

<표지>

(옆면)

(앞면)

116166-03

발호
장치
제작
및
기술
개발
요구
과제
검증
개발
통
최
종
보
고
서

14
B
(견고딕)

2020

(견고딕13p)

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

(견고딕17p)

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(11-1543000-003036-01)

고부가가치식품기술개발사업 2020년도 최종보고서(견고딕 13p)

발간등록번호

11-1543000-003036-01

(견고딕31p)

마늘 발호 기술 개발과 검증을 통한 발호 장치
제작 및 마늘 요거트 개발 최종보고서

2020.03.12.

(견고딕15p)

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

주관연구기관 / 농업회사법인 문무(주)
협동연구기관 / 계명대학교

(견고딕 15.5p)

농림축산식품부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

(견고딕 20p)

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “마늘 발효 기술 개발과 검증을 통한 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발”
(개발기간 : 2016. 12. ~ 2019. 11.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 1. 14.

주관연구기관명 : 농업회사법인 문무(주) (대표자) 최은규 (인)
참여기관명 : 계명대학교 산학협력단 (대표자) 유 민 (인)

주관연구책임자 : 최 은 규

참여기관책임자 : 유 민

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

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	116166-03	해 당 단 계 연 구 기 간	20161201 20191130	단 계 구 분	3/3
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	마늘 발효 기술 개발과 검증을 통한 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발			
연구책임자	최은규	해당단계 참여연구원 수	총: 12명 내부: 12명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:175,000천원 민간: 43,750천원 계:218,750천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 32명 내부: 32명 외부: 명	총 연구개발비	정부:430,000천원 민간:107,500천원 계:537,500천원
연구기관명 및 소속부서명	농업회사법인 문무(주)			참여기업명 농업회사법인 문무(주)	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 계명대학교 산학협력단			연구책임자: 유 민	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

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

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	회합물	생명자원		신품중	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	2288-1344 0046-8991	10-2018 -0102019									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

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

- 마늘 발효에 적합한 균주의 선발과 이를 이용한 최적의 발효 조건 개발하여 발효마늘 요거트 제품을 개발하였음
- 마늘 발효 방법에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작하였음
- 발효 장치의 단계적 scale up을 통한 발효방법을 개발하였음
- 마늘 요거트 제품을 개발하여 기호도 평가를 하였음
- 마늘발효를 위한 균주 선발, 보존 및 안정화 시험을 진행하였음
- 혼합 발효에 가장 적합한 시료 선정 및 혼합 발효 기술 개발 하였음
- 마늘 요거트 제품을 위한 혼합 시료 선정 및 품질관리 기술 개발 하였음

보고서 면수
182

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 연구목표 <ul style="list-style-type: none"> 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 생리·유전학적 분석을 통해 효과적인 발효 방법 개발 및 발효장치 제작 - 개발된 방법을 토대로 발효장치 설계 및 제작 - 발효장치를 단계적으로 scale up하여 설계 제작 및 대량생산 시스템 개발 - 마늘 발효에 적합한 균주의 선발과 이를 이용한 최적의 발효 조건 개발 - 마늘 발효 기술 개발 및 검증 - 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 및 지역특산물 선정 협력 ○ 연구내용 <ul style="list-style-type: none"> 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발 - 마늘 발효 방법에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작 - 마늘 발효 장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 - 발효 장치의 단계적 scale up을 통한 대량발효방법 개발 - 제작된 발효장치를 이용한 발효 실험을 통해 발효 속도 및 발효 품질 비교 - 마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 및 기호도 평가 - 6차 산업으로써의 발전가능성 제시 및 연계방안 수립 - 발효장치 효과 분석 및 국내 시장 진출을 위한 마늘 요거트 마케팅 전략 수립 ○ 마늘 발효 기술 개발 및 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 마늘발효를 위한 균주 선발, 보존 및 안정화 시험 - 효과적인 마늘 발효 방법의 개발 - 혼합 발효에 가장 적합한 시료 선정 및 혼합 발효 기술 개발 - 마늘 요거트 시제품 제작을 위한 혼합 시료 선정 및 품질관리 기술 개발
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 전통발효식품의 기능성 강화 및 건강 맞춤형 고부가 가치 제품의 개발 <ul style="list-style-type: none"> : 단일 또는 혼합균주 종균 확보 : 다양한 기능성 재료 첨가 가능성 확보 - 개발된 발효장치의 구조로 인한 가공 공정의 축소 - 발효마늘을 이용한 상품의 개발로 국내 마늘 농가에 소득증대를 통한 파급효과 발생 - 지역 특산물 선정을 통한 고용 창출 효과

<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 간편식이 제품으로 상품화 및 건강기능성 식품군으로 상품화하여 마늘의 다각적 활용방안을 마련함 ○ 마늘의 기능성 소재화로 다른 건강식품 요소 원료들과 결합하여 다각적인 활용, 제품화 방안을 마련함 ○ 마늘과 함께 추가적으로 이와 유사한 약용식품까지 기술을 확대 적용하여 건강기능성식품을 개발함 ○ 최적 섭취량, 활성본체, 지표물질, 부작용 등이 종합적으로 연구되어, 연구 종료 시 건강기능성 원료·성분 인정을 위한 자료가 식품의약품안전청에 제출되고 관련 업체에 개발된 기술이 이전되어 상품화되도록 함 ○ 어린이와 성인의 간식용으로 기호성은 우수하나 건강 지향적 가치가 낮은 액상요구르트를 기능성 및 관능성의 개선을 통해 정채중인 액상요구르트 시장의 신규시장 개척 및 선도 ○ 확보기술 및 안정된 생산기반을 활용한 요구르트 신제품 개발 ○ 한국형 유산균의 확보를 통해 다양한 기능성 유제품에 적용시킴으로써 발효유를 비롯한 여러 유제품 관련 시장의 활성화에도 기여할 것으로 사료됨 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>마늘</p>	<p>발효</p>	<p>발효장치</p>	<p>균주</p>	<p>대량생산</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Garlic</p>	<p>Fermentation</p>	<p>Fermentation device</p>	<p>starter</p>	<p>Mass production</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

목 차

1. 연구개발과제의 개요	7
1-1. 연구개발 목적	7
1-2. 연구개발 필요성	7
1-3. 연구개발 범위	8
1-4. 선행연구	9
1-5. 연차별 개발 계획	15
2. 연구수행 내용 및 결과	29
2-1. 발효 장치와 요거트 제품의 개발	29
2-2. 발효 방법 및 발효 제품의 품질 관리 방법 개발	57
2-3. 설문 조사, 선호도 조사 및 성분분석	103
2-4. 국내/영천시 마늘산업 및 시장 현황 분석	120
2-5. 마늘 요거트의 상품화를 위한 마케팅 전략 수립	139
2-6. 균질한 제품의 생산을 위한 품질관리 방법 개발(QC 매뉴얼 작성)	143
2-7. 마늘 혼합발효 요거트 시제품 테스트 및 보완 방향 제시	158
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	163
4. 연구결과의 활용 계획 등	178
붙임. 참고 문헌	179

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 생리·유전학적 분석을 통해 효과적인 발효 방법 개발 및 발효장치 제작
- 마늘 발효에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작을 통한 대량생산체계 구축하여 마늘 요거트 시제품 제작
- 마늘 발효에 적합한 균주의 선발과 분석을 통하여 효과적인 발효방법을 개발하고 균일한 고품질의 제품 생산을 위한 품질관리 방법을 제시. 생산된 마늘 혼합 발효 요거트 시제품의 테스트 결과를 분석하여 향후 보완 방향을 도출

1-2. 연구개발의 필요성

- 마늘 고유의 향을 제거하고 남녀노소 즐길 수 있는 2차 가공식품의 개발을 위해 마늘 발효 장치를 제작하고 마늘을 이용하여 발효 제품 중 가장 접근성이 높은 요거트를 제조하고자 함
- 식감 테스트 및 설문 조사 등을 토대로 소비층에 따라 마늘 요거트를 다양하게 제조하고, 그에 따른 마케팅 전략을 세움으로써 발효 식품 시장의 활성화에 기여할 수 있을 것임
- 마늘의 항균성, 항암성, 혈액순환 등에 관한 많은 연구가 수행되었으나, 생리활성의 기작 구명 등에 관한 연구는 거의 수행되지 않았으므로 마늘이 가지고 있는 효능 중 특정 목표 질환에 대한 활성도를 파악하기 위해서 지표성분 분리에 의한 구조 동정이 필요하나 아직 미비한 실정이며, 각각의 제품 특성에 맞는 품질표준화의 기준이 설정되어 있지 않으므로 품질표준화에 의한 마늘제품의 세계화가 어려운 실정임
- 한국의 발효식품 관련 연구 및 기술개발은 중국 및 일본과 함께 논문 및 특허에서 높은 비중을 차지하고 있고, 다른 국가에 비해 해당 분야의 연구 활동도 활발히 진행되고 있는 편인 것으로 보이나, 논문게제수와 특허 출원량으로 볼 때 중국 및 일본과의 격차가 크지 않음
- 우리나라의 전통 발효식품과 유사한 중국 및 일본 등 다른 국가의 발효식품과의 경쟁에서 우위를 선점하기 위해 보다 향상된 품질에 기여할 수 있는 생물자원종의 발굴이 필요하며, 세계적으로 생물자원 확보 경쟁에서 우리 발효식품은 중요한 미생물 자원이 될 수 있으므로 국가적 차원에서 미생물 자원 확보에 관심을 기울일 필요가 있음

1-3. 연구개발 범위

가. 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발

- 마늘 발효 방법에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작
- 마늘 발효 장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작
- 발효 장치의 단계적 scale up을 통한 대량발효방법 개발
- 제작된 발효장치를 이용한 발효 실험을 통해 발효 속도 및 발효 품질 비교
- 마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 및 기호도 평가
- 6차 산업으로써의 발전가능성 제시 및 연계방안 수립
- 발효장치의 효과 분석 및 국내 시장 진출을 위한 마늘 요거트 마케팅 전략 수립

나. 마늘 발효 기술 개발 및 검증

- 마늘발효를 위한 균주 선발, 보존 및 안정화 시험
- 효과적인 마늘 발효 방법의 개발

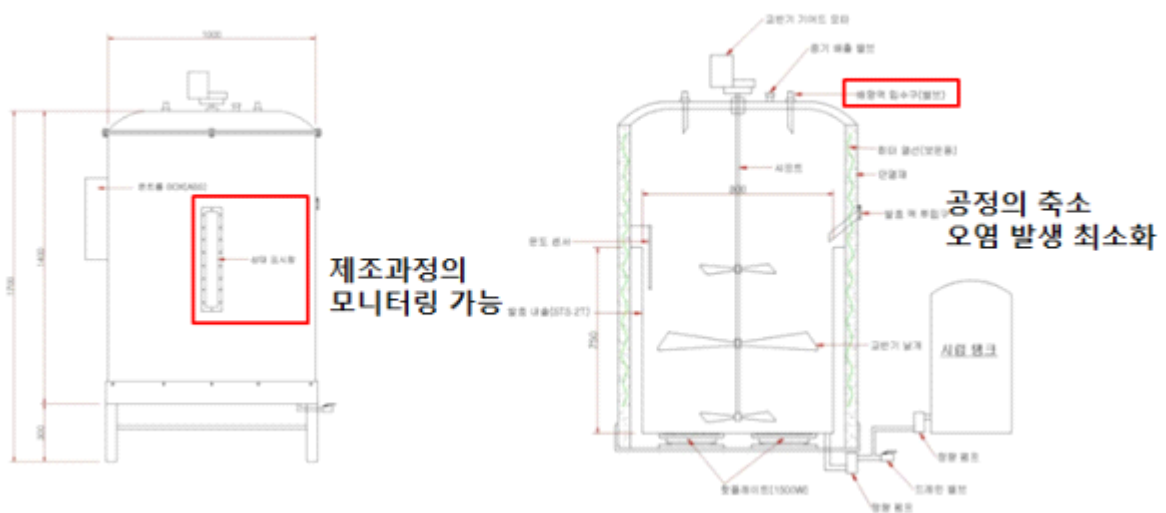


그림 1. 발효장치의 가설계도

- 혼합 발효에 가장 적합한 시료 선정 및 혼합 발효 기술 개발
- 마늘 요거트 시제품 제작을 위한 혼합 시료 선정 및 품질관리 기술 개발
- 발효 장치는 온도, 습도 및 pH 센서, 상태 표시창 등을 통해 내부 상태를 확인할 수 있으며, 컨트롤 장치를 통해 자동 조절되는 시스템
- 발효조 내에서는 마늘 가열 및 발효가 가능하도록 설계되며, 균주 접종 후 균일한 혼합 발효를 위해 교반 장치 내부 설계



그림 2. 마늘 요거트 시제품 예시

- 마늘 고유의 향을 최소화한 요거트 제조
- 소비자의 기호에 따른 구분으로 다양한 제품 제조 가능

1-4. 선행연구

가. 마늘 요구르트의 제조

- 새로운 제품의 명칭은 Galgurt (garlic + yoghurt)로 임시 명명하였으며 제품의 최종 형태는 3% 고형 성분이 포함된 액상 요구르트임
- 재료 준비
 - 마늘을 준비하고, 각각 Sonicator 25 watt/ml의 고정된 probe를 이용하여 5min (강), 3min(중), 1min(약) 동안 물성 파괴 실시 (향과 매운 맛에 따라 개인 기호별로 차별화하여 준비)
 - 거름망을 이용하여 마늘을 담아서 중탕 멸균한 후 균을 접종하고, curd가 형성된 뒤 이

를 분쇄하기 직전에 마늘을 건져내어 Galghurt를 제조함



그림 3. Sonication하는 장면

표 1. 발효 레시피

Recipe	
Skim milk	7.825g
Glucose	1.875g
Sugar	56.665g
향신료	0.2g
Water	174.35ml
Garlic	5~10 개 (Sonication 강, 중, 약)

○ Galghurt의 제조

- SMP + Glucose + Water
- 거름망에 마늘 10개 (약 5g, sonication 실시 후)를 넣어 준비
- 준비된 마늘을 우유 용액에 담그어 100°C에서 30분간 증탕
- 실온에서 완전히 식힘 (37°C 이하)

○ Starter 균주 접종 (0.1%)

- 배양 (72시간, 37°C)
- 거름망을 건져내고 생성된 curd를 균질화, magnetic stirrer를 이용하여 분쇄
- Sugar (56.665g) + Water (100ml)의 시럽을 준비하고 균질된 배양액과 혼합하여 액상 요구르트 완성 후 향신료를 첨가
- 발효가 완료된 마늘을 거름망에서 꺼내어 액상 요구르트 위에 보기 좋게 얹음으로써 Galghurt 시제품 완성

나. 선행 연구 결과

- Skim milk와 glucose를 혼합한 용액에 마늘을 넣고 증탕 또는 autoclave 하면 curd의 생성 속도가 전체 발효 소요시간의 2/3 정도로 빨라지는 것이 관찰되었음
- Sonication(음파 처리)하지 않은 마늘의 경우 마늘 향과 발효취가 섞여 지나치게 강한 향이 생성되었으며 또한 마늘이 균일하게 균질화 되지 않아서 식감 역시 다소 거친 느낌이었음

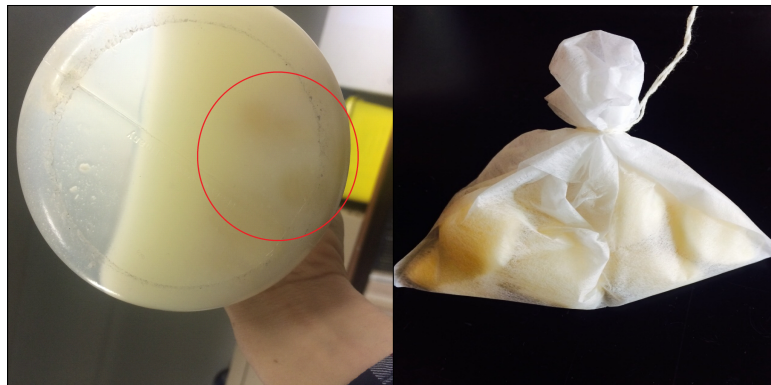


그림 4. Galghurt 제작 공정

- sonication을 중간 정도 (25 watt/ml, 3분) 처리한 마늘을 거름망에 담아서 증탕이나 autoclave로 멸균한 후 1%로 균액(starter)을 접종하여 발효한 뒤 Galghurt를 제조하였으며, 이렇게 하면 마늘 향이 충분히 우유에 배이지만 그 향이 너무 지나치지 않고, 마늘을 얼마나 오래 담가 두느냐에 따라 향을 조절할 수 있는 장점이 있음
- 대체적으로 autoclaving (고압증기멸균법) 보다 100°C 증탕으로 30분간 처리하는 것이 마늘의 향이 은은하게 배어나오고, 약간의 갈변화를 유도하여 관능검사에서 더 좋은 평가를 나타내었음
- 거름망 속에서 마늘은 물성은 무르나 형태를 계속 유지하며, 우유에 젖은 상태 (soaking) 이기에 함께 발효가 됨
- 최종적으로 curd를 분쇄하기 바로 직전에 마늘 거름망을 들어내고, 시럽을 첨가해 분쇄하여 액상 요구르트를 만든 뒤 그 위에 발효된 마늘을 얹음으로써 제품이 완성됨



그림 5. Galghurt

- sonication을 하지 않은 시료, sonication을 강, 중, 약으로 처리한 뒤 중탕한 시료, sonication을 강, 중, 약으로 처리한 뒤 autoclave한 시료 중 중탕한 경우가 갈변화가 가장 부드럽게 이루어졌음



그림 6. Autoclave 한 시료

- 좌측부터 sonication을 약(1min), 중(3min), 강(5min)으로 진행한 마늘을 10개씩 사용하여 Autoclave 하였을 때 심하게 갈변화되었으며, 시음한 결과 마늘 향이 대단히 강하였고, 세 가지 시료의 맛 차이는 거의 없었고 거름망에서 건져낸 마늘의 상태는 형태를 알아볼 수 없을 정도로 물러서 뭉그러진 상태였음



그림 7. 중탕한 시료

- 좌측부터 sonication 약(1min), 중(3min), 강(5min)으로 처리한 마늘을 10개씩 사용하여 갈변화가 부드럽게 일어났으며, 전체적으로 맛과 향이 은은한 편이었고 또한 거름망에서 건져낸 마늘의 상태도 무르지 않고 적당히 단단하며 모양이 잘 유지되었음



그림 8. Sonication을 하지 않은 마늘로 제조한 Galghurt들의 예시

- 마늘 5개와 중탕한 시료로 제조한 경우(왼쪽), 마늘 5개와 autoclave한 시료로 제조한 경우(가운데), 마늘 10개와 autoclave한 시료로 제조한 경우(오른쪽). 중탕한 시료가 맛이 좋았으나 마늘 향은 거의 나지 않았음

다. 관능검사

- 관능검사는 시료의 조건을 가린 채 진행 되었으며 총 6명의 시음자에 의해서 평가되었음
- 점수는 1-매우 나쁨, 2-나쁨, 3-보통, 4-좋음, 5-매우 좋음의 다섯 단계로 매겼으며 점수를 합산하여 평균을 내었으며, 그 결과 제일 선호되는 시료는 6번 -Sonication을 중간(3분) 정도로 처리하고, 마늘 5개를 사용하여 중탕한 시료였음
- 가장 비선호되는 시료는 8번-Sonication을 하지 않은 마늘 10개를 사용하여 autoclave한 시료였으므로, 대체적으로 마늘 양은 1g/100ml Galghurt가 적절하였고, 중탕을 한 시료에서 높은 점수대를 형성하였으며, 마늘이 너무 많이 들어가고 autoclave를 한 시료에서는 낮은 점수를 나타내었고, Sonication을 했는지, 안했는지는 맛에 어느 정도 영향을 주었지만 약, 중, 강의 정도는 관능검사에 그다지 큰 영향을 미치지 않았음

표 2. 관능검사

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
맛	3.00	2.17	3.00	3.83	3.00	4.33	3.67	1.50
향	2.67	2.17	3.83	3.00	3.00	3.33	2.83	1.17
식감	3.83	3.17	3.33	3.67	3.83	3.67	3.50	2.00
총 평균	3.17	2.50	3.39	3.50	3.28	3.78	3.33	1.56

- ① Sonication (약) - Autoclave
- ② Sonication (중) - Autoclave
- ③ Sonication (강) - Autoclave
- ④ Sonication (X) - Autoclave, Garlic 5개
- ⑤ Sonication (약) - 중탕
- ⑥ Sonication (중) - 중탕
- ⑦ Sonication (강) - 중탕
- ⑧ Sonication (X) - Autoclave, Garlic 10개

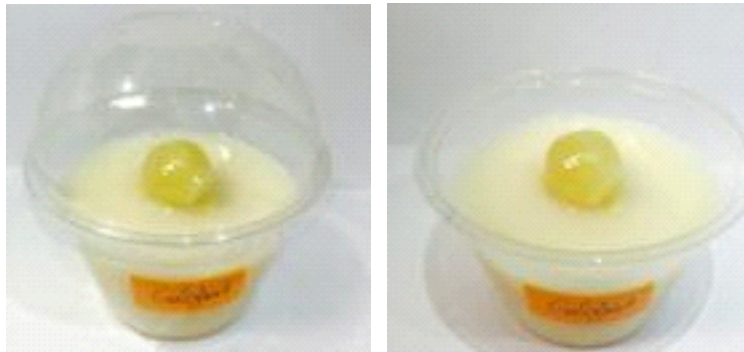


그림 9. Galghurt 시제품

라. 필요 연구 내용

- 새로운 균주의 선발 및 혼합균주 이용 발효
 - 기존 균주들의 경우, 발효 시 강한 발효취의 발생으로 인하여 기호성 발효식품의 개발에 적합하지 않은 것으로 판단됨
 - 발효취를 줄이면서 마늘 혼합액을 효과적으로 발효시킬 수 있는 새로운 starter 균주의 선발 및 보존에 대한 연구 필요
- 발효장치의 개발
 - 마늘을 발효시킬 때는 마늘의 형태를 최대한 보존하면서 마늘의 유용한 성분이 식품에 자연스럽게 우러나도록 하는 것이 바람직한데, 기존의 발효 장치는 대부분 열을 가해 숙성시키는 정도의 기능만 있어, 마늘 발효 식품을 제조하기 위한 마늘의 발효에는 적합하지 않은 실정임
 - 마늘의 원형을 최대한 보존하면서 혼합발효 공정을 최소화하여 발효식품을 개발하기 위해 발효장치의 설계제작에 대한 연구 필요
- QC (Quality Control)
 - 제품을 상품화하여 대량생산하기 위해서는 품질관리를 통한 각 제품들의 성분균질화가 중요

- 마늘을 이용한 혼합발효식품을 개발함에 있어, 발효장치 내에서 불균질 혼합액이 발생하지 않도록 하며 혼합액 성분의 균질화 조건 개발을 위한 연구 필요
- 대량생산방법 개발
 - 현재 제조 가능한 마늘 요거트는 실험실 수준으로, 제품을 상품화하여 대량생산하기 위해서는 그에 맞도록 발효장치의 규모가 확대되어야 함
 - 대량생산조건의 개발을 위해 단계적으로 scale up한 발효장치를 설계 및 시제작하여 대량발효실험을 통한 보완 필요
- 마케팅전략 수립
 - 마늘요거트의 성공적인 시장 진출을 고려하여 다른 제품들과의 경쟁력을 강화시키기 위한 마케팅 전략이 필요함
 - ‘Galghurt’ 라는 Naming을 통해 상표출원을 계획하는 등 타사의 도용을 방지하기 위한 전략을 수립하고, 차별화된 마케팅을 도출해내기 위해 관련된 다른 제품들의 마케팅 연구 분석

1-5. 연차별 개발 계획

가. 1차년도

① 개발 목표

- 주관연구기관(농업회사법인 문무(주))
: 발효 장치 시제품 (lab scale) 제작 및 마늘 요거트 시제품개발
- 협동연구기관(계명대학교 산학협력단)
: 발효 균주 선발 및 동정

② 개발 내용 및 범위 (시스템 구성도, 구조 등을 그림으로 구체적 표현)

- 주관연구기관 (농업회사법인 문무(주))

(1) 마늘 발효 장치 및 기술 개발

○ 마늘 발효 장치의 개발

- Pilot scale의 20L 용량 발효 장치 설계 및 제작 계획
- 마늘의 형태를 최대한 보존하면서 마늘에 첨가물을 혼합하여 마늘 발효 식품을

제작할 수 있는 마늘 발효 장치를 제공하고자 함

- 발효조는 발효탱크 내에 수용되는 마늘을 가열·발효시킬 수 있도록 구성되며, 종균 접종 후 발효탱크 가운데 위치한 모터에 의해 회전하여 발효균과 마늘 및 첨가물이 함께 균일하게 섞여 발효될 수 있음
- 살균조 내의 내용물은 내부 히터에 의해 중탕식으로 가열되어 100℃에서 20분 이상 살균될 수 있음
- 종균 (Starter) 접종을 위한 tube 삽입 형식으로 제조함
- 발효 장치 내 센싱 시스템 구축 설계
: 균주 배양을 위한 조건 별로 센싱 범위 (온도, pH 등)를 지정하여 자동화된 컨트롤 시스템을 구축하고자 함

○ 마늘 발효 기술의 개발

- 혼합물과 마늘의 혼합 발효 시, 혼합 발효의 시기에 따라 제품의 품질과 맛 등에 차이가 있음을 확인함
- 혼합 발효에 적합한 기술의 개발을 통해 발효식품의 시제품 개발에 도움을 줄 수 있도록 함
- 마늘에 첨가물을 더해 함께 발효되면서 마늘의 강한 맛을 감소시키며 여러 가지 기호식품으로 개발 가능함

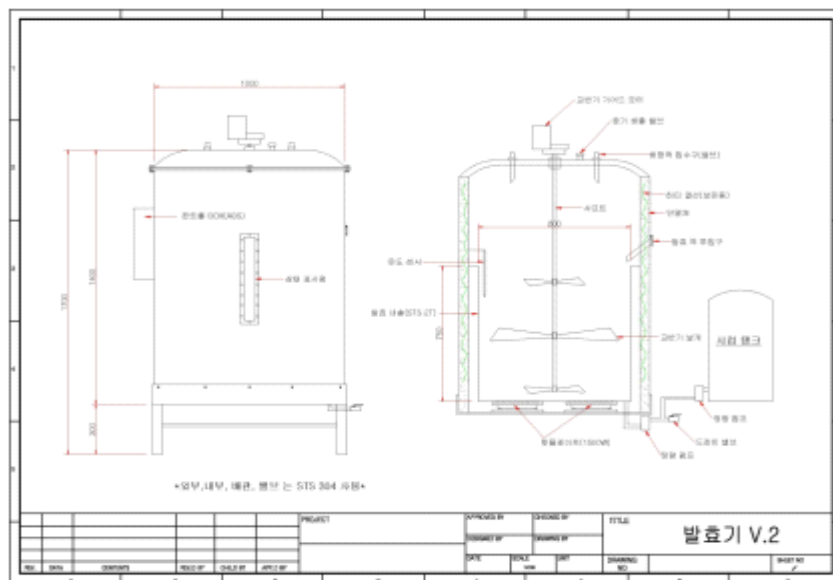


그림 10. 발효 장치 가설계도

(2) 마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 개발

- 시제작한 발효장치를 이용하여 마늘 발효 시험 및 피드백을 통한 보완을 거쳐 마늘 요거트 시제품을 제작함
- 소비자의 기호에 맞는 제품을 제작하기 위해 여러 가지 시료를 이용하여 다양한 마늘 요거트 제품을 시제작함 (설문 및 앙케이트 조사)
- 향, 식감, 맛 등의 조사항목을 바탕으로 마늘 요거트 시제품에 대한 설문 조사를 실시함
- 설문조사 결과를 통해 만든 데이터를 토대로 수정 및 보완

- 참여 연구기관 (계명대학교 산학협력단)

(1) 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 분석

- 미생물 분리를 위한 토착 시료 채취 및 수집
 - 다양한 토착 장류, 젓갈류, 주류, 발효차, 분변 등을 수집하여 유용 유산균 분리
 - 고사리, 쑥, 땅콩, 감귤 등 시료 채취하여 유용 유산균 분리
- 유용 미생물 선별
 - 유산균 분리를 위한 선별 배지 선택 및 제조 (MRS와 TCM 및 기타 선별 배지 비교 실험)
 - 대부분의 유산균은 통성혐기성균이며, 실험은 편의상 호기성으로 진행할 것이지만 일부 유용유산균(bifidus 등)을 따로 분리할 필요가 있을 때는 혐기성으로 진행할 것임
 - 혐기성 배양을 위한 조건은 CO₂ incubator를 사용하거나 간편 kit를 이용할 것임
- 유전자 분석을 통한 1차 검증 및 동정
 - 16s rRNA 염기서열을 분석하여 분리된 균주를 유전자 차원에서 동정하며 GenBank의 Blast 비교 조사
- 분리된 미생물의 생리·생화학 테스트
 - Growth curve, 산생성능력, 산도, curd 형성능을 포함한 다양한 생리적 기능 조사
 - 당발효 테스트를 거쳐 생산성 있는 균주의 선별
 - Soybean 제제 첨가시 성장능력 향상 측정

- 유용 균주의 보관방법 개발
 - 종균 보존을 위해 동결건조 조건 및 ampule화 작업
- 유산균 pedigree 완성
 - RAPD (randomly amplified polymorphic DNA fragment) 분석을 통해 분리된 균주 상호간 유전자의 유사성 비교 분석
- 배양 조건 확립
 - 마늘 엑기스 및 건강소재 첨가시 제품화에 우수한 균주 배양 기술 확보
 - 유용 기능성 소재별로 첨가시 발효 조건 확립, 파일럿 테스트(pilot test)

(2) 균주의 선발 및 유산균 보관

: 기존의 균주로 발효시켰을 때 발생하던 발효취를 감소시키고 효과적으로 마늘을 발효시킬 수 있는 새로운 균주를 선별하여 발효균주로 배양시키기 위한 과정

- 유산균주의 동정을 위해 전통소재로부터 분리한 샘플들을 MRS 고체배지에 평판도말한 다음 37°C에서 24-48시간 배양함
- 형성된 균락 (colony)을 MRS 액체배지에 재배양하고 10% skim milk에 배양액 5%를 접종하여 다시 37°C에서 24-48시간 배양한 다음 이 중 curd 응고력이 우수한 균주만을 선발함
- 형성된 colony들을 streaking하여 single colony를 구별한 다음 샘플당 세 개씩 MRS 액체배지에 재배양하고 10% skim milk에 배양액 5%를 접종하여 다시 37°C에서 24-48시간 배양하며 가장 curd 응고력이 우수한 균주만을 따로 선별해냄
- 선별된 균주들은 MRS 액체배지(pH 6.5)에 배양한 후 glycerol의 최종농도가 20% 되도록 첨가하여 -70°C에 냉동 보관하며 필요에 따라 MRS 고체배지에 접종, 배양하거나, 10% skim milk 배지에 배양하여 4°C에 보관함

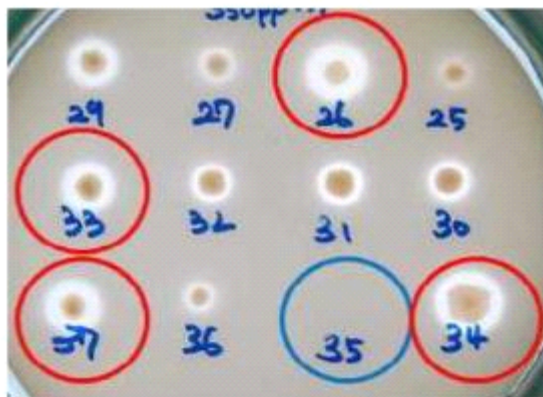


그림 11. 액체배지 배양 예시

(3) 내담즙성 및 내산성

: 발효식품으로 개발하기 위한 균주는 섭취 후 장(腸) 내에 도달하고 이동하면서 생존하여 제 기능을 하여야 하므로 장 내부와 유사한 환경을 만들어 균주의 장 내 생존력을 테스트해보기 위함

- 장 내 생존력을 테스트하기 위해 선발된 균주들을 MRS 액체배지(pH 6.5)에서 37°C, 24시간 배양한 다음 oxgal이 0.5% 첨가된 0.05M 인산나트륨 완충액(pH 7.0)에 10% seed culture하여 37°C에서 2시간 간격으로 배양하여 0.5% pepton (pH 7.2) 용액으로 희석한 후 균주의 생존율을 희석평판법으로 계수하여 내담즙성을 측정함
- 균주의 장내 도달능력을 테스트하기 위해 선발된 균주들을 MRS 액체배지 (pH 6.5)에서 37°C, 24시간 배양한 다음 HCl을 첨가하여 pH2, pH4, pH6으로 맞춘 MRS 액체배지에 각각 10%씩 seed culture하여 시간에 따른 균주의 생존율을 희석평판법으로 계수하여 측정함



그림 12. 평판을 이용한 계수 측정

(4) 유전학적 분석 및 당분해능 (당발효능) 측정

: 균주의 분류를 세분화하고 정확하게 분석하기 위한 유전학적 분석 및 유산균의 당분해 기능에 대해 구체적인 데이터를 얻기 위한 실험을 통하여 starter로서의 유용성 여부를 판정하기 위함

- 유용 유산균의 16S rRNA 염기서열을 따로 분석하여 유전학적 가계도를 그리고, 보다 정확하게 균주의 분류를 유전자 차원에서 실행함
- 분리된 유산균주의 다양한 당분해능 검사를 위해서 Easy 24E plus kit을 사용함
- 유산균주를 MRS 평판 배지에 접종하여 37°C에서 이틀간 배양한 후 자란 세균의 colony를 이쑤시개를 이용하여 멸균수 5ml에 풀어 균주를 준비함
- 균액의 농도가 일정하도록 vortex를 이용하여 균액을 잘 섞어준 후 시약이 들어 있는 kit의 시험 장치에 균 부유액을 골고루 부어줌
- kit를 좌우로 흔들어주어 균액을 골고루 분포시킨 뒤 수평을 유지한 다음 37°C에서 이틀간 배양하며 배양이 끝난 kit에 추가 시약을 떨어뜨린 후 결과를 관찰함

- 유전자 분석과 당발효 분석 결과를 종합하여 균주를 분류학적으로 최종 확인하고 starter로서의 유용성 여부 판정

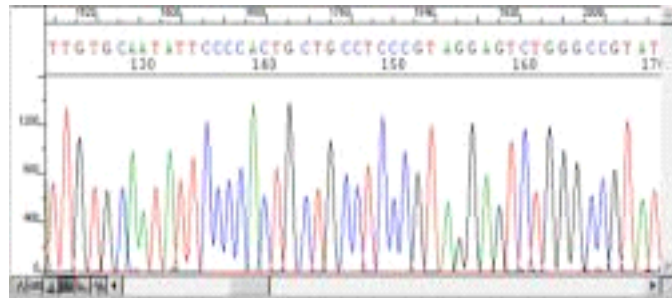


그림 13. 염기서열 분석 예시

(5) 마늘에 대한 균 생존능 측정

: 마늘 발효에 사용할 균주가 마늘의 특정한 성분으로 인해 성장하지 못할 가능성이 있으므로 마늘 성분 내에서의 성장율을 측정하기 위함

- 마늘의 특수 성분인 알리신 등이 유산균을 저해할 가능성이 있으므로 이에 대한 테스트 (disc inhibitory ring test) 등을 거치고, 생균수 측정을 통해 분리된 유산균의 starter로서의 가능성을 관찰하며 최소 10^9 cfu(colony forming unit) 이상 생장률 보일 때 합격 판정을 내리도록 함

(6) 유용유산균의 생존력 증대

: 마늘의 성분 내에서 유산균의 생존력을 강화시킴으로써 마늘과 함께 발효하여 식품으로 만들어졌을 때의 유산균 수를 최대로 하기 위함

- 분리된 균이 마늘에 대해 더욱 강화된 생존력을 가지게 하기 위해 마늘즙을 만들어 일정 농도로 MRS에 섞은 다음 slant 배양법으로 생존 능력이 강화되는 균을 선별해 나가도록 함

나. 2차년도

① 개발 목표

- 주관연구기관(농업회사법인 문무(주))
: 발효 장치 Scale up (Pilot scale) 제작 및 기호별 마늘 요거트 제품 개발
- 협동연구기관(계명대학교 산학협력단)

: 마늘 발효에 적합한 발효 방법의 개발

② 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관(농업회사법인 문무(주))

(1) 대량 발효 장치 분석을 통한 발효 장치의 scale-up

- 발효 장치의 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 제작
- 시제품 제작에 성공한 발효장치의 규모를 확대시키기 위해 단계적인 scale up을 필요로 함
- 시제작된 발효장치를 이용하여 마늘 요거트 시제품 생산에 성공한 발효장치의 설계를 토대로 크기를 10배 증가시킨 발효장치를 설계 및 제작
- 제작된 발효장치를 이용하여 처음의 발효장치와 같은 실험단계를 거침
- 발효 실험에 성공한 발효장치로부터 크기를 10배 증가시킨 발효장치를 제작하기 위한 설계 및 보완 작업

(2) 대량 발효 장치 분석

- Lab Scale의 발효조는 스테인리스 스틸로 설계, Heater가 발효조에 설치되어 있어 온도조절 뿐만 아니라 멸균을 위한 온도까지 온도를 올릴 수 있도록 설계함
- Plant 시스템을 따라 디자인 되었으며 대량 생산에 직접 적용할 수 있고, 구조물의 이동이 용이하도록 함
- 섬세한 Control System으로 각종 센싱 작업을 IT로 제어 할 수 있도록 설계
- Open Frame 구조와 스테인리스 스틸을 사용하여 작동, 세척, 유지가 용이하며, 멸균이 가능하도록 함
- 교반 시스템의 오염을 방지하며 센서를 설치할 수 있게 설계
- 모든 발효 과정은 사용자의 설정 값에 의해 자동으로 조절되며 설치된 조절 보드는 모든 센서 값을 측정하여 측정값에 의해 발효 시스템을 조절할 수 있도록 설계

- 모든 절차와 모니터링 된 데이터는 LCD 모니터에 그래프로 표시되며 모든 조절 인자들은 수정할 수 있게 설계함
- 산업적 스케일의 발효를 수행할 수 있도록 대량 생산에 기본을 두어 디자인 설계
- 모니터링, 조절 시스템은 모니터링/조절 보드에 설치되며, 주 모니터링, 조절 시스템은 표준 PC 모니터링 시스템에 연결됨

(3) 타깃 수요계층별 제품 다양화

- 우리나라는 점점 고령화 사회로 접어들고 있으며 최근 ‘웰빙 boom’ 이 일어나면서 건강에 대한 관심이 많아지고 건강식품을 찾는 사람들이 점차 늘어남
- 마늘이 건강 증진에 으뜸이라는 것이 증명되고 있으며 그 기능 및 효능 또한 소개된 바가 많으나 마늘 특유의 향과 맛 때문에 꺼리는 사람들이 많아 본 연구개발에서는 마늘을 발효시켜 마늘 향을 최대한 없애는 동시에 남녀노소 누구나 즐길 수 있는 요거트 형태로 만듦으로써 거리낌 없이 섭취할 수 있도록 함
- 마늘 요거트 풍미에 따른 고객 세분화를 통해 개개인의 취향에 적합한 마늘 요거트 개발
 - 연령층에 따른 구분 (어린이, 청년, 중년, 장년)
 - 성별에 따른 구분 (남자, 여자)
- 고객층에 따른 기능성을 구별하여 특정 고객층이 아닌 다양하고 폭 넓은 고객층을 상대로 판매하고자 함

표 3. 국내외 고객 수요층

국 내	국 외
	<ul style="list-style-type: none"> • 고객층에 따른 풍미 구별 - 연령층에 따른 구분 (어린이, 청년, 장년) - 성별에 따른 구분 (여자, 남자)
<ul style="list-style-type: none"> • 고객층에 따른 기능성을 구별하여 다양하고 폭 넓은 고객층 확보 	<ul style="list-style-type: none"> • 마늘 향의 제거로, 마늘의 향과 맛에 거부감을 갖는 해외 고객층까지 공략

- 세계 각국에서 건강식으로서의 요거트에 관심을 두고 있으며, 수요 또한 계속해서 증가하는 추세로 이미 건강식품으로 잘 알려진 마늘을 이용한 요거트를 상품화한다면 세계시장으로의 진출도 무난할 것으로 사료됨

- 협동연구기관(계명대학교 산학협력단)

(1) 마늘 발효에 적합한 발효방법의 개발

○ 마늘의 물성과 조직을 변형시키는 연구

- 세포의 물성과 조직의 변화에 도움을 줌으로써 실현되는 발효 속도 증가에 대한 구체적인 데이터 확보

○ 발효취를 최소화할 수 있는 방법에 대한 연구

- 발효취의 생성과정에 대한 원인을 알아내고 이를 방지하는 것은 품질향상 측면에서 매우 중요함
- 발효취는 크게 미생물 자체의 냄새와 미생물의 대사산물에 의한 냄새로 나눌 수 있는데, 미생물 자체의 냄새를 감소시키기 위해서는 미생물 생장을 억제하여야 하며 그 방법으로는 키토산과 같은 항균제를 첨가하여 균의 생장을 억제하거나 pH나 수분, 산소, 온도와 같이 미생물의 생육환경에 변화를 줌으로써 억제하는 방법이 있음
- 벤조산나트륨과 같은 성장 조절제를 이용함으로써 생장을 억제시키는 방법도 있으나 이러한 방법들은 발효 식품에 적용할 경우 발효가 일어나지 않을 수 있으므로 이를 조절할 수 있는 적절한 방법에 대한 연구가 필요함

다. 3차년도

① 개발 목표

- 주관연구기관(농업회사법인 문무(주))
: 대량생산체계 구축 및 마늘 요거트 제품화 계획 수립
- 협동연구기관(계명대학교 산학협력단)
: 제품의 품질관리 방법 개발

② 개발 내용 및 범위 (시스템 구성도, 구조 등을 그림으로 구체적 표현)

- 주관연구기관 (농업회사법인 문무(주))

(1) 발효장치의 대량생산체계 확립

- 300L 용량의 발효 장치 개발 및 마늘 요거트 제품 생산을 위한 대량생산체계 계획 수립
- 대량생산체계를 바탕으로 마늘 요거트 제품화를 위한 계획 수립
- 발효장치 오염 방지를 및 제품 안정성에 관한 장치 설계 및 적용
(무균 관리시스템 설계를 통한 시스템 무균화 적용)
(유통기한 및 품질 관리 방안 도출)

(2) 국내/영천시 마늘산업 및 시장 현황 분석

- 국내 마늘을 이용한 가공품 생산을 위해 사전조사 및 분석
- 국내 특산물인 마늘의 재배현황 및 매출현황에 대한 현장 조사
- 마늘 수확 후 재고량에 대한 처리 현황 분석
- 국내 마늘 가공품 제조업체 현황 분석
- 농협 마트를 중심으로 마늘과 요거트의 매출 현황 분석

(3) 발효장치의 효과 및 성능 분석에 의한 상품 우수성 인증 확보

- 개발된 발효장치에 대한 객관적인 검증 및 효능 분석을 통한 신뢰성 확보
 - 무기성분 분석
: 부위별 시료에 질산 5mL를 첨가한 후, microwave를 이용하여 분해한 다음, 분해액에 증류수를 첨가하여 50mL로 정용하여 원자흡광광도계로 분석
 - 폴리페놀 함량 분석
: 각 추출액에 H₂O 4mL, Folin-Ciocalteu's 시액 0.2mL, 포화된 Na₂CO₃ 0.2mL를 순차적으로 첨가한 후, 최종부피가 10mL가 되도록 증류수를 첨가하고 암소에서 1시간 방치한 후, 700nm에서 흡광도를 측정함
 - 플라보노이드 함량 분석
: 각 추출액에 10% aluminium nitrate 0.1mL, 1M potassium acetate 0.2mL를 순차적으로 첨가한 후, 최종 부피가 5mL가 되도록 80% MeOH을 첨가하여 암소에서 40분간 방치한 후 415nm에서 흡광도를 측정함
 - 칼로리, 총 지방량, 콜레스테롤, 나트륨, 탄수화물, 단백질 등 요거트에 필요한 영

양성분 분석

- 시제작된 발효장치를 이용하여 마늘을 발효시켰을 때의 발효 시간 및 효과 분석을 통한 발효식품의 우수성 확보

(4) 마늘 요거트의 상품화를 위한 마케팅 전략 수립

- 마늘 요거트의 상품화 및 안정적인 시장 진출을 위하여 상품홍보를 위한 마케팅 전략이 필요함
- 갈거트 라는 상품명으로 naming을 하고 비슷한 다른 용어들을 함께 상표 등록함으로써 타 사의 접근을 막고 독자적으로 상품을 출시하며 홍보할 수 있음
- 타 사의 요거트 광고 마케팅 전략을 연구·분석함과 동시에 그에 따른 매출 상승 효과 분석
- 분석 결과를 토대로 효과적·효율적인 상품 홍보 마케팅 전략을 수립
- 마케팅 전략 분석
 - 국내외 마늘시장 조사/분석을 통한 시장진입방안 강구
 - 영천 지역 내 마늘생산농가 소득증대를 위한 연구결과 공유 및 대량사업화 방안 수립
 - 소비자들에게 익숙하지 않은 브랜드일수록 소비자들이 경험할 수 있는 방법을 다양화해야 하는데, 중소식품제조업체의 소비자 커뮤니케이션하는 방법은 대기업에 비해 매우 소극적일 수밖에 없음
 - 한정된 마케팅 예산으로 타겟 고객들에게 자사의 제품을 홍보하기에는 한계가 있기 때문이며 TV나 라디오, 신문, 잡지광고와 같은 큰 비용이 투자되는 방법은 중소기업에게는 큰 부담이 될 수 있음
 - 소비자의 참여를 유도하여 직접 경험하게 하며, 경험을 다른 사람들과 공유함으로써 판매로 이어지게 하는 상호작용적 마케팅 (interactive marketing) 방법이 효과적일 수 있음

- 상호작용적 마케팅과 시식에 비중을 두고 소비자와 커뮤니케이션을 하며, 관련 키워드에서 영향력을 가지고 있는 파워 블로거들을 섭외하여 제품을 공급하도록 함

㉠ 상호작용적 마케팅

- 상호작용적 마케팅은 크게 두 가지로 나누어볼 수 있는데, 자연스럽게 소비자가 커뮤니티를 만들어 제품에 대한 정보를 공유함으로써 제조사가 직접 연계되지 않은 상태에서 경험자들의 입소문에 의한 방법이 한 가지이고, 제조사 또는 제조사의 인터랙티브 마케팅을 담당하는 광고대행사가 소비자들에게 경험하게끔 하고 그들이 만든 공간에서 경험자와 경험할 의향을 가지고 있는 예비구매자들이 정보를 공유하게 하는 방법도 있음
- 식품산업과 관련하여 소비자들이 자연스럽게 커뮤니티를 만드는 경우는 매우 드물며, 유통업체에 대한 충성도에 의한 자발적인 입소문 마케팅을 기대하기에는 어려우므로 인터랙티브 마케팅 분야에 특화를 가지고 있는 마케팅 대행사를 선정하여 홍보를 분업화하는 것이 효율적일 것으로 사료됨
- 온라인 커뮤니티와 SNS가 발전한 시대에 맞도록 파워블로거들을 활용한 방법과 체험단 운영을 통하여 체험후기를 남기고 구매의향이 있는 소비자들에게 알리는 방법은 현대 기업들이 가장 활발하게 진행하고 있는 홍보방법으로 기업입장에서는 많지 않은 비용으로 진행할 수 있는 효과적인 커뮤니케이션 수단으로 여겨짐
- 또한 목표였던 최대한 많은 소비자들에게 경험하게 하고 브랜드에 대한 인지도를 상승시키는 단기목표의 달성에 효과적일 것임

㉡ 시식

- 시식은 식품업계에서 가장 확실히 구매로 이어지게 하는 효과를 볼 수 있는 커뮤니케이션 방법으로 자동차는 운전을 해봐야 차량의 장단점을 알 수 있고 옷은 입어봐야 나에게 어울리는 것을 알 수 있는 것처럼 식품은 먹어봐야 그 제품의 맛과 개선점을 알 수 있음
- 시식은 비교적 많은 소비자들에게 경험하게 해야 하고 그에 따른 제반사항도 많이 필요로 함
- 이 때 보통 식품기업들은 가격행사 또는 1+1 행사를 함께 진행하는 것이 관례처럼 되어 있으며 이 방법은 새로이 출시되는 제품의 경우 주로 사용되어지는데 먼저 시식을 통해 먹어보고 소비자가 만족했을 때 소비자 수용 가격의 장벽을 낮춰 구매로 이어질 수 있게 하는 시스템임

- 협동연구기관(계명대학교 산학협력단)

(1) QC (Quality control) 공정 확립

- 마늘 발효액에 포함되어 있는 성분들의 균질화를 통해 상품의 품질을 관리할 필요가 있음
- 품질 관리의 체계는 원재료 검사, 공정 검사, 제품 검사, 수거 검사, 기타 작업장 및 유통환경 검사 등으로 나누어져 있음
- 각 원료의 원산지, 가공공정, 유해물질여부, 생산 공정 안정성 및 원료 안전성을 체계적이고 과학적인 방법으로 검증해야만 함
- 발효액의 유산균 수, 셀레늄, 유기성 게르마늄, 유황, 알리신 등의 성분 함량 정밀 분석
- 현재 기준은 10^7 /ml, 농후발효유의 경우는 10^8 /ml로 되어 있음. 보통의 실험조건은 10% skim milk 또는 MRS broth 등 최적 조건에서 맞추어질 것이므로 상기 기준을 초과하는 10^8 /ml 이상 배양이 가능한 균주만을 대상으로 분리할 것이므로, 제품이 만들어졌을 때는 규격을 상회할 수 있도록 조절할 것임
- 유산균 수의 측정방법은 일반세균수 측정방법에 준하여 시험하되 시험용액 제조 희석액은 멸균생리식염수 또는 펩톤식염완충액을 사용하며 배지는 MRS 한천배지 또는 BL 한천배지를 사용하여 35~37°C 에서 48~72±3시간 호기 또는 혐기 배양한 후 발생한 황색 또는 유갈색의 집락을 유산균의 집락으로 계수함
- 분석 결과를 토대로 마늘 발효액 내 성분들을 균질화할 수 있는 품질관리 방법을 개발하고 여러 가지 제품 품질관리 제도를 토대로 QC공정을 확립하고자 함



그림 14. 품질관리 시설

- 대규모의 생산 설비를 갖추어 Scale-up 된 연구와 실험의 최종 산물을 얻는 데 목적을 둬
- 생산물과 공정조절기에 대한 고도의 기술을 갖추며 보다 효과적이고 편리한 조절을 위한 발효장치를 개발하고자 함
- 대량생산체계를 갖춘 발효 장치를 이용하여 마늘 요거트를 다양하게 제품화하여 국내외 시장에 진출하고자 함

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 발효 장치와 요거트 제품의 개발 - 주관연구기관 (농업회사법인 문무(주)) 수행

가. 1차년도 수행 내용 및 결과

(1) 마늘 발효 장치 및 기술 개발

(가) 마늘 발효 장치의 개발

- Lab scale의 20L 용량 발효 장치 설계 및 제작
- 마늘의 형태를 최대한 보존하면서 마늘에 첨가물을 혼합하여 마늘 발효 식품을 제작할 수 있는 마늘 발효 장치를 제공하고자 함
- 발효 장치는 기존의 발효 장치들과 다르게 종균 접종 및 시럽 접종 파트와 pH, 온도 등을 자동화 및 조절할 수 있는 센싱 시스템 등을 구축하고 있어 안정적인 발효 제품 생산 및 오염 가능성을 줄일 수 있음
- 발효조는 발효탱크 내에 수용되는 마늘을 가열·발효시킬 수 있도록 구성되며, 종균 접종 후 발효탱크 가운데 위치한 모터에 의해 회전하여 발효균과 마늘 및 첨가물이 함께 균일하게 섞여 발효될 수 있음

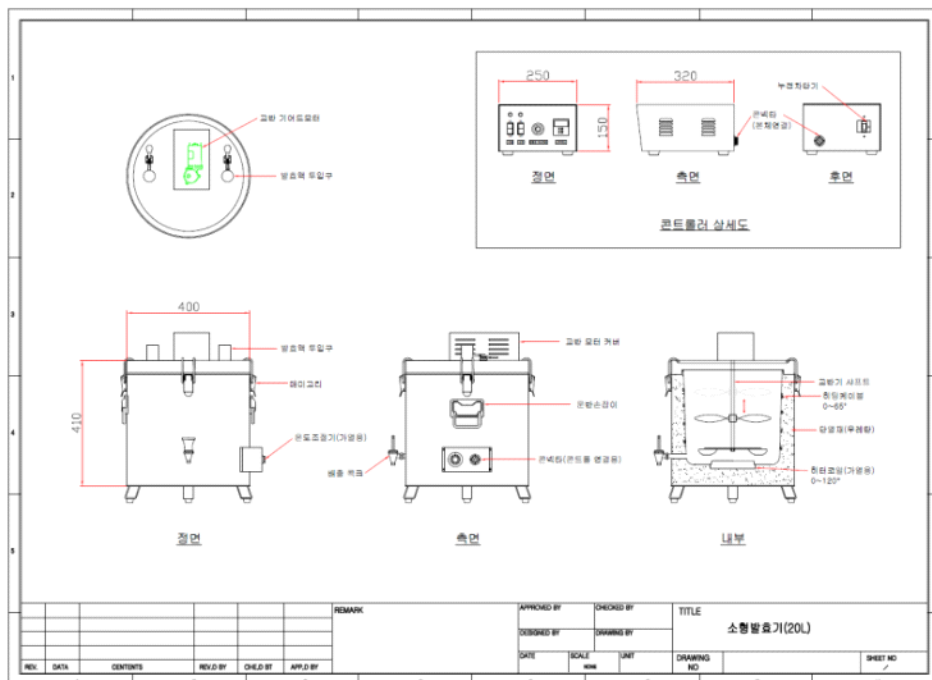


그림 15. Lab scale 발효 장치 설계도면

- 발효조 내의 내용물은 내부 히터에 의해 증탕식으로 가열되어 100℃에서 20분 이상 살균될 수 있음



그림 16. 발효조 제조

- 종균 (Starter) 접종을 위한 발효액 투입구를 발효조 커버에 제작함



그림 17. 발효액 투입구

- 발효 장치 내 센싱 시스템 구축 설계
: 균주 배양을 위한 조건 별로 센싱 범위 (온도, pH 등)를 지정하여 자동화된 컨트롤 시스템을 구축하고자 함

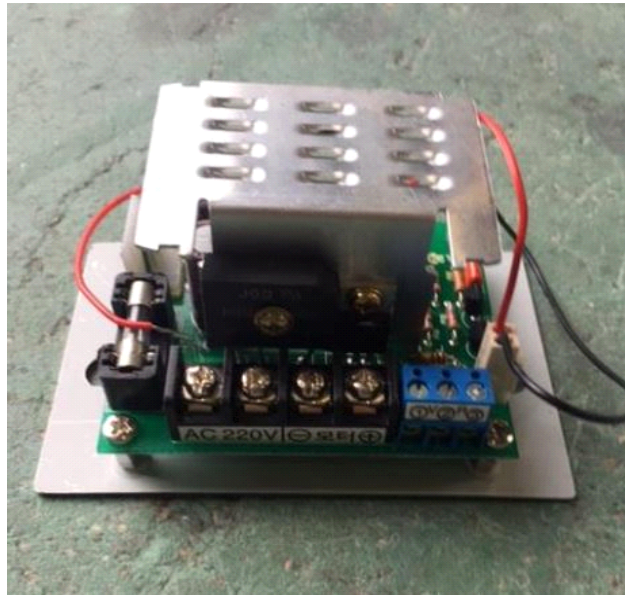
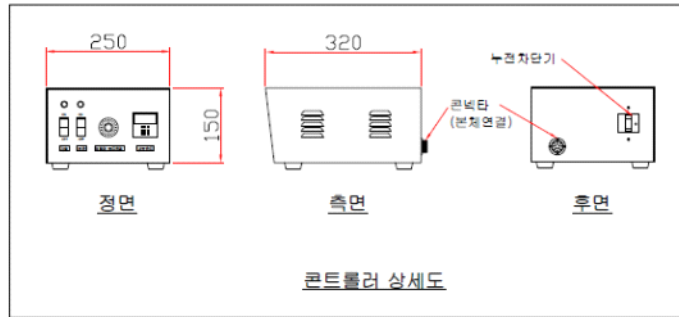


그림 18. 컨트롤러 설계 및 제작



그림 19. 교반 기어 모터



그림 20. 전원 공급 장치

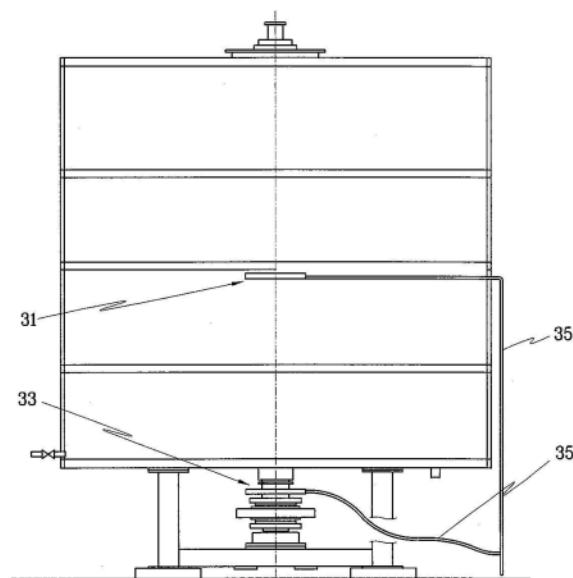
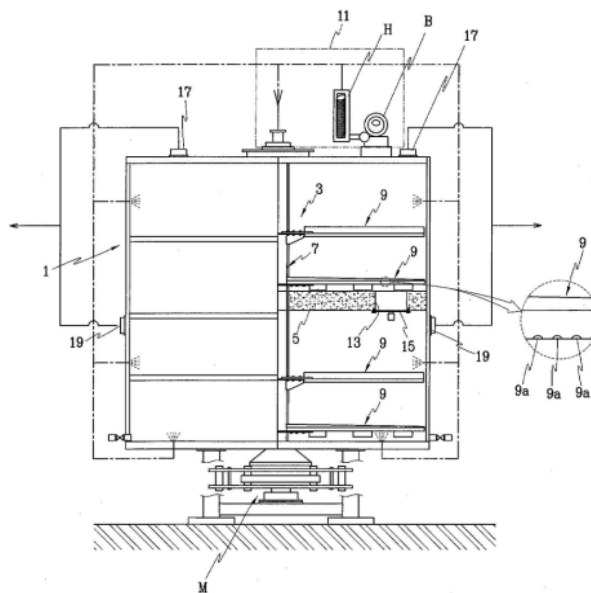


그림 21. 시작품 개발 완료 사진

(나) ‘마늘 요구르트용 소형 발효장치’ 특허 출원

- 마늘의 형태를 최대한 보존하면서 마늘에 젖산을 접종한 우유류를 혼합하여 마늘발효식품을 제작할 수 있는 마늘발효장치 제공

- 금속재로 이루어진 내솥 저면에 면접하는 핫플레이트를 통해 상기 내솥 자체의 열 살균은 물론, 마늘 및 배양액 (젖산이 접종된 우유류)의 열 살균 및 가열로 발효마늘의 생산성을 높여줌
- 발효조에서 제조된 요거트의 산도를 배출 전 단계에서 바로 측정되도록 하여, 일률적인 산도의 요거트를 제공할 수 있어 요거트의 맛과 신선도가 일정하게 유지 관리할 수 있음
- 마늘발효 및 젖산 종균 접종, 시럽 투입과정을 단계적으로 실시하여 발효과정에서 발생할 수 있는 재료의 오염 가능성 최소화



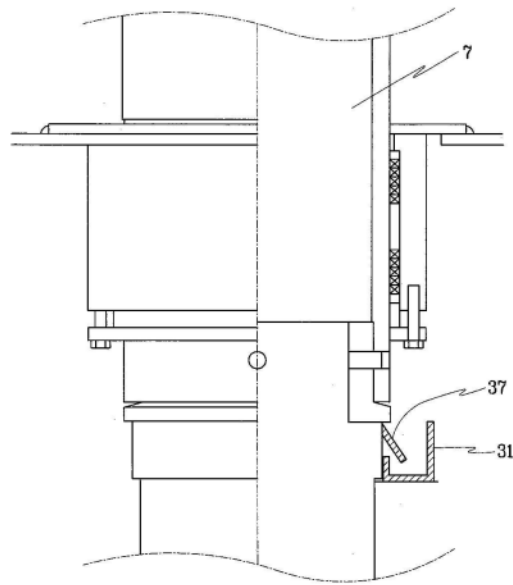


그림 22. ‘마늘 요구르트용 소형 발효장치’ 도면

- 게이트부는 케이스 상부 공간에서 케이스 하부 공간으로 처리물이 이동될 수 있도록 개폐 가능한 도어 설치
- 케이스는 상부 공간 및 하부 공간에 제공된 가스가 배출될 수 있는 가스 복수의 배출구가 마련됨
- 교반기에 마련되는 공기 유통로로 더운 공기를 공급하는 에어 공급 장치가 설치됨
- 발효 과정
 - 전처리 단계에서 발효에 최적인 상태로 처리되어 공급되는 처리물을 하루 분씩 케이스 내부로 투입
 - 유압 모터 등의 구동원을 작동하여 교반 날개를 회전시킴
 - 교반 날개를 회전시킴과 동시에 에어 공급 장치를 통하여 더운 에어를 케이스 내부로 공급함
 - 즉, 블로워에서 발생하는 에어가 히터를 지나가면서 축 및 교반 날개의 공기 분사부들을 통하여 케이스의 내부로 공급되어 발효를 극대화시킴
 - 적정한 일수가 지나 1차 발효가 끝나면 도어를 오픈, 케이스의 상부 공간에 있는 1차 처리물이 게이트부를 통과하도록 하여 케이스 하부 공간 측으로 이동시킴

- 이 과정에서 케이스가 격벽에 의하여 두개의 공간으로 나누어지면서 교반 날개들에 걸리는 부하가 격벽이 없이 전체를 회전할 때 교반날개에 걸리는 부하보다 현저하게 줄어들어 교반이 용이하게 이루어질 수 있어 발효 효율을 높일 수 있으며 전체적으로 부하량을 줄여 에너지 절감 및 기계의 수명을 증대시킬 수 있음

(2) 마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 개발

- 시제작한 발효장치를 이용하여 마늘 발효 시험 및 피드백을 통한 보완을 거쳐 마늘 요거트 시제품을 개발함
- 마늘 첨가 후 Autoclave 하여 종균 접종한 제품과 100℃의 뜨거운 물에서 중탕 하여 종균을 접종한 제품을 개발
- 분리동정한 다양한 균주들 중에서 가장 많이 알려진 *Lactobacillus plantarum* 균을 이용하여 두 종류의 시제품 개발
- 마늘 요거트의 제조
 - ① SMP + Glucose + Water
 - ② 거름망에 마늘 00개 (약 5g, sonication 실시 후)를 넣어 준비
 - ③ 준비된 마늘을 우유 용액에 담가 100℃에서 30분간 중탕
 - ④ 실온에서 완전히 식힘 (37℃ 이하)
 - ⑤ Starter 균주 접종 (0.1%)
 - ⑥ 배양 (72시간, 37℃)
 - ⑦ 거름망을 건져내고 생성된 curd를 균질화, magnetic stirrer를 이용하여 분쇄
 - ⑧ Sugar + Water 의 시럽을 준비하고 균질된 배양액과 혼합하여 액상 요구르트 완성 후 향신료를 첨가

표 4. 발효 레시피

Recipe	
Skim milk	00 g
Glucose	00 g
Sugar	00 g
향신료	00 g
Water	00 ml
Garlic	00 개 (Sonication 강, 중, 약)



그림 23. 2가지 시제품 사진

나. 2차년도 수행 내용 및 결과

(1) 대량 발효 장치 분석을 통한 발효 장치의 scale-up

- 발효 장치의 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 제작
- 시제품 제작에 성공한 발효장치의 규모를 확대시키기 위해 단계적인 scale up을 필요로 함
- 시제작된 발효장치를 이용하여 마늘 요거트 시제품 생산에 성공한 발효장치의 설계를 토대로 크기를 증가시킨 발효장치를 설계 및 제작
- 제작된 발효장치를 이용하여 처음의 발효장치와 같은 실험단계를 거침
- 발효 실험에 성공한 발효장치로부터 크기를 증가시킨 발효장치를 제작하기 위한 설계 및 보완 작업

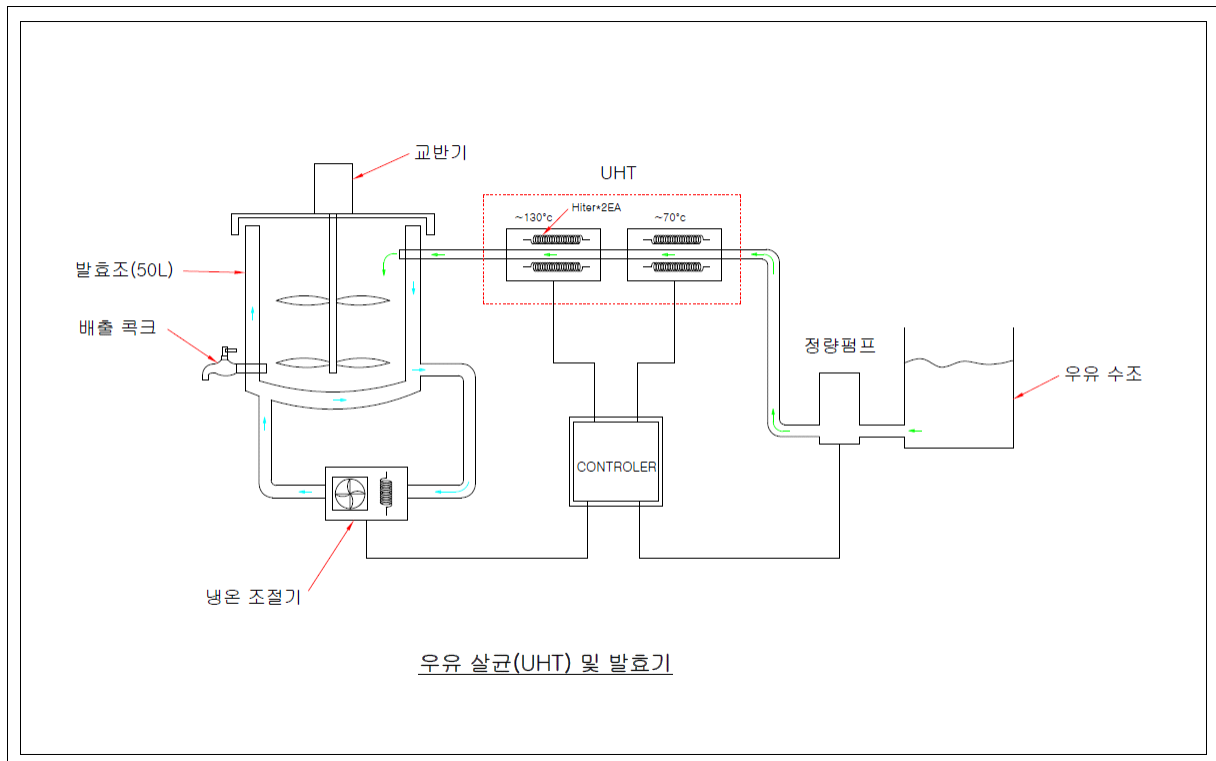


그림 24. 발효장치 및 UHT 흐름 및 전체 설계도

- 본 발효 장치는 기존의 것들과 다르게 종균 접종 및 시럽 접종 파트와 pH, 온도 등을 센싱하여 조절할 수 있는 자동화 시스템을 구축하여 안정적인 발효 제품 생산과 제품의 오염 가능성을 줄일 수 있음
- 발효조는 발효탱크 내에 수용되는 마늘을 가열·발효시킬 수 있도록 구성되며, 종균 접종 후 발효탱크 가운데 위치한 모터에 의해 회전하여 발효균과 마늘 및 첨가물이 함께 균일하게 혼합되어 발효될 수 있음
- UHT를 통하여 살균된 우유는 발효조 내부로 이송되어 20~25°C의 온도로 유지되도록 설계함

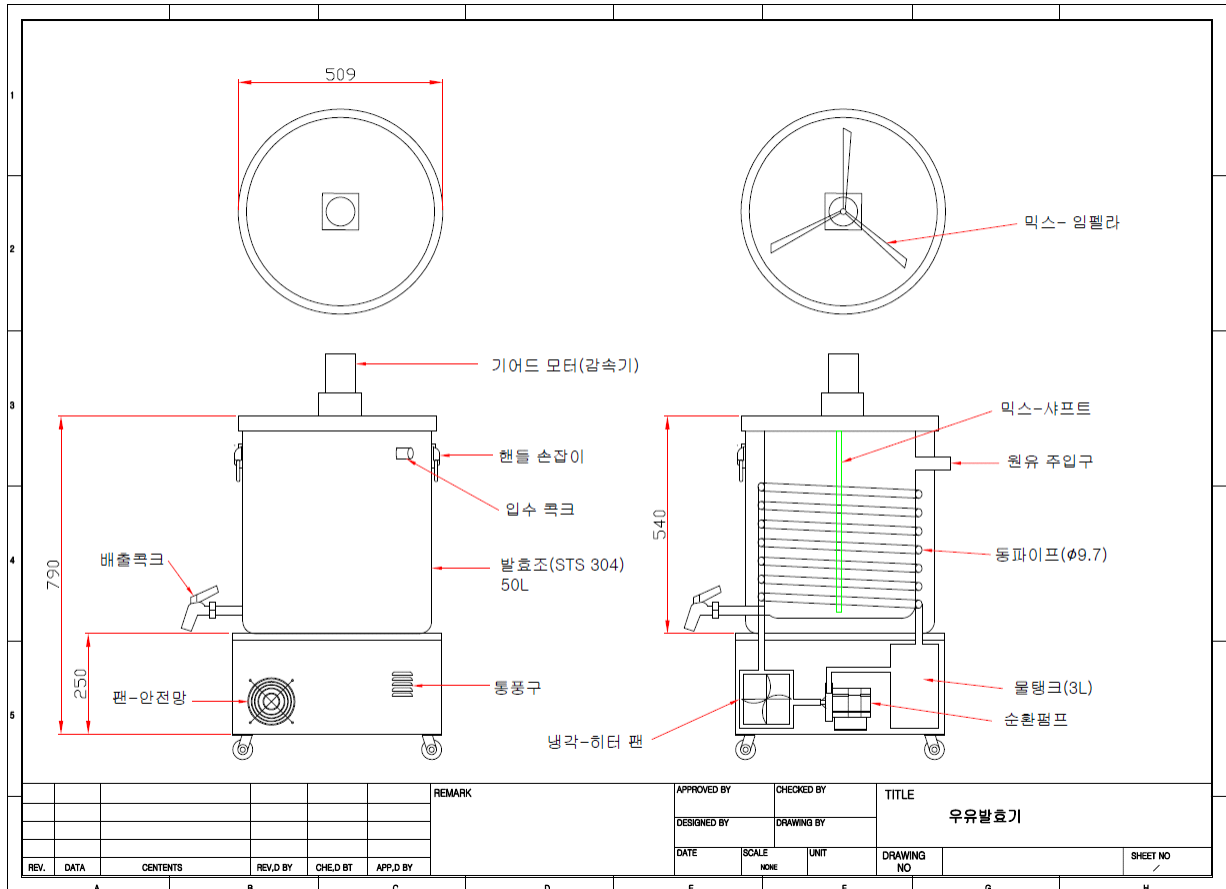


그림 25. 발효장치 Scale-up 설계도면

- 발효장치는 설계도면과 같이 순환펌프와 냉각/히팅 팬으로 구성된 온도 조절 수행부를 하측에 구성하였으며, 그 상부에는 스테인리스 304 재질의 발효조를 50 리터 용량으로 구성하고 그 내부를 혼합하기 위한 믹싱 임펠라와 25W 급 기어드모터를 적용하여 20 ~ 40 RPM으로 회전할 수 있도록 제작하였음

표 5. 발효장치의 구동 모터 세부제원

구분	사양	구분	사양
모터	K8IG25NC	감속기	K8G36C
정격전압	AC 220V	기어비	1/36
출력	25 W	회전수	20-40 RPM



그림 26. 발효조 제작과정



그림 27. 교반 장치

(2) 대량 발효 장치 분석

- Lab Scale의 발효조는 스테인리스 스틸로 제작, Heater가 발효조 내부에 설치되어 있어 발효 뿐만 아니라 멸균을 위한 온도까지 조절될 수 있도록 설계함
- Plant 시스템을 따라 디자인 되었으며 대량 생산에 직접 적용할 수 있고, 구조물의 이동이 용이하도록 함

- 섬세한 Control System으로 각종 센싱 작업을 IT로 제어할 수 있도록 설계
 - 온도조절, 유속 조절, filter의 막힘 감지 기능 등

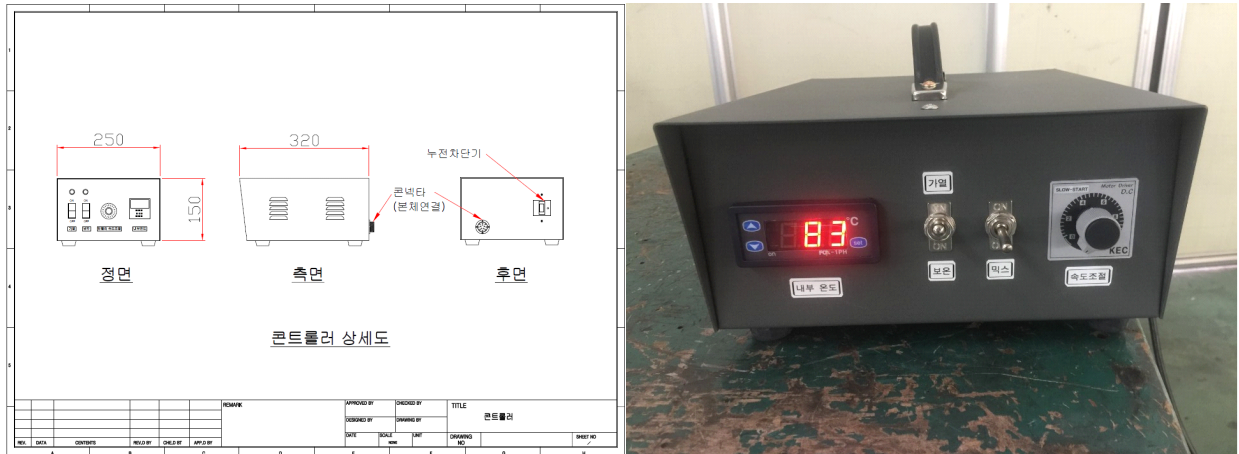


그림 28. Control System의 설계 및 제작

- Open Frame 구조와 스테인리스 스틸을 사용하여 작동, 세척 및 유지보수가 용이하며 멸균이 가능하도록 함
- 교반 시스템의 오염을 방지하며 센서를 설치할 수 있도록 설계
- 모든 발효 과정은 사용자의 설정 값에 의해 자동으로 조절되며 설치된 조절 보드는 모든 센서 값을 측정하여 측정값에 의해 발효 시스템을 조절할 수 있도록 설계
- 모든 절차와 모니터링 된 데이터는 LCD 모니터에 그래프로 표시되며 모든 조절 인자들은 수정할 수 있도록 설계함
- 산업적 스케일의 발효를 수행할 수 있도록 대량 생산에 기본을 두어 디자인 설계
- 모니터링, 조절 시스템은 모니터링/조절 보드에 설치되며, 주 모니터링, 조절 시스템은 모니터링 시스템에 연결됨

(3) UHT 시스템을 활용한 마늘 발효 시스템 구축

- 요구르트, 식초, 막걸리 등 발효제품을 제조할 때 흔히 사용하는 것이 발효탱크임
- 발효 규모와 양에 따라 다르지만 보통은 Bulk 형태로서 공정을 거치게 되고 발효 전문 회사에서는 탱크의 용량이 10,000 리터를 초과할 정도로 큰 것이 보통임

- 이때 중요한 멸균은 미생물 오염을 없애 발효제품의 수명을 늘리기도 하지만, 그 과정에서 일어나는 갈변화, 영양소의 유지 등 고려되어야 할 점이 많음
- 더욱이 가열하거나 고압멸균하는 방법은 대용량의 발효탱크에는 적합하지 않고 사용되는 우유, 물(청수), 첨가되는 향료, 시럽 등 모든 것이 미생물 오염이 없는 상태로 멸균된 다음 발효된 시료와 혼합(blending)되어야 함
- 흔히 사용하는 멸균장치 중 하나는 UHT(Ultra High Temperature)임
- 튜브형의 장치로서 발효관에 부착시킨 뒤 내부 온도를 고온으로 유지하는 장치로써 시료를 적정 속도로 흘려보내면 이 튜브를 통과하면서 멸균 효과를 발휘하는 기기임
- 이때 중요한 점은 유속(flow rate)과 온도로써 유속에 따라 튜브 내에 머무르는 시간이 달라지고, 열처리하는 시간과 효과가 달라지기 때문에 갈변화(browning effect)에 영향을 주고 결과적으로 맛과 풍미에서 큰 차이를 나타낼 수 있음
- 현재 시판중인 UHT는 대용량 탱크에 적합하도록 설계되어 있고 control panel이 복잡하여 지속적인 점검과 보수가 필수적임
- 이러한 UHT는 가격도 비싸고 효율면에서도 부적합하기 때문에 100리터 이하의 소형발효탱크에는 적합하지 않음
- 작은 규모의 회사에서 시판용 시제품을 만들거나 적은 규모로 제품 생산하려는 목적을 가지고 있을 때, 시제품 제작 등을 위해 100 리터 이하의 소형발효탱크를 운영하려면, 보다 작고 조절이 간편하며, 그러면서도 유지, 보수가 간편한 신개념의 UHT가 요구되며 동시에 유속과 온도를 동시에 조절 가능하도록 제작하여 갈변화의 정도를 조절할 수 있어야 함
- 기존의 UHT와 원리가 완전히 다른 신개념의 UHT는 다음과 같음
- 튜브형으로 설계하여 지속적으로 시료를 흘려보낼 수 있어 시료의 전체 용량과 관계없이 사용할 수 있도록 고안하였으며, 모래를 사용하여 열의 지속적 보존이 가능하게 하였으며, 유속의 조절로써 갈변화 정도를 적절하게 하면서 동시에 시료의 종류에 따라 영양소의 파괴를 최소화할 수 있도록 함
- 발효된 시료 외 기타 첨가물은 2.0 μm 와 0.45 μm 의 이중 필터를 거쳐 멸균된 다음 시료와 혼합되도록 디자인하였음
- 1차 필터링한 다음 2차 필터링 함으로써 완전한 멸균효과를 얻는 동시에 미처 정제되지 못한 굵은 시료로 인해 필터가 막혀 공정이 정지되는 것을 막기 위함임

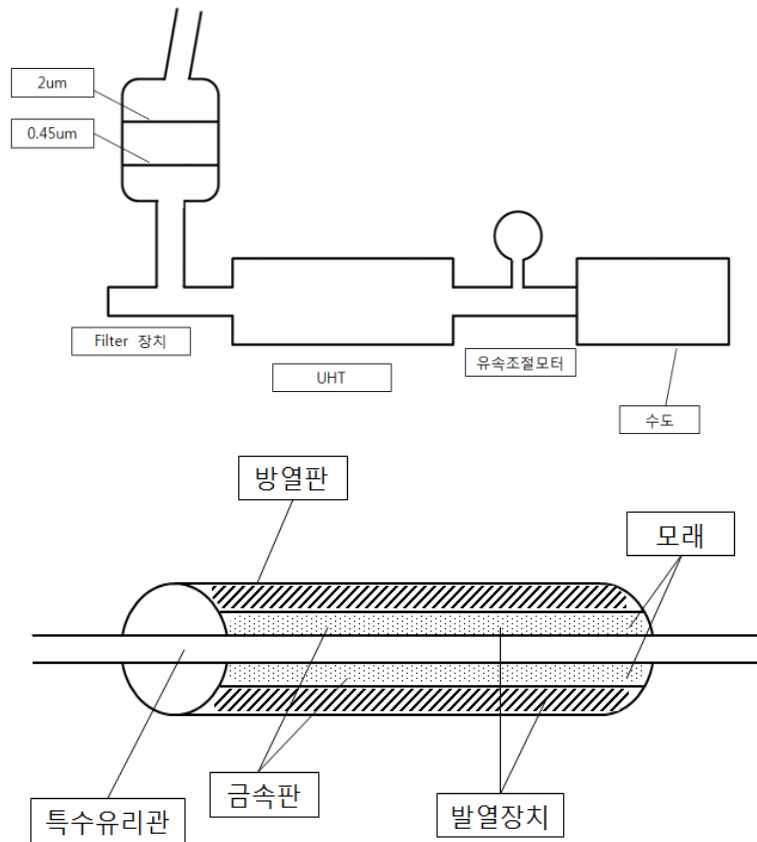


그림 29. UHT 장치 예상 모형도

○ 장치는 다음과 같이 4개 부분으로 나뉘짐

(가) UHT 부분

- 전체 길이는 10cm 내외로 함
- 액체 시료가 통과하는 관은 온도에 의해 부피가 팽창하지 않는 (고온에서도 부피가 일정한) 특수 재질의 유리관을 사용함
- 유리관 주변은 열보존성이 높은 모래를 채운 2층의 금속판으로 둘러쌘
- 금속판 바깥쪽은 발열장치(heating system)로 둘러쌘
- 가장 바깥쪽은 방열판으로 포장함

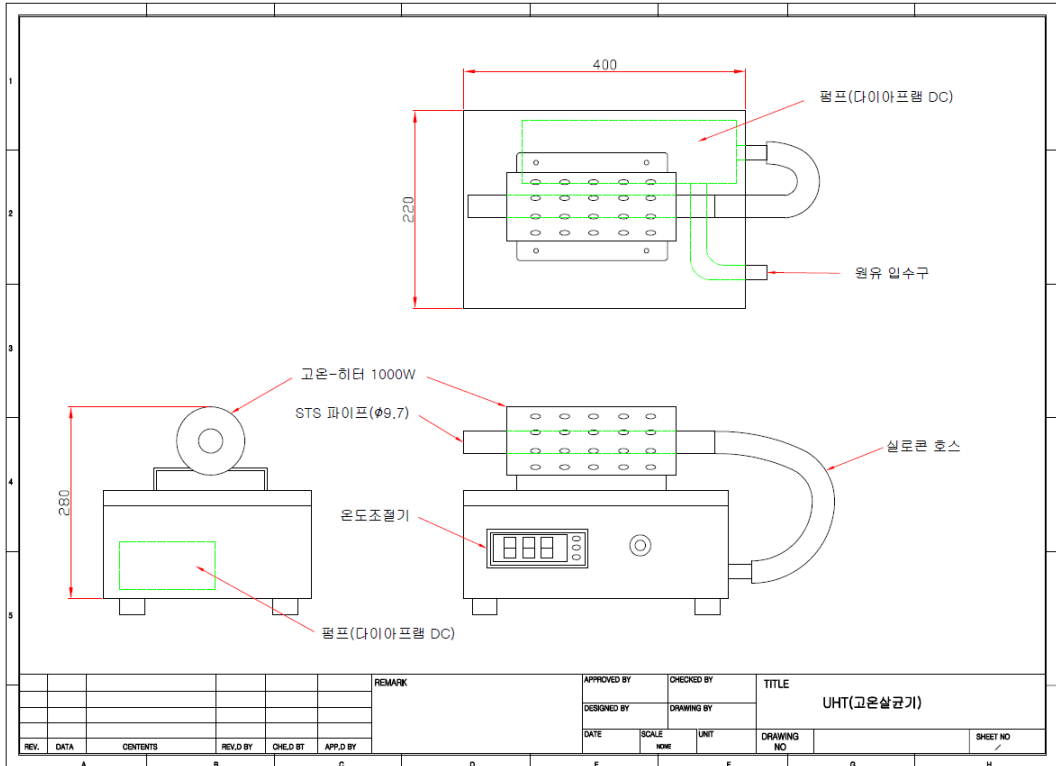


그림 30. UHT 장치 설계도면

- UHT 장치부는 설계도면에 의하여 하측의 제어부에 온도조절기, 다이어프램식 펌프 및 원유 유입구를 구성하였으며 상부에 특수 유리관, 모래를 채운 금속판, 1,000 W 급 발열 장치 및 방열판으로 포장된 멸균부를 구성하였음

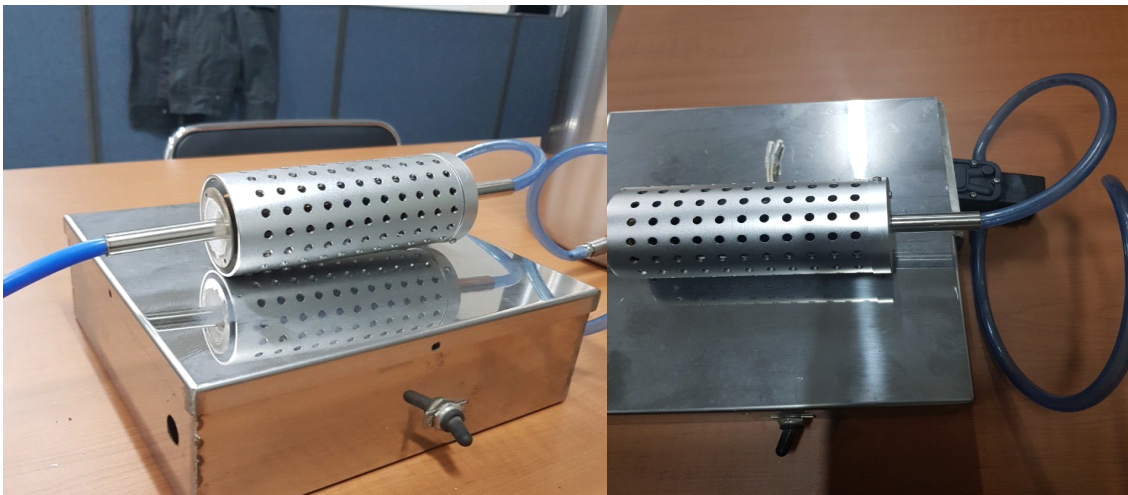


그림 31. UHT 장치부

표 6. UHT 장치부 펌프 세부제원

구 분	사 양	구 분	사 양
정격전압	DC 12V	최대압력	0.75 MPa
출력	45 W	최대유량	4 l /min

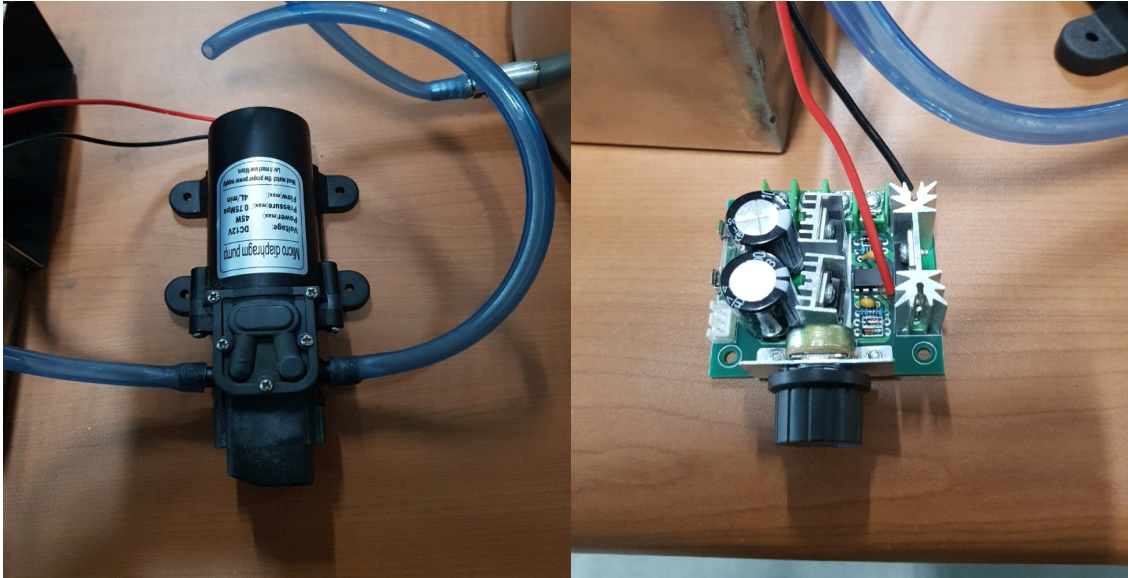


그림 32. UHT장치에 연결된 정량펌프

(나) 유속(flow rate)을 조절할 수 있는 모터 시스템

(다) 기타 시료를 위한 filter 장치

- 열을 가하지 않은 멸균장치로서 영양소 파괴를 최소화함
- 2.0 μm 와 0.45 μm 의 이중 필터를 장착한 여과장치 장착
- 2.0 μm 는 1차 여과로서 2차 여과에 앞서 굵은 입자들을 제거해줌
- 2차 여과는 세균이 통과하지 못하는 0.45 μm 의 필터임

○ 최종 완성사진



그림 33. 발효장치 및 UHT장치 최종 완성사진

다. 3차년도 수행 내용 및 결과

(1) 발효장치의 대량생산체계 확립

(가) 발효 장치의 scale-up 설계 및 300L 용량 발효 장치 제작

- 시제품 제작에 성공한 발효장치의 규모를 확대시키기 위해 단계적인 scale up을 필요로 함
- 교반 블레이드는 유동계수 및 동력계수, 교반효율을 계산하여 블레이드 각도와 회전속도를 결정하여 제작
- 시제작된 발효장치를 이용하여 마늘 요거트 시제품 생산에 성공한 발효장치의 설계를 토대로 크기를 증가시킨 발효장치를 설계 및 제작
- 제작된 발효장치를 이용하여 처음의 발효장치와 같은 실험단계를 거침
- 발효 실험에 성공한 발효장치로부터 크기를 증가시킨 발효장치를 제작하기 위한 설계 및 보완 작업

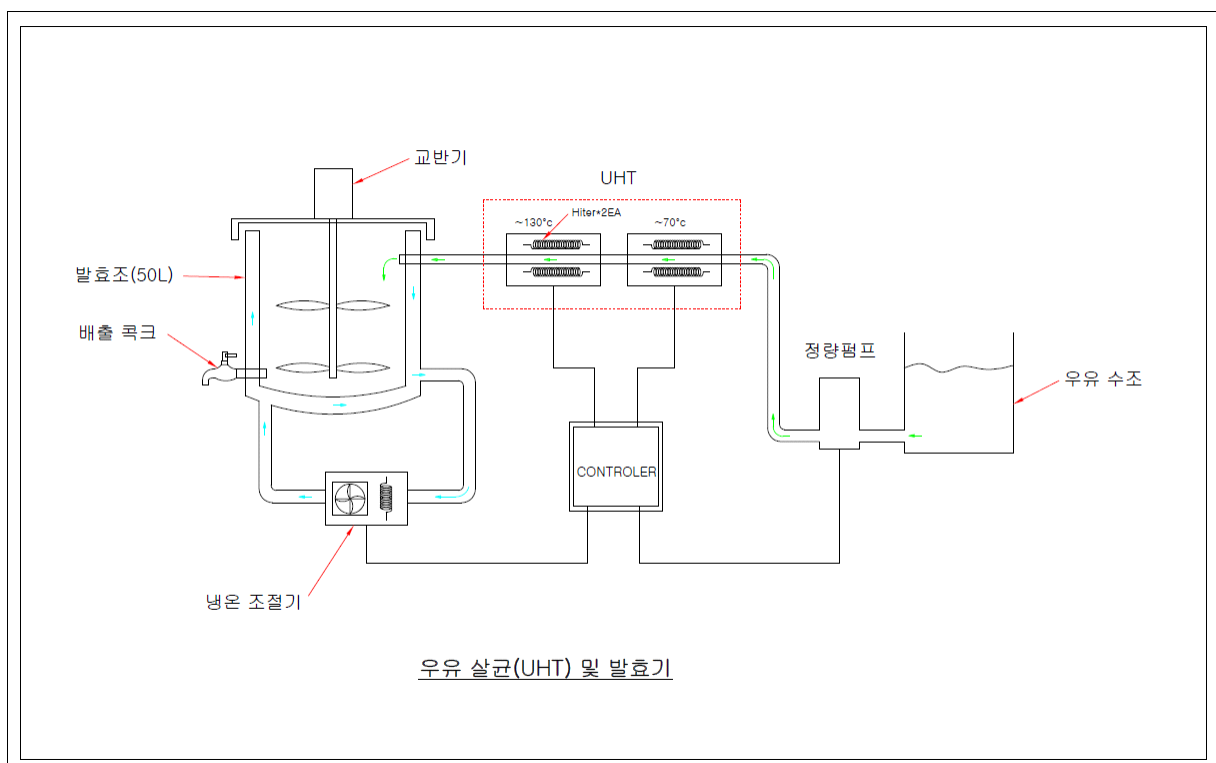


그림 34. 발효장치 및 UHT 흐름 및 전체 설계도

- 본 발효 장치는 기존의 것들과 다르게 종균 접종 및 시럽 접종 파트와 pH, 온도 등을 센싱하여 조절할 수 있는 자동화 시스템을 구축하여 안정적인 발효 제품 생산과 발효 장치 오염 방지 및 제품의 안정성을 높일 수 있음
- 발효조는 발효탱크 내에 수용되는 마늘을 가열·발효시킬 수 있도록 구성되며, 종균 접종 후 발효탱크 가운데 위치한 모터에 의해 회전하여 발효균과 마늘 및 첨가물이 함께 균일하게 혼합되어 발효될 수 있음
- UHT를 통하여 살균된 우유는 발효조 내부로 이송되어 20 ~ 25°C의 온도로 유지되도록 설계함

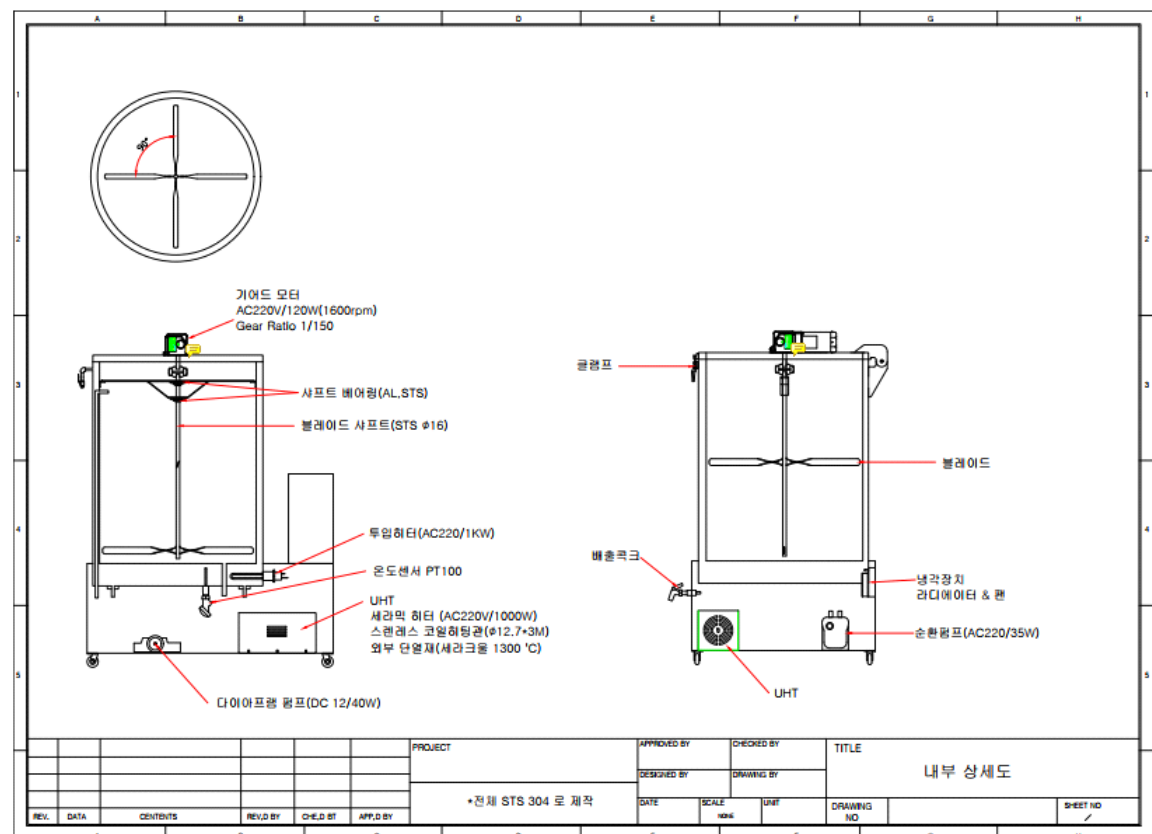


그림 35. 발효장치 Scale-up 설계도면

- 발효장치는 설계도면과 같이 순환펌프와 냉각/히팅 팬으로 구성된 온도 조절 수행부를 하측에 구성하였으며, 그 상부에는 스테인레스 304 재질의 발효조를 300 리터 용량으로 구성하고 그 내부를 혼합하기 위한 믹싱 임펠라와 25W 급 기어드모터를 적용하여 20 ~ 40 RPM으로 회전할 수 있도록 제작하였음

표 7. 발효장치의 구동 모터 세부제원

구분	사양	구분	사양
모터	K8IG25NC	감속기	K8G36C
정격전압	AC 220V	기어비	1/36
출력	25 W	회전수	20-40 RPM



그림 36. 발효조 제작과정

(나) 교반 블레이드 설계 제작

- 교반기 내 유동장은 블레이드의 형상과 작동조건이 지배적인 변수로 작용한다. 물질의 교반이 주로 블레이드의 회전에 의해서 좌우되기 때문에, 교반성능을 분석하기 위해서는 작동 유체를 토출하는 블레이드의 능력을 정의하였다. 블레이드 유동계수는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\varepsilon_P = \frac{Q_P}{ND^3}$$

여기서, Q_P : 블레이드에 의한 총 토출유량

N : 블레이드의 회전 각속도

D : 블레이드의 지름

- 블레이드는 회전하면서 작동 유체의 저항을 받게 되는데, 이 저항은 블레이드의 압력과 전단응력으로 나타난다. 또한 이 저항은 블레이드의 형상과 작동 유체의 점성 등의 물 성치에 따라 다르며, 이와 함께 블레이드를 회전시키기 위한 소비 동력도 크게 달라진다. 이 소비 동력을 나타내는 지표로 무차원된 동력계수(Power Coefficient)는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\omega_P = \frac{P}{\rho N^3 D^5}$$

여기서, P : 소비 동력

ρ : 유체의 밀도

N : 블레이드의 회전 각속도

D : 블레이드의 지름

- 블레이드의 소비 동력은 작지면 블레이드의 토출 능력이 높은 형상에 대한 설계가 필요하며, 이를 위해서 요구 동력 대비 블레이드의 토출 능력을 비교할 수 있는 지표가 필요하다. 토출유용도(Pumping Effectiveness)는 유동계수와 동력계수의 비율로서, 블레이드의 토출 효율을 나타내는 지표로 사용되고 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\eta_P = \frac{\varepsilon_P}{\omega_P}$$

여기서, ε_P : 유동 계수

ω_P : 동력 계수

- 이와 같이 유동계수, 동력계수, 토출효율을 적용하여 블레이드를 제작하였다.

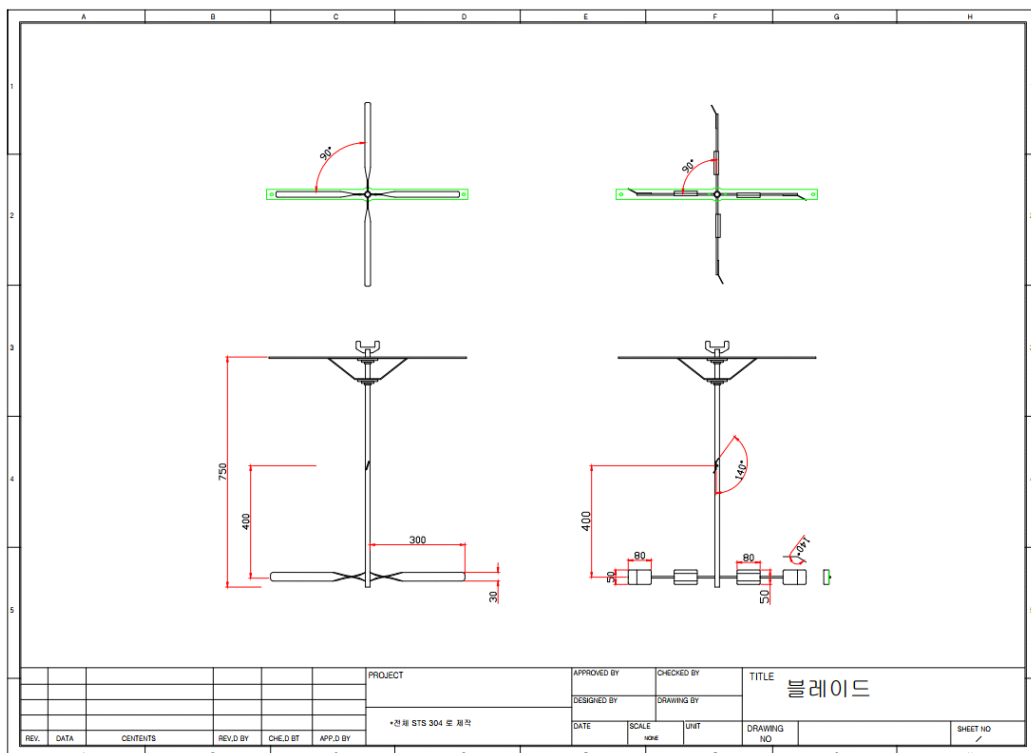


그림 37. 교반 장치 내 블레이드 설계 도면



그림 38. 교반 장치 내 블레이드

(다) 대량 발효 장치 분석

- Lab Scale의 발효조는 스테인리스 스틸로 제작, Heater가 발효조 내부에 설치되어 있어 발효 뿐만 아니라 멸균을 위한 온도까지 조절될 수 있도록 설계함
- Plant 시스템을 따라 디자인 되었으며 대량 생산에 직접 적용할 수 있고, 구조물의 이동이 용이하도록 함
- 섬세한 Control System으로 각종 센싱 작업을 IT로 제어할 수 있도록 설계
 - 온도조절, 유속 조절, filter의 막힘 감지 기능 등

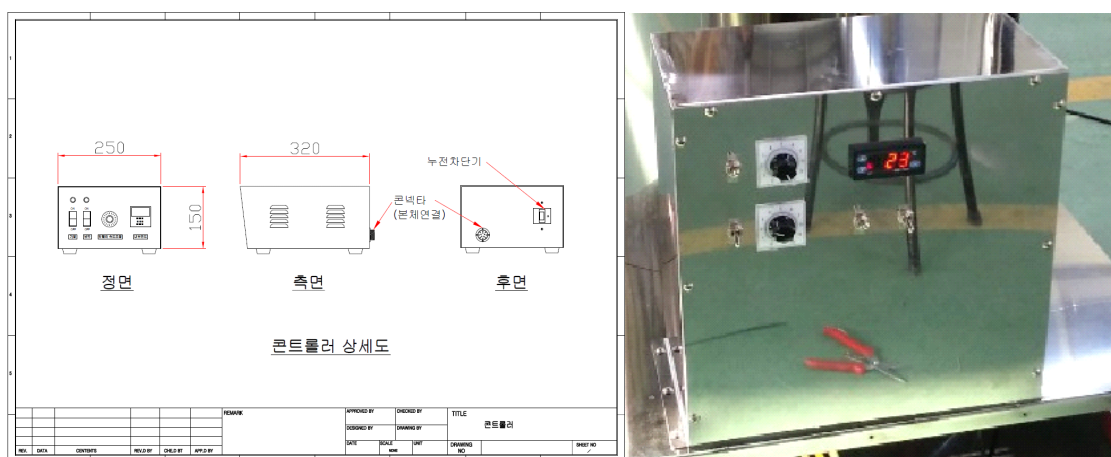


그림 39. Control System의 설계 및 제작

- Open Frame 구조와 스테인리스 스틸을 사용하여 작동, 세척 및 유지보수가 용이하며 멸균이 가능하도록 함

- 교반 시스템의 오염을 방지하며 센서를 설치할 수 있도록 설계
- 모든 발효 과정은 사용자의 설정 값에 의해 자동으로 조절되며 설치된 조절 보드는 모든 센서 값을 측정하여 측정값에 의해 발효 시스템을 조절할 수 있도록 설계
- 모든 절차와 모니터링 된 데이터는 LCD 모니터에 그래프로 표시되며 모든 조절 인자들은 수정할 수 있도록 설계함
- 산업적 스케일의 발효를 수행할 수 있도록 대량 생산에 기본을 두어 디자인 설계
- 모니터링, 조절 시스템은 모니터링/조절 보드에 설치되며, 주 모니터링, 조절 시스템은 모니터링 시스템에 연결됨

(라) UHT 시스템을 활용한 마늘 발효 시스템 구축

- 요구르트, 식초, 막걸리 등 발효제품을 제조할 때 흔히 사용하는 것이 발효탱크임
- 발효 규모와 양에 따라 다르지만 보통은 Bulk 형태로서 공정을 거치게 되고 발효 전문 회사에서는 탱크의 용량이 10,000 리터를 초과할 정도로 큰 것이 보통임
- 이때 중요한 멸균은 미생물 오염을 없애 발효제품의 수명을 늘리기도 하지만, 그 과정에서 일어나는 갈변화, 영양소의 유지 등 고려되어야 할 점이 많음
- 더욱이 가열하거나 고압멸균하는 방법은 대용량의 발효탱크에는 적합하지 않고 사용되는 우유, 물(청수), 첨가되는 향료, 시럽 등 모든 것이 미생물 오염이 없는 상태로 멸균된 다음 발효된 시료와 혼합(blending)되어야 함
- 흔히 사용하는 멸균장치 중 하나는 UHT(Ultra High Temperature)임
- 튜브형의 장치로서 발효관에 부착시킨 뒤 내부 온도를 고온으로 유지하는 장치로써 시료를 적정 속도로 흘려보내면 이 튜브를 통과하면서 멸균 효과를 발휘하는 기기임
- 이때 중요한 점은 유속(flow rate)과 온도로써 유속에 따라 튜브 내에 머무르는 시간이 달라지고, 열처리하는 시간과 효과가 달라지기 때문에 갈변화(browning effect)에 영향을 주고 결과적으로 맛과 풍미에서 큰 차이를 나타낼 수 있음
- 현재 시판중인 UHT는 대용량 탱크에 적합하도록 설계되어 있고 control panel이 복잡하여 지속적인 점검과 보수가 필수적임

- 이러한 UHT는 가격도 비싸고 효율면에서도 부적합하기 때문에 100리터 이하의 소형발효탱크에는 적합하지 않음
- 작은 규모의 회사에서 시판용 시제품을 만들거나 적은 규모로 제품 생산하려는 목적을 가지고 있을 때, 시제품 제작 등을 위해 100 리터 이하의 소형발효탱크를 운영하려면, 보다 작고 조절이 간편하며, 그러면서도 유지, 보수가 간편한 신개념의 UHT가 요구되며 동시에 유속과 온도를 동시에 조절 가능하도록 제작하여 갈변화의 정도를 조절할 수 있어야 함
- 기존의 UHT와 원리가 완전히 다른 신개념의 UHT는 다음과 같음
- 튜브형으로 설계하여 지속적으로 시료를 흘려보낼 수 있어 시료의 전체 용량과 관계없이 사용할 수 있도록 고안하였으며, 모래를 사용하여 열의 지속적 보존이 가능하게 하였으며, 유속의 조절로써 갈변화 정도를 적절하게 하면서 동시에 시료의 종류에 따라 영양소의 파괴를 최소화할 수 있도록 함
- 발효된 시료 외 기타 첨가물은 2.0 μm 와 0.45 μm 의 이중 필터를 거쳐 멸균된 다음 시료와 혼합되도록 디자인하였음

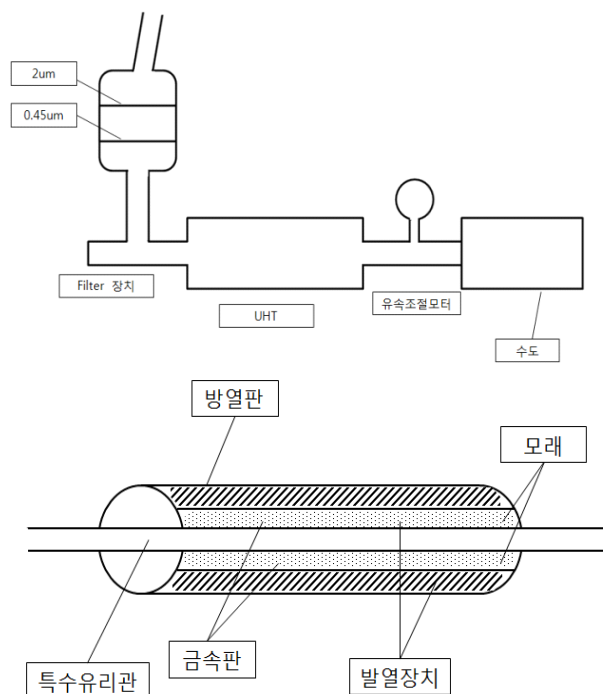


그림 40. UHT 장치 예상 모형도

- 1차 필터링한 다음 2차 필터링 함으로써 완전한 멸균효과를 얻는 동시에 미처 정제되지 못한 굵은 시료로 인해 필터가 막혀 공정이 정지되는 것을 막기 위함임
- 장치는 다음과 같이 4개 부분으로 나뉘짐
- UHT 부분
 - 전체 길이는 10cm 내외로 함
 - 액체 시료가 통과하는 관은 온도에 의해 부피가 팽창하지 않는 (고온에서도 부피가 일정한) 특수 재질의 유리관을 사용함
 - 유리관 주변은 열보존성이 높은 모래를 채운 2층의 금속판으로 둘러쌘
 - 금속판 바깥쪽은 발열장치(heating system)로 둘러쌘
 - 가장 바깥쪽은 방열판으로 포장함

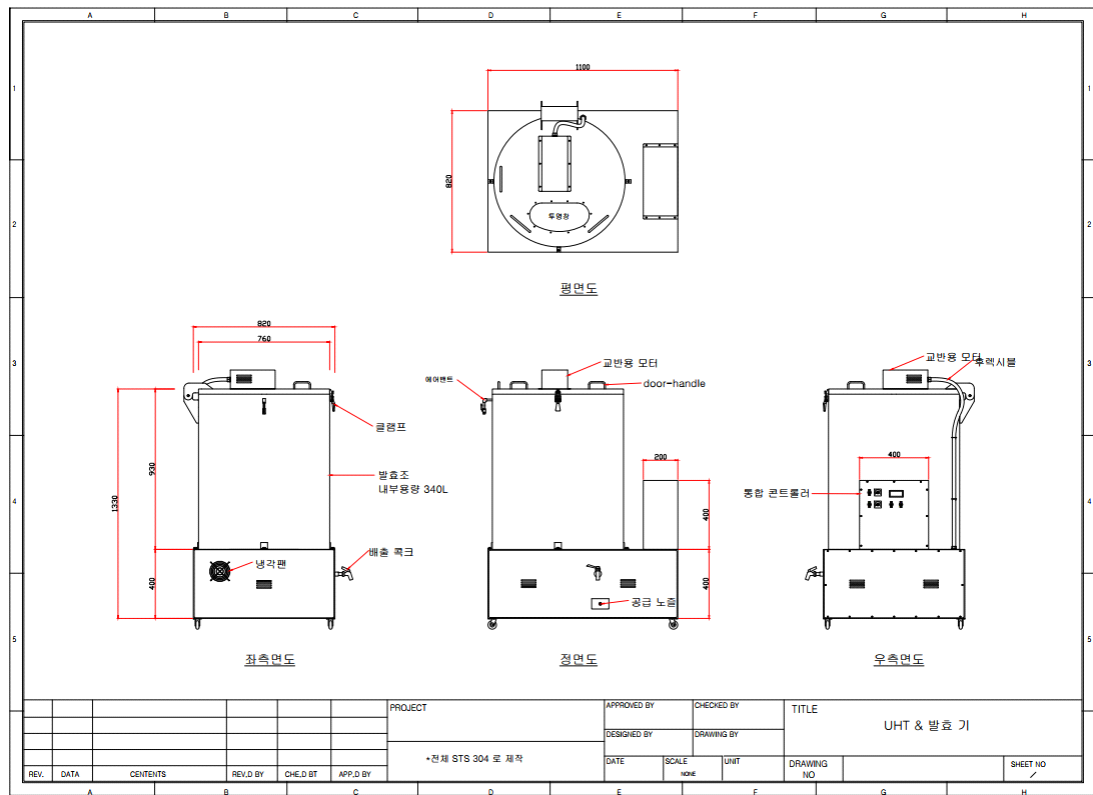


그림 41. UHT 장치 설계도면

- UHT 장치부는 설계도면에 의하여 하측의 제어부에 온도조절기, 다이어프램식 펌프 및 원유 유입구를 구성하였으며 상부에 특수 유리관, 모래를 채운 금속판, 1,000 W 급 발열장치 및 방열판으로 포장된 멸균부를 구성하였음



그림 42. UHT 장치부

표 8. UHT 장치부 펌프 세부제원

구 분	사 양	구 분	사 양
정격전압	DC 12V	최대압력	0.75 MPa
출력	45 W	최대유량	4 l /min

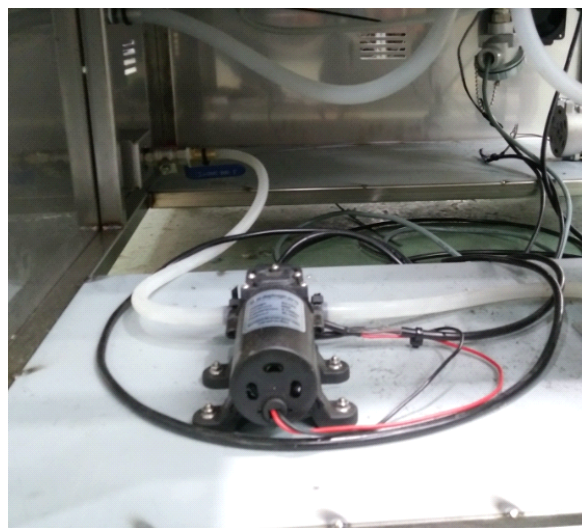
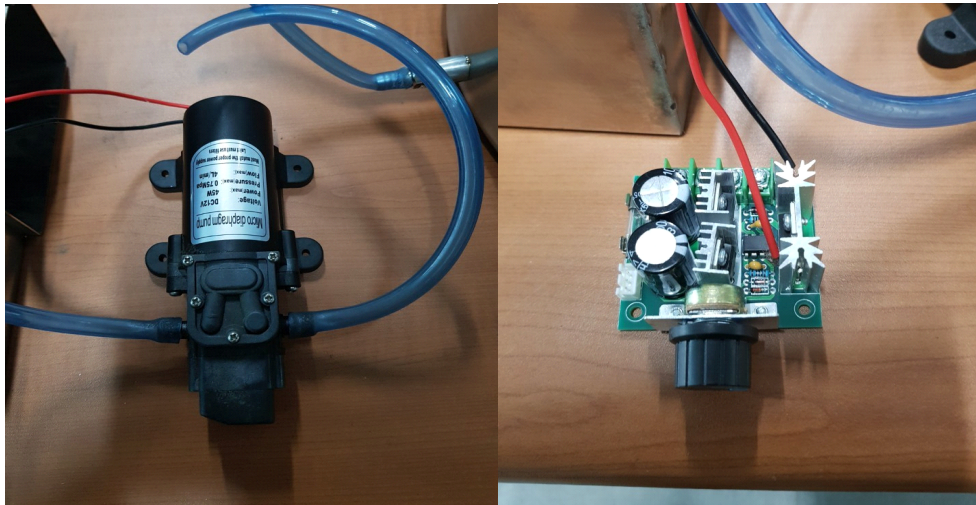


그림 43. UHT장치에 연결된 정량펌프

- 유속(flow rate)을 조절할 수 있는 모터 시스템
- 기타 시료를 위한 filter 장치
 - 열을 가하지 않은 멸균장치로서 영양소 파괴를 최소화함
 - 2.0 μm 와 0.45 μm 의 이중 필터를 장착한 여과장치 장착
 - 2.0 μm 는 1차 여과로서 2차 여과에 앞서 굵은 입자들을 제거해줌
 - 2차 여과는 세균이 통과하지 못하는 0.45 μm 의 필터임

- 최종 완성사진

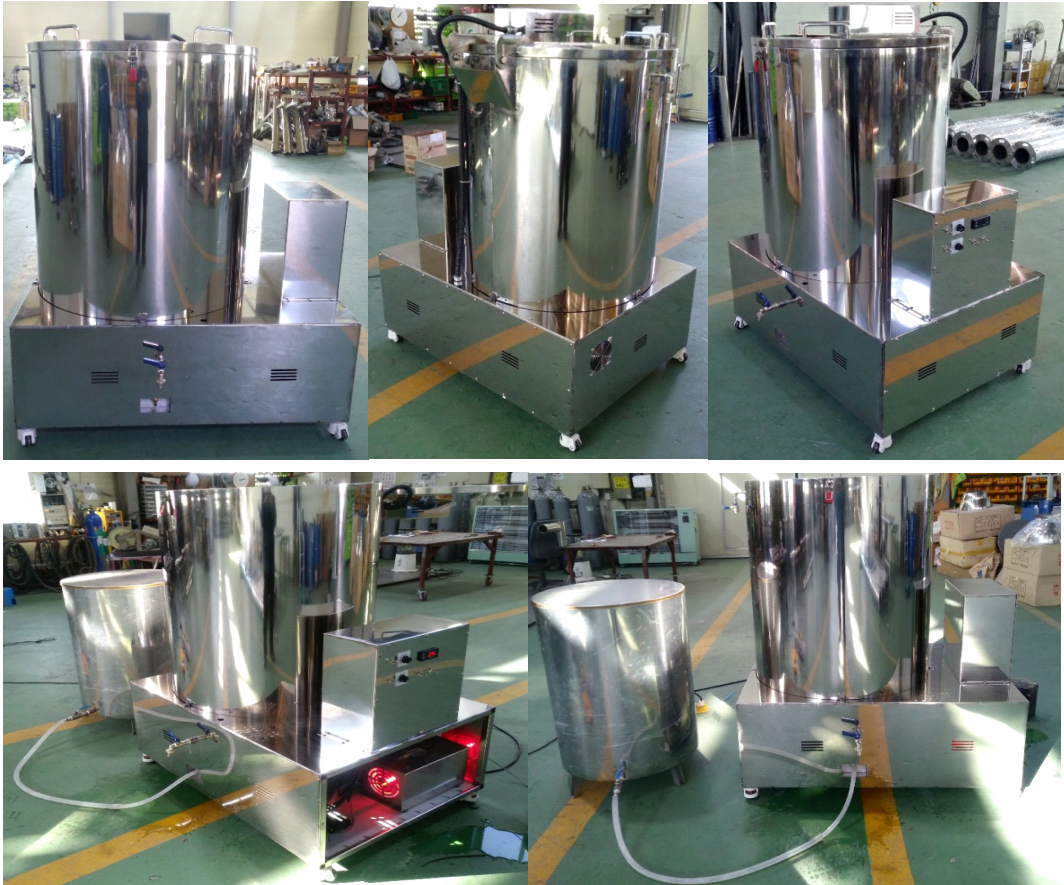


그림 44. 발효장치 및 UHT장치 최종 완성사진

(마) 기존 발효 장치와의 차이점 및 사업화 방안

- 기존 장치는 대형, 복잡, 설비 투자비 많음, 저유조, 용해조, 살(멸)균 장치, 발효조, 균 질기 등의 구성으로 복잡하고 투자비 높음. 유지 관리 비용 높음, 단위 LOT (Batch) 생산량 많아야 함(최소 2,000~10,000Kg 생산)
- 개발장치는 소규모 장치로 투자비 적고 구성물 단순화, 20~500Kg 설계도 가능하여 Lab. 규모 (학교 실험실, 연구소 실험생산에 적합), 농가형 (개별 목장형) 공장, 소규모 생산(다품종 소량 생산), 상대적 저개발국에서 소량 규모 생산 런칭 등에 적합
- 국내 ; 소규모 및 Lab.형, 농장 직영형 공장에 공급 가능, 사업 초기 소량 신제품 출시 여건에 적합하다고 판단됨
- 수출 ; 식품, 낙농 후발 국가에 저비용으로 장치 수출, 초기 소량 런칭할 때 적용 유통기한 짧은 제품이므로 기술과 발효 장비 병행 수출하여 현지 생산 필요
- 발효 기술의 동남아 및 서남아 수출을 통한 로얄티 확보방안 마련

2-2. 발효 방법 및 발효 제품의 품질 관리 방법 개발

- 참여 연구기관(계명대학교 산학협력단)수행

가. 1차년도 수행 내용 및 결과

(1) 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 분석

미생물 분리를 위한 시료 채취 및 수집을 수행하였음, 다양한 균주 수집 및 분리 배양을 통한 마늘 발효에 적합한 균주 확보

(가) 가축 분변 수집 및 균 분리

- 말 분변 (영천 마사 제공) 및 소 분변 (성주 우사 제공) 채취 후 MRS broth 5ml에 접종 후 4℃ 보관



그림 45. (좌) 말 분변 샘플 시험관 (우) 소 분변 샘플 시험관

(나) 일본 장류 및 어패류 등 샘플 수집 및 균 분리

- 일본 미에현 내 시장 및 식당 등에서 다양한 샘플 수집 (약 30가지 시료 수집)

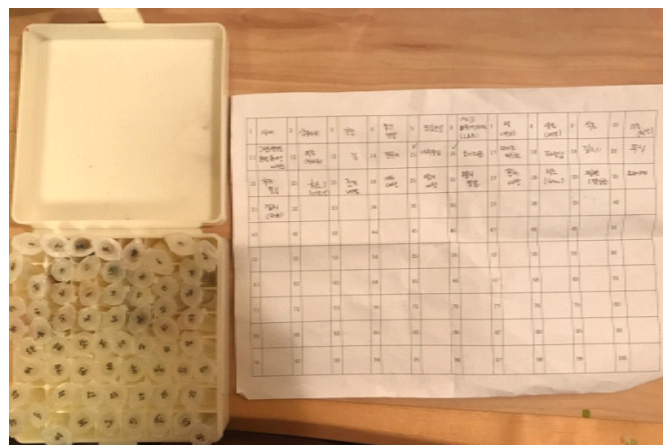




그림 46. 일본 수집 샘플 tube 보관 목록 및 수집 시료 사진

- 유용 미생물 선별
 - 유산균 분리를 위한 선별 배지 선택 및 제조 (MRS와 TCM 및 기타 선별 배지 비교 실험)
 - BCP (Bromocresol purple)접종한 MRS 배지 이용하여 배지 색이 노랗게 변하면 산성을 가진 유산균일 가능성이 높은 것으로 분석함
- 유전자 분석을 통한 1차 검증 및 동정
 - 16s rRNA 염기서열을 분석하여 분리된 균주를 유전자 차원에서 동정하며 GenBank의 Blast 비교 조사
- 분석 결과 Enterococcus, Lactobacillus 속 등의 결과를 얻음

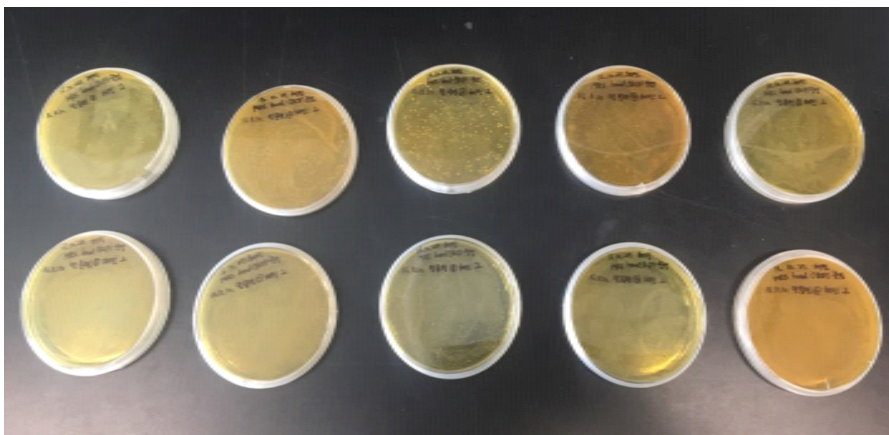
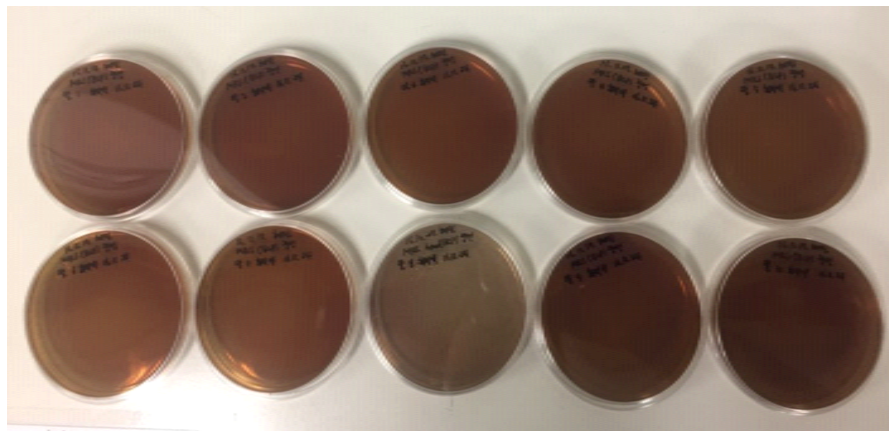
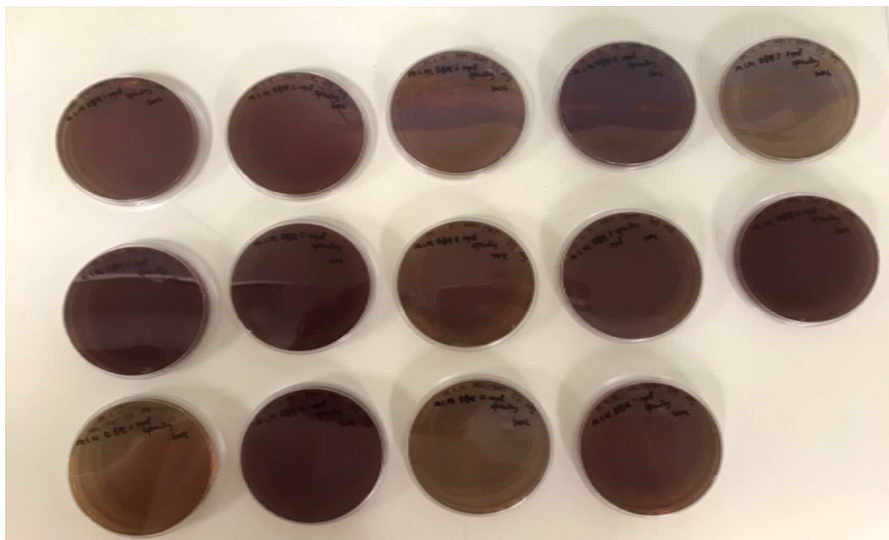


그림 47. MRS (BCP) 중성 배지 배양

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 170403KH-265
Sample name : 4_contig_1

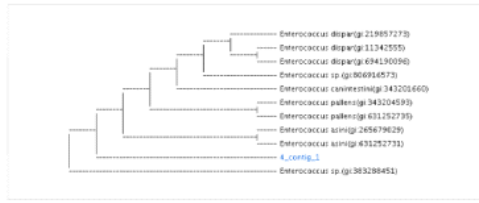
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1482R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject							Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct. (%)	
JQ650245.1	Enterococcus sp.	1439	1	1433	99	2636	0.0	1433/1435	99	

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Enterococaceae	Enterococcus	Enterococcus sp.



Characterization

Enterococcus는 Firmicutes 문(門)에 속한 유산균의 커다란 한 속(屬)이다. Enterococcus는 육산 또는 방선(放線)으로 형성하는 그람 양성균의 과(科)이며, 물리학적 특성(物理特性)은 열안정성, streptococcus의 구성이 되었다. 두 종은 단세포 상에 공생하는 혼합 유기체이다. E. faecalis (90-95%), E. faecium (5-10%).

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 170403KH-265
Sample name : 8_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1482R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject							Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct. (%)	
LC064896.1	Lactobacillus plantarum	1511	10	1426	93	2362	0.0	1380/1421	97	

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus plantarum



Characterization

Lactobacillus 종은 Lactobacillaceae 과(科)에 구상(구상)된다. 그람 양성 막대 모양 또는 구형 단세포이며, 때때로 발효 체인 형태를 지닌 다. Lactobacillus는 단세포 및, 유산, 미생 성장에 가장 유용한 일부이며, 일반적으로 음식에 사용하는 것에 대해 안전하다고 여겨진다 (probiotics)로 종종 알려져 있다. Lactobacillus에 의한 감염은 드물다.

Lactobacillus plantarum은 발효(발효)에 관여하는 Lactobacillus 속(屬) 구상(구상)된다. 일반적으로 발효 식품과 항균성 식품의 물 속에서 발견되며, 박테리아도 존재하는 박테리아에서 자주 발견되었으며, Gelatin을 약화시키는 능력이 있다.

그림 48. Macrogen 분석 결과

```

1
cgatgagtgctgaggttggagggttccgccctcagtgctgcaacacgcattaagcactccgc
ctgggagtagcaccgcaaggttgaactcaaaaggaattgacggggcccgcaacacgggtaga
gcatgtggttaattgaaagcaacgcgaagaaccttaccaggtctgacatccttgaccacttag
agatagagcttccctcggggcaaaagtgaacaggtgcatggttctgctgactgctgctgga
gatgttggttaaagccgcaacgagcgcaacctattgtagtccatcattatgtggcactct
agcgaagctgccggtgacaacgggaggaaggtgggtagcgtcaaatcatcatgcccttag
acctgggctacacagtgctacaatgggaagtacaacgagtgctgacccgaggtcatgcaa
atctctaaagcttctcagtgctgattgcaaggctgcaactcgcctgactgaagccggaatcgtc
gtaatcgggtagcagcagccggggaatacgttccggccttgacacaccgccctcacac
cagagagtttgaacaccggaagtgggtgaggttaaccttttggagccagccgctaaggtggga
tagatgagggggtagtgtagcaggggaaacccgaaaaa

```

16s rRNA sequencing 결과

1. A : 결실
2. T : T → G

```

1
cgatgagtgctgaggttggagggttccgccctcagtgctgcaacacgcattaagcactccgc
gggagtagcaccgcaaggttgaactcaaaaggaattgacggggcccgcaacacgggtaga
tgtggttaattgaaagcaacgcgaagaaccttaccaggtctgacatccttgaccacttagagata
gagcttccctcggggcaaaagtgaacaggtgcatggttctgctgactgctgctgagatgttg
gtaagtcgccgcaacgagcgcaacctattgtagtccatcattatgtggcactctagcagact
gcccgtgacaacgggaggtgggtagcgtcaaatcatcatgcccttagacctgggtac
acagtgctacaatgggaagtacaacgagtgtagcaggtgagcgaactaactcttaaagcttc
tctcagttggatttagctgcaactcgcctacatgaagccggaatcgtagtaatcgggtagc
acgcccgggtgaaatcgttccggccttgacacaccgccgtcacaccaagagtttgaacac
ccgaagtcggtagtgaaccttttggagccagccgctaaggtgggtagatgattggggtagaag
3
cgtaaaagg

```

16s rRNA sequencing 결과

1. A : 결실
2. T : 결실
3. C : 결실

그림 49. Genbank Blast 비교조사 결과

표 9. 프로바이오틱스 종류

구 분	종 류
Lactobacillus	L. acidophilus, L. casei, L. gasseri, L. delbrueckii ssp bulgaricus, L. helveticus, L. fermentum, L. paracasei, L. plantarum, L. reuteri, L. rhamnosus, L.salivarius
Lactococcus	Lc. lactis
Enterococcus	E. faecium, E. faecalis
Streptococcus	S. themophilus
Bifidobacterium	B. bifidum, B. breve, B. longum, B. animalis ssp. lactis

(식약처 건강기능식품 기능성원료 2011, 식품의약품안전처)

- 식약처에서 발표한 프로바이오틱스 종류 내에 분리동정한 균주들의 대부분이 속해있으므로 분리한 균들을 이용한 생리,생화학 테스트를 진행하고자 함
- 분리된 미생물의 생리·생화학 테스트

• Growth curve 관찰

시점	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48
배양종자15 Lactobacillus pentosus	-0.017	-0.004	0.009	0.204	1.089	1.548	1.598	1.634	1.714	1.526	1.721	1.641	1.729	1.604	1.919	1.755	2.029
배양종자16 Lactobacillus plantarum	0	-0.021	0.069	0.158	0.339	1.404	1.627	1.726	1.772	1.582	1.791	1.81	1.887	1.963	1.672	1.635	2.016
배양종자18 Lactobacillus brevis	-0.038	-0.109	0.049	0.166	1.051	1.538	1.635	1.668	1.726	1.515	1.732	1.697	1.762	1.915	1.84	1.786	1.999
당아교	0.018	0.016	0.108	0.178	0.201	0.171	1.38	1.426	1.645	1.426	1.691	1.709	1.719	1.806	1.711	1.666	1.895
한국미생물원	0.041	0.017	0.2	0.472	0.571	1.369	1.474	1.527	1.614	1.449	1.699	1.644	1.689	1.746	1.806	1.812	1.946
미생1 Lactobacillus paracasei	-0.05	-0.049	0.013	0.2	0.635	1.153	1.311	1.422	1.561	1.462	1.611	1.697	1.666	1.75	1.728	1.61	1.84
배양종자13 Lactobacillus plantarum	-0.049	0.011	0.068	0.082	0.025	1.203	1.534	1.636	1.697	1.497	1.795	1.695	1.754	1.919	1.931	1.789	1.936
배양	0.019	-0.013	0.16	0.424	1.055	1.408	1.467	1.446	1.532	1.591	1.589	1.641	1.560	1.697	1.607	1.544	1.781
시공108	-0.2	-0.002	0.099	0.045	0.311	1.049	1.335	1.453	1.51	1.548	1.546	1.521	1.537	1.544	1.591	1.487	1.731
루포일	0.024	0.001	0.056	0.006	0.074	0.323	0.699	1.326	1.468	1.662	1.523	1.597	1.519	1.646	1.589	1.507	1.729
배양종자1 Lactobacillus brevis	0.014	-0.004	0.077	0.468	0.977	1.16	1.129	1.166	1.266	1.148	1.256	1.281	1.402	1.58	1.547	1.255	1.665
배양종자14 Lactobacillus brevis	-0.014	-0.002	0.131	0.113	1.016	1.133	1.062	1.147	1.281	1.194	1.235	1.269	1.411	1.525	1.518	1.349	1.669
미생12	0.041	0.007	0.07	0.303	1.002	1.186	1.159	1.156	1.241	1.149	1.16	1.265	1.417	1.401	1.501	1.336	1.593
배양종자15 Streptococcus faecium	-0.097	-0.004	0.057	0.054	0.022	1.08	1.119	1.19	1.008	1.179	1.265	1.428	1.499	1.298	1.469	1.5	1.533
시공109	-0.028	0.007	0.171	0.267	1.039	1.204	1.146	1.22	1.311	1.381	1.33	1.341	1.26	1.441	1.602	1.235	1.511
배양종자7 Streptococcus faecium	-0.015	-0.015	0.166	0.028	0.166	0.94	0.961	0.917	0.916	0.772	0.884	0.9	0.958	1.061	1.019	0.928	1.119
배양종자8 Streptococcus faecium	0.008	0.019	0.115	0.026	0.173	0.716	0.766	0.819	0.797	0.916	0.821	0.829	0.822	0.891	0.857	0.791	0.945
배양종자9 Enterococcus faecalis	-0.02	-0.002	0.41	0.551	0.71	0.792	0.732	0.72	0.801	0.656	0.791	0.719	0.79	0.881	0.913	0.853	0.907
배양종자10 Enterococcus faecalis	-0.028	-0.007	0.077	0.456	0.559	0.66	0.589	0.609	0.606	0.449	0.619	0.599	0.619	0.61	0.626	0.549	0.754
배양종자11 Streptococcus sanguinis	-0.008	0.006	0.069	0.114	0.633	0.667	0.661	0.7	0.664	0.714	0.677	0.7	0.675	0.601	0.621	0.671	0.721
미생1 Enterococcus gallinarum	0.003	0.006	0.07	0.069	0.277	0.406	0.401	0.326	0.411	0.278	0.39	0.35	0.345	0.509	0.487	0.349	0.605
Listeria	-0.057	0.031	0.104	0.47	0.416	0.663	0.467	0.664	0.649	0.499	0.476	0.496	0.447	0.432	0.422	0.411	0.455

Alicin X

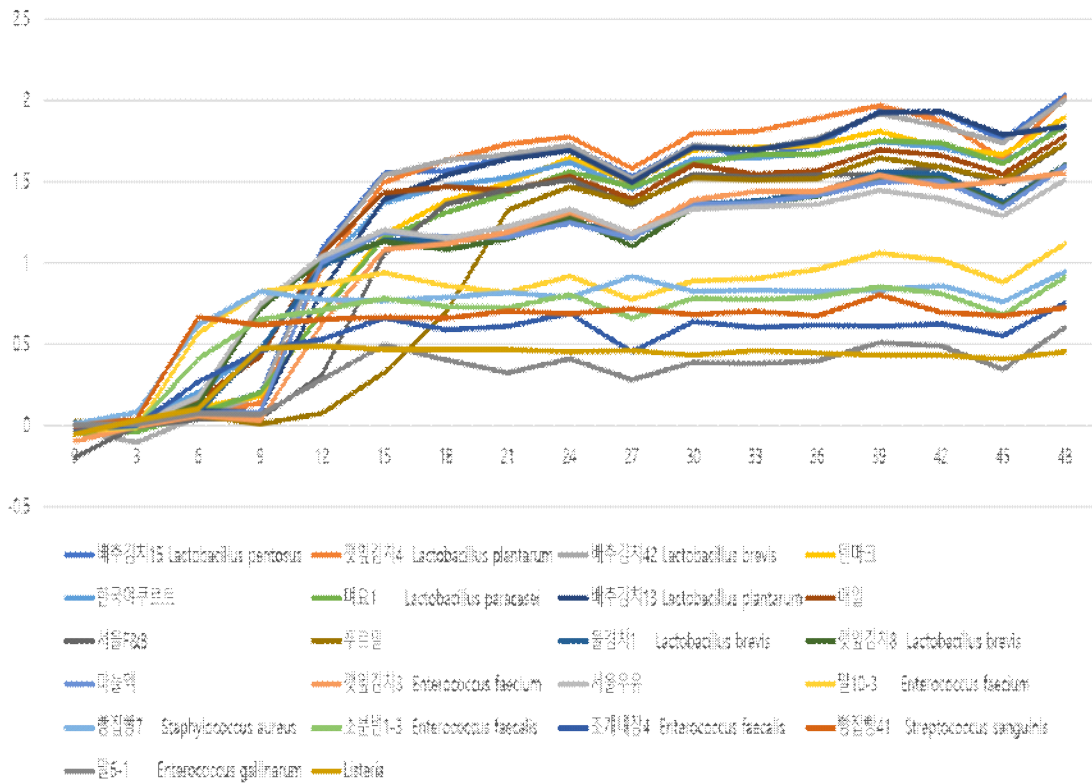


그림 50. 대표 균주들 및 시중 요구르트 추출액의 48시간 Growth curve (OD650) 관찰

- Skim milk curd 형성능 관찰
 - colony 채취 후 skim milk(10%)에 접종 후 24, 48, 72시간 주기로 curd 형성 유무를 관찰



그림 51. skim milk 시험관 배양 사진

- 당발효 테스트를 거쳐 생산성 있는 균주의 선별
 - 수원여대 식품분석연구센터 의뢰 분석 결과

No.	샘플명	샘플 균명	Vitek 2 결과	비고
1	말 1-2	<i>E. gallinarum</i>	Unidentified Organism	2번 확인
2	말 6-1	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. casseliflavus</i>	2번 확인
3	말 6-3	<i>E. gallinarum</i>	Unidentified , <i>E. casseliflavus</i>	2번 확인
4	말 9-3	<i>Enterococcus sp.</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
5	말 10-3	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> 99% Probability	
6	말 10-4	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> 99% Probability	
7	말 10-5	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> 99% Probability	
8	배추김치 2	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism, Corynebacterium	2번 확인
9	배추김치 13	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism, Corynebacterium	2번 확인
10	배추김치 26	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> 94% Probability	
11	배추김치 27	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism	2번 확인
12	배추김치 28	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism	2번 확인
13	배추김치 29	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism	2번 확인
14	배추김치 30	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism, Corynebacterium	2번 확인
15	배추김치 15	<i>L. pentosus</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
16	배추김치 41	<i>L. pentosus</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
17	배추김치 43	<i>L. pentosus</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
18	배추김치 58	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> 94% Probability	
19	배추김치 59	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> 94% Probability	
20	깻잎김치 4	<i>L. plantarum</i>	Unidentified Organism	2번 확인
21	배추김치 42	<i>L. brevis</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
22	물김치 1	<i>L. brevis</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
23	물김치 2	<i>L. brevis</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
24	깻잎김치 8	<i>L. brevis</i>	Unidentified Organism	Database에 없음
25	깻잎김치 3	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> 98% Probability	
26	조개내장 4	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
27	조개내장 5	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
28	조개내장 9	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
29	조개내장 11	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
30	조개내장 16	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
31	조개내장 23	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
32	조개내장 32	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
33	조개내장 33	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
34	조개내장 34	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> 99% Probability	
35	황집황 2	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> 92% Probability	
36	황집황 7	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> 96% Probability	
37	황집황 10	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> 92% Probability	

그림 52. sample별 당발효 테스트 결과

• Soybean 제제 첨가시 성장능력 향상 측정

Allixin O / Soybean O	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48
서늘우유	0.356	0.381	0.401	1.225	1.559	1.95	1.959	2.099	2.096	2.097	2.028	2.077	2.27	2.155	2.171	2.077	2.155
배추김치42 Lactobacillus brevis	0.281	0.41	0.493	1.268	1.527	1.702	1.694	1.887	1.876	1.876	1.979	1.937	1.85	2.027	2.095	1.96	2.079
배추김치15 Lactobacillus pentosus	0.286	0.337	0.501	1.295	1.541	1.718	1.803	1.984	1.934	2.092	1.947	1.986	2.095	2.029	2.053	2.052	2.099
마늘액	0.352	0.398	0.52	1.189	1.582	1.783	1.711	1.898	1.829	1.858	1.851	1.837	1.96	2.046	2.034	2.077	2.067
배추김치1 Lactobacillus plantarum	0.335	0.432	0.463	1.233	1.551	1.68	1.783	1.84	1.872	2.052	1.974	1.995	1.935	2.047	1.943	2.016	2.059
대황	0.251	0.419	0.514	1.029	1.532	1.755	1.845	1.896	1.899	1.891	1.897	1.859	2.006	1.86	2.064	1.947	2.043
서울F&B	0.445	0.774	0.944	1.233	1.544	1.662	1.719	1.799	1.83	1.894	1.819	1.84	1.899	1.926	1.901	1.826	2.043
꽃김치4 Lactobacillus plantarum	0.263	0.401	0.512	1.203	1.45	1.651	1.788	1.845	1.927	1.972	1.942	2.017	2.092	2.02	2.059	2.019	1.987
물김치1 Lactobacillus brevis	0.303	0.304	0.51	1.125	1.494	1.73	1.744	1.79	1.767	1.829	1.858	1.846	1.894	1.921	1.979	1.881	1.97
부르릉	0.349	0.408	0.498	0.978	1.699	1.862	1.71	1.791	1.61	1.795	1.84	1.882	1.992	1.963	1.955	1.866	1.982
말6-1 Enterococcus gallinarum	0.329	0.381	0.451	1.191	1.527	1.615	1.782	1.798	1.747	1.923	1.822	1.799	1.856	1.87	1.9	1.92	1.947
연마크	0.308	0.393	0.574	1.096	1.592	1.688	1.885	1.894	1.821	1.821	1.835	1.782	1.876	1.844	1.823	1.88	1.91
꽃김치10 Lactobacillus brevis	0.311	0.39	0.479	1.096	1.72	1.68	1.721	1.71	1.782	1.724	1.868	1.886	1.901	1.816	1.815	1.864	1.884
꽃김치3 Enterococcus faecium	0.362	0.362	0.395	1.063	1.401	1.664	1.777	1.754	1.75	1.788	1.846	1.833	1.901	1.874	1.851	1.889	1.89
한국마루부르	0.373	0.417	0.496	1.267	1.542	1.698	1.684	1.698	1.711	1.896	1.787	1.88	1.892	1.71	1.892	1.877	1.87
마요1 Lactobacillus paracasei	0.332	1.096	1.077	0.979	1.42	1.59	1.696	1.877	1.789	1.899	1.891	1.745	1.821	1.79	1.783	1.965	1.887
조개대장4 Enterococcus faecalis	0.382	0.314	0.5	1.097	1.074	1.063	1.068	1.061	0.919	1.078	1.077	1.078	1.071	1.071	1.071	1.071	1.071
소분원1-3 Enterococcus faecalis	0.34	0.407	0.478	1.038	1.428	1.507	1.57	1.615	1.659	1.694	1.794	1.636	1.698	1.698	1.67	1.684	1.76
말10-3 Enterococcus faecium	0.345	0.349	0.391	1.057	1.512	1.528	1.595	1.65	1.657	1.693	1.699	1.643	1.715	1.715	1.671	1.73	1.746
쌍길쌈41 Streptococcus sanguinis	0.53	0.597	0.584	1.518	1.48	1.495	1.591	1.48	1.591	1.492	1.644	1.643	1.492	1.375	1.583	1.572	1.536
쌍길쌈7 Staphylococcus aureus	0.435	0.423	0.453	0.754	0.806	0.872	1.135	1.221	1.173	1.168	1.309	1.149	1.232	1.199	1.238	1.184	1.284
Listeria	0.493	0.448	0.349	0.706	0.88	0.897	1.071	1.041	1.071	1.073	1.131	1.01	0.99	1.063	1.123	1.091	1.042

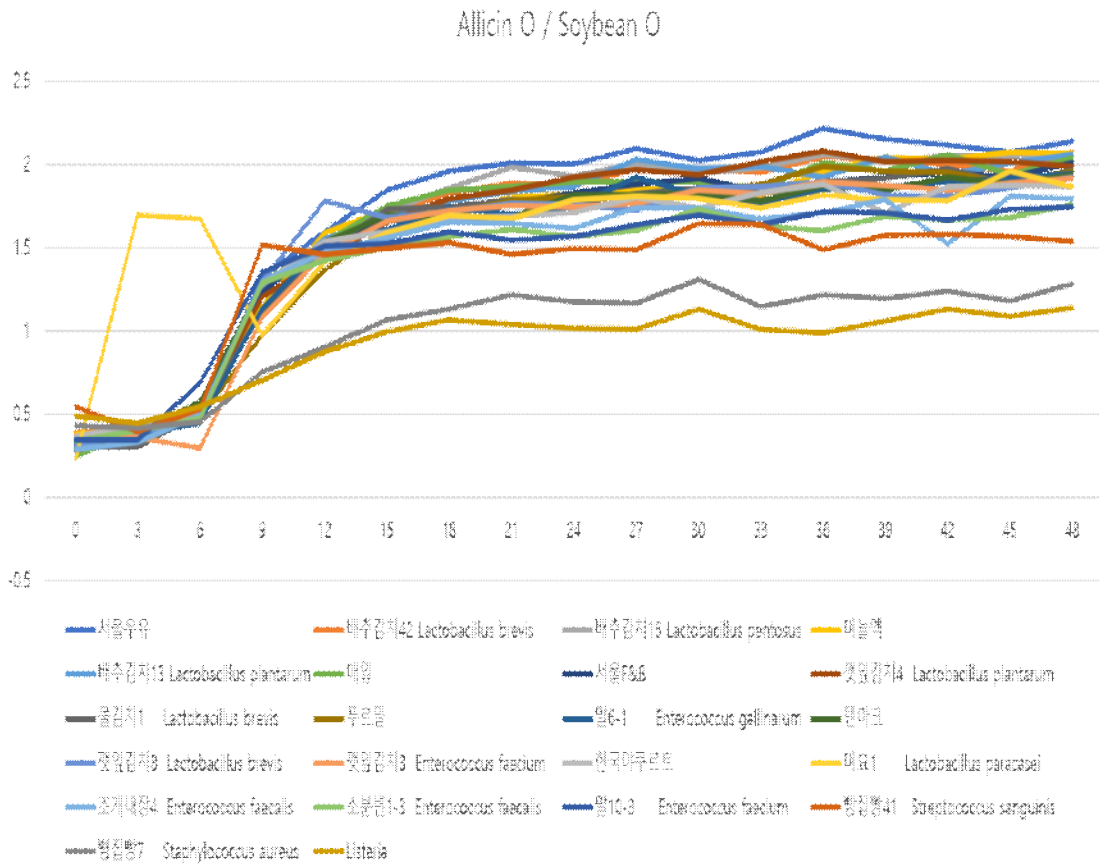
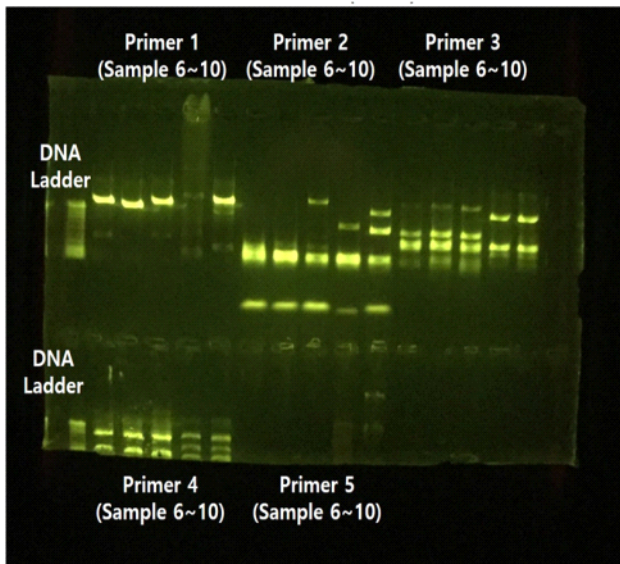


그림 53. Soybean 첨가 배지에서의 Growth curve (OD650) 관찰 (48시간)

- RAPD (randomly amplified polymorphic DNA fragment) 분석을 통해 분리된 균주 상호간 유전자의 유사성 비교 분석



Primer 1 : 5'-GTTTTCCAGTCACGAC-3' (17mer)

Primer 2 : 5'-GAACCGTACTAGG-3' (13mer)

Primer 3 : 5'-CAGGCTTCGACC-3' (12mer)

Primer 4 : 5'-ATTAGCCGGGAGTGATGC-3' (18mer)

Primer 5 : 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3' (17mer)

그림 54. Colony PCR 진행 시 사용한 RAPD primer sampling

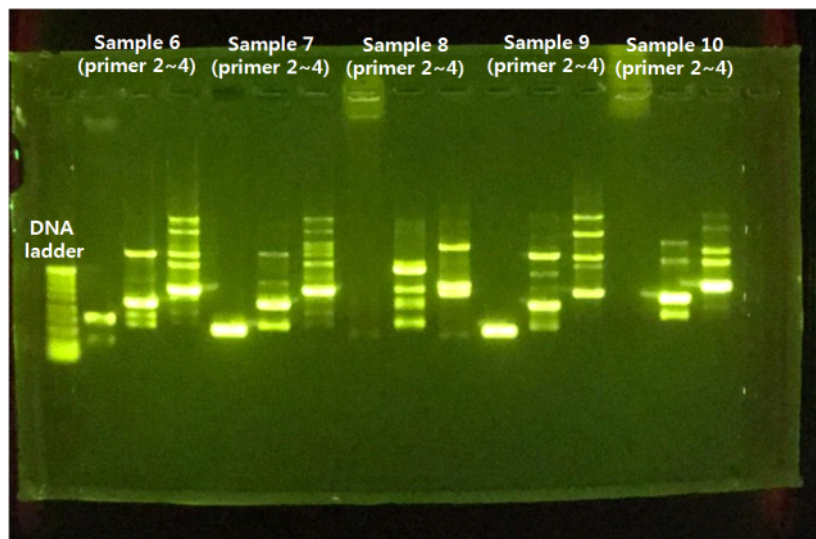


그림 55. RAPD 분석

(2) 균주의 선발 및 유산균 보관

: 기존의 균주로 발효시켰을 때 발생하던 발효취를 감소시키고 효과적으로 마늘을 발효시킬 수 있는 새로운 균주를 선별하여 발효균주로 배양시키기 위한 과정

- 유산균주의 동정을 위해 전통소재로부터 분리한 샘플들을 MRS 고체배지에 평판 도말한 다음 37°C 에서 24-48시간 배양함
- 형성된 균락 (colony)을 MRS 액체배지에 재배양하고 10% skim milk에 배양액 5%를 접

종하여 다시 37°C 에서 24-48시간 배양한 다음 이 중 curd 응고력이 우수한 균주만을 선별함



그림 56. MRS 액체배지 배양 시험관

- 형성된 colony들을 streaking하여 single colony를 구별한 다음 샘플당 세개씩 MRS 액체배지에 재배양하고 10% skim milk에 배양액 5%를 접종하여 다시 37°C 에서 24-48 시간 배양하며 가장 curd 응고력이 우수한 균주만을 따로 선별해냄
- 선별된 균주들은 MRS 액체배지(pH 6.5)에 배양한 후 glycerol의 최종농도가 20% 되도록 첨가하여 -70°C 에 냉동 보관하며 필요에 따라 MRS 고체배지에 접종, 배양하거나, 10% skim milk 배지에 배양하여 4°C 에 보관함

(3) 내담즙성 및 내산성

: 발효식품으로 개발하기 위한 균주는 섭취 후 장(腸) 내에 도달하고 이동하면서 생존하여 제 기능을 하여야 하므로 장 내부와 유사한 환경을 만들어 균주의 장 내 생존력을 테스트해보기 위함

- 장 내 생존력을 테스트하기 위해 선별된 균주들을 MRS 액체배지(pH 6.5)에서 37°C, 24시간 배양한 다음 oxgal이 0.5% 첨가된 0.05M 인산나트륨 완충액(pH 7.0) 에 10% seed culture하여 37°C 에서 2시간 간격으로 배양하여 Growth curve (OD 650) 관찰함

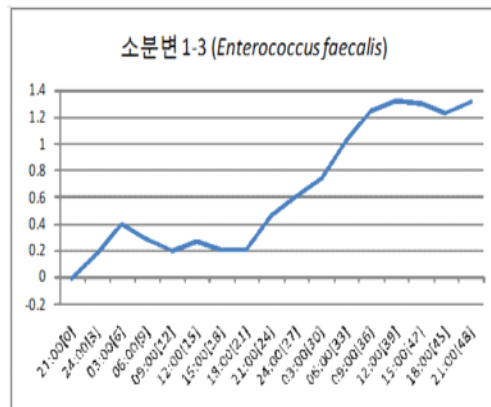
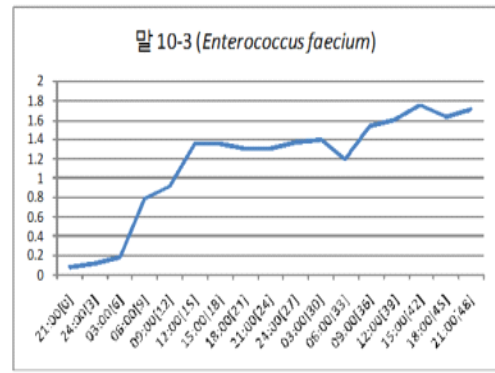
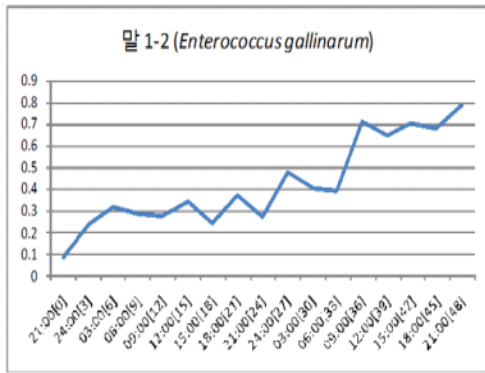


그림 57. Oxgall (0.5%) 첨가 후 Growth curve (OD650) 관찰 결과 (48시간)

- 균주의 장내 도달능력을 테스트하기 위해 선발된 균주들을 MRS 액체배지 (pH 6.5)에서 37°C, 24시간 배양한 다음 HCl 및 NaOH를 첨가하여 pH4, pH5, pH6, pH7, pH 8, pH 9로 맞춘 MRS 액체배지에 각각 10%씩 seed culture하여 시간에 따른 균주의 성장율을 Growth curve (OD650) 통해 관찰함

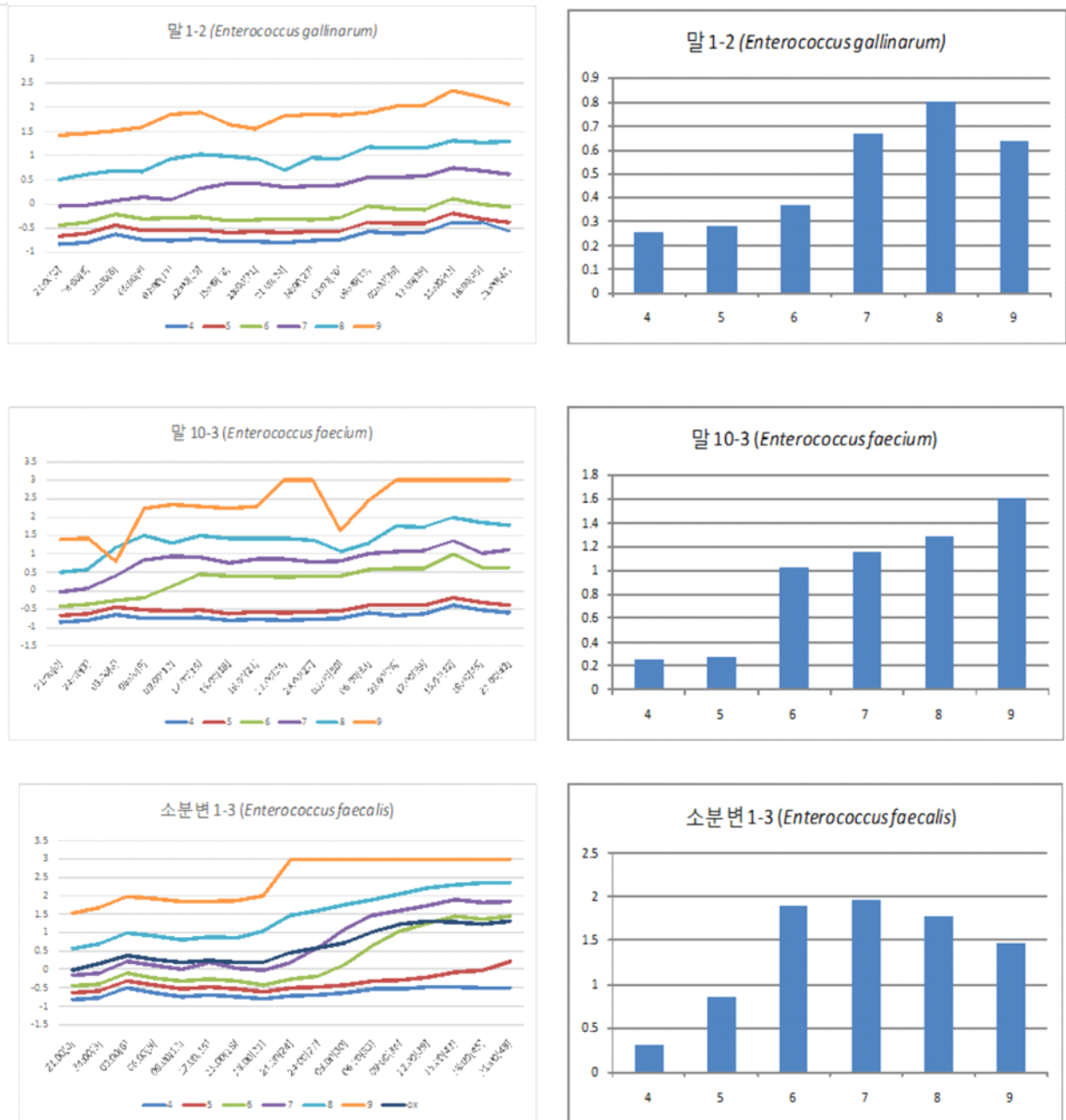


그림 58. pH 변화에 따른 Growth curve (OD650) 관찰 결과 (48시간)

(4) 마늘에 대한 균 생존능 측정

: 마늘 발효에 사용할 균주가 마늘의 특정한 성분으로 인해 성장하지 못할 가능성이 있으므로 마늘 성분 내에서의 성장률을 측정하기 위함

- 마늘의 특수 성분인 알리신 등이 유산균을 저해할 가능성이 있으므로 이에 대한 환 테스트 (disc inhibitory ring test)와 알리신 함유 시 Growth curve 관찰

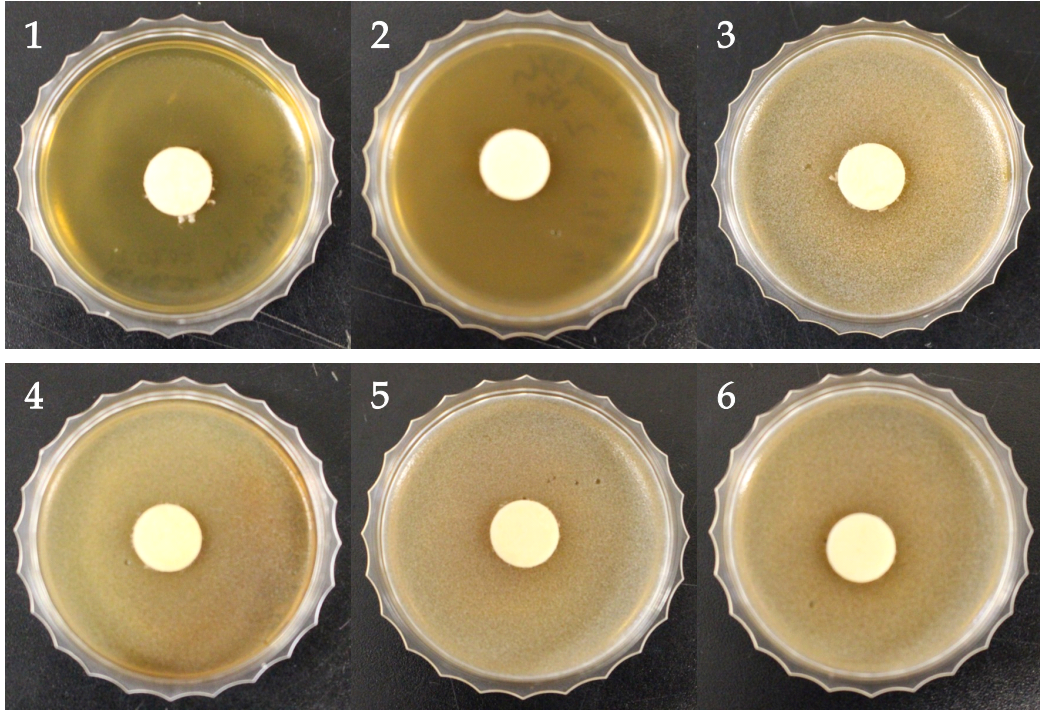


그림 59. 알리신 첨가 후 환테스트 결과

종류명 (C)	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48
배양액	-0.002	0.013	0.098	0.700	1.706	3.024	3.075	3.073	3.543	3.047	3.493	3.563	3.425	3.032	3.007	3.44	3.775
서울우유	-0.008	-0.041	0.143	0.791	1.153	3.273	3.859	3.338	3.347	3.433	3.563	3.429	3.404	3.043	3.583	3.201	3.277
제주김치42 Lactobacillus brevis	-0.003	0.017	0.706	0.669	3.079	3.219	3.276	3.009	3.433	3.259	3.429	3.404	3.043	3.043	3.486	3.197	3.625
제주김치13 Lactobacillus pentosus	-0.006	-0.017	0.117	0.608	3.036	3.258	3.264	3.364	3.434	3.287	3.436	3.436	3.433	3.043	3.070	3.173	3.631
제주김치3 Lactobacillus plantarum	-0.014	0.040	0.113	0.072	3.772	3.172	3.119	3.042	3.432	3.278	3.402	3.449	3.431	3.070	3.470	3.302	3.630
제주김치1 Lactobacillus plantarum	-0.005	0.037	0.119	0.172	3.012	3.179	3.2	3.037	3.039	3.059	3.432	3.439	3.405	3.494	3.471	3.370	3.08
한국야쿠르트	-0.005	-0.002	0.129	0.640	0.94	3.120	3.159	3.21	3.287	3.085	3.311	3.310	3.289	3.288	3.467	3.285	3.605
유제품	-0.005	0.009	0.119	0.608	3.043	3.158	3.094	3.109	3.378	3.138	3.289	3.291	3.274	3.411	3.405	3.311	3.519
유제품	-0.008	0.047	0.706	0.600	3.010	3.122	3.065	3.109	3.259	3.072	3.305	3.202	3.410	3.410	3.372	3.270	3.592
유제품1 Lactobacillus brevis	-0.016	-0.020	0.111	0.665	0.320	3.133	3.16	3.163	3.251	3.126	3.228	3.293	3.353	3.408	3.409	3.269	3.609
유제품2 Lactobacillus plantarum	-0.017	-0.031	0.106	0.621	0.497	3.067	3.006	3.079	3.1	3.093	3.243	3.285	3.400	3.398	3.395	3.291	3.610
유제품3 Lactobacillus plantarum	-0.005	0	0.120	0.633	0.492	3.067	3.094	3.199	3.234	3.1	3.302	3.302	3.400	3.29	3.422	3.397	3.610
유제품4	-0.003	0.034	0.080	0.69	0.606	3.009	3.009	3.082	3.084	3.089	3.289	3.289	3.289	3.289	3.289	3.289	3.499
유제품5 Lactobacillus brevis	-0.005	-0.007	0.107	0.661	1.04	3.112	3.114	3.17	3.233	3.1	3.323	3.269	3.273	3.478	3.389	3.249	3.449
유제품6 Enterococcus gallinarum	-0.009	0.030	0.110	0.606	0.994	3.119	3.070	3.059	3.091	3.121	3.210	3.210	3.210	3.370	3.306	3.310	3.499
유제품7	-0.016	0.007	0.097	0.600	0.907	3.127	3.127	3.121	3.225	3.113	3.250	3.24	3.40	3.405	3.415	3.310	3.607
유제품8 Enterococcus faecalis	-0.023	-0.010	0.089	0.619	0.910	3.079	3.079	3.079	3.068	3.094	3.199	3.199	3.199	3.202	3.211	3.099	3.502
유제품9 Enterococcus faecalis	-0.02	0	0.104	0.689	0.974	3.039	3.039	3.069	3.064	3.069	3.065	3.065	3.065	3.065	3.159	3.111	3.609
유제품10 Enterococcus faecalis	-0.007	0.014	0.103	0.604	0.925	3.077	3.077	3.077	3.074	3.033	3.067	3.069	3.069	3.032	3.030	3.030	3.20
유제품11 Streptococcus pneumoniae	-0.008	0.038	0.101	0.608	0.978	3.039	3.039	3.039	3.062	3.063	3.063	3.063	3.063	3.063	3.063	3.063	3.610
유제품12 Streptococcus aureus	-0.019	0.012	0.078	0.609	0.910	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.039	3.610
Listeria	-0.001	0.010	0.06	0.620	0.293	0.265	3.104	3.013	0.273	0.316	0.375	0.525	0.545	0.504	0.615	0.680	0.689

Alicin O

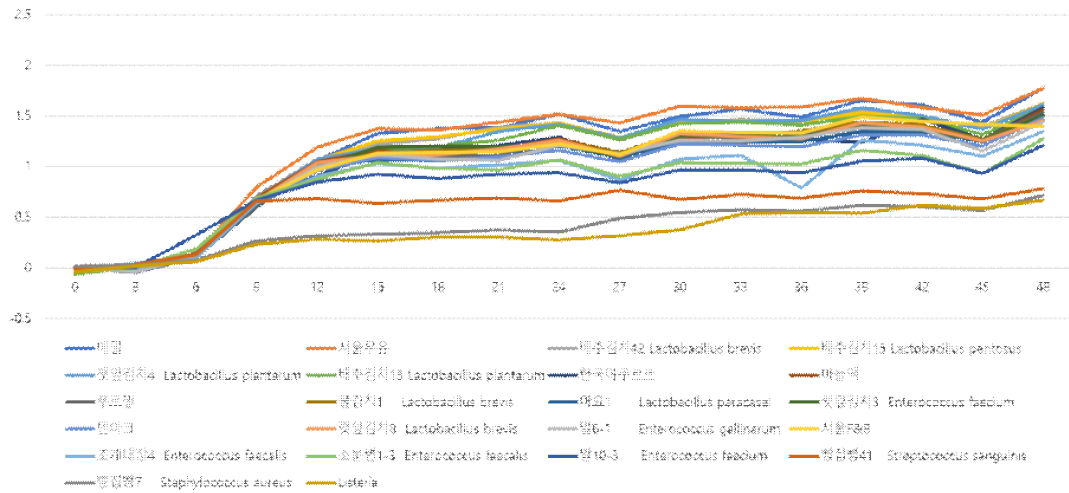


그림 60. 알리신 첨가 후 Growth curve (OD650) 관찰 결과 (48시간)

- 다양한 샘플들로부터 얻은 Colony DNA는 RAPD와 염기서열 분석 등을 통해 *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* 등의 속으로 밝혀짐
- Growth curve 관찰 결과, 알리신을 첨가하였을 때 유산균마다 다른 growth curve graph을 나타내며 병원균보다 유산균이 내성이 있는 것으로 관찰됨
- 확보한 유산균 샘플 중에서 *Lactobacillus brevis*와 *Lactobacillus pantosus*가 성장률이 가장 높았으며, *Enterococcus gallinarum*의 성장률이 가장 낮음
- pH의 변화에 따른 성장률의 변화는 대부분 중성에서 가장 성장률이 높았으며, Oxgall의 첨가에는 대부분 영향을 받지 않는 것으로 나타남
- 성장율이 높은 균주들을 이용하여 마늘 요거트 시제품을 제조함

나. 2차년도 수행 내용 및 결과

(1) 마늘 발효에 적합한 발효방법의 개발

(가) 마늘의 물성과 조직을 변형시키는 연구

- 세포의 물성과 조직의 변화에 도움을 줌으로써 실현되는 발효 속도 증가에 대한 구체적인 데이터 확보

(나) 발효취를 최소화할 수 있는 방법에 대한 연구

- 발효취의 생성과정에 대한 원인을 알아내고 이를 방지하는 것은 품질향상 측면에서 매우 중요함
- 발효취는 크게 미생물 자체의 냄새와 미생물의 대사산물에 의한 냄새로 나눌 수 있는데, 미생물 자체의 냄새를 감소시키기 위해서는 미생물 성장을 억제하여야 하며 그 방법으로는 키토산과 같은 항균제를 첨가하여 균의 성장을 억제하거나 pH나 수분, 산소, 온도와 같이 미생물의 생육환경에 변화를 줌으로써 억제하는 방법이 있음
- 벤조산나트륨과 같은 성장 조절제를 이용함으로써 성장을 억제시키는 방법도 있으나 이러한 방법들은 발효 식품에 적용할 경우 발효가 일어나지 않을 수 있으므로 이를 조절할 수 있는 적절한 방법에 대한 연구가 필요함

(다) 발효취 조절 조건에 대한 연구

- 발효취는 유산균이 기질(substrate)을 발효시키면서 생겨나는 냄새로서 사람의 미각을 자극하고, 제품의 맛을 결정하는 중요 요인 중 하나임
- 발효취를 완전히 없애는 것이 과연 바람직한지에 대해서는 의견이 분분한데 발효취가 단순하게 나쁘다기보다는 사람마다 느끼는 미각과 후각의 차이가 그만큼 크기 때문에 발효취가 어느 정도로 유지되는 것이 적절한지에 대해서는 많은 관능 검사와 소비자 검사를 거쳐 통계 처리해야 하는 번거로움이 있음
- 그럼에도 불구하고 가능한 발효취를 최소화하는 것이 인공감미료를 더할 때 혼합된 불필요한 냄새를 적게 할 수 있고 그만큼 원하는 풍미를 낼 수 있기 때문에 선호되고 있음
- 특히 마늘요거트에서는 발효취를 가능한 없앨수록 마늘 냄새를 돋보이게 할 수 있으리라는 의견이 지배적임

- 발효취의 원인은 1차적으로 어떤 유산균을 종균으로 사용하느냐 하는 데에 있음



그림 61. 발효취 조절을 위한 종균 접종

- 균에 따라서 발효과정 중 만들어내는 2차 대사물이 조금씩 다르고, 이는 곧 발효취로 연결되고 또한, 기질에 포함된 유당의 정도나 탈지분유의 농도 등이 영향을 미칠 수도 있음
- 따라서 발효취를 조절하기 위한 조건으로서 1) 우수한 종균의 선택, 2) 발효 조건의 조절, 즉 전체 발효 및 숙성시간의 조절, 3) SNF 농도의 조절, 4) 혼합 균주의 선택, 5) 인공 향료의 선택 등이 있음
- 첫째, 우수한 종균의 선택을 위해서 그동안 꾸준히 분리, 동정한 균주들이 실험실에 보관되어 있음. 이들 중 특히 *L. casei* 및 *L. paracasei* 가 불필요한 발효취가 비교적 적은 것으로 그동안의 관능검사에서 확인되었음
- 반면에 *L. acidophilus* 와 *L. helveticus*, *L. lactis* 등은 비교적 강한 발효취를 나타내었는데 비록 강할지라도 사람에게 따라서는 오히려 더 좋다는 반응을 나타내기도 해서 이는 전적으로 개인의 취향에 따라야 하는 부분으로 여겨짐
- 둘째, 발효 시간이 길어질수록 발효취는 분명히 줄어들음
- 미각과 후각에 따른 문제이므로 이를 단순 정량화하기는 어렵지만 그 원인이 발효 정도에 따라 그만큼 대사산물이 더 많이 생기기 때문으로 간주되었다. 이를 위해서라면 당연히 발효 시간을 최소화하는 것이 중요함
- 셋째, SNF의 농도에 따라서 발효의 정도와 발효시간, 산도 등이 비례적으로 변화하기 때문에 SNF를 조절하는 것 또한 대단히 중요한 조건 중 하나임

- 우리는 SNF를 다양한 농도로 변화시켰고, 그때마다 마늘을 첨가하면서 관련자들이 향을 확인하여 비교하였음. 그 결과 8% 농도가 가장 적합한 것으로 확인되었고, 8% SNF 요거트를 위한 recipe 또한 완성할 수 있었음
- 넷째, 어떤 균주를 사용하는가에 따라 발효취가 달라지므로, 그리고 가능한 발효 시간을 줄이는 것이 중요함으로 산 생성 능력이 강한 균주와, 발효 시간이 짧은 두 개 이상의 균주를 혼합하여 종균으로 사용할 때 오히려 발효취라는 점에서는 유리한 것으로 판단됨
- 혼합균주로서는 *L. casei*와 *L. acidophilus* 및 *L. plantarum* 이 제시되었고, *Bifidobacteria*의 경우는 혐기성배양이 필요하기에 일단 시험대상에서 제외되었음
- 마지막으로 마늘의 향이 요거트에 존재하기 때문에 여기에 어떤 향료를 추가하여 더 좋은 결과를 얻는다는 것이 쉽지 않기 때문에 인공 향료를 선택하는 문제는 매우 신중히 결정해야할 문제임
- 발효취는 관능검사와 밀접하게 연결되어있고, 관능검사는 개개인의 취향을 수합하여 통계적으로 확인해야하는 문제이기 때문에 각 요소 요소를 그때마다 확인하여 종합 판단하기가 매우 어렵다는 문제가 있음
- 우리는 지금까지의 조사 결과를 토대로 하여 3차년도에는 마늘요거트 제품을 만든 다음 상기한 문제들을 종합, 검토하면서 최종 recipe를 확정할 것임. 그리고 그에 따른 관능검사를 보다 많은 모집단에서 실시하여 발효취의 적절성을 최종 결정할 것임

(2) 마늘 발효 방법의 지적 재산권 확보

(가) “엔테로코쿠스 페칼리스 검출용 PCR 프라이머 세트 및 이의 용도”

특허출원 및 등록

- 본 특허는 병원균의 특성을 가진 유산균과 비슷한 종을 유산균과 구별하기 위한 프라이머에 관한 연구결과로 얻어진 결과이며, 향후 유제품 생산에 있어 오염을 방지할 수 있는 중요한 프라이머에 관한 특허로 판단되어지며, 상업적 가치가 충분히 있는 것으로 판단되어짐
- 본 발명은 다양한 미생물군이 혼합된 시료에서 다른 유산균들과 상당히 유사한 염기서열을 가진 엔테로코쿠스 페칼리스 (*Enterococcus faecalis* E. faecalis)를 신속하고 정확하게 검출하기 위한 PCR 프라이머 세트 및 이를 이용한 검출방법을 제공하고자 함
- 본 발명에 따르면, 담즙산염 가수분해효소 (BSH)에서 유래된 4개의 프라이머는 다양한

균들이 혼합된 시료에서 *E. faecalis*의 오염 여부를 신속하고 정확하게 구별할 수 있으며, nested PCR을 통한 재확인이 가능하여 *E. faecalis*에 대한 향상된 검출 신뢰도를 나타내는 것으로 확인됨에 따라, 상기 프라이머는 엔테로코쿠스 페칼리스 (*Enterococcus faecalis* *E. faecalis*) 검출용 PCR 프라이머로 제공될 수 있으며, 상기 프라이머를 이용한 엔테로코쿠스 페칼리스 검출방법 및 검출용 키트로 사용될 수 있음

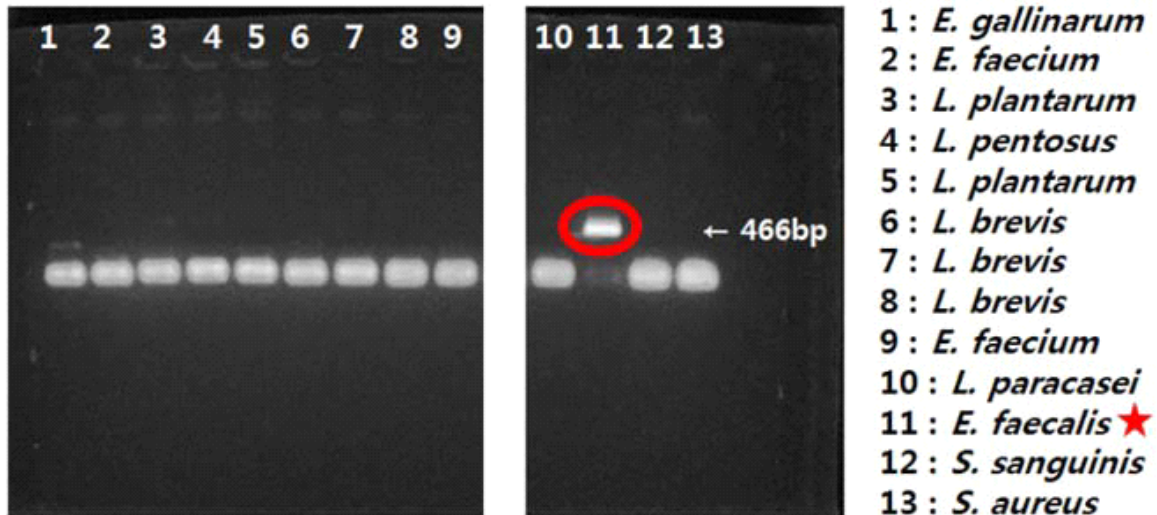


그림 62. 도면 1

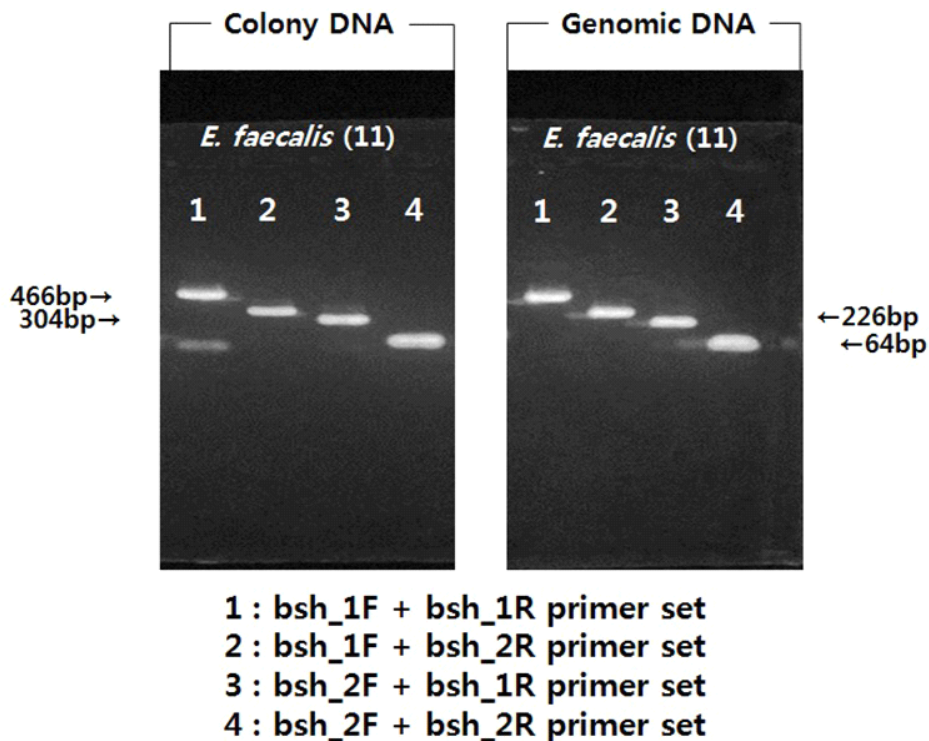


그림 63. 도면2

(나) 품질규격 및 기준

- ① 정상: 발효유로서의 신맛과 감미, 약간의 유산균 발효취를 가지며, 다른 향취가 없어야 함
- ② 무지유고형분: 우유 성분 중 지방 함량을 제외한 유단백질, 유당, 회분 등의 우유 유래 고형 성분. 식품공전 상 시험방법을 적용함
- ③ 유산균수: 종균(Lactobacillus 등)으로 사용하여 살아있는 총 유산균 수입 BCP 혹은 MRS 배지를 사용하여 측정함
Bifidobacteria의 측정이 필요한 경우에는 BL 배지 등을 사용하여 혐기성 배양함
- ④ Brix: 개략적인 총고형분 함량이며, Abbe식 굴절계를 사용하여 측정함

표 10. 품질 규격 및 기준 관련내용

항 목	규 격	식품공전 규격	비고
정상	고유 색택과 향미를 가진 액상 혹은 호상으로서 이미, 이취가 없어야 함		
무지유고형분(%)	8.5 이상	8.0 이상	SNF
유산균수(CFU/ml)	100,000,000 이상	100,000,000 이상	
Brix (%)	19.0±2.0		
적정산도(%)	0.9±0.3		
pH	4.0±0.3		
대장균군	음성	n=5, c=2. m=0, M=10	
Lysteria. monocytogenes	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
salmonella균	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
황색포도상구균	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
일반세균수	n=5, c=1, m≤100, M=1,000		
효모, 곰팡이	n=5, c=1, m≤10, M=1,000		

- ⑤ 적정산도: 0.1N NaOH를 사용하여 젖산을 중화 적정한 값임
식품공전의 우유류 일반시험법에 따라 측정함
- ⑥ pH: 식품공전의 일반시험법에 따름
- ⑦ 일반 세균수: Nutrient agar, SPC agar 등을 사용하여 측정함
- ⑧ 효모 및 곰팡이: PDA 배지를 사용하여 측정함
- ⑨ 대장균군: Desoxycholate agar 배지를 사용하여 측정함
- ⑩ 기타 병원성 세균: 식품공전의 미생물시험법에 따라 시험함

- 상기한 품질규격 및 기준은 전반적으로 식품위생법의 식품공전(축산물 규격기준) 중 농후발효유의 규격과 식품안전기준에 대비하여 본 제품이 더욱 철저하게 관리될 수 있도록 법 규격보다 엄격하게 설정하여 관리하도록 하였음

(3) 마늘요거트 시제품 제작 과정

(가) Fermenter의 구조와 기능, 조작 방법 숙지



그림 64. 시제품 제작과정 1

(나) 마늘요거트 제조를 위한 배양 원료 배합 공정 및 방법 숙지



그림 65. 시제품 제작과정 2

(다) 배양 원료 배합(skim milk powder, glucose, sucrose + pectin 등)



그림 66. 시제품 제작과정 3

(라) 원료 mixture 투입(마늘액 별도 준비하여 함께 투입)



그림 67. 시제품 제작과정 4

(마) 원료 mixture 살균(100°C, 15 mins)



그림 68. 시제품 제작과정 5

(바) 냉각(37°C ~ 40°C)



그림 69. 시제품 제작과정 6

(사) 종균(starter) 접종 준비(접종구 살균 소독)



그림 70. 시제품 제작과정 7

(아) 종균 접종(starter inoculation)



그림 71. 시제품 제작과정 8

(자) 배양(37°C ~ 40°C, 8hrs ~ 36hrs: 종균의 종류에 따라 차별 배양)



그림 72. 시제품 제작과정 9

(차) 배양 완료 및 배양액 수집



그림 73. 시제품 제작과정 10

(카) 시럽 및 향료 첨가(필요에 따라) : 향후 다양한 제품 개발 예정임

(타) 마늘요거트 완성

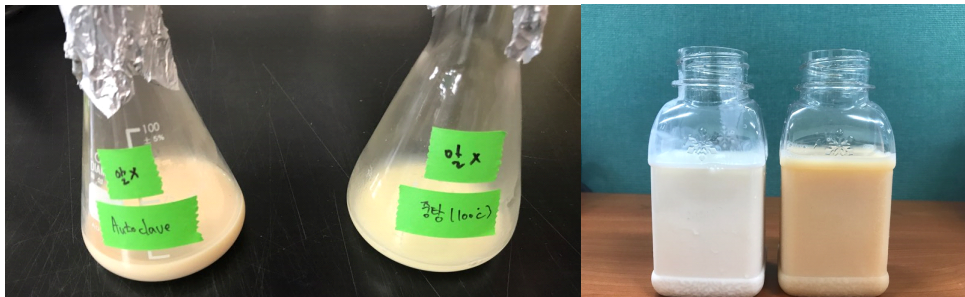


그림 74. 시제품 제작과정 11

(파) 마늘요거트 제조를 위한 Recipe

(*마늘은 별도로 농도를 결정하여 필요한 만큼 첨가하도록 하였음)

표 11. 8% SNF Garlic Yoghurt Recipe(案)

성분명	기준 Recipe (%)	변동 Recipe (%)	비고
skim milk powder (whole milk powder)	9 (13)	8.5 ~ 13.0	
glucose	0.5	0.2 ~ 0.7	
sugar	7.0	0 ~ 10	과일 요거트의 경우 fruit preparation 으로 대체
garlic	4.0	0.25 ~ 5	원료의 가공 상태에 따라 차이

pectin	0.08	0.05 ~ 0.1	
flavor essence	0.05	0.02 ~ 0.1	garlic & fruit flavor
starter (LAB)			적량
water	79.37 (75.37)	90.98 ~ 71.1	
total	100	100	

※ Recipe (%)의 경우 정확한 함량 부분을 표시하지 않았음

※ 일정정도의 간격을 두고 함량을 표시하였음

※ Recipe의 경우 개발하는데 2년이라는 시간이 걸린 중요한 무형자산이므로 정확한 수치 노출을 하지 않았음

- 변동 recipe 의 경우 시장에 출시할 발효유의 종류(호상 type, drink type, 가당 혹은 무당 형태, 과일요거트 혹은 plain yoghurt, flavored yoghurt 등)에 따라 recipe의 차이가 날 수 있는 상황을 반영하였으며, 또한 투입하는 원료의 가공 상태나 제조 적성에 따른 차이를 예상하여 설정하였고, 이는 특허출원 등의 경우에도 유용한 방안이 될 수 있을 것임

(하) 위의 Recipe 설정을 위하여 검토하고 고려한 사항은 다음과 같음

- 1) 주재료인 탈지분유(skim milk powder) 혹은 전지분유(whole milk powder)의 투입량은 식품공전(축산물 규격기준) 상의 농후발효유 성분규격인 무지유고형분 (SNF : solid non fat) 8% 이상에 적합하면서 어느 정도의 여유 함량을 가지기 위해 8.5% ~ 13.0%(전지분유 사용의 경우)로 설정함
 - 단, 이 때 일반 발효유(액상 요거트)인 SNF 3% 요거트를 제조할 시에는 탈지분유(혹은 전지분유) 투입량을 이에 맞게 조정할 수 있을 것임
 - 주재료에 원유(raw mlk)를 사용하지 않고 분유를 사용하고자 하는 것은 현재 우리나라 낙농업계의 고질적인 문제점인 원유수급불안정(원유 부족 혹은 잉여)을 다소나마 해소하는데 일조하고자 하는 이유임
- 2) 포도당의 투입은 1차연도에 유용 유산균주로 분리한 Allicin 내성균주가 원료(배지) 내에서 잘 자랄 수 있도록 5종의 균주성장특성에 따라 0.2% ~ 0.7% 첨가하도록 함
- 3) sugar 투입량의 결정은 plain yoghurt의 경우 첨가가 없으며, 일반적으로 우유 발효의 경우 대사산물인 젖산으로 인한 신맛의 발현으로 전체적인 맛에 큰 영향을 미쳐 기호성의 저하를 초래하므로 경우에 따라 첨가할 수 있도록 하였으며 (sweet yoghurt), 과일첨가 요거트(stirred type fruit yoghurt)에는 적량의 딸기, 복숭아, 열대과일 등의 중

류별 fruit preparation 투입으로 대체할 수 있을 것임

- 4) garlic의 투입량은 생마늘(수분 약 80%), 건조마늘(수분 약 60%), freeze drying 마늘(수분 10% 이내) 혹은 garlic extract를 사용할 경우에 대비하여 범위를 넓게 정하였으며, 이 원료의 가공과정이나 정도에 따라 투입방법도 달리 하여야 할 것임
- 5) pectin은 yoghurt 제품의 물성을 향상시키기 위한 증점제로서, 투입량은 호상인지 drink type 인지 등의 여부에 따라 다르게 처방할 수 있도록 함
- 6) essence 의 첨가 여부와 투입량은 최종 발효유 제품의 관능적 기호도 향상과 garlic 의 향취 발현과 보완을 위하여 garlic & fruit flavor를 첨가하는 것으로 조정하였으나, 이 경우 주 음용자 (나이, 성별, 병력, 음식문화 등의 차이)에 따라 다르므로 신중한 접근이 필요할 것임
- 7) 원료유 mix의 유산균 발효를 위한 Allicin 내성균주는 적량(미량) 접종해야 함

다. 3차년도 수행 내용 및 결과

(1) 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 분석

- 아래와 같이 3년간에 걸쳐 다양한 source 및 경로로 분리, 동정된 균들이며, 마늘발효에 특화된 균주로서 현재 실험실에서 정기적으로 계대배양하며 보관하고 있다. 필요에 따라 언제든지 분양할 수 있는 상태로 보관 중이며, 정기적으로 변종과 오염의 가능성이 있어 16S rDNA 분석을 병행하고 있다 (유산균과 병행 분리된 기타 균주들 역시 향후 대조군으로서의 활용 가치를 위해 보관하고 있음). KCTC 균주들은 비교 목적으로 분양받은 것임

표 12. Stab culture

No	균명	source		배지	note
1	<i>E. faecalis</i> (99%)	소 분변	1-3	MRS	
2	<i>E. faecalis</i> (99%)	소 분변	1-9	MRS	
3	<i>E. faecalis</i> (99%)	조개내장	4	MRS	
4	<i>E. faecalis</i> (99%)	조개내장	5	MRS	
5	<i>E. faecium</i> (99%)	말 분변	10-3	MRS	
6	<i>E. gallinarum</i>	말 분변	6-1	MRS	
7	<i>L. paracasei</i>	마시는 요구르트	1	MRS	
8	<i>L. paracasei</i> (90%)	마시는 요구르트	13	MRS	
9	<i>L. paracasei</i> (91%)	마시는 요구르트	15	MRS	
10	<i>L. paracasei</i> (91%)	마시는 요구르트	17	MRS	
11	<i>L. paracasei</i> (91%)	마시는 요구르트	20	MRS	
12	<i>L. paracasei</i> (91%)	마시는 요구르트	23	MRS	
13	<i>L. plantarum</i> (96%)	배추김치	26	MRS	
14	<i>L. plantarum</i> (94%)	배추김치	59	MRS	
15	<i>S. aureus</i> (92%)	빵집 빵	2	MRS	
16	<i>S. aureus</i> (96%)	빵집 빵	7	MRS	
17	<i>S. aureus</i> (92%)	빵집 빵	10	MRS	
18	<i>Streptococcus sanguinis</i>	빵집 빵	41	MRS	
19	<i>L. sakei</i> (99%)	소 분변	6-5	MRS	
20	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-3	MRS	
21	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-9	MRS	
22	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-15	MRS	
23	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-20	MRS	
24	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-21	MRS	
25	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	12-22	MRS	
26	<i>E. hirae</i> (85%)	소 분변	3-11	MRS	
27	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	3-21	MRS	

28	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	3-33	MRS	
29	<i>E. hirae</i> (97%)	소 분변	3-72	MRS	
30	<i>E. hirae</i> (99%)	소 분변	3-95	MRS	
31	<i>E. durans</i> (99%)	소 분변	12-24	MRS	
32	<i>E. faecium</i> (99%)	소 분변	3-40	MRS	
33	<i>L. paracasei</i> (99%)	대만시료	3	MRS	
34	<i>L. paracasei</i> (99%)	대만시료	6	MRS	
35	<i>L. paracasei</i> (99%)	대만시료	7	MRS	
36	<i>L. brevis</i>	-		MRS	
37	<i>L. monosytogenes</i>	-		BHI	
38	<i>S. mutans</i>	-		BHI	
39	<i>S. aureus</i>	-		TS	

표 13. Skim milk culture

No.	균명	source		hard / skim milk	note
1	<i>E. faecium</i> (99%)	갯잎김치	3	MRS / skim milk	
2	<i>L. brevis</i>	갯잎김치	8	MRS / skim milk	
3	<i>L. brevis</i>	물김치	1	MRS / skim milk	
4	<i>L. pentosus</i>	배추김치	15	MRS / skim milk	
5	<i>L. plantarum</i>	갯잎김치	4	MRS / skim milk	
6	<i>L. plantarum</i>	배추김치	13	MRS / skim milk	
7	<i>L. rhamnosus</i> (99%)	대만시료	1	MRS / skim milk	
8	<i>L. paracasei</i> (100%)	대만시료	2	MRS / skim milk	
9	<i>L. paracasei</i> (99%)	대만시료	5	MRS / skim milk	
10	<i>L. rhamnosus</i> (99%)	대만시료	9	MRS / skim milk	
11	<i>L. casei</i> YIT	한국 야구르트		MRS / skim milk	‘한국 야구르트’ 에서 분양받음
12	<i>L. casei</i> YA-70	비락		MRS / skim milk	‘비락’ 에서분양 받음
13	<i>Leuconostoc</i>	-		MRS / x	
14	<i>L. reuteri</i>	KCTC	3594	-	배양 중지
15	<i>L. acidophilus</i>	KCTC	3164	MRS / skim milk	‘KCTC’ 에서 양받음
16	<i>L. lactis</i>	KCTC	2013	MRS / x	‘KCTC’ 에서 분양받음
17	<i>L. fermentum</i>	KCTC	3112	MRS / x	‘KCTC’ 에서 분양받음
18	<i>L. rhamnosus</i>	KCTC	5033	MRS / x	‘KCTC’ 에서 분양받음
19	DH5 α	-		LB / skim milk	
20	BL21	-		LB / x	
21	<i>E. coli</i>	KCTC	2441	LB / skim milk	‘KCTC’ 에서 분양받음
22	<i>L. monosytogenes</i>	KCTC	13064	BHI / x	‘KCTC’ 에서 분양받음
23	<i>S. mutans</i>	KCTC	40105	BHI / x	‘KCTC’ 에서 분양받음
24	<i>S. aureus</i>	KCTC	12103	TS / skim milk	‘KCTC’ 에서 분양받음
25	<i>L. casei</i> YA-70	비락 (식용)		x / skim milk	식용 skim milk만 배양

(2) 선발된 균주를 이용하여 효과적인 발효 방법 개발 (단일균주 및 혼합균주)
 시제품 및 공장 생산에 적용 가능한 Protocol 완성

- 요구르트 제조를 위해 최종 protocol을 완성하였다. 이 recipe는 자체적인 것으로 시제품 제조에 사용되었으며, 단일균 또는 혼합균 사용에 공히 적용할 수 있도록 개발되었다. 또한 마늘 allicin을 첨가한 요구르트 뿐 아니라, 건강보조 효능이 우수한 보이차 추출물 첨가도 가능하게 개발함 (allicin과 보이차 추출물은 모두 항균효과가 있기 때문에 유산균 역시 영향을 받을 수밖에 없으며, 따라서 이에 내성이 강한 균주 선발과 함께, 이를 활용한 recipe 개발이 중요)
- 기능성 요구르트 제조의 기본 protocol은 다음과 같으며, 균주, 첨가물, 마늘 allicin 및 보이차 추출물의 첨가 등 변화에 따라 적절하게 세부적으로 양적, 시간적 변형을 주었으며, 다양한 향을 첨가한 요거트의 개발도 향후 진행 예정

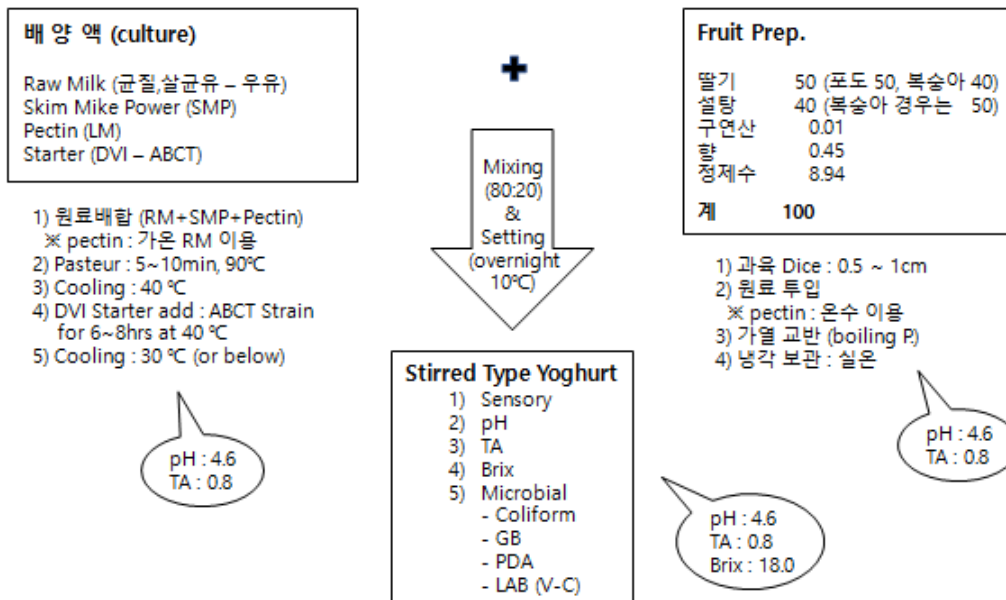


그림 75. 기능성 요구르트 제조 Protocol

표 14. 분리한 균주 중 protocol 결정에 활용된 균주

For Plain Type Yoghurt Or Garlic/Puer Tea Extracts added	
① ABCT + Garlic	① ABCT + Puer Tea Ex.
② <i>L.brevis</i> + Garlic	② <i>L.brevis</i> + Puer Tea Ex.
③ <i>L.paracasei</i> + Garlic	③ <i>L.paracasei</i> + Puer Tea Ex.
④ <i>L.plantrum</i> + Garlic	④ <i>L.plantrum</i> + Puer Tea Ex.
⑤ ABCT + <i>L.brevis</i> + Garlic	⑤ ABCT + <i>L.brevis</i> + Puer Tea Ex.
⑥ ABCT + <i>L.paracasei</i> + Garlic	⑥ ABCT + <i>L.paracasei</i> + Puer Tea Ex.
⑦ ABCT + <i>L.plantarum</i> + Garlic	⑦ ABCT + <i>L.plantarum</i> + Puer Tea Ex.

(3) Garlic/Puer Tea Ex. Yoghurt

표 15. Stirred type Yoghurt (호상): SNF 8% 이상

원 료 명	recipe (w/w, %)		비 고
	Garlic	Puer Tea Ex.	
Milk	75.0	75.0	City Milk, WMP 대체 가능
SMP	2.7	2.7	
Pectin	0.003	0.003	LM Pectin (Amide)
Garlic	4.0	(-)	Raw Garlic
Puer Tea Ex.	(-)	20.0	extract. ^{1)}
Starter	0.003	0.003	*2-1의 균주 활용
Pure Water	23.294	2.294	
Total	100	100	

주^{1)}: 보이차 20g + water 80g ⇨ extract 100 °C, 20mins ⇨ Ex. 20g ⇨ 4g (=보이차)

(가) 호상 요구르트 제조공정

① 원료 배합 및 용해

- RM (City Milk, WMP), SMP, LM Pectin (아미드펙틴)
- Garlic, Puer Tea Ex.
- ※ 펙틴은 water or RM으로 사전에 가온 용해 후 투입

② Pasteurization: HTST

- water bath (shaking): 90 ~ 95°C, 5~10분

③ Cooling

- 40°C

④ Starter Inoculation & Culture

- $40 \pm 3^\circ\text{C}$, 6~10hrs
- Starter 접종
- 배양종료 (end point): pH 4.4, TA 0.8 (소요시간 check)

(나) 호상요구르트(Stirred Type Yoghurt) 제조 공정 사진



그림 76. 원료배합 및 용해



그림 77. Pasteurization : HTST



그림 78. Starter Inoculation & Culture



그림 79. 호상 요구르트 시제품

(4) Fluid Type Yoghurt (액상): SNF 3%

표 16. Stirred type Yoghurt (액상): SNF 8% 이상

원료명	recipe (w/w, %)		비고
	Garlic	Puer Tea Ex.	
SMP	3.5	3.5	
Glucose	0.63	0.63	
Suclose	10.0	10.0	
Garlic	4.0	(-)	Raw Garlic
Puer Tea Ex.	(-)	20.0	extract. ¹⁾
Starter	0.003	0.003	ABCT
Yoghurt Essence	0.08	0.08	
Pure Water	81.787	65.787	
Total	100	100	

주¹⁾: 보이차 20g + water 80g ⇨ extract 100 °C, 20mins ⇨ Ex. 20g ⇨ 4g (=보이차)

(가) 액상 요거트 제조공정

① 원료 배합 및 용해

② Pasteurization: Batch Sterilization

- water bath (shaking): 95 ~ 100°C, 80~90 mins

③ Cooling

- 40°C

④ Starter Inoculation & Culture

- $40 \pm 3^\circ\text{C}$, 6~15hrs

- 배양종료 (end point): TA 0.58, pH 3.5 (소요시간 check)

⑤ Homogenization ($150\text{Kg}/\text{cm}^2$) or Stirring vigorously

(나) 액상요구르트(Fluid Type Yoghurt) 제조과정 사진



그림 80. 원료배합 및 용해



그림 81. Pasteurization : Batch Sterilization

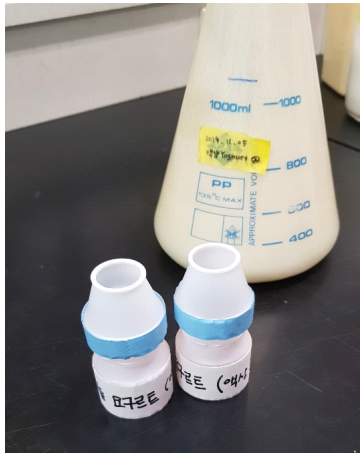


그림 82. Starter Inocuration & Culture



그림 83. 액상 요구르트 시제품

(3) 대조군 요구르트

표 17. 대조군 요구르트 함량

원료명	recipe (w/w, %)	비고
Milk	75.0	City Milk, WMP 대체 가능
SMP	2.7	-
Pectin	0.003	LM Pectin (Amide) * Pectin은 Water or Milk로 사전에 가온 용해 후 투입
Starter	0.003	ABCT
Pure Water	22.294	
Total	100	

- ① 멸균된 유리병에 원료를 배합 및 용해한다(Total Volume 1 l).
[Milk 750g, SMP 27g, Pectin 0.03g, Pure Water 222.94g]
- ② Pasteurization: 90-95℃, 5-10분간 살균한다(또는 UHT 순간 살균).
- ③ 40℃ 로 Cooling한다.
- ④ Cooling한 ③의 유리병에 Starter 0.03g을 접종한 뒤 배양한다.
* 배양 종료 시점: pH 4.4(±0.2), TA 0.8(±0.1) 기준
- ⑤ 배양이 종료된 유리병을 밀봉한 뒤 4℃에서 보관한다.
(목적에 따라 Fruit or Sweetener 첨가 후 보관)
*추후 실시할 관능검사를 위해 250g/ l 의 과일(오렌지, 사과, 키위) 첨가

(4) Galic Yoghurt (세부 추가)

표 18. Galic Yoghurt 함량

원 료 명	recipe (w/w, %)	비 고
Milk	75.0	City Milk, WMP 대체 가능
SMP	2.7	
Pectin	0.003	LM Pectin (Amide) * Pectin은 Water or Milk로 사전에 가온 용해 후 투입
Garlic	4.0	Raw Garlic
Starter	0.003	① ABCT ② <i>L.brevis</i> ③ <i>L.paracasei</i> ④ <i>L.plantrum</i> ⑤ ABCT + <i>L.brevis</i> ⑥ ABCT + <i>L.paracasei</i> ⑦ ABCT + <i>L.plantarum</i>
Pure Water	18.294	
Total	100	

- ① 멸균된 유리병에 원료를 배합 및 용해한다(Total Volume 1 l).
[Milk 750g, SMP 27g, Pectin 0.03g, Raw Garlic 40g, Pure Water 182.94g]
- ② Pasteurization: HTST
- ③ 40℃ 로 Cooling한다.

④ Cooling한 ③의 유리병에 Starter 0.03g을 접종한 뒤 배양한다.

[7종 : ① ABCT ② *L.brevis* ③ *L.paracasei* ④ *L.plantrum* ⑤ ABCT + *L.brevis* ⑥ ABCT + *L.paracasei* ⑦ ABCT + *L.plantarum*]

* 배양 종료 시점: pH 4.4(±0.2), TA 0.8(±0.1) 기준

⑤ 배양이 종료된 유리병을 밀봉한 뒤 4℃에서 보관한다.

(목적에 따라 Fruit or Sweetener 첨가 후 보관)

*추후 실시할 관능검사를 위해 250g/ l 의 과일(오렌지, 사과, 키위) 첨가



그림 84. Garlic Yoghurt 제조 과정

(5) Puer Tea Extract (보이차 추출물) Yoghurt (세부 추가)

표 19. Puer Tea Extract Yoghurt (세부 추가) 함량

원 료 명	recipe (w/w, %)	비 고
Milk	75.0	City Milk, WMP 대체 가능
SMP	2.7	-
Pectin	0.003	LM Pectin (Amide) * Pectin은 Water or Milk로 사전에 가온 용해 후 투입
Puer Tea Ex.	20.0	Puer Tea Ex. : Puer Tea 2g + Water 98g ⇒ extract 100℃, 20min ⇒ Ex. 20g
Starter	0.003	① ABCT ② <i>L.brevis</i> ③ <i>L.paracasei</i> ④ <i>L.plantrum</i> ⑤ ABCT + <i>L.brevis</i> ⑥ ABCT + <i>L.paracasei</i> ⑦ ABCT + <i>L.plantarum</i>
Pure Water	2.294	-
Total	100	-

- ① 멸균된 유리병에 원료를 배합 및 용해한다(Total Volume 1 l).
[Milk 750g, SMP 27g, Pectin 0.03g, Puer Tea Ex. 200g, Pure Water 22.94g]
- ② Pasteurization: HTST
Water Bath에서 90-95℃, 5-10분간 살균한다.
- ③ 40℃ 로 Cooling한다.
- ④ Cooling한 ③의 유리병에 Starter 0.03g을 접종한 뒤 배양한다.
[7종 : ① ABCT ② *L.brevis* ③ *L.paracasei* ④ *L.plantrum* ⑤ ABCT +
L.brevis ⑥ ABCT + *L.paracasei* ⑦ ABCT + *L.plantarum*]
* 배양 종료 시점: pH 4.4(±0.2), TA 0.8(±0.1) 기준
- ⑤ 배양이 종료된 유리병을 밀봉한 뒤 4℃에서 보관한다.
(목적에 따라 Fruit or Sweetener 첨가 후 보관)
*[추후 실시할 관능검사를 위해 250g/l의 과일(오렌지, 사과, 키위) 첨가]



그림 85. Puer Tea Ex. Yoghurt 제조과정

- 이후, pH 4.4±0.2와 TA (Titratable Acity) 0.8±0.1을 기준으로 배양 종료 시점까지의 수치를 측정하였다. 또한, 균수 측정을 위해 VC (Viable Cell, Lactic Acid Bacteria) 실험을 진행하였다.

(6) 마늘 요구르트의 품질과 진행에 대한 효과의 구체적인 데이터 확보 및 분석

(가) pH 검사

○ pH는 용액의 산성도를 가늠하기 척도로서 수소이온 농도의 마이너스 상용로그를($-\log_{10}$) 취한 값이다. 일반적으로 용액의 수소이온 농도는 매우 작은 값이기 때문에 다루기가 불편하여 pH라는 새로운 개념을 도입해 좀 더 간단한 숫자로 용액의 산성도를 나타낸다.

① pH meter기는 METTLER TOLEDO사의 MP220 Basic pH/mV/° C Meter를 사용하였다. pH를 측정하기 전에 Buffer solution pH4, 7, 9를 이용해 calibration을 하였다.

② pH 막대를 증류수로 씻은 다음, 가볍게 물기를 제거한다.

③ 측정용 sensor를 시료에 담그고 pH를 측정한다.



그림 86. pH 측정

표 20. Galic Yoghurt pH 결과

구분	원료배합, 살균	접종	배양(시간)					
			5	6	7	8	9	10
ABCT I	6.50	6.51	4.97	4.66	4.53	4.41	4.33	4.31
L.brevis	6.51	6.53	6.52	6.43	6.29	6.21	6.13	6.06
ABCT+ L.brevis	6.51	6.51	5.26	4.83	4.68	4.53	4.48	4.42
ABCT II	6.51	6.51	5.19	4.73	4.59	4.45	4.38	4.24
L.paracasei	6.53	6.54	6.52	6.51	6.37	6.29	6.18	6.09
ABCT+ L.paracasei	6.48	6.51	5.18	4.81	4.61	4.50	4.45	4.42
ABCT III	6.50	6.51	5.26	4.83	4.62	4.50	4.42	4.28
L.plantarum	6.51	6.53	6.51	6.38	6.21	6.18	6.13	6.10
ABCT+ L.plantarum	6.50	6.52	5.37	5.01	4.77	4.63	4.51	4.44

구분	배양(시간)						
	11	32	33	35.5	36.5	37.5	38.5
ABCT I	-	-	-	-	-	-	-
L.brevis	-	4.58	4.52	4.55	4.55	4.49	-
ABCT+ L.brevis	4.25	-	-	-	-	-	-
ABCT II	-	-	-	-	-	-	-
L.paracasei	-	4.83	4.73	4.75	4.62	4.53	4.40
ABCT+ L.paracasei	-	-	-	-	-	-	-
ABCT III	-	-	-	-	-	-	-
L.plantarum	-	4.27	-	-	-	-	-
ABCT+ L.plantarum	-	-	-	-	-	-	-

표 21. Pure Tea Yoghurt pH 결과

구분	원료배합, 살균	접종	배양(시간)	
			5	6
ABCT I	6.47	6.49	5.14	4.76
L.brevis	6.53	6.53	6.51	6.36
ABCT+ L.brevis	6.53	6.52	5.07	4.76
ABCT II	6.50	6.53	5.09	4.72
L.paracasei	6.51	6.52	6.54	6.50
ABCT+ L.paracasei	6.53	6.53	5.42	4.95
ABCT III	6.49	6.53	5.26	4.76
L.plantarum	6.54	6.54	6.46	6.36
ABCT+ L.plantarum	6.55	6.55	5.10	4.73

구분	배양(시간)				
	7	8	9	10	32
ABCT I	4.57	4.50	4.40	-	-
L.brevis	6.28	6.22	6.12	5.89	3.97
ABCT+ L.brevis	4.61	4.48	4.40	-	-
ABCT II	4.58	4.48	4.42	-	-
L.paracasei	6.42	6.32	6.22	5.34	3.99
ABCT+ L.paracasei	4.70	4.57	4.47	-	-
ABCT III	4.61	4.52	4.42	-	-
L.plantarum	6.31	6.28	6.27	6.21	4.01
ABCT+ L.plantarum	4.57	4.49	4.43	-	-

(나) pH 결과 분석

- 대부분의 경우 배양 종료시점의 기준치인 pH 값 4.4 ± 0.2 에 근접하였다. Garlic Yoghurt 결과 값을 보면 혼합균은 8시간쯤 배양종료 기준이 되었지만, TA 기준의 배양종료 값과 맞추기 위해서 10시간까지 계속 배양 후 종료하였다. 혼합균의 경우 10시간 정도 배양 후 기준 값에 도달하였는데 단일 유산균을 사용하였을 때는 32시간 이상이 지나야 대부분 배양종료 기준치에 도달하였다.

- Pure Tea Yoghurt 결과, 혼합균, 그리고 혼합균에 단일 유산균을 추가한 경우 모두 9시간만에 배양종료 기준에 도달하였다. 그러나 오로지 단일균만 사용했을 경우에는 약 29-30시간에 배양종료 기준에 도달하였다. 결국 Galic과 Pure tea 경우 배양종료 시점은 비슷하였는데 Puer tea의 경우가 조금 더 빠른 것으로 확인되었다. 이는 Galic에 포함된 allicin의 항산화 효능이 Pure tea보다 다소 강하기 때문으로 추정되었다.
- 예상대로 혼합균이 훨씬 빨리 pH 목표치에 도달하였다. 이는 단일균에 비해서 거의 3배 이상 빠른 결과였다. 그럼에도 불구하고 최종 pH 기준에는 시간만 더 지체될 뿐 모두 도달할 수 있기 때문에 우리가 분리한 균들은 단일균으로 사용하거나 혼합균으로 사용하거나 상관없이 제품 생산에 쓰일 수 있음이 확인되었다. 다만 공장 차원에서 제품을 생산할 때에는 혼합균 사용이 공정상 빠르기에 원가 절감, 인건비, 전기시설비 등에서 수익성이 더 있을 것으로 보인다.
- pH와 TA의 조건이 가장 중요한 생산 지표인데, 이를 동시에 충족시켜야 하기에 최종 배양 종료 시점은 이 둘의 결과를 종합하여 복합적으로 결정되었다.

(다) TA (Titratable Acidity)

- 우유 및 유제품의 산도, 즉 TA 값은 젖산의 농도로 표시하며 이를 적정 산도라고 한다. 이 산도를 측정할 때에는 우유에 지시약을 첨가하여 일정량의 우유 중에 들어 있는 산을 중화시키는데 필요한 알카리 양을 측정한다. TA 값은 알카리와 결합한 산성 물질의 전량을 모두 젖산으로 가정하여 중량 %로 나타낸 것이다. 우유 및 유제품의 산도는 Casein, 인산염 등의 성분에서 유래된 본래의 산도와 착유, 가공 후 유산 발효에 의해 생긴 Developed Acidity를 합한 것이다.

- ① 시료를 충분히 흔들어 교반한다.
- ② 피펫으로 시료의 9ml을 채취하여 100ml 비이커에 취한다.
- ③ 증류수 9ml와 페놀프탈레인 0.5ml를 같은 비이커에 취한다.
- ④ 0.1N NaOH를 한 방울씩 떨어뜨리며 색깔의 변화를 확인한다.
- ⑤ 젖산이 중화됨에 따라 미홍색으로 변하고, 30초간 색이 소실되지 않는 점을 종말점으로 한다.
- ⑥ 아래의 계산공식에 따라 계산한다.

$$\text{적정 산도 (\%)} = \frac{0.1\text{N NaOH 소비량(ml)} \times 0.009 \times F}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100 (\%)$$

- F (Factor): 0.1N NaOH 1ml에 해당하는 젓산의 양
(1ml가 중화시킬 수 있는 젓산의 양)
- 0.009: 1N NaOH에 대한 젓산 계수는 90.08이므로, 0.1N의 NaOH에 대한 젓산 계수는 약 0.009이다.
- 페놀프탈레인: 산과 알칼리를 구별하는 지시약. 산성용액에서는 무색, pH9에서는 홍적색, 그보다 높은 알칼리성에서는 그 색을 유지한다.
- 노르말 농도(N): 용액 1l 속에 녹아 있는 용질의 g 당량 수
- g 당량 수 = 분자량 / (1분자 중의 H⁺ 또는 OH⁻ 수)

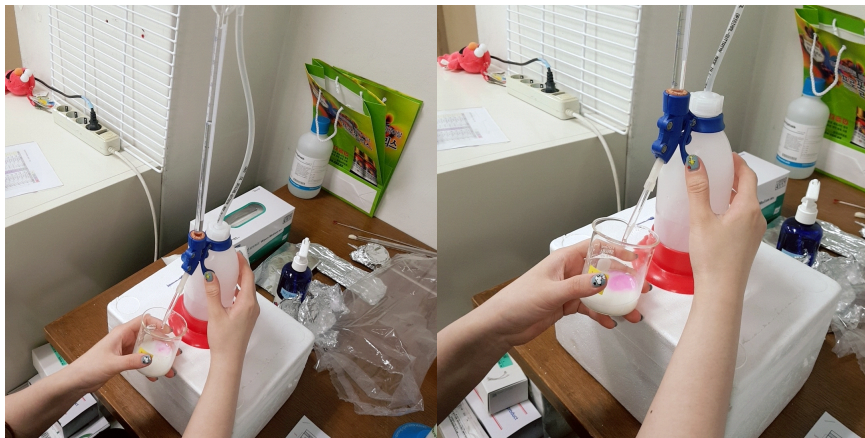


그림 87. TA 측정

표 22. Galic Yoghurt TA 결과

구분	원료배합 , 살균	접종	배양(시간)					
			5	6	7	8	9	10
ABCT I	0.16	0.15	0.5	0.64	0.64	0.59	0.67	0.74
L.brevis	0.16	0.13	0.16	0.17	0.18	0.21	0.21	0.22
ABCT+ L.brevis	0.16	0.14	0.50	0.61	0.73	0.70	0.69	0.67
ABCT II	0.15	0.13	0.48	0.57	0.78	0.63	0.61	0.75
L.paracasei	0.13	0.13	0.17	0.18	0.17	0.18	0.21	0.22
ABCT+ L.paracasei	0.14	0.14	0.54	0.65	0.66	0.65	0.68	0.73
ABCT III	0.13	0.13	0.49	0.65	0.70	0.61	0.68	0.71
L.plantarum	0.14	0.14	0.18	0.19	0.21	0.22	0.20	0.24
ABCT+ L.plantarum	0.13	0.14	0.44	0.53	0.60	0.66	0.66	0.80

구분	배양(시간)						
	11	32	33	35.5	36.5	37.5	38.5
ABCT I	-	-	-	-	-	-	-
L.brevis	-	0.78	0.65	0.79	0.79	0.8	-
ABCT+ L.brevis	0.7	-	-	-	-	-	-
ABCT II	-	-	-	-	-	-	-
L.paracasei	-	0.6	0.53	0.72	0.64	0.66	0.73
ABCT+ L.paracasei	-	-	-	-	-	-	-
ABCT III	-	-	-	-	-	-	-
L.plantarum	-	0.82	-	-	-	-	-
ABCT+ L.plantarum	-	-	-	-	-	-	-

표 23. Pure Tea Yoghurt TA 결과

구분	원료배합, 살균	접종	배양(시간)	
			5	6
ABCT I	0.18	0.17	0.50	0.60
L.brevis	0.19	0.18	0.21	0.19
ABCT+ L.brevis	0.16	0.19	0.53	0.65
ABCT II	0.18	0.18	0.51	0.60
L.paracasei	0.18	0.18	0.18	0.19
ABCT+ L.paracasei	0.17	0.19	0.40	0.60
ABCT III	0.20	0.18	0.44	0.63
L.plantarum	0.18	0.18	0.20	0.20
ABCT+ L.plantarum	0.18	0.18	0.56	0.58

구분	배양(시간)				
	7	8	9	10	32
ABCT I	0.62	0.66	0.75	-	-
L.brevis	0.23	0.24	0.28	0.33	1.3
ABCT+ L.brevis	0.61	0.63	0.83	-	-
ABCT II	0.60	0.68	0.74	-	-
L.paracasei	0.19	0.20	0.28	0.33	0.95
ABCT+ L.paracasei	0.63	0.69	0.74	-	-
ABCT III	0.65	0.71	0.73	-	-
L.plantarum	0.24	0.23	0.24	0.24	0.99
ABCT+ L.plantarum	0.63	0.65	0.65	0.85	-

(라) TA 결과 분석

- 대부분의 경우 배양종료 시점 기준인 TA 값 0.8 ± 0.1 에 도달한 뒤 배양을 멈추었다. Galic Yoghurt의 결과 값을 보면 혼합균의 경우는 10시간을 전후하여 기준값에 도달하였지만, 단일균 배양의 경우는 32시간이 지나서야 배양종료 기준에 도달하였다. 이는 pH 측정의 결과와 거의 일치하는 결과이다. 따라서 혼합균의 경우 약 10시간, 단일균의 경우 약 32시간 이상 배양하는 것을 원칙으로 하였고, 이를 시제품 제조에 적용하였다.

기본 protocol과 품질관리조건도 이에 맞추어 개발하였다. 물론 상황과 기타 첨가물 조건에 따라 다소간 배양시간의 변경은 융통성 있게 적용하였다.

(마) VC (Viable Cell, Lactic Acid Bacteria)

- 식품 등 시료에 존재하는 세균의 양을 측정하는 방법으로 일정한 배양 조건하에서 콜로니를 형성하는 생균수를 육안으로 측정하는 것이다. 한천(agar)이 들어있는 고형배지 표면에 콜로니를 만들어 이것을 계측한다. 사용하는 배지는 대상 균에 따라 조성이 조금씩 다른데, 측정 시에는 식품 위생법규에 명시된 표준 한천 배지를 사용하도록 규정되어 있다. 또한, 특정한 균만을 측정하고자 하는 경우에는 선택배지를 사용한다. 배양온도와 시간은 대상과 목적에 따라 다르지만 35~37℃, 48시간 정도가 일반적이다. 생균수라 하더라도 모든 생균이 콜로니를 만드는 것은 아니고 일정한 배지 조성, 배양시간, 배양온도에서 콜로니를 만드는 균만을 결과적으로 측정하는 것이다. 시료를 생리식염수 등으로 적시어 희석하고, 그중 그 1 ml를 고형배지 위에 붓고, 배양기에 넣어 일정 시간 배양한 후 콜로니 계산기(colony counter)로 계측한다. 대체로 배양접시 위에 30~300개 콜로니(cfu: colony forming unit)가 보일 때 이를 계측한 뒤, 여기에 희석배율을 곱하여 시료의 생균수로 결정한다.

- ① 1 liter의 증류수에 MRS (5.5%) 55g, agar (1.5%) 15g을 녹여서 pH를 5.7±0.1로 조정 후 121℃에서 15분간 멸균하여 고형배지를 만든다.
- ② 검사 시료 10μl에 9배 희석액을 가해 90μl가 되게 하고 균질화한다(10⁻¹ 용액).
- ③ 시험용액(10⁻¹ 용액) 10μl를 추출 후 희석액 90μl를 가하여 100μl가 되게 하고, 10⁻² 시험용액을 만든 후 동일하게 조작하여 10⁻¹⁰까지 희석한다.
- ④ 희석배수별로 1μl를 취해 준비된 MRS 배지에 일렬로 접종한다.
- ⑤ 시료가 접종된 고형배지가 든 배양접시를 35~37℃에서 48~72±3시간, 혐기배양한다.
- ⑥ 배양 후 생성된 콜로니 수를 측정하고, 여기에 희석배수를 곱하여 검사 시료 g당 생균수(cfu)로 결정한다.

표 24. Galic yoghurt VC

단위:cfu/ μ l

구분	접종 후	배양(Time)			
		5	7	9	11
ABCT I	22×10^5	24×10^7	24.5×10^8	22×10^9	28×10^{10}
L.brevis	21.5×10^4	52×10^6	13×10^{10}	7×10^{10}	25.5×10^{11}
ABCT+ L.brevis	12×10^6	12.5×10^9	19×10^{10}	21.5×10^{10}	28.5×10^8
ABCT II	80×10^4	7×10^8	33×10^7	16×10^8	65×10^{12}
L.paracasei	21×10^4	43×10^5	38×10^6	90×10^6	6×10^9
ABCT+ L.paracasei	28×10^5	15×10^7	6×10^8	15×10^8	19×10^9
ABCT III	18.5×10^5	18×10^8	14×10^9	50.5×10^9	13×10^{11}
L.plantarum	12.5×10^5	20×10^6	29×10^9	27×10^{10}	47.5×10^7
ABCT+ L.plantarum	30.5×10^5	20.5×10^7	14×10^8	42.5×10^7	42.5×10^7

구분	보관(days)			
	1	5	9	14
ABCT I	32×10^8	6.5×10^9	12×10^{12}	11×10^9
L.brevis	30.5×10^{10}	13×10^{11}	23×10^{12}	6×10^9
ABCT+ L.brevis	38.5×10^{10}	26×10^8	15×10^{12}	13×10^9
ABCT II	76×10^{12}	17×10^9	7×10^{12}	17×10^{12}
L.paracasei	23×10^7	6×10^9	35×10^8	6×10^{11}
ABCT+ L.paracasei	145×10^{12}	6×10^{10}	19×10^8	25×10^{12}
ABCT III	10.5×10^{11}	39.5×10^8	10.5×10^{11}	6×10^9
L.plantarum	53.5×10^7	26.5×10^9	24×10^8	12×10^{10}
ABCT+ L.plantarum	19.5×10^8	15.5×10^8	11.5×10^{10}	21.5×10^{11}

표 25. Pure tea yoghurt VC

단위:cfu/μl

구분	접종 후	배양(Time)			
		5	7	9	11
ABCT I	29×10^5	30.5×10^7	37.5×10^7	25×10^7	21×10^7
L.brevis	7.5×10^4	17×10^8	49.5×10^9	18.5×10^{11}	32×10^{12}
ABCT+ L.brevis	18.5×10^5	11.5×10^{10}	28×10^{11}	17.5×10^{12}	18×10^{11}
ABCT II	8×10^5	12×10^7	25×10^7	13×10^7	12×10^8
L.paracasei	5×10^3	12×10^5	32×10^9	48×10^7	1×10^9
ABCT+ L.paracasei	47×10^4	105×10^6	65×10^{12}	12×10^{11}	23×10^{10}
ABCT III	51.5×10^4	14.5×10^7	11.5×10^8	34×10^8	26×10^{10}
L.plantarum	8.5×10^4	83×10^6	17.5×10^7	18×10^7	6.5×10^8
ABCT+ L.plantarum	22.5×10^5	12×10^8	26.5×10^6	6×10^8	17.5×10^8

구분	보관(days)			
	1	5	9	14
ABCT I	63.5×10^{12}	13×10^{11}	12×10^8	11.5×10^9
L.brevis	176×10^{12}	28×10^{12}	11.5×10^{11}	26×10^{12}
ABCT+ L.brevis	99×10^{11}	48.5×10^{12}	12×10^{11}	12.5×10^7
ABCT II	119×10^{12}	18×10^7	24×10^{11}	12×10^{10}
L.paracasei	135×10^7	8×10^8	12×10^8	12×10^{10}
ABCT+ L.paracasei	30×10^9	9×10^8	35×10^{11}	30×10^{12}
ABCT III	16×10^7	25.5×10^{11}	19×10^8	81.5×10^6
L.plantarum	16.5×10^8	24.5×10^7	11.5×10^8	22×10^7
ABCT+ L.plantarum	6.5×10^7	39×10^8	7×10^{10}	10.2×10^7

(바) VC 결과 분석

- 시판 기준은 10^8 (1억) cfu/μl 이상이다. 대체적으로 배양 및 시제품에서 확인한 결과 5 시간 이후부터 Galic 또는 Puer tea를 첨가한 경우 모두에서 충분하게 기준치를 넘어서는 평균수가 측정되었다.

2-3. 설문 조사, 선호도 조사 및 성분 분석

- 주관기관(농업회사법인 문무(주)), 참여기관(계명대학교 산학협력단) 공동수행

가. 1차 설문조사 및 선호도 조사 수행 내용 및 결과

(1) 설문 및 앙케이트 조사

- 향, 식감, 맛 등의 조사항목을 바탕으로 마늘 요거트 시제품에 대한 설문 조사를 실시함
- 설문조사 결과를 통해 만든 데이터를 토대로 수정 및 보완



그림 88. 시음회를 통한 설문 장면

- 본 설문조사는 시음회 후 정형된 설문조사를 통하여 음료의 맛, 색깔, 식감의 자료를 10점 척도를 통해 3차에 걸친 소비자 기호도에 따른 만족도, 선호도 및 주관테스트를 통해 선호도를 조사함
- 재료 및 방법
 - 본 연구에서는 안드로이드 패드를 이용한 설문 조사방법을 선택하였으며 설문 대상은 성인 남녀 18세 이상의 요거트를 구매하거나 음용하고 있는 100명을 대상으로 마늘 기능성음료에 대한 내용을 숙지시킨 후 설문 조사를 수행하였음
 - 조사기간은 2017년 7월 1일부터 7일까지 실시하였으며, 계명대학교 정문 및 대구광역시 달성군 다사읍 인근 아파트 18세 성인 남녀 100명을 대상으로 조사하였음
 - 테스트를 시작하기에 앞서 정수된 물($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$)을 음용하고 입을 헹굴 수 있는 것을 마련하여 미세한 맛과 감각의 차이를 공정하게 하도록 노력하였으며 2~3번 정도 충분한 입 헹굼을 하도록 하였음

- 입행금을 하면서 3가지 시료를 다 맛본 후, 전반적인 기호도가 높은 순으로 점수를 매겨 해당하는 칸에 시료의 번호를 적도록 하였으며, 한 칸에 하나의 시료 번호만을 쓰도록 하였음
- 평가는 소비자 패널과 1:1면접 방식으로 실시하였으며, 전반적인 기호도를 평가하게 하였음
- 전반적인 기호도는 10점 척도의 Rank-rating scale를 사용하여 1점은 ‘매우 좋지 않다’, 10점은 ‘매우 좋다’로 평가하였음
- 25개 항목의 질문을 가지고 마늘 요거트 음료의 선호도를 파악하기 위하여 요인분석을 실시하여 더미에 따른 군집분석을 하였고 요인추출 방법은 주성분/회전된 성분행렬 방법을 이용하였으며, 회전방법은 Kaiser의 정규화가 있는 Varimax를 사용하였고, 반복계산을 통해 요인회전의 수렴을 추구하였으며, 알파 값에 따른 신뢰도에 따른 Cumulative %(설명력) = 88.4로 조사되었음

표 26. 설문조사지

※ 본 마늘 요거트 시음회를 통한 자료 조사는 개인의 동의하에 시음회에 참석하게 되며, 시음을 통한 개인정보동의는 반드시 동의한 사람만이 실험에 참가할 수 있음을 알려드립니다.

※ 개인정보 공개에 대해서는 비공개로 이루어지며, 답변 내용에 대해서는 연구자료로 사용되어짐을 알려드립니다.

※ 만약 동의하지 않거나 실험 참가 후 이상 증후 또는 실험 공개 거부 의사가 있으시면 아래와 같은 연락처로 문의를 주시기 바랍니다.

※ 계명대학교 생물학과 유민 교수 연구팀 053-580-5537 으로 연락주시기 바랍니다.

각각 10점 척도에 의한 1점(Bad)부터 10점(Good)까지의 정량적 평가를 합니다.

1, 1차 유산균 중에 따른 기호도 조사 테스트(군중에 따른 테스트, 10점 척도)

- OO균(풍미, 맛, 색감)
- OO균(풍미, 맛, 색감)
- OO균(풍미, 맛, 색감)

2. 2차 타 요거트 음료 비교 기호도 조사 테스트(시중 판매되는 타 요거트 회사에 따른 테스트, 10점 척도)

- 사과맛(풍미, 맛, 색감)
- 딸기맛(풍미, 맛, 색감)
- 마늘맛(풍미, 맛, 색감)

3. 3차 소비자 선호도 조사 테스트(선호도 테스트, 5점 척도)

- 1) 요거트 구매시 새로운 제품이 나오면 즉시 구매해 본다
- 2) 백화점, 슈퍼 등에서 조리가 완료된 식품을 애용한다.
- 3) 간편한 인스턴트 식품을 즐겨먹는다.
- 4) 바쁠 때는 요거트 등의 음료로 끼니를 해결한다.
- 5) 식사시간을 아끼는 편이다.
- 6) 비만을 고려하여 올바른 실생활을 하는 편이다
- 7) 유기농, 무농약 식품을 자주 구매하는 편이다.
- 8) 인스턴트 보다는 조리하는 음식을 더 선호한다.
- 9) 화학조미료에 대해서 민감한 편이다.
- 10) 영양성분을 꼭 확인한다.
- 11) 새로운 맛 유행하는 맛을 선호하는 편이다.
- 12) 미적 디자인 부분에 대하여 구매하는 편이다.
- 13) 신메뉴에 관심이 많다.
- 14) 먹어보지 않은 음식을 시도해 보는 경향이 있다.
- 15) 가격이 비싸도 유행하는 음식은 먹어야 한다.
- 16) 음식을 구매할 때 계획성 있게 구매한다.
- 17) 품질에 큰 차이가 없다면 저렴한 것을 찾는다.
- 18) 충동구매는 절제하는 편이다.
- 19) 자주 사는 식품의 가격을 기업한다.
- 20) 식품을 싸게 파는 곳이 멀더라도 간다.
- 21) 식품 구매 시 주성분을 꼭 확인한다.
- 22) 화학첨가물 내용을 꼭 확인한다.
- 23) 제조사를 꼭 확인한다.
- 24) 품질인증 마크를 꼭 확인한다.

25) 천연소재, 자연소재가 원재료인지 확인한다.

(2) 결과

① 1차 유산균 중에 따른 기호도 조사 테스트

표 27. 각 균주별 조사 결과

- L. brevis균

L. brevis균	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	6.75 ± 2.21	7.34 ± 4.42	7.05 ± 3.31	>0.05
맛	4.44 ± 1.45	6.67 ± 3.46	5.56 ± 2.45	>0.05
식감	7.67 ± 3.41	6.67 ± 2.75	7.17 ± 3.08	>0.05

- L. pentosus균

L. pentosus균	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	5.37 ± 1.21	7.25 ± 1.42	6.31 ± 1.31	>0.05
맛	5.23 ± 1.56	7.65 ± 2.26	6.44 ± 1.91	>0.05
식감	7.55 ± 2.56	6.78 ± 1.73	7.17 ± 2.15	<0.05

- W. confusa균

W. confusa균	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	7.78 ± 3.52	6.31 ± 2.21	7.05 ± 2.86	<0.05
맛	7.34 ± 1.52	7.37 ± 2.54	7.36 ± 2.03	<0.05
식감	8.17 ± 1.41	6.57 ± 2.25	7.37 ± 1.83	>0.05

- 3개 균의 발효에 따른 요거트 소비 선호 경향 파악

	L. brevis균	L. pentosus균	W. confusa균	p-value
풍미	7.05 ± 3.31	6.31 ± 1.31	7.05 ± 2.86	<0.05
맛	5.56 ± 2.45	6.44 ± 1.91	7.36 ± 2.03	
식감	7.17 ± 3.08	7.17 ± 2.15	7.37 ± 1.83	
총계	6.59 ± 2.94	6.64 ± 1.79	7.26 ± 2.24	

- 3개 균의 발효에 따른 요거트 소비 선호 경향 파악을 위하여 맛과 풍미 식감을 대상으로 20~30대의 청년층과 40대 이상의 장년층을 대상으로 조사하였음
- L. brevis균의 경우 총점은 0.00 ± 2.94 점으로 조사되었으며, 장년층에서 풍미와 맛에서 선호도가 높았으나 식감에서는 청년층에서 선호도가 높았는데 이는 모두 통계적으로 유의함을 나타냄으로 청년층과 장년층의 기호도에 차이를 보인 것으로 조사되었음
- L. pentosus균의 경우 총점은 7.17 ± 2.15 점으로 조사되었으며, 풍미와 맛에서는 장년층이 선호도가 높았으며, 식감에서는 청년층이 높은 것으로 조사되었음
- 풍미와 맛에 대해서는 청년층과 장년층의 통계적 유의성에 의해 구분이 되었으나 식감에 대해서는 차이를 보이지 않았으므로 청년층과 장년층의 차이가 없고 식감의 점수도 7점 이상으로 높은 것으로 조사되었음
- W. confusa균의 경우 청년층에서 풍미와 식감이 최고점에 있었으며 장년층의 경우 다른 균종의 요거트와 크게 차이 나지 않았으나, 풍미, 맛, 식감에서 최고점을 획득함으로써 청년층의 선호도가 매우 높은 것으로 확인되었음
- 이는 단맛의 정도와 쓰지 않고 마늘향이 진하지 않은 깊은 맛의 젊은 사람의 입맛을 확인할 수 있었던 것으로 조사되었음

② 타 요거트 음료 비교 기호도 조사 테스트

표 28. 조사 결과

	20 ~ 30대(청년층)	40대 이상(장년층)	p-value
사과맛	7.12 ± 1.36	5.32 ± 1.46	>0.05
딸기맛	6.78 ± 1.89	4.57 ± 1.26	>0.05
마늘맛	8.17 ± 1.41	6.57 ± 2.25	>0.05

- 시중에서 가장 인기가 많은 사과와 딸기 맛과 마늘맛을 대상으로 기호도 조사 테스트를 2차적으로 실시하였고 전체적으로 장년층의 경우 사과와 딸기맛의 요거트에 대하여 단맛으로 인한 거부감이 표현되었으며, 청년층의 경우 마늘맛에 대한 새로운 이미지로 몸에 건강해진다는 느낌이 있어 마늘맛을 선호한다고 답한 사람이 많았음
- 마늘맛 > 사과맛 > 딸기맛의 순서에 따른 요거트 음료 기호도 평가가 나타났음

③ 3차 소비자 선호도 조사 테스트

표 29. 요인분석

	안전/품질	새로움/도전	편리성/신속	계획/실속	건강/다이어트
10)	.888				
21)	.846				
22)	.774				
24)	.756				
23)	.726				
25)	.676				
7)	.657				
11)		.846			
1)		.821			
13)		.811			
12)		.773			
15)		.657			
14)		.634			
5)			.785		
4)			.740		
2)			.703		
3)			.667		
19)				.675	
20)				.664	
17)				.621	
18)				.592	
9)					.741
8)					.643
6)					.612
16)					.558

- 각 항목의 질문당의 5점 척도를 가지고 요인분석을 실시하여 주성분 분석을 실시하였음
- 본 질문에 따른 Varimax회전에 의해 각 항목당 5가지의 군집이 나타났는데 이를 명명하자면 다음과 같은 더미가 나타났고 안전/품질, 새로움/도전, 편리성/신속, 계획/실속, 건강/다이어트로 나타났음

표 30. 군집분석

	합리성 추구형	식도락	대중성 추종형	실속 중시형	안전/ 품질 중시형
안전/품질	.2047	-1.5411	.7743	-.4164	.1461
새로움/도전	.5341	.4473	.5107	-.4547	-.1342
편리/신속	-.6104	-.1462	1.0341	.0144	-.4494
계획/실속	.5401	-.1164	.3346	.5843	-.0134
건강/다이어트	-.3412	.5543	.5576	.0641	-.4670

- 각 요인분석에 따른 5가지의 군집을 분석하기 위하여 각 더미별 군집을 분석하였다. 군집에 대한 명명은 다음과 같음
- 합리성 추구, 식도락, 대중성 추종형, 실속 중시형, 안전/품질 중시형의 그룹으로 나뉠 수 있으며, 이는 선호하는 대상을 파악할 수 있는데 4가지의 그룹 즉, 남성/여성과 청년층과 장년층을 대상으로 기호 선호도에 대한 결과 해석이 가능하였음
 - 합리성 추구형 : 청년층 남성, 청년층 여성
 - 식도락 추구형 : 청년층 장년층, 장년층 여성
 - 대중성 추종형 : 청년층 남성, 장년층 남성
 - 실속 중시형 : 장년층 여성
 - 안전/품질 중시형 : 청년층 여성

나. 2차 설문조사 및 선호도 조사 수행 내용 및 결과

- 우리나라는 점점 고령화 사회로 접어들고 있으며 최근 ‘웰빙 boom’ 이 일어나면서 건강에 대한 관심이 많아지고 건강식품을 찾는 사람들이 점차 늘어남
- 마늘이 건강 증진에 으뜸이라는 것이 증명되고 있으며 그 기능 및 효능 또한 소개된 바가 많으나 마늘 특유의 향과 맛 때문에 꺼리는 사람들이 많아 본 연구개발에서는 마늘을 발효시켜 마늘 향을 최대한 없애는 동시에 남녀노소 누구나 즐길 수 있는 요거트 형태로 만듦으로써 거리낌 없이 섭취할 수 있도록 함
- 마늘 요거트 풍미에 따른 고객 세분화를 통해 개개인의 취향에 적합한 마늘 요거트 개발
 - 연령층에 따른 구분 (어린이, 청년, 중년, 장년)
 - 성별에 따른 구분 (남자, 여자)

- 고객층에 따른 기능성을 구별하여 특정 고객층이 아닌 다양하고 폭 넓은 고객층을 상대로 판매하고자 함
- 1차년도 진행한 설문조사와 동일한 방법으로 마늘요거트 시제품에 대한 2차 설문조사 실시함
 - 본 연구에서는 안드로이드 패드를 이용한 설문 조사방법을 선택하였다. 설문 대상은 성인 남녀 18세 이상의 요거트를 구매하거나 음용하고 있는 100명을 대상으로 마늘 기능성음료에 대한 내용을 숙지시킨 후 설문 조사를 수행함
 - 2차 조사기간은 2018년 7월 2일부터 6일까지 실시하였으며, 계명대학교 정문 및 대구광역시 달성군 다사읍 인근 OO아파트 18세 이상 성인 남녀 100명을 대상으로 조사함
 - 테스트를 시작하기에 앞서 정수된 물($20\pm 2^{\circ}\text{C}$)을 음용하고 입을 행굴 수 있는 것을 마련하여 미세한 맛과 감각의 차이를 공정하게 하도록 노력했으며 입행굴을 하면서 시료를 모두 맛본 후, 전반적인 기호도가 높은 순으로 점수를 매겨 해당하는 칸에 시료의 번호를 적도록 하였으며, 한 칸에 하나의 시료 번호만을 쓰도록 함.
 - 평가는 소비자 패널과 1:1면접 방식으로 실시하였으며, 전반적인 기호도를 평가하게 하였음
 - 전반적인 기호도는 10점 척도의 Rank-rating scale를 사용하여 1점은 ‘매우 좋지 않다’, 10점은 ‘매우 좋다’로 평가하였음
 - 25개 항목의 질문을 가지고 마늘 요거트 음료의 선호도를 파악하기 위하여 요인분석을 실시하여 더미에 따른 군집분석을 하였고 요인추출 방법은 주성분/회전된 성분행렬 방법을 이용하였으며, 회전방법은 Kaiser의 정규화가 있는 Varimax를 사용하였고, 반복계산을 통해 요인회전의 수렴을 추구하였으며, 알파 값에 따른 신뢰도에 따른 Cumulative %(설명력) = 88.4로 조사되었음

표 31. 설문조사지

※ 본 마늘 요거트 시음회를 통한 자료 조사는 개인의 동의하에 시음회에 참석하게 되며, 시음을 통한 개인정보동의는 반드시 동의한 사람만이 실험에 참가할 수 있음을 알려드립니다.

※ 개인정보 공개에 대해서는 비공개로 이루어지며, 답변 내용에 대해서는 연구자료로 사

용되어짐을 알려드립니다.

※ 만약 동의하지 않거나 실험 참가 후 이상 증후 또는 실험 공개 거부 의사 가 있으시면 아래와 같은 연락처로 문의를 주시기 바랍니다.

※ 계명대학교 생물학과 유민 교수 연구팀 053-580-5537 으로 연락주시기 바랍니다.

각각 10점 척도에 의한 1점(Bad)부터 10점(Good)까지의 정량적 평가를 합니다.

1. 1차 유산균 종에 따른 기호도 조사 테스트(균종에 따른 테스트, 10점 척도)

- OO균(풍미, 맛, 색감)
- OO균(풍미, 맛, 색감)
- OO균(풍미, 맛, 색감)

2. 2차 타 요거트 음료 비교 기호도 조사 테스트(시중 판매되는 타 요거트 회사에 따른 테스트, 10점 척도)

- 사과맛(풍미, 맛, 색감)
- 딸기맛(풍미, 맛, 색감)
- 마늘맛(풍미, 맛, 색감)

3. 3차 소비자 선호도 조사 테스트(선호도 테스트, 5점 척도)

- 1) 요거트 구매시 새로운 제품이 나오면 즉시 구매해 본다
- 2) 백화점, 슈퍼 등에서 조리가 완료된 식품을 애용한다.
- 3) 간편한 인스턴트 식품을 즐겨먹는다.
- 4) 바쁠 때는 요거트 등의 음료로 끼니를 해결한다.
- 5) 식사시간을 아끼는 편이다.
- 6) 비만을 고려하여 올바른 실생활을 하는 편이다
- 7) 유기농, 무농약 식품을 자주 구매하는 편이다.
- 8) 인스턴트 보다는 조리하는 음식을 더 선호한다.
- 9) 화학조미료에 대해서 민감한 편이다.
- 10) 영양성분을 꼭 확인한다.
- 11) 새로운 맛 유행하는 맛을 선호하는 편이다.
- 12) 미적 디자인 부분에 대하여 구매하는 편이다.

- 13) 신메뉴에 관심이 많다.
- 14) 먹어보지 않은 음식을 시도해 보는 경향이 있다.
- 15) 가격이 비싸도 유행하는 음식은 먹어야 한다.
- 16) 음식을 구매할 때 계획성 있게 구매한다.
- 17) 품질에 큰 차이가 없다면 저렴한 것을 찾는다.
- 18) 충동구매는 절제하는 편이다.
- 19) 자주 사는 식품의 가격을 기입한다.
- 20) 식품을 싸게 파는 곳이 멀더라도 간다.
- 21) 식품 구매시 주성분을 꼭 확인한다.
- 22) 화학첨가물 내용을 꼭 확인한다.
- 23) 제조사를 꼭 확인한다.
- 24) 품질인증 마크를 꼭 확인한다.
- 25) 천연소재, 자연소재가 원재료인지 확인한다.

① 2차 실험 1차 유산균 중에 따른 기호도 조사 테스트

표 32. 각 균주별 조사 결과

- L. brevis균

	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	7.13±1.33	8.14±1.21	7.63±1.27	>0.05
맛	7.42±1.08	8.42±1.23	7.92±1.15	>0.05
식감	8.33±1.21	7.32±1.74	7.82±1.47	>0.05

- L. pentosus균

	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	7.53±1.65	8.36±1.12	7.94±1.38	>0.05
맛	6.26±1.42	8.17±1.21	7.21±1.31	>0.05
식감	8.12±1.25	7.22±0.88	7.67±1.06	>0.05

- W. confusa균

	20 ~ 30대 (청년층)	40대 이상 (장년층)	평균	p-value
풍미	8.98±2.11	8.41±1.14	8.69±1.62	>0.05
맛	8.43±1.12	8.40±1.13	8.41±1.12	>0.05
식감	8.48±1.08	8.21±2.25	8.34±1.66	>0.05

- 3개 균의 발효에 따른 요거트 소비 선호 경향 파악

	L. brevis균	L. pentosus균	W. confusa균	p-value
풍미	7.63±1.27	7.94±1.38	8.69±1.62	>0.05
맛	7.92±1.15	7.21±1.31	8.41±1.12	
식감	7.82±1.47	7.67±1.06	8.34±1.66	
총계	7.79±1.29	7.61±1.25	8.48±1.46	

- 1차 실험과 동일한 조건에서 2차실험도 3개 균의 발효에 따른 요거트 소비 선호 경향 파악을 위하여 맛과 풍미 식감을 대상으로 20 ~ 30대의 청년층과 40대 이상의 장년층을 대상으로 조사하였음
- L. brevis균의 경우 총점은 7.79±1.29점으로 조사되었으며, 장년층에서 풍미와 맛에서 선호도가 높았으나 식감에서는 청년층에서 선호도가 높았다. 이는 모두 통계적으로 유의함을 나타냄으로 청년층과 장년층의 기호도에 차이를 보인 것으로 조사되었음
- L. pentosus균의 경우 총점은 7.61±1.25점으로 조사되었으며, 풍미와 맛에서는 장년층이 선호도가 높았으며, 식감에서는 청년층이 높은 것으로 조사되었다. 풍미와 맛에 대해서는 청년층과 장년층의 통계적 유의성에 의해 구분이 되었으나 식감에 대해서는 차이를 보이지 않았으므로 청년층과 장년층의 차이가 없고 식감의 점수도 7점 이상으로 높은 것으로 조사되었음
- W. confusa균의 경우 총점은 8.48±1.46점으로 조사되었으며, 청년층에서 풍미와 식감이 최고점에 있었다. 장년층의 경우 다른 균종의 요거트와 크게 차이 나지 않았으나, 풍미, 맛, 식감에서 최고점을 획득함으로써 청년층의 선호도가 매우 높은 것으로 확인되었음
- 이는 단맛의 정도와 쓰지 않고 마늘향이 진하지 않은 깊은 맛의 젊은 사람의 입맛을 확인할 수 있었던 것으로 조사되었음

- 1차 실험(6.83 ± 2.32 점)과 2차 실험(7.96 ± 1.18 점)을 비교하였을 때, 2차 실험에서 전체적으로 높은 점수를 획득하였으며 표준편차 크기가 작고 p-value의 통계적 유의성 척도도 0.05 미만으로 조사됨에 따라 2차 실험에서 요거트의 완성도를 높였다고 볼 수 있음
- 1차 실험의 경우 균질화 및 제조 방법에 대한 매뉴얼 작성 등을 소홀히 하였으나, 2차 실험에서 균질화를 시도하였고 제조 방법에 대한 매뉴얼을 작성하므로 올바른 제조법과 똑같은 맛, 풍미, 식감을 유지하기 위하여 노력하였음

② 타 요거트 음료 비교 기호도 조사 테스트

표 33. 조사 결과

	20 ~ 30대(청년층)	40대 이상(장년층)	p-value
사과맛 A사	6.98 ± 1.12	5.43 ± 1.55	>0.05
사과맛 B사	6.78 ± 3.42	5.22 ± 3.35	<0.05
딸기맛 A사	6.24 ± 2.68	4.21 ± 2.44	<0.05
딸기맛 B사	5.88 ± 3.11	5.20 ± 3.23	<0.05
마늘맛	7.84 ± 1.12	8.32 ± 1.23	>0.05

- 1차 실험과 동일한 조건에서 사과맛과 딸기맛에 대한 변별력을 확인하고자 타사 제품을 1가지씩 더 추가하여 실험하였음
- 시중에서 가장 인기가 많은 사과와 딸기맛과 마늘맛을 대상으로 기호도 조사 테스트를 2차적으로 실시하였고, 전체적으로 장년층의 경우 사과와 딸기맛의 요거트에 대하여 단맛으로 인한 거부감이 표현되었으며, 청년층의 경우 마늘맛에 대한 새로운 이미지로 몸에 건강해진다는 느낌이 있어 마늘맛을 선호한다고 답한 사람이 많았음
- 마늘맛 > 사과맛 > 딸기맛의 순서에 따른 요거트 음료 기호도 평가가 나타났음
- 1차 실험보다 마늘맛에 대한 요거트 선호도가 높았으며, 장년층에서 마늘맛에 대한 선호도가 높은 것을 확인 할 수 있었음
- 전체적으로 건강해진다는 평과 신기하다 재미있다는 평이 있었으며, 아이들에게 추천해 주고 싶다 등과 일반 드링크제 또는 건강음료보다 더 먹기 편하다는 의견이 있었음
- 그러나 아직 마늘 냄새가 끝맛에 있고 비린내가 난다는 의견도 있었으며, 마늘을 싫어하

기 때문에 처음부터 실험을 거부하는 사람도 있었음

③ 3차 소비자 선호도 조사 테스트

표 34. 요인분석

	안전/품질	새로움/도전	편리성/신속	계획/실속	건강/다이어트
25)	.876				
21)	.824				
10)	.766				
23)	.712				
24)	.707				
22)	.698				
7)	.677				
1)		.888			
11)		.876			
12)		.811			
13)		.734			
15)		.644			
14)		.642			
5)			.744		
4)			.722		
2)			.704		
3)			.684		
19)				.742	
18)				.712	
17)				.622	
20)				.544	
8)					.730
9)					.614
6)					.604
16)					.576

- 각 항목의 질문당의 5점 척도를 가지고 요인분석을 실시하여 주성분 분석을 실시하였음
- 본 질문에 따른 Varimax회전에 의해 각 항목당 5가지의 군집이 나타났는데 이를 명명하자면 다음과 같은 더미가 나타났다. 안전/품질, 새로움/도전, 편리성/신속, 계획/실속, 건강/다이어트로 나타났다

표 35. 군집분석

	합리성 추구형	식도락	대중성 추종형	실속 중시형	안전/품질 중시형
안전/품질	.5567	-1.1521	.5621	-.4131	.4467
새로움/도전	.4679	.5464	.5251	-.1345	-.0155
편리/신속	-.4325	-.1346	1.1152	.5661	-.4677
계획/실속	.6782	-.1214	.4421	.6636	-.1332
건강/다이어트	-.1615	.4567	.6466	.0146	-.4679

- 각 요인분석에 따른 5가지의 군집을 분석하기 위하여 각 더미별 군집을 분석하였고 군집에 대한 명명은 다음과 같음
- 합리성 추구, 식도락, 대중성 추종형, 실속 중시형, 안전/품질 중시형의 그룹으로 나눌 수 있으며, 이는 선호하는 대상을 파악할 수 있는데 4가지의 그룹 즉, 남성/여성과 청년층과 장년층을 대상으로 기호 선호도에 대한 결과 해석이 가능하였음
 - 합리성 추구형 : 청년층 남성, 청년층 여성
 - 식도락 추구형 : 청년층 장년층, 장년층 여성
 - 대중성 추종형 : 청년층 남성, 장년층 여성
 - 실속 중시형 : 장년층 남성, 장년층 여성
 - 안전/품질 중시형 : 청년층 여성, 청년층 남성
- 설문조사를 토대로 마늘요거트에 대한 선호도를 분석해 본 결과 남성과 여성 중에서는 남성층이, 연령대별 분류를 통해서는 청년층에서 장년층으로 높아질수록 마늘요거트에 대한 선호도가 높은 것으로 나타났고, 어린이와 여성의 경우 마늘이 적게 함유된 요거트를 더 선호하는 것으로 나타남

표 36. 국내외 고객 수요층

국 내	국 외
<ul style="list-style-type: none"> • 고객층에 따른 풍미 구별 - 연령층에 따른 구분 (어린이, 청년, 장년) - 성별에 따른 구분 (여자, 남자) 	
<ul style="list-style-type: none"> • 고객층에 따른 기능성을 구별하여 다양하고 폭 넓은 고객층 확보 	<ul style="list-style-type: none"> • 마늘 향의 제거로, 마늘의 향과 맛에 거부감을 갖는 해외 고객층까지 공략

- 세계 각국에서 건강식으로서의 요거트에 관심을 두고 있으며, 수요 또한 계속해서 증가하는 추세로 이미 건강식품으로 잘 알려진 마늘을 이용한 요거트를 상품화한다면 세계 시장으로의 진출도 무난할 것으로 사료됨
- 향후 개발된 마늘 요거트의 생리기능성 등의 분석을 통하여 다양한 우수성을 함께 홍보할 예정

다. 시험 성적서 발급 (성분분석)

TM R 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터 TRADITIONAL MICROORGANISM RESOURCES CENTER		http://www.tmr.or.kr	
제 19-2-04332 호		발급번호 : 제 R20191122-010 호	
시험 성적서			
검 체 명	마늘 요구르트(호상)		
제 품 유 형	일반성분검사		
의뢰인 주소 및 성명	농업회사법인 문주주식회사	대 표 자	최은규
	경상북도 안동시 삼지길 45, 4층 404호(을세동, 가톨릭상지대학교)		
접 수 년 월 일	2019년 11월 08일	검사완료일	2019년 11월 18일
시 험 의뢰 목적	참고용		
귀하가 시험 의뢰한 결과 및 판정은 의뢰된 시험항목에 한하며 다음과 같습니다.			
결과 :			
시 험 항 목	규 격 기 준	결 과	
열량	-	62.551Kcal/100g	
나트륨	-	36.613mg/100g	
탄수화물	-	4.883g/100g	
당류	-	2.884g/100g	
지방	-	3.255g/100g	
트랜스지방	-	불검출	
포화지방	-	2.028g/100g	
콜레스테롤	-	8.095mg/100g	
단백질	-	3.431g/100g	
<p>식품위생검사기관지정기준 제4호의 2 규정에 의하여 위와같이 검사성적서를 발급합니다.</p> <p>2019년 11월 22일</p> <p>계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터장</p> <p>대구지방식품의약품안전청 식품등 시험검사기관 제112호 대구지방식품의약품안전청 축산물 시험검사기관 제13호</p>			
<p>이 검사결과는 제출된 검체에 한하며 의뢰목적 이외의 상업적인 광고 및 법적인 해결수단으로 사용할 수 없습니다.</p>			
<p>[42(6)이1] 대구광역시 달서구 달구벌대로 1095(천단산업지원센터 103호) TEL : (053)580-6460~2 FAX : (053)580-6465</p>			

그림 89. 마늘 요구르트 (호상) 시험 성적서

제 19-2-04333 호

발급번호 : 제 R20191122-011 호

시험 성적서

검 체 명	마늘 요구르트(액상)		
제 품 유 형	일반성분검사		
의뢰인 주소 및 성명	농업회사법인 문무주식회사	대 표 자	최은규
	경상북도 안동시 상지길 45, 4층 404호(을세동, 가톨릭상지대학교)		
접 수 년 월 일	2019년 11월 08일	검사완료일	2019년 11월 18일
시 험 의 려 목 적	참고용		

귀하가 시험 의뢰한 결과 및 판정은 의뢰된 시험항목에 한하여 다음과 같습니다.

결과 :

시 험 항 목	규 격 기 준	결 과
열량	-	51.968Kcal/100g
나트륨	-	11.203mg/100g
탄수화물	-	11.699g/100g
당류	-	8.951g/100g
지방	-	0.128g/100g
트랜스지방	-	불검출
포화지방	-	0.093g/100g
콜레스테롤	-	불검출
단백질	-	1.005g/100g

식품위생검사기관지정기준 제4호의 2 규정에 의하여 위와같이 검사성적서를 발급합니다.

2019년 11월 22일

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터장

대구지방식품의약품안전청 식품동 시험검사기관 제112호

대구지방식품의약품안전청 축산물 시험검사기관 제13호



이 검사결과는 제출된 검체에 한하며 의뢰목적 이외의 상업적인 광고 및 법적인 해결수단으로 사용할 수 없습니다.

그림 90. 마늘 요구르트 (액상) 시험 성적서

2-4. 국내/영천시 마늘산업 및 시장 현황 분석_주관기관(농업회사법인 문무(주)) 수행

가. 기술현황 조사

(1) 마늘 관련 연구 현황

- 국가단위에서 마늘은 국립원예특작과학원내의 원예작물부 소속의 채소과 차원에서 연구개발 업무를 전담하고 있으며 지역단위로는 동 과학원의 지역연구기능을 담당하는 남해출장소가 있음
- 지자체 수준의 연구활동으로는 경남 남해군의 마늘시험장에서 가공 산업 중심의 연구 개발을 추진하고 있으며 충북도가 운영하는 단양마늘연구소는 신품종 육종, 우량 종구 개량 등 재배기술의 개발, 병해충 방제 등에 연구역량을 집중하고 있음
- 기술연구들은 마늘산업의 다양한 가능성을 최대화기 위한 것으로 연구 분야도 매우 차별적으로 폭넓게 이루어져왔는데 마늘의 기능성 강화를 위한 유황마늘에 대한 연구, 마늘의 표준 수확량을 조사하기 위한 연구, 지역별 마늘의 상품화 증진 기술, 교잡육종 기술 등에 대한 연구로 활발하게 추진되었음
- 마늘산업의 활성화를 위한 사회과학적 연구는 마늘의 수확 이후, 등급화, 포장, 마케팅, 전문경영체 운영, 소비활성화 방안, 등급화 개선, 식품 소재 개발 등의 다양한 영역에서 연구가 추진되어 왔음 (대구경북연구원, 2013)
- 기계화(기계 파종, 실용기술, 생산비 절감 기술) 및 수확 후 관리기술도 많이 진행되고 있음
- 현재 우리나라에서 생산되는 마늘의 품종은 별도의 육종과정 없이 오랫동안 한 지역에서 재배를 거듭하는 방식으로 이어져 왔기 때문에 유전적인 다양성이 부족하며, 자체 육성된 초영(전남도원), 제주조생(제주도원) 등 대부분의 품종들이 도입육종 품종임
- 가임 마늘간 교잡을 위한 모본의 개화기 조절, 주아적제, 매개충 이용 교배 등 채종을 위한 기술을 확립하였고, 실생종자의 발아율 향상을 위한 기내 파종법 등을 이용해 품종 육성 중임
- 바이러스 무병종구 생산분야는 기내배양에 대한 연구가 다수 수행되었으나 순화 재배, 포장적용 등 연계기술 개발 미흡으로 한지형 마늘에서 일부 무병종구 보급체계가 추진되고 있으며, 난지형에서는 인편분화기 생장점 배양 신기술 개발로 무병종구 대량생산

이 가능하여 실용재배 단계에 있음

- 마늘종을 이용한 식품 재료의 이용뿐만 아니라 주아를 이용한 외통마늘의 생산과 2년 차 외통마늘 재배를 통한 종구용 인편의 생산 등 체계적인 기술 보급을 통해 마늘의 생산성을 약 20% 정도 향상함
- 국내에서 이용되는 멀칭용 PE 필름 (0.03mm)의 10a당 피복 가격은 8~10만 원 수준이며 마늘 재배 농가에서 대부분 사용되고 있음
- 마늘에서 PE 필름 멀칭은 수량을 증가시키며 수확기를 앞당기는 장점과 벌마늘의 발생 감소, 저장성 감소 등의 단점을 동시에 가지고 있음
- 마늘의 항균성, 항암성, 혈액순환 등에 관한 많은 연구가 수행되었으나, 생리활성의 기작 구명 등에 관한 연구는 거의 수행되지 않았음
- 마늘이 가지고 있는 효능 중 특정 목표 질환에 대한 활성도를 파악하기 위해서 지표성분 분리에 의한 구조 동정이 필요하나 아직 미비한 실정이며, 각각의 제품 특성에 맞는 품질표준화의 기준이 설정되어 있지 않으므로 품질표준화에 의한 마늘제품의 세계화가 어려운 실정임

(2) 발효식품 관련 연구 현황

- 전통발효식품 및 발효미생물에 대한 장기적이고 체계적인 연구는 과학기술처 선도 기술 개발 사업을 통하여 처음 시작되었으며, 전통발효식품 중 김치류, 장류, 주류와 같은 세 분야에 대하여 유용미생물의 탐색, 발효특성의 과학적 규명, 품질 개선 연구, 제품의 자동화 제조공정 등 광범위한 범위의 연구가 진행되고 있음
- 최근에는 한국식품연구원, 세계김치연구소, 발효미생물산업진흥원(순창군발효미생물관리센터), 농업진흥청 등의 연구기관 및 관련 산학연 유용발효미생물 탐색 및 자원화, 전통장류식품 현대화 및 우리 술 복원사업과 산업화 연구를 통하여 전통 발효제인 누룩이나 메주에서 여러 유용미생물을 분리하고 기능성을 탐색하는 등 발효미생물의 산업적 활용 기반을 조성하고 있음
- 한국의 발효식품 관련 연구 및 기술개발은 중국 및 일본과 함께 논문 및 특허에서 높은 비중을 차지하고 있고, 다른 국가에 비해 해당 분야의 연구 활동도 활발히 진행되고 있는 편인 것으로 보이나, 논문게제수와 특허 출원량으로 볼 때 중국 및 일본과의 격차가 크지 않음

- 우리나라의 전통 발효식품과 유사한 중국 및 일본 등 다른 국가의 발효식품과의 경쟁에서 우위를 선점하기 위해 보다 향상된 품질에 기여할 수 있는 생물자원종의 발굴이 필요함
- 세계적으로 생물자원 확보 경쟁에서 우리 발효식품은 중요한 미생물 자원이 될 수 있으며, 국가적 차원에서 미생물 자원 확보에 관심을 기울일 필요가 있음
- 국가생물자원종합관리시스템의 자료를 살펴보면, 2012년 생물자원이 1,263,330건에서 2013년 2,173,954건으로 72.1%가 증가하여 생물자원으로서의 중요성을 국가 차원에서 크게 인식하고 있음을 나타냄

- 마늘의 생산성 향상을 위한 연구와 마늘의 효능 등에 대한 연구가 많이 진행되고 있으나, 품질표준화 기준이 설정되어 있지 않은 실정이며 가공마늘에 대한 연구가 더 필요할 것으로 보임
- 발효식품은 안전성과 건강기능성이 이미 증명되어 있고 세계적인 생물자원 확보 경쟁에서 중요한 미생물 자원이 될 수 있으므로 발효식품 연구에 관심을 기울일 필요가 있음

나. 시장현황 조사

(1) 마늘산업 현황 분석

- 마늘은 중앙아시아가 원산지로 추정되며, 우리나라에서의 재배기원이나 도입 시기에 대해서는 명확하지 않으나 단군신화에도 나올 뿐만 아니라 삼국사기에 기록이 있는 것으로 보아 마늘의 이용과 재배역사가 매우 오래된 것으로 생각됨
- 마늘은 예부터 ‘일해백리(一害百利)’로 불렸는데, 냄새만 빼면 모든 면이 몸에 이롭다는 뜻이며 과학적 근거가 없던 먼 옛날부터 마늘은 몸에 활기를 주고 균을 없앤다고 여겼음
- 마늘은 우리나라에서 4대 채소 (고추, 마늘, 배추, 무) 중의 하나로서 특히 고추와 함께 가장 중요한 양념 채소로 하루라도 식탁에 빼놓을 수 없는 조미료임

표 37. 마늘 주요 품종별 특성

품종명	생태형	추대성	인편수	재배지역	과중기	수확기	도입국
서산종	한지형	완전추대	6~8	중부해안	10중·하	6하	재래종
의성종	한지형	완전추대	6~8	중부내륙	10중·하	6하	재래종
단양종	한지형	완전추대	6~8	중부내륙	10중·하	6하·7상	재래종
남도마늘	난지형	완전추대	6~8	남부	9하	6상·중	중국
대서마늘	난지형	완전추대	12~13	남부	9하	5중	스페인

(농촌진흥청)

- 우리나라에서 재배되는 마늘은 한지형과 난지형으로 분류되며, 한지형 품종은 우리나라 재배종으로 중북부 지방에서 재배되고, 난지형 품종으로는 대부분 중국에서 도입된 남도마늘과 스페인 도입종인 대서마늘, 인도네시아 도입종인 자봉마늘 등으로 남부지방에서 주로 재배됨
- 마늘의 주된 재배는 전남 고흥, 경남 창녕, 전남 신안, 제주 서귀포, 경북 의성 순으로 이루어지고 있으며, 고흥, 신안, 서귀포, 해남, 남해 등은 난지형 품종이, 의성, 태안, 서산 등에서 한지형 품종이 주로 재배되고 있음
- 높은 수량성 등으로 난지형 마늘이 전체 마늘 재배면적의 77% 정도를 차지하고 있으며 우리 국민 식생활의 필수 조미채소로 재배역사가 오래되고 재배기술이 일반화되어 전국적으로 재배되고 있는 작물임 (한국농촌경제연구원, 2013)
- 농촌진흥청은 국산 마늘의 항암효과가 수입마늘보다 월등히 우수하다고 밝혔는데, 농촌진흥청에 따르면 마늘의 암세포 성장억제 효과가 위암의 경우 국산은 75~81% 인데 반해 수입산은 13% 억제에 그쳤고, 간암에 대해서는 국산 55~67%인 반면 수입산은 21%에 불과했으며 또한 폐암 성장 억제효과는 국산 14~16% 정도지만 수입산은 1% 정도에 불과함 (한국농어민신문, 2002)
- 식약처는 지난 2013년 12월30일 ‘혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있다’ 며 마늘을 건강식품 기능성원료로 인정한다고 밝힌 바 있으며 즉, 마늘을 원료로 건강기능식품을 만들 수 있게 된 셈임 (세계일보, 2015)

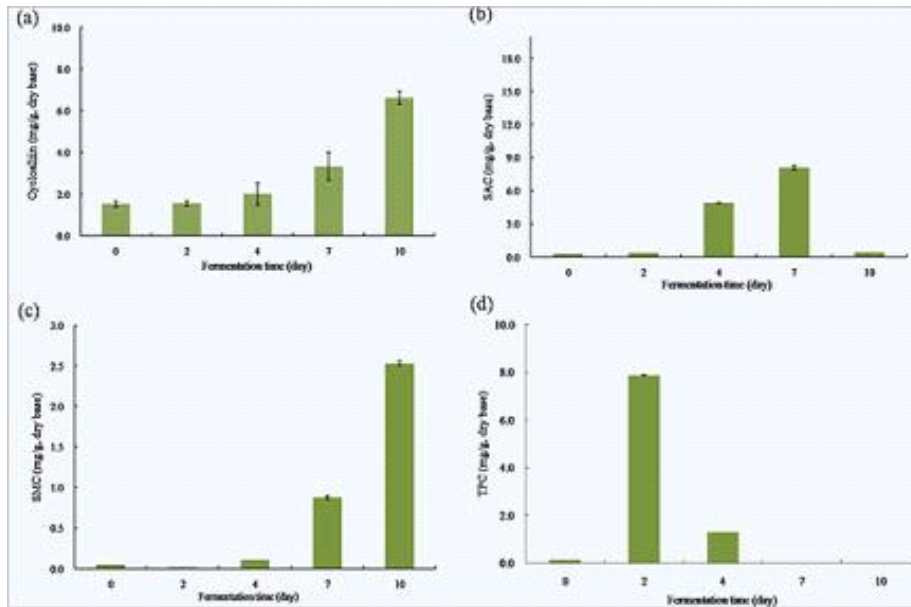


그림 91. 마늘발효물 기능성황화합물 증가 효능 (식품음료신문, 2014)

- 한국식품연구원(원장 직무대행 한규재) 식품분석센터 유미영 박사 연구팀은 생물전환기법을 활용한 발효마늘로부터 기존 마늘에 비해 항암 및 항동맥경화 효과가 있는 SAC 함량이 20배 이상 증가됨을 확인했다고 밝힘
- 연구팀에 따르면 끓는 물에 7분 동안 데쳐 알리나아제(allinase)를 불활성화 시킨 마늘에 사카로미세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae* SAC (KFCC11565P))를 접종해 20°C에서 10일 동안 발효시켰을 때, S-allyl cysteine (SAC)이 기존 마늘 0.1~0.3 (mg/g, dry base)에 비해 8.11 (mg/g, dry base)로 20배 이상 증대됨을 확인함
- 마늘발효물에서 중성지방 감소 및 혈전용해에 뛰어난 효과를 보이고 있는 사이 클로알리인(cycloalliin) 함량은 기존 마늘 0.5~2.5(mg/g, dry base) 대비 10.37(mg/g, dry base)로 4배 이상 증대됨을 확인함
- 유미영 박사는 “발효마늘을 음료나 기타 가공식품으로 활용해 부가가치를 향상시킨다면 국내 마늘농가에 큰 파급 효과를 가져 올 것” 이라고 밝힘 (식품음료신문, 2014)
- 마늘 성분의 특징은 다른 약용 식물들과 비교하여 수분함량은 낮고, 황화합물의 함량은 높는데, 마늘의 주요 생리활성물질인 유기황화합물은 마늘의 독특한 향을 제공하고, 이들의 99.5%는 황 함유 아미노산인 cysteine을 함유하고 있으며, 그 함량은 1.1~3.5% 정도로서 양파, 살구, 브로콜리의 약 4배에 이르며, 마늘의 효능에 대한 연구의 약 90%가 황화합물을 중심으로 이루어지고 있음
- 마늘의 황 화합물에 기인하는 다양한 기능성으로는 항균활성, 항암, 항혈전성, 혈압강화 작용, 콜레스테롤 저하, 노화 방지 작용 및 항산화 기능성이 대표적임

- 마늘은 대표적인 항산화력을 갖는 피토케미컬이 풍부한 식품으로 인정되고 있는데 ROS(reactive oxygen species)를 제거하고 지질 과산화물 형성과 LDL 산화를 억제하며, 항산화 체계를 증대시키는 것으로 알려져 있음
- 마늘은 체력증강과 피로회복에도 약리학적으로 작용하는 것으로 보고되고 있음
- 최근 국내산 마늘의 생산액은 점차 증가하고 있으나, 1인당 소비량 감소와, 수입량 증가로 인한 자급률 감소는 공급과잉 기조로 이어져 수급 불안정 요인으로 작용하고 있음

표 38. 마늘 재배면적, 단수 및 생산량 추이

	2001	2005	2007	2009	2010	2011	2012	2013
재배면적	37,188	31,766	26,986	26,323	22,414	24,035	28,278	29,352
단수	1,095	1,180	1,288	1,357	1,212	1,227	1,199	1,405
생산량(천톤)	406	375	348	357	272	295	399	412

(농업전망 2014, 한국농촌경제연구원)

- 마늘 수입은 2013년 국내 마늘 생산량의 10% 정도인 38,458톤이 수입될 만큼 국내 마늘 수급에 영향을 주는 중요한 요인으로 작용하며 대부분 민간 수입업자에 의해 수입되고 있으나, 수급 안정의 일환으로 정부의 의무수입물량을 도입하고 있어 이 또한 국내산 마늘 가격에 미치는 영향을 주는 요인임

표 39. 마늘 수입 동향

(단위: 톤)

	2003	2005	2007	2009	2010	2011	2012	2013
총수입량(A)	52,191	45,983	68,255	37,200	89,200	89,425	49,821	38,458

(농업전망 2014, 한국농촌경제연구원)

- 환산수율을 적용한 마늘 전체 수입량은 2003년 5만 2,000톤에서 2011년 8만 9,000톤으로 연평균 7% 증가하였으며 국내 마늘 생산량의 감소로 인한 부족분을 수입산으로 대체하여 지속적인 증가 추세를 보여 왔으나, 2012년 이후 국내산 마늘 생산량이 증가하고, 중국의 마늘 수급 불안정으로 인해 마늘 수입량은 감소추세로 돌아서고 있음
- 2013년산 마늘 재배면적은 29,352ha로 2001년산 재배면적(37,188ha) 대비 21% 감소하였는데, 이후 재배면적은 감소추세를 보이다가 2010~2013년 다시 상승세를 보이고 있음

- 재배면적 감소의 원인으로는 농촌의 고령화로 인한 노동력 부담과 생산비 증가를 지적할 수 있으나, 양파와 대체성이 강한 품목으로 가격 변화에 따라 재배면적은 양파 재배와 대체를 이루면서 증가와 감소를 거듭하고 있음
- 마늘 총 공급량은 2004년 42만 3600톤에서 2012년 38만 8,100톤으로 감소추세를 보이고 있는데, 이는 재배면적 감소로 인한 생산량 감소가 원인으로 분석되며, 국내 생산량 감소분이 수입 증가분보다 커 총 공급량은 감소하는 것으로 나타났으나 2010년 이후 재배면적이 다시 증가추세를 보이고 있어 총 공급량은 증가하고 있음
- 마늘의 총 소비량은 2000년 가장 많은 총 소비량을 기록한 이후 2011년까지 조금씩 줄어드는 양상을 보이고 있으며, 2000년 이후 총 소비량은 연평균 1.85% 감소함
- 가구 소비자 조사 결과 (농업관측센터, 2013), 마늘 형태별 구입 비중은 주대마늘이 37%, 통마늘이 29%, 깎마늘 18%, 다진 마늘 17% 순으로 조사됨

표 40. 마늘 수입 실적

(단위: 톤)

연산	2003	2004	2005	2007	2008	2009	2010	2011	
총수입량(A)	52,105	58,871	45,981	68,252	53,451	37,354	89,192	89,337	
신선 마늘	통마늘	13,974	13,202	9,625	10,199	3,418	6,144	35,702	31,747
	깎마늘	3,707	8,465	2,304	2,761	2,088	129	2,098	2,038
냉동마늘	23,871	30,31	24,558	43,185	32,956	24,840	46,501	49,220	
초산조제마늘	7,806	6,122	5,293	9,019	6,581	6,121	4,075	4,272	
건조마늘	2,747	764	4,201	3,088	8,408	120	816	2,060	
TRQ(B)	9,984	14,467	14,467	15,467	3,374	5,964	37,800	21,487	
민간수입량 (C=A-B)	42,121	44,404	31,514	52,785	50,077	31,390	51,392	67,850	

(한국무역협회, 한국농수산물유통공사, 2011)

- 국내에서 유통되는 수입마늘은 대부분 중국산이며, 수입량은 2003년에 5만 2천 톤에서 2011년에 8만 9천 톤으로 연평균 7%씩 증가함
- 2012년에 2011년보다 주대마늘 구입을 늘리는 대신 통마늘 구입은 다소 감소한 것으로 나타남

- 중국산 마늘 가격이 국산 마늘 가격의 70% 수준일 경우 전체 소비자의 6%, 50% 수준일 경우 15%, 30% 수준일 경우 6%가 중국산 마늘에 대한 구입의향이 있는 것으로 조사되었음
- KREI-KASMO 모형 추정결과, 총 공급량은 2013년 40만 톤에서 2022년 40만 4천 톤으로 다소 증가하는 것으로 전망됨

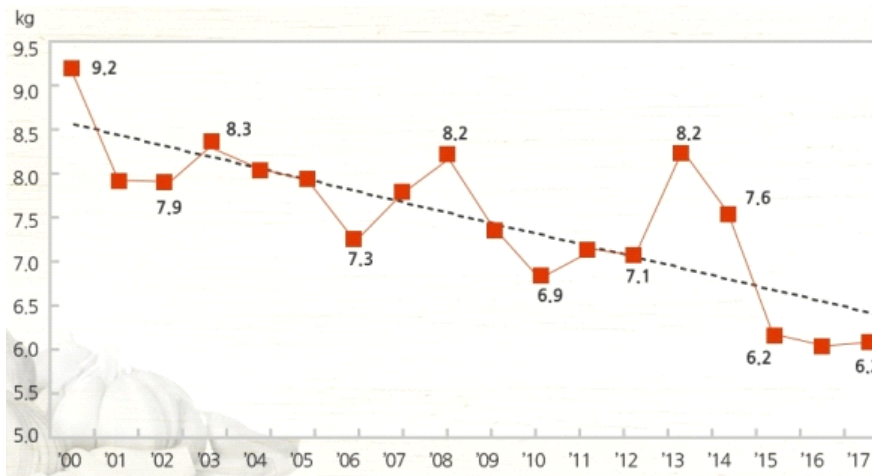


그림 92. 마늘 1인당 연간 소비량 추이 (한국농촌경제연구원, 2018)

- 2013년 1월 기준, 2012년산 마늘 재고량은 생산량 증가로 전년보다 18% 많은 4만 2천 톤으로 추정됨
- 황토유기영농법인은 마늘청국장·쪽마늘 등 생산호당 평균소득 6000여만원 마늘 주산지인 전남 고흥에서 최고품질의 마늘을 생산 가공해 고소득을 올리고 있음
- 법인 설립 3년째를 맞아 7농가가 50여ha의 면적에서 마늘을 주력상품으로 감자, 고구마, 깨, 들깨, 무 등 20여 품목을 연간 346여톤을 생산, 2~3차 가공식품 생산을 위한 시설투자비를 제외하고 지난해 호당 평균 6000여만원의 고소득을 올렸음
- 고소득은 전환기유기재배인증을 받은 마늘로 마늘청국장, 쪽마늘 등 가공식품을 제조해 일반마늘보다 kg당 3500가량 높은 6500원선에 신세계, E마트 등 대형유통업체와 초록마을, 생협 등에 직접 공급돼 소비자들로부터 호응을 얻고 있기 때문으로 풀이함
- 황토영농법인은 전혀 화학비료를 사용하지 않고 미생물 발효에 의한 자가제조 퇴비를 활용해 토양내 토착미생물의 생명력과 활동성을 강화하고 있음
- 김정섭 대표는 “친환경농산물의 부가가치를 높이기 위한 가공식품개발과 수출로 지속

적인 고소득 창출에 나설 것” 이라고 말함

표 41. 마늘 수급 동향 추이

(단위: 천 톤, %)

	2000	2005	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
공급량	470	412	352	395	390	449	414	345	339
전년 이월	3	1	-	10	1	-	15	5	3
생산량	474	375	272	295	339	412	354	266	276
수입량	14	38	90	92	50	50	50	77	70
수출량	7	0.3	0.2	0.6	0.8	0.1	0.2	0.3	0.1
기말 재고	15	1	10	1	-	15	5	3	10
자급률	97.2	90.8	75.1	76.8	87.2	88.8	88.1	77.9	79.9

(농업전망 2018, 한국농촌경제연구원)

- 역대 최고 양허제의 수준이라고 밝힌 한·중 자유무역협정(FTA) 농산물 분야의 피해가 기존 예상보다 클 것으로 전망되었는데 신선농산물 개방은 막았지만, 가공식품 등 우회적인 수입으로 인한 피해가 우려되기 때문임
- 타결된 한·중 FTA의 농산물 분야 주요 내용에는 한국이 민감하게 여기던 품목들이 대부분 양허제의 되며 관세 감축 대상에서 빠졌는데, 쌀과 쌀가루의 경우에는 아예 협정대상에서 제외되었고 주요 발작물인 배추, 무, 당근은 양허제의 되었으며 3대 양념채소인 고추, 마늘, 양파 역시 양허제의 품목에 포함됨
- 이번 한·중 FTA 협정으로 인해 일부 가공식품의 관세가 줄어들며 우회적인 농업 분야의 피해가 예상되며 다진 양념(다대기)은 이번 협정으로 기존 45% 관세가 최대 10% 가량 줄어들게 되는데 다진 양념에 중국산 고추, 양파, 마늘이 들어간 채로 수입 된다면 신선농산물 양허제의 조치와는 아무런 상관없이 감축된 관세로 국내 반입이 가능한 것임
- 김치는 이번 한·중 FTA 협정을 통해 기존 20% 관세를 최대 2% 가량 감축하게 되며 양허품목에서 제외된 중국산 배추, 무, 고추, 마늘 등이 김치로 가공돼 들어올 경우에는 관세감축 혜택을 받게 되는 셈인데, 지난해 국내로 수입된 중국산 김치는 1억1740만 달러에 이룸
- 가공식품을 통한 농수산 분야의 피해는 막대할 것으로 예상되며 지난해에는 관세감축

을 위해 고춧가루를 물에 섞어 다진 양념 형태로 들여오는 밀수 적발만 150톤에 이를 정도로 이미 가공식품의 관세 허점은 상당한 수준으로 알려짐

- 일부 농민단체는 이번 한·중FTA 협정으로 인한 중국산 가공식품 관세감축에 대한 우려를 드러냈으며 박형대 전국농민회총연맹 정책위원장은 “최근 마늘, 배추 가격이 떨어지는 것은 중국산 김치, 다진양념 수입의 영향이 컸다”며 “가공식품 부분에서 낮은 수준의 관세 감축이라도 중국산 농산물의 수입의 효과는 훨씬 크게 나타날 것”이라고 밝혔다
- 전문가들은 한·중 FTA 타결로 인해 농산물 분야의 피해가 가속화 될 것으로 내다봤고 임정빈 서울대 농경제학과 교수는 “김치가 많이 팔리면, 당연히 고추, 마늘, 배추 농가에 피해가 가게 되는 '소비대체효과'가 발생하게 된다”며 “FTA라는 상징적인 효과 때문에 지금보다 중국산 농산물의 수입은 가속화 되게 될 것”이라고 설명함
- 국회 농림축산해양수산위원회 소속 김승남 새정치민주연합 의원은 “다진양념 개방은, 전부 개방이나 마찬가지로 중국산이 들어오면 막을 길이 없다”며 “기초 농산물 시장이 중국산으로 도배돼, 결국 농촌을 죽이게 될 것”이라고 지적함 (머니투데이뉴스, 2014)
- 마늘의 재고물량 과잉으로 시장격리, 가공확대, 소비촉진 대책이 필요하다고 밝힘 (농림축산식품부, 2014)
- 마늘산업은 연구개발, 제품 개발을 위한 조직과 지원조직이 매우 부족하며 마늘의 건강 기능성 및 약리성 효과를 고려할 때 기초 및 실용화 연구 등의 연구기반 강화가 필요함
- 의성의 흑마늘 가공생산물과 같은 고부가가치 신제품이 지속적으로 창출되어야 함
- 마늘산업 육성의 SWOT 전략에서 강점-기회(S-O) 전략은 강력한 마늘산업 육성 정책 추진, 산학연 마늘산업클러스터 육성, 마늘의 기능성 식품산업 육성을 들었고 강점-위협(S-T) 전략은 마늘 소비층의 전방위 확산, 지역단위 마늘관측, 생산비 조사체계 구축, 벤처형 마늘 중소기업 육성을 들었음
- 약점-기회(W-O)전략은 마늘 브랜드 가치 증진, 마늘 유통구조의 대대적 혁신, 마늘 소비촉진운동 전개를 제안하였고 약점-위협(W-T) 전략은 마늘 중대형 전업농 육성, 마늘 신상품 연구개발 강화, 마늘 고품질 생산체계 개발 등임 (대구경북연구원, 2013)

- 국산 마늘의 생산량과 중국산 마늘의 수입량은 늘어나고 있는 반면, 총소비량은 감소하는 추세에 있어 재고량과 폐기량의 증가와 농가 소득의 감소가 우려됨
- 재고량과 폐기량의 증가로 인한 경제적 손실이 클 것으로 예상되므로 마늘을 이용한 다양한 식품 개발이 필요함
- FTA 정책으로 인해 마늘 농가의 피해가 커지고 있으므로 마늘을 이용한 새로운 식품의 개발로 마늘 소비 촉진 정책에 도움을 줄 수 있을 것이라 사료됨

(2) 마늘 가공산업 현황 분석

- 마늘 가공식품은 다양하게 출시되고 있으며, 현재 마늘잼, 마늘고추장, 마늘칩, 흑마늘 등 다양한 제품으로 판매되고 있으나 생마늘은 반찬용, 마늘가공품은 건강 보조식품이라는 이미지를 지니고 있으므로 차별화된 판매 전략이 필요함
- 마늘 가공식품의 항목별 중요도는 맛, 원산지, 제조일자 및 마늘첨가량 순으로 중요한 것으로 평가되었음

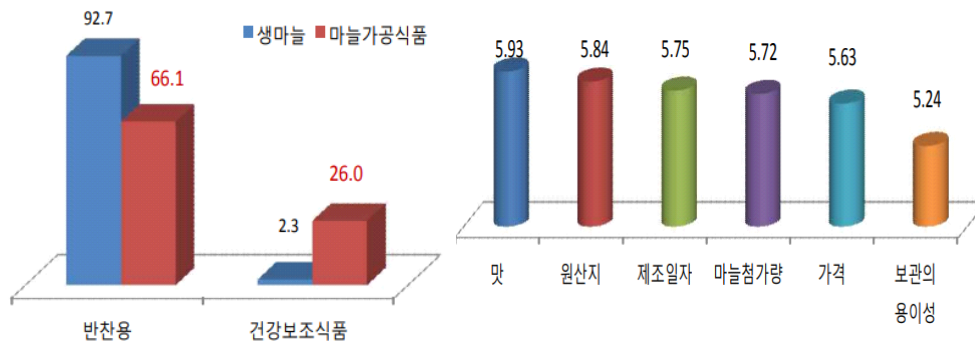


그림 93. 생마늘과 마늘가공품의 인식 비교(좌), 마늘가공품의 중요도(우)

(정책브리핑-마늘 가공식품에 대한 소비자 인식 및 제품 개발 방향, 2014)

- 생마늘과 차별화되는 마늘가공품의 소비자 분석으로 판매방법을 개선할 필요가 있으며, 마늘 가공품 구입을 위한 중요 속성 파악을 통하여 신제품 개발 시 반영해야 함 (정책브리핑-마늘 가공식품에 대한 소비자 인식 및 제품 개발 방향, 2014)
- 한국식품연구원(원장 이무하)은 최근 연구원 대회의실에서 ‘국내 마늘 생산기반을 위한 마늘 가공산업의 활성화 방안’을 주제로 한국마늘연구회 2011년 1차 회의를 가졌다

고 밝힘

- 한국식품연구원 식품분석센터 신동빈 박사는 마늘의 우수한 생리활성은 마늘에 존재하는 황을 함유하는 다수의 화합물들에 기인하며 이들 물질들은 마늘의 품종뿐만 아니라, 저장 및 가공 중에 많은 변화를 초래한다고 밝히고, 과학적으로 입증된 마늘가공제품을 제조하기 위해서는 마늘의 생리활성물질을 효과적으로 관리할 수 있는 정밀분석기술의 개발이 반드시 필요하다고 말함

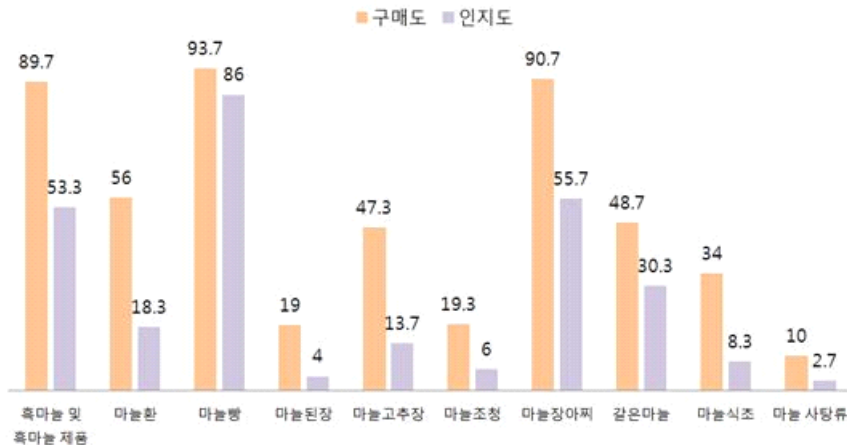


그림 94. 마늘가공식품 인지도 및 구매도 (다중응답, %)

(정책브리핑-마늘 가공식품에 대한 소비자 인식 및 제품 개발 방향, 2014)

- 마늘의 생리활성물질에 대해 새롭게 개발한 분석법을 소개하고 이를 이용한 고부가가치 기능성식품을 제조하는 기술지원을 아끼지 않겠다고 발표함 (한국식품연구원, 2011)
- 최근 지역연고산업 RIS사업 선정으로 “의성흑마늘 가공식품” 개발 사례를 들 수 있는데, 국내 마늘의 대표브랜드로 자리 잡고 있는 의성마늘을 국내를 넘어 세계화로 진출시키고, 단순 양념류에 머물고 있는 의성마늘을 숙성, 가공 등의 다양한 방법으로 고부가가치가 있는 건강 기능성 식품으로 탈바꿈 하는 정책으로 나름의 성과를 확보함
- 대학 연구기관을 통한 과학적 분석을 뒷받침하여 소비자의 신뢰확보는 물론 이를 함께 하는 농가와 생산자단체의 소득향상에도 기여하는 역할을 하였으며, 또한 지방자치단체와 주관 대학, 참여기업 등 모두의 공동발전을 모색하기 위하여 흑마늘을 활용한 “의성 블랙푸드 산업의 글로벌 파워브랜드 육성사업”을 신청하여 2009년 4월 지식경제부에서 지역연고산업으로 선정되기도 하였음
- 의성마늘이 국가브랜드 대상 수상에 이어 '대한민국 대표 브랜드 대전'에서 마늘 부문 대상을 수상했는데, 의성마늘은 2015년 1월28일부터 2월11일까지 15일간 소비자 표본조사 항목 7개 부문(최초상기도, 보조인지도, 브랜드차별화 등) 전 항목에서 가장 높은

점수를 받았음

- 최근에는 흑마늘 · 다진마늘 · 마늘포크 · 마늘소 · 롯데 마늘햄 등 다양한 마늘 가공품을 생산해 농가 소득 증대는 물론 농식품과워브랜드 대전에서 장관상, 국무총리상, 대통령상을 휩쓸며 5년 연속 수상의 영예를 안았음 (대구경북뉴스, 2015)

표 42. 블랙푸드 산업의 글로벌 파워브랜드 육성사업 투자액

(단위 :백만 원)

사업기간	계	투자 계획(액)			
		국비	도비	군비	민간
계	3,867	2,100	300	300	1,167
2009	1,289	700	100	100	389
2010	1,289	700	100	100	389
2011	1,289	700	100	100	389

(대구경북연구원, 2013)

- 의성군은 2013년 7월 베트남 호치민시에 농산물 직판장 1호점을 개설했고 2014년 1월 2호점 개설과 함께 홍보관을 설치해 해외시장 개척에 박차를 가하고 있으며 이에 따라 'KU'라는 고유 브랜드를 붙인 사과, 배, 쌀, 김치, 고춧가루제품, 흑마늘, 고추장, 천년초 가공품 등 지역 특산물을 약 20만달러 수출함에 이어 흑마늘 엑기스 1천 상자(수출가 3만달러)를 베트남으로 수출했음 (경북매일신문, 2014)
- 남해마늘연구소는 마늘 가공제품의 판매 침체를 극복하고자 해외시장 판로개척을 위한 마케팅 활동을 펼치는 한편, 관내업체와 공동으로 적극적인 판매 전략을 마련해 나가기로 했음
- 2011년 남해군에서 마늘가공 제품을 생산하는 10여개의 업체는 '청정지역에서 해풍을 먹고 자란 마늘'이라는 긍정적인 이미지에 힘입어 통흑마늘, 흑마늘 진액, 젤리, 양갱 등 8종의 상품을 판매하여 50억원의 매출을 달성했음
- 이에 남해마늘연구소는 마늘 판매의 새로운 전환점을 마련하기 위해서 국내에 침체된 내수시장을 고집하기 보다는 장기적인 관점에서 해외시장 개척을 통해 새로운 판로를 개척해 나가기로 했음
- 남해마늘연구소는 관내 마늘 및 흑마늘 가공업체 대표 및 임직원, 남해군 특산물 유통

협의회 회원, 연구소 관계자 등 30여명이 참석한 가운데 ‘산업정보지원단’ 회의를 열고 연구소와 관내업체가 공동으로 해외시장을 개척하자는데 의견을 모았음

- 2012년 열린 ‘제39회 동경식품박람회’에 참관한 연구소 각 부서의 담당자와 업체 대표자간 일본주요 소비시장 현황과 소비자 구매 기호 변화에 대한 열띤 토론을 펼치고 종합적인 일본 시장수요를 분석했으며, 일본시장 공략을 위한 다각적인 전략을 마련키로 했음



그림 95. 남해마늘연구소에서 판매 중인 마늘가공품

- 우수상품을 벤치마킹하고 시장동향을 분석하기 위해 ‘2012 국제웰빙건강·의료 박람회’ 건강식품 특별전을 참관하고 센텀시티, 메가마트 등을 방문했으며, 2012년 5월에는 마늘 가공식품뿐만 아니라 남해군 농수특산품에 관심 있는 국내외 바이어들을 초청하여 상담회를 열었음
- 마늘연구소 관계자는 “국내 시장의 침체를 전화위복의 기회로 삼아 해외시장을 적극적으로 개척하고 남해마늘 가공제품의 입지를 세계적인 수준으로 끌어올릴 각오” 라고 밝혔음 (경남도민신문, 2012)
- 마늘의 경우 브랜드 경영체가 종구공급, 재배기술 및 품질 표준화, 안정성 관리, 수매, 가공유통을 일관시스템으로 처리하는 종합처리시설이 갖춰지고 있지만 아직까지는 미흡한 수준임
- 마늘 농가는 농협과 계약재배물량을 제외하고 산지유통인 등을 통해 판매함으로써 마늘 가격의 등락이 심해지고 안정적인 판로를 확보하는 것이 어려운 실정임

- 마늘을 가공하여 깐마늘, 다진 마늘, 마늘장아찌, 마늘절임, 흑마늘, 마늘 엑기스 등으로 상품화 할 수 있는 종합처리시설은 전국에 2개소가 있으며 1개소는 건립 중에 있음
- 생산·가공·유통·판매를 일괄적으로 처리하는 마늘종합처리장은 태안, 서산, 신안 등 3개소가 운영되고 있고 합천 1개소가 시설을 건립 중에 있으며 2012년에 신규 사업으로 2개소를 추가로 건립함
- 마늘은 원료량 대비 가공량이 적은 것이 특징인데 마늘을 수확 후 깐마늘 및 건강기능성 가공제품의 원료를 가공하는 과정에서 대부분 건식탈피 방식으로 가공하여 마늘의 탈피수율이 감소하기 때문임
- 마늘은 지역 농협, 저장업체, 산지유통인 등을 통해 저장물량이 확보되면 가공업체에서 대규모 시설을 이용하여 깐마늘로 가공하고 있음
- 깐마늘 가공업체 수는 전국적으로 약 200개소로 추산되나 과당경쟁으로 약 30% 정도가 정상 가동되지 못하고 있음
- 각 지역별로 저장업체, 가공업체 등이 깐마늘 가공을 실시하고 있으며 경남 13,503톤, 전남 9,853톤 순으로 이루어지고 있음
- 과거에는 깐마늘 가공업체만 운영하였으나 근래에 저온창고와 병행하는 업체들이 증가하면서 주산지인 무안, 창녕, 남해 등지에서 깐마늘 가공이 이루어지고 있음
- 마늘 주산지인 제주는 가공시설 기반이 열악하여 여타 주산지보다 적은 물량인 4,515톤을 가공하고 있음
- 마늘 관련 가공품 생산량은 총 33,809톤으로 깐마늘과 건강기능성 가공제품 생산이 가장 많음 (고추·마늘 거래제도 개선방안 연구-최병욱, 김연중, 한국농촌경제연구원, 2011)
- 제주도는 고부가가치 수출용 상품생산 및 마늘의 안정적인 수급조절을 위해 영농조합법인·농업회사법인·농산물 가공업체를 대상으로 '수출용 마늘 가공공장 설치사업' 대상자를 공모한 결과 '제주바이오팜'을 선정했다고 밝힘
- 수출용 마늘 가공공장 설치사업에는 6억원(국비 3억원, 지방비 1억2000만원, 자부담 1

억8000만원)을 투자해 수출용 마늘 가공공장(500㎡) 신축, 생산설비를 구축하게 됨

- 사업대상자인 농업회사법인 '제주바이오팜'(주)은 현재 자체 보유한 마늘 가공설비 등을 이용해 2013년부터 흑마늘과 홍마늘 제품을 생산하고 있음
- 가공공장을 신축할 경우 깐마늘, 흑마늘에서 탈피해 '짜먹는 제주다진 마늘', '감귤식초를 이용한 마늘. 마늘줄기. 유채줄기 피클', '제주물로 만든 숙취해소제' 등 수출용 마늘 가공제품 생산에 주력할 계획임
- 제주 최초로 수출용 마늘가공시설이 구축됨에 따라 마늘 가공제품 해외 수출을 통해 농산물의 안정적인 공급조절에 도움이 될 것으로 기대하고 있음 (제주의 소리, 2015)

- 농산물을 이용한 가공식품으로 고소득을 창출하는 농가가 늘고 있으며 마늘을 이용한 새로운 가공식품의 개발은 부가가치 창출에 큰 도움을 줄 것으로 예상된다
- 마늘을 이용한 새로운 가공식품들을 통해 마늘산업의 육성이 필요하며, 이러한 고부가가치 식품의 지속적인 창출을 위해서는 마늘에 대한 연구와 제품의 개발에 대한 지원이 필요함

(3) 발효 및 기능성식품 산업 현황 분석

- 발효식품은 원료에 함유되는 단백질, 탄수화물, 지방질 등이 효소 또는 미생물의 발효작용에 의해 독특한 향미를 가짐으로써 기호성을 높임과 동시에 예로부터 신체조절 기능을 갖는 것들이 많고 최근 이들의 기능이 과학적으로 증명되고 있음
- 세계 발효산업 시장규모는 2000년 152억 달러에서 2010년에는 730억 달러가 되는 등 급성장하고 있으며, 국내 발효식품시장 규모도 2006년 7조4,000억 원에서 2010년에는 10조원 대로 성장할 전망이다
- 전 세계적으로 일일 발효식품 및 음료의 섭취량은 50~400g 정도이며 전체 식이량의 5~40%를 차지하고 있으며, 발효식품시장은 2007년 205억 1,300만원에서 연 평균 75.72% 급증하며 2011년 1,955억 8,200만원으로 확대되었으며, 2011년에도 국내 판매 급증에 따라 전년 대비 81.57% 급증했음

표 43. 전통발효식품 시장현황 및 전망

(단위: 백만 달러, 억 원)

구분	2013	2014	2015	2016	2017	성장률(%) (2013~2017)
국내시장	74,996	82,721	91,820	102,104	113,734	11%
세계시장	82,211	91,460	99,207	109,996	123,186	11%

(2014 중소기업 기술 로드맵 바이오, 중소기업청)

- 발효식품 국내 판매는 2010년 1,021억 4,200만원에서 2011년 1,955억 6,500만원으로 전년 대비 91.46% 급증하면서, 발효식품시장 대한 매출 비중도 2010년 94.83% 에서 2011년 99.99%로 5.17% 증가하였음 (농림수산식품교육문화정보원 - 발효식품 특허분석 보고서, 2014)
- ‘유기농’ ‘웰빙’ 을 표방하는 먹을거리가 유행. 유해식품으로부터 건강을 지키려는 사람이 점차 늘어나면서 발효식품은 대표적인 슬로푸드, 바쁜 현대인이 생활 속에 쉽게 적용할 수 있는 건강 레시피로서의 역할하며 시장 규모가 커지고 있음
- 발효시장의 다변화와 소비자의 욕구로 인해 점점 발효기기 및 발효 효소에 관한 연구, 상품화 및 특허 출원 건수도 많아지고 있음
- 국내 발효식품의 경우 오랜 역사와 함께 우리네 독특한 식문화에 형성에 기인해왔으며, 최근 “살아있는 식품” 의 하나로 건강식품으로 인식함
- 김치의 경우 전체 생산량의 43%가 공장에서 생산되고 있으며, 2009년 8,938만달러 54개국에 수출을 하고 있음
- 된장, 간장, 고추장의 경우 각각 57%, 63%, 82%가 공장에서 생산되고 있으며 지속적으로 시장점유율을 넓혀가고 있으나 수출은 증가하지 못하고 있어 신제품 개발 등 다양한 노력이 필요한 시기임
- 전세계적으로 발효식품에 관한 관심이 점차 높아짐에 따른 중국과 일본 이외 국가의 시장진입 노력도 있을 것으로 예상됨
- 발효유시장은 내용물형태에 따라 액상, 호상 드링크로 구분되어 판매되고 있음

- 국내 발효유 시장은 1990년대 중반부터 주목을 받기 시작함
- 당시 요구르트는 어린이 음료라는 고정관념에서 벗어나 장을 위한 고급 요구르트가 대거 등장하면서 시장을 키워나갔음
- 2000년대에 들어서 맵고 짠 음식을 선호하는 한국인들의 식습관에 주목하였으며 2000년대 중반에는 위와 장에 이어 간에 관심을 보이기 시작하였고 2006년엔 혈압을 낮추는 성분을 농축해 넣은 제품까지 출시됨
- 이처럼 발효유 트렌드는 단순한 ‘유산균’이 아닌 간·위·장·혈압 등 다양한 건강 개선에 유산균의 초점을 맞춰진 고기능성제품으로 이어지며 시장이 확대되고 있음
- 국내 발효유 시장은 2012년 1조 8300억 원 규모로 2011년 대비 21.1% 상승했으며 이 중 액상발효유는 4000억 원으로 전년 대비 12.6% 증가함
- 호상발효유는 4900억 원으로 전년 대비 1.5% 증가에 그쳤으나 드링크 발효유는 9300억 원 규모로 전년대비 -2.0% 역신장함 (그린경제-발효유 특집, 2013)
- 발효유 가운데 전통적인 요구르트 시장이 크게 줄어든 반면 떠먹는 요구르트 시장은 매년 증가하고 있음
- 한국농수산식품유통공사(aT)에 따르면 2014 상반기 8609억 원인 발효유 시장에서 드링크발효유가 47.5%를 차지한 것으로 나타났으며, 호상 발효유는 42.7%로 나타났음

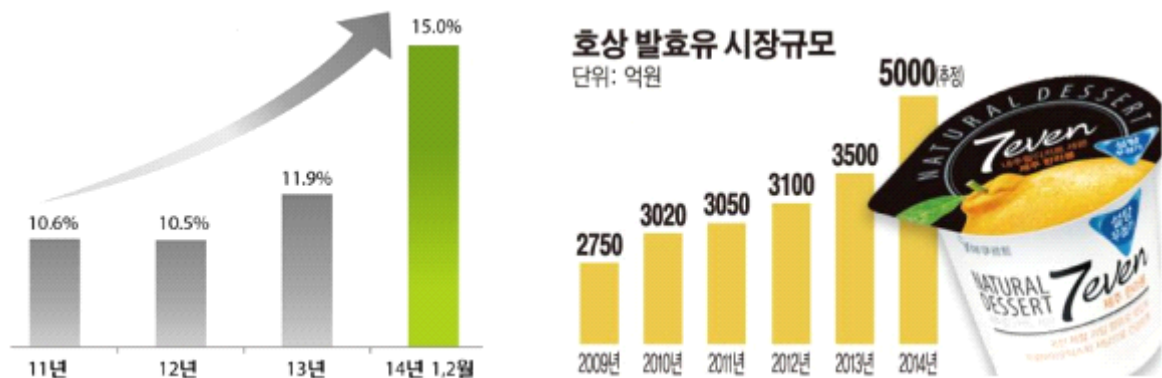


그림 96. 액상 발효유 매출구성비(좌), 호상 발효유 시장규모 및 추이(우)

(REAL FOODS PREMIUM- 시장동향, 2014)

- 호상 발효유는 매출 비중이 매년 상승하고 있는데 2012년 39.2%에서 2014년 상반기 42.7%까지 상승함
- 반면 같은 기간 동안 드링크 발효유는 49.2%에서 47.5%로 점유율이 줄어들었으며, 액상

요구르트의 매출액 역시 해마다 감소해 2012년 11.6%였던 점유율은 올해 상반기 9.8%로 떨어짐

- 발효유 물가지수는 2010년 1월 100.0에서 2014년 114.49로 4년간 약 14.5%로 상승함

다. 영천시 마늘 현황

- 신령 마늘은 특히 알이 굵고 저장성이 좋으며 특유의 알싸한 맛과 향이 일품이다. 또 매운맛이 덜해 생마늘로도 인기가 좋다. 하지만 신령농협이 깎마늘 유통사업을 시작하기 전인 2000년대 초까지만 해도 홍수출하로 인한 가격 폭락으로 농가들은 어려움을 겪음
- 2003년 말부터 운영하고 있는 신령농협 깎마늘유통센터는 수매를 통해 홍수출하를 막고, 민간업자를 견제해 수확기 가격 지지 효과는 물론 가공을 통한 부가가치 제고로 농가소득 증대에 한몫을 하고 있다. 현재 농협이 수매해 가공·유통하는 물량은 연간 1,800t~2,000t으로 면 전체 생산량의 25~30%에 이룸
- 수매한 마늘은 유통센터에서 고압공기분사 탈피방식으로 마늘에 상처를 주지 않고 껍질을 벗겨낸 후, 1차 육안선별과 2차 기계선별을 거친 뒤 포장되는 데, 크기가 균일하고 속박이가 전혀 없어 상품성이 매우 뛰어나다. 게다가 위생적이고 철저한 선별로 상품성을 인정받아 농협 마늘전국연합인 ‘본마늘’의 시장 개척을 위한 우선출하 대상이 되기도 함
- 이밖에 신령농협이 400g·1kg·2kg 등으로 소포장해 ‘뜨라네’ 상표로 농협도매사업단에 납품하는 깎마늘도 좋은 반응을 얻고 있다. 그동안 영천시는 마늘 경쟁력 제고와 생산기반 확충을 위해 마늘 파종기·마늘 수확기·마늘 개량공간 등의 지원 사업으로 상품성을 높이는 한편 안정적 마늘재배를 위한 각종 교육 등 지원에 최선을 다하고 있음
- 난지형 마늘인 대서종의 경우 3000여 농가가 810여ha에 연간 1만 4,200톤의 마늘을 생산하고 있으며, 지역 농협 및 가공공장에서 생산된 난지형 마늘을 깎마늘로 생산 유통해 전국 농협 유통망의 50% 이상을 점유하고 있음
- 난지형 마늘 주산지 영천의 3천여 마늘재배 농가 중에서 2010년에는 150여 농가 이상의 역대농이 탄생되었고 고소득 농가에 속하는 5천만 원 이상 소득을 올린 농가도 350호가 되는 등 마늘 재배농가의 소득이 크게 높아짐
- 영천 지역 마늘 농가 현황을 보면 신령면이 650가구, 임고면이 450가구, 화산면이 390가구, 청통면이 220가구이다. 그중에서도 경북 지역 최대 생산지인 신령면에서 재배되는 마늘은 이른바 난지형이라 불리는 스페인산임

- 영천시에서는 신령·화산·청통·임고 등 4개면에서 약 952ha의 면적에서 18,700톤의 마늘을 생산하고 있는데, 이는 경상북도 2위, 전국 9위의 생산량으로 전국 4%의 생산량을 차지함

2-5. 마늘 요구르트의 상품화를 위한 마케팅 전략 수립

가. 발효유의 소비량 추이

- 2016년 기준 액상 요구르트는 3~5세 여성(아동)의 섭취가 6,876.6g으로 가장 많았으며, 호상 요구르트도 마찬가지로 3~5세 여성(아동)의 섭취가 14,333.6g으로 가장 높게 나타남
- 거주지역 및 성별로는 크게 두드러진 특징을 보이지는 않았으나, 상대적으로 읍/면지역에서 액상 요구르트의 섭취량이 2,806.9g으로 가장 높았으며, 호상 요구르트(2,909.1g) 섭취량과도 크게 차이를 보이지 않은 특징이 나타남. 반면 호상 요구르트는 대도시 및 중소도시를 중심으로 섭취량이 높게 나타남
- 액상 요구르트의 성별-연령별로 차이가 크게 나타났는데, 우선 남성 연령별로 살펴보면, 3~5세 남성(아동)의 섭취가 6,836.5g으로 가장 많았으며, 이어서 1~2세 남성(남아)이 6,445.9g으로 주로 20세 이하에서 섭취량이 높게 나타난 것이 특징임. 여성 연령별로 살펴보면, 3~5세 여성(아동)의 섭취가 6,876.6g으로 가장 많았으며 이어서 1~2세 여성(여아)이 5,515.2g으로 나타남. 남성과 달리 여성은 30~49세를 제외하고 모두 액상 요구르트 소비량이 평균(2,325.1g) 이상으로 나타남
- 호상 요구르트의 성별-연령별로 살펴보면, 우선 남성 연령별로 1~2세 남성(남아)이 9,858.7g으로 섭취가 가장 많았으며, 이어서 3~5세 남성(아동)의 섭취가 7,646.8g으로 나타남. 여성 연령별로 살펴보면, 3~5세 여성(아동)의 섭취가 14,333.6g으로 가장 많았으며 이어서 12~18세 여성(7,482.5g), 6~11세(7,427.8g)로 나타남. 남녀 모두 30~49세와 65세 이상만 소비량이 평균(5,920.3g) 이하로 나타남
- 발효유도 치즈와 마찬가지로 유아들이 간식으로 많이 먹는 제품이다 보니 5세 이하의 유아에게서 섭취 수준이 높게 나타난 것으로 보임. 또한 성인은 장 관리의 일환으로 발효유를 먹는 경우가 많아 다른 유가공품에 비해서는 연령층별 고른 섭취 수준을 보이고 있는 것으로 분석됨

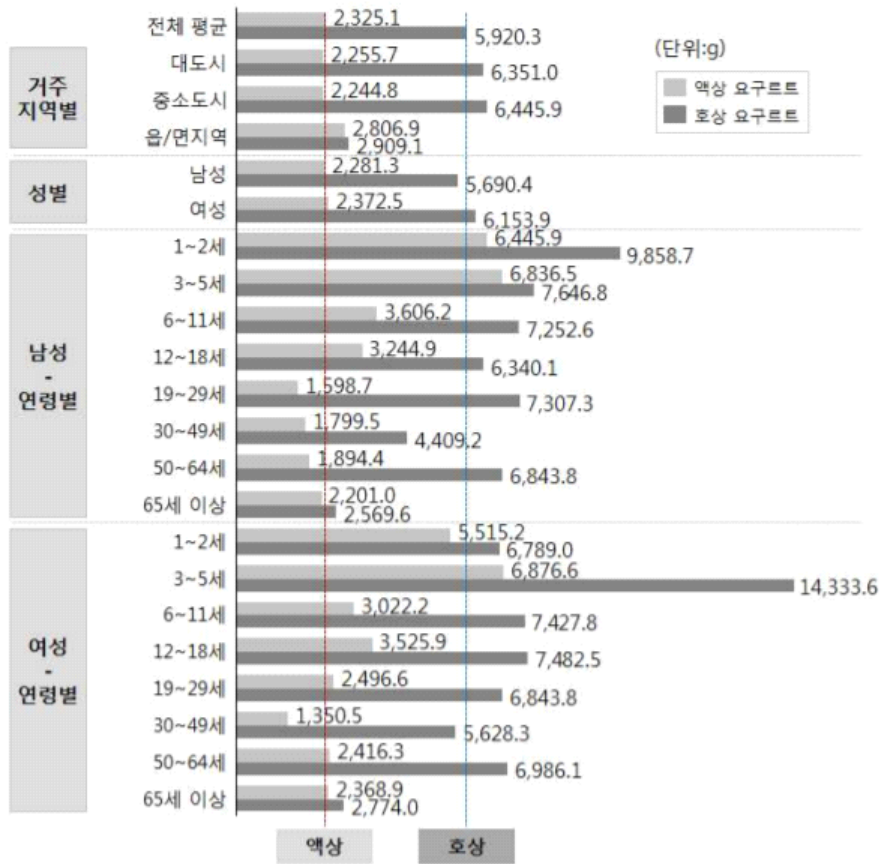


그림 97. 2016년 기준 조사 대상자 특성별 1인당 연간 발효유 섭취량 비교
(국민영양통계, 한국보건산업진흥원)

나. 소비 트렌드 분석

(1) 기사 및 뉴스에서의 키워드 언급 수준

- 실제로 소비자들의 버터/치즈/발효유에 대한 관심도도 기사 및 뉴스 추이와 비슷한 양상을 나타냄. 치즈에 대한 관심도가 가장 높게 나타났으며, 이어서 버터, 요거트(발효유)로 나타남

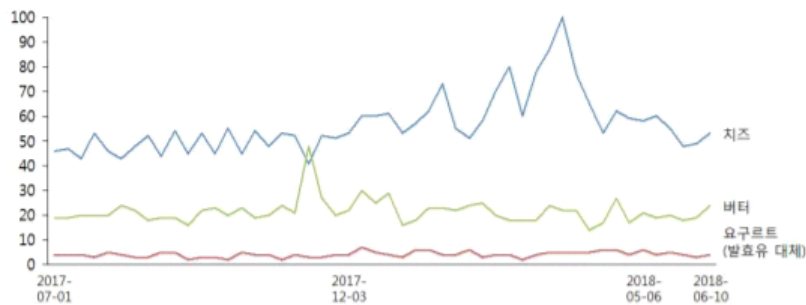


그림 98. 최근 1년간 소비자 관심도 변화 추이
(구글 트렌드. 버터, 치즈, 요거트(발효유 대체)의 검색어 기반 관심도 비교 결과)

(2) 연관어 분석

- 발효유는 건강을 생각하며 먹는 제품 중 하나로, 최근에는 기능성을 강화한 제품이 늘어나고 있는 추세임
- 한국야쿠르트는 최근 위 기능성 신규 유산균 ‘HP7(헬리코박터 프로젝트7)’을 개발해 항 헬리코박터 ‘과일로리균(이하 헬리코박터균)’ 기능을 강화함. 새롭게 추가한 유산균 HP7은 헬리코박터균을 몸 밖으로 배출하는데 도움을 주며, 비피더스 생장 촉진, 혈청 콜레스테롤 저하등을 도울 수 있는 치커리 식이섬유와 일반식품을 통해 섭취하기 어려운 필수 영양소도 함유함⁸⁴⁾
- 풀무원건강생활에서 출시한 ‘매일아침’은 설탕을 넣지 않았으며, 장 건강은 물론 피로 회복과 피부 건강까지 생각한 제품임. ‘매일아침 활력헛개’는 피로회복에 도움을 주는 타우린, 베타인 외에 피로 회복에 좋은 재료를 함유했고, ‘매일아침 석류콜라겐’은 피부 보호와 보습에 도움을 주는 콜라겐과 히알루론산, 비타민C 등 피부 건강에 좋다고 알려진 대표 성분들과 엽산과 마그네슘, 아연을 넣음⁸⁵⁾
- 푸르밀은 면역력을 고려한 새로운 기능성 발효유 ‘N-1(엔원)’을 출시했는데, 이 제품은 체내 면역세포 중 하나인 NK세포(자연살해세포)에 초점을 둔 제품임. NK세포는 외부에서 침입한 병원균이나 바이러스 등 비정상 세포를 정확히 구분해 제거하는 면역세포로, 특허 받은 김치유래유산균 ‘nF1’과 비피더스균, 카제이균을 함유함
- 발효유는 기능성을 강조한 제품이 확대되고 있고, 소비자들은 발효유 유산균에 대한 관심을 꾸준히 나타내고 있어 ‘기능성 강화’를 주요 특성으로 도출함

(3) 제품 마케팅 전략

- 마늘 요거트 제품 2종 개발
- 국내외 마늘시장 조사/분석을 통한 시장진입방안 강구
- 영천 지역 내 마늘생산농가 소득증대를 위한 연구결과 공유 및 대량사업화 방안 수립
- 소비자들에게 익숙하지 않은 브랜드일수록 소비자들이 경험할 수 있는 방법을 다양화해야 하는데, 중소식품제조업체의 소비자 커뮤니케이션하는 방법은 대기업에 비해 매우 소극적일 수밖에 없음
- 한정된 마케팅 예산으로 타겟 고객들에게 자사의 제품을 홍보하기에는 한계가 있기 때문이며 TV나 라디오, 신문, 잡지광고와 같은 큰 비용이 투자되는 방법은 중소기업에게

는 큰 부담이 될 수 있음

- 소비자의 참여를 유도하여 직접 경험하게 하며, 경험을 다른 사람들과 공유함으로써 판매로 이어지게 하는 상호작용적 마케팅 (interactive marketing) 방법이 효과적일 수 있음
- 상호작용적 마케팅과 시식에 비중을 두고 소비자와 커뮤니케이션을 하며, 관련 키워드에서 영향력을 가지고 있는 파워 블로거들을 섭외하여 제품을 공급하도록 함

(가) 상호작용적 마케팅

- 상호작용적 마케팅은 크게 두 가지로 나누어볼 수 있는데, 자연스럽게 소비자가 커뮤니티를 만들어 제품에 대한 정보를 공유함으로써 제조사가 직접 연계되지 않은 상태에서 경험자들의 입소문에 의한 방법이 한 가지이고, 제조사 또는 제조사의 인터랙티브 마케팅을 담당하는 광고대행사가 소비자들에게 경험하게끔 하고 그들이 만든 공간에서 경험자와 경험할 의향을 가지고 있는 예비구매자들이 정보를 공유하게 하는 방법도 있음
- 식품산업과 관련하여 소비자들이 자연스럽게 커뮤니티를 만드는 경우는 매우 드물며, 유통업체에 대한 충성도에 의한 자발적인 입소문 마케팅을 기대하기에는 어려우므로 인터랙티브 마케팅 분야에 특화를 가지고 있는 마케팅 대행사를 선정하여 홍보를 분업화하는 것이 효율적일 것으로 사료됨
- 온라인 커뮤니티와 SNS가 발전한 시대에 맞도록 파워블로거들을 활용한 방법과 체험단 운영을 통하여 체험후기를 남기고 구매의향이 있는 소비자들에게 알리는 방법은 현대 기업들이 가장 활발하게 진행하고 있는 홍보방법으로 기업입장에서는 많지 않은 비용으로 진행할 수 있는 효과적인 커뮤니케이션 수단으로 여겨짐
- 또한 목표였던 최대한 많은 소비자들에게 경험하게 하고 브랜드에 대한 인지도를 상승시키는 단기목표의 달성에 효과적일 것임

(나) 시식

- 시식은 식품업계에서 가장 확실히 구매로 이어지게 하는 효과를 볼 수 있는 커뮤니케이션 방법으로 자동차는 운전을 해봐야 차량의 장단점을 알 수 있고 옷은 입어봐야 나에게 어울리는 것을 알 수 있는 것처럼 식품은 먹어봐야 그 제품의 맛과 개선점을 알 수 있음
- 시식은 비교적 많은 소비자들에게 경험하게 해야 하고 그에 따른 제반사항도 많이 필요로 함

- 이 때 보통 식품기업들은 가격행사 또는 1+1 행사를 함께 진행하는 것이 관례처럼 되어 있으며 이 방법은 새로이 출시되는 제품의 경우 주로 사용되어지는데 먼저 시식을 통해 먹어보고 소비자가 만족했을 때 소비자 수용 가격의 장벽을 낮춰 구매로 이어질 수 있게 하는 시스템임
- 시식평가 결과를 종합하여 최종 레시피 확정

2-6. 균질한 제품의 생산을 위한 품질관리 방법 개발(QC 매뉴얼 작성)

가. 원재료

(1) 우유

(가) 성분 규격

표 44. 성분 규격 분석 항목 및 내용

구 분	성분 규격
성상	유백색 ~ 황색의 액체로서 이미•이취가 없어야 한다.
비중(15℃)	1.028 ~ 1.034
산도(%)	0.17 이하(젖산으로서)
무지유고형분(%)	8.5 이상
유지방(%)	3.5 이상
세균수	n=5, c=2, m=10,000, M=50,000
대장균군	n=5, c=2, m=0, M=10
살모넬라균	음성
리스테리아 모토사이토제네스	음성
세균발육억제물질	불검출

※축산물 성분규격(식품의약품안전처)보다 상향 조정 설정함

(나) 검사방법

- 1) 성상(관능검사): 우유를 충분히 교반 한 후 청결한 시험관에 10ml 정도의 시료를 취하여, 밝고 냄새가 없는 장소에서 실시한다. 검사자는 풍부한 경험을 가진 자로서 자기 판단과 목적에 적합하게 자신을 가져야 하며, 관능에 의하여 원유의 맛, 향, 색, 조직 등을 판정한다. 또한, 유백색, 균일한 조직, 이물질 혼입 등을 관찰하는 시각검사를

한다.

2) 비중(15℃)

- 시료를 충분히 교반시킨 다음 메스실린더에 시료를 거품이 일지 않도록 하여 옮긴다.
- Lactodensitometer가 바닥이나 벽에 충돌하지 않도록 중앙에 넣은 후 1~3분간 방치, Meniscus 상판의 눈금을 읽는다.
- 정확한 온도를 측정한다(15℃ 기준).
- 시료의 온도가 15℃가 아닐 때에는 온도보정표를 이용하여 보정한다.

3) 산도

- 피펫으로 시료 9ml을 채취하여 100ml 비이커에 취한 다음 증류수 9ml과 페놀프탈레인 0.5ml을 같은 비이커에 넣고, 0.1N NaOH를 한방울씩 떨어뜨려가며 색깔의 변화를 확인한다. 젖산이 중화됨에 따라 미홍색으로 변하고, 30초간 색이 소실되지 않는 점을 종말점으로 한다.
- 계산식

$$\text{적정산도(\%)} = \frac{0.1\text{N NaOH 소비량(ml)} \times 0.009 \times F}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100 (\%)$$

- 가) F (Factor): 0.1 N NaOH 1ml에 상당하는 젖산의 양(1ml가 중화시킬 수 있는 젖산의 양)
- 나) 0.009: 1N의 NaOH에 대한 젖산계수는 90.08이므로, 0.1N의 NaOH에 대한 젖산계수는 약 0.009 이다.
- 다) 페놀프탈레인: 산과 알칼리를 구별하는 지시약으로 산성용액에서는 무색이며 pH9 정도에서는 홍적색이 되고, 그보다 pH가 높은 알칼리성 용액에서는 그 색을 유지한다.
- 라) 노르말 농도: 용액 1l 속에 녹아 있는 용질의 g 당량수
- 마) g 당량수 = 분자량 / (1분자중의 H⁺ 또는 OH⁻ 수)

- 4) 무지유고형분: 총고형분 중 총지방량(유지방량)을 감하여 계산한다. 시료의 총 중량(100%)에서 측정된 지방함량(%)과 수분함량(%)을 제외한 부분을 (%)로 한다.

$$\{\text{SNF(\%)} = 100(\%) - \text{지방함량(\%)} - \text{수분함량(\%)}\}$$

5) 유지방; Gerber method(혹은 유지방 자동측정기)

- 90% 황산 10ml를 황산용 피펫으로 Gerber 유지계에 주입한다.
- 검사시료 11ml를 유지계 벽에 대고 우유용 피펫으로 천천히 황산 위에 충적한 다음 Isoamyl alcohol 1ml를 가하고 고무마개를 끼운다.(이때 고무마개에 물기가 있어서는 안된다).
- 4회 이상 거꾸로, 바로 흔들어 검사 시료를 완전히 용해시켜 커드가 생기지 않게 하고 또한 색조가 균일해지도록 한다(이때 시료와 황산이 혼합하여 뜨거운 열이 발생함으로 안전에 주의한다).
- 60~65°C의 온탕에 15분간 담근다(고무마개가 수직이 되게 하고 지방층이 물에 잠길 정도의 깊이로 담근다).
- 원심분리기에 균형있게 넣고 3~5분간 원심분리(800rpm 이상)한다.
- 다시 60~65°C의 온탕 중에 두었다가 지방층의 하단에서부터 위 Meniscus 최하단 사이의 지방층의 도수를 유지방량의 %로 한다.

6) 세균수; Plate Count Agar method

- 검체를 잘 진탕시켜 혼합한 다음 멸균 생리식염수 또는 멸균 인산 완충용액을 사용하여 10단계 희석법으로 희석한다.
- 30~300개의 집락이 형성되도록 시료의 희석도를 선택한다(원유 세균의 경우 10^3 , 10^4).
- 각 희석액 1ml씩을 무균적으로 취하고, 약 45°C로 유지된 멸균배지위에 10~12ml를 무균적으로 분주한다.
- 배양접시 뚜껑에 배지가 묻지 않게 주의하면서 조용히 회전시키고 좌우로 기울여 검체와 배지를 잘 섞고 냉각 응고시킨다.
- 검체를 취하고 배지를 가할 때까지의 시간은 20분 이내이어야 한다.
- 이때 대조시험을 실시하여 시료를 가하지 않은 동일 희석액, 배지 및 조작이 무균적이었는지를 확인한다.
- 냉각 응고된 배양접시는 배양기에 거꾸로 하여 37°C에서 약 48시간 (시료에 따라서 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 72시간) 배양한다.
- 배양이 끝난 배양접시를 꺼내서 Counting을 하여 검출된 균락을 찾아낸다(배양된 접시는 표면에 균락이 번지지 않고 표면 전체에 균일하게 분포되어 자란 것이어야 하며, 배양접시에서 계산할 수 있는 정도의 균락이 있어야 한다. 계산할 수 있는 정도의 균락수는 일반적으로 접시 당 30~300개의 균락을 말한다.)

7) 대장균군, 살모넬라균, 리스테리아 모노사이토제네스 검사

- 축산물의 가공기준 및 성분규격(식품의약품안전처) 중 시험방법에 준하여 검사한다.

8) 세균발육억제물질; 항생제, 항균제 등

- Eclipse, Blue Yellow II, Smart System 등
- 축산물의 가공기준 및 성분규격(식품의약품안전처) 중 시험방법에 준하여 검사한다.

표 45. 검사 항목 및 시험방법

항 목	관기준	시험방법
Penicillin G	4ppb 이하	Penzym, Eclipse, SMART A Blue Yellow II
Ceftiofur	100ppb	Penzym, Eclipse, Blue Yellow II
Neomycin	500ppb 이하	Charm II, Eclipse, Blue Yellow II
Streptomycin	200ppb 이하	Charm II, Eclipse, Blue Yellow II
Enrofloxacin, Ciprofloxacin	200ppb 이하(총합)	SMART A
Oxytetracycline	100ppb 이하	SMART A, Charm II
Sulfonamides (설파제)	25ppb 이하(총합)	SMART A, Charm II

(2) 탈지분유

(가) 성분 규격

표 46. 성분 규격 분석 항목 및 내용

구 분	성분 규격
성상	담황색의 고운 분말로 이미, 이취가 없어야 한다.
수분(%)	5.0 이하
유고형분(%)	95.0 이상
유지방(%)	1.3 이하
세균수	1g당 20,000이하
대장균군	n=5, c=2, m≤3, M=10
살모넬라균	음성
리스테리아 모토사이토제네스	음성
세균발육억제물질	불검출
초분검사	7.5mg 이하

※축산물 성분규격(식품의약품안전처) 보다 상향 조정 설정함

(나) 검사방법

1) 수분

$$\text{수분(\%)} = \frac{\text{시료무게(g)} - \text{건조무게(g)}}{\text{시료무게(g)}} \times 100(\%)$$

- 축산물의 가공기준 및 성분규격의 건조 감량법(100℃)에 의하며, 감량전의 시료무게와 감량 후 시료의 무게차를 이용하여 위의 식으로 수분(%)을 산출한다.

※ 일반적으로는 수분측정기(저울장치 내장)로 수분(%)을 측정하며, 수분을 제외한 부분(100-수분)은 유고형분(%)으로 한다.

2) 초분검사

- 탈지분유 100g을 2% EDTA 용액 500ml에 희석하여 검사용 여과지(Milk Sediment Disk)를 통과시켜 분유 내 이물질 혼입 유무를 확인한다.

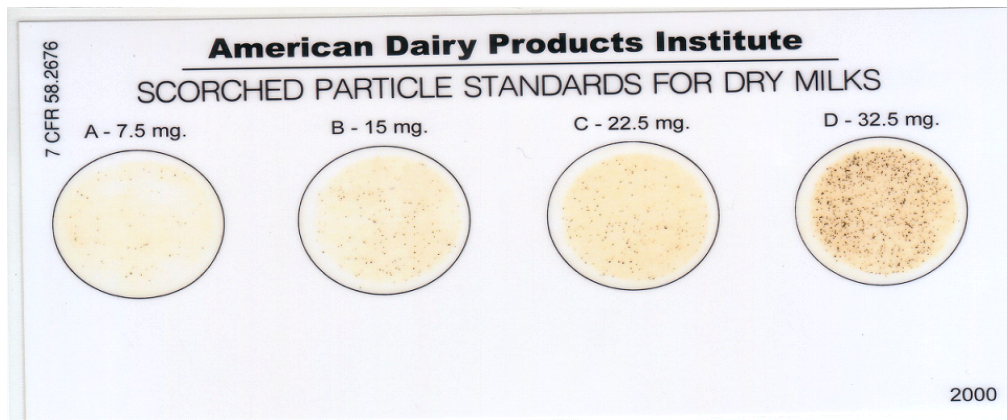


그림 99. 검사결과 확인

3) 기타

- 상기의 시유검사 방법을 준용하여 검사한다.

(3) 마늘

(가) 사용 기준

- 식품 등의 규격 기준(식품위생법)에 적합하여야 한다.
- 농산물 표준규격(농수산물품질관리법)의 등급규격에 따라 특등급 이상을 구입하여 사용한다.

(나) 등급 규격

표 47. 항목별 등급표시

항목 \ 등급	등급	특등급
① 날개의 고르기		별도로 정하는 크기 구분표 [표 1]에서 크기가 다른 것이 10% 이하인 것. 단, 크기 구분표의 해당 크기에서 1단계를 초과할 수 없다.
② 모양		품종 고유의 모양이 뛰어나며, 각 마늘쪽이 충실하고 고른 것
③ 손질		- 통마늘의 줄기는 마늘통으로부터 2.0cm 이내로 절단한 것 - 꽃마늘의 줄기는 마늘통으로부터 5.0cm 이내로 절단한 것
④ 열구(난지형에 한함)		20% 이하인 것
⑤ 쪽마늘		4% 이하인 것
⑥ 중결점과		없는 것
⑦ 경결점과		5% 이하인 것

(다) 용어 설명

- 1) 마늘의 구분은 다음과 같다.
 - ㉠ 통마늘: 적당히 건조되어 저장용으로 출하되는 마늘
 - ㉡ 꽃마늘: 수확후 신선한 상태로 출하되는 마늘(4~6월 중에 출하되는 것에 한함)
- 2) 열구: 마늘쪽의 일부 또는 전부가 줄기로부터 떨어져 있는 것으로 포장단위 전체 마늘에 대한 개수 비율을 말한다. 단, 마늘통 높이의 3/4 이상이 외피에 싸여 있는 것은 제외한다.
- 3) 쪽마늘: 포장단위별로 전체 마늘 중 마늘통의 줄기로부터 떨어져 나온 마늘쪽을 말한다.
- 4) 중결점구는 다음의 것을 말한다.
 - ㉠ 병충해구: 병충해의 증상이 뚜렷하거나 진행성인 것
 - ㉡ 부패, 변질구: 육질이 부패 또는 변질된 것
 - ㉢ 형상불량구: 기형 및 벌마늘(완전한 줄기가 2개 이상 발생한 2차 생성구), 싹이 난 것, 뿌리가 난 것
 - ㉣ 상해구: 기계적 손상이 마늘쪽의 육질에 미친 것
- 5) 경결점구는 다음의 것을 말한다.
 - ㉠ 마늘쪽이 마늘통의 줄기로부터 1/4 이상 떨어져 나간 것
 - ㉡ 외피에 기계적 손상을 입은 것
 - ㉢ 뿌리 턱이 빠진 것
 - ㉣ 기타 중결점구에 속하지 않는 결점이 있는 것

(4) 보이차

(가) 사용기준

- 식품 등의 규격 기준(식품위생법)에 적합하여야 한다(타르색소, 납, 농약잔류물질 등).
- 보이차 품질평가요소에 따른 평가에서 상등품 이상을 구입하여 사용한다.

(나) 보이차 품질평가 요소

- 참고문헌: 보이차 품질평가 요소의 개발에 관한 연구, 이수백 등, Journal of Food Service Management Society of Korea, 2016. 06

표 48. 항목별 평가요소

구분	평가요소			
외형 (4개)	포장상태 (3)	포장품질	포장의 제질, 디자인	
		품질인증	포장에 품질인증 QS코드의 유무	
		정보 표기	차잎의 산지, 채집계절과 등급, 생산날짜, 생산자	
	보관상태 (2)	곰팡이 유무	통풍 잘 안되고 습한 환경에 곰팡이 생길 수 있음	
		불순 냄새	보관환경에 따라 화장품, 음식, 연기 냄새 날 수 있음	
	가공상태 (4)	긴압 품질	긴압 모양, 특히 긴압정도에 따라 후발효 속도 달라짐	
		위생상태	차나무 가지, 황편(黃片)과 다른 이물질 유무	
		차잎 온전도	부스러진 차잎의 유무	
		차잎 모양	차잎 모양 잘 말려져 있는 지	
	차잎원료 상태 (4)	무게감	손에서 느껴지는 차잎의 무게감	
		튼실도	차잎이 단단한 정도와 굵기	
		솜털	차잎의 흰색 솜털의 양과 길이	
		색택(色澤)	차잎의 색깔과 윤기	
	내질 (5개)	차탕 색 (3)	고유의 색깔	숙차, 생차 고유의 색깔
			명도(明度)	차물의 밝은 빛나는 정도
			탁도(濁度)	차물 투명한 정도
차탕 향기(2)		순수도	차물 불순한 향기 없이 깨끗하고 순수한 정도	
		강도	차물 향기의 강약	
차탕 맛 (5)		맛의 균형	불쾌한 맛 없이 쓴 맛, 떫은 맛, 단맛 등 조화의 정도	
		회감(回甘)	쓰고 떫은 맛 사라진 후 입안에 느껴지는 달콤한 맛	
		생진(生津)	쓰고 떫은 맛 사라진 후 입안에 군침 도는 것	
		구조감	입안에서 느껴지는 차물의 질감	

	특성 (2)	후운(喉韻)	목에서 느껴지는 달고 편안한 느낌이나 자극적인 느낌
		내포도(耐泡度)	차가 좋은 향기와 맛을 유지하여 우릴 수 있는 횟수
		차기(茶氣)	차의 따뜻한 기운이 몸에서 흐르는 느낌
	엽저 (우린잎) (3)	여린 정도	엽저 찻잎 여린 정도에 따라 차의 등급이 결정됨
		색깔	붉은 색이나 검은 색이면 살청 시 탔거나 발효되었음
		유연성	엽저 부드러운 정도, 손으로 비비면 쉽게 파손되는 지

(5) 청수 (제품 제조수)

(가) 사용기준: 먹는 물 관리법에 의한 적합판정 용수 사용.

(나) 간이검사 항목 및 기준

표 49. 검사항목 및 기준

검 사 항 목	기 준	검 사 항 목	기 준
1. 일반세균	100cfu이하/ml	6. 맛(Taste)	무 미
2. 대장균군	불검출/100ml	7. 수소이온 농도(pH)	5.8 ~ 8.5
3. 경도	300mg이하/L	8. 염소이온(Cl ⁻)	250mg이하/L
4. 과망간산칼륨 소비량	10mg이하/L	9. 암모니아성질소(NH ₃ -N)	0.5mg이하/L
5. 냄새(Odor)	무 취	10. 질산성질소 (NO ₃ -N)	10mg이하/L

나. 작업장과 제품의 위생적 취급에 관한 기준

- (1) 식품 등을 취급하는 원료보관실, 제도가공실, 포장실 등 내부는 항상 청결하게 관리하여야 한다.
- (2) 식품 등의 제조, 가공, 포장에 직접 사용되는 기계, 기구 및 용기는 사용 후에 세척, 살균하는 등 항상 청결하게 유지, 관리하여야 한다.
- (3) 식품 등의 제조, 가공 및 포장에 직접 종사하는 작업자는 해당 작업에 필요한 위생복, 위생모, 위생화 및 위생장갑을 착용하는 등 개인위생 관리를 철저히 하여야 한다.
- (4) 작업자는 작업장에서 껌을 씹거나 음식물을 먹거나 담배를 피우거나 침을 뱉어서는 안된다.
- (5) 신체질환 등으로 인하여 식품에 위해를 끼칠 우려가 있는 작업자는 제조, 가공에 종사하여서는 안된다.
- (6) 작업자는 고용 전 신체검사 및 정기적인 신체검사를 받아야 하며, 그 기록을 유지하여야 한다.

- (7) 작업장과 화장실의 출입구에는 손을 사용하지 아니하고 이용할 수 있는 세척시설, 손을 건조할 수 있는 시설 및 소독설비를 갖추고 있어야 한다.
- (8) 화장실과 탈의실은 외부로 통하는 환기시설을 갖추고 있어야 하며, 벽과 바닥은 내수성 재질로 되어있고 청결한 상태가 유지되어야 한다. 또한, 화장실의 구조는 수세식으로 되어있고 출입문은 손을 사용하지 않고도 이용할 수 있도록 하여야 하며, 뚜껑이 있는 휴지통을 비치하여야 한다.
- (9) 작업장과 떨어진 곳에 폐기물, 폐수처리 시설을 설치, 운영하여야 하며, 그 관리 기록을 유지하여야 한다.
- (10) 폐기물은 매일 연속적으로 반출하여 옥외에 방치되지 아니하도록 하고 폐기물 용기는 자주 소독 및 세척을 하여야 한다.
- (11) 작업장 내에서 쥐와 곤충의 구제는 식품 등을 오염시킬 우려가 없도록 해야 하며, 식품 등의 오염을 방지할 수 있는 제한된 장소에서만 허용되어야 한다.
- (12) 살충제 등과 같은 유독성 물질과 인화성 물질 등은 취급주의 표시를 하여야 하며, 격리된 장소에서 안전하게 관리 및 보관되어야 한다.

다. 제조공정 및 완제품 검사

(1) 품질규격 및 기준(Garlic / Puer Tea Ex. Yoghurt)

표 50. 각 항목별 식품 공전 규격

항 목	규 격	식품공전 규격	비고
성상	고유의 색택과 향미를 가진 액상 혹은 호상으로서 이미, 이취가 없어야 한다.		drink or gel type
무지유고형분(%)	8.5 이상	8.0 이상	SNF
유산균수(CFU/ml)	100,000,000 이상	100,000,000 이상	
Brix(%)	19.0±2.0		
적정산도(%)	0.8±0.1		
pH	4.2±0.2		
대장균군	음성	n=5, c=2. m=0, M=10	
Lysteria. monocytogenes	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
salmonella균	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
황색포도상구균	음성	n=5, c=0. m=0 /25g	
일반세균수	n=5, c=1, m≤100, M=1,000		
효모, 곰팡이	n=5, c=1, m≤10, M=1,000		

(2) 검사방법

(가) 성상

- 1) 발효유로서의 신맛과 감미, 약간의 유산균 발효취를 가지며, 다른 이미, 이취가 없어야 한다.
- 2) 첨가한 마늘의 양에 따라 고유의 마늘취가 나타난다.
- 3) 첨가한 보이차의 양에 따라 고유의 향취가 나타난다.
- 4) 맛의 개선을 위해 fruit/sweetner/flavor 등을 첨가하였을 경우에는 이들의 고유한 맛, 향취, 색깔이 나타날 수 있다.

(나) 무지유고형분: 우유성분 중 지방함량을 제외한 유단백질, 유당, 회분 등의 우유 유래 고형성분을 말하며, 식품공전 상의 시험방법을 적용한다.

(다) 유산균수: 종균(Lactobacillus 등)으로 사용하여 살아있는 총 유산균수이며, BCP 혹은 MRS 배지를 사용하여 측정한다. Bifidobacterium의 측정이 필요한 경우에는 BL 배지 등을 사용하여 혐기성배양기(CO₂ Incubator)를 이용한다.

(라) Brix: 개략적인 총고형분 함량이며, Abbe식 굴절계를 사용하여 측정한다.

(마) 적정산도(Titratable Acidity: TA): 0.1N NaOH를 사용하여 젖산을 중화 적정한 값이며, 식품공전의 우유류 일반시험법에 따라 측정한다.

(바) pH: 식품공전의 일반시험법에 따른다.

(사) 일반세균수: Nutrient agar, SPC agar 등을 사용하여 측정한다.

(아) 효모 및 곰팡이: PDA 배지를 사용하여 측정한다.

(자) 대장균군: Desoxycholate agar 배지를 사용하여 측정한다.

(차) 기타 병원성 세균: 식품공전의 미생물시험법에 따라 시험한다.

(3) 검사방법 참고

(가) TA측정: 중화적정법

- 우유 및 유제품의 산도는 젖산의 농도로 표시하며 이것을 적정산도라고 한다. 이 산도를 측정할 때에는 우유에 지시약을 첨가하여 일정량의 우유 중에 들어 있는 산을 중화시키는데 필요한 알카리량을 측정하여, 이 알카리와 결합한 산성물질의 전량을 모두 젖산으로 가정하여 중량 %로 나타낸 것이다.

- 계산식

$$\text{적정 산도 (\%)} = \frac{0.1N \text{ NaOH 소비량(ml)} \times 0.009 \times F}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100 (\%)$$

- F (Factor) : 0.1N NaOH ml에 상당하는 젖산의 양
(1ml가 중화시킬 수 있는 젖산의 양)

- 0.009: 1N NaOH에 대한 젯산계수는 90.08이므로, 0.1N의 NaOH에 대한 젯산계수는 약 0.009이다.
- 페놀프탈레인: 산과 알칼리를 구별하는 지시약. 산성용액에서는 무색이며, pH9에서는 홍적색이 되고, 그보다 높은 알칼리성에서는 그 색을 유지한다.
- 노르말 농도(N): 용액 1l 속에 녹아 있는 용질의 g 당량 수
- g 당량 수 = 분자량 / (1분자 중의 H⁺ 또는 OH⁻ 수)

(나) 당도(Brix) 측정

1) 시험법 적용 범위: 요구르트 및 과일잼

하나의 과일 혹은 채소로 만들어진 과일·채소류 음료에 대한 당도 분석에 적용한다.

2) 분석원리

과일·채소류 음료 등에 자당(설탕) 농도에 따른 밀도의 변화를 굴절계를 이용하여 측정한다.

3) 시험기구 및 시약

가) 압베굴절계(Abbe refractometer)

나) 휴대용 굴절계(Hand-held refractometer)

다) 디지털굴절계 및 디지털밀도측정계(Digital refractometer or digital densitometer)

4) 시험조작

굴절계를 증류수를 이용하여 충분히 씻어준 후 0점을 보정하고, 검체는 균질화하여 물에 담가둔다. 굴절율값(RI, Refractive Index)을 측정하여 설탕물 굴절율표를 이용하여 ° Brix(설탕 % 값과 동일)를 구하거나, 사용한 기기에서 직접 표시되는 ° Brix 값을 읽는다.

(다) 일반세균 시험용 배지

1) 표준한천배지(Plate Count Agar)

Tryptone	5.0 g
Yeast Extract	2.5 g
Dextrose	1.0 g
Agar	15.0 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹여 pH 7.0±0.2로 조정된 후, 121°C로 15분간 멸균한다.

2) 보통한천배지(Nutrient Agar)

Peptone	5.0 g
---------	-------

Beef Extract	3.0 g
Agar	15.0 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹여 pH 6.8±0.2로 조정 한 후, 121℃로 15분간 멸균한다.

3) 세균수 건조필름배지 II

Peptone	5 g
Bonito meat extract (Erlich meat extract)	1 g
Yeast extract	2.5 g
Glucose	1 g
Potassium hydrogen phosphate	0.8 g
2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride	0.05 g

위의 성분들을 1,000mL에 녹인 후, 121℃에서 15분간 멸균하여 건조필름을 제조한다.

(라) 유산균수 시험(BCP Method)

- 1) 유산균수의 측정 방법은 원유검사, 세균수 검사(표준평판 배양법)에 준하여 검사하고, 배지는 BCP첨가 평판측정용 배지를 사용(비피더스균의 경우 BL 한천평판배지 사용)하여 35~37℃에서 72±3시간, 호기 또는 혐기배양 후 발생한 황색의 집락을 계측한다.
- 2) 검사시료의 희석액은 멸균 생리식염수(0.85%)를 사용한다.
- 3) 9ml씩 시험관에 분주된 멸균 생리식염수에 시료를 1ml씩 순차적으로 10진 희석법으로 희석 및 교반하면서 10^{-1} , 10^{-2} , •••••, 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} 검액을 조제한다.
- 4) 검사하고자 하는 검액 1ml씩을 멸균 배양접시에 분주하고, 약 45℃로 유지한 배지를 약 15ml씩 무균적으로 분주하고 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 시료와 배지를 잘 섞고 응고시킨 후 뒤여서 배양한다.
- 5) 유산간균 및 구균의 경우 호기배양을 하고, 비피더스균은 혐기배양(CO₂ 인큐베이터 또는 혐기성 상자)을 한다.
- 6) 배양 후 군락(colony) 수를 측정하고 희석배수를 곱하여 검사 시료 g (ml)당 생균수를 산출한다.

(마) 유산균수 시험용 배지

- 1) BCP 첨가 평판측정용 한천배지
(Plate Count Agar with Bromocresol Purple)

Peptone	5.0 g
Yeast Extract	2.5 g
Dextrose	1.0 g
Tween 80	1.0 g
L-Cysteine	0.1 g
Bromocresol Purple	0.05 g
Agar	15.0 g

위의 성분들(다만, 종균에 따라 적정 peptone을 사용하여야 함)을 증류수 1,000mL에 녹여 pH 6.8 ± 0.2 으로 조정 한 후 121°C 에서 15분간 멸균한다.

2) MRS 배지

Enzyme Digest of Casein	10 g
Meat Extract	10 g
Yeast Extract	4 g
Glucose	20 g
Tween 80	1.08 g
Triammonium Citrate	2 g
Sodium Acetate	5 g
Magnesium Sulfate 7H ₂ O	0.2 g
Manganese Sulfate 4H ₂ O	0.05 g
Dipotassium hydrogen Phosphate	2 g
Agar	15 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹이고, pH를 5.7 ± 0.1 로 조정 한 후 121°C 에서 15분간 멸균한다.

3) 희석수 제조

가) 멸균인산완충희석액(Butterfield's Phosphate Buffered Dilution Water)

인산이수소칼륨(KH₂PO₄) 34g을 증류수 500mL에 용해하고 1N 수산화나트륨 175mL를 가해 pH를 7.2로 조정하고, 여기에 증류수를 가하여 1,000mL로 하여 인산완충용액으로 한다. 이것을 121°C 에서 15분간 멸균한 다음 냉장고에 보존한다. 사용 시에는 이 원액 1 mL를 취하여 멸균증류수 800 mL에 가하여 희석하고 이것을 멸균인산완충희석액으로 한다.

나) 멸균생리식염수(Saline)

Sodium Chloride 8.5g에 증류수를 가하여 1,000mL로 하고 121℃로 15분간 멸균한다.

다) 펩톤식염완충액(Buffered Peptone Water)

Peptone	10 g
Sodium Chloride	5 g
Disodium Phosphate	3.5 g
Monopotassium Phosphate	1.5 g

위의 성분들을 증류수 1000mL에 가하여 pH를 7.2±0.2로 조정 한 후, 121℃에서 15분간 고압 멸균한다.

(바) 대장균균 시험법

1) DCLA (Desoxycholate Lactose Agar법)

제조법에 따른 시험용액 1mL와 각 10배 단계 희석액 1mL에 대하여 이 배지에 의한 정성시험법과 같은 조작으로 35~37℃에서 24±2시간 배양한 후 생성된 집락 중 전형적인 집락 또는 의심스러운 집락에 대하여 정성시험 때와 같은 조작으로 대장균균의 유무를 결정한다.

- 데스옥시콜레이트유당 한천배지(Desoxycholate Lactose Agar)

Peptone	10.0 g
Lactose	10.0 g
Sodium Chloride	5.0 g
Sodium Citrate	2.0 g
Sodium Desoxycholate	0.5 g
Neutral Red	0.03 g
Agar	15.0 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹여 pH 7.3 ~ 7.5로 조정 한 후, 1분간 가열한다. 단, 고압증기멸균을 해서는 안 된다.

2) 건조필름법

제조법에 따른 시험용액 1mL와 각 단계 희석액 1mL를 2배 이상씩 대장균 건조필름배지 또는 대장균 건조필름배지 II에 접종한 후, 35±1℃에서 24~48시간 배양한다. 대장균 건조필름배지 I에서는 푸른 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를

계산하고, 대장균 건조필름배지 II에서는 남색 및 보라색의 집락수를 계산하여 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균 수를 산출한다.

- 대장균균 건조필름배지

Yeast Extract	9.6 g
Pancreatic Digest of Gelatin	20.9 g
Bile Salt No. 3	1.6 g
Peptic Digest of Animal Tissue	1.6 g
Lactose	21.4 g
Sodium Chloride	5.3 g
Crystal Violet	0.002 g
Neutral Red	0.1 g
Guar gum	65.7 g
2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride	0.11 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹인 후, 121℃에서 15분간 멸균하여 건조필름을 제조한다.

(사) 진균수 (효모 및 사상균) 시험법

1) 진균수의 측정방법은 일반세균수 표준평판법에 준하여 시험한다. 다만, 배지는 포테이토 덱스트로오즈 한천배지를 사용하여 25℃에서 5~7일간 배양한 후 발생한 집락수를 계산하고, 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 진균수로 한다.

2) 포테이토 덱스트로오즈 한천배지(Potato Dextrose Agar)

Potato Infusion	200.0 g
Dextrose	20.0 g
Agar	15.0 g

위의 성분들을 증류수 1,000mL에 녹여 pH 5.6 ± 0.2 로 조정된 후, 121℃에서 15분간 멸균하여 식히고, 멸균된 10% 주석산을 무균적으로 가하여 pH를 3.5 ± 0.1 로 맞춘다.

라. 보존 및 유통 중 제품검사(수거검사)

(1) 포장 완료되어 보관 중이거나 수거된 제품으로서 냉장상태(0~10℃)로 유통기한 만료시

까지 보관, 수거된 제품의 검사에 적용한다.

(2) 검사기준

표 51. 검사항목별 검사기준

검사 항목	검 사 기 준
성 상	고유의 색택과 향미를 가진 액상, 호상으로서 이미·이취가 없어야 한다.
산도(%)	0.9±0.2
유산균수	100,000,000이상/ml
대장균군	n=5, c=2, m=0, M=10
세균수	1,000 cfu 이하/ml
효모/곰팡이	1,000 cfu 이하/ml

마. 작업장 세균 오염도 검사

(1) 목적; 작업장 공기 중에 부유하고 있는 낙하균 측정

(2) 무균적으로 제조한 PCA 평판배지 혹은 대장균균배지(Desoxycolate lactose Agar)를 뚜껑을 열고 작업장 내 일정부위 3~5곳에 30분간 방치 후 회수하여 37℃, 3일간 배양(대장균균 배지는 1일)하여 나타난 총 미생물 colony 수를 카운터 하여 공기 중 미생물 오염도를 산출한다. 이때 공기를 포집하는 air sampler를 사용하면 더욱 간편하고 정확하게 검사할 수 있다.

2-7. 마늘 혼합발효 요거트 시제품 테스트 및 보완 방향 제시

가. 관능검사

- 관능검사는 통계학 이론을 기초로 하여, 계획된 조건 하에서 인간의 감각(미각, 촉각, 후각, 시각, 청각 등)을 이용해 식품의 질을 판단하는 방법이다. 대체로 보편 타당하고 신뢰성 있는 결론을 내리는 하나의 수단으로 활용된다. 평가단은 총 20명으로 성별 분포는 남성 7명, 여성 13명, 연령대 별로는 20~29세가 18명, 30대 이상이 2명으로 구성되었다.
- 관능검사는 총 4차에 나뉘어 실시하였으며, 1, 2차는 Garlic과 Puer tea 각각의 선호도 조사(풍미, 맛, 조직감, 외관)와 이미, 이취 여부 및 음용 가능성에 대하여 진행하였고, 3, 4차는 과일을 추가하여 첨가한 요구르트로 동일 방법에 의해 진행하였다.



그림 100. 관능 검사 실시 현장

Sensory test		채점기준	Sensory test		채점기준
항목	채점 기준				
색깔	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.				
종미	1. 종미가 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 종미가 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 종미가 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 종미가 현저히 나쁘거나 이미, 이취가 있는 것은 1점으로 한다.				
항목	채점 기준				
조직감	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.				
외관	1. 병충해균 입은 흔적 및 분기식부분 계사, 계층의 균질 및 성형상태와 포장상태 등 외형이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 계층의 계조, 가공상태 및 외형이 비교적 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 계층의 계조, 가공상태 및 외형이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 계층의 계조, 가공상태 및 외형이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.				

Sensory test						관능검사표
구분	핵심 :				계	
	색깔 (1~5점)	종미 (1~5점)	조직감 (1~5점)	외관 (1~5점)		
시료 A ()						
시료 B ()						
시료 C ()						
시료 D ()						
시료 E ()						

그림 101. 관능검사 채점기준 및 관능 검사표 예시

나. 관능검사 결과

표 53. A군-Garlic 관능검사

분류	시료	선호도	이취감	구매의사
a	ABCT (control)	13명(65%)	-	1명(5%)
b	Garlic+ABCT	1명(5%)	8명(40%)	
c	Garlic+ABCT+L.brevis	-	3명(15%)	
d	Garlic+ABCT+L.paracasei	3명(15%)	2명(10%)	
e	Garlic+ABCT+L.plantarum	3명(15%)	1명(5%)	

표 54. B군-Puer tea 관능검사

분류	시료	선호도	이취감	구매의사
a	ABCT (control)	4명(20%)	1명(5%)	16명(80%)
f	Puer tea+ABCT	11명(55%)	-	
g	Puer tea+ABCT+L.brevis	1명(5%)	-	
h	Puer tea+ABCT+L.paracasei	3명(15%)	2명(10%)	
i	Puer tea+ABCT+L.plantarum	1명(5%)	-	

표 55. C군-Garlic+과일 관능검사

분류	시료	선호도	구매의사
c-1	Garlic+ABCT+L.brevis+오렌지	9명(45%)	16명(80%)
c-2	Garlic+ABCT+L.brevis+사과	8명(40%)	
c-3	Garlic+ABCT+L.brevis+키위	3명(15%)	

표 56. D군-Puer tea+과일 관능검사

분류	시료	선호도	구매의사
g-1	Puer tea+ABCT+L.brevis+오렌지	10명(50%)	17명(85%)
g-2	Puer tea+ABCT+L.brevis+사과	9명(45%)	
g-3	Puer tea+ABCT+L.brevis+키위	1명(5%)	

다. 관능검사 결과 분석

- (1) 1차 Garlic yoghurt 선호도 조사에서는 마늘이 첨가되지 않은 yoghurt의 선호도가 가장 높았고, 마늘 특유의 이취감을 14명(70%)이 느낌으로서 거부감이 크게 나타났다. 이에 구매 의사는 1명(5%)으로 낮은 수치를 나타내었다.

- (2) 2차 Puer tea yoghurt 선호도 조사에서는 대체적으로 선호도가 높은 편이었고, 이취감에 의한 거부도도 낮은 편이라 구매 의사가 16명(80%)로 높게 나타났다.
- (3) 3, 4차 과일을 첨가한 선호도 조사에서는 첨가하기 전의 시료보다 확연한 차이로 선호도가 높아졌고, 과일의 종류에 대하여는 적은 차이로 오렌지의 선호도가 다소 높았다.
- (4) 이상 마늘과 보이차 추출물을 함유한 plain type의 건강 기능성 시제품 요구르트를 제조하였다. 그리고 그에 대한 pH와 TA 수치 측정과 VC 실험을 진행하였다. 측정 결과 혼합된 균주에 따라 배양시간의 차이가 다소 존재하지만 모두 「건강기능식품의 기준 및 규격」(고시 제2018-67호)에 알맞은 수치를 기록하였다. 그러나 관능검사 결과, 보이차 추출물을 첨가한 요구르트는 전반적으로 좋은 평가를 받았으나 마늘을 첨가한 요구르트는 ‘향취가 너무 강해 섭취에 어려움을 느낀다.’ 라는 의견이 많았다. 이것은 실제 제품을 제작해서 판매할 경우 문제점이 될 수 있기에 보완할 필요성이 있다.
- (5) 본 연구는 마늘 Allicin과 보이차 추출물을 이용하여 Plain Type Yoghurt를 제조하여 건강 기능성 요구르트 제작의 가능성을 확인하였다. 향후 자세한 연구를 통해 보완한다면 국민 건강에 이바지할 수 있을 것으로 기대된다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

가. 연차별 연구개발 목표 및 실적

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타 연구 활용 등)	
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		SCI	비 SCI	논 문 평 균 IF			학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
가중치																				
최종목표	1	1		1		3	600		4				1	3		5		5		
1차 연 도	목 표	1							1				1		1		1			
	실 적	1							1				2		2		2			
2차 연 도	목 표					1			1				1		1		1			
	실 적	1				1			1				1		3		2			
3차 연 도	목 표		1		1	2							1	1		1		1		
	실 적		1		1	5	4	55	1				1	1		8		2		
소 계	목 표	1	1		1	3			2				1	3		3		3		
	실 적	2	1		1	5	5	55	3				1	4		13		6		
종료 1차연도																1		1		
종료 2차연도																1		1		
종료 3차연도								100	1											
종료 4차연도								200	1											
종료 5차연도								300												
소 계								600	2							2		2		
합 계	1	1		1		3	600		4				1	3		5		5		

나. 국내의 논문 게재


No	논문명	학술지명	주저자명	호	코드번호		C-06-01		
					국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	- Expression of Human KCNE1 Gene in Zebrafish	Journal of Life Science	박현정	Vol.27	대한민국	한국생명과학회	비SCI	2017.05.27.	
2	- Expression of Human Cytochrome b ₅ in Zebrafish	Journal of Life Science	한세미	Vol.27	대한민국	한국생명과학회	비SCI	2017.06.27.	
3	유용 유산균 분리 동정 및 Probiotics로의 응용	계명대학교 학위논문집	윤혜민		대한민국	계명대학교	비SCI	2018.08.13.	1804:22003-000000117405
4	Polyphenol, flavonoid and Tannin Variation in Puer Tea Extracts	Quantitative Bio-Science	최무석 (교신저자 : 유민)	Vo.38, No.1	대한민국	계명대학교 자연과학연구소	비SCI	2019. 4	2288-1344 (ISSN)
5	PCR Screening of Enterococcus faecalis from Mixture of Lactic Acid Bacteria Using Bile Salt Hydrolase Gene as a Selective Marker	Indian Journal of Microbiology	윤혜민 (교신저자 : 유민)	Online	Indian	Springer	SCI	2019.12	0046-8991 (ISSN)

제출확인서

귀하는 도서관에 학위논문 파일(혹은 파일화를 위한 인쇄본 1부)를 제출하셨음을 확인합니다.

제 목	유용 유산균 분리 동정 및 Probiotics로의 응용
제목(대동)	
제목(세2언어)	Identification of useful lactic acid bacteria and application for probiotics
부제목	
저 자	윤혜민 (Yoon, Hye Min)
이메일	ka4638@hanmail.net
학 번	1270028
소 속	대학원 생물학과
세부권공	생물학전공
학위명	석사
학위수여년월	2018. 8
지도교수	유민
연락처	010-6293-1166
제출일	2018-08-13
UCI(국가디지털콘텐츠식별번호)	1804:22003-000000117405

2018년 09월 17일

동산도서관장 

***1270028 / 2018-09-17 14:48:32

그림 102. 석사학위 논문 제출(계명대학교 학위논문집, 2018. 08)

Polyphenol, Flavonoid and Tannin Variation in Puer Tea Extracts

Mu-Seog Choe¹, Chan-Ho Jung¹, Jung-Hwan Park¹, Woong-Kyu Yoo²,
Byung-Tae Min¹, Min Yoo^{1,2*}

¹Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea
²Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 42601, Korea
(Received April 2, 2019; Revised May 2, 2019; Accepted May 10, 2019)

ABSTRACT

Puer tea, known for its anti-inflammatory, antioxidant, and weight-loss activities, is made by drying and fermenting bamboo-like plant leaves, produced in the Yunnan area of China. During storage, tannins are oxidized, so that the bitter taste disappears, while the fragrance is maintained. Puer tea has recently been recognized as a functional food as its health benefits have gained interest. We investigated how its total polyphenol, flavonoid, and tannin contents change according to extraction time, extraction frequency, and at different time intervals after extraction. The contents of polyphenols, flavonoids, and tannins increased with longer extraction times. Additional extractions led to a decrease in total polyphenol content, but it was maintained to some extent after a certain number of extractions. This is presumably due to the presence of the liquid-soluble or insoluble polyphenols, after the initial extraction of the water-soluble ones. The total flavonoid and tannin content showed a slight decrease with the increasing number of extractions, which remained, however, within the experimental error range. This experiment showed that the total polyphenol level decreased by 26% compared to the first and second extract upon additional extractions of the puer tea, and by 67% 10 times after extraction. The results of this study indicate that the functional beverage mixed with puer tea and lactic acid bacteria exerts a strong synergistic effect.

Key words: Antioxidant effect, Flavonoid, Polyphenol, Puer tea, Tannin

Introduction

Tea is a common favorite beverage worldwide, divided into green tea, black tea, oolong tea, and puer tea, etc. according to the processing method. Of these, puer tea has the tendency to show strong texture and is produced by microbial fermentation process to give a unique flavor. It is often referred to as a fungus tea [1] because it is fermented and processed with *Aspergillus* species by heat-treating the raw tea leaves and depositing

them in bamboo containers or boxes with moderate water content. The content of catechin in puer tea is higher than that of green tea. It is polymerized or decomposed during the fermentation process and has a fragrant taste. It is light and dark, and sometimes has a deep orange color. In addition, there is no side effects reported even if you drink it for a long time. In Japan, France, and Germany, it is called beauty tea or diet tea, and occasionally known as longevity tea. In addition, puer tea is known to have weight-loss effect, so it is also called a low-fat tea [2].

Puer tea contains a large amount of vitamins, tannins, flavonoids, and polyphenols, which are beneficial ingredients for the human body [3]. These substances are found to have a variety of physiological effects, such as anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer activities [1-4]. These are important substances underlying the development of new medicines and

* Correspondence should be addressed to Min Yoo, Professor, Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea. Tel: +82-53-250-5537; E-mail: ymoo@kmu.ac.kr
Mu-Seog Choe is a Ph.D candidate, Chan-Ho Jung and Jung-Hwan Park are Bachelor of Science, Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea. Woong-Kyu Yoo is a undergraduate student, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 42601, Korea. Byung-Tae Min is a professor, Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea.

그림 103. Polyphenol, flavonoid and Tannin Variation in Puer Tea Extracts

Table 9. Contents analysis of tannin based on time-interval after extraction

Over-time (days)	0	1	2	3	4	5
Tannin (mg/g)	157.97±0.09	157.97±0.14	157.97±0.54	149.65±0.08	149.65±0.03	157.97±0.56

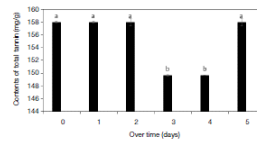


Fig. 9. Contents analysis of tannin based on time-interval after extraction. Values are mean ± standard deviation (n=3). Different letters indicate significant difference at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

to 157.97 mg/g on the 5th day (Fig. 9). In general, the value was found to be maintained within the error range from 0 to 5 days.

Conclusion

According to the measurement of component contents of puer tea along with the extraction time, the extracted contents of total polyphenols, total flavonoids, and tannins all increased proportionally over time up to 60 minutes. In particular, the extracted content of tannin was found to be higher than that of the other two ingredients. However, if the extraction time continues for more than 60 minutes, there will be a section where all the water-soluble ingredients in the tea leaves are dissolved out so that the component content will be kept constant.

As the number of re-extraction increased, the amount of variation in all three components tended to decrease. In the case of tannin, concentration in the twice eluted tea was reduced to half of the tea solution that was extracted only once. This phenomenon was observed because the large amount of soluble tannins was dissolved into the puer tea at the first extraction and reduced to a value close to zero upon reaching the 10th extraction, thus confirming again that most of the tannins in the puer tea are water-soluble. Total polyphenols also tended to decrease gradually, but unlike tannins or total flavonoids, their concentration remained constant at 30 mg/g from the 7th to 10th experiment. It is assumed that this was because insoluble or fat-

soluble polyphenols were left unextracted and unextracted. For total flavonoids, it can be found that they are relatively low in content compared to the remaining two components, and there has been a tendency to decrease as the number of extraction increases.

In the case of total polyphenols, the change in content of the extract over time decreased. Flavonoids are relatively the lowest among the three components, which remained constant over time. Tannin decreased slightly by three to four days, but it was found to be within the margin of experimental aberration.

This experiment showed that the total polyphenol level decreased by 26% compared to the first and second extract of the Puer tea, and by 67% during the large extract. As a result of this experiment, it is suggested that drinking or ingesting the eluted puer tea right after water-extraction will bring out the best effect of total polyphenols, which are useful ingredients.

Acknowledgements

This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (PFET) through High Value-added Food Technology Development Program, funded by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) (116166-03).

References

1. So EM, Jung EJ, Shin CC, Kim SH, Baik SO, Kim YD, et al. Antioxidant activities of Puer tea. *Anal Sci & Tech* 2006;19:39-44.
2. Kim JW. Physiological Activity and Antibacterial Activity of Puer Tea Extract on SD rat and MRSA. MS thesis. Keimyung University; 2010.
3. So EM. Antioxidative activity screening and active compounds separation of Puer Tea. MS thesis. Woosung University; 2005.
4. Kim DR, Kwak GS, Jeong SM, Lee SC, Ha U. Comparison of the antioxidant abilities of commercial Galster-Tang. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003;32:728-732.
5. Cha JT, Kim HJ, Chang CH, Cho YS. Antioxidative activities and Contents of polyphenolic compound of *Cha* in tea. *Food Sci Bioproc Technol* 2010;23:1005-1010.

PCR Screening of *Enterococcus faecalis* from Mixture of Lactic Acid Bacteria Using Bile Salt Hydrolase Gene as a Selective Marker

Hye Min Yoon¹, Su Jin Song¹, Ji Su Ko¹, Hye Kyoung Yoon¹, Su Jeong Kim¹,
So Jin Kim¹, Ji Woon Kim¹, Min Yoo¹

Indian Journal of Microbiology

ISSN 0046-8991

Indian J Microbiol
DOI 10.1007/s12088-019-00851-9



Indian J Microbiol
<https://doi.org/10.1007/s12088-019-00851-9>

SHORT COMMUNICATIONS

PCR Screening of *Enterococcus faecalis* from Mixture of Lactic Acid Bacteria Using Bile Salt Hydrolase Gene as a Selective Marker

Hye Min Yoon¹, Su Jin Song¹, Ji Su Ko¹, Hye Kyoung Yoon¹, Su Jeong Kim¹,
So Jin Kim¹, Ji Woon Kim¹, Min Yoo¹

Received: 4 December 2019 / Accepted: 19 December 2019
© Association of Microbiologists of India 2019

Abstract It is very important to rapidly detect the contamination of *Enterococcus faecalis* in fermented foods such as Korean Kimchi to maintain its freshness since Kimchi is exported to all over the world. However, gene sequence of *E. faecalis* is very similar among various *Lactobacillus*. So, there have been difficulties in its screening. We have designed primers based on bile salt hydrolase gene of *E. faecalis* and applied them to PCR test. PCR band was identified only from *E. faecalis* and only from the mixture contaminated with *E. faecalis*. It means that the primers we designed are highly specific for distinguishing contamination of *E. faecalis*. It will be possible to precisely screen within 1 h, which will greatly contribute to the prevention of food poisoning and quick quarantine.

Keywords *E. faecalis* · Food quarantine · PCR primer · Bile salt hydrolase gene

Lactic acid bacteria live mostly in fermented foods and are mainly lactobacillus strain but are occasionally contaminated with *Enterococcus faecalis* which causes food poisoning. Therefore, it is essential to quickly determine the contamination of *E. faecalis* for the commercial distribution of fermented foods such as Korean Kimchi. However, *E. faecalis* can be also classified as *Lactobacillus*, and gene sequences are very similar among various *Lactobacillus* [1]. Thus, there have been many difficulties in its screening. Therefore, it is urgent to select a suitable marker gene, design primers with specific sequence based on that

selection, and establish appropriate multiplex PCR screening conditions [2-4].

We have designed 2 outermost primers and 2 nested primers based on bile salt hydrolase (BSH) gene of *E. faecalis* (GenBank accession number NP_814299). BSH is the gene that is commonly present in the genome of lactic acid bacteria and *E. faecalis* [5-7]. Nested primers were prepared for the purpose of quick confirmation of primary PCR product with outermost primer set. Primers were designed with maximum difference between strains and specificity at their 3' ends (Table 1). If PCR reactions are carried out with bsh_1F and bsh-1R (outermost), bsh_1F and bsh_2R, bsh_2F and bsh_1R, bsh_2F and bsh_2R (innermost) as sets, each DNA band was expected to be 466 bp, 304 bp, 226 bp and 64 bp, respectively and the results were shown as in Fig. 1. PCR conditions were as follows; pre-denaturation for five minutes at 92 °C, denaturation for thirty seconds at 92 °C, annealing for thirty seconds at 47 °C, and extension for thirty seconds at 72 °C. After repeating this process for forty times in total, post-extension was conducted for seven minutes at 72 °C. A variety of Lactic acid bacteria and *E. faecalis* were directly sampled from kimchi and classified and identified by 16S rRNA sequencing [8]. With outermost primer set, PCR band was identified only from *E. faecalis* (Fig. 2). All other samples showed only primer dimers amplified. It did not matter whether reaction was colony PCR or PCR on genomic DNA isolated from each bacterium. This indicated that outermost primer set we designed was highly specific among *Lactobacillus* strains. Consequently, PCR with outermost primers was carried out in the mixture of 3 major types of Kimchi lactic acid bacteria (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*), *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* and *E. faecalis*. Only the sample contaminated with *E. faecalis*

✉ Min Yoo
ymoo@kmu.ac.kr

¹ Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea

그림 104. SCI 논문 투고(2019년 12월 발간)

다. 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	코드번호		국명
			발표일시	장소	
1	2017 한국분자세포생물학회	송승환, 송수진	2017.09.14.	서울 COEX	대한민국
2	2017 한국분자세포생물학회	윤혜민	2017.09.14.	서울 COEX	대한민국
3	대만 APICENS 학회	윤혜민, 유민	2018.03.14.	대만 Grand victoria hotel	대만
4	대한의생명과학회 추계학술대회	민병태, 권오식, 유민	2018.11.10. ~2018.11.11.	부산가톨릭대 로사리오관	대한민국
5	대한의생명과학회 추계학술대회	송수진, 유민, 송승환, 고지수, 고준호	2018.11.10. ~2018.11.11.	부산가톨릭대 로사리오관	대한민국
6	대한의생명과학회 추계학술대회	윤혜민, 유민	2018.11.10. ~2018.11.11.	부산가톨릭대 로사리오관	대한민국
7	한국생명과학회	김소진, 김수정, 윤혜경, 윤혜민, 김지운, 민병태, 유민	2019.08.13. ~2019.08.14	부산 BEXCO 제2전시장 3층	대한민국
8	한국생명과학회	김소진, 김수정, 윤혜경, 윤혜민, 김지운, 민병태, 유민	2019.08.13. ~2019.08.14	부산 BEXCO 제2전시장 3층	대한민국
9	한국식품영양과학회	김소진, 김수정, 윤혜경, 윤혜민, 김지운, 송수진, 민병태, 유민	2019.10.23. ~2019.10.25	제주국제 컨벤션센터	대한민국
10	한국식품영양과학회	김소진, 김수정, 윤혜경, 윤혜민, 김지운, 송수진, 민병태, 유민	2019.10.23. ~2019.10.25	제주국제 컨벤션센터	대한민국
11	한국식품영양과학회	김소진, 김수정, 윤혜경, 윤혜민, 김지운, 송수진, 민병태, 유민	2019.10.23. ~2019.10.25	제주국제 컨벤션센터	대한민국
12	대한의생명과학회 추계학술대회	김소진, 김수정, 윤혜경, 유민	2019.10.25. ~2019.10.26	대구 EXCO 211호 국제회의실	대한민국
13	대한의생명과학회 추계학술대회	김소진, 김수정, 윤혜경, 유민	2019.10.25. ~2019.10.26	대구 EXCO 211호 국제회의실	대한민국
14	대한의생명과학회 추계학술대회	김소진, 김수정, 윤혜경, 유민	2019.10.25. ~2019.10.26	대구 EXCO 211호 국제회의실	대한민국

2019년도 한국생명과학회 제61회 정기총회
유전학융합학회 제2회 정기총회 및 공동국제학술대회

Joint International Symposium of Korean Society of Life Science
and Interdisciplinary Society of Genetic & Genomic Medicine

**Life Science & Genetic Medicine:
From Bench to Clinic**

2019. 8. 13.(화) ~ 14.(수)
부산 벡스코 제2전시장 3층

주최 | (사)한국생명과학회, (사)유전학융합학회
공동주관 | 양산부산대학교병원, 부산대학교 미생물자원연구소, 부산대학교 생명산업융합연구소,
한국과학기술원생물공학연구소, 경북대학교 미생물연구소
후원 | 한국과학기술단체총연합회, 한국생명과학회, 농식품생명과학협회, (사)경남농수산식품수출협회,
(주)원미오가너, (주)경희대학교 BK21플러스 농생명공학부미래인재육성사업단, (주)유류연구, 남경향의원,
(주)비엔, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
세브란스병원, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
(주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
이노베이션, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
사이언스, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
(주)한국 다케다제약, 한국생명공학연구원 한국인간유전자은행, (주)원미, (주)GC 녹십자, (주)비엔씨, (주)비엔씨,
KB코스메틱, (주)LG화학, PKI바이오

Korean Society of Life Science
대한 생명 과학 회

유전학융합학회
Interdisciplinary Society of Genetic & Genomic Medicine

P1_21

Detection and Expression of KCNE1, Cyt b5, and 3β-HSD in Zebrafish

So-Jin Kim, Su-Jeong Kim, Hye-Kyoung Yoon and Min Yoo*

Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea

KCNE1, Cytochrome b5 (Cyt b5), and 3β-HSD genes are involved in the steroidogenesis. Their expression may be increased or decreased by specific stimuli or environmental factors. We have tried to confirm the expression of these genes in zebrafish employing cDNA synthesis followed by PCR amplification and DIG detection. Sensitivity of Actin and GAPDH gene expression was pre-determined by DIG system. First, total RNA was extracted from zebrafish liver and whole body and cDNA synthesized. After performing PCRs (0, 5, 15, 20, 25, 30, 35, 40 cycles) products were electrophoresed and amplification levels were compared along with cycles. Two μl of each PCR product and control DNA were dotted onto Hybond-N+ nylon membrane and the expression was detected again using DIG system. Although 25 of cycle PCR was suitable for the detection by electrophoresis, it turned out that 20 cycle of PCR was good enough for the detection using DIG system. Based on these experimental conditions we are now undergoing to observe the degree of expression of above genes after treating zebrafish with various substances. [This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) through High Value-added Food Technology Development Program, funded by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) (116166-03)]

Key words: Cyt b5, KCNE1, 3β-HSD

P3_15

Production of Plain Type Yoghurt Using Garlic Allicin and Puer Tea Extract

So-Jin Kim, Su-Jeong Kim, Hye-Kyoung Yoon, Hye-Min Yoon, Ji-Woon Kim, Byung-Tae Min and Min Yoo*

Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea

Garlic allicin has excellent anticancer activity and has various physiological activities such as antioxidant activity. We have made functional yoghurt with garlic allicin and puer tea extract with this effect. First, 3 lactic acid bacteria (*L. brevis*, *L. paracasei*, *L. plantarum*) resistant to the antimicrobial activity were selected and 18 of yoghurt were prepared according to the strain mixture including the mixed strain ABCT. After inoculation, the pH and the TA were measured and for the measurement of the number of bacteria, VC test was diluted by 10¹⁰ times at each time point. The results of the experiment showed that the incubation time of garlic allicin yoghurt was longer than that of puer tea yoghurt, and the incubation time varied depending on the strain. In the VC experiments, all of them were above 100 million cfu/ml. This study was conducted to develop functional yoghurt using garlic allicin and puer tea extract. It is expected that it will contribute to the public health through further study in the future. [This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) through High Value-added Food Technology Development Program, funded by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) (116166-03)]

Key words: Allicin, functional yoghurt, Puer tea

그림 105. 2019년도 한국생명과학회 학술대회 참가

2019 KFN International Symposium and Annual Meeting
**The 4th Industrial Revolution:
 The Role of Food & Nutritional Sciences**
 Oct. 23(Wed) - 25(Fri), 2019
 ICC JEJU, Jeju, Korea



KFN The Korean Society of Food Science and Nutrition

and mineralized bone-forming osteoblasts than single extracts of LRC and AJ by the up-regulation of bone metabolic marker (*Alp*, *Runt2* and *Bgap*) in the osteoblastic cell lines MC3T3-E1. LRC and AJ extracts significantly inhibited TRAP activity and TRAP staining positive cells and decreased osteoclast differentiation of monocytes isolated from mouse bone marrow. These results suggest that LRC-AJ extract may be a good therapeutic agent for the treatment and prevention of osteoporotic bone loss. Acknowledgments: This study was supported by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (117041-03-3-SD010), DNNPOLIS Foundation, Ministry of Science and ICT grant funded by the Korean government (2019-1D-1D-0088).

P09-28 Synergistic Neuroprotective Effect of *Schisandra chinensis* and *Ribes fasciculatum* on Neuronal Cell Death and Scopalamine-induced Cognitive Impairment in Rats
 Mun Hyung Baek¹, Eunguk Lim², Young Ha Seo³, Seahn Yoo⁴, Kyung-Hoon Han⁵, Eunuk Park⁶, and Seon-Yong Jeong^{1,2}. ¹Rphio research institute, Rphio Co. Ltd., ²Department of Medical Genetics, Ajou University School of Medicine, ³Department of Biomedical Science, Ajou University Graduate School of Medicine, ⁴Neph research institute, NINEB Co., Ltd., ⁵Research Institute, Seoul Medical Center, Seoul 02033, Korea

Mild cognitive impairment (MCI) is considered as a transitional stage between aging and Alzheimer's disease. In the present study, we examined the protective effect of *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) on neuronal cell death in *in vitro* and scopalamine-induced cognitive impairment in Sprague-Dawley rats *in vivo*. A mixture of SC and RF extracts (SC-RF) significantly protected against hydrogen peroxide-induced PC12 neuronal cell death. In the passive avoidance test, SC-RF-treated rats showed an increased latency to escape, compared to the scopalamine-treated rats. Moreover, SC-RF treatment significantly reduced escape latency in water maze test compared to treatment with scopalamine alone. To verify the long-term memory, we performed probe test of water maze test. As a result, rat treated with SC-RF spent more time in the target quadrant. In addition, the brain derived neurotrophic factor (BDNF) and its downstream molecules (pERK, pAkt, and pCREB) are increased in SC-RF treatment in hippocampal area compared with scopalamine-treated group. These results suggest that SC and RF extracts may be a good therapeutic candidate for preventing cognitive impairment. Acknowledgments: This work was supported by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (AF02-03-1-SB019) and Ministry of Science and ICT grant (2019-A000022).

P09-29 Alpha-Glucosidase, Alpha-Amylase, Glucose-6-

Phosphatase, and Lipase Inhibitory Activities of Phlorotannin Trifluhalol A from *Agarum Cribrosum*
 Aaron Tschewon Kim¹ and Dae-Ok Kim¹. ¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 17104, Republic of Korea

We studied the anti-obesity effects of phlorotannin Trifluhalol A from the brown algae *Agarum Cribrosum* in terms of the *in vitro* enzymatic activities. Phlorotannin Trifluhalol A was extracted with 70% acetone from the brown algae *Agarum Cribrosum* with the ultrasonication method. The extract was further purified with series of organic solvents fractionation and Sephadex LH-20 column chromatography. The purified phlorotannin Trifluhalol A was confirmed with the High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and the Nuclear Magnetic Resonance. The anti-obesity effects of Trifluhalol A has been studied through *in vitro* inhibitory activities of various enzymes: Alpha-glucosidase from rat-intestinal acetone, Saccharomyces Cerevisiae, and *Bacillus Stearothermophilus* protease pancreatic alpha-amylase, glucose-6-phosphatase from rabbit liver, and lipase from a human pancreas and *Candida Rugosa*. Phlorotannin Trifluhalol A exhibited inhibitory aspects on all tested enzymes in a dose-dependent manner. Enzyme kinetic studies were also followed calculating K_m , K_{cat} , V_{max} , and the mode of inhibition. Bile acid-binding capacity of Trifluhalol A was also studied, showing the binding tendency to the bile acid in a dose-dependent manner. This study suggests that phlorotannin Trifluhalol A from the brown algae *Agarum Cribrosum* could be a potential treatment or prevention of obesity based on its anti-obesity aspects.

P09-30 Manufacture of Plain Type Yoghurt with Garlic Allisin
 Su-Jin Kim¹, So-Jin Kim, Hye-Kyoung Yoon, Byung-Tae Min, Min Yoo. Department of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu 42601, Korea

Garlic allisin is known to have a strong odor and antimicrobial action. It has pharmacological effects such as prevention of atherosclerosis, lowering blood sugar and pressure level, antibacterial and antioxidant effects, and excellent anti-cancer effects. To prepare yoghurt with garlic allisin, three kinds of lactic acid bacteria (LAB) strains (*L. brevis*, *L. paracasei*, and *L. plantarum*) were selected and 7 different kinds of yoghurts were prepared. Mixed bacteria were ABCT (*L. acidophilus*, *B. longum*, *L. casei*, and *S. thermophilus*). After proper fermentation period many index of the culture reached to a pH value of 4.4-0.2, a TA value of 0.8-0.1, and a VC value of 100 million cfu/mL. The experiment, the time to reach the reference values was almost 10 h for the mixed bacteria. When we inoculate unique lactic acid bacterium it took nearly 32 h or even longer. Viable Cell (VC) count also exceeded the standard value when mixed strains used. However, it was judged that supplementation of some

and erythromycin. Protease activity of BS 1-1 was 9.19 U/ml, and its amylase activity was 12.47 U/ml. Therefore, BS 1-1 could be considered to have the potential as a novel probiotic with the functionality of treating non-lygiant tumor.

P06-04 Isolation and Characterization of Probiotic *Bacillus subtilis* 1-1 Possessing L-Asparaginase Activity from Soybean Fermented Food

Hyeji Lim¹, Jans Choi¹, Haiyoung Seong¹, Hyunah Jung¹, Jiwan Yoon¹, Min Ji Kim¹, So-Jeong Lee¹, Sunghyul Yoo¹, Youngseung Lee¹, Yoonhwa Jeong¹, Misook Kim¹. ¹Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan 31116, JEY'S F.I. Inc., Seongnam 13207, ²Food & Nutrition, Bucheon University, Bucheon 14632, ³Department of Clinical Laboratory Science, Seinyung University, Jecheon 27136, Korea

The probiotic *Bacillus* strain possessing L-asparaginase and free of L-glutaminase was isolated from Korean traditional soybean fermented foods. *Bacillus subtilis* 1-1 (BS 1-1) was 99.98% identity in *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris* D1XFN1 by 16S rDNA gene sequence analysis. L-asparaginase activity of BS 1-1 was 1.29 U/mL, and no L-glutaminase activity was observed. BS 1-1 showed non-hemolytic and non-β-glucuronidase activity. BS 1-1 has broad antimicrobial activity against several bacteria such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*. BS 1-1 was high tolerance to gastric acid (0.1% pepsin, pH 2.5) for 3 h at 37°C with survival rate of 91.67%. BS 1-1 was able to grow in an presence of 0.2% NaCl for 3 h at 37°C (42.39%). It presented hydrophobicity values of 31.70% with hexadecane and showed higher affinity for ethyl acetate (31.90%) than for chloroform (28.81%). Autoaggregation ability of BS 1-1 was 63.03% after 5 h. Coaggregation ability of BS 1-1 was 21.17% and 21.43% with *S. aureus* and *E. coli* after 24 h. BS 1-1 showed susceptibility to ampicillin sodium, penicillin G sodium

- 350 -

and erythromycin. Protease activity of BS 1-1 was 9.19 U/ml, and its amylase activity was 12.47 U/ml. Therefore, BS 1-1 could be considered to have the potential as a novel probiotic with the functionality of treating non-lygiant tumor.

P06-05 Health Functional Properties of Probiotic *Lactobacillus plantarum* MKH411 and MKH415

Hyunah Jung¹, Hui-Young Seong¹, Min-Ji Kim¹, So-Jeong Lee¹, Jaron Park¹, Eunsoo Sim¹, Seonjin Jo¹, Chanhoo Yang¹, Sunghyul Yoo¹, Misook Kim¹. ¹Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan 31116, Korea, ²JEY'S F.I. Inc., Seongnam 13207, Korea, ³Food & Nutrition, Bucheon University, Bucheon 14632, Korea, ⁴JSMFOOD, Inc., Seongnam 13207, Korea, ⁵Department of Clinical Laboratory Science, Seinyung University, Jecheon 27136, Korea

This study was designed to isolate lactic acid bacteria (LAB) with α-glucosidase inhibition activity and IMG-CoA reductase inhibition activity, antioxidant activity as well as probiotic properties from Korean fermented foods. A total 60 strains were isolated based on the viability of pepsin and bile salt solution from fermented foods. Then, *Lactobacillus plantarum* MKH411 (MKH411) and MKH415 (MKH415) with high α-glucosidase inhibition activity were selected. Those showed excellent viability under the conditions in 0.1% pepsin and 0.3% bile solution at 37°C, 4 h. And those were determined to be safety probiotic strains showing no haemolysis activity and no β-glucuronidase activity. Especially, their α-glucosidase and α-amylase inhibition activities were higher than acarbose used as a treatment for diabetes. In addition, both exhibited high IMG-CoA reductase inhibition activity, and possessed similar levels of DPPH radical scavenging activity, SOD like activity and reducing power with ascorbic acid. Therefore, MKH411 and MKH415 strains are worth being used as health-functional food supplements and medicine products with simultaneous anti-diabetic, anti-cholesterol and antioxidant activity.

P06-06 Multiple PCR Screening of *Enterococcus faecalis* from Mixture of Lactic Acid Bacteria Using B5H Gene as Selective Marker

Hye Min Yoon, Su Jin Song, Min Yoo. Dept. of Biological Sciences, Keimyung University, Daegu, Korea

- 350 -

the Plasma of the Sea Squirt *Halocynthia roretzi*
 Jeonggun Lee¹ and Saeng Moo Kim. Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Republic of Korea

This study produced rice cake using the plasma of the sea squirt *Halocynthia roretzi*. The rice cake (Kijeong-sook) is high in sugar, which can cause obesity and diabetes. To compensate for the shortcomings of this rice cake, the sea squirt plasma containing vanadium was added to the rice cake. Vanadium has the efficacy of anti-diabetes and anti-obesity. The quality tests conducted on the rice cake is moisture, colorimetric, texture, and sensory evaluation. The plasma was extracted using the centrifugation from the coelomic fluid from the sea squirt. The sea squirt plasma was added as a result of the preliminary tests. As a result, the rice cake with the plasma had increased moisture content, air porosity, elasticity, and hardness due to the increase in porosity. Plus, we were able to observe that the cakes were very similar to the control rice cakes through chromaticity measurement. The sensory evaluation also confirmed the similarity to the control rice cake. Therefore, it was confirmed that the rice cake of the sea squirt plasma is a food that is expected to be commercialized. Further studies may be required to reduce the unique smell of the sea squirt plasma will further increase its value as a commodity.

P09-33 Effect of *Saccharina japonica* added functional homemade chocolate on radical scavenging activity

Eun Na¹, Yeon Jung Choi², Ji Won Seo³, Jongun Chui⁴, Seunggi Kang⁵, Sun Min Han⁶, and Sun Young Lee². ¹Ocean Science and Technology School, Korea Maritime & Ocean University, Busan, Korea, ²Division of Marine Bioscience, Korea Maritime & Ocean University, Busan, Korea

We manufactured functional homemade chocolates added with *Saccharina japonica* (S. japonica) for target to elderly population and evaluated its antioxidant effect. We prepared 6 groups as follows: 1) raw chocolate vs. raw chocolate with 3.8% S. japonica extract 2) White chocolate vs. white chocolate with 4% S. japonica powder 3) milk chocolate vs. milk chocolate with 4% dried S. japonica kelp. Raw chocolate made from dark chocolate contains 40% cacao mass and 10% cacao butter. White chocolate contains 30% cacao butter. Milk chocolate contains 25% cacao mass and 20% powdered milk. In order to evaluate the antioxidant effect, we used 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay. Methanol (MeOH) extracts from raw chocolate with S. japonica and white chocolate with S. japonica showed a greater scavenging effect than raw and white original chocolates without addition. MeOH extract from raw chocolate was more effective on scavenging free radicals compared with

- 350 -

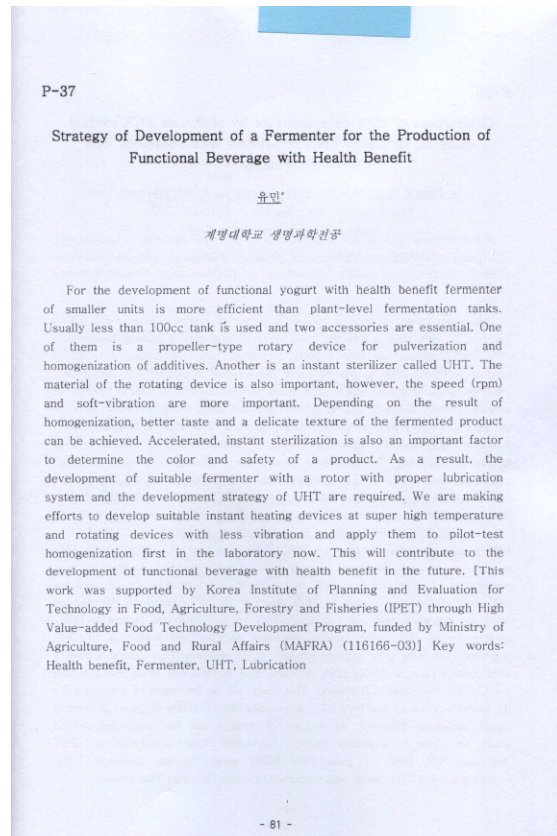
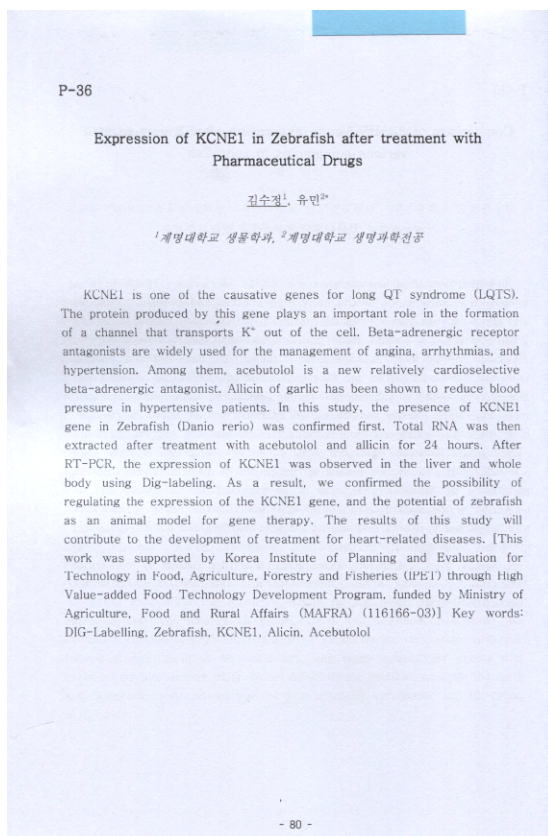
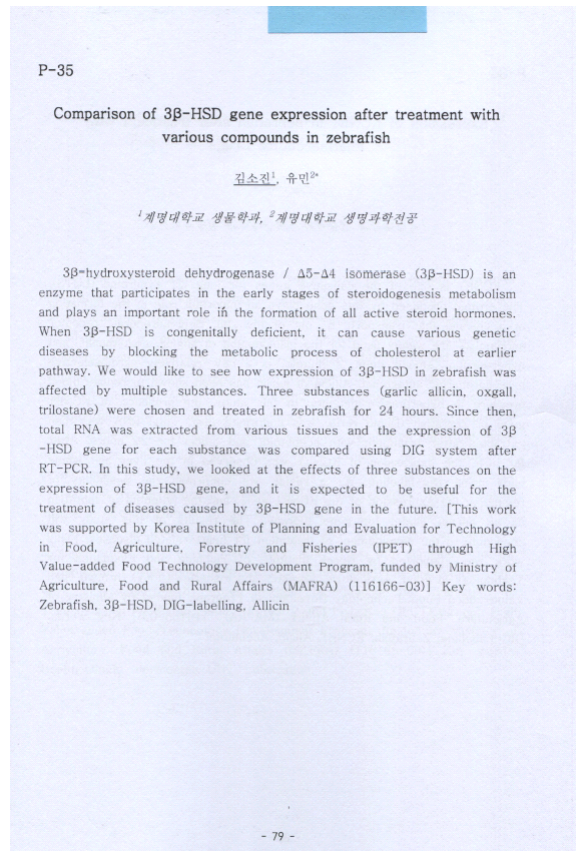
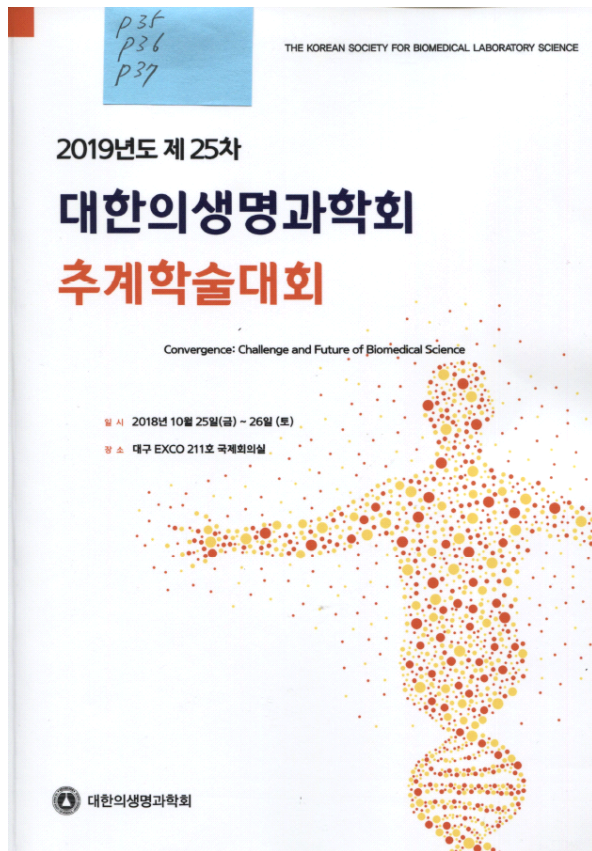


그림 107. 2019년도 대한의생명과학회 추계학술대회 참가

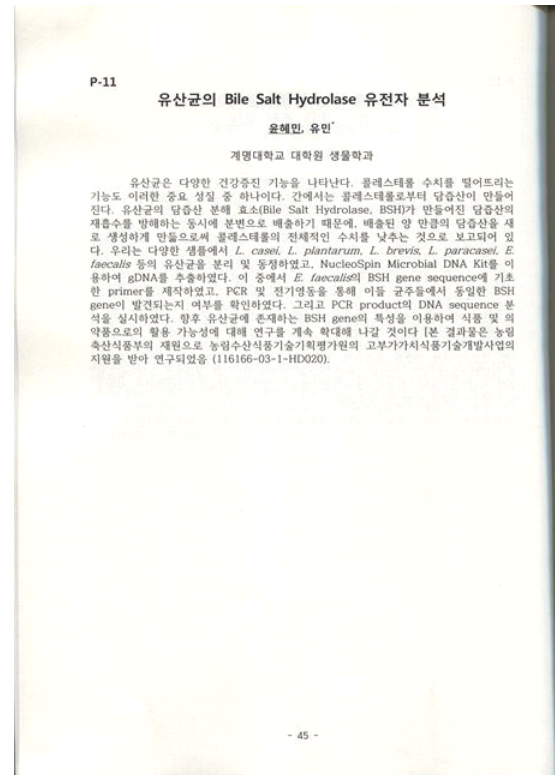
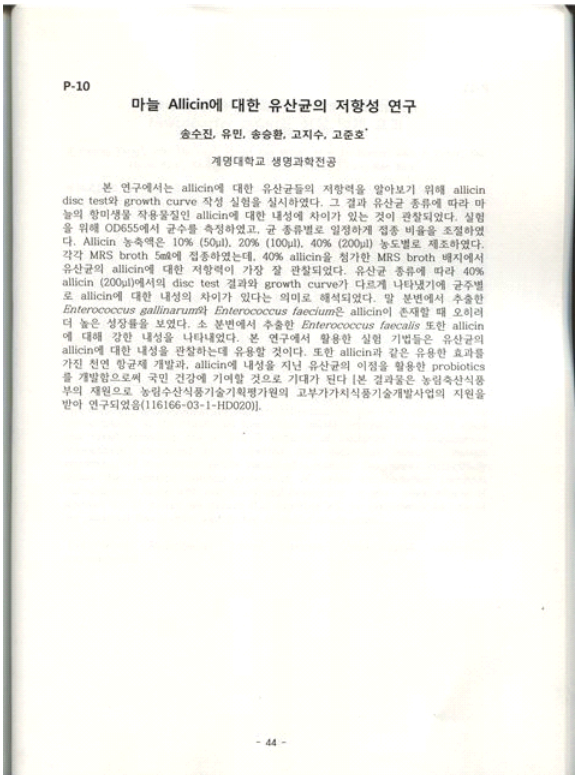
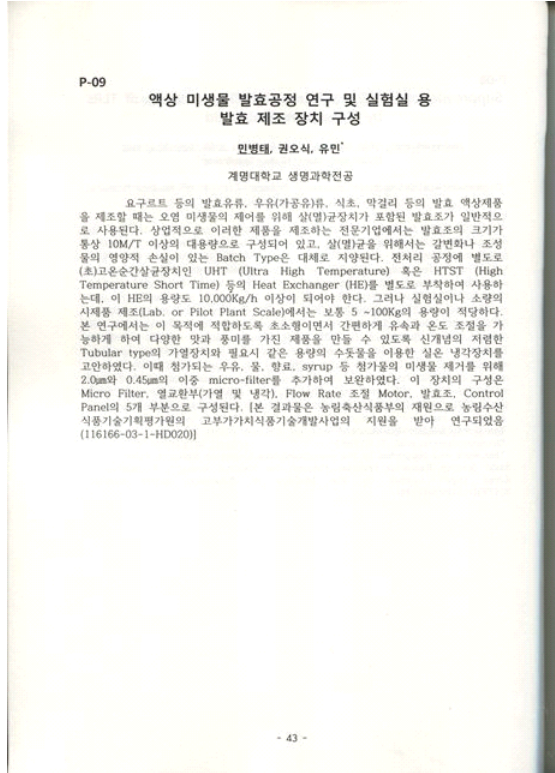
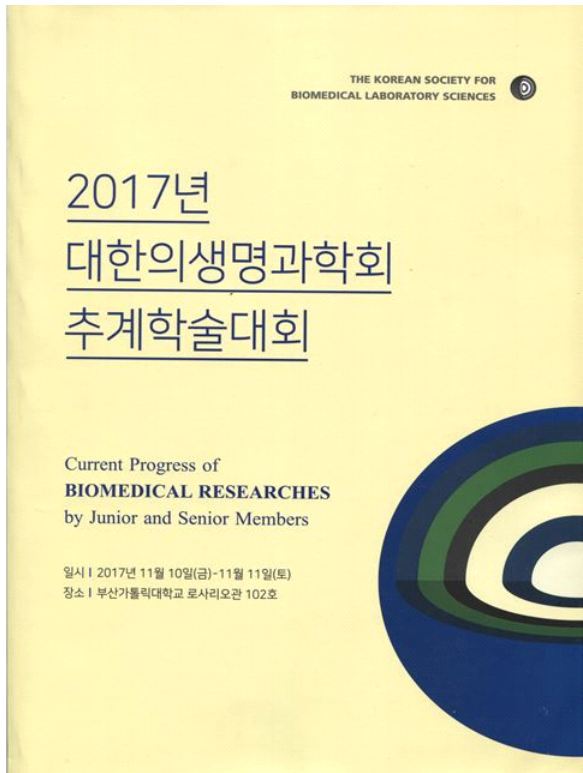


그림 108. 2017년도 대한의생명과학회 추계학술대회 참가

라. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	마늘 요구르트용 소형 발효장치	대한민국	농업회사법인 문무(주)	2017.09.15.	10-2017-0118884				100
1	엔테로코쿠스 페칼리스 검출용 PCR 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국				유민, 최은규	2019.09.30	10-2018-0102019	100

출원번호통지서

1의 4페이지

관인생략

출원번호통지서

출원 일자 2017.09.15
 특 기 사 항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원 번호 10-2017-0118884 (접수번호 1-1-2017-0901024-19)
 출원인 명칭 농업회사법인 문무 주식회사(1-2017-016108-3)
 대리인 성명 이종한(9-2013-001988-2)
 발명자 성명 최은규 유메인
 발명의 명칭 마늘 요구르트용 소형 발효장치

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통행된 납입영수증에 성명, 납부지번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부지번호 : 0131(가평교도) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보 변경(경청), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포털(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원권 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부한 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 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허/의무-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 실용권력 기조로 우리나라에 우선권주장출원 시, 실용권이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO-SB-39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.

그림 109. 특허 출원(출원번호 10-2017-0118884호)

**본 인 생 략
출 원 번 호 통 지 서**

출 원 일 자 2018.08.29
 특 기 사 항 심사청구(국) 공개신청(국)
 출 원 번 호 10-2018-0102019 (잠수번호 1-1-2018-0658206-65)
 출 원 인 명 칭 계명대학교 산학협력단(2-2004-018074-3)
 대 리 인 성 명 박원준(9-2008-100101-3)
 발 명 자 성 명 유인 최은규
 발 명 의 명 칭 엔테로코쿠스 페칼리스 검출용 PCR 프라이머 세트 및 이의 용도

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 취의 길이 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: 0131(가라코드) + 잠수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고려번호 정보변경(경장), 변경신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 발송할 수 있습니다.
 ※ 특허의 경우: 02-390-9210 일주> 02-390-9210 우편> 특허청, 서울특별시 용인시 처인구 남부읍 남부리 100-10
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의결서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 의결서에서 인정하고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 의결서 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내: <http://www.kipo.go.kr/특허다만-PCT/마드리드>
 ※ 우선권 인정기간: 특허 실용신안은 12개월, 상표 디자인은 6개월 이내
 ※ 국제특허(IPC)의 우선권은 기조로 우선권이 부여가능하며, 실용특허 및 미특허상대인, 우선권료부터 16개월 이내에 미국특허청에 [전자지급확장가서(PTO-SB39)]를 제출하거나 우선권내에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반 할 경우 권징당할 때 처분을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원: 10-2010-0000000, 상표특허출원: 40-2010-0000000
7. 종업원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허료 제6조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.



특허권자 Patentee
 계명대학교 산학협력단(176131-*****)
 대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력단 201호(신당동)

발명자 Inventor
 등록사항원에 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.

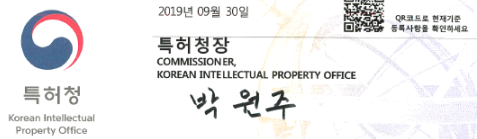


그림 110. 특허 출원 및 등록 (등록번호 제 10-2029595호)

마. 전문 연구 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	석사과정 인력양성	2017		2				2			2		
2	석사과정 인력양성	2018			2			2			2		
3	학사과정 인력양성	2019			2			2			2		

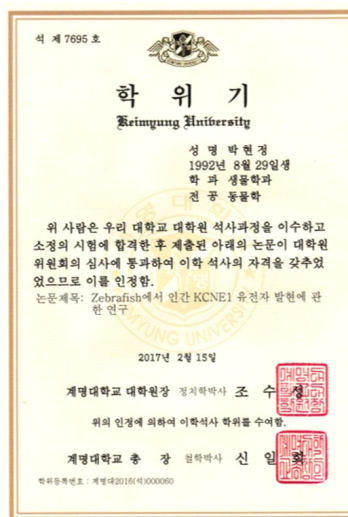
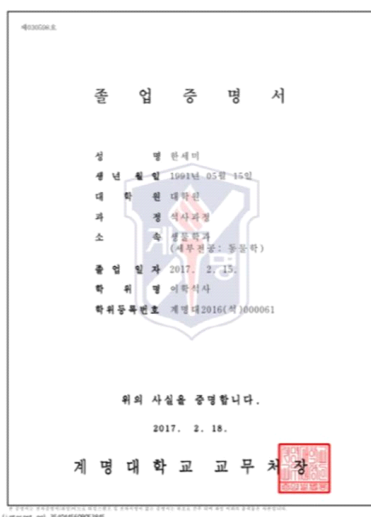


그림 111. 졸업증명서(2017년 2월 이학석사 2인 배출)

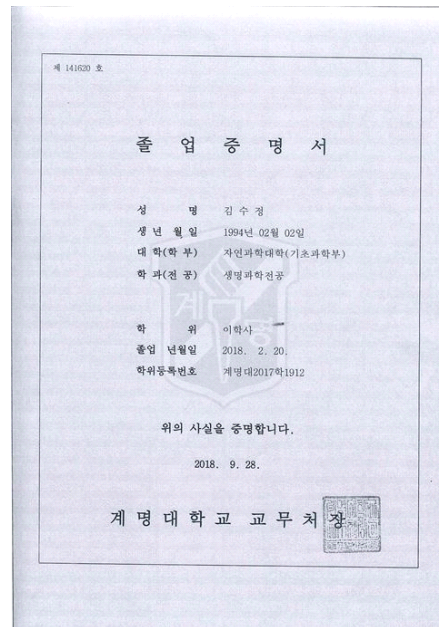
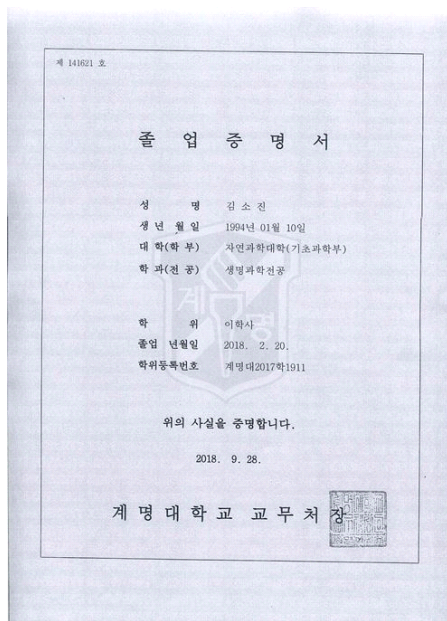


그림 112. 졸업증명서(2018년 2월 이학사 2인 배출)

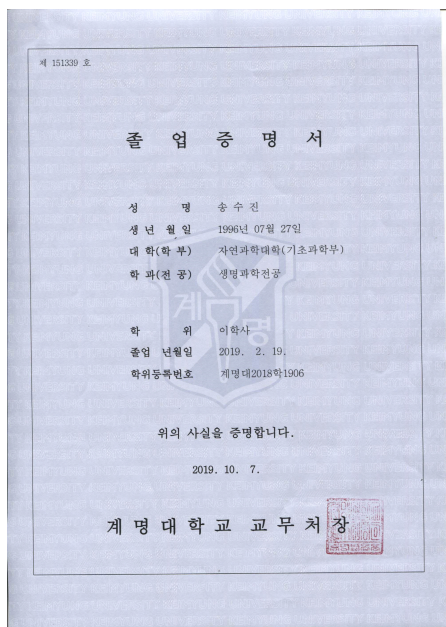
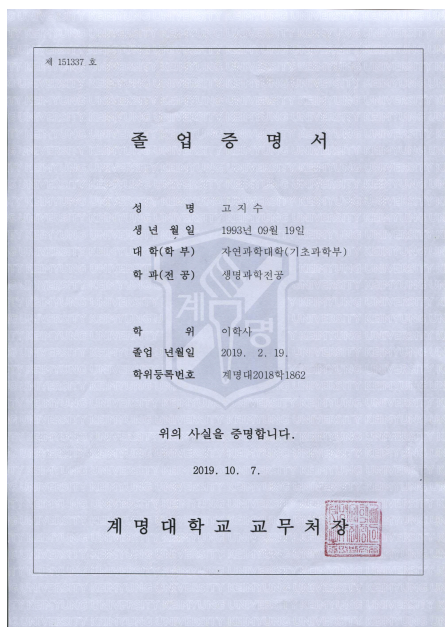


그림 113. 졸업증명서(2019년 2월 이학사 2인 배출)

바. 사업화 현황

(단위 : 명, 년)

No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	코드번호		C-06-10		
						업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1	기술이전 자기실시 (특허권이전)	신제품개발	국내	발효마늘 요거트	식품발효 공정에 유효한 균주의 분석과 보관을 위한 장치 방법과	계명대학교			2019	
2	매출	제품판매	국내	발효장치	발효장치 제작	성일영농	33,000,000		2019	
2	매출	제품판매	국내	발효장치	발효장치 제작	엠엘	22,000,000		2019	

특허권 양도계약서

대구광역시 달서구 달구벌대로 1065에 주소를 둔 계명대학교 산학협력단(이하 "계명대" 이라 한다)과 경상북도 안동시 상지길 45, 4층 404호(울세동, 카톨릭상지대학교유세재단)에 주소를 둔 농업회사법인 문무(주)(이하 "양수인" 이라 한다)은 "계명대" 소유의 특허권을 "양수인" 이 양수함에 있어 다음과 같이 계약을 체결한다.

제 1 조 (양도대상 특허권)

"계명대" 는 "양수인" 이 제3조의 양도대가를 "계명대" 에 지불한 후 아래의 특허권 일체를 "양수인" 에게 양도한다.

구분	발명의 명칭	출원번호
1	엔테로코쿠스 케탈리스 김출음 PCR 프라이머 세트 및 그의 용도	10-2018-0102019

제 2 조 (이전등록 및 비용의 부담)

- "양수인" 이 "계명대" 에 제3조의 대가 지급을 완료한 경우, "양수인" 은 특허 관리업체를 통해 제1조의 특허권의 이전등록 절차에 착수하기로 하며, "계명대" 와 "양수인" 은 관련 자료의 제공 등 양도에 관하여 적극 협력키로 하고, 이전등록 소요되는 비용(관리이전료, 중간사건 처리 및 등록료, 연차유지료, 연차유지 추가납부료 등은 "양수인" 이 부담키로 한다.
- 제1조의 양도대상 특허권과 관련하여 본 계약체결일 이후에 발생하는 특허권의 유지비용은 "양수인" 이 부담한다.

제 3 조 (대가와 지불방법)

"양수인" 은 제1조의 양도대상 특허권의 양도대가를 아래와 같이 "계명대" 에 지급한다.

금액	지급시기	계좌정보
금 오백만원정 (₩ 5,000,000) V.A.T 별도	계약체결후 15일 이내	- 개설은행 : 대구은행 - 예금주 : 계명대학교산학협력단 - 계좌번호 : 504-10-142441-3

제 4 조 (정보의 사용)

- "양수인" 은 "계명대" 로부터 받은 보고서나 문서, 기타 본 계약과 관련하여 "계명대" 로부터 지득한 정보의 일부 또는 전부에 대한 원문이나 그 복제물 또는 복사물을 광고, 판매촉진, 보도자료, 기타 선전의 목적 및 정송상의 자료로 사용하여서는 아니된다.
- "양수인" 은 제1항의 목적으로 "계명대" 의 명칭 혹은 "계명대" 소속 연구원의 명칭을 사용하거나 광고 등에 이를 표시하여서는 아니된다.

제 5 조 (연구의 제한)

본 계약은 "계명대" 가 제3자를 위하여 동종의 연구를 수행하는 것을 제한하지 아니한다.

제 6 조 (계약의 효력)

- 본 계약의 효력은 계약 체결일로부터 유효하다.
- 제1조의 양도대상 특허권을 구성하는 특허가 등록거절 및 무효로 되더라도 본 계약의 효력에는 영향을 미치지 아니하며 "양수인" 이 기 지급한 제3조의 양도대가는 반환하지 아니한다.
- 본 계약의 내용은 "양수인" 과 "계명대" 의 서면합의에 의하지 아니하는 한 유효하게 변경될 수 없다.
- 본 계약은 "계명대" 와 "양수인" 간 특허권 양도에 관한 기본적인 사항을 규정한 것으로 이전에 "계명대" 와 "양수인" 간의 모든 문서에 우선한다.

제 7 조 (계약에 규정하지 않은 사항 등)

"계명대" 와 "양수인" 은 본 계약에 규정하지 않은 사항 또는 본 계약의 해석에 이의가 생긴 경우에는 신의성실의 원칙에 따라서 상호 협의하여 결정한다.

본 계약서는 2통을 작성하여 서명·날인하고, "계명대" 와 "양수인" 이 각각 1통씩 보관하기로 하며, "계명대" 는 계약서 사본 1부를 "중개인" 에 송부한다.

2019년 11월 25일

- 별인(개인)인감증명서 1부
- 사업자등록증 사본 1부
- 사용인감계 1부(필요시)









"계명대"  "양수인" 
 대구광역시 달서구 달구벌대로 1065  경상북도 안동시 상지길 45, 4층 404호 (울세동, 카톨릭상지대학교유세재단)
 계명대학교 산학협력단  농업회사법인 문무(주) 
 단장 남재  대표이사 최은 
 기술이전책임자 유 

그림 114. 특허권 이전 실적 (2019년 11월)

전자세금계산서					승인번호	20181128-10000000-84693177			
공급자	등록번호	668-86-00057	중사업장번호		등록번호	311-81-27683	중사업장번호		
	상호(법인명)	농업회사법인 문우주식회사	성명	최은규	상호(법인명)	농업회사법인 성일영농(유)	성명	하성규	
	사업장주소	대구광역시 달성군 다사읍 대실역남로2길 20-6, 2층			사업장주소	충청남도 당진시 송악읍 복문리 1015			
	업태	제조업	종목	비즈니스용작물생산업,시스템소프트웨어개발및공급업 외	업태	농업,서비스	종목	농산물,농업용기계장비및,수확장농	
	이메일	sharp104@naver.com			이메일	deajang23@hanmail.net			
작성일자	공급가액	세액	수량	단가	공급가액	세액	비고		
2018-11-28	20,000,000	2,000,000					해당없음		
월	일	품목	규격	수량	단가	공급가액	세액	비고	
11	28	발효장치 및 관련 시스템 계약금	식	1	20,000,000	20,000,000	2,000,000		
합계금액					현금	수표	어음	외상미수금	이 금액을 (청구) 함
22,000,000									

본 인쇄물은 국세청 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 발급 또는 전송 입력된 전자(세금)계산서입니다.
 발급사실 확인은 상기 홈페이지의 "조회/발급" > 전자세금계산서 > 제3자 발급사실 조회 "를 이용하시기 바랍니다.

전자세금계산서					승인번호	20181218-10000000-11610054			
공급자	등록번호	668-86-00057	중사업장번호		등록번호	311-81-27683	중사업장번호		
	상호(법인명)	농업회사법인 문우주식회사	성명	최은규	상호(법인명)	농업회사법인 성일영농(유)	성명	하성규	
	사업장주소	대구광역시 달성군 다사읍 대실역남로2길 20-6, 2층			사업장주소	충청남도 당진시 송악읍 복문리 1015			
	업태	제조업	종목	시스템소프트웨어개발및공급업,비즈니스용작물생산업 외	업태	농업,서비스	종목	농산물,농업용기계장비및,수확장농	
	이메일	sharp104@naver.com			이메일	deajang23@hanmail.net			
작성일자	공급가액	세액	수량	단가	공급가액	세액	비고		
2018-12-18	10,000,000	1,000,000					해당없음		
월	일	품목	규격	수량	단가	공급가액	세액	비고	
12	18	발효장치 및 관련 시스템 전금	식	1	10,000,000	10,000,000	1,000,000		
합계금액					현금	수표	어음	외상미수금	이 금액을 (청구) 함
11,000,000									

본 인쇄물은 국세청 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 발급 또는 전송 입력된 전자(세금)계산서입니다.
 발급사실 확인은 상기 홈페이지의 "조회/발급" > 전자세금계산서 > 제3자 발급사실 조회 "를 이용하시기 바랍니다.

전자세금계산서					승인번호	20190304-10000000-87551304			
공급자	등록번호	668-86-00057	중사업장번호		등록번호	515-05-27831	중사업장번호		
	상호(법인명)	농업회사법인 문우주식회사	성명	최은규	상호(법인명)	원일	성명	곽기동	
	사업장주소	대구광역시 달성군 다사읍 대실역남로2길 20-6, 2층			사업장주소	대구광역시 남구 현충로 170(대명동, 영남이공대학교 전 마스퀘어) 901호			
	업태	제조업	종목	시스템소프트웨어개발 및 공급업 외	업태	제조업	종목	밀교반기, PLC 커트웨어, H/W, SW, 전자부품	
	이메일	sharp104@naver.com			이메일	imzest@esero.go.kr			
작성일자	공급가액	세액	수량	단가	공급가액	세액	비고		
2019-03-04	20,000,000	2,000,000					해당없음		
월	일	품목	규격	수량	단가	공급가액	세액	비고	
03	04	발효장치 unit 1식				20,000,000	2,000,000		
합계금액					현금	수표	어음	외상미수금	이 금액을 (청구) 함
22,000,000								22,000,000	

본 인쇄물은 국세청 홈택스(www.hometax.go.kr)에서 발급 또는 전송 입력된 전자(세금)계산서입니다.
 발급사실 확인은 상기 홈페이지의 "조회/발급" > 전자세금계산서 > 제3자 발급사실 조회 "를 이용하시기 바랍니다.

그림 115. 매출 실적 (2019)

사. 사업화 성과 및 매출실적

(1) 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.5억원
			향후 3년간 매출	3억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	2.5억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : - % 국외 : - %
			향후 3년간 매출	국내 : 0.01% 국외 : 0.0001%
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : -% 국외 : -%
			향후 3년간 매출	국내 : 0.01 % 국외 : 0.0001 %
	세계시장 경쟁력순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

(2) 사업화 계획 및 매출실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	연구 개발 종료 후 2년			
	소요예산(백만원)	300			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		-	3	10	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	0.01	0.03
		국외	-	0.0001	0.0003
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	WHO지정 10대 건강식품인 마늘을 바탕으로 요거트를 개발하고, 발효취와 마늘 취의 영향을 적게 하여 누구나 음용을 쉽게 할 수 있는 형태로 제형화 하여 상용화를 기획함			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-	-	-	
	수 출	-	1	5	

아. 연구개발 목표

(1) 농업회사법인 문무(주)

- (가) 마늘 발효 방법에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작을 통한 대량생산체계 구축
 - : 발효 과정에 대한 pH, 온도 등 모니터링 장치 개발
 - : 적정 산도 도달시 총균수를 확인하여 총균수 10^8 이상일 경우 발효 중지
- (나) 마늘 발효 장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작
 - : 기호별 3가지 발효 마늘 요거트 제품 개발
- (다) 발효 장치의 단계적 scale up을 통한 대량 발효방법 개발
 - : 생산량 20L, 50L, 100L 단계적 개발
 - : 발효장치 오염 방지를 및 제품 안정성에 관한 장치 설계 및 적용
 - : 무균 관리시스템 설계를 통한 시스템 무균화 적용
 - : 유통기한 및 품질 관리 방안 도출
- (라) 발효장치의 효과 및 성능 분석
 - : 발효균주 함량 10^8 이상
 - : 적정 산도 유지 기능 검증
- (마) 마늘 요거트의 상품화를 위한 마케팅 전략 수립

(2) 계명대학교 산학협력단

- (가) 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 분석
 - : 선발된 균주 DNA 분석
- (나) 선발된 균주를 이용하여 효과적인 발효 방법 개발 (단일균주 및 혼합균주)
 - : 단일 균주 및 혼합 균주 적용 시 발효 효능 검증
- (다) 제작된 발효장치를 사용하여 발효시킨 마늘의 품질과 진행에 대한 효과의 구체적인 데이터 확보 및 분석
- (라) 균질한 제품의 생산을 위한 품질관리 방법 개발
 - : QC 매뉴얼 작성
- (마) 마늘 혼합발효 요거트 시제품 테스트 및 보완 방향 제시

자. 목표 달성여부

- (1) 연차별 목표 달성을 모두 달성하였음

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

- (1) 연구목표 달성 여부
 - : 연구개발 목표를 모두 달성하였음
- (2) 차후 후속 연구
 - : 마늘 발효 균주 발굴과 선정 연구를 지속적으로 수행하여 타 식물자원의 발효와 그를 이용한 상품 개발 분야임

: '발효 시 우유가 굳어 커드(curd)가 생기면 이를 균질화하기 위해 고성능 교반장치 (homogenizer)를 장착할 필요가 있고, 이를 위해 적절한 유회장치 개발' 또한 차후 연구 개발에 꼭 필요한 항목으로 판단됨

4. 연구결과의 활용 계획 등

- 마늘의 발효에 적합한 균주의 선발과 이를 이용한 최적의 발효 조건을 찾아내어 발효 마늘 요거트의 제품 개발과 사업화
- 선정된 발효 균주의 안정화 관리로 최종 식품의 품질관리와 생산성 향상에 기여
- 마늘 발효의 scale up 규모에 해당하는 발효방법과 그에 적합한 발효 장치를 설계, 제작하여 이를 이용한 제품 생산과 사업화에 적용할 것임
- 관능시험 결과를 심층 분석하고 이를 차기 생산단계에 적용하여 소비자들의 욕구에 부합하는 상품개발 단계에 투자하여 성공적인 사업화를 계획함
- 대학 연구팀과의 지속적인 연구교류를 통하여 유효한 생물자원과 적합 균주의 활용법에 관한 상업적 연구개발을 추진
- 발효 마늘의 적용 분야를 타깃할 수 있는 연구를 통하여 신제품 개발 및 생산으로 발효 상품군을 기획하여 기술 및 기업 가치 향상

붙임. 참고문헌

김춘영, 고상발효에 있어서 공학적인 관점, 한국과학기술정보연구원

김택준 외, 무전극 무수은 자외선 램프를 이용한 살균장치 설계, 한국지식정보기술학회 4권 4호. 2009. 12

김형욱, 연속살균 공정 및 장치 설계 프로그램 개발, 서울대학교 석사논문, 2002

김혜련 외, 식품 : 품종에 따른 오디와 오디발효주의 특성, 응용생명화학회, Vol.49 No.3, 2006

류종원, 퇴비차 발효장치 및 상품화 기술 개발, 산학연기술개발사업 보고서, 2011. 05

신동화, 우리 전통발효식품의 세계화 동향과 전망, IPET, 2010. 10

신종욱, 우장지버섯 균사체 배양액을 이용한 초산발효음료의 품질특성과 항당뇨 효과, 대구가톨릭대학교 석사논문, 2009

신충식, 자외선과 오존특성을 응용한 종합 살균소독기 개발, 기술혁신개발사업 보고서, 2003. 04

오정익 외, 음식물류폐기물 발효·소멸장치 최적화 방안, 한국폐기물자원순환학회 춘계학술발표논문집, 2016

이원표, Acetobacter pasteurianus 분리주를 이용한 환원치즈유청의 초산발효 연구, 연세대학교 석사논문, 2016

이인준 외, 초고압 살균장치용 수산물 보관용기 개발에 관한 연구, 대한기계학회 2018년도 학술대회

임현수 외, 수조수 살균을 위한 고성능 관형 자외선 살균장치, 한국산업식품공학회 3권 3호 1999. 09

정병균 외, UV램프를 이용한 유수처리형 살균장치의 설계방법, 전기학회논문지 58권 4호, 2009. 12

정안나 외, 우유의 열처리가 우유품질과 영양가에 미치는 영향, 한국우유생명공학회 34(4), 2016

- 정진아 외, TiO₂ 광촉매 시스템을 이용한 음용수 중의 대장균 살균연구, 화학공학 50(1), 2012
- 조자래 외, 마늘 분말의 첨가가 요구르트의 제조와 품질에 미치는 영향, 한국응용생명화학회 50(1), 2007
- 최문희 외, 주스제조 장치에 따른 채소 및 과일 주스의 품질 변화, Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal 29(3), 2014
- Aly, R., Maibach, H. I. and Shinefield, H. R. 1997. Microbial flora of atopic dermatitis. Arch Dermatol. 113:780-782.
- Ann, Y. G. 2011. Probiotic lactic acid bacteria. Kor J Food Nutr. 24:817-832.
- Begley, M., Hill, C., and Gahan, C. G. 2006. Bile salt hydrolase activity in probiotics. Appl Environ Microbiol. 72(3):1729-1738.
- Eum, J. S. 2011. Antimicrobial Activity of *Coptis chinensis* and *Sophora flavescens* against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. J-KICS. 16(2):384-389.
- Fernandes, C. F., Shahani, K. M., and Amer, M. A. 1987. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. FEMS Microbiol Lett. 46:343-356.
- Franz, C. M., Specht, I., Haberer, P., and Holzapfel, W. H. 2001. Bile salt hydrolase activity of enterococci isolated from food: screening and quantitative determination. J Food Protect. 64(5):725-729.
- Gilliland, S. E. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Rev. 7:175-188.
- Gopal-Srivastava, R., and Hylemon, P. B. 1988. Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Clostridium perfringens*. J Lipid Res. 29(8):1079-1085.
- Isolauri, E., Joensuu, J., Suomalainen, H., Luomala, M., and Vesikari, T. 1995. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. Vaccine 13:310-312.
- Kalia, V. C., and Kumar, P. 2015. Genome wide search for biomarkers to diagnose *Yersinia* infections. Indian J Microbiol. 55:366-374.

- Kalia, V. C., Kumar, P., Kumar, R., Mishra, A., and Koul, S. 2015. Genome wide analysis for rapid identification of *Vibrio* species. *Indian J Microbiol* 55:375-383.
- Kim, D. R., Kwak, G. S., Jeong, S. M., Lee, S. C., and Ha, J. U. 2003. Comparison of Antioxidative Abilities of Commercial Gal Geun Tang. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 32:728-732.
- Kim, K. S., Seo, J. H., and Jeong, Y. J. 2000. Physiological Characteristics of Tannins isolated from Astringent Persimmon Fruits. *Kor J Food Sci Technol*. 32(1):212-217.
- Kim, G. B., Miyamoto, C. M., Meighen, E. A., and Lee, B. H. 2004. Cloning and characterization of the bile salt hydrolase genes (bsh) from *Bifidobacterium bifidum* strains. *Appl Environ Microbiol*. 70(9):5603-5612.
- Kitazawa, H., Matsumura, K., Itoh, T., and Yamaguchi, T. 1992. Interferon induction in murine peritoneal macrophage by stimulation with *Lactobacillus acidophilus*. *Microbiol Immunol*. 36:311-315.
- Knarreborg, A., Engberg, R. M., Jensen, S. K., and Jensen, B. B. 2002. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. *Appl Environ Microbiol*. 68(12):6425-6428.
- Koul, S., Kalia, V. C. 2016. Comparative genomics reveals biomarkers to identify *Lactobacillus* species. *Indian J Microbiol*. 56:253-263.
- Kumar, R., Koul, S., Kumar, P., and Kalia, V. C. 2016. Searching biomarkers in the sequenced genomes of *Staphylococcus* for their rapid identification. *Indian J Microbiol*. 56:64-71.
- McAuliffe, O., Cano, R. J., and Klaenhammer, T. R. 2005. Genetic analysis of two bile salt hydrolase activities in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Appl Environ Microbiol*. 71(8):4925-4929.
- Lilly, D. M. and Stillwell. R. H. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147:747-748.
- Oh, H. K., Lee, J. Y., Lim, S. J., Kim, M. J., Kim, G. B., Kim, J. H., Hong, S. K., and Kang, D. K. 2008. Molecular cloning and characterization of a bile salt hydrolase from *Lactobacillus acidophilus* PF01. *J Microbiol Biotechnol*. 18(3):449-56.
- Orrhage, K., Sillerström, E., Gustafsson, J. A., Nord, C. E., and Rafter, J. 1994. Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutat Res*. 311:239-248.

- Pinto, M. G. V., Franz, C. M., Schillinger, U., and Holzapfel, W. H. 2006. *Lactobacillus* spp. with *in vitro* probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *Inter J of Food Microbiol.* 109(3):205-214.
- Smet, I. D., Hoorde, L. V., Saeyer, N. D., Woestyne, M. V., and Verstraete, W. 1994. *In vitro* study of bile salt hydrolase (BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80 strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity. *Microbial Eco Health Disease.* 7(6):315-329.
- Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., and Holt, J. G. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA. pp. 1209-1234.
- Sridevi, N., Vishwe, P., and Prabhune, A. 2009. Hypocholesteremic effect of bile salt hydrolase from *Lactobacillus buchneri* ATCC 4005. *Food Res Interl.* 42(4):516-520.
- Stellwag, E. J., and Hylemon, P. B. 1976. Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Bacteroides fragilis* subsp. *fragilis*. *BBA-Enzymol.* 452(1):165-176.
- You, Y. S., Park, K. M. and Kim, Y. B. 1993. Antimicrobial Activity of Some Medical Herbs and Spices against *Streptococcus mutans*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol.* 21(2):187-191.
- Zheng, H. Y., Alcorn, T. M., and Cohen, M. S. 1994. Effects of H₂O₂-producing lactobacilli on *Neisseria gonorrhoeae* growth and catalase activity. *J Infect Disease.* 170:1209-1215.

<별첨작성 양식>

[별첨 1] 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 마늘 발효 기술 개발과 검증을 통한 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발				
	(영문) Manufacture of fermenting device and development of garlic yogurt through technical development for fermenting garlic and verification				
주관연구기관	농업회사법인 문무(주)		주 관 연 구	(소속)농업회사법인 문무(주)	
참 여 기 업	계명대학교 산업협력단		책 임 자	(성명)최 은 규	
총연구개발비 (천원)	계	537,500	총 연구 기간	2016.12.01. ~ 2019.11.30.(3년, 36개월)	
	정부출연 연구개발비	430,000	총 참 여 연구 원 수	총 인 원	32
	기업부담금	107,500		내부인원	32
	연구기관부담금			외부인원	-

○ 연구개발 목표 및 성과

연구목표 : 마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 생리·유전학적 분석을 통해 효과적인 발효 방법 개발 및 발효장치 제작

- 개발된 방법을 토대로 발효장치 설계 및 제작
- 발효장치를 단계적으로 scale up하여 설계 제작 및 대량생산 시스템 개발
- 마늘 발효에 적합한 균주의 선발과 이를 이용한 최적의 발효 조건 개발
- 마늘 발효 기술 개발 및 검증
- 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 및 지역특산물 선정 협력

○ 연구내용 및 결과

- 마늘 발효 방법에 적합한 마늘 발효 장치 설계 및 제작
- 마늘 발효 장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작
- 발효 장치의 단계적 scale up을 통한 대량발효방법 개발
- 제작된 발효장치를 이용한 발효 실험을 통해 발효 속도 및 발효 품질 비교
- 마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 제작 및 기호도 평가
- 6차 산업으로써의 발전가능성 제시 및 연계방안 수립
- 발효장치의 효과 분석 및 국내 시장 진출을 위한 마늘 요거트 마케팅 전략 수립
- 마늘발효를 위한 균주 선발, 보존 및 안정화 시험
- 효과적인 마늘 발효 방법의 개발
- 혼합 발효에 가장 적합한 시료 선정 및 혼합 발효 기술 개발
- 마늘 요거트 시제품 제작을 위한 혼합 시료 선정 및 품질관리 기술 개발

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 간편식이 제품으로 상품화 및 건강기능성 식품군으로 상품화하여 마늘의 다각적 활용방안을 마련함
- 마늘과 함께 추가적으로 이와 유사한 약용식품까지 기술을 확대 적용하여 건강기능성식품을 개발함
- 확보기술 및 안정된 생산기반을 활용한 요구르트 신제품 개발
- 마늘과 함께 추가적으로 이와 유사한 약용식품까지 기술을 확대 적용하여 건강기능성식품을 개발함
- 한국형 유산균의 확보를 통해 다양한 기능성 유제품에 적용시킴으로써 발효유를 비롯한 여러 유제품 관련 시장의 활성화에도 기여할 것으로 사료됨

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		116166-03	
사업구분	고부가가치식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	고부가가치식품기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	마늘 발효 기술 개발과 검증을 통한 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발			과제유형	(기초,응용,개발)
연구기관	농업회사법인 문무(주)			연구책임자	최은규
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2016-12~2017-11	130,000	32,500	162,500
	2차연도	2017-12~2018-11	125,000	31,250	156,250
	3차연도	2018-12~2019-11	175,000	43,750	218,750
	계	2016-12~2019-11	430,000	107,500	537,500
참여기업	계명대학교 산학협력단				
상대국				상대국연구기관	

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020년 01월 30일

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
농업회사법인 문무주식회사	대표이사	최은규

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.



I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 현재까지 식품의 발효기술은 여러 가지로 개발되어 활용되고 있으나 마늘의 발효를 식품에 적용한 사례는 이번 연구에서 마늘 요거트의 시제품 개발로 상용화모델을 개발하였음
- 발효 균주를 선발하고 분석하여 효과적인 발효방법을 개발하였으며 이를 발효 마늘 요거트 개발에 적용하여 발효 마늘의 품질과 효과에 대한 구체적인 데이터를 확보하여 그 독창성과 우수성을 확보하였음

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 본 연구에서 수행된 결과물은 유제품 시장에서 발효 마늘을 이용한 신제품 출시로 시장의 다변화와 소비자 만족도가 높은 상품으로 매출 증가 등 경제적 파급효과가 기대됨
- 식품분야 시장에서 간편식 및 발효 식품분야에 적용되어 발효 대상 식품의 특성에 적합하도록 발효 균주를 선발할 수 있고 타 식품과 혼합되어 건강기능성 식품군을 개발할 수 있는 기술적 파급효과가 있을 것임

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 발효 마늘 요거트는 간편식이 제품과 건강기능성 식품군으로 상품화가 가능할 것이며 이외에도 다각적인 식품분야 활용방안을 마련할 것임
- 마늘 이외에도 추가적인 약용식품군에 적용할 수 있는 발효기술과 식품류의 연계성에 있어서 기초 연구자료를 제시할 수 있을 것임

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 본 개발사업을 통하여 마늘 발효에 적합한 균주의 선발과 보존 및 안정화 시험을 거쳐, 효과적인 발효장치를 설계하고 제작하였음
- 발효장치를 단계적으로 scale up하여 설계/제작하였으며 상용화를 위한 대량 생산 시스템을 개발하였음
- 마늘 요거트 시제품 제조를 위해 혼합 시료를 선정하고 혼합 발효에 적합한 기술 개발로 시제품 제작 및 기호도 평가를 수행하였음
- 발효 마늘 요거트 제조를 위한 제조법과 품질관리 기술을 제시하였음

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- SCI 논문 1건 (Indian Journal of Microbiology)
- 비SCI논문 3건 (Journal of Life Science 2건, 계명대학교 학위논문집 1건, Quantitative Bio-Science 1건)
- 특허 출원 2건 (10-2017-0118884), 등록 1건 (10-2018-0102019)
- 기술이전 1건 (등록 특허의 권리이전)

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
지식재산권	20	100	아주우수
기술실시	10	100	아주우수
사업화	20	100	아주우수
논문	20	100	아주우수
학술대회	20	100	아주우수
인력양성	10	100	아주우수
합계	100점	100	아주우수

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

계획된 연구개발의 목표가 연차별로 수행되어 발효 균주의 확보로부터 발효 마늘 요거트 제조 장치 시제품과 요거트의 성분 검사 및 관능시험으로 상품화를 위한 실증 시험을 실시하였음. 또한 이러한 연구개발 및 시험 결과를 바탕으로 요거트 식품 제조에 필수적이며 경쟁력 있는 균주 확보와 요거트 제조장치를 개발하였음

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 마늘 발효에 적합한 발효 균주를 선발하고 분석하여 효과적인 발효 방법을 개발하였음
- 개발된 마늘 발효법을 기초로 상용화를 위한 대용량 발효 장치 시스템을 개발하였음
- 발효법과 요거트 제조법을 적용하여 제조한 마늘 발효 요거트 시제품의 성분분석과 관능 시험을 통하여 사업화에 지속적인 연구를 수행하였음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 개발된 발효법과 요거트 제조법을 이용하여 간편 식이제품으로의 상품화나 건강기능성 식품군으로 활용할 수 있으므로 마늘의 다각적 활용방안을 마련하였음
- 마늘과 더불어 이와 유사한 약용식품을 활용한 건강 기능성 식품으로 개발할 수 있는 기술적 기반을 제시하였음
- 한국형 유산균의 확보를 통해 다양한 기능성 유제품에 적용시킬 수 있으므로 발효유제품과 다수의 유제품 관련 시장의 활성화에도 영향을 끼칠 수 있을 것임

IV. 보안성 검토

○ 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 해당사항 없음-

2. 연구기관 자체의 검토결과

- 해당사항 없음-

[별첨 3]

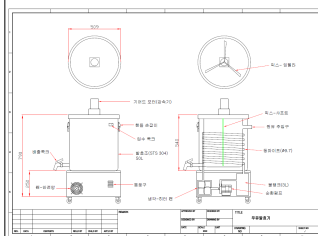

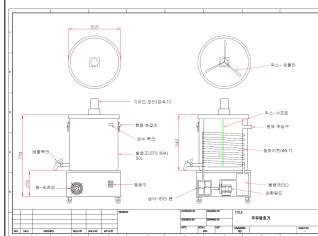


연구성과 활용계획서

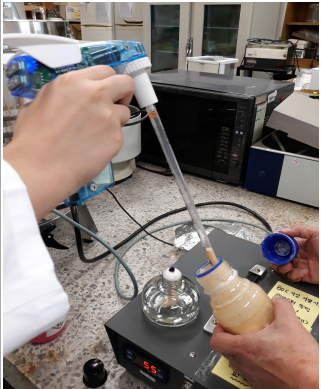
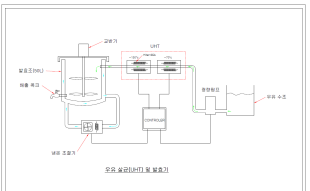
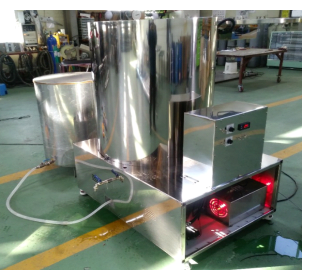
1. 연구과제 개요

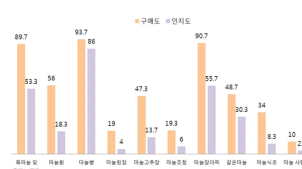
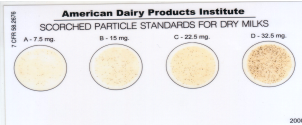

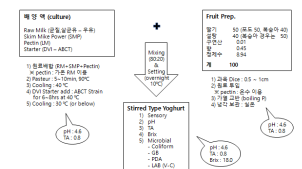


사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	식품 > 식품공학 > 식품공학
연구과제명	마늘 발효 기술 개발과 검증을 통한 발효 장치 제작 및 마늘 요거트 개발			
주관연구기관	농업회사법인 문무(주)		주관연구책임자	최은규
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	430,000	107,500		537,500
연구개발기간	2016-12-01 ~ 2019-11-30			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	발효 장치 시작품 (lab scale) 제작 및 마늘 요거트 시제품개발	마늘 발효 장치 및 기술 개발	- 마늘 발효 장치 Lab scale 시작품 제작 - 센싱 시스템 구축 설계 - 요거트 시제품 개발	- 마늘 발효 장치 시작 품 제작 완료 (20L 용 량)
		마늘 발효장치를 이용한 마늘 요거트 시제품 개발	- 마늘 요거트 시제품 제조 - 향, 식감, 맛 등의 조사항 목을 바탕으로 마늘 요거 트 시제품에 대한 설문조 사 실시	- 마늘 요거트 시제품 2 종 제조 완료
	발효 균주 선발 및 동정	마늘 발효에 적합한 발효 균주 선발 및 분석	- 미생물 분리를 위한 시료 채취 및 수집 - 유용 미생물 선별 - 유전자 분석을 통한 1차 검증 및 동정 - 분리된 미생물의 생리,생 화학 테스트 - 유용 균주 보관방법 개발 - 유산균 pedigree 완성 - 배양 조건 확립	- 소,말 분변 및 일본, 한국의 다양한 발효식 품 샘플 수집 - colony 관찰 및 skim milk curd 형성능 관 찰을 통한 균주 선별 - 유전자 분석 의뢰 (Macrogen)를 통한 검 증 완료 - 생리,생화학 테스트 진 행 중

<p>2차 년도 (2017)</p>	<p>발효 장치 Scale up (Pilot scale) 제작 및 기호별 마늘 요거트 제품 개발</p>	<p>대량 발효 장치 분석을 통한 발효 장치의 scale-up</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 발효 장치 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 설계 완료  <ul style="list-style-type: none"> - 발효 장치 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 제작  <ul style="list-style-type: none"> - 수정 및 보완 작업 	<ul style="list-style-type: none"> - 발효 장치 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 설계 완료  <ul style="list-style-type: none"> - 발효 장치 scale-up 설계 및 50L 용량 발효 장치 제작  <ul style="list-style-type: none"> - UHT 시스템을 활용한 마늘 발효 시스템 구축 완료 
		<p>타겟 수요계층별 제품 다양화</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 연령층 및 성별 등에 따른 고객 세분화로 다양한 제품 시제품 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 시제품 업그레이드 레시피 완성 - 연령대별 설문조사 바탕으로 마늘 향 조절 레시피 완성

				<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="4">HX-SNP (Yurti Yogurt Recipe)</th> </tr> <tr> <th>성분명</th> <th>기준 Recipe (%)</th> <th>변동 Recipe (%)</th> <th>비고</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>skim milk powder</td> <td>8.1101</td> <td>0.5-13.0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>galactan</td> <td>0.5</td> <td>0.2-0.7</td> <td></td> </tr> <tr> <td>stabilizer</td> <td>7.0</td> <td>6-10</td> <td>세일 요거트의 경우 (fruit preparation)으로 대체</td> </tr> <tr> <td>garlic</td> <td>4.0</td> <td>0.25-5</td> <td>원료의 가공 방법에 따라 차이</td> </tr> <tr> <td>pectin</td> <td>0.00</td> <td>0.05-0.1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>flavor essence</td> <td>0.05</td> <td>0.05-0.1</td> <td>garlic도 fruit flavor</td> </tr> <tr> <td>starter (L.AS)</td> <td></td> <td></td> <td>직접</td> </tr> <tr> <td>water</td> <td>79.37(78.37)</td> <td>93.93-71.1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>total</td> <td>100</td> <td>100</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	HX-SNP (Yurti Yogurt Recipe)				성분명	기준 Recipe (%)	변동 Recipe (%)	비고	skim milk powder	8.1101	0.5-13.0		galactan	0.5	0.2-0.7		stabilizer	7.0	6-10	세일 요거트의 경우 (fruit preparation)으로 대체	garlic	4.0	0.25-5	원료의 가공 방법에 따라 차이	pectin	0.00	0.05-0.1		flavor essence	0.05	0.05-0.1	garlic도 fruit flavor	starter (L.AS)			직접	water	79.37(78.37)	93.93-71.1		total	100	100	
HX-SNP (Yurti Yogurt Recipe)																																																
성분명	기준 Recipe (%)	변동 Recipe (%)	비고																																													
skim milk powder	8.1101	0.5-13.0																																														
galactan	0.5	0.2-0.7																																														
stabilizer	7.0	6-10	세일 요거트의 경우 (fruit preparation)으로 대체																																													
garlic	4.0	0.25-5	원료의 가공 방법에 따라 차이																																													
pectin	0.00	0.05-0.1																																														
flavor essence	0.05	0.05-0.1	garlic도 fruit flavor																																													
starter (L.AS)			직접																																													
water	79.37(78.37)	93.93-71.1																																														
total	100	100																																														
	<p>마늘 발효에 적합한 발효 방법의 개발</p>	<p>마늘의 물성과 조직을 변형시키는 연구</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 물성 및 조직의 변화에 따른 발효 속도 증가에 대한 구체적 데이터 확보 	<ul style="list-style-type: none"> - 마늘 발효 속도 조절 방법 마련 - 발효 속도 조절을 통한 마늘향 증감 레시피 완성 																																												
		<p>발효취를 최소화할 수 있는 방법에 대한 연구</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 발효취의 원인 및 방지법 연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 발효취 원인 파악 - 균주별 특성을 고려한 발효취 제거 방법 마련 																																												
<p>3차년도 (2018)</p>	<p>대량생산체계 구축 및 마늘 요거트 제품화 계획 수립</p>	<p>발효장치의 대량생산체계 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 대용량의 발효장치 개발 및 대량생산체계 계획 - 마늘 요거트 제품화 계획 수립 - 발효장치 오염방지 및 제품 안정성에 관한 장치 설계 및 적용 	<ul style="list-style-type: none"> - 발효장치의 대량생산체계 설계 및 제작  																																												

	<p>국내/영천시 마늘산업 및 시장 현황 분석</p>	<p>- 국내 마늘을 이용한 가공품 생산을 위한 사전조사 및 분석</p>	<p>- 시장현황 분석 수행</p> 
	<p>발효장치의 효과 및 성능 분석에 의한 상품 우수성 인증 확보</p>	<p>- 개발 발효장치의 효과 및 성능 분석을 통한 상품 우수성 인증 확보</p>	<p>- 발효 요거트의 성능 분석 수행</p> 
	<p>마늘 요거트의 상품화를 위한 마케팅 전략 수립</p>	<p>- 타사 요거트 광고 마케팅 전략 연구·분석 및 매출 상승효과 분석</p>	<p>- 관능검사 실시</p> 
<p>제품의 품질관리 방법 개발</p>	<p>QC (Quality control) 공정 확립</p>	<p>- 마늘 발효액에 포함된 성분들의 균질화를 통한 상품의 품질 관리</p>	<p>- 기능성 요구르트 제조 protocol 완성</p>  <p>- 요구르트의 품질 검사</p>  

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 마늘 발효 균주의 선발과 분석	- 유용 미생물 분리로 마늘 발효에 적합한 균주를 선발하고 생리/유전학적 분석을 통해 효과적인 발효 방법을 개발
② 마늘 발효장치의 설계 및 제작	- 개발된 발효방법을 토대로 발효장치를 개발하고 단계적으로 scale up하여 대량 생산 시스템을 개발함
③ 마늘 발효 요거트 시제품 제조	- 고객층의 세분화를 고려하여 요거트 시제품을 제조하고 기호도 평가를 수행하였음

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표	정책 활용			홍보 전시		
												SCI	비SCI						논문 평균 IF	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	10	10		10		20			20			10	10		20		10			
최종목표	1	1		1		3			2			1	3		3		3			
연구기간내 달성실적	2	1		1		5	55		3			1	4		13		6			
달성율(%)	200	100		100		167	초과 달성		150			100	134		430		200			

4. 핵심기술

구분	핵심 기술 명
①	마늘 발효 균주의 선발
②	마늘 발효장치의 설계 및 제작
③	마늘 발효 요거트 시제품 제조

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화흡수	외국기술 개선개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술					V	V				
②의 기술					V	V				
③의 기술					V	V				

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	마늘 뿐만 아니라 타 식품에도 활용하여 최적의 발효 균주를 제공 가능
②의 기술	타 식품군의 발효에 적합한 발효장치의 설계 및 제작기술을 제공할 수 있음
③의 기술	발효 요거트의 제조방법과 그 품질관리 방법 등을 기술 이전하여 사업화 가능성

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문 SC I	비 SC I	논문 평균 IF			학술발표	정책 활용	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치																			
최종목표	1	1		1		3	600		4		1	3		5		5			
연구기간내 달성실적	1								1			2		2		2			
	1					1			1			1		3		2			
연구종료후 성과창출 계획		1		1	5	5			1		1	1		8		2			
							600		2					2		2			

<뒷면지>

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.