%RH	Light source	Xenon Lamp	Lighting Intensity	0 ~ 20,000 Lx	Interior Dimension (mm)	500 x 500 x 600	W x D x H		Overall Dimension (mm)	1,050 x 1,000 x 1,800	W x D x H	
Volume	Chamber: 150 L Batch: 2 L																								
Electrocal Requirements	220 V, 60 Hz																								
Temperature Range	-20 ~ 100℃																								
Temperature Stability	± 0.5℃																								
Humidity Range	30 ~ 98%RH																								
Humidity Stability	± 1.0%RH																								
Light source	Xenon Lamp																								
Lighting Intensity	0 ~ 20,000 Lx																								
Interior Dimension (mm)	500 x 500 x 600																								
W x D x H																									
Overall Dimension (mm)	1,050 x 1,000 x 1,800																								
W x D x H																									

○ 실험결과로써 외관을 관찰하였을 때

- 비등온 가속 시간에 따라 포도주스의 색이 그림 30과 같이 흐려지는 것이 확인되었음. 이는 Hunter value 를 이용하여 색도를 분석하여 정량적으로 색 변화를 품질지표로 선정할 가능성이 있음을 의미함.

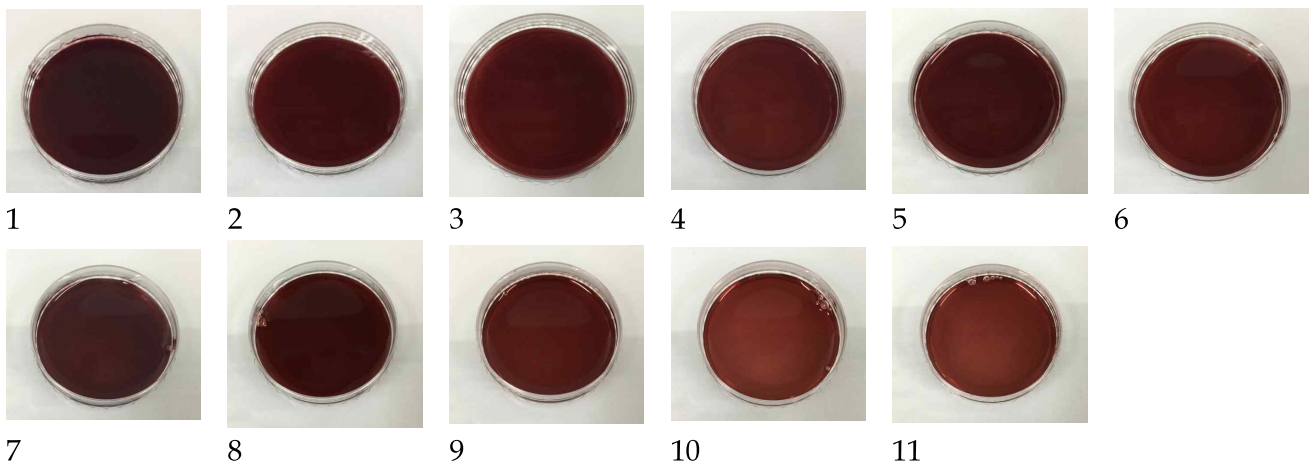


그림31. 포도주스 시간별 외관의 변화(1-11 point/h).

○ 품질요소의 변화 관찰결과(표 23),

- 수분함량, pH, 총산도는 시간이 지남에 따라 큰 변화가 관찰되지 않음
- Hunter value인 L, a, b 및 color difference 인 ΔE 값을 측정 한 결과, 시간이 지날

수록 제품의 밝은 정도를 나타내는 L값은 점점 낮아지고, a값은 음의 값으로 녹색도를 나타내고, b값도 황색도의 정도를 나타내는데 ΔE 값 또한 점점 낮아지는 것을 확인하였음.

표 23. 포도주스 시간별 품질요소의 변화

시간 (h)	관능평가	수분함량 (%)	pH	Brix (%)	색도			
					L	a	b	ΔE
0	3.5	77.6	3.50	21	-0.97	-6.72	-1.68	6.99
3	3.5	78.7	3.47	21	-0.44	-3.05	-0.76	3.17
6	3.3	77.9	3.47	21	-0.54	-3.70	-0.93	3.85
9	3.5	79.1	3.47	21	0.43	2.95	0.75	3.07
12	3.3	79.7	3.45	21	-0.31	-2.10	-0.53	2.18
15	3.0	79.7	3.47	20	-0.28	-1.96	-0.49	2.04
18	3.1	77.8	3.42	20	0.13	0.87	0.22	0.91
21	3.1	78.1	3.44	20	0.17	1.16	0.29	1.20
24	2.5	79.0	3.45	20	-0.10	-0.65	-0.16	0.68
27	2.1	78.8	3.46	19	0.02	0.10	0.03	0.10
30	2.0	77.7	3.47	19	-0.01	-0.04	-0.01	0.04

- 관능평가 결과, 24시간 이후부터 전체적인 기호도가 낮아지는 것을 볼 수 있음.

○ Vitamin C 정량 분석 결과,

- 포도주스에 함유된 비타민 C 함량을 분석하기 위한 표준곡선을 작성하기 위하여 표준물로 Sigma-arndrich사의 L-ascorbic acid를 10 ppm과 100 ppm으로 희석하여 사용함.
- 그림 18의 (a)는 100 ppm의 표준물의 크로마토그램을 나타내고, (b)는 L-ascorbic acid의 spectrum이며, (c)는 10 ppm과 100 ppm의 표준품으로 작성한 표준곡선으로 0.99991로 높은 값을 보이고, 이 때의 RT는 5.47 분으로 확인됨.

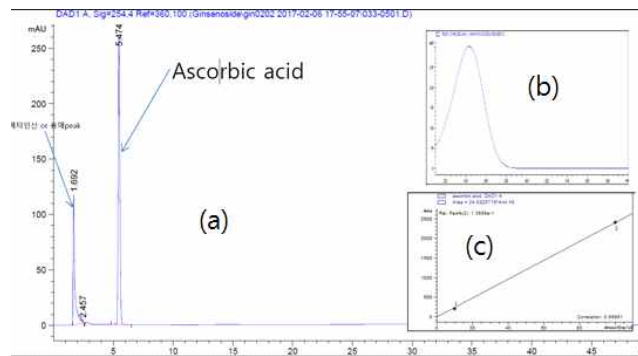


그림32. Chromatograms of L-ascorbic acid ; (a) Standard solution of 100 ppm L-ascorbic acid, (b) Spectrum (c) Standard curve .

- 생산 직후의 유기농 포도주스 (주관기관 1차년도 개발제품)을 개봉하여 추출한 시료의 HPLC 크로마토그램은 그림 34 과 같음

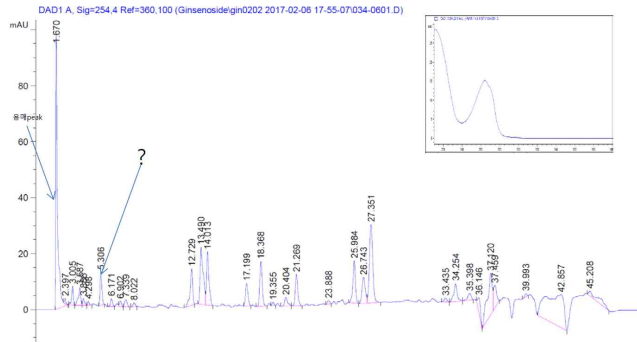


그림33. Chromatograms of L-ascorbic acid ; Extract of grape juice. The concentration of sample was 100 ppm.

- RT 5.3 분에 비타민 C로 추정되는 peak가 나왔으나 표준품과 비교하여 RT가 약 0.17 분 빠르게 나와 spectrum을 확인한 결과, 오른쪽 위 그림과 같이 표준품과 다른 모양을 보이는 것으로 확인되어 포도주스를 제조하는 과정에서 변형이 일어난 것으로 추정됨
- 30시간동안 비등은가속화 실험을 한 결과로
 - 수분함량, Brix, pH등은 큰 변화가 관찰되지 않았기 때문에 유통기한을 설정하기 위한 품질지표로 적합하지 않다고 판단함
 - 가장 가능성이 높았던 비타민 C 함량은 제조 후 바로 소실되는 것으로 판단되어 품질지표로 선정하지 않음
 - 관능검사 결과는 21시간 이 후에 감소하는 것으로 나타나지만 정량적으로 해석하기에는 관능검사 요원의 개인 편차가 심하여 유통기한 설정을 위한 지표로 부적합하다고 판정
 - 저장기간 동안 품질변화가 관찰된 색도와 외관은 품질지표로서 설정이 가능하다고 판단
- 위 결과들을 바탕으로 외관과 색도 측정 결과의 상관관계를 분석한 결과, 외관과 color difference를 나타내는 ΔE 값이 가장 일치하여 ΔE 값을 포도주스 유통기한 설정의 주요 품질지표로 선정함
- 비등은 가속화 저장실험 조건에서 저장 시간 및 온도 변화에 따른 ΔE 값의 변화를 그림 32에 나타냄.

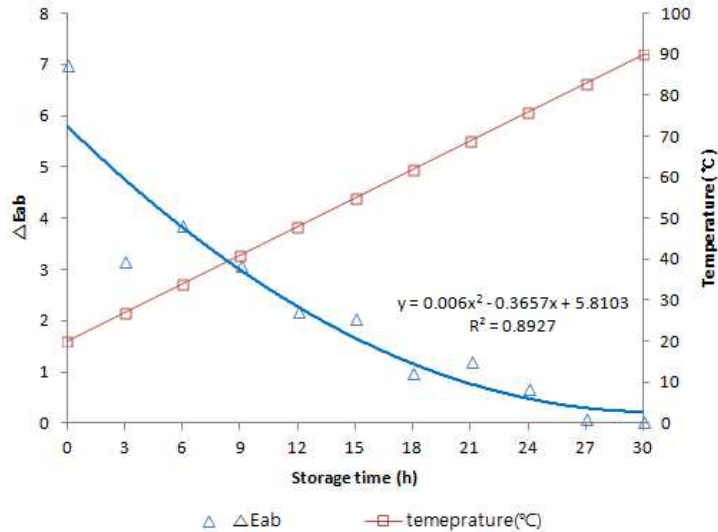


그림34. Changes in color as a function of storage time and temperature in grape fruit juice

○ 결론적으로,

- 비등온 조건에서의 품질손실에 대한 kinetic study를 예측한 결과, color difference의 감소는 1차 반응으로 활성화 에너지는 약 30~45 kcal/mol로서 상온 유통을 하더라도 1년에 약 20%의 color difference의 손실이 예측됨.
- 따라서 미생물학적으로는 상온 유통이 충분히 가능하다고 판단되지만 품질측면에서 검토한 결과 유통기한을 냉장유통, 12개월로 설정하는 것이 타당하다고 사료됨.

라) 공정분석 및 개선방안 제시

○ 주관에서 제시한 개발 제품의 규격서 및 공정도는 다음과 같음

DAESANG		완제품검사규격		문서번호	
		가칭) 유기농 포도주스		제정일자	
				개정일자	
				페이지	
1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 가칭)유기농 포도주스에 대하여 규정한다.					
2. 식품유형: 과채주스					
3. 과채종류정의 과일 채소유물과 함께 껍질 또는 재스를 주원료로 하여 가공한 것으로서 직접 또는 편석하여 용출하는 것으로 농축과, 재즙 과채주스과채 용출물 말한다. 과 채주스는 과일 또는 재스를 알차, 분쇄, 착즙 등 물리적으로 가공하여 얻은 과채즙(농축과채즙, 과채즙 또는 과일분, 채소분, 과채분)을 함유한 과채즙, 과채류의 페이스트 포함되는 이에 식품 또는 식품첨가물을 가한 것과 저염 95% 이상)을 말한다.					
4. 제품설명 가칭)유기농 포도주스라 함은 최고급식 토착을 유기농 음료					
5. 원재료명 정제수, 유기농 농곡도포도주스농축액(고형분 68%과즙으로 40%이상(미국산)), 유기농적포도주스농축액(고형분 65%, 과즙으로 60%이상, 타카산), 유기농활성탄, 최소량활유시럽(포도당 88%이상, 과당 25%이상, 말로부로스 5%이상)					
6. 제품규격기준					
항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주기
색상	고유의 색채와 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다	제품검사 /영역서 대체	N=1	식품공전 시험 방법에 따른다.	1 회/ 생산시
이물	불검출				
Brix(%)	21.4±0.2				
pH	3.5±0.3				
비중	1.082±0.002				
보존료(g/kg)	아래표준조 11 이외의 보존료가 검출되어서는 아니 된다.				1 회/월
납(mg/kg)	0.05 이하				
카드뮴(mg/kg)	0.1 이하				

일반세균수(cfu/ml)	100 이하				1 회/ 생산시
대장균군(cfu/ml)	음성				
오크라톡신 시형분 중 포합, 중독배수 로 한산하여)ug /kg	2.0 이하				
내용량	표시량의 45%				
1) 보존료(g/kg)					
안식향산	0.6 이하(안식향산으로서, 다만, 가열하지 아니한 제품은 검출되어서는 아니된다.)				
안식향산나트륨					
안식향산칼륨					
안식향산칼슘					
파라옥시안식향산에틸	0.1 이하(파라옥시안식향산으로서, 다만, 가열하지 아니한 제품은 검출되어서는 아니된다.)				
파라옥시안식향산에틸					
소르빈산	1.0 이하(소르빈산으로서, 다만, 농축과즙에 한한다)				
소르빈산칼륨					
소르빈산칼슘					
※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요 시 검사 실시					
7. 포장 및 포장단위 - 용출제조보고서(시험검토보고서 포장단위에 적합하도록 조절하여 포장한다.) - 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 알코올 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장재질 등이 올바르게 표시되어져 있어야 한다.)					
8. 보관 및 보존기간 - 냉장보관(냉장유통) - 유통기한: 12개월					

그림35. 완제품규격서.

no	세부공정	사용설비명	공정내용	관 리 점	공정 및 품질관리				점 검 부 서	
					항 목	기 준	방 법	주 기		
1	원료보관	냉장고	- 입고된 원료를 냉장고에 보관한다.(동결기 상온보관)	- 냉장고 보관온도	냉장온도	1~10℃	온도기록표	매 Lot	지원팀	
		냉암소	- 분말원료는 적정 온도 습도(상온보관)를 유지하여 원료창고에 보관한다.	- 보관창고 온도, 습도관리	보관온도				QA팀	
2	운반	지게차	- 농축액, 분말원료 계량실로 이송한다.	- 분말원료 이송시 포재 파손 주의	포재파손		적합여부	작업일지	매 Lot	생산팀
3	계량	저울	- 배합지시서에 맞게 분말원료를 계량	- 정량 계량 준수	계근량		배합비	작업일지	매 BT	생산팀
4	원료투입	첨가물탱크	- 일부 정제수=계량된 분말원료 투입 및 충분한 교반 (왕은 규격검사 후 마지막단계투입)		투입량		배합비	작업일지	매 BT	생산팀
		분말합량크	- 왕포의 비움확인 후 정량계량된 원료 투입	- 최종 정제수 투입시 반드시 정량투입, 여 불현더믹스 → 분말합량크로 이송	투입량		배합비	작업일지	매 BT	생산팀
5	배합	교반기	- 배합탱크내 투입한 원료가 모두 용해될 때까지 교반한다	- 교반시간 준수	교반시간	15분		작업일지	매 작업시	생산팀
6	검사	규격검사	- 배합액의 규격검사를 실시한다.	- Bx, pH, 비중, 관능 검사	공정검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀	
7	여과	필터	- 배합액여과		위생상태	40mesh	파손이없고 깨끗할것	CCP일지	매 작업시	생산팀
8	살균	튜블러배관	- 배합액을 살균한다.	- 매 BT별 살균온도 확인 및 기록	살균온도	110±3℃		CCP일지	매 BT	생산팀
9	냉각	서비스탱크	-98℃±3℃ 로 냉각 한다.		살균시간	30초			매 작업시	QA팀
10	여과	필터	- 배합액여과		위생상태	40mesh	파손이없고 깨끗할것	CCP일지	매 작업시	생산팀
		저장탱크이송								
11	충진 및 밀봉	역주입기	- 제품을 용기에 충전한다.		충진온도	85℃		작업일지	매 작업시	생산팀
12	냉각	냉각기	- 용량에 맞게 충전한다.		냉각온도	15℃이하 (냉각수)		작업일지	매 작업시	생산팀
			- 풍온 40~45℃되게한다.							
13	검사	공정검사	- 배합액의 공정검사를 실시한다.	- Bx, pH, 비중,미생물 검사	공정검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀	
14	유통기한 날인 및 포장	라벨러 날인기	- 유통기한을 라벨상단에 표기한다.	- 유통기한은 날인은 정확 선명하게 인쇄	유통기한		작업일지	매 작업시	생산팀	
15	제품검사	규격검사	- 품질검사를 행한다.	- 이물, 유통기한, 표기사항, 동량 등을 검사	제품검사	검사규격	작업일지	매 작업시	QA팀	
16	출하 보관	제품창고	- 제품창고에 보관한다.	- 선입선출이 용이하도록 적재	제품창고	적합여부	작업일지	매 작업시	생산팀	

그림36. QC공정도.




- 이에, 개발된 유기가공 기준에 따라 제품규격서와 QC공정도의 분석 → 문제점/개선 방향 제시하였음.
- 제품 규격서 분석결과,
 - 과 · 채 주스에 대한 식품공전 및 CODEX 규격에 적합하게 제조되었으나 됨
 - 유기가공식품 인증을 유기원료 비율 계산을 계산한 결과 0.9808로서 기본 요건은 충족
 - 유기가공품 컨셉인 소비자가 원하는 고품질, 신선 및 무첨가 원칙 등을 고려하지 못함
 - 따라서 유기농 원료를 NFC(not from concentrate)로 교체할 것을 권함
 - 개발 제품에 대한 품질 및 미생물학적 위해요소에 대한 관리를 강화하기 위하여 시장조사 및 분석 시험(문헌조사 포함)을 실시하고 연구팀이 설정한 유기가공방법 기준에 적합 여부의 판단 및 개선 방향을 권고 하고자 QC공정도의 분석을 실시함
- 국내에서 유통되고 있는 유기농 포도음료에 대한 시장조사
 - 국내 유기농 포도음료 제조사 및 제품을 분석하여 아래 표에 제시함
 - 대부분 국외 유기농 포도 농축액을 배합 및 희석한 제품으로 추가적으로 당을 첨가하지 않고 있으며, 제품유형을 과 · 채주스로 정의하고 있음

표24 유기농 포도음료 주요회사 및 제품

제품명	제품 사진	제품유형	내용량	원재료 및 함량	유통기한	제조원	
퓨어플러스 유기농 포도		과채음료	247mL	유기농포도농축액 20.90% (11Brix 미국산) 유기포도과즙 100%, 천연착색료(천연포도청), 비타민C	제조일로부터 12개월	㈜퓨어플러스	
프로엠 유기포도100		과채주스	100mL	유기과채농축액 19.2% (89 Brix 미국산) 유기포도과즙 100%, 정제수		대진영마늘	
플린드 유기농 포도주스		과채주스	100mL	유기포도농축액 18.2% (8도과즙 100%), 유기농알베실당 3.1%, 정제수		대진영마늘	
스워드링 100% 유기농 포도주스		과채주스	300mL	유기농포도농축액 68 Brix, 정제수 (유기농포도과즙 17 Brix 100%)		대진영마늘	
올가물루드 유기농 포도주스		과채주스	1000mL	유기농포도농축액 20.55% (9Brix 미국산), 정제수 (유기농포도과즙 14Brix 100%)	제조일로부터 12개월	㈜팜팔	
자연의 열매들 유기농 포도		과채주스	100mL	유기농 포도농축액 17.82% (12월분 68% 이상, 통밀도포도과즙으로 68%, 미국산), 유기농 백포도농축액 1.016% (12월분 6% 이상, 백포도과즙으로 6%, 미국산), 정제수, 유기농 사과농축액 5.0% (12월분 38% 이상, 사과과즙으로 2%, 미국산), 유기농 사과로 40.0으로 1.04% (12월분 20% 이상, 사과과즙으로 3%), 유기농 딸기농축액 1% (12월분 3% 이상, 딸기과즙으로 3%), 호스차리스타미아 + 유기농 발효(정제수 제외) : 39.98%		제조일로부터 12개월	대진영마늘
GM 정연의 열매 100% 유기농 키즈포도, 포도		과채주스	100mL	유기농 포도농축액 100% (8 Brix 미국산)		제조일로부터 3년	에이치에프 한국자연농산
원네이처 유기농 포도 100% 주스		과채주스	100mL	포도농축액 22.0% (9Brix 미국산) (유기농포도과즙 13Brix 100%)		제조일로부터 12개월 이내	에스앤티코리아

- 냉장 및 상온 유통에 대한 정확한 정보를 제공하고 있지 못하고 있으며, 영양 및 품질에 대한 정보를 확인하기 어려움
 - 개발 제품에 대한 규격서에서는 냉장보관 및 냉장 유통, 유통기한 12개월로 규정
 - 따라서 제품 표시 사항에 영양 및 품질 정보에 대한 내용을 표시할 것을 권함
- 시판 및 개발 제품에 대한 품질 측정 및 위해요소 분석
- 시판 제품 및 개발 제품의 고형분함량(%), pH, Brix, 색도 등 이화학적 품질지표를 측정함
 - pH는 시료 10ml을 취해 실온에서 pH meter(B36697, Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치를 측정, Brix는 시료 10ml을 취해 굴절당도계(HI96801, HANNA, USA)를 사용하여 3회 반복하여 평균치를 측정, 고형분 함량은 시료 2g을 취해 적외선수분측정기(BMA150, BOECO, Germany)로 측정하고, 색도는 색차계(CM-3500d, Minolta, Japan)를 이용하여 명도(L), 적색도(a), 황색도(b) 값을 측정. 측정은 3회 이상 반복하여 평균치로 나타냄. 이 때 사용한 표준 백색판은 L=45.94, a=21.71, b=7.14 임
 - 시험결과는 다음과 같음.

표 25. 국내 유기농 포도주스 시판제품 및 개발 제품의 이화학적 분석결과

제품명	제품 사진	고형분함량(%)	pH	Brix	색도
퓨어플러스 유기농포도		13.89	2.63±0.00	13.35±0.005	L:28.73 ±0.08 a:1.93 ± 0.03 b:1.22 ± 0.15
프로엠 유기포도 100		13.46	3.59±0.00	12.85±0.005	L:35.42 ± 0.06 a:25.66 ± 0.74 b:7.55 ± 0.2
개발 제품		22.40	3.5±0.00	21.1±0.1	L:28.73 ± 0.08 a:1.93 ± 0.93 b:-0.54 ± 0.15

- 제품 규격서에 나타난 품질 요소와 측정값은 일치하지만 기존 시판 제품에 비하여 고형분 및 Brix가 매우 높음 → 품질 최적화 작업을 실시하기를 권함
- 다만 규격서에는 비중(1.082±0.002)을 품질요소로 포함함

- 개발에 대한 영양 성분을 분석하여 다음과 같이 영양성분표를 제시함

표 26. 개발제품의 영양성분표

100g 당 함량 % 영양소 기준치			
열량	81.20kcal	지방	0.08%
탄수화물	19.68%	포화지방	0g
당류	18.871g	트랜스지방	0g
단백질	0.44%	콜레스테롤	0mg
		나트륨	9.55mg
(제공량 300 g)			

- 설정된 유기가공방법 기준에 따른 QC공정도의 분석
 - 유기농 포도주스를 생산할 업체는 유기농 음료 제품을 생산하고 있으므로, 생산 관련 HACCP 및 위생관리를 철저히 하는 업체로 판단되어 4가지 일반요건은 충족되리라 사료됨
 - 가공원료에 대한 6가지 기준을 검토한 결과, 유기농 인증 원료를 사용하고 있으므로 잔류 농약의 문제는 없다고 판단되었고, 다만 새로이 첨가되는 첨가물인 알루로즈는 천연물 유래 성분으로 첨가물 개발 기준에 적합하며 사용량이 아주 미미(3% 이하)하므로 기준에 적합하다고 판단
 - 가공방법에 대한 기준을 검토한 결과 가공기술(물리적 처리로서 혼합, 가열살균 및 여과, 충전, 밀봉 및 냉각 등의 공정 선택) 뿐만 아니라 5가지 기준을 모두 충족함
 - 그러나 CCP를 살균 공정으로 규정하고 있지만 품질 요소와 미생물학적 안전요소와의 상관 관계를 고려하지 않음
 - CCP에 대한 사항을 품질과 연계하기 작업으로 제시된 QC공정도를 재구성하여 공정 단계를 아래와 같이 나타냄

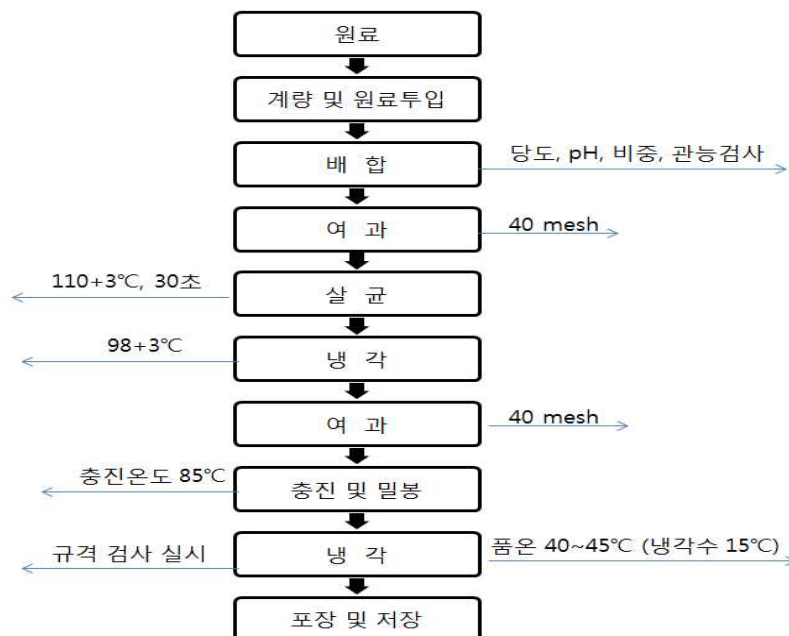


그림37. Flow diagram of organic grape juice production.

- 문헌 조사 내용과 본 공정과의 가장 커다란 차이는 가열 온도 및 시간으로서 일반적인 과일주스에서의 살균은 *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*을 지표 미생물로 하여 5 log reduction을 확보하는 저온살균을 권장하며, 가열살균 조건으로 HTST; 110°C/8.6 s 또는 85°C/3 min 그리고 충전 시 교차오염을 방지하기 위하여 77°C에 충전하는 것을 기준으로 하고 있음

Bacteria	Food Product	T (°C)	D-Value (min)	z-Value (°C)	T Range (°C)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ground pork	55.0	47	5.9	55.0-70.0
		70.0	0.085		
	Chicken gravy	50.0	119-195	5.2-6.1	50.0-65.0
		65.0	0.19-0.48		
	Cooked lobster	51.6	97	5.0	51.6-62.7
		54.4	55		
		57.2	8.3		
		60.0	2.4		
		62.7	1.1		
	Rainbow trout roe	60.0	1.6	5.4	60.0-63.0
		63.0	0.44		
	Liquid egg yolk	60.0	1.3	6.1	60.0-62.2
		62.2	0.58		
	Liquid egg white	55.1	7.6	9.4	55.1-58.3
		58.3	3.5		
Vacuum-packed minced beef	50.0	36	4.2	50.0-60.0	
	55.0	3.2			
		60.0	0.15		

그림38. Heat resistance of Non-Spore-Forming Pathogenic Microbes in low acid food.

표 27. Heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in High-Acid Fruit Products (pH<4.6)

Heating Medium	Spore Strain	pH	Brix	T(°C)	D-Value (min)	z-Value (°C)	T range (°C)
Grape Juice	WAC	3.3	15.8	85	57	7.2	85-95
				90	16		
				95	2.4		

Low-acid chilled foods								
D-value ≤ 3 min at								
50°C	55°C	60°C	65°C	75°C	80°C	85°C	90°C	95°C
		<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>Salmonella</i> spp.		<i>Clostridium botulinum</i>				
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Mycobacterium avium</i> Lactic acid bacteria		<i>Coxiella burnetii</i>					<i>Bacillus cereus</i>
High acid shelf stable foods								
D-value ≤ 3 min at								
60°C	65°C	70°C	75°C	80°C	85°C	90°C	95°C	100°C
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>						<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> <i>Bacillus</i> spp.	
Lactic acid bacteria	Some yeasts and moulds					<i>Neosartorya fischeri</i>		
				<i>Clostridium pasteurianum</i>		<i>Talaromyces flavus</i> <i>Eupenicillium javanicum</i> <i>Clostridium butyricum</i>	<i>Byssosclamyces nivea</i>	
			Polyphenoloxidase Peroxidase			Pectinesterase		

그림39. Minimum pasteurization temperature to achieve 1 logarithmic microbial reduction. (1D) in a few minutes.

- 또한 공정 상에서 여과를 40 mesh(입자 크기: 약 420 μm)로 두 번하는 근거 부족 및 입자 크기에 의한 침전물 생성 여부 등이 제품 품질에 영향을 미칠 것으로 판단됨
- 과일주스에 관한 문헌과 본 제품의 규격서를 참고로 하여 품질요소로는 soluble solids, insoluble solids, pH, vitamin C content, and levels of reducing, non-reducing and total sugars로 제안
- 품질요소 중에 vitamin C의 열과피에 대한 kinetic study와 기준 미생물에 대한 열역학적 자료를 이용하여 최적 가열처리 조건에 대한 simulation 또는 최적화 실험을 통하여 권고함
- 측정 제안에 따른 시험 결과,
 - 7월 13일 대상에서 시제품을 제조하여 제공한 시료의 Particle size를 측정한 결과 (아래 표 참고), 다른 시판 제품 보다 개발된 유기농 포도주스의 입자크기가 5~12 배 정도 높음을 알 수 있었음.


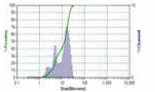


제품명	제품 사진	그래프	입자크기(μm)
퓨어플러스 유기농포도			13.27
프로엠 유기포도 100			5.42
개발 제품			64.72

그림40. 국내 유기농 포도주스 시판제품 및 개발 제품의 Particle size 분석결과)

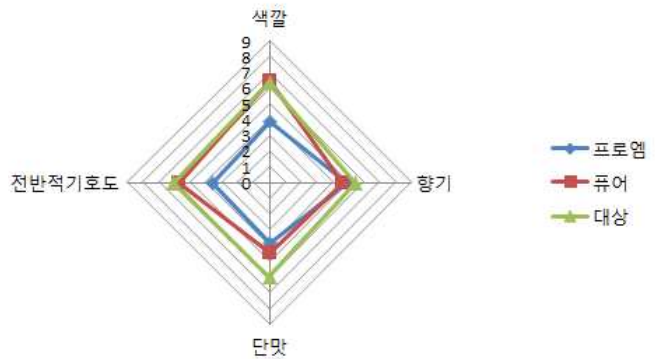


그림41. 제품 간 기호도 검사

- 개발 유기농 포도주스와 시중 판매되는 제품 두 가지를 선정하여 색, 향, 맛, 전반적인 기호도 검사 결과 색, 향기, 전반적인 기호도는 세 제품이 모두 비슷한 평가를 받았지만 단맛 강도는 대상에서 개발한 유기농 제품이 월등히 높은 것을 알 수 있었음.

(3) 짠맛 증진제 적용 유기농 간장

(가) 소재 - 짠맛 증진제

1) 국내산 멸치에 대한 문헌 조사

최근 우리나라는 급속한 산업발전에 따라 각종 생활오수, 산업폐수 등에 의하여 하천 및 연안 해역 등의 환경 오염이 가속화되고 있다. 육상에서 연안 수역으로 유입된 유해 미량금속 등의 오염물질들은 생태계의 먹이사슬을 통하여 농축되므로, 대부분 연안에서 서식하고 있는 수산물은 오염의 우려가 있어 식품위생상 문제가 될 수 있다. 또한, Codex에서는 어류에 대한 납 함량기준을 2006년도에 0.3 mg/kg으로 설정하는 등 기준 규격을 강화하는 추세이다(3). 목 등(1)에 의한 국내 연안산 어류의 중금속 함량을 조사한 실험 결과에 의하면 통영 근해에서 수확한 멸치의 경우에 Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Ze이 각각 <0.001, 0.135, 2.261, 1.119, 0.344, 0.016, 16.168 $\mu\text{g/g}$ 으로서 본 팀에서 기준으로 설정한 유기농기준,에 적합하다 판단되어 원료로 선정

2) 선정 원료의 일반 성분 분석 및 중금속 함량

식품공전(4)에 의거하여 멸치에 대한 일반성분분석과 중금속 함량을 측정된 결과는 다음과 같다.

Table. Proximate compositions of raw anchovy

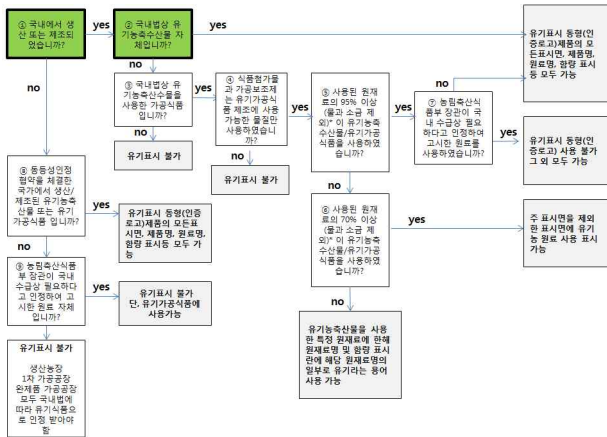
	수분	지방	단백질	회분	탄수화물
함량(g/100g)	66.5	12.2	18.1	3.0	0.2

Table. Heavy metals (Pb) of raw anchovy

Scientific name	Heavy metals ($\mu\text{g/g}$)
	Pb
<i>Engraulis japonica</i>	0.016

3) 개발된 decision tree에 따른 고압효소분해기술과 선정 원료의 타당성 검증

가) 개발된 decision tree에 의한 원료 선정



- 통영산 멸치의 경우에 decision tree의 ①→②에서 유기인증을 득하기 어려운 원료로 사료됨
- 그러나 가공보조제로 사용되는 경우에 5% 이하로 사용할 경우에는 사용가능하다 판단됨
- 선정 원료의 화학적 유해 요소를 최소화하기 위하여 중금속 함량을 측정된 결과를 근거로 원료 확정

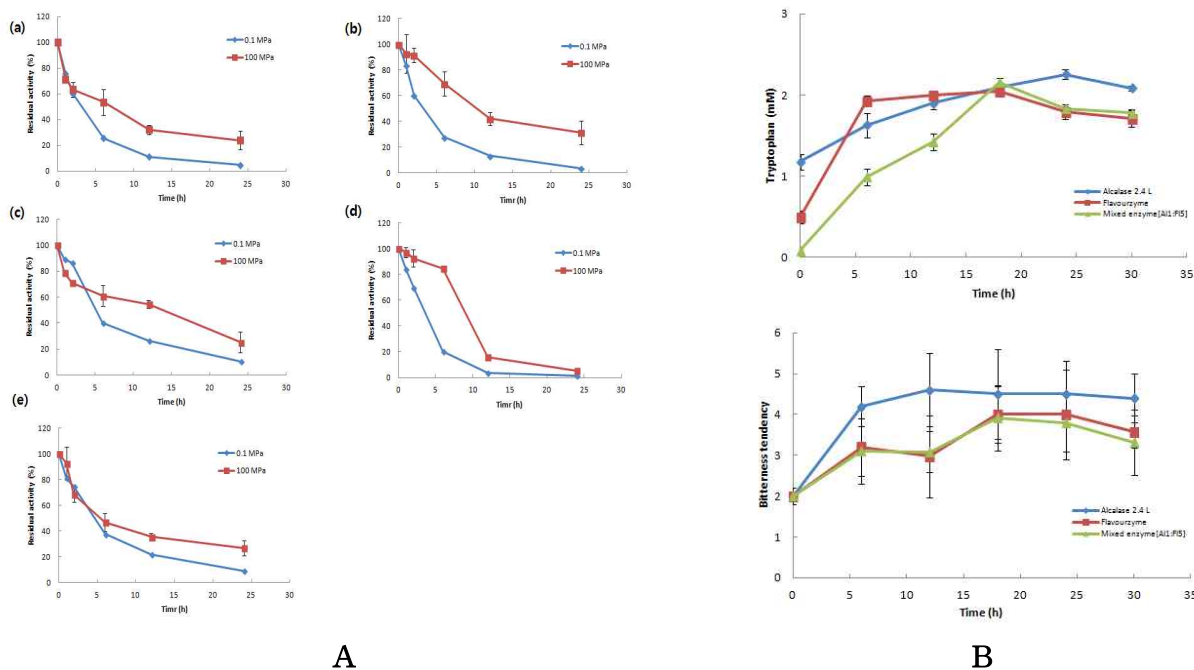
나) 고압활용 기술의 선정

고압을 활용하여 가수분해를 촉진하는 기술은 첨가물을 사용하지 않는 물리적 가공기술로서 최소가공기술을 유기농기술로 허용하고 있는 국제 기준에 적합하여 짠맛증진물질의 생산이 가능하다고 알려진 어간장 제조기술(5)을 가속화하는 병행처리기술로서 활용하기로 선정

4) 쓴맛 제거 효과를 지닌 복합효소의 선정

인(2) 등의 방법에 따라 국내에서 구하기 쉬운 미생물 유래 상업적 효소 4가지 및 exo-

endo peptidase를 혼합한 복합효소(Alcalase® 2.4 L: Flavourzyme™ 500 MG = 1:5(w/w))를 선별하여 멸치 고압 효소 가수분해물을 제조(효소 농도 2%, 고압기술조건 100 MPa, 50°C, 0~24시간 처리)하여 효소 잔존활성도 측정, 가수분해도(degree of hydrolysis, %) 측정, Tryptophan 함량 분석(HPLC) 및 훈련된 패널을 통한 쓴맛 강도평가(관능평가)를 실시한 결과는 아래 그림으로 같음



(a: Alcalase 2.4 L, b: Flavourzyme 500 MG, c: Neutrase 0.8 L, d: Protamex 1.5 MG, e: 복합효소)

그림42. (A) Residual activities and (B) bitterness intensity and tryptophan contents of commercial proteolytic enzymes under pressurization

고압조건(100 MPa)하에 상업적 효소를 2%사용 시 효소 안정성이 유지된다는 것이 검증되었고 이 중 복합효소에서 tryptophan 함량과 관능평가를 통하여 쓴맛이 비교적 적게 생산되는 것을 확인, 유기가공용 짠맛증진소재 제조 시 Alcalase® 2.4 L/ Flavourzyme™ 500 MG를 1:5(w/w)의 비율로 혼합한 복합효소를 활용하기로 선정

5) RSM을 이용한 고압효소가수분해 조건의 최적화

가) 실험 재료

가수분해에 사용된 기질은 대영수산(Changwon, Korea)으로부터 제공받은 통영 연근해산 멸치(*Engraulis japonicus*)로 동결상태에서 구입하여 사용 전까지 -20°C에서 보관함. 사용된 시판 상용 효소는 효소선정실험을 통해 선정한 단백질 분해 효소로서 *Bacillus licheniformis* 유래 Alcalase® 2.4 L (declared activity of 2.4 AU/g)와 *Aspergillus oryzae* 유래의 Flavourzyme™ 500 MG (declared activity of 500 LAPU/g)를 Novo Nordisk 사 (Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하여 Alcalase® 2.4 L/Flavourzyme™ 500 MG를 1:5(w/w)의 비율로 혼합하여 사용함. 분석에 사용된 모든 시약은 분석용 시약급을 사용함.

나) 실험 방법

○Enzymatic hydrolysis assisted high pressure

멸치를 4°C에서 12시간동안 해동 후 아래와 같은 공정으로 가수분해를 실시함.

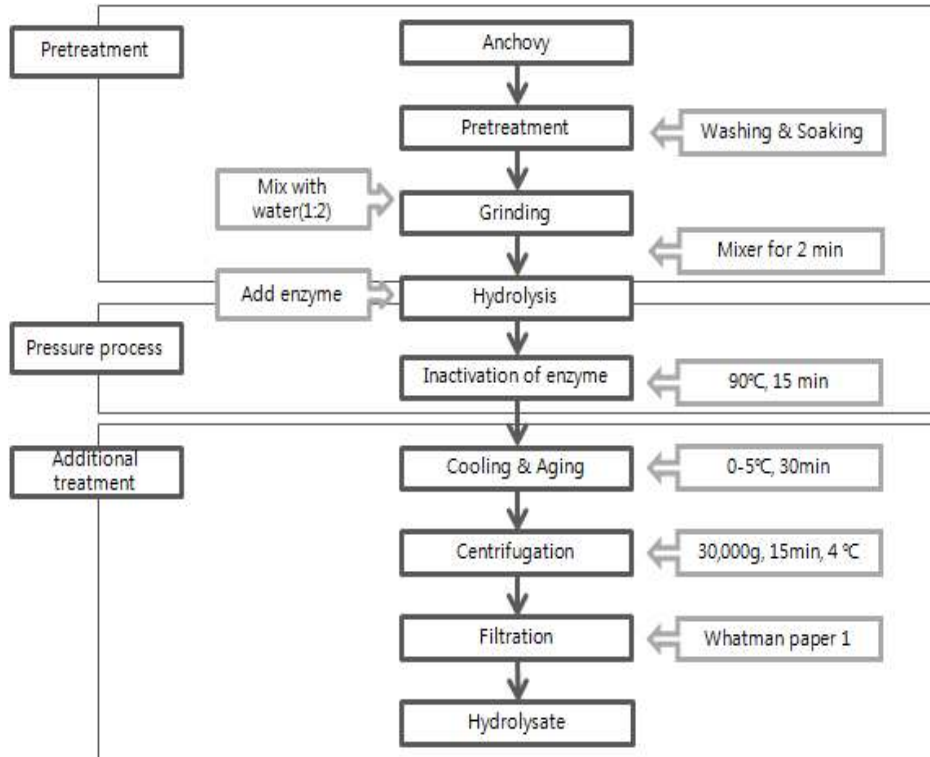


그림43. Flow chart of anchovy hydrolysate production.

○Experimental Design (최적가수분해 조건 설정 및 통계분석)

짠맛증진제를 개발하기 위해(최적의 가수분해조건을 설정하기 위하여) 압력(MPa), 반응 시간(h), 효소농도(E/S)를 독립변수로 설정하였으며 실험영역으로는 아래 표와 같이 code화 함.

표28. Hydrolysis variables and their coded and actual levels in the central composite rotatable design (CCD)

Variable	Symbol	Coded level of variable				
		-2	-1	0	1	2
Pressure (MPa)	X1	0	50	100	150	200
Reaction time (h)	X2	1	7	13	19	25
Enzyme concentration (%)	X3	0	0.3	0.6	0.9	1.2

독립변수들과 code를 이용하여 반응표면 실험계획을 중심합성계획에 따라 작성하였으며 총 20개의 실험을 무작위로 수행함(아래 표 참고).

표 29. Coded level combination for a three-variable central composite orthogonal and rotatable design (CCD)

Run	Code variables			Uncoded variables		
	X1	X2	X3	Pressure (MPa)	Time (h)	Enzyme concentration (%)
1	0	0	0	100	13	0.6
2	-1	1	1	50	19	0.9
3	0	0	0	100	13	0.6
4	0	0	0	100	13	0.6
5	-2	0	0	0.0	13	0.6
6	1	-1	-1	150	7	0.3
7	1	-1	1	150	7	0.9
8	2	0	0	200	13	0.6
9	1	1	1	150	19	0.9
10	-1	-1	-1	50	7	0.3
11	1	1	-1	150	19	0.3
12	-1	-1	1	50	7	0.9
13	0	0	2	100	13	1.2
14	0	0	0	100	13	0.6
15	0	2	0	100	25	0.6
16	0	0	0	100	13	0.6
17	0	0	-2	100	13	0.0
18	0	-2	0	100	1	0.6
19	0	0	0	100	13	0.6
20	-1	1	-1	50	19	0.3

종속변수는 가수분해정도를 나타내는 가수분해도 (DH, %), 가수분해 수율을 측정 할 수 있는 Nitrogen recovery (NR, %), 잔맛증진물질이 있다고 알려진 1355 Da이하의 분자량의 비율을 나타내는 Ratio of molecular weight below 1355 Da at hydrolysate (RMW, %)로 함. 모든 실험 결과는 Minitab software (Version 16, Minitab Inc., Pennsylvania, USA)을 통해 통계분석 하였으며, 3차원 표면도와 등고선도를 그려 독립변수간의 상관성을 검토함.

○Analysis methods

- Degree of hydrolysis

가수분해도(degree of hydrolysis: DH)는 2,3,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) method를 이용하여 측정함(Adler-Nissen., 1979). Sample 10μL를 1% (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS) 2mL에 넣은 후, 그 혼합물 0.125 mL를 0.05% TNBS solution 1 mL와 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 8.2) 1 mL가 섞여있는 tube에 넣고 50°C 압소에서 1시간 동안 반응시킴. 반응을 중지시키기 위해 0.1 N HCl 4 mL를 넣고 30분 간 상온에서 방치한 후 spectrophotometer (GENESYS 10 UV-VIS, Thermo Scientific, Rochester, USA)로 340nm에서 흡광도를 측정함. DH는 아래 (1)과 같은 식으로 계산되

었다(Adler-Nissen., 1986; Nielsen et al., 2001). h는 가수분해물의 단백질 1g의 α-amino의 수, htot은 fish 단백질 1g의 α-amino의 수임.

(1) % DH = $h/htot \times 100$

- Nitrogen recovery

Nitrogen recovery (NR)은 가수분해의 수율을 측정 할 수 있는 nitrogen solubilization 을 표현하는 말로 아래의 식으로 계산됨(Guerard F et al, 2002). 질소량은 Kjeldahl method (AOAC, 1990)를 사용하여 계산됨.

$$NR (\%) = \frac{\text{가수분해물 상층액의 질소량}}{\text{수분해물 안의 질소량}} \times 100$$

- Determination of molecular weight

각각의 sample들은 YMC Diol-60 column (i.d. 8 mm X 500 mm, 5 μm, 6 nm, YMC, Kyoto, Japan)에 주입되었고 HPLC (LC 10A, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 측정되었다. 이동상은 20 mM Ammonium acetate buffer pH 7.0을 사용하였으며 flow rate는 0.5 mL/min, 파장은 220 nm였다.

○ Verification of model

예측된 2차 다항방정식을 이용하여 degree of hydrolysis (DH), nitrogen recovery (NR) and ratio of molecular weight below 1335 Da at hydrolysate (RMW)를 최대화 할 수 있는 조건을 찾았고 실제 실험을 통하여 예측된 값의 정확도를 검증함. 즉 예측된 반응 변수의 최적조건에서 예측되는 반응값과 같은 조건에서 실제 실험으로 얻은 반응 값을 비교함.

○ 최적조건에서 생성된 짠맛증진제의 유리아미노산, 8종의 arginyl-dipeptides 정량분석

- 유리아미노산의 정량 분석

High-performance liquid chromatography는 DIONEX Ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA)를 이용하였고 detector로는 Agilent 1260 infinity FL detector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용함. 아미노산은 Henderson J et al (2000) 방법에 의해 분석되었으며, sample은 HPLC 분석에 앞서 o-phthaldialdehyde (OPA) and 9-fluorenyl-methoxycarbonyl (FMOC)에 의해 유도체화 됨. 0.5 μL의 sample이 VDSpher 100 C18-E (4.6mm x 150mm, 3.5um/VDS optilab, Germany)에 주입되었으며 이동상으로 40 mM sodium phosphate dibasic, pH 7 (solution A)와 distilled water/acetonitrile/methanol (10:45:45 v/v%) (solution B)가 1.5 mL/min flow rate로 사용됨.

- LC-MS/MS를 이용한 8종의 arginyl-dipeptides의 정량 분석

Schindler et al. (2011)에서 짠맛증진 물질로 알려진 8종의 arginyl-dipeptides (Ala - Arg, Arg - Ala, Arg - Gly, Arg - Met, Arg - Pro, Arg - Ser, Arg - Val, Val - Arg)를 정량 분석함. Liquid chromatography로는 Agilent Technologies 1290 Infinity HPLC system (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하였고 Mass spectrometer로는 6495 Triple Quad Mass Spectrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용함. Sample 5 μL이 Acquity UPLC® BEH Amide column (100 mm x 2.0 mm, 1.7 μm particle size)에 주입되었고 이동상으로는 5 mM ammonium acetate in water (solution A)와 5 mM ammonium acetate in acetonitrile:DW (95:5) (solution B)가 0.3 mL/min flow rate로 사용됨.

다) 실험 결과 및 고찰

○반응표면 분석법에 의한 가수분해 조건의 최적화

멸치 가수분해를 최적화하기 위해 행한 반응표면분석법의 중심합성설계와 각각의 조건에서 얻은 종속변수 값을 아래 표에 제시함.

표30. The central composite Experimental design and the responses of the dependent variables to the hydrolysis conditions

Run	Independent variables			Response variables		
	X1 (MPa)	X2 (h)	X3 (%)	Y1 (%)	Y2 (%)	Y3 (%)
1	100	13	0.6	64.94	91.90	71.3090
2	50	19	0.9	60.10	91.86	75.0019
3	100	13	0.6	62.55	91.28	73.1695
4	100	13	0.6	60.32	91.19	74.1484
5	0	13	0.6	54.28	90.61	66.4039
6	150	7	0.3	54.75	90.73	67.1382
7	150	7	0.9	57.35	90.64	69.4884
8	200	13	0.6	64.67	92.53	72.6284
9	150	19	0.9	63.57	92.46	77.7932
10	50	7	0.3	51.32	88.27	66.0302
11	150	19	0.3	64.45	92.31	77.8049
12	50	7	0.9	54.60	89.20	67.7737
13	100	13	1.2	60.72	91.20	74.3280
14	100	13	0.6	60.05	91.27	74.4923
15	100	25	0.6	62.18	91.51	76.9151
16	100	13	0.6	60.33	90.95	70.5454
17	100	13	-0.0	56.45	89.53	70.6083
18	100	1	0.6	30.33	83.20	48.3250
19	100	13	0.6	61.00	92.43	75.0991
20	50	19	0.3	59.87	89.88	76.1701

1)X1: Pressure (MPa); X2: Time (min); X3: Concentration of Enzyme (%)

2)Y1: Degree of hydrolysis (DH); Y2: Nitrogen recovery (NR); Y3; Ratio of molecular weight below 1355 Da at hydrolysate (RMW)

또한 이를 통해 나온 반응모형식은 다음 표와 같음.

표31. Response surface model for hydrolysis conditions of protein from anchovy

Response	Quadratic polynomial model	R ²
Y ₁	$= 61.8570+2.1881X_1+5.8544X_2+0.8606X_3$ $-0.3515X_1^2-3.6565X_2^2-0.5740X_3^2+0.2338X_1X_2$ $-0.2238X_1X_3-0.8163X_2X_3$	0.9024
Y ₂	$= 91.5937+0.6730X_1+1.5187X_2+0.3958X_3$ $+0.0589X_1^2-0.9948X_2^2-0.2418X_3^2-0.1096X_1X_2$ $-0.3570X_1X_3+0.1600X_2X_3$	0.9017
Y ₃	$= 73.6213+1.2311X_1+5.8450X_2+0.6471X_3$ $-0.6558X_1^2-2.3798X_2^2+0.0822X_3^2+0.2004X_1X_2$ $+0.2204X_1X_3-0.6592X_2X_3$	0.9028

1)Y1: Degree of hydrolysis (%), Y2: Nitrogen recovery (%), Y3: Ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate (%)

반응모형식의 R² 값은 Y1 (Degree of hydrolysis), Y2 (Nitrogen recovery), Y3 (Ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate)의 경우 R²이 각각 0.9024, 0.9017, 0.9028로 모델식이 적합함을 확인 할 수 있음.

아래 3 가지 그림은 종속변수 DH(%), NR(%), MWD(%)에 대한 각각의 contour plots임. Y1 (Degree of hydrolysis)의 경우, 회귀계수 중 반응시간이 5.8544로 가장 큰 값을 보였는데 이것은 독립변수 중 반응시간이 가수분해도에 가장 크게 영향을 미치는 것을 나타냄. 마찬가지로 Y2 (Nitrogen recovery), Y3 (Ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate)에서 각각 1.5187, 5.8450으로 반응시간의 영향이 가장 큰 것을 확인 할 수 있음.

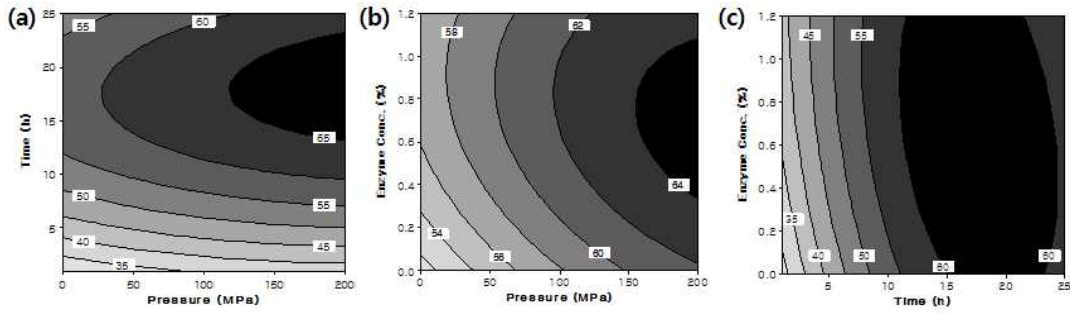


그림44. Contour plots of combined effects of independent variables on the degree of hydrolysis (DH) of anchovy hydrolysate: (a) pressure and time; (b) pressure and enzyme conc.; (c) time and enzyme conc.. The other hydrolysis parameters were set at their center value, i.e., pressure 100 MPa, time 13 h, enzyme conc. 0.6%

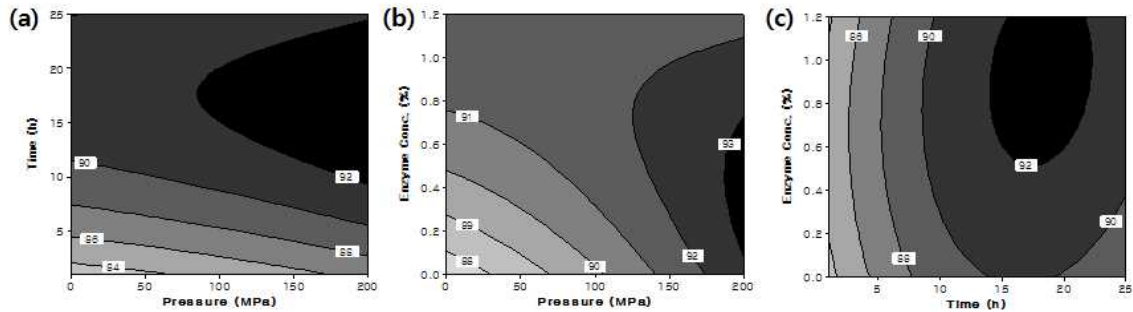


그림45. Contour plots of combined effects of independent variables on the Nitrogen recovery (NR) of anchovy hydrolysate: (a) pressure and time; (b) pressure and enzyme conc.; (c) time and enzyme conc.. The other hydrolysis parameters were set at their center value, i.e., pressure 100 MPa, time 13 h, enzyme conc. 0.6%

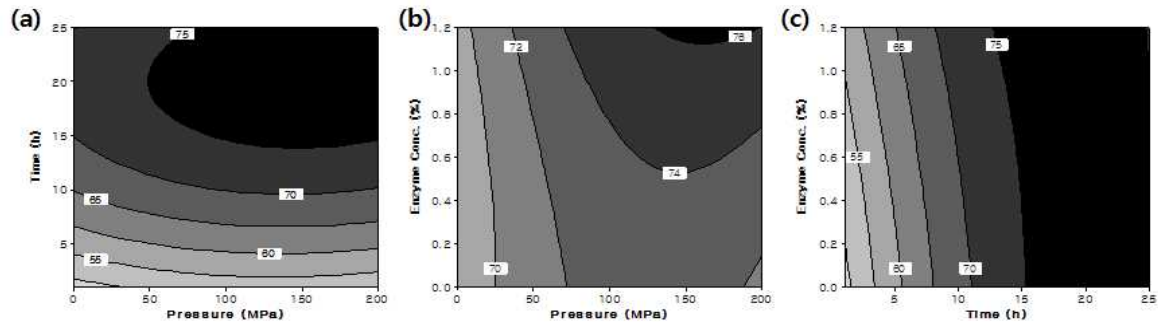


그림46. Contour plots of combined effects of independent variables on the ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate (RMW) of anchovy hydrolysate: (a) pressure and time; (b) pressure and enzyme conc.; (c) time and enzyme conc.. The other hydrolysis parameters were set at their center value, i.e., pressure 100 MPa, time 13 h, enzyme conc. 0.6%

반응표면분석에 의해 나타난 가수분해 최적조건(아래 표 참고)은 Y1의 경우, 압력 (MPa) = 200 MPa, 반응시간 (h) = 18.45 h, 기질대비 효소농도 (%) = 0.51% 이었고 Y2의 경우, 압력 (MPa) = 200 MPa, 반응시간 (h) = 16.76 h, 기질대비 효소농도 (%) = 0.46% 이었음. 또한 Y3의 경우, 압력 (MPa) = 171.72 MPa, 반응시간 (h) = 19.08 h, 기질대비 효소농도 (%) = 1.20% 이었음.

표32. Optimal conditions for protein hydrolysis from anchovy

Dependent variables	Critical values of independent variables			Predicted value	Stationary point
	X ₁	X ₂	X ₃		
Y ₁	200	18.45	0.51	67.60	Maximum
Y ₂	200	16.76	0.46	93.65	Maximum
Y ₃	171.72	19.08	1.20	78.73	Maximum

1)X1: Pressure (MPa); X2: Time (min); X3: Concentration of Enzyme (%)

2)Y1: Degree of hydrolysis (%), Y2: Nitrogen recovery (%), Y3: Ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate (%)

세 가지 종속변수를 모두 충족시킬 수 있는 최적 조건을 찾기 위하여, multiple response optimization이 사용되었고 이것은 minitab statistical software에 의해 계산되었음. 그 결과로 아래 그림과 같은 superimposed contour plots를 그릴 수 있었고 이때 기질 대비 효소농도는 0.6%로 고정시켰으며 나머지 두 변수(압력, 반응시간)에 의해 그려졌음.

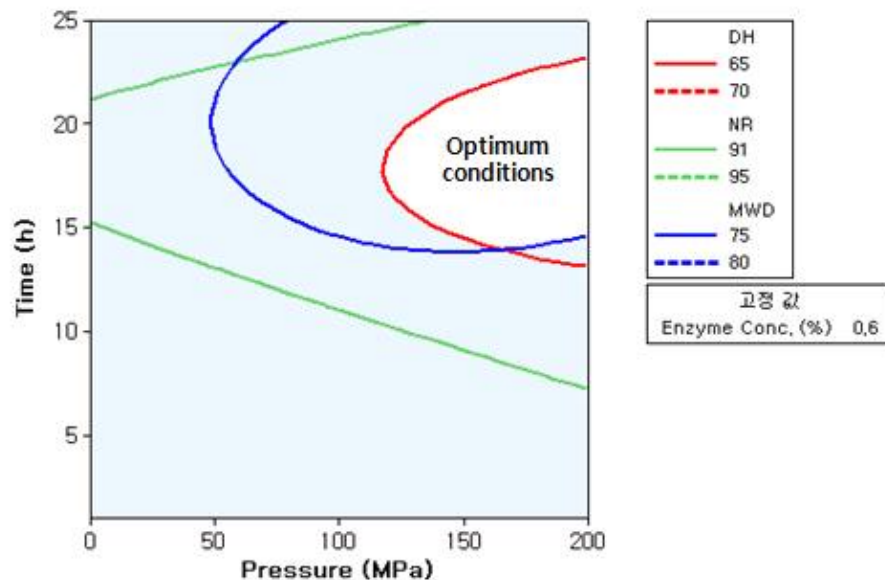


그림47. Superimposed contour plots showing the shaded overlapping area for which DH ≥ 65 %, NR ≥ 91%, MWD ≥ 75%

위 그림에서 보이는 것처럼, DH의 값이 65% 이상, NR의 값이 91% 이상, RMW의 값이

75%이상 되는 조건을 표시하였으며, 이러한 조건을 충족시키는 예측된 가수분해 최적 조건은 압력은 115-200 MPa, 반응 시간은 14-23 h였음.

○모델 검증

예측된 모델을 적합성을 검증하기 위하여 superimposed contour plots를 통해 구한 최적 condition 범위에 있는 최적 조건인 압력 150 MPa, 반응시간 16 h, 효소농도 0.6%(w/w)에서 실험을 실시함.

실험을 통하여 나온 DH(%), NR(%), RMW(%)의 값과 모델식을 통해 예측된 각각의 값을 아래 표에 나타냄. 예측된 값과 실제 측정값 사이의 차이는 DH의 경우 1.39-2.8%, NR의 경우 0.99-1.38%, RMW의 경우 0.16-1.97%로 값의 차이가 크지 않으므로 모델식이 가수분해공정상에서 적합한 것을 확인해 볼 수 있음.

표33. Predicted and experimental values of response variables at given condition within the range of optimum hydrolysis conditions

Response variables	Predicted values	Experimental values	
		Mean	Range
Y ₁	65.32	63.13	62.52-63.93
Y ₂	91.08	89.80	89.69-90.09
Y ₃	75.95	74.95	73.98-75.79

1)Y₁: Degree of hydrolysis (%), Y₂: Nitrogen recovery (%), Y₃: Ratio of molecular weight below 1335 Da in hydrolysate (%)

2)Mean value of five experiments.

○최적 조건에서 생성된 짠맛증진제의 free amino acid 및 8종의 arginyl-dipeptide 분석
최적 가수분해조건에서 가수분해 된 가수분해물의 유리아미노산을 측정한 결과는 아래 그림과 같음. 시중에 파는 상업적인 fish sauce와 soy sauces의 유리아미노산 함량을 측정한 Youn HS et al (2015)의 논문과 비교해보면, 짠맛을 증진한다고 알려진 glutamic acid, arginine, lysine의 함량이 각각 3150.18±183.98, 2038.39±37.51, 2634.80±160.31 mg/L로 시중제품들에 비해 2~10배 정도 많이 생성된 것을 확인 해 볼 수 있음.

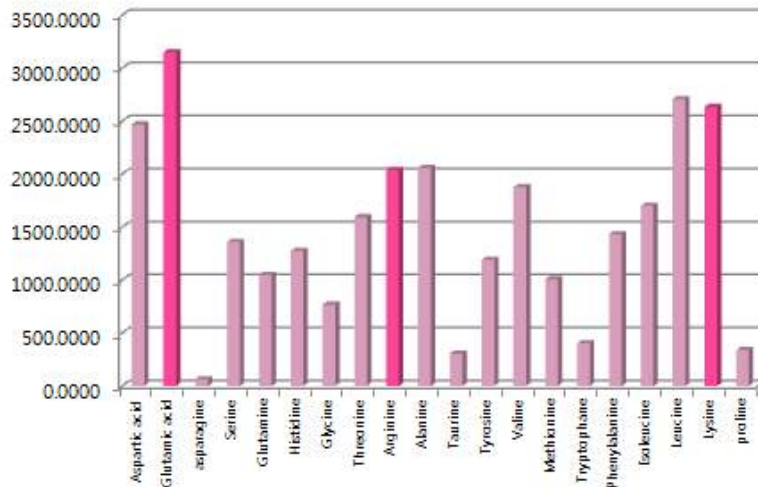


그림48. Content of free amino acid in hydrolysate at optimum condition

짠맛증진제로 알려진 8종의 arginyl-dipeptide (Schindler A et al, 2011)를 최적조건에서 가수분해된 가수분해물에서 그 양을 정량한 결과를 아래 그래프에 나타냄. Arginyl-proline의 함량이 184.6 ng/mL로 가장 많이 함유하고 있는 것을 확인 해 볼 수 있었고 Arg-Gly, Arg-ser, Ala-Arg/Arg-Ala 순으로 각각 55.6, 53.9, 50.5 ng/mL이 측정됨. 이와는 대조적으로 나머지 Arginyl-dipeptide의 경우 2 mg/L로 거의 생성되지 않을 것을 확인 할 수 있음.

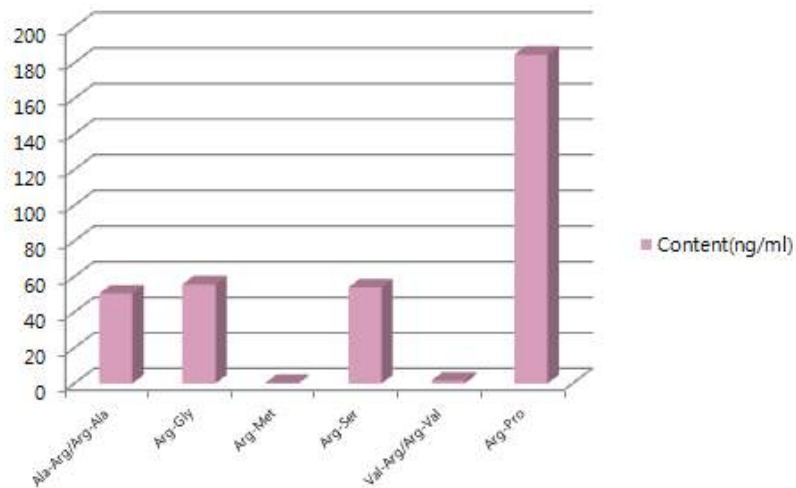


그림49. Content of arginyl-dipeptides in hydrolysate at optimum condition

○이러한 결과들을 통해 가수분해물 안에 짠맛증진효과가 있는 arginyl-dipeptide와 free-amino acid가 존재하는 것을 확인 할 수 있었고 따라서 이 가수분해물은 짠맛증진효과가 있을 것이라 사료됨.

라) 결론

짠맛증진제를 생산하기 위하여 DH(%), NR(%), RMW(%)를 이용하여 가수분해 최적조건을 찾으려 하였고 등고선도를 통해 압력 150 MPa, 반응시간 15 h, 기질대비 효소농도 0.6% (w/w)이라는 조건을 예측 할 수 있음. 예측된 최적조건의 적합성을 확인하기 위하여 증명실험을 실시하였고 예측한 종속변수와 측정된 종속변수의 값을 비교해 본 결과 예측된 최적조건이 적합함을 확인 할 수 있음.

○또한 최적조건에서 가수분해된 가수분해물의 유리아미노산 함량과 arginyl-dipeptides 함량을 분석해 본 결과, 유리아미노산의 경우 시중제품들보다 짠맛 증진효과가 있다고 알려진 유리아미노산의 함량이 높아 짠맛증진효과가 있을 것이라 기대해 볼 수 있었으며 뿐만 아니라 짠맛증진 효과가 있다고 알려진 arginly-dipeptide도 존재함에 따라 짠맛증진제로서의 가능성을 확인해 볼 수 있음. 따라서 이 가수분해물을 APH라 명명하고 짠맛증진제로 사용하려 함.

6) 소재 생산을 위한 후 공정 개발

가) 서론

현존하는 pilot 규모 생산 시설에서 실시한 APH 시험 생산 결과를 제시하여, 개선 방향 및 방법과 상업적 규모 생산 시 고려 사항을 제시하고, APH를 소재로 제품화하기 위하여 pilot 규모의 한외여과 및 나노여과 시스템을 이용한 분리·정제 운전조건을 시험하고자 함.

나) 실험방법

○한외 여과 시스템 (UF)

한외여과시스템은 10 kDa Lab U/F system과 5 kDa Proflux M60 Tangential flow filtration system (Millipore, USA)을 실험에 사용함.

○나노 여과 시스템 (NF)

나노여과시스템(Prolab system, Millipore, USA)을 실험에 사용하였으며, 사용된 필터는 Helicon-RO4 (Millipore, USA)로 flow rates은 4 L/min이었으며 feed side pressure drop은 4psi로 진행함.

○GPC 분석

한외여과 및 나노여과 시스템을 통해 분리된 분획물들의 분자량 분포를 알아봄으로써, 짠맛 증진 peptides들의 존재 가능성이 높은 분획물의 양을 정량 분석하기 위하여 GPC 분석을 수행함. GPC column(YMC Pack Diol-60, 300 mm X 20 mmI.D. S-5 um, 6 nm)을 1% acetic acid로 평형화시킨 후, 각 시료 18 mg/mL의 시료 용액 1 mL을 유출속도 5 mL/min으로 용리시켜 246 nm에서 흡광도로 확인함.

○유리아미노산 분석

High-performance liquid chromatography는 DIONEX Ultimate 3000 (Thremo Dionex, USA)를 이용하였고 detector로는 Agilent 1260 infinity FL detector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용함. 아미노산은 Henderson J et al (2000) 방법에 의해 분석되었으며, sample은 HPLC 분석에 앞서 o-phthaldialdehyde (OPA) and 9-fluorenyl -methoxycarbonyl (FMOC)에 의해 유도체화 됨. 0.5 µL의 sample이 VDSpher 100 C18-E (4.6mm x 150mm, 3.5um/VDS optilab, Germany)에 주입되었으며 이동상으로 40 mM sodium phosphate dibasic, pH 7 (solution A)와 distilled

water/acetonitrile/methanol (10:45:45 v/v%) (solution B)가 1.5 mL/min flow rate로 사용됨.

다) 결과 및 고찰

○ 한외 여과 시스템 (UF) / 나노 여과 시스템 (NF)

한외여과 시스템을 이용하여 분획한 결과, 한외여과 시스템(MWCO 10 kDa)을 통하여 분리 및 정제하였는데, 10 kDa retentate 시료와 permeate 시료의 비율은 각각 12.23%와 87.77%였고 5 kDa retentate 시료와 permeate 시료의 비율은 각각 11.36%와 88.63%로 permeate 시료가 retentate 시료보다 4 배 이상의 비율을 차지함.

5 kDa permeate 시료를 나노여과 시스템을 이용하여 분획한 결과 250 Da retentate 시료와 permeate 시료의 비율은 각각 83.89%와 16.11%였음. UF 분획 때와는 달리 retentate 시료의 비율이 permeate 시료의 비율보다 4 배 이상 높았으며, 총 분획물 중에 가장 높은 비율 및 수율을 차지함.

○GPC 분석

멸치 단백질을 고압효소 가수분해 시킨 후, 한외여과(10 kDa, 5 kDa) 그리고 나노여과 (250Da) 시스템을 사용하여 APHU-1(10 kDa 한외여과막을 통과하지 못한 획분), APHU-2(10 kDa 한외여과막에는 통과하고 5 kDa인 막에는 통과하지 못한 획분), APHN-1(5 kDa 한외여과막에는 통과하고 250 Da 나노여과막에는 통과하지 못한 획분), APHN-2(250 Da 나노여과막을 통과한 획분) 및 APH(분획하지 않은 가수분해물)를 만들어 분석용 컬럼으로 분자량 분포를 살펴본 결과는 아래 표와 같음.

표34. GPC peak at each filtration step

GPC peak	APH (%)	APHU-1 (%)	APHU-2 (%)	APHN-1 (%)	APHN-2 (%)
I	1766.8	9683.0	1686.3	2535.7	4.0
II	14516.2	14961.2	15144.0	20306.1	4370.2
III	14092.7	14735.7	12692.3	19093.2	8020.9
Total area	30375.6	39379.9	29522.6	41935.0	12395.05

* Area값은 그림 1-13의 가로축과 세로축 값(min*mAu)을 곱하여 계산하였다.

주요 peak 3 개(Peak I ; 1,300 Da이상, peak II ; 250 Da - 1,300 Da, 그리고 peak III ; 250 Da이하)가 나타남. APHN-1에서 짙맛증진 물질이 있다고 알려진 1,300 Da 이하의 분자량의 분포가 가장 높은 것을 확인해 볼 수 있었으며, APHN-2에서는 가장 적은 것으로 확인되었다. 따라서 짙맛증진소재를 생산 시 APHN-1을 사용하는 것이 좋을 것이라 사료됨.

또한 이러한 결과를 통해 가수분해물 분획물들이 한외여과막 혹은 나노여과막의 한계분자량에 의해서 분획되었다 하더라도 매우 뚜렷하게 분획된 것은 아니지만, 한계분자량 크기가 줄어들수록 가수분해물의 큰 분자량 피크는 감소하거나 제거된다는 것을 알 수 있음.

라) 유리아미노산 분석

멸치 단백질을 고압효소 가수분해시킨 뒤, 분자량별로 분리한 분획물에 대한 각각의 유리아미노산 조성에 대한 결과는 아래 표에 나타냄.

표35. Content of free amino acid at each filtration step
(mg/동결건조된 kg)

	APH	UF		NF	
		APHU-1	APHU-2	APHN-1	APHN-2
Asp	2,910	29,874	22,802	39,890	3,921
Glu	54,765	39,170	39,505	83,311	3,406
Asn	806	626	538.7	205	495
Ser	1,007	16,675	10,604	311	29,002
Gln	1,437	14,973	14,777	7,412	9,868
His	20,003	17,403	18,179	20,973	7,837
Gly	17,640	11,751	11,847	709	34,819
Thr	28,727	22,460	23,407	10,055	21,729
Arg	1,432	33,963	17,701	36,624	11,489
Ala	44,043	33,353	35,620	6,495	64,358
Taurine	8,024	6,642	7,809	1,010	15,317
Gaba	4,497	-	-	-	-
Tyr	7,392	17,193	51,743	5,771	8,208
Val	53,794	28,536	29,778	26,188	18,870
Met	22,311	19,384	19,503	8,625	24,513
Trp	3,659	3,246	3,582	2,015	3,454
Phe	25,187	25,183	28,782	12,141	28,747
Ile	32,177	28,703	27,883	35,103	14,280
Leu	51,929	50,500	49,886	54,282	32,402
Lys	16,246	48,333	50,688	100,376	12,209
Hydroproli ne	697	493	410	680	156
Pro	7,503	7,326	8,094	2,598	10,248
Total	388,187	455,785	473,136	454,772	355,329

쓴맛을 내는 tryptophane 함량은 APHN-1 분획물에서 가장 낮게 나타났던 반면, 짠맛 증진 효과가 있다고 알려진 glutamic acid, arginine, lysine의 함량은 APHN-1 분획물에서 가장 높게 나타남. 따라서 분자량별로 분획한 가수분해물 중 APHN-1 분획물은 짠맛 증진효과 뿐만 아니라 유리아미노산 함량이 높아 그 자체의 정미성분과 상호작용하여 맛의 상승효과 또한 가져올 것으로 판단됨.

마) 결론

현존하는 pilot 규모 생산 시설에서 실시한 APH 시험 생산 후 UF/NF를 실시하여 GPC 및 유리 아미노산을 분석한 결과 짠맛 증진 효과를 나타내는 분획물(APHN-1)을 얻을 수 있었으나 소재의 가공비에 따른 효율을 고려하여 분리정제 과정을 생략하기로 결정함. 따라서 실험실 규모의 짠맛증진소재 생산 공정과 일치하는 대량 생산 공정은 설립 할 수 있음.

7) 시제품 생산 및 품질 규격 시험

가) 액상 APH

가수분해된 액상 APH를 보관한 결과, 침전물이 생기는 것을 확인 해 볼 수 있음.

액상 APH를 LC-MS를 통해 argininy-dipeptide를 정량분석 하는 과정에서 시간이 흐름에 따라 펩타이드의 양이 감소하는 현상이 나타남. 이것은 시간에 따라 침전물이 생기는 것이 펩타이드가 액상상태에서 존재할 때 aggregation이 일어나 감소하는 것이라 사료됨. 따라서 이러한 결과를 통해 펩타이드와 아미노산으로 이루어진 짠맛증진소재의 제품화를 위해서는 분말 제형으로 개발하는 것이 짠맛증진효과를 유지 할 수 있다고 판단되었고 분무건조를 통해 분말화 하고자 함.

나) APH의 분말화를 위한 Spray drying

○ 실험방법

- Spray drying

예비실험을 통하여 Aspirator, feed rate, Q-flow의 조건을 일정하게 한 후, 온도에 따른 분무 건조된 입자들의 차이를 비교하고자 분무 건조기(Mini spray dryer, b-290, Buchi, Sweden)을 이용하여, 아래 표와 같은 조건으로 실험을 진행함.

표36. Spray drying condition

	Inlet temperature(°C)	Aspirator (m3/min)	Feed rate (ml/h)	Q- flow (mm)
1	120	0.52	322	35
2	140	0.52	322	35

- 건조된 분말 성분분석

- 수율

분무건조 후의 수율은 만들어진 분말의 무게와 수분함량, 주입되는 액상의 고형물 함량과 액량을 측정하여 아래와 같이 계산하여 %로 나타냄.

$$\text{분무건조 수율} = \frac{\text{만들어진 분말의 무게} \times (100 - \text{건조된 분말의 수분함량}(\%))}{\text{입된 액상의 고형물 함량}(\%) \times \text{주입된 액량}}$$

- 염도

본 실험에서는 시료를 교반기로 잘 섞어주면서 염도계(Salt meter, YK-31SA, Lutron Electronics Co., Inc, USA)를 이용하여 측정값이 변화가 없는 시점까지 관찰하여 측정함.

- 조단백질

분무건조 후 건물의 수분함량은 AOAC 법에 따라 킬달법으로 측정하였다. 시료를 황산으로 분해한 뒤 증류할 때 발생하는 암모니아를 4% Boric Acid에 포집하여 표준산(0.1 N-HCl)으로 적정, 질소계수를 이용하여 계산하여 단백질 함량을 구함.

- 수분함량

분무건조 후 건물의 수분함량은 AOAC 법에 따라 105°C 상압 가열 건조법으로 측정함. 미리 항량을 재어둔 칭량병을 이용하여 시료 2 g 씩 담아 105°C에서 상압가열법에 의해 건조시켜서 소수점 셋째자리가 바뀌지 않을 때까지 측정함.

- 수분활성도

분무건조 한 건물의 수분활성도는 수분활성도기(AQS-31-TS Aquaspector, NAGY, Germany)를 이용하여 측정함.

- 흡습성

흡습성을 측정하기 위해 약 2 g의 샘플을 무게를 정확하게 잰 후 지름 5 cm의 aluminum pan에 담고 포화 염화나트륨 수용액을 이용하여 데시케이터에 relative humidity가 75.3%가 유지되도록 함. 무게를 잰 샘플을 5 시간동안 데시케이터에 넣어둔 후 샘플의 무게를 다시 재어 solid powder의 g 당 질량 증가로 계산하여 흡습성을 계산함. 즉 흡습성은 solid powder의 g 당 질량 증가로 계산되었고 g 수분/ g 고체로서 계산됨.

- 입자 크기

Microtac S3500 Laser Diffraction analyzer(S3500, Microtac, Korea)을 이용하여 건식 분석을 실시하였으며, Air compressor을 이용하여 분산을 진행함.

○ 실험결과 및 고찰

제조된 APH의 분말은 아래 사진과 같다.



(a)



(b)

그림50. APH powder (a) 120°C (b) 140°C

분말 시료의 이화학적 특성

- Inlet temperature가 다른 두 분말의 특성은 아래 표와 같음.

표37. Specification of APH powder

Inlet temperature(°C)	수율(%)	염도(%)	조단백질 (%)	수분함량 (%)	수분 활성도	흡습성 (%)	입자크기 (um)
120°C	74.87	9.39	72.3	7.03	0.230	0.17	8.28
140°C	73.62	9.32	71.8	7.67	0.246	0.15	8.65

- 수율, 조단백질 함량이 120°C에서 140°C에서 보다 각각 1.25%, 0.5% 높은 것을 확인 해 볼 수 있음. 염도, 수분함량, 수분활성도, 흡습성의 경우 Inlet temperature에 따른 특성 차이가 크지 않은 것을 확인 해 볼 수 있었으며 입자크기의 경우는 Aspirator, Q-flow의 조절로 조절 할 수 있을 것이라 사료됨.

○ 결론

Inlet temperature에 따른 특성 차이는 크지 않았으나 120°C에서 생성된 분말이 140°C에서 보다 수율과 조단백질 함량이 높은 것을 볼 수 있음. 따라서 120°C를 분말 생성조건으로 설정하고자 하였으며 이렇게 만들어진 분말의 경우, 낮은 수분활성도로 미생물학적 안전성을 확보 할 수 있었고 Aggregation을 막음으로써 안정성을 확보 할 수 있음.

따라서 입구 온도(inlet temperature)를 120°C로 조절하고 흡입속도(Aspirator)를 0.52 m³/min, 용액주입속도(Pump speed)는 322 ml/h, 유량(Q-flow)은 35 mm로 고정함으로써 수율이 70% 이상이 되고, 조단백질 함량이 74% 이상인 짠맛증진소재를 얻을 수 있음.

다) 시제품 품질 규격 (안)

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00
	짬맛증진제	제정일자	페이지
		개정일자	1/2

1. 적용범위

이 규격은 당사의 제품인 짬맛증진제(유기가공용 소재)의 제품검사규격에 대하여 규정한다.

2. 제품설명

짬맛증진제라 함은 열치에 물을 가한 후 압력/효소를 사용하여 가수분해하여 제조한 가수분해물을 분말화 한 제품으로, 식품에 첨가하여 짬맛을 증진시킬 수 있도록 제조된 것을 말한다.

3. 원재료명

열치 33.16%(국산), 물 66.31%, 상업적효소(Alcalase® 2.4 L:Flavourzyme™ 500 MG를 1:5(w/w)) 0.53%

4. 제품규격기준

기준	항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기
공통 기준	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	납	0.5 ppm 이하				
	카드늄	0.2 ppm 이하				
	수은	0.5 ppm 이하				
	메틸수은	1.0 ppm 이하				
자가 기준	입자크기	8 ± 1 um				
	수분활성도	0.2 ± 0.05%				
	조단백질	70% 이상				
	흡습성	0.15 ± 0.05%				
	진균	개봉시 제품 표면 및 내부에 진균오염(곰팡이 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.				
	세균수	100 이하				
	대장균군	음성				
	병원성대장균	음성				
	E.Coli 0157	음성				
포장(실링)상태	뚜껑이 불량, 누설, 파손과 포장상태에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 개봉시 진공상태 유지를 확인할 수 있어야 함.					
표시 기준	내용량	표시중량 100% 이상				
	유통기한	제조일로부터 24개월로 년월일이 뚜렷하게 인식가능해야 함.				

※ 이물은 벌레, 포제조각, 공구조각, 체모, 복장의 일부 등.

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간

- 상온보관 시 24개월

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

(나) 제품 - 염도 낮은 유기농 간장

1) 개발 목적

가) 나트륨의 과잉 섭취는 고혈압, 심혈관계 질환, 신장 질환등의 원인으로 밝혀지면서 세계 보건 기구(World Health Organization, WHO)에서는 나트륨 섭취를 줄이기 위한 노력으로 나트륨 섭취량을 30% 줄여보라고 각국에 건강 슬로건으로 제시하고 있으며 국제적으로 나트륨을 저감화 하는 추세임.

나) 우리나라의 나트륨 섭취량은 '11년 4,831 mg에서 '13년 4,027mg으로 17%나 감소하였으나 여전히 WHO 권고량, 우리나라 1일 섭취 권고량 2,000 mg의 2배를 웃도는 수준임.

다) 우리나라의 나트륨 섭취가 높은 것은 한식의 절임, 발효 식품문화, 외식문화에 길들여진 입맛과 최근의 외식 증가 추세 등의 원인이 있음.

라) '12년부터 식품의약품 안전처는 '나트륨 저감화 정책'을 소비자, 급식, 외식, 가공식품 전방위적 분야에서 참여 유도를 확대하며 정책을 강화하여 나트륨의 함량을 낮추는 추세임.

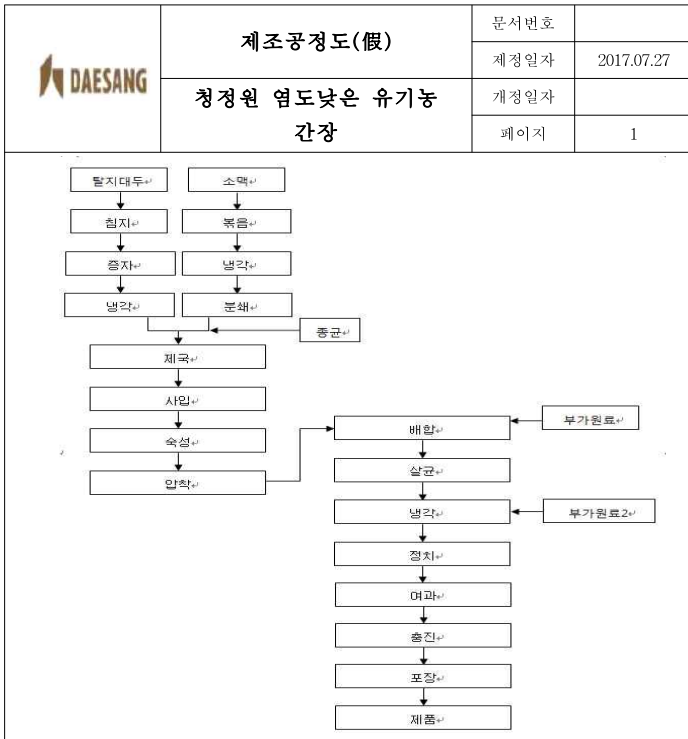
마) 짠맛 증진제를 적용함으로써 일반적인 유기농 간장 대비 짠맛의 풍미와 정도는 기존 제품과 유사하나 염도의 함량은 기존대비 20% 저감화 하여 기존 제품 대비 차별화하여 제품 경쟁력을 갖추고자 함.

바) 기존 유기농 간장 대비 염도를 20% 낮춘 제품.


2) 원재료 배합비

순번	원재료명	배합비(%)	유기농함량(%)	비고
1	유기농 생장	60.00	85.34	유기농 탈지대두, 천일염, 유기농 소맥, 정제수
2	유기농 과당	9.07	10.0	
3	국내산 천일염		-	
4	효모분말		-	
5	영양제		-	
6	주정		-	
7	염미강화제		-	
8	정제수		-	
합계		100.00	95.34	

3) 제조공정도



4) QC공정도

	QC공정도		작성	합의	승인	문서이력			
			담당	생산	팀장	문서번호			
	(假) 염도낮은 유기농 간장					페이지			
			대상	순창장류	대상	작성일자	17.07.26		
					개정일자				
					개정번호	0			
공정 관리 및 검사									
순서	공정명	관리	검사	항목	기준	주기	기록	담당	이상 조치
1	원료저장	V	V	환기		2회/주	온도관리	작업자	
				냉장온도	5±5℃		리스트	QA 담당자	
				원재료 투입량	원재료규격서	매입고시	수입검사		
				입고기준서참조			일지		
2	계량 및 혼합	V		원부재료 투입량	배합비	1회 /batch	작업일지	작업자	
				투입온도					
3	살균	V		온도	80℃이상	1회/batch	작업일지	작업자	
				시간					
4	냉각	V		온도	60℃이하	1회 /batch	작업일지	작업자	
5	정치	V						작업자	
6	여과	V				1회 /batch	작업일지	작업자	
7	충진		V	완제품 검사	완제품 규격서	1회 /batch	분석업무일지	분석원	

5) 완제품검사규격서

	완제품검사규격(안)	문서번호	
		제정일자	2017.07.26
	청정원 유기농 양조간장	개정일자	
		페이지	1/1

1. 적용범위
이 규격은 당사의 제품인 유기농 햇살담은 양조간장에 대하여 규정한다.

2. 제품규격기준

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기
성상 및 관능	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.	체크 검사	N=	식품공전 시험 방법에 따른다	1회 /Lot
일반이물	불검출				
염도(%)	12.5±1.0				
TN(%)	0.8이상				
알코올 (%)	3.0 이하				
Brix(%)	30.0이상				
순액기스 (%)	21.0이상				
비색	7±3				
pH	4.5±0.3				
일발세균 수 (CFU/ml)	1X10 ⁸ 이하				1회/월
효모,곰팡이 (CFU/ml)	불검출				
타르색소	불검출				
보존료	불검출				

3. 포장 및 포장단위
- 품목제조 보고서에 따른다.
- 식품위생법 표시사항(제품명,내용량,업소명 및 소재지,유통기한,영업허가번호,원료명,포장재질 등)이 올바르게 표시되어져 있어야 한다.

4. 보관 및 보존기간
- 24개월.
- 품목제조 보고서에 따른다.

6) 원재료 규격서

○유기농 양조생장

	완제품검사규격(안)	문서번호	
		제정일자	
	유기농 양조생장	개정일자	
		페이지	1/1

1. 적용범위
이 규격은 당사의 반제품인 유기농 양조생장에 대하여 규정한다.

2. 제품설명
유기농 탈지대두와 유기농 소맥으로 제국한 후 식염수를 붓고 40일간 발효, 숙성시켜, 압착한 여액.

3. 검사기준

항 목	규격	검사 주기
성 상	고유의 색택과 향미를 가지며 이미,이취가 없어야 함.	1회/Lot
일반이물	불검출	
TN(%)	1.3이상	
AN(mg%)	700±100	
염도(%)	17.3±0.5	
pH	5.0 ± 0.3	

○ 유기농 소맥

원부재료 검사규격	유기농 소맥	문서번호 ISS - Ⅱ - 1305 개정번호 2010. 03. 06(2)
--------------	--------	---

1. 적용범위
이 규격은 당지에서 사용되는 유기농 소맥의 수입검사에 대하여 적용한다.

2. 검사기준

항목	규격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	비고
성상	한도건본에 적합	샘플링 검사	N=1	육안검사	1회/LOT
수분(%)	12 이하			시험표준 (DSS-P-6008)에 따른다.	
TN(%)	1.6 이상			이물 시험법	
이물	불요분			곡속경이물시험법	
곡속경이물 (mg/kg)	10 이하, 2mm 이상 불요분				
구비서류	유기농 인증관련 구비서류를 갖추어야 한다. - 구별유종명명서 - 수입신고명세서 - 유기농인증서 - 기타 LOT 추적이, 가능한 서류				

3. 로트의 크기

1 회 납품되는 전량을 1 검사 로트로 한다.

4. 시료채취 방법 및 크기

정밀히계 3~5 포대에서 100g 정도씩 취하여 혼합 후 시료로 한다.

5. 로트의 합부 판정기준

$N=1, C=0$ 인 경우에 합격으로 한다.

6. 검사 주기

검사 주기는 매 납품 로트마다 실시한다. 단 비교란에 정함이 있으면 비교란에 따른다.

구 분	작 성	검 도	검 도	승 인
적 록	품질보증담당	생산 1 담당	지원담당	공 정 장
자필서명				
일 자	2010/ /	2010/ /	2010/ /	2010/ /

양식 A3101-I(04.10) 0001

1/1

○ 유기농 탈지대두

원부재료 검사규격	유기농 탈지대두	문서번호 ISS - Ⅱ - 1304 개정번호 2010. 03. 06(2)
--------------	----------	---

1. 적용범위
이 규격은 당지에서 사용되는 유기농 탈지대두의 수입검사에 대하여 적용한다.

2. 검사기준

항목	규격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	비고
성 상	한도건본에 적합	샘플링 검사	N=1	육안검사	1회/LOT
수 분(%)	12 이하			시험표준 (DSS-P-6007) 따른다.	
TN(%)	6.8 이상			이물 시험법	
조지방(%)	1.3 이하			곡속경이물시험법	
이물	불요분				
곡속경이물 (mg/kg)	10 이하, 2mm 이상 불요분				
구비서류	유기농 인증관련 구비서류를 갖추어야 한다. - 구별유종명명서 - 수입신고명세서 - 유기농인증서 - 기타 LOT 추적이, 가능한 서류				

3. 로트의 크기

1 회 납품되는 전량을 1 검사 로트로 한다.

4. 시료채취 방법 및 크기

정밀히계 3~5 포대에서 100g 정도씩 취하여 혼합 후 시료로 한다.

5. 로트의 합부 판정기준

$N=1, C=0$ 인 경우에 합격으로 한다.

6. 검사 주기

검사 주기는 매 납품 로트마다 실시한다. 단 비교란에 정함이 있으면 비교란에 따른다.

구 분	작 성	검 도	검 도	승 인
적 록	품질보증담당	생산 1 담당	지원담당	공 정 장
자필서명				
일 자	2010/ /	2010/ /	2010/ /	2010/ /

양식 A3101-I(04.10) 0001

1/1

(다) 제품안정성 - 짠맛증진소제와 유기농 양조간장(위탁)

협동기관과 주관기관에서 제공한 짠맛증진소제와 이를 적용한 유기농 양조간장의 화학적, 물리적 위해요소 및 저장안정성을 평가하였고 유기농 양조간장에 대한 공정분석을 통한 HACCP관리계획을 제안함, 짠맛증진소제에 대한 추가적으로 분말형 짠맛증진소제에 대하여 추가실험을 실시하여 봄.

1) 짠맛증진소제

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

- 현재 유기인증소제에 대한 중금속 규격 기준은 설정되어 있지 않으나 식품의약품안전처 식품공전상 아래의 내용을 참고하여 원료 멸치의 기준을 적용하여 판단하고자 하였음

21) 가공식품에 대한 중금속, 곰팡이독소, 패독소 등 오염물질 기준은 원료 식품의 기준 범위 내에서 적용 할 수 있다. 즉, 원료의 함량에 따라 원료 농·입·축·수산물의 기준을 적용하고, 건조 등의 과정으로 인하여 수분 함량이 변화된 경우는 수분 함량을 고려하여 적용한다.

- 우리나라 해양어류(멸치)의 중금속 잔류 허용 기준으로 납은 0.5 µg/g 이하, 카드뮴의 경우 0.2 µg/g 이하로 설정되어 있으며
- 또한, Codex에서는 납의 허용기준으로 어류에 대해서만 0.3 µg/g으로 설정하고 있으며 캐나다의 경우 어류단백 0.5 µg/g, 해산 및 민물 어패류를 10 µg/g, 덴마크는 어류0.3 µg/g, 네덜란드 어류 0.5 µg/g 등이며, EU의 경우는 자연함량이 높은 9종(0.4 µg/g)을 제외하고 0.2 µg/g로 정하고 있음.
- 카드뮴 잔류허용기준을 조사해보면 호주의 경우 0.2 µg/g, 핀란드는 0.1 µg/g, 덴마크는 0.05 µg/g, 네덜란드 0.05 µg/g, 홍콩 2.0 µg/g 등이며, EU의 경우는 자연 함량이 높은 11종(0.1 µg/g)에 제외하고 0.05 µg/g로 정하고 있었음.
- 바이오제닉 아민을 다량 섭취 시 체내에서 직·간접적으로 위해요소로 보고되어 지고 있으며 많은 식품에 소량 함유되어 있고 부패된 어류, 육류등의 식품에서 많이 발견됨(Kim et al., 2008)
- 또한 미생물학적 및 저장 안정성을 검증하기 위하여 소재의 총 균수 및 수분함량 지표로 선정함
- 결론적으로,
 - 화학적/물리적 위해요소: 중금속, 바이오제닉아민, 이물
 - 미생물학적 안전성 및 저장안정성에 대한 품질 지표: 수분함량, 수분활성도, 총균수

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

- 소재의 중금속 함량 분석 소재의 중금속 분석은 식품공전의 방법에 따라 습식회화법을 이용하여 전처리를 수행하였으며 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 아연(Zn), 크롬(Cr), 망간(Mn) 및 니켈(Ni)은 Inductively Coupled Plasma Spectrometer(HITACHI, P-401, Tokyo, Japan)로, 납(Pb)은 ICP-MS Perkin-Elmer, Elan 6000, Wellesley, MA, USA)로 그 함량을 측정하여 생물중량으로 나타내었다. 측정 결과는 아래 표와 같았음

표 38. 짠맛증진소재의 중금속 함량

Sample	Heavy metals (µg/g)						
	<i>Cd</i>	<i>Cr</i>	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Ni</i>	<i>Pb</i>	<i>Ze</i>
HAP*	<0.000	0.006	0.113	0.055	0.017	0.000	0.808

*hydrolysis of animal protein

- 본 소재의 분석결과 우리나라 수산물 중금속 기준규격에 제시되어 있는 납, 카드뮴은 거의 검출되지 않았고(0.000 µg/g 이하) 다른 중금속에 대해서도 미비하게 검출되어 위해 안전성을 확인할 수 있었음
- 선정된 지표에 따라 멸치소재의 안전성 평가를 위하여 바이오제닉 아민 함량 분석을 실시하였으며 분석은 변 등(2012, J. of Food Science)의 방법을 약간 수정하여 HPLC Alliance e2695 system (Waters Corporation, Milford, MA, USA)를 이용하여 측정하였고 표준물질은 모두 Sigma (USA)사에서 구입하여 사용하였음. HPLC 분석조건을 아래 표에 나타냄

표 38. HPLC 분석조건

Column	YMC Triart C18 (4.6 X 250mm, 5µm, 12nm)
Flow rate	1.0 ml/min
Absorbance	UV/Vis detector- 254 nm
Injection volume	20 µl
Run time	25 min
Moblie phase	A: 0.1 M ammonium acetate, B: acetonitrile
Gradient condition	0.1 M ammonium acetate (0-20min), to 50% acetonitrile in water (20min-25min)

- 본 분석 조건에서 표준물질 5종 모두 측정되었으며 짠맛증진소재의 바이오제닉 아민을 분석한 결과 바이오제닉 아민이 검출되지 않았음(아래 그림 참고).
- 식품공전 상 수산물의 바이오제닉 아민 기준은 histamine으로써 냉동어류, 염장어류, 통조림, 건조/절단 등 단순 처리한 것(어육, 필렛, 건멸치 등)에 대하여 200 µg/g 이하 (고등어, 다랑어류, 연어, 꽂치, 청어, 멸치, 삼치, 정어리, 몽치다래, 물치다래에 한함)로 규정하고 있으며,
- 또한, 미국, EU, 호주 및 뉴질랜드 등 일부 국가에서 어육 가공품에도 histamine 검출 기준치를 설정하여 생성을 억제하려는 노력을 하고 있으며, 국제식품규격위원회 (CODEX)는 액젓류(fish sauce)의 위생안전성을 강화하고자 하고 있음.
- 개발 소재의 분석결과 histamine 및 바이오제닉 아민(Tyramine, Putrescine, Spermidine, Cadaverine) 4종에 대하여 짠맛증진소재에서 검출되지 않았으며 유기가공용 제품의 소재로서 화학적 위해요소가 없음을 확인할 수 있었음.

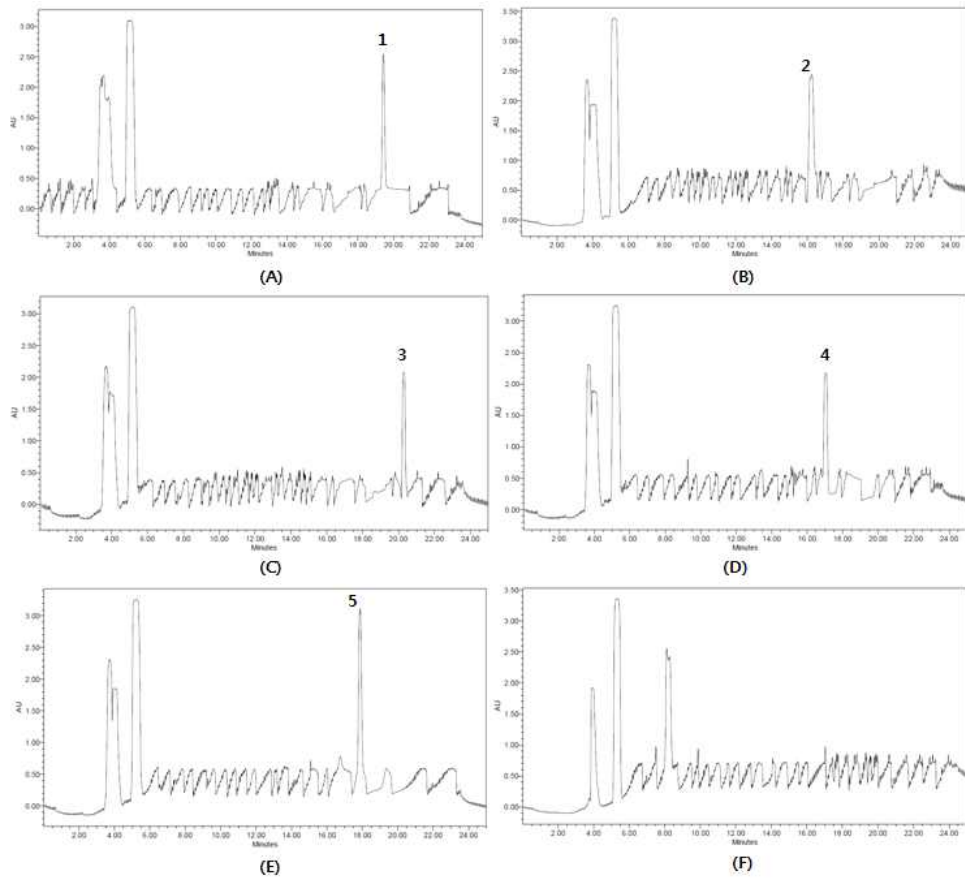


그림51. 바이오제닉 아민 표준물질(A-E) 및 짠맛증진소재(F)의 바이오제닉 아민 분석 크로마토그램.
 (A) Tyramine:19.424 (B) Putrescine: 16.239 (C) Spermidine: 20.291 (D) Cadaverine: 17.043 (E) Histamine: 17.071

다) 제형에 따른 품질 및 미생물학적 안전성 평가

- 본 연구의 개발소재는 아래 표와 같은 specification을 가짐

표39. 개발소재의 specification

외관	염도(%)	조단백질(%)	수분함량(%)	수분활성도	흡습성(%)	입자크기 (μm)
	9.12	74.38	7.67	0.246	0.15	8.65

- 이 중 개발 소재의 수분함량 및 수분활성도는 각각 7.67과 0.246의 값을 가지고 있으며 식품에서의 수분은 식품 안전에서 중요한 지표로써 건조공정은 유통기한의 연장에 효과적이라고 설명되어짐(seafood 360.,2014, Food safety authority of ireland. 2017)

Organism group	a_w
Most spoilage bacteria	0.90
Most spoilage yeasts	0.88
Most spoilage moulds	0.80
Halophilic bacteria	0.75
Xerophilic moulds	0.61
Osmophilic yeasts	0.61

그림52. Minimum a_w values for growth of microorganism group in food.

- 특히 수분 활성도는 제품 안정성, shelf life(예를들어, 미생물 및 효소 안정성, 아로마 유지), 취급 특성, 물리적 특성 및 화학적 안정성과 같은 정성적인 고려 사항에서 더욱 중요함(Uzzaman MA et al. 2018, seafood 360 2014)
- 시제품 개발 시 미생물학적 안전성을 검증하기 위하여 각 시료의 총 균수 측정 실험을 진행 하였으며 소재에서 총균수가 관찰되지 않음

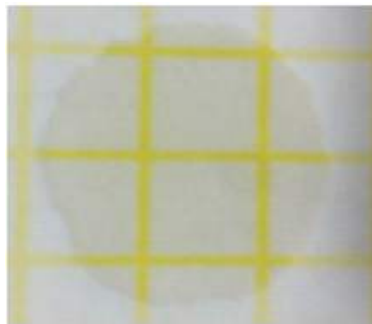


그림53. 소재의 총균수 측정결과.

- 이에 따라, 본 개발 소재의 경우 시제품에서 총균수가 관찰되지 않았고 곰팡이속의 최소 생육 수분활성도 0.61이하 및 수분함량 10%이하로 조절되어지므로 미생물학적 안전성을 확보하고 저장기간에 따른 품질 안정성을 확보할 수 있다고 판단되었음.
- 2) 분말형 짠맛증진제의 개발(추가결과)
- 주관기관에서 유기농 저염간장을 개발하고자 1차년도에 개발한 짠맛증진제(APH)를 대량 요청하여, 이에 pilot 규모로 생산하여 제공하였음.
 - 그러나, pilot 규모의 대량생산 과정에서 운반 및 안정성에 대해 어려움이 도출되어, 짠맛증진제를 상품화하기 위한 전략의 하나로 액상 제형의 제품보다 미생물학적으로 안정하고 운반이 용이한 분말 제형의 짠맛증진제를 개발하기 위한 실험을 추가로 실시함.
 - 이를 위해 액상 제형을 분말화 하기 위한 방법으로, 예비실험을 통하여 맛과 냄새의 masking 효과 및 최종 산물의 안정성(외형 및 색상)에 덜 영향을 미치는 분무건조가 동결건조보다 더 적합하였고, 공정처리 비용과 건조 시간을 고려하더라도 합리적인 방법임을 알 수 있었음.
 - 문헌 조사에 따르면, 염 농도가 높은 어간장을 전기 투석을 통해 탈염 시키고 분무건조를 이용하여 분말 제형의 어간장을 제조하였을 때, 염 농도에 따라 powder의 물리화학

적 특성과 morphology가 달라진다고 보고하였음. (Nathamol, 2010)

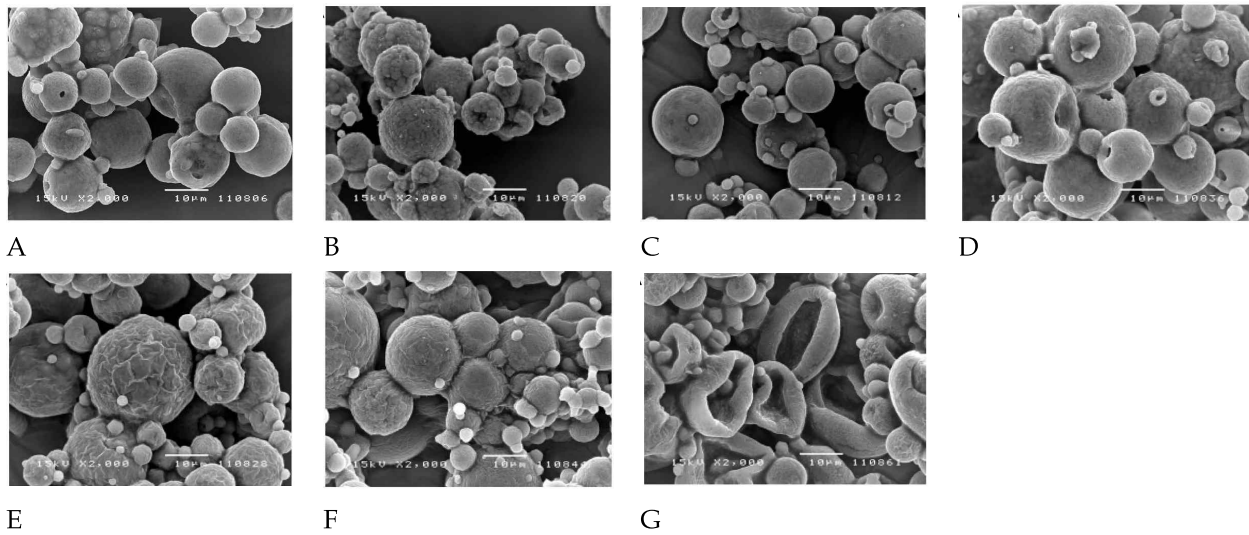


그림54. Morphology of spray-dried-fish sauce powder with different salt concentration produced at 120°C; (A) 25%, (B) 22%, (C) 18%, (D) 14%, (E) 10%, (F) 6%, (G) 2%.

○ 이에 따라, 염도 0.7~0.9%의 짠맛증진소재(APH)와 기능이 유사한 어간장(대영수산)의 비율을 다르게 함으로써 염 농도를 조절하여 제조한 저염 어간장(액상)을 분무건조를 통해 분말제형을 만들어 농도 별 분말의 physicochemical properties와 morphology를 살펴봄.

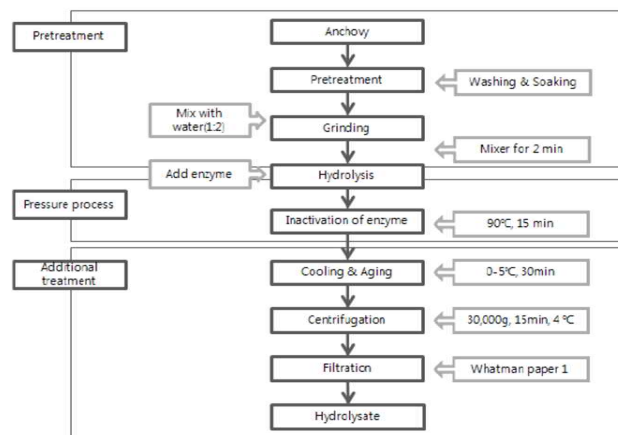



그림55. Flow chart of anchovy hydrolysate production.

○ Spray drying 시료를 아래와 같이 제조하고 분무건조를 실시함

표 40. Spray drying 시료를 제조조건 및 분무건조조건

Table. Actual salt concentrations as well as total soluble solids offish sauce produced at various			Table. Conditions of spray drying experiments			
Sample (500 mL)	Targeted salt concentration (%)	Total soluble solid (%)	Inlet temp (°C)	Aspirator (m ³ /min)	Feed rate (ml/h)	Q-flow (mm)
R 100% (Control)	23.0	35.9 ± 0.2	120	0.46	450	35
R:A = 8:2	17.0	30.2 ± 0.1	140			
R:A = 6:4	13.0	25.8 ± 0.1				
R:A = 4:6	7.0	20.8 ± 0.0				
R:A = 2:8	4.5	15.3 ± 0.0				
A 100%	0.7	10.2 ± 0.1				

R: 대명수산액간장, A: APH



실험에 사용된 분무건조기 (Mini spray dryer B-290, Buchi, Sweden).

○ 이화학적 특성

- 수율: 분무건조 후의 수율은 만들어진 분말의 무게와 수분함량, 주입되는 액상의 고형물 함량과 액량을 측정하여 아래와 같이 계산하여 %로 나타냄.

$$\text{분무건조 수율} = \frac{\text{만들어진 분말의 무게} \times (100 - \text{건조된 분말의 수분함량} (\%))}{\text{입된 액상의 고형물함량} (\%) \times \text{주입된 액량}}$$

- 수분함량, 조단백질, 염도, 색도 및 Particle size distribution을 측정함
- Bulk density: Bulk density는 시료의 질량과 부피로부터 계산함. 시료의 부피는 저울에 100 mL 메스실린더를 놓은 후 시료 약 15 g을 깔때기에 천천히 흘러내려 100 mL 메스실린더에 쌓이면 실린더의 눈금을 읽어 부피(mL)로 하였고, 질량(g)을 확인 후 질량과 부피의 비로 Bulk density를 나타냄.
- SEM: 분무건조 된 분말들의 염농도와 분무건조기의 입구 온도 (Inlet temperature)에 따른 입자 구조를 살펴보기 위하여 SEM(Scanning electron microscope)을 측정함. 분무건조가 된 분말 약 5 mg을 carbon tape 에 붙인 후 SEM(SNE-3000MB, Sec, Korea) 으로 15 kV에서 2000배로 입자의 형태 및 크기를 측정함.
- XRD: XRD는 분말의 결정화도를 나타내는 장비로서, X-선 회절분석기(X-ray diffractometer, Miniflex II, Rigaku)를 이용하여 각 시료에 대하여 2θ 범위에서 주사속도 1°/min, 0.02° 간격으로 측정하였음.
- EDS: 분말 입자 표면의 원소 조성을 측정하기 위하여 EDS(X flash 630H Mini, Bruker) 장비를 이용하여, 가속전압 20 kV, working distance 15 mm에서 측정함.
- Caking Test: Caking Test는 Rheometer model (Anton Paar, MCR 302)을 이용하였음. 3 kPa의 힘으로 Normal force가 5.65 N이 될 때까지 1분간 유지하며 눌러준 뒤 (Caking), Stirrer를 교체하고 시료 위치까지 내려준 다음 Velocity를 125 μm/s 로 80 초 유지한 뒤 Rotational speed 를 0.1 rpm으로 가하여 측정함.

○ 염 농도의 영향

- 외관: 배합 비율을 다르게 하여 제조한 분말시료의 외관을 그림55에 제시하였음.

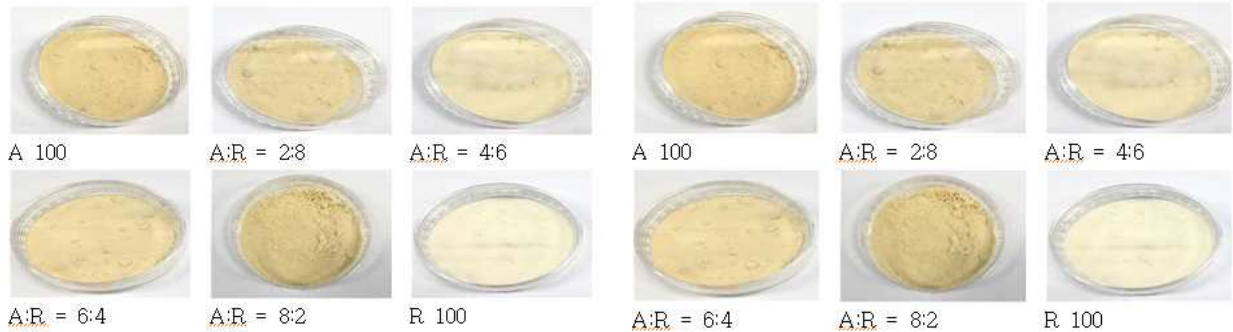


그림56. Appearance of spray dried fish sauce with inlet temperature of approximately 140°C (좌) 120°C (우) produced. (R: 대영수산어간장, A: APH)

- 제조된 분말의 외관은 배합한 APH의 양이 많을수록 뭉치고 끈적거렸는데 이는 APH의 유리아미노산 분석 결과를 통해 알 수 있듯이 아미노산 함량이 높아 발생하는 현상으로 생각되며, 대영수산 어간장이 증가할수록 색이 밝아지는 것을 확인 할 수 있었음.

○ 색도

- 시료 간의 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)값 및 ΔE_{ab} 값을 표40에 나타냄.

표41. Color of spray dried fish sauce

Sample	Inlet temperature(°C)	L	a	b	ΔE_{ab}
R 100%	120	-0.39 ± 0.01	0.26 ± 0.03	20.02 ± 0.06	20.02 ± 0.06
	140	0.78 ± 0.01	0.16 ± 0.01	19.45 ± 0.01	19.47 ± 0.01
R:A= 8:2	120	-0.64 ± 0.02	0.39 ± 0.01	21.42 ± 0.00	21.43 ± 0.00
	140	-8.19 ± 0.00	3.06 ± 0.02	20.02 ± 0.04	21.33 ± 0.10
R:A = 6:4	120	-2.40 ± 0.03	0.77 ± 0.01	24.59 ± 0.04	24.72 ± 0.04
	140	-2.63 ± 0.01	1.67 ± 0.01	26.54 ± 0.02	26.72 ± 0.02
R:A = 4:6	120	-4.83 ± 0.03	1.69 ± 0.00	27.38 ± 0.06	27.81 ± 0.04
	140	-4.56 ± 0.02	2.53 ± 0.00	29.38 ± 0.03	29.84 ± 0.03
R:A = 2:8	120	-7.40 ± 0.01	2.44 ± 0.00	27.69 ± 0.02	28.77 ± 0.02
	140	-6.53 ± 0.01	1.41 ± 0.00	29.62 ± 0.01	30.37 ± 0.01

A 100%	120	-9.89 ± 0.08	5.75 ± 0.05	36.00 ± 0.08	37.77 ± 0.11
	140	-8.04 ± 0.00	3.78 ± 0.00	32.30 ± 0.02	33.50 ± 0.03

- 외관상에서도 알 수 있듯이 대영수산 어간장이 증가할수록 즉, 염도가 높아질수록 ΔE_{ab} 값이 낮아지며 전체적인 색이 밝아지는 것을 확인함
- 이에 따라, inlet temperature에 따른 차이는 보이지 않았지만 염 농도에 따른 차이는 존재함을 확인하였음

○ 이화학적 특성

- 분말제형의 중요한 품질지표로써 이화학적 특성(수분함량, 수율, Bulk density)을 측정하여 결과 값을 아래 표 41에 나타냄.
- 또한, 조단백질 함량은 짠맛증진소재의 중요한 품질지표로써 조단백질 함량이 높을수록 아미노산이 다량 함유되어 깊은 풍미와 맛을 낼 수 있기 때문에 액상 시료에 배합 비에 따라 만들어진 최종 분말의 조단백질 함량을 측정하여 아래 표 41에 결과 값을 제시함.

표 42. Moisture content, Product recovery, Total nitrogen and Bulk density of spray-dried anchovy hydrolysate powder

Sample	Inlet air temperature (°C)	Salt content (%)	Moisture (%)	Product recovery (%)	Total nitrogen (%)	Bulk density (g/mL)
R 100% (Control)	120	68.5	5.44 ± 0.05	56.76	4.50 ± 0.01	0.476
	140		5.08 ± 0.14	75.10	4.74 ± 0.01	0.455
R:A = 8:2	120	61.6	5.94 ± 0.19	52.23	5.63 ± 0.02	0.455
	140		5.34 ± 0.17	57.75	5.46 ± 0.00	0.425
R:A = 6:4	120	55.6	6.19 ± 0.15	56.74	6.14 ± 0.01	0.628
	140		5.87 ± 0.08	69.31	6.04 ± 0.02	0.419
R:A = 4:6	120	47.7	6.55 ± 0.21	59.79	6.92 ± 0.04	0.576
	140		6.40 ± 0.09	62.74	6.94 ± 0.00	0.522
R:A = 2:8	120	33.8	10.81 ± 0.14	55.29	8.66 ± 0.02	0.589
	140		8.40 ± 0.11	58.59	8.76 ± 0.03	0.512
A 100%	120	11.4	15.67 ± 0.23	42.96	11.74 ± 0.02	0.566
	140		8.67 ± 0.09	50.82	11.88 ± 0.07	0.342

*R: 대영수산어간장, A: APH

○ Moisture content

- 표 41의 Moisture(%) 측정값을 보면, 주입되는 액상 시료의 염 농도가 증가함에 따라 건조된 분말의 수분함량이 적어지는 것을 확인 할 수 있었음. 이는 전해질 농도가 높아 분무건조 중 이동하여 제거되는 물 분자 수가 많기 때문임.
- 또한, 주입되는 액상 시료의 일정한 염 농도와 feed flow rate에서 inlet temperature가 증가하면 수분함량이 감소함. 이러한 결과는 inlet temperature가 증가함에 따라 공기의

- 상대습도가 감소하여, 건조 중 droplets의 열 효율이 증가하기 때문이라 사료됨.
- 따라서, 제품의 품질을 손상시키지 않는 범위에서 수분함량이 적은 분말 제조를 목적으로 할 시 inlet temperature을 올리는 것이 좋을 것이라 사료됨.
- Product recovery
- 표 41을 통해 주입되는 액상 시료의 염 농도가 감소함에 따라 수율이 낮아짐을 확인함. 이는 최종 분말의 수분함량이 증가하여 입자에 잔류된 수분이 많아 droplets이 건조기 내벽에 더 잘 밀착되기 때문임.
 - 또한, 주입되는 액상 시료의 염농도를 일정히 하고 inlet temperature을 증가시키면, 수율이 높아짐을 확인하였음. 이는 고온으로 건조 중에 고체 표면이 빠르게 형성되어, 건조기 내벽에 대한 droplets의 접촉력이 저하되었기 때문임.
- Total nitrogen
- 표 41을 통해 조단백질은 APH함량이 높을수록 조단백질 함량이 높아짐을 알 수 있었음. 이는 APH 자체의 protein 함량이 높은 이유 때문이라 사료됨.
 - 주입되는 액상 시료의 염 농도가 일정할 때, inlet temperature에 따른 조단백질의 유의적인 차이는 없었으며, 분무조건을 통한 분말 제조 시 조단백질의 차이를 두기 위해서는 inlet temperature의 차이가 아닌 투입되는 시료의 배합비를 고려해야할 것으로 판단 됨.
- Bulk density: 최종 분말 시료의 염 농도가 낮아질수록 수분함량이 높음. 따라서, 밀도가 높은 물이 존재하기 때문에 bulk density가 증가하였음. 하지만 inlet temperature에 대한 영향은 찾아볼 수 없었음.
- Particle size distribution
- 3회 반복한 particle size distribution의 측정 값 및 comparison plot 을 아래 표 42와 그림 56에 제시하였음.

표 43. Particle size (μm) of spray-dried anchovy hydrolysate powder

Sample	Inlet air temperature	
	120°C	140°C
R 100% (Control)	13.28	13.42
R:A = 8:2	13.50	13.86
R:A = 6:4	14.28	14.33
R:A = 4:6	14.78	15.14
R:A = 2:8	19.30	17.76
A 100%	16.03	16.48

(*R: 대영수산어간장, A: APH)

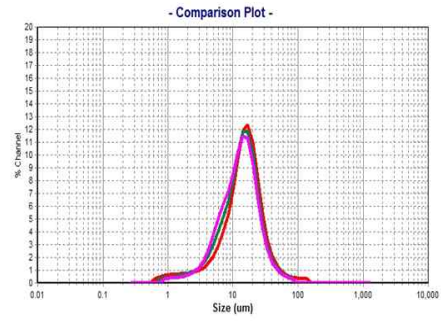
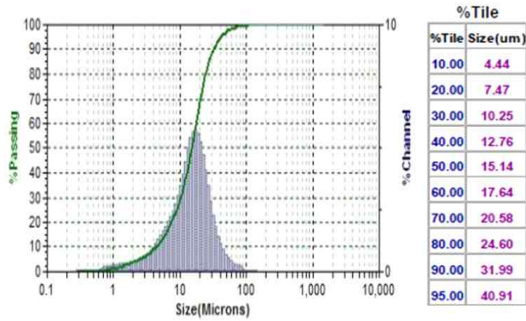


그림57. Particle size distribution of spray-dried anchovy hydrolysate powder. Distributions are representative of triplicate experiments.

- Particle size distribution는 최종 분말의 염 농도가 낮아질수록 커지는 경향을 보였지만, 분말의 염 농도 및 inlet temperature에 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었음.

○ Morphology

- Nathamol, 2010의 보고에 따르면 주입하는 액상시료의 배합비율(염농도)과 inlet temperature에 따라 morphology의 변화가 있을 것이라 예상하여 분무건조로 만들어진 분말들은 inlet temperature 조건에 따라, morphology 차이를 관찰해 보고자 함. 이를 아래 그림 57과 같이 나열하였음.

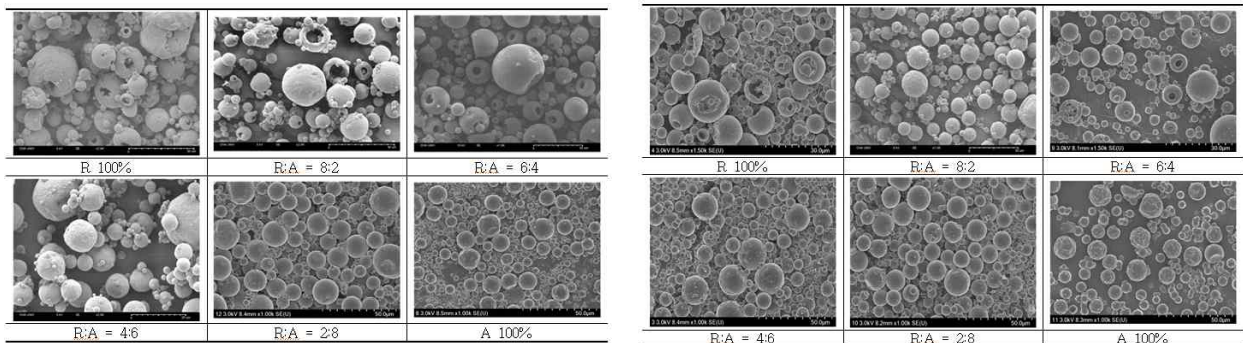


그림58. Morphology of spray-dried anchovy hydrolysate powder with inlet air temperature of 120℃(좌), 140℃(우) produced. (*R: 대영수산어간장, A: APH)

- 위 그림 57와 같이 최종 분말의 염 농도 및 inlet temperature에 상관없이 전체적으로 둥근 구의 모양이었음.
- 주입되는 액상 시료의 염도가 높을수록 hollow structure가 많은 경향을 보였는데, 이는 최종 분말의 염농도도 높고, 전해질 농도가 높기 때문에 수증기 생성이 매우 빨리 일어났기 때문임.
- 반면, 분말 염도가 낮을 경우, 전해질 농도가 낮아짐에 따라 물의 증발이 느려져서 표면을 더 촉촉이 오래 유지하기 위해 냉각될 때까지 수축현상을 함으로써 shriveled structure를 초래함.
- Inlet temperature에 따른 차이는 거의 없으나 분말의 염 농도에 따른 차이가 관찰됨. 따라서, Inlet temperature는 분말의 입자 모양에는 영향이 거의 없으나 최종 분말 염도의 경우 입자 모양에 영향을 끼친다는 것을 알 수 있었음.

○ XRD (X-Ray Diffractometer)

- 서로 다른 염 농도를 가진 6가지 액상시료를 inlet temperature가 140°C에서 주입하여 만든 분말 시료의 결정화도를 분석하여 아래 그림 58에 나타냄.
- XRD 회절곡선의 극대치(Peaks)의 위치는 결정면(Crystalline)의 간격을, 높이는 결정의 크기를 나타내며, base line으로부터 회절곡선까지의 높이는 무정형(Amorphous)영역의 크기를 나타냄.
- 분무건조 된 분말은 주입되는 염 농도가 감소함에 따라 X-ray 회절 패턴의 피크 강도 및 면적이 감소함에 따라, 결정화도가 감소함을 알 수 있었음.
- 이는 염 농도가 높을수록 NaCl 농도가 높아 결정화도가 크게 나타나고, 염농도가 가장 낮은 APH 100%는 피크가 나타나지 않은 것으로 보아 crystalline 형태보다 amorphous 형태가 더 많이 존재함을 알 수 있었음.

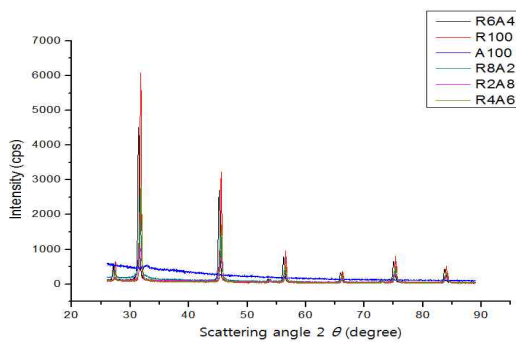


그림59. XRD patterns of spray-dried anchovy hydrolysate powder with different salt concentrations (0.7-23% w/w). Spray drying was conducted at 140°C.

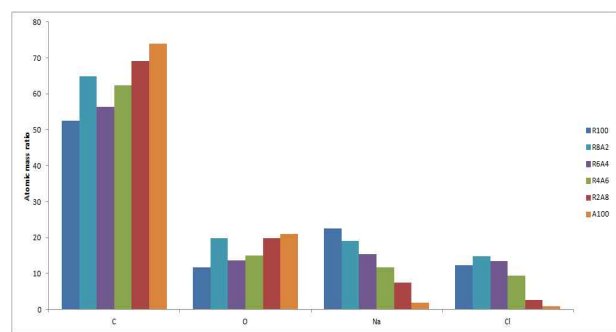


그림60. Crust elemental compositions (EDS) of spray-dried anchovy hydrolysate powder with different salt concentrations (0.7-23% w/w). Spray drying was conducted at 140°C.

○ EDS(Energy Dispersive X-ray Spectrometer)

- EDS는 SEM에 장착되어 고체, 박막 또는 particle 들의 표면의 원자구성을 분석하는 장비로 inlet temperature 140°C에서 제조한 최종 분말의 염 농도별 particle 표면의 원자구성을 확인하여 그림 59에 제시함.
- 그림 59에서 볼 수 있듯이 분무건조 한 분말은 주로 carbohydrates 와 NaCl로 구성되어 있었고, Na⁺함량은 염 농도가 증가할수록 1.94%에서 22.46%로 증가하였고, carbohydrates의 함량은 염 농도가 낮을수록 증가함을 알 수 있었음.

○ Caking Test

- 저장 중 완제품의 품질요소로써 caking 현상이 중요하다고 판단되어 액상 시료의 염 농도가 가장 낮은 APH와, 어간장을 섞은 시료의 caking 정도를 아래 그림 60에 나타냄.

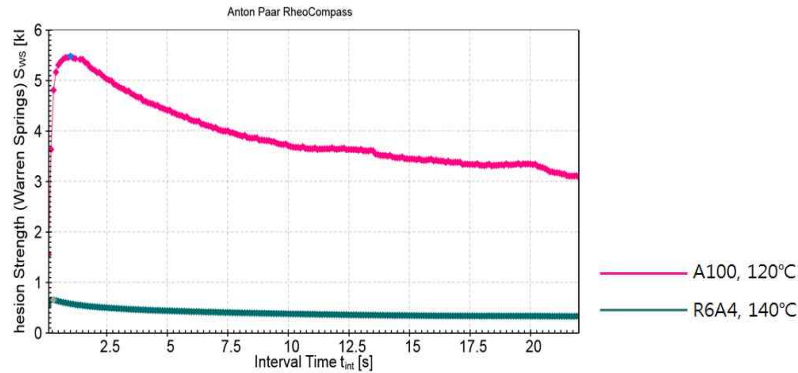


그림61. Compression curves of spray-dried anchovy hydrolysate using a rheometer.

- Caking test 실험 결과, 염농도가 가장 낮은 APH로만 구성된 시료가 5.4803 kPa로, 0.65649 kPa의 힘을 갖는 R6A4 시료보다 cohesion strength가 더 높은 것으로 확인됨.
- 이는, caking된 시료를 깨는 힘이 더 강하다는 것을 의미하므로, caking현상이 더 잘 일어남을 알 수 있음.
- 종합적으로,
 - pilot 규모의 APH를 3 L를 생산하여 주관기관의 유기농 저염간장의 개발을 위한 원료로 제공함.
 - 액상 APH를 상품화하기 위한 전략으로 미생물학적으로 안정하고 운반이 용이한 분말제형으로 제조하기 위하여 분무건조를 예비로 실시한 결과, 분말 제형의 짠맛증진제 제조는 가능하지만 수율이 낮고 caking 현상 뿐 아니라 끈적거림이 심함을 알 수 있었음. 뿐만 아니라 1차년도 실험결과에 의하면 짠맛증진효과는 관능검사 시 액상제형 짠맛증진소재의 염 농도와 질소함량에 따라 달라지는 결과를 관찰함.
 - 따라서 분말 제형의 짠맛증진제를 상품화하기 위해서는 분말 제형의 염농도를 사용 목적에 따라 고려하여야 함. 뿐만 아니라 액상 APH를 SD에 의해 분말화하기 위해서는 수율, 조단백질 함량, 입자 크기 등 분말의 물리화학적 특성도 함께 고려해야함.
 - 1차적으로 다양한 염농도의 분말을 제조하여 caking 현상 뿐 아니라 끈적거림 현상을 줄일 수 있는 방안을 탐색하기 위하여 품질특성이 유사한 대영수산의 3년산 어간장(염농도 23%)과 APH(염농도 0.7%)를 배합한 후 분말을 제조하여 spray dried power의 물리화학적 특성과 morphology를 측정된 결과,
 - 최종 분말의 염농도가 증가함에 따라 수분함량이 감소하고, 주입되는 액상 시료의 일정한 염농도에서 inlet temperature이 증가할 때 수분함량이 감소함
 - 수율은 주입되는 액상시료의 염 농도가 감소함에 따라 낮아지고, 액상시료의 염농도가 일정하고 inlet temperature을 증가시키면 수율이 높아짐
 - 조단백질 함량을 높이기 위해서는 SD운전조건과 관계없이 주입되는 액상시료의 배합비를 고려해야함
 - 최종 분말 시료의 염농도가 낮아질수록 bulk density는 증가하고, particle size distribution 도 커지는 경향을 보임
 - 주입되는 액상 시료의 염도가 높으면 hollow structure 가 많았고, 염도가 낮을수록 shriveled structure이 많이 보임. 하지만, inlet temperature은 크게 영향을 끼치지 않았고, 만들어진 분말 시료의 모양은 전체적으로 둥근 구 모양을 띄었음.

- 주입되는 염 농도가 증가함에 따라 NaCl 농도가 높아지므로, XRD의 피크도 최대치를 나타내고 EDS로 원자 분석 결과 Na 와 Cl⁻ 구성도 다른 시료에 비해 높았음.
 - 액상시료의 염도가 가장 낮은 APH의 경우 아미노산이 다량 함유되어 있기 때문에 다른 시료에 비해 Caking 현상이 쉽게 일어남.
 - 결론적으로,
 - 주입되는 액상시료의 염농도에 따라 분말의 이화학적 특징(수분함량, 수율, bulk density, particle size), morphology, 결정화도 및 caking 현상 등의 성질이 의존함을 확인함.
- 3) 염도낮은 유기농 양조간장
- 본 개발 제품은 주관기관에서 짠맛증진소재를 적용하여 염농도를 낮춰 개발한 저염 간장 (제품명: 염도 낮은 유기농 양조간장)으로서 이에 대한 정보(표시사항 가안, 원재료명 및 배합비, 완제품검사규격, 제조공정도 및 QC공정도)를 제공받았으며 이에 대한 안전성 및 품질 안정성을 조사 시험하고 제공받은 QC 공정도 및 제조공정도를 검토 분석하여 CCP 를 제안하였음.
 - 분석을 위하여 제품에 대한 정확한 정보 및 제조 조건 등이 추가로 요구되었으나 주관 기관의 대외비로 공개 받지 못하여 문헌 및 관련 자료를 추가로 조사하여 진행함.
- 가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정
- 저장안정성 시험을 위한 품질지표를 선정: 식품의약품안전청고시 제2011-15호(2011년3월 24일 개정)에 의거 이화학적인 품질지표로 pH, 총질소, 순추출물을 선정하고 관능적으로는 성상과 곰팡이를 우선적으로 설정함.

표 44. 식품유형별 유통기한 설정실험 지표(식품의약품안전청고시 제2011-15호)

식품종류		설정실험 지표		
식품군	식품종 또는 유형	이화학적	미생물학적	관능적
20. 장류	한식간장, 양조간장, 산분해간장, 효소분해간장, 혼합간장	pH 총질소 순추출물	-	성상 곰팡이

- 화학적·물리적 위해요소 선정
 - 제시한 바와 같이 제공된 제품의 완제품검사규격서와 식품공전 장류의 기준 및 규격을 검토하였고 문헌조사를 통하여 화학적·물리적 위해요소를 선정하였음.
 - 이외, 유기가공식품에서 중요시되는 화학적 위해요소로서 잔류농약은 주관기관으로부터 제공받은 자료에 유기농 원료함량이 95.34%로 원재료의 95%이상이 유기농축수산물/유기가공 식품을 사용하였음을 확인하여 화학적 위해요소로 설정하지 않았음.
 - 문헌(식약처보고서, 107-110)에 따르면 화학적 위해요소로 선정한 ① 곰팡이독소는 강산 및 강알칼리로 분해되나 열에 매우 안정하여 270~280℃ 이상으로 가열하지 않으면 분해되지 않기 때문에 산분해 간장이 아닌 양조간장에서 중요하게 관리해야하는 화학적 위해 요소로 사료됨. ② acrylamide의 생성가능성이 판단되었는데 acrylamide는 국제암연구소(IARC)의 발암물질(Group 2A)로 분류되어 있으며 유리아미노산과 carbonyl compound가 120℃ 이상에서 비효소적 갈변반응을 통하여 생성된다고 보고되고 있으며 (Friedman 2003) 통한 Steadler (2005)의 연구에 따르면 asparagine과 carbonyl 또는

dicarbonyl compound가 결합하여 acrylamide를 생성됨을 확인하였고, Yokotsukaet (1986)은 간장에서 0.9% 수준의 asparagine을 포함한다고 하여 적용된 짠맛소재의 경우도 유리아미노산의 함량이 높아 저염 간장 제품에 적용 시 비효소적 갈변반응을 통한 acrylamide의 생성 확인을 검토할 필요가 있을 것으로 사료 됨.

- 따라서 선정된 염도 낮은 유기농 유기간장의 화학적·물리적 위해요소로 각각 타르색소, 보존료, 곰팡이독소, acrylamide 및 이물을 선정하고자 함.
- 또한, 본 제품은 대두를 함유한 식품이기 때문에 제품의 표시면에 ‘대두 함유’ 표시를 할 것을 권유함.

○ 생물학적 위해요소 선정

- 화학적·물리적 위해요소와 동일하게 주관기관에서 제공한 제품의 완제품검사규격서와 식품공전 기준규격 및 문헌조사에 따라 생물학적 위해요소를 선정하였음.
- 주관기관에서 설정한 완제품규격서에 따르면 식품공전과 비교하여 일반세균(1×10^3 CFU/ML 이하) 및 효모 곰팡이 균(불검출)에 대한 규격만 제시되어 있으며 식중독균으로 분류되는 바실러스 세레우스와 클로스트리움 퍼프린젠스가 포함되어 있지 않음.
- 문헌(식약처보고서, 104-107)에 따르면 바실러스 세레우스는 135℃에서 4시간의 가열에도 견디는 내열성 포자를 형성하고 토양세균의 일종으로 곡류 등의 농작물 및 식품 원료 표면에 포자 상태로 존재한다고 함.
- 클로스트리디움 퍼프린젠스의 경우 생육조건으로 생장가능 온도범위 13~50.6℃, 최적pH 6.0~7.0, 생장가능 pH범위 5.0~9.0, 수분활성도 0.950~0.960 . 염도 5.0~8.0%로(식약처 2015; Labbé, 2000; ICMSF , 1996) 바실러스 세레우스와 동일하게 포자를 생성하나 가금류, 우유, 육류제품의 주요 위해미생물(식약처 2015)로써 원료의 차이로 인하여 저염간장제품에서는 제외시킬 수 있을 것이라 사료됨.
- 곰팡이는 세균보다 낮은 수분활성도에서도 각각 생육이(0.61) 가능하여 국내에서 곡류 원료제품에서 생성됨이 보고되어 지는(식약처 2015) 아플라톡신 독소를 생성할 수 있으므로 제품에서 위해요소로서 포함되어야 함을 확인함.
- 주관기관으로부터 제공받은 QC공정도의 살균온도는 80℃로 해당 미생물을 완전사멸시키기에 충분치 않으며 제조공정 상 부주의로 위해요소가 될 수 있을 것이라 판단되며 바실러스 세레우스에 대한 기준 및 규격 설정을 권함.
- 또한, 일반적으로 높은 염도(13% 이상)에서 미생물의 최적생육조건을 만족하지 못하여 생육하지 못하거나 지연되지만 염도 및 수분활성도에 따라 미생물(곰팡이, 효모, 식중독균)의 성장이 완전히 제어되지 못하므로 완제품에 대한 규격강화로 안정성 확보를 보완할 필요가 제안됨.
- 따라서 염도 낮은 유기농 유기간장의 생물학적 위해요소는 일차적으로 일반세균, 대장균, 효모, 곰팡이, 바실러스 세레우스로 선정하고자 함.

○ 결론적으로,


- 저장 안정성 시험을 위한 품질지표: pH, 총질소, 순추출물 및 곰팡이를 우선적으로 설정함.
- 화학적 위해요소: 타르색소, 보존료, 곰팡이독소, acrylamide
- 물리적 위해요소: 이물(성상)
- 생물학적 위해요소: 일반세균, 대장균, 효모, 곰팡이, *B. cereus*
- 1차 선정된 지표는 평가를 실시하여 정확하게 재설정됨.

- 제품의 표시면에 '대두 함유' 표시를 할 것을 권유함.

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

- 품질 평가는 개발된 저염 간장과 시판 제품을 비교하기 위하여 규격 상 제시된 총 질소 (TN) 함량, 이화학적 품질로 염 함량(%), 당도, pH 및 수분활성도를 측정하고 개발된 제품에 대한 화학적 위해요소로 제안된 acrylamide에 대한 분석과 미생물학적 안전성 즉, 생물학적 위해요소로 일반세균, 대장균군, 효모, 곰팡이, *B. cereus*에 대한 분석을 실시하였으며 저장안정성 평가를 위한 지표를 설정하였음.
- 시료는 국내에서 유통되고 있는 유기농 간장제품(샘표 유기농 자연 콩간장, 유기농이라 더 좋은 청정원 유기농 양조간장, 묵은장을 더한 유기농 간장) 및 주관기관에서 개발한 “염도 낮은 유기농간장”을 분석하였음. 시판제품은 경기도 인근 대형마트에서 구입하였고 각각 균질화시킨 후 분석에 필요량을 취하여 사용하였음. 개봉한 제품은 4℃에서 냉장보관함.
- 총 질소(TN), 식염 함량(%), 당도, pH, 수분활성을 측정함
- Acrylamide는 Thomas Wenzl (2007)을 참고하여 LC-MS/MS분석(GENESYSTEM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)으로 검출여부를 확인함.
- 곰팡이독소, 일반세균 및 대장균군, 바실러스 세레우스 및 곰팡이는 식품공전 제 9. 일반 시험법에 따라 실시함
- 실험결과,
 - 개발 저염간장 및 시판제품을 지표에 따라 간단히 lab test 하여 결과를 표 44에 제시함.

표 45. 간장 제품의 품질 평가

구분	제품명	제품 사진	NaCl 함량(%)	Brix(%)	pH	A _w
시판 제품	샘표 유기농 자연 콩간장		14.3±0.25 ¹⁾	37.17±0.06	4.63±0.01	0.785±0.001
	유기농이라 더 좋은 청정원 유기농 양조간장		14.80±0.20	36.63±0.06	4.51±0.00	0.777±0.002
	묵은장을 더한 유기농 간장		26.83±0.11	32.03±0.06	4.82±0.00	0.767±0.002
개발 제품	염도 낮은 유기농 양조간장		13.43±0.35	36.00±0.00	4.70±0.01	0.769±0.002

²⁾Mean±SD (n=3)

- 한국표준규격(KS)에 따르면 양조간장의 품질기준으로써 총 질소(% , w/v)항목 값이 표준 1.0 이상, 고급 1.3이상, 특급 1.5 이상으로 제시되어 있다. 이에 소재로 포함되어 있는 짠맛증진소재의 total nitrogen 함량은 약 12%로 개발간장의 고급화에 기여할 수 있을 것으로 사료되었음.
- 식염함량(%) 분석결과, 시판제품은 14.30±0.25~26.83±0.11까지 넓은 범위를 나타내었고

개발 저염간장제품은 13.43 ± 0.35 으로 완제품규격에 제시되어 있는 12.5 ± 1.0 범위안에 측정됨을 확인할 수 있었고 기존시중제품대비 최대 49% 감소된 식염함량이 함유된 저염 유기농 간장제품이며 대상에서 제시한 바와 같이 기존 자사제품인 유기농이라 더 좋은 청정원 유기농 양조간장(식염 $14.80 \pm 0.20\%$)보다 약 10% 저감된 저염 유기농 간장제품으로 개발된 것을 확인할 수 있었음. 또한, 청정원 제품 외 시판제품들과 유의적 차이가 있음을 확인할 수 있었음(< 0.05).

- Brix(%) 분석결과 36.00 완제품규격(30.0 이상)을 만족하였고 청정원 유기농 양조간장과 유의적 차이가 없었고 이외 제품들과 유의적 차이가 있었음($p < 0.05$).
- pH 분석결과 4.70 ± 0.01 로 측정되었으며 시판제품들 역시 $4.51 \pm 0.00 \sim 4.82 \pm 0.00$ 으로 모두 표준규격에 제시된 4.5~5.5 범위 안에 포함되어 있었음. 또한, 샘플 유기농 자연 콩간장과 유의적 차이가 없었고 이외 제품들과 유의적 차이가 있었음($p < 0.05$).
- 수분활성도는 모든 제품이 0.76~0.79로서 곰팡이 생육이 가능한 0.65보다 높았고, 효모(0.88~) 나 내염성 세균(0.8~0.88)이 생육할 수 없는 조건으로 판단됨. 또한 수분활성도는 식염 함량이 영향을 주는 요소 작용할 수 있는데 염도가 낮은 저염간장이므로 미생물학적 안전성 따라 또한, 개발 간장의 수분활성도는 묵은장을 더한 유기농 간장과 유의적 차이가 없었고 이외 제품들과 유의적 차이가 있었음($p < 0.05$).
- 제품분석결과 완제품기준규격에 만족함을 확인할 수 있었고 염 함량이 시판제품 및 자사 기존제품보다 약 49%까지 감소된 저염 유기농 간장제품으로 확인됨.
- 품질평가 결과와 식품의약품안전청고시 제2011-15호를 근거로 하여 바탕으로 저장 안정성 평가를 위한 지표로 pH, 총질소, 순추출물, 색도 및 곰팡이를 선정함.

○ 위해요소 평가

- 화학적 위해요소로서 타르색소, 보존료 등은 주관에서 불검출을 확인하여 주었으며, acrylamide는 시험 결과 불검출을 확인함, 곰팡이 독소(아플라톡신)는 미생물 분석결과 곰팡이가 불검출 되었으며 곰팡이 독소 역시 검출되지 않아 안전성이 확보될 수 있을 것이라 판단되었음.

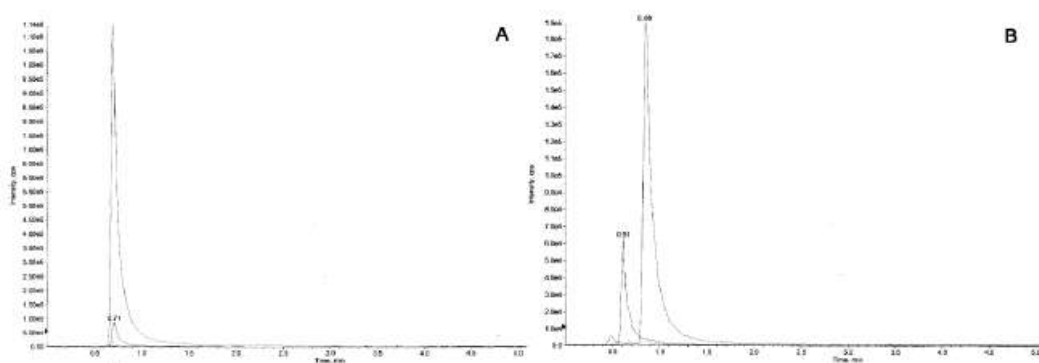


그림62. LC-MS/MS Chromatograms (A) 50 ppb acrylamide standard, (B) 간장. A. standard $[^{13}C_3]$ -acrylamide peak at $t = 0.71$ min, B. peak at $t = 0.86$ min



그림63. 염도 낮은 유기농 양조간장 외관(성상) 및 이물분석.

- 위 그림에 제시한 바와 같이 물리학적 위해요소로써 일반이물여부 검사 결과 이물이 없음을 확인할 수 있었고 물리적 위해요소로부터 안전함이 확인되었음.

○따라서, 물리·화학적 위해요소로부터 안전하다고 판단되었음.

다) 미생물학적 안전성 및 저장안정성 평가

○ 생물학적 위해요소로써 일반세균, 대장균군, *B. cereus* 및 곰팡이를 분석한 결과 모두 불검출되어(아래그림,표) 미생물학적으로도 안전성이 확보됨을 확인함.



그림64. 염도 낮은 유기농 간장
일반세균 검사결과.

표 46. 염도 낮은 유기농 간장
미생물 검사결과

항목	분석결과
대장균군	불검출
<i>B. cereus</i>	불검출
곰팡이	불검출

- 저장안정성 시험을 위한 품질지표는 pH, 총질소, 순추출물, 색도 및 곰팡이가 선정됨에 따라 비등온가속화 시험을 설계하여 시험하였음
- 아래 표 46에 염도낮은 유기농 간장의 비등온가속화 실험방법을 정리하여 제시함.

표 47. 비등온가속화 실험내용

항목	내용													
시료	염도낮은 유기농 간장													
실험조건	초기온도 20℃에서 85℃까지(시간당 5.5℃씩)													
	point	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	온도(℃)	20	25.5	31	36.5	42	47.5	52	57.5	63	68.5	74	79.5	85
실험항목	각 온도구간 포인트별로 시료를 채취하여 2차년에 선정된 품질 지표인 Total nitrogen, 순추출물, pH, 색도, 곰팡이 및 추가적으로 염도와 수분함량을 측정함													

*모든 실험은 3회반복 측정하였음.

○ 실험결과

- 총질소(TN%)의 분석결과 1.14~1.16% 값으로 온도변화에 따른 차이는 관찰할 수 없었으며 모든 분석시료에서 간장의 기준규격인 한국표준규격(KS)의 양조간장의 품질기준 총 질소(%), w/v)의 표준 1.0이상에 만족하였음.
- 순추출물 함량은 14.49~16.12%로 온도변화에 따른 증감소를 관찰할 수 없었고 간장의 성분규격 기준으로 순추출물 함량 6.0% 이상을 모두 충족함이 확인되었음.

표 48. 염도낮은 유기농 간장의 시간별 품질요소의 변화

Time (h)	Total Nitrogen(%)	Pure extract(%)	pH	Moisture content(%)	Salinity(%)	Fungi
1	1.15±0.02	15.31±0.53	4.75±0.00	70.98±0.53	13.7±0.00	ND
2	1.15±0.01	15.78±0.68	4.75±0.00	70.61±0.68	13.6±0.00	ND
3	1.15±0.00	15.08±0.98	4.75±0.01	71.41±0.98	13.5±0.00	ND
4	1.15±0.01	16.09±0.80	4.74±0.00	71.30±0.80	13.6±0.00	ND
5	1.14±0.00	15.27±0.68	4.76±0.00	70.70±0.68	13.6±0.00	ND
6	1.15±0.01	15.72±0.17	4.76±0.00	70.68±0.17	13.6±0.00	ND
7	1.13±0.01	15.74±0.31	4.75±0.00	70.75±0.31	13.5±0.00	ND
8	1.14±0.00	15.30±0.86	4.74±0.00	71.29±0.86	13.4±0.00	ND
9	1.14±0.01	15.98±0.13	4.75±0.00	70.51±0.13	13.5±0.00	ND
10	1.14±0.01	15.87±0.04	4.76±0.00	70.72±0.04	13.4±0.00	ND
11	1.16±0.01	15.96±0.25	4.76±0.00	70.73±0.25	13.3±0.00	ND
12	1.16±0.01	15.13±0.49	4.75±0.00	71.46±0.49	13.4±0.00	ND
13	1.16±0.00	15.24±0.27	4.75±0.00	71.35±0.27	13.4±0.00	ND

- 수분함량(%)은 70.29~71.46%, pH는 4.74~4.75 및 식염함량(%) 역시 온도변화에 따른 모든 실험군에서 초기 완제품의 규격에(12.5±1.0)과 차이를 확인할 수 없었음. 최등(2013)의 보고에 따른 시판 간장의 수분함량(68.5~75.4), pH(4.60~5.17)와도 모든 조건의 시료에서 범위안에 있음을 확인하였음.

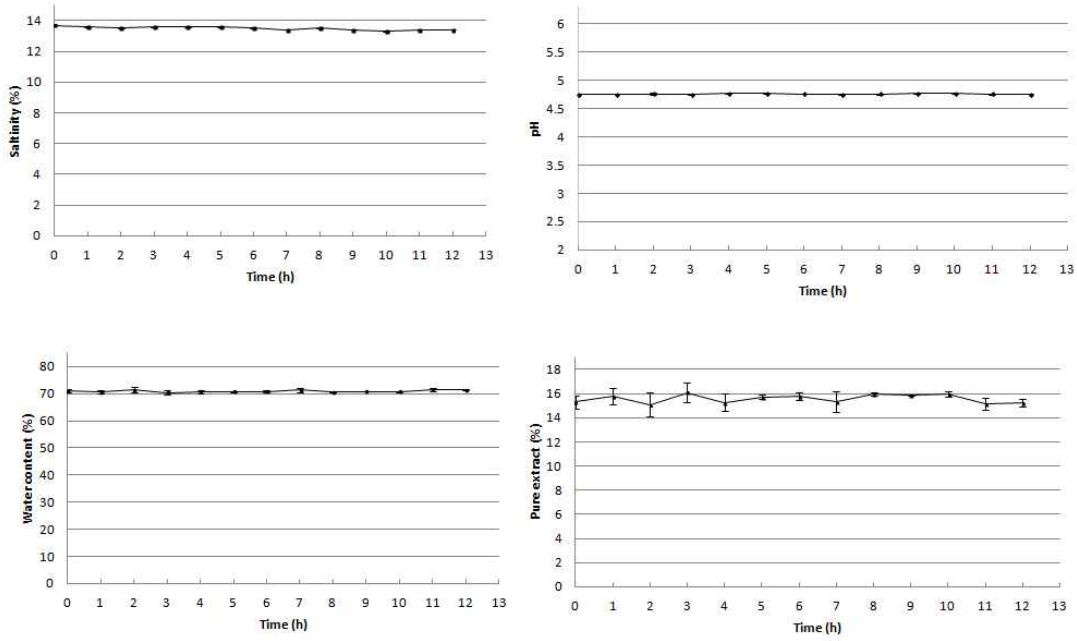


그림65. 염도낮은 유기농 간장의 시간별 품질요소의 변화 그래프.

- Hunter value인 L, a, b 및 color difference 인 ΔE 값을 측정 한 결과, 시간이 지날 수록 제품의 명도를 나타내는 L값은 28.35~28.57, 적색도의 a값은 -0.10~0.38, 황색도 b값은 0.13~0.78 및 전반적 색차(ΔE) 값은 0.06~0.78로 온도에 따라 유의적으로 증가 또는 감소하는 경향을 관찰할 수 없었음.

표49. 염도낮은 유기농 간장의 시간별 색도변화

	Time (h)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
L	28.40	28.43	28.40	28.40	28.47	28.57	28.35	28.44	28.39	28.46	28.39	28.53	28.37
a	0.00	0.04	-0.10	-0.05	-0.08	0.93	-0.08	0.22	-0.02	0.38	0.02	0.20	0.00
b	-0.93	-0.96	-0.99	-0.99	-0.93	-0.74	-0.95	-0.91	-0.98	-0.88	-0.99	-0.80	-0.96
ΔE	0.18	0.16	0.30	0.25	0.13	0.78	0.28	0.06	0.22	0.20	0.19	0.16	0.19

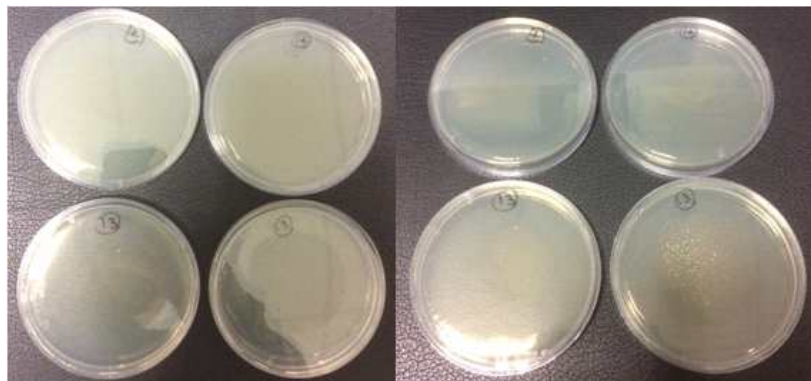


그림66. 염도낮은 유기농 간장의 곰팡이 검사결과.

- 모든 시간별 시료에서 곰팡이모두 관찰되지 않았으며 곰팡이는 세균보다 낮은 수분활성도에서도 각각 생육이(0.61) 가능하여 저장기간동안 국내에서 곡류 원료제품에서 생성됨이 보고되어 지는(식약처 2015) 아플라톡신 독소를 생성할 수 있으며 안정성을 확인하였음.
- 식약처 식품유통기한 설정실험 지표_장류 양조간장의 유통기한 품질지표인 pH, 총질소, 순추출물 및 성상과 곰팡이 모두 비등온가속실험조건에서도 변화 없음을 확인함.

○ 따라서, 염도낮은 유기농 간장의 미생물학적 안전성 및 저장안정성을 확보할 수 있을 것이라 판단되었음.

라) 공정분석 및 개선방안 제시

- 제품의 규격서 검토를 통하여 개발 간장의 완제품검사규격서(안)에 제시된 허용 기준을 검토해 본 결과 제품의 화학적 생물학적 안전성(병원성 미생물 및 곰팡이 독소 등)을 확보하기에 부족하다 판단되어 식약처 식품공전에서 제시하고 있는 장류의 기준 및 규격을 조사하여 표 50에 제시하였고 문헌조사를 실시함.
- 시장조사를 통하여 국내 유기농 간장 제조사 및 제품을 분석하여 아래 표 49에 제시함.

표 50.시판 유기농간장제품

제품명	제품 사진	제품 유형	내용량	원재료 및 함량	유통기한	제조원
샘표유기농 자연종간장		양조간장	930 ml	정제수, 유기농 대두(미국산NOP인증) 26.5%, 유기농 소맥 (아르헨티나산ARGENCERT인증)26.5 %, 천일염 (호주산), 발효주정	제조일로부터 24개월	샘표식품주식회사
샘표유기농 양조간장		양조간장	930 ml	정제수, 유기농 대두(미국산NOP인증)26.5 %, 유기농 소맥(아르헨티나산ARGENCERT인증)26.5%, 천일염 (호주산), 유기농아기배시럽 1.9 %, 발효주정, 효모추출물	제조일로부터 24개월	샘표식품주식회사
가을향기 유기농 간장		재래 한식간장	300 ml / 500 ml	유기농 콩(백대/국내산) 98%, 천일염 (국내산) 2%	상품 별도표기	영동조합법인 가을향기
유기농이라 더 좋은 청정원 유기농 양조간장		양조간장	500 ml/1.5 L	유기농원료합량97.52%(물,식염제외 함량)/정제수,유기농발기대두17.3%(중국산),천일염(국산),유기농소맥11.5%(국산),유기농물엿9%,증정,효모분말,증정,염양강화제(아사당 물,식염포함합량)	제조일로부터 730일	대성(주)
복은강물더한유기농간장		재래 한식간장	300 ml	대두(국내산), 태동콩종소금(국내산)	제조(포장)일로부터 365일	천한제상
[고스락(GOSRAK)] 고스락 유기농 간장		재래 한식간장	250 ml/420 ml	콩(대두) 98%, 소금(천일염) 10%	제조일로부터 2년	(영)다송리차멸품
100% 국산콩 심순살버나 유기농 간장		재래 한식간장	470 ml	대두 60%(국산), 상평버섯달인물 32%(국산), 천일염 8%(국산)	상품 별도표기	두리두리영농조합법인
선한유기농 간장		한식간장	500 ml	대두(국산-유기농) 82%, 죽염(국산) 18%	상품 별도표기	농업회사법인 선한제상주식회사

표 51.식품공전 장류*의 기준 및 규격

기준	항 목	규 격	
기준 및 규격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.	
	총질소(w/v%)	0.8 이상	
	대장균군	n=5, c=1, m=0, M=10	
	바실러스 세레우스	g 당 10,000 이하(멸균 시 음성)	
	클로스트리디움 퍼프린젠스	g 당 100 이하 (멸균 시 음성)	
	타르색소	불검출	
	보존료(g/L)	소르빈산	1.0 이하
		소르빈산칼륨	
		소르빈산칼슘	
		안식향산	
안식향산나트륨			
0.6 이하	안식향산칼륨	0.6 이하	
	안식향산칼슘		
	파라옥시안식향산메틸		
0.25 이하	파라옥시안식향산에틸	0.25 이하	
곰팡이독소(μg/L)	총 아플라톡신 150 이하 (단, B1은 100 이하이어야 한다)		

*식품공전 2장, 식품일반(장류포함)에 대한 공통 기준규격 및 5장, 식품별 기준규격(장류)

- 제품분석결과, 대기업 외 농가 인근 지역의 중소기업에서도 활발히 제품이 출시되고 있으며, 대부분 제품이 제품 중량 대비 56% 이상의 유기농 콩, 소맥, 대두 등을 원료로 사용하여 제조함.
- 먼저, 1차년에 개발한 유기농가공방법의 기준 설정 표를 통해 개발한 염도 낮은 유기농 양조간장의 유기농가공방법이 적합한지 확인한 결과, 간장을 생산하는 제조사 ‘순창장류’는 생산 관련 HACCP 보유 업체로서 4가지 일반요건은 충족되리라 사료됨.
- 식품공전의 규격 및 아래 제시된 내용들을 참고하여 제품에 더 적합하게 설계하기를 권함.

- 가공원료에 대한 6가지 기준을 검토한 결과, 유기농 인증 원료를 사용하고 있으므로 잔류 농약의 문제는 없다고 판단되었고, 다만 기존 제품에 새롭게 추가된 짠맛증진제는 현재 국내 수산물 인증대상 원료규격에 포함되어 있지 않아 유기 인증을 받을 수 없는 원료이지만 주관기관 제공 자료를 통해 확인해보면 사용비율이 1%이고 이 짠맛증진제를 포함한 비유기원료의 함량이 5% 미만이므로 기준에 적합하다고 판단함.
- 제공 받은 제조공정도와 QC공정도에 의하면 유기농 양조생장에 짠맛증진제를 배합하여 염도를 낮춘 제품으로 본 제품을 생산하고자하는 ‘순창장류’의 HACCP plan과 동일하게 CP와 CCP를 관리하면 됨.
- 결론적으로,
 - ‘순창장류’의 HACCP plan에 관한 정보를 현장공정과 공유하여 가장 중요한 CCP로써 살균 공정에 대한 관리 계획을 표 52와 같이 제안하고자 함.

표 52. 간장 살균 공정 HACCP 관리 계획(2차년 연구개발계획서 내)

구분		내용
공정단계		살균
위해요소		<i>E. coli</i> , <i>Bacillus cereus</i>
한계 기준	관리항목	살균온도 및 살균시간
	관리기준	살균온도 90±3℃, 살균시간 5분 이내
모니터링	대상	살균기 온도, 살균시간
	방법	(1) 살균 설정온도 확인 후 한계 기준 이상인지 확인 (2) 살균기 실온도가 90℃에 도달할 때 살균시작 시간 및 종료 시간을 기록 후 모니터링 일지에 기록하고 생산 팀장 및 HACCP 팀장에게 보고함.
	빈도	작업 시 매 Batch 마다
	담당자	모니터링 담당자
개선조치		(1) 살균온도 및 살균시간의 한계기준 이탈시 (a) 한계기준 미달 시 ① 살균공정 담당자는 즉시 살균공정을 계속 유지시키며 생산팀장에 보고한다. ② 해당 제품은 즉시 한계기준 이상으로 재 살균한다. ③ 살균 공정 담당자는 발생내역과 조치내용을 일지에 이탈 발생내역과 조치내용을 기록하고 생산팀장과 HACCP팀장에게 보고한다. ④ 생산팀장은 해당 로트제품의 공정품을 품질관리팀장에 검사 의뢰한다. (b) 한계기준 이상일 시 ① 살균공정 담당자는 즉시 살균공정을 중단하고 생산팀장에 보고한다. ② 살균공정 담당자는 발생내역과 조치내용을 일지에 이탈 발생내역과 조치내용을 기록하고 생산팀장과 HACCP 팀장에게 보고한다. ③ 생산팀장은 해당 로트제품의 공정품을 품질관리팀장에 검사 의뢰한다.
		(2) 기계적인 고장으로 한계기준 이탈시 ① 살균공정 담당자는 즉시 살균작업을 중지하고 생산팀장에게 보고한다. ② 살균공정 담당자는 일지에 이탈 발생내역을 기록한다. ③ 품질관리팀장에게 수리 의뢰한다. 직접 수리가 불가능할 경우 협력업체에 의뢰하여 수리한다. ④ 수리완료 후 살균 공정품은 한계기준 이상으로 재 살균한다. ⑤ 모니터링 일지에 개선조치 내역을 기록하고 생산팀장과 HACCP 팀장에게 보고한다. ⑥ 생산팀장은 해당 로트제품의 공정품을 품질관리 팀장에게 검사 의뢰한다.
검증방법	(1) 생산팀장은 살균공정 점검표가 관리계획에 따라 기록되고 있는지 매일 확인 (2) 월 1회 이상 기계 정상작동 여부, 작업자 인터뷰 및 년 1회 이상 초시계, 온도계 검교정 실시	

(4) 천연효소 적용 유기농 식초

(가)-1. 소재 - 효소(protease)

1) 과일 추출물의 연육작용 확인

과일에 있는 조효소 추출액을 제조하여 protease의 대표적인 기능인 연육작용을 알아봄.

가) 조효소 추출액 제조

○키위

껍질을 제거한 키위를 chopping하고, 믹서를 활용하여 갈아준 후 homogenizer로 균질화한 뒤, 여과포로 거른 뒤, 그 여액을 4°C에서 3000g로 30분간 centrifuge하여 그의 상등액을 취하여 사용함. (Ha, 2013)

○파인애플 과육부분

껍질을 제거한 파인애플의 과육을 chopping 후, 1:1 비율로 증류수를 첨가하고 믹서를 활용하여 갈아준 후 homogenizer로 균질화한 뒤, 여과포로 거른 뒤, 그 여액을 4°C에서 1500g로 20분간 centrifuge하여 그의 상등액을 취하여 사용함. (Ketnawa, 2012)

○파인애플 심지 부분 (부산물 활용 검토)

껍질 및 과육을 제거하고 남은 파인애플의 심지를 chopping 후, 1:1 비율로 증류수를 첨가하고 믹서를 활용하여 갈아준 후 homogenizer 로 균질화한 뒤, 여과포로 거른 뒤, 그 여액을 4°C에서 1500g로 20분간 centrifuge하여 그의 상등액을 취하여 사용함.

(Ketnawa, 2012)

나) 연육작용 확인

○약 15×15×15 mm의 큐브모양의 우육의 앞다리살을 샘플로 준비하여 준비된 PE 파우치에 넣은 후 키위 조효소액을 샘플이 모두 침지될 때까지(50mL) 넣어 침지시킴. 그 후, 30°C의 조건에서 6시간, 12시간, 18시간, 24시간의 경과에 따라 texture analyzer (CT3 4500, Brookfield, USA)을 사용하여 우육의 경도를 관찰해 연육작용을 확인함.

○세 종류의 과일 추출물이 모두 연육작용에 영향을 미침.

키위 추출물의 경우, 처음 우육의 경도(35.14N)에서 6시간동안 침지 후에 15.22N로 줄어드는 것을 확인함. ($p < 0.05$) 그 후에도 12시간에서 8.96N으로 감소($p < 0.05$)한 뒤, 18시간, 24시간 모두 경도가 감소하는 경향을 보여 키위 추출물이 연육작용을 하는 것을 확인함.

○파인애플(과육) 추출물의 경우, 처음 우육의 경도(35.14N)에서 6시간, 12시간의 침지동안 경도가 줄어드는 경향을 보임. 그 후 18시간, 24시간동안 16.86N, 11.23N 로 경도가 감소함을 확인하여($p < 0.05$) 파인애플(과육) 추출물이 연육작용 하는 것을 확인함.

○파인애플 부산물 (심지) 추출물의 경우, 처음 우육의 경도에서 6시간의 침지 후 23.58N의 경도를 보이며 감소함.($p < 0.05$) 그 이후 12시간, 18시간, 24시간 동안 계속 경도가 감소하는 경향을 보여 파인애플 부산물의 연육작용을 확인함.

표53. 효소 침지 시간에 따른 우육의 경도 변화

Hardness (N)			
종류 \ 시간	kiwi fruit (fruit + seed)	pineapple fruit	pineapple core
0hr	35.14 ± 1.01	35.14 ± 1.01 ^a	35.14 ± 1.01 ^a
6hr	15.22 ± 4.08 ^b	29.53 ± 7.44 ^{ab}	23.58 ± 2.07 ^b
12hr	8.96 ± 2.74 ^c	21.78 ± 13.31 ^{ab}	23.94 ± 0.76 ^b
18hr	8.84 ± 3.50 ^c	16.86 ± 3.08 ^{bc}	20.39 ± 9.64 ^b
24hr	8.18 ± 4.17 ^c	11.23 ± 3.08 ^c	18.60 ± 9.01 ^b

표시된 값은 Mean ± S.D.

a,b,c통계적 분석을 통한 유의성 표시 (by ANOVA test, Duncan)

2) 원료 선정

가) 원료 스크리닝

○protease 작용이 있는 다섯 가지 과일들에 대하여 유기농 원료 수급여부, 가격, 활성 정도의 항목을 비교하여 선정함.

표54. 유기가공식품개발을 위해 필요한 효소를 함유한 천연물 소재 스크리닝

과일 종류	target protease	유기농 원물수급 가능여부	가격 (온라인 판매기준)	Total activity (mol/mL) per 1kg fruit
Pineapple	Bromelain	-	-	68,800,000
Kiwi fruit	Actinidin	유기농	약 1000원/100g (온라인 판매 기준-헬로네이처)	59,520,000
Fig	Ficin	무농약	약 1500원/100g (온라인 판매 기준-자연농원)	22,826,720
Papaya	Papain	-	-	27,093,280
Pear	ND (38kDa 정제 단백질 발견)	유기농	약 900원/100g (온라인 판매 기준-헬로네이처)	20,505,872

○활성정도가 가장 높다고 알려진 파인애플과 활성 정도가 다섯 과일 중 세 번째로 높다고 알려진 파파야의 경우, 실험실에서 유기농 원료의 수급이 어려운 것으로 판단되어 제외됨. 또한 무화과의 경우, 무농약 제품만 수급 가능한 것으로 확인되었으며 다른 과일에 비하여 가격 경쟁력이 떨어져 제외됨. 키위와 배는 유기농 원료가 수급 가능하며, 비

교적 저렴하여 경제적임.

○특히, 키위는 과육 1kg 당 59,520,000 mol/mL의 total activity를 함유하고 있고, 배는 과육 1kg당 20,505,872 μmol/mL의 total activity를 함유하고 있어 키위가 더 효과적임을 확인함(Bai, 2000). 위 조건을 모두 고려하여 가장 적합한 원료로 키위를 선정함.

나) 선정 원료 (키위) 확인

○가식부위 확인

키위의 부산물 활용을 위하여 키위의 가식부위를 식품의약품안전처 식품원료 데이터베이스를 확인함.

표55. 식품의약품안전처 식품원료 데이터베이스 中 키위

원재료명	Kiwi fruit		원재료명	키위	
이명	Kiwi, Chinese Gooseberry		이명	참다래, 양다래, 귀도, 승리, 동일, 양도, 중국 다래, Kiwi	
학명	Actinidia deliciosa		학명	<i>Actinidia chinensis Planch</i>	
생약명			생약명		
원재료 분류	식물		원재료 분류	식물	
식품원료 사용가능 여부	가능	열매	식품 원료 사용 가능 여부	가능	열매/씨
	제한적			제한	
	불가능			불가	

○원료 선정

키위의 종류별 가격 및 target enzyme인 actinidin의 함량 정도를 비교하여 (제스프리 사이트 참고) 가격이 낮고 actinidin의 함량이 높은 Actinidia Deliciosa (Hayward)를 원료로 선정함.

표56. 키위 종에 따른 상대적인 Actinidin 활성 (Zespri 사이트 참고)

Relative levels of actinidin in Zespri Kiwifruit varieties		키위 가격 비교	
종류	Actinidin 상대 활성 (%)	종류	가격 (100g당) 온라인 판매기준- 헬로네이처
Zespri Green (Hayward)	100	그린키위	약 1000원
Zespri Sweet Green	80		
Zespri Gold (Hort16A)	<1	골드키위	약 1600원
Zespri SunGold	26		
Zespri Charm	65		

3) 추출 공정 확립

추출 공정은 유기가공 식품 기준에 적합하도록 화학적인 공정을 배제한 물리적인 추출 공정만을 사용하여 실험실 규모의 효소액 추출 공정을 확립함. (그림65)

껍질을 제거한 키위를 chopping 후, 약 30초간 믹서 (HMF-3260S, Hanil, Korea) 로 분쇄하고, homogenizer (POLYTRON® PT 2500 E, KINEMATICA AG, Switzerland)로 3분간 균질화한 뒤, 여과포 2개를 겹쳐 착즙함. 착즙하여 얻은 여액을 4℃, 3000g 조건에서 30분간 centrifuge (Eppendorf centrifuge 5810R, Eppendorf, Germany)를 사용해 원심 분리 하여 상등액 만을 추출 효소로 사용함.

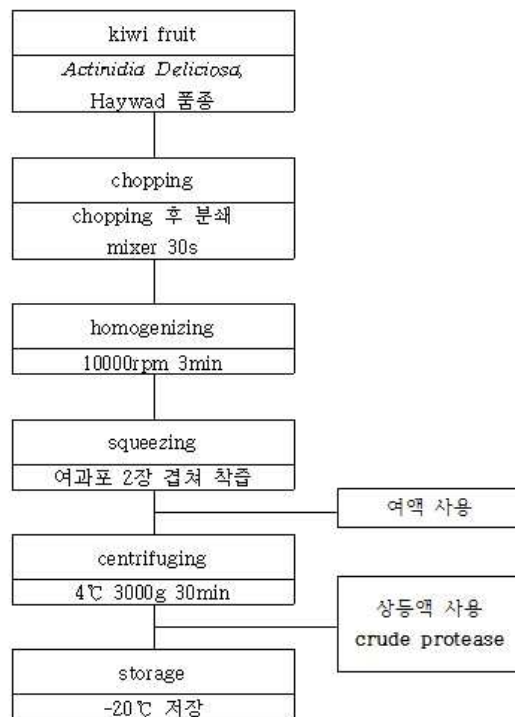


그림67. 키위 추출 효소액의 제조공정도

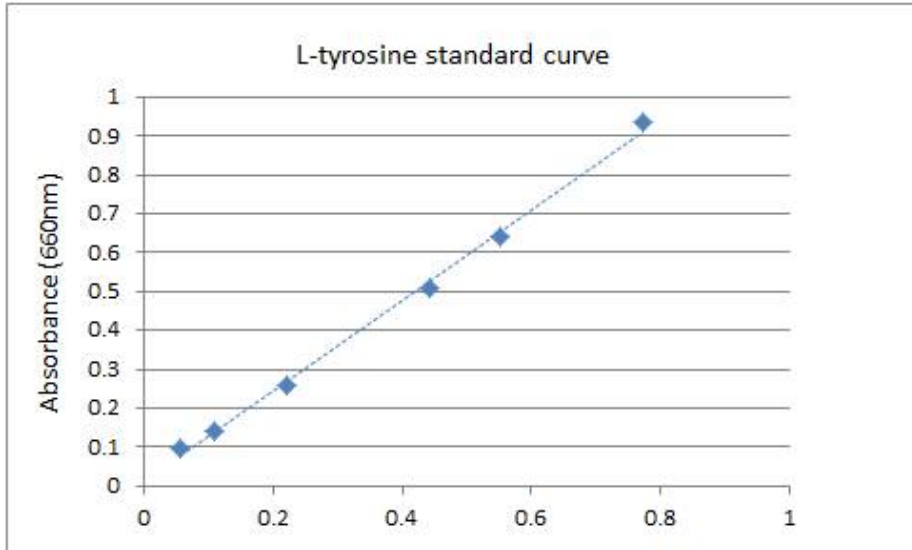


그림68. tyrosine standard curve

5) 추출 효소의 단백질 정량

가) Bradford법

○UV-Visible spectrophotometer (G10S UV-Vis, Thermo Fisher, USA)를 이용, 흡광도를 측정하여 standard 물질인 BSA를 기준으로 조효소에 단백질이 얼마만큼 들어있는지 측정할 수 있음.

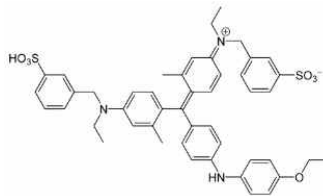


그림69. Coomassie brilliant blue G-250의 구조

- 산성 조건에서 단백질을 Coomassie dye에 결합하는데 이 결과로 dye의 스펙트럼 이동 (갈색(465nm)→푸른색(610nm))이 일어나게 되는데, 이 차이를 최대치로 볼 수 있는 595nm에서 Coomassie dye-protein complex의 푸른색을 측정하여 사용함.
- 일반적으로 3000Da 미만의 단백질은 Bradford assay로 정량할 수 없는데, 키위의 경우 약 25kDa (Ha, 2013)으로 가능하기 때문에 이 방법을 통하여 정량함.
Bradford assay를 통하여 단백질 정량을 측정한 결과, 키위 조효소에는 약 2.506 mg/mL의 단백질이 존재함.
- standard로 사용되는 tyrosine의 검량선의 결과, $y = 0.8406x + 0.3827$ ($R^2 = 0.9967$)

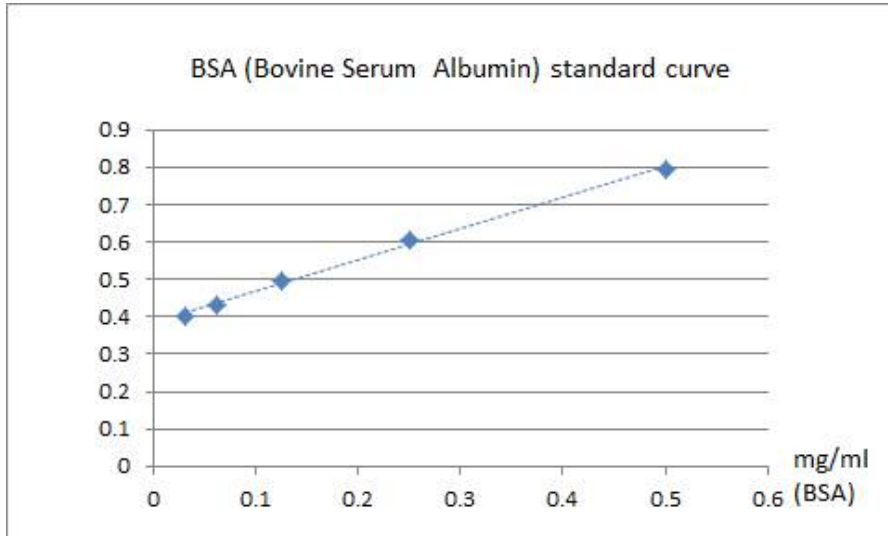


그림70. BSA (Bovine Serum Albumin) standard curve

6) 추출 효소의 기질 특이성 연구

가) chemical 기질의 적용

- 확립된 분석법을 활용하여 다양한 기질 단백질(Casein, Bovine Serum Albumin, Isolated Soybean Protein)에 대한 각각에 대한 단백 분해 활성을 측정하여 기질 특이성(기질 선택성)을 확인함.

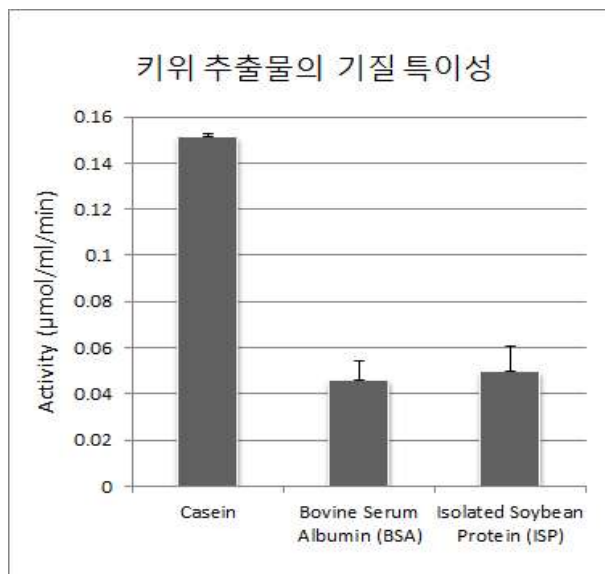


그림71. chemical 기질에 대한 기질 특이성

표시된 값은 Mean ± S.D.

*, ** 통계적 분석을 통한 유의성 표시 (by ANOVA test, Duncan)

- 기존 분석법에 사용되었던 Casein의 활성이 다른 기질 (Bovine Serum Albumin, Isolated Soybean Protein) 여러 가지 기질에 따른 특이성을 비교하기 위해 측정한 결과는 아래 표와 같으며 casein>isolated soybean protein>bovine serum albumin 등의 순으로 분해가 되었음.

나) 실제 기질의 적용

○실제 기질 적용 - 단백질분해작용 확인 시험

- 약 15×15×15 mm의 큐브모양의 우육의 앞다리살을 샘플로 준비하여 준비된 PE 파우치에 넣은 후 키위 조효소액을 샘플이 모두 침지될 때까지(50mL) 넣어 침지시킴. 그 후, 30℃의 조건에서 6시간, 12시간, 18시간, 24시간의 경과에 따라 우육을 육안 및 경도를 관찰함. (texture analyzer 사용- CT3 4500, Brookfield, USA)

○육안 관찰

- 효소 침지 시간에 따라 육질이 물러지는 정도를 육안으로 관찰함.






침지시간	0시간	6시간	12시간	18시간	24시간
우육 상태					

그림72. 실제 기질인 우육에 대한 육안 변화 확인

○경도 관찰

효소 추출액이 실제 기질인 우육에 미치는 영향을 효소 침지 시간에 따른 우육의 경도로 확인함.

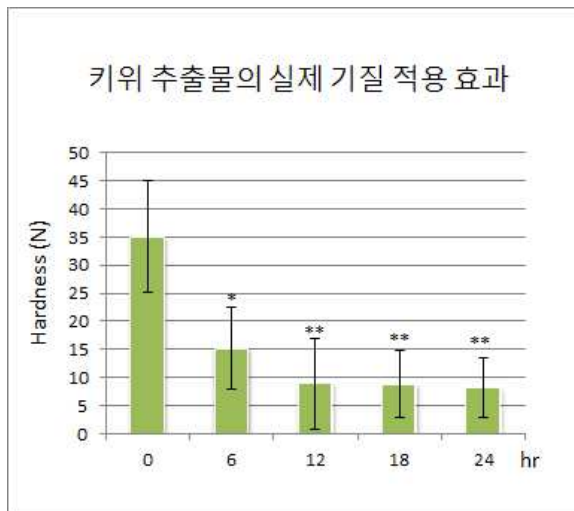


그림73. 실제 기질인 우육에 대한 경도 변화 확인

표시된 값은 Mean ± S.D.

*, ** 통계적 분석을 통한 유의성 표시 (by ANOVA test, Duncan)

○침지하지 않은 우육의 경도(35.14N)가 6시간동안 침지 후에는 15.22N로 줄어드는 것을 확인함. (p<0.05) 그 후에도 12시간에서는 8.96N으로 감소(p<0.05)한 뒤, 18시간, 24시간 모두 경도가 감소하는 경향을 보여 키위 추출물이 실제 기질에서 단백 분해 작용 하는 것을 확인함.

7) 추출효소의 부분정제법 개발

가) 키위로부터 추출한 효소의 활성을 증가시키기 위하여 부분정제법을 진행함. Specific activity 는 비활성도로 효소의 정제정도를 나타냄. 여러 범위의 Ammonium sulfate 포화용액을 제조하여 키위 추출액에 첨가한 뒤 원심분리, 투석과정을 거친 추출액의 활성을 부분정제 전의 활성과 비교하였으며 결과는 아래 표와 같음. 정제 전의 효소활성은 0.0897 Unit/mL 이었으며 20% ammonium sulfate 용액 사용했을 때 침전물의 활성이 0.5322 Unit/mL로 가장 많이 증가하였음. 원심분리 조건은 15000g, 5min, 4°C 에서 진행하였으며 투석은 12시간 진행하였다. 침전물은 효소의 최적 조건에 맞는 버퍼에 녹여 활성 측정 방법을 이용하여 효소 활성을 측정함.

표 57. Ammonium sulfate 이용한 분획 침전 결과

포화농도범위 (%)	효소활성 (Unit/mL)	Specific activity (Unit/mg)
0~20	0.5322	1.2829
20~40	0.3051	0.3748
40~60	0.1659	0.3091

8) 추출 효소의 안정성 및 활성 증진 방법 개발

가) hydrocolloid 형태를 위한 gum 종류 검토

유기가공 적성에 알맞은 gum 물질 탐색하였으며, (농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙(00129) - 허용물질의 종류(제 3조 제 1항 관련) - 유기가공식품 중 식품첨가물 또는 가공보조제로 사용이 가능한 물질 참조) 유기가공 식품 중 식품첨가물로 사용 가능한 gum을 사용함.

: 구아검 (guar gum), 로커스트빈검 (locust bean gum)

표 58. 유기가공식품 중 식품첨가물 또는 가공보조제로 사용가능한 물질

명칭(한)	명칭(영)	국제 분류 번호 (INS)	식품첨가물로 사용 시		가공보조제로 사용 시	
			허용여부	허용범위	허용여부	허용범위
구아검	Guar gum	412		제한 없음	×	-
카라야검	Karaya gum	416	○	제한 없음	×	-
트라가칸스검	Tragacanth gum	413	○	제한 없음	×	-
로커스트빈검	Locust bean gum	410	○	유제품, 육제품	×	-
잔탄검	Xanthan gum	415	○	지방제품, 과일 및 채소, 케이크, 비스킷, 샐러드	×	-
아라비아검	Arabic gum	414	○	우유, 지방 및 과자류 제품	×	-
카라기난	Carrageenan	407	○	유제품	×	-

나) hydrocolloid 형태의 효소의 활성 증진 효과 확인

○ 효소 활성 측정 조건에서 대조군과 친수성 콜로이드 형태의 효소를 비교하였으며, 아무 처리를 하지 않은 효소(대조군)와 구아검, 로커스트빈검을 첨가한 친수성 콜로이드 형태의 효소의 활성을 측정한 결과, 구아검을 첨가한 효소와 로커스트빈검을 첨가한 효소 모두 그 활성이 유의적으로 증가함. ($p < 0.05$)

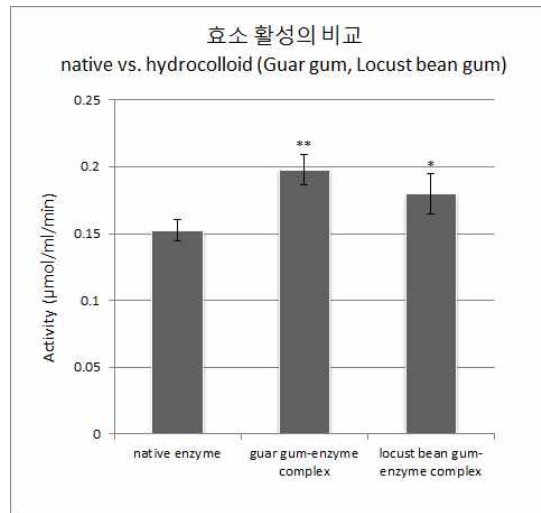


그림74. 효소 활성의 비교

표시된 값은 Mean ± S.D.

*, ** 통계적 분석을 통한 유의성 표시 (by ANOVA test, Duncan)

다) Enzyme Kinetics

○ Enzyme Kinetic parameters

- Km

반응속도가 최대값의 반일 때의 기질농도 (V 가 V_{max} 의 절반일 때의 substrate 농도)로 효소의 기질 친화도를 알 수 있음. 그 값이 작으면 작을수록 적은 양의 substrate로도 충분한 속도를 낼 수 있는 효소임을 판단할 수 있음.

- Vmax

효소최고활성속도로서, 반응의 최대속도를 나타내는 반응상수. 효소량에 의해 변하지만 기질과는 무관하며 효소의 Km (Michaelis-Menten 반응 상수), Vmax (효소의 최대반응속도)를 구하기 위하여 아래의 Lineweaver-Burk plot을 이용하여, Km은 감소하고 Vmax는 증가함을 확인함. 따라서, 효소의 기질 친화도는 증가하고, 효소 최고 활성속도 역시 증가함.

종류	Km	Vmax
native enzyme	488.7	0.764
guar gum-enzyme complex	362.5	0.803
locust bean gum-enzyme complex	459.5	0.835

표 59. 효소의 Km과 Vmax

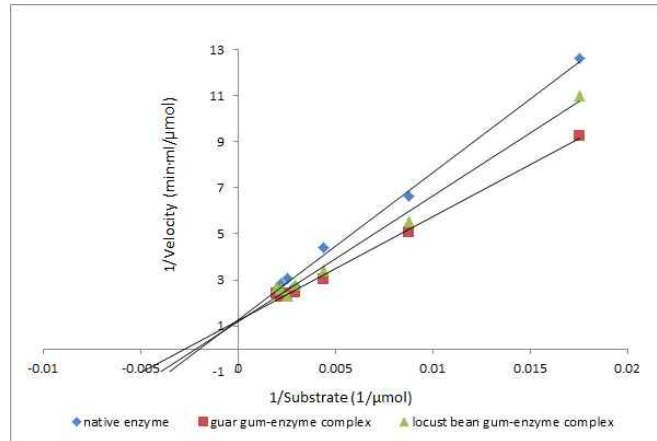


그림 75. Lineweaver-Burk plot

라) 효소 활성에 미치는 온도의 영향

○ 다양한 온도 조건에서의 아무 처리도 하지 않은 효소 (대조군) 및 친수성 콜로이드 형태 (구아검, 로커스트빈검)의 효소를 비교하였으며 친수성 콜로이드 형태의 효소 (구아검, 로커스트빈검)가 다양한 온도 조건 (20~80°C)에서 대조군에 비해 활성이 높은 경향을 보임.

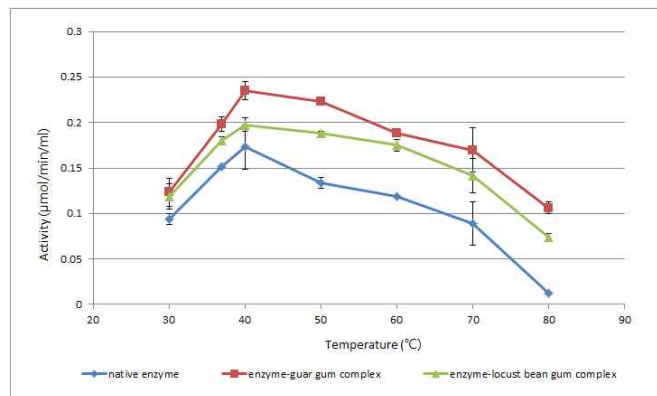


그림 76. 다양한 온도 조건에서의 활성 비교

마) 효소 활성에 미치는 pH의 영향

○ 다양한 pH 조건에서의 아무 처리도 하지 않은 효소 (대조군) 및 친수성 콜로이드 형태 (구아검, 로커스트빈검)의 효소를 비교하였으며 친수성 콜로이드 형태의 효소 (구아검, 로커스트빈검)가 다양한 pH 조건 (pH 4~10)에서 대조군에 비해 활성이 높은 경향을 보임.

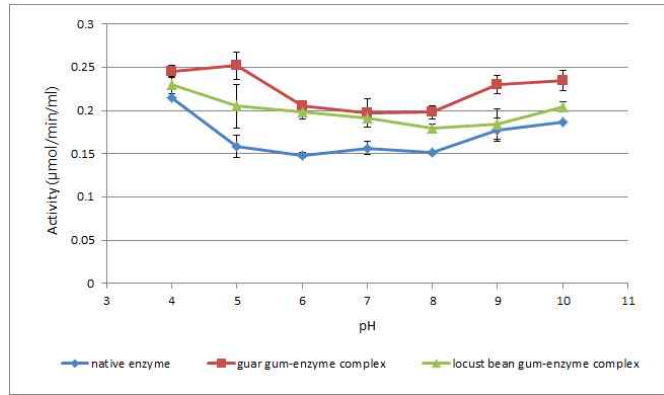


그림 77. 다양한 pH 조건에서의 활성 비교

9) 안정성이 증진된 효소의 기질 적용법 개발

확립된 분석법을 활용하여 다양한 기질 단백질 (Casein, Bovine Serum Albumin, Isolated Soybeans Protein) 에 대한 각각에 대한 단백 분해 활성을 측정하여 기질 특이성 (기질 선택성)을 확인하여 casein에서 단백분해 효능이 높은 것을 확인함. 기존 분석법에 사용되었던 casein과 여러 가지 기질에 따른 특이성을 비교하기 위해 측정한 결과는 아래 그림과 같았으며 casein > isolated protein > bovine serum albumin 등의 순으로 분해가 되었음.

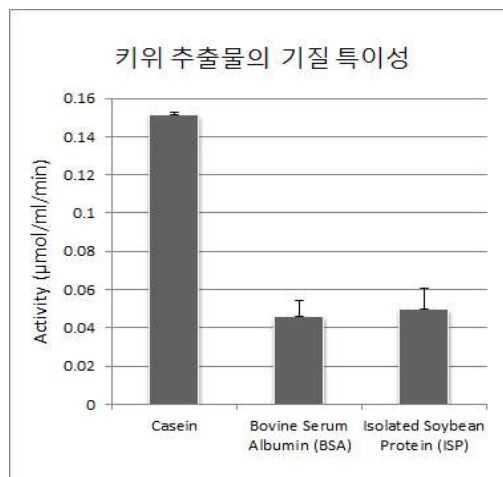


그림 78. Chemical 기질에 대한 기질 특이성

10) 단백분해효소의 청징화

가) 청징화 방법 검토

청징화의 지표로 가장 많이 사용하는 탁도를 측정하여 청징화 관찰하고자 하였으며 탁도 이외의 SDS-page를 통해 단백질 band의 감소를 확인하고자 함.

당화액에 키위 조효소를 넣어 농축시켜 냉장온도인 4°C에서 보관하면서 7일 동안 관찰하여 키위조 효소를 넣은 당화액의 단백질 감소 억제 효과를 확인하였음.

○ 탁도 측정

청징화는 다음 제조공정도에 따른 당화액을 제조한 후 당화액에 키위 조효소를 첨가하여 효소 최적 활성 온도인 37°C에서 시간 별로 관찰하였음. 0, 1, 2, 3 시간 까지 반응 시킨 후 원심분리를 통해 단백질을 제거한 후 상등액을 취하여 탁도를 spectrophotometer를 통해 측정함. 탁도는 660nm

에서 측정하였음. 측정 결과, 시간 별로 유의적인 차이를 보이며 탁도가 감소한 것을 확인함.

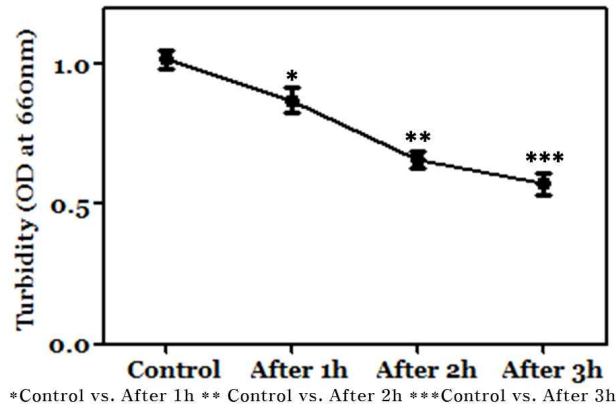


그림 79. 시간 별 당화액의 탁도

○ 단백질 band 감소 확인을 위한 SDS-page

당화액과 키위 조효소를 1 : 1로 섞어 waterbath에서 효소 최적 활성 온도인 37°C에서 150rpm으로 1시간 동안 반응시킨 후 SDS-page를 통해 당화액의 단백질의 band가 사라지는 것을 확인함으로써 단백질 청징 효과를 확인함. 그 결과, 1번 well에 존재하던 키위의 단백질과, 3번 well에 존재하던 당화액의 단백질을 비교하였을 때, 2번 well에 단백질 band가 사라진 것을 확인함.

표 60. SDS-page 조건

Well number	Condition
1	Protease : DW = 1 : 1
2	Protease : saccharification liquid = 1 : 1
3	Saccharification : DW = 1 : 1

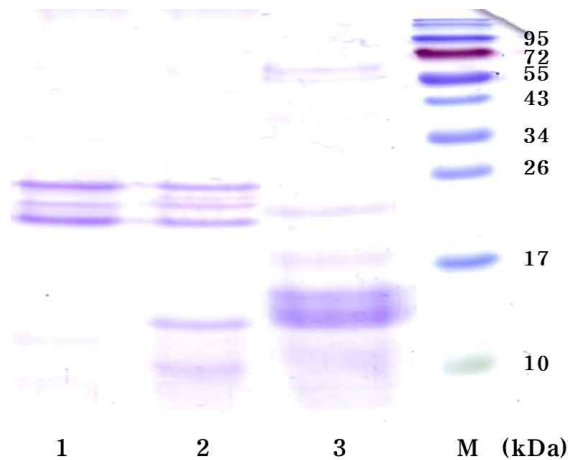


그림 80. SDS-page 결과

○당화액 관찰

당화액 제조 공정을 참고하여 당화액에 키위 조효소를 넣어 각 조건 별로 농축시켜 냉장온도인 4℃에서 보관하면서 7일 동안 관찰하여 키위조효소를 넣은 당화액에서 단백질이 발생하지 않는 것을 확인하여 단백분해효소의 단백질 생성 억제 효과를 확인함.

○Control group은 당화액 제조하여 50℃에서 농축하여 제조한 것, Test group은 당화액 제조 시 농축과정에서 키위조효소를 1.6% 만큼 첨가하여 농축시킨 것, Test group2는 당화액 제조 시 농축과정에서 키위조효소를 1.6% 만큼 첨가하여 효소 최적 활성 온도인 37℃에서 농축시킨 것으로 7일 동안 관찰한 결과 효소 최적 활성 온도인 37℃에서 농축한 당화액에서 단백질이 발생하지 않은 것을 확인함.

표 60. Group 별 당화액 농축 조건

Concentration condition	Control group	Test group 1	Test group 2
Temperature	50℃		37℃
Brix	60°		
Existence of crude protease	Without crude protease	With crude protease	

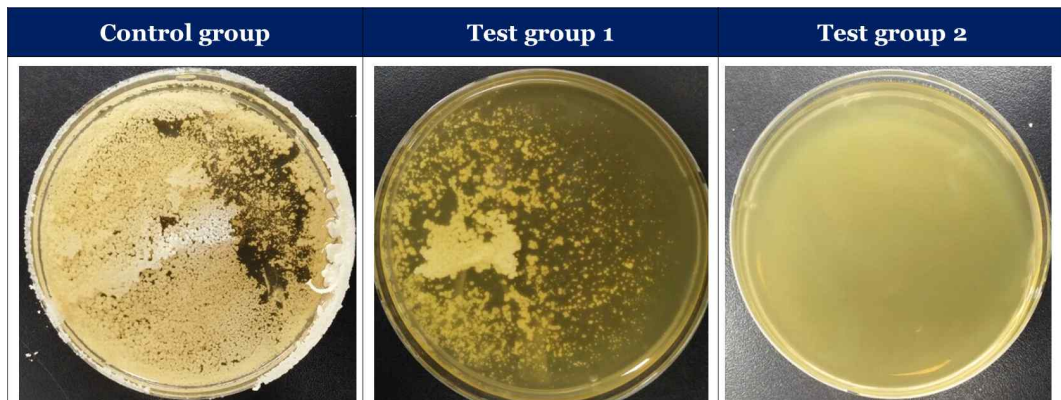


그림 81. 조건 별 당화액의 7일 관찰 결과

11) 유기가공용 효소의 제법 및 현장 적용법 개발

Lab에서 생산하는 공정의 현장 적용 시 발생하는 문제점을 개선하기 위해 효소 추출 공정도를 현장 적용 가능하도록 아래 그림과 같이 수정하였음.

조은푸드텍에서 예비 생산 시 키위 분쇄 후 원심분리 공정 현장 적용 시 수율 감소가 많으며 0.45 μm membrane filter 여과 시 소량은 진행되나 대용량은 필터 막힘 현상이 발생하고, 결과적으로 0.45 μm membrane filter로 여과 후에도 제균 불가 현상이 발생되었음.

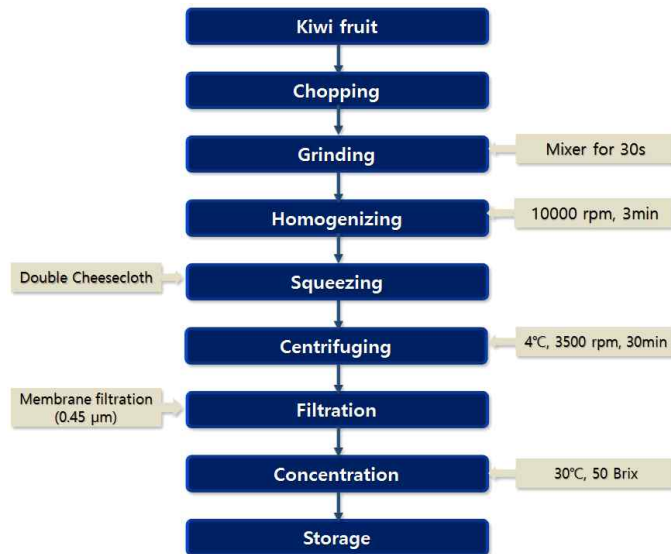


그림 82. 유기가공용 효소 추출 공정도

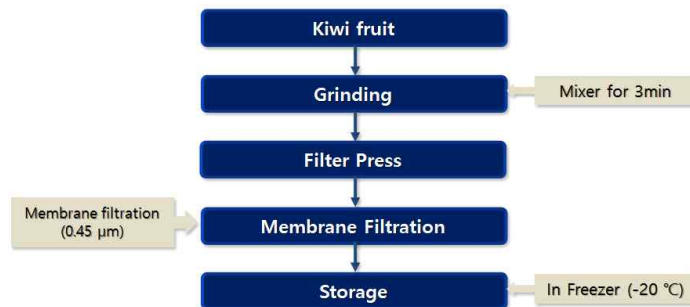


그림 83. 유기가공용 효소 추출 현장 적용 공정도

표 61. 제조공정도 수정사항

공정	차의과학대학교	조은푸드텍(공장생산)
분쇄	믹서, 3분	x
착즙	2장의 여과포를 겹쳐 짜냄	x
원심분리	온도 : 4°C rpm : 3500(=2739g) 시간 : 30분	Filter press
여과	0.45 μm membrane filter	0.45 μm membrane filter
저장	-20°C	-20°C

가) 단백질효소 규격 설정

식품일반에 대한 공통 규격	
항목	규격
성상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.
바실러스 세레우스	g당 1,000이하
클로스트리디움 퍼프린젠스	음성

음료류 중 과채주스	
항목	규격
납	0.05 이하
카드뮴	0.1 이하
세균수	100,000 이하
장출혈성 대장균	n=5, c=0, m= 0/25 g
보존료(g/kg)	정하는거 이외에 검출 x

장기보존식품 중 냉동식품 규격	
항목	규격
세균수	n = 5 c = 2 m = 100,000 M = 500,000
대장균군	n = 5 c = 2 m = 10 M = 100

키위 추출물 규격		
항목	규격	
성상	고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야함.	
납 (mg/kg)	0.05 이하	
카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하	
세균 수 (cfu/ml)	1000 이하	
대장균군	음성	
바실러스세레우스	1000 이하	
클로스트리디움 퍼프린젠스	음성	
장출혈성 대장균	n=5, c=0, m= 0/25 g	
보존료(g/kg)	안식향산	0.6 이하(안식향산으로서, 다만, 농축 과일의 경우 소르빈산 소르빈산칼륨 또는 소르빈산칼륨과 병용할 때에는 안식향산으로서 사용량과 소르빈산으로서 사용량의 합계가 1.0g/kg 이하이어야 하며, 그 중 안식향산으로서의 사용량은 0.6g/kg 이하이어야 한다. 또한 가열하지 아니한 제품은 검출되어서는 아니 된다.)
	안식향산나트륨	
	안식향산칼륨	
	안식향산칼슘	
	소르빈산	
	소르빈산칼륨	
프론타아제 (unit/g)	0.05 이상	
유통기한	-20°C 보관 시 제조일로부터 1년 (실질 중)	

한국건강기능식품협회 분석 결과		
항목	규격	비고
성상	이미, 이취가 없고, 고유의 향미가 없고, 혼린 노란 연두색의 고체상	적합
납 (mg/kg)	0.0129	적합
카드뮴 (mg/kg)	0.0013	적합
세균 수 (cfu/ml)	0	적합
대장균군	음성	적합
바실러스세레우스	음성	적합
클로스트리디움 퍼프린젠스	음성	적합
대장균	음성	적합
장출혈성 대장균	분석중	
보존료(g/kg)	분석중	

n : 검사하기 위한 시료의 수
c : 최대허용시료수, 허용기준치(m)를 초과하고 최대허용한계치(M) 이하인 시료의 수로서 결과가 m을 초과하고 M 이하인 시료의 수가 c 이하일 경우에는 적합으로 판정
m : 미생물 허용기준치로서 결과가 모두 m 이하인 경우 적합으로 판정
M : 미생물 최대허용한계치로서 결과가 하나라도 M를 초과하는 경우는 부적합으로 판정

나) 최종 규격

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00
	키위 추출물	제정일자	페이지
		개정일자	1/2

1. 적용범위

이 규격은 당사의 제품인 키위 추출물의 제품검사규격에 대하여 규정한다.

2. 제품설명

- 냉동식품 이라 함은 제조, 가공 또는 조리한 식품을 장기보존할 목적으로 냉동처리, 냉동보관하는 것으로서 용기, 포장에 넣은 식품을 말한다. 가열하지 않고 섭취하는 냉동식품은 별도의 가열과정 없이 그대로 섭취할 수 있는 냉동식품을 말한다.
- 음료류라 함은 과일, 채소류 음료, 탄산음료류, 두유류, 발효음료류, 인삼,홍삼음료, 기타음료 등 음용을 목적으로 하는 식품 (다만 주류, 다류, 무지유 고형분이 4% 이상인 음료는 제외)을 말한다.
- 과채주스라함은 과일 또는 채소를 압착, 분쇄, 착즙 등 물리적으로 가공하여 얻은 과채즙 또는 이에 식품 또는 식품첨가물을 가한 것을 말한다.

3. 제조, 가공기준

냉동된 원료의 해동은 별도의 청결한 해동공간에서 위생적으로 실시해야 한다.

4. 제품규격기준

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사 방법	검사 주기
법적규격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.		식품공전 시험방법에 따른다.	생산시
	납(mg/kg)	0.05 이하			
	카드뮴(mg/kg)	0.1 이하			
	세균 수(cfu/ml)	1000이하			
	대장균군	음성			
	바실러스 세레우스	1000 이하			
	클로스트리디움 퍼프리젠스	음성			
	보존료(g/kg)	안식향산 안식향산나트륨 안식향산칼륨 안식향산칼슘 소르빈산 소르빈산칼륨 소르빈산칼슘	음성		
		체크검사	N=1		

	장출혈성 대 장균	n=5, c=0, m=0/25 g				
자 가 규 격	프로테아제 (unit/g)	0.05 이상				
	포장(실링)상태	포장지에 불량, 누설, 파손과 포장상 태에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도 록 되어 있어야함.				
	내용량	표시중량 100% 이상				
	유통기한	-20℃ 보관 시 제조일로부터 1년				

※ 이물은 벌레, 포재조각, 공구조각, 체모, 복장의 일부 등.

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간

- 냉동제품을 해동시켜 실온 또는 냉장제품으로 유통시켜서는 아니 되며, 실온 또는 냉장제품을 냉동시켜 냉동제품으로 유통시켜서는 아니 된다. 다만, 제조업자가 냉동제품인 빵류, 떡류, 초콜릿류 및 젓갈류에 냉동포장완료일자, 해동일자, 해동일로부터 유통조건에서의 유통기한(냉동제품으로서의 유통기한 이내)을 별도로 표시하여 해동시키는 경우는 제외한다.

- 해동된 냉동제품을 재냉동하여서는 아니 된다. 다만, 냉동수산물의 내장 등 비가 식부위를 제거하기 위해 해동하는 것은 그러하지 아니할 수 있으며 신속하게 냉동하여야 한다.

- 이물이 혼입되지 않도록 주의하여야 함

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

※ 주의사항

- 냉동보관은 -20℃에서 이루어져야하며 해동한 후 재냉동해서는 아니 된다. 해동은 4℃에서 냉장 보관하여 해동하거나 ice bath에 넣어 해동하여야 한다.

10. 효소 활성 측정 방법

- 효소활성 측정은 37°C water bath에서 진행하며 방법은 아래와 같다.
- standard 물질은 L-tyrosine을 사용하였음.

1. 1% casein 용액 1mL 와 0.05M pH8.0 sodium phosphate buffer 2mL을 섞어 기질용액 제조

(기질용액은 총 3mL임)

※ 주의사항

- 1% casein 용액은 당일 제조하여 사용하고 24시간 이내에 사용해야함 (기질의 변성 우려)

- casein 용액은 0.05M pH8.0 sodium phosphate buffer에 녹여야 하며 stirring 시 온도를 살짝 가해 녹여주어야 하며, 녹인 즉시 냉장 보관하여야 함. 이 때 이물이 혼입되지 않도록 주의해야함.

2. 기질용액을 37°C에서 5분간 incubation

3. 반응시킨 기질용액에 1mL의 enzyme 넣은 후 37°C에서 20분간 incubation (enzyme의 희석배수는 2배, 활성 계산하여 3반복 data를 평균 낸다.)

4. 반응시킨 후, 반응 정지 위한 10% TCA solution 2mL을 넣은 후 30분간 incubation

5. 분해되지 않은 단백질을 거르기 위해 0.45µm filter를 사용하여 여과시킴

6. 여액 1mL에 0.5M 탄산수소나트륨 5mL 과 Folin 시약 1mL 를 넣어 발색시킨 후, 37°C에서 30분간 incubation

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

다) 단백분해효소 또는 아밀레이즈 상용화

원물기준 330 kg 생산하여 최종 효소 82kg 생산되었으며 이후 품목제조보고 후 대상에서 실험 후 제품 적용.

(가)-2. 소재 - 효소(Amylase)

1) 원료 선정

- 엿기름(malted barley)은 겉보리를 원료로 하여 침맥, 발아, 건조 등의 간단한 과정을 거쳐 제조되며 저렴한 효소원으로 오래전부터 식혜, 장류, 물엿, 맥주 등의 제조에 널리 사용되어 옴.
- 농촌진흥청 식품성분표 DB('11)에 따르면 평균적으로 가식부위 100 g당 338 Kcal를 나타내며, 수분 12.5%, 단백질 11.2g, 당질 73g, 섬유소 5.1g, 지질 1.2g 을 함유하고 있음.
- 전분에 엿기름 추출물을 넣고 적당한 온도로 유지하면 맥아 중의 amylase에 의하여 당화 작용이 일어나 전분이 당화되어 maltose, glucose 등의 감미와 특유의 풍미가 생성된다고 알려져 옴.
- 전분 가수분해 효소인 α -amylase, β -amylase, glucoamylase 등 다양한 효소가 존재하며 엿기름에서 추출한 amylase는 거의 β -amylase이거나 α -amylase에 비해 β -amylase의 역가가 강함(Hyung-joo seo,1997).
- α -amylase는 전분의 α -1,4결합을 무작위적으로 가수분해시키는 효소로 휴지상태의 보리에는 존재하지 않으나 발아시에 생성된다고 함. 또한 보리가 발아할 때 배에서 gibberellin 유사물질이 생성되어 배유에 이송되면서 α -amylase 및 β -amylase의 활성 및

생성을 촉진 시킨다고 함.

가) 원료 수급

○ 원료 수급 업체 선정

초록마을의 유기농 엿기름이 다른 제품에 비해 400 g당 4,500원으로 e-farm의 유기농 엿기름이 400g당 6,200원, 올가 홀푸드 ORGA 유기 엿기름이 480g당 7,600원임을 고려할 때 경제적이고 접근성이 높아서 선정.

표 62. 업체 별 엿기름 설명

	이팜	초록마을	올가 홀푸드
제품명	유기농 엿기름	유기농 엿기름	ORGA 유기 엿기름
사진			
가격 (원)	6,200(400 g)	4,500(400 g)	7,600(480 g)

표 63. 유기농 엿기름(초록마을)

	제품명	유기농 엿기름
	식품의 유형	곡류가공품
	용량	400 g
	원재료명 및 함량	보리(유기농, 국내산) 100%
	원산지	군산
	제조원	(주)우리농촌살리기공동네트워크
	판매처	초록마을
	유통기한	약 1년
	보관	상온

2) 유기가공식품용 추출 공정 개발

가) 엿기름 추출 용수 설정

전통 엿기름 약 20 g 정도를 에탄올, 메탄올, 클로르포름, 물, 75% 에탄올 등 5가지 용매 조건 하에서 실온 4시간 sonicator 추출한 후 용액을 감압 농축하여 엑스를 얻은 다음 105℃ 4시간 건조 하여 데시케이터에서 식힌 다음 추출 수율(%)을 구함

sample	extraction yield(%, w/w)				
	MeOH	EtOH	75% EtOH	CHCl ₃	Water
malt	18.31	3.31	12.46	2.11	50.11

표 64. 엿기름 추출용매에 따른 추출수율

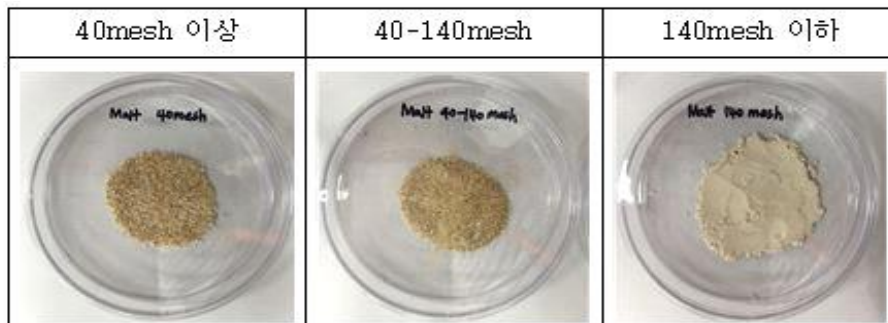
전통식품 규격설정 및 생리활성에 관한 연구(1)-엿기름

엿기름을 물로 추출했을 때 수율이 가장 높다는 결과를 참고하여 추출 용매를 2차 증류수로 결정하였으며 예비실험을 통해 엿기름과 물의 비율은 1:10 으로 설정함.

나) 엿기름 크기별 활성 분석

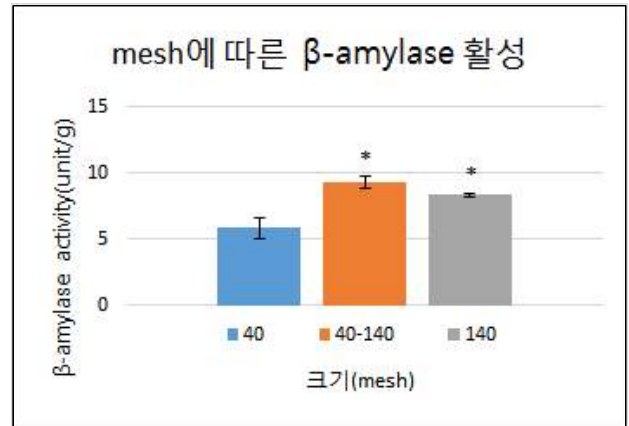
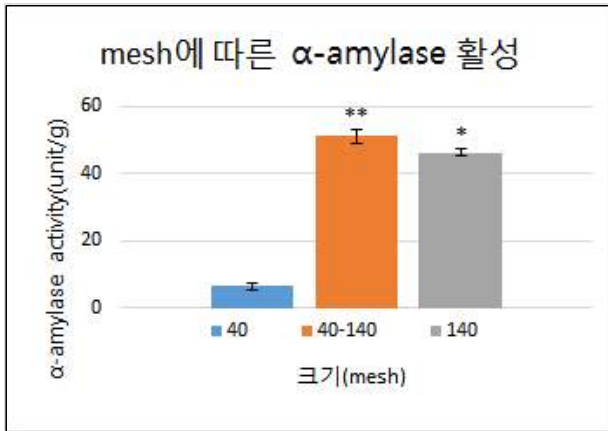
엿기름의 크기가 클 경우(40mesh 이상)에는 입자의 크기가 커서 추출용매에 닿는 엿기름의 단면적이 작아지므로 추출에 비용이하며 불 균일 할 수 있고, 엿기름의 크기가 작은 경우(140mesh 이하) 분자의 크기가 줄어 들면서 내부 효소 파괴의 가능성이 증가하므로 세 가지 부분으로 나누어 활성을 비교 하고 활성이 높은 크기의 원료를 선택하고자 함.

표 65. 엿기름 크기별 시료



엿기름은 믹서(HMF-3260S, Hanil, Korea)를 이용해 3분간 갈아서 전처리 하고 40mesh, 140mesh 체(Testing sieve, CHUNG GYE SANG GONG SA, Korea)를 이용해서 40mesh 이하, 40-140mesh, 140mesh 이상 등 세 가지 크기로 분류하며, 각 3가지 군의 시료를 1g 씩 정확히 칭량하여 50 mL conical 에 담고 추출 용매로는 10 mL 의 2차 증류수를 넣어 줌. Shaking water bath(MaXturdy™ Digital Precise Shaking Water Bath 18lit, DAIHAN, Korea) 이용해 추출온도 50℃, 추출시간 3시간, 추출속도 150 rpm 으로 설정하여 추출함. 추출 한 후 얼음으로 3분간 냉각시키고 GF/A glass fiber filter(whatman, England)를 이용해 여과시킴. 여과시킨 효소 추출액은 검정색 1.7 mL tube 에 넣고 냉동(-20℃) 저장 하여 Ceralpha method, Betamyl-3 method 를 사용해 분석함.

엿기름 크기별 활성 분석 결과 40-140 mesh의 엿기름은 α-amylase, β-amylase활성이 유의적으로 높은 결과를 나타냄(p<0.05). α-amylase의 활성에 있어 40mesh 이상의 엿기름에서는 효소의 추출이 거의 되지 않았음을 의미하며, 140mesh 이하의 엿기름의 효소 활성은 40mesh이상의 엿기름 보다는 높은 활성을 보였지만 40-140mesh의 엿기름과는 유의적인 차이를 나타냄(p<0.05).



표시된 값은 Mean ± S.D

*, ** 통계적 분석을 통한 유의성 표시(by ANOVA test, Duncan)

그림 84. 엿기름 크기별 활성 분석결과

표 66. 엿기름 크기별 활성 분석결과

조건	결과	
	α-amylase 활성(Unit/g)	β-amylase 활성(Unit/g)
크기(mesh)		
40	6.412±0.981 ^a	5.855±0.793 ^a
40-140	51.169±2.108 ^c	9.330±0.481 ^b
140	46.410±0.945 ^b	8.353±0.143 ^b

표시된 값은 Mean ± S.D.

a,b,c통계적 분석을 통한 유의성 표시(by ANOVA test, Duncan)

다) 엿기름 추출온도, 시간별 활성 분석

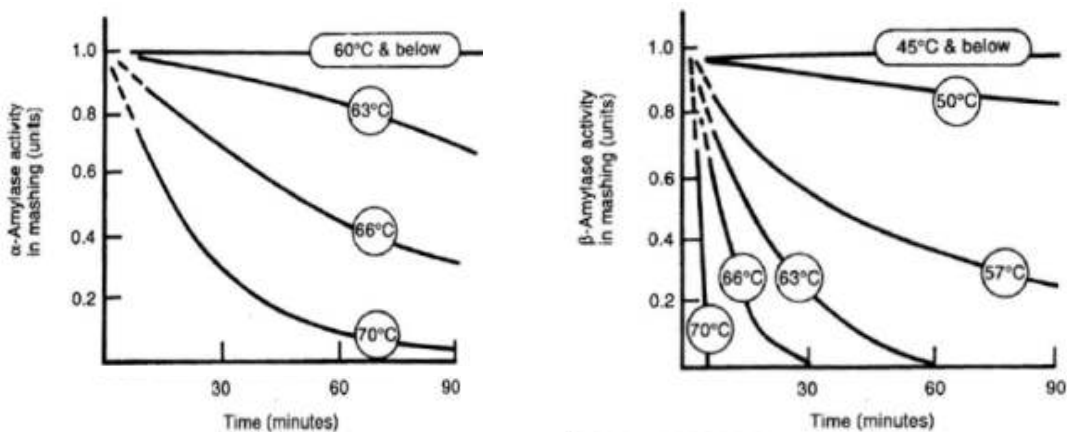


그림 85. 추출온도, 시간에 따른 엿기름의 α-amylase, β-amylase 활성 변화 (Kaiser, The Theory of Mashing(2008))

- 엿기름의 α -amylase는 60°C 이상에서 활성이 감소하며, 엿기름의 β -amylase는 상대적으로 엿기름의 α -amylase보다 내열성이 떨어지므로 45-50°C 에서도 활성이 감소됨을 알수 있음.
- 즉, α -amylase, β -amylase가 동시에 활성을 잃지 않고 추출되는 온도인 40-50°C에서 시간에 따른 활성 비교 실험해야 함.
- 50 mL conical에 정확히 1 g의 엿기름(40-140mesh)을 칭량하고 추출용매로는 10 mL의 2차 증류수를 넣음. Shaking water bath에 넣어 각각의 조건에 맞춰 추출하고 3분간 얼음에서 냉각시키고 GF/A glass fiber filter를 이용해 여과시킴. 여과시킨 추출액은 검정색 1.7 mL tube에 넣어 냉동(-20°C)저장하여 Ceralpha method, Betamyl-3 method를 이용하여 분석함.
- 엿기름을 50°C에서 3시간 추출한 결과가 유의적으로 높은 활성을 나타내었음(p<0.05). 내열성이 있는 α -amylase는 60°C 이상에서도 효소 활성을 나타내므로 실험을 진행해본 결과 60°C 이상에서는 α -amylase 활성은 약간 증가하나 β -amylase 활성이 급격히 감소하므로 조건에서 제외함.

표 67. 엿기름 추출온도, 시간별 활성 비교

조건		결과	
온도(°C)	시간(h)	α -amylase 활성 (Unit/g)	β -amylase 활성 (Unit/g)
40	3	31.683±3.798 ^a	9.486±0.527 ^{bc}
	4	36.718±3.689 ^{ab}	7.714±0.272 ^a
50	3	40.249±5.033 ^b	10.369±0.310 ^c
	4	34.964±2.673 ^{ab}	8.585±0.461 ^{ab}

표시된 값은 Mean ± S.D.

a,b,c통계적 분석을 통한 유의성 표시(by ANOVA test, Duncan)

3) 효소활성 분석법확립

가) α -amylase 분석법 Ceralpha method(Megazyme, Ireland)

- 기질로 blocked p-nitrophenyl maltoheptaoside(BPNPG7)과 충분한 양의 amyloglucosidase와 α -glucosidase을 사용함. endo-acting α -amylase 에 의해 기질이 가수분해됨에 따라 p-nitrophenyl maltosaccharide와 blocked maltosaccharide를 생성 p-nitrophenyl maltosaccharide를 glucose와 free p- nitrophenol로 가수 분해됨. Stopping buffer(Trisma base 1%(w/v))가 반응을 정지시키면서 노란색 발현
- 0.2 mL의 기질(BPNPG7)을 40°C에서 5분간 방치하고 0.2 mL의 엿기름 효소 추출물을 40°C에서 5분간 방치한 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(BPNPG7)을 넣고 40°C에서 10분간 반응시킴. 10분이 지나면 stopping buffer(Trisma base, 1%(w/v))를 3 mL 넣고 섞어주고, Spectrophotometer(GENESYSTM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

나) β -amylase 분석법 Betamyl-3 method(Megazyme, Ireland)

- 기질로 β -glucosidase 와 p-nitrophenyl- β -D-maltopentaoside(PNP β -G3)를 사용함. β -amylase에 의해 maltose 와 p-nitrophenyl- β -D-glucose로 가수분해되고 p-nitrophenyl- β -D-glucose는 기질혼합물에 포함되어 있는 α -glucosidase에 의해 즉시 D-glucose와 free p-nitrophenol(PNP)로 분해되며 Stopping buffer(Trisma base 1%(w/v))가 반응을 정지시키면서 노란색 발현
- 0.2 mL의 기질(PNP β -G3)을 40°C에서 5분간 방치하고 0.2 mL의 옛기름 효소 추출물을 40°C에서 5분간 방치한 후 옛기름 효소 추출물 위에 기질(BPNPG7)을 넣고 40°C에서 10분간 반응시킴. 10분이 지나면 stopping buffer(Trisma base 1%(w/v))를 3 mL 넣고 섞어주고, Spectrophotometer(GENESYSTEM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

다) 효소 활성계산

- α -amylase, β -amylase 활성(Unit/g)

$$= \frac{\Delta E_{400}}{\text{incubation time}} \times \frac{\text{Total Volume in Cell}}{\text{Aliquot Assayed}} \times \frac{1}{\epsilon_{mM}} \times \frac{\text{Extraction Vol}}{\text{Sample Weight}} \times \text{Dilution}^{\dagger}$$

- ΔE_{400} : 흡광도 값(sample) - 흡광도 값(blank)
- 반응시간 : 10분
- 총 용량 : 3.4 mL
- 기질 용량 ; 0.2 mL
- mM p-nitrophenol : 18.1(400nm) in 1% Tris base 용액
- 추출 용매의 용량 : 1 g의 옛기름 당 10 mL
- 시료 무게 : grams

4) 효소 단백질 정량법

- 가) 효소 단백질을 분석하기 위한 정량법으로 Bradford assay를 실시함. Protein과 comassie blue가 만나면 염색이 되고 파장 595nm에서 blue계열의 색을 띠게 되므로, spectrophotometer를 이용해 측정함. 이 측정값을 standard 물질인 BSA (Bovine Serum Albumin)를 기준으로 조효소에 단백질이 얼마만큼 들어있는지 정량하는 방법임.
- 나) 5 μ l의 옛기름 효소 추출물을 96-well Plate에 넣고 250 μ l의 Coomassie Reagent를 취해서 옛기름 효소 추출물에 넣은 후 Shaking 후에 10분간 상온에 방치. 그 후 ELISA를 이용해 파장 595nm에서 발색을 측정함.

표 68. 옛기름 효소 추출물의 bradford assay 결과

Standard(Bovine serum albumin)		옛기름 효소 추출물
회귀방정식	결정계수(R ²)	단백질 함량(mg/mL)
y=0.7505x + 0.3954	0.9983	0.481

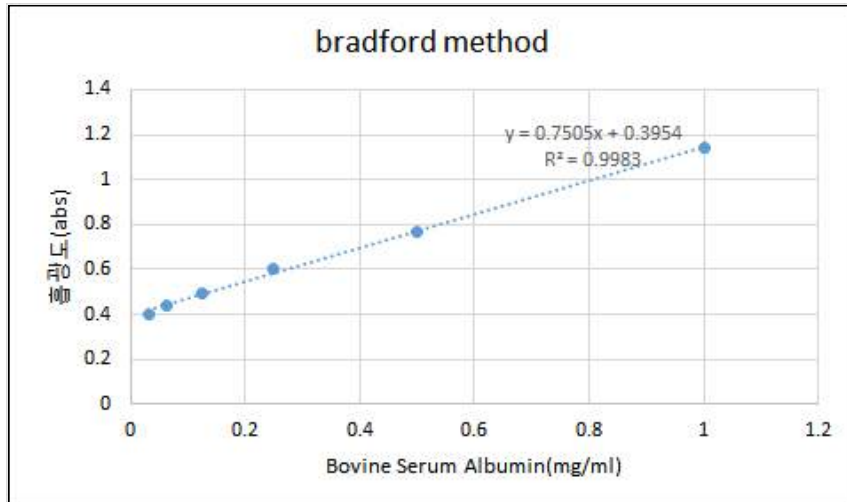


그림 86. Standard curve (Bovine serum albumin)

5) 기질 특이성 연구

가) 요오드 전분 반응

- 요오드-요오드화칼륨 용액은 녹말의 나선형 구조로 인해 요오드 원자단이 들어가 갈색을 띠고 있는 요오드 용액의 색이 청남색으로 변색되는 원리를 이용.
- 대조군, 엿기름 효소 처리군을 각각 설정하고 대조군에는 1% 고구마, 감자, 옥수수 전분 1 mL을 넣고 DW(distilled water)를 1 mL 넣어줌. 엿기름 효소 처리군에는 1% 전분에 1 mL의 효소 추출물을 넣어준 후 10분간 섞어주고 20 L의 요오드-요오드화칼륨 용액을 떨어뜨려 발색을 확인함.
- 전분에 DW(distilled water)만 떨어뜨린 대조군의 물성은 전분으로 인해 응집성을 가지며 청남색을 띠었으며 엿기름 효소 추출물을 떨어뜨린 엿기름 효소 처리군에는 청남색이 거의 나타나지 않으며 전분이 분해되어 응집성을 거의 나타내지 않음

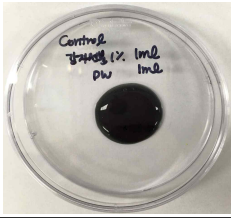

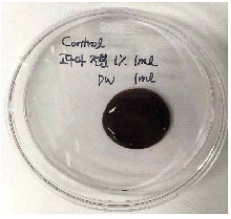
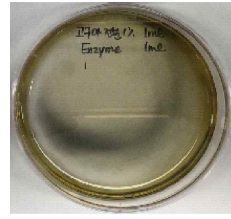
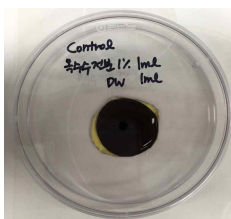
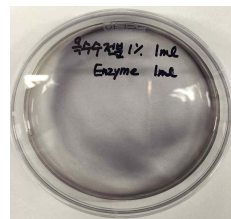
	대조군	엿기름 효소 처리군
감자전분 1%(w/v)		
고구마전분 1%(w/v)		
옥수수전분 1%(w/v)		

그림 87. 전분-요오드 반응

나) caraway 변법을 이용한 amylase 활성 확인

- Starch를 기질로 하여 amylase를 처리하면 maltose, glucose가 생성되며 잔여 starch는 요오드와 만나면 파장 660nm에서 blue color가 발색 됨
- control군과 효소 처리군 준비하고 기질 완충액 1 mL씩 넣어줌(전분 0.04g/100 mL) 3분간 37°C에 방치하고 0.02 mL의 엿기름 효소추출물을 넣은 후 정확히 7분30초간 37°C에 반응 시키고 요오드 1 mL씩 넣어줌. 증류수 5 mL 넣어준 후 Spectrophotometer를 이용해 파장 660nm에서 측정
- 아밀라아제 단위(amylase/mL)

$$\frac{\text{시약블랭크 } O.D - \text{검체 } O.D}{\text{약블랭크 } .D} \times 800$$

공시험 O.D	효소처리군 O.D	Amylase unit/ mL
0.249	0.223	83.493

표 69. Caraway 변법을 통한 amylase unit 환산

- 엿기름 효소 추출물을 처리했을 때 흡광도 값이 낮아짐을 확인했기 때문에 starch를 기질로 하여 엿기름 효소 추출물이 특이적으로 반응했다는 사실을 알 수 있음.

6) 효소의 안정성 및 활성 증진 방안

가) 유기농 엿기름 조효소 추출 전체 공정

유기농 엿기름(초록마을)에서 구매하여 믹서(HMF-3260S, Hanil)를 이용해 3분간 갈아서 준비 하고 40 mesh, 140 mesh체(Testing sieve, CHUNG GYE SANG GONG SA, Korea)로 40~140 mesh의 엿기름만 선별함. Conical에 1 g의 엿기름을 칭량하고 10 mL의 2차 증류수를 넣어준 후 Shaking water bath (MaXturdy™ Digital Precise Shaking Water Bath 18lit, DAIHAN, Korea)에 넣고 추출온도는 50℃, 추출시간은 3시간, 추출속도 150 rpm으로 추출함. 추출액을 얼음으로 냉각하고 GF/A glass fiber filter(Whatman, England)로 여과하고 그 여과물을 감압농축기를 이용해 20 mmHg이하의 압력과, 30℃이하의 온도로 농축하여 20~40 brix로 제조 하고 제균필터에 내려 냉동고에 -20℃에서 보관(그래프 참조)하여 사용함.



그림 88. 엿기름 조효소 추출 공정도

나) 엿기름 조효소 추출 공정 안정성 및 활성 증진

○감압 농축 공정

엿기름 조효소 추출 후 당도는 3.3 ± 0.5 brix가 나왔으며, 미생물 유래 효소의 활성과 차이를 줄이기 위해 추출 공정 중 엿기름 조효소 활성을 높이기 위한 방법을 고안함. 열에 의한 손상을 최대한 줄이면서 엿기름 조효소를 농축시키기 위해 추출물 여과 후에 감압농축 공정을 추가로 실시하였음. 압력을 낮춤으로써 끓는점이 높아 분리 해내기 어려운 물질을 분리하거나 열에 약한 물질을 농축시키는 방법으로 압력을 낮추면 원래보다 낮은 온도에서 기화 가능하므로 압력 20 mmHg 이하에서 온도는 30℃이하로 설정하여 40 brix 까지 농축하였음.

○감압 농축 공정 후 효소 활성 비교

엿기름 조효소 추출 후 α -amylase, β -amylase 활성과 농축 후 α -amylase, β -amylase 활성을 비교한 결과 그래프와 같은 결과를 나타냄. 당도 기준으로 10배 이상 감압농축을 시켜서 10배 이상의 효소 활성이 증가됨을 확인하였으며 감압 농축에 의한 효소 활성 감소가 나타나지 않음.

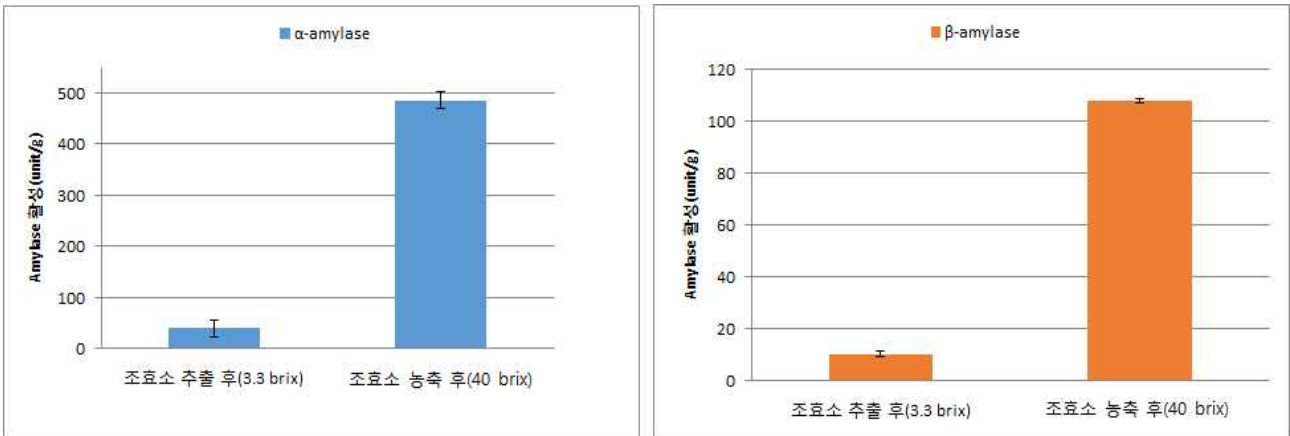


그림 89. 추출 후, 감압 농축 후 효소 활성 비교

다) 냉동 공정

엿기름 조효소 농축 후 저장기간에 따라 효소 활성이 떨어지지 않고 안전성을 확보하기 위해 -20°C 이하의 냉동고에서 보관하는 냉동 공정을 추가로 설계 하였으며, 냉동 전, 후 효소 활성 비교 시 유의적인 차이를 나타내지 않았음.

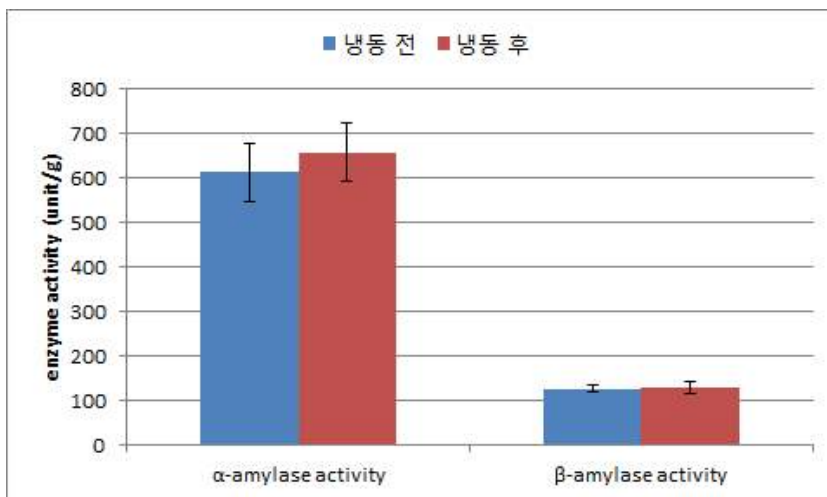


그림 90. 냉동(-20°C) 전의 효소 활성과 냉동 후에 해동 시킨 효소 활성 비교

라) 제균 공정

엿기름 조효소 활성을 유지하면서 살균을 해야 하기 때문에 가열 살균은 불가능함. 그러므로 제균 필터를 이용하여 미생물 안전성을 확보하고자 하였음. 40 brix 농축액을 cellulose acetate 제균 필터 (0.2 μm 또는 0.45 μm)에 내려서 사용하였음.

○일반세균수 측정

일반세균수 측정은 식품 공전의 일반세균수 측정 중 표준평판법을 이용해 측정하였음. 표준한천배지를 이용해 원액, 10배, 100배 희석액을 분주하여 37°C에서 최대 3일까지 관찰하였으며, 그 결과 제균 전 일반세균수는 1.42×10^4 cfu/mL 가 나왔으나, 제균 후 0 cfu/mL 으로 미생물 안전성을 확보 할 수 있었음.

○대장균군 측정

대장균군 유당배지법 중 추정시험을 실시하였으며, 시험용액을 접종한 유당배지를 37°C에서 3일간 배양한 후 발효관내에 가스를 확인하여 가스가 발생하였을 때는 추정시험 양성이므로 다음의 확정시험을 실시해야 하며 가스가 발생하지 않았을 때는 추정시험 음성이므로 대장균군 음성으로 판단함. 제균 전 시료는 추정시험 양성으로 3M 배지법으로 확인한 결과 대장균군이 검출 되었으며 제균 후 시료는 추정시험 음성으로 대장균군이 검출 되지 않았음.

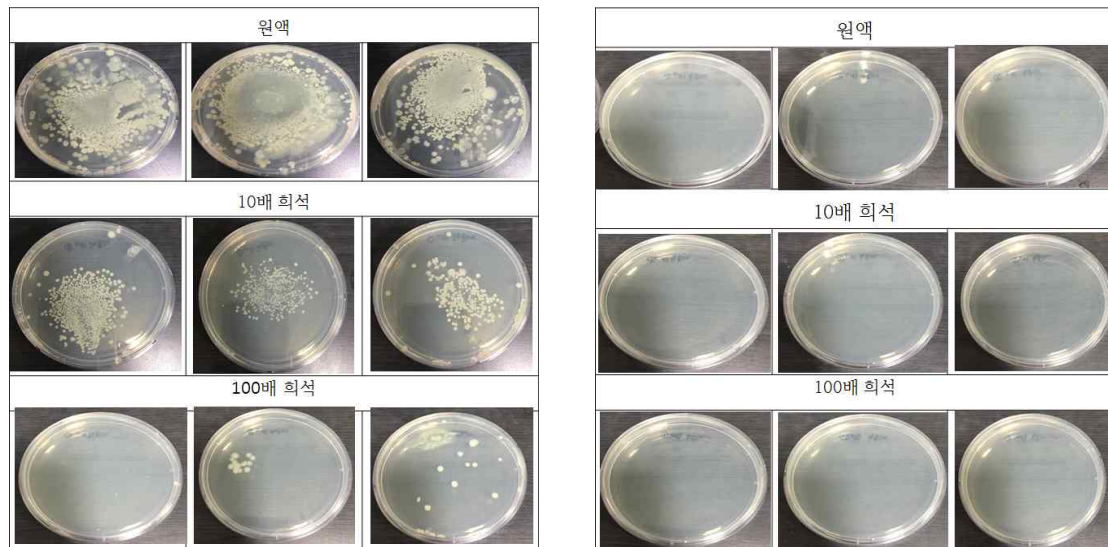


그림 91. 제균 전, 후 일반세균수 측정 결과

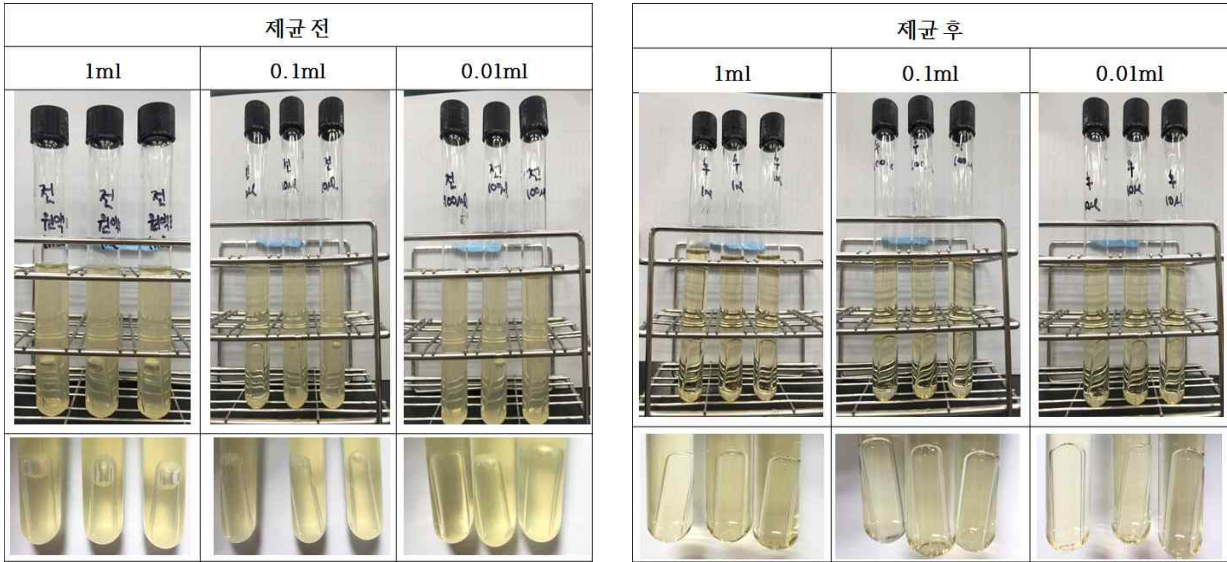


그림 92. 제균 전, 후 대장균군 추정시험 결과

7) 효소의 기질 적용법 개발

가) 최적 당화조건 확립

○ 현미 당화액 제조 조건 확립

현미 100 g을 DW 100 g와 혼합하여 60°C에서 5시간 호화시킨 후 엿기름 조효소제 10%(w/w)을 투입하여 각각의 요인변수의 조건에 따라 당화시킴.



그림 93. 당화액 제조 공정도

○ Response Surface Methodology (RSM) 설계

반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 사용하였으며, 중심합성계획(Central composite design)에 의한 요인(독립)변수(X_1)의 실험계획은 당화조건에 중요한 요인변수로 고려되는 인자인 당화시간(0~20시간, X_1)과 당화온도(55~65°C, X_2)로 설정하고 9구간으로 설정하여 당화실험을 실시하였음. 그리고 반응변수(Y_n)로는 maltose,

glucose, 당도의 회귀분석을 실시하였음. 분석에 의한 예측은 SAS(statistical analysis system) program을 이용하였고 회귀분석 결과 임계점이 최대점거나 최소점이 아니고 인장점일 경우에는 능선분석을 하여 최대점을 구하였음.

○반응변수 측정 방법(Glucose, maltose, 당도)

Glucose, maltose는 알코올 발효액의 알코올 성분을 제거한 다음 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC-RID (Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)로 분석하였음. 이때 분석 column은 NH 2P-50 (4.6 × 250 mm, Shodex, Japan), mobile phase는 75% acetonitrile을 사용하였고 flow rates는 1.0 mL/min, injection volume은 10 μL, detector는 RI(Refractive Index)를 사용하였음. 당도는 Digital refractometer(PAL-a, ATAGO, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였음.

표 70. 옛기름 조효소 당화액 제조를 위한 RSM 조건

표준 순서	런순서	점유형	A (온도)	B (시간)
4	1	1	65	20
10	2	0	60	15
2	3	1	65	10
9	4	0	60	15
8	5	-1	60	22.07107
12	6	0	60	15
7	7	-1	60	7.928932
11	8	0	60	15
3	9	1	55	20
1	10	1	55	10
13	11	0	60	15
5	12	-1	52.92893	15
6	13	-1	67.07107	15

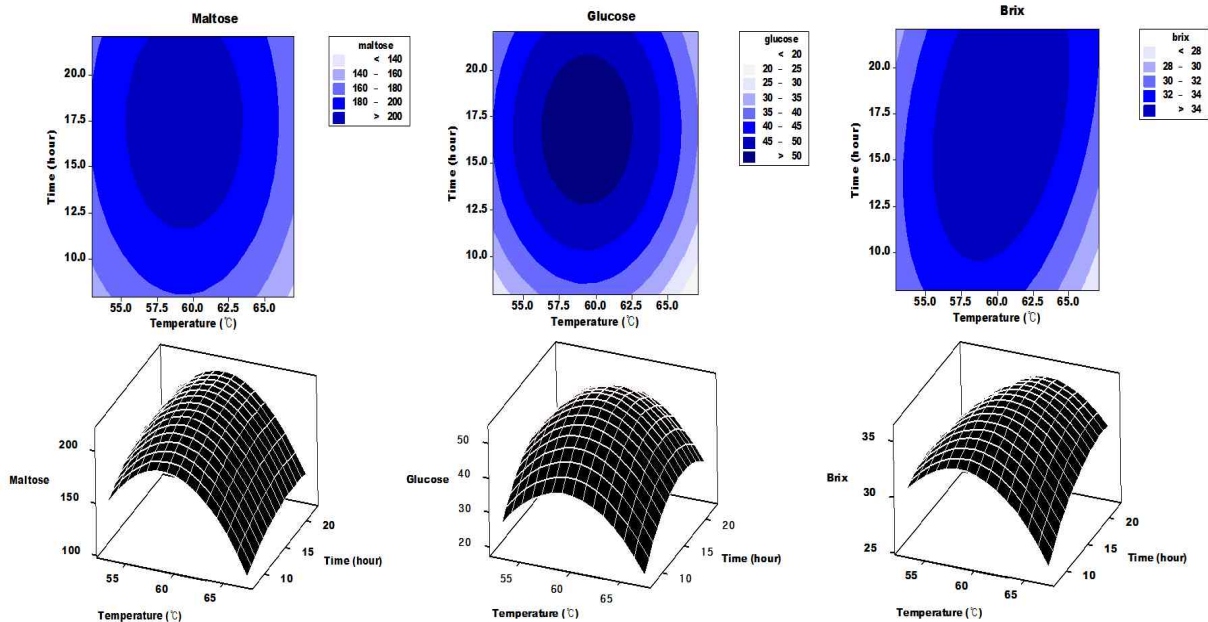


그림 94. maltose, glucose, 당도의 표면도 및 등고선도

○RSM 결과(Glucose, maltose, 당도)

Maltose에 대해 추정된 회귀식을 보면

$$y = 209.920 - 0.789x_1 + 9.029x_2 - 14.379x_1^2 - 10.611x_2^2 + 0.941x_1x_2$$

당화 온도(A)에서 유의차를 나타내었으며($p < 0.05$), $R^2 = 0.87$ 의 값을 나타냄.

○Glucose에 대해 추정된 회귀식을 보면,

$$y = 52.3030 - 1.9826x_1 + 3.4918x_2 - 7.6878x_1^2 - 4.7721x_2^2 + 0.2386x_1x_2$$

당화 시간(B)에서 유의적인 차이를 나타내었으며($p < 0.05$), $R^2 = 0.94$ 의 값을 나타냄.

○당도에 대해 추정된 회귀식을 보면,

$$y = 3.57 - 0.2553x_1 + 0.8152x_2 - 2.3438x_1^2 - 0.8188x_2^2 + 0.9x_1x_2$$

당화 온도(A) 와 당화 시간(B)에서 유의적인 차이를 나타내었으며($p < 0.05$), $R^2 = 0.88$ 의 값을 나타냄.

○세 가지 조건을 바탕으로 반응 최적화 도구를 이용한 분석을 했음. 반응 최적화 도구는 특성치가 여러 개인 경우의 최적화를 위하여 만들어진 도구로 최적화 그림을 설계해보면 최적 조건은 당화 온도(A) = 59.3572 , 당화 시간(B) = 16.8253 로 설정됨.

○DE Value를 통한 당화 확인

전분을 가수분해하였을 때, 그 정도에 의해 감미도 뿐만 아니라 용해성, 점도, 노화성, 흡습성 등의 성상이 연속적으로 변화함. 이 가수분해 정도를 가리키는 세계 공통의 지표로서 dextrose equivalent(DE)가 쓰이고 고형분 중의 직접 환원당(glucose로서)의 비율(%)로 나타냄. 결정포도당 99~100, 정제포도당 97~98, 분말포도당 92~96, 고형포도당 80~85, 액상포도당 55~80, 물엿 35~50, 가루사탕 20~40, maltodextrin 10~20, dextrin 10 이하로 나타냄(식품과학기술대사전).

- DE Value 측정 방법

환원당의 정량은 DNS법으로 정량하였음. 먼저, 1 % DNS 시약을 제조해야하는데, 1 g의 DNS를 녹인 후, 0.05 g sodium sulfite, 1 g hydroxide, 40 g의 rochelle salt, 0.02 g phenol를 넣어 만들었음. 희석한 시료용액 1 mL에 DNS용액 1 mL을 가하여 끓는 수조에서 10분간 가열한 후 급냉하고 증류수 3 mL을 첨가하여 UV-visible spectrophotometer 546 nm에서 흡광도를 측정하였음. 이때, 당의 정량은 glucose 표준용액을 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였음. 건조물은 수분함량을 제외한 % 함량으로 산출하였음.

- DE Value 결과

미생물 유래효소를 이용한 당화액은 액화 과정에서 50% 가수 분해 되고, 당화 과정에서는 전분이 100% 가수 분해 되었음을 나타내었으며 엿기름 조효소로 당화과정을 거쳤을 때는 거의 90% 가수분해 됨을 확인하여 당화가 제대로 이루어 졌음을 확인함.

표 71. 미생물 유래 효소와 엿기름 조효소를 이용한 당화액의 DE value 결과

	미생물 유래 효소 액화 (75°C, 2시간)	미생물 유래 효소 당화 (60°C, 15시간)	엿기름 조효소 당화 (60°C, 17시간)
건조물함량(%)	31.041	42.144	40.783
환원당량(%)	15.2375	42.3	36.946
DE value	49	100	85-90

나) 다양한 전분의 아밀로오스함량에 따른 당화액 profiles

아밀로오스 구조는 수백 개의 글루코오스가 사슬모양으로 α -1,4-결합을 이루며 연결사슬은 나선 모양으로 감겨져 있음. 요오드를 반응시키면 청자색을 나타내는데, 이는 요오드가 아밀로오스의 나선 속에 들어가는 특수한 상태가 되기 때문임. 아밀라아제를 이용하면 아밀로오스는 상온의 중성용액에서도 완전히 분해되어 말토오스와 글루코오스로 됨.

○시료의 전처리

현미를 수세하여 말린 후 분쇄하여 60 mesh로 분쇄하여 밀봉하였고 냉장 보관하면서 분석시료로 사용하였음. 찹쌀도 수세하여 말린 후 분쇄하여 60 mesh로 분쇄하여 밀봉하였고 냉장 보관하면서 분석시료로 사용하였음. 감자의 경우 세척된 시료를 1-2 cm로 슬라이스 한 다음 동결건조를 실시하였음. 그 후 60 mesh로 분쇄하여 밀봉하였고, 냉장 보관하면서 분석시료로 사용하였음.



그림 95. 찹쌀, 현미, 감자의 아밀로오스 측정 시료

○아밀로오스 함량 측정

아밀로오스 함량은 Ko and Park(1989)의 방법에 따라 시료 100 mg에 95% ethanol 1 mL과 1 N NaOH 9 mL씩 첨가하여 100°C에서 10분간 호화시킨 후, 100 mL 메스플라스크에 옮겨 증류수로 정용하였음. 이 중 5 mL 취하여 100 mL 메스플라스크로 옮긴 후 1 N acetic acid 1 mL와 요오드 용액 2 mL를 첨가하고 증류수로 정용하였음. 상온에서 20분간 방치한 후 Spectrophotometer를 사용하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였음. 아밀로

오스의 표준 곡선은 Juliano(1971)의 방법에 따라 작성하였음.

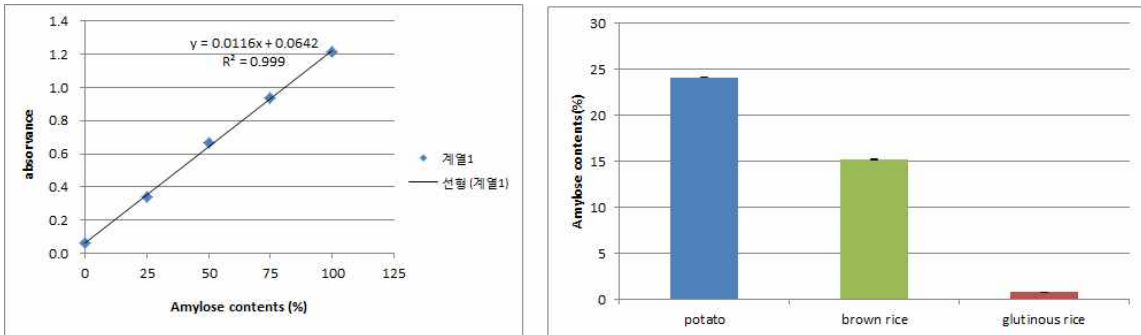


그림 96. 감자, 현미, 찹쌀의 amylose 함량 분석 결과

○ 감자, 현미, 찹쌀을 이용한 당화액 profiles

감자, 현미, 찹쌀 모두 아밀로오스 함량이 유의적으로 ($p < 0.0001$) 차이가 났으며 그에 따라 엿기름 조효소를 첨가 할 때 당화액의 당 분석을 통해 기질 적용 방향을 확인해 보 고자 함.

○ 감자, 현미, 찹쌀 분말 100 g을 DW 100 g와 혼합하여 60°C에서 5시간 침지시킨 후 엿기름 조효소제 10%(w/w)을 투입하여 60°C에서 17시간 당화시킴. 당화액을 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC-RID (Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)로 분석하였음.

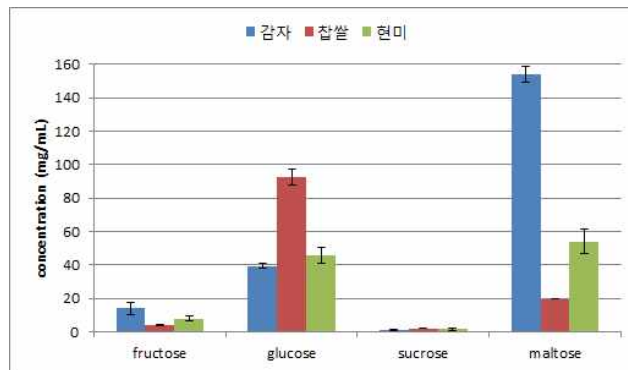


그림 97. 감자, 찹쌀, 현미 당화액의 유리당 profiles

○ Glucose 함량은 찹쌀에서 유의적으로 높은 함량을 나타내었으며, maltose 함량은 감자에서 매우 눈에 띄게 유의적으로 높은 함량을 나타내었음. 현미의 경우 glucose, maltose 함량이 비교적 동일하게 분석되었음. 엿기름 조효소를 이용해 glucose 함량이 높은 발효 기질을 제조할 시에는 찹쌀을 이용해 제조하여야 하고 maltose 함량이 높은 발효 기질을 제조할 시에는 감자를 이용해 제조하여야 함.

8) 유기가공용 효소의 제법 및 현장 적용법 개발

가) 알코올 발효

○알코올 발효 배양조건 확립

알코올 발효는 혐기적 당질 분해 대사 과정이며, 단당류, 이당류 또는 다당류를 무효소적 분해를 통해 최종적으로 알코올과 이산화탄소를 생성하는 과정임. 이러한 발효과정은 효모로 인해 포도당, 과당, 설탕, 맥아당 등을 알코올로 전환시키며, 대체적으로 *Saccharomyces cerevisiae*를 알코올 발효에 많이 이용함. 현미 당화액은 희석하여 16 brix로 설정하였으며 그 이상이 될 경우 당을 모두 이용하지 못하므로 당이 이용되지 못하고 남게 되며, 당도를 높게 설정할 경우 내당성이 없는 효모이기 때문에 알코올 발효가 일어나지 못함. 또한 일반적으로 잘 알려진 효모균의 생육온도인 28℃조건에서 혐기적 상태로 배양을 시작하여 발효 특성을 측정함. 효모는 당화액 대비 5%(w/w) 넣었으며, 효모의 특성상 멍치는 특성이 있기 때문에 교반 속도 50 rpm으로 하여 3일간 발효하였음.

○효모

드라이이스트를 이용해 빠른 알코올 발효를 진행하였으며, 드라이 이스트란 이스트의 보존성 향상을 위해 수분함량을 생이스트의 약 1/10정도로 건조한 제품으로 100% 효모를 건조한 것으로 40℃에서 녹이고 20분간 정치시켜 드라이 이스트의 활성화를 도움. 활성을 확인하기 위해 정제수와 비율 별로 혼합하여 기포 생성 유무를 확인하였음. 그 결과 아래와 같았으며, 드라이 이스트가 제일 활성화 된 1:5 (w/w)의 비율로 혼합하여 20분간 정치시켜 이용하였음.

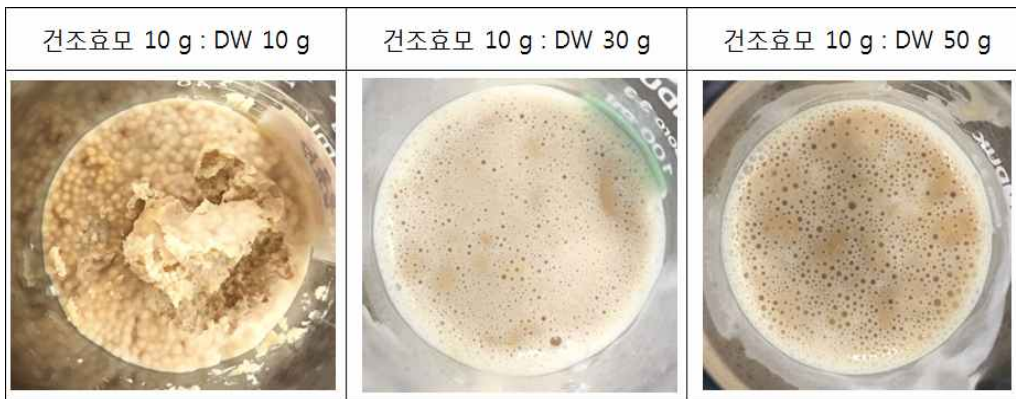


그림 98. 건조효모와 정제수 비율에 따른 기포 생성

○알코올 발효 품질 특성

- 알코올 함량, 당도

알코올 함량은 국세청주류면허 지원센터 주류분석 규정을 참고하여 시료 100 mL를 취하여 증류한 다음 주정계를 이용하여 측정, Gay Luccac Table을 이용하여 15℃로 보정하였고 당도는 Digital refractometer(PAL-a , ATAGO, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였음.

- 총산도, pH

산도는 10 mL의 시료를 취하여 1% phenolphthalein 지시약을 2~3방울 떨어뜨린 다음 0.1N NaOH로 중화 적정한 후 acetic acid(%)로 환산하여 측정하였고 pH는 pH meter(Orion star A211, Thermo scientific, U.S.A)로 실온에서 측정하였음.

- 갈색도, 탁도

탁도는 UV-visible spectrophotometer로 660 nm에서 측정 갈색도는 420nm에서 흡광도를 측정하였음.

- 총당 및 환원당

총 당은 phenol-sulfuric acid법으로 측정하였음. 시료 1mL에 5% phenol 1 mL와 sulfuric acid 5 mL를 가하여 발색시킨 다음 20분간 방치 후 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며 D-glucose를 표준 물질로 사용하여 검량선에 의하여 함량을 산출하였음.

환원당의 측정은 DNS 법을 사용하였으며, 먼저 1 % DNS 시약을 제조해야함. 1 g의 DNS를 녹인 후, 0.05 g sodium sulfite, 1 g hydroxide, 40 g의 rochelle salt, 0.02 g phenol를 넣어 만들며 당화액 1 mL에 1 % DNS 용액 1 mL을 넣고 95°C에서 10분간 정치함. 10분 동안 냉각시키고 3 mL의 DW를 넣은 후 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 546 nm에서 흡광도를 측정했음. D-glucose를 표준물질로 사용하여 검량선에 의하여 함량을 산출하였음.

- 유리당 함량

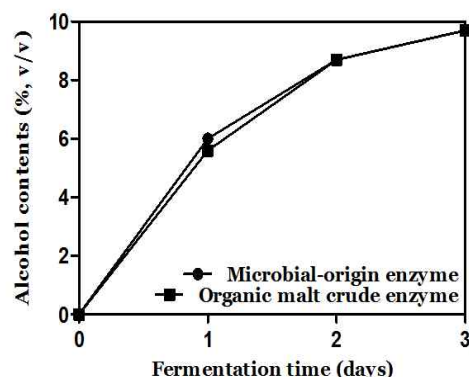
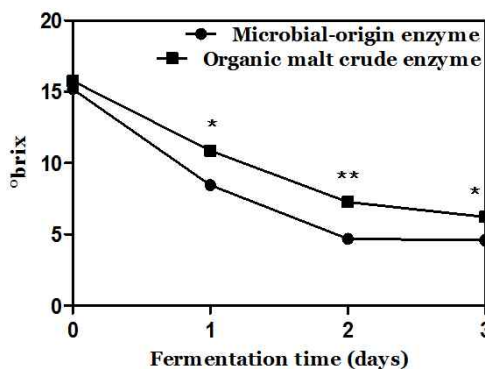
유리당은 발효액의 알코올 성분을 제거한 다음 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC-RID (Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)로 분석하였음. 이때 분석 column은 NH 2P-50 (4.6×250 mm, Shodex, Japan), mobile phase는 75% acetonitrile을 사용하였고 flow rates는 1.0 mL/min, injection volume은 10 μL, detector는 RI (Refractive Index)를 사용하였음.

○알코올 발효 품질 특성 분석 결과

- 알코올 함량, 당도

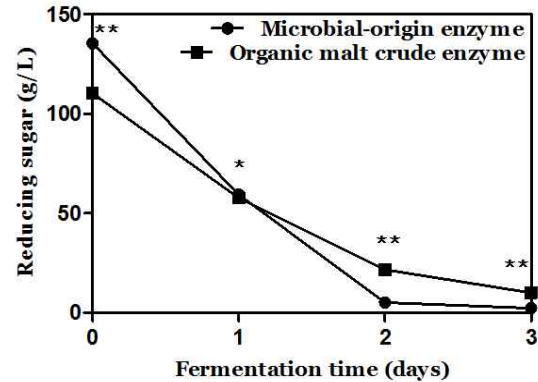
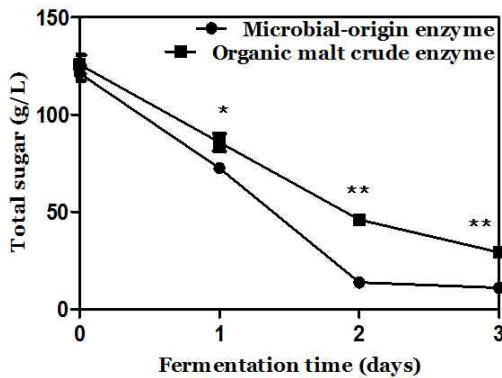
초기 당도 16 brix로 시작하여 유기농 옛기름 조효소를 이용한 유기농 당화액으로 실시한 알코올 발효는 발효 일수에 따른 당도는 미생물 유래 조효소를 이용한 당화액으로 실시한 알코올 발효와 유의적인 차이로 감소하는 경향을 보였으나, 발효 일수에 따른 알코올 함량은 유의적인 차이가 나타나지 않았음. 당도 차이는 있었으나 결과적으로 알코올 발효 3일 후 알코올 함량은 9.7%(w/w)로 동일하게 나타났음.

이를 통해 미생물 유래 효소를 대체 하여 유기농 옛기름 조효소를 이용하여 당화액을 제조 한 후 알코올 발효에도 가능성이 있음을 확인함.



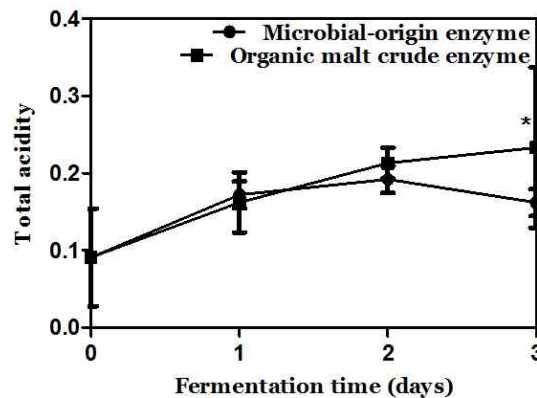
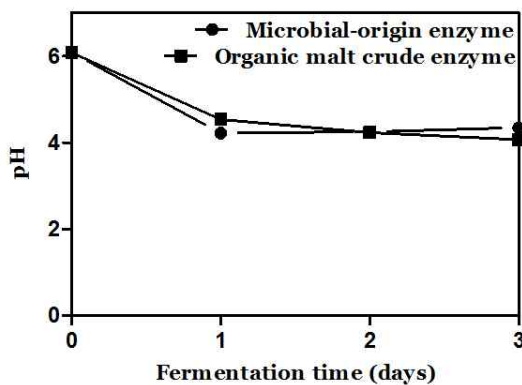
- 총 당 및 환원당

미생물 유래 효소를 이용한 당화액과 유기농 엿기름 조효소를 이용한 당화액을 모두 16 brix로 제조하여 총 당을 측정된 결과 각각 121.3333 g/L 와 125.867 g/L이 나왔으며, 미생물 유래 효소를 이용한 당화액으로 알코올 발효한 군은 약 총 당의 91%를 이용하였으며, 유기농 엿기름 조효소를 이용한 당화액으로 알코올 발효한 군은 약 총 당의 76%를 이용하였음. 환원당은 16 brix로 제조 했을 시에 미생물 유래 효소 군이 25 g/L 높았으며, 3일간 알코올 발효 하는 동안 거의 모든 환원당을 이용함.



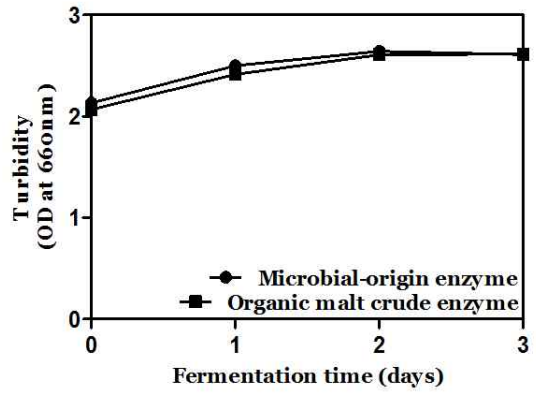
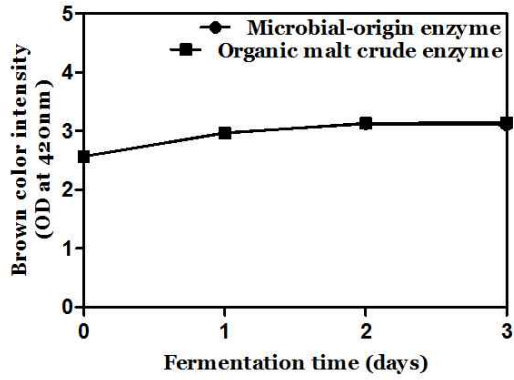
- pH 및 총 산도

미생물 유래 효소를 이용한 당화액과 유기농 엿기름 조효소를 이용한 당화액을 알코올 발효 시켰을 때 pH는 전체적으로 4 초반으로 유지 되어 적절한 발효가 유지 되었으며 총산도도 0.4를 넘지 않아 발효하는 동안 산패될 위험성은 없었으며 알코올 발효 기질로 적합함을 알 수 있음.



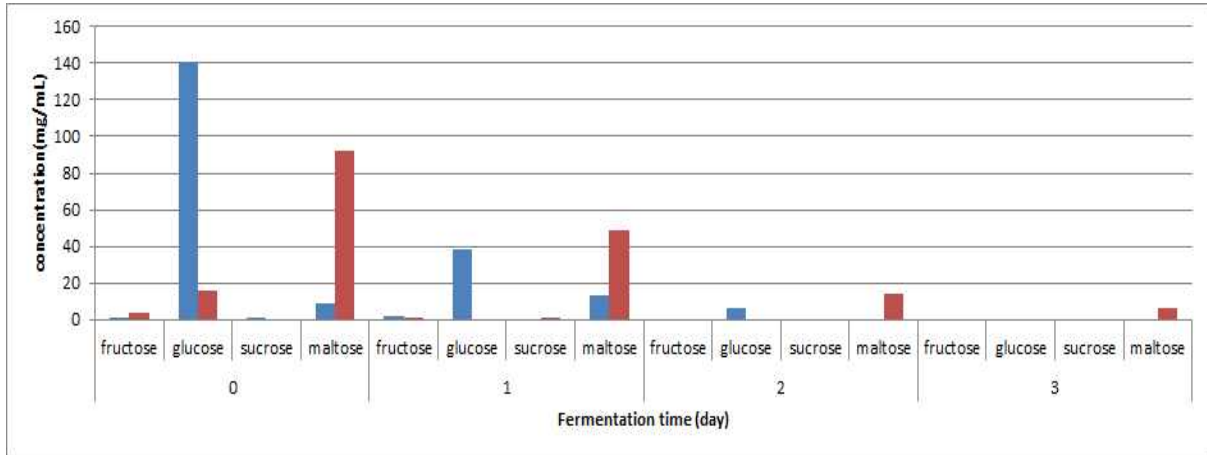
- 탁도 및 갈색도

탁도와 갈색도의 값은 미생물 유래 효소를 이용한 당화액과 유기농 엿기름 조효소를 이용한 당화액을 발효 시켰을 때 유의적인 차를 나타내지 않음. 발효 1일 차에 효모의 수가 증가하였으며 3일 차에는 점점 2일차와 동일하거나 낮은 수치를 나타내서 효모의 수가 더 이상 증가 하지 않음을 확인함.



- 유리당

미생물 유래 효소를 이용한 당화액을 발효 하였을 시 가장 많은 유리당은 glucose 이었 으며, glucose 함량이 140 g/L로 측정되었음. 미생물 유래 효소를 이용한 당화액을 발효 하였을 시 maltose 함량이 95 g/L 가 나왔음. 3일간 알코올 발효를 진행 하였을 때 glucose와 maltose는 거의 모두 소진함.



나) 옛기름 조효소제 대량생산 공정 Scale up 및 규격 확립

○대량생산 공정 Scale up

조은푸드텍에서 예비 생산 시 여과 공정 중 옛기름 추출액에 함유된 전분질로 인하여 필터 막힘 현상 발생하였으며, 0.45 μ m cartridge 여과 시 소량은 진행되나 대용량은 필터 막힘 현상 발생하였음, 여과공정 시 좀 더 pore size가 큰 filter를 이용하여 여과 하고 cartridge filter를 이용하여 생산하는 것으로 변경. 또한 농축 후 당도를 감소시켜 막 여 과 시 대용량 필터 막힘 현상이 일어나지 않도록 변경하였음. 막 여과 시 필터의 pore size는 계속 변경 중에 있음.

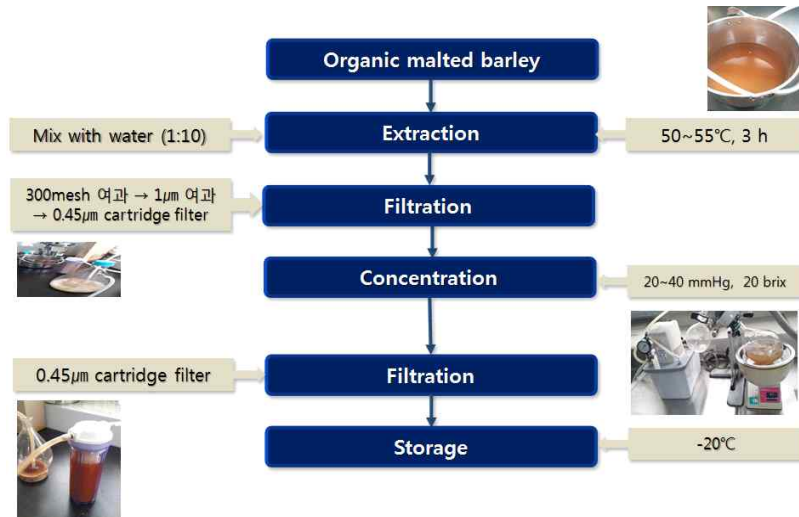


표 72. 제조공정도 수정사항

공정	차의과학대학교	조은푸드텍(공장생산)
분쇄	믹서, 5분	x
체질	40 mesh ~140 mesh	x
열수추출	원료대비 10배수 50°C, 3시간 교반 추출	원료대비 10배수 50~55°C, 3시간 교반 추출
냉각	5분, 상온까지	x
여과	1.6 µm GF/A filter	300 mesh 여과 → 1 µm 여과 → 0.45 µm cartridge filter
감압농축	압력 : 20 mmHg 농축 후 당도 : 40 brix	압력 : 20~40 mmHg 농축 후 당도 : 20 brix
막 여과	0.45 µm membrane filter	0.45 µm cartridge filter
포장	용기	위생용기
저장	냉동고, -20°C	냉동고, -20°C

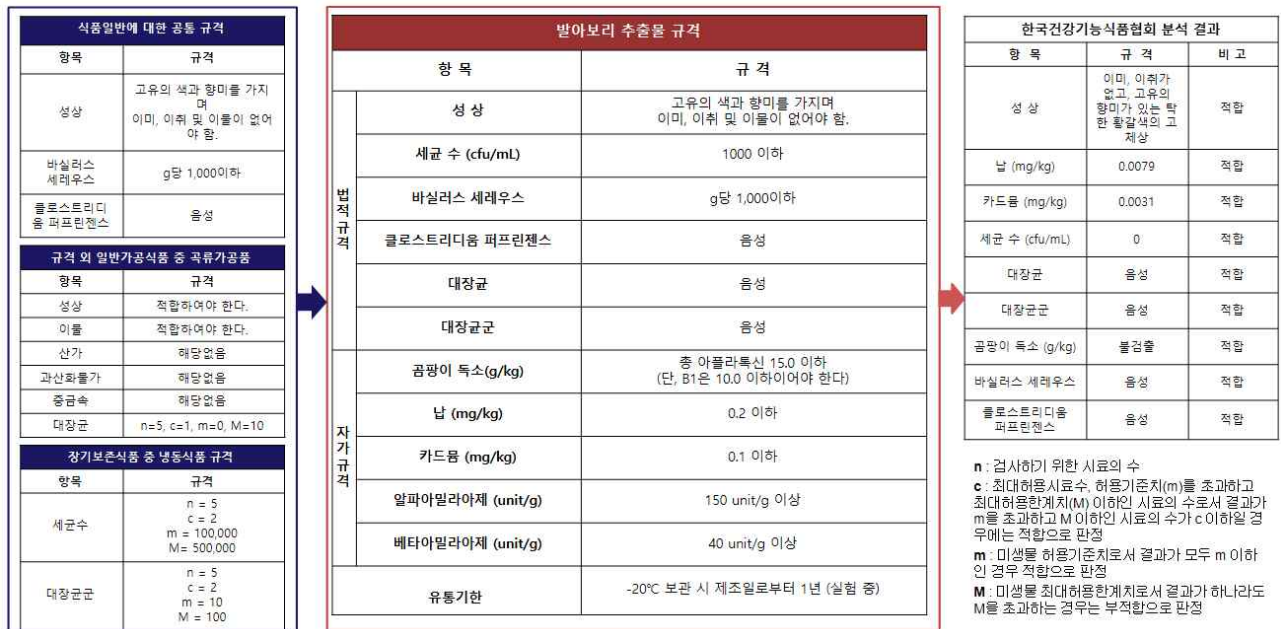
○대량 생산 엿기름 조효소의 당화효소 활성 비교

Lab-test한 엿기름 조효소는 시중 효소 대비 α-amylase 활성이 약 25배 낮으나 β-amylase활성은 organic barley malt enzyme에서만 나타나므로 당화 및 발효에서의 추가적 효과가 기대됨.

유기농 엿기름 조효소의 경우 Lab-test효소는 40Brix로 제조되었으며, 공장생산효소는 원활한 공정을 위해 20Brix로 제조되었으나, brix를 감안하면 α-amylase, β-amylase활성은 유사한 것으로 판단됨.

	Lab-test(40Brix) (Organic barley malt enzyme)	공장 생산 효소(20Brix) (Organic barley malt enzyme)	시중 효소 (microbial-origin enzyme)
α-amylase 활성 (unit/g)	489.901	246.662	12523.020
β-amylase 활성 (unit/g)	108.011	52.565	-

○엿기름 조효소 규격 설정



○최종 규격

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00
	발아보리 추출물	제정일자	페이지
		개정일자	1/2

1. 적용범위

이 규격은 당사의 제품인 발아보리 추출물의 제품검사규격에 대하여 규정한다.

2. 제품설명

발아보리 추출물이라 함은 발아보리에 물을 넣고 열을 가해 교반 추출한 추출물을 농축하여 -20℃이하에서 냉동시킨 추출물을 칭함.

3. 원재료명

유기농 발아보리, 물

4. 제품규격기준

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	
법 적 규 격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	세균 수 (cfu/mL)	1000 이하				
	바실러스 세레우스	g당 1,000이하				
	클로스트리디움 퍼프린젠스	음성				
	대장균	음성				
	대장균군	음성				
자 가 규 격	곰팡이 독소(g/kg)	총 아플라톡신 15.0 이하 (단, B1은 10.0 이하이어야 한다)				
	납 (mg/kg)	0.2 이하				
	카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하				
	알파아밀라아제 (unit/g)	150 unit/g 이상				
	베타아밀라아제 (unit/g)	40 unit/g 이상				
	포장(실링)상태	포장지에 불량, 누세, 파손과 포장상태 에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.				
	내용량	표시중량 100% 이상				
유통기한	-20℃ 보관 시 제조일로부터 1년					

※ 이물은 벌레, 포제조각, 공구조각, 체모, 복장의 일부 등.

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간

- 해동 온도 : 4℃
- 보관 온도 : -20℃ 이하
- 보존 기간 : 1년

10. 효소 활성 측정법

1) α -amylase 활성 측정법

- 0.2 mL의 기질(BPNPG7)과 0.2 mL의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(BPNPG7)을 넣고 40℃에서 10분간 반응시킴. stopping buffer를 3 mL 넣고 섞어준 후, Spectrophotometer(GENESYSIM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

2) β -amylase 활성 측정법

- 0.2 mL의 기질(PNP β -G3)과 0.2 mL의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(PNP β -G3)을 넣고 40℃ 에서 10분간 반응시킴. stopping buffer를 3 mL 넣고 섞어준 후 Spectrophotometer(GENESYSIM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

※ 이물은 벌레, 포제조각, 공구조각, 체모, 복장의 일부 등.

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간

- 해동 온도 : 4℃
- 보관 온도 : -20℃ 이하
- 보존 기간 : 1년

10. 효소 활성 측정법

1) α -amylase 활성 측정법

- 0.2 mL의 기질(BPNPG7)과 0.2 mL의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(BPNPG7)을 넣고 40℃에서 10분간 반응시킴. stopping buffer를 3 mL 넣고 섞어준 후, Spectrophotometer(GENESYSIM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

2) β -amylase 활성 측정법

- 0.2 mL의 기질(PNP β -G3)과 0.2 mL의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(PNP β -G3)을 넣고 40℃ 에서 10분간 반응시킴. stopping buffer를 3 mL 넣고 섞어준 후 Spectrophotometer(GENESYSIM 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400nm 에서 측정

※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

(나) 제품화 - 유기농식초

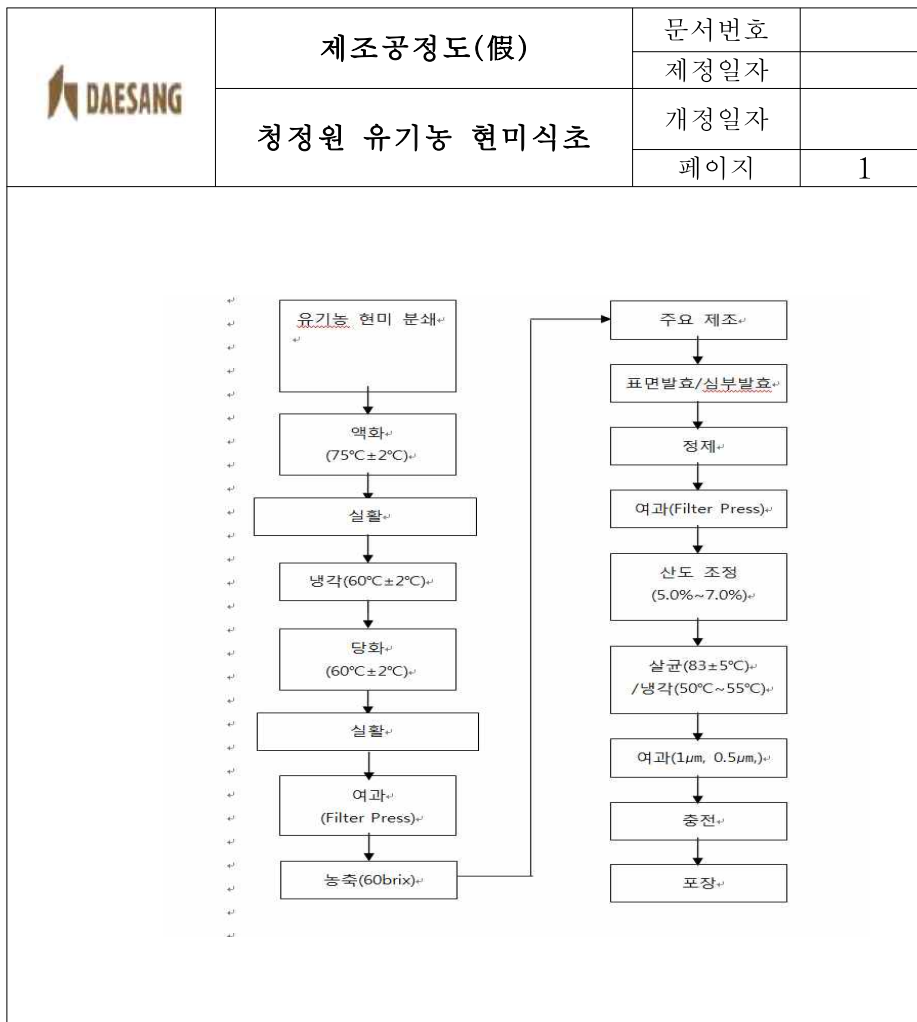
1) 개발목적

- 가) 조미식초 전체 시장은 '16년 '15년 대비 23.6% 증가 하였으며 '16년도는 식초 다이어트 이슈로 프리미엄 식초 시장이 312.2% 큰폭으로 증가하였으나 '17년 전년비 감소 추세
- 나) 한정된 식초 시장의 한계를 극복하여 유기가공 식초의 차별화를 통해 해외 진출 기반을 마련 하고자 함
- 다) 기존 유기농 식초 생산 원료에 유기가공용 액/당화 복합효소제재로 개발되어진 천연 추출액 '발아보리 추출물'을 적용 하고자 함.

2) 배합비

유기농 현미 식초	배합비	유기농함량	비 고
유기농 현미식초 공정반제품	22.25	100.0	
정제수	77.75		
합계	100.00	100.0	

3) 제조공정도




4) 유기가공용 효소제제 적용 테스트

유기농 현미 농축액					
작성일자		2017년 7월 28일			
관련공정		유기농 현미 농축액 효소제제인 발아보리 추출물 적용			
검사목적		신규 원료 적용			
시험결과					
공정		항목	기존 기존 액화효소, 당화효소	변경 기존 효소제제 + 엿기름 농축액(발아보리 추출물)	
액화	액화 1h 후	pH	6.48	6.40	
		Brix(%)	28.19	28.30	
	액화 2h 후	pH	6.34	6.34	
		Brix(%)	28.64	28.40	
		당 조 성 (%)	과당	-	-
			포도당	0.94	0.84
			자당	0.33	0.33
맥아당	2.47		2.11		
합계	3.74	3.28			
당화	당화 3h 30min 후	pH	6.11	6.12	
		Brix(%)	29.42	29.60	
	당화 6h 30min 후	pH	6.09	6.08	
		Brix(%)	29.59	29.85	
	당화 10h 후	pH	6.07	6.05	
		Brix(%)	29.81	30.20	
		당 조 성 (%)	과당	-	-
			포도당	19.38	19.43
			자당	0.29	0.26
			맥아당	5.00	4.22
합계	24.67	23.91			
당화 효소 실활	당화 효소 실활 후	pH	5.90	5.82	
		Brix(%)	29.76	30.29	
		당 조 성 (%)	과당	-	-
			포도당	17.61	18.68
			자당	0.53	0.64
			맥아당	6.65	6.09
합계	24.79	25.42			
최종결과			<p>대체 가능</p> <p>-Lab.에서 발아보리추출액 적용하여 기존 효소 대비 액/당화를 진행해 분석결과(브릭스, pH, 당조성) 값에 큰 차이가 없었으며 변경하여 적용하는 것에 문제가 없을 것으로 생각 됨.</p> <p>-이는 액/당화에 한한 것이며, 현장에서와 같은 여과 및 수율에 대한 실험은 현장적용하여 검증이 필요함.</p>		

5) 완제품검사규격서

대상(항)	제품 검사 규격	문서번호	D80-F-1504																																																																																				
오산공장	유기농 현미식초	개정일자(번호)	2016.01.15(0)																																																																																				
<p>1. 적용범위</p> <p>이 규격은 당사과 관련된 유기농 현미식초에 적용된다.</p> <p>2. 제품설명</p> <p>본 규격은 유기농 현미식초에 대한 규격이다. 유기농 현미식초에 대한 규격은 본 규격에 준한다. (유기농 현미식초, 한국산)</p> <p>3. 검사기준(시험방법)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>단위</th> <th>검사방법</th> <th>규격</th> <th>시험 방법</th> <th>시험 방법</th> <th>시험 방법</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. 수분 함량</td> <td>%</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>16.0 이하</td> <td>100°C</td> <td>100°C</td> <td>100°C</td> </tr> <tr> <td>2. 총아플라톡신</td> <td>μg/kg</td> <td>(2009.01.09)</td> <td>불검출</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. 오크라톡신</td> <td>μg/kg</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>불검출</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4. 잔류농약</td> <td>ppm</td> <td>2016.01.15</td> <td>불검출</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>5. 중금속(납)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>6. 중금속(카드뮴)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>7. 중금속(구리)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>8. 중금속(아연)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>9. 중금속(망간)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>10. 중금속(비소)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>11. 중금속(몰리브덴)</td> <td>ppm</td> <td>유기농 현미식초</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>4. 검사방법</p> <p>1. 수분 함량: 100°C에서 2시간 건조 후 무게를 측정한다.</p> <p>2. 총아플라톡신: HPLC를 사용하여 측정한다.</p> <p>3. 오크라톡신: HPLC를 사용하여 측정한다.</p> <p>4. 잔류농약: GC/MS를 사용하여 측정한다.</p> <p>5. 중금속(납): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>6. 중금속(카드뮴): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>7. 중금속(구리): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>8. 중금속(아연): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>9. 중금속(망간): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>10. 중금속(비소): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p> <p>11. 중금속(몰리브덴): ICP-AES를 사용하여 측정한다.</p>				항목	단위	검사방법	규격	시험 방법	시험 방법	시험 방법	1. 수분 함량	%	유기농 현미식초	16.0 이하	100°C	100°C	100°C	2. 총아플라톡신	μg/kg	(2009.01.09)	불검출				3. 오크라톡신	μg/kg	유기농 현미식초	불검출				4. 잔류농약	ppm	2016.01.15	불검출				5. 중금속(납)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				6. 중금속(카드뮴)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				7. 중금속(구리)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				8. 중금속(아연)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				9. 중금속(망간)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				10. 중금속(비소)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하				11. 중금속(몰리브덴)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하			
항목	단위	검사방법	규격	시험 방법	시험 방법	시험 방법																																																																																	
1. 수분 함량	%	유기농 현미식초	16.0 이하	100°C	100°C	100°C																																																																																	
2. 총아플라톡신	μg/kg	(2009.01.09)	불검출																																																																																				
3. 오크라톡신	μg/kg	유기농 현미식초	불검출																																																																																				
4. 잔류농약	ppm	2016.01.15	불검출																																																																																				
5. 중금속(납)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
6. 중금속(카드뮴)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
7. 중금속(구리)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
8. 중금속(아연)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
9. 중금속(망간)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
10. 중금속(비소)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				
11. 중금속(몰리브덴)	ppm	유기농 현미식초	0.1 이하																																																																																				

6) 원재료규격서

	원재료검사규격		문서번호																												
	유기농 현미		제정일자																												
			개정일자																												
			페이지																												
<p>1. 적용범위</p> <p>당사에서 사용하는 유기농 현미의 수입검사에 적용한다.</p> <p>2. 제품설명</p> <p>100% 유기농 현미(국내산)</p> <p>[식품의 유형 : 일반가공품(기타가공품)]</p> <p>3. 검사기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>규격</th> <th>검사방식</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성상</td> <td>현미 고유의 색택과 향미가 있어야 한다</td> <td rowspan="7">체크검사</td> <td rowspan="7">N=1</td> <td rowspan="2">육안/관능검사</td> <td rowspan="2">입고시</td> </tr> <tr> <td>이물</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>수분(%)</td> <td>16.0 이하</td> </tr> <tr> <td>총아플라톡신 (B1, B2, G1 및 G2의 합)¹⁾</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>오크라톡신¹⁾</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>데옥시니발레놀¹⁾</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>제랄레논¹⁾</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>잔류농약¹⁾ (Endosulfan 등 73성분)</td> <td>불검출</td> <td>식품공전</td> <td>시험 성적서 대체 (1회/반기)</td> </tr> </tbody> </table> <p>¹⁾ 자체 분석의 어려움으로 반기별로 당사 식품안전센터 의뢰 혹은 업체 공인인증서로 대체</p> <p>※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요시 검사 실시</p> <p>4. 포장 및 포장단위</p> <p>40kg단위 마대 포장</p> <p>5. 보관 및 보존기간</p> <p>실온(1~35°C) 및 50% 이하의 습도 원료창고 내 지정된 위치에 보관, 2단 적재 금지</p> <p>금년 또는 작년 재배품으로 공장 입고 후 가공대기일은 3개월 이내로 함</p>				항목	규격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주기	성상	현미 고유의 색택과 향미가 있어야 한다	체크검사	N=1	육안/관능검사	입고시	이물	불검출	수분(%)	16.0 이하	총아플라톡신 (B1, B2, G1 및 G2의 합) ¹⁾	불검출	오크라톡신 ¹⁾	불검출	데옥시니발레놀 ¹⁾	불검출	제랄레논 ¹⁾	불검출	잔류농약 ¹⁾ (Endosulfan 등 73성분)	불검출	식품공전	시험 성적서 대체 (1회/반기)
항목	규격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주기																										
성상	현미 고유의 색택과 향미가 있어야 한다	체크검사	N=1	육안/관능검사	입고시																										
이물	불검출																														
수분(%)	16.0 이하																														
총아플라톡신 (B1, B2, G1 및 G2의 합) ¹⁾	불검출																														
오크라톡신 ¹⁾	불검출																														
데옥시니발레놀 ¹⁾	불검출																														
제랄레논 ¹⁾	불검출																														
잔류농약 ¹⁾ (Endosulfan 등 73성분)	불검출	식품공전	시험 성적서 대체 (1회/반기)																												

(다) 제품안정성 - 천연효소제와 유기농 현미식초(위탁)

2차 년도에 제 1협동에서 개발 완료된 효소제(제품명: 키위효소추출물, 엿기름 농축액)에 대한 정보(제품규격기준, 외관 및 공정도)를 아래 표와 그림과 같이 제공받았으며 이에 대한 안전성 및 저장 안정성 시험을 실시하였음.

1) 천연효소제(키위효소추출물)

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정



그림 99. 키위효소추출물 외관.

항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 시검사항 법	검사 주기	
성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이미, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공 전 시험방 법에 따른다.	생산 시	
납(mg/kg)	0.05 이하					
카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하					
세균 수 (cfu/ml)	1000이하					
대장균군	음성					
바실러스 세레우스	1000 이하					
클로스트리디 움	음성					
퍼프리젠스						
보존료 (g/kg)	안식향산					음성
	안식향산나트륨					
	안식향산칼륨					
	안식향산칼슘					음성
	소르빈산					
소르빈산칼륨						
소르빈산칼슘						
장출혈성 대장 균	n=5, c=0, m=0/25 g					
자 사 규 격	프로테아제 (unit/g)	0.05 이상				
포장(실명)상태	포장지에 불량, 누설, 파손과 포장상태 에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도 록 되어 있어야함.					
내용량	표시중량 100% 이상					
유통기한	-20℃ 보관 시 제조일로부터 1년					

그림 100. 키위효소추출물의 기준 및 규격.

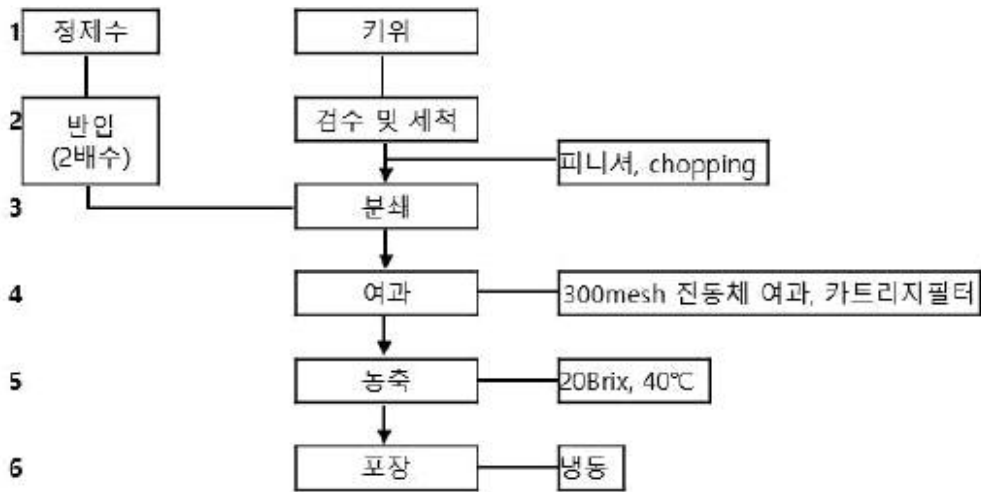


그림 101. 키위효소추출물의 제조공정도.

○ 제 1협동에서 키위효소추출물의 식품 유형을 과·채주스로 등록 하고자 제시한 바, 이에 따라 식품공전상 과·채주스 기준 및 규격에 맞추어 화학적·물리적 위해요소를 설정하였고 무취농약과 동일하게 유기농식품원료로 사용하기 위해서는 화학적 위해요소로서 잔류농약 검사가 필요하나 잔류농약은 키위효소추출물을 제조하는데 사용된 원료가 유기농으로 인증된 것을 사용하였음을 확인하여 화학적 위해요소로 설정하지 않았음.

○ 키위효소추출물은 냉동 유통형태로 유통기한은 1년의 과·채주스임, 이에 따라, 효소활성도와 과·채주스의 기준규격에 따라 미생물학적 안전성 평가를 실시하였음.

○ 따라서 선정된 키위추출물의 화학적·물리적 위해요소와 저장안정성 품질지표는 아래와 같음.

- 화학적/물리적 위해요소: 납, 카드뮴, 보존료, 이물
- 미생물학적 위해요소 및 저장안정성에 대한 품질 지표: 장출혈성 대장균, 바실러스세레우스, 클로스트리디움 퍼프리젠스, 효소활성도(protease activity)

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

○ 앞서 제시한 바와 동일하게 제공받은 키위효소추출물이 유기농식품에 적합한지 기준 적합성 판단을 우선 실시한 뒤, 설정한 지표에 따라 소재의 화학적·물리적 위해요소 평가를 실시하여 소재에 대한 물질안전보건자료(MSDS)를 제시하였음.

○ 개발소재에 대한 기준 적합성 판단을 위하여 decision tree에 따라 통해 키위효소추출물의 경우 ① → ② → ③ → ④ → ⑤ → ⑥ 과정을 거쳐 ‘유기표시 동형(인증로고)제품의 모든 표시면, 제품명, 원료명, 함량 표시 등 모두 가능’한 것을 확인 할 수 있었음.

○ 이에 유기농식품용 식품원료로서 키위효소추출물이 적합한 것으로 판단되었음.

- ① 원재료 원산지 확인
 - 국내에서 재배된 경우: "생산 농축수산물 원산지 확인서" 필요 → 품목제조보고서를 구하지 못해 앞서 제시한 그림 13. 키위효소추출물의 품목제조증명도를 통해 국내에서 제조된 것을 확인함.
 - 국내에서 제조된 경우: "식품 품목제조보고서" 필요
- ② 국내에서 재배된 농축수산물의 경우 유기인증 농축수산물인지 검토함
 - 국내법에 따라 농축수산물이 유기인증을 받은 경우에는 인증기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함 → 재배된 농축수산물이 아님.
- ③ 국내에서 제조된 식품으로 유기농축수산물을 사용하여 제품이 제조된 것을 검토함.
 - 제조된 식품의 "품목제조서"를 확인한 후 제조를 위해 사용된 유기농축수산물이 있을 경우 인증기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함 → 제 1 협동에 추가 요청하여 얻은 그림 15를 통해 키위 원료가 유기농산물을임을 확인하였음



그림 14. 유기농 키위 원료.



그림 15. 키위 원료 유기농산물 인증서.

- ④ 유기농식품 제조 시 사용이 적합한 가공 보조제와 식품 첨가물을 사용하였는지 검토함
 - 사용된 가공보조제와 식품 첨가물의 허용여부 및 허용범위를 확인함 → 사용된 식품첨가물과 가공보조제 없음.
- ⑤ 사용된 원재료의 95% 이상(물과 소금 제외)이 유기농축수산물/유기농 식품을 사용했는지 이때 계산법을 이용해 확인
 - 그림 13에 키위효소추출물 제조 증명도를 나타냄
 - 유기원료 사용비율 계산법

$$G = \frac{I_0}{I_0 + I_1 + I_2} \geq 0.95$$
 G: 제품(포장재, 용기 제외)의 중량 (G = I₀ + I₁ + I₂ + W₀)
 I₀: 유기원료(유기농산물+ 유기축산물+ 유기수산물+ 유기농식품)의 중량
 I₁: 비유기 원료(유기식품인증 표시가 없는 원료)의 중량
 I₂: 비유기 식품 첨가물(가공보조제 제외)의 중량
 W₀: 인위적으로 첨가한 물과 소금의 중량

$$\frac{I_0}{I_0 + I_1 + I_2} = \frac{330}{330 + 0 + 0} = 1 \geq 0.95$$
 → 사용된 원재료의 95% 이상이 유기 농축수산물/유기 농 식품을 사용했음을 확인함.
- ⑥ 농축수산물부 장관이 국내 수급상 필요하다고 인정하여 고시한 원료인지 검토함. → 해당 없음.

그림102. 키위요소추출물의 유기농 기준적합성 판단.

- 화학적 위해요소인 중금속(납, 카드뮴), 보존료는 식품공전 제 9. 일반시험법에 따라 앞서 제시한 방법과 동일하게 수행하였음.
- 물리적 위해요소인 이물은 키위효소추출물 제조 과정 중 여과 공정에서 0.45 μm membrane filter를 사용하여 제조하므로 법적 규격 2.0 mm 이상인 금속성 이물 및 기타 이물 등이 존재하지 않을 것으로 사료되어 검사는 생략함.
- 실험결과,
 - 화학적 위해요소 분석 결과 납(mg/kg), 카드뮴(mg/kg)은 각각 0.0057 ± 0.0002 , 0.0008 ± 0.0001 로 초기시료보다 증가하는 경향을 보이나 값이 미비하고 기준 규격인 0.05, 0.1이하에 만족하였고 보존료는 모두 검출되지 않았음.

표 73. 화학적 위해요소 검사 결과

항목		시험·검사결과
납(mg/kg)		0.0057 ± 0.0002
카드뮴(mg/kg)		0.0008 ± 0.0001
보존료(g/kg)	안식향산	모두 불검출
	안식향산나트륨	
	안식향산칼륨	
	안식향산칼슘	
	소르빈산	
	소르빈산 칼슘	
	소르빈산 칼슘	

- 또한, 물리적 위해요소인 이물은 0.45 μm membrane filter 여과 공정을 통하여 제거 과정을 거치며 소재에 대한 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.
- 물질안전보건자료(MSDS) 조사 및 제시
 - 해외 키위추출물 MSDS 자료(Sysoap, MT.DERM, SANJOAQUIN VALLEY CONCENTRATES) 및 국내 안전보건공단의 물질안전보건자료를 검토 및 참고하여 앞서 제시한 항목에 대하여 조사하였고 간단한 lab test를 수행하여 작성에 필요한 자료를 수집하였음.
 - 항목에 따라 유기가공 효소제(키위효소추출물)의 물질안전보건자료(MSDS)를 제시함.(2차년 연차실적계획서 내 36~41쪽)

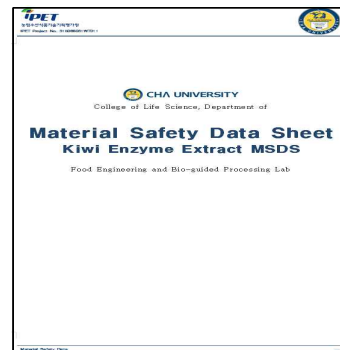
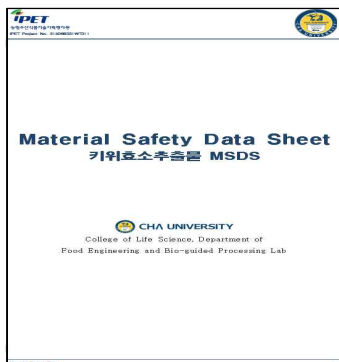


그림 103. 물질안전보건자료(MSDS) 작성본(2차년연차실적계획서 내)
(좌)국문, (우)영문

다) 제형에 따른 품질 및 미생물학적 안전성 평가

○키위효소추출물은 냉동 유통형태로 유통기한은 1년의 과·채주스임, 이에 따라, -20℃에서 냉동 저장하며 키위소재의 유통기한(1년)동안 저장안정성에 대한 품질 평가 및 미생물학적 안전성 평가를 실측실험으로 진행함

○저장안정성에 대한 품질평가(Quality) 시료는 50 ml씩 conical tube에 밀봉하여 -20℃ 냉동고(LG electro., Seoul, Korea)에 저장하였고 아래 표의 일정대로 시료를 채취하여 실험함.

표 74. 키위효소추출물의 저장안정성에 대한 품질평가 일정

번호	1	2	3	4	5	6
저장기간 (months)	0	1	3	6	9	12

○단백질 분해효소 활성(protease activity)은 15 ml tube에 1% casein 용액 1 ml와 0.05 M pH 8.0 sodium phosphate buffer 2 ml를 넣어 기질 용액을 제조한다. 제조한 기질 용액을 37℃에서 5분간 water bath에서 incubation하고 1 ml의 효소를 넣은 후 37℃에서 20분간 incubation한다(control은 증류수 1 ml를 첨가한다). 반응시킨 후, 반응정지를 위해 10% TCA solution 2 ml을 넣은 후 30분간 incubation한다. 0.45 μm filter를 사용하여 분해되지 않은 단백질을 거르기 위해 여과시킨다. 여액 1 ml에 0.5 M 탄산나트륨 5 ml과 Folin 시약 1 ml을 넣어 발색시킨 후 37℃에서 30분간 incubation 하여 Spectrophotometer(GENESY^{STM} 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 660 nm 에서 측정함.

○저장안정성에 실험결과

- 프로테아제(Unit/ml)는 초기시료에서 0.156±0.001로 측정 되었고 저장 후에 0.159±0.004로 측정됨.
- 따라서 저장기간(1년) 동안 실측 결과 제품규격서상 프로테아제(0.05 unit/ml 이상)기준을 만족하는 결과 값을 확인함.

○ 미생물학적 안전성 평가

- 분석용 시료 중 10 g씩 채취하여 0.1% 멸균웁톤수로 단계적으로 희석하여 사용하였으며 모든 미생물안전성 평가 항목은 식품공전 제 9. 일반시험법에 따라 수행하였음. 일반세균수는 3.5.1 일반세균수에 따라 칼로리조정제와 동일한 방법으로 수행하였음.
- 대장균군 실험은 3.7.1 대장균군 정성시험에 따라 대장균군 추정 배지(DifcoTM Lactose Broth, Becton Dickinson and Company, USA) 10 ml에 접종하여 37℃에서 48시간 배양 후 튜브관 내에 생성되는 기포를 관찰함.
- 장출혈성 대장균은 3.16 장출혈성 대장균에 따라 증균배양, 분리 배양을 거쳐 PCR 확인시험을 수행한 후 배로독소 양성 집락을 대상으로 그람 음성 간균을 확인하고 생화학시험을 실시하여 대장균으로 확인된 경우 장출혈성 대장균으로 판정함.
- 바실러스 세레우스는 3.18 바실러스 세레우스에 따라 MYP 배지(DifcoTM, Becton Dickinson and Company, USA)에 도말하여 30℃에서 48시간 배양 후 전형적인 바실러스 세레우스의 발생 집락을 계수하였음.
- 클로스트리디움 퍼프리젠스는 3.14 클로스트리디움 퍼프리젠스에 따라 TSC 한천판배지(DifcoTM, Becton Dickinson and Company, USA)를 가하여 혼합한 후 응고시킨 뒤 응고된 배지 위에 배지를 가하여 중첩 시킨 후 37℃에서 48시간 배양 후 발생집락을 계수하였음.

○ 미생물학적 안전성 실험결과 및 고찰

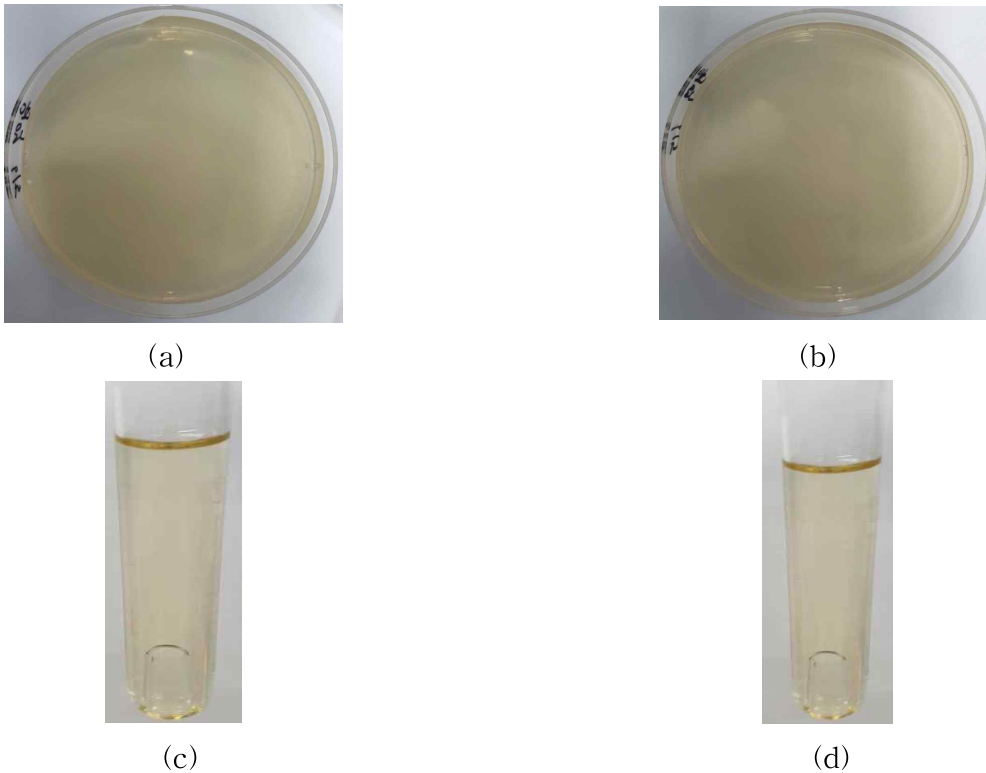


그림104. 키위효소추출물의 일반세균 및 대장균군 검사결과.
 (a) 일반세균 초기 시료, (b) 일반세균 저장 후
 (c) 대장균군 초기 시료, (d) 대장균군 저장 후

표 75. 키위효소추출물 미생물 검사결과

항목	시험 · 검사결과	
	초기시료	1년 저장 시료
장출혈성 대장균	불검출	불검출
바실러스세레우스(/ml)	20	0
클로스트리디움 퍼프리젠스(/ml)	불검출	불검출

- 미생물학적 안전성 확인을 위하여 저장기간(1년) 동안 실측실험하여 채취 시료에서 바실러스 세레우스를 제외하고 그 외 규격 미생물이 검출되지 않았음.
- 키위 원물이 토양에서 재배되므로 제조공정 중 세척과정을 포함하나 작업자의 불완전한 세척으로 인하여 토양 유래 미생물인 바실러스 세레우스가 검출된 것으로 추측됨. 그러나 기준 및 규격의 허용 범위 1000 이하 내에 포함되며 키위효소추출물은 냉동 유통형태이므로 미생물학적으로 안전하다고 판단됨.

○ 결론적으로

- 제시한 decision tree를 통해 개발소재에 대한 기준 적합성 판단을 실시한 결과 유기 가공식품으로 사용 가능하다는 것을 알 수 있었음.
- 이에 따라 실시한 화학적·물리적 위해요소 평가에서 개발 제품의 안전성을 확보할 수 있었고 이를 활용하여 물질안전보건자료(MSDS)를 작성하여 제시하였음.(연차실적계

획서 내)

- 또한 키위효소추출물은 냉동 유통형태이며 제공받은 키위효소추출물의 제품규격서와 식품공전 상 과·채주스의 규격에 포함되어 있는 기준을 모두 만족함이 확인되어 안전성을 확인할수 있었음.

2) 천연효소제(옛기름농축액)

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

○ 제 1협동에서 옛기름농축액의 식품 유형을 곡류가공품으로 제시함에 따라 식품공전 상 곡류가공품의 기준 및 규격으로 화학적·물리적 위해요소를 설정하였고 잔류농약은 옛기름농축액을 제조하는데 사용된 원료가 유기농으로 인증된 것을 사용하였음을 확인하여 화학적 위해요소로 설정하지 않았음.



그림105. 옛기름농축액 시료 외관.

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기
법적규격	성 상	고유색 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.
	색도 수 (cfu/mL)	1000 이하			
	마실린스 제록소스	4달 1,000이하			
	클로스트리디움	음성			
	피프린젠스	음성			
자가규격	대장균	음성	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.
	대장균군	음성			
	금방이 독소 (ug/kg)	총 이플라톡신 15.0 이하 (단, B1은 10.0 이하이어야 한다)			
	납 (mg/kg)	0.2 이하			
	카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하			
	알파아밀라아제 (unit/g)	150 unit/g 이상			
	베타아밀라아제 (unit/g)	40 unit/g 이상			
	포장(실명)상태	포장지에 불명, 두께, 파손과 포장상태에 더럽힘 현이 깨끗해야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.			
	내포막 유통기한	표시중량 100% 이상 -20℃ 보관 시 제조일로부터 1년			

그림106. 옛기름농축액의 제품규격기준.

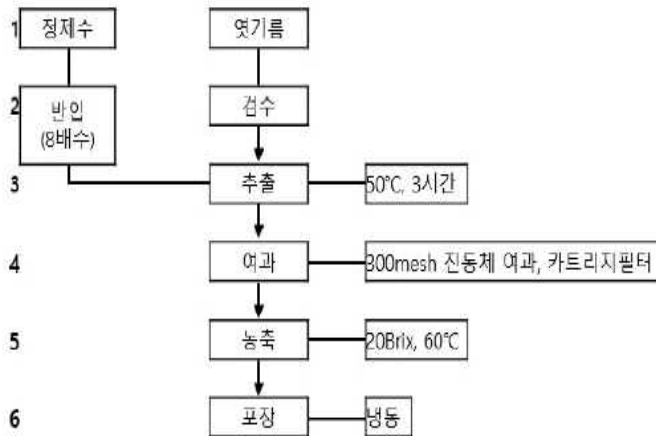


그림107. 옛기름농축액의 제조공정도.

- 이에 따라 평가 시험과 안전성 평가 자료를 활용하여 물질안전보건자료(MSDS)를 작성하여 제시하였음.
- 주관기관에서 기존 생산하고 있던 식초 제품에 사용하는 미생물 유래 효소제를 천연식물 유래 효소로 대체 하고자 제 1협동에서 본 효소제를 개발하였고 그에 따른 효소활성 평가를 하기 위해 저장안정성에 대한 품질지표로 효소활성(α -amylase, β -amylase)을 설정하였음. 또한 미생물학적 위해요소는 식품공전상의 기준 및 규격

을 따라 설정하였음.

○따라서 본 연구에서 설정한 화학적·물리적 위해요소 및 저장안정성(Storage stability) 지표는 아래와 같음.

- 화학적/물리적 위해요소: 납(mg/kg), 카드뮴(mg/kg), 곰팡이독소($\mu\text{g/kg}$), 이물
- 미생물학적 안전성 및 저장안정성에 대한 품질 지표: 일반세균수, 대장균군수, 장출혈성 대장균수, 바실러스 세레우스, 클로스트리디움 퍼프리젠스, 효소활성(α -amylase, β -amylase)

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

○키위효소추출물과 동일하여 개발소재에 대한 기준적합성 판단을 실시후 물리/화학적 위해요소평가 및 물질안전보건자료(MSDS)를 제시함

○개발효소재(옛기름농축액)가 유기가공식품에 적합한지 확인하기 위하여 제 1협동에서 제시한 decision tree에 따라 분석한 결과는 다음과 같음.

- ① 원재료 원산지 확인
- 국내에서 재배된 경우: "생산 농축수산물 원산지 확인서" 필요
 - 국내에서 제조된 경우: "식품 품목제조보고서" 필요
- 그림 20~21을 통해 국내에서 제조된 것을 확인하였음.



그림 20. 유기농 옛기름 식품 품목제조보고서.



그림 21. 유기농 옛기름 식품 품목제조보고서량 변경보고서.

- ② 국내에서 재배된 농축수산물의 경우 유기인 중 농축수산물인지 검토함
- 국내법에 따라 농축수산물이 유기인증을 받은 경우에는 인승기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함
- 재배된 농축수산물이 아님.
- ③ 국내에서 제조된 식품으로 유기농축수산물을 사용하여 제품이 제조된 것을 검토함.
- 제조된 식품의 "품목제조서"를 확인한 후 제조를 위해 사용된 유기농축수산물이 있을 경우 인승기관에서 발급한 "유기농축수산물 인증서"를 확인함
- 그림 23을 통해 옛기름 원물이 유기농산물임을 확인하였음.



그림 22. 유기농 옛기름 원물.



그림 23. 유기농옛기름 친환경 원산지 증명서.

- ④ 유기가공식품 제조 시 사용이 적합한 가공보조제와 식품첨가물을 사용하였는지 검토함
- 사용된 가공보조제와 식품첨가물의 허용 여부 및 허용범위를 확인함
- 사용된 가공보조제 및 식품첨가물 없음

- ⑤ 사용된 원재료의 95% 이상(물과 소금 제외)이 유기농축수산물/유기가공 식품을 사용했는지 아래 계산법을 이용해 확인
- 그림 19에 옛기름 추출물 제조 공정도를 나타냄
- 주원료인 발아보리와 물외에 추가한 원료 없어서 유기원료 100% 사용함
- $$\frac{I_0}{I_0 + I_c + I_e} = \frac{50}{50 + 0 + 0} = 1 \geq 0.95$$

- ⑥ 농림축산식품부 장관이 국내 수급상 필요하다고 인정하여 고시한 원료인지 검토함. → 해당 없음

그림 108. 옛기름농축액 유기가공 기준적합성 판단.

○그림의 내용에 따라, 옛기름농축액의 경우 '유기표시 동형(인증로고)제품의 모든 표시면, 제품명, 원료명, 함량 표시 등 모두 가능'한 것을 확인 할 수 있었음.

- 화학적 위해요소인 중금속(납, 카드뮴), 곰팡이독소는 식품공전 제 9. 일반시험법에 따라 앞서 제시한 방법과 동일하게 수행하였음.
- 물리적 위해요소인 이물은 옛기름농축액 제조 과정 중 여과공정에서 0.45 μm membrane filter를 통하여 사용하여 제조하므로 법적 규격 2.0 mm 이상인 금속성 이물 및 기타 이물 등이 존재하지 않을 것으로 사료되어 검사는 생략함.
- 물질안전보건자료(MSDS) 조사 및 제시를 위하여 해외 옛기름추출물 MSDS 자료 (Sciencelab.com, NEOGEN[®], SANJOAQUIN VALLEY CONCENTRATES) 및 안전보건공단 등을 검토 및 참고하여 조사하였고 간단한 lab test를 수행하여 작성에 필요한 자료를 수집하였음
- 화학적 위해요소 분석 결과를 표 76에 제시함.

표 76. 화학적 위해요소 검사 결과

항목	시험·검사결과
납(mg/kg)	0.0159±0.0004
카드뮴(mg/kg)	0.0025±0.0002
총 아플라톡신($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출

- 분석 결과, 납(mg/kg), 카드뮴(mg/kg)은 각각 0.0159±0.0004, 0.0025±0.0002로 분석되었으며 기준규격인 0.2, 0.1 이하를 만족하는 것으로 확인되었고 총 아플라톡신은 검출되지 않았음. 또한, 물리적 위해요소인 이물은 0.45 μm membrane filter 여과 공정을 통하여 제거과정을 거치며 소재에 대한 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.
- 종합적으로 유기가공식용 식품원료로서 유기가공기준에 부합하며 위해요소검사결과 안전성이 확보될 수 있을 것으로 판단되었으며 키워효소 추출물에 대한 물질안전보건자료(MSDS)를 아래 그림과 같이 제시하였음.(2차년도 연차실적계획서)

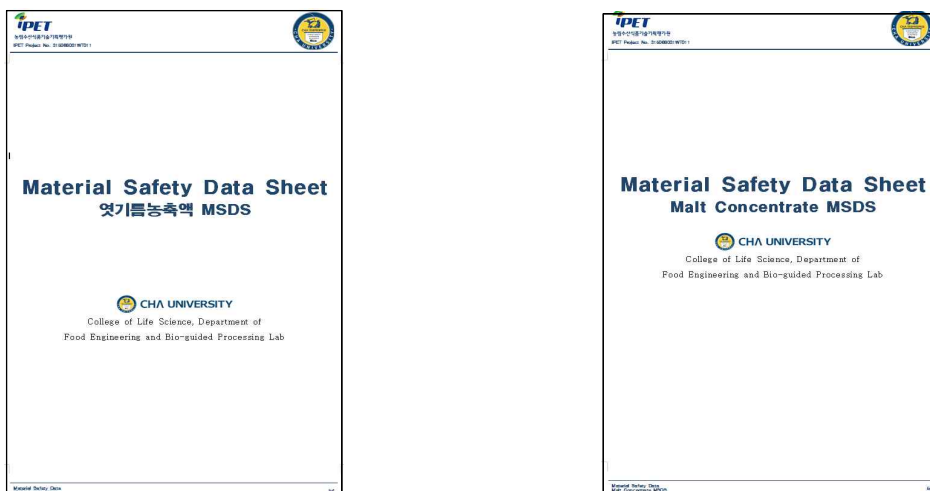


그림109. 물질안전보건자료(MSDS) 작성본_2차년도 연차실적계획서 내.
(좌)국문, (우)영문

다) 제형에 따른 품질 및 미생물학적 안전성 평가

- 엿기름농축액은 냉동 유통형태로 유통기한은 1년의 곡류가공품임, 이에 따라 -20℃에서 냉동 저장하며 엿기름소재의 유통기한(1년)동안 저장안정성에 대한 품질 평가 및 미생물학적 안전성 평가를 실측실험으로 진행함
- 저장안정성에 대한 품질평가(Quality)
 - 시료는 50 ml씩 conical tube에 밀봉하여 -20℃ 냉동고(LG electro., Seoul, Korea)에 저장하였고 아래 표의 일정대로 시료를 채취하여 실험함.

표 77. 엿기름농축액의 저장안정성에 대한 품질평가 계획

번호	1	2	3	4	5	6
저장기간 (months)	0	1	3	6	9	12

- 효소활성 측정으로 α-amylase는 0.2 ml의 기질(BPNPG7)과 0.2 ml의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(BPNPG7)을 넣고 40℃에서 10분간 반응시킴. stopping buffer(성분)를 3 ml 넣고 섞어준 후, Spectrophotometer (GENESYS™ 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400 nm 에서 측정함.
- β-amylase는 0.2 ml의 기질(PNPβ-G3)과 0.2 ml의 엿기름 효소 추출물을 각각 40℃에서 5분간 방치 후 엿기름 효소 추출물 위에 기질(PNPβ-G3)을 넣고 40℃에서 10분간 반응시킴. stopping buffer를 3 ml 넣고 섞어준 후 Spectrophotometer (GENESYS™ 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용해 파장 400 nm 에서 측정함.
- 알파아밀라아제(Unit/ml)는 초기시료에서 194.11±5.42로 측정 되었고 1개월 저장 후에 200.37±5.42로 측정되었음.

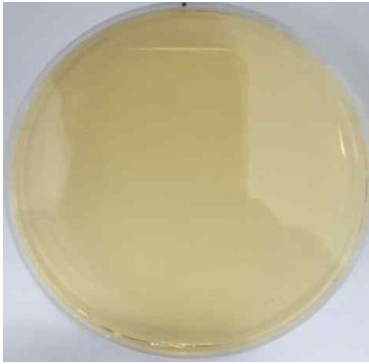
표 78. 엿기름농축액 효소활성

항목	시험 · 검사결과			
	초기시료	1개월 저장 후	6개월 저장 후	12개월 저장 후
알파아밀라아제(unit/ml)	194.11±5.42	200.37±5.42	169.06±9.39	-
베타아말리아제(unit/ml)	58.23±0.47	58.08±0.72	55.57±0.72	-

- 베타아밀라아제(Unit/ml)는 초기시료에서 58.23±0.47로 측정 되었고 1개월 저장 후에 58.08±0.72로 측정되었음.
- 따라서 저장기간(1년) 동안 실측 실험 중 2회 진행한 현재까지는 제품규격서상 알파아밀라아제(150 unit/ml 이상) 및 베타아밀라아제(40 unit/ml 이상)기준 모두를 만족하는 결과 값을 확인하였으나 6개월이후부터 효소 활성의 감소가 진행되어 12개월차 시료에서는 효소활성이 측정되지 않았음
- 미생물학적 안전성 평가실험
 - 분석용 시료 중 10 g씩 채취하여 0.1% 멸균펩톤수로 단계적으로 희석하여 사용하였으며
 - 모든 미생물안전성 평가 항목은 식품공전 제 9. 일반시험법에 따라 키워효소추출물과

동일한 방법으로 수행하였음.

- 실험결과, 미생물학적 안전성 확인을 위하여 저장기간(1년)동안 실측실험을 진행한 결과 시료 모두에서 저장안정성 지표 미생물이 검출되지 않았음.



(a)



(b)

그림110. 옛기름농축액 일반세균 검사결과.

(a) 초기 시료, (b) 1년 저장시료



(c)



(d)

그림111. 옛기름추출물 대장균군 검사결과.

(c) 초기 시료, (d) 1년 저장시료

표79. 옛기름농축액 미생물 검사결과

항목	시험 · 검사결과	
	초기시료	1년 저장 후
장출혈성 대장균	불검출	불검출
바실러스세레우스(/ml)	불검출	불검출
클로스트리디움 퍼프리젠스(/ml)	불검출	불검출

- 따라서 제공받은 옛기름농축액의 제품규격서와 식품공전 상 곡류가공품의 규격에 포함되어 있는 기준에 모두 만족함을 확인할 수 있었음.
- 또한 개발소재의 경우 초기시료 및 저장기간동안 지표미생물 검출이 되지 않았고 냉동유통형태의 제품으로 미생물학적으로 안정성이 확보될 수 있을 것이라 판단됨.

○결론적으로,

- 제시한 decision tree를 통해 개발소재에 대한 기준 적합성 판단을 실시한 결과 유기가 공식품으로 사용 가능하다는 것을 알 수 있었음.
- 이에 따라 실시한 화학적·물리적 위해요소 평가에서 개발 제품의 안전성을 확보할 수 있었고 이를 활용하여 물질안전보건자료(MSDS)를 작성하여 제시하였음.
- 실측실험으로 진행 중인(냉동저장, 1년) 저장 안정성 평가에서 품질지표 역가의 경우 6개월부터 감소되었으며 1년 경과후까지 미생물학적으로 안정하다고 판단됨.
- 그러나, 천연효소제로써 상용화하기 위해서는 완제품의 제형 및 규격 등의 보안을 위하여 좀 더 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 판단됨.
- 알파/베타 아밀라제 활성측정결과에 따라 제품의 유통기한은 6개월 이내로 설정되어야 할 것으로 판단되었음

3) 유기농 현미식초

가) 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

- 화학적·물리적 위해요소 선정을 위하여 다)항에 제시된 제품의 완제품검사규격서와 식품공전 식초의 기준 및 규격을 검토하였고 문헌조사를 통하여 화학적·물리적 위해요소를 선정하였음.
- 이외, 간장제품과 동일하게 화학적 위해요소로서 잔류농약은 주관기관으로부터 제공받은 자료에 유기농 원료함량이 100%로 원재료의 95%이상이 유기농축수산물/유기가공식품을 사용하였음을 확인하였고 원재료 검사규격서에 잔류농약 검사 결과 검출되지 않았기 때문에 화학적 위해요소로 설정하지 않았음.
- 따라서 선정된 청정원 유기농 현미식초의 화학적·물리적 위해요소로 각각 타르색소, 보존료 및 이물을 선정하고자 함.
- 생물학적 위해요소 선정은 화학적·물리적 위해요소와 동일하게 주관기관에서 제공한 제품의 완제품검사규격서와 식품공전 기준규격 및 문헌조사에 따라 생물학적 위해요소를 선정하였음.
- 다. 항에서 진행한 제품의 품질평가를 통해 국내에서 유통되고 있는 유기농 식초제품의 pH는 3.5 미만인 것을 확인할 수 있었음. 이에 따라 문헌조사(병원성 미생물도감, 식약처)를 통해 개발 식초의 완제품검사규격서 내 미생물의 생존 가능성 여부를 조사하여 판단하고자 하였고 표 80에 나타내었음.

표 80. 생물학적 위해요소에 대한 성장 및 생존 한계

미생물	성장 및 생존 한계
<i>Clostridium perfringens</i>	pH 5.0 이상 9.0 이하, 15℃-52℃
<i>Salmonella spp.</i>	pH 3.8 이상, 수분활성도 0.94 이상, 7℃ 이상
<i>S. aureus</i>	pH 4.2 이상, 4℃ 이상
<i>V. parahaemolyticus</i>	pH 4.8 이상, 3℃ 이상, 수분활성도 0.94 이상
<i>L. monocytogenes</i>	70℃ 이상, pH 4.2 이하, 방사선 1~3 kGy
<i>E. coli O157:H7</i>	pH 4.4 이상, 수분활성도 0.95이상, 7-8℃ 이상, Salt 0.5% 이하
<i>B. cereus</i>	pH 4.3 이상, 수분활성도 0.912 이상
*식약처 미생물 위해기술서, 식약처 병원성 미생물 도감	

- 일반적으로 식중독 미생물 및 생성독소는 pH 4.0 이하에서 생존이 저해된다고 보고되어지며 (FDA, 1996)
- 제시된 미생물들의 성장 및 생존한계에 대하여 조사결과, 규격에 포함되어 있는 미생물 모두 pH 3.8 이하에서 생존이 불확실 할 것으로 판단되었음. 그러나 생물학적 위해요소로써 유기농 현미식초의 완제품 규격 및 식품공전 포함되어 있는 *C. perfringens* (100 이하), *Salmonella spp* (음성), *S. aureus* (음성), *V. parahaemolyticus* (음성), *L. monocytogenes*(음성), *E. coli O157:H7*(음성), *B. cereus* (1.0×10^3)에 대하여 선정함

표 81. 식품유형별 유통기한 설정실험 지표(식품의약품안전청고시 제2011-15호)

식품종류		설정실험 지표		
식품군	식품종 또는 유형	이화학적	미생물학적	관능적
21. 조미식품	21-1 식초	총산 알콜함량 산도		성상 침전물

- 저장안정성 시험을 위한 품질지표를 선정하기 위하여 식품의약품안전청고시 제2011-15호(2011년3월24일 개정)에 의거 이화화적인 품질지표로 총산, 알콜함량, 산도를 선정하고 관능적으로는 성상과 침전물을 우선적으로 설정함.
- 따라서, 시험 지표선정을 아래와 같이 선정하였음
 - 화학적/물리적 위해요소: 타르색소, 보존료, 이물
 - 미생물학적 위해요소: *C. perfringens* (100 이하), *Salmonella spp* (음성), *S. aureus* (음성), *V. parahaemolyticus* (음성), *L. monocytogenes*(음성), *E. coli O157:H7*(음성), *B. cereus* (1.0×10^3)
 - 저장 안정성 시험을 위한 품질지표: 총산, 알콜함량, 산도, 성상 및 침전물

나) 화학적 물리적 위해요소 평가

- 선정된 화학적, 물리적 위해요소는 식약처 식품공전의 방법에 따라 실시하였으며 그 검사결과를 아래 표에 제시함.
- 완제품 위해요소 검사 결과 규격 항목인 타르색소, 잔류알콜이 불검출되었으며 보존료로써 파라옥시안식향산 또한 불검출됨을 확인함.

표82. 개발 유기농 현미식초 완제품 검사결과

시험·검사 항목	시험·검사 결과
타르색소	불검출
파라옥시안식향산(g/kg)	불검출
황색포도상구균	음성
살모넬라	음성
<i>V. parahaemolyticus</i>	음성
<i>L. monocytogenes</i>	음성
<i>E. coli O157:H7</i>	음성
바실러스 세레우스(/g)	-
클로스트리디움 퍼프린젠스(/g)	-
잔류알콜	불검출

○물리적 위해요소로써 아래 그림 111 에 제시한 바와 같이 개발 식초의 외관(침전물) 검사를 비등온 가속화실험과 함께 진행하였으며 그 결과 1~13 point 전 구간에서 침전물을 확인할 수 없었으나 관능적으로 색이 어두워짐을 확인하였고 spectrophotometer로 갈변도(420nm)의 측정으로 갈변정도를 분석하여 정량적으로 정상(갈변물질)을 품질지표로 선정할 가능성이 있음을 확인함

다) 미생물학적 안전성 및 저장안정성 평가

○저장안정성 시험을 위한 품질지표는 1차적으로 총산, 알콜함량, 산도, 정상 및 침전물로 선정하였으나 문헌조사 결과, 정상으로 갈변물질 생성을 UV spectrophotometer 420 nm에서 측정하여 나타내고, 관능 특성을 더하여 선정함.

○생물학적 위해요소로 황색포도상구균, 살모넬라, *V. parahaemolyticus* (음성), *L. monocytogenes*(음성), *E. coli O157:H7*가 음성이었으며 바실러스 세레우스와 클로스트리디움 퍼프린젠스 또한 검출되지 않았고 미생물학적으로 안전함이 확인되었음.

표 83. “유기농 현미식초”의 비등온가속화 실험 내용

항목	내용													
시료	유기농 현미식초													
실험조건	초기온도 20℃에서 90℃까지(시간당 5.5℃씩)													
	point	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	온도(℃)	20	25.5	31	36.5	42	47.5	52	57.5	63	68.5	74	79.5	85
실험항목	포인트별로 시료를 채취하여 즉시 품질 지표인 외관(침전물), 총산(%), 알콜함량 및 정상(갈변물질)을 측정													

*모든 실험은 3회반복 측정하였음.

○품질요소의 변화

- 유기농 현미식초의 비등온 가속화 실험 조건에서 측정한 품질요소의 변화를 표 84와 그림110로 나타냄.

표 84. 유기농 현미식초의 시간별 품질요소 변화

Time(h)	Acidity(%)	Browning (O.D. at 440nm)
1	4.62±0.10	0.181±0.000
2	4.88±0.05	0.181±0.000
3	4.86±0.36	0.181±0.001
4	5.00±0.37	0.181±0.000
5	5.06±0.55	0.181±0.000
6	5.33±0.12	0.183±0.000
7	4.88±0.61	0.182±0.001
8	4.6±0.05	0.182±0.000
9	5.48±0.23	0.185±0.000
10	5.18±0.73	0.187±0.000
11	5.76±0.30	0.191±0.000
12	5.70±0.14	0.192±0.000
13	4.58±0.11	0.194±0.000

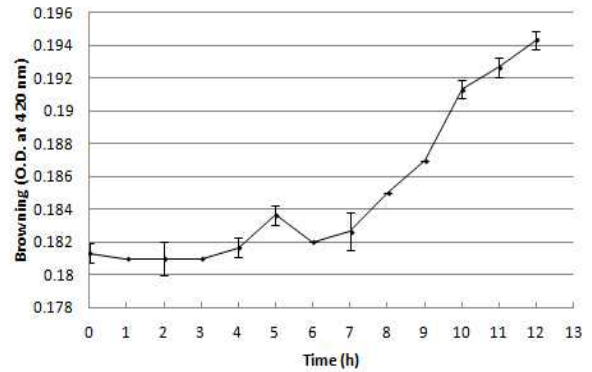
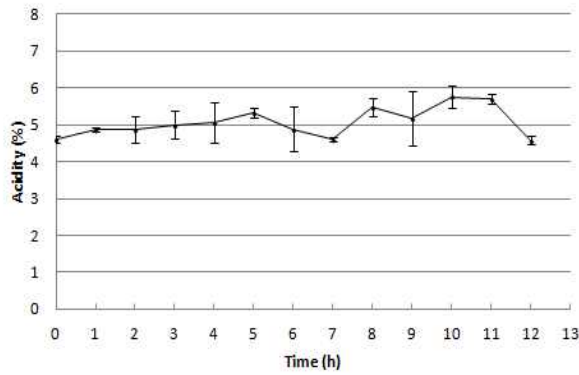


그림112. 유기농 현미식초의 시간별 품질변화 그래프.

- 총산도의 경우, 시험 구간동안 초산으로써 $4.58 \pm 0.11\%$ 에서 $5.76 \pm 0.30\%$ 범위값을 나타내었으며 식품유형별 유통기한 설정실험(21-1 식초)의 지표에 따라 실시한 결과로 비등온 조건에 따라 식품공전 2-5항. 식초기준규격인 초산으로써 4.0~29.0(w/v%) 범위를 만족하였으며 시판 현미식초(정등 1998, 여등 2011)의 산도 4.32%~6.63% 내로 확인되었음.
- 색상(갈변정도)를 UV 420 nm에서 측정한 결과 측정값이 초기시료 0.181에서 0.194로 온도변화에 따라 점점 증가하는 경향을 관찰할 수 있었으며 문헌 보고등에 따르면 식초의 폴리페놀 화합물의 산화 및 당분의 갈변에 의해 저장기간동안 갈색도가 증가한다는 결과와 외관으로 관찰된 식초의 관능적 특성으로 어두워지는 변화와 상응하는 정량적 지표가 될 수 있음을 확인함.
- 시험구간동안 잔류알콜은 검출되지 않았음.
- 완료된 유기농 현미 식초 제품의 물리·화학 및 미생물학적 위해요소는 모두 불검출되어 안전성이 확인되었음

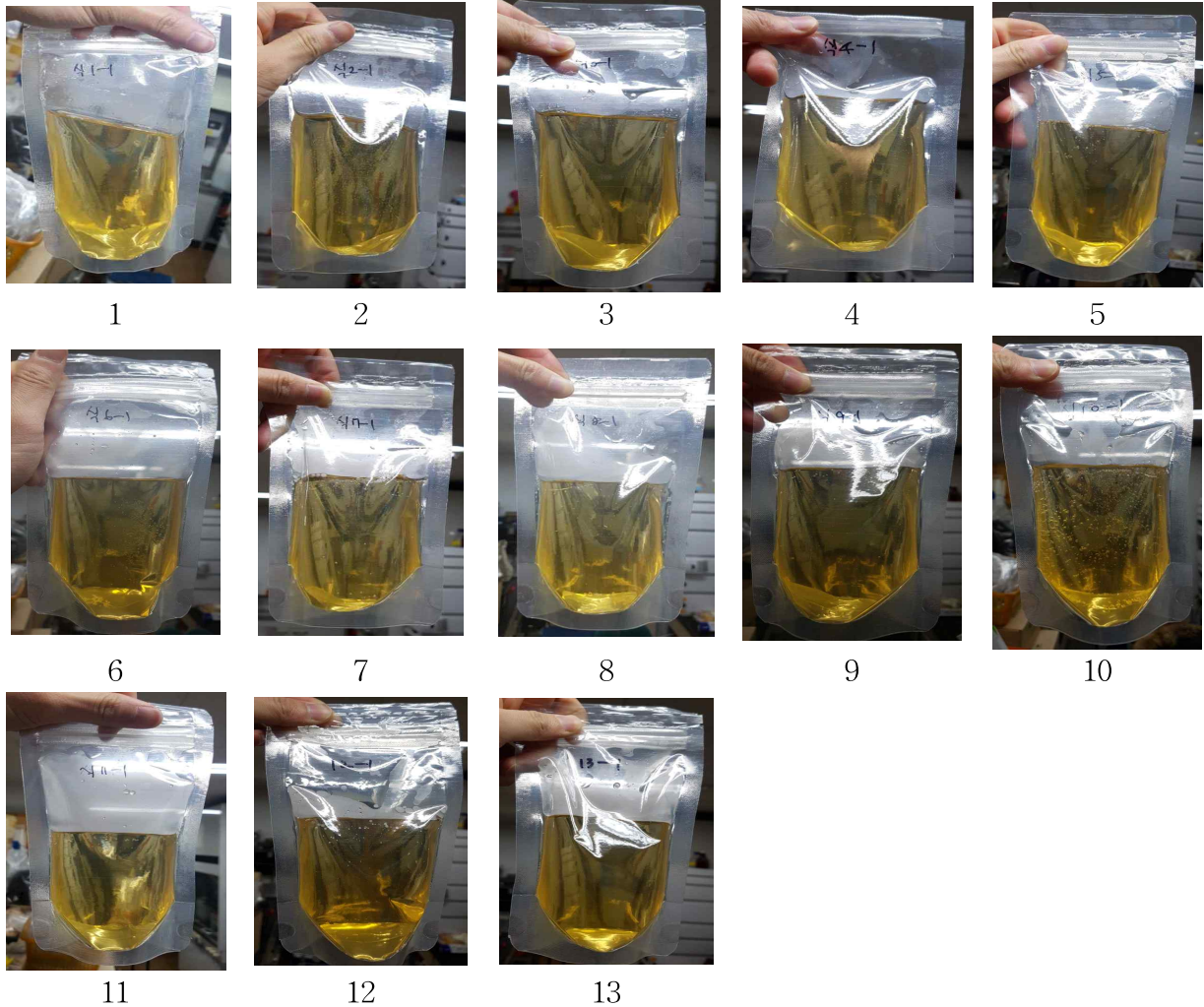


그림 113. 유기농 현미식초의 외관, 침전물(5.5°C/h)

○2차년 개발제품의 저장안정성평가를 위한 비등온가속화 실험을 한 결과로

- 염도낮은 유기농 간장은 선정되었던 유통기한 설정지표인 pH, 총질소, 순추출물, 색도 및 곰팡이 모두 온도 변화에 따른 큰 변화가 관찰되지 않았음
- 유기농 현미식초의 경우 선정되었던 유통기한 설정지표인 이화학적인 품질지표로 총산, 알콜함량, 산도 및 관능적 지표 외관과 침전물 중 다른 지표에서는 차이를 관찰할 수 없었으나 온도변화에 따라 외관상 어두워지는 것이 관찰되었으나 정량적으로 해석하기에는 관능검사 요원의 개인 편차가 심하여 유통기한 설정을 위한 지표로 부적합하다고 판정
- 저장기간 동안 품질변화가 관찰된 갈변정도를 외관과 상응하게 품질지표로서 설정이 가능하다고 판단함

라) 공정분석 및 개선방안 제시

○2017년 8월 3일에 주관기관으로부터 “유기농 현미식초”에 대하여 전달받는 정보는 다음과 같음

- 기존 “청정원 유기농 현미식초”의 표기사항
- 기존 유기농 현미식초의 배합비, 유기농 현미식초 공정반제품

- 기존 유기농 현미식초의 제조공정도
 - 기존 유기농 현미식초의 제품검사규격
 - 원재료인 유기농 현미의 검사규격
- 시제품을 전달받지 못하였을 뿐만 아니라 제한된 정보로 인하여 안전성 및 품질 안정성 지표에 대한 문헌 조사 결과와 제공받은 제조공정도를 검토/분석하여 CCP를 제안하였음.
- 우선 시장조사를 통하여 국내 유기농 식초 제조사 및 제품을 분석하여 아래 표에 제시함.

표 85. 국내 유기농 식초 주요 회사 및 제품

제품명	제품 사진	제품 유형	내용량	원재료 및 함량	유통기한	제조원
청정원유기농현미식초		발효식초	350 ml	유기농 현미 22.25%(국산), 정제수	제조일로부터 2년	대성(주)
유기농사과식초		발효식초	350 ml	사과과즙 100%(유기농사과 농축액 20.81%, 정제수	제조일로부터 2년	대성(주)
한살현미식초		발효식초	900 ml	유기농현미(국산) 15%, 엿기름(보리-국산) 2.25%, 총효모, 총초산균, 정제수	제조일로부터 3년	유동산업
몬티유기농발사믹식초		발효식초(초산18%)	500 ml	유기농와인식초 60%, 유기농포도원액 40%	상품별도표기	DOOR S.P.A. 이탈리아
유기농포도나발사믹식초		발효식초	250 ml	유기농와인식초 71%, 유기농 농축포도과즙 28%	상품별도표기	ACETUM S.P.A.

표 86. 식품공전 식초*의 기준 및 규격

기준	항목	규격
기준 및 규격	성상	고유의 색과 향미를 가지며 이물, 이취 및 이물이 없어야 함.
	총산(초산으로서, w/v%)	4.0~29.0(다만, 감식초는 2.6 이상)
	바실러스 세레우스	g 당 1000 이하(평균 시 음성)
	클로스트리디움 퍼프리젠스	g 당 100 이하(평균 시 음성)
	타르색소	불검출
기준 및 규격	보존료(g/L)	파라옥시안신향산메틸
		파라옥시안신향산에틸
0.1 이하		

*식품공전 2항, 식품일반(식초포함)에 대한 공통 기준규격 및 5항, 식품별 기준규격(식초)

- 국내 제품의 경우 대상 외 대기업제품보다는 영농조합 등에서 출시되고 있었으며 시장이 아직 크지 않음을 알 수 있었음. 국외 제품의 경우 발효식초류 중 발사믹식초의 유기농제품이 높은 비중을 차지하고 있음.
- 유기농 원재료로서 유기농 현미, 유기농 감, 유기농 사과농축액 및 유기농 포도원액 등 곡류 및 과일류를 원재료로 사용하고 있음.
- 곡류식초의 경우 유기농 현미원재료가 15%이상 함유되어 있었고 과실식초는 유기농 원재료로 과일원물 또는 원액(농축액) 으로 대부분 구성되어 있었음.
- 제품의 경우, KS 표준규격(2015 개정)에서 제시한 바, 사용총량이 곡류식초는 식초 1L에 곡류 70 g 이상 함유, 과실식초는 1L당 350 g 이상 함유로 규정되어 있으며 모두 만족함을 확인할 수 있었음.
- 제품의 규격서 검토 결과 “청정원 유기농 현미식초”의 제품검사규격을 검토한 결과, 아래 표 86에 제시된 식품공전 상 식초의 기준 및 규격 중 **非평균 제품**에 해당함, 주관기관에서 설정하고 있는 완제품검사규격서대로 설계해도 무방할 것이라 사료됨.
- 제공 받은 제조공정도에 의하면 유기농 식초 생산 원료인 식품첨가물 형태인 당화 효소를 소량 대체하여 천연 추출액인 엿기름 농축액을 적용하는 제품으로 생산하고자하는 ‘대상(주) 오산공장’의 HACCP plan과 동일하게 CP와 CCP를 관리하면 됨.

(5) 천연유화제 적용 커피음료

(가) 소재 - 유화제

1) 유화제로서의 소재 탐색

가) Caseine

○시판 커피 크림어 및 Sodium caseinate

커피 크림어는 우유나 크림을 대체하여 커피의 쓴맛을 완화 시키며 액상보다 저장 안정성이나 보관에 용이하고 부드러운 향미를 제공하면서 커피 믹스에 널리 사용되어 짐.

○풍미 증진과 부드러운 맛을 위해 크림어에 식물성 경화유를 사용되는데 이때 커피 내 유화 안정성을 부여하기 위해서 대중적으로 유화제로 sodium caseinate가 사용됨.

표87. 커피 크림어 배합 표

constituent	Amount %	Function
Glucose syrup	52.6	단맛 부여
Fat	30	풍미 증진, 쓴맛 완화
Casein-Na	12	균질 및 유화 안정성 부여
Water	3.15	-
Emulsifiers	1.6	균질 및 유화 안정성 부여

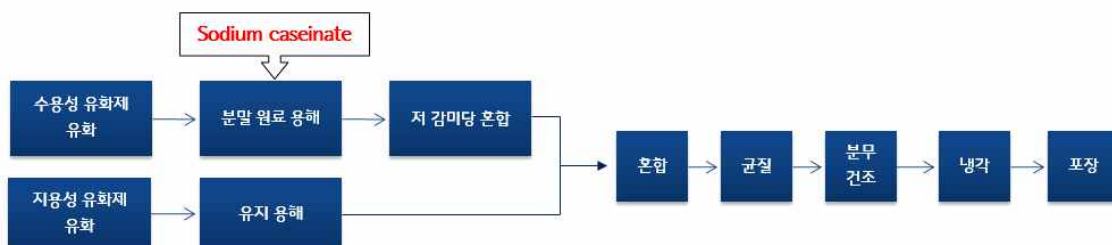


그림114. 커피 크림어 제조 공정

○Casein은 우유 내에서 단백질 중 80%를 차지하며 인산칼슘과 서로 결합하여 casein micelle 형태로 분산되어 존재함. α_{s1} -, α_{s2} -, β -, κ - 이렇게 4가지 형태의 casein으로 존재하고 대부분 α_{s1} -, β -casein이 85% 구성하고 두 casein 모두 200개 이상의 아미노산으로 이루어진 고분자 전해질로 양친매성 성질을 가져 유화역할을 가진다고 알려짐.

○Casein 추출 방법으로 크게 pH조절 법, rennin 첨가 법이 있음. pH 조절 법은 casein의 등전점을 이용하여 산이나 유산균 발효를 통해 pH 4.6으로 조절하여 casein 표면의 음전하가 수소와 결합하여 상호 반발력이 제거되어 casein이 서로 결합하여 침전되어 curd 형태로 분리됨. 송아지 위에서 분비되는 rennin은 casein micelle에 친수성을 띠는 κ -casein의 가수분해가 일어나 para- κ -casein가 micelle 표면에 위치하여 안정성이 파괴되어 결합해 curd 형태로 분리됨.

○Casein의 특성 상 물이 녹지 않는 성질이 있기 때문에 염의 형태로 전환하여 유화제

로 이용. 보통 염으로 수산화나트륨, 탄산나트륨, 탄산수소나트륨을 사용하여 수용성이 높은 caseinate을 제조함.

○이때 사용되는 염들이 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리, 지원에 관한 법률 제3조 1항에 관련된 유기가공식품에 식품첨가물 또는 가공 보조제 허용범위에 어긋난다.



그림115. Caseinate 제조 공정

표 88. Sodium caseinate 제조 시 사용되는 첨가물 허용범위

명칭 (한)	명칭 (영)	국제 분류번호	식품첨가물로 사용 시		가공보조제로 사용 시	
			허용 여부	허용범위	허용 여부	허용범위
수산화나트륨	Sodium hydroxide	524	○	곡류제품	○	설탕 가공 중의 산도 조절제, 유지 가공
탄산나트륨	Sodium carbonate	500 (i)	○	케이크, 과자	○	설탕 가공 및 유제품의 중화제
탄산수소나트륨	Sodium bicarbonate	500 (ii)	○	케이크, 과자, 액상 차류	×	

2) 유기가공식품용 유화제 제조

가) 유화제에 적용 가능한 유기가공식품용 첨가 허용물질 검토

○친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리, 지원에 관한 법률 제3조 1항에 관련된 유기가공식품에 식품첨가물 또는 가공 보조제로 사용 가능한 물질을 검토하여 허용여부 및 허용범위를 확인함.(표3) 이에 따라 유제품 및 커피 크림에 적용 가능한 pH 조절 역할 물질 중 대중적으로 널리 이용되는 구연산(citric acid)과 커피 크림(화이트너)에 허용 가능한 제2인산칼륨(PO_4)을 선정함.



표89. 유제품 및 커피 크리머에 허용되는 식품 첨가물 및 가공보조제

명칭 (한)	명칭 (영)	국제 분 류번호	식품첨가물로 사용 시		가공보조제로 사용 시	
			허용 여부	허용범위	허용 여부	허용범위
구연산	Citric acid	330	○	제한 없음	○	제한 없음
구연산삼나트륨	Trisodium citrate	331 (iii)	○	소시지 , 난백의 저온살균 , 유제품 , 과일 음료	×	
구연산칼륨	Potassium citrate	332	○	제한 없음	×	
구연산칼슘	Calcium citrate	333	○	제한 없음	×	
DL-사과산	DL-Malic acid	296	○	제한 없음	×	
수산화 칼슘	Calcium hydroxide	526	○	토르티야	○	산도 조절제
젖산	Lactic acid	270	○	발효채소제품 , 유제품 , 식용 케이싱	○	유제품의 응고제 및 치즈 가공 중 염수의 산도 조절제
제이인산칼륨	Potassium Phosphate , Dibasic	340 (ii)	○	커피 화이트너	×	
탄산칼슘	Calcium carbonate	170 (i)	○	식물성 제품 , 유제품 (탄산칼슘을 착색료로는 사용하지 말 것)	○	제한 없음

나) 유기가공식품용 우유 casein 추출물 공정 개발

- 유기가공식품 기준에 적합하도록 농림축산 식품부에서 허용한 첨가물질을 활용하여 pH 조절을 통해 우유 내 casein 추출 공정 확립.
- 우유를 35℃로 데운 후 2M citric acid를 첨가하여 pH 4.6까지 acidification 시켜 우유 내 casein을 응고시켜 casein curd와 whey protein로 분리함. 감압여과 장치를 이용하여 curddhk whey protein을 분리한 뒤 정제수로 curd 사이에 whey protein 세척함. 초반에 데운 우유만큼의 정제수에 casein curd를 풀어 넣고 35℃로 데운 후 2M PO_4 을 첨가하여 pH 7까지 alkalization 시켜 수용화 함. 수용화 시킨 casein을 동결 건조 공정을 통해 분말화하여 유화제 제조.

표 90. 우유에서 추출한 casein

Casein curd	Extracted casein powder
	

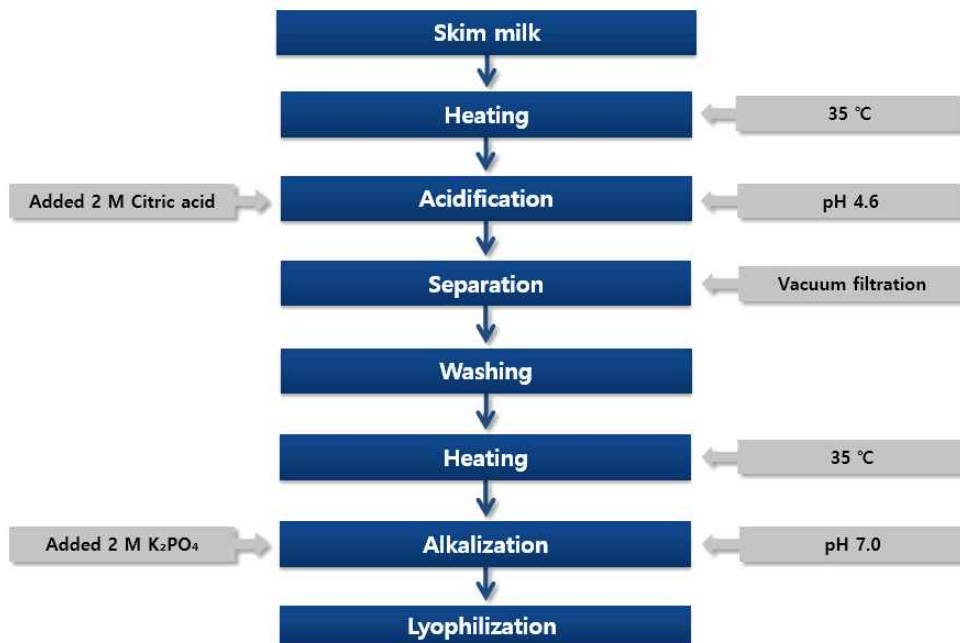


그림116. 우유 casein추출물 제조 공정도

3) 추출물의 단백질 분석

가) 정성 분석

○SDS-PAGE

유기가공식품용 우유 casein 추출물 내 단백질 종류 및 분자량 분석을 위해 SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) 실시함.

SDS(Sodium dodecyl sulfate) detergent가 단백질을 unfolding 시켜 고유 전하를 잃고 (-)전하를 띄게 해주어 polyacrylamide gel 상에서 전기영동에 의한 이동 되는데, 이때 단백질의 분자량 차이에 의해 이동 속도 차가 발생되어 분리됨.

Standard α - β -, κ -casein 과 비교 분석을 위해 sodium caseinate와 우유 casein 추출물을 1 mg/mL 농도로 녹여 단백질 정량을 통해 8 μ g에 해당되는 양을 sample buffer(65.8 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2.1% SDS, 26.3% (w/v) glycerol, 0.01% bromophenol blue)와 혼합하여 100°C에서 5분 간 끓여 단백질 unfolding을 유도함. 12% running gel과 5% stacking gel을 tank에 고정 한 뒤 running buffer를 채워 셋팅한 뒤 sample을 loading함. 초반에는 90v로 10분간 running 한 뒤 이 후에는 150v로 조절하여 진행함. Running 후 staining과 unstaining 과정을 거쳐 단백질을 분리함.

우유 casein 추출물 내 α - β -, κ - casien과 whey protein 존재 확인.

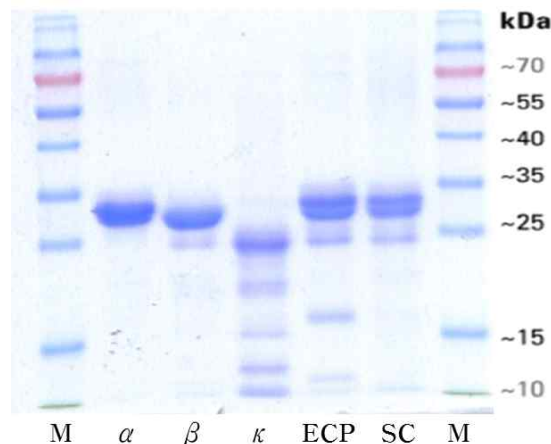


그림 117. 우유 casein 추출물 SDS-PAGE결과

나) 정량 분석

○BCA assay

시료 내 단백질이 Cu^{2+} 이온을 환원시켜 Cu^{1+} 이온이 생성되어 Bicinchoninic acid(BCA) 과 반응해 보라빛으로 발색되므로 spectrophotometer를 이용해 측정함. 이 측정값을 standard 물질인 BSA (Bovine Serum Albumin)를 기준으로 시료 내 단백질이 얼마만큼 들어있는지 정량.

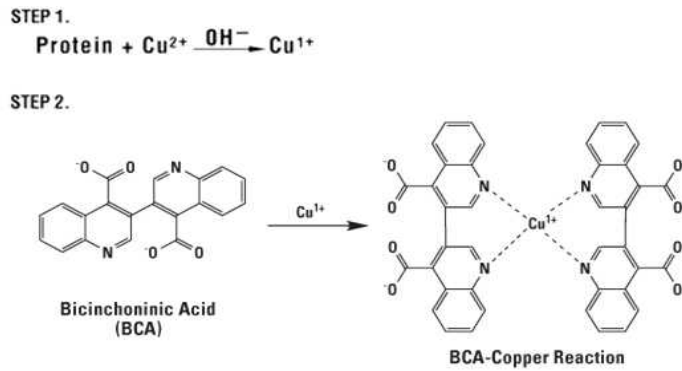


그림 118. BCA assay 원리

우유 casein추출물 0.01%(w/v) solution을 5 μL 씩 96-well plate에 분주하고 95 μL 의 BCA Reagent를 섞어 호일에 싸 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 방치. 그 후 ELISA로 파장 570nm에서 흡광도 측정.

표 91. 우유 casein추출물의 BCA assay 결과

Standard (Bovine serum albumin)		우유 casein 추출물
회귀방정식	결정계수 (R^2)	단백질 함량 (w/w%)
$y=0.2414x+0.0589$	0.9944	42.617 ± 2.506

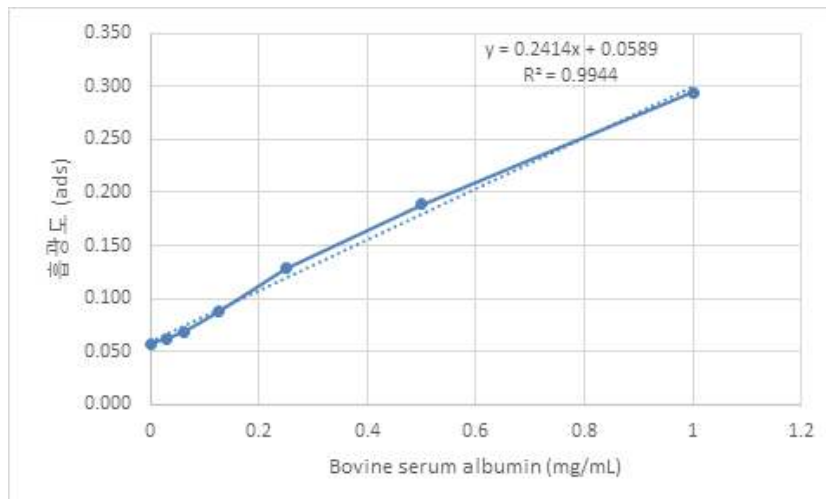


그림119. BCA assay Standard curve

4) 유화 안정성 측정

- 가) 유기가공식품용 우유 casein 추출물과 시판되는 Sodium caseinate과 비교하여 유화 안정성 측정.
- 나) 동일한 조건으로 homogenization(17,500 rpm, 2min) 시킨 균질화 된

Emulsion(sunflower oil 30 v/v%+sample solution (0.5 w/v %))을 메스 실린더에 담아 시간에 따라서 층 분리를 관찰해 Serum phase 부피를 측정하여 아래 creaming index 을 계산하여 유화 안정성 측정.

$$\text{Creaming index \%} = \frac{\text{Serum layer volume (mL)}}{\text{hole emulsion volume (mL)}} \times 100$$

다) 시판 Sodium caseinate 0.5 w/v% emulsion은 균질화 후 30분부터 층 분리 현상이 관찰되는 반면 우유 casein 추출물 0.5 w/v% emulsion은 13시간 까지 층 분리가 발생하지 않고 균질화 된 상태를 유지되어 유화 안정성을 확인함

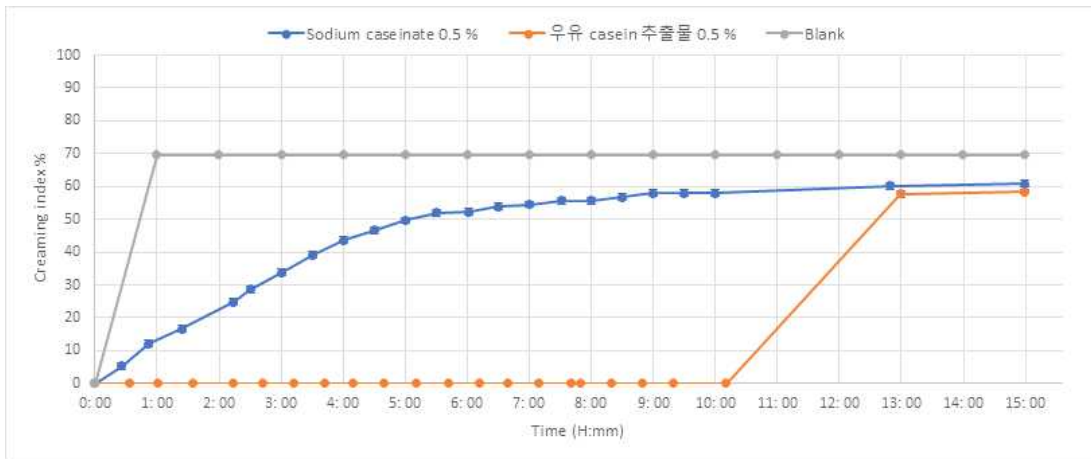


그림 120. 우유 casein 추출물의 creaming index (%)

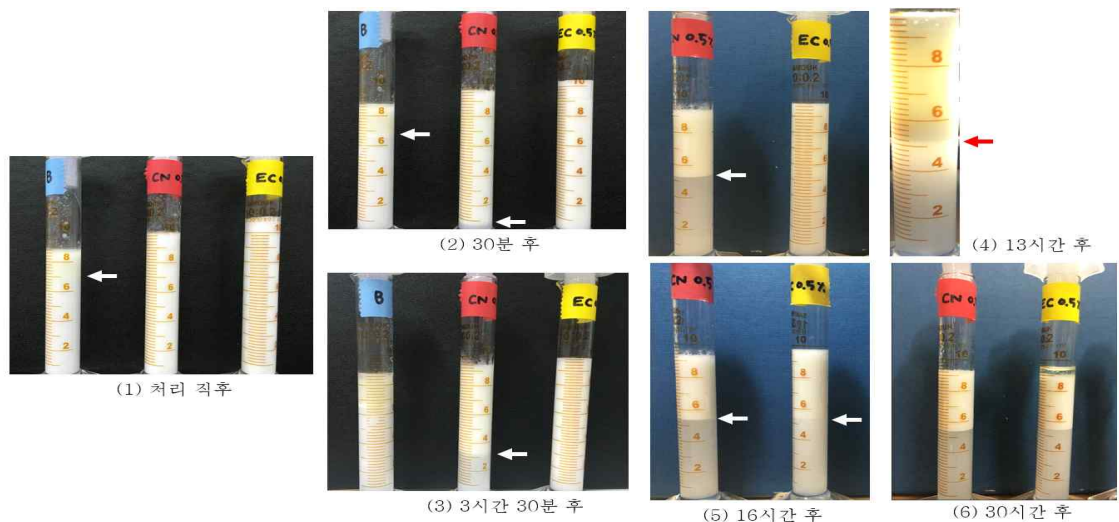


그림 121. 시간에 따른 층 분리 변화

5) 초음파 처리를 통한 우유 cream emulsion 균질화

가) Particle size analysis 및 현미경 관찰

- 커피 크리머의 식물성 경화유를 대체하여 우유 고유의 cream을 적용하기 위해 초음파 처리를 통하여 cream 입자를 감소 시켜 emulsion의 유화 안정화를 기대함.
- 각 초음파 처리시간대(2, 5, 10, 15, 20분) 별로 입자 사이즈 $D_{[50]}$ 과 $D_{4.3}$ 측정. $D_{[50]}$ 은 해당되는 크기보다 작은 입자가 50% 존재함을 나타내고 $D_{4.3}$ 은 실제 입자와 동일한 부피를 가진 구체 입자의 평균 직경을 나타냄.

표 92. Microtrac S3500 particle size analyzer 측정 조건

Flow rate	45 %
Shape	Spherical
Fluid	Water
Fluid Refractive index (RI)	1.33
Run number	3 (3 반복)
Transparency	1.457

○5분간 초음파 처리 후 기존 cream보다 $D_{4.3}$ 은 28.689%, $D_{[50]}$ 은 47.528% 감소한 걸 확인하고 particle size distribution 그래프에서도 size 감소를 확인함.

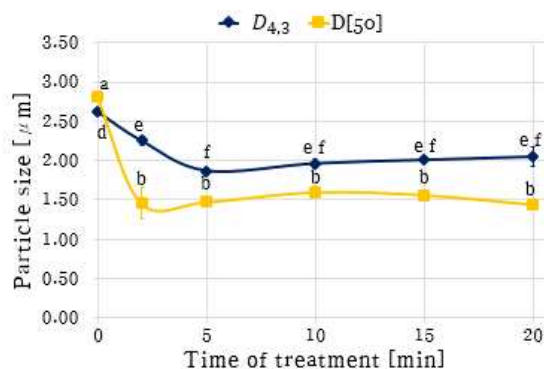


그림 120. 초음파 처리 후 cream emulsion의 particle size 변화

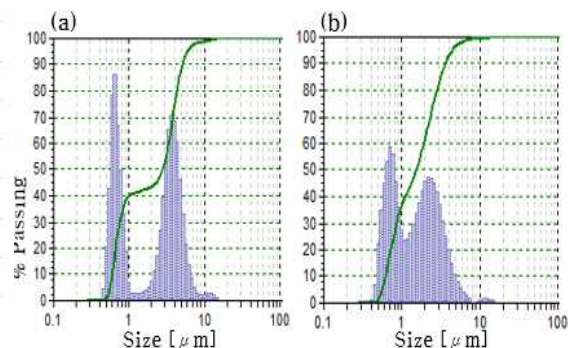


그림 121. (a) 처리 전 (b) 초음파 5분 처리 후 particle size distribution

○각 초음파 처리 시간대 별로 현미경 관찰하여 초음파 처리 5분 일 때 particle size 감소를 육안으로 확인.

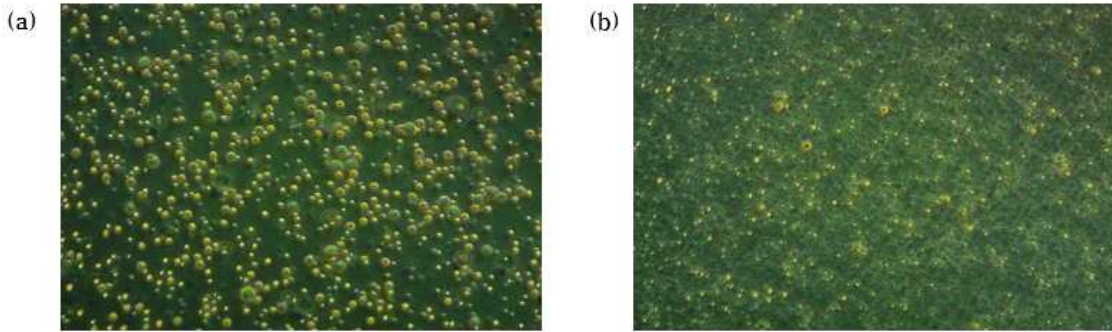


그림 122. (a) 처리 전 (b) 초음파 5분 처리 후 현미경 관찰 (X400)

6) 유기가공용 유화제 유화 품질 특성 평가 및 최대 유화능 조건 확립

가) 유기가공용 유화제 scale up 제조

- 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리, 지원에 관한 법률 제3조 1항에 유기가공식품에 식품첨가물 또는 가공 보조제로 사용 가능한 물질을 검토하여 커피 크리머에 적용 가능한 pH 조절 역할 물질 중 구연산(citric acid)과 커피 크리머(화이트너)에 허용 가능한 제2인산칼륨(dipotassium phosphate)을 선정함. 기존에 제조 과정 중 casein 추출시 사용되어온 강산(염산, 황산) 대신 안전하게 대중적으로 사용되는 citric acid으로, 수용화 과정을 위한 나트륨 염 대신 칼륨 염(dipotassium phosphate) 형태로 수용화 시킨 유기가공용 유화제를 제조함.
- 저지방 우유를 구매하여 35~40℃로 가열한 뒤 온도에 다르면 2M citric acid를 첨가하여 pH 4.6로 조절하여 산성화 과정을 거쳐 15분간 교반하여 casein을 응고시켜 추출함. Curd 형태의 casein을 감압 여과 장치로 whey 단백질과 분리하고 기존 우유 용량 2배에 해당되는 정수로 curd를 세척하여 잔여 whey 단백질을 제거함. 세척한 casein curd에 기존 우유 용량만큼 정수를 배합한 뒤, 35~40℃로 가열하여 온도에 다르면 2M dipotassium phosphate를 첨가하여 pH 7로 조절하여 알킬화하여 수용화 함. Casein curd가 완전히 수용화 될 때까지 교반함. 24시간 동안 -80℃에서 동결 후 72시간동안 동결건조 시켜 수분함량 5%이하로 건조된 복합 카제인 추출물을 분쇄하여 분말 형태로 보관함.

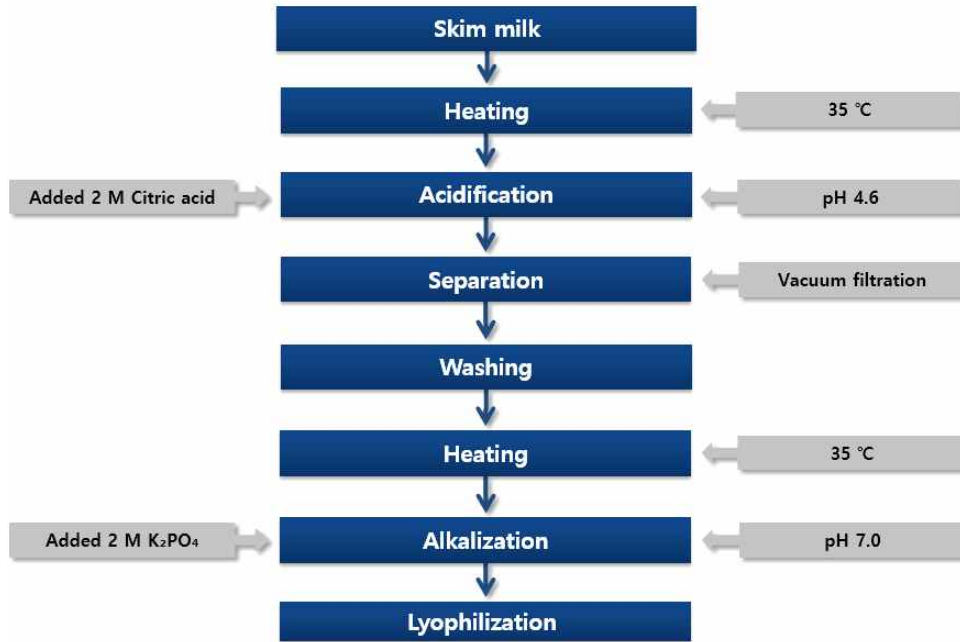


그림123. 유기가공용 유화제 제조 공정도

나) Model emulsion 제조

○제조한 유기가공용 유화제의 물리화학 및 유화적 특성 분석과 oil 대비 최대 유화능 조건을 확립을 위해 커피 크리머에 대중적으로 사용되는 palm oil를 이용하여 model emulsion을 제조함.

유기가공용 유화제를 0.1, 0.25, 0.5, 0.75% (w/v) 농도로 2차 증류수에 40℃에서 2시간 동안 교반기를 활용하여 용해함. 이 과정에서 저장 유화안전성을 위해 미생물 오염방지 목적으로 sodium azide 0.02 % (w/v) 첨가함. 유화제가 완전히 용해되기 위해 제조한 유화제 수용액을 24시간동안 냉장온도에서 보관함.

○유화제 수용액과 palm oil을 9:1 (w:w) 비율로 배합한 뒤 lab homogenizer (HG-15A, DAIHAN Scientific)를 통해 8100rpm에서 1분간 1차 균질화 과정을 거친 뒤, high pressure homogenizer(NLM-100, ILSHIN AUTOCLAVE Co.)로 500 bar에서 3 cycle을 거쳐 2차 균질화를 실시하여 model emulsion을 제조함.

○유기가공용 유화제의 동등성 입증을 위해 control로 카제인나트륨을 선정하여 위와 동일한 방식으로 model emulsion을 제조함.



그림124. Lab homogenizer HG-15A



그림125. High pressure homogenizer NLM-100

다) 물리화학 및 유화적 특성 분석

○ 입자 크기 측정

- Particle size 측정

위 균질화 과정을 거친 emulsion 내 palm oil 입자 크기 및 분포를 분석하기 위해 particle size analyzer (Microtrac, S3500)을 사용함. Oil 입자 간 multiple scattering 을 피하기 위해 2차 증류수에 10배 희석 한 뒤 아래 조건 하에 상온에서 측정함. 입자 크기 및 분포는 실제 입자와 동일한 체적을 가진 구체들의 평균 직경 (volume-weighted mean diameter, $d_{4,3}$)과 실제 입자와 동일한 표면적을 가진 구체들의 평균 직경 (volume-surface mean diameter, $d_{3,2}$), 그리고 입자 분포 그래프를 통해 결과를 도출하였음.

$$d_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad d_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

d_i : 평균 입자 크기
 n_i : 평균 입자 개수

표 93. Particle size analyzer 분석 조건

항목	조건
Flow rate	45 %
Shape	Spherical
Fluid	Water
Fluid Refractive index (RI)	1.33
Run number	3 (3반복)
Transparency	1.4578

- Particle size 결과

유기가공용 유화제의 emulsion은 저농도에서 고농도까지 유의적으로 감소하였고 카제인 나트륨은 0.5%(w/v)까지 감소하다 0.75% (w/v)에서는 유의적인 차이가 나지 않았음. 0.1% (w/v) 농도에서 유기가공용 유화제 emulsion의 입자 크기가 카제인나트륨에 비해 컸으나 0.5 % (w/v)이상에서 1 μ m이하로 감소하면서 0.75% (w/v)에서는 카제인나트륨 emulsion과 유사한 oil 입자 크기를 나타냈음. 위 결과와 동일하게 입자 분포 그래프에서도 저농도에서 고농도로 가면서 피크가 점차 감소하면서 bimodal curve에서 monomodal curve로 전환되면서 유기가공용 유화제와 카제인나트륨 emulsion 모두 0.75% (w/v)에서 유사한 피크가 관찰됨. 이를 통해 model emulsion에서 0.75% (w/v)이상의 농도에서 유기가공식품용 커피 크림 유화제로서 카제인나트륨을 대체하는 유화능이 있음을 확인함.

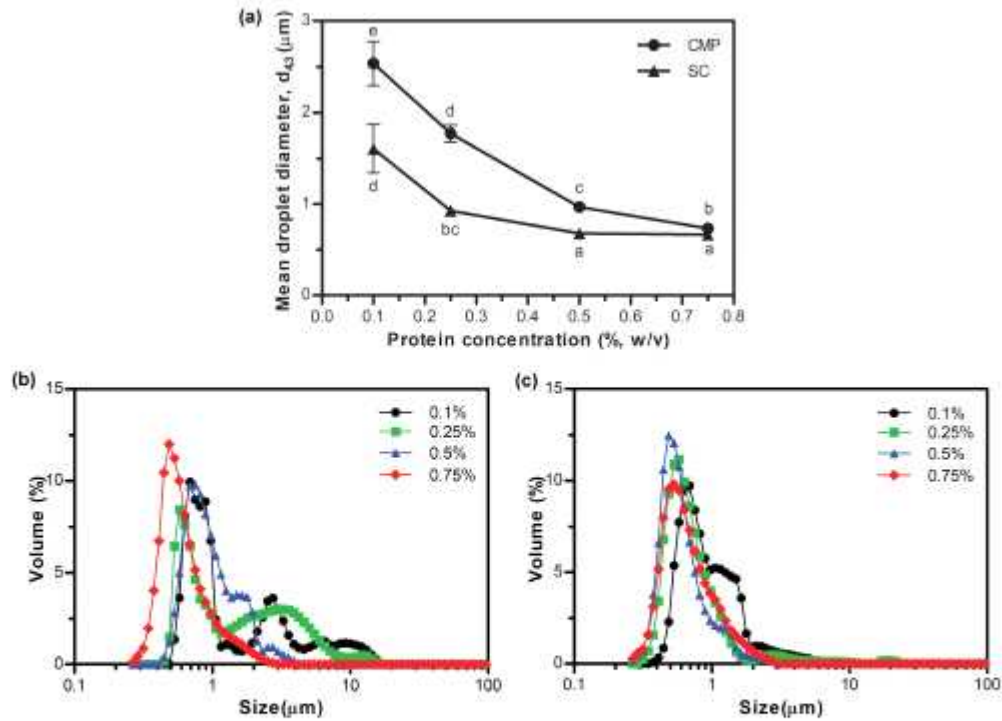


그림126. 각 유화제 농도별 emulsion내 입자 particle size 결과

(a) 각 emulsion의 oil 입자 volume-weighted mean diameter, d_{30}

CMP: 유기가공용 유화제 emulsion, SC: 카제인 나트륨 emulsion

(b) 유기가공용 유화제 emulsion의 입자 분포,

(c) 카제인나트륨 emulsion의 입자 분포

○ 입자 표면 전하 측정

- Zeta-potential 측정법

위 균질화 과정을 거친 emulsion 내 palm oil 입자의 표면 전하를 분석하기 위해 DLS(Beckman Coulter, Delsa Nano C)에 flow cell을 장착하여 사용함. Oil 입자간 multiple scattering을 피하기 위해 2차 증류수에 100배 희석한 뒤 상온에서 측정함.



그림127. DLS (Delsa Nano C)



그림128. Flow cell

- Zeta-potential 결과

유기가공용 유화제와 카제인나트륨으로 안정화 시킨 emulsion 모두 0.1~0.75% (w/v)까지 -30mV 이하의 zeta-potential 값이 측정됨. Zeta-potential은 emulsion 내 입자의 물리적 특성으로 표면의 상호작용을 나타내는 표면 전하를 말하며 절대값이 30 이상이면 입자간 상호반발력이 충분하여 안정한 분산성을 의미함. 이를 통하여 두 유화제 모두 model emulsion에서 농도와 무관하게 강한 분산성을 나타내며 안정한 emulsion 형성에 적합함

을 확인함.

표94. 각 유화제 농도별 emulsion내 zeta-potential 결과

Type of emulsion	Protein concentration (% w/v)	Zeta potential (mV)
유기가공용 유화제	0.1	-39.620 ± 3.061 ^a
	0.25	-35.482 ± 0.933 ^b
	0.5	-37.029 ± 2.828 ^{bc}
	0.75	-34.783 ± 1.623 ^b
카제인 나트륨	0.1	-37.200 ± 2.644 ^a
	0.25	-34.828 ± 1.280 ^{bc}
	0.5	-37.073 ± 1.474 ^{abc}
	0.75	-36.120 ± 1.148 ^b

○ 입자 표면 흡착단백질량 측정

- Surface load 측정법

Surface load은 emulsion의 oil 입자의 계면 흡착 활용 정도를 말하며 입자 표면적 당 계면에 흡착하여 유화제로서 역할을 수행하는 단백질 양(mg/m²)을 나타낸 값으로 안정한 emulsion 제조에 필요한 최소 유화제의 양을 계산함.

위 균질화 과정을 거친 emulsion을 각각 1 mL를 15,000 g로 30분간 상온에서 원심분리하여 크림(cream) 상과 세럼(serum) 상으로 분리함. 주사기로 세럼 상을 뽑은 뒤 0.42 um 필터 및 0.25 um 필터로 연속적으로 여과함. 여과액 내 단백질의 양(C_{serum})을 BCA(Bicinchoninic acid) method으로 정량 분석하여, 기존 유화제 수용액의 단백질 정량 값(C_{sol})에서 뺀 후, oil 계면에 흡착된 단백질(C_{sol}-C_{serum}=C_a)으로 표면 흡착량 (surface load, Γ_s)을 분석함.

$$\Gamma_s = \frac{C_a V_e}{S} = \frac{C_a d_{32}}{6\phi}$$

C_a: 계면에 흡착된 단백질량

d₃₂: 실제 입자와 동일한 표면적을 가진 구체의 평균 직경

Ø : 오일 체적 분율

- Surface load 결과

유화제의 농도가 0.1% (w/v)에서 0.5% (w/v)까지 증가하면서 두 유화제 emulsion 모두 유의적으로 0.584 - 0.604 mg/m²에서 1.9 - 1.926 mg/m²까지 증가하였고 이는 입자 표면의 흡착 단백질 양 증가를 의미함. 하지만 0.5% (w/v)과 0.75% (w/v) 간의 유의적 차이는 없었으며 이는 안정한 emulsion 형성을 위한 최소 농도는 0.5% (w/v)임을 확인함. 유화제 농도가 0.1에서 0.5% (w/v)까지 유기가공용 유화제는 카제인나트륨과 유사하거나 또는 더 높은 surface load 값을 가졌음에도 큰 particle size를 형성하는데 이는 같은 단백질 용량 대비 유기가공용 유화제 내에 존재하는 단백질의 유화능이 떨어짐을 시사 함. casein이 단독으로 존재하는 카제인나트륨에 비해 소량의 whey 단백질이 잔

류하여 복합단백질을 가지는 유기가공용 유화제의 실험적 한계로 제조과정 중 whey 분리 및 세척 공정을 반복하여 단백질 순도 및 함량을 증진하여 해결 가능할거라 예상함. 비록 카제이나트륨과 같은 surface load 값으로 작은 입자 형성은 불가능하지만 0.75%이상에서는 유사한 입자 형성이 가능하여 대체가능성을 확인함.

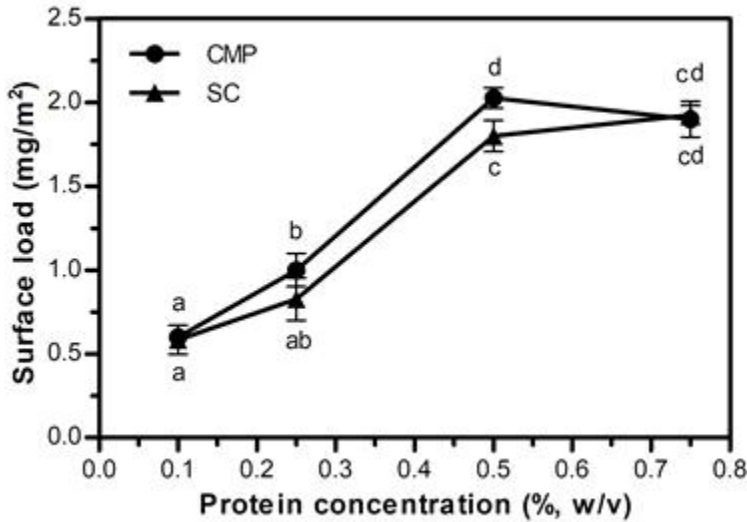


그림129. 각 유화제 농도별 emulsion내 입자 surface load 결과
CMP: 유기가공용 유화제 emulsion, SC: 카제이나트륨 emulsion

○입자 크기 및 구조 관찰

- Confocal laser scanning microscopy (CLSM) 관찰

Emulsion 내 oil 입자 크기와 단백질, 지방의 구조를 육안으로 확인하기 위해 CLSM을 통해 관찰함.

위 균질화 과정을 거친 emulsion 1 mL에 에탄올에 녹인 Nile red 0.01 % (w/v) 수용액 5 uL과 2차 증류수에 녹인 Nile blue A 0.1 % (w/v) 수용액 5 uL을 첨가하여 지방과 단백질을 염색한 후, CLSM(Lesia, TCS SP5II)으로 입자 크기와 구조를 관찰함

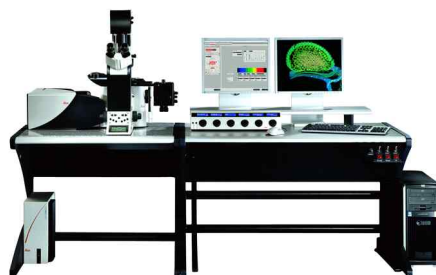


그림130. Confocal laser scanning microscopy Lesia, TCS SP5II)

- CLSM 결과

유기가공용 유화제 emulsion는 0.1% (w/v)에서 다양한 크기가 존재하고 서로 응집한

형태가 관찰됨. 카제인나트륨 emulsion은 입자 크기는 유사하지만 일부 응집 형성함. 하지만 particle size 분석과 동일하게 저농도에서 고농도로 갈수록 작은 oil 입자를 형성하고 균일한 분산 형태를 보여줌. 이를 통해 두 유화제 모두 model emulsion에서 0.75% (w/v)이상에서는 균일한 emulsion 입자 형성을 확인함.

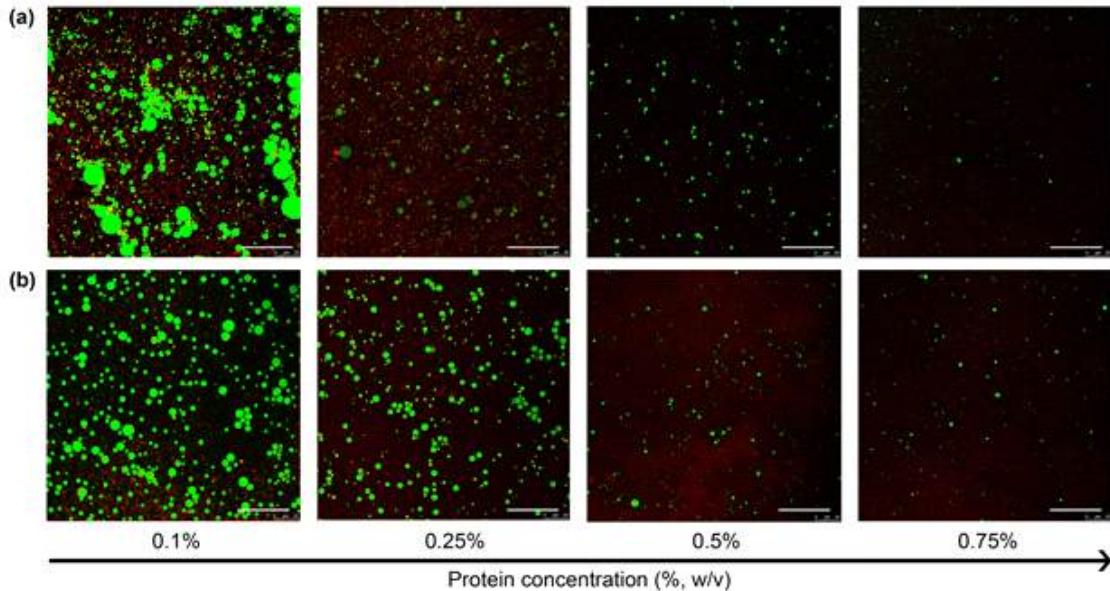


그림131. 각 유화제 농도별 emulsion CLSM(Confocal Laser Scatter Microscope) 결과
(a) 유기가공용 유화제 emulsion, (b)카제인나트륨 emulsion

7) 유화제 저장 유화안정성 지표 설정 및 평가

가) 유화안정성 분석법 확립 및 평가

○유화 안전성 지표 선정

기존에 고전적으로 emulsion의 유화안전성을 측정해온 분석은 bottle test로 투명한 bottle에 시료를 담아 장시간 설정환경에서 보관하여 층 분리 현상을 직접 관찰하는 방법임. 저장 기간 별로 층분리된 눈금 측정, particle size, zeta-potential 등 부가적인 분석을 추가하여 유화 안정성 변화를 정량적으로 측정함. 하지만 이 방법은 단순한 상분리 현상만 측정가능하고 응집 현상 파악이 불가하며 정량적이고 객관적인 평가가 어려움. 또한 층분리 현상으로 particle size나 zeta potential 측정이 유의적이지 못함. 이러한 문제 해결을 위해 turbiscan을 이용함.

Turbiscan은 multiple light scattering 기술을 활용하여 광학적인 측정법으로 880nm 파장인 근적외선을 광원으로 사용하여 반대편인 transmission detector와 입사각과 45도 뒤에 위치한 backscattering detector로 산란광의 intensity 측정함. 설정한 시간마다 시료가 든 cell을 bottle부터 top 부분까지 광원을 조사하여 산란된 intensity를 scanning 함. 이 결과를 0시간때 측정한 intensity(BS_0)을 기준으로 놓고 시간대로 변화한 intensity(BS_t)의 profile을 다른 색으로 표현해 Δ backscattering profile($\Delta BS = BS_t - BS_0$)을 측정하여 이 양산으로 정성적인 destabilization 현상을 분석함. 시간에 따라 creaming/sedimentation와 같은 particle migration현상에 의해 ΔBS profile에 peak가 형성되는데 각 시간대 별 peak의 두께를 계산하여 peak thickness를 나타냄. 이 peak

thickness의 slope을 구하여 creaming velocity로 destabilization의 정량적 분석을 진행함.



그림132. Turbiscan Tower

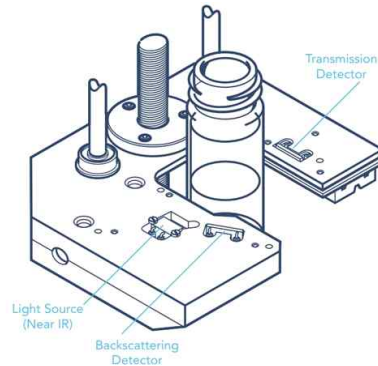


그림133. Turbiscan 구조

○Turbiscan 측정

위 균질화 과정을 거친 0.75% (w/v) emulsion 20 mL을 Turbiscan(FORMULACTION, Turbiscan TOWER)으로 각 온도(25, 40, 60, 80℃) 별, pH(3, 5, 7) 별 18시간 동안 유화안정성을 모니터링함.

나) pH별 저장 유화안정성 평가

유기가공용 유화제와 카제인나트륨 유화제 모두 다양한 pH 조건에서 시간이 따라 cell의 bottom 부분은 ΔBS 가 감소하고 top 부분은 증가하였음. 이는 emulsion의 입자가 cell의 위쪽으로 이동하여 발생한 농도구배를 의미하며 두 유화제로 안정화 시킨 emulsion의 destabilization현상이 creaming에 의해 발생함을 확인함.

Casein의 등전점인 pH 4.6에 가까운 pH5 저장조건에서는 두 유화제 모두 1시간이내에 급진적으로 층분리가 발생함. pH 3에서도 pH 5와 마찬가지로 층 분리 현상이 관찰되었으나 카제인나트륨emulsion은 유기가공용 유화제 emulsion에 비해 비교적 천천히 분리되어 12.715mm/day 속도로 creaming이 진행됨. 중성인 pH 7에서는 유기가공용 유화제 emulsion은 1.788mm/day, 카제인나트륨 emulsion은 1.975mm/day로 두 유화제가 유사한 속도로 변화하며 안정한 저장 유화안정성을 확인함. 이를 통해 유기가공용 유화제가 중성 조건(pH7)에서 카제인나트륨과 유사한 유화안정성을 부여하여 유화제로서의 가능성을 확인함.

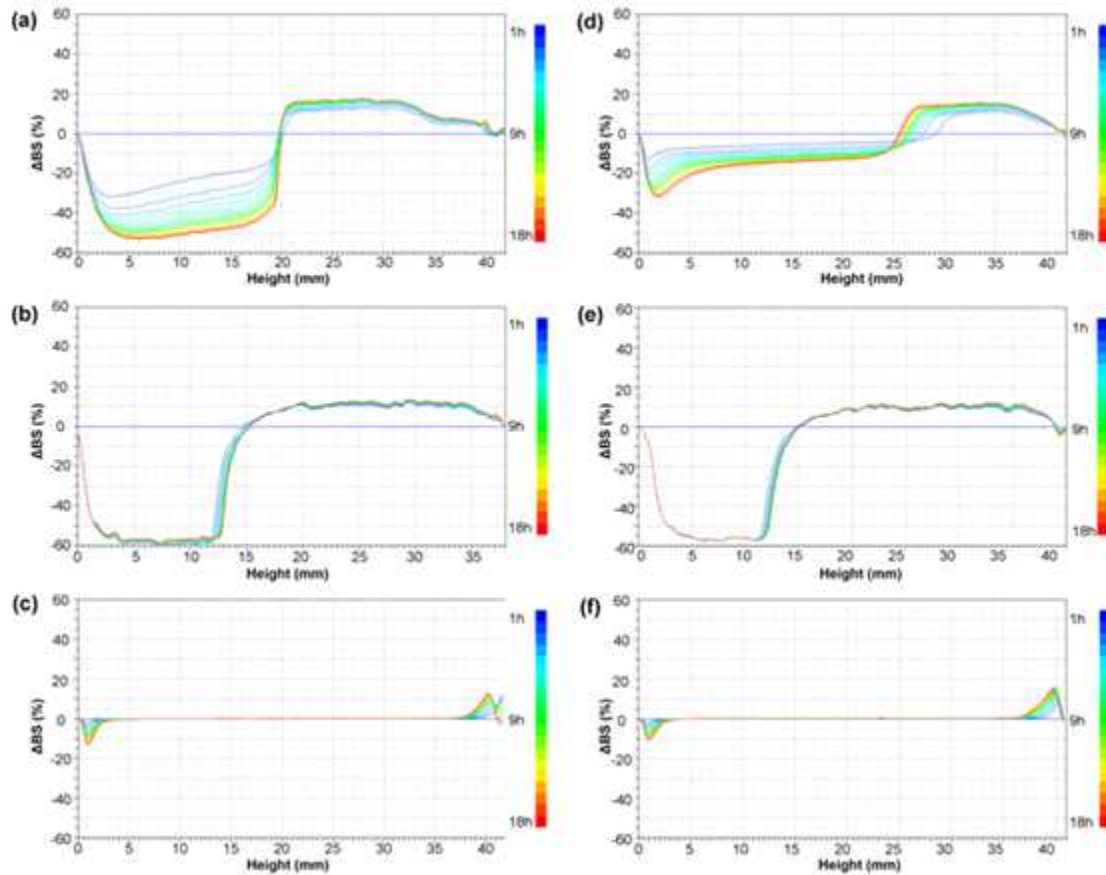


그림134. pH 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 Δ backscattering profiles
 (a - c) 유기용매 유화제 emulsion. pH 3: (a) / pH 5: (b) / pH 7: (c)
 (d - f) 카제인나트륨 emulsion. pH 3: (d) / pH 5: (e) / pH 7: (f).

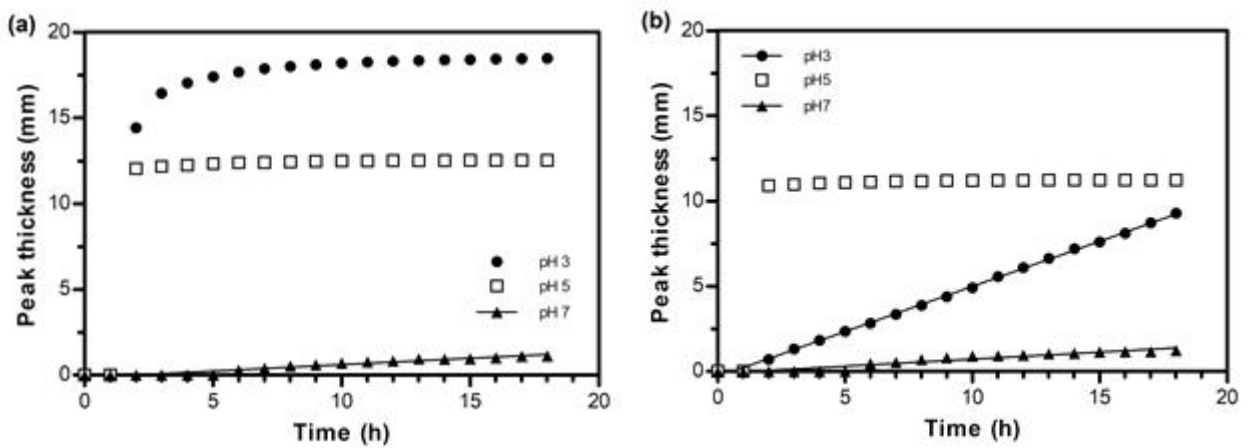


그림135. pH 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 peak thickness
 (a) 유기용매 유화제 emulsion, (b) 카제인나트륨 emulsion

표 95. pH 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 creaming velocity

Type of emulsion	Storage pH	Slope (mm/day)	R ²
유기가공용 유화제	3	Phase separation	0.950
	5		
	7		
카제인나트륨	3	12.715	0.999
	5	Phase separation	0.919
	7	1.975	

다) 온도별 저장 유화안정성 평가

위와 동일하게 유기가공용 유화제와 카제인나트륨 유화제 emulsion 모두 20~80℃ 저장 온도조건에서 creaming에 의한 destabilization현상 발생함을 확인함. 그리고 두 유화제 모두 60, 80℃ 저장온도에서는 cell의 middle 부분에서 ΔBS가 시간에 따라 감소하였는데 이는 emulsion의 oil 입자 크기 변화에 의한 flocculation 또는 coalescence현상이 발생됨을 의미함.

25℃에서는 유기가공용 유화제 emulsion이 1.938mm/day로 비교적 빠르게 creaming 현상이 발생했으나 점차 온도가 증가하면서 속도가 카제인나트륨 emulsion보다 느려지면서 높은 온도에서 안정한 유화안정성을 확인함. 이를 통해 다양한 온도 조건에서 유기가공용 유화제가 카제인나트륨을 대체할 수 있는 유화제로서 적합함을 알 수 있음.

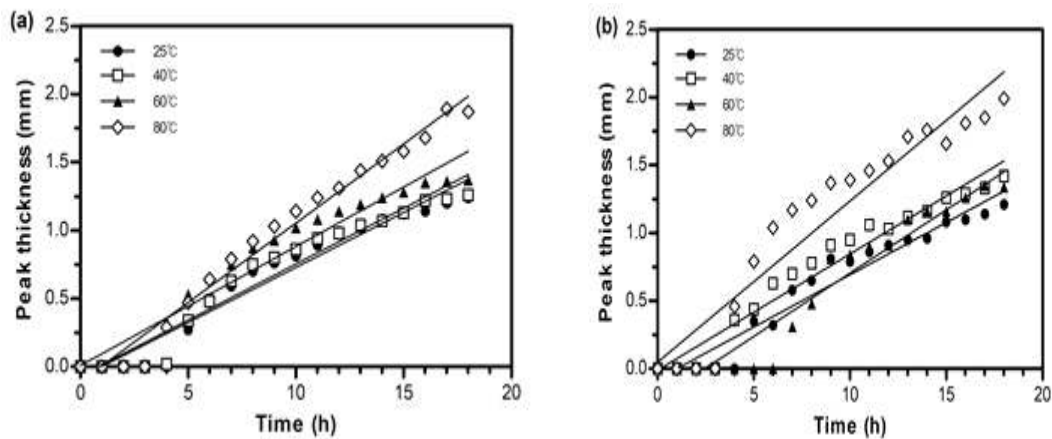


그림136. 온도 별 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 peak thickness
(a) 유기가공용 유화제 emulsion, (b) 카제인나트륨 emulsion

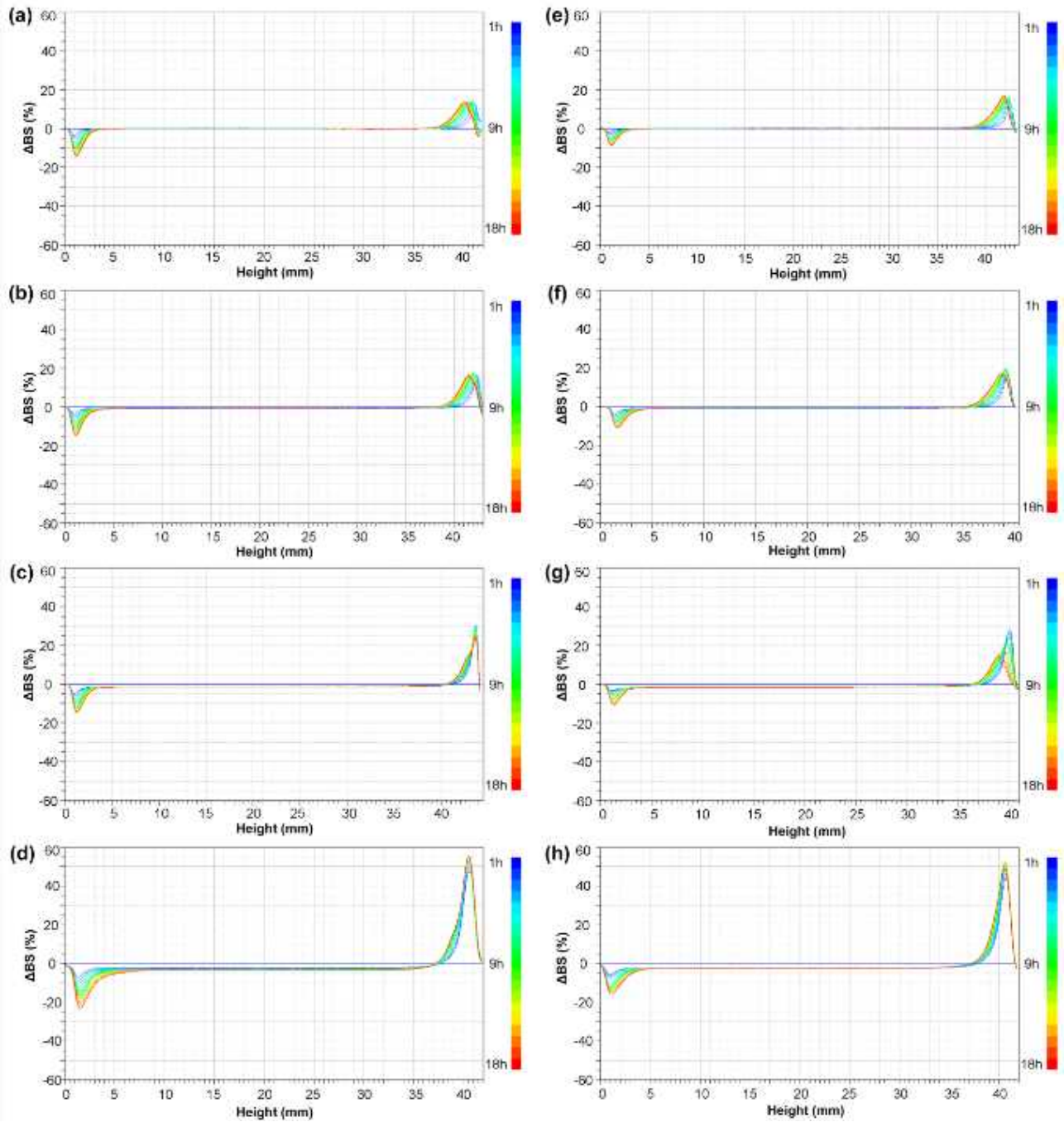


그림137. 온도 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 Δ backscattering profiles
 (a - d) 유기가공용 유화제 emulsion. 25°C: (a) / 40°C: (b) / 60°C: (c) / 80°C: (d).
 (e - h) 카제인나트륨 emulsion. 25°C: (e) / 40°C: (f) / 60°C: (g) / 80°C: (h).

표 96. 온도 저장조건 별 0.75% (w/v) emulsion의 creaming velocity

Type of emulsion	Storage temperature (°C)	Slope (mm/day)	R ²
유기가공용 유화제	25	1.938	0.946
	40	1.970	0.944
	60	2.097	0.934
	80	2.791	0.981
카제이나트륨	25	1.847	0.943
	40	2.056	0.951
	60	2.236	0.929
	80	2.851	0.913

8) 유화제 현장 적용 개발

가) Scale up 및 시생산 과정

○Scale up 및 시생산 설비

- 시생산 장소 : 한국생명공학연구원 바이오상용화 센터
- 사용 장비 : 300 L 발효조, 동결 건조기



그림 138. 300 L 발효조



그림 139. 50 kg 동결건조기

○제조 공정 수정 및 과정

Lab-scale 규모로 진행되어온 유기가공용 유화제의 scale-up 과정을 진행함. 한국생명공학연구원 바이오상용화 센터에서 시생산 진행 중 분리 및 세척 과정에 있어 lab scale에 선 감압 여과를 진행한 반면 한국생명공학연구원 바이오상용화 센터에는 해당 설비가 준비되어있지 않아 여과포로 단순 여과하는 공정으로 변경하여 생산함.

표97. 유기가공용 유화제 시생산 제조공정도 수정 사항

순서	제조공정	Lab scale	Scale up
1	용해	교반기	교반기
2	계량	-	-
3	가열	가열 교반기	300L 발효조
4	배합(산성화)		
5	커드 분리	감압 여과	여과
6	세척		
7	탈수		
8	배합	가열 교반기	300L 발효조
9	가열		
10	배합(알칼리화)		
11	건조	동결건조기	50, 70kg동결건조기
12	보관	-	-

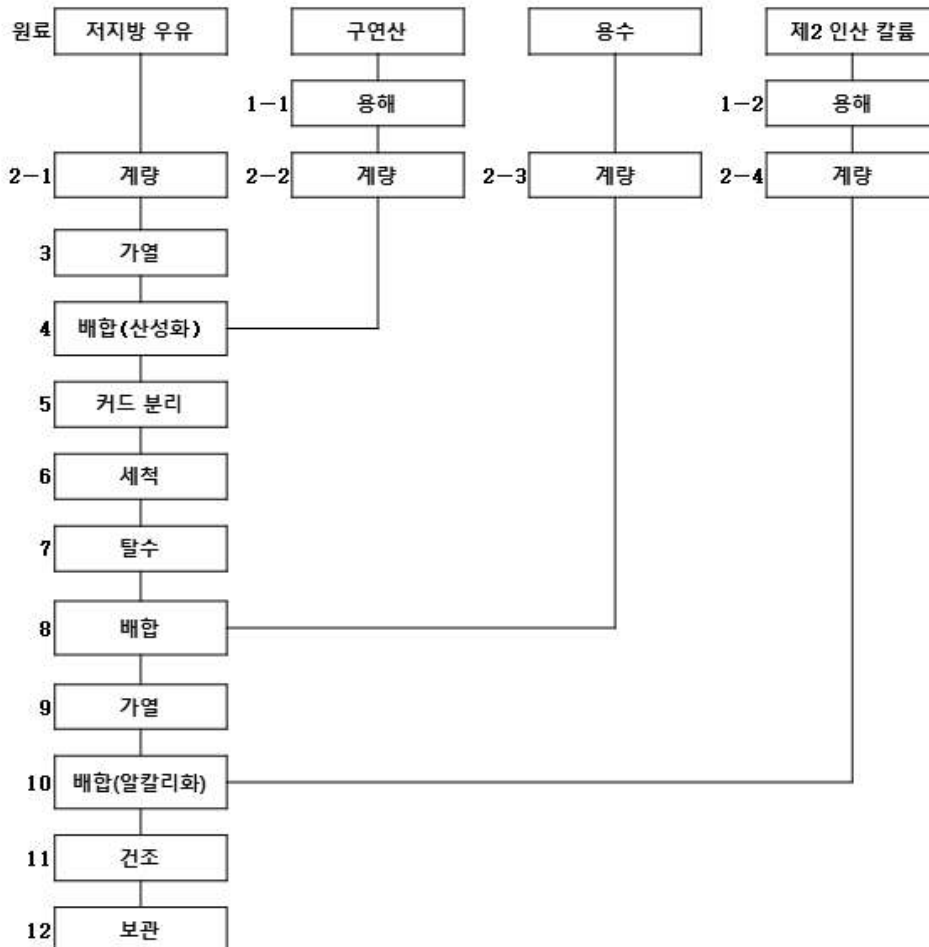


그림140. 천연유기가공용 유화제 시생산 제조공정도

- 제조 과정



그림141. 동결 건조 과정



그림142. 커드 분리 과정

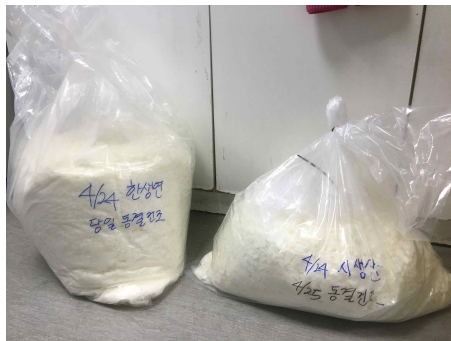


그림143. 동결 건조 후



그림144. 산성 및 알칼리화 과정

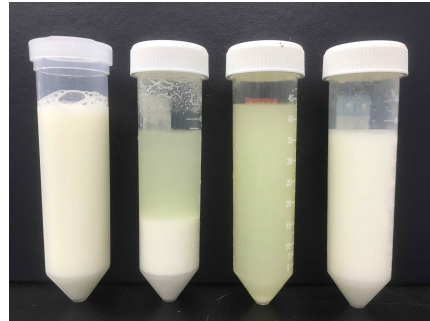


그림145. 시생산 과정 중 샘플링

오른쪽에서 순서대로, 저지방 우유/산성화 과정 후/분리한 유청 단백질/염기화 과정 후(수용화)

나) Scale up 및 시생산 결과

○시생산 수율

최종 시제품 용량을 원료대비 생산수율 계산 결과 4.88%(w/w) 수준. 기존의 lab scale 와 변화 거의 없음.

표 98. 시생산 및 lab scale 수율 비교

시생산물			Lab scale
우유 소비량	최종 생산물	수율	수율
138 kg	6.688 kg	4.84 %(w/w)	4.88 %(w/w)

○시제품 단백질 정성분석

- SDS-PAGE 측정법

샘플 내 단백질 종류 및 분자량 분석을 위해 SDS-PAGE(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)를 통해 Standard α - β -casein 과 함께 원료인 저지방우유와 분리한 whey 단백질, 그리고 최종 시제품을 분석함.

동일한 단백질 양을 가진 샘플을 sample buffer(65.8 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2.1% SDS, 26.3% (w/v) glycerol, 0.01% bromophenol blue)와 혼합하여 100°C에서 5분 간 끓여 단백질 unfolding을 유도함. 12% running gel과 5% stacking gel을 tank에 고정 한 뒤 running buffer를 채워 셋팅한 뒤 loading 진행. 초기에 90v로 10분간 running 한 뒤 이 후에는 150v로 조절하여 진행. Running 후 staining과 unstaining 과정을 거쳐 단백질을 분리함.

- SDS-PAGE 결과

시생산품의 카제인과 유청 단백질의 분리 여부를 확인함. (α : α -casein standard, β : β -casein standard, m:milk, w:분리한 유청단백질, EC: 천연유래유화제)

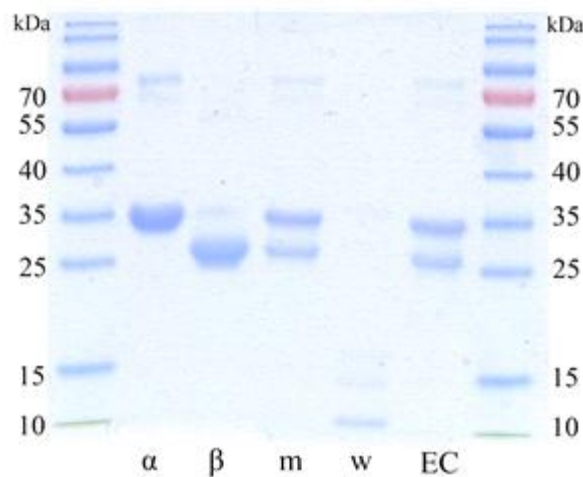


그림146. 유기가공용 유화제 시생산 SDS-PAGE 결과

○시제품 단백질 정량분석

- BCA assay 측정법

시료 내 단백질이 Cu^{2+} 이온을 환원시켜 Cu^{1+} 이온이 생성되어 Bicinchoninic acid(BCA)과 반응해 보라빛으로 발색되므로 spectrophotometer를 이용해 측정함. 이 측정값을 standard 물질인 BSA (Bovine Serum Albumin)를 기준으로 시료 내 단백질 함량 분석함.

측정 샘플을 5 μ L씩 96-well plate에 분주하고 95 μ L의 BCA Reagent를 섞어 호일에 싸 37°C에서 30분 동안 방치. 그 후 ELISA로 파장 570nm에서 흡광도 측정함.

- BCA assay 결과

Scale-up을 진행한 유기가공용 유화제의 시생산물이 기존 lab scale 제조물과 유사한 단백질 함량을 가진 것을 확인.

표 99. 시생산 및 lab scale 단백질 함량 비교

시생산물	Lab scale
41.324 ± 0.955 %(w/w)	46.275 ± 5.580 %(w/w)

다) 유기가공용 유화제 기준규격 설정

식품일반에 대한 공통기준 및 규격	
항목	규격
성상	고유의 색과 향미를 가지며 이물, 이취 및 이물이 없어야 함.
이물	식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물을 함유하여서는 아니 된다.
바실러스 세레우스	g 당 1,000 이하
클로스트리디움 퍼프린젠스	n=5, c=0, m=0/25g
황색포도상구균	n=5, c=0, m=0/25g
식품 별 기준 및 규격 - 기타 가공품	
항목	규격
성상	적합하여야 한다.
이물	적합하여야 한다.
산가	해당 없음
과산화물가	해당 없음
대장균	해당 없음
세균수	해당 없음
대장균	N=5, c=1, m=0, M=10



유기가공식품용 커피 크림 유화제 기준 및 규격	
항목	규격
성상	고유의 색과 향미를 가지며 이물, 이취 및 이물이 없어야 함.
이물	식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물을 함유하여서는 아니 된다.
바실러스 세레우스	g 당 1,000 이하
클로스트리디움 퍼프린젠스	n=5, c=0, m=0/25g
황색포도상구균	n=5, c=0, m=0/25g
대장균	N=5, c=1, m=0, M=10
단백질 함량	46 ± 10 %(w/w)

n: 검사하기 위한 시료의 수

c: 최대허용시료수, 허용기준치(m)를 초과하고 최대 허용한계치(M) 이하인 시료의 수로서 결과가 m을 초과하고 M이하인 시료의 수가 c 이하일 경우에는 적합으로 판정

m: 미생물 허용 기준치로서 결과가 모두 m이하인 경우 적합으로 판정

M: 미생물 최대 허용한 한계치로서 결과가 하나라도 M을 초과하는 경우 부적합으로 판정

라) 최종 규격

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00
	유기가공용 유화제	제정일자	페이지
		개정일자	1/2

1. 적용범위

이 규격은 당사의 제품인 카제인 추출물의 제품검사규격에 대하여 규정한다.

2. 제품설명

카제인 추출물이라 함은 유기농 우유에 열을 가해 2M 구연산으로 카제인 커드를 추출한 뒤 2M 제이인산칼륨으로 수용화 하여 동결 건조한 추출물을 칭함.

3. 원재료명

유기농 우유, 구연산, 제이인산칼륨, 물

4. 제품규격기준

항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	
법 적 규 격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이물, 이취 및 이물이 없어야 함.	체크 검사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시
	이물	식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물을 함유하여서는 아니 된다				
	바실러스 세레우스	g당 1,000이하				
	클로스트리디움 퍼프린젠스	n=5, c=0, m=0/25g				
	황색포도상구균	n=5, c=0, m=0/25g				
	대장균	N=5, c=1, m=0, M=10				
자 가 규 격	단백질 함량 (%w/w)	46±10 %(w/w)				
	포장(실링)상태	포장지에 불량, 누설, 파손과 포장상태에 더럽힘 없이 깨끗해야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.				
	내용량	표시중량 100% 이상				
	유통기한	상온 보관 시 제조일로부터 1년				

5. 로트의 크기

- 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.

6. 시료채취방법

- 생산분량별 1ea 채취

7. 로트의 합부판정

- N=1, C=0인 경우 합격으로 한다.

8. 포장 및 포장단위

- 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 업소명 및 소재지, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.

9. 보관 및 보존기간


- 보관 온도 : 상온
- 보존 기간 : 1년

10. 단백질 정량법

- 단백질 함량은 BCA assay을 이용하며 아래와 같다.
- Standard 물질은 BSA(Bovine Serum Albumin)를 사용하였음
 - 1) 카제인 추출물 0.5g을 2차 증류수 100g에 용해하여 수용액을 제조함
 - 2) 수용액과 BSA 표준용액을 5 μ L씩 96-well plate에 분주함
 - 3) 95 μ L의 BCA Reagent를 분주함
 - 4) 96-well plate을 호일에 싸 37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 방치함
 - 5) ELISA로 파장 570nm에서 흡광도 측정함.

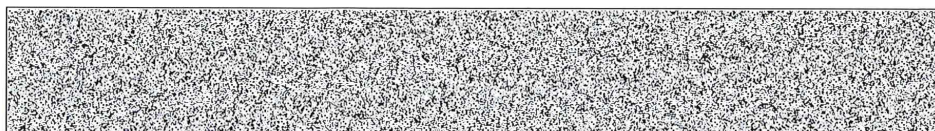
※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.

마) 유기가공용 유화제 최종 시생산물 미생물 및 영양성분 시험 성적서

제 D2018061669 호 문서확인				시험·검사성적서	
제품명		카제인추출물	제조일자 (유통기한)		
의뢰인	업체명	차의과학대학교 산학협력단	성명	김용환	
	주소	경기도 포천시 해룡로 120 (동교동, 차의과학대학교 내)			
제조번호			접수년월일	2018-06-20	
검사의뢰목적		참고용	접수번호	D2018061669	
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일 : 2018-07-03 시험·검사 책임자 : 이정구 검사관련 총 책임자 : 김천희</p>					
시험·검사항목		시험·검사 결과		시험·검사원	
열량(Kcal/100g)		365.78Kcal/100g		한아름	
탄수화물(%)		13.65%		한아름	
조단백질(%)		51.29%		김정숙	
조지방(%)		11.78%		이수경	
수분(%)		2.59%		김명	
회분(%)		20.69%		김명	
나트륨(mg/100g)		187.18 mg/100g		김세미	
당류(과당,포도당,자당,맥아당,유당)(mg/g)		58.54mg/g		박혜빈	
포화지방산(g/100g)		9.10g/100g		홍수현	
트랜스지방산(g/100g)		0.51g/100g		홍수현	
콜레스테롤(mg/100g)		불검출		김은지	
<p>※ 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다. ※ 지면이 부족한 경우 시험·검사 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.</p>					
2018년 7월 3일 한국기능식품연구원					
					
(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsi.re.kr 전화번호 (031)628-2001 FAX (031)628-0400~1					



KHSI



제 D2018050486 호
문서확인

시험·검사성적서

제품명	카제인추출물	제조일자 (유통기한)	
의뢰인	업체명	차의과학대학교 산학협력단	성명
	주소	경기도 포천시 해룡로 120 (동교동, 차의과학대학교 내)	
제조번호		접수년월일	2018-05-08
검사의뢰목적	참고용	접수번호	D2018050486

귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.


시험·검사 완료일 : 2018-05-11
 시험·검사 책임자 : 이정구 검사관련 총 책임자 : 김천희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
바실러스 세레우스(/g)	0	민경하
클로스트리디움 퍼프린젠스(/g)	0	민경하
황색포도상구균(/g)	0	민경하
대장균(/g)	0	민경하

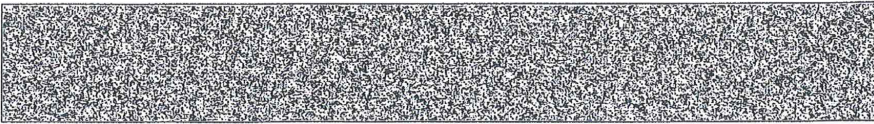
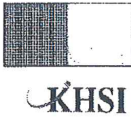
* 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 * 지면이 부족한 경우 시험·검사 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.

2018 년 5 월 11 일

한국기능식품연구원



(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 <http://www.khsi.re.kr> 전화번호 (031-628-0400) 1)628-0400~1



(나) 제품화 - 유기농 커피음료

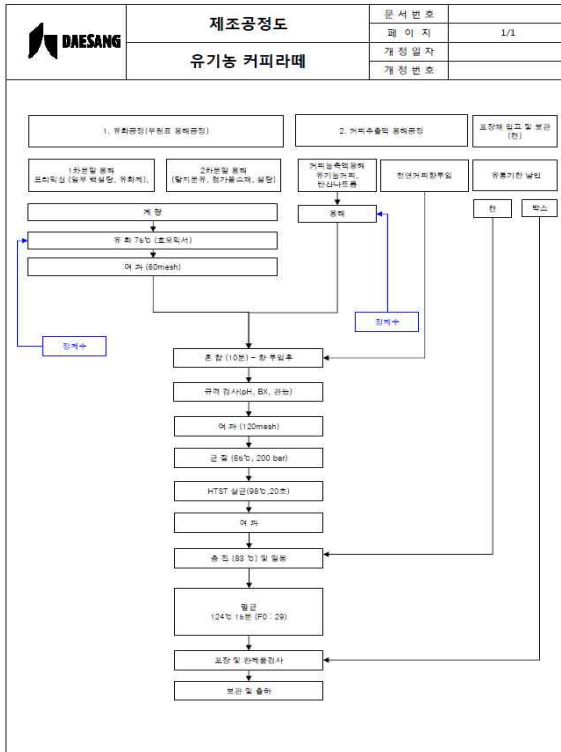
1) 개발목적

- 가) 건강을 생각하는 미국 소비자들이 많아져 유기농 음료의 인기가 상승세
- 나) 시장조사 전문기관 유로모니터의 조사에 따르면, 유기농 음료 시장은 '15년을 시작으로 연평균 4%씩 증가해 2020년에는 약 17억 달러를 기록할 것으로 예측
- 다) 이러한 성장 트렌드에 가장 큰 영향을 가져다 준 품목은 유기농 커피, 유기농 차, 유기농 과일 및 채소주스로 분석
- 라) 많은 음료들 중 유기농 커피와 주스는 가장 수요가 높을 것으로 예측되며 유기농 커피와 주스시장은 현재 시장이 포화상태가 아니기 때문에 앞으로 성장세가 예측
- 마) 개발되어진 소재가 카제인 나트륨을 대체하는 천연 소재로 커피음료 사용에 적합하다 판단

2) 원재료배합비

원료명	배합비율	유기농함량 (정제수제외)	비고
유기농 커피	0.5	4.32	유기인증
유기농 설탕	6.5	56.18	유기인증
유기농 탈지분유	4.0	34.57	유기인증
유기가공소재(카제인)	0.3		
탄산나트륨			
유화제(글리세린지방산			
천연향			
정제수	88.43		
합계	100	95.1	

3) 제조공정도




4) 완제품규격서

	완제품 검사규격		문서번호																																		
			제정일자																																		
	유기농 커피음료		개정일자																																		
			페이지																																		
<p>1. 적용범위 당사에서 사용하는 유기농 커피음료에 적용한다.</p> <p>2. 제품설명 유기농 설탕, 유기농 탈지분유, 유기농 커피등을 사용하여 만든 커피음료 [식품의 유형 : 커피 / 캔커피]</p> <p>3. 검사기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사방식</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사주 기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성 상</td> <td>커피음료의 고유의 향과 맛이 있을 것</td> <td rowspan="8">체크검사</td> <td rowspan="8">N=1</td> <td rowspan="4">육안/ 관능검사</td> <td rowspan="4">생산시</td> </tr> <tr> <td>이 물</td> <td>불 검 출</td> </tr> <tr> <td>BX</td> <td>11.7 ± 0.2</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>6.50 ± 0.2</td> </tr> <tr> <td>비중</td> <td>1.06 ± 0.01</td> <td rowspan="4">식품공전에 준함</td> <td rowspan="4">1회/반 기</td> </tr> <tr> <td>납(mg/kg)</td> <td>2.0이하</td> </tr> <tr> <td>타르색소</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>세균수</td> <td>n=5, c=0, m=0</td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>n=5, c=1, m=0, M=10</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>생산시</td> </tr> </tbody> </table> <p>자체 분석의 어려움으로 반기별로 당사 식품안전센터 의뢰 혹은 업체 공인인증서로 대체 ※ 상기 규격항목 외 식품일반에 대한 공통기준 및 규격항목의 경우 필요시 검사실시</p> <p>4. 포장 및 포장단위 170ml 알루미늄캔</p> <p>5. 보관 및 보존기간 상온보관 / 제조일로부터 1년</p>				항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주 기	성 상	커피음료의 고유의 향과 맛이 있을 것	체크검사	N=1	육안/ 관능검사	생산시	이 물	불 검 출	BX	11.7 ± 0.2	pH	6.50 ± 0.2	비중	1.06 ± 0.01	식품공전에 준함	1회/반 기	납(mg/kg)	2.0이하	타르색소	불검출	세균수	n=5, c=0, m=0	대장균군	n=5, c=1, m=0, M=10				생산시
항 목	규 격	검사방식	조건	시험 및 검사방법	검사주 기																																
성 상	커피음료의 고유의 향과 맛이 있을 것	체크검사	N=1	육안/ 관능검사	생산시																																
이 물	불 검 출																																				
BX	11.7 ± 0.2																																				
pH	6.50 ± 0.2																																				
비중	1.06 ± 0.01			식품공전에 준함	1회/반 기																																
납(mg/kg)	2.0이하																																				
타르색소	불검출																																				
세균수	n=5, c=0, m=0																																				
대장균군	n=5, c=1, m=0, M=10				생산시																																

5) 원료규격서

○ 유기농 설탕



PARKWAY HOUSE SHEPPIE LANE EAST SHEEN LONDON SW14 8LS
Tel: 020 8878 9835 Fax: 020 8878 9100
www.bandmproducts.co.uk

Demerara Dark Evaporated Cane Juice – Organic Fairtrade

Product Description:
Certified Organic Sugar Demerara Dark (Fairtrade) Cane Juice a large grain natural sugar with a rich amber colour, unique texture, subtle molasses flavour, and bold aroma produced from a single crystallization process. It is the least processed form of sugar containing more minerals and humectant properties than white refined sugar. An excellent economical and natural alternative to refined sugar, it's ideal for cereal and baking applications and to add sparkle and crunch to cookies, cakes and other desserts. This product is certified Organic under IMO Control. Demerara Dark ECJ – Organic is also available in a light colour option.

Ingredient Statement: Organic Evaporated Cane Juice

Chemical and Physical Characteristics

Sucrose %	98.7 – 99.6
Ash %	0.08 (Max)
Moisture %	0.1 (Max)
Colour (ICUMSA)	2,000 – 2,500
Grain Size pm (Micron Mean Aperture)	1,000 – 1,500


Microbiological Characteristics

Standard Plate Count	< 500 cfu/g
Yeast	< 100 cfu/g
Molds	< 100 cfu/g
Coliforms	< 3 mpn/g
Thermophiles	< 200 cfu/10g
E-coli	< 3 mpn/g
Salmonella	Negative
Staphylococcus Aureus/Coagulase Positive	< 3 mpn/g

Kosher Parve
Sulphites <10 ppm
Pesticide Residues Meets Current FDA Tolerances

B & M (Sugar) Products Ltd. Registered in England and Wales 5783660

○ 유기농 탈지분유



CROPP Cooperative
One Organic Way
LaFarge, WI 54639
Ph: 608-825-2602
Fax: 608-825-2600
www.organicvalley.coop

CONFIDENTIAL

ID number: BU-FP-504
Approved on: 02/14/17
Supersedes: 11/16/16
Page 1 of 1

Product Specification Sheet
Organic Nonfat Dry Milk—Grade A
(non instant, low heat)

Issued by: Brian Moore
Approved by: Brende Snodgrass, QA Manager – Audit and Food Safety

Organic Nonfat Dry Milk shall be produced and processed from raw materials under conditions, which conform in every respect with applicable federal, state and local regulations and standards of identity. This product shall also meet the national organic standards and the agreed upon CROPP Cooperative quality standards as outlined in these specifications.

Ingredients: Organic Skim Milk

Typical Analysis:

Appearance/Color	White to cream colored powder
Flavor and Odor	Typical of sweet skim milk
Scorch	7.5 mg max, A
Protein	34.0-41.0%
Whey Protein Nitrogen (WPN)	>6.0
Solubility Index	1.24 mL max
Moisture	4.0% max
Butterfat	1.25% max
Titratable Acidity	0.15% max
pH (1-10 so/n 25°C)	6.46-6.90
Standard Plate Count	<10,000 cfu/g (n=5)
Yeast & Mold	<10 cfu/g
Coliform	<10 cfu/g (n=5)
E. Coli	Negative
Listeria (25g sample)	Negative (n=5)
Salmonella (25g sample)	Negative (n=5)
Staphylococcus (Coagulase +)	Negative (25g sample, n=5)

Product and Shipping Information:

Product #	ERP Item-Pack	UPC	GTIN	Case Pack	Unit/Case Dimension	Case Weight	Cube	Pallet Configuration
40220031	400007-10068	61310 0	61310 7	Multi-wall, 50 lb polyethylene lined Kraft paper bag	34.0" x 21.0" x 7.0"	52 lbs	2.89	5 6 x 8 H

Shelf-life (at a temperature of 50°-80°F, less than 70% relative humidity in dry, ambient storage):
18 months from date of production

Kosher: Yes
Organic status: Oregon Tilth Certified Organic
Halt: IFANCA ®
Allergen: Milk

Confidential
c:\Users\jenney.skoyen\Downloads\BU-FP-504 - NFDM - Grade A (7) docx
Last saved by Yvette Rehberg

Page 1
2/16/2017

(다) 제품안정성 - 천연유화제와 유기농 커피라떼(위탁)

3차년도 협동기관과 주관기관에서 천연유화제(제품명:유기가공식품용 커피크리머) 및 이를 적용한 커피음료(제품명:커피라떼)를 개발하였으며 제공된 시제품에 대하여 화학적, 물리적 위해요소 및 품질/저장안정성을 평가하였음.

1) 천연유화제

가) 품질 안전성/저장안정성 시험 지표선정

- 개발완료된 천연유화제에 대하나 정보(제품규격기준, 원재료 및 함량, 외관 및 공정도)는 아래 그림과 표 99와 같이 제공받았으며
- 개발 소재의 경우 제품의 유형이 기타가공품으로 전달받아 식품공전상의 제 4. 식품별 기준 및 규격 23-2. 기타가공품에 따라 성상 및 이물을 화학적/물리적 위해요소를 설정 함
- 미생물학적 위해요소로써 식약처 기준규격에 따라 실시하여 확인, 품질/저장안정성에 대하여 등온흡습곡선, 실제 제품에 적용하여 품질평가 해보고자 하였음

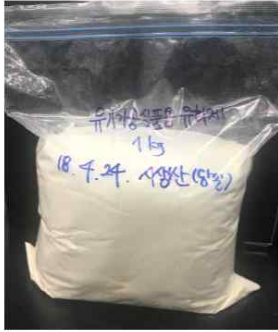
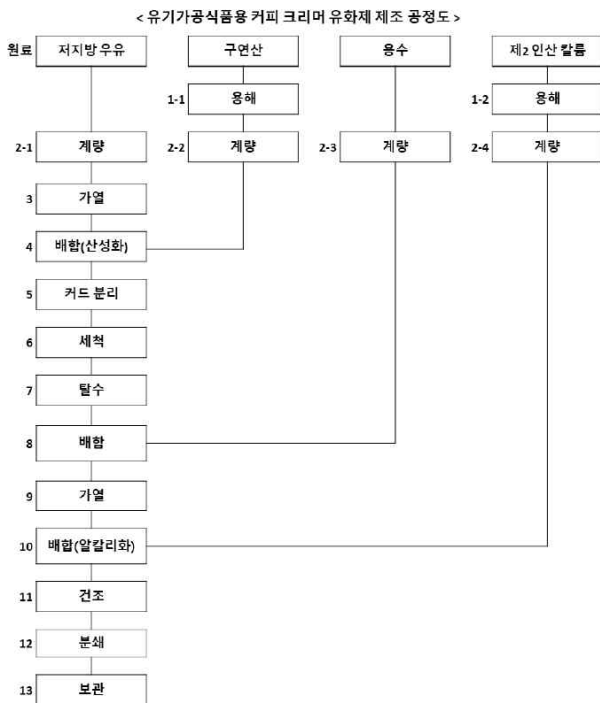


그림147. 유기농식품용 천연유화제 외관.

표100. 유기농식품용 천연유화제의 제품규격기준

항 목		규 격
법 적 규 격	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이물, 이취 및 이물이 없어야 함.
	바실러스 세레우스	g당 1,000이하
	클로스트리디움	n=5, c=0, m=0/25g
	퍼프린젠스	n=5, c=0, m=0/25/g
	황색포도상구균	N=5, c=1, m=0, M=10
자 가 규 격	단백질 함량	46±10%(w/w)



순서	제조공정	사용기계 및 기구	가공 방법 및 조건
원료	저지방 우유	-	- 서울우유 나 100% 저지방 우유 사용
	구연산		- E5 식품원료 무수 구연산 사용
	제2 인산 칼륨		- E5 식품원료 제2 인산 칼륨 사용
1-1	용해	교반기	- 2 M 구연산 수용액을 제조 (MW 192.124)
1-2			- 2 M 제 2인산 칼륨 수용액을 제조 (MW 174.2)
2-1			- 저지방 우유 800 g 계량
2-2			- 2 M 구연산 수용액 약 7 mL 계량 - 산성화 공정 중 pH에 따라 용량 변동 가능성 있음
2-3	계량	-	- 800 g에 맞춰 용수 추가 계량
2-4			- 2M 제 2인산 칼륨 수용액 약 22 mL 계량 - 알칼리화 공정 중 pH에 따라 용량 변동 가능성 있음
3	가열	가열 교반기	- 35~40°C까지 가열
4	배합(산성화)	-	- 2 M 구연산 수용액을 첨가하여 pH 4.6까지 조절
5	커드 분리		- 여과포로 casein curd를 분리하고 whey protein 제거
6	세척	감압 여과	- 용수를 골러 보내어 casein curd 세척
7	탈수		- 세척된 용수 제거
8	배합	가열 교반기	- 계량한 저지방 우유 용량 만큼 용수 추가
9	가열		- 35~40°C까지 가열
10	배합(알칼리화)		- 2 M 제2인산 칼륨 수용액을 첨가하여 pH 7까지 조절 - 완전히 수용화 될 때까지 교반
11	건조	동결건조기	- 96 시간 동결 건조하여 분말화
12	보관	-	- 밀봉하여 상온 보관 (수율: 4.88 %)

그림148. 유기농식품용 커피크리머 제조공정도.

- 따라서 본 연구에서 설정한 안전/안정성 지표는 아래와 같음
- 화학적/물리적 위해요소: 중금속(구리), 이물, 성상
- 미생물학적 안전성 및 저장안정성에 대한 품질지표: 일반세균, 대장균, 등온흡습곡선, 제품적용 실험 실시

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

화학적 물리 적 위해요소 평가를 위하여 식약처 식품공전 제 7. 일반시험법 1.1 성상 및 1.2 이물에 및 중금속(구리)는 제 7. 일반시험법 / 9. 식품 중 유해물질 / 9.1 중금속 / 9.1.7 구리(Cu) 시험법에 따라 측정하였음.

표 101. 식품공전 성상/이물 확인 시험

항 목	채 점 기준
색 갈	1. 색깔이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 색깔이 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 색깔이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 색깔이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.
풍 미	1. 풍미가 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 풍미가 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 풍미가 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 풍미가 현저히 나쁘거나 이미.이취가 있는 것은 1점으로 한다.
조 직 감	1. 조직감이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 조직감이 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 조직감이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 조직감이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.
외 관	1. 병충해를 입은 흔적 및 불가식부분 제거, 제품의 균질 및 성형상태와 포장상태 등 외형이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 제품의 제조.가공상태 및 외형이 비교적 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 제품의 제조.가공상태 및 외형이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 제품의 제조.가공상태 및 외형이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.

식품공전 1.2.1 이물, 가. 체분별법	
시험법 적용범위	검체가 미세한 분말일 때 적용한다.
분석원리	분말을 체로 쳐서 큰 이물을 체위에 모아 육안으로 확인하고, 필요 시 현미경 등으로 확대하여 관찰한다.
시험조작	검체가 미세한 분말일 때 비교적 큰 이물을 체로 포집하여 육안으로 검사한다. 필요에 따라 이물의 종류를 확인하고자 할 때는 현미경으로 약 40배 정도의 저배율로 본다. 이하 이물시험에 있어서는 모두 이와 같다.

○ 이물 및 성상 확인 결과를 아래 표와 그림에 나타냄

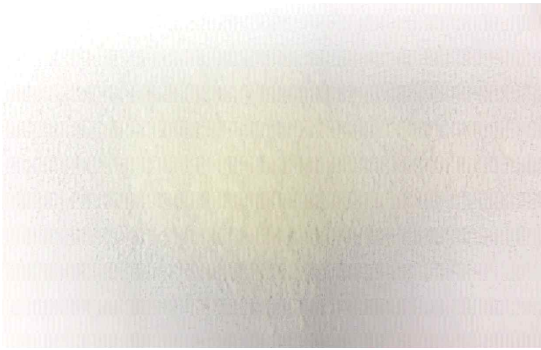


그림 149. 천연유화제 이물 확인.

표 102. 천연유화제 성상시험 결과

항목	점수
색갈	5점
풍미	5점
조직감	5점
외관	5점

○ 실험결과,

- 이물 및 성상 확인결과 제공 소재의 이물이 확인되지 않았고
- 성상에서 색깔, 풍미, 조직감 및 외관에 이상이 없음을 확인하여 물리적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음

○ 이에따라, 선정된 화학적 위해요소로 구리에 대한 분석 결과 기준 및 규격인 구리 (mg/kg) 2.0이하에 만족하였고 화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.

표 103. 천연유화제 중금속 함량 분석

항목	함량
구리(mg/100g)	0.15

다) 제형에 따른 품질 및 미생물학적 안전성 평가

- 첫 번째로 선정된 기준규격에 대하여 미생물학적 위해요소(일반세균, 대장균)를 실험을 통하여 관찰함
- 일반세균은 식품공전 제 9. 일반시험법 3.5.1 일반세균수에 따라 시료 10 g을 0.1% 멸균웁톤수로 10배 및 100배 희석하여 시료로 사용함. 시료를 일반세균용 고체배지(Tryptic Soy Agar, Difco, Chicago, IL, USA)에 도말하여 37℃에서 48시간 배양하여 발생집락을 계수하였음.
- 대장균군 실험은 식품공전 제 9. 일반시험법 3.7.2 대장균군 정량시험에 따라 시료를 일반세균수 실험과 동일한 방법으로 준비하여 대장균군용 3M 건조필름배지(PP-6416, 3M Science, USA)를 사용하여 37℃에서 48시간 배양 후 발생집락을 계수하였음.
- 실험결과,

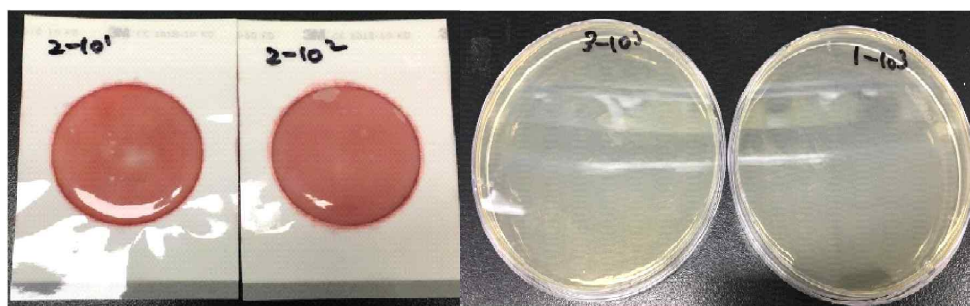


그림 150. 천연유화제 미생물 확인실험결과(좌)대장균군(우)일반세균.

- 제공된 시료 모두에서 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았음
- 제공받은 소재의 제품규격서와 식품공전 상 기타식품류(기타가공품)기준 및 규격에 포함되어 있는 대장균: $n=5, c=1, m=0, M=10$ 의 기준규격에 만족함을 확인할 수 있었음

** n =검사시료수, c =최대허용시료수, m =미생물최소허용기준, 결과가 m 이하인 경우 적합, M =미생물한계허용기준, 결과가 n 수 중 하나라도 M 을 초과한 경우 무조건 부적합

- 두 번째로 등온 흡습곡선 실험을 실시하였음.
- 식품중의 수분함량은 식품의 품질에 영향을 주며 특히 수분함량이 적은 곡류식품이나 건조식품의 저장안정성은 그의 수분함량에 따라 큰 영향을 받으며 건조분말의 안정성은 저장온도, 수분활성도와 수분함량에 따라서 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있으며(Yin et al., 2007. Labuza et al., 1972, Lee et al., 1985), 이에 제조된 분말소재의 저장안정성을 조사하기 위하여 등온흡습곡선 실험을 실시함
- 시료(천연유화제) 약 1 g을 칭량용기에 정량한 다음 25℃의 온도에서 수분활성도가 0.11~0.94로 일정하게 유지된 데시케이터에 넣고 24시간마다 무게의 변화를 측정하여 2-3일간 시료의 무게 변화가 없을때의 평형 수분함량을 측정하여 나타내었으며 이 때 상대습도의 조절을 위해 사용한 포화 염 용액의 수분활성도 값은 표 103와 같음

표 104. 포화 염 용액과 수분 활성도

포화 염 용액	수분 활성도(25 °C)
Lithium Chloride	0.113±0.003
Potassium acetate	0.225±0.003
Sodium bromide	0.576±0.004
Sodium chloride	0.753±0.001
Potassium nitrate	0.936±0.006

○ 실험결과를 아래에 제시함

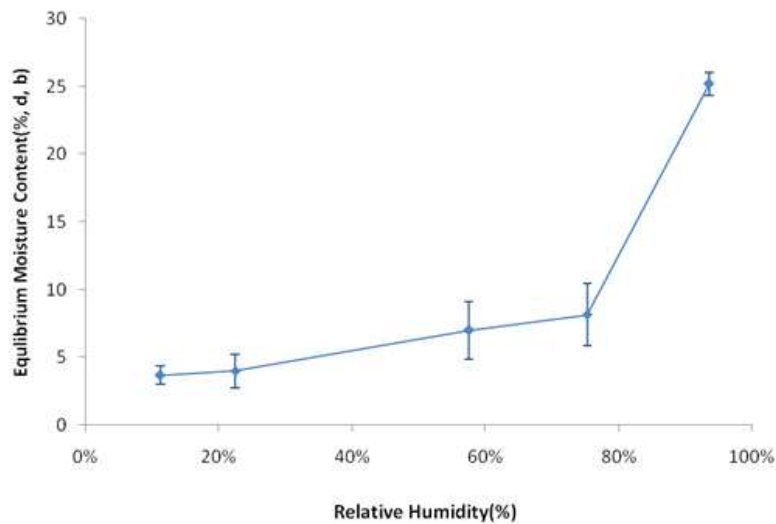


그림151. 수분활성도에 따른 수분함량 변화.

○ 그림 151는 상온조건(room temperature)에서 수분활성도를 0, 0.113, 0.225, 0.576, 0.753, 0.936으로 조절된 데시케이터에서 평형에 도달하기까지의 수분함량 변화임

○ 관찰 결과,

- 일반적인 식품의 등온흡습곡선 모양인 Sigmoid형태를 나타내었으며 Li et al., 2016이 spray dried 된 model milk emulsion의 등온흡습곡선 모양과 유사하였음
- 본 실험에 사용한 분말소재는 초기의 수분함량이 3%이하로 미생물 생육에는 적당치 않으나 저장조건에 따라 수분함량이 변화될 수 있음

○ 따라서,

- 개발소재의 경우 분말제품으로 일반적으로 곰팡이 및 위해미생물의 성장이 지연되는 수분함량 및 수분활성도(7°C 이하, Marth EH, 1998) 에 속하며
- 일반세균과 대장균군 위해미생물 검출이 확인되지 않았으므로
- 저장안정성 및 미생물학적 안전성이 확보될 수 있을 것이라 판단되었음.

라) 용도 적합성 실험

○ 시중제품 조사

- 천연유화제가 개발용도에 적합하게 사용가능한지 판단하기 위하여 일반적으로 카제인 나트륨이 포함되어 있는 시중제품을 조사하고 이 제품군에 적용하여 평가하였음

사진	제품명	회사	원재료명	기타
	Almondmilk Creamer Hazelnut Creamer	Califia Farms	Almondmilk(Water, Almonds),Coconut Cream, Pure Cane Sugar, Natural Flavors, Sunflower Lecithin, Calcium Carbonate,SeaSalt, Potassium Citrate, Locust Bean Gum, Gellan Gum	Soy-free,dairy-free, gluten-free, carrageenan-free, non-GMO , kosher, vegan Only 15 calories per serving Real nut cream provides delicious taste and creaminess Lightly flavored with hazelnut
	ORGANIC SOYMILK CREAMER ORIGINAL	WILDWOOD	organic soymilk(filtered water, whole organic soy beans), expeller pressed, organic canola oil, organic cane sugar, contains less than 2% of each of the following : organic maltodextrin (from corn), soy lecithin , potassium phosphate, sodium citrate, natural flavors, carrageenan, organic tapioca starch Organic brown rice syrup, organic nonfat milk, organic high oleic sunflower oil and/or organic high oleic safflower oil, organic soybean oil, organic coconut oil, calcium phosphate, calcium ascorbate (vit. C), organic soy lecithin , calcium citrate, choline bitartrate, organic vanilla, taurine, ferrous sulfate, inositol, d-alpha tocopheryl acetate (vit. E), zinc sulfate, niacinamide, vitamin A, B1, B2, B6, K1, D3, B12.	
	baby's only organic dairy	natural's one		Contains milk, soy, and coconut. Made without GMO ingredients.
	Vanilla Soy Creamer	silk	Soymilk (Filtered Water, Soybeans), Cane Sugar, Palm Oil, Maltodextrin, Contains 2% or less of: Soy Lecithin , Natural Flavor, Tapioca Starch, Locust Bean Gum, Dipotassium Phosphate.	Now carrageenan free! Absolutely no cholesterol Free of dairy, lactose, carrageenan, gluten, casein, egg, peanut and MSG Verified by the Non-GMO Project's product verification program, No artificial colors, flavors or funny business
	Dairy-Free Creamer Unsweetened (French Vanilla, 4-pack)	nutpods	Purified water, coconut cream, almonds, natural flavors, acacia gum, sunflower, lecithin, dipotassium phosphate, gellan gum, sea salt	carrageenan free certified vegan certified gluten free dairy@soy free no high fructose corn syrup no refined sugars& sugar alcohols
	The Label Readers Healthy Coffee Creamer-Original 1.5 lbs.	Sammi's Best	coconut oil, corn syrup solids, tri-calcium phosphate, vegetable mono & diglycerides, sodium caseinate (a milk derived salt) , natural flavors, dipotassium phosphate	No Trans-fats, No Hydrogenated Oils All Natural, Non-GMO , Gluten Free Calcium enriched to neutralize coffee acid Great Tasting! Coconut Oil Based for Good HDL Cholesterol, No Powdered Milk.

그림 152. 카제인나트륨 함유 제품군.

- 시중제품 조사 결과 크게 커피크리머, 음료류, 소스류에 소량 포함되어 있었으며 가장 대표적으로 커피크리머, non-dairy creamer 제품의 원재료 구성성분 중의 한가지로 확인 할수 있었음
- 최근에는 크리머 종류중에서도 non-GMO, 천연유화제를 사용한 오가닉 제품들이 국외에서 출시되고 있음을 확인할 수 있었음.

사진	제품명	제조회사	성분명	사진	제품명	제조회사	성분명
	오리지널 밀크티	노브먼트	설탕, 크리머(포도당시럽, 경화황백유, 카제인나트륨 ,제이인산칼륨,글리세린지방산에스테르), 인산트트, 풍차분말(녹차100%), 메이플설탕, 견지분유1.5%		아침 밀크티	수입 : 가릴아기 엔터	설탕, 식물성크림(카제인나트륨 , 제이인산칼륨, 구연산칼륨, 탄산나트륨, 글리세린지방산에스테르, 스테아릴글산나트륨, 아산화구소(고결방지제), 합성착향료(우유향),안나트(색소), 탈기분유0.54%, 풍차 0.36%, 합성착향료(풍차향, 카라멜향, 글리세린지방산에스테르, 자당지방산에스테르, 말토덱스트린, 카라기난, 탄산수소나트륨, 카로보시메틸셀룰로오스나트륨, 구연산나트륨, 경제수, 우유 함유
	타라 아말 화이트 일류전 밀크티 275ml	홍서식품	풍차수출액 (고형분0.85% 이상, 경제수, 풍차염 : 인도산) 40%, 경제수, 우유(국산)20%, 박설향 탈기분유(미국산), 유쿠렘, 탄산수소나트륨, 자당지방산에스테르, 카제인나트륨 , 합성착향료(풍차향), 비타민C, 우유 함유		아침햇살	홍진식품	물수출액 36 %(고형분 9 %이상, 국산), 연마수출액 39 %(고형분 0.2 %이상 : 복은연미(국산) 1.6 %, 경제수, 박설향, 식물성크림-더블유(물엿, 식물성경화유지, 카제인 (우유), 제이인산칼륨, 유화제)역산과당, 맥스트린, 유화제, 비타민C, 글리신, 합성착향료(현미향),혼합제(자몽풍차수출물,글리세린,비타민C,녹차수출물)
	타라 우바 화이트 일류전 밀크티 275ml	홍서식품	우유(국산)40%, 풍차수출액(고형분0.85%이상), 경제수, 풍차염(소리말)240%, 경제수, 박설향, 탄산수소나트륨, 자당지방산에스테르, 카제인나트륨 , 합성착향료(풍차향), 비타민C, 우유 함유		스타벅스 더블샷 에스프레소	스타벅스	우유(국내산)15%, 경제수, 스타벅스 커피 수출액(고형분 5.0%이상, 복은커피(미국산), 박설향, 혼합분유(독일산)탈기분유, 중중우유단백분말, 유크렘1%, 콜롬비아 커피 파우더(고형분 85%이상, 콜롬비아산)0.4%, 탄산칼륨, 자당지방산에스테르, 카제인나트륨 , 비타민C
	스타벅스 카메라레	스타벅스	우유(국산)40%, 경제수, 스타벅스 커피수출액(고형분 5.0%이상, 복은커피(미국산)1.97%, 유크렘, 박설향, 탈기분유, 스타벅스커피파우더(고형분 85% 이상) 0.16%, 탄산칼륨, 카제인나트륨 , 자당지방산에스테르		TOP 볼드 에스프레소 300ml	맥심	원유(우유, 국내산)40%, 경제수, 맥심 에스프레소 커피 수출액(고형분 5.0% 이상, 커피원두:콜롬비아산 60%, 브라질산21%) 16.4%, 박설향, 탄산칼륨, 자당지방산에스테르, 카제인나트륨 , 비타민C
	메디에프 스마일	메디포드	경제수, 말트덱스트린, 불리타우단백(미국산), 대두유(외국산, 미도메트), 아르헨티나, 미국) 난소화성말트덱스트린, 경백당 카제인나트륨 (우유), 치커리시아실용(벨기에산), L-카로니틴,비타민비탈릭스(구연산칼륨, 제삼인산칼륨, 말트덱스트린, 제이인산칼륨,타우린, 풍산제일월, 풍산이엔, 풍산안간, 풍산풍, 쇼오드칼륨혼합제, 비타민A혼합제(비타민A,비타민D3, MCT, 아라비아검, 가당, 전분,비타민D, 제삼인산칼륨), 비타민D3혼합제(비타민D3, MCT, 아라비아검, 가당, 전분,비타민D, 제삼인산칼륨), 비타민D5혼합제(비타민D5, L-아스파르트산, 인산, 아산화구소), 비타민D5혼합제, 비타민D5칼슘염, 비타민D5, 나리아산)마도, 말트인산칼륨, 비타민D6염산염, 염산 비타민D12혼합제, 비오틴혼합제, 비타민D, 아말탄산나트륨, 열외크롬, 콜라보인산나트륨), 비타민C, 이노시톨, 열외칼륨, 제삼인산D3네소, 탄산수소나트륨, 경제수, 유화제, 합성착향료(수용지향,비타민C,카라멜)		스타벅스 프라푸치노 카라멜향	스타벅스	우유(국내산) 15%, 박설향, 혼합분유(독일산)탈기분유, 중중우유단백분말, 유크렘(호주산), 콜롬비아 커피파우더(고형분 85%이상, 콜롬비아산) 0.4%, 탄산칼륨, 합성착향료(카라멜향), 커피 파우더 이탈리아산(고형분 85% 이상, 말레이시아산)0.14%, 자당지방산에스테르, 카제인나트륨 , 비타민C, 우유 함유

그림 153. 카제인나트륨 함유 음료류.

- 국내에서는 분말 밀크티, 차, 커피음료에도 카제인나트륨이 소량 포함되어 있었는데 음료류의 경우에는 대부분 커피음료 제품에 포함되어 있는 것을 확인할 수 있었음

사진	제품명	제조사	성분명
	기라델리 뉴바닐라 파우더	기라델리	설탕, 기라델리클래식화이트프루페 1.0%(미국산-설탕, 탈기분유, 코코넛오일, 콘시럽, 고형분, 카제인 나트륨), 식물성크림(물엿, 식물성유지, 카제인 나트륨 , 산도조절제, 유화제), 혼합탈지(네덜란드산), 분말유크림, 바닐라향분말, 합성착향료(바닐라향)(*대두, 우유 함유)
	쥬피터 초콜릿 소스	쥬피터	정백당/정제수(코코아분말(네덜란드산))3%/분말유크림(유크림분말(우유:호주산)/유당(미국산)/ 카제인 나트륨 /제이인산칼륨/유화제)/물엿(고과당)바닐린/글리신/ 카제인 나트륨 (카복시메틸셀룰로오스나트륨/천연보존료(파이오렌-비))/합성착향료(초콜릿향)
	나호 치즈소스	비레프	정제수, 체다치즈 5%(호주산/원유, 유산균배양액, 정제소금, 풍유효소), 할라페노즘(멕시코산)갈라페노페퍼, 식염, 식초, 설탕, 오레가노, 유정분말, 브이소트닝(식물성유지, α -토코페롤(혼합형), 조미베이스, 혼합제(변성전분, 덱스트린), 체다치즈시즈닝 2.6%(미국산)체다치즈 6.5%), 가공유크림, 폴리인산나트륨, 카제인 나트륨 , 정제소금, 합성착향료(치즈향), 쾨산 타마린드결, 혼합제(파프리카추출액, 유화제), 할라페노스타일맛에페테코노레진(올레오레진원시검)
	그랜드 이탈리아 카르보나라	그랜드 이탈리아	: 베이컨(돼지고기, 소금, 흑후추, 스모크향), 크림(우유),베지타블(참(참기름), 그라나파단노 치즈(우유, 소금, 풍유효소, 계란황효소), 햄(돼지고기, 감자전분, 소금, 대두 단백질, (대두)포도당, 스모크향(카라기난), 계란, 쌀전분, 옥수수변성전분(아세틸아디핀산이전분), 유당(우유), 소금, 카제인 나트륨 , 난황, 계란), 흑후추, 스모크향 산탄검
	양념감자시즈닝-치즈맛	태원식품 산업주식회사	고지방지방분당(백설탕, 전분), 말트덱스트린, 치즈혼합분말(9.95%(자연치즈 20.0%(수입산), 식물성유지(수입산), 유당, 정제기동유지, 카제인 나트륨), 소맥분(밀(미국산), 정제소금(국내산), 프리미엄전지분, 치즈혼합분말 2.3%(자연치즈 22.6%), 복합조미식품 L-글루탐산나트륨(향미증진제), 치즈후래바분말, 0%(치즈 5.0%), 복합조미식품 II, 체다치즈파우더 7.2%, 산도조절제, 파프리카추출액, 합성착향료(버터&치즈향) / 우유, 대두, 밀, 쇠고기 함유
	갈릭크림치즈화이트소스	강연식품	마요네즈 50% (대두유(종) 00%(수입산), 계란(국산), 주정식초, 설탕, 정제염, 유크림분말(우유, 호주산) 6.0%, 유당(우유, 미국산), 카제인 나트륨 (우유) 케타치즈, 마늘(중국), 설탕, 유유락(우유), 크림향(합성착향료)

그림 154. 카제인 나트륨 함유 소스류

- 소스류 제품의 경우에는 크림리한 제형의 소스류 제품에 카제인 나트륨이 구성성분으로 포함되어 있음을 확인할 수 있었음
- 이에 용도적합성 실험 적용 제품으로,
 1. 커피프리머, 2. 음료류, 3. 소스류를 선택하여 천연유화제 적용 실험을 실시함.

○ 제품적용실험(분말커피크리머)

- 문헌조사를 통하여 분말 커피크리머의 배합비 및 제조방법, Quality parameter를 선정하였고 이에 대하여 품질 안정성 실험을 실시함
- 조사결과 분말 프리머에서 solubility, dispersibility, 관능적으로 높은 점수를 나타내도록 역할이 요구되며 아래와 같은 평가지표를 참고하여 품질특성을 측정함

Parameter	Reference
·Solubility	hedayatnia S et al., 2016, ADPI, 1992, Hooda & Jood, 2005
·Dispersibility	
·Sensory	


- 분말커피크리머 배합비 및 제조방법은 아래와 같음(CHOI YR et al., 1982)

표 105. 커피크리머 formula

control (카제인나트륨 함유 커피크리머)		제품 (천연유화제 함유 프리머)	
카제인	3% w/w	개발 대체 유화제	3% w/w
corn syrup	15% w/w	corn syrup	15% w/w
fat	8% w/w	fat	8% w/w
레시틴	1% w/w	레시틴	1% w/w
K HPO ₄ (2인산칼륨)	2.5% w/w	K ₂ HPO ₄ (2인산칼륨)	2.5% w/w
water, up to	100ml	water, up to	100ml
100ml		100ml	

- 분말제형의 커피크리머를 제조하기 위하여 SD (BUCHI model Mini spray dryer B-290, Flawil, Switzerland)를 사용하여 제조함

표 106. 커피크리머 제조방법

 <p>Spray dryer (BUCHI model Mini spray dryer B-290, Flawil, Switzerland)</p>	dissolve K ₂ HPO ₄ in 40°C water		<p>① 40°C 물 70.5g을 이용해서 이인산칼륨 2.5g 녹인다.(water phase)</p> <p>② ①에 카제인 3g, corn syrup 20g을 넣고 80°C로 가열한다. (water phase)</p> <p>③ 지방(백셀 콩기름)10g을 녹이고 레시틴 파우더1g을 넣고 80°C로 가열한다.</p> <p>④ fat phase를 water phase에 넣고 80°C에서 두 번 균질화시킨다.</p> <p>⑤ inlet temp 175±5°C, outlet temp 80±5°C</p>
	↓		
	dissolve mixture of protein isolate-카제인, corn syrup, heat to 80°C		
	↓		
	melt fat, 레시틴, heat to 80°C		
	↓		
disperse the fat phase into the water phase			
↓			
homogenize twice at 80°C and			
spray drying	inlet temp 175±5°C		
	outlet temp 80±5°C		
	pump 10%		

- 기타 측정실험에 대하여 아래에 정리하여 제시함

표 107. 커피크리머 물리/이화학적 분석내용

항목	내용									
시료	커피크리머									
평가항목	Solubility, pH, particle size distribution, 수분함량, 관능평가									
Solubility (용해성)	① 커피크리머 분말 3g을 비커에 넣고 정제수(80±5℃) 30ml와 함께 10분동안 섞는다. ② 재구성된 프리머의 30ml는 튜브에, 3000rpm으로 5분동안 원심분리 한다. ③ 침전물은 정제수 30ml(80±5℃)에 넣고 재부유하고 3000rpm으로 5분동안 재 원심분리 시킨다. ④ 2번째 원심분리하고 남아있는 침전물의 용적백분율로 나타낸다. * 농도를 나타내는 방법의 일종으로서 액체 100ml 중에 포함되는 성분 용량 (ml)을 백분율 ⑤ 용해성은 각 샘플당 3번씩 측정한다.									
pH	pH meter (Orion 4-star Plus, Thermo Sci., USA)를 사용하여 25℃에서 측정값이 변화가 없는 시점까지 관찰하여 측정한 평균값으로 나타냄									
Particle size	기기 : Microtrac particle size analyzer S3500/Bluewave 용매 : Isopropyl alcohol									
수분함량 측정	기기 : BOECO BMA I50 온도 조건 : 105℃ 종료모드 : 3 (60초간 1mg의 무게 변화가 감지 될 때 자동종료) Drying mode : Standard mode									
프리머를 이용한 Coffee 제조 및 관능평가	① 100ml의 reconstituted된 커피는 100ml의 뜨거운 물에 인스턴트커피(맥심 아이스블랙) 5g(맥심 아이스블랙 1회분 5.9g)으로 만든다. ② reconstituted된 커피 20ml에 프리머 3g을 넣는다 ③ 맛(taste)-쓴맛, 신맛, 단맛, 향(aroma), 색(colour), 질감(texture), 외관(appearance) 전반적인 만족(overall acceptability) 관능평가 Hedonic scale <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>1 매우 좋지 않다</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> <td>6</td> <td>7</td> <td>8</td> <td>9 매우좋다</td> </tr> </table>	1 매우 좋지 않다	2	3	4	5	6	7	8	9 매우좋다
1 매우 좋지 않다	2	3	4	5	6	7	8	9 매우좋다		

- 실험결과,

: 제조한 분말커피크리머의 외관(그림155, 156)과 측정결과를 아래 그림과 표로 나타냄



그림 155. 천연유화제 함유 커피크리머 제조.
(좌)제조 과정 중 spray cylinder 내부 (우)제조 후

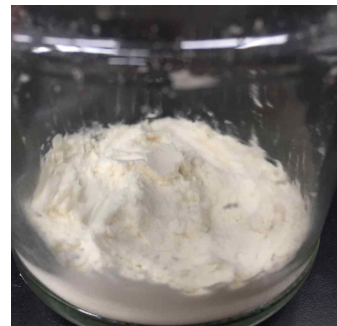
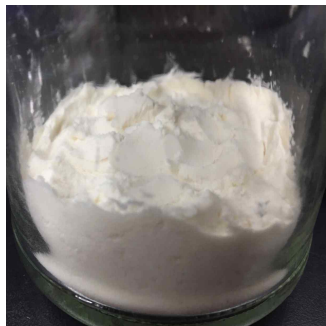


그림 156. 카제인나트륨 함유 커피크리머 제조.

- Solubility는 개발 소재적용 커피크리머가 100% 용해되어 가장 높은 용해성을 갖는 것으로 측정되었으며 particle size는 61.46 ± 1.65 으로 측정되어 기존카제인나트륨으로 제조한 커피크리머보다 약 0.48 높은 값을 나타내었고 시중프리머의 경우는 229.13 ± 2.48 로 측정되어 본 연구제조 크리머가 현저히 낮은 입자크기를 나타내었음
- 이는 Hedayatnia 등에서 제시한 바와 같이 instant spray-dried creamer의 입자크기가 46.45에서 $193.26 \mu\text{m}$ 까지 넓은 범위를 나타내었으며 이는 분말화 방법과 배합비등 제조공정에 따라 다양한 범위를 갖는다고 하였음
- 또한 particle size는 분말의 유동성, reconstitution에 큰 영향을 끼치는 인자라고 보고되어짐

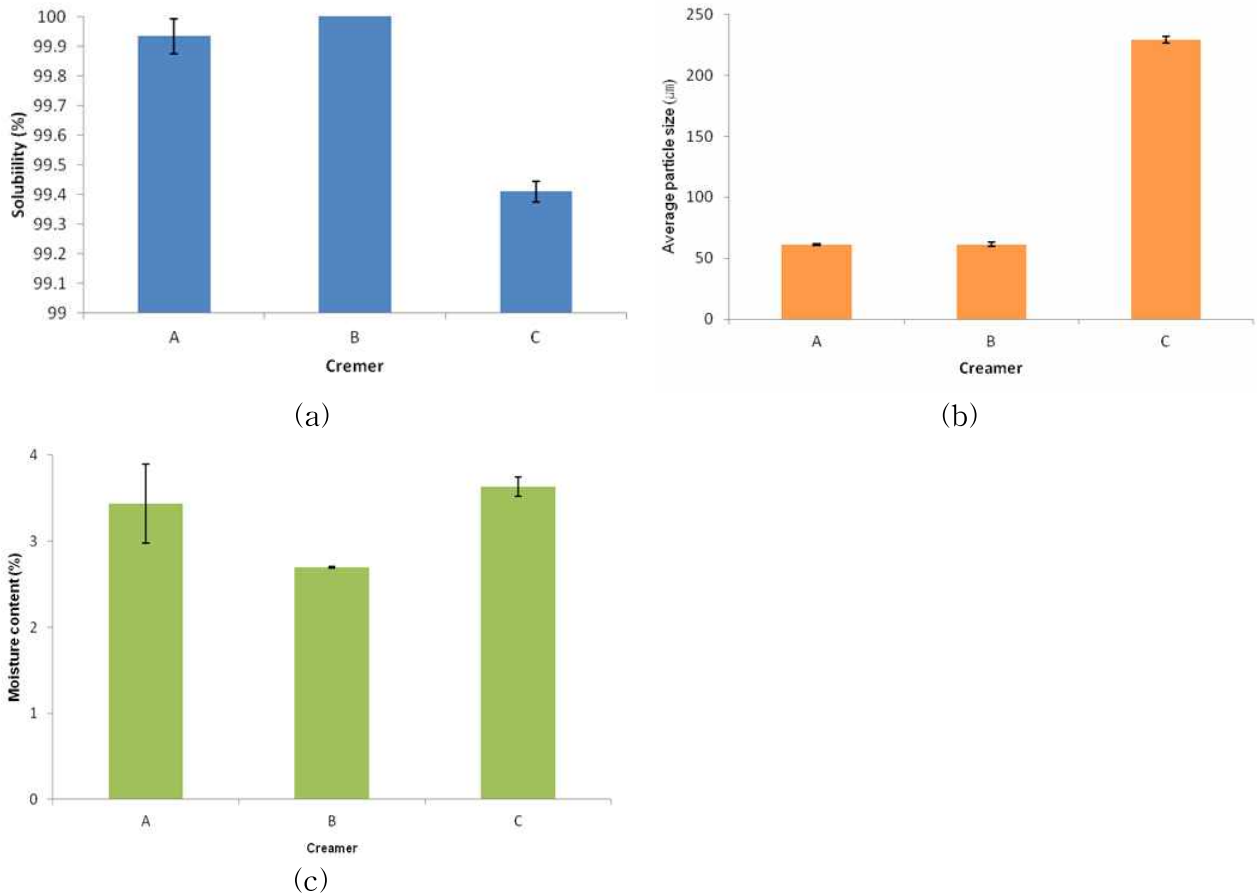


그림 157. 카제인나트륨 및 천연유화제 함유 프리머의 (a) solubility , (b) particle size D_0 값, (c) 수분함량

A:카제인나트륨, B:천연유화제, C:시중프리머

- 수분함량은 개발소재 적용커피프리머가 $2.69 \pm 0.00\%$ 로 가장 낮은 수준이었으며 기존카제인으로 제조한 커피크리머와 시중커피크리머는 각각 $3.43 \pm 0.45\%$, $3.63 \pm 0.11\%$ 로 측정됨
- 수분의 제거는 분말제형의 재료에서 운송, 저장 및 다루기에 쉽고 안정성과 유통기한의 향상을 현저히 증가시킨다고 보고되어 지며(Kiesch & Feise, 2006, Hedayatnia S 2016.) Hedayatnia 등의 연구결과에 의하면 commercial creamer의 3.77%라고 조사하였으며 maltodextrin, inulin등의 부형제 함량비 및 분말 mix의 배합비, 분말제조(spray dry, fluidized bed drying) 조건에 따라 수분함량을 조절한다고 설명되어지고 있음
- 관능적 평가를 위하여 천연유화제 적용 커피프리머를 커피에 적용하여 외관, 색도, pH, 관능평가를 실시하였음.(Chung C et al., 2016)



카제인나트륨 커피크리머



천연유화제 커피크리머



시중 프리머

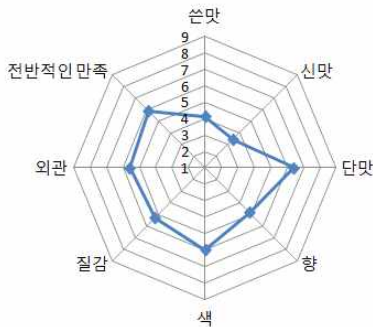
그림158. 커피크리머 적용 커피의 외관

- 커피에 적용 시 외관(Visual appearance)은 천연유화제와 카제인나트륨을 적용한 커피의 경우 비슷한 갈색빛을 나타내었으며 천연유화제 색도결과 L값은 42.690 ± 1.043 , 적색도의 a값은 8.153 ± 0.622 , 황색도 b값은 115.027 ± 1.236 로 측정되었음.

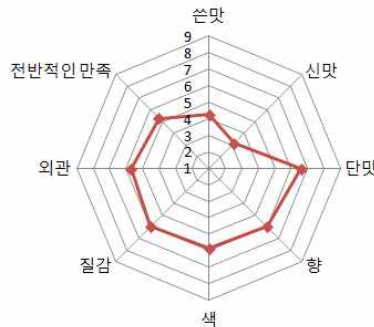
표108. 커피의 이화학적 분석결과

	카제인나트륨 함유 프리머 커피	천연유화제 함유 프리머 커피	시중 프리머 커피
pH	7.52 ± 0.01	7.543 ± 0.00	7.213 ± 0.00
L*	45.413 ± 7.561	42.690 ± 1.043	48.690 ± 1.030
a*	8.603 ± 0.176	8.153 ± 0.622	8.875 ± 0.322
b*	14.367 ± 0.644	15.027 ± 1.236	14.007 ± 1.006
ΔE^*_{ab}	55.753 ± 0.402	54.830 ± 0.546	546.830 ± 0.546

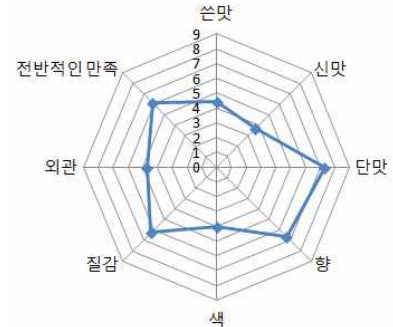
- pH는 7.21~7.543 범위로 천연유화제로 제조한 커피프리머 및 시중프리머로 제조한 커피의 pH와 비슷한 수준을 나타내었음



카제인나트륨 커피크리머



천연유화제 커피크리머



시중 프리머

그림159. 커피크리머 적용 커피 관능평가.

- 관능평가 결과 천연유화제 커피가 카제인나트륨으로 커피보다 향, 색, 질감에서 더 좋은 평가를 받았으며 시중프리머제조 커피보다 전반적 만족도는 낮게 평가되었음
- 이에 따라
 - particle size는 적절하게 제조공정을 보안을 통한 최적화로 프리머 제품에 적용할 수 있을 것이라 판단되었음.
 - 수분함량의 경우 낮은수준으로 차이가 있었으나 저장 안정성에 더 유리할 것으로 판단되었으며 수율 및 물리적으로 가장 적합한 수준의 제조조건을 찾아 적용시키면 될 것으로

판단되었음.

- 관능평가결과 기존카제이나트륨을 적용한 프리머보다 색, 외관에서 더 좋은 평가를 받았으며 시중커피프리머와는 배합비 차이가 있으므로 배합비 개선을 통하여 적합한 단맛, 향 등의 원료를 첨가하여 개선하면 될 것으로 판단되었음.

○제품적용실험(음료류)

- 문헌조사를 통하여 분말 커피크리머의 배합비 및 제조방법, quality parameter를 선정하였고 이에 대하여 품질 안정성 실험을 실시함
- 최근, 에멀전 기술은 최근에 바람직한 관능적 성질을 가진 음료를 개발하기 위한 중요한 도구가 되며 풍미가 부여된 유화음료의 경우 소수성인 oil 성분이 포함 됨
- 이에 따라 제품의 저장기간은 제품에 따라 다르나, 주로 가공, 보관 및 운송의 조건에 따라 다르나 유화제는 음료 에멀전의 장기간 안정성을 위한 주요 성분이며 맛과 향에 영향을 미친다고 보고되어짐(McClements, 1998; Chaudhari et al., 2015).

Indicator	Ref.
·Droplet size distribution ·Beverage turbidity ·Sensory	McSweeney et al. 2017., Beverage stabilizer, food ingredients online 2000., Baik EK et al. 2005.

- 현재 다양한 종류의 단백질이 유화제로 이용되고 있으며 이 중 열 안정성이 있는 카제인 나트륨이 높은 비율로 사용되고 있으며, (Srinivasan et al., 2002, Dalgleish et al., 1995) 이에 대하여 physical stability 지표로써 particle size, turbiscan stability등이 측정되어짐
- 또한, 조사결과 유화음료류의 경우 저장안정성에 대하여 유화안정성, 당도, pH, 산도, 색도(L,a,b값), 점도, 기능성분, 미생물, 관능검사등을 분석되고 있었고, 이 지표들 중 유화안정성 및 색도, 관능검사결과가 유의적 품질변화를 보인다고 보고되어짐
- 이에 따라 physical stability로 particle size와 관능평가외에 유화안정성, 이화학적 특성으로 pH, 색도를 측정함, 유화음료 배합비는 표 108A와 같이 설정하고 표 108B에 따라 제조하였음

표 109. oil-in-water (o/w) beverage emulsions formula (Ralkos V et al., 2016)

A	control (카제인나트륨 유화음료)		제품 (천연유화제 유화음료)	
	카제인	10% w/w	천연유화제	10% w/w
	orange oil	10% w/w	orange oil	10% w/w
	water	80% w/w	water	80% w/w
	100 g		100 g	

B	dissolve 유화제(10% w/w) in 40°C water
	↓
	adding orange oil (10% w/w) at a steady rate and mixing the ingredients using a stirrer (Morphy Richards, Argos, UK) for 3 h 30 min at room temperature
	↓
	a single-stage valve homogeniser (APV-1000, SPX Flow Technology, West Sussex, UK) working at an operating for 30 s at 1000 rpm
	↓
	Each sample was passed three times (recycling) through the homogeniser to ensure complete emulsification

- 기타 측정실험에 대하여 아래에 정리하여 제시함

표 110. 유화음료의 이화학/관능적 평가 내용

항목	내용
시료	유화음료
평가항목	유화안정성, pH, 색도, particle size distribution, 관능평가
유화안정성 실험	유화액을 50 mL 메스실린더에 담아 마개를 막은 후 100°C oven에서 6시간 경과 후 유화액으로부터 분리되어지는 수용액층의 부피를 측정하였으며, 그 측정값은 아래 식에 대입하여 유화안정지수(Emulsion Stability Index, ESI)로 나타낸다. $ESI = \left(1 - \frac{\text{분리된 수분층의 부피}}{\text{화액 내의 수분의 총 부피}}\right) \times 100$
pH, 색도	커피크리머와 동일한 방법으로 수행함
Particle size distribution	기기 : Microtrac particle size analyzer S3500/Bluewave 용매 : Water
프리머를 이용한 Coffee 제조 및 관능평가	제조된 시료를 색, 맛(단맛, 짠맛, 신맛), 향, 질감, 전반적인 기호도를 5점 평점법으로 평가

- 실험결과,

: 제조한 유화음료의 외관(그림160)과 측정결과를 아래 그림과 표로 나타냄

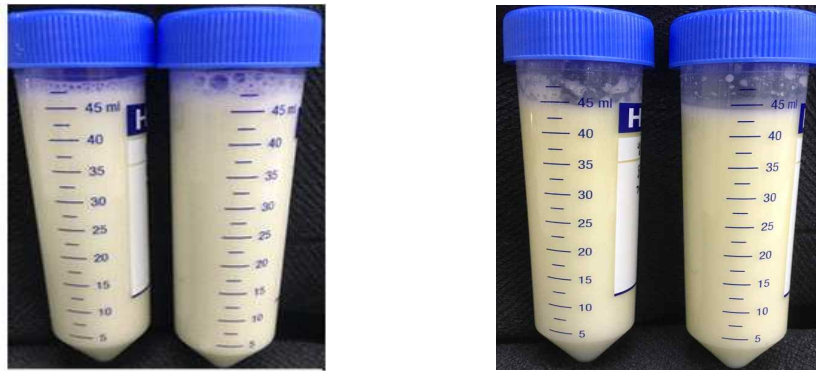


그림160. 유화음료의 외관(좌)카제인나트륨(우)천연유화제.

: 제조된 유화음료의 외관은 천연유화제를 적용한 유기음료에서 더 색도측정 결과 천연유화제음료의 L값은 79.59 ± 0.46 , 적색도의 a값은 -1.91 ± 0.03 , 황색도 b값은 10.06 ± 0.385 로 나타남

: pH의 경우 기존카제인유화음료와 개발유화제 유화음료 각각 6.74 ± 0.08 , 7.07 ± 0.07 범위로 카제인은 정전기 및 입체 안정화 메커니즘 (Dickinson et al., 1998)의 조합으로 인해 기름방울이 응집되는 것을 방지하는 중성 pH에서 효과적인 유화제라고 알려져 있음.

: 반면, 제조된 유화음료의 particle size는 개발유화제 적용시 $27.35 \pm 1.07 \mu\text{m}$ 로 기존카제인으로 제조한 유화음료보다 약 1.81배 크게 측정되었음

표111. 유화음료의 이화학적 분석결과

	카제인나트륨 유화음료	천연유화제 유화음료
pH	6.74 ± 0.08	7.07 ± 0.07
L*	79.75 ± 0.51	79.59 ± 0.46
a*	-1.77 ± 0.05	-1.91 ± 0.03
b*	14.45 ± 0.58	10.06 ± 0.38
ΔE^*ab	25.89 ± 0.28	22.28 ± 0.18
average of particle size	12.07 ± 1.16	27.35 ± 1.07

: 관능평가 결과, 단맛, 짠맛, 신맛, 색, 질감에서 기존카제인나트륨을 사용한 유화음료보다 높은 기호도를 나타내었음.

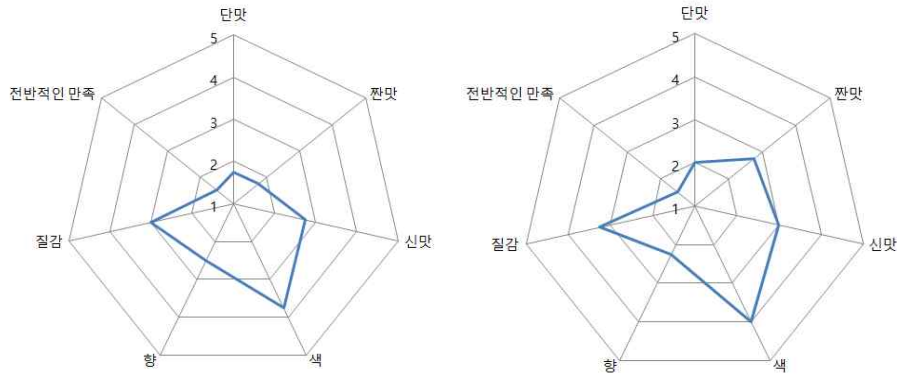


그림161. 유화음료 관능평가결과.
 (a)카제인나트륨 유화음료 (b)천연유화제 유화음료

- : 유화안정성의 경우 100℃에서 시간경과 후 측정 시 기존 카제인나트륨 유화음료의 경우 3 cm 의 수분 층 분리가 관찰되었고 개발 카제인으로 만든 음료는 4.5 cm 의 수분 층 이 관찰되었음
- : 냉장온도에서 보관 시에서는 기존 카제인 유화음료는 층 분리가 일어나지 않았지만, 개발유화제 적용음료의 경우 약 8.3 cm 정도의 층분리가 관찰되었음

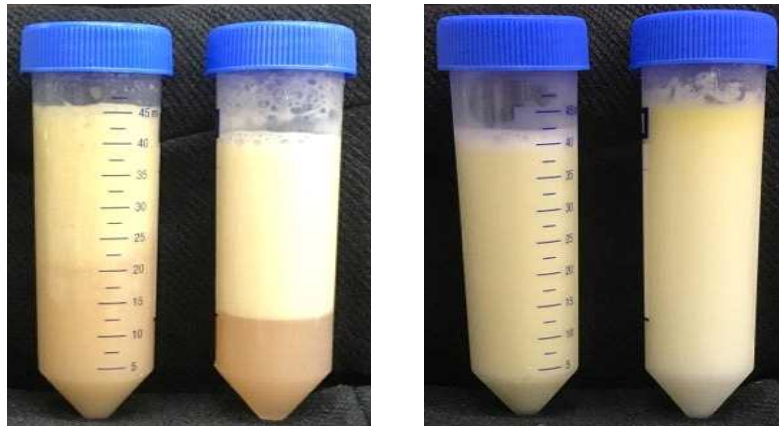
$$\text{존 카제인 ESI} = \left(1 - \frac{3 \text{ cm}}{9 \text{ cm}}\right) \times 100 = 66.67$$

$$\text{개발 카제인 ESI} = \left(1 - \frac{4.5 \text{ cm}}{9 \text{ cm}}\right) \times 100 = 50$$

(유화음료 유화안정성 평가결과)

- 결과적으로,

- : 카제인과 같은 유형의 천연 유화제로 입증 된 표면 활성은 단백질 백본에서 비극성 그룹의 높은 비율에 기인하며 (Dickinson, 1992). 카제인은 충분한 양으로 존재할 때 수 층 내부에 루프가 형성되어 계면에 두꺼운 다층을 형성 할 수있다고 보고되어지는데 (Dickinson, 2009; Singh, 2011) 더 완성도 있는 소재제조를 위한 정제공정이 더 필요할 것으로 사료됨.
- : 유화액의 층분리는 안정성과는 반대의 역할로 관련되어 있으며(Alvarez-Cerimedo et al., 2010), Qian et al., 2011 보고에 따르면 음료 에멀전의 장기간 안정성은 흡착 된 유화제 층이 저장 중에 물방물(droplet) 응집을 방지하는 능력에 달려있다고 하였음.
- : 일반적으로 단백질은 다당류를 기본으로 하는 유화제보다 더 높은 surface-active 고분자로 이 특성은 평균 방울 모집단의 초기 입자 크기에 반영됨(Raikos V et al., 2016)
- : 이에 따라 천연유화제의 경우 단백질 함량이 기존 카제인나트륨보다 낮고 정제과정이 더 필요할 것으로 사료됨.



100°C

4°C

그림162. 저장온도에 따른 유화안정성.

(좌)100°C(우)4°C

A:기존, B:개발

○ 제품적용실험(소스류)

- 문헌조사를 통하여 소스류의 배합비 및 제조방법, Quality parameter를 선정하였고 이에 대하여 품질 안정성 실험을 실시함
- 조사결과 소스류는 외관, solubility, creaming index, 관능적으로 높은점수를 나타내도록 역할이 요구되며 아래와 같은 평가지표를 참고하여 품질특성을 측정함

Indicator	Ref.
·Droplet size distribution	
·Physical stability(외관, solubility, creaming index)	Kornaiko J et al., 2015, Riscardo MA et al. 2003, Ghasemi, H et al., 2017,
·Sensory	

- 유화음료 배합비는 아래 표 111A와 같이 설정하고 표 111B에 따라 제조하였음

표 112. Source formula 및 제조방법(Riscardo MA et al., 2003)

A	control (카제이나트륨 함유 소스)		제품 (천연유화제 소스)	
	sunflower oil	35%	sunflower oil	35%
emulsifier 카제이나트륨	8%	emulsifier 카제이나트륨	8%	
sugar	4%	sugar	4%	
사과식초	2%	사과식초	2%	
salt	0.4%	salt	0.4%	
water, up to	100ml	water, up to	100ml	
100ml		100ml		

B	water(50.6 g), sugar, salt를 60°C가 될 때 까지 섞는다.
	↓
	water phase에 유화제를 넣고 string 10분 후 homogenize 1000rpm으로 5분. (60°C)
	↓
	sunflower oil을 water phase에 넣고 string 10분 후 homogenize 1000rpm으로 1분 (60°C)
↓	
emulsion에 사과식초 2g을 넣고 homogenize 1000rpm으로 1분	
↓	
4°C 냉장고에 보관한다.	

- 기타 측정실험에 대하여 아래에 정리하여 제시함

표113. 유화음료의 이화학/관능적 평가 내용

항목	내용
시료	유화음료
평가항목	Visual observation, pH,
Visual observation	① 각각의 샘플 15ml를 관찰한다.
pH	homogenizing 직후 약 10 ml취해서 pH meter를 이용하여 25℃에서 3번 측정하여 평균값
Particle size distribution	기기 : Microtrac particle size analyzer S3500/Bluewave 용매 : Water
Creaming index	① 샘플 15ml를 상온에서 0~7일 동안 관찰하여 serum layer(H_s)와 cream layer(H_c)의 높이를 자로 측정한다. ② emulsion의 전체 길이와 creaming index(CI)는 다음과 같이 구한다. $CI(\%) = \frac{H_s + H_c}{H_t} \times 100$
관능평가	제조된 시료를 맛(taste)-고소한맛, 단맛, 신맛, 짠맛, 향(aroma), 색(colour), 질감(texture)-thickness, creaminess 외관(appearance), 전반적인 만족(overall acceptability)

- 실험결과,

: 제조된 소스의 외관은 천연유화제를 적용한 소스에 기존 카제인나트륨 적용 소스보다 더 응집이 되지않고 묽은 제형으로 천연유화제 소스의 색도 측정결과는 L값은 88.99 ± 1.043 , 적색도의 a값은 -1.08 ± 0.108 , 황색도 b값은 3.047 ± 0.075 로 관찰됨



그림163. 제조한 소스의 외관.
(좌)카제인나트륨 (우)천연유화제

표 114. 소스의 이화학적 분석결과

	카제이나트륨 소스	천연유화제 소스
pH	5.42±0.00	6.52±0.316
L*	92.557±0.557	88.99±1.043
a*	-1.107±0.065	-1.08±0.108
b*	6.54±0.627	3.047±0.075
ΔE*ab	15.06±0.606	11.94±0.089

- pH는 개발천연유화제 적용 소스에서 6.52±0.316 수준으로 기존 카제이나트륨 적용 소스보다 약 1.10 수준 높은 값으로 염기성을 나타내었으며 particle size는 외관에서 관찰된 바와 같이 개발소재 적용 시 응집이 덜하고 흐르는 제형으로 입자 분포 역시 9.69 μm로 낮은 값을 나타내었음
- 단백질유화제의 경우 단백질 코팅 지질 방울은 전형적으로 정전기 및 입체 반발의 조합을 통해 응집에 대해 안정화되고 장거리 정전 기적 상호 작용은 물방울을 응집으로부터 보호하는 데 더 중요하지만 단기 범위의 상호 작용은 유착으로부터 보호하기 위해 더 중요하다고 알려져 있음 단백질로 코팅 된 물방울의 응집을 촉진시킬 수 있는 주요 요인은 pH 변화, 높은 이온강도가 보고되어짐.(Ozturk B et al., 2016, McClement DJ et al., 2004, 2013 Delahaihe R et al., 2013)
 - pH 변화 : 단백질이 코팅 된 지질 액 적은 pH가 단백질 등전점에 가까울 때 응집 되는 경향이 있는데, 이는 이것이 전하의 크기를 줄이기 때문
 - 높은 이온 강도 : 높은 염도 (특히 다가 반대 이온은 대전 된 단백질이 코팅 된 물방울 사이의 정전 기적 반발을 스크리닝하여 응집을 촉진함.
- : 이에, 카제이나트륨의 경우 더 낮은 pH를 나타내어 소스에 적용시 더 응고되는 현상이 관찰되었다고 생각되며 천연유화제의 경우 전체적인 pH를 높여 중성범위의 소스제품에 더 적합하게 사용될 수 있을것이라고 판단되었음.

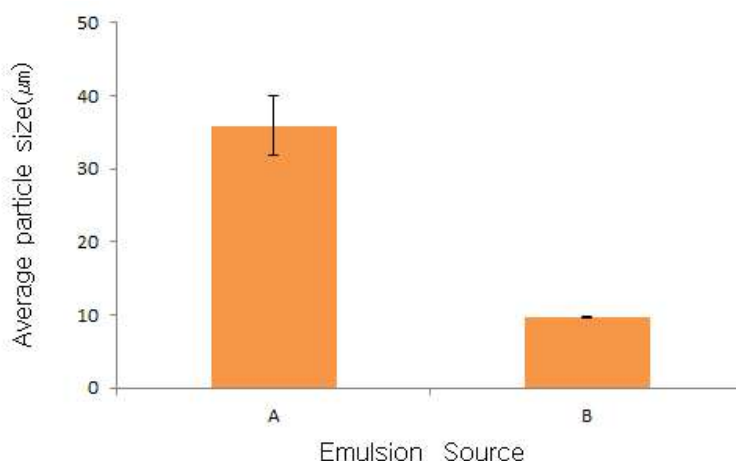


그림164. Particle size of emulsion source.

A : 기존 카제이나트륨(35.83±4.09 μm), B : 개발 카제이나트륨 함유 소스(9.69±0.17 μm)

: Creaming index를 측정한 결과를 아래 표에 나타냄, 13일까지 저장 시 기존카제인 나트륨을 적용하여 제조한 소스에서는 CI가 0%로 관찰되었으나 개발 유화제 적용 시 3일부터 층분리가 관찰되며(CI=12.5%) 13일 후 CI가 27.5%까지 증가함을 관찰할 수 있었음

: Ozturk B et al., 2016에 의하면 이전연구에서 해바라기씨 레시틴 수치가 높을수록 모든농도에서 분리가 느려지는 것을 관찰하였다고 하였고 상용적 용도로 전분, gum 및 단백질을 이용하여 점도를 증가시켜 크리밍과 분리를 지연시킨다고 하였음. 물방울의 크기가 클수록 크리밍속도가 빨라짐을 관찰하였음(van Nieuwenhuyzen et al., 1997, Meezdour S e al., 2011, Ozturk B et al., 2016)

표 115. 천연유화제 함유 소스 Creaming index

A		0일 후	1일 후	2일 후	3일 후	7일 후	9일 후	10일 후	13일 후
	H	0cm	0cm	0cm	0.5 cm	0.8 cm	0.9 cm	1 cm	1.1 cm
		4cm	4cm	4cm	3.5 cm	3.2 cm	3.5 cm	3 cm	2.9 cm
	H _t	4cm	4cm	4cm	4 cm	4 cm	4.4 cm	4 cm	4 cm
	CI	0 %	0 %	0 %	12.5 %	20 %	25.71 %	25 %	27.5 %

표 116. 카제이나트륨 함유 소스 Creaming index

B		0일 후	1일 후	2일 후	3일 후	7일 후	5일 후	6일 후	7일 후
	H _s	0cm	0cm	0cm	0cm	0cm	0cm	0cm	0cm
	H _c	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm
	H _t	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm	3.7cm
	CI	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

: 제조한 소스의 관능평가 결과 고소한맛, 짠맛, creaminess 한 입안질감에서 더 높은 선호도를 나타내었고 제품의 배합비 조절등을 통하여 개선할 수 있을 것이라 생각되었음.

- 종합적으로,

: 실질적인 제품에 응용을 위해서는 저장 중 품질 안정성이 어떻게 변하는지를 이해하고 품질변화를 최소화하는 것이 중요하므로 제품적용 실험결과를 참고하여 각 제품에 적용할 경우 제품의 규격에 따라 저장안정성 평가를 실시해야 할 것으로 판단되었음

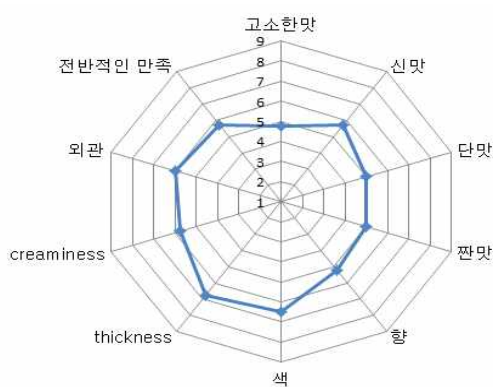


그림165. 카제이나트륨 함유 소스 관능평가.

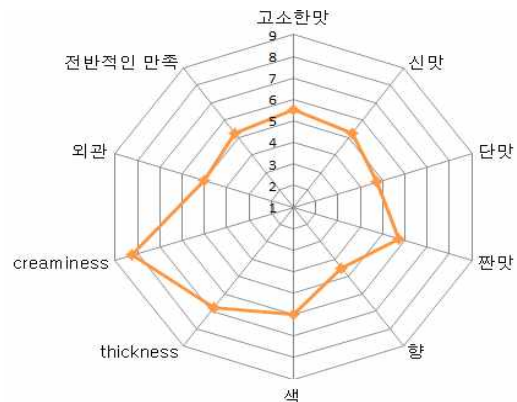


그림166. 천연유화제 함유 소스 관능평가.

2) 유기농 커피라떼

제품개발 컨셉으로 주관기관에서는 기존의 커피음료의 유효제(카제인나트륨)를 협동에서 개발한 천연유효제를 첨가물로써 첨가하여 유기농 커피음료 제품을 제조하고자 하였으며 이에 대한 안전성과 저장 안정성 평가 및 공정분석을 실시함

가) 제품의 품질 안전성/저장 안정성 시험 지표선정

- 저장안정성에 대한 품질지표 선정 및 위해요소 선정을 위하여 앞서 식약처 기준규격을 검토하였으며
- 문헌조사를 통하여 제품의 저장안정성에 대한 품질지표를 제시하였음
- 아래 표에 제시된 식품공전 상 음료류_커피의 기준 및 규격 중 액상 캔제품에 해당하며 주관기관에서 설정한 규격 및 중금속, 보존료, 세균에 대한 검사를 설계하여 실시하도록 함.

표117. 식약처 음료류_커피 기준 및 규격

항 목		규 격
기 준	납(mg/kg)	2.0 이하
	주석(mg/kg)	150 이하(알루미늄 캔 이외의 액상 캔제품에 한함)
및	타르색소	검출되어서는 아니됨
규 격	세균수	n=5, c=1, m=100, M=1,000(액상제품에 한함)
	대장균군	n=5, c=1, m=0, M=10(액상제품에 한함)

- 커피라는 말은 볶은 커피 (카페인을 함유하지 않은 커피 포함), 파생 된 음료 및 인스턴트 커피 및 커피 농축 물과 같은 다양한 편의 및 반제품을 포함하는 일반적인 용어로 사용되어짐, 또한 종류에 따른 물리적, 화학적 성질 및 다양한 환경에 따라 각각 다른 반응과 저장수명을 갖음(Nicoli MC et al., 2009)

Table 1 Shelf-life data of different coffee products packed under different conditions

Product	Technique	Packaging	Shelf life (months)
Whole- and ground-roasted coffee	Multi-dose packaging	Air	1-3 ^a
		Under vacuum	4-6 ^a / $>12^b$
		Inert gas	6-8 ^a / $>12^b$
		Active	Not available
	Pressurization	$>18^a$	
Instant coffee	Single-dose packaging	Inert gas	$>18^b$
		Air or under vacuum	$>6^b$
Coffee concentrates and drinks			

^a Shelf-life data from Nicoli and Savonitto [34]

^b Shelf-life data claimed on product label

- 이 중 개발 유기농 커피라떼의 경우 액상커피로(coffee liquids)의 한 종류로써 pH, titrable acidity, sensory sourness 가 저장동안의 품질지표로 보고되어 짐(표 117)

표 118. Main indicators of coffee products quality depletion potentially accounting for consumer rejection during storage (modified from Nicoli et al., 2009)

Coffee product	Indicator
Roast whole and ground coffee	Peroxide value (Chafer et al., 1998) Head space volatiles (Amstalden and Leite, 2001; Buffo and Cardelli-Freire, 2004; Holscher and Steinhart, 1992)
Instant coffee	Sensory flavour (Perez-Martinez et al., 2008a; Cappuccio et al., 2001; Manzocco and Lagazio, 2009)
Coffee concentrates and drinks	Sensory flavour (Perez-Martinez et al., 2008a; Cappuccio et al., 2001; Manzocco and Lagazio, 2009)
Instant coffee	Water activity and glass transition temperature (Anese et al., 2005) Moisture uptake (Alves and Bordin, 1998; Alves et al., 2000) Particle changes (Saragoni et al., 2007)
Coffee concentrates and drinks	pH (Manzocco and Nicoli, 2007) Titrable acidity (Yamanashi et al., 1992) Sensory sourness (Manzocco and Lagazio, 2009; Perez-Martinez et al., 2008a)

- 이 중 pH는 커피음료의 향미에 영향을 주며 관능적 선호도와 연관되어 저장에 대한 품질지표로써 최근의 연구까지 설명되어짐
 - 일반적으로 저온 살균 또는 멸균되고 따라서 미생물 손상으로부터 안정한 이들 제품은 향미 프로파일의 변화 및 감지된 산성도의 증가를 특징으로 하는 매우 낮은 화학적 안정성을 나타낸다. 이러한 변화는 적정 산도의 증가에 상응하는 pH 감소를 동반함
 - 액체 커피뿐만 아니라 커피 농축 물의 고갈은 양조 직후 시작되어 영하의 온도에서도 상당한 속도로 진행됨 현재, 액체 커피의 불안정성을 야기하는 메커니즘에 대해서는 거의 알려지지 않음.
 - pH의 감소는 탄수화물과 아미노산이 관련된 비 효소 갈변 경로와 관련이있는 복잡한 반응의 결과 일 수 있다고 제안되어 왔고 락톤 가수 분해와 관련된 추가 메커니즘은 또한 pH 감소에 기여할 수 있음. 커피 브루 아로마 staling에 대해서도 비슷한 반응이 보고되었는데, 이는 주로 냄새가 나는 thiol과 melanoidins 사이의 상호 작용에 기인한다고 하였음.
 - 연구결과 coffee brew의 pH변화 차이가 약 0.14 수준에서도 시료에 대한 소비자 rejecting비율이 약 80% 차이가 보고됨(Manzocco L and Nicoli MC., 2007)

표 119. pH limit of coffee brew in correspondence of increasing percentages of consumer rejecting the product(elaborated from Manzocco L and Nicoli MC., 2007)

Consumer rejecting the sample(%)	pH±95% confidence interval
10	5.22±0.03
25	5.19±0.03
50	5.14±0.02
75	5.12±0.02
90	5.08±0.04

- 이에 따라 식약처 기준규격 및 문헌자료를 참고하여 다음과 같이 화학적 물리적 위해요소를 평가함
 - 화학적.물리적위해요소: 납, 주석, 타르
 - 미생물학적 안전성 및 저장안정성 품질지표: 세균, 대장균군, pH, 관능평가

나) 화학적, 물리적 위해요소 평가

- 유기농 커피라떼는 식품규격으로 음료류-커피이며 이에 따라 식약처 기준규격의 화학적 위해요소인 중금속(납, 주석, 타르색소)과 물리적 위해요소인 이물은 식품공전 제 9. 일반시험법에 따라 앞서 제시한 방법과 동일하게 수행하였음.
- 표에 화학적 위해요소 및 물리적 위해요소 평가결과를 제시함.

표 120. 화학적 위해요소 검사 결과

항목	시험·검사결과
납(mg/kg)	0.0026
주석(mg/kg)	0.0015
타르색소(µg/kg)	불검출
이물	불검출

- 분석 결과, 납(mg/kg), 주석(mg/kg)은 각각 0.0026 0.0015로 분석되었으며 기준규격인 2.0(mg/kg), 150(mg/kg) 이하를 만족하는 것으로 확인되었고 타르색소는 기준규격과 동이하에 검출되지 않았음. 또한, 물리적 위해요소인 이물 또한 관찰되지 않아 제품에 대한 물리·화학적 안전성이 확보됨을 판단할 수 있었음.

다) 미생물학적 안전성 및 저장안정성 평가

- 첫 번째로 선정된 기준규격에 대하여 미생물학적 위해요소(일반세균, 대장균)를 실험을 통하여 관찰하였으며 일반세균 및 대장균군 실험은 식약처 식품공전의 일반시험법에 따라 앞서 제시한 방법과 동일하게 수행하였음

○ 실험결과,

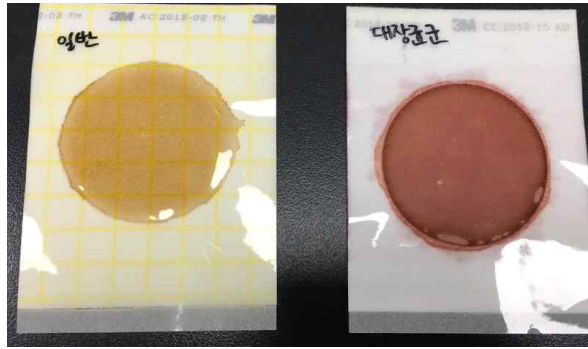


그림167. 유기농 커피라떼의 일반세균 및 대장균균 검사결과.


- 제공된 시료 모두에서 일반세균 및 대장균균이 검출되지 않았음
- 제공받은 소재의 제품규격서와 식품공진 상 기타식품류(기타가공품)기준 및 규격에 포함되어 있는 대장균: n=5, c=1, m=0, M=10의 기준규격에 만족함을 확인할 수 있었음

○ 두 번째로 제공된 유기농 카페라떼에 대하여 규격상 제시되어진 품질지표 및 physical stability(입도분포, visual observation)을 실시, 입도분포는 Microtrac particle size analyzer S3500/Bluewave 기기를 이용하여 용매는 물로 진행하였음, visual observation은 샘플을 petridish에 담아 관찰하였음

○ 실험결과,

- 완제품의 pH는 6.62, 당도는 11.32 ± 0.09 brix로 제공해준 제품자가규격에 만족함을 확인하였고 염도는 10.00%, 색도는 L값은 38.03 ± 0.03 , 적색도의 a값은 5.81 ± 0.03 , 황색도 b값은 8.11 ± 0.05 로 관찰됨

표 121. 유기농 커피라떼의 이화학적 분석결과

제품명	외관	pH	당도	염도	색도		
					L	a	b
유기농 커피라떼		6.62 ± 0.00	11.32 ± 0.09	10.00 ± 0.00	38.03 ± 0.03	5.81 ± 0.03	8.11 ± 0.05

- 입도분석 결과 D_{50} 값이 $0.614 \mu\text{m}$ 로 앞서 분석하였던 시중제품들($0.450 \sim 0.568 \mu\text{m}$)과 비교 하여 약 $0.110 \mu\text{m}$ 크게 관찰되었음

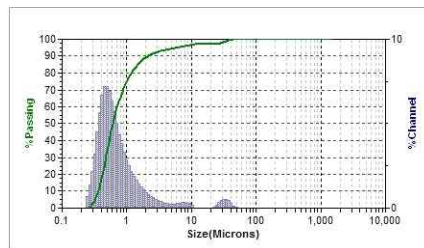


그림168. 유기농 커피라떼 particle size distribution. $D_{50}=0.614 \mu\text{m}$

- 세 번째로 저장안전성 실험에 필요한 품질지표로 가항에서 제시한 지표에 따라 저장안정성 평가를 위하여 비등온가속화실험을 실시함
- 비등온 가속화 실험 조건 설계 다음과 같으며 표 121에 실험방법을 정리하여 제시함
 - Initial temperature (초기온도): 20~30℃
 - Increasing temperature : 6℃/hr
 - Treatment time: 10~12 시간

표122. 비등온가속화 실험 방법

항목	내용																										
시료	유기농 커피라떼																										
실험조건	초기온도 20℃에서 85℃까지(시간당 5.5℃씩)																										
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>point</th> <th>0</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>온도(℃)</td> <td>20</td> <td>26</td> <td>32</td> <td>38</td> <td>44</td> <td>52</td> <td>58</td> <td>64</td> <td>70</td> <td>76</td> <td>82</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	point	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	온도(℃)	20	26	32	38	44	52	58	64	70	76	82	90
	point	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11														
온도(℃)	20	26	32	38	44	52	58	64	70	76	82	90															
실험항목	각 온도구간 포인트별로 시료를 채취하여 2차년에 선정된 품질 지표인 Total nitrogen, 순추출물, pH, 색도, 곰팡이 및 추가적으로 염도와 수분함량을 측정함																										
pH	시료 30 ml을 취해 실온에서 pH meter(Orion 4-star Plus, Thermo Sci., USA)를 사용하여 변화가 없는 시점까지 관찰하여 측정함																										
색도	페트리디쉬에 적정량을 담아, 색차계(color reader, CR-10, MINOLTA CO., JAPAN)을 이용하여 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)값을 측정. 측정은 3회 이상 반복하여 평균치로 나타냄. 이 때 사용한 표준 백색판은 L=1.80, a=12.04, b=2.96임. 전반적 색차(ΔE)는 Hunter-Scofiled식을 이용하여 얻었으며 대조구로 0시간 커피시제품(L=28.39, a=0.18, b=-0.88)을 사용함																										
일반세균 및 대장균	일반세균은 3M 일반세균용 배지에 시료를 1000 μl씩 접종한 후 37℃에서 48시간까지 배양하여 나타난 콜로니를 계수함																										

*모든 실험은 3회반복 측정하였음.

- 측정결과,
 - 외관은 0시간째(20℃) 시료와 비교하여 4시간 경과시료(44℃)에서부터 feathering 현상과 거품 이 관찰되기 시작했으며 90℃ 최종 시료에서도 외관상 관찰됨을 확인함

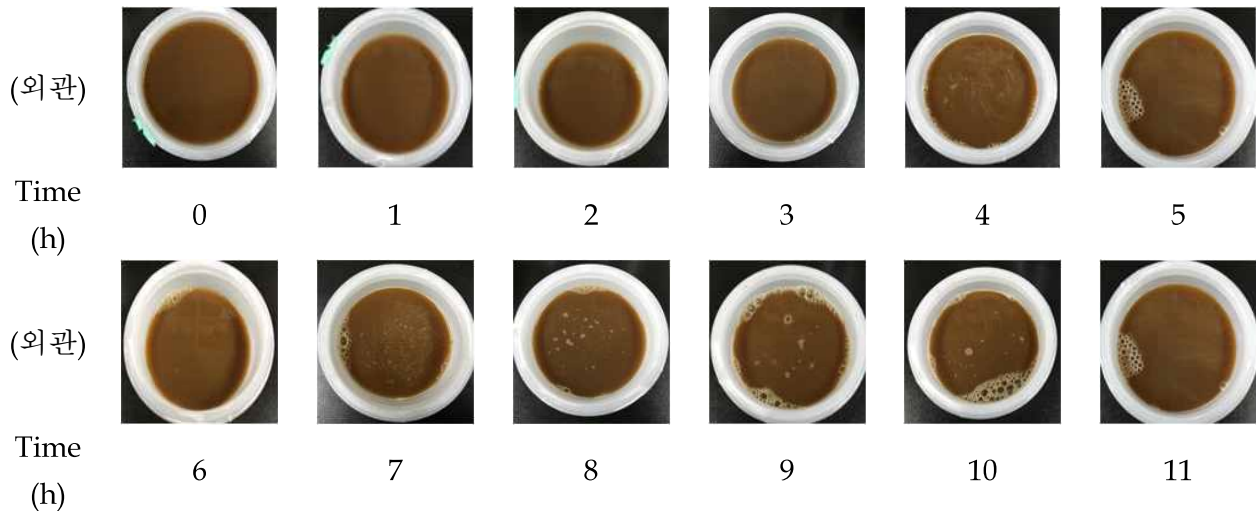


그림 169. 유기농 커피라떼 시간별 품질요소(외관) 변화.

- 커피크리머 제품에서 중요한 품질특성중의 하나로 페더링(feathering)이 보고되어 있는데 이는 바람직하지 않은 외관을 제공한다고 하며 커피에서 단백질 침전의 이유로 보고됨.(Chen L et al., 2016)
- Hunter value인 L, a, b 및 color difference 인 ΔE 값을 측정 한 결과, 시간이 지날 수록 제품의 밝명도를 나타내는 L값은 28.35~28.57, 적색도의 a값은 -0.10~0.38, 황색도 b값은 0.13~0.78 및 전반적 색차(ΔE) 값은 0.06~0.78로 온도에 따라 유의적으로 증가 또는 감소하는 경향을 관찰할 수 없었음.

표 123. 유기농 커피라떼 시간별 품질요소 변화

Time (h)	당도	염도	색도				일반세균 및 대장균군
			L	a	b	ΔE_{ab}	
0	11.33±0.11	10.00±0.00	36.67±0.25	4.98±0.39	6.72±0.38	56.19±0.12	ND
1	11.33±0.05	10.06±0.11	36.66±0.06	4.88±0.13	6.64±0.11	56.16±0.02	ND
2	11.30±0.21	10.10±0.10	36.63±0.07	4.90±0.11	6.63±0.12	56.19±0.03	ND
3	11.26±0.15	10.03±0.05	36.63±0.01	4.78±0.03	6.53±0.04	56.17±0.02	ND
4	11.42±0.12	10.13±0.05	37.16±0.12	5.14±0.19	7.19±0.24	55.85±0.04	ND
5	11.30±0.00	10.00±0.00	36.95±0.14	5.09±0.27	6.94±0.27	55.97±0.05	ND
6	11.10±0.27	10.03±0.05	36.95±0.10	4.94±0.13	6.89±0.14	55.95±0.07	ND
7	11.23±0.05	10.00±0.00	36.70±0.05	4.58±0.09	6.49±0.05	56.07±0.03	ND
8	11.26±0.05	10.03±0.05	36.48±0.06	4.67±0.09	6.31±0.07	56.24±0.04	ND
9	11.23±0.05	10.00±0.00	36.77±0.12	4.78±0.20	6.59±0.17	56.37±0.53	ND
10	11.30±0.00	10.06±0.05	36.61±0.06	4.63±0.11	6.39±0.11	56.14±0.03	ND
11	11.50±0.05	10.27±0.05	36.62±0.13	4.93±0.12	6.56±0.14	56.18±0.08	ND

- 당도와 염도는 각각 11.33~11.50 범위와 10.00~10.27 범위 사이로 차이가 관찰되지 않았으며 일반세균 및 대장균군 역시 모든 시간별 시료에서 관찰되지 않았음

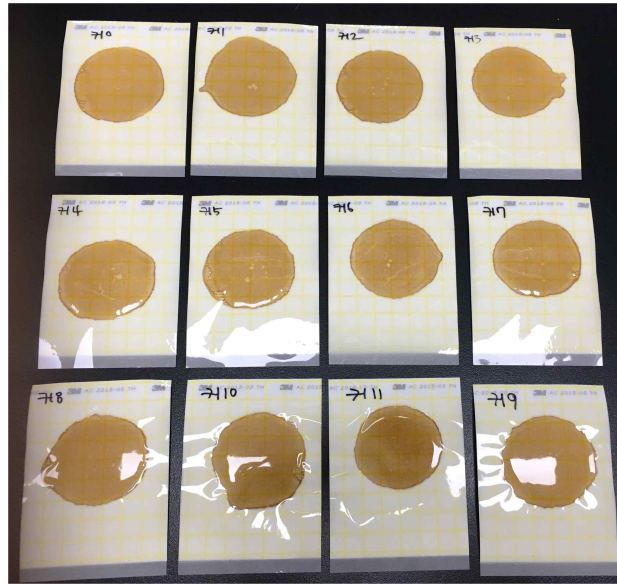


그림170. 유기농 카페라떼 미생물 검사결과.

- pH의 경우, 초기 시료 6.57 ± 0.01 에서 6.15 ± 0.00 로 서서히 낮아지는 경향을 나타내었음

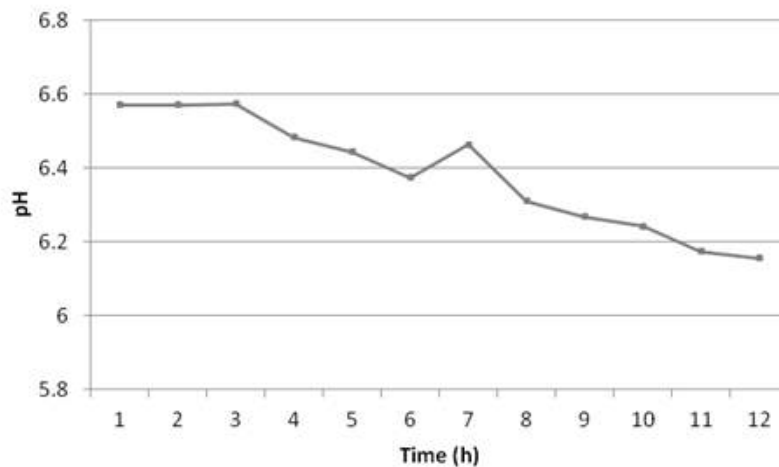


그림171. 유기농 커피라떼 시간별 품질요소(pH)의 변화 그래프.

- 앞서 제시한 바와 같이 커피제품에서의 pH는 커피음료의 향미에 영향을 주며 관능적 선호도와 연관되어 coffee brew의 pH변화 차이가 약 0.14 수준에서도 시료에 대한 소비자 rejecting비율이 약 80% 차이가 보고되었고(Manzocco L,2007) 본 실험결과에서도 초기시료 6.57 ± 0.01 에서 6.15 ± 0.00 로 약 0.46의 변화를 나타내어 저장기간에 따라 관능적으로 영향을 미칠것으로 생각됨.
- 커피 제품은 상이한 열화 반응을 겪고, 환경 변수에 대해 상이한 감도를 가지며, 따라서 상이한 저장 수명을 갖음 이러한 이유로, 구운 인스턴트 액체 커피와 관련된 안정성 문제는 별도로 논의가 필요함. 그러나 모든 커피 제품의 공통된 요소는 구성요소들의 복잡성이며 현재, 볶은 커피에 존재하는 대부분의 화합물의 구조는 대부분 커피 음료에 부유되거나 가용화되어 완료되지 않고 이것은 저장 중에 커피 제품의 품질 손실에 영향을 미치는 원인과 변수에 대한 과학적 근거가 여전히 부적절한 이유로 알려져 있음. 일반적

으로, 커피 제품은 저장 중에 특유의 특성을 잃지 만, 대부분의 경우 이러한 바람직하지 않은 변화의 근원 인 화학적 및 물리적 인 사건에 대해서는 거의 알려지지 않았음.(Nicoli MC. 2009)

- 또한, 표 117에 제시한 바와 같이 커피 농축 물 및 음료의 유통 기한에 대한 데이터는 훨씬 적으며 시장에 유통되는 제품을 검토하면 커피 음료의 유통 기한은 성분 및 특히 가용성 고형물에 따라 매우 다름을 확인할 수 있음, 대부분의 음료는 약 6 개월 정도의 유통 기한을 판매를 위하여 제시하고 있음.
- 그림 172에서 알 수 있듯이, 수소 이온 형성의 온도 의존성은 커피 액체 (a_w 0.99), 커피 농축 물 (a_w 0.33) 및 동결 건조 커피 (a_w 0.01)에 대한 Arrhenius 방정식에 의해 잘 설명되었으며 커피 액체와 농축액의 경우 Arrhenius 모델은 0°C 이하의 다양한 보관 온도에서 품질 저하 속도를 정확하게 예측함. 회귀 분석(그림 172)에 의해 계산 된 명백한 활성화 에너지 및 주파수 계수는 테스트 된 실험 범위의 모든 온도에서 수소 이온 형성의 명백한 0 차 반응 속도를 평가하는 데 사용될 수 있으며, 이러한 값은 최종적으로 Eq. 3 수소 이온 농도 한계가 주어지면 실제 보관 조건에서 제품의 저장 수명을 예측 가능함

표 70. pH limit of coffee brew in correspondence of increasing percentages of consumer rejecting the product(elaborated from Manzocco L and Nicoli MC., 2007)

Consumer rejecting the sample(%)	pH±95% confidence interval
10	5.22±0.03
25	5.19±0.03
50	5.14±0.02
75	5.12±0.02
90	5.08±0.04

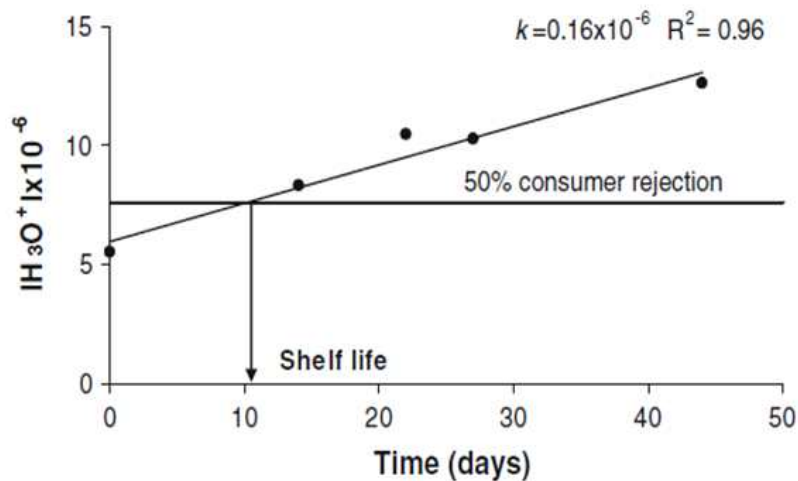


그림172. Hydrogen ion concentration of the air-packed coffee brew having 15% (w/w) solid concentration as a function of storage time at 10C. Figure also shows hydrogen ion concentration limit in correspondence of 50% consumer rejection and relevant shelf life (elaborated from Manzocco L and Nicoli MC., 2007).

- 결론적으로,
 - 따라서 미생물학적으로는 상온 유통이 충분히 가능하다고 판단되지만 품질측면에서 검토한 결과 저장기간에 따라 관능적 특성이 저하될 것으로 사료됨.
 - 그러나, 커피의 제품의 저장수명 예측은 품질 저하에 영향을 줄 수 있는 다양한 메커니즘으로 인해 복잡한 인자들의 작용으로, 각각의 상이한 커피 유도체에 대한 효율적으로 실제로 허용 가능한 실험 데이터를 제공하기 위해서는 제품의 특성에 맞는 잠재적으로 품질에

영향을 미칠수 있는 인자들에 대한 보완실험이 실시되어야 할 것임.

라) 공정분석 및 개선방안 제시

- 제품개발 컨셉으로 주관기관에서는 기존의 커피음료의 유화제(카제인나트륨)를 협동에서 개발한 천연유화제를 첨가물로서 첨가하여 유기농 커피음료 제품을 제조하고자 하였으며, 이에 규격서 및 공정도를 분석하고 문헌을 참고하여 개선방향을 제시함
- 주관에서 제시한 개발 제품 및 제품규격서와 공정도는 아래그림과 같음



그림173. 유기농 커피음료 시제품.



그림174. 유기농커피라떼 (좌)제품규격 (우)제조공정도.

- 첫 번째로 시장조사를 실시하여 국내 커피음료 제조사 및 제품을 분석하여 아래 표에 제시하였으며 개발 유기농 커피라떼와 유사한 시중제품에 대하여 완제품규격에 제시된 이화학적 특성 및 particle size distribution 분석을 실시함.

표 124. 국내 시판 커피음료

제품명	사진	내용량	원재료명 및 함량	유통기한	제조사
렉스비 마일드		175 ml	정제수, 백설탕, 혼합분유(탈지분유,유청분말,내일라드산)인스턴트커피(브라질 50%,케트남50%),전지분유(국산),코코아분말,탄산수소나트륨,유화제,합성착향료(초콜릿향)	제조일로부터 12개월	롯데칠성음료(주),우일음료(주),(주)네이처셀
맥스웰하우스		150 ml	맥스웰하우스커피우유액(고형분8.0%이상,커피원두:수입산)8.24%,정제수,백설탕,유크림(국산),탈지분유,탄산수소나트륨,지방지방산에스테르		동서식품(주)
칸타타프리미얼라떼		175 ml	칸타타원두커피우유액42%(에티오피아50%,콜롬비아30%,브라질20%),정제수,우유15%(국내산),백설탕,혼합분유(탈지분유,유청분말),탄산수소나트륨,합성착향료(커피향,우유향),유화제,L-아스코르빈산나트륨,커피고형분0.841%	제조일로부터 12개월	롯데칠성음료(주)
맥실티오피마스티라떼		200 ml	맥실티오피마커피우유액(고형분5.0%이상,콜롬비아산)0.00%,브라질산(21%)12.0%,정제수,우유(국내산)15%,백설탕,유크림,탈지분유,탄산수소나트륨,지방지방산에스테르,비타민C	제조일로부터 15개월	동서식품(주)
오가닉월드브루		330 ml	정제수,오가닉월드브루우유액(고형분18.5%이상,콜롬비아산70%,에티오피아산30%)8.5%		(주)서울우유
유기농스워드블랙		340 ml	유기농원두커피우유액(고형분2.5%,콜롬비아)28%,정제수,유기농설탕,비타민C	단종	(주)로성다원

표 125. 국외 시판 커피음료

제품명	사진	내용량	원재료명 및 함량	유통기한	제조사
블루보틀 드브루		238 ml	water, organic roasted coffee, time	제조일로부터 2개월(냉장보관)	블루보틀
오가닉 프렌치 로스트 커피 농축액		946 ml	water, organic coffee (물또는 우유와 희석)	제조일로부터 12개월	TRADER JOE'S
UCC 밀크커피		250 ml	커피 2.4%, 탈지분유(우유) 2.5%, 전지분유(우유) 2.3%, 설탕 5.2%, 자당지방산에스테르0.003%,유당(우유)1%, 탄산수소나트륨 0.14%,정제수88.37%	제조일로부터 6개월	U.C.C H.Y.O.G.O DRINK FACTORY

○ 시중제품 분석결과,

- 국내 제품의 경우 정제수, 백설탕 및 혼합분유, 유크림, 유화제, 방부제 및 합성착향료등 첨가 되어 있었으며 유통기한은 제조일로부터 12~15개월이었음 오가닉 제품도 출시되고 있었는데 정제수와 원두추출물만 함유된 콜드브루 제품이었음
- 국외 제품의 경우 오가닉 제품이과 캔커피음료제품의 경우 국내제품과 비슷한 원재료로 구성되어 있었으며 유통기한은 2~12개월이었음.





○ 유기농 커피음료 제품의 경우 출시된 제품들은 모두 콜드브루 블랙커피였으며 원재료로

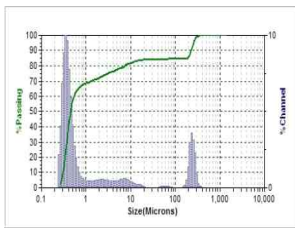
- 써 유기농 원두를 주재료로 정제수에 희석된 형태 또는 농축액형태로 판매되고 있었음
- 냉장 및 상온 유통에 대한 정확한 정보를 제공하고 있지 못하고 있으며, 영양 및 품질에 대한 정보를 확인하기 어려움
- 개발 제품에 대한 규격서에서는 상온유통 9개월로 규정
- 따라서 제품 표시 사항에 영양 및 품질 정보에 대한 내용을 표시할 것을 권함

○ 시중제품에 대한 품질특성을 측정하였으며 그 결과를 아래에 제시함

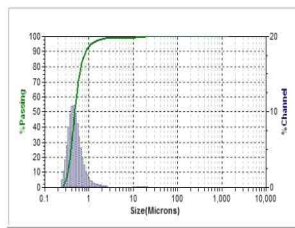
- pH는 6.59~6.87 수준, 당도는 9.10~9.95 brix, 염도는 7.90~8.80 및 색도는 아래 표와 같이 측정되었음
- 입도분포는 최소 0.450 μm에서 최대 0.568 μm로 측정되었음

표 126. 국내 시판 커피음료의 이화학적 분석결과

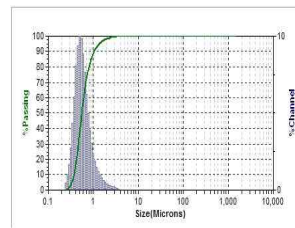
		레쓰비마일드	맥스웰하우스	칸타타프리미엄라떼	맥심티오피마스터
외관					
pH		6.59±0.02	6.79±0.00	6.76±0.00	6.87±0.00
당도		9.20±0.00	9.10±0.00	9.47±0.05	9.95±0.05
염도		7.90±0.00	7.90±0.00	8.40±0.00	8.80±0.00
색도	L	37.78±0.02	38.08±0.05	46.13±0.09	48.86±0.06
	a	4.65±0.06	4.66±0.14	8.25±0.03	7.87±0.02
	b	8.22±0.03	7.87±0.06	17.08±0.10	16.94±0.09
Eab		56.00±0.01	55.67±0.03	51.99±0.03	49.51±0.02



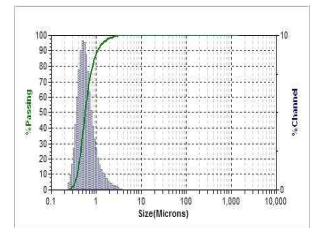
A: 0.450 μm



B: 0.479 μm



C: 0.560 μm



D: 0.568 μm

그림 175. 시중제품의 particle size distribution(D50).

A: 레쓰비마일드, B: 맥스웰하우스, C: 칸타타프리미엄라떼, D: 맥심티오피마스터

- 대상 개발 유기농 커피라떼 제품규격서 검토결과, 첨가물을 제외(0.5%이하)한 유기농 원료를 사용하여 유기농식품에 만족하는 것으로 판단되었음
- 본제품의 주원료로써 정제수, 설탕과 탈지분유 및 기타 첨가물(유화제, 향료 등)임. 원재료에 대한 분석결과
 - 제품의 93.07%가 유기농 원료로써 유기농 식품에 적합한 것으로 확인할 수 있었음
 - 물: 물은 본제품 총량의 거의 90%에 달하며, 이에 따라 식수에 대한 지침 및 생수부분의 공급 및 생산단계에서 화학적 및 미생물학적 오염제거 단계를 필수적으로 하며 품질이 보장되어야 함
 - 설탕: 설탕의 대부분의 음료류 주요 성분이며 품질관리에 주의를 기울여야 함. 미국 소프트 드링크 협회 (National Soft Drink Association)가 제품의 미생물 관리 기준을 설정한 것과는 대조적입니다 (중온 성 박테리아, 100 cfu, 효모, 10 cfu, 곰팡이, 10 cfu). 중금속 (As 1, Cu 2, Pb 0.5 mg / kg)과 잔류농약의 당 함량은 Codex에서 정한 기준과 양립해야한다
 - 향료: 향료는 음식에 바람직한 맛 또는 냄새를 부여 할 수있는 물질이다. 향료 소재는 가공되거나 가공되지 않았거나 종합적으로 제조 된 천연 원산 일 수 있다. 이러한 화학 물질은 다양한 유기 화합물을 포함하고 있으며, 이들의 사용은 Directive 88/388 EEC, 95/2 EC 및 그 개정법에 의해 규율됩니다.

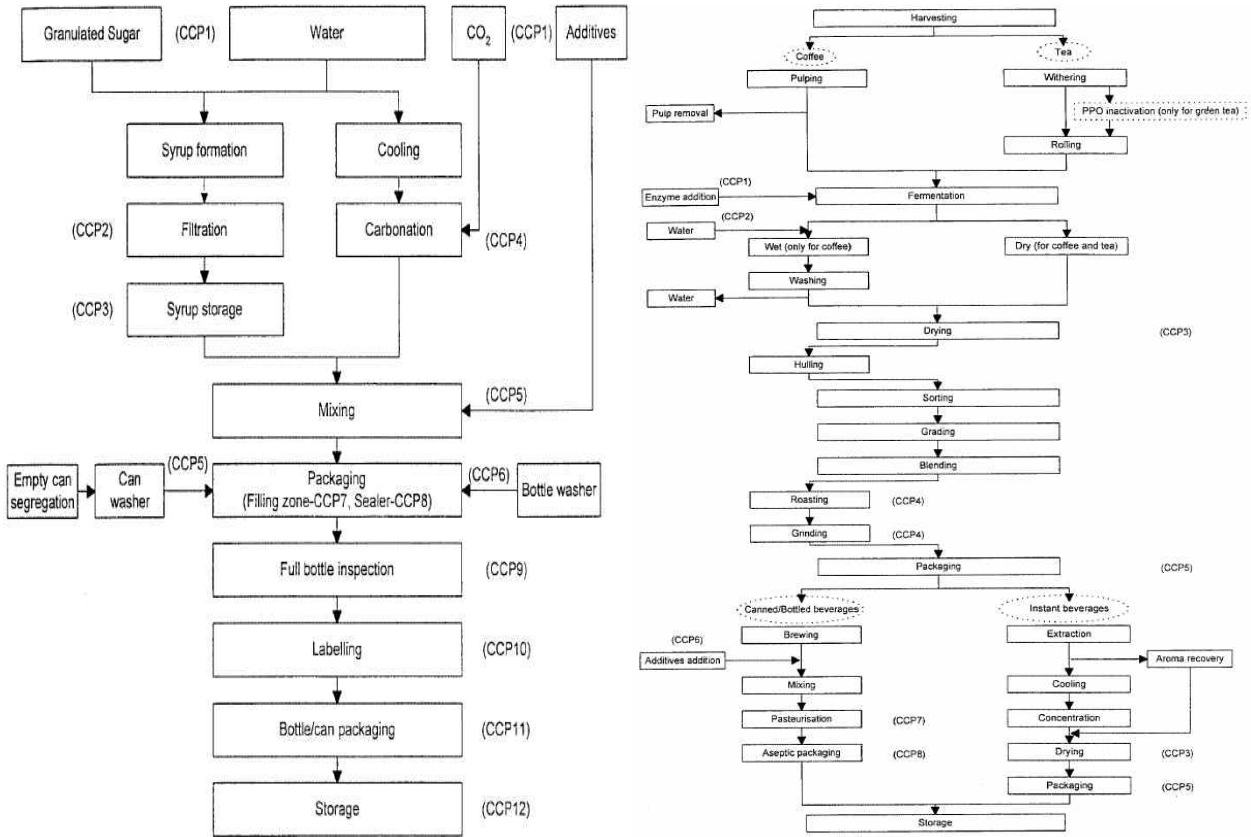


그림176. Process flow diagram of (a)soft drinks (b)tea and coffee pduction (Kourtis LK et al., 2014).

- 커피 및 차에 대한 Hazards, CCPs, CLs, Monotoring, Corrective Action, and Responsible Personnel 요소를 조사결과, 본 커피라떼와 같은 커피음료 제품은 캔 또는 병에 충전된 음료류의 한 종류로 커피 원료액을 첨가한 부분만이 차이점이라고 설명되어 짐.(Kourtis LK and Arvanitoyannis IS, 2007)
- 커피음료의 경우 최종제품의 품질의 1. 커피 대 물의 비율, 분쇄된 커피의 입자크기, 물의 온도, 혼합 및 추출시간등 여러 가지 변수에 의해 영향을 받으며(Payne WL et al., 1983, Eskin NM, 1990) 2. 제품에 설탕 또는 기타첨가를 첨가하는 것은 soft beverage에서 제시된 바와 같이 설탕에 대한 미생물학적 및 화학적 규격이 준수되어야 함.(표 126)(Kourtis LK and Arvanitoyannis IS, 2007)
- 또한, 높아진 pH로 인하여 제품에 미생물학적 위험성이 발생할 수 있으므로(Young TW., 1996) 무균 처리 및 포장에서 주요관리되어야 함.(Kourtis LK and Arvanitoyannis IS, 2007)

표 127. Synoptical presentation of Hazards, CCPs, CLs, Monotoring, Corrective Action, and Responsible Personnel for Soft drink

Process step	Hazards (P,M,C)	Control-Preventive measures	CCP parameter	Critical limits (CLs)	Monitoring procedures	Corrective actions	Responsible personnel
Incoming materials (CCP1)	M	Certified suppliers, routine microbiological examination of incoming	Microbiological status of 10g sugar	Mesophilic: 100 c.f.u. Yeasts: 10 c.f.u. Molds: 10	Microbiological control	Rejection of specific batch Change supplier,	Quality control manager

		batches		c.f.u.		Apply a decontamination step	
	C	Certified suppliers Routine chemical control	Additives purity Heavy metal presence in sugar Pesticide residue in sugar	100% As 1, Cu 2, Pb 0.5 (mg/kg) By pesticide as described by Codex	Chemical analysis	Faulty batch rejection Demetallisation	
Filtration (CCP2)	P	GMP	Removal of physical impurities	Reduced to an acceptable level	Visual inspection of filters, brix measurement	Reprocessing of specific batch	Quality control manager
Storage tanks (CCP3)	M	GMP, routine establishment inspection	Increase of initial microbial populations (in sugar and water)	Set by the specific plant	Microbiological control	Reprocessing of faulty batches, rejection, equipment disinfection	Quality control manager
Addition of CO ₂ (CCP4)	C	Routine machinery standardisation	Prescribed quantity	6.8 0.1 g/l	Measuring CO ₂ pressure	Machinery standardisation	Technical manager
Mixing (CCP5)	P	Routine machinery standardisation	Brix measurement	7.5 0.1°Bx	On-line refractometers	Machinery standardisation	Technical manager
	C	Establish monitoring procedures	Maximum quantities of additives	Prescribed by the Directives mentioned in text	With adequate methods (CP, EC, HPLC)	Machinery standardisation, faulty batch rejection, dilution	Quality control manager
Bottle/can in-spector (CCP6)	C	GMP	Cleaning performance	No solids, no liquid remnants	Elaborate electronic recognition systems after CIP	Rewashing of bottles, CIP system inspection	Quality control manager
	P	Certified supplier, proper handling of bottles	Bottles proper for foods and drinks, bottles condition	Cracks/scratches absence	On-line visual control	Rejection of faulty bottles	Trained personnel
Bottle/can filler (CCP6)	C	Installation of control ling equipment on botthe CIP system	Contamination with detergents	Complete absence	Organoleptic examination of filled bottles	Batch rejection	Trained personnel
Bottle/can sealer (CCP7)	P	Correct installation of equipment	Blow-off effect	Occurrence reduced to an acceptable level	Control set sealing pressure	Automatic removal of destroyed bottles	Trained personnel
Bottle/can inspection (CCP8)	P	Regular inspection of machinery	Physical damage	Occurrence reduced to an acceptable level	On-line monitoring	Equipment standardisation	Technical manager
Labeling (CCP9)	P	Careful selection of etiquettes	Misplaced etiquettes	Reduced to an acceptable level	Visual checks, control of the equipment	Relabeling the specific batch	Trained personnel
Bottle/can packaging (CCP10)	P	Correct installation of equipment	Bottles condition during palletisation	Absence of rifts in the lute, crack or scratches	On-line visual control	Adjust the equipment parameters (speed, pressure)	Technical manager
Storage (CCP11)	M	Apply sterile air filtration system	S.aureus, E.coli, salmonella spp. Yeasts, molds, LAB, lactobacilli	Absence Specified by the plant	Microbiological analysis	Batch rejection, changing equipment disinfection, establish alternative heat treatment to the batch	Quality control manager

	C	Routine inspection of incoming materials, GMP	Toxic metal presence	As 0.2, Pb 0.3, Cu 5, Zn 5, Fe 15 (mg/Kg)	Chemical examination with AAS	Rejection of the specific batch, demetallisation of incoming materials	
--	---	---	----------------------	---	-------------------------------	--	--

128. Synoptical presentation of Hazards, CCPs, CLs, Monitoring, Corrective Action, and Responsible Personnel for Tea and Coffee Production

Process step	Hazards (P,M,C)	Control-Preventive measures	CCP parameter	Critical limits (CLs)	Monitoring procedures	Corrective actions	Responsible personnel
Enzyme addition (CCP1)	M	Certified suppliers, strictly follow the	Uninfected preparation	100% clean	Microbiological examination	Rejection of preparation, change supplier	Quality control manager
Washing (CCP2)	M	Routine inspection of water pH and microflora	pH limit for acetic bacteria development	4.5	Online pH examination	Procedure acceleration water disinfection	Quality control manager
	M,C	Chemical and microbiological water disinfection	Water quality	As mentioned in Directive 80/77 EEC	Chemical/microbiological analyses	Faulty batch rejection Examine disinfection procedures	
Drying (CCP3)	M	Full control of drying procedure	Moisture level	12% for coffee 2.5-3.5% for tea	Chemical analysis	Change time/temperature regime, continue drying	Quality control manager
	C	Certified suppliers, collaboration with the farmers	Pesticide residues	MRLs as described by Codex Alimentarius	Chemical analysis	Rejection of specific batch	Quality control manager
Roasting/ Grinding (CCP4)	M	Full control of drying procedure	Moisture level	5% for coffee	Chemical analyses	Continue dry processing	Quality control manager
Packaging (CCP5)	P	Routine batches inspection, Apply pesticides-insecticides	Foreign materials Insect infested beans	3% 10%	Regular batches visual inspection	Mixing with other batches, rejection	Trained personnel
		Certified suppliers, in person installation of visual inspection control of the packaging material	Packaging materials proper for food and drinks, Oxygen barrier	Absence of visual defects Specified by the plant	Visual on-line control Barrier examination	Rejection of faulty material	Trained personnel, Quality control manager
Additives (CCP6)	C	Certified suppliers	Additives purity	100%	Chemical analysis	Faulty batch rejection	Quality control manager
Pasteurisation (CCP7)	M	Running of pasteuriser according to program	S.aureus, E.coli, Bacillus spp., salmonella spp. Yeasts, molds, LAB, lactobacilli	Specified by the plant	Microbiological tests, on-line surveillance of pasteurisation	Repasteurisation of the batch	Quality control manager
	C	Inspection of the CIP system	Contamination with detergents	0	Chemical analyses of batches, examination of CIP system	Rejection of specific batch, reprogramming the CIP system	Quality control manager

* P, M, C, stand for physical, microbiological, and chemical hazards, respectively.

- 커피음료 제조시, 혼합 (CCP6)과정에서 최종 제품의 관능적인 품질을 보장하기 위해, 커피 원액 및 시럽과 물의 올바른 비율, 향과 외관 등을 신중하게 모니터링 해야 함. 모든 첨가제의 최대량은 HPLC 및 GC와 같은 방법으로 모니터링해야 하는 CCP가 구성되어야 하며 이 단계의 물리적 위험은 음료의 전반적인 모양과 소비자의 수용 가능성을 결정하는 brix 수준에 의해 측정 가능함
- 병입/보관/유통
 - 병 / 캔은 병 (캔) 크기에 따라 다양한 형태의 포장이 가능하며 이에 따라 파손 및 움푹 들어간 캔등의 완제품의 포장형태의 변형에 영향을 미칠 가능성이 있음.
 - 보관 시, 완제품은 화학적, 미생물학적, 관능검사를 거쳐 특성이 규격을 충족하는지 확인해야하여 식약처 커피음료의 기준규격에 따라 미생물학적 한계는 세균 및 대장균 균이 표 126에 제시한 바와 같이 허용 수준이하이어야 하며 중금속의 허용 수준 납(mg/kg)2.0 이하, 주석(mg/kg) 150 이하 및 타르색소가 검출되어서는 안 됨.
- 결론적으로,
 - 유기농 커피음료를 생산할 업체는 유기농 음료 제품을 생산하고 있으므로, 생산 관련 HACCP 및 위생관리를 철저히 하는 업체로 판단되어 4가지 일반요건은 충족되리라 사료 됨
 - 가공원료에 대한 6가지 기준을 검토한 결과, 유기농 인증 원료를 사용하고 있으므로 잔류 농약의 문제는 없다고 판단되었고, 다만 새로이 첨가되는 첨가물인 천연유화제는 천연물 유래 성분으로 첨가물 개발 기준에 적합하며 사용량이 아주 미미(3% 이하)하므로 기준에 적합하다고 판단
 - 가공방법에 대한 기준을 검토한 결과 가공기술(물리적 처리로서 혼합, 가열살균 및 여과, 충전, 밀봉 및 냉각 등의 공정 선택) 뿐만 아니라 5가지 기준을 모두 충족함
 - 그러나 문헌조사를 참고한 바 혼합과정에서 최종 제품의 관능적인 품질을 보장하기 위해, 커피원액 및 시럽과 물의 올바른 비율, 향과 외관등을 신중하게 모니터링하는 관리기준이 필요함.

다. 연구개발결과 성과

(1) 유기가공식품용 소재 5건 및 제품 개발

(가) 유기가공식품용 칼로리조정 글루코만난 겔 개발(1차년도)

1) 기술적 성과

가) 유기가공식품 조건에 맞는 제조방법 개발

유기가공식품용 칼로리조정제 개발을 위해 곤약정분을 수급하고, 글루코만난 정량법을 확립하여 규격관리를 할 수 있도록 함으로써 재현성 있는 소재관리를 할 수 있도록 하였으며, 유기가공식품의 제조공정을 개발하여 최종 제품을 제조함.

- 유기가공식품용 글루코만난 칼로리조정제로써 control 대비 이취(TMA)량 약 70% 감소시킨 글루코만난 겔 제조 및 해당 내용 논문출판



ARTICLE

Effect of fermented vinegar on the reduction in trimethylamine in konjac glucomannan gel

Hye-yeon Kim¹ · Se-hee Hwang² · Jin-hee Lee¹

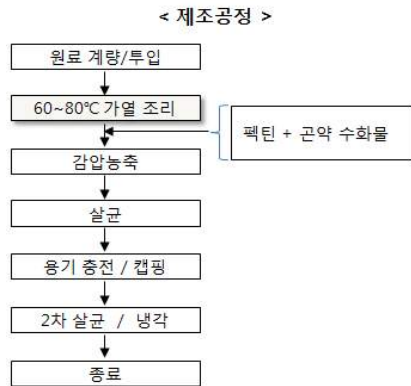
Received: 17 February 2017 / Accepted: 13 April 2017 / Published online: 26 April 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

○ 소재생산 및 최종 제품 규격서 발급

제조사 명	완제품검사규격	문서번호	Rev.00																																																	
	유기가공식품용 곤약	제정일자	제정일자																																																	
<p>1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 유기가공식품용 곤약의 제품검사규격에 대하여 규정한다.</p> <p>2. 제품설명 유기가공식품용 곤약이라 함은 곤약 성분 4%(경수 대비)와 65-70℃ 경수를 교반하여 1차 경화한 뒤 45℃ 이하로 냉각 시켜 수산화칼륨 용액(수산화칼륨분말 100g, 경수의 2% → 경수 50g)을 넣고 300rpm에서 10분 교반 후 1차 경화 시킨 후 1차 수확된 용액의 용도가 100%에 도달할 때까지 1차 경화를 위해 1% 건조 초산에 10분 교반 후 용액 수 100%에 도달 시킨 후 1% 건조 초산을 충전제로 곤약을 원지까지 처리하여 보관된 제품을 칭함.</p> <p>3. 원재료명 곤약분말, 물, 수산화칼륨, 발효초산</p> <p>4. 제품규격기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사 방식</th> <th>조건</th> <th>시험 방법</th> <th>검사 주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">기 중 및 규 격</td> <td>성 상</td> <td>고유한 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>중금속</td> <td>3.0 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>음성 (음진, 민물만 제품에 한함)</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>대르세소</td> <td>검출되어서는 아니된다.</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">표 시 기 준</td> <td>pH</td> <td>pH 5 이하</td> <td>백 검 사</td> <td>N=1 식품공전 시험방법 에 따른다.</td> <td>생 산 시</td> </tr> <tr> <td>포장(실질)상태</td> <td>포장지에 분광, 누설, 파손과 포장 상태에 이상이 없어야 하며, 곤약 분말의 이물질이 들어가지 않도 록 되어있어야함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">표 시 기 준</td> <td>내용량</td> <td>표시중량 100% 이상</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>4℃ 보관 시 제조일로부터 1년</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>				항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 방법	검사 주기	기 중 및 규 격	성 상	고유한 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.				중금속	3.0 이하				대장균군	음성 (음진, 민물만 제품에 한함)				대르세소	검출되어서는 아니된다.				표 시 기 준	pH	pH 5 이하	백 검 사	N=1 식품공전 시험방법 에 따른다.	생 산 시	포장(실질)상태	포장지에 분광, 누설, 파손과 포장 상태에 이상이 없어야 하며, 곤약 분말의 이물질이 들어가지 않도 록 되어있어야함.				표 시 기 준	내용량	표시중량 100% 이상				유통기한	4℃ 보관 시 제조일로부터 1년			
항 목	규 격	검사 방식	조건	시험 방법	검사 주기																																															
기 중 및 규 격	성 상	고유한 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.																																																		
	중금속	3.0 이하																																																		
	대장균군	음성 (음진, 민물만 제품에 한함)																																																		
	대르세소	검출되어서는 아니된다.																																																		
표 시 기 준	pH	pH 5 이하	백 검 사	N=1 식품공전 시험방법 에 따른다.	생 산 시																																															
	포장(실질)상태	포장지에 분광, 누설, 파손과 포장 상태에 이상이 없어야 하며, 곤약 분말의 이물질이 들어가지 않도 록 되어있어야함.																																																		
표 시 기 준	내용량	표시중량 100% 이상																																																		
	유통기한	4℃ 보관 시 제조일로부터 1년																																																		
<p>5. 로트의 크기 - 1회 생산분량을 1검사 로트로 한다.</p> <p>6. 시료채취방법 - 생산분량별 3ea 채취</p> <p>7. 로트의 합부대상 - N=1, C=0인 경우 함격으로 한다.</p> <p>8. 포장 및 포장단위 - 식용위생법 표시사항(제품명, 내용량, 유통명 및 소재, 유통기한, 명명허가번호, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.</p> <p>9. 보관 및 보관기간 - 보관 온도 : 4℃ - 보관 기간 : 1년</p> <p>※ 위의 사항 외 식품공전 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 항목을 또는 검각물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.</p>																																																				

2) 산업적 성과

가) 유기가공식품(딸기잼) 적용



나) 유기가공식품용 짠맛증진제 개발(1차년도)

○ 기술적 성과

- 유기가공식품 조건에 맞는 제조방법 개발

유기가공식품의 제조공정 개발 및 유기가공식품용 원재료 수급 및 유기가공식품의 제조공정 개발을 통해 APH를 생산한 후 spray drying을 통해 수율 70%이상, 조단백질 함량이 74%이상인 짠맛증진소재를 생산함.

- 유기가공식품용 짠맛증진제는 짠맛을 증진한다고 알려진 glutamic acid, arginine, lysine의 함량이 시중제품들에 비해 2~10배 정도 많이 생성된 것을 확인. 짠맛증진제로 알려진 8종의 arginyl-dipeptide 중 Arginyl-proline의 함량은 184.6 ng/mL로 가장 높았으며, Arg-Gly, Arg-ser, Ala-Arg/Arg-Ala 순으로 측정되어 짠맛증진제 효과를 확인할 수 있음.

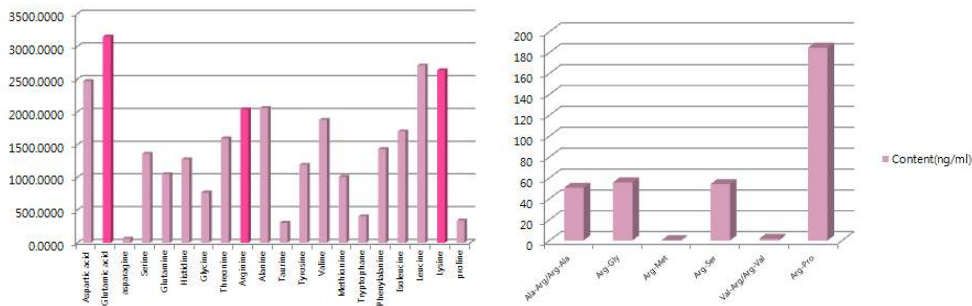


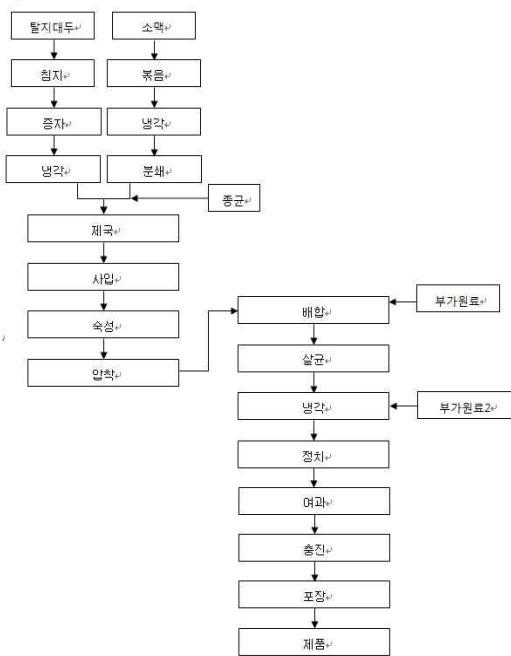
그림177. Content of free aminoacid and arginyl-dipeptides in hydrolysate at optimum condition

- 소재생산 및 최종 제품 규격서 발급

제조사 명	완제품검사규격		문서번호	Rev.00																																																																																																																
	원재료검진제		제정일자	페이지																																																																																																																
			개정일자	1/2																																																																																																																
<p>1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 완제품(유기가공용 소재)의 제품검사규격에 대하여 규정한다.</p> <p>2. 제품설명 원재료검진제 원은 밀짚에 물을 거른 후 알약/호소를 사용하여 가수분해하여 제조한 가수분해물을 분말화 한 제품으로, 식품에 첨가하여 반죽을 증진시킬 수 있도록 제조된 것을 말한다.</p> <p>3. 원재료명 밀지 33.16%(국산), 물 66.31%, 상업효소(Alcalase® 2.4 L-Flavourzyme™ 500 MG를 1:5(w/w)) 0.53%</p> <p>4. 제품규격기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>기준</th> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사 방법</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사 주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5">공통 기준</td> <td>성 상</td> <td>고유의 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>납</td> <td>0.5 ppm 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>카드늄</td> <td>0.2 ppm 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>수은</td> <td>0.5 ppm 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>메틸수은</td> <td>1.0 ppm 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="10">과거 기준</td> <td>입자크기</td> <td>8 ± 1 um</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>수분활성도</td> <td>0.2 ± 0.05%</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>조단백질</td> <td>70% 이상</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>흡습성</td> <td>0.15 ± 0.05%</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>진관</td> <td>개발사 제품 표면 및 내부에 잔류물(물방울 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.</td> <td>체크검 사</td> <td>N=1</td> <td>식품공전 시험방법에 따른다.</td> <td>생산 시</td> </tr> <tr> <td>세균수</td> <td>100 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>말발성대장균</td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E.Coli O157</td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>포장(실링)상태</td> <td>뚜껑이 불량, 누출, 파손과 포장상 태에 더위침 없이 깨끗해야 함. 개봉시 진공상태 유지할 확인함 을 있어야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">표시 기준</td> <td>내용량</td> <td>표시중앙 100% 이상</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월로, 년월일이 두괄화해 인식가능해야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					기준	항 목	규 격	검사 방법	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	공통 기준	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.					납	0.5 ppm 이하					카드늄	0.2 ppm 이하					수은	0.5 ppm 이하					메틸수은	1.0 ppm 이하					과거 기준	입자크기	8 ± 1 um					수분활성도	0.2 ± 0.05%					조단백질	70% 이상					흡습성	0.15 ± 0.05%					진관	개발사 제품 표면 및 내부에 잔류물(물방울 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.	체크검 사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시	세균수	100 이하					대장균군	음성					말발성대장균	음성					E.Coli O157	음성					포장(실링)상태	뚜껑이 불량, 누출, 파손과 포장상 태에 더위침 없이 깨끗해야 함. 개봉시 진공상태 유지할 확인함 을 있어야 함.					표시 기준	내용량	표시중앙 100% 이상					유통기한	제조일로부터 24개월로, 년월일이 두괄화해 인식가능해야 함.				
기준	항 목	규 격	검사 방법	조건	시험 및 검사방법	검사 주기																																																																																																														
공통 기준	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이비, 이취 및 이물이 없어야 함.																																																																																																																		
	납	0.5 ppm 이하																																																																																																																		
	카드늄	0.2 ppm 이하																																																																																																																		
	수은	0.5 ppm 이하																																																																																																																		
	메틸수은	1.0 ppm 이하																																																																																																																		
과거 기준	입자크기	8 ± 1 um																																																																																																																		
	수분활성도	0.2 ± 0.05%																																																																																																																		
	조단백질	70% 이상																																																																																																																		
	흡습성	0.15 ± 0.05%																																																																																																																		
	진관	개발사 제품 표면 및 내부에 잔류물(물방울 등)이 없어야 함. 생산 및 유통 중 육안으로 수시 검사함.	체크검 사	N=1	식품공전 시험방법에 따른다.	생산 시																																																																																																														
	세균수	100 이하																																																																																																																		
	대장균군	음성																																																																																																																		
	말발성대장균	음성																																																																																																																		
	E.Coli O157	음성																																																																																																																		
	포장(실링)상태	뚜껑이 불량, 누출, 파손과 포장상 태에 더위침 없이 깨끗해야 함. 개봉시 진공상태 유지할 확인함 을 있어야 함.																																																																																																																		
표시 기준	내용량	표시중앙 100% 이상																																																																																																																		
	유통기한	제조일로부터 24개월로, 년월일이 두괄화해 인식가능해야 함.																																																																																																																		
<p>※ 이물은 밀레, 포제조리, 콩구조리, 채로, 볶장의 일부 등.</p> <p>5. 로트의 크기 - 1회 생산분량을 1관사 로트도 한다.</p> <p>6. 시료채취방법 - 생산분량별 1cm 채취</p> <p>7. 로트의 할부관법 - N=1, C=0인 경우 할부로 한다.</p> <p>8. 포장 및 포장단위 - 직용위생법 표시사항(제품명, 내용량, 내용명 및 소재시, 유통기한, 영업허가번호, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.</p> <p>9. 보관 및 보존기간 - 상온보관 시 24개월</p> <p>※ 위의 사항 외 식품공전 관련 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 함유물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.</p>																																																																																																																				

○ 산업적 성과

- 유기가공식품(양조간장) 적용



제품명	염도낮은 유기농 양조간장
원재료명 및 함량	유기농 원료함량 95.34%(물, 식염 제외함량)/정제수, 유기농탈지대두17.3%(중국산), 천일염(국산), 유기농소맥13.2%(밀), 유기농물엿9.07%, 염미강화제, 주정, 효모분말, 중국, 영양강화제(이상 물, 식염 포함 함량)
식품의 유형	양조간장
제조업소명 및 주소	제조사 : 순창장류 / 전북 순창군 순창읍 민속마을길 61-17 유통판매원 : 서울특별시 동대문구 신설동 천호대로 26
유기농 함량	97.34 %
유통기한	제조일로부터 24개월
내용량 및 열량	840 ml / PE
알레르기 유발물질 표시	대두, 소맥
보관방법	서늘하고 건조한 곳에 보관하시고, 개봉 후에는 냉장보관 하시는 것이 좋습니다.

다) 유기가공식품용 단백질효소개발(2차년도)

○ 기술적성과

- 유기가공식품 조건에 맞는 제조방법 개발

유기가공에 적합한 원료와 생산공정에 맞는 단백질효소를 유기농 키워를 활용하여 단백질 효소를 개발완료함. 단백질 효소 역시 실험실에서 제조한 후 내용량 생산을

하기 위해 생산현장(조은푸드텍) 설비를 활용하여 제조 완료함. 최종 생산된 단백질 분해 효소 유기가공식품 소재는 대상의 유기농 현미식조 제조시 발생하는 청징화를 위해 활용 하고자 제품에 적용함.

- 유기가공식품용 단백질분해효소는 유기농 키위에서 연구된 추출방법에 따라 추출하여 제조 하였으며, 효소의 안정화를 위해 유기가공 적성에 알맞은 gum물질을 탐색하여 guar gum, locust bean gum을 적용시킨 후 효소의 활성을 비교한 결과 guar gum, locust bean gum 을 첨가한 효소 모두 native enzyme에 비해 유의적으로 증가된 효소활성을 보였으며 온도, pH에서도 안정성 향상을 확인함. 해당 내용 논문 출간.

FOOD BIOTECHNOLOGY
2017, VOL. 31, NO. 3, 162-176
<https://doi.org/10.1080/08905436.2017.1331451>



Enhanced stability of crude protease from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) by adding hydrocolloid for organic processed food uses

Gyeong-mi Yuk ^{1b}, Se-hee Hwang ^{1b}, and Jin-hee Lee ^{1b}

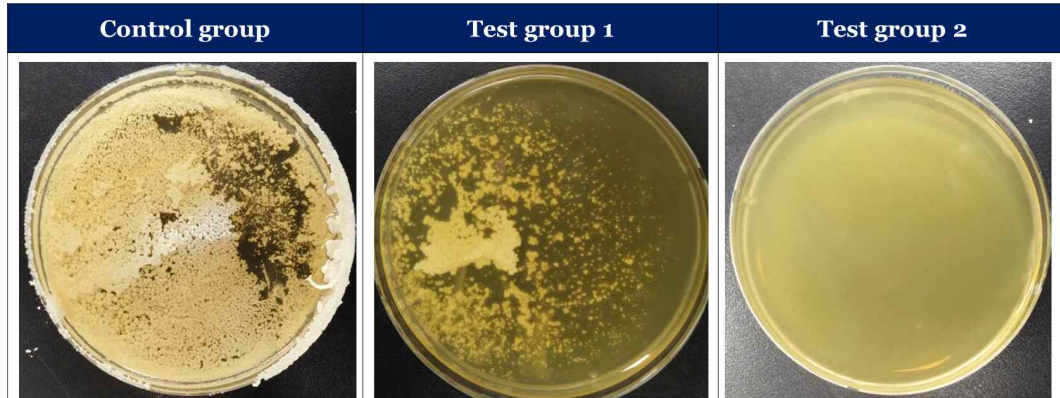
^aDepartment of Food Science and Biotechnology, CHA University, Seongnam, Gyeonggi-do, Republic of Korea; ^bCollege of Pharmacy, Chungang University, Dongjak-gu, Seoul, Republic of Korea

○ 소재생산 및 최종 제품 규격서 발급

제조자 명	완제품검사규격		문서번호	Rev.00																																																																		
	키위 추출물		제정일자	페이지																																																																		
	개정일자		1/2																																																																			
<p>1. 적용범위 이 규격서 당사의 제품인 키위 추출물의 제품검사규격에 대하여 규정한다.</p> <p>2. 제품명칭 - 명칭지침 이하 명칭, 기호, 포장 또는 조립한 식품을 장기보존할 목적으로 병용되며, 냉동보관하는 것으로서 용기, 포장에 실은 식품을 말한다. 기호하지 않고 실리는 병용식품은 별도의 기호명칭 없이 그대로 실릴 수 있는 용도식품을 말한다. - 용도류에 관한 과일, 채소류 용어, 탄산음료류, 우유류, 발효음료류, 인삼,홍삼음료, 기타음료 등 용어를 목적으로 하는 식품 (단면 우유, 다량, 무지방-코팅분말 4% 이상인 용료는 제외)을 말한다. - 제빵소재에 관한 과일 또는 채소를 알갱이, 분쇄, 작입 등 물리적으로 가공하여 만든 저제품 또는 이에 적용 또는 적용할것을 가할 것을 말한다.</p> <p>3. 제조, 가공기준 냉동된 원료의 제품은 별도의 청정한 제조공장에서 위생적으로 실시해야 한다.</p> <p>4. 제품규격기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검사 방법</th> <th>조건</th> <th>시험 및 검사방법</th> <th>검사 주기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성 상</td> <td>고유의 색과 향미를 가지며 이취, 이취 및 이취가 없어야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>단백질(Ng/kg)</td> <td>0.05 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>카드람(mg/kg)</td> <td>0.1 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>세균 수(cfu/ml)</td> <td>1000이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>병원성 E. coli</td> <td>1000 이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>살모넬라</td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>보존료 (g/kg)</td> <td>연식당산 탄식당산나트륨</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>음성</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>연식당산나트륨</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					항 목	규 격	검사 방법	조건	시험 및 검사방법	검사 주기	성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이취, 이취 및 이취가 없어야 함.					단백질(Ng/kg)	0.05 이하					카드람(mg/kg)	0.1 이하					세균 수(cfu/ml)	1000이하					대장균군	음성					병원성 E. coli	1000 이하					살모넬라	음성					보존료 (g/kg)	연식당산 탄식당산나트륨						음성						연식당산나트륨				
항 목	규 격	검사 방법	조건	시험 및 검사방법	검사 주기																																																																	
성 상	고유의 색과 향미를 가지며 이취, 이취 및 이취가 없어야 함.																																																																					
단백질(Ng/kg)	0.05 이하																																																																					
카드람(mg/kg)	0.1 이하																																																																					
세균 수(cfu/ml)	1000이하																																																																					
대장균군	음성																																																																					
병원성 E. coli	1000 이하																																																																					
살모넬라	음성																																																																					
보존료 (g/kg)	연식당산 탄식당산나트륨																																																																					
	음성																																																																					
	연식당산나트륨																																																																					
<table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>단위</th> <th>규격</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>안식당산함량</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>소르비톨</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>소르비톨산염</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>소르비톨산함량</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>장출혈성 대장균</td> <td>n=5, c=0, m=0/25 g</td> <td></td> </tr> <tr> <td>프테아제 (unit/g)</td> <td></td> <td>0.05 이상</td> </tr> <tr> <td>포장(질량)단위</td> <td>포장지에 붙인 무게 과오와 포장상 판매 단량 및 용기 제조차이 합계 수치를 합쳐 무게가 들어가지 않도록 되어 있어야 함.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>내용량</td> <td></td> <td>표시수량 100% 이상</td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td></td> <td>-20°C 보관 시 제조일로부터 1년</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 이항은 열매, 포복조각, 궁극조각, 핵, 분쇄의 일부 등.</p> <p>5. 로트 크기 - 1회 생산분량을 1일 로트 로 한다.</p> <p>6. 시료채취방법 - 생산분량별 1ca 채취</p> <p>7. 로트의 할당량 - N=1, C=0인 경우 할격으로 한다.</p> <p>8. 포장 및 포장방법 - 식용위생법 표시사항(제조명, 내용량, 유효기간, 소재지, 유통기한, 양립사항)은, 원료명, 포장, 제법 등이 용이하게 표시되어 있어야 한다.</p> <p>9. 보라 및 보존기준 - 냉동제품을 해동시켜 실온 또는 냉장제품으로 유통시키지는 아니 하며, 실온 또는 냉장제품을 냉동시켜 냉장제품으로 유통시키지는 아니 한다. 다만, 제조일자 및 유통기한이 짧은, 먼 량, 소량일 경우, 냉동제품을 냉장제품으로 유통시킬 수 있으며, 제조일자 및 유통기한이 짧은(냉동제품으로서의 유통기한 이내)을 별도로 표시하여 유통시키는 경우는 제외한다. - 냉동된 냉동제품을 냉장제품으로 유통시키지는 아니 한다. 다만, 냉동수입물의 내장 등 비가시부위를 제거하기 위해 냉장하는 것은 그러하지 아니할 수 있으며 신속하게 냉동되어야 한다. - 이물이 혼입되지 않도록 주의하여야 함</p> <p>※ 위의 사항 외 식품공전 관련 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 항목을 또는</p>					항목	단위	규격	안식당산함량			소르비톨			소르비톨산염			소르비톨산함량			장출혈성 대장균	n=5, c=0, m=0/25 g		프테아제 (unit/g)		0.05 이상	포장(질량)단위	포장지에 붙인 무게 과오와 포장상 판매 단량 및 용기 제조차이 합계 수치를 합쳐 무게가 들어가지 않도록 되어 있어야 함.		내용량		표시수량 100% 이상	유통기한		-20°C 보관 시 제조일로부터 1년																																				
항목	단위	규격																																																																				
안식당산함량																																																																						
소르비톨																																																																						
소르비톨산염																																																																						
소르비톨산함량																																																																						
장출혈성 대장균	n=5, c=0, m=0/25 g																																																																					
프테아제 (unit/g)		0.05 이상																																																																				
포장(질량)단위	포장지에 붙인 무게 과오와 포장상 판매 단량 및 용기 제조차이 합계 수치를 합쳐 무게가 들어가지 않도록 되어 있어야 함.																																																																					
내용량		표시수량 100% 이상																																																																				
유통기한		-20°C 보관 시 제조일로부터 1년																																																																				
<p>참가품의 경우 필요 시 유한 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.</p> <p>※ 주의사항 - 냉장제품은 -20°C에서 이하에서이러며 해동된 후 냉장제품에서는 아니 된다. 제품은 4°C에서 냉장 보관하여 유통하거나 ice bath에 넣어 유통하여야 한다.</p> <p>10. 효소 활성 측정 방법 - 표준액 농도를 37°C water bath에서 진행하여 방법은 아래와 같다. - standard 물질은 L-tyrosine을 사용하였음. ※ 주의사항 1. 1% casein 용액 1mL 와 0.05M pH8.0 sodium phosphate buffer 2mL을 섞어 기질용액 제조 (기질용액은 총 3mL임) ※ 주의사항 - 1% casein 용액은 알칼리-케르라하여 사용하고 2시간 이내에 사용해야함 (기질의 변질 우려) - casein 용액은 0.05M pH8.0 sodium phosphate buffer에 녹여야 하며 stirring 시 온도를 상한 40°C 이하로 유지하여 하며, 5인 극시 냉장 보관하여야 함. 이 때 이물이 혼입되지 않도록 주의하여야 함. 2. 기질용액을 37°C에서 5분간 incubation 3. 반응시킨 기질용액에 1mL의 enzyme 넣은 후 37°C에서 30분간 incubation (enzyme의 활성은 30°C, 활성을 정하여 20분간 incubation 한다.) 4. 반응시킨 후, 반응 정지 위한 10% TCA solution 2mL을 넣은 후 30분간 incubation 5. 분쇄되지 않은 단백질용 키르기 비색 0.64um filter를 사용하여 여과시킴 6. 여과액 1mL에 0.05M 탄산수소나트륨 5mL, 4% bovin serum 1mL 을 넣어 알색시킨 후, 37°C에서 30분간 incubation ※ 위의 사항 외 식품공전 관련 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 항목을 또는 참가품의 경우 필요 시 유한 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.</p>																																																																						

○ 산업적성과

- 유기가공식품 식초 생산시 발생하는 당화액의 단백질 분해 및 청징화를 위해 유기가공식품용 단백질분해효소를 적용하여 당화액에서 단백질이 발생하지 않는 것을 확인하고 식초 생산시 적용함.



라) 유기가공식품용 당화효소개발(2차년도)

○ 기술적성과

- 유기가공식품 조건에 맞는 제조방법 개발

유기가공에 적합한 원료와 생산공정에 맞는 당화효소를 유기현미를 사용하여 당화효소를 개발완료함. Lab에서 개발된 당화효소는 생산현장(조은푸드텍)에서 대용량 생산을 하여 공정의 scale up을 확인함. 최종 생산된 당화효소 유기가공식품 소재는 대상의 유기농 현미식초 제조에 적용됨.

- 유기가공용 엿기름을 이용한 조효소로 끓는점보다 낮은 온도에서 기화되도록 하여 효소 활성을 최대한 유지시켜 농축 후 약 11배 이상으로 활성을 증가시킴. RSM을 통해 최적 당화조건을 설정하고, 다양한 기질의 당화액에서 유리당을 측정하고 알코올 발효를 통해 품질 차이가 없음을 확인함. 해당내용 논문 출판

Received: 2 December 2017 | Revised: 18 April 2018 | Accepted: 20 April 2018

DOI: 10.1111/jfbc.12581



FULL ARTICLE

WILEY *Journal of* Food Biochemistry

Saccharification and alcohol fermentation characteristics of barley malt preparations for use in organic processed food

Song-Yi Park¹ | Se-Hee Hwang² | Jin-Hee Lee¹

¹Department of Food Science and Biotechnology, CHA University, Seongnam, Gyeonggi-do, Republic of Korea

²College of Pharmacy, Chungang University, Dongjak-gu, Seoul, Republic of Korea

Abstract

Organic barley malt preparations were obtained for use as food additives in organic processed food. The malt preparations containing α - and β -amylases and microbial preparations containing both amylases were tested for their ability to convert starch to fermentable sugars and for supply-

○ 산업적성과

- 유기가공식품용 복합 엷기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도에 대한 특허 출원 및 등록

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2017.07.21
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(주) 최종번호(10810)
 출원번호 10-2017-0092613 (잠수번호 1-1-2017-0702095-83)
 출원인명칭 대상 주식회사(1-1998-001450-0) 외 1명
 대리인성명 황이남(9-1998-000610-1)
 발명자성명 이진희 황세희 박승이 김성필 김정혜
 발명의명칭 유기가공식품용 복합 엷기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도

특허청장

<<안내>>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : (01)(가라코드) + 잠수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고려번호 정보변경(영장), 변경 신고서를 제출하여 출원 이후의 각종 통지를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허청(www.kipo.go.kr) 또는 인터넷(다우로드) - 특허보안시스템(보안) 제5호 서함
4. 특허(실용신안등록) 출원인 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정하고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 정보안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허안내-PCT(다우로드)
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 외국특허(상표)권 등록비용(기술보유권관리청) : 우선권유지출금(출원시, 선출원이 미공개상태이면, 우선권유지출금 16개월 이내의 기간동안 상효형에 [의자크로소화기(PTO SB 39)]를 제출하거나 우리나라에 우호적 출원서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실등 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원번호 10-2010-0000000, 상표출원번호 40-2010-0000000
7. 출원인이 직권수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제33조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허취소사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

특허증
 CERTIFICATE OF PATENT

특허 제 10-1842152 호
 Patent Number

출원번호 제 10-2017-0092613 호
 Application Number
 출원일 2017년 07월 21일
 Filing Date
 등록일 2018년 03월 20일
 Registration Date

발명의 명칭 Title of the Invention
 유기가공식품용 복합 엷기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도

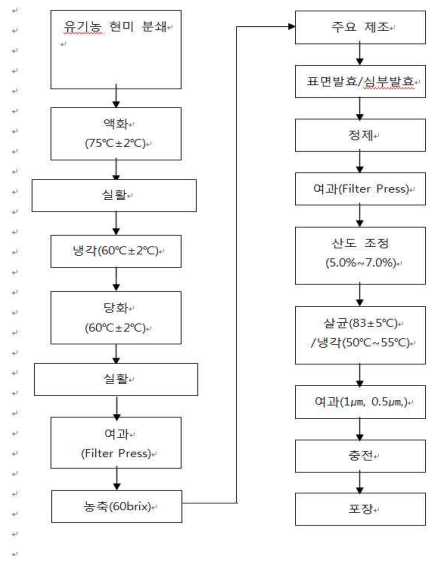
특허관청 Patent
 등록사청관에 기재

발명자 Inventor
 등록사청관에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
 This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.

2018년 03월 20일
특허청장
 COMMISSIONER,
 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
 성준모

- 유기가공식품(식초) 적용



제품명	청정원 유기농 현미식초
원재료명 및 함량	유기농 현미 22.25 % (국산), 정제수
식품의 유형	발효식초
제조업소명 및 주소	대상(주) 오산공장 : 경기도 오산시 가창로 595-66 본사 : 서울특별시 동대문구 신설동 천호대로 26
유기농 함량	100 %
유통기한	제조일로부터 24개월
내용량 및 열량	350 ml / 유리병
총산함량	초산으로써, w/v %, 4.0 ~ 8.0
보관방법	서늘하고 건조한 곳에 보관하시고, 개봉 후에는 냉장보관 하시는 것이 좋습니다.

마) 유기가공식품용 유화제 개발

○ 기술적 성과

- 유기가공식품 조건에 맞는 제조방법 개발

유기가공식품 유화제로써 유기농 우유에 열을 가해 구연산으로 카제인을 추출한 후 제이인산칼륨으로 수용화하여 동결 건조시킨 것임. 유화제는 생산현장(한국생명공학연구원 바이오상용화 센터)에서 대용량 생산을 하여 공정의 scale up을 확인함. 최종 제조된 유

화제 유기가공식품 소재는 모델식품(커피)에 적용하여 유화안정성을 확인함.

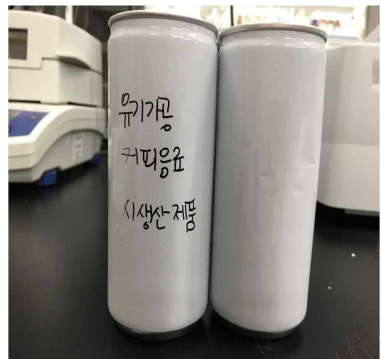
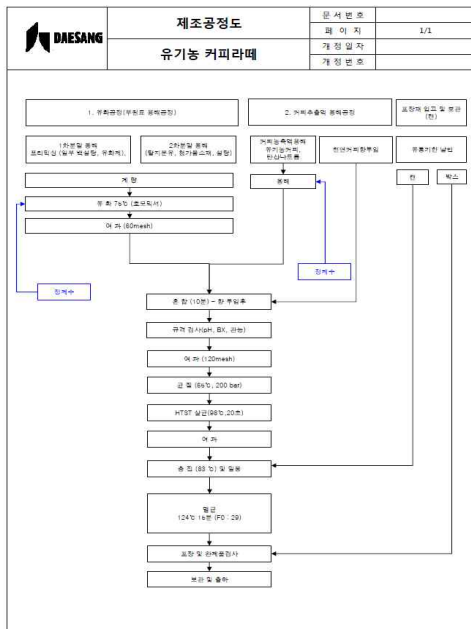
- 커피 크리머의 유화제로 사용되어온 카제인 나트륨을 대체하기 위해 유기가공식품의 첨가 허용물질을 검토하여 구연산과 제이인산칼륨을 선정했고 이를 활용하여 유기가공식품용 유화제를 제조함. 이후 카제인나트륨과 대조하여 유기가공식품용 유화제로 균질화한 식물성 경화유 emulsion에서의 물리화학 및 유화적 특성을 확인하여 대체 가능성을 확인함. 해당내용 논문 minor revision 진행 중

- 소재생산 및 최종 제품 규격서 발급

제조사 명	완제품검사규격		문서번호	Rev.00																																																																		
	유기가공용 유화제		제정일자	페이지																																																																		
			개정일자	1/2																																																																		
<p>1. 적용범위 이 규격은 당사의 제품인 카제인 추출물의 제품검사규격에 대하여 규정한다.</p> <p>2. 제품설명 카제인 추출물이라 함은 유기농 우유에 열을 가해 2M 구연산으로 카제인 겔트를 추출한 뒤 2M 제이인산칼륨으로 수용화 하여 동결 건조한 추출물을 칭함.</p> <p>3. 원재료명 유기농-우유, 구연산, 제이인산칼륨, 물</p> <p>4. 제품규격기준</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>규 격</th> <th>검 사 방 식</th> <th>조 건</th> <th>시 험 및 검 사 방 법</th> <th>검 사 주 기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성 상</td> <td>고유의 색과 향이론 가리며 이취 및 이물질이 없어야 함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>이 물</td> <td>식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물질을 함유하여서는 아니 된다.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>비실리스 세테우스</td> <td>g당 1,000이하</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>칼로스테라디올 퍼프린렌스</td> <td>n=5, c=0, m=0/25g</td> <td>세 크 검 사</td> <td>N=1</td> <td>식품공 전 시험방법에 따른다.</td> <td>생산 시</td> </tr> <tr> <td>황색포도당구글</td> <td>n=5, c=0, m=0/25g</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>대당굴</td> <td>N=5, c=1, m=0, M=10</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>단백질 함량 (%w/w)</td> <td>46±10 % (w/w)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>포장(상태)상태</td> <td>포장지에 불일, 누설, 파손과 포장상태에 미립질 등이 없어야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>내용량</td> <td>표시수량 100% 이상</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>생산 완료 시 제조일로부터 1년</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					항 목	규 격	검 사 방 식	조 건	시 험 및 검 사 방 법	검 사 주 기	성 상	고유의 색과 향이론 가리며 이취 및 이물질이 없어야 함.					이 물	식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물질을 함유하여서는 아니 된다.					비실리스 세테우스	g당 1,000이하					칼로스테라디올 퍼프린렌스	n=5, c=0, m=0/25g	세 크 검 사	N=1	식품공 전 시험방법에 따른다.	생산 시	황색포도당구글	n=5, c=0, m=0/25g					대당굴	N=5, c=1, m=0, M=10					단백질 함량 (%w/w)	46±10 % (w/w)					포장(상태)상태	포장지에 불일, 누설, 파손과 포장상태에 미립질 등이 없어야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.					내용량	표시수량 100% 이상					유통기한	생산 완료 시 제조일로부터 1년				
항 목	규 격	검 사 방 식	조 건	시 험 및 검 사 방 법	검 사 주 기																																																																	
성 상	고유의 색과 향이론 가리며 이취 및 이물질이 없어야 함.																																																																					
이 물	식품은 원료의 처리과정에서 그 이상 제거되지 아니하는 정도 이상의 이물, 오염된 비위생적인 이물, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물질을 함유하여서는 아니 된다.																																																																					
비실리스 세테우스	g당 1,000이하																																																																					
칼로스테라디올 퍼프린렌스	n=5, c=0, m=0/25g	세 크 검 사	N=1	식품공 전 시험방법에 따른다.	생산 시																																																																	
황색포도당구글	n=5, c=0, m=0/25g																																																																					
대당굴	N=5, c=1, m=0, M=10																																																																					
단백질 함량 (%w/w)	46±10 % (w/w)																																																																					
포장(상태)상태	포장지에 불일, 누설, 파손과 포장상태에 미립질 등이 없어야 함. 추출물 외의 이물질이 들어가지 않도록 되어 있어야함.																																																																					
내용량	표시수량 100% 이상																																																																					
유통기한	생산 완료 시 제조일로부터 1년																																																																					
<p>5. 로트의 크기 - 1회 생산량을 1검사 로트로 한다.</p> <p>6. 시료채취방법 - 생산분당별 1ca 채취</p> <p>7. 로트의 합부관정 - N=1, C=0인 경우 합적으로 한다.</p> <p>8. 포장 및 포장단위 - 식품위생법 표시사항(제품명, 내용량, 일소명 및 소재지, 유통기한, 열처리방법, 원료명, 포장 재질 등)이 올바르게 표시되어 있어야 한다.</p> <p>9. 보관 및 보존기간 - 보관 온도 : 상온 - 보관 기간 : 1년</p> <p>10. 당백질 정량법 - 단백질 함량은 BCA assay 을 이용하여 아래와 같다. - Standard 물질은 BSA(Bovine Serum Albumin)를 사용하였음 1) 카제인 추출물 0.5g을 2차 증류수 100μl에 용해하여 수용액을 제조함 2) 수용액과 BSA 표준용액용 5 μl씩 96-well plate에 분주함 3) 95 μl의 BCA Reagent를 분주함 4) 96-well plate을 오실레 케 37℃에서 30분 동안 방치함 5) ELISA로 파장 570nm에서 흡광도 측정함.</p> <p>* 위의 사항 외의 식품관련 관리 기준에 준하여 관리 하며, 규격이 정해지지 않은 항목물 또는 첨가물의 경우 필요 시 유관 부서의 협의를 통하여 규격을 정한다.</p>																																																																						

○ 산업적 성과

- 유기농 커피음료 적용



(2) 특허 출원 2건 및 등록 2건

가) 특허출원

- 발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도
특허출원 완료 : 10-2017-0092613
- 발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법

나) 특허 등록 2건

- 발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법 특허등록 완료 : 10-1709957
- 발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도
특허출원 완료 : 10-1842152



관의 생략

출원번호동지서

출원번호 20170721
 특허사실 심사청구(유) (공개신청) (출원번호) 100849
 출원번호 10-2017-0092613 (출원번호 1-1-2017-072095-83)
 출원인명칭 대상주식회사(1-1998-001450)의 1명
 대리인명칭 한이와이(1998-000018-1)
 발명자명칭 이근호 (출원번호) (출원번호) (출원번호)
 발명자명칭 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도

특허청장

<<안내>>

1. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원번호 10-2017-0092613 (출원번호 1-1-2017-072095-83)은 출원, 납부지연료 및 출원비용에 대한 과징금 부과 대상에 해당하며, 과징금 부과 대상입니다.
3. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
4. 특허청(www.kipo.go.kr)에 등록된 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
5. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
6. 본 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
7. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
8. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.

관의 생략

출원번호동지서

출원번호 20160820
 특허사실 심사청구(유) (공개신청) (출원번호) 100499
 출원번호 10-2016-010886 (출원번호 1-1-2016-081086-68)
 출원인명칭 대상주식회사(1-1998-001450)
 대리인명칭 한이와이(1998-000018-1)
 발명자명칭 이근호 (출원번호) (출원번호) (출원번호)
 발명자명칭 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법

특허청장

<<안내>>

1. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원번호 10-2016-010886 (출원번호 1-1-2016-081086-68)은 출원, 납부지연료 및 출원비용에 대한 과징금 부과 대상에 해당하며, 과징금 부과 대상입니다.
3. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
4. 특허청(www.kipo.go.kr)에 등록된 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
5. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
6. 본 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
7. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
8. 귀하의 출원번호와 일치하지 않는 출원번호로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.

특허평가보고서

특허 요약

- 발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법
- 출원번호 : 10-2016-0108886
- 등록번호 : 10-1709957
- 출원일/등록일 : 2016.08.26 / 2017.02.20
- 예정만료일 : 2036.08.26
- 출원인/권리자 : 대상 주식회사 / 대상 주식회사
- 발명자 : 김재창, 변명희, 진중현
- 대리인 : 황이남
- 국제특허분류코드 : A23L 21/12
- 국제특허분류명 : ...
- 평가일/생성일 : 2018년10월28일 / 2018년 11월 26일

등급
BBB

전체 평가 분석

평가지표(비중)	등급	대분류(화학) [128,571건]	중분류(화학2) [128,571건]	소분류(식품) [18,307건]
		백분위(%)	백분위(%)	백분위(%)
권리성 (35)	BBB	33.5	33.5	37.3
기술성 (35)	CCC	86.1	86.1	73.5
활용성 (30)	BBB	29.1	29.1	11.1
종합평가 (100)	BBB	35.3	35.3	23.4

총평

특허 제 10-1709957호, "보존성이 향상된 유기농 딸기잼 및 그의 제조방법"는(은) "화학" 기술분야 특허 중 종합평가등급이 BBB등급(상위 35.3% 수준)으로 평가되었습니다. 세부 평가지표는 권리성 BBB등급(상위 33.5% 수준), 기술성 CCC등급(상위 86.1% 수준), 활용성 BBB등급(상위 29.1% 수준)으로 평가되었습니다.

※ 주의 사항

* 본 보고서의 점수 및 등급은 특허등록 유지여부 평가를 위한 예측치일 뿐이며, 실제 시장가치 정도, 로열티 정도, 유효 여부 또는 침해 여부 등과 직접적인 연관이 없습니다. 또한 상기 사실을 입증하는데, 본 보고서에 의존할 수 없습니다.

* 본 보고서는 법적인 자문을 하는 것이 아닙니다. 본 보고서에 수록된 정보는 한국발명진흥회가 아는 정보범위 내에서 완전하고 정확한 것입니다. 그러나 한국발명진흥회는 본 보고서에 포함된 정보가 어떤 특정 목적과 관련하여 완전하거나 정확하다는 것을 보증하거나 대변하지 않습니다.

SMART 3 KR 특허평가보고서

출원번호	10-2016-0108886
등록번호	10-1709957
발명의 명칭	보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
출원인	대상 주식회사
권리자	대상 주식회사
평가일	2018년 10월 28일
생성일	2018년 11월 26일

주의사항

- 본 보고서는 한국발명진흥회의 특허분석평가시스템에 의해 산출된 것입니다. 본 보고서의 질수, 등급 및 기타 정보들은 통계에 따른 것이며, 2018년 08월 특허청, Doc정보 등 공개된 데이터를 기반으로 계산되었습니다. 본 보고서는 법적 견해, 전문적인 견해, 광고 또는 여타 다른 정보에 근거해서 작성된 것이 아니며 상기의 정보에 근거하여 작성된 것으로 간주할 수 없습니다. 본 보고서의 질수 및 등급은 특허등록 당시 업무 평가를 위한 예측치일 뿐이며, 실제 시장가치 정도, 품질의 정도, 우수 여부 또는 침해 여부 등과 직접적인 연관이 없습니다. 또한, 상기 사실을 입증하는데, 본 보고서에 의존할 수 없습니다.
- 본 보고서는 법적인 자문을 하는 것이 아닙니다. 본 보고서에 수록된 정보는 한국발명진흥회가 아는 정보 범위 내에서 완전하고 정확한 것입니다. 그러나 한국발명진흥회는 본 보고서에 포함된 정보가 어떤 특정 목적과 관련하여 완전하거나 정확하다는 것을 보증하거나 대변하지 않습니다. 본 보고서에 수록되어 있는 정보를 사용하기 전에 법률 또는 금융 전문가와 상의하는 것이 바람직합니다.

발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
기술 분야 : 화학

특허 요약

- 발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
- 출원번호 : 10-2016-0108886
- 등록번호 : 10-1709957
- 출원일/등록일 : 2016.08.26 / 2017.02.20
- 예정안료일 : 2036.08.26
- 출원인 : 대상 주식회사
- 권리자 : 대상 주식회사
- 발명자 : 김재창, 변영희, 진중현
- 대리인 : 황이남
- 국제특허분류코드 : A23L 21/12
- 국제특허분류명 : -

등급

BBB

■ 초록

본 발명은 유기농 딸기즙 제조용 딸기즙에 관한 것으로, 유기농 딸기, 유기농 사과, 흑탄, 곤약 및 구연산을 포함하는 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 유기농 딸기즙은 흑탄과 곤약의 혼합 비율을 정도분쇄, 이산화 규소 및 발효성 평가를 통해 최적의 조합으로, 종래의 딸기즙에 비하여 이산화 규소가 보편성이 우수하고 발효성도 높다.

■ 대표 청구항

70~80℃의 정온수를 고속교반이 가능한 용매조에 넣어 교반하고 있는 상태에서 흑탄 0.11~0.13 wt%, 곤약 0.10~0.12 wt%를 서서히 투입하여 5~15 wt%의 농도가 용해될 때까지는 단계(유기농 딸기 55~60 wt%, 유기농 사과 38~43 wt%, 구연산 0.12~0.3 wt%)를 계량하여 혼합한 후 60~80℃에서 가열하는 단계(상기 가열한 혼합재료를 1차 강압분쇄하여 56~60 Mesh 당도로 농축되었을 때 상기 농축된 재료를 투입하는 단계(상기 농축재료가 투입된 혼합재료를 61~66 Mesh)가 교도제 2차 압분쇄하는 단계를 포함하는 유기농 딸기즙의 제조방법.

발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
기술 분야 : 화학

Contents

- 특허 요약
 - 초록
 - 대표 청구항
 - 대표 도면
- 전체 평가 분석
- 총 평
- 지표별평가분석
 - 권리성
 - 기술성
 - 활용성
- 주요 특허 정보
 - 권리 변동 사항
 - 연자 등록 관련
 - 실시권 관련
 - 질권 관련
 - 심판 관련
 - 패밀리 정보
 - 인용 정보
 - 피인용 정보

발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
기술 분야 : 화학

■ 대표 도면



발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
 출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
 기술 분야 : 화학

전체 평가 분석

WIPO 기술분야별 평가분석

평가지표(비중)	등급	대분류(화학) [128,571건] 백분위(%)	중분류(화학2) [128,571건] 백분위(%)	소분류(식료품) [18,307건] 백분위(%)
관리성 (35)	BBB	33.5	33.5	37.3
기술성 (35)	CCC	86.1	86.1	73.5
활용성 (30)	BBB	29.1	29.1	11.1
종합평가 (100)	BBB	35.3	35.3	23.4

동일 출원년도(2016) WIPO 기술분야별 평가분석

평가지표	대분류(화학) [9,476건] 백분위(%)	중분류(화학2) [9,476건] 백분위(%)	소분류(식료품) [1,804건] 백분위(%)
관리성	29.5	9.8	11.0
기술성	81.3	27.1	19.7
활용성	15.3	5.1	1.9
종합평가	18.9	18.9	12.7

CPC 별 평가분석

평가지표	A[123,709건] 백분위(%)	A23[16,854건] 백분위(%)	A23L[10,769건] 백분위(%)
관리성	16.6	34.4	37.6
기술성	70.0	71.7	72.7
활용성	15.0	10.6	10.3
종합평가	19.3	21.6	22.8

A: 인간의 필수품, A23: 식료품 또는 식료품; 다른 클래스에 의해 포함되지 않는 그들의 처리, A23L: 서브클래스 A23B에서 A23J까지
 *CPC 별 평가분석은 WIPO 기술분야에 해당하는 모달로 평가 한 것으로 대 별평가한 평가용 등급임

총평

특허 제 10-1709957호, "보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법"은(은) "화학" 기술분야 특허 중 종합평가등급이 BBB등급(상위 35.3% 수준)으로 평가되었습니다. 세부 평가지표는 관리성 BBB등급(상위 33.5% 수준), 기술성 CCC등급(상위 86.1% 수준), 활용성 BBB등급(상위 29.1% 수준)으로 평가되었습니다.



발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
 출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
 기술 분야 : 화학

평가지표별 평가 분석

■ 관리성 [BBB]
 관리성에 대한 평가등급은 "BBB"등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 독립항수와 독립항의 길이가 기술분야의 평균 이하이며, 방법과 용구 청구항으로 구성되어 있으며, 발명의 설명의 길이가 기술분야의 평균 이하입니다. 제출된 의견서가 있습니다.

* 관리성이란 평가대상특허가 제 3자외의 특허분쟁에서 독립항에 대해 지위를 유지할 수 있는 정도를 의미함

■ 기술성 [CCC]
 기술성에 대한 평가등급은 "CCC"등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 선행문헌 중 논문제외 외국특허가 포함되어 있어 기술동향과 부합하고 있으며, 3개의 도면을 포함하고 있으며, 3항이 공통 발명인 특허입니다.

* 기술성이란 평가대상특허가 기술동향과 부합하거나 선도하는 정도를 의미함

■ 활용성 [BBB]
 활용성에 대한 평가등급은 "BBB"등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 3년차까지 연차료를 납부했으며, 우선심사를 신청 하였습니다.

* 활용성이란 평가대상특허가 비즈니스에 활용되는 정도 및 활용 가능성을 의미함

■ 평가요소

번호	평가요소(단위)	평가요소 정보	번호	평가요소(단위)	평가요소 정보
1	IPC 수(개)	1	17	연차등록 회수(년차)	3
2	개발과정중특심사 수	0	18	우선심사 청구 여부	1
3	관리자 방문 수	0	19	의견서 제출 수	2
4	공용기관 일본실정 수	0	20	특허권 관리담당직원 인용수	0
5	도면 수(개)	3	21	특허권 관리담당직원 기각,취하,각하수	0
6	독립항 길이(단어)	183	22	정보제공 수	0
7	독립항 수(개)	2	23	정정심판	0
8	부모 심판 기각수	0	24	조기공개 여부	0
9	부모 심판 인용 취하 각하수	0	25	특수기간 연장등록결정 여부	0
10	발명의 설명의 길이(단어)	2,612	26	종속항 수(개)	1
11	발명자수(명)	3	27	종속항의 평균길이	2
12	분할출원 우선권주장수	0	28	연구할 계명 수(개)	2
13	선행문헌 중 논문/외국특허수	1	29	특 권인용 수	0
14	소극적 권리범위확인 기각수	0	30	과인용 특허의 인용문헌 중 논문/외국특허수	0
15	소극적 권리범위확인 인용,취하,각하수	0	31	과인용과 출원일 차이	0
16	실사결정 수(건)	0	32	해외 출원 국가수	0

발명의 명칭 : 보존성이 향상된 유기농 딸기즙 및 그의 제조방법
 출원 번호 : 10-2016-0108886 등록 번호 : 10-1709957
 기술 분야 : 화학

주요 특허 정보

■ 권리 변동 사항

번호	변경 내용	변경 일자	권리자	의무자
1	설정등록	2017.02.20	대상 주식회사	

■ 연차 등록 정보

번호	납입 년차	납입 금액	납입 일자	감면사유	반환사유	반환금액	반환일자
1	제 1 - 3 년차 (2017.02.21 - 2020.02.20)	162,000	2017.02.20			48,600	2018.06.13

특허평가보고서

특허 요약

- 발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도
- 출원번호 : 10-2017-0092613
- 등록번호 : 10-1842152
- 출원일/등록일 : 2017.07.21 / 2018.03.20
- 예정만료일 : 2037.07.21
- 출원인/권리자 : 대상 주식회사 / 대상 주식회사, 차의과학대학교 산학협력단
- 발명자 : 김성필, 김형혜, 박송이, 이진희, 황세희
- 대리인 : 황이남
- 국제특허분류코드 : A23L 7/20
- 국제특허분류명 : ...
- 평가일/생성일 : 2018년10월28일 / 2018년 11월 26일

등급

B

전체 평가 분석

평가지표(비중)	등급	대분류(화학) [128,571건]	중분류(화학2) [128,571건]	소분류(식품) [18,307건]
		백분위(%)	백분위(%)	백분위(%)
권리성 (35)	C	98.7	98.7	96.9
기술성 (35)	CCC	78.5	78.5	62.2
활용성 (30)	BB	58.7	58.7	52.7
종합평가 (100)	B	76.7	76.7	70.0

총평

특허 제 10-1842152호, "유기가공식품용 복합 엿기름 조효소의 제조방법 및 이의 용도"는(은) "화학" 기술분야 특허 중 종합평가등급이 B등급(상위 76.7% 수준)으로 평가되었습니다. 세부 평가지표는 권리성 C등급(상위 98.7% 수준), 기술성 CCC 등급(상위 78.5% 수준), 활용성 BB등급(상위 58.7% 수준)으로 평가되었습니다.

※ 주의 사항

* 본 보고서의 점수 및 등급은 특허등록 유지여부 평가를 위한 예측치일 뿐이며, 실제 시장가치 정도, 로열티 정도, 무효 여부 또는 침해 여부 등과 직접적인 연관이 없습니다. 또한 상기 사실을 입증하는데, 본 보고서에 의존할 수 없습니다.

* 본 보고서는 법적인 자문을 하는 것이 아닙니다. 본 보고서에 수록된 정보는 한국발명진흥회가 아는 정보범위 내에서 완전하고 정확한 것입니다. 그러나 한국발명진흥회는 본 보고서에 포함된 정보가 어떤 특정 목적과 관련하여 완전하거나 정확하다는 것을 보증하거나 대변하지 않습니다.

SMART 3 KR 특허평가보고서

출원번호 : 10-2017-0092613
 등록번호 : 10-1842152
 발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원인 : 대상 주식회사
 관리자 : 대상 주식회사, 차의과학대학교 산학협력단
 평가일 : 2018년 10월 28일
 생성일 : 2018년 11월 26일

주의사항

- 본 보고서는 한국발명진흥회의 특허분석평가시스템에 의해 산출된 것입니다. 본 보고서의 접수, 등급 및 기타 정보들은 통계에 따른 것이며, 2018년 08월 특허청 DocDB를 통해 공개된 데이터를 기반으로 작성되었습니다. 본 보고서는 발원 전래, 진용제인 전래, 광고 또는 기타 다른 정보에 근거해서 작성된 것이 아니며 상기의 정보에 근거하여 작성된 것으로 간주할 수 없습니다. 본 보고서의 접수 및 등급은 특허등록 유지 여부 평가를 위한 예측치일 뿐이며, 실제 시장까지 정도, 포일타 정도, 후호 여부 또는 실제 여부 등과 직접적인 연관이 없습니다. 또한, 상기 사실을 입증하는데, 본 보고서에 의존할 수 없습니다.
- 본 보고서는 발원인 자료를 하는 것이 아닙니다. 본 보고서에 수록된 정보는 한국발명진흥회가 아는 정보범위 내에서 한정하고 정확하지 않습니다. 그러나 한국발명진흥회는 본 보고서에 포함된 정보가 어떤 특정 목적과 관련하여 원천이거나 정확하다는 것을 보증하거나 대변하지 않습니다. 본 보고서에 수록되어 있는 정보를 사용하기 전에 법률 또는 금융 전문가와 상의하는 것이 바람직합니다.

발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호 : 10-2017-0092613 등록 번호 : 10-1842152
 기술 분야 : 화학

특허 요약

- 발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
- 출원번호 : 10-2017-0092613
- 등록번호 : 10-1842152
- 출원일/등록일 : 2017.07.21 / 2018.03.20
- 예정완료일 : 2037.07.21
- 출원인 : 대상 주식회사, 차의과학대학교 산학협력단
- 관리자 : 대상 주식회사, 차의과학대학교 산학협력단
- 발명자 : 김성필, 김정혜, 박송이, 이진희, 황세희
- 대리인 : 황이남
- 국제특허분류코드 : A23L 7/20
- 국제특허분류명 : ...

등급

B

■ 조록

본 발명은 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법, 이에 의해 제조된 복합 엠티를 조효소 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 특정 조건으로 제조된 엠티를 조효소를 특정 환경조건으로 당화 및 발효시켜 기존의 미생물 유래 조효소의 발효 특성을 비교함으로써 기존의 미생물 유래 당화효소를 대체할 수 있는 새로운 유기가공식품용 식용원료로서의 제조방법 및 특정용도에 이의에 관한 것이다.

■ 대표 청구항

(a) 엠티를 분쇄하여 40~140 메쉬의 입자크기를 선별하는 단계;(b) 상기 선별된 엠티를 중류수에 넣어 40~60℃의 온도로 3~4시간 동안 추출하는 단계;(c) 상기 (b) 단계의 결과물을 여과하여 20~40 bris로 농축하는 단계; 및(d) 상기 (a), (b), (c) 단계들 거쳐 제조된 복합 엠티를 조효소를 고구마에 5~15%(w/w) 투입하여 온탕인 후 60℃에서 15~17시간 당화시키는 단계; 및(e) 상기 (d) 단계들 거쳐 제조된 당화효율 5~10%(w/w) 첨가하여 28~30℃ 온도에 1~3일 동안 발효시키는, 발효율을 증가하는 방법.

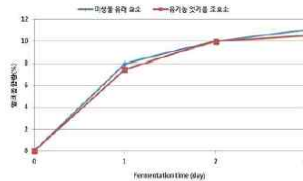
발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호 : 10-2017-0092613 등록 번호 : 10-1842152
 기술 분야 : 화학

Contents

- 특허 요약
 - 조록
 - 대표 청구항
 - 대표 도면
- 전체 평가 분석
- 총 평
- 지표별평가분석
 - 권리성
 - 기술성
 - 활용성
- 주요 특허 정보
 - 권리 변동 사항
 - 연차 등록 관련
 - 실시권 관련
 - 불검 관련
 - 심판 관련
 - 재항고 정보
 - 인용 정보
 - 피인용 정보

발명의 명칭 : 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호 : 10-2017-0092613 등록 번호 : 10-1842152
 기술 분야 : 화학

■ 대표 도면



발명의 명칭: 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호: 10-2017-0092613 등록 번호: 10-1842152
 기술 분야: 화학

전체 평가 분석

WIPO 기술분야별 평가분석

평가지표(비중)	등급	대분류(화학) [128,571건] 백분위(%)	중분류(화학2) [126,571건] 백분위(%)	소분류(식품용) [18,307건] 백분위(%)
권리성 (35)	C	98.7	98.7	96.9
기술성 (35)	CCC	78.5	78.5	62.2
활용성 (30)	BB	58.7	58.7	52.7
종합평가 (100)	B	76.7	76.7	70.0

동일 출원년도(2017) WIPO 기술분야별 평가분석

평가지표	대분류(화학) [4,574건] 백분위(%)	중분류(화학2) [4,574건] 백분위(%)	소분류(식품용) [776건] 백분위(%)
권리성	97.7	97.7	96.7
기술성	53.5	53.5	49.4
활용성	47.8	47.8	41.5
종합평가	77.4	77.4	74.7

CPC별 평가분석

평가지표	A[123,709건] 백분위(%)	A23[16,854건] 백분위(%)	A231[10,769건] 백분위(%)
권리성	98.5	97.1	96.7
기술성	63.6	61.1	61.9
활용성	38.4	49.6	53.3
종합평가	64.7	68.5	70.5

A-인간의 필수품, A23:식품 또는 식료품; 다른 클래스에 의해 포함되지 않는 그들의 자리, A231: 서브클래스 A23B에서 A23J까지
 *CPC별 평가분석은 WIPO 기술분야에 해당하는 코드로 평가 한 것으로 최대 평가한 결과를 표기함

총평

특허 제 10-1842152호, "유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도"는(은) "화학" 기술분야 특허 중 종합평가등급이 B등급(상위 76.7% 수준)으로 평가되었습니다. 세부 평가지표는 권리성 C등급(상위 98.7% 수준), 기술성 CCC등급(상위 78.5% 수준), 활용성 BB등급(상위 58.7% 수준)으로 평가되었습니다.



발명의 명칭: 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호: 10-2017-0092613 등록 번호: 10-1842152
 기술 분야: 화학

평가지표별 평가 분석

- 권리성 [C]
 권리성에 대한 평가등급은 'C'등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 독립항수와 독립항의 길이가 기술분야의 평균 이하이며, 발명의 설명의 길이가 기술분야의 평균 이하입니다. 제출된 의견서가 있습니다.
- * 권리성이란 평가대상특허가 제 3자와의 특허분쟁에서 독립배타적 지위를 유지할 수 있는 정도를 의미함
- 기술성 [CCC]
 기술성에 대한 평가등급은 'CCC'등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 선행문헌 중 논문의 인용특허가 포함되어 있어 기술동향과 부합하고 있으며, 2개의 IPC를 포함하고 있으며, 16개의 도면을 포함하고 있으며, 5명의 공동 발명인 특허입니다.
- * 기술성이란 평가대상특허가 기술동향과 부합하거나 선도하는 정도를 의미함
- 활용성 [BB]
 활용성에 대한 평가등급은 'BB'등급으로 평가되었습니다. 본 특허는 3년까지 연자료를 납부했으며, 우선심사를 신청 하였습니다.
- * 활용성이란 평가대상특허가 비즈니스에 활용되는 정도 및 활용 가능성을 의미함

■ 평가요소

번호	평가요소(단위)	평가요소: 정보	번호	평가요소(단위)	평가요소: 정보
1	IPC 수(개)	2	17	연자등록 횟수(년차)	3
2	거절결정불합판 수	0	18	우선심사 청구 여부	1
3	권리자 변동 수	0	19	의견서 제출 수	2
4	금융기관 대출실정 수	0	20	최극적 권리범위확인 인용수	0
5	도면 수(개)	16	21	최극적 권리범위확인 기각,취하,각하수	0
6	독립항 길이(단어)	70	22	정보제공 수	0
7	독립항 수(개)	1	23	청정실판	0
8	부호 심판 기각수	0	24	프기공개 여부	0
9	부호 심판 인용 취하 기각수	0	25	관속기간 연장등록결정 여부	0
10	발명의 설명의 길이(단어)	2,002	26	종속항 수(개)	0
11	발명자수(명)	5	27	종속항의 평균길이	0
12	분할출원 우선권주장수	0	28	청구항 계열 수(개)	1
13	선행문헌 중 논문/외국특허수	1	29	유 국민용 수	0
14	소극적 권리범위확인 기각수	0	30	피인용 특허의 인용문헌 중 논문/외국특허수	0
15	소극적 권리범위확인 인용,취하,각하수	0	31	피인용과 출원일 차이	0
16	실사판자 수(건)	0	32	명의 제1차 국가수	0

발명의 명칭: 유기가공식품용 복합 엠티를 조효소의 제조방법 및 이의 용도
 출원 번호: 10-2017-0092613 등록 번호: 10-1842152
 기술 분야: 화학

주요 특허 정보

■ 권리 변동 사항

번호	변경 내용	변경 일자	권리자	의무자
1	설정등록	2018.03.20	대성 주식회사, 자외선화학연구소, 신학철, 박단	

■ 연차 등록 정보

번호	납입 연차	납입 금액	납입 일자	감면사유	반환사유	반환금액	반환일자
1	제 1 - 3 년분 (2018.03.21 ~ 2021.03.20)	84,000	2018.03.21			0	

(3) 논문출판 SCI급 3건

- 가) Effect of fermented vinegar on the reduction in trimethylamine in konjac glucomannan gel, *Appl Biol Chem* (2017) 60(3):281-285
- 나) Enhanced stability of crude protease from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) by adding hydrocolloid for organic processed food uses, *Food Biotechnology* (2017) 31(3):162-176
- 다) Saccharification and alcohol fermentation characteristics of barley malt preparations for use in organic processed food, *Food Biochemistry* (2018)

(4) 학술발표 10건

- 가) 2016. 08 한국식품과학회 2016 국제학술대회, Characterization of volatile compounds in Konjac glucomannan gel by treatment with organic fermented vinegar
- 나) 2016. 08 한국식품과학회 2016 국제학술대회, Enhanced thermal stability of organic malted barley extracted α -amylase and β -amylase by the treatment of guar gum
- 다) 2016. 08 한국식품과학회 2016 국제학술대회, Enhanced stability and activity of crude protease from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) for organic processed food uses
- 라) 2016. 08 한국식품과학회 2016 국제학술대회, Permeability glycoprotein (P-gp) enhanced by piperin to improve the permeability of EGCG in Caco-2 epithelial cell
- 마) 2016. 08 IUfoST 18th World congress of food science and technology, Piperine Enhancing Permeability of (-)-Epigallocatechin-3-gallate in Caco-2 monolayers
- 바) 2017. 06 한국식품과학회 2017 국제학술대회, Saccharification and alcohol fermentation characteristics of malted barley extract for organic processed uses
- 사) 2017. 06 한국식품과학회 2017 국제학술대회, Clarification effect of crude protease extracted from kiwifruit (*Actinidia Delicosia*) on the saccharification liquid obtained from brown rice
- 아) 2017. 06 한국식품과학회 2017 국제학술대회, Effect of ultrasonic treatment on the particle size distribution of bovine milk cream-emulsions with extracted casein
- 자) 2018. 06 한국식품과학회 2018 국제학술대회, Fibrinolytic activities for the bred Korean melon fruits (*Cucumis melo* var. *makuwa*) extract
- 차) 2018. 06 한국식품과학회 2018 국제학술대회, Emulsifying properties of casein preparation extracted from low-fat milk for organic processed food uses

(4) 인력양성 (석사급 연구인력양성 : 4명)

(5) 교육지도 5회

가) 산업기술 인력양성을 위한 교육지도를 5회에 걸쳐 진행하였으며, 유기가공식품 개발 현황 및 적용기술 컨설팅과 생산공정 개발 기술지도를 각각 대상중앙연구소와 조은푸드텍, 생산기지 등에서 교육함.

○2016. 06 유기가공용 식품첨가물 소재 개발 현황 및 적용기술 현장컨설팅, 대상중앙연구소

○2017. 03 유기가공식품개발에 대한 전반적인 내용 설명 및 유기가공식품 생산 현황, (주)대상

○2017. 07 전체적 생산공정 교육, 생산 공정 기기 및 원료의 pilot 생산 공정 확인, 조은푸드텍

○2018. 01 유기가공식품용 유화제 개발에 대한 전반적인 내용 설명, (주)대상

○2018. 06 전체적인 유기가공식품용 유화제 scale up 생산 공정 기기 및 공정 확립, (주)대상

(6) 사업화 현황

가) 사업화성과 및 매출실적

○ '17년 유기농현미식초 개선을 통한 유기농 당화효소제재 적용

- 미국 한인마트 판매중 (갤러리아, 시온마켓등)



○ '18년 유기농 현미 식초 미국시장 매출 : 2.8 백만원 발생

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표 및 달성여부

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	소재개발	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표				정책활용	홍보전시	
												SC I	비 SC I							
최종 목표	목표	2	2		1		5	1				2	1				5			
	실적	2	2		1		5	1				3	-	10	5	4	5			
1차년도	목표	1					2										2			
	실적	1					2							5	1		2			
2차년도	목표	1	1				2										2			
	실적	1	1				2							3	2	3	2			
3차년도	목표		1		1		1	1				1					1			
	실적		1		1		1	1				2		2	2	1	1			
달성율(%)		100	100		100		100	100				150					100			

4. 연구결과의 활용 계획 등

본 연구는 유기가공식품용 첨가물 대체소재를 개발함으로써 일반 첨가물/소재에 한정된 기술 개발을 한단계 끌어올려 프리미엄 가공식품 시장인 유기가공식품 및 유기가공식품용 첨가물 대체 소재를 개발, 고부가가치 시장의 확대를 가져올 것으로 판단되나 경쟁력 있는 소재 및 제품의 상용화를 위해 가격, 시장 등의 추가적인 세부검토는 지속적으로 이루어져야 함.

현재 매출을 발생하는 제품은 현미식초로 '19년 매출 계획은 '18년과 유사한 수준으로 '18년 실적 기준으로 유기농 현미 원료 수급을 하고자 하며 상반기와 하반기 각 1회씩 5~6톤 가량을 구매를 진행.

시장성 및 가격 경쟁력 있는 소재 및 제품은 대상(주)의 글로벌화 사업전략에 부합하여 기업 매출에 활용 및 기여할 것으로 판단되나 '18년의 글로벌 매출이 미미하며 글로벌 시장내 경쟁력이 낮아 현미식초 액당화 공정적용을 내수제품에 적용하여 매출을 확대하고자 하며 '19년 해당제품의 예상매출은 약 70백만 원으로 목표함.

또한, 유기가공식품 제조시 원료 관련 협력기업 및 농가 소득 증대가 기대되며, 수출용 유기가공식품 및 지역 특성(Halal, Natural 등)에 맞는 프리미엄 가공식품을 만들 수 있는 기초 소재 연구 테마자로서 미래 먹거리 창출에 기여할 것으로 판단됨.

붙임. 참고문헌

1. 수출국가정보 zip / 농림축산식품부, 한국농수산물유통공사
2. 세계 유기농식품 시장 / 한국농수산물유통공사
3. KITA Market Report / '18년6월29일 시장정보
4. Academic/Plenum publishers, London 112-125 (1996)
5. α -amylase activity in whitewheat flour, milled malt, and microbial enzyme preparations using the Ceralpha Assay collaborative study, Journal of AOAC International, 85, 1096-1102
6. Cho HY, Kim BS, Chun JY, Choi MJ (2015) Effect of spray-drying process on physical properties of sodium chloride/maltodextrin complexes. Powder technology, 277, 141-146
7. Choi JY, Noh BS, Determination of shelf-life of foods, Food science and industry, 42(1), 71-79
8. FDA. Bacterial Pathogen Growth and Inactivation, Appendix-41996.417-38]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM252447.pdf>
9. Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 4504-4526
10. ICMSF(International Commission on Microbiological Specifications for Foods): Clostridium
11. Jang SY, Sin KA, J YJ (2010) Quality characteristics of apple vinegar by agitated and static cultures, Journal of the korean society of food science and nutrition, 39(2), 308-312
12. Jo DJ, Park EJ, Kim GR, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH (2012) Quality comparison of commercial cider vinegars by their acidity levels, Korean journal of food science and technology, 44(6), 699-703
13. Jo YH, Park YJ, Lee HG, Jeong YJ, Yeo SH, Kwon JH (2015) Determination of quality index components in high-acidity cider vinegar produced by two-stage fermentation, Korean journal of food science and technology, 47(4), 431-437
14. Kang SH, Lee S, Ko JM, Hwang IK (2011) Comparisons of the physicochemical characteristics of korean traditional soy sauce with varying soybean seeding periods and regions of production, Korean journal of food and nutrition, 24(4), 761-769
15. Kim GR, Yoon SR, Lee JH, Yeo SH, Kim TY (2009) Quality comparison of commercial brown rice vinegar fermented with and without ethanol, Korean journal of food preservation, 16(6), 893-899
16. Kim JG (2004) Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of korean traditional soy sauce, Korean journal of environmental health 30(1), 22-28
17. Kim KO, Kim SM, Kim SM, Kim DY, Jo SH, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH (2013) Physicochemical properties of commercial fruit vinegars with different fermentation methods, Journal of the korean society of food science and nutrition, 42(5), 736-742

18. Labbé, R.: *Clostridium perfringens*. The microbiological safety and quality of food. Aspen
19. Lee JC, Han WC, Lee JH, Jang KH (2012) Quality evaluation of vinegar manufactured using rice and *Rosarugosa* Thunb, Korean journal of food science and technology, 44(2), 202–206
20. Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Yeo SH, Jeong YJ (2011) Quality characteristics of brown rice vinegar prepared using varying amounts of *Nuruk* (an amylolytic enzyme preparation) and employing different fermentation conditions, Korean journal of food preservation, 18(1), 26–32
21. Nathamol CH, Sakamon DE, Naphaporn CH (2010) Effect of electro dialysis pretreatment on physicochemical properties and morphology of spray-dried fish sauce powder. Journal of Food Engineering, 99, 31–39
22. *perfringens*. In: micro-organisms in foods 5: characteristics of microbial pathogens. Kluwe Publishers, Gaithersburg, Md, USA 1110–1135 (2000)
23. Shimelis AE (2012) Vinegar production technology - An overview, Beverage & Foodworld
24. Spinosa WA, Junior VS, Galvan D, Fiorio JL, Gomez JHC (2015) Vinegar rice (*Oryzasativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice, Food science and technology, 35(1), 196–201
25. Stadler, R.H., Robert, F., Riediker, S., Varga, M., Davidek, T., Devaud, T., Devaud, S. (2004). In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 5550–5558
26. Wang W. (2012) Soy sauce powder production by spray drying and powder property characterization for anti-caking. Master's thesis, National university of Singapore
27. Wang W. Zhou W.B. (2012) Characterization of spray-dried soy sauce powders using maltodextrins as carrier. Journal of Food Engineering, 109, 399–405
28. Yokotsuka, T. (1986). Soy Sauce Biochemistry. Advances in Food Research, 30, 195–329.
29. YOO MH, Lee Hg, Lim ST (1997) Physical properties of the films prepared with glucomannan extracted from *Amorphophalluskonjac*, Korean journal of food science and technology, 29(2), 255–260
30. Hedayatnia, S., Mirhosseini, H., Amid, B. T., Sarker, Z. I., Veličkowska, S. K., & Karim, R. (2016). Effect of different fat replacers and drying methods on thermal behaviour, morphology and sensory attributes of reduced-fat coffee creamer. LWT-Food Science and Technology, 72, 330–342
31. R., Lusas, E. W., & Rhee, K. C. (1982). Formulation of nondairy coffee whiteners with cottonseed protein isolates. Journal of the American Oil Chemists' Society, 59(12), 564–567.
32. Komaiko, J., Sastrosubroto, A., & McClements, D. J. (2015). Formation of oil-in-water

- emulsions from natural emulsifiers using spontaneous emulsification: sunflower phospholipids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(45), 10078–10088
33. Riscardo, M. A., Franco, J. M., & Gallegos, C. (2003). Influence of composition of emulsifier blends on the rheological properties of salad dressing-type emulsions. *Food Science and Technology International*, 9(1), 53–63
 34. Ghasemi, H., Mazloomi, H., & Hajipour, H. (2017). Stabilization of multiple emulsions using natural surfactants. arXiv preprint arXiv:1705.08296
 35. Rahmati, K., Tehrani, M. M., & Daneshvar, K. (2014). Soy milk as an emulsifier in mayonnaise: physico-chemical, stability and sensory evaluation. *Journal of food science and technology*, 51(11), 3341–3347
 36. Nicoli, M. C., Calligaris, S., & Manzocco, L. (2009). Shelf-life testing of coffee and related products: uncertainties, pitfalls, and perspectives. *Food Engineering Reviews*, 1(2), 159–168
 37. Raikos, V., Duthie, G., & Ranawana, V. (2017). Comparing the efficiency of different food grade emulsifiers to form and stabilise orange oil in water beverage emulsions: influence of emulsifier concentration and storage time. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(2), 348–358
 38. Manzocco L, Nicoli MC (2007) Modeling the effect of water activity and storage temperature on chemical stability of coffee brews. *J Agric Food Chem* 55:6521 - 6526
Kirsch, & Feise, 2006 <http://ezproxy.upm.edu.my:2056/science/article/pii/S0260877413003543>Brockel, Wahl
 39. Chung, C., Sher, A., Rousset, P., & McClements, D. J. (2017). Use of natural emulsifiers in model coffee creamers: Physical properties of quillaja saponin-stabilized emulsions. *Food hydrocolloids*, 67, 111–119
 40. Chaudhari, A., Pan, Y. & Nitin, N. (2015). Beverage emulsions: comparison among nanoparticle stabilized emulsion with starch and surfactant stabilized emulsions. *Food Research International*, 69, 156–163
 41. McClements, D.J. (1998). *Appearance and Flavour Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques*, 2nd ed. New York: CRC Press.Srinivasan, M.
 42. Singh, H. & Munro, P.A. (2002). Formation and stability of sodium caseinate emulsions: influence of retorting (121 °C for 15 min) before or after emulsification. *Food Hydrocolloids*, 16, 153–160
 43. Dalglish, D.G., Srinivasan, M. & Singh, H. (1995). Surface properties of oil-in-water emulsion droplets containing casein and Tween 60. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2351–2355
 44. Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1–6
McClements DJ: Protein-stabilized emulsions. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2004, 9:305–313
 45. Delahaije R, Wierenga PA, van Nieuwenhuijzen NH, Giuseppin MLF, Gruppen H:

Protein concentration and protein-exposed hydrophobicity as dominant parameters determining the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Langmuir* 2013, 29:7-74

46. van Nieuwenhuyzen, W.; Szuhaj, B. F. Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions. *Fett-Lipid* 1998, 100, 282-291
47. Mezdour, S.; Desplanques, S.; Relkin, P. Effects of residual phospholipids on surface properties of a soft-refined sunflower oil: application to stabilization of sauce-type emulsions. *Food Hydrocolloids* 2011, 25, 613-619
48. Nicoli, M. C., Calligaris, S., & Manzocco, L. (2009). Shelf-life testing of coffee and related products: uncertainties, pitfalls, and perspectives. *Food Engineering Reviews*, 1(2), 159-168
49. Manzocco L, Nicoli MC (2007) Modeling the effect of water activity and storage temperature on chemical stability of coffee brews. *J Agric Food Chem* 55:6521-6526
50. Kourtis, L. K., & Arvanitoyannis, I. S. (2001). Implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the alcoholic beverages industry. *Food reviews international*, 17(1), 1-44
51. Payne, W.L.; Duran, A.P.; Lanier, J.M.; Schwab, A.H.; Read, R.B., Jr.; Wentz, B.A.; Barnard, R.J. Microbiological Quality of Cocoa Powder, Dry Instant Chocolate Mix, Dry Nondairy Coffee Creamer and Frozen Topping Obtained at Retail Markets. *J. Food Protect.* 1983, 46, 733-736
52. Eskin, N.M. *Biochemistry of Foods*, 2nd Ed.; Academic Press, Inc.: London, 1990
53. Young, T.W. *The Biochemistry and Physiology of Yeast Growth*. In *Brewing Microbiology*; Priest, F.G., Campbell, I., Eds.; Chapman and Hall: London, 1996; 13-42
54. Baik, E. K., Seo, Y. K., Lee, G., Lee, D. U., Park, S. J., Lee, J. H., & Baik, M. Y. (2005). Quality factor determination and shelf-life prediction of emulsified ginseng drink. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 37(4), 597-602
55. 국립농산물품질관리원유기가공식품인증제. 2014
56. 식품의약품안전처미생물위해기술서, 2016
57. 식품의약품안전처병원성미생물도감, 2013
58. 식품의약품안전평가원식품의유통기한설정실험가이드라인, 2011
59. 안전보건공단물질안전보건자료(MSDS)제도의이해
60. 한국소비자원간장품질비교시험결과, 2016

주 의

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