

발간등록번호

11-1543000-001267-01

**주조용 과실 품종 선발 및 고품질 안전한
과실증류주 제조 기술 개발**

(Selecting fruit for liquor and Development of the
technology for production of premium-safety fruit spirits)

(주)배혜정도가

농림축산식품자료실



0006584

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “주조용 과실 품종 선발 및 고품질 안전한 과실증류주 제조 기술 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016년 01월 30일

주관연구기관명 : (주)배혜정도가

주관연구책임자 : 심 형 석

세부연구책임자 : 심 형 석

협동연구기관명 : 경기도농업기술원

협동연구책임자 : 박 인 태

협동연구기관명 : 단국대학교

협동연구책임자 : 정 윤 화

요 약 문

I. 제 목

주조용 과실 품종 선발 및 고품질 안전한 과실 증류주 제조 기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

본 연구과제의 최종 목적은 주조용 과실(포도)품종을 선발하고 과실 증류주의 유해물질을 주류 선진국 기준 이하로 제조할 수 있는 기술을 개발하여 한국형 과실증류주(브랜드)를 양산하고자 함. 또한 고부가가치 과실 증류주 제품 개발 및 양산을 통하여 농가의 소득을 증대하고 잉여농산물 및 자연재해로 인한 과실의 소비를 촉진하는데 기여하고자 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 과실 증류주용 포도 품종 적합성 평가

- 포도 품질 및 수확량 기준 양조 적합 품종 1차 선발
- 유해물질 저감 및 고품질 과실 증류주용 품종 2차 선발(적포도 1종, 청포도 1종)

2. 안전한 과실 증류주 제조기술 개발을 위한 발효 조건의 최적화

- 쌀, 포도, 미숙성 과실(사과)을 사용한 증류주 술덧의 발효 시 유해물질을 저감시킬 수 있는 전처리 방법 선정
- 쌀, 포도, 미숙성 과실(사과)을 사용한 증류주 술덧의 발효 시 유해물질을 저감시킬 수 있는 효모의 선발
- 쌀을 이용한 블렌딩 베이스 최적 발효조건을 위한 당화효소 선발

3. 안전한 과실 증류주 제조기술 개발을 위한 증류 조건의 최적화

- 쌀, 포도, 미숙성 과실(사과) 발효주 종류에 따른 증류방식, 증류기 재질, 증류 가열방식, 구리촉매변환장치 사용여부에 따른 방식 유해물질 비교 분석 및 유해물질 저감을 위한 증류조건 확립

4. 안전한 과실 증류주 제조기술 개발을 위한 숙성 및 블렌딩 조건의 최적화

- 쌀 및 과실 증류주의 숙성 시 용기별 유해물질 비교·평가
- 쌀 및 과실 증류주의 저장 온도에 따른 유해물질 비교·평가
- 쌀 및 과실 증류주의 유통 시 빛의 노출 정도에 따른 유해물질 비교·평가
- 단기 숙성 증류주의 블렌딩 진행 및 소비자 조사를 통한 제품 평가

5. 안전한 과실 증류주 평가를 위한 전문 묘사분석 패널 선정 및 양성
- 안전한 과실 증류주 평가를 위한 전문 묘사분석 패널 선정 및 양성
 - 안전한 과실 증류주용 Lexicon 개발 및 검증
 - 전문 묘사분석 패널을 통한 안전한 과실 증류주 제조 기술 개발
 - 소비자 조사

V. 연구개발결과

- 안전한 과실 증류주 발효조건의 확립
- 안전한 과실 증류주 증류조건의 확립
- 안전한 쌀 증류주의 누룩취 저감 당화효소 선발
- 주조용 포도 품종 2종 선발 및 재배 교육, 재배 협약
- 안전한 과실 증류주 제조 기술 개발 이전
- 안전한 과실 증류주 대량 생산 시스템 구축 및 양산

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

본 과제에서는 안전한 과실 증류주용 포도 품종을 2종 선발하였으며 그 중 청포도(경조정)의 경우 화성시 농가에 재배교육을 진행하고 공급에 대한 MOU를 체결하였으며 과실 증류주용 포도 품종을 지역 농가로부터 공급받아 지역과의 상생을 도모하고자 함.

본 과제를 통해 기술 이전되고 상품화 된 단기 숙성 안전한 과실 증류주는 일련의 마케팅 과정을 거쳐 판매 촉진을 진행하고 있음. 본 상품의 판매가 활성화 될 시 획일화된 포도 품종에서의 변화를 통한 농가의 소득 증대 및 안정성을 초래할 수 있으며 자연재해 및 잉여농산물로 인한 농가의 피해를 최소화할 수 있는 고부가 가치 가공품의 표본이 될 수 있음. 또한, 국내에는 없는 주류 선진국의 유해물질 기준에 적합한 제조 기술을 통하여 수출 및 세계화 주류 진입을 시도하고자 함.

본 연구과제로 도출된 결과로 상품화 5건, 기술실시 1건, 교육지도 1건, 언론홍보 2건을 진행하였으며. 특허 2건 출원하였고, 논문 8 편 투고 및 투고할 예정임.

SUMMARY

I. Title

Selecting fruit for liquor and Development of the technology for production of premium-safety fruit spirits

II. Research Objective and Necessity

1. Objective

The objectives of this research were to find out proper grape varieties for making premium-safety fruit spirits, to develop processing techniques for fruit spirits that had similar quality to premium imported spirits and liquors, and to make Korean premium fruit spirits. High-value spirits can strive to increase rural household incomes by using agricultural surplus and/or immatured fruits.

III. Summary of Research

1. Evaluation of grape varieties for distillation

- The first selection based on grape quality and yield
- Final selection of red and white grape varieties based on reduction of hazardous chemicals

2. Optimization of fermentation conditions for making premium-safety fruit spirits

- Determine pre-treatment of mash or must for minimizing hazardous chemicals during fermentation
- Select yeasts for optimal fermentation in the minimization of hazardous chemicals
- Select enzymes for optimal fermentation of rice spirits as a base spirit

3. Optimization of distillation condition for making premium-safety fruit spirits

- Apply different distillation system, heating method, and filtration to reduce hazardous chemicals in spirits

4. Optimization of storage and blending of premium-safety fruit spirits

- Compare hazardous chemicals in rice and fruit spirits during storage period
- Compare hazardous chemicals in rice and fruit spirits during storage temperature
- Compare hazardous chemicals in rice and fruit spirits under the lighting condition
- Conduct consumer acceptance test for short-term stored spirits

5. Developing descriptive analysis panelists for spirit evaluations

- Train descriptive analysis panelists for the evaluation of premium-safety fruit spirits
- Develop lexicon for premium-safety fruit spirits
- Develop premium-safety fruit spirits with the trained panelists
- Conduct consumer acceptance tests for premium-safety fruit spirits

V. Result

- Determine fermentation conditions for making premium-safety fruit spirits
- Determine distillation conditions for making premium-safety fruit spirits
- Select enzymes to produce premium-safety rice spirit with low yeasty aroma and flavor
- Select two grape varieties for alcoholic beverages, perform growing techniques, and make an agreement for growing
- Transfer processing methods for making premium-safety fruit spirits
- Set up a mass production system for making premium-safety fruit spirits

VI. Output and Future Plan

As results of this project, two grape varieties were selected for making premium-safety fruit spirits. An education program for growing was carried out for the selected white grape with several owners of grape orchard. The memorandum of understanding (MOU) for supplying white grape was treated.

The commercialized fruit spirits are stretching to the market with marketing campaigns. As more spirits are sold the income of orchard will be increased and the orchard can sell their grapes continuously. Additionally, globalization of Korean spirits will be accomplished by making similar quality of fruit spirits in comparison with Western spirits such as whisky and brandy.

Throughout this project, there were five items that were commercialized, one technology transfer, one education program, two public relations. Two patents were submitted. Three Korean scientific articles (KCI) were published and one will be published in January. Two international scientific articles (SCI(E)) were published and 2-3 articles will be submitted soon.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	8
Chapter 2. The status of domestic and foreign technical development	13
Chapter 3. Contents and results of study	14
Chapter 4. Purpose achievement and contribution degree on field of the study	541
Chapter 5. Achievement of the study and application plan of the results	545
Chapter 6. Collected foreign scientific technology information for studying	549
Chapter 7. Current status of research installation	550
Chapter 8. Reference	551

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 및 성과목표	8
제 2 장	국내외 기술개발 현황	13
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	14
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	541
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	545
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	549
제 7 장	연구시설·장비 현황	550
제 8 장	참고문헌	551
첨부	특허, 논문 및 시장분석	

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

1절. 연구개발의 목적

- 새로운 품종의 개발이 아닌 현실성 있는 주조용 과실(포도)품종의 선발을 통하여 세계화 과실 증류주의 개발을 진행하고자 한다.
- 미숙성 과실(사과)을 활용한 과실증류주의 개발을 통해 그 가능성을 확인하고 각종 재해로 인한 과실 농가의 피해를 최소화하는데 기여하고자 한다.
- 과실과 곡물(쌀) 숙성 증류주의 블렌딩을 통한 한국형 브랜드(일반증류주)의 개발을 진행하고자 한다.
- 과실과 곡물 숙성 증류주의 발효 및 증류, 숙성 조건의 유해물질 저감 최적화 제조기술을 토대로 제품을 개발 및 양산하고자 한다.

2절. 연구개발의 필요성

- 국내 과수 생산량의 대부분은 과육 상태로 사용되며, 가공되는 량은 생산량의 10% 내외로 출하 시기나 재해로 인해 과수 농가의 소득은 안정하지 못한 상황이며 과수 비교 우위국가들과의 FTA 협정으로 인한 과수 시장 압력으로 인하여 농가의 불안감은 커져가고 있는 상황임. 증류주의 제조는 발효주에 비하여 원료에 대한 소비 기여가 크고 특히 과실증류주 제조를 위한 주원료로 주조용 포도나 미숙성과실, 자연재해 과실을 이용하여 농민들의 자연재해나 FTA로 인한 타격을 줄일 수 있고, 원료의 고부가가치를 부여함으로써 계약재배나 선 수매를 통하여 농가 소득 증대에 기여할 수 있음.
고품질 증류주의 원료의 다양화, 고부가가치화로 내수 시장은 물론 수출 시장에서도 경쟁력을 높일 수 있어 원료 농산물의 대외 경쟁력 제고와 산업 진흥에 따른 새로운 성장 동력원으로 활용이 가능함.
- 국내산 과실주의 출고량은 2006년부터 꾸준히 감소하고 있으며 그 감소량을 수입 과실주가 대체하고 있음. 국내산 과실주의 감소는 복분자를 이용한 주류의 소비 감소도 있지만 국산 와인의 경우 FTA 협정 이 후 수입 와인의 가격 경쟁력 뿐만 아니라 향기와 맛에서도 수입 와인에 못 미치는 실정임.
꼬냇의 경우 석회질 토양에서 산도 높고 당도가 낮아 와인용으로 부적합한 포도를 사용해 제조하기 시작한 브랜드의 일종임. 알코올 발효 시 산도가 높으면 발생한 알코올과 결합 해 에스테르 등의 향기성분의 발생이 많아짐. 따라서 좋은 향을 위해선 산도가 높은 주조용 품종의

선별이 필요함.

○ 증류주의 제조 공정에서 원료, 효모의 종류, 배양조건 및 자기소화 정도, 발효상태, 증류조건, 저장조건 등에 따라 휘발성 향기 성분은 매우 다양함. 따라서 훈련된 전문 패널에 의한 증류주 향기성분에 대한 객관적 평가가 매우 중요함.

증류주의 휘발성 향기 성분을 다양한 증류주의 제조방식에 따라 화학적으로 분석하고, 훈련된 전문적인 패널에 의한 관능평가를 통한 향기 성분의 규명과 최적 함량을 결정하는 것은 중요한 의의를 지님.

또한, 증류주는 높은 알코올 농도 (40%이상)를 함유하고 있기 때문에 일반 식품에 적용되는 관능검사 프로토콜을 사용하면 알코올에 의한 관능피로도, 맛, 향의 둔화, 강화 등 많은 bias가 발생되어 결과의 오류를 범할 수 있어, 개발되는 증류주의 종류와 특성에 맞는 우리 고유의 관능평가 프로토콜의 표준화 및 확립이 필요함.

○ 에틸카바메이트 (EC)는 세계보건기구(WHO) 국제암연구소에 유방암 및 대장암 관련 발암성 물질로 규정된 물질로 농작물의 재배 시 질소비료의 사용이 증가함에 따라 검출량이 증가하고 있는 실정이어서 EC의 존재는 발효주와 증류주에 지속적으로 문제가 대두되고 있음.

EC는 발효, 증류주의 발효, 증류, 저장, 유통 단계에서도 화학물질과 금속의 존재, 온도, 빛 등 다양한 요인에 의해 증가함. 그러므로 그 원인을 규명하는 연구 뿐만 아니라 원료 곡물을 이용하여 발효하는 효모의 종류부터 시작하여 증류주 생산 전 공정에 걸쳐 EC 저감화를 위한 연구의 필요성이 절실함.

2011년 4월에는 식품의약품안전청에서 “주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼”을 발간하여 곡류를 주원료로 한 증류주 제조공정상의 중요관리점을 제공하여 법적 구속력은 없으나 주류 제조업체에 하나의 지침서로 활용할 것을 권고하고 있음.

본 연구에서는 알코올과 향미성분의 생성능이 우수한 효모뿐만 아니라 발효 공정을 조절함으로써 EC의 생산을 저감화 시킬 수 있는 효모를 선별하고, 증류와 숙성 공정에서는 증류장치와 숙성 저장 용기의 재질별 EC, 황화합물 등 유해물질 생성 가능한 물질들을 모니터링하여 증류 공정상의 유해물질 저감화를 연구하고자 함.

3절. 연구개발 범위

1. 제 1세부 : 고품질 안전한 과실 증류주 제조 및 각 공정의 산업화 기술 개발

- 미숙성 과실(사과), 쌀, 포도(선발된 품종)를 활용한 발효조건의 최적화
- 발효주 종류에 따른 증류방식, 증류기 재질, 증류 가열방식의 채택
- 단기 숙성 방식의 최적화
- 각 공정의 산업화 기술 개발

2. 제 1협동 : 유해물질 저감화를 위한 고품질 과실 증류주 안전 제조기술 개발

- 국내 생산 과실 증류주용 품종 적합성 평가

- MLF(Malolactic fermentation)를 이용한 유해물질 저감화 발효기술 개발
- 과실 증류주용 유해물질 저감화를 위한 발효, 증류, 숙성조건 확립
- 과실 증류주용 과실의 유해물질 저감화 전처리 공정 기술 개발
- 과실(포도) 증류주용 품종보급 및 재배 지도 교육

3. 제 2협동 : 고품질 안전한 과실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능평가

- 유해물질 저감을 위한 과실 증류주용 효모 선발
- 증류주의 화학적 평가 및 프로토콜 개발
- 고품질 안전한 과실 증류주의 관능특성 과학적 평가 및 최적화
- 증류주 lexicon 및 관능평가 표준 프로토콜 개발
- 증류 조건 및 숙성조건의 최적화를 위한 관능평가
- 품질 관리 규격 및 관능평가 표준화 tool 개발

4절. 연구개발 성과 목표

1. 연구성과 목표

(단위 : 건수)

구분		특허		상표화				(예시) 유전자원 등록	논문		기타
		출원	등록	상표 명칭 등록	상표 생산	상표보호			SCI	비SCI	
						출원	등록				
1차 년도	목표										
	달성										1 (포스터발표)
2차 년도	목표	1						2	2		
	달성	1									1 (포스터발표)
3차 년도	목표	1			2			2	2		
	달성	1			5	1		2	4		4 (포스터발표)
계	목표	2			2			4	4		
	달성	2			5	1		2	4		6

가. 특허

- 2014.02.21, 누룩취가 저감된 발효주의 제조방법
출원등록번호10-2014-0020014
- 2015.09.24, 단식-연속식 복합 증류방식을 이용한 증류주의 제조방법
출원등록번호10-2015-0135821

나. 상품생산

- 담금나라 : 2015년 10월부터 현재까지 공정이 개선된 제품 출시 중
- 배도가로아19 화이트 : 2016년 1월 제품 출시

- 배도가로아40 화이트 : 2016년 1월 제품 출시
- 배도가로아19 옐로우 : 2016년 1월 제품 출시
- 배도가로아40 옐로우 : 2016년 1월 제품 출시

다. 논문

- SCI : (1) Influence of yeast strains on the physicochemical characteristics, methanol and acetaldehyde profiles and volatile compounds for Korean rice distilled spirit, Journal of the Institute of Brewing(2015)
(2) Effectiveness of palate cleansers on various alcoholic beverages, Journal of the Institute of Brewing(2015)
- 비SCI : (1) Quality characteristics and quantification of acetaldehyde and methanol in apple wine fermentation by various pre-treatments of mash, Preventive Nutrition and Food Science(2015)
(2) Reduction of Nuruk Flavor in Korean Rice-Distilled Liquor Using Sumizyme trade;, 한국식품영양과학회지(2015)
(3) 단감 증류주의 품질 및 관능 특성, 한국식품영양과학회지(2015)
(4) 발효온도가 사과와인 품질특성에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지(2016)

라. 학술발표

- (1) 허예성. Comparison of Fermentative Properties of Makgeolli by Various Yeasts. 2013년 한국식품과학회 Poster
- (2) 최영기,곽한섭,엄태길,임현화,배영훈,천승의,이영승,김미숙,김성환,정윤화. Reduction of Nuruk flavor in Korean traditional rice distilled spirits using SymizymeTM, 2014년 한국식품영양과학회 국제 심포지움 및 학술발표, Poster
- (3) 천승의. Quality Characteristics and Analyses of Acetaldehyde and Methanol in Apple Wine Fermentation by Various Pre-treatments of Mash, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster
- (4) 최영기. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production, Hazardous Materials and Sensory Profile of Rice Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster
- (5) 배영훈. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production Profile, and Contents of Methanol, Acetaldehyde and Urea of Apple Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster
- (6) 임현화. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production Profile, and Contents of Methanol, Acetaldehyde and Urea of Red Grape Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster

2. 연구성과 활용 목표

(단위 : 건수)

구분		기술실시(이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타
활용건수	목표	1	2		1	1	
	달성	1	5 (제품4종,공정개선 1건)		1	2	연구인력 양성 1건

가. 기술실시

- 기술실시 계약명 : 안전한 과실 증류주 제조기술 이전
- 기술이전일 : 2015년 9월 30일
- 기술이전 업체 : (주)배혜정농업회사법인

나. 상품화

- (1) 기술이전 업체의 생산제품에 사용되는 쌀 증류주의 발효주 및 증류에 대한 제조기술 개선
- (2) 안전한 과실 증류주 제조기술에 대한 연구 결과를 바탕으로 기술실시 기업을 통해 총 4종(배도가로아40 화이트, 배도가로아19 화이트, 배도가로아40 옐로우, 배도가로아19 옐로우)의 제품을 상품화시킴

다. 교육지도

- 교육명 : 경기도포도연구회 경기 명품포도 경쟁력강화 기술세미나
- 교육기관 : 경기도 농업기술원
- 교육대상 : 포도연구회, 시군 및 도원 관계관

라. 언론홍보

- (1) 매체명 : 조선닷컴
 제 목 : 배혜정농업회사법인, 고급 증류주 '배도가로아' 출시
 홍보일시 : 2016년 1월 18일
- (2) 매체명 : 경기일보
 제 목 : 배혜정도가, 양조용 포도 품종재배 추진
 홍보일시 : 2016년 1월 27일

마. 인력양성

인력양성명	인력양성연도	성과발생연도	인력양성내용	학위	전공	성별
석사 인력양성	2015	2015.02	석사학위취득 (허예성)	석사	식품영양	남

제 2 장 국내외 기술개발 현황

○ 국내 증류주 제조기술의 경우 증류주용 효모의 선발 및 증류주용 과일 선정, 증류조건에 최적화 등에 활발한 연구개발이 이루어지고 있으나 유해물질에 관한 연구는 저비점 유해물질에 중점을 두어 개발되고 있음. 그러나 이러한 기술 중에는 에틸카바메이트 관련된 기술은 미비한 상황이며 저비점 유해물질의 경우에도 발효부터 시작되는 일련의 과정 전체를 아우르는 기술에 관한 것이 부족한 상황이다. 또한 증류 조건을 설정하는데 있어서도 초류, 본류, 후류를 구분하는데 있어 일정한 증류액의 양으로 분획하여 각 분획의 유해물질의 함량 등을 확인하고 그에 따라 초류, 본류, 후류를 구분한 결과가 없어 해외 기술을 참조하여 사용하는 경우가 많다.

○ 본 연구과제에서는 유해물질이 저감된 안전한 증류주를 제조하는 데 있어 발효부터 숙성에 이르기까지의 전반적인 기술을 확보하고자 하며, 특히 증류 과정에서는 수득되는 일정한 증류액 단위로 분획하여 각 분획별 유해물질을 확인하고 그에 맞춰 초류, 본류, 후류를 결정하고자 한다.

○ 해외의 증류주 제조기술의 경우 증류방법에 따른 유해물질 분석 및 에틸카바메이트 저감을 위한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 또한 주류별 에틸카바메이트 저감 권고문을 작성하여 각 주류회사에 권고하고 있는 상황이며 캐나다, 체코 유럽 등의 주류 선진국의 경우 에틸카바메이트 함량을 법적으로 규제하고 있다. 국내에서도 2011년 4월 식품의약품안전처에서 “주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼”을 발간하여 중요 관리점을 지침서로 권고하고 있으나 이는 국내 연구를 통한 매뉴얼이 아닌 해외 권고문 및 논문을 토대로 작성된 매뉴얼이다.

○ 본 연구과제에서는 유해물질 저감을 위한 증류주의 제조기술을 전 공정에서 연구하며 특히 에틸카바메이트의 저감 방안을 각 원료, 발효, 증류, 숙성, 저장, 유통 등에 아우러 마련하여 국내 증류주 제조 기술에 이바지 하고자 하며, 주류 수출과 국내 유해물질 기준 추가를 대비하는데 제반 기술을 확보하였다는데 큰 의의가 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1절. 안전한 과실 증류주의 발효 조건 최적화 및 주조용(포도) 품종 선발

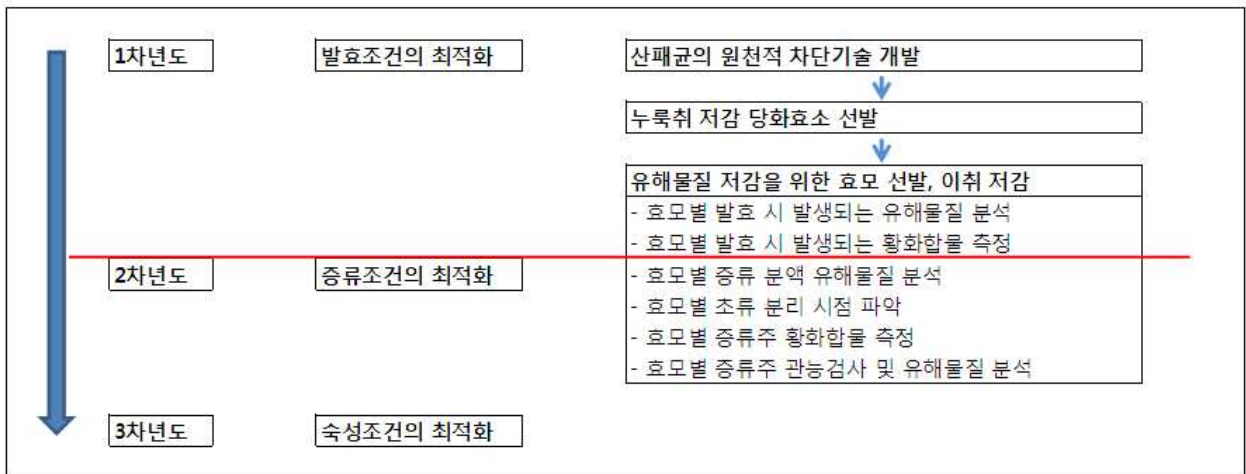
1. 안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조기술 개발

연구개발 목표

- 한국형 브랜드/ 일반증류주의 개발을 위해 쌀을 이용한 블렌딩 베이스 발효조건 확립
- 발효 시 발생하는 산패균의 원천적 차단
- 누룩취 저감을 위한 당화 효소 선발
- EC 등의 유해물질 저감을 위한 효모 선발
- 이취를 유발하는 황화합물 저감을 위한 발효 조건의 확립

-연구개발 진행도

안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발 진행 방향(1차년도)



가. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스 최적 발효조건을 위한 산패균의 원천적 차단

(1) pH 조정에 따른 발효경과 및 산패균 차단

발효 시 발생하는 산패균으로는 젖산균, 초산균 등으로 알코올 발효를 저해시키며 이취 등을 발생시키는 것으로 알려져 있다. 또한 최근 발표한 ‘생막걸리 보존성 및 품질향상을 위한 식물약제 선발 연구’(2013년, 농림축산식품부과제, 주관기관: 한국식품연구원, 우리술연구센터)에 따르면 생막걸리의 산패 원인균 선정에서 온도별로 저장한 시판 막걸리에서 DNA를 추출하고 PCR 방법을 이용하여 DNA 증폭 후 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)를 사용 후 염기서열을

분석한 결과 저장시간 경과에 따라 늘어난 세균, 즉 산패균으로 *Lactobacillus sp.*를 선정하였다. 이에 따라 발효 이후에 식물약재를 투입하여 산패균을 억제시키는 방법을 연구하였으나 본 연구에서는 발효 초기의 유용미생물의 안정을 위해 유해미생물의 최적 pH 이하의 조건을 형성시켜보는 실험을 진행하여 원천적인 차단을 하고자 한다.

*Lactobacillus sp.*속의 경우 균주에 따라 차이를 보이기는 하지만 보통 pH 5~6의 범위에서는 pH의 영향을 거의 받지 않으며 pH 5.0이하에서는 사멸률이 높아진다.(1990년, 신광출판사, 식품미생물학 257p, 하덕모)

젖산은 발효 위해 미생물을 억제하는 결과(2012년, 한국식품저장유통학회, 젖산 농도별 주모에 따른 막걸리의 품질 특성, 허창기·이중원·김용두)가 있을 뿐만 아니라, 산도 조절 면에서는 쉽게 구할 수 있는 구연산, 호박산 등에 비해 투입량 대비 산도조절력이 적어 최종 제품에 영향을 적게 주므로 본 실험에서는 pH를 조절하는 인자로 젖산(Lactic acid)을 선택하였다.

<실험방법>

현재 (주)배혜정도가의 증류주용 담금 방식은 다음과 같다. 쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고운체에 받쳐 30분간 물빠기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25℃의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀증류주용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 증자발효법에서 물빠기가 완료된 쌀은 121℃, 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다. 효모(S.I.Lesaffre社, La Parisienne)는 활성을 갖게 하여 30℃까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 20~25℃로 설정하며 이때 젖산을 사용하여 pH를 4.0에서 3.0까지 0.2 단위로 실험군을 형성한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 발효의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단발효는 효모의 활성과 번식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록 한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 본 실험에서는 (주)배혜정도가의 쌀 품종인 추청을 사용한 발효방법을 사용한 것에 pH를 조절하지 않은 것을 대조군(control)으로, 담금 직 후 젖산을 이용하여 pH 4.0, pH 3.8, pH 3.6, pH 3.4, pH 3.2, pH 3.0을 실험군으로 하며 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국세청 기술연구소 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며 일자별 400배로 현미경 검경을 실시하여 산패균에 의한 오염 여부를 검경하였다. 각 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중 : 온도계와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

표 1-1. 담금 직 후 pH별 실험 담금 방법

	담금 직후 pH에 따른 실험군													
	control		pH 4.0		pH 3.8		pH 3.6		pH 3.4		pH 3.2		pH 3.0	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
물(ml)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	40.9		40.9		40.9		40.9		40.9		40.9		40.9	
AS(g)	4.8		4.8		4.8		4.8		4.8		4.8		4.8	

표 1-2. 당화효소의 당화력 (단위 : sp/g)

	control
RH(sp)	176,472
AS(sp)	46,560
쌀 4,800g 사용 총 당화력	223,032

<결과 및 고찰>

발효경과 중 pH의 경우 control과 pH 4.00, pH 3.80에서 표준편차가 0.1 이상 발생된 것이 일자별 2~3회 발견되었으며 pH 3.60 이하로 내려갈수록 표준편차 범위가 줄어드는 것을 볼 수 있다. 표준편차의 범위가 큰 것은 산패에 의한 변수로 보여지며 현미경 검경 시 정상 발효 상태와 산패균에 의한 오염의 형태는 확실히 구분할 수 있다. Control에서부터 pH4.00, pH3.80에서는 시야당 3마리 이상의 단간균이 발견되며 일자가 경과할수록 늘어나며 장간균의 형태까지 관찰된다. pH 3.40에서의 일자별 검경에서는 4일차에서 시야 당 간헐적으로 단간균이 보였으나 위해 미생물이 아니거나 유용미생물의 우위에 따라 사멸된 것으로 간주된다. pH3.20와 pH3.00의 경우 발효 경과 상 단간균이 검경되지 않았다. pH 3.00~pH 3.40의 경우에는 1일차에서 2일차로 접어들 때 pH가 상승되며, pH 3.60~control까지는 반대로 1일차에서 2일차로 접어들 때 pH가 감소하는 것을 볼 수 있다. 이는 (주)배혜정도가에서 사용하고 있는 당화효소 RH와 AS에 의한 것으로 여겨지며 사용하는 효소는 발효 시 산을 생성시키면서 고산도 내성균의 적응력 향상을 위한 순양법을 적용시켰기 때문에 control에서 pH3.60까지는 pH가 감소한 것으로 사료되며, 그 이하의 pH의 경우 적응량 이상의 산도와 pH에 의해 산 생성능력이 다소 감소한 것으로 여겨진다.

산도의 경우, 담금 직후 pH 조절 량에 따라 초기 산도가 결정되어 pH가 낮을수록 초기 산도가 높은 것으로 나타나며, 담금 방법에서 당화효소의 투입량이 1단과 2단으로 나누어 있지 않고 발효 안정 및 고두밥의 과열 등을 막기 위해 초기 1단에 당화효소를 모두 투입한 것에 의해 1일차, 2일차까지는 유해미생물로부터 안정되어 전체적으로 표준편차가 높지 않다. 하지만 초기 이후의 산도는 표준편차 부분에서 control과 pH4.00, pH3.80의 경우 0.5이상의 편차가 발생하는 것이 다수 확인되며, control과 pH4.00의 경우 표준편차는 2.00에 가깝게 형성되며 실제 산도에서는 3.0이상 차이 나는 실험군도 존재하였다. 현미경 검경 상에서도 나타났듯이 산패균에 의한 오염으로 인한 편차로 확인되었으며 산패균의 증식에 따라 산도가 증가한 것으로 사료된다. pH가 낮을수록 표준편차의 범위가 적으며 최종 산도의 경우 최종 발효 일자에서 가장 낮은 3.2대를 유지 하였으며 pH 3.00의 경우 3.5 이상의 산도가 유지되는 것을 볼 수 있다.

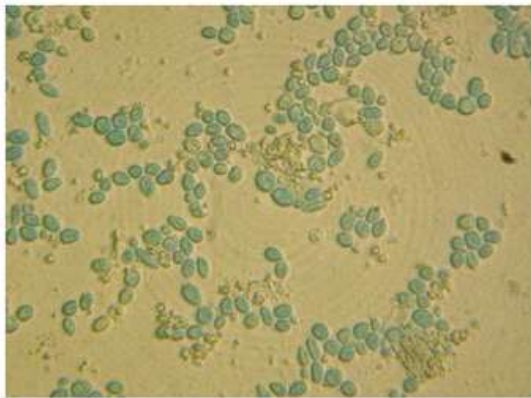
알코올의 경우 실험군 별 전체적인 곡선의 형태는 유사하게 나타나나 control과 pH4.00에서는 표준편차가 0.8 이상 나타나는 일자가 많으며, pH가 낮을수록 편차의 범위가 좁은 것으로 나타난다. 현미경 검경 상 오염으로 판단된 실험군의 경우 최종알코올 도수가 16도(v/v%) 미만으로 생성되었으며 이는 효모의 먹이와 동일한 먹이를 섭취하는 산패균의 섭취 및 증식 여부에 의해 생성된 오차로 판단된다. 1일차와 2일차에서 알코올의 가파른 상승곡선은 1단에 투입된 과량의 당화효소에 기인되며, 증가 이후 3일차에서 감소하는 것은 2단 담금이 진행되었기 때문이다. 이후 완만한 곡선을 형성하며 증가되며 8일차와 9일차에서 평형을 이루게 된다.

당도의 경우 전체적인 실험군의 그래프가 동일한 형상을 나타내며 control과 pH4.00에서는 표준편차 0.5 이상인 일자가 발견된다. 나머지 실험군에서의 표준편차는 0.5 이하로 나타나며 빛의 굴절에 의한 당도이므로 큰 차이는 발견 되지 않는다. 증자발효법이고 당화효소의 1단 집중투입의 형태이므로 1일차에서 2일차로 진행될 시 급격한 감소 곡선이 나오며 2일차와 3일차에서는 담금에 의한 완만한 곡선이 생성되며, 이후 다시 감소 곡선이 나타난다. 9일차의 경우 control 대비하여 모두 표준편차 내에 형성되는 분석결과가 나왔다.

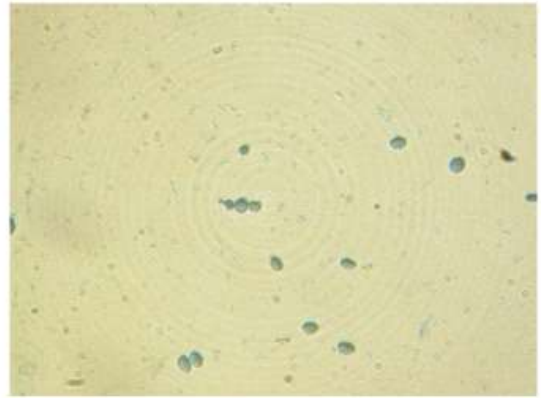
비중의 경우 알코올 곡선과 상반되는 그래프가 형성되며, 원료의 당화, 알코올의 생성에 의해 비중의 감소가 진행된다. 따라서 발효의 정상 척도로도 활용될 수 있으며 기준점으로 활용이 가능하다. 비중은 대부분 유사한 곡선을 형성하나 pH4.00에서 4일차 이후 타 실험군에 비해 완만한 감소곡선이 형성되었다. 이는 산패균의 증식 및 오염도에 의한 것으로 사료되며, 표준편차 또한 0.01 이상이 발생하는 유일한 구간이기도 하다. 전체적으로 1일차에서 2일차까지 감소, 이후 2단담금에 의한 3일차의 상승, 9일차까지 감소추세로 일괄되며 8일차에서 9일차 사이는 발효 종료에 의해 평형이나 약간의 상승이 진행된다.

현미경 검경과 이화학적 분석을 바탕으로 control과 pH 4.00, pH 3.80에서는 산패균에 의한 오염이 발견되었으며, pH 3.60과 3.40에서는 산패균으로 추정되는 단간균이 간헐적으로 확인되는 바 pH 3.20이하를 산패균으로부터 안정적인 발효를 할 수 있는 실험군으로 설정하게 되었으며 pH 3.00의 경우 안정하기는 하나 최종제품에서의 산도나 타 효모의 사용 시 저해 등이 발생할 수 있는 사유로 우선 배제하기로 한다.

그림 1-1, 정상 발효주와 산패균에 의한 오염 발효주 현미경 검경(400배)



정상발효 6일차 현미경 검경사진



산패균에 의한 오염 발효 6일차 현미경 검경사진

그림 1-2. 담금 직 후 pH별 발효경과(pH)

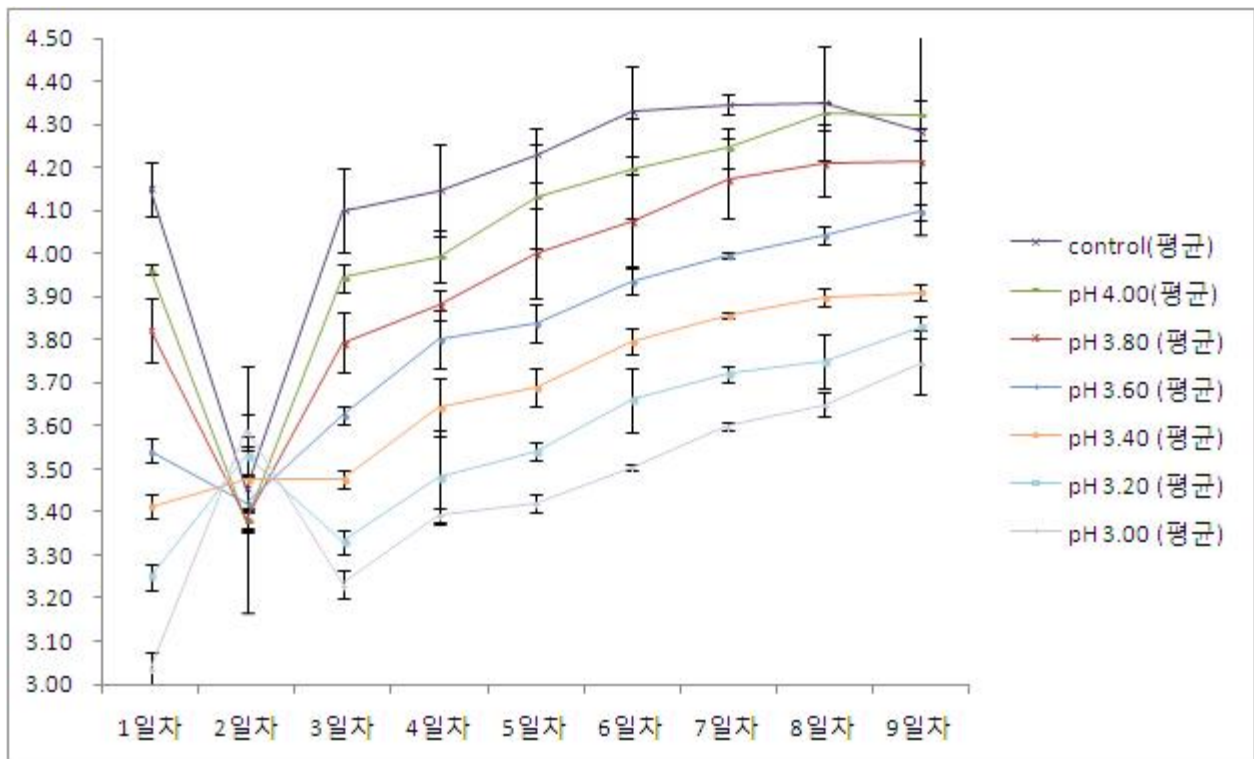


그림 1-3. 담금 직 후 pH별 발효경과(산도(적정산도))

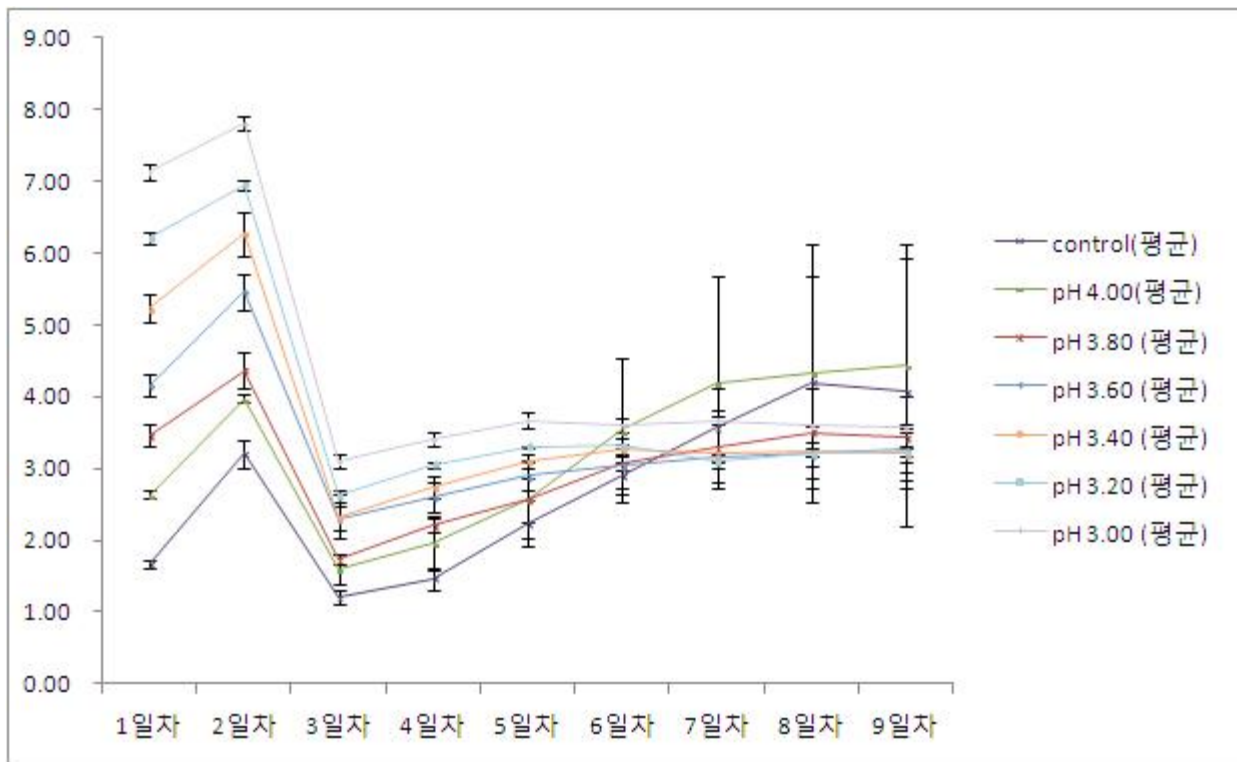


그림 1-4. 담금 직 후 pH별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

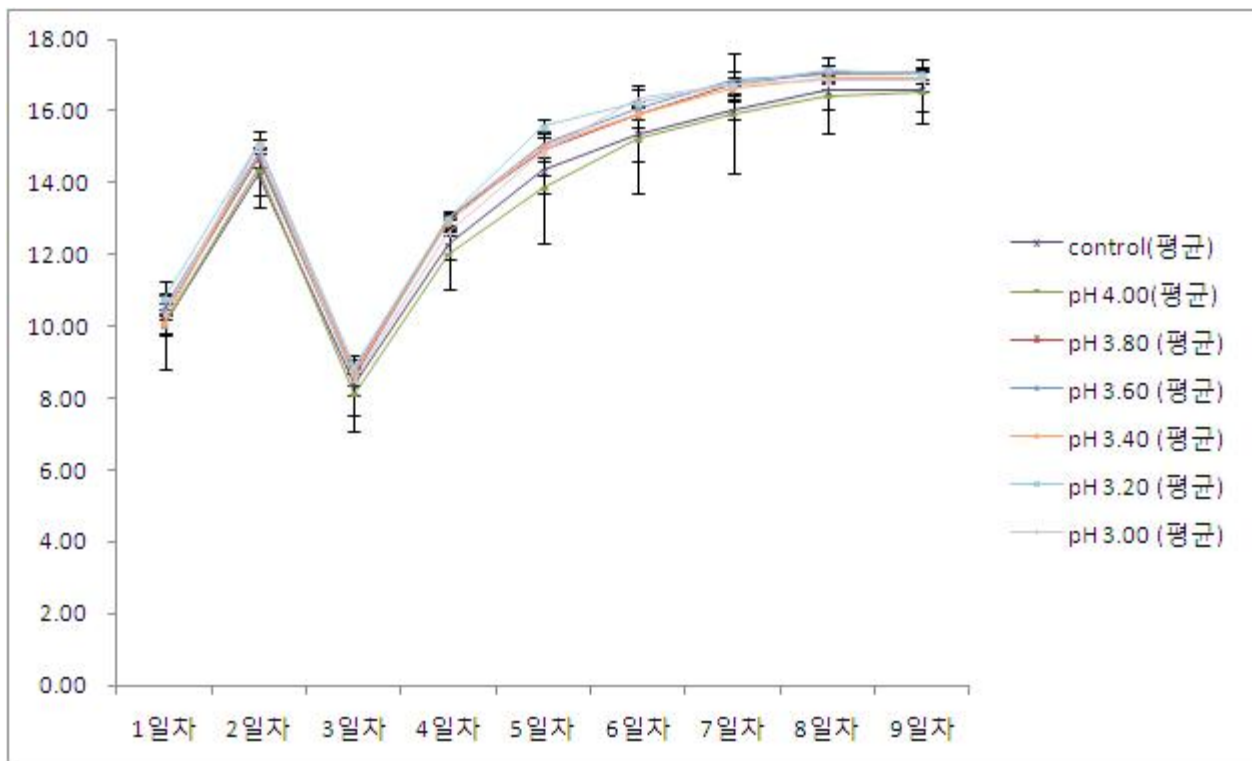


그림 1-5. 담금 직 후 pH별 발효경과(당도(단위: °Brix))

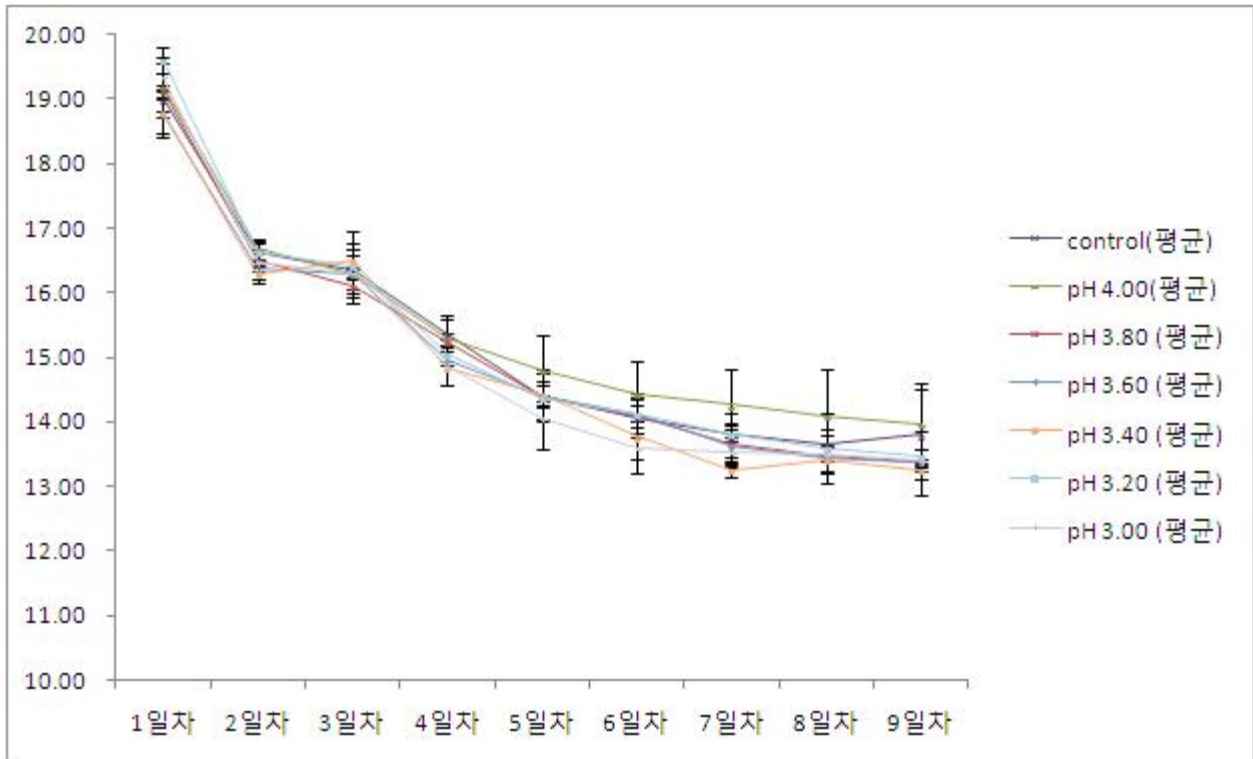
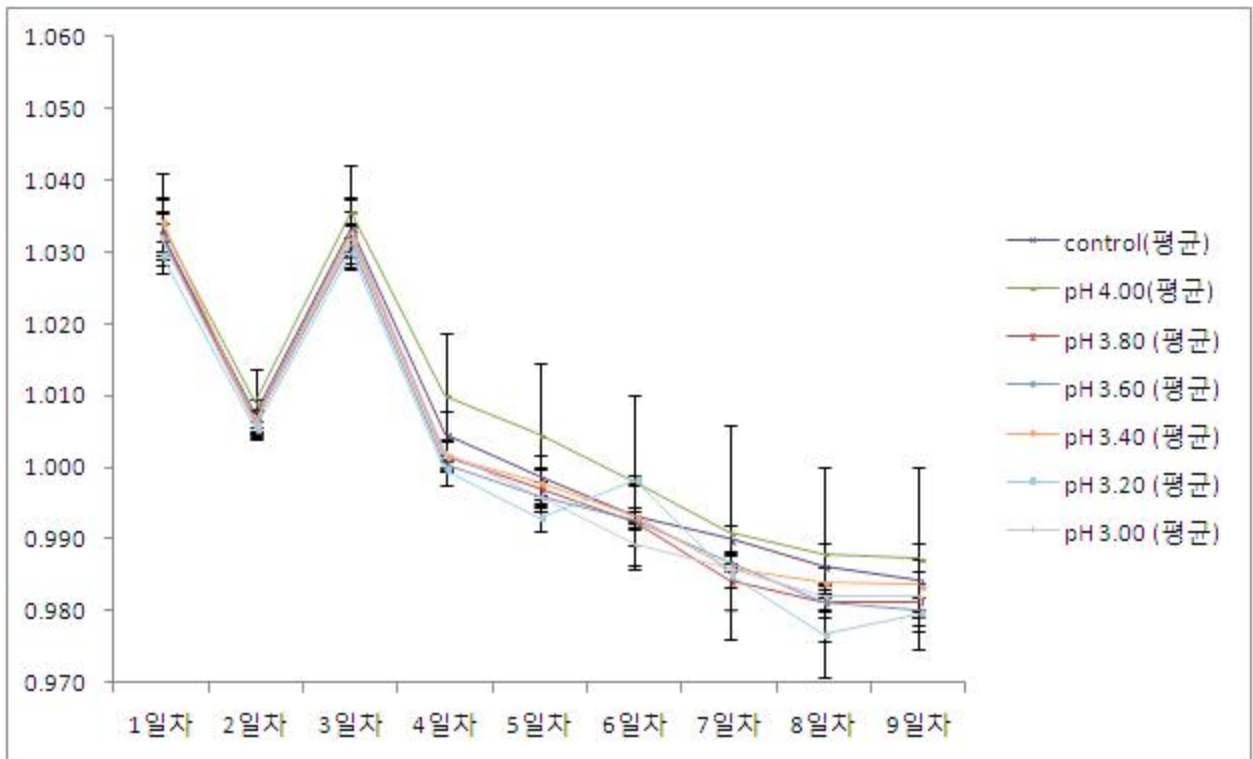


그림 1-6. 담금 직 후 pH별 발효경과(비중)



나. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스 최적 발효조건을 위한 당화효소 선발

(1) 누룩취 저감 당화효소 선발

현재 (주)배혜정도가에서 발효를 위해 사용하고 있는 누룩은 총 2가지로 구성된다. 전통누룩에서 균주를 분리하여, 발효 시 산을 생성시키면서 고산도 내성균의 적응력 향상을 위한 순양법을 적용시키고 당화력이 높은 우량 균주만을 분리시켜 배양한 RH(*Rhizopus japonicus* 속)와 AS(*Aspergillus oryzae* 속)가 현재 사용하고 있는 당화효소이다. 본 실험에 사용할 당화효소는 (주)배혜정도가에서 사용하고 있는 당화효소 외에 식품에 사용가능하며 발효에 사용되고 분말 혹은 액상의 정제효소 형태로 제품최적 활성온도가 저온(70°C)인 것을 선발하였다.

표 1-3. 사용할 당화효소 및 각 효소의 특성

효소명	미생물	분류	최적pH	최적온도	성상	저장조건	특성
RH	<i>Rhizopus japonicus</i>	glucoamylase	4.0-6.0	50-60°C	분말	건조한 곳에 냉장보관	생(生)전분의 당화에 적합하며 산 생성 및 고산도내성이 있으며 소주나 탁주 제조
AS	<i>Aspergillus oryzae</i>	α -amylase	4.0-6.0	50-60°C	분말	건조한 곳에 냉장보관	α -amylase 성격의 호화된 전분의 당화에 적합하며 탁주 제조
Sumyzyme	<i>Rhizopus japonicus</i>	glucoamylase	4.0-6.0	55-70°C	분말	건조한 곳에 냉장보관	저온에서도 활성, 무색, 무취로 알코올 발효에 사용
Mycolase LV	<i>Aspergillus oryzae</i>	α -amylase	5.2-6.0	52-57°C	액상	건조한 곳에 냉장보관	발효시간의 단축, 잔존 당 거의 없음, 저온에서도 활성, 탁주나 들것 제조
Biowin AG	<i>Aspergillus niger</i>	glucoamylase	3.5-4.5	58-65°C	액상	건조한 곳에 냉장보관	α -1,4 와 α -1,6 결합을 Exo-type으로 연속적으로 분해하여 포도당을 생성, 정 및 주류를 생산
Spenzyme LT300	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	α -amylase	6.2-7.0	60-70°C	액상	건조한 곳에 냉장보관	저온에서 전분의 액화 가능, 90°C 이상에서 활성을 잃음, 들것, 식혜 등의 제조에 이용
Transglucosidase L "amano"	<i>Aspergillus niger</i>	transglucosidase	4.0-7.0	60°C	액상	건조한 곳에 냉장보관	비발효, 올리고당 생성에 이용, 효소의 안정성이 금방 약해짐
Toruzyme	<i>Bacillus licheniformis</i>	CG-tase			액상	건조한 곳에 냉장보관	starch의 cyclodextrin화에 이용

(2) 당화효소의 당화력 측정

RH나 AS 등의 전통누룩균주가 아닌 누룩취가 나지 않는 정제효소로 대체 실험하기 위해서는 사용할 당화효소의 당화력을 측정하고 그에 따른 효소 반응 산물 분석을 통하여 최적의 효소제를 선발하고자 한다. 효소의 반응에 영향을 줄 수 있는 온도 및 pH 등의 조건과 효소 활성을 동일하게 맞추어 효소반응실험을 수행하였다. 각 효소들의 활성은 환원당 측정 방법인 dinitrosalicylic acid (DNS) method를 통하여 8가지 효소들의 활성을 같게 하였다.

<실험방법>

쌀 분말 1 g 과 증류수 8 ml 를 혼합한 후 효소 1 ml 를 각각 첨가하여 기질-효소반응을 2

3°C, 10분간 incubator에서 실시한 후 1 M NaOH 1 ml 를 첨가하여 반응을 중지하였다. 3600 rpm, 4°C, 5분간 원심분리를 실시하여 상등액 100 μ l 를 DNS시약 300 μ l 에 가하여 끓는 물에 5분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 흡광도를 측정하기 위하여 13000 rpm, 3분간 원심분리를 실시하고 상등액 300 μ l 를 96 well plate 에 분주 후, infinite 200 pro (TECAN, Mannedorf, Switzerland) 를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. Reducing sugar의 함량을 glucose 을 기준으로 standard curve 를 이용하여 식에 대입하여 구한 후 이 값을 토대로 1 unit은 1분 동안 가용성전분을 분해하여 1 μ mole 의 glucose 를 생성하는 효소의 양이라 설정하였다. 정확한 결과를 위하여 반응을 3회 실시한 후, 측정값의 평균값을 추산하였고 오차 범위는 \pm 10%로 설정하였다.

<결과 및 고찰>

각 효소들이 가지고 있는 고유의 당화력과 α -amylase 활성이 다르기 때문에 (표 1-3) 동일한 활성 조건을 맞추기 위해 효소들이 생성하는 환원당의 농도는 0.05%로, 이때의 효소 unit 은 2.8로 맞추었다.

그림 1-7. Concentration of reducing sugar at O.D 550nm.

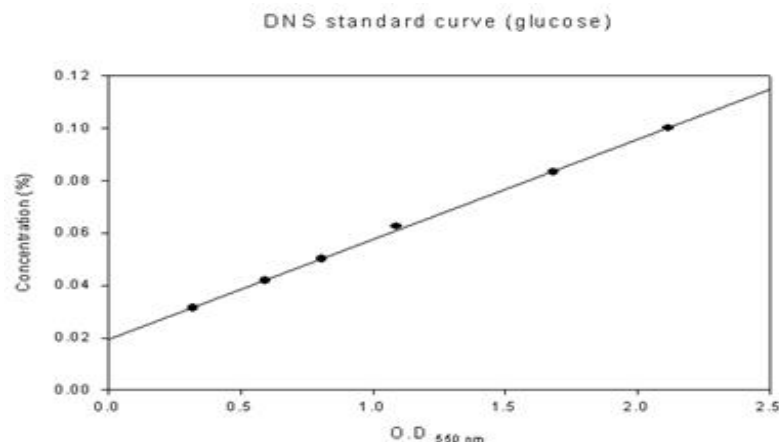


표 1-3. Comparison to reducing sugar concentration and unit.

	RH	AS	Sumyzyme	Mycolase LV	Biowin AG	Spenzyme LT300	Transglucosidase L "amano"	Toruzyme
Concentration(%)	0.0477	0.0527	0.0506	0.0513	0.0526	0.0492	0.0525	0.0541
Unit(μ mole/min ml)	2.6508 \pm 0.088	2.8359 \pm 0.046	2.8106 \pm 0.062	2.8476 \pm 0.140	2.9246 \pm 0.079	2.7321 \pm 0.065	2.9181 \pm 0.061	3.0005 \pm 0.011
당화력(sp/g)	4,320	9,700	31,800	19,600	908	21,200	2,800	4,949
α -amylase activity(u/g)	1,287	9,397	12,474	31,008	5,380	8,397	133	1,370

(3) 효소별 당화산물 측정

효소에 따라 원료별 동일한 당화력을 적용하여 각각의 효소가 생성하는 당화 산물을 분석하여 효소에 따른 당화산물을 비교하였다.

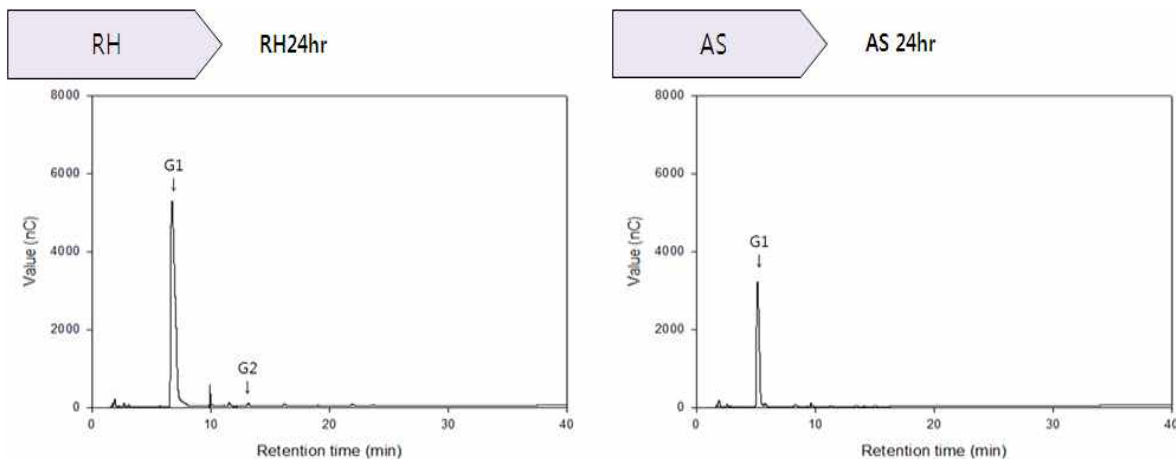
<실험방법>

쌀 분말 1 g 과 증류수 8 ml 를 혼합한 후 효소 1 ml 를 각각 첨가하여 기질-효소반응을 23°C, 24시간 동안 incubator에서 실시하였다. 그 후 13000 rpm, 1분간 원심분리를 실시하여 상등액을 EP tube에 분주한 후 10분간 끓여주어 반응을 중지시켰다. 이를 생쌀전분 분해산물 분석에 사용하였다. 분해산물 분석을 확인하기 위해 HPAEC (High Performance Anion Exchange Chromatography) 을 이용하였다. Pulsed amperometric detector (PAD) 가 연결된 HPAEC Bio-LC (ICS-5000, Dionex, USA) 기기를 사용하였으며 guard column (4×50 mm), CarboPac PA1 column (4×250 mm, Dionex, USA) 100 mM NaOH 를 A 용매로, 500 mM Sodium acetate 를 B 용매로 하여 농도구배를 주어 1 ml/min 의 유속으로 55분 동안 분석하였다.

<결과 및 고찰>

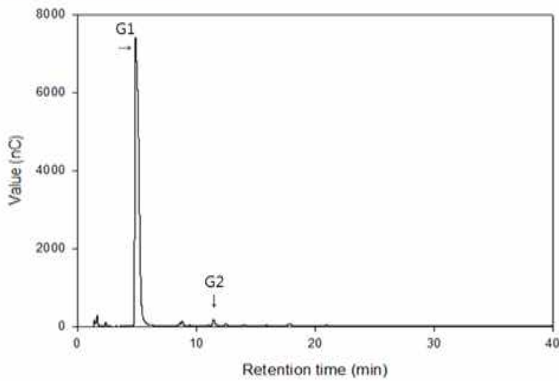
8개의 효소는 α -amylase , glucoamylase , CGtase, 그리고 transglucosidase 의 4가지 형태로 이루어져 있다. Sumzyme은 glucose와 maltose, Spenzyme LT300은 maltoheptaose 까지, Mycolase LV 는 maltotriose 까지 생성된 것을 HPAEC 를 통해 확인하였고, AS는 glucose가 주 산물인 것을 볼 수 있었다. RH와 Biowin AG 의 전분 분해산물 결과3가지 효소 모두 glucose 를 생성하는 것을 확인할 수 있었으며 미량의 maltose 를 생성하는 것을 볼 수 있었다. Transglucosidase 형태의 효소인 Transglucosidase L “Amano” 의 전분 분해산물 결과 주 생성물인 glucose 와 미량의 maltose가 생성된 것을 확인할 수 있었다. Transglucosidase의 경우 생성된 glucose을 이용하여 isomaltose , panose , isomaltotriose 등을 생성해야 하지만, 본 효소의 반응 조건인 막걸리 발효 조건이 이성화당을 생성할 수 있는 최적의 조건이 아니므로 이성화당은 생성이 되지 않았다. 또한 CGtase 인 Toruzyme 의 경우 효소의 특성인 cyclodextrin 형성을 하지 못하는 것으로 분석 결과 확인되었다.

그림 1-8. 각 효소별 당화산물 (24hr 경과)



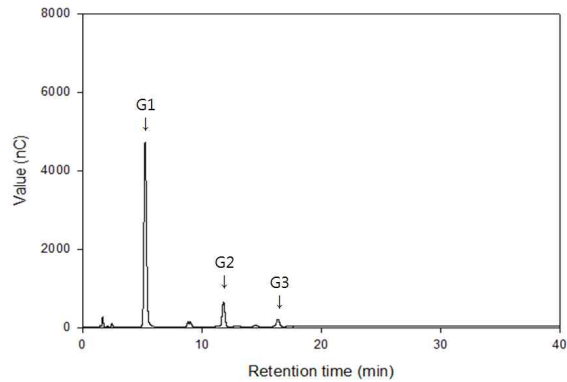
Sumyzyme

Sumyzyme 24hr



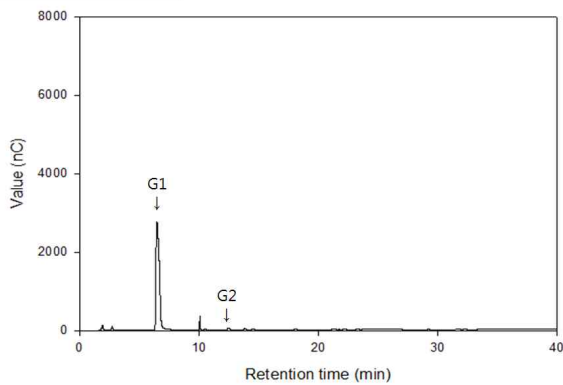
Mycolase

Mycolase 24 hr



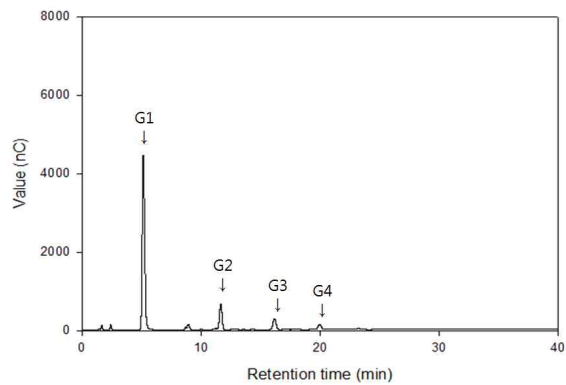
Biowin

Biowin 24 hr



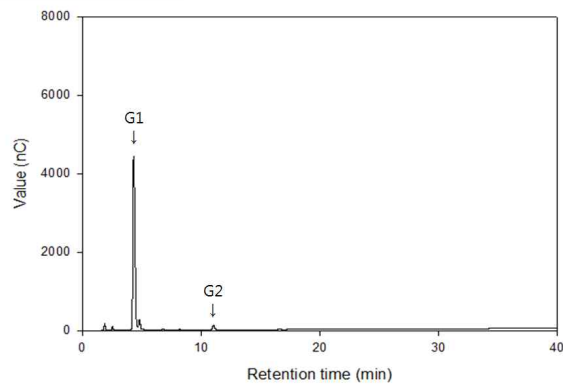
Spenzyme

Spenzyme 24 hr



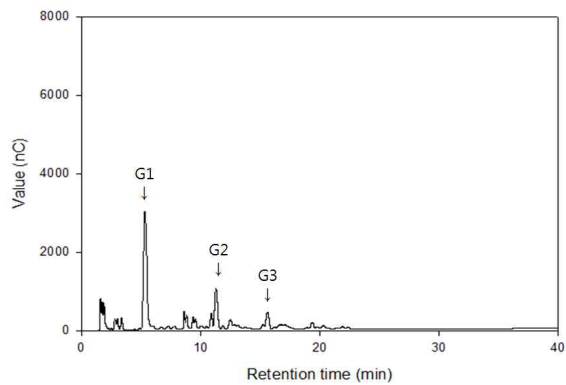
Transglucosidase

Transglucosidase 24 hr



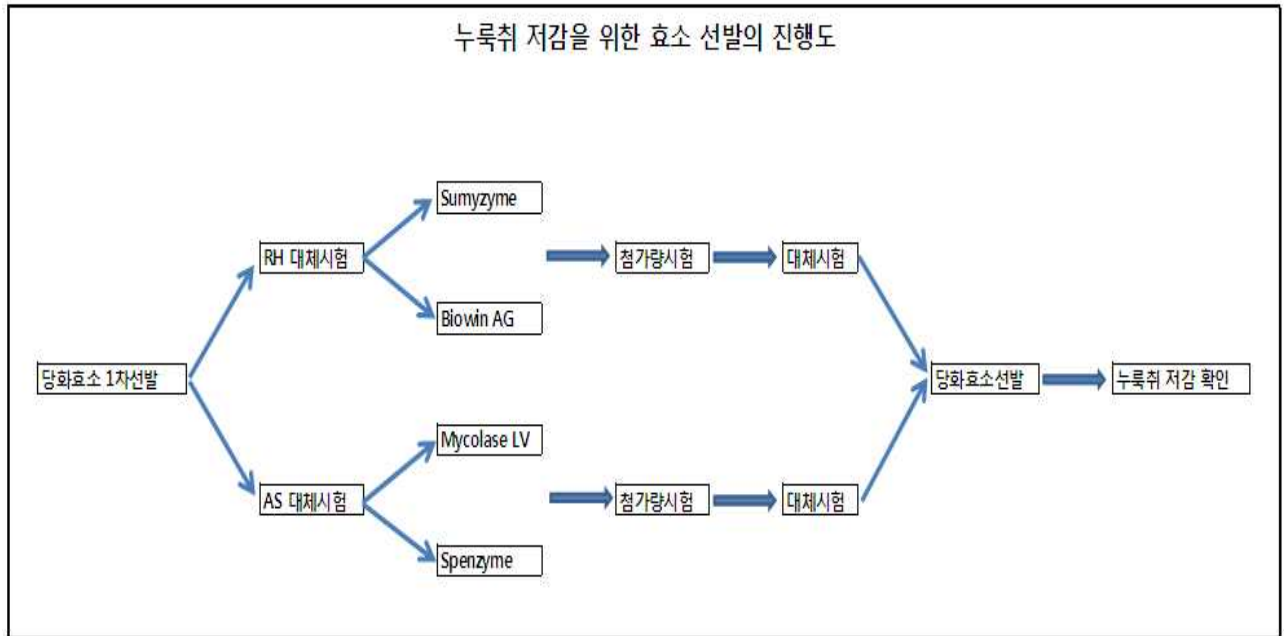
Toruzyme

Toruzyme 24 hr



금번까지의 실험에서 각 효소별 당화력과 특성 그리고 당화산물에 대해 측정하였다. 현재 사용하고 있는 당화효소의 대체 선발 대상 조건은 첫째 분류, 둘째 중, 셋째 당화산물로 선정하였으며 RH와 동일한 분류로는 Sumyzyme과 Biowin AG를 들 수 있으며, 동일한 중은 Sumyzyme, 동일한 당화산물로는 Sumyzyme, Biowin AG, Transglucosidase를 들 수 있으나 조건 선정의 우선 순위 기준으로 Sumyzyme과 Biowin AG를 1차 선발 하였다.

AS와 동일한 분류는 Mycolase LV, Spenzyme LT300이며, 동일한 종은 Mycolase LV, 동일한 당화산물은 없다. 따라서 우선 순위에 의해 AS 대체 당화효소로는 Mycolase LV와 Spenzyme LT300을 1차 선발하였다. 이후 진행할 당화효소 선발의 진행도는 다음과 같으며 RH 대체효소 첨가량 실험은 RH와 분류, 종, 당화산물이 동일한 Sumyzyme으로 진행할 것이며, AS의 대체효소 첨가량 실험은 분류와 종이 같은 Mycolse LV로 진행하도록 한다.



(4) 대체 효소 첨가량 실험

(가) RH 대체효소 첨가량 실험

RH의 대체효소로 1차 선발된 Sumyzyme과 Biowin AG 중 분류, 종, 당화산물이 일치하는 Sumyzyme을 우선으로 RH의 당화력을 대체하여 10% 단위로 첨가하여 발효경과를 확인하고 누룩취를 저감할 수 있는 정제효소의 대체 가능한 최대 첨가량을 확인하고자 한다.

<실험방법>

쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고운체에 받쳐 30분간 물빠기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25℃의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀증류주용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 증자발효법에서 물빠기가 완료된 쌀은 121℃, 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다.

효모(S.I.Lesaffre社, La Parisienne)는 활성을 갖게 하여 30℃까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 20~25℃로 설정하며 이때 젖산을 사용하여 pH를 3.2로 맞추어 산패균으로부터 원천적인 차단을 진행한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 담금 첨가량의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단 발효는 효모의 활성과 번식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록

한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 본 실험에서는 (주)배혜정도가의 쌀 품종인 추청을 사용한 발효방법을 사용한 것에 RH와 AS만을 사용한 것을 control로 RH의 당화력을 Sumzyme의 당화력으로 대체한 것을 10% 단위로 Sum10%, Sum20%, Sum30%, Sum40%, Sum50%, Sum60%, Sum60%, Sum70%, Sum80%, Sum90%, Sum100%로 하여 실험군을 구성한다. 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국제청 기술연구소 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며, 각 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중 : 온도계와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

표 1-4. RH 대체효소 첨가량 실험 담금방법

	Control		Sum10%		Sum20%		Sum 30%		Sum40%		Sum50%	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
물(ml)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	40.9		36.8		32.7		28.6		24.5		20.4	
AS(g)	4.8		4.8		4.8		4.8		4.8		4.8	
Sumzyme(g)	-		0.6		1.1		1.7		2.2		2.8	
젖산(ml)	12.0		12.0		12.0		12.0		12.0		12.0	

	Sum60%		Sum70%		Sum80%		Sum90%		Sum100%	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
물(ml)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	16.3		12.3		8.2		4.1		-	
AS(g)	4.8		4.8		4.8		4.8		4.8	
Sumzyme(g)	3.3		3.9		4.4		5.0		5.5	
젖산(ml)	12.0		12.0		12.0		12.0		12.0	

표 1-5. 사용할 당화효소의 첨가량 산정

	RH 대체 Sumzyme 첨가 당화력										
	control	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
RH(sp)	176,472	158,825	141,178	123,530	105,883	88,236	70,589	52,942	35,294	17,647	-
AS(sp)	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560	46,560
Sumzyme(sp)	-	17,647	35,294	52,942	70,589	88,236	105,883	123,530	141,178	158,825	176,472
쌀 4,800g 사용 총 당화력	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032

<결과 및 고찰>

pH의 경우 1일차, 2일차에서의 상승 후 3일차 감소 4일차부터 증가추세로 이어지는 곡선이 발생한다. Sumyzyme의 대체 첨가량이 높을 수록 전체적인 pH가 상승하는 사유는 RH가 발효 시 산을 생성시키면서 고산도 내성균의 적응력 향상을 위한 순양법을 적용시켰기 때문에 pH 감소를 유도했지만 Sumyzyme은 분류와 종이 동일하지만 산 생성 능력이나 고산도 적응력이 RH에 비해 적기 때문으로 사료된다. 각 실험군 별 표준편차가 낮은 것은 초기 산패균의 원천적인 차단에 의해 오염으로 이어지지 않는 기 때문에 여겨지며 각 실험군은 크게 두가지 형태로 분류되는데 control부터 Sumyzyme 30%까지 실험군과 Sumyzyme 40%~100%까지의 실험군으로 나뉘어 진다.

산도의 경우 RH의 첨가량이 높고 Sumyzyme의 첨가량이 낮을 수록 산도가 높은 것으로 나타나지며, 표준편차의 경우 전 실험군에서 큰 편차가 발생되지 않으며 이는 산패균의 원천적인 차단에 의한 것으로 사료된다. 또한, 발효경과일이 적을수록 높고 발효경과일이 많을수록 낮아지는 것으로 보아 발효 후반으로 갈수록 안정성을 찾는 것으로 보여 진다. 산도는 1일차와 2일차에서 상승된 후 3일차에서 2단 담금에 의해 급격히 낮아져 완만한 곡선을 형성하며, 최종 산도의 경우 RH의 첨가량이 높을수록 다소 높게 형성이 되는 것을 알 수 있다.

알코올의 경우 전체적인 곡선의 형태는 전 실험군에서 유사하게 형성되나 Sumyzyme의 첨가량이 높을수록 증가 곡선이 다소 느리게 진행되는 것을 볼 수 있다. 최종 알코올 함량에 있어서 Sumyzyme 첨가량이 높을수록 알코올 함량 낮게 형성되며 이는 발효온도 내에서 당화효소의 최적 온도의 차이에 의한 것으로 사료된다. Control의 표준편차는 일자별로 다르지만 전체적으로 0.06~0.2도(v/v%)가량으로 나타나며, 각 일자별 control의 표준 편차 내에서 알코올이 생성되는 실험군은 Sumyzyme 첨가량이 10%, 20%, 30%인 실험군으로 관찰된다. 이 세가지 실험군의 최종 알코올 함량은 17.0 v/v% ± 0.13 내에 속하며 최종 알코올 수득량이 가장 적은 것은 Sumyzyme 100% 실험군이다.

당도의 경우 첨가량과의 규칙을 형성하지는 못하며 전체적으로 발효경과에 따라 감소하는 추세로 진행이 된다. 직접적인 당의 알코올 전환과는 무관하며 이는 빛의 굴절에 의한 당도 측정이라는 한계로 여겨진다. 전체적인 표준오차는 최대 0.25 °Brix까지로 안정적으로 진행되는 것을 볼 수 있다.

비중의 경우 알코올 생성곡선과 반비례 형태로 생성되며, 이는 알코올 생성과 당화에 기인하여 반영된 것으로 사료된다. 1일차와 2일차에서 감소 이후 3일차 2단담금에서의 상승 이후 지속적인 감소추세로 이어지며 간혹 증가, 감소, 평형을 유지하게 되나 그 폭이 낮다. 알코올 함량이 높을 수록 비중은 감소하며 Sumyzyme 첨가량이 높을 수록 다소 높게 형성됨을 알 수 있다. 9일차 발효 종료 시점에서의 비중의 경우 control과 동일한 수치는 Sumyzyme 10%, 20%, 30% 실험군이며 표준편차 범위내에 존재한다.

전체적으로 발효경과 상에서 산패되거나 산패균이 증식한 형태의 것은 발견되지 않으며 알코올 함량 및 비중 등의 결과로 비추어 RH의 대체 한계 첨가량은 Sumyzyme 30%까지 인 것으로 판단된다. 이후 RH 대체실험은 Sumyzyme 30%와 Biowin AG 30%가 진행하여 발효 적성 및 평가가 진행될 것이다.

그림 1-9. RH 대체효소 Sumyzyme 첨가량별 발효경과(pH)

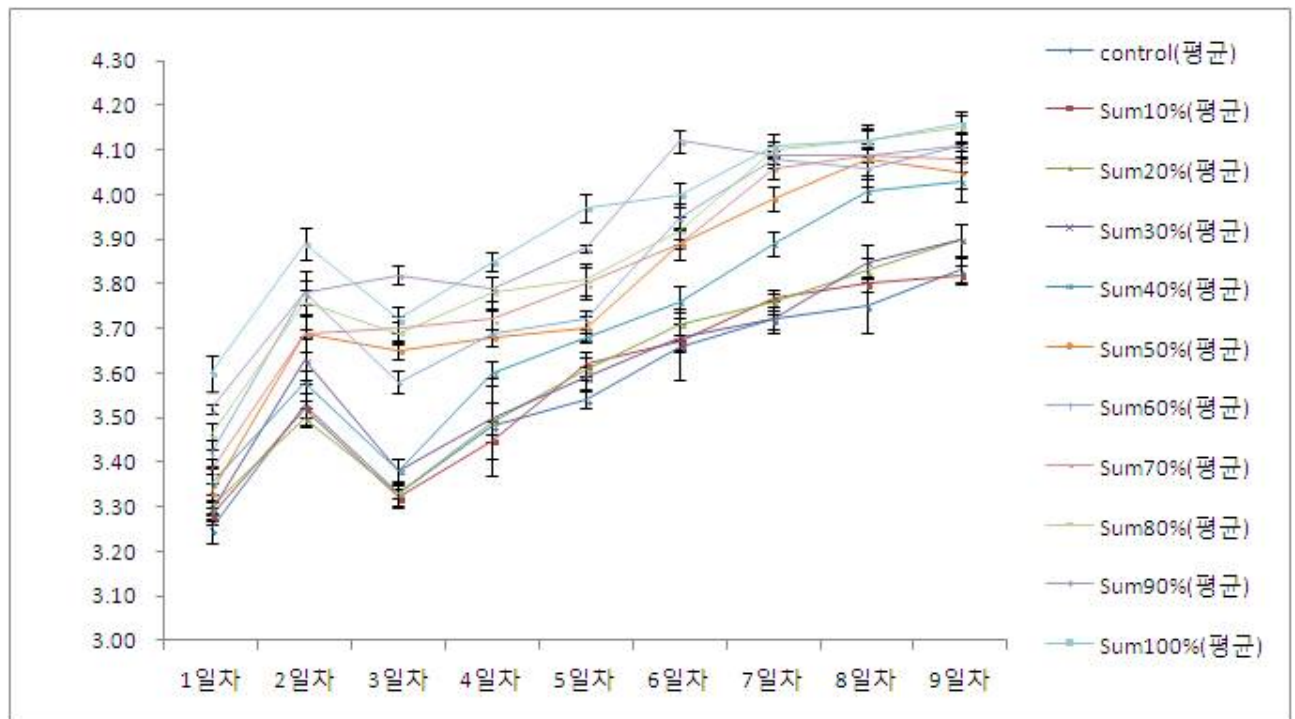


그림 1-10. RH 대체효소 Sumyzyme 첨가량별 발효경과(산도(적정산도))

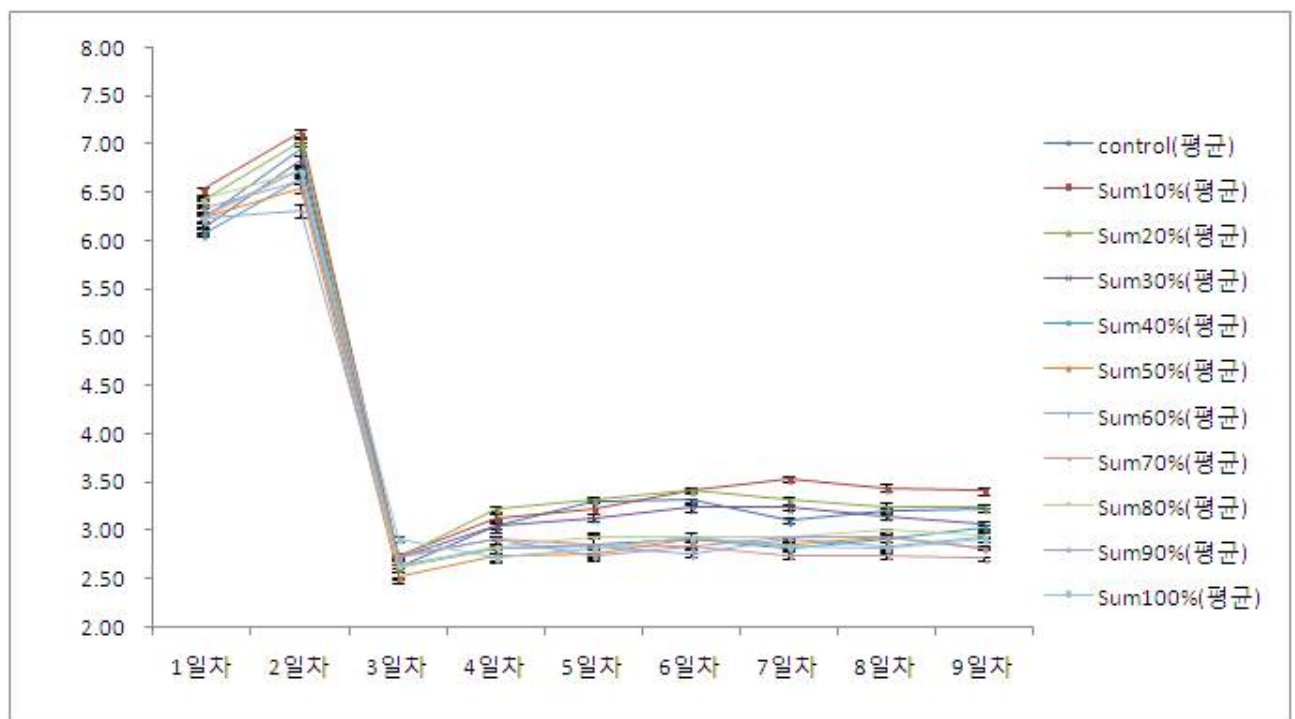


그림 1-11. RH 대체효소 Sumyzyme 첨가량별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

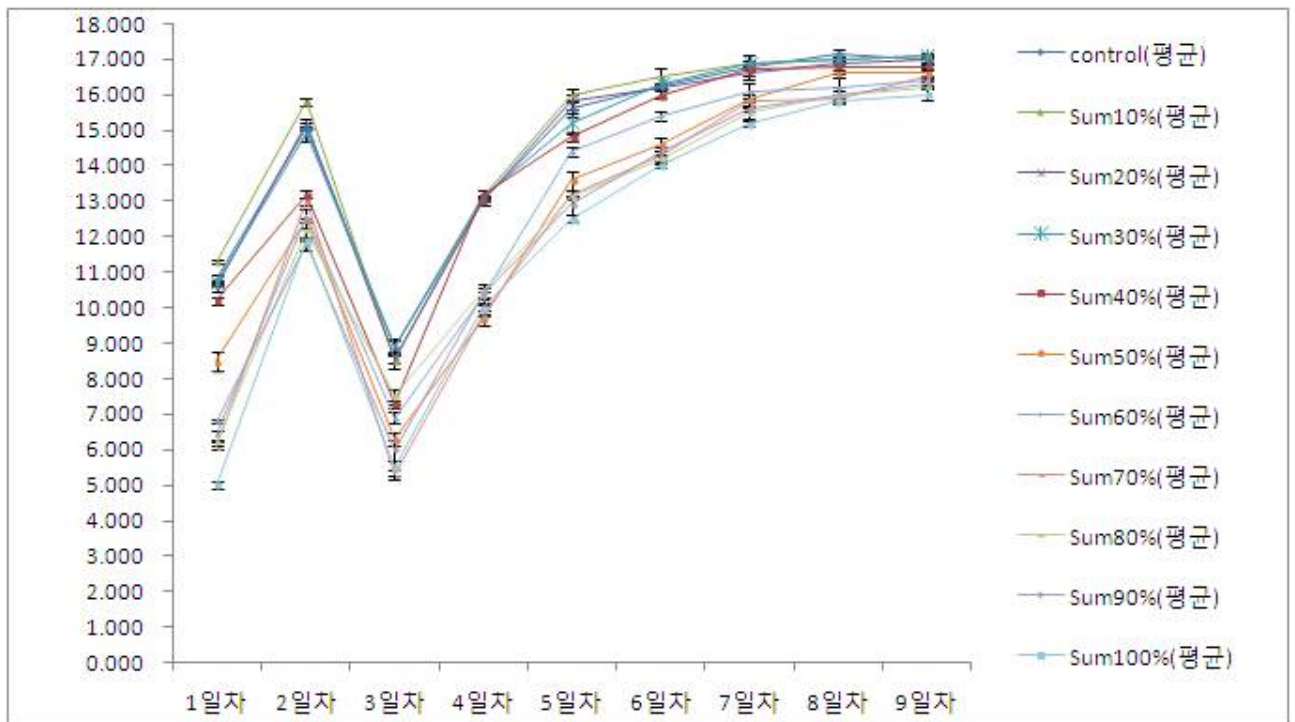


그림 1-12. RH 대체효소 Sumyzyme 첨가량별 발효경과(당도(단위: °Brix))

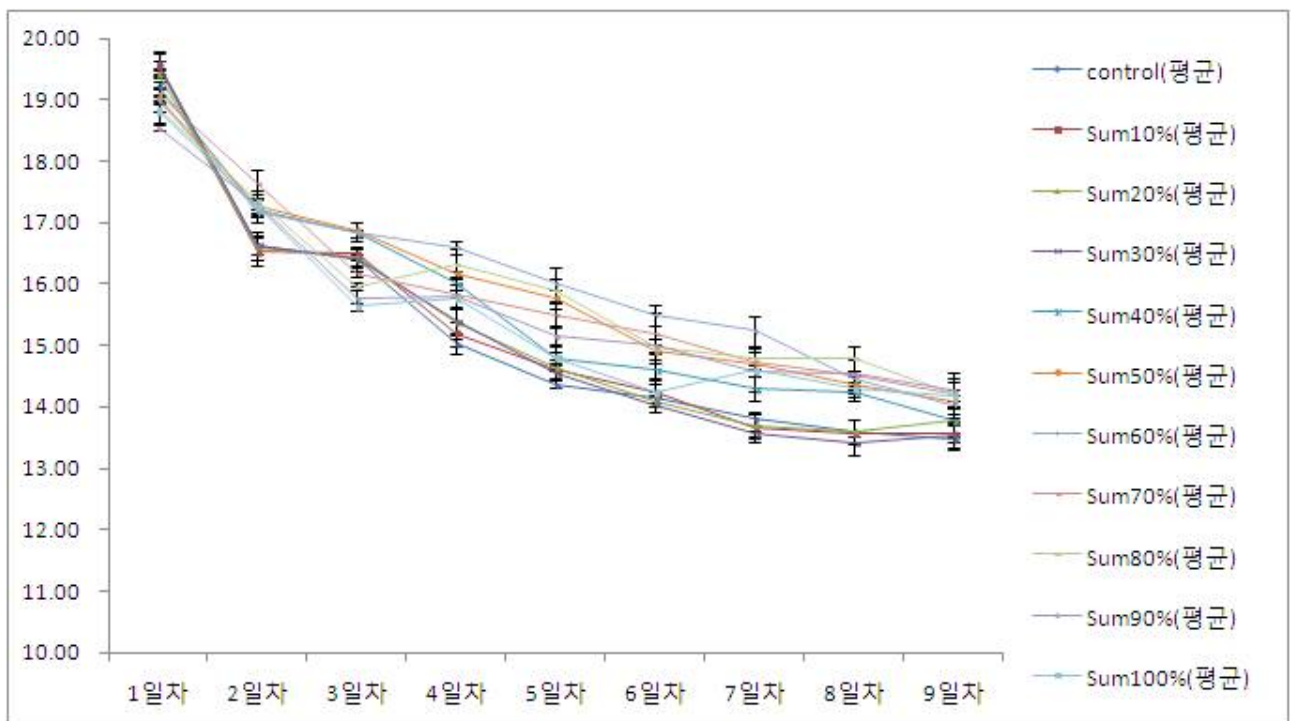
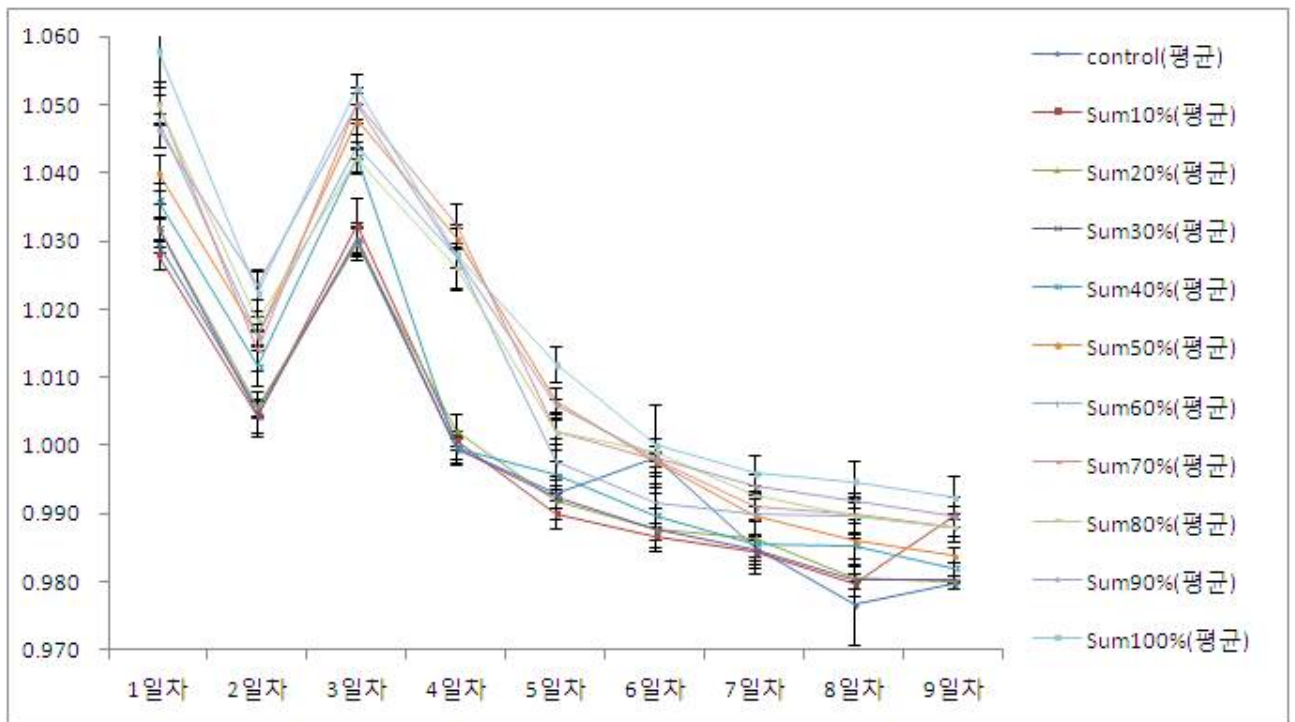


그림 1-13. RH 대체효소 Sumyzyme 첨가량별 발효경과(비중)



(나). AS 대체 첨가량 실험

AS의 대체효소로 1차 선발된 Mycolase LV와 Spenzyme LT300 중 분류와 종이 일치하는 Mycolase LV를 우선으로 AS의 당화력을 대체하여 10% 단위로 첨가하여 발효경과를 확인하고 누룩취를 저감할 수 있는 정제효소의 대체 가능한 최대 첨가량을 확인하고자 한다.

<실험방법>

쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고운체에 받쳐 30분간 물빠기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25℃의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀증류주용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 증자발효법에서 물빠기가 완료된 쌀은 121℃, 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다.

효모(S.I.Lesaffre社, La Parisienne)는 활성을 갖게 하여 30℃까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 20~25℃로 설정하며 이때 젖산을 사용하여 pH를 3.2로 맞추어 산패균으로부터 원천적인 차단을 진행한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 발효의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단 발효는 효모의 활성과 번식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록 한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 본 실험에서는 (주)배혜정도가의 쌀 품종인 추청을 사용한 발효방법을 사용한 것에 RH와 AS만을 사용한 것을 control로 AS의 당화력을 Mycolase LV의 당화력으로 대체한 것을 10% 단위로 Myc10%, Myc20%, Myc30%, Myc40%, Myc50%, Myc60%, Myc60%, Myc70%, Myc80%, Myc90%, Myc100%로 하여 실험군을 구성한다. 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국세청 기술연구소 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며, 각 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

표 1-6. AS 대체효소 첨가량 실험 담금방법

	Control		Myc10%		Myc20%		Myc30%		Myc40%		Myc50%	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
물(ml)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	40.9		40.9		40.9		40.9		40.9		40.9	
AS(g)	4.8		4.3		3.8		3.4		2.9		2.4	
Mycolase(g)	-		0.2		0.5		0.7		1.0		1.2	
젖산(ml)	12.0		12.0		12.0		12.0		12.0		12.0	

	Myc60%		Myc70%		Myc80%		Myc90%		Myc100%	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
물(ml)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	40.9		40.9		40.9		40.9		40.9	
AS(g)	1.9		1.4		1.0		0.5		-	
Mycolase(g)	1.4		1.7		1.9		2.1		2.4	
젖산(ml)	12.0		12.0		12.0		12.0		12.0	

표 1-7. 사용할 당화효소의 첨가량 산정

	AS대체 Mycolase 첨가 당화력										
	control	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
RH(sp)	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472	176,472
AS(sp)	46,560	41,904	37,248	32,592	27,936	23,280	18,624	13,968	9,312	4,656	-
Mycolase(sp)	-	4,656	9,312	13,968	18,624	23,280	27,936	32,592	37,248	41,904	46,560
쌀 4,800g 사용 총 당화력	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032	223,032

<결과 및 고찰>

pH의 경우 Mycolase 첨가량과의 정확한 상관관계가 나타나지 않으나 표준편차 상 0.20이상 발생하는 것이 없이 균일한 패턴을 가지고 있다. 표준편차의 경우 발효 경과 후반 일에서 전반일에 비해 안정적이며 pH의 패턴은 1일차부터 4일차까지 확연하게 나누어진다.

1일차에서 2일차로 진행 시 pH가 상승하는 실험군은 control과 Mycolase 10~70%까지 첨가한 실험군이며 Mycolase 80%~100%까지는 감소하는 추세이다. 2일차에서 3일차로 진행 시 pH가 감소하는 실험군은 control과 Mycolase 10~20%까지 첨가한 실험군이며 나머지 실험군은 증가하게 되며, Mycolase 80% 이상 첨가한 실험군의 경우 가파르게 상승하게 된다. 하지만 각 실험군 별 발효 경과 시 현미경 검경 상에는 별다른 산패균의 형태는 관찰되지 않았으며 이는 원천적인 차단에 기인한 것으로 사료된다.

산도의 경우 전체적인 실험군의 패턴이 유사한 형태로 나타나며 1일차에서 2일차로 발효 경과 시 상승된 후 3일차 감소, 4일차부터 점진적인 증가로 이어진다. Mycolase의 첨가량이 많을 수록 발효 후반에 높은 산도를 나타내는 형태를 보이나 정확히 일치하지는 않는다. 하지만 Mycolase의 첨가량이 최종 산도에 영향을 미치는 것은 분명하며 이는 Mycolase LV가 산 생성능력이 AS에 비해 높은 것에 기인하는 것으로 사료된다.

알코올의 경우 전체적인 알코올 곡선이 유사한 형태로 나타나나 Mycolase 첨가량이 높을수록 최종 알코올 함량은 낮은 것으로 나타난다. 각 실험군 별 표준편차는 1도(v/v%)미만으로 안정적으로 나타나며 1일차와 2일차의 각 실험군 별 편차는 4~6일차 편차에 비해 적게 나타난다. 이는 1단 담금 시 효소 투입량이 집중되어 있음에 기인한다. 알코올 생성은 Mycolase 첨가량이 높을수록 control에 비해 더디게 생성되고, control의 표준 편차 범위는 발효 일자별로 0.06~0.20도(v/v%)로 나타나며 이 범위 내에 포함되는 실험군은 없다.

당도의 경우 전체적으로 감소의 형태로 나타나며 초기 발효 경과일에서만 Mycolase 함량별 차이가 발생한다. 1일차에서 2일차로 진행 시 Mycolase LV 함량이 높을수록 낮은 당도를 유지하나 3일차 이후부터는 함량별 차이없이 유사한 형태로 나타난다. 표준편차의 경우 각 data별 0.5 °Brix 이상 나타나지 않고 안정적으로 진행되었다.

비중의 경우 알코올과 반비례 형태로 나타나며, Mycolase 함량이 높을수록 비중의 감소가 더디게 진행되는 편이다. 표준편차는 각 Data별 0.01 이상 발생되지 않게 안정적으로 나타났다. 1일차에서 2일차로 진행 시 감소가 되며, 2일차에서 3일차로 진행시 증가, 이후 감소하는 형태로 진행되며, Control과 표준편차 범위 내에 존재하는 구간은 1일차에서 3일차 구간 중 Mycolase 10% 첨가한 실험군만이 범위 내에 존재하지만 이후 일자에서 범위 내에 존재하지 못하고 차이를 두게 된다.

AS 대체 효소 첨가량 실험 결과 1차 선발한 Mycolase LV의 경우 분류와 종이 같으나 당화산물의 차이로 보아 비발효성 당의 생성이 높아 알코올 생성을 저해시킨 것으로 사료된다. AS의 대체 실험은 분류와 종이 같은 Mycolase LV에서도 나타났듯이 종과 당화산물이 다른 Spenzyme LT300에서도 대체가 기대되지 않는바 대체 실험은 진행하지 않으며 AS 효소는 대체없이 유지하는 것으로 진행한다.

그림 1-14. AS 대체효소 Mycolase LV 첨가량별 발효경과(pH)

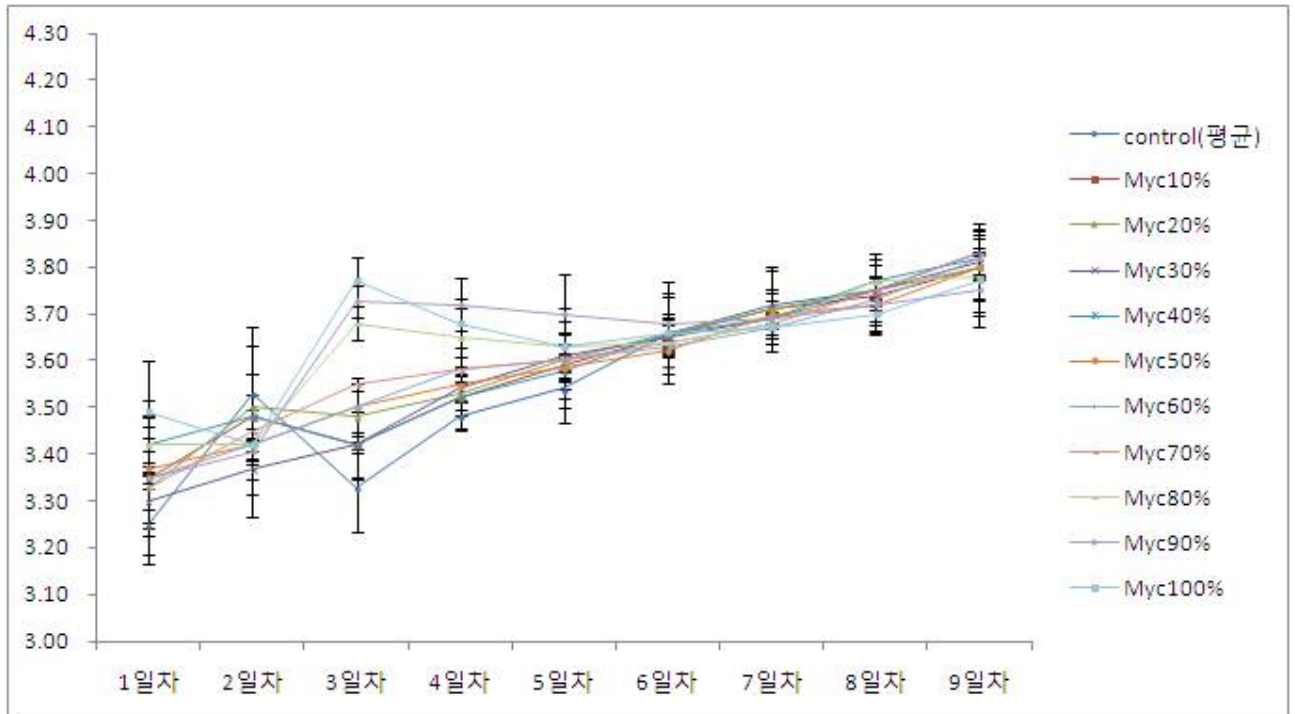


그림 1-15. AS 대체효소 Mycolase LV 첨가량별 발효경과(산도(적정산도))

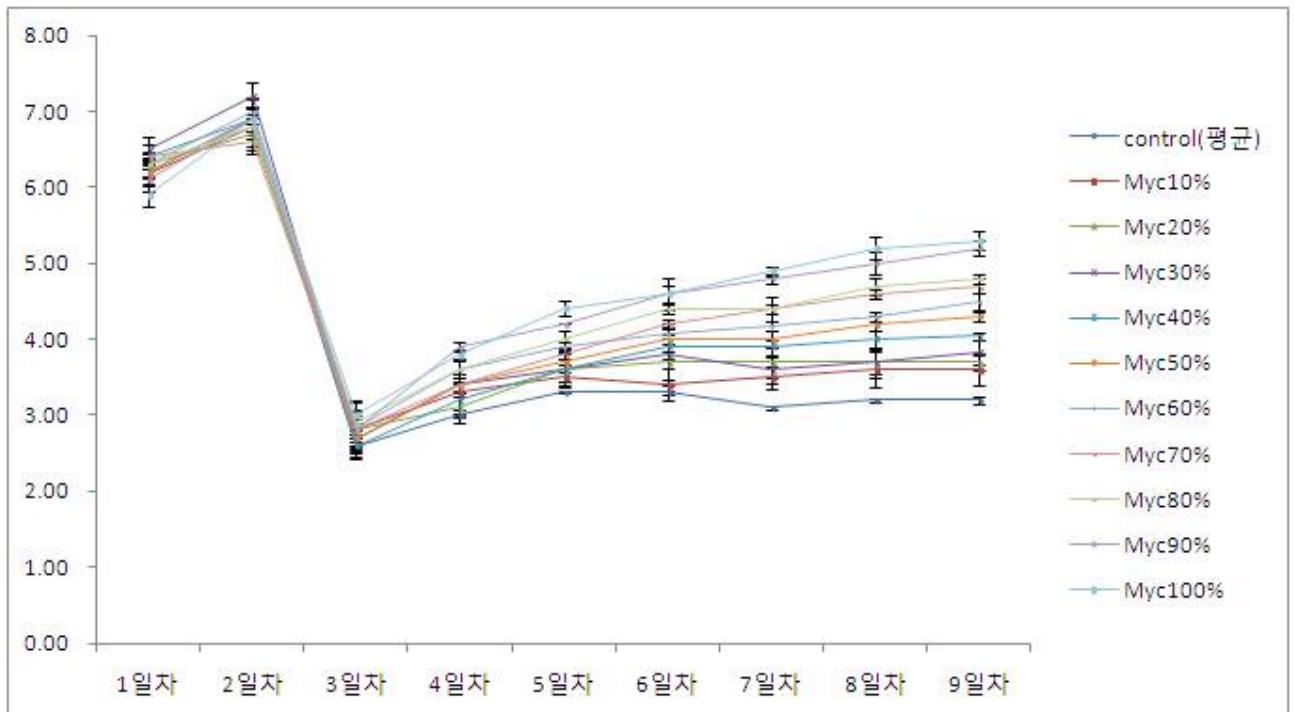


그림 1-16. AS 대체효소 Mycolase LV 첨가량별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

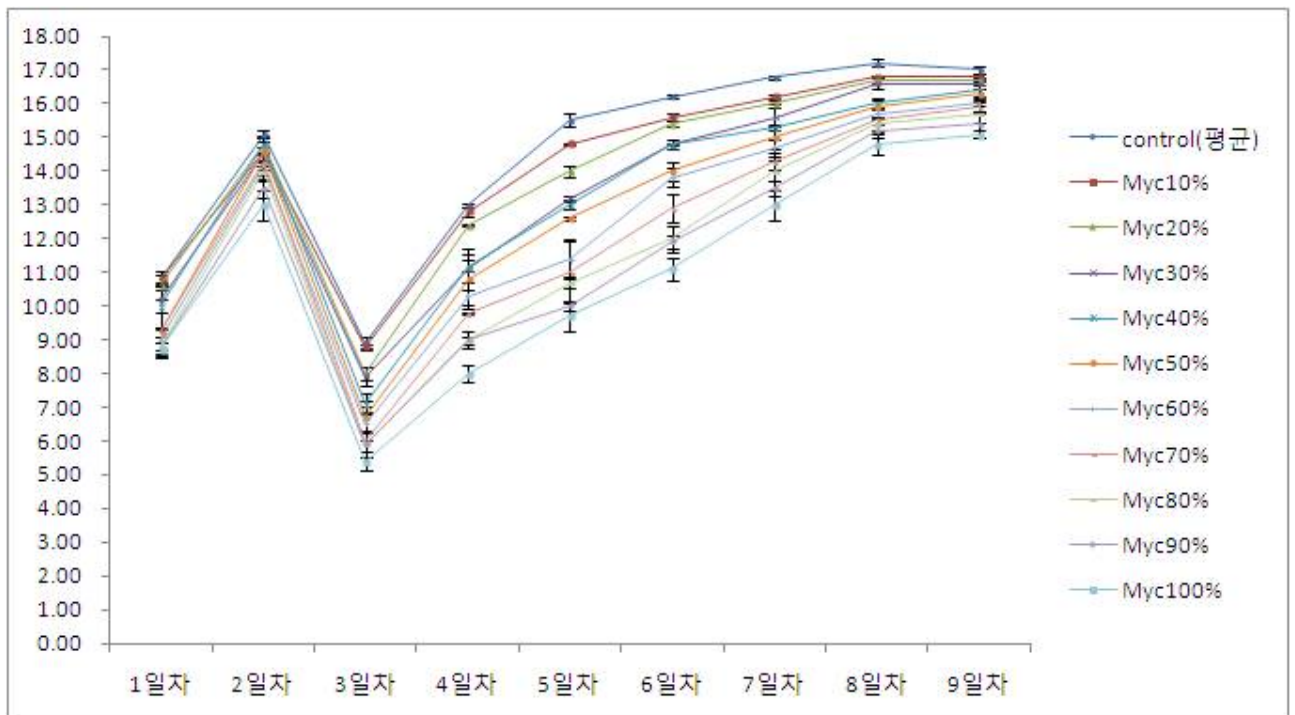


그림 1-17. AS 대체효소 Mycolase LV 첨가량별 발효경과(당도(단위: °Brix))

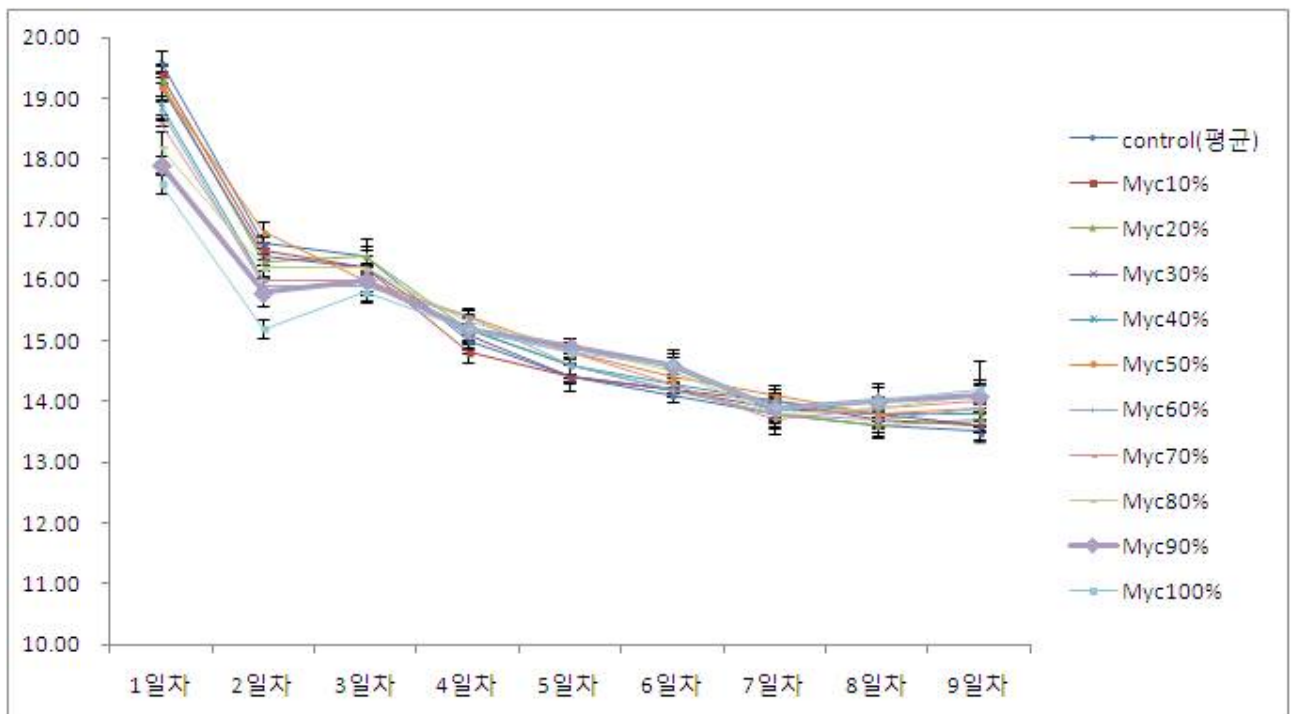
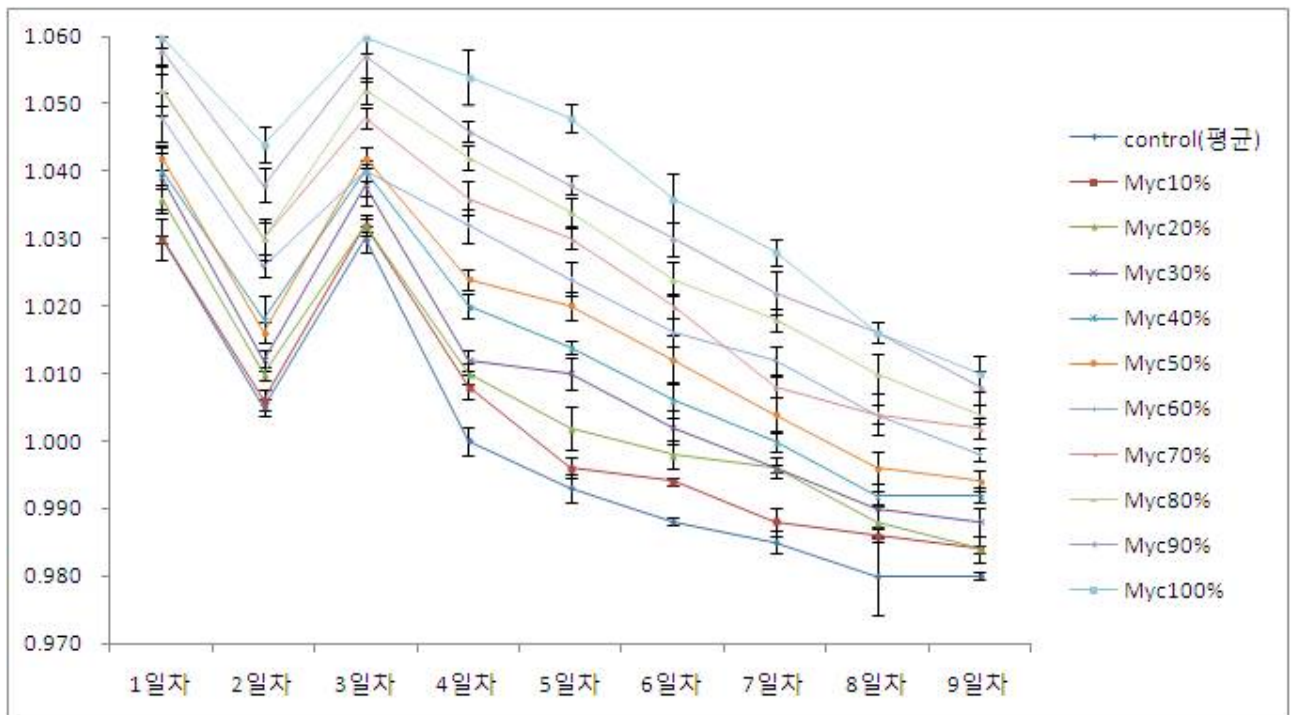


그림 1-18. AS 대체효소 Mycolase LV 첨가량별 발효경과(비중)



(5) 대체 효소 실험

(가). RH 대체 효소 실험

RH의 대체효소로 1차 선발된 Sumyzyme과 Biowin AG를 RH첨가량 실험의 결과인 한계점 Sumyzyme 30%에 맞추어 Biowin AG 30%로 실험군을 형성하고 control과 비교하여 발효경과를 확인하고 누룩취를 저감시킬 수 있는 RH 대체효소를 최종 선발하고자 한다.

<실험방법>

쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고운체에 받쳐 30분간 물빼기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25℃의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀증류주용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 증자발효법에서 물빼기가 완료된 쌀은 121℃, 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다.

효모(S.I.Lesaffre社, La Parisienne)는 활성을 갖게 하여 30℃까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 20~25℃로 설정하며 이때 젖산을 사용하여 pH를 3.2로 맞추어 산패균으로부터 원천적인 차단을 진행한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 발효의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단 발효는 효모의 활성과 번식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록 한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 본 실험에서는 (주)배혜정도가의 쌀 품종인 추청을 사용한 발효방법을 사용한 것에 RH와 AS만을 사용한 것을 control로 RH의 당화력을 30%만 Sumyzyme으로 대체한 것을 Sum 30%, RH의 당화력을 30%만 Biowin AG로 대체한 것을 Bio 30% 실험군 구성한다. 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국제청 기술연구소 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며, 각 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

표 1-8. RH 대체 효소 실험 담금방법

	Control		Sum30%		Bio 30%	
	1단	2단	1단	2단	1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0	1,600.0	3,200.0
효모(g)	20.0		20.0		20.0	
물(mℓ)	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0	2,400.0	4,800.0
RH(g)	40.9		28.6		28.6	
AS(g)	4.8		4.8		4.8	
Sumzyme(g)	-		1.7		-	
Biowin AG(g)			-		58.3	
젖산(mℓ)	12.0		12.0		12.0	

표 1-9. 사용할 당화효소의 첨가량 산정

	RH 대체 효소 선발		
	control	Sum30%	Bio30%
RH(sp)	176,472	123,530	123,530
AS(sp)	46,560	46,560	46,560
RH대체효소 당화력(sp)	-	52,942	52,942
쌀 4,800g 사용 총 당화력	223,032	223,032	223,032

<결과 및 고찰>

pH의 경우 전체적인 형태는 유사하게 나타나며, 표준편차의 경우 Biowin AG도 0.15 이하에서 유지되어 안정적으로 진행되는 것을 볼 수 있다. 발효 초기인 1일차에서 4일차까지 Sum30%와 Bio30%는 편차범위 내에서 유지되나 5일차부터 차이가 발생되기 시작한다. 각 실험군 모두 현미경 검경 상 정상 발효가 진행되었으며 control에 비해서는 두 실험군이 다소 높은 pH를 유지했다.

산도의 경우 전체적인 형태는 유사하나 Biowin AG를 사용한 실험군의 경우 산도 생성능력이 나머지 실험군에 비해 부족한 것으로 사료된다. 표준편차는 전체적으로 발효초기 Bio30%에서 가장 높은 편차를 나타내었으나 이후 안정세로 진행되었으며, 초기의 높은 편차는 Biowin AG가 pH 3.2로의 보산 시 내산성이 다른 실험군에 비해 부족한 것으로 여겨진다.

알코올의 경우 발효 경과일에 따른 알코올생성곡선은 유사하나 Bio30%가 다른 실험군에 비해 낮은 알코올 생성 능력을 보이고 있다. 이는 당화산물은 동일하나 24hr 경과 후 당화산물의 생성량으로 봤을 때 가장 작은 G1과 G2를 생성한 것처럼 발효성 당의 생성능력이 적기 때문으로 사료된다. 또한 Bio30%는 최종 알코올 함량은 다른 실험군에 비해 약 0.4~0.5도(v/v%)가량 낮게 나타나며 발효 경과일에 따른 control의 표준편차 범위 내에 들어오지 못한다.

당도의 경우 발효 경과일에 따른 당도 곡선은 control과 sum30%는 유사하나 Biowin은 감소하지만 다른 형태의 감소 곡선을 형성하고 있다. 초기 감소의 폭이 다른 실험군에 비해 Bio30% 실험군이 적게 나타나며 이후 완만한 감소를 보이고 있다. 표준편차는 Bio30%에서 다른 실험군에 비해 다소 높게 나타났으며 Biowin AG의 당화력과 발효성 당의 생성능력이

다른 실험군의 효소에 비해 낮기 때문에 사료된다.

비중의 경우 발효 경과일에 따라 알코올 곡선과 반비례로 진행되었으며, 당화력과 발효성당의 생성능력이 다른 실험군의 효소에 비해 적은 것으로 사료되는 Bio30%가 발효 경과일 전체에서 가장 높은 비중을 형성하였다. 전체 실험군의 표준편차는 0.01 이하로 안정적으로 진행되었으며 1일차에서 2일차는 감소, 2일차에서 3일차는 2단 담금에 의한 증가, 3일차 이후부터는 감소하는 control 형태의 곡선을 형성하였다.

누룩취를 저감화 할 수 있는 RH 대체 효소 실험군은 Sum30%로 선정하였으며 AS의 대체는 없이 이후 전통곡자, 개량누룩을 사용한 실험군에 비해 누룩취 저감 여부를 확인하고자 한다.

그림 1-19. RH 대체효소별 발효경과(pH)

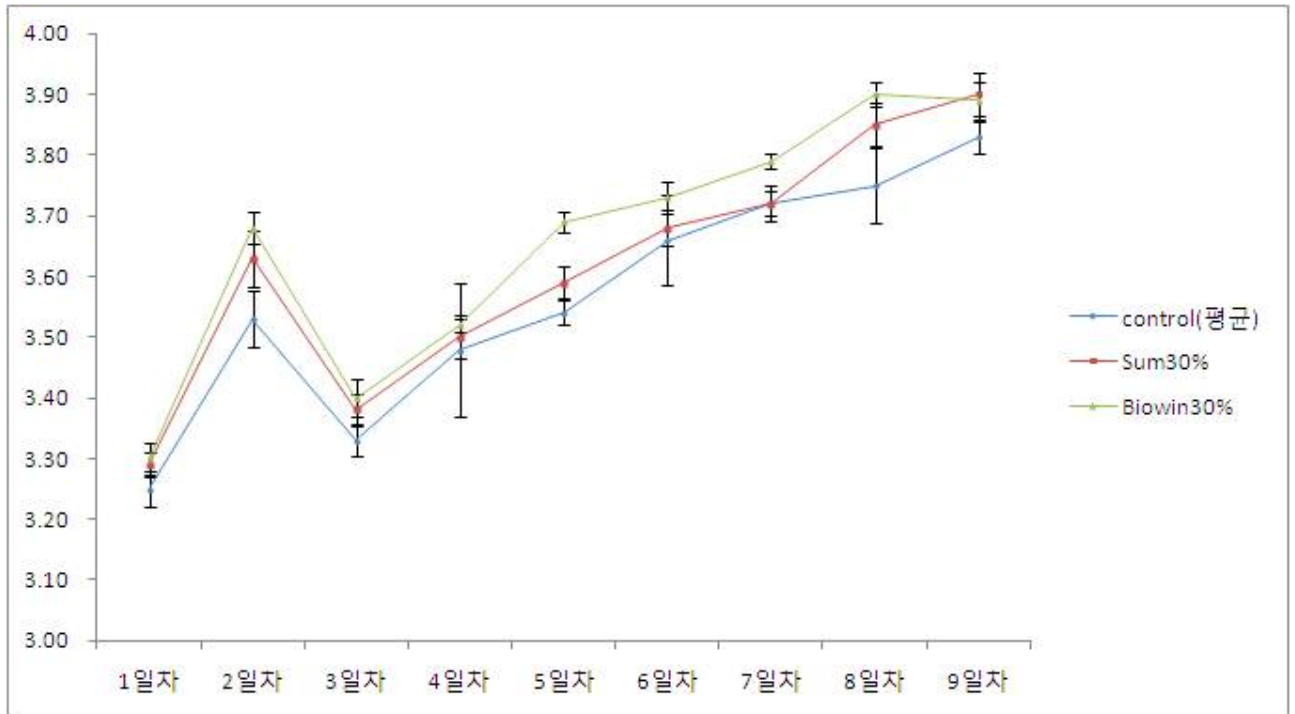


그림 1-19. RH 대체효소별 발효경과(산도(적정산도))

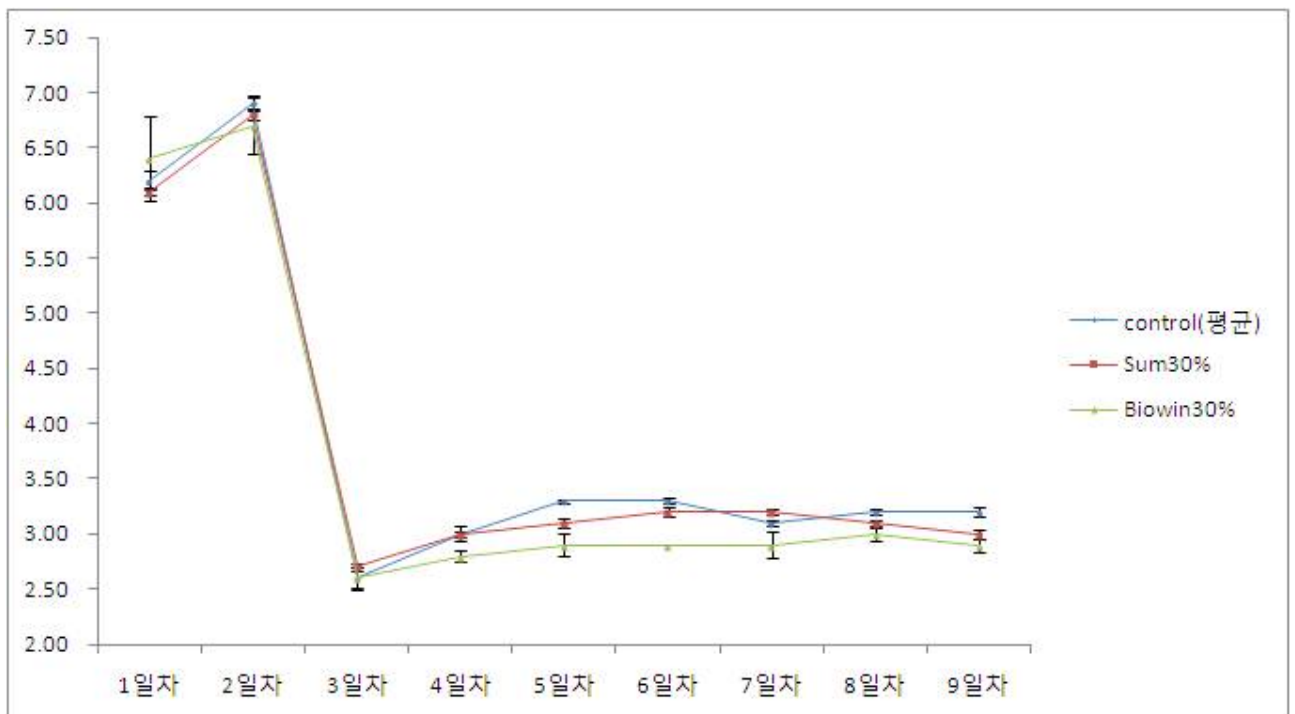


그림 1-20. RH 대체효소별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

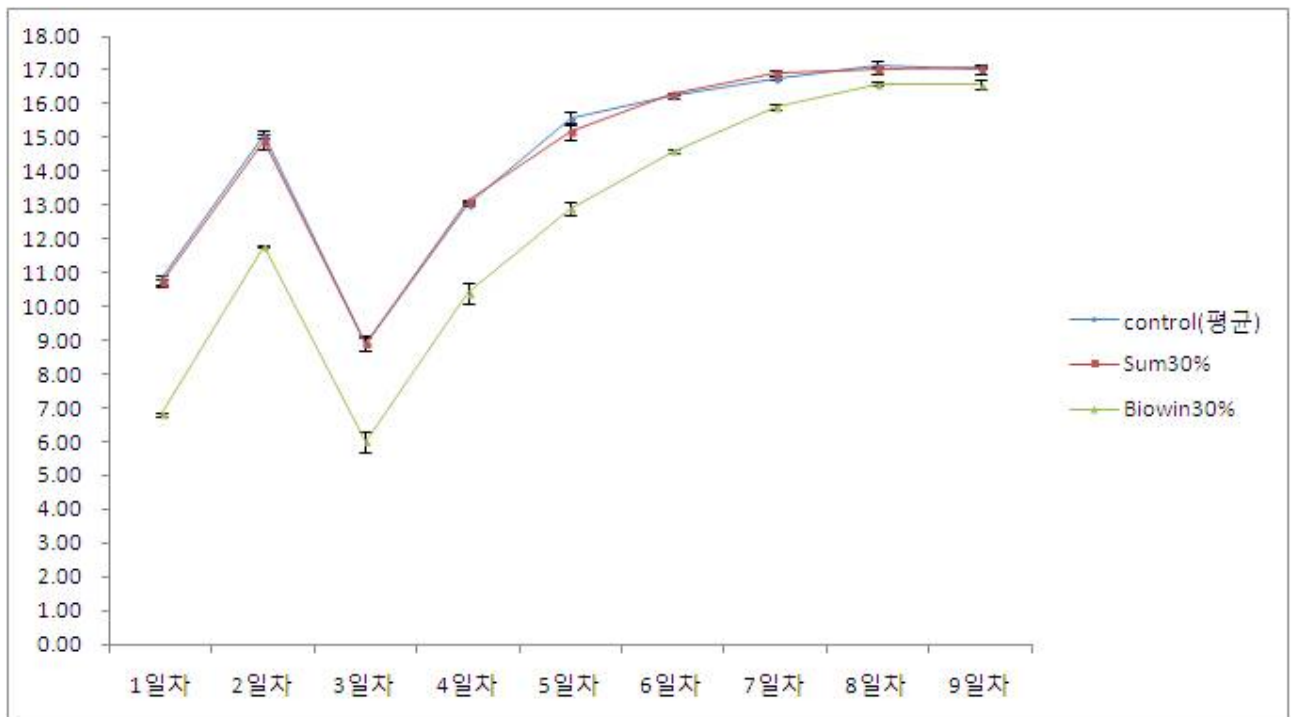


그림 1-21. RH 대체효소별 발효경과(당도(단위: °Brix))

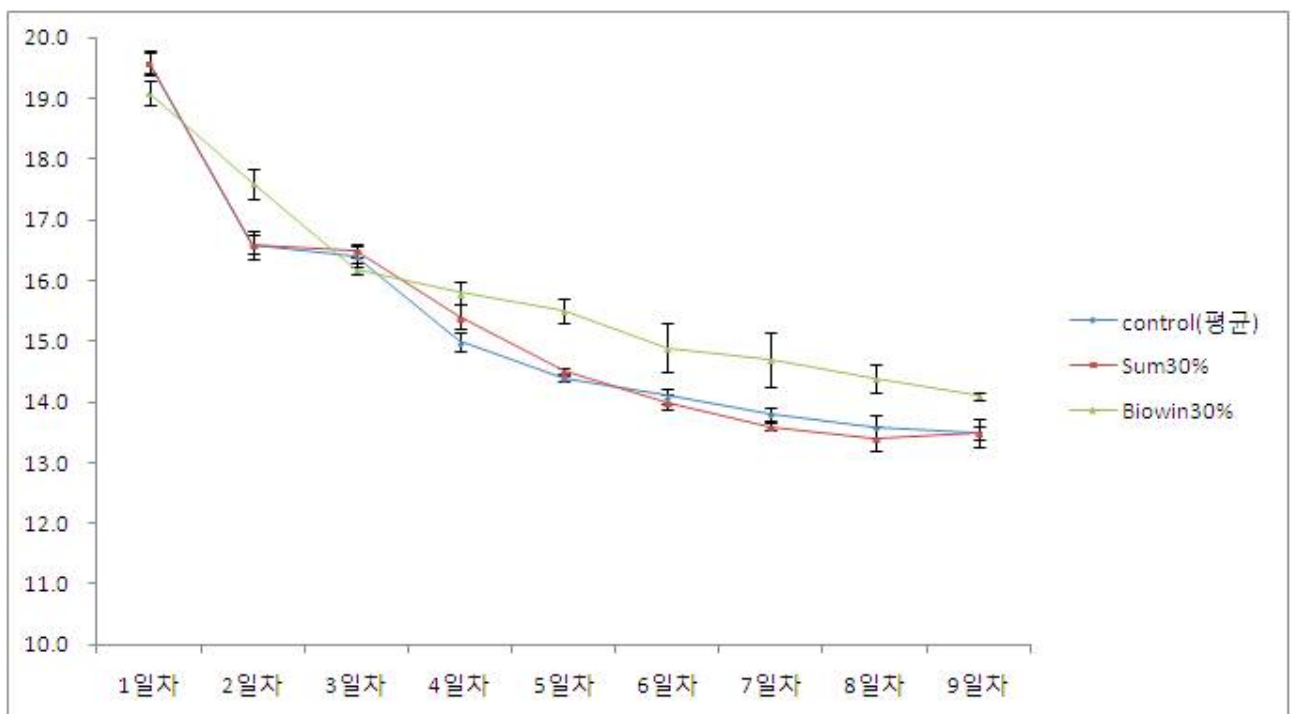
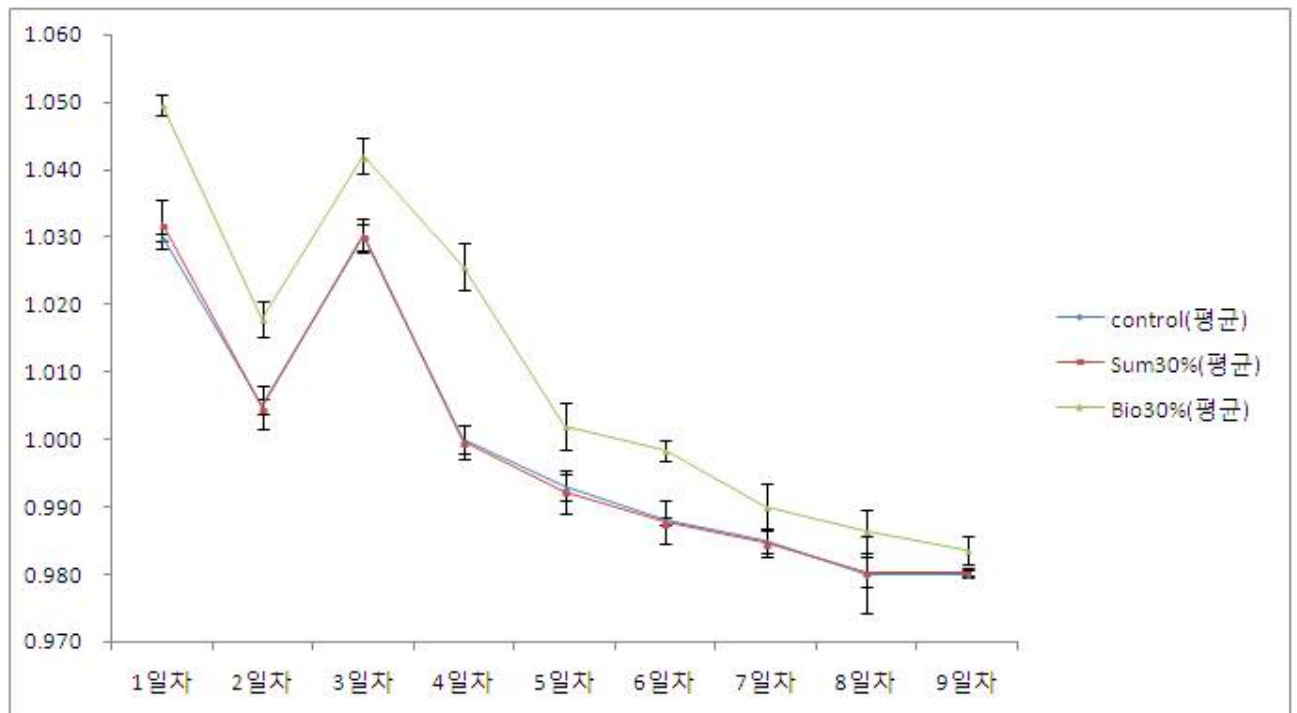


그림 1-22. RH 대체효소별 발효경과(비중)



(6) 누룩취 저감 확인 실험

(나. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스 최적 발효조건을 위한 당화효소 선발) 내 누룩취 저감을 위해 선정된 당화효소와 전통곡자, 개량누룩을 실험군으로 다른 조건을 동일 시 한 상태에서 발효를 진행하고 발효가 종료된 술덧과 그 술덧을 증류하여 얻어진 증류주 중 선정된 당화효소를 사용한 제품이 실제적으로 누룩취 저감효과가 있는지 확인하기 위하여 단국대학교 식품영양학과에서 훈련 중인 주류 관능평가 패널들을 대상으로 누룩취에 대해서 훈련을 진행 한 후 각 실험군의 발효 술덧과 증류주에서 누룩취에 대한 관능 평가를 실시하였다.

(가). 누룩취 훈련

: 평가 전 15명의 패널들에게 3종류(송학곡자(전통곡자), 개량누룩, 선정된 당화효소)의 누룩을 5%, 10%, 15%로 희석하여 제공하여 누룩취가 어떤 특성인지 알고 그 강도를 평가하는 훈련을 실시하였다. 그림 1-23은 각 농도별로 희석한 개량누룩이며 평가결과는 아래 표 1-10.에 나타내었다.

표 1-10. Intensity of 'Nuruk' flavor

시료	누룩취 강도 값의 평균		
	5%	10%	15%
송학곡자	3 ¹	7	8
개량누룩	8	11.5	13
선정된 당화효소	9	13	15

¹패널들의 합의를 통해 도출된 값

누룩을 희석한 시료의 강도평가 결과 누룩취는 선정된 당화효소>개량누룩>송학곡자 순으로 강한 것으로 나타났다.

(나). 시료 평가 및 결과

그림 1-23. 누룩취 훈련을 위한 희석 시료(좌), 훈련 중인 패널



그림 1-24. 관능평가를 위한 각 실험군의 발효 술덧(좌)과 증류주(우)



각 실험군의 발효 술덧과 증류하여 알코올분 40도(v/v%)로 맞춘 증류주를 15점 척도를 이용하여 15명의 훈련 된 패널에게 누룩취의 강도를 평가하게 하였다.

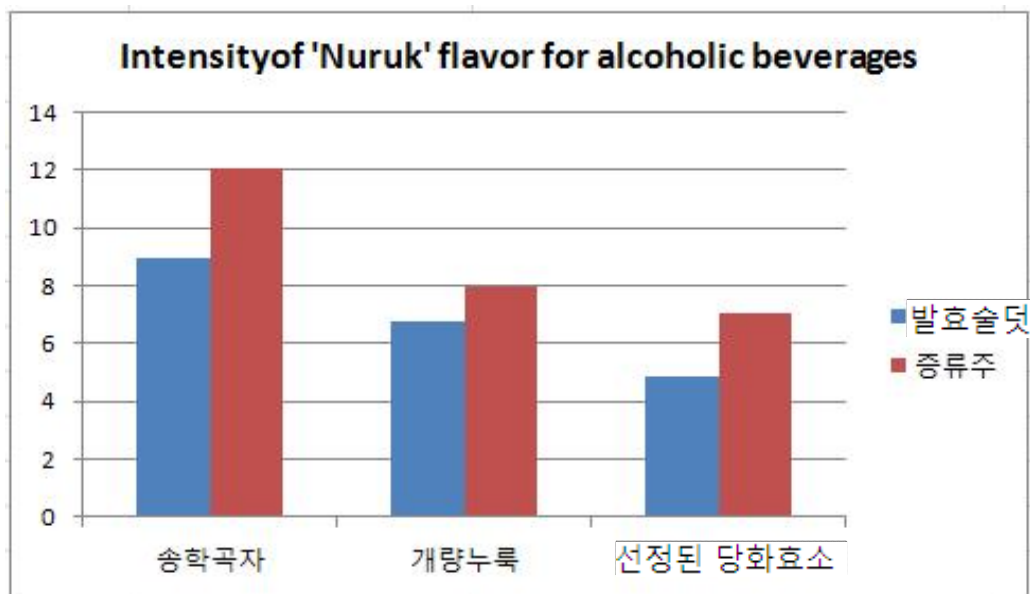
표 1-11. Intensity of 'Nuruk' flavor for distilled beverages

시료	누룩향 강도 값의 평균		
	송학곡자	개량누룩	선정된 당화효소
발효 술덧	8.98±3.32 ¹ a ²	6.79±2.23 b	4.83±2.01 c
증류주	12.04±3.28 a	7.96±1.73 b	7.04±3.08 b

1. Standard deviation

2. Different superscripts in the same row are significant different ($p < 0.05$)

그림 1-25. Intensity of 'Nuruk' flavor for alcoholic beverages



실제 누룩을 5%, 10%, 15% 희석하여 강도 평가한 것과 다르게, 발효 술덧과 증류주시료에서 모두 송학곡자를 사용한 시료의 누룩취 강도가 가장 강하게 나타났으며 발효 술덧의 경우 선정된 당화효소를 사용한 시료가 유의적으로 가장 낮은 누룩취를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 전반적으로 발효 술덧 시료의 누룩취 강도가 증류주의 누룩취 강도보다 낮게 측정된 것은 발효 술덧에서의 효모와 원료의 향 등 다른 특성과 혼합되어 상대적으로 낮게 나타난 것으로 사료된다.

본 관능검사를 통하여 선정된 당화효소가 전통 곡자나 개량한 누룩에 비해 누룩취가 저감된 것을 확인할 수 있었으며, 관능평가 결과상에서 타 실험군에 비해 10% 이상 누룩취를 저감 시킨 것으로 보여 진다. 선정된 당화효소는 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발>에 사용하여 누룩취에 거부감을 느끼는 내·외국인의 기호에 맞는 최종 제품을 개발하고자 한다.

다. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 유해물질 저감을 위한 효모 선발, 이취 저감

(1) 1차 효모선발

에틸카바메이트 (EC)는 세계보건기구(WHO) 국제암연구소에 유방암 및 대장암 관련 발암성 물질로 규정된 물질로 농작물의 재배 시 질소비료의 사용이 증가함에 따라 검출량이 증가하고 있는 실정이어서 EC의 존재는 발효주와 증류주에 지속적으로 문제가 대두되고 있다. 우리나라 식품의약품안전처는 캐나다와 체코 등 외국의 관련기준을 참조하여 국내 기준을 설정할 예정으로 포도주 0.03mg/kg, 과일브랜디, 과일주 등 리큐르 0.4mg/kg, 청주·약주 0.2mg/kg, 일반증류주 0.15mg/kg, 위스키 0.15mg/kg로 해당물질의 검출 기준이 설정될 예정이다.

표 1-12. 제외국의 주류 에틸카바메이트 관리 기준

국 가	기 준 (µg/kg)				
	Table wines	Fortified wines	증류주	청주	과일브랜디
캐나 다	30	100	150	200	400
미국 ^{c)} (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

a) Fruity wines and liqueurs
b) Fruity distillates and fruity, mixed and other spirits
c) 자율기준으로 적용하고 있으나 수입품에 대하여 동 기준을 적용하고 있음.
※ FDA, Codex 및 제 외국 : 주류에 대해 자율적인 EC 저감화 권고

EC의 발생기작은 크게 두가지로 나누어지는데 첫째, 발효 중 발생하는 아미노산의 일종인 아르기닌이 효모에 의해 분해된 요소와 에탄올 사이의 반응을 통해 생성되며, 둘째, 핵과류에서 발견되는 시안배당체는 효소반응으로 시안화수소산으로 분해된 후 산화되어 cyanate를 형성하고, cyanate가 에탄올과 반응하여 EC를 생성시킨다.

그림 1-26. 효모에 의한 EC 전구체, 요소 생성 생성기작

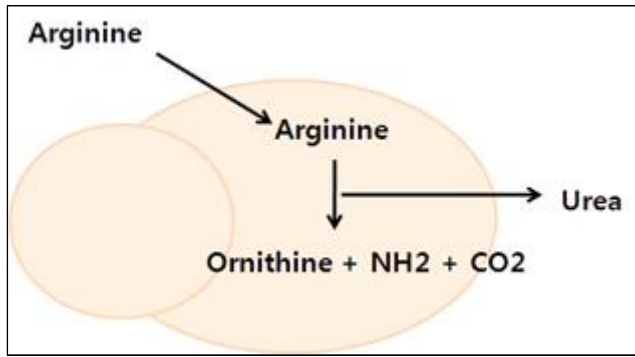
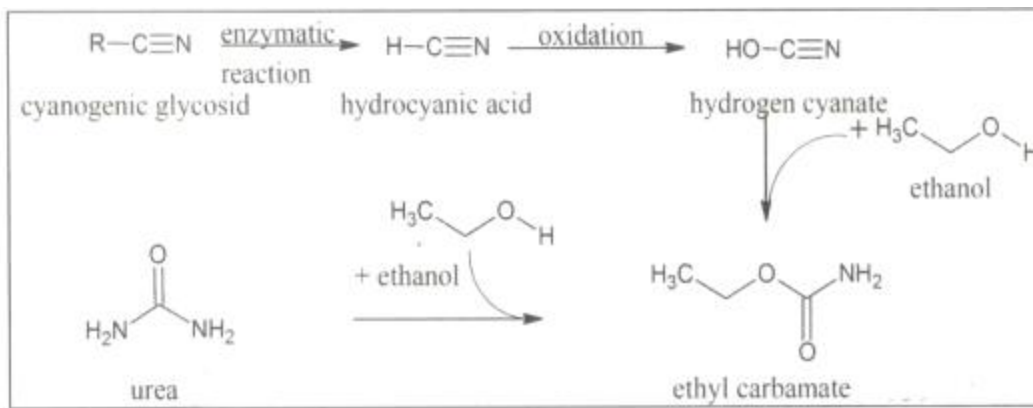


그림 1-27. 에틸카바메이트 생성 기작



이렇게 생성된 EC의 저감화 방안은 현재 전 세계적으로 진행 중에 있으며 비료나 증류기에 의한 제어가 아닌 발효에서의 원천적 제어 방안은 요소를 분해하는 효소를 사용하거나, 아르기닌 분해활성이 낮고, 요소 분해활성이 높은 효모를 사용해야 한다. 또한 과실주의 경우 핵과류 씨앗에서 시안화배당체가 술덧으로 침출되지 않도록 하여야 하며, 젖산균에 의해 시트룰린이 생성되지 않도록 하여야 한다.

쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 발효 시 유해물질(특히 EC) 저감을 위한 방법으로는 사용이 제한적인 효소를 사용하는 것보다 본 실험에서는 효모를 활용한 저감을 진행코자 한다.

사용할 효모의 1차 선발 조건은 우선순위부터 첫째, 유해물질(특히 EC) 저감을 위한 효모여야 하며, 둘째 과실주 등에서 유해물질 저감에 사용하는 효모, 세번째 상업적으로 구매 가능한 효모, 네 번째 증류주용 전용 효모이다.

본 과제의 1차 선발한 효모는 다음과 같으며 곡물발효주에서 사용할 control 효모는 S.I.Lesaffre 社, La Parisienne이며, 과실증류주에서 사용할 Control 효모인 DSM Food Specialties 社, Fermivin는 본 실험에서 제외시킨다.

표 1-13. 1차 선발 효모

name	종	속	형태	nitrogen needs	H2S production 60ppm	선정사유
Lalvin 71B	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	very low	EC 저감용효모(식약처권고)
Lalvin BM4X4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High		상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin Clos	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모			상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin Cy3079	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High	low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin DV10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>bayanus</i>	건조효모	low	low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin EC1118	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>bayanus</i>	건조효모	low	very low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin ICV D254	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin ICV D47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	very low	과실주용 유해물질 저감효모
Lalvin R-HST	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin V1116 K1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		very low	상업적으로 구매가능한 효모
BDX	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High	high	상업적으로 구매가능한 효모
CM 796	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low		상업적으로 구매가능한 효모
Eau de vie	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	액상효모			증류주용 효모
LA PARISIENNE	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모			국내 곡물발효주 Standard 효모
Fermivin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	low	국내 과실주 Standard 효모
Premier cuvee	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	low	EC 저감용효모(식약처권고)

(가). 발효온도 설정사유

표 1-14에 따르면 선정한 효모의 적정 발효온도 교집합은 20~25℃로 정하여 진다. 발효온도가 낮을 시 효모의 알코올 생성 속도가 늦어져 발효기간이 길어지며, 발효기간의 장기화는 EC 등의 생성에 영향을 줄 수 있다. 또한 위스키 등의 곡물증류주에서 유황냄새가 생성되는 기작은 두가지 반응에 의해서인데 첫째가 아미노산의 합성반응이며 맥즙에서의 유황염 환원반응이다. 증류기 등의 재질을 통하여 이취를 발생시키는 황화합물을 포집하는 방법도 있지만 원천적으로 높은 온도에서 발효시켜 발효 중에 배출되는 탄산가스에 의해 제거시키는 방법도 있다. 본 실험에서 사용할 효모의 적정 발효온도 교집합 중 가장 높은 온도는 25℃로써 <안전한 쌀증류주 제조 기술 개발>을 위한 발효온도는 25℃로 설정한다.

표 1-14. 1차 선발한 효모의 발효 적정 온도 조건

Strain	종	속	적정 발효온도(°C)
Lalvin 71B	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~28
Lalvin BM4X4	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	16~28
Lalvin Clos	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	13~35
Lalvin Cy3079	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~25
Lalvin DV10	Saccharomyces cerevisiae	bayanus	10~35
Lalvin EC1118	Saccharomyces cerevisiae	bayanus	10~30
Lalvin ICV D254	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~28
Lalvin ICV D47	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~30
Lalvin R-HST	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	10~35
Lalvin V1116 K1	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	10~35
BDX	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	18~30
CM 796	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	20~30
Eau de vie	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~30
LA PARISIENNE	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~35
Fermivin	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~35
Premier cuvee	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	7~30

(2) 효모별 발효특성

1차 선발한 효모 15종을 사용하여 산패균의 원천적 차단과 누룩취 저감을 위한 당화효소 선발에서 선정된 방식을 적용시켜 발효경과를 확인하고 유해물질을 확인하여 <안전한 쌀증류주 (Blending Base) 제조기술 개발>에서의 최적의 효모를 선정하고자 한다.

<실험방법>

쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고온체에 받쳐 30분간 물빼기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25°C의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀증류주용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 증자발효법에서 물빼기가 완료된 쌀은 12°C, 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다. 1차 선발한 효모 15종은 활성을 갖게 하여 30°C까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 25°C로 설정하며 이때 젓산을 사용하여 pH를 3.2로 맞추어 산패균으로부터 원천적인 차단을 진행한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 발효의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단 발효는 효모의 활성과 번식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록 한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 본 실험에서 사용할 control 효모는 S.I.Lesaffre社, La Parisienne이며 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국세청 기술연구소 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며, 각 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

<결과 및 고찰>

pH의 경우 control과 같이 2일차에 증가, 3일차 2단 담금으로 인한 감소 이후 증가로 진행되는 곡선의 형태는 드물게 나타나며 대부분의 실험군은 Lalvin ICV D47과 같이 점차적으로 증가하나 3~5일차에서 약간의 감소구간이 있는 것이 대부분으로 형성된다. Lalvin 71B의 경우 감소없이 발효 경과일동안 지속적인 상승이 진행되는데 이는 내산성이나 산 생성 능력과 관계가 있는 것으로 보여진다. Eau de vie와 Premier cuvee의 경우 초기 pH가 다른 실험군에 비해 높고 2일차에 낮아지는 형태의 곡선을 형성하는데 Eau de vie의 경우 효모의 발효 start가 늦은 것에 기인할 수 있으며 Premier cuvee의 경우는 발효초기에 pH를 높이는 대사산물을 발생시키는 것으로 사료된다. 각 실험군의 발효 경과일 동안 표준편차는 pH 0.1이하에서 측정되었으며 전 발효경과 일동안의 혐기성 검정 시 산패균의 오염은 발견되지 않았다.

산도의 경우 담금 직후 젖산에 의한 pH 조정으로 인하여 1일차 산도가 높게 형성되고 2일차에 상승, 3일차는 2단 담금으로 인한 감소가 이루어지며 이후 소폭 상승하는 곡선이 대부분 형성된다. Eau de vie는 효모의 발효 start가 늦게 진행되어 초기 산도가 낮게 형성된 것으로 사료되나 산 생성능력이 높아 이후 상승 곡선이 형성된다. 각 실험군의 발효경과 일자별 표준편차는 산도 0.15 이하로 측정되었으며 전 구간 내에서 산패균의 오염은 관찰되지 않았다. 발효경과 9일차의 효모별 최종 산도는 Lalvin BM4X4가 4.3으로 가장 높은 산도를 기록하였으며 Lalvin 71B가 2.2로 가장 낮은 산도를 기록하였다. 산 생성능력은 1일차 산도에 비해 9일차까지 얼마나 증감했는지를 보고 판단하였으며 그 결과는 (표 1-15. 효모별 산도 생성 순위)에 나타나 있다. Eau de vie는 산도 1.2가량 증가하여 가장 높은 산 생성능력을 보여주었고 나머지는 모두 감소하였으며 Lalvin 71B의 경우 감소폭이 가장 큰 것으로 나타났다.

표 1-15. 효모별 산도 생성 순위

	산도		9일차 Rank		산도		증감	증감 rank
	1일차	9일차			1일차	9일차		
Lalvin BM4X4	5.42	4.32	1	Eau de vie	2.45	3.67	1.22	1
Lalvin V1116 K1	5.14	3.95	2	Lalvin BM4X4	5.42	4.32	-1.11	2
Lalvin Clos	5.65	3.85	3	Lalvin V1116 K1	5.14	3.95	-1.19	3
Eau de vie	2.45	3.67	4	Lalvin Cy3079	4.86	3.27	-1.59	4
Lalvin R-HST	5.54	3.60	5	Lalvin Clos	5.65	3.85	-1.80	5
Lalvin ICV D47	5.47	3.51	6	Lalvin R-HST	5.54	3.60	-1.94	6
BDX	5.56	3.43	7	Lalvin ICV D47	5.47	3.51	-1.96	7
CM 796	5.44	3.40	8	CM 796	5.44	3.40	-2.04	8
Premier cuvee	6.15	3.35	9	BDX	5.56	3.43	-2.13	9
Lalvin Cy3079	4.86	3.27	10	Lalvin EC1118	5.36	3.08	-2.28	10
Lalvin DV10	5.59	3.15	11	Lalvin DV10	5.59	3.15	-2.43	11
Lalvin ICV D254	5.89	3.11	12	Lalvin ICV D254	5.89	3.11	-2.78	12
Lalvin EC1118	5.36	3.08	13	Premier cuvee	6.15	3.35	-2.80	13
LA PARISIENNE	6.11	3.06	14	LA PARISIENNE	6.11	3.06	-3.05	14
Lalvin 71B	5.32	2.23	15	Lalvin 71B	5.32	2.23	-3.09	15

알코올의 경우 Eau de vie 실험군을 제외하고 control과 유사한 곡선을 형성한다. 3일차에 알코올도수가 감소하는 것은 2단 담금에 의한 것이며 각 실험군의 발효경과일 동안의 표준편차는 0.3

도(v/v%)로 나타났다. 1일차에 알코올도수의 높고 낮음은 효모의 start 능력을 나타내는 것으로 Lalvin 71B가 가장 빠른 start 능력을 보여주고 있으며 Eau de vie가 가장 느린 start를 보여주고 있다. 최종 발효 경과일의 알코올도수는 알코올 생성 능력을 나타내는 것으로 (표 1-16. 효모별 알코올 생성 순위)에 나타난 것처럼 Lalvin 71B>Premier cuvee>LA PARISIENNE>Lalvin Cy3079>Lalvin EC1118>Lalvin ICV D254>Lalvin ICV D47>Lalvin DV10>Lalvin V1116 K1>Lalvin BM4X4>Lalvin R-HST>CM 796>Eau de vie>Lalvin Clos>BDX 순으로 나타나며 Lalvin 71B는 17.5도(v/v%),Premier cuvee는 17.2도(v/v%),LA PARISIENNE은 17.1도(v/v%)로 17도 이상의 알코올 생성 능력을 보여주고 있다. BDX는 15도(v/v%)로 가장 낮은 알코올 생성능력을 보여주고 있으며 Lalvin 71B과 비교 시 2.5도(v/v%)까지 차이를 보이고 있다.

표 1-16. 효모별 알코올 생성 순위

	알코올(v/v%) 9일차	9일차 Rank
Lalvin 71B	17.53	1
Premier cuvee	17.23	2
LA PARISIENNE	17.10	3
Lalvin Cy3079	16.83	4
Lalvin EC1118	16.83	5
Lalvin ICV D254	16.77	6
Lalvin ICV D47	16.73	7
Lalvin DV10	16.67	8
Lalvin V1116 K1	16.30	9
Lalvin BM4X4	16.20	10
Lalvin R-HST	16.03	11
CM 796	16.03	12
Eau de vie	15.90	13
Lalvin Clos	15.83	14
BDX	15.00	15

당도의 경우 전체적으로 감소하는 곡선을 형성하고 있으며 알코올 생성과 정확히 상관관계가 있는 것은 아니다. Eau de vie의 경우 초기 발효 start가 늦어 당화효소에 의한 당도 형성이 진행된 것으로 사료되며 최종 발효일자에서 알코올 함량이 가장 낮은 BDX가 가장 높은 당도를 나타내고 있다. 각 실험군의 발효경과일 동안 표준편차는 0.3 °Brix 이하로 형성되며 구간 내에서 특이한 상황은 보이지 않는다.

비중의 경우 알코올 곡선과 정확히 반비례하고 있으며 이는 곡물발효주에서 비중이 알코올 발효의 척도가 될 수 있음을 의미한다. 1일차와 2일차 사이에 Eau de vie를 제외하고 대부분의 실험군 간에 큰 차이를 두지 않는 것은 1단에 효소제가 집중되어 있기 때문이며 Eau de vie는 발효 start가 늦어 3일차까지 높은 비중을 형성한다.

그림 1-28. 효모별 발효경과(pH)

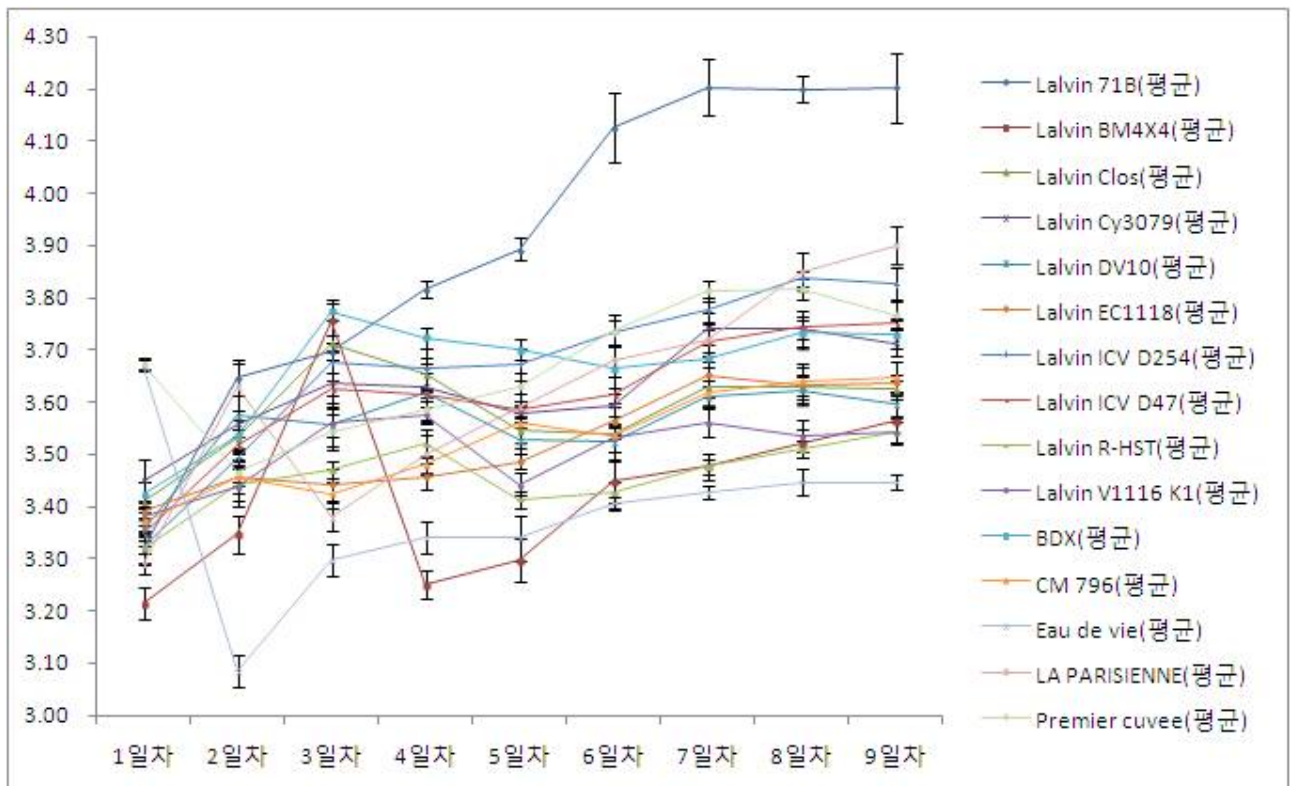


그림 1-29. 효모별 발효경과(산도(적정산도))

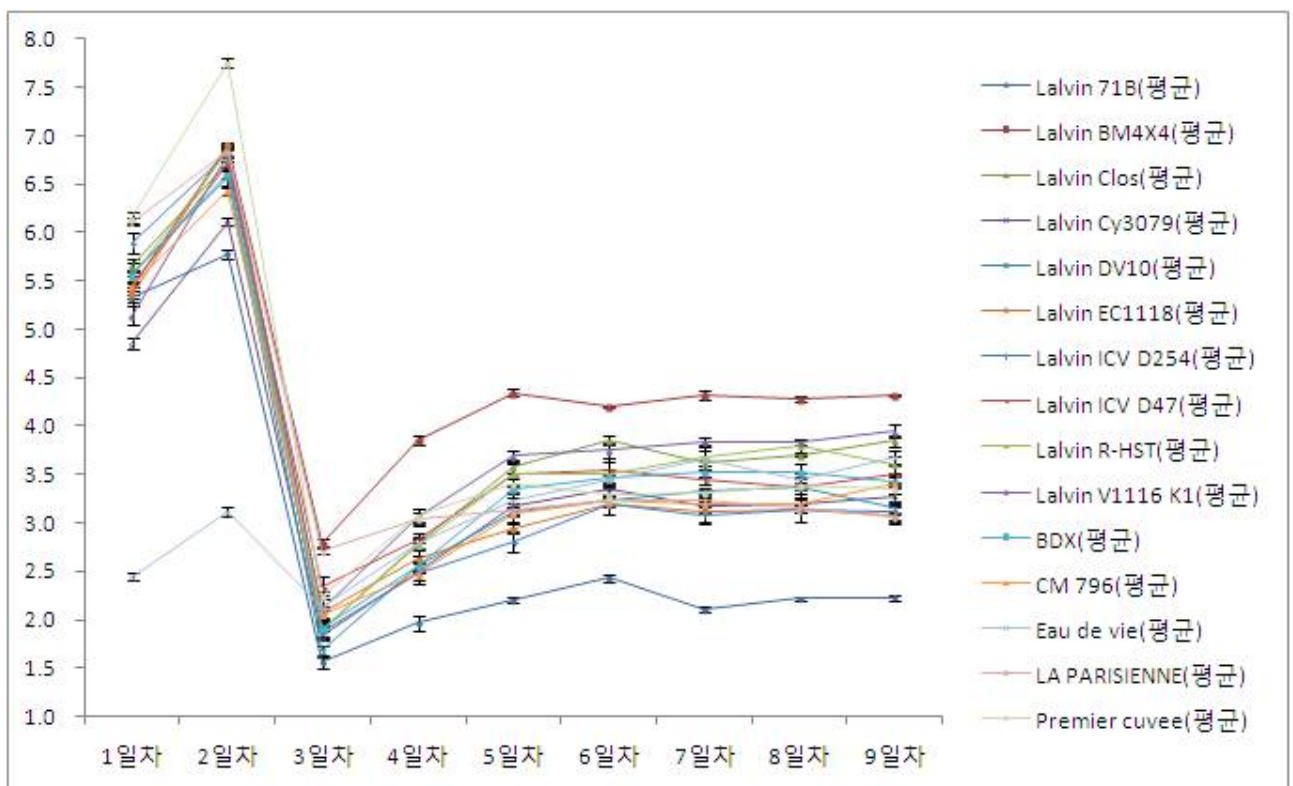


그림 1-30. 효모별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

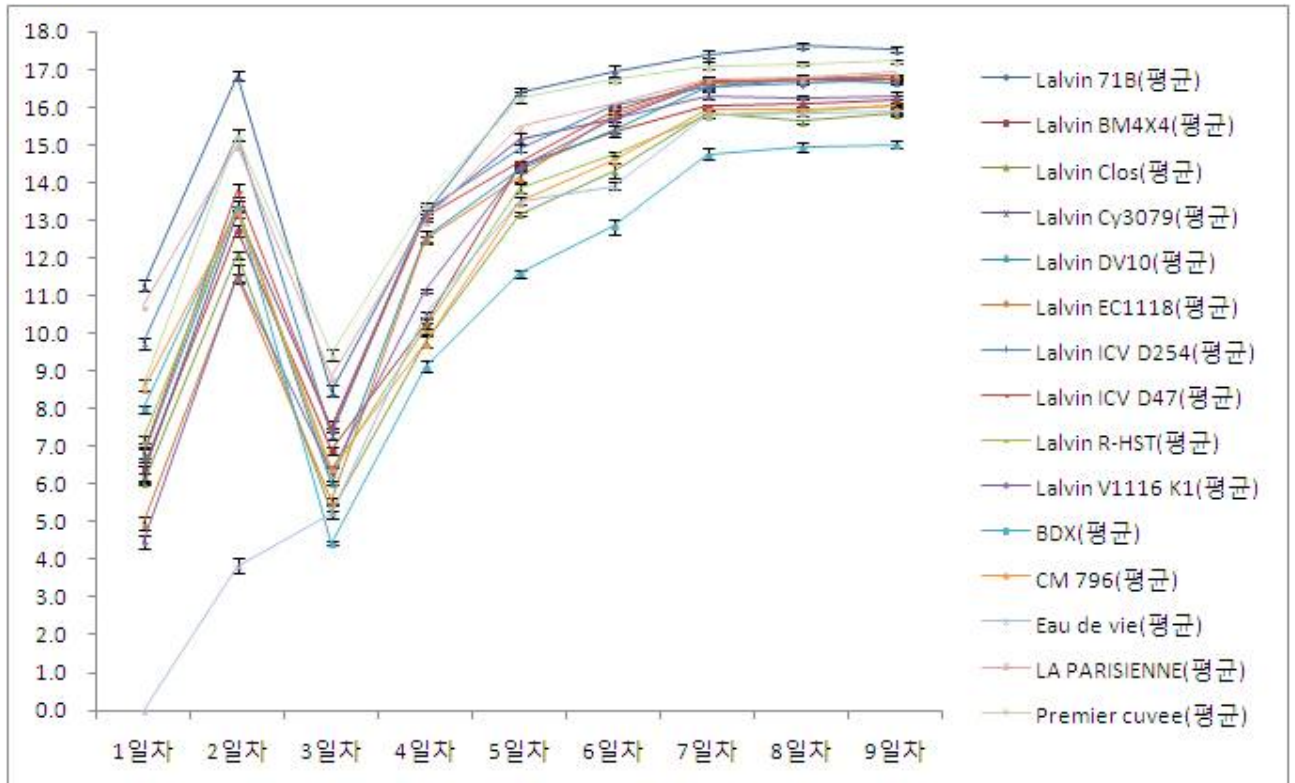


그림 1-31. 효모별 발효경과(당도(단위: °Brix))

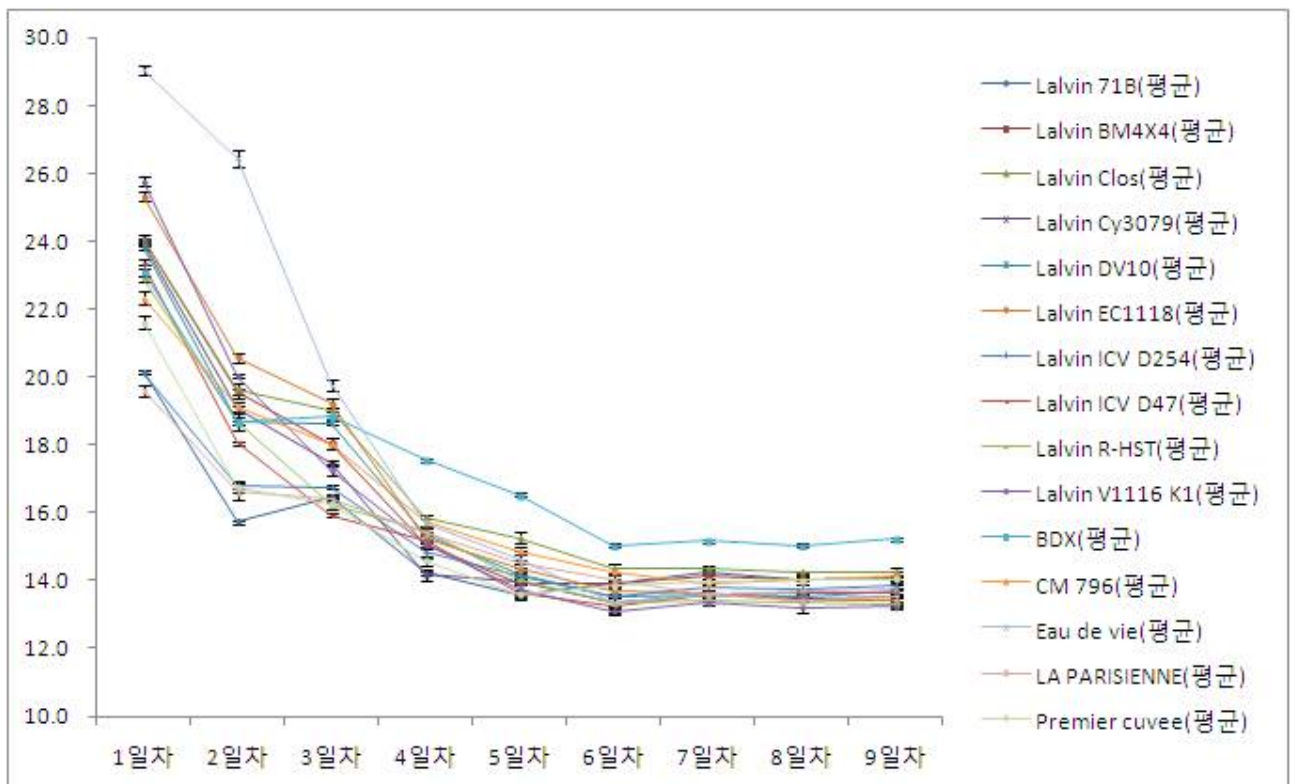
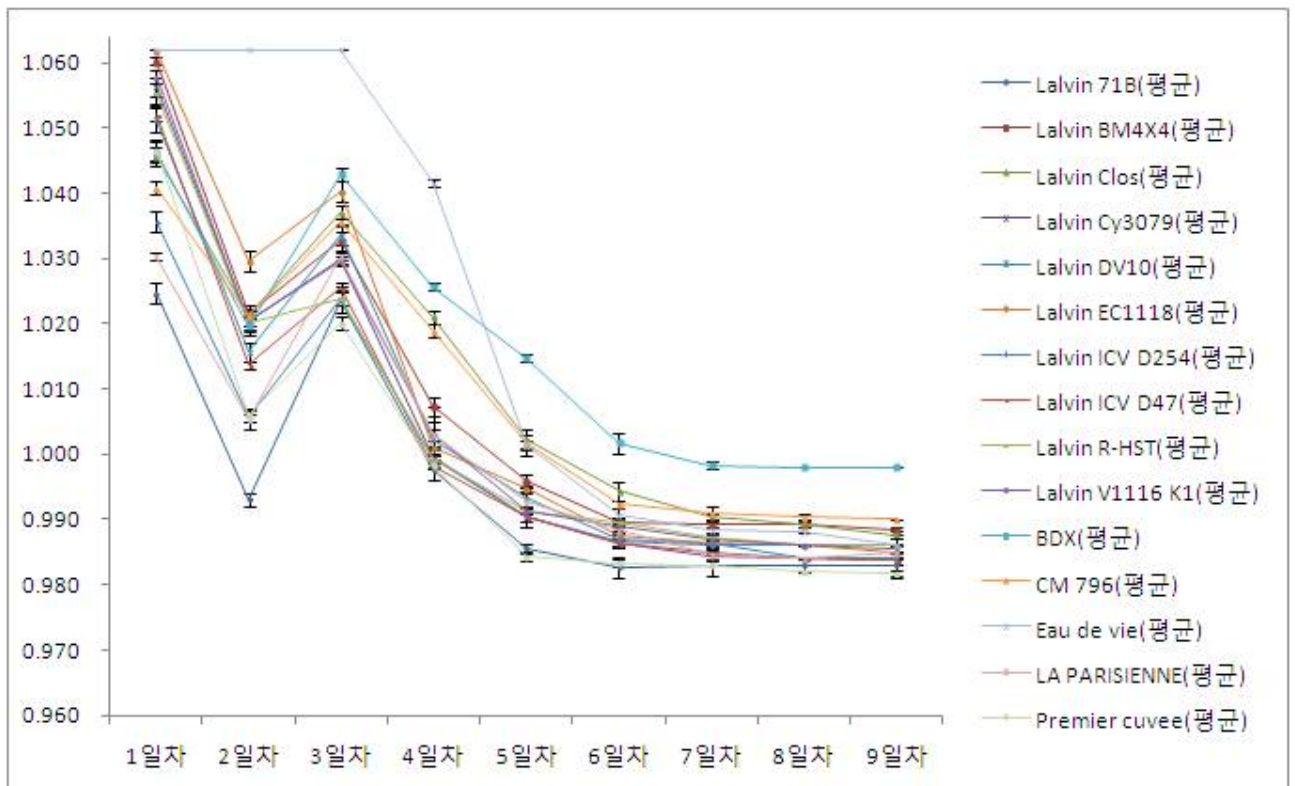


그림 1-32. 효모별 발효경과(비중)



(3) 효모별 발효 시 발생하는 EC

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트(EC)는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 곡물발효주의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 주요 전구체라 하겠다.

<실험방법>

에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

(4) 효모별 발효주의 황화합물 분석

증류주에는 여러 종류의 휘발성 향기성분들이 존재하며 다양한 휘발성 화합물들이 복합적으로 후각을 자극하여 주류의 독특한 향을 결정하게 된다. 이러한 휘발성 화합물들에는 퓨젤 오일과 같은 알코올성 화합물 및 에스테르 화합물 및 알데하이드 화합물들이 있으며 주류의 향기성분들 중 대부분을 차지한다. 그러나 주류 중에 아주 미량으로 포함되어 주류의 품질에 치명적인 영향을 미치는 대표적인 물질로는 휘발성 황화합물들로서 아주 극미량으로 주류의 품질을 떨어트리는 역할을 한다고 알려져 있다. 지금까지 알려진 주류의 휘발성 황화합물의 종류는 약 50여 가지가 있으며, 주류의 종류에 따라 다르게 나타난다.

표 1-17. 주류의 대표적인 휘발성 황화합물 성분

	compound	structure	odour	range(ppb)
1	hydrogen sulfide	H ₂ S	rotten egg, decaying seaweed	0.9~1.5
2	diethyl disulfide	CH ₃ CH ₂ SSCH ₂ CH ₃	bad smelling, onion	3.6~4.3
3	diethyl sulfide	CH ₃ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	garlic	0.9~1.3
4	dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	sulfurous, sickly, onion	9.8~10.2
5	dimethyl sulfide	CH ₃ SCH ₃	odourless	17~25
6	ethyl mercaptan	CH ₃ CH ₂ SH	onion, rubber, fecal	1.1~1.8
7	methyl mercaptan	CH ₃ SH	putrefaction, cooked cabbage	1.5

이러한 화합물들은 효모에 의한 발효과정에서 원재료에 함유되어있는 황을 포함하고 있는 아미노산인 cystein, methionin을 효모가 이용하면서 생성된다고 알려져 있다. 이에 효모 종류를 달리하여 제조한 술덧의 함황 아미노산 함량 및 휘발성 황화합물 조성, 술덧을 증류한 증류주의 휘발성 황화합물을 측정하여 휘발성 황화합물이 가장 적게 생성하는 효모를 선정하여 고품질 증류주 개발에 이용하고자 한다.

<분석방법>

-아미노산 조성 분석

휘발성 황화합물의 전구체로 작용하는 함황 아미노산 함량은 아미노산 자동분석기를 이용하여 측정한다. 술덧 5ml에 6N HCl 5ml를 첨가하여 110°C에서 24시간 동안 방치하여 시료를 분해시킨다. 분해시킨 시료를 감압 농축을 반복하여 남아있는 HCl을 제거한 후, 증류수 10ml에 녹여 자동 아미노산 분석기를 이용하여 분석하였다.

-휘발성 황화합물 측정

휘발성 황화합물 추출 및 Head space/Solid phase micro extraction 방법을 이용하여 GC/MS를 이용하여 분석하였다. SPME용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26°C에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 μm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 휘발성 황화합을 흡착시켰다. 휘발성 황화합의 분석과 동

정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

효모별 발효주의 황화물의 함량을 분석 결과, 각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 대표적인 7종의 휘발성 황화합물에 대해서 head space/GC/MS로 분석하였지만 극미량의 hydrogen sulfide는 검출되나 검량 범위 이하의 수준으로 검출되었다. hydrogen sulfide는 항상 아미노산인 메티오닌이 효모에 의해서 대사 광정을 거치면서 생성되나, 끓는점이 아주 낮아서 발효 과정 중에 휘발이 이루어져 발효주에는 극미량이 함유되어 있게 된다. Hydrogen sulfide이외의 다른 휘발성 황화합물은 검출되지 않았다. 이는 발효에 의해서 생성되는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

(5) 효모별 증류 분액 유해물질 분석 및 초류 분리시점 파악 (2차년도 선행 연구)

효모별 발효 시 발생하는 EC의 분석 결과로는 효모의 선정이 어려워 최종 제품에서의 EC 및 전구체를 분석하여 효모를 선정하고자 한다. 2) 효모별 발효특성에서 발효를 시킨 발효 술덧을 이용하여 동일한 증류기를 사용하여 증류를 하고 술덧 내의 성분들의 끓는점 차이에 따라 증류되어져 나오는 순서가 결정되는데 이를 최소 단위로 분획하고 분획한 증류주에 저비점 유해물질의 함량을 측정하여 초류를 분리하고자 한다.

저비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는 점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 에탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국가의 검출 허가 기준은 표 1-17.과 같다.

표 1-17. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	- ^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits) 1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 쌀증류주를 제조하고자 한다. 강화된 검출 기준은 아세트알데히드의 경우 700ppm에서 0.7ppm으로 1/1,000로 설정하였으며 메탄올의 경우 500ppm에서 5ppm으로 1/100로 정하였다.

표 1-18. 주류별 KFDA 검출 허가 기준 및 본 실험 초류 분리 기준

	<KFDA 검출 허가 기준>				<실험 분획기준>				
	Acetaldehyde		MeOH		Acetaldehyde		MeOH		
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)	
증류식 소주	70	700	0.5	500	증류식 소주	0.07	0.7	0.005	5
일반 증류주	70	700	0.5	500	일반 증류주	0.07	0.7	0.005	5
브랜디	70	700	1.0	1000	브랜디	0.07	0.7	0.005	5
도입 기준	국내 기준치 1/1000			국내 기준치 1/100					

<실험방법>

본 실험에서 개발할 최종제품의 대조군은 현재 수입 증가 추세에 있는 브랜디나 곡물 증류주로

써 대부분의 제품이 40도(v/v%)의 알코올로 맞춰져 있다. 발효가 종료된 술덧 15종의 최종 알코올 함량은 15~18도(v/v%)이므로 최종 제품 알코올함량 40도(v/v%)로 맞추려면 상압 단식증류기의 경우 2차 증류까지 진행되어야 한다. 금번 실험에서 사용할 증류기는 상압 동증류기로서 1차에서는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 생각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 100ml 단위로 분획하였다. 2)효모별 발효특성에서 발효가 종료된 발효술덧 15종을 실험군으로 2차 증류 및 분획을 실시하였으며 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 1-33. 본 실험에 사용한 상압 동증류기(가열방식 직부)



<결과 및 고찰>

각 실험군의 분획은 아세트알데히드가 0.7ppm이하로 형성되고 메탄올이 5ppm이하로 형성되는 구간을 초류분리구간으로 정하였고 초류 분리 시점 및 100ml당 저비점 유해물질을 분석한 Data는 그림 1-34~1-48에서 확인할 수 있다. 초류 분리 백분율은 전체 증류된 량(총분획량) 대비 초류가 분리된 량을 백분율로 나타낸 것이며 각 실험군의 효율과 밀접한 관계가 있다. 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 각 실험군의 검출 총합에 총분획량을 대입하여 ppm으로 환산한 내역이며 각 실험군 내에서 발생한 저비점 유해물질을 검출량으로 순위를 매길 수 있다. (표 1-19. 효모별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리)에서 각 실험군의 분석결과와 초류분리 시점에 대해 종합하여 볼 수 있다.

표 1-19. 효모별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리

	Acetaldehyde	MeOH	총분획량 (m ²)	초류분리량 (m ²)	초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 (ppm)			
Lalvin 71B	1.41	6.14	1,600	200	12.50%
Lalvin BM4X4	1.19	7.83	1,700	200	11.76%
Lalvin Clos	14.12	16.15	2,500	700	28.00%
Lalvin Cy3079	13.80	27.18	2,600	700	26.92%
Lalvin DV10	15.06	28.55	2,400	600	25.00%
Lalvin EC1118	15.64	5.19	2,500	800	32.00%
Lalvin ICV D254	13.57	3.43	2,600	700	26.92%
Lalvin ICV D47	12.72	3.56	2,700	700	25.93%
Lalvin R-HST	15.85	3.03	2,500	700	28.00%
Lalvin V1116 K1	8.61	30.83	2,200	600	27.27%
BDX	8.48	23.58	2,700	600	22.22%
CM 796	14.26	22.66	1,900	600	31.58%
Eau de vie	11.01	35.00	2,400	600	25.00%
LA PARISIENNE	32.51	58.30	2,300	800	34.78%
Premier cuvee	22.31	65.83	2,000	700	35.00%

각 실험군의 총 분획량 내 아세트알데히드의 총량으로 순위를 정할 시 Lalvin BM4X4가 1.19ppm으로 가장 적은 아세트알데히드를 생성시켰으며 LA PARISIENNE이 32.51ppm으로 가장 많은 아세트알데히드를 생성시키는 것으로 나타났다. 총분획량 내 메탄올의 총량으로 순위를 정할 시에는 Lalvin R-HST가 3.03ppm으로 가장 적은 메탄올을 생성시켰으며 Premier cuvee가 65.83ppm으로 가장 많은 검출량을 기록하였다. 두개의 저비점 유해물질의 순위는 상관관계가 없이 나타났으며 분획된 순서에서 초기 분획에 집중되어 있고 집중되어 있는 만큼 표준편차는 초기에 높게 형성이 된다.

표 1-20. 효모별 증류주의 아세트알데히드 검출 순위

	Acetaldehyde		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank	
Lalvin BM4X4	1.19	1	11.76%
Lalvin 71B	1.41	2	12.50%
BDX	8.48	3	22.22%
Lalvin V1116 K1	8.61	4	27.27%
Eau de vie	11.01	5	25.00%
Lalvin ICV D47	12.72	6	25.93%
Lalvin ICV D254	13.57	7	26.92%
Lalvin Cy3079	13.80	8	26.92%
Lalvin Clos	14.12	9	28.00%
CM 796	14.26	10	31.58%
Lalvin DV10	15.06	11	25.00%
Lalvin EC1118	15.64	12	32.00%
Lalvin R-HST	15.85	13	28.00%
Premier cuvee	22.31	14	35.00%
LA PARISIENNE	32.51	15	34.78%

표 1-21. 효모별 증류주의 메탄올 검출 순위

	MeoH		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank	
Lalvin R-HST	3.03	1	28.00%
Lalvin ICV D254	3.43	2	26.92%
Lalvin ICV D47	3.56	3	25.93%
Lalvin EC1118	5.19	4	32.00%
Lalvin 71B	6.14	5	12.50%
Lalvin BM4X4	7.83	6	11.76%
Lalvin Clos	16.15	7	28.00%
CM 796	22.66	8	31.58%
BDX	23.58	9	22.22%
Lalvin Cy3079	27.18	10	26.92%
Lalvin DV10	28.55	11	25.00%
Lalvin V1116 K1	30.83	12	27.27%
Eau de vie	35.00	13	25.00%
LA PARISIENNE	58.30	14	34.78%
Premier cuvee	65.83	15	35.00%

초류분리 백분율에 따라 집계한 순위에서는 경제성을 고려할 수 있으며 효모 선발에 한 지표로 작용할 수 있다. Lalvin BM 4X4는 초류 분리 백분율이 11.76%로 가장 적은 초류를 분리하였으며, Premier cuvee이 35%로 가장 많은 초류를 분리하였다. 초류 분리 시점은 저비점 유해물질의 총량보다는 분획 시 증류생성 순서 상 유해물질의 ppm과 상관관계가 있다.

표 1-22. 효모별 증류주의 초류분리 시점에 따른 순위

	초류분리 백분율	Rank
Lalvin BM4X4	11.76%	1
Lalvin 71B	12.50%	2
BDX	22.22%	3
Lalvin DV10	25.00%	4
Eau de vie	25.00%	5
Lalvin ICV D47	25.93%	6
Lalvin Cy3079	26.92%	7
Lalvin ICV D254	26.92%	8
Lalvin V1116 K1	27.27%	9
Lalvin Clos	28.00%	10
Lalvin R-HST	28.00%	11
CM 796	31.58%	12
Lalvin EC1118	32.00%	13
LA PARISIENNE	34.78%	14
Premier cuvee	35.00%	15

본 실험 결과는 증류방식에 따라 단식 증류를 진행한 것이며 증류기 재질은 동, 가열 방식은 직부로 진행된 효모별 초류 분리 및 저비점 유해물질에 대한 분석이다. 초류분리를 한 증류주를 알코올 40도(v/v%)로 맞추어 여과나 기타 조작이 없는 최종제품으로 만들고, 요소와 EC를 분석하고 관능검사를 통하여 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선정하고자 한다.

그림 1-34. Lalvin 71B 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

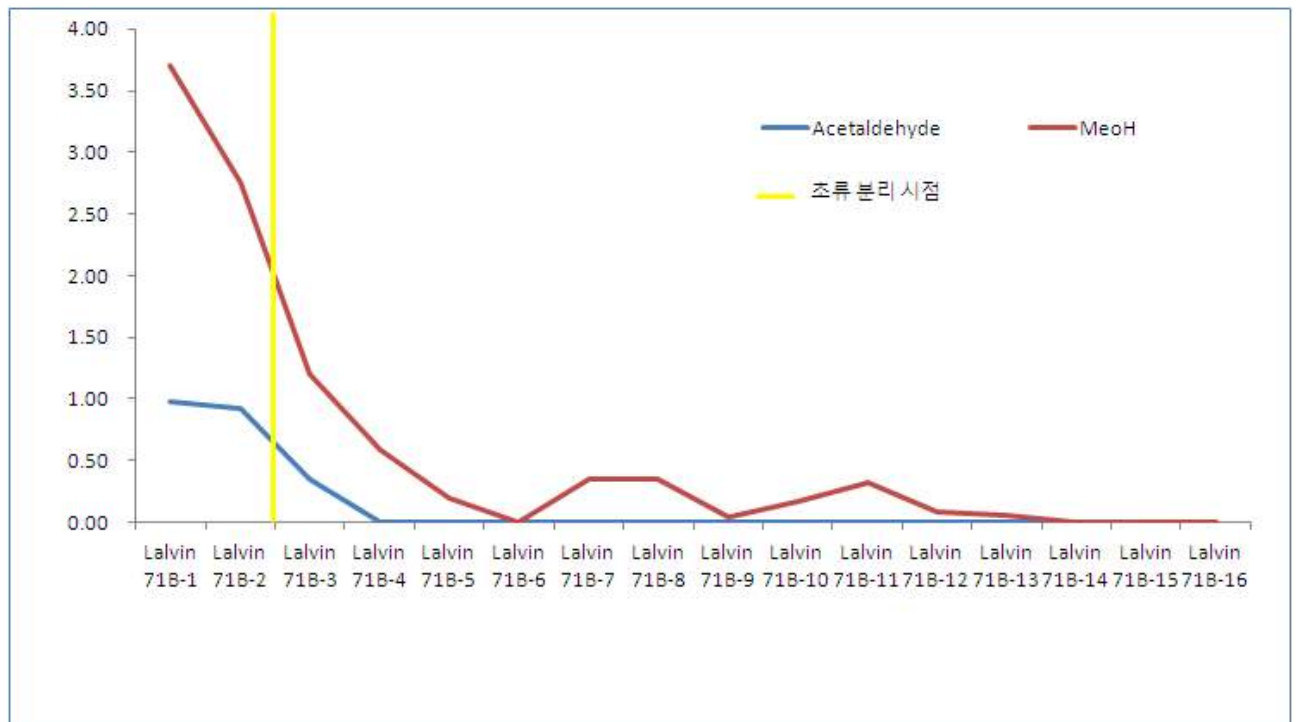


그림 1-35. Lalvin BM 4X4 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

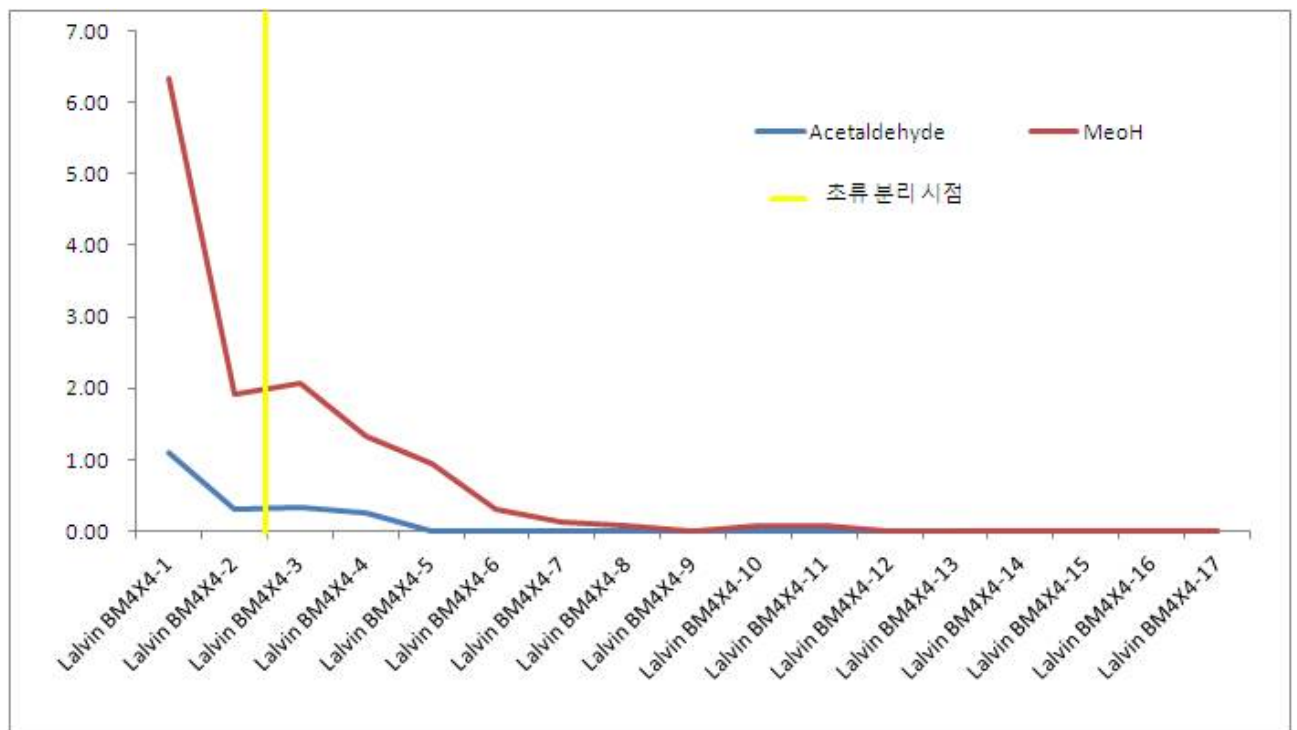


그림 1-36. Lalvin Clos4 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

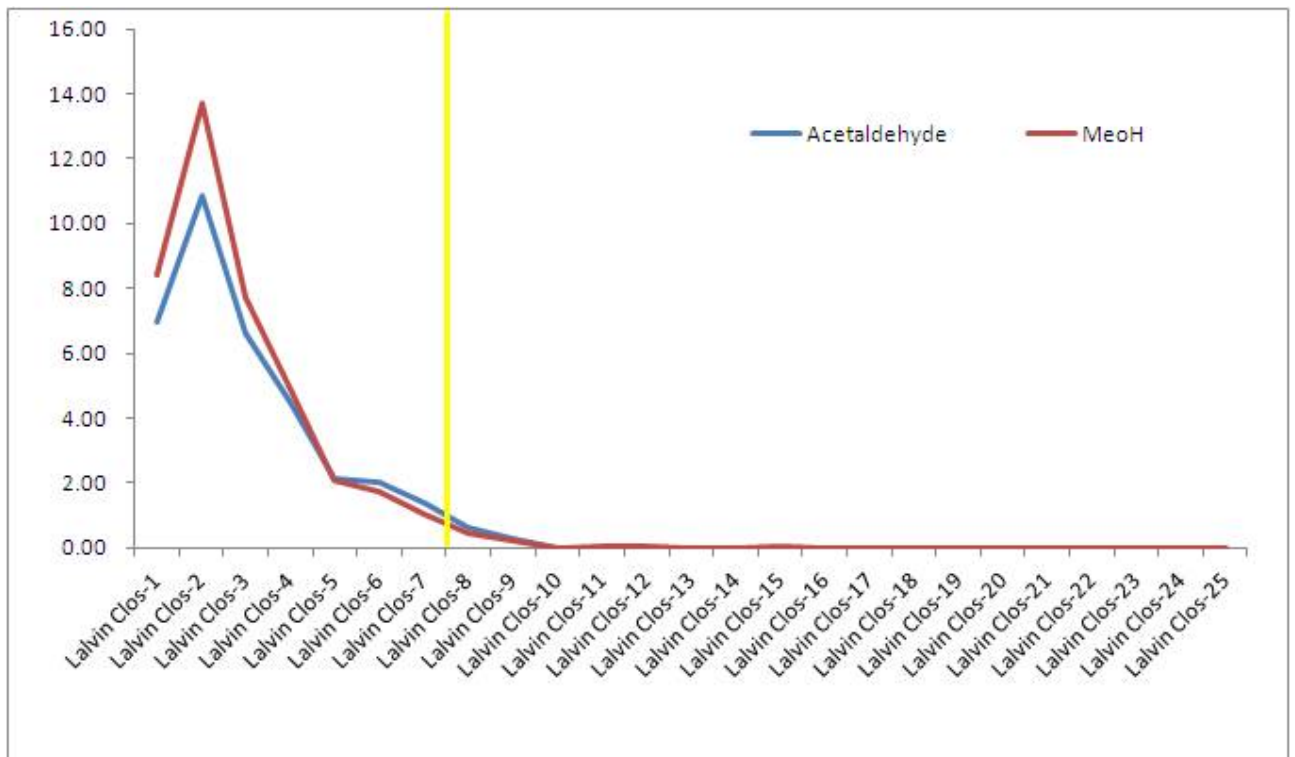


그림 1-37. Lalvin Cy3079 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

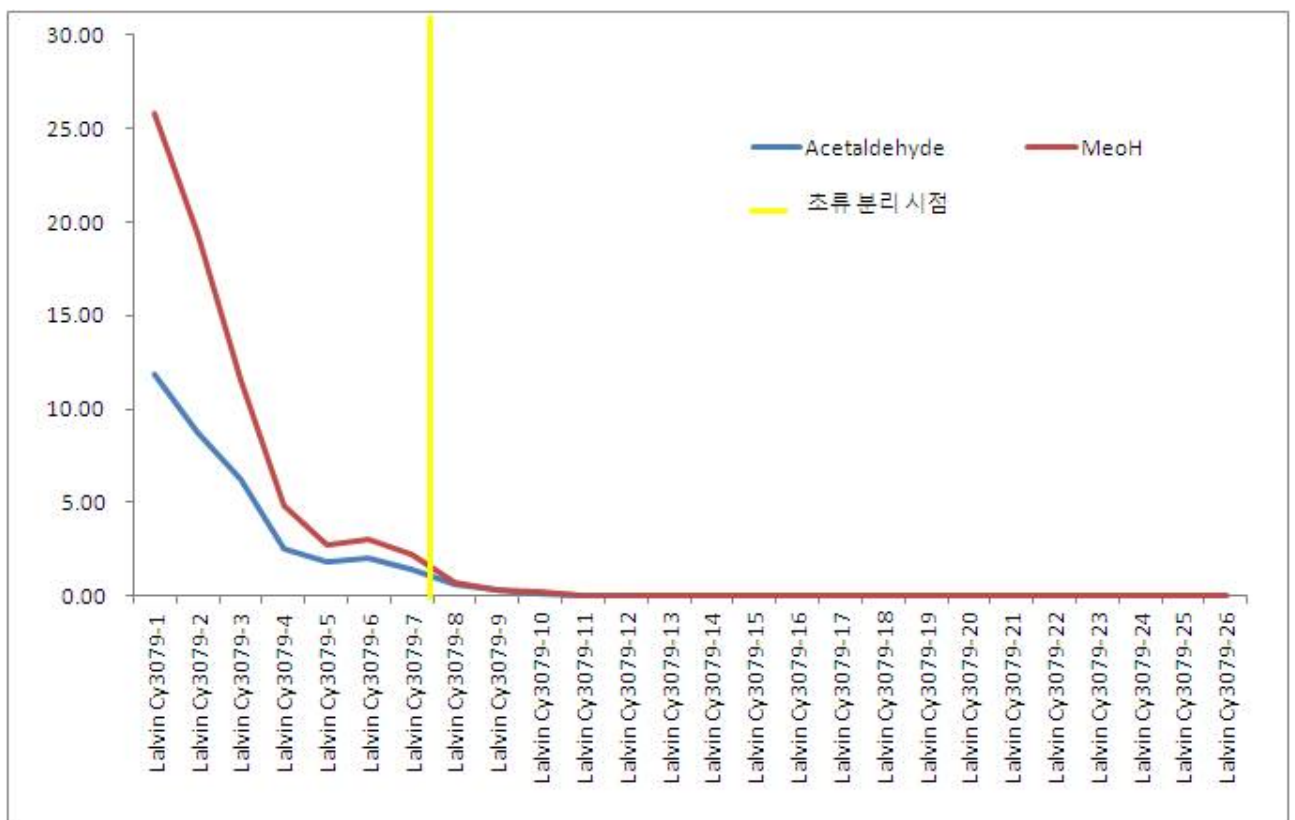


그림 1-38. Lalvin DV10 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

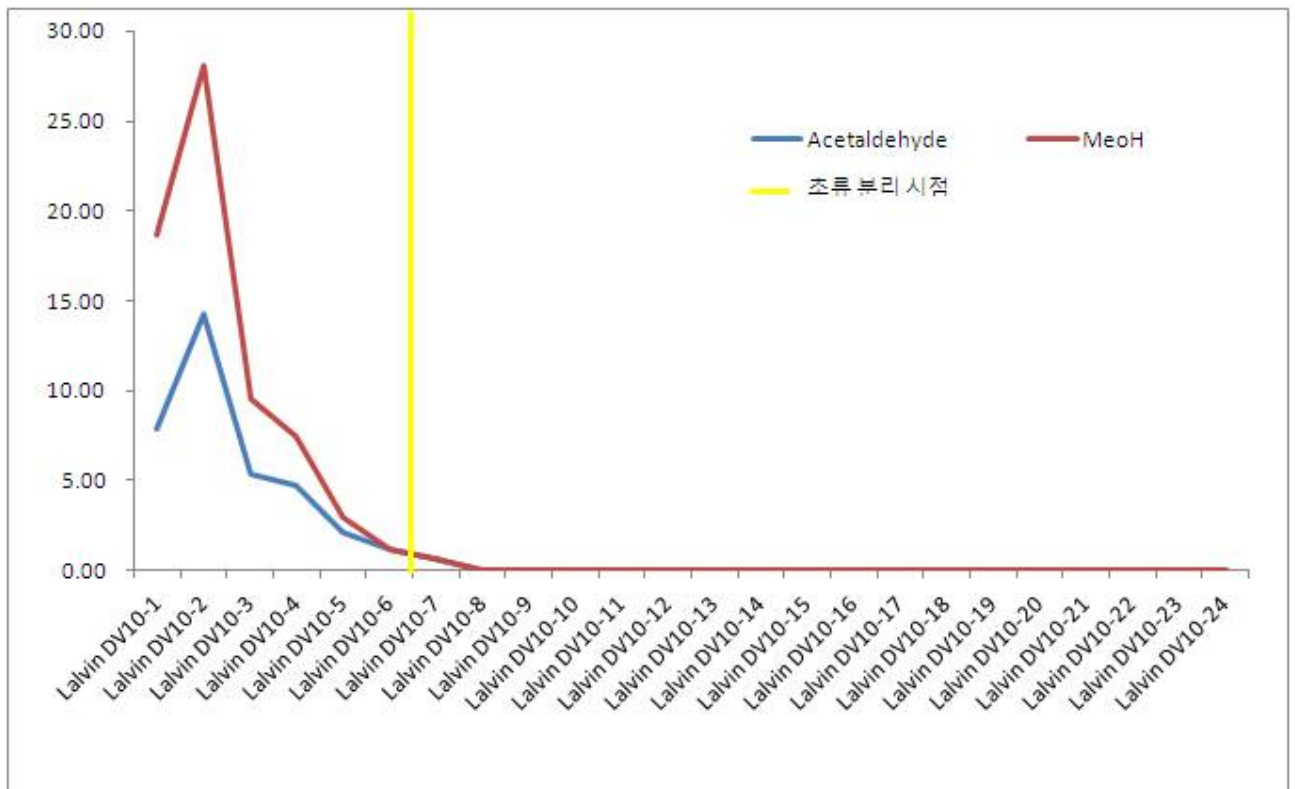


그림 1-39. Lalvin EC1118 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

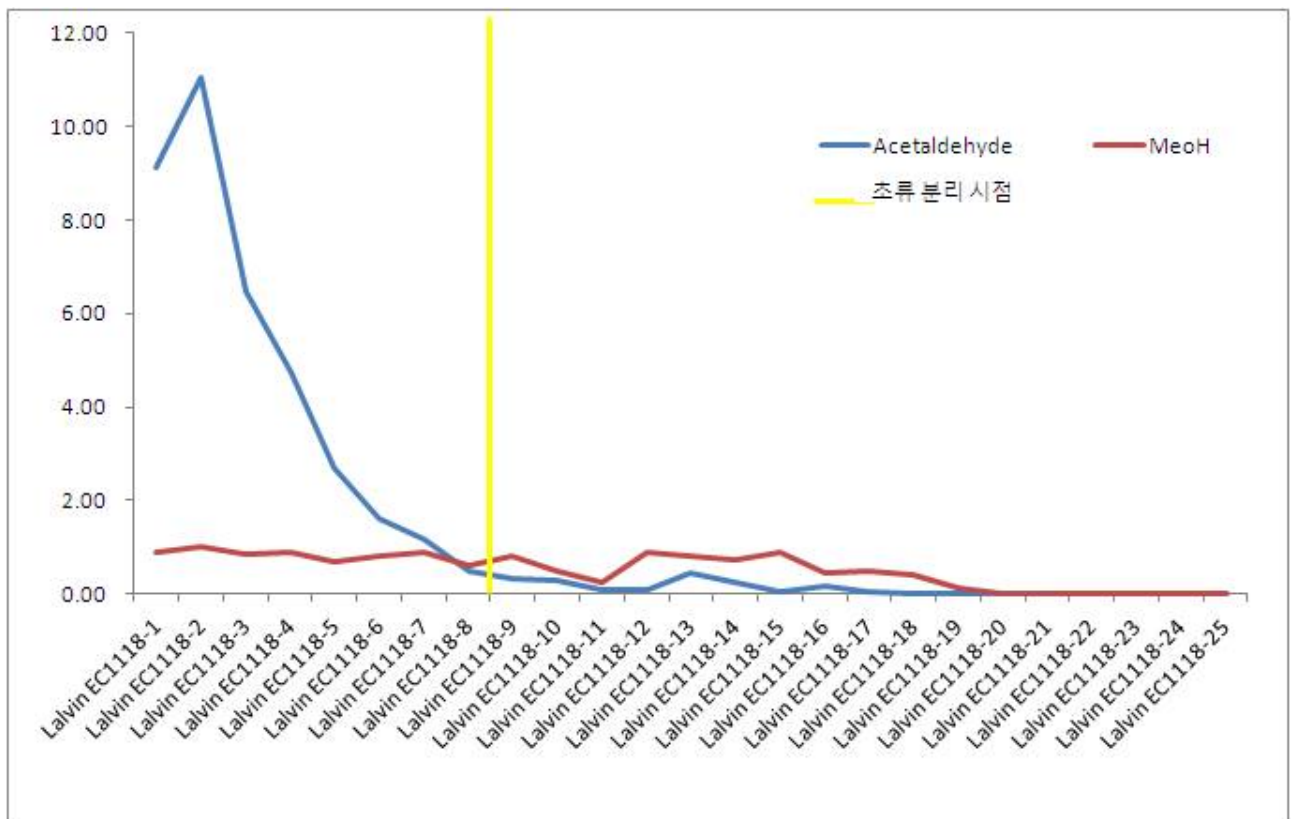


그림 1-40. Lalvin ICV D254 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

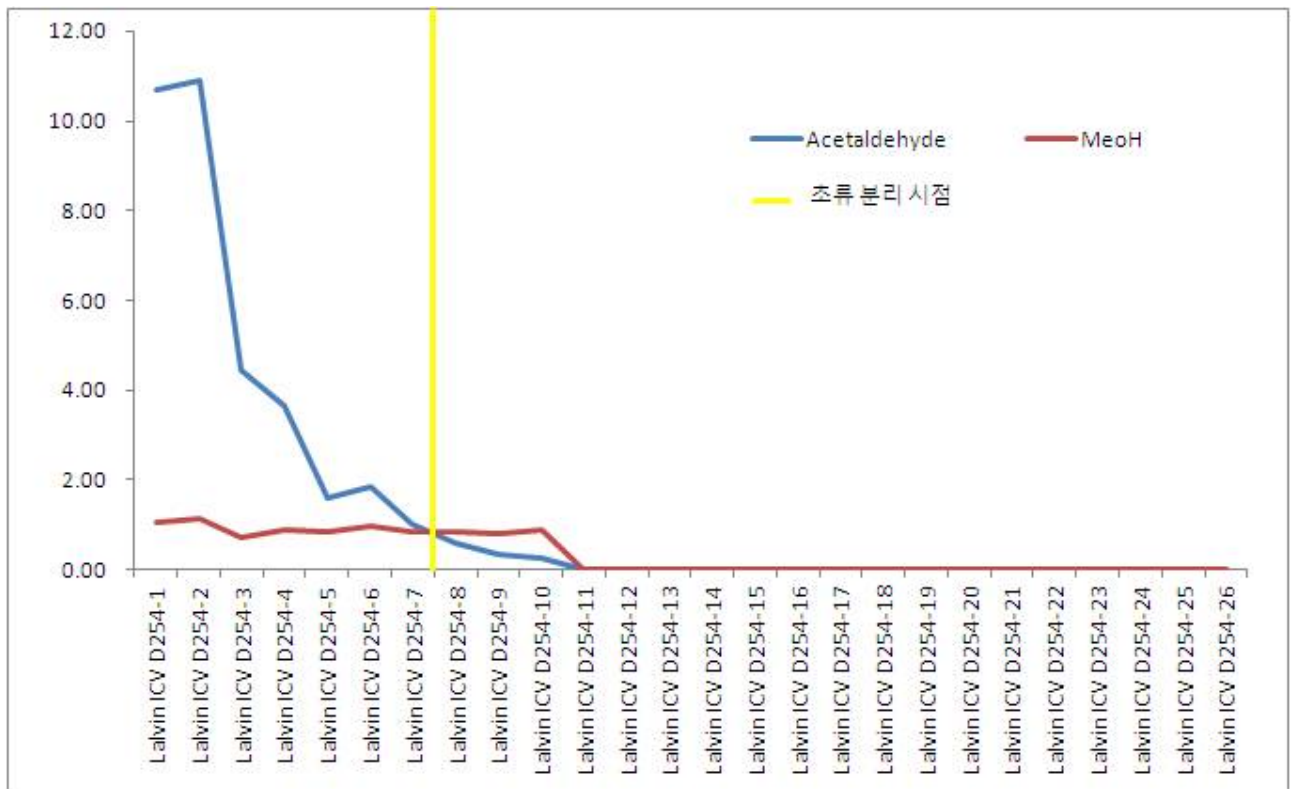


그림 1-41. Lalvin ICV D47 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

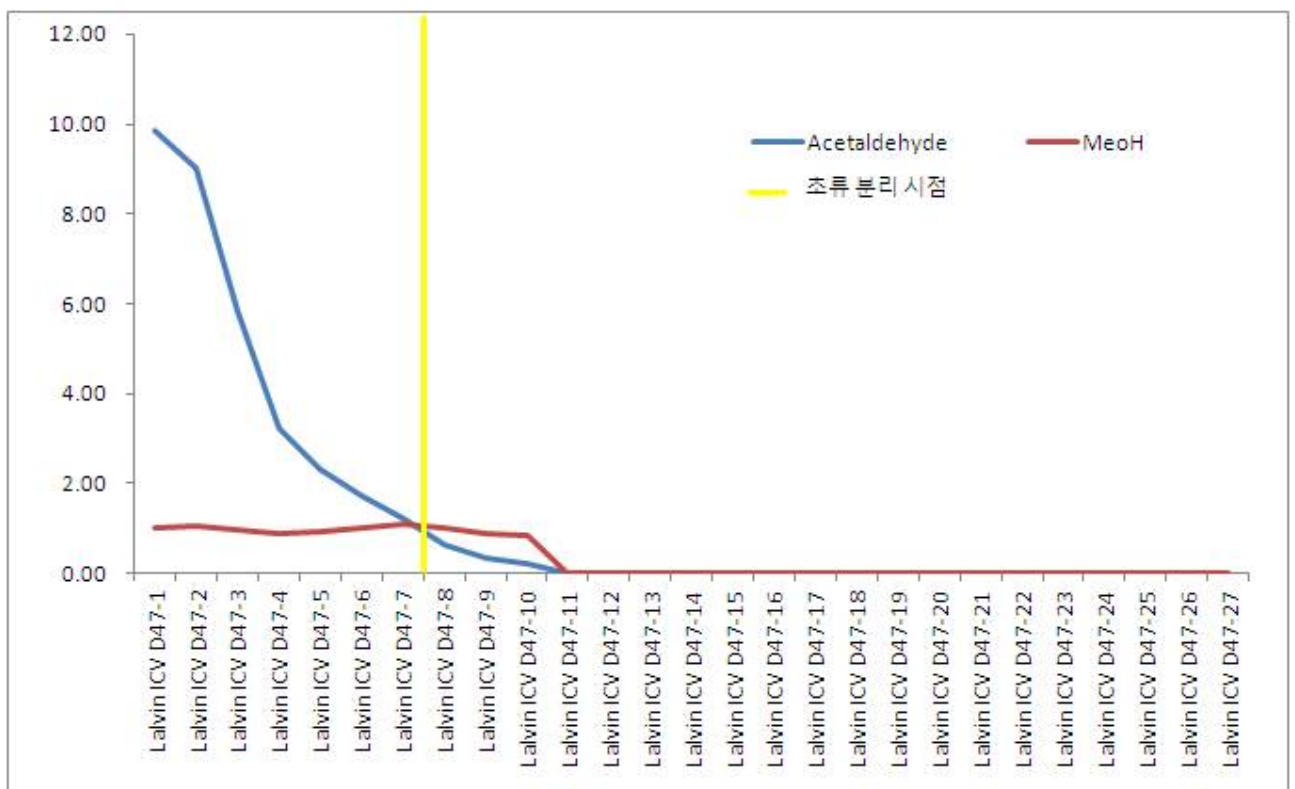


그림 1-42. Lalvin R-HST 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

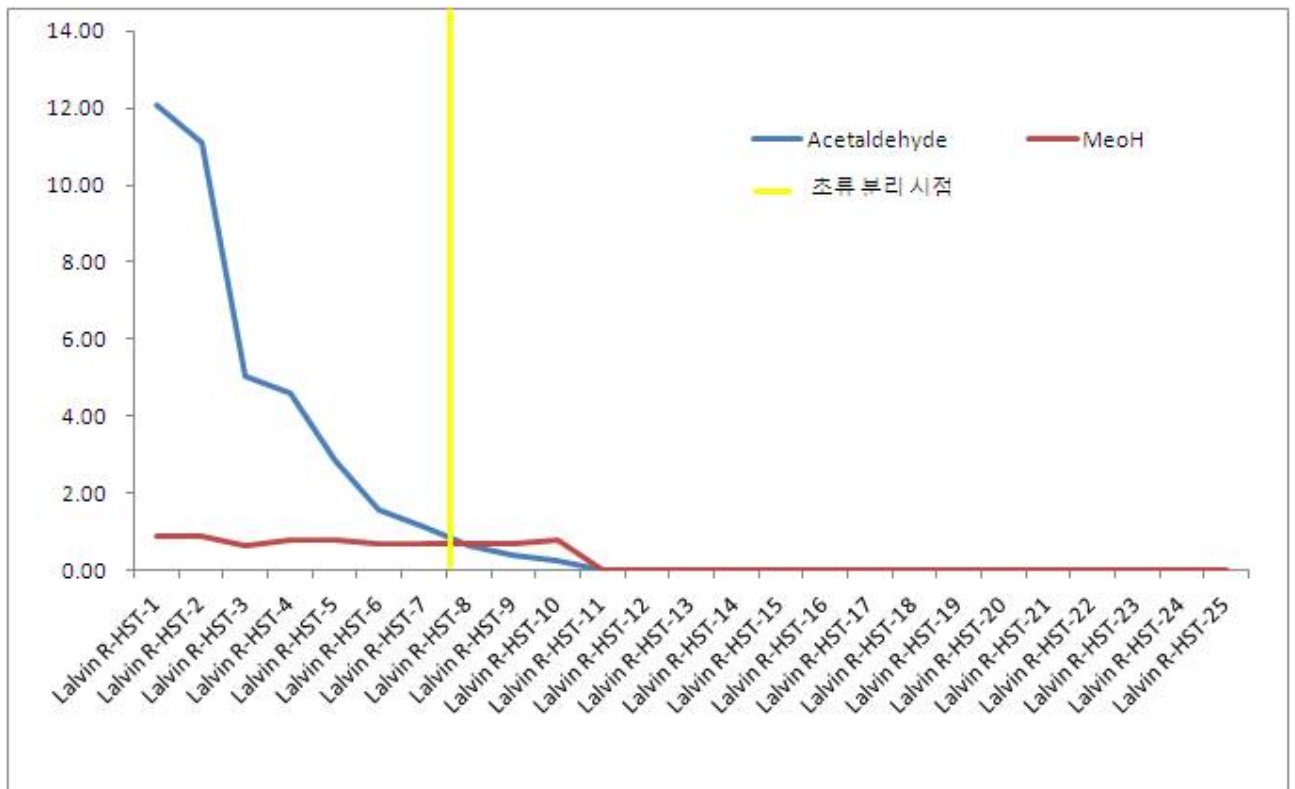


그림 1-43. Lalvin V1116 K1 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

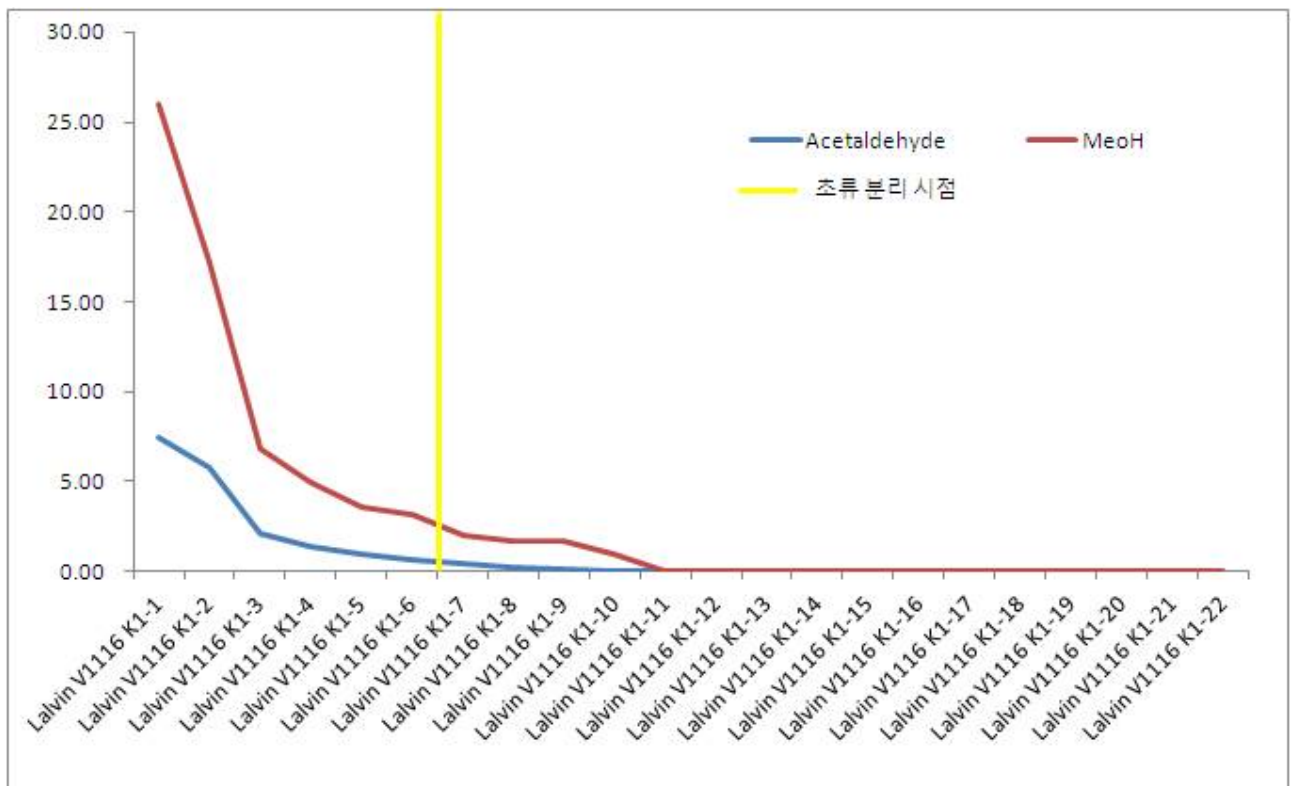


그림 1-44. BDX 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

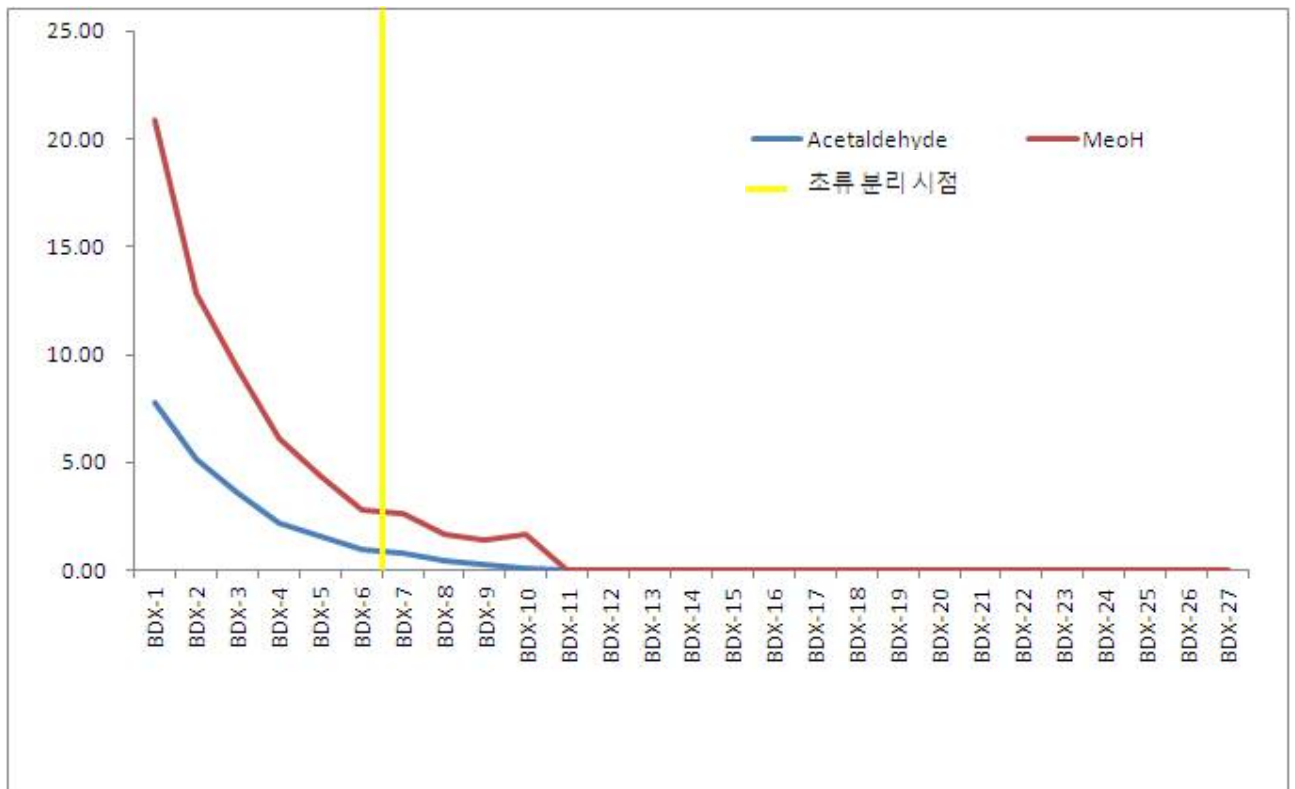


그림 1-45. CM 796 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

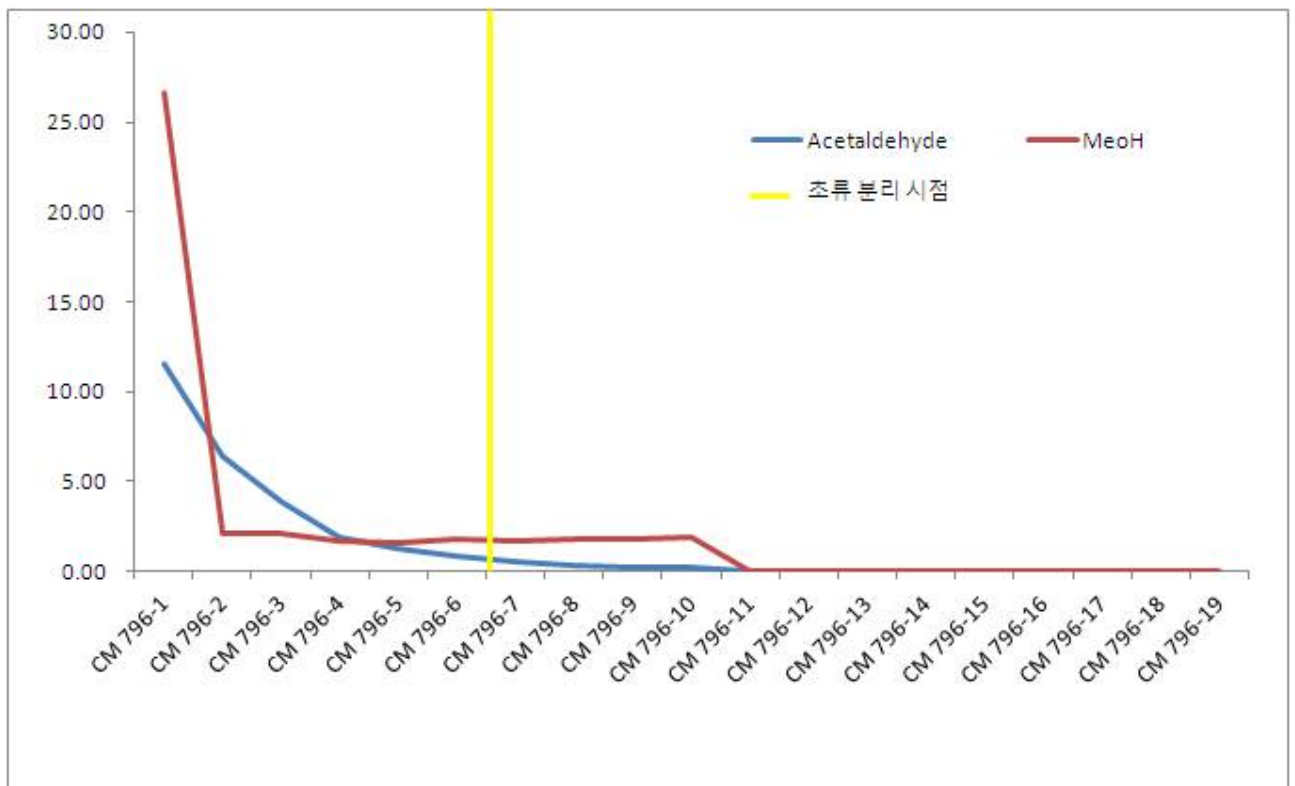


그림 1-46. Eau de vie 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

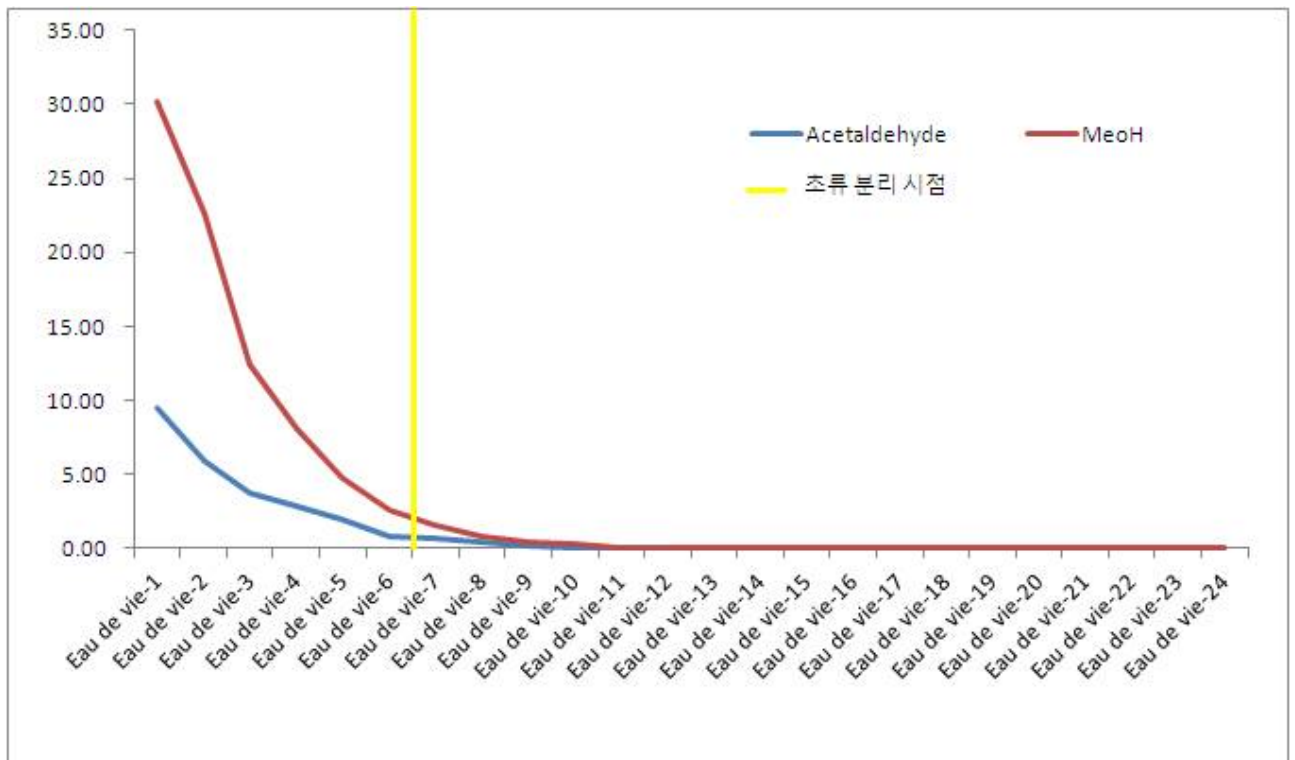


그림 1-47. LA PARISIENNE 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

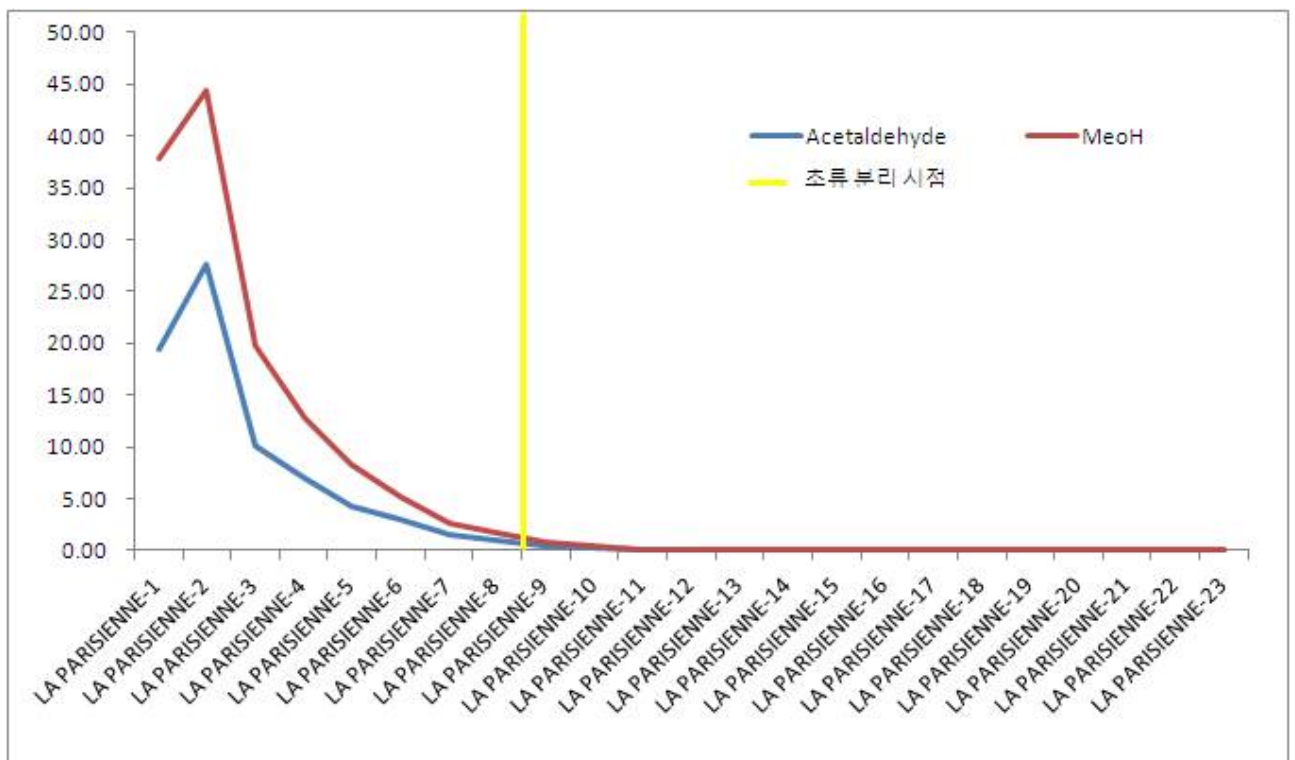
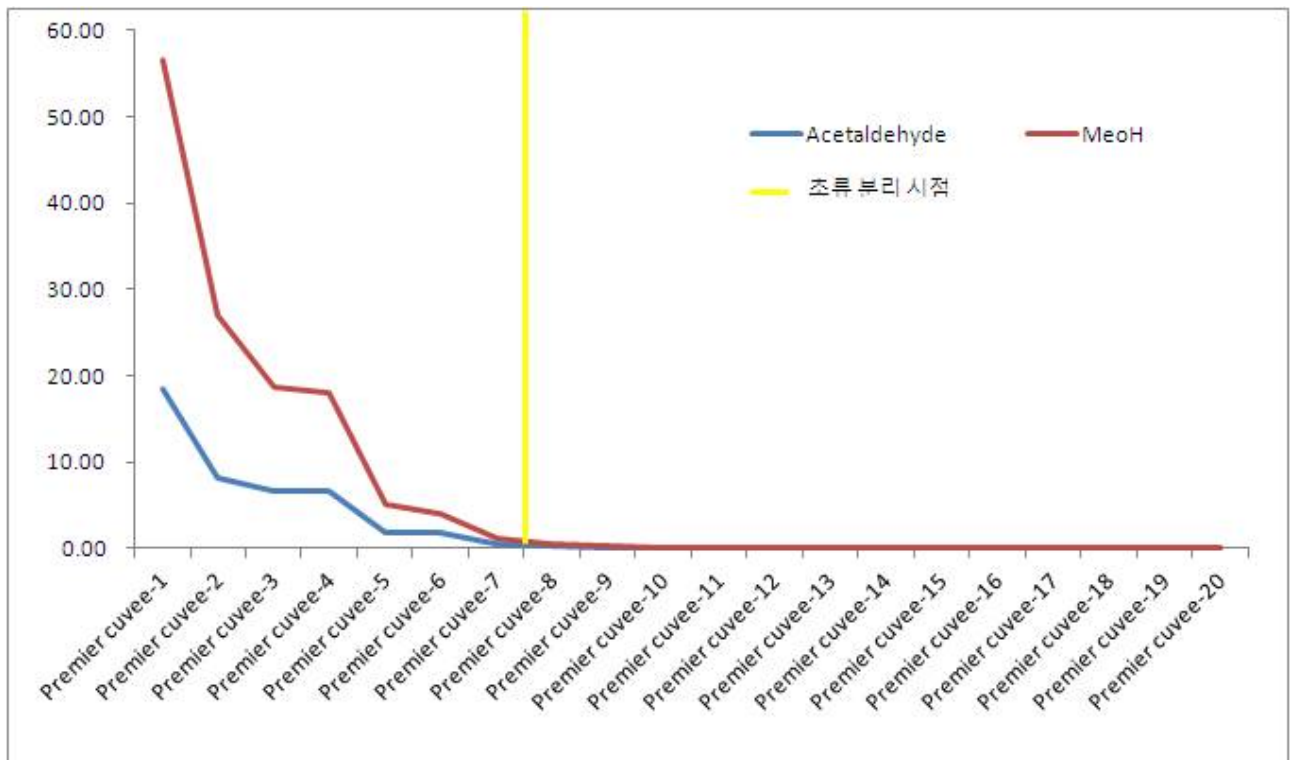


그림 1-48. Premier cuvee 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리



(6) 효모별 증류주 관능검사

각각의 효모를 이용하여 발효한 술덧을 증류하여 증류한 증류주의 관능평가는 단국대학교 식품 영양학과에서 훈련 중인 주류 관능평가 패널들을 대상으로 시판 증류식 소주를 이용하여 다음과 같은 8가지 척도에 대하여 익숙해지는 훈련을 진행 한 후 증류주에 대한 관능 평가를 실시하였다.

표 1-23. Intensity of attributes for control (15 point scale)

누룩향	Wine향	신향	단맛
8	3	4	5
인공감미료맛	타는느낌	알코올향	바디감
8	9	8	7

(가). 1차 선발

관능검사에서 지나치게 많은 시료는 패널의 피로도 등의 변수로 작용할 수 있어 각 실험군 사이의 차이를 좁힐 수 있다. 효모별 증류주의 관능검사는 15종의 실험군 중 1차 선발을 하여 그 실험군의 수를 6가지로 축소시켰다.

1차 선발 기준은

첫째, EC 저감을 위한 식약처 권고 효모를 사용한 실험군

둘째, 증류주용 효모를 사용한 실험군

셋째, 미생물의 분류에서 속이 다른 효모를 사용한 실험군

다섯째, 질소 요구량과 황화합물 발생량이 높아 유의적 차이가 발생할 것 같은 실험군으로 설정하였으며 기준에 따라 Lalvin 71B와 Premier cuvee(식약처 권고 효모를 사용한 실험군), Eau de vie(증류주용 효모를 사용한 실험군), Lalvin EC1118(속이 다른 효모를 사용한 실험군), BDX(질소 요구량과 황화합물 발생량이 높아 유의적 차이가 발생할 것 같은 실험군), LA PARISIENNE(control) 6가지 실험군을 설정하였다.

(나). 관능검사

패널들에게 control 시료를 10ml씩 제공한 후 선정된 8가지 특성 강도에 대해 익숙해지는 훈련을 하였다. 총 15명의 훈련된 패널에게 6종류의 시료를 2번의 session으로 나누어 2반복 평가하였으며 시료는 10ml씩 제공되었다. 상온의 물이 충분히 제공되었으며 시료 간 7분-10분 정도의 휴식시간을 두어 관능 피로도를 최소화 하였다. control 시료로는 LA PARISIENNE 시료가 제공되었다.

표 1-24. Intensity of attributes for alcohol beverage (15 point scale)

시료	각 시료의 특성강도 평균값					
	LA PARISIENNE	Eau de vie	Premier cuvee	Lalvin 71B	Lalvin EC1118	BDX
누룩향	6.5±2.32 ¹ a ²	7.8±2.64 a	8.5±2.09 a	8.6±2.60 a	7.2±1.89 a	7.1±1.75 a
Wine향	3.9±1.74 a	3.3±1.66 a	3.7±1.37a	4.4±1.86 a	3.1±1.30 a	3.5±1.18 a
신향	3.8±1.27 a	3.8±1.47 a	4.2±1.44 a	4.1±1.82 a	3.1±1.25 a	3.8±1.02 a
단맛	6.5±1.85 a	7.1±1.68 a	6.1±1.23 a	6.5±1.92 a	6.5±1.36 a	6.6±2.34 a
인공감미료	5.3±2.46 a	4.4±2.74 a	5.1±2.36 a	4.9±2.26 a	5.1±2.14 a	5.5±2.11 a
타는느낌	7.6±3.06 a	7.3±2.23 a	7.4±2.18 a	7.1±2.26 a	7.7±2.12 a	7.7±1.96 a
알코올향	8.2±2.53 a	7.4±2.25 a	7.6±2.12 a	7.8±1.98 a	8.6±2.56 a	8.5±1.62 a
바디감	7.3±1.56 a	7.2±1.88 a	6.3±2.23 a	8.1±1.89 a	6.7±1.65 a	7.3±1.77 a

1. Standard deviation

2. Different superscripts in the same row are significant different ($p < 0.05$)

<관능검사 결과>

6종의 증류주에 대해 특성강도 평가 결과 유의적으로 차이 나는 특성은 나타나지 않았다. 누룩향의 경우 유의적이지는 않지만 LA PARISIENNE 시료보다 다른 시료들의 강도가 강한 경향을 보였다. 다른 특성들 또한 시료간의 차이가 나타나지 않으므로 다른 효모를 사용한 증류주 시료에 대해서 특성강도차이는 없는 것으로 판단된다.

(7) 효모별 증류주의 향기성분 분석

<실험방법>

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 효모별 증류주 5 ml을 20 ml SPME 용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26℃에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 μm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

효모별 증류주의 향기성분 분석 결과, Red star社의 Premier cuvee 효모를 사용하여 발효한 증류주의 경우 가장 적은 향기 성분이 검출되었으나, 그 외의 효모의 경우에는 효모별로 차이가 거의 나타나지 않음을 알 수 있었다.

에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알코올류인 i-amyl alcohol, n-pentanol, i-butanol 및 phenylethyl alcohol이 검출되었으며, 에스테르성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl myristate, ethyl stearate, ethyl palmitate, Ethyl palmitoleate, ethyl ricinoleate, ethyl oleate 및 ethyl linoleate가 검출되었다. 이외의 에스테르 화합물들로는 ethyl lactate, penylethyl acetate가 검출되었다.

증류주의 주성분인 alcohol류 중 당류로부터 EMP경로에 의해 생성되는 ethanol을 제외하고 higher alcohol류는 가장 많은 비중을 차지한다. Higher alcohol은 맥주, 청주 및 소주 등의 품질에 영향을 주는 성분이다.

바나나향의 감미성 방향을 가지며 Ehrlich 경로에 의해 leucine으로부터 합성되는 isoamyl alcohol은 Lalvin BM4X4 효모를 사용한 증류주에서 가장 높게 나타났다. Lalvin BM4X4 효모는 높은 함량의 isoamyl alcohol을 생성하기 때문에 쌀증류주에서 “브랜디향”이 강화시키는데 유용하다.

장미꽃향의 phenylethyl alcohol은 phenylalanine으로부터 유래된 성분으로 장미, 오렌지꽃과 같은 천연 정유에서 발견된다. 또한 Sake, wine, whisky 등 다양한 종류의 주류에서 매우 중요한 방향족 알코올 성분으로 향수 제조에도 널리 사용된다. 본 실험에서 효모별로 phenylethyl alcohol의 함량을 비교하면 효모의 종류에 관계없이 일정한 양을 포함하고 있으나, Eau de vie 및 Premier cuvee 실험군의 증류주에서는 검출이 되지 않았다.

Ester류는 면적비율은 낮으나 주류의 향미에 큰 영향을 미친다. 효모의 종류에 관계없이 Ethyl palmitate가 효모를 달리하여 제조한 증류주에서 검출된 12종의 ester류 중 그 비율이 높은 것으로 나타났다.

사과향의 ethyl stearate는 맥주, 청주의 주요 ester 성분이며, Lalvin 71B 효모 증류주에서 다량 검출되었으며, Premier cuvee, Lalvin BM4X4, Lalvin EC1118 실험군의 증류주에서는 검출이 되지 않았다.

phenylethyl acetate는 벌꿀향, 장미향, 사과향 등의 여러 가지 향미를 생성하는 성분으로 phenylethyl alcohol이 에스테르화 되어 생성되어지며, phenylethyl alcohol의 함량이 높은

CM 796, Lalvin Clos, Lalvin Cy3079 실험군의 증류주에서 다량 검출되었다.

인공과일향의 제조 원료이며 사과향을 가진 ethyl caprate는 낮은 농도로도 강하고 보급력 있는 성분으로써, Lalvin 71B 및 CM 796 실험군의 증류주에서 비교적 많은 양이 검출되었다. 그리고 그 밖에도 미량 성분인 ethyl laurate, ethyl myristate는 와인에 과일향을 부여하는 성분들로써, 다른 종류의 ester와 조화를 이루어 특유의 향미를 형성한다.

표 1-25. 효모 종류를 달리한 증류주의 휘발성 향기성분(%)

	LP	EDV	PC	L-71B	L-BM4X4	L-Clos	L-Cy3079
Ethanol	89.58	79.58	97.1	71.46	89.58	70.58	64.43
i-Butanol	0.03	0.79	0.26	0.54	0.4	-	0.02
Pentanol	-	-	-	-	-	-	-
Butanol	0.02	-	0.03	-	-	-	0.1
i-amyl alcohol	2.24	1.7	2.54	3.73	5.78	1.8	1.59
Propyl lactate	0.02	-	0.05	0.01	0.02	0.01	0.03
Ethyl caprate	0.02	0.04	-	0.42	0.5	0.05	0.07
Phenylethyl acetate	0.03	-	-	0.01	0.08	0.06	0.09
Ethyl laurate	0.06	0.32	-	0.42	0.32	0.18	0.15
Phenylethyl Alcohol	0.12	0.03	-	0.09	0.06	0.15	0.14
Ethyl myristate	0.02	0.90	-	1.07	0.43	2.11	1.77
Isoamyl laurate	-	-	-	-	-	-	-
ethyl Pentadecanoate	-	-	-	-	0.01	0.04	-
ethyl palmitate	5.52	12.63	-	16.72	1.87	21.45	26.50
Ethyl Palmitoleate	-	-	-	-	-	-	0.25
Ethyl stearate	0.14	0.23	-	0.56	-	0.06	0.17
Ethyl Oleate	0.94	1.8	-	1.92	-	1.35	2.05
Ethyl linoleate	0.67	1.9	-	1.31	-	1.63	2.37

	L-DV10	L-EC1118	L-ICVD254	L-ICVD47	L-RHST	L-V1116	U-BDX	U-CM
Ethanol	79.3	97.29	74.63	78.78	77.38	59.25	62.64	66.13
i-Butanol	0.13	0.01	0.09	-	0.12	-	0.10	0.18
Pentanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanol	0.04	-	0.05	-	0.09	0.02	0.08	0.06
i-amyl alcohol	1.99	0.91	1.59	1.39	1.90	1.10	1.53	2.29
Propyl lactate	0.01	-	-	-	0.01	0.02	0.01	0.10
Ethyl caprate	0.08	0.03	0.06	0.08	0.14	0.07	0.01	0.21
Phenylethyl acetate	0.05	0.03	0.02	0.01	0.03	0.04	0.03	0.08
Ethyl laurate	0.12	-	0.13	0.16	0.11	0.82	0.26	0.61
Phenylethyl Alcohol	0.09	0.09	0.04	0.03	0.03	0.11	0.10	0.20
Ethyl myristate	1.33	0.06	1.28	1.25	0.99	9.48	4.89	3.85
Isoamyl laurate	-	-	-	-	-	0.02	-	-
ethyl Pentadecanoate	-	-	0.02	-	-	0.16	0.08	0.05
ethyl palmitate	13.09	1.35	18.62	14.17	15.14	25.40	26.49	21.53
Ethyl Palmitoleate	0.12	-	0.16	0.1	1.94	0.57	0.48	0.06
Ethyl stearate	0.19	-	0.16	0.26	0.23	0.04	0.06	0.09
Ethyl Oleate	1.64	0.1	1.51	1.98	0.01	0.74	1.36	1.75
Ethyl linoleate	1.34	0.13	1.61	1.70	1.66	0.83	1.74	2.17

(8) 효모별 증류주의 유해물질 분석(EC 및 전구체)

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 곡물발효주의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 그 주요 전구체라 하겠다. 따라서 본 실험에서는 숙성이나 여과처리가 되지 않은 최종실험 제품(40도 알코올분(v/v%)) 15종의 전구체인 요소와 최종산물인 에틸 카바메이트의 함량을 분석하였다.

표 1-26. 각 국의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

<실험방법>

요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter 로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

효모별 증류주(40도 알코올분(v/v%))의 EC와 요소의 분석결과는 (표 1-27. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 결과)로 볼 수 있으며 Eau de vie는 60.5ppb로 가장 낮은 검출량을 기록하였다. EC 검출량이 가장 적은 순서대로 Eau de vie>BDX>LA PARISIENNE>Premier cuvee>Lalvin V1116 K1>CM 796>Lalvin R-HST>Lalvin ICV D47>Lalvin ICV D254>Lalvin DV10>Lalvin EC1118>Lalvin Cy3079>Lalvin Clos>Lalvin BM4X4>Lalvin 71B 나타났으며 이중 해외 에틸카바메이트의 검출기준인 150ppb 이하로 검출된 실험군은

Eau de vie, BDX, LA PARISIENNE, Premier cuvee, Lalvin V1116 K1, CM 796이다.

요소는 EC의 전구체로써 환경에 따라 EC로 전환될 수 있기 때문에 곡물발효주 및 곡물 증류주에서는 EC 측정에서 빠지지 않고 확인하는 항목이다. Lalvin Clos는 35.6ppb로 가장 낮은 수치를 기록하였으며 요소 검출량이 낮은 순서대로 Lalvin Clos>BDX>Lalvin ICV D254>Eau de vie>LA PARISIENNE>Premier cuvee>Lalvin Cy3079>Lalvin BM4X4>Lalvin 71B>Lalvin ICV D47>Lalvin EC1118>Lalvin DV10>Lalvin V1116 K1>Lalvin R-HST>CM 796으로 나타난다.

에틸카바메이트 검출량이 150ppb 이하로 측정된 6개의 실험군 중 Lalvin V1116 K1, CM 796은 요소 검출량이 상대적으로 높아 EC의 추가 검출량의 증가가 상대적으로 높을 것으로 기대된다.

표 1-27. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 결과

	ethyl carbamate	urea
Lalvin 71B	530.5	61.1
Lalvin BM4X4	287.9	60.5
Lalvin Clos	265.2	35.6
Lalvin Cy3079	248.0	57.0
Lalvin DV10	235.8	70.6
Lalvin EC1118	243.3	68.6
Lalvin ICV D254	222.8	37.0
Lalvin ICV D47	187.6	67.1
Lalvin R-HST	183.5	76.4
Lalvin V1116 K1	93.8	73.3
BDX	77.5	35.8
CM 796	96.6	81.5
Eau de vie	60.5	37.6
LA PARISIENNE	79.2	47.6
Premier cuvee	89.8	48.9

(단위: ppb)

표 1-28. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 순위

	ethyl carbamate	rank
Eau de vie	60.5	1
BDX	77.5	2
LA PARISIENNE	79.2	3
Premier cuvee	89.8	4
Lalvin V1116 K1	93.8	5
CM 796	96.6	6
Lalvin R-HST	183.5	7
Lalvin ICV D47	187.6	8
Lalvin ICV D254	222.8	9
Lalvin DV10	235.8	10
Lalvin EC1118	243.3	11
Lalvin Cy3079	248.0	12
Lalvin Clos	265.2	13
Lalvin BM4X4	287.9	14
Lalvin 71B	530.5	15

(단위: ppb)

	urea	rank
Lalvin Clos	35.6	1
BDX	35.8	2
Lalvin ICV D254	37.0	3
Eau de vie	37.6	4
LA PARISIENNE	47.6	5
Premier cuvee	48.9	6
Lalvin Cy3079	57.0	7
Lalvin BM4X4	60.5	8
Lalvin 71B	61.1	9
Lalvin ICV D47	67.1	10
Lalvin EC1118	68.6	11
Lalvin DV10	70.6	12
Lalvin V1116 K1	73.3	13
Lalvin R-HST	76.4	14
CM 796	81.5	15

(단위: ppb)

(9) 최종 효모 선발

실험군 15종의 각각의 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선발하고자 한다.

효모 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로한 순위, 발효 시 생성되는 알코올의 순위, 증류주 제조 시 초류를 분리한 비율(백분율)에 의한 순위, 증류주 제조 시 메탄올과 아세트알데히드의 총량의 순위로 총 6가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 효율 및 경제성 여부인 알코올 생성 순위, 초류분리 백분율 순위에 각각 20%, 유해물질이기는 하나 초류 분리에 의해 분리가 가능한 메탄올과 아세트알데히드에 각각 5%의 가중치를 두었다.

증류주의 관능평가 결과는 각 시료들 사이에 유의적 차이가 없음으로 나타나 본 항목에서 제외시켰으며 각 항목에는 가중치를 적용시켜 최종 순위를 결정하였다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 효모로 선정하였다. 실험군별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 (표 1-29. 실험군별 최종 효모 선정 평가 결과)에 나타나 있다.

EC 검출량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 BDX 실험군이 가장 적합한 효모로 선정이 되었다.

이후 선정된 BDX 및 최적화 된 발효조건을 가지고 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조 기술 개발>을 위한 증류조건 최적화 및 숙성조건 최적화를 진행코자 한다. 각 공정의 최적화를 통하여 유해물질을 더욱 감소시키고 국산 증류주의 세계화를 위한 Blending Base 로 거듭나고자 한다.

표 1-29. 실험군별 최종 효모 선정 평가 결과

항목	Rank															가중치
	Lalvin 71B	Lalvin BM4X4	Lalvin Clos	Lalvin Cy3079	Lalvin DV10	Lalvin EC1118	Lalvin ICV D254	Lalvin ICV D47	Lalvin R-HST	Lalvin V1116 K1	BDX	CM 796	Eau de vie PARISIENNE	LA	Premier cuvee	
EC	15	14	13	12	10	11	9	8	7	5	2	6	1	3	4	30%
요소	9	8	1	7	12	11	3	10	14	13	2	15	4	5	6	20%
알코올	1	10	14	4	8	5	6	7	11	9	15	12	13	3	2	20%
초류분리백분율	2	1	10	7	4	13	8	6	11	9	3	12	5	14	15	20%
MeOH	5	6	7	10	11	4	2	3	1	12	9	8	13	14	15	5%
Acetaldehyde	2	1	9	8	11	12	7	6	13	4	3	10	5	15	14	5%
가중치합	7.25	8.35	9.70	8.10	8.90	9.90	6.55	7.45	10.00	8.50	5.20	10.50	5.60	6.75	7.25	100%
rank	5	9	12	8	11	13	3	7	14	10	1	15	2	4	6	

2. 안전한 포도증류주 제조기술 개발

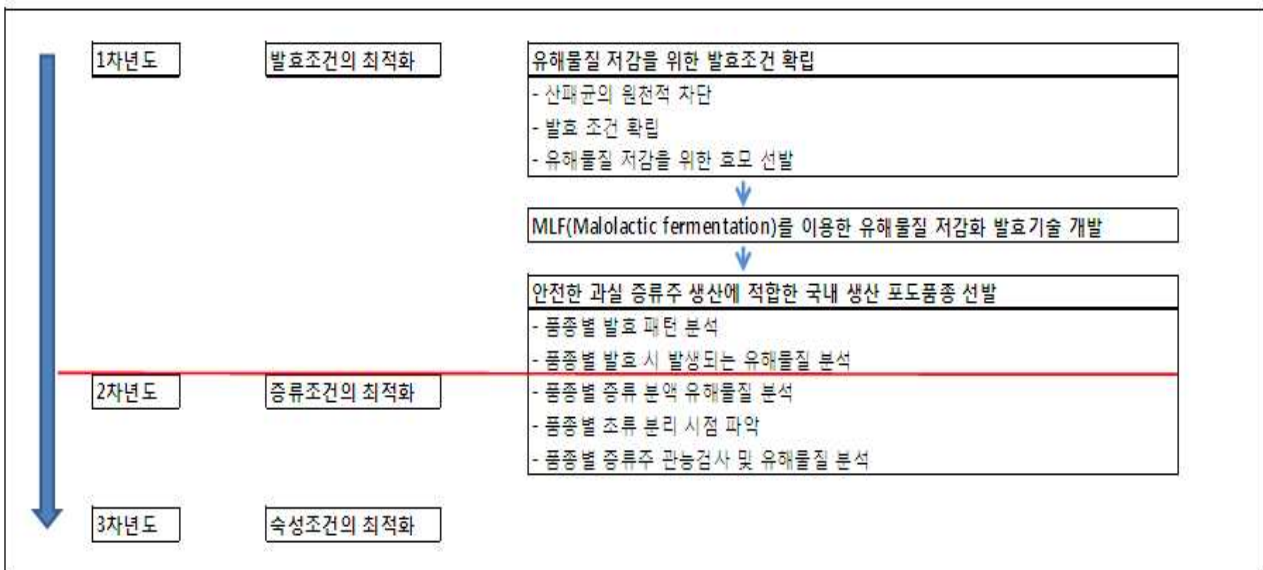
연구개발 목표

- 국내 생산되는 포도 품종의 증류주용 적합성 평가와 유해물질의 저감을 통하여 증류주용 품종의 재배 육성을 도모하고 농가의 소득을 증대시키고자 발효조건을 최적화하고자 함.

- 유해물질 저감을 위한 발효조건 확립
- MLF(Malolactic fermentation)를 이용한 유해물질 저감화 발효기술 개발
- 안전한 과실 증류주 생산에 적합한 국내 생산 포도품종 선발 및 발효조건 확립

-연구개발 진행도

안전한 포도증류주 제조 기술 개발 진행 방향(1차년도)



가. 유해물질 저감을 위한 발효조건 확립

(1) 산패균의 원천적 차단

포도를 으깨면서 메타중 아황산 칼륨을 첨가하는 것은 잡균 오염 방지 및 폴리페놀 물질의 산화 방지가 목적인데 보통 100ppm, 부패과에 대해서는 200ppm을 권장(1996년, Red wine (in Korean). In fermented Foods, Lee, H. C)하고 있다. 또한 2011년도 식약처의 주류별 EC저감화 방안에 따르면 발효 시 아황산 염류는 200ppm 이하 사용 시 EC 생성을 억제한다는 내용이 있으므로 본 실험의 아황산 첨가량은 100ppm으로 설정하였으며 각 발효되는 실험군은 현미경 검정 및 이화학적 분석을 통하여 산패균의 오염을 확인할 것이다.

아황산류 외에 사용할 첨가물은 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조기술 개발> 내 'pH 조정'에 따른 발효경과 및 산패균 차단'의 결과를 토대로 젯산을 사용할 예정이며 이는 MLF를 이용한 유해물질 저감화 발효기술 개발에서 아황산류와 비교 실험군으로 첨가해보고자 한다.

(2) 발효조건의 확립

우리나라에서 가장 많이 생산되는 품종인 캠벨얼리를 이용하여 국내 와인발효 효모로 널리 이용되고 있는 DSM Food Specialties社의 Fermivin을 이용하여 포도주 발효조건 실험을 하였다.

-발효조건

대부분의 포도주 효모의 최적의 발효 온도는 22~27℃ 사이(품질에 관계 없이)이고 온도에 따라서 발효기간은 4일에서 10일 이내로 보고 있기 때문에(2002년, 일본포도주 제조 기술, 배상면주류연구소, 배상면) 본 실험에서는 발효온도에 대한 실험군은 20℃, 25℃, 30℃로 설정하였다.

일반적으로 포도나 농축과즙으로 포도주를 제조할 때, 과실의 당도가 낮은 지역의 포도를 사용할 시 보당을 하는 경우가 많다. 보당은 주로 설탕으로 행하여지는데 이는 과즙의 산에 의해 포도당과 과당으로 분해되기 때문이다. 보당 시 26 °Brix이상은 하지 않는데 이는 효모의 생육에 저해를 주기 때문이며(2002년, 일본포도주 제조 기술, 배상면주류연구소, 배상면) 일반적으로 24°Brix(2011년, Effect of vitis coignetiae on the Quality and Antihypertension of Vitis hybrid Red wine, 한국 미생물·생명공학회지, 장정훈·김재호·이대형 외)으로 보당하여 진행하므로 본 실험에서는 24.0°Brix , 24.5°Brix , 25.0°Brix를 실험군으로 보당 설정 기준을 정하고자 한다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 1시기에 생산된 캠벨얼리를 구입하여 제경하고 2회 세척 후 체에서 40분간 물기를 제거하였다. 이렇게 준비한 포도를 으깨어 산도와 가용성 고형분을 측정하고 5개의 플라스틱 발효통에 나누어 담았다. 각각의 통에 미생물 오염 방지를 위해 K₂S₂O₅ 100ppm을 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 table 와 같이 설탕을 첨가하여 당도를 조절하였다. 1시간 동안 활성화 시킨 *S. cerevisiae* Fermivin을 포도량의 0.2%로 첨가하여 실험조건에 맞춘 항온기에서 9일간 발효시켰다.

-분석방법

가용성 고형분, 알코올, pH 및 총산도

가용성 고형분은 상온에서 굴절당도계(ATAGO RX-5000a, Japan)를 사용하여 측정하였고 알코올 함량은 상층액 80mL에 증류수 20mL을 첨가하고 증류하여 80mL의 증류액을 얻은 다음 이 증류액을 주정 비중계로 측정한 값을 Gay Lussac표를 이용하여 15℃로 보정하여 환산하였다. pH는 pH meter(Metrohm, 781 pH/Ion meter)로 측정하였고, 총산도는 시료를 채취하여 0.1N NaOH로 적정하여 아래 식에 의해 주석산으로 산출하였다. A는 적정에 소요된 0.1NaOH의 량(mL), B는 0.1N NaOH factor, C는 주석산계수(0.0075), D는 희석배수, E는 시료채취량(mL)

$$\text{Acidity(tartaric acid, \%)} = A \times B \times C \times D / E \times 100$$

메탄올, 아세트알데히드 분석

포도주의 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX

column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200°C, detector 온도는 200°C, column 오븐 온도는 45°C에서 1분간 유지 후 분당 7°C씩 승온시켜 130°C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

표 1-30. 발효 조건 설정을 위한 실험 design

Fermentation conditions	Temperature(°C)	Initial sugar content(°Brix)
T ₁	20	25.0
T ₂	20	24.5
T ₃	20	24.0
T ₄	25	24.0
T ₅	30	24.0

<결과 및 고찰>

-발효 특성

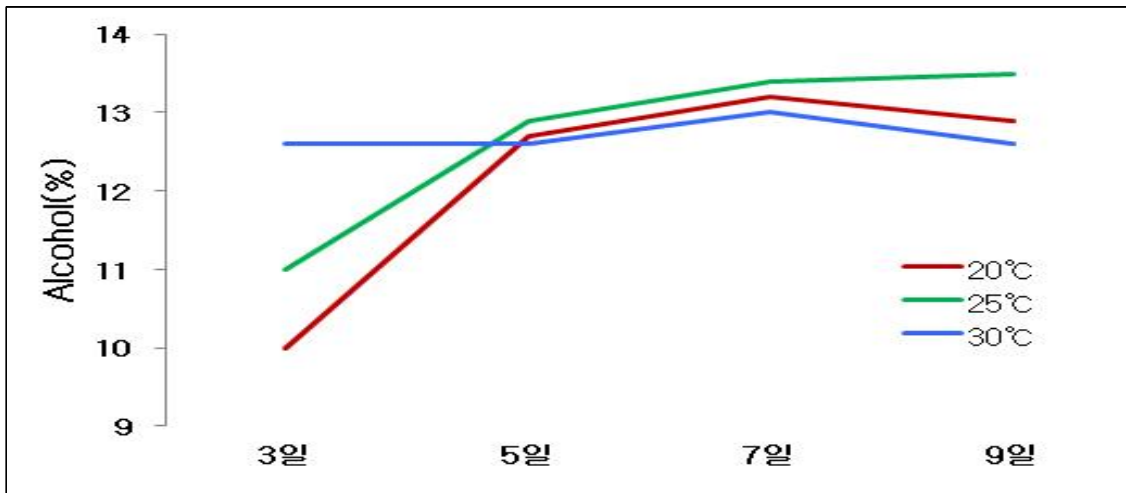
캠벨얼리를 사용하여 발효가 진행됨에 따른 알코올, 당도 그리고 총산도의 변화는 그림 1-49와 같다.

발효온도에 따른 알코올, 당도 그리고 총산도 함량을 보면, 20°C와 25°C의 알코올 함량은 7일차에 가장 높은 수치를 보이다가 낮아지는 경향을 보이고 30°C는 3일 이전에 이미 알코올 최고함량에 도달한 것으로 추정되며 12.6~13% 범위에서 유지되었다. 알코올 함량변화와 반비례 관계인 가용성 고형분 함량은 20°C의 경우 5일차까지 급격히 낮아지다가 완만하게 감소한 반면 25°C의 경우에는 5일차까지 급격히 낮아지다가 5일 이후로는 변화가 거의 없었으며 30°C의 경우에는 3일 이후 거의 유지되는 경향이였다. 총산도에 있어서는 25°C와 30°C는 5일에 최고치에 도달하였다가 감소하는 경향이지만 20도는 0.86~0.89%를 유지하였다.

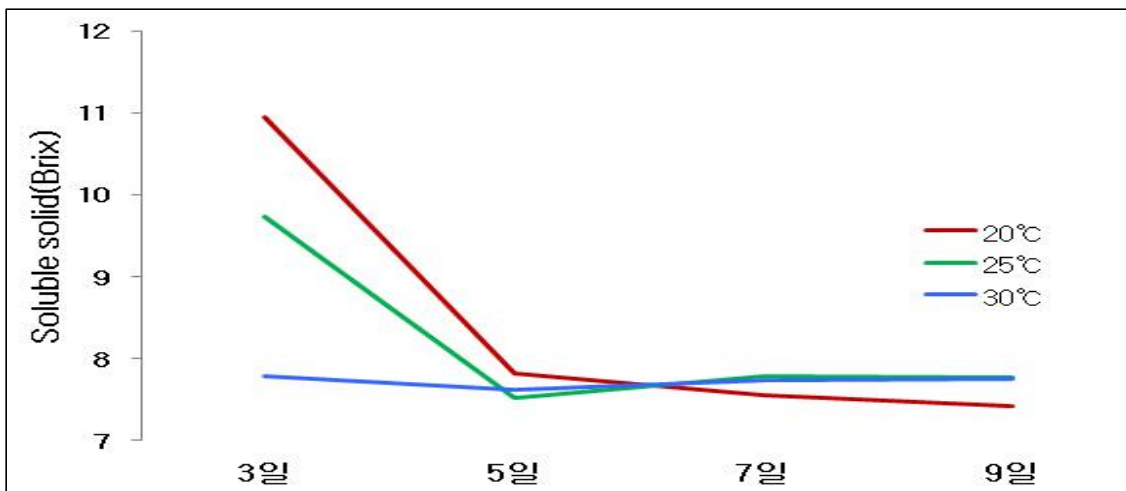
가용성 고형분 함량차이에 따른 발효 중 알코올, 가용성 고형분 그리고 총산도 함량 변화를 보면, 알코올 함량과 가용성 고형분 함량은 유사하게 변화하였지만 총산도는 24.0°Brix와 25.0°Brix는 유사한 경향이 보이고 7일부터 같은 수치가 되어 최종 0.88%를 보이는 반면에 24.5°Brix의 경우 5일 이후 지속적으로 감소하여 9일 후 0.84%의 수치를 보였다.

그림 1-49. 발효 조건(온도)에 따른 알코올함량, 당도, 총산의 변화

A



B



C

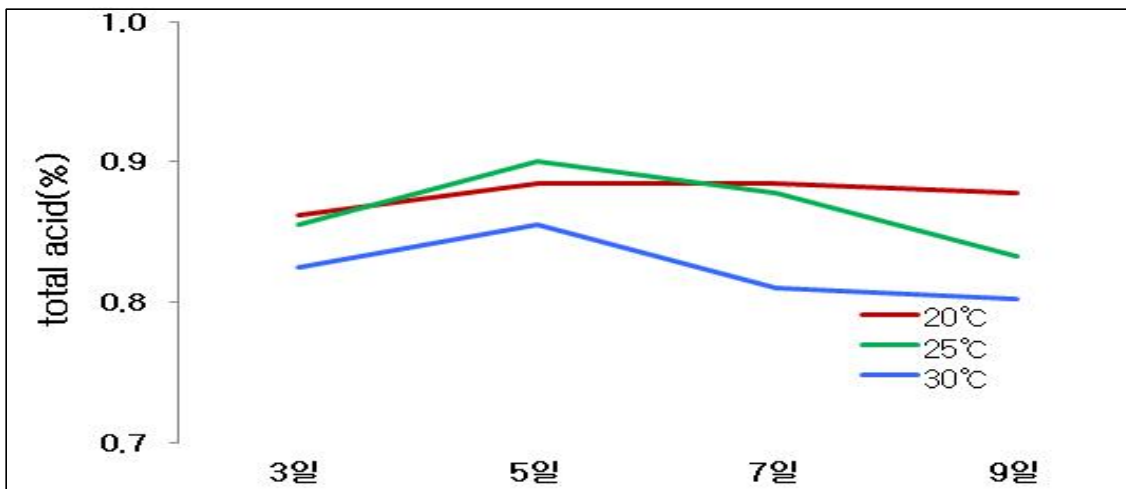
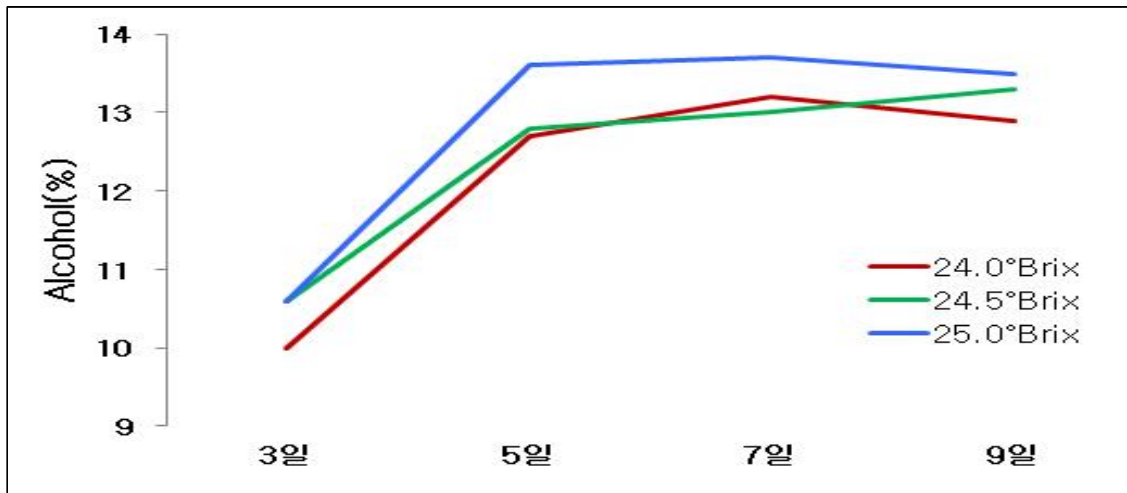
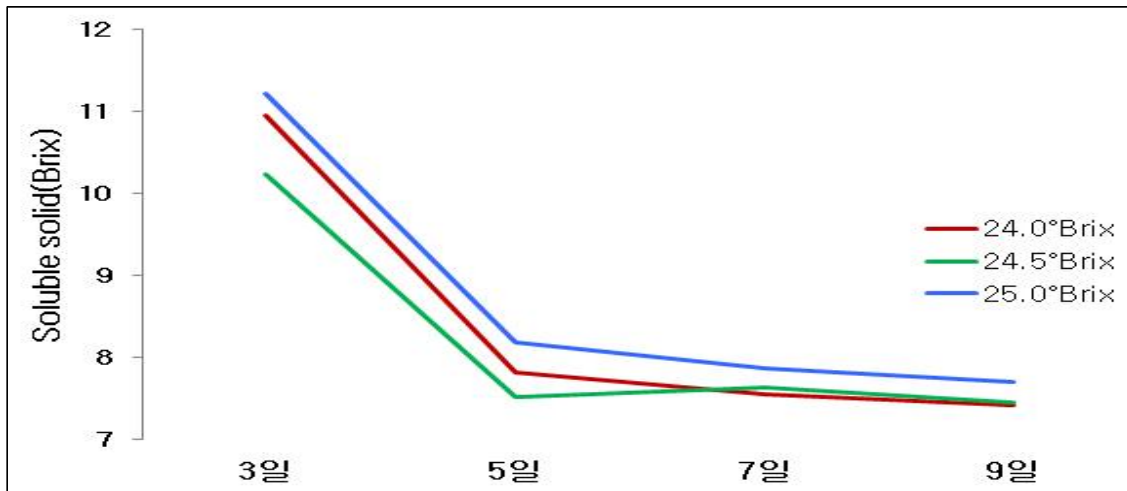


그림 1-50. 발효 조건(보당)에 따른 알코올함량, 당도, 총산의 변화

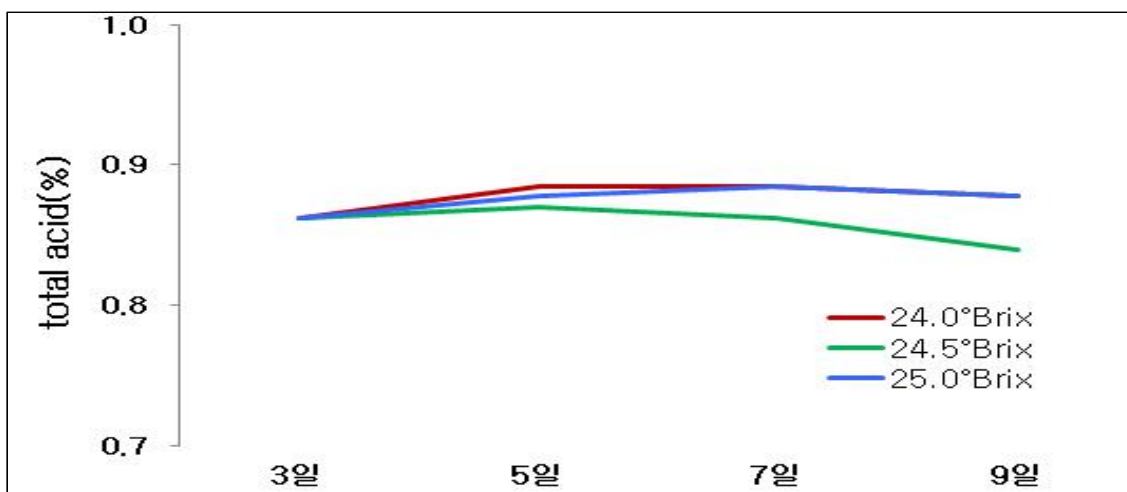
A



B



C



-메탄올, 아세트알데히드 함량 변화

아세트알데히드는 숙취의 원인물질로 알코올 발효의 중간체이다. 피루브산을 탈탄산시키면 생성되는 아세트알데히드는 알코올탈수소효소에 의해 환원되어 에탄올이 되기도 하고, 산화효소의 작용으로 산화되어 아세트산이 되기도 한다. 간 독성, 발암성 등이 있어 건강에 나쁜 영향을 미치는 물질로 식품공전에서 아세트알데히드 함량의 허용기준을 정하여 관리하고 있는 항목으로 식품공전 기준치는 700ppm이다.

알코올 발효 중 발생하는 또 하나의 주요 유해성분은 메탄올로 과실 중 pectin methylesterase가 pectin을 가수분해하여 생성되기 때문에 과실주의 정상 성분이기 는 하지만 과량을 섭취하는 경우 시신경을 마비시키거나 심하면 생명에 치명적으로 작용할 수 있어 식품공전에서는 과실주의 허용기준치를 1,000ppm으로 하고 있다.

본 실험에서는 대표적인 와인효모인 *S. cerevisiae* Fermivin을 이용하여 온도별, 당도 함량별 캠벨얼리를 발효시켰을 때의 아세트알데히드와 메탄올 함량변화를 GC로 분석하였고 그 결과는 표 1-31.과 같다. 아세트알데히드의 함량은 3일 이후 지속적으로 감소하는 경향을 갖으며 초기 당도가 높을수록, 발효온도가 낮을수록 아세트알데히드 함량이 높게 나왔다. 이는 아세트알데히드가 알코올 발효 중간체이기 때문에 당이 많을수록 많은 아세트알데히드를 만들며 낮은 발효온도에서는 발효 중간체인 아세트알데히드로 좀 더 오래 있는 것으로 유추된다.

메탄올의 함량변화는 아세트알데히드와는 정반대의 경향을 보였는데, 3일 이후 지속적으로 증가하는 경향을 갖으며 초기 가용성 고형분 함량이 낮을수록, 발효온도가 높을수록 메탄올 함량이 높게 나왔다.

이는 메탄올을 생성하는 pectin methylesterase이 초기 당도가 낮고 온도가 높을 때 높은 활성을 보이는 것으로 유추된다.

위와 같이 아세트알데히드와 메탄올의 함량은 역의 관계에 있으므로 둘 중 한가지의 감소를 목표로 발효조건을 설정해야한다면, 저비점으로 발효 시에도 휘발이 가능한 아세트알데히드 (B.P 22℃)를 제외하고 메탄올(B.P 64℃) 함량을 줄이는 발효조건으로 설정코자 한다. 따라서 추후 메탄올의 함량을 감소시킬 수 있도록 초기 가용성 고형분은 24.0°Brix로 맞추고 20℃로 발효하고자 한다.

표 1-31. 발효 조건(온도와 당도)에 따른 저비점 유해물질의 측정

Fermentation conditions	Acetaldehyde(ppm)				Methanol(ppm)			
	3일	5일	7일	9일	3일	5일	7일	9일
T ₁	10.9	6.1	4.7	5.0	6.7	10.9	11.0	16.0
T ₂	8.9	5.4	3.9	4.8	6.0	11.0	14.8	15.5
T ₃	9.5	3.2	4.3	4.3	5.5	11.3	16.8	15.0
T ₄	8.2	5.0	4.5	3.7	7.8	15.2	17.5	18.3
T ₅	4.1	4.8	3.1	2.9	11.5	18.6	22.6	23.2

그림 1-51. 발효 조건(온도)에 따른 저비점 유해물질의 변화

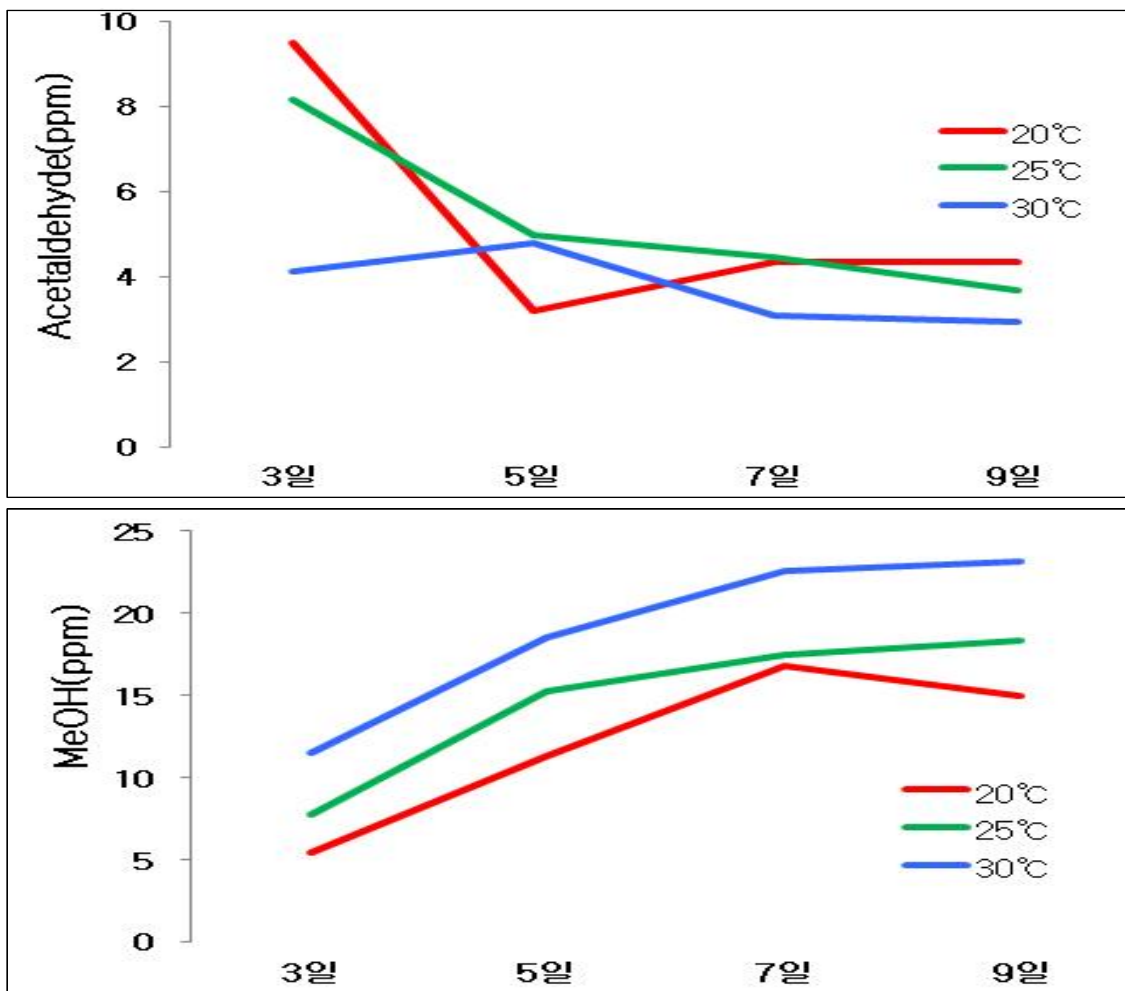
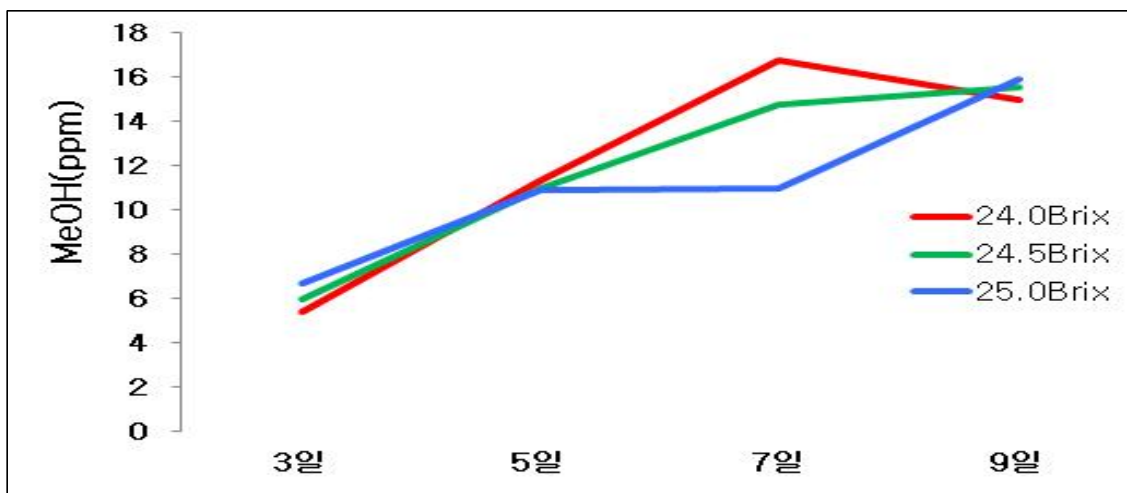
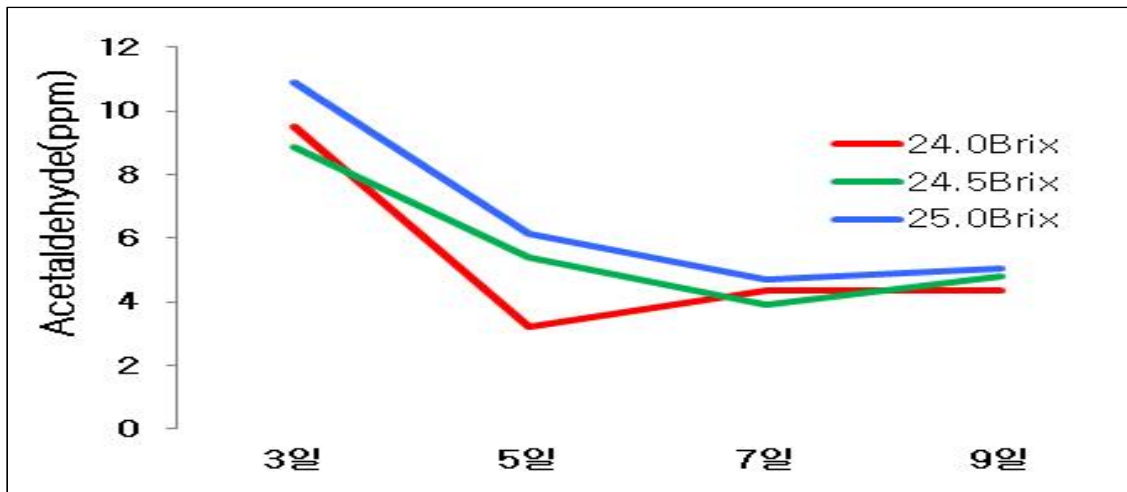


그림 1-52. 발효 조건(당도)에 따른 저비점 유해물질의 변화



(3) 유해물질 저감을 위한 효모 선발

우리나라에서 가장 많이 생산되는 품종인 캠벨얼리를 이용하여 발효효모 15종의 포도주 발효특성을 비교하였다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 캠벨얼리를 구입하여 채경하고 2회 세척 후 체에서 40분간 물기를 제거하였다. 이렇게 준비한 포도를 으깨어 산도와 가용성 고형분을 측정하고 15개의 스텐리스통에 나누어 담았다. 각각의 통에 미생물 오염 방지를 위해 K₂S₂O₅ 100ppm을 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 적정 알코올 농도를 맞추기 위해 부족한 당함량은 설탕을 첨가하여 당도를 24°Brix로 조절하였다. 1시간 동안 활성화 시킨 15종의 효모를 포도량의 0.2%로 첨가하여 20℃ 항온실에서 9일간 발효시켰다.

표 1-32. 1차 선발한 효모

Strain	종	속	적정 발효온도(℃)
Lalvin 71B	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~28
Lalvin BM4X4	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	16~28
Lalvin Clos	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	13~35
Lalvin Cy3079	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~ 25
Lalvin DV10	Saccharomyces cerevisiae	bayanus	10~35
Lalvin EC1118	Saccharomyces cerevisiae	bayanus	10~30
Lalvin ICV D254	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~28
Lalvin ICV D47	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~30
Lalvin R-HST	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	10~35
Lalvin V1116 K1	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	10~35
BDX	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	18~30
CM 796	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	20 ~30
Eau de vie	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~30
Fermivin	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	15~35
Premier cuvee	Saccharomyces cerevisiae	cerevisiae	7~30

<결과 및 고찰>

-발효 특성

pH의 경우 전체적으로 증감을 반복하며 증가해가는 곡선을 형성하며 1일차에서 2일차로 발효 경과 시 감소하는 실험군은 Premier cuvee, Lalvin R-HST, Lalvin BM4X4이며 Lalvin Cy3079는 1일차에서 3일차까지는 증가, 3일차에서 5일차까지는 감소 이후 구간에서 증가하는 특이한 형태의 곡선이 형성되었다. pH가 가장 높게 형성되는 실험군은 Lalvin 71B로 pH 3.90~4.30 사이로 형성된다. 이는 내산성 및 산도 생성능력과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

산도의 경우 9일차 가장 높은 산도를 기록한 실험군은 Lalvin V1116 K1로써 산도 8.57까지 생성하며 Eau de vie는 산도 5.67로 가장 낮은 수치를 기록하였다. 산도 곡선은 전체적으로 소폭 감소하는 곡선을 형성하며 5일차에 증가하는 실험군이 많다. 증가가 되는 구간뿐만 아니라 전 발효 경과기간 동안의 현미경 검경에서 산패균에 의한 오염은 관찰되지 않았다. 표 1-33. 효모별 산도 생성 순위에서 각 실험군의 산 생성 능력 및 증감을 확인 할 수 있는데 1일차 포도가 가지고 있는 산도에 의해 높은 수치가 측정되다가 9일차에는 1일차 대비 모든 실험군에서 감소하는 경향을 보인다. 감소의 폭이 적은 순서대로 Lalvin V1116 K1>Lalvin ICV D47>Premier cuvee>Lalvin Clos>Lalvin R-HST>Lalvin BM4X4>Lalvin DV10>Eau de vie>Lalvin EC1118>Lalvin ICV D254>BDX>CM 796>Lalvin Cy3079>Fermivin>Lalvin 71B으로 나타났다. 감소가 진행된 사유로는 각 효모의 산 생성능력, MLF, 휘발 등을 들 수 있으며 Lalvin 71B의 경우 곡물발효주에서도 가장 낮은 증감을 보인 것으로 보아 산생성능력이 적은 것으로 사료된다.

표 1-34. 효모별 산도 생성 순위

	산도		9일차 Rank		산도		증감	증감 rank
	1일차	9일차			1일차	9일차		
Lalvin V1116 K1	9.43	8.57	1	Lalvin V1116 K1	9.43	8.57	-0.87	1
Lalvin ICV D47	9.07	8.00	2	Lalvin ICV D47	9.07	8.00	-1.07	2
Lalvin Clos	9.13	7.77	3	Premier cuvee	6.80	5.67	-1.13	3
Lalvin BM4X4	9.07	7.47	4	Lalvin Clos	9.13	7.77	-1.37	4
Lalvin R-HST	8.87	7.43	5	Lalvin R-HST	8.87	7.43	-1.43	5
BDX	9.87	7.30	6	Lalvin BM4X4	9.07	7.47	-1.60	6
Lalvin ICV D254	9.47	7.17	7	Lalvin DV10	8.77	6.90	-1.87	7
CM 796	9.80	7.10	8	Eau de vie	7.30	5.43	-1.87	8
Lalvin DV10	8.77	6.90	9	Lalvin EC1118	8.47	6.53	-1.93	9
Fermivin	9.43	6.57	10	Lalvin ICV D254	9.47	7.17	-2.30	10
Lalvin EC1118	8.47	6.53	11	BDX	9.87	7.30	-2.57	11
Lalvin Cy3079	8.93	6.23	12	CM 796	9.80	7.10	-2.70	12
Lalvin 71B	8.80	5.73	13	Lalvin Cy3079	8.93	6.23	-2.70	13
Premier cuvee	6.80	5.67	14	Fermivin	9.43	6.57	-2.87	14
Eau de vie	7.30	5.43	15	Lalvin 71B	8.80	5.73	-3.07	15

알코올의 경우 Eau de vie를 제외한 대부분의 실험군이 비슷한 곡선을 형성하였으며 Eau de vie의 경우 초기 발효 start가 늦어 전 구간에서 다른 실험군에 비해 낮은 수치를 기록하였다. 각각의 효모는 Eau de vie를 제외하고 3일차 이후부터는 알코올 증가 속도가 늦어졌

으며 8일차 이후부터는 평형에 도달하게 된다. 9일차 각 실험군별 생성된 알코올분을 가지고 순위를 정하였을 때, Fermivin이 13.5도(v/v%)로 가장 높게 나타났으며 Eau de vie의 경우 7.93도(v/v%)로 가장 적은 생성 능력을 보여주었다. 알코올 생성능력이 높은 순서대로 Fermivin>BDX>Lalvin ICV D47>Lalvin Clos>Lalvin EC1118>Lalvin ICV D254>Lalvin DV10>Lalvin R-HST>Lalvin V1116 K1>CM 796>Lalvin Cy3079>Lalvin 71B>Lalvin BM4X4>Premier cuvee>Eau de vie 순으로 나타났다.

표 1-35. 효모별 알코올 생성 순위

	알코올(v/v%) 9일차	9일차 Rank
Fermivin	13.50	1
BDX	13.40	2
Lalvin ICV D47	13.20	3
Lalvin Clos	12.90	4
Lalvin EC1118	12.90	5
Lalvin ICV D254	12.90	6
Lalvin DV10	12.70	7
Lalvin R-HST	12.70	8
Lalvin V1116 K1	12.70	9
CM 796	12.70	10
Lalvin Cy3079	12.60	11
Lalvin 71B	12.50	12
Lalvin BM4X4	12.20	13
Premier cuvee	12.10	14
Eau de vie	7.93	15

당도의 경우 알코올 곡선과 정확히 반비례하는 형태로 나타났으며, 과실의 경우 발효 경과 의 지표가 될 수 있을 것으로 사료된다. Eau de vie를 제외한 대부분의 실험군에서는 3일차 까지 감소하는 속도가 빠르게 진행되다가 4일차부터 완만해져 평형 및 소폭의 증감이 발생 하게 된다. Eau de vie는 효모의 start 시점이 느려 초기 발효 경과 기간에 감소하는 속도가 느리다가 5일에서 7일차 구간에 빠르게 감소하는 곡선을 형성한다.

-메탄올, 아세트알데히드 함량 변화

아세트알데히드는 숙취의 원인물질로 알코올 발효의 중간체이다. 피루브산을 탈탄산시키면 생성되는 아세트알데히드는 알코올탈수소효소에 의해 환원되어 에탄올이 되기도 하고, 산화 효소의 작용으로 산화되어 아세트산이 되기도 한다. 간 독성, 발암성 등이 있어 건강에 나쁜 영향을 미치는 물질로 식품공전에서 아세트알데히드 함량의 허용기준을 정하여 관리하고 있는 항목으로 식품공전 기준치는 700ppm이다. 15종의 효모를 이용하여 캠벨얼리를 발효시킨 결과는 표 1-36. 과 같다. 발효 중 acetaldehyde의 함량 변화는 발효 초기에 급격한 증가를 보였으나, 그 후 점점 감소하였다. 이러한 acetaldehyde의 변화양상은 Veselov와 Gracheva의 보고와 유사하며 이는 아세트알데히드가 알코올 발효 중간체이기 때문에 당 소비가 많은 시점에서 acetaldehyde의 생성량이 높은 것으로 유추된다. 발효 9일 후의 아세트알데히드 함량은 Fermivin이 0.6ppm이었으며 다른 실험군은 0.3~1.2ppm으로 식품공전 기준치의 0.2%도

되지 않았다.

메탄올은 과실 중 pectin methylesterase가 pectin을 가수분해하여 생성되기 때문에 과실주의 정상 성분이기도 하지만 과량을 섭취하는 경우 시신경을 마비시키거나 심하면 생명에 치명적으로 작용할 수 있어 식품공전에서는 과실주의 허용기준치를 1,000ppm으로 하고 있다. 발효 중 메탄올의 함량변화를 보면 지속적으로 메탄올 함량이 증가하는 Lalvin ICV D47를 제외한 모든 실험군은 2일 간격으로 증감을 반복하여 최종적으로 발효 9일 후 Fermivin이 1.7ppm이었으며 메탄올 함량변화에서 특이점을 보였던 Lalvin ICV D47이 6.3ppm이었고 이를 제외한 실험군의 메탄올 함량은 0.4~2.3ppm이었다.

그림 1-53. 포도 발효 시 효모별 발효경과(pH)

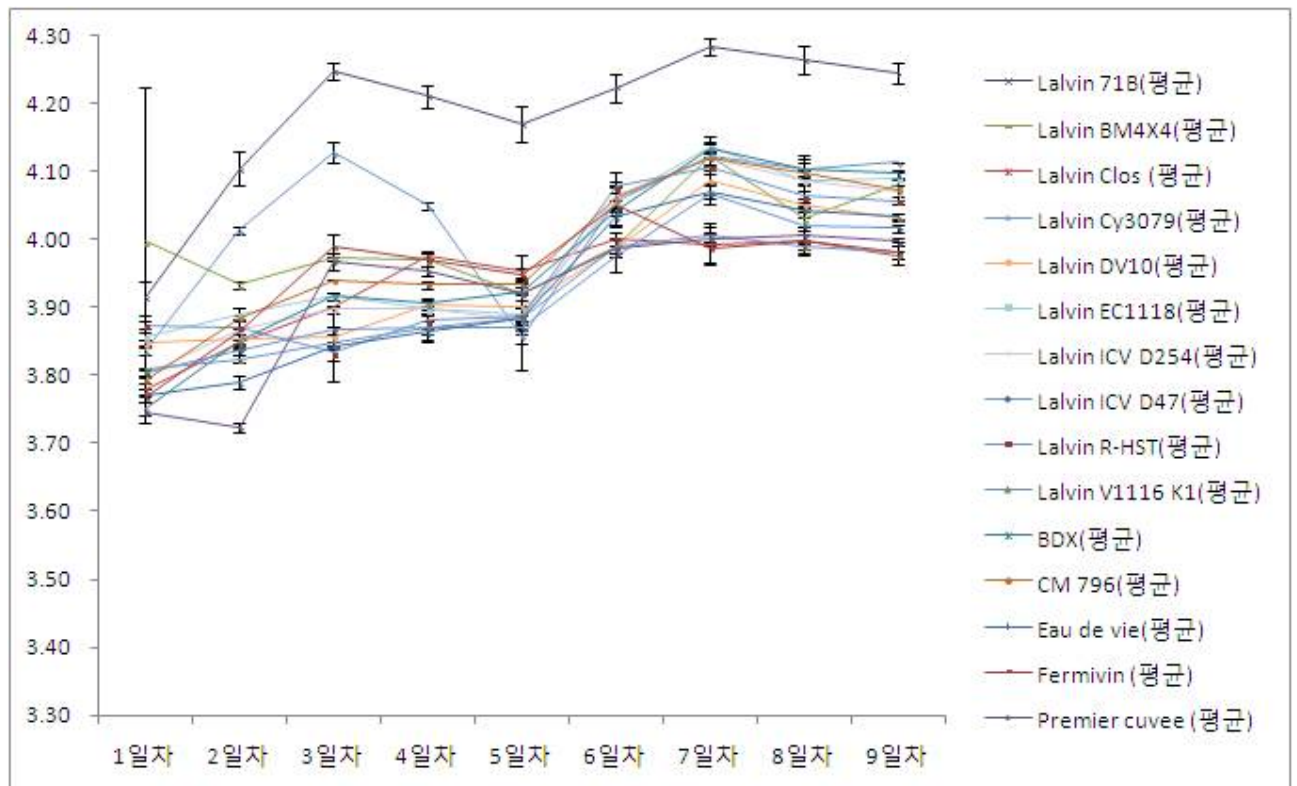


그림 1-54. 포도 발효 시 효모별 발효경과(산도(적정산도))

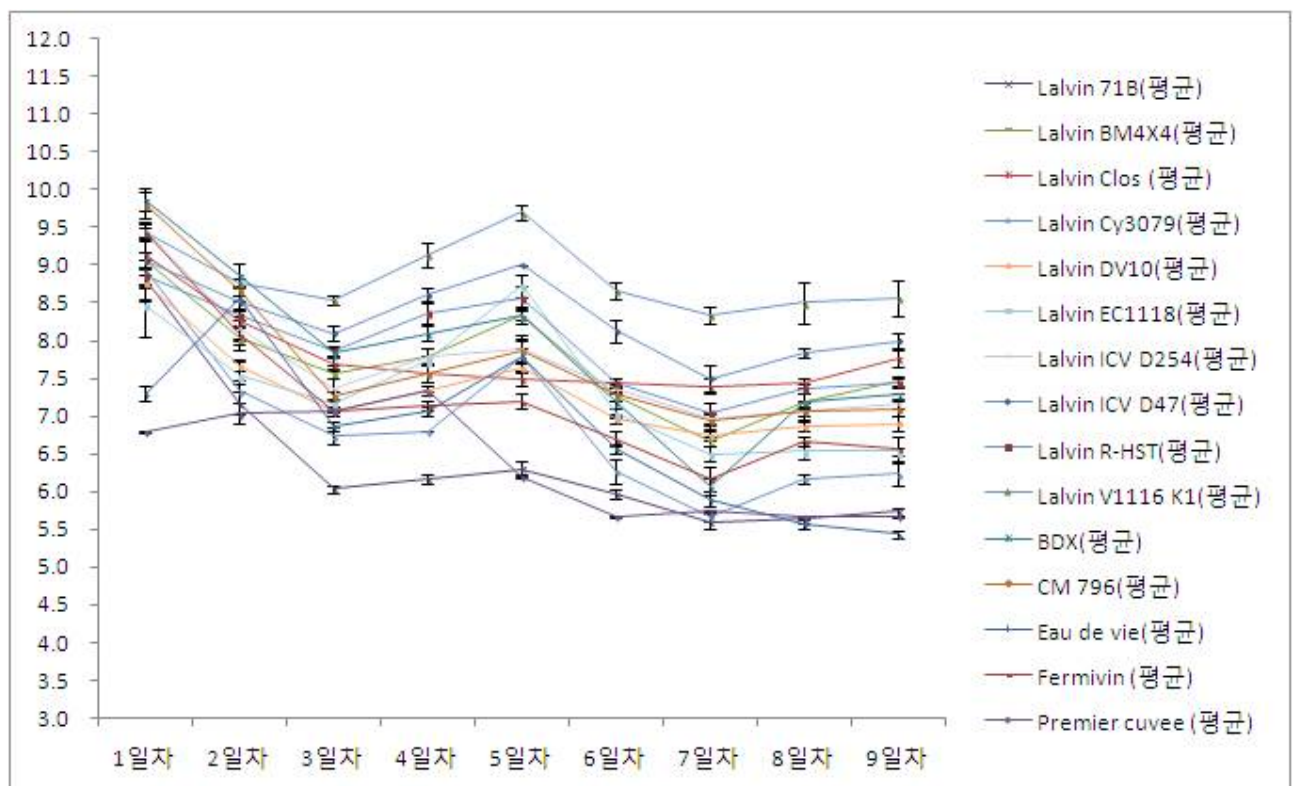


그림 1-55. 포도 발효 시 효모별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

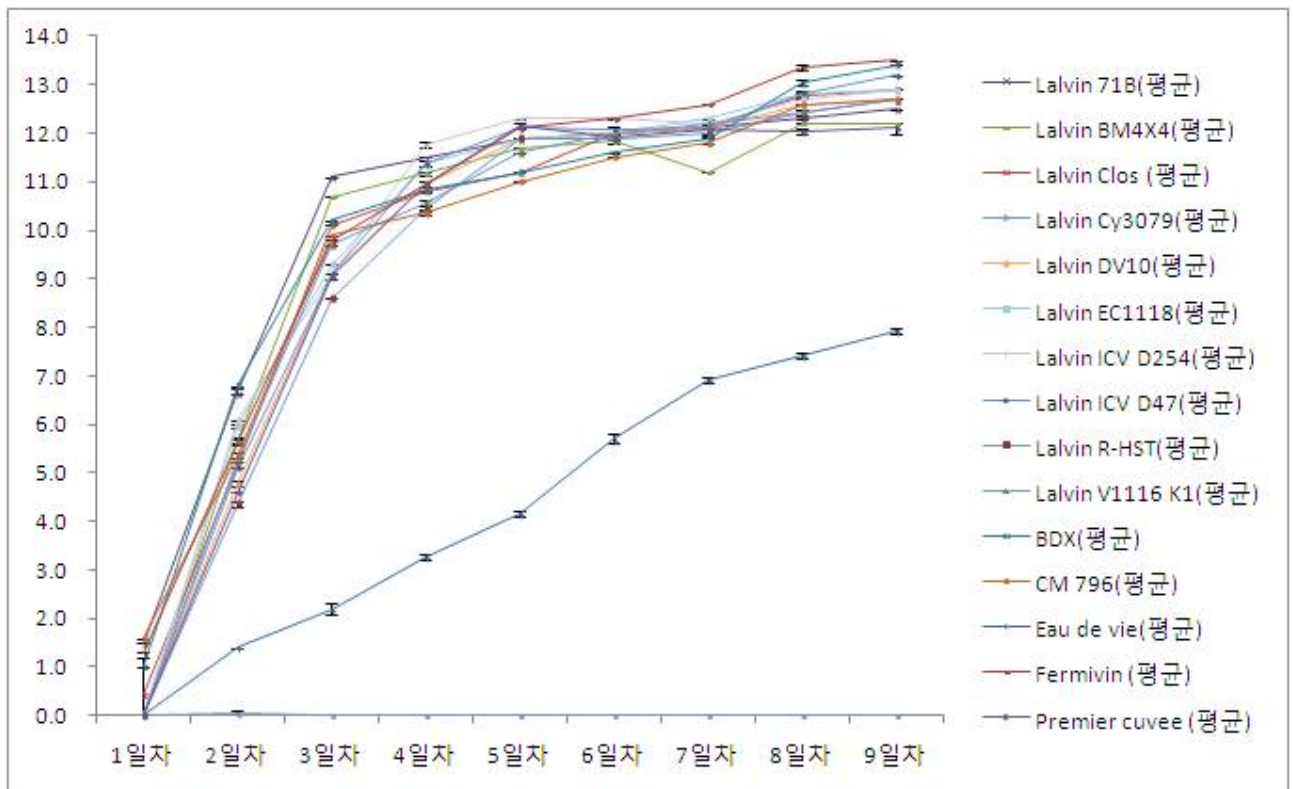


그림 1-56. 포도 발효 시 효모별 발효경과(당도(단위: °Brix))

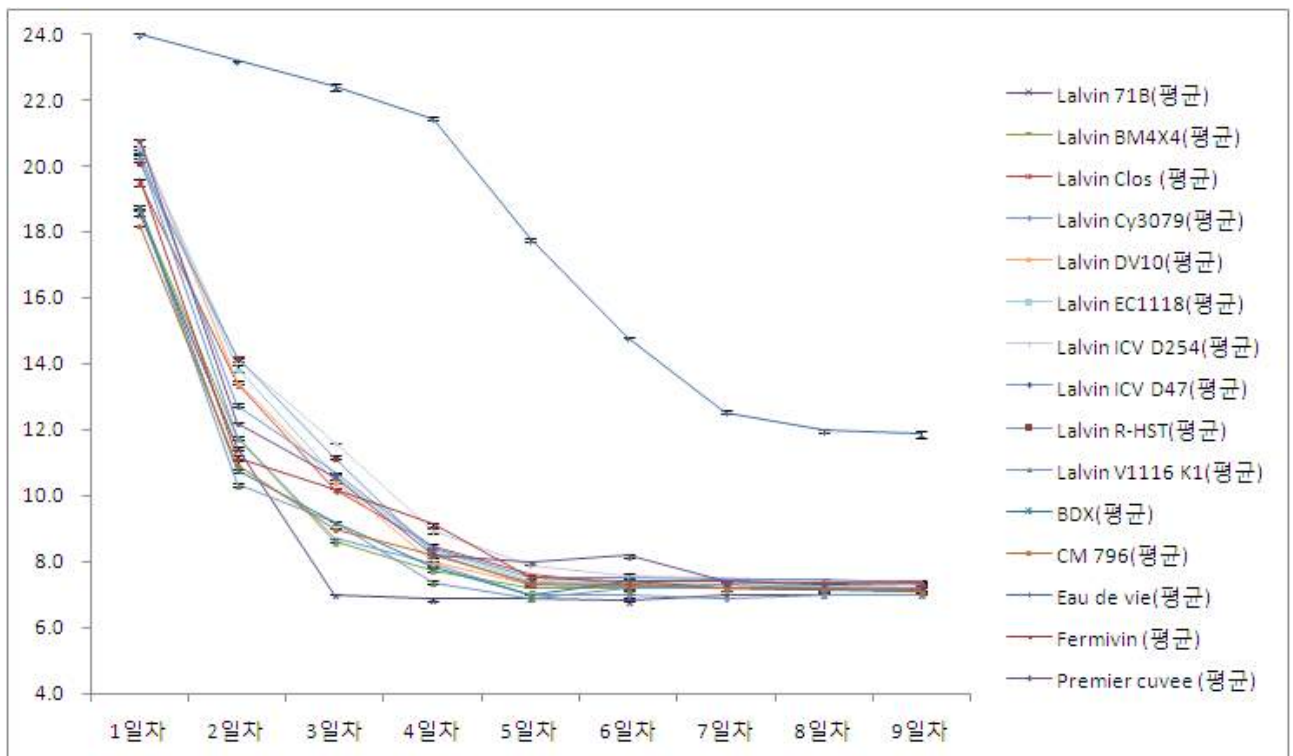


표 1-36. 효모별 발효 경과 기간동안의 저비점 유해물질 검출결과

Strain	Acetaldehyde(ppm)					Methanol(ppm)				
	1일	3일	5일	7일	9일	1일	3일	5일	7일	9일
Lalvin 71B	25.8	2.6	1.5	2.8	0.7	1.0	2.2	0.6	2.6	0.6
Lalvin BM4X4	42.4	5.8	1.6	4.4	0.9	1.3	2.0	1.1	2.3	1.1
Lalvin Clos	32.3	4.6	1.3	4.0	1.1	1.2	1.8	0.5	2.5	0.7
Lalvin Cy3079	37.6	4.2	1.5	3.9	0.6	1.3	1.9	1.1	2.4	0.4
Lalvin DV10	42.1	3.8	1.7	6.1	1.2	1.4	2.9	1.4	3.4	1.8
Lalvin EC1118	46.3	3.2	1.4	6.5	1.0	0.9	1.1	1.0	3.8	1.3
Lalvin ICV D254	33.1	0.9	0.9	2.4	0.5	1.6	1.8	0.9	3.0	1.9
Lalvin ICV D47	20.4	0.5	0.4	1.5	0.3	0.2	1.1	1.1	2.8	6.3
Lalvin R-HST	48.3	3.6	1.3	3.8	0.8	1.1	1.6	1.0	3.3	1.5
Lalvin V1116 K1	34.2	1.2	1.2	2.8	0.6	0.6	1.1	1.1	3.0	2.3
BDX	37.5	0.8	0.4	1.8	0.4	0.6	1.7	0.3	2.9	0.9
CM 796	32.0	1.5	0.8	2.6	0.5	0.7	1.5	0.4	3.0	1.4
Eau de vie	30.1	4.2	2	4.2	0.6	0.8	1.1	0.5	0.8	0.8
Fermivin	30.9	1.5	0.7	2.4	0.6	0.7	1.3	0.2	1.6	1.7
Premier cuvee	38.7	4.0	1.3	4.3	0.8	1.1	2.6	0.2	2.6	2.1

- 효모별 발효 술덧의 EC 함량

젖산발효 시 아르기닌이 분해되면 EC 전구체인 시트룰린이 생성되기 때문에 Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트(EC)는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 포도주의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소와 젖산균에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 시트룰린이 주요 전구체라 하겠다. 발효를 위해서는 효모는 필수적이므로 젖산균에 의한 젖산발효를 억제하여 EC를 저감할 필요가 있다.

<실험방법>

에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

(4) 효모별 증류 분액 유해물질 분석 및 초류 분리시점 파악 (2차년도 선행 연구)

효모별 발효 시 발생하는 EC분석 결과로는 효모의 선정이 어려워 최종 제품에서의 EC 및 전구체를 분석하여 효모를 선정하고자 한다. 3)유해물질 저감을 위한 효모 선발에서 발효를 시킨 발효 술덧을 이용하여 동일한 증류기를 사용하여 증류를 하고 술덧 내의 성분들의 끓는점 차이에 따라 증류되어져 나오는 순서가 결정되는데 이를 최소 단위로 분획하고 분획한 증류주에 저비점 유해물질의 함량을 측정하여 초류를 분리하고자 한다.

본 실험에서는 <안전한 쌀증류주 제조 기술 개발>에서의 초류분리 시점 기준과 동일한 강화된 검출 기준을 적용코자한다. 아세트알데히드의 경우 700ppm에서 0.7ppm으로 1/1,000로 설정하였으며 메탄올의 경우 500ppm에서 5ppm으로 1/100로 정하였다.

<실험방법>

본 실험에서 개발할 최종제품의 대조군은 현재 수입 증가 추세에 있는 브랜드나 곡물 증류주로써 대부분의 제품이 40도(v/v%)의 알코올로 맞춰져 있다. 발효가 종료된 술덧 15종의 최종 알코올 함량은 7~14도(v/v%)이므로 최종 제품 알코올함량 40도(v/v%)로 맞추려면 상압 단식증류기의 경우 2차 증류까지 진행되어야 한다. 금번 실험에서 사용할 증류기는 상압 동증류기로서 1차에서는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 100ml 단위로 분획하였다. 3)유해물질 저감을 위한 효모 선발에서 발효가 종료된 발효술덧 15종을 실험군으로 2차 증류 및 분획을 실시하였으며 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

각 실험군의 분획은 아세트알데히드가 0.7ppm이하로 형성되고 메탄올이 5ppm이하로 형성되는 구간을 초류분리구간으로 정하였고 초류 분리 시점 및 100ml당 저비점 유해물질을 분석한 Data는 그림 1-57~1-71에서 확인할 수 있다. 초류 분리 백분율은 전체 증류된 량(총분획량) 대비 초류가 분리된 량을 백분율로 나타낸 것이며 각 실험군의 효율과 밀접한 관계가 있다. 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 각 실험군의 검출 총합에 총분획량을 대입하여 ppm으로 환산한 내역이며 각 실험군 내에서 발생한 저비점 유해물질을 검출량으로 순위를 매길 수 있다. (표 1-37. 효모별 포도증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리)에서 각 실험군의 분석결과와 초류분리 시점에 대해 종합하여 볼 수 있다.

표 1-37. 효모별 포도증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리

	Acetaldehyde		총분획량 (mL)	초류분리량 (mL)	초류분리 백분율
	총량 (ppm)	MeoH 총량 (ppm)			
Lalvin 71B	1.32	5.36	1,700	200	11.76%
Lalvin BM4X4	1.48	8.58	1,600	200	12.50%
Lalvin Clos	19.37	23.12	1,800	600	33.33%
Lalvin Cy3079	21.33	41.10	1,600	600	37.50%
Lalvin DV10	20.68	39.04	1,700	500	29.41%
Lalvin EC1118	20.73	6.53	1,900	700	36.84%
Lalvin ICV D254	17.79	4.97	1,800	500	27.78%
Lalvin ICV D47	17.27	4.82	2,000	700	35.00%
Lalvin R-HST	22.48	4.45	1,700	600	35.29%
Lalvin V1116 K1	10.05	37.42	1,800	500	27.78%
BDX	12.02	31.82	2,000	600	30.00%
CM 796	16.20	27.27	1,600	600	37.50%
Eau de vie	15.22	47.87	800	200	25.00%
Fermivin	35.94	57.55	2,000	800	40.00%
Premier cuvee	27.04	82.50	1,500	500	33.33%

각 실험군의 총 분획량 내 아세트알데히드의 총량으로 순위를 정할 시 Lalvin 71B가 1.32ppm으로 가장 적은 아세트알데히드를 생성시켰으며 Fermivin이 35.94ppm으로 가장 많은 아세트알데히드를 생성시키는 것으로 나타났다.

총분획량 내 메탄올의 총량으로 순위를 정할 시에는 Lalvin 71B가 5.36ppm으로 가장 적은 메탄올을 생성시켰으며 Premier cuvee가 82.50ppm으로 가장 많은 검출량을 기록하였다. 두 개의 저비점 유해물질의 순위는 상관관계가 없이 나타났으며 분획된 순서에서 초기 분획에 집중되어 있고 집중되어 있는 만큼 표준편차는 초기에 높게 형성이 된다.

표 1-38. 효모별 포도증류주의 아세트알데히드 검출 순위

	Acetaldehyde		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank	
Lalvin 71B	1.32	1	11.76%
Lalvin BM4X4	1.48	2	12.50%
Lalvin V1116 K1	10.05	3	27.78%
BDX	12.02	4	30.00%
Eau de vie	15.22	5	25.00%
CM 796	16.20	6	37.50%
Lalvin ICV D47	17.27	7	35.00%
Lalvin ICV D254	17.79	8	27.78%
Lalvin Clos	19.37	9	33.33%
Lalvin DV10	20.68	10	29.41%
Lalvin EC1118	20.73	11	36.84%
Lalvin Cy3079	21.33	12	37.50%
Lalvin R-HST	22.48	13	35.29%
Premier cuvee	27.04	14	33.33%
Fermivin	35.94	15	40.00%

표 1-39. 효모별 포도증류주의 메탄올 검출 순위

	MeoH		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank	
Lalvin 71B	5.36	1	11.76%
Lalvin R-HST	4.45	2	35.29%
Lalvin ICV D47	4.82	3	35.00%
Lalvin ICV D254	4.97	4	27.78%
Lalvin EC1118	6.53	5	36.84%
Lalvin BM4X4	8.58	6	12.50%
Lalvin Clos	23.12	7	33.33%
CM 796	27.27	8	37.50%
BDX	31.82	9	30.00%
Lalvin V1116 K1	37.42	10	27.78%
Lalvin DV10	39.04	11	29.41%
Lalvin Cy3079	41.10	12	37.50%
Eau de vie	47.87	13	25.00%
Fermivin	57.55	14	40.00%
Premier cuvee	82.50	15	33.33%

초류분리 백분율에 따라 집계한 순위에서는 경제성을 고려할 수 있으며 효모 선발에 한 지표로 작용할 수 있다. Lalvin 71B는 초류 분리 백분율이 11.76%로 가장 적은 초류를 분리하였으며, Fermivin이 40.00%로 가장 많은 초류를 분리하였다. 초류 분리 시점은 저비점 유해물질의 총량보다는 분획 시 증류생성 순서 상 유해물질의 ppm과 상관관계가 있다.

표 1-40. 효모별 포도증류주의 초류분리 시점에 따른 순위

	초류분리 백분율	Rank
Lalvin 71B	11.76%	1
Lalvin BM4X4	12.50%	2
Eau de vie	25.00%	3
Lalvin ICV D254	27.78%	4
Lalvin V1116 K1	27.78%	5
Lalvin DV10	29.41%	6
BDX	30.00%	7
Lalvin Clos	33.33%	8
Premier cuvee	33.33%	9
Lalvin ICV D47	35.00%	10
Lalvin R-HST	35.29%	11
Lalvin EC1118	36.84%	12
Lalvin Cy3079	37.50%	13
CM 796	37.50%	14
Fermivin	40.00%	15

본 실험 결과는 증류방식에 따라 단식 증류를 진행한 것이며 증류기 재질은 동, 가열 방식은 직부로 진행된 효모별 초류 분리 및 저비점 유해물질에 대한 분석이다. 초류분리를 한 증류주를 알코올 40도(v/v%)로 맞추어 여과나 기타 조작이 없는 최종제품으로 만들고, 요소와 EC를 분석하고 관능검사를 통하여 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선정하고자 한다.

그림 1-57. Lalvin 71B 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

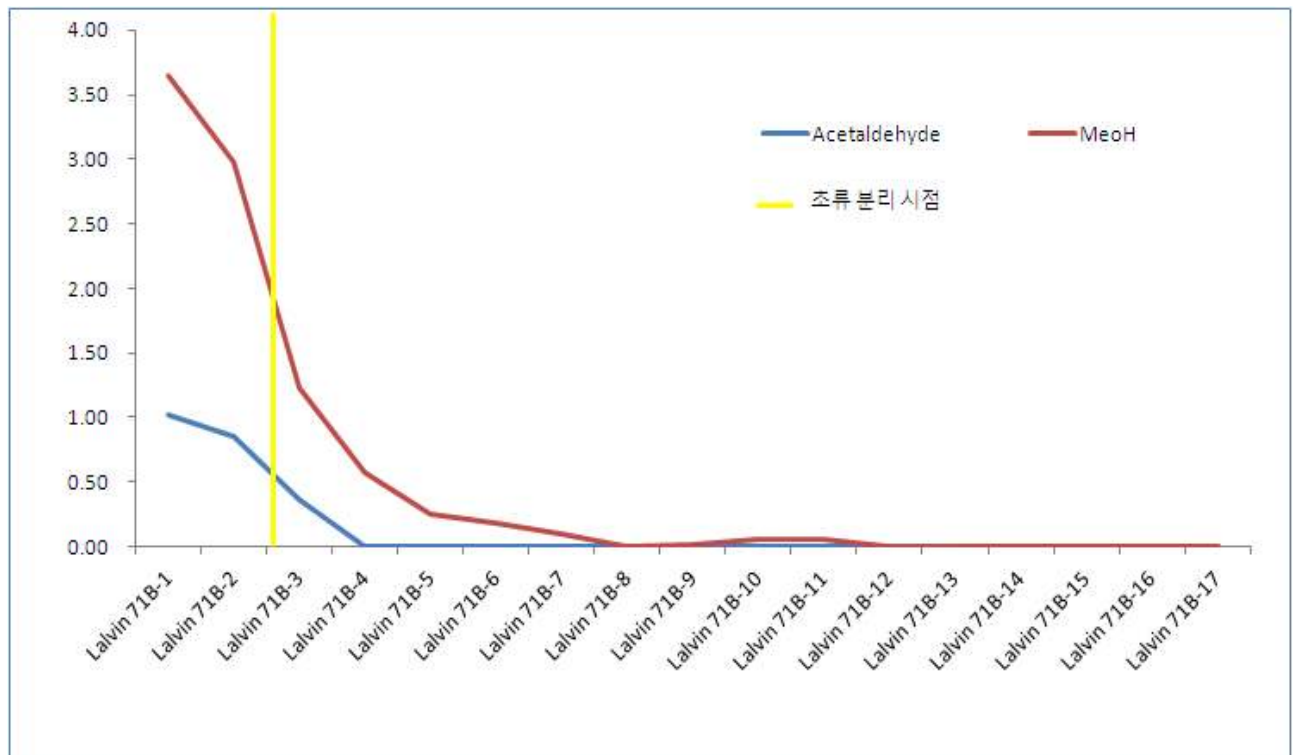


그림 1-58. Lalvin BM 4X4 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

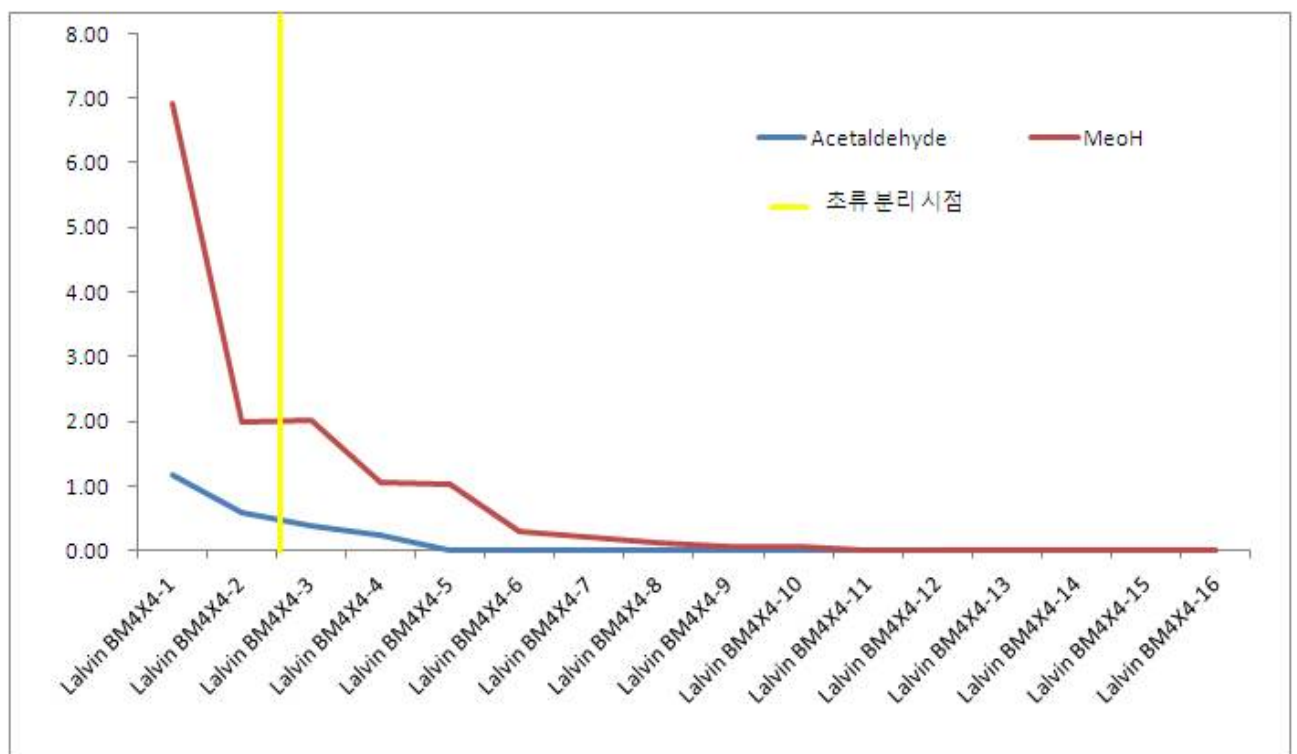


그림 1-59. Lalvin Clos4 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

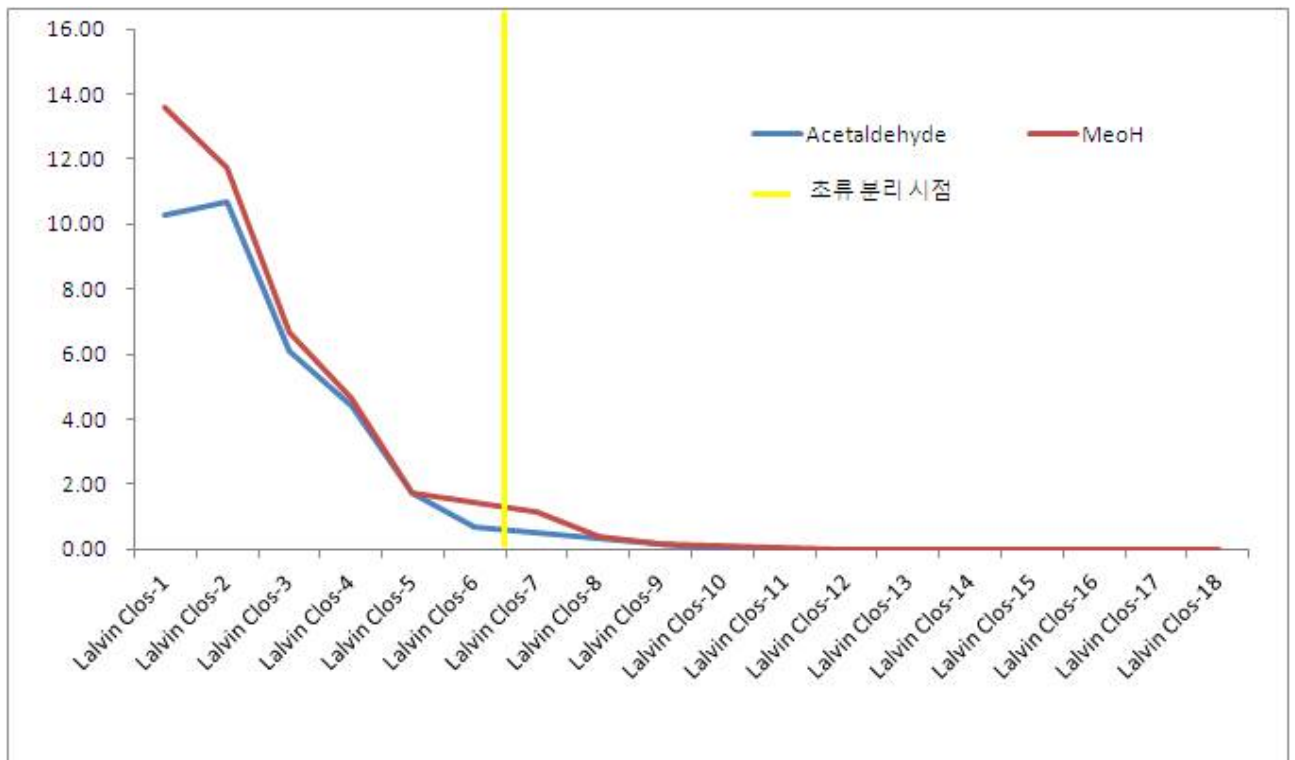


그림 1-60. Lalvin Cy3079 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

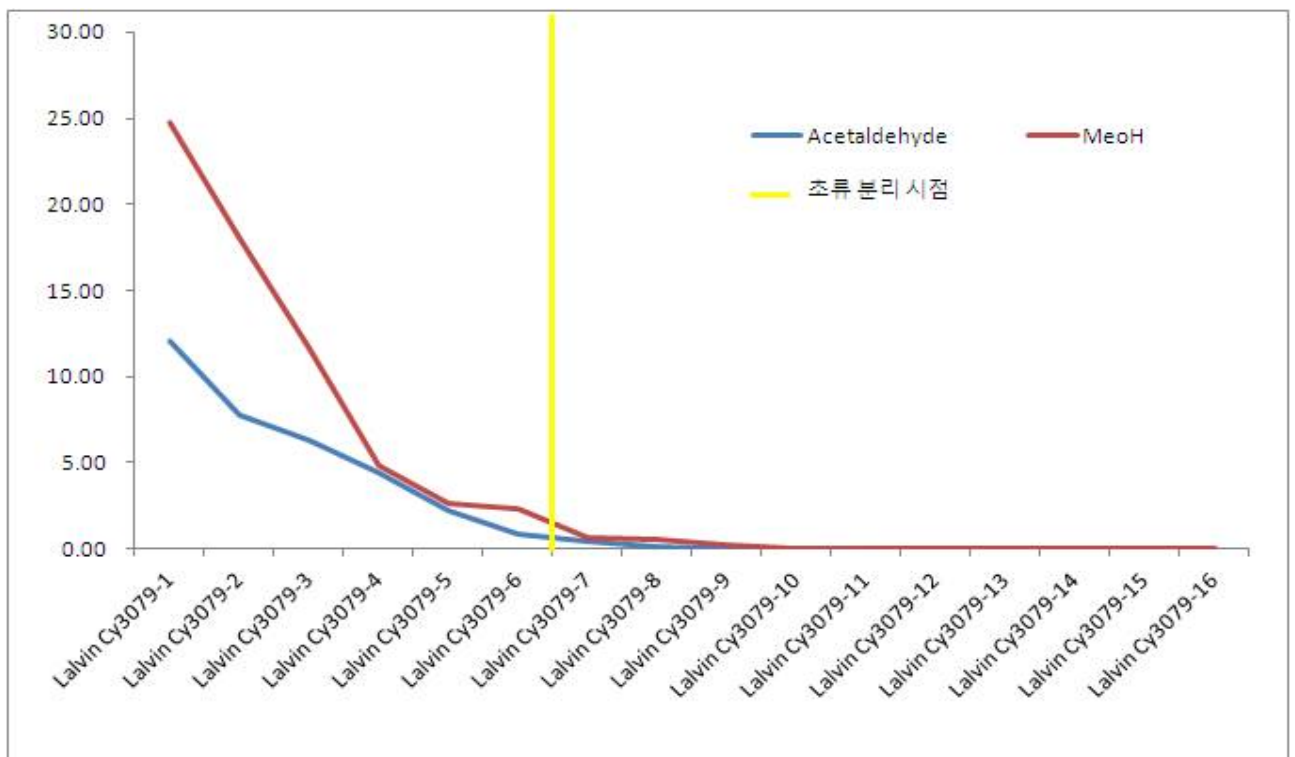


그림 1-61. Lalvin DV10 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

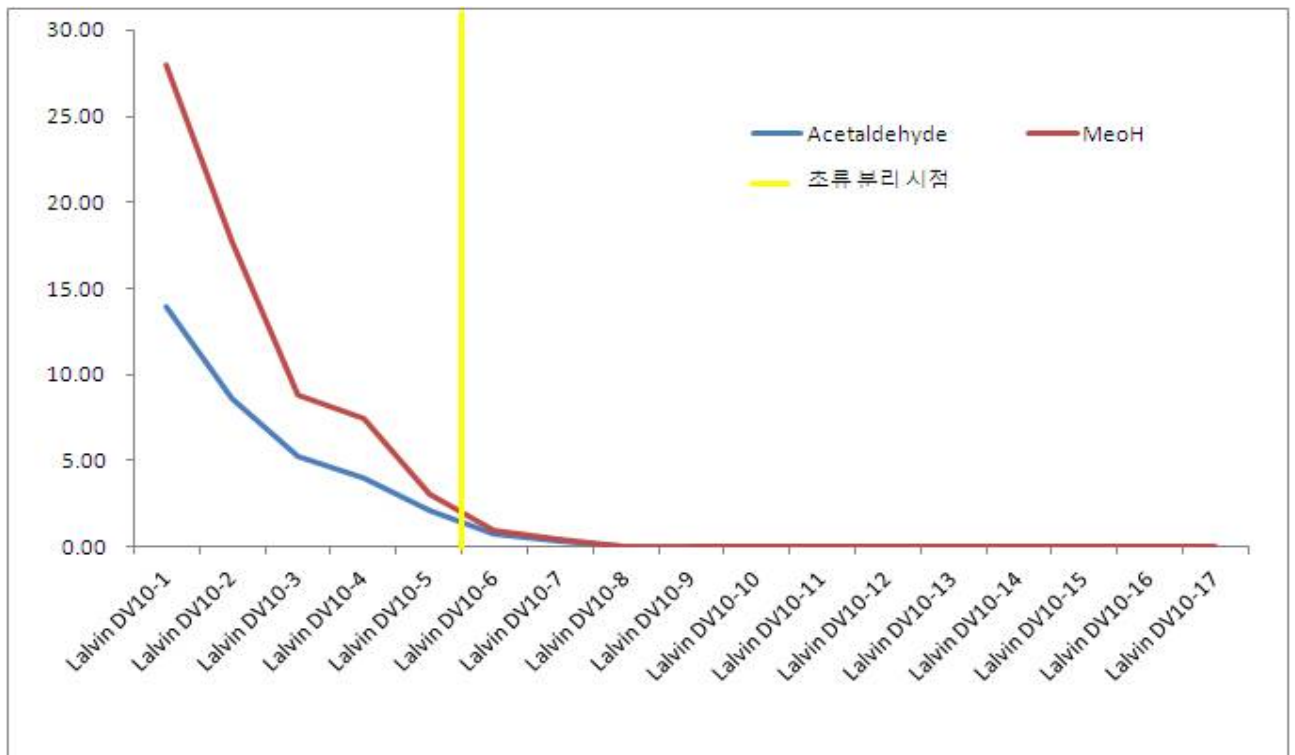


그림 1-62. Lalvin EC1118 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

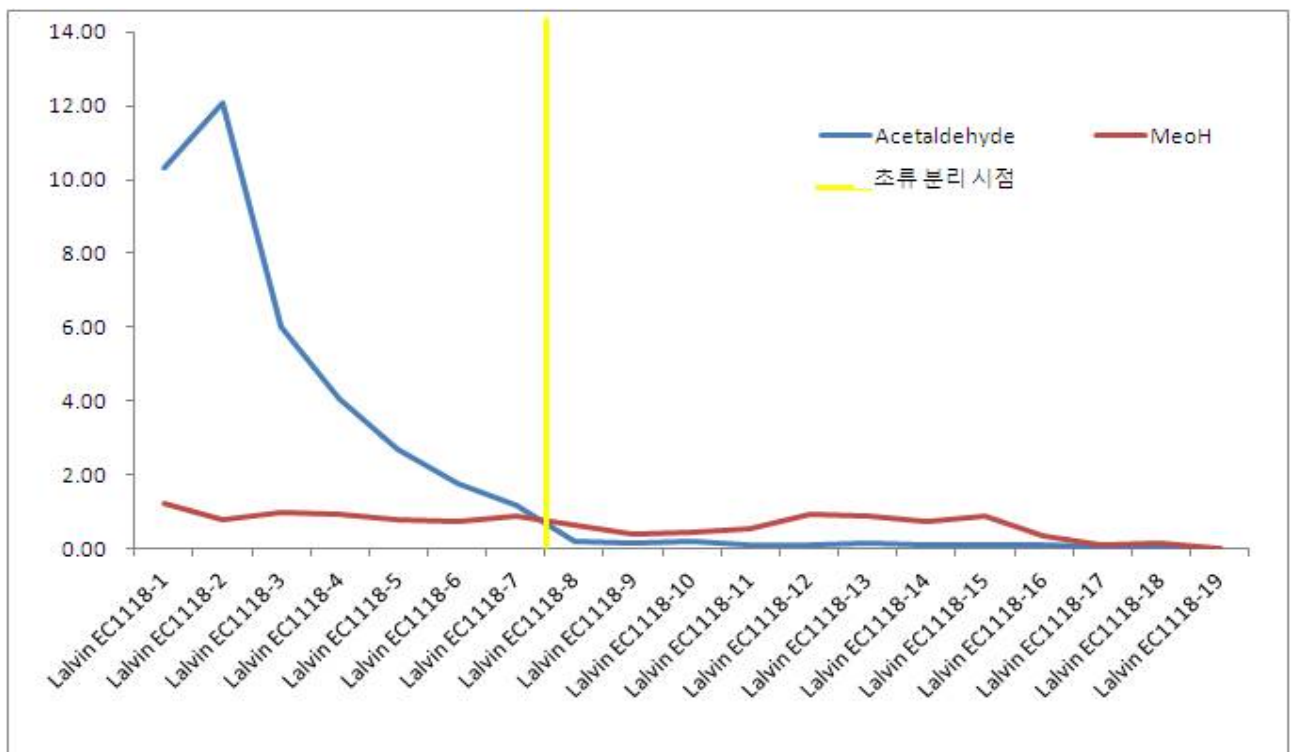


그림 1-63. Lalvin ICV D254 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

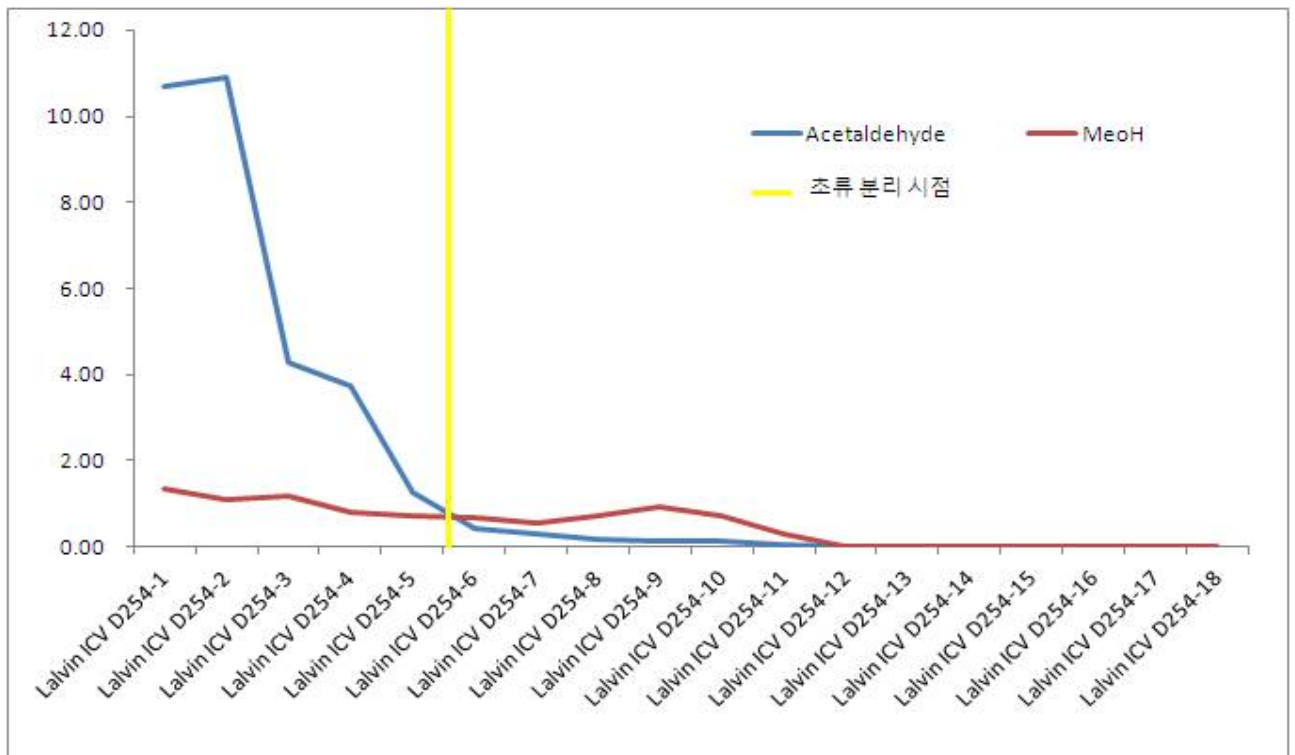


그림 1-64. Lalvin ICV D47 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

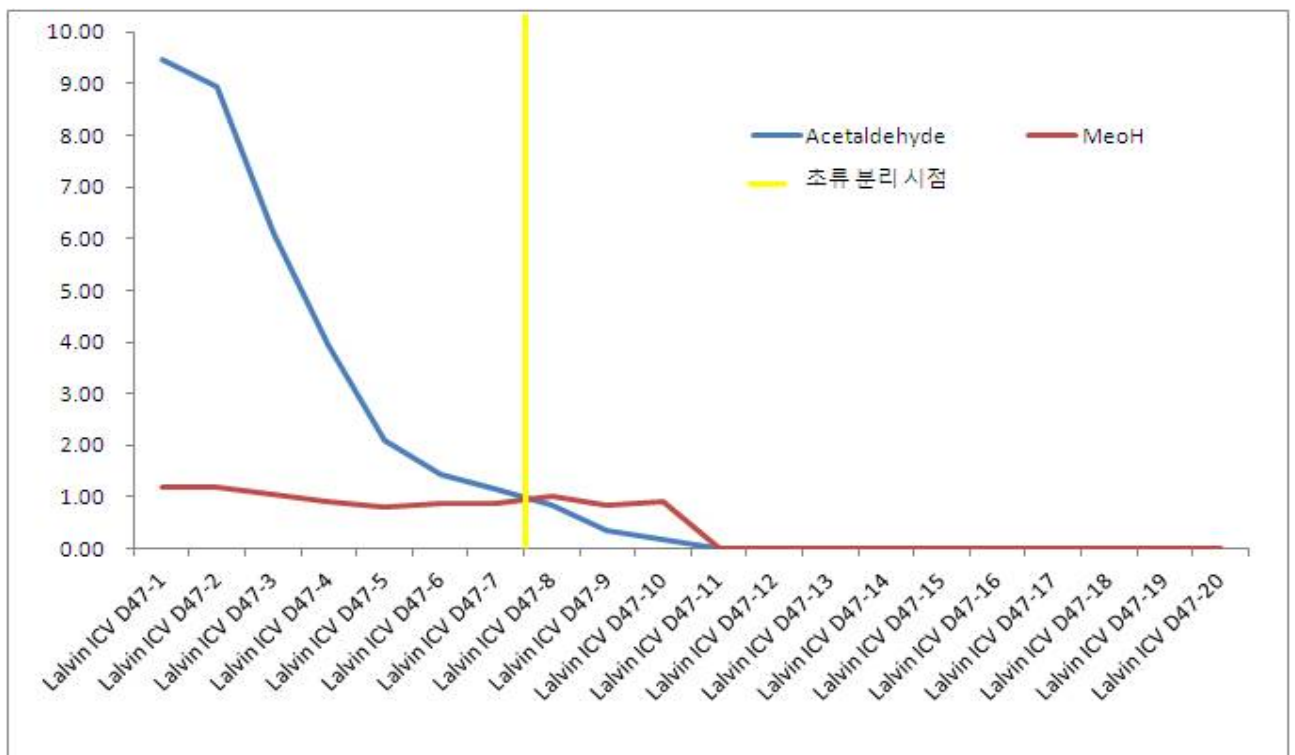


그림 1-65. Lalvin R-HST 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

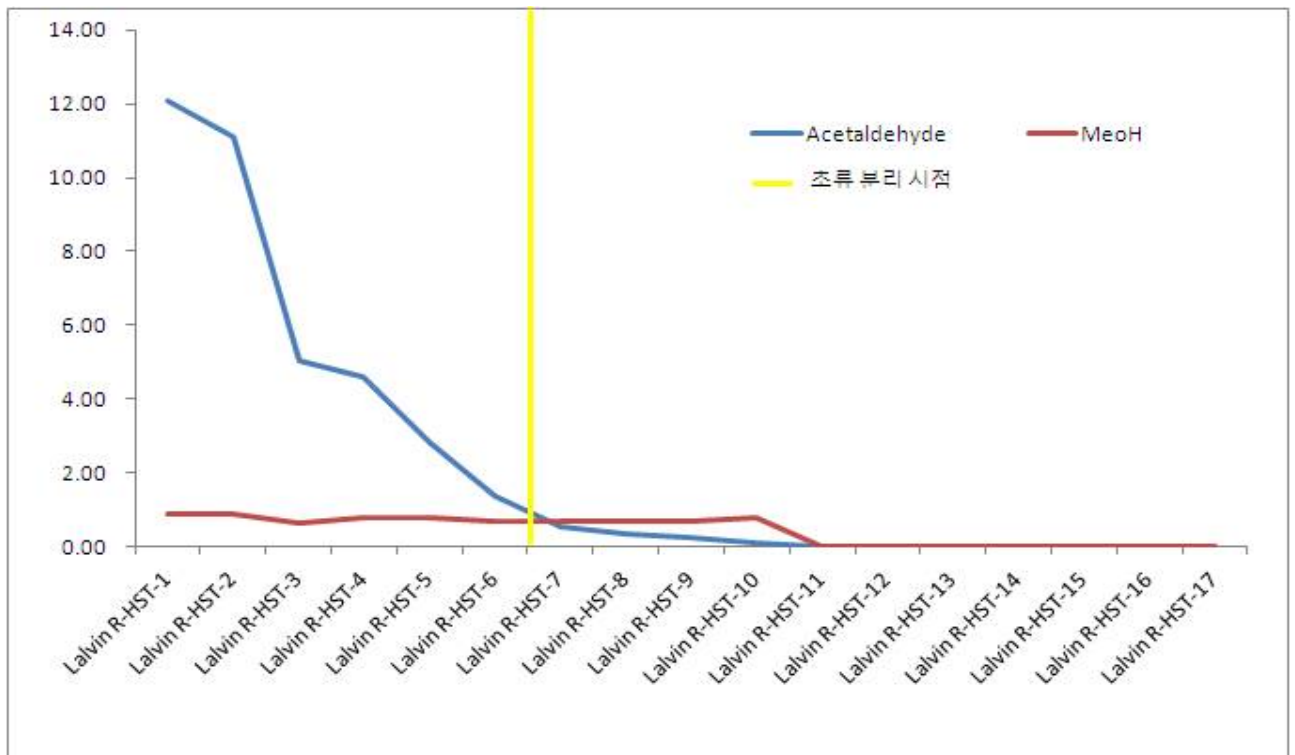


그림 1-66. Lalvin V1116 K1 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

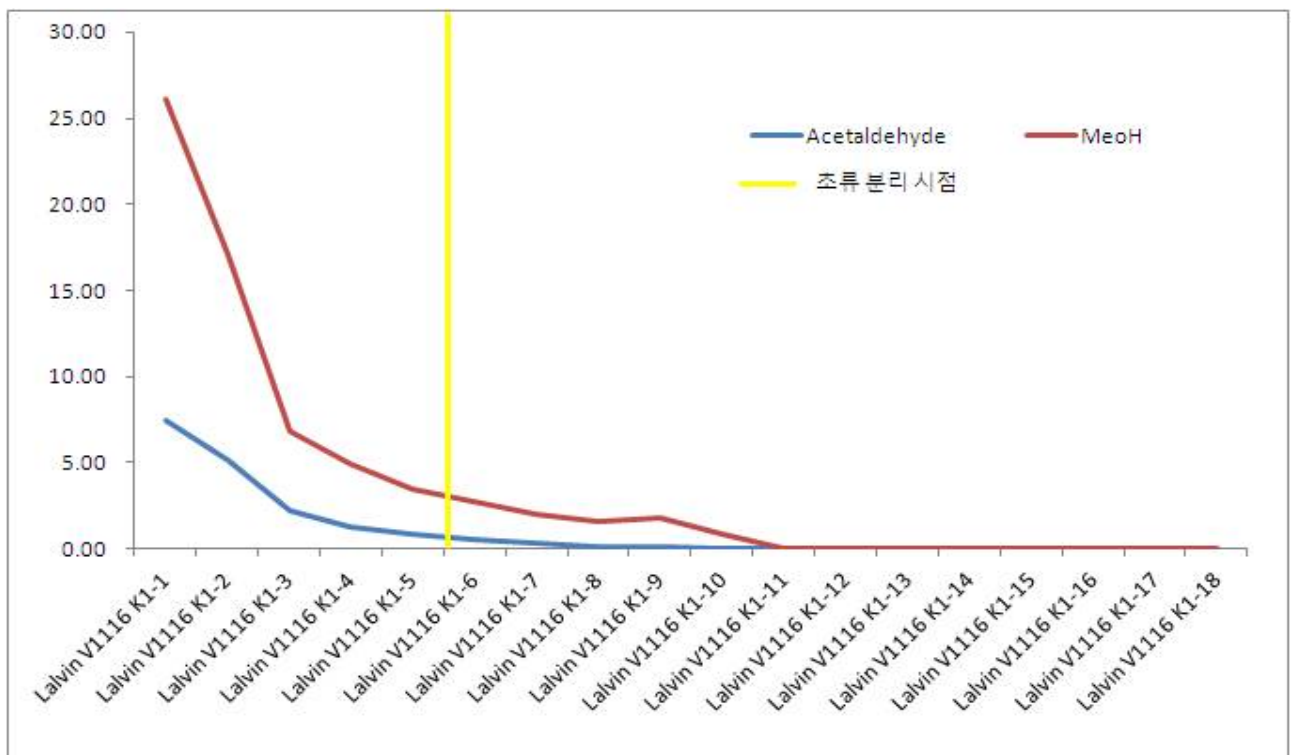


그림 1-67. BDX 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

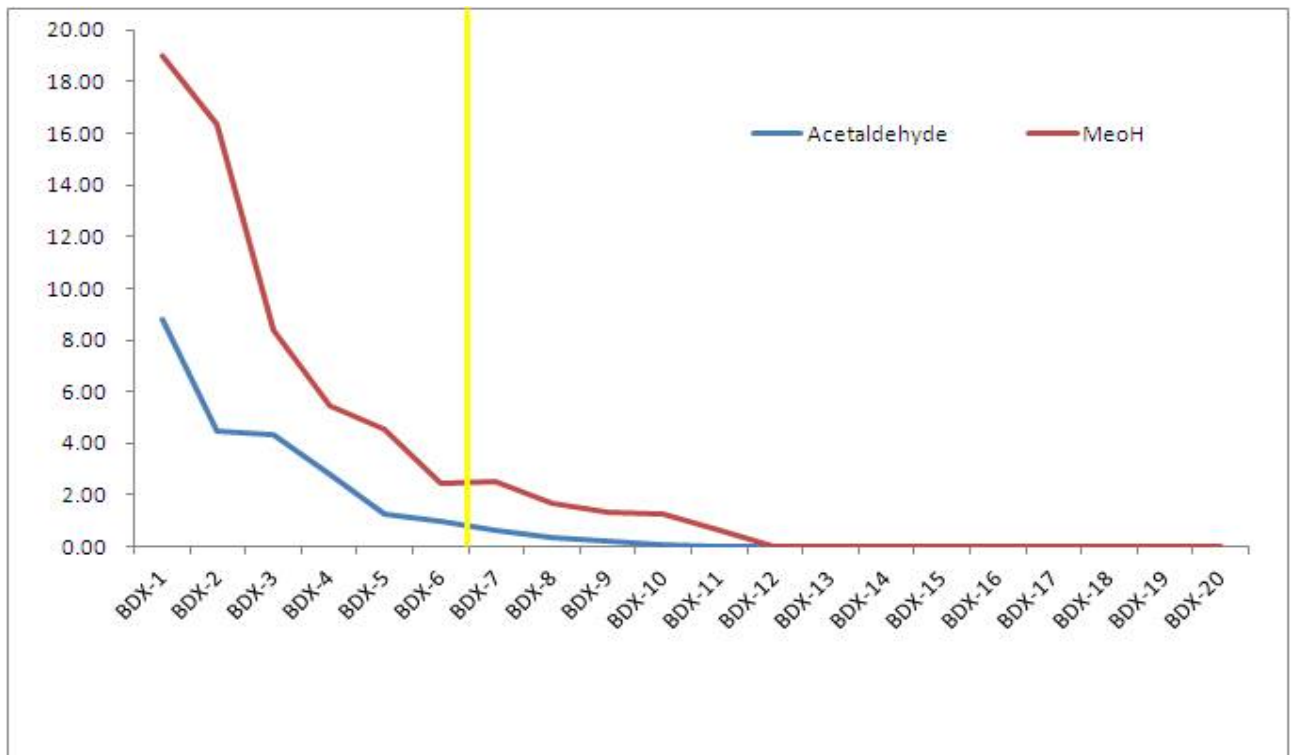


그림 1-68. CM 796 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

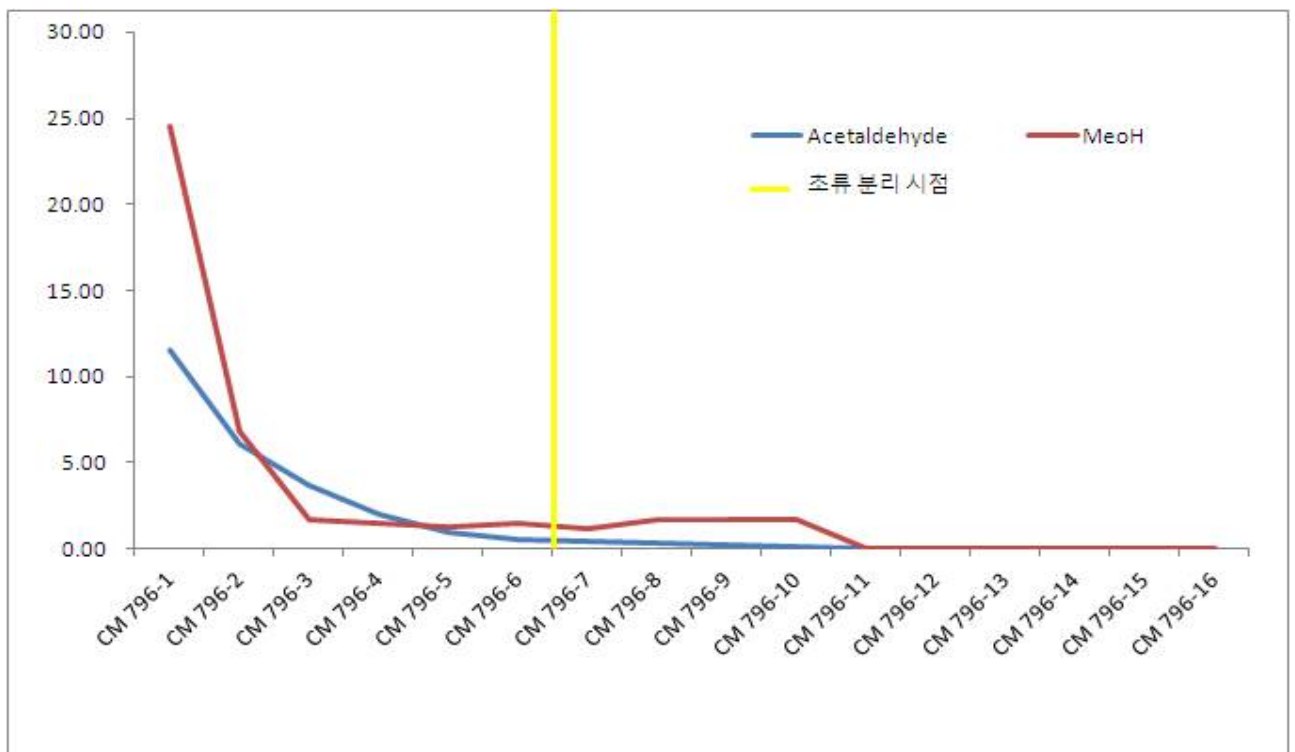


그림 1-69. Eau de vie 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

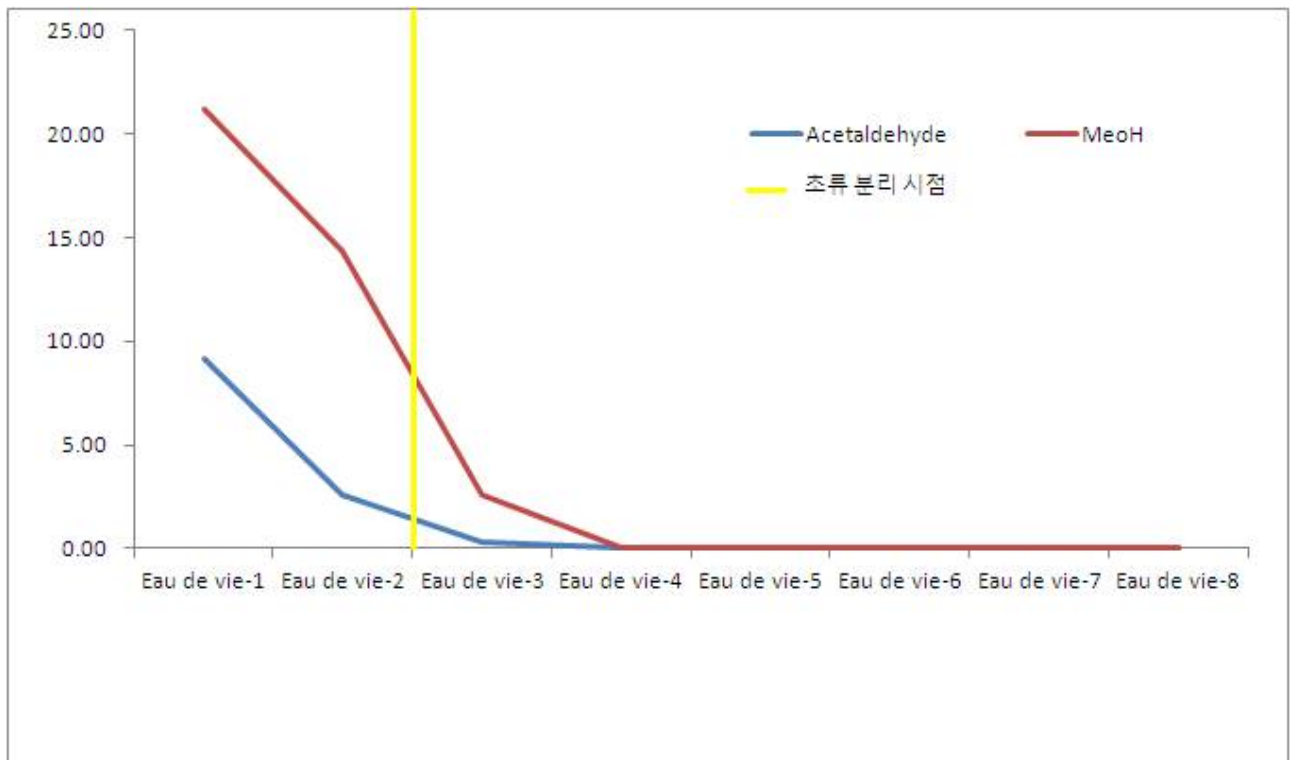


그림 1-70. Fermivin 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

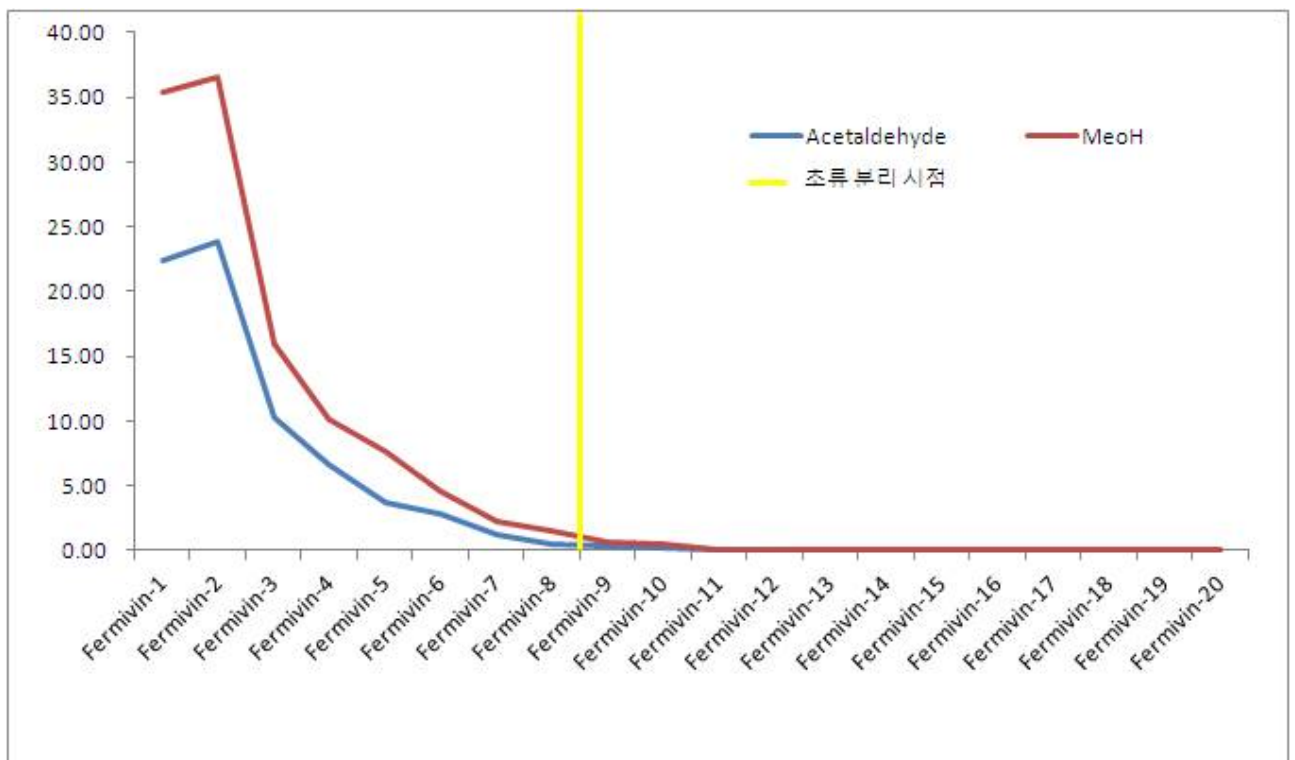
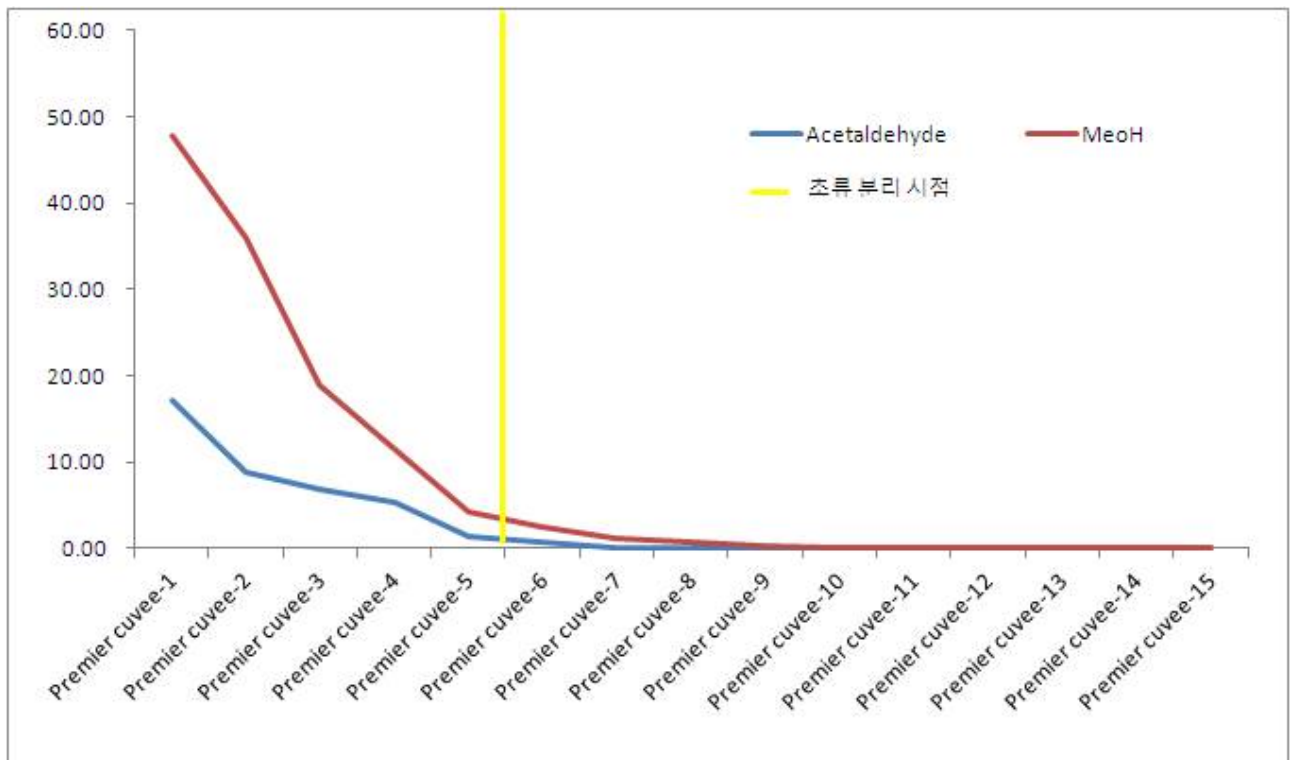


그림 1-71. Premier cuvee 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리



(5) 효모별 증류주의 유해물질 분석(EC 및 전구체)

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 포도의 경우 핵과류가 아니므로 시안화수소산에 의한 EC 발생보다는 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 그 주요 전구체라 하겠다. 따라서 본 실험에서는 숙성이나 여과처리가 되지 않은 최종실험제품(40도 알코올분(v/v%)) 15종의 전구체인 요소와 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 분석하였다.

표 1-41. 각 국의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

<실험방법>

요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

효모별 포도증류주(40도 알코올분(v/v%))의 EC와 요소의 분석결과는 (표 1-42. 효모별 포도증류주의 EC와 요소 검출 결과)로 볼 수 있으며 에틸카바메이트가 가장 낮게 나온 실험군은 Lalvin ICV D47로 89.1ppb를 기록하였다. EC 검출량이 적은 순서대로 Lalvin ICV D47>Lalvin BM4X4>Lalvin 71B>Premier cuvee>CM 796>Lalvin V1116 K1>BDX>Eau de vie>Lalvin Clos>Lalvin R-HST>Lalvin Cy3079>Lalvin EC1118>Lalvin ICV D254>Lalvin DV10>Fermivin 순으로 나타나며 해외 검출 기준은 나라마다 다르나 과일브랜디에서는

400ppb~1000ppb으로 기준이 설정된다. 400ppb 검출 기준을 통과하지 못하는 실험군은 Fermivin으로써 446.9 ppb로 검출되었다. 만약 과일브랜드와 곡물증류주를 섞을 시 제조방법에 따라 분류가 되긴 하지만 국내에서는 주로 일반증류주로 구분된다. 일반증류주로 구분 시 검출 기준은 150ppb로 기준이 강화될 수 있으며 150ppb 내로 EC가 검출된 실험군은 Lalvin ICV D47, Lalvin BM4X4, Lalvin 71B, Premier cuvee, CM 796, Lalvin V1116 K1로 상위 6개 제품만이 검출기준을 통과할 수 있다.

요소의 경우 Premier cuvee가 44.1ppb로 가장 낮은 수치를 기록하였으며, Lalvin ICV D254가 95.8ppb로 가장 높은 수치가 검출되었다. 검출량이 적은 순서대로 Premier cuvee>Eau de vie>Lalvin Clos>BDX>Lalvin 71B>Lalvin R-HST>Lalvin Cy3079>Lalvin BM4X4>Lalvin ICV D47>Fermivin>Lalvin EC1118>CM 796>Lalvin DV10>Lalvin V1116 K1>Lalvin ICV D254 나타나며, Lalvin V1116 K1과 CM 796은 EC가 150ppb 이하이지만 요소량이 높아 150ppb 이상 검출될 가능성이 있는 제품이다.

표 1-42. 효모별 포도증류주의 EC와 요소 검출 결과

	ethyl carbamate	urea
Lalvin 71B	97.5	57.6
Lalvin BM4X4	97.4	78.5
Lalvin Clos	266.4	53.4
Lalvin Cy3079	298.7	73.1
Lalvin DV10	314.8	91.7
Lalvin EC1118	301.1	89.1
Lalvin ICV D254	308.6	95.8
Lalvin ICV D47	89.1	83.7
Lalvin R-HST	286.4	68.4
Lalvin V1116 K1	127.4	92.5
BDX	181.9	57.4
CM 796	117.0	89.3
Eau de vie	253.5	49.8
LA PARISIENNE	446.9	87.9
Premier cuvee	108.3	44.1

(단위: ppb)

표 1-43. 효모별 포도증류주의 EC와 요소 검출 순위

	ethyl carbamate	rank
Lalvin ICV D47	89.1	1
Lalvin BM4X4	97.4	2
Lalvin 71B	97.5	3
Premier cuvee	108.3	4
CM 796	117.0	5
Lalvin V1116 K1	127.4	6
BDX	181.9	7
Eau de vie	253.5	8
Lalvin Clos	266.4	9
Lalvin R-HST	286.4	10
Lalvin Cy3079	298.7	11
Lalvin EC1118	301.1	12
Lalvin ICV D254	308.6	13
Lalvin DV10	314.8	14
Fermivin	446.9	15

(단위: ppb)

	urea	rank
Premier cuvee	44.1	1
Eau de vie	49.8	2
Lalvin Clos	53.4	3
BDX	57.4	4
Lalvin 71B	57.6	5
Lalvin R-HST	68.4	6
Lalvin Cy3079	73.1	7
Lalvin BM4X4	78.5	8
Lalvin ICV D47	83.7	9
Fermivin	87.9	10
Lalvin EC1118	89.1	11
CM 796	89.3	12
Lalvin DV10	91.7	13
Lalvin V1116 K1	92.5	14
Lalvin ICV D254	95.8	15

(단위: ppb)

(6) 최종 효모 선발

실험군 15종의 각각의 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선발하고자 한다.

효모 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로 한 순위, 발효 시 생성되는 알코올의 순위, 증류주 제조 시 초류를 분리한 비율(백분율)에 의한 순위, 증류주 제조 시 메탄올과 아세트알데히드의 총량의 순위로 총 6가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 효율 및 경제성 여부인 알코올 생성 순위, 초류분리 백분율 순위에 각각 20%, 유해물질이기는 하나 초류 분리에 의해 분리가 가능한 메탄올과 아세트알데히드에 각각 5%의 가중치를 두었다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 효모로 선정하였다. 실험군별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 (표 1-44. 실험군별 최종 효모 선정 평가 결과)에 나타나 있다.

EC 검출량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 Lalvin 71B 실험군이 가장 적합한 효모로 선정이 되었다. Lalvin 71B는 식약처에서 과실주 제조 시 EC를 저감화 시키는 효모로 권장되어 있는 효모로써 이후 선정된 Lalvin 71B 및 최적화 된 발효조건을 가지고 MLF에 의한 유해물질 저감화방안과 포도 품종 선발에 임하고자 한다.

표 1-44. 실험군별 최종 효모 선정 평가 결과

	Rank															가중치
	Lalvin 71B	Lalvin BM4X4	Lalvin Clos	Lalvin Cy3079	Lalvin DV10	Lalvin EC1118	Lalvin ICV D254	Lalvin ICV D47	Lalvin R-HST	Lalvin V1116 K1	BDX	CM 796	Eau de vie	Fermivin	Premier cuvee	
EC	3	14	13	12	10	11	9	8	2	5	7	6	1	15	4	30%
요소	5	2	1	7	12	11	3	10	14	13	4	15	8	9	6	20%
알코올	12	13	4	11	7	5	6	3	8	9	2	10	15	1	14	20%
초류분리	1	2	8	13	6	12	4	10	11	5	7	14	3	15	9	20%
MeOH	1	6	7	12	11	5	4	3	2	10	9	8	13	14	15	5%
Acetaldehyde	1	2	9	12	10	11	8	7	13	3	4	6	5	15	14	5%
가중치합	4.60	8.00	7.30	11.00	9.05	9.70	5.80	7.50	7.95	7.55	5.35	10.30	6.40	10.95	8.45	100%
rank	1	9	5	15	11	12	3	6	8	7	2	13	4	14	10	

나. MLF(Malolactic fermentation)를 이용한 유해물질 저감화 발효기술 개발

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸카바메이트(EC, ethyl carbamate))는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성된다.

젖산발효(MLF, Malolactic fermentation)란 젖산균에 의해 사과산이 젖산과 탄산가스로 변하는 현상을 말하는데 주로 알코올 발효 이후에 이루어지지만 알코올발효와 동시에 이루어지기도 한다. 산을 나타내는 -COOH 기가 2개에서 1개가 되는 반응이기 때문에 산도가 낮아지고, 와인의 경우 맛이 부드러워지며 바디감이 상승하지만 젖산균에 의한 젖산 발효 시 아르기닌이 분해되면 EC 전구체인 시트룰린이 생성되기 때문에 EC의 저감화를 위해서는 MLF를 억제할 필요가 있다. 이를 위해 젖산발효 산물인 젖산을 과량 첨가하여 젖산균이 젖산을 생산할 필요성을 제거한 실험군과 젖산 첨가로 인하여 변경된 pH를 구연산을 첨가하여 동일 pH로 맞추어 산도변화에 의한 효과인지 젖산 첨가로 인한 효과인지를 확인하기 위한 실험을 설계하였다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 캠벨얼리를 구입하여 제경하고 2회 세척 후 체에서 40분간 물기를 제거하였다. 이렇게 준비한 포도를 으깨어 산도와 가용성 고형분을 측정하고 3개의 스텐리스통에 나누어 담았다. 각각의 통에 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm을 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 적정 알코올 농도를 맞추기 위해 부족한 당함량은 설탕을 첨가하여 당도를 24°Brix로 조절하였다. 이와 같이 준비된 시료에 한 통은 무첨가(pH 3.8)로 나머지 두 통은 pH3.2가 되도록 젖산과 구연산을 각각 첨가한 후 1시간 동안 활성화 시킨 *S. cerevisiae Lavin 71B*를 포도량의 0.2%로 첨가하여 20℃ 항온실에서 9일간 발효시켰다.

-분석방법

가용성 고형분, 알코올, pH 및 총산도

가용성 고형분은 상온에서 굴절당도계(ATAGO RX-5000a, Japan)를 사용하여 측정하였고 알코올 함량은 상층액 80mL에 증류수 20mL을 첨가하고 증류하여 80mL의 증류액을 얻은 다음 이 증류액을 주정 비중계로 측정한 값을 Gay Lussac표를 이용하여 15℃로 보정하여 환산하였다. pH는 pH meter(Metrohm, 781 pH/Ion meter)로 측정하였고, 총산도는 시료를 채취하여 0.1N NaOH로 적정하여 아래 식에 의해 주석산으로 산출하였다. A는 적정에 소요된 0.1NaOH의 량(mL), B는 0.1N NaOH factor, C는 주석산계수(0.0075), D는 희석배수, E는 시료채취량(mL)

$$\text{Acidity(tartaric acid, \%)} = A \times B \times C \times D / E \times 100$$

메탄올, 아세트알데히드 분석

포도주의 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는

200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

요소, 에틸 카바메이트 분석

포도주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

Higher alcohol 및 ester 등 휘발성 성분 분석

포도주의 고급알코올과 에테르 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과 후 1ml의 여과액을 10ml vial에 넣고 포집은 headspace-SPME(HS100, Alphamos) 방법(Giulia et al., 2006; Kim et al., 2000)에 따라 agitator의 온도는 70℃로 유지하고 20분 동안 포집한 후 20분 동안 fiber(100µm PDMS)에 흡착시키고 1분 동안 탈착시켰다. 향기성분과 함량분석을 위한 GC/MS 분석조건은 표 1-45와 같으며 가스크로마토그램의 retention time 3.6부터 36.8까지 분석하였다.

HS100 system은 Cycle composer software 프로그램으로 운용하였으며 GC chromatogram & MS spectrum 분석은 Xcalibur software system으로 운용하였다. 휘발성분 MS data는 NIST(National Institute of Standards and Technology)와 Wiley library를 적용하여 search 하였고 휘발성분 함량은 GC peak area 값과 peak area %로 표기하였다.

표 1-45. GC/MS condition for separation of fragrance components.

Oven temp.	40℃(for 2min) → 200℃(5℃/min) → 200℃(for 10min)
Injector temp.	250℃
Transfer line temp.	230℃
Splitless	
Carrier gas	He, flow-rate: 1 mL/min
Column	Stabilwax-DA(thermo)
Electron impact ionization voltage	70 eV
Scan range	40~400 m/z
Ion source temp.	200℃

<결과 및 고찰>

-발효 특성

발효 중 알코올 함량변화(그림 1-72.)를 보면, 무첨가군은 lag phase 없이 바로 발효가 시작되지만 유기산을 첨가군은 발효 1일까지는 알코올 함량변화가 없었다. 이는 유기산 첨가로 인한 낮은 pH에 기인하는 것으로 보인다. 각 처리구의 최종 알코올 함량은 무첨가 12.5%, 젖산첨가 13.1%, 구연산 첨가 12.9%로 무첨가군의 알코올 함량이 상대적으로 낮았다. 가용성 고형분 함량은 알코올 함량과 반비례 관계로 감소하였는데 발효 9일 후의 최종 함량은 무처리

7.0°Brix, 젖산첨가와 구연산첨가군은 7.7°Brix로 동일하였다. 유기산을 첨가하여 pH를 3.2로 맞추어 발효한 실험군과 무첨가의 pH와 산도의 변화 패턴은 유사하였다.

-유기산의 함량

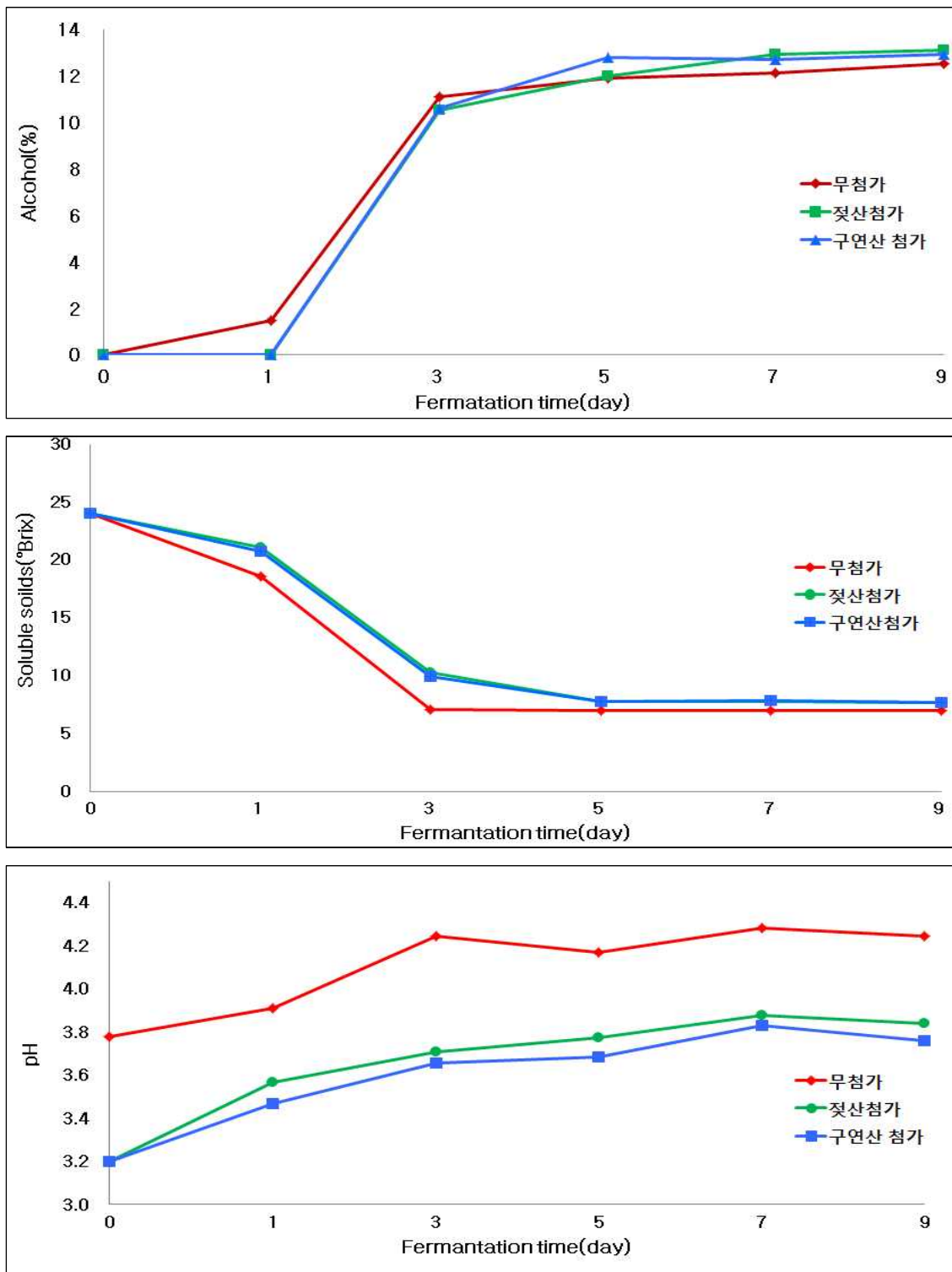
Amenie 등은 유기산의 종류에 따른 과실 및 과실주의 산미에 미치는 영향에 관한 연구에서 총산 함량이 동일하였을 때 사과산, 주석산, 구연산, 젖산의 순으로 산미가 강하다고 하였다. 포도주의 발효 중의 유기산의 함량은 (그림 2-2. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에 따른 유기산의 변화)와 같다.

본 실험에서 유기산의 변화 중 Acetic acid의 함량이 무첨가군 곡선에서 지속적으로 상승되는 것으로 보여 총산을 분석하고, 현미경으로 검경하였으나 산패균은 검경되지 않았다.

pH를 낮추기 위하여 구연산을 첨가한 실험군은 높은 구연산함량으로 시작하여 3일차까지 감소를 보이다가 종료시점까지 함량을 유지하는 경향이었으며, 그 외 두 처리군은 함량변화를 보이지 않았다. 향을 좋게 해주는 호박산은 효모의 알코올 발효 과정에서 생성되는데 젖산 첨가군은 발효초기 2,393ppm의 높은 수치를 보이다 약간의 감소를 보이지만, 무첨가군과 구연산 첨가군은 서서히 증가하여 최종 발효 시점에서는 젖산 첨가군과 유사한 수치를 보였다.

사과산은 포도주의 맛과 품질을 결정하는 주요한 요소로 발효과정에서 사과산이 젖산으로 변하여 MLF(malolactic fermentation)에 의해 포도주가 버터향을 갖으며 부드러워지기도 한다. 본 실험에서 젖산 첨가군과 구연산 첨가군은 사과산 함량이 지속적으로 감소하고 무첨가군은 발효 3일까지 빠른 속도로 감소하다가 5일까지 급격히 상승하고 다시 7일까지 급격히 감소하는 드라마틱한 패턴을 보였다. 발효 경과일동안 사과산의 분석에서 무첨가군이 5일차 급상승하였다가 7일차 급감하는 것으로 보아 젖산균에 의한 MLF 반응으로 사료되어 젖산의 변화에 주목하였다. 젖산의 분석 결과 내 무첨가군의 증감은 소폭 발생하였으며 5일차에 소폭 증가하였다가 감소하는 추세로 사과산의 변화와 관계없이 진행된 것으로 사료된다. 유기산의 조성으로보아 MLF 반응은 세 개의 실험군에서 관찰되지 않았으나 보산을 한 실험군의 경우 안정적으로 발효가 되었으며 낮은 알코올 도수에서는 그 안정성이 더욱 필요하기 때문에 차후 보당을 하지 않는 고가의 포도증류주를 개발 할 시에는 보산을 고려해보는 것도 좋을 것으로 보인다.

그림 1-72. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에 따른 발효 경과(알코올, 당도, pH, 총산)



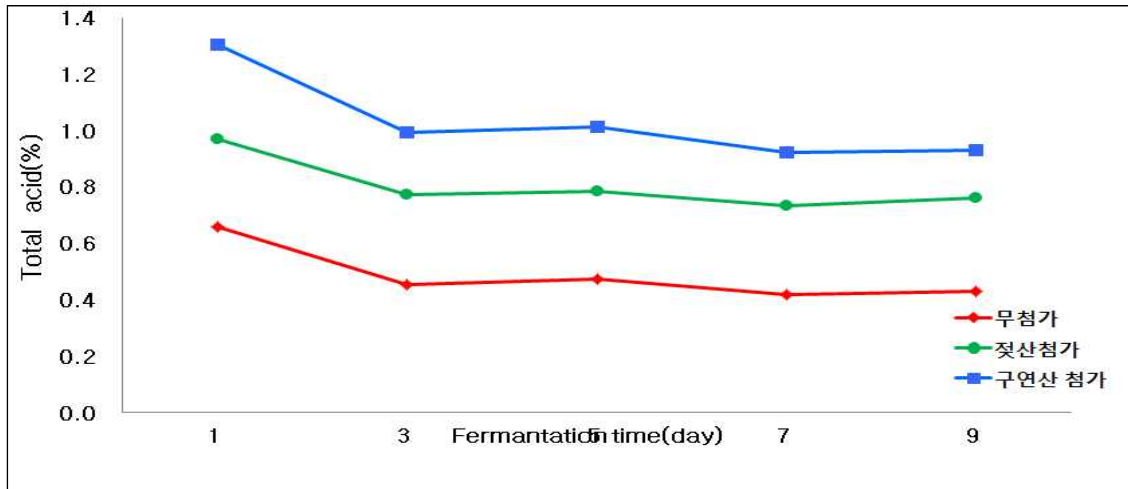
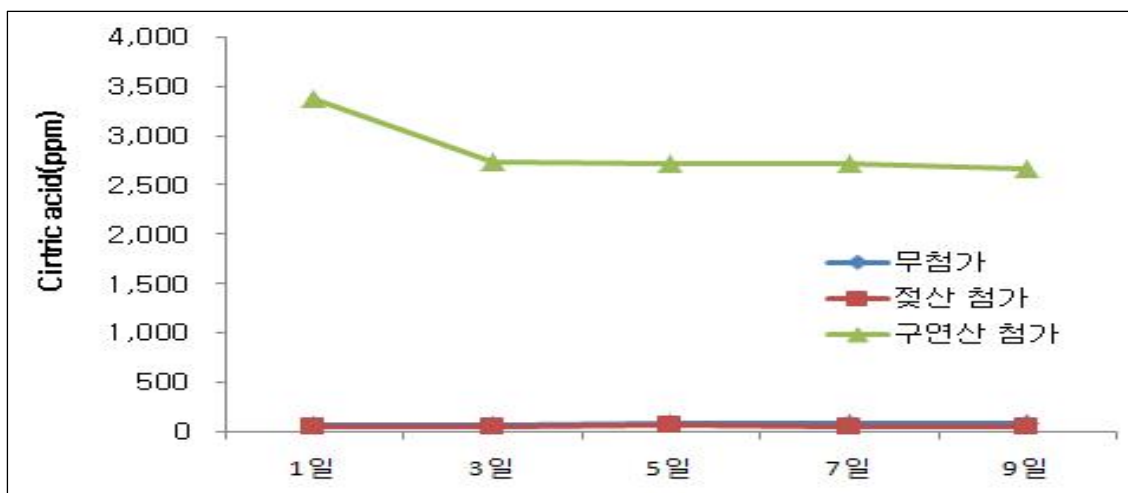
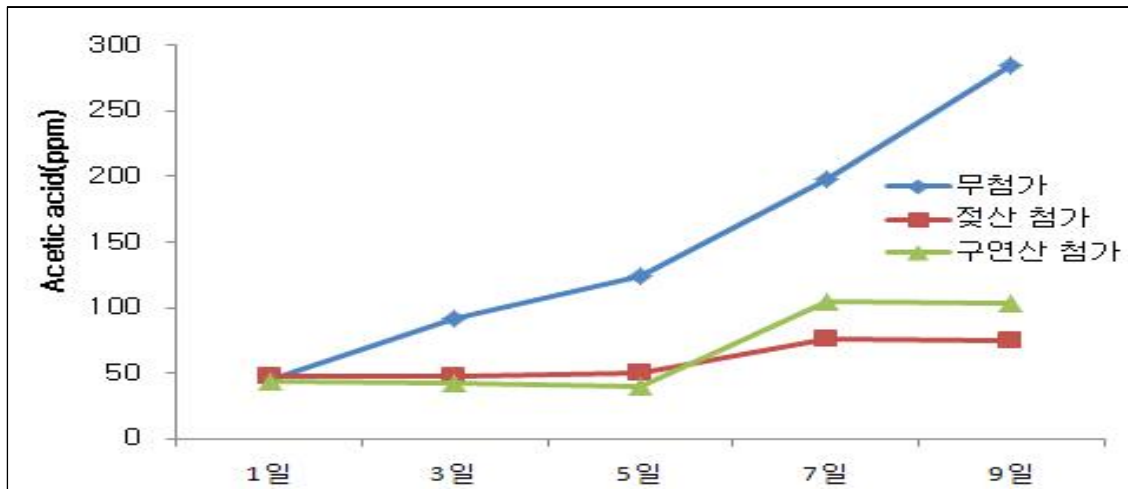
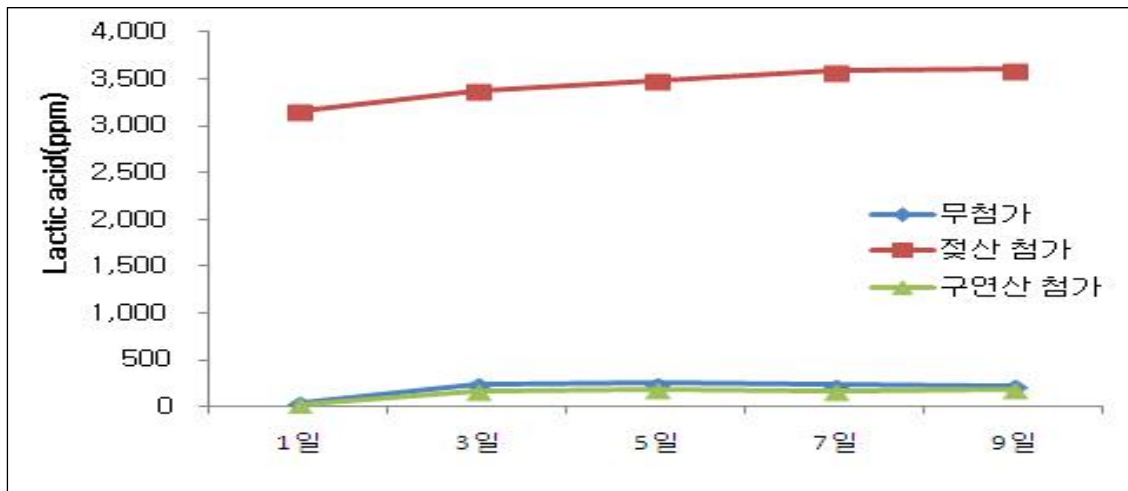
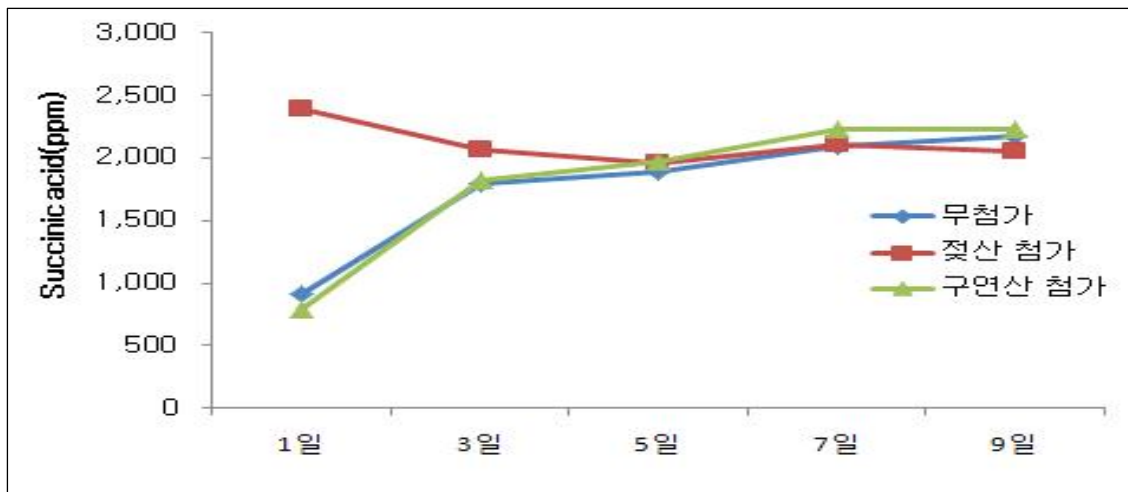
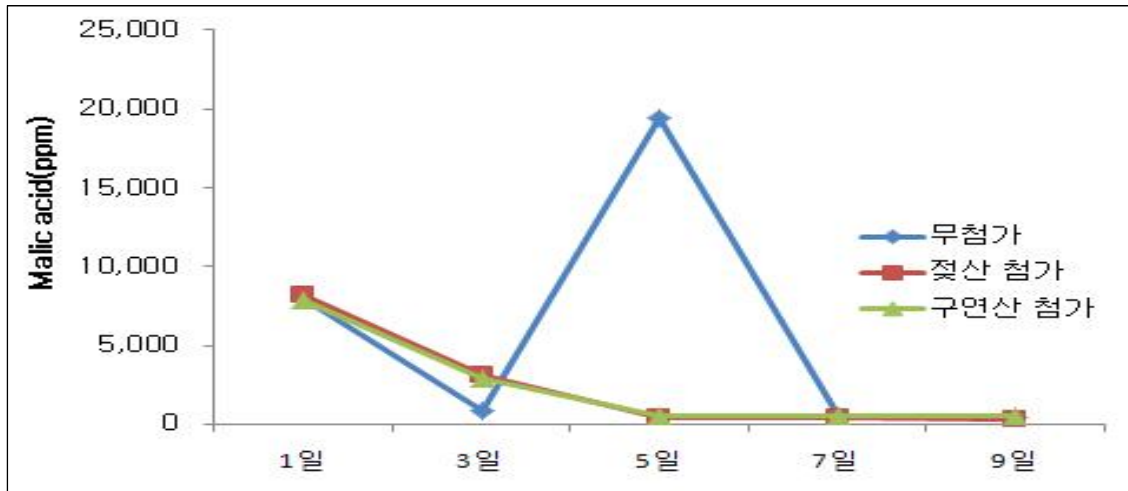


그림 1-73. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에 따른 유기산의 변화





-발효 술덧의 EC 함량

젖산발효 시 아르기닌이 분해되면 EC 전구체인 시트룰린이 생성되기 때문에 Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향조절된 에틸 카바메이트(EC)는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 포도주의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소와 젖산균에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 시트룰린이 주요 전구체라 하겠다. 발효를 위해서는 효모는 필수적이므로 젖산균에 의한 젖산발효를 억제하여 EC를 저감할 필요가 있다.

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

-메탄올, 아세트알데히드 함량

아세트알데히드는 숙취의 원인물질로 알코올 발효의 중간체이다. 피루브산을 탈탄산시키면 생성되는 아세트알데히드는 알코올탈수소효소에 의해 환원되어 에탄올이 되기도 하고, 산화효소의 작용으로 산화되어 아세트산이 되기도 한다. 간 독성, 발암성 등이 있어 건강에 나쁜 영향을 미치는 물질로 식품공전에서 아세트알데히드 함량의 허용기준을 정하여 관리하고 있는 항목으로 식품공전 기준치는 700ppm이다.

1일차의 아세트알데히드 함량은 무처리군이 25.8ppm으로 젖산첨가군 38.7ppm과 구연산 첨가군 42.2ppm에 비해 현저히 낮았는데 이는 유기산 첨가구가 알코올 발효가 늦게 시작되었기 때문에 알코올 발효 중간체인 아세트알데히드 함량이 높았던 것으로 보이며 발효가 완료됨에 따라 감소하는 경향을 보였다. 발효 9일 후의 아세트알데히드 함량은 무처리군 0.7ppm, 젖산 첨가군 1.8ppm, 구연산 첨가군 2.2ppm으로 식품공전 기준치인 700ppm에 비해 현저히 낮은 수치를 보였다.

메탄올은 과일 중 pectin methylesterase가 pectin을 가수분해하여 생성되기 때문에 과실주의 정상 성분이기도 하지만 과량을 섭취하는 경우 시신경을 마비시키거나 심하면 생명에 치명적으로 작용할 수 있어 식품공전에서는 과실주와 브랜드의 허용기준치를 1,000ppm으로 하고 있다. 발효 중 메탄올의 함량은 오르락 내리락을 반복하여 9일 후의 젖산 첨가군 2.1ppm, 구연산 첨가군 1.7ppm으로 식품공전 기준치인 1,000ppm에 비해 현저히 낮은 수치를 보였지만 무처리군(0.6ppm)에 비해 높아졌다.

아세트알데히드의 경우 비점이 낮아 휘발성이 강하므로 발효경과일 동안 전체적으로 감소하는 형태를 나타내며 5~9일차의 증감은 적은 양의 아세트알데히드가 발효 술덧에 있어 표준편차에 기인한 것으로 사료된다. 메탄올의 경우 일정한 패턴이 없이 증감을 반복하나 이 또한 발효 술덧에 있는 미량의 성분 검출에서 표준편차에 기인한 것으로 사료된다.

표 1-46. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에서 저비점 유해물질의 검출결과

	Acetaldehyde (ppm)					Methanol (ppm)				
	1일	3일	5일	7일	9일	1일	3일	5일	7일	9일
무처리	25.8	2.6	1.5	2.8	0.7	1.0	2.2	0.6	2.6	0.6
젓산 첨가	38.7	4.0	1.3	1.6	1.8	1.1	2.6	0.2	1.9	2.1
구연산 첨가	42.2	3.7	1.1	1.8	2.2	1.3	1.7	0.3	1.4	1.7

-고급 알코올 함량

Fusel oil류는 알코올 발효 시 생성되는 고급 알코올류를 주성분으로 하는 혼합물로 그 성분은 원료, 효모 및 알코올 제법에 따라 달라지며 이를 구성하는 주요 고급 알코올로는 이소부틸알코올, 이소아밀알코올 및 프로필알코올 등이다. 이들 각각의 성분은 매우 독특한 냄새와 휘발성으로 인하여 포도주의 향이나 body에 결정적인 영향을 미친다. MLF억제를 위한 첨가물 처리에 따른 고급 알코올 함량은 표 1-47. 과 같다.

젓산과 구연산 첨가군에서는 무처리군에서 detect 되기 않았던 propyl alcohol이 증가하였지만 isoamyl alcohol과 phenyl ethanol은 감소하여 종합적으로는 고급 알코올 함량이 감소하였다.

표 1-47. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에서 고급 알코올류의 분석 결과

	Content(area%)			
	Propyl alcohol	Isoamyl alcohol	Phenyl ethanol	Total
무처리	ND	3.54	1.56	5.10
젓산 첨가	0.19	2.77	0.82	3.78
구연산 첨가	0.22	3.42	0.98	4.62

-에스테르 함량

증류주에서 중요한 향미 물질인 에스테르는 효모에 의하여 생성된 에스테르와 발효주의 효모가 생성한 각종 알코올들 그리고 유기산이 1차 증류 중 에스테르화 반응에 의하여 생성된 에스테르가 있다. 그러나 2차 증류 중에는 대부분의 유기산이 1차 증류 시 증류 폐액으로 제거되므로 에스테르화 반응이 거의 일어나지 않는다. 유기산 첨가로 인한 에스테르의 변화를 알기 위한 분석한 결과는 표 1-48. 과 같다. 9일 발효 후 발효액을 향기분석기로 분석한 결과 무첨가군에서는 detect 되지 않던 파인애플향이 나는 ethyl butanoate, 브랜디향이 나는 ethyl nonanoate 그리고 벌꿀향이 나는 2-phenylethyl acetate이 detect 되었다. 전체 휘발성 성분 중 차지하는 비중은 과일향이 나는 ethyl octanoate, ethyl decanoate과 비누향이 나는 ethyl dodecanoate가 구연산 첨가>젓산첨가>무첨가 순으로 높았으며, 파인애플향이 나는 ethyl myristate와 부드러운 향을 내는 ethyl palmitate의 경우에는 젓산 첨가>구연산 첨가>무첨가 순으로 높았다. 또한 고소한 향이 나는 3-methyl butyl butanoate와 ethyl octadecanoate은 무첨가>구연산 첨가>젓산 첨가 순으로 높았는데 전체적으로는 유기산을 첨가한 실험군에서는 무첨가군에 비하여 다양한 에스테르가 분석되었다.

표 1-48. MLF 억제를 위한 첨가물 처리에서 에스테르 함량 결과

	Content(area%)									
	Ethyl butanoate	Ethyl octanoate	Ethyl nonanoate	Ethyl decanoate	2- phenylethyl acetate	Ethyl dodecanoate	3-methyl butyl butanoate	Ethyl myristate	Ethyl palmitate	Ethyl octado- decanoate
무처리	ND	0.84	ND	0.85	ND	0.24	0.80	0.50	3.14	0.74
결산 첨가	0.12	1.15	0.04	2.42	0.36	0.54	0.13	0.77	3.43	ND
구연산 첨가	0.20	2.26	0.20	4.22	0.31	0.66	0.31	0.43	3.20	0.60

다. 안전한 과실 증류주 생산에 적합한 국내 생산 포도품종 선발

(1) 1차 품종선발

2010년 통계청 ‘노지 포도 재배농가의 주된 재배 품종 현황’ 자료에 따르면 캠벨얼리는 71.2%, 거봉 13.9%, MBA 10.2%로 3종이 전체 포도의 95%를 차지하고 있다. 이들 품종과 통계청 자료에는 없지만 재배되고 있는 품종을 구입하여 고품질 안전한 과실 증류주 제조에 적합한 포도를 선발코자한다.

<결과 및 고찰>

농촌진흥청 ‘포도 유전자원 특성집’(표 1-50.)과 2005부터 2007년까지 경기도농업기술원 포장에서 재배하여 분석한 결과(표 1-49.)를 활용하여 유해물질 저감을 위한 포도 품종선발을 하였다. 적포도 품종 선발은 주요 재배 품종인 캠벨얼리, 거봉, MBA를 기본으로 하고 그 외 재배되고 있는 포도 중 당도는 19°Brix로 동일하지만 산도차가 있는 품종과 당도차는 있지만 산도는 0.5%로 동일한 품종을 선발하였고, 청포도 품종 선발은 재배되고 있는 품종이 적기 때문에 구입할 수 있는 품종을 모두 선발(표 1-51.)하였다.

표 1-49. 경기도농업기술원 품종별 포도특성('05 ~ '07)

구분	품종	숙기 (월/일)	과방중 (g/과)	과립수 (립/과)	과립중 (g/립)	당도 (°Brix)	산함량 (%)	안토 시아닌 (µg/cm ²)	수당 (kg/주)	품질 (1~5)	탈립성 (1~5)	열과율 (%)	과피 함량 (%)	증자 유무	수세
백 화 색	포틀랜드	8.14	120.3	34.9	3.5	16.3	0.31	-	6.8	2.2	2.0	9.0	○	○	중
	세네카	8.19	178.2	67.6	2.8	17.0	0.63	-	11.8	3.5	1.0	10.0	○	○	중
	철수	8.25	153.7	76.6	2.1	16.4	0.73	-	7.0	2.5	4.0	0.2	○	×	강
	경조청	8.27	242.0	89.3	3.0	17.1	0.48	-	10.1	4.5	1.0	2.7	×	×	강
	나이아가라	8.31	236.7	63.9	4.0	15.1	0.37	-	17.0	2.0	1.5	0.4	○	○	중
	통슨시들리스	9.3	262.2	168.5	1.6	17.7	0.54	-	6.7	3.7	1.5	0.0	×	×	강
	로자리오비앙코	9.25	332.8	57.4	6.8	17.9	0.58	-	14.1	4.2	1.0	0.8	×	○	강
	골든머스캣	9.27	256.9	57.7	5.8	17.1	0.37	-	6.6	2.5	1.3	0.5	○	○	중
	바라디	10.2	302.7	40.8	8.3	16.8	0.40	-	2.5	3.0	1.0	0.4	×	○	강
	로자키	10.8	361.0	64.4	6.0	17.4	0.45	-	7.1	4.0	1.0	0.1	×	○	중
네오마스캣	10.8	182.0	49.8	4.6	17.8	0.49	-	4.1	3.0	1.0	0.2	○	○	강	
이탈리아	10.12	332.5	49.4	8.5	17.7	0.47	-	8.7	4.0	0.5	0.2	×	○	강	
자 홍 색	노스블랙	8.22	191.4	66.6	3.1	18.0	0.62	163.0	5.4	3.5	1.0	6.6	○	○	중
	프레도니아	9.4	289.0	59.9	4.6	15.7	0.42	110.0	9.3	3.7	1.0	0.1	○	○	중
	흑구슬	9.25	257.0	26.7	10.8	19.2	0.5	53.8	5.0	3.7	1.5	11.0	○	○	중
	고 목	10.1	330.0	31.0	12.3	18.0	0.43	30.8	6.6	3.7	1.8	1.5	○	○	중
	마리오	10.1	197.3	290	7.7	16.0	0.60	135.0	2.4	2.0	2.0	4.9	×	○	강
	이츠카거봉	10.2	336.0	29.2	11.8	17.6	0.49	39.2	6.1	3.5	1.3	0.6	○	○	중
	하촌거봉	10.2	183.6	16.8	11.4	19.1	0.41	1.7	3.5	2.0	2.3	20.8	×	○	강
	블랙삼척	10.2	330.9	74.1	6.1	16.0	0.51	49.8	6.6	2.7	1.0	0.3	×	○	중
	이두금	10.3	243.4	26.0	11.9	17.8	0.47	45.9	3.6	3.2	1.5	11.7	○	○	중
부원	10.4	268.9	28.9	10.6	16.8	0.44	25.8	4.5	3.0	1.3	0.2	○	○	강	

구분	품 종	숙 기 (월/일)	과방중 (g/과)	과립중 (g/과)	과립중 (g/립)	당 도 (°Bx)	산함량 (%)	안토 시아닌 (µg/cm)	수 량 (t/주)	품질 (1~5)	탈립성 (1~5)	열과중 (%)	과피 유리 유무	종자 유무	수 세
적색	플레이씨들리스	8.24	263.5	135.3	2.4	18.8	0.49	20.2	10.2	4.2	1.0	0.7	X	X	중
	하니레드	9.3	197.4	19.5	11.4	21.0	0.42	6.7	3.1	2.7	2.5	7.1	○	○	강
	출운퀸	9.6	357.2	77.5	5.6	18.3	0.53	17.4	4.9	2.7	3.5	0.6	○	○	중
	네오마트	9.9	384.7	66.9	7.5	15.8	0.30	114.0	7.5	2.2	1.0	12.4	X	○	강
	머스캣함부르크	9.12	182.7	46.9	5.7	17.0	0.60	24.6	8.9	3.0	4.3	1.8	X	○	중
	천수	9.18	196.3	28.0	7.6	16.4	0.50	-	6.0	2.2	1.5	50.9	○	○	중
	홍이두	9.18	313.9	28.9	12.2	18.2	0.40	12.3	10.3	3.2	1.5	20.4	○	○	강
	홍산언	9.21	203.1	26.2	8.5	17.6	0.40	15.1	2.3	3.5	1.5	0.5	○	○	중
	용 보	9.23	267.7	30.5	9.6	17.6	0.40	14.6	8.9	3.2	2.0	2.9	○	○	중
	루비씨들리스	9.26	356.5	111.0	3.5	17.4	0.40	44.8	10.2	4.0	1.5	0.1	X	X	강
	루비오쿠야마	9.26	340.8	58.7	7.6	17.0	0.48	20.2	10.4	4.0	1.0	0.0	X	○	강
	홍이슬	9.27	151.0	31.6	5.2	17.4	0.20	-	-	3.0	4.0	0.0	○	○	중
	아키퀸	10.1	260.8	28.2	12.5	18.1	0.44	9.5	4.1	3.5	1.5	1.4	○	○	중
	자스민	10.1	341.3	39.9	10.3	18.7	0.44	4.5	3.8	2.7	2.0	9.8	○	○	중
	로도베리	10.3	217.4	71.5	9.8	18.8	0.40	2.8	2.8	2.0	2.0	11.4	X	○	강
	레드퀸	10.8	179.3	20.1	10.8	19.2	0.35	1.1	2.8	2.0	1.8	13.1	X	○	강
	크리스마스روز	10.13	381.2	76.0	6.3	18.6	0.60	42.0	8.6	3.5	1.0	0.5	X	○	강
	루벨머스캣	10.14	288.9	47.2	7.7	18.4	0.63	45.9	7.2	3.2	1.0	0.3	○	○	강
리자마트	10.16	336.1	63.6	8.8	14.7	0.50	15.7	5.0	2.2	2.5	3.2	X	○	강	
자발칸스키	10.17	244.7	38.2	8.9	17.2	0.94	1.1	1.6	2.7	1.0	1.0	X	○	강	
유니퀸	10.19	401.9	59.4	8.4	15.4	0.63	42.0	4.4	2.5	1.0	0.4	X	○	중	

표 1-50. 농촌진흥청 포도 유전자원 특성

과피색	품 종	숙 기	과방중 (g/과)	과립중 (g/립)	당 도 (°Bx)	산함량 (%)
흑	프레도니아	8월 하	300	6.0	17.0	0.5
흑	탐나라	8월 하	370	7.5	17.4	0.4
흑	캠벨얼리	9월 상	370	5.0	15.5	0.5
흑	루비씨드레스	9월 상	450	4.5	16.5	0.5
흑	고목	9월 중하	350	12.0	19.0	0.5
흑	흑구슬	9월 하	400	13.0	21.0	0.5
흑	거봉	9월 하	400	12.0	19.0	0.4
흑	스튜벤	9월 하	350	4.5	20.0	0.5
흑	알덴	9월 하	400	6.5	18.0	0.4
흑	네오마트	9월 하~10월 상	600	7.0	19.0	0.4
흑	MBA	10월 상	500	5.0	19.0	0.7
흑	세리단	10월 중하	300	5.0	19.0	0.5
적	홍이슬	9월 상	300	5.5	18.5	0.2
적	델라웨어	9월 상중	90	1.5	19.2	0.2
적	리자마트	9월 하	550	11.0	16.0	0.4
적	홍서보	9월 하	450	9.0	21.0	0.4
적	홍부사	9월 하	350	10.0	21.0	0.3
적	홍이두	9월 하	450	9.0	18.0	0.3
적	크리스마스روز	9월 하~10월 상	700	9.0	21.0	0.4
적	루비오쿠야마	10월 상	500	6.0	19.0	0.3
녹	세네카	8월 하	180	3.0	18.0	0.4
녹	청수	9월 상	350	3.4	17.5	0.7
녹	네오머스캣	9월 중	400	5.0	19.0	0.4
녹	시벨9110	9월 중	200	3.0	18.0	0.5
녹	나이아가라	9월 중하	280	4.0	17.0	0.3
황	골든머스캣	9월 중하	320	5.5	19.0	0.4

표 1-51. 1차 선발한 포도 품종

과피색	품종	숙기	과방중 (g/과)	과립중 (g/립)	당도 (°Bx)	산함량 (%)
흑	캠벨얼리	9월 상	370	5.0	15.5	0.5
	스튜벤	9월 하	350	4.5	20.0	0.5
	세리단	10월 중하	300	5.0	19.0	0.5
	거봉	9월 하	400	12.0	19.0	0.4
	MBA	10월 상	500	5.0	19.0	0.7
녹	힘로드	8월 중하	300	3.0	19.0	0.4
	세네카	8월 하	180	3.0	18.0	0.4
	경조정	8월 하	242	3.0	17.1	0.5
	로자리오비앙코	9월 하	333	6.8	17.9	0.6
	이탈리아	10월 중하	333	8.5	17.7	0.5

(2) 품종별 발효특성

1차 선발한 포도 10종(적포도 5종, 청포도 5종)을 이용하여 선정된 발효 조건을 적용시켜 발효경과를 확인하고 유해물질을 확인하여 <안전한 포도증류주 제조기술 개발>에서의 최적의 포도품종(적포도 1종, 청포도 1종)을 선정하고자 한다.

1차 선발 시 품종 선정의 기준으로 설정하였던 유전자원 특성 결과와 실제 품종 입고 시 분석결과는 다음 표 1-52에 나타내었다. 대부분의 구입 품종이 특성결과에 못 미치는 결과를 나타내었으나 적포도 중 캠벨얼리와 청포도 중 세네카의 경우 더 높은 당도가 분석되었고, 총산의 경우에는 동일하거나 다소 적은 결과를 보여주고 있다.

표 1-52. 1차 선발한 품종의 선발 기준 분석결과와 구입한 품종의 분석결과 비교

과피색	품종	1차선발 분석결과		구입품종 분석결과		편차	
		당도 (°Bx)	산함량 (%)	당도 (°Bx)	산함량 (%)	편차(°Bx)	편차(%)
흑	캠벨얼리	15.5	0.5	17.1	0.5	1.6	0.0
	스튜벤	20.0	0.5	18.3	0.4	-1.7	-0.1
	세리단	19.0	0.5	15.6	0.4	-3.4	-0.1
	거봉	19.0	0.4	18.9	0.4	-0.1	0.0
	MBA	19.0	0.7	19.0	0.4	0.0	-0.3
녹	힘로드	19.0	0.4	15.3	0.4	-3.7	0.0
	세네카	18.0	0.4	19.1	0.4	1.1	0.0
	경조정	17.1	0.5	16.1	0.3	-1.0	-0.2
	로자리오 비앙코	17.9	0.6	17.5	0.4	-0.4	-0.2
	이탈리아	17.7	0.5	14.1	0.4	-3.6	-0.1

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 포도 10종을 각각 2회 세척 후 체에서 40분간 물기를 제거하였다. 이렇게 준비한 포도를 으깨어 산도와 가용성 고형분을 측정하고 각각 발효조에 나누어 담았다. 각각의 발효조에 미생물 오염 방지를 위해 K₂S₂O₅ 100ppm을 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 적정 알코올 농도를 맞추기 위해 부족한 당 함량은 설탕을 첨가하여 당도를 24°Brix로 조절하였다. 이와 같이 준비된 시료에 1시간 동안 활성화 시킨 선정 효모 Lavin 71B를 포도량의 0.2%로 첨가하여 20℃ 스테인레스 수욕조에서 9일간 발효시켰다.

-분석방법

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

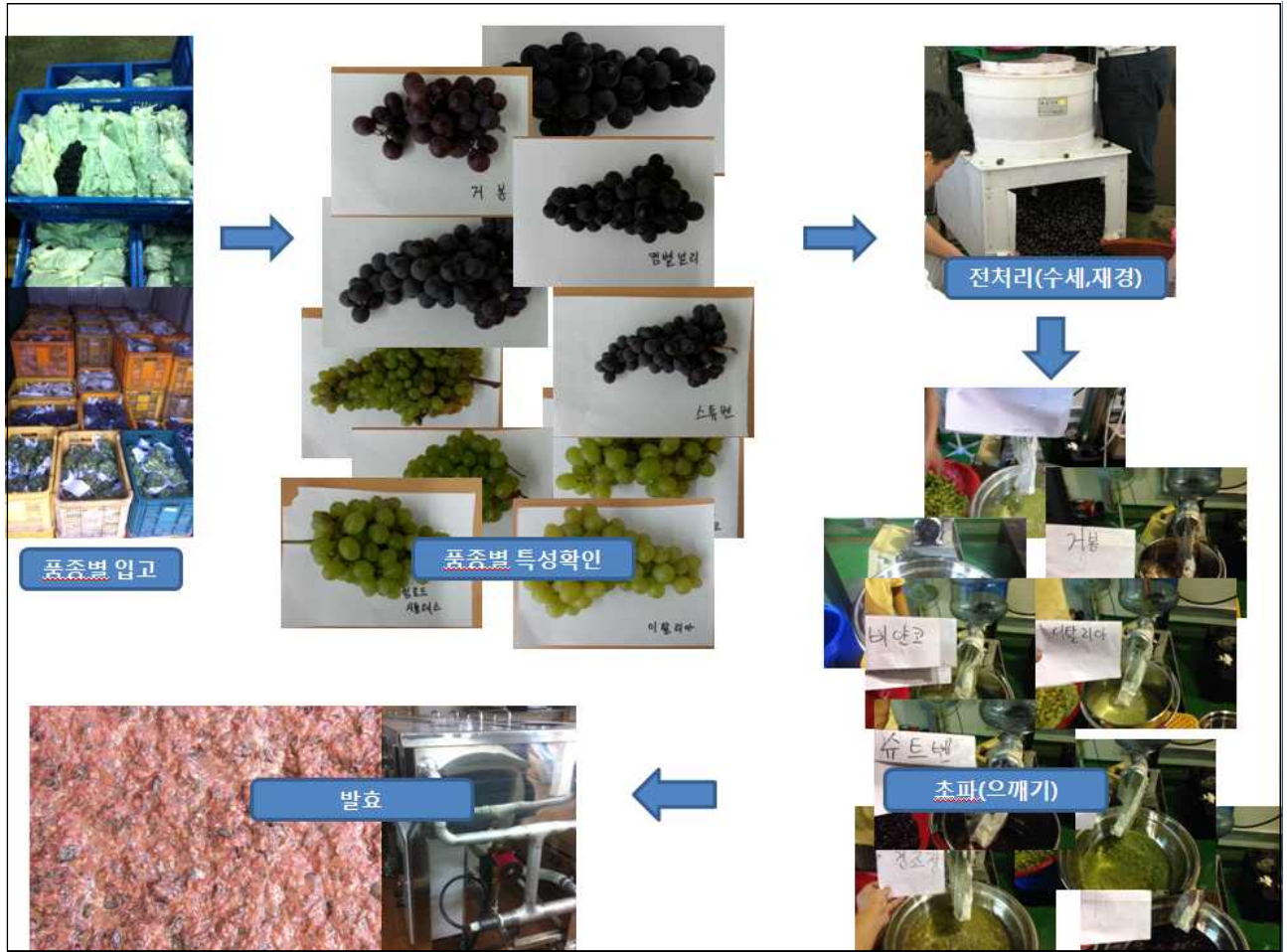
알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 이용해 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 일본)로 측정

표 1-53. 품종별 담금 방법

구분	포도 brix	포도용량 (kg)	효모 (g)	$K_2S_2O_5$ (g)	설탕첨가 (g)	
청포도	힘로드 시들레스	15.3	10	20	1	1,145
	이탈리아	14.1	10	20	1	1,303
	경조정	16.1	10	20	1	1,039
	로자리오 비앙코	17.5	10	20	1	855
	세네카	19.1	10	20	1	645
적포도	스튜벤	18.3	10	20	1	750
	캠벨얼리	17.1	10	20	1	908
	거봉	18.9	10	20	1	671
	MBA	19.0	10	20	1	658
	세리단	15.6	10	20	1	1,105

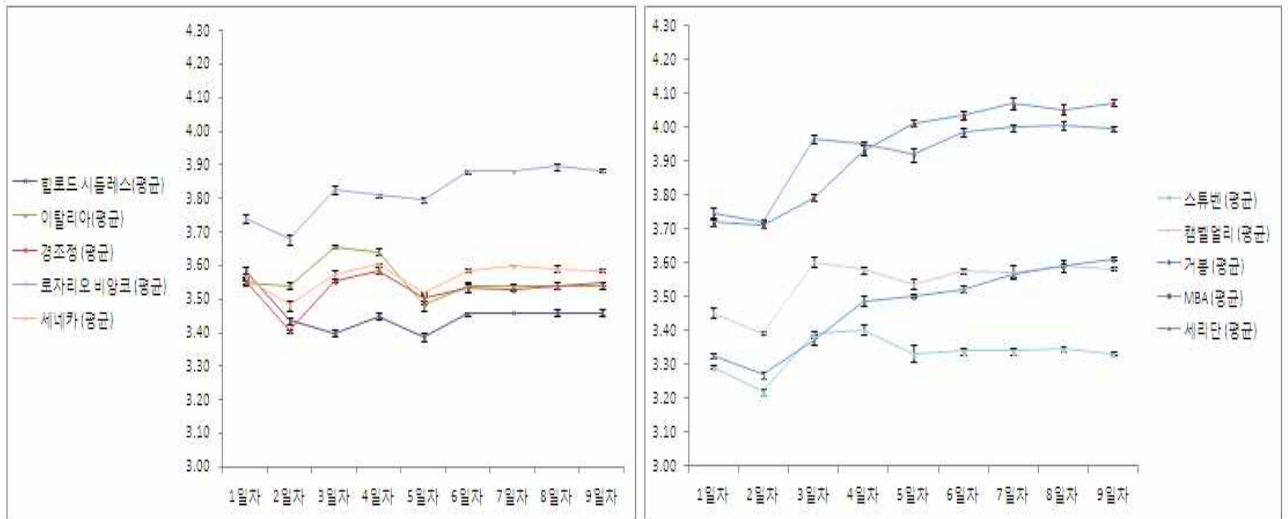
그림 1-74. 포도 품종선발을 위한 담금 공정



<결과 및 고찰>

pH의 경우 초기 발효 경과 시 소폭의 감소 이후 소폭의 증가가 지속적으로 이루어지는 곡선을 형성한다. 청포도군과 적포도군으로 나누어 볼 시(그림 1-75.) 청포도의 경우 로자리오비양코(pH 3.7~3.9)를 제외한 4개의 실험군은 pH 3.6이하로 유지가 되며, 적포도의 경우 거봉과 MBA가 pH 3.7~4.1 사이로 다른 세개의 실험군에 비해 높게 형성되는 것을 볼 수 있다. pH가 높은 실험군의 경우 유전자원특성 상 과방중과 과립중이 높은 실험군이며 적포도군 중 거봉과 MBA는 당도가 타 실험군에 비해 높은 것을 확인 할 수 있다.

그림 1-75. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(pH)



산도의 경우 청포도군과 적포도군이 명확히 나누어지게 되는데(그림 1-76. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(산도(적정산도))) 청포도의 경우 1~4일차에서 증가, 이후 발효기간동안 감소 및 평형을 이루게 된다. 적포도군에서는 청포도군과 유사한 산도를 나타내는 것이 스투벤으로써 나머지 적포도군은 일정한 패턴을 보이지는 않는다. 청포도군과 스투벤의 경우 과립중과 과방중이 적은 다른 실험군에 비해 적은 편에 속하는데 어떠한 영향을 주고 있는 것으로 사료된다. 전체적으로 초기 높은 산도에 의해 감소하는 형태로 진행이되며 초기 산도가 높은 적포도군의 세리단은 총산에서는 스투벤, 거봉, MBA와 동일한 수치를 기록하는데 반면 당도가 3~4°Brix 낮다. 높은 산도로 인하여 산패균의 오염을 의심하였지만 현미경 검경상에 산패균에 의한 오염은 검경되지 않았다. 세리단의 초기 산도가 높은 사유는 당과 산의 비율에 의한 것으로 예상된다.

품종별 9일차 가장 높은 산도를 기록한 실험군은 세리단(산도 9.83)이며 가장 낮은 산도를 기록한 실험군은 로자리오 비양코(산도 5.6)이다. 과피별 순위로는 청포도군 중 힘로드 시들레스>경조정>세네카>로자리오 비양코>이탈리아이며 1일차와 9일차의 증감의 순위로는 힘로드 시들레스>경조정>세네카>로자리오 비양코>이탈리아 순으로 9일차 산도의 순위와 동일하다. 증감은 산도 생성능력을 보여주는 지표가 되며 향기성분의 유출과 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다. 적포도의 9일차 산도 순위는 세리단>스튜벤>캠벨얼리>MBA>거봉 순이며, 증감의 순위는 스투벤>캠벨얼리>거봉>MBA>세리단 순으로 세리단의 경우를 제외하고는 순서가 동일하다. 세리단의 경우 당과 산의 비율이 적용된 것으로 사료되며 산패가 진행된 것은 아니다.

그림 1-76. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(산도(적정산도))

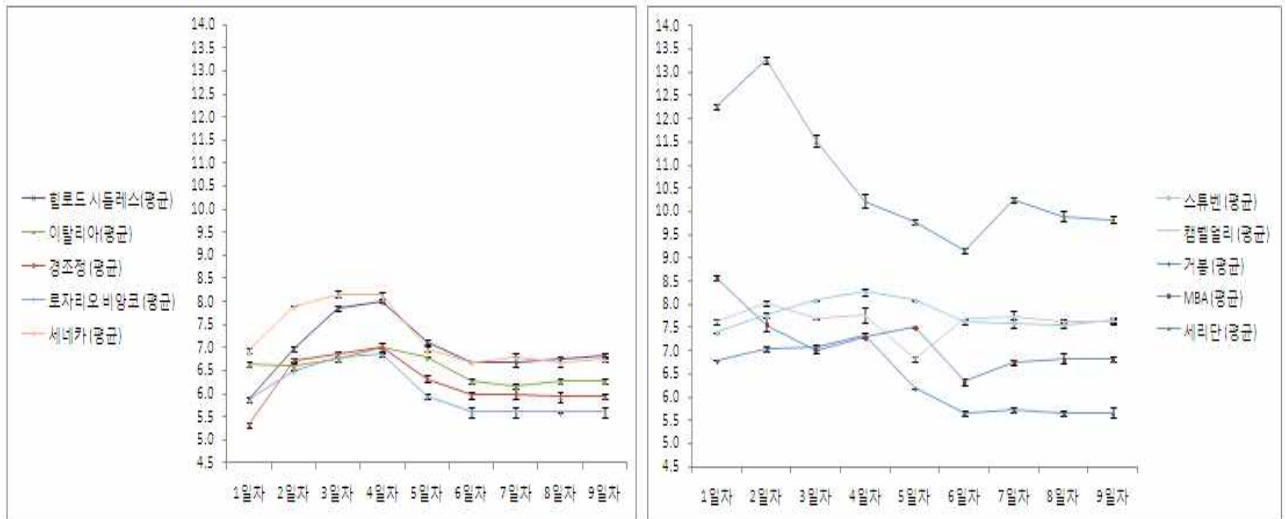


표 1-54. 포도 품종별 산도 생성 순위

	산도		9일차	
	1일차	9일차	Rank	과피별Rank
세리단	12.27	9.83	1	1
스튜벤	7.40	7.67	2	2
캠벨얼리	7.63	7.63	3	3
힐로드 시들레스	5.87	6.83	4	①
MBA	8.57	6.83	5	4
세네카	6.93	6.77	6	②
이탈리아	6.63	6.27	7	③
경조정	5.33	5.93	8	④
거봉	6.80	5.67	9	5
로자리오 비앙코	5.87	5.60	10	⑤

	산도		증감	증감	
	1일차	9일차		Rank	과피별Rank
힐로드 시들레스	5.87	6.83	0.97	1	①
경조정	5.33	5.93	0.60	2	②
스튜벤	7.40	7.67	0.27	3	1
캠벨얼리	7.63	7.63	0.00	4	2
세네카	6.93	6.77	-0.17	5	③
로자리오 비앙코	5.87	5.60	-0.27	6	④
이탈리아	6.63	6.27	-0.37	7	⑤
거봉	6.80	5.67	-1.13	8	3
MBA	8.57	6.83	-1.73	9	4
세리단	12.27	9.83	-2.43	10	5

알코올의 경우 초기 상승 속도가 빠르게 진행되다가 늦어지면서 감소하는 곡선을 형성한다. 청포도군 중 이탈리아의 경우 3일차까지 알코올 생성이 더디게 진행되다가 4일차부터 6일차까지 가파르게 증가 후 평형을 이루게 되며 최종알코올도수가 11도(v/v%)에 못미치게 된다. 적포도군 중 세리단은 초기 알코올 생성이 느리게 진행되다가 2일차에서 3일차 급 상승하게 되며, 3일차에서 4일차 사이에서 소폭의 상승 후 다시 상승하는 곡선을 형성하며 최종 알코올도수는 12.77도(v/v%)로 낮지 않게 형성되었다. 이탈리아의 2일차 표준편차가 1도(v/v%)가까이 나타나게 되었는데 이는 실험군 중 알코올 생성에 저해를 받은 원인이 작용했던 것으로 사료되며 예상되는 편차 상승요인으로는 메타중아황산칼륨에 의한 효모의 Damage로 사료된다.

9일차의 알코올 생성 순위는 청포도군 중 힐로드 시들레스>세네카>경조정>로자리오비앙코>이탈리아로 나타났으며 적포도군은 MBA>세리단>캠벨얼리>거봉>스튜벤 순으로 나타났다. 이들 순위는 자당의 첨가량이나 초기 당도와 특별한 상관관계 없이 나타났으며 침출 및 당 성분의 조성 혹은 과피 등의 영향에 의한 것으로 사료된다.

그림 1-77. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

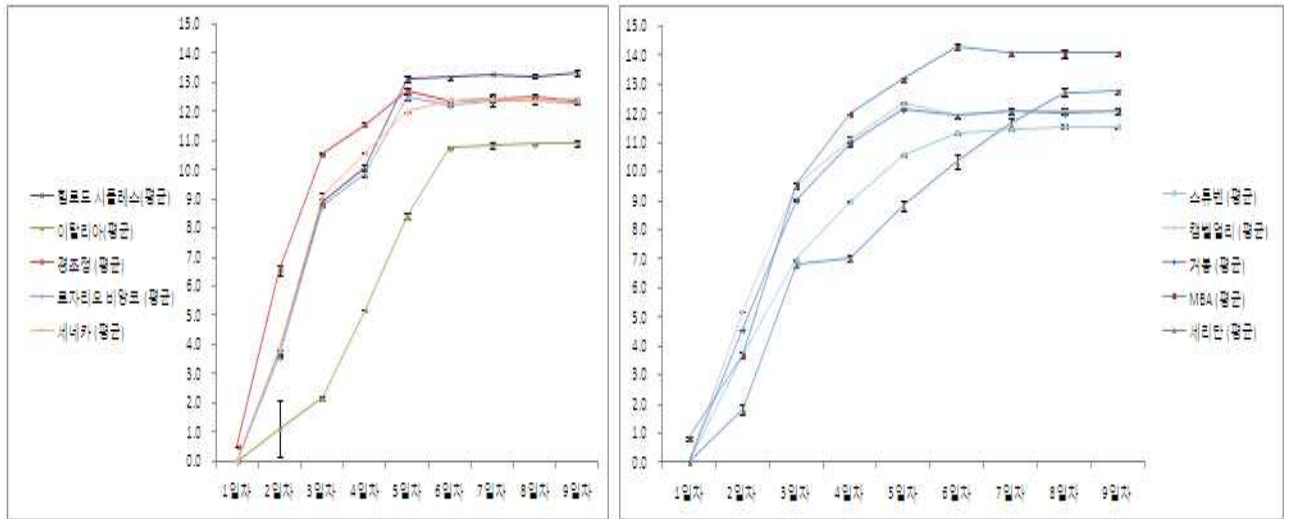
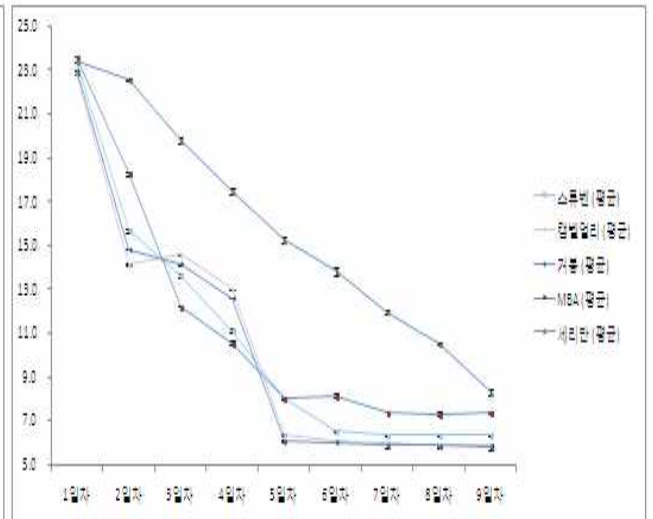
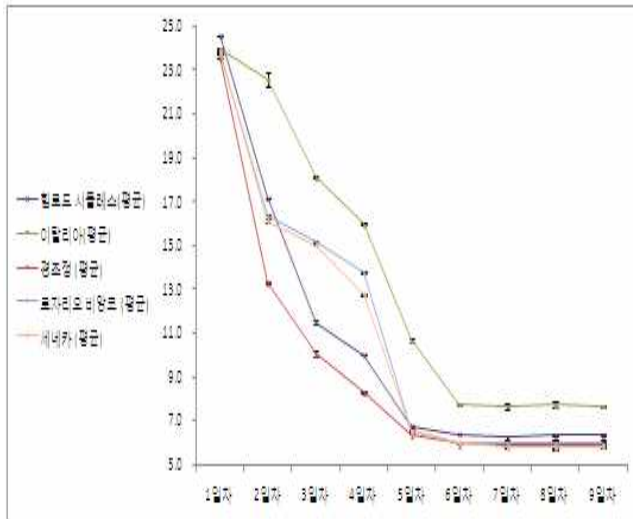


표 1-55. 포도 품종별 알코올 생성 순위

	알코올(w/v%)	9일차 Rank	과피별 Rank
	9일차		
MBA	14.07	1	1
힐로드 시들레스	13.33	2	①
세리단	12.77	3	2
세네카	12.43	4	②
경조정	12.40	5	③
로자리오 비앙코	12.33	6	④
캠벨얼리	12.10	7	3
거봉	12.10	8	4
스튜벤	11.53	9	5
이탈리아	10.93	10	⑤

당도의 경우 알코올 곡선과 반비례 형태를 보이고 있으며 청포도군에서는 이탈리아가 적포도군에서는 세리단이 감소의 폭이 가장 적었다. 상기 두개의 실험군을 제외하고는 대부분 유사한 형태로 진행되나 스튜벤이 당의 감소량에 비해 알코올 생성이 적은 것으로 나타났다.

그림 1-78. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(당도(단위: °Brix))



비중의 경우 전체적으로 감소하는 곡선을 형성하나 알코올생성에 의한 것으로 정확히 일치하지는 않는다. 청포도의 경우 경조정을 제외하고 나머지 실험군이 모두 2일째까지 감소하지 못하며 적포도의 경우 반대로 세리탄을 제외하고는 모두 1~2일째부터 감소한다. 경조정의 경우 과립이 작은 것에 기인할 수 있으며 힘로드 시들레스의 경우 과피가 얇아 비중의 감소가 빠르게 진행된 듯하다. 과피의 두께는 숙성과 관련이 있으며 이탈리아와 세리탄은 유전자원 상의 숙기보다 빠르게 수확이 진행된 점이 공통되게 나타난다.

그림 1-79. 청포도군(좌)과 적포도군(우)을 분리한 품종별 발효경과(비중)

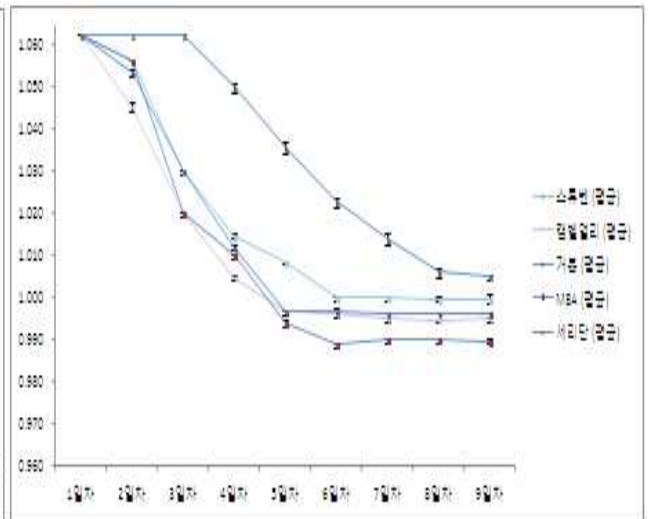
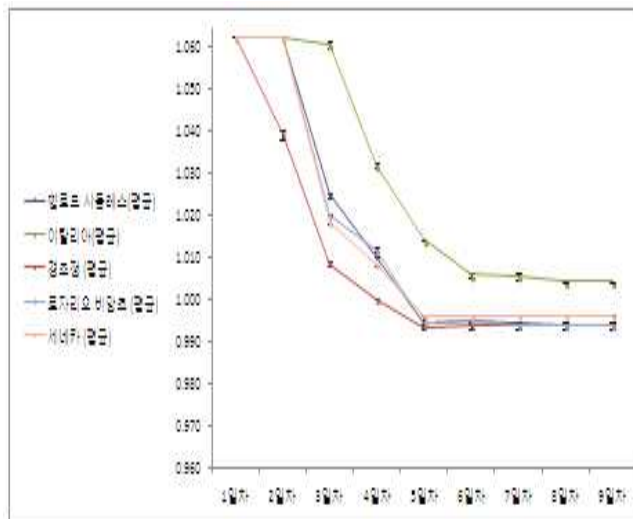


그림 1-80. 포도 품종별 발효경과(pH)

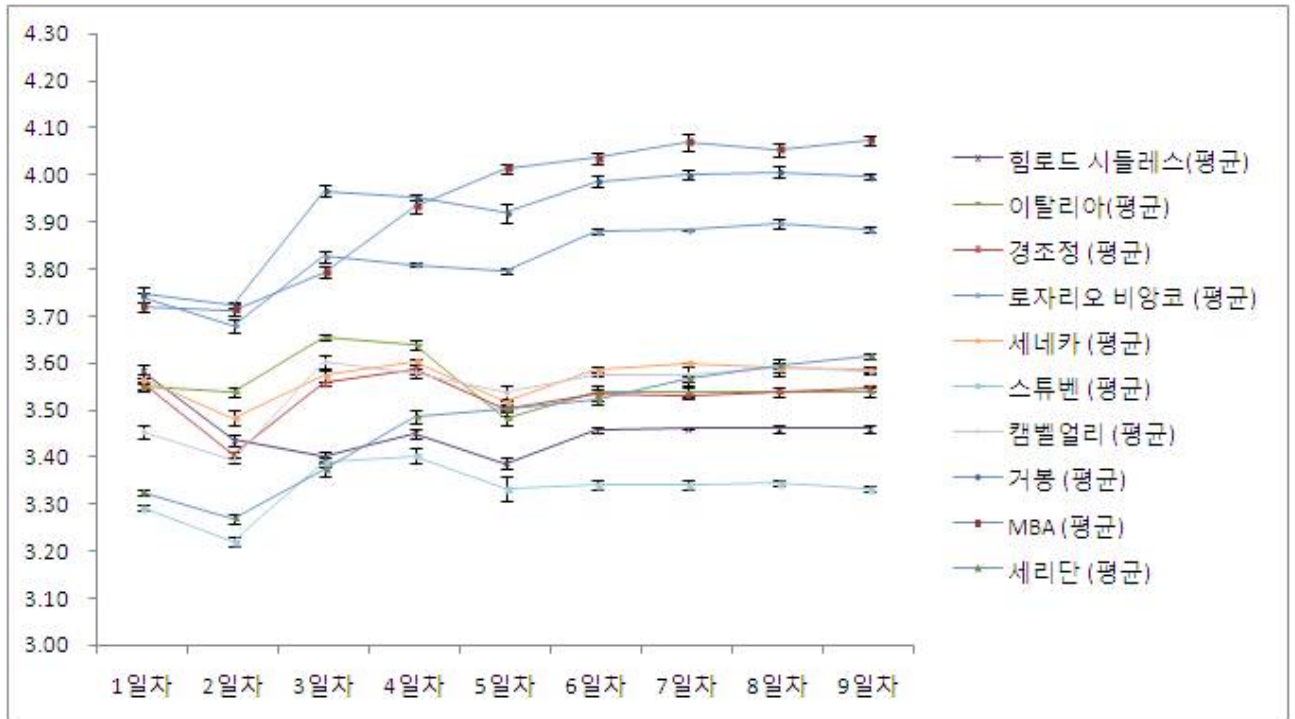


그림 1-81. 포도 품종별 발효경과(산도(적정산도))

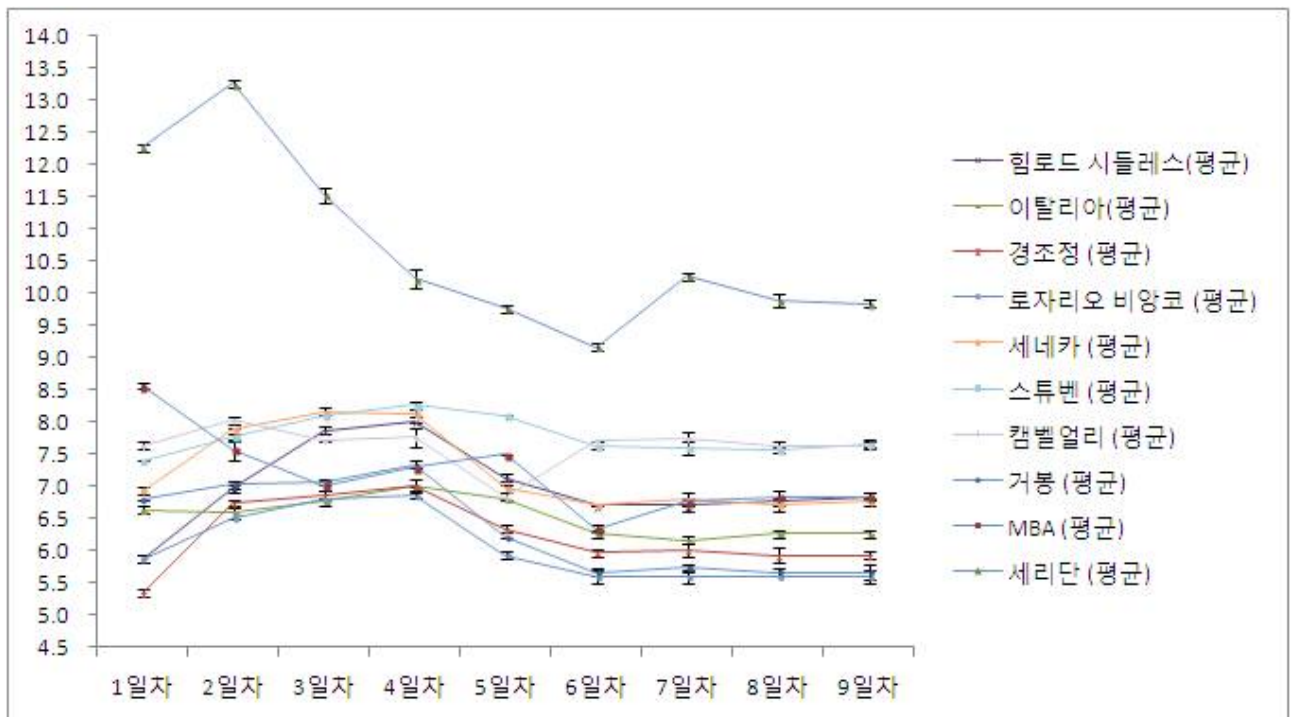


그림 1-82. 포도 품종별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

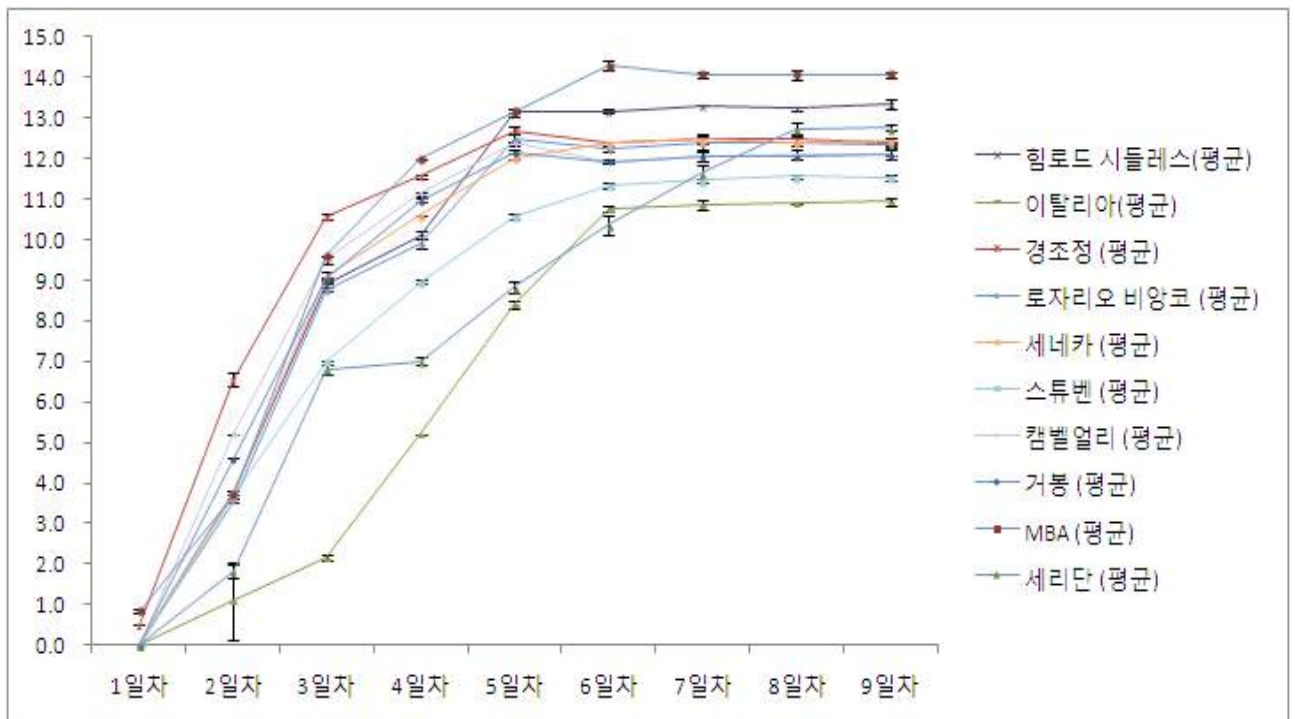


그림 1-83. 포도 품종별 발효경과(당도(단위: °Brix))

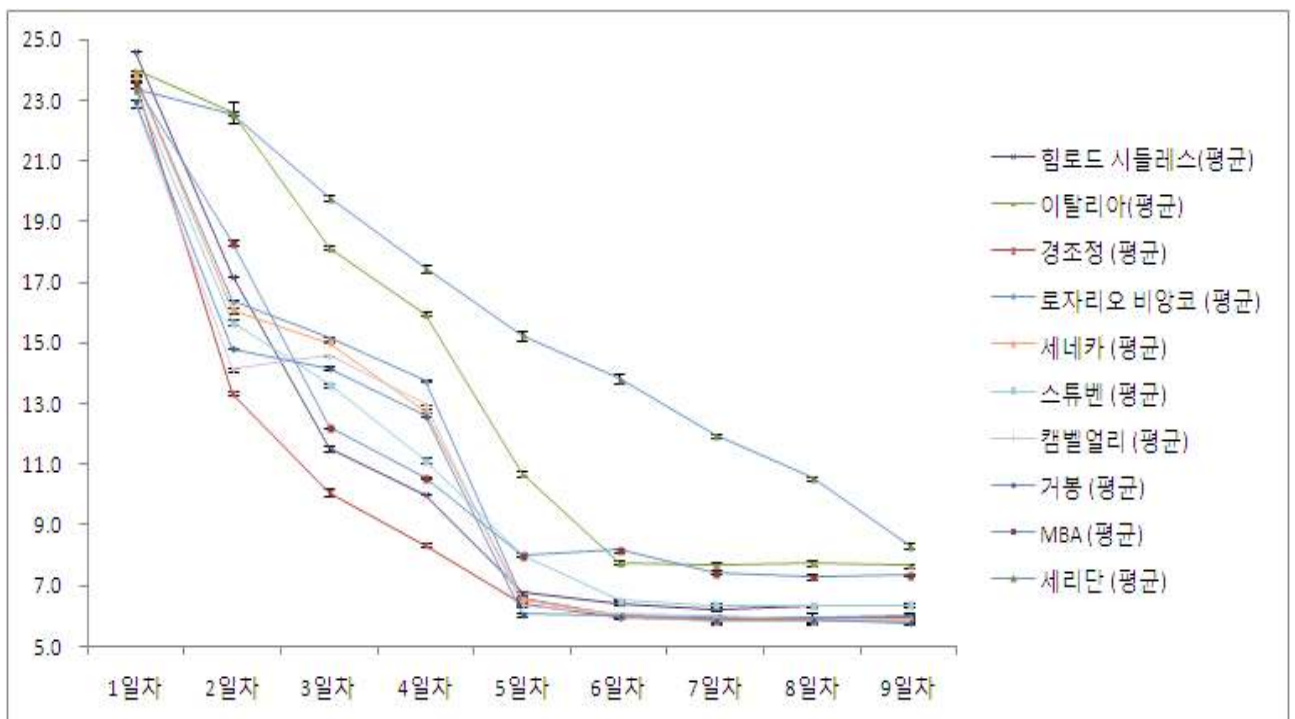
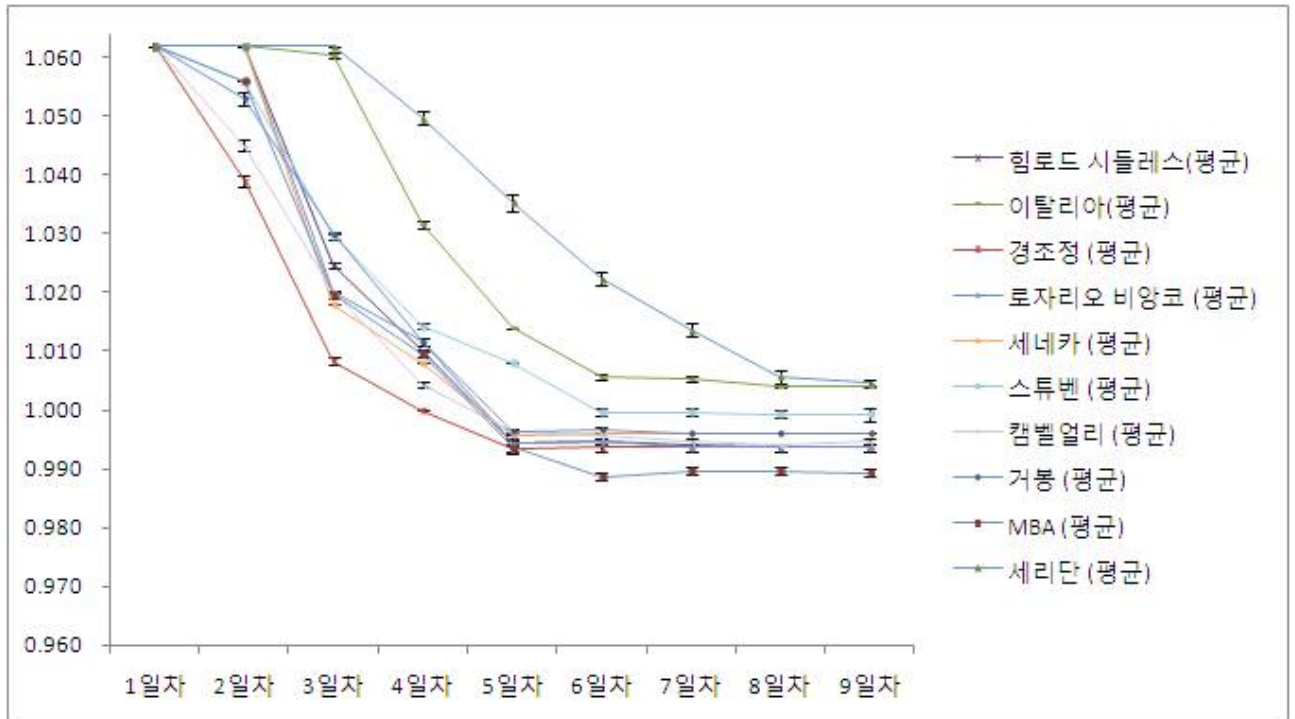


그림 1-84. 포도 품종별 발효경과(비중)



(3) 품종별 발효 시 발생하는 EC 및 요인 분석

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 본 실험에서는 품종별 발효가 종료된 10종(청포도 5종, 적포도 5종)의 포도 술덧을 가지고 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 분석하였다.

<실험방법>

에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

(4) 품종별 증류 분액 유해물질 분석 및 초류 분리시점 파악

포도 품종별 발효 시 발생하는 EC의 분석 결과로는 효모의 선정이 어려워 최종 제품에서의 EC 및 전구체를 분석하여 효모를 선정하고자 한다. 2) 품종별 발효특성에서 발효를 시킨 발효 술덧을 이용하여 동일한 증류기를 사용하여 증류를 하고 술덧 내의 성분들의 끓는점 차이에 따라 증류되어져 나오는 순서가 결정되는데 이를 최소 단위로 분획하고 분획한 증류주에 저비점 유해물질의 함량을 측정하여 초류를 분리하고자 한다.

저비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는 점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 에탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국의 검출 허가 기준은 표 1-56.과 같다.

표 1-56. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	- ^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
	1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)		
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 포도증류주를 제조하고자 한다. 강화된 검출 기준은 아세트알데히드의 경우 700ppm에서 0.7ppm으로 1/1,000로 설정하였으며 메탄올의 경우 500ppm에서 5ppm으로 1/100로 정하였다.

표 1-57. 주류별 KFDA 검출 허가 기준 및 본 실험 초류 분리 기준

<KFDA 검출 허가 기준>

	Acetaldehyde		MeoH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	70	700	0.5	500
일반 증류주	70	700	0.5	500
브랜디	70	700	1.0	1000

<실험 분획기준>

	Acetaldehyde		MeoH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	0.07	0.7	0.005	5
일반 증류주	0.07	0.7	0.005	5
브랜디	0.07	0.7	0.005	5
도입 기준	국내 기준치 1/1000		국내 기준치 1/100	

<실험방법>

본 실험에서 개발할 최종제품의 대조군은 현재 수입 증가 추세에 있는 브랜디나 곡물 증류주로

써 대부분의 제품이 40도(v/v%)의 알코올로 맞춰져 있다. 발효가 종료된 술덧 적포도 5종과 청포도 5종의 최종 알코올 함량은 10~14도대(v/v%)이므로 최종 제품 알코올함량 40도(v/v%)로 맞추려면 상압 단식증류기의 경우 2차 증류까지 진행되어야 한다. 금번 실험에서 사용할 증류기는 상압 동증류기로써 1차에서는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 100ml 단위로 분획하였다. 2)품종별 발효특성에서 발효가 종료된 발효술덧 10종을 실험군으로 2차 증류 및 분획을 실시하였으며 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 1-85. 본 실험에 사용한 상압 동증류기(가열방식 직부)



<결과 및 고찰>

각 실험군의 분획은 아세트알데히드가 0.7ppm이하로 형성되고 메탄올이 5ppm이하로 형성되는 구간을 초류분리구간으로 정하였고 초류 분리 시점 및 100ml당 저비점 유해물질을 분석한 Data는 그림 1-86~1-95에서 확인할 수 있다. 초류 분리 백분율은 전체 증류된 량(총분획량) 대비 초류가 분리된 량을 백분율로 나타낸 것이며 각 실험군의 효율과 밀접한 관계가 있다. 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 각 실험군의 검출 총합에 총 분획 량을 대입하여 ppm으로 환산한 내역이며 각 실험군 내에서 발생한 저비점 유해물질을 검출 량으로 순위를 매길 수 있다. 표 1-58~59. 포도품종별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리에서 각 실험군의 분석결과와 초류분리 시점에 대해 종합하여 볼 수 있다.

표 1-58. 적포도 품종별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리

적포도품종	Acetaldehyde		총분획량 (mℓ)	초류분리량 (mℓ)	초류분리 백분율
	총량 (ppm)	MeoH 총량 (ppm)			
캠벨얼리	1.59	2.39	1,800	200	11.11%
스튜벤	2.44	3.31	1,600	400	25.00%
세리단	0.00	0.02	1,800	300	16.67%
거봉	1.62	2.57	1,800	300	16.67%
MBA	1.18	6.45	2,000	500	25.00%

표 1-59. 청포도 품종별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리

청포도품종	Acetaldehyde		총분획량 (mℓ)	초류 분리량 (mℓ)	초류분리 백분율
	총량 (ppm)	MeoH 총량 (ppm)			
힘로드시들레스	2.81	7.03	1600	400	25.00%
세네카	5.62	36.51	1900	400	21.05%
경조정	1.50	2.83	1800	300	16.67%
이탈리아	0.32	0.34	900	0	0.00%
로자리오비앙코	1.95	7.37	1700	400	23.53%

적포도 품종별 실험군의 총 분획량 내 아세트알데히드의 총량으로 순위를 정할 시 MBA가 1.18ppm으로 가장 적은 아세트알데히드를 생성시켰으며 스튜벤이 2.44ppm으로 가장 많은 아세트알데히드를 생성시키는 것으로 나타났다. 두개의 저비점 유해물질의 순위는 상관관계가 없이 나타났으며 MBA 품종은 메탄올의 함량이 지속적으로 유지되는 특이한 점을 볼 수 있었다. MBA를 제외한 실험군은 분획된 순서에서 초기 분획에 집중되어 있고 집중되어 있는 만큼 표준편차는 초기에 높게 형성이 된다.

청포도 품종별 실험군의 총 분획량 내 아세트알데히드의 총량으로 순위를 정할 시 이탈리아가 0.32ppm으로 가장 적은 아세트알데히드를 생성시켰으며 세네카가 5.62ppm으로 가장 많은 아세트알데히드를 생성시키는 것으로 나타났다. 평균적으로 청포도 품종이 적포도 실험군에 비해 아세트알데히드와 메탄올 함량이 높게 나타났다.

표 1-60. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 아세트알데히드 검출 순위

적포도품종	Acetaldehyde		초류분리 백분율	청포도품종	Acetaldehyde		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank			총량 (ppm)	총량 rank	
MBA	1.18	1	25.00%	이탈리아	0.32	1	0.00%
캠벨얼리	1.59	2	11.11%	경조정	1.50	2	16.67%
거봉	1.62	3	16.67%	로자리오비앙코	1.95	3	23.53%
세리단	1.98	4	16.67%	힘로드시들레스	2.81	4	25.00%
스튜벤	2.44	5	25.00%	세네카	5.62	5	21.05%

표 1-61. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 메탄올 검출 순위

적포도품종	MeOH		초류분리 백분율	청포도품종	MeOH		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총량 rank			총량 (ppm)	총량 rank	
캠벨얼리	2.39	1	25.00%	이탈리아	0.34	1	0.00%
거봉	2.57	2	16.67%	경조정	2.83	2	16.67%
세리단	3.28	3	25.00%	힘로드씨들레스	7.03	3	25.00%
스튜벤	3.31	4	11.11%	로자리오비앙코	7.37	4	23.53%
MBA	6.45	5	16.67%	세네카	36.51	5	21.05%

초류분리 백분율에 따라 집계한 순위에서는 경제성을 고려할 수 있으며 품종 선발에 한 지표로 작용할 수 있다. 적포도 품종 중 캠벨얼리는 초류 분리 백분율이 11.11%로 가장 적은 초류를 분리하였으며, 청포도 품종 중 이탈리아는 초류를 분리할 필요가 없었다. 이는 이탈리아가 발효 최종알코올 도수가 낮은데서 기인한 것으로 사료된다. 적포도 품종 중 MBA와 스튜벤은 25%로 가장 많은 초류를 분리하였으며 청포도 품종 중 힘로드씨들레스는 25.00%로 가장 많은 초류를 분리하였다. 초류 분리 시점은 저비점 유해물질의 총량보다는 분획 시 증류생성 순서 상 유해물질의 ppm과 상관관계가 있다.

표 1-62. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 초류분리 시점에 따른 순위

적포도품종	초류분리 백분율	Rank	청포도품종	초류분리 백분율	Rank
캠벨얼리	11.11%	1	이탈리아	0.00%	1
거봉	16.67%	2	경조정	16.67%	2
세리단	16.67%	3	세네카	21.05%	3
스튜벤	25.00%	4	로자리오비앙코	23.53%	4
MBA	25.00%	4	힘로드씨들레스	25.00%	5

본 실험 결과는 증류방식에 따라 단식 증류를 진행한 것이며 증류기 재질은 동, 가열 방식은 직부로 진행된 호모별 초류 분리 및 저비점 유해물질에 대한 분석이다. 초류분리를 한 증류주를 알코올 40도(v/v%)로 맞추어 여과나 기타 조작이 없는 최종제품으로 만들고, 요소와 EC를 분석하고 관능검사를 통하여 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에 사용할 품종을 적포도와 청포도 각 1종씩을 선정하고자 한다.

그림 1-86. 적포도 품종 중 캠벨얼리 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

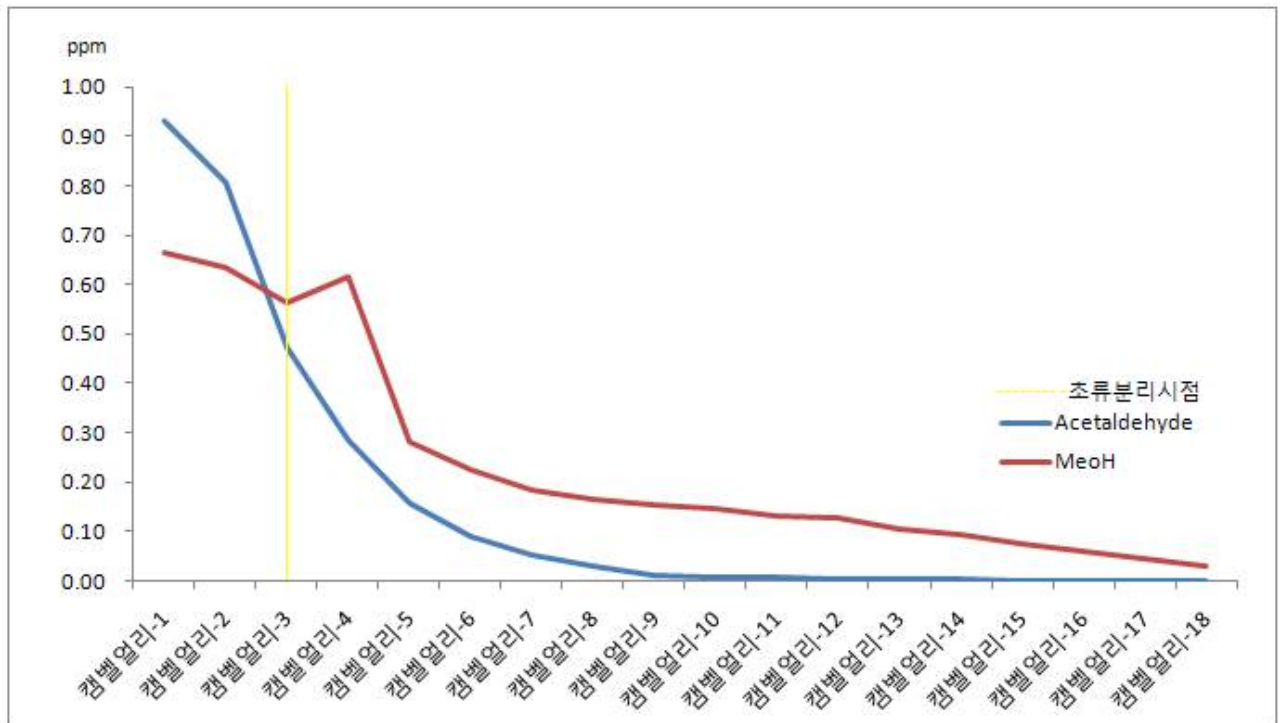


그림 1-87. 적포도 품종 중 스투벤 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

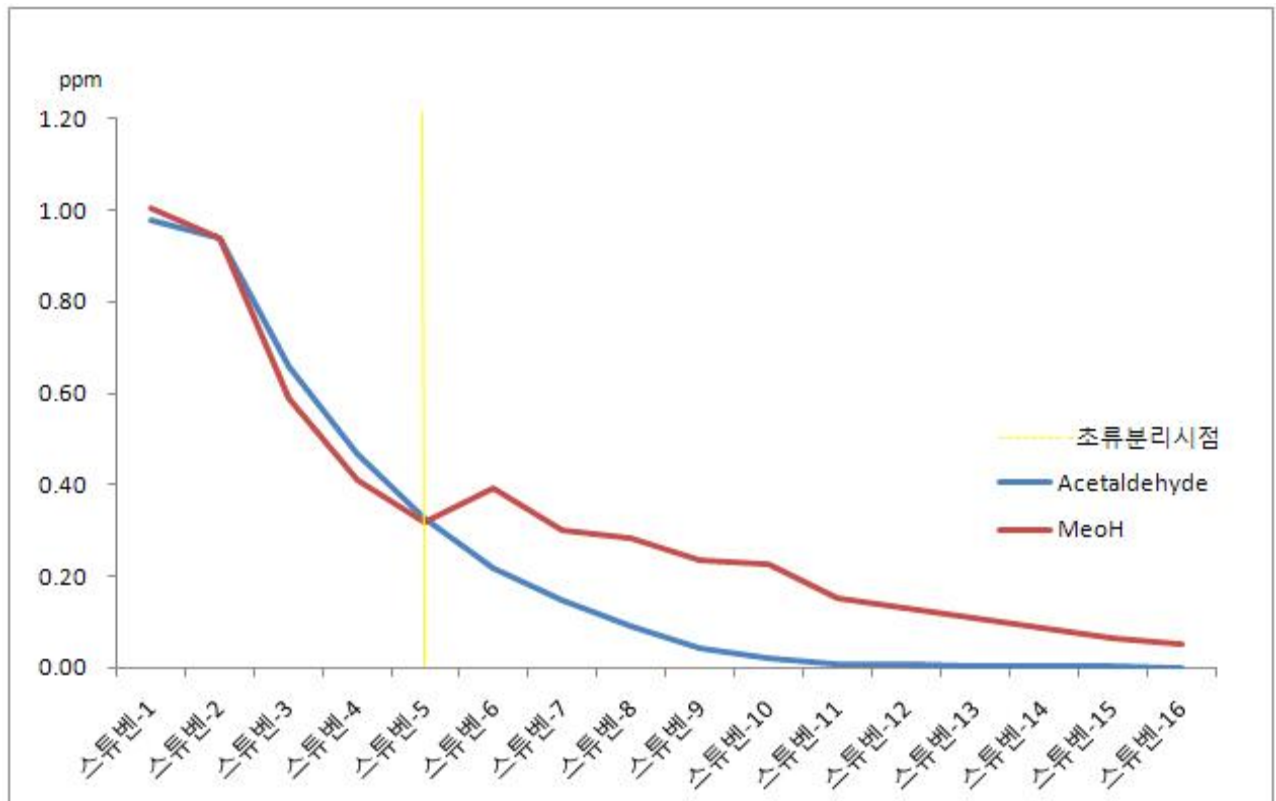


그림 1-88. 적포도 품종 중 세리단 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

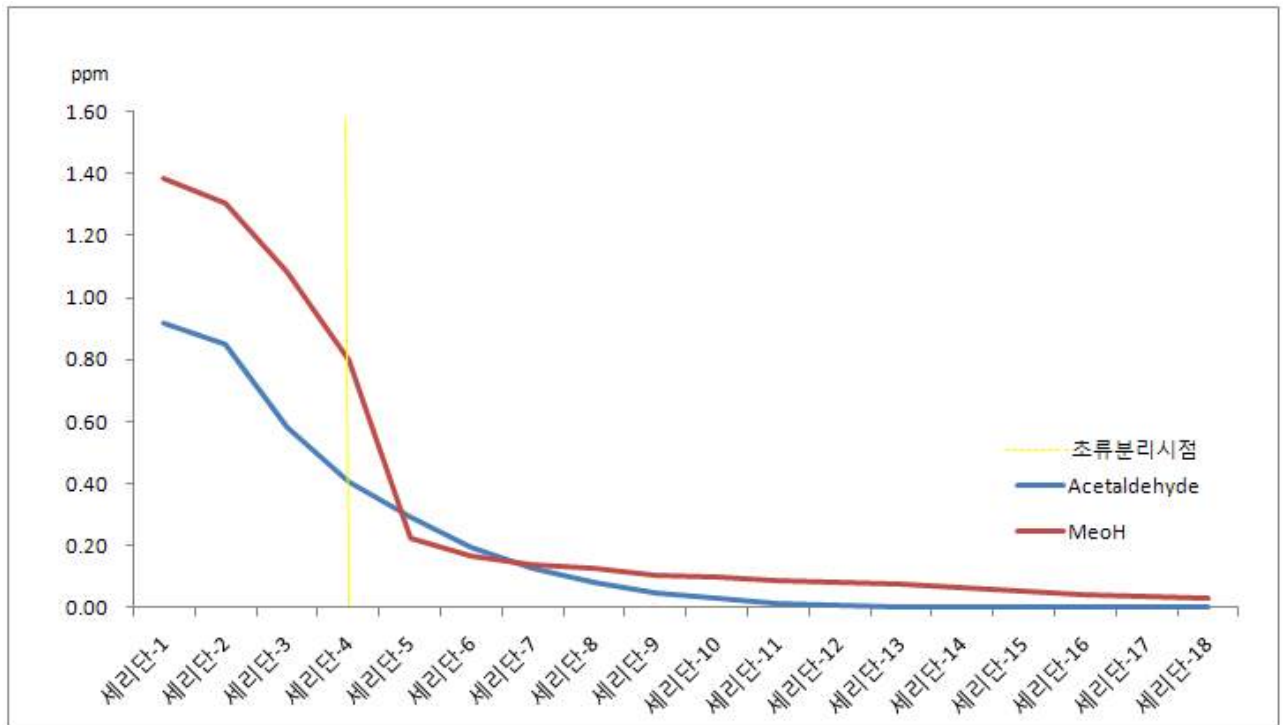


그림 1-89. 적포도 품종 중 거봉 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

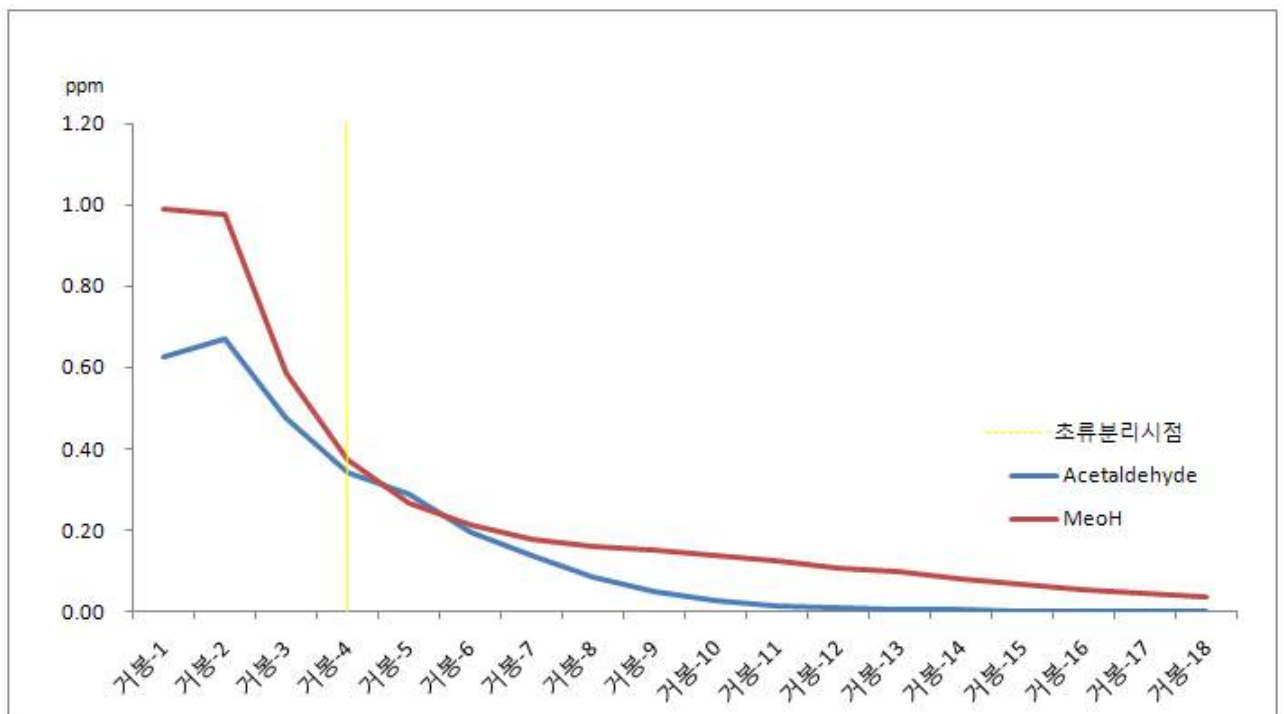


그림 1-90. 적포도 품종 중 MBA 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

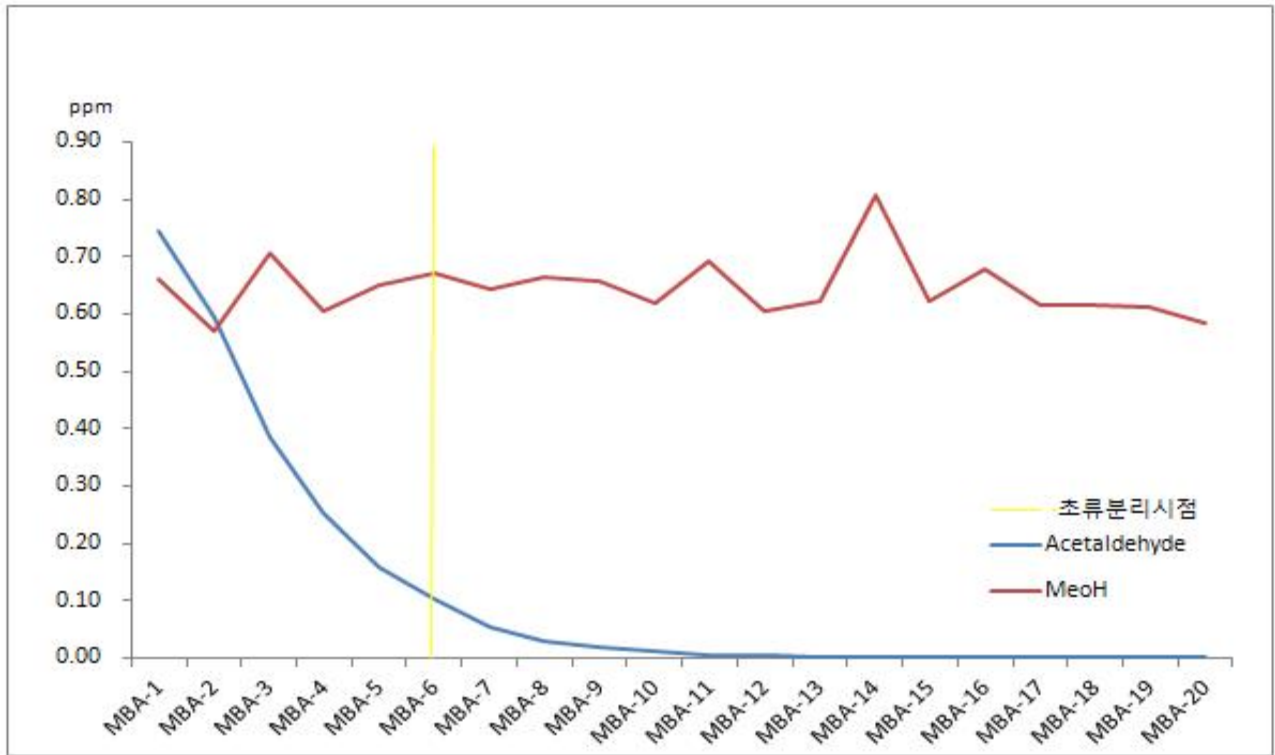


그림 1-91. 청포도 품종 중 험로드시들레스 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

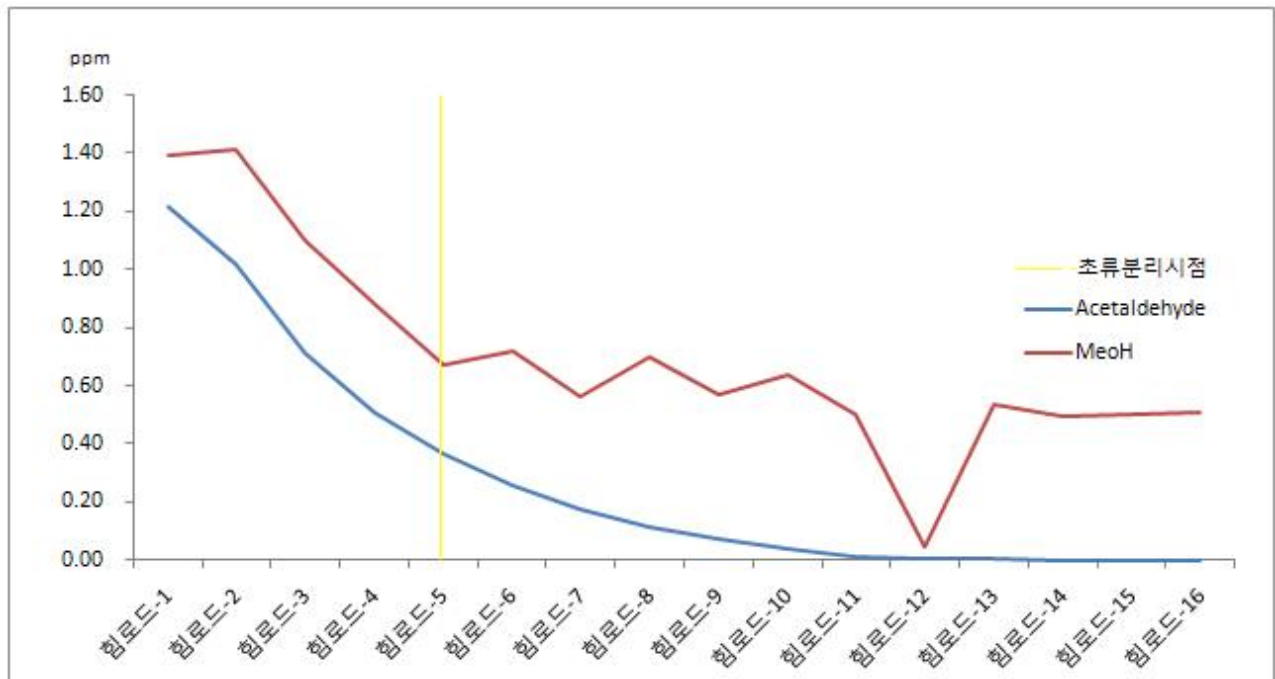


그림 1-92. 청포도 품종 중 세네카 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

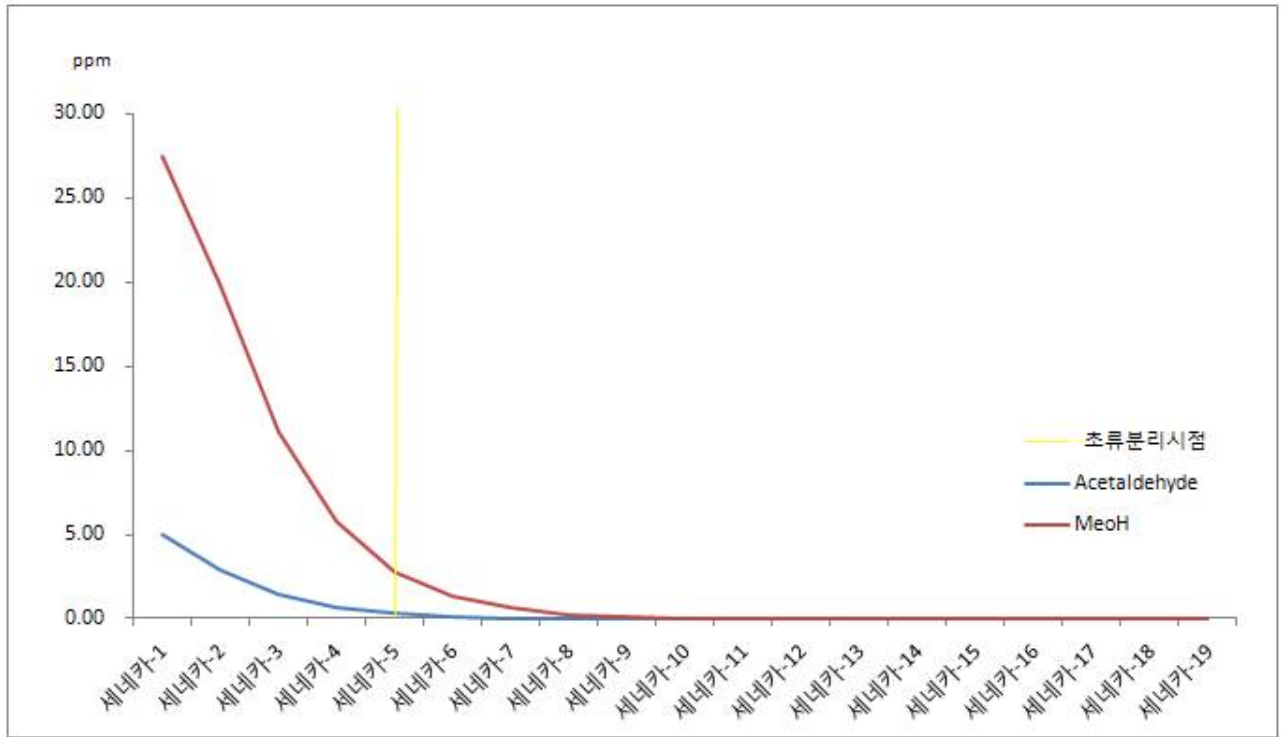


그림 1-93. 청포도 품종 중 경조정 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

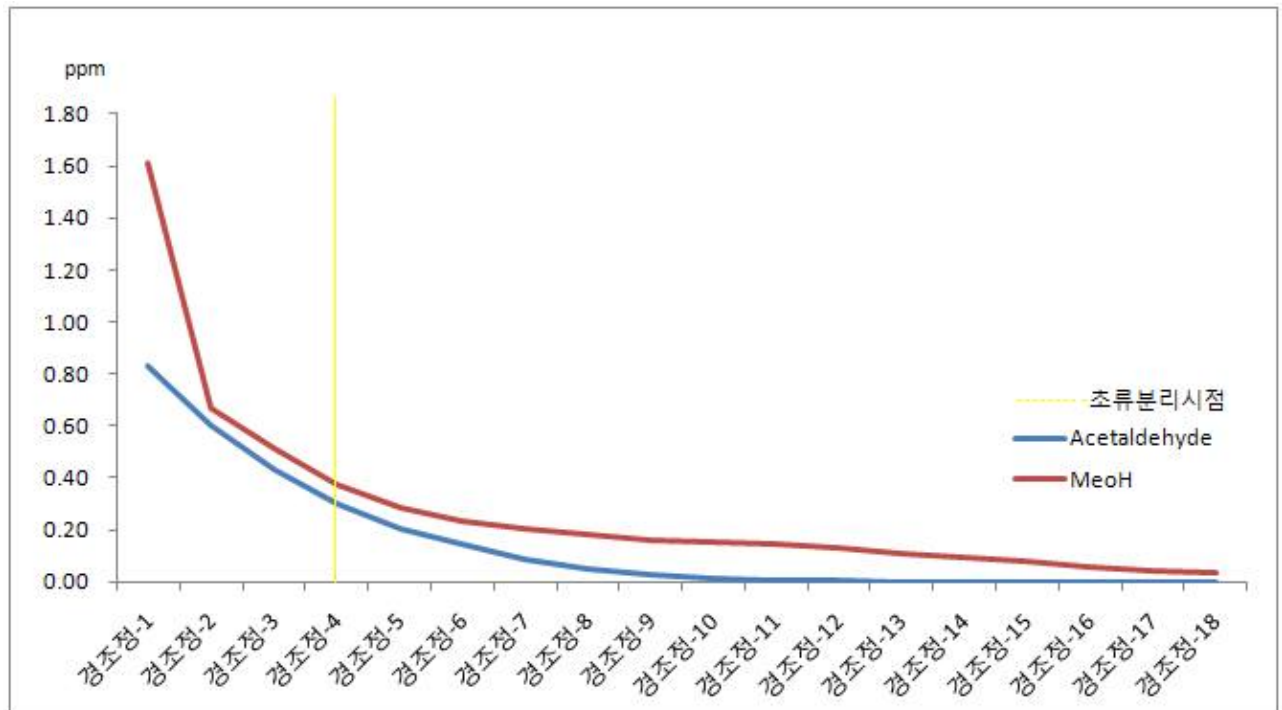


그림 1-94. 청포도 품종 중 로자리오비앙코 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

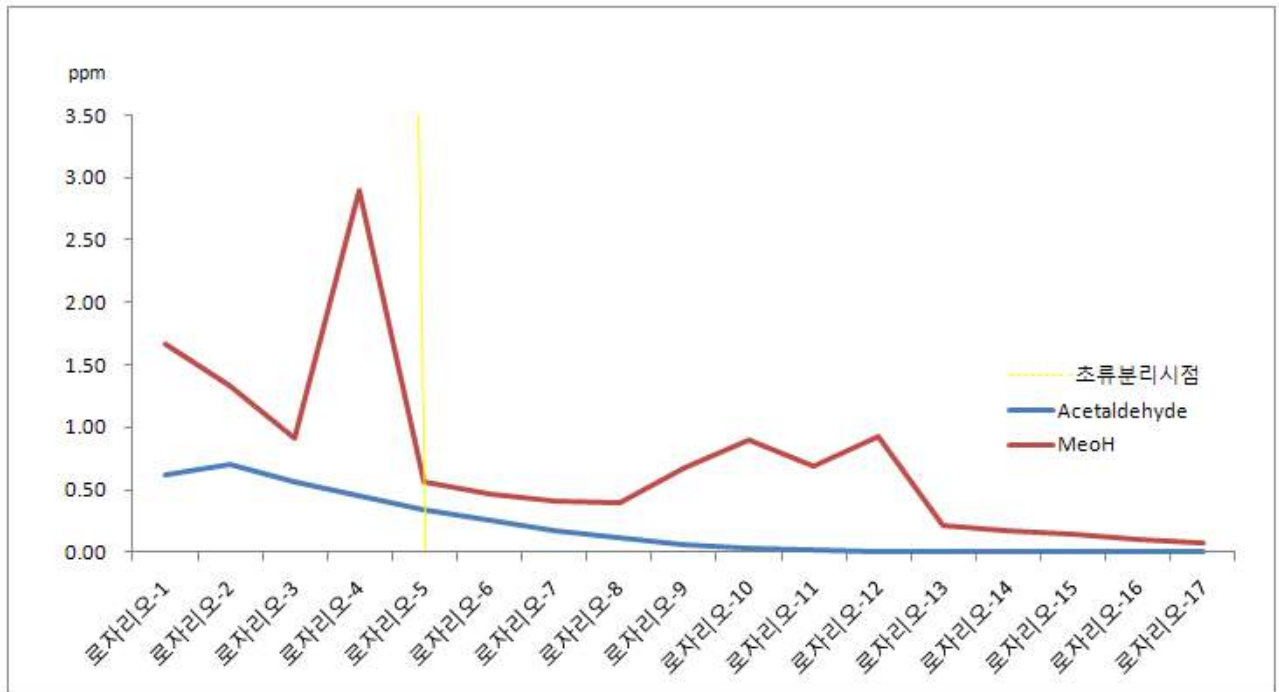
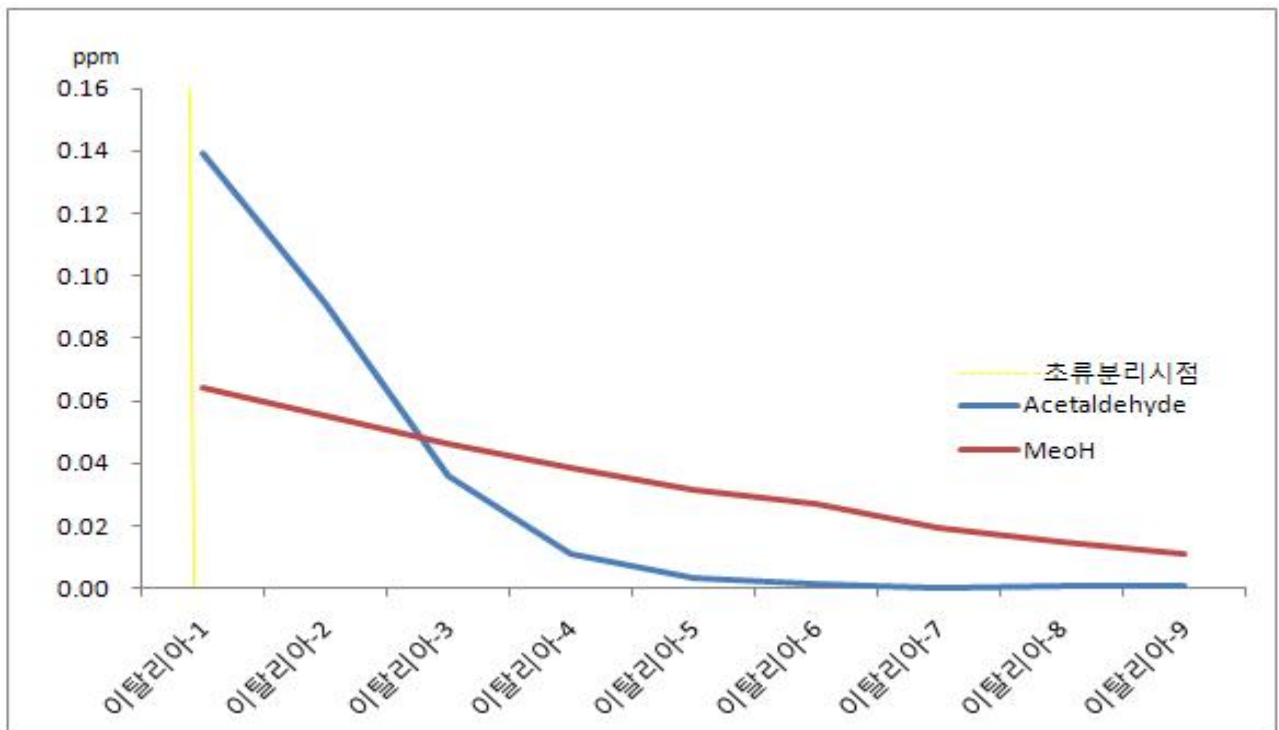


그림 1-95. 청포도 품종 중 이탈리아 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리



(5) 품종별 증류주 관능검사

초류를 분리하여 알코올도수 40도(v/v%)로 맞춘 증류주를 과피의 종류에 따라 구분을 지어 적포도 5품종과 청포도 5품종을 관능평가를 진행하였다. 초류 분리에 따른 관능적인 차이가 발생할 것으로 판단되며 두 가지 과피로 나누어 실험방법 및 결과에 대해 다음과 같이 서술하였다.

(가). 적포도 품종 증류주의 관능 평가

<실험방법>

MBA, 거봉, 세리단, 스투벤, 캠벨얼리를 이용하여 제조된 적포도 증류주를 43명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우 싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히 좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 포도향 강도, 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 '- 2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다'로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 '시료'와 '패널'을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

적포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 1-63와 같다. 세리단이 전반기호도에서 4.51점으로 가장 높았으며, 향기호도 및 목넘김 기호도에서도 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 평가되었다. 그 외에도 스투벤과 거봉이 4 점 이상의 전반기호도를 가지는 것으로 나타났다. MBA의 기호도는 가장 낮은 수준으로 평가되었다. 포도향 및 알코올향의 강도에 있어서는 시료 간에 통계적인 유의차가 존재하지 않았다. 전반적으로 포도향의 강도는 낮은 것으로 평가되었으며, 알코올 향은 강하다고 평가되었다. 증류 후 숙성과정을 거치지 않고 소비자 조사가 진행되어 증류 직후의 술의 거친 느낌이 소비자에게 전달되어서 이러한 결과가 나온 것으로 사료된다.

표 1-63. 적포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도				강도	
	전반	향	향미	목넘김	포도향	알코올향
MBA	3.59c	3.80b	3.73b	3.85b	-0.49	0.98
거봉	4.20ab	4.59a	4.37a	4.20ab	-0.61	1.02
세리단	4.51a	4.73a	4.20ab	4.39a	-0.46	1.10
스튜벤	4.24ab	4.59a	4.15ab	4.29a	-0.54	0.88
캠벨얼리	3.93bc	4.71a	4.34a	4.15ab	-0.29	1.00

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 p=0.05수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 1-64). 군집1은 18명의 소비자로 이루어졌으며, 거봉을 제외하고 군집2보다 적포도 증류주에 대하여 높은 전반기호도를 가지는 것으로 나타났다. 군집2는 25명의 소비자로 구성되었으며, 거봉에 있어서 높은 기호도를 가지고 나머지 시료는 상대적으로 낮은 기호도를 가지는 것으로 나타났다. 군집1과 2를 비교해볼 때, 거봉의 경우 소비자의 호불호가 확연히 나뉘는 것으로 나타났다.

표 1-64. 적포도 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	MBA	거봉	세리단	스튜벤	캠벨얼리
1	18	4.89	3.17	5.17	5.33	3.89
2	25	2.88	4.96	3.96	3.68	3.80

소비자 기호도 조사를 바탕으로 적포도 증류주의 선호성을 판단할 때, 세리단이 가장 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났으며, 스튜벤이 두 번째 선호도를 가지는 것으로 사료된다. 그러나 거봉은 기호성이 높았으나, 소비자의 선호도에 있어서 군집 간에 차이가 커서 전체적인 소비자를 만족 할 수 없을 것이라 판단된다. 따라서, 국내산 적포도를 이용하여 포도 증류주를 제조한다면 세리단 또는 스튜벤을 사용한다면 상대적으로 높은 기호도를 보이는 증류주를 제조할 수 있을 것이라 보여 진다.

적포도 품종의 관능평가에 따른 순위는 두 개의 군집을 비율대로 점수를 매기어 전반 기호도가 높은 순으로 순위를 매기었다.

(나). 청포도 품종 증류주의 관능 평가

<실험방법>

경조정, 로자리오비앙코, 세네카, 이탈리아, 힘도드씨들레스를 이용하여 제조된 청포도 증류주를 37명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널

은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 포도향 강도, 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 ‘-2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다’로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 ‘시료’와 ‘패널’을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

청포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 1-65과 같다. 이탈리아와 경조정이 다른 시료대비 통계적으로 유의미하게 낮은 전반기호도 및 향기호도를 보이는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 로자리오비양코, 세네카, 힘로드시들레스의 전반기호도 및 향기호도는 통계적인 유의차가 나타나지 않았다($p > 0.05$). 세 품종은 통계적인 유의차는 보이지 않았지만, 세네카가 가장 높은 전반, 향, 향미 기호도를 보였다. 포도향 강도의 경우 전반적으로 약하다는 평가를 받았으며, 시료간에 유의적인 차이는 없었으나($p > 0.05$), 로자리오비양코가 약간 높은 수준의 포도 향 강도를 가지는 것으로 나타났다. 알코올 향 강도는 시료 간에 유의적인 차이가 발견되었으며, 힘로드시들레스의 알코올 향이 가장 강했으며, 세네카가 가장 낮은 알코올 향 강도를 가지는 것으로 나타났다. 전반적인 알코올 향 강도는 0.78이상으로 소비자들이 청포도 증류주의 알코올 향은 강했으며, 포도향이 약하고 알코올 향이 강한 이유는 숙성과정의 생략하고, 증류 후 바로 소비자 조사를 진행하였기 때문으로 사료된다.

표 1-65. 청포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도			강도		
	전반	향	향미	목넘김	포도향	알코올향
경조정	3.41b	3.65b	3.38b	4.11 ab	-0.51	1.05ab
로자리오비양코	4.11a	4.30a	3.89a	4.22 ab	-0.38	1.00ab
세네카	4.11a	4.46a	4.27a	4.32 ab	-0.51	0.78b
이탈리아	3.24b	3.51b	3.27b	3.84b	-0.60	1.00ab
힘로드시들레스	3.97a	4.54a	4.05a	4.38 a	-0.46	1.16a

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 $p=0.05$ 수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 1-66).

군집1은 26명의 소비자로 이루어졌으며, 세네카와 로자리오비앙코의 기호도가 높은 것으로 나타났다. 군집2는 11명의 소비자로 구성되었으며, 이탈리아와 경조정의 기호도가 높은 패널로 구성되어 있었다.

표 1-66. 청포도 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	경조정	로자리오 비앙코	세네카	이탈리아	힙로드 시들레스
1	26	3.08	4.27	4.54	2.69	3.88
2	11	4.18	3.73	3.09	4.55	4.18

소비자 기호도 조사를 바탕으로 청포도 증류주의 선호성을 판단할 때, 로자리오비앙코와 세네카가 기호성을 가지는 것으로 나타났다. 그러나 군집분석 결과에서 로자리오비앙코는 두 군집 모두 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났으나, 세네카는 군집1에서 4.54점으로 가장 높은 기호성을 가지나 군집2에서 3.09으로 가장 낮은 기호성을 가지는 것으로 나타났다. 이는 패널에 따라 호불호가 극명하게 나뉜다고 할 수 있다. 이와 같은 결과를 통해서 모든 소비자에게 높은 기호도를 가지는 로자리오비앙코가 청포도 증류주 제조에 적합한 품종이라고 사료된다.

(6) 품종별 증류주 EC 및 요소 분석

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 곡물발효주의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 그 주요 전구체라 하겠다. 따라서 본 실험에서는 숙성이나 여과처리가 되지 않은 최종실험 제품(40도 알코올분(v/v%)) 적포도 품종 5종과 청포도 품종 5종의 전구체인 요소와 최종산물인 에틸 카바메이트의 함량을 분석하였다.

표 1-67. 각 국의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

<실험방법>

요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter 로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

품종별 증류주(40도 알코올분(v/v%))의 EC와 요소의 분석결과는 (표 1-68. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 EC와 요소 검출 결과)로 볼 수 있으며 적포도 품종의 EC 검출량의 경우 캠벨얼리와 MBA는 검출이 되지 않았으며, EC의 검출량이 적은 순서대로 캠벨얼리>MBA>거봉>세리단>스튜벤 순으로 나타났으며 이중 해외 에틸카바메이트의 검출기준인 증류주 150ppb이하인 품종은 캠벨얼리와 MBA 품종 뿐이며, 과일브랜디의 검출기준인 400ppb이하인 품종은 거봉이 추가된다. <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에서는 캠벨얼

리, MBA, 거봉이 적합한 품종으로 여겨지나 블렌딩이 진행되어 곡물증류주와 혼합이 이루어지기 위해서는 캠벨얼리와 MBA 품종이 적합하다고 판단된다.

청포도 품종의 EC 검출 량의 경우 경조정과 로자리오비앙코 품종에서 검출이 되지 않았으며, EC의 검출 량이 적은 순서대로 경조정=로자리오비앙코>힘로드시들레스>세네카>이탈리아 순으로 나타났으며 이중 해외 에틸카바메이트의 검출기준인 증류주 150ppb이하인 품종은 경조정과 로자리오비앙코, 힘로드시들레스이다. 과실 브랜드 검출기준인 400ppb이하 품종도 150ppb이하 품종과 동일하다.

요소는 EC의 전구체로써 환경에 따라 EC로 전환될 수 있기 때문에 과실 발효주 및 과실 증류주에서는 EC 측정에서 빠지지 않고 확인하는 항목이다. 적포도 품종 중 요소의 검출량이 가장 적은 품종은 1.72ppb가 검출된 스투벤으로써 요소의 함량이 적게 검출된 순서대로 스투벤>MBA>세리단>거봉>캠벨얼리 순으로 나타났다.

청포도 품종 중 요소의 검출량이 가장 적은 품종은 세네카이며 1.41ppb가 검출되었다. 청포도 품종에서 요소의 함량이 적게 검출된 순서대로 세네카>경조정>로자리오비앙코>힘로드시들레스>이탈리아 순으로 나타났다. 요소 검출량 중 적포도의 경우 초류백분율이 낮은 품종이 요소의 함량이 낮게 나타나는 경향을 보였으나 청포도의 경우에는 적용되지 않는다.

표 1-68. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 EC와 요소 검출 결과

적포도품종	ethyl carbamate	urea	청포도품종	ethyl carbamate	urea
캠벨얼리	-	7.17	힘로드시들레스	133.37	1.62
스튜벤	1539.13	1.72	세네카	843.87	1.41
세리단	1400.35	1.95	경조정	-	1.57
거봉	287.33	2.18	이탈리아	1,039.15	199.54
MBA	-	1.73	로자리오비앙코	-	1.62

(단위: ppb)

표 1-69. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 EC 검출 순위

적포도품종	ethyl carbamate	rank	청포도품종	ethyl carbamate	rank
캠벨얼리	-	1	경조정	-	1
MBA	-	1	로자리오비앙코	-	1
거봉	287.33	3	힘로드시들레스	133.37	3
세리단	1400.35	4	세네카	843.87	4
스튜벤	1539.13	5	이탈리아	1,039.15	5

(단위: ppb)

표 1-70. 적포도(左)와 청포도(右) 품종별 증류주의 요소 검출 순위

적포도품종	urea	rank
스튜벤	1.72	1
MBA	1.73	2
세리단	1.95	3
거봉	2.18	4
캠벨얼리	7.17	5

(단위: ppb)

청포도품종	urea	rank
세네카	1.41	1
경조정	1.57	2
로자리오비앙코	1.62	3
힘로드시들레스	1.62	4
이탈리아	199.54	5

(단위: ppb)

(7) 품종별 증류주의 향기성분 분석

<실험방법>

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 품종별 증류주 5 ml을 20 ml SPME 용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26℃에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 μm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

품종별 증류주의 향기성분 분석 결과, 에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알코올류인 i-amyl alcohol, n-pentanol, i-butanol 및 phenylethyl alcohol이 검출되었으며, 에스테르성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl myristate, ethyl stearate, ethyl palmitate, Ethyl palmitoleate, ethyl ricinoleate, ethyl oleate 및 ethyl linoleate가 검출되었다. 이외의 에스테르 화합물들로는 ethyl lactate, penylethyl acetate가 검출되었다. 휘발성 에탄올의 함량은 적포도 품종이 청포도 품종에 비해서 높게 나타났으며, 적포도 품종에서는 거봉이 가장 높았으며, 스투벤이 가장 낮았다. 청포도에서는 세네카의 경우 가장 높았으며, 이탈리아가 가장 낮게 나타났다. 주류에 있어서 향기를 나타내는 지방산 에틸 에스테르 함량은 에탄올 함량이 낮은 품종에서 대체적으로 높게 함유되었다.

증류주의 주성분인 alcohol류 중 당류로부터 EMP경로에 의해 생성되는 ethanol을 제외하고 higher alcohol류는 가장 많은 비중을 차지한다. Higher alcohol은 맥주, 청주 및 소주 등의 품질에 영향을 주는 성분이다.

장미꽃향의 phenylethyl alcohol 및 에스테르는 phenylalanine으로부터 유래된 성분으로 장미, 오렌지꽃과 같은 천연 정유에서 발견된다. 또한 Sake, wine, whisky 등 다양한 종류의 주류에서 매우 중요한 방향족 알코올 성분으로 향수 제조에도 널리 사용된다. 본 실험에서 품종별로 적포도 품종의 경우 청포도 품종보다 phenylethyl alcohol 및 에스테르 함량이 높았다

Ester류는 면적비율은 낮으나 주류의 향미에 큰 영향을 미친다. 품종의 종류에 관계없이 Ethyl palmitate가 증류주에서 검출된 ester류 중 그 비율이 높은 것으로 나타났다.

인공과일향의 제조 원료이며 사과향을 가진 ethyl caprate는 낮은 농도로도 강하고 보급력 있는 성분으로써, 거봉 실험군의 증류주에서 비교적 많은 양이 검출되었다. 그리고 그 밖에도 미량 성분인 ethyl laurate, ethyl myristate는 와인에 과일향을 부여하는 성분들로써, 다른 종류의 ester와 조화를 이루어 특유의 향미를 형성한다.

표 1-71. 포도 품종을 달리한 증류주의 휘발성 향기성분(%)

	적포도					형포도				
	캠벨얼리	스튜벤	세리단	거봉	MBA	힐로드 시들레스	세네카	경조정	로자리오 비앙코	이탈리아
Butanol	1.62									
Ethanol	62.09	47.4	52.16	76.28	63.88	59.69	64.61	43.52	49.72	41.38
1-butanol	0.24		0.16					0.17		0.18
1-amyialcohol acetate	3.21	0.96	3.60	1.88	0.94	1.77	1.53	2.17	1.72	1.96
1-amyialcohol	6.33	4.75	6.01	3.68	5.32	4.52	3.15		4.05	3.96
Ethyl caprylate	2.65	1.27	3.42	1.67	1.40	1.54	1.39	2.36	1.87	2.44
Ethyl caprate	4.78	5.17	7.44	3.28	3.75	1.83	4.13	5.91	4.27	7.11
Citronellyl acetate	0.2	-	0.23			0.02				
2-phenylacetate	0.3	0.36	0.26		0.15	0.1	0.10	0.13	0.17	0.12
Ethyl laurate	2.99	5.31	3.29	0.94	1.51	4.28	3.53	7.73	6.18	7.75
isoamyl caprate	0.22	0.16	0.20	0.46		0.16	0.13	0.19	0.28	0.29
Benzyl hydrazine	0.55	1.02	0.46		0.65		1.11		0.86	
Enanthic acid	0.33	0.19	0.31	0.11	0.06	0.34	1.07	0.37	0.30	0.33
Ethyl palmitate	5.31	17.12	8.84	5.17	11.82	13.18	10.51	17.72	16.09	17.74
Ethyl myristate	1.27	1.64	1.60	0.99	1.66	2.8	0.28	2.18	1.56	1.61
Ethyl oleate	0.49	2.22	0.81	0.37	1.56	0.11	0.87	0.49	1.54	1.47
Ethyl linolate	2.02	3.89	3.20	1.27	2.25	2.36	2.33	2.02	3.33	3.67
Methyl carbamate	0.18	0.99	0.39	0.14	0.28	0.63	0.57	0.18	0.87	1.01

(8) 품종 선발

과피 별 품종 5종씩의 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에 사용할 과피 별 품종을 선발하고자 한다.

품종 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로 한 순위, 발효시 생성되는 알코올의 순위, 증류주 제조 시 초류를 분리한 비율(백분율)에 의한 순위, 증류주 제조 시 메탄올과 아세트알데히드의 총량의 순위와 품종별 차이를 보인 관능검사가 추가되어 총 7가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 효율 및 경제성 여부인 알코올 생성 순위, 초류분리 백분율 순위에 각각 20%, 유해물질이기는 하나 초류 분리에 의해 분리가 가능한 메탄올과 아세트알데히드에 각각 5%의 가중치를 두었으며, 추가적으로 관능검사 결과 품종별 차이가 발생하여 관능검사 순위에 5% 가중치를 두었다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 품종으로 선정하였다. 실험군 별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 (표 1-72. 적포도(左)와 청포도(右) 품종 선정 평가 결과)에 나타나 있다.

EC 검출 량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 적포도 품종에서는 MBA가 청포도 품종에서는 경조정이 선정되었다.

2차년도에서는 선정된 품종을 가지고 증류조건의 최적화를 통하여 숙성을 위한 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>이 진행될 예정이다.

표 1-72. 적포도(左)와 청포도(右) 품종 선정 평가 결과

적포도품종	Rank						가중치	청포도품종	Rank						가중치
	캠벨엘리	스튜벤	거봉	MBA	세리단	가중치			힘로드 시들레스	세네카	경조정	이탈리아	로자리오 비앙코	가중치	
EC	1	5	3	1	4	30%	EC	3	4	1	5	1	30%		
요소	5	1	4	2	3	20%	요소	4	1	2	5	3	20%		
알코올	3	5	4	1	2	20%	알코올	1	2	3	5	4	20%		
초류분리	1	4	2	4	3	20%	초류분리	5	3	2	1	4	20%		
MeOH	1	4	2	5	3	5%	MeOH	3	5	2	1	4	5%		
Acetaldehyde	2	5	3	1	4	5%	Acetaldehyde	4	5	2	1	3	5%		
관능평가	4	2	3	5	1	5%	관능평가	3	2	4	5	1	5%		
가중치합	2.45	4.05	3.30	2.25	3.20	105%	가중치합	3.40	3.00	2.10	4.05	2.90	105%		
rank	2	5	4	1	3		rank	4	3	1	5	2			

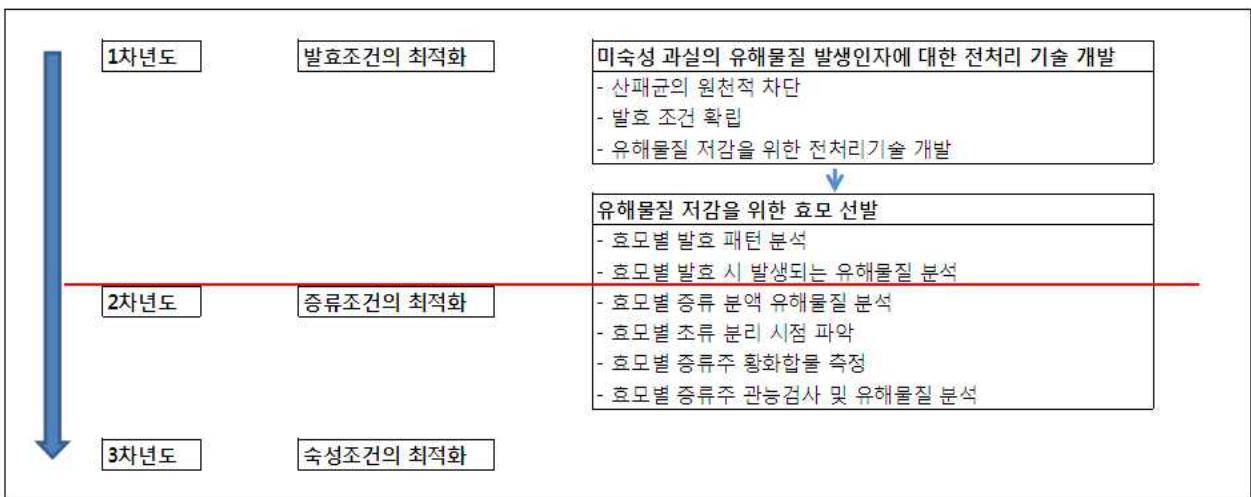
3. 안전한 미숙성사과 증류주 제조기술 개발

연구개발 목표

- 미숙성 과실(사과)의 주류 개발을 통하여 선 수매나 낙과의 소비 방안 마련의 일환으로 발효조건 확립
- 미숙성 과실의 유해물질 발생인자에 대한 전처리 기술 개발
- EC 등의 유해물질 저감을 위한 효모 선발

-연구개발 진행도

안전한 미숙성 과실(사과)증류주 제조 기술 개발 진행 방향(1차년도)



가. 미숙성 과실의 유해물질 발생인자에 대한 전처리 기술 개발

미숙성 사과는 환경적 요인에 의해 구매 시기가 정해져 있는 바, 당해 연도 햇사과를 구매하여 전처리 기술에 대해 개발하고 이를 미숙성 과실에 적용코자 한다. 사과의 품종은 ‘사과 재배농가의 주된 재배 품종 현황(2010년, 통계청 농림어업 총조사)’에 따라 전국적으로 가장 많은 재배가 이루어지는 부사로 결정하였으며, 이는 가장 많이 재배되는 부사의 경우 낙과 및 미숙성 사과의 대부분을 차지할 것으로 예상되므로 9월 중순에 재배하여 판매한 부사를 사용하였다.

(1) 산패균의 원천적 차단

포도주 제조 시 메타중 아황산 칼륨을 첨가하는 것은 산화방지 뿐만 아니라 잡균의 오염 방지에 그 목적이 있다. 본 실험에서도 <안전한 포도증류주 제조기술 개발>과 같이 과실에 메타중아황산칼륨을 동일량 넣어 산패균의 차단과 EC 저감을 이루고자 한다.

아황산류 외에 사용할 첨가물은 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조기술 개발> 내 ‘pH 조정 에 따른 발효경과 및 산패균 차단’의 결과를 토대로 젖산을 사용할 예정이며 이는 첨가물에 따른 발효 적성 및 유해물질 실험에서 다른 첨가물과 비교 실험군으로 첨가해보고자 한다.

(2) 유해물질 저감을 위한 담금 방식의 채택

(가) 발효 온도 설정

사과를 발효시키는 온도는 15~25℃로 시안배당체가 있는 사과 씨를 제거하여 파쇄, 착즙 혹은 메쉬 채로 발효시키는 것이 일반적이다. 시안배당체는 청산가리 혹은 EC로 진행 될 수 있으므로 씨(핵)째 제거하여 유해물질이 발생되지 않도록 한다. 발효온도 설정 시 변수로 작용할 것은 EC 및 전구체, 메탄올, 아세트알데히드가 있으나 발효 효모의 선발이 아닌 온도의 설정이므로 EC측을 제외한 메탄올과 아세트알데히드로 설정하였다.

메탄올은 중추신경계 억제를 일으키며, 호흡곤란, 개미산 산성혈증, 대사성 산성혈액, 시력을 잃거나 심각한 시력장애, 심지어는 사망까지 이르게 하는 독성을 가지고 있다. 에탄올보다 끓는점이 낮으며 무색투명한 물질로 과실 중의 펙틴이 펙틴분해효소에 의해 분해되어 생성되거나 일부 효모의 펙틴분해효소 생성에 의해 발생된다. 국내 주류의 기준은 과실주에서는 1,000ppm, 그 외의 주류에서는 500ppm 이하로 검출되어야 한다.

아세트알데히드는 국제암연구소에서 그 독성이 평가되어, 발암가능물질인 Group2B로 분류되어 있으며, 주류와 섭취 시 아세트알데히드는 발암물질인 Group 1A로 분류된다. 아세트알데히드의 끓는점은 22℃로 휘발성이 높으며 독특한 자극성 냄새가 나는 무색의 액체 혹은 기체이다. 알코올발효에 의해 자연 발생하는 부산물로 에탄올이 산화되어 생성되며, 발효 균주와 온도에 따라 생성량이 달라지는 특징을 가지고 있으며 증류 시 첫 분리 부분에서 농도가 높아진다.

본 실험을 통하여 각 온도별 발효경과를 확인하며 최종 발효일의 유해물질을 확인하여 진행할 발효온도를 설정하고자 한다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 부사를 구입하여 2회 세척 후 체에서 1시간 물기를 제거하였다. 씨와 꼭지 및 비가식 부위를 제거하고 작은 큐빅형태로 1차 분쇄를 실시한다. 믹서를 이용해 잘게 갈고 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 국내 대부분의 과실주에 사용하는 효모(DSM Food Specialties社, Fermivin)를 첨가하고 온도별(15℃, 20℃, 25℃)로 설정이 가능한 스테인레스 수욕조에 넣어 발효를 시작하였다.

그림 1-96. 실험방법



<결과 및 고찰>

pH의 경우 전체적으로 pH3.7~4.1 사이로 형성되며, 4일차에서 6일차 사이에는 발효온도가 낮을수록 pH 낮게 형성되는 구간이 발생하며 다른 구간에서는 상관관계가 보여 지지 않는다. 각 실험군에서는 표준편차는 오염으로 판단될 만큼의 오차가 발생되지 않아 아황산류에 의해 미생물에 의한 오염이 억제된 것으로 사료된다.

산도의 경우 전체적으로 상승하는 곡선을 형성하며, 4일차 이후부터는 발효온도가 높을수록 산도가 낮게 형성되는 것을 확인할 수 있다. 이는 발효온도에 의해 알코올 및 탄산가스 발생량이 변경되고 탄산가스와 폼온에 따라 휘발되는 산의 정도가 변하기 때문인 것으로 추측할 수 있다. 산도의 생성은 초기 산도에 비해 3~4 가량 높아지나 표준편차범위 및 현미경 검경으로 보아 오염된 실험군은 없다.

알코올의 경우 발효 경과일에 따라 발효온도가 높을수록 알코올함량이 높은 것으로 나타나며, 따라서 발효진행 속도도 발효온도가 높을수록 빠른 것으로 나타난다. 표준편차는 0.3도(v/v%)이하로 나타나며 발효온도20℃ 실험군과 발효온도25℃ 실험군은 초기 발효일차에서만 차이를 두며 9일차에 접어들수록 그 차이가 적게 나타난다.

당도의 경우 담금 직후에는 13.9 °Brix로 시작하여 발효 경과일에 따라 점차 감소하는 곡선을 형성한다. 발효온도가 낮을수록 감소하는 당도의 폭이 적으며 이는 알코올로 전환되는 속도가 적기 때문으로 사료된다. 발효온도20℃ 실험군과 발효온도25℃ 실험군은 5일차까지 격차를 보이거나 6일차부터는 0.2 °Brix 내로 격차를 좁혀가는 것을 볼 수 있다.

비중의 경우 당도곡선과 같이 발효경과 기간동안 감소하는 곡선을 형성하며, 알코올 곡선과 정확히 상반되는 그래프가 형성된다. 알코올 생성이 늦은 발효온도15℃ 실험군은 다른 두개의 실험군에 비해 현저히 낮은 감소를 보이고 있으며 장기간 발효 시 발효종료 시점에서의 값은 유사할 것으로 사료되나 다른 두개의 실험군이 발효종료한 시점까지만 분석하였다.

각 실험군에서의 9일차 아세트알데히드의 함량은 발효온도15℃ 실험군 3.43ppm, 발효온도20℃ 실험군 2.39ppm, 발효온도25℃ 실험군 1.02ppm로 나타났으며 발효온도가 높을수록 낮은 함량을 나타내었다. 이는 아세트알데히드의 낮은 끓는점에 의한 휘발이나 알코올의 생성 비율에 따른 산화에 의한 결과로 사료된다. 메탄올은 발효온도15℃ 실험군 0.68ppm, 발효온도20℃ 실험군 0.82ppm, 발효온도25℃ 실험군 1.39ppm로 나타났으며, 발효온도가 높을수록 메탄올이 높은 함량을 나타내었다.

전체적으로 발효온도15℃ 실험군은 알코올 수득량이 타 실험군에 비해 낮고 발효속도가 느려 선정에서 제외시키고, 남은 두 개의 실험군 중 상온에서도 휘발이 가능한 아세트알데히드를 선정항목에서 배제시킨 후 알코올 수득량이나 발효 속도에서 9일차 내에 큰 유의적 차이가 없으며 메탄올 생성량이 적었던 발효온도 20℃ 실험군을 발효온도로 설정하고자 한다.

그림 1-97. 사과 발효 시 온도별 발효경과(pH)

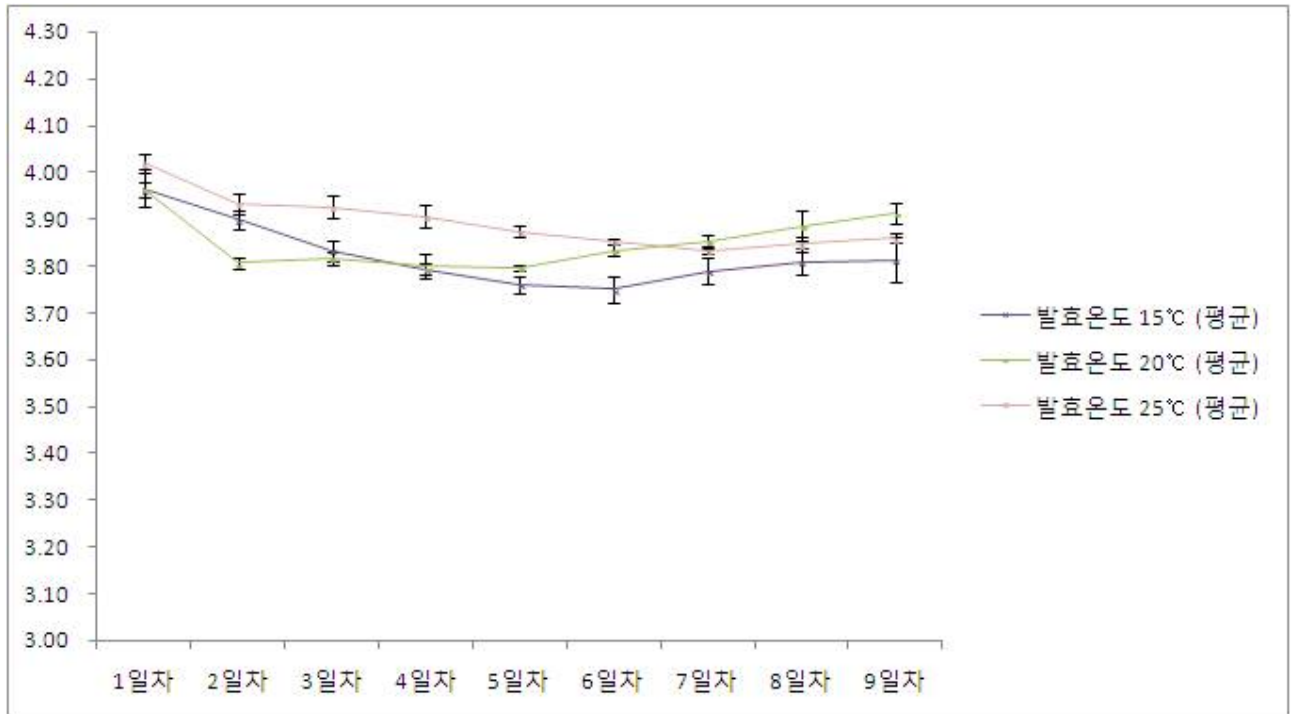


그림 1-98. 사과 발효 시 온도별 발효경과(산도(적정산도))

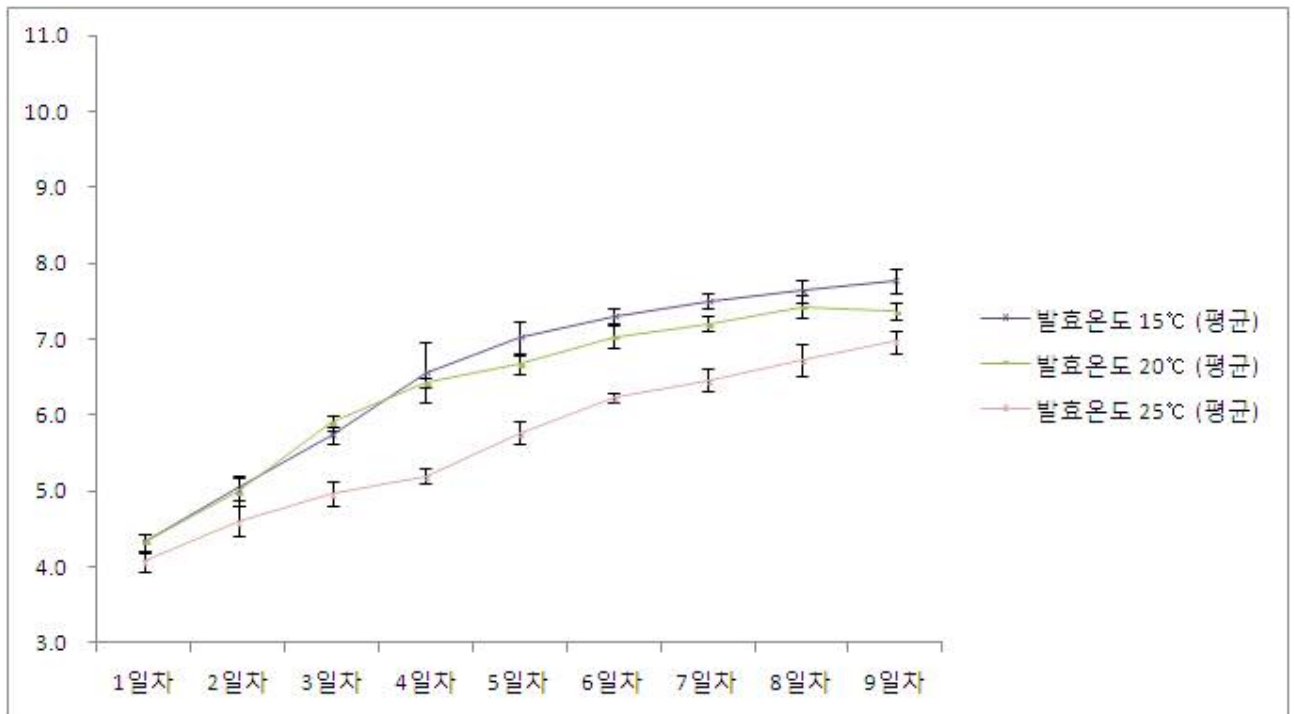


그림 1-99. 사과 발효 시 온도별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

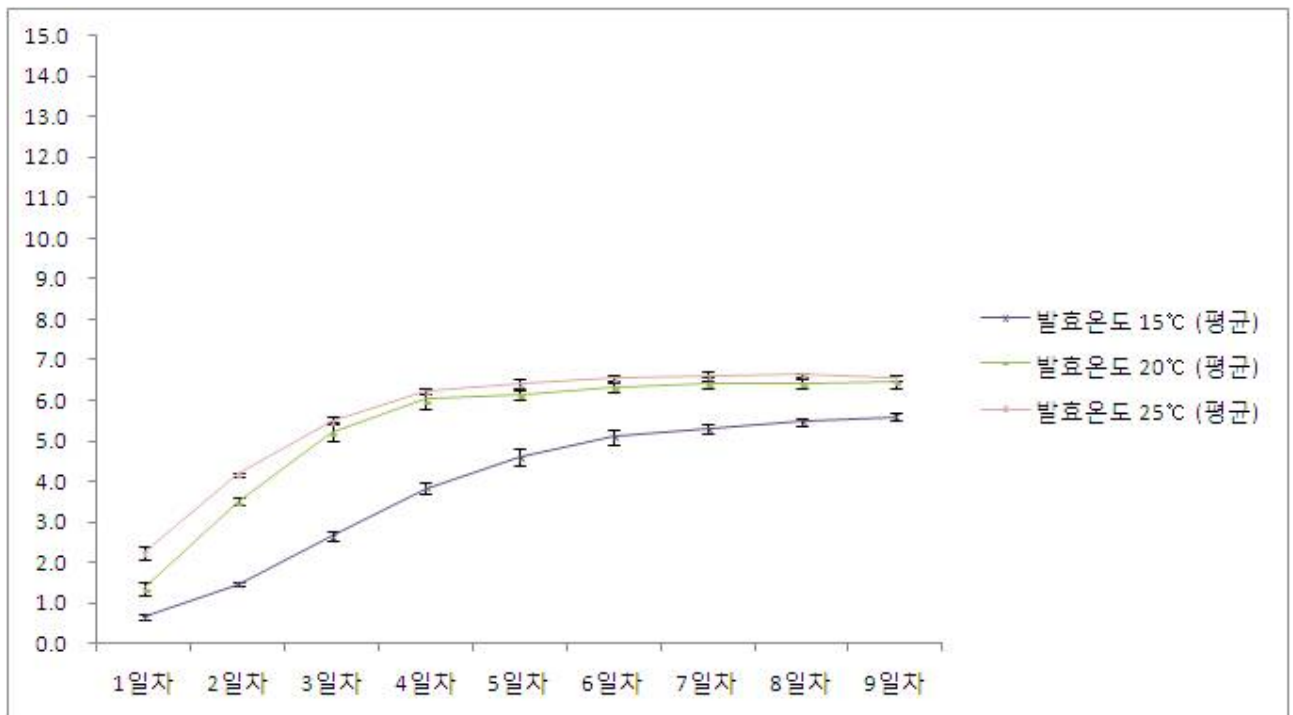


그림 1-100. 사과 발효 시 온도별 발효경과(당도(단위: °Brix))

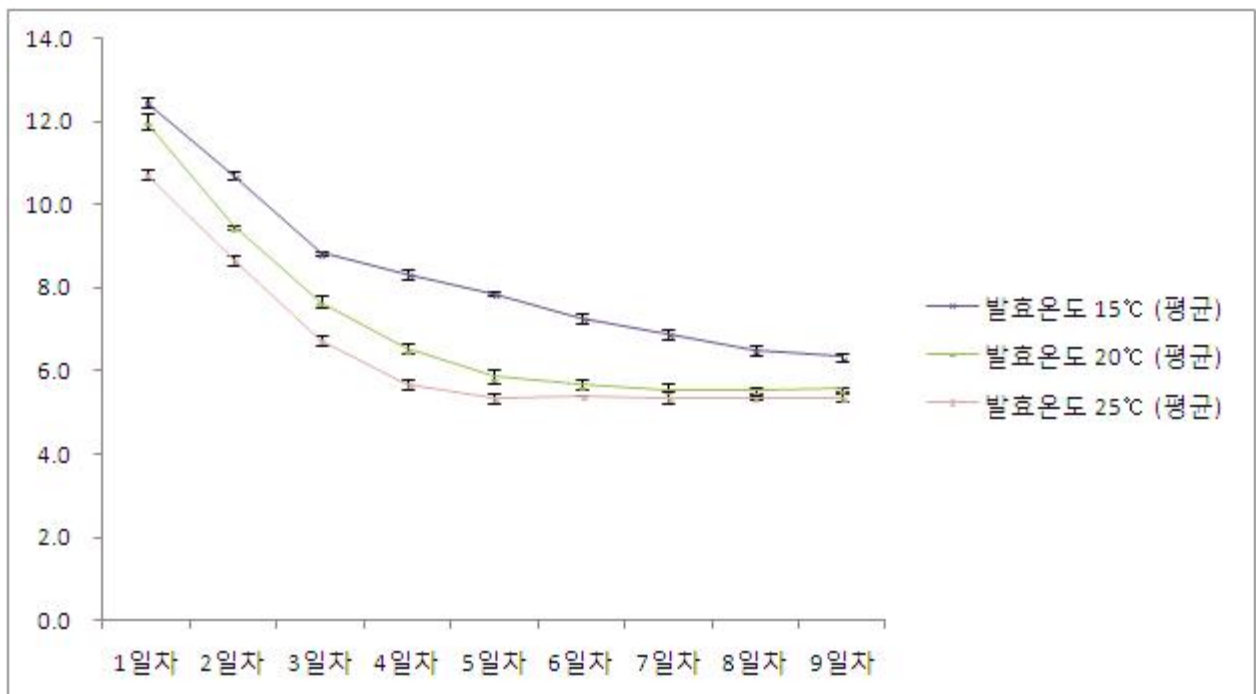


그림 1-101. 사과 발효 시 온도별 발효경과(비중)

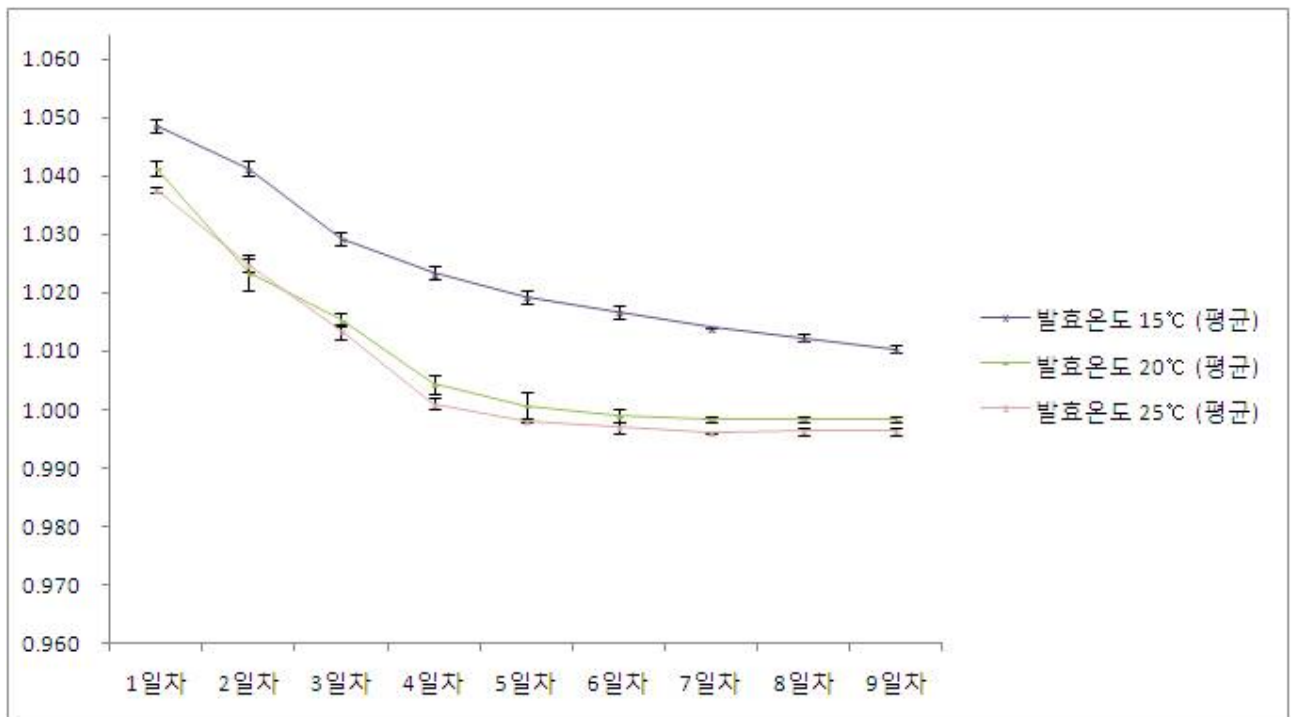
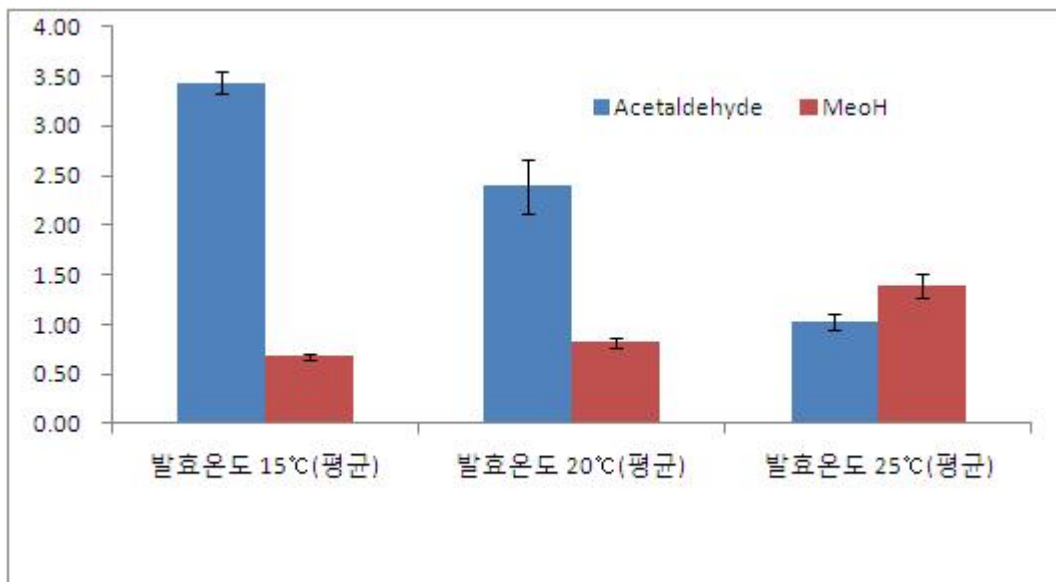


그림 1-102. 사과 발효 9일차 유해물질 분석(아세트알데히드, 메탄올(단위 : ppm))



(나) 첨가물에 따른 발효적성 및 유해물질 실험

과실 발효주에서 사용하는 첨가물의 형태로는 자연 유해미생물의 생육 억제제, 산화방지제, 보산과 보당으로 나누어질 수 있다. 과즙의 산화방지 및 유해미생물의 생육 억제제로 가장 일반적으로 사용되는 첨가물은 아황산류이다. 대개는 과쇄 혹은 압착 직후에 첨가하는 것으로써 주로 포도주의 갈변 및 산화를 방지하기 위해 사용되거나 과실이 가지고 있는 자연 유해미생물의 생육을 억제하기 위한 첨가물로 사용된다. 자연 미생물의 생육을 억제하기 위해 사용 시 미생물은 물론 유용 미생물의 생육도 억제할 수 있으며 과량의 아황산은 사람에게 코의 감각기관을 자극하여 재채기, 통증, 숨막힘과 같은 고통을 줄 수 있으므로 그 첨가량은 신중하게 결정해야한다. 2011년도 식약처의 주류별 EC저감화 방안에 따르면 발효 시 아황산 염류는 200ppm 이하 사용 시 EC생성을 억제한다는 내용이 있고 본 실험은 포도의 잡균 오염 방지를 위해 사용한 메타중아황산칼륨 100ppm 사용을 결정하였다. 과실의 보당은 과실 자체의 당이 적거나, 환경에 의해 미숙성 시 사용을 하는데, 이는 에탄올로 전환될 당이 부족하여 효모의 먹이나 영양원이 없어 이상발효가 되거나 최종 제품의 알코올 수율을 위해서 사용되며, 주로 설탕으로 실시하는데 이는 과즙의 산에 의하여 포도당과 과당으로 분해되기 때문에, 단당으로 보당 할 필요가 없기 때문이다. 과실 발효주 제조 시 과즙의 청징 및 착즙량을 늘리기 위하여 pectin 분해 물질인 pectinase를 첨가하는 경우가 있다. 그 사용량은 일본 포도주 제조기술(배상면주류연구소, 2002년, 배상면 저)에 따르면 100~200ppm을 사용하고 있는데 pectinase는 메탄올 생성을 유발 시킬 수 있으므로 본 실험에서는 그 사용량을 100ppm을 첨가하여 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)을 측정해 보았다. 또한 본 실험에서 자연 유해미생물의 생육 억제제와 산화방지제로는 메타중아황산칼륨을 사용하며 보당은 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>의 보당 농도와 동일하게 설탕을 사용하여 24 Brix로 맞추었으며 보산은 <안전한 쌀증류주(Blending Base)제조기술>의 ‘발효 시 발생하는 산패균의 원천적 차단’의 결과에 따라 pH 3.2로 젯산을 사용하여 보산을 하였다. 본 실험을 통하여 첨가물의 사용여부를 결정코자한다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 부사를 구입하여 2회 세척 후 체에서 1시간 물기를 제거하였다. 씨와 꼭지 및 비가식 부위를 제거하고 작은 큐빅 형태로 1차 분쇄를 실시한다. 믹서를 이용해 잘게 갈고 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 국내 대부분의 과실주에 사용하는 효모(DSM Food Specialties社, Fermivin)를 첨가하고 표 1-73. 첨가물 처리에 따른 담금방법에 따라 첨가물 투입량을 설정하고 20℃ 스테인레스 수욕조에 넣어 발효를 시작하였다.

표 1-73. 첨가물 처리에 따른 담금방법

	첨가물			
	K ₂ S ₂ O ₅	Latic acid	Pectinase	보당
#1	100ppm			
#2	100ppm	pH 3.2		
#3	100ppm		100ppm	
#4	100ppm			24 Brix [°]
#5	100ppm		100ppm	24 Brix [°]

<결과 및 고찰>

pH의 경우 발효경과일 초기에 다소 감소하다가 점차적으로 상승되는 동일한 곡선을 형성하고 있으며 각 실험군은 크게 3개의 군집형태로 나타난다. 젖산으로 보산한 #2 실험군이 가장 낮은 pH를 형성하며 펙티나아제를 첨가한 #3과 #5 실험군이 pH 3.4~3.7 가량으로 형성되며, 메타중아황산칼륨을 처리한 #1, #4 실험군이 pH 3.7~4.0으로 가장 높은 pH를 형성하였다. 보당 여부에 따라서는 pH의 변화가 크지 않으며 보산과 펙티나아제 처리에 따라 pH 형성이 변화되는 것으로 나타났다. 각 실험군 모두 표준편차는 0.1 이하로 나타났으며 현미경 검경 시에도 산패균에 의한 오염은 발견되지 않았다. 이는 pH에 의한 원천적 산패균의 차단 외에도 아황산류에 의한 산패균의 억제를 확인할 수 있는 근거가 될 수 있다.

산도의 경우에도 크게 각 실험군을 3개로 분류할 수 있으며, 곡선의 형태에 따라서는 두가지로 나눌 수 있다. 군집의 구분으로는 pH와 동일하게 보산을 한 #2 실험군, 펙티나아제를 첨가한 #3, #5실험군, 보산과 펙티나아제 처리를 안한 #1, #4 실험군 세 가지로 분류로 나누어지며 보산을 한 #1이 발효경과일 동안 가장 높은 산도를 형성하며, 펙티나아제를 첨가한 #3, #5 실험군이 발효경과일동안 산도 5~9로 두번째 높은 분류로 나뉘고 #1과 #4가 가장 낮은 산도를 형성하는 실험군으로 나누어진다. 보산을 진행한 #2 실험군의 경우 젖산의 첨가에 따른 상승이 그 요인이며 #3, #5실험군은 펙티나아제 처리에 의해 산생성이 유도된 것으로 여겨진다. 곡선의 형태에 의한 분류로는 #2 실험군과 나머지 실험군으로 크게 나누어지는데 #2 실험군의 경우 산도가 감소하다가 발효경과일 5일차를 기점으로 상승하게 된다. 이는 젖산에 의한 pH 조정에 따라 과량의 젖산이 투입되어 유기산의 생성이 억제되었다가 5일차 이후부터 생성이 진행된 것으로 사료된다. #2를 제외한 실험군은 모두 발효경과일에 따라 상승하는 곡선을 형성하게 된다. 각 실험군의 표준편차는 산도 0.5 이하로 나타나며 현미경 검경 상 산패균에 의한 산도 증가는 없는 것으로 관찰되었다.

알코올의 경우 발효경과일 동안 모두 증가하는 곡선을 형성하였으며 펙티나아제 처리를 한 #3과 #5는 대조군인 #1과 #5에 비해 전 발효 기간에서 알코올 생성량이 높지 않거나 유의적 차이가 없는 것으로 나타난다. #2 젖산을 첨가한 실험군에서는 2일차동안 알코올 발효가 진행되지 않았는데 이는 과량의 젖산의 투입에 의해 발효효모(DSM Food Specialties社, Fermivin)가 알코올 생성에 주춤했던 것으로 사료된다. 하지만 7일차 이후부터는 대조군인 #1에 비해 더 높은 알코올 생성을 보여주고 있다. 보당을 한 실험군인 #4, #5의 경우 보당을 하지 않은 대조군 #1, #3에 비해 약 4~5도(v/v%)가량 높은 알코올 생성을 보여주며 모든 실험군의 표준편차는 젖산을 첨가한 실험군을 제외하고 0.5도(v/v%)이하로 나타났다. 젖산을 첨가한 실험군은 발효 3일차 표준편차가 0.5도(v/v%)로 나타났는데 오염에 의한 것이 아니며 발효 초기 효모의 start에 의거한 내용으로

보여진다.

당도의 경우 곡선의 형태는 산도와 pH처럼 크게 3가지로 패턴으로 분류되며 펙티나아제를 첨가한 실험군인 #3과 #5가 대조군인 #1과 #4에 비해 다소 느리게 감소하는 것을 확인할 수 있다. 보산을 한 #2 실험군의 경우 2일차까지 알코올 발효가 진행되지 않아 감소하지 않고 유지가 되며 3일차부터 알코올 생성과 반비례형태로 감소하는 것을 볼 수 있다. 하지만 최종 당도에서는 대조군인 #1과 비교 시 0.6 °Brix 밖에 차이가 나지 않는 것으로 나타나며 젖산의 과량 투입으로 인한 효모 start의 저해가 주요 요인으로 보여진다. 각 실험군의 일자별 당도 분석결과는 표준편차가 0.5 Brix ° 이하로 나타나 안정적으로 보이나 보당을 한 것과 보산을 한 실험군이 그렇지 않은 실험군에 비해 표준편차가 다소 높은 것을 볼 수 있다.

비중의 경우 각 실험군 모두 감소하는 곡선을 형성하나 펙티나아제를 첨가한 #3, #5 실험군이 대조군인 #1과 #4에 비해 발효 1일차에만 더 낮은 비중을 형성하고 이후에는 더 높은 비중을 형성하는 것을 볼 수 있다. 알코올 곡선과 반비례 형태로 진행되는 것은 당도가 더 높은 일치율을 보이며 이는 굴절당도계가 100g 용액 중에 있는 자당의 g수를 빛의 굴절로 나타내는데 기인할 수 있다.

알데히드의 경우 각 실험군의 측정치는 #1부터 #5까지 순서대로 2.39ppm, 2.07ppm, 1.32ppm, 1.00ppm, 1.16ppm으로 나타났으며 보산을 실시한 #2가 대조군인 #1에 비해 다소 낮게 나타났고 보당을 하지 않고 펙티나아제를 처리한 #3이 #1 대조군에 비해 낮게 나타났다. 보당을 한 경우에는 반대로 펙티나아제 처리한 #5가 #4에 비해 높게 나타났으며 아세트알데히드가 가장 낮게 검출된 실험군은 보당을 하고 펙티나아제를 처리하지 않은 #4 실험군이다.

메탄올의 경우 각 실험군의 측정치는 #1부터 #5까지 순서대로 0.82ppm, 1.03ppm, 0.65ppm, 0.74ppm, 1.22ppm이며, 보산을 한 #2의 실험군이 대조군 #1에 비해 높게 나타났다. 펙티나아제를 처리하고 보당을 하지 않은 #3의 경우 0.65ppm으로 가장 낮게 나타났으며 대조군 #1에 비해 다소 낮게 나타났다. 보당을 한 경우 펙티나아제를 처리한 #5가 1.22ppm으로 가장 높게 나타났으며 대조군인 #4에 비해 높게 나타났다. 펙티나아제의 처리 여부에 따라서는 보당을 한 경우에만 예상했던 것과 같이 높게 나타났으나 보당을 하지 않은 경우에는 펙티나아제를 처리한 경우 더 낮게 나타나 당에 의한 연관성이나 발효속도에 의한 변수가 적용한 것으로 여겨진다.

전체적으로 알코올 수득량과 유해물질 생성량을 비교 시 보당을 한 실험군 #4가 대조군인 #1에 비해 아세트알데히드와 메탄올 함량이 적게 나타나는 것을 확인할 수 있었고 #3과 비교 시 메탄올의 함량은 0.01ppm의 유의적 차이가 발생하나 아세트알데히드가 더 적게 생성되며 알코올 수득면에서 우위를 차지하는 #4를 첨가물의 기준으로 설정한다.

그림 1-103. 사과 발효 시 첨가물별 발효경과(pH)

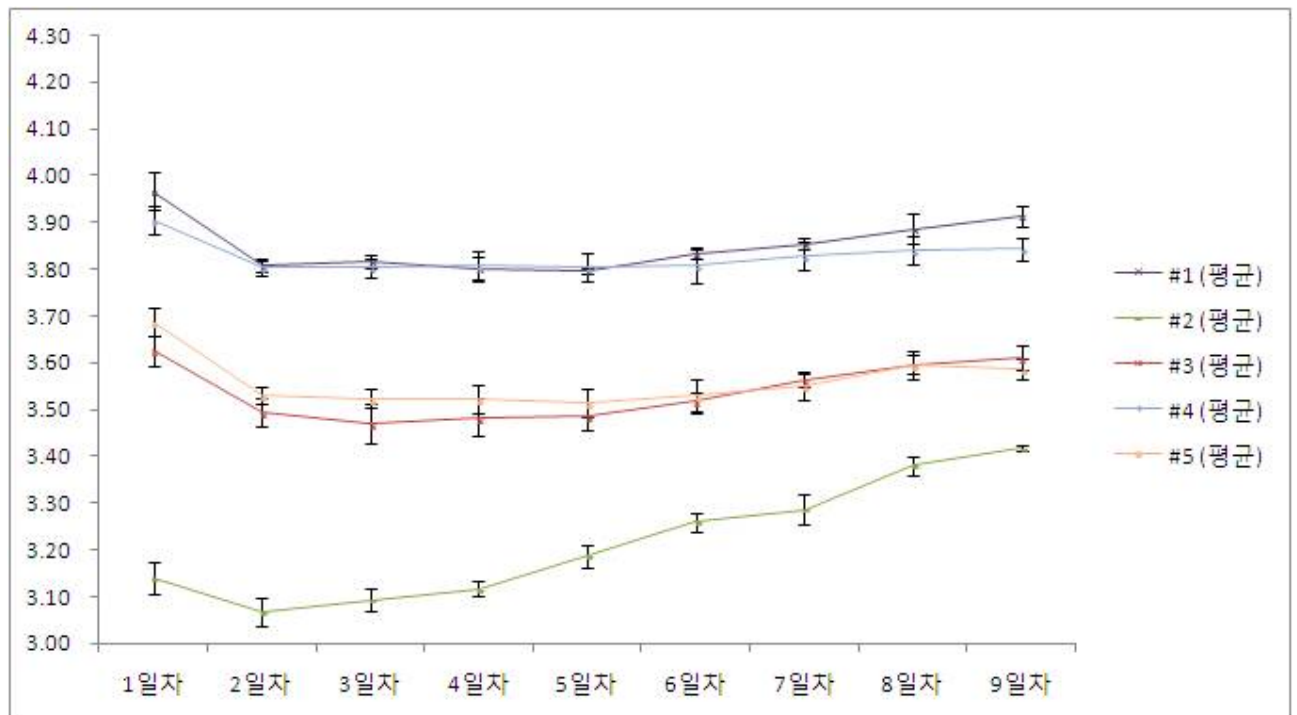


그림 1-104. 사과 발효 시 첨가물별 발효경과(산도(적정산도))

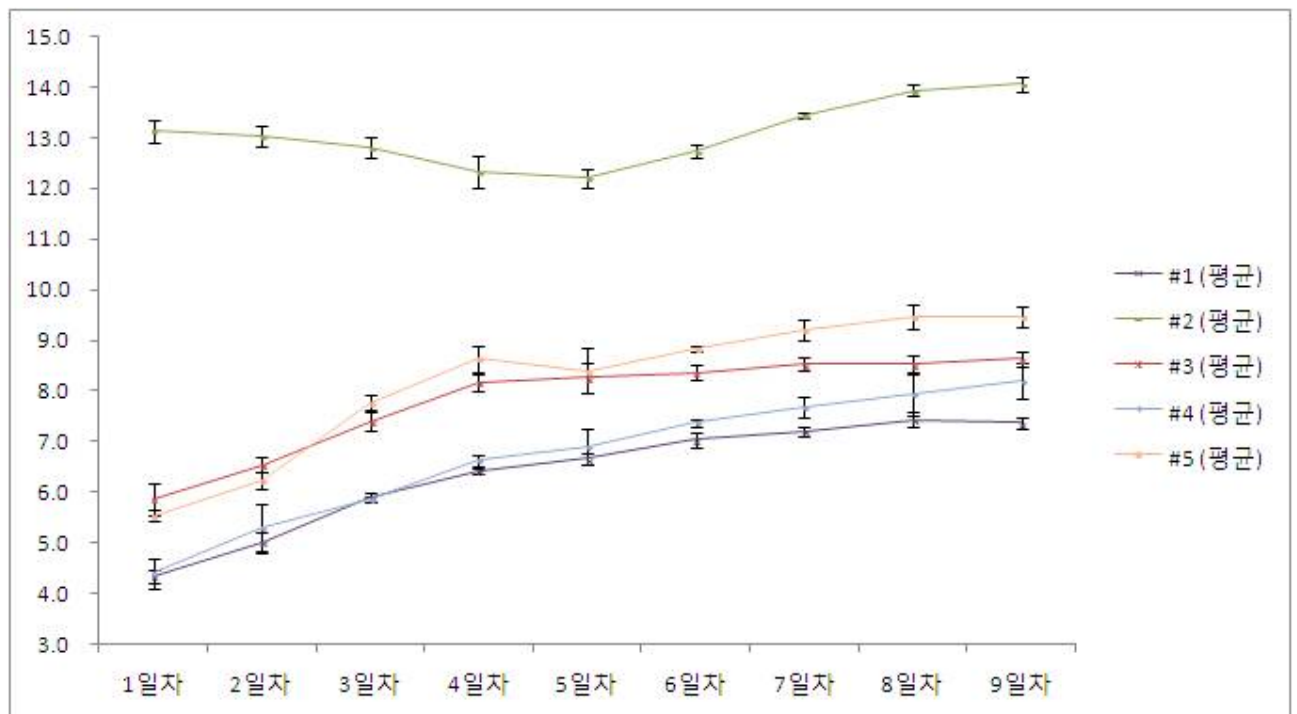


그림 1-105. 사과 발효 시 첨가물별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

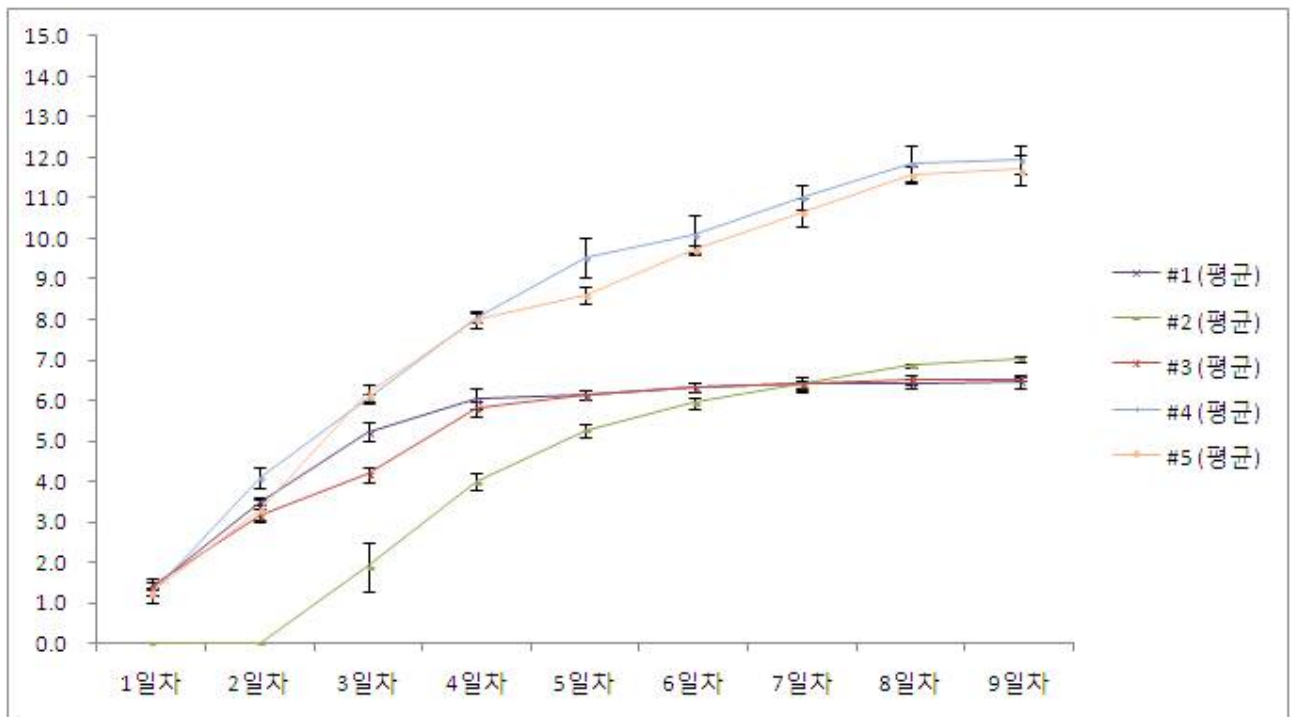


그림 1-106. 사과 발효 시 첨가물별 발효경과(당도(단위: °Brix))

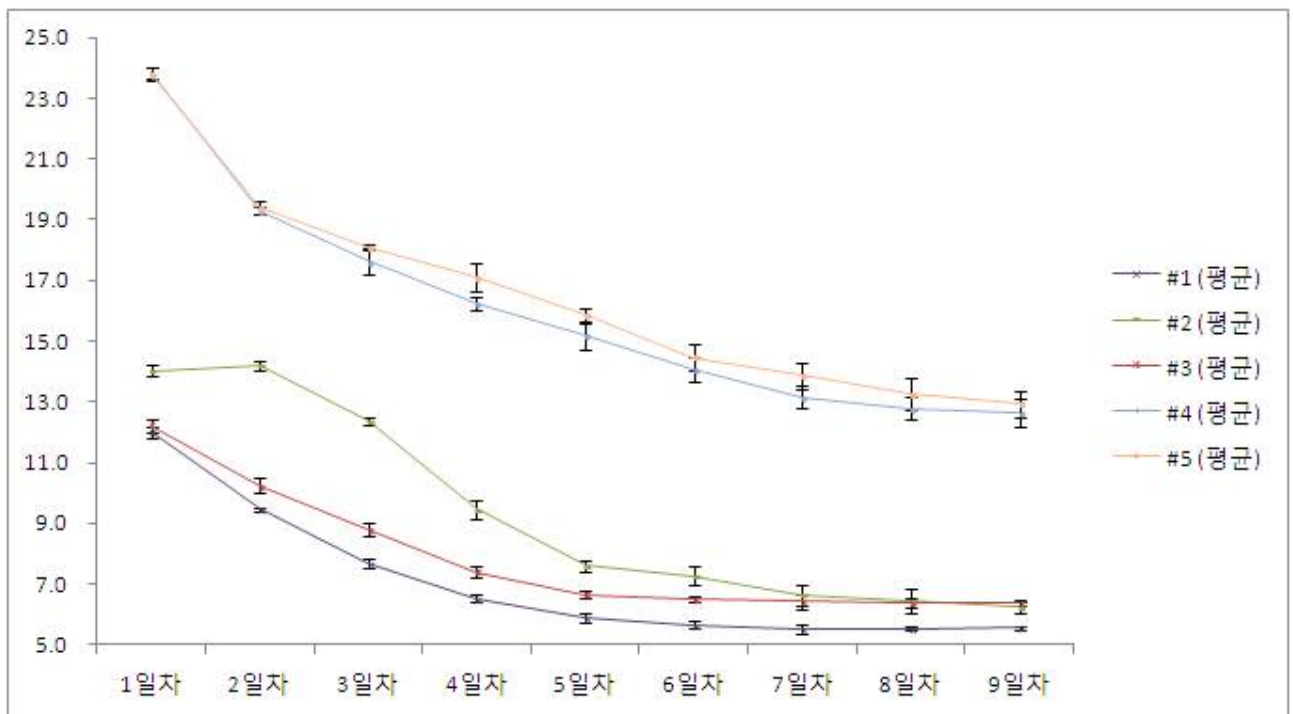


그림 1-107. 사과 발효 시 첨가물별 발효경과(비중)

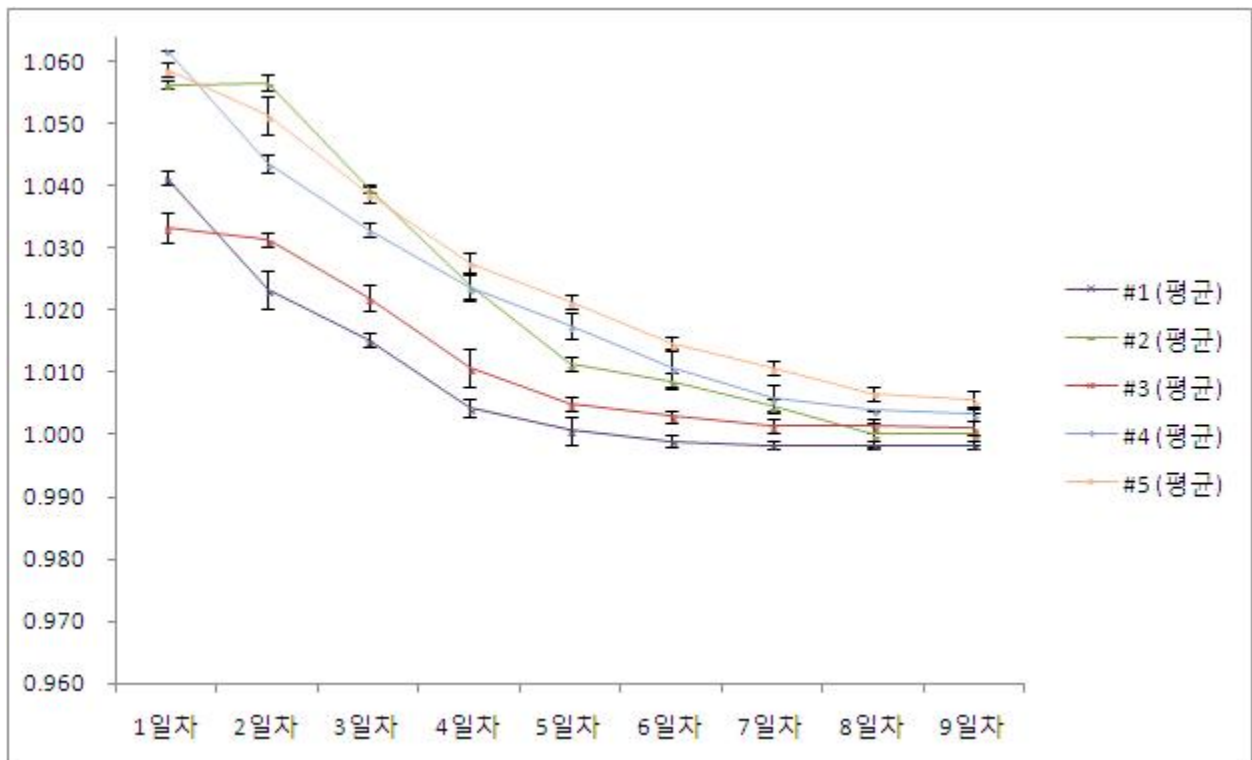
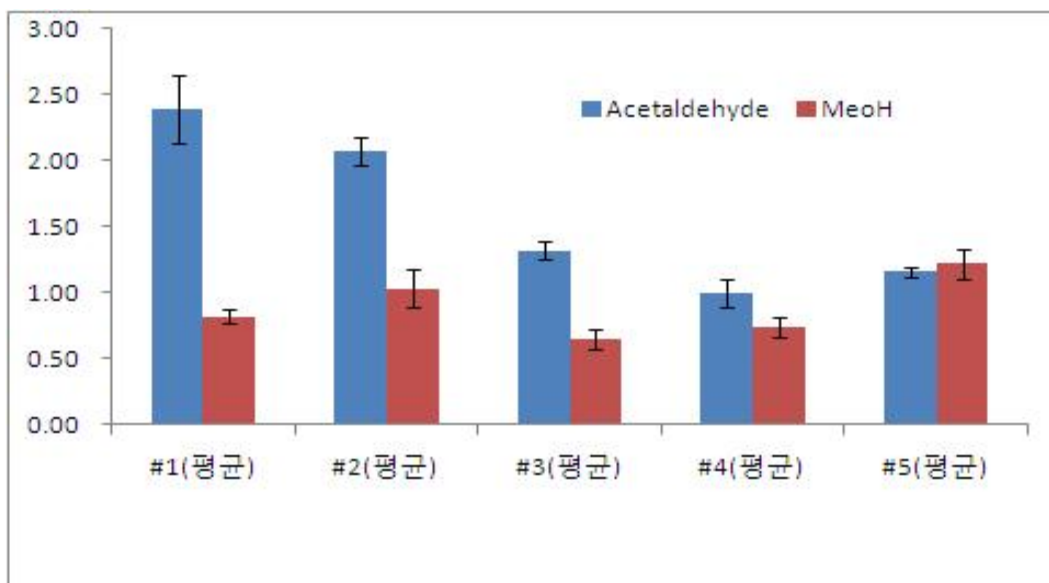


그림 1-108. 사과 발효 9일차 첨가물별 유해물질 분석(아세트알데히드, 메탄올(단위 : ppm))



(다) 정상과와 미숙성과의 발효 실험

현재까지 정상과를 사용하여 발효온도와 첨가물에 따른 실험을 진행하였다. 미숙성과실은 앞에서 언급한 것과 같이 환경적 요인에 의해서 주로 발생되므로 구매시기가 일정하지 않다. 미숙성과실이 발생하기 전 정상과를 사용하여 패턴이나 유해물질을 확인하여 전처리 기술을 확보하고 미숙성과실 발생 후 적용하여 발표 패턴 등의 이상 유무를 관찰하고자 한다.

금년도에는 태풍 등의 피해가 적어 낙과를 구매할 수 없었고, 본 실험에 사용할 미숙성과실은 경상북도 문경의 폐전하는 농가의 사과를 숙성 전 과실로 구매하여 사용하였다.

그림 1-109. 폐전하는 농가



그림 1-110. 미숙성과 입고 사진



<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 정상과(품종:부사)와 폐전하는 농가의 미숙성과(품종:부사)를 구입하여 2회 세척 후 체에서 1시간 물기를 제거하였다. 씨와 꼭지 및 비가식 부위를 제거하고 작은 큐빅 형태로 1차 분쇄를 실시한다. 믹서를 이용해 잘게 갈고 미생물

오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 국내 대부분의 과실주에 사용하는 효모(DSM Food Specialties社, Fermivin)를 첨가하고 각 실험군의 분쇄액의 당도를 측정하여 설탕으로 24 °Brix를 맞추어 20°C 스테인레스 수조에서 발효를 시작하였다.

표 1-74. 정상과와 미숙성과 담금방법

	사과당도 (brix°)	사과 용량 (kg)	효모 (g)	$K_2S_2O_5$ (g)	설탕첨가 (g)
정상과	13.9	10	20	1	1329
미숙성과	12.6	10	20	1	1500

<결과 및 고찰>

pH의 경우 전체적으로 감소하였다가 소폭 상승하여 평행을 유지하는 곡선을 형성한다. 각 실험군의 발효경과일동안의 pH는 표준편차 0.1 내에서 이루어지며 안정적으로 발효가 이루어졌다. 정상과의 표준편차 내에 대부분의 미숙성과 분석결과가 포함되나 초기 pH는 미숙성과가 더 낮으며 발효 후반으로 갈수록 pH가 정상과에 비해 다소 높게 형성된다. 두개의 실험군 모두 현미경 검경 시 산패균에 의한 오염은 발견되지 않았으며 이는 아황산류에 의한 처리 때문으로 사료된다. 산도의 경우 전체적으로는 상승하는 곡선을 형성하며 추세선을 그릴 시 정상과에 비해 미숙성과의 곡선이 넓은 범위의 오차를 보이게 되는데 이는 유기산의 조성이 변화하는 것에 기인할 수 있다. 최종 산도의 경우 정상과는 산도 8.2, 미숙성과는 7.6가량을 형성하며 미숙성과는 초기의 정상과에 비해 높은 산도에 비해 최종 산도에서 다소 낮은 수치를 기록하였다.

알코올의 경우 전체적으로 상승하는 곡선을 형성하며 정상과에 비해 미숙성과가 5일차부터 격차를 보이며 상승하였지만 표준편차 상에 유의적 차이가 없이 상승한 것으로 나타난다. 다소 높은 수치를 기록하게 된 사유는 첨가된 설탕의 양과 관계가 있어 보이나 유의적 차이가 없어 우위에 있다고 할 수 없다.

당도의 경우 알코올 곡선과 거의 정확히 반비례 형태로 나타나며 최종 당도에서 미숙성과가 정상과에 비해 다소 낮게 형성되었다. 발효 경과일동안 각 실험군의 표준편차는 0.5 °Brix 이하로 형성되었으며 감소하는 곡선을 형성한다.

비중의 경우 발효 경과일 초기에 가장 큰 차이를 나타내었으며 이는 과실의 표면이나 밀집도가 영향을 끼친 것으로 사료된다. 정상과는 발효 경과일동안 지속적으로 감소하는 곡선을 형성하였으며 미숙성과는 3일간 비중이 높아 유지되다가 감소하는 경향을 보이게 된다. 알코올의 생성과 당도의 결과를 종합하였을 때 미숙성과의 초기 3일간 발효가 진행되지 않은 것이 아니라 수분이나 밀집도에 의한 영향으로 비중의 감소가 더디게 진행된 것으로 사료된다.

발효 9일차 알데히드의 경우 정상과는 1.0ppm, 미숙성과에서는 그보다 다소 낮게 0.9ppm으로 나타났으나 표준편차 내에서는 유의적 차이가 없는 것으로 측정되었다. 메탄올의 경우 정상과는 0.74ppm, 미숙성과에서는 0.83ppm으로 미숙성과가 정상과에 비해 다소 높게 형성되었으며 유의적 차이가 크지 않으나 효모의 펙틴분해효소 작용이나 설탕의 첨가량이 미치는 영향이 있을 것으로 판단된다.

전체적으로 비중과 메탄올 함량을 제외하고는 정상과와 미숙성과의 차이가 크게 나타나지 않으며 현미경 검경 상 산패균에 의한 오염이 관찰되지 않는바 설정한 온도와 첨가물을 유지하여도

좋다고 판단된다. 다만 낙과의 경우 2차 오염 등이 예측될 수 있으므로 원료 처리에 신중을 기해야 하겠다.

그림 1-111. 정상과와 미숙성과 발효경과(pH)

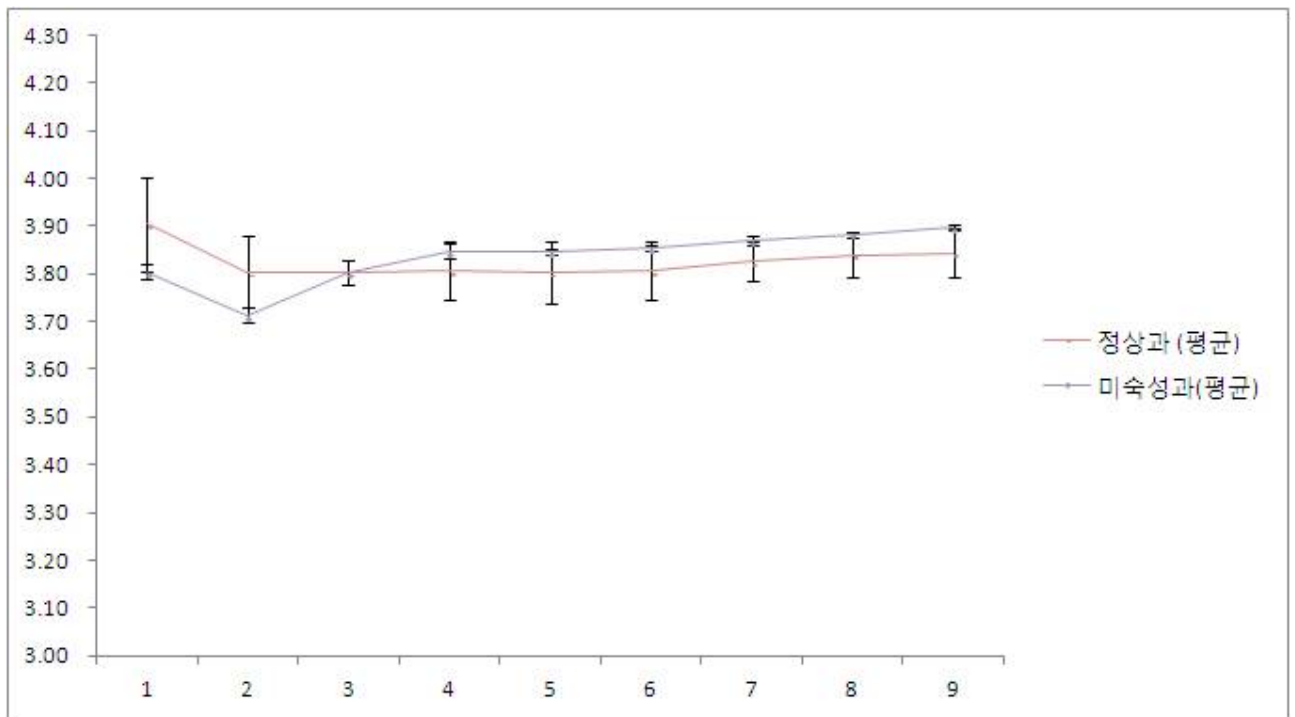


그림 1-112. 정상과와 미숙성과 발효경과(산도(적정산도))

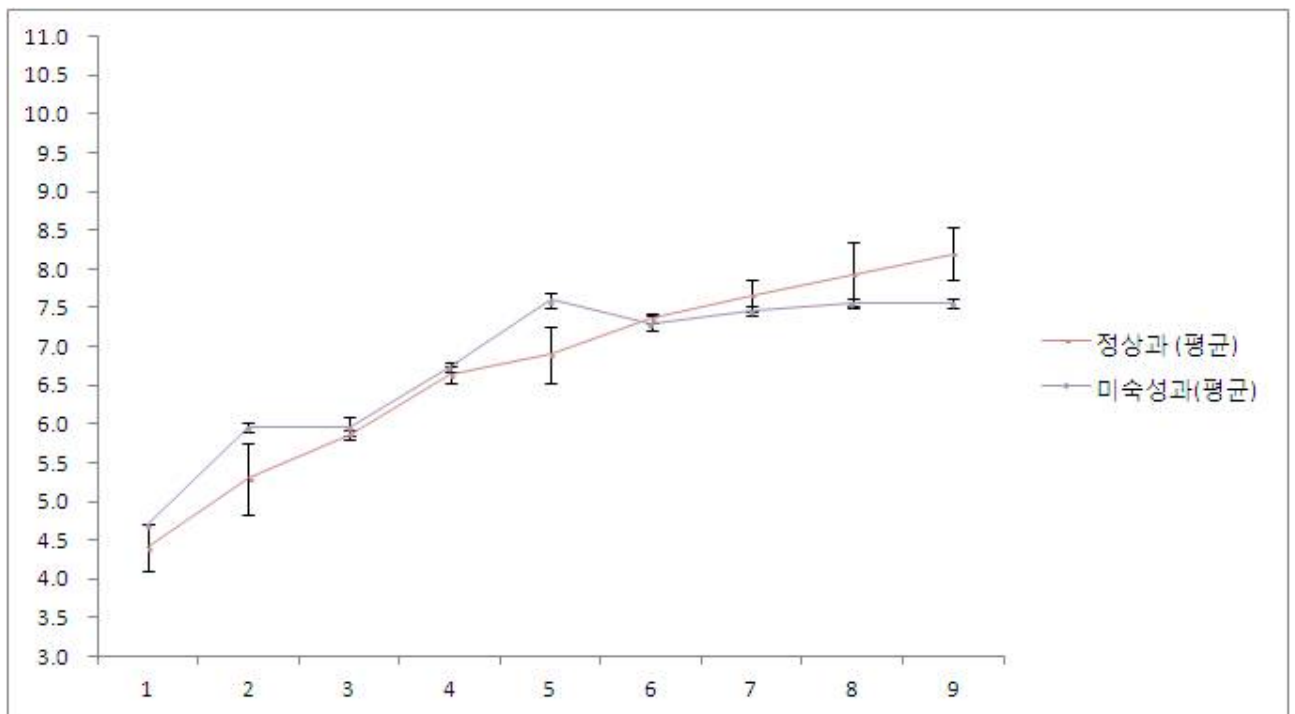


그림 1-113. 정상과와 미숙성과 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

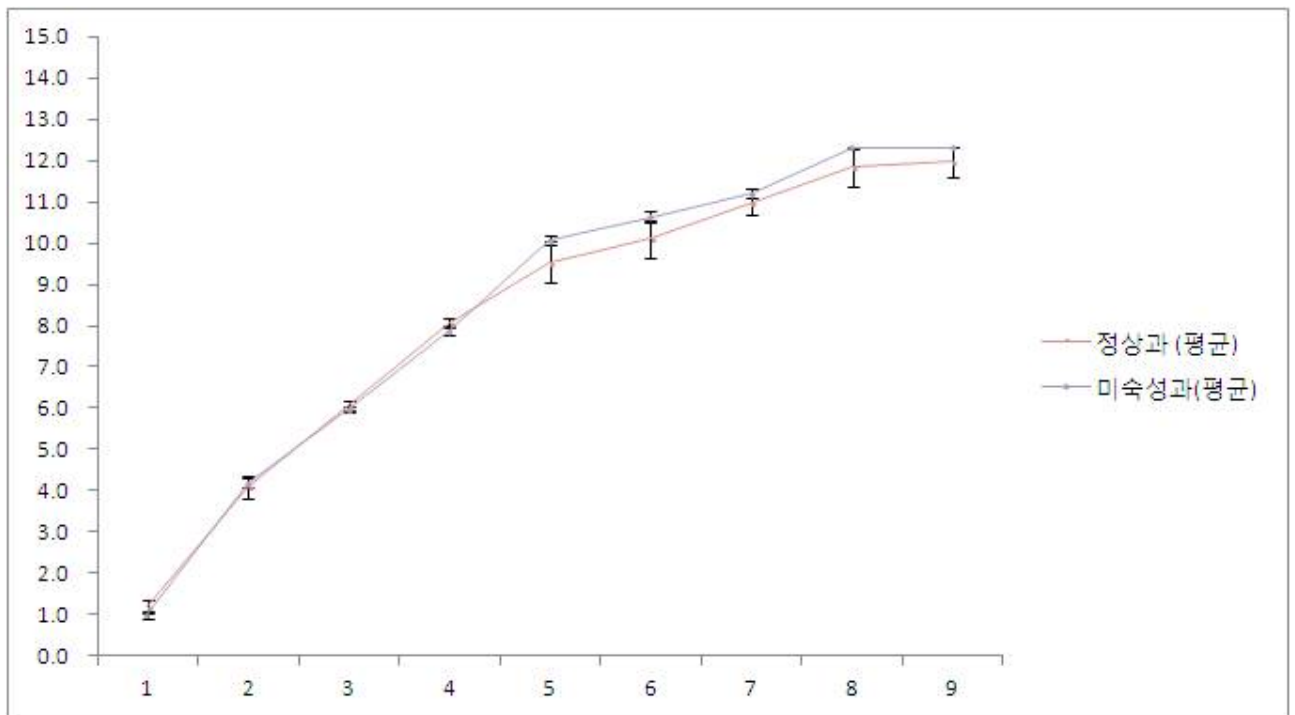


그림 1-114. 정상과와 미숙성과 발효경과(당도(단위: °Brix))

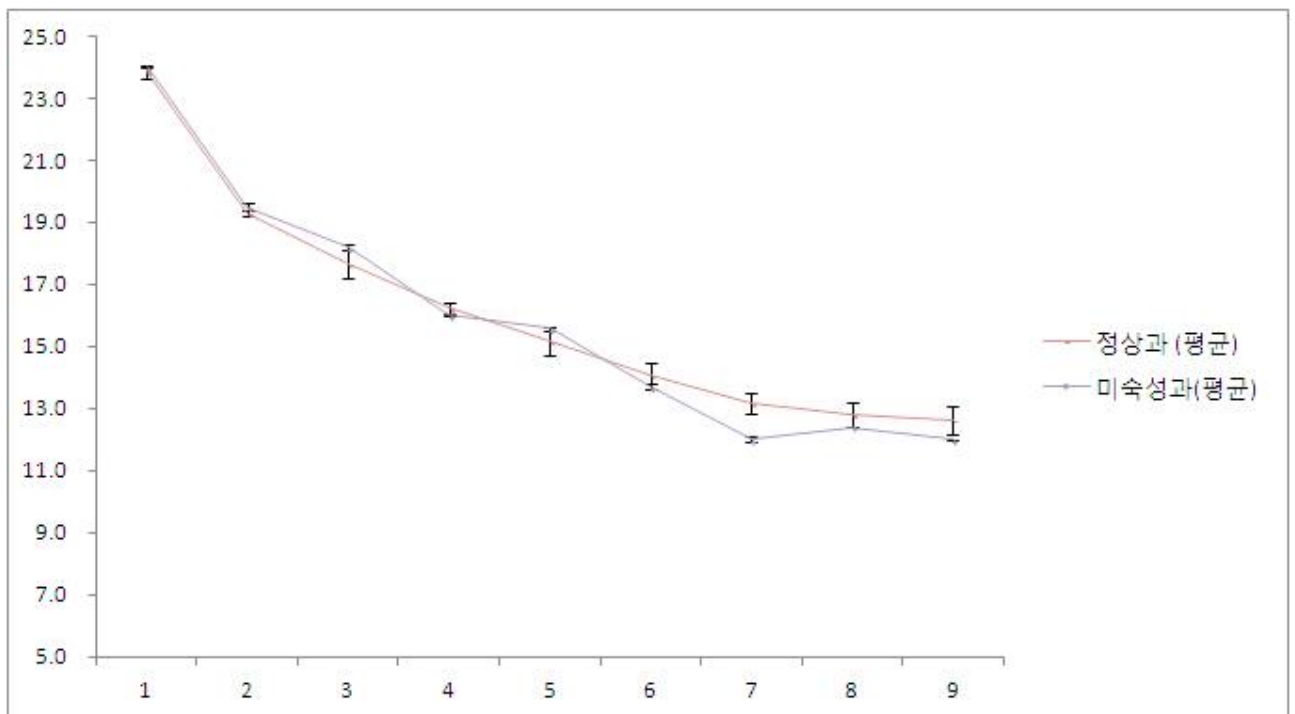


그림 1-115. 정상과와 미숙성과 발효경과(비중)

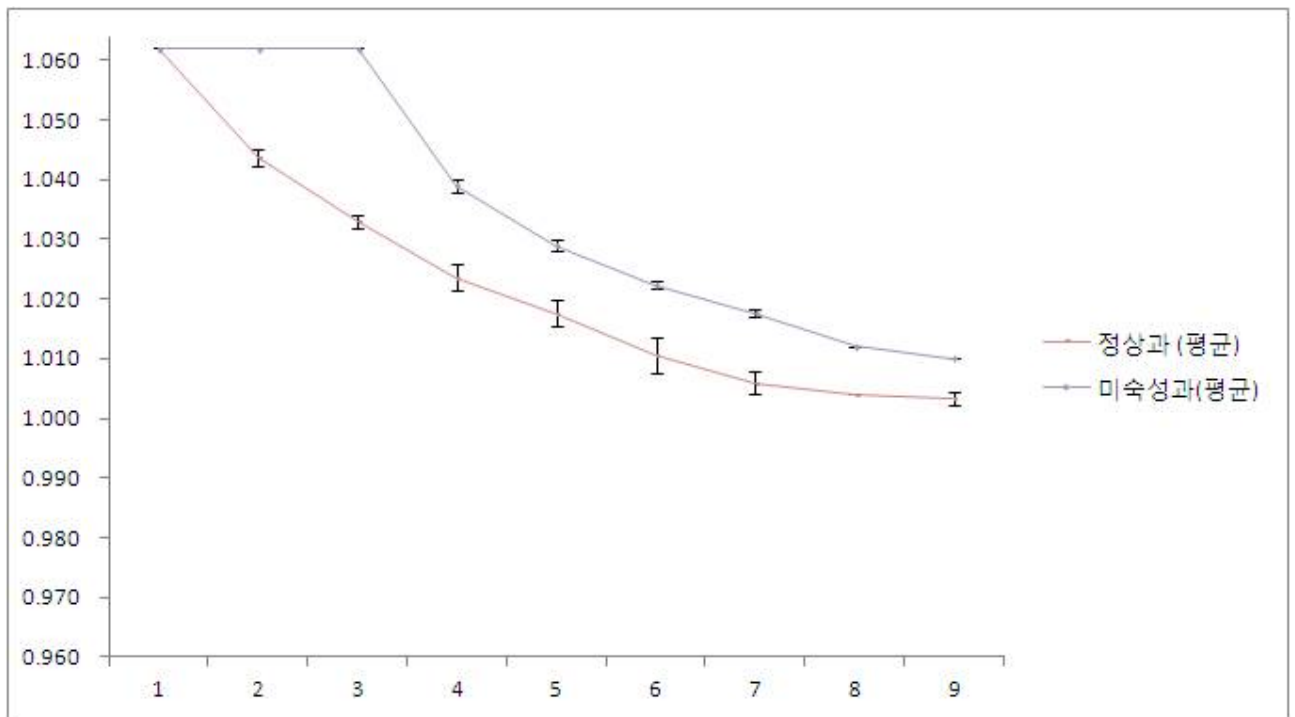
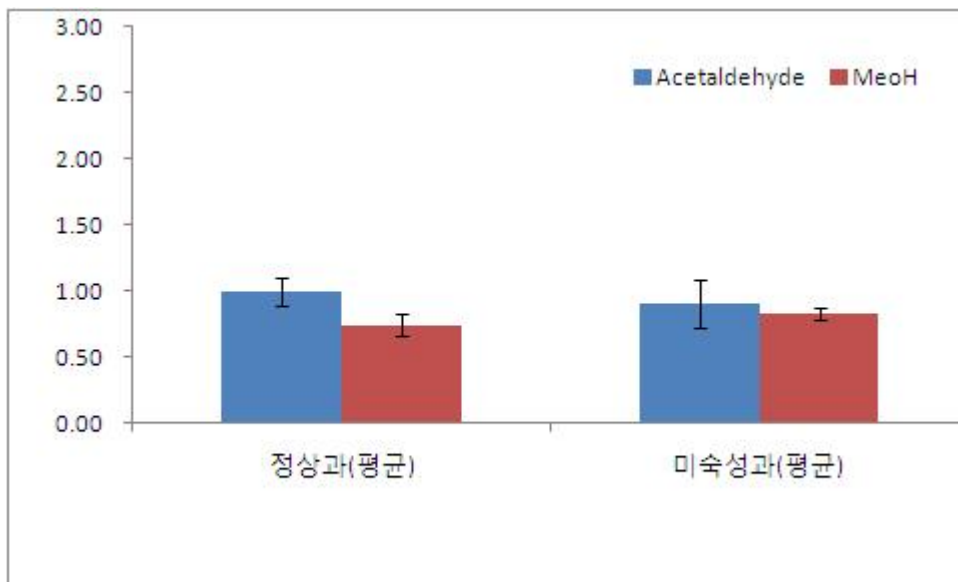


그림 1-116. 발효 9일차 정상과와 미숙성과의 유해물질 분석(아세트알데히드, 메탄올(단위 : ppm))



나. 유해물질 저감을 위한 효모선발

지금까지 정상과와 미숙성과의 발효온도와 첨가물에 대한 설정을 진행하였다. 지금까지 유해물질에 대한 기준은 메탄올과 아세트알데히드로 설정하였으나 <안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조기술 개발>내에서 기술한 것과 같이 효모선발의 조건이 첫째, 유해물질(특히 EC) 저감을 위한 효모여야 하므로 발효 및 증류주 내에서 EC 및 전구체에 대해 분석하고 이를 토대로 <안전한 미숙성사과 증류주(Blending Base) 제조기술 개발>에서의 효모선발을 진행하고자 한다.

(1) 1차 효모 선발

사용할 효모의 1차 선발 조건은 우선순위부터 첫째, 유해물질(특히 EC) 저감을 위한 효모여야 하며, 둘째 과실주 등에서 유해물질 저감에 사용하는 효모, 세번째 상업적으로 구매 가능한 효모, 네 번째 증류주용 전용 효모이다.

본 과제의 1차 선발한 효모는 다음 표 1-75.과 같으며 과실에서 사용할 Control 효모는 DSM Food Specialties社, Fermivin이며, 본 실험에서 곡물발효주의 control이었던 S.I.Lesaffre社, La Parisienne은 제외시킨다.

표 1-75. 1차 선발 효모

name	종	속	형태	nitrogen needs	H2S production 60ppm	선정사유
Lalvin 71B	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	very low	EC 저감용효모(식약처권고)
Lalvin BM4X4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High		상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin Clos	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모			상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin Cy3079	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High	low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin DV10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>bayanus</i>	건조효모	low	low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin EC1118	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>bayanus</i>	건조효모	low	very low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin ICV D254	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin ICV D47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	very low	과실주용 유해물질 저감효모
Lalvin R-HST	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		low	상업적으로 구매가능한 효모
Lalvin V1116 K1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모		very low	상업적으로 구매가능한 효모
BDX	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	medium-High	high	상업적으로 구매가능한 효모
CM 796	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low		상업적으로 구매가능한 효모
Eau de vie	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	액상효모			증류주용 효모
LA PARISIENNE	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모			국내 곡물발효주 Standard 효모
Fermivin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	low	국내 과실주 Standard 효모
Premier cuvee	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>cerevisiae</i>	건조효모	low	low	EC 저감용효모(식약처권고)

(2) 효모별 발효특성

1차 선발한 효모 15종을 사용하여 설정한 발효온도와 첨가물 조건을 적용시켜 발효경과를 확인하고 유해물질을 확인하여 <안전한 미숙성사과 증류주 제조기술 개발>에서의 최적의 효모를 선정하고자 한다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 폐전하는 농가 1곳에서 미숙성과(품종:부사)를 구입하여 2

회 세척 후 체에서 1시간 물기를 제거하였다. 씨와 꼭지 및 비가식 부위를 제거하고 작은 큐빅 형태로 1차 분쇄를 실시한다. 믹서를 이용해 잘게 갈고 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 1차 선발한 효모 15종을 각각 첨가하고 각 실험군의 분쇄액의 당도를 측정하여 설탕으로 24 °Brix를 맞추어 20°C 스테인레스 수조에서 발효를 시작하였다.

표 1-76. 안전한 미숙성사과 증류주 제조를 위한 효모별 담금방법

효모	사과당도 (brix°)	사과 용량 (kg)	효모 (g)	$K_2S_2O_5$ (g)	설탕첨가 (g)
Lalvin 71B	12.6	10	20	1	1500
Lalvin BM4X4	12.6	10	20	1	1500
Lalvin Clos	12.6	10	20	1	1500
Lalvin Cy3079	12.6	10	20	1	1500
Lalvin DV10	12.6	10	20	1	1500
Lalvin EC1118	12.6	10	20	1	1500
Lalvin ICV D254	12.6	10	20	1	1500
Lalvin ICV D47	12.6	10	20	1	1500
Lalvin R-HST	12.6	10	20	1	1500
Lalvin V1116 K1	12.6	10	20	1	1500
BDX	12.6	10	20	1	1500
CM 796	12.6	10	20	1	1500
Eau de vie	12.6	10	20	1	1500
Femivin	12.6	10	20	1	1500
Premier cuvee	12.6	10	20	1	1500

<결과 및 고찰>

pH의 경우 대부분 발효 초기 감소하였다가 증가하는 경향을 보이고 있으나 Eau de vie와 Lalvin ICV D47, Lalvin Cy3079의 경우 발효 경과일 내에 상승하였다가 감소하는 구간이 추가적으로 존재한다. 3가지 실험군 pH 상승구간에서의 현미경 검경 상 산패균에 의한 오염은 발견되지 않았으며, Eau de vie의 상승구간은 발효가 더디게 진행되어 존재하게 되는 것으로 사료된다. Lalvin ICV D47의 경우 6일차의 Data는 반복실험 내의 오차에 의한 것으로 사료되며 Lalvin Cy3079는 소폭 상승과 감소를 하며 평형을 유지하는 구간으로 사료된다. 표준편차는 Lalvin ICV D47 6일차 구간을 제외하고 모두 pH 0.1 이하로 유지되었다.

산도의 경우 전체 실험군에서 증가와 감소 다시 증가, 감소 소폭 증가 및 평형의 형태로 진행되었으며 효모별로 산도의 증가를 명확히 볼 수 있다. 9일차 가장 높은 산도가 측정된 실험군은 Lalvin V1116 K1으로써 증가부분에서도 초기 산도에 비해 5.93 이상 상승한 것으로 측정되어 가장 큰 폭으로 증가한 실험군으로 보여진다. 이외에도 발효 시 산생성 능력이 뛰어난 실험군에 대

한 내용은 (표 1-77. 효모별 산도 생성 순위)에서 확인할 수 있다. 실험군 중 Eau de vie는 증감 부분과 9일차 Data에서 가장 적은 증감과 낮은 산도를 나타내었는데, 이는 액상형태로 발효 초기 start가 늦고 산생성 능력이 적기 때문으로 판단된다.

표 1-77. 효모별 산도 생성 순위

	산도		9일차 Rank		산도		증감
	1일차	9일차			1일차	9일차	
Lalvin V1116 K1	407	1000	1	Lalvin V1116 K1	407	1000 ▲	5.93
Lalvin ICV D47	420	963	2	Lalvin ICV D47	420	963 ▲	5.43
Lalvin BM4X4	467	867	3	Lalvin EC1118	413	827 ▲	4.13
Lalvin EC1118	413	827	4	Lalvin Clos	407	820 ▲	4.13
Lalvin Clos	407	820	5	Lalvin BM4X4	467	867 ▲	4.00
Lalvin R-HST	413	797	6	Lalvin R-HST	413	797 ▲	3.83
Lalvin DV10	420	787	7	Lalvin DV10	420	787 ▲	3.67
Premier cuvee	440	783	8	Lalvin Cy3079	380	740 ▲	3.60
Fermivin	470	757	9	Premier cuvee	440	783 ▲	3.43
BDX	433	747	10	BDX	433	747 ▲	3.13
Lalvin Cy3079	380	740	11	Lalvin ICV D254	413	720 ▲	3.07
Lalvin ICV D254	413	720	12	Fermivin	470	757 ▲	2.87
CM 796	437	710	13	CM 796	437	710 ▲	2.73
Lalvin 71B	337	543	14	Lalvin 71B	337	543 ▲	2.07
Eau de vie	373	430	15	Eau de vie	373	430 ▲	0.57

알코올의 경우 모든 실험군에서 점차적으로 증가하는 곡선을 형성하였으나 효모별 알코올 생성 능력에 따라 최종 알코올 함량이 측정되었다. 실험군 중 Eau de vie의 경우 2일차까지 알코올 생성이 없었으며 이는 효모의 start 시점이 타 실험군에 비해 늦기 때문으로 사료된다. 각 실험군의 발효경과 기간동안 표준편차는 0.2도(v/v%) 이하로 나타났으며 최종 발효경과일의 알코올 함량은 Lalvin 71B가 14도(v/v%)로 가장 높게 나타났으며 Eau de vie가 6.3도(v/v%)로 가장 낮게 나타났다. 미숙성 과실 발효에서의 효모별 알코올 생성능력은 (표 1-78. 효모별 알코올 생성 순위)에서 보여지듯이 Lalvin 71B>Premier cuvee>Lalvin EC1118>CM 796>Lalvin ICV D47>Lalvin V1116 K1>Fermivin>Lalvin DV10>Lalvin BM4X4>Lalvin ICV D254>Lalvin Cy3079>Lalvin R-HST>BDX>Lalvin Clos>Eau de vie 순으로 나타났다.

표 1-78. 효모별 알코올 생성 순위

	알코올(v/v%) 9일차	9일차 Rank
Lalvin 71B	14.03	1
Premier cuvee	13.67	2
Lalvin EC1118	13.57	3
CM 796	13.13	4
Lalvin ICV D47	12.67	5
Lalvin V1116 K1	12.40	6
Fermivin	12.30	7
Lalvin DV10	12.17	8
Lalvin BM4X4	12.10	9
Lalvin ICV D254	11.27	10
Lalvin Cy3079	11.20	11
Lalvin R-HST	11.03	12
BDX	10.07	13
Lalvin Clos	9.47	14
Eau de vie	6.27	15

당도의 경우 알코올 그래프와 반비례를 형성하며 담금직후 24 °Brix로 시작하여 발효 1일차 당도 측정 시 Lalvin 71B가 다른 실험군에 비해 낮은 22 °Brix가 측정된 것으로 보아 start가 빠르며 알코올 생성 능력이 높은 것으로 사료된다. 대부분의 발효 경과 기간 동안 다른 실험군에 비해 낮은 당도를 형성하며 발효 9일차에서도 가장 낮은 당도가 측정되었다.

비중의 경우 알코올 그래프와 큰 상관관계가 없이 나타났으며 전체적으로 감소 곡선이 형성된다. Premier cuvee와 Lalvin ICV D47을 제외하고는 3일차까지 1.062이상으로 측정이 되지 않았고 Eau de vie의 경우 4일차까지 높은 비중을 형성하였다. 이는 효모의 start와 알코올 생성, 당의 분해 등과 상관관계가 있는 것으로 보여지며 비중의 감소가 곧 알코올의 상승으로 볼 수는 없다.

그림 1-117. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(pH)

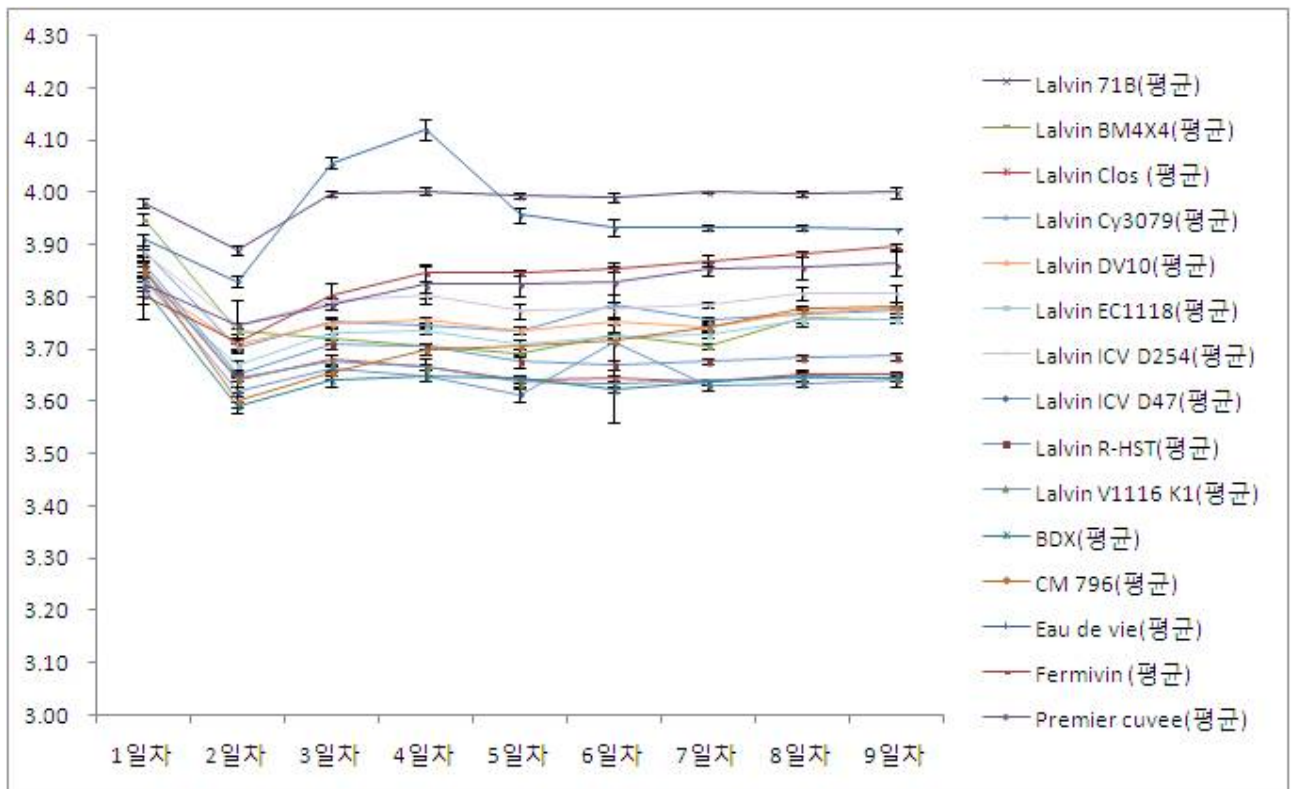


그림 1-118. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(산도(적정산도))

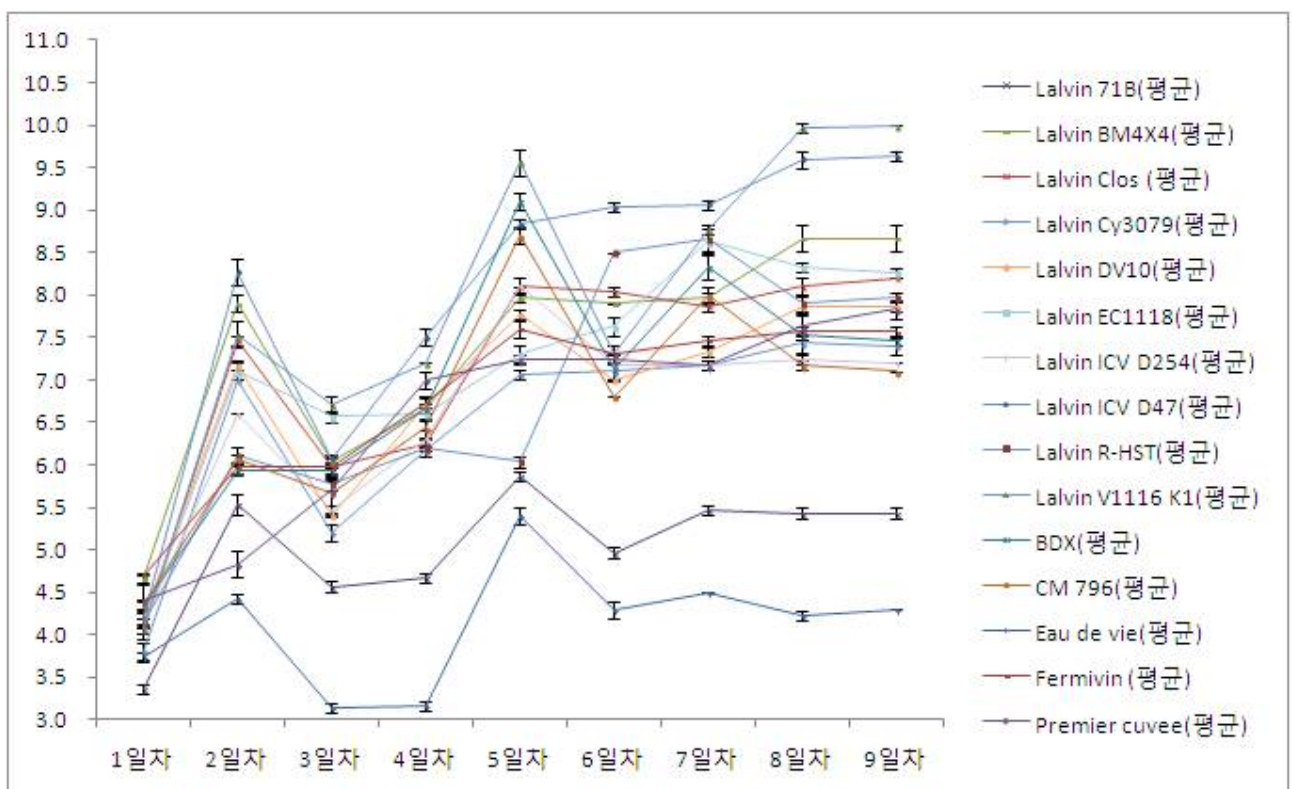


그림 1-119. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

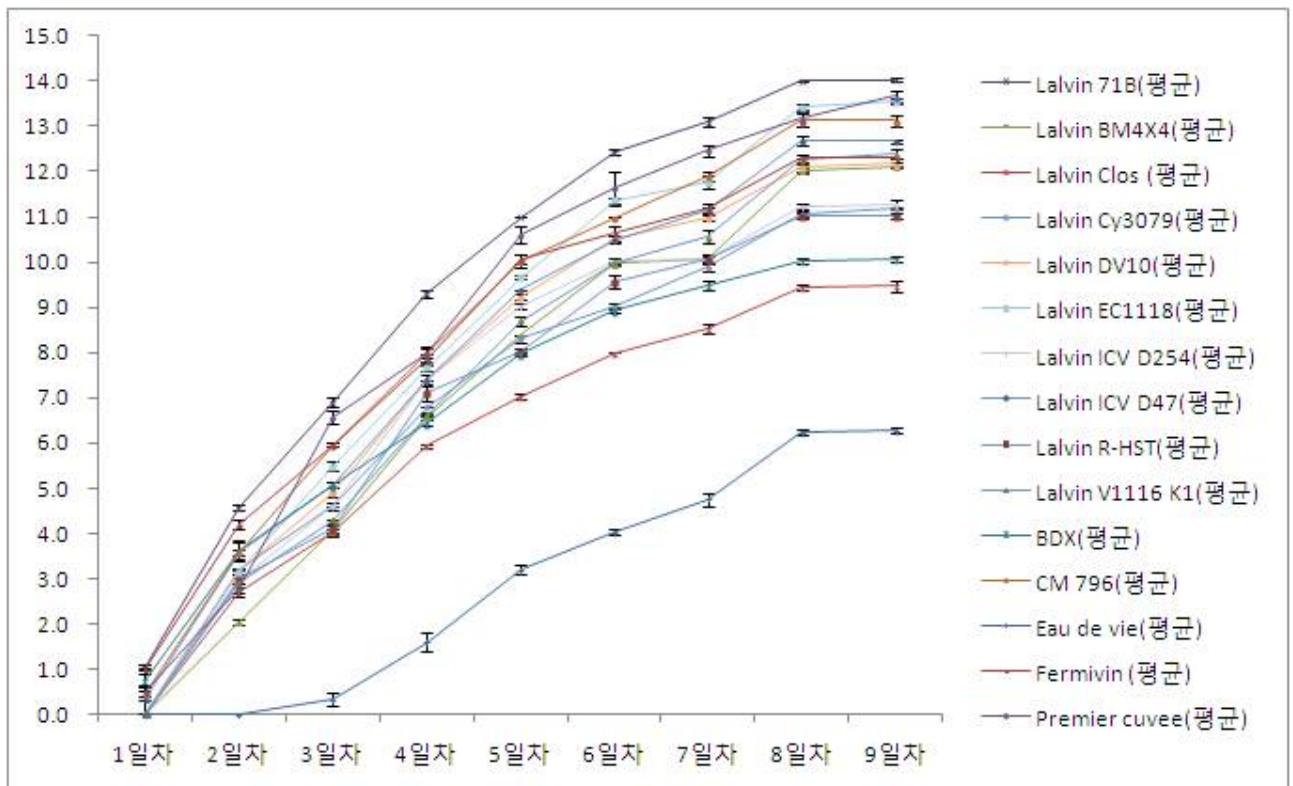


그림 1-120. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(당도(단위: °Brix))

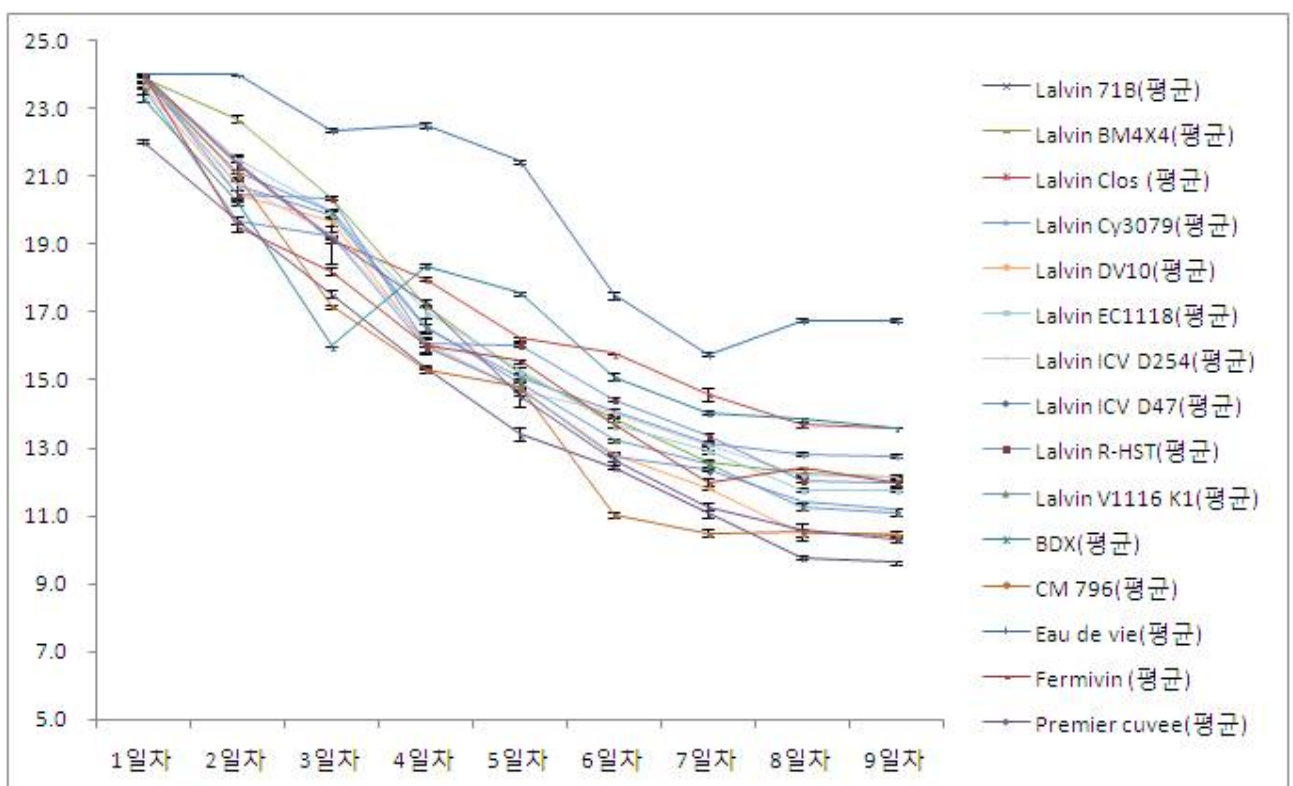
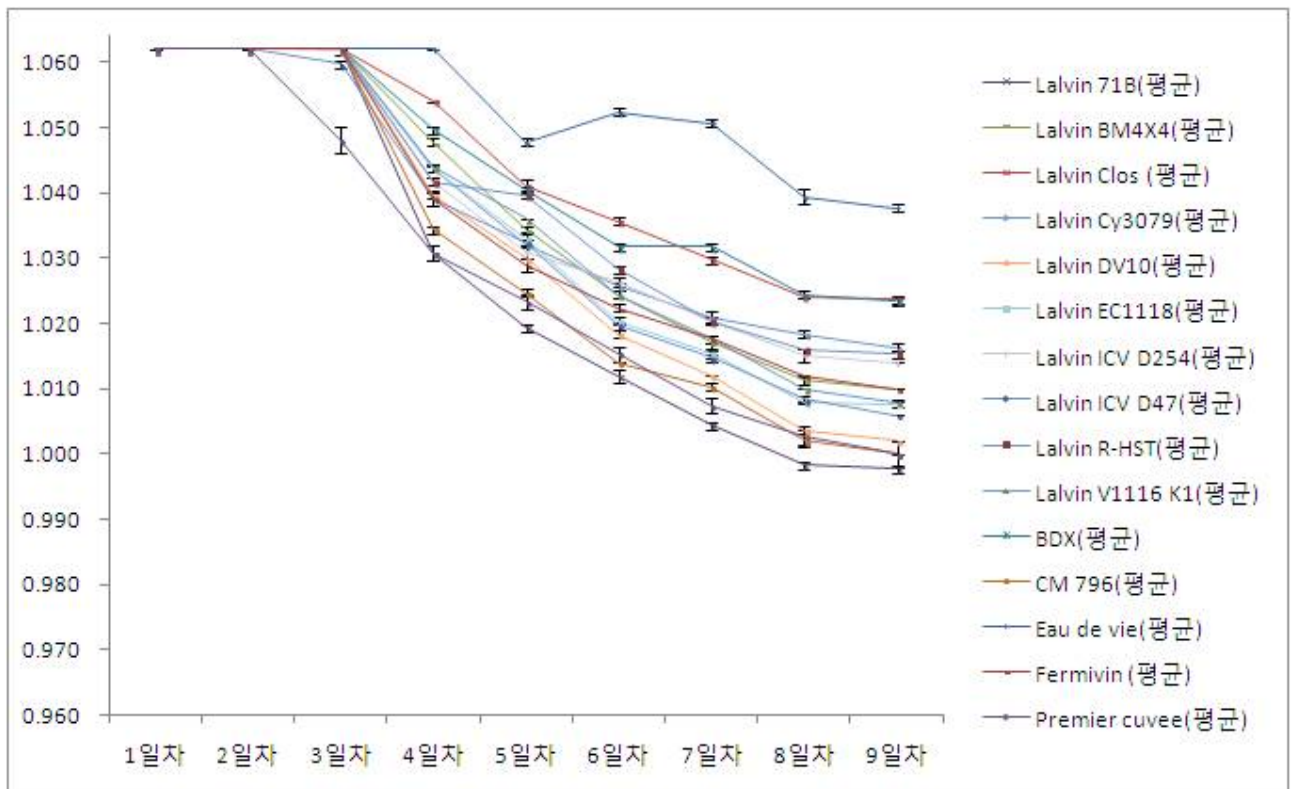


그림 1-121. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(비중)



(3) 효모별 발효 시 발생하는 EC 및 요인 분석

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 본 실험에서는 효모별 발효가 종료된 15종의 미숙성사과 술덧을 가지고 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 분석하였다.

<실험방법>

에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

각각의 실험군을 발효경과일 동안 시료를 채취하여 최종산물인 에틸카바메이트의 함량을 GC/MS로 분석하였지만 EC는 detect되지 않았다. 이는 반응시간의 부족과 극소량의 함유량에 의한 것으로 사료된다.

<EC 분석 시 보완사항>

EC의 검출에 있어 미소량으로 인한 측정이 안된 부분은 측정방법을 달리하지 않은 이상 방법을 찾을 수 없지만, 발효주의 경우 반응시간 부족으로 인한 EC의 측정 불가의 경우에는 해결할 수 있는 방법이 있다. 요소와 에탄올의 화학반응이 잘 일어날 수 있는 환경을 만들어 주는 방법이 대표적이다. 반응시간을 길게 주는 것은 소요시간이 얼마나 걸릴지 알 수 없어 한계가 있지만, 반응이 일어날 수 있도록 적절한 열을 가해주는 방식이라면 요소와 에탄올의 화학반응에 의해 EC가 생성되어 검출될 확률이 높을 것으로 예상된다.

일정시간 일정한 온도의 열을 가한 전후의 EC와 요소를 측정한다면 반응시간 부족에 의하여 EC가 검출되지 않은 것인지 알 수 있다. 이를 통하여 얻어진 결과에 따라 시료에 열을 가하는 전처리 후 EC를 측정할지를 결정할 수 있을 것이다.

하지만 1차년도에는 안전한 사과 증류주 제조 기술 개발을 위한 효모선발을 진행코자 증류주로 제조하여 농축된 EC의 함량을 측정하는 것으로 본 실험을 대체하였다.

(4) 효모별 증류 분액 유해물질 분석 및 초류 분리시점 파악 (2차년도 선행 연구)

효모별 발효 시 발생하는 EC의 분석 결과로는 효모의 선정이 어려워 최종 제품에서의 EC 및 전구체를 분석하여 효모를 선정하고자 한다. 2) 효모별 발효특성에서 발효를 시킨 발효 술덧을 이용하여 동일한 증류기를 사용하여 증류를 하고 술덧 내의 성분들의 끓는점 차이에 따라 증류되어져 나오는 순서가 결정되는데 이를 최소 단위로 분획하고 분획한 증류주에 저비점 유해물질의 함량을 측정하여 초류를 분리하고자 한다.

저비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는 점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 에탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국의 검출 허가 기준은 표 1-79와 같다.

표 1-79. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	- ^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits) 1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 사과증류주를 제조하고자 한다. 강화된 검출 기준은 아세트알데히드의 경우 700ppm에서 0.7ppm으로 1/1,000로 설정하였으며 메탄올의 경우 500ppm에서 5ppm으로 1/100로 정하였다.

표 1-80. 주류별 KFDA 검출 허가 기준 및 본 실험 초류 분리 기준

<KFDA 검출 허가 기준>

	Acetaldehyde		MeOH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	70	700	0.5	500
일반 증류주	70	700	0.5	500
브랜디	70	700	1.0	1000

<실험 분획기준>

	Acetaldehyde		MeOH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	0.07	0.7	0.005	5
일반 증류주	0.07	0.7	0.005	5
브랜디	0.07	0.7	0.005	5
도입 기준	국내 기준치 1/1000		국내 기준치 1/100	

<실험방법>

본 실험에서 개발할 최종제품의 대조군은 현재 수입 증가 추세에 있는 브랜디나 곡물 증류주로

써 대부분의 제품이 40도(v/v%)의 알코올로 맞춰져 있다. 발효가 종료된 술덧 15종의 최종 알코올 함량은 6~14도(v/v%)이므로 최종 제품 알코올함량 40도(v/v%)로 맞추려면 상압 단식증류기의 경우 2차 증류까지 진행되어야 한다. 금번 실험에서 사용할 증류기는 상압 동증류기로서 1차에서는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 생각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 100ml 단위로 분획하였다. 2)효모별 발효특성에서 발효가 종료된 발효술덧 15종을 실험군으로 2차 증류 및 분획을 실시하였으며 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 1-122. 본 실험에 사용한 상압 동증류기(가열방식 직부)



<결과 및 고찰>

각 실험군의 분획은 아세트알데히드가 0.7ppm이하로 형성되고 메탄올이 5ppm이하로 형성되는 구간을 초류분리구간으로 정하였고 초류 분리 시점 및 100ml당 저비점 유해물질을 분석한 Data는 그림 2-123~2-137에서 확인할 수 있다. 초류 분리 백분율은 전체 증류된 량(총 분획 량) 대비 초류가 분리된 량을 백분율로 나타낸 것이며 각 실험군의 효율과 밀접한 관계가 있다. 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 각 실험군의 검출 총합에 총 분획 량을 대입하여 ppm으로 환산한 내역이며 각 실험군 내에서 발생한 저비점 유해물질을 검출 량으로 순위를 매길 수 있다. (표 1-81. 효모별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리)에서 각 실험군의 분석결과와 초류분리 시점에 대해 종합하여 볼 수 있다.

표 1-81. 효모별 증류주에서 저비점 유해물질의 총량 및 초류분리

	Acetaldehyde		MeoH		총분획량 (mL)	초류분리량 (mL)	초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총 mg (총분획량)	총량 (ppm)	총 mg (총분획량)			
Lalvin 71B	1.14	1.83	0.00	0.00	1,600	100	6.25%
Lalvin BM4X4	5.81	8.72	0.00	0.00	1,500	500	33.33%
Lalvin Clos	5.21	7.30	0.00	0.00	1,400	400	28.57%
Lalvin Cy3079	4.62	6.00	0.00	0.00	1,300	300	23.08%
Lalvin DV10	5.02	7.53	0.00	0.00	1,500	400	26.67%
Lalvin EC1118	4.84	7.26	0.00	0.00	1,500	400	26.67%
Lalvin ICV D254	3.55	4.62	0.00	0.00	1,300	300	23.08%
Lalvin ICV D47	4.27	7.26	0.00	0.00	1,700	400	23.53%
Lalvin R-HST	2.95	4.13	0.00	0.00	1,400	300	21.43%
Lalvin V1116 K1	1.65	2.65	0.00	0.00	1,600	200	12.50%
BDX	2.48	2.72	0.00	0.00	1,100	200	18.18%
CM 796	3.47	5.55	0.00	0.00	1,600	300	18.75%
Eau de vie	2.18	1.96	0.00	0.00	900	300	33.33%
Fermivin	2.88	4.60	0.00	0.00	1,600	300	18.75%
Premier cuvee	2.69	4.31	0.00	0.00	1,600	300	18.75%

각 실험군의 총 분획량 내 아세트알데히드의 총량으로 순위를 정할 시 Lalvin 71B가 1.14ppm으로 가장 적은 아세트알데히드를 생성시켰으며 Lalvin BM4X4이 5.81ppm으로 가장 많은 아세트알데히드를 생성시키는 것으로 나타났다. 아세트알데히드의 총량은 초류분리량이 적을수록 적게 검출되는 경향을 보이고 있으며 이는 아세트알데히드가 비점이 낮기 때문으로 사료된다. 메탄올의 경우 효모별로 검출이 되지 않았는데 이는 쌀이나 포도에 비해 메탄올의 함량이 적었던 사과에서 ppm단위로 검출이 되지 않은 것으로 사료된다. 두개의 저비점 유해물질의 순위는 상관관계가 없이 나타났으며 분획된 순서에서 초기 분획에 집중되어 있고 집중되어 있는 만큼 표준편차는 초기에 높게 형성이 된다.

표 1-82. 효모별 증류주의 아세트알데히드 검출 순위

	Acetaldehyde		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총 mg rank	
Lalvin 71B	1.14	1	6.25%
Lalvin V1116 K1	1.65	2	12.50%
Eau de vie	2.18	3	33.33%
BDX	2.48	4	18.18%
Premier cuvee	2.69	5	18.75%
Fermivin	2.88	6	18.75%
Lalvin R-HST	2.95	7	21.43%
CM 796	3.47	8	18.75%
Lalvin ICV D254	3.55	9	23.08%
Lalvin ICV D47	4.27	10	23.53%
Lalvin Cy3079	4.62	11	23.08%
Lalvin EC1118	4.84	12	26.67%
Lalvin DV10	5.02	13	26.67%
Lalvin Clos	5.21	14	28.57%
Lalvin BM4X4	5.81	15	33.33%

표 1-83. 효모별 증류주의 메탄올 검출 순위

	MeoH		초류분리 백분율
	총량 (ppm)	총 mg rank	
Lalvin 71B	0.00	1	6.25%
Lalvin BM4X4	0.00	1	33.33%
Lalvin Clos	0.00	1	28.57%
Lalvin Cy3079	0.00	1	23.08%
Lalvin DV10	0.00	1	26.67%
Lalvin EC1118	0.00	1	26.67%
Lalvin ICV D254	0.00	1	23.08%
Lalvin ICV D47	0.00	1	23.53%
Lalvin R-HST	0.00	1	21.43%
Lalvin V1116 K1	0.00	1	12.50%
BDX	0.00	1	18.18%
CM 796	0.00	1	18.75%
Eau de vie	0.00	1	33.33%
Fermivin	0.00	1	18.75%
Premier cuvee	0.00	1	18.75%

초류분리 백분율에 따라 집계한 순위에서는 경제성을 고려할 수 있으며 효모 선발에 한 지표로 작용할 수 있다. Lalvin 71B는 초류 분리 백분율이 6.25%로 가장 적은 초류를 분리하였으며, Lalvin BM4X4와 Eau de vie는 33.33%로 가장 많은 초류를 분리하였다. 초류 분리 시점은 저비점 유해물질의 총량보다는 분획 시 증류생성 순서 상 유해물질의 ppm과 상관관계가 있다.

표 1-84. 효모별 증류주의 초류분리 시점에 따른 순위

	초류분리 백분율	Rank
Lalvin 71B	6.25%	1
Lalvin V1116 K1	12.50%	2
BDX	18.18%	3
CM 796	18.75%	4
Fermivin	18.75%	4
Premier cuvee	18.75%	4
Lalvin R-HST	21.43%	7
Lalvin Cy3079	23.08%	8
Lalvin ICV D254	23.08%	8
Lalvin ICV D47	23.53%	10
Lalvin DV10	26.67%	11
Lalvin EC1118	26.67%	11
Lalvin Clos	28.57%	13
Lalvin BM4X4	33.33%	14
Eau de vie	33.33%	14

본 실험 결과는 증류방식에 따라 단식 증류를 진행한 것이며 증류기 재질은 동, 가열 방식은 직부로 진행된 효모별 초류 분리 및 저비점 유해물질에 대한 분석이다. 초류분리를 한 증류주를 알코올 40도(v/v%)로 맞추어 여과나 기타 조작이 없는 최종제품으로 만들고, 요소와 EC를 분석하고 관능검사를 통하여 <안전한 사과증류주 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선정하고자 한다.

그림 1-123. Lalvin 71B 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

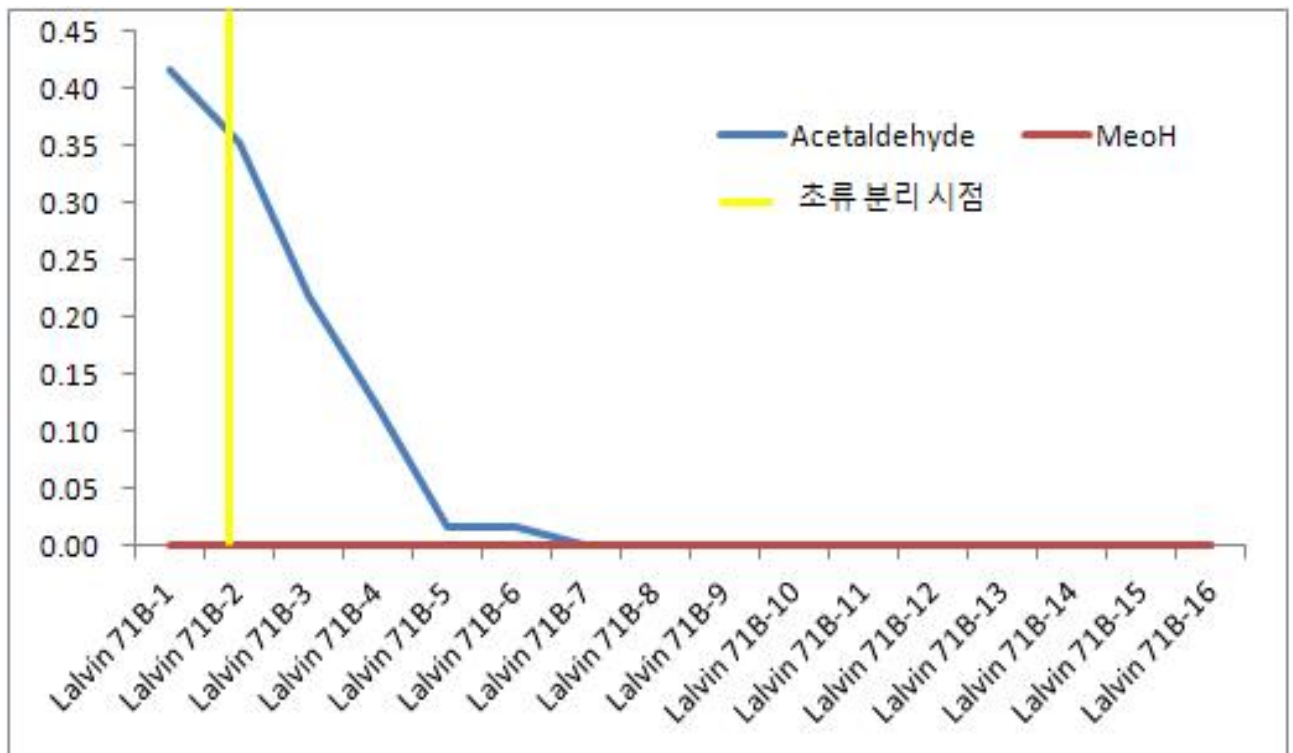


그림 1-124. Lalvin BM 4X4 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

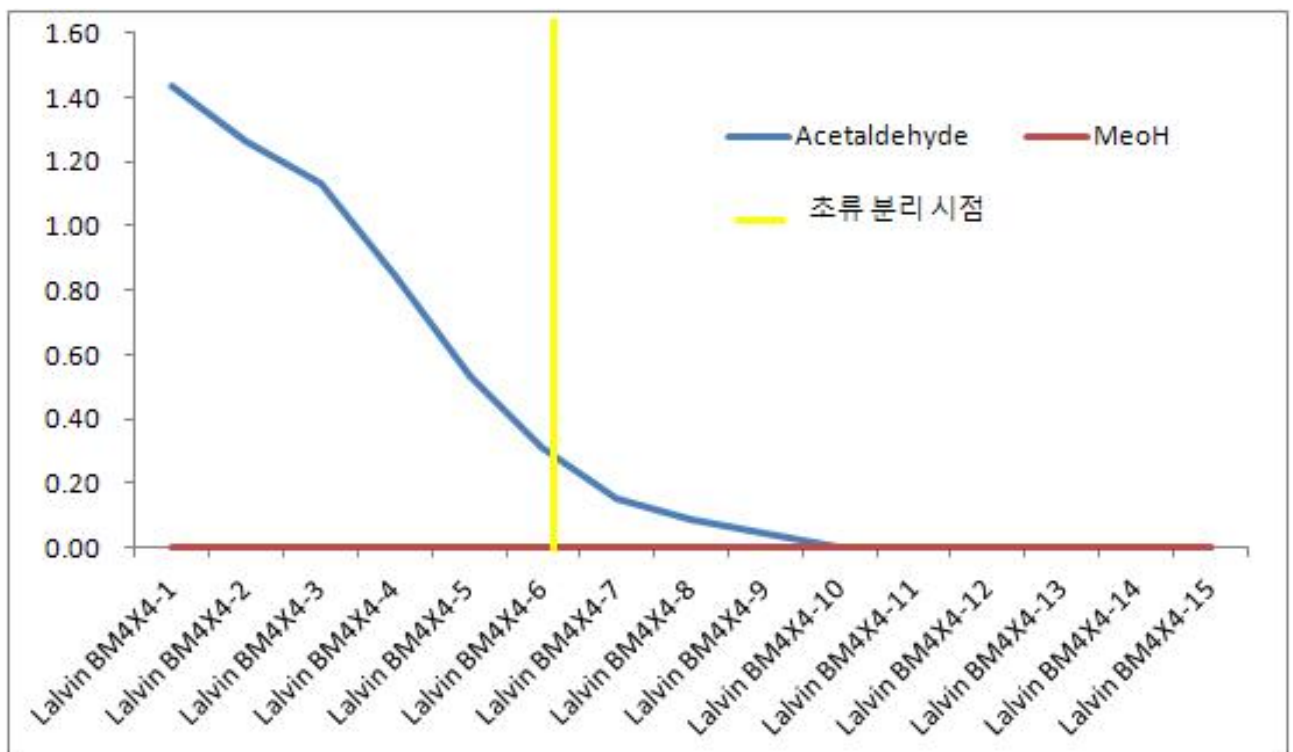


그림 1-125. Lalvin Clos 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

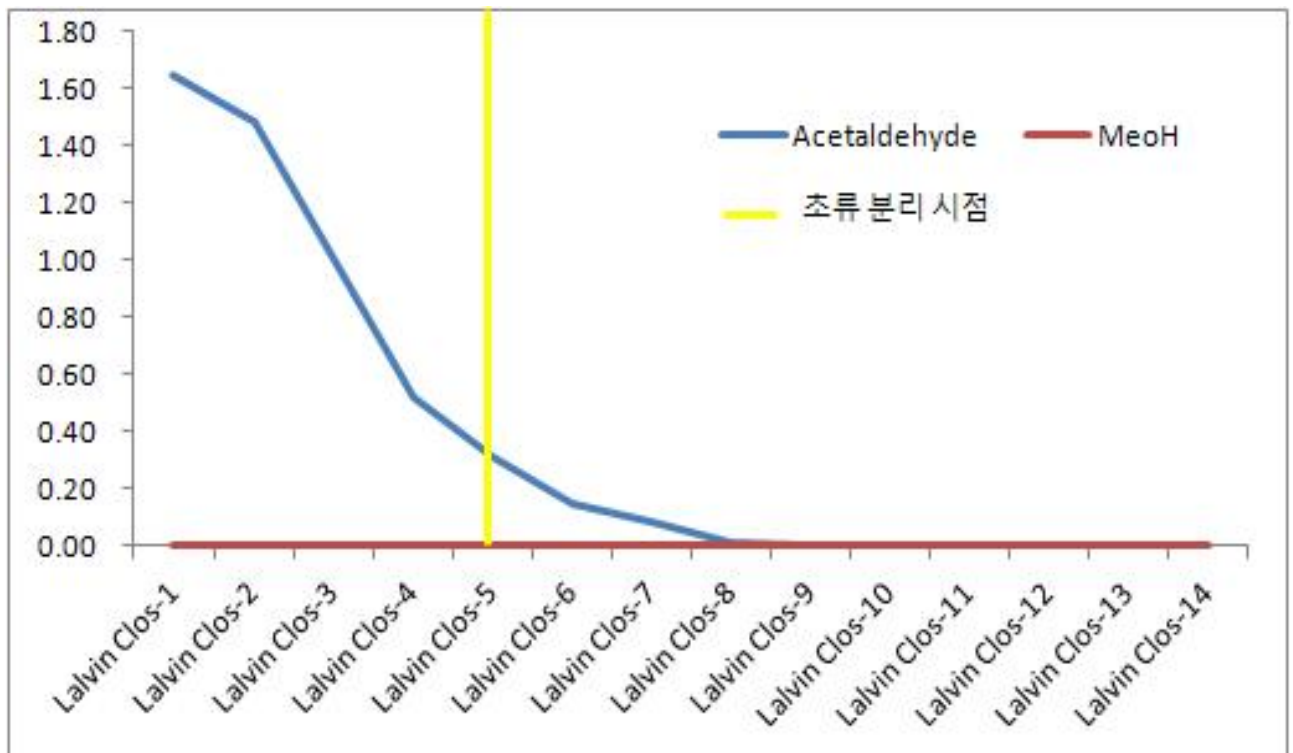


그림 1-126. Lalvin Cy3079 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

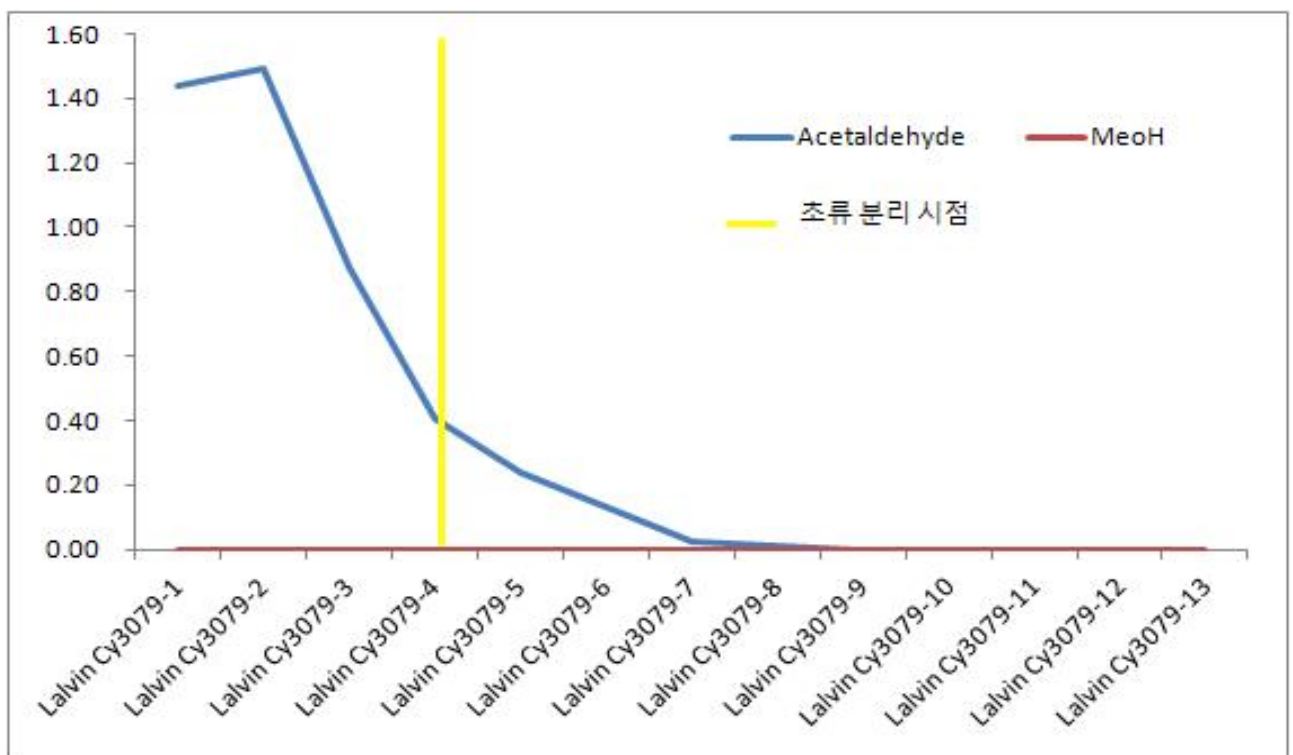


그림 1-127. Lalvin DV10 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

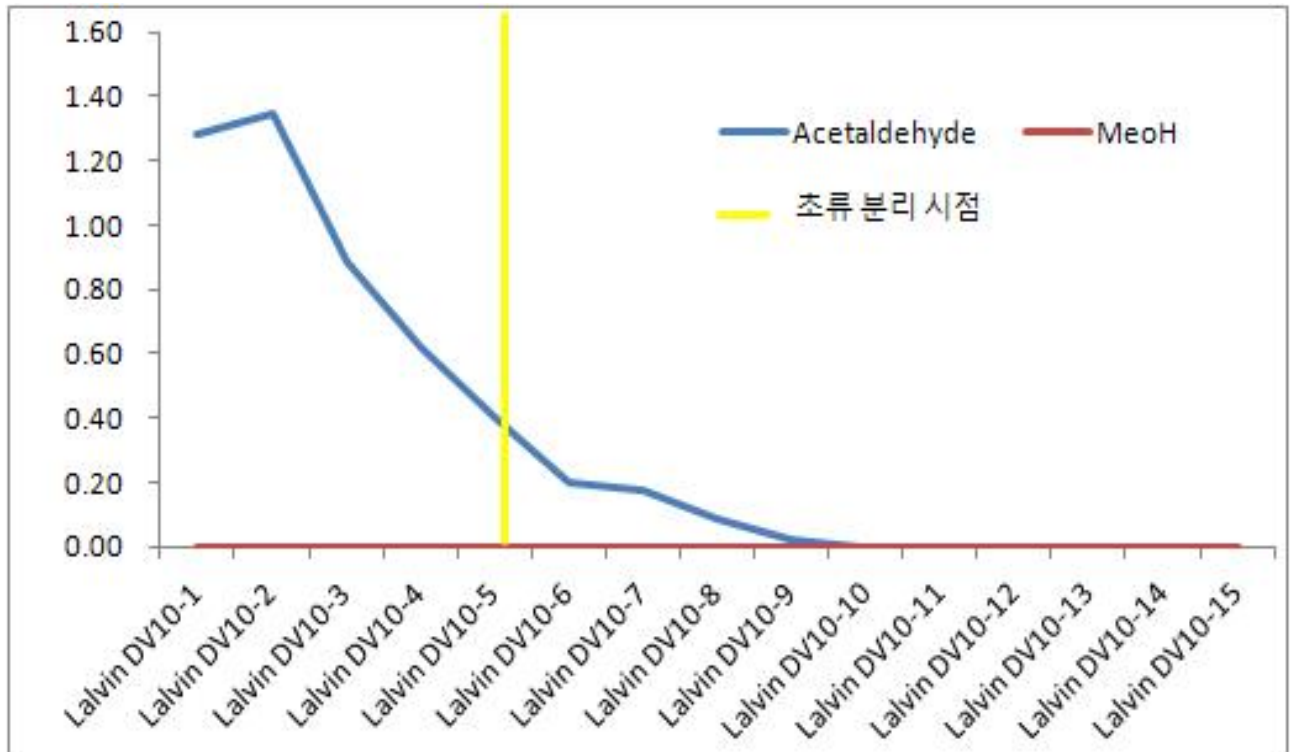


그림 1-128. Lalvin EC1118 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

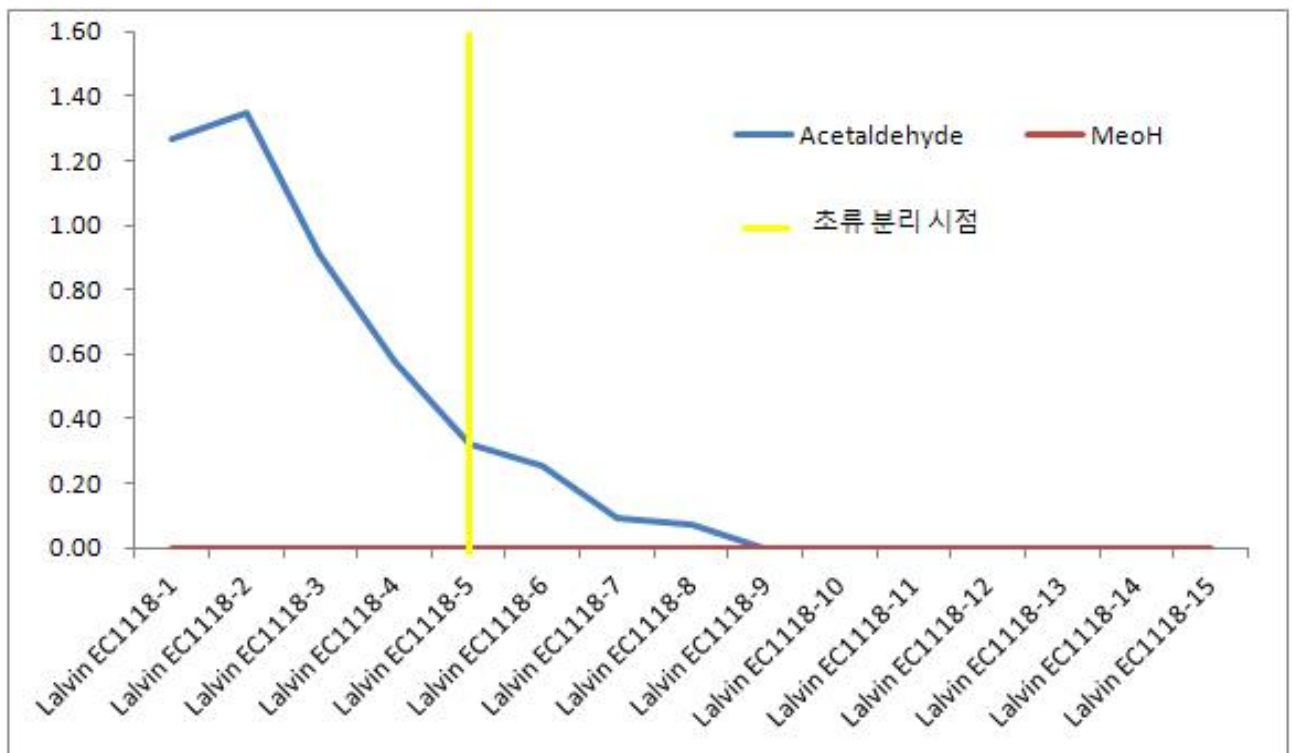


그림 1-129. Lalvin ICV D254 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

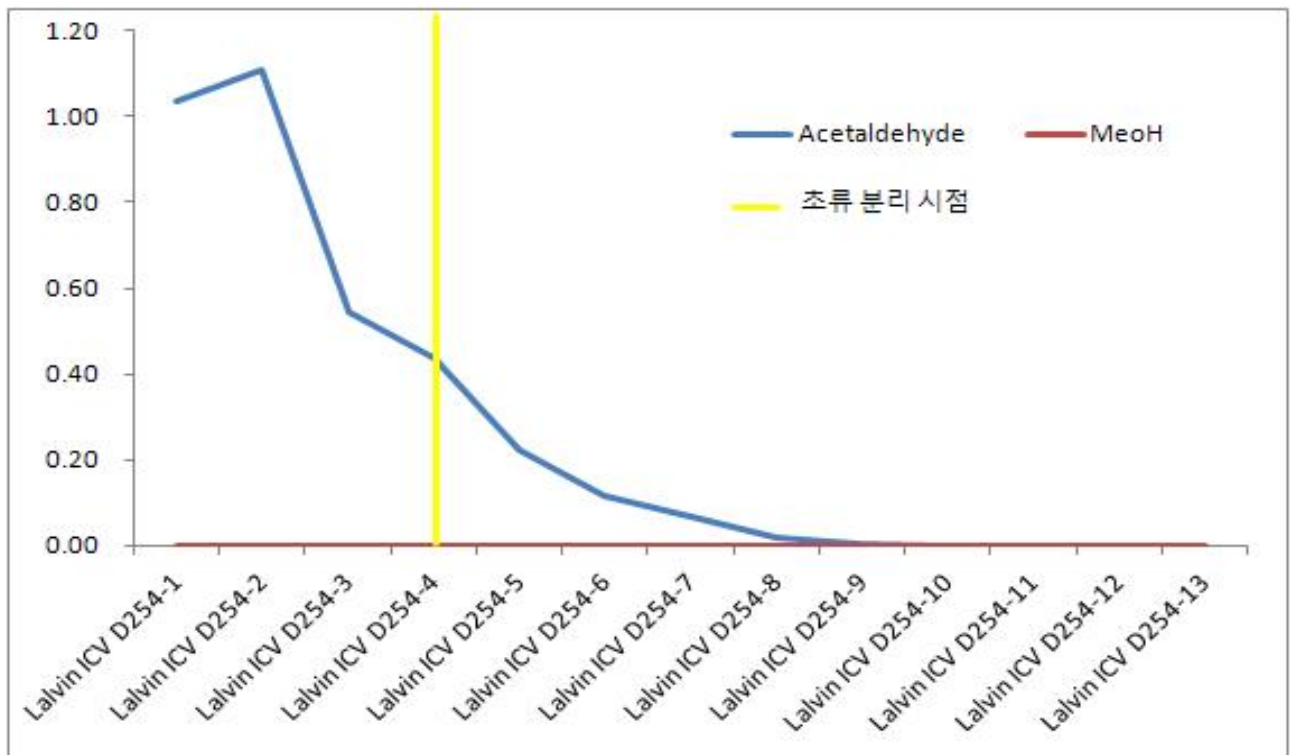


그림 1-130. Lalvin ICV D47 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

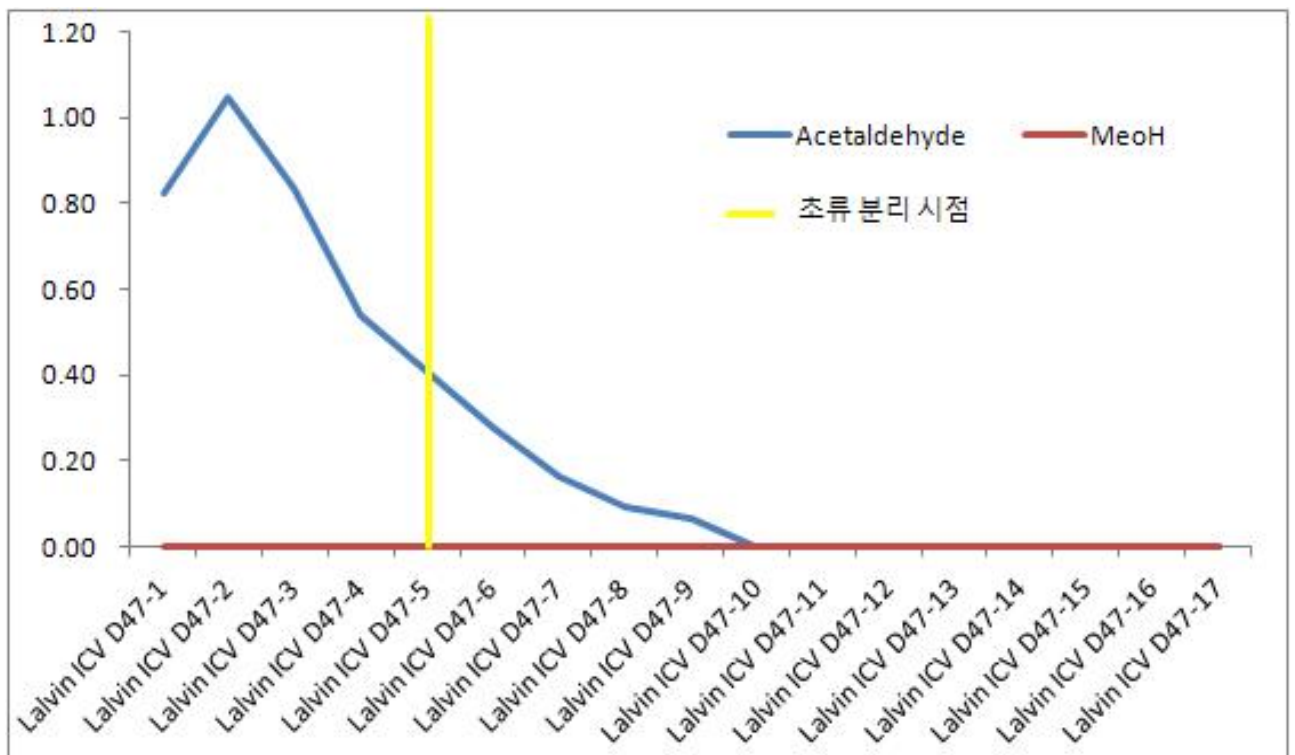


그림 1-131. Lalvin R-HST 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

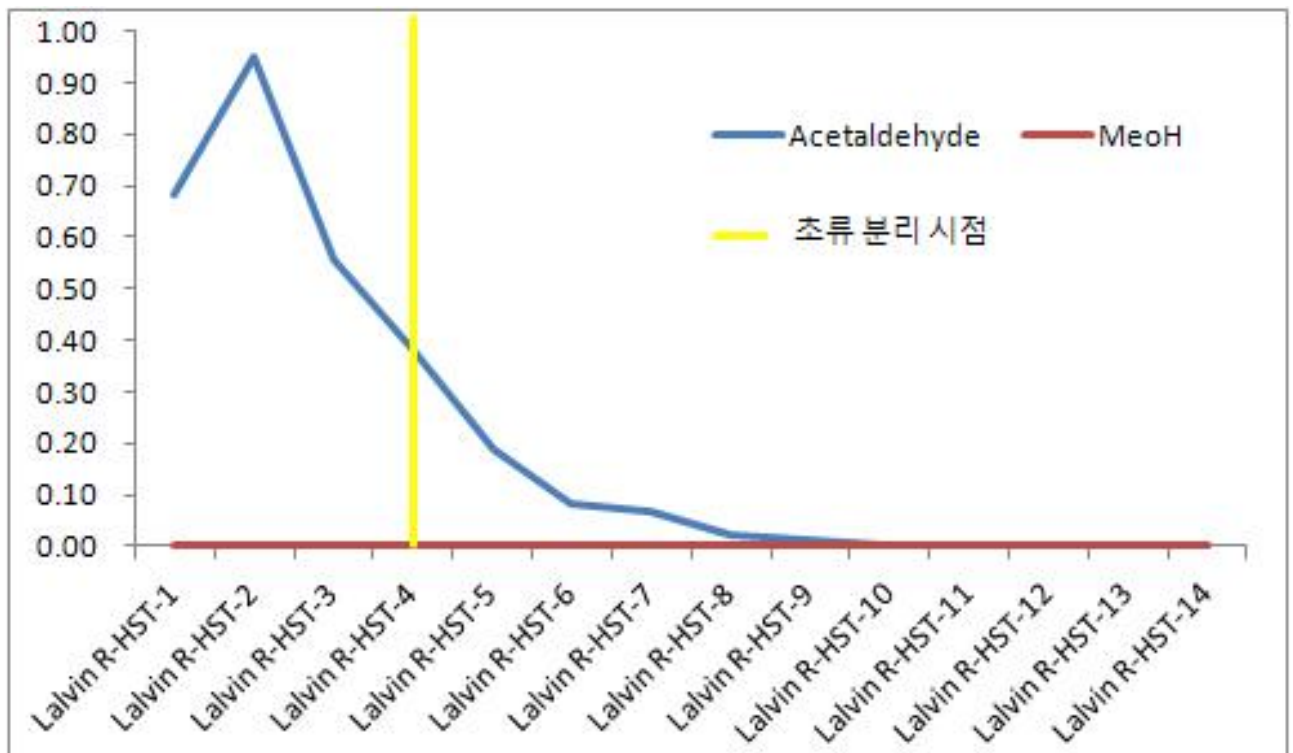


그림 1-132. Lalvin V1116 K1 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

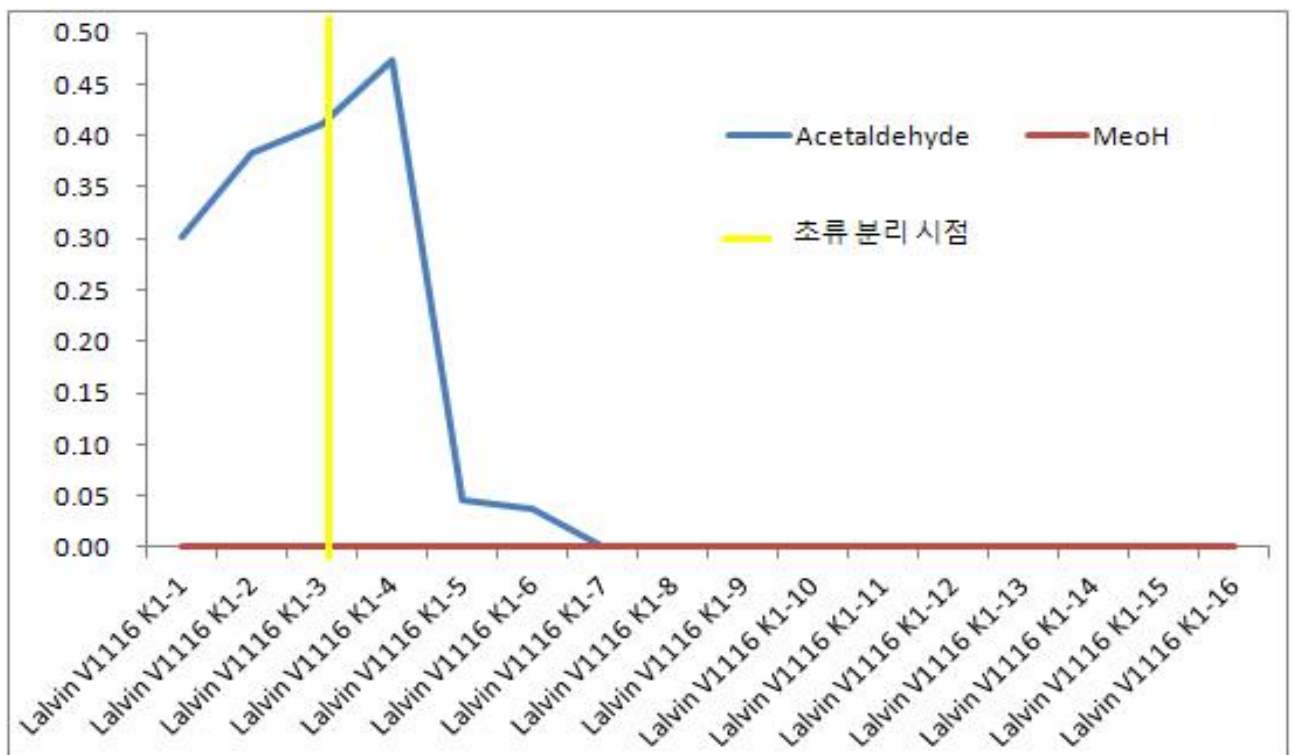


그림 1-133. BDX 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

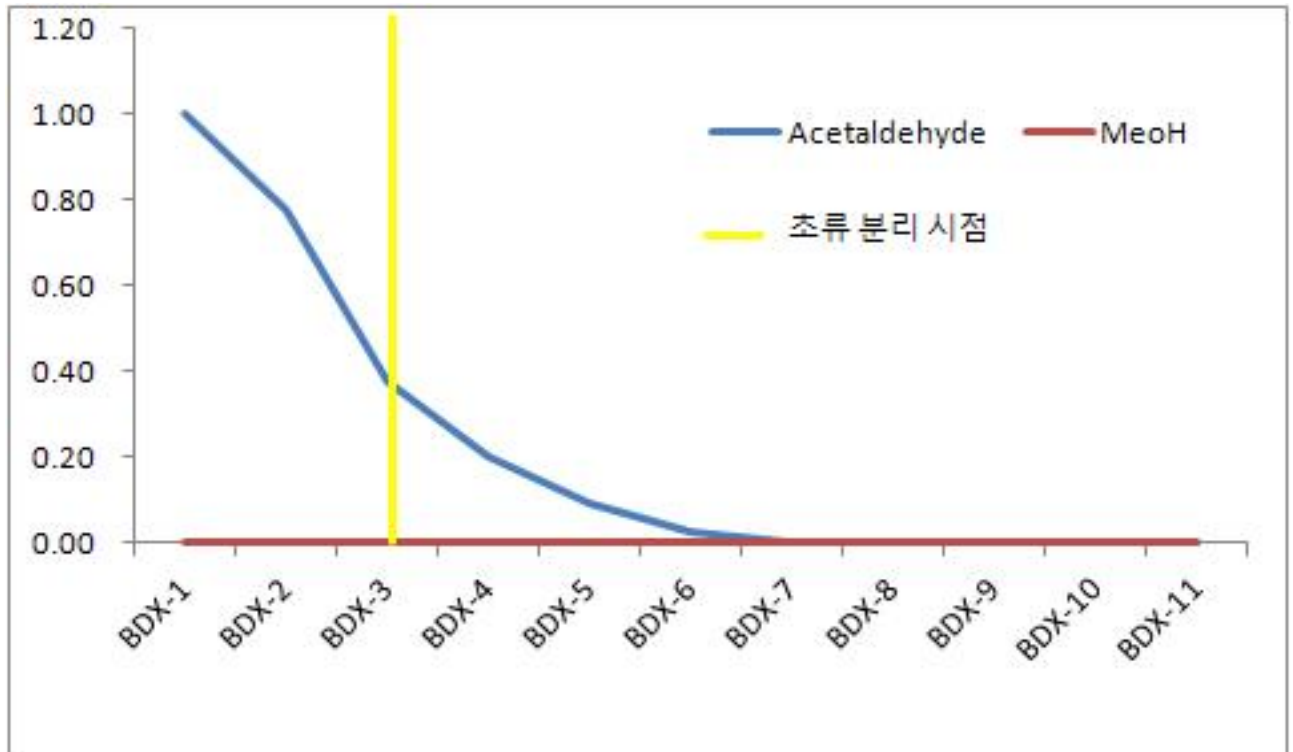


그림 1-134. CM 796 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

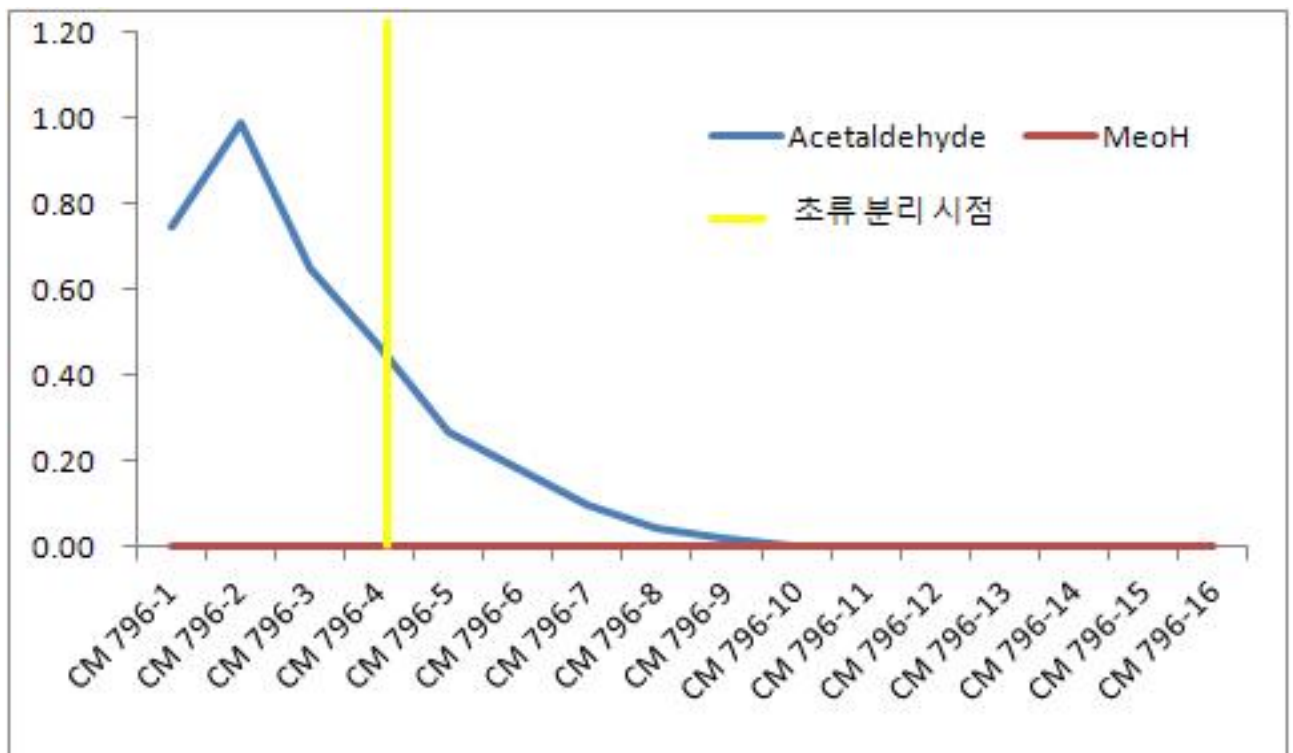


그림 1-135. Eau de vie 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

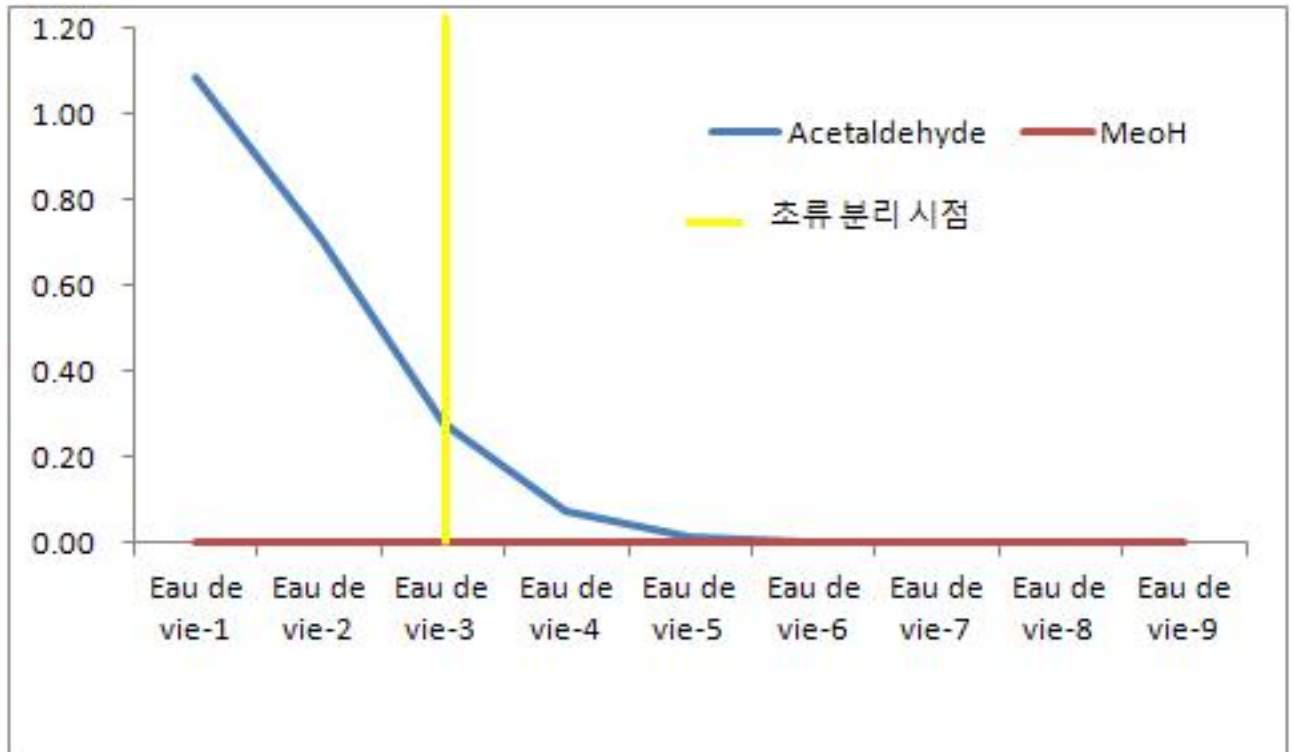


그림 1-136. Premier cuvee 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리

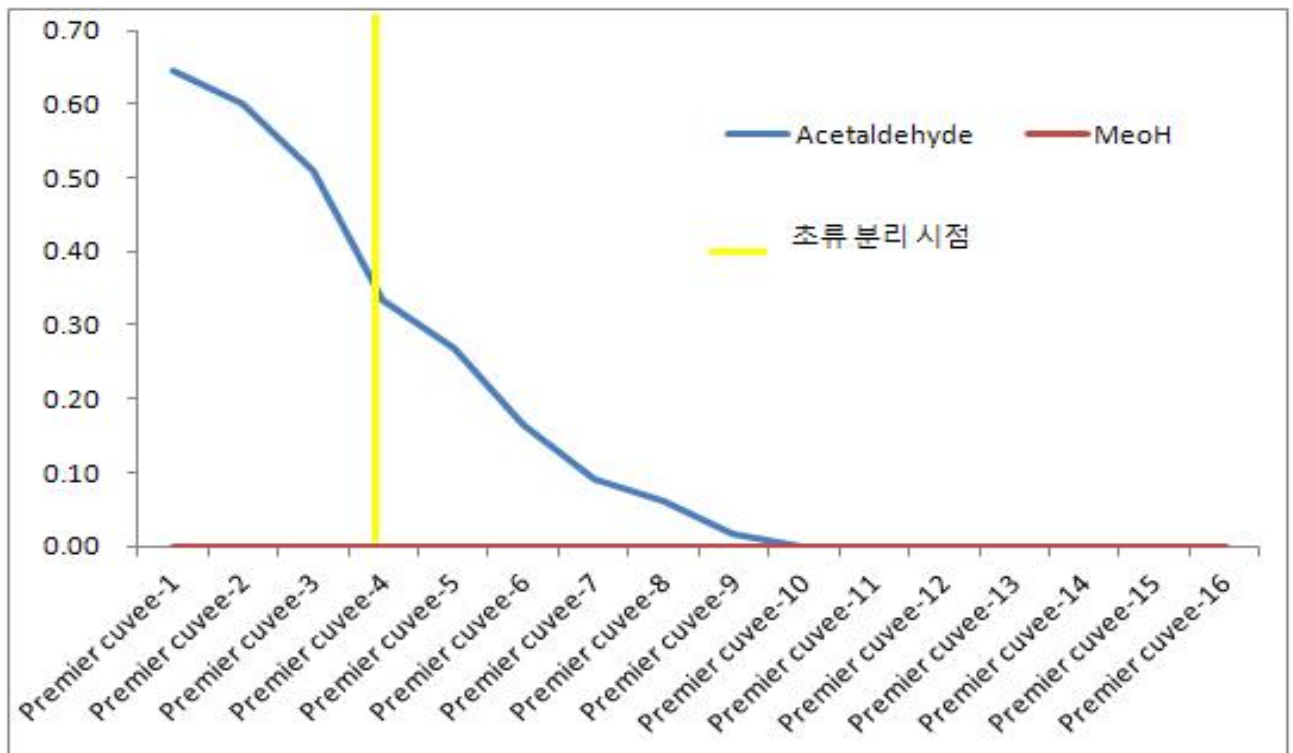
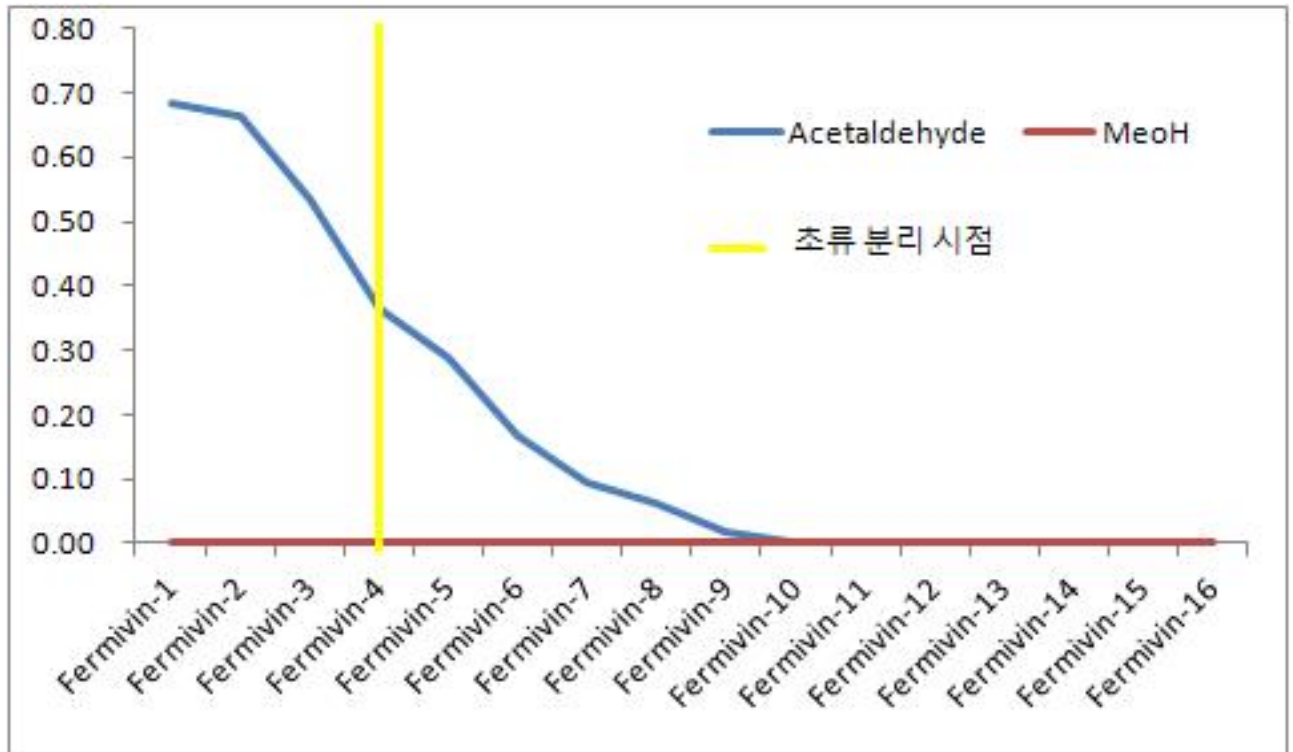


그림 1-137. Fermivin 증류 분획의 저비점 유해물질 검출(단위:ppm) 및 초류분리



(5) 효모별 사과증류주 관능검사

각각의 효모를 이용하여 발효한 술덧을 증류하여 증류한 증류주의 관능평가는 단국대학교 식품영양학과에서 훈련 중인 주류 관능평가 패널들을 대상으로 시판 증류식 소주를 이용하여 다음과 같은 8가지 척도에 대하여 익숙해지는 훈련을 진행 한 후 증류주에 대한 관능 평가를 실시하였다.

표 1-85. Intensity of attributes for control (15 point scale)

누룩향	Wine향	신향	단맛
8	3	4	5
인공감미료맛	타는느낌	알코올향	바디감
8	9	8	7

(가) 1차 선발

관능검사에서 지나치게 많은 시료는 패널의 피로도 등의 변수로 작용할 수 있어 각 실험군 사이의 차이를 좁힐 수 있다. 효모별 증류주의 관능검사는 15종의 실험군 중 1차 선발을 하여 그 실험군의 수를 6가지로 축소시켰다.

1차 선발 기준은

첫째, EC의 검출량을 상, 중, 하로 나누어 각 분류에서 2가지 실험군을 선정

둘째, 첫째 분류에서 속이 다른 실험군을 포함할 것

셋째, 질소 요구량과 황화합물 발생량이 높아 유의적 차이가 발생할 것 같은 실험군

으로 설정하였으며 기준에 따라 Lalvin DV10(속:bayanus)과 Lalvin EC1118(EC 검출량이 적은 상 실험군), BDX(질소 요구량과 황화합물 발생량이 높아 유의적 차이가 발생할 것 같은 실험군)와 CM796(EC 검출량 중 실험군), Fermivin(control)과 Lalvin V1116 K1(EC 검출량이 높은 하 실험군)으로 총 6가지를 선발하였다.

(나) 관능검사

패널들에게 control 시료를 10ml씩 제공한 후 선정된 8가지 특성 강도에 대해 익숙해지는 훈련을 하였다. 총 15명의 훈련된 패널에게 6종류의 시료를 2번의 session으로 나누어 2반복 평가하였으며 시료는 10ml씩 제공되었다. 상온의 물이 충분히 제공되었으며 시료 간 7분-10분 정도의 휴식시간을 두어 관능 피로도를 최소화 하였다. control 시료로는 Fermivin 시료가 제공되었다.

<시료 평가 및 결과>

강도평가 전 첫 번째 session에서는, 6명의 패널들에게 6종류의 사과증류주(CM796, Lalvin V1116 K1, BDX, Lalvin EC1118, Fermivin, Lalvin DV10)를 제공하여 공통된 특성을 인지하고 중요한 특성을 선정하였다. 그 후 두 번째 session에서 선정된 강도를 평가하는 훈련을 하였다. 시료의 강도평가는 패널들의 토의에 의하여 15점 척도를 이용하여 강도를 결정하는 방식으로 진행되었다.

표 1-86. Definition of flavor attributes used in descriptive analysis of 6 types alcohol beverages

묘사용어	정의
알콜향	에탄올에서 느껴지는 알콜의 향
사과향	시큼한 사과주스에서 느껴지는 사과향
단향	설탕과 관련된 단향
누룩취	막걸리나 발효주에서 느껴지는 누룩향

주요 특성 선정 시, 소비자가 제품 선택 시 중요 인자로 작용할 것이라 생각되는 특성과 증류주 품질 유지 및 개선에 중요 인자로 작용할 특성을 여러 참고문헌과 예비실험 결과를 바탕으로 선정하였다. 6종류의 사과증류주의 공통된 특성으로 평가 특성 이외에 다양한 의견(특 쓰는, 신향 등)이 나왔으나 패널들은 공통된 주요 특성으로 알콜향, 사과향, 단향, 누룩취를 선정하였다. 평가전 패널사이의 용어 정리 및 정의를 내렸으며 그 내용은 위의 표 1-86 에 나타내었다.

표 1-87. Intensity of flavor attributes for alcoholic beverages

시료	알콜향	사과향	단향	누룩취
Lalvin DV10	7 ¹	5	2	7
CM796	8	7	3	5
Lalvin V1116 K1	9	8	2.5	6
BDX	8.5	6	3	9
Lalvin EC1118	6	7	3.5	4
Fermivin	7	7.5	3	3

¹패널들의 합의를 통해 도출된 값

알콜향과 사과향은 Lalvin V1116 K1가 가장 높은 것으로 나타났으며 단향은 Lalvin EC1118, 누룩취는 BDX가 높은 것으로 나타났다. 증류주의 특성 상 알콜향의 특성이 가장 강하게 나타나는 경향을 보였고 다음으로는 누룩취와 사과향이 강하였다. 6종류의 증류주에 대한 각 특성들은 강도차이가 있는 것으로 나타났다.

그림 1-138. 시료 간 특성 강도

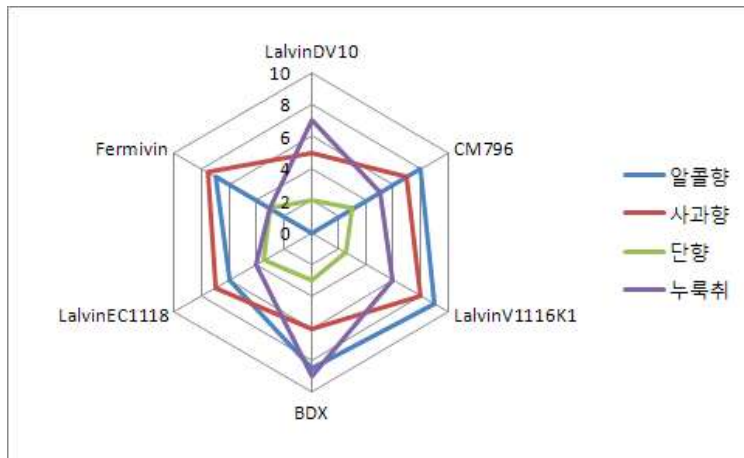


그림 1-139. 평가시료



(6) 효모별 증류주의 유해물질 분석(EC 및 전구체)

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조절된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 씨를 제거하여 발효를 시킨 효모별 사과 술덧의 경우 효모에 의해 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 그 주요 전구체라 하겠다. 따라서 본 실험에서는 숙성이나 여과처리가 되지 않은 최종실험제품(40도 알코올분(v/v%)) 15종의 전구체인 요소와 최종 산물인 에틸 카바메이트의 함량을 분석하였다.

표 1-88. 각 국의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

<실험방법>

요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

효모별 증류주(40도 알코올분(v/v%))의 EC와 요소의 분석결과는 (표 1-89. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 결과)로 볼 수 있으며 Lalvin Clos는 40.4ppb로 가장 낮은 검출량을 기록하였다. EC 검출량이 가장 적은 순서대로 Lalvin Clos>Lalvin EC1118>Lalvin DV10>Lalvin Cy3079>Eau de vie>BDX>CM 796>Lalvin R-HST>Lalvin ICV D254>Lalvin V1116 K1>Fermivin>Lalvin ICV D47>Lalvin BM4X4>Premier cuvee<Lalvin 71B 나타났으며 이중 증류주의 해외 에틸카바메이트의 검출기준인 150ppb 이하로 검출된 실험군은 Lalvin

Clos, Lalvin EC1118, Lalvin DV10, Lalvin Cy3079, Eau de vie, BDX, CM 796, Lalvin R-HST이며, 과실브랜드의 검출기준인 400ppb 이하로 검출된 실험군은 150ppb 이하를 충족시키는 실험군 외에 Lalvin ICV D254, Lalvin V1116 K1, Fermivin, Lalvin ICV D47의 실험군이 포함된다.

요소는 EC의 전구체로써 환경에 따라 EC로 전환될 수 있기 때문에 과실 발효주 및 과실 증류주에서는 EC 측정에서 빠지지 않고 확인하는 항목이다. Lalvin BM4X4 는 0ppb로 가장 낮은 수치를 기록하였으며 요소 검출량이 낮은 순서대로 Lalvin BM4X4>BDX>CM 796>Lalvin V1116 K1>Fermivin>Eau de vie>Lalvin ICV D254>Lalvin R-HST>Lalvin EC1118>Lalvin DV10>Lalvin ICV D47>Lalvin Cy3079>Lalvin Clos>Premier cuvee>Lalvin 71B 순으로 나타난다.

에틸카바메이트 검출량이 150ppb 이하로 측정된 8개의 실험군 중 Lalvin Clos, Lalvin Cy3079은 요소 검출량이 상대적으로 높아 EC의 추가 검출량의 증가가 상대적으로 높을 것으로 기대된다.

표 1-89. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 결과

	ethyl carbamate	urea
Lalvin 71B	973.3	78.8
Lalvin BM4X4	633.6	0.0
Lalvin Clos	40.4	30.2
Lalvin Cy3079	49.5	28.8
Lalvin DV10	49.1	19.5
Lalvin EC1118	45.5	18.5
Lalvin ICV D254	164.9	16.4
Lalvin ICV D47	193.1	21.4
Lalvin R-HST	138.2	16.6
Lalvin V1116 K1	165.2	14.0
BDX	125.0	11.4
CM 796	130.4	13.3
Eau de vie	117.5	14.9
Premier cuvee	865.5	71.7
Fermivin	168.3	14.2

(단위: ppb)

표 1-90. 효모별 증류주의 EC와 요소 검출 순위

	ethyl carbamate	rank
Lalvin Clos	40.4	1
Lalvin EC1118	45.5	2
Lalvin DV10	49.1	3
Lalvin Cy3079	49.5	4
Eau de vie	117.5	5
BDX	125.0	6
CM 796	130.4	7
Lalvin R-HST	138.2	8
Lalvin ICV D254	164.9	9
Lalvin V1116 K1	165.2	10
Fermivin	168.3	11
Lalvin ICV D47	193.1	12
Lalvin BM4X4	633.6	13
Premier cuvee	865.5	14
Lalvin 71B	973.3	15

(단위: ppb)

	urea	rank
Lalvin BM4X4	0.0	1
BDX	11.4	2
CM 796	13.3	3
Lalvin V1116 K1	14.0	4
Fermivin	14.2	5
Eau de vie	14.9	6
Lalvin ICV D254	16.4	7
Lalvin R-HST	16.6	8
Lalvin EC1118	18.5	9
Lalvin DV10	19.5	10
Lalvin ICV D47	21.4	11
Lalvin Cy3079	28.8	12
Lalvin Clos	30.2	13
Premier cuvee	71.7	14
Lalvin 71B	78.8	15

(단위: ppb)

(7) 효모별 증류주의 향기성분 분석

사과의 효모별 증류주의 향기성분 분석 결과, Red star社의 Premier cuvee 효모를 사용하여 발효한 증류주의 경우 가장 적은 향기 성분이 검출되었으나, 그 외의 효모의 경우에는 효모별로 차이가 거의 나타나지 않음을 알 수 있었다.

에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알코올류인 i-amyl alcohol, n-pentanol, i-butanol 및 phenylethyl alcohol이 검출되었으며, 에스테르성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl myristate, ethyl stearate, ethyl palmitate, Ethyl palmitoleate, ethyl ricinoleate, ethyl oleate 및 ethyl linoleate가 검출되었다. 이외의 에스테르 화합물들로는 ethyl lactate, penylethyl acetate가 검출되었다.

증류주의 주성분인 alcohol류 중 당류로부터 EMP경로에 의해 생성되는 ethanol을 제외하고 higher alcohol류는 가장 많은 비중을 차지한다. Higher alcohol은 맥주, 청주 및 소주 등의 품질에 영향을 주는 성분이다.

바나나향의 감미성 방향을 가지며 Ehrlich 경로에 의해 leucine으로부터 합성되는 isoamyl alcohol은 Lalvin BM4X4 효모를 사용한 증류주에서 가장 높게 나타났다. Lalvin BM4X4 효모는 높은 함량의 isoamyl alcohol을 생성하기 때문에 사과 증류주에서 “브랜디향”이 강화시키는데 유용하다. Ester류는 면적비율은 낮으나 주류의 향미에 큰 영향을 미친다. 효모의 종류에 관계없이 Ethyl palmitate가 효모를 달리하여 제조한 증류주에서 검출된 12종의 ester류 중 그 비율이 높은 것으로 나타났다.

사과향의 ethyl stearate는 맥주, 청주의 주요 ester 성분이며, Lalvin 71B 효모 증류주에서 다량 검출되었으며, Premier cuvee, Lalvin BM4X4, Lalvin EC1118 실험군의 증류주에서는 검출이 되지 않았다.

phenylethyl acetate는 벌꿀향, 장미향, 사과향 등의 여러 가지 향미를 생성하는 성분으로 phenylethyl alcohol이 에스테르화 되어 생성되어지며, phenylethyl alcohol의 함량이 높은 CM 796, Lalvin Clos, Lalvin Cy3079 실험군의 증류주에서 다량 검출되었다.

인공과일향의 제조 원료이며 사과향을 가진 ethyl caprate는 낮은 농도로도 강하고 보급력 있는 성분으로써, Lalvin 71B 및 CM 796 실험군의 증류주에서 비교적 많은 양이 검출되었다. 그리고 그 밖에도 미량 성분인 ethyl laurate, ethyl myristate는 와인에 과일향을 부여하는 성분들로써, 다른 종류의 ester와 조화를 이루어 특유의 향미를 형성한다.

이를 토대로 사과향이 강한 증류주를 개발하는데 있어서 적합한 효모들은 에스테르 화합물들을 많이 생산하는 Lalvin 71B를 이용하여 발효시켜 증류하는 것이 바람직하다고 판단되어진다.

표 1-91. 효모 종류를 달리한 사과증류주의 휘발성 향기성분(%)

	LP	EDV	PC	L-71B	L-BM4X4	L-Clos	L-Cy3079
Ethanol	89.58	79.58	97.1	71.46	89.58	70.58	64.43
i-Butanol	0.03	0.79	0.26	0.54	0.4	-	0.02
Pentanol	-	-	-	-	-	-	-
Butanol	0.02	-	0.03	-	-	-	0.1
i-amyl alcohol	2.24	1.7	2.54	3.73	5.78	1.8	1.59
Propyl lactate	0.02	-	0.05	0.01	0.02	0.01	0.03
Ethyl caprate	0.02	0.04	-	0.42	0.5	0.05	0.07
Phenylethyl acetate	0.03	-	-	0.01	0.08	0.06	0.09
Ethyl laurate	0.06	0.32	-	0.42	0.32	0.18	0.15
Phenylethyl Alcohol	0.12	0.03	-	0.09	0.06	0.15	0.14
Ethyl myristate	0.02	0.90	-	1.07	0.43	2.11	1.77
Isoamyl laurate	-	-	-	-	-	-	-
ethyl Pentadecanoate	-	-	-	-	0.01	0.04	-
ethyl palmitate	5.52	12.63	-	16.72	1.87	21.45	26.50
Ethyl Palmitoleate	-	-	-	-	-	-	0.25
Ethyl stearate	0.14	0.23	-	0.56	-	0.06	0.17
Ethyl Oleate	0.94	1.8	-	1.92	-	1.35	2.05
Ethyl linoleate	0.67	1.9	-	1.31	-	1.63	2.37

	L-DV10	L-EC1118	L-ICVD254	L-ICVD47	L-RHST	L-V1116	U-BDX	U-CM
Ethanol	79.3	97.29	74.63	78.78	77.38	59.25	62.64	66.13
i-Butanol	0.13	0.01	0.09	-	0.12	-	0.10	0.18
Pentanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanol	0.04	-	0.05	-	0.09	0.02	0.08	0.06
i-amyl alcohol	1.99	0.91	1.59	1.39	1.90	1.10	1.53	2.29
Propyl lactate	0.01	-	-	-	0.01	0.02	0.01	0.10
Ethyl caprate	0.08	0.03	0.06	0.08	0.14	0.07	0.01	0.21
Phenylethyl acetate	0.05	0.03	0.02	0.01	0.03	0.04	0.03	0.08
Ethyl laurate	0.12	-	0.13	0.16	0.11	0.82	0.26	0.61
Phenylethyl Alcohol	0.09	0.09	0.04	0.03	0.03	0.11	0.10	0.20
Ethyl myristate	1.33	0.06	1.28	1.25	0.99	9.48	4.89	3.85
Isoamyl laurate	-	-	-	-	-	0.02	-	-
ethyl Pentadecanoate	-	-	0.02	-	-	0.16	0.08	0.05
ethyl palmitate	13.09	1.35	18.62	14.17	15.14	25.40	26.49	21.53
Ethyl Palmitoleate	0.12	-	0.16	0.1	1.94	0.57	0.48	0.06
Ethyl stearate	0.19	-	0.16	0.26	0.23	0.04	0.06	0.09
Ethyl Oleate	1.64	0.1	1.51	1.98	0.01	0.74	1.36	1.75
Ethyl linoleate	1.34	0.13	1.61	1.70	1.66	0.83	1.74	2.17

(8) 최종 효모 선발

실험군 15종의 각각의 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 사과 증류주 제조 기술 개발>에 사용할 효모를 선발하고자 한다.

효모 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로한 순위, 발효 시 생성되는 알코올의 순위, 증류주 제조 시 초류를 분리한 비율(백분율)에 의한 순위, 증류주 제조 시 메탄올과 아세트알데히드의 총량의 순위로 총 6가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 사과 증류주 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 효율 및 경제성 여부인 알코올 생성 순위, 초류분리 백분율 순위에 각각 20%, 검출이 되지 않은 메탄올의 가중치는 제외시키고 유해물질이기는 하나 초류 분리에 의해 분리가 가능한 아세트알데히드에 5%의 가중치를 두었다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 효모로 선정하였다. 실험군별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 (표 1-92. 실험군 별 최종 효모 선정 평가 결과)에 나타나 있다.

EC 검출량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 BDX 실험군이 가장 적합한 효모로 선정이 되었다.

이후 선정된 BDX 및 최적화 된 발효조건을 가지고 <안전한 사과 증류주 제조 기술 개발>을 위한 증류조건 최적화 및 숙성조건 최적화를 진행코자 한다. 각 공정의 최적화를 통하여 유해물질을 더욱 감소시키고 국산 증류주의 세계화를 위한 사과 증류주로 거듭나고자 한다.

표 1-92. 실험군별 최종 효모 선정 평가 결과

	Rank															가중치
	Lalvin 718	Lalvin BM4X4	Lalvin Clos	Lalvin Cy3079	Lalvin DV10	Lalvin EC1118	Lalvin ICV D254	Lalvin ICV D47	Lalvin R-HST	Lalvin V1116 K1	BDX	CM 796	Eau de vie	Premier cuvee	Fermivin	
EC	15	13	1	4	3	2	9	12	8	10	6	7	5	14	11	30%
요소	15	1	13	12	10	9	7	11	8	4	2	3	6	14	5	20%
알코올	1	9	14	11	8	3	10	5	12	6	3	4	15	2	7	20%
초류분리	1	14	13	8	11	11	8	10	7	2	3	4	14	4	4	20%
MeoH	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5%
Acetaldehyde	1	15	14	11	13	12	9	10	7	2	4	8	3	5	6	5%
가중치합	8.00	9.50	9.05	8.00	7.40	5.85	8.20	9.35	8.20	5.55	3.65	4.75	8.70	8.50	6.85	100%
rank	7	15	13	7	6	4	9	14	10	3	1	2	12	11	5	

4. 과실 증류주 평가를 위한 전문조사분석패널 양성

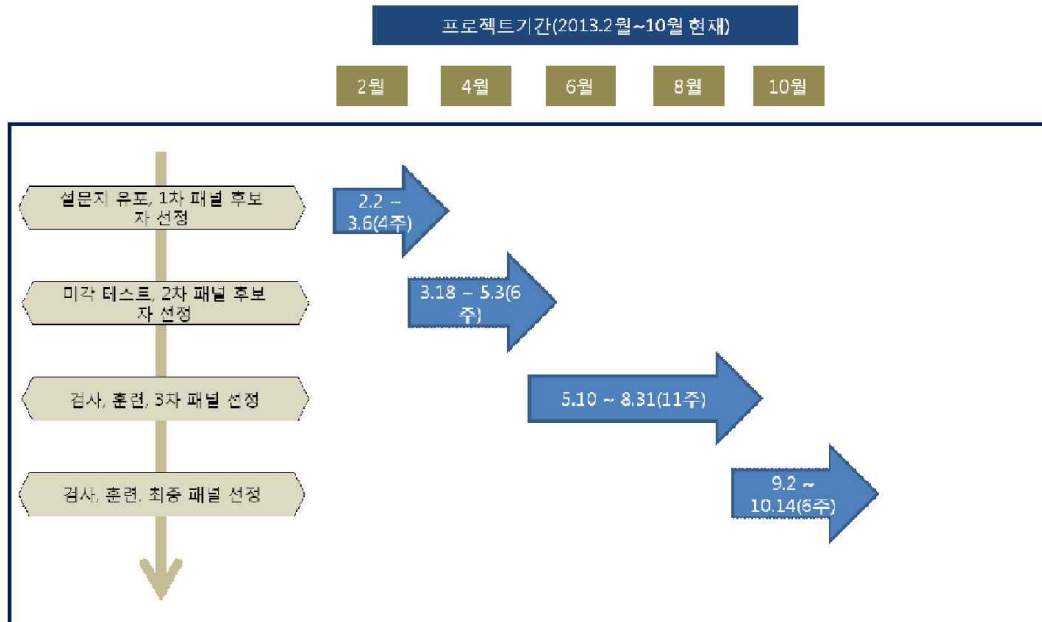
주류제품의 맛과 향에 대한 관능성분 묘사, 강도 측정 등을 수행하는 고도로 훈련된 관능평가 패널을 양성하기 위하여 다음과 세부 절차 및 일정으로 패널 양성을 진행 하였다,

가. 세부절차 및 일정

(1) 패널 양성 세부절차

항목	일반 패널	묘사분석 패널
① 측정 시스템 (패널)의 신뢰도	<ul style="list-style-type: none"> 신뢰도에 대한 한계 묘사분석력 반복성 	<ul style="list-style-type: none"> 신뢰도 높은 패널 양성 묘사분석력: 묘사력 70% 이상 반복성: 15점 척도에서 정답 ±1 내
② 증류주 품질 평가 방법	<ul style="list-style-type: none"> 정성적 방법 사용 차이의 유무만을 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 정량적 방법 사용 품질 차이의 규명 및 강도 평가
③ 품질의 객관화/정량화	<ul style="list-style-type: none"> 객관화, 정량화의 어려움 품질 관리 한계 제품 최적화 한계 	<ul style="list-style-type: none"> 객관화, 정량화 가능 체계적 품질 관리 가능 소비자 조사와 연계 제품 최적화에 사용
④ 관능평가 bias	<ul style="list-style-type: none"> bias 조절 어려움 관능 피로도, 맛의 둔화, 강화, 시너지 등 	<ul style="list-style-type: none"> 훈련에 의한 Bias, 관능피로도 최소화 신뢰성 있는 결과 도출
⑤ Lexicon 개발	<ul style="list-style-type: none"> Lexicon 개발 한계 	<ul style="list-style-type: none"> Lexicon 개발 품질관리, 제품 개선/개발에 사용

(2) 패널 양성 및 교육 일정



주류제품의 묘사분석 패널 양성을 위하여 맛에 민감한 20~30대 남녀 100여명을 대상으로 일차적으로 다섯 가지 맛에 대한 민감도와 향기에 대한 민감도 테스트를 진행하여 50여명을 일차적으로 선발 후 국내 시판중인 증류식 소주 및 위스키 밀 브랜드를 이용하여 증류주의

맛과 향에 민감한 10여명을 선발하여 패널 교육 및 양성을 위해 주 2회씩 교육을 실시하였다.

나. 패널양성

(1) 묘사분석의 신뢰도 분석

선정된 묘사분석 패널의 증류주에 대한 묘사 능력을 확인하기 위하여 도출된 총 12개의 관능특성을 문헌 (표 1-93. 증류식 소주의 관능특성)과 비교 분석하였다. 최종적으로 표2에 붉은색으로 표기된 9가지의 특성이 문헌과 일치하였으며 이는 대략 75% 이상의 묘사분석력을 의미한다. 따라서 패널들의 증류주에 대한 묘사분석력이 확보되었다고 할 수 있다.

표 1-93. 증류식 소주의 관능특성

Aroma	Taste	Texture
Alcohol	Alcohol	Pungent
Acetone	Sweet	Astringent
Sour	Sour	Cooling sensation
Sweet	Bitter	Tingling
Fruit		Swallow
Wine		Body
Yeast		
Oak		

<출처 Seung-Joo Lee, Sensory Profiling of Commercial Korean Distilled Soju(2012)>

표 1-94. 다양한 효모에 의한 개발된 증류주의 관능특성 (양성 패널)

Aroma	Taste	Texture
Alcohol	Alcohol	Burning
Sweet	Sweet	Body
Sour	Sour	
Nuruk Flavor	Nuruk Flavor	
Wine	Aspartam	

다음으로 패널들의 기본맛에 대한 반복성을 평가하기 위하여 훈련전과 훈련후의 결과를 비교분석 하였다. 그림 1-140은 패널들의 묘사분석 훈련 전 단맛에 대한 결과로 대부분의 패널들이 규격 (정답±1 내) 밖에 존재하는 것을 알수 있다. 그러나 훈련이 진행됨에 따라 (그림2-5) 패널들의 기본맛에 대한 결과가 안정됨을 알 수 있다.

그림 1-140. 단맛 테스트 결과(2013/2/23, 2013/3/6 - 훈련전)

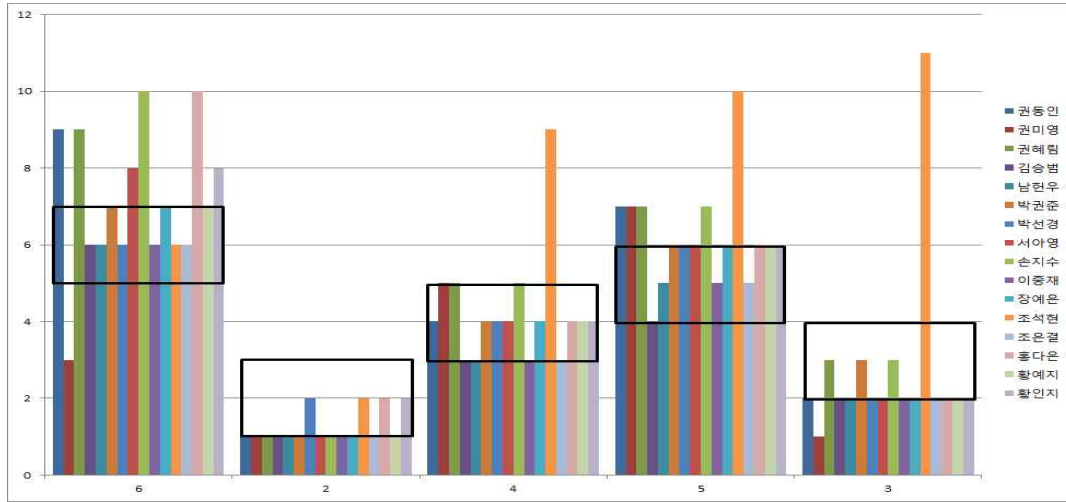


그림 1-141. 단맛 테스트 결과(3.23 - 훈련진행)

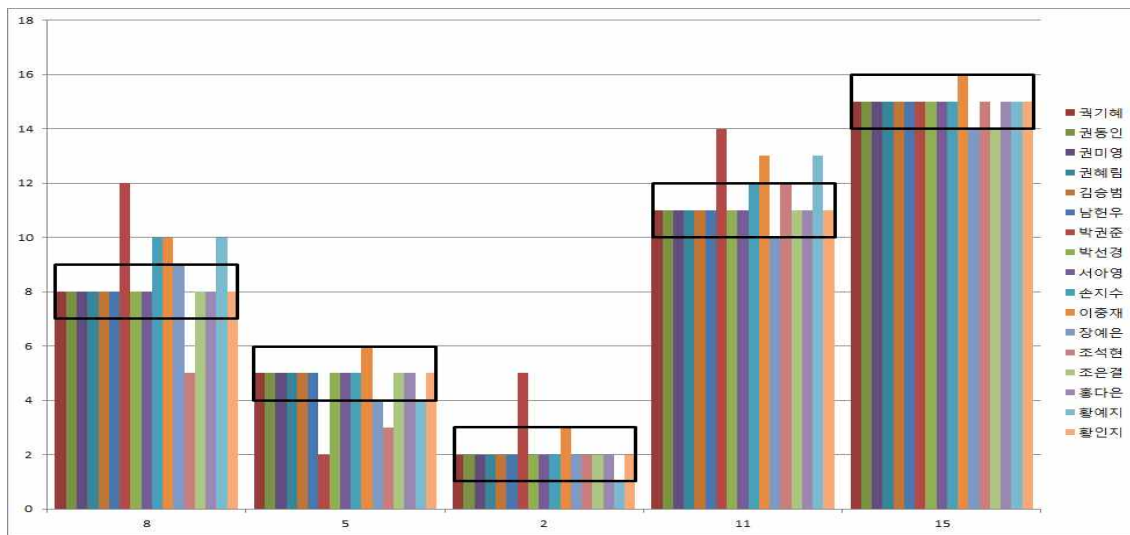


그림 1-142. 짠맛 테스트 결과(3.23 - 훈련진행)

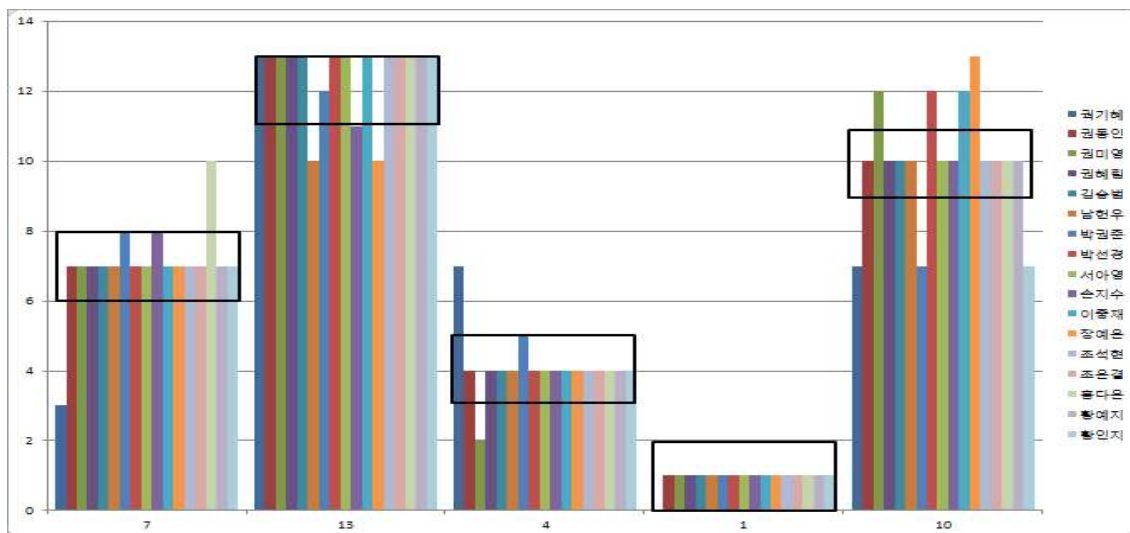


그림 1-143. 단맛 테스트 결과(4.2 - 훈련진행)

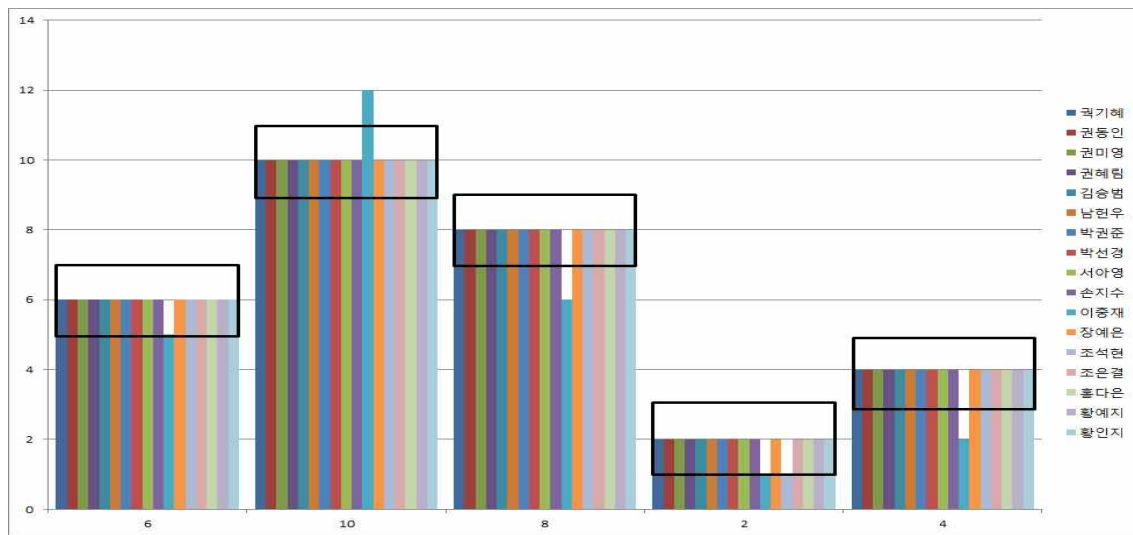
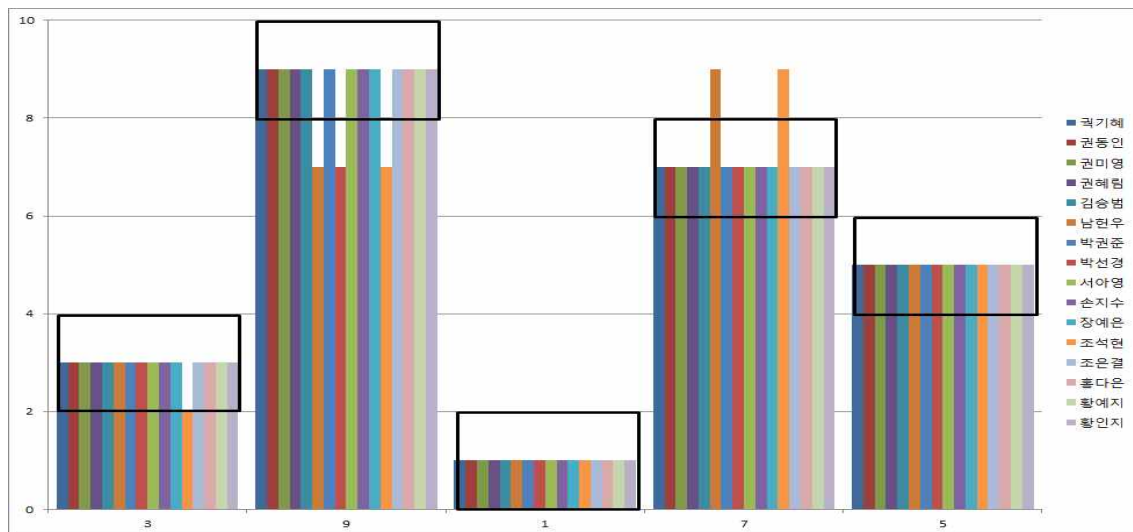


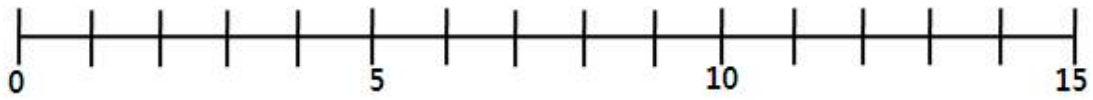
그림 1-144. 짠맛 테스트 결과(4.2 - 훈련진행)



(2,3) 증류주 품질 평가 방법 및 품질의 객관화/정량화

효모 별로 생산되는 다양한 증류주의 품질을 정량화시키기 위하여 Sensory Spectrum 사의 체계화된 묘사분석 패널 훈련 프로그램을 사용함. 기본맛 (단맛,신맛,짠맛,쓴맛)부터 다양한 향기 성분(와인아로마키트, 커피아로마키트 사용) 및 증류주 flavor wheel에 사용되는 맛성분들을 독립적으로 감지하고 정량화하는 연습하였다. 패널들에게 15점 강도 scale의 사용과 각 특성에 대한 표준시료의 활용에 대하여 교육 하였으며. 또한, 증류주의 경우 알코올 함량이 높아 관능 피로도가 강하므로 시간에 따른 증류주 품질을 정량화하기 위한 시간-강도 묘사분석 방법을 패널들에게 교육하였다.

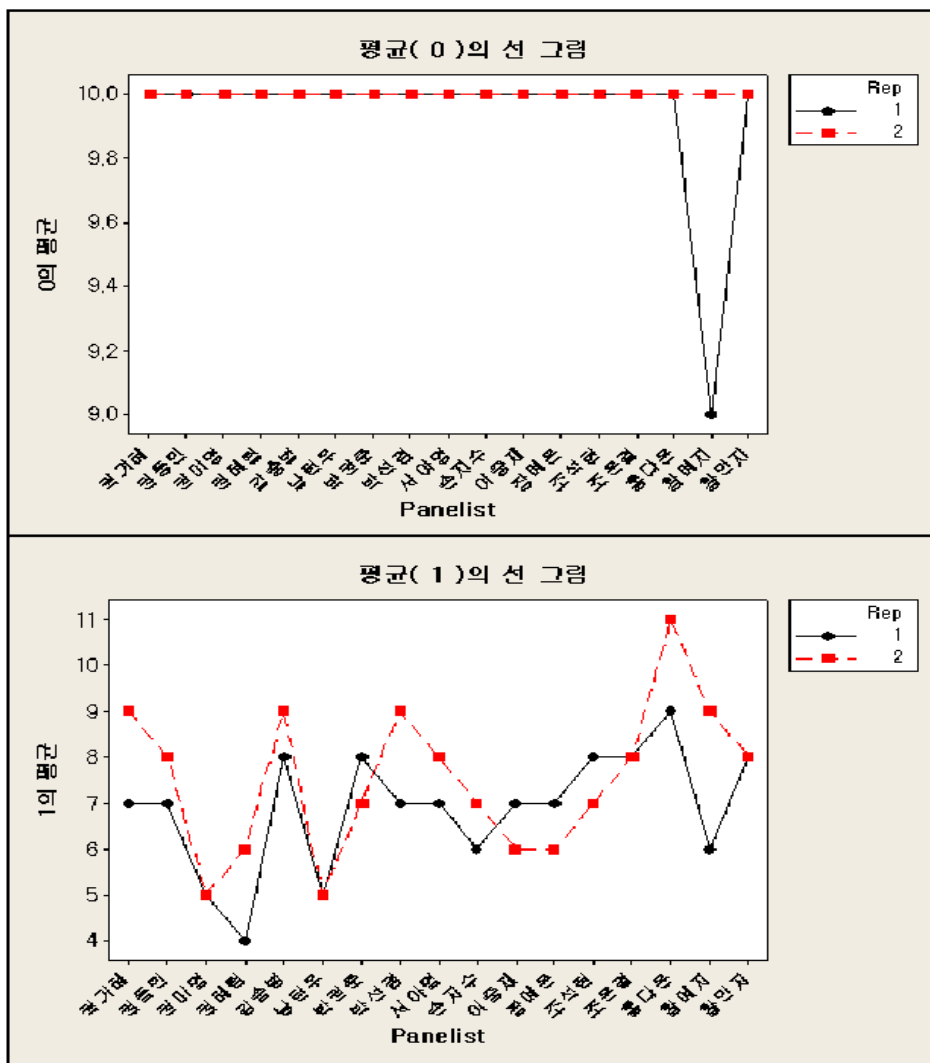
그림 1-145. 15점 스케일 및 시간-강도 척도 사진



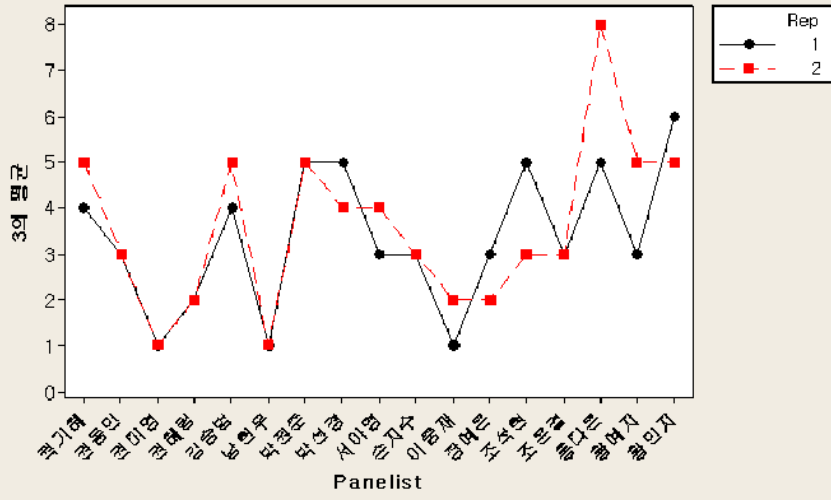
(4) 관능평가 bias 조절

상기에서 언급한 것처럼 증류주는 알코올이 40%이상 함유되어 한번에 여러 가지 시료를 동시에 평가하기가 어려워 시간-강도 묘사분석법을 활용하였다. 대표적인 과실증류주인 레미마틴 (알코올 함량 40%)을 사용함. 시료 평가 후 잔존되는 알코올의 강도를 평가하기 위하여 컨트롤(0분), 1분후, 3분후 및 5분후 평가하였다. 평가 결과 패널들이 시간에 따른 입안 잔존강도 결과의 재현성이 확보되었음을 확인하였다.

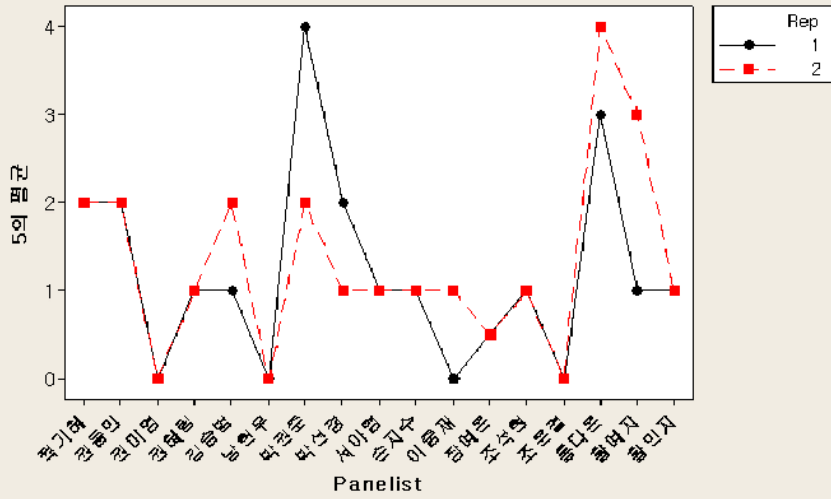
그림 1-146. 시간-강도법에 의한 레미마틴의 입안 잔존강도 평가



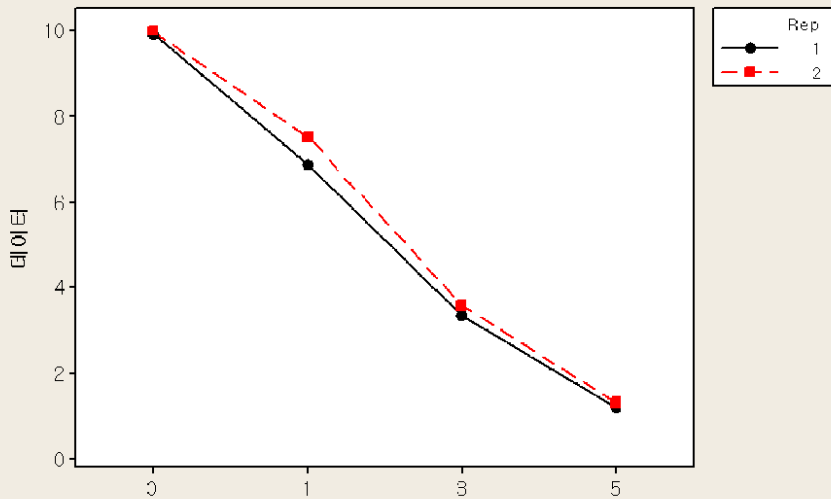
평균(3)의 선 그림



평균(5)의 선 그림



평균(0, 1, 3, 5)의 선 그림



2절. 안전한 과실 증류주의 증류 조건 최적화

1. 안전한 쌀증류주(Blending Base) 제조기술 개발

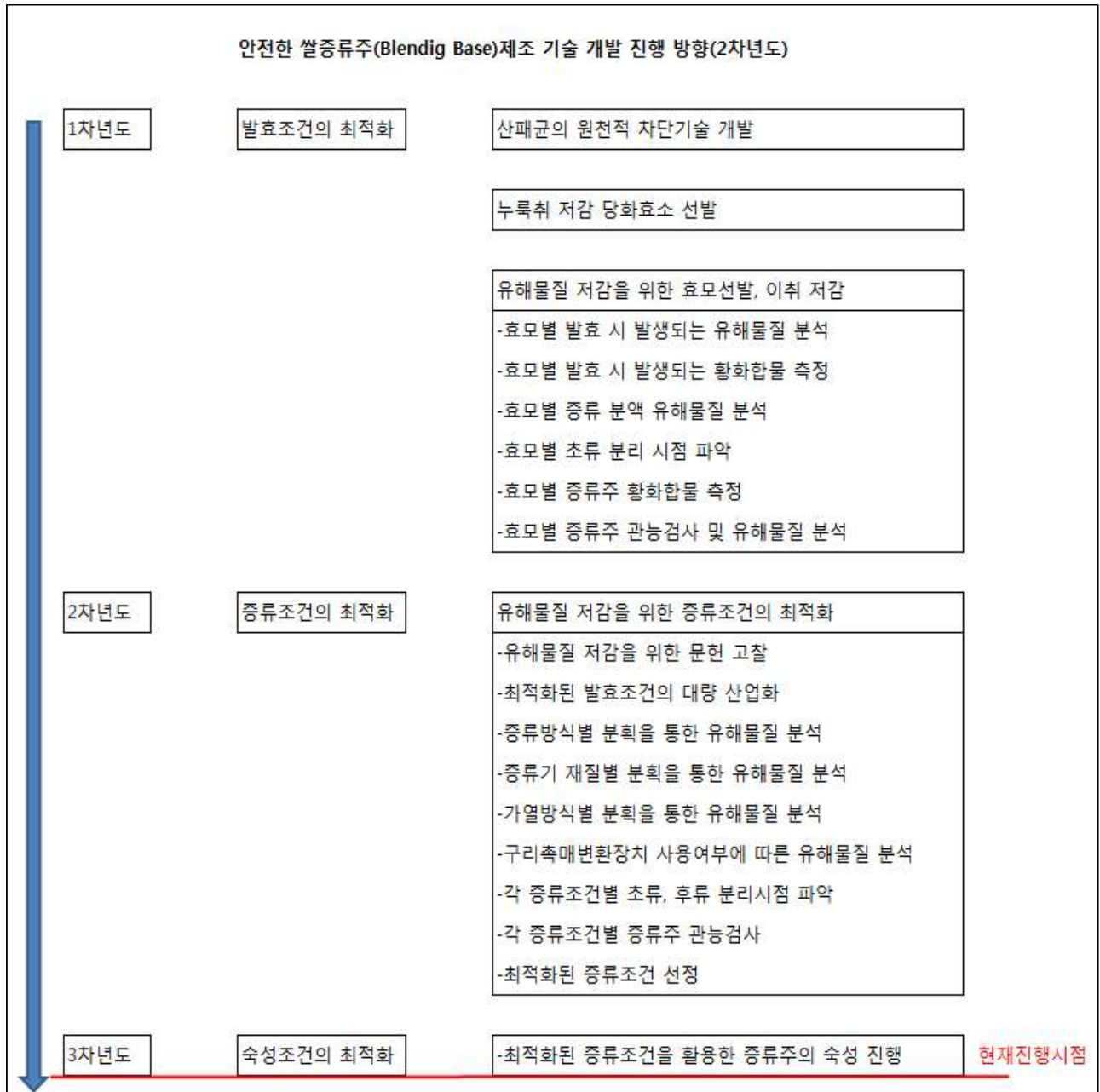
1차년도에서는 <안전한 쌀증류주 제조기술 개발>의 발효조건의 최적화를 목표로 산패균의 원천적인 차단기술을 개발하였으며, 1차 선발한 8가지의 당화효소를 활용하여 누룩 취를 10% 이상 저감시키기 위한 당화효소를 선발하였다. 이후 유해물질 저감을 위한 효모 선발과 이취를 저감시키기 위하여 선정된 발효방식에 1차 선발한 효모 15종을 활용하여 발효특성을 확인하고 유해물질(EC)과 황화합물을 분석하였으나 발효주 상태에서는 검출되지 않았다. 효모별 유해물질의 발생정도를 확인하여 최종 효모 선발을 진행하고자 발효가 종료된 효모별 술덧을 활용하여 증류를 진행하였다. 증류 시 효모별 발효 술덧의 1% 량을 1분획으로 정하여 증류가 종료될 때까지 각 분획을 채취하여 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)을 측정하고 저(低)비점 유해물질의 국내 기준 보다 강화된 기준으로 초류를 분리하여 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 제품을 시료로 제작하였다. 제작된 효모별 시료의 에틸카바메이트(EC)와 EC의 전구체인 요소를 분석하여 유해물질과 경제성, 저(低)비점 유해물질 등의 평가 기준을 마련하여 최종 효모(최종 선정 효모 :BDX)를 선정하였다.

2차년도에서는 1차년도에서 선정한 최적화된 발효조건을 바탕으로 증류조건의 최적화를 이루고자 한다.

연구개발 목표

- 한국형 브랜드/ 일반증류주의 개발을 위해 쌀을 이용한 블랜딩 베이스 증류조건 확립
- 최적화된 발효조건의 대량 산업화
- 유해물질 저감 매뉴얼의 고찰
- 유해물질 저감을 위한 증류조건의 최적화

-연구개발 진행도



가. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 유해물질 저감을 위한 문헌 고찰

(1) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)

2011년 4월 식품의약품안전처에서는 우리나라 주류 산업계에 적용할 수 있도록 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”을 발간하였다. 본 책자 내용 중 포도주는 캘리포니아 양조협회와 미국FDA에서 작성한 「Ethyl Carbamate Preventative Action Manual」과 CODEX 오염물질분과위원회에서 준비 중인 「핵과류를 원료로 한 증류주 중 에틸카바메이트 오염 예방 및 저감화에 대한 실행규범」 및 우리나라에서 저감화를 위해 작성한 연구보고서 등 관련자료를 우리나라 주류제조실정에 맞게 재구성한 것이다.

곡물 증류주의 저감화 매뉴얼 중 증류장치 관리 및 증류관리에 관한 내용을 발췌하여 요약하면 다음과 같다.

<증류장치관리>

- 시안화수소산이 증류액으로 전이 되지 않도록 증류장치 및 증류 공정을 관리하여야 한다.
- 구리증류기의 사용은 EC 전구체가 증류액으로 이행하는 것을 방지한다.
- 증류장치는 자동 세척장치와 구리촉매변환장치를 갖추어야한다.
- 불연속 증류 시 자동 행균 장치는 필수 사항은 아니지만 증류장치는 체계적으로 세척해야한다.
- 증류장치 중 최종 냉각기는 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것이 바람직하다.

<증류관리>

- 스티姆을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다.
- 가열시간이 길어질수록 EC의 생성량이 증가하므로 증류시간을 단축하여 가열시간을 최소화한다.
- 감압증류가 EC의 저감화에 바람직하다.
- 증류 시 처음 나오는 초류는 조심스럽게 분리하여 제거한다.
- 증류(heart, 본류)는 수집 시 어두운 곳에 보관하여야 한다.
- 증류는 알코올도수가 50도(v/v%)에 도달할 때 까지 수집하고 그 후에 증류되는 후류는 따로 수집하여야 한다.
- 증류 시 EC의 함량은 초류<증류<후류 순이다.
- 후류 부분은 별도로 모아서 재증류하기도 하지만 되도록 폐기하는 것이 바람직하다.

(2) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)에 대한 고찰

<증류장치관리>

구리재질의 증류기는 그 재질에 의해 EC와 EC의 전구체를 흡착하는 역할을 하며 흡착된 EC와 EC 전구체는 자동 세척 장치를 통하여 지속적으로 세척을 해주어 다음 증류 시 흡착할 수 있는 구리 접촉면을 확보해야한다. 최종 냉각기로 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것은 구리로 되어있는 냉각기의 경우 흡착되었던 EC와 EC 전구체가 최종 증류주로 유입될 수 있으므로 냉각기의 재질을 스테인리스로 사용하길 권장하는 것으로 보여 진다.

<증류관리>

스팀을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다는 항목과 가열시간을 최소화해야한다는 항목은 상충되는 항목으로 다른 항목을 접목 시켜볼 때 직접가열(직부 혹은 술덧 직접가열)을 피하고 후류로 진행 될수록 EC의 함량이 증가되므로 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다고 사료된다. 감압증류가 저온, 단시간 가열이 가능하므로 EC 저감화에 적합하다고 되어 있지만 구리는 재질이 연하여 균열이 발생되기 쉬우므로 감압증류기를 제조하기에 적합하지 않다. 따라서 <증류장치관리>에 따르면 구리재질이 EC 저감에 적합하다고 되어 있는 항목과 상충된 내용으로 보여 진다. 또한 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다는 항목은 일반적인 단식증류기로는 1차 증류로는 전체 증류주 량의 약 10~15% 가량만이 본류로 사용가능하므로 2차 증류까지 진행해야만 약 40%가량을 본류로 사용가능할 수 있으며, 연속식 타입의 증류탑이 있는 증류기로는 1차 증류만으로 전체 증류주 량의 40~80% 가량을 본류로 사용할 수 있으므로 이 또한 비교해야할 대상으로 여겨진다.

<안전한 쌀 증류주 제조기술 개발>에서는 첫 번째, 증류방식에 따라 단식증류와 단식-연속식 복합형 증류방식으로 나뉘며, 두 가지 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

두 번째, 증류기 재질에 따라 동(銅)재질의 증류기와 스테인리스 재질의 증류기를 사용하여 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석 그리고 이취를 발생시키는 황화합물 분석을 진행하고자 한다.

세 번째, 증류 가열방식에 따라 간접가열과 직부가열 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

마지막으로 구리촉매변환장치의 유무에 따른 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

나. 1차년도 선정된 효모를 활용한 발효의 대량화

1차년도에 선정된 효모(BDX)를 활용하여 2차년도 증류방식의 최적화를 선정하고자 대량 발효를 진행하여 소량 발효와의 비교 및 이상 유무를 판단하고자 본 실험을 진행하였다.

<실험방법>

쌀을 정량한 후 깨끗이 수세하여 2시간동안 침지 후 고운 망이 설치되어 있는 세척탱크의 배수구를 사용하여 30분간 물빼기를 해준다. 사용할 효소제 중 침출하여 사용하는 경우에는 그 효소제를 정량하여 효소제의 10배에 해당하는 20~25℃의 물에 교반하여 2시간가량 추출한 후 액을 분리하여 사용한다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용한다. 쌀 증류주 용 발효법은 곡물이 가지고 있는 향미를 증대시키고자 증자발효법을 사용하는 데, 물 빼기가 완료된 쌀은 121℃에서 15분간 증자 후 가열을 종료하고 10분간 뜸을 들인다. 1차년도에 선정된 효모 BDX는 활성을 갖게 하여 30℃까지 냉각시킨 쌀과 효소, 남은 물과 함께 넣어 1단 담금을 완료 한다. 초기 발효온도는 25℃로 설정하며 이때 젖산을 사용하여 pH를 3.2로 맞추어 산패균으로부터 원천적인 차단을 진행한다. 48시간 후 쌀과 물을 1단 발효의 2배 양을 넣어주어 2단 담금을 완료 한다. 1단 발효는 효모의 활성과 변식, 그리고 안정화를 위한 공정이며 안정화된 상태에서 2단 담금이 진행되도록 한다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국세청 면허지원센터 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 분석하였으며, 실험군에 따라 3반복하여 실험하였으며 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)

Density Meter(Anton paar DMA4100M, 오스트리아) 이용하여 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 미국)로 측정

표 2-1. 담금 규모에 따른 담금 방법

	소량담금			대량담금	
	1단	2단		1단	2단
쌀(g)	1,600.0	3,200.0	쌀(kg)	128.0	256.0
효모(g)	20.0		효모(kg)	1.6	
물(mℓ)	2,400.0	4,800.0	물(L)	192.0	384.0
RH(g)	28.6		RH(kg)	2.3	
AS(g)	4.8		AS(kg)	0.4	
Sumzyme(g)	1.7		Sumzyme(kg)	0.1	
젖산(mℓ)	12.0		젖산(L)	1.0	

<결과 및 고찰>

1차년도의 선정된 효모 BDX의 소량 담금 발효경과와 약 80배가량 대량 담금을 진행한 발효경과

를 확인하고 이상 유무를 판단하여 완료된 술덧으로 증류조건별 실험을 진행하고자 본 실험을 진행하였다.

pH의 경우 담금 직후 젖산을 사용하여 pH를 낮추어 주었기 때문에 발효 1일차는 유사하게 시작하였으나 2단 담금 후 상승하였던 pH는 대량 담금의 경우 지속적으로 상승하는 곡선을 형성하였다. 소량 담금에서는 3일차 이후 3.60~3.70가량이 유지되었으나 대량 담금에서는 3일차 이후 4.0에서 4.3까지 상승하였다.

산도의 경우 두 개의 실험군의 일자별 곡선의 유형은 유사하나 전체적으로 대량 담금에서 일자별로 1.0~2.0 가량의 더 높은 산도가 측정되었다. pH와 산도의 결과를 종합하여 볼 시 대량 담금에서 pH가 지속적으로 상승하는 3일차 이상 시기가 산패균이 증식할 수 있는 pH의 영역이기는 하나 산도의 증가 폭으로 확인 할 때 산패균에 의한 오염은 의심되지 않았으며 현미경 검경에서도 오염은 확인되지 않았다.

알코올의 경우 대량 담금 시 2일차에 14도(v/v%)로 소량 담금 2일차의 알코올 함량인 16.8도(v/v%)에 미치지 못하였으나 발효 경과일이 지날수록 유사한 알코올을 형성하며 최종 발효 경과일에 17.4~17.5도(v/v%)로 발효를 종료하였다. 소량 담금의 경우 효모활성이 조금 더 빨랐던 것으로 보여 지며 유해균 등의 생물학적 위해요소들을 억제시키기에는 두 개의 실험군 모두 충분한 알코올을 형성한 것으로 사료된다.

당도의 경우 전체적으로 감소하는 곡선을 형성하고 있으며 알코올 곡선과 상관관계가 있는 것은 아니다. 3일차 2단 담금에 의해 소폭 상승하였던 당도는 이후 지속적으로 소폭 감소하며 두 개의 실험군이 유사한 곡선을 형성하였다.

비중의 경우 알코올 곡선과 정확히 반비례하고 있으며 두 개의 실험군은 곡선의 형태는 같으나 대량 담금이 소량 담금에 비해 높은 비중을 형성하고 있다. 이는 수확시기가 달랐던 원료에 기인하는 것으로 보여 지며 발효경과일 동안 측정된 이화학적 분석 결과로 미루어 대량 담금에서도 소량 담금과 같은 안정적인 발효가 이루어진 것을 확인할 수 있었다.

그림 2-1. 쌀(호모: BDX) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(pH)

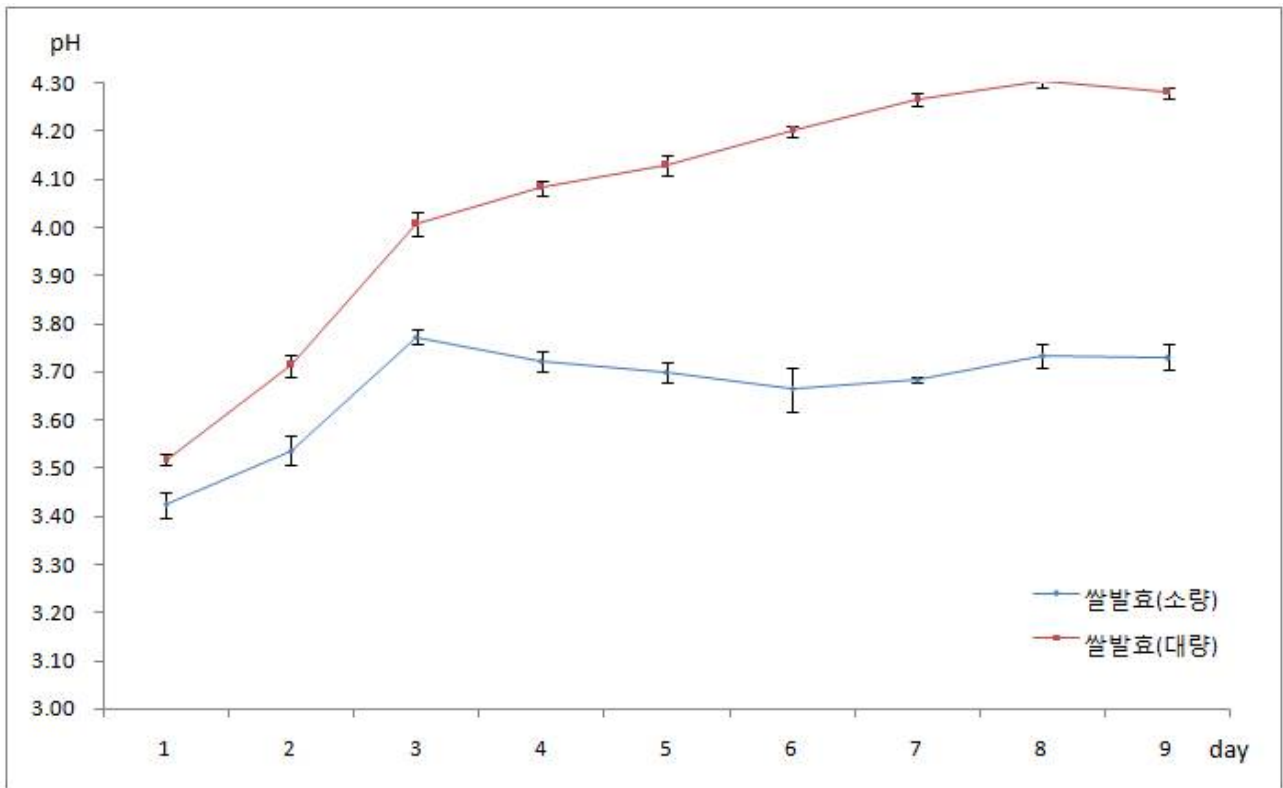


그림 2-2. 쌀(호모: BDX) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(산도(적정산도))

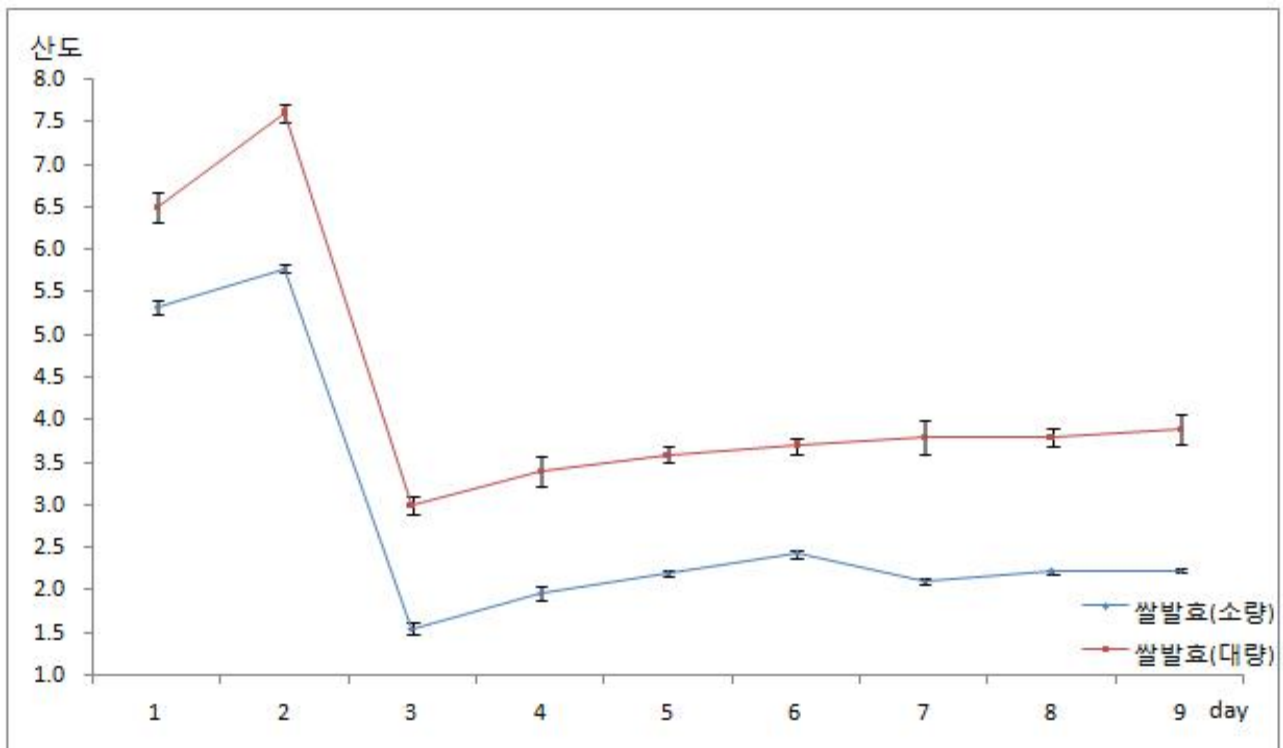


그림 2-3. 쌀(호모: BDX) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

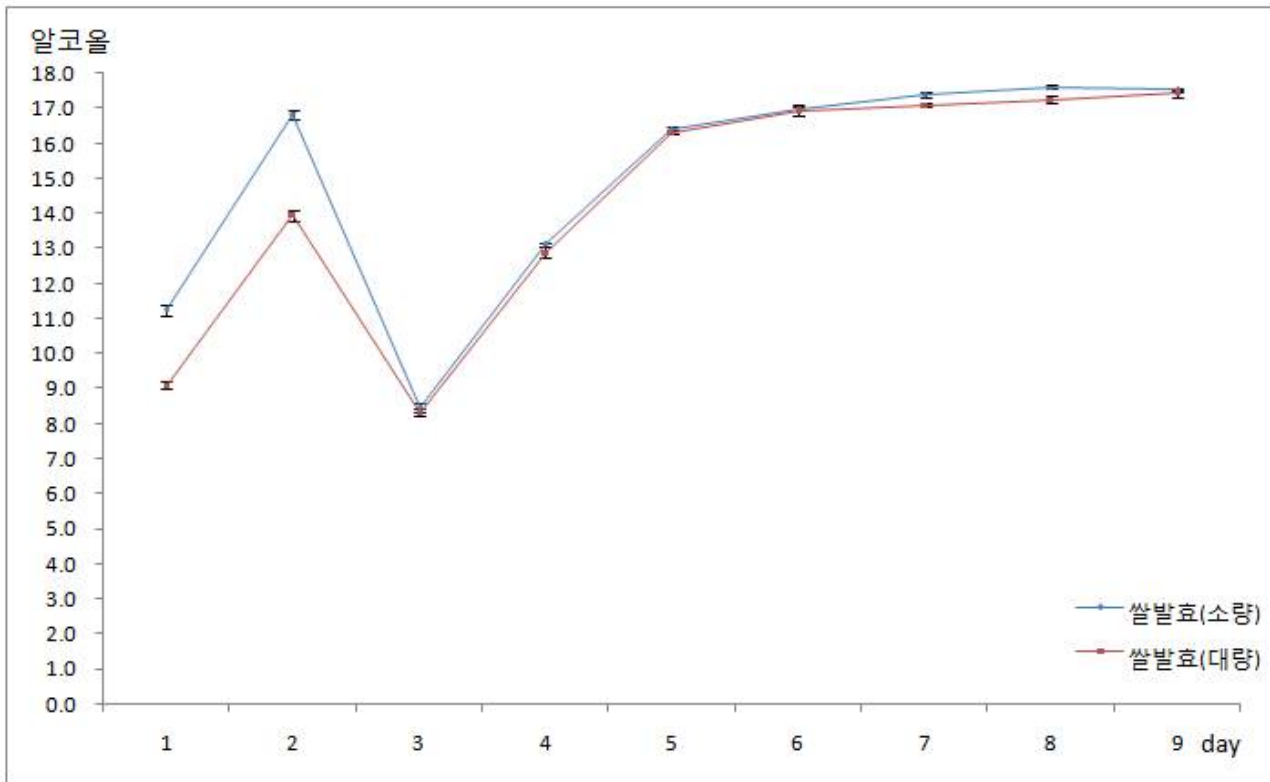


그림 2-4. 쌀(호모: BDX) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(당도(단위: °Brix))

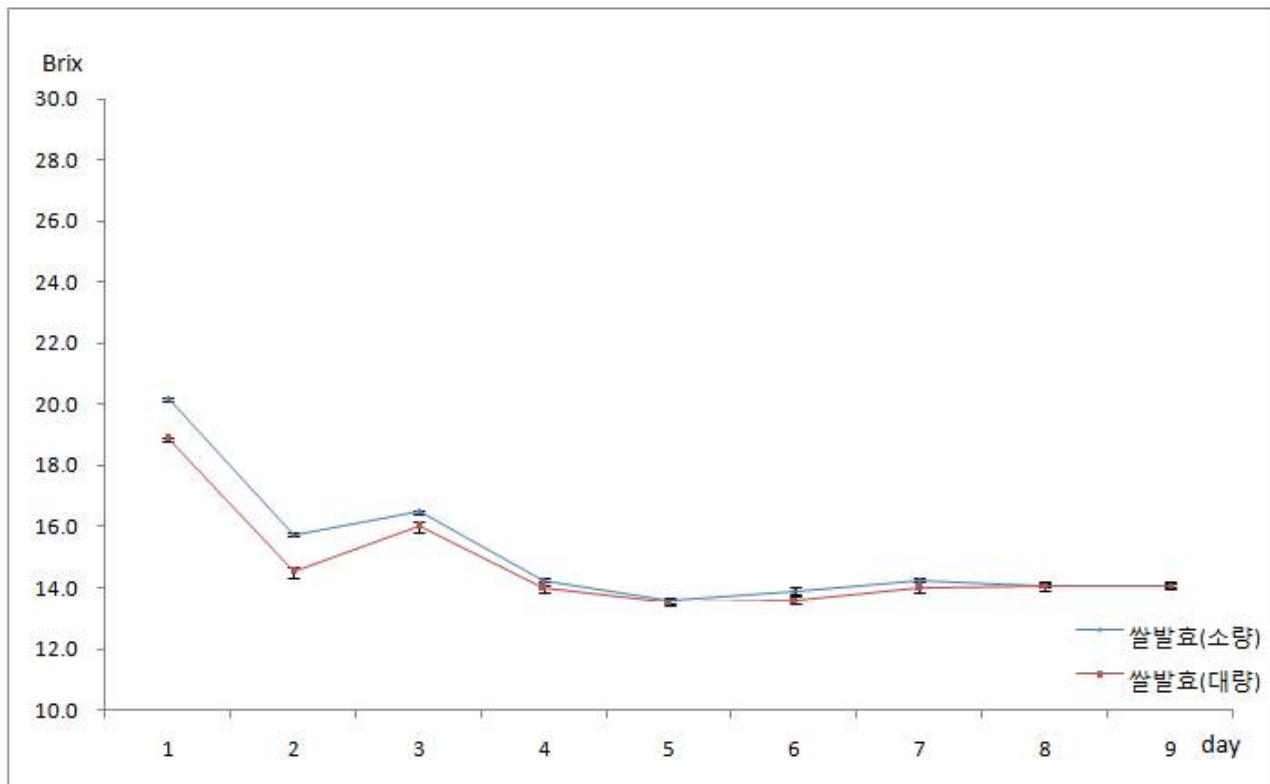
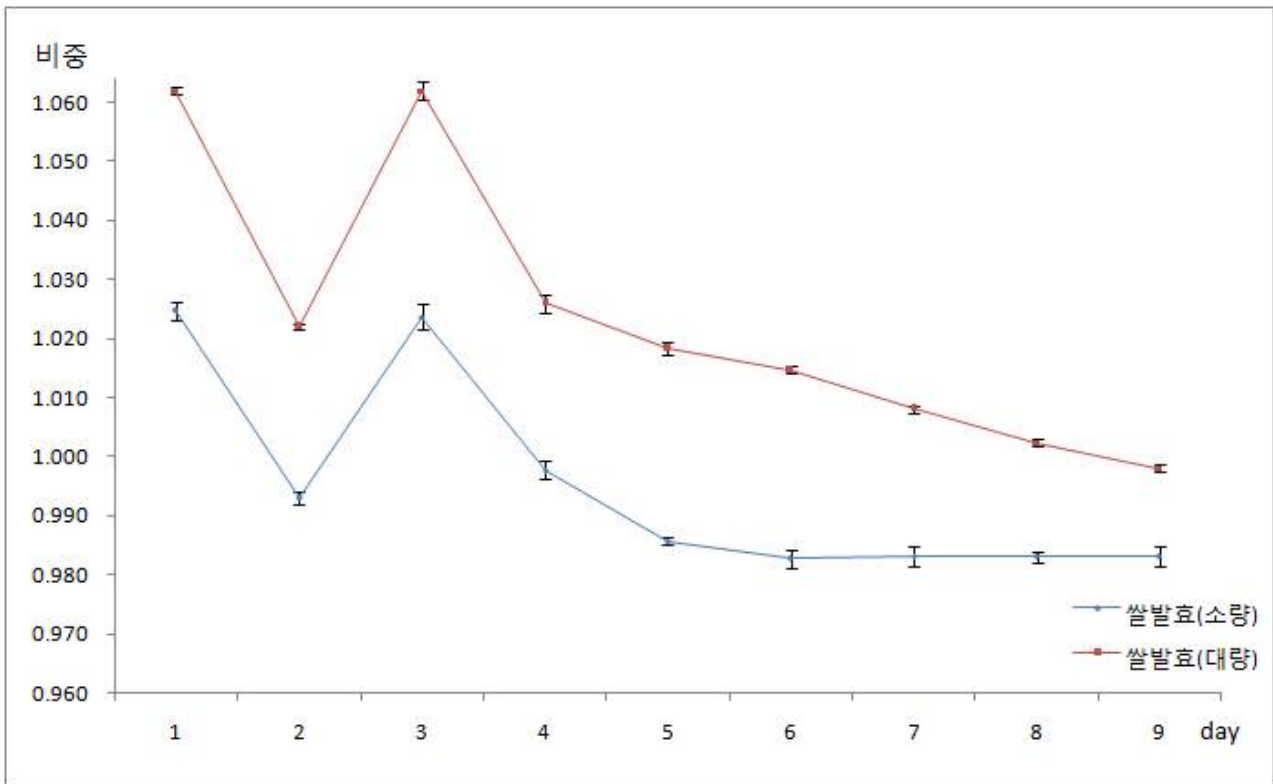


그림 2-5. 쌀(호모: BDX) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(비중)



다. 증류 조건별 분획을 통한 유해물질 분석

(1) 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 증류 방식별 증류

현재 주세법 상 소주는 증류식소주와 희석식소주의 구분에서 주세의 동일성을 사유로 소주로 통합되었지만 이전까지의 주세법 상에서는 곡물 등을 발효시켜 단식증류기로 증류한 것을 증류식소주로 곡물 등을 발효시켜 연속식증류기로 증류한 주정(알코올함량 95도(v/v%))을 희석하여 제조한 것을 희석식 소주로 분류하였었다. 증류방식에 따른 분류는 전 세계적인 것으로 일본에서도 소주 갑류와 을류를 정하는 기준을 단식증류기와 연속식 증류기의 사용 여부에 의해 결정되기도 한다. 본 실험에서 사용할 증류방식은 단식증류방식과 단식-연속식 복합형 증류방식으로 연속식 증류 방식은 술의 공급이 연속적이어야 하며, 농축탑이 다공판선반과 포종선반판을 혼용하여 에탄올의 함량이 고도수로 농축이 되게 하는 방식으로써 실험에서 술의 연속적인 공급이 어려우므로 농축탑이 유사한 단식-연속식 복합형 증류(Lomond still)방식으로 연속식 증류기의 형태를 대체하고자 한다.

그림 2-6. 연속식 증류기

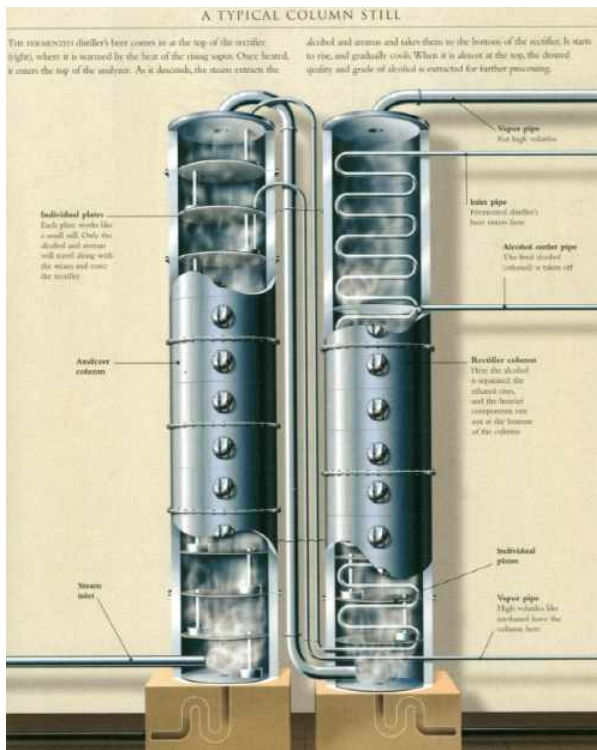
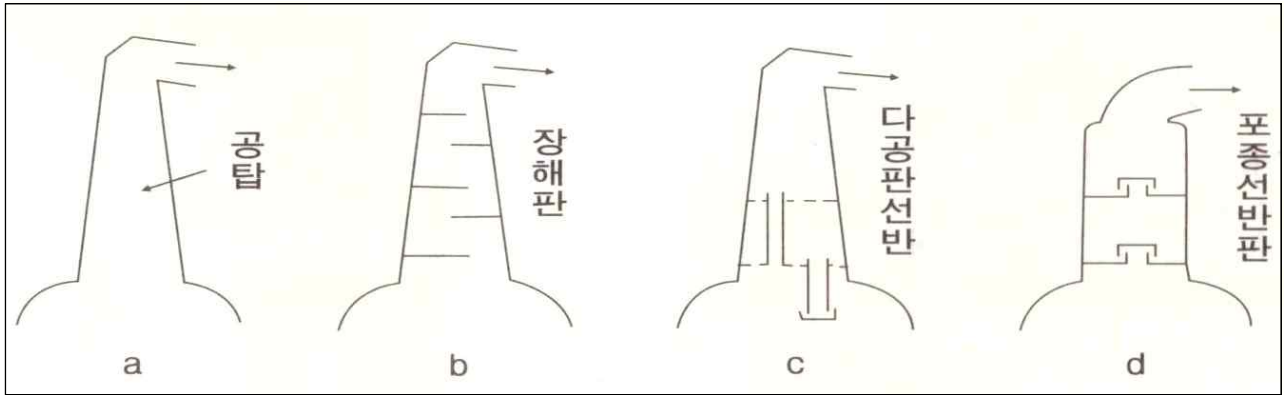


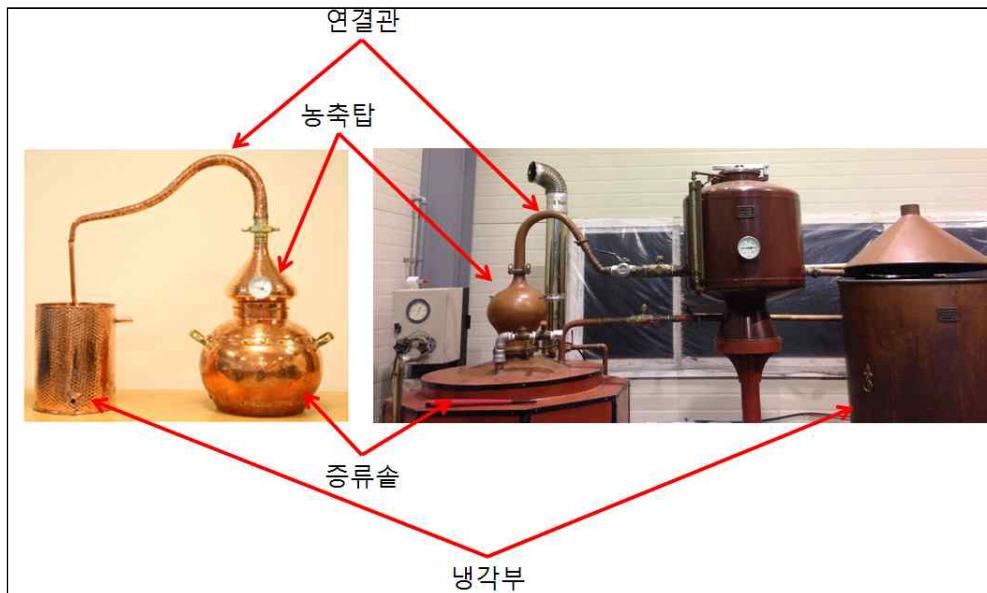
그림 2-7. 농축탑의 증류



단식증류방식은 압력에 따라 상압증류방식과 감압증류방식으로 나누어지는데 본 실험에서는 구리 재질의 특성 상 감압증류방식이 불가능한 점을 사유로 상압증류방식에서의 단식증류방식(Pot-Still) 과 단식-연속식 복합형 증류방식(Lomond still)만을 비교하고자한다.

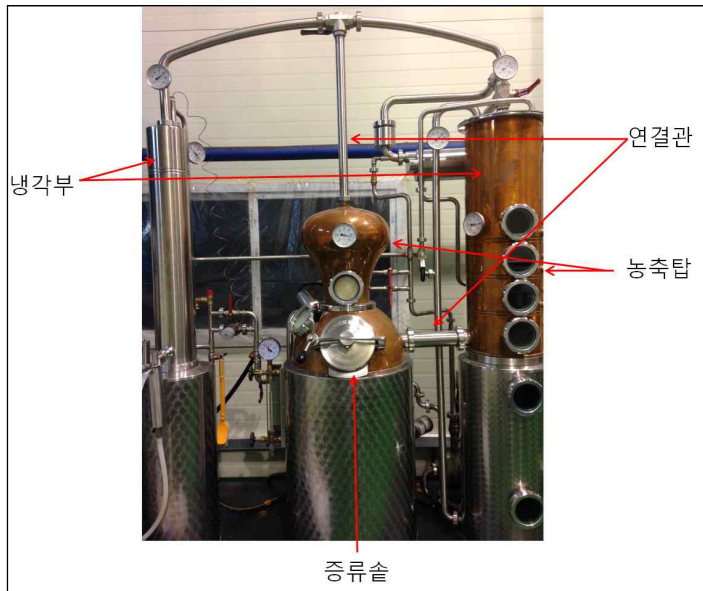
단식증류기는 일반적으로 증류술, 농축탑, 연결관, 냉각부, 소주탱크의 구조로 나누어지며, 미량성 분이 많이 함유되어서 농후한 맛이 나며, 증류직후 향미가 자극적이지만 숙성에 따라 주질이 크게 향상되며, 증류기의 형상, 재질, 증류조건 등에 따라 주질의 변화가 큰 것이 특징이다.

그림 2-8. 단식증류기의 구조



단식-연속식 복합 증류기(Lomond still)은 1955년 영국의 Hiram Walker 사의 Alistair Cunningham과 Arthur Warren이 개발한 장치로 증류술은 전통적인 단식증류기(Pot still)과 동일 하지만 상부의 농축탑과 연결부는 개조되어 원통형의 장치가 부착된다. 농축탑 부분이 연속식증류기의 농축탑 형태의 것으로 섬세한 위스키에서부터 오일리한 바디의 묵직한 위스키를 제조할 수 있는 것이 특징으로써 현재에는 스카치위스키가 아닌 몰트위스키에만 사용이 가능한 증류기이다. 본 실험에 사용할 단식-연속식 복합 증류기는 단식 증류기로도 사용이 가능한 증류기로 단식 증류방식과 단식-연속식 복합증류기만을 비교하기에 적절한 장치이다.

그림 2-9. 단식-연속식 복합 증류기의 구조



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모 여진 발효 술덧을 가지고 증류방식별 증류를 진행하였다. 동일한 증류술덧 20ℓ를 가지고 증류기 재질은 동, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류방식만 변화를 주어 (단식증류방식, 단식-연속식 복합증류방식) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 200ml씩 분획하였다. 단식 증류방식의 경우 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

본 실험에 사용한 증류기는 단식 증류와 단식-연속식 복합증류가 가능한 장치로써 증류방식을 달리 할 수 있도록 설계되어있으며 각 방식의 증류가 완료된 후에는 세척 장치를 통하여 세척을 완료한 후 다음 방식의 증류를 진행하였다.

그림 2-10. 증류방식별 증류 Flow



단식 증류법의 Flow



단식-연속식 복합 증류법의 Flow

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

증류방식에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 단식 증류방식은 총 40개의 분획으로 평균 알코올 함량 39.86도(v/v%)로 나타났으며, 단식-연속식 복합 증류방식은 총 28개의 분획으로 평균 알코올 함량 56.76도(v/v%)로 단식 증류방식에 비해 평균 알코올 함량이 높게 나타났다. 또한 단식 증류방식의 분획별 알코올 함량이 단조로운 반비례 곡선을 형성하였다면 단식

-연속식 복합 증류방식의 곡선은 16번까지는 완만한 감소를 보이다 16번 분획이후 급격히 감소하는 형태를 보여주고 있다. 이와 같은 곡선 형태의 차이는 농축탑 구조에 따른 차이로 보여지며 단식 증류방식은 공탑 구조이고, 단식-연속식 복합 증류방식의 농축탑은 포종선반판 구조를 갖추고 있기 때문에 알코올의 농축이 현저히 차이를 보이게 된다. 평균알코올 함량과 총 용량을 곱하여 산정하는 주정계수는 손실의 차이를 확인할 수 있는 지표로서 두 실험군의 주정계수를 확인할 시 큰 차이가 나지 않는 것으로 보아 각 증류방식의 손실의 차이는 발생되지 않은 것으로 보여진다. 단식 증류방식의 최대 알코올 함량은 2번 분획으로 75.7도(v/v%)로 측정되었으며 1번 분획이 이보다 낮은 사유는 세척수의 잔유물이 혼입되었기 때문으로 보여진다. 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획으로 89.3도(v/v%)로 측정되었으며, 2차 증류까지 진행된 단식 증류방식에 비해 1차 증류만으로 더 높은 효율을 보여주고 있다.

증류방식에 따른 분획별 저(低)비점(沸點) 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 단식-연속식 복합 증류방식에서 단식 증류방식에 비해 2배가량 높게 측정되었으며 두개의 실험군 모두 대부분 초기 분획 쪽에서 저(低)비점 유해물질이 집중되어 있는 것을 확인할 수 있다. 이와 같은 결과는 저(低)비점 유해물질인 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)의 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문으로 메탄올의 경우 단식 증류방식의 1번 분획에서 116.13ppm이 측정된 뒤 증류가 진행될수록 감소하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식에서는 1번 분획에서 160.31ppm이 측정된 뒤 점차 감소하는 결과를 보여주었다. 아세트알데히드의 경우에도 단식-연속식 복합 증류방식(1번 분획, 39.25ppm)에서 단식 증류방식(1번 분획, 17.35ppm)에 비해 1번 분획에서 높은 수치가 측정되어 이후 감소가 진행되었으며 저(低)비점 유해물질의 측정결과로 보아 단식-연속식 복합 증류방식이 단식 증류방식에 비해 더 많은 초류가 분리 될 것으로 예상된다.

EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 증류방식에 따른 분획별 함량을 측정한 결과는 그림 2-13. 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)에 나타내었다. 두개의 실험군 모두 요소는 전 분획에서 100ppb이하로 측정되었으나 EC의 경우 1번 분획에서 3번 분획까지 집중되어 있는 것을 볼 수 있다. "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"의 내용 중 EC의 함량은 초류<본류<후류 순으로 나타난다는 결과와는 상반되는 내용으로 각 증류조건, 원료, 원료의 비료 처리에 의하여 차이가 날 수 있는 것으로 사료된다. EC의 경우 단식 증류방식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 총 함량이 낮게 측정되었으며, 단식-연속식 복합증류방식의 1번 분획에서 최댓값(979.13ppb)이 측정되었고 단식 증류방식의 경우 2번 분획에서 최댓값(514.43ppb)이 측정되었다. 이와 같은 결과는 단식 증류방식에 비해 농축탑이 포종선반판으로 이루어져 있는 단식-연속식 복합 증류방식에서 농축탑이 증류주 증기에 의해 높은 온도로 증류되어 비점이 높은 EC(B.P 185℃)의 유출을 증가 시킨 것으로 사료된다. 초기 분획에 집중되어 있는 EC의 함량은 저(低)비점 유해물질(메탄올,아세트알데히드)과 더불어 초류를 분리하는 기준으로 활용될 수 있다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 쌀 증류주(blending base) 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-11. 증류방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

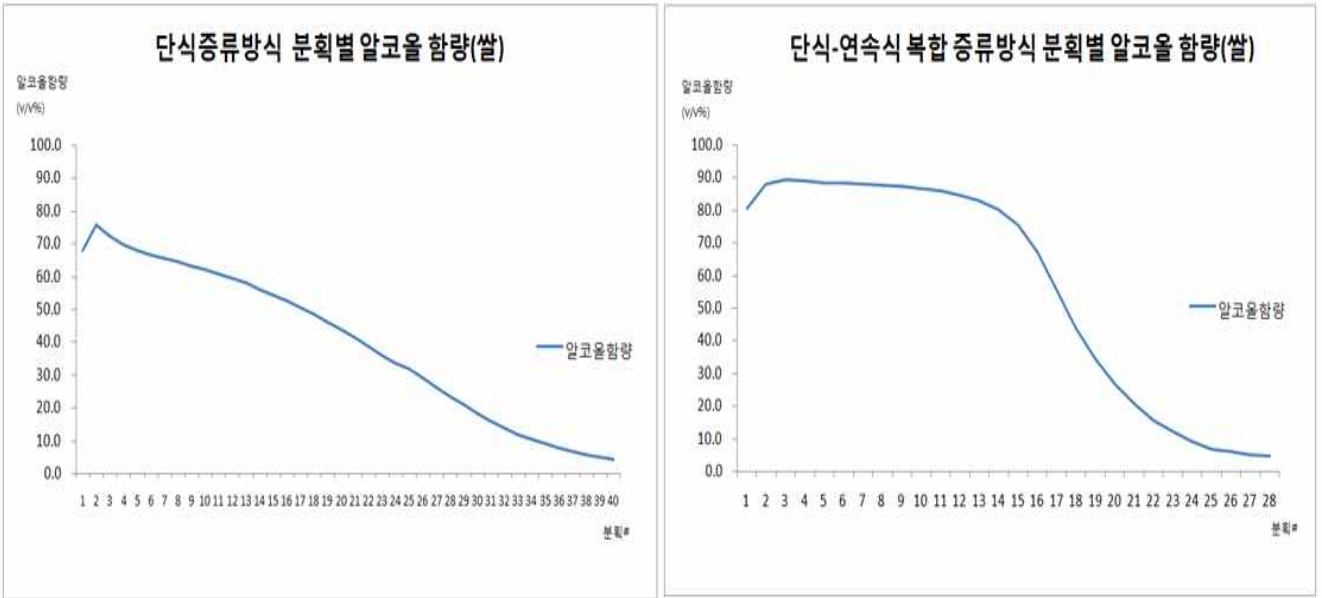


그림 2-12. 증류방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

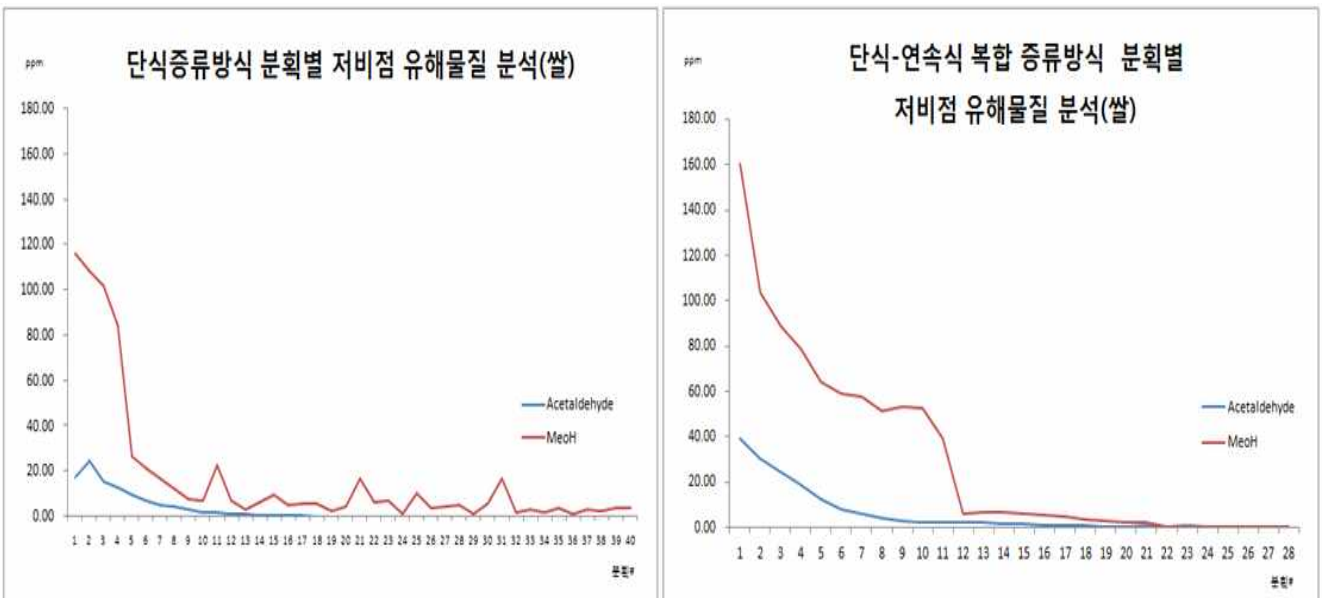
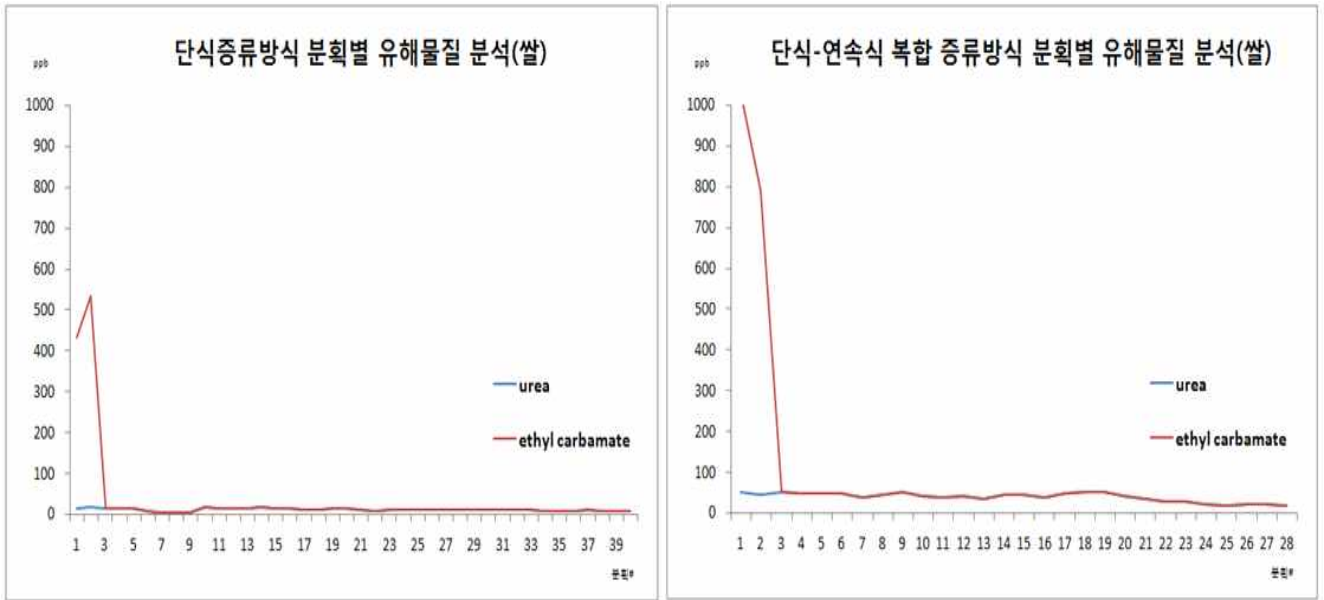


그림 2-13. 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(2) 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 증류기 재질별 증류

증류기의 재질로는 도자기 형태의 소주고리, 구리(銅), 스테인리스를 꼽을 수 있다. 증류기가 제작된 시점은 세계문명의 발상지인 메소포타미아에서 기원전 3,000년경에, 이미 증류기의 원형이 존재했었다고 전해지며, 아라비아의 연금술사 등이 사용했던 증류기는 구리로 된 것이고 이것을 “아란핏크”라고 하였다. 아란핏크는 아라비아어로 “땀의 이슬”이라는 말로 “아락”이라고 부르며, 현재도 이 형태의 증류기가 위스키, 브랜드에서 사용되고 있다. 중국의 경우 13세기 露酒(현재의 백주)가 제조되었는데 어원은 동일한 것으로 보여 진다. 아시아로 전파되며 토기로 만들어진 소주고리가 제조된 것으로 추정되며, 이후 스테인리스 증류기가 제조된 것으로 파악된다.

토기로 제조된 소주고리는 기밀성 및 열전도, 대량화 등의 사유로 도태되었고 현재는 크게 동(銅) 재질의 증류기와 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있으며, 우리나라의 경우 현재 증류주의 대부분은 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있다. 일본은 스테인리스 스틸 증류기를 70년대 후반부터 사용하여 왔으나 구리 증류기가 유해물질 제거 기능이 탁월한 것으로 밝혀져 차츰 동 재질의 증류기로 교체하여 사용하고 있다.

본 실험에서는 다른 증류 조건을 동일 시 한 상태에서 증류기의 재질만 변경하여 분획별 유해물질을 비교 분석하고자 한다

그림 2-14. 본 실험에 사용할 스테인리스 증류기(左)와 동증류기(右)



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모

여진 발효 술덧을 가지고 증류기 재질별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 스테인리스 증류기는 80ℓ, 동증류기는 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류기 재질만 변화를 주어 (스테인리스 증류기, 동증류기) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧양의 1%인 800ml (스테인리스 증류기)와 200ml(동증류기)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

증류기 재질에 따른 분획별 알코올의 함량은 동증류기의 경우, 단식증류방식과 동일한 결과로 총 40개의 분획으로 이루어져 있으며, 알코올 함량의 평균은 39.86도(v/v%)로 나타났다. 스테인리스 증류기의 경우 총 27개의 분획으로 이루어져 있으며 알코올 함량의 평균은 56.6도(v/v%)로 측정되었다. 동증류기의 최대 알코올 함량은 75.5도(v/v%)로 2번 분획에서 측정되었으며, 스테인리스 증류기의 최대 알코올함량은 79.2도(v/v%)로 2번 분획에서 동일하게 측정되었다. 분획별 알코올 함량의 곡선이 스테인리스 증류기는 단식-연속식 복합 증류방식의 곡선과 유사한 형태를 나타내고 있으나 이는 2차 증류까지 진행한 결과로써 동증류기의 농축탑이 공탑인데 비해 장해판이 일부 설치되어 있어, 알코올 함량이 농축된 것으로 사료되어진다. 따라서 분획별 알코올 함량에 대한 비교보다는 재질에 따른 저(低)비점 유해물질의 차이와 유해물질(EC, 요소)의 차이를 중점적으로 확인하고자 한다.

증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우, 아세트알데히드의 총량은 동증류기(2.74ppm)에 비해 스테인리스 증류기(5.19ppm)가 다소 높게 측정되었으며 메탄올의 총량은 동증류기(17.03ppm)에 비해 스테인리스 증류기(15.04ppm)가 다소 낮은 결과가 측정되었다. 두가지 실험군 모두 분획 초기에 저(低)비점 유해물질이 집중되어 있으며 이는 각 유해물질의 끓는점에 의한 결과로 사료된다. 동증류기의 분획별 메탄올의 함량이 중간 분획에서 오르내림을 반복하는데 이는 동증류기에서 흡착되었던 저(低)비점 유해물질이 유출될 수 있음을 보여준다. 동증류기의 메탄올 함량은 1번 분획에서 116.13ppm으로

가장 높은 측정값을 기록한 후 감소하는 형태를 보이고 있으며 스테인리스 증류기의 메탄올 함량은 1번 분획에서 125.7ppm으로 보다 높은 수치가 측정된 후 급격한 감소가 진행되었다. 아세트알데히드는 두개의 실험군 모두 2번 분획에서 동증류기는 24.46ppm, 스테인리스 증류기는 37.7ppm으로 가장 높은 수치가 측정된 후 감소하는 형태를 보여주고 있다. 1번 분획에서 아세트알데히드가 2번 분획에 비해 낮게 측정된 것은 세척수가 혼입되어 발생한 결과로 보여지며, 메탄올의 경우 동일한 원인을 적용할 때 1번 분획에서 더 높은 수치가 측정되었을 가능성이 있는 것으로 사료된다.

EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 유해물질로 증류기 재질에 따른 분획을 측정한 결과는 그림 2-17. 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)에 나타내었다. 요소의 경우 두개의 실험군 전 분획에서 모두 100ppb 이하가 측정되었으나 EC의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 결과를 보여주고 있다. 동증류기의 경우 EC 함량은 1번 분획에서 416.98ppb가 측정된 후 2번 분획에서 514.43ppb로 상승하여 3번 분획부터는 측정되지 않았으며, 스테인리스 증류기의 경우 EC 함량은 1번 분획에서 721.99ppb가 측정되어 14번 분획에 이르러 측정되지 않았다. 증류기의 재질 상으로는 동증류기가 스테인리스 증류기에 비해 유해물질이 현저히 낮게 측정되는 것을 확인 할 수 있으며, 이는 "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"에서 명시한 동(銅)재질에 의한 EC의 흡착이 원인으로 보여진다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 쌀 증류주(blending base) 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-15. 증류기 재질에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

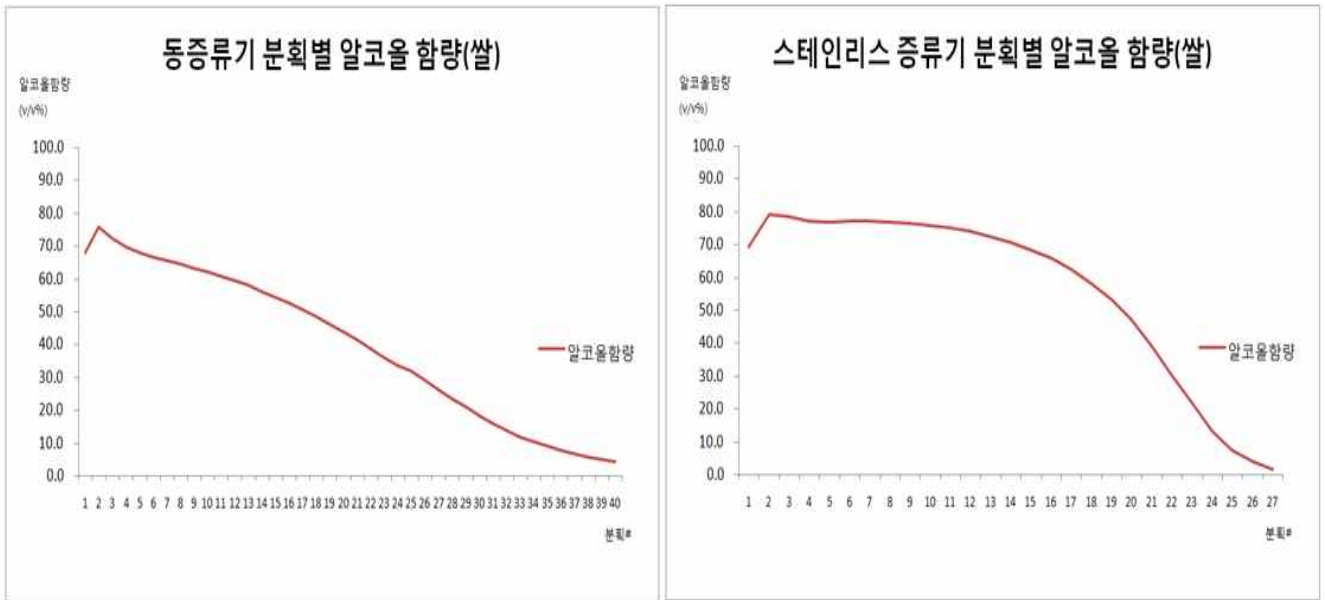


그림 2-16. 증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

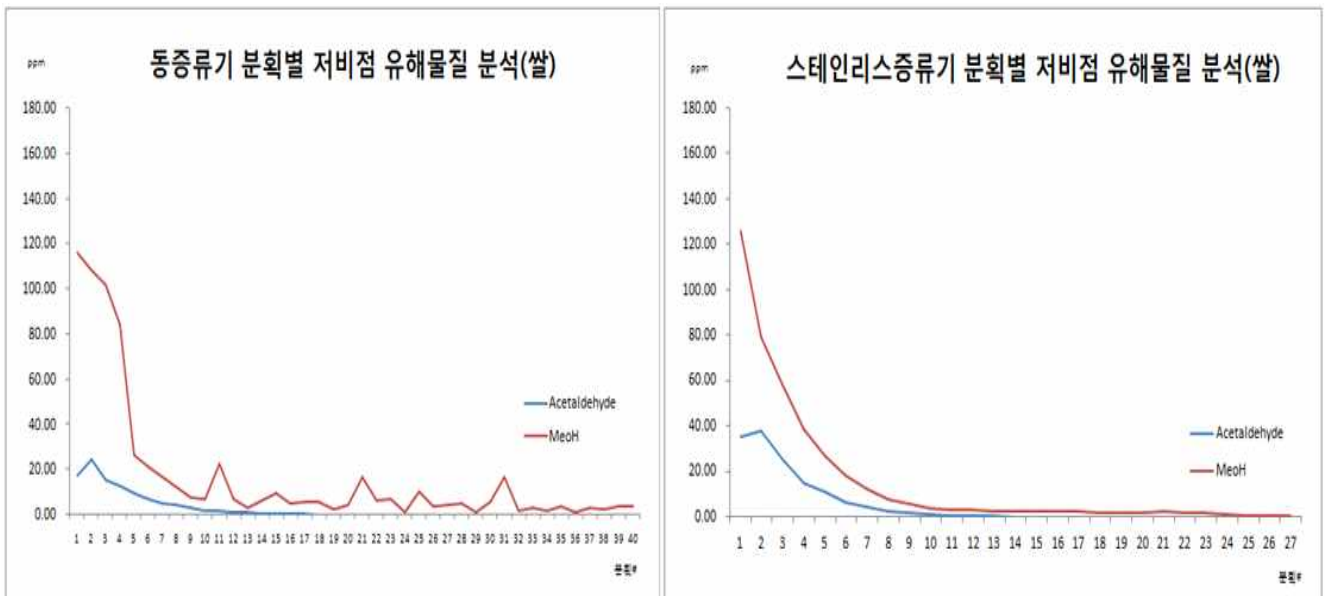
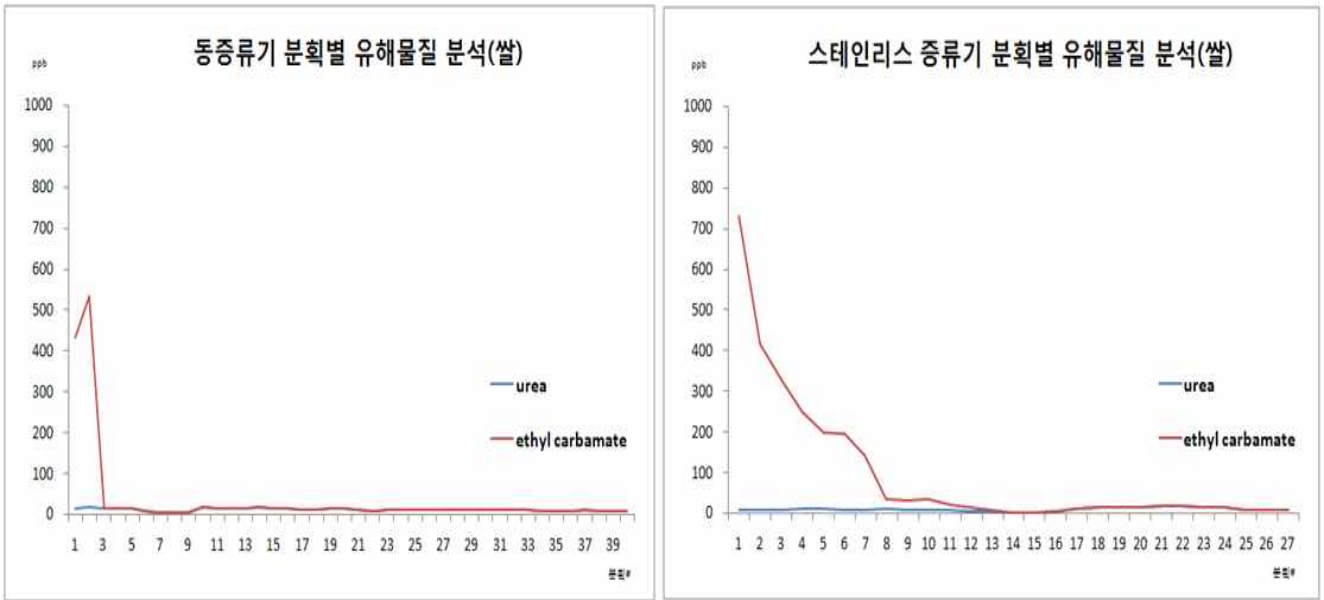


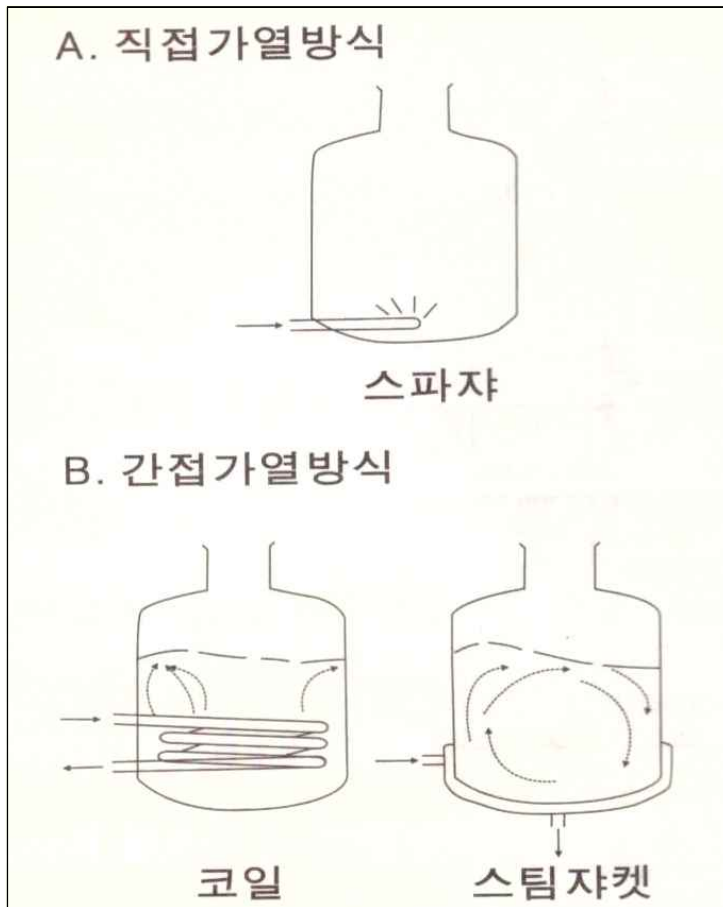
그림 2-17. 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(3) 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 가열방식별 증류

증류 시 가열방식에는 크게 두 가지로 나뉘어진다. 직접가열(스팀스파자, 직부)과 간접가열(코일, 자켓)이며, 직접가열 중 스파자를 통하여 스팀을 집어넣는 경우에는 점성이 높은 술덧에 적합한 타입으로 압력이 형성되고 증기 응축수에 의해 술덧 량이 증가하여 술덧이 넘치는 경우가 있어 농도가 짙어 가열하기 어려운 경우에만 사용한다. 직접가열의 일반적인 방식은 위스키나 브랜디를 만들 때 사용하는 직부가열방식으로 증류술 바닥을 직접 가열하여 열을 전달시킨다. 스코틀랜드의 많은 증류소들은 초기에 이 직부가열방식을 채택하였으나 술덧이 바닥에 붙는 현상에 의해 청소와 관리가 용이하지 못하여 코일이나 자켓을 활용한 간접가열 방식으로 변경하기도 하였다. 하지만 가열방식은 각 증류소에서 추구하는 맛에 직접적으로 영향을 주므로 일부 증류소에서는 증류술 바닥을 가열하는 직부가열방식으로 회기하기도 하였다. 따라서 본 실험에서는 직접가열 중에서는 직부가열 그리고 간접가열을 분류별로 유해물질에 대해 비교 분석하고 각 제품의 특성을 확인하고자 한다.

그림 2-18. 가열방식의 종류



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 가열방식별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 직부가열방식은 40ℓ, 간접가열은 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질의 동일한 조건 하에서 가열 방식만 변화를 주어(직부가열방식, 간접가열방식)

끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧양의 1%인 400ml(직부가열방식)와 200ml(간접가열방식)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매겨 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-19. 실험에 사용할 직부가열방식의 증류기(左)와 간접가열방식의 증류기(右)



그림 2-20. 실험에 사용할 직부가열방식의 가열부(左)와 간접가열방식의 가열부(右)



<결과 및 고찰>

가열방식에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 직부가열방식은 총 41개의 분획으로써 평균 알코올 함량은 35.42도(v/v%)이며, 단식증류방식과 동일한 결과인 간접가열방식은 총 40개의 분획으로, 알코올 함량의 평균은 39.86도(v/v%)로 나타났다. 두 가지 실험군 모두 1번 분획에서 2번 분획에 비해 낮은 알코올 함량이 측정되었는데 이는 세척수의 혼입에 의한 결과이며 나머지 분획에서는 완만히 감소하는 곡선을 나타내고 있다. 직부가열방식의 최대 알코올 함량은 5번 분획으로 61.3도(v/v%)가 측정되었으며, 간접가열방식의 최대 알코올 함량은 75.5도(v/v%)로 2번 분획에서 측정되었다. 직부가열방식의 경우 최대 알코올 함량이 5번 분획에서 측정된 것은 간접가열방식에 비해 냉각기까지의 구간이 구조적으로 길이가 길기 때문으로 사료된다. 두 가지 실험군 모두 2차 증류까지 진행된 것으로 손실률을 확인하는 추정 계수(알코올함량*용량)의 경우 평균 알코올함량이 높은 간접가열방식이 다소 높은 결과치가 나와 직부가열방식에 비해 손실이 적은 것으로 확인되었다.

가열방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 두 가지 가열 방식 모두 초기 분획에 집중되어 있는 것을 확인할 수 있으며 이는 저(低)비점 유해물질인 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)의 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문으로 사료된다. 직부가열방식에서 아세트알데히드의 총량은 3.69ppm으로 간접가열방식의 아세트알데히드의 총량(2.74ppm)에 비해 다소 높게 측정되었으나, 메탄올의 총량은 직부가열 방식(13.17ppm)이 간접가열방식(17.03ppm)에 비해 다소 낮게 측정되었다. 두 가지 가열방식의 저(低)비점 유해물질의 분획별 함량은 크게 차이 나지 않으며 메탄올의 분획별 함량으로 보아 동 재질의 두 가지 실험군에서 스테인리스 증류기에서 볼 수 없었던 증반부 분획에서의 유출이 관찰되기도 한다. 직부가열방식에서 메탄올의 최대함량은 2번 분획에서 87.98ppm으로 측정되었으며 간접가열방식은 메탄올의 최대함량은 1번 분획에서 116.13ppm으로 측정되었다. 직부가열방식은 아세트알데히드의 최대함량이 2번 분획에서 27.13ppm으로 측정되었으며 간접가열방식은 아세트알데히드의 최대함량이 2번 분획에서 24.46ppm으로 측정되었다.

최대 함량이 높은 것은 총 함량이 높은 결과와 일치하였으며 이는 초기 분획에 저(低)비점 유해물질이 집중되어 있는 것에 기인한다.

EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 유해물질로 가열방식에 따른 분획을 측정된 결과는 그림 2-23. 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)에 나타내었다. 요소의 경우 두 가지 실험군에서 전 분획 모두 100ppb 이하가 측정되었으나, EC의 경우 가열방식에 따라 완전히 다른 형태의 곡선이 형성되었다. 직부가열방식의 경우 EC는 2번 분획에서 검출되기 시작하여 5번 분획에 이르러 최댓값(91.80ppb)이 측정되었으며 이후 완만히 감소하여 19번 분획에 이르러 측정되지 않았다. 간접가열방식의 경우 EC는 1번 분획에서 측정되어 2번 분획에 이르러 최댓값(514.43ppb)이 측정되었으며 이후 급격히 감소하여 3번 분획부터는 측정되지 않았다. 직부가열방식의 경우 초기 분획에서는 EC가 세척수와 동에 의한 흡착의 결과가 보여지며, 흡착면의 부족으로 EC의 함량이 증가하였다가 이후 EC의 총 함량이 감소하면서 검출되지 않은 것으로 사료된다. EC는 저(低)비점 유해물질과 더불어 초류 분획의 중요한 관리점이 될 것으로 보여지며 직부가열방식에 비해 간접가열방식이 초기에 EC의 함량이 집중되어 있으므로 초류가 분리된 최종 제품의 경우 EC의 함량이 적을 것으로 판단된다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 쌀 증류주(blending base) 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-21. 가열 방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

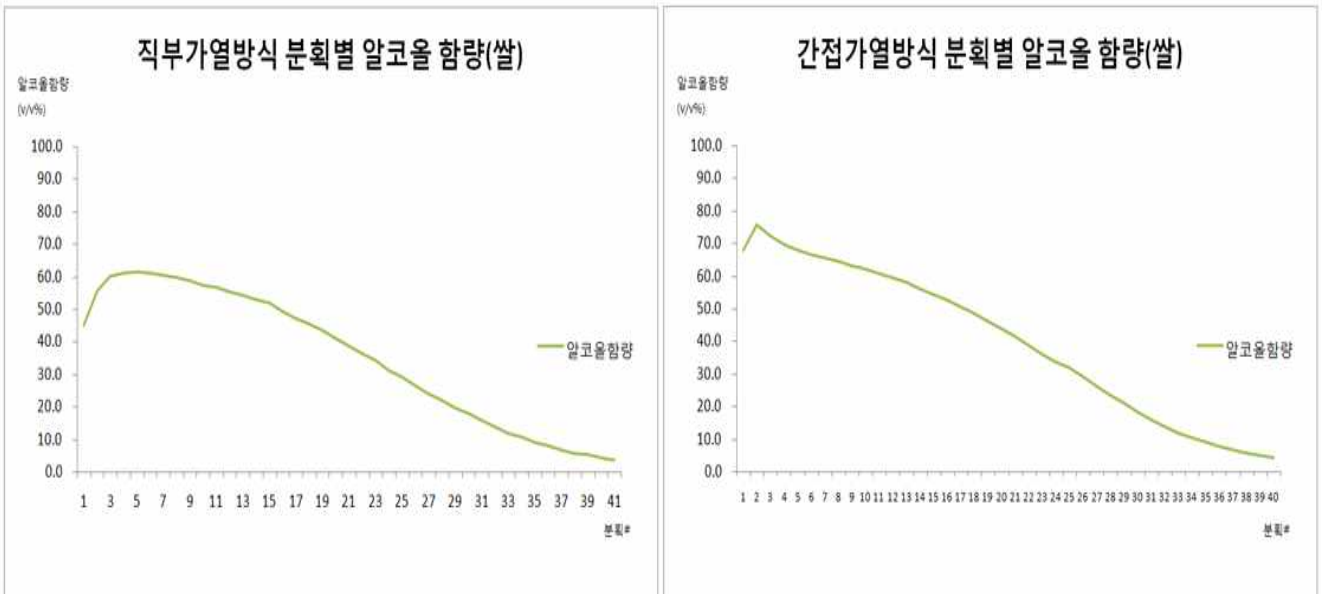


그림 2-22. 가열 방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

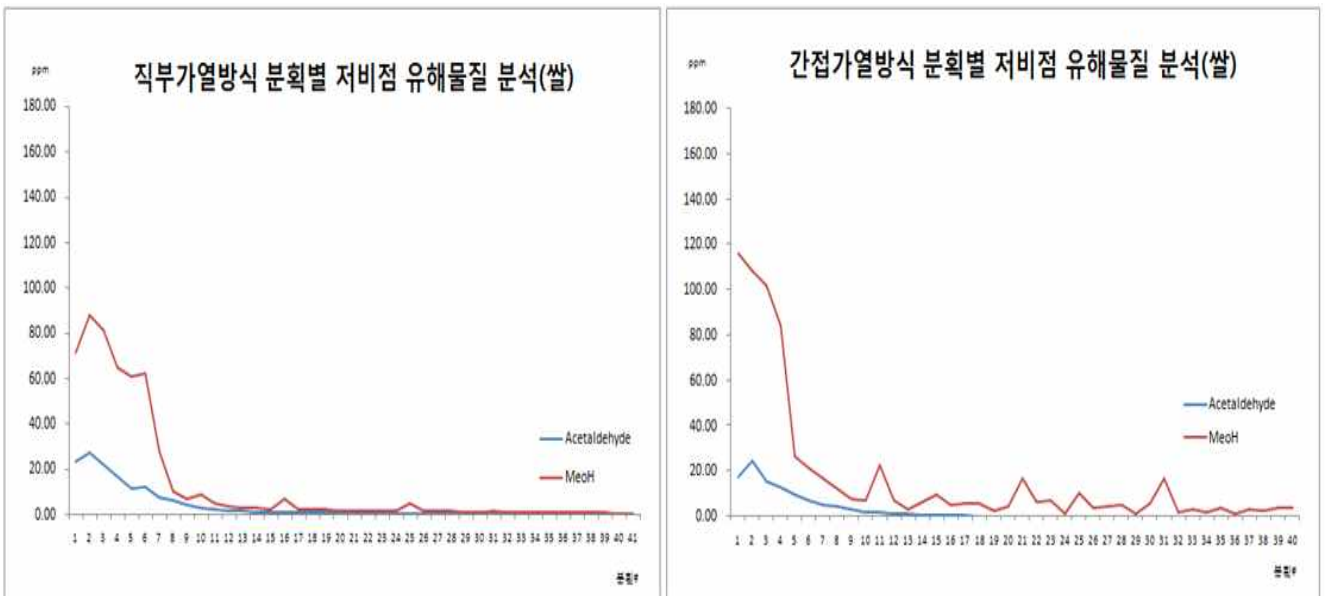
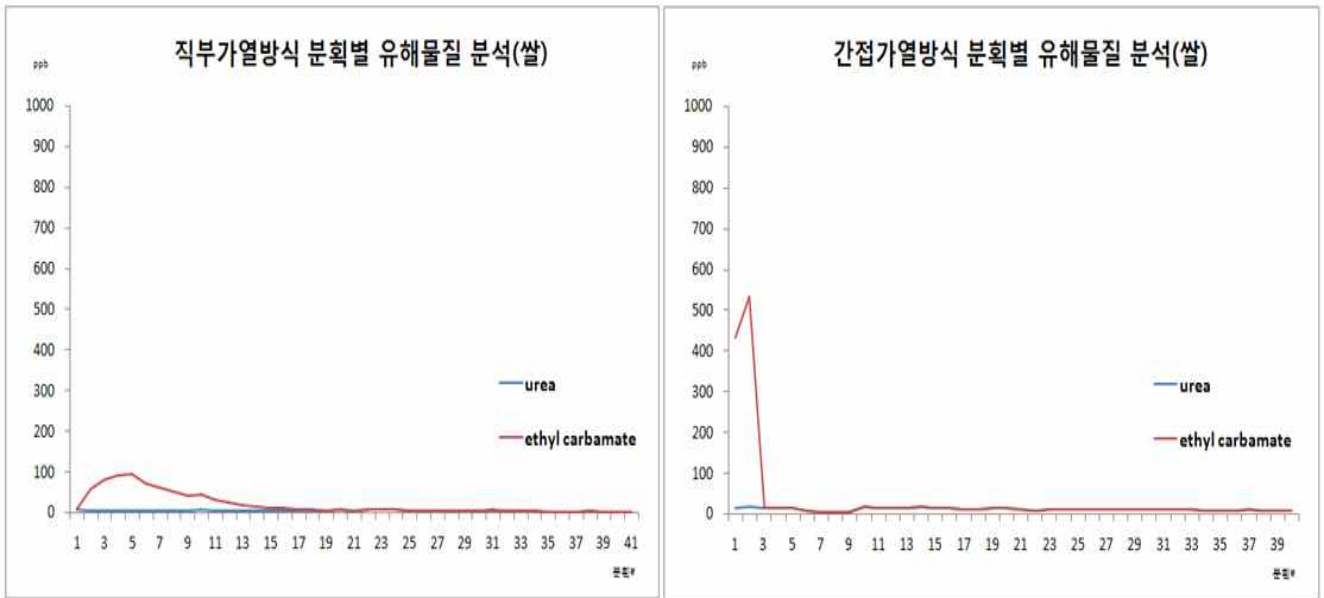


그림 2-23. 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(4) 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 구리촉매변환장치 부착여부에 따른 증류

구리는 EC를 저감시킬 수 있는 재질로 꼽히며, 구리촉매변환장치는 EC 생성 기작 중 시안화수소 산이 구리와 결합하여 증류액으로 가지 못하게 하는 장치이다.

본 실험에서는 당초 계획 외에 추가적으로 구리촉매변환장치의 사용 여부에 따른 증류분획을 실시하여 유해물질의 변화에 대해 확인하고자 한다.

그림 2-24. 에틸카바메이트 생성기작

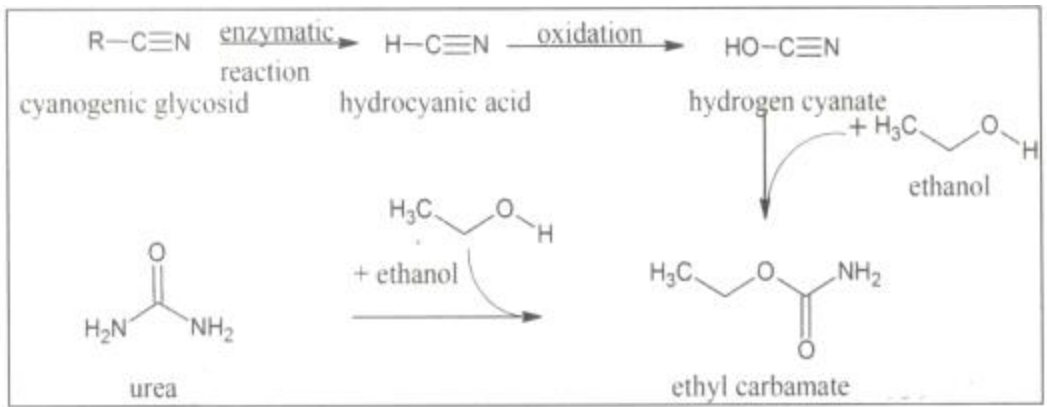


그림 2-25. 구리촉매 변환장치와 장착 모습



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 구리촉매변환장치 여부에 따른 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 증류기의 1/2용량이 되도록 20ℓ 씩 사용하였으며, 증류방식은 단식-연속식 복합증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질, 간접가열방식의 동일한 조건 하에서 구리촉매변환장치 사용 여부만을 변수로 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧양의 1%인 200mℓ씩 분획하였다.

본 실험에 사용할 증류기는 단식-연속식 복합 증류기로 구리촉매변환장치의 사용여부를 밸브로 조정할 수 있게 고안된 장치이다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-26. 단식-연속식 복합 증류기의 구리촉매변환장치 및 밸브



<결과 및 고찰>

구리촉매변환장치 사용여부에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 구리촉매변환장치 비사용방식은 증류방식별 비교 중 단식-연속식 복합 증류방식과 동일한 결과로 분획의 수량은 총 28개이며, 알코올 함량의 평균은 56.76도(v/v%)이다. 구리촉매변환장치 사용방식은 총 28개의 분획으로 동일하며 평균 알코올 함량은 56.66도(v/v%)로 측정되었다. 두 가지 알코올 분획의 곡선은 유사한 형태를 띠고 있으나 구리촉매변환장치 비사용방식은 2번 분획에서 최대 알코올 함량인 89.3도(v/v%)를 기록한 뒤 15번 분획까지 완만히 감소하다 23번 분획까지 급격히

감소하였으며, 구리촉매변환장치 사용방식의 경우 10번 분획까지 서서히 증가하여 최대 83.2도(v/v%)의 알코올 함량이 측정된 후 16번 분획까지 완만히 감소 후 21번 분획까지 급격히 감소하는 것을 확인 할 수 있다. 최대 알코올 함량의 경우 구리촉매변환장치 비사용방식이 높게 나타났지만, 두 가지 실험군의 손실률을 확인하고자 주정계수를 비교할 때 각 실험군의 주정계수는 유사하여 손실률의 차이가 발생하지 않은 것으로 보여 진다. 구리촉매변환장치의 사용은 증류 증기의 유출 통로가 변화하므로 이에 따라 발생하는 압력의 변화 등에 의해 알코올의 농축 등이 변화한 것으로 사료된다.

구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 구리촉매변환장치를 사용한 것이 저(低)비점 유해물질의 총 함량에서 모두 낮게 나타났으며, 초기에 집중되어 있는 분포 또한 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 집중되어 있는 것을 확인 할 수 있다. 메탄올의 경우 구리촉매변환장치 비사용방식은 1번 분획에서 160.31ppm이 측정되어 3번 분획까지 급격히 감소하고 이후 분획부터 11번 분획까지는 완만히 감소하다 12번 분획에서 급격히 감소하는 형태를 보여주고 있으며 구리촉매변환장치 사용방식의 경우 1번 분획에서 168.03ppm으로 다소 높게 시작하였으나 4번 분획까지 급격히 감소하는 것을 볼 수 있다. 아세트알데히드의 경우에도 마찬가지로 구리촉매변환장치 사용방식이 급격히 감소하는 반면 구리촉매변환장치 비사용방식은 그에 비해 완만히 감소하는 형태를 보여주고 있다. 초류를 분획하는 것은 집중도가 높은 구리촉매변환장치 사용방식이 더 적은 초류를 분류할 것으로 보여 지며 이는 구리촉매변환장치 사용 여부에 따라 재질에 의한 흡착이나 열전도, 증기 발생 압력 등의 변화에 의한 것으로 사료된다.

EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 유해물질로 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획을 측정한 결과는 그림 2-29. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC, 요소) 함량(단위:ppb)에 나타내었다. 요소의 경우 전 분획에서 100ppb이하로 측정되었으며, EC의 경우 구리촉매변환장치를 사용함에 따라 EC의 함량을 얼마나 감소시킬 수 있는 지 확인할 수 있는 좋은 자료로 보여 진다. EC 함량은 구리촉매변환장치 비사용방식의 경우 1번 분획에서 979.13ppb가 검출되었으며, 2번 분획에서는 744.90ppb가 검출된 후 급격히 감소하여 3번 분획부터는 검출되지 않았다. 이에 반하여 구리촉매변환장치 사용방식은 1번 분획에서 126.57ppb로 측정되어 2번 분획에서는 190.47ppb로 증가하였지만 이내 급격히 감소하여 3번 분획에서부터는 검출되지 않았다. 분획별 알코올 함량 측정 시 각 1번 분획에서 세척수에 의한 혼입이 예상되었던 것을 감안한다면 구리촉매변환장치 비사용방식의 1번 분획 EC함량은 실제보다 높은 수치가 기록될 수 있었다고 판단된다. 본 실험을 통하여 구리촉매변환장치의 사용은 농축탑의 열전도에 의해 높은 온도에 증류된 초기 분획의 EC가 흡착되도록 구리의 면적을 증가시키는 등의 역할을 하는 것으로 보여 진다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 분류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 쌀 증류주(blending base) 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-27. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

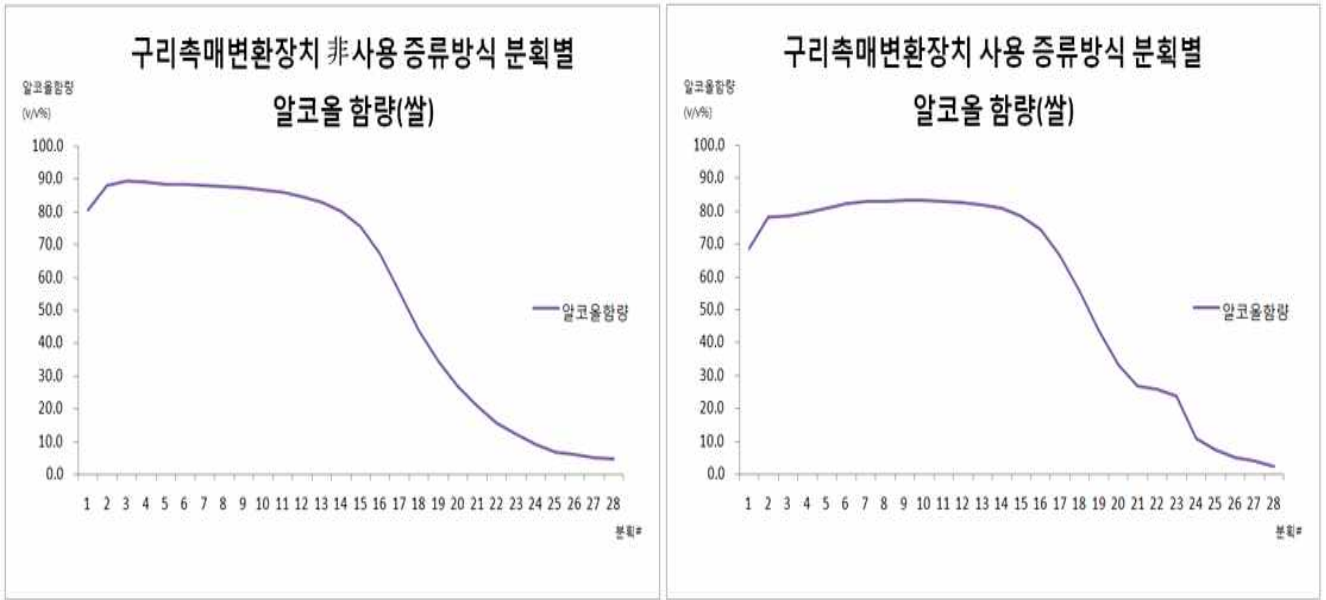


그림 2-28. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

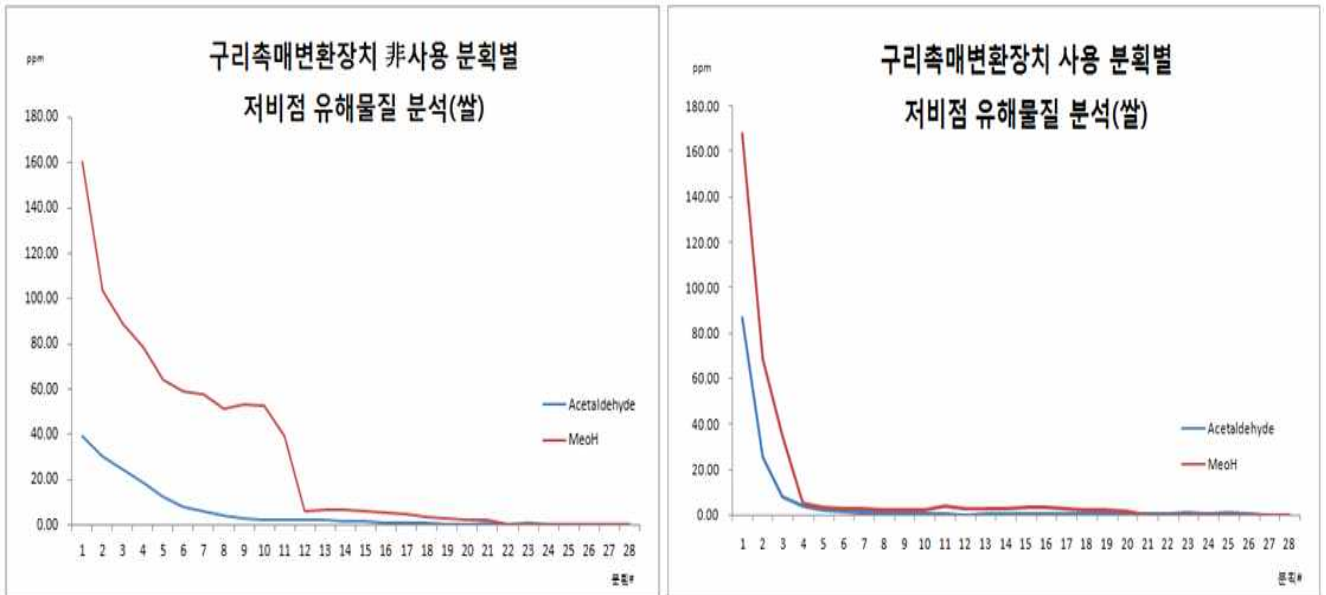
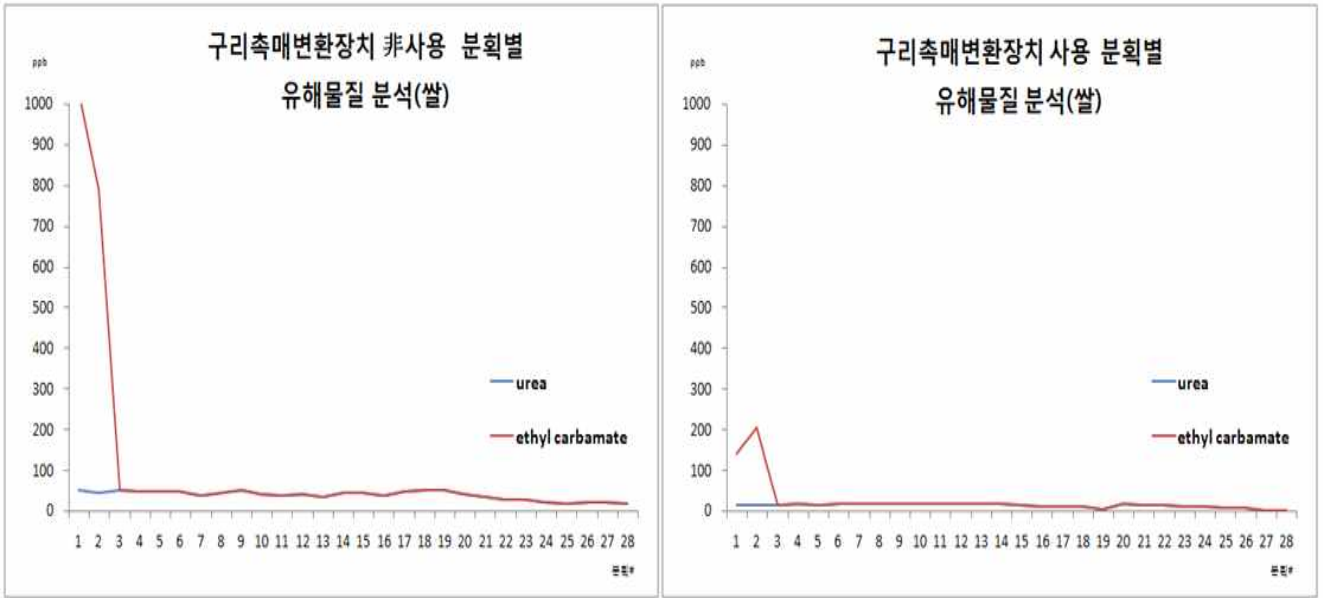


그림 2-29. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



라. 증류 조건 별 초류와 후류 분리 시점 파악

저(低)비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는 점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 메탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국의 검출 허가 기준은 표 2-2.과 같다.

표 2-2. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저(低)비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits) 1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 쌀증류주를 제조하고자 한다. 1차년도에 아세트알데히드의 경우 강화된 검출기준은 1/1,000인 0.7ppm이었지만 2차년도에서는 EC의 검출기준과 대비하여 700ppm에서 10ppm으로 1/70로 설정하였으며 메탄올의 경우 1차년도와 동일하게 500ppm에서 10ppm으로 1/50로 조정하였다.

표 2-3. 주류별 KFDDA 검출 허가 기준 및 본 시험 초류 분리 기준

	<KFDDA 검출 허가 기준>				<실험분획기준>				
	Acetaldehyde		MeOH		Acetaldehyde		MeOH		
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)	
증류식 소주	70	700	0.5	500	증류식소주	1.0	10	0.01	10
일반 증류주	70	700	0.5	500	일반증류주	1.0	10	0.01	10
브랜디	70	700	1.0	1000	브랜디	1.0	10	0.01	10
					도입기준	국내 기준치 1/70		국내기준치 1/50	

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조정된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyI 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 곡물증류주의 경우 효모에 의해 생성된 요소가 본 실험에서 중요한 전구체가 된다. 따라서 본 실험에서는 요소와 EC를 분석하고 분획별로 각 함량을 확인하여 EC가 본류에서 150ppb가 되지 않는 시점을 확인하여 초류를 결정하고 후류를 끓는 시점은 각 실험군에 모두 적용할 수 있는 범위를 설정하여 동일하게 적용시켜 최종제품에서의 관능

평가에 영향을 미치는 것을 최소화하였다. <안전한 쌀 증류주(blending base) 제조기술>의 증류조건 별 유해물질(특히 EC)이 초기 분획에 집중되어 있으며 증·후반 분획으로 갈수록 감소하게 되므로 후류를 끊을 수 있는 EC 함량이 측정되지 않았다. 따라서 “주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)”의 <증류관리>에 명시되어 있는 증류(분류)는 50도(v/v%)까지 수집하고 후류는 따로 수집하여야 한다는 내용을 바탕으로 동일하게 50도(v/v%)가 속해있는 분획까지 분류로 분류하고 이후 분획을 후류로 구분 하였다. 이후 chapter 2와 3에서의 과일 증류주 제조 시에는 증류 조건 중 알코올 도수 50도(v/v%) 이하에서 후류를 끊을 시 EC의 함량이 150ppb 이상 검출되어 후류를 끊는 시점에 EC가 영향을 주는 것을 확인 할 수 있었다.

표 2-4. 각 국의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

각 증류조건 별로 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 쌀 증류주를 만들 시 초기 분획에서부터 메탄올과 아세트알데히드는 10ppm이하가 형성되는 시점을 초류 분리 시점으로 확인하고 EC의 함량에 대입하였을 때 EC의 함유량이 40도(v/v%)의 제품으로 만들 시 150ppb 이상이 되는 지를 확인하였다. 모든 증류 조건에서 초류를 끊는 시점이 저(低)비점 유해물질과 EC의 함량을 모두 만족하였다. 후류 끊기는 알코올 도수 50도(v/v%)가 되는 시점으로 동일하게 맞추어 후류를 끊었으며 그림 2-30.~2-32.에 각 증류조건에 따른 분획별 알코올 함량, 저(低)비점 유해물질, 유해물질 그래프에 초류와 후류 분리 시점을 표시하였다.

분류만의 알코올도수의 평균과 40도 제품으로 맞추었을 시 저(低)비점 유해물질, 유해물질(EC,요소)의 결과는 표 2-5. 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수 백분율, 유해물질 함량과 같다.

증류방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전 분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 단식증류방식은 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 분류의 알코올 함량은 낮았지만 주정계수 백분율에서 높은 %가 측정되었다. 증류의 횟수와 관계없이 두 가지 방식의 경제성을 추가로 판단하고자 최종 제품의 총량을 산출 시 단식증류방식에서 더 많은 제품을 생산할 수 있으므로 단식 증류방

식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 높은 경제성을 가지고 있다고 보여지며, 이는 저(低)비점 유해물질의 총 함량이 낮았기 때문에 초류 분획량이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 적었기 때문이다. 저(低)비점 유해물질의 경우 최종 제품에서는 분획에 의해 큰 차이가 나지는 않지만 단식증류방식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 다소 낮은 아세트알데히드 함량이 측정되었으며, 메탄올은 다소 높게 측정되었다. 유해물질의 함량은 EC의 경우 분획에 의해 모두 검출되지 않았으며 요소의 경우에는 단식증류방식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 약 3배가량 낮게 측정되었다.

증류기 재질에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 동증류기방식에 비해 저(低)비점 유해물질에 의한 초류 분리량이 적었던 스테인리스 증류기방식이 더 경제적인 것으로 판단된다. 저(低)비점 유해물질은 분획에 의해 큰 차이가 나지는 않지만 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 아세트알데히드가 다소 높게 측정이 되었으며, 메탄올의 함량은 다소 적게 측정되었다. EC의 경우 분획에 의해 동증류기방식에서는 측정되지 않았으나 스테인리스 증류기방식에서는 51.63ppb가 측정되었다. 이에 반하여 EC의 전구체인 요소는 동증류기방식에서 스테인리스 증류기방식에 비해 높은 함량이 측정되었다.

가열방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 직부가열방식에 비해 간접가열방식이 더 경제적인 것으로 판단된다. 초류 분리에 의해 큰 차이가 나지는 않지만 저(低)비점 유해물질의 경우 모두 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 적은 함량이 측정되었다. EC의 함량은 초기 분획에 집중되지 못한 직부가열방식이 11.46ppb로 EC가 검출되지 않은 간접가열방식에 비해 높게 측정되었다.

구리촉매변환장치의 사용여부에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 구리촉매변환장치 사용방식은 경제적인 것으로 판단된다. 주정계수 백분율의 차이는 메탄올의 함량이 초류분획에 영향을 미쳤기 때문으로 보여지며, 초류 분리로 인하여 큰 차이가 나지는 않지만 저(低)비점 유해물질 중 아세트알데히드는 구리촉매변환장치 사용방식에서 다소 높게 측정되었으며 메탄올은 구리촉매변환장치 비사용방식에서 다소 높게 측정되었다. EC의 경우 구리촉매변환장치 사용방식에서 6.50ppb로 초류 분리량이 많은(경제성이 낮은) 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 높게 측정되었다.

표 2-5. 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수백분율, 유해물질 함량

	알코올함량 (v/v%)	분류주정계수 전분획주정계수 (%)	Acetaldehyde (ppm)	MeoH (ppm)	Urea (ppb)	EC (ppb)
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	59.26	52.04%	2.16	8.94	10.73	0.00
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	73.53	41.64%	0.99	9.16	28.33	0.00
스테인리스증류기방식	70.62	87.80%	3.44	8.90	6.00	51.63
직부가열방식	56.15	42.53%	2.86	9.80	2.39	11.46
구리촉매변환장치 사용방식	76.58	86.88%	1.73	5.23	10.14	6.50

그림 2-30. 증류조건별 분획의 알코올함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

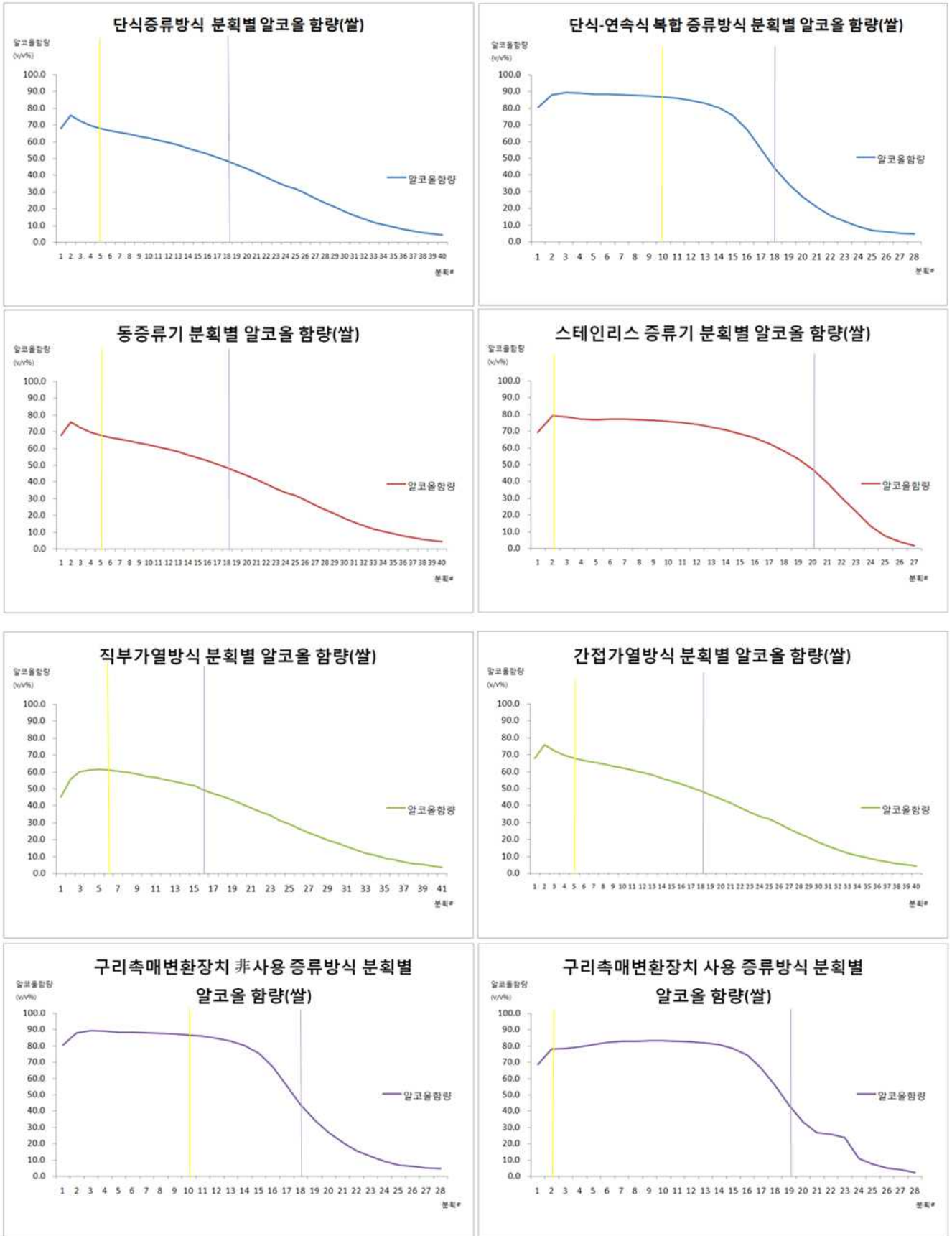


그림 2-31. 증류조건별 분획의 저(低)비점 유해물질 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

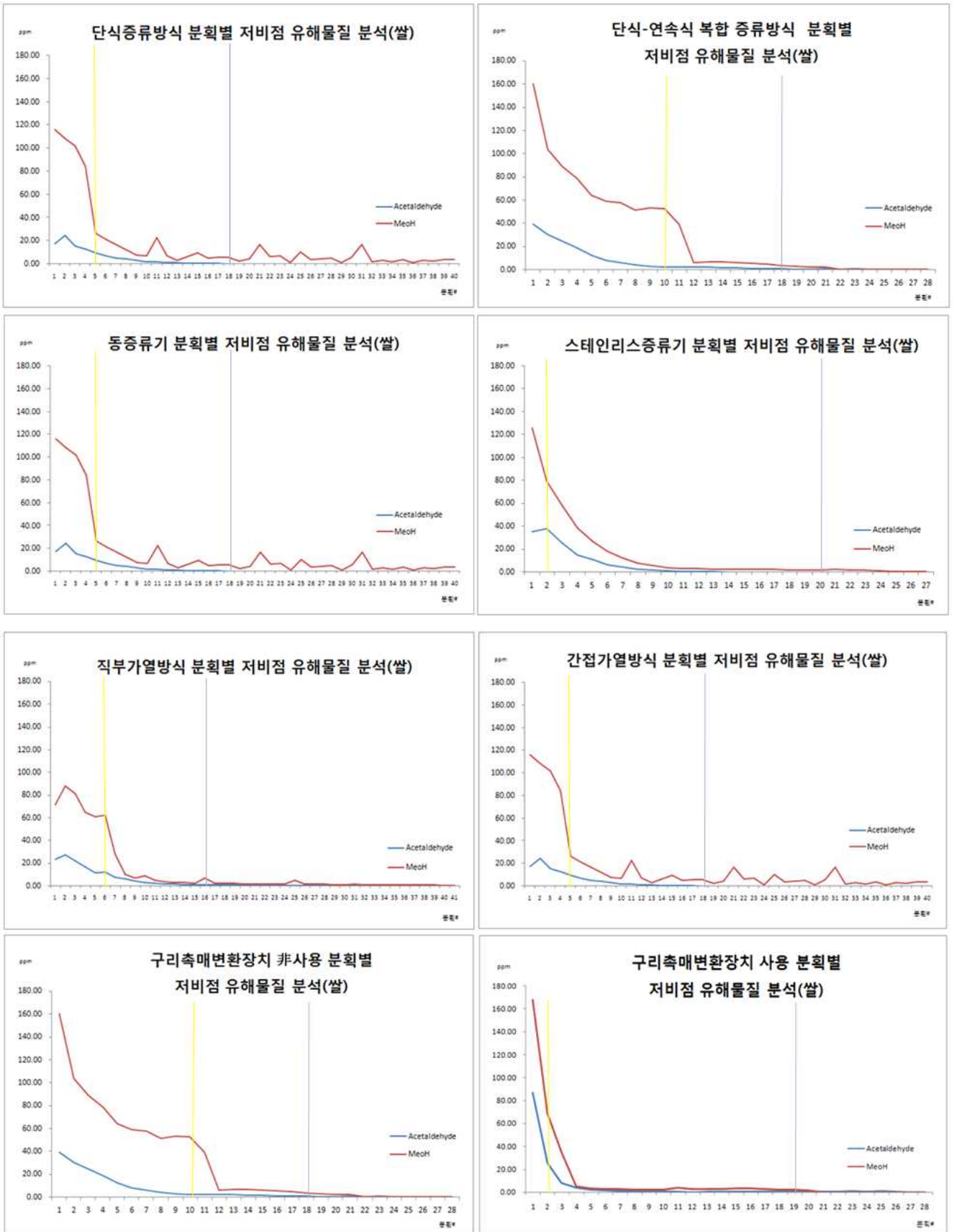
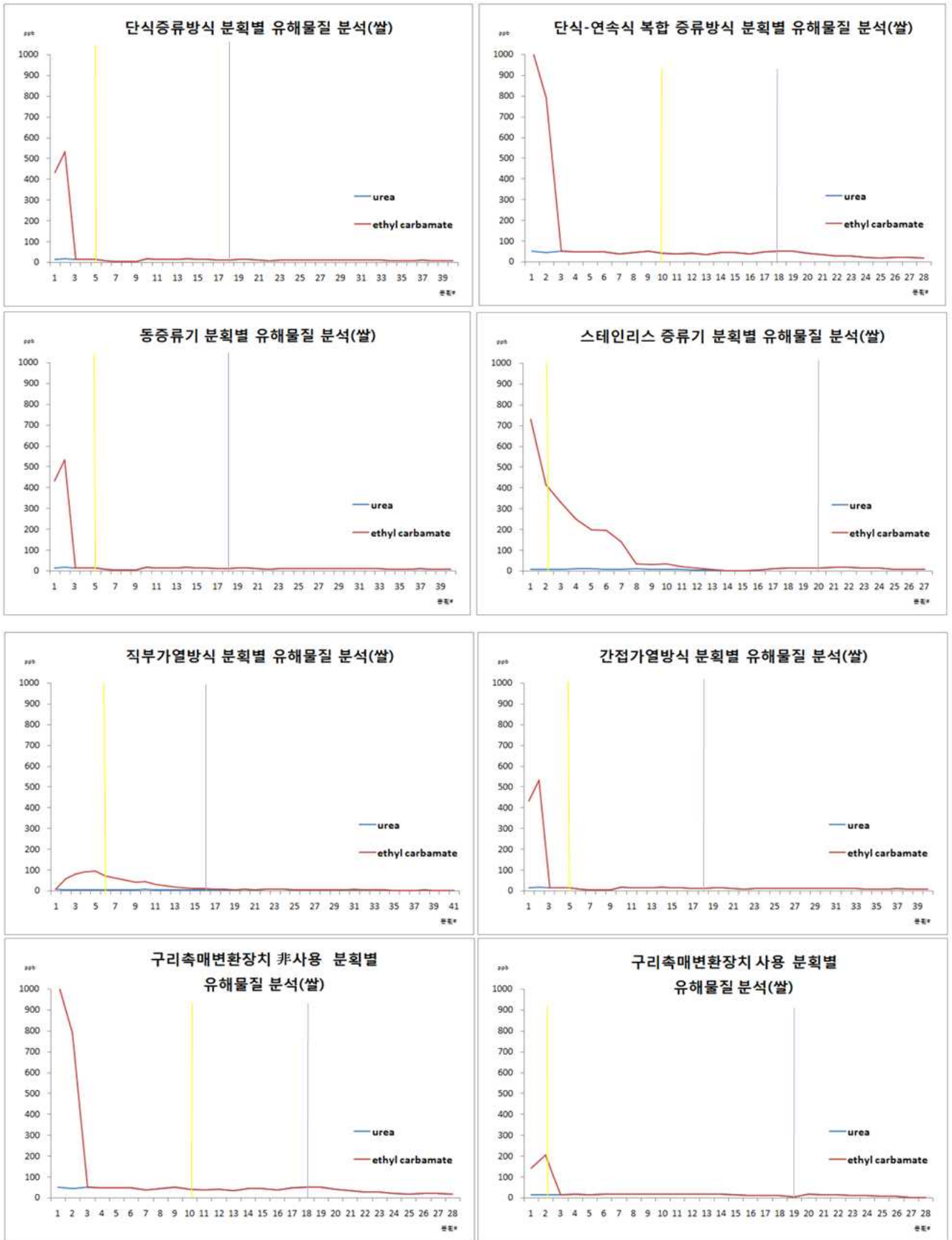


그림 2-32. 증류조건별 분획의 유해물질(EC,요소) 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기



마. 증류 조건별 최종제품의 관능평가 및 향기성분, 황화합물 분석

(1). 관능평가

안전한 쌀증류주(blending base) 제조 기술 개발의 증류조건을 선정하고자 각 증류조건에 따른 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가를 진행하였다. 관능평가의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용 방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

5가지 증류 방식으로 증류된 쌀 증류주를 43명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 '-2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다'로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 '시료'와 '패널'을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

쌀 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 2-6과 같다. 구리촉매변환장치 사용방식이 전반기호도에서 4.67점으로 가장 높았으며, 향기호도 및 목 넘김 기호도에서도 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 평가되었다. 스테인리스증류기방식이 전반기호도가 4.28로 2위로 나타났다. 단식증류방식과 직부가열방식도 4.16점과 4.06점으로 나타나 4점을 넘는 것으로 평가되었다. 단식-연속식복합증류방식의 전반기호도는 3.56점으로 가장 낮았으며, 다른 증류방식대비 유의적인 차이가 발견되었다($p < 0.05$). 다른 항목에 있어서도 단식-연속식복합증류방식이 가장 낮은 기호도를 가지는 것으로 분석되었다. 알코올향의 강도는 1 내외로 평가되어, 패널이 쌀 증류주의 알코올 향을 전반적으로 강하다고 인지하는 것으로 나타났다. 구리촉매변환장치 사용방식이 가장 높은 알코올 향 강도를 가지는 것으로 평가되었다.

표 2-6. 쌀 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도			강도	
	전반	향	향미	목넘김	알코올향
직부가열방식	4.02b	4.74a	4.35a	4.12a	0.93
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	4.16b	4.60ab	4.35a	4.16a	0.98
구리촉매변환장치 사용방식	4.67a	4.77a	4.30a	4.37a	1.14
단식-연속식복합증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	3.56c	3.67c	3.93ab	3.63b	1.00
스테인리스 증류기방식	4.28ab	4.05bc	3.58b	4.12a	0.91

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 p=0.05수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 2-7). 군집1은 35명의 소비자로 이루어졌으며, 군집2는 8명의 소비자로 구성되었다. 직부가열방식, 단식-연속식복합증류방식 및 스테인리스 증류방식에서 군집단에 호불호가 나뉜 것으로 보인다. 구리촉매변환장치 사용방식의 경우 두 군집에서 모두 4점 이상의 높은 기호성을 보인다.

표 2-7. 쌀 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	직부 가열방식	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	구리촉매변환 장치사용방식	단식-연속식복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	스테인리스 증류기방식
1	35	3.87	4.29	4.74	3.45	4.37
2	8	5.20	3.20	4.20	4.40	3.60

소비자 기호도 조사를 바탕으로 쌀 증류주의 선호성을 판단할 때, 구리촉매변환장치 방식으로 쌀 증류주를 제조하였을 때 가장 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났으며, 스테인리스 증류 방식 및 단식 증류방식의 선호도 순으로 나타났다.

(2). 향기성분

안전한 쌀증류주(blending base) 제조 기술 개발에서 각 증류조건의 향기성분을 확인하고자 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 향기성분 분석을 진행하였다. 향기성분 분석의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 증류조건별 증류주 5 ml을 20 ml SPME용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26℃에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 µm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

쌀 증류주의 증류조건에 따른 향기성분 분석 결과, 에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알데하이드류인 2-nitrobenzaldehyde, acetaldehyde 및 acetaldehyde diethylacetal이 검출되었으며, 알코올류인 propanol, isoButanol 및 isoamylalcohol이 검출되었다, 에스테르성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 Ethyl caprate, ethyl laurate, ethyl myristate, ethyl palmitate, Ethyl palmitoleate, ethyl oleate 및 ethyl linoleate가 검출되었다. 증류기 재질을 같이하고 가열 방식에 따른 휘발성 향기 화합물을 비교한 결과 알코올성 향기성분은 직부가열방식에서는 감소하나, 에스테르계열의 향기 성분은 증가하였다. 이는 직부가열방식이 원주에 함유되어 있는 지방산들과 에탄올들과의 에스테르화 반응을 촉진시킨 결과로 생각되어진다. 증류기 재질을 달리한 결과 스테인리스 증류기를 이용하여 증류한 증류주의 향기성분은 휘발성 에탄올의 함량은 30%이상 감소하였으며, 쌀 증류주의 독특한 향기를 가지는 고급알코올 및 지방산 에틸에스테르의 함량은 감소됨을 알 수 있었다. 또한 증류 방식 및 촉매 사용여부에 다른 향기성분의 분석결과, 증류방식에 따른 향기성분의 변화는 단식-연속식 복합증류방식으로 증류한 경우 향기성분의 감소효과를 가져왔으며 Ethyl palimitate 감소가 크게 측정되었다. 구리촉매변환장치를 사용한 결과 증류주 특유의 향기를 가지는 고급알코올 및 지방산 에틸에스테르의 함량은 미량 검출되었으며 순수한 휘발성 에탄올이 주된 향기성분임을 알 수 있었다. 이는 구리촉매변환장치에 의해서 증류시 생성되는 고급 알코올 및 지방산 에틸에스테르 화합물이 구리 촉매에 의해서 분해된 것으로 판단된다.

표 2-8. 쌀 증류주의 증류조건별 증류주의 향기성분 분석(%)

	증류조건				
	직부가열 방식	단식증류 방식	구리촉매 변환장치 사용방식	단식-연속식 복합증류방식	스테인리스 증류기방식
2-Nitrobenzaldehyde	1.3293	1.3352	0.0736	-	-
acetaldehyde	1.6732	1.6674	-	0.0265	1.5624
acetaldehy dediethylacetal	2.8389	2.839	-	0.1312	2.4309
Ethanol	63.5215	84.893	98.3886	81.6785	49.8883
Propanol	0.1329	0.2131	-	0.2191	0.1882
isoButanol	1.1233	1.4335	-	1.1421	0.7521
isoAmylalcoholacetate	0.0525	0.0276	-	-	0.1078
isoAmylalcohol	3.1432	4.1311	0.4131	5.1421	3.483
Ethylcaprate	3.9273	0.3031	0.0672	2.8187	2.0935
Ehtyllaurate	5.5729	0.2261	-	0.8752	0.7689
Ethyl myristate	5.2604	1.0788	-	0.7278	0.5377
Ethyl palmitate	10.8272	5.3991	-	1.798	1.1447
Ethyl Oleate	0.9628	0.2949	-	-	0.0807
Ethyl Linoleate	1.0855	0.2776	-	-	0.0969

(3). 증류기 재질에 따른 황화합물 비교

주류에는 수많은 휘발성 황화합물들이 존재하며, 분석 확인되어진 휘발성 황화합물의 종류는 약 50여 가지이며 대부분의 알코올음료에는 한 종류 또는 여러 가지 종류의 휘발성 황화합물을 함유하고 있다. 이중 곡류를 증류하여 제조하는 위스키중에 함유된 확인된 약 12종류 정도이며, dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide들이 주된 황화합물들이라고 알려져 있다. 이러한 황화합물들은 대단히 휘발성이 강하고, 또한 화학적으로 불안정하고 반응성이 강하여 극 미량으로도 주류의 품질에 큰 영향을 미친다. 이러한 황화합물들은 낮은 끓는점 및 강한 반응성으로 인하여 증류과정 중에 없어지나 반응성이 큰 황화합물이 다른 향기 성분들과 증류과정에서 화학반응을 하여 생성되기도 한다. 또한, 지금까지 연구결과에서 끓는점이 높은 황화합물들은 달걀 썩는 냄새, 고무 냄새 등의 불쾌한 냄새를 느끼게 하며, 냄새의 역가보다 3배 낮은 농도로 존재하여도 맛과 향에 영향을 준다고 연구되어 있다. 또한, 문헌에 따르면 휘발성 황화합물의 경우 동(銅)재질에 의한 흡착이 가능한 것으로 나와 있으므로 본 실험에서 제조된 동(銅)증류기방식의 쌀증류주와 스테인리스 증류기방식의 쌀증류주를 실험군으로 휘발성 황화합물의 대표적인 7가지 항목을 분석하여 비교하고자 한다.

표 2-9. 주류의 대표적인 휘발성 황화합물 성분

	compound	structure	odour	range(ppb)
1	hydrogen sulfide	H ₂ S	rotten egg, decaying seaweed	0.9~1.5
2	diethyl disulfide	CH ₃ CH ₂ SSCH ₂ CH ₃	bad smelling, onion	3.6~4.3
3	diethyl sulfide	CH ₃ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	garlic	0.9~1.3
4	dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	sulfurous, sickly, onion	9.8~10.2
5	dimethyl sulfide	CH ₃ SCH ₃	odourless	17~25
6	ethyl mercaptan	CH ₃ CH ₂ SH	onion, rubber, fecal	1.1~1.8
7	methyl mercaptan	CH ₃ SH	putrefaction, cooked cabbage	1.5

<실험방법>

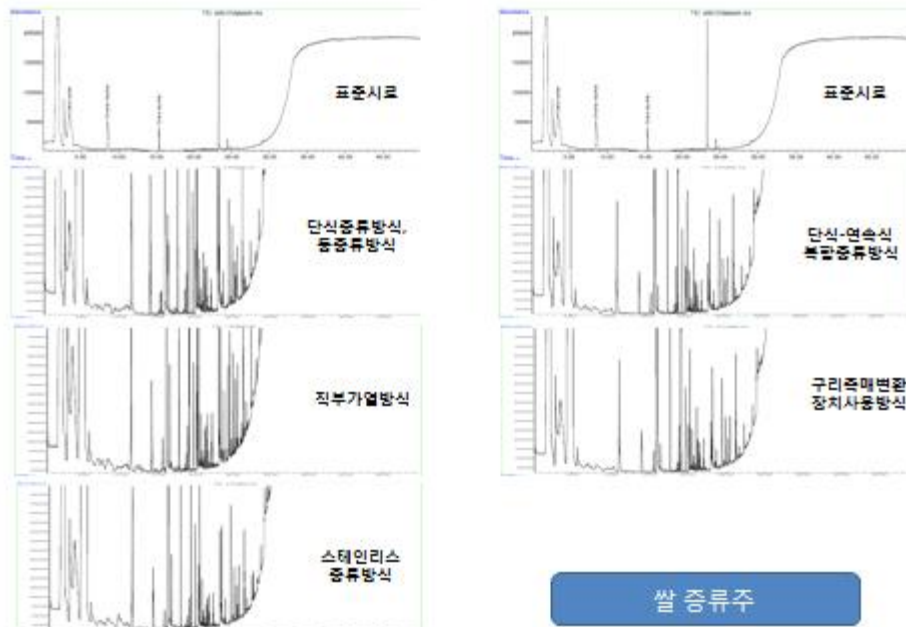
증류방법에 따른 황 화합물의 함량을 알아보하고자 가스크로마토그래피(7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 flame ionization detector를 이용하여 증류주 내의 황화합물 분석을 실시하였다. 시료는 0.45 µm membrane filter와 0.22 µm membrane filter를 사용하여 여과하였다. 시료(1 µL)는 가스크로마토그래피에 주입되었으며, CP-SIL 5 CB column (fused silica, 50 m × 0.32 mm id, 5 µm film thickness; Chrompack, Sweden)이 사용되었다. Injector와 detector의 온도는 200°C이었으며, oven temperature는 45°C로 1분간 유지한 후 130°C에 도달 할 때 까지 7°C/min의 비율로 온도를 높였으며, 130°C에 도달 후 1분간 유지하였다. 운반가스로는 헬륨가스(1 mL/min)를 사용하였다.

<실험 결과>

5가지 증류 방법에 대한 쌀 증류주의 황화합물 분석에서 R.T. 33551, 8.560, 15.558에서 나타

나는 황화합물의 피크는 기기 측정 오차 아래로 검출되었다. 따라서, 쌀 증류주의 제조에 있어서 황화합물의 함량이 문제가 되지 않는다고 판단된다.

그림 2-33. 증류방식 별 황화합물 분석 결과



바. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 증류조건 선정

증류조건에 따른 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 쌀증류주(blending base) 제조 기술 개발>에 사용할 증류 조건을 선발하고자 한다.

증류 조건 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로 한 순위, 증류주에서 분석한 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드의 순위, 증류주 제조 시 분류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위, 증류주의 관능평가 결과 순위까지 총 5가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 쌀증류주(blending base) 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 검출량 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 1차년도의 기준치에서 상향조정되어 검출될 수 있는 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드 검출 순위가 각각 15%, 증류주에 효율 및 경제성 여부인 분류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위가 10%, 각 증류조건별 분류의 분리가 다르므로 관능평가의 차이가 발생할 것으로 여겨지므로 관능평가 순위에 10%의 가중치를 두었다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 증류 조건으로 선정하였다. 실험군 별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 표 2-13. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 증류조건 선정 평가 결과에 나타나 있다.

증류방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 단식 증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 단식-연속식 복합 증류방식이 메탄올의 함량에 의한 초류 분리량이 높았기 때문에 경제성과 관능평가에서 단식 증류방식에 비해 낮은 점수를 받은 것이 주요한 역할을 한 것으로 보여 진다.

증류기 재질에 따른 선정 평가를 볼 때, 동증류기 방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 스테인리스 증류기방식의 증류주 EC 함유량이 동증류기 방식의 증류주에 비해 높은 함량이 검출되었기 때문이며 전체적으로 관능평가의 결과로 미루어 볼 때 경제성이 높아 초류 분리량이 적은 것이 관능평가 결과가 높게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다.

가열 방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 직부가열방식에서 EC의 검출이 초기 분획에 집중되어 있지 않고 분획이 진행됨에 따라 완만히 감소하였기 때문이며 저(低)비점 유해물질 중 메탄올의 함량도 선정 평가에 중요한 역할을 한 것으로 보여 진다.

구리 촉매 변환장치 사용 여부에 따른 선정 평가를 볼 때, 구리 촉매 변환장치 사용방식이 구리 촉매 변환장치 非사용 방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 EC의 함량이 확연히 저감되었음에도 불구하고 소량의 EC가 검출되어 구리 촉매 변환장치 非사용 방식에 비해 낮은 평가를 받은 것을 제외하고는 그 외의 모든 항목에서 전체적으로 높은 평가를 받았기 때문이다.

EC 검출량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야 하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 <안전한 쌀증류주 제조 기술 개발>의 선정된 증류 조건은 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”이다.

종합하여 보면 선정된 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”의 증류방식은 단식-연속식 복

합 증류방식이며, 증류기의 재질은 동(銅)증류기로서 가열방식은 간접가열방식이다. 단식-연속식 복합 증류방식과 동일한 형태이나 EC를 저감시키는 구리촉매변환장치를 사용하여 EC의 저감에 효과적인 것인 선정된 주요 요인으로 보여 진다.

표 2-10. 증류조건별 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수백분율의 결과와 순위

	알코올함량 (v/v%)	순위	분류주정계수 전분획주정계수 (%)	
				순위
구리촉매변환장치 사용방식	76.58	1	스테인리스증류기방식	87.80% 1
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	73.53	2	구리촉매변환장치 사용방식	86.88% 2
스테인리스증류기방식	70.62	3	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	52.04% 3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	59.26	4	직부가열방식	42.53% 4
직부가열방식	56.15	5	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	41.64% 5

표 2-11. 증류조건별 저(低)비점 유해물질의 결과와 순위

	Acetaldehyde (ppm)	순위	MeoH (ppm)	
				순위
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	0.99	1	구리촉매변환장치 사용방식	5.23 1
구리촉매변환장치 사용방식	1.73	2	스테인리스증류기방식	8.90 2
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	2.16	3	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	8.94 3
직부가열방식	2.86	4	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	9.16 4
스테인리스증류기방식	3.44	5	직부가열방식	9.80 5

표 2-12. 증류조건별 유해물질(Urea, EC)의 결과와 순위

	Urea (ppb)	순위		EC (ppb)	순위
직부가열방식	2.39	1	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	0.00	1
스테인리스증류기방식	6.00	2	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	0.00	1
구리촉매변환장치 사용방식	10.14	3	구리촉매변환장치 사용방식	6.50	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	10.73	4	직부가열방식	11.46	4
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	28.33	5	스테인리스증류기방식	51.63	5

표 2-13 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 증류조건 선정 평가 결과

	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	스테인리스증류기방식	직부가열방식	구리촉매변환장치 사용방식	가중치
EC	1	1	5	4	3	30%
Urea	4	5	2	1	3	20%
MeoH	3	4	2	5	1	15%
Acetaldehyde	3	1	5	4	2	15%
본류주정계수 진분획주정계수	3	5	1	4	2	10%
관능평가	3	5	2	4	1	10%
가중치합계	2.6	3.05	3.25	3.55	2.25	100%
종합점수	2	3	4	5	1	

사. 쌀을 이용한 블렌딩 베이스의 숙성조건 선정(3차년도 수행 예정)

<안전한 쌀증류주(blending base) 제조 기술 개발>에 선정된 증류 조건인 “구리촉매변환장치 사용방식”을 적용하여 대량 담금을 진행한 발효 술덧의 증류를 진행하고 초류와 후류를 분리한 본류만으로 식품 등의 용기·용기에 적합한 무(無)유약항아리와 오크통에 숙성을 진행시켰다. 숙성 전 샘플은 확보하였으며, 저장 유통 중의 온도와 빛의 노출에 의한 유해물질을 기간별로 확인하고 숙성 시 5개월 단위로 숙성의 정도와 유해물질 등을 확인하여 10개월 이후 각각의 숙성 제품의 블렌딩을 진행, 단기 숙성 제품의 가능성을 확인하고자 한다. 또한 2차년도까지 선정된 제조방법은 3차년도에 기술이전이나 자체 사업을 통하여 “안전한 쌀증류주”를 제조하고자 한다.

그림 2-34. 무유약 항아리에 숙성을 진행한 <안전한 쌀 증류주>



그림 2-35. 오크통에 숙성을 진행한 <안전한 쌀 증류주>



2. 안전한 포도 증류주 제조기술 개발

1차년도에서는 <안전한 포도증류주 제조기술 개발>의 발효조건의 최적화를 목표로 산패균의 원천적인 차단 기술을 개발하였으며, 발효 시 발생하는 유해물질 등을 비교하여 발효 온도와 첨가물 등의 발효 조건을 확립하였다. 유해물질 저감을 위한 효모를 선발하고자 1차 선발한 효모 15종을 활용하여 효모별 발효 패턴을 확인하고 유해물질(EC)을 확인하였으나 발효주 상 태에서는 검출되지 않았다. 효모별 유해물질의 발생정도를 확인하여 최종 효모 선발을 진행하 고자 발효가 종료된 효모별 술덧을 활용하여 증류를 진행하였다. 증류 시 효모별 발효 술덧의 1% 량을 1분획으로 정하여 증류가 종료될 때까지 각 분획을 채취하여 저(低)비점 유해물질(메 탄올, 아세트알데히드)을 측정하고 저(低)비점 유해물질의 국내 기준 보다 강화된 기준으로 초 류를 분리하여 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 제품을 시료로 제작하였다. 제작된 효모 별 시료의 에틸카바메이트(EC)와 EC의 전구체인 요소를 분석하여 유해물질과 경제성, 저(低) 비점 유해물질 등의 평가 기준을 마련하여 최종 효모(최종 선정 효모 :Lalvin 71B)를 선정하였 다.

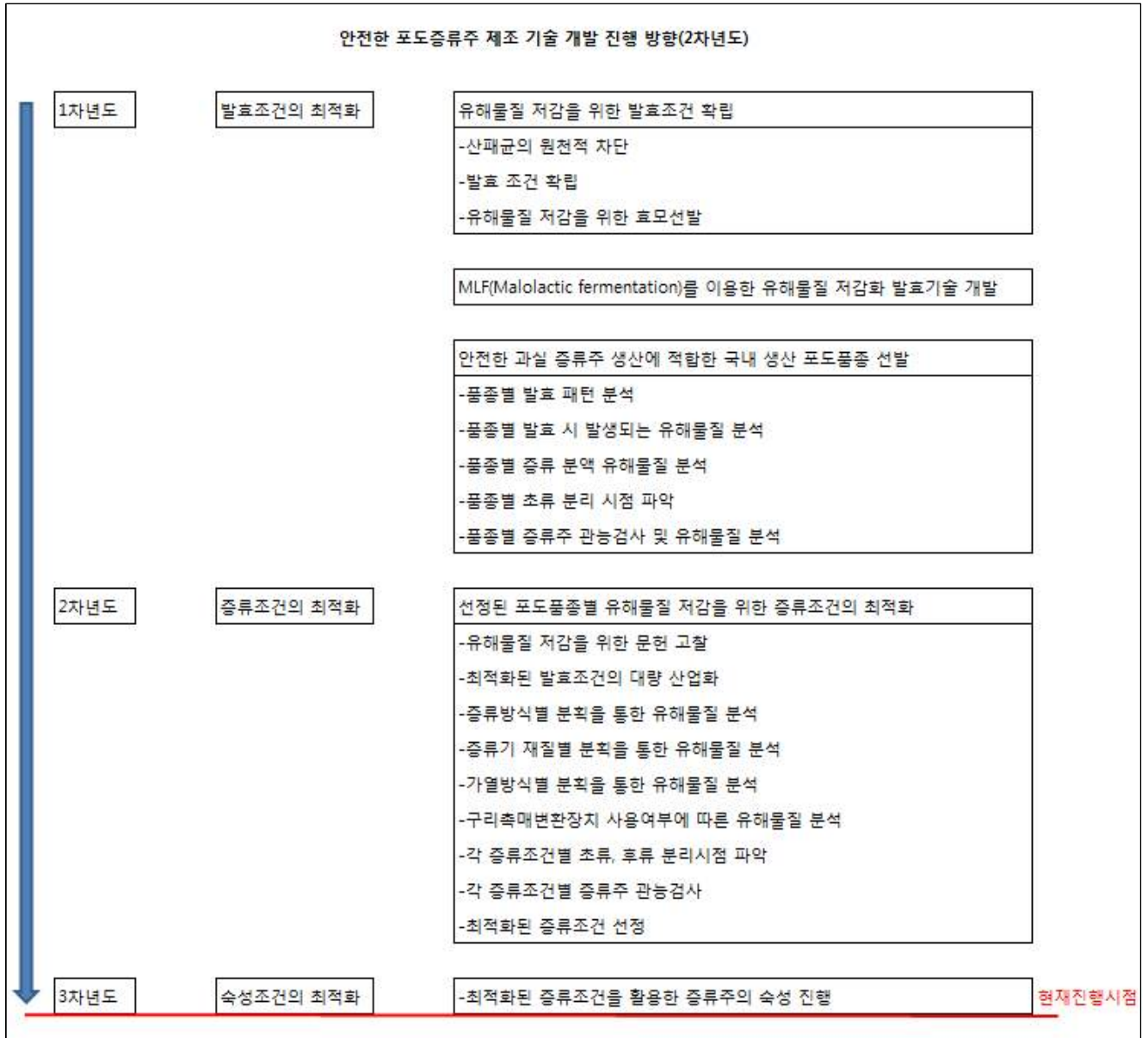
선정된 발효조건과 효모를 활용하여 MLF(Malolactic fermentation) 방지를 통한 유해물질 저 감기술을 확보하고 경기도농업기술원에서 재배하고 있는 포도 품종 40여 종 중 당도와 산도에 따라 구분을 짓고 국내 농가에서 재배 중인 품종으로 1차 선발을 한 10가지 품종(적포도 5종, 청포도 5종)을 최적화된 발효조건을 활용하여 효모를 선정한 방법과 동일한 방법으로 안전한 포도 증류주에 적합한 과피별 품종을 1개씩 선정하였다. 선정된 적포도 품종은 MBA이며, 선 정된 청포도 품종은 경조정이다.

2차년도에서는 1차년도에서 선정한 최적화된 발효조건과 선정된 품종을 바탕으로 품종별 증류 조건의 최적화를 이루고자 한다.

연구개발 목표

- 한국형 브랜드/ 일반증류주의 개발을 위해 선정된 포도품종을 이용한 증류조건 확립
- 선정된 포도 품종별 최적화된 발효조건의 대량 산업화
- 유해물질 저감 매뉴얼의 고찰
- 유해물질 저감을 위한 증류조건의 최적화

-연구개발 진행도



가. 포도를 이용한 증류주의 유해물질 저감을 위한 문헌 고찰

(1) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)

2011년 4월 식품의약품안전처에서는 우리나라 주류 산업계에 적용할 수 있도록 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”을 발간하였다. 본 책자 내용 중 포도주는 캘리포니아 양조협회와 미국FDA에서 작성한 「Ethyl Carbamate Preventative Action Manual」 과 CODEX 오염물질분과위원회에서 준비 중인 「핵과류를 원료로 한 증류주 중 에틸카바메이트 오염 예방 및 저감화에 대한 실행규범」 및 우리나라에서 저감화를 위해 작성한 연구보고서 등 관련자료를 우리나라 주류제조실정에 맞게 재구성한 것이다.

과실 증류주의 저감화 매뉴얼 중 원료 및 발효의 관리, 증류장치 관리 및 증류관리에 관한 내용을 발췌하여 요약하면 다음과 같다.

<원료 및 발효 관리>

- 핵과일은 손상이 없는 것을 사용하고 씨를 제거하면 EC 생성을 줄일 수 있다.
- 핵과일은 물리적으로 손상을 받지 아니하고, 미생물학적으로 손상이 되지 아니한 고품질의 것을 사용해야 한다.
- 과일의 씨가 제거되지 않은 경우에는 과일의 잔류물을 매싱할 때 씨가 으개지지 않도록 부드럽게 짓이겨야한다.

<증류장치관리>

- 시안화수소산이 증류액으로 전이 되지 않도록 증류장치 및 증류 공정을 관리하여야 한다.
- 구리증류기의 사용은 EC 전구체가 증류액으로 이행하는 것을 방지한다.
- 증류장치는 자동 세척장치와 구리촉매변환장치를 갖추어야한다.
- 불연속 증류 시 자동 헹굼 장치는 필수 사항은 아니지만 증류장치는 체계적으로 세척해야한다.
- 증류장치 중 최종 냉각기는 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것이 바람직하다.

<증류관리>

- 스팀을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다.
- 가열시간이 길어질수록 EC의 생성량이 증가하므로 증류시간을 단축하여 가열시간을 최소화한다.
- 감압증류가 EC의 저감화에 바람직하다.
- 증류 시 처음 나오는 초류는 조심스럽게 분리하여 제거한다.
- 증류(heart, 본류)는 수집 시 어두운 곳에 보관하여야 한다.
- 증류는 알코올도수가 50도(v/v%)에 도달할 때 까지 수집하고 그 후에 증류되는 후류는 따로 수집하여야 한다.
- 증류 시 EC의 함량은 초류<증류<후류 순이다.
- 후류 부분은 별도로 모아서 재증류하기도 하지만 되도록 폐기하는 것이 바람직하다.

(2) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)에 대한 고찰

<원료 및 발효 관리>

핵과류 씨의 구성성분인 시안배당체에 의해 EC가 생성되므로 되도록 씨를 제거하는 것이 좋으며 만에 하나 들어갈 수 있는 씨를 제거하기 위해 발효 종료 후 증류되기 전에 제성 혹은 압착의 공정을 거쳐 껍질이나 씨 등을 제거하여 증류하는 것을 권장하는 것으로 보여 진다. 본 실험에서는 포도를 으개는 작업 시 포도 씨 크기 이하의 망을 통하여 포도 과육이 토출되도록 되어있는 초과기를 사용하여 포도 씨가 유출되지 않도록 하였으며, 발효 종료 후에는 제성을 통하여 혹시 들어갈 수 있는 씨나 꼭지 및 비가식 부위를 제거하여 증류하고자 한다.

<증류장치관리>

구리재질의 증류기는 그 재질에 의해 EC와 EC의 전구체를 흡착하는 역할을 하며 흡착된 EC와 EC 전구체는 자동 세척 장치를 통하여 지속적으로 세척을 해주어 다음 증류 시 흡착할 수 있는 구리 접촉면을 확보해야한다. 최종 냉각기로 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것은 구리로 되어있는 냉각기의 경우 흡착되었던 EC와 EC 전구체가 최종 증류주로 유입될 수 있으므로 냉각기의 재질을 스테인리스로 사용하길 권장하는 것으로 보여 진다.

<증류관리>

스팀을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다는 항목과 가열시간을 최소화해야한다는 항목은 상충되는 항목으로 다른 항목을 점검 시켜볼 때 직접가열(직부 혹은 술덧 직접가열)을 피하고 후류로 진행 될수록 EC의 함량이 증가되므로 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다고 사료된다. 감압증류가 저온, 단시간 가열이 가능하므로 EC 저감화에 적합하다고 되어 있지만 구리는 재질이 연하여 균열이 발생되기 쉬우므로 감압증류기를 제조하기에 적합하지 않다. 따라서 <증류장치관리>에 따르면 구리재질이 EC 저감에 적합하다고 되어 있는 항목과 상충된 내용으로 보여 진다. 또한 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다는 항목은 일반적인 단식증류기로는 1차 증류로는 전체 증류주 량의 약 10~15% 가량만이 본류로 사용가능하므로 2차 증류까지 진행해야만 약 40%가량을 본류로 사용가능할 수 있으며, 연속식 타입의 증류탑이 있는 증류기로는 1차 증류만으로 전체 증류주 량의 40~80% 가량을 본류로 사용할 수 있으므로 이 또한 비교해야할 대상으로 여겨진다.

<안전한 포도 증류주 제조기술 개발>에서는 첫 번째, 증류방식에 따라 단식증류와 단식-연속식 복합형 증류방식으로 나뉘며, 두 가지 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

두 번째, 증류기 재질에 따라 동(銅)재질의 증류기와 스테인리스 재질의 증류기를 사용하여 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석 그리고 이취를 발생시키는 황화합물 분석을 진행하고자 한다.

세 번째, 증류 가열방식에 따라 간접가열과 직부가열 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

마지막으로 금번 2차년도 실험에 추가된 구리촉매변환장치의 유무에 따른 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

나. 1차년도 선정된 효모와 포도 품종을 활용한 발효의 대량화

1차년도에 선정한 효모(Lalvin 71B)와 포도품종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 활용하여 2차년도 증류방식의 최적화를 선정하고자 대량 발효를 진행하여 소량 발효 시와 비교 및 이상 유무를 판단하고자 본 실험을 진행하였다.

<실험방법>

실험재료의 오차를 최소화하기 위하여 1농장에서 생산된 포도 2종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 각각 2회 세척 후 체에서 40분간 물기를 제거하였다. 이렇게 준비한 포도를 으깨어 산도와 가용성 고형분을 측정하고 각각 스테인리스 발효탱크에 나누어 담았다. 각각의 발효탱크에 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm을 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 적정 알코올 농도를 맞추기 위해 부족한 당 함량은 설탕을 첨가하여 당도를 24°Brix로 조절하였다. 이와 같이 준비된 시료에 1시간 동안 활성화 시킨 선정 효모 Lalvin 71B를 포도 량의 0.2%로 첨가하여 20°C 발효탱크에서 9일간 발효시켰다.

표 2-14. 적포도(MBA) 품종의 담금 규모에 따른 담금방법

	소량담금		대량담금
적포도(kg)-MBA	10.0 (19.0°Brix)	적포도(kg)-MBA	400.0 (15.6°Brix)
효모(g)	20.0	효모(g)	800.0
$K_2S_2O_5$ (g)	1.0	$K_2S_2O_5$ (g)	40.0
설탕(g)	658.0 (24°Brix보정)	설탕(kg)	44.2 (24°Brix보정)

표 2-15. 청포도(경조정) 품종의 담금 규모에 따른 담금방법

	소량담금		대량담금
청포도(kg)-경조정	10.0 (16.1°Brix)	청포도(kg)-경조정	400.0 (15.4°Brix)
효모(g)	20.0	효모(g)	800.0
$K_2S_2O_5$ (g)	1.0	$K_2S_2O_5$ (g)	40.0
설탕(g)	1,039.0 (24°Brix보정)	설탕(kg)	45.2 (24°Brix보정)

-분석방법

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)

Density Meter(Anton paar DMA4100M, 오스트리아) 이용하여 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 미국)로 측정



<결과 및 고찰>

pH의 경우 적포도(MBA) 품종에서 소량과 대량 담금은 발효경과 1일차에서 발효 종료일에 이르기까지 소폭 상승하는 곡선을 보이고 있으나 대량 담금의 경우 2~4일차에 감소하는 형태가 발생하였다. 적포도 품종의 담금 규모에 따른 pH의 차이는 발효 경과일 4일차 가장 큰 폭으로 발생하였다. 본 구간의 차이는 발효 경과일 동안의 산도 그래프로 설명이 가능하며 그 구간에서의 산도의 상승이 발견되었다. 소량 담금에서는 pH가 경과일 내내 소폭 상승하는 곡선이며 산도 그래프에서는 전체적으로 감소하는 형태를 보이고 있으나 대량 담금에서의 2~4일차에 pH 결과로써는 산패균에 의한 오염이 의심되지 않으나 산도의 증가로 현미경 검경을 확인 하였으나 산패균에 의한 오염은 발견되지 않았다.

청포도(경조정) 품종에서는 pH가 두 개의 실험군이 거의 유사한 형태를 보여주고 있으며 대량 담금이 소량담금에 비해 다소 높은 pH가 형성되고 있다. 산도의 경우에는 발효 경과 1일차에 비해 상승하는 형태를 보이고 있으며 대량 담금에서는 소량 담금에서 관찰되었던 감소 구간 없이 지속적으로 상승되는 것을 볼 수 있었다. 두 가지 품종을 비교할 때 pH와 산도에서는 적포도 품종이 청포도 품종에 비해 다소 높은 측정값을 형성하고 있으며, 발효 경과일 동안 소량 담금에 비해 대량 담금의 측정 항목 변화의 폭이 적은 것으로 보아 안정적으로 발효하며 MLF 등의 진행이 적어 보인다.

알코올의 경우 적포도(MBA) 품종과 청포도(경조정) 품종에서 모두 소량 담금이 대량 담금에 비해 발효 경과는 빨랐으나 최종 발효 경과일의 알코올 도수는 낮게 측정되었다. 적포도 품종은 소량 담금 시 최종 알코올도수가 14.1도(v/v%)였으며 대량 담금에서는 14.9도(v/v%)로 소량 담금에 비해 0.8도(v/v%)가 높게 형성되었으며 이는 소량 담금 시 설탕을 넣기 전 당도가 19°Brix였던 것에 비해 대량 담금 시 보당 전 당도가 15.6°Brix로 낮게 형성된 것이 주요 원인으로 보여진다. 초기 당도가 낮을 시 첨가되는 설탕의 양이 많게 되므로 원료의 당의 형태와 상관없이 다소 높은 알코올 함량을 형성할 수 있다.

청포도(경조정) 품종의 경우 소량 담금의 최종 발효 경과일 알코올 도수는 12.4도(v/v%)로 대량 담금 최종 알코올 도수인 15.0도(v/v%)에 비해 2.6도(v/v%) 낮게 형성되었다. 적포도 품종과 마

찬가지로 소량 담금 시 보당 전 당도가 16.1°Brix였던 것에 비해 대량 담금 시 보당 전 당도는 15.4°Brix로 소량 담금 시의 포도에 비해 당도가 낮은 원료를 사용하였다. 두 가지 과피 별 결과로 미루어 대량 담금에 사용한 청포도(경조정)가 적포도(MBA)에 비해 원료 내 단당의 함량이 높을 것으로 사료된다.

당도의 경우 두 가지 과피 모두 알코올 곡선과 정확히 반비례를 형성하고 있으며 효모의 활성이 소량 담금에 비해 다소 늦게 일어난 만큼 당도의 소비 또한 다소 늦게 진행되었다.

비중의 경우 전체적으로 감소하는 곡선을 형성하나 알코올 생성에 의한 것으로 정확히 일치하지는 않는다. 하지만 적포도(MBA) 품종에 비해 청포도(경조정) 품종의 대량 담금 시 초기 발효 경과 일에서 효모의 활성이 더 더디게 일어났던 것은 비중의 그래프로도 확인할 수 있다.

두 가지 과피 모두 대량 담금에서 소량 담금과 마찬가지로 정상 발효가 진행 되었으며 발효 종료 후에는 제성과 압착을 통하여 혹시 혼입될 수 있는 비가식 부위를 제거한 술덧을 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>의 증류조건 선정을 위해 각각의 품종을 구분지어 증류 조건 별로 증류를 진행하고자 한다.

그림 2-36. 적포도(左)와 청포도(右) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(pH)

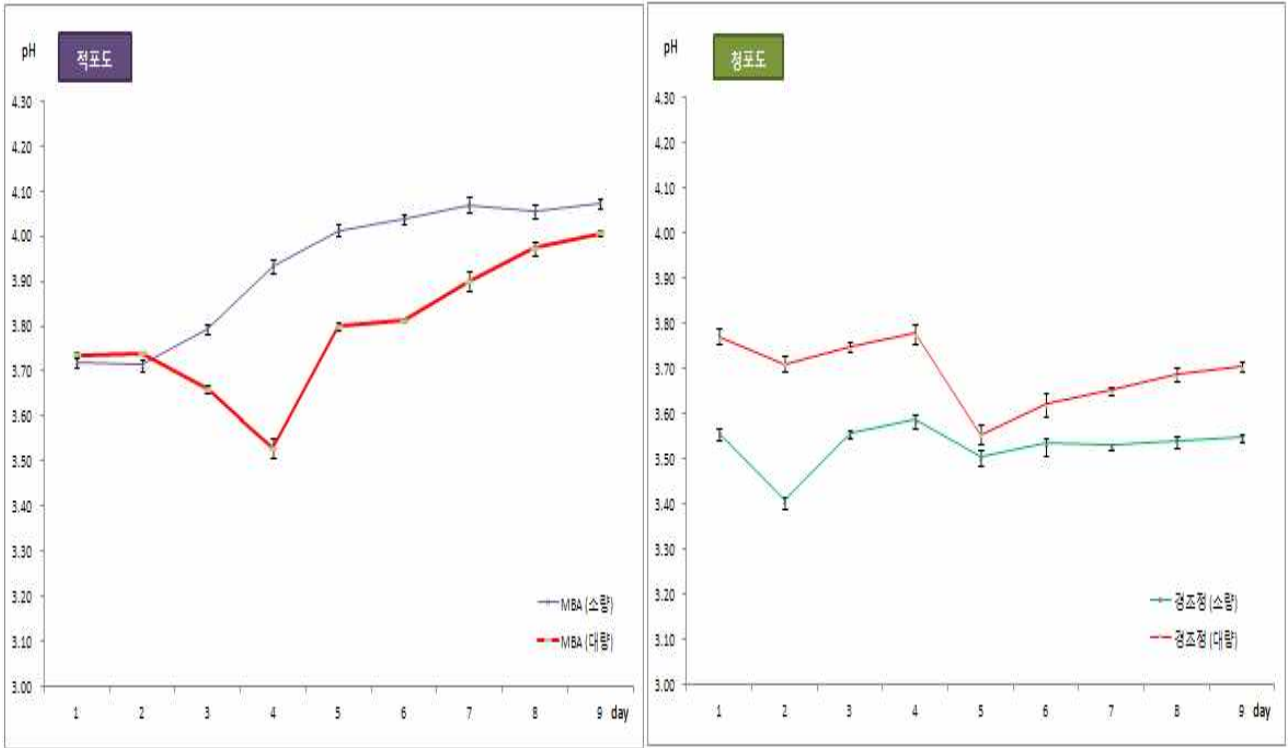


그림 2-37. 적포도(左)와 청포도(右) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(산도(적정산도))

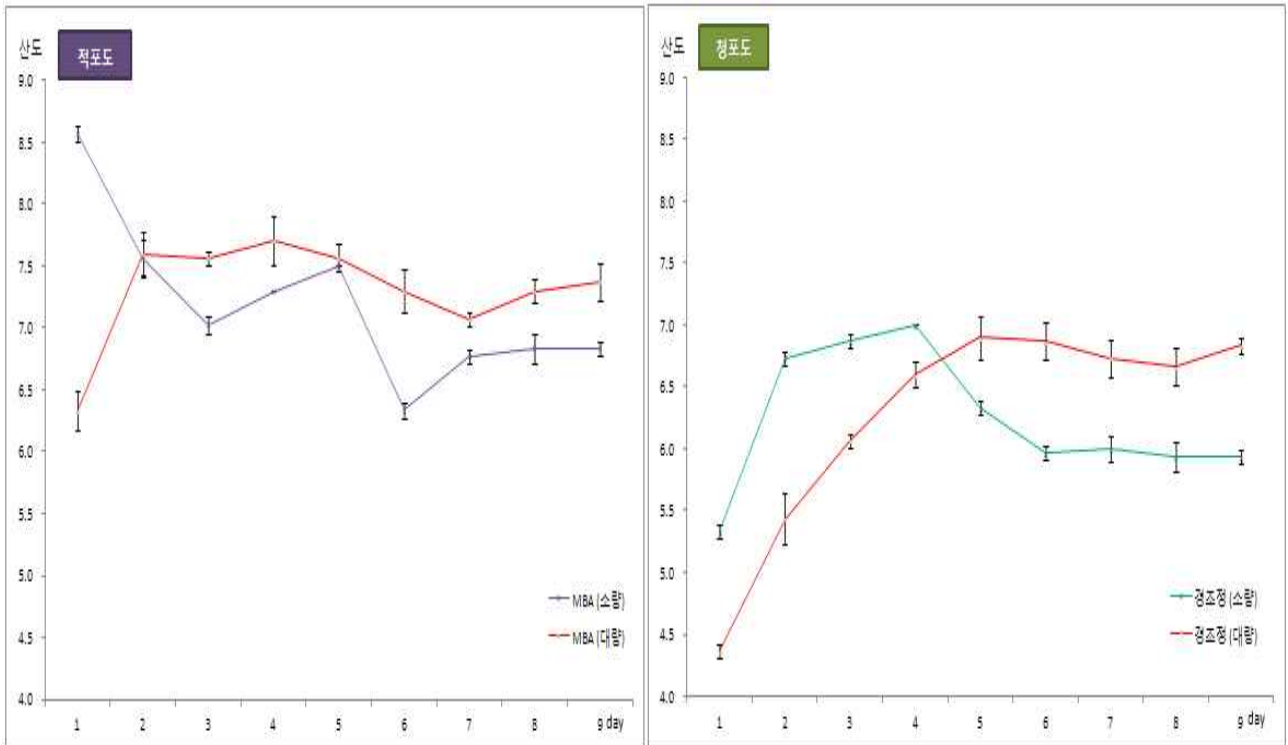


그림 2-38. 적포도(左)와 청포도(右) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

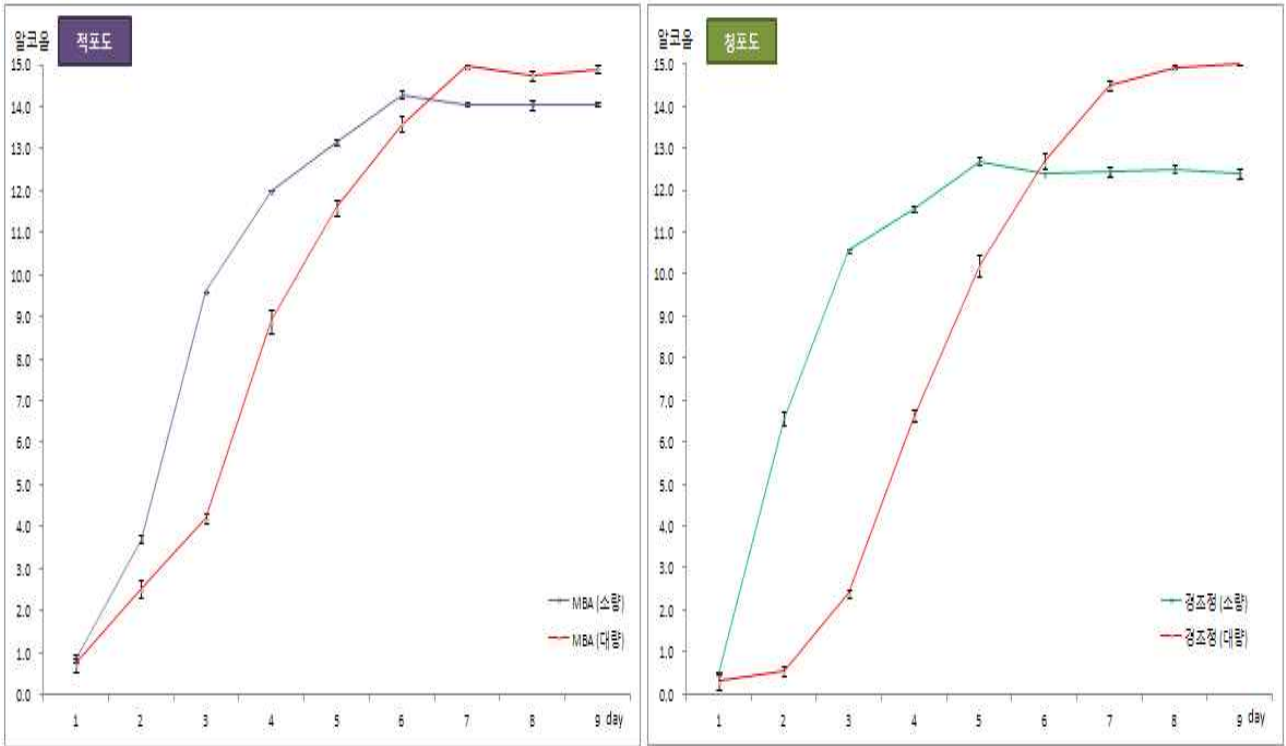


그림 2-39. 적포도(左)와 청포도(右) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(당도(단위: °Brix))

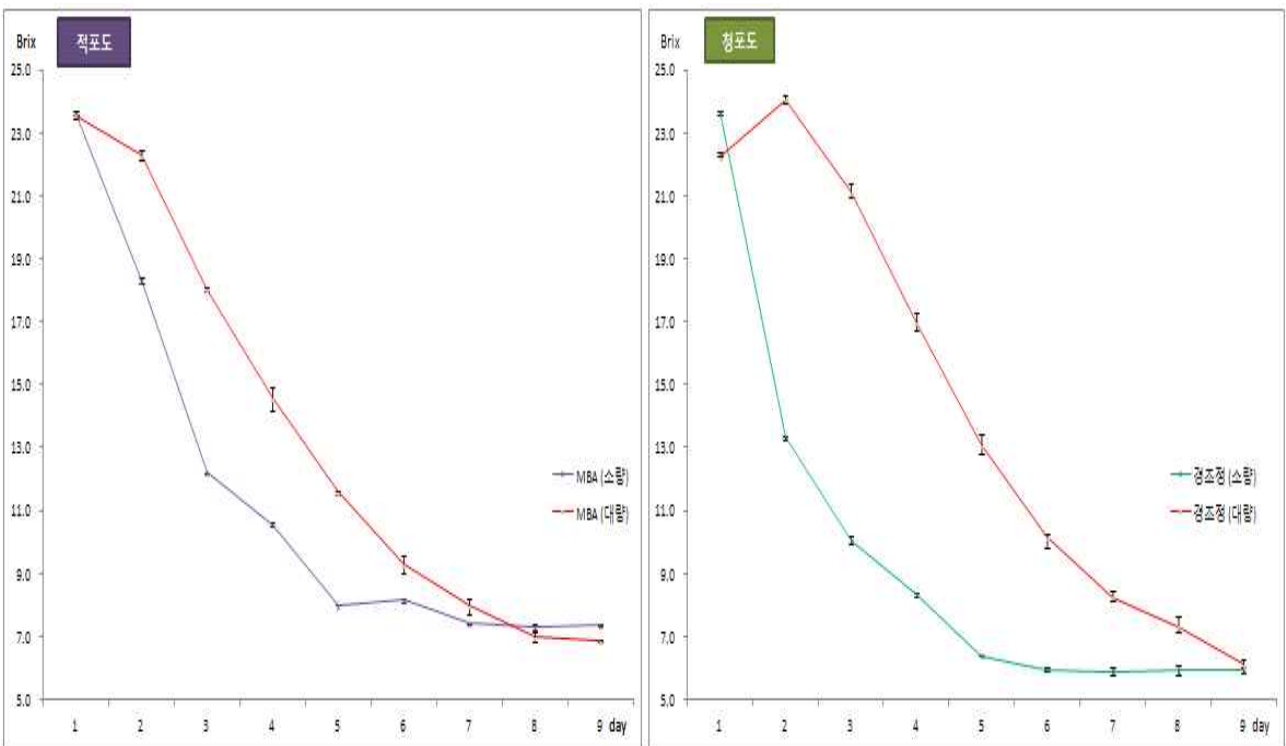
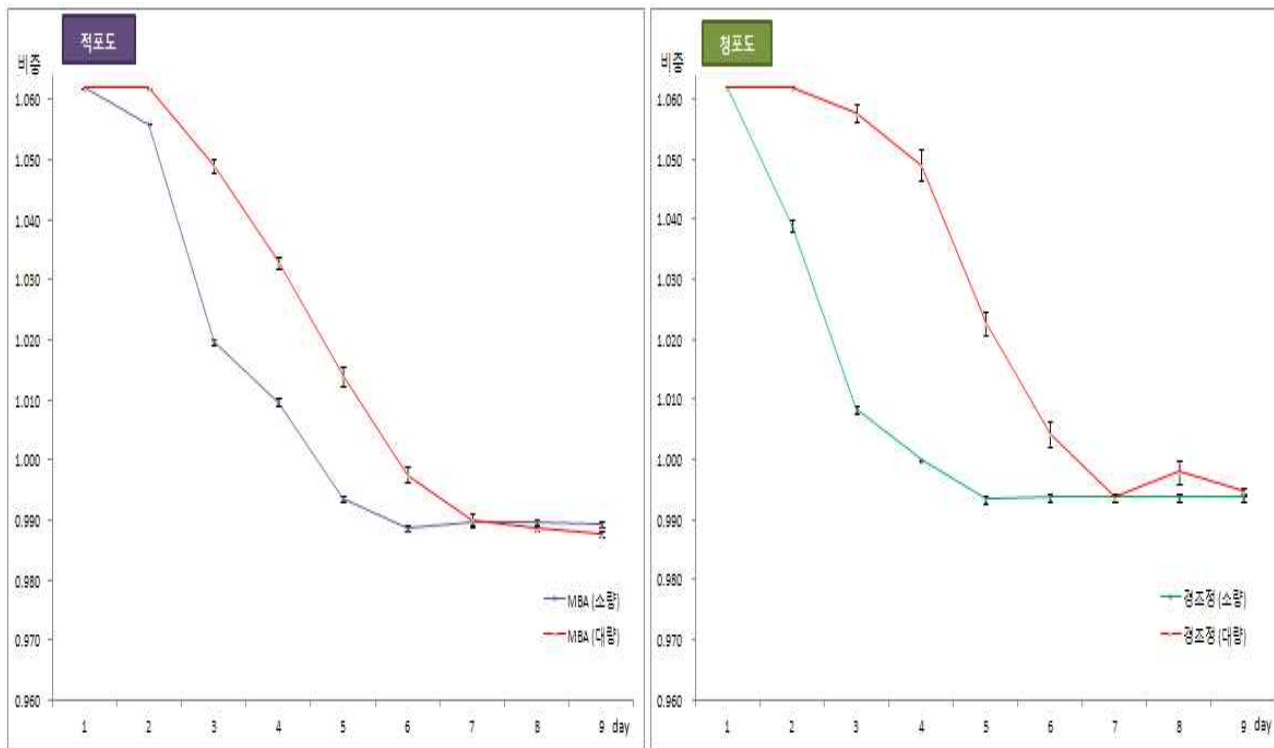


그림 2-40. 적포도(左)와 청포도(右) 발효 시 담금 규모 별 발효경과(비중)



다. 증류 조건별 분획을 통한 유해물질 분석

(1) 포도를 이용한 발효 술덧의 증류 방식별 증류

현재 주세법 상 소주는 증류식소주와 희석식소주의 구분에서 주세의 동일성을 사유로 소주로 통합되었지만 이전까지의 주세법 상에서는 곡물 등을 발효시켜 단식증류기로 증류한 것을 증류식 소주로 곡물 등을 발효시켜 연속식증류기로 증류한 주정(알코올함량 95도(v/v%))을 희석하여 제조한 것을 희석식 소주로 분류하였었다. 증류방식에 따른 분류는 전 세계적인 것으로 일본에서도 소주 갑류와 을류를 정하는 기준을 단식증류기와 연속식 증류기의 사용 여부에 의해 결정되기도 한다. 본 실험에서 사용할 증류방식은 단식증류방식과 단식-연속식 복합형 증류방식으로 연속식 증류 방식은 술의 공급이 연속적이어야 하며, 농축탑이 다공판선반과 포종선반판을 혼용하여 에탄올의 함량이 고도수로 농축이 되게 하는 방식으로써 실험에서 술의 연속적인 공급이 어려우므로 농축탑이 유사한 단식-연속식 복합형 증류(Lomond still)방식으로 연속식 증류기의 형태를 대체하고자 한다.

그림 2-41. 연속식 증류기

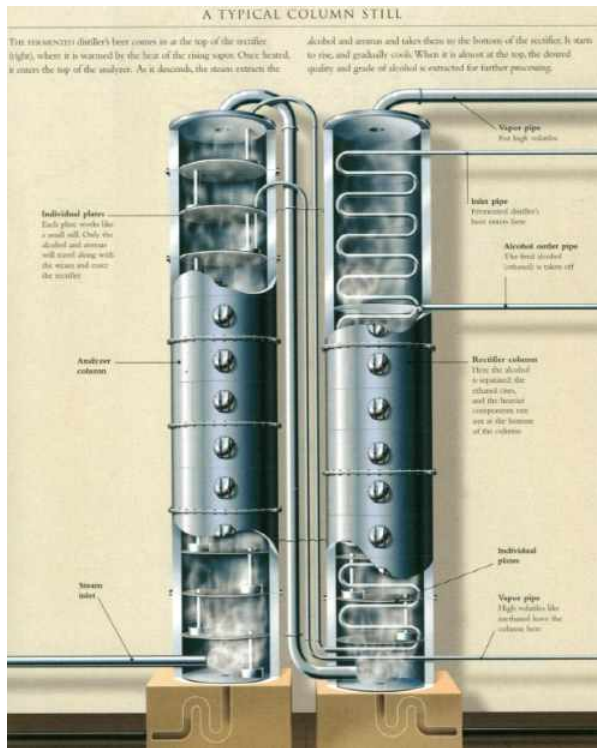
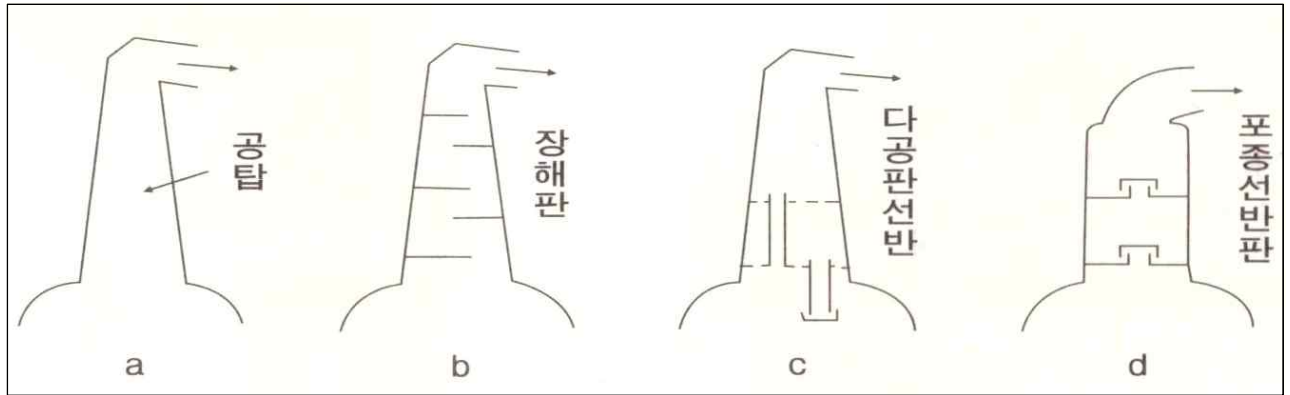


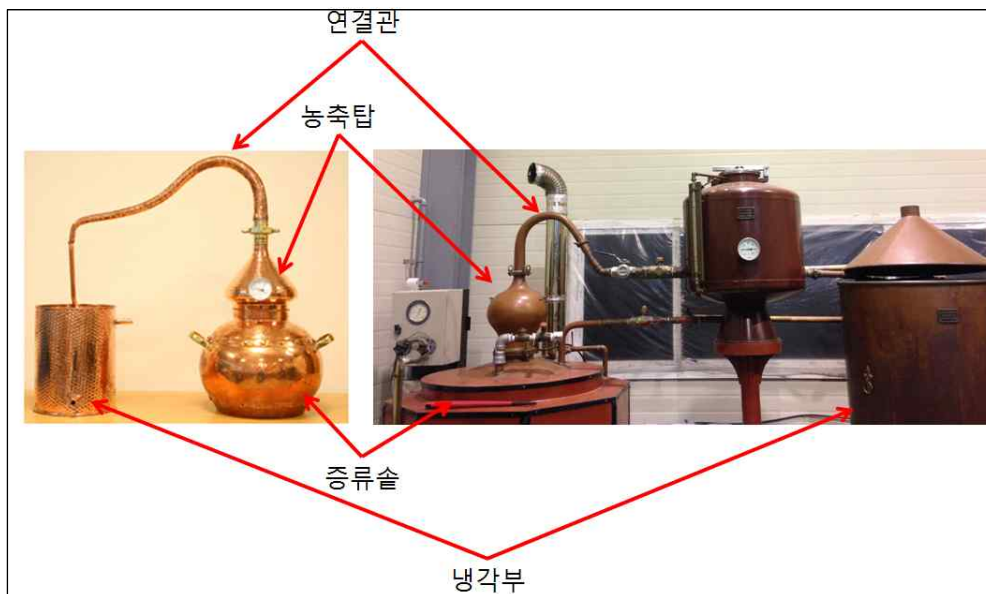
그림 2-42. 농축탑의 증류



단식증류방식은 압력에 따라 상압증류방식과 감압증류방식으로 나누어지는데 본 실험에서는 구리재질의 특성 상 감압증류방식이 불가한 점을 사유로 상압증류방식에서의 단식증류방식 (Pot-Still)과 단식-연속식 복합형 증류방식(Lomond still)만을 비교하고자한다.

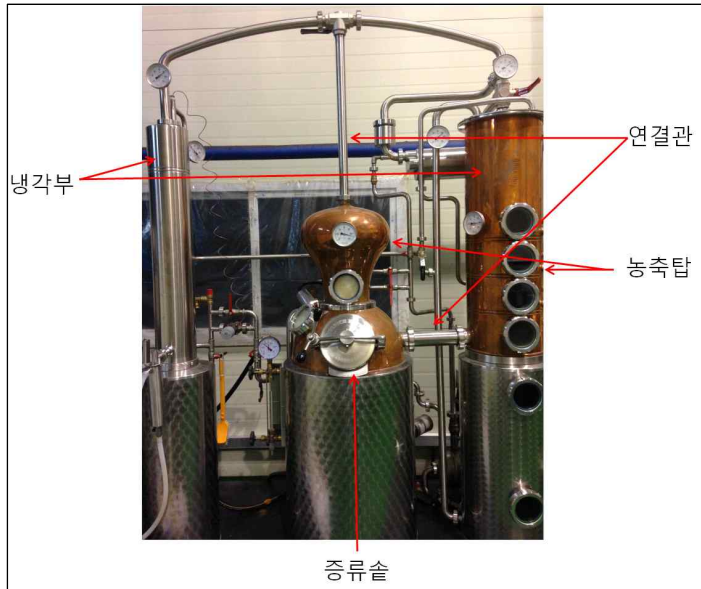
단식증류기는 일반적으로 증류솥, 농축탑, 연결관, 냉각부, 소주탱크의 구조로 나누어지며, 미량성분이 많이 함유되어서 농후한 맛이 나며, 증류직후 향미가 자극적이지만 숙성에 따라 주질이 크게 향상되며, 증류기의 형상, 재질, 증류조건 등에 따라 주질의 변화가 큰 것이 특징이다.

그림 2-43. 단식증류기의 구조



단식-연속식 복합 증류기(Lomond still)은 1955년 영국의 Hiram Walker 사의 Alistair Cunningham과 Arthur Warren이 개발한 장치로 증류솥은 전통적인 단식증류기(Pot still)과 동일하지만 상부의 농축탑과 연결부는 개조되어 원통형의 장치가 부착된다. 농축탑 부분이 연속식증류기의 농축탑 형태의 것으로 섬세한 위스키에서부터 오일리한 바디의 묵직한 위스키를 제조할 수 있는 것이 특징으로써 현재에는 스카치위스키가 아닌 몰트위스키에만 사용이 가능한 증류기이다. 본 실험에 사용할 단식-연속식 복합 증류기는 단식 증류기로도 사용이 가능한 증류기로 단식증류방식과 단식-연속식 복합증류기만을 비교하기에 적절한 장치이다.

그림 2-44. 단식-연속식 복합 증류기의 구조



<실험방법>

1차년도에 선정된 효모(Lalvin 71B)와 선정된 품종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 이용하여 발효를 시키고 제성과 압착 공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 증류방식별 증류를 진행하였다. 동일한 증류 술덧 20ℓ를 가지고 증류기 재질은 동, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류방식만 변화를 주어 (단식증류방식, 단식-연속식 복합증류방식) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 200ml씩 분획하였다. 단식 증류방식의 경우 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

본 실험에 사용한 증류기는 단식 증류와 단식-연속식 복합증류가 가능한 장치로써 증류방식을 달리 할 수 있도록 설계되어있으며 각 방식의 증류가 완료된 후에는 세척 장치를 통하여 세척을 완료한 후 다음 방식의 증류를 진행하였다.

그림 2-45. 증류방식별 증류 Flow



단식 증류법의 Flow



단식-연속식 복합 증류법의 Flow

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매겨 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

증류방식에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 단식 증류방식은 총 31개의 분획으로 평균 알코올 함량 42.58도(v/v%)로 나타났으며, 단식-연속식 복합 증류방식은 총 24개의 분획으로 평균 알코올 함량 61.16도(v/v%)로 단식 증류방식이 2차 증류까지 진행한 것에 비해 1차 증류만으로 약 20도(v/v%)가량의 높은 평균 알코올 함량이 측정되었

다. 이는 각 증류방식의 가장 큰 차이인 농축탑의 형태에 의한 것으로 단식 증류방식의 농축탑은 공탑인 것에 비해 단식-연속식 복합 증류방식의 농축탑은 포종선반판으로 이루어진 것이기 때문이며 분획별 알코올 함량의 그래프에서 눈에 띄게 차이를 보이고 있다. 단식 증류방식의 경우 완만한 감소 곡선인 것에 비해 단식-연속식 복합 증류방식의 경우 14번 분획까지 평형에 가까운 형태를 보이다 15번 분획에서 급감하여 21번 분획에서 다시 완만한 감소를 보이기 시작한다. 단식 증류방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획에서 74.07도(v/v%)로 나타났으며, 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 알코올 함량은 6번 분획에서 88.07도(v/v%)로 측정되었다. 1번 분획보다 3번과 6번 분획에서 높은 알코올 도수가 측정된 사유는 세척수의 혼입에 의한 것으로 사료되며, 평균 알코올 함량과 총량을 곱하여 산정하는 주정계수의 경우 각 증류방식의 손실을 확인 할 수 있는 지표로써 단식증류방식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 주정계수가 낮게 측정되었다.

청포도(경조정) 품종에서 단식 증류 방식은 총 36개의 분획으로 평균 알코올 함량 41.49도(v/v%)로 측정되었으며, 단식-연속식 복합 증류방식은 총 24개의 분획으로 평균 알코올 함량 60.98도(v/v%)로 단식 증류방식에 비해 평균 알코올 함량이 약 20도(v/v%) 높게 측정되었다. 이는 적포도 품종에서 나타난 형태와 동일한 내용으로 농축탑의 형태에 따른 알코올 농축이 그 중요한 차이를 발생시킨 요인이다. 단식증류방식의 최대 알코올 함량은 1번 분획에서 75.35도(v/v%)로 나타났으며, 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 알코올 함량은 4번 분획에서 89.21도(v/v%)로 측정되었다. 주정계수는 단식 증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 다소 높게 나타났으며 세척수에 의한 혼입은 크게 보여 지지 않았다.

청포도 품종은 적포도 품종에 비해 두 가지 증류방식에서 모두 평균 알코올 함량이 낮게 나타났지만 최대 알코올 함량은 다소 높게 나타났다. 증류 시 발생하였던 세척수의 혼입이 주요 원인으로 보여지며, 각 품종 별 증류방식 중 주정계수로 확인한 손실은 품종에 따라 다르게 나타났으며 일관적이지 않기 때문에 증류방식에 의한 차이로 보기 어렵다.

증류방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 아세트알데히드와 메탄올의 총량은 모두 단식 증류방식(아세트알데히드 총량: 3.80ppm, 메탄올 총량: 18.71ppm)이 단식-연속식 복합 증류방식(아세트알데히드 총량: 4.82ppm, 메탄올 총량: 27.63ppm)에 비해 낮은 함량이 측정되었다. 두 가지 방식 모두 초기 분획에 저(低)비점 유해물질이 집중되어 있으며 이는 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)의 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문이다. 단식 증류방식의 메탄올과 아세트알데히드는 모든 분획에서 100ppm이하로 측정되었으나 단식-연속식 복합 증류방식에서는 1번 분획에서 메탄올이 120.38ppm이 측정되어 이후 분획부터 감소하는 형태를 보여주고 있다. 1차년도 품종별 저(低)비점 유해물질 실험에서 MBA 품종이 전 분획에서 메탄올 함량이 측정된 것과 동일하게 두 가지 방식에서도 메탄올이 전 분획에서 검출되었으며 이는 품종이 갖는 특징으로 사료된다.

청포도(경조정) 품종에서도 단식 증류방식(아세트알데히드 총량: 2.76ppm, 메탄올 총량: 17.84ppm)이 단식-연속식 복합 증류방식(아세트알데히드 총량: 3.22ppm, 메탄올 총량: 23.24ppm)에 비해 아세트알데히드와 메탄올의 총량이 낮게 측정되었으며, 초기 분획에 집중되어 있는 형태를 보이고 있다. 단식증류방식의 1번 분획에서 아세트알데히드가 15.31ppm, 메탄올은 135.52ppm 측정되었으며, 이후 급감하여 8번 분획부터는 20ppm 이하로 측정되었다. 단식-연속식 복합증류방식의 1번 분획에서는 아세트알데히드가 14.92ppm, 메탄올이

146.69ppm으로 메탄올의 경우 단식 증류방식보다 다소 높게 시작하여 8번 분획부터는 20ppm 이하로 측정되었다.

분획별 저(低)비점 유해물질 함량에서 품종에 따라 비교 시 두 가지 품종 모두 단식 증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 저(低)비점 유해물질의 총량이 적게 검출되었으며 적포도 품종에 비해 청포도 품종의 저(低)비점 유해물질의 총량이 낮게 나타난 것으로 보아 초기 집중도가 높은 것으로 보여 진다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 증류방식에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-48. 품종과 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 적포도(MBA) 품종에서 단식증류방식의 경우 요소와 EC 모두 전 구간에서 100ppb 이하로 검출되었으며 EC의 경우 1번에서 5번 분획사이에 집중되어 있는 형태를 보여주고 있다. 단식-연속식 복합증류방식의 경우 요소는 100ppb 이상 검출되는 구간이 발생되었으며 1번에서 10번 구간까지 상승하는 형태를 보이다 이내 감소하는 형태를 보이고 있으며 EC의 경우 초기 분획보다는 중·후반 구간으로 갈수록 상승하는 형태를 보여주고 있다. "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"의 내용 중 EC의 함량은 초류<본류<후류 순으로 나타난다는 결과와 비교 시 단식 증류방식은 상반되는 내용을 보여주고 있으며, 단식-연속식 복합 증류방식의 결과가 유사한 것으로 보여 진다. 매뉴얼과의 상충되는 내용이 발생한 것은 각 증류조건, 원료, 원료의 비료 처리에 의한 추가적인 변수가 존재하기 때문으로 사료된다. EC의 경우 단식증류방식의 최대 함량은 3번 분획에서 47.67ppb로 검출되었으며, 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 함량은 18번 분획에서 290.27ppb로 측정되었다. 이와 같은 결과는 끓는점이 높은 EC(B.P 185℃)가 단식증류방식에서는 초기 일부 유출되는 형태를 보이고 있으며, 단식-연속식 복합 증류방식에서는 농축탑에서 증류주 증기에 의한 가열이 추가되어 더 높은 온도로 가열이 되기 때문에 지속적인 유출이 진행되다가 EC를 흡착하는 구리면의 부족으로 중·후반부에 EC의 검출량이 늘어난 것으로 사료된다. EC의 검출 형태로 미루어 단식 증류방식에서는 검출량이 적어 초류 분리에 적은 영향을 미칠 것으로 보여 지며, 단식-연속식 복합 증류방식에서는 EC가 초류 분리보다는 후류 분리에 영향을 미칠 것으로 보여 진다.

청포도(경조정) 품종에서 증류방식에 따른 비교 시, 단식 증류방식은 EC와 요소 모두 전 구간에서 100ppb이하로 검출되었으며 EC의 경우 1번에서 3번 분획 사이에 집중되는 형태를 보이고 있다. 단식-연속식 복합 증류방식에서는 요소는 전 구간 100ppb 이하로 형성되었으며, EC는 단식증류방식에 비해 검출 분획에서 3배 이상의 함량이 측정되었으며, 1번에서 5번 분획까지 초기에 집중되어 검출되는 형태를 보여주고 있다. EC의 경우 단식증류방식의 최대 함량은 1번 분획에서 81.30ppb로 측정되었으며, 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 함량은 2번 분획에서 372.45ppb로 검출되었다. 두 가지 방식 모두 "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"의 내용 중 EC의 함량은 초류<본류<후류 순으로 나타난다는 결과와는 상반되는 내용으로 각 증류조건, 원료, 원료의 비료 처리에 의하여 차이에 의한 것으로 사료된다.

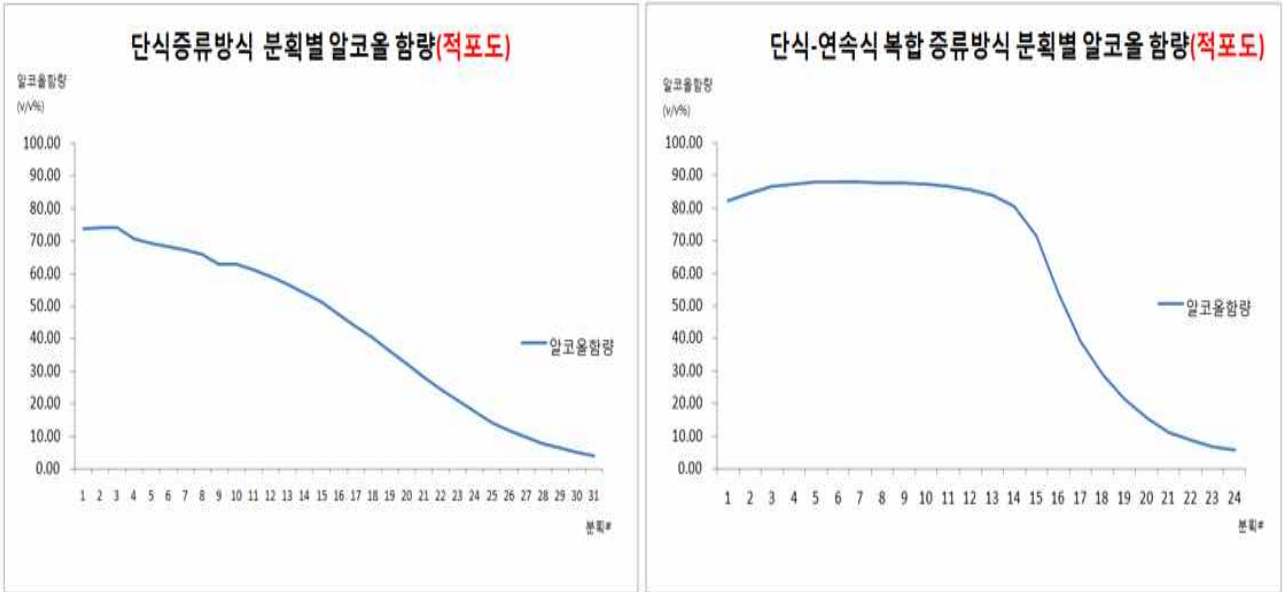
품종별 비교 시 각 증류방식에서의 EC의 함량 차이는 농축탑의 가열온도 차이에 의한 것으로 보여 지며 EC와 요소의 최대함량은 청포도 품종에서 높게 나타났지만 총 함량은 적포도 품종에서 높게 측정되었다. 각 품종의 단식증류방식에서는 큰 차이 없이 동일한 형태로 EC가 초기 분획에 집중되는 것을 보여주고 있으나, 단식-연속식 복합증류방식에서의 EC 함량

은 적포도 품종의 경우 중·후반으로 갈수록 증가하는 형태를 보여주고 있으며, 청포도 품종의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 것을 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 청포도 품종이 적포도 품종에 비해 EC 발생량이 적었던 것으로 추측할 수 있으며, 청포도의 경우 초기 분획에서 EC가 흡착 면적이 부족하여 유출되고 더 이상의 EC 함유량이 없기 때문에 중반 분획부터는 측정되지 못한 것으로 사료된다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 포도 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-46. 품종과 증류방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

<적포도(MBA) 품종>

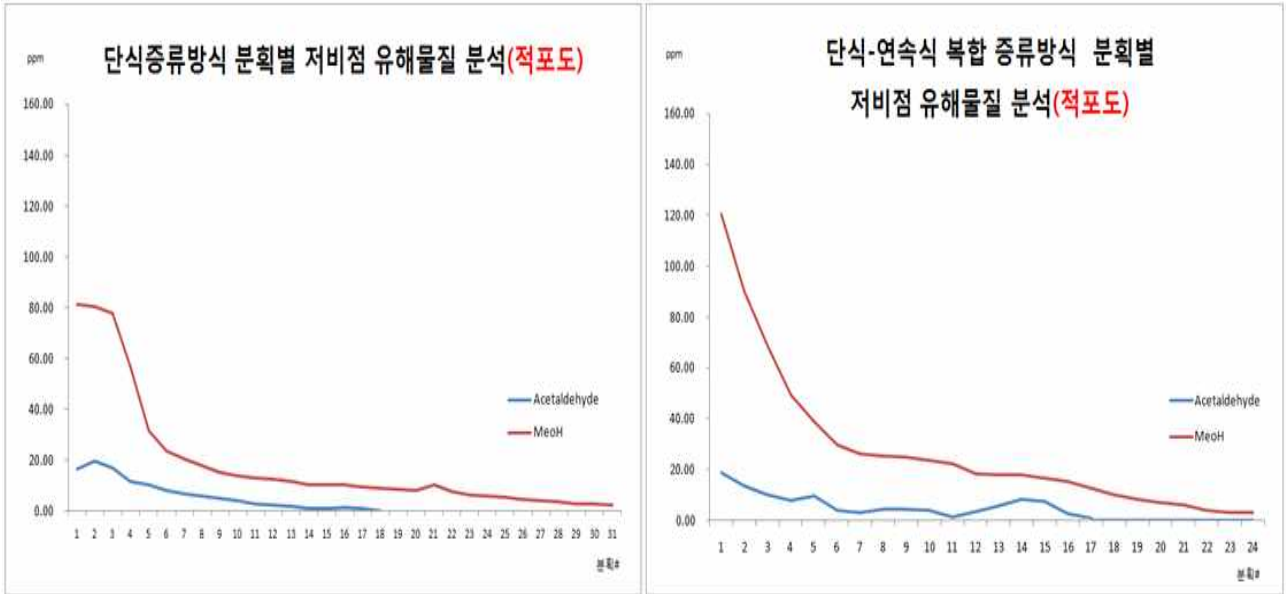


<청포도(경조정) 품종>



그림 2-47. 품종과 증류방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

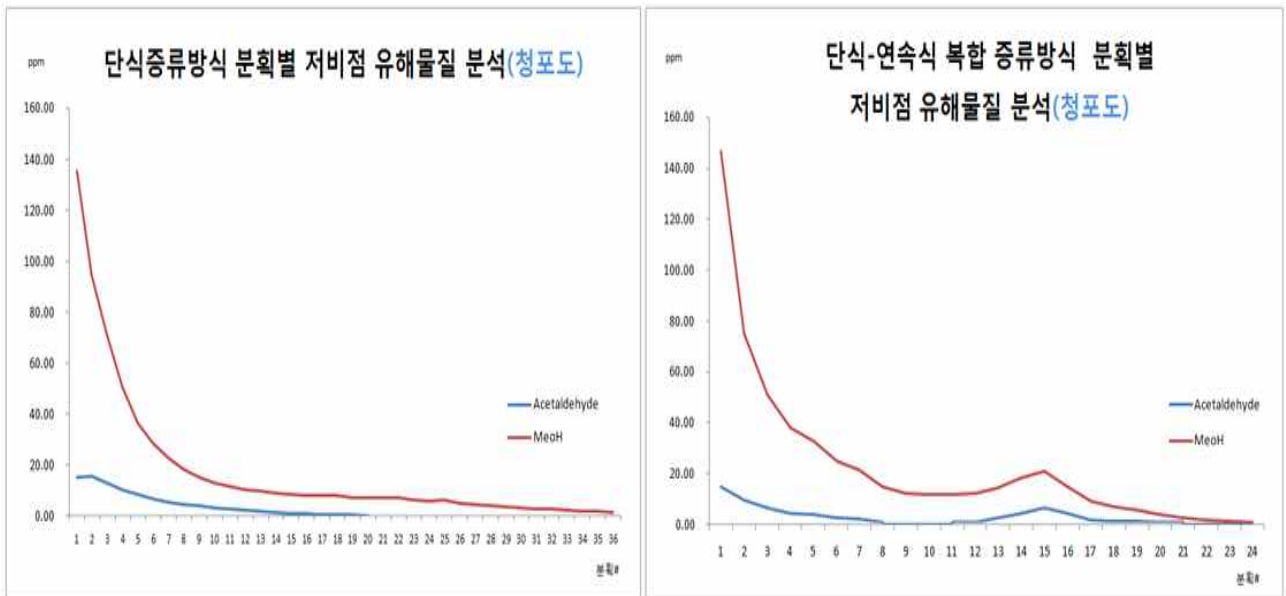
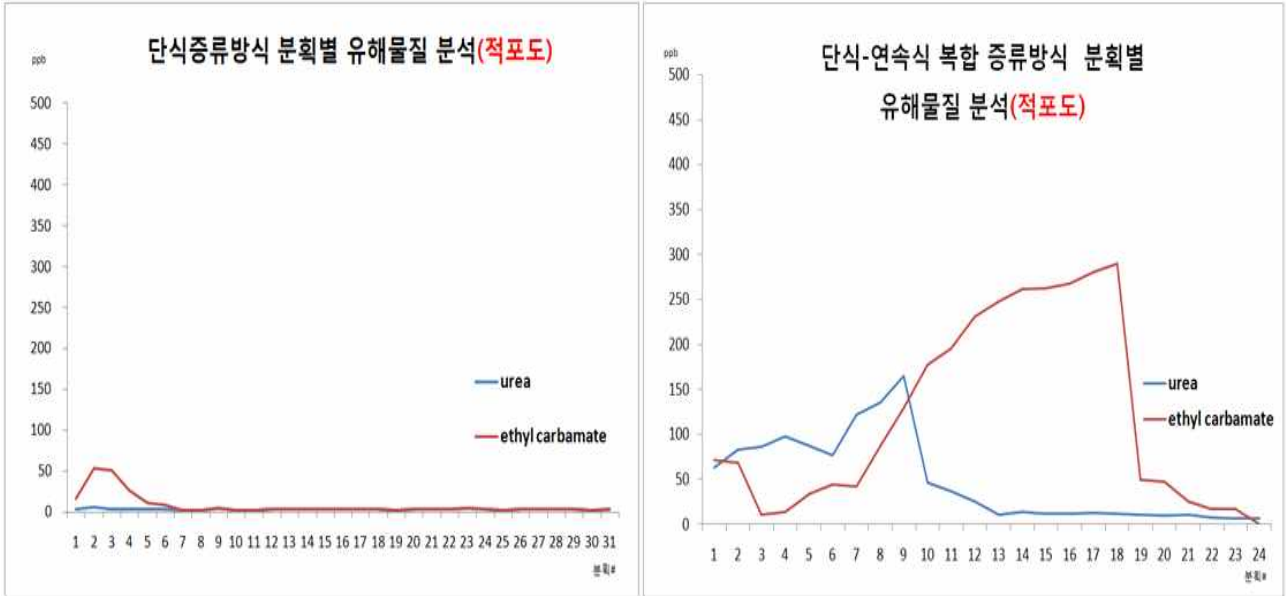
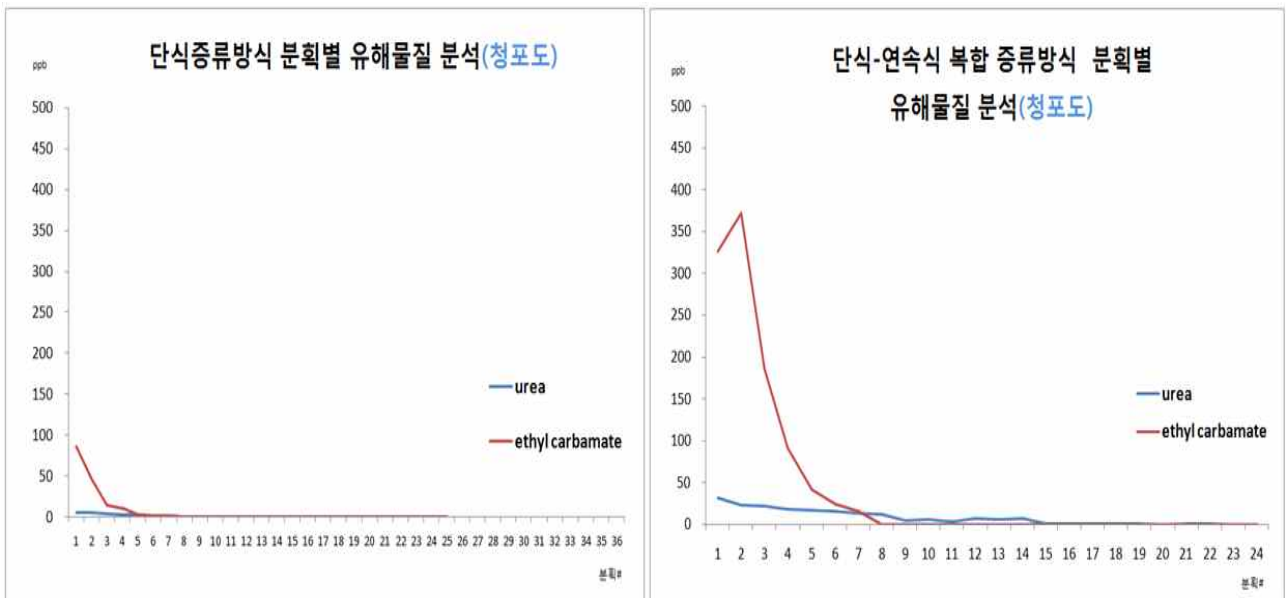


그림 2-48. 품종과 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>



(2) 포도를 이용한 발효 술덧의 증류기 재질별 증류

증류기의 재질로는 도자기 형태의 소주고리, 구리(銅), 스테인리스를 꼽을 수 있다. 증류기가 제작된 시점은 세계문명의 발상지인 메소포타미아에서 기원전 3,000년경에, 이미 증류기의 원형이 존재했었다고 전해지며, 아라비아의 연금술사 등이 사용했던 증류기는 구리로 된 것이고 이것을 “아란팻크”라고 하였다. 아란팻크는 아라비아어로 “땀의 이슬”이라는 말로 “아락”이라고 부르며, 현재도 이 형태의 증류기가 위스키, 브랜디에서 사용되고 있다. 중국의 경우 13세기 露酒(현재의 백주)가 제조되었는데 어원은 동일한 것으로 보여 진다. 아시아로 전파되며 토기로 만들어진 소주고리가 제조된 것으로 추정되며, 이후 스테인리스 증류기가 제조된 것으로 파악된다.

토기로 제조된 소주고리는 기밀성 및 열전도, 대량화 등의 사유로 도태되었고 현재는 크게 동(銅) 재질의 증류기와 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있으며, 우리나라의 경우 현재 증류주의 대부분은 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있다. 일본은 스테인리스 스틸 증류기를 70년대 후반부터 사용하여 왔으나 구리 증류기가 유해물질 제거 기능이 탁월한 것으로 밝혀져 차츰 동 재질의 증류기로 교체하여 사용하고 있다.

본 실험에서는 다른 증류 조건을 동일 시 한 상태에서 증류기의 재질만 변경하여 분획별 유해물질을 비교 분석하고자 한다.

그림 2-49. 본 실험에 사용할 스테인리스 증류기(左)와 동증류기(右)



<실험방법>

1차년도에 선정된 효모(Lalvin 71B)와 선정된 품종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 이용하여 발효

를 시키고 제성과 압착 공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 증류기 재질별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 스테인리스 증류기는 80ℓ, 동증류기는 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류기 재질만 변화를 주어 (스테인리스 증류기, 동증류기) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧량의 1%씩 800ml(스테인리스 증류기)와 200ml(동증류기)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매겨 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

증류기 재질에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 동증류기 방식은 총 31개 분획으로 평균 알코올 함량 42.58도(v/v%)로 나타났으며, 스테인리스 증류기 방식은 총 25개 분획으로 평균 알코올 함량 77.3도로 측정되었다. 두 가지 방식 모두 2차 증류까지 진행된 것으로 단식 증류방식과 동일한 결과인 동증류기 방식은 완만한 감소 곡선을 형성하였으며, 스테인리스 증류기 방식의 경우 15번 분획까지 완만한 감소가 진행이 되다 16번 분획부터 21번 분획까지 급감하는 형태를 띠고 있다. 이러한 차이는 농축탑의 차이에 의한 것으로 스테인리스 증류기의 농축탑이 공탑이 아닌 장해판의 형태이므로 공탑에 비해 일부 알코올 도수의 농축이 진행되었음을 나타내게 되었다. 동증류기의 최대 알코올 도수는 3번 분획에서 74.07도로 나타났으며, 스테인리스 증류기의 최대 알코올 도수는 2번 분획에서 77.3도(v/v%)로 측정되었다. 평균 알코올도수와 총량을 곱하여 산출하는 주정계수의 경우 동증류기 방식에서 스테인리스 증류기 방식에 비해 다소 낮게 산출되었으며 따라서 손실이 스테인리스 증류기 방식에 비해 높은 것으로 보여진다.

청포도(경조정) 품종에서 동증류기 방식은 총 36개의 분획으로 평균 알코올 도수는 41.49도(v/v%)로 측정되었으며, 스테인리스 증류기 방식은 총 26개의 분획으로 평균 알코올 함량 58.35도(v/v%)로 측정되었다. 동증류기 방식은 단식증류방식과 동일한 결과로 최대 알코올 도수는 1번 분획에서 75.35도(v/v%)로 측정되었으며 스테인리스 증류기 방식의 최대 알코올

도수는 2번 분획에서 79.8도(v/v%)로 측정되었다. 주정계수는 큰 차이가 나지는 않지만 스테인리스 증류기 방식이 동증류기 방식에 비해 다소 높게 나타나 손실이 적은 것으로 판단되었다.

재질에 따른 분획별 알코올 함량을 품종 별로 비교 시 최대 알코올 함량은 청포도 품종에서 적포도 품종에 비해 높게 나타났으며 두 가지 품종 모두 스테인리스 증류기 방식이 동증류기 방식에 비해 높은 주정계수가 산출되는 것으로 보아 스테인리스 증류방식이 더 높은 효율을 갖는 것으로 나타났다.

증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 단식 증류방식과 동일한 결과인 동증류기 방식(아세트알데히드 총량: 3.80ppm, 메탄올 총량: 18.71ppm)이 스테인리스 증류기방식(아세트알데히드 총량: 5.53ppm, 메탄올 총량: 24.81ppm)에 비해 적게 검출 되었으며, 두 가지 방식 모두 세척수에 의한 혼입이 관찰되며, 초기에 집중되어 있는 것을 확인할 수 있다. 이는 저(低)비점 유해물질이 에탄올의 비점에 비해 낮기 때문이며 동증류기 방식의 경우 전 분획에서 저(低)비점 유해물질이 100ppm 이하로 검출되었다. 스테인리스 증류기 방식의 경우 메탄올이 2번 분획에서 106.84ppm으로 전 분획 중 가장 높은 수치가 검출되었으며 이후 분획에서 급감하여 9번 분획부터는 20ppm 이하로 측정되었다.

청포도(경조정) 품종에서 저(低)비점 유해물질의 총 함량은 적포도 품종과 마찬가지로 동증류기 방식(아세트알데히드 총량: 2.76ppm, 메탄올 총량: 17.84ppm)이 스테인리스 증류기 방식(아세트알데히드 총량: 4.28ppm, 메탄올 총량: 21.85ppm)에 비해 적게 검출되었으며, 메탄올의 초기 분획의 최대 함량은 동증류기 방식(1번 분획, 135.52ppm)이 스테인리스 증류기방식(2번 분획, 103.26ppm)보다 높게 측정되었다.

재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질을 품종에 따라 비교 시 두 가지 품종 모두 동증류기방식이 스테인리스 증류방식에 비해 낮은 총량이 검출되었으며, 청포도 품종이 적포도 품종에 비해 저(低)비점 유해물질의 총량이 낮은 것으로 확인되었다. 전체적으로 동증류기 재질은 스테인리스 증류기에 비해 저(低)비점 유해물질의 흡착에 관여하는 것으로 보여 진다. 유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 증류기 재질에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-52. 품종과 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 적포도(MBA) 품종에서 동증류기방식은 EC와 요소 모두 전 구간에서 100ppb 이하로 검출되었으며, 초기 분획에 집중되어 있는 형태를 보이고 있다. 스테인리스 증류기방식의 경우 EC와 요소 모두 1번 분획에서 5번 분획까지 집중되어 있는 형태를 보이고 있으며 1번과 2번 분획에서 100ppb 이상 검출되었다. 동증류기방식의 EC 최대 함량은 3번 분획으로 47.67ppb가 검출되었으며, 스테인리스 증류기방식의 EC 최대 함량은 1번 분획에서 148.52ppb로 측정되었다. 동증류기방식의 경우 EC와 요소 모두 스테인리스 증류기방식에 비해 적게 발생되었는데 특히 EC의 경우 "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"에서 명시한 동(銅)재질에 의한 EC의 흡착이 원인으로 보여지며, 농축탑이 공탑인 동증류기에 비해 스테인리스 증류기의 농축탑이 장해판인 것도 알코올 농축에 영향을 미친 것처럼 증류 온도 상승으로 인한 EC의 유출 증가에 주요한 역할을 한 것으로 사료된다.

청포도(경조정) 품종에서 동증류기방식은 적포도 품종과 마찬가지로 EC와 요소 모두 전 구간에서 100ppb이하로 검출되었으나, 스테인리스 증류기방식의 경우 1번 분획에서 4번 분획

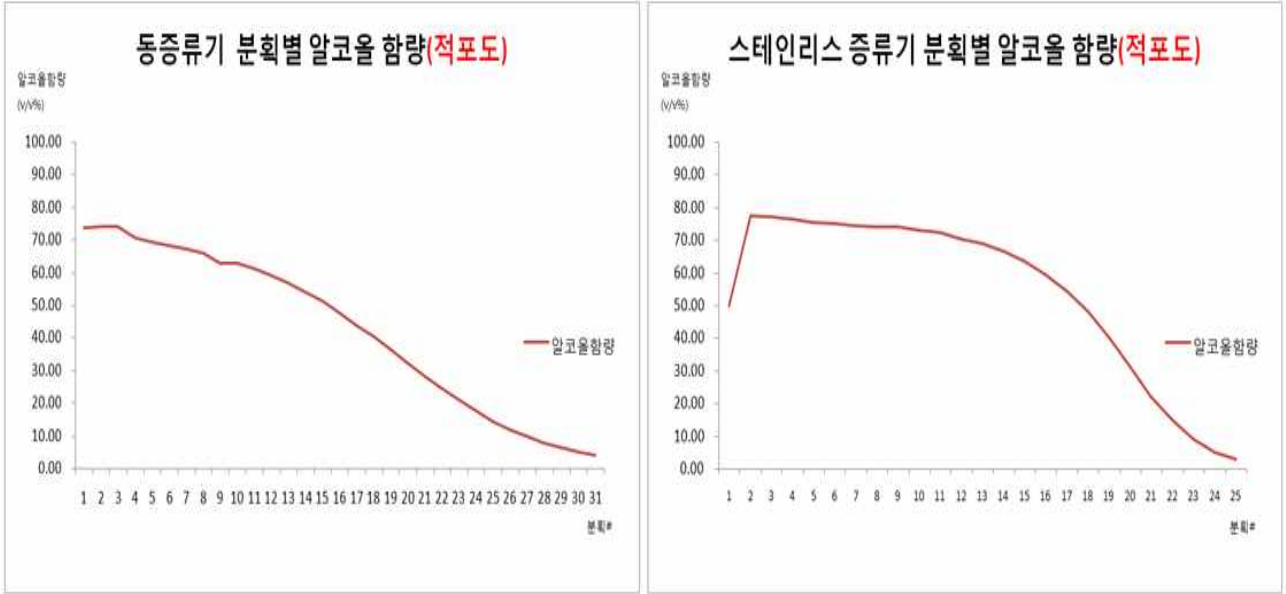
까지 EC와 요소가 집중되어 있으며, EC는 3번 분획까지 100ppb 이상으로 측정되는 것을 볼 수 있다. 동증류기방식의 EC 최대 함량은 1번 분획에서 81.30ppb로 검출되었으며, 스테인리스 증류기방식의 EC 최대 함량은 2번 분획에서 325.25ppb로 측정되었다. 유해물질은 두 가지 방식에서 모두 초기 분획에 집중되어 있으며, 스테인리스 증류기방식의 초기 EC 함량은 초류 분리에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다. 적포도 품종과 마찬가지로 동증류기방식이 스테인리스 증류방식에 비해 낮은 유해물질이 검출된 사유는 동(銅)재질에 의한 EC의 흡착이 주요 원인으로 보여 진다.

재질에 따른 분획별 유해물질을 품종에 따라 비교 시 두 가지 품종 모두 동증류기방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 낮은 유해물질이 검출되는 것을 확인할 수 있었으며, 품종에 따른 연관성은 확인 할 수 없었다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 포도 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-50. 품종과 증류기 재질에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

<적포도(MBA) 품종>

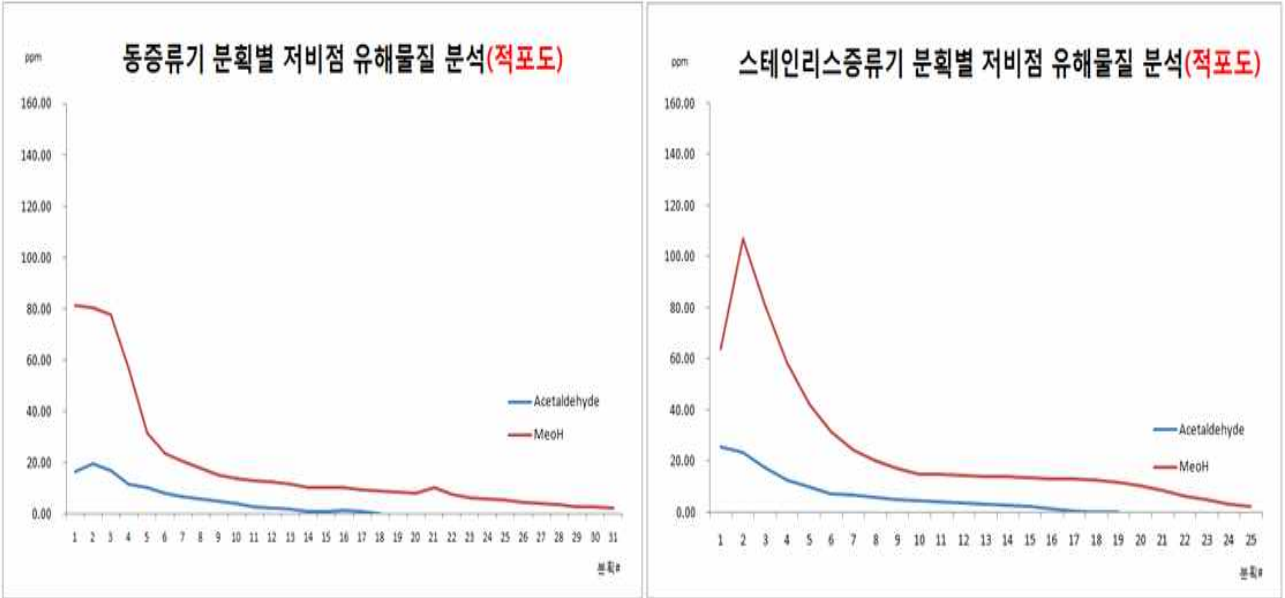


<청포도(경조정) 품종>



그림 2-51. 품종과 증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

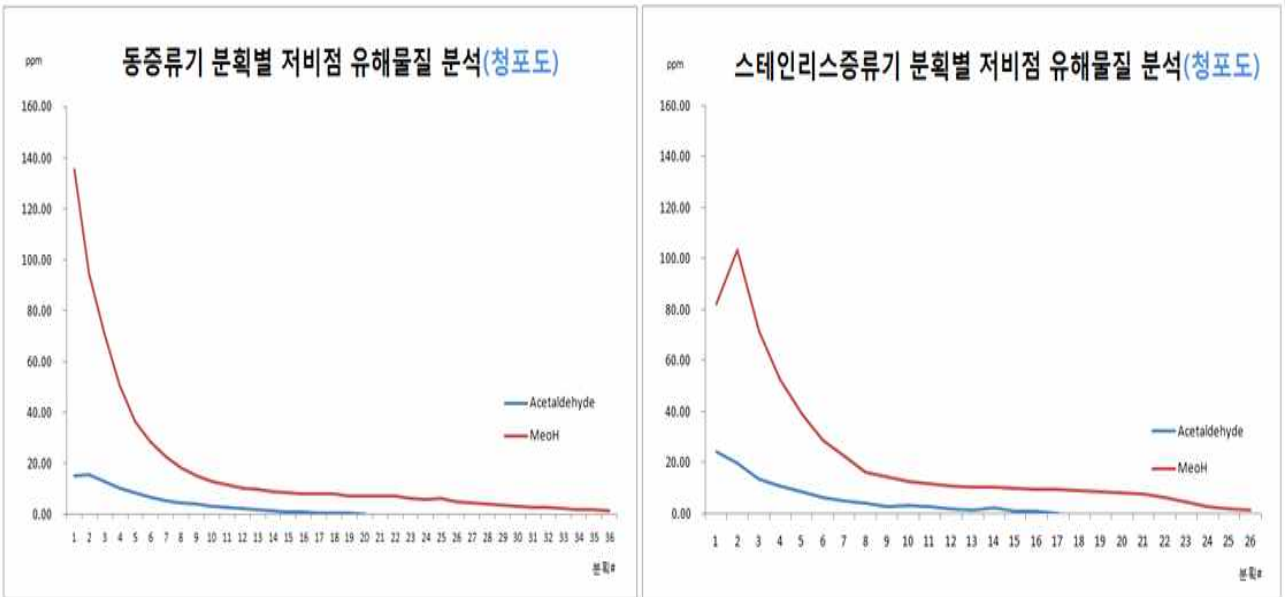
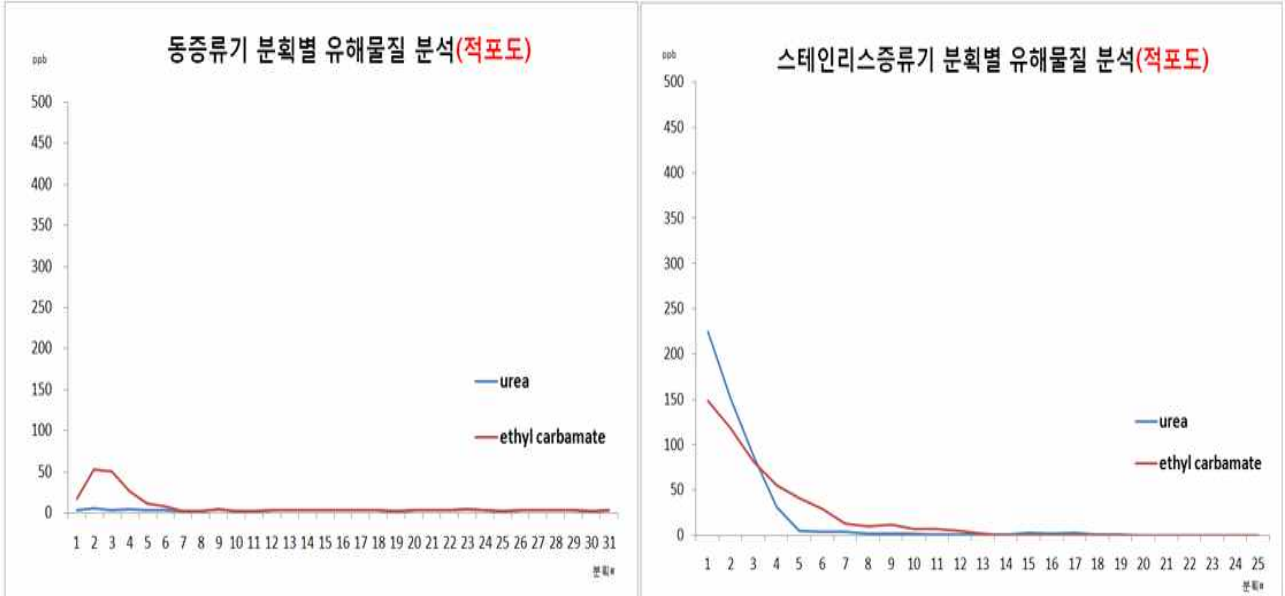
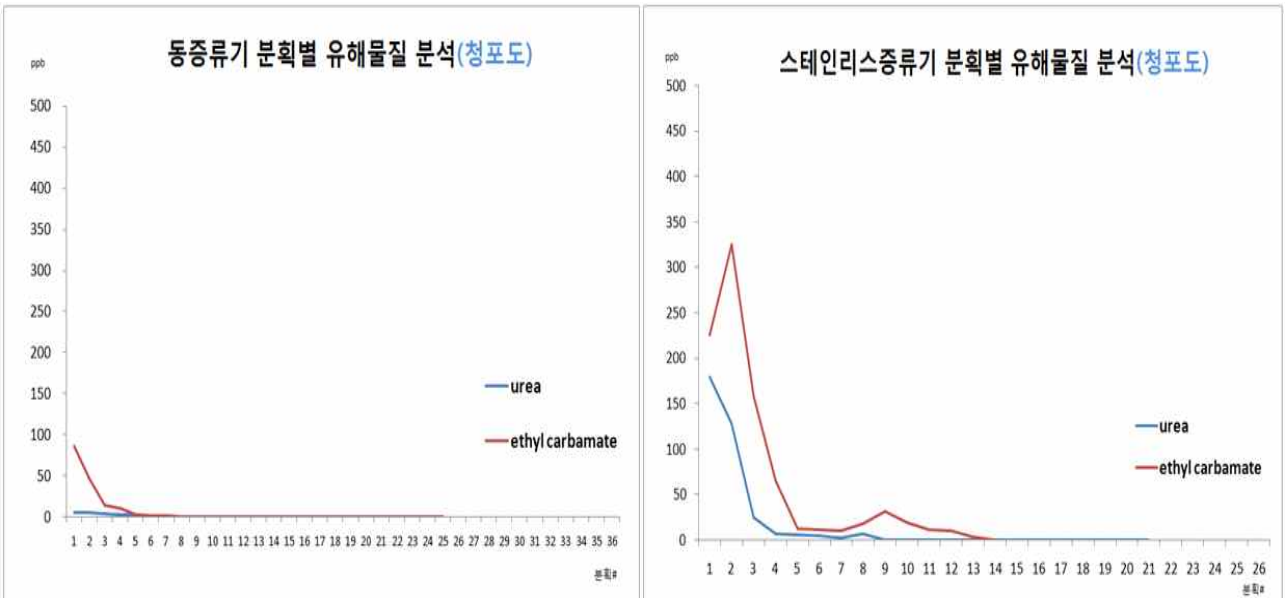


그림 2-52. 품종과 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)

<적포도(MBA) 품종>



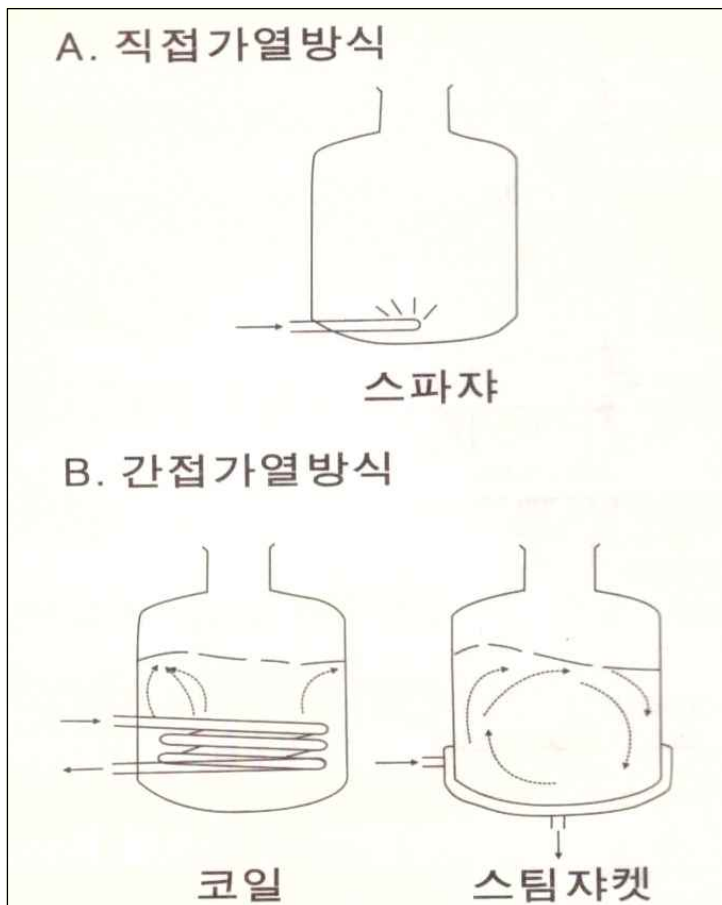
<청포도(경조정) 품종>



(3) 포도를 이용한 발효 술덧의 가열방식별 증류

증류 시 가열방식에는 크게 두 가지로 나뉘어진다. 직접가열(스팀 스파자, 직부)과 간접가열(코일, 자켓)이며, 직접가열 중 스파자를 통하여 스팀을 집어넣는 경우에는 점성이 높은 술덧에 적합한 타입으로 압력이 형성되고 증기 응축수에 의해 술덧 량이 증가하여 술덧이 넘치는 경우가 있어 농도가 짙어 가열하기 어려운 경우에만 사용한다. 직접가열의 일반적인 방식은 위스키나 브랜디를 만들 때 사용하는 직부가열방식으로 증류 술 바닥을 직접 가열하여 열을 전달시킨다. 스코틀랜드의 많은 증류소들은 초기에 이 직부가열방식을 채택하였으나 술덧이 바닥에 붙는 현상에 의해 청소와 관리가 용이하지 못하여 코일이나 자켓을 활용한 간접가열 방식으로 변경하기도 하였다. 하지만 가열방식은 각 증류소에서 추구하는 맛에 직접적으로 영향을 주므로 일부 증류소에서는 증류 술 바닥을 가열하는 직부가열방식으로 회기하기도 하였다. 따라서 본 실험에서는 직접가열 중에서는 직부가열 그리고 간접가열을 분류별로 유해물질에 대해 비교 분석하고 각 제품의 특성을 확인하고자 한다.

그림 2-53. 가열방식의 종류



<실험방법>

1차년도에 선정된 효모(Lalvin 71B)와 선정된 품종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 이용하여 발효를 시키고 제성과 압착 공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 가열방식별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 직부가열방식은 40ℓ, 간접가열은 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질의 동일한 조건 하에서 가열 방식만 변

화를 주어(직부가열방식, 간접가열방식) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧 양의 1%씩 400ml(직부가열방식)와 200ml(간접가열방식)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-54. 실험에 사용할 직부가열방식의 증류기(左)와 간접가열방식의 증류기(右)



그림 2-55. 실험에 사용할 직부가열방식의 가열부(左)와 간접가열방식의 가열부(右)



<결과 및 고찰>

가열 방식에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 직부가열방식은 총 30개 분획으로 평균 알코올 도수 45.35도(v/v%)로 측정되었으며, 단식 증류방식과 동일한 결과인 간접가열방식은 총 31개 분획으로 평균 알코올 도수 42.58도(v/v%)로 직부가열방식에 비해 다소 낮은 평균 알코올 함량이 측정되었다. 두 가지 방식의 분획별 알코올 함량 그래프는 가장 유사한 형태로 완만히 감소하고 있는데 이는 농축탑이 공탑으로 동일한 형태를 띠고 있기 때문이다. 직부가열방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획에서 66.9도로 측정되었으며 간접가열방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획에서 74.07도(v/v%)로 직부가열방식에 비해 최대 알코올 함량이 다소 높게 측정되었다. 두 가지 방식 모두 1번 분획에 비해 3번 분획에서 최대 알코올 함량이 측정되었는데 이는 세척수의 혼입에 의한 결과이다. 주정계수의 경우 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 다소 높게 산출되었으며, 따라서 간접가열방식에 비해 손실이 다소 적은 것으로 확인되었다.

청포도(경조정) 품종에서 직부가열방식은 총 30개의 분획으로 평균 알코올 도수가 46.42도(v/v%)로 측정되었으며, 간접가열방식은 총 36개의 분획으로 평균 알코올 도수가 41.49도로 직부가열방식에 비해 5도(v/v%) 가량 낮은 것으로 측정되었다. 적포도 품종과 마찬가지로 두 가지 방식은 완만한 감소 곡선을 유사하게 형성하고 있으며, 직부가열방식의 최대 알코올 함량은 4번 분획에서 66.69도로 측정되었고, 간접가열방식의 경우 1번 분획에서 75.35도(v/v%)가 측정되었다. 최대 알코올 도수는 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 높게 측정되었으나 평균 알코올 함량은 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 높게 측정되었다. 주정계수의 경우 직부가열방식에 비해 간접가열 방식이 높게 산출되었으나 적포도 품종과는 반대로써 가열 방식에 따른 차이는 연관성 없이 나타났다.

가열 방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드) 함량의 경우 적포도(MBA)품종에서 직부가열방식(아세트알데히드 총량: 6.29ppm, 메탄올 총량: 16.91ppm)이 단식증류방식과 동일한 결과인 간접가열방식(아세트알데히드 총량: 3.80ppm, 메탄올 총량:

18.71ppm)에 비해 아세트알데히드의 총량은 높게 측정되었으며 메탄올의 총량은 보다 낮게 측정되었다. 직부가열방식의 경우 아세트알데히드와 메탄올 모두 초기에 집중되어 있지만 감소하는 정도가 간접가열방식에 비해 완만히 감소하여 초기 집중도가 다소 낮은 것으로 보여진다. 직부가열방식의 아세트알데히드 최대 함량은 2번 분획에서 33.09ppm이 검출되었으며, 메탄올의 최대함량은 1번 분획에서 64.52ppm이 측정되었다. 직부가열방식의 분획별 알코올 함량 확인 시 세척수의 혼입이 예측되는 바 1번 분획이 희석이 되지 않았을 때에는 이보다 더 높은 수치의 저(低)비점 유해물질이 확인되었을 것으로 사료된다. 간접가열 방식의 아세트알데히드 최대함량은 2번 분획에서 19.65ppm으로 측정되었으며, 메탄올 최대함량은 1번 분획에서 81.32ppm으로 측정되어 8번 분획에 이르러서는 20ppm 이하로 검출되었다. 두 가지 방식에서 모두 최대 함량이 높은 것이 총 함량에서도 높은 것으로 확인되어 정도의 차이는 있지만 초기에 집중되어 있는 편이라고 할 수 있다.

청포도(경조정)품종에서 저(低)비점 유해물질의 총량은 적포도 품종과 마찬가지로 직부가열 방식(아세트알데히드 총량: 4.58ppm, 메탄올 총량: 17.09ppm)이 간접가열방식(아세트알데히드 총량: 2.76ppm, 메탄올 총량: 17.84ppm)에 비해 아세트알데히드의 총량은 높게 측정되었으며, 메탄올의 총량은 다소 적게 검출되었다. 두 가지 방식의 그래프에서 초기 집중도를 확인 할 수 있었으며, 메탄올의 경우 직부가열방식의 최대 함량은 1번 분획에서 140.09ppm으로 검출되어 7번 분획에 이르러 20ppm 이하로 측정되었고 간접가열방식의 최대 함량은 1번 분획에서 135.52ppm이 검출되어 8번 분획에 이르러 20ppm 이하로 감소하였다.

가열방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질의 함량을 품종별로 비교 시 두 가지 품종 모두 직부가열방식에서는 아세트알데히드 총 함량이 높게 검출되었으며, 간접가열방식에서 메탄올의 함량이 높게 검출되는 것을 확인 할 수 있었다. 이 외에 품종에 따른 차이는 연관성을 확인할 수 없었다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 가열방식에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-58. 품종과 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 적포도(MBA) 품종에서 직부가열방식은 요소의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 형태를 보이고 있으며, EC는 1번 분획에서 3번 분획까지는 100ppb 이상이 검출되었으며, 4번 분획에서 14번 분획까지는 50~100ppb로 측정되다가 22번 분획에 이르러 검출이 되지 않기 시작하였다. 단식증류방식과 동일한 결과인 간접가열방식의 경우 EC와 요소 모두 전 구간에서 100ppb 이하로 검출되었으며 EC는 초기 분획에 집중되어 있는 형태를 보여주고 있다. 직부가열방식에서 EC의 최대 함량은 2번 분획으로 343.75ppb가 측정되었으며, 간접가열방식의 EC 최대 함량은 3번 분획으로 47.67ppb가 검출되었다. EC와 요소 모두 직부가열방식에서 간접가열방식에 비해 높은 함량이 측정되었는데 이는 직부가열방식의 가열 온도가 간접가열방식에 비해 높기 때문으로 사료된다.

청포도(경조정) 품종에서 직부가열방식은 EC와 요소 모두 전 구간에서 100ppb 이하가 측정되었으며 EC의 경우 2번 분획에서부터 10번 분획에 이르기까지 집중도가 낮게 검출되었다. 간접가열방식의 경우 직부가열방식과 동일하게 전 구간에서 유해물질이 100ppb 이하로 검출되었으나 EC의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 형태를 나타내고 있다. 직부가열방식의 EC 최대 함량은 4번 분획에서 95.92ppb가 측정되었으며, 간접가열방식의 EC 최대 함량은 1번 분획에서 81.30ppb가 검출되었다. 전 분획의 EC와 요소의 총 함량은 직부가열방식에서 간접가열방식보다 높게 측정되었으며 이는 가열 온도의 차이에 의한 것으로 사료된다.

가열방식에 따른 분획별 유해물질의 함량을 품종별로 비교 시 두 가지 품종 모두 직부가열 방식이 간접가열방식에 비해 더 높은 유해물질이 검출되었으며, 적포도 품종에 비해 청포도 품종이 더 낮은 유해물질이 검출되는 특징을 보이고 있다. 이는 품종과 재배 시의 비료 등에 의한 1차적인 특징으로 사료되며 가열방식에 따라 유해물질의 유출의 정도를 확인할 수 있었다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 포도 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-56. 품종과 가열방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

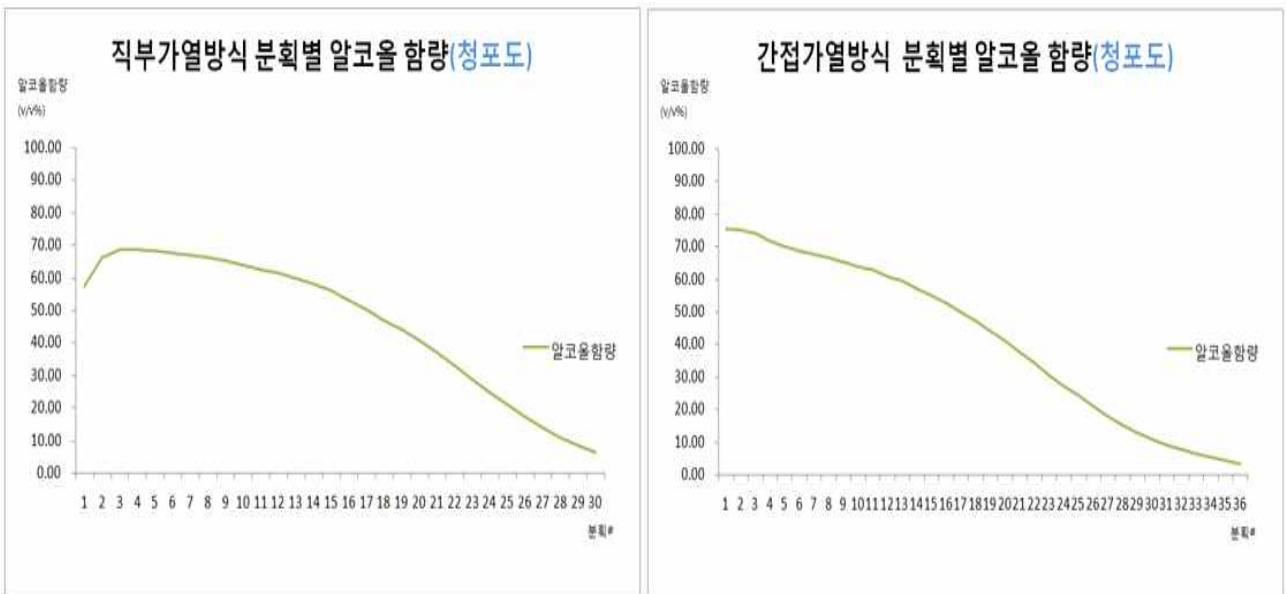
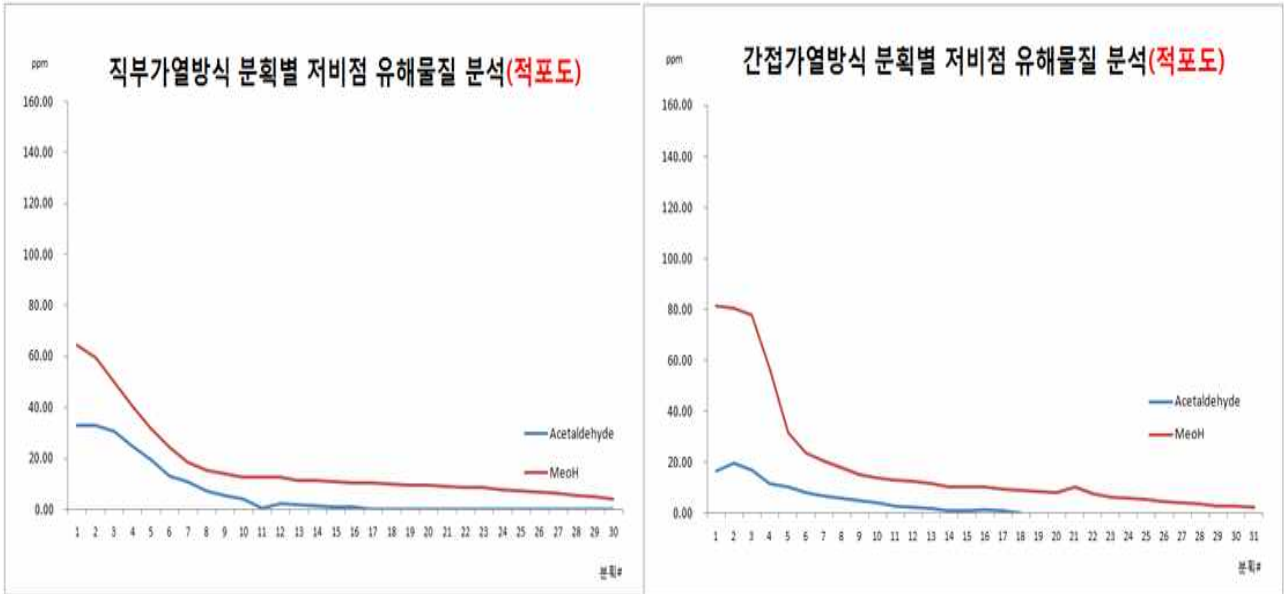


그림 2-57. 품종과 가열방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

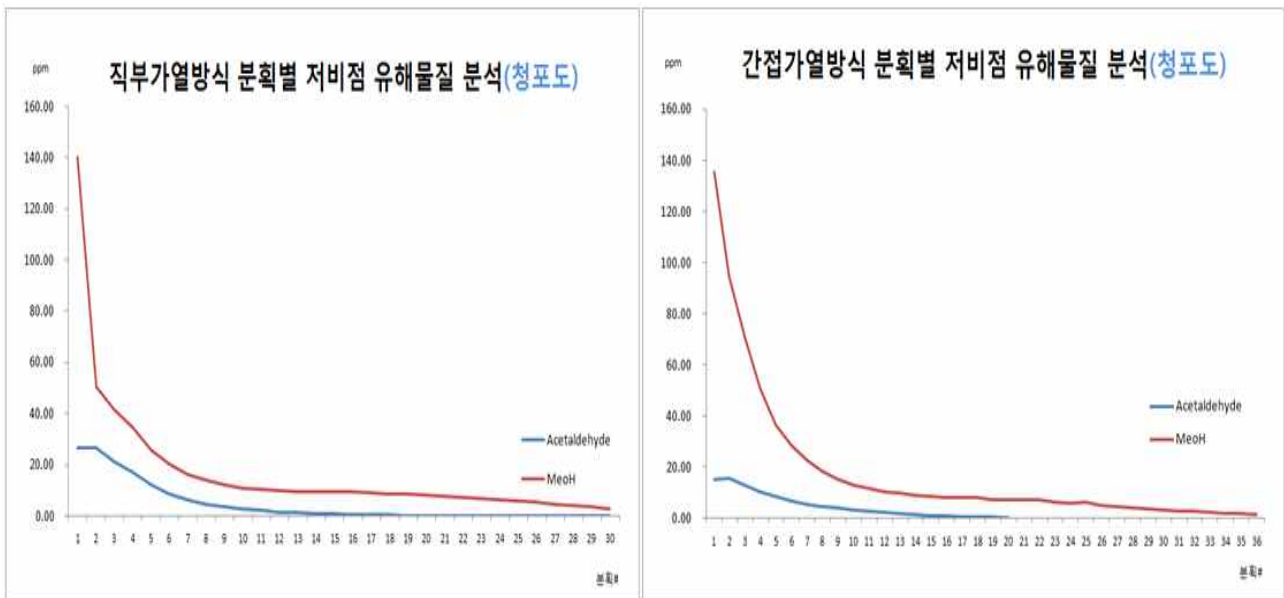
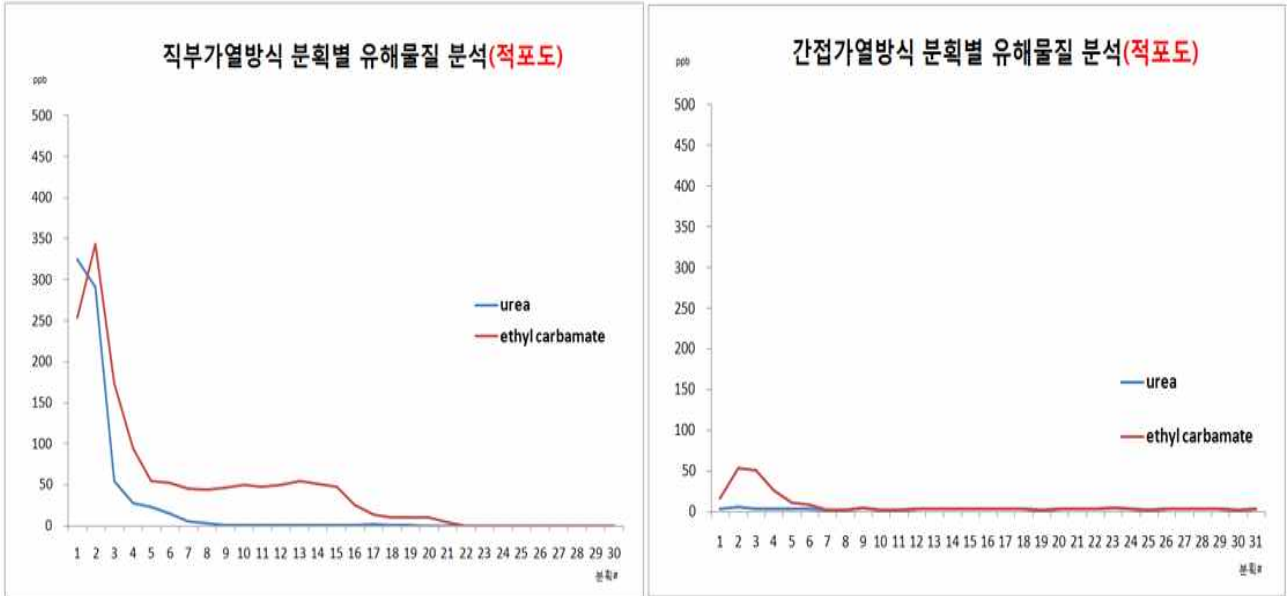
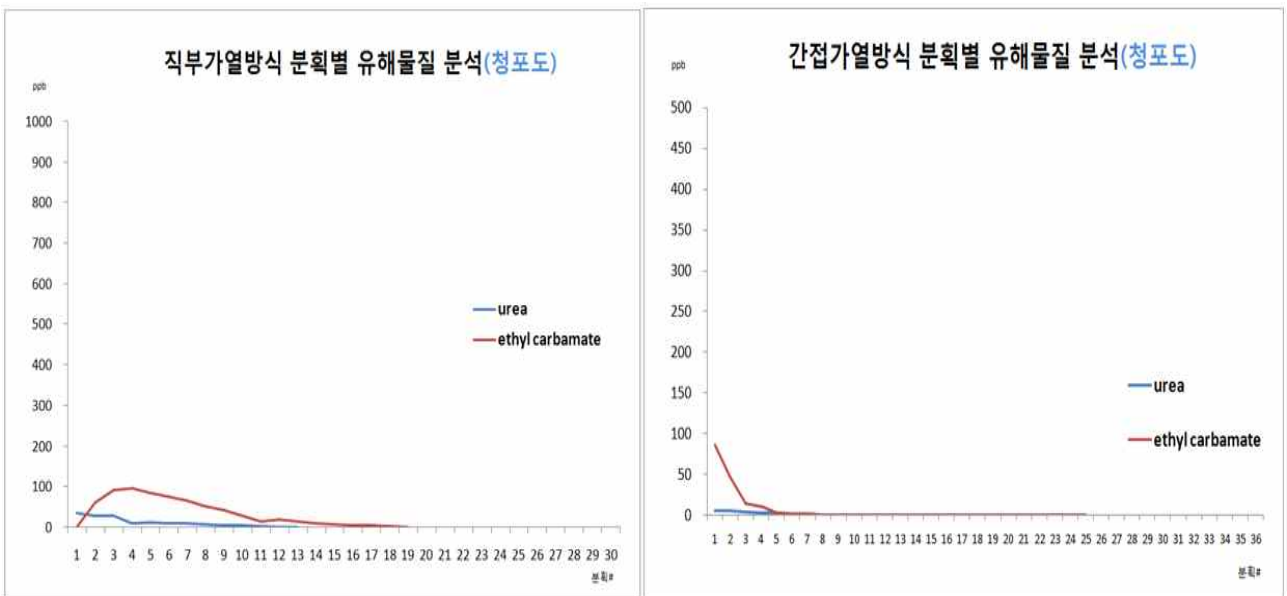


그림 2-58. 품종과 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>



(4) 포도를 이용한 발효 술덧의 구리촉매변환장치 부착여부에 따른 증류

구리는 EC를 저감시킬 수 있는 재질로 꼽히며, 구리촉매변환장치는 EC 생성 기작 중 시안화수소 산이 구리와 결합하여 증류액으로 가지 못하게 하는 장치이다.

본 실험에서는 당초 계획 외에 추가적으로 구리촉매변환장치의 사용 여부에 따른 증류분획을 실시하여 유해물질의 변화에 대해 확인하고자 한다.

그림 2-59. 에틸카바메이트 생성기작

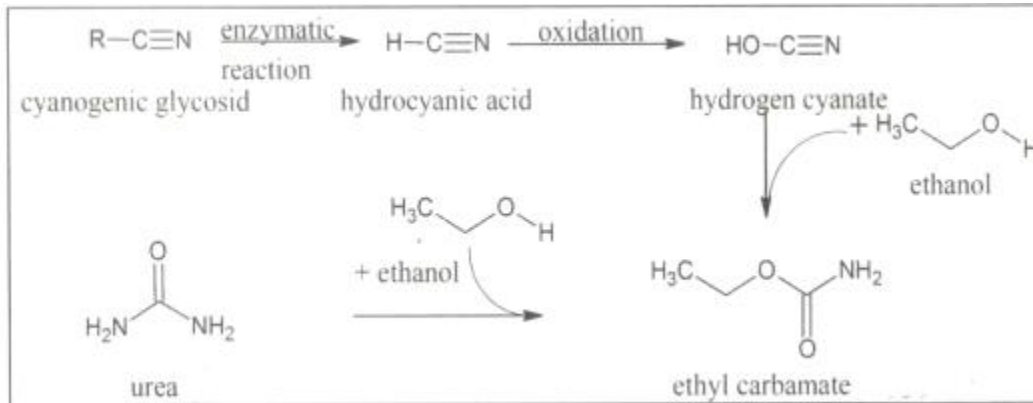


그림 2-60. 구리촉매 변환장치와 장착 모습



<실험방법>

1차년도에 선정된 효모(Lalvin 71B)와 선정된 품종(적포도:MBA, 청포도:경조정)을 이용하여 발효를 시키고 제성과 압착 공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 구리촉매변환장치 여부에 따른 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 증류기의 1/2용량이 되도록 20ℓ 씩 사용하였으며, 증류방식은 단식-연속식 복합증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질, 간접가열방식의 동일한 조건 하에서 구리촉매변환장치 사용 여부만을 변수로 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧량의

1%인 200mℓ씩 분획하였다.

본 실험에 사용할 증류기는 단식-연속식 복합 증류기로 구리촉매변환장치의 사용여부를 밸브로 조정할 수 있게 고안된 장치이다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-61. 단식-연속식 복합 증류기의 구리촉매변환장치 및 밸브



<결과 및 고찰>

구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 적포도(MBA) 품종에서 단식-연속식 복합증류방식과 동일한 결과인 구리촉매변환장치 비사용방식은 총 24개의 분획으로 평균 알코올 도수 61.16도(v/v%)가 측정되었으며, 구리촉매변환장치 사용방식은 총 23개의 분획으로 평균 알코올 도수 63.55도가 측정되었다. 평균 알코올 도수는 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 비사용 방식에 비해 약 2.4도(v/v%)가량 높게 측정되었으며

두 가지 방식의 그래프가 유사한 형태를 보이고 있으나 구리촉매변환장치 非사용방식에 비해 구리촉매변환장치 사용방식 곡선의 평형 구간이 1번 분획에서 16번 분획까지로 길게 형성하고 있다. 이는 구리촉매변환장치를 사용하면서 증류주 증기의 농축구간 압력이 변경된 것으로 보여 지며 보다 짧은 구간에서 급감하는 형태를 보여주고 있다. 구리촉매변환장치 非사용 방식의 최대 알코올 함량은 6번 분획에서 88.07도로 측정되었으며, 구리촉매변환장치 사용방식의 최대 알코올 함량은 8번 분획에서 87.04도로 측정되었다. 주정계수의 경우 큰 차이가 나지는 않지만 구리촉매변환장치 非사용 방식이 구리촉매변환장치 사용방식에 비해 높게 산출되어 보다 손실률이 적은 것으로 확인 되었다.

청포도(경조정)품종에서 구리촉매변환장치 非사용 방식은 총 24개 분획으로 평균 알코올 도수 60.98도(v/v%)로 측정되었으며, 구리촉매변환장치 사용 방식은 총 24개 분획으로 평균 알코올 도수 63.57도(v/v%)로 구리촉매변환장치 非사용 방식에 비해 약 2.6도(v/v%) 가량 높게 측정되었다. 적포도 품종과 마찬가지로 구리촉매변환장치 사용방식에서 구리촉매변환장치 非사용방식에 비해 다소 긴 고도수의 평형구간이 형성되었으며 증류주 증기의 경로 변경에 따른 압력의 변형에 의한 결과로 사료된다. 구리촉매변환장치 非사용 방식의 최대 알코올 함량은 4번 분획에서 89.21도(v/v%)로 측정되었으며 구리촉매변환장치 사용 방식의 최대 알코올 함량은 8번 분획에서 87.63도(v/v%)로 보다 낮은 함량이 측정되었다. 주정계수의 경우 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 非사용 방식에 비해 다소 높게 산출되어 보다 손실률이 적은 것으로 확인되었으나 적포도 품종과 비교 시 상이한 결과가 측정되어 일관성이 관찰되지 않았다.

구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 알코올 함량에서 품종별 비교 시 두 가지 품종에서 모두 구리촉매변환장치 非사용 방식이 평균 알코올 함량은 낮았지만 최대 알코올 도수가 높은 것으로 확인 되었으며, 구리촉매변환장치 사용방식에서 고도수 평형구간이 非사용방식에 비해 긴 것으로 확인되었다

구리촉매변환장치 사용여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량은 적포도(MBA)품종에서 구리촉매변환장치 非사용방식(아세트알데히드 총량: 4.82ppm, 메탄올 총량: 27.63ppm)이 구리촉매변환장치 사용방식(아세트알데히드 총량: 5.02ppm, 메탄올 총량: 20.79ppm)에 비해 아세트알데히드 총 함량은 다소 낮게 측정되었으며 메탄올 총 함량은 높게 검출되었다. 구리촉매변환장치 非사용방식에서 아세트알데히드 최대 함량은 1번 분획으로 18.72ppm이 검출되었으며, 메탄올의 최대 함량은 1번 분획에서 120.38ppm으로 측정되어 12번 분획에 이르러 20ppm으로 감소하였다. 구리촉매변환장치 사용방식에서 아세트알데히드 최대 함량은 1번 분획에서 21.39ppm이 검출되었으며, 메탄올의 최대함량은 1번 분획에서 128.34ppm으로 측정되어 6번 분획에 이르러 20ppm 이하로 감소하였다. 최대 함량과 총 함량의 결과로 미루어 메탄올의 경우 구리촉매변환장치 사용방식이 초기 집중도가 높은 것으로 보여 지며 초류 분리 시 구리촉매변환장치 非사용 방식에 비해 분리량이 적을 것으로 사료된다.

청포도(경조정)품종에서 저(低)비점 유해물질의 총 함량은 적포도 품종과 마찬가지로 구리촉매변환장치 非사용 방식(아세트알데히드 총량: 3.22ppm, 메탄올 총량: 23.24ppm)이 구리촉매변환장치 사용방식(아세트알데히드 총량: 4.05ppm, 메탄올 총량: 19.46ppm)에 비해 아세트알데히드 총량은 적게 검출되었으며, 메탄올의 총량은 보다 높게 검출되었다. 구리촉매변환장치 非사용 방식의 아세트알데히드 최대 함량은 1번 분획에서 14.92ppm으로 측정되었으며, 메탄올의 최대 함량은 1번 분획에서 146.69ppm으로 측정되어 8번 분획에 이르러 20ppm 이

하로 감소하였다. 구리촉매변환장치 사용방식의 아세트알데히드 최대함량은 1번 분획에서 19.12ppm으로 측정되었으며, 메탄올의 최대함량은 1번 분획에서 101.77ppm으로 측정되어 8번 분획에 이르러 20ppm 이하로 감소하였다. 두 가지 방식 모두 유사한 초기 집중도를 보여주고 있으며 최대 함량이 높은 것이 총량 또한 높은 것으로 확인되었다.

구리촉매변환장치 사용여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질의 품종별 비교 시 적포도 품종에 비해 청포도 품종에서 저(低)비점 유해물질의 총량이 낮은 것으로 확인되었으며, 메탄올의 총량은 구리촉매변환장치 비사용방식에서 구리촉매변환장치 사용방식에 비해 높게 검출되는 패턴을 확인 할 수 있었다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 구리촉매변환장치 사용 여부에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-64. 품종과 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 적포도(MBA) 품종에서 구리촉매변환장치 비사용방식은 단식-연속식 복합 증류방식과 동일한 결과로 EC와 요소 모두 100ppb 이상 분획 구간이 발생하였으며 EC의 경우 18번 분획(EC 290.27ppb)까지 증가와 감소를 반복하며 상승하다 19번 분획에서 100ppb이하로 감소하기 시작하였다. 이에 반해 구리촉매변환장치 사용방식은 전 구간에서 요소와 EC가 100ppb 이하로 검출되었으며, EC의 경우 두개의 구간에서만 검출이 되었는데 13번 분획부터 15번 분획까지 구간과 21번 분획부터 22번 분획까지 구간으로 50ppb 이하로 검출되었다. 구리촉매변환장치 비사용방식의 EC 최대함량은 18번 분획에서 290.27ppb로 측정되었으며, 구리촉매변환장치 사용방식의 EC 최대함량은 14번 분획에서 27.34ppb로 검출되었다. 구리촉매변환장치 사용방식은 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 현저히 적은 유해물질이 검출되었는데 이는 구리촉매변환장치가 구리의 표면적을 넓혀 주어 EC의 흡착을 증가시켰기 때문으로 사료된다.

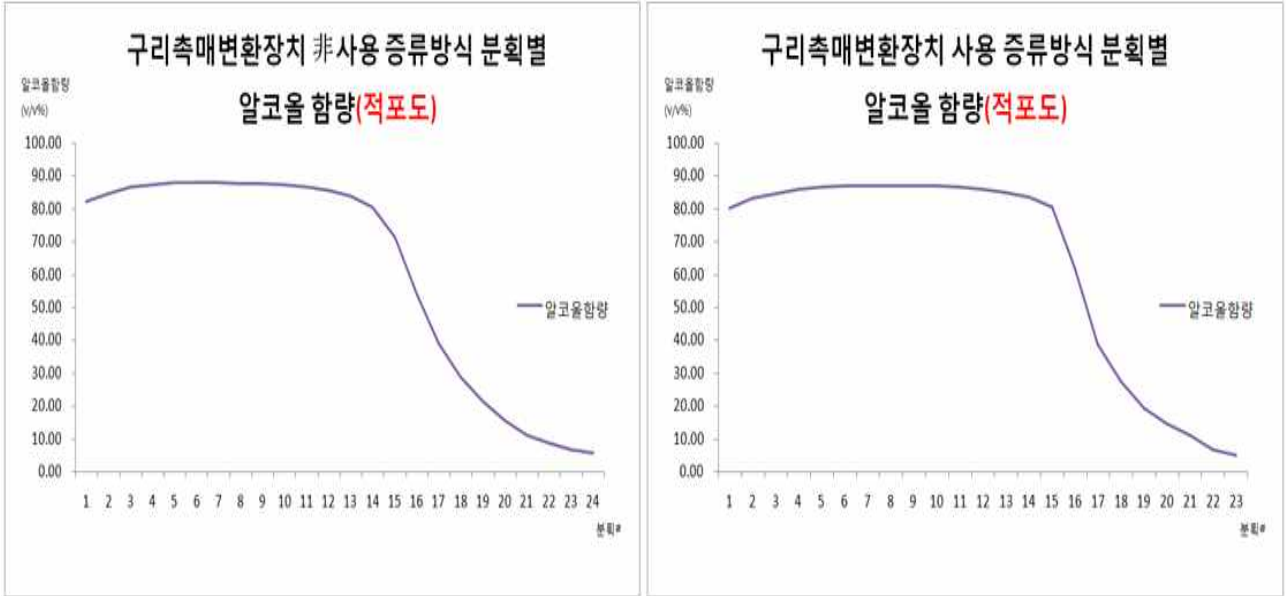
청포도(경조정) 품종에서 구리촉매변환장치 비사용방식은 요소가 전 구간 100ppb 이하로 형성되었으며, EC는 1번에서 5번 분획까지 초기에 집중되어 검출되는 형태를 보여주고 있다. 구리촉매변환장치 사용방식은 전 구간에서 EC와 요소 모두 100ppb 이하로 검출되었으며 초기 분획에서만 측정되었다. 구리촉매변환장치 비사용방식의 EC 최대 함량은 2번 분획으로 372.45ppb가 검출되었으며, 구리촉매변환장치 사용방식의 EC 최대 함량은 2번 분획에서 34.40ppb로 검출되었다. 구리촉매변환장치 사용방식은 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 유해물질이 현저히 감소된 것을 보여주고 있으며 이는 구리촉매변환장치의 EC 저감 능력을 나타내는 지표로 활용될 수 있다.

구리촉매변환장치 사용여부에 따른 분획별 유해물질의 품종별 비교 시 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 현저한 EC 저감을 보여주고 있으며 구리촉매변환장치 비사용방식에서는 적포도 품종이 청포도 품종에 비해 높은 유해물질 함량을 나타내고 있으나 구리촉매변환장치 사용방식에서는 품종에 따른 연관된 차이점을 발견 할 수 없었다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 포도 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-62. 품종과 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

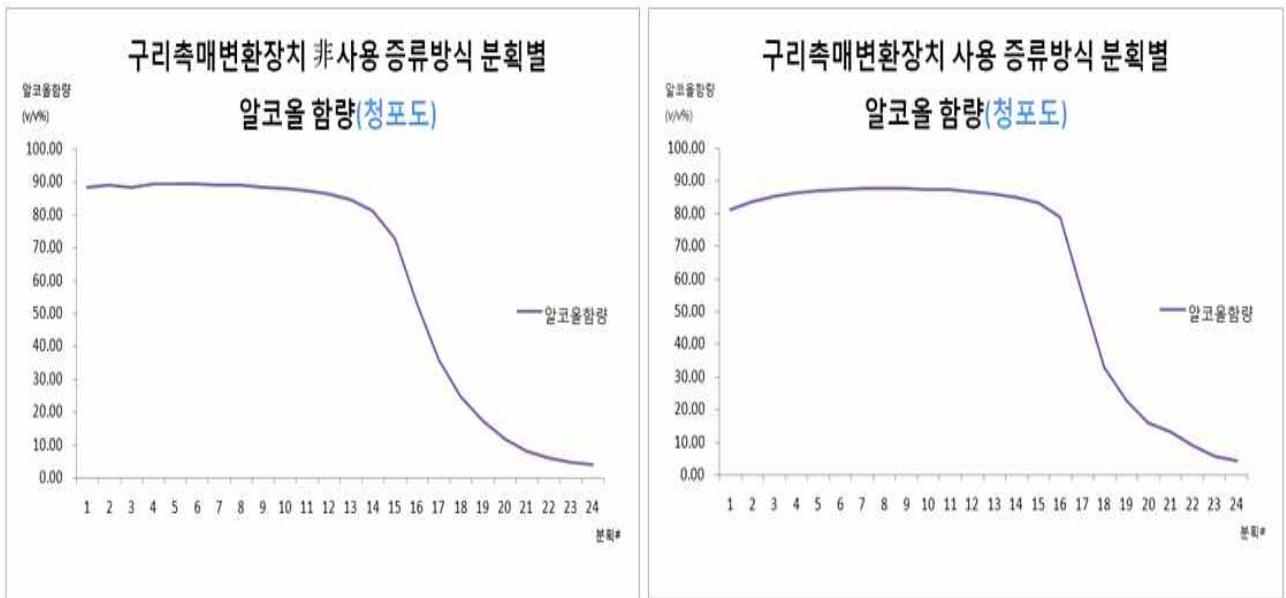
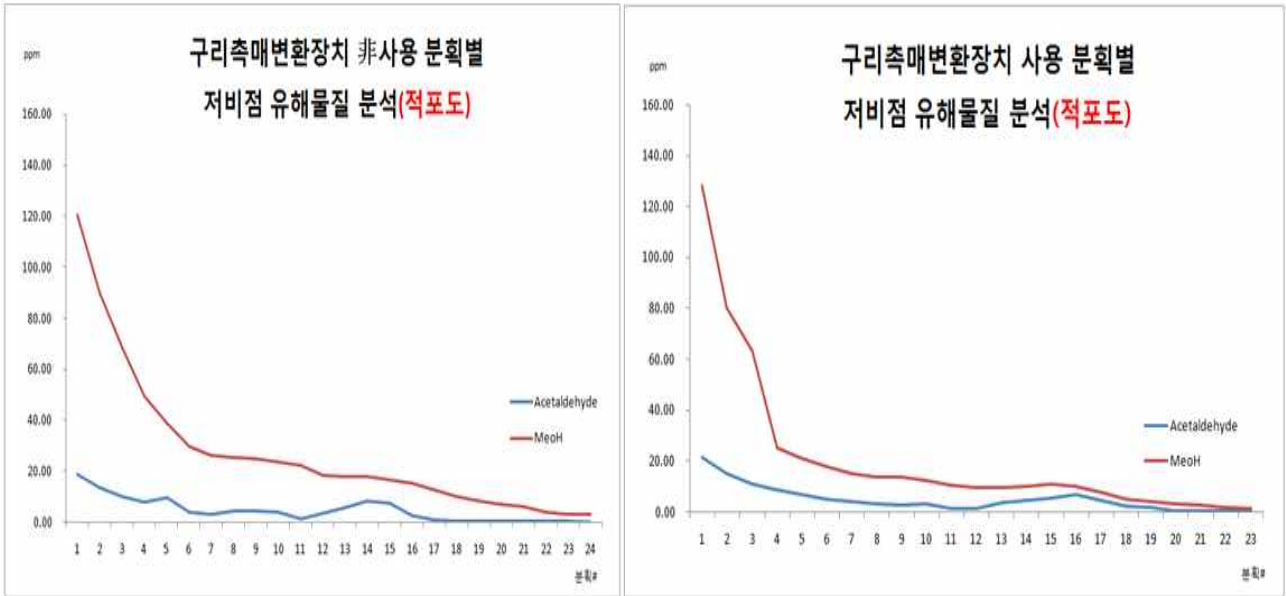


그림 2-63. 품종과 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>

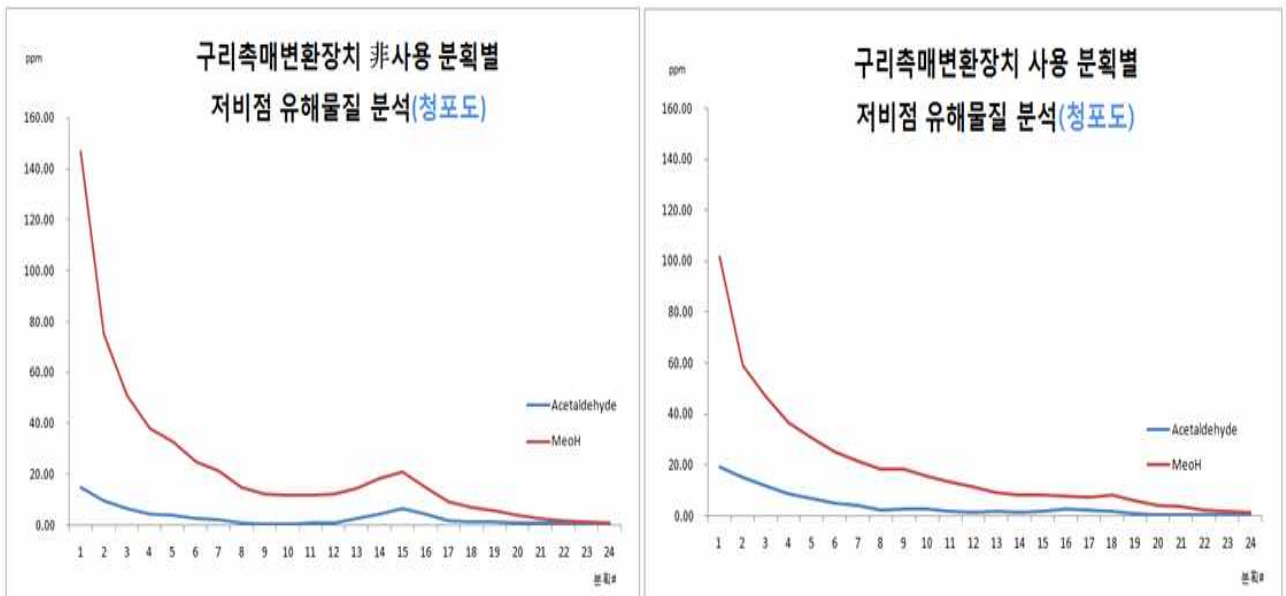
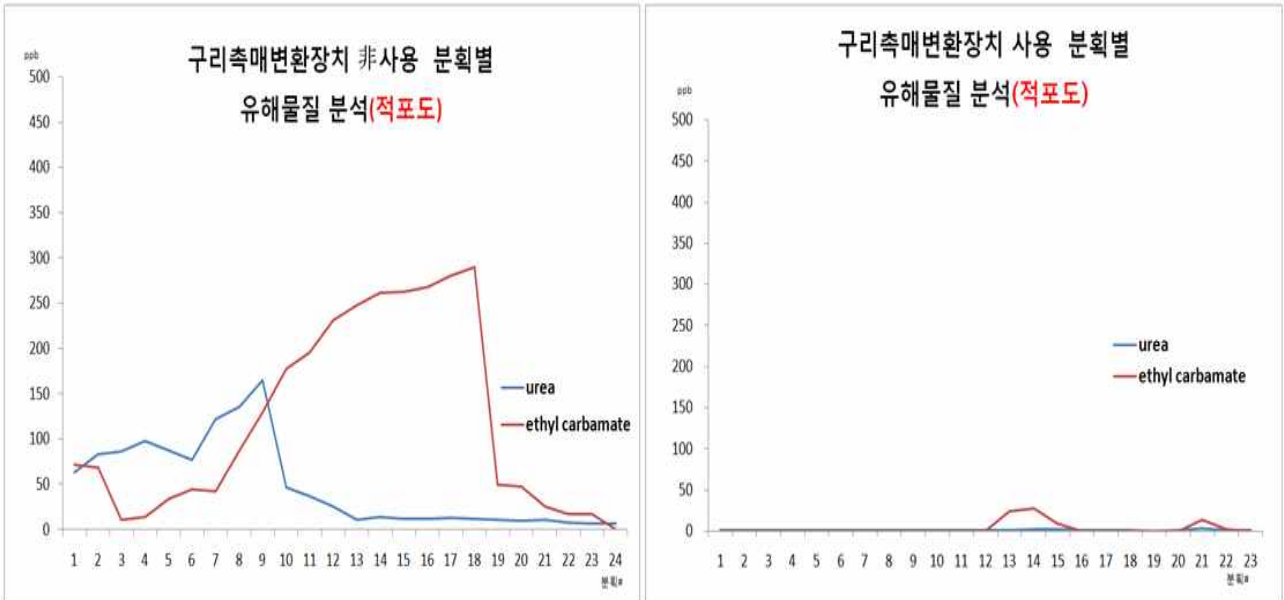
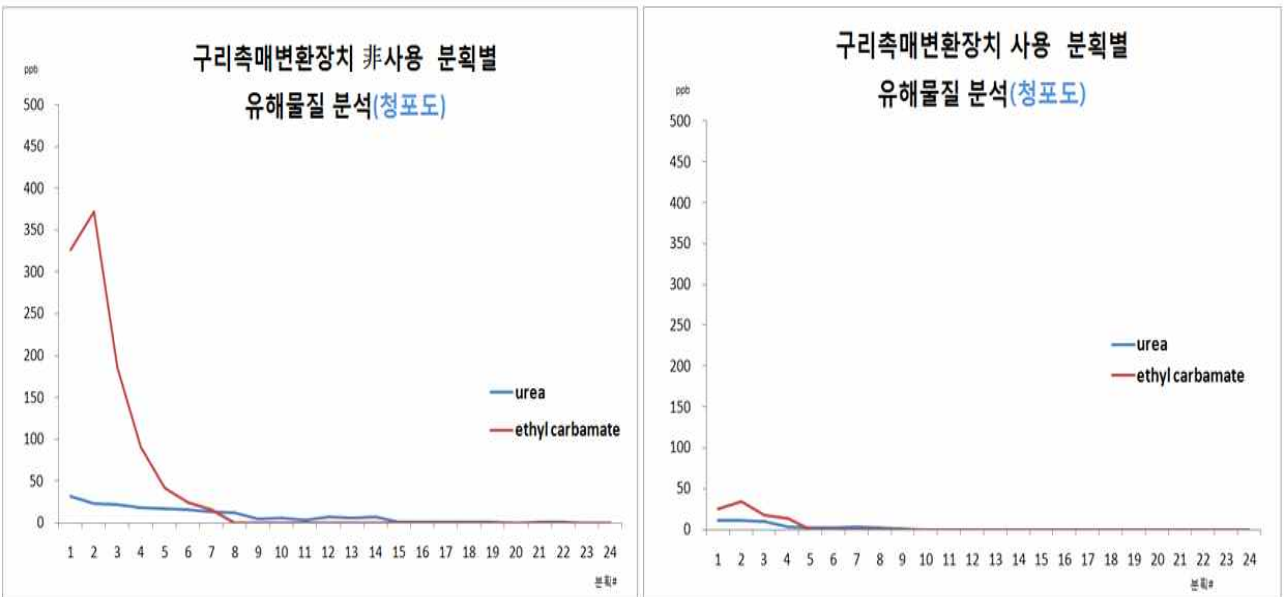


그림 2-64. 품종과 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)

<적포도(MBA) 품종>



<청포도(경조정) 품종>



라. 증류 조건 별 초류와 후류 분리 시점 파악

저(低)비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 메탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국의 검출 허가 기준은 표 2-16.과 같다.

표 2-16. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저(低)비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	- ^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits) 1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 포도증류주를 제조하고자 한다. 1차년도의 아세트알데히드의 경우 강화된 검출기준은 1/1,000인 0.7ppm이었지만 2차년도에서는 EC의 검출기준과 대비하여 700ppm에서 10ppm으로 1/70로 설정하였으며 메탄올의 경우 1차년도와 동일하게 500ppm에서 10ppm으로 1/50로 조정하였다.

표 2-17. 주류별 KFDA 검출 허가 기준 및 본 실험 초류 분리 기준

<KFDA 검출 허가 기준>

	Acetaldehyde		MeoH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	70	700	0.5	500
일반 증류주	70	700	0.5	500
브랜디	70	700	1.0	1000

<실험분획기준>

	Acetaldehyde		MeoH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식소주	1.0	10	0.01	10
일반증류주	1.0	10	0.01	10
브랜디	1.0	10	0.01	10
도입기준	국내 기준치 1/70		국내기준치 1/50	

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향 조정된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 과실의 씨에서 주로 발생하는 시안화수소산 등의 전구체를 제외하면 효모에 의해 생성된 요소가 본 실험에서 중요한 전구체가 된다. 따라서 본 실험에서는 요소와 EC를 분석하고 분획별로 각 함량을 확인하여 과일브랜디의 각 국의 최소 검출기준은

400ppb이지만 차후 증류주(최소 기준 150ppb)와 블렌딩을 진행해야 하므로 EC가 본류에서 150ppb가 되지 않는 시점을 확인하여 초류를 결정하고 후류를 끊는 시점은 각 실험군에 모두 적용할 수 있는 범위를 설정하여 동일하게 적용시켜 최종제품에서의 관능평가에 영향을 미치는 것을 최소화하였다.

표 2-18. 각 국가의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

각 증류조건 별로 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 포도증류주를 만들 시 초기 분획에서부터 메탄올과 아세트알데히드는 10ppm이하가 형성되는 시점을 초류 분리 시점으로 확인하고 EC의 함량에 대입하였을 때 EC의 함유량이 40도(v/v%)의 제품으로 만들 시 150ppb 이상이 되는 지를 확인하였다. 적포도 품종과 청포도 품종의 각 증류 조건에서 초류를 끊는 시점이 저(低)비점 유해물질과 EC의 함량을 모두 만족하였다. 이후 적포도 품종의 단식-연속식 복합 증류방식(구리촉매변환장치非사용 증류방식과 동일)의 후류 끊기를 알코올 도수 50도(v/v%)를 지나가는 시점인 18번 분획(단식-연속식 복합 증류방식)으로 맞출 시 최종 제품의 EC의 함량은 150ppb 이하로 맞출 수 있었다. 따라서 전 실험군의 후류 끊기는 알코올 도수 50도(v/v%)가 되는 시점으로 동일하게 맞추어 후류를 끊었고 그림 2-65.~2-70.에 품종과 각 증류조건에 따른 분획별 알코올 함량, 저(低)비점 유해물질, 유해물질 그래프에 초류와 후류 분리 시점을 표시하였다.

본류만의 알코올도수의 평균과 40도 제품으로 맞추었을 시 저(低)비점 유해물질, 유해물질(EC,요소)의 결과는 표 2-19. 품종과 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 본류) 및 주정계수백분율, 유해물질 함량과 같다.

적포도(MBA) 품종에서 증류방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(본류주정계수/전 분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 본류 알코올함량)를 확인할 때 단식증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 40도(v/v%) 최종 제품에 사용한 본류의 알코올 도수는 낮았지만 본류주정계수/전 분획주정계수 백분율은 높은 것으로 확인되었다. 따라서 추가적인 경제성 여부를 판단하고자 최종 제품의 량을 비교하였다. 비교 결과

단식증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 13% 이상 최종 제품의 양이 많은 것으로 확인되었으며 증류의 횟수와 관계없이 단식증류방식이 보다 더 경제적인 것으로 판단되었다. 이는 단식-연속식 복합 증류방식이 단식증류방식에 비해 저(低)비점 유해물질과 유해물질의 함유량이 높기 때문으로 사료된다. 저(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리로 인하여 큰 차이가 나지는 않지만 단식증류방식이 단식-연속식복합증류방식에 비해 아세트알데히드의 함량은 다소 높았으며, 메탄올의 함량은 다소 낮았다. 최종 제품에서의 유해물질(EC, 요소)은 모두 단식증류방식이 현저히 낮게 검출되었는데 이는 단식-연속식 복합 증류방식이 농축탑의 가열되는 정도가 단식 증류방식에 비해 높은 온도로 증류가 진행되었으며 유출되는 유해물질에 비해 구리 흡착면이 부족한 것이 사유가 될 수 있다.

적포도(MBA) 품종에서 증류기 재질에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인 할 수 있는 지표에서는 스테인리스 증류기방식이 동증류기 방식에 비해 높은 경제성을 확인할 수 있다. 동증류기방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 저(低)비점 유해물질과 유해물질의 총 함량이 적음에도 불구하고 본 건과 같은 결과가 초래된 사유는 스테인리스 증류기방식의 농축탑이 장해판 구조로 되어 있기 때문으로 사료된다. 저(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리에 의해 큰 차이가 나지는 않지만 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 다소 적은 함량이 측정되었다. EC와 요소의 경우 EC는 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 높은 함량이 측정되었으며, 요소는 동증류기방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 다소 높은 함량이 측정되어 동(銅)재질에 의한 EC의 저감을 확인할 수 있었다.

적포도(MBA) 품종에서 가열방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 두 가지 방식 모두 2차 증류까지 진행해야한다는 단점이 있으며, 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 다소 높은 경제성을 갖는 것으로 판단된다. 저(低)비점 유해물질의 경우 큰 차이가 나지는 않지만 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 메탄올의 함량은 다소 낮았으며, 아세트알데히드의 함량은 다소 높게 측정되었다. 요소와 EC의 경우 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 EC의 함량이 100배가량 높게 측정되었으며, 요소는 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 다소 낮게 측정되었다. 이는 간접가열방식에 비해 직부가열방식의 가열온도가 높기 때문에 끓는점이 높은 EC가 보다 많이 유출되었을 것으로 사료된다.

적포도(MBA) 품종에서 구리촉매변환장치의 사용 여부에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 구리촉매변환장치 사용방식이 경제성이 높은 것으로 판단되며, 이는 유해물질의 함량과 저(低)비점 유해물질의 함량이 초류와 후류 분리 시점에 영향을 미쳤기 때문이다. 저(低)비점 유해물질의 경우 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 非사용방식에 비해 낮은 함량이 측정되었으며, EC와 요소의 경우 구리촉매변환장치 사용방식이 보다 낮은 함량이 측정되었으며, 특히 EC에서 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 非사용방식에 비해 현저히 낮은 함량이 측정되었다. 이는 구리촉매변환장치를 사용함으로써 EC를 흡착하는 동(銅)재질의 흡착 면적을 확보하여 EC를 저감시킬 수 있음을 보여주는 결과이다.

청포도(경조정) 품종에서 증류방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전 분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 단식-연속식 복합증류방식이 단식증류방식에 비해 높은 경제성을 확인할 수 있었다. 이는 유해물질과 메탄올의 총 함량은 단식-연속식 복합증류방식이 높았지만 초기 분획에 유해물질의 집중도가 높아서 초류 분리량이 단식증류방식에 비해 적었기 때문으로 사료된다. 저

(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리로 인하여 큰 차이가 나지는 않지만 단식-연속식 복합 증류방식이 단식증류방식에 비해 낮은 함량이 측정되었으며, 이와는 반대로 EC와 요소는 단식-연속식 복합증류방식이 단식증류방식에 비해 높은 함량이 측정되었다.

청포도(경조정) 품종에서 증류기 재질에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 높은 경제성을 갖는 것으로 판단되었다. 저(低)비점 유해물질의 경우 큰 차이가 나지는 않지만 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 다소 낮은 함량이 측정되었으며, EC와 요소는 이와 반대로 동증류기방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 낮은 함량이 측정되었다. 이는 동(銅)재질에 의한 EC의 저감이 주요 원인으로 보여 진다.

청포도(경조정) 품종에서 가열방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표를 확인 할 때 직부가열방식이 다소 높은 경제성을 갖는 것으로 판단된다. 저(低)비점 유해물질의 경우 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 아세트알데히드의 함량은 다소 높았으며, 메탄올의 함량은 다소 낮게 측정되었다. EC와 요소의 경우 두 가지 모두 직부가열방식에서 높은 함량이 측정되었으며, 특히 EC는 간접가열방식에서 검출되지 않은 것에 반해 직부가열방식에서는 23.01ppb가 측정되었다. 이는 직부가열방식이 간접가열방식에 비해 높은 온도로 가열이 되기 때문에 끓는점이 높은 EC가 보다 많이 유출되었기 때문으로 사료된다.

청포도(경조정) 품종에서 구리촉매변환장치의 사용여부에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 비사용방식보다 경제성이 높은 것으로 판단되었다. 저(低)비점 유해물질의 경우 큰 차이는 나지 않지만 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 비사용방식에 비해 아세트알데히드의 함량은 다소 높았으며, 메탄올의 함량은 다소 낮게 측정되었다. EC와 요소의 경우 두 가지 모두 구리촉매변환장치 사용방식이 낮게 측정되었으며, 구리촉매변환장치가 EC 저감에 효과적임을 확인할 수 있었다.

표 2-19. 품종과 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수백분율, 유해물질 함량

적포도	알코올함량 (v/v%)	분류주정계수 전분획주정계수 (%)	Acetaldehyde (ppm)	MeOH (ppm)	Urea (ppb)	EC (ppb)
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	59.66	49.72%	2.53	9.76	1.98	0.32
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	73.56	40.09%	2.39	9.92	11.62	130.91
스테인리스증류기방식	66.59	58.97%	2.05	9.38	1.22	2.79
직부가열방식	58.66	47.43%	2.96	9.50	1.72	31.81
구리촉매변환장치 사용방식	80.95	83.07%	2.40	8.27	0.59	2.00

청포도	알코올함량 (v/v%)	본류주정계수 전분획주정계수 (%)	Acetaldehyde (ppm)	MeoH (ppm)	Urea (ppb)	EC (ppb)
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	60.43	56.64%	2.11	9.84	0.29	0.00
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	80.10	76.63%	1.37	9.28	3.95	6.14
스테인리스증류기방식	71.25	79.96%	1.76	9.46	0.99	6.43
직부가열방식	61.00	65.70%	2.75	9.17	3.01	23.01
구리촉매변환장치 사용방식	80.67	84.60%	1.85	8.90	0.67	0.97

그림 2-65. 적포도 품종과 증류조건별 분획의 알코올함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

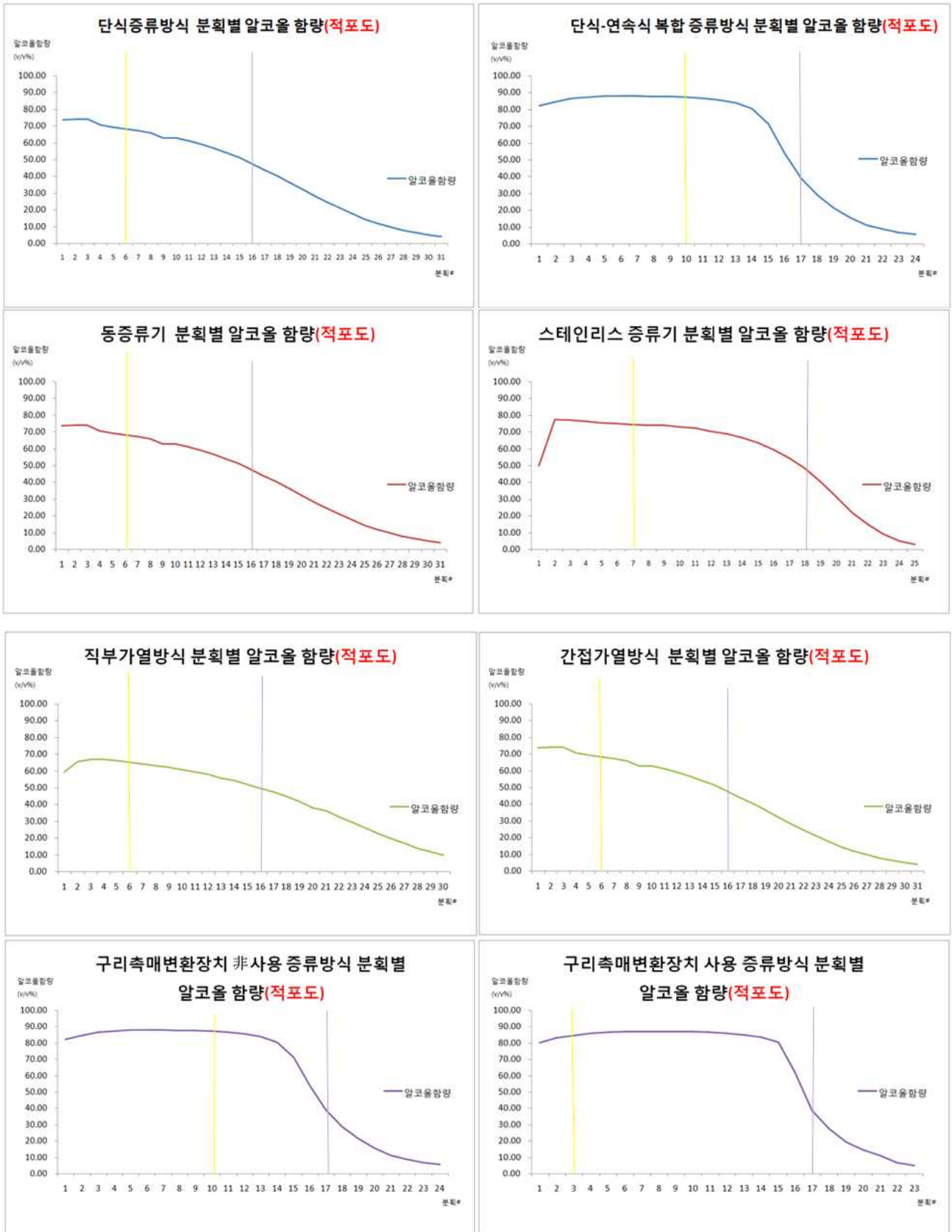


그림 2-66. 청포도 품종과 증류조건별 분획의 알코올함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

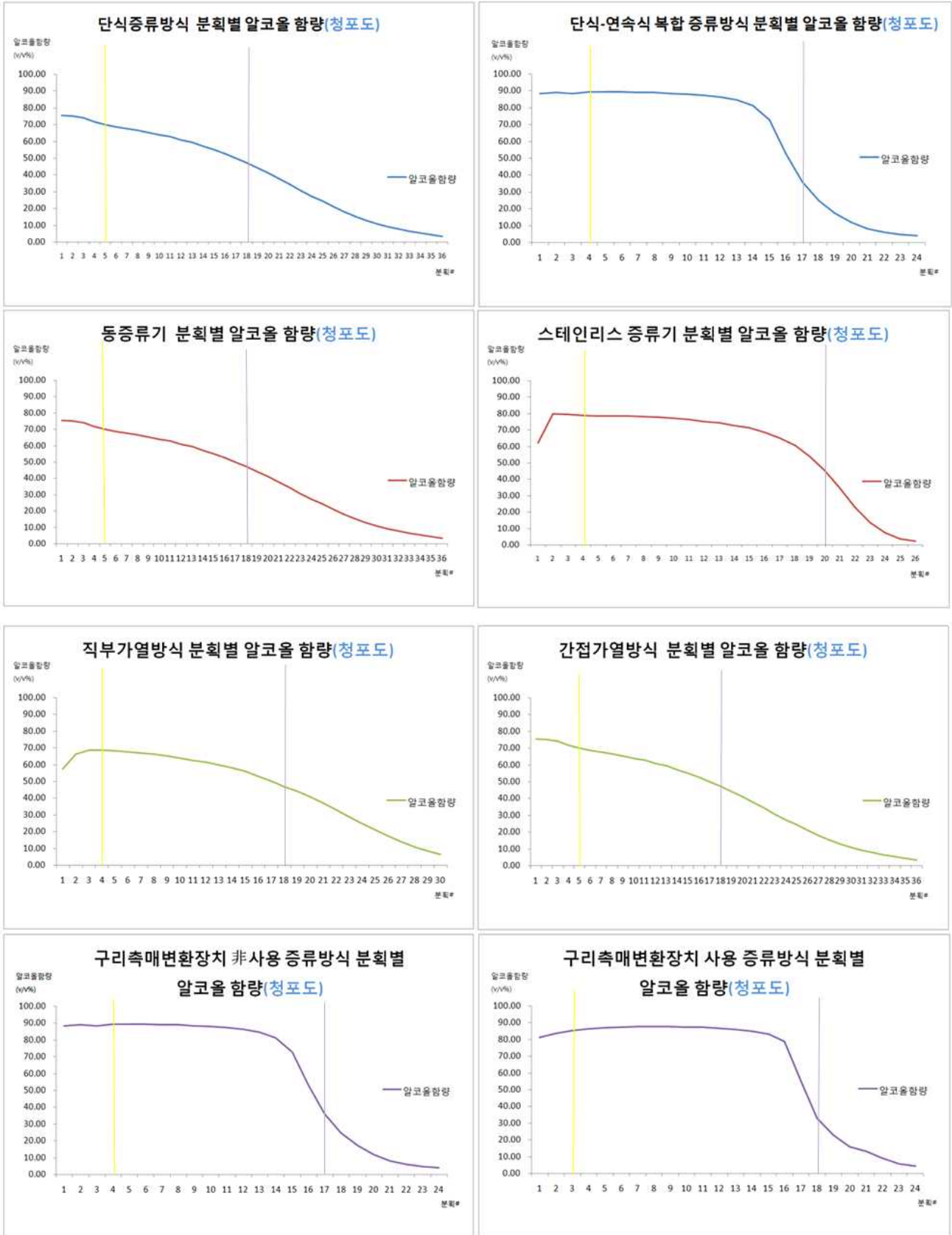


그림 2-67. 적포도 품종과 증류조건별 분획의 저(低)비점 유해물질 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

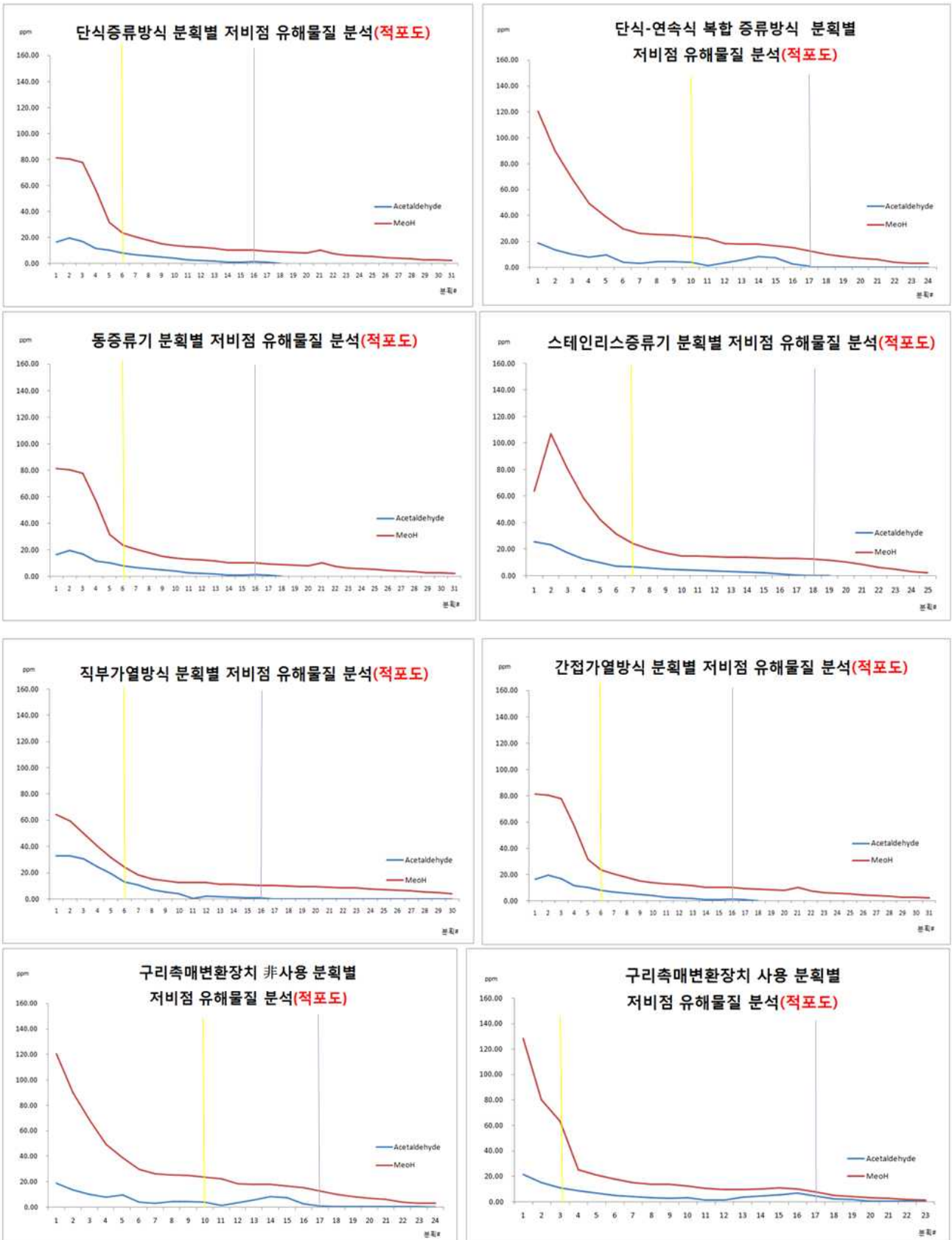


그림 2-68. 청포도 품종과 증류조건별 분획의 저(低)비점 유해물질 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

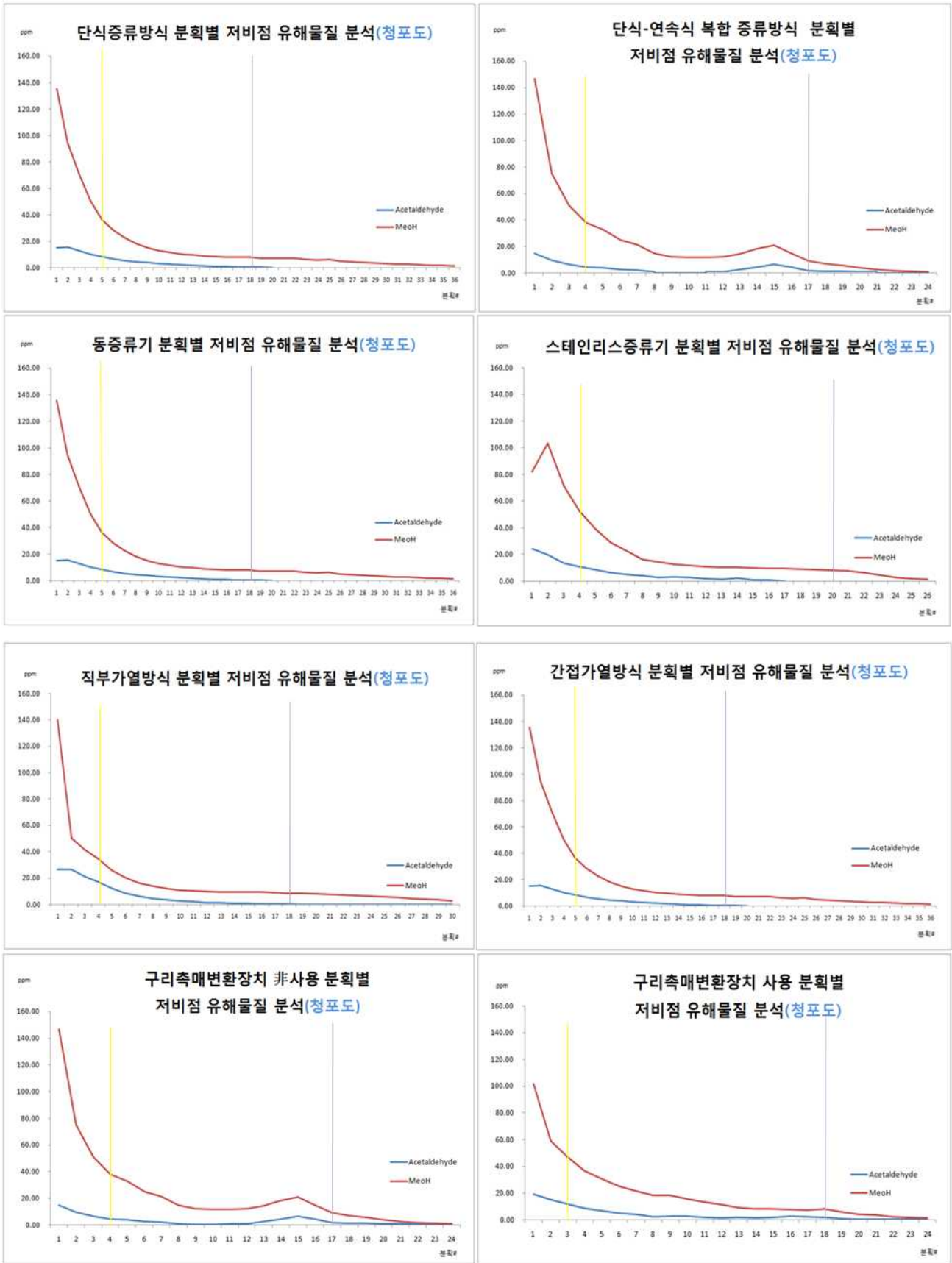


그림 2-69. 적포도 품종과 증류조건별 분획의 유해물질(EC,요소) 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기

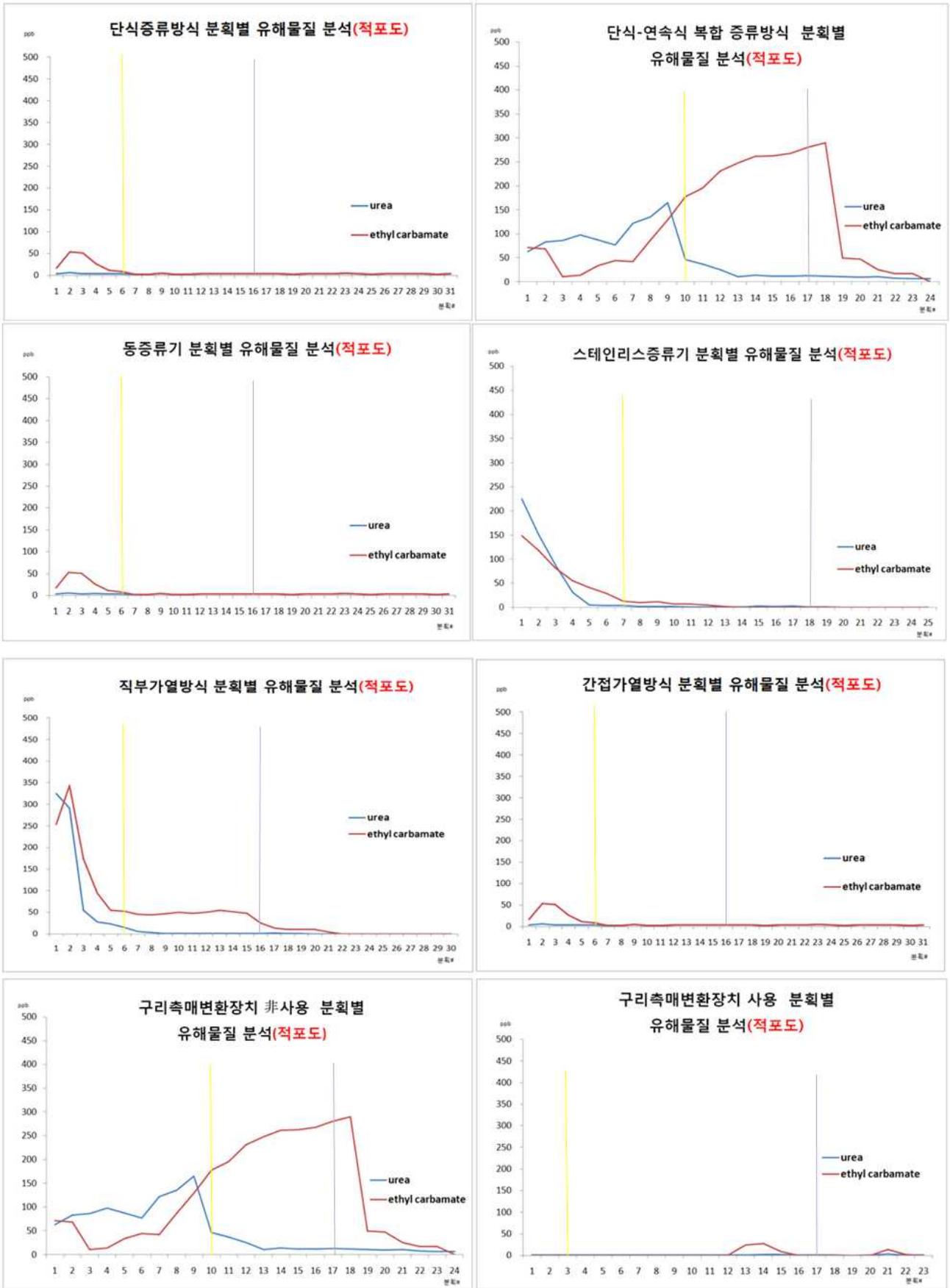
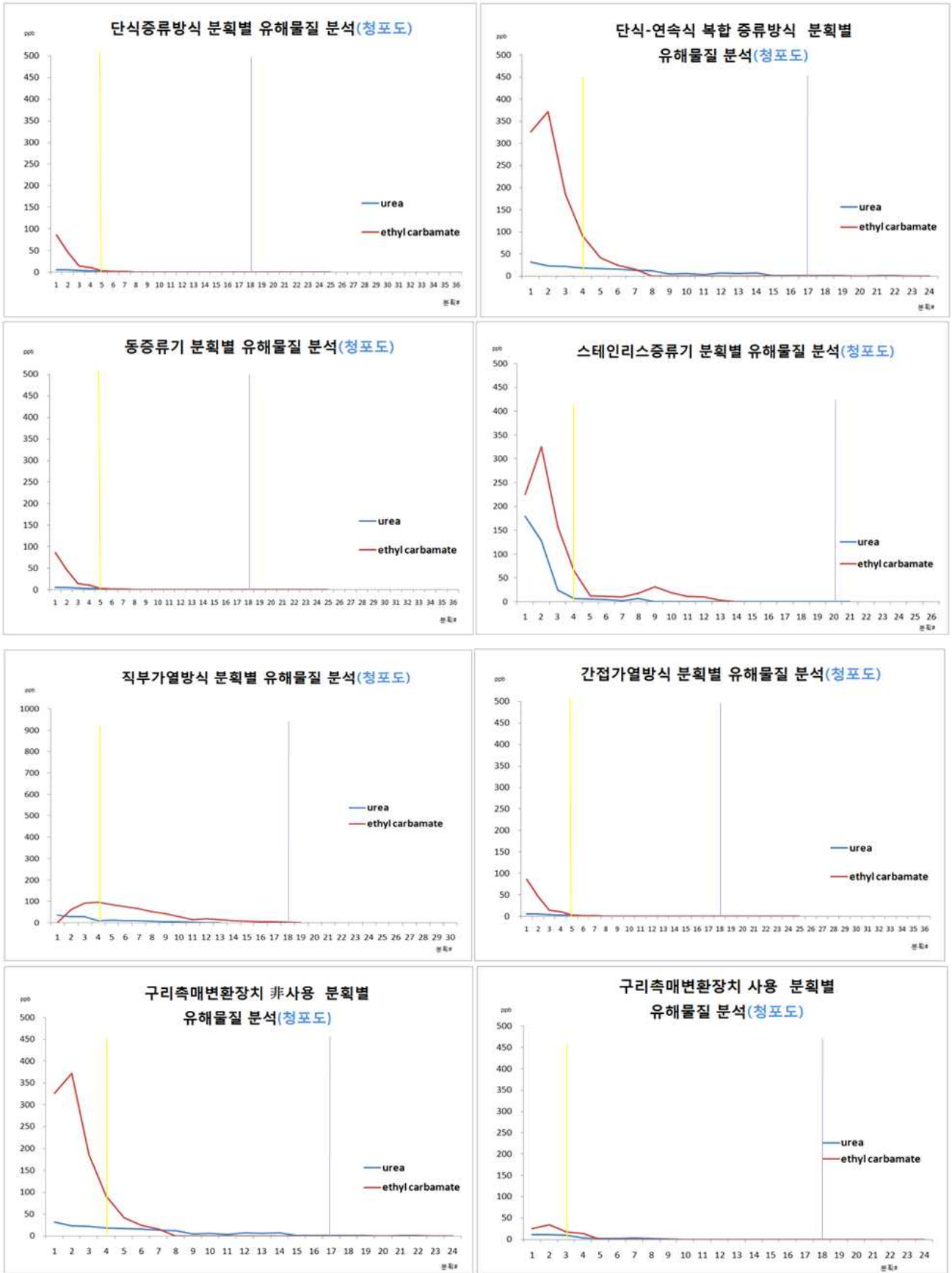


그림 2-70. 청포도 품종과 증류조건별 분획의 유해물질(EC,요소) 함량 그래프에서 초류(-)와 후류(-) 끊기



마. 증류 조건별 최종제품의 관능평가 및 향기성분, 황화합물 분석

(1). 적포도(MBA) 증류주의 관능평가

안전한 적포도 증류주 제조 기술 개발의 증류조건을 선정하고자 각 증류조건에 따른 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가를 진행하였다. 관능평가의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

5가지 증류 방식으로 증류된 적포도 증류주를 45명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 포도향 강도, 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 '-2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다'로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 '시료'와 '패널'을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

적포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 2-20과 같다. 구리촉매변환장치 사용방식이 전반기호도에서 4.80점으로 가장 높았으며, 향기호도, 향미기호도 및 목넘김 기호도에서도 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 평가되었다. 스테인리스증류기방식이 전반기호도가 4.36로 2위로 나타났으나 향(4.22점)과 향미(3.91점)은 낮은 편으로 평가되었다. 단식-연속식 복합증류방식의 전반기호도는 3.60점으로 가장 낮았으며, 다른 항목에 있어서도 단식증류방식이 가장 낮은 기호도를 가지는 것으로 분석되었다. 포도향은 전반적으로 낮은 강도를 (-0.54~-0.24) 가지는 것으로 평가되었으나, 직부가열 사용방식이 0점에 가까워 상대적으로 포도향의 강도가 상대적으로 높은 것으로 사료된다. 가장 높은 전반기호도를 가지는 구리촉매변환장치 사용방식의 알코올 향도 -0.4점으로 2번째로 강한 포도향을 가지는 것으로 평가되었다. 알코올향의 강도는 1내외로 평가되어, 패널이 적포도 증류주의 알코올향을 전반적

으로 강하다고 인지하는 것으로 나타났다. 구리촉매변환장치 사용방식이 증류 초기에 알코올 함량이 높아서 이것이 알코올 향 강도에 영향을 끼친 것이라 보여 진다.

표 2-20. 적포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도				강도	
	전반	향	향미	목넘김	포도향	알코올향
직부가열방식	3.98bc	4.69ab	4.36ab	4.16a	-0.24a	0.91b
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	4.11b	4.56ab	4.29ab	4.16a	-0.62b	0.98ab
구리촉매변환장치 사용방식	4.80a	4.91a	4.67a	4.38a	-0.40ab	1.20a
단식-연속식복합증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	3.60c	3.80c	3.62c	3.64b	-0.64b	1.02ab
스테인리스 증류기방식	4.36ab	4.22b	3.91bc	4.11a	-0.56ab	0.93ab

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 p=0.05수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 2-21). 군집1은 32명의 소비자로 이루어졌으며, 군집2는 13명의 소비자로 구성되었다. 군집1은 구리촉매변환장치 사용방식의 시료를 가장 좋아하는 경향성을 보였으며, 반대로 군집2는 직부가열방식 및 단식증류방식의 시료를 선호하는 것으로 타나났다.

표 2-21. 적포도 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	직부 가열방식	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	구리촉매변환 장치사용방식	단식-연속식복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	스테인리스 증류기방식
1	32	3.50	3.69	5.09	3.56	4.13
2	13	5.15	5.15	4.08	3.69	4.92

소비자 기호도 조사를 바탕으로 적포도 증류주의 선호성을 판단할 때, 구리촉매변환장치 방식이 전체 소비자를 대상으로 가장 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났다. 또한 군집 분석에서도 약 71%의 소비자가 있는 군집1에서 최 선호 시료로 평가되어 적포도의 증류 방식에서 구리촉매변환장치 사용방식이 가장 적합하다고 사료된다.

(2). 청포도(경조정) 증류주의 관능평가

안전한 청포도 증류주 제조 기술 개발의 증류조건을 선정하고자 각 증류조건에 따른 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가를 진행하였다. 관능평가의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식

또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

5가지 증류 방식으로 증류된 청포도 증류주를 43명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 포도향 강도, 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 '- 2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다'로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 '시료'와 '패널'을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

청포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 2-22.과 같다. 구리축매변환장치 사용방식이 전반기호도에서 4.65점으로 가장 높았으며, 향기호도, 향미기호도 및 목넘김 기호도에서도 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 평가되었다. 단식-연속식 복합증류방식이 전반기호도가 4.40로 2위로 나타났으며, 향, 향미, 목넘김 기호도에서도 2위로 나타났다. 단식증류방식의 전반기호도는 3.81점으로 가장 낮았으며, 다른 항목에 있어서도 단식증류방식이 가장 낮은 기호도를 가지는 것으로 분석되었다. 포도향은 전반적으로 낮은 강도를(-0.65~-0.23) 가지는 것으로 평가되었으며, 구리축매변환장치 사용방식이 0점에 가까워 상대적으로 포도향의 강도가 상대적으로 높은 것으로 사료되며, 단식증류방식에서 가장 약한 포도향이 느껴지는 것으로 평가되었다. 가장 높은 전반기호도를 가지는 구리축매변환장치 사용방식의 알코올향도 -0.4점으로 2번째로 강한 포도향을 가지는 것으로 평가되었다. 알코올향의 강도는 1내외로 평가되어, 패널이 청포도 증류주의 알코올향을 전반적으로 강하다고 인지하는 것으로 나타났다. 구리축매변환장치 사용방식이 증류 초기에 알코올 함량이 높아서 이것이 알코올향 강도에 영향을 끼친 것이라 보여 진다.

표 2-22. 청포도 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도			강도		
	전반	향	향미	목넘김	포도향	알코올향
직부가열방식	4.02bc	4.23cb	3.93cb	4.12ab	-0.58ab	0.93b
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	3.81c	3.81c	3.77c	3.86b	-0.65b	0.91b
구리촉매변환장치 사용방식	4.65a	4.77a	4.47a	4.37a	-0.23a	1.23a
단식-연속식복합증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	4.40ab	4.65ab	4.42a	4.21ab	-0.35ab	1.00ab
스테인리스 증류기방식	4.26abc	4.53ab	4.35ab	4.16ab	-0.56ab	0.98ab

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 p=0.05수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 2-23). 군집1은 20명의 소비자로 이루어졌으며, 군집2는 23명의 소비자로 구성되었다. 군집1은 직부가열 및 스테인리스증류방식을 사용한 시료를 가장 좋아하는 경향성을 보였으며, 반대로 군집2는 구리촉매변환장치 사용방식을 이용한 시료를 가장 좋아하는 것으로 분석되었다.

표 2-23. 청포도 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	직부 가열방식	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	구리촉매변환 장치사용방식	단식-연속식복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	스테인리스 증류기방식
1	20	5.30	3.90	4.15	4.65	4.80
2	23	2.91	3.74	5.09	4.17	3.78

소비자 기호도 조사를 바탕으로 청포도 증류주의 선호성을 판단할 때, 구리촉매변환장치 방식이 전체 소비자를 대상으로 가장 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났다. 또한 군집 분석에서도 군집 간 차이가 적으면서 상대적으로 기호성을 보여서, 구리촉매변환장치 사용방식이 청포도 증류주 생산에 가장 적합하다고 판단된다.

(3). 적포도, 청포도 증류주의 향기성분

안전한 적포도, 청포도 증류주 제조 기술 개발에서 각 증류조건에 따른 향기성분을 확인하고자 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 향기성분 분석을 진행하였다. 향기성분 분석의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 효모별 증류주 5 ml을 20 ml SPME 용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26°C에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 µm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

포도 증류주의 증류방식에 따른 향기성분 분석 결과, 포도 품종에 관계없이 에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알데하이드류인 acetaldehyde 및 acetaldehyde diethylacetal이 검출되었으며, 알코올류인 propanol, isobutanol 및 isoamylalcohol 검출되었다, 에스테르 성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 Ethyl caprate, ethyl laurate가 검출되었다. 에탄올을 포함한 알코올성 향기 성분들은의 경우 적포도가 청포도에 비해 높게 나타내었으나, 에스테르 성분들은 청포도가 적포도에 비해서 높음을 아수 있었다. 청포도의 경우 직부 방식으로 증류한 증류주의 경우 다른 방식으로 증류한 증류주에서 검출되지 않은 2-phenyl ethanol, Ethyl myristate 및 Ethyl palmitate가 미량 검출되었다.

증류기 재질을 같이하고 가열 방식에 다른 휘발성 향기 화합물을 비교한 결과 청포도 및 적포도 모두 직부 방식의 증류주의 경우 끓는점이 낮은 휘발성 에탄올의 함량 및 고급 알코올의 함량은 감소하였으나, 에스테르계열의 향기 성분은 증가하였다. 이는 직부 가열방식이 원주에 함유되어 있는 지방산들과 에탄올들과의 에스테르화 반응을 촉진시킨 결과로 생각되어진다.

증류기 재질을 달리한 결과 스테인레스 증류방식의 실험군은 향기성분은 휘발성 에탄올 및 고급알코올 함량은 감소하였으며, 과일 향 및 꿀 향기를 나타내는 지방산 에틸에스테르의 함량은 증가됨을 알 수 있었다.

증류 방식 및 촉매 사용여부에 따른 향기성분의 분석결과, 단식 및 단식-연속식 복합증류방식에 따른 향기성분의 변화는 청포도의 경우에는 단식-연속식 복합증류방식으로 증류한 경우 휘발성 알코올 함량은 증가하였으며, 적포도에서는 감소하였다. 효모의 발효에 의해서 생성된 지방산과 알코올이 증류과정 중에서 에스테르 결합을 통하여 생성되어지는 지방산 에스테르의 함량은 단식-연속식 복합증류방식으로 증류할 경우 단식 증류에 비해 크게 증가하며, 이는 단식-연속식 복합증류방식으로 증류할 경우 증류 시간이 길어짐에 따라 지방산과 알코올의 반응 시간이 길어져 에스테르의 함량이 크게 증가 한 것으로 판단되어진다. 구리촉매변환장치 사용방식의 경우 단식 증류 방식에 비해 에스테르 함량은 증가하나 촉매를 사용하지 않은 단식-연속식 복합증류방식 보다는 감소하였다. 이는 구리 촉매에 의해 지방산과 에탄올의 에스테르화 반응을 감소시킨 결과로 생각된다.

표 2-24. 포도 증류주의 증류조건별 증류주의 향기성분 분석(%)

	청포도					적포도				
	직부가열 증류방식	단식 증류방식	구리촉매변환 장치 사용 증류방식	단식-연속식 복합증류방식	스테인레스 증류방식	직부가열 증류방식	단식 증류방식	구리촉매변환 장치 사용 증류방식	단식-연속식 복합증류방식	스테인레스 증류방식
acetaldehyde	0.07	1.656	0.07	0.06				0.1	0.04	0.03
acetaldehyde diethyl acetal	1.02	0.6				0.9			0.33	
Ethanol	87.56	84.33	92.17	90.1	92.64	92.06	94.47	91.99	91.91	93.93
Propanol		0.19	0.26	0.21	0.22	0.17	0.23	0.16	0.18	0.21
isoButanol	0.29	0.33	0.35	0.36	0.34	0.35	0.142	0.31	0.26	0.41
isoamylacetate	0.14	0.08	0.09	0.22	0.16	0.23	0.13	0.89	0.21	0.06
buthanol	0.04		0.07	0.05	0.04	0.03	0.04		0.05	0.05
isoAmylcohol	2.48	2.91	4.17	3.08	2.98	2.97	3.41	2.47	3.8	3.61
Ethylcaproate	0.05	0.03	0.04	0.08	0.06	0.03	0.01	0.11	0.04	0.02
Ethyl caprylate	0.23	0.1	0.18	0.55	0.36	0.09	0.04	0.55	0.38	0.05
Ethyl carprate	0.8	0.18	0.34	1.17	0.86	0.25	0.09	1.31	1.73	0.12
Ethyl laurate	0.29	0.04	0.07	0.23	0.19	0.05	0.03	0.3	0.61	0.05
2-Phenylethanol	0.02									0.01
Ethyl myristate	0.13									
Ethyl palmitate	0.09									

(4). 품종별 증류기 재질에 따른 황화합물 비교

과실 증류주의 원료인 wine에 함유되어 있는 황화합물들은 끓는점이 낮은 휘발성이 강한 황화합물과 끓는점이 높은 휘발성 황화합물로 나누어 질 수 있다. 휘발성이 강한 황화합물인 hydrogen sulfide, ethanethiol과 methanethiol은 환원된 와인에 존재하며 인식 한계점보다 높은 농도로 존재할 때 계란 썩은 냄새, 마늘, 양파 등의 냄새로 감지된다. 이러한 황 화합물들은 끓는점이 낮아서 과실 증류주의 와인에는 상당량이 존재하나, 증류과정을 거치면서 휘발이 되어 검출한계 이하의 양을 나타내게 된다. 그러나 증류 시 가열 조건 등에 의해서 hydrogen sulfide, ethanethiol 및 methanethiol과 같은 끓는점이 낮은 황화합물들이 반응하여 disulfide 계열의 끓는점이 높은 황화합물로 변환되어질 수 있다. 또한, 문헌에 따르면 휘발성 황화합물의 경우 동(銅)재질에 의한 흡착이 가능한 것으로 나와 있으므로 본 실험에서 제조된 품종별 동(銅)증류기방식의 포도증류주와 스테인리스 증류기방식의 포도증류주를 실험군으로 휘발성 황화합물의 대표적인 7가지 항목을 분석하여 비교하고자 한다.

표 2-25. 주류의 대표적인 휘발성 황화합물 성분

	compound	structure	odour	range(ppb)
1	hydrogen sulfide	H ₂ S	rotten egg, decaying seaweed	0.9~1.5
2	diethyl disulfide	CH ₃ CH ₂ SSCH ₂ CH ₃	bad smelling, onion	3.6~4.3
3	diethyl sulfide	CH ₃ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	garlic	0.9~1.3
4	dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	sulfurous, sickly, onion	9.8~10.2
5	dimethyl sulfide	CH ₃ SCH ₃	odourless	17~25
6	ethyl mercaptan	CH ₃ CH ₂ SH	onion, rubber, fecal	1.1~1.8
7	methyl mercaptan	CH ₃ SH	putrefaction, cooked cabbage	1.5

<실험방법>

증류방법에 따른 황 화합물의 함량을 알아보고자 가스크로마토그래피(7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 flame ionization detector를 이용하여 증류주 내의 황화합물 분석을 실시하였다. 시료는 0.45 µm membrane filter와 0.22 µm membrane filter를 사용하여 여과하였다. 시료(1 µL)는 가스크로마토그래피에 주입되었으며, CP-SIL 5 CB column (fused silica, 50 m × 0.32 mm id, 5 µm film thickness; Chrompack, Sweden)이 사용되었다. Injector와 detector의 온도는 200℃이었으며, oven temperature는 45℃로 1분간 유지한 후 130℃에 도달 할 때 까지 7℃/min의 비율로 온도를 높였으며, 130℃에 도달 후 1분간 유지하였다. 운반가스로는 헬륨가스(1 mL/min)를 사용하였다.

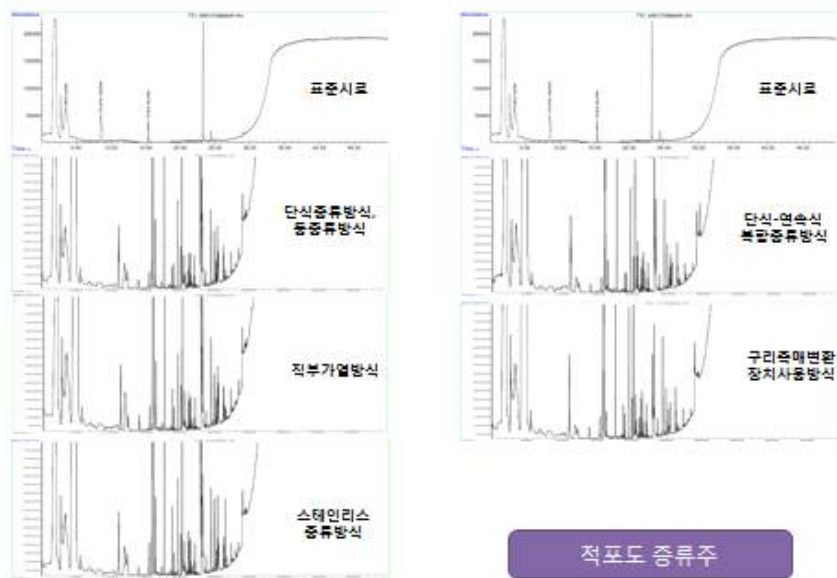
<실험 결과>

-적포도증류주

5가지 증류 방법에 대한 적포도증류주의 황화합물 분석에서 R.T. 33551, 8.560, 15.558에서

나타나는 황화합물의 피크는 기기 측정 오차 아래로 검출되었다. 따라서, 적포도 증류주의 제조에 있어서 황화합물의 함량이 문제가 되지 않는다고 판단된다.

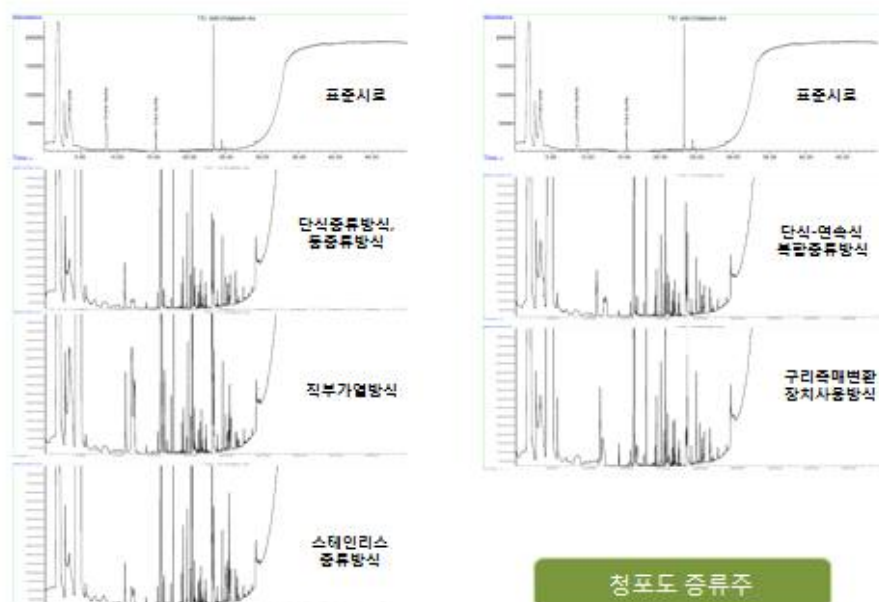
그림 2-71. 증류방식 별 황화합물 분석 결과(적포도)



- 청포도 증류주

5가지 증류 방법에 대한 청포도증류주의 황화합물 분석에서 R.T. 33551, 8.560, 15.558에서 나타나는 황화합물의 피크는 기기 측정 오차 아래로 검출되었다. 따라서, 청포도 증류주의 제조에 있어서 황화합물의 함량이 문제가 되지 않는다고 판단된다.

그림 2-72. 증류방식 별 황화합물 분석 결과(청포도)



바. 포도를 이용한 발효 술덧의 증류조건 선정

증류조건에 따른 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 포도 증류주 제조 기술 개발>에 사용할 증류 조건을 선발하고자 한다.

증류 조건 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로 한 순위, 증류주에서 분석한 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드의 순위, 증류주 제조 시 본류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위, 증류주의 관능평가 결과 순위까지 총 5가지로 선정하였다. 전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 검출량 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 1차년도의 기준치에서 상향조정되어 검출될 수 있는 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드 검출 순위가 각각 15%, 증류주에 효율 및 경제성 여부인 본류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위가 10%, 각 증류조건별 본류의 분리가 다르므로 관능평가의 차이가 발생할 것으로 여겨지므로 관능평가 순위에 10%의 가중치를 두었다.

가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 증류 조건으로 선정하였다. 실험군 별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 표 2-29와 표 2-30. 각 품종별로 구분지어 나타내었다.

적포도(MBA) 품종에서 증류방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 단식증류방식이 단식-연속식 복합증류방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 단식-연속식 복합증류방식이 유해물질을 중심으로 각 항목의 전체적인 순위가 낮기 때문이다.

적포도(MBA) 품종에서 증류기 재질에 따른 선정 평가를 볼 때, 스테인리스 증류기방식이 동증류기 방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 스테인리스 증류기방식이 동증류기방식에 비해 EC의 함량이 높음에도 불구하고 요소와 저(低)비점 유해물질의 함량이 낮기 때문이며 경제성의 지표에서도 높은 점수를 받은 것으로 보아 초기 분획에 주로 포함되어 있는 고급 알코올과 향기성분이 동증류기방식에 비해 많이 함유되어 관능평가에 영향을 미친 것이 주요 원인으로 파악된다.

적포도(MBA) 품종에서 가열방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 요소와 메탄올에 의한 평가를 제외한 모든 항목에서 높은 평가를 받았기 때문이고 특히 EC가 직부가열방식에서 간접가열방식에 비해 높은 함량이 측정되었던 것이 주요한 원인이라 할 수 있겠다.

적포도(MBA) 품종에서 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 선정 평가를 볼 때, 구리촉매변환장치 사용방식이 높은 평가를 받았는데 이는 EC의 평가를 포함하여 전 항목에서 높은 평가를 받았기 때문이며, 구리촉매변환장치를 사용함에 따라 EC가 저감화 된 것이 주요 원인으로 볼 수 있다.

청포도(경조정) 품종에서 증류방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 단식증류방식이 단식-연속식 증류방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 단식증류방식이 다른 항목에 비해 유해물질(EC, 요소) 함량이 낮게 나타났기 때문이며 이와 같은 결과는 적포도 품종에서의 증류방식에 따른 원인과 결과가 동일하기 때문이다.

청포도(경조정) 품종에서 증류기 재질에 따른 선정 평가를 볼 때, 동증류기방식이 스테인리스 증류기 방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 동증류기방식이 다른 항목에 비해 유해물질 함량이 낮게 나타났기 때문이며, 적포도 품종과의 연관성은 없게 나타났다.

청포도(경조정) 품종에서 가열 방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 간접가열방식이 직부가열방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 간접가열방식이 EC와 요소의 함량이 낮게 나타났기 때문이며 적포도 품종과 비교 시 결과는 동일하게 나타났다.

청포도(경조정) 품종에서 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 선정 평가를 볼 때, 구리촉매변환장치 사용방식이 구리촉매변환장치 非사용방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 구리촉매변환장치 사용방식이 아세트알데히드의 함량을 제외하고 모든 항목에서 높은 평가를 받았기 때문으로 적포도 품종과 마찬가지로 구리촉매변환장치를 사용하면서 EC를 저감 시킨 것이 주요 원인으로 보여 진다.

EC 검출 량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야 하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 <안전한 포도증류주 제조 기술 개발>의 선정된 증류 조건은 적포도(MBA) 품종과 청포도(경조정) 품종 모두 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”이다.

선정된 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”을 조건별로 종합하여보면 증류방식은 단식-연속식 복합 증류방식이며, 증류기의 재질은 동(銅)증류기로써 가열방식은 간접가열방식이다. 단식-연속식 복합 증류방식과 동일한 형태이나 EC를 저감시키는 구리촉매변환장치를 사용하여 EC의 저감에 효과적인 것이 선정된 주요 요인으로 보여 진다.

표 2-26. 품종과 증류조건별 알코올함량(희석 전 분류) 및 주정계수백분율의 결과와 순위
 <적포도 품종>

적포도	알코올함량 (v/v%)	순위	적포도	분류주정계수 전분획주정계수 (%)	순위
구리촉매변환장치 사용방식	80.95	1	구리촉매변환장치 사용방식	83.07%	1
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	73.56	2	스테인리스증류기방식	58.97%	2
스테인리스증류기방식	66.59	3	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	49.72%	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	59.66	4	직부가열방식	47.43%	4
직부가열방식	58.66	5	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	40.09%	5

<청포도 품종>

청포도	알코올함량 (v/v%)	순위	청포도	분류주정계수 전분획주정계수 (%)	순위
구리촉매변환장치 사용방식	80.67	1	구리촉매변환장치 사용방식	84.60%	1
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	80.10	2	스테인리스증류기방식	79.96%	2
스테인리스증류기방식	71.25	3	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	76.63%	3
직부가열방식	61.00	4	직부가열방식	65.70%	4
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	60.43	5	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	56.64%	5

표 2-27. 품종과 증류조건별 저(低)비점 유해물질의 결과와 순위

<적포도 품종>

적포도	Acetaldehyde (ppm)	순위	적포도	MeoH (ppm)	순위
스테인리스증류기방식	2.05	1	구리촉매변환장치 사용방식	8.27	1
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	2.39	2	스테인리스증류기방식	9.38	2
구리촉매변환장치 사용방식	2.40	3	직부가열방식	9.50	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	2.53	4	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	9.76	4
직부가열방식	2.96	5	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	9.92	5

<청포도 품종>

청포도	Acetaldehyde (ppm)	순위	청포도	MeoH (ppm)	순위
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	1.37	1	구리촉매변환장치 사용방식	8.90	1
스테인리스증류기방식	1.76	2	직부가열방식	9.17	2
구리촉매변환장치 사용방식	1.85	3	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	9.28	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	2.11	4	스테인리스증류기방식	9.46	4
직부가열방식	2.75	5	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	9.84	5

표 2-28. 품종과 증류조건별 유해물질(Urea, EC)의 결과와 순위

<적포도 품종>

적포도	Urea (ppb)	순위	적포도	EC (ppb)	순위
구리촉매변환장치 사용방식	0.59	1	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	0.32	1
스테인리스증류기방식	1.22	2	구리촉매변환장치 사용방식	2.00	2
직부가열방식	1.72	3	스테인리스증류기방식	2.79	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	1.98	4	직부가열방식	31.81	4
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	11.62	5	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	130.91	5

<청포도 품종>

청포도	Urea (ppb)	순위	청포도	EC (ppb)	순위
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	0.29	1	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	0.00	1
구리촉매변환장치 사용방식	0.67	2	구리촉매변환장치 사용방식	0.97	2
스테인리스증류기방식	0.99	3	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	6.14	3
직부가열방식	3.01	4	스테인리스증류기방식	6.43	4
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	3.95	5	직부가열방식	23.01	5

표 2-29 적포도(MBA) 품종을 사용한 술덧의 증류조건 선정 평가 결과

적포도	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	스테인리스증류기방식	직부가열방식	구리촉매변환장치 사용방식	가중치
EC	1	5	3	4	2	30%
Urea	4	5	2	3	1	20%
MeoH	4	5	2	3	1	15%
Acetaldehyde	4	2	1	5	3	15%
분류주정계수 전분획주정계수	3	5	2	4	1	10%
관능평가	3	5	2	4	1	10%
가중치합계	2.9	4.55	2.15	3.8	1.6	100%
종합점수	3	5	2	4	1	

표 2-30 청포도(경조정) 품종을 사용한 술덧의 증류조건 선정 평가 결과

청포도	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	스테인리스증류기방식	직부가열방식	구리촉매변환장치 사용방식	가중치
EC	1	3	4	5	2	30%
Urea	1	5	3	4	2	20%
MeoH	5	3	4	2	1	15%
Acetaldehyde	4	1	2	5	3	15%
분류주정계수 전분획주정계수	5	3	2	4	1	10%
관능평가	5	2	3	4	1	10%
가중치합계	2.85	3	3.2	4.15	1.8	100%
종합점수	2	3	4	5	1	

사. 포도를 이용한 증류주의 숙성조건 선정(3차년도 수행 예정)

<안전한 포도증류주 제조 기술 개발>에 두 가지 품종에서 선정된 증류 조건인 “구리축매변 환장치 사용방식”을 적용하여 대량 담금을 진행한 발효 술덧의 증류를 진행하고 초류와 후류를 분리한 본류만으로 식품 등의 용기·용기에 적합한 무(無)유약항아리와 오크통에 숙성을 진행시켰다. 숙성 전 샘플은 확보하였으며, 저장 유통 중의 온도와 빛의 노출에 의한 유해물질을 기간별로 확인하고 숙성 시 5개월 단위로 숙성의 정도와 유해물질 등을 확인하여 10개월 이후 각각의 숙성 제품의 블렌딩을 진행, 단기 숙성 제품의 가능성을 확인하고자 한다. 또한 2차년도까지 선정된 제조방법은 3차년도에 기술이전이나 자체 사업을 통하여 “안전한 포도증류주”를 제조하고자 한다.

그림 2-73. 무유약 항아리에 숙성을 진행한 <안전한 적포도 증류주>



그림 2-74. 무유약 항아리에 숙성을 진행한 <안전한 청포도 증류주>



그림 2-75. 오크통에 숙성을 진행한 <안전한 적포도 증류주>



그림 2-76. 오크통에 숙성을 진행한 <안전한 청포도 증류주>



3. 안전한 미숙성사과 증류주 제조기술 개발

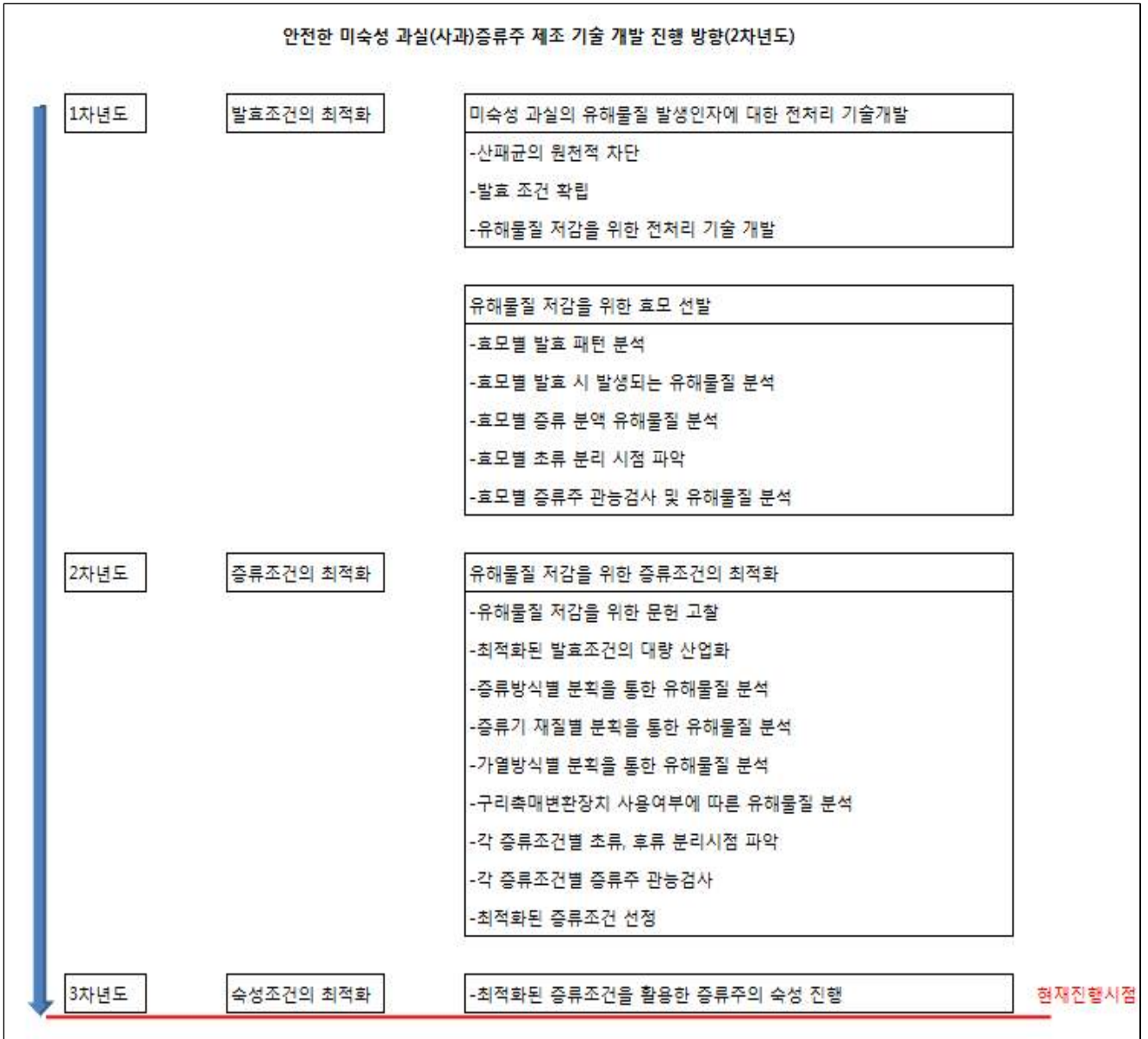
1차년도에서는 <안전한 미숙성사과 증류주 제조기술 개발>의 발효조건의 최적화를 목표로 산패균의 원천적인 차단기술을 개발하였으며, 유해물질의 분석을 통하여 발효조건과 전처리 기술을 개발하고, 미숙성사과의 정상 발효 여부를 비교하였다. 이후 유해물질 저감을 위한 효모 선발을 위하여 선정된 발효방식에 1차 선발한 효모 15종을 활용하여 발효특성을 확인하고 유해물질(EC)을 분석하였으나 발효주 상태에서는 검출되지 않았다. 효모별 유해물질의 발생정도를 확인하여 최종 효모 선발을 진행하고자 발효가 종료된 효모별 술덧을 활용하여 증류를 진행하였다. 증류 시 효모별 발효 술덧의 1% 량을 1분획으로 정하여 증류가 종료될 때까지 각 분획을 채취하여 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)을 측정하고 저(低)비점 유해물질의 국내 기준 보다 강화된 기준으로 초류를 분리하여 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 제품을 시료로 제작하였다. 제작된 효모별 시료의 에틸카바메이트(EC)와 EC의 전구체인 요소를 분석하여 유해물질과 경제성, 저(低)비점 유해물질 등의 평가 기준을 마련하여 최종 효모(최종 선정 효모 :BDX)를 선정하였다.

2차년도에서는 1차년도에서 선정한 최적화된 발효조건을 바탕으로 증류조건의 최적화를 이루고자 한다.

연구개발 목표

- 한국형 브랜드/ 일반증류주의 개발을 위해 미숙성 과실(사과)을 이용한 증류조건 확립
- 최적화된 발효조건의 대량 산업화
- 유해물질 저감 매뉴얼의 고찰
- 유해물질 저감을 위한 증류조건의 최적화

-연구개발 진행도



가. 미숙성 과실(사과)을 이용한 증류주의 유해물질 저감을 위한 문헌 고찰

(1) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)

2011년 4월 식품의약품안전처에서는 우리나라 주류 산업계에 적용할 수 있도록 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”을 발간하였다. 본 책자 내용 중 포도주는 캘리포니아 양조협회와 미국 FDA에서 작성한 「Ethyl Carbamate Preventative Action Manual」과 CODEX 오염물질분과위원회에서 준비 중인 「핵과류를 원료로 한 증류주 중 에틸카바메이트 오염 예방 및 저감화에 대한 실행규범」 및 우리나라에서 저감화를 위해 작성한 연구보고서 등 관련자료를 우리나라 주류제조 실정에 맞게 재구성한 것이다.

과실 증류주의 저감화 매뉴얼 중 원료 및 발효의 관리, 증류장치 관리 및 증류관리에 관한 내용을 발췌하여 요약하면 다음과 같다.

<원료 및 발효 관리>

- 핵과일은 손상이 없는 것을 사용하고 씨를 제거하면 EC 생성을 줄일 수 있다.
- 핵과일은 물리적으로 손상을 받지 아니하고, 미생물학적으로 손상이 되지 아니한 고품질의 것을 사용해야 한다.
- 과일의 씨가 제거되지 않은 경우에는 과일의 잔류물을 매싱할 때 씨가 으깨지지 않도록 부드럽게 짓이겨야 한다.

<증류장치관리>

- 시안화수소산이 증류액으로 전이 되지 않도록 증류장치 및 증류 공정을 관리하여야 한다.
- 구리증류기의 사용은 EC 전구체가 증류액으로 이행하는 것을 방지한다.
- 증류장치는 자동 세척장치와 구리축매변환장치를 갖추어야 한다.
- 불연속 증류 시 자동 행균 장치는 필수 사항은 아니지만 증류장치는 체계적으로 세척해야 한다.
- 증류장치 중 최종 냉각기는 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것이 바람직하다.

<증류관리>

- 스팀을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다.
- 가열시간이 길어질수록 EC의 생성량이 증가하므로 증류시간을 단축하여 가열시간을 최소화한다.
- 감압증류가 EC의 저감화에 바람직하다.
- 증류 시 처음 나오는 초류는 조심스럽게 분리하여 제거한다.
- 증류(heart, 본류)는 수집 시 어두운 곳에 보관하여야 한다.
- 증류는 알코올도수가 50도(v/v%)에 도달할 때 까지 수집하고 그 후에 증류되는 후류는 따로 수집하여야 한다.
- 증류 시 EC의 함량은 초류<증류<후류 순이다.
- 후류 부분은 별도로 모아서 재증류하기도 하지만 되도록 폐기하는 것이 바람직하다.

(2) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)에 대한 고찰

<원료 및 발효 관리>

핵과류 씨의 구성성분인 시안배당체에 의해 EC가 생성되므로 되도록 씨를 제거하는 것이 좋으며 만에 하나 들어갈 수 있는 씨를 제거하기 위해 발효 종료 후 증류되기 전에 제성 혹은 압착의 공정을 거쳐 껍질이나 씨 등을 제거하여 증류하는 것을 권장하는 것으로 보여 진다. 본 실험에서는 사과와 씨를 전부 제거하여 실험을 진행하고 발효 종료 후에는 제성을 통하여 혹시 들어갈 수 있는 씨나 꼭지 및 비가식 부위를 제거하여 증류하고자 한다.

<증류장치관리>

구리재질의 증류기는 그 재질에 의해 EC와 EC의 전구체를 흡착하는 역할을 하며 흡착된 EC와 EC 전구체는 자동 세척 장치를 통하여 지속적으로 세척을 해주어 다음 증류 시 흡착할 수 있는 구리 접촉면을 확보해야한다. 최종 냉각기로 스테인리스 스틸 냉각기를 사용하는 것은 구리로 되어있는 냉각기의 경우 흡착되었던 EC와 EC 전구체가 최종 증류주로 유입될 수 있으므로 냉각기의 재질을 스테인리스로 사용하길 권장하는 것으로 보여 진다.

<증류관리>

스팀을 이용하여 술덧을 천천히 가열하여야 한다는 항목과 가열시간을 최소화해야한다는 항목은 상충되는 항목으로 다른 항목을 점검 시켜볼 때 직접가열(직부 혹은 술덧 직접가열)을 피하고 후류로 진행 될수록 EC의 함량이 증가되므로 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다고 사료된다. 감압증류가 저온, 단시간 가열이 가능하므로 EC 저감화에 적합하다고 되어 있지만 구리는 재질이 연하여 균열이 발생되기 쉬우므로 감압증류기를 제조하기에 적합하지 않다. 따라서 <증류장치관리>에 따르면 구리재질이 EC 저감에 적합하다고 되어 있는 항목과 상충된 내용으로 보여 진다. 또한 알코올도수 50도(v/v%) 이하는 후류로 모아야 한다는 항목은 일반적인 단식증류기로는 1차 증류로는 전체 증류주 량의 약 10~15% 가량만이 본류로 사용가능하므로 2차 증류까지 진행해야만 약 40%가량을 본류로 사용가능할 수 있으며, 연속식 타입의 증류탑이 있는 증류기로는 1차 증류만으로 전체 증류주 량의 40~80% 가량을 본류로 사용할 수 있으므로 이 또한 비교해야할 대상으로 여겨진다.

<안전한 미숙성 사과 증류주 제조기술 개발>에서는 첫 번째, 증류방식에 따라 단식증류와 단식-연속식 복합형 증류방식으로 나뉘며, 두 가지 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

두 번째, 증류기 재질에 따라 동(銅)재질의 증류기와 스테인리스 재질의 증류기를 사용하여 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석 그리고 이취를 발생시키는 황화합물 분석을 진행하고자 한다.

세 번째, 증류 가열방식에 따라 간접가열과 직부가열 방식의 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

마지막으로 구리촉매변환장치의 유무에 따른 분획별 유해물질을 분석하고 그에 따라 초류와 후류를 분리하여 본류를 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가 및 향기분석을 진행하고자 한다.

나. 1차년도 선정된 효모를 활용한 발효의 대량화

1차년도에 선정된 효모(BDX)를 활용하여 2차년도 증류방식의 최적화를 선정하고자 대량 발효를 진행하여 소량 발효 시와 비교 및 이상 유무를 판단하고자 본 실험을 진행하였다.

<실험방법>

농가 한 곳에서 미숙성과(품종:부사)를 구입하여 2회 세척 후 체에서 1시간 물기를 제거하였다. 씨와 꼭지 및 비가식 부위를 제거하고 작은 큐빅 형태로 1차 분쇄를 실시한다. 초파기를 이용해 잘게 으깨고 미생물 오염 방지를 위해 $K_2S_2O_5$ 100ppm 첨가한 다음 5시간 방치하고 충분히 환기시킨 후 1차년도에 선정된 효모인 BDX를 첨가하고 분쇄 액의 당도를 측정하여 설탕으로 24°Brix를 맞추어 20°C 스테인리스 발효 탱크에서 발효를 시작하였다. 1일 2회 교반작업을 진행하며 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 발효경과에 따른 이화학적 분석은 국제청 면허지원센터 주류 분석 규정에 근거하여 일반적으로 분석하는 pH, 산도, 알코올, Brix당도, 비중 등을 측정하여 3반복 분석하였으며, 평균 값 및 표준편차를 확인하였다.

표 2-31. 미숙성사과의 담금 규모에 따른 담금 방법

	소량담금		대량담금
미숙성사과(kg)	10.0 (12.6°Brix)	미숙성사과(kg)	640.0 (12.0°Brix)
효모(g)	20.0	효모(g)	1,280.0
$K_2S_2O_5$ (g)	1.0	$K_2S_2O_5$ (g)	64.0
설탕(g)	1,500.0 (24°Brix보정)	설탕(kg)	101.0 (24°Brix보정)

온도와 비중계 : 온도와 비중계(이하 대광 기계제작소, 한국)를 측정

산도 : 알칼리 적정법

Brix 당도 : 당도계(ATACO, 일본)로 측정

알코올 : 증류법으로 주정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)

Density Meter(Anton paar DMA4100M, 오스트리아) 이용하여 측정

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 미국)로 측정



<결과 및 고찰>

1차년도 BDX 실험군의 발효경과와 약 60배가량 대량 담금을 진행한 발효경과를 확인하고 이상 유무를 판단하여 완료된 술덧으로 증류조건별 실험을 진행하고자 본 실험을 진행하였다.

pH의 경우 발효 1일차에서 3일차까지의 차이가 발생되었지만 이후 소량과 대량 담금의 차이가 크게 발생되지는 않았다. 초기 pH는 알코올 발효 및 진행이 소량 담금에 비해 늦게 시작되어 본 차이가 발생한 것으로 사료되며 효모가 활성을 이룬 시점부터는 유사한 형태로 진행된 것으로 보여진다.

산도의 경우 동일한 원료가 아니기 때문에 나타난 형태로 보여지며 초기 산도가 낮았던 대량 담금에서 최종 산도 또한 낮게 측정되었다. 소량 담금 시 증가와 감소를 반복하며 조금씩 증가되었다면 대량 담금 시에는 소폭 상승이 지속적으로 이루어 졌다. 대량 담금 시 시료에 대한 오차가 적었으며 산도의 증가와 pH로 확인 시 오염 없이 진행된 것으로 사료되며 현미경 검경 시 이를 확인하였다.

알코올의 경우 소량과 대량 담금에서 초기 발효 경과일 동안의 차이를 제외하고는 최종 발효 경과 일에서는 10.0도(v/v%)가량으로 유사하게 알코올 발효가 진행되었다. 초기 발효가 대량 담금에서 다소 더디게 일어난 사유는 효모의 활성 시기가 차이가 났던 것으로 사료된다.

당도의 경우 알코올 생성곡선과 반비례를 형성하며 대량 발효의 경우 발효 1일차 22.8°Brix에서 최종 발효 일에 10.8°Brix로 지속적으로 감소하고 있으나 소량 발효의 경우 전체적으로는 감소하는 형태이나 3일차에 16°Brix에서 4일차 18.4°Brix로 증가하는 현상이 측정되기도 하였다. 이는 발효 초기 펙틴 등의 성분에 의하여 술덧이 고루 섞이지 못하는 등의 현상이 발생하는 것으로 보여지며, 술덧의 분해가 진행 된 후 부터는 안정적으로 감소하는 것을 볼 수 있다.

비중의 경우 소량과 대량의 그래프가 유사하나 비중의 감소 폭이 대량 담금이 소량 담금에 비해 큰 것으로 보아 소량 담금의 경우 사용한 미숙성 사과가 알코올 생성을 저해하고, 분해되지 못한 다당류가 존재했던 것으로 볼 수 있다.

그림 2-77. 미숙성사과 발효 시 담금 규모 별 발효경과(pH)

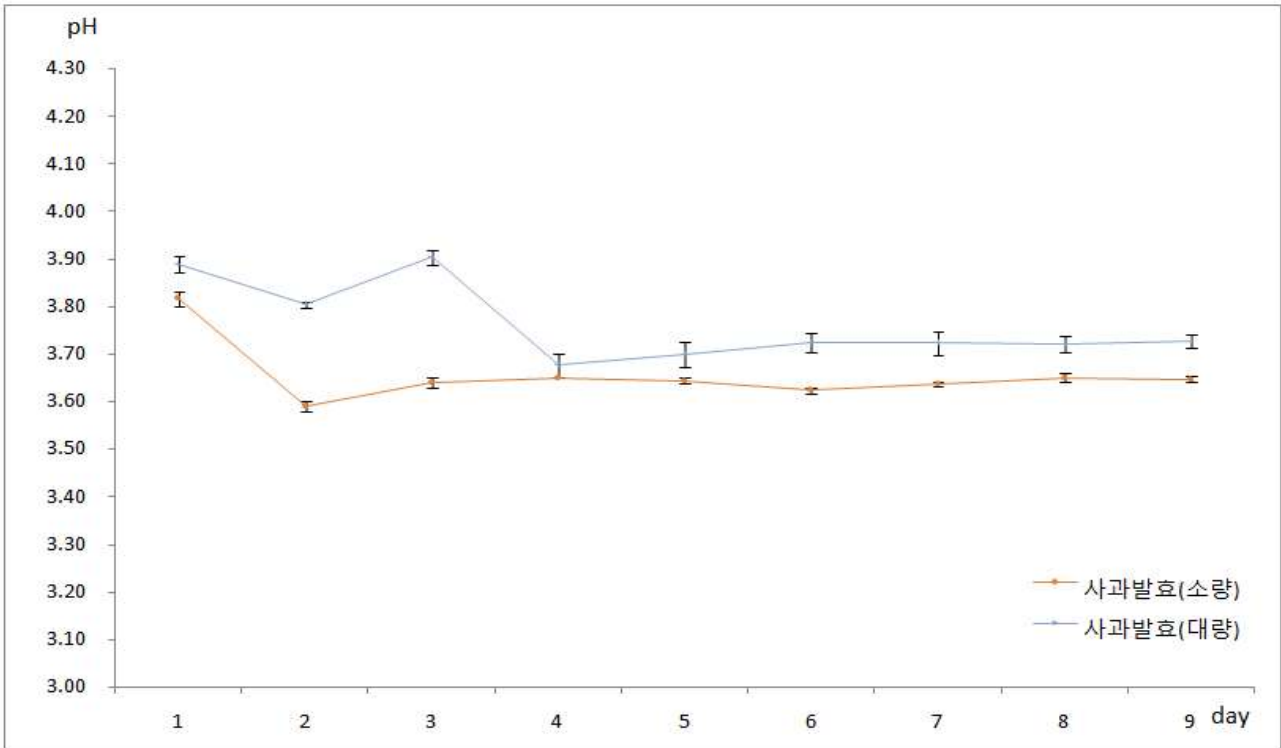


그림 2-78. 미숙성사과 발효 시 담금 규모 별 발효경과(산도(적정산도))

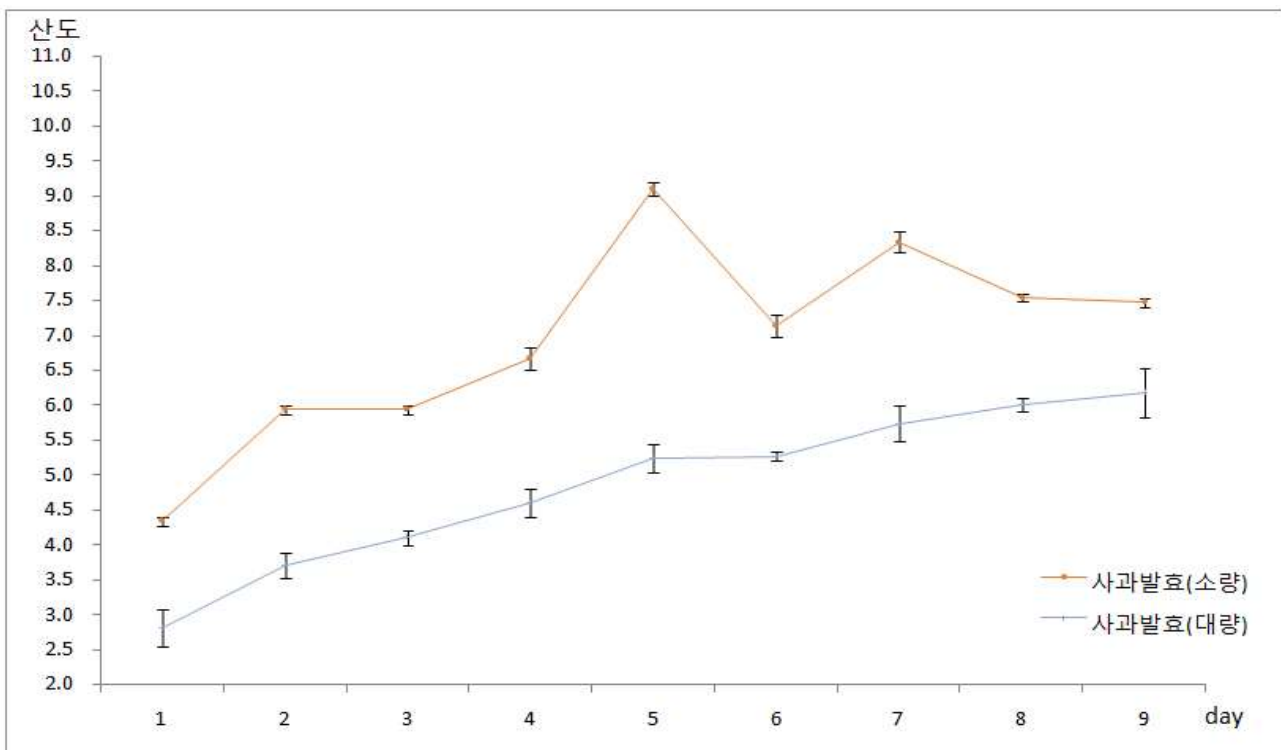


그림 2-79. 미숙성사과 발효 시 담금 규모 별 발효경과(alcohol(단위: v/v%))

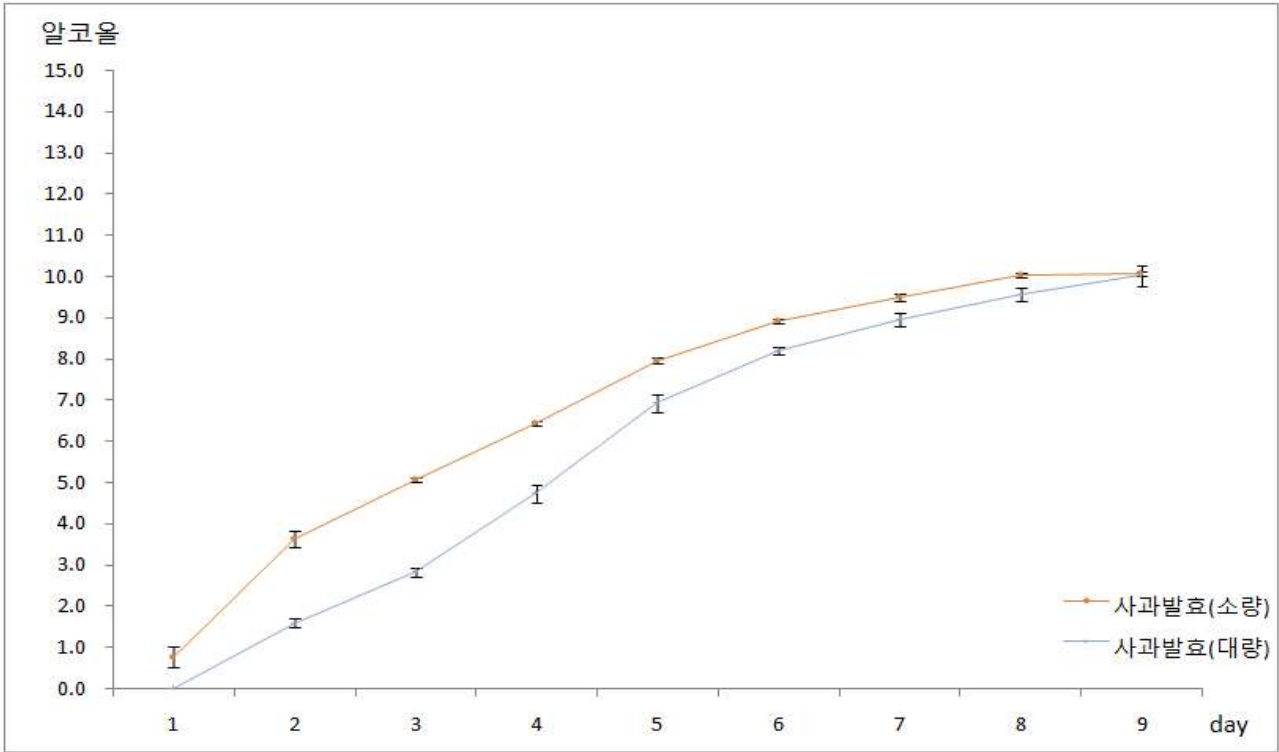


그림 2-80. 미숙성사과 발효 시 담금 규모 별 발효경과(당도(단위: °Brix))

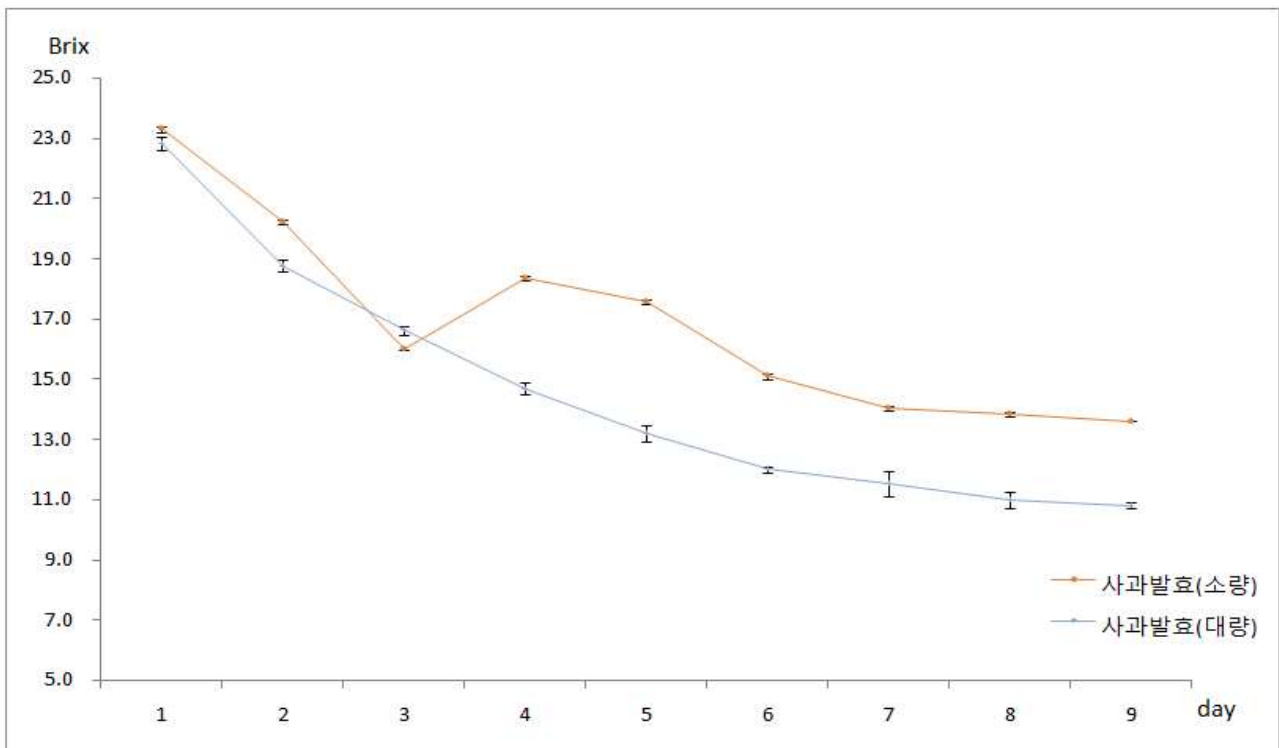
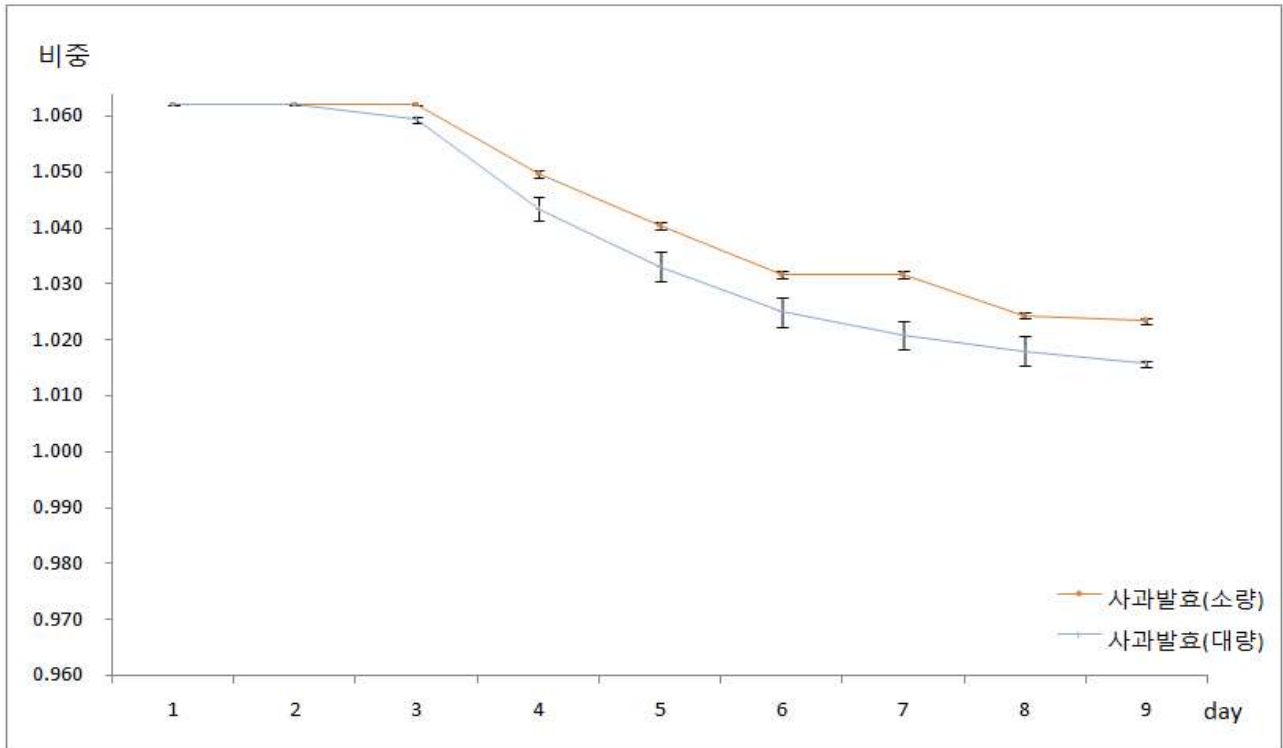


그림 2-81. 미숙성사과 발효 시 효모별 발효경과(비중)



다. 증류 조건별 분획을 통한 유해물질 분석

(1) 미숙성과실(사과)을 이용한 발효 술덧의 증류 방식별 증류

현재 주세법 상 소주는 증류식소주와 희석식소주의 구분에서 주세의 동일성을 사유로 소주로 통합되었지만 이전까지의 주세법 상에서는 곡물 등을 발효시켜 단식증류기로 증류한 것을 증류식소주로 곡물 등을 발효시켜 연속식증류기로 증류한 주정(알코올함량 95도(v/v%))을 희석하여 제조한 것을 희석식 소주로 분류하였었다. 증류방식에 따른 분류는 전 세계적인 것으로 일본에서도 소주 감류와 을류를 정하는 기준을 단식증류기와 연속식 증류기의 사용 여부에 의해 결정되기도 한다. 본 실험에서 사용할 증류방식은 단식증류방식과 단식-연속식 복합형 증류방식으로 연속식 증류 방식은 술의 공급이 연속적이어야 하며, 농축탑이 다공판선반과 포종선반판을 혼용하여 에탄올의 함량이 고도수로 농축이 되게 하는 방식으로써 실험에서 술의 연속적인 공급이 어려우므로 농축탑이 유사한 단식-연속식 복합형 증류(Lomond still)방식으로 연속식 증류기의 형태를 대체하고자 한다.

그림 2-82. 연속식 증류기

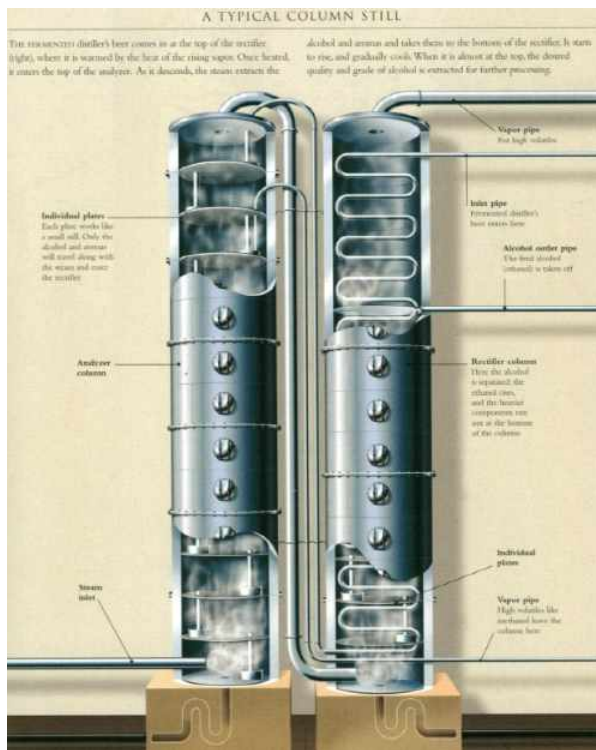
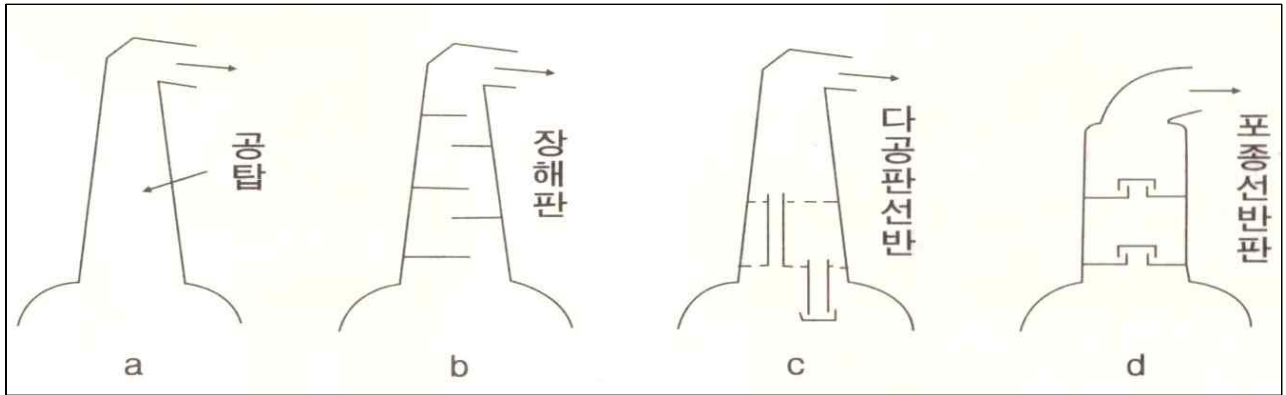


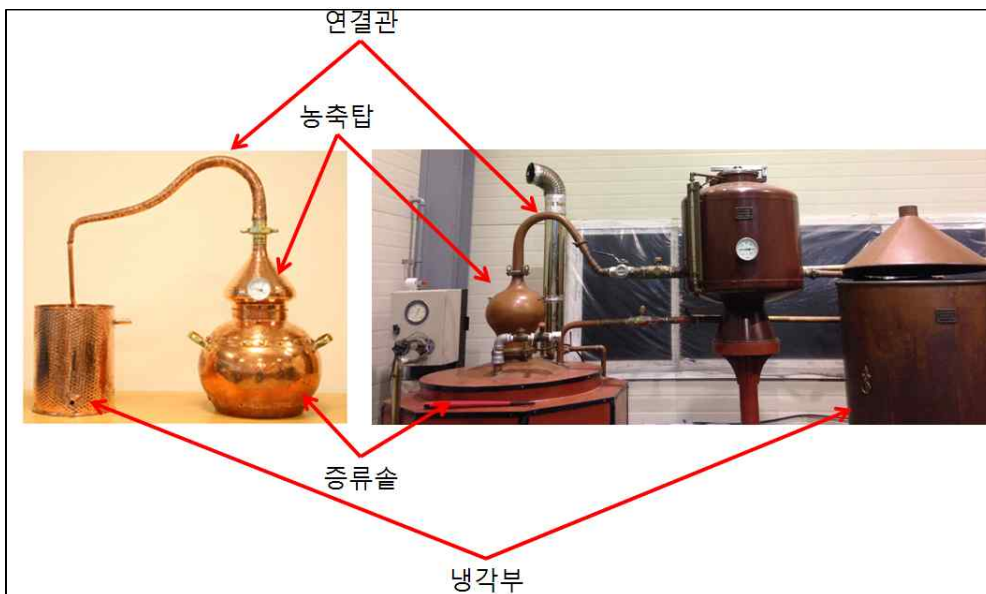
그림 2-83. 농축탑의 증류



단식증류방식은 압력에 따라 상압증류방식과 감압증류방식으로 나누어지는데 본 실험에서는 구리 재질의 특성 상 감압증류방식이 불가한 점을 사유로 상압증류방식에서의 단식증류방식(Pot-Still)과 단식-연속식 복합형 증류방식(Lomond still)만을 비교하고자한다.

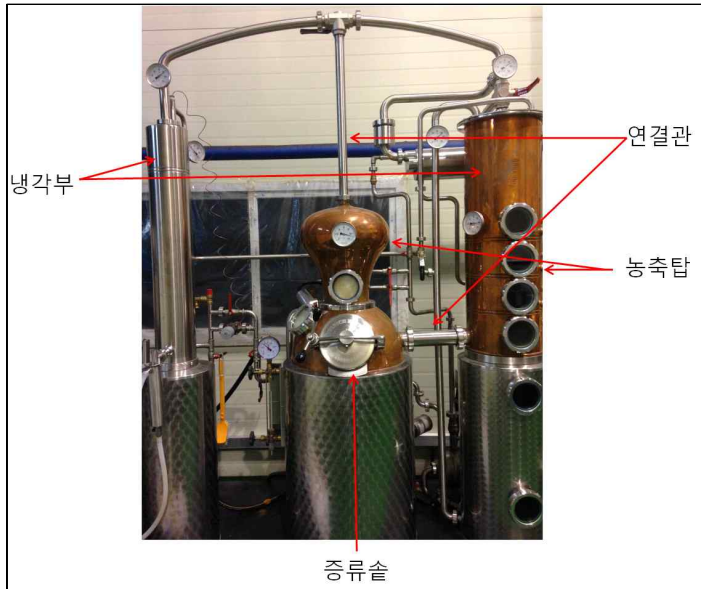
단식증류기는 일반적으로 증류솥, 농축탑, 연결관, 냉각부, 소주탱크의 구조로 나누어지며, 미량성분이 많이 함유되어서 농후한 맛이 나며, 증류직후 향미가 자극적이지만 숙성에 따라 주질이 크게 향상되며, 증류기의 형상, 재질, 증류조건 등에 따라 주질의 변화가 큰 것이 특징이다.

그림 2-84. 단식증류기의 구조



단식-연속식 복합 증류기(Lomond still)은 1955년 영국의 Hiram Walker 사의 Alistair Cunningham과 Arthur Warren이 개발한 장치로 증류솥은 전통적인 단식증류기(Pot still)과 동일하지만 상부의 농축탑과 연결부는 개조되어 원통형의 장치가 부착된다. 농축탑 부분이 연속식증류기의 농축탑 형태의 것으로 섬세한 위스키에서부터 오일리한 바디의 묵직한 위스키를 제조할 수 있는 것이 특징으로써 현재에는 스카치위스키가 아닌 몰트위스키에만 사용이 가능한 증류기이다. 본 실험에 사용할 단식-연속식 복합 증류기는 단식 증류기로도 사용이 가능한 증류기로 단식증류방식과 단식-연속식 복합증류기만을 비교하기에 적절한 장치이다.

그림 2-85. 단식-연속식 복합 증류기의 구조



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모 여진 발효 술덧을 가지고 증류방식별 증류를 진행하였다. 동일한 증류 술덧 20ℓ를 가지고 증류기 재질은 동, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류방식만 변화를 주어 (단식증류방식, 단식-연속식 복합증류방식) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 200ml 씩 분획하였다. 단식 증류방식의 경우 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

본 실험에 사용한 증류기는 단식 증류와 단식-연속식 복합증류가 가능한 장치로써 증류방식을 달리 할 수 있도록 설계되어있으며 각 방식의 증류가 완료된 후에는 세척 장치를 통하여 세척을 완료한 후 다음 방식의 증류를 진행하였다.

그림 2-86. 증류방식별 증류 Flow



단식 증류법의 Flow



단식-연속식 복합 증류법의 Flow

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매겨 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

단식증류방식의 경우 분획의 수량은 총 23개로써 알코올 함량의 평균은 36.02도(v/v%)로 나타났으며 단식-연속식 복합 증류방식의 경우 분획의 수량은 총 21개이며, 알코올 함량의 평균은 39.87도(v/v%)로 단식증류방식에 비해 다소 높게 나타났다. 또한 단식증류방식의 곡선은 단조로운 반비례곡선을 형성하였다면 단식-연속식 복합 증류방식의 곡선은 반비례 형태이

지만 6번 분획까지는 완만한 형태를 유지하다 7번 분획부터 급격히 감소하는 형태를 띠고 있다. 이와 같은 형태는 단식-연속식 복합 증류기의 농축탑 형태(포중선반판)에 의한 것으로 고농도의 농축에 의한 결과로 여겨진다. 평균 알코올함량과 총 용량을 곱하여 산정하는 주정계수의 경우는 유사한 값을 형성하였으며 주정계수의 경우 증류 시 발생하는 손실을 확인하는 지표로 확인된다. 단식증류방식의 최대 알코올 함량은 1번 분획으로 76.02도(v/v%)이며 단식-연속식 복합 증류방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획으로 84.8도(v/v%)로 나타났다. 3번 분획이 1번 분획에 비해 다소 높게 나타난 사유는 세척에 의한 잔유물이 1번 분획에 혼입되었기 때문으로 사료된다.

증류방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 메탄올의 총량은 단식증류방식에서 높게 형성되었으며 아세트알데히드의 총량은 단식-연속식 복합 증류방식에서 다소 높게 형성되었다. 두 가지 증류방식 모두 초기 분획 쪽에 저(低)비점 유해물질이 집중되어 있는 것을 확인 할 수 있었으나, 단식-연속식 복합 증류방식의 경우 초기 1번 분획 메탄올의 함량(20.56ppm)이 단식증류방식의 1번 분획 메탄올의 함량(46.02ppm)에 비해 현저히 낮게 출발한 것을 확인 할 수 있었다. 증류방식에 대한 차이보다는 전체적인 반비례 곡선은 저(低)비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문으로 사료된다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 증류방식에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-89. 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 단식증류방식의 경우 요소와 EC모두 100ppb이하를 형성하였으며 EC의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 것을 볼 수 있다. 이는 "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"의 내용 중 EC의 함량은 초류<본류<후류 순으로 나타난다는 결과와는 상반되는 내용으로 단식-연속식 복합 증류방식의 유해물질 분석 결과와는 부분 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 단식 증류에 비해 농축탑이 포중선반판으로 이루어져 있는 단식-연속식 복합 증류방식을 사용할 경우 농축탑의 열전도에 의해 비점이 높은 EC의 유출이 추가적으로 발생된 것으로 사료된다. 단식-연속식 복합 증류방식의 곡선은 요소의 경우 7번 분획(요소 404.34ppb)까지 증가되다가 감소하여 100ppb 이하로 검출되는 것을 확인 할 수 있으며, EC의 경우 초기 분획부터 13번 분획(EC 639.52ppb)까지 증가와 감소를 반복하며 상승하였다가 감소하는 곡선을 확인할 수 있었다. 본 결과로 보아 단식-연속식 복합 증류방식의 경우 10번에서 13번 분획은 본류에서 제외시키고 회석하여 저장하는 방법을 채택하거나 EC 저감장치(구리촉매변환장치 등)를 사용하지 않는 한 제품으로 사용하기 어려운 결과들로 보여진다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 미숙성 사과 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-87. 증류방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

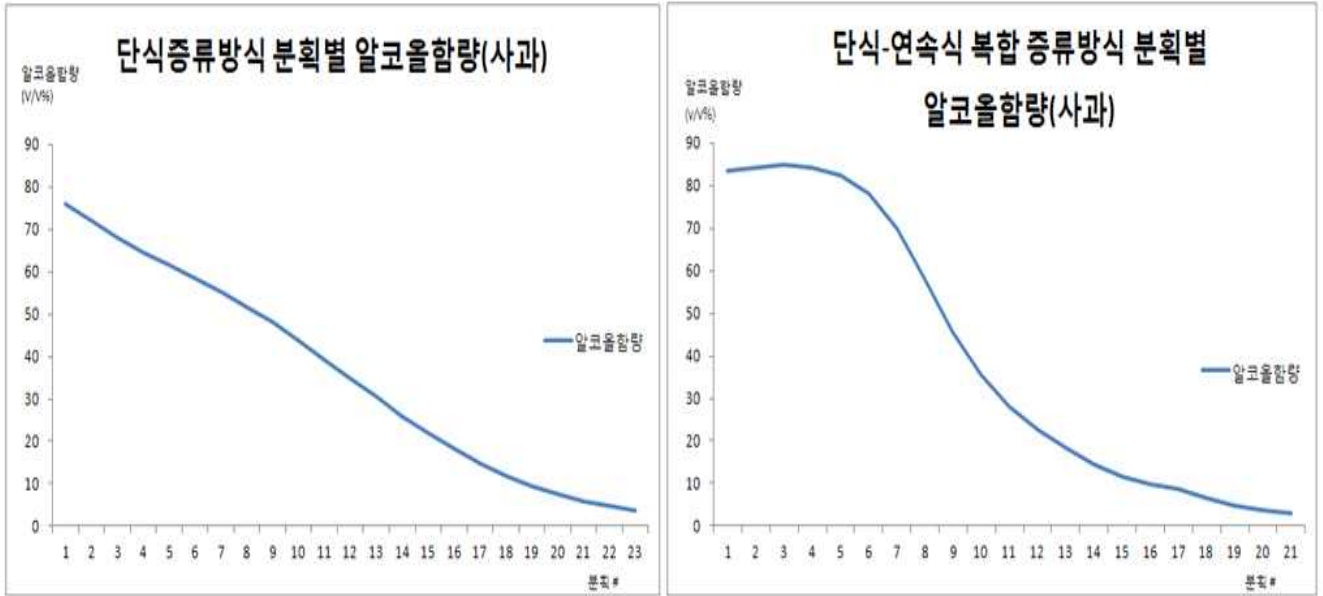


그림 2-88. 증류방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

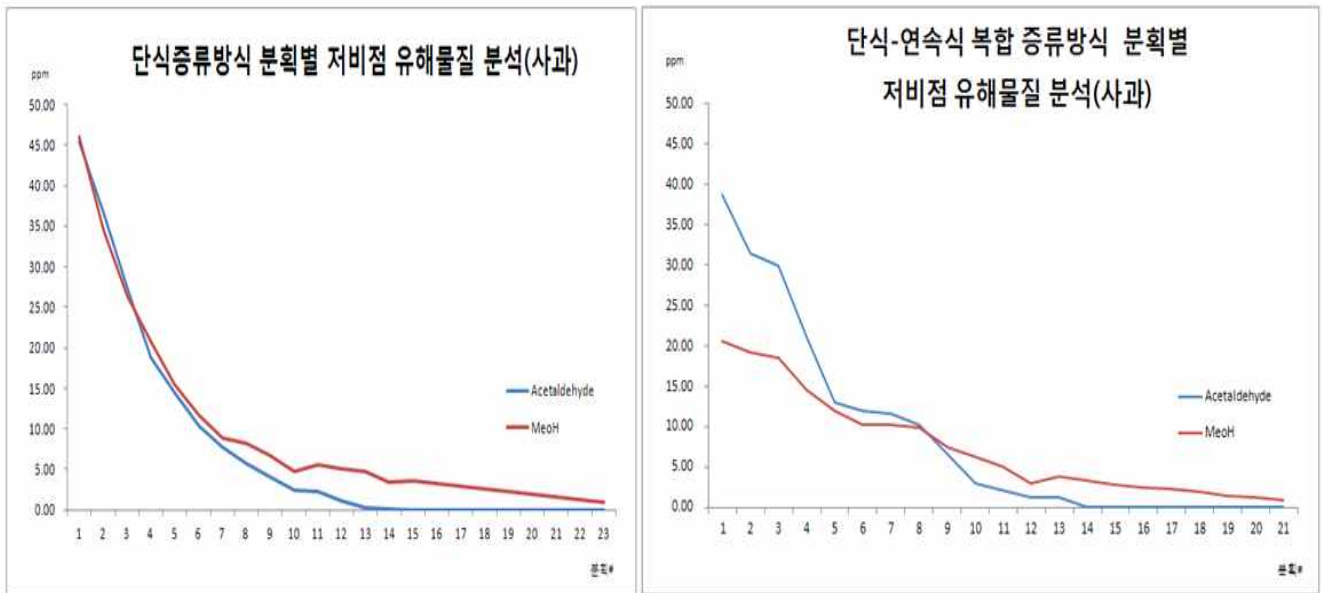
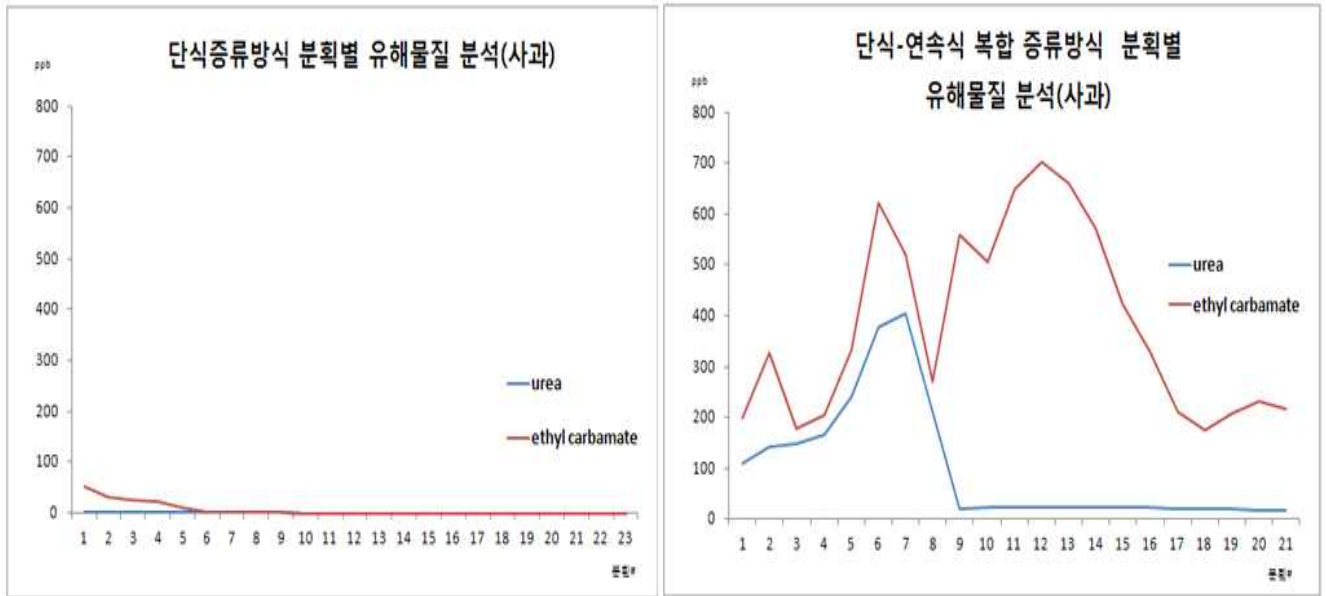


그림 2-89. 증류방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(2) 미숙성과실(사과)을 이용한 발효 술덧의 증류기 재질별 증류

증류기의 재질로는 도자기 형태의 소주고리, 구리(銅), 스테인리스를 꼽을 수 있다. 증류기가 제작된 시점은 세계문명의 발상지인 메소포타미아에서 기원전 3,000년경에, 이미 증류기의 원형이 존재했다고 전해지며, 아라비아의 연금술사 등이 사용했던 증류기는 구리로 된 것이고 이것을 “아란핏크”라고 하였다. 아란핏크는 아라비아어로 “땀의 이슬”이라는 말로 “아락”이라고 부르며, 현재도 이 형태의 증류기가 위스키, 브랜디에서 사용되고 있다. 중국의 경우 13세기 露酒(현재의 백주)가 제조되었는데 어원은 동일한 것으로 보여 진다. 아시아로 전파되며 토기로 만들어진 소주고리가 제조된 것으로 추정되며, 이후 스테인리스 증류기가 제조된 것으로 파악된다.

토기로 제조된 소주고리는 기밀성 및 열전도, 대량화 등의 사유로 도태되었고 현재는 크게 동(銅) 재질의 증류기와 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있으며, 우리나라의 경우 현재 증류주의 대부분은 스테인리스 스틸 재질의 증류기를 사용하고 있다. 일본은 스테인리스 스틸 증류기를 70년대 후반부터 사용하여 왔으나 구리 증류기가 유해물질 제거 기능이 탁월한 것으로 밝혀져 차츰 동 재질의 증류기로 교체하여 사용하고 있다.

본 실험에서는 다른 증류 조건을 동일 시 한 상태에서 증류기의 재질만 변경하여 분획별 유해물질을 비교 분석하고자 한다.

그림 2-90. 본 실험에 사용할 스테인리스 증류기(左)와 동증류기(右)



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모

여진 발효 술덧을 가지고 증류기 재질별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 스테인리스 증류기는 80ℓ, 동증류기는 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 가열조건은 간접가열(자켓가열방식)의 동일한 조건 하에서 증류기 재질만 변화를 주어 (스테인리스 증류기, 동증류기) 끓는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧양의 1%씩 800ml(스테인리스 증류기)와 200ml(동증류기)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매겨서 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<결과 및 고찰>

증류기 재질에 따른 분획별 알코올의 함량은 동증류기방식의 경우 단식증류방식과 동일한 결과로 총 23개의 분획으로 알코올 함량의 평균은 36.02도(v/v%)로 나타났으며 스테인리스 증류기방식의 경우 총 16개의 분획으로 알코올 함량의 평균은 51.12도(v/v%)로 동증류기방식에 비해 농축이 된 형태로 나타났다. 곡선 또한 동증류기방식에 비해 스테인리스 증류기방식은 단식-연속식 복합 증류방식의 곡선에 유사한 형태로 나타나는데 이는 스테인리스 증류기에 증류술 위에 농축탑이 공탑 형태가 아닌 장해판이 설치되어 있어 본 결과에 영향을 미친 것으로 사료된다. 동증류기방식의 최대 알코올함량은 1번 분획으로 76.02도(v/v%)로 나타났으며, 스테인리스 증류기방식의 최대 알코올함량은 2번 분획으로 77.3도(v/v%)로 나타났다. 1번 분획이 2번 분획에 비해 낮게 나타난 사유는 세척에 의한 것으로 세척수가 소량 혼입된 것으로 보여 진다. 주정계수는 증류한 술덧 량을 대입하였을 때 큰 차이가 나지 않으므로 손실율에서의 차이가 적은 것으로 보여 진다.

증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 스테인리스 증류기방식에서 총 아세트알데히드의 함량이 6.74ppm으로 동증류기방식(7.68ppm)에 비해 다소 적게 나타났으며, 메탄올의 경우 스테인리스 증류기방식(15.61ppm)이 동증류기방식(9.67ppm)에 비해 총 함량이 약 1.5배가량 높게 나타났다. 재질에 따른 흡착의 정도에 차이가 있는 것으로 사료되며, 동증류기방식의 경우 초기 분획 쪽에서부터 후류 쪽으로 이동 시 완만한 감소 곡선을 형성하였다면 스테인리스 증류기방식의 경우 1번에서 3번 분획에 이르기

까지 급격히 감소하는 곡선을 형성하는 것을 볼 수 있다. 저(低)비점 유해물질의 경우 에탄올에 비해 비점이 낮기 때문에 본 곡선과 같이 초기에 집중하는 형태를 나타내고 있다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 증류기 재질에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-93. 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 동증류기방식의 경우 유해물질 모두 전 분획에서 100ppb 이하를 형성하였으며 스테인리스 증류기방식의 경우 1번 분획에서 요소가 922.75ppb, EC는 72.34ppb로 측정되었으며, 2번 분획에서는 요소는 급격히 감소하여 227.95ppb가 검출되었으며, EC는 1번 분획에 비해 증가하여 254.44ppb를 형성하였다. 증류기의 재질 상으로는 동증류기가 스테인리스 증류기에 비해 유해물질이 현저히 낮게 나타나는 것을 확인할 수 있으며 이는 재질에 의한 흡착이 관여한 것으로 보여 진다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 분류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 미숙성 사과 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-91. 증류기 재질에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

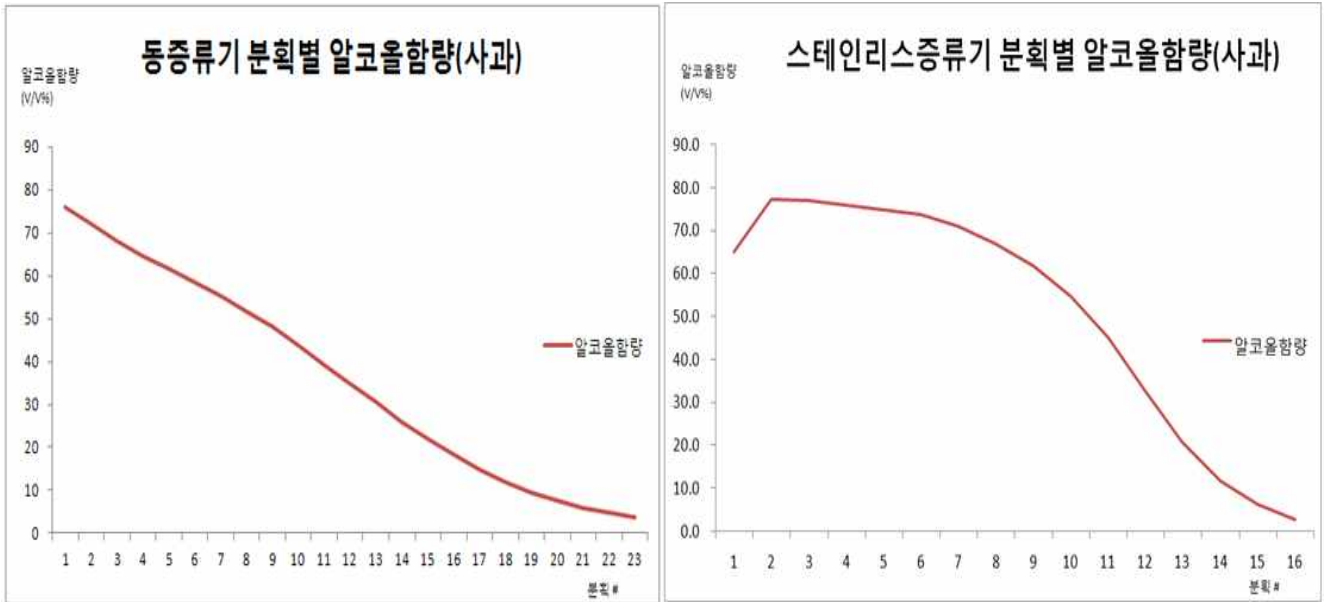


그림 2-92. 증류기 재질에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

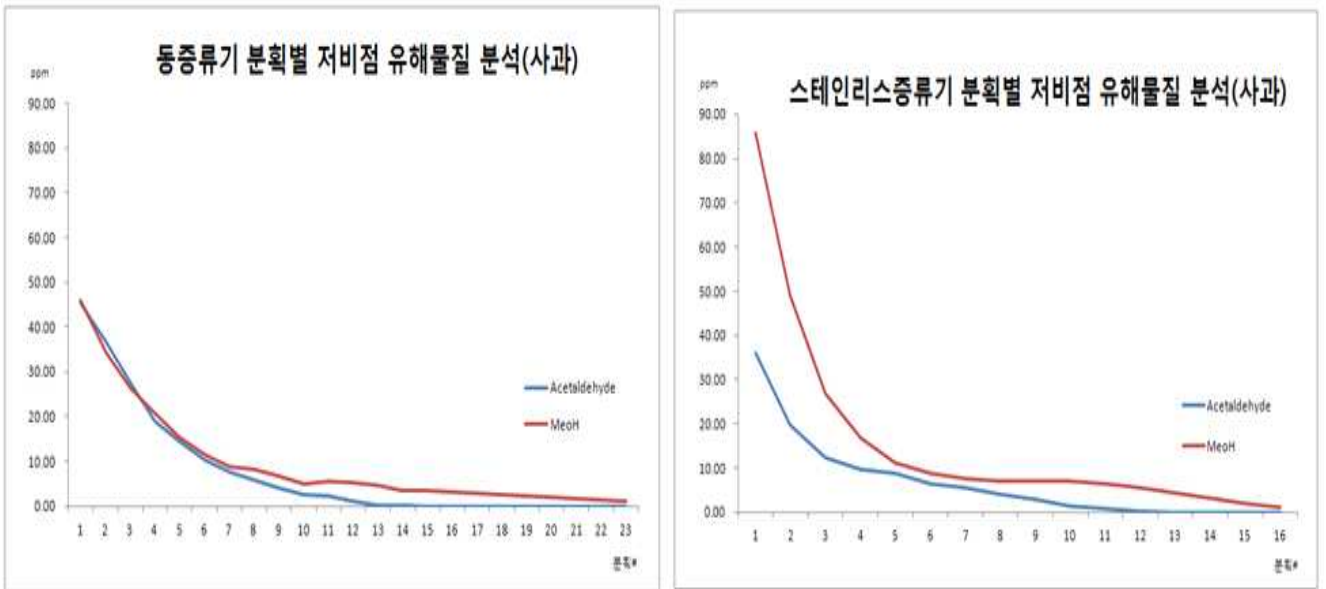
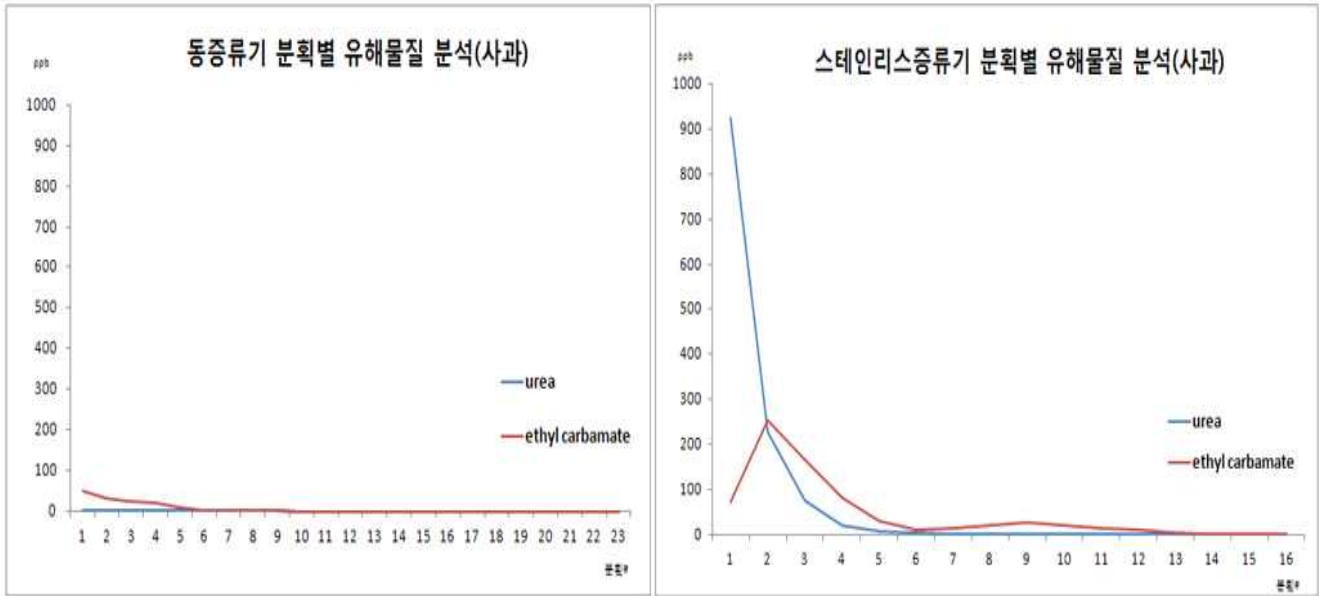


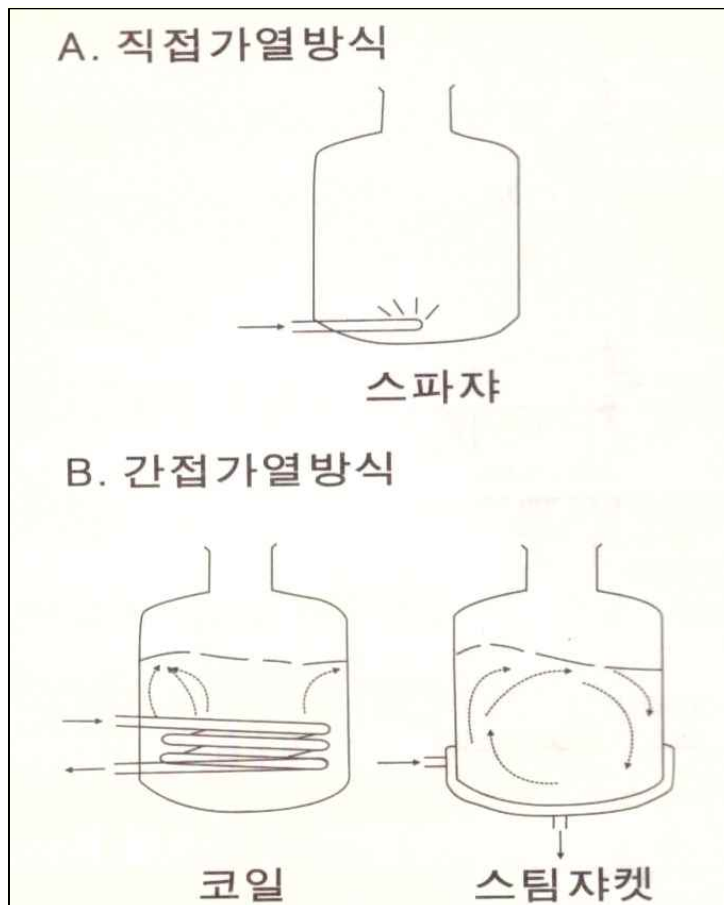
그림 2-93. 증류기 재질에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(3) 미숙성과실(사과)을 이용한 발효 술덧의 가열방식별 증류

증류 시 가열방식에는 크게 두 가지로 나뉘어진다. 직접가열(스팀스파자, 직부)과 간접가열(코일, 자켓)이며, 직접가열 중 스파자를 통하여 스팀을 집어넣는 경우에는 점성이 높은 술덧에 적합한 타입으로 압력이 형성되고 증기 응축수에 의해 술덧량이 증가하여 술덧이 넘치는 경우가 있어 농도가 짙어 가열하기 어려운 경우에만 사용한다. 직접가열의 일반적인 방식은 위스키나 브랜디를 만들 때 사용하는 직부가열방식으로 증류솥 바닥을 직접 가열하여 열을 전달시킨다. 스코틀랜드의 많은 증류소들은 초기에 이 직부가열방식을 채택하였으나 술덧이 바닥에 붙는 현상에 의해 청소와 관리가 용이하지 못하여 코일이나 자켓을 활용한 간접가열 방식으로 변경하기도 하였다. 하지만 가열방식은 각 증류소에서 추구하는 맛에 직접적으로 영향을 주므로 일부 증류소에서는 증류솥 바닥을 가열하는 직부가열방식으로 회귀하기도 하였다. 따라서 본 실험에서는 직접가열 중에서는 직부가열 그리고 간접가열을 분류별로 유해물질에 대해 비교 분석하고 각 제품의 특성을 확인하고자 한다.

그림 2-94. 가열방식의 종류



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 가열방식별 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 각 증류기의 1/2용량이 되도록 직부가열방식은 40ℓ, 간접가열은 20ℓ를 사용하였으며, 증류방식은 단식증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질의 동일한 조건 하에서 가열 방식만 변화를 주어(직부가열방식, 간접가열방식) 끓

는점의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧량의 1%인 400ml(직부가열방식)와 200ml(간접가열방식)씩 분획하였다. 두 가지 실험군 모두 단식 증류방식으로 최종 제품 알코올 도수(40도(v/v%))에 맞게 2회에 걸쳐 증류를 진행하였으며 1차 증류 시에는 초류, 본류, 후류의 개념 없이 냉각되어 발생하는 알코올이 3도(v/v%)미만으로 떨어질 때 까지 전량을 2차 증류 술덧으로 사용하였고 2차 증류 시에 상기 방식으로 분획을 진행하였다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-95. 실험에 사용할 직부가열방식의 증류기(左)와 간접가열방식의 증류기(右)



그림 2-96. 실험에 사용할 직부가열방식의 가열부(左)와 간접가열방식의 가열부(右)



<결과 및 고찰>

가열방식에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 직부가열방식은 24개의 분획으로 평균 알코올함량은 40.39도(v/v%)이며, 단식증류방식과 동일한 결과인 간접가열방식은 23개의 분획으로 평균 알코올함량 36.02도(v/v%)로 나타났다. 직부가열방식의 알코올함량은 1번 분획(알코올함량 60.21도(v/v%))이 2번 분획(63.88도(v/v%))에 비해 세척수에 의해 다소 낮은 것을 제외하고는 두 가지 방식의 결과치가 가장 유사한 형태의 곡선을 형성하고 있다. 이는 농축탑의 형태가 유사한 것에 가장 큰 사유를 들 수 있으며 직부가열방식의 분획 중 가장 높은 알코올함량은 3번 분획으로 66.62도(v/v%)이며 간접가열방식의 가장 높은 알코올함량은 1번 분획으로 76.02도(v/v%)이다. 손실률을 확인하는 주정계수의 경우 평균 알코올함량이 높은 직부가열방식이 다소 높게 나와 간접가열에 비해 손실이 적은 것을 확인 할 수 있었다.

가열방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 두 가지 가열방식 모두 초류에 집중되어 있는 것을 확인할 수 있으며 아세트알데히드의 총 함량은 직부가열방식(8.83ppm)에 비해 간접가열방식(7.68ppm)이 적은 수치를 기록하였고, 메탄올의 총 함량은 직부가열방식(7.22ppm)이 간접가열방식(9.67ppm)에 비해 낮게 측정되었다. 메탄올의 경우 직부가열방식 초기 분획 쪽에서 간접가열방식에 비해 낮은 수치를 기록하였으며 총 함량의 차이를 발생시키는 주요한 역할을 한 것으로 사료된다. 두 가지 가열방식이 크게 차이나지는 않지만 결과의 차이는 열전도 및 가열 온도와 밀접한 관계가 있는 것으로 보여 진다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 가열방식에 따라 분획별로 분석한 결과는 그림 2-99. 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 간접가열방식의 경우 요소와 EC모두 100ppb이하를 형성하였으며 EC의 경우 초기 분획에 집중되어 있는 것을 볼 수 있다. 이는 "주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)"의 내용 중 EC의 함량은 초류<분류<후류 순으로 나타난다는 결과와는 상반되는 내용으로 직부가열방식의 유해물질 분석 결과와는 부분 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 직부가열방식의 경우 가열되는 온도가 높은 것과 흡착하는 구리의 면적이 감소하여 중후

반부에 EC의 함량이 증가하는 것을 사유로 들 수 있으며 직부가열방식 분석결과 중 EC의 경우 1번 분획은 세척수에 의한 희석으로 여겨지며 이후 15번 분획(238.13ppb)까지는 꾸준히 상승하는 형태를 보이고 있다. 따라서 최종 제품 제조 시에는 10~15번 분획의 사용 여부를 고려해야하며 알코올 농도에 따라 희석하여 설정한 기준치 이하가 되도록 하여야 한다. 이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 본류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 미숙성 사과 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-97. 가열방식에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

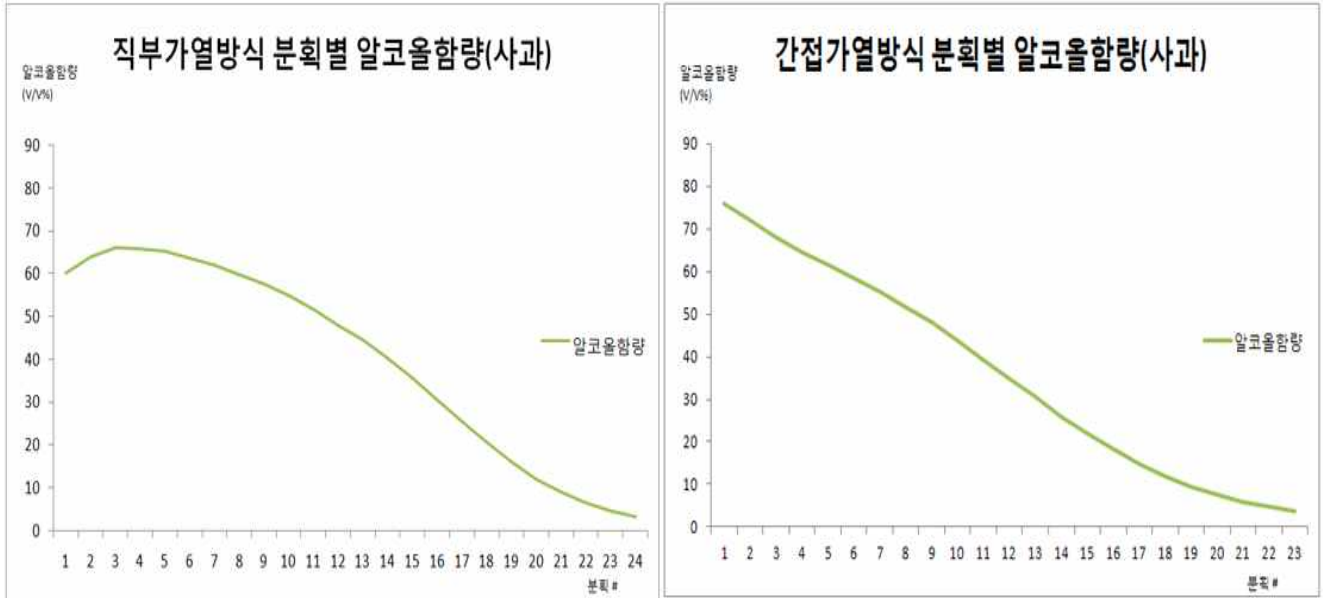


그림 2-98. 가열방식에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

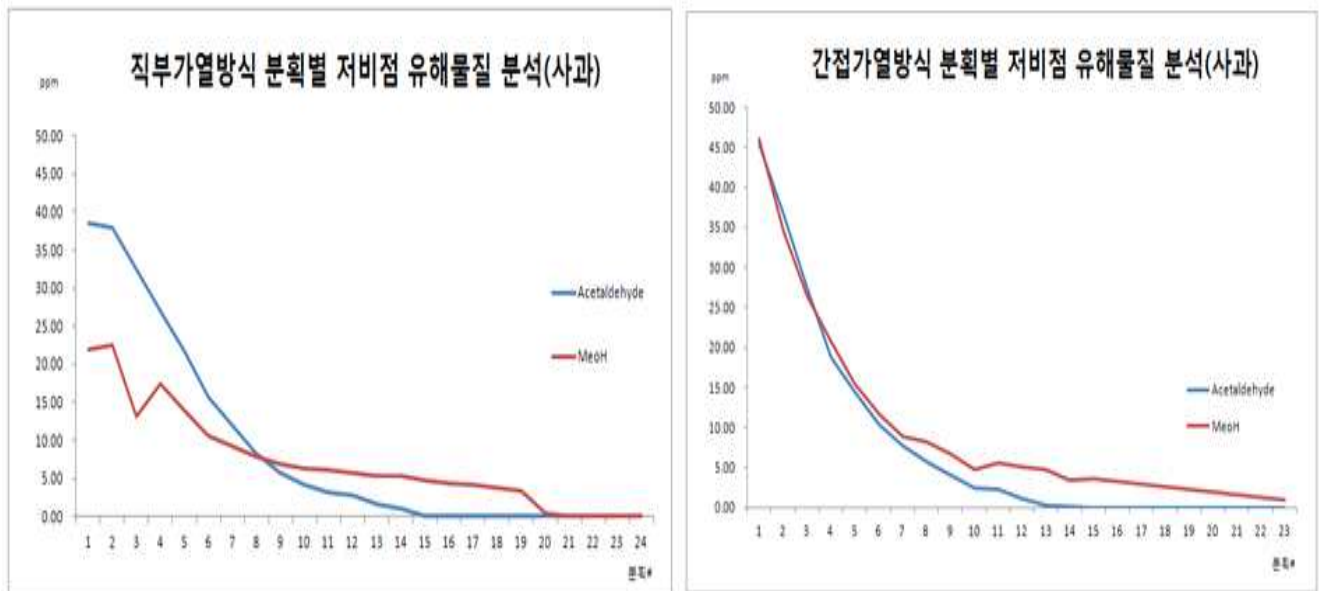
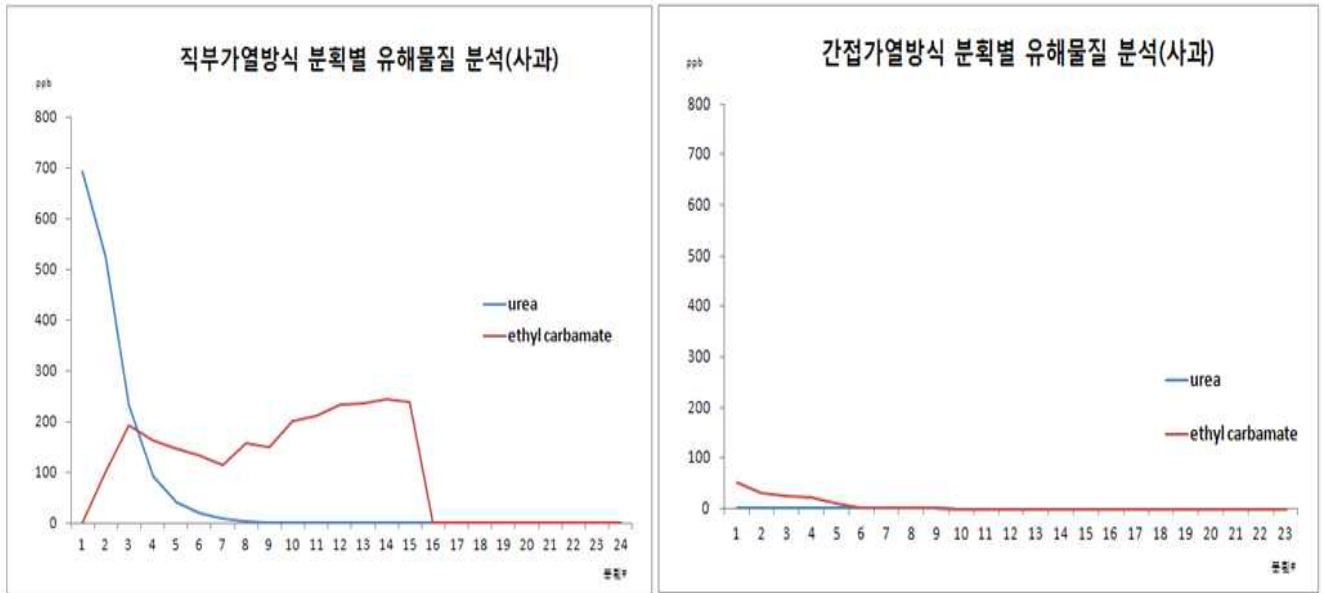


그림 2-99. 가열방식에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



(4) 미숙성과실(사과)을 이용한 발효 술덧의 구리촉매변환장치 부착여부에 따른 증류

구리는 EC를 저감시킬 수 있는 재질로 꼽히며, 구리촉매변환장치는 EC 생성 기작 중 시안화수소산이 구리와 결합하여 증류액으로 가지 못하게 하는 장치이다.

본 실험에서는 당초 계획 외에 추가적으로 구리촉매변환장치의 사용 여부에 따른 증류분획을 실시하여 유해물질의 변화에 대해 확인하고자 한다.

그림 2-100. 에틸카바메이트 생성기작

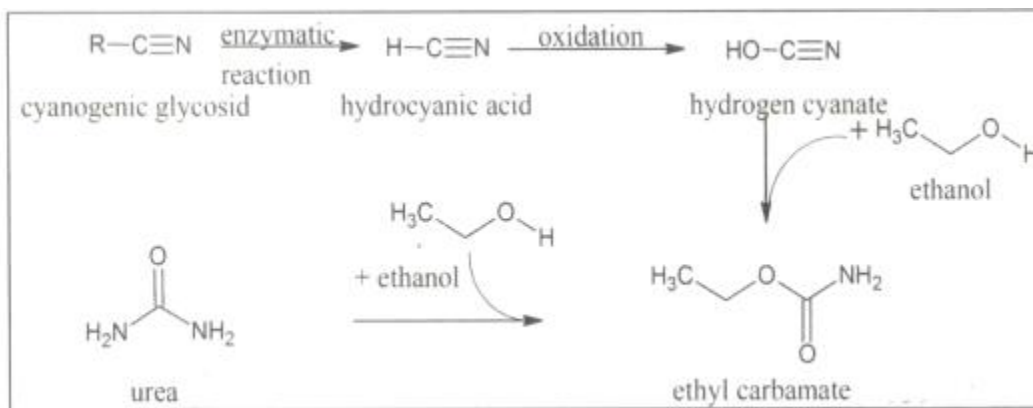


그림 2-101. 구리촉매 변환장치와 장착 모습



<실험방법>

1차년도에 선정된 발효 방식과 선정된 효모(BDX)를 이용하여 발효를 시키고 제성공정을 거쳐 모여진 발효 술덧을 가지고 구리촉매변환장치 여부에 따른 증류를 진행하였다. 증류 술덧은 증류기의 1/2용량이 되도록 20ℓ씩 사용하였으며, 증류방식은 단식-연속식 복합증류방식, 증류기 재질은 동(銅) 재질, 간접가열방식의 동일한 조건 하에서 구리촉매변환장치 사용 여부만을 변수로 끊는점

의 차이에 따라 순서대로 발생하는 증류주를 술덧량의 1%인 200ml씩 분획하였다.

본 실험에 사용할 증류기는 단식-연속식 복합 증류기로 구리축매변환장치의 사용여부를 밸브로 조정할 수 있게 고안된 장치이다.

분획된 증류주는 각 분획별 알코올 함량을 측정하였으며, 분획한 증류주는 순서대로 번호를 매기어 메탄올과 아세트알데히드를 분석하였다. 메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 2-102. 단식-연속식 복합 증류기의 구리축매변환장치 및 밸브



<결과 및 고찰>

구리축매변환장치 사용여부에 따른 분획별 알코올 함량의 경우 구리축매변환장치 비사용방식은 증류방식별 비교 중 단식-연속식 복합 증류방식과 동일한 결과로 분획의 수량은 총 21개이며, 알코올 함량의 평균은 39.87도(V/V%)이다. 구리축매변환장치 사용방식은 분획의 수량은 총 23개이며, 알코올 함량의 평균은 36.29도(v/v%)로 측정되었으며 구리축매변환장치 비사용방식의 평균 알코올 함량이 구리축매변환장치 사용방식에 비해 다소 높지만 주정계수를

검토해 볼 때 손실률은 차이가 나지 않았다. 구리촉매변환장치 非사용방식의 최대 알코올 함량은 3번 분획으로 84.8도(v/v%)를 기록하였으며 구리촉매변환장치 사용방식의 최대 알코올 함량은 2번 분획에서 76.68도(v/v%)로 나타났다. 구리촉매변환장치의 사용은 증류주 증기가 이동되는 통로의 변화에 따른 압력의 변화나 응축 등의 사유로 알코올 농축에 변화를 줄 수 있음을 확인 할 수 있다.

구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질(메탄올, 아세트알데히드)의 경우 아세트알데히드와 메탄올의 총 함량 모두 구리촉매변환장치를 사용한 것이 다소 적게 측정되었으며 메탄올의 경우에는 유사하지만 아세트알데히드의 경우에는 감소 폭이 큰 것으로 확인되었다. 아세트알데히드의 경우 구리촉매변환장치 非사용방식의 1번 분획에서 38.75ppm이 검출되어 14번 분획까지 꾸준히 감소하여 검출이 되지 않았으며, 구리촉매변환장치 사용방식의 1번 분획은 32.62ppm에서 시작하여 8번 분획에 이르러 검출이 되지 않게 감소하였다. 각 실험군은 모두 저(低)비점 유해물질의 특성에 맞게 분획 초기에 유출이 되는 형태이며, 두개의 실험군의 차이가 크지 않지만 구리촉매변환장치의 사용 여부에 따른 흡착과 열전도의 변화가 발생된 것으로 사료된다.

유해물질인 EC와 EC를 생성시키는 전구체 중, 요소를 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획을 분석한 결과는 그림 2-105. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC, 요소) 함량(단위:ppb)으로 나타내었다. 본 결과는 EC 저감에 구리촉매변환장치가 어떠한 역할을 하는지 보여주는 지표로 활용 될 수 있다. 구리촉매변환장치 非사용 증류방식의 경우 초기 분획부터 증가와 감소를 반복하며 상승하여 12번 분획(679.15ppb)에서 최고 함량을 보여주며 감소하는 형태로 진행이 되었는데 이는 EC를 흡착하는 구리의 면적이 감소하면서 증가의 형태를 보여준 것으로 사료되며, 구리촉매변환장치 사용 증류방식은 충분한 EC 흡착면의 보유에 의해 구리촉매변환장치 非사용 증류방식 보다 현저히 감소한 것으로 볼 수 있다.

이후 본 결과를 바탕으로 초류와 후류를 분리하고 분류만을 사용하여 관능평가 및 향기성분을 분석하고 최종적으로 <안전한 미숙성 사과 증류주 제조기술>의 증류조건을 선정하고자 한다.

그림 2-103. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 알코올 함량(v/v%)

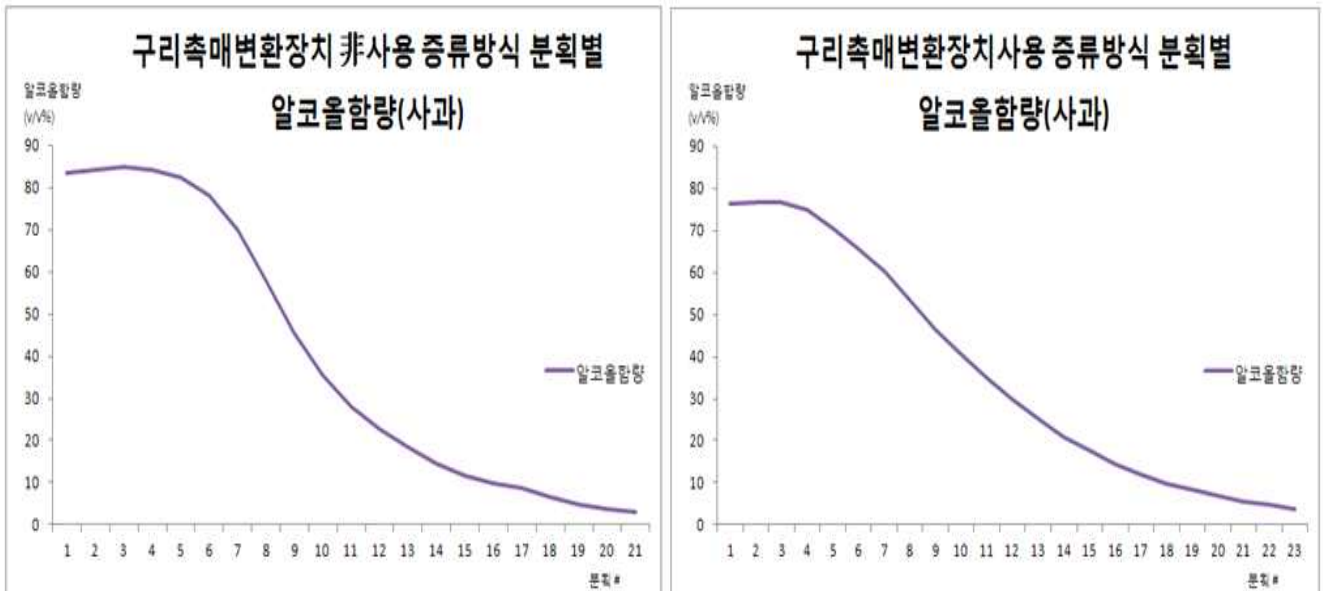


그림 2-104. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 저(低)비점 유해물질 함량(단위:ppm)

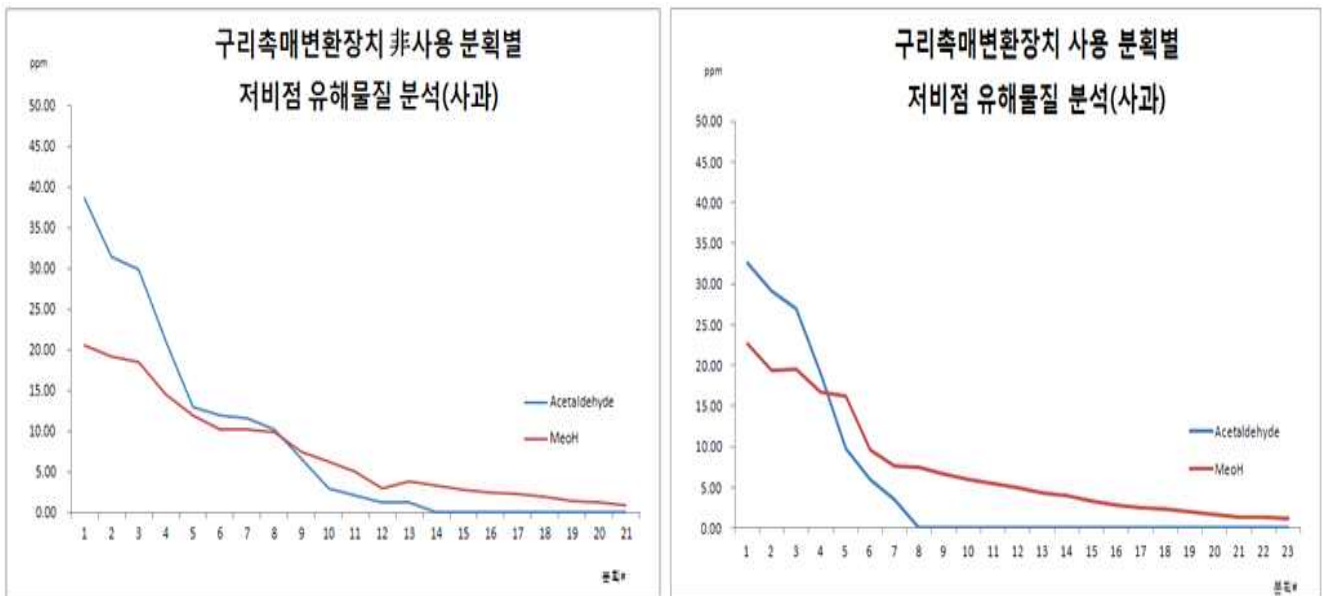
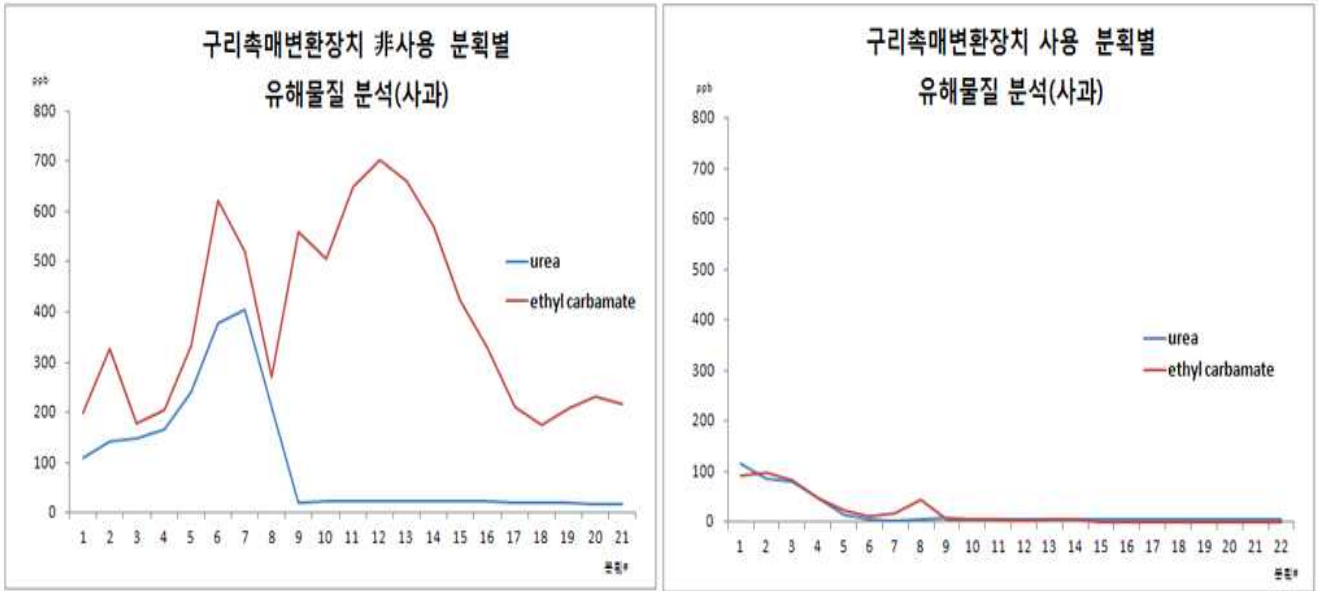


그림 2-105. 구리촉매변환장치 사용 여부에 따른 분획별 유해물질(EC,요소) 함량(단위:ppb)



라. 증류 조건 별 초류와 후류 분리 시점 파악

저(低)비점 유해물질은 메탄올(B.P 64℃)과 아세트알데히드(B.P 22℃)로 끓는점이 에탄올(B.P 78℃)에 비해 낮기 때문에 증류 시 초기에 발생한다. 따라서 초류 분리 시점은 메탄올과 아세트알데히드에 의해서 결정이 되며, 각 국의 검출 허가 기준은 표 2-32.과 같다.

표 2-32. 대한민국 식약처, EU, FDA의 주류별 저(低)비점 유해물질 검출 허가 기준

Volatile hazardous compounds	KFDA (2011) mg/L	EC in spirits (1989) g/hL pa (mg/L)	FDA (2007)
Aldehyde (Acetaldehyde)	700 (Soju, Whiskey, brandy)	< 0.5 (5) ^a (Neutral alcohol)	- ^b
Methanol	500 (Tak-ju, liquor, cheong-ju, beer, soju, general spirits) 1000 (Fruit wine, brandy, liquor, general spirits-agave origin, other spirits)	50-1,500 ^c (500-15,000)	Safe level: 0.1% vol. (Wine)
Fusel oils	-	< 0.5 (5) ^d (Neutral alcohol)	-

^aAldehyde concentration is expressed as acetaldehyde concentration in European commission regulation (EEC, 1989).

^bNo data

^cNeutral alcohol: 50 (500); brandy: 200 (2,000); fruit spirit: 1,000-1,500 (10,000-15,000)

^dRum: >225 (2,250); Brandy: >125 (1,250); Marc: >140 (1,400); Fruit spirit: >200 (2,000)

본 실험에서는 국내 유해물질 검출 허가 기준에 비해 낮은 기준을 적용하여 초류를 분리하고 안전한 사과증류주를 제조하고자 한다. 1차년도에 아세트알데히드의 경우 강화된 검출기준은 1/1,000인 0.7ppm이었지만 2차년도에서는 EC의 검출기준과 대비하여 700ppm에서 10ppm으로 1/70로 설정하였으며 메탄올의 경우 1차년도와 동일하게 500ppm에서 10ppm으로 1/50로 조정하였다.

표 2-33. 주류별 KFDA 검출 허가 기준 및 본 실험 초류 분리 기준

<KFDA 검출 허가 기준>

	Acetaldehyde		MeOH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	70	700	0.5	500
일반 증류주	70	700	0.5	500
브랜디	70	700	1.0	1000

<실험분획기준>

	Acetaldehyde		MeOH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식소주	1.0	10	0.01	10
일반증류주	1.0	10	0.01	10
브랜디	1.0	10	0.01	10
도입기준	국내 기준치 1/70		국내기준치 1/50	

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향조정된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 과실의 씨에서 주로 발생하는 시안화수소산 등의 전구체를 제외하면 효모에 의해 생성된 요소가 본 실험에서 중요한 전구체가 된다. 따라서 본 실험에서는 요소와 EC를 분석하고 분획별로 각 함량을 확인하여 과일브랜디의 각 국의 최소 검출기준은 400ppb이지만 차후 증류주(최소 기준 150ppb)와 블렌딩을 진행해야 하므로 EC가 본류에서 150ppb

가 되지 않는 시점을 확인하여 초류를 결정하고 후류를 끊는 시점은 각 실험군에 모두 적용할 수 있는 범위를 설정하여 동일하게 적용시켜 최종제품에서의 관능평가에 영향을 미치는 것을 최소화하였다.

표 2-34. 각 국가의 에틸카바메이트 검출 기준

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

각 증류조건 별로 최종 제품인 알코올도수 40도(v/v%)의 사과증류주를 만들 시 초기 분획에서부터 메탄올과 아세트알데히드가 10ppm이하로 형성되는 시점을 초류 분리 시점으로 확인하고 EC의 함량에 대입하였을 때 EC의 함유량이 40도(v/v%)의 제품으로 만들 시 150ppb 이상이 되는 지를 확인하였다. EC의 함유량이 증후반에 집중되어 있는 실험군, 단식-연속식 복합 증류방식(구리촉매변환장치非사용 증류방식과 동일)과 직부가열방식을 제외하고는 초류를 끊는 시점이 저(低)비점 유해물질과 EC의 함량을 모두 만족하였다. 이후 단식-연속식 복합 증류방식(구리촉매변환장치非사용 증류방식과 동일)과 직부가열방식의 후류 끊기를 알코올도수 50도(v/v%)를 지나가는 시점인 9번 분획(단식-연속식 복합 증류방식), 12번 분획(직부가열방식)으로 맞출 시 최종 제품의 EC의 함량은 150ppb 이하로 맞출 수 있었다. 따라서 전 실험군의 후류 끊기는 알코올도수 50도(v/v%)가 되는 시점으로 동일하게 맞추어 후류를 끊었고 그림 2-106.~2-108.에 각 증류조건에 따른 분획별 알코올 함량, 저(低)비점 유해물질, 유해물질 그래프에 초류와 후류 분리 시점을 표시하였다.

분류만의 알코올도수의 평균과 40도 제품으로 맞추었을 시 저(低)비점 유해물질, 유해물질(EC,요소)의 결과는 표 2-35. 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수 백분율, 유해물질 함량과 같다.

증류방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표(분류주정계수/전 분획주정계수 백분율과 최종제품에 사용한 분류 알코올함량)를 확인할 때 단식증류방식은 두 가지 지표 모두 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 낮은 수치를 기록하여 경제성 부분에서는 단식-연속식 복합 증류방식이 우수한 것으로 평가되었다. 이는 농축탑에 의한 알코올 농축에 따른 것으로 여겨지며 단식-연속식 복합 증류방식은 단식 증류방식이 2차 증류까지 진행하는

것에 비해 1차 증류만으로도 최종 제품을 만들 수 있다는 점에서 경제성이 우수하다고 할 수 있다. 저(低)비점 유해물질의 경우 큰 차이는 나지 않았으나 단식 증류방식은 아세트알데히드가 다소 낮게 측정되었으며 메탄올의 경우 단식-연속식 복합 증류방식이 단식 증류방식에 비해 다소 낮게 측정되었다. 최종 제품에서의 유해물질(EC, 요소)은 모두 단식증류방식이 현저히 낮게 검출되었는데 이는 단식-연속식 복합 증류방식이 농축탑의 가열되는 정도가 단식 증류방식에 비해 높은 온도로 증류가 진행되었으며 유출되는 유해물질에 비해 구리 흡착면이 부족한 것을 사유로 들 수 있다.

증류기 재질에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 스테인리스 증류기가 동증류기에 비해 높은 경제성을 확인할 수 있었으나 이는 장해판에 의하여 발생된 차이라고 할 수 있다. 저(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리에 의해 큰 차이가 나지는 않지만 스테인리스 증류기가 동증류기에 비해 메탄올과 아세트알데히드 모두 다소 낮게 측정되었다. EC와 요소의 경우 동증류기방식보다 스테인리스 증류기방식이 약 20~30배가량 높은 함량이 측정되었으며 이는 재질에 의한 흡착을 여실히 보여주는 내용으로 볼 수 있다.

가열방식에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 두 개의 방식 모두 2차 증류까지 진행해야만 하는 단점이 있으며 직부가열이 간접가열에 비해 다소 높은 경제성을 보여주고 있다. 저(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리에 의해 큰 차이는 나지 않지만 직부가열방식이 다소 적은 메탄올과 아세트알데히드 함량이 측정되었다. 요소와 EC의 경우 모두 간접가열방식이 적은 함량을 나타냈으며 특히 EC의 경우 직부가열방식이 간접가열 방식에 비해 현저히 높은 함량이 측정되었다. 이는 간접가열방식에 비해 가열 온도가 높은 직부가열방식이 끓는점이 높은 EC를 유출시키기 쉽기 때문으로 사료된다.

구리촉매변환장치의 사용 여부에 따라 최종 제품을 비교할 시 경제성을 확인할 수 있는 지표에서는 구리촉매변환장치를 사용한 증류방식이 최종제품에 사용한 본류의 알코올 함량은 경제성이 낮았지만 주정계수 백분율에서는 경제성이 높은 것으로 확인되었으므로 추가적으로 최종 제품의 생성량 비교 시 구리촉매변환장치를 사용한 증류방식이 더 많은 알코올도수 40도(v.v%)의 사과증류주를 제조할 수 있으므로 구리촉매변환장치 사용방식이 다소 경제성이 높다고 할 수 있다. 저(低)비점 유해물질의 경우 초류 분리에 의해 크게 차이가 나지는 않지만 알데히드는 구리촉매변환장치를 사용한 증류방식이 다소 낮게 측정되었고 메탄올의 경우에는 구리촉매변환장치를 사용하지 않은 증류방식이 다소 낮게 측정되었다. 요소와 EC의 경우 모두 구리촉매변환장치를 사용한 증류방식이 현저히 낮게 측정되었는데 이는 구리촉매변환장치가 EC를 흡착하는 구리 흡착 면을 증가시켜 EC를 저감시킨 것으로 사료된다.

표 2-35. 증류조건별 최종제품의 알코올함량(제품 전 본류) 및 주정계수백분율, 유해물질 함량

	알코올함량 (v/v%)	본류주정계수 전분획주정계수 (%)	Acetaldehyde (ppm)	MeoH (ppm)	Urea (ppb)	EC (ppb)
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	54.99	33.18%	8.22	9.84	0.64	1.57
단식-연속식 복합 증류방식 (구리축매변환장치 사용방식)	69.64	49.91%	9.55	8.25	181.58	138.65
스테인리스증류기방식	67.85	82.95%	4.50	9.28	21.69	40.37
직부가열방식	57.92	47.80%	7.59	6.89	7.58	139.68
구리축매변환장치 사용방식	64.01	53.69%	7.78	9.92	20.01	28.21

그림 2-106. 증류조건별 분획의 알코올함량 그래프에서 초류와 후류 끊기

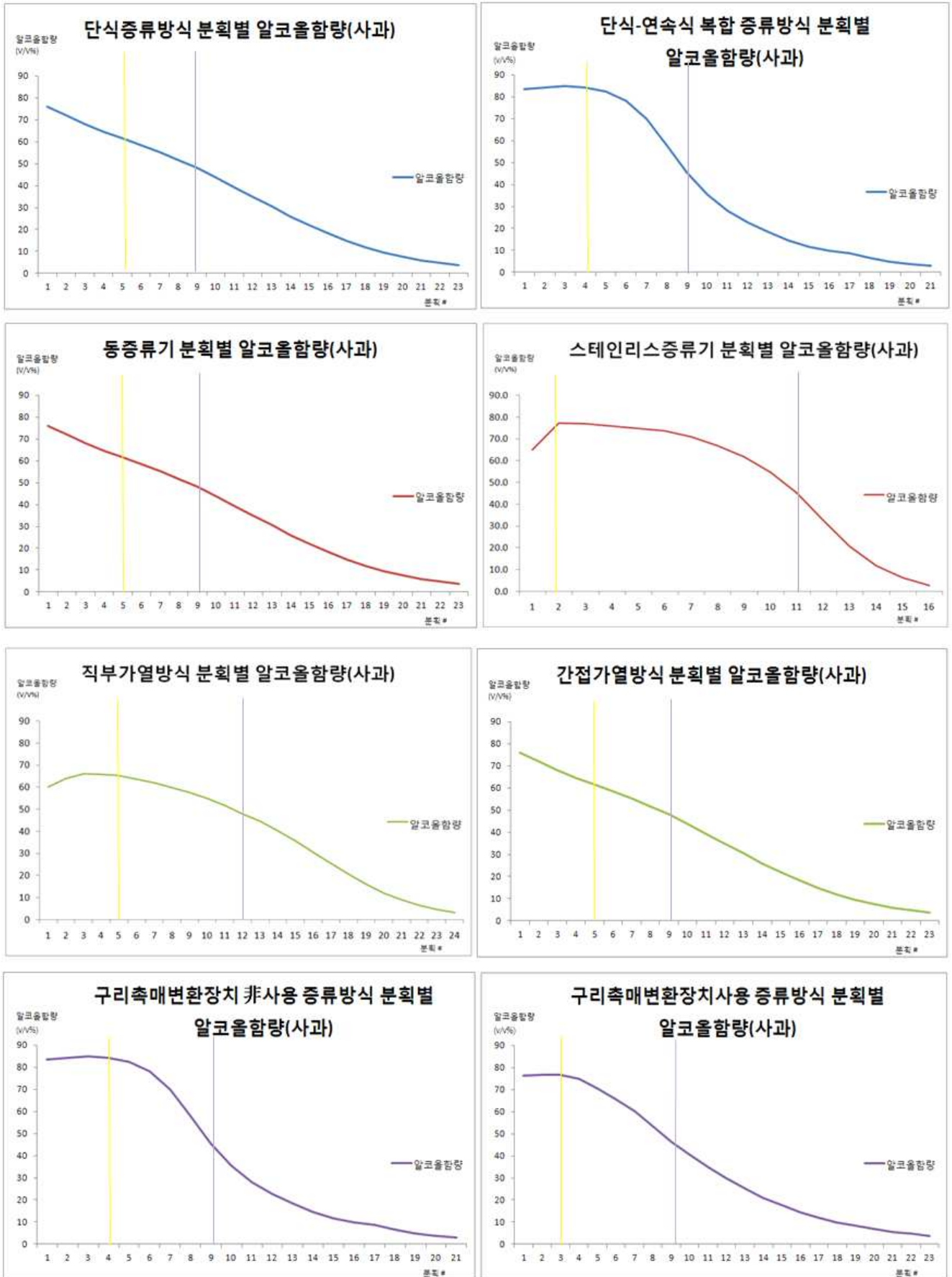


그림 2-107. 증류조건별 분획의 저(低)비점 유해물질 함량 그래프에서 초류와 후류 끊기

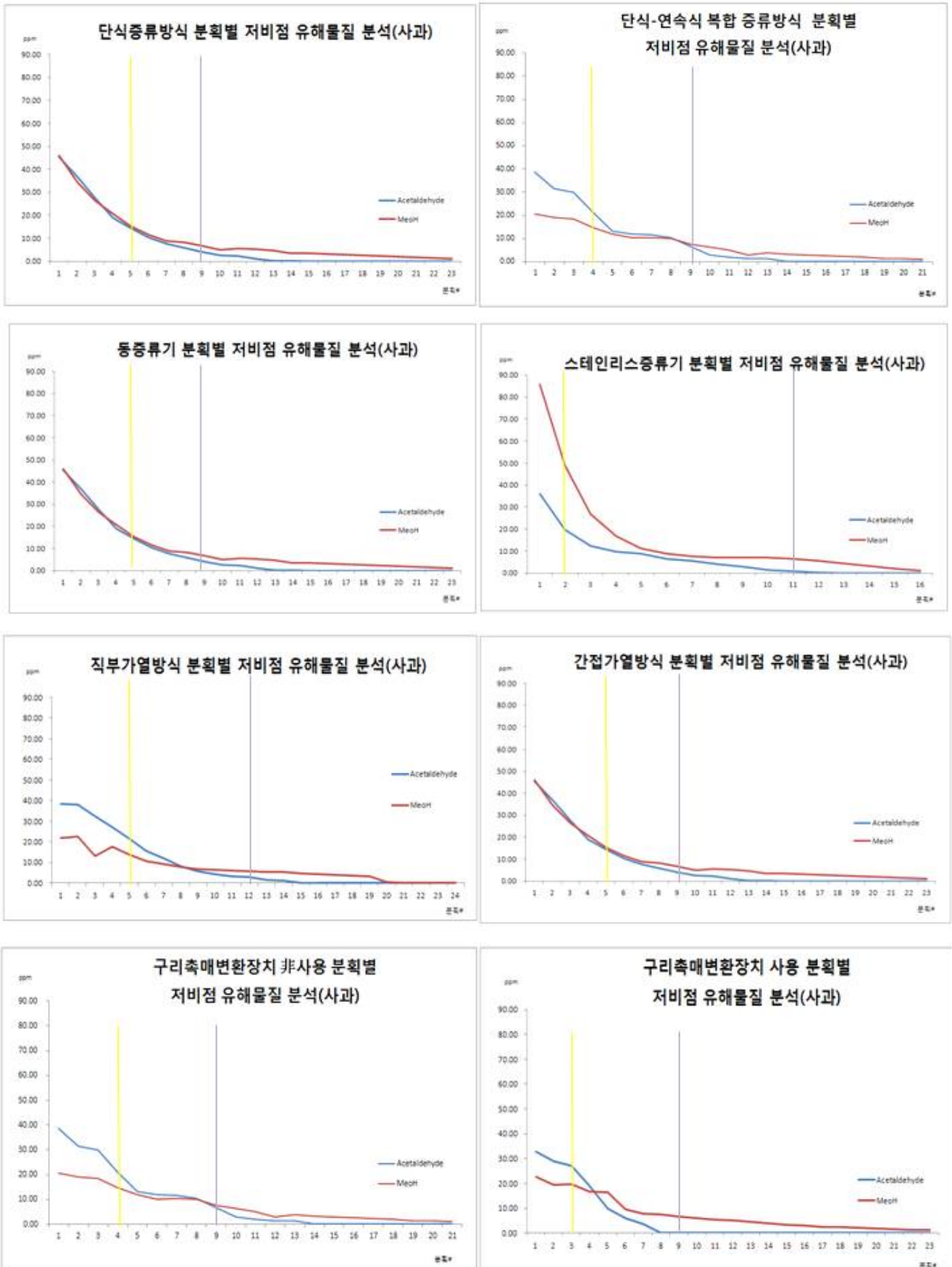
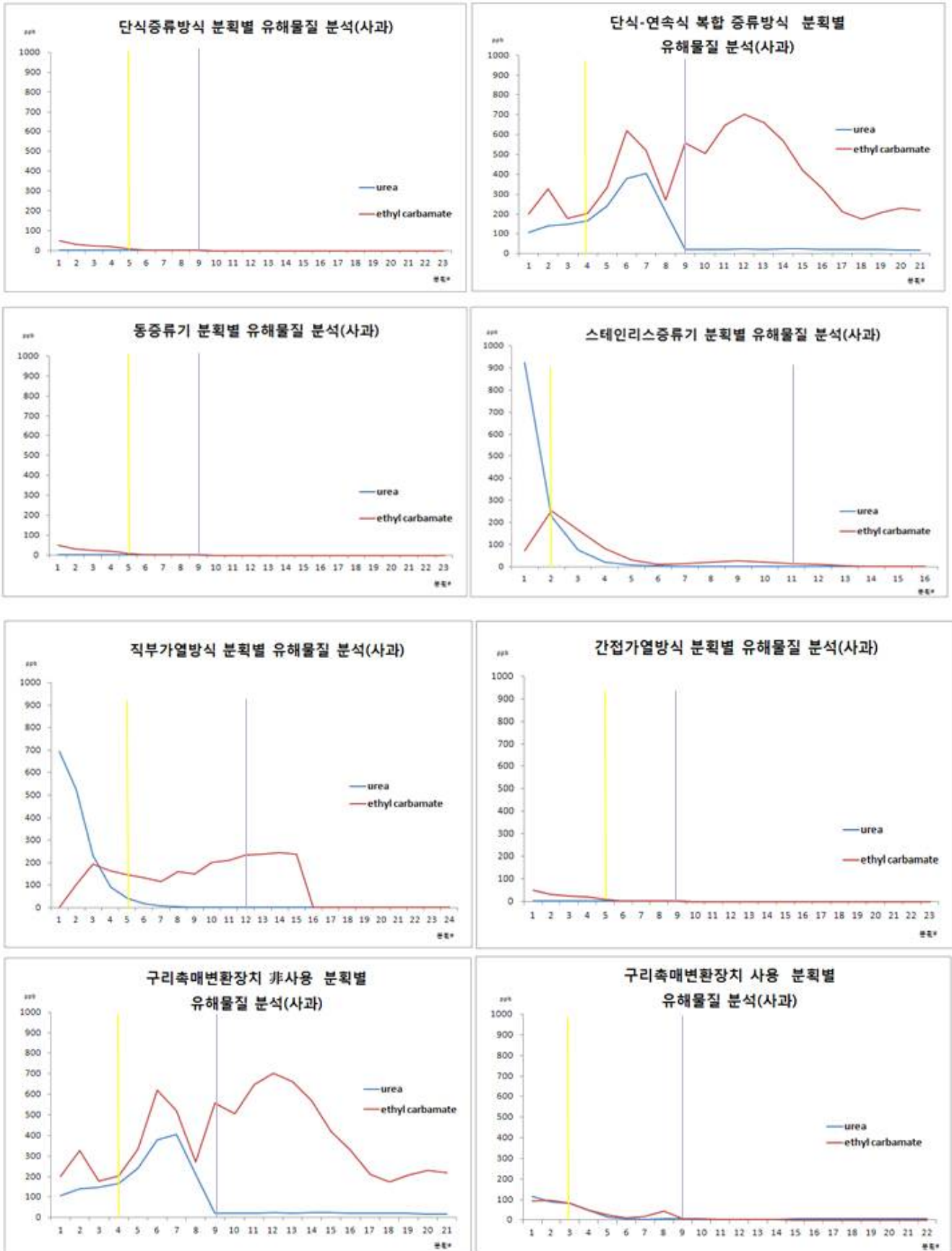


그림 2-108. 증류조건별 분획의 유해물질(EC,요소) 함량 그래프에서 초류와 후류 끊기



마. 증류 조건별 최종제품의 관능평가 및 향기성분, 황화합물 분석

(1). 관능평가

안전한 미숙성과실(사과)증류주 제조 기술 개발의 증류조건을 선정하고자 각 증류조건에 따른 초류와 후류를 분리한 분류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 관능평가를 진행하였다. 관능평가의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

5가지 증류 방식으로 증류된 사과 증류주를 39명의 패널이 기호도 평가에 참여하였다. 패널은 척도 사용 및 시료의 평가에 대한 간단한 교육을 받고 평가에 참여하였다. 패널은 9점 기호도 척도를 사용하였으며, 척도는 '1=대단히싫다, 2=매우싫다, 3=보통싫다, 4=약간싫다, 5=보통이다, 6=약간좋다, 7=보통좋다, 8=매우좋다, 9=대단히좋다'로 표기되어 패널이 시료를 평가하는데 도움을 주었다. 패널은 전반적 품질, 향기호도, 향미(풍미)기호도, 목넘김 기호도에 대해서 평가를 하였다. 또한, 패널은 just-about-right(JAR)척도를 이용하여 사과향 강도, 알코올향 강도에 대해서 평가를 하였다. JAR척도는 '- 2=매우 약하다, -1=약하다, 0=적당하다, 1=강하다, 2=매우 강하다'로 표기되어 있었다. 시료는 알코올 함량이 20%(v/v)가 되도록 정수된 물을 이용하여 희석하여 평가를 진행하였다. 60 mL 흰색의 종이컵에 약 12 mL의 시료가 제시되었다. 시료의 제시 순서는 시료간의 carry-over효과를 최소화 하고자 mutually orthogonal latin square (MOLS) 샘플 제시 방법을 이용하였다. 패널은 형광등 아래에서 4인용 테이블에 앉아서 평가를 진행하였으며, 평가실의 온도는 약 24℃로 유지되었다.

<통계분석>

소비자 기호도 조사 결과는 '시료'와 '패널'을 독립변수로 하여 분산분석(2-way analysis of variance)를 실시하였다. 군집분석(Agglomerative hierarchical clustering analysis, AHC)을 통하여 유사한 기호도 경향성을 가진 소비자를 묶어 군집을 만들었다.

<결과 및 고찰>

증류 조건 별 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어진 사과 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과는 표 2-36과 같다. 구리촉매변환장치 사용방식이 전반기호도에서 4.79점으로 가장 높았으며, 향기호도, 향미기호도 및 목넘김 기호도에서도 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 평가되었다. 직부가열방식이 전반기호도가 4.31로 2위로 나타났다. 단식증류방식의 전반기호도는 3.21점으로 가장 낮았으며, 최고점을 받은 구리촉매변환장치 사용방식과 비교해서 유의적인 차이가 발견되었다(p<0.05). 다른 항목에 있어서도 단식증류방식이 가장 낮은 기호도를 가지는 것으로 분석되었다. 사과향은 전반적으로 낮은 강도를 가지는 것으로 평가되었으나, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 사용방식이 0점에 가까워 상대적으로 사과향의 강도가 높은 것으로 사료된다. 알코올향의 강도는 1내외로 평가되어, 패널이 사과 증류주의 알코올향을 전반적으로 강하다고 인지하는 것으로 나타났다.

표 2-36. 사과 증류주의 소비자 기호도 및 강도 평가 결과¹

샘플	기호도				강도	
	전반	향	향미	목넘김	사과향	알코올향
직부가열방식	4.31ab	4.46a	4.10a	4.26a	-0.51ab	0.95
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	3.21c	3.67b	3.56b	3.62b	-0.69b	1.08
구리촉매변환장치 사용방식	4.79a	4.87a	4.38a	4.41a	-0.38ab	1.15
단식-연속식복합증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	4.10b	4.56a	4.31a	4.15a	-0.64b	1.03
스테인리스 증류기방식	3.95b	4.74a	4.38a	4.08a	-0.26a	0.97

¹같은 열 내의 다른 알파벳은 Fishier's least significant difference test에 의해서 p=0.05수준에서 통계적으로 차이가 있음을 나타냄.

군집분석을 통해서 전체 소비자를 비슷한 기호도 경향성이 있는 군집으로 묶었다(표 2-37). 군집1은 35명의 소비자로 이루어졌으며, 군집2는 4명의 소비자로 구성되었다. 이는 소비자의 기호도 경향성이 군집1로 몰리는 경향성을 보여서, 군집분석의 결과는 전체 소비자 결과와 큰 차이가 없다고 사료된다.

표 2-37. 사과 증류주의 소비자 전반기호도 군집분석 결과

Class	n	직부 가열방식	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	구리촉매변환 장치사용방식	단식-연속식복합 증류방식 (구리촉매변환장치 非사용방식)	스테인리스 증류기방식
1	35	4.31	3.06	4.97	4.09	4.03
2	4	4.25	4.50	3.25	4.25	3.25

소비자 기호도 조사를 바탕으로 사과 증류주의 선호성을 판단할 때, 구리촉매변환장치 사용방식이 가장 높은 기호성을 가지는 것으로 나타났으며, 직부가열방식이 두 번째 선호도를 가지는 것으로 분석되었다.

(2). 향기성분 분석

안전한 미숙성과실(사과) 증류주 제조 기술 개발에서 각 증류조건외 향기성분을 확인하고자 초류와 후류를 분리한 본류로 알코올도수 40도(v/v%)로 맞추어 향기성분 분석을 진행하였다. 향기성분 분석의 대상은 총 8가지 실험군 중 동일한 증류방식인 단식증류방식과 간접가열방식, 그리고 동증류기 방식은 하나의 실험군으로 진행하였으며, 단식-연속식 복합 증류방식과 구리촉매변환장치 非사용방식 또한 하나의 실험군으로 관능평가를 실시하였다. 총 5가지 실험군으로 함축하여 그 결과를 비교 평가하였다.

<실험방법>

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 증류조건별 증류주 5 ml을 20 ml SPME용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26℃에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 µm Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인에는 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

<결과 및 고찰>

미숙성과실(사과) 증류주의 증류조건에 따른 향기성분 분석 결과, 에탄올을 제외한 주요 향기성분으로는 알데히드류인 acetaldehyde 및 acetaldehyde diethylacetal이 검출되었으며, 알코올류인 propanol, isoButanol 및 isoamylalcohol, hexanol이 검출되었다, 에스테르성분들은 지방산과 알코올의 반응에 의해서 생성된 에스테르인 Ethyl caprate, ethyl laurate, ethyl myristate, ethyl palmitate, Ethyl palmitoleate, ethyl oleate 및 ethyl linoleate가 검출되었다. 증류기 재질을 같이 하고 가열 방식에 따른 휘발성 향기 화합물을 비교한 결과 직부가열방식의 증류주의 경우 휘발성 에탄올의 함량 및 고급 알코올의 함량은 감소하였으나, 에스테르계열의 향기 성분은 증가하였다. 이는 직부가열방식이 원주에 함유되어 있는 지방산들과 에탄올들과의 에스테르화 반응을 촉진시킨 결과로 생각되어진다.

증류기 재질을 달리한 결과 스테인리스 증류기를 이용하여 증류한 증류주의 향기성분은 휘발성 에탄올 및 고급알코올 함량은 감소하였으며, 과일 향 및 꿀 향기를 나타내는 지방산 에틸에스테르의 함량은 증가됨을 알 수 있었다. 또한 증류 방식 및 구리촉매변환장치 사용여부에 따른 향기성분의 분석결과, 증류방식에 따른 향기성분의 변화는 단식-연속식 복합증류방식으로 증류한 경우 휘발성 에탄올 40% 이상 감소하였으며, 고급 알코올류도 감소하였다. 효모의 발효에 의해서 생성된 지방산과 알코올이 증류과정 중에서 에스테르 결합을 통하여 생성되어지는 지방산 에스테르이 탄소수가 작은 저급 지방산 경우에는 감소되는 경향을 나타내었으며, 고급 지방산의 경우 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 단식-연속식 복합증류방식으로 증류 시 증류시간이 경과함에 따라 끓는점이 낮은 저급지방산의 경우 휘발되어지기 쉬우나, 고급 지방산의 경우 상대적으로 높은 끓는점으로 인하여 증류 시 휘발 손실이 적기 때문에 상대적으로 고급 지방산 에스테르 화합물이 많이 생성되어진 것으로 판단된다. 구리촉매변환장치를 사용한 결과 촉매를 사용하지 않은 단식증류 방식의 경우보다는 알코올성 향기성분은 감소하였으나 단식-연속식 복합증류방식보다는 높았다. 지방산에스테르 화합물은 단식증류방식보다 높았으나 단식-연속식 복합증류방식보다는 낮게 측정되었다. 이는 구리촉매변환장치를 이용하여 증류할 경우 구리 촉매 작용에 의하여 에스테르화 반응이 촉진 되어진 결과로 사료된다.

표 2-38. 미숙성과실(사과) 증류주의 증류 조건별 증류주의 향기성분 분석(%)

	증류조건				
	직부가열 방식	단식증류 방식	구리촉매 변환장치 사용방식	단식-연속식 복합증류방식	스테인리스 증류기방식
acetaldehyde	0.0639	0.089	0.1195	0.0694	0.062
acetaldehyde diethylacetal	1.4145	1.2312	1.6602	0.9611	0.2422
Ethanol	51.2942	82.9276	67.9359	46.0218	83.459
Propanol	0.0822	0.1435	0.1306	0.0939	0.1247
isoButanol	0.5123	0.7861	0.6719	0.4794	0.6479
3-methyl-1-butananol	0.1615	0.2711	0.0238	0.0175	0.2602
isoAmyalcohol	4.881	8.2908	6.5128	5.222	0.2602
Hexanol	0.1168	0.1905	0.1407	0.1276	0.1952
Ethyl Caprate	0.6659	0.5603	1.1033	2.0106	0.5129
Ehtyl Laurate	0.8042	0.3299	0.6752	1.8192	0.5066
Ethyl Myristate	4.6084	0.2389	0.2449	1.5878	0.1063
Ethyl Palmitate	23.3327	1.8071	4.4767	10.9047	0.7398
Ethyl Oleate	1.3961		0.7843	0.4278	
Ethyl Linoleate	2.0376	2.0376	0.7193	0.3345	

(3). 증류기 재질에 따른 황화합물 비교

과실 증류주의 원료인 wine에 함유되어 있는 황화합물들은 끓는점이 낮은 휘발성이 강한 황화합물과 끓는점이 높은 휘발성 황화합물로 나누어 질 수 있다. 휘발성이 강한 황화합물인 hydrogen sulfide, ethanethiol과 methanethiol은 환원된 와인에 존재하며 인식 한계점보다 높은 농도로 존재할 때 계란 썩은 냄새, 마늘, 양파 등의 냄새로 감지된다. 이러한 황 화합물들은 끓는점이 낮아서 과실 증류주의 와인에는 상당량이 존재하나, 증류과정을 거치면서 휘발이 되어 검출한계 이하의 양을 나타내게 된다. 그러나 증류 시 가열 조건 등에 의해서 hydrogen sulfide, ethanethiol 및 methanethiol과 같은 끓는점이 낮은 황화합물들이 반응하여 disulfide 계열의 끓는점이 높은 황화합물로 변환되어질 수 있다. 또한, 문헌에 따르면 휘발성 황화합물의 경우 동(銅)재질에 의한 흡착이 가능한 것으로 나와 있으므로 본 실험에서 제조된 동(銅)증류기방식의 미숙성사과증류주와 스테인리스 증류기방식의 미숙성사과증류주를 실험군으로 휘발성 황화합물의 대표적인 7가지 항목을 분석하여 비교하고자 한다.

표 2-39. 주류의 대표적인 휘발성 황화합물 성분

	compound	structure	odour	range(ppb)
1	hydrogen sulfide	H ₂ S	rotten egg, decaying seaweed	0.9~1.5
2	diethyl disulfide	CH ₃ CH ₂ SSCH ₂ CH ₃	bad smelling, onion	3.6~4.3
3	diethyl sulfide	CH ₃ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	garlic	0.9~1.3
4	dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	sulfurous, sickly, onion	9.8~10.2
5	dimethyl sulfide	CH ₃ SCH ₃	odourless	17~25
6	ethyl mercaptan	CH ₃ CH ₂ SH	onion, rubber, fecal	1.1~1.8
7	methyl mercaptan	CH ₃ SH	putrefaction, cooked cabbage	1.5

<실험방법>

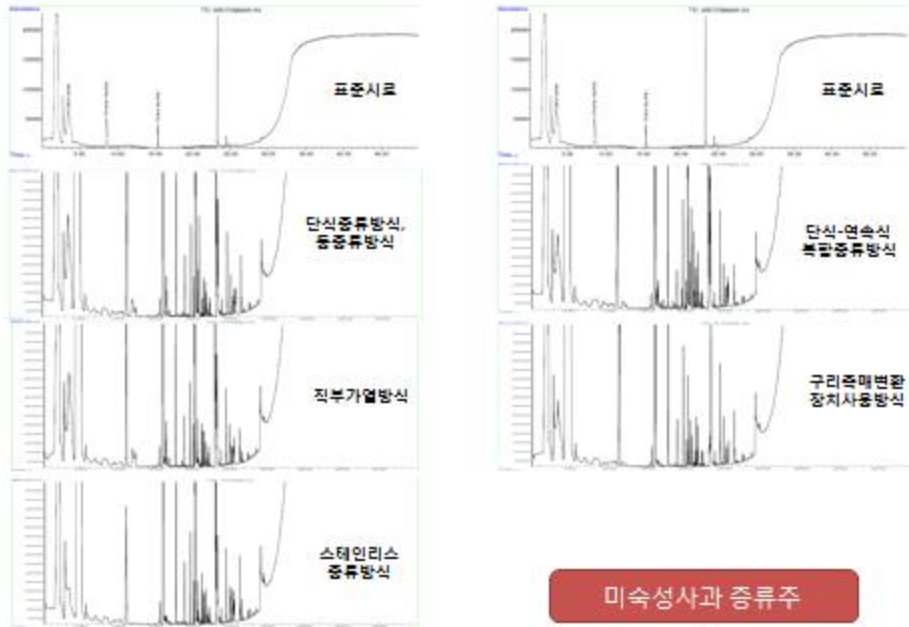
증류방법에 따른 황 화합물의 함량을 알아보하고자 가스크로마토그래피(7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 flame ionization detector를 이용하여 증류주 내의 황화합물 분석을 실시하였다. 시료는 0.45 µm membrane filter와 0.22 µm membrane filter를 사용하여 여과하였다. 시료(1 µL)는 가스크로마토그래피에 주입되었으며, CP-SIL 5 CB column (fused [silica](#), 50 m × 0.32 mm id, 5 µm film thickness; Chrompack, Sweden)이 사용되었다. Injector와 detector의 온도는 200℃이었으며, oven temperature는 45℃로 1분간 유지한 후 130℃에 도달 할 때 까지 7℃/min의 비율로 온도를 높였으며, 130℃에 도달 후 1분간 유지하였다. 운반가스로는 헬륨가스(1 mL/min)를 사용하였다.

<실험 결과>

5가지 증류 방법에 대한 쌀 증류주의 황화합물 분석에서 R.T. 33551, 8.560, 15.558에서 나타나는 황화합물의 피크는 기기 측정 오차 아래로 검출되었다. 따라서, 미숙성 사과 증류주의

제조에 있어서 황화합물의 함량이 문제가 되지 않는다고 판단된다.

그림 2-109. 증류방식 별 황화합물 분석 결과



바. 미숙성과실(사과)을 이용한 발효 술덧의 증류조건 선정

증류조건에 따른 분석결과와 rank를 통하여 항목에 가중치를 주어 <안전한 미숙성과실(사과) 증류주 제조 기술 개발>에 사용할 증류 조건을 선발하고자 한다.

증류 조건 선발을 위한 기준 항목은 증류주(40도 알코올분(v/v%))에서 분석한 유해물질인 에틸카바메이트와 그 전구체인 요소의 검출량을 바탕으로 한 순위, 증류주에서 분석한 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드의 순위, 증류주 제조 시 본류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위, 증류주의 관능평가 결과 순위까지 총 5가지로 선정하였다.

전체 항목의 가중치는 백분율로 그 중요도를 정하였으며, <안전한 미숙성과실(사과) 증류주 제조 기술 개발>에서 가장 중요한 항목인 유해물질 EC의 검출량 순위가 30%, 그 전구체인 요소 검출 순위가 20%, 1차년도의 기준치에서 상향조정되어 검출될 수 있는 저(低)비점 유해물질인 메탄올과 아세트알데히드 검출 순위가 각각 15%, 증류주에 효율 및 경제성 여부인 본류의 주정계수/전체 분획의 주정계수 백분율 순위가 10%, 각 증류조건별 본류의 분리가 다르므로 관능평가의 차이가 발생할 것으로 여겨지므로 관능평가 순위에 10%의 가중치를 두었다. 가중치의 합은 각 항목의 순위에 가중치를 곱하여 합계한 것을 나타내며, 가중치의 합이 가장 적은 것을 최종 증류 조건으로 선정하였다. 실험군 별 각 항목의 가중치의 합을 바탕으로 순위를 결정한 것은 표 2-43. 미숙성과실(사과)을 사용한 술덧의 증류조건 선정 평가 결과에 나타나 있다.

증류방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 단식 증류방식이 단식-연속식 복합 증류방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 단식-연속식 복합 증류방식의 최종 제품이 단식 증류방식의 최종제품에 비해 EC와 요소 함량이 높았기 때문으로 보여 진다.

증류기 재질에 따른 선정 평가를 볼 때, 동증류기 방식이 스테인리스 증류기방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 스테인리스 증류기방식의 증류주가 EC 함유량이 동증류기 방식의 증류주에 비해 높은 함량이 검출되었기 때문이며, 스테인리스 증류기방식은 동증류기방식에 비해 경제성이 높고 초류분리량이 적었기 때문에 고급알코올 및 향기성분이 높아 관능평가에서 더 높은 점수를 받을 수 있었지만 유해물질의 함량에 의해 낮은 평가를 받게 되었다.

가열 방식에 따른 선정 평가를 볼 때, 간접가열 방식이 직부가열 방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 직부가열방식에서 EC의 검출이 초기 분획에 집중되어 있지 않고 분획이 진행됨에 따라 중반부 분획으로 갈수록 EC의 흡착면이 감소하여 EC의 함량이 증가하였기 때문이다.

구리 촉매 변환장치 사용 여부에 따른 선정 평가를 볼 때, 구리 촉매 변환장치 사용방식이 구리 촉매 변환장치 非사용 방식에 비해 높은 평가를 받았는데 이는 EC의 함량이 확연히 저감되었기 때문이며 그 외의 모든 항목에서 전체적으로 높은 평가를 받았기 때문이다.

EC 검출량의 순위에 의한 영향이 가장 크나 다른 항목에 의한 평가도 진행이 되어야 하므로 가중치를 적용시켰으며, 그 결과 <안전한 미숙성과실(사과)증류주 제조 기술 개발>의 선정된 증류 조건은 “단식증류방식”과 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”이다. 하지만 경제성을 고려해 볼 때 본류 함량이 많고 1차 증류로 최종 제품을 만들 수 있는 구리촉매변환장치 사용방식이 단식증류방식에 비해 효율적이므로 최종적으로 선정한 증류 조건은 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”이다.

종합하여 보면 선정된 “구리촉매변환장치를 사용한 증류방식”의 증류방식은 단식-연속식 복합 증류방식이며, 증류기의 재질은 동(銅)증류기로써 가열방식은 간접가열방식이다. 단식-연

속식 복합 증류방식과 동일한 형태이나 EC를 저감시키는 구리촉매변환장치를 사용하여 EC의 저감에 효과적인 것이 선정된 주요 요인으로 보여 진다.

표 2-40. 증류조건별 알코올함량(제품 전 분류) 및 주정계수백분율의 결과와 순위

	알코올함량 (v/v%)	순위		본류주정계수 전분획주정계수 (%)	순위
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 사용방식)	69.64	1	스테인리스증류기방식	82.95%	1
스테인리스증류기방식	67.85	2	구리촉매변환장치 사용방식	53.69%	2
구리촉매변환장치 사용방식	64.01	3	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 사용방식)	49.91%	3
직부가열방식	57.92	4	직부가열방식	47.80%	4
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	54.99	5	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	33.18%	5

표 2-41. 증류조건별 저(低)비점 유해물질의 결과와 순위

	Acetaldehyde (ppm)	순위		MeoH (ppm)	순위
스테인리스증류기방식	4.50	1	직부가열방식	6.89	1
직부가열방식	7.59	2	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 사용방식)	8.25	2
구리촉매변환장치 사용방식	7.78	3	스테인리스증류기방식	9.28	3
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	8.22	4	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	9.84	4
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치 사용방식)	9.55	5	구리촉매변환장치 사용방식	9.92	5

표 2-42. 증류조건별 유해물질(Urea, EC)의 결과와 순위

	Urea (ppb)	순위		EC (ppb)	순위
단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	0.64	1	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	1.57	1
직부가열방식	7.58	2	구리촉매변환장치 사용방식	28.21	2
구리촉매변환장치 사용방식	20.01	3	스테인리스증류기방식	40.37	3
스테인리스증류기방식	21.69	4	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	138.65	4
단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	181.58	5	직부가열방식	139.68	5

표 2-43 미숙성과실(사과)을 사용한 술덧의 증류조건 선정 평가 결과

	단식증류방식 (간접가열방식) (동증류기방식)	단식-연속식 복합 증류방식 (구리촉매변환장치非사용방식)	스테인리스증류기방식	직부가열방식	구리촉매변환장치 사용방식	가중치
EC	1	4	3	5	2	30%
Urea	1	5	4	2	3	20%
MeOH (ppm)	4	2	3	1	5	15%
Acetaldehyde (ppm)	4	5	1	2	3	15%
분류주정계수 전분획주정계수	5	3	1	4	2	10%
관능평가	5	3	4	2	1	10%
가중치합계	2.7	3.85	2.8	2.95	2.7	100%
종합점수	1	5	3	4	1	

사. 미숙성 사과를 이용한 증류주의 숙성조건 선정(3차년도 수행 예정)

<안전한 미숙성사과증류주 제조 기술 개발>에 선정된 증류 조건인 “구리축매변환장치 사용 방식”을 적용하여 대량 담금을 진행한 발효 술덧의 증류를 진행하고 초류와 후류를 분리한 본류만으로 식품 등의 용기·용기에 적합한 무(無)유약항아리와 오크통에 숙성을 진행시켰다. 숙성 전 샘플은 확보하였으며, 저장 유통 중의 온도와 빛의 노출에 의한 유해물질을 기간별로 확인하고 숙성 시 5개월 단위로 숙성의 정도와 유해물질 등을 확인하여 10개월 이후 각각의 숙성 제품의 블렌딩을 진행, 단기 숙성 제품의 가능성을 확인하고자 한다. 또한 2차년도까지 선정된 제조방법은 3차년도에 기술이전이나 자체 사업을 통하여 “안전한 미숙성사과증류주”를 제조하고자 한다.

그림 2-110. 무유약 항아리에 숙성을 진행한 <안전한 미숙성사과증류주>



그림 2-111. 오크통에 숙성을 진행한 <안전한 미숙성사과증류주>



4.. 증류주 주요 향미관능특성의 도출 및 표준시료 개발

1차년도에는 <과실 증류주 평가를 위한 전문묘사분석패널 양성>을 위하여 과실증류주 제품의 맛과 향에 대한 관능특성 묘사, 강도 측정 등을 확인하였으며, 이를 수행하는 패널의 재현성, 반복성을 높이기 위한 패널 양성 표준 프로토콜 및 프로세스를 개발하였다. 다양한 스크리닝 테스트 및 묘사분석의 신뢰도 분석, 기본 맛 평가 등을 통하여 10명을 선정하여 패널 교육 및 양성을 위해 주 2회씩 교육을 실시하였다. 또한, 증류주 제품의 객관적 품질 정량화를 위하여 과실증류주 평가 맞춤형 시간-강도 평가 법을 개발하였다. 최종적으로 제품 평가 시 발생할 수 있는 여러 bias들을 최소화하기 위한 평가 프로세스를 개발하였다.

2차년도에서는 1차년도에서 양성된 묘사분석 패널과 패널 양성 표준 프로세스에 기반하여 본 연구과제에서 개발되는 과실 증류주의 핵심 관능지표 도출을 위한 Lexicon을 개발하고 각 특성에 대한 표준시료를 개발한다. 양성된 전문패널에 의하여 개발 제품의 품질 최적화 및 품질 정량화를 수행하고자 한다.

연구개발 목표

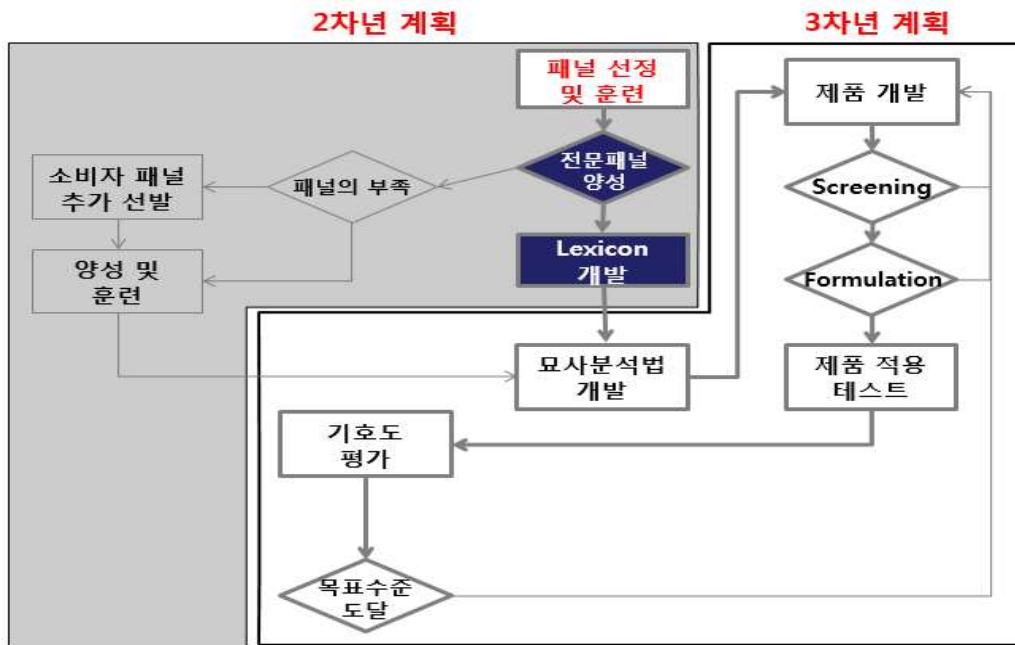
-1차년에 양성 된 묘사분석 전문패널을 통하여 증류주의 주요 향미 lexicon과 표준시료를 개발하여 관능특성의 정량화 성립.

- 증류주 주요 향미 관능특성 도출(lexicon 개발)
- 증류주 관능특성 별 표준시료 개발
- 증류주 향미성분에 영향을 주는 주요 인자 발굴
- 증류 조건 및 숙성조건의 최적화를 위한 관능평가

증류주 제품의 맛과 향에 대한 관능성분 묘사, 강도 측정 등을 수행하는 고도로 훈련된 관능평가 패널을 2차 양성하기 위하여 과제 2차년에 다음과 같은 세부 절차 및 일정으로 패널 양성을 진행하였고 3차년에는 묘사분석과 소비자기도 평가도 진행할 예정임.

가. 세부절차 및 일정

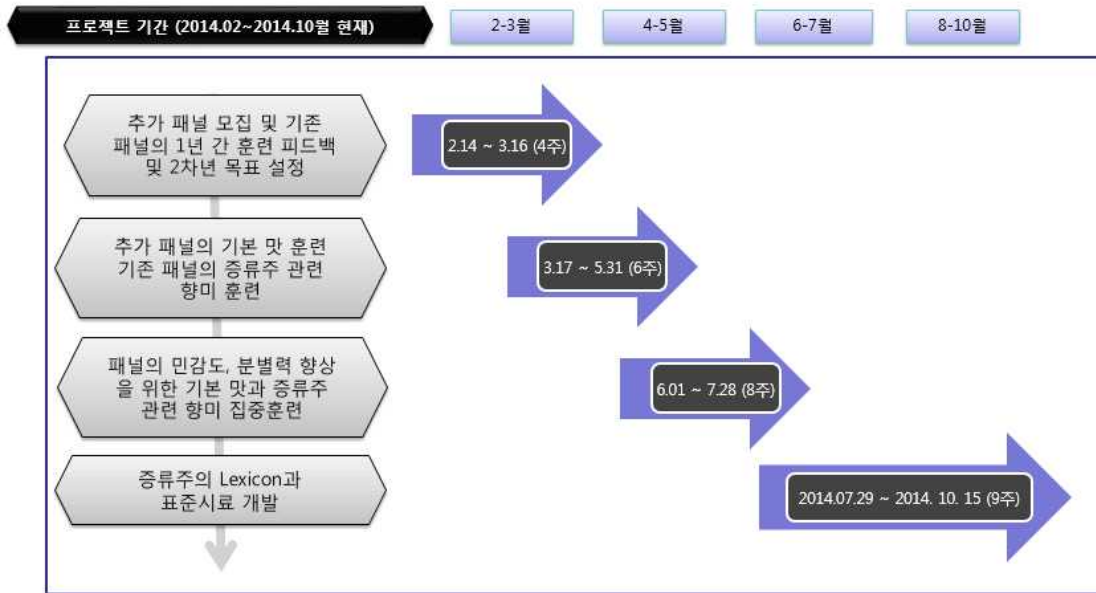
(1). 패널 훈련 세부절차



1차년에 양성된 전문패널 중 졸업 및 군입대로 인한 일부 패널의 부재에 따른 증류주류 제품의 묘사분석 패널을 일부 추가양성이 필요하여 맛에 민감한 20-30대 남녀 30명을 대상으로 다섯 가지 맛에 대한 민감도와 향기에 대한 민감도 테스트를 진행하여 10여명을 일차적으로 선발 후 국내 시판중인 증류식 소주 및 위스키 밑 브랜드를 이용하여 증류주의 맛과 향에 민감한 4명을 추가 선발하여 패널 교육 및 양성을 위해 주 2회씩 교육을 실시함.

항목	일반 패널	묘사분석 패널
① 측정 시스템 (패널)의 신뢰도	<ul style="list-style-type: none"> 신뢰도에 대한 한계 묘사분석력 반복성 	<ul style="list-style-type: none"> 신뢰도 높은 패널 양성 묘사분석력: 묘사력 70% 이상 반복성: 15점 척도에서 정답 =1 내
② 증류주 품질 평가 방법	<ul style="list-style-type: none"> 정성적 방법 사용 차이의 유무만을 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 정량적 방법 사용 품질 차이의 규명 및 강도 평가
③ 품질의 객관화/정량화	<ul style="list-style-type: none"> 객관화, 정량화의 어려움 품질 관리 한계 제품 최적화 한계 	<ul style="list-style-type: none"> 객관화, 정량화 가능 체계적 품질 관리 가능 소비자 조사와 연계 제품 최적화에 사용
④ 관능평가 bias	<ul style="list-style-type: none"> bias 조절 어려움 관능 피로도, 맛의 둔화, 강화, 시너지 등 	<ul style="list-style-type: none"> 훈련에 의한 Bias, 관능피로도 최소화 신뢰성 있는 결과 도출
⑤ Lexicon 개발	<ul style="list-style-type: none"> Lexicon 개발 한계 	<ul style="list-style-type: none"> Lexicon 개발 품질관리, 제품 개선/개발에 사용

(2). 패널 양성 교육 일정



나. 패널 양성

(1). 증류주 주요 향미 관능특성 도출을 위한 패널의 안정성 확립

선정된 묘사분석 패널의 증류주에 대한 묘사 및 표준시료 개발 전 패널의 민감도 및 재현성 향상을 확인하기 위하여 기본 맛 스크리닝 테스트를 진행 후 2달 간 기본 맛 훈련을 실시한 후 재평가를 수행함.

그림 2-112. 짠맛, 단맛, 신맛 테스트 결과(2014/6/02 - 훈련 전)

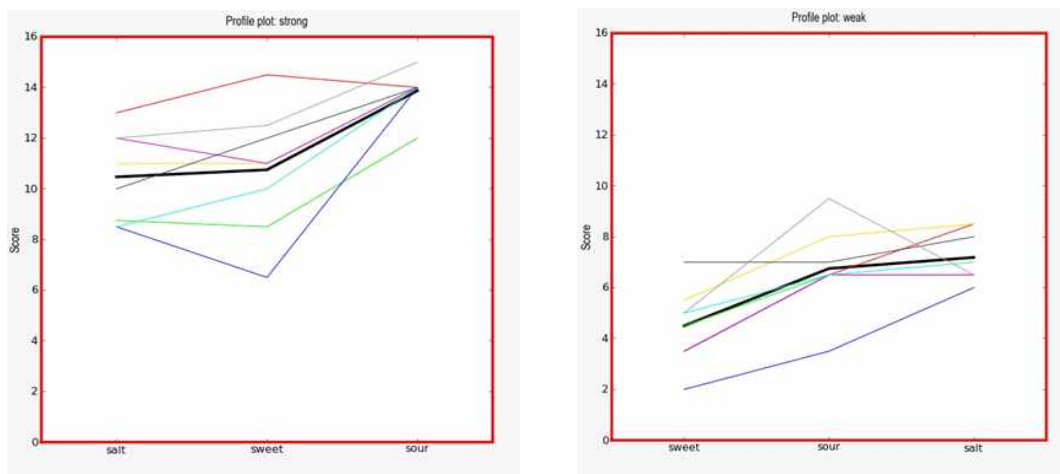


그림 2-113. 짠맛, 단맛, 신맛 테스트 결과(2014/07/28 - 훈련 후)

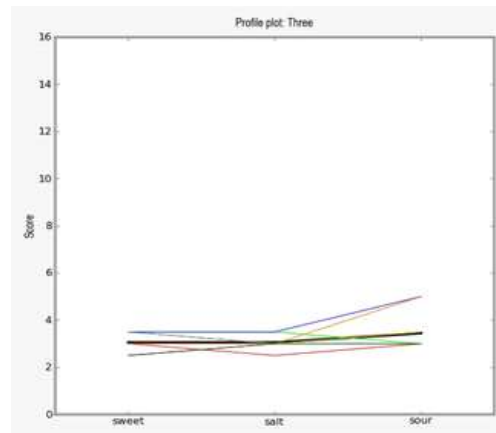
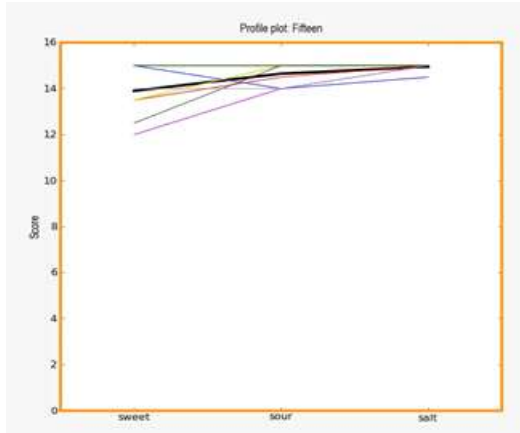


그림 2-112은 패널들의 훈련 전 짠맛, 단맛, 신맛에 대한 결과로 대부분의 패널 간의 격차가 큰 것으로 나타나다 2달간의 훈련 후 패널들의 격차가 유의적으로 줄었으며 훈련한 실제 값과도 유사성을 나타내어 민감도 및 재현성의 향상이 이루어 졌다고 할 수 있음.

그림 2-114. 훈련 전 패널의 p-MSE plot

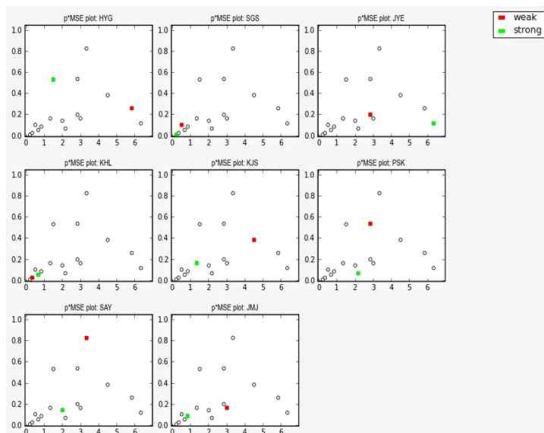


그림 2-115. 훈련 후 패널의 p-MSE plot

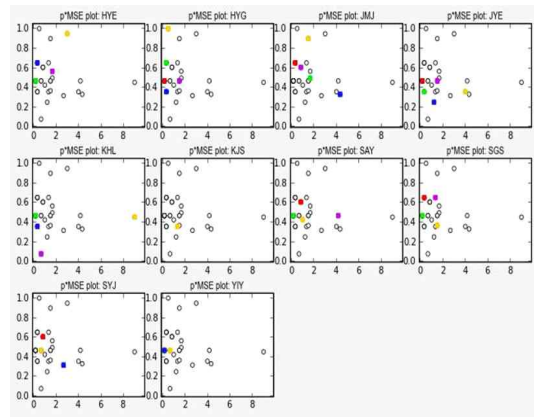
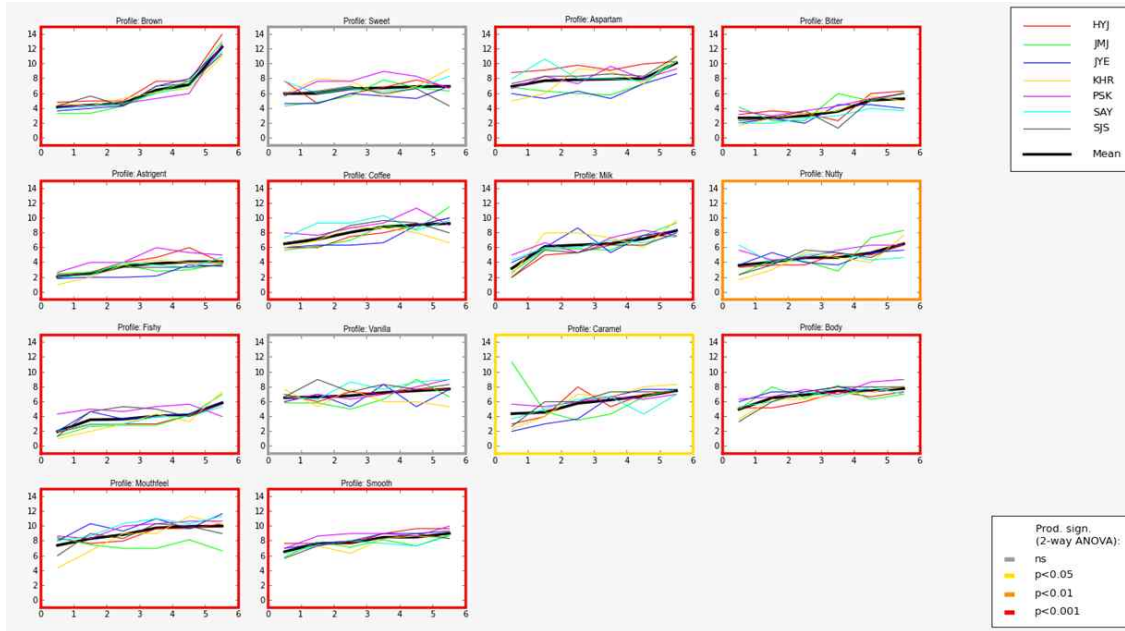


그림 2-114과 2-115는 패널의 평가 데이터를 p-MSE plot으로 나타낸 것이며 모든 패널들에서 훈련 전 대비 훈련 후 패널간의 평가 관능특성의 강도에 대한 격차가 줄어들었음을 나타내고 있으므로 이는 상기 언급한 결과와도 동일함. 그러므로 두 달간의 기본 맛 훈련 결과 패널의 신뢰도, 민감도, 재현성이 향상된 것으로 사료되며 Lexicon 및 표준시료 개발에 적합한 패널 집단으로 판단됨.

(2). 증류주 유사제품 평가를 통한 패널 간 식별능력 안정성 평가

: 증류주는 많은 알코올 향이 지배적이며 미세한 향미가 강한 특성이 있음. 이는 커피와 유사한 특성으로 증류주 훈련 전 시판원두커피와 커피유음료 시료를 통하여 향미감지 훈련을 실시함. 커피 Aroma kit와 실제 식품과의 비료를 통한 훈련을 실시하였으며 훈련 후 묘사분석을 실시함. 6종의 커피 유음료를 시료로 선정하였으며 총 5번의 세션을 통하여 6종 제품의 특성을 묘사 한 후 표준시료를 통하여 훈련을 실시함. 15점 척도를 이용하여 2반복 강도평가를 실시하여 패널의 안정성을 평가하고자 함.

그림 2-116. 평균 대비 패널 평가 결과



검은 선이 패널간의 평균이며 모든 특성에서 전체 패널이 평균 근처의 강도 값으로 평가 했다는 결과를 알 수 있음. 카라멜 향의 경우 한 패널의 평가 값이 다른 패널과 상이함으로 추가 훈련이 필요할 것으로 사료됨. 또한 10종류의 특성에 대하여 이원분산분석 결과 p-value 값이 0.001보다 낮으므로 패널의 제품간 분별력이 높다는 것을 의미함. 또한 이는 커피시료에 있어 미세한 특성강도인 바닐라향, 우유의 비린맛 등에서 나타난 결과이며 이는 패널의 안정성이 높은 것으로 판단됨.

다. 증류주 향미성분에 영향을 주는 주요 관능특성 도출 및 표준시료 개발

훈련 된 패널들은 2주간 증류주에 관한 훈련을 추가 시행함. 12가지 효모를 사용하여 제조된 증류주를 이용하여 관능특성 도출 및 강도의 합의, 일치 훈련을 하였고 와인, 증류주 Aroma kit를 이용하여 시중에 판매하는 Cognac, Whisky 및 대표적인 과실 증류주인 Remy Martin에서 나타나는 향인지 훈련을 실시함.

표 2-44. 증류주 Lexicon

Aroma	Taste	Texture
Alcohol	Alcohol	Burning
Sweet	Sweet	Body
Sour	Sour	
Nuruk Flavor	Nuruk Flavor	
Wine	Aspartam	

표 2-44. 은 훈련 된 패널이 12가지 효모를 사용하여 제조된 증류주에서 나타나는 관능특성을 객관적으로 묘사한 용어임. 향, 맛, 혀에서 느껴지는 질감으로 나누어지며 각각의 용어에 대한 표준시료 개발을 위한 훈련을 진행함. 알콜향, 맛에 대한 훈련을 위하여 에탄올과 소주 희석액을 누룩향미에 관하여는 누룩을 농도별로 희석하여 이용하는 등 묘사용어에 적합한

표준시료를 개발함. 최종 개발된 표준시료는 Seung-Joo Lee, Sensory Profiling of Commercial Korean Distilled Soju(2012)을 참고하여 개발함.

표 2-45. 증류주 Lexicon의 정의 및 표준시료

표준시료명		정의 및 표준시료	
		정의	표준시료
A r o m a	Alcohol	알콜에 의해 감지되는 향	25% 에탄올 희석액
	Sweet	설탕 시럽에 의해 감지되는 향	15g설탕시럽을 150ml 증류수에 희석
	Sour	식초에 의해 감지되는 신 향	1ml의 식초를 50ml 증류수에 희 석
	Nuruk flavor	누룩에 의해 감지되는 향	0.1% 누룩 희석액을 평가 12시간 전 제조
	Wine	발효 된 과일에서 감지되는 향	50ml의 레드와인을 100ml의 증류수에 희석
T a s t e	Alcohol	알코올의 맛	25% 에탄올 희석액
	Sweet	단맛	6% 설탕물
	Sour	신맛	0.25% 구연산 희석액
	Nuruk flavor	누룩 맛	배혜정도가 생막걸리
	Aspartam	인공감미료 맛	0.0025% 아스파탐 희석액
T e x t u r e	Body	시료를 머금을 때 혀에서 느껴지는 무게감	서울우유
	Burning	민트와 유사하게 알코올에 의해 느껴지는 자극	크라운 비단 박하사탕

표 2-45. 는 개발 된 Lexicon의 정의와 표준시료이며 이의 강도는 추가 훈련에 의하여 패널 간의 합의를 통해 정량화 함. 임. 또한 표준시료의 희석농도를 조절 하여 표준시료 강도의 구간을 정하고 이와 비교하여 시료의 정량적인 평가를 실시함.

라. 감 발효 증류주의 주요 관능특성 도출 및 표준시료 개발

효모의 종류를 달리하여 제조한 감 발효주를 증류하여 제조한 3종의 증류주에 대한 묘사분석을 실시함. 11명의 패널이 묘사분석에 참여하였으며 총 6 session 동안 중요 관능 지표 분석을 진행 함.



그림 2-117. 평가 중인 패널의 모습



그림 2-118. 평가 시료 모습

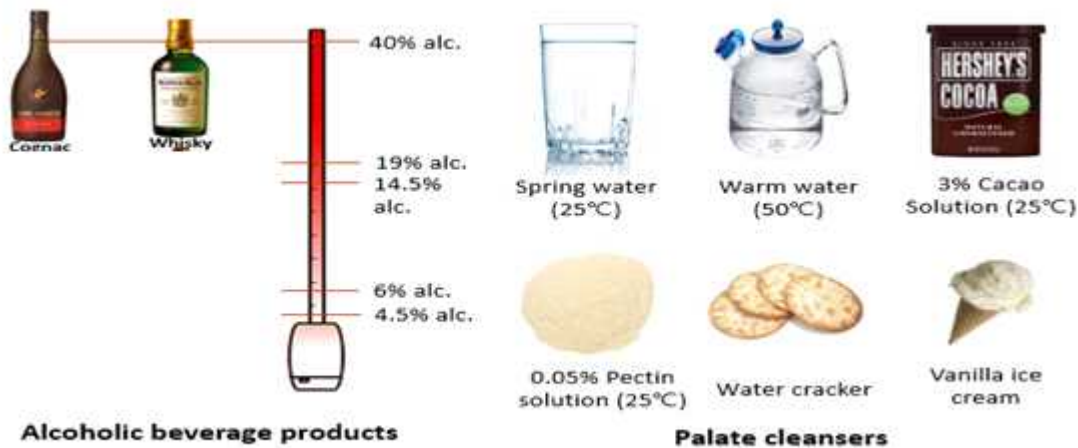
3가지 시료에 대하여 공통적으로 느껴지는 중요 관능특성 인자를 외관, 맛(향), 질감으로 구분하여 선정한 뒤 패널 간 합의를 통하여 최종 중요 인자를 선별함. 표 3은 최종 선별된 중요 인자와 개발된 표준시료를 나타냄. 각각의 표준 시료는 위에서 개발된 증류주 Lexicon의 표준시료를 토대로 추가 특성은 패널에 의해서 개발 됨. 감맛과 짠 느낌의 경우 실제 감과 감의 중량의 1/2 생수를 갈아 사용 함. 각각의 표준시료의 특성강도는 패널의 평가 및 합의를 통하여 지정하였으며 지정 하는 과정에서 강도 훈련을 6번의 session 동안 실시 함.

표 2-46. 감 증류주의 중요 관능특성 및 표준시료

특성명		정의 및 표준시료 강도	
		정의	표준시료 강도
Aroma	단향	시럽에 의해 감지되는 단향	6
	신향	식초에 의해 감지되는 신향	6
	알콜향	알콜에 의해 감지되는 향	8
	와인향	발효 된 과일에서 감지되는 향	9
Taste	단맛	설탕에 의해 감지되는 단맛	6
	신맛	구연산에 의해 감지되는 신맛	10.5
	인공감미료맛	아스파탐에 의해 감지되는 맛	4.5
	알콜맛	알콜에 의해 감지되는 맛	12
	막걸리맛	막걸리에 의해 감지되는 맛	9
	감맛	감맛에 의해 감지되는 맛	8
Texture	뽀은느낌	감에 의해 감지되는 뽀은 느낌	7
	바디감	우유에 의해 감지되는 무게감	7
	화한느낌	민트와 유사하게 알콜에 의해 느껴지는 자극	8

마. 관능평가 bias 조절 - 시료간의 관능피로도 및 cross-over effect 최소화 프로토콜 개발

그림 2-119. 평가에 사용 된 palate cleanser



증류주는 알코올이 40%이상 함유되어 한 번에 여러 가지 시료를 동시에 평가하기가 어려워 시간-강도 묘사분석법을 활용하여 패널의 관능피로도를 가장 줄일 수 있는 palate cleanser를 찾고자 함. 평가 시료로 대표적인 과실증류주인 레미마틴 (알코올 함량 40%)과 스카치블루 (알코올 함량 상동)을 사용하였고 palate cleanser용 시료로는 따뜻한 물(50°C), 상온의 물(2

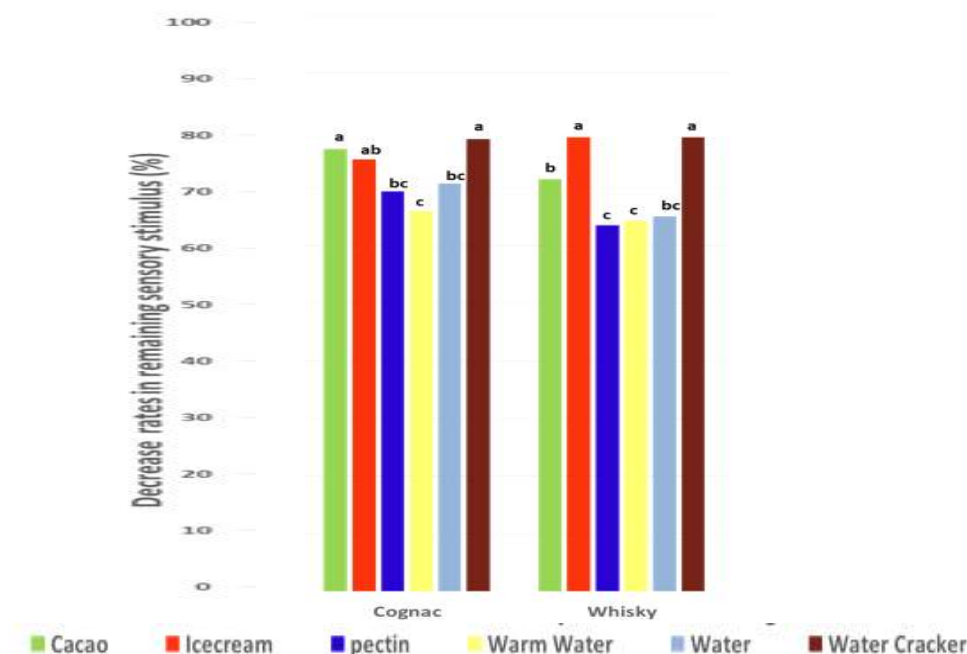
5℃), 바닐라아이스크림, 카카오 희석액, 워터크래커, 펙틴 희석액을 사용함. 시료 평가 후 palate cleanser를 사용 하였으며 액체상태의 palate cleanser는 10mL제공 하였으며 워터크래커는 1g, 바닐라 아이스크림은 12.5g 제공함. 각각의 액체 palate cleanser는 한번 혀를 감싼 후 뱉어 내었고 이때 시간이 5초 소요되었으므로 바닐라 아이스크림은 5초간 녹였으며 워터크래커는 5초간 5번 저작함 상온의 물을 이용하여 palate cleanser를 잔미를 제거 한 후 잔존되는 알코올의 강도를 평가하기 위하여 컨트롤(0분), 1분후, 3분후, 5분후, 7분후 잔존 강도를 평가함. 총 9명의 훈련 된 패널들이 실험에 참여하였고 총 15번의 세션을 통해 2반복 평가함. 실험 전 3번의 세션에서 패널들은 합의를 통해 2종의 시료의 초기 알코올 강도를 설정함. 초기 설정된 알콜 강도와 비교하여 palate cleanser사용 후 남는 알코올 강도를 상대적으로 평가하도록 함.

표 2-47. 6종의 시료의 초기 알코올 강도

Interval length	Palate cleanser	Alcoholic Beverage	
		Cognac	Whisky
Initial intensity	No palate cleanser	13	13

평가 결과 대부분의 palate cleanser들이 알코올 강도를 감소시켜주는 작용을 하였으나 그 중에서도 바닐라 아이스크림과 워터크래커의 관능피로도 감소율이 가장 높은 것으로 나타남. 바닐라 아이스크림과 워터크래커의 경우 실제 쉽게 구할 수 있는 시료이며 완제품으로 쉽게 산업체 및 추후 연구에서의 활용도가 높을 것으로 사료됨.

그림 2-120. 0분에서의 각각의 palate cleanser에 따른 알코올 향의 감소율



또한 각 시간 간격 별 감소율을 관찰 한 결과 1-3분 사이의 알코올 강도 감소율이 가장 높은 것을 확인 할 수 있음. 그러나 모든 시료와 모든 palate cleanser를 사용하였을 때 초기 알코

올 강도의 95%를 감소시키는 시각은 7분 인 것으로 확인됨. 또한 표 2-48는 알코올 강도를 낮추는데 영향을 준 인자를 파악한 표로 모든 시료에서 palate cleanser에 의한 감소율 보다 시간에 의한 감소율이 높은 것으로 파악 됨. 그러므로 가장 감소율이 높은 palate cleanser의 사용과 시료 평가 간 충분한 휴식시간을 통하여 보다 정확한 증류주 관능평가가 가능 할 것으로 판단됨.

그림 2-121. 시간 간격 별 알코올 강도 감소율.

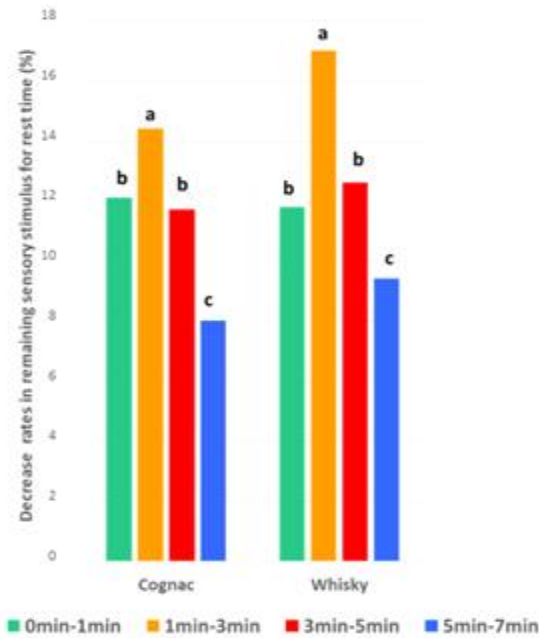


표 2-48. 알코올 강도를 감소에 대한 기여도 (%)

Source	Whisky	Cognac
Cleanser	10.72	6.28
Time	87.04	92.38
Cleanser*Time	2.24	1.34

따라서 증류주 평가 시 관능피로도 감소율이 높으며 사용하기 편리한 워터크래커를 palate cleanser를 사용하는 것이 적합할 것이며 또한 7분경과 시 초기 알코올강도의 95%가 감소되는 것으로 나타났으므로 시료 간 평가간격을 7분 이상으로 하는 것이 보다 정확한 평가가 가능할 것으로 사료됨.

3절. 안전한 과실 증류주의 숙성 조건 최적화 및 상품화

1. 안전한 과실 증류주의 숙성 조건 최적화

2차년도에서는 각각의 원료(쌀, 적포도, 청포도, 사과(미숙성사과))의 안전한 증류 조건을 확립 하였으며 4종의 원료 모두 증류방법에 따라 단식-연속식 복합증류방식, 증류기 재질은 구리, 가열방식은 간접가열방식 또한 구리축매변환장치를 사용한 증류방식이 최적의 증류조건으로 선정 되었다. 1차년도에 선정한 발효 조건을 기반으로 2차년도에서는 최적의 증류조건을 대량 담금 하여 선정하였으며 초류와 후류를 제외한 본류를 용기(무유약항아리)와 오크통에 숙성을 진행 시켰다.

3차년도에서는 숙성 전 샘플을 활용하여 저장 온도와 유통 중 빛의 노출에 따른 저장 조건 및 유통 조건(포장 조건)을 확인하고자 저장 온도에 따른 유해물질의 변화를 10개월 동안 1개월 단위로 측정하였으며, 유통 중 빛의 노출에 의한 유해물질의 변화를 측정하고자 동일한 온도에서 일정시간동안 빛에 노출한 샘플의 유해물질을 10주간 1주 단위로 측정하였다

단기 숙성기간 동안의 저장 용기에 따른 이화학적 변화와 유해물질의 변화를 확인하고자 당초 계획하였던 5개월 단위의 분석을 3개월 단위로 9개월 동안 확인하여 보다 세밀한 변화를 관찰 하였다. 본 실험은 양성된 관능평가 인원을 활용하여 관능검사를 실시하였으며 이를 토대로 숙성 및 유통 조건을 확립하고자 한다.

연구개발 목표

-한국형 브랜드/ 일반증류주의 개발을 위한 숙성 조건 확립

- 기간별 이화학적 분석과 유해물질 분석을 통한 증류주 숙성 용기의 재질 변화에 따른 평가
- 저장 온도에 따른 유해물질의 변화를 통하여 숙성/저장 조건 확립
- 유통 중 빛의 노출에 따른 유해물질의 변화를 통하여 유통/포장 조건 확립
- 단기 숙성 조건의 확립

<안전한 과실증류주 제조기술개발 진행방향(3차년도)>



가. 숙성 용기의 재질에 따른 평가

본 평가는 안전한 과실 증류주의 숙성 조건의 최적화를 이루기 위하여 숙성 원액의 평가와 숙성 원액을 알코올도수 40도(v/v%)로 희석한 평가를 동시에 진행하였으며, 유해물질의 증감을 비교하는 한편, 단기 숙성 기간 동안의 이화학적 변화와 이에 따른 관능평가를 통하여 단기숙성의 적정성을 확인하고자 한다.

증류주의 종류와 숙성용기(무유약용기, 오크통) 그리고 저장기간에 따라 각 실험을 진행하게 되는 실험군은 하기와 같이 나누어진다.

표 3-1. 증류주 종류와 용기에 따른 실험군

증류주 종류	용기	숙성 기간			
		0개월	3개월	6개월	9개월
쌀	용기	0개월	3개월	6개월	9개월
	oak				
청포도	용기	0개월	3개월	6개월	9개월
	oak				
적포도	용기	0개월	3개월	6개월	9개월
	oak				
사과	용기	0개월	3개월	6개월	9개월
	oak				

(1). 숙성 원액 평가

<실험방법>

2차년도에서 선정된 증류조건(구리촉매변환장치 사용방식)으로 대량 담금을 진행한 발효 술덧의 증류를 진행하고 초류와 후류를 분리한 본류만으로 식품 등의 용기·용기에 적합한 무(無)유약항아리(30ℓ, 윤두리도예공방)와 오크통(57ℓ, 리무진 오크통(프랑스산),toasting level: medium)에 숙성을 진행하였다. 숙성실의 온도는 20℃로 유지시켰으며, 각 원료별 숙성은 용기와 오크통 각각 2개씩의 용기를 사용하여 숙성을 진행하였으며 3개월 단위로 샘플을 스테인레스 재질의 위생배관을 사용하여 샘플을 채취하였다.

각 샘플은 pH, 총산, 산도, 밀도, 알코올함량, 색도 및 유해물질(아세트알데히드, 메탄올, EC, 요소), 향기성분 등을 3반복하여 측정하였으며, 샘플을 채취하지 않은 용기와 오크통의 중량을 측정하고 밀도와 연관지어 추정계수 등을 산출하였다.

pH : pH미터기(OHAUS pH meter ST3000, 미국)로 측정

총산 : 알칼리 적정법

산도 : 알칼리 적정법

중량 : 중량전자저울(CAS DB-150, 중국)으로 측정

밀도 : Density Meter(Anton paar DMA4100M, 오스트리아) 이용하여 측정

알코올 : 증류법으로 추정계와 온도계(이하 대광 기계제작소, 한국)

Density Meter(Anton paar DMA4100M, 오스트리아) 이용하여 측정

색도 : Color difference meter(Lovibond RT850i, 스위스) 이용하여 L, a, b 값을 측정
(표준 백색판은 L값 95.13, a값 -0.06, b값 0.84을 사용함.)

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

향기성분: 휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 증류조건별 증류주 5 ml을 20 ml SPME용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26 $^{\circ}$ C에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 μ m Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인용 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

알카리토금속: 증류주의 칼슘, 철, 마그네슘, 망간, 아연은 ICP-MS(Agilent 7700s, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 시료(40% alcohol)를 4배 가수한 뒤 2 mL를 취하여 질산 8 mL와 섞은 뒤 마이크로웨이브 (Mars 6, CEM Corp., Matthews, NC, USA)추출을 진행하였다. 마이크로웨이브 추출은 1600 W, 300 psi, 200 $^{\circ}$ C에서 20분간 추출하고 30분 방치한 뒤 샘플을 ICP-MS에 주입하였다. 칼슘, 철, 마그네슘, 망간, 아연은 각각 317.933 nm, 259.940 nm, 285.213 nm, 257.610 nm, 213.857 nm에서 측정하였다. 나트륨과 칼륨은 iCap 7400 ICP-OEM Duo(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 각각 589.592 nm과 766.491 nm에서 측정하였다. 시료(40% alcohol)를 4배 가수한 뒤 2 mL를 취하여 질산 8 mL와 섞은 뒤 마이크로웨이브 (Mars 6, CEM Corp., Matthews, NC, USA)추출을 진행하였다. 마이크로웨이브 추출은 1600 W, 300 psi, 200 $^{\circ}$ C에서 20분간 추출하고 30분 방치한 뒤 샘플을 ICP-MS에 주입하였다. 납은 ICP-MS(Agilent 7700, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 마이크로웨이브 추출은 1600 W, 300 psi, 200 $^{\circ}$ C에서 20분간 추출하고 30분 방치한 뒤 샘플을 ICP-MS에 주입하였다. 측정은 208 amu, RF 1550 W에서 진행하였다.

그림 3-1. 숙성 용기(무(無)유약항아리(左), 오크통(右))



그림 3-2 . 샘플 채취용 위생배관(左), 유해물질 측정(右)



그림 3-3 . 오크통 분해 사진



그림 3-4. 용기별 성적서(무유약 용기(左), 오크통(右))

시험 성적서			
한국세라믹기술원		성적서번호: 2013-3502-5	KIET
주소: 충청북도 충주시 임정면 신안리 211-34		페이지 (1)/(총 1)	
1. 의뢰자 ○ 기관명/성명: 유두리도예공방 / 이재준 ○ 주 소: 충청북도 충주시 임정면 신안리 211-34 ○ 의뢰자: 2013년 12월 16일 2. 시험성적서의 용도: 품질관리 3. 시험 시료명/물질: 5 4. 시험기간: 2013년 12월 16일 ~ 2013년 12월 27일 5. 시험방법: KS L 1204 : 2009, 식품공전(식품의약품안전청 고시 제 2010-11호) 기기분석 6. 시험환경 ○ 온도: 20°C ± 15°C, 상대습도: 38% R.H. ± 2% R.H. 7. 시험결과			
시료명	시험분석항목	시험분석결과	시험분석방법
5	Pb (mg/L)	불검출 (<0.01)	KS L 1204 : 2009
	Cd (mg/L)	불검출 (<0.01)	식품공전
	As (mg/L)	불검출 (<0.01)	(식품의약품안전청 고시 제 2010-11호)
	SEM	데이터 열화	기기분석
참고) 상기 SEM 분석에 사용된 기기는 JEOL사 모델 JSM-6390임. 끝.			
확인		시험자: 정충식	기술책임자: 박덕원
2013. 12. 27			
한국세라믹기술원			
비고) 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과결과로서 전체 제품에 대한 품질 및 성능을 보증하지 않습니다.			

양식-PB-03-02A(3)

시험 성적서			
일련 제 15725 호			
검 체 명	오크통		
시 험 항 목	비소 외 6항목		
의뢰인주소및성명	경기 화성시 정남면 서봉로 835 (주)베베정 농업회사법인 김백규		
시험 의뢰 목적	참고용	제조일자	유통기한
			접수일자 2014.09.03
귀하가 우리 연구소에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.			
상 적 :			
목재류			
비소(mg/l)	불검출(As ₂ O ₃ 로서)		
납(mg/l)	불검출		
이산화황(mg/l)	2.05		
아세트산(mg/l)	0.01		
피라미딘(mg/l)	불검출		
비페닐(mg/l)	불검출		
이마자일(mg/l)	불검출		
*비 고 : 상기 시험항목에 대한 결과는 의뢰인의 요청에 의해 부정부위만 시험한 것임			
구 격			
비소(mg/l)	: 0.1이하(As ₂ O ₃ 로서)		
납(mg/l)	: 1이하		
이산화황(mg/l)	: 12.8이하		
아세트산(mg/l)	: 7.3이하		
피라미딘(mg/l)	: 1.8이하		
비페닐(mg/l)	: 0.9이하		
이마자일(mg/l)	: 0.6이하		
2014년 09월 16일			
한국식품연구소장			
이 성적서는 제출된 검체에 관하여, 의뢰목적 이외의 상품선언용 상업용 및 자가품질검사용으로 사용할 수 없음.			

<결과 및 고찰>

(가) pH

각 증류주에 따라 숙성이 시작되는 시점의 pH는 다르게 나타났으며, 과실 증류주의 경우 약 산성에 가까우며, 곡물(쌀)의 경우 중성에 가깝게 형성되었다. 초기 pH는 사과(5.06)<청포도(5.12)<적포도(6.26)<쌀(7.28) 순으로 나타났으며, 숙성이 진행될 동안 용기에 따른 차이는 확연히 나타난다.

그림 3-5. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 pH 변화에 따르면 9개월 동안 ±0.7 이내로 변화의 폭이 적은 반면, 그림 3-6. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 pH 변화에 따르면 9개월 동안 pH가 -3.0까지 낮아지는 등 산성에 가까워지는 것을 관찰할 수 있다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 pH가 3개월째 7.45로 소폭 상승하였다가 9개월까지 초기 pH와 유사하게 낮아지는 형상을 보인다. 3개월째 표준편차가 0.62로 가장 높은 편차를 보였으며 측정 시 pH가 지속적으로 상승하다 멈추는 것을 반복하는 등 불안정한 것으로 판단된다. 이에 반해 오크통에 숙성된 쌀 증류주는 3개월째 4.42로 낮아져 9개월까지 큰 변화 없이 낮은 상태를 유지하였다. 이는 3개월 내 숙성에 의한 큰 변화가 이루어지며 이는 산화나 용출 등에 의한 결과로 예상되어진다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 9개월간 소폭 상승하는 것이 관찰되나 +0.06으로 숙성의 영향으로 보기에는 어렵다. 오크통의 경우 3개월째 pH 4.18로 떨어져 9개월까지 큰 변화 없이 유지되는 형상을 보이거나 총산, 산도, 향기성분, 저비점 유해물질의 변화 등으로 숙성의 진행 정도를 파악할 수 있을 것으로 사료된다.

적포도 증류주의 경우 숙성 시작점의 pH는 6.26으로 청포도 증류주(pH 5.12)에 비해 높게 나타났으며 품종(적포도-MBA, 청포도-경조정)에 따른 차이가 분명한 것으로 보여진다. 용기 숙성 시 9개월째 pH 5.67로 0.6가량 낮아졌으며 감소는 기간의 경과에 따라 완만히 이루어졌다. 오크통의 경우 다른 증류주와 동일하게 3개월째 pH가 4.00대로 떨어져(pH 4.28) 9개월까지 큰 변화 없이 유지되는 것을 볼 수 있다.

사과 증류주의 경우 숙성 시작점의 pH가 5.06으로 증류주 중 가장 낮은 pH로 시작되었으며 용기 숙성 시 9개월까지 pH 5.24로 소폭 상승되었으며 오크통의 경우 3개월째 4.20으로 떨어져 9개월까지 큰 변화 없이 유지되었다. pH로 숙성의 정도를 100% 파악하기는 어렵지만 오크통의 경우 3개월째 pH가 모두 4.00대로 떨어져 유지되는 형태를 보이는 것으로 미루어 3개월 내 가장 큰 변화가 일어났을 것으로 사료된다.

표 3-2 . 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 pH 변화(pH±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	7.28±0.11	7.45±0.62	7.32±0.17	7.24±0.19
	청포도	5.12±0.05	5.14±0.05	5.16±0.02	5.17±0.02
	적포도	6.26±0.04	6.28±0.10	5.92±0.08	5.67±0.04
	사과	5.06±0.05	5.09±0.06	5.18±0.06	5.24±0.04
오크통	쌀	7.28±0.11	4.42±0.07	4.42±0.02	4.41±0.04
	청포도	5.12±0.05	4.18±0.02	4.20±0.02	4.14±0.04
	적포도	6.26±0.04	4.28±0.06	4.24±0.05	4.24±0.05
	사과	5.06±0.05	4.20±0.07	4.18±0.05	4.18±0.03

그림 3-4. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 pH 변화

숙성 용기별 숙성기간에 따른 pH 변화

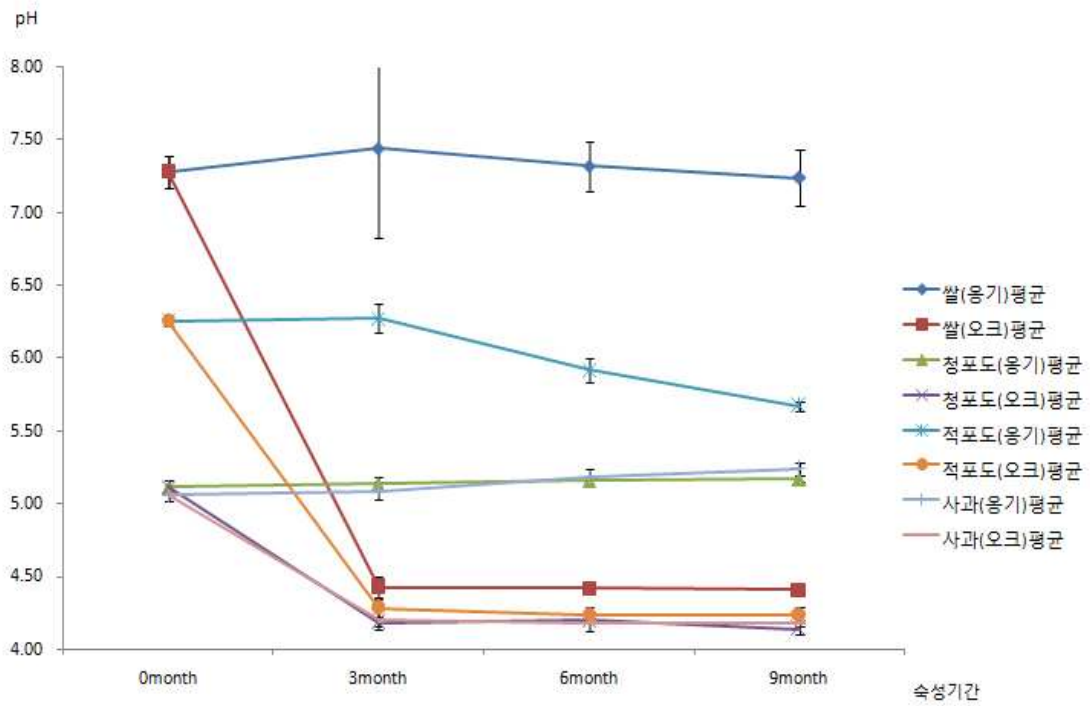


그림 3-5. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 pH 변화

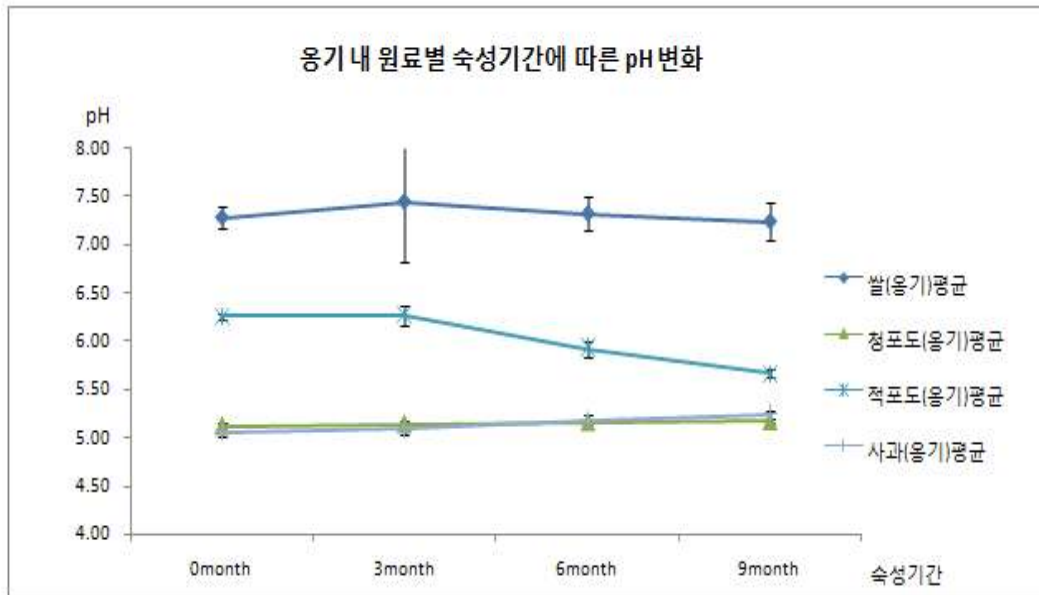


그림 3-6. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 pH 변화

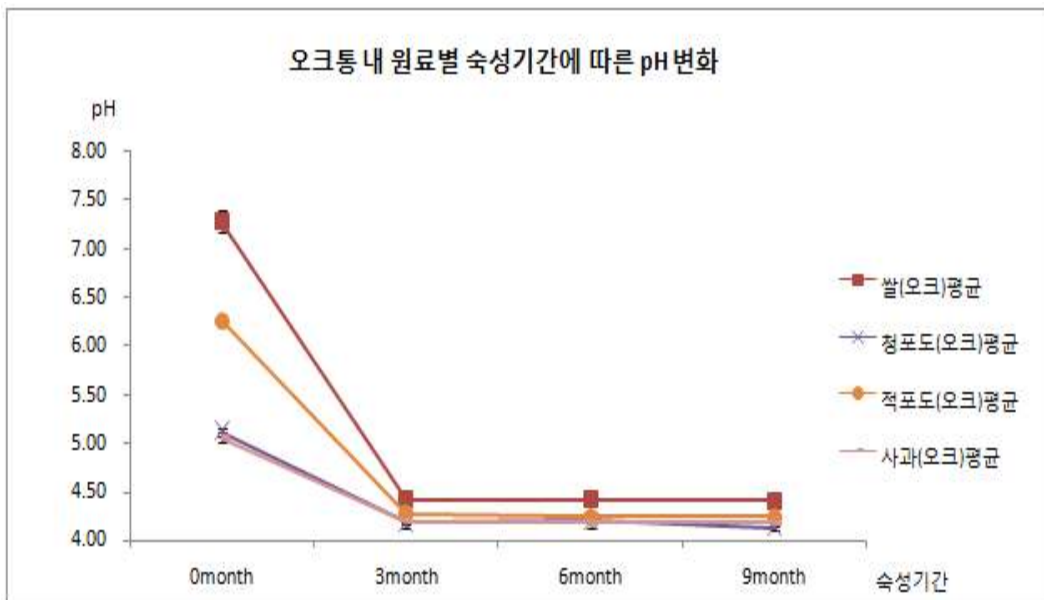
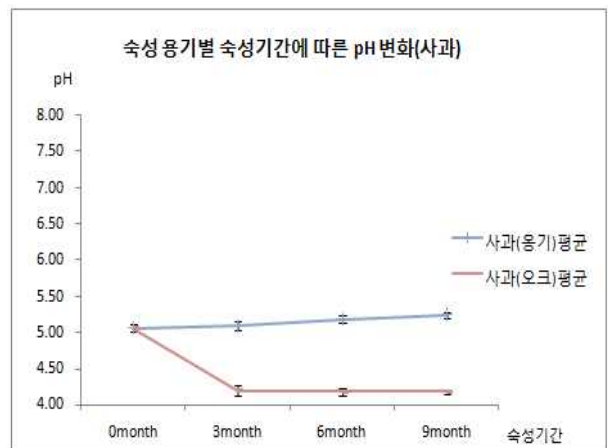
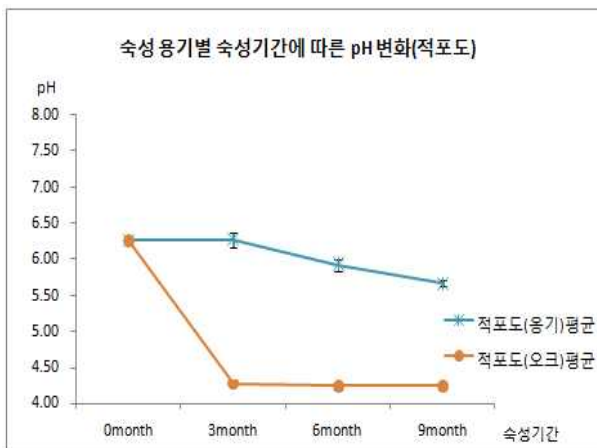
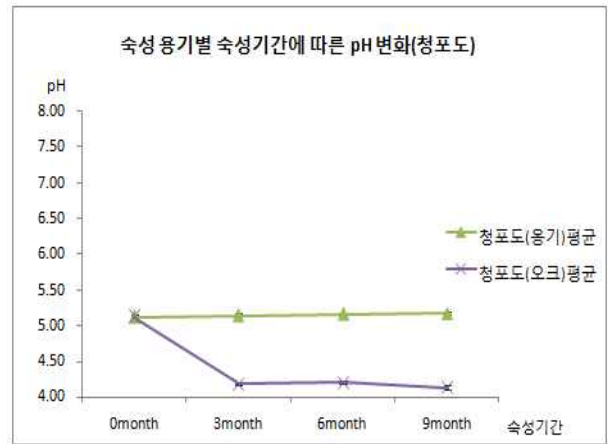
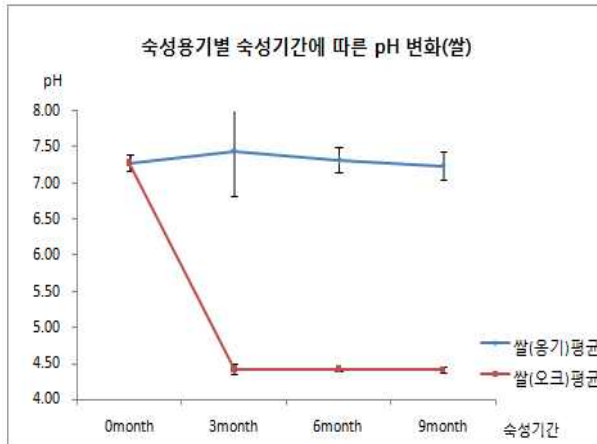


그림 3-7. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 pH 변화



(나) 총산

총산의 경우 숙성 전 총산은 쌀(0.00297g/100ml) < 청포도(0.00356g/100ml) < 적포도(0.00535g/100ml) < 사과(0.00713g/100ml) 순으로 측정되었다. 각 원료별, 품종에 따른 차이가 나타났으며 측정값이 낮고 pH와 연관지어 고려할 수 있는 내용은 아니다.

그림 3-8, 숙성 용기별 숙성기간에 따른 총산 변화에 따르면 용기에 따른 총산의 변화가 확연히 나타난다. 용기 숙성의 경우 총산의 변화가 거의 없이 9개월간 유지되고 있는 반면 오크통의 경우 3개월까지 가파른 상승 이후 9개월까지 다소 완만한 상승을 보이고 있다. 3개월째 pH가 4.00대로 변경된 것과 유사하게 3개월째 총산의 변화가 가장 크게 일어났으며 오크통에 숙성시킨 사과 증류주의 경우 다른 증류주에 비해 2배 이상의 총산이 측정되었다.

용기에 숙성시킨 증류주는 4종 모두 9개월 간 증감율은 ±50%를 넘지 않으며 쌀, 적포도, 사과는 소폭 상승하였으나 청포도 증류주의 경우 0.00356g/100ml에서 9개월째 0.00208g/100ml로 44% 감소하였다. 용기 숙성의 경우 증류주의 변화가 적은 것으로 보여지며 휘발성 산의 증발과 산화 등에 의한 작용으로 사료된다. 반면 오크통에 숙성시킨 증류주는 4~10배 이상 증가하였으며 쌀의 경우 숙성 전 0.00297g/100ml에서 9개월째 0.03445g/100ml로 가장 높은 상승률을 보였으며 4종 모두 3개월째 가장 큰 폭으로 상승하였다. 오크통 숙성의 경우 용기 숙성에 비해 변화가 크며 이는 산화와 침출 등에 의한 숙성의 진행으로 사료되며 향기성분 등의 변화로 보다 정확히 유추할 수 있을 것으로 보여진다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 3개월째 총산이 0.00208g/100ml로 숙성 전에 비해 다소 낮아졌으나 이후 9개월까지 점진적으로 소폭 상승하여 총산이 0.00446g/100ml로 측정되었다. 이에

반해 오크통에 숙성시킨 쌀 증류주는 3개월째 총산이 0.02643g/100ml로 10배 가깝게 상승하고 이후 다소 완만하게 상승하여 최종 9개월째 0.03445g/100ml가 측정되었다. 오크통 숙성의 경우 pH 결과와 마찬가지로 3개월 내 가장 큰 변화, 즉 산화 등의 숙성의 진행 가장 빠르게 진행된 것으로 보여 진다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 전체 실험군 중 유일하게 점차적인 감소가 이루어지는 실험군이며 숙성 전 총산이 0.00356g/100ml에서 9개월째 0.00208g/100ml로 감소되었다. 이에 반해 오크통에 숙성한 청포도 증류주는 3개월째 7배가량 상승 후 다소 완만히 상승하여 최종 9개월째 0.003267g/100ml까지 증가하였다. 청포도 증류주의 경우 휘발성 산의 변화와 향기성분 등의 변화를 토대로 숙성의 진행사항을 관찰할 필요가 있을 것으로 보여 진다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 총산은 0.00535g/100ml에서 9개월째 0.00772g/100ml로 약 44%가량 소폭 상승하였으며 이에 반해 오크통에 숙성시킨 증류주의 경우 3개월째 0.02982g/100ml로 6배 이상 상승 후 상승 후 감소하여 0.03029g/100ml로 오크통에 숙성시킨 증류주 실험군 중 가장 낮은 함량, 가장 낮은 증가폭을 나타내었다.

사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 총산은 초기 0.00713g/100ml로 6개월까지 소폭 상승하다 9개월째 다시 감소하여 0.00713g/100ml에 그쳐 총산의 상승폭이 가장 적은 실험군이 되었으며, 오크통에 숙성시킨 증류주의 경우 최종 숙성일자인 9개월 째 0.07187g/100ml로 총산이 실험군 중 가장 높은 실험군이다. 초기 총산이 다른 실험군에 비해 높은 편이었으며 상승의 폭도 커서 산화나 혹은 침출에 의한 숙성의 진행도가 다른 실험군에 비해 높을 것으로 보여 진다.

표 3-3. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 총산(g/100ml) 변화(총산±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	0.00297±0.00012	0.00208±0.00003	0.00328±0.00006	0.00446±0.00007
	청포도	0.00356±0.00009	0.00328±0.00006	0.00310±0.00004	0.00208±0.00002
	적포도	0.00535±0.00009	0.00548±0.00008	0.00628±0.00009	0.00772±0.00008
	사과	0.00713±0.00017	0.00832±0.00033	0.00921±0.00031	0.00743±0.00019
오크통	쌀	0.00297±0.00012	0.02643±0.00027	0.03285±0.00009	0.03445±0.00035
	청포도	0.00356±0.00009	0.02385±0.00061	0.03158±0.00043	0.03267±0.00073
	적포도	0.00535±0.00009	0.02982±0.00046	0.03138±0.00039	0.03029±0.00119
	사과	0.00713±0.00017	0.04287±0.00135	0.06415±0.00230	0.07187±0.00099

그림 3-8. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 총산(g/100ml) 변화

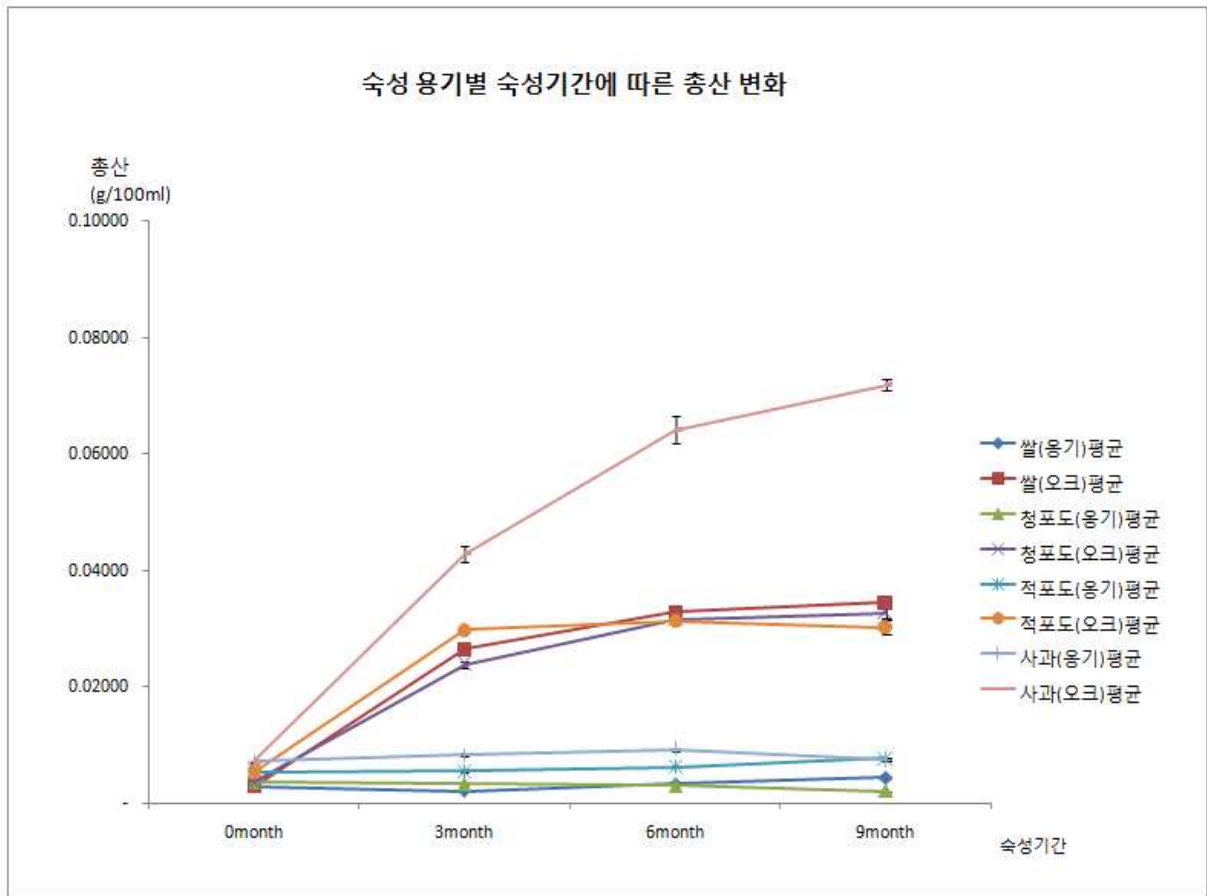


그림 3-9. 옹기 내 원료별 숙성기간에 따른 총산(g/100ml) 변화

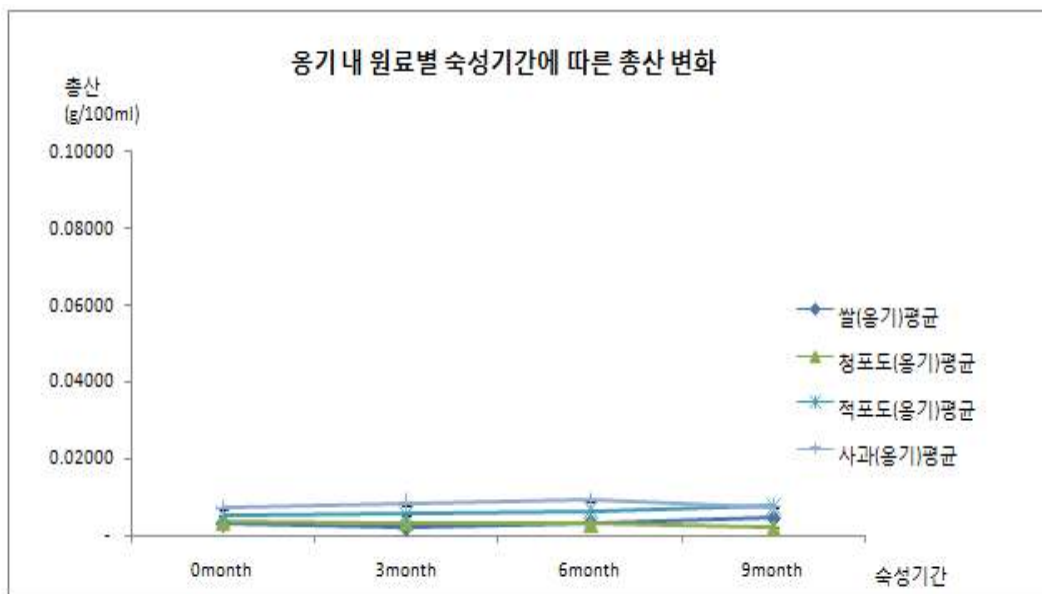


그림 3-10. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 총산(g/100ml) 변화

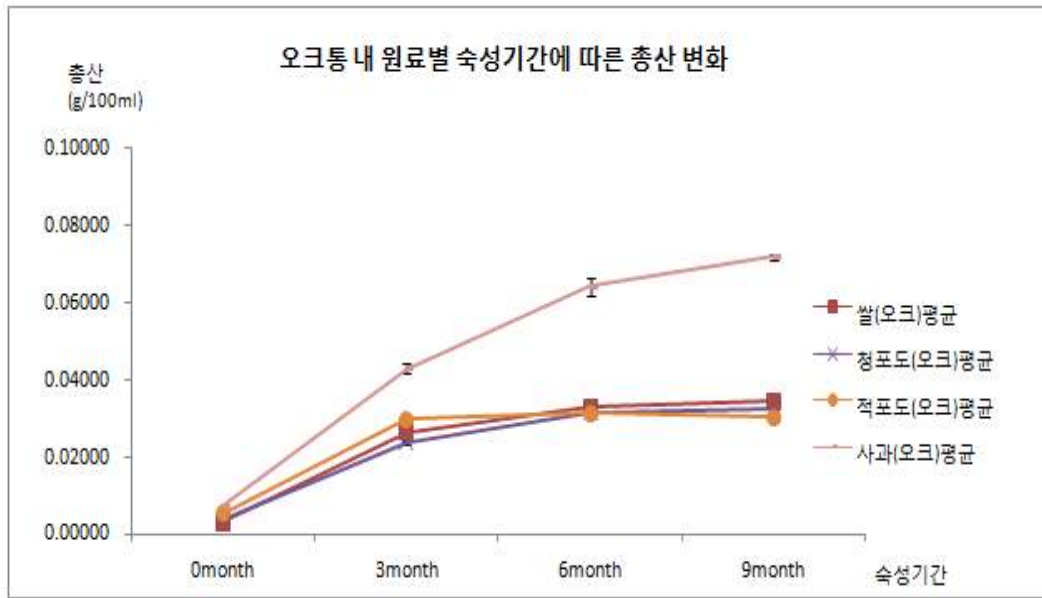
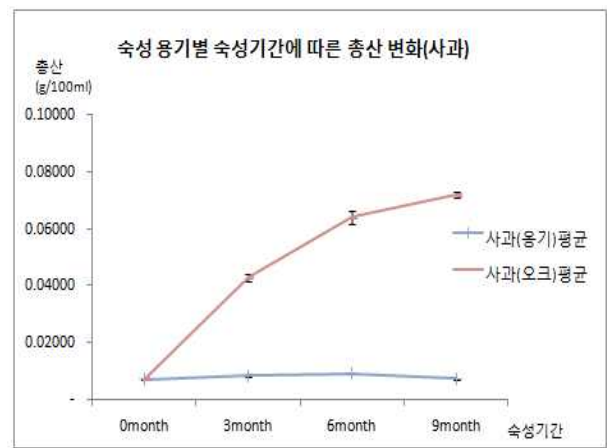
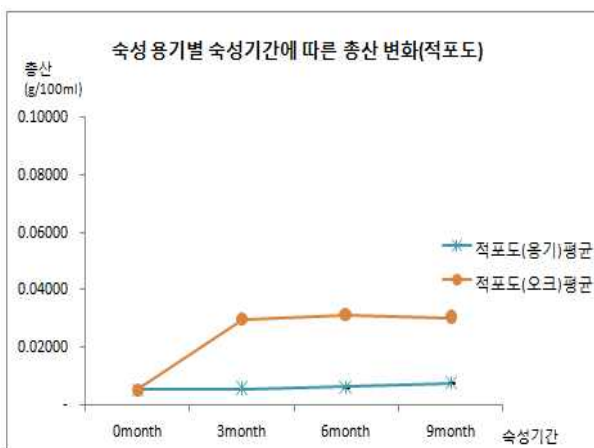
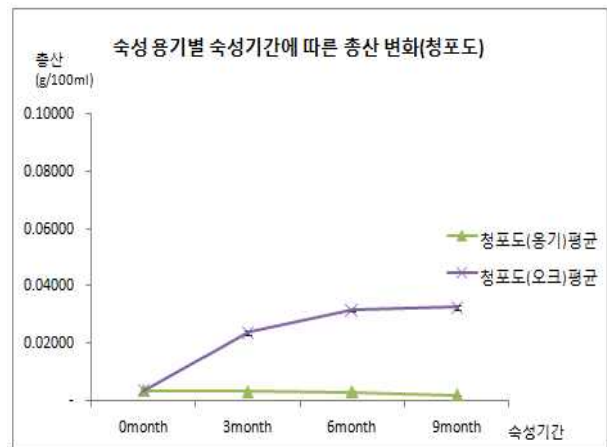
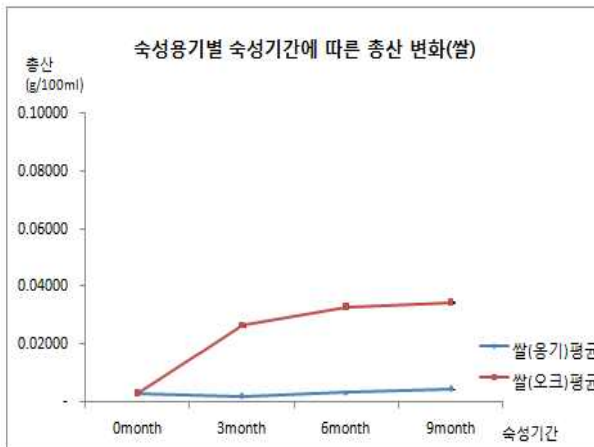


그림 3-11. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 총산(g/100ml) 변화



(다)산도

산도의 경우 숙성 전 각 증류주의 측정값은 쌀(0.00)<청포도(0.0594)<적포도(0.0693)<사과(0.0792) 순으로 나타났으며 총산의 결과와 동일한 순으로 나타났다. 총산에 비해 산도의 경우 보다 측정값의 range가 넓어 각각의 차이를 보다 세밀히 측정할 수 있었으나 숙성용기별

숙성기간에 따른 총산 변화 그래프와 산도 그래프는 비례하게 나타났다. 옹기에 숙성한 증류주의 경우 사과를 숙성시킨 증류주를 제외하고 9개월간의 변화가 거의 없이 유사한 값을 나타내었으며 사과 증류주만 숙성 전 0.0792에서 0.1089로 약 40%가량 증가하였다.

오크통에 숙성시킨 증류주의 경우 9개월간 증류주별 총산의 증감율과 유사한 산도의 증감율을 보이고 있으며 전체 증류주 모두 3개월째 가장 가파른 상승을 보이고 이 후 다소 완만한 상승 곡선을 나타내고 있다. 특히 사과의 경우 숙성 전 0.0792에서 3개월째 0.8972로 10배 이상의 증가를 보였으며 9개월째 숙성 전에 비해 13배가량 상승한 1.0989가 측정되었다. 오크통의 경우 전체 증류주에서 3개월 이내에 가장 큰 변화가 나타났으며 이는 산화나 침출에 의한 숙성이 빠르게 진행된 구간임을 의미할 수 있다.

쌀 증류주의 경우 옹기 숙성 시 산도가 0으로 유지되었으나 오크통 숙성 시 3개월째 0.4257로 증가한 뒤 9개월까지 0.4752로 다소 완만한 상승곡선을 보여주고 있다.

청포도 증류주의 경우 옹기 숙성 시 쌀 증류주와 마찬가지로 숙성기간 동안 변화가 거의 없이 유지 되었으나 이에 반해 오크통에 숙성한 청포도 증류주의 경우에는 숙성 전 산도 0.0594에서 3개월째 0.4857로 8배가량 가파르게 상승 후 9개월까지 0.5742로 완만하게 상승한 곡선을 보여주고 있다.

적포도 증류주의 경우에도 옹기 숙성 시 숙성 전과 거의 변화없이 산도가 유지되었으며 오크통 숙성 시 3개월째 가파른 상승 후 완만한 상승곡선을 보여 9개월째 산도가 0.4851이 측정되었다. 총산의 결과와 유사하게 적포도 증류주의 경우 숙성 전과 9개월째의 증감율이 가장 낮은 실험군으로 숙성 진행과 증감율의 관계는 차후 확인토록 하겠다.

사과 증류주의 경우 옹기 숙성 시 다른 실험군에 비해 숙성 기간이 증가함에 따라 산도가 소폭 상승하는 비례곡선을 형성하고 있으며 오크통에 숙성 시 사과 증류주의 경우 9개월 숙성된 실험군 중 가장 높은 산도(1.0989)가 측정되었다. 사과 증류주는 산화 등 숙성에 민감한 요소를 포함하고 있는 것으로 사료되며 향기성분 등의 분석을 통하여 보다 세밀히 관찰하고자 한다.

표 3-4. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 산도(적정산도) 변화(산도±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
옹기	쌀	0.0000±0.0000	0.0000±0.0000	0.0000±0.0000	0.0000±0.0000
	청포도	0.0594±0.0012	0.0568±0.0008	0.0588±0.0005	0.0594±0.0010
	적포도	0.0693±0.0010	0.0693±0.0002	0.0682±0.0018	0.0693±0.0019
	사과	0.0792±0.0010	0.0988±0.0006	0.1188±0.0012	0.1089±0.0014
오크통	쌀	0.0000±0.0000	0.4257±0.0146	0.4382±0.0088	0.4752±0.0119
	청포도	0.0594±0.0012	0.4857±0.0068	0.5539±0.0152	0.5742±0.0083
	적포도	0.0693±0.0010	0.4328±0.0113	0.4820±0.0078	0.4851±0.0093
	사과	0.0792±0.0004	0.8972±0.0062	1.0494±0.0267	1.0989±0.0181

그림 3-12. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 산도(적정산도) 변화

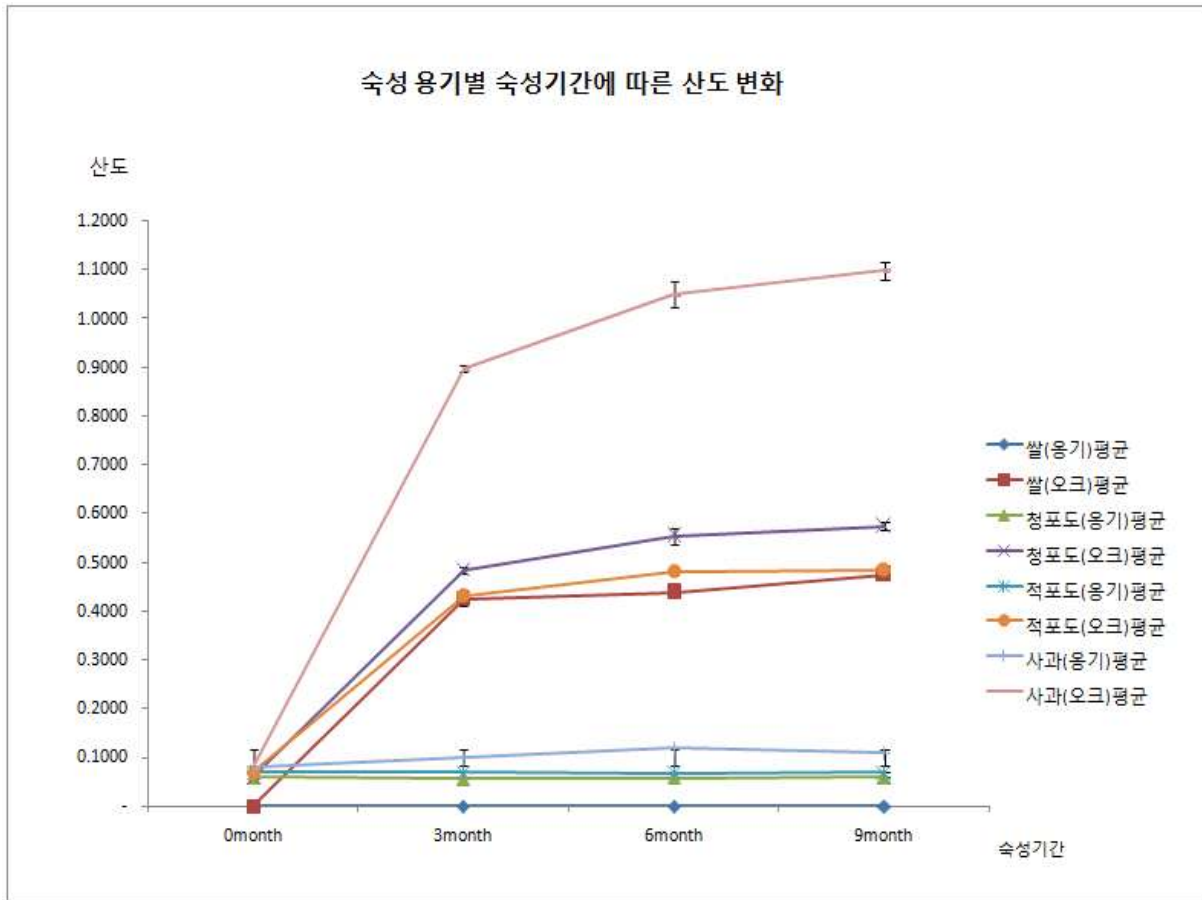


그림 3-13. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 산도(적정산도) 변화

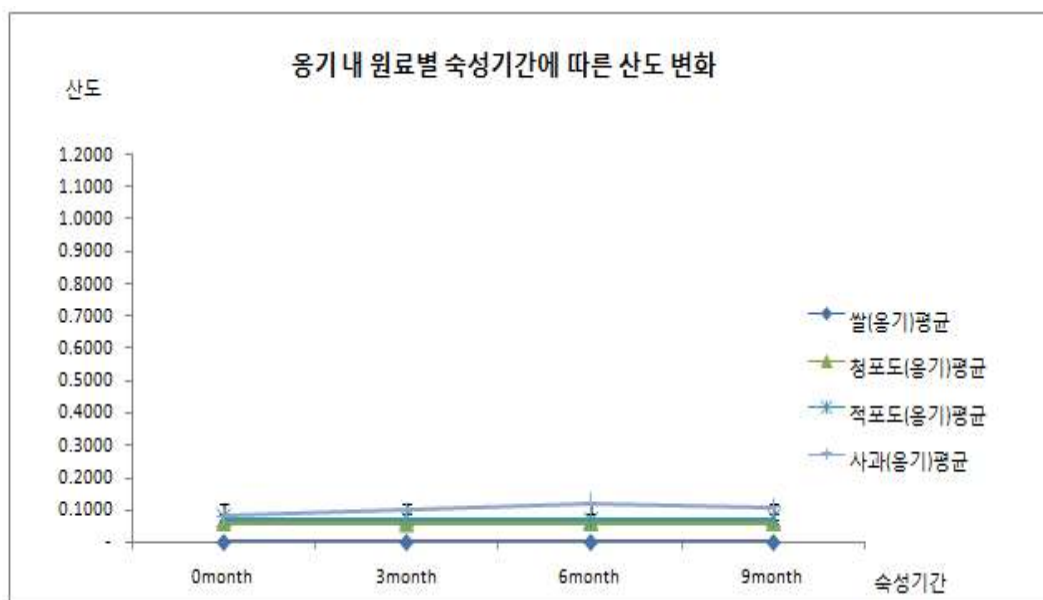


그림 3-14. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 산도(적정산도) 변화

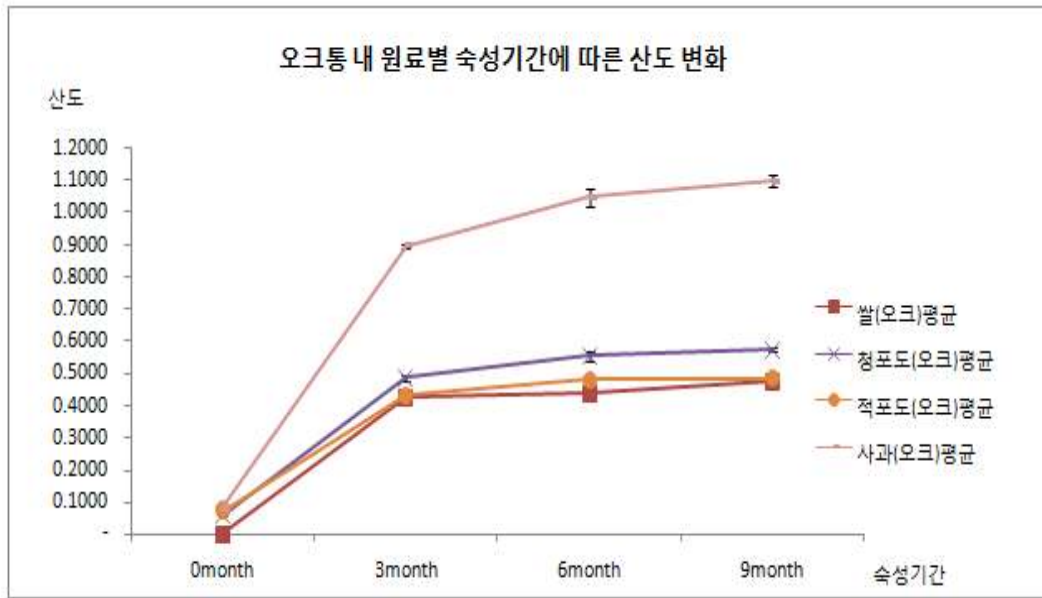
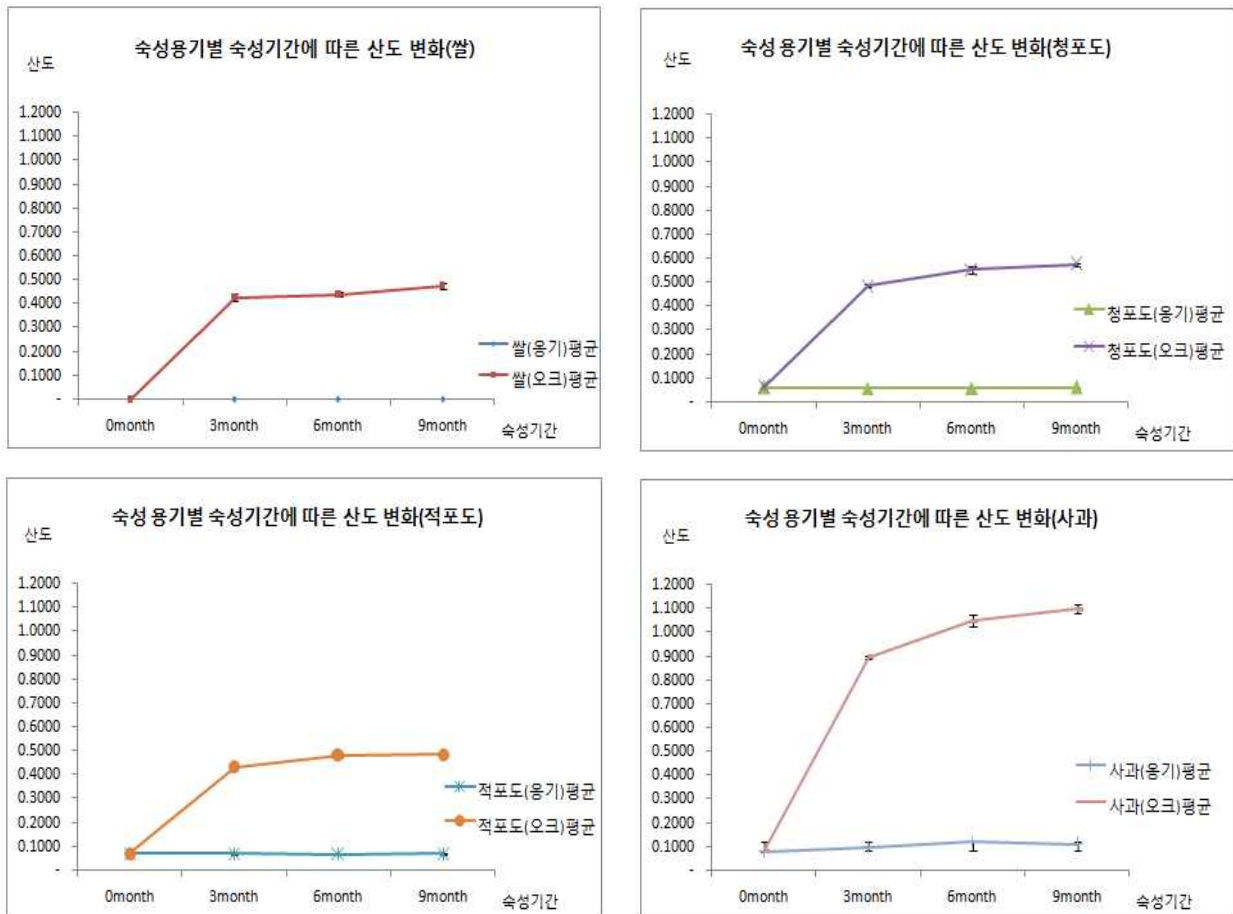


그림 3-15. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 산도(적정산도) 변화



(라) 밀도

밀도의 경우 알코올분과 반비례 관계의 분석 치로 에탄올 함량이 증가할수록 밀도가 감소하게 되므로 알코올분의 높고 낮음을 측정할 수 있는 척도가 된다. 본 실험의 경우 측정온도는

15°C에서 측정하였으며 3반복하여 그 결과를 평균치로 나타내고 표준편차를 정리하였다.

전체 실험군 모두 밀도는 0.9330~0.9356g/cm³ 범위에서 측정되었으며 용기 숙성과 오크통 숙성에 따른 구분되는 차이는 발견되지 않았다. 표준편차가 가장 크게 발생된 실험군은 3개월째 용기에 숙성시킨 쌀증류주로 pH가 측정 시 불안정 하였던 것과 같은 사유로 사료되며 알코올 측정에서도 동일한 결과가 초래될 것으로 사료된다. 오크통 숙성 제품에 비해 용기 숙성 시 결과치가 불안정한 사유는 알칼리 토금속의 유출, 중성의 pH나 혹은 입자간의 결합에 의한 문제로 보여지며 숙성과 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 3개월 이후 밀도가 낮아지는 것으로 볼 수 있으며 이는 알코올도수의 상승을 의미하며, 물과 같은 에탄올 외 함량이 감소한 것임으로 비점에 의한 휘발로 유추하기에는 무리가 있다. 오크통의 경우에는 9개월까지 0.9346g/cm³에서 0.9348g/cm³로 소폭 상승하였으며 이는 오크통 숙성 시 물을 이용하여 불렀던 오크통 벽이 머금은 수분에 의한 침출, 삼투압 현상으로 인한 에탄올 함량의 감소, 혹은 알코올 성분 등의 휘발을 사유로 들 수 있다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 전 숙성기간 동안 밀도가 0.9345g/cm³로 유지되었으며 오크통의 경우에도 0.9345g/cm³에서 0.9346g/cm³으로 소폭 상승하였으나 모두 표준 편차 내 변화로 큰 변화 없이 밀도가 유지되었다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전(0.9338g/cm³)에 비해 9개월 숙성기간까지 점차적으로 밀도가 0.9346g/cm³으로 상승되었으며 그 상승된 폭이 오크통에 숙성시킨 적포도 증류주보다 크다. 오크통에 숙성시킨 적포도 증류주의 경우 숙성 전 0.9338g/cm³에서 9개월째 0.9341g/cm³로 상승되었으며 이는 알코올 함량의 감소를 의미한다. 용기 숙성 시 오크통에 숙성시킨 적포도 증류주보다 밀도가 상승된 것은 용기 내 수분의 증가나 알코올 성분의 휘발을 그 사유로 들 수 있으며 용기 특성 사 후자에 가까운 것으로 사료된다.

사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 밀도가 점차적으로 상승되었으며 전 실험군 중 9개월째 가장 높은 밀도(0.9348g/cm³)가 측정되었다. 오크통에 숙성한 사과 증류주의 경우 숙성 전 밀도가 0.9338g/cm³에서 9개월째 0.9340g/cm³으로 소폭 상승되었으며 이는 오크가 머금고 있던 물의 침출에 의한 결과로 여겨진다.

표 3-5. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 밀도(g/cm³) 변화(밀도±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	0.9346±0.0001	0.9346±0.0009	0.9344±0.0004	0.9342±0.0002
	청포도	0.9345±0.0002	0.9345±0.0001	0.9345±0.0001	0.9345±0.0001
	적포도	0.9338±0.0001	0.9340±0.0005	0.9345±0.0000	0.9346±0.0001
	사과	0.9338±0.0005	0.9340±0.0005	0.9345±0.0000	0.9348±0.0000
오크통	쌀	0.9346±0.0001	0.9346±0.0005	0.9347±0.0001	0.9348±0.0001
	청포도	0.9345±0.0002	0.9346±0.0002	0.9346±0.0003	0.9346±0.0001
	적포도	0.9338±0.0001	0.9340±0.0001	0.9340±0.0001	0.9341±0.0001
	사과	0.9338±0.0005	0.9339±0.0005	0.9339±0.0000	0.9340±0.0000

그림 3-16. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 밀도(g/cm³) 변화

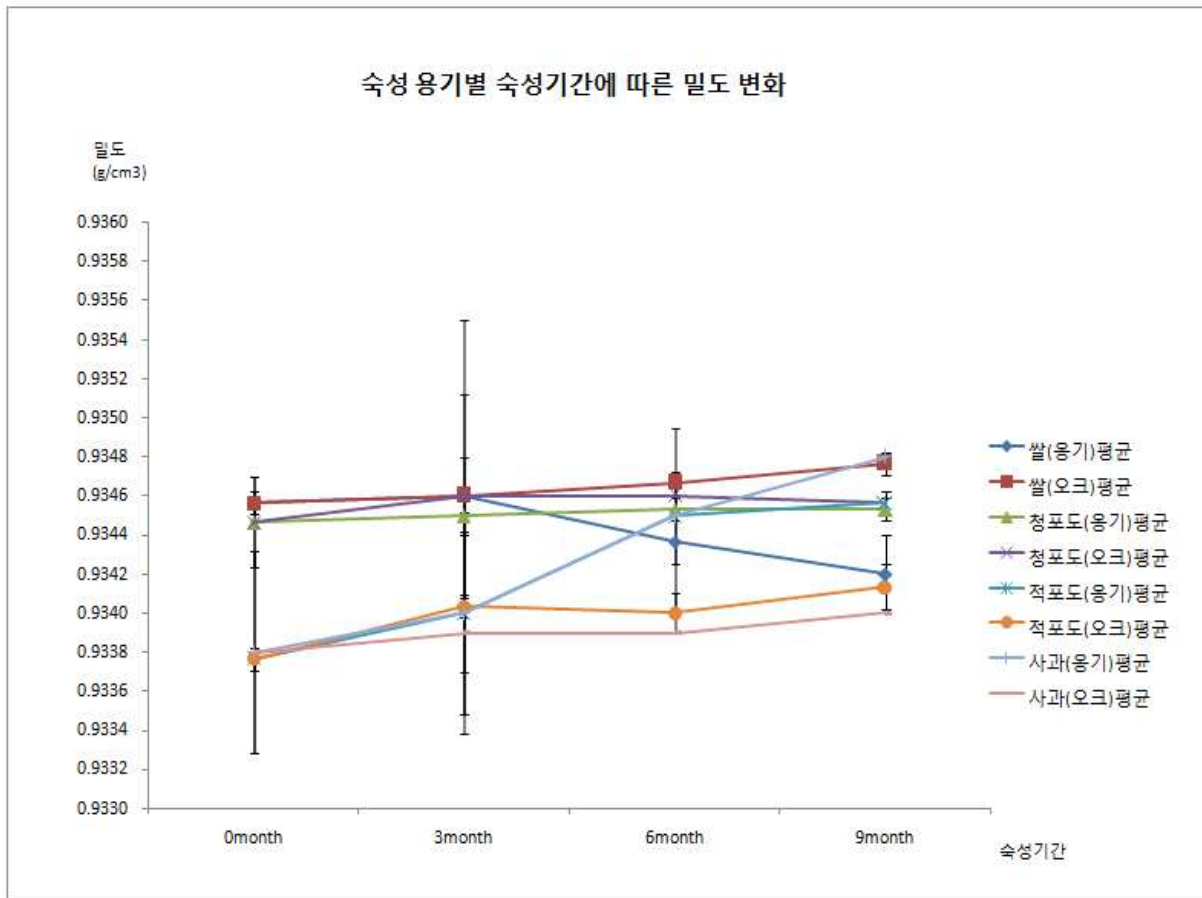


그림 3-17. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 밀도(g/cm³) 변화

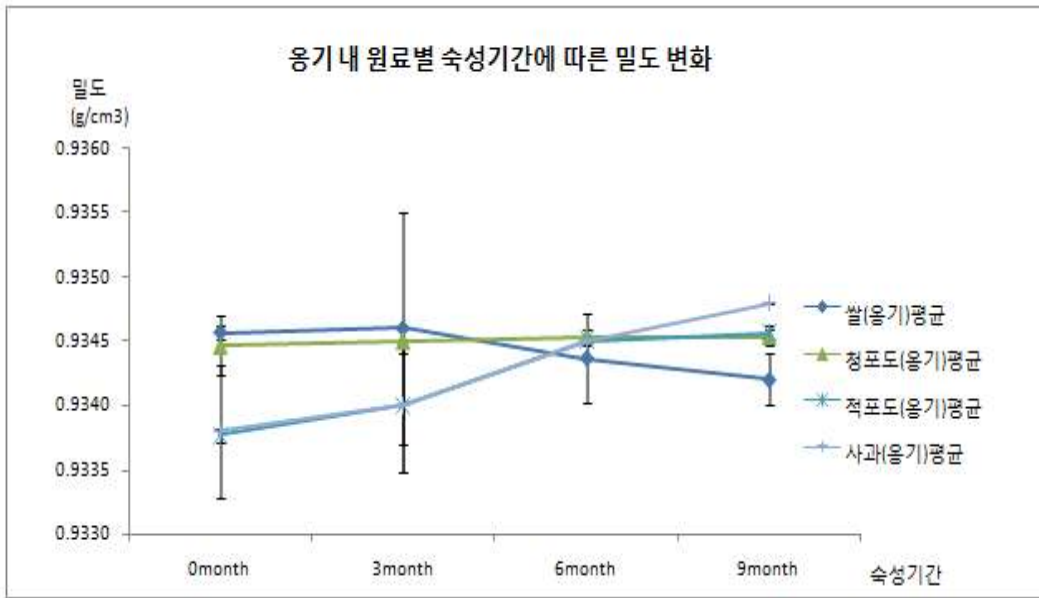


그림 3-18. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 밀도(g/cm³) 변화

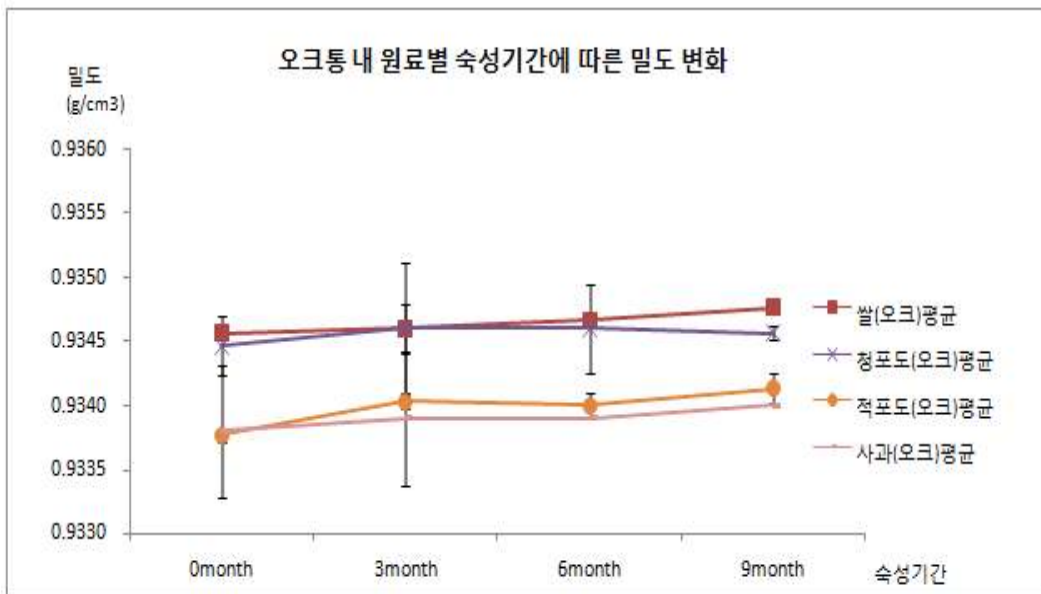
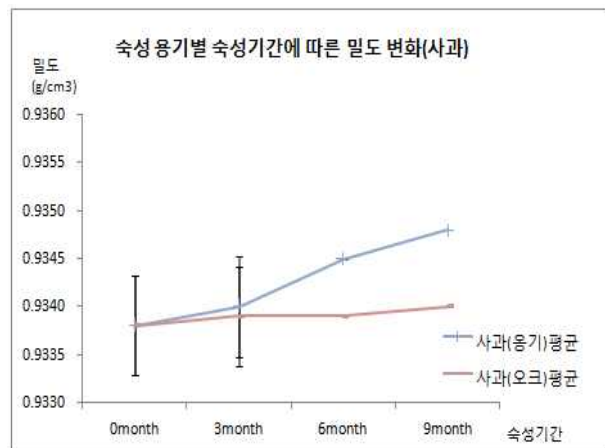
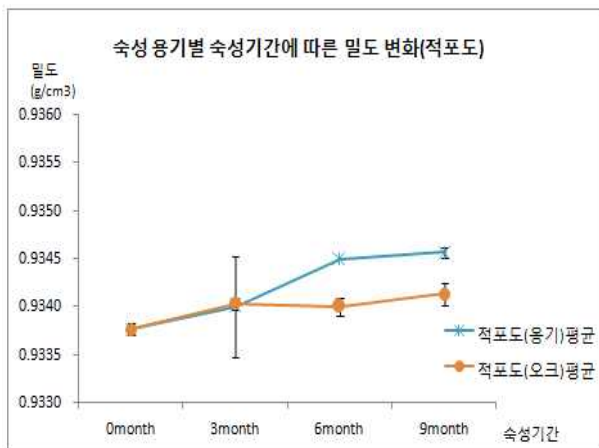
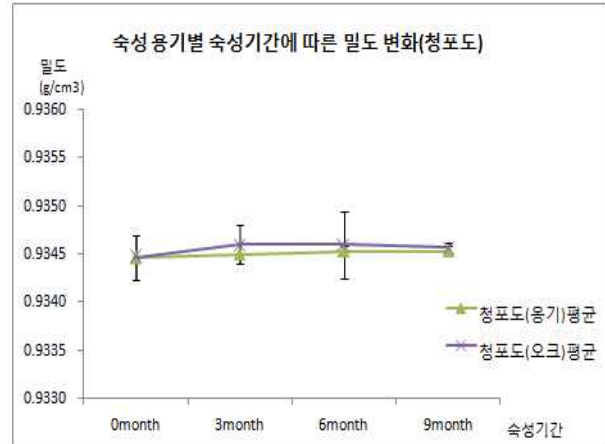
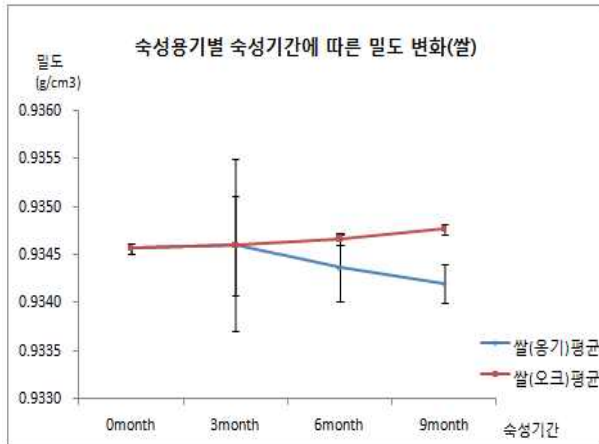


그림 3-19. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 밀도(g/cm³) 변화



(마)알코올

알코올함량의 경우 밀도 측정값과 정확히 반비례를 형성하는 그래프가 발생되며 용기 숙성 실험군과 오크통 숙성 실험군의 차이는 발생되지 않으며 용기에 숙성시킨 쌀 증류주를 제외하고는 모두 숙성기간이 증가함에 따라 알코올 함량이 감소되는 것이 관찰된다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 알코올 함량 49.63도(v/v%)로 시작하여 숙성 9개월째 49.88도(v/v%)로 약 0.25도(v/v%) 상승되었으며 표준 편차 범위 내에 상승되었으며 3개월째 0.4도(v/v%)의 표준편차가 발생되어 전 실험군 중 가장 큰 오차범위를 보여주었다. 이는 pH, 밀도 등에서도 동일한 결과가 발생되었으며 분자간의 결합 및 알칼리 토금속의 용출 등이 미친 불안정한 결과로 예상된다. 오크통 숙성 시 쌀 증류주는 6개월째부터 알코올함량이 소폭 감소하기 시작하여 9개월째에는 49.56도(v/v%)로 숙성 전에 비해 약 0.1도(v/v%)도 감소하였다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 알코올 함량 49.75도(v/v%)에서 9개월째 49.66도(v/v%)로 완만한 알코올 함량의 감소를 보였으며, 오크통 숙성 시 용기 숙성에 비해 지속적인 감소 곡선을 형성하였다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성기간이 증가할수록 알코올 함량이 감소하는 것을 볼 수 있으며 오크통에 숙성시킨 적포도 증류주의 경우 이보다 완만히 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

사과 증류주의 경우 용기숙성 시 숙성 전 알코올 함량 50.05도(v/v%)에서 9개월째 49.56도(v/v%)로 가장 큰 감소 폭을 보여주었으며, 오크통 숙성 시 용기 숙성에 비해 완만한 감소

곡선을 형성하였다.

오크통 숙성의 경우 증류주를 채우기 이전 오크통에 물을 넣어주어 오크를 불려주는 작업을 진행한다. 본 작업을 통하여 작업 전 오크통 중량의 20~30% 가량이 증가하게 되며, 이 증가된 중량은 오크통이 물을 머금은 중량과 동일하다. 따라서 숙성이 진행되는 동안 삼투압 현상과 침출 현상에 의해 측정되는 알코올 함량은 지속적으로 감소할 것으로 보여지며 이에 대한 것은 측정된 알코올함량으로 확인할 수 있다.

용기 숙성 시 사용되는 무유약 용기는 유약을 바르지 않고 용기를 제작할 때 사용하는 토양 재질을 미립자로 곱게 만들어 제작하여 유약을 바르지 않고도 새지 않게 만든 용기이다. 본 제품은 용기 재질과의 접촉이 지속적으로 이루어지며, 공기와 접촉되는 면적이 넓어 숙성에 적합하다. 용기 숙성 시 공기와 접촉되는 면에 의해 휘발이나 산화 등이 일어날 수 있으며 이에 따라 알코올의 감소가 이루어 질 수 있다.

표 3-6. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 알코올함량(v/v%) 변화(알코올함량±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	49.63±0.03	49.66±0.40	49.85±0.20	49.88±0.02
	청포도	49.75±0.12	49.78±0.10	49.76±0.08	49.66±0.05
	적포도	50.05±0.02	49.75±0.15	49.70±0.01	49.66±0.04
	사과	50.05±0.19	49.98±0.21	49.75±0.00	49.56±0.01
오크통	쌀	49.63±0.03	49.66±0.22	49.60±0.01	49.56±0.02
	청포도	49.75±0.12	49.70±0.16	49.66±0.29	49.63±0.04
	적포도	50.05±0.02	49.98±0.07	49.96±0.06	49.90±0.04
	사과	50.05±0.19	50.02±0.17	49.99±0.02	49.98±0.02

그림 3-20. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 알코올함량(v/v%) 변화

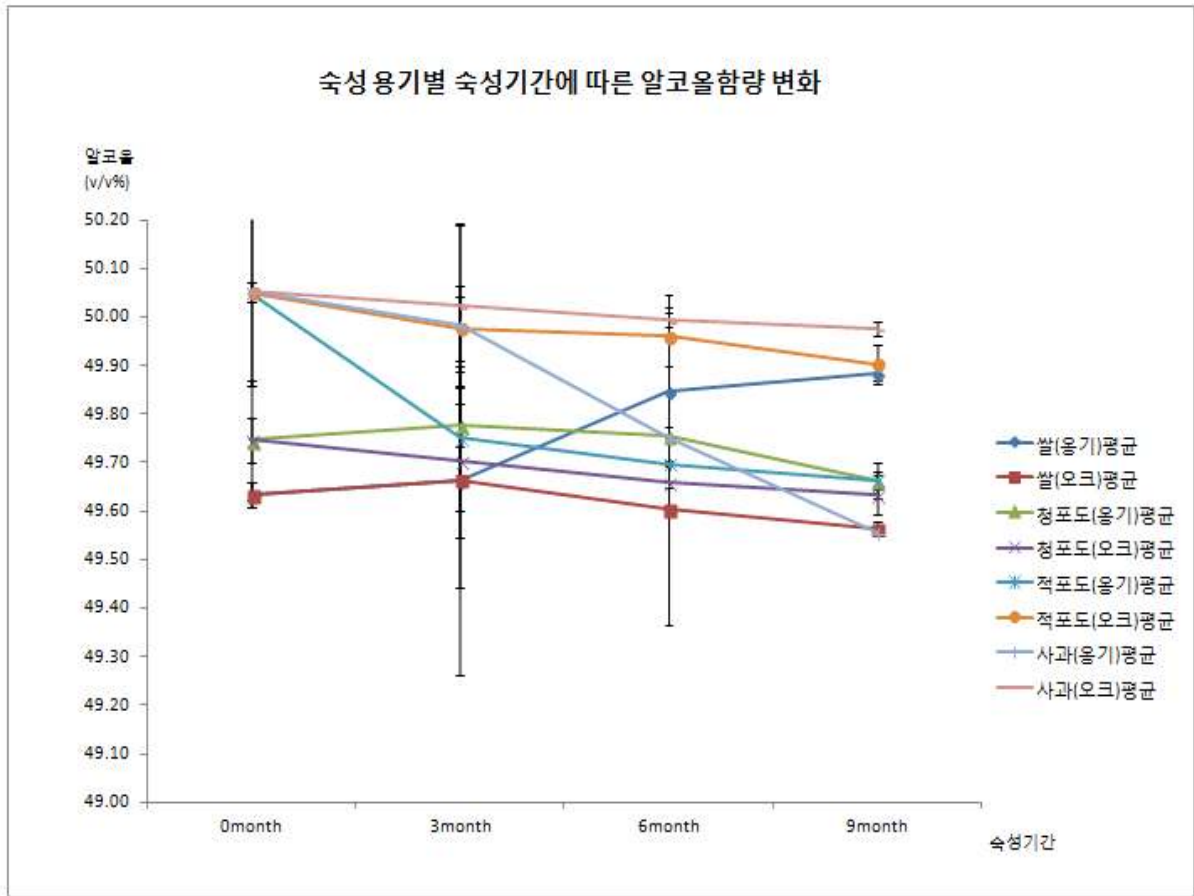


그림 3-21. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 알코올함량(v/v%) 변화

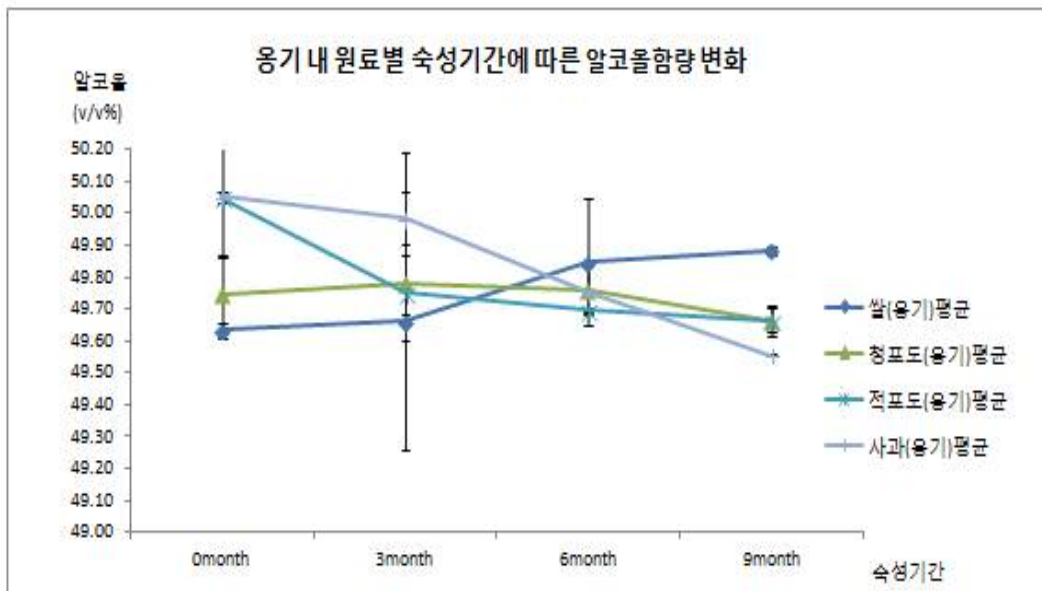


그림 3-22. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 알코올함량(v/v%) 변화

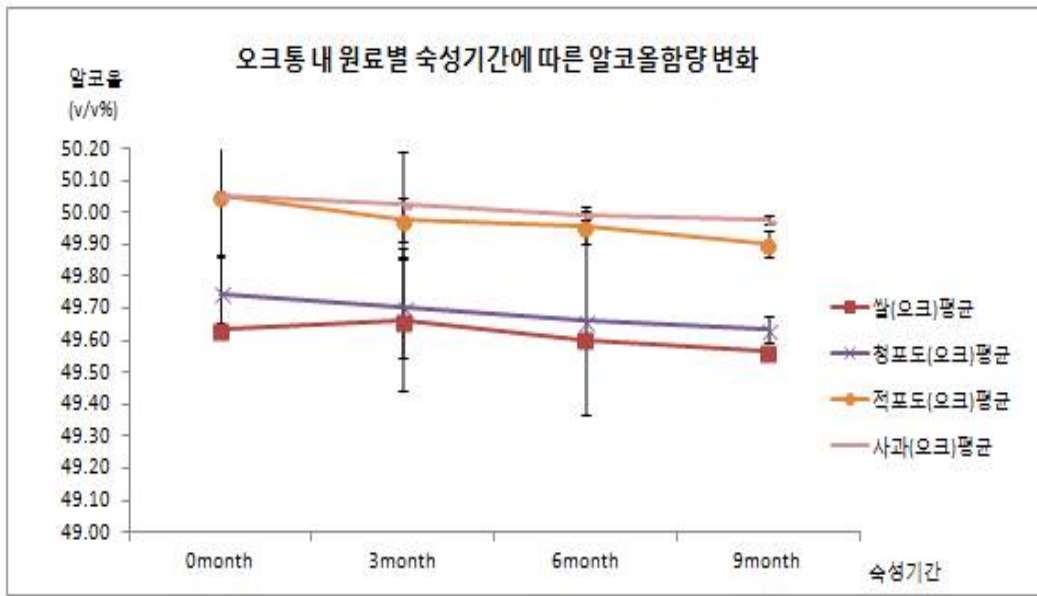
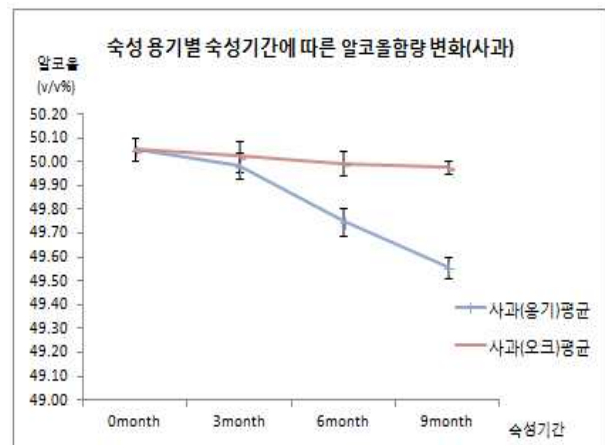
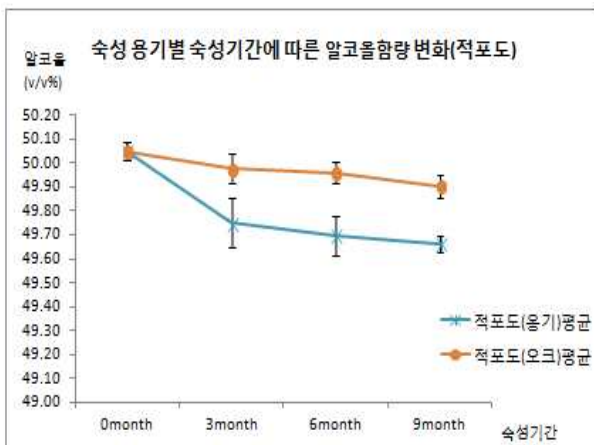
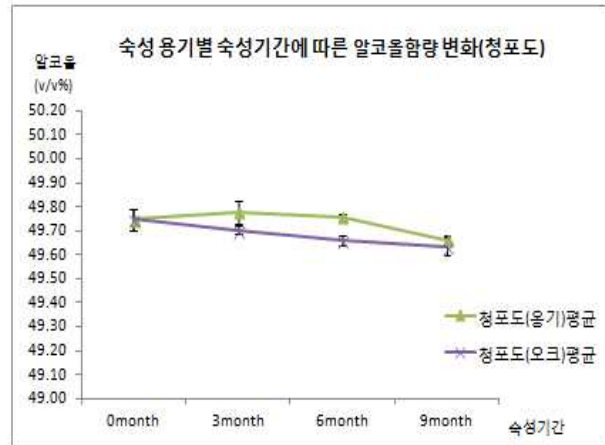
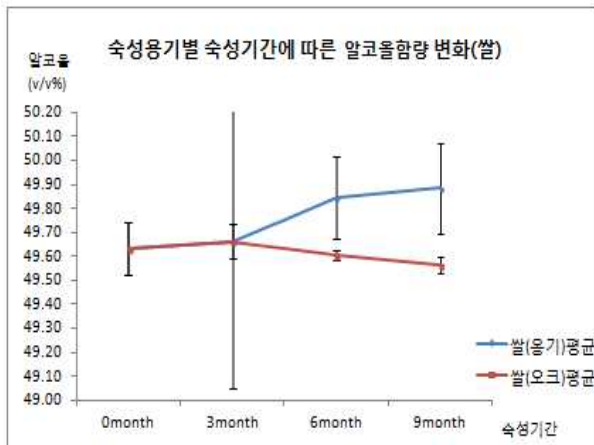


그림 3-23. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 알코올함량(v/v%) 변화



(바) 증량

증량의 경우 각각의 용기와 증류주별 숙성 량이 달랐기 때문에 각 실험군별 숙성 기간에 따른 비교를 하였다. 숙성 전 용기에 담겨진 증류주의 경우 용기에는 각 증류주가 모두 30ℓ 씩

담아졌으며 오크통에는 쌀 증류주가 55.7ℓ, 청포도 증류주가 52.1ℓ, 적포도 증류주가 57ℓ 그리고 사과 증류주가 53.5ℓ로 각 오크통의 규격 차이로 인하여 담아졌으며 이때 마개 부분이 당을 정도로 가득 담아주었다. 용기의 경우 증류주를 담기 전 9,360g±20g의 중량이 측정되었으며, 오크통의 경우 물에 불리기 전 15,710g±95g, 물에 불린 후 증류주를 담기 전 19,350g±115g의 무게가 측정되었다.

전체적으로 용기에 숙성시킨 실험군에 비해 오크통에 숙성시킨 증류주가 더 많은 중량의 감소량이 있었으나 숙성 전 중량에 비해 증감율을 비교 시 용기에 숙성시킨 증류주가 0.1~0.3% 감소하였고, 오크통의 증감율은 0.1~0.4%로 감소하여 용기에 따른 차이는 크게 나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 중량 37,398g에서 9개월째 37,293g으로 105g 감소하였으며 0.28% 감소하였다. 오크통에 숙성시킨 쌀 증류주는 숙성 전 71,407g에서 숙성 후 71,325g으로 82g 감소하였으며 0.12% 감소하였다. 숙성 시 중량의 감소는 휘발과 산화에 의한 알코올 함량 감소가 주요 요인으로 보여 진다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 중량 37,395g에서 9개월째 37,305g으로 90g 감소하였으며, 0.24% 감소하였다. 오크통에 숙성시킨 청포도 증류주는 숙성 전 68,037g에서 9개월째 67,856g으로 182g 감소하였으며, 0.27% 감소하였다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 37,374g에서 9개월째 37,305g으로 69g 중량이 감소하였으며, 0.19% 감소율을 보였다. 오크통 숙성 시 9개월 동안 263g이 감소하였으며 감소율은 0.36%로 전 실험군 중 가장 큰 감소율과 감소량을 보였다.

사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 37,374g에서 9개월째 37,311g으로 중량이 63g 감소하였으며, 0.17%의 감소율을 나타내었다. 오크통 숙성 시 9개월동안 176g이 감소되었으며 0.25%의 감소율을 보였다.

중량의 결과는 밀도로 증류주의 량을 산출할 수 있으며, 이 량과 알코올 함량을 토대로 주정계수를 산출하여 감소량의 적정성을 확인할 수 있다.

표 3-7. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 중량(g) 변화(중량±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	37,398± 1	37,398±27	37,392± 9	37,293± 6
	청포도	37,395± 5	37,395± 3	37,395± 1	37,305± 2
	적포도	37,374± 2	37,380±16	37,395± 5	37,305± 1
	사과	37,374±16	37,380±16	37,395± 2	37,311± 1
오크통	쌀	71,407± 5	71,407±29	71,413± 6	71,325±15
	청포도	68,037±10	67,949±10	67,856±18	67,856±10
	적포도	72,577± 9	72,588± 6	72,401± 6	72,313± 6
	사과	69,308±28	69,314±28	69,127±18	69,132± 9

그림 3-24. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 중량(g) 변화

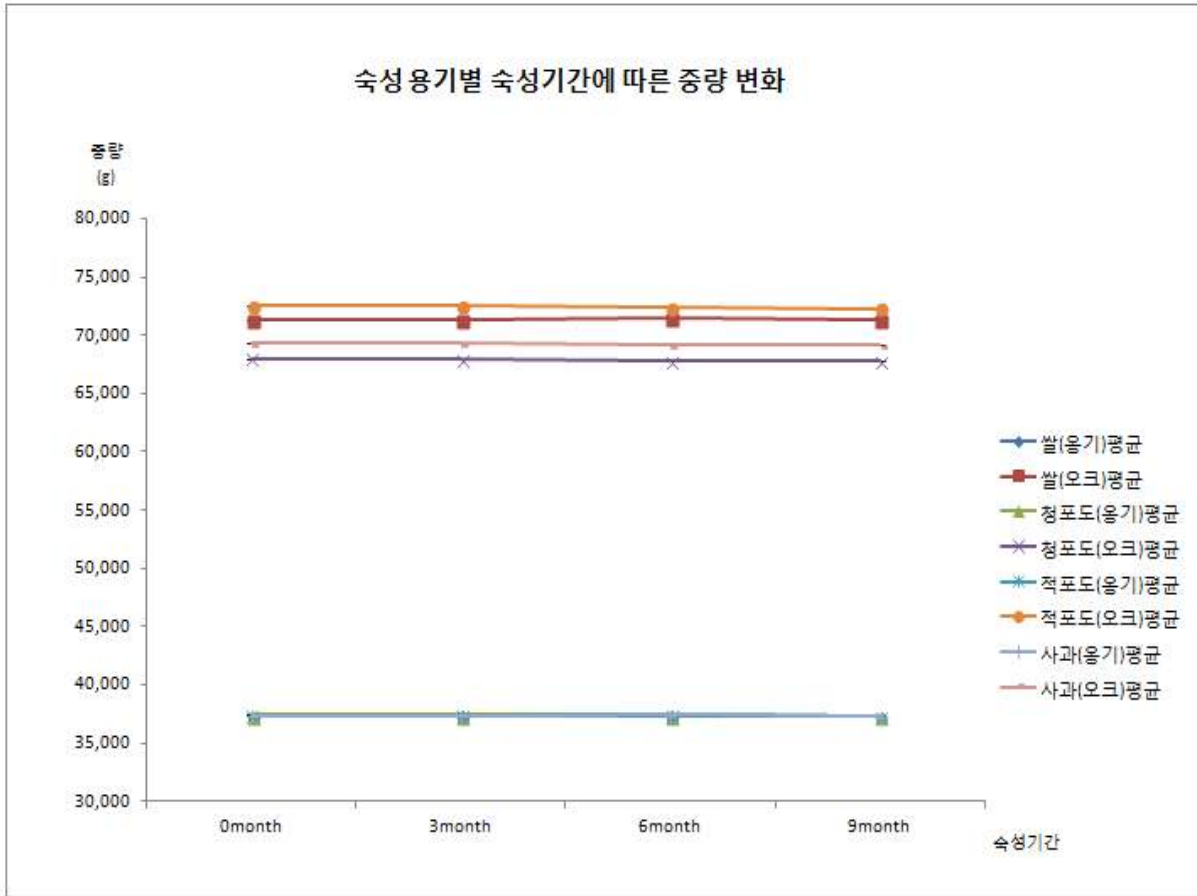


그림 3-25. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 중량(g) 변화

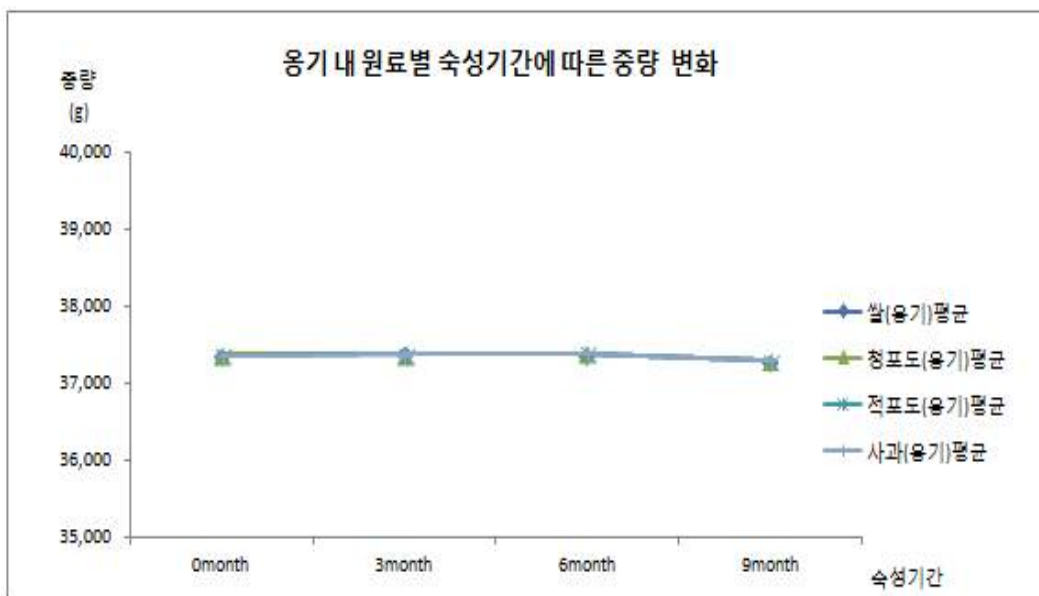


그림 3-26. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 중량(g) 변화

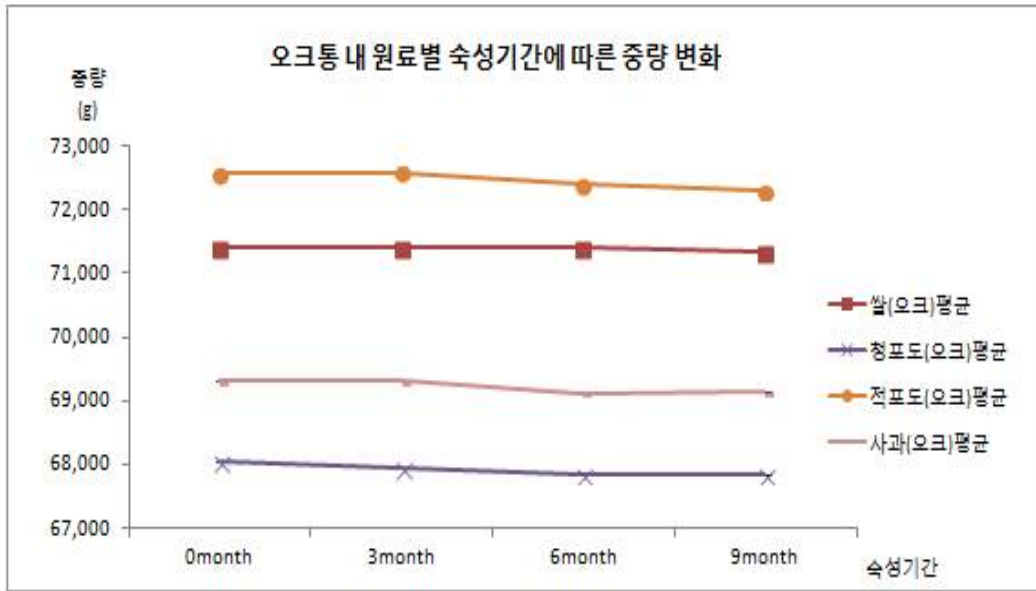
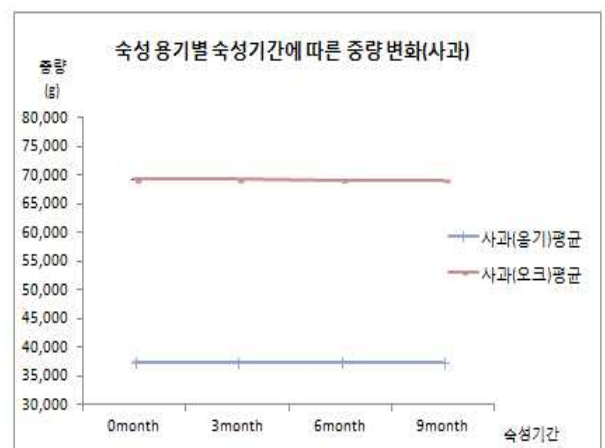
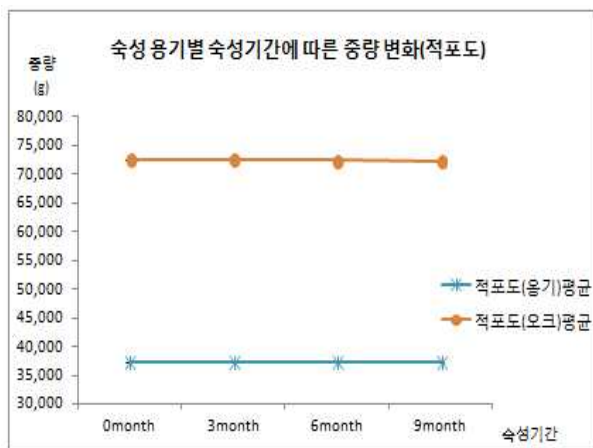
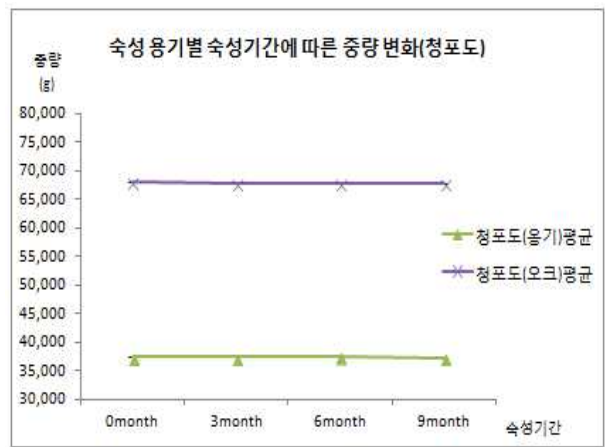
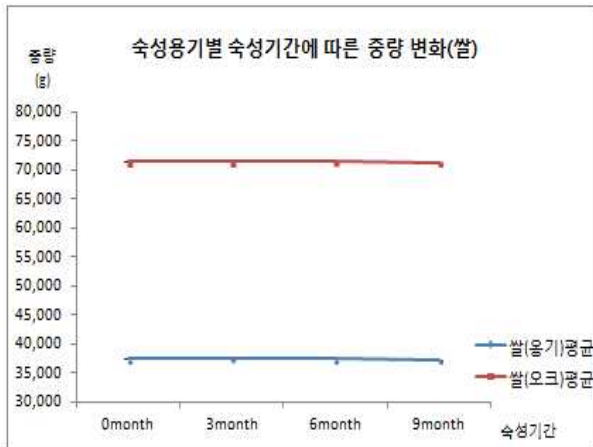


그림 3-27. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 중량(g) 변화



(사)주정계수

측정된 밀도와 중량(용기 무게를 제외한 중량)을 가지고 각 증류주의 량을 산출하고 이것을 알코올 함량을 곱하여 주정계수를 산출하였다.

본 추정계수를 산출한 사유는 현 주세법에서 숙성에 의한 실감량을 인정할 수 있는 범위가 다음과 같기 때문이다.

“주세법 시행령 제 26조 출고주류의 수량산정방법에서 제 4호의 ②항 위스키 또는 브랜드의 원액을 나무통에 넣어 저장하는 경우에는 연간 100분의 2이내에서 실감량을 인정할 수 있다.” 실감량은 추정계수의 증감율과 동일한 것으로 연간 2% 내로 감소한다면 적절한 감소로 볼 수 있다.

하기 표 3-8. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 추정계수 변화에 따르면 용기에 숙성시킨 쌀 증류주의 경우 0.17% 증가하였으며, 용기에 숙성시킨 사과증류주가 -1.31%로 가장 큰 실감량을 나타내었다. 오크통의 경우 모두 1% 미만의 실감율을 나타내어 적절한 감소로 볼 수 있다. 용기에 숙성시킨 쌀 증류주의 경우 알코올 함량과 마찬가지로 추정계수 또한 증가하였는데 이는 표준편차 범위 내에 있는 증가로 보여 지며 결감이 없는 것으로 보아도 무관할 것으로 보여 진다.

표 3-8. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 추정계수 변화

용기	증류주 종류	숙성기간(month)				증감율
		0	3	6	9	
용기	쌀	1,488.90	1,489.80	1,495.50	1,491.41	+0.17%
	청포도	1,492.50	1,493.40	1,492.80	1,484.83	-0.51%
	적포도	1,501.50	1,492.50	1,491.00	1,484.83	-1.11%
	사과	1,501.50	1,499.40	1,492.50	1,481.84	-1.31%
오크통	쌀	2,764.39	2,766.06	2,762.72	2,755.54	-0.32%
	청포도	2,591.98	2,584.40	2,577.35	2,575.80	-0.62%
	적포도	2,852.85	2,848.86	2,837.73	2,829.33	-0.82%
	사과	2,677.68	2,676.07	2,664.47	2,663.93	-0.51%

(아) 아세트알데히드

아세트알데히드는 저(低)비점 유해물질로 끓는점(B.P 22℃)이 낮아 휘발될 가능성이 있으며, 산화되면 아세트산이 생성된다. EU, FDA의 경우에도 아세트알데히드의 검출 허가 기준이 있으며 국내에도 식약처에서 주류별 검출 허가 기준을 마련하여 유해물질에 대비하고 있다.

표 3-9. 주류별 KFDA 저비점 유해물질 검출 허가 기준

<KFDA 검출 허가 기준>

	Acetaldehyde		MeoH	
	(mg/100ml)	ppm(mg/L)	(mg/ml)	ppm(mg/L)
증류식 소주	70	700	0.5	500
일반 증류주	70	700	0.5	500
브랜드	70	700	1.0	1000

숙성 전 실험군의 아세트알데히드 함량을 측정 한 후 용기와 오크통에서 숙성시키며 3개월 단위로 9개월까지 샘플을 채취하여 아세트알데히드 함량을 측정하였다. 그 결과 용기 숙성 증류주에 비해 오크통에 숙성시킨 증류주는 모두 숙성 전에 비해 9개월째 모두 아세트알데히드의 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었으며 용기의 경우 쌀 증류주와 사과 증류주만 9개월째 아세트알데히드가 감소하였다. 이는 오크통에서의 산화에 따른 아세트알데히드의 변화 혹은 저온에서의 휘발에 의한 것으로 사료되며, 용기에서는 이에 반해 숙성 및 산화의 정도가 낮은 것으로 보여 진다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 아세트알데히드 함량이 2.15ppm에서 3개월째 상승하였다가 이내 감소하여 9개월째에는 0.90ppm이 측정되었으며 오크통에 숙성시킨 쌀 증류주의 경우 3개월째 1.08ppm으로 낮아졌다가 9개월째까지 다시 소폭 상승하였다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 아세트알데히드 함량이 2.30ppm에서 3개월째 상승하여 4.37ppm이 측정된 후 이내 완만히 감소하여 9개월째 3.80ppm이 측정되었으며 오크통에 숙성시킨 청포도 증류주의 경우 지속적으로 감소하여 9개월째 0.38ppm이 측정되었다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 아세트알데히드 함량이 3.00ppm에서 6개월째까지 3.64ppm으로 상승하다 9개월째 소폭 감소하여 3.16ppm이 측정되었으며 오크통에 숙성시킨 적포도 증류주의 경우 9개월째 0.33ppm이 측정되었다.

사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 아세트알데히드 함량 9.73ppm에서 지속적인 감소를 통하여 9개월째 3.43ppm이 측정되었으며 오크통에 숙성시킨 사과 증류주의 경우 9개월째 2.91ppm이 측정되었다.

아세트알데히드는 총산이나 산도가 증가됨에 따라 감소하는 경향을 보이고 있으며 휘발에 의한 감소와 산화에 의한 감소가 주를 이룰 것으로 사료된다.

표 3-10. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 아세트알데히드(ppm) 변화
(아세트알데히드±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	2.15±0.03	4.55±0.06	3.97±0.12	0.90±0.06
	청포도	2.30±0.02	4.37±0.08	4.25±0.05	3.80±0.17
	적포도	3.00±0.05	3.53±0.08	3.64±0.04	3.16±0.18
	사과	9.73±0.24	7.56±1.58	4.74±0.55	3.43±0.12
오크통	쌀	2.15±0.03	1.08±0.22	1.29±0.07	1.37±0.06
	청포도	2.30±0.02	1.21±0.32	1.08±0.09	0.38±0.01
	적포도	3.00±0.05	1.03±0.14	1.43±0.15	0.33±0.01
	사과	9.73±0.24	4.42±1.16	4.76±0.91	2.91±0.04

그림 3-28. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 아세트알데히드(ppm) 변화

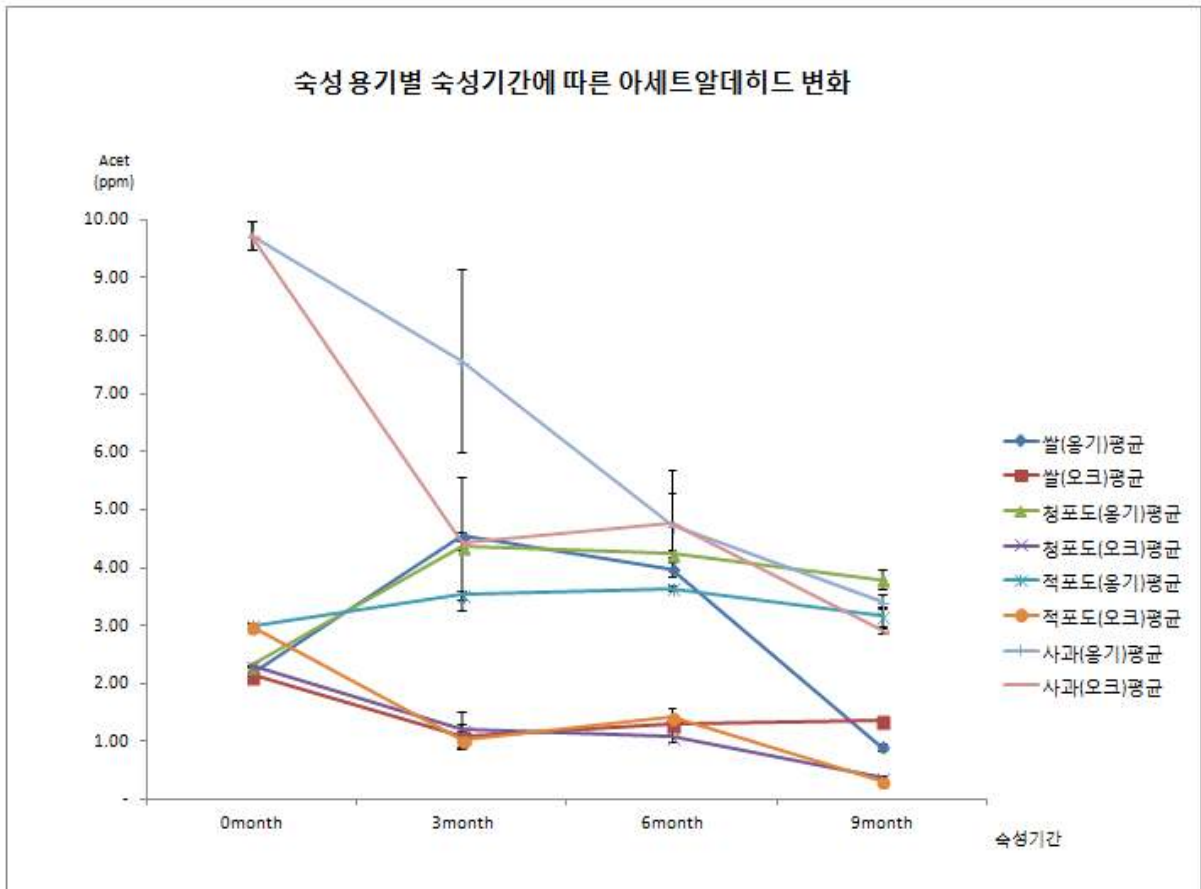


그림 3-29. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 아세트알데히드(ppm) 변화

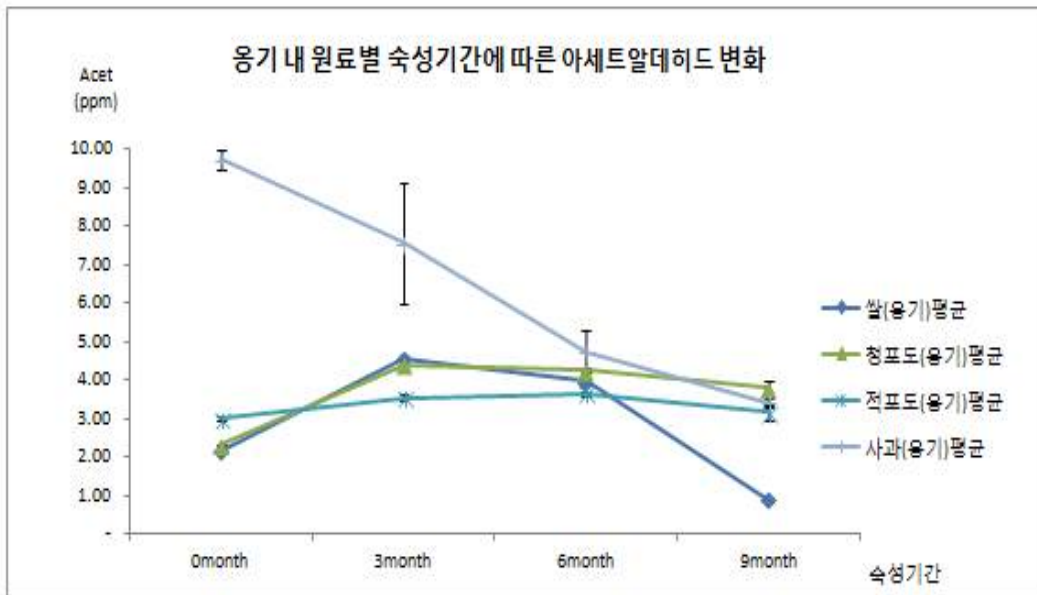


그림 3-30. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 아세트알데히드(ppm) 변화

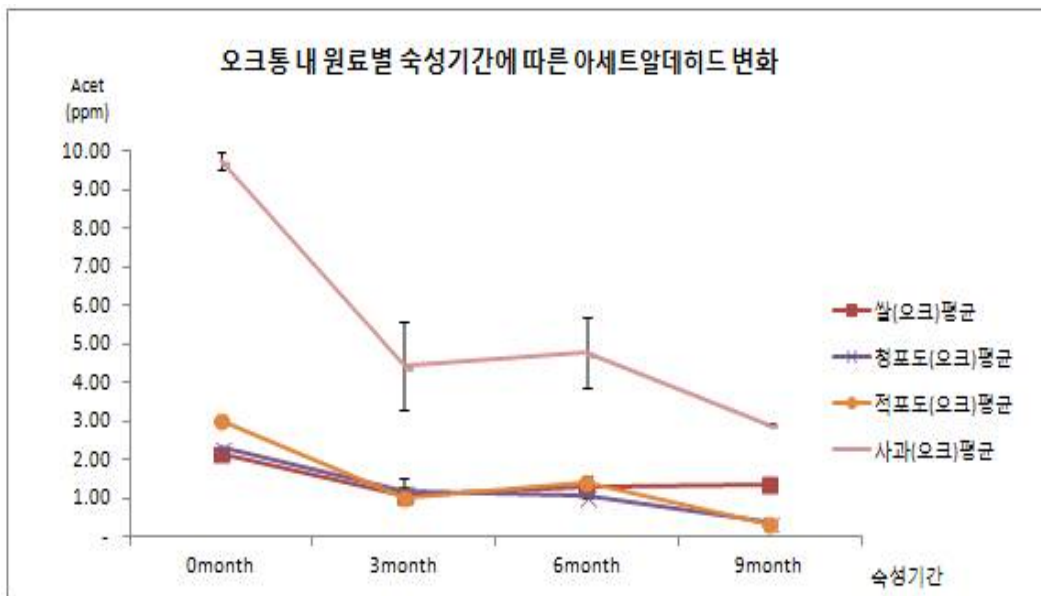
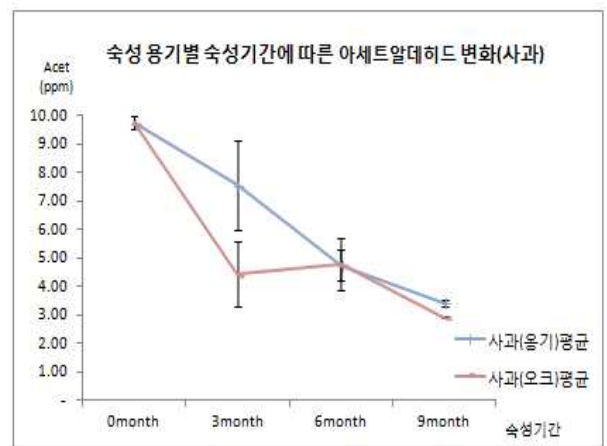
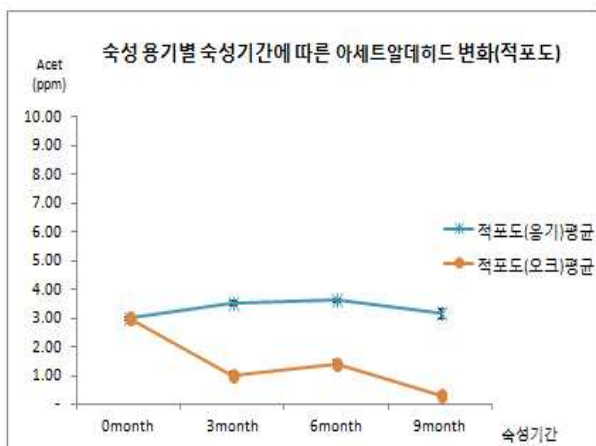
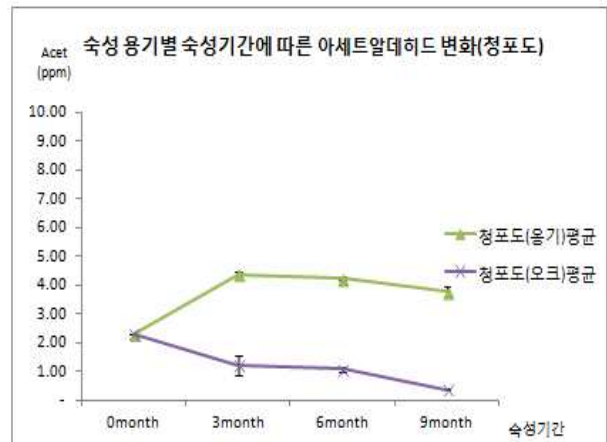
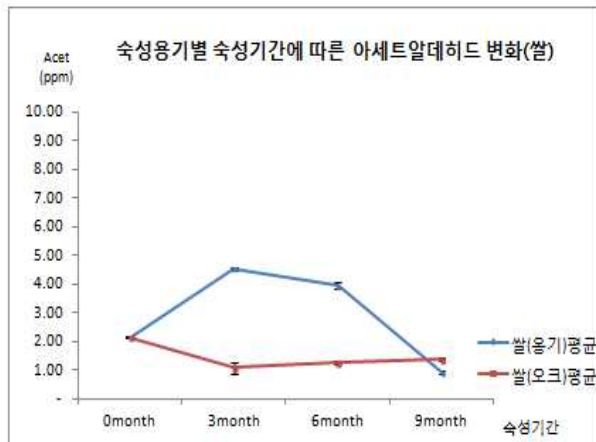


그림 3-31. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 아세트알데히드(ppm) 변화



(자) 메탄올

메탄올은 에탄올(B.P 78℃)에 비해 비점(메탄올 B.P 64℃)이 낮은 저(低)비점의 무색, 휘발성, 가연성 유독성 액체로써 EU, FDA에서 주류별 검출 허가 기준을 갖고 있으며 국내에서도 주류별 검출 허가 기준이 있는 물질이다.

본 실험에서는 각 증류주별 숙성 전 메탄올의 함량을 측정 후 3개월 단위로 9개월째까지 샘플을 채취하여 메탄올의 함량을 측정 후 비교해 보았다.

메탄올의 경우 옹기 숙성과 오크통 숙성의 차이는 거의 나타나지 않았으며 각 증류주 별로 유사한 함량이 검출되었다.

다만 각 증류주 별로 비교하면 쌀의 경우 3개월째 소폭 증가한 후 6개월째 감소하였다가 9개월째 16ppm 이상이 검출되었으며 청포도의 경우 숙성 전 11.07ppm이 측정된 후 3개월째 증가하였다가 이내 감소하기 시작하여 9개월째 약 10ppm 가량이 검출되었다.

적포도의 경우 숙성 전 10.35ppm이 검출된 후 6개월째까지 소폭 상승 후 9개월째 약 9ppm 가량이 측정되었으며 사과의 경우 숙성 전 메탄올 함량이 12.41ppm 측정된 후 3개월째 소폭 상승하였다가 9개월째까지 감소하여 약 11ppm 가량이 측정되었다.

각 증류주별 메탄올 함량은 일정한 경향을 보이고 있으나 연관을 지을 수 있는 항목이 관찰되지 않는다.

표 3-11. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 메탄올(ppm) 변화(메탄올±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	6.49±0.24	9.53±0.90	5.40±0.21	16.14±0.97
	청포도	11.07±0.24	14.29±0.23	13.49±0.34	10.55±0.02
	적포도	10.35±0.14	9.30±2.67	11.05±0.01	9.50±0.29
	사과	12.41±0.09	13.41±0.18	11.74±0.28	11.56±0.16
오크통	쌀	6.49±0.24	9.33±0.78	6.41±0.11	16.36±0.67
	청포도	11.07±0.24	13.47±0.48	13.58±0.51	10.61±0.30
	적포도	10.35±0.14	10.48±0.05	10.85±0.16	9.42±0.21
	사과	12.41±0.09	13.16±0.16	12.49±0.56	11.14±1.18

그림 3-32. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 메탄올(ppm) 변화

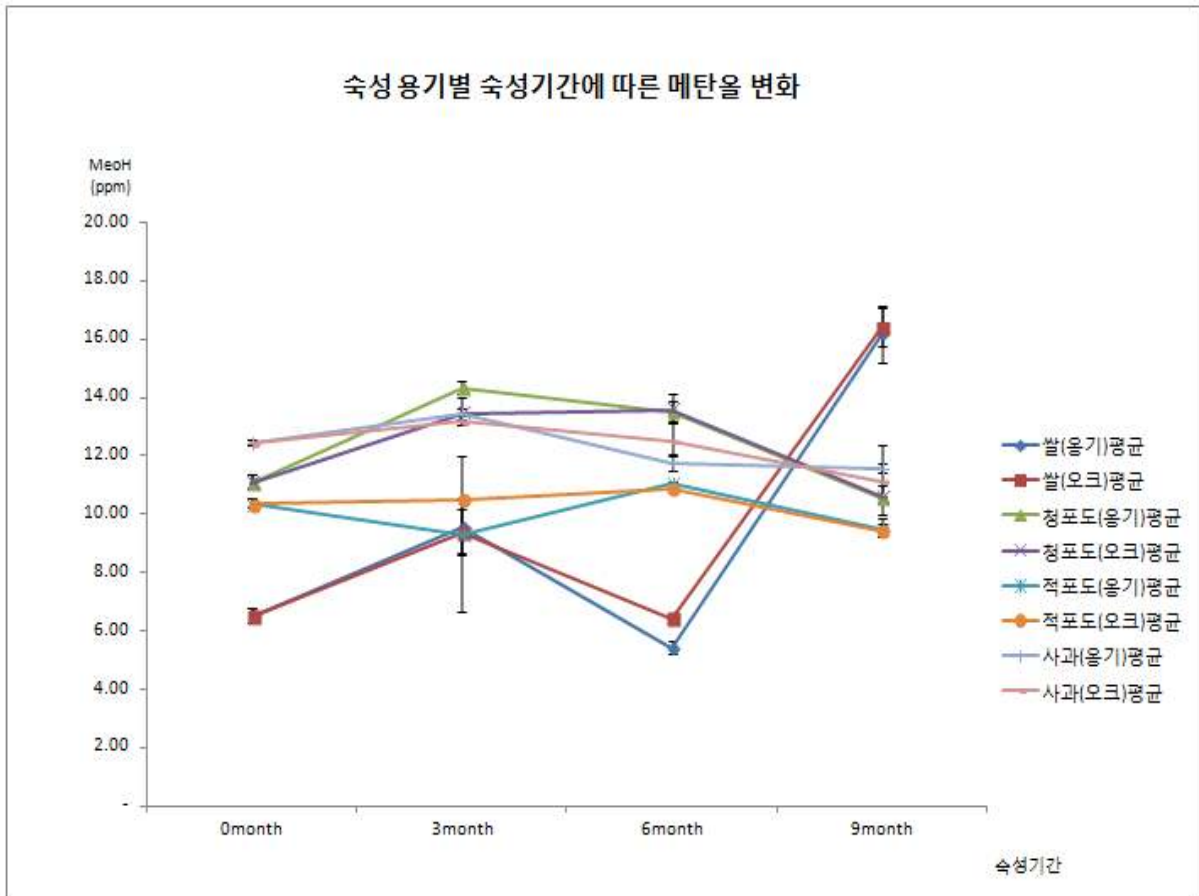


그림 3-33. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 메탄올(ppm) 변화

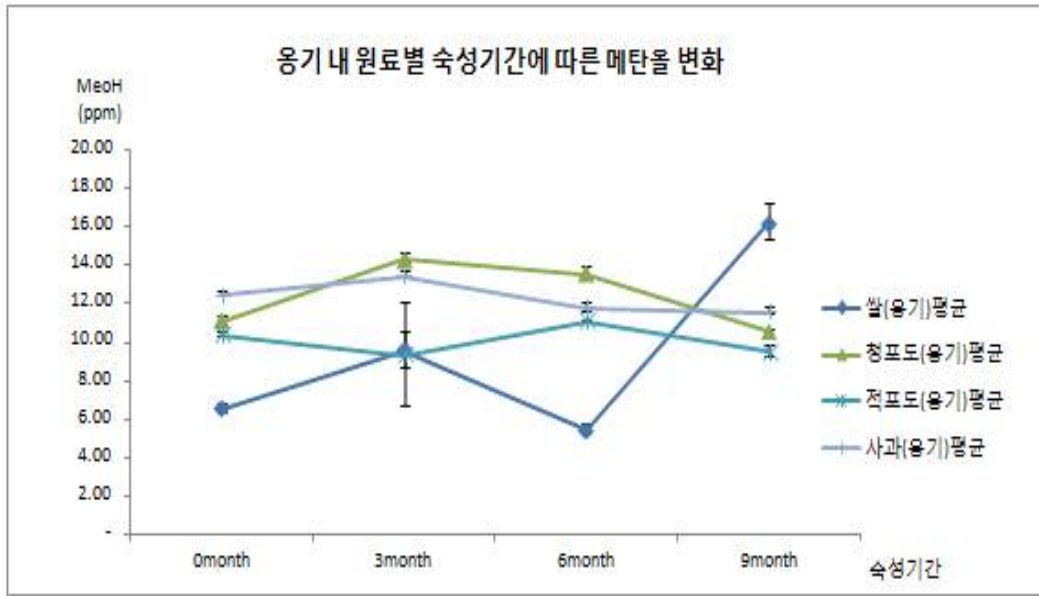


그림 3-34. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 메탄올(ppm) 변화

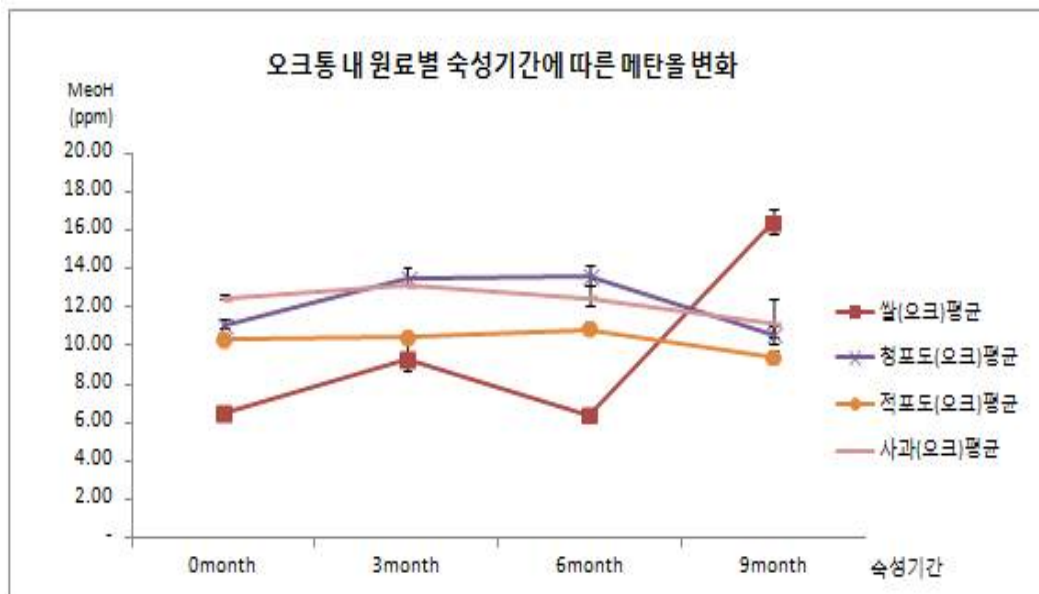
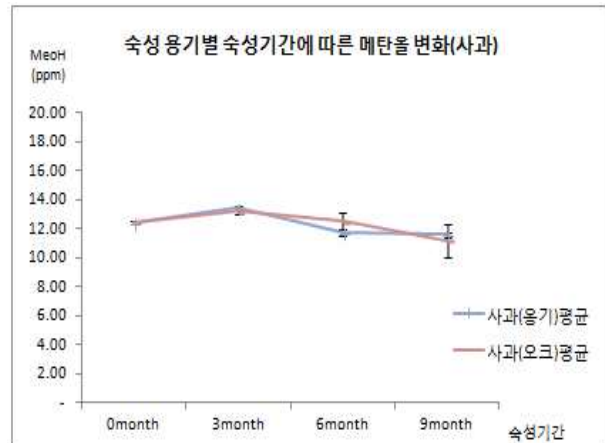
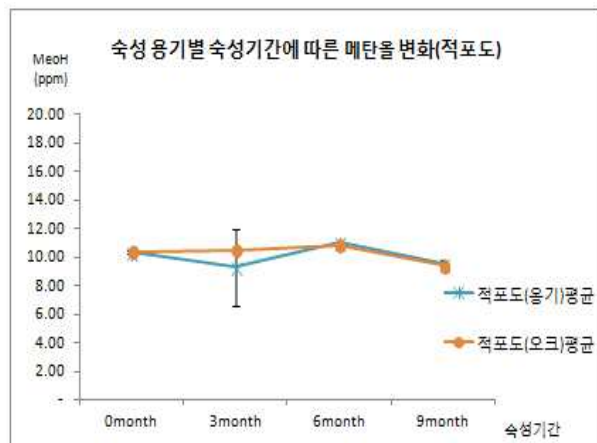
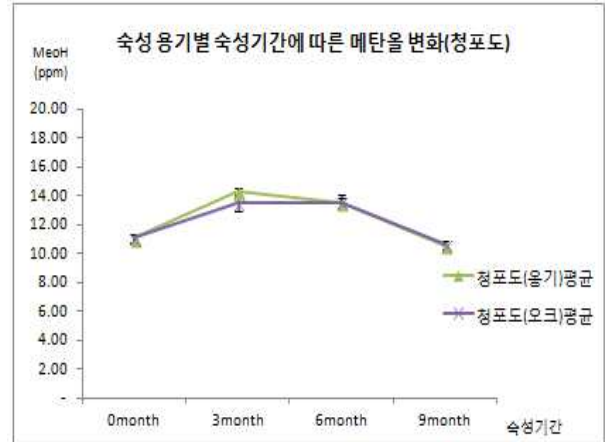
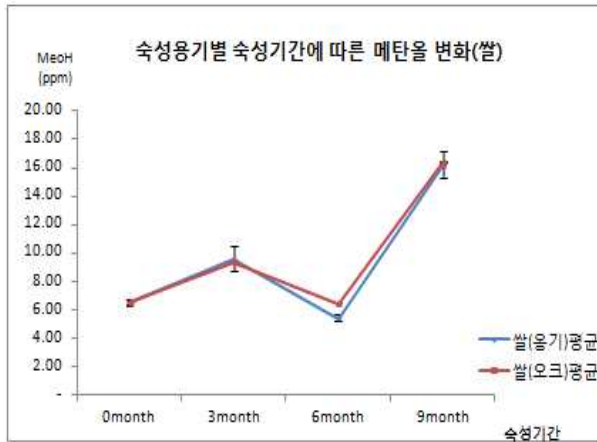


그림 3-35. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 메탄올(ppm) 변화



(차) 에틸카바메이트(EC)

Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향조정 된 에틸 카바메이트는 식품 저장 및 숙성과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyI 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되며 국내에는 주류별 검출 허가 기준이 없는 반면 주류 선진국의 경우 각 주류별 에틸카바메이트의 검출 허가 기준을 정하여 규제하고 있다.

다음은 각국의 에틸카바메이트 검출 허가 기준이다.

표 3-12. 각 국의 에틸카바메이트 검출 허가 기준 (단위 : ppb)

국가	Table wine	Fortified wine	증류주	청주	과일브랜디
캐나다	30	100	150	200	400
미국 (자율기준)	15	60			
체코	30	100 ^{a)}	150	200	400 ^{b)}
프랑스			150		1,000
독일					800

본 실험에서는 각 증류주 별로 숙성 전 EC의 함량을 측정하고 용기별 숙성을 진행한 후 3개월 단위로 9개월까지 EC의 함량을 측정하였다.

EC의 경우 용기 숙성 증류주와 오크통 숙성 증류주 간의 유의적 차이는 발견되지 않았으며 각 증류주별로 비교 시 숙성 전 EC의 함량이 9개월간 큰 차이를 보이지 않고 유지되는 것을 볼 수 있었다.

숙성 시 잔존한 전구체의 함량이 감소하면서 EC의 함량이 증가할 것으로 예측하였으나 전구체가 반응할 수 있는 조건이 형성되지 않았을 것으로 예측된다.

표 3-13. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 에틸카바메이트(ppb) 변화(EC±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	8.06±0.08	8.55±0.03	8.79±0.04	8.03±0.06
	청포도	1.21±0.00	1.22±0.00	1.35±0.00	1.33±0.01
	적포도	2.50±0.03	2.74±0.03	2.76±0.02	2.86±0.01
	사과	35.30±0.26	34.78±0.21	35.16±0.33	36.19±0.21
오크통	쌀	8.06±0.08	8.22±0.07	8.55±0.11	7.70±0.09
	청포도	1.21±0.00	1.35±0.01	1.32±0.01	1.33±0.01
	적포도	2.50±0.03	2.56±0.05	2.78±0.02	2.57±0.04
	사과	35.30±0.26	36.14±0.58	35.96±0.39	35.44±0.42

그림 3-36. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 에틸카바메이트(ppb) 변화

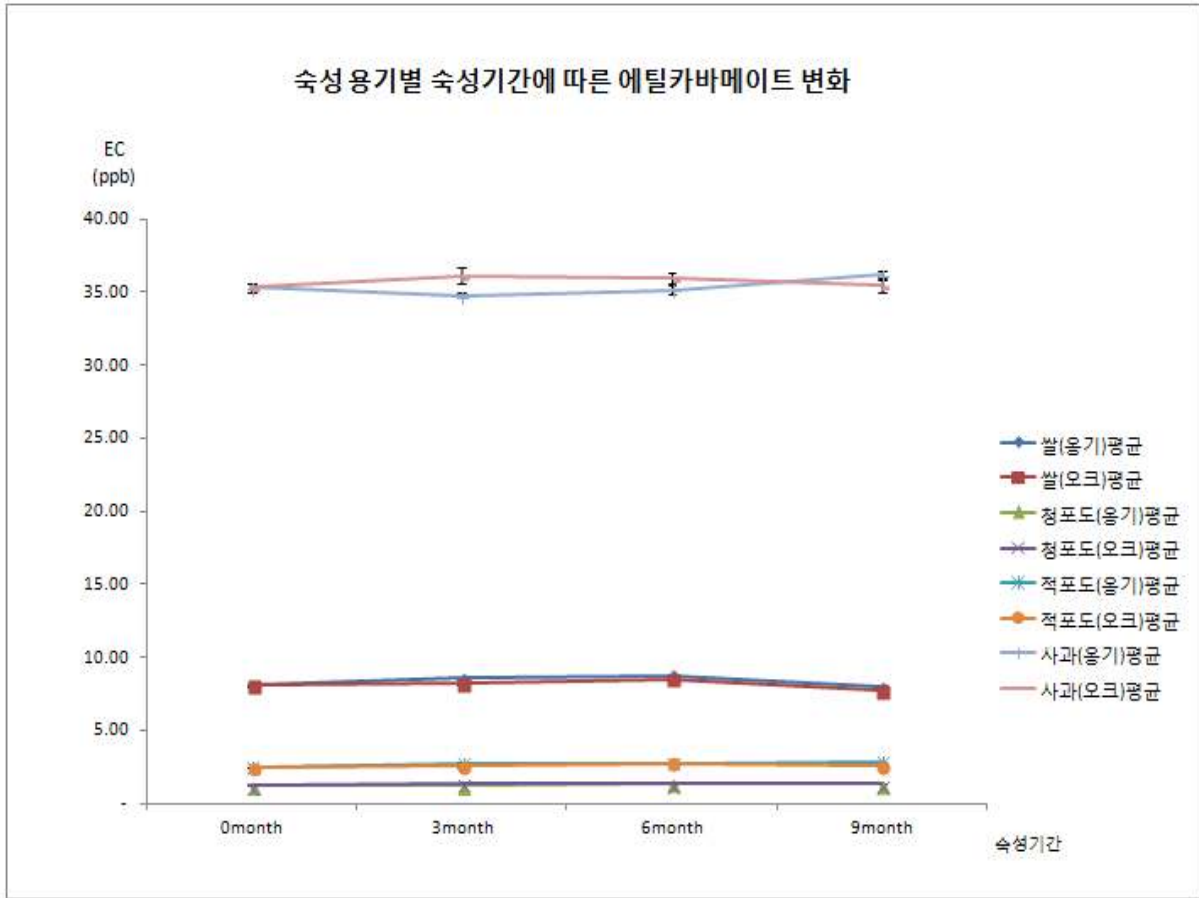


그림 3-37. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 에틸카바메이트(ppb) 변화

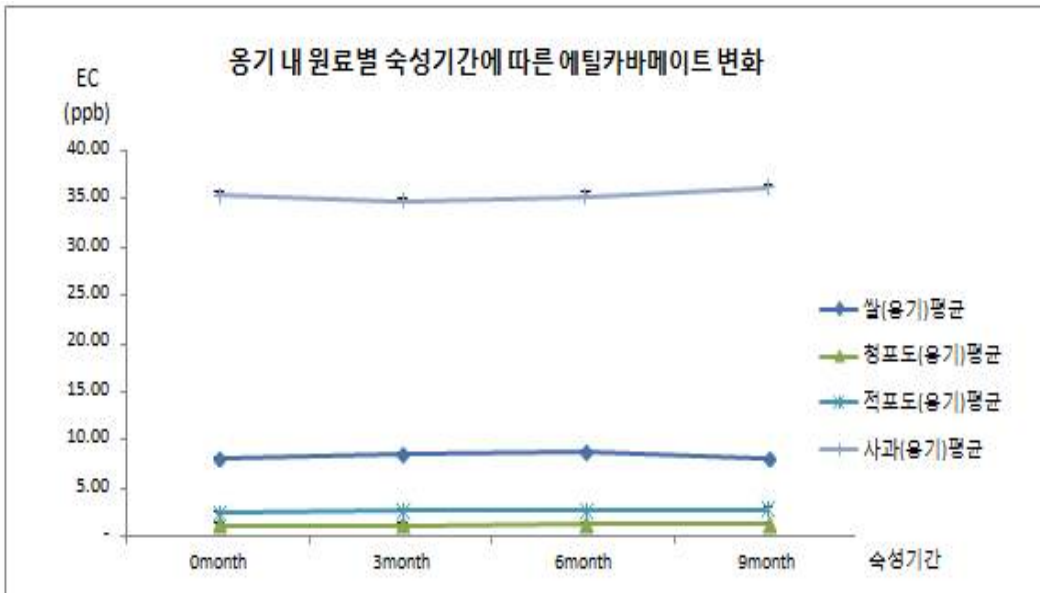


그림 3-38. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 에틸카바메이트(ppb) 변화

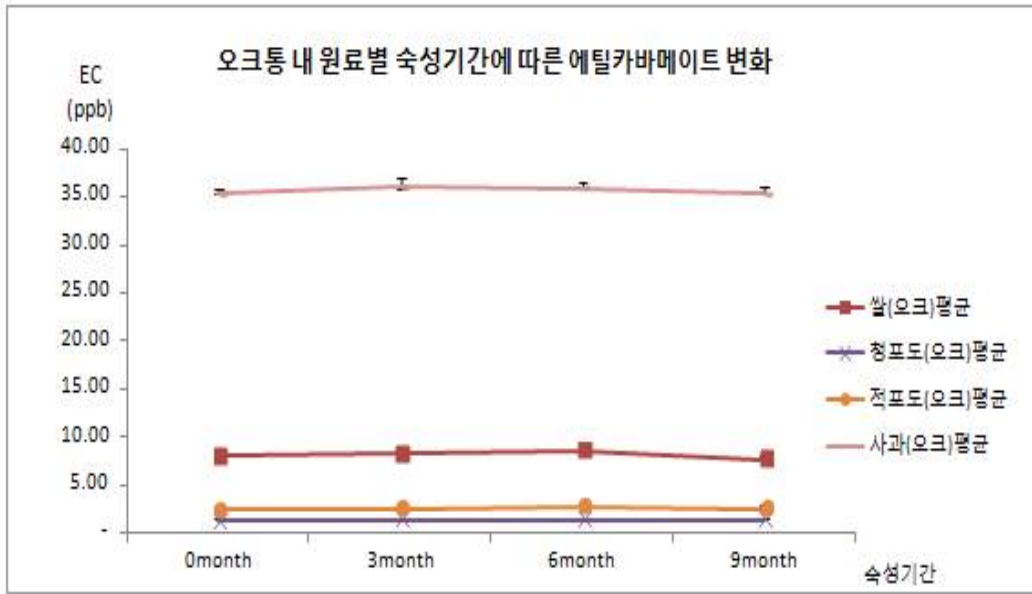
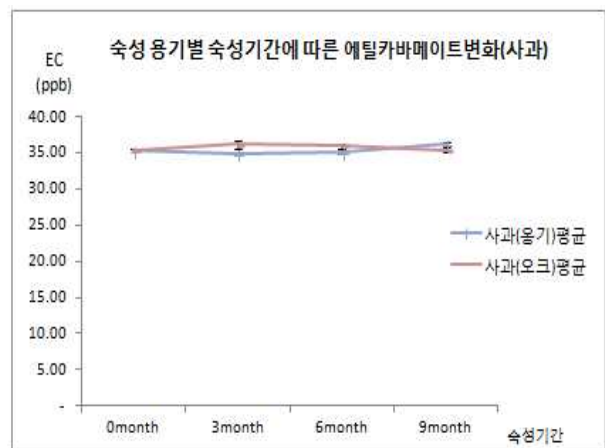
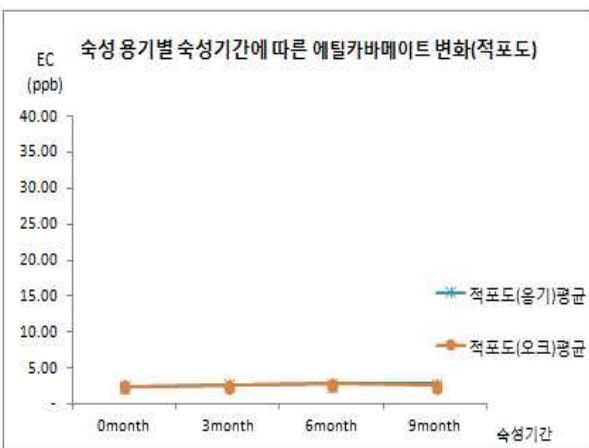
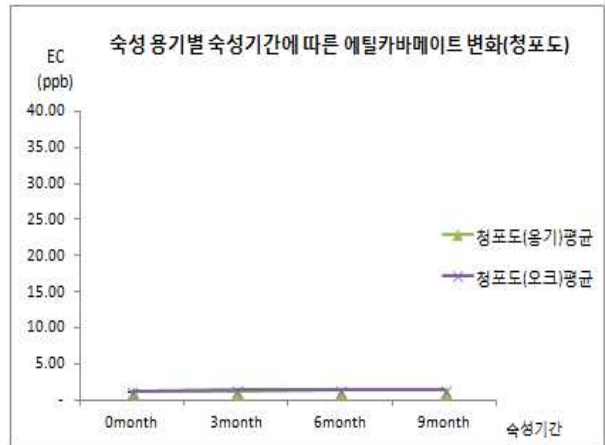
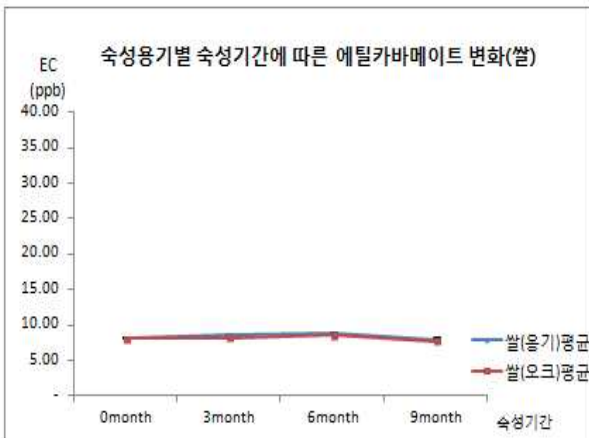


그림 3-39. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 에틸카바메이트(ppb) 변화

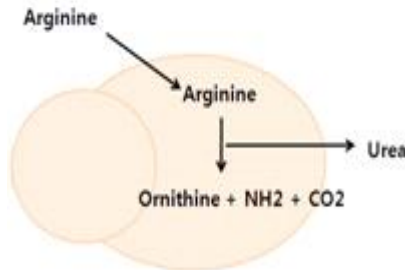


(카) 요소

요소는 발효과정 중 아르기닌이 효모에 의해 분해되어 생성되는 것으로 에탄올 사이의 반응을 통해 EC를 생성시키는 전구체이다. 이러한 요소의 생성을 억제하기 위해 해외에서는 발효

시 아르기닌 분해효소를 사용하거나 원료의 재배 과정에서 질소 기인 비료를 사용하지 않는 등 많은 노력들을 하고 있다.

그림 3-40. 효모에 의한 EC 전구체인 요소 생성 공정



본 실험에서는 증류 과정을 거쳤음에도 불구하고 제거되지 않은 요소의 증감과 EC의 생성 여부를 확인하고자 각 증류주에서 요소를 측정하였으며 숙성 전 각 증류주의 요소 함량을 측정하고 용기에 숙성시킨 후 3개월 단위로 샘플을 채취하여 9개월까지 그 함량을 측정하였다. 용기에 숙성한 증류주와 오크통에 숙성한 증류주는 어떠한 유의적 차이가 발견되지 않았으며 각 증류주별로 유사한 요소 함량이 측정되었다.

청포도 증류주와 적포도 증류주는 숙성 전 요소의 함량이 0.83ppb, 0.74ppb로 측정되었으며 9개월째에 소폭 증감하거나 동일하게 유지되었다.

쌀 증류주 또한 용기 숙성 증류주와 오크통 숙성 증류주가 9개월째 1ppb 내외로 감소하였으나 사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 전 25.04ppb에서 9개월째 20.34ppb로 약 5ppb가량 감소하였으며 오크통 숙성 시에도 그와 유사한 함량이 측정되었다.

요소의 경우 9개월동안 쌀 증류주와 사과 증류주에서 소폭(1~5ppb) 감소하였으나 EC의 함량을 증가시킬 정도의 함량은 아닌 것으로 사료된다.

표 3-14. 증류주와 숙성 용기별 숙성 기간에 따른 요소(ppb) 변화(요소±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	12.58±0.05	11.49±0.06	11.21±0.07	11.55±0.04
	청포도	0.83±0.00	0.82±0.01	0.80±0.01	0.91±0.01
	적포도	0.74±0.01	0.71±0.00	0.86±0.00	0.74±0.01
	사과	25.04±0.04	23.24±0.07	20.42±0.06	20.34±0.16
오크통	쌀	12.58±0.06	13.14±0.08	11.92±0.07	11.36±0.07
	청포도	0.83±0.00	0.82±0.00	0.74±0.00	0.69±0.00
	적포도	0.74±0.01	0.73±0.01	0.72±0.01	0.74±0.01
	사과	25.04±0.22	23.74±0.14	23.24±0.10	20.51±0.12

그림 3-41. 증류주와 숙성 용기별 숙성기간에 따른 요소(ppb) 변화

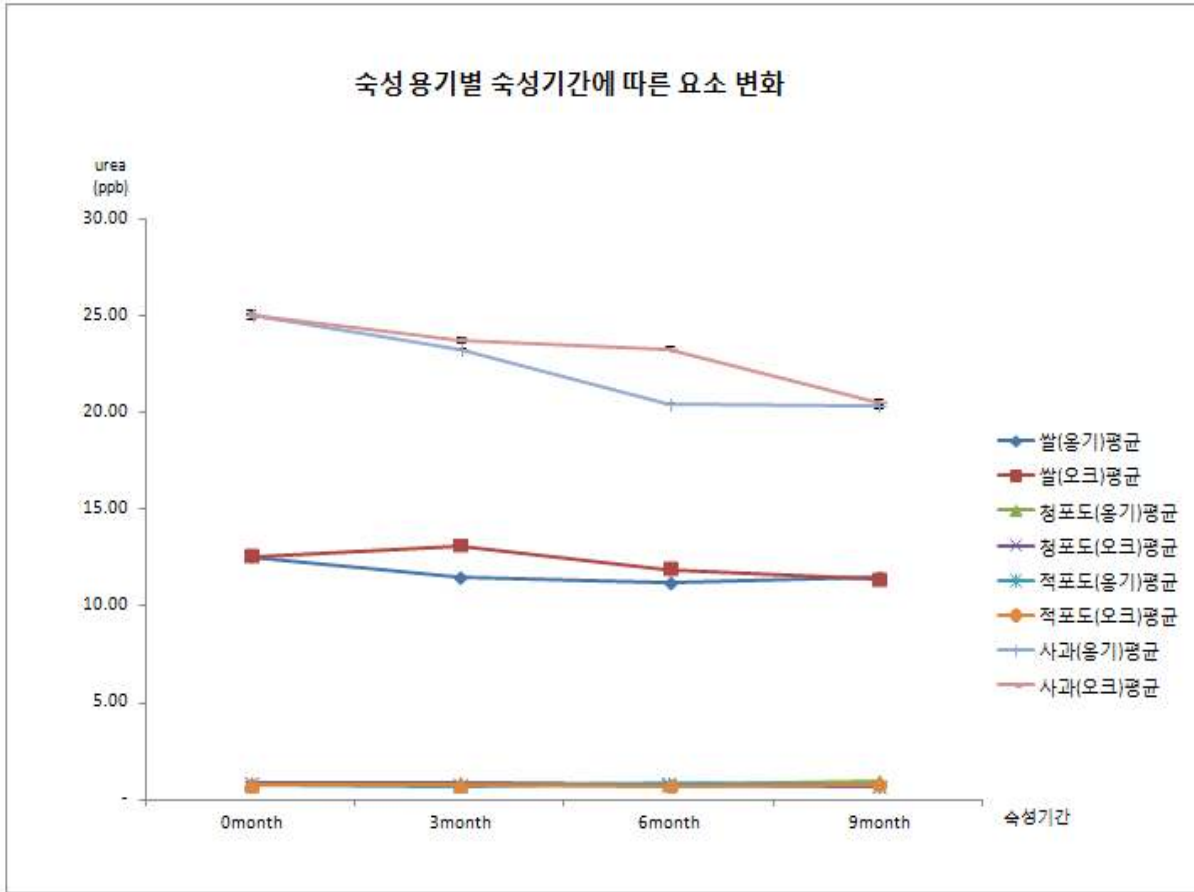


그림 3-42. 용기 내 원료별 숙성기간에 따른 요소(ppb) 변화

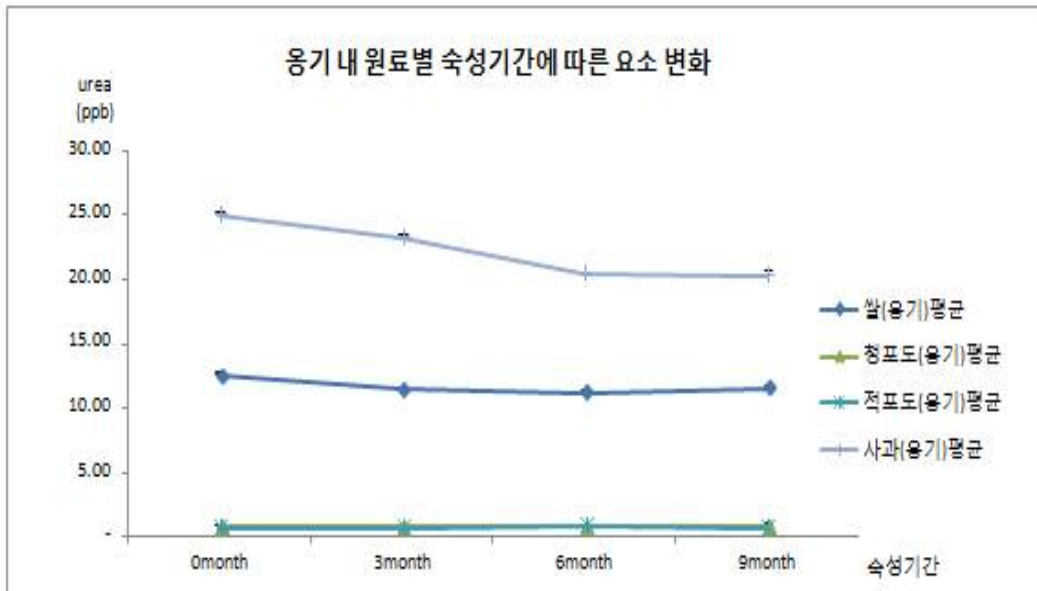


그림 3-43. 오크통 내 원료별 숙성기간에 따른 요소(ppb) 변화

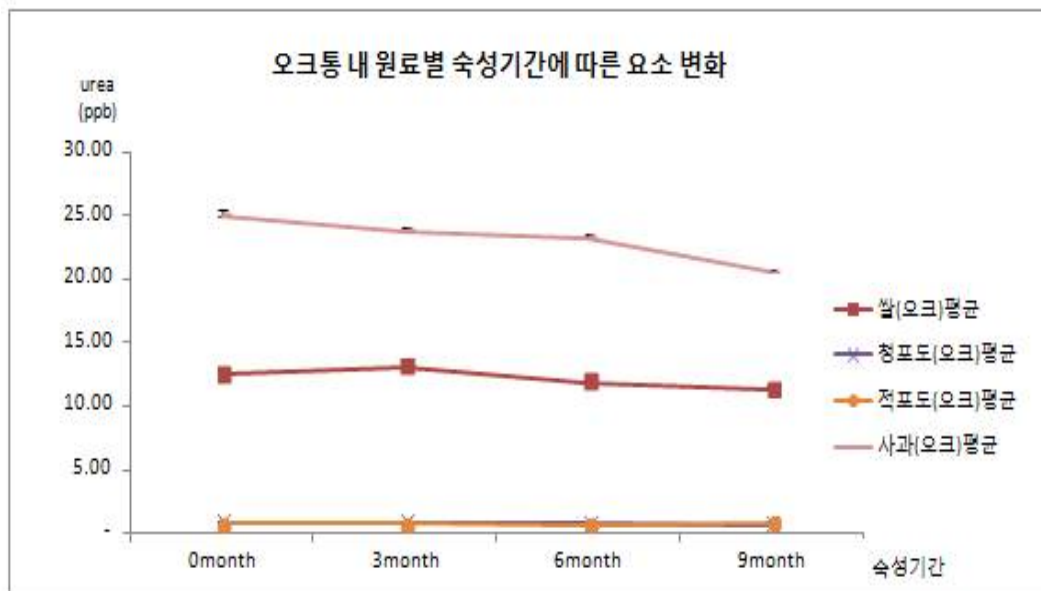
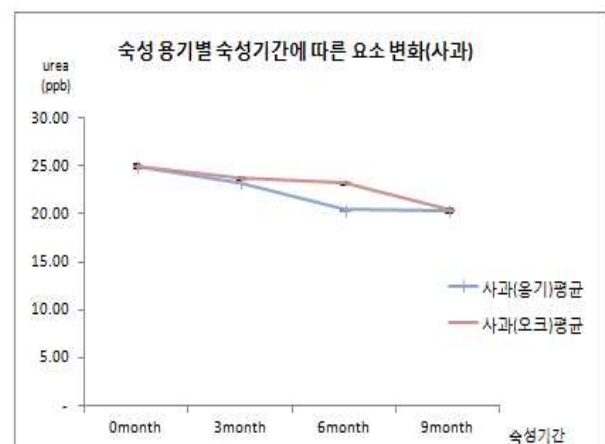
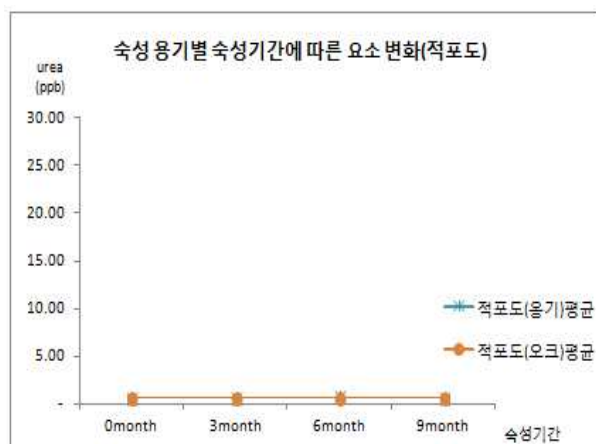
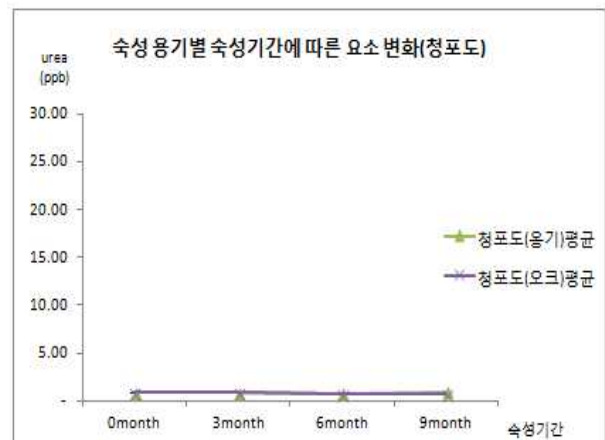
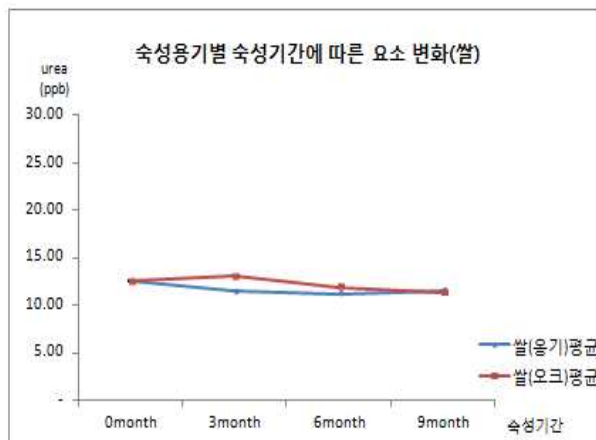


그림 3-44. 각 증류주별 용기에 따른 숙성 기간 내 요소(ppb) 변화



(타) 색도

FP 및 DP 시료의 색도를 색차계(Lovibond RT850i, 스위스)를 이용하여 L값(lightness), a값(+: red, -: blue) 및 b값(+: yellow, -: green)을 측정하였다. 이 때 사용한 표준 백색판

(white calibration plate)은 L값 95.13, a값 -0.06, b값 0.84이었다.

각 증류주는 숙성 전 색도를 측정하고 용기별 숙성을 진행시킨 후 3개월 단위로 9개월까지 샘플을 채취하여 색도를 측정하였다.

쌀 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 기간 동안의 L값 범위는 84~95, a값 범위 -1.1~0.6, b값 범위 1~3으로 나타났으며 L값의 경우 숙성 전 94.29로 측정되어 9개월째 84.66으로 기간이 증가함에 따라 감소하여 점점 어두워졌음을 확인 할 수 있었다. a값의 경우 숙성 전 -0.03이 측정되었으며 3개월 째 0.48로 상승하였다가 감소하여 9개월째 -1.06으로 red color는 감소하고 blue color가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. b값은 숙성 전 1.24가 측정된 후 9개월째 2.82로 yellow color가 증가하였다. 용기 숙성을 통하여 3개월째 가장 큰 색도의 변화가 관찰되었으며 이후 점진적인 변화가 있는 것으로 보여 진다. 오크통에 숙성시킨 쌀 증류주의 경우 숙성 기간 동안의 색도의 범위는 L값 79~95, a값 -1~0, b값 1~13으로 나타났으며 L값의 경우 숙성 전 94.29에서 9개월까지 감소하여 최종 79.58이 측정되었으며 이는 오크통의 그을림 정도나 리그닌, 셀룰로오스 등의 용출에 의한 어두워짐을 의미한다. a값의 경우 큰 차이가 나지는 않았지만 숙성 전 -0.03에서 숙성기간 동안 blue color가 증가하여 9개월째 -0.99가 측정되었다. b값의 경우 숙성 전 1.24로 시작하여 9개월째 12.76으로 yellow color가 증가하였다. 오크통의 경우 용기보다 높은 비율로 3개월째 측정값에서 가장 큰 변화가 관찰되었으며 이는 pH, 산도, 총산 등의 결과와 유사하게 용출이나 산화에 의한 숙성이 가장 빠르게 진행된 시기로 여겨진다.

청포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 기간 동안의 색도 범위는 L값 86~95, a값 0~0.5, b값 1~3.5로 측정되었으며 L값의 경우 숙성 전 94.86에서 9개월째 86.89로 점차 어두워지는 것이 관찰되었다. a값의 경우 숙성 전 0.00에서 3개월과 6개월째 0.27로 상승하여 유지되다가 9개월째 0.51이 측정되어 시간의 경과에 따라 red color가 소폭 증가하는 것이 관찰되었다. b값은 숙성 전 1.02에서 3개월째 2.77로 증가하였다가 6개월째 2.34로 소폭 감소, 9개월째 3.29로 증가하여 yellow color가 소폭 증가하는 것이 관찰되었으며 눈에 띄게 변화하는 구간이 확인되지는 않았다.

오크통에 숙성시킨 청포도 증류주의 경우 색도의 범위는 L값 82.5~95.0, a값 -0.7~0, b값 1.0~12.2로 나타났으며, L값의 경우 숙성 전 94.86에서 3개월째 88.59로 기간 별 변화가 가장 크게 나타났으며 점차 감소하여 9개월째 83.00이 측정되었다. a값의 경우 숙성 전 0.00에서 3개월째 red color가 소폭 상승하였다가 감소하여 6개월째 -0.52가 측정되었으며 점차 blue color가 소폭 증가하여 9개월째 -0.63이 측정되었다. b값의 경우 숙성 전 1.02가 측정되었으며 3개월째 2.36으로 yellow color가 소폭 증가하였다가 6개월째 10.31로 가장 큰 변화율을 보였으며 9개월째 12.09가 측정되었다. 각 색도별 변화율이 높은 구간은 L값 3개월, a값과 b값은 6개월째였으며 이는 증류주에 따른 각 성분의 용출 속도와 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

적포도 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 기간 동안의 색도 범위는 L값 80.0~95.5, a값 -1.0~0.6, b값 0.8~2.9로 나타났으며 L값의 경우 숙성 전 95.24에서 3개월째 87.74로 가장 큰 폭으로 어두워졌다가 완만히 감소하여 9개월째 80.42가 측정되었다. a값의 경우 숙성 전 -0.04가 측정된 후 3개월째 red color가 증가하여 0.52가 측정되었으며 이후 점차 blue color가 증가하여 9개월째 -0.94가 측정되었다. b값의 경우 숙성 전 0.84가 측정되었으며 3개월째 2.17로 yellow color가 가장 큰 폭으로 증가한 후 점차 증가하여 9개월째 2.84가 측정되었다.

오크통에 숙성시킨 적포도 증류주의 경우 색도의 범위는 L값 79.5~95.5, a값 -1.5~0.3, b값 0.8~21.7로 나타났으며 L값의 경우 숙성 전 95.24에서 3개월째 84.07로 기간 별 가장 큰 폭으로 어두워졌으며 9개월째 80.84가 측정되었다. a값의 경우 숙성 전 -0.04에서 3개월째 red color가 소폭 상승하였다가 감소하여 9개월째 -1.42가 측정되었으며 b값의 경우 0.84로 시작하여 3개월째 7.73이 측정되고 9개월까지 yellow color가 증가되어 21.67이 측정되었다. 9개월째 b값은 전 실험군 중 가장 높은 b값으로 6개월에서 9개월로 yellow color가 증가된 폭이 가장 크게 관찰되었다.

사과 증류주의 경우 용기 숙성 시 숙성 기간 동안의 색도 범위는 L값 81~95, a값 -0.2~1.0, b값 0.9~4.1로 측정되었으며 L값의 경우 숙성 전 94.81에서 소폭 감소하다 6개월째 81.93으로 기간 별 가장 큰 폭으로 어두워졌으며 a값의 경우 숙성 전 -0.02에서 3개월째 blue color가 소폭 증가 후 점차 red color가 증가하여 9개월째 0.95가 측정되었다. b값의 경우 숙성 전 1.00이 측정되었으며 9개월째 4.09로 용기에 숙성시킨 증류주 중 가장 yellow color가 높은 실험군이다.

오크통에 숙성시킨 사과 증류주의 경우 색도의 범위는 L값 72.3~94.9, a값 -0.1~0.4, b값 0.9~20.5로 나타났으며 L값의 경우 숙성 전 94.81에서 3개월째 소폭 감소 후 6개월째 73.40으로 기간 별 가장 큰 폭으로 어두워졌으며 9개월째 72.46이 측정되어 전 실험군 중 가장 어두운 색도를 가진 실험군이다. a값은 숙성 전 -0.02에서 시작하여 3개월째 0.32로 red color가 증가하였다가 감소하기 시작하여 9개월째 0.16이 측정되었다. b값의 경우 숙성 전 1.00이 측정되었으며 3개월째 소폭 증가하였다가 6개월째 19.73으로 yellow color 증가율이 기간별 가장 높게 나타났으며 9개월째 20.43으로 소폭 증가하였다.

전체적으로 L값과 b값의 변화에 비해 a값의 변화가 적게 나타났으며 용기에 숙성시킨 실험군의 경우 색도의 변화가 크지는 않지만 주로 0~6개월 사이에 발생되며, 오크통에 숙성시킨 실험군에서는 주로 0~3개월 사이에 색도의 변화가 크게 관찰되었다. 이는 증류주 별 용출 등의 숙성 기작에서 차이를 보이는 것을 의미한다.

그림 3-45. 숙성기간 동안에 증류주와 용기별 샘플

< 오크통 숙성 시 원료에 따른 기간별 샘플 >



< 옹기 숙성 시 원료에 따른 기간별 샘플 >



표 3-16. 숙성기간 동안에 증류주와 용기별 색도

저장 용기	저장 기간	빨			청포도			적포도			사과		
		L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
용기	0개월	94.29±0.01	-0.03±0.01	1.24±0.03	94.86±0.02	0.00±0.02	1.02±0.03	95.24±0.01	-0.04±0.01	0.84±0.01	94.81±0.03	-0.02±0.02	1.00±0.03
	3개월	89.71±0.10	0.48±0.12	2.29±0.02	90.34±0.03	0.27±0.01	2.77±0.02	87.74±0.14	0.52±0.03	2.17±0.00	93.66±0.02	-0.12±0.02	1.11±0.04
	6개월	86.81±0.01	0.27±0.01	2.29±0.18	89.90±0.02	0.27±0.03	2.34±0.01	84.56±0.33	0.44±0.02	2.74±0.05	81.93±0.04	0.44±0.04	2.09±0.02
	9개월	84.66±2.15	-1.06±0.02	2.82±0.01	86.89±0.11	0.51±0.01	3.29±0.02	80.42±0.03	-0.94±0.02	2.84±0.02	81.13±0.04	0.95±0.03	4.09±0.01
오크 통	0개월	94.29±0.01	-0.03±0.01	1.24±0.03	94.86±0.02	0.00±0.02	1.02±0.03	95.24±0.01	-0.04±0.01	0.84±0.01	94.81±0.03	-0.02±0.02	1.00±0.03
	3개월	85.81±0.01	-0.17±0.03	10.10±0.04	88.59±0.08	0.25±0.02	2.36±0.01	84.07±0.01	0.20±0.01	7.73±0.02	91.06±0.12	0.32±0.03	2.17±0.02
	6개월	83.67±0.06	-0.37±0.04	11.25±0.02	84.34±0.07	-0.52±0.01	10.31±0.04	83.97±0.06	0.08±0.12	8.37±0.21	73.40±0.18	0.27±0.02	19.73±0.03
	9개월	79.58±0.28	-0.99±0.01	12.76±0.01	83.00±0.44	-0.63±0.08	12.09±0.07	80.84±1.28	-1.42±0.01	21.67±0.01	72.46±0.13	0.16±0.01	20.43±0.05

(과) 향기성분

①. 오크통과 옹기 숙성 기간에 따른 쌀 증류주의 향미 성분분석

증류 직후 및 3~9개월간 오크통과 옹기에서 숙성된 쌀증류주 향미성분의 상대적인 백분율은 표 3-17과 같다. 각각의 시료에서 가장 많은 부분은 차지하는 것이 에탄올로 나타났다. 증류 직후 시료에서 전체 향미 성분의 71.23%를 차지하는 것으로 나타났다. 오크통에서는 6개월 숙성까지 에탄올의 비율이 높아지다가 9개월 숙성 시료에서 55.02%로 급격하게 떨어지는 것으로 나타났으며, 옹기 숙성도 유사한 경향성으로 6개월차에 83.53%로 증가하였다가 9개월 숙성 시료에서 50.44%로 급격하게 감소하였다. 이러한 결과는 오크통 또는 옹기를 이용한 숙성이 9개월 이상 되어야 전체 향미 성분에서 에탄올을 제외한 향미성분이 차지하는 부분이 증가한다고 생각할 수 있다.

Isoamyl alcohol은 알코올향과 관련된 향미성분으로 증류 직후 6.79%를 차지하고 있었으나 숙성이 진행됨에 따라서 오크통 및 옹기 숙성에서 각각 2.64%와 2.90%의 비율을 가지는 것으로 나타나, 숙성 시 알코올 향과 같이 날카로운 느낌을 주는 향미 성분의 비율이 줄어들어 술이 부드럽게 된다고 예상할 수 있다. Ethyl caprylate는 단향, 왁스향 및 쿼퀴한 향과 관련이 있는 화합물로 증류 직후에 0.18%의 비율을 차지하고 있었으나, 숙성이 되면서 오크통에서는 1.44%, 옹기에서는 0.94%를 차지하는 것으로 분석되었다. 숙성이 진행되면서 달달한 향과 쿼퀴한 향이 증가하는 원인이 되는 화합물이라 생각된다. Isopentyl hexanoate는 바나나향을 가지고 있으며, 증류 직후 1.47%를 차지하고 있었다. 그러나 숙성이 진행됨에 따라 전체 향미 성분에서 차지하는 비율이 점차 감소하여 9개월차에는 검출되지 않았다. Ethyl pelargonate는 장미향과 관련된 성분으로 증류 직후 1.09%를 차지하고 있었다. 3개월 및 6개월 시료에서는 오크통 및 옹기 숙성에서 거의 검출되지 않았으나, 특이하게 9개월 숙성 시료에서 다량 검출되었다. 술의 과일향과 관련이 있을 것이라 판단된다. Ethyl caprate는 증류 직후 0.29%로 전체 향미 성분 중 차지하는 비중이 미미하였으나, 9개월 숙성 후 오크통에서 8.89% 및 옹기에서 7.44%로 전체 향미 성분 중 차지하는 비율이 세 번째로 높았다. 단향과 알코올향을 특징으로 하는 성분으로 술의 단향 및 알코올향이 강화되었음을 유추할 수 있다. Ethyl laurate도 숙성 기간 동안 증가되었음을 알 수 있다. 증류 직후 1.39%에서 9개월간 오크통 숙성 시 4.47%, 옹기 숙성 시 6.09%의 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 과일향 및 꽃향과 관련된 성분으로 숙성을 통해서 강화됨을 알 수 있다. Ethyl myristate는 약한 왁스향을 가지는 것이 특징으로 증류 직후 2.41%의 비율을 차지하고 있었다. 오크통 숙성시 ethyl myristate의 비율이 6.86%로 증가하였으나, 반대로 옹기에서는 9개월 숙성 후 1.65%로 감소하였다. Ethyl palmitate는 왁스향을 가지는 것이 특징으로 증류직후 5.45%를 차지하였고, 숙성되면서 오크통에서 9.74%, 옹기에서 9.33%의 비율을 차지하여 에탄올 다음으로 가장 많은 비율을 차지하는 향미성분이다. 그러나 향미의 강도는 약하다고 알려져 있다. Ethyl oleate는 숙성과정 중에 생성되었으며, 유제품 향을 가지고 있다.

표 3-17. 쌀증류주의 증류 직후 및 오크통과 옹기 숙성기간(3, 6, 9개월)에 따른 향미성분 비율

RT	Compound	증류 직후	오크통 숙성			옹기 숙성		
		0개월	3개월	6개월	9개월	3개월	6개월	9개월
3.15	Ethyl Acetate			0.28	0.6			
3.84	Ethyl alcohol	71.23	71.38	75.21	55.02	69.04	83.53	50.44
7.08	Isobutanol	1.38	0.80	0.82	0.76	1.32	0.73	0.71
9.50	Limonene		0.04	0.05		0.11	0.05	
9.96	Isoamyl alcohol	6.79	4.86	4.27	2.64	5.41	4.48	2.9
13.80	1-hexanol		0.07	0.05		0.09	0.04	
15.95	Ethyl caprylate	0.18	0.37	0.66	1.44	1.03	0.67	0.94
16.51	Isopentyl hexanoate	1.47	0.30	0.12		0.46	0.09	
16.71	Acetic acid			0.05				
17.00	Furfural	0.09	0.07					
18.45	Ethyl pelargonate	1.09	0.05	0.04	2.66	0.49	0.07	3.52
18.81	Isobutyl caprylate	0.63						
20.93	Ethyl caprate	0.29	4.06	3.94	8.89	8.64	4.82	7.44
21.34	iso-amyl caprylate	0.14	0.17	0.27	0.55	0.41	0.08	0.76
21.96	Diethyl succinate		0.05	0.03				
23.48	alpha.-Farnesene		0.03	0.07				
25.11	Phenethyl acetate	0.16	0.16	0.12		0.25	0.14	0.05
25.43	Ethyl laurate	1.39	2.78	1.82	4.47	2.52	1.29	6.09
25.80	Isoamyl decanoate		0.17	0.09	0.22		0.05	0.29
27.12	Phenylethyl alcohol		0.10	0.05				
29.60	Ethyl myristate	2.41	4.90	3.18	6.86	2.13	0.53	1.65
29.86	Isoamyl laurate		0.03					0.06
33.42	Ethyl palmitate	5.45	4.51	4.85	9.74	4.16	0.38	9.33
33.81	n-Decanoic acid		0.32	0.20		0.11		
33.88	Ethyl 9-hexadecenoate	0.16			0.41			0.51
38.17	Ethyl oleate		0.31	0.25	0.81			0.62
39.57	Ethyl linoleate	0.22	0.40	0.27	0.72	0.23		0.6
	Others	6.92	4.07	3.31	4.21	3.59	3.05	13.86

②. 오크통과 옹기 숙성 기간에 따른 적포도 증류주의 향미 성분분석

증류 직후 및 3~9개월간 오크통과 옹기에서 숙성된 적포도 증류주 향미성분의 상대적인 백분율은 표 3-18와 같다. 각각의 시료에서 가장 많은 부분은 차지하는 것이 에탄올로 나타났다. 증류 직후 시료에서 전체 향미 성분의 59.85%를 차지하는 것으로 나타났다. 오크통에서는 3개월 숙성 시료에서 42.59%의 비율을 가지고 6개월 숙성 시료에서 비율이 59.93%로 증가하였다가 9개월 숙성에서 다시 45.99%로 감소하였다. 옹기 숙성도 유사한 경향성으로 6개월 차

에 63.84%로 증가하였다가 9개월 숙성 시료에서 47.62%로 급격하게 감소하였다. 이러한 결과는 오크통 또는 옹기를 이용한 숙성이 숙성 초기에 급격한 변화를 겪는다고 판단되며, 숙성이 9개월 이상 되어야 전체 향미 성분에서 에탄올을 제외한 향미성분이 차지하는 부분이 증가한다고 생각할 수 있다.

Isoamylacetates는 9개월 숙성 뒤 오크통에서 0.74%, 옹기에서 0.86%의 비율을 차지하고, 배와 바나나향을 가지는 것으로 알려져 있다. 숙성 시 과일향의 증가에 영향을 주었을 것으로 보여 진다. Furfural은 아몬드 향, 탄향과 관련 있으며, 오크통 숙성에서만 소량 발견되었다. 오크통에서 숙성 시 유출된 것으로 생각되며, 술의 너트향과 관련이 있다고 생각된다. Ethyl pelargonate는 장미향으로 증류 직후 1.15%의 비율이었다가 9개월 숙성 뒤 오크통에서는 2.41%, 옹기에서는 4.55%의 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 옹기 숙성 시료에서 좀 더 꽃 및 과일향이 나는 것으로 생각된다. Ethyl caprate는 에탄올 다음으로 가장 많은 향미성분의 비중을 차지하고 있다. 단향 및 알코올향과 관련이 있으며 증류 직후와 9개월 숙성 시료를 비교해도 함량의 변화가 크게 나타나지 않았다. Ethyl laurate는 꽃 및 과일향과 관련이 있는 화학물질이고 증류 직후에 8.40%의 비율로 전체 향미성분 중 3번째로 많이 검출되었다. 3개월 숙성 시 증가하였다가 6개월 숙성까지 감소하고 다시 9개월까지 증가하는 경향성을 보였다. 9개월 숙성 후 오크통에서 11.80%, 옹기에서 11.77%로 비슷한 비율로 검출되었다. Ethyl myristate는 증류 직후 0.67%에서 9개월 숙성 후 오크통에서 2.35%, 옹기에서 1.48% 검출되었다. Ethyl palmitate는 증류 직후 1.24%에서 9개월 숙성 후 오크통에서 7.81%, 옹기에서 3.67% 검출되었다. 두 성분 모두 왁스향과 관련있어 숙성된 시료, 특히 오크통 숙성 시료에서 왁스향 같은 화합물 향이 인지 될 가능성이 있다. 또한, 숙성이 진행되어 9개월차 시료에서 왁스향과 관련이 있는 ethyl 9-hexadecenoate도 오크통에서 1.16%, 옹기에서 0.32% 검출되었다. 숙성된 시료에서 왁스향과 관련된 성분의 비율이 높은 것으로 보아, 부정적인 향이 인지 될 가능성이 있고, 이것은 낮은 소비자 기호도와 연계될 가능성이 있을 것이다.

표 3-18. 적포도 증류주의 증류 직후 및 오크통과 옹기 숙성기간(3, 6, 9개월)에 따른 향미성분 비율

RT	Compound	증류직후	오크통 숙성			옹기 숙성		
		0개월	3개월	6개월	9개월	3개월	6개월	9개월
3.15	Ethyl Acetate	0.25		0.20	0.94	0.29	0.17	1.23
3.84	Ethyl alcohol	59.58	42.59	59.93	45.99	57.33	63.87	47.62
7.08	Isobutanol	0.35	0.23		0.09	0.35	0.37	0
7.67	Isoamylacetate	0.13		0.30	0.74			0.86
9.50	Limonene	0.11		0.11			0.08	
9.96	Isoamylalcohol	4.04		3.54	2.55	3.99	4.01	2.63
10.57	Ethyl caproate			0.10	0.15			0.18
13.80	1-hexanol		0.09			0.16		
15.95	Ethyl caprylate	1.58	0.10	1.42	1.74	1.39	1.16	2.02
16.51	Isopentyl hexanoate		0.71	0.11		0.24	0.25	
16.71	Acetic acid	0.17						
17.00	Furfural		0.10	0.13	0.2			
18.45	Ethyl pelargonate	1.15	0.23		2.41	0.31	0.33	4.55
18.81	Iso-Butyl caprylate	0.57		0.28				
20.93	Ethyl caprate	13.98	0.24	11.24	12.25	13.46	12.16	13.93
21.34	Isoamyl caprylate	0.28	0.05	0.15	0.46	0.27	0.15	0.72
23.48	alpha.-Farnesene		0.12					
25.11	Phenethyl acetate	0.63	0.22	0.33	0.17	0.20	0.31	0.22
25.43	Ethyl laurate	8.40	23.59	9.17	11.8	9.45	7.97	11.77
25.80	Isoamyl decanoate	0.42	1.88	0.65	0.83	0.63	0.47	0.74
27.12	Phenylethyl Alcohol		0.06					0.02
29.60	Ethyl myristate	0.67	4.87	1.77	2.35		0.82	1.48
29.86	Isoamyl laurate	0.00	0.37	0.18	0.24	0.17	0.00	0.12
33.42	Ethyl palmitate	1.24	6.49	6.21	7.81	3.52	2.90	3.67
33.81	n-Decanoic acid	0.17	1.78	0.93		0.49	0.31	0.18
33.88	Ethyl 9-hexadecenoate				1.16			0.32
38.17	Ethyl oleate		0.25	0.27	0.42	0.20		0.21
39.57	Ethyl linoleate		0.62	0.55	0.64		0.17	0.23
	Others	6.28	15.43	2.44	7.03	7.56	4.50	7.31

③. 오크통과 옹기 숙성 기간에 따른 청포도 증류주의 향미 성분분석

증류 직후 및 3~9개월간 오크통과 옹기에서 숙성된 청포도 증류주 향미성분의 상대적인 백분율은 표 3-19와 같다. 각각의 시료에서 가장 많은 부분은 차지하는 것이 에탄올로 나타났다. 증류 직후 시료에서 전체 향미 성분의 63.65%를 차지하는 것으로 나타났다. 오크통에서는

3개월 숙성 시료에서 51.24%의 비율을 가지고 6개월 숙성 시료에서 비율이 47.49%로 감소하였다가 9개월 숙성에서 다시 55.51%로 증가하였다. 옹기 숙성에서는 반대의 경향성이 나타났다. 6개월 차에 70.16%로 증가하였다가 9개월 숙성 시료에서 45.502%로 급격하게 감소하였다. 이러한 결과는 오크통 또는 옹기를 이용한 숙성이 숙성 초기에 급격한 변화를 겪는다고 판단되며, 숙성이 9개월 이상 되어야 전체 향미 성분에서 에탄올을 제외한 향미성분이 차지하는 부분이 증가한다고 생각할 수 있다.

Isoamyl acetates는 9개월 숙성된 오크통에서 0.74%, 옹기에서 0.86%의 비율을 차지하고, 배와 바나나향을 가지는 것으로 알려져 있다. 숙성 시 과일향의 증가에 영향을 주었을 것으로 보여진다. Isoamylalcohol은 알코올 향과 관련이 있다. 증류 직후 전체 향미 성분 중 차지하는 비율이 4.45%에서 9개월간 오크통 및 옹기에서 숙성하였을 경우 각각 2.39% 및 2.28%로 상대적인 비율이 감소하였음을 알 수 있다. Ethyl caprylate는 0.49%에서 3개월 숙성까지 감소하였지만 이후 지속적으로 증가하여 오크통에서 1.61%, 옹기에서 1.11%의 비율을 차지하였다. 이는 술의 왁스향이 증가하는 것을 나타낸다. Ethyl pelargonate는 장미향과 관련이 있으며, 오크통 숙성에서 9개월 뒤 향이 강해짐을 알 수 있다. 옹기 숙성에서는 지속적으로 감소하여 9개월 시료에서는 검출되지 않았다. Ethyl caprate는 단향과 알코올 향과 관련이 있으며 증류 직후 9.02%에서 오크통 및 옹기에서 3개월 숙성 후 급격하게 낮아졌다가 다시 증가하는 경향성을 보였다. 9개월 숙성 시료에서는 에탄올 다음으로 가장 많은 상대적인 비율을 가지는 화합물로 나타났다. Ethyl laurate는 꽃향 및 과일향과 관련이 있으며 증류 직후 5.50%에서 숙성 3개월까지 증가하였다가 감소하는 경향성을 보였다. 그러나 오크통 숙성에서는 9개월 숙성 후 8.17%의 비율을 보여, 세 번째로 많은 향미 성분으로 나타났으나, 옹기 숙성에서는 검출되지 않았다. Ethyl myristate, ethyl palmitate은 왁스 향과 관련이 있으며, 숙성 전후 큰 변화를 보이지 않았다. Ethyl 9-hexadecenoate도 왁스 향과 관련이 있으며, 숙성과정 중에 생성된 것으로 판단된다. Ethyl linoleate는 과일향과 관련이 있으며 숙성이 진행되면서 미량 생성되었으며, 점차 증가하는 경향성을 보였다.

표 3-19. 청포도 증류주의 증류 직후 및 오크통과 옹기 숙성기간(3, 6, 9개월)에 따른 향미성분 비율

RT	Compound	증류직후	오크통 숙성				옹기 숙성		
			0개월	3개월	6개월	9개월	3개월	6개월	9개월
3.15	Ethyl Acetate			0.11	0.79				
3.84	Ethyl alcohol	63.65	51.24	47.49	55.51	56.82	70.16	45.50	
7.08	Isobutanol	0.30	0.24	0.26	0.24	0.30	0.24	0.09	
7.67	Isoamylacetate				0.25			0.28	
9.50	Limonene			0.08			0.05		
9.96	Isoamylalcohol	4.45	3.42		2.39	4.14		2.28	
10.57	Ethyl caproate				0.12		3.62	0.62	
13.80	1-hexanol						0.04		
15.95	Ethyl caprylate	0.49	0.18	1.18	1.61	0.32	0.71	1.11	
16.51	Isopentyl hexanoate		0.59	0.15		0.57	0.09		
16.71	Acetic acid	0.55							
17.00	Furfural		0.20	0.20					
18.45	Ethyl pelargonate	1.95	0.17	0.27	2.92	0.25	0.05		
18.81	Iso-Butyl caprylate						0.07		
20.93	Ethyl caprate	9.02	0.19	11.94	10.16	0.17	7.18	10.35	
21.34	Isoamyl caprylate	0.21	0.09	0.21	0.3	0.15	0.23	0.43	
25.11	Phenethyl acetate	0.21	0.15	0.28	0.08	0.31	0.05	0.16	
25.43	Ethyl laurate	5.55	15.64	12.95	8.17	7.79	5.83	0	
25.80	Isoamyl decanoate	0.36	1.19	1.03	0.53	0.56	0.39	0.88	
29.60	Ethyl myristate	1.46	4.72	5.41	1.71	3.36	1.74	3.77	
29.86	Isoamyl laurate	0.00	0.22	0.26	0.1	0.19	0.09		
33.42	Ethyl palmitate	6.24			7.05		4.62	5.77	
33.81	n-Decanoic acid	0.89	1.71		0.27			0	
33.88	Ethyl 9-hexadecenoate			1.72	0.68	1.85	0.74	1.29	
38.17	Ethyl oleate	0.24	0.25	0.27	0.43	0.42	0.16	0.28	
39.57	Ethyl linoleate		0.55	0.61	0.67	0.37	0.29	0.39	
	Others	4.44	19.13	15.59	6.02	22.42	3.65	27.1	

④. 오크통과 옹기 숙성 기간에 따른 사과 증류주의 향미 성분분석

증류 직후 및 3~9개월간 오크통과 옹기에서 숙성된 사과 증류주 향미성분의 상대적인 백분율은 표 3-20와 같다. 각각의 시료에서 가장 많은 부분은 차지하는 것이 에탄올로 나타났다. 증류 직후 시료에서 전체 향미 성분의 59.58%를 차지하는 것으로 나타났다. 오크통에서는 3개월 숙성 시료에서 39.98%, 6개월 숙성 시료에서 비율이 48.91%, 9개월 숙성에서 다시 52.75%로 지속적으로 증가하는 경향성을 보였다. 옹기 숙성은 오크통 숙성과 반대되는 경향

을 보였다. 3개월 숙성에서 80.56%, 6개월 숙성 시료에서 71.56%, 9개월 숙성에서 49.23%로 숙성기간이 증가할수록 에탄올이 차지하는 비중이 줄어들었다.

Isoamyl alcohol은 알코올 향과 관련이 있는 향미 성분으로 증류 직후 4.04%에서 3개월 숙성 후 오크통과 옹기에서 각각 5.04%와 8.90%로 증가하였다가 9개월 숙성에서는 감소함을 보였다. 알코올향이 숙성 초기에 강해졌다가 술이 부드러워지는 것과 관련이 있다고 보여 진다. Ethyl caprylate는 증류 직후 1.58%에서 숙성이 되면서 3개월차에 급격히 낮아졌다가 그 후 증가하는 경향성을 보인다. 술의 단향과 관계있는 성분으로 술이 숙성되면서 단향이 늘어나는 것과 관련이 있을 것이다. Furfural은 오크통 숙성에서만 검출되었으며, 숙성이 될수록 증가하는 경향을 보였다. Furfural은 너트향, 탄향과 관련이 있으며 오크통의 성분이 숙성이 되면서 술로 유출된 것으로 생각된다. 사과 증류주에서도 오크통 숙성 시료에서만 furfural이 검출되었다. Ethyl pelargonate는 장미향과 관련된 성분으로 증류 직후부터 6개월 숙성까지 감소하였다가 9개월 숙성 오크통에서 2.43%, 옹기에서 1.65%로 나타났다. Ethyl caprate는 단향 및 알코올 향과 관련 있으며 증류 직후 13.98%로 두번째로 많은 비율을 보였으나, 6개월 숙성까지 점차 감소하여 9개월에는 오크통 및 옹기에서 5.13% 및 4.45%로 술이 부드러워 졌다는 것을 보여주는 것으로 생각된다. Ethyl palmitate은 왁스향과 관련이 있으며, 증류직후 1.24%에서 숙성 후 오크통에서 4.74%, 옹기에서 3.03%로 증가함을 보였다. ethyl oleat와ethyl linoleate는 각각 유제품향과 과일향과 관련이 있으며, 숙성 과정으로 통해서 발생하는 것으로 생각되며 특히 오크통 숙성 시 더 많은 비율로 발생하는 것으로 나타났다.

표 3-20. 사과 증류주의 증류 직후 및 오크통과 옹기 숙성기간(3, 6, 9개월)에 따른 향미성분 비율

RT	Compound	증류직후	오크통 숙성			옹기 숙성		
		0개월	3개월	6개월	9개월	3개월	6개월	9개월
3.15	Ethyl Acetate	0.25		0.06	0.74			0.28
3.84	Ethyl alcohol	59.58	39.98	48.91	52.75	80.56	71.65	49.23
7.08	Isobutanol	0.35	0.30	0.45	0.41		0.72	0.1
7.67	Isoamylacetate	0.13			0.05			
9.50	Limonene	0.11		0.09		0.06	0.08	0.08
9.96	Isoamylalcohol	4.04	5.04		4.30	8.90	8.26	4.22
10.57	Ethyl caproate				0.15			0.21
13.80	1-hexanol	0.00	0.21	0.16	0.11	0.27	0.30	0.17
15.95	Ethyl caprylate	1.58	0.26	0.80	1.11	0.38	0.52	0.69
16.51	Isopentyl hexanoate	0.00	0.62	0.23	0.09	0.19	0.41	0.08
16.71	Acetic acid	0.17			0.05			
17.00	Furfural			0.29	0.44			
18.45	Ethyl pelargonate	1.15	0.25	0.17	2.43	0.05	0.36	1.65
18.81	Iso-Butyl caprylate				0.28			0.1
20.93	Ethyl caprate	13.98	0.13	5.31	5.13	3.05	4.83	4.45
21.34	Isoamyl caprylate	0.28	0.32	0.07	0.28	0.04	0.10	0.6
21.96	Diethyl succinate		0.12		0.04	0.04	0.11	
23.48	alpha.-Farnesene		0.24	0.15	6.31			4.59
23.50	Isobutyl caprate			0.13	3.44			
25.11	Phenethyl acetate	0.20	0.44	0.25		0.18	0.31	0.86
25.43	Ethyl laurate	8.40	6.38	3.91	3.38	1.14	1.71	2.77
25.80	Isoamyl decanoate	0.42	1.39	0.89	0.65	0.18	0.29	0.64
27.12	Phenylethyl Alcohol		0.13	0.08	0.36	0.34	0.54	1.35
29.60	Ethyl myristate	0.67	1.77	1.41	0.65	0.15	0.40	0.63
29.86	Isoamyl laurate		0.24	0.15	0.13		0.00	0.13
33.42	Ethyl palmitate	1.24	5.63	5.84	4.74	0.44	4.68	3.03
33.81	n-Decanoic acid	0.17	0.44	0.35		0.00	0.12	
33.88	Ethyl 9-hexadecenoate				0.26			0.17
37.60	Ethyl stearate							0.04
38.17	Ethyl oleate		0.47	0.45	0.49		0.30	0.37
39.57	Ethyl linoleate		0.75	0.70	0.6		0.00	0.35
	Others	7.28	34.88	29.12	10.61	4.04	4.30	23.21

(하) 알칼리토금속 측정

쌀 증류주의 증류 직후와 3, 6, 9개월 용기 및 오크통에서 숙성 후 미량 금속 성분을 분석한 결과는 표 3-21과 같다. 증류 직후 나트륨(483.9 $\mu\text{g/L}$), 칼슘 (414.15 $\mu\text{g/L}$), 칼륨 (249.3 $\mu\text{g/L}$)이 많이 검출된 미량 금속 성분으로 나타났다. 마그네슘(56.12 $\mu\text{g/L}$)과 아연 (27.3 $\mu\text{g/L}$)도 검출되었다. 중금속인 Pb는 0.097 $\mu\text{g/Kg}$ 으로 매우 소량 검출되었다. 본 연구를 위해 제조된 쌀 증류주의 Pb 함량은 국내 일반 증류주의 납 함량 연구 결과인 not detected~23.6 $\mu\text{g/Kg}$ 의 범위내로 나타났다(No et al., 2010).

Ca는 숙성 초기 3개월 동안 가장 많이 감소하였으며, 9개월 차에 용기 및 오크통에서 다시 증가되었다. 철은 용기 및 오크통에서 시간이 지나면서 점차 감소하는 경향성을 보였으나, 용기 숙성의 경우 3개월 차에서 잠시 증가되었다. Mg는 증류 직후와 비교해서 큰 변화 없이 일정량이 유지되는 것으로 생각된다. Zn은 증류 직후 27.73 $\mu\text{g/L}$ 에서 용기 숙성에서는 6-9개월 사이에 급속한 감소가 되어 9개월 뒤 6.26 $\mu\text{g/L}$ 검출되었으며, 오크 통 숙성에서는 0-3개월 사이에 급격한 감소되어 3.26 $\mu\text{g/L}$ 가 검출된 뒤 비슷한 정도로 9개월까지 유지되었다. 용기와 오크통 숙성이 Na의 함량에는 다른 경향성을 보였다. 용기에서는 6개월까지 약간 감소하다가 6-9개월 사이에 증가하는 경향성을 보였으며, 용기에서 Na가 소량 유출된 것으로 생각된다. 오크통에서는 3개월차에 415.8 $\mu\text{g/L}$ 로 감소한 뒤 일정하게 유지되었다. 칼륨(K)은 용기 숙성에서는 3개월 이후 감소하는 경향성을 보였으나, 오크통 숙성에서는 증가하는 경향성이 나타났다.

전체적으로 용기에서 숙성기간에 따라 알칼리토금속류가 증가할 것으로 예상하였으나 단기간 숙성에 의한 차이는 크게 나타나지 않는 것으로 보여 진다.

표 3-21. 증류직후와 용기 및 오크통 숙성(3~9개월) 후 쌀 증류주의 미량 금속 성분 분석

	숙성기간(개월)			
	0	3	6	9
옹기				
Ca (µg/L)	414.15	329.74	328.42	387.22
Fe (µg/L)	6.29	9.15	5.55	4.74
Mg (µg/L)	56.12	51.88	48.70	52.43
Mn (µg/L)	0.52	0.40	0.34	0.41
Zn (µg/L)	27.73	21.09	31.39	6.26
Na (µg/L)	483.9	479.9	449.3	505.1
K (µg/L)	249.3	259.6	181.2	146.3
Pb (µg/Kg)	0.097	0.081	0.053	0.043
오크통				
Ca(µg/L)	414.15	236.79	299.32	338.03
Fe (µg/L)	6.29	5.12	4.57	2.51
Mg (µg/L)	56.12	51.04	53.31	56.18
Mn (µg/L)	0.52	0.55	0.93	0.94
Zn (µg/L)	27.73	3.26	4.73	3.40
Na (µg/L)	483.9	415.8	427.0	420.5
K (µg/L)	249.3	288.7	235.2	312.5
Pb (µg/Kg)	0.097	0.169	0.088	0.062

적포도 증류주의 증류 직후와 3, 6, 9개월 옹기 및 오크통에서 숙성 후 미량 금속 성분을 분석한 결과는 표 3-22과 같다. 가장 중요한 Pb의 함량은 9개월 뒤 증가함을 보였다. 증류직후 0.48 µg/Kg에서 옹기에 9개월간 숙성한 시료에서는 0.074 µg/Kg이 검출되었고, 오크통에서 9개월간 숙성한 시료에서는 0.094 µg/Kg가 검출되었다. 이러한 결과는 국내 일반 증류주의 납 함량 연구 결과인 not detected~23.6 µg/Kg의 범위를 볼 때(No et al., 2010), 매우 낮은 수준으로 생각된다. 옹기 숙성 적포도 증류주의 미량 금속 성분의 함량은 9개월 숙성 후 Ca, Mg, Mn, Na, K, Pb의 함량은 증가하였으며, Fe와 Zn의 함량은 감소하였다. 반대로, 오크통에서 9개월 숙성한 시료는 Mg, Mn, Na, K, Pb의 함량이 증가하고, Ca, Fe, Zn의 함량은 감소하였다.

두 저장용기에서 Zn의 급격한 감소가 보였으며, 오크통 숙성은 K의 함량이 급격하게 증가하는 것을 알 수 있다. K의 증가는 오크통 재질의 특성이라 판단되며, 청포도 및 사과 증류주에서도 같은 현상이 나타났다.

표 3-22. 증류직후와 옹기 및 오크통 숙성(3~9개월) 후 적포도 증류주의 미량 금속 성분 분석

적포도	숙성기간(개월)			
	0	3	6	9
옹기				
Ca($\mu\text{g/L}$)	396.14	385.28	338.63	425.47
Fe ($\mu\text{g/L}$)	7.2	5.11	4.28	6.85
Mg ($\mu\text{g/L}$)	57.63	61.07	54.25	58.85
Mn ($\mu\text{g/L}$)	0.41	0.34	0.40	0.49
Zn ($\mu\text{g/L}$)	18.94	37.1	2.17	3.66
Na ($\mu\text{g/L}$)	412.1	434.5	417.2	469.8
K ($\mu\text{g/L}$)	112.5	129.4	107.7	144.0
Pb ($\mu\text{g/Kg}$)	0.048	0.062	0.035	0.074
오크통				
Ca($\mu\text{g/L}$)	396.14	320.78	415.1	365.79
Fe ($\mu\text{g/L}$)	7.2	12.63	8.05	5.30
Mg ($\mu\text{g/L}$)	57.63	52.89	57.47	63.59
Mn ($\mu\text{g/L}$)	0.41	0.58	0.92	0.84
Zn ($\mu\text{g/L}$)	18.94	9.16	19.11	3.02
Na ($\mu\text{g/L}$)	412.1	405.1	422.0	437.4
K ($\mu\text{g/L}$)	112.5	192.9	272.3	331.1
Pb ($\mu\text{g/Kg}$)	0.048	0.074	0.061	0.094

청포도 증류주의 증류 직후와 3, 6, 9개월 옹기 및 오크통에서 숙성 후 미량 금속 성분을 분석한 결과는 표 3-23과 같다. 가장 중요한 Pb의 함량은 9개월 뒤 증가함을 보였다. 증류직후 0.242 $\mu\text{g/Kg}$ 에서 옹기에 9개월간 숙성한 시료에서는 0.093 $\mu\text{g/Kg}$ 이 검출되었고, 오크통에서 9개월간 숙성한 시료에서는 0.088 $\mu\text{g/Kg}$ 가 검출되었다. 시간이 지남에 따라서 Pb의 함량은 감소되었음을 알 수 있다. 이러한 결과는 국내 일반 증류주의 납 함량 연구 결과인 not detected~23.6 $\mu\text{g/Kg}$ 의 범위를 볼 때(No et al., 2010), 매우 낮은 수준으로 분석되었다. Fe 함량은 증류직후 24.75 $\mu\text{g/L}$ 에서 9개월 숙성 후 옹기 및 오크통에서 각각 4.54 $\mu\text{g/L}$ 와 4.37 $\mu\text{g/L}$ 가 검출되어, 숙성 시간에 따라 Fe의 함량이 급격히 감소하였다. Mg은 증류 직후 40.06 $\mu\text{g/L}$ 에서 숙성 시간이 지남에 따라 옹기에서는 커다란 변화가 없었으나, 오크통에서는 56.95 $\mu\text{g/L}$ 으로 증가하였다. 오크통 숙성의 경우 0~3개월 사이에 Mg 함량이 증가함을 알 수 있다. Zn은 증류직후 14.5 $\mu\text{g/L}$ 에서 숙성 시간에 따라 감소하여 9개월 숙성 후 옹기에서는 7.04 $\mu\text{g/L}$, 오크통에서는 8.40 $\mu\text{g/L}$ 가 검출되었다. Zn의 감소는 0~3개월 차에 급격히 이루어지는 것으로 나타났다. 숙성 기간 동안 증가/감소량 측면에서 Na의 변화가 가장 컸다. 증류 직후 1622.8 $\mu\text{g/L}$ 에서 옹기 숙성은 3개월 후 700.3 $\mu\text{g/L}$, 6개월 후 485.6 $\mu\text{g/L}$, 9개월 후 422.7 $\mu\text{g/L}$ 으로 0~6개월 사이에 급격한 감소가 나타났다. 오크통 숙성은 3개월 후 418.4 $\mu\text{g/L}$, 6개월 후 379.6 $\mu\text{g/L}$, 9개월 후 423.7 $\mu\text{g/L}$ 으로 0~3개월 사이에 급격한 감소가 보였다. K은 9개월

숙성 후 용기(111.2 µg/L) 및 오크통(408.9 µg/L)에서 증가하였으나, 오크통의 증가폭이 3배 이상으로 적포도 증류주의 경우와 유사하였다. 용기 및 오크통 모두 0~3개월 사이에 급격히 증가하였다.

표 3-23. 증류직후와 용기 및 오크통 숙성(3~9개월) 후 청포도 증류주의 미량 금속 성분 분석

청포도	숙성기간(개월)			
	0	3	6	9
용기				
Ca(µg/L)	299.53	275.43	306.62	282.42
Fe (µg/L)	24.75	5.15	7.45	4.54
Mg (µg/L)	40.06	38.34	42.62	42.70
Mn (µg/L)	0.58	0.40	0.54	0.33
Zn (µg/L)	14.50	9.52	10.65	7.04
Na (µg/L)	1622.8	700.3	485.6	422.7
K (µg/L)	45.3	127.4	79.3	111.2
Pb (µg/Kg)	0.242	0.079	0.126	0.093
오크통				
Ca(µg/L)	299.53	281.39	281.97	302.08
Fe (µg/L)	24.75	6.11	3.78	4.37
Mg (µg/L)	40.06	53.99	51.45	56.95
Mn (µg/L)	0.58	1.20	1.25	1.32
Zn (µg/L)	14.50	7.51	7.01	8.49
Na (µg/L)	1622.8	418.4	379.6	423.7
K (µg/L)	45.3	369.2	367.2	408.9
Pb (µg/Kg)	0.242	0.079	0.068	0.088

사과 증류주의 증류 직후와 3, 6, 9개월 용기 및 오크통에서 숙성 후 미량 금속 성분을 분석한 결과는 표 3-24과 같다. 가장 중요한 Pb의 함량은 9개월 뒤 증가함을 보였다. 증류직후 0.061 µg/Kg에서 용기에 9개월간 숙성한 시료에서는 0.132 µg/Kg이 검출되었고, 오크통에서 9개월간 숙성한 시료에서는 0.129 µg/Kg가 검출되었다. 시간이 지남에 따라서 Pb의 함량은 감소되었음을 알 수 있다. 이러한 결과는 국내 일반 증류주의 납 함량 연구 결과인 not detected~23.6 µg/Kg의 범위를 볼 때(No et al., 2010), 매우 낮은 수준으로 분석되었다. Ca는 증류 직후 338.64 µg/L에서 9개월 숙성 후 용기는 376.93 µg/L, 오크통에서는 339.19 µg/L으로 큰 변화는 없었다. Fe는 증류직후 5.48 µg/L에서 6~9개월 사이에 급격히 증가하여 용기에서는 21.53 µg/L, 오크통에서는 10.38 µg/L로 용기에서 증가량이 약 2배정도 많았다. Mg은 숙성 기간 및 저장 용기에 상관없이 일정하게 유지되었다. Zn은 숙성기간에 따라 서서히

증가하는 경향을 보였으며, 쌀, 적포도, 청포도 증류주의 경향과 반대로 나타났다. Na은 9개월 숙성 후 옹기에서 432.4 µg/L, 오크통에서 439.2 µg/L로 약간 증가함을 보였으나, 증류직 후부터 일정하게 유지되었다. K는 증류직후 94.4 µg/L에서 9개월 숙성 후 옹기에서 122.1 µg/L, 오크통에서는 329.6 µg/L로 증가하였으며, 특히 오크통에서의 증가량이 높았다. 오크통에서 K의 용출이 두드러지는 것으로, 쌀, 적포도, 청포도 증류주에서도 유사하였다.

표 3-24. 증류직후와 옹기 및 오크통 숙성(3~9개월) 후 쌀 증류주의 미량 금속 성분 분석

사과	숙성기간(개월)			
	0	3	6	9
옹기				
Ca(µg/L)	338.64	319.16	339.56	376.93
Fe (µg/L)	5.48	5.47	6.76	21.53
Mg (µg/L)	50.58	50.39	51.34	52.14
Mn (µg/L)	0.35	0.36	0.53	0.80
Zn (µg/L)	8.94	8.12	17.08	13.94
Na (µg/L)	410.5	411.5	386.9	432.4
K (µg/L)	94.4	103.6	104.2	122.1
Pb (µg/Kg)	0.061	0.064	0.129	0.132
오크통				
Ca(µg/L)	338.64	30.903	322.34	339.19
Fe (µg/L)	5.48	6.14	7.23	10.38
Mg (µg/L)	50.58	53.94	55.5	56.02
Mn (µg/L)	0.35	0.65	0.79	1.01
Zn (µg/L)	8.94	13.21	14.41	9.42
Na (µg/L)	410.5	415.3	419.5	439.2
K (µg/L)	94.4	221.2	212.5	329.6
Pb (µg/Kg)	0.061	0.086	0.118	0.129

(2). 제품 평가(알코올도수 40도로 희석 후 평가)

(1). 숙성 원액 평가에서 채취한 샘플을 일반적인 위스키와 브랜드의 알코올도수인 40도 (v/v%)로 희석하여 제품의 유해물질과 향기성분을 측정하고 관능검사를 실시하여 이화학적 평가와 관능평가의 연관성을 확인하고자 한다.

<실험방법>

각 샘플은 가. 숙성 원액 평가에서 측정한 알코올함량을 기반으로 정제수를 사용하여 40도로 희석하였으며 이화학적 분석은 유해물질(아세트알데히드, 메탄올, EC, 요소) 등을 3반복하여 측정하였고 훈련된 패널 7명을 대상으로 관능평가(묘사분석)를 실시하였다.

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

관능평가는 다양한 제품의 묘사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 첫 1시간 동안 쌀 증류주의 특성에 대해서 도출하였다. 도출된 특성 및 표준 시료는 총 10항목(색 1, 향 3, 맛 및 향미4, 입촉감 2)이 도출되어 평가에 적용하였다. 그 후 2시간 동안 특성 및 특성을 나타내는 표준 시료에 대하여 훈련을 하였다. 평가는 1시간에 1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 20도 알코올(v/v%) 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공되었으며, 플라스틱 뚜껑으로 향이 날라가는 것을 최대한 억제하였다. 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다. 각 증류주는 증류 후 옹기 및 오 크통에 넣어 9개월간 보관하였다. 시료는 3, 6, 9개월에 시료를 채취하여 묘사분석에 사용하였다. 채취한 시료는 -35 $^{\circ}$ C에서 갈색 유리병에 밀봉하여 보관하였고, 9개월 차 시료의 채취 후에 묘사분석을 진행하였다. 통계분석은 XLSTAT (ver 2012, Addinsoft, Paris, Korea)를 이용하여 이원분산분석을 이용하였다.

<결과 및 고찰>

(가) 아세트알데히드

가. 숙성 원액 평가에서 측정된 알코올함량을 기반으로 정제수를 첨가하여 알코올 함량 40도(v/v%)로 희석하고 완성된 제품을 가지고 아세트알데히드를 측정하였다. 숙성 원액의 아세트알데히드에 비해 정제수로 인하여 감소된 값들이 측정되었으며 전체적으로 표준편차의 범위를 제외하고는 유사한 곡선을 형성하였다.

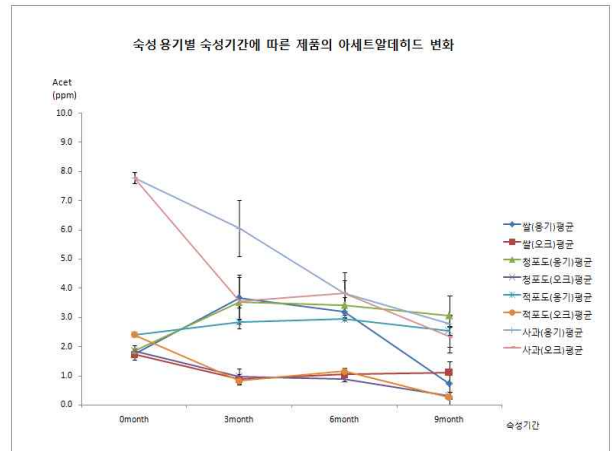
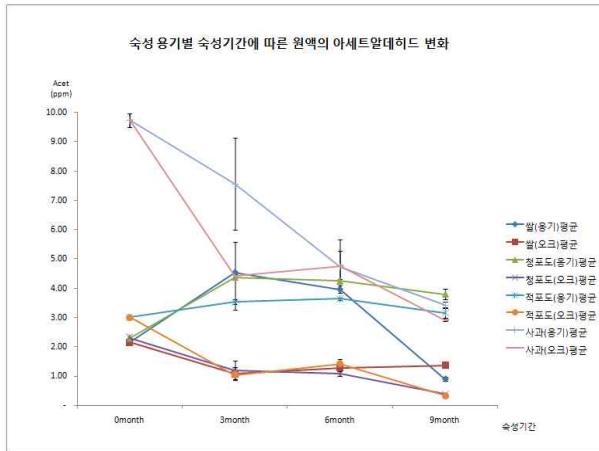
아세트알데히드는 자극적인 과일향이 나는 저비점 유해물질로 각 항목의 측정값들이 관능검사에 미치는 영향에 대해 확인할 필요가 있다.

또한 다음 진행될 블렌딩 chapter에서는 소주류에서 진행하는 chill filtering을 진행할 예정으로 향기성분의 감소와 유해물질의 감소가 기대되는 바이다.

표 3-25. 숙성 기간에 따른 제품별(알코올함량 40도(v/v%) 원액희석제품) 아세트알데히드(ppm) 변화(아세트알데히드±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	1.73±0.02	3.66±0.05	3.18±0.09	0.72±0.05
	청포도	1.85±0.02	3.52±0.06	3.41±0.04	3.06±0.14
	적포도	2.40±0.04	2.84±0.07	2.93±0.04	2.54±0.14
	사과	7.78±0.19	6.05±0.96	3.81±0.44	2.77±0.97
오크통	쌀	1.73±0.02	0.87±0.18	1.04±0.05	1.11±0.05
	청포도	1.85±0.02	0.97±0.26	0.87±0.07	0.31±0.12
	적포도	2.40±0.04	0.82±0.11	1.14±0.12	0.26±0.05
	사과	7.78±0.19	3.54±0.92	3.81±0.73	2.33±0.35

그림 3-46. 원액과 제품의 아세트알데히드 측정 비교 그래프(원액(左), 제품(右))



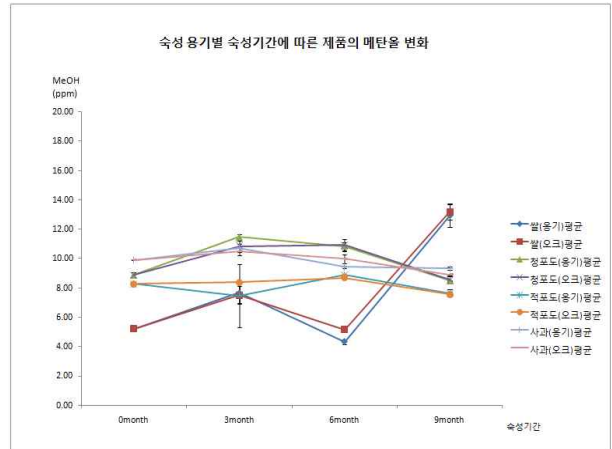
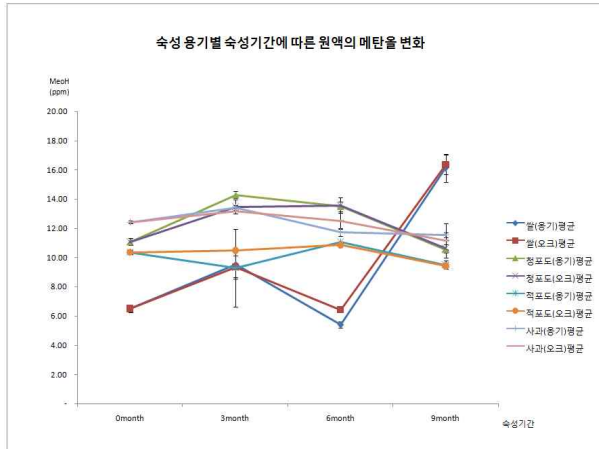
(나) 메탄올

가. 숙성 원액 평가에서 측정된 알코올함량을 기반으로 정제수를 첨가하여 알코올 함량 40도(v/v%)로 희석하고 완성된 제품을 가지고 메탄올을 측정하였다. 메탄올의 함량이 숙성 원액 평가 시 데이터와 비교 시 희석에 의해 전체적으로 감소하였으며 유사한 곡선을 형성하였다. 메탄올은 무색의 에탄올과 같은 알코올향기를 내는 저비점 유해물질로 관능평가 시 미치는 영향이 낮을 것으로 사료되나 연계하여 고찰을 진행하고자 한다.

표 3-26. 숙성 기간에 따른 제품별(알코올함량 40도(v/v%) 원액희석제품) 메탄올(ppm) 변화 (메탄올±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	5.23±0.19	7.68±0.72	4.34±0.17	12.94±0.78
	청포도	8.90±0.19	11.49±0.18	10.85±0.27	8.50±0.02
	적포도	8.27±0.12	7.47±2.14	8.90±0.01	7.65±0.24
	사과	9.92±0.00	10.73±0.26	9.44±0.07	9.33±0.12
오크통	쌀	5.23±0.19	7.52±0.63	5.17±0.09	13.20±0.54
	청포도	8.90±0.19	10.84±0.39	10.93±0.41	8.55±0.24
	적포도	8.27±0.12	8.38±0.04	8.69±0.13	7.55±0.17
	사과	9.92±0.00	10.53±0.28	9.99±0.31	8.92±0.05

그림 3-47. 원액과 제품의 메탄올 측정 비교 그래프(원액(左), 제품(右))



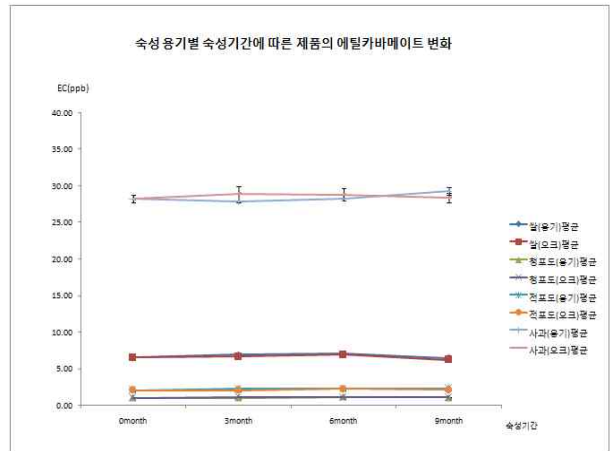
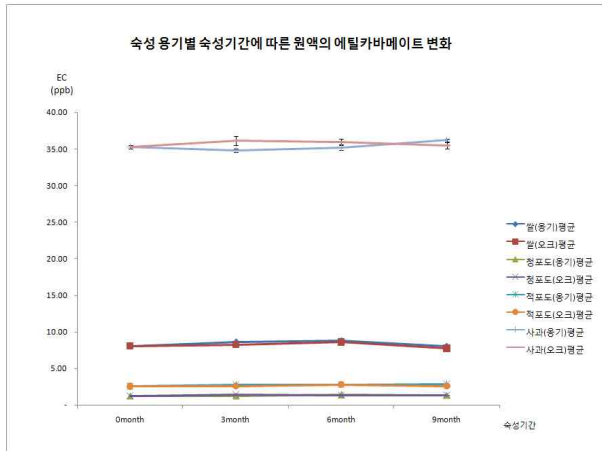
(다) 에틸카바메이트(EC)

가. 숙성 원액 평가에서 측정된 알코올함량을 기반으로 정제수를 첨가하여 알코올 함량 40도 (v/v%)로 희석하고 완성된 제품을 가지고 에틸카바메이트를 측정하였다. 에틸카바메이트의 함량이 숙성 원액 평가 시 데이터와 비교 시 희석에 의해 전체적으로 감소하였으며 유사한 곡선을 형성하였다. EC의 경우 관능평가와의 연계성이 낮을 것으로 사료되며, 이후 chapter에서 진행할 블렌딩 시료 제작 시 chill filtering을 진행하여 보다 낮은 유해물질의 검출이 기대된다.

표 3-27. 숙성 기간에 따른 제품별(알코올함량 40도(v/v%) 원액희석제품) 에틸카바메이트 (ppb) 변화(EC±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	6.50±0.14	6.89±0.11	7.05±0.43	6.44±0.17
	청포도	0.97±0.06	0.98±0.11	1.09±0.08	1.07±0.04
	적포도	2.00±0.09	2.20±0.15	2.23±0.12	2.30±0.02
	사과	28.21±0.48	27.83±0.16	28.27±0.06	29.21±0.52
오크통	쌀	6.50±0.14	6.62±0.06	6.90±0.06	6.21±0.04
	청포도	0.97±0.06	1.09±0.02	1.07±0.03	1.07±0.06
	적포도	2.00±0.09	2.05±0.12	2.22±0.21	2.06±0.05
	사과	28.21±0.48	28.90±1.02	28.77±0.86	28.37±0.68

그림 3-48. 원액과 제품의 에틸카바메이트 측정 비교 그래프(원액(左), 제품(右))



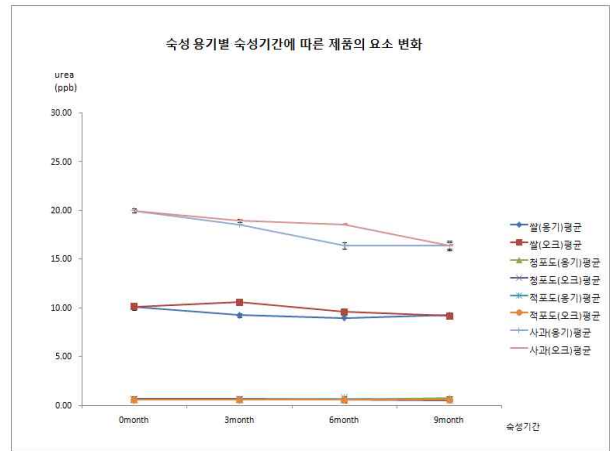
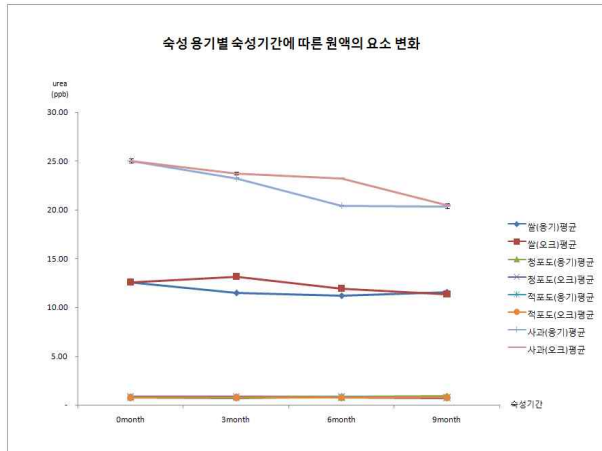
(라) 요소

가. 숙성 원액 평가에서 측정된 알코올함량을 기반으로 정제수를 첨가하여 알코올 함량 40도(v/v%)로 희석하고 완성된 제품을 가지고 요소를 측정하였다. 요소의 함량이 숙성 원액 평가 시 데이터와 비교 시 희석에 의해 전체적으로 감소하였으며 유사한 곡선을 형성하였다. 요소는 에탄올과 결합하여 EC를 생성시킬 수 있는 유해물질의 전구체로서 그 검출함량이 낮아 관능평가와의 연계성이 낮을 것으로 사료되며, 이후 chapter에서 진행할 블렌딩 시료 제작 시 chill filtering을 진행하여 보다 낮은 요소의 검출이 기대된다.

표 3-28. 숙성 기간에 따른 제품별(알코올함량 40도(v/v%) 원액희석제품) 요소(ppb) 변화(요소±표준편차)

용기	증류주 종류	숙성기간(month)			
		0	3	6	9
용기	쌀	10.14±0.39	9.26±0.21	8.99±0.04	9.26±0.16
	청포도	0.67±0.28	0.66±0.14	0.64±0.08	0.74±0.20
	적포도	0.59±0.05	0.57±0.07	0.69±0.09	0.60±0.01
	사과	20.01±0.20	18.60±0.05	16.42±0.34	16.42±0.51
오크통	쌀	10.14±0.19	10.58±0.18	9.61±0.11	9.17±0.23
	청포도	0.67±0.28	0.66±0.31	0.60±0.05	0.56±0.11
	적포도	0.59±0.05	0.59±0.10	0.58±0.32	0.59±0.06
	사과	20.01±0.20	18.98±0.15	18.60±0.06	16.42±0.32

그림 3-49. 원액과 제품의 요소 측정 비교 그래프(원액(左), 제품(右))



(마) 관능평가

① 쌀 증류주 묘사분석

다양한 제품의 묘사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 첫 1시간 동안 쌀 증류주의 특성에 대해서 도출하였다. 도출된 특성 및 표준 시료는 표 1과 같이 총 10항목(색 1, 향 3, 맛 및 향미 4, 입촉감 2)이 도출되어 평가에 적용하였다. 그 후 2시간 동안 특성 및 특성을 나타내는 표준 시료에 대하여 훈련을 하였다. 평가는 1시간에 1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 20도 알코올(v/v%) 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공되었으며, 플라스틱 뚜껑으로 향이 날아가는 것을 최대한 억제하였다. 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다. 쌀 증류주는 증류 후 옹기 및 오크통에 넣어 9개월간 보관하였다. 시료는 3, 6, 9개월에 시료를 채취하여 묘사분석에 사용하였다. 채취한 시료는 -35℃에서 갈색 유리병에 밀봉하여 보관하였고, 9개월 차 시료의 채취 후에 묘사분석을 진행하였다. 통계분석은 XLSTAT (ver 2012, Addinsoft, Paris, Korea)를 이용하여 이원분산분석을 이용하였다.

증류 후 옹기에 숙성한 쌀 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-30와 같다. 총 9개의 특성 중 얼얼함에서 유의적인 차이가 발견되었다($P < 0.05$). 향 강도, 누룩향, 포도향은 숙성 시간에 따라 강도의 증가 또는 감소되는 경향성이 보이지 않았다. 향미강도는 3개월에 약해졌다가 다시 증가하는 경향이 보였으나, 유의차는 없었다($P < 0.05$). 누룩향미와 화한느낌은 숙성이 진행될수록 지속적으로 강도가 약해진다고 평가되었다.

증류 후 오크통에 숙성한 쌀 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-31와 같다. 색상 및 얼얼함에서 유의적인 차이가 발견되었다($P < 0.05$). 색상강도는 3개월에서 증가하고, 다시 9개월에서 유의적으로 황갈색이 강하게 인지되었다($P < 0.05$). 누룩향, 포도향, 향미강도의 특성이 숙성이 되면서 약간 증가하는 경향성을 보였으나, 통계적인 유의차는 없었다($P < 0.05$). 얼얼함의 경우 6개월 숙성 시료에서 가장 약하게 인지되었으나, 다시 9개월 숙성에서 원래의 강도로 돌아왔다.

증류 직후의 쌀 증류주와 옹기 및 오크통에서 9개월간 숙성된 쌀 증류주의 묘사적 특징 비교는 표 3-32와 같다. 색상은 오크통의 영향으로 오크통 숙성 시료에서 황갈색이 인지되었다. 전반적인 향 강도는 숙성 과정이 영향을 미치지 못하였다. 누룩향은 오크통 숙성에서 약간 강하게 인지되었으며, 증류직후와 옹기 숙성에서는 동일하였다. 포도향은 숙성 후 약간 증가하였다. 오크통 숙성의 경우 와인을 숙성했던 오크통의 영향으로 포도향이 강하게 인지된 것으로 생각되며, 증류직후 및 옹기 숙성은 무스카토 와인의 포도향과 유사한 향미 성분이 쌀 증류주에 있는 것으로 사료된다. 얼얼함과 화한느낌은 숙성된 쌀 증류주에서 낮은 강도를 가지는 것으로 나타났으나, 유의차는 없었다($P < 0.05$). 숙성을 통해서 술의 날카로움이 어느 정도 부드러워져 목 넘김이 편해지는 것으로 생각된다.

표 3-29. 용기 및 오크통 숙성 쌀 증류주의 특성, 정의, 표준시료 및 강도

특성명		쌀 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	표준시료 강도
외관	색상	황갈색 정도	표준색판 (S1080-Y20R)	12
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(위스키:물) 희석액	10
	누룩향	막걸리에서 감지되는 누룩향	막걸리 (국순당 살균 막걸리)	7
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(위스키:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/ 100 mL 물)	3
	누룩맛	막걸리에 의해 감지되는 맛	막걸리 (국순당 살균 막걸리)	8
	포도맛	무스카토 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	1:5 (95% 주정: 물) 희석액	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	11

표 3-30. 용기 숙성 쌀 증류주의 묘사분석 결과

용기 숙성(개월)	향 강도	누룩향	포도향	향미강도	단맛	누룩향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	6.00	3.07	3.79	5.57	2.21	2.64	2.14	7.21a	6.64
3	5.36	2.71	3.86	5.07	1.89	2.43	2.54	6.64ab	6.46
6	5.14	3.00	4.21	5.93	2.18	2.29	2.21	6.14bc	6.36
9	6.07	3.07	4.07	5.86	2.07	2.21	2.14	5.50c	6.00

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

표 3-31. 오크통 숙성 쌀 증류주의 묘사분석 결과

오크통 숙성(개월)	색상	향 강도	누룩향	포도향	향미강도	단맛	누룩향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	0.00c	6.00	3.07	3.79	5.57	2.21	2.64	2.14	6.64a	6.00
3	1.50b	5.79	3.29	4.00	5.07	1.96	2.36	2.71	6.50a	6.00
6	1.86b	5.79	3.07	3.93	5.64	2.07	2.21	2.21	5.43b	5.93
9	3.71a	5.79	3.64	4.43	6.14	2.50	2.79	2.64	6.57a	6.36

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

표 3-32. 쌀 증류주의 증류직후 및 용기와 오크통 9개월 숙성 후 묘사분석 결과

쌀 증류주	색상	향 강도	누룩향	포도향	향미강도	단맛	누룩향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
증류 직후	0.00b ¹	6.00	3.07	3.79	5.57	2.21	2.64	2.14	7.21	6.64
옹기 9개월	0.00b	6.07	3.07	4.07	5.86	2.07	2.21	2.14	5.50	6.00
오크 9개월	3.71a	5.79	3.64	4.43	6.14	2.50	2.79	2.64	6.57	6.36

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

②청포도 증류주 조사분석

다양한 제품의 조사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 첫 1시간 동안 청포도 증류주의 특성에 대해서 도출하였다. 도출된 특성 및 표준 시료는 표 3-33과 같이 총 8항목(향 3, 맛 및 향미3, 입촉감 2)이 도출되어 평가에 적용하였다. 그 후 2시간 동안 특성 및 특성을 나타내는 표준 시료에 대하여 훈련을 하였다. 평가는 1시간에 1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 20% 알코올(v/v) 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공되었으며, 플라스틱 뚜껑으로 향이 날라가는 것을 최대한 억제하였다(그림 3-50). 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다(그림 3-51). 청포도 증류주는 증류 후 옹기 및 오크통에 넣어 9개월간 보관하였다. 시료는 3, 6, 9개월에 시료를 채취하여 조사분석에 사용하였다. 채취한 시료는 -35℃에서 갈색 유리병에 밀봉하여 보관하였고, 9개월 차 시료의 채취 후 조사분석을 진행하였다. 통계분석은 XLSTAT (ver 2012, Addinsoft, Paris, Korea)를 이용하여 이원분산분석을 이용하였다.

증류 후 옹기에 숙성한 청포도 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-34와 같다. 총 8개의 특성 중 3개의 특성(전반적인 향 강도, 알코올향, 단맛)에서 유의적인 차이가 발견되었다(P<0.05). 3개월 옹기 숙성 시료가 강한 전반적인 향 및 알코올 향의 강도를 가지는 것으로 평가되었다. 통계적인 유의차는 발견되지 않았지만, 얼얼함을 제외한 특성에서 3개월 옹기 숙성 시료에서 가장 강한 강도를 가지는 것으로 나타났다. 3개월 후 특성의 강도는 점차적으로 약해지는 경향성을 보였다.

증류 후 오크통에 숙성한 청포도 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-35와 같다. 총 8개의 특성 중 3개의 특성(전반적인 향 강도, 알코올향, 화한느낌)에서 유의적인 차이가 발견되었다(P<0.05). 향 강도는 3개월 뒤부터 비숙성 시료보다 강하다고 인지되었으며, 알코올 강도도 증가함을 보였다. 포도향도 유의차는 보이지 않지만, 3개월에 감소되었다 다시 증가하는 경향으로 볼 때, 증류직후에는 술에 남아있는 포도향 때문에 강도가 높고, 6개월 후 부터는 오크통의 영향을 받아서 포도향이 증가하는 것으로 생각된다. 화한 느낌에서 시료 간에 유의차가 발견되었으며(P>0.05). 오크통 숙성은 시간이 지남에 따라 향 강도가 점차적으로 증가함을 알 수 있다.

그림 3-50. 조사분석을 위한 술 시료(7종), 표준시료, 설문지, 생수



그림 3-51. 묘사분석 패널의 숙성 기간에 따른 증류주 평가 진행



표 3-33. 청포도 용기 및 오크통 숙성 증류주의 특성, 정의, 표준시료 및 강도

특성명		청포도 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알코올	19% 주정	10
	포도향	포도주스(또는 와인)에서 감지되는 포도향	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	포도맛	화이트 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	1:5 (95% 주정: 물) 희석액	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	10

표 3-34. 용기 숙성 청포도 증류주의 묘사분석 결과

용기 숙성(개월)	향 강도	알코올향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.43b	3.21b	5.43b	4.79	2.14b	4.14	4.43	4.36
3	8.36a	4.71a	7.71a	5.07	2.93a	4.79	4.36	5.00
6	6.21b	3.64b	6.00b	4.71	2.00b	3.93	4.21	4.71
9	6.07b	4.71a	5.86b	4.50	2.36b	4.21	5.07	4.71

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

표 3-35. 오크통 숙성 청포도 증류주의 묘사분석 결과

오크통 숙성(개월)	향 강도	알코올 향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.43b	3.21b	5.43	4.79	2.14	4.14	4.43	4.36b
3	6.64a	4.93a	4.79	5.50	2.14	3.64	4.57	5.14a
6	7.36a	4.79a	5.86	4.93	1.68	3.64	4.86	4.36b
9	7.14a	5.00a	5.21	5.29	2.00	4.00	4.43	4.71ab

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함.

증류 직후의 청포도 증류주와 용기 및 오크통에서 9개월간 숙성된 증류주의 묘사적 특징 비교는 표 3-36와 같다. 전체 향 강도는 증류 직후 보다 숙성된 시료에서 강하게 인지되었으며, 특히 용기 숙성에서 전체 향 강도(7.14)의 유의적인 증가가 보였다(P<0.05). 알코올 향은 증류 직후 3.21에서 용기 숙성은 4.71, 오크통 숙성은 5.00으로 증가함을 보였다(P<0.05). 증류직후 느껴지는 술이 숙성을 통하여 향이 강해지는 것을 보여준다. 포도향의 강도 차이는 없었으나, 용기 숙성(5.86)에서 증류 직후(5.43)보다 강하게 인지되었으나, 오크통 숙성을 5.21로 조금 감소하였다. 오크통 숙성을 통해서 다른 향들의 영향으로 포도향이 약하게 인지되었을 것으로

생각된다. 전반적인 맛/향미 강도는 숙성을 통해서 증가함이 나타났다. 맛/향미 강도는 오크통 숙성이 5.29로 증류 직후의 4.79보다 약간 증가하였고, 옹기 숙성은 4.50으로 감소하였다. 단맛과 포도향미는 시료 간에 변화가 적었다. 얼얼함은 옹기 숙성에서 5.07로 증가함을 보였으며, 화한느낌은 증류직수가 4.36으로 가장 낮게 인지되었다. 이와 같은 결과를 보았을 때, 오크 숙성은 술의 전반적인 향 및 알코올 강도를 높여주는 역할을 주로 하였으며, 옹기 숙성은 향의 강도를 전반적으로 높여 주었다.

표 3-36. 청포도 증류주의 증류직후 및 옹기와 오크통 9개월 숙성 후 묘사분석 결과

청포도 증류주	향 강도	알코올 향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
증류직후	5.43b	3.21b	5.43	4.79	2.14	4.14	4.43	4.36
오크통 9개월 숙성	7.14a	5.00a	5.21	5.29	2.00	4.00	4.43	4.71
옹기 9개월 숙성	6.07ab	4.71a	5.86	4.50	2.36	4.21	5.07	4.71

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

③적포도 증류주 묘사분석

다양한 제품의 묘사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 첫 1시간 동안 적포도 증류주의 특성에 대해서 도출하였다. 도출된 특성 및 표준 시료는 표 3-37과 같이 총 8항목(향 3, 맛 및 향미3, 입촉감 2)이 도출되어 평가에 적용하였다. 그 후 2시간 동안 특성 및 특성을 나타내는 표준 시료에 대하여 훈련을 하였다. 평가는 1시간에 1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 20% 알코올(v/v) 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공되었으며, 플라스틱 뚜껑으로 향이 날아가는 것을 최대한 억제하였다. 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다. 적포도 증류주는 증류 후 옹기 및 오크통에 넣어 9개월간 보관하였다. 시료는 3, 6, 9개월에 시료를 채취하여 묘사분석에 사용하였다. 채취한 시료는 -35℃에서 갈색 유리병에 밀봉하여 보관하였고, 9개월 차 시료의 채취후에 묘사분석을 진행하였다. 통계분석은 XLSTAT (ver 2012, Addinsoft, Paris, Korea)를 이용하여 이원분산분석을 이용하였다.

증류 후 옹기에 숙성한 적포도 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-38와 같다. 총 8개의 특성 중5개의 특성(향 강도, 알코올향, 맛/향미강도, 단맛, 화한느낌)에서 유의적인 차이가 발견되었다. 향 강도 및 맛/향미 강도는 숙성 시간이 증가할수록 강해지는 경향성을 보였다. 이와 반대로 부정적인 성향의 알코올향과 화한느낌은 강도가 낮아지는 경향성이 나타났다. 단맛은 숙성 3개월 동안 약간 증가하고, 그 후에 일정하게 유지되었다. 포도향미는 통계적인 유의차는 보이지 않았지만, 숙성이 될수록 향미가 강해지는 경향성을 보였다. 얼얼함 특성은 숙성이 될수록 약해지는 경향성을 보였으나, 통계적인 유의차는 보이지 않았다. 옹기 숙성 적포도 증류주의 관능특성의 변화를 볼 때, 숙성이 진행 될수록 향, 향미 강도가 증가하고, 부정적인 특성인 알코올향, 얼얼함, 화한느낌이 감소함을 알 수 있었다.

증류 후 오크통에 숙성한 적포도 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-39와 같다. 총 8개의 특성 중 2개의 특성(향 강도, 알코올향, 포도향, 얼얼함)에서 유의적인 차이가 발견되었다 ($P<0.05$). 향 강도는 3개월 뒤부터 비 숙성 시료보다 강하다고 인지되었으며, 이와 반대로 알코올 향은 감소함을 보였다. 포도향도 유의차는 보이지 않지만, 숙성 기간이 증가함에 따라 감소하였다. 따라서 오크통 숙성이 향을 강하게 하는 역할을 하면서, 동시에 술 자체에 있는 향을 감소시키는 것으로 생각된다. 이와 같은 경향성은 통계적인 유의차는 없지만 맛/향미강도와 포도향미 사이의 관계에서도 보인다. 얼얼함과 화한느낌은 숙성이 진행될수록 약해지는 경향성이 보였으나, 유의차는 나타나지 않았다($P>0.05$).

표 3-37. 적포도 용기 및 오크통 숙성 증류주의 특성, 정의, 표준시료 및 강도

특성명		적포도 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알콜	19% 주정	10
	포도향	포도주스(또는 와인)에서 감지되는 포도향	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	포도맛	화이트 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	1:5 (95% 주정: 물) 희석액	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	10

표 3-38. 용기 숙성 적포도 증류주의 묘사분석 결과

용기 숙성(개월)	향 강도	알코올향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.89a ¹	7.79a	6.86	4.93b	1.07b	4.14	6.21	4.93a
3	5.00b	6.43b	6.00	5.21ab	1.64a	4.43	5.14	4.50ab
6	6.39a	6.00b	6.14	5.36ab	1.64a	4.43	5.64	4.93a
9	6.71a	6.50b	6.50	6.14a	1.79a	5.14	4.93	4.07b

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 $P<0.05$ 에서 유의차가 있음을 의미함

표 3-39. 오크통 숙성 적포도 증류주의 묘사분석 결과

오크통 숙성(개월)	향 강도	알코올 향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.86b ¹	7.79a	6.86	4.93	1.07	4.14	6.21	4.93
3	7.07a	6.57b	6.29	5.36	1.50	4.21	5.00	4.57
6	7.00a	6.43b	6.21	5.93	1.29	4.43	5.50	4.86
9	6.79ab	6.36b	5.30	5.71	1.46	3.79	5.50	4.43

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

증류 직후의 적포도 증류주와 옹기 및 오크통에서 9개월간 숙성된 증류주의 묘사적 특징 비교는 표 3-40와 같다. 전체 향 강도는 증류 직후 보다 숙성된 시료에서 강하게 인지되었다. 알코올 향은 증류직후 7.79에서 옹기 숙성은 6.50, 오크통 숙성은 6.36으로 감소함을 보였다 (P<0.05). 증류직후 느껴지는 술이 숙성을 통하여 부드러워 지는 것을 보여주는 결과이다. 포도향은 증류직후 가장 강하게 느껴졌으며, 숙성을 통해서 포도향을 감소하는 것으로 나타났다. 특히 오크통 숙성에서 유의적으로 감소하여, 숙성 시 오크통 내부의 향 성분이 유출되어 포도향을 감소시키는 것으로 생각된다. 전반적인 맛/향미 강도는 숙성을 통해서 증가함이 나타났다. 특히 옹기 숙성에서 전반적인 맛/향미 강도의 증가가 두드러졌다(P<0.05). 단맛은 옹기 숙성에서 증류직후 보다 유의적으로 높게 평가되었으나(P<0.05), 오크통 숙성은 약간 증가함을 보였다(P>0.05). 포도향미는 통계적인 유의차는 없었으나, 옹기에서 증가하고, 오크통에서 감소하였다. 얼얼함 및 화한느낌은 숙성 시 감소하는 것이 관찰되었다. 특히 옹기 숙성에서 통계적으로 낮은 강도가 인지되어(P<0.05), 술 넘김에서 부드러울 것이라 판단된다. 오크통 숙성도 증류직후 보다 0.5 포인트 낮게 평가되어, 숙성이 얼얼함과 화한느낌을 감소시키는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과를 보았을 때, 증류직후 술은 강한 알코올 향, 얼얼함 및 화한느낌을 가지면서 술의 단맛도 약하게 느껴졌으나, 숙성을 통해서 맛/향미의 강도도 증가하고, 알코올 향, 얼얼함, 화한느낌이 감소하여, 술의 묘사적 특징이 긍정적으로 변화하는 것으로 판단되었다.

표 3-40. 적포도 증류주의 증류직후 및 옹기와 오크통 9개월 숙성 후 묘사분석 결과

적포도 증류주	향 강도	알코올 향	포도향	맛/향미 강도	단맛	포도향미	얼얼함	화한느낌
증류직후	5.86b ¹	7.79a	6.86a	4.93b	1.07b	4.14	6.21a	4.93a
옹기 9개월 숙성	6.71ab	6.50b	6.50ab	6.14a	1.79a	5.14	4.93b	4.07b
오크통 9개월 숙성	6.79a	6.36b	5.36b	5.71ab	1.46ab	3.79	5.50ab	4.43ab

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 P<0.05에서 유의차가 있음을 의미함

④사과증류주 묘사분석

다양한 제품의 묘사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 첫 1시간 동안 사과 증류주의 특성에 대해서 도출하였다. 도출된 특성 및 표준 시료는 표 3-41과 같이 총 10항목(향 4, 맛 및 향미4, 입촉감 2)이 도출되어 평가에 적용하였다. 그 후 2시간 동안 특성 및 특성을 나타내는 표준 시료에 대하여 훈련을 하였다. 평가는 1시간에

1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 20% 알코올(v/v) 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공하였다. 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3 분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다(그림 3-52). 사과 증류주는 증류 후 옹기 및 오크통에 넣어 9개월간 보관하였다. 시료는 3, 6, 9개월에 시료를 채취하여 묘사분석에 사용하였다. 채취한 시료는 -35℃에서 갈색 유리병에 밀봉하여 보관하였고, 9개월 차 시료의 채취 후 묘사분석을 진행하였다. 통계분석은 XLSTAT (ver 2012, Addinsoft, Paris, Korea)를 이용하여 이원분산분석을 이용하였다.

증류 후 옹기에 숙성한 사과 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-42와 같다. 총 10개의 특성 중 5개의 특성(전반적인 향 강도, 포도향, 단맛, 사과향미, 포도향미)에서 유의적인 차이가 발견되었다($P < 0.05$). 전반적인 향 강도, 포도향, 단맛은 숙성 기간에 따라 전반적으로 감소하는 것으로 나타났다. 사과향미와 포도향미는 3, 6 개월 시료에서 약하고, 증류 직후 및 9개월 숙성에서 높은 강도를 가지는 것으로 나타났다. 9개월 숙성 후 특성의 강도가 유의미하게 증가하는 시료는 없었으며, 전반적으로 특성의 강도가 약하게 인지되는 것으로 나타났다.

증류 후 오크통에 숙성한 사과 증류주의 관능적 특징 변화는 표 3-43와 같다. 총 10개의 특성 중 5개의 특성(전반적인 향 강도, 포도향, 향미강도, 단맛, 사과향미, 얼얼함)에서 유의적인 차이가 발견되었다($P < 0.05$). 향 강도는 3개월 숙성 후 강해졌다가 다시 증류직전의 향 강도와 유사하게 인지되었다. 포도향의 경우는 숙성이 될수록 4.29에서 3.25로 감소되었다. 전반적인 향미 강도는 3~9개월 오크통에서 숙성된 시료에서 강하게 평가되었으나($P < 0.05$), 숙성 기간에 따른 증가/감소 패턴은 없었다. 단맛은 3개월 숙성까지 감소하고($P < 0.05$), 그 후로 일정하게 유지되었다. 사과향미는 숙성 3개월차 시료에서 낮게 인지되었으며($P < 0.05$), 나머지 시료에서는 유사한 강도를 보여주었다. 얼얼함의 경우 증류직후 시료에서 가장 낮게 평가되었으며, 숙성 시료의 얼얼함은 유의적으로 높게 평가되었다($P < 0.05$). 옹기 숙성의 경우와 유사한 변화를 보였으나, 오크통 숙성에서 얼얼함의 강도가 증가하는 것이 나타났다. 오크통의 자극적인 성분이 유출되어 얼얼함의 강도가 증가하는 것으로 생각된다.

표 3-41. 사과 옹기 및 오크통 숙성 증류주의 특성, 정의, 표준시료 및 강도

특성명		사과 숙성 증류주의 및 표준시료 강도			
		정의	평가방법	표준시료	강도
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	표준 시료의 강도와 비교	1:1(꼬낙:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알코올	표준 시료의 강도와 비교	19% 주정	10
	사과향	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	표준 시료의 강도와 비교	1:1 (사과맛 스미노프:물) 희석액	10
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	표준 시료의 강도와 비교	1:1 (무스카토 와인:물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	표준 시료의 강도와 비교	1:1(꼬낙:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	표준 시료의 강도와 비교	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	사과향	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	표준 시료의 강도와 비교	1:1 (사과맛 스미노프:물) 희석액	10
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	표준 시료의 강도와 비교	1:1 (무스카토 와인:물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	동일한 양의 시료 및 술을 혀 위에 올렸을 때 느껴지는 혀의 통증 정도	1:4 (주정:물, 19% 주정)	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커 입에 넣고 10초뒤에 느껴지는 목의 화한 느낌	아이스브레이커	10

그림 3-52. 사과 증류주 묘사 분석에 사용된 평가지

이름:										
사과 숙성 증류주 평가 (0~15포인트 스케일 사용)										
특성명		정의	표준시료 강도	163	326	352	685	649	984	975
외관	색상	활감색 정도	12							
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	10							
	알코올향	알코올 향 강도	10							
	사과향	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	10							
	포도향	무스카트 와인에서 감지되는 포도향	10							
맛과 향미	전반적인 맛 과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	10							
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단 맛	3							
	사과맛	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	10							
	포도맛	무스카트 와인에서 감지되는 포도향	10							
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 얼얼함의 강도	11							
	화한느낌	시료를 소량 넣었을 때 식도에 서 느껴지는 화한 느낌	10							

표 3-42. 옹기 숙성 사과 증류주의 묘사분석 결과

옹기 숙성(개월)	향강도	알코올향	사과향	포도향	향미강도	단맛	사과향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.36a	4.07	3.07	4.29a	4.21	2.29a	3.64a	2.96ab	4.07	3.36
3	4.14b	3.29	2.61	3.36b	4.07	2.25a	2.86b	2.39c	4.32	3.64
6	4.64b	4.14	2.50	3.21b	4.50	1.76b	3.07ab	2.71bc	4.79	3.89
9	4.00b	3.64	2.89	3.43b	4.29	1.79b	3.64a	3.29a	4.36	3.36

¹같은 행에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서(P<0.05)에서 유의차가 있음을 의미함

표 3-43. 오크통 숙성 사과 증류주의 묘사분석 결과

오크통 숙성(개월)	향강도	알코올향	사과향	포도향	향미강도	단맛	사과향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
0	5.36b	4.07	3.07	4.29a	4.21b	2.29a	3.64a	2.96	4.07b	3.36
3	6.14a	4.93	3.79	3.86ab	5.36a	1.79b	2.43b	2.64	4.89a	3.79
6	5.14b	4.71	3.29	3.36b	4.93a	1.68b	3.50a	2.96	4.61ab	3.57
9	5.50ab	4.71	3.07	3.25b	5.36a	1.71b	3.43a	3.04	4.61ab	3.86

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test(P<0.05)에서 유의차가 있음을 의미함

증류 직후의 사과 증류주와 옹기 및 오크통에서 9개월간 숙성된 증류주의 묘사적 특징 비교는 표 3-44와 같다. 전체 향 강도는 증류 직후와 오크통 숙성 시료에서 보다 숙성된 시료에

서 강하게 인지되었으며($P<0.05$), 용기 숙성은 사과 증류주의 향 강도를 약하게 하는 것으로 나타났다. 알코올함은 오크통 숙성에서 가장 강하게 인지되었으며(4.71), 용기 숙성에서 가장 약하게 평가되었다. 포도향 및 단맛은 숙성 후 용기 및 오크통 모두 감소함이 나타났다 ($P<0.05$). 향미 강도는 오크통에서 9개월 숙성 후 전반적인 향미의 강도가 가장 강하다고 인지되었고($P<0.05$), 용기 숙성의 경우 증류직후와 유사하였다($P>0.05$).

표 3-44. 사과 증류주의 증류직후 및 용기와 오크통 9개월 숙성 후 묘사분석 결과

사과 증류주	향강도	알코올함	사과향	포도향	향미강도	단맛	사과향미	포도향미	얼얼함	화한느낌
증류직후	5.36a	4.07ab	3.07	4.29a	4.21b	2.29a	3.64	2.96	4.07	3.36
오크통 9개월 숙성	5.50a	4.71a	3.07	3.25b	5.36a	1.71b	3.43	3.04	4.61	3.86
용기 9개월 숙성	4.00b	3.64b	2.89	3.43b	4.29b	1.79b	3.64	3.29	4.36	3.36

¹같은 열에서 다른 알파벳은 Duncun's multiple range test에서 $P<0.05$ 에서 유의차가 있음을 의미함

나. 저장/ 유통에 따른 유해물질 유출 분석

(1). 저장 및 유통 중 유해물질 저감을 위한 문헌 고찰

(가) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)

2011년 4월 식품의약품안전처에서는 우리나라 주류 산업계에 적용할 수 있도록 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”을 발간하였다. 본 책자 내용 중 포도주는 캘리포니아 양조협회와 미국 FDA에서 작성한 「Ethyl Carbamate Preventative Action Manual」과 CODEX 오염물질분과위원회에서 준비 중인 「핵과류를 원료로 한 증류주 중 에틸카바메이트 오염 예방 및 저감화에 대한 실행규범」 및 우리나라에서 저감화를 위해 작성한 연구보고서 등 관련자료를 우리나라 주류제조 실정에 맞게 재구성한 것이다.

증류주의 저감화 매뉴얼 중 저장 및 운송에 관한 내용을 발췌하면 다음과 같다.

<저장 및 운송 중 온도>

- 주류 제품의 취급온도가 높을수록 다량의 EC가 생성되어 제품의 보관 및 유통은 상온(25℃ 이하) 이하에서 이루어져야 한다.
- 증류액은 차광병 또는 덮개 있는 박스에 저장하여야 하며, 저장 기간은 가능한 짧아야 한다.

(나) 주류 중 에틸카바메이트 저감화 매뉴얼(식품의약품안전처, 2011 발간)에 대한 고찰

-저장 및 유통

곡류 증류주의 EC 생성 요인은 곡류나 곡에서 유래한 단백성분의 대사물에서 EC의 전구체인 아르기닌 등이 생성되고, 아르기닌이 분해되어 생성된 요소가 에탄올과 결합하여 생성된다. 핵과류 증류주의 경우에는 증류시 휘발성 물질인 isocyanate가 증류액으로 증류되어 에탄올과 반응하여 생성되는데 EC의 생성량은 온도가 높을수록 많아진다. 따라서 증류주의 숙성 및 저장을 위한 조건은 온도는 낮으며 빛을 차단할 수 있어야 할 것으로 보여 진다.

(2). 저장(숙성) 온도에 따른 유해물질 분석

<실험 방법>

쌀, 사과, 적포도(MBA), 청포도(경조정)을 이용하여 1년차에서 선정된 발효조건으로 발효 후 2년차에서 선정된 증류 및 분획조건으로 증류주를 각각 제조하여 알코올을 40도(v/v%)로 보정하여 시료를 준비하였다. 각 시료를 갈색 유리병에 담아 10℃, 20℃, 30℃에 숙성하며 1개월 단위로 분석하였다.

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column (30m×0.25mm I.d, 0.25μm)에 시료 1μl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45μm membrane filter와 0.22μm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass

spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 3-53. 저장 온도에 따른 유해물질 분석을 위한 인큐베이터(左) 및 셋팅, 표시장치(右)



<결과 및 고찰>

쌀, 사과, 포도를 사용한 발효주로부터 제조된 각각의 증류주를 갈색 유리병에 넣어 빛을 차단한 조건하에서 10, 20, 30℃의 온도로 숙성하며 1개월 단위로 8개월간 유해물질을 분석한 결과는 그림 3-54~61과 같다. 증류주는 증류 직후 아세트알데히드 등 저비점 성분이 많이 자극적이고 맛도 조화롭지 못하다. 개방 상태에서는 이 가스를 제거하는데 약 1개월이 소요되고, 밀폐 탱크 저장에서는 교반이나 통을 바꾸는 방식을 이용하는데 본 시험에서는 유리병에 밀폐하여 가스가 제거되는 않은 상태로 숙성 온도의 차이만을 주도록 시험하였다.

아세트알데히드는 알코올 중독 환자의 신경계, 심장, 간장, 세포막을 복합적으로 악화시키고, 미토콘드리아의 기능저해 및 간염, 간경변증의 근본 원인 물질로 알려져 있으며 아세트알데히드를 acetate로 변형 시키는 aldehyde dehydrogenase(ALDH)를 비롯한 여러 효소의 활성을 저해하여 과량의 아세트알데히드가 혈류를 통해 뇌와 다른 장기로 이동할 경우 유해한 영향을 준다고 알려져 있다(Huh 등, Helander 등). 그림2-1에서 보는 바와 같이 증류주별로 사과의 경우 저장기간 동안 아세트알데히드의 변화 폭이 다른 증류주에 비해 높게 나타나는 것을 볼 수 있는데 이는 저장 전 사과 증류주 제품이 가지고 있는 아세트알데히드의 량(7.78ppm)이 다른 실험군(1~3ppm)에 비해 높았기 때문으로 사료되며 온도와 저장 기간에 따라 아세트알데히드가 민감히 반응하는 것을 확인할 수 있다. 다른 실험군의 경우 변화의 폭이 상대적으로 적었으며 10℃와 20℃ 저장온도에서는 원료와 상관없이 증류주의 아세트알데히드 함량에는 유의차가 없는 것으로 나타났다. 하지만

30℃에서 저장되는 동안에는 증류주에 따른 차이를 보였는데, 쌀 증류주는 아세트알데히드 함량이 미약하게 감소하고 사과, 포도를 이용한 증류주는 증가하는 경향을 보였다. 이는 비점이 22℃인 아세트알데히드가 10℃와 20℃의 저장온도에서는 변화를 일어나지 않았고 30℃에서는 휘발 및 증류주내 물질과의 결합이 깨져 함량변화를 보이는 것으로 보인다. 따라서 아세트알데히드를 저감할 수 있는 20℃이하에서 저장해야할 것으로 보인다.

알코올 발효 중 발생하는 또 하나의 주요 유해성분인 메탄올은 과실 중 pectin methyl esterase가 pectin을 가수분해하여 생성되기 때문에 과실주의 정상 성분이기도 하지만 과량을 섭취하는 경우 시신경을 마비시키거나 심하면 생명에 치명적으로 작용할 수 있어 식품공전에서 허용기준치는 과실주와 브랜디는 1,000ppm, 일반증류주는 500ppm으로 하고 있다. 증류주별 저장온도에 따른 메탄올 함량은 저장 온도에 크게 영향을 받지 않는 것으로 보여 지며 (그림 3-56) 증류주에 따라서는 pectin 함량이 높은 포도와 사과를 이용한 증류주가 쌀 증류주에 비해 약 2배가량 높은 메탄올 함량을 보였다(그림 3-57).

에틸 카바메이트는 Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향조정 된 식품 저장 및 저장과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 증류주의 경우 효모에 의해 생성된 요소가 중요한 전구체가 된다. 따라서 본 실험에서는 요소와 EC를 분석하였다.

2011년 4월 식품의약품안전처에서 발간한 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”의 증류주 저감 매뉴얼 중 <저장 및 유통>에 따르면 온도를 25℃이하로 유지하라는 지침이 있지만 우리의 저장 온도 처리구에서는 온도에 따른 유의차를 보이지 않았다(그림 3-58). 원료별로는 사과>쌀>포도의 순으로 EC 함량이 높았는데 이는 요소 함량(그림 3-59과 비례한 것으로 보여 진다.

유해물질 분석을 종합하면 EC와 요소, 메탄올은 저장온도에 의한 유의차를 보이지 않았고 아세트알데히드는 20℃이하에서 유출되는 함량이 적게 나타나는 경향이 있으므로 증류주의 저장은 20℃ 이하의 온도에서 저장해야할 것으로 판단되며 최종 제품의 저장 전 유해물질 함량을 낮추는 방법을 모색하는 것이 적절하다.

그림 3-54. 증류주별 저장온도에 따른 아세트알데히드 함량(단위 : ppm)

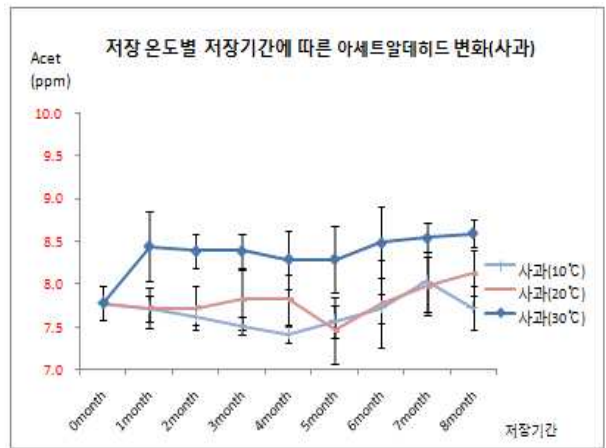
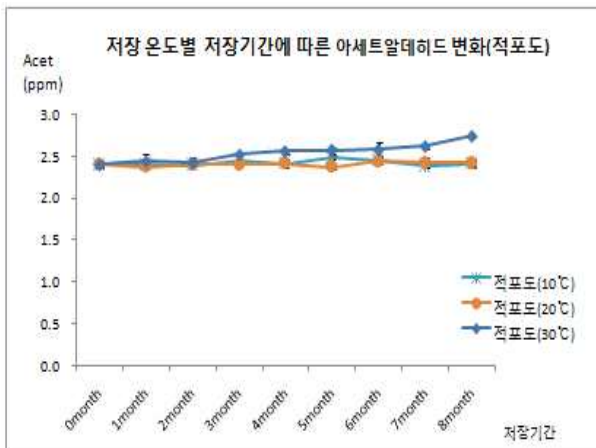
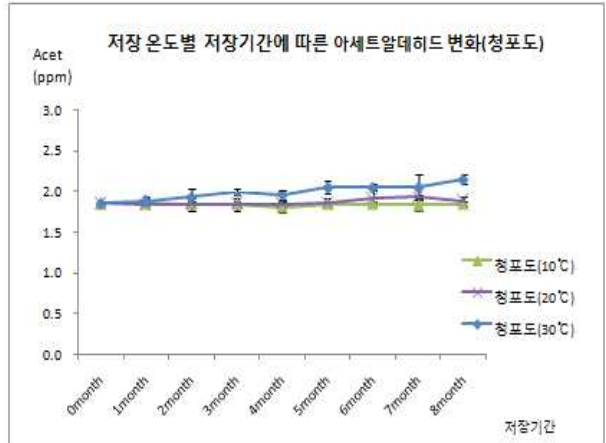
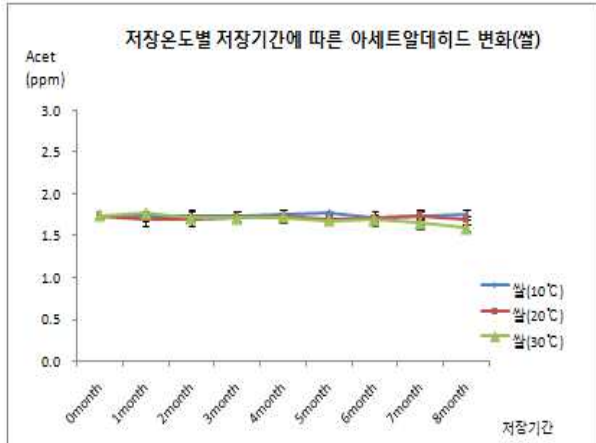


그림 3-55. 저장온도에 따른 아세트알데히드 함량(단위 : ppm)

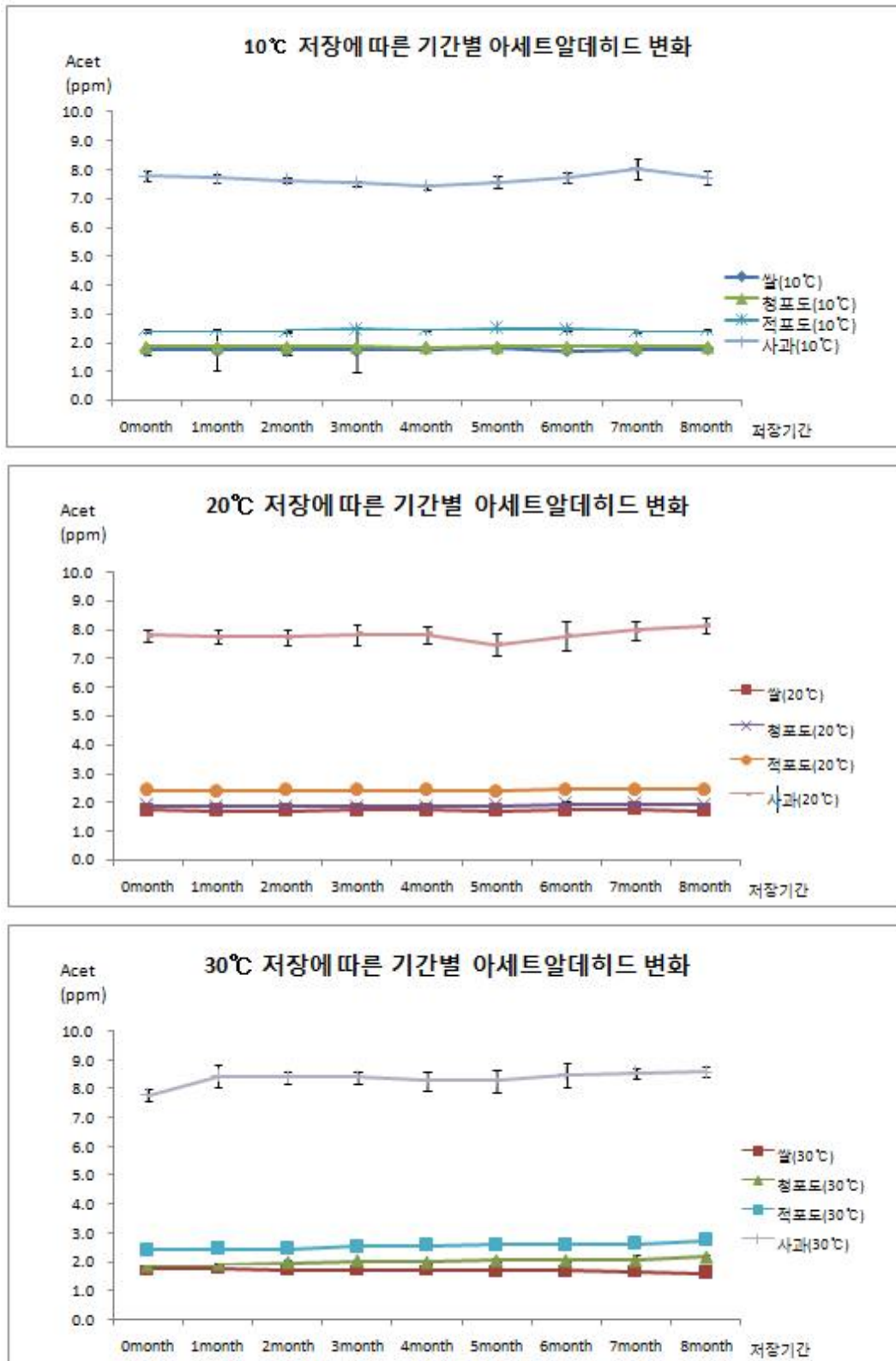


그림 3-56. 증류주별 저장온도에 따른 메탄올 함량(단위 : ppm)

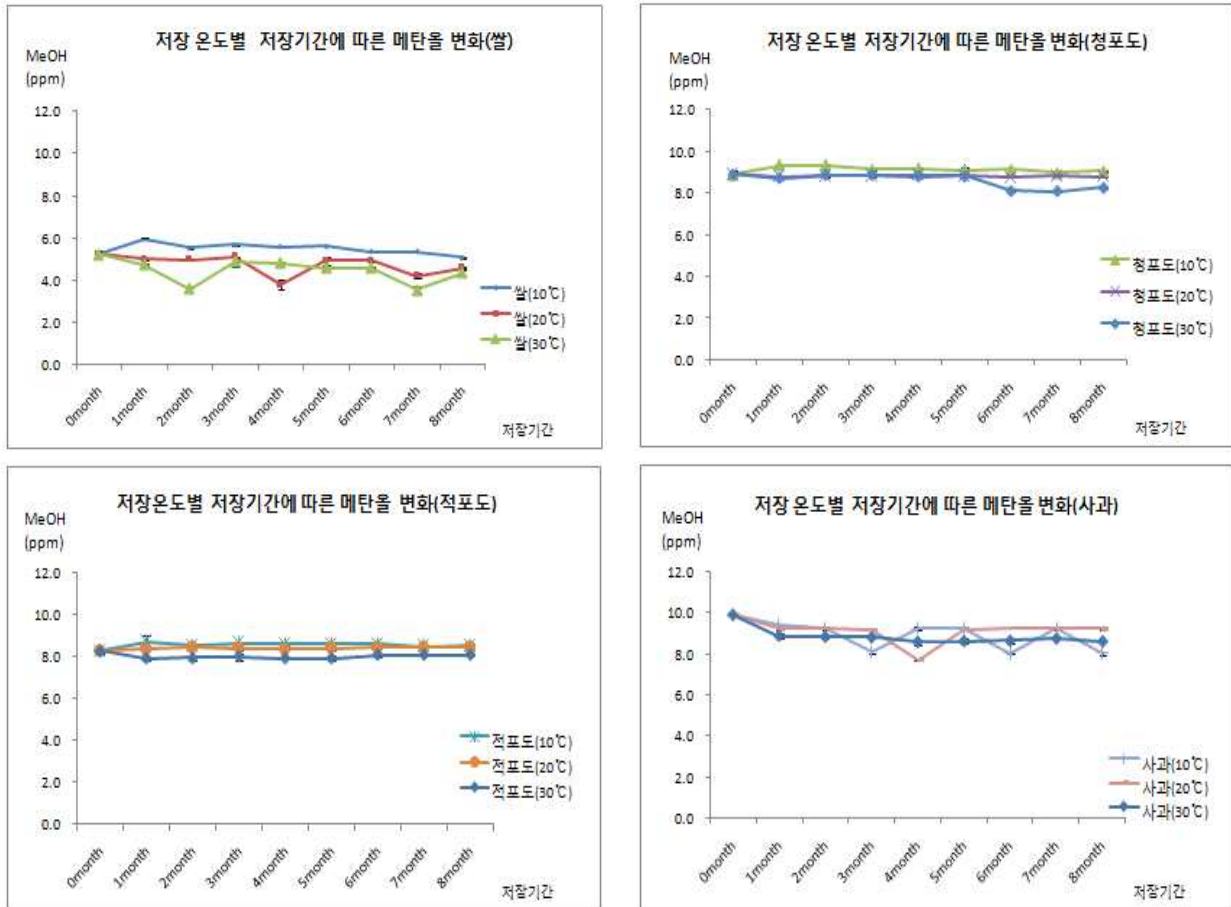


그림 3-57. 저장온도에 따른 메탄올 함량(단위 : ppm)

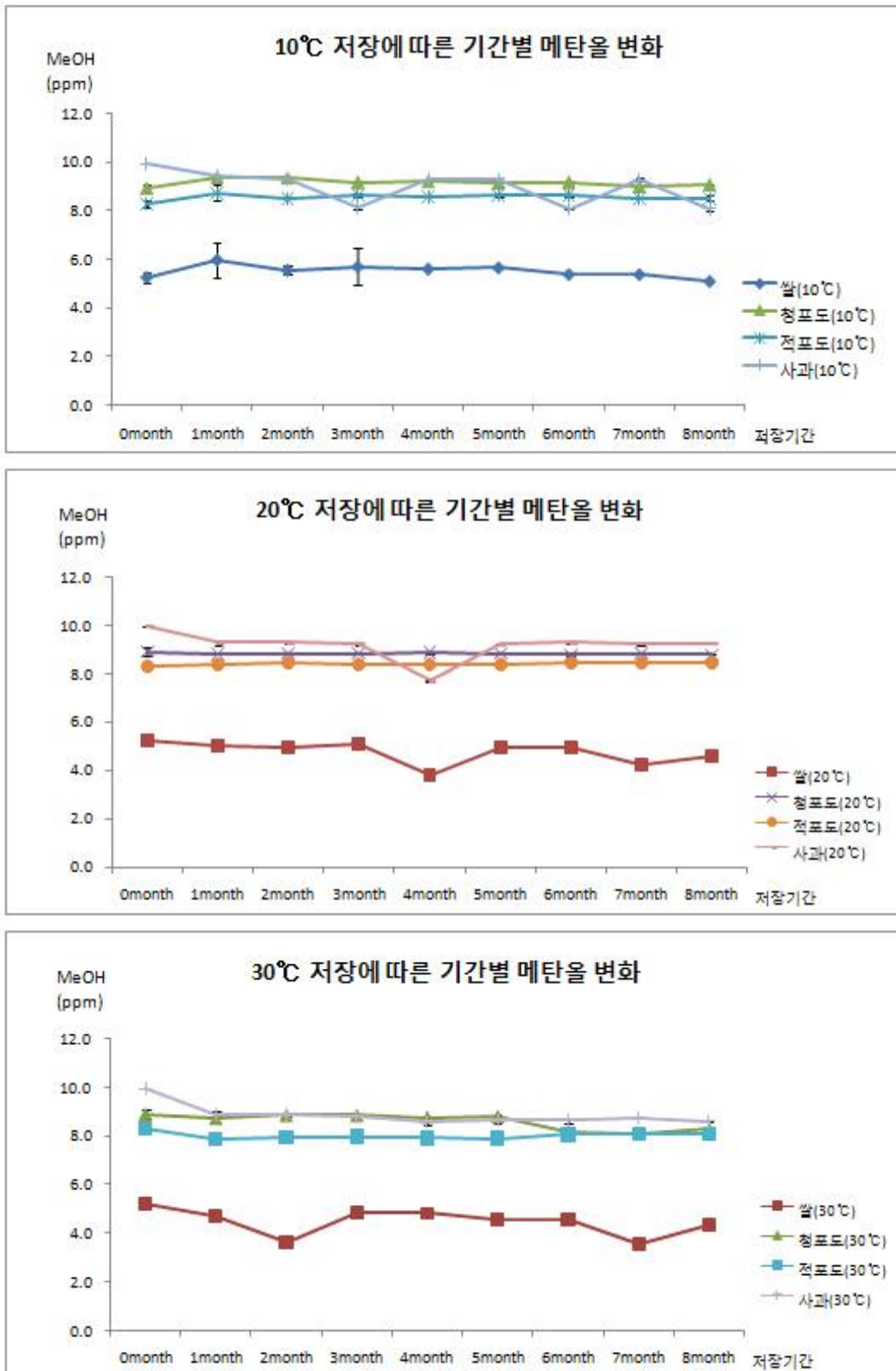


그림 3-58. 증류주별 저장온도에 따른 에틸 카바메이트 함량(단위 : ppb)

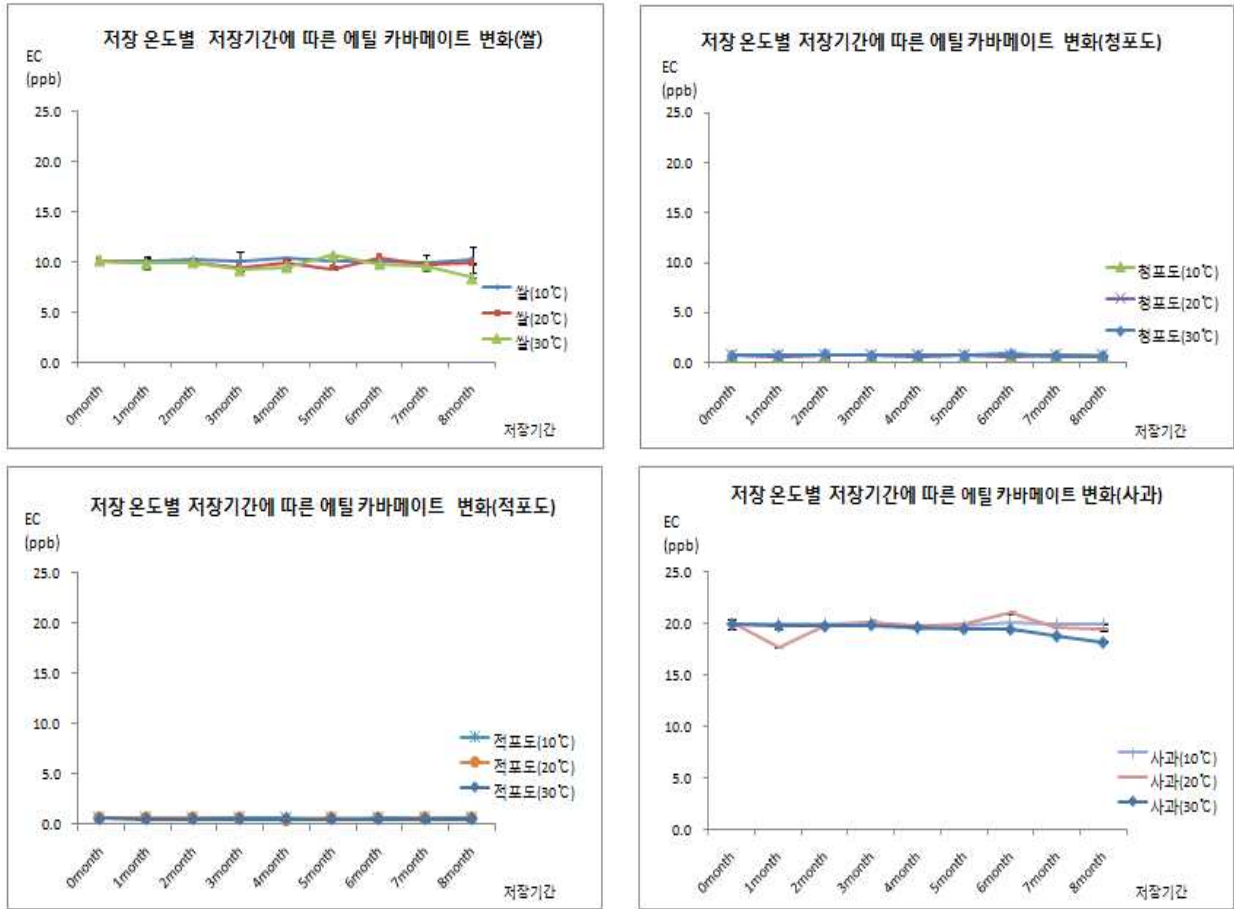


그림 3-59. 저장온도에 따른 에틸 카바메이트 함량(단위 : ppb)

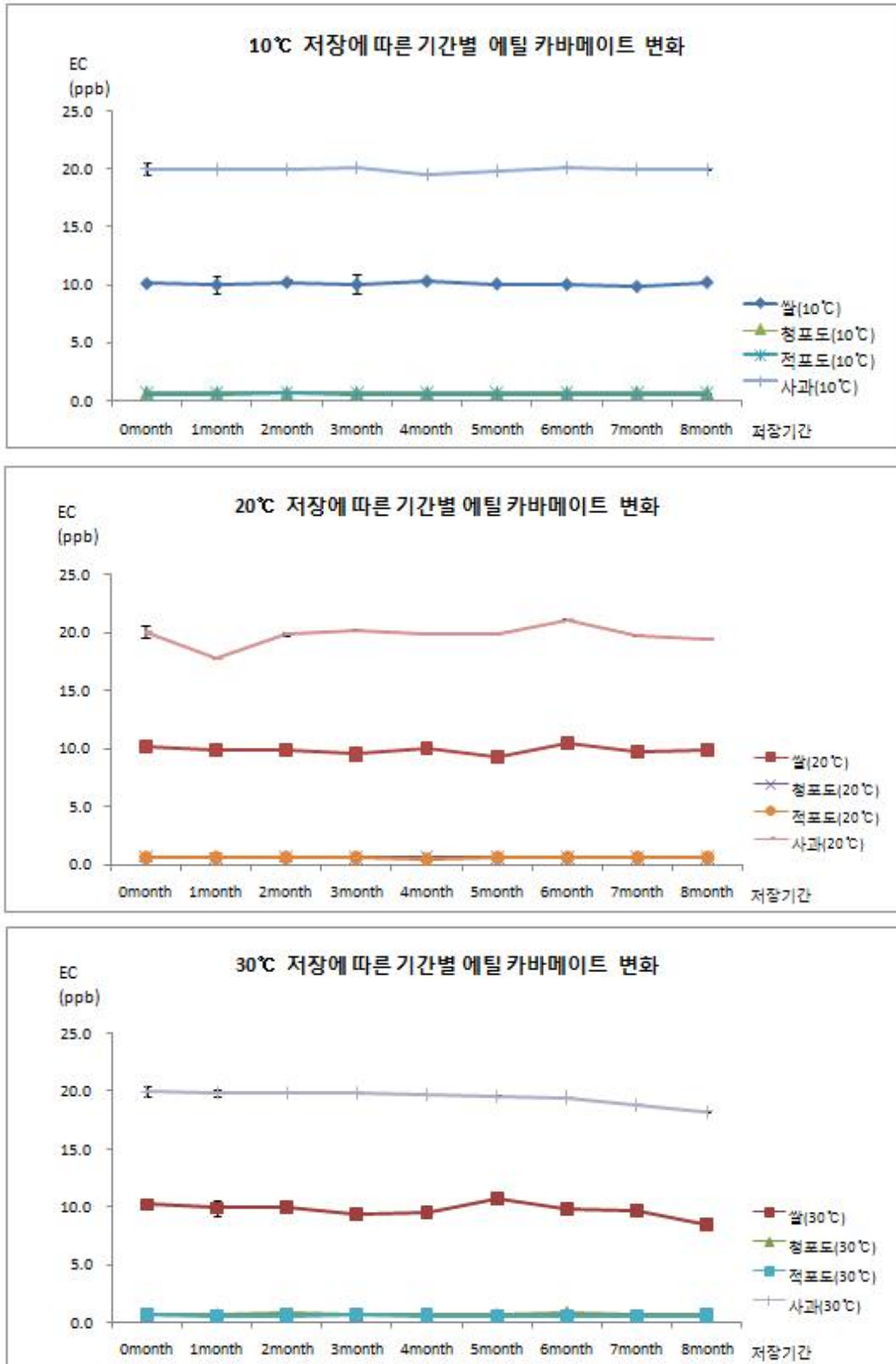


그림 3-60. 증류주별 저장온도에 따른 요소 함량(단위 : ppb)

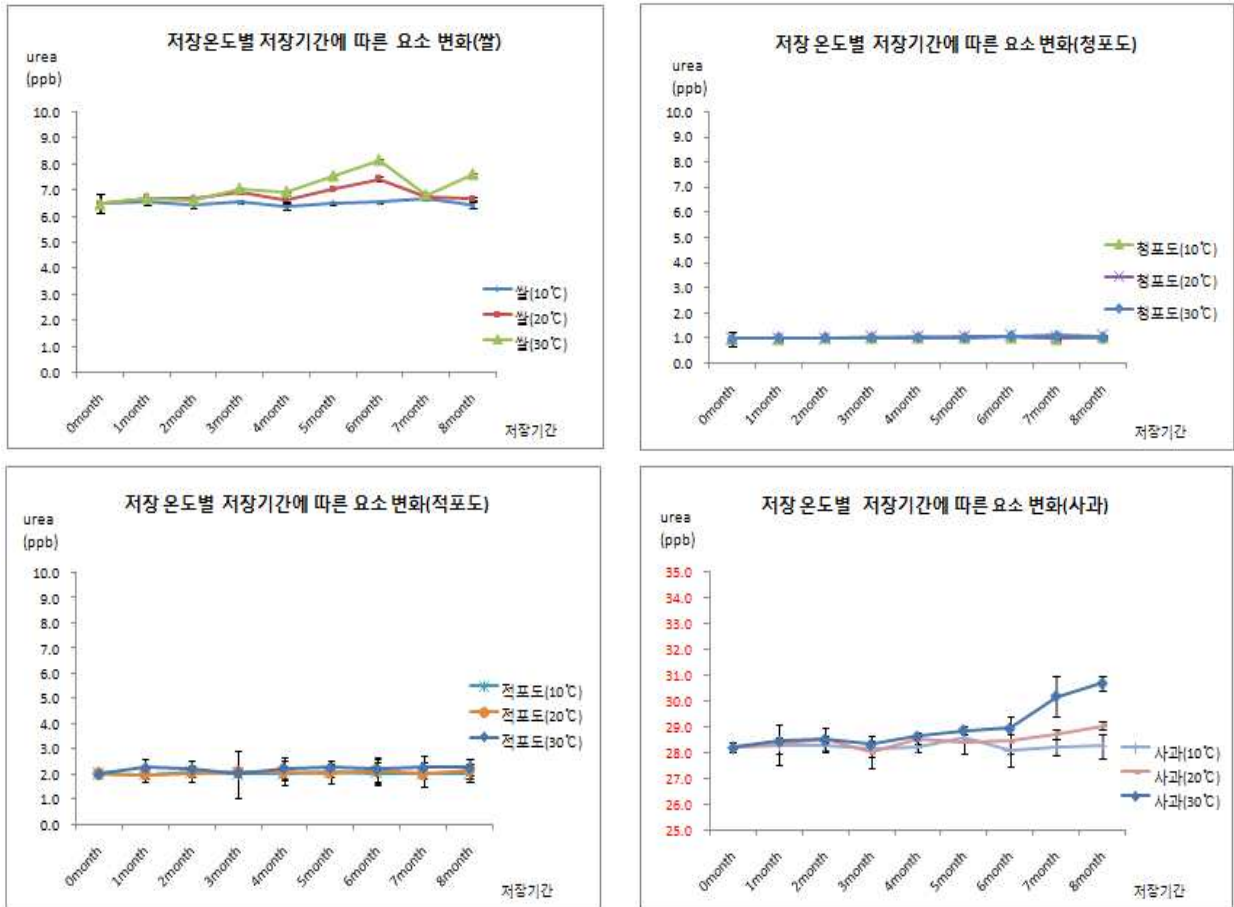
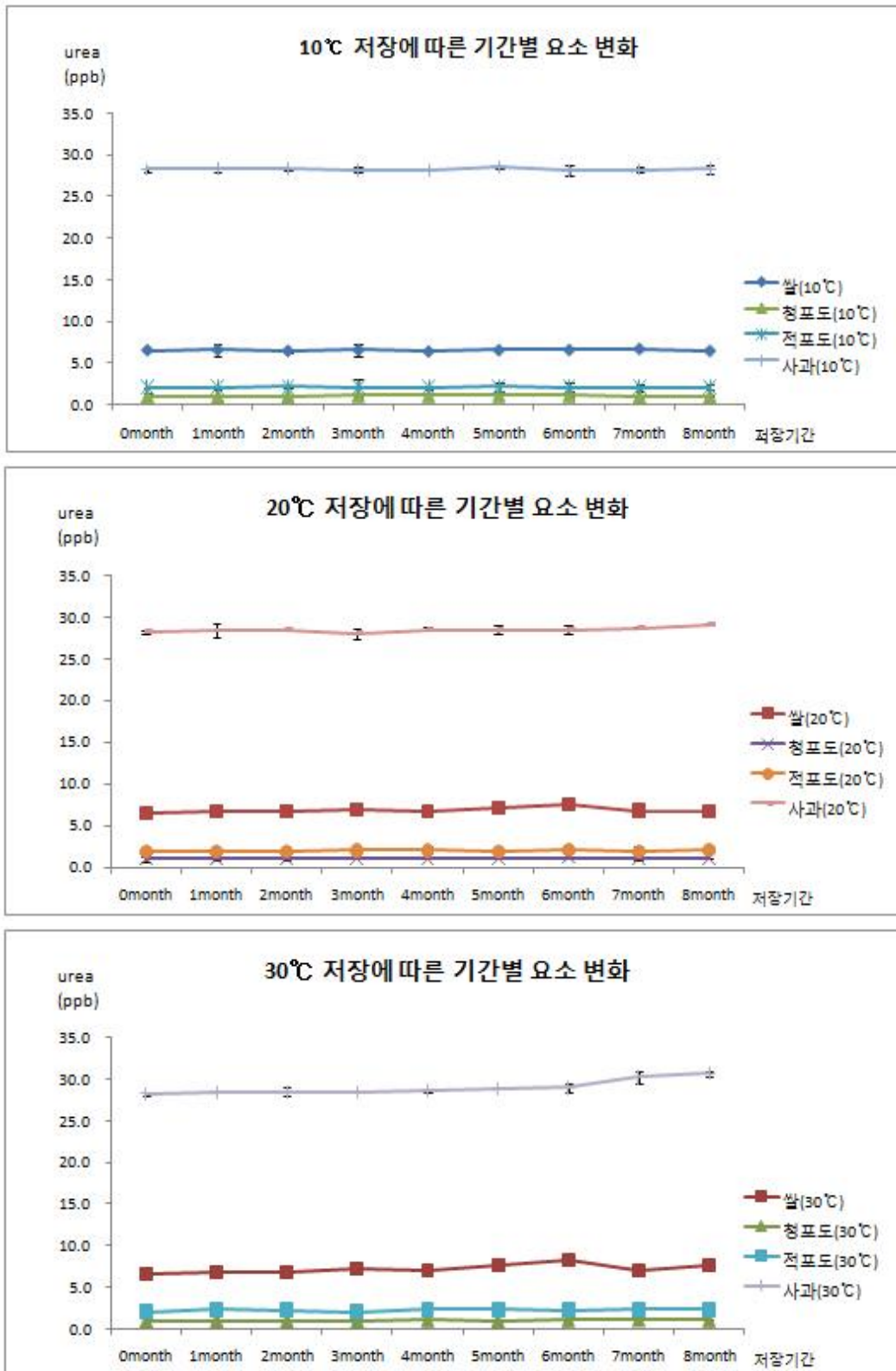


그림 3-61. 저장온도에 따른 요소 함량(단위 : ppb)



(3). 유통 중 빛 노출시간에 따른 유해물질 분석

<실험 방법>

국내의 경우 통상적으로 위스키나 브랜디 제품의 경우 유통 중 내포장재나 외포장재에 의해 빛이 차단되거나 진열 시 이러한 포장재를 제거하여 진열되는 경우가 대부분이다. 따라서 본 실험에서는 유통 시 진열에 의한 빛(형광등)의 노출에 의한 유해물질의 변화에 대해 관찰하고자 한다. 쌀, 사과, 적포도(MBA), 청포도(경조정)을 이용하여 1년차에서 선정된 발효조건으로 발효 후 2년차에서 선정된 증류 및 분획조건으로 증류주를 각각 제조하여 일반적인 위스키와 브랜디 제품의 알코올함량인 40도(v/v%)로 보정하여 시료를 준비하였다. 각 시료를 투명유리병에 담고 마트의 광량인 0.18mV로 형광등 세기를 맞춘 20℃ 항온기에 넣고 일당 4시간, 8시간, 12시간을 빛에 노출하는 처리를 하여 1주 단위로 10주간 유해물질을 분석하였다.

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

그림 3-62. 빛 노출 시간에 따른 유해물질의 변화를 실험한 인큐베이터



<결과 및 고찰>

쌀, 사과, 포도를 사용한 발효주로부터 제조된 각각의 증류주를 투명 유리병에 넣어 마트의 광량인 0.18mV로 형광등 세기를 맞춘 20℃ 항온기에 넣고 일당 4시간, 8시간, 12시간을 빛에 노출하는 처리를 하여 1주 단위로 10주간 유해물질을 분석한 결과는 그림 3-63~70과 같다.

아세트알데히드는 알코올 중독 환자의 신경계, 심장, 간장, 세포막을 복합적으로 악화시키고, 미토콘드리아의 기능저해 및 간염, 간경변증의 근본 원인 물질로 알려져 있으며 아세트알데히드를 acetate로 변형 시키는 aldehyde dehydrogenase(ALDH)를 비롯한 여러 효소의 활성을 저해하여 과량의 아세트알데히드가 혈류를 통해 뇌와 다른 장기로 이동할 경우 유해한 영향을 준다고 알려져 있다(Huh 등, Helander 등).

유통기간 중 빛 노출 정도에 따른 아세트알데히드의 함량의 변화는 쌀 증류주, 청포도 증류주, 적포도 증류주에서는 유의적 차이를 보이고 있지 않으나 사과 증류주의 경우 빛 노출 정도에 따라 다소 높은 증가율을 보이고 있다. 이는 유통 전 사과 증류주의 아세트알데히드 함량(7.78ppm)이 다른 증류주(1.73~2.40ppm)에 비해 3~4배가량 높았기 때문으로 여겨지며 안정적이지 않게 변화되는 것이 관찰되었다. 전체적으로 빛 노출 정도보다는 증류주에 따라 혹은 초기 함량에 의한 결과로 여겨지며 최종 제품 제조 시 유해물질을 감소시키는 방법을 권고해야 한다.

알코올 발효 중 발생하는 또 하나의 주요 유해성분인 메탄올은 과실 중 pectin methylesterase가 pectin을 가수분해하여 생성되기 때문에 과실주의 정상 성분이기도 하지만 과량을 섭취하는 경우 시신경을 마비시키거나 심하면 생명에 치명적으로 작용할 수 있어 식품공전에서의 허용기준치는 과실주와 브랜드는 1,000ppm, 일반증류주는 500ppm으로 하고 있다. 증류주의 빛 노출 시간에 따른 메탄올 함량 변화에는 유의차를 보이지 않았으며, 증류주에 따라 유통 전 증류주별 메탄올 함량의 순서와 동일하게 전 유통기간 중 사과>청포도>적포도>쌀의 순으로 메탄올 함량이 높았다.(그림3-65).

에틸 카바메이트는 Carbamic acid의 ethyl ester로 2007년 ‘인체 발암추정 물질’을 의미하는 ‘Group 2A’로 상향조정 된 식품 저장 및 저장과정 중 자연 발생하는 독성물질이다. 이는 시안화수소산, 요소, 시트룰린, 시안배당체, N-carbamyl 화합물 등의 전구체 물질이 에탄올과 반응하여 생성되는데 증류주의 경우 효모에 의해 생성된 요소가 중요한 전구체가 된다. 따라서 본 실험에서는 요소와 EC를 분석하였다.

2011년 4월 식품의약품안전처에서 발간한 “주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼”의 증류주 저감 매뉴얼 중 <저장 및 유통>에 따르면 햇빛노출을 방지하여야 한다고 하였으나 국내의 경우 위스키나 브랜드 등의 주류는 내포장재와 외포장재를 사용하여 햇빛에 의한 노출이 차단된 상태에서 유통되고 유통 시 진열장에서 형광등에 노출되는 경우가 대부분이다. 따라서 본 실험은 유통 시 진열장에서의 형광등에 의한 노출 정도에 따른 유해물질의 증감을 관찰하였으며 기간별 쌀, 청포도, 적포도로 제조한 증류주에서는 형광등에 노출된 시간에 따른 EC 함량변화에 유의차를 보이지 않았으며 사과 증류주의 경우에는 일관적이지 않은 불안정한 EC의 함량이 측정되었다.(그림 3-67). 또한 증류주별로는 전 구간에서 사과>쌀>포도의 순으로 EC 함량이 높았는데 이는 최종제품의 초기 EC함량에 의한 영향과 요소함량(그림3-70)에 의한 것으로 보여 진다.

증류주의 유통 중 형광등에 노출되는 시간으로 인한 유해물질을 저감하기 위한 시험에서 쌀 증류

주, 적포도 증류주, 청포도 증류주는 전 유해물질에서 형광등 노출시간에 유의차를 보이지 않았지만 사과와 감의 경우 아세트알데히드는 불안정한 일관성을 갖지만 형광등에 노출되는 시간이 증가할수록 상승하는 것이 관찰되었으며 EC의 경우 전 구간에서 불안정한 함량이 측정되었다. 이는 유통 전 유해물질의 함량이 다른 실험군에 비해 높은 것이 주 요인으로 보여지며 유통 전 최종 제품의 유해물질 함량이 높은 경우 유통 기간 내 형광등의 노출시간에 의한 영향을 더 많이 받을 수 있음을 확인 할 수 있었다. 따라서 유통 전 제품의 유해물질 저감을 위해 노력을 기해야함을 권고한다.

그림 3-63. 증류주별 빛 노출시간에 따른 아세트알데히드 함량(단위 : ppm)

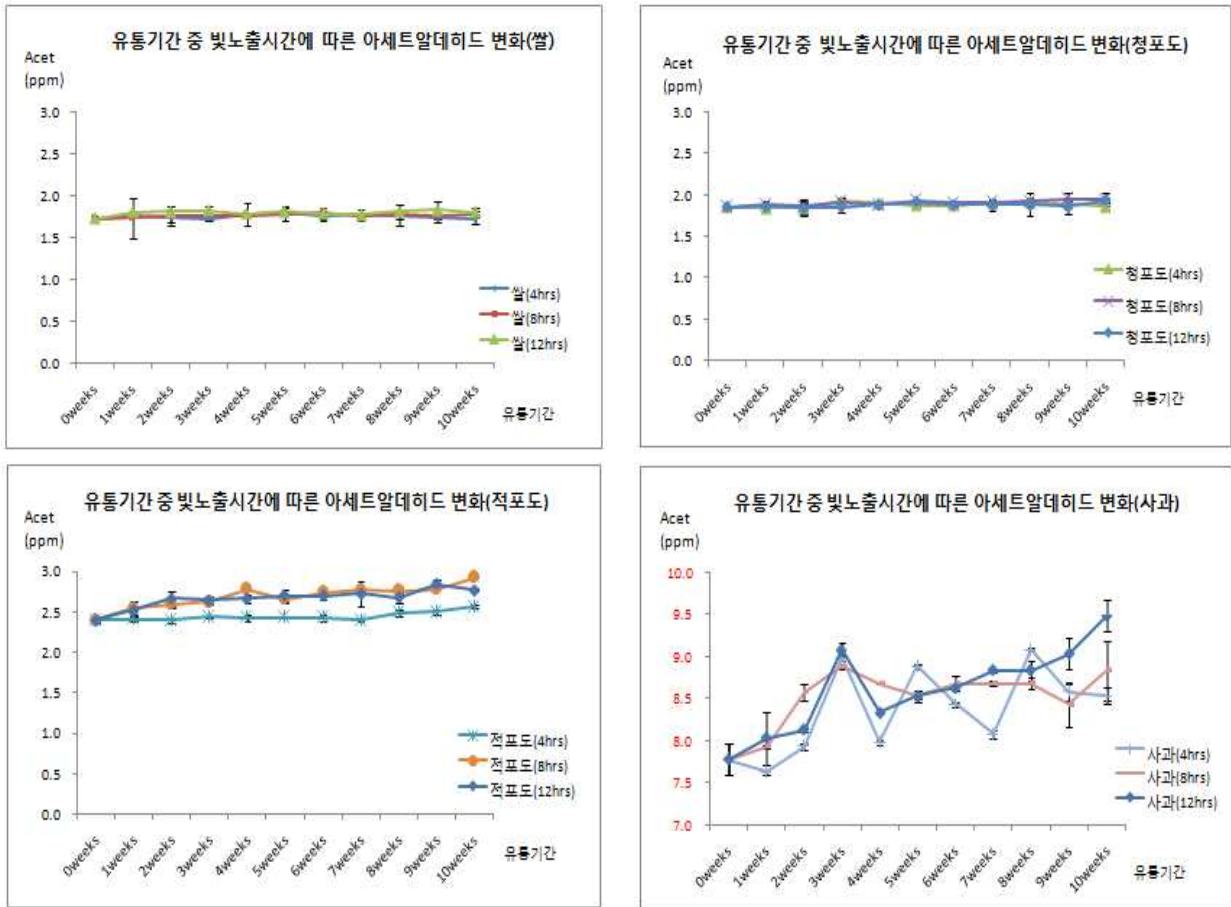


그림 3-64. 빛 노출시간에 따른 아세트알데히드 함량(단위 : ppm)

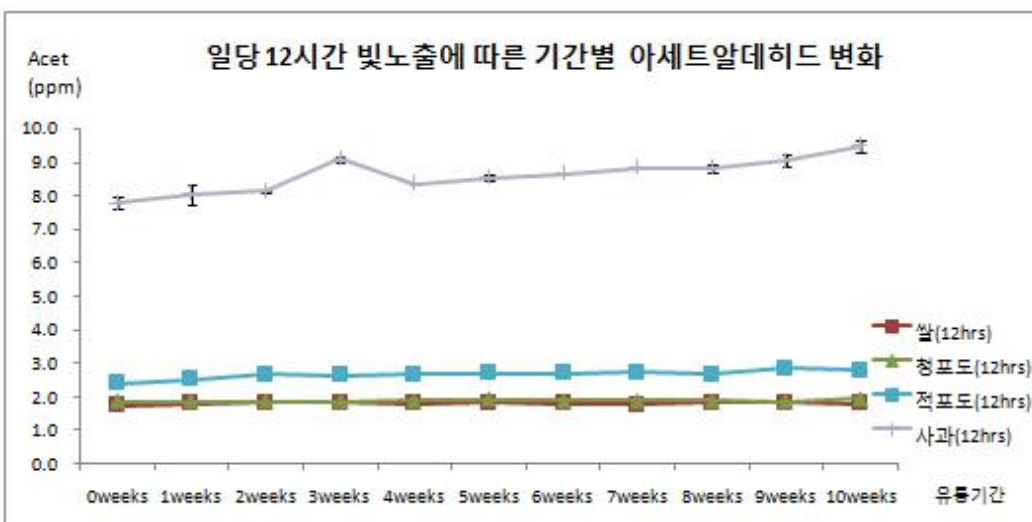
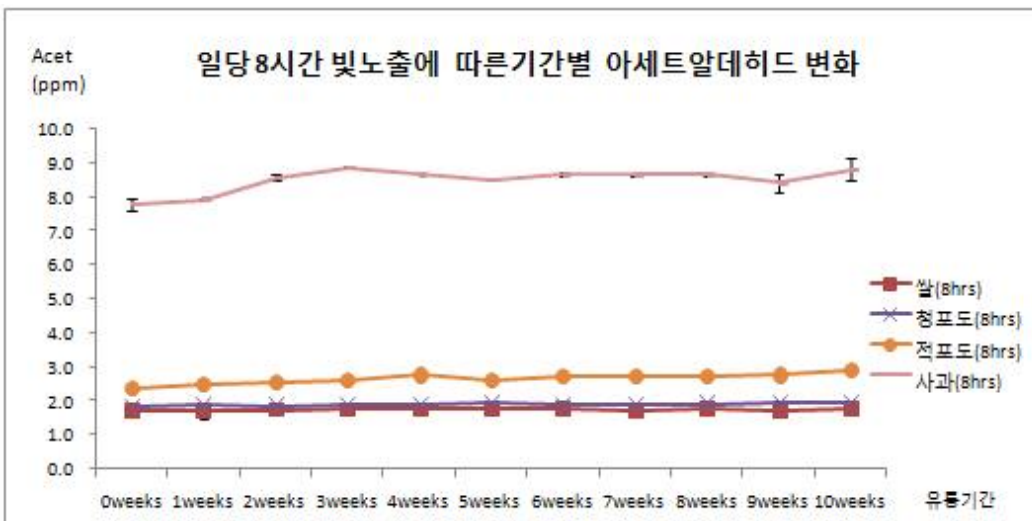
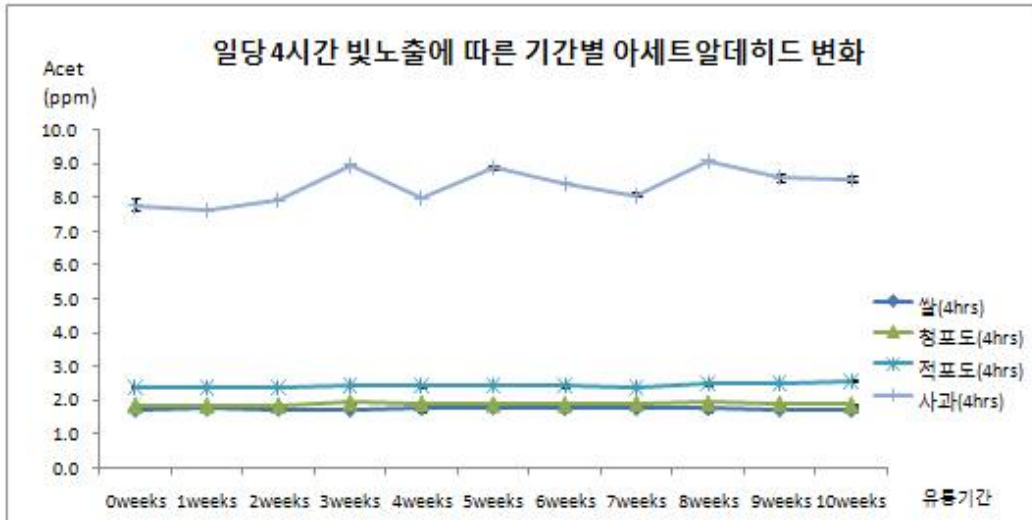


그림 3-65. 증류주별 빛 노출시간에 따른 메탄올 함량(단위 : ppm)

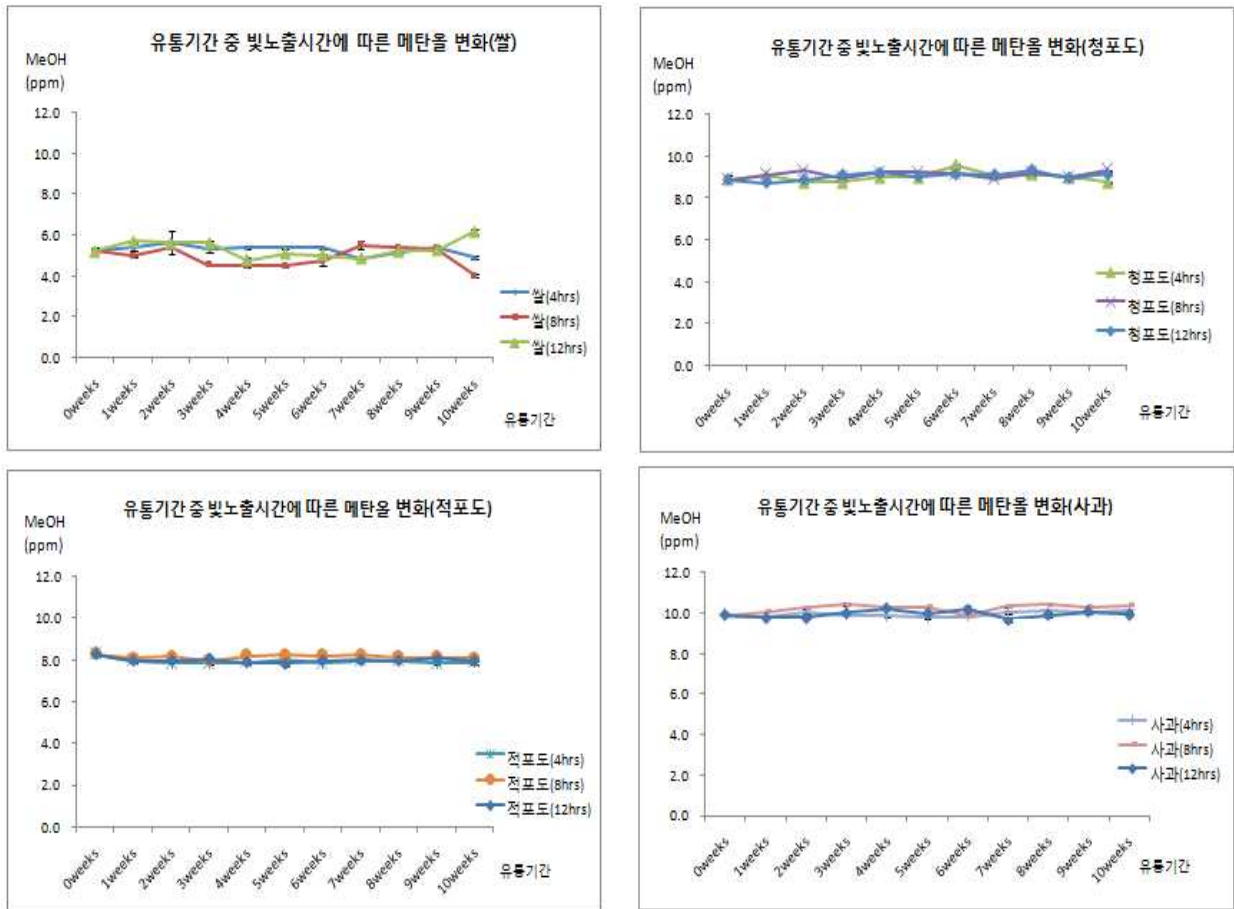


그림 3-66. 빛 노출시간에 따른 메탄올 함량(단위 : ppm)

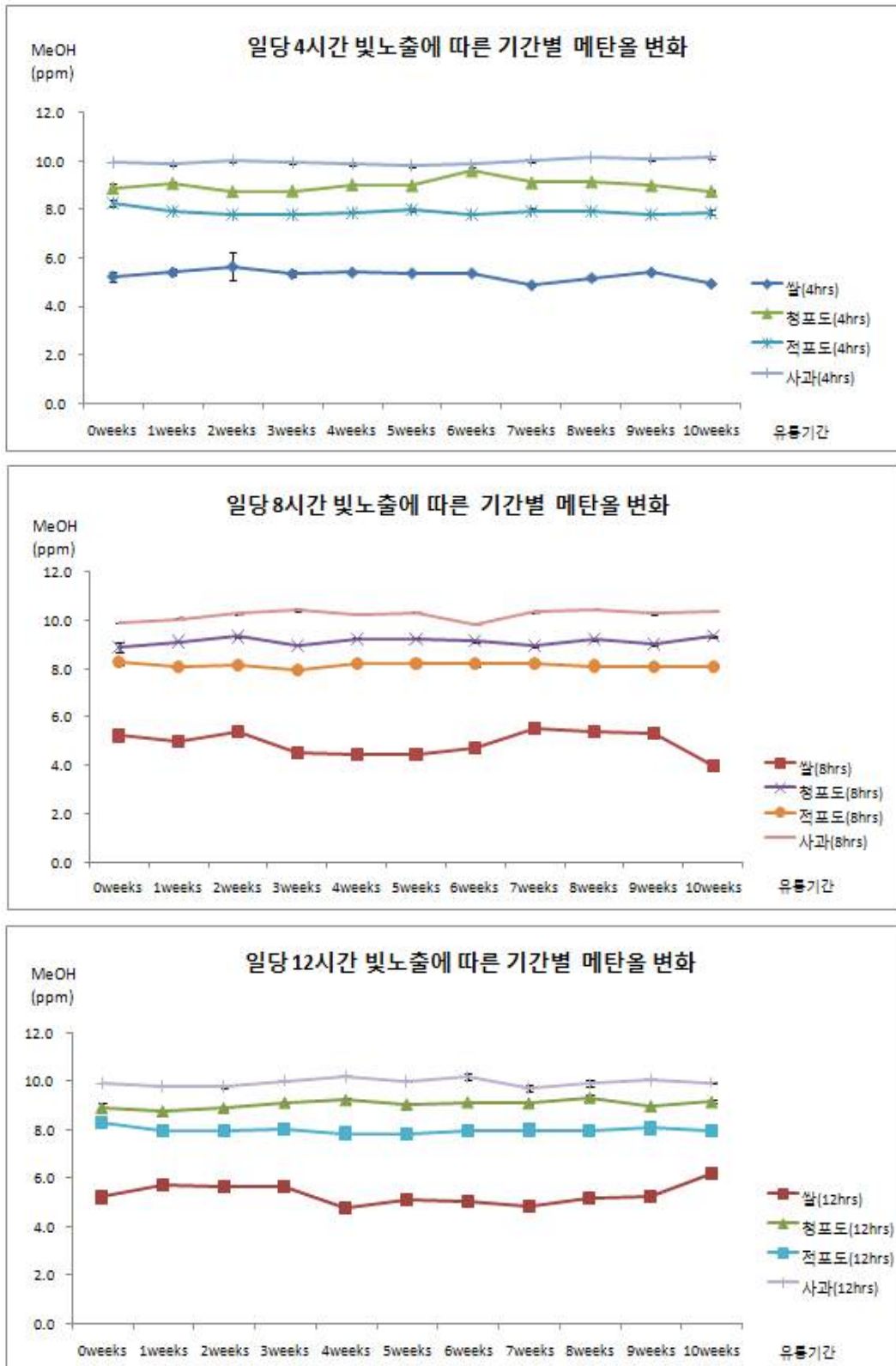


그림 3-67. 증류주별 빛 노출시간에 따른 에틸 카바메이트 함량(단위 : ppb)

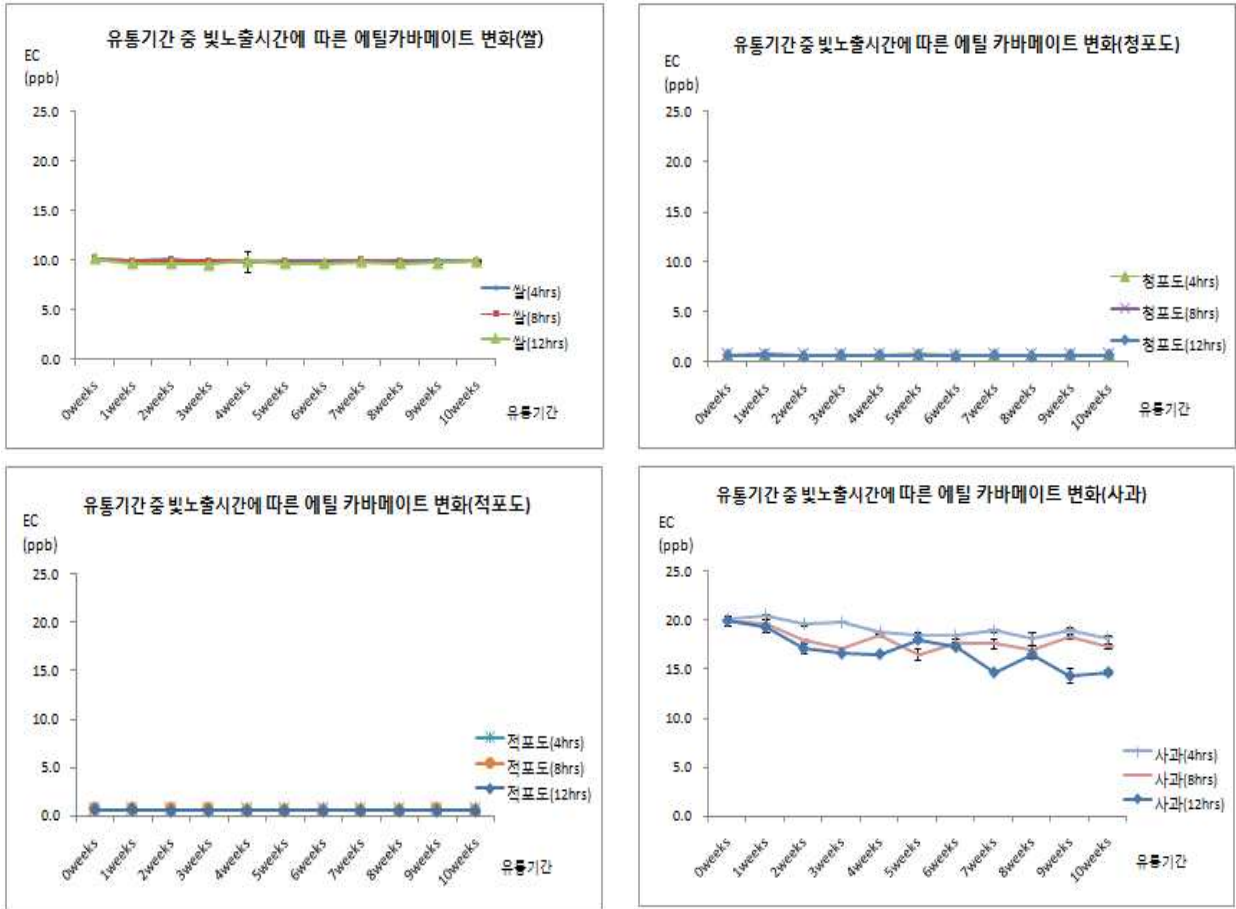


그림 3-68. 빛 노출시간에 따른 에틸 카바메이트 함량(단위 : ppb)

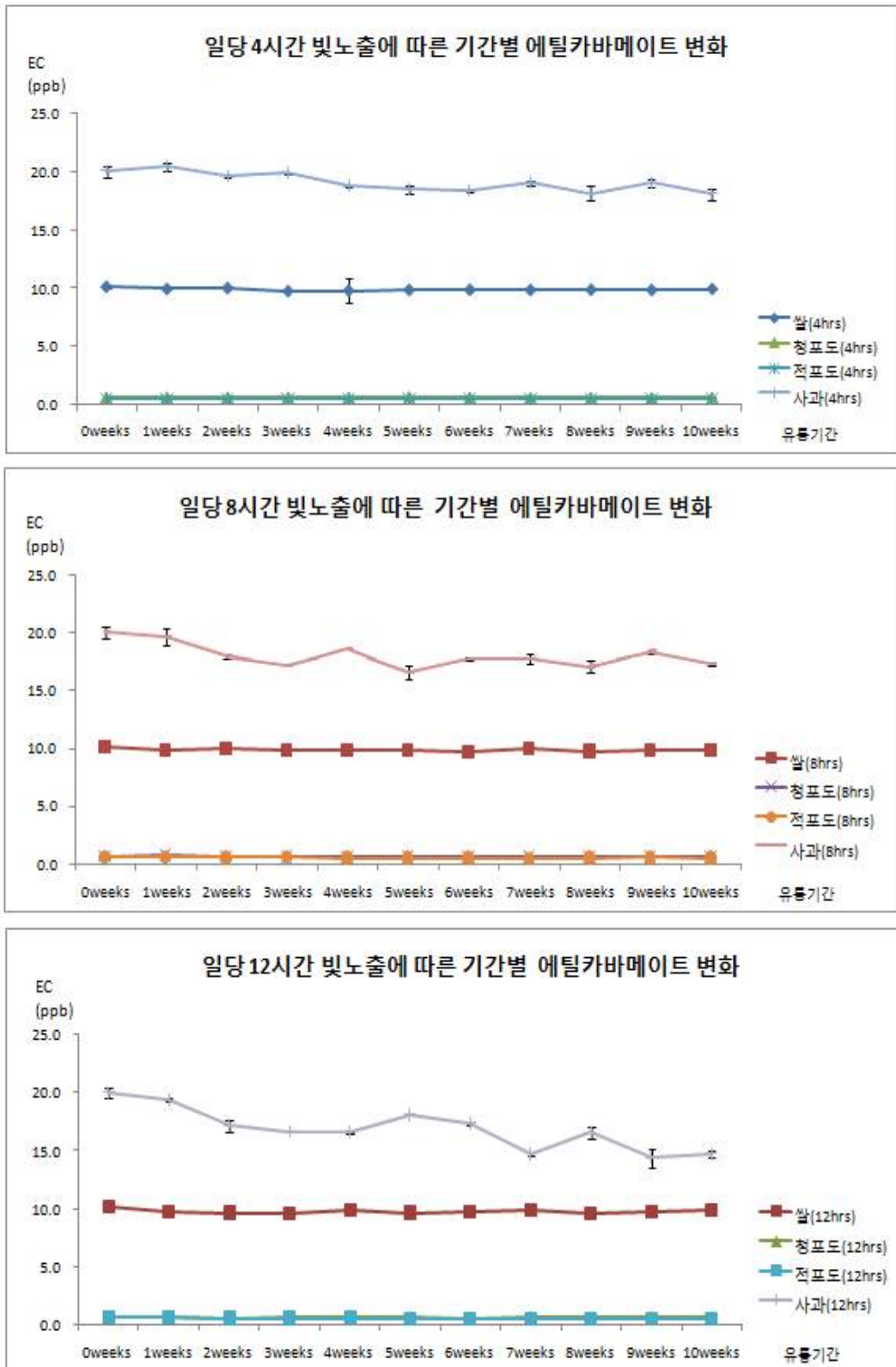


그림 3-69. 증류주별 빛 노출시간에 따른 요소 함량(단위 : ppb)

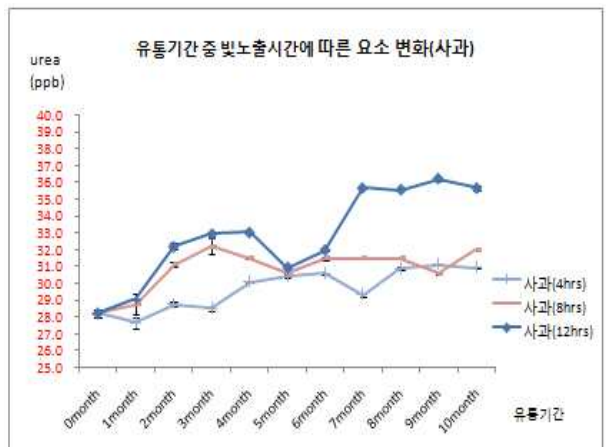
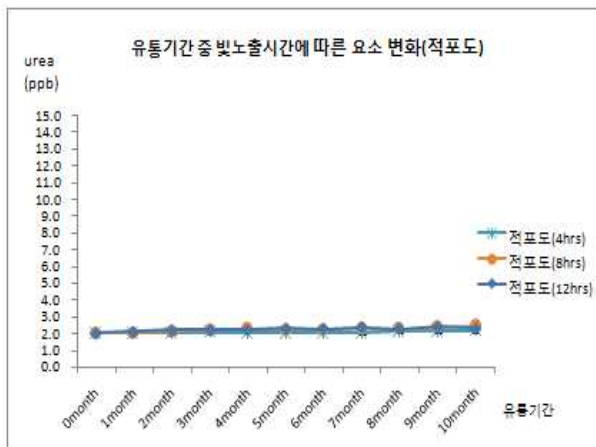
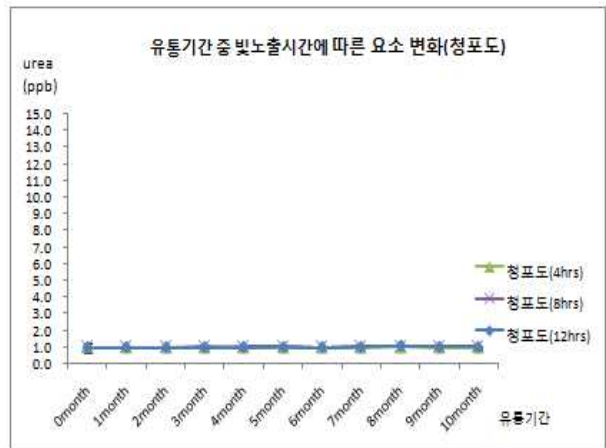
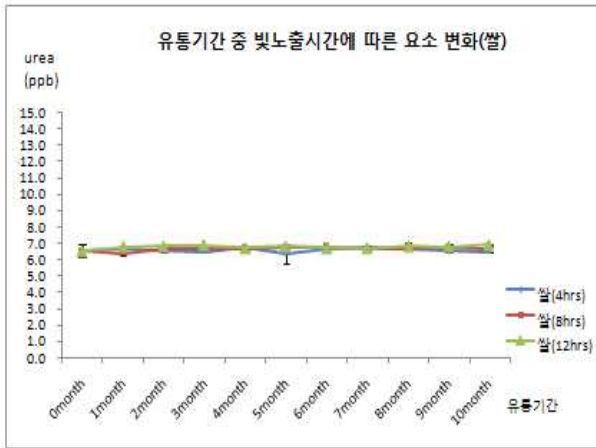
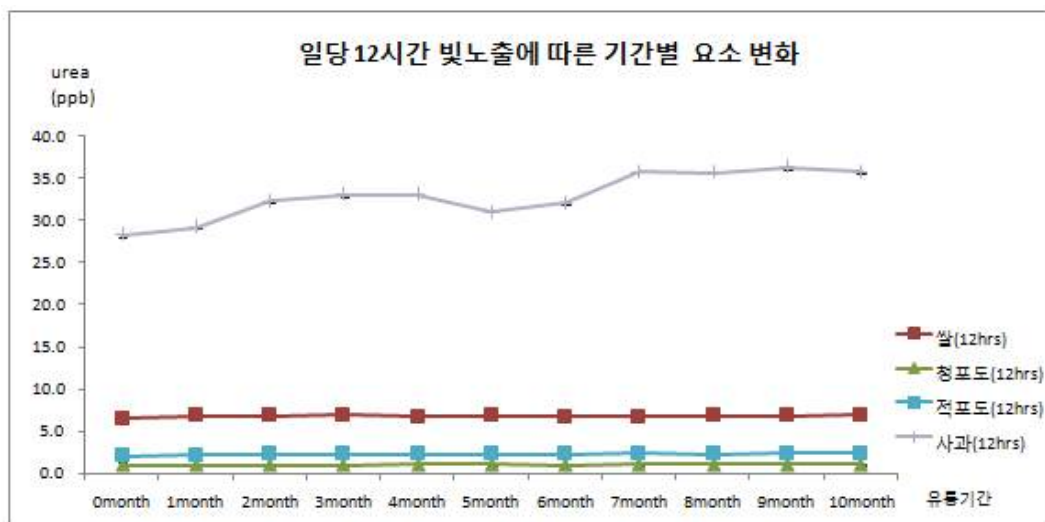
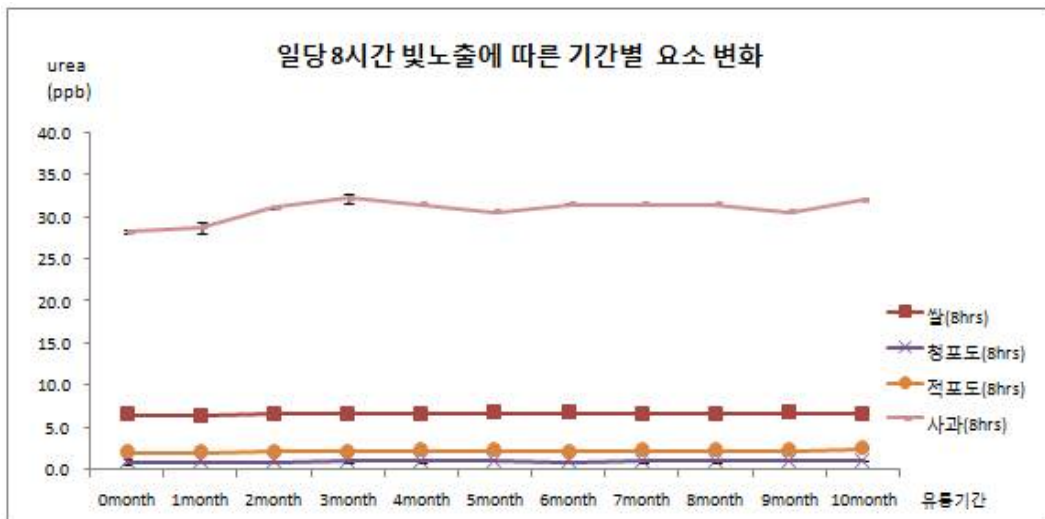
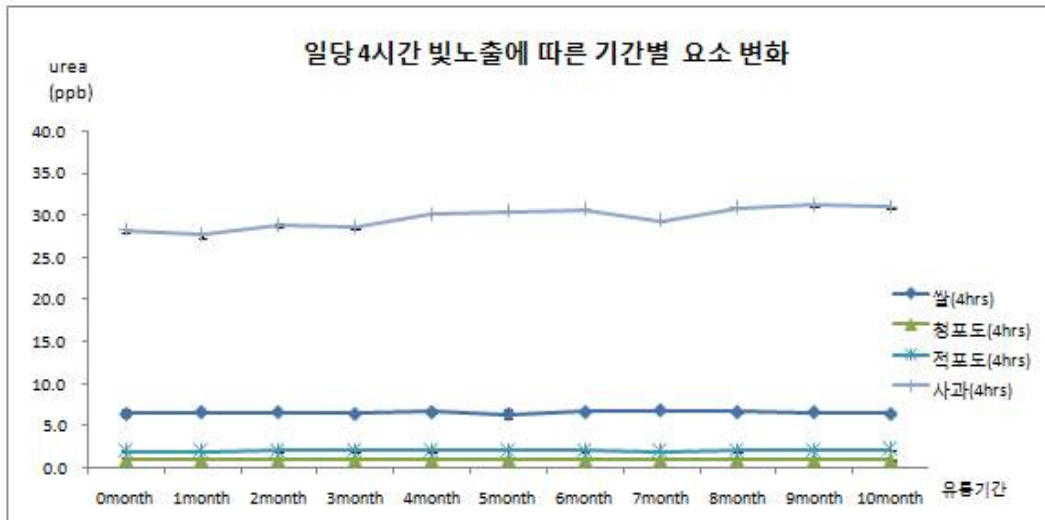


그림 3-70. 빛 노출시간에 따른 요소 함량(단위 : ppb)



2. 안전한 과실 증류주의 블렌딩 조건 최적화

2차년도에서는 각각의 원료(쌀, 적포도, 청포도, 사과(미숙성사과))의 안전한 증류 조건을 확립하였으며 4종의 원료 모두 증류방법에 따라 단식-연속식 복합증류방식, 증류기 재질은 구리, 가열방식은 간접가열방식 또한 구리축매변환장치를 사용한 증류방식이 최적의 증류조건으로 선정되었다. 1차년도에 선정한 발효 조건을 기반으로 2차년도에서는 최적의 증류조건을 대량 담금하여 선정하였으며 초류와 후류를 제외한 본류를 용기(무유약항아리)와 오크통에 숙성을 진행시켰다.

본 chapter에서는 용기(無유약항아리)와 오크통에 6개월 간 숙성된 원액을 여과 후 알코올 도수 40도(v/v%)로 맞춘 후 각각의 제품의 이화학적 분석과 관능평가를 통하여 자체 제품을 평가하고 과실(특히 미숙성과실)의 경우 부족할 수 있는 경제성을 향상 시키고자 곡물 제품과 블렌딩을 실시하였다. 블렌딩한 제품은 자체적으로 1차 선별 후 블렌딩을 하지 않은 8개의 제품(증류주 종류 4종(쌀, 청포도, 적포도, 사과증류주) × 용기 2종(용기숙성, 오크통 숙성)과 8개의 블렌딩 제품을 가지고 소비자 조사를 실시하였다.

가. 1차 선별 및 블렌딩 샘플 제작

<실험방법>

6개월간 각 용기에 숙성된 증류주의 샘플을 채취하여 영하 20℃에서 3일간 냉동 후 여과를 실시하였다. 증류주를 냉동 시켜 여과하는 것은 일반적으로 증류주 내 포함되어 있는 지방성분의 포집과 단백질과 폴리페놀의 결합에 의해 야기될 수 있는 chill haze를 제거하기 위한 공정으로 제작한 가압식 여과기를 사용하여 냉동된 각 증류주에 규조토를 투입하여 여과를 실시하였다. 여과된 증류주는 동일하게 여과한 정제수를 사용하여 일반적인 위스키와 브랜드의 알코올 함량인 40도(v/v%)로 희석하였고 이렇게 완성된 제품들을 가지고 1차 블렌딩을 실시하였다.

8가지의 베이스 제품을 사용하여 만들어질 수 있는 베이스 종류만 4만여 가지에 이르고 이를 비율에 따라 나눌 경우엔 천문학적 숫자에 이른다. 따라서 본 1차 선별은 목적에 맞게 각각의 8종의 베이스를 평가하였고 블렌딩 시에는 곡물 베이스와 과실베이스 1종만을 섞어 과실 증류주의 부족한 경제성을 보충하고자 하였다.

블렌딩 실험군은 오크통에 숙성시킨 쌀과 과실증류주를 용기에 숙성시킨 쌀 증류주로 블렌딩하여 만든 “오크통 블렌딩 실험군”과 용기에 숙성시킨 쌀, 과실증류주를 오크통에 숙성시킨 쌀 증류주로 블렌딩하여 만든 “용기 블렌딩 실험군”으로 나누었다.

각 블렌딩 제품의 혼합비율은 혼합할 2개의 베이스 제품을 A와 B로 구분 시 A:B의 비율을 10%단위(10:90~90:10)로 변경 혼합하여 주류 제조 경력이 10년 이상 된 전문가 그룹이 적정 혼합비 구간을 선정한 후 그 구간 내에서 재차 혼합하여 가장 적절한 혼합비를 결정하였다.

그림 3-71. 가압식 여과기(左), 1차 선별 시 사용한 혼합 블렌딩 제품(右)



<결과 및 고찰>

선발된 제품은 쌀 증류주를 블렌딩한 제품군, 청포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 제품군, 적포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 제품군 그리고 사과 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 제품군 총 4개의 제품군으로 나누었으며, 각 제품군은 다시 오크통 단독 숙성 증류주 제품, 옹기 단독 숙성 증류주 제품, 오크통 블렌딩 제품, 옹기 블렌딩 제품으로 각 제품군 별로 4종의 제품으로 구성되었다.

주류 제조 경력이 10년 이상 된 그룹이 적절한 블렌딩 비율을 찾는 조건은 원료 본연의 향이 유지되며 바디감 및 목 넘김이 우수한 블렌딩 비율을 우선으로 하였으며 각 제품군 별 제품의 1차 선별한 제품군은 표 3-45.과 같다.

표 3-45. 1차 선별된 제품군 및 블렌딩 비율

제품군	특징	오크통	옹기	오크통 블렌딩	옹기 블렌딩
쌀 증류주 블렌딩 제품군		쌀(오크통)	쌀(옹기)	오크+옹기	오크+옹기
청포도 증류주와 쌀 증류주 블렌딩 제품군		청포도(오크통)	청포도(옹기)	청포도+쌀	청포도+쌀
적포도 증류주와 쌀 증류주 블렌딩 제품군		적포도(오크통)	적포도(옹기)	적포도+쌀	적포도+쌀
사과 증류주와 쌀 증류주 블렌딩 제품군		사과(오크통)	사과(옹기)	사과+쌀	사과+쌀



오크통 블렌딩			옹기 블렌딩		
오크	옹기	혼합비율	옹기	오크	혼합비율
쌀	쌀	87:13	쌀	쌀	79:21
청포도	쌀	78:22	청포도	쌀	88:12
적포도	쌀	70:30	적포도	쌀	80:20
사과	쌀	75:25	사과	쌀	80:20

나. 유해물질과 향기성분 분석 및 소비자조사

1차 선별한 블렌딩 제품은 이화학적 분석은 유해물질(아세트알데히드, 메탄올, EC, 요소), 향기성분 등을 3반복하여 측정하였고 이러한 블렌딩 제품은 각 주된 증류주 베이스별 최소 70명 이상을 대상으로 소비자조사를 실시하였다.

<실험방법>

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는 200 $^{\circ}$ C, detector 온도는 200 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 45 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 130 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45 μ m membrane filter와 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m \times 0.25mm I.d, 0.25 μ m)에 시료 1 μ l을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250 $^{\circ}$ C, inlet 온도는 210 $^{\circ}$ C, column 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지 후 분당 7 $^{\circ}$ C씩 승온시켜 180 $^{\circ}$ C에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

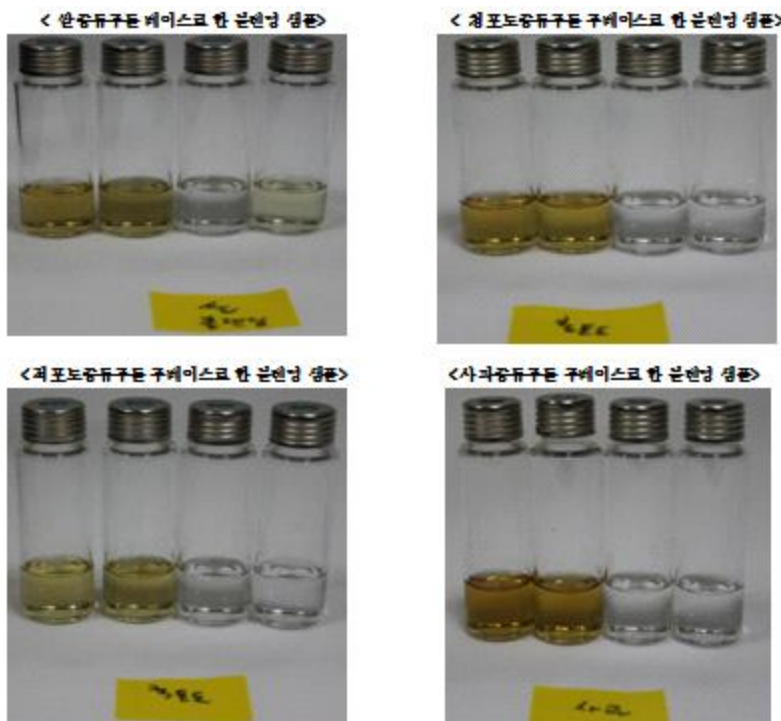
향기성분은 휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다. 증류조건별 증류주 5 ml을 20 ml SPME용 vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 26 $^{\circ}$ C에서 30분간 magnetic bar를 550rpm으로 교반시켜 노출시킨 SPME fiber(70 μ m Carbowax/DVB, Supelco, Inc.)에 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 향기성분의 분석과 동정은 GC(HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), GC-MS(HP 7890, Hewlett-Packard/5975C, Agilent technology)를 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 5분간 탈착시켜 분석하였으며, 분리성분의 최종확인용 mass spectrum library (Wiley/NBS)를 이용하여 확인하였다.

소비자조사는 오크통과 옹기에서 6개월간 숙성된 각 주된 증류주 베이스별 소비자 기호도를 파악하고자 단국대학교 학생 및 직원 70명 이상을 대상으로 소비자 기호도 조사를 진행하였다. 오크통과 옹기에서 숙성된 증류주 시료, 오크통에서 숙성된 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(오크통 블렌딩)과 옹기에서 숙성된 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(옹기 블렌딩)가 소비자 평가에 이용되었다. 40도(v/v%) 알코올 함량으로 평가를 진행하기에는 알코올 함량이 강하고, 자극적이어서 정수된 물을 이용하여 20도(v/v%)로 희석하여 평가를 진행하였다. 시료는 1회용 플라스틱 소스컵(70 mL)에 약 10 mL를 넣고, 플라스틱 마개로 덮어서 알코올 및 향이 날아가는 것을 방지하였다. 색상, 전반적품질, 향, 향미, 바디감 기호도에 대해 9점 척도를 이용하여 평가하였다. 또한, 알코올 강도 및 바디감의 정도에 대해 강도 평가를 just-about-right척도를 이용하였다. 시료는 mutually orthogonal Latin square design으로 각각의 패널에게 제시되어 제시 시료의 순서에 따른 오차를 최소화하였다(Wakeling and MacFie, 1995). 패널은 시료와 시료 사이에 주어진 생수를 이용하여 입안을 충분히 헹구도록

하여, 입안에 남아있는 이전 시료의 흔적을 최대한 지우도록 하였다. 평가를 끝낸 패널은 소비자 평가 참여에 대한 보상으로 약 1,500원 상당의 쿠키 또는 음료를 제공받았다.

통계분석은 시료와 시료 사이에 유의차가 있는지 확인하고자 일원분산분석을 시행하였으며, 유의차가 발견될 경우 Fisher's least square difference test를 실시하여, 어떠한 시료들 사이에 유의차가 있는지 밝혔다. 또한, 알코올 강도와 바디감 정도가 어떻게 전반적품질에 영향을 끼치는 지 알아보하고자 penalty analysis를 진행하였다.

그림 3-72. 각 증류주별 분



<결과 및 고찰>

(1)이화학적 분석

1차 선별한 용기와 오크통 숙성 제품 및 블렌딩 제품을 대상으로 유해물질(아세트알데히드, 메탄올, 에틸카바메이트, 요소)을 분석하였다. 분석을 진행한 시료는 최종제품 알코올도수(40도(v/v%))에 맞게 희석한 후 냉동 여과한 제품으로 숙성 용기별 제품을 만든 후 블렌딩하여 각각의 블렌딩 제품을 추가적으로 만들었다. 본 실험에서는 완제품의 유해물질을 분석하고 여과 전 후 유해물질을 비교 분석하였다.

아세트알데히드의 경우 전 실험군에서 0~4ppm이 측정되었으며 청포도증류주를 오크통에 숙성시킨 제품이 0.90ppm으로 가장 적게 측정되었다. 사과증류주의 경우 여과를 진행하기 전과 동일하게 다른 실험군에 비해 아세트알데히드가 다소 높게 측정되었다. 6개월간 숙성시킨 여과 전 제품과 비교 시 아세트알데히드는 대체로 감소하였으며 오크통에 숙성시킨 청포도 증류주와 적포도 증류주에서만 각각 3%, 10% 증가하였지만 소량 측정된 것과 표준편차 범위

안에 드는 것으로 미루어 유의적 차이가 없다고 할 수 있다. 냉동과 건조를 사용한 여과는 침전물의 감소를 통하여 유해물질의 감소에 효과적인 것으로 보여 진다.

메탄올의 경우 전 실험군에서 1~5ppm이 측정되었으며 곡물을 원료로 한 쌀 증류주의 경우 여과 전 후와 관계없이 과실 증류주에 비해 메탄올 함량이 적게 검출되었다. 옹기에 숙성시킨 쌀 증류주가 1.09ppm으로 메탄올이 가장 적게 측정되었으며 옹통에 숙성시킨 사과 증류주가 5.02ppm으로 가장 높게 메탄올이 측정되었다. 메탄올은 여과에 의해 전 실험군에서 모두 감소하였으며 청포도 증류주의 경우 여과 전 메탄올의 함량이 10ppm대로 가장 높았으나 옹통과 옹기 숙성된 완제품에서 모두 4ppm대로 가장 큰 수치로 감소하였다. 대체적으로 냉동 여과를 진행 시 40% 이상의 감소율을 나타내었다.

에틸카바메이트의 경우 전 실험군에서 0~14ppb가 측정되었으며 여과 전과 동일하게 청포도 증류주 실험군에서 가장 낮은 수치가 검출되었다. 청포도 증류주를 옹기에 숙성시킨 완제품이 0.79ppb로 가장 낮게 측정되었으며 사과 증류주를 옹기에 숙성시킨 완제품이 13.65ppb로 가장 높게 검출되었다. 여과 전 후를 비교 시 사과증류주의 경우 옹기와 옹통에 숙성시킨 증류주 모두 50% 이상 감소하였으며 감소된 수치 또한 가장 높았다. 전체적으로 여과에 의해 20% 이상의 감소율을 보이고 있으며 여과에 의해 일정량의 감소가 가능한 것으로 사료된다.

요소인 경우 전 실험군에서 0~10ppb가 측정되었으며 여과 전과 동일하게 포도를 사용한 증류주에서 낮게 나타났으며 적포도증류주를 옹통에 숙성시킨 완제품이 0.49ppb로 가장 낮게 나타났다. 또한 사과를 옹통에 숙성시킨 완제품과 쌀 증류주를 옹기에 숙성시킨 완제품을 블렌딩한 사과 옹통블렌딩이 9.82ppb로 가장 높게 나타났다. 여과 전 후를 비교 시 대체적으로 여과를 통하여 감소하는 것으로 나타나며 청포도 증류주를 옹통에 숙성시킨 경우 3% 증가한 것으로 나오나 표준편차 범위이며 극소량 검출로써 유의적 차이가 없다고 보여 진다.

표 3-46. 1차 선별한 완제품의 아세트알데히드 함량(단위:ppm)

	옹통	옹통블렌딩	옹기	옹기블렌딩
쌀	0.99±0.22	1.28±0.22	3.02±0.39	2.80±0.06
청포도	0.90±0.22	1.23±0.25	2.85±0.34	2.60±0.23
적포도	1.25±0.11	1.48±0.03	2.60±0.15	2.23±0.12
사과	2.82±0.09	3.28±0.25	3.43±0.23	3.48±0.21

표 3-47. 1차 선별한 완제품의 여과 전 후 아세트알데히드 함량(단위:ppm) 및 증감율(%)

	여과 전	여과 후	증감율
쌀(오크통)	1.04	0.99	-5%
청포도(오크통)	0.87	0.90	3%
적포도(오크통)	1.14	1.25	10%
사과(오크통)	3.81	2.82	-26%
쌀(옹기)	3.18	3.02	-5%
청포도(옹기)	3.41	2.85	-16%
적포도(옹기)	2.93	2.60	-11%
사과(옹기)	3.81	3.43	-10%

표 3-48. 1차 선별한 완제품의 메탄올 함량(단위:ppm)

	오크통	오크통블렌딩	옹기	옹기블렌딩
쌀	1.22±0.04	1.18±0.04	1.09±0.03	1.13±0.05
청포도	4.82±0.13	4.68±0.04	4.64±0.11	4.66±0.17
적포도	4.88±0.08	4.80±0.12	4.76±0.06	4.82±0.02
사과	5.02±0.08	4.98±0.08	4.87±0.05	4.84±0.05

표 3-49. 1차 선별한 완제품의 여과 전 후 메탄올 함량(단위:ppm) 및 증감율(%)

	여과 전	여과 후	증감율
쌀(오크통)	5.1	1.22	-76%
청포도(오크통)	10.93	4.82	-56%
적포도(오크통)	8.68	4.88	-44%
사과(오크통)	9.99	5.02	-50%
쌀(옹기)	4.33	1.09	-75%
청포도(옹기)	10.84	4.64	-57%
적포도(옹기)	8.89	4.76	-46%
사과(옹기)	9.43	4.87	-48%

표 3-50. 1차 선별한 완제품의 에틸카바메이트 함량(단위:ppb)

	오크통	오크통블렌딩	옹기	옹기블렌딩
쌀	4.89±0.06	5.04±0.04	5.12±0.06	5.14±0.08
청포도	0.85±0.03	0.84±0.05	0.79±0.02	1.04±0.04
적포도	1.48±0.03	1.39±0.04	1.35±0.04	1.42±0.02
사과	12.88±0.43	13.22±0.39	13.65±0.18	13.38±0.22

표 3-51. 1차 선별한 완제품의 여과 전 후 에틸카바메이트 함량(단위:ppb) 및 증감율(%)

	여과 전	여과 후	증감율
쌀(오크통)	6.89	4.89	-29%
청포도(오크통)	1.06	0.85	-20%
적포도(오크통)	2.22	1.48	-33%
사과(오크통)	28.77	12.88	-55%
쌀(옹기)	7.05	5.12	-27%
청포도(옹기)	1.08	0.79	-27%
적포도(옹기)	2.22	1.35	-39%
사과(옹기)	28.27	13.65	-52%

표 3-52. 1차 선별한 완제품의 요소 함량(단위:ppb)

	오크통	오크통블렌딩	옹기	옹기블렌딩
쌀	8.18±0.04	7.98±0.06	8.15±0.11	8.24±0.06
청포도	0.62±0.05	0.59±0.03	0.56±0.07	0.60±0.04
적포도	0.49±0.05	0.59±0.08	0.62±0.05	0.64±0.09
사과	9.48±0.04	9.82±0.13	9.64±0.05	9.71±0.18

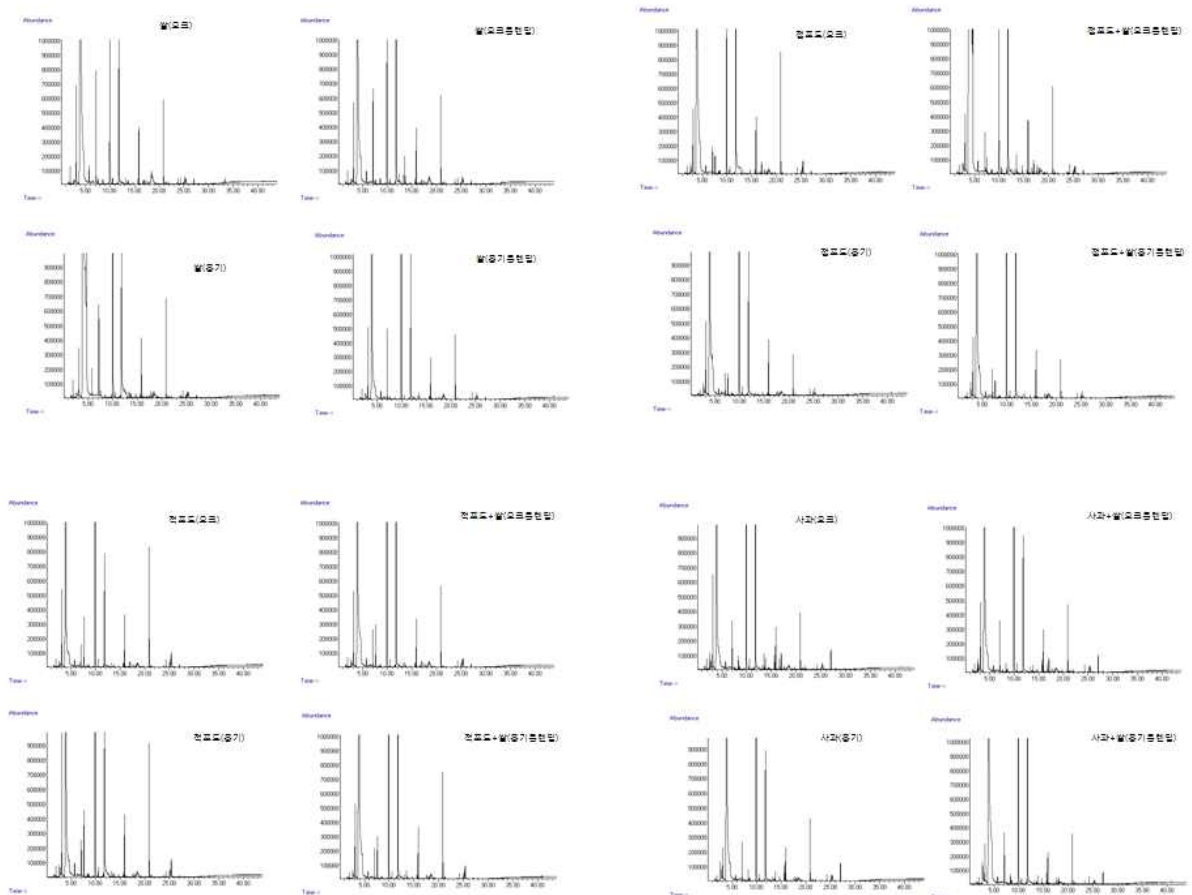
표 3-53. 1차 선별한 완제품의 여과 전 후 요소 함량(단위:ppb) 및 증감율(%)

	여과 전	여과 후	증감율
쌀(오크통)	9.61	8.18	-15%
청포도(오크통)	0.60	0.62	3%
적포도(오크통)	0.57	0.49	-14%
사과(오크통)	18.60	9.48	-49%
쌀(옹기)	8.99	8.15	-9%
청포도(옹기)	0.64	0.56	-13%
적포도(옹기)	0.69	0.62	-10%
사과(옹기)	16.41	9.64	-41%

(2) 향기성분 분석

각각의 시료의 향기성분 분석 chromatogram은 다음과 같다.

그림 3-73. 각 증류주 별 향기성분 분석 chromatogram



(가). 쌀 증류주

쌀 증류주의 오크통 및 옹기에서 9개월 간 숙성한 시료 및 이를 블렌딩한 시료의 상대적인 향미성분 비교는 표 3-54와 같다. 오크통 숙성에서 13종의 향미 성분이 검출되었으며, 옹기 숙성에서는 7종의 향미 성분이 분석 되었다. 오크통 숙성 시료를 기반으로 옹기 숙성 시료를 블렌딩한 오크블렌딩에서는 11종의 향미 성분이 검출되었으며, 옹기 숙성 시료를 기반으로 오크통 숙성 시료를 블렌딩한 옹기블렌딩에서는 8종의 향미 성분이 검출되었다. 향미 성분 검출 숫자를 비교하였을 때, 오크통 숙성 시료에서 다양한 향미 성분을 내는 것으로 생각되며, 이것은 오크통이 가진 성분들이 용출되어 술에 향을 더한 것이라 생각된다. 반면에 옹기 숙성 시료는 적은 수의 향미 성분이 검출되어 깔끔한 맛을 가질 것이라 예측할 수 있다. 각각의 향미 성분에 대해서 분석하면, 옹기 숙성에서 0.48%로 낮은 비율의 ethyl acetate가 검출되었다. Ethyl acetate는 과일향, 코를 찌르는 향과 관련이 있다. 오크 숙성 시료가 들어간 샘플에서는 1%이상의 면적이 검출된바, 오크통에서 ethyl acetate가 용출되었다고 생각된다.

옹기 숙성에서는 과일향과 코를 찌르는 향이 적에 나타나 술의 향이 약할 것이라 생각된다. Hexanoic acid는 신향, 치즈향과 관련이 있으며, 오크 숙성 및 오크 블렌딩에서만 검출되었다. Decanoic acid ethyl ester는 ethyl acetate와 유사한 패턴으로 검출되었다. 옹기 숙성에서 0.67%의 상대 면적을 가졌으며, 타 시료는 1%이상으로 나타났다. Decanoic acid ethyl ester는 사과향, 브랜디향과 관련이 있으며, 오크통 숙성 시료가 있는 시료에서 두드러졌다. 오크통 숙성이 사과향과 브랜디향을 강하게 해주는 것으로, 술의 향미를 다양하고 진하게 하는 것으로 생각된다. dodecanoic acid는 기름향, 코코넛향으로 오크통 시료가 들어간 샘플에서 검출되었으며, 옹기 숙성 시료에서는 검출되지 않았다. 오크통의 성분이 숙성 중 용출된 것으로 생각된다. Phenylethyl alcohol은 오크통 숙성 및 오크블렌딩에서 각각 0.21%와 0.07%가 검출되었으며, 이 성분은 꽃향 및 꿀 향과 관련이 있다. 향의 특징상 phenylethyl alcohol로 오크통에서 유래한 것으로 판단된다. Hexadecanoic acid는 오크통 숙성에서만 검출되었으며, 왁스향과 연관이 있다.

표 3-54. 오크통 및 옹기 숙성 쌀 증류주의 상대적인 향미 성분 비교

RT (min)	Compound	오크통 숙성	오크블렌딩	옹기 숙성	옹기블렌딩
2.39	Ethyl Acetate	1.15±0.11	1.03±0.08	0.48±0.04	1.09±0.24
3.841	Ethyl alcohol	84.76±3.01	84.46±1.38	86.38±0.51	86.27±0.91
5.73	1-Propanol	0.22±0.01	0.20±0.00	0.27±0.01	0.16±0.04
7.129	1-Propanol, 2-methyl-(isobutanol)	1.29±0.40	1.20±0.25	1.04±0.07	1.26±0.25
7.577	isoamyacetate	0.06±0.01	0.04±0.03		
9.95	1-Butanol, 3-methyl-(isoamylalcohol)	4.51±0.29	4.38±0.24	5.21±0.26	4.15±0.38
10.527	Hexanoic acid, ethyl ester	0.08±0.02	0.06±0.01		
13.808	1-hexanol				
15.813	octanoic acid ethyl ester(ethyl caprylate)	0.69±0.07	0.69±0.12	0.41±0.11	0.83±0.02
16.623	Acetic acid	0.12±0.04			
20.832	decanoic acid ethyl ester(ethyl caprate)	1.16±0.24	1.11±0.23	0.67±0.29	1.32±0.07
25.011	Acetic acid, 2-phenylethyl ester				
25.36	Dodecanoic acid, ethyl ester	0.21±0.06	0.12±0.02		0.21±0.01
27.039	Phenylethyl Alcohol	0.13±0.05	0.07±0.01		
33.317	Hexadecanoic acid, ethyl ester(ethyl palmitate)	0.57±0.10			
	Others	5.31±3.00	6.59±0.48	5.55±1.29	4.72±0.06

(나). 적포도 증류주

적포도 증류주의 오크통 및 옹기에서 9개월 간 숙성한 시료 및 이를 쌀 증류주와 블렌딩한

시료의 상대적인 향미성분 비교는 표 3-55와 같다. 오크통 숙성에서 10종의 향미 성분이 검출되었으며, 옹기 숙성에서는 11종의 향미 성분이 분석 되었다. 오크통 숙성 시료를 기반으로 옹기 숙성 시료를 블렌딩한 오크블렌딩에서는 10종의 향미 성분이 검출되었으며, 옹기 숙성 시료를 기반으로 오크통 숙성 시료를 블렌딩한 옹기블렌딩에서는 11종의 향미 성분이 검출되었다. 쌀 증류주와 비교하였을 때, 숙성 방법에 따른 향미 성분 숫자의 변화는 적었으며, 전반적으로 각각의 성분이 차지하는 비율도 보관 용기 사이에 유사하였다. Ethyl alcohol이 차지하는 비율이 83-84%로 쌀 증류주와 비교해서 낮은 수준으로 나타났으며, 이는 포도 자체의 향미 성분때문으로 생각된다. Ethyl acetate는 옹기 숙성에서 1.93%로 가장 많은 비율로 검출되었으며, 다른 시료보가 과일향 및 코를 찌르는 느낌이 강할 것이라 보여진다. 1-butanol은 에틸 알콜 다음으로 많은 면적을 차지하는 성분으로 단향과 알코올향과 관련이 있다. Isoamyl acetate는 오크와 옹기 숙성 시료에서 더 많은 상대적인 면적을 차지하는 것으로 나타났다. 쌀 증류주에서는 isoamyl acetate가 거의 검출되지 않아서 적포도 증류주에서 나오는 특유의 익은 과일향이라 보여 진다. Decanoic acid ethyl ester는 적포도 및 옹기 숙성 시료에서 2.07%와 2.49%로 오크블렌딩에서 1.64%와 옹기블렌딩에서 1.53% 검출된 것과 비교해서 높은 수치를 보여준다. 이는 적포도 증류주에서 decanoic acid ethyl ester가 더 많은 양이 검출된 것으로 블렌딩 향과 관련이 있는 성분으로 적포도의 증류 시 쌀보다 더 많은 양이 나온 것으로 보여 진다. Dodecanoic acid도 모든 시료에서 검출되었으며, 쌀 증류주로 블렌딩을 하지 않은 오크 및 옹기 숙성 시료에서 상대적으로 넓은 면적을 차지하는 것으로 나타났다. Eodecanoic acid는 과일향과 관련이 있어서 적포도 증류주에서 많이 나오는 것으로 생각된다. Acetic acid는 식초향으로 코를 찌르는 특징이 있고, 옹기 숙성 및 옹기블렌딩에서만 검출되었다. 옹기에서 적포도 증류주를 숙성 할 때 나오는 특유의 향 성분으로 사료된다.

표 3-55. 오크통 및 옹기 숙성 적포도 증류주의 상대적인 향미 성분 비교

RT (min)	Compound	오크통 숙성	오크블렌딩	옹기 숙성	옹기블렌딩
2.39	Ethyl Acetate	1.52±0.16	1.29±0.12	1.93±0.13	1.43±0.03
3.841	Ethyl alcohol	83.37±2.44	83.83±0.83	83.00±0.52	84.96±1.89
5.73	1-Propanol	0.22±0.02	0.19±0.02	0.21±0.03	0.22±0.05
7.129	1-Propanol, 2-methyl-(isobutanol)	0.51±0.04	0.74±0.03	0.51±0.09	0.56±0.11
7.577	isoamyacetate	0.99±0.18	0.85±0.06	1.11±0.08	0.68±0.20
9.95	1-Butanol, 3-methyl-(isoamylalcohol)	4.61±0.13	4.57±0.21	4.57±0.15	4.61±0.38
10.527	Hexanoic acid, ethyl ester	0.15±0.03	0.14±0.03	0.16±0.02	0.13±0.04
13.808	1-hexanol				0.10±0.08
15.813	octanoic acid ethyl ester(ethyl caprylate)	0.92±0.25	0.90±0.03	1.06±0.21	0.72±0.32
16.623	Acetic acid				
20.832	decanoic acid ethyl ester(ethyl caprate)	2.07±0.67	1.64±0.13	2.49±0.58	1.53±0.77
25.011	Acetic acid, 2-phenylethyl ester			0.14±0.03	0.09±0.04
25.36	Dodecanoic acid, ethyl ester	0.37±0.12	0.29±0.00	0.46±0.12	0.24±0.12
27.039	Phenylethyl Alcohol				
33.317	Hexadecanoic acid, ethyl ester(ethyl palmitate)				
	Others	5.26±1.21	5.46±0.20	4.36±0.14	4.72±0.61

(다). 청포도 증류주

청포도 증류주의 오크통 및 옹기에서 9개월 간 숙성한 시료 및 이를 쌀 증류주와 블렌딩한 시료의 상대적인 향미성분 비교는 표 3-56와 같다. 총 12종의 향미 성분이 분석되었으며, acetic acid는 오크블렌딩 시료에서만 분석되었다. 에탄올이 차지하는 비중이 85~89%로 적포도 증류주의 83% 내외 보다 약 3%정도 높은 수준이다. 이것은 적포도 증류주보다 다양한 향미 성분이 덜 있다고 유추할 수 있다. 과일향과 관련이 있는 isoamyl acetate 및 decanoic acid ethyl ester는 적포도 증류주와 유사한 패턴으로 청포도 증류주가 100%인 오크 및 옹기 숙성에서 높게 검출되었다. 적포도주와 달리 acetic acid가 모든 시료에서 검출되었으며, 이것은 청포도 발효 및 증류에서 나타나는 특징으로 보여진다. 적포도에 비해서 식초같이 코를 지르는 향이 약간 더 강할 것이라 사료된다. 전반적인 향미 패턴은 적포도 증류주와 유사하며 강도는 약할 것으로 생각된다.

표 3-56. 오크통 및 옹기 숙성 청포도 증류주의 상대적인 향미 성분 비교

RT (min)	Compound	오크통 숙성	오크블렌딩	옹기 숙성	옹기블렌딩
2.39	Ethyl Acetate	1.01±0.11	0.65±0.03	1.29±0.06	1.08±0.08
3.841	Ethyl alcohol	85.72±0.22	88.92±1.75	87.30±0.04	86.39±0.01
5.73	1-Propanol	0.16±0.00	0.18±0.03	0.14±0.02	0.15±0.01
7.129	1-Propanol, 2-methyl-(isobutanol)	0.43±0.03	0.44±0.10	0.43±0.02	0.54±0.05
7.577	isoamyacetate	0.26±0.03	0.12±0.07	0.40±0.02	0.31±0.04
9.95	1-Butanol, 3-methyl-(isoamylalcohol)	4.01±0.19	4.17±0.11	4.06±0.35	4.35±0.16
10.527	Hexanoic acid, ethyl ester	0.09±0.02	0.07±0.01	0.15±0.02	0.12±0.01
13.808	1-hexanol				
15.813	octanoic acid ethyl ester(ethyl caprylate)	0.74±0.13	0.43±0.10	0.98±0.05	0.81±0.13
16.623	Acetic acid		0.12±0.00		
20.832	decanoic acid ethyl ester(ethyl caprate)	1.50±0.41	1.06±0.61	0.81±0.02	0.70±0.09
25.011	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0.16±0.05	0.10±0.03	0.12±0.01	0.10±0.02
25.36	Dodecanoic acid, ethyl ester	0.22±0.08	0.10±0.03	0.20±0.00	0.18±0.03
27.039	Phenylethyl Alcohol				
33.317	Hexadecanoic acid, ethyl ester(ethyl palmitate)				
	Others	5.71±0.84	3.63±0.93	4.11±0.52	5.28±0.61

(라). 사과 증류주

사과 증류주의 오크통 및 옹기에서 9개월 간 숙성한 시료 및 이를 쌀 증류주와 블렌딩한 시료의 상대적인 향미성분 비교는 표 3-57와 같다. 오크통 숙성 및 오크블렌딩에서 13종의 향미 성분이 검출되었으며, 옹기 숙성에서는 11종의 향미 성분이 분석 되었다. 옹기 블렌딩에서는 10종의 향미 성분이 분석되었다. 에탄올은 82~85% 비율로 가장 많은 비중을 차지하였으며, 특히 오크 숙성 및 오크블렌딩에서 82%대의 비중을 차지하여, 이 두 시료에서 향이 강할 것이다. 옹기 숙성 및 옹기블렌딩에서는 85%대의 비율을 차지하였다. Ethyl acetate는 옹기 숙성에서 0.63% 및 옹기블렌딩에서 0.49%로 1%이상 검출된 오크 숙성 및 오크블렌딩보다 낮은 비율로 나타났다. Ethyl acetate는 과일향, 코를 찌르는 향과 관련이 있다. 오크 숙성 시료가 들어간 샘플에서 과일향이 강하지만 이와 더불어 코를 찌르는 향도 강하에 인지될 것이라 생각된다. 1-butanol은 에틸 알콜 다음으로 많은 면적을 차지하는 성분으로 단향과 알코올 향과 관련이 있다. 오크 숙성에서 8.08% 및 옹기에서 7.41%로 사과 증류주 100% 시료에서 더 1-butanol이 더 많은 상대 면적을 차지하는 것을 알 수 있다. 이것은 쌀 증류주보다 사과 증류주가 단향을 더 내는 것으로 생각된다. 특히 옹기블렌딩에서 3.85%로 낮은 비중으로 나타나, 옹기 블렌딩의 경우 술의 단향이 약할 것으로 보여진다. 시료간에 큰 차이를 보이는 성

분은 나타나지 않았다. Acetic acid와 2-phenylethyl ester는 식초향으로 코를 찌르는 특징이 있고, 오크 숙성 및 오크블렌딩에서만 검출되었다. 오크통에서 사과 증류주를 숙성 할 때 나오는 특유의 향 성분으로 사료되며, 오크와 옹기 사이의 가장 뚜렷한 차이라 보여 진다.

표 3-57. 오크통 및 옹기 숙성 사과 증류주의 상대적인 향미 성분 비교

RT (min)	Compound	오크통 숙성	오크블렌딩	옹기 숙성	옹기블렌딩
2.39	Ethyl Acetate	1.31±0.04	1.09±0.14	0.63±0.10	0.49±0.05
3.841	Ethyl alcohol	82.34±0.98	83.23±0.26	85.07±0.01	85.48±0.13
5.73	1-Propanol	0.14±0.00	0.13±0.02	0.11±0.01	0.14±0.02
7.129	1-Propanol, 2-methyl-(isobutanol)	0.78±0.02	0.87±0.08	0.72±0.02	0.63±0.16
7.577	isoamyacetate				
9.95	1-Butanol, 3-methyl-(isoamylalcohol)	8.08±0.09	6.99±0.05	7.41±0.41	3.85±4.51
10.527	Hexanoic acid, ethyl ester	0.15±0.03	0.10±0.04	0.09±0.00	0.06±0.02
13.808	1-hexanol	0.20±0.00	0.15±0.01	0.19±0.01	0.14±0.00
15.813	octanoic acid ethyl ester(ethyl caprylate)	0.61±0.08	0.58±0.20	0.54±0.01	0.49±0.34
16.623	Acetic acid	0.27±0.06	0.33±0.06		
20.832	decanoic acid ethyl ester(ethyl caprate)	0.84±0.14	1.04±0.21	1.08±0.06	0.58±0.28
25.011	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0.19±0.03	0.25±0.02		
25.36	Dodecanoic acid, ethyl ester	0.12±0.02	0.15±0.02	0.15±0.00	
27.039	Phenylethyl Alcohol	0.37±0.05	0.46±0.12	0.37±0.01	0.19±0.06
33.317	Hexadecanoic acid, ethyl ester(ethyl palmitate)				
	Others	4.61±0.65	4.62±0.71	3.62±0.43	7.95±3.74

(3) 소비자 조사

(가). 쌀 증류주를 블렌딩한 제품의 소비자 조사

오크통과 옹기에서 6개월간 숙성된 쌀 증류주의 소비자 기호도를 파악하고자 단국대학교 학생 및 직원 73명을 대상으로 소비자 기호도 조사를 진행하였다. 오크통과 옹기에서 숙성된 시료와 이 두 시료를 혼합하여 2종의 블렌딩 시료를 소비자 조사에 이용하였다. 40도(v/v%) 알코올 함량으로 평가를 진행하기에는 알코올 함량이 강하고, 자극적이어서 정수된 물을 이용하여 20도(v/v%)로 희석하여 제공하였다. 시료는 1회용 플라스틱 소스컵(70 mL)에 약 10 mL를 넣고, 플라스틱 마개로 덮어서 알코올 및 향이 날라가는 것을 방지하였다. 패널은 그림 3-74와 같은 종이 설문지를 이용하여 평가를 진행하였다. 색상, 전반적품질, 향, 향미, 바디감 기호도에 대해 9점 척도를 이용하여 평가하였다. 또한, 알코올 강도 및 바디감의 정도에 대해 강도 평가를 just-about-right척도를 이용하였다. 시료는 mutually orthogonal Latin square design으로 각각의 패널에게 제시되어 제시 시료의 순서에 따른 오차를 최소화하였다 (Wakeling and MacFie, 1995). 패널은 시료와 시료 사이에 주어진 생수를 이용하여 입안을 충분히 헹구도록하여, 입안에 남아있는 이전 시료의 흔적을 최대한 지우도록 하였다. 평가를 끝낸 패널은 소비자 평가 참여에 대한 보상으로 약 1,500원 상당의 쿠키를 제공받았다.

그림 3-74. 쌀 숙성 증류주에 사용된 소비자 조사 평가서

성명: _____ 나이: _____

성별: _____ 성직: _____

전화: _____

이메일: _____

주소: _____

이름: _____

성명: _____ 나이: _____

성별: _____ 성직: _____

전화: _____

이메일: _____

주소: _____

이름: _____

제정하는 재료의 맛을 보신 후 어떤지 의견을 가장 잘 표현한 위치에 표시 해 주십시오. 반드시 숫자가 표기된 부분에만 답을 해주세요. 다음 시료 평가권 종료 일련번호를 기입 후 평가해 주십시오.

시료 번호: _____

1. 기호도

시료의 색상은 얼마나 좋습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 대단히 싫어 대단히 좋아

시료의 맛은 얼마나 좋습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 대단히 싫어 대단히 좋아

시료에서 느껴지는 향은 어떻습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 대단히 싫어 대단히 좋아

시료를 마셨을때 느끼는 향미(풍미)는 어떻습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 대단히 싫어 대단히 좋아

시료를 마셨을때 목넘김(바디감)은 어떻습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 대단히 싫어 대단히 좋아

2. 특질 강도

시료에서 느껴지는 알코올의 강도는 어떻습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 매우 약하다 약하다 적당하다 강하다 매우 강하다

시료에서 느껴지는 목넘김(바디감)의 강도는 어떻습니까?
 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
 매우 약하게 받들다 넘치게 받들다 적당하다 넘치게 받들다 매우 넘치게 받들다

통계분석은 시료와 시료 사이에 유의차가 있는지 확인하고자 일원분산분석을 시행하였으며, 유의차가 발견될 경우 Fisher's least square difference test를 실시하여, 어떠한 시료들 사이에 유의차가 있는지 밝혔다. 또한, 알코올 강도와 바디감 정도가 어떻게 전반적품질에 영향을 끼치는 지 알아보고자 panelty analysis를 진행하였다.

9개월간 오크통 및 옹기에 숙성된 쌀 증류주의 73명 소비가 기호도 및 강도 평가 결과는 표

3-58과 같다. 전반적품질, 향, 향미 및 바디감 기호도에서 통계적으로 유의차가 없었다 ($P>0.05$), 대부분의 평가에서 9점 만점에서 5점 이하의 평가를 받아, 절대적인 점수로 평가하였을 때, 소비자 기호도가 높지 않은 것으로 나타났다. 그러나, 술의 특성상 소비자 기호도가 높게 나타나지 않는 경향이 있다. Crump 등(2015)의 까르베넷 소비용 와인의 소비자 기호도는 5.7~5.9로 나타났으며, Guinard 등(2000)의 라거 맥주의 소비자 기호도는 4.05~7.30으로 평가되었다. 특히, 와인과 맥주의 경우 보드카 또는 위스키와 같은 증류주보다 손쉽게 편하게 마실 수 있는 장점으로 증류주보다 높은 소비자 기호도를 가질 수 있다는 점을 고려할 때, 본 소비자 조사에 사용된 쌀 숙성 증류주의 소비자 기호도는 적절한 것으로 판단된다. 오크통과 옹기숙성의 시료는 뚜렷하게 다른 향을 가지고 있으나, 숙성 방법의 차이에 따른 향의 특징이 소비자 기호도에 유의미하게 영향을 미치지 못하였다. 색상 기호도에 있어서만 옹기숙성 시료가 5.84점으로 가장 높은 기호도를 가졌으며, 타 시료와 유의차가 발견되었다 ($P<0.05$). 패널은 색상에 있어서 물과 같이 투명한 옹기 숙성된 증류주를 선호하였으며, 오크통에 숙성되어 위스키같이 갈색을 띠는 색상을 덜 선호하였다. 블렌딩 시료는 옹기숙성 및 오크통숙성 시료의 색상 기호도의 중간 정도의 평가를 받았다.

표 3-58. 9개월간 숙성된 쌀 증류주의 소비자 기호도 및 특성 강도 평가 결과

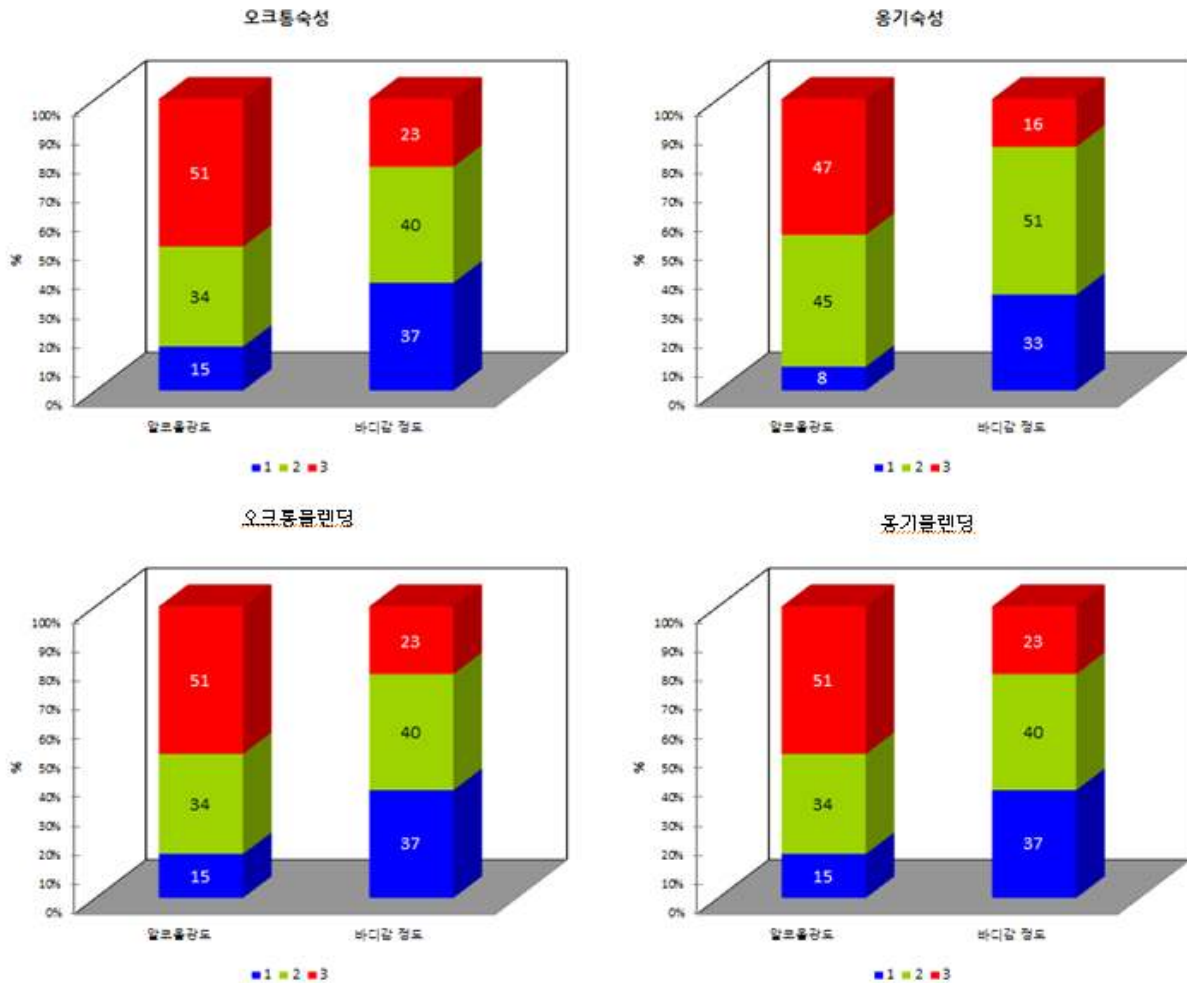
시료	기호도					강도 ²⁾	
	전반적품질	색상	향	향미	바디감	알코올	바디감
오크통숙성	4.88a ¹⁾	4.92b	4.85a	4.49a	4.67a	3.42a	2.86a
오크통블렌딩	4.63a	5.25b	5.03a	4.18a	4.71a	3.59a	2.86a
옹기블렌딩	4.52a	5.33b	4.49a	4.04a	4.64a	3.58a	2.75a
옹기숙성	4.69a	5.84a	5.07a	4.08a	4.73a	3.53a	2.79a

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

²⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함

알코올 강도 및 바디감 정도의 평가는 표 3-59과 같다. 알코올 강도 및 바디감 정도는 시료 사이에 유의차가 발견되지 않아($P<0.05$), 모든 시료에서 유사한 것으로 판단된다. 전반적으로 알코올 강도는 3.42~3.58로 평가되었으며, 시료의 알코올 강도는 약간 강한 것으로 판단된다. 그림 3-75와 같이 47~51%의 패널이 알코올 강도가 강하다고 평가하였다. 바디감 정도는 40~51%의 패널이 적당하다고 판단하였으며, 33~37%의 패널이 술을 넘기기가 힘들다고 평가하였다. 증류주의 특성상 높은 알코올 도수로 인하여 목넘김이 불편하기 때문으로 판단된다.

그림 3-75. 쌀 숙성 증류주의 알코올 강도 및 바디감 정도에 대한 소비자 분포(1= 약하다(넘기기 힘들다), 2=적당하다, 3=강하다(넘기기 편하다))



알코올 강도 및 바디감 정도가 전반기호도에 어떠한 방향으로 영향을 미치는지 확인하고자 penalty analysis를 진행하였다. 알코올 강도에 있어서 용기숙성, 오크통블렌딩, 용기블렌딩 시료에서 유의차가 발견되었다. 이는 술의 강한 알코올 강도가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것을 증명한다. 바디감 정도에 있어서 오크통숙성 시료에서 술 넘기기 어렵다는 평가가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 오크통 숙성을 통해서 쌀 증류주가 위스키와 유사하게 변해감에 따라, 오크통에서 유출된 향미 성분이 술의 목넘김을 힘들게 한 것으로 생각된다. 반대로, 용기 숙성 시료에서는 목넘기기 쉬운 것이 전반적인 품질에 부정적인 영향을 주었다. 이 둘을 블렌딩한 시료에서는 바디감 정도가 전반적품질의 방향성에 영향을 주지 않았다. 이와 같은 강도 평가 결과를 고려하였을 때, 알코올 함량을 20도(v/v%) 미만으로 조정하여 전반적인 품질을 끌어올리는 희석 공정이 필요하다.

표 3-59. 쌀 숙성 증류주의 전반적품질 및 특성 강도 평가를 이용한 penalty analysis 결과

시료	Level	Frequency	%	Sum	Mean	Mean drops	Standardized difference	p-value	Significant
*오크통숙성									
알코올강도	약하다	11	15.07%	54.000	4.909	0.211			
	적당하다	25	34.25%	128.000	5.120				
	강하다	37	50.68%	174.000	4.703	0.417	1.097	0.276	No
바디감정도	넘기기 어렵다	27	36.99%	115.000	4.259	0.741	2.139	0.036	Yes
	적당하다	29	39.73%	145.000	5.000				
	넘기기 쉽다	17	23.29%	96.000	5.647	-0.647	-1.828	0.072	No
*옹기숙성									
알코올강도	약하다	11	15.07%	21.000	1.909	1.091			
	적당하다	25	34.25%	75.000	3.000				
	강하다	37	50.68%	154.000	4.162	-1.162	-16.640	< 0.0001	Yes
바디감정도	넘기기 어렵다	27	36.99%	94.000	3.481	-0.240	-1.196	0.236	No
	적당하다	29	39.73%	94.000	3.241				
	넘기기 쉽다	17	23.29%	62.000	3.647	-0.406	-2.007	0.049	Yes
*오크통블렌딩									
알코올강도	약하다	11	15.07%	31.000	2.818	0.582			
	적당하다	25	34.25%	85.000	3.400				
	강하다	37	50.68%	146.000	3.946	-0.546	-3.094	0.003	Yes
바디감정도	넘기기 어렵다	27	36.99%	96.000	3.556	0.134	0.741	0.461	No
	적당하다	29	39.73%	107.000	3.690				
	넘기기 쉽다	17	23.29%	59.000	3.471	0.219	1.028	0.308	No
*옹기블렌딩									
알코올강도	약하다	11	15.07%	32.000	2.909	0.251			
	적당하다	25	34.25%	79.000	3.160				
	강하다	37	50.68%	150.000	4.054	-0.894	-5.293	< 0.0001	Yes
바디감정도	넘기기 어렵다	27	36.99%	94.000	3.481	0.001	0.006	0.995	No
	적당하다	29	39.73%	101.000	3.483				
	넘기기 쉽다	17	23.29%	66.000	3.882	-0.400	-1.761	0.083	No

쌀 숙성 증류주의 남녀간 평가는 다른 경향성을 보여준다. 특히 오크통 숙성 시료 및 블렌딩 시료에서 남녀간의 기호도 차이가 보였다. 오크통 숙성 쌀 증류주 및 옹기 숙성 쌀 증류주가 일정부분 혼합된 오크통블렌딩, 옹기블렌딩 시료에서 남자들의 기호도가 전반적으로 여자보다 높게 나타났다. 오크통블렌딩, 옹기블렌딩의 전반기호도가 남자 패널에서 유의적으로 높게 나타났으며($P < 0.05$), 오크통 숙성 시료가 유의차에 근접하게($P = 0.061$) 높은 전반 기호도를 보였다. 향 및 향미 기호도에서도 오크통 숙성 쌀 증류주 및 오크통블렌딩, 옹기블렌딩에서 남자 패널의 기호도가 높은 경향성을 보였다. 보리 및 옥수수를 증류하여 오크통에 숙성하는

위스키와 비교해서 술을 만드는 재료가 쌀인 것이 차이점으로, 고도주에 익숙한 남자 패널에 오크통 숙성에 대해서 높은 기호도를 가지는 것으로 생각된다. 반면에 오크통 숙성을 통해서 나타나는 술의 황갈색, 향, 향미는 여자 패널들에게 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 따라서, 쌀 증류주의 숙성에 있어서, 옹기는 전체 남/여 패널에 있어서 무난한 기호성을 보였으며, 오크통은 남성 패널에게 높은 기호성을 보여 각각의 특징이 있는 것으로 생각된다.

표 3-60. 남자와 여자 소비자를 구분하여 분석한 소비자 기호도 결과(쌀 숙성 증류주)

남자(n=33)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도 ³⁾	바디감 정도
오크통 숙성	5.24	5.27	5.45A	5.12a ^{1)A} ²⁾	4.94	3.21	2.79
오크통블렌딩 ⁴⁾	5.18A	5.52	5.70A	5.00aA	5.42A	3.27	3.03
옹기블렌딩	5.00A	5.39	5.03A	4.58aba	4.91	3.33	2.97
옹기 숙성	4.76	5.70	5.12	4.18b	4.91	3.15	2.88

여자(n=40)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도	바디감 정도
오크통 숙성	4.58	4.63b	4.35abB	3.98B	4.45	3.6	2.93
오크통블렌딩	4.18B	5.03b	4.48abB	3.50B	4.13B	3.85	2.73
옹기블렌딩	4.13B	5.28ab	4.05bB	3.60B	4.43	3.78	2.58
옹기 숙성	4.63	5.95a	5.03a	4.00	4.58	3.85	2.73

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

²⁾표에서 남자와 여자 사이에 같은 시료에서 다른 대문자는 서로간에 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

³⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

⁴⁾블렌딩은 다른 종류의 옹기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

(나). 청포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩 한 제품의 소비자조사

오크통과 옹기에서 6개월간 숙성된 청포도 증류주의 소비자 기호도를 파악하고자 단국대학교 학생 및 직원 89명을 대상으로 소비자 기호도 조사를 진행하였다. 오크통과 옹기에서 숙성된 청포도 증류주 시료, 오크통에서 숙성된 청포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(오크통 블렌딩)과 옹기에서 숙성된 청포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(옹기 블렌딩)가 소비자 평가에 이용되었다(그림 3-76). 40도(v/v%) 알코올 함량으로 평가를 진행하기에는 알코올 함량이 강하고, 자극적이어서 정수된 물을 이용하여 20도(v/v%)로 희석하여 평가를 진행하였다. 시료는 1회용 플라스틱 소스컵(70 mL)에 약 10 mL를 넣고, 플라스틱 마개로 덮어서 알코올 및 향이 날라가는 것을 방지하였다. 패널은 그림 3-77와 같은 종이 설문지를 이용하여 평가를 진행하였다. 색상, 전반적품질, 향, 향미, 바디감 기호도에 대해 9점 척도를 이용하여 평가하였다. 또한, 알코올 강도 및 바디감의 정도에 대해 강도 평가를 just-about-right척도를 이용하였다. 시료는 mutually orthogonal Latin square design으로 각각의 패널에게 제시되어 제시 시료의 순서에 따른 오차를 최소화하였다(Wakeling and MacFie, 1995). 그림 3-78와 같이 패널은 각각의 책상에 앉아서 평가를 진행하였으며, 시료 4종과 생수를 제공하였다. 패널은 시료와 시료 사이에 주어진 생수를 이용하여 입안을 충분히 헹구도록 하여, 입안에 남아 있는 이전 시료의 흔적을 최대한 지우도록 하였다. 평가를 끝낸 패널은 소비자 평가 참여에 대한 보상으로 약 1,500원 상당의 커피 음료를 제공받았다.

그림 3-76. 청포도 숙성 증류주 소비자 평가 시료 준비 예시



그림 3-77. 청포도 숙성 증류주에 사용된 소비자 조사 평가지

성별 남(여) 나이(만) _____
 제공 청포도 숙성 증류주 (알코올 20%) 날짜 _____

1. 귀하의 음주 횟수는 어떻습니까?
 ① 1년에 1회 이상
 ② 3개월에 1회 이상
 ③ 한달에 1회 이상
 ④ 한달에 2-3회
 ⑤ 일주일에 1회
 ⑥ 일주일에 2-3회
 ⑦ 일주일에 4회 이상
2. 귀하의 주로 마시는 술은 어떤것입니까(복수응답 가능)?
 ① 소주
 ② 맥주
 ③ 막걸리
 ④ 와인
 ⑤ 위스키 등 증류주
 ⑥ 기타 _____

3. 한국 전통주에 대해 여러분이 가지는 느낌/생각은 어떻습니까? 해당하는 단어에 동그라미 해주세요(복수응답 가능).

강한 향	머리가 아프다	높은 알코올도수	맛있다	꼭넣김이 좋다
오래된 느낌	비싸다	전통적인	고급스러운	건강에 좋은
저렴한	가능성	낮은 품질	누룩향	고려다분한
다양한 맛	별맛	익숙하지 않은	높은 품질	
김이가 느껴지는 향이 좋은	디자인이 별로	숙취가 있다	아버지 술	
디자인이 좋다	구매하기 힘든	필요이 가는	시골 느낌	그냥 별보인
맛이 별로	잘 모르겠다	순한 맛	거의 안마시는	

해당하는 재료의 맛을 보신 후 귀하의 의견을 가장 잘 표현한 위치에 표시 해 주십시오. 반드시 숫자가 표기된 부분에만 답을 해주세요. 다음 시료 평가전, 물로 입안을 가신 후 평가해 주십시오.

시료 번호: _____

1. 기호도

시료의 색상은 얼마나 좋습니까? (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다 매우 싫다 보통 싫다 약간 싫다 보통이다 약간 좋다 보통 좋다 매우 좋다 대단히 좋다
전반적품질은 어떻습니까? (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다 매우 싫다 보통 싫다 약간 싫다 보통이다 약간 좋다 보통 좋다 매우 좋다 대단히 좋다
시료에서 느껴지는 향은 어떻습니까? (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다 매우 싫다 보통 싫다 약간 싫다 보통이다 약간 좋다 보통 좋다 매우 좋다 대단히 좋다
시료를 마셨을때 느껴지는 향미(종미)는 어떻습니까? (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다 매우 싫다 보통 싫다 약간 싫다 보통이다 약간 좋다 보통 좋다 매우 좋다 대단히 좋다
시료를 마셨을때 목넘김(바디감)은 어떻습니까? (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다 매우 싫다 보통 싫다 약간 싫다 보통이다 약간 좋다 보통 좋다 매우 좋다 대단히 좋다

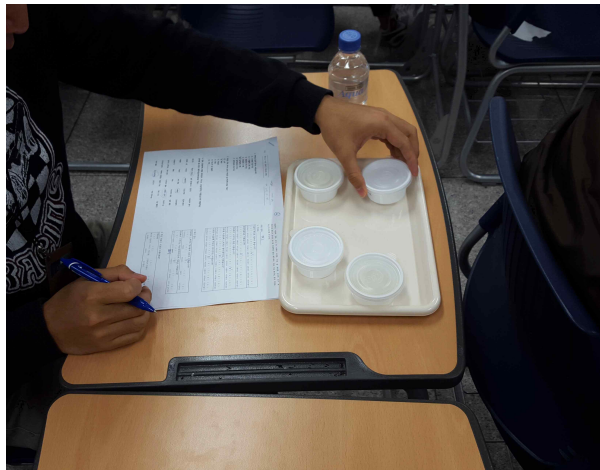
2. 특성 강도

시료에서 느껴지는 알코올의 강도는 어떻습니까? (-2) (-1) (0) (1) (2)
너무 약하다 약하다 적당하다 강하다 너무 강하다
시료에서 느껴지는 목넘김(바디감)의 강도는 어떻습니까? (-2) (-1) (0) (1) (2)
너무 약하기 힘들다 넘기기 편하다 적당하다 넘기기 편하다 너무 잘 넘어간다

3. 방금 맛보신 시료의 구매의향은?

구매의향 (1) (2) (3) (4) (5)
확실히 구입하지 아마도 구입안할 구입할지 안할지 아마도 구입할 확실히 않겠다 것이다 모르겠다 것이다 구입하겠다

그림 3-78. 소비자 조사 전경(左)와 패널 당 제공된 소비자 조사 시료, 설문지 및 생수(右)



통계분석은 시료와 시료 사이에 유의차가 있는지 확인하고자 일원분산분석을 시행하였으며, 유의차가 발견될 경우 Fisher's least square difference test를 실시하여, 어떠한 시료들 사이에 유의차가 있는지 밝혔다. 또한, 알코올 강도와 바디감 정도가 어떻게 전반적품질에 영향을 끼치는 지 알아보고자 penalty analysis를 진행하였다.

6개월간 오크통 및 옹기에 숙성된 청포도 증류주 및 블렌딩 2종 시료의 89명 소비가 기호도 및 강도 평가 결과는 표 3-61과 같다. 전반적품질, 향, 향미 기호도에서 유의차가 발견되었다 ($P < 0.05$). 전반적 품질 기호도에서 오크통 블렌딩이 4.48로 가장 낮은 기호도를 보였으며, 나머지 시료는 4.89~5.11로 유사한 수준의 기호도를 보여주었다. 색상 기호도에 있어서 옹기숙

성 및 옹기블렌딩 시료가 각각 5.84, 5.78점으로 오크통 숙성 시료보다 유의적으로 높은 기호도를 받았다($P<0.05$). 향 기호도에 있어서도 오크통 블렌딩이 4.69로 가장 낮은 기호도를 보여주었다. 옹기 블렌딩이 전반적 품질, 색상, 향 기호도에서 가장 높은 기호성을 보여주었다. 향미 및 바디감 기호도는 통계적으로 유의차가 발견되지 않았다($P>0.05$). 기호도 평가 결과를 보았을 때, 오크통 숙성의 경우 블렌딩이 기호도를 감소시켰으며, 옹기 숙성의 경우 기호도 변화에 영향을 거의 미치지 못하였다. 전반적 품질 기호도 점수가 9점 만점에서 5점 내외(4.48~5.11)의 평가를 받았다. 절대적인 점수로 평가하였을 때, 옹기 숙성 샘플에서 5점 이상의 소비자 기호도로 샘플이 마실 만 하다고 평가되었다. 그러나 술의 특성상 소비자 기호도가 높게 나타나지 않는 경향을 고려하여야 한다. Crump 등(2015)의 까르베넷 소비농 와인의 소비자 기호도는 5.7~5.9로 나타났으며, Guinard 등(2000)의 라거 맥주의 소비자 기호도는 4.05~7.30으로 평가되었다. 특히, 와인과 맥주의 경우 보드카 또는 위스키와 같은 증류주보다 손쉽게 편하게 마실 수 있는 장점으로 증류주보다 높은 소비자 기호도를 가질 수 있다는 점을 고려할 때, 본 소비자 조사에 사용된 청포도 숙성 증류주의 소비자 기호도는 적절한 것으로 판단된다. 오크통과 옹기숙성의 시료는 뚜렷하게 다른 향을 가지고 있었으며, 패널은 전반적 품질 및 향 기호도에서 유의적인 차이를 보여주었다($P>0.05$). 그러나 향미 기호도는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나, 숙성방법에 따른 향미의 차이보다 술을 마셨을 때 느껴지는 알코올과 관련된 자극이 기호도 평가에 큰 영향력을 끼쳤을 것이라 생각된다.

표 3-61. 오크통 및 옹기 숙성 청포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 소비자 기호도 및 특성 강도 평가 결과

시료	기호도					강도 ²⁾	
	전반적품질	색상	향	향미	바디감	알코올	바디감
오크통 숙성	4.89ab	4.78b	4.88ab	4.69	4.97	3.40	2.76
오크통블렌딩 ³⁾	4.48b	4.69b	4.69b	4.55	4.82	3.48	2.82
옹기 숙성	5.11a	5.78a	5.33a	4.94	4.93	3.56	2.71
옹기 블렌딩	5.06a	5.84a	5.17ab	4.93	4.73	3.56	2.65

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

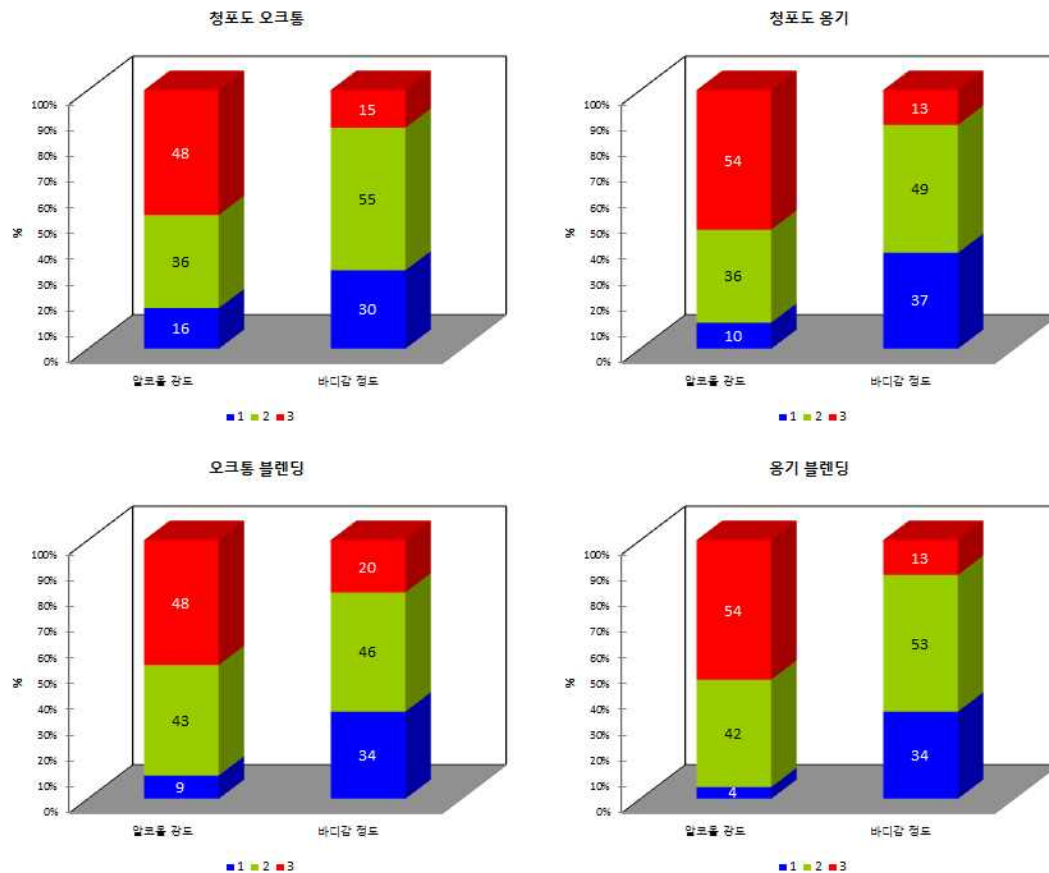
²⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

³⁾블렌딩은 다른 종류의 옹기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

알코올 강도 및 바디감 정도의 평가는 표 3-62과 같다. 알코올 강도에 대해서 시료 사이에 유의차가 발견되지 않아($P>0.05$), 모든 시료에서 유사한 것으로 판단된다. 전반적으로 알코올 강도는 3.40~3.56로 평가되었으며, 패널은 시료의 알코올 강도가 약간 강한 것으로 판단하였다. 그림 3-79의 알코올 강도에 따른 패널의 분포를 보았을 때, 오크통 숙성 및 오크통블렌딩

시료에서 느껴지는 알코올 강도가 약간 약하다고 볼 수 있다. 옹기 숙성 및 옹기 블렌딩 샘플에서 54%의 패널이 알코올이 강하다고 응답한 반면, 오크통 숙성 및 오크통 블렌딩 샘플에서 48%의 패널이 강하다고 평가하였다. 따라서, 오크통에서 나온 향미 성분들이 알코올 강도를 낮게 인지하는데 약간의 도움을 주었을 것이라 보여 진다. 바디감 정도는 옹기 블렌딩이 2.65으로 가장 높았으며, 오크통 블렌딩이 2.82로 가장 낮았으나, 통계적인 유의차는 없었다 ($P>0.05$). 숙성 및 블렌딩에 따라서 느껴지는 바디감 정도(그림 3-79)에 있어, 강도에 따른 패널의 분포도 유사한 것으로 나타났다.

그림 3-79. 오크통 및 옹기 숙성 청포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 알코올 강도 및 바디감 정도에 대한 소비자 분포(1= 약하다(넘기기 힘들다), 2=적당하다, 3=강하다(넘기기 편하다))



알코올 강도 및 바디감 정도가 전반기호도에 어떠한 방향으로 영향을 미치는지 확인하고자 penalty analysis를 진행하였다. 알코올 강도가 강하다는 평가에 있어서 모든 시료에서 유의차가 발견되었다. 이는 시료의 강한 알코올 강도가 전반적 품질에 부정적인 영향을 주는 것을 증명하며, 그림 3-79에서 볼 수 있듯이 모든 시료에서 50% 내외의 패널이 알코올 강도가 강하다고 평가한 것과 일치한다. 바디감 정도에 있어서 30~37%의 패널이 술을 넘기기 어렵

다는 평가가 있었다. 약 1/3의 패널이 시료를 마셨을 때 술 넘기는 것이 부담스러운 것으로 나타나며, 이런 특징이 전반적 품질에 어느 정도 부정적인 영향을 주는 것으로 생각된다. 그러나 옹기 블렌딩에서만 술 넘김이 힘든 것이 전반기호도에 유의미하게 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다.

표 3-62. 오크통 및 옹기 숙성 청포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 전반적 품질 및 특성 강도 평가를 이용한 penalty analysis 결과

Variable	Level	Frequencies	%	Sum (전반)	Mean (전반)	Mean drops	Standardized difference	p-value	Significant
*청포도 오크통									
알코올 강도	약하다	14	15.73%	73.000	5.214	0.098			
	적당하다	32	35.96%	170.000	5.313				
	강하다	43	48.31%	192.000	4.465	0.847	2.935	0.004	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	27	30.34%	116.000	4.296	0.581	1.980	0.051	No
	적당하다	49	55.06%	239.000	4.878				
	넘기기 쉽다	13	14.61%	80.000	6.154	-1.276			
*오크통 블렌딩									
알코올 강도	약하다	8	8.99%	34.000	4.250	0.671			
	적당하다	38	42.70%	187.000	4.921				
	강하다	43	48.31%	178.000	4.140	0.782	2.466	0.016	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	30	33.71%	119.000	3.967	0.399	1.291	0.200	No
	적당하다	41	46.07%	179.000	4.366				
	넘기기 쉽다	18	20.22%	101.000	5.611	-1.245	-3.870	0.000	Yes
*청포도 옹기									
알코올 강도	약하다	9	10.11%	44.000	4.889	0.924			
	적당하다	32	35.96%	186.000	5.813				
	강하다	48	53.93%	220.000	4.583	1.229	3.577	0.001	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	33	37.08%	151.000	4.576	0.561	1.629	0.107	No
	적당하다	44	49.44%	226.000	5.136				
	넘기기 쉽다	12	13.48%	73.000	6.083	-0.947			
*옹기 블렌딩									
알코올 강도	약하다	4	4.49%	16.000	4.000	1.568			
	적당하다	37	41.57%	206.000	5.568				
	강하다	48	53.93%	233.000	4.854	0.713	2.369	0.020	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	30	33.71%	138.000	4.600	0.698	2.297	0.024	Yes
	적당하다	47	52.81%	249.000	5.298				
	넘기기 쉽다	12	13.48%	68.000	5.667	-0.369			

표 3-63은 소비자 기호도를 남녀로 나누어서 분석한 결과이다. 남자 그룹에서 오크통 숙성 시료에서 여자 패널보다 높은 기호도를 보여주었다. 특히 향 및 향미 기호도에서 통계적인 유의차(P<0.05)를 보여주었다. 국산 청포도 와인의 증류 후 오크통 숙성으로 브랜드 제조 공정과 동일하게 진행되어, 6개월간의 숙성을 통해서 브랜드와 비슷한 향과 향미를 가지는 것

으로 생각된다. 남자의 경우 위스키 등의 고도주를 마셔본 경험이 많아서, 이러한 향과 향미에 익숙하여 여자보다 높은 향/향미 기호도를 가지는 것으로 생각된다. 따라서 오크통 숙성은 남자 중심의 마케팅 포인트로 사용할 수 있을 것이라 생각된다. 전반기호도 및 색상 기호도에 있어서 남자 및 여자 패널에서 유사한 경향성을 보였다. 특히, 오크통 블렌딩 시료에서 남/여 모두 낮은 기호성을 가지는 것으로 나타나 쌀 증류주와의 혼합에 있어서, 오크통 숙성 시료는 적합하지 않은 것으로 판단된다. 그러나 옹기 숙성의 경우 옹기 숙성 쌀 증류주를 혼합하여도 기호도의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다.

소비자 평가를 전반적으로 보았을 때, 시료의 알코올 함량을 낮추어 알코올 강도를 약하게 하고 술의 목 넘김을 쉽게 할 필요가 있다고 보여 진다. 다수의 패널이 알코올 강도가 강하다고 평가 한 것은, 현재의 저도주 경향과 무관하지 않다고 생각된다. 전반적으로 낮은 점수의 기호도는 penalty analysis에서도 알 수 있듯이 강한 알코올 강도와 무관하지 않다. 오크통 숙성 시료의 경우 특히 여성 패널이 낮은 기호성을 보여주었다. 남/여 모두 옹기 숙성 시료의 평가의 점수가 높아 옹기 숙성이라는 전통적인 숙성 방법을 마케팅 포인트로 이용한다면 포도를 이용한 고급 증류주를 생산할 수 있을 것이라 생각된다. 또한, 쌀 옹기 숙성 증류주를 일정 부분 블렌딩하여도, 소비자 기호도 측면에서 미세한 차이를 보이므로, 쌀 증류주를 베이스로 사용하여 제조 단가를 낮추어 가격 경쟁력을 확보 할 수 있을 것이라 보여 진다. 오크통 숙성은 남자들이 선호하는 것으로 나타나, 시장을 세분화 한다면 오크통 숙성을 마케팅 포인트로 남성 소비자를 공략할 수 있을 것이다.

표 3-63. 남자와 여자 소비자를 구분하여 분석한 소비자 기호도 결과

남자 (n=46)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올 강도	바디감 정도
청포도 오크통	5.02ab	5.02b	5.24A	5.02A	4.93	3.17	2.80
오크 블렌딩	4.50b	4.96b	4.91	4.59	4.96	3.30	2.87
옹기 블렌딩	5.07ab	5.67a	5.41	5.13	5.17	3.48	2.85
청포도 옹기	5.11a	5.63a	5.48	5.00	4.98	3.50	2.85

여자 (n=43)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올 강도	바디감 정도
청포도 오크통	4.74ab	4.51b	4.49B	4.33B	5.00	3.65	2.72
오크 블렌딩	4.47b	4.40b	4.44	4.51	4.67	3.67	2.77
옹기 블렌딩	5.16a	5.88a	5.23	4.74	4.67	3.65	2.56
청포도 옹기	5.00ab	6.07a	4.84	4.86	4.47	3.63	2.44

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

²⁾표에서 남자와 여자 사이에 같은 시료에서 다른 대문자는 서로간에 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

³⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

⁴⁾블렌딩은 같은 종류의 옹기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

(다). 적포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩 한 제품의 소비자조사

오크통과 옹기에서 6개월간 숙성된 적포도 증류주의 소비자 기호도를 파악하고자 단국대학교 학생 및 직원 84명을 대상으로 소비자 기호도 조사를 진행하였다(그림 3-80). 오크통과 옹기에서 숙성된 적포도 증류주 시료, 오크통에서 숙성된 적포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(오크통 블렌딩)과 옹기에서 숙성된 적포도 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(옹기 블렌딩)가 소비자 평가에 이용되었다. 40도(v/v%) 알코올 함량으로 평가를 진행하기에는 알코올 함량이 강하고, 자극적이어서 정수된 물을 이용하여 20도(v/v%)로 희석하여 평가를 진행하였다. 시료는 1회용 플라스틱 소스컵(70 mL)에 약 10 mL를 넣고, 플라스틱 마개로 덮어서 알코올 및 향이 날라가는 것을 방지하였다. 패널은 그림 3-81와 같은 종이 설문지를 이용하여 평가를 진행하였다. 색상, 전반적품질, 향, 향미, 바디감 기호도에 대해 9점 척도를 이용하여 평가하였다. 또한, 알코올 강도 및 바디감의 정도에 대해 강도 평가를 just-about-right 척도를 이용하였다. 시료는 mutually orthogonal Latin square design으로 각각의 패널에게 제시되어 제시 시료의 순서에 따른 오차를 최소화하였다(Wakeling and MacFie, 1995). 패널은 시료와 시료 사이에 주어진 생수를 이용하여 입안을 충분히 헹구도록하여, 입안에 남아있는 이전 시료의 흔적을 최대한 지우도록 하였다. 평가를 끝낸 패널은 소비자 평가 참여에 대한 보상으로 약 1,500원 상당의 커피 음료를 제공받았다.

그림 3-80. 증류주의 소비자 평가 사진



통계분석은 시료와 시료 사이에 유의차가 있는지 확인하고자 일원분산분석을 시행하였으며, 유의차가 발견될 경우 Fisher's least square difference test를 실시하여, 어떠한 시료들 사이에 유의차가 있는지 밝혔다. 또한, 알코올 강도와 바디감 정도가 어떻게 전반적품질에 영향을 끼치는 지 알아보고자 penalty analysis를 진행하였다.

그림 3-81. 오크통 및 옹기 숙성 적포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 소비자 평가에 사용된 설문지

은 기호도 경향성을 보여, 용기 숙성 시 술의 향과 향미 기호도가 높아지는 것으로 판단된다. 바디감은 모든 시료에서 5점 이하로 평가되어, 높은 알코올 도수(20%, v/v)로 인하여 바디감 기호도가 떨어지는 것으로 생각된다.

표 3-64. 오크통 및 용기 숙성 적포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 소비자 기호도 및 특성 강도 평가 결과

시료	기호도					강도 ²⁾	
	전반적품질	색상	향	향미	바디감	알코올	바디감
오크통 숙성	4.90	4.77b ¹⁾	4.80	4.56	4.92	3.44	2.82
오크통블렌딩 ³⁾	4.57	4.62b	4.61	4.54	4.86	3.43	2.92
용기 숙성	5.08	5.83a	5.11	4.81	4.93	3.52	2.75
용기 블렌딩	5.05	5.88a	5.04	4.89	4.76	3.55	2.71

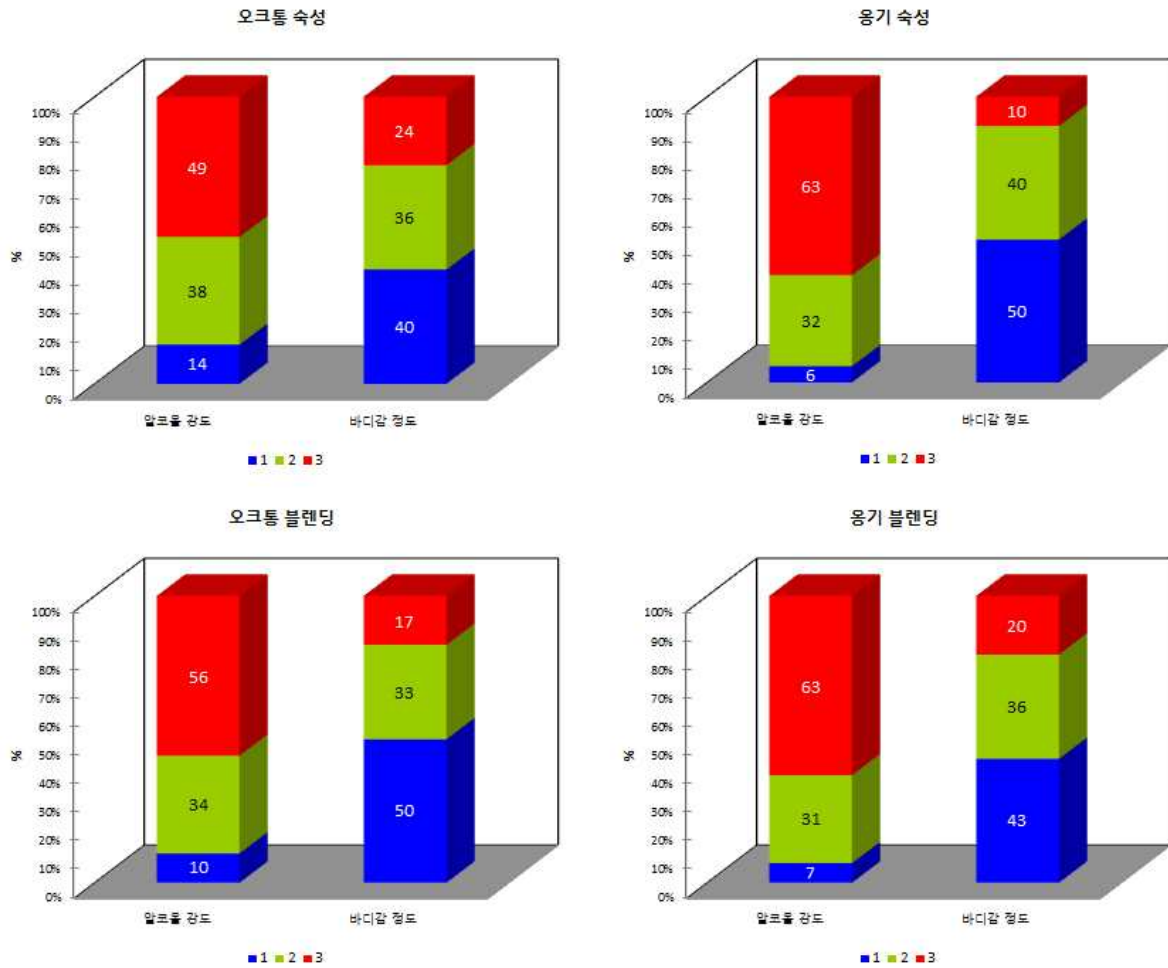
¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P < 0.05$)을 나타냄.

²⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

³⁾블렌딩은 다른 종류의 용기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

알코올 강도 및 바디감 정도의 평가는 표 3-65과 같다. 알코올 강도에 대해서 시료 사이에 유의차가 발견되지 않아($P > 0.05$), 모든 시료에서 유사한 것으로 판단된다. 전반적으로 알코올 강도는 3.52~3.74로 평가되었으며, 전반적으로 패널은 시료의 알코올 강도가 약간 강한 것으로 판단된다. 그림 3-82의 알코올 강도에 따른 패널의 분포를 보았을 때, 오크통 숙성 및 블렌딩 시료에서 느껴지는 알코올 강도가 약간 약하다고 볼 수 있다. 용기 숙성 및 용기 블렌딩 샘플에서 63%의 패널이 알코올이 강하다고 응답한 반면, 오크통 숙성 및 오크통 블렌딩 샘플에서 49~56%의 패널이 강하다고 평가하였다. 따라서, 오크통에서 나온 향미 성분들이 알코올 강도를 낮게 인지하는데 약간의 도움을 주었을 것이라 보여 진다. 바디감 정도는 오크통 블렌딩이 2.92으로 가장 높았으며, 용기 숙성이 2.71로 가장 낮았으나, 통계적인 유의차는 없었다($P > 0.05$). 숙성 및 블렌딩에 따라서 느껴지는 바디감 정도에 있어, 강도에 따른 패널의 분포도 유사한 것으로 나타났다.

그림 3-82. 오크통 및 용기 숙성 적포도 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 알코올 강도 및 바디감 정도에 대한 소비자 분포(1= 약하다(넘기기 힘들다), 2=적당하다, 3=강하다(넘기기 편하다))



알코올 강도 및 바디감 정도가 전반기호도에 어떠한 방향으로 영향을 미치는지 확인하고자 penalty analysis를 진행하였다. 알코올 강도에 있어서 오크통 블렌딩, 용기 숙성, 용기 블렌딩 시료에서 유의차가 발견되었다. 이는 술의 강한 알코올 강도가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것을 증명하며, 그림 3-82에서 볼 수 있듯이 오크 숙성을 제외하고 50%이상의 패널이 알코올 강도가 강하다고 평가한 것과 일치한다. 바디감 정도에 있어서 오크통숙성, 오크통 블렌딩에서 술을 넘기기 어렵다는 평가가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 또한, 오크통 숙성 및 용기 블렌딩에서 '넘기기 편하다'에서 유의차가 발견되어 술을 넘기기 편하게 만들면 만들수록 소비자 기호도가 올라간다고 분석되었다.

표 3-65. 오크통 및 용기 숙성 사과 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 전반적품질 및 특성 강도 평가를 이용한 penalty analysis 결과

시료	Level	Frequency	%	Sum	Mean	Mean drops	Standardized difference	p-value	Significant
*오크통숙성									
알코올 강도	약하다	8	9.52%	44.000	5.500	-0.36 ₅			
	적당하다	37	44.05%	190.000	5.135				
	강하다	39	46.43%	178.000	4.564	0.571	1.866	0.066	No
바디감 정도	넘기기 어렵다	23	27.38%	110.000	4.783	-0.04 ₅	-0.136	0.892	No
	적당하다	42	50.00%	199.000	4.738				
	넘기기 쉽다	19	22.62%	103.000	5.421	-0.68 ₃	-2.271	0.026	Yes
*오크통 블렌딩									
알코올 강도	약하다	8	9.52%	32.000	4.000	1.027			
	적당하다	37	44.05%	186.000	5.027				
	강하다	39	46.43%	166.000	4.256	0.771	2.415	0.018	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	23	27.38%	93.000	4.043	0.409	1.209	0.230	No
	적당하다	42	50.00%	187.000	4.452				
	넘기기 쉽다	19	22.62%	104.000	5.474	-1.02 ₁	-3.022	0.003	Yes
*옹기숙성									
알코올 강도	약하다	10	11.90%	48.000	4.800	1.097			
	적당하다	29	34.52%	171.000	5.897				
	강하다	45	53.57%	205.000	4.556	1.341	3.673	0.000	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	29	34.52%	133.000	4.586	0.511	1.369	0.175	No
	적당하다	41	48.81%	209.000	5.098				
	넘기기 쉽다	14	16.67%	82.000	5.857	-0.76 ₀			
*옹기 블렌딩									
알코올 강도	약하다	5	5.95%	24.000	4.800	0.686			
	적당하다	35	41.67%	192.000	5.486				
	강하다	44	52.38%	211.000	4.795	0.690	2.103	0.039	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	29	34.52%	131.000	4.517	0.758	2.300	0.024	Yes
	적당하다	40	47.62%	211.000	5.275				
	넘기기 쉽다	15	17.86%	85.000	5.667	-0.39 ₂			

표 3-66은 소비자 기호도를 남녀로 나누어서 분석한 결과이다. 남자 그룹에서 오크통 숙성 시료가 약간 높은 기호도를 보여주었다. 그러나 통계적인 유의차는 발견되지 않았다. 색상 기호도는 남녀간에 커다란 차이를 보이지 않고, 옹기 숙성인 투명한 색을 선호하는 것으로 나타났다. 오크통 숙성 시료에서 남자들이 향과 향미의 기호도를 여자들보다 높게 평가되었다 ($P<0.05$). 국산 적포도 와인의 증류 후 오크통 숙성으로 브랜디 제조 공정과 동일하게 진행되어, 6개월간의 숙성을 통해서 브랜디와 비슷한 향과 향미를 가지는 것으로 생각된다. 남자의 경우 위스키 등의 고도주를 마셔본 경험이 많아서, 이러한 향과 향미에 익숙하여 여자보다 높은 향/향미 기호도를 가지는 것으로 생각된다. 따라서 오크통 숙성은 남자 중심의 마케팅 포인트로 사용할 수 있을 것이라 생각된다.

소비자 평가를 전반적으로 보았을 때, 시료의 알코올 함량을 낮추어 알코올 강도를 약하게 하고 술의 목넘김을 쉽게 할 필요가 있다고 보여 진다. 다수의 패널이 알코올 강도가 강하다고 평가 한 것은, 현재의 저도주 경향과 무관하지 않다고 생각된다. 전반적으로 낮은 점수의 기호도는 penalty analysis에서도 알 수 있듯이 강한 알코올 강도와 무관하지 않다. 오크통 숙성 시료의 경우 색상에서 낮은 기호도를 가지는 것으로 평가되었으며, 전반적 품질, 향 및 향미 기호도에서 전반적으로 옹기 숙성 시료가 우수하다고 평가되었다. 따라서, 오크통 숙성을 통해서 브랜디를 따라가는 것보다, 국산 소비자는 투명한 색의 술을 선호하므로 옹기 숙성이라는 전통적인 숙성 방법을 마케팅 포인트로 이용한다면 포도를 이용한 고급 증류주를 생산할 수 있을 것이라 생각된다. 또한, 쌀 옹기 숙성 증류주를 일정 부분 블렌딩하여도, 소비자 기호도 측면에서 미세한 차이를 보이므로, 쌀 증류주를 베이스로 사용하여 제조 단가를 낮추어 가격 경쟁력을 확보 할 수 있을 것이라 보여 진다. 오크통 숙성은 남자들이 선호하는 것으로 나타나, 시장을 세분화 한다면 오크통 숙성을 마케팅 포인트로 남성 소비자를 공략할 수 있을 것이다.

표 3-66. 남자와 여자 소비자를 구분하여 분석한 소비자 기호도 결과

남자 (n=45)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도 ³⁾	바디감 정도
적포도 오크통	5.11	5.04bc ¹⁾	5.20A ²⁾	4.89A	4.96	3.22	2.84
오크 블렌딩 ⁴⁾	4.60	4.80c	4.91	4.58	5.02	3.22	3.00
옹기 블렌딩	5.09	5.78a	5.20	4.93	5.04	3.50	2.87
적포도 옹기	5.11	5.64ab	5.33	5.07	5.09	3.42	2.91

여자 (n=39)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도	바디감 정도
적포도 오크통	4.67	4.46b ¹⁾	4.33B	4.18B	4.87	3.69	2.79
오크 블렌딩	4.54	4.41b	4.26	4.49	4.67	3.67	2.82
옹기 블렌딩	5.08	5.90a	5.00	4.67	4.79	3.56	2.62
적포도 옹기	4.97	6.15a	4.69	4.69	4.38	3.69	2.49

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

²⁾표에서 남자와 여자 사이에 같은 시료에서 다른 대문자는 서로간에 통계적으로 유의차가 있음($P<0.05$)을 나타냄.

3) 강도 평가는 just-about-right 척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

4) 블렌딩은 같은 종류의 용기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

(라). 사과 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩 한 제품의 소비자조사

오크통과 용기에서 6개월간 숙성된 사과 증류주의 소비자 기호도를 파악하고자 단국대학교 학생 및 직원 88명을 대상으로 소비자 기호도 조사를 진행하였다. 오크통과 용기에서 숙성된 사과 증류주 시료, 오크통에서 숙성된 사과 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(오크통 블렌딩)과 용기에서 숙성된 사과 증류주와 쌀 증류주를 블렌딩한 시료(용기 블렌딩)가 소비자 평가에 이용되었다. 40도(v/v%) 알코올 함량으로 평가를 진행하기에는 알코올 함량이 강하고, 자극적이어서 정수된 물을 이용하여 20도(v/v%)로 희석하여 평가를 진행하였다. 시료는 1회용 플라스틱 소스컵(70 mL)에 약 10 mL를 넣고, 플라스틱 마개로 덮어서 알코올 및 향이 날라가는 것을 방지하였다. 패널은 그림 3-83과 같은 종이 설문지를 이용하여 평가를 진행하였다. 색상, 전반적품질, 향, 향미, 바디감 기호도에 대해 9점 척도를 이용하여 평가하였다. 또한, 알코올 강도 및 바디감의 정도에 대해 강도 평가를 just-about-right 척도를 이용하였다. 시료는 mutually orthogonal Latin square design으로 각각의 패널에게 제시되어 제시 시료의 순서에 따른 오차를 최소화하였다(Wakeling and MacFie, 1995). 패널은 시료와 시료 사이에 주어진 생수를 이용하여 입안을 충분히 헹구도록하여, 입안에 남아있는 이전 시료의 흔적을 최대한 지우도록 하였다. 평가를 끝낸 패널은 소비자 평가 참여에 대한 보상으로 약 1,500원 상당의 쿠키 또는 음료를 제공받았다.

그림 3-83. 오크통 및 용기 숙성 사과 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 소비자평가에 사용된 설문지

제품	사과 증류주 (알코올 20%)	상명 남/여	나이(만)	_____
		남/여		_____

해당하는 세로의 맛을 보신 후 귀하의 의견을 가장 잘 표현한 위치에 표시 해 주십시오. 반드시 숫자가 표기된 부분에만 답을 해주세요. 다음 시료 평가권, 물로 입안을 가신 후 평가해 주십시오.

시료 번호: _____

1. 기호도

시료의 색상은 얼마나 좋습니까?	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다. 매우 싫다. 보통 싫다. 약간 싫다. 보통이다. 약간 좋다. 보통 좋다. 매우 좋다. 대단히 좋다.	
전반적품질은 어떻습니까?	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다. 매우 싫다. 보통 싫다. 약간 싫다. 보통이다. 약간 좋다. 보통 좋다. 매우 좋다. 대단히 좋다.	
시료에서 느껴지는 향은 어떻습니까?	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다. 매우 싫다. 보통 싫다. 약간 싫다. 보통이다. 약간 좋다. 보통 좋다. 매우 좋다. 대단히 좋다.	
시료를 마셨을때 느껴지는 향미(풍미)는 어떻습니까?	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다. 매우 싫다. 보통 싫다. 약간 싫다. 보통이다. 약간 좋다. 보통 좋다. 매우 좋다. 대단히 좋다.	
시료를 마셨을때 목넘김(바디감)은 어떻습니까?	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9)
대단히 싫다. 매우 싫다. 보통 싫다. 약간 싫다. 보통이다. 약간 좋다. 보통 좋다. 매우 좋다. 대단히 좋다.	

2. 특성 강도

시료에서 느껴지는 알코올의 강도는 어떻습니까?	(-2) (-1) (0) (1) (2)
너무 약하다. 약하다. 적당하다. 강하다. 너무 강하다.	
시료에서 느껴지는 목넘김(바디감)의 강도는 어떻습니까?	(-2) (-1) (0) (1) (2)
너무 연기가 힘없다. 연기가 편하다. 적당하다. 연기가 편하다. 너무 잘 넘어간다.	

3. 발금 맞보신 시료의 구매의향은?

구매의향	(1) (2) (3) (4) (5)
확실히 구입하지 않아도 구입안할 것이다. 구입할지 안할지 모르겠다. 아마도 구입할 것이다. 확실히 구입하겠다.	

3. 한국 전통주에 대해 여러분이 가지는 느낌은 어떻습니까? 해당하는 단어에 동그라미 해주세요(복수응답 가능).

강한 향	머리가 아프다	높은 알코올도수	맛있다	목넘김이 좋다
오래된 느낌	비싸다	전통적인	고급스러운	건강에 좋은
저렴한	기호성	낮은 품질	누룩향	고리타분한
다양한 맛	별칭	약주	익숙하지 않은	높은 품질
길이가 느껴지는	향이 좋은	디자인이 별로	속취가 있다	아버지 술
디자인이 좋다	구매하기 편리한	임용이 가는	시골 느낌	그냥 별로인
맛이 별로	잘 모르겠다	순한 맛	거의 안마시는	

통계분석은 시료와 시료 사이에 유의차가 있는지 확인하고자 일원분산분석을 시행하였으며, 유의차가 발견될 경우 Fisher's least square difference test를 실시하여, 어떠한 시료들 사이에 유의차가 있는지 밝혔다. 또한, 알코올 강도와 바디감 정도가 어떻게 전반적품질에 영향을 끼치는 지 알아보하고자 penalty analysis를 진행하였다.

표 3-67. 오크통 및 옹기 숙성 사과 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 소비자 기호도 및 특성 강도 평가 결과

시료	기호도					강도	
	전반적품질	색상	향	향미	바디감	알코올	바디감
오크통숙성	4.27a ¹⁾	4.70b	4.01a	4.09a	4.55a	3.52a ²⁾	2.76a
오크통블렌딩 ³⁾	4.41a	4.89b	4.31a	3.86a	4.52a	3.57a	2.53ab
옹기 숙성	4.23a	5.57a	4.19a	3.72a	3.98b	3.72a	2.45b
옹기 블렌딩	4.53a	5.64a	3.94a	3.99a	4.45a	3.74a	2.64ab

¹⁾각각의 열에서 다른 알파벳을 통계적으로 유의차가 있음($P < 0.05$)을 나타냄.

²⁾강도 평가는 just-about-right척도(1=매우 약하다(힘들다), 3=적당하다, 5=매우 강하다(편하다))를 사용하여 평가함.

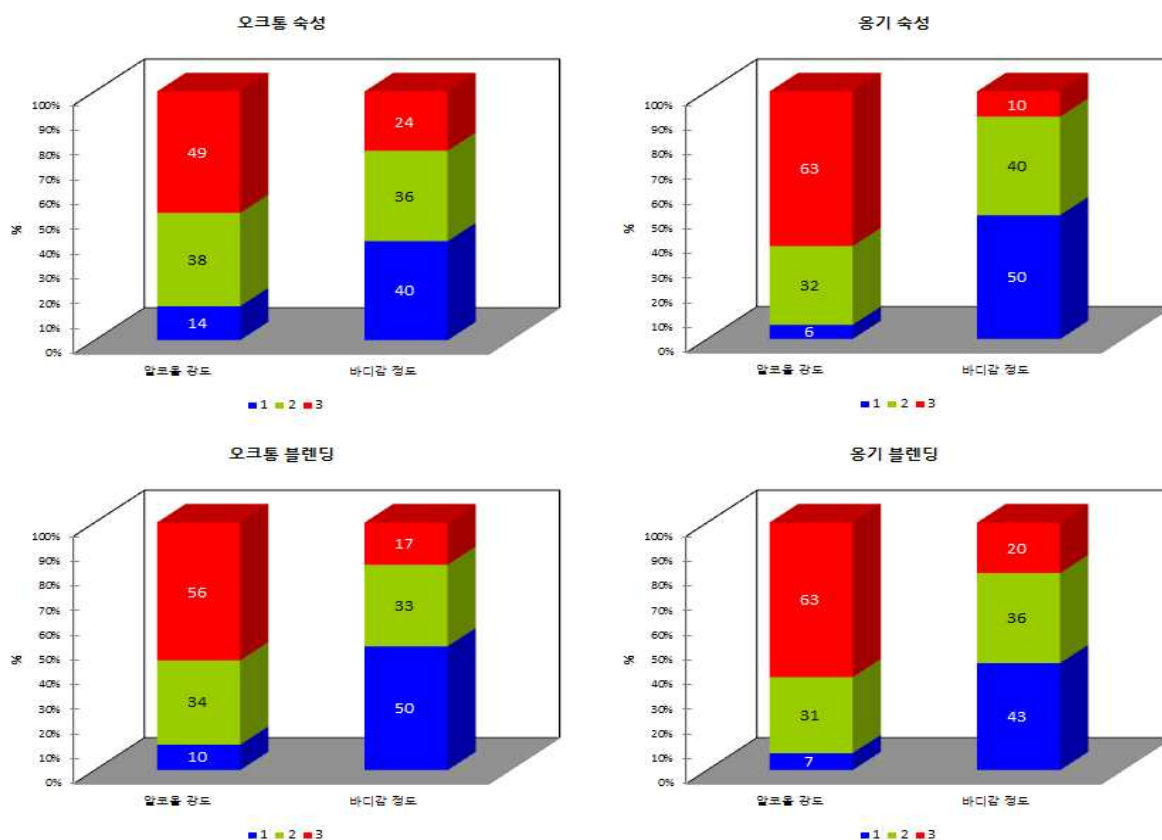
³⁾블렌딩은 같은 종류의 옹기에서 숙성된 쌀 증류주를 일정부분 블렌딩하여 제조함.

6개월간 오크통 및 옹기에 숙성된 사과 증류주 및 블렌딩 2종 시료의 88명 소비자가 기호도 및 강도 평가 결과는 표 3-67과 같다. 전반적품질, 향 및 향미 기호도에서 통계적으로 유의차가 없었다($P > 0.05$). 특히, 전반적품질 기호도에서 유의적인 차이가 발견되지 않아, 사과 증류주의 숙성 옹기 또는 쌀 증류주와의 블렌딩이 소비자 기호도에는 큰 영향을 미치지 않았다고 생각된다. 대부분의 평가에서 9점 만점에서 5점 이하(4.23~4.53)의 평가를 받아, 절대적인 점수로 평가하였을 때, 소비자 기호도가 높지 않은 것으로 나타났다. 그러나, 술의 특성상 소비자 기호도가 높게 나타나지 않는 경향이 있다. Crump 등(2015)의 까르베넷 쇼비농 와인의 소비자 기호도는 5.7~5.9로 나타났으며, Guinard 등(2000)의 라거 맥주의 소비자 기호도는 4.05~7.30으로 평가되었다. 특히, 와인과 맥주의 경우 보드카 또는 위스키와 같은 증류주보다 손쉽고 편하게 마실 수 있는 장점으로 증류주보다 높은 소비자 기호도를 가질 수 있다는 점을 고려할 때, 본 소비자 조사에 사용된 쌀 숙성 증류주의 소비자 기호도는 적절한 것으로 판단된다. 오크통과 옹기숙성의 시료는 뚜렷하게 다른 향을 가지고 있으나, 숙성 방법의 차이에 따른 향의 특징이 소비자 기호도에 유의미하게 영향을 미치지 못하였다.

색상 기호도에 있어서 옹기숙성 및 옹기블렌딩 시료가 각각 5.64, 5.57점으로 오크통 숙성 시료보다 유의적으로 높은 기호도를 받았다($P < 0.05$). 패널들이 황갈색 빛의 오크통 숙성 시료보다 소주/보드카처럼 투명한 술의 색을 더 선호하는 것으로 나타났다. 바디감 기호도에서 옹기 숙성 시료가 3.98점으로 다른 시료보다 낮은 기호도를 보였다($P < 0.05$). 시료를 마셨을 때,

입안에서 느껴지는 자극이나 목넘김에 다른 시료보다 힘들었던 것으로 생각된다.

그림 3-84. 오크통 및 옹기 숙성 사과 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 알코올 강도 및 바디감 정도에 대한 소비자 분포(1= 약하다(넘기기 힘들다), 2=적당하다, 3=강하다(넘기기 편하다))



알코올 강도 및 바디감 정도의 평가는 표 3-68과 같다. 알코올 강도에 대해서 시료 사이에 유의차가 발견되지 않아($P>0.05$), 모든 시료에서 유사한 것으로 판단된다. 전반적으로 알코올 강도는 3.52~3.74로 평가되었으며, 전반적으로 패널은 시료의 알코올 강도가 약간 강한 것으로 판단된다. 그림 3-84의 알코올 강도에 따른 패널의 분포를 보았을 때, 오크통 숙성 및 블렌딩 시료에서 느껴지는 알코올 강도가 약간 약하다고 볼 수 있다. 오크통에서 나온 향미 성분들이 알코올 강도를 낮게 인지하는데 약간의 도움을 주었을 것이라 보여 진다. 바디감 정도는 오크통 숙성이 2.76으로 가장 높았으며, 옹기 숙성이 2.45로 가장 낮았다($P<0.05$). 옹기 숙성 시료는 블렌딩을 통해서 술을 마셨을 때의 느낌 및 목넘김을 부드럽게 할 필요성이 있다고 보여 진다.

알코올 강도 및 바디감 정도가 전반기호도에 어떠한 방향으로 영향을 미치는지 확인하고자 penalty analysis를 진행하였다.

표 3-68. 오크통 및 옹기 숙성 사과 증류주 및 쌀 증류주와의 블렌딩 시료의 전반적품질 및 특성 강도 평가를 이용한 penalty analysis 결과

시료	Level	Frequency	%	Sum	Mean	Mean drops	Standardized difference	p-value	Significant
*오크통숙성									
알코올 강도	약하다	12	13.64%	51.000	4.25 ₀	0.508			
	적당하다	33	37.50%	157.00 ₀	4.75 ₈				
	강하다	43	48.86%	168.00 ₀	3.90 ₇	0.851	2.846	0.006	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	35	39.77%	133.00 ₀	3.80 ₀	0.669	2.440	0.017	Yes
	적당하다	32	36.36%	143.00 ₀	4.46 ₉				
	넘기기 쉽다	21	23.86%	100.00 ₀	4.76 ₂	-0.29 ₃	-0.892	0.375	No
*오크통 블렌딩									
알코올 강도	약하다	9	10.23%	38.000	4.22 ₂	0.478			
	적당하다	30	34.09%	141.00 ₀	4.70 ₀				
	강하다	49	55.68%	209.00 ₀	4.26 ₅	0.435	1.358	0.178	No
바디감 정도	넘기기 어렵다	44	50.00%	177.00 ₀	4.02 ₃	0.598	2.244	0.027	Yes
	적당하다	29	32.95%	134.00 ₀	4.62 ₁				
	넘기기 쉽다	15	17.05%	77.000	5.13 ₃	-0.51 ₃			
*옹기숙성									
알코올 강도	약하다	5	5.68%	21.000	4.20 ₀	0.479			
	적당하다	28	31.82%	131.00 ₀	4.67 ₉				
	강하다	55	62.50%	220.00 ₀	4.00 ₀	0.679	2.232	0.028	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	44	50.00%	174.00 ₀	3.95 ₅	0.617	2.167	0.033	Yes
	적당하다	35	39.77%	160.00 ₀	4.57 ₁				
	넘기기 쉽다	9	10.23%	38.000	4.22 ₂	0.349			
*옹기 블렌딩									
알코올 강도	약하다	6	6.82%	34.000	5.66 ₇	-0.44 ₄			
	적당하다	27	30.68%	141.00 ₀	5.22 ₂				
	강하다	55	62.50%	224.00 ₀	4.07 ₃	1.149	3.477	0.001	Yes
바디감 정도	넘기기 어렵다	38	43.18%	162.00 ₀	4.26 ₃	0.206	0.655	0.514	No
	적당하다	32	36.36%	143.00 ₀	4.46 ₉				
	넘기기 쉽다	18	20.45%	94.000	5.22 ₂	-0.75 ₃	-2.150	0.034	Yes

알코올 강도에 있어서 오크통 숙성, 옹기숙성, 옹기 블렌딩 시료에서 유의차가 발견되었다. 이는 술의 강한 알코올 강도가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것을 증명한다. 바디감

정도에 있어서 오크통숙성, 오크통 블렌딩 및 옹기 숙성 시료에서 술 넘기기 어렵다는 평가가 전반적품질에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 또한, 오크통 숙성 및 옹기 블렌딩에서 20% 이상의 패널이 ‘넘기기 편하다’라고 평가하여, 이들 시료는 현재의 바디감 정도가 적당하다고 판단된다.

소비자 평가를 전반적으로 보았을 때, 시료의 알코올 함량을 낮출 필요가 있다고 보여진다. 다수의 패널이 알코올 강도가 강하고 평가 한 것은, 현재의 저도주 경향과 무관하지 않다고 생각된다. 전반적으로 낮은 점수의 기호도는 penalty analysis에서도 알 수 있듯이 강한 알코올 강도와 무관하지 않다. 오크통 숙성 시료의 경우 색상에서 낮은 기호도를 제외하면 옹기 숙성 시료보다 약간 우수하다고 생각된다. 오크통 숙성의 경우 하나의 마케팅 포인트로 이용한다면 색상 기호도의 차이는 극복 할 수 있을 것이라 판단된다. 옹기 숙성 시료의 바디감 기호도 및 정도가 가장 낮게 평가되어, 그 자체로의 제품 출시보다 바디감에 대한 기호도를 높이고, 목 넘김을 편하게 하기 위해 다른 술과의 블렌딩이 필요할 것으로 보여진다.

표 3-69. 남자와 여자 소비자를 구분하여 분석한 소비자 기호도 결과

남자 (n=21)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도	바디감 정도
사과 오크통	5.19A	5.19A	4.86abA	4.81	5.14A	3.33	2.9
오크통블렌딩	5.52A	5.19A	5.38aA	4.48A	4.86A	3.48	2.62
옹기 블렌딩	5.29	4.81	4.00bc	4.38	4.38	3.67	2.67
사과 옹기	5.38	4.29	3.81c	4.10	4.05	3.62	2.29

여자 (n=70)	전반기호도	색상	향	향미	바디감	알코올강도	바디감 정도
사과 오크통	4.50bB	3.86B	3.70B	3.74	4.26B	3.63	2.69
오크 블렌딩	4.61bB	4.04B	3.89B	3.63B	4.33B	3.61	2.49
옹기 블렌딩	5.71a	4.34	3.89	3.81	4.43	3.79	2.59
사과 옹기	5.63a	4.07	4.17	3.51	3.91	3.80	2.50

사과 숙성 증류주의 남녀간 평가는 다른 경향성을 보여준다. 특히 오크통 숙성 시료 및 블렌딩 시료에서 남녀간의 기호도 차이가 보였다. 오크통 숙성 사과 증류주 및 오크통 숙성 사과 증류주에 쌀 증류주가 일정부분 혼합된 오크통 블렌딩 시료에서 남자들의 기호도가 전반적으로 여자보다 높게 나타났다. 오크통 숙성과 오크통 블렌딩의 전반기호도, 향 및 향미 기호도에서 남자 패널에서 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 남자 패널은 시료 간에 기호도의 차이를 보이지 않았으며, 여자 패널보다 전반적으로 높은 기호도를 보였다. 그러나 여자 패널은 오크통 숙성과 관련된 시료의 기호도에 낮은 평가를 주었다. 특히 여자 패널은 오크통 숙성 및 블렌딩 시료의 색상, 향, 향미에 있어서 매우 낮은 기호도를 보여주었다. 보리 및 옥수수 증류주에 오크통에 숙성하는 위스키나 포도를 증류하여 오크통에 숙성하는 브랜드와 비교해서 술을 만드는 재료가 쌀인 것이 차이점으로, 고도주에 익숙한 남자 패널에 오크통 숙성에 대해서 높은 기호도를 가지는 것으로 생각된다. 반면에 오크통 숙성을 통해서 나타나는

술의 황갈색, 향, 향미는 여자 패널들에게 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 따라서, 사과 증류주의 숙성에 있어서, 옹기는 전체 남/여 패널에 있어서 무난한 기호성을 보였으며, 오크통은 남자 패널에게 높은 기호성을 보여 각각의 특징이 있는 것으로 생각된다.

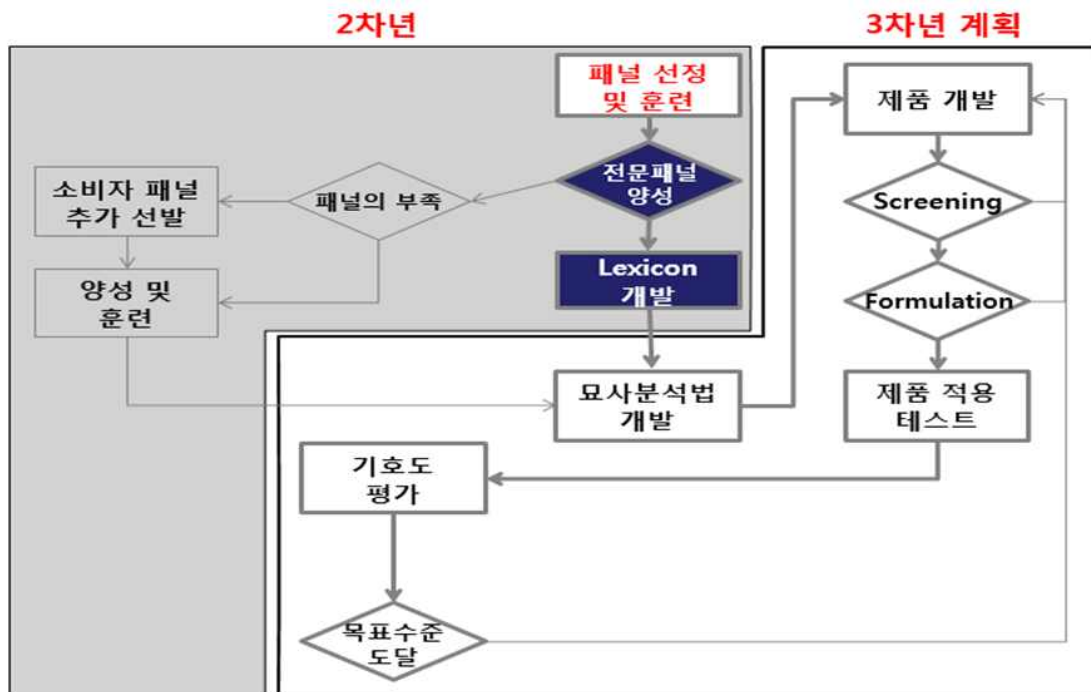
3. 묘사분석 패널 선정 및 양성(3차)

2차년도에서는 본 연구과제에서 개발되는 과실 증류주의 핵심 관능지표 도출을 위한 Lexicon 을 개발하고 각 특성에 대한 표준시료를 개발하였다. 3차년도에서는 개발된 증류주 lexicon 활용능력을 검증하고 패널 차이식별력, 재현성, 반복성 평가 및 훈련을 진행하여 최종 전문패널을 양성한다.

증류주 제품의 맛과 향에 대한 관능성분 묘사, 강도 측정 등을 수행하는 고도로 훈련된 관능평가 패널을 3차 양성하기 위하여 과제 3차년에 다음과 같은 세부 절차 및 일정으로 패널 양성을 진행하였으며 본 패널을 활용하여 앞선 chapter에서 묘사분석과 소비자기호도 평가를 진행하였다.

가. 세부절차 및 일정

그림 3-85. 패널 훈련 세부절차



나. 패널양성

증류주 묘사분석 패널은 경력2년의 묘사분석패널 3명과(남2 여1) 스크리닝 테스트를 통해 선출된 상위 4명(남3 여1)이 선정되었다. 스크리닝 테스트(Screening test)는 1차적으로 1:1 면

단맛 강도	%	설탕 (g)	물 (g)	합	신맛 강도	%	구연산 (g)	물 (g)	합	쓴맛 강도	%	카페인 (g)	물 (g)	합
1	1	1	99	100	1	0.04	0.04	99.96	100	1	0.04	0.04	99.96	100
2	2	2	98	100	2	0.05	0.05	99.95	100	2	0.05	0.05	99.95	100
3	3	3	97	100	3	0.06	0.06	99.94	100	3	0.06	0.06	99.94	100
4	4	4	96	100	4	0.07	0.07	99.93	100	4	0.07	0.07	99.93	100
5	5	5	95	100	5	0.08	0.08	99.92	100	5	0.08	0.08	99.92	100
6	6	6	94	100	6	0.094	0.094	99.906	100	6	0.094	0.094	99.906	100
7	7	7	93	100	7	0.108	0.108	99.892	100	7	0.108	0.108	99.892	100
8	8	8	92	100	8	0.122	0.122	99.878	100	8	0.122	0.122	99.878	100
9	9	9	91	100	9	0.136	0.136	99.864	100	9	0.136	0.136	99.864	100
10	10	10	90	100	10	0.15	0.15	99.85	100	10	0.15	0.15	99.85	100
11	11	11	89	100	11	0.16	0.16	99.84	100	11	0.16	0.16	99.84	100
12	12	12	88	100	12	0.17	0.17	99.83	100	12	0.17	0.17	99.83	100
13	13	13	87	100	13	0.18	0.18	99.82	100	13	0.18	0.18	99.82	100
14	14	14	86	100	14	0.19	0.19	99.81	100	14	0.19	0.19	99.81	100
15	15	15	85	100	15	0.2	0.2	99.8	100	15	0.2	0.2	99.8	100

그림 3-88. 패널에게 제공된 기본맛 시료 샘플



(2). 2주차 훈련 및 결과

(가). 2주차 훈련

각 기본맛에 대한 강도 구별을 익히기 위하여 그림 3-89, 90의 평가지를 이용하여 훈련을 진행하였다. 먼저 기본맛 시료를 1~15점 중 5개 강도를 랜덤하게 골라 패널에게 제시하고 순서를 약한 것부터 강한 것 순으로 배열하도록 하였다. 그 후 배열된 시료의 강도를 정하도록 하였다. 그 후 배열순서와 강도의 정답을 알려준 후 그림 3-90 평가지를 이용하여 시료의 강도를 바로 평가하도록 하였다.

그림 3-89. 기본맛 강도 인지 평가용 설문지

이름: _____	날짜: 2015.11.10					
<단맛>						
다음의 시료를 강도가 약한 것부터 강한 순으로 나열하십시오.						
<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> </table>						
나열한 시료의 강도를 결정하십시오 [18점 석도]						
<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> </table>						
이름: _____	날짜: 2015.11.10					
<신맛>						
다음의 시료를 강도가 약한 것부터 강한 순으로 나열하십시오.						
<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> </table>						
나열한 시료의 강도를 결정하십시오 [18점 석도]						
<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> </table>						

그림 3-90. 기본맛 강도 결정 설문지

이름: _____	날짜: 2015.11.10
<단맛>	
다음의 시료의 강도를 결정하십시오	
281	()
402	()
578	()
407	()
374	()
이름: _____	날짜: 2015.11.10
<신맛>	
다음의 시료의 강도를 결정하십시오	
378	()
183	()
897	()
232	()
820	()

(나). 2주차 훈련 결과

시료강도의 순서배열은 모든 패널이 모두 맞추었다. 순서대로 배열된 시료의 강도의 정답률(1

차 평가)은 표 3-70, 그림 3-91과 같고, 강도의 정답을 알려준 후 다시 강도를 평가한 정답률 (2차 평가)은 표 3-71, 그림 3-92과 같다. 2차평가의 정답률은 평균 93점으로 1차평가 정답률 평균 73점보다 상승하였다.

*정답은 시료강도의 ±1까지 인정하였다.

ex) 강도 3점 = 강도 2, 3, 4점 모두 정답

표 3-70. 1차 평가 정답률

Panelist	Sweet	Sour	Bitter
IPR	100	80	80
YIY	60	80	80
CYG	60	60	80
BYH	60	60	60
CSH	60	60	60
KJS	80	80	80
JSG	60	60	60

그림 3-91. 1차 평가 정답률

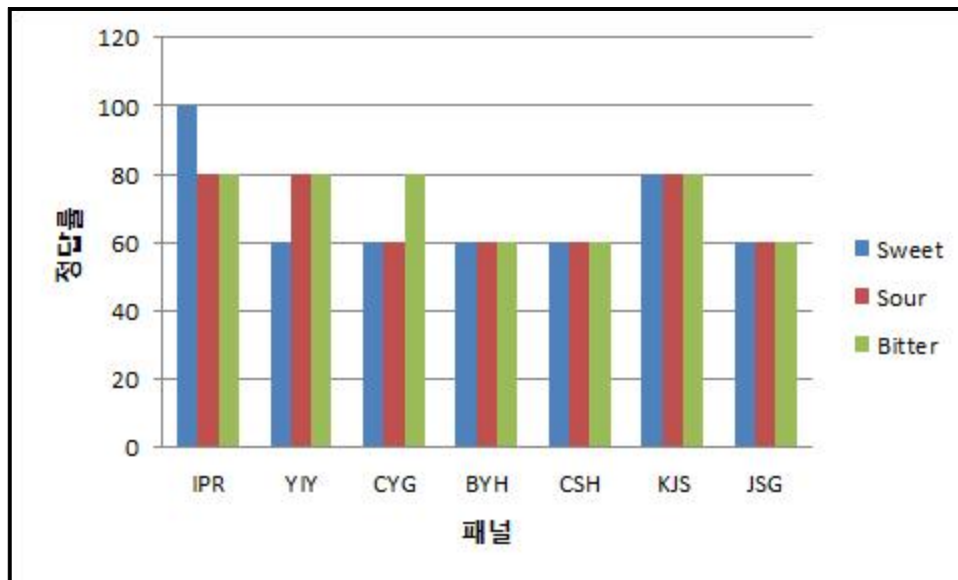
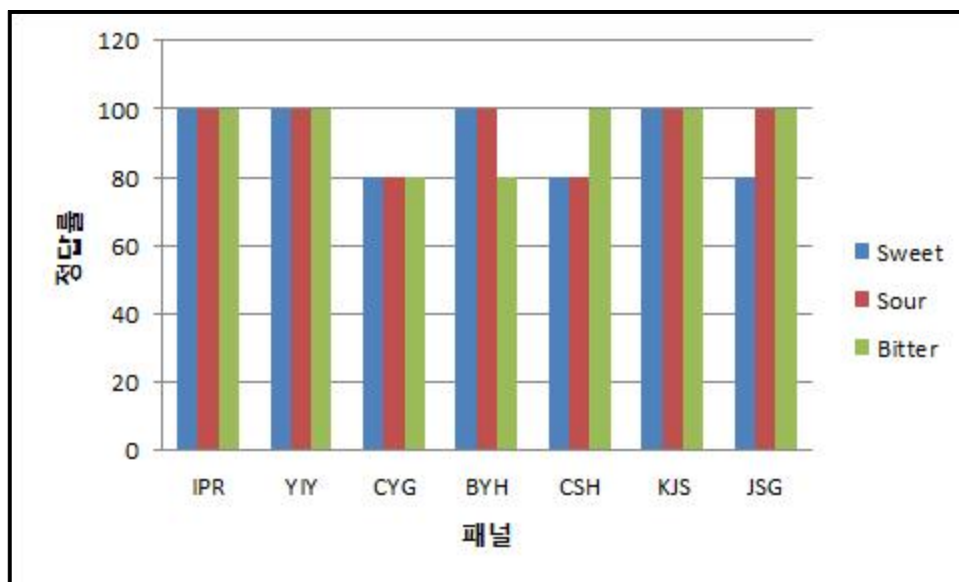


표 3-71. 2차 평가 정답률

Panelist	Sweet	Sour	Bitter
IPR	100	100	100
YIY	100	100	100
CYG	80	80	80
BYH	100	100	80
CSH	80	80	100
KJS	100	100	100
JSG	80	100	100

그림 3-92. 2차 평가 정답률



(3). 3주차 훈련 및 결과

(가). 3주차 훈련

시판 주류제품의 묘사분석을 실시하기 위해 위스키, 꼬냑, 막걸리, 자몽소주가 각각 100%(원액), 60%, 30%로 희석되었고 단맛, 포도향, 알콜향 등의 표준시료가 준비되었다(그림 3-93). 시료는 향이 휘발되는 것을 막기 위해 뚜껑이 있는 플라스틱 용기에 30 mL씩 담겨 제공되었다(그림 3-94).

그림 3-93. 시판 주류제품 평가 시험에 사용된 시료



그림 3-94. 시판 주류제품 평가 장면



(나). 3주차 훈련 결과

그림 3-95~98은 희석된 시료의 묘사분석 결과이다. 각 특성별로 농도가 높을수록 강도가 높게 나타났다. 따라서 패널들의 묘사분석이 잘 수행되었음을 알 수 있다.

그림 3-95. 농도별 위스키 묘사분석 결과

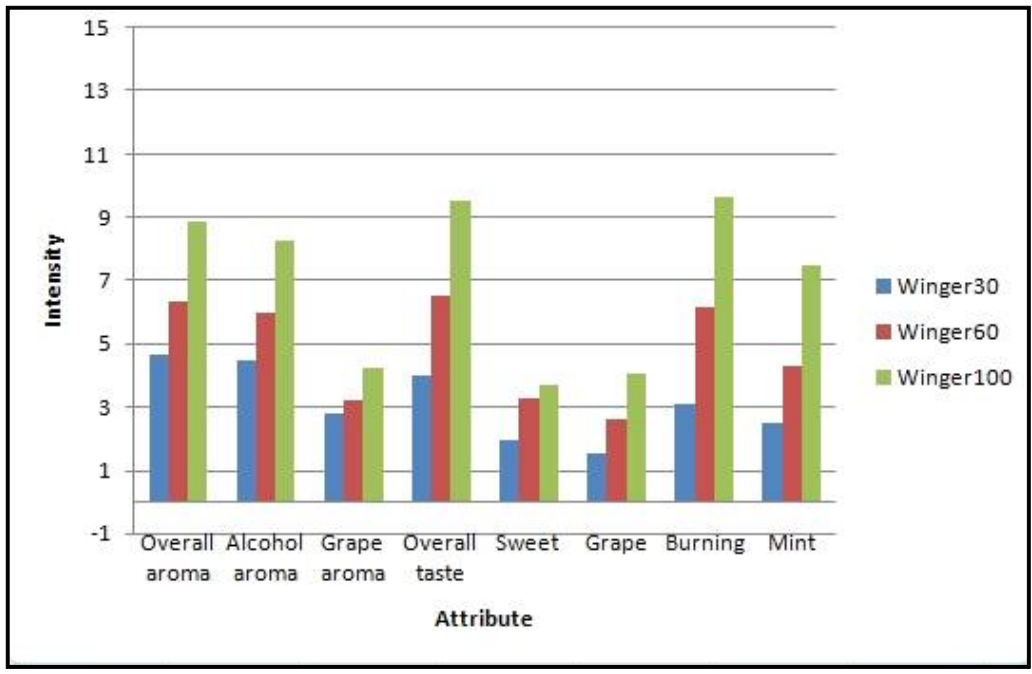


그림 3-96. 농도별 꼬냑 묘사분석 결과

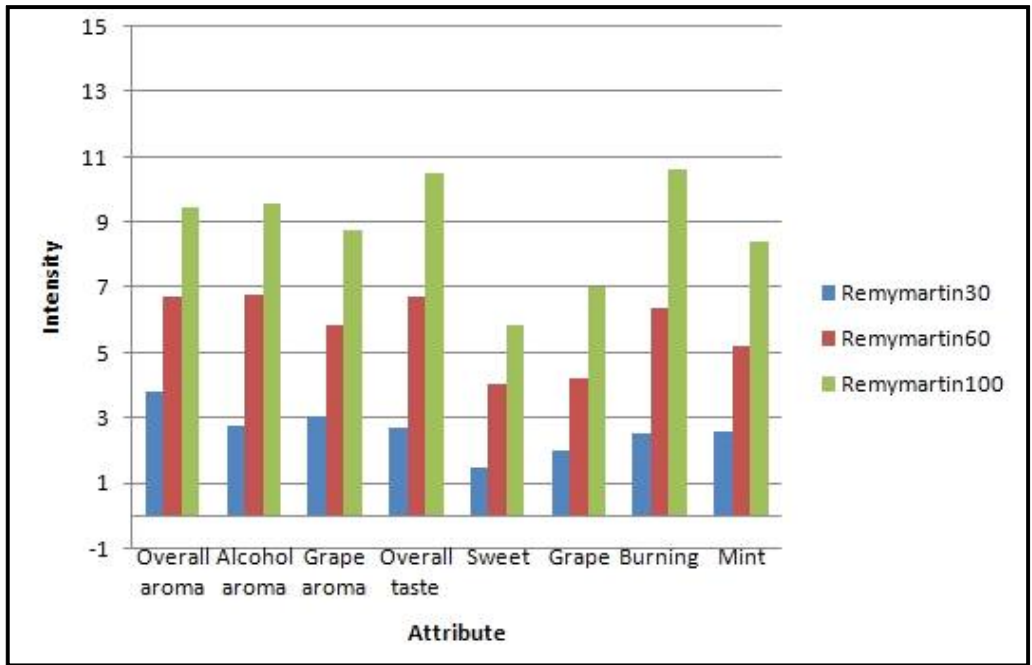


그림 3-97. 농도별 막걸리 묘사분석 결과

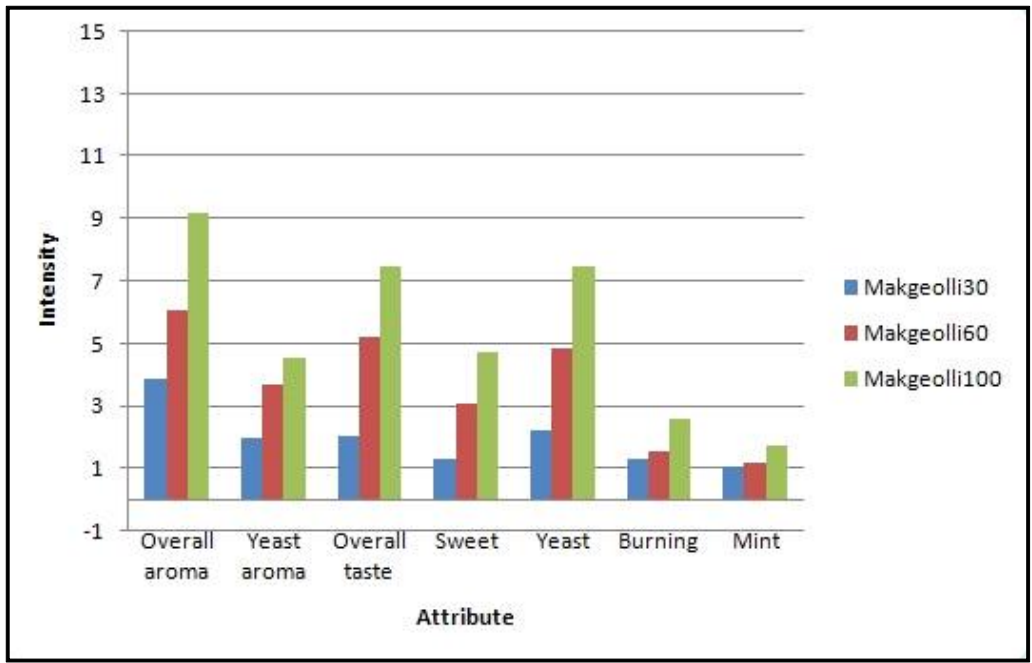
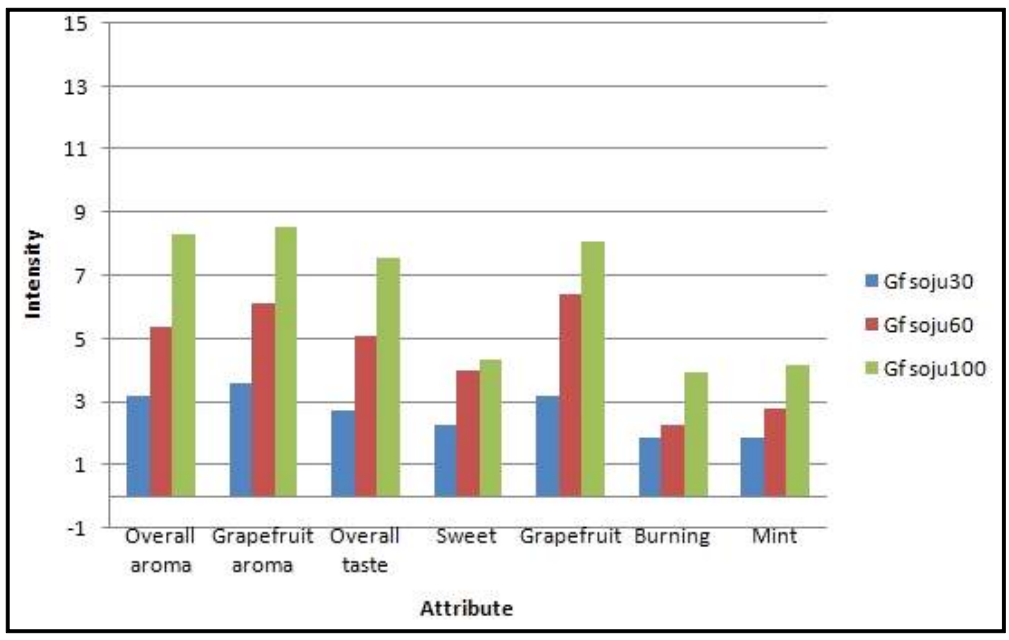


그림 3-98. 자몽소주 농도별 묘사분석 결과



다. 개발된 증류주 lexicon 활용 능력 검증

Sensory Spectrum사의 묘사분석 패널 훈련 프로그램에 의해 양성된 증류주 전문 패널들에 의해서 제품 별 4종(사과숙성 증류주, 청포도숙성 증류주, 적포도숙성 증류주, 쌀숙성 증류주)에 대한 렉시콘이 개발되었다. 과일증류주 사과, 청포도, 적포도는 전반적 향 강도를 위해 꼬냑이 사용되었으며 곡물증류주 쌀은 전반적 향 강도를 위해 위스키가 사용되었다.

(1) 사과증류주 렉시콘

특성명		청포도 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
외관	색상	황갈색 정도	표준색판 (S1080-Y20R)	12
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알콜	19% 주정	10
	사과향	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	1:1 (사과맛 스미노프:물) 희석액	10
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	사과향	사과맛 보드카에서 감지되는 사과향	1:1 (사과맛 스미노프:물) 희석액	10
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	10 (19% 주정)	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	10

(2) 청포도증류주 렉시콘

특성명		청포도 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
외관	색상	황갈색 정도	표준색판 (S1080-Y20R)	12
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알코올	19% 주정	10
	포도향	무스카토 와인에서 감지되는 포도향	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	포도맛	무스카토 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (무스카토 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	10 (19% 주정)	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	10

(3) 적포도증류주 렉시콘

특성명		적포도 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
외관	색상	황갈색 정도	표준색판 (S1080-Y20R)	12
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	알코올 향	술에서 느껴지는 알콜	19% 주정	10
	포도향	포도주스(또는 와인)에서 감지되는 포도향	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(꼬냇:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	포도맛	화이트 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	10 (19% 주정)	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	10

(4) 쌀증류주 렉시콘

특성명		쌀 숙성 증류주의 및 표준시료 강도		
		정의	표준시료	강도
외관	색상	황갈색 정도	표준색판 (S1080-Y20R)	12
향	전반적인 향 강도	전반적인 향 강도	1:1(위스키:물) 희석액	10
	누룩향	막걸리에서 감지되는 누룩향	막걸리 (국순당 살균 막걸리)	7
	포도향	포도주스(또는 와인)에서 감지되는 포도향	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
맛과 향미	전반적인 맛과 향미의 강도	전반적인 맛과 향미의 강도	1:1(위스키:물) 희석액	10
	단맛	아스파탐에 의해 감지되는 단맛	아스파탐 수용액 (0.01 g 아스파탐/100 mL 물)	3
	누룩맛	막걸리에 의해 감지되는 맛	막걸리 (국순당 살균 막걸리)	8
	포도맛	화이트 와인에서 감지되는 포도맛	1:1 (화이트 와인: 물) 희석액	10
입촉감	얼얼함	시료를 머금었을 때 느껴지는 혀에서 느껴지는 통증의 강도	10 (19% 주정)	11
	화한느낌	시료를 소량 넘겼을 때 식도에서 느껴지는 화한 느낌	아이스브레이커	11

사과, 청포도, 적포도, 쌀을 원액, 용기 3개월, 용기 6개월, 용기 9개월, 오크통 3개월, 오크통 6개월, 오크통 9개월간 저장하여 총 28가지의 다양한 관능 특성을 함유한 제품을 개발한 후 각 제품에 대한 관능특성의 강도를 제품 별 개발된 렉시콘을 활용하여 정량화 하였다. 렉시콘의 관능특성 별 표준시료를 각 특성의 정량화를 위해 사용하였고 패널들의 특성 강도에 대한 반복성과 재현성을 확보하여 제품의 관능특성에 대한 차이식별을 가능하게 하였다.

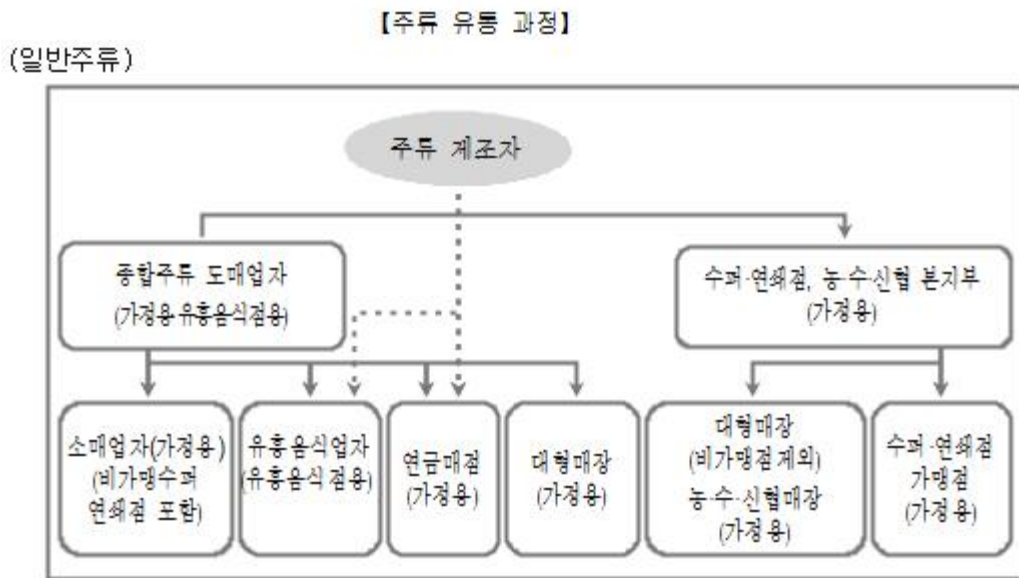
4. 고품질 안전한 과실 증류주 제조기술 개발의 기술 실시(이전) 및 상품화

3차년도에 이르기까지 고품질 안전한 과실 증류주 제조기술 개발을 위하여 발효, 증류, 숙성 그리고 포도의 주조용 품종 선발에 대한 연구를 진행하였다. 또한 최적의 품질을 개발하기위한 관능평가 패널을 양성하였으며 증류주의 lexicon을 개발하였다. 개발된 기술의 주세법 상의 유통경로에 대한 확산을 고려하여 (주)배혜정농업회사법인으로의 기술 이전을 준비하였으며 그에 따른 상품화를 진행하였다.

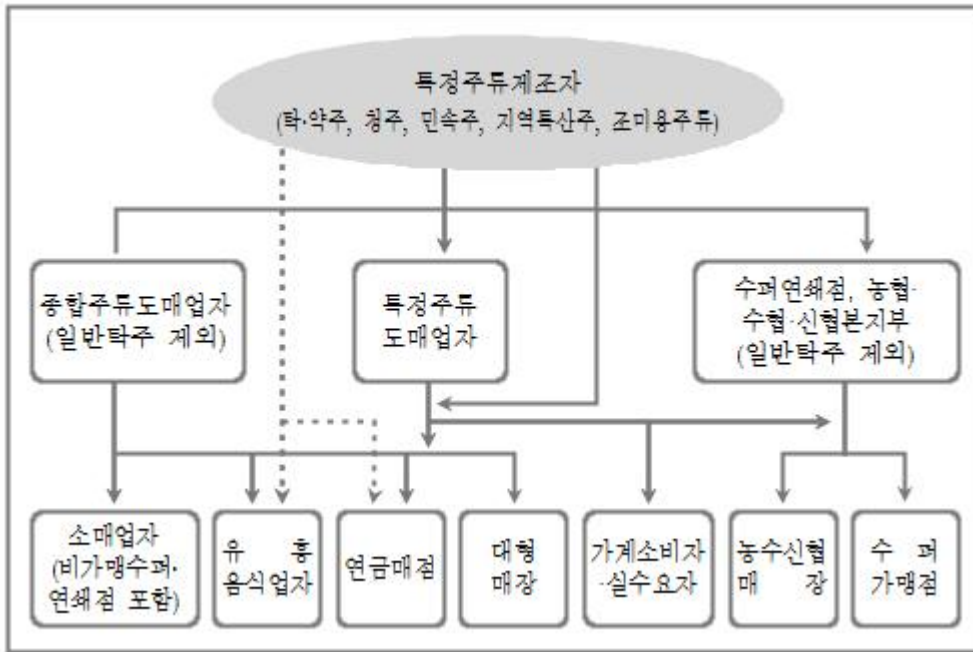
가. 기술이전

현 주세법 상 일반주류 제조면허자의 경우 증류주를 제조 시 도매업자로 종합주류 도매업자나 슈퍼·연쇄점, 혹은 유흥업소와의 직거래만이 허용된다. (주)배혜정도가는 일반주류 면허자로 탁주를 주로 생산하는 곳으로 상기 거래선이 중심 거래선이 아니며 특정주류도매업자가 주 거래선이다. 따라서 전통주 혹은 지역특산주 제조면허자가 증류주를 제조 시 그 숫자가 한정적인 종합주류 도매업자 뿐만 아니라 다수의 도매선인 특정주류 도매선까지 거래가 가능하게 되므로 지역특산주 제조면허자인 (주)배혜정농업회사법인에 기술 이전하여 판매의 활성화를 촉진하고자 하였다.

그림 3-99. 일반주류 제조면허자의 주류유통과정(上)과 특정주류 제조자(전통주, 지역특산주 등)의 주류유통과정(下)



(특정주류)



(주)배혜정농업회사법인(대표 : 김백규)은 2014년 1월 1일 사업을 개시하여 당월 1월 17일 식품제조가공업 등록을 마친 증류주 전문제조업체로 연간 2억원의 매출을 올리고 있는 신생 업체이다. 본 업체는 사업 기반을 위한 초석을 다진 상황이며 현 거래선(특정주류도매업자)을 통하여 본격적인 증류주 제조 영업을 진행하고자 한다.

(주)배혜정도가는 2015년 9월 30일 (주)배혜정농업회사법인과 “안전한 과실증류주 제조기술 이전 협약”을 맺었으며 기술의 범위를

- 안전한 곡물, 과실 발효주 제조기술
- 안전한 곡물, 과실 증류 제조기술
- 안전한 곡물, 과실 증류주 숙성 제조기술
- 출원한 특허 2종의 제조기술

로 한정지어 기술지원과 know-how를 전수하였다.

그림 3-100. 안전한 과실증류주 제조기술 이전 협약서

안전한 과실 증류주 제조기술 이전 협약서

(주)배혜정도가이하 "갑"이라 한다와 (주)배혜정농업회사법인(이하 "을"이라 한다)는 안전한 과실 증류주 제조기술(이하 "기술"이라 한다)을 이전함에 있어 다음과 같이 협약을 체결한다.

제1조(목적)

본 협약은 "갑"이 연구개발한 "기술"을 "을"에게 이전하고, "을"은 이를 제품화하는 것을 목적으로 한다.

제2조(기술의 범위)

본 협약의 "기술" 범위는 안전한 과실 증류주 제조기술을 바탕으로

- ① 안전한 과물, 과실 발효주 제조기술
- ② 안전한 과물, 과실 증류 제조기술
- ③ 안전한 과물, 과실 증류주 숙성 제조기술
- ④ 출원한 특허 2종 제조기술

제3조(기술이전)

본 협약의 효율적인 이행을 위하여 "갑"과 "을"은 생산현장 중심의 제조 기술이전을 기본으로 하며, 일정 및 이전방법 등에 관해서는 당사자 간의 협의로 결정한다.

제4조(지적재산권의 권리 및 귀속 주체)

- ① "갑"이 이전하는 "기술" 또는 이에 수반되는 지적재산권에 관한 모든 권리는 "갑"에게 귀속된다.
- ② "갑"과 "을"은 산업재산권 등록 시 본 협약을 근거로 하며 계약을 갱신한다.

제5조(기술양상 및 비밀유지에 대한 의무)

- ① "갑"은 "을"에게 기술이전 및 제품 개선에 대한 정보를 제공한다.
- ② "갑"과 "을"은 본 협약과 관련한 기술에 대해서 상호 동의 없이 제3자에

게 "기술"을 양도하지 아니하며, 업무상 취득한 비밀 사항을 누설하거나 도용하지 아니한다.

제6조(기술사용료)

- ① "을"은 본 "기술"이전을 통하여 생산한 제품에 대하여 국세청에 신고한 과세표준액의 3%를 기술사용료로 산정한다.
- ② "을"은 기술이전 제품의 매출에 대한 판매 세부서장의 확인을 받은 서류 또는 신고서를 "갑"에게 제출한다.
- ③ "을"은 "갑"이 정한 규율기판으로 년 2회(1월, 7월) 기술사용료를 지불한다.
- ④ "갑"과 "을"은 상호 협의 하에 기술사용료에 대하여 조정할 수 있다.

제7조(협의 책임자)

본 협약 내용을 효과적으로 운영하기 위하여 상호 협의 하에 업무책임자를 정하여 운영할 수 있다.

제8조(해지)

본 협약서에 명시되지 않은 사항과 협약서의 조문해석이 서로 다른 경우에는 상호 협의하여 결정한다.

제9조(협약기간)

본 협약의 기간은 2015년 10월 1일부터 2020년 9월 30일까지로 하며, 만기일 이전에 어느 일방이 파기요사를 서면으로 통보하지 않는 한 자동적으로 그 효력이 연장된다.

2015년 9월 30일

(주)배혜정도가

124-87-06223

대표 배혜정

(주)배혜정농업회사법인

143-81-17898

대표 김택규

나. 실시 및 상품화

(1). 기술 실시

(주)배혜정농업회사법인은 주세법 상 지역특산주로 진통주 진흥에 관한 법률에 따라 인접지역 원료만을 사용해야 하는 업체로 실제로 사용할 수 있는 곡물과 과실의 원료를 종합하여볼 때 본 연구사업과 동일한 원료를 사용할 수 있는 품목은 쌀, 청포도(경조정), 사과이며 본 곡물이나 과실 외에 (주)배혜정농업회사법인에서 활용 가능한 과실 품목으로 배(신고배)를 선정하여 추가적인 실험과 함께 기술이전을 진행하였다.

상품개발작업이 진행되며 쌀증류주와 청포도증류주는 연구사업과 동일한 제조방법으로 담금과 증류가 진행되었으며, 사과증류주의 경우 원료 구매 시기를 놓쳐 2016년 하반기 출시가 예상된다. 배를 이용한 과실 증류주의 경우 낮은 당도와 높은 수분함량으로 인하여 쌀과 함께 발효시켜 증류하는 방식을 채택하였으며 증류가 진행된 후 숙성 기간 동안 브랜드 네이밍과 함께 지역특산주 추천을 진행하였다.

그림 3-101. 쌀증류주용 원료 처리 및 발효 진행 사진



그림 3-102. 청포도증류주용 원료 처리 및 발효 진행 사진



그림 3-103. 배증류주용 원료 처리 및 발효 진행 사진



브랜드 네이밍은 전문 업체에 맡겨 진행하였으며 상표등록이 가능한 제품명을 선정하였으며 알코올도수에 따른 차별과 제품에 따른 차이를 둘 수 있도록 브랜드명과 그 하부명을 선정하였으며 그에 따른 브랜드명과 하부명이 들어간 상품소개서는 다음과 같다.

그림 3-104. 브랜드명과 상품소개서



배도가로아 컬렉션

- white** 쌀의 담백함을 베이스로 아카시아 벌꿀을 가미하여, 온온하고 묵직한 달콤함이 특징
- green** 닥트인 청포도의 상쾌함. 증류주의 맑고 깨끗함이 배가된 맛.
- yellow** 쌀 베이스의 담백함과 배의 시원한 맛을 더한 한국적인 온온함을 표현.
- red** 강렬한 사리에 깨끗한 증류주의 특징을 더한 상쾌함 맛.

로아는 19도와 40도 두가지 도수와 각 도수별 white, Yellow, Green, Red 로 출시됩니다.

오랜 시간 천천히 증류시켜 보아 담은 배도가로아는 '흰 빛깔의 이슬'이라는 뜻을 담은 프리미엄 증류주입니다. 로아를 만드는 한 방울 한 방울의 시간은 한국적인 정성스러움을, 로아의 맑고 투명함은 비움과 여유 그리고 증류를 의미합니다.

백해정농업회사법인

우리 술의 전통방식을 고집하여 세계적 수준으로 발전시킨 백해정농업회사는 지역 농산물을 사용하여 그린 진흥주, 증류주스피릿을 생산하는 대한민국 대표 도가입니다.

2016년 1월 출시로 진행된 제품은 총 6가지이며, 제품명은 배도가로아19 화이트, 배도가로아40 화이트, 배도가로아19 그린, 배도가로아40 그린, 배도가로아19 옐로우, 배도가로아40 옐로우이며 그에 따른 상품의 검토를 진행하였다.

그림 3-105. 지역특산주 신청내역과 경기도청 승인내역

4. 사업계획

가. 설치계획

부지, 건물, 설비 등일한 상태에서 각 증류별 제조 원료에 대한 추가

나. 자금소요 및 조달계획 (단위 : 백만원)

자금소요액				자금조달 계획			
계	부지/건물	설비	운영비 (원료비)	계	자담	금융기관차입	기타
101			101	101	101		

다. 생산계획

구분 제조 증류별	제품명 (가칭)	생산능력(kL)		생산계획(kL)		원료소요량(톤)		
		월간	연간	월간	연간	원료명	월간	연간
일반증류주	로아 19°	16	192	0.833	10	술	0.248	2.976
						쌀	0.014	0.168
						추정(98%)	0.080	0.960
	로아 40°	16	192	0.417	5	술	0.313	3.756
						쌀	0.007	0.084
						추정(98%)	0.066	0.792
	로아 (청포도)19°	16	192	0.417	5	청포도	0.582	6.984
						쌀	0.245	2.940
						추정(98%)	0.083	1.000
	로아 (배)19°	16	192	0.417	5	술	0.205	2.460
						배	0.410	4.920
						추정(98%)	0.086	1.032
로아 (배)40°	16	192	0.083	1	술	0.086	1.032	
					배	0.173	2.076	
					추정(98%)	0.083	1.000	

[경기 제조업체]

주류제조면허 추천서

신청번호	2019-12	영수일	2019.12.20	발급·유효 일시	유종기간	추진일부러 유종일
업체명(단체명) 권 백해정 농업회사법인	주된 등록 일반증류주(기타주류)	추진기간(사) 예정 일반증류주(기타주류)	발급·유효 일시	1990-10-30(9월) (업종등록번호) (1991-02-12(9월))		
대표자 권 백 규	1990-10-30(9월) (업종등록번호)	1991-02-12(9월)				
주소: 경기도 화성시 향남면 서릉로 835	[전화번호 031-354-8378]					
주요 증류(종류)	일반증류주	기타주류	-	-		
사업계획 제조장 위치	경기도 화성시 향남면 서릉로 835					
시설 규모	부식 4,195㎡	간류 1,027㎡	차입소요액	50백만원		

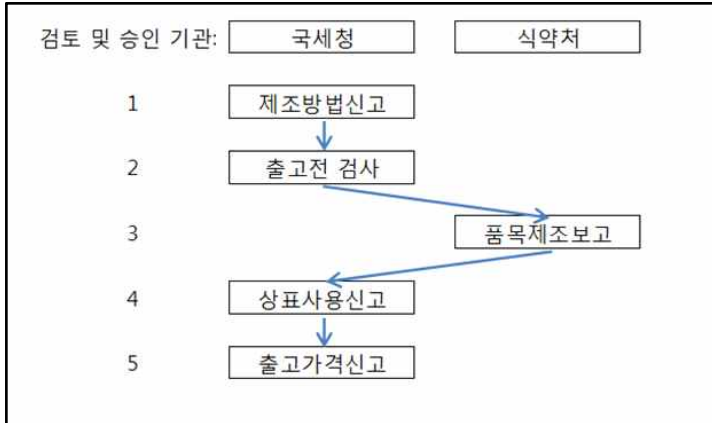
2019년 12월 20일

경기도지
국세청장 귀하

(2). 상품화 및 검증단계

상품의 제조방법과 그에 따른 적합여부를 진행하는 절차는 다음 그림 3-106과 같다.

그림 3-106. 주류 제품의 검토 절차 및 승인 기관



총 6건의 제조방법을 국세청에 신청하였으며 그에 따른 검토결과 결과 각 제품의 제조방법으로 적합함을 판정받았으며, 그에 따른 출고 전 검사(주질감정)를 진행하여 분석감정서 상 적합함을 판정받았다.

그림 3-107. 제출한 배도가로아 브랜드 6종의 국세청면허지원센터 적합판정 서류

그림 3-108. 출고 전 주질감정 내역 및 적합판정 6건

분석감정서			
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장
③품 명	일반중류주 배도가로아19화이트, 19%, '19-1'방법	④제 조 자	㈜베베정농업회사법인
⑤용 도			
⑥ 시험 결과			
분석항목	기 준	분석결과	
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	
비중(15℃)	-	0.981	
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	19.4	
총산(W/V%)	-	불검출	
알데히드(mg/100ml)	70.0 이하	흔적	
메탄올(mg/ml)	0.5 이하	불검출	
퓨젤유(V/V%)	-	0.055	
불휘발분(g/100ml)	2.0 미만	1.28	
○ 본 건 주류는 일반중류주 기준 및 규격에 적합함. 끝.			
위와 같이 분석·감정합니다.			
2016년 1월 8일			
국세청주류면허지원센터장			

분석감정서			
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장
③품 명	일반중류주 배도가로아40화이트, 40%, '40-2'방법	④제 조 자	㈜베베정농업회사법인
⑤용 도			
⑥ 시험 결과			
분석항목	기 준	분석결과	
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	
비중(15℃)	-	0.954	
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	39.9	
총산(W/V%)	-	불검출	
알데히드(mg/100ml)	70.0 이하	0.12	
메탄올(mg/ml)	0.5 이하	0.001	
퓨젤유(V/V%)	-	0.173	
불휘발분(g/100ml)	2.0 미만	0.57	
○ 본 건 주류는 일반중류주 기준 및 규격에 적합함. 끝.			
위와 같이 분석·감정합니다.			
2016년 1월 20일			
국세청주류면허지원센터장			

분석감정서			
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장
③품 명	일반중류주 배도가로아19그린, 19%, '19-2'방법	④제 조 자	㈜베베정농업회사법인
⑤용 도			
⑥ 시험 결과			
분석항목	기 준	분석결과	
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	
비중(15℃)	-	0.977	
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	19.4	
총산(W/V%)	-	흔적	
알데히드(mg/100ml)	70.0 이하	0.14	
메탄올(mg/ml)	0.5 이하	0.002	
퓨젤유(V/V%)	-	0.052	
불휘발분(g/100ml)	2.0 미만	흔적	
○ 본 건 주류는 일반중류주 기준 및 규격에 적합함. 끝.			
위와 같이 분석·감정합니다.			
2016년 1월 8일			
국세청주류면허지원센터장			

분석감정서			
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장
③품 명	일반중류주 배도가로아40그린, 40%, '40-3'방법	④제 조 자	㈜베베정농업회사법인
⑤용 도			
⑥ 시험 결과			
분석항목	기 준	분석결과	
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	
비중(15℃)	-	0.952	
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	40.2	
총산(W/V%)	-	흔적	
알데히드(mg/100ml)	70.0 이하	0.3	
메탄올(mg/ml)	0.5 이하	0.004	
퓨젤유(V/V%)	-	0.108	
불휘발분(g/100ml)	2.0 미만	흔적	
○ 본 건 주류는 일반중류주 기준 및 규격에 적합함. 끝.			
위와 같이 분석·감정합니다.			
2016년 1월 8일			
국세청주류면허지원센터장			

분석감정서																														
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장																											
③품 명	일반증류주 배도가로아19엘로우, 19%, '19-3'방법	④제 조 자	(주)배해경농업회사법인																											
⑤용 도																														
⑥ 시험 결과																														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>분석항목</th> <th>기 준</th> <th>분석결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성상</td> <td>고유의 색택, 이미·이취가 없음것</td> <td>적합</td> </tr> <tr> <td>비중(15℃)</td> <td>-</td> <td>0.977</td> </tr> <tr> <td>알코올분(V/V%)</td> <td>표시도수 ±0.5이하</td> <td>19.0</td> </tr> <tr> <td>혼산(W/V%)</td> <td>-</td> <td>흔적</td> </tr> <tr> <td>알데히드(㎎/100㎖)</td> <td>70.0 이하</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>메탄올(㎎/㎖)</td> <td>0.5 이하</td> <td>0.002</td> </tr> <tr> <td>퓨젤유(V/V%)</td> <td>-</td> <td>0.099</td> </tr> <tr> <td>불휘발분(g/100㎖)</td> <td>2.0 미만</td> <td>흔적</td> </tr> </tbody> </table>				분석항목	기 준	분석결과	성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	비중(15℃)	-	0.977	알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	19.0	혼산(W/V%)	-	흔적	알데히드(㎎/100㎖)	70.0 이하	불검출	메탄올(㎎/㎖)	0.5 이하	0.002	퓨젤유(V/V%)	-	0.099	불휘발분(g/100㎖)	2.0 미만	흔적
분석항목	기 준	분석결과																												
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합																												
비중(15℃)	-	0.977																												
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	19.0																												
혼산(W/V%)	-	흔적																												
알데히드(㎎/100㎖)	70.0 이하	불검출																												
메탄올(㎎/㎖)	0.5 이하	0.002																												
퓨젤유(V/V%)	-	0.099																												
불휘발분(g/100㎖)	2.0 미만	흔적																												
○ 본 건 주류는 일반증류주 기준 및 규격에 적합함, 곱.																														
위와 같이 분석·감정합니다.																														
2016년 1월 8일																														
국세청주류면허지원센터장																														

분석감정서																														
①분류기호	분석감정과-	②수 신	화성세우서장																											
③품 명	일반증류주 배도가로아40엘로우, 40%, '40-4'방법	④제 조 자	(주)배해경농업회사법인																											
⑤용 도																														
⑥ 시험 결과																														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>분석항목</th> <th>기 준</th> <th>분석결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>성상</td> <td>고유의 색택, 이미·이취가 없음것</td> <td>적합</td> </tr> <tr> <td>비중(15℃)</td> <td>-</td> <td>0.952</td> </tr> <tr> <td>알코올분(V/V%)</td> <td>표시도수 ±0.5이하</td> <td>40.2</td> </tr> <tr> <td>혼산(W/V%)</td> <td>-</td> <td>흔적</td> </tr> <tr> <td>알데히드(㎎/100㎖)</td> <td>70.0 이하</td> <td>0.12</td> </tr> <tr> <td>메탄올(㎎/㎖)</td> <td>0.5 이하</td> <td>0.004</td> </tr> <tr> <td>퓨젤유(V/V%)</td> <td>-</td> <td>0.21</td> </tr> <tr> <td>불휘발분(g/100㎖)</td> <td>2.0 미만</td> <td>흔적</td> </tr> </tbody> </table>				분석항목	기 준	분석결과	성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합	비중(15℃)	-	0.952	알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	40.2	혼산(W/V%)	-	흔적	알데히드(㎎/100㎖)	70.0 이하	0.12	메탄올(㎎/㎖)	0.5 이하	0.004	퓨젤유(V/V%)	-	0.21	불휘발분(g/100㎖)	2.0 미만	흔적
분석항목	기 준	분석결과																												
성상	고유의 색택, 이미·이취가 없음것	적합																												
비중(15℃)	-	0.952																												
알코올분(V/V%)	표시도수 ±0.5이하	40.2																												
혼산(W/V%)	-	흔적																												
알데히드(㎎/100㎖)	70.0 이하	0.12																												
메탄올(㎎/㎖)	0.5 이하	0.004																												
퓨젤유(V/V%)	-	0.21																												
불휘발분(g/100㎖)	2.0 미만	흔적																												
○ 본 건 주류는 일반증류주 기준 및 규격에 적합함, 곱.																														
위와 같이 분석·감정합니다.																														
2016년 1월 8일																														
국세청주류면허지원센터장																														

다. 개발상품과 대조군과의 유해물질 비교실험

국내의 경우 과실증류주 제조가 활성화되어 있지 않은 상황이므로 대조군의 경우 해외 유명 브랜드를 선정하였으며, 쌀증류주의 경우 아시아 지역 중 한국과 일본 등의 증류주가 활성화 되어 있는 상황이며 현재 화요 등을 중심으로 국내에서도 증류주 문화가 형성되어 있는 상황이므로 대중적인 증류식소주를 선정하여 개발상품과 함께 유해물질 등을 분석하여 비교하였다.

표 3-72. 대조군 정보

sample no	sample name	Alc(%)	country	주원료	제품유형
1	Hennessy V.S.O.P	40	프랑스	포도	브랜디
2	camus VSOP	40	프랑스	포도	브랜디
3	REMY MARTIN	40	프랑스	포도	브랜디
4	명인안동소주	45	한국	쌀	증류식소주
5	우곡쌀소주41%	41	한국	쌀	증류식소주
6	화요	41	한국	쌀	증류식소주
7	BUSNELFineCALVADOS	40	프랑스	사과	브랜디

<실험방법>

메탄올과 아세트알데히드 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography(Agilent, 7890A)로 정량하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, injector 온도는

200℃, detector 온도는 200℃, column 오븐 온도는 45℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 130℃에서 1분간 머무르게 하고 질소를 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다. 또한 각 분획별 증류주의 요소와 에틸 카바메이트 분석은 시료를 0.45µm membrane filter와 0.22µm membrane filter로 여과하여 gas chromatography mass spectrometry(Agilent, 5975C)로 분석하였다. DB-WAX column(30m×0.25mm I.d, 0.25µm)에 시료 1µl을 주입하여 detector는 FID, MS transfer line 온도는 250℃, inlet 온도는 210℃, column 오븐 온도는 50℃에서 1분간 유지 후 분당 7℃씩 승온시켜 180℃에서 1분간 머무르게 하고 헬륨을 carrier gas로 사용하였다. 정량은 표준물질을 분석한 chromatogram의 면적과 비교하여 산출하였다.

<실험결과>

주원료에 따라 구분지어 쌀을 주원료로 제조한 대조군 명인안동소주, 우곡쌀소주41%, 화요와 배도가로아19 화이트, 배도가로아40 화이트를 비교 시 아세트알데히드의 경우 우곡쌀소주가 19.93ppm으로 가장 높았으며 배도가로아19 화이트가 0.72ppm으로 가장 낮은 수치를 기록하였다. 알코올도수가 대조군과 유사한 배도가로아40 화이트는 1.28ppm으로 두 번째로 낮은 수치가 검출되었으며 특히 우곡쌀소주41%는 (주)배혜정도가의 증류식소주로 본 연구를 통하여 아세트알데히드를 약 90%가량 감소시킬 수 있었다. 메탄올의 경우 전 실험군에서 3ppm이하로 검출되었으며 우곡쌀소주41%가 2.84ppm으로 가장 높았으며 유사 알코올도수인 40도(v/v%)제품에서는 배도가로아40 화이트가 1.21ppm으로 가장 낮은 수치를 기록하였다. 특히 (주)배혜정도가는 본 사업을 통하여 메탄올의 함량을 약 50% 이상 감소시키는 성과를 내었다. EC의 경우 함량이 높은 순서대로 우곡쌀소주41%, 화요, 명인안동소주, 배도가로아40 화이트, 배도가로아19 화이트 순으로 나타났으며 우곡쌀소주41%의 경우 14.25ppb, 배도가로아40 화이트는 5.23ppb, 배도가로아19 화이트는 3.95ppb가 검출되었다.

주원료에 따라 구분지어 포도를 주원료로 제조한 대조군 Hennessy V.S.O.P, camus VSOP, REMY MARTIN과 배도가로아19 그린, 배도가로아40 그린을 비교 시 아세트알데히드의 경우 Hennessy V.S.O.P가 11.26ppm으로 가장 높았으며 배도가로아19 그린은 1.44ppm으로 가장 낮았다. 동종 알코올도수(40도(v/v%))만 봤을 때 배도가로아40 그린은 3.01ppm으로 가장 낮았으며, camus VSOP가 3.22ppm으로 그 다음으로 낮았으나 두 실험군의 결과는 표준편차 범위 내에 있어 유의적 차이가 없다고 할 수 있다. 메탄올의 경우 camus VSOP가 22.67ppm으로 가장 높았으며 동종 알코올도수(40도(v/v%))에서는 REMY MARTIN이 2.46ppm으로 가장 낮았으며 그 다음은 배도가로아40 그린과 Hennessy V.S.O.P가 4.92ppm으로 낮게 측정되었다. EC의 경우 함량이 높게 측정된 순서대로 Hennessy V.S.O.P, 배도가로아40 그린, 배도가로아19 그린, camus VSOP=REMY MARTIN 순으로 나타났으며 Hennessy V.S.O.P의 경우 0.92ppb, camus VSOP와 REMY MARTIN은 0.64ppb가 검출되어 가장 낮은 함량을 나타내었다. 배도가로아40 그린은 0.65ppb로 세계적인 포도증류주와 견주어 유사한 함량 결과가 나타났다.

주원료에 따라 구분지어 사과를 주원료로 제조한 대조군인 BUSNEL Fine CALVADOS는

2016년 하반기 출시 예정인 배도가로아 레드 제품과 비교 진행토록 하겠다.

표 3-73. 대조군과 개발상품의 유해물질 분석data

구분	sample name	주원료	Alc(v/v%)	Acetaldehyde(ppm)	MeOH(ppm)	Urea(ppb)	EC(ppb)
대조군	Hennessy V.S.O.P	포도	40.0	11.26±1.55	4.92±0.91	2.69±0.16	0.92±0.21
	camus VSOP	포도	40.0	3.22±0.67	22.67±4.84	4.41±0.03	0.64±0.18
	REMY MARTIN	포도	40.0	9.48±0.89	2.46±0.72	4.34±0.25	0.64±0.04
	명인안동소주	쌀	45.0	1.51±0.13	1.64±0.29	7.16±0.13	13.84±0.24
	우곡쌀소주41%	쌀	41.0	16.93±0.77	2.84±0.13	3.03±0.13	14.25±0.22
	화요	쌀	41.0	14.24±0.38	2.64±0.12	4.50±0.12	13.95±0.12
	BUSNEL Fine CALVADOS	사과	40.0	1.26±0.22	53.81±2.70	18.16±1.57	12.12±0.16
개발상품	배도가로아19 화이트	쌀	19.0	0.72±0.21	0.58±0.12	4.42±0.34	3.95±0.21
	배도가로아40 화이트	쌀	40.0	1.28±0.14	1.21±0.11	7.65±0.38	5.23±0.17
	배도가로아19 그린	포도	19.0	1.44±0.15	2.12±0.09	1.27±0.12	0.65±0.03
	배도가로아40 그린	포도	40.0	3.01±0.31	4.92±0.14	2.10±0.24	0.86±0.02
	배도가로아19 옐로우	쌀, 배	19.0	0.58±0.12	2.62±0.12	3.82±0.38	2.96±0.12
	배도가로아40 옐로우	쌀, 배	40.0	1.32±0.22	4.82±0.21	5.25±0.29	3.82±0.04

마. 완제품 생산 및 보도자료

2016년 1월 초도 생산을 진행하였으며 다음 그림 3-109은 그에 따른 보도자료 임.

그림 3-109. 배도가로아 출시에 따른 보도자료(2016.01.18., 조선일보)

 조선일보

배혜정농업회사법인, 고급 증류주 '배도가 로아' 출시

기사입력 2016.01.18 오전 8:29

1 추천해요

가- 가+

프리미엄 전통주 제조업체 (주)배혜정농업회사법인은 지역 과실과 곡물을 사용한 고급 증류주 '배도가 로아' 브랜드를 새롭게 런칭하고 신제품을 출시했다.

신제품은 농림축산식품부의 지원으로 (주)배혜정도가와 경기농업기술원, 단국대학교가 2012년부터 2015년까지 무려 3년간 함께 노력한 끝에 이뤄낸 결과물이다.

배도가로아 컬렉션 '화이트'.

배도가 로아는 청포도, 배, 사과 등의 과실과 곡물(쌀)을 발효시켜 증류한 증류주로 해외에선 주로 '슈냅스'(Schnapps, 곡물이나 과실을 발효시켜 증류한 독하고 색이 없는 다양한 향을 내는 증류주)로 알려져 있다.

소비자가 각자의 개성에 맞게 쉽게 제품을 선택할 수 있도록 사용한 과실이나 곡물에 따라 제품명을 색상으로 표현했다. 배도가 로아 컬렉션은 ▲쌀의 담백함을 베이스로 아카시아 벌꿀을 가미하여 은은하고 목직한 달콤함이 특징인 '화이트', ▲배의 시원한 맛을 더한 '엘로우', ▲청포도의 상쾌함이 매력적인 '그린', ▲강렬한 사과 향에 깨끗한 증류주의 상큼함이 인상적인 '레드'까지 총 4종이다.

(주)배혜정농업회사법인 김백규 대표는 "오랜시간 천천히 증류시켜 모아 담은 배도가 로아는 '흰 빛깔의 이슬'이라는 뜻을 담은 프리미엄 증류주로서 로아를 만드는 한방울 한방울의 시간은 한국적인 정성스러움, 로아의 맑고 투명함은 비움과 여유 그리고 풍류를 의미한다"고 설명했다.

또한 2016년 1월 26일에는 (주)배혜정농업회사법인과 포도 농가와의 주조용 포도 품종 재배 및 공급에 관한 협약이 이루어졌으며 다음 그림 3-110.은 그에 따른 보도자료이다.

그림 3-110. 주조용 포도 품종 재배 및 공급을 위한 협약식 보도자료

바. 완제품의 묘사분석

2016년 1월 21일 본 과제를 통하여 개발된 기술이 100% 사용된 완제품 4종이 생산되었으며 원료에 따라 쌀을 원료로 한 증류주는 “제품명 : 배도가로아19 화이트와 배도가로아40 화이트”이며 쌀과 배를 원료로 한 증류주는 “제품명 : 배도가로아19 옐로우와 배도가로아40 옐로우”이다. 본 4종의 완제품을 원료에 따라 나누어 진행이 되었으며 다양한 제품의 묘사분석에 참여한 경험을 가지고 있는 훈련된 패널 7명이 참여하였다. 패널은 그 간 도출된 주요 항목을 평가에 적용하였다. 평가는 1시간에 1회씩 진행하여, 총 2회 반복 평가를 실시하였다. 시료는 제품의 알코올도수 상태로 70 mL 플라스틱 소스컵에 10 mL 제공하였다. 시료와 시료 사이에는 물을 이용하여 입안을 헹구고 3분간 휴식 시간을 가져서 carryover effect를 최소화 하였다(Seo et al., 2015). 패널은 종이 설문지를 이용하여 16-point category scale(0-15)를 이용하여 0.5점 단위로 평가하였다.

<평가 결과>

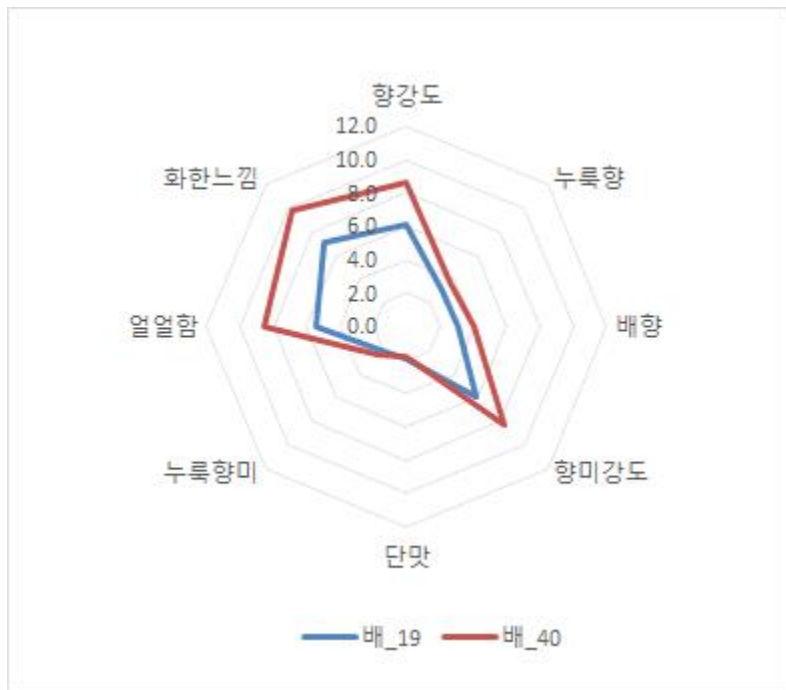
쌀을 원료로한 배도가로아19화이트(쌀_19%), 배도가로아40 화이트(쌀_40%) 제품의 묘사분석 결과는 그림 3-111와 같다. 전반적인 향 강도는 쌀_19%에서 6.5, 쌀_40%에서 10.0으로 나타났다. 누룩향은 쌀_19%에서 3.0, 쌀_40%에서 3.5로 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 전반적인 향미 강도는 쌀_19%와 쌀_40%에서 각각 6.0, 8.3으로 나타났다. 단맛의 경우 쌀_19%에서 2.1로 1.6으로 평가된 쌀_40%시료보다 강하게 평가되었는데, 알코올이 주는 다른 묘사 특성 때문에 쌀_40%의 시료에서 단맛을 약하게 인지한 것으로 판단된다. 누룩향미는 쌀_19%와 쌀_40%에서 각각 2.1과 2.6으로 쌀_40%의 시료에서 약간 강하게 인지되었다. 얼얼함과 화한느낌은 알코올 함량과 관련이 있는 것으로 보여진다. 알코올이 혀 및 입안에 자극을 주는 것을 평가한 것으로 얼얼함은 입안, 화한느낌은 목넘김할 때 느껴지는 알코올 강도라 생각하면 된다. 쌀_40%의 시료에서 두 특성 모두 유의적인 차이가 발견되었다($P<0.05$)

그림 3-111. 알코올 함량 19% 및 40%의 쌀 옹기 숙성 증류주의 묘사분석 결과



쌀과 배를 원료로 한 배도가로아19 옐로우(배_19%), 배도가로아40 옐로우(배_40%) 제품의 묘사분석 결과는 그림 3-112와 같다. 전반적인 향 강도는 배_19%에서 6.1, 배_40%에서 8.7으로 나타났다. 누룩향은 배_19%에서 3.0, 배_40%에서 3.7로 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 배향의 경우 배_40%에서 4.0으로 배_19% 시료보다 강하게 인지되었으나 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 전반적인 향미 강도는 배_19%와 배_40%에서 각각 5.9, 8.3으로 나타났다. 단맛의 경우 배_19%에서 1.9로 1.8으로 평가된 배_40%시료보다 강하게 평가되었는데, 알코올이 주는 다른 묘사 특성 때문에 배_40%의 시료에서 단맛을 약하게 인지한 것으로 판단된다. 누룩향미는 배_19%와 배_40%에서 각각 2.1과 2.4으로 배_40%의 시료에서 약간 강하게 인지되었다. 얼얼함과 화한느낌은 알코올 함량과 관련이 있는 것으로 보여진다. 알코올이 혀 및 입안에 자극을 주는 것을 평가한 것으로 얼얼함은 입안, 화한느낌은 목넘김할 때 느껴지는 알코올 강도라 생각하면 된다. 배_40%의 시료에서 두 특성 모두 유의적인 차이가 발견되었다($P<0.05$)

그림 3-112. 알코올 함량 19% 및 40%의 배 옹기 숙성 증류주의 묘사분석 결과



제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1절. 연구목표의 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2013)	제1세부(주관) 고품질 안전한 과 실 증류주 제조 및 각 공정의 산 업화 기술 개발	쌀, 포도(선별된 품종)미숙성 과 실(사과)를 활용한 발효조건의 최적화	100%	쌀을 활용한 발효조건의 최적화
			100%	포도(선별된 품종)을 활용한 발효 조건의 최적화
			100%	미숙성 과실(사과)을 활용한 발효 조건의 최적화
	제1협동 유해물질 저감화 를 위한 고품질 과실 증류주 안전 제조기술 개발	과실 증류주용 포도 품종 적합 성 평가	100%	과실 품질 및 수확량 기준 양조적 합 품종 선발
				국내 생산 포도품종 선발 및 발효조 건 확립
				과실 증류주용 국내 생산 포도품종 선발
	제2협동 고품질 안전한 과 실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능	MLF(Malolactic fermentation) 방지에 따른 유해물질 저감화	100%	초기 pH 별 MLF 발생 및 억제 방 법 개선
				pH에 따른 MLF 억제 발효법 개발
				미생물 제어에 의한 MLF 방지 및 유해물질 저감화
	제2협동 고품질 안전한 과 실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능	유해물질 저감을 위한 효모 선 발	100%	지금까지 개발되어 있는 상업용 알콜 발효용 효모를 조사하여 본 연구과제에 적합한 효모 1차 선정
선정되어진 효모 15종을 이용한 알 콜 발효능 평가				
효모를 이용한 쌀 발효 및 이화학 적 특성 분석				
제2협동 고품질 안전한 과 실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능	쌀을 이용한 블렌딩 베이스 최 적 발효조건을 위한 당화효소 선발	100%	쌀 발효주의 향기 성분 분석	
			조사분석 패널 선정 및 양성(1 차)	100%

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차 년도 (2014)	제1세부(주관) 고품질 안전한 과 실 증류주 제조 및 각 공정의 산 업화 기술 개발	증류 조건의 최적화	100%	발효주 종류에 따라 증류방식을 달 리한 증류주의 평가
			100%	발효주 종류에 따라 증류기 재질을 달리한 증류주의 평가
			100%	발효주 종류에 따라 증류 가열방식 을 달리한 증류주의 평가
			100%	발효주 종류에 따라 구리촉매변환 장치 사용 여부에 따른 증류주의 평가(2차년도 추가 진행사항)
			100%	확립된 증류조건의 산업화(대량 생 산화) 기술 개발
	제1협동 유해물질 저감화 를 위한 고품질 과실 증류주 안전 제조기술 개발	증류주 유해물질 저감화 증류 조건 확립	100%	증류 단계에서 초류, 증류, 후류액 의 화학적 품질특성 규명 및 메탄 올 적정 분리 시점 연구
			100%	유해물질 저감을 위한 증류조건 확 립
	제2협동 고품질 안전한 과 실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능	표사분석 패널 선정 및 양성(2 차)	100%	증류주 주요 향미 관능특성 도출 (lexicon 개발)
			100%	증류주 관능특성 별 표준시료 개발
			100%	증류주 향미성분에 영향을 주는 주 요 인자 발굴
			100%	증류 조건 및 숙성조건의 최적화를 위한 관능평가

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차 년도 (2015)	제1세부(주관) 고품질 안전한 과 실 증류주 제조 및 각 공정의 산 업화 기술 개발	증류주의 숙성조건 최적화 및 블렌딩 조건의 최적화	100%	희석 전, 후 증류주의 숙성 용기의 재질 변화에 따른 평가
			100%	온도 및 빛의 노출에 따른 제품의 저장/보관 방법 확립
			100%	숙성방식에 따른 숙성주의 블렌딩 을 통한 최적의 단기 숙성 제품의 제조 기술 개발
			100%	확립된 숙성 조건의 산업화(대량 생산화) 기술 개발
	제1협동 유해물질 저감화 를 위한 고품질 과실 증류주 안전 제조기술 개발	증류주 유해물질 저감화 숙성 조건 확립 및 포도 품종 재배지 도교육과 과실 증류주 생산지도 교육	100%	유해물질 저감을 위한 숙성 조건 확립
			100%	유해물질 저감을 위한 저장/보관 방법 확립
			100%	과실(포도) 증류주용 품종 보급 및 재배지도, 교육
	제2협동 고품질 안전한 과 실 증류주 제조를 위한 미생물 선발 및 이화학적·관능	묘사분석 패널 선정 및 양성(3 차)과 소비자 조사	100%	숙성 조건 최적화를 위한 관능평가
			100%	품질 관리 규격 및 관능평가 표준 화 tool 개발
			100%	다양한 조사 기법을 활용한 소비자 조사(100명) 수행

2절. 관련분야에의 기여도

○ 기술적인 측면에서 원료에 따른 발효, 증류, 숙성, 저장, 유통에 이르는 전반적인 유해물질 저감을 위한 제조기술을 개발하였으며 특히 발효 시 상용화된 효모 중 유해물질을 저감시킬 수 있는 효모의 선발과 증류 시 증류되는 순서대로 일정 증류액을 분획하여 각 분획별 유해물질 등을 분석하고 그에 따른 분리를 진행한 점은 앞으로 국내 증류주 제조 기술 발전의 초석이 될 수 있으며 세계화 주류의 자국화에 기여하였다고 판단됨.

○ 또한 각 조건의 최적화 기술을 선정하는데 있어 이화학적 분석뿐만 아니라 양성하고 있는 패널을 활용하여 개발된 Lexicon에 대한 묘사분석을 동반 진행하였으며 블렌딩을 통한 제품 양산 과정에서 소비자조사를 통하여 그 가능성을 파악하였음. 본 연구를 통해 도출된 관능평가의 지표 및 결과는 제품의 타겟을 설정하는데 활용가치가 있다고 판단됨.

○ 경제·산업적 측면에서 안전한 과실증류주 제조기술은 국내 농산물의 고부가가치화와 소비 증가를 도모하였으며 FTA에 대비한 지역 농산물 가공산업의 활성화를 추진하는데 기여하였다. 특히, 과실의 경우 자연재해로 인한 농가의 피해가 발생할 수 있으나 이를 수매하여 증류주를 제조하는데 활용하는 방안을 마련하여 농가의 피해를 최소화하는데 기여하게 됨.

○ 또한 현재 포도 재배의 경우 90% 이상이 캠벨얼리 품종에 집중되어 있어 농가들 간의 가격 경쟁이나 잉여농산물을 초래할 수 있으나 본 연구사업을 통하여 다양한 품종의 재배를 촉진하고 고부가가치 가공을 진행하여 농가의 안정적인 소득 증대 및 지역 사회 발전을 도모하는데 기여함.

○ 주류의 에틸카바메이트 저감화 기술은 해외 문헌이나 매뉴얼 등을 참조하는 경우가 많았으나 본 연구사업을 통한 제조 기술은 다양한 제조방법의 형태를 비교 분석하여 원료 및 발효, 증류 방법에 따라 다른 결과가 나올 수 있음을 증빙하였으며 앞으로 있을 유해물질 기준을 대비하는데 기초자료로 활용될 수 있다고 판단됨.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

가. 기술실시

- 기술실시 계약명 : 안전한 과실 증류주 제조기술 이전
- 기술이전일 : 2015년 9월 30일
- 기술이전 업체 : (주)배혜정농업회사법인
- 기술이전 내용
: 안전한 과실 증류주 제조기술을 바탕으로 안전한 곡물,과실 발효주 제조기술, 안전한 곡물,과실 증류 제조기술, 안전한 곡물,과실 증류주 숙성 제조기술, 출원한 특허 2종 제조기술에 대한 기술적인 노하우

나. 사업화

- (1) 기술이전 업체의 기존 생산제품인 '담금나라'에 사용되는 쌀 증류주의 발효주 및 증류에 대한 제조기술 개선
- (2) 안전한 과실 증류주 제조기술에 대한 연구 결과를 바탕으로 기술실시 기업을 통해 총 4종(배도가로아40 화이트, 배도가로아19 화이트, 배도가로아40 옐로우, 배도가로아19 옐로우)의 제품을 상품화시킴

2. 교육·지도·홍보 등 기술 확산 계획 등

가. 교육·지도

- 교육명 : 경기도포도연구회 경기 명품포도 경쟁력강화 기술세미나
- 교육기관 : 경기도 농업기술원
- 교육대상 : 포도연구회, 시군 및 도원 관계관
- 교육내용
: 고품질 포도생산기술과 올바른 병해충방제 기술교육 및 포도 산업발전과 재배기술 능력배양을 위한 종합적 기술 협의와 경기도 포도연구회원과 도 및 시군 과수담당자 간 상호 정보교류 등

나. 홍보

- (1) 매체명 : 조선닷컴

제 목 : 배혜정농업회사법인, 고급 증류주 '배도가 로아' 출시

홍보일시 : 2016년 1월 18일

(2) 매체명 : 경기일보

제 목 : 배혜정도가, 양조용 포도 품종재배 추진

홍보일시 : 2016년 1월 27일

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

가. 특허

출원된 특허				
출원등록인	특허명	출원인	출원국	출원등록번호
2014.02.21	누룩취가 저감된 발효주의 제조방법	(주)배혜정도가	대한민국	10-2014-0020014
2015.09.24	단식-연속식 복합 증류방식을 이용한 증류주의 제조방법	(주)배혜정도가	대한민국	10-2015-0135821
2015.11.30	상표출원 (제 33 류)	(주)배혜정 농업회사법인	대한민국	40-2015-088519

나. 논문

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2015	Influence of yeast strains on the physicochemical characteristics, methanol and acetaldehyde profiles and volatile compounds for Korean rice distilled spirit	Han Sub Kwak	Yoonhwa Jeong	Yesung Hur, Jae Soon Seo, Hyungsuk Shim, Misook Kim, Youngseung Lee	Journal of the Institute of Brewing	121	국외	SCI
2015	Effectiveness of palate cleansers on various alcoholic beverages	Yoojin Seo	Youngseung Lee	Han Sub Kwak, Misook Kim, Yoonhwa Jeong	Journal of the Institute of Brewing	121	국외	SCI
2015	Quality characteristics and quantification of acetaldehyde and methanol in apple wine fermentation by various pre-treatments of mash	Seon yi Won	Yoonhwa Jeong	Jae Soon Seo, Han Sub Kwak, Youngseung Lee, Misook Kim, Hyung-Seok Shim	Preventive Nutrition and Food Science	20(4)	국내	비SCI
2015	Reduction of Nuruk Flavor in Korean Rice-Distilled Liquor Using Sumizyme trade;	곽한섭	정윤희	김미숙, 이영승, 엄태길, 서윤진, 하상형	한국식품영양과학회지	44	국내	비SCI
2015	단감 증류주의 품질 및 관능 특성	제정정	정윤희	곽한섭, 김미숙, 이영승, 이춘매, 유성률, 윤성준, 신삼철	한국식품영양과학회지	44	국내	비SCI
2016	발효온도가 사과와인 품질 특성에 미치는 영향	곽한섭	김미숙	서재순, 배혜정, 이화중, 이영승, 정윤희	한국식품영양과학회지	45(1)	국내	비SCI

이외에 추후 2~3편의 SCI 논문을 게재하기 위하여 현재 작성 중에 있음.

다. 학술발표

- (1) 허예성. Comparison of Fermentative Properties of Makgeolli by Various Yeasts. 2013년 한국식품과학회 Poster
- (2) 최영기, 곽한섭, 엄태길, 임현화, 배영훈, 천승의, 이영승, 김미숙, 김성환, 정윤희. Reduction of Nuruk flavor in Korean traditional rice distilled spirits using Symizyme™, 2014년 한국식품영양과학회 국제 심포지움 및 학술발표, Poster
- (3) 천승의. Quality Characteristics and Analyses of Acetaldehyde and Methanol in Apple Wine Fermentation by Various Pre-treatments of Mash, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster

- (4) 최영기. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production, Hazardous Materials and Sensory Profile of Rice Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster
- (5) 배영훈. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production Profile, and Contents of Methanol, Acetaldehyde and Urea of Apple Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster
- (6) 임현화. Influence of Distillation Methods for Alcohol Production Profile, and Contents of Methanol, Acetaldehyde and Urea of Red Grape Distilled Liquor, 2015년 한국식품영양과학회 정기학술대회, Poster

라. 인력양성

인력양성명	인력양성연도	성과발생연도	인력양성내용	학위	전공	성별
석사 인력양성	2015	2015.02	석사학위취득 (허예성)	석사	식품영양	남

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 해외에서 각국의 전통 증류주에 관한 다양한 연구가 보고되고 있으며, 특히 최근의 연구는 에틸카바메이트 저감화를 위한 다각도의 증류 방법에 대한 연구가 발표되고 있다. 최근에는 특히 브라질의 전통주인 사탕수수 증류주에 대한 연구가 지속적으로 발표되고 있으며 이외에도 진, 럼, 배나 멜론 같은 과일 증류주의 증류 방법에 대한 비교 및 유해물질 저감 방안에 대한 연구가 활발히 일어나고 있다.

○ 또한 증류방법에 대한 연구 외에도 에틸카바메이트를 저감화할 수 있는 증류기의 특허 기술도 다양한 형태로 등록되고 있으며 과일 및 곡류의 재배 방법에 대한 권고사항들도 나오고 있는 상황이다.

○ 핵과류 중 특히 일본과 국내에서 소비가 많은 매실의 경우 알코올에 침출 시 에틸카바메이트가 생성되므로 각종 매체에서 씨앗을 제거하여 침출시키고 침출기간은 최대한 짧게, 저온에서 진행시킬 것을 권고하고 보도하였다.

제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음.

제 8 장 참고문헌

- Bae G. (2013). Quality characteristics of Korean traditional rice wine, makgeolli made with raw rice. MS Thesis. Dankook University, Yongin-si, Korea.
- Bae SM. (2002). Home brewing using fruits and herbs. Baesanmyun Brewing Research Center, Seoul, Korea. p 17-44.
- Carreón-Valencia T. (1999). Acetaldehyde. In IARC Monograph 71. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. p 99-105
- Cheirsilp B, Umsakul K. (2008). Processing of banana based wine product using pectinase and α amylase. J Food Process Eng 31: 78-90.
- Cho HC, Kang SA, Choi SI, Cheong C. (2013). Quality characteristics of fruit spirits from a copper distillation apparatus. J Korean Soc Food Sci Nutr 42: 743-752.
- Cho HK, Seo WT, Lee JU, Cho KM. (2012). Quality characteristics of cereal makgeolli rice nuruk prepared Rhizopus oryzae CCS01. J Korean Soc Food Sci Nutr 41: 1002-1008.
- Choi SH, Baek SY, Yeo SH, Park HD. (2012). Rapid fermentation of freeze-concentrated ice apple wine by a sugar tolerant yeast, *Saccharomyces cerevisiae* SS89. Korean J Food Preserv 19: 413-419.
- Chung KT, Seo SK, Song HI. (1984). Changes of polyphenols and polyphenol oxidase active bands during apple wine fermentation. Korean J Food Sci Technol 16: 413-417.
- Chung KT, Song HI. (1977). Effects of maceration of fresh pulp on apple wine making. Korean J Mycol 5: 27-31.
- Chung JH, Mok C, Lim S, Park YS. (2003). Ultrafiltration for quality improvement of apple wine. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 46: 201-206.
- Danilewicz JC, Secombe JT, Whelan, J. (2008). Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. Am J Enol Vitic 59: 128-136.
- Doco T, Williams P, CheynierV. (2007). Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition. J Agri Food Chem 55: 6643-6649.
- Huh CK, Lee JW, Kim YD. (2012). Fermentation and quality characteristics of yakju according to different rice varieties. Korean J Food Preserv 19: 925-932.
- Kim E, Chang YH, Ko JY, Jeong Y. (2013). Quality characteristics of Makgeolli added with kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). J Korean Soc Food Sci Nutr 42: 1821-1828.
- Korean Statistical Information Service, KOSIS, (2014). Cultivation area of apple.

- Jang JH, Yi SH, Kim JH, Lee DH, Lee JS. (2011). Effects of *Vitis coignetiae* on the quality and antihypertension of *Vitis* hybrid red wine. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 126-132.
- Jarvis B. (1996). Cider, perry, fruit wines and other alcoholic fruit beverages. In *Fruit Processing*. Arthey D, Ashust PR, eds. Springer US, New York, NY, USA, p 97-134.
- Jayani RS, Saxena S, Gupta R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochem* 40: 2931-2944.
- Jin TY, Chung HJ, Eun JB. (2006). The effect of fermentation temperature on the quality of Jinyangju, a Korean traditional rice wine. *Korean J Food Sci Technol* 38: 414-418.
- Kim HR, Lee Ar, Kwon YH, Lee HJH, Jo SJ, Kim JH, Ahn BH. (2010). Physicochemical characteristics and volatile compounds of glutinous rice wines depending on the milling degrees. *Korean J Food Sci Technol* 42: 75-81.
- Kim JS, Kim SH, Han JS, Yoon BT, Yook C. (1999). Effects of sugar and yeast addition on red wine fermentation using Campbell Early. *Korean J Food Sci Technol* 31: 516-521.
- Kim M, Lee Y, Kim I, Eom T, Kim SH, Jo N, Yu S, Jeong Y. (2013). Physicochemical characteristics of Korean traditional sprits brewed with *Phellinus linteus* by different nuruks. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 2042-2048.
- Kong MH, JeongST, Yeo SH, Choi JH, Choi HS, Han GJ, Jang MS, Chung IM. (2011.) Determination of ginseng yakju quality using different percentages and application dates of ginseng. *J East Asian Soc Dietary Life* 21: 207-214.
- Kwak HS, Ahn BH, Kim HR, Lee SY. (2015). Identification of sensory attributes that drive the likeability of Korean rice wines by American panelists. *J Food Sci* 80: S161-170.
- Lee CH. (2001). *Fermentation technology in Korea*. 1st ed. Korea University Press, Seoul, Korea. p 44-69.
- Lee DH, Jung JW, Lee YS, Seo JS, Park IT. (2014). Fermentation characteristics for preparation of distilled liquor made of mixed grains. *Korean J Food Sci Technol* 46: 446-455.
- Lee JH, Kang TH, Um BH, Sohn EH, Han WC, Ji SH, Jang KH. (2013.) Evaluation of physicochemical properties and fermenting qualities of apple wines added with medicinal herbs. *Food Sci Biotechnol* 22: 1039-1046.
- Lee JK, Jo HJ, Yoon JA, Chung KH, Song BC, Kim KI, An JH. (2014). Isolation and identification of microorganisms with antimicrobial activity in makgeolli of different kinds koji and nuruk. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 577-583.
- Lee SJ, Ahn BH. (2010). Sensory profiling of rice wines made with nuruks using different ingredients. *Korean J Food Sci Technol* 42: 119-123.

- Lee, SJ, Lee, KG. 2008. Understanding consumer preferences for rice wines using sensory data. *J Sci Food Agri* 88: 690–698.
- Lee TS, Han EH. (2001). Volatile flavor components in mash of takju prepared by using *Aspergillus oryzae* nuruks. *Korean J Food Sci Technol* 33: 366–372.
- Lester MR. (1995). Sulfite sensitivity: significance in human health. *J Am Coll Nutr* 14: 229–232.
- Lilly M, Lambrechts MG, Pretorius IS. (2000). Effect of increased yeast alcohol acetyltransferase activity on flavor profiles of wine and distillates. *Appl Environ Microbiol* 66: 744–753.
- Masneuf–Pomarede I, Mansour C, Murat ML, Tominaga T, Dubourdieu D. (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. *Int J Food Microbiol* 108: 385–390.
- National Tax Service. (2009). Analysis of liquor regulatory. Pp 12– 41.
- Park CS, Lee TS. (2002). Quality characteristics of takju prepared by wheat flour nuruk. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296–302.
- Park JH, Bae SM, Yook, C, Kim JS. (2004). Fermentation characteristics of takju prepared with old rice. *Korean J Food Sci Technol* 36: 609–615.
- Park JH, Choi JH, Yeo SH, Jeong ST, Choi HS, Kang JE, Kim SR. (2013). A study on the quality characteristics of makgeolli using heat treatment of traditional Korean nuruk extract. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 620–628.
- Patel S, Shibamoto T. (2003). Effect of 20 different yeast stains on the production of volatile components in Symphony wine. *J Food Comp Anal* 16: 469–476.
- Peng B, Yue T, Yuan Y. (2009). Analysis of key aroma components in cider from Shaanxi (China) Fuji apple. *Int J Food Sci Tech* 44:610–615.
- Reddy LVA, Reddy OVS. (2005). Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). *World J Microb Biot* 21:1345–1350.
- Satora P, Tarko T, Duda–Chodak A, Sroka P, Tuszyński T, Czepielik M. (2009). Influence of prefermentative treatments and fermentation on the antioxidant and volatile profiles of apple wines. *J Agri Food Chem* 57: 11209–11217.
- Shin KR, Kim BC, Yang JY, Kim YD. (1999). Characterization of Yakju prepared with yeast from fruits volatile components in Yakju during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 794–800.

- So MH, Lee JW. (1996). Takju Brewing by combined use of *Rhizopus japonicus*-nuruk and *Aspergillus oryzae*-nuruk. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 157-162.
- So MH, Lee YS, Noh WS. (1999). Improvement in the quality of takju by a modified nuruk. *Korean J Food Nutr* 12: 427-432.
- Vally H, Misso NLA, Madan V. (2009). Clinical effects of sulphite additives. *Clin Exp Allergy* 39: 1643-1651.
- Versari A, Parpinello GP, Cattaneo M. (1999). *Leuconostoc oenos* and malolactic fermentation in wine: a review. *J Ind Microbiol Biot* 23: 447-455.
- Viegas CA, Sá-Correia I. (1997). Effects of low temperatures (9 - 33 C) and pH (3.3 - 5.7) in the loss of *Saccharomyces cerevisiae* viability by combining lethal concentrations of ethanol with octanoic and decanoic acids. *Int J Food Microbiol* 34: 267-277.
- Wang D, Xu Y, Hu J, Zhao G. (2004). Fermentation kinetics of different sugars by apple wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J I Brewing* 110: 340-346.
- Whiting GC. (1976). Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages - a review. *J I Brewing* 82: 84-92.
- Williams EG. (1949). Experimental designs balanced for the estimation of residual effects of treatments. *Australian J Chem* 2: 149-158.
- Wojdyo A, Oszmianowski J, Laskowski P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *J Agric Food Chem* 56: 6520-6530.
- Yi HC, Moon SH, Park JS, Jung JW, Hwang KT. (2010). Volatile compounds in liquor distilled from mash produced using koji or nuruk under reduced or atmospheric pressure. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 880-886.
- Yi SH, Ann YG, Choi JS, Lee JS. (1996). Development of peach fermented wine. *Korean J Food Nutr* 9: 409-412.
- Yook C, Seo MH, Lee JW, Kim YH, Lee KY. (2008). Quality properties of wines fermented with domestic new different grapes. *Korean J Food Sci Technol* 40: 633-642.
- Youn KS, Hong JH, Bae DH, Kim SJ, Kim SD. (2004). Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment. *J Membrane Sci* 228: 179-186.
- Yun HJ, Lim SY, Hur JM, Jeong JW, Yang SH, Kim DH. (2007). Changes of functional compounds in and texture characteristics of apples during post-irradiation storage at different temperature. *Korean J Food Preserv* 14: 239-246.

첨부

< 특허, 논문 및 시장분석 >

1. 본 연구와 관련된 기술의 국내외 수준 비교

기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라 관련기술수준	연구사업단 보유기술수준		
과실의 이용한 증류주 제조 - 증류방법 비교 - 증류 중 유해물질 비 교 - 증류 방법 간 관능차 이 분석	프랑스, 이탈리아	50	50	90	
향미와 풍미를 증진시키 면 유해물질을 저감화 시키는 효모 선발 - 누룩취 저감 증류주 제조법 확립 - 향미가 좋은 효모 선 발	일본	70	60	100	
과실 증류주인 브랜디 제조에 적합한 과실주 선정 - 적포도 선정 - 청포도 선정 - 미성숙 사과를 이용 한 증류주 연구	프랑스, 이탈리아	50	50	90	

2. 특허조사분석

가. 특허조사분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허DB	특허정보원(www.kipris.or.k), 국제특허청(www.wipo.int), 미국특허청(www.uspto.gov)등
검색기간	19880101 ~ 20071231
검색범위	제목 및 초록

※ 특허조사분석시 활용하였던 특허정보이용과 관련된 내용을 기재

나. 특허 조사·분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

기술명		향미와 풍미를 증진시키면 유해물질을 저감화시키는 효모 선발	과실 증류주인 브랜드 제조에 적합한 과실주 선정	과실의 이용한 증류주 제조
Keyword		yeast, alcohol, strain	Fruit, Brandy, liquor	distillation, spirits
검색건수		241	61	4,265
유효특허건수		27	5	4
핵심특허 및 관련성	특허명	신규한 전분분해활성 및 알코올 발효능을 갖는 효모 및 이를 이용한 전통주의 제조방법	수박 알콜발효물을 증류한 수박증류주 제조방법	증류 중 에스테르화에 의한 향이 풍부한 증류주의 제조방법
	보유국	대한민국	대한민국	대한민국
	등록년도	2006	2010년 출원	2004
	관련성(%)	70%	70%	50%
	유사점	전분분해 활성을 갖는 효모 검색	과일을 발효하여 증류하여 증류주 제조	증류주 제조 방법
차이점	막걸리 제조에 적용하였음	수박즙을 사용한 것으로 사과/포도를 사용할 본 연구와 차이점	유해물질 저감은 시해하지 않았음	
핵심특허 및 관련성	특허명	새로운 고향기 약주효모균주 사카로마이세스 세레비제 TD03과 이를 이용한 약주의 제조방법	과실 발효주 및 과실 증류주의 제조방법	줄풀 증류액을 이용한 증류주의 제조방법
	보유국	대한민국	대한민국	대한민국
	등록년도	1998	2015	2014
	관련성(%)	30%	50%	30%
	유사점	효모선발	과실 증류주, 제조 방법	증류주, 미량금속성분 분석
차이점	약주에 적용	유해물질 저감, 증류방법 비교	증류방법 비교 없음, 유해물질 분석 없음	
핵심특허 및 관련성	특허명	땀쌀에 균주로서 아스피질러스 오리제를 접종하여 누룩 및 상기 누룩을 이용한 발효주의 제조방법		복분자 증류주의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 복분자 증류주
	보유국	대한민국		대한민국
	등록년도	2013		2011
	관련성(%)	30%		40%
	유사점	최적의 발효 조건 확립		과실증류주
차이점	약주에 적용		증류방법 비교 없음, 유해물질 분석 없음, 향미성분 비교 없음	

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	한국, 미국, 일본, 유럽
논문 DB	Google scholar(전세계), DBpia(국내)
검색기간	1997. ~ 현재
검색범위	제목, 초록 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

기술명		증류주, 증류방법	과실 증류주	국내 증류주 연구
Keyword		spirit, distillation	fruit, brandy, distillation	증류주
검색건수		< 1,000	>1000	24
유효논문건수		70	35	13
핵심논문 및 관련성	논문명	Influence of the number of distillations on the composition of organic sugarcane spirit	Fruit brandy production by batch column distillation with reflux	동증류기를 이용한 과실증류주의 품질 특성
	학술지명	Journal of the Institute of Brewing	Journal of Food Process Engineering	한국식품영양과학회지
	저 자	Flávio A. Silva외 5인	MICHAEL J. CLAUS외 1인	조호철외 3인
	계재년도	2013	2005	2013
	관련성(%)	50%	40%	30%
	유사점	증류 횟수, 에틸카바메이트	과일 증류주, 배치-column 증류법	동증류기 사용
차이점	술 재료	증류방법 비교 없음	재료, 증류방법, 분석항목	
핵심논문 및 관련성	논문명	Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit	Melon fruit distillates: comparison of different distillation methods	혼합잡곡 증류주 제조를 위한 발효 특성
	학술지명	Journal of the Institute of Brewing	Food Chemistry	한국식품과학회지
	저 자	A. R. Arcarde외 2인	Luis F Hernández-Gómez 외 2인	이대형외 4인
	계재년도	2012	2003	2014
	관련성(%)	40%	50%	40%
	유사점	에틸카바메이트, 2단 증류, 국가 전통주	증류방법 비교, 알코올 생성 비교	국내 전통주, 술덧 연구
차이점	재료, 지역, 증류기, 관능평가 유무	재료, 유해물질 분석, 사용 증류기	재료, 분석항목, 증류방법	
핵심논문 및 관련성	논문명	Ethyl carbamate kinetics in double distillation of sugar cane spirit. Part 2: influence of type of pot still	Production and Composition of Cider Spirits Distilled in "Alquitara"	입국으로 제조한 증류주의 숙성에 따른 품질 특성
	학술지명	Journal of the Institute of Brewing	Journal of Agricultural and Food Chemistry	한국식품과학회지
	저 자	A. R. Arcarde외 2인	Roberto Rodríguez Madrera외 5명	이대형외 7인
	계재년도	2013	2006	2014
	관련성(%)	50%	40%	60%
	유사점	증류기 비교, 에틸카바메이트	사과, 지역	분석항목, 숙성연구
차이점	재료, 지역, 증류방법	전통주 연구, 증류방법 비교	재료, 증류방법	

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 관련(유사)제품의 생산 및 시장 현황

<과실의 생산 및 가공 현황>

○ 1990년대 이후 20년간 우리나라의 전체 과실 생산량은 연평균 2.38% 증가하고 있으며, 2009년 국내과실 총생산량은 2,881천 톤이며 품목별로는 감귤 26.1%, 사과 17.2%, 배 14.5%, 포도 11.6%, 복숭아 6.9% 순이다.

○ 전체 과실 생산량 대비 가공원료 사용량 비중은 09년 6.8%로 상대적으로 낮은 수준이며, 이 중 감귤류의 가공량이 전체의 59.5%를 차지하고 있다.

(농림수산식품부, 각 연도 농림수산식품 수요통계, 과실류 가공 현황)

○ 과실 가공제품의 유형은 주스, 과즙, 넥타 등 음료류가 79.0%를 차지하고 있으며, 음료 중에서는 69.9%를 차지하고 있다. 년도 별로 살펴보면 통조림, 썸, 넥타 등 전통적인 가공제품의 비중이 감소추세인데 비해 주스류와 주류의 비중은 증가하고 있다.

(농림수산식품부, 각 연도 농림수산식품 수요통계, 과실류 가공 현황)

구 분		1995	2000	2005	2009
주스 음료	주스	52.4	29.7	65.2	69.9
	기타	22.8	24.5	18.7	9.1
	소계	67.2	54.3	83.9	79.0
통조림		5.0	9.0	2.9	1.1
주류		2.1	3.6	0.8	3.2
기타		25.7	33.1	12.4	16.7
전 체		100.0	100.0	100.0	100.0

단위: %

표. 과실류 가공제품 유형별 비중

<주류 및 증류주 시장>

○ 국내 주류 시장은 2013년 주류 매출액의 경우 총 8조 3천억 규모였으며 맥주와 희석식 소주가 각각 53.7%와 41.0%로 양분하였으나 증류주의 경우는 모두 모아도 3% 미만의 매출을 보임

○ 주류 수입의 경우에는 중량비에 따르면 맥주와 포도주, 위스키 순으로 나타났고 금액의 경우에는 위스키, 포도주, 맥주의 순으로 나타났음. 여기서 위스키, 꼬냑 같은 제품의 경우 중량당 금액이 높음을 알 수 있음

(출처: 2009-2013년 국내 주류 출고액, 2010 국내 주류 소비 현황, 2010-2014 주류 수출 및 수입현황)

그림. 2009-2013년 국내 주류 출고액

(출처 : 국세통계, 국세청)

(단위: 천, 백만원)

구분	2009년		2010년		2011년		2012년		2013년	
	출고량	출고액	출고량	출고액	출고량	출고액	출고량	출고액	출고량	출고액
맥주	1,961,568	3,608,851	1,909,923	3,671,060	1,963,170	3,803,774	2,031,271	4,001,215	2,062,054	4,301,403
희석식소주	929,420	2,831,592	930,605	2,867,317	923,024	2,867,375	950,884	2,994,793	905,903	3,115,312
탁주	260,694	261,426	412,269	450,824	458,198	509,710	448,046	498,152	426,216	473,785
청주	18,517	98,917	18,394	101,162	19,301	106,217	18,969	102,459	18,998	114,989
과실주	22,633	147,887	21,519	142,759	19,866	135,108	16,350	110,518	17,881	125,524
약주	22,116	117,343	18,841	103,028	18,975	106,653	16,544	90,271	14,538	84,145
일반증류주	6,998	25,241	3,708	14,080	3,925	14,917	3,999	15,568	4,787	20,058
위스키	4,351	211,488	3,417	192,940	1,954	124,593	1,196	84,501	940	67,043
증류식소주	600	8,178	717	10,596	609	9,555	585	9,493	658	11,491
리큐르	562	6,749	426	4,963	306	3,137	297	2,801	278	2,549
브랜드	50	837	66	932	75	675	73	800	75	827
기타주류	1,985	10,985	2,090	11,554	2,396	13,376	2,643	15,208	2,594	15,312
합계	3,229,494	7,329,494	3,321,975	7,571,215	3,411,799	7,695,090	3,490,857	7,925,779	3,454,922	8,332,438

* 국세통계, 국세청

1) 기타주류에는 맛술, 미림 등도 포함되어 있음

표. 2010 주류 수입현황 (단위: 톤, 천불)

2010년 주류 수입 현황

(단위:톤,천불)

구분	중량(톤)		금액(천불)	
		점유비		점유비
수입주류계	113,471	100	435,534	100
맥주	48,713	42.93	43,750	10.05
포도주(원액포함)	24,568	21.65	112,888	25.92
포도주(베르뫼등기타 유사포도주)	337	0.3	648	0.15
과실발효주(사과술 등)	561	0.49	753	0.17
청주	3,425	3.02	14,220	3.26
기타곡물발효주	1	0	11	0
기타발효주(와인콜러등)	815	0.72	1,695	0.39
위스키	22,590	19.91	231,027	53.04
꼬냑	415	0.37	7,278	1.67
기타포도주	395	0.35	1,866	0.43
럼	586	0.52	1,229	0.28
진	210	0.19	640	0.15
보드카	1,000	0.88	3,047	0.7
기타리큐르(오가피 등)	4,187	3.69	9,388	2.16
브랜드	65	0.06	323	0.07
소주	83	0.07	424	0.1
고량주	4,143	3.65	2,352	0.54
데킬라	615	0.54	2,904	0.67
기타증류주	762	0.67	1,091	0.25

표. 2010-2014년 주류 수출입 무역통계

년도	수출		수입	
	수출량(톤)	수출액(천\$)	수입량(톤)	수입액(천\$)
2010	185,573	205,285	111,766	432,440
2011	222,312	252,946	123,582	466,487
2012	219,910	252,855	142,683	486,261
2013	224,287	240,445	169,614	514,765
2014	229,259	254,685	195,436	561,305

* 수출입무역통계, 관세청

1) 전통주, 맥주, 증류주, 포도주 값의 합임

2) 전통주는 HS코드 2206.00.2010(청주), 2206.00.2020(약주), 2206.00.2030(탁주)의 합이며, 맥주는 HS코드 2203(맥주), 증류주는 HS코드 2208(변성하지 않은 에틸알코올, 증류주리큐르와 그 밖의 주정음료), 포도주는 HS코드 2204(포도주와 포도즙) 값임

- 또한 국내 주류 시장 규모를 보면 전체 시장에서 다른 주종과는 달리 증류주로 대표되는 위스키는 80% 가량이 수입분이 소비되는 것을 볼 수 있음.
- 증류주 중에서 곡물을 주원료로 하여 발효시켜서 증류하여 얻을 술을 위스키, 과실을 발효하여 증류 시킨 것을 브랜디라고 하며, 국내의 전통주 및 소주는 대부분은 곡물을 발효시켜 증류하여 만들거나, 주원료를 곡물로 하여 과실이나 한약재를 첨가하여 발효시켜 증류한 증류주가 대부분을 차지하고 있다.
- 우리나라에서 브랜디는 1968년도에 한국산토리(현 해태산업)가 국산 포도를 원료로 하여 제조 저장하던 중 1975년 프랑스의 브랜디 제조회사인 헤네시(Hennessy)와 기술제휴하여 국산 브랜디와 헤네시의 원주를 혼합하여 생산하였으며, 1977년에는 완전한 국산 브랜디로 대체 생산하기도 하였다. 그러나 지금은 국산 브랜디의 경우 2010년 연간 66kL 생산되었으나 수입 브랜디(수입량 1,047kL)에 밀려 턱 없이 부족한 실정이다.



국내에서 생산 되어진 국산 브랜디

- 우리나라의 브랜디 수입 증가 추이를 보면 꼬냑의 경우 2010년 414.8kL 포도 브랜디의 경우 395.0kL, 기타 브랜디의 경우 65.0kL 수입되었으며 연간 10%이상의 수입증가 추세를 보이고 있다. (한국 주류 수입 협회 HP, 2011년 2월 7일자 발표 자료 "2010년 주종별 주류 수입량")

2) 국외 관련(유사)제품의 생산 및 시장 현황

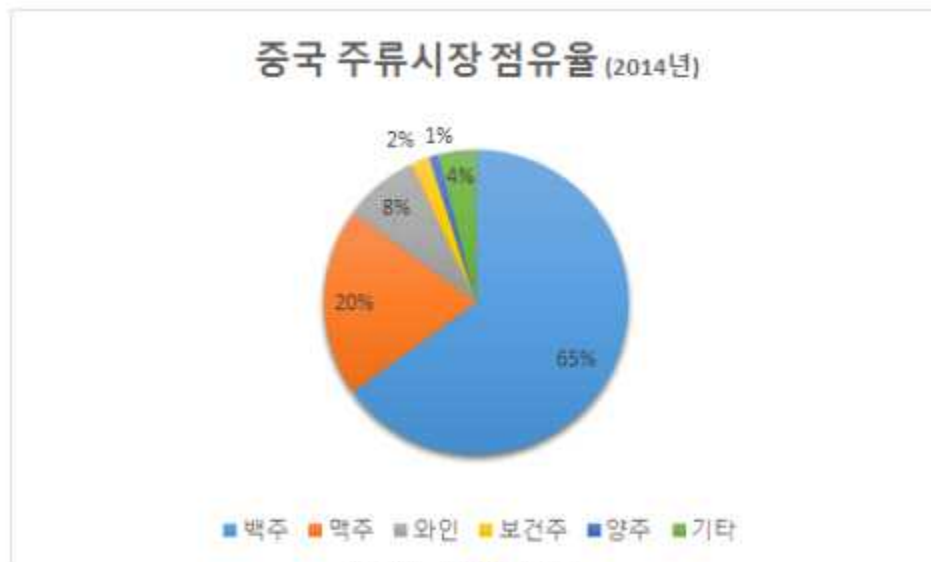
○ 브랜드의 기원이 프랑스 및 유럽 지방인만큼 전 세계생산량의 90%를 유럽 지방에서 생산하고 있으며, 그중에서 프랑스 지방에서 포도를 발효 숙성 시킨 다음 증류한 꼬냑 및 아르마냑, 노르망디 지방의 사과를 발효 숙성 시켜 증류한 칼바도스, 독일 및 스위스에서 버찌를 발효 숙성 시켜서 증류한 키르슈바서 등이 생산되어지고 있다.

			
꼬냑 (포도 발효 주류주)	아르마냑 (포도 발효 주류주)	칼바도스 (사과 발효 주류주)	키르슈바서 (체리 발효 주류주)

유럽 대표 브랜드

가) 중국

○ 중국 내 주류 시장규모는 연680억 리터 수준으로 세계 최대 규모이며, 대부분 자국 증류주인 백주 등이 차지하고 있으며 수입의 경우 1% 정도임. 중국내 증류주 소비량은 감소추세에 있으나 프리미엄 제품의 판매는 늘고 있음.



자료원: 중국평주회
그림. 중국 주류시장 점유율

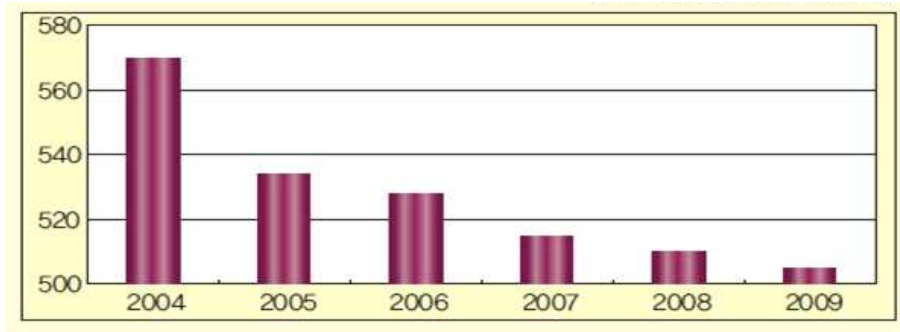


그림. 중국 증류주 시장 규모 (단위: 900L)
(출처 : 한국주류산업협회. 주류산업. 2011년 3월)

나) 미국

- 2010년 미국의 증류주 소비량은 17억 1,000만 리터로 2009년에 비해 1.7% 증가하였고 전체 주류 소비량은 감소하는 반면, 증류주는 최근 소비량이 꾸준히 증가함

주 종	2007	2008	2009	2010	증감(%)		
					07-08	08-09	09-10
맥 주	24.07	24.16	23.71	23.22	0.4%	-1.8%	-2.1%
와 인	2.71	2.72	2.74	2.76	0.4%	0.6%	1.0%
증류주	1.65	1.67	1.68	1.71	0.9%	0.9%	1.7%
기 타	0.60	0.57	0.51	0.50	-5.0%	-9.3%	-3.0%
총 계	29.02	29.11	28.65	28.19	0.3%	-1.6%	-1.6%

※ 자료 : Impact Databank

그림. 미국 주종별 소비량 변화 (단위: 10억 L)
(출처 : 한국주류산업협회. 주류산업. 2011년 7월. P.11)

다) 영국

- 영국 증류주 소비는 점차적으로 증가하였고 (20년간 4.7% 증가), 스카치위스키와 보드카가 강세를 보였음. 특징적인 사항으로는 향이 있는 증류주를 선호하는 경향이 있고 칵테일의 베이스로 많이 사용됨.

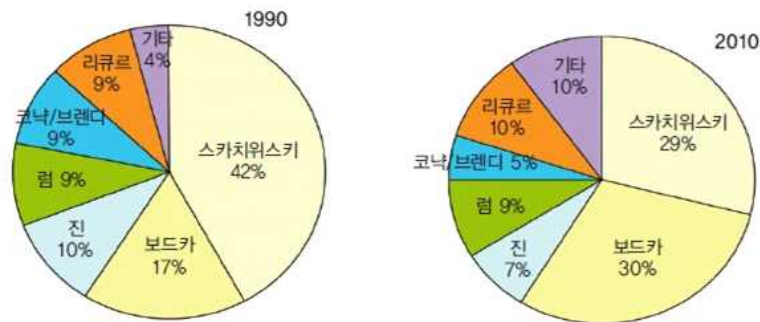


그림. 영국 증류주 시장 주종별 점유율 비교 (1990 vs 2010)
(출처 : 한국주류산업협회. 주류산업. 2011년 6월 p.11)

라) 러시아

- 증류주 시장은 점차 감소하였는데 특히 보드카 소비가 급격히 감소하였는데 특징적인 것은 정부에서 15도 이상의 주류의 판매를 23시부터 8시까지 판매를 금지한 법률이 개정된 이후 연간 보드카 섭취를 8L 까지 감소할 것으로 보임

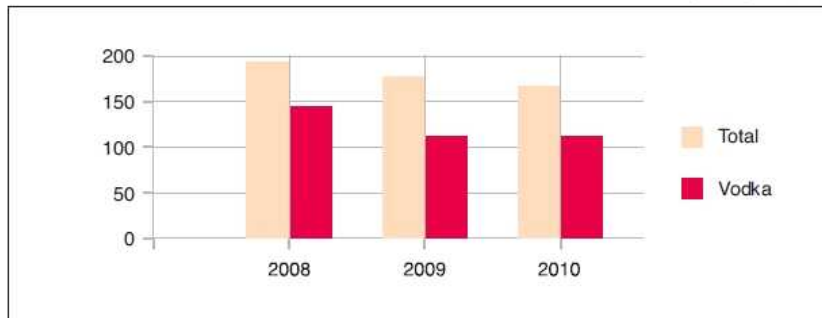


그림. 러시아 증류주 소비량 중 보드카 비중 (단위: 9백만 L)
(출처 : 한국주류산업협회. 주류산업. 2012년 01월. P.10)

마) 일본

- 일본의 증류주류는 주세법에 따르면 증류주류에 속하는데 크게 21도를 기준으로 소주와 알코올이 분류되며, 37도를 기준으로 위스키, 브랜디, spirits 등이 분류된다.
(출처: 일본 국세청 (www.nta.go.jp) 주류통계자료)
- 소주는 증류주의 일종으로 단식증류소주에 국한되는데 이를 소주올류라는 표현으로 쓰기도 한다. 정책적으로 세율을 낮춰 소비량이 증가하고 있음. 원료에 따라 쌀소주, 보리소주, 고구마소주 등으로 나누기도 한다.
(출처: 출처 불명확. <http://goldendragon.tistory.com/5>)
- 주류 출고량이 감소하고 있는 추세임 (6년 연속 감소). 이유로는 성인 인구의 감소와 1명당 주류 소비량의 감소를 지적함. 단식 증류소주와 청주 등의 증류주 계열은 다른 주류에 비해 비교적 적은 감소 추세를 보임

구분	2010	2011	전년대비(%)
청주	50,309	50,377	100.1
합성청주	3,628	3,471	95.7
연속식증류소주	30,962	30,012	96.9
단식증류소주	41,745	42,793	102.5
위스키	6,868	6,629	96.5
브랜디	377	348	92.2
스피리츠 등	24,754	24,524	99.1
리큐르	148,311	141,853	95.6
합계	306,954	300,007	

표. 일본 증류주 출고량 (단위: kL)
(출처 : 한국주류산업협회. 주류산업뉴스. 2012년 1월호. pp 19)

나. 연구사업단 보유(활용)기술의 산업화 계획 및 기대효과

1) 산업화제품화 계획(제품의 특징, 대상 등)

- 현재 시장에 출시되어 있는 국내 증류주의 경우 숙성기간, 향미성분 등에서 해외 수입되는 증류주에 비해 낮은 평가를 받고 있으나 본 연구개발에서 고품질 안전한 과실 증류주의 경우 향미성분 생성에 적합한 효모 개발과 고알콜 생성 효모의 개발 등을 통해 현재 증류주용으로 사용되는 효모와 달리 증류주에 적합화 된 효모를 사용하여 제품을 개발하므로써 기존제품보다 품질이 우수한 제품을 만들 수 있고 경쟁적 우위를 가질 수 있는 제품임
- 향기성분, 유해물질 분석을 통해 증류조건을 최적화시킨 고품질 안전한 과실 증류주 제품은 기존의 국내 증류주와 달리 소비자들의 관능, 기호도, 향미 등을 획기적으로 향상시킬 수 있어 전통주 시장에서도 우위를 점할 수 있으며, 또한 해외에서 수입되는 증류주 제품들과 비교하였을 때 국산 고품질 안전한 과실 증류주 제품의 경우 국내 농산물을 활용한 제품으로 내수 경제에 도움을 줄 수 있는 제품으로 증류주 시장에도 경쟁력을 지닌 제품임.
- 고품질 안전한 과실 증류주의 개발을 통하여 (주)배혜정도가는 중장기 성장 동력을 얻을 수 있음. 현재 (주)배혜정도가는 국내외 탁주의 매출량과 소비량이 감소함에 따라 사업의 다각화가 필요한 상황임. 순곡 증류주와 기타주류의 제품개발을 통하여 다각화의 초기 진입을 하였으나 고부가 가치의 세계화 주류, 수출 가능한 안전한 주류의 개발이 시급한 상황임. 중장기 성장 동력으로 고품질 안전한 과실증류주가 개발된다면 장/단기 숙성과 원료의 다양한 변수를 통하여 가격과 기호에 따른 고객의 다양한 needs에 부합되는 다품이 산업화 될 수 있음. 단기 숙성제품 및 일반 증류주 등 저가의 제품은 국내 기존 거래처 중 대형할인점과 과실 증류주의 본 고장인 유럽으로 수출할 계획을 가지고 있으며 해외 신규 시장의 확보는 농수산물유통공사의 인큐베이션 사업, 고부가 수출상품화 사업 등을 통하여 진행 가능함. 장기 숙성제품 및 블렌디 등의 고가 제품은 국내 백화점, 면세점, 업소 등의 기존 거래처 중심으로 진입 가능하며, 해외의 경우 중국, 일본 등 동남아 위주의 초기 진입이 가능함.
- 수입 브랜드의 대표 업체인 Remy martin의 VSOP 제품의 경우 수입관세를 포함하여 역산 시 주원료의 원가는 5,000원대/kg가 예측됨. 주조용 품종을 계약재배 시 형성되는 예상단가는 3~4,000원/kg로 생식용 품종의 산업용 원가인 2~3,000원/kg보다 높게 책정되어도 수입 브랜드의 주원료 원가보다 낮아 저가형 브랜드 제조 시에도 가격 경쟁력이 있으며 과수 재배 농가의 소득도 높아질 것으로 사료됨.

<수입 브랜드 내 주원료 단가 산출 예상 내역>

제조사		Remy Martin	비고
제품명		VSOP	저가형 브랜드
알코올함량	v/v%	40	
용량	ml	700	
수입판매가	₩	70,000	
판매이윤	₩	21,000	판매가 대비 30%
수입원가	₩	49,000	
세금	₩	29,000	세전원가의 145%
세전원가	₩	20,000	
제조이윤	₩	4,615	제조원가의 30%
제조원가	₩	15,385	
제조경비 외	₩	4,396	원부재료비의 40%
원부재료비	₩	10,989	
포장재비	₩	7,692	원부재료비의 70%
원재료비	₩	3,297	원부재료비의 30%
내 주원료비	₩	3,132	원재료비의 95%
주원료량	g	570	알코올함량*용량/1.93(93%회수율)/14(와인알코올도수)/1.8(용량대비원료량)

○ 미숙성 과실의 경우 폴리페놀의 함량이 높아 주조용 특성을 갖으나(경기도농업기술원 경상 과제 2013년 결과발표예정) 알코올 수득량이 낮고 탄닌 등의 함량이 높아 단독 사용 시 산업화하기 어려움. 따라서 알코올 수득률이 높은 쌀 증류숙성주를 활용하여 블렌딩한다면 고부가가치의 한국형 브랜드(일반증류주)를 제조할 수 있음.

○ 특히 본 연구개발은 국내산 농산물을 사용한 제품의 사용함으로써 고부가가치화 제품일 뿐만 아니라 미국/유럽/중국 등 기존 증류주 소비가 많은 국가에 수출함으로써, 국내 주류의 우수성을 홍보할 수 있고, 농가 소득 향상에도 크게 기여할 것으로 예상됨

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목	산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과		0	0	0	2,000	6,000	8,000
경제적 파급효과		0	0	0	2,000	6,000	8,000
부가가치 창출액		0	0	0	6,000	12,000	18,000
합계		0	0	0	10,000	24,000	34,000

- ※ 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- ※ 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- ※ 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

5. 3P(특허,논문,제품)분석결과 및 연구사업단 사업내에서의 활용

가. 특허분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 고품질 과실 증류주의 제조를 위한 발효력과 풍미 증진을 위한 과실 증류주용 효모 선발의 경우 기존 특허는 전분분해활성이나 알코올 생성능이 향상된 효모의 선발 등은 부분적으로 이루어져 왔으나 본 연구과제에서는 종합적으로 증류주에 적합한 효모를 선발하는 방향으로 연구를 추진하여 향기성분 생성능 우수 효모 선발, 고알코올 생성 효모 선발 등의 특허 등을 국내 출원하고 등록하였음.
- 고품질 과실 증류주의 제조를 위한 최적 증류조건의 최적화의 경우 증류 시 향기성분의 유지를 위한 특허가 있으나 증류방식이나 재질, 증류 가열방식에 관한 특허가 이루어지지 않았다. 특허 증류 방식, 증류기 재질, 증류 가열방식에 따라 유기적으로 나타나는 품질개선을 위한 특허는 출원되지 않았음. 따라서 각 항목의 연관성에 대한 연구도 수행할 계획이고, 특히 소비자의 기호도를 평가 가치로 삼아 증류방식 등을 최종 조절함으로써 경쟁력 있는 제품으로 개발을 진행하여, 현재 쌀증류주(19%, 40%) 및 배증류주(19%, 40%)를 개발하여, 전통 증류주를 현대화하였으며, 현재 롯데면세점에 입점하여 판매중임.



나. 논문분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 기존 논문은 알코올 발효에 관한 효모 검색과 생산에 관련된 연구와 여러 종의 효모를 이용한 탁주 개발에 관련된 방향으로 연구가 편중되었으나, 본 연구과제에서는 증류주 중에서도 과실 발효 증류주에 적합한 효모의 선발을 목표로 연구를 추진할 계획으로 다양한

효모의 스크리닝 연구를 술 전문 국제 학술지(SCI)인 Journal of the Institute of Brewing 에 일부 게재하였으며, 지속적으로 논문을 게재하고자 함.

- 기존의 논문은 증류 방법 비교에 대한 연구가 미진하여, 본 연구과제에서는 다양한 증류 방법을 쌀 및 과실 증류주에 적용하여 알코올 생성량, 유해물질 분석, 향미성분 분석, 관능 평가 결과 등을 국제 학술지(SCI)인 Journal of Food Science, International Journal of Food Science and Technology, Food Control 등에 게재할 계획임.
- 최적의 증류주 제조를 위한 다양한 발효조건에 대한 연구를 진행하여, 이에 대한 결과를 한국식품영양과학회지(KCI등재) 등에 게재하고자 함. 누룩취 저감 쌀 증류주 개발 및 사과 와인(증류용)의 발효 조건에 대한 논문은 한국식품영양과학회지에 게재됨.
- 이러한 연구 결과를 바탕으로 한국형 장/단기 숙성 증류주의 저장 기간에 따른 유해물질, 향미성분, 관능 검사의 결과를 차후 연구하고자 함.

다. 제품·시장분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 국내 시장 분석 결과 국내에서 제조된 과실 증류주의 경우 저평가 받고 있는 현실이 존재하는데 향기성분의 생성과 알코올 생성능 향상 등의 새로운 수준의 과실 증류주를 제조할 수 있을 것으로 보고 국제사회에서도 경쟁력을 가질 수 것으로 판단됨.
- 현재 국내 과실 증류주의 증류 방식은 기술력을 부여할 여지가 많은 부분으로 종합적인 테스트를 통해 최적화를 이룰 경우 소비자들이 선호하는 품질의 과실 증류주를 제조할 수 있을 것으로 보고 증류주 시장의 확대에 기여할 것으로 판단됨.
- 본 연구개발에서는 과실 증류주에 적합한 효모 선발과 증류조건의 최적화를 통해 고품질 안전한 과실증류주의 제조를 통해 국내 제조되는 증류주와 차별성을 둘 수 있음과 동시에 국제사회에 대한민국에서 생산한 과실 증류주를 홍보할 수 있고 이를 통해 국내 농산물의 판로 확대 및 인식 제고에도 기여하는 제품으로 개발 가능.
- 본 연구개발을 통해서 배혜정도가-경기도농업기술원-단국대학교가 협업하여 현재 4종의 고품질 증류주를 개발하여 시판하고 있으며, 농가와 사과/포도 계약 재배 등이 완료되면 최종적으로 8~10종의 고품질 증류주를 생산하여 판매할 예정임.
- 또한, 본 연구개발을 통해서 도출된 증류 기술들에 대하여 기존에 시판중인 제품에도 적용하여, 소비자들에게 기존보다 유해 성분이 적은 고품질의 술을 제공하도록 할 예정임.