

어젠다코드	1 - 6 - 20		구분	완결	
기술분야코드	V3	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-02-FR22
과제종류	기관고유		과제번호	PJ013550	
과제명	지역특산물 이용 수제 맥주 개발 및 상품화				
과제책임자	성명		직급	소속기관 및 부서	
	이하연		농업연구사	강원도원 농식품연구소	
연구기간	2018 ~ 2020		참여연구기관	(재)홍천메디칼허브연구소	
세부과제명			부서	세부책임자	연구기간
1) 수제 맥주용 토착효모 선발 및 상품화			농식품연구소	이하연	'18~'20
2) 수제 맥주 제조공정 및 체험용 키트 개발			(재)홍천메디칼허브연구소	정낙원	'18~'20
색인용어	수제맥주, 토착효모, 키트, 오륜쌀				

## ABSTRACT

The purpose of this study was to develop and commercialize craft beer through the separation of indigenous yeast for craft beer and evaluation of fermentation characteristics. Isolation and fermentation characteristics of native yeast for craft beer were evaluated, and strains election and fermentation performance were compared with commercial yeast. To select seeds for craft beer, sugar resistance, alcohol resistance, hydrogen sulfide production ability, fragrance component production ability, and biogenic amine production were investigated. As a result of selecting and identifying the first 43 weeks, 13 ale yeasts were obtained. The *Saccharomyces cerevisiae* AFY-5 strain was finally selected because of its excellent fragrance components, alcohol production ability, and foam generation, and the strain was deposited and applied for a patent. For the selection of sour ale and high-weight beer strains, 930 strains of not-owned strains were selected through a characteristic test.

We have developed technology for mass cultivation of craft beer strains, and technology for maintaining and preserving the activity of strains. An analysis of the volatile aroma components of craft beer was carried out. BI As a result of surveying naming preference for commercialization of developed craft beer, it was finally selected as GLB (Ganwon Lovely Beer, Gangwon Love Beer), and a label design was developed based on this. An introduction to the craft beer breweries in the Gangwon region was published, and a beer brewing program using an experience kit was developed. Through the implementation of the project, the localization of yeast seeds for craft beer resulted in an import substitution effect and technology transfer of the developed seeds to local breweries. The use of local agricultural products has also been expanded through the commercialization of tourism and reinforcement of marketability through the development of craft beer using local specialties and experience kits.

## 1 연구목표

최근 국내 수제맥주 산업이 확산됨에 따라 맥주의 원료인 맥아, 홉, 효모의 사용이 증가되고 있다. 하지만 종균과 맥아는 대부분 수입에 의존하는 실정이다. 차별화된 수제맥주 제품 개발을 위하여 양조용 종균과 지역 특산물을 이용한 차별화된 수제맥주 개발에 대한 수요는 증가하고 있으나 이에 대한 국내 연구는 미흡한 실정이다. 본 연구 과제를 통하여 수입 종균과는 차별화된 수제맥주에 적합한 토착효모 연구를 통하여 종균을 국산화하고, 지역 내의 다양한 농산물의 맥주 양조 적성을 평가하여 이를 활용한 수제맥주 양조 레시피를 개발함으로써, 농산물의 활용도를 제고시켜 농가소득을 증가시키고, 6차 산업과 연계한 수제맥주 체험용 키트를 개발하여 농촌 체험장의 소득을 높이는 것이 연구 개발의 목적이다.

## 2 재료 및 방법

### 〈제1세부과제: 수제 맥주용 토착효모 선발 및 상품화〉

종균제조는 Chloramphenicol을 첨가한 YPD broth (2% peptone, 1% yeast extract, 2% glucose) 배지 150 mL 에 효모 균주를 접종하여 30°C에서 3일간 배양한다. 배양액은 다시 5L jar fermentor(Kobiotech, Korea)에 O.D.가 0.1이 되도록 접종하여 30°C, 200 rpm, 1 vvm 조건에서 48시간 배양한다. 배양이 완료된 균주 배양액은 초고속원심분리기(3,000 rpm, 30분)를 이용하여 원심분리 후, 상등액을 제거한다. 부형제(Skim milk, lactose, trehalose, maltose)를 Cell pellet에 10%로 첨가하여 -70°C에서 12시간 동결한 후, 동결건조기에서 3~5일간 건조하여 종균을 제조한다. 연속 희석법에 따라 시료를 일정 농도로 멸균수에 희석시킨 시료 100  $\mu$ L을 Chloramphenicol(100  $\mu$ g/mL)이 들어 있는 YPD 한천배지에 도말하고 30°C에서 48시간 동안 배양하여 생성된 집락수를 계수함으로써 효모의 숫자를 측정한다.

종균 산업용 대량 배양 500L fermentor를 이용하여 종균을 대량배양하며, 원심분리기로 배지 상등액을 제거한 후, cell pellet에 부형제를 첨가하여 동결건조하여 종균을 제조한다.

응집도 분석은 효모를 10 mL의 YPD broth(2% peptone, 1% yeast extract, 2% glucose) 함유배지에 접종하여 30 °C에서 2일 동안 150 rpm에서 진탕배양한다. 세포를 원심분리에 하여 cell pellet을 세척한 후, 3 mM CaSO<sub>4</sub>가 함유된 50 mM 아세트이트 완충액(pH 4.5) 10 mL에 현탁시킨다. 30 초 동안 혼합하고, 효모 현탁액의 혼탁도를 육안으로 평가한다. 응집도는 시간에 따라 침강이 관측되는 상태를 육안으로 결정한다(++; 즉시 응집, +; 15 분 후에 응집 후 침강(부분적으로 투명한 용액), w-1; 시간 후 응집).

알코올 도수 비중법을 이용하여 배양 상등액 100 mL를 증류한 다음 70% (v/v)를 메스실린더에 회수하고 다시 증류수를 이용하여 100 mL로 정용한 다음 주정계를 이용하여 측정한다.

환원당은 Dinitrosalicylic acid (DNS)법으로 측정한다. 희석된 시료 1 mL를 시험관에 넣고 DNS reagent 1 mL를 주입하여 혼합시킨 후, 100°C의 물에 15분간 중탕시킨다. 실온상태에서 냉각한 증류수 3 mL를 가한 후, Spectrometer를 이용하여 546 nm에서 흡광도를 측정한다. Glucose를 이용해 환원당 표준곡선을 이용하여 시료의 흡광도를 백분율로 환산한다.

디아세틸 함량은 0.175 M iso-niazide 용액 10 mL에 acetic acid 몇 방울을 넣어 산성화시킨다. 여기에  $2.9 \times 10^{-4}$  M diacetyl solution 5 mL과 0.15 M ZR(IV)염 1 mL를 가한다. 3 M HCl과 4M NaOH로 pH를  $1.7 \pm 0.1$ 로 조정시킨 후 제조한 용액을 50 mL 부피 플라스크에 옮겨서 물로 희석한다. 약 30분 뒤, diacetyl의 농도를 20-200 ppb 사이로 나타내어 calibration curve를 작성한다. 시료 25 mL을 NaCl 포화용액 70 mL과 섞어준 뒤, 이 혼합물을 iso-niazide 용액 20 mL에 30 mL이 포집될 때까지 증류시킨다. 이 값을 calibration curve와 대조하여 diacetyl의 양을 비색법으로 측정한다.

유리아미노질소 함량은 맥주 2 mL를 취하여 1 mL ninhydrine 발색제를 첨가한 후, 16분 동안 항온 수조에서 100°C로 가열한다. 그 후 20분 동안  $20 \pm 1$ °C에서 식한 다음 5 mL 희석액을 넣는다. 완벽하게 혼합한 후, 증류수와 비교하여 570 nm에서 30분 이내에 흡광도를 측정한다.

휘발성 성분 분석은 배지 50 mL에 효모 단일 집락을 접종하여 12시간 배양한다. 1mL의 미생물 배양액을 Nylon membrane filter paper ( $0.22 \mu\text{m}$ )가 장착된 진공 여과 플라스크를 이용하여 세포를 회수한다. 멸균증류수로 세포를 세척한다. 세포가 회수된 멤브레인 필터는 5 mL의 냉동보관된 Isopropanol: Methanol:D.W.(3:3:2, v/v)에 넣고 교반한 뒤, 즉시 액체질소에 10초간 방치한다. 동결된 추출액은 다시 녹인 후, 3분간 교반한 후, 13,000 rpm, 4°C조건에서 5분간 원심분리한다. 상등액은 감압농축기로 진공건조하며, 시료 내 불순물 제거를 위하여 500  $\mu\text{l}$ 의 Acetonitrile:D.W.(1:1, v/v)를 첨가하여 균질화 한 후, 다시 건조시킨다. 건조된 시료는 분석 전까지 -80°C에 보관한다. GC/TOF-MS 기기를 이용하여 휘발성 성분을 분석한다. Pegasus HT TOF MS(Leco, USA)가 장착된 Agilent 7890A Gas chromatograph(Agilent Technologies, USA)를 사용하며 분석조건은 다음과 같다.

일정 흐름도	Constant flow
컬럼	RTX-5Sil MS Column(30 m × 0.25 mm, 0.25 $\mu\text{m}$ film thickness)
유동 가스	헬륨, 1.5 mL/min
주입모드	Splitless
주입 부피	1 $\mu\text{l}$
오븐 프로그램	50°C(1분) → 330°C(5분) - 20°C/min
전자 이온화	-70 eV
이동선 온도	280°C
소스 온도	250°C
매스 범위	40 - 650 m/z
최소 유사성	50%

### (시험 1) 수제맥주용 토착효모 분리 및 균주특성 평가

수제맥주용 토착효모 분리 및 균주특성 평가를 위하여 발효자원 59점을 수집하여 효모균주 274주 분리하였다. 균주특성 평가는내산성, 내당성, 알코올 내성, 효소 활성, 바이오제닉아민 생성 등을 분석하였다.

## (시험 2) 수제맥주용 선발 종균 동정 및 시판효모와의 발효능 비교

1차 선발 효모는 12주, 시판효모: 2주(제조사: 미국)의 발효능을 비교하여 발효특성 알코올 도수, 플라토, 거품안전성, 향기성분 등을 분석하였다.

## (시험 3) 상품성 강화를 위한 BI 및 라벨 개발

BI 선호도 조사를 위하여 강원도청 온라인 130명, 홍천강 별빛음악 맥주축제 설문조사 50명을 실시하였다. 라벨디자인 Gangwon Lovely Beer, GLB BI 및 라벨 디자인 개발을 하였다.

## (시험 4) 쌀 이용 수제맥주 양조 레시피 개발(바이젠타입)

쌀 품종 9품종(오륜, 오대 등)의 분쇄 및 침지 유무 등 전처리 조건을 설정하였고, 레시피 개발 후 쌀 30~50% 당화공정에 참가하여 맥주 제조 후, 주질분석을 하였다.

## (시험 5) 사과 이용 수제맥주 양조 레시피 개발

2품종(아리수, 홍로)를 이용하여 사과 착즙액 5~20% 숙성공정에 참가하여 맥주 제조 후, 주질분석을 하였다.

## (시험 6) 수제맥주 전용 용기 및 잔 개발

전용 용기: 4종 디자인 개발 및 시제품 제작하여, 2종의 디자인 개발 및 시제품 제작하였다.

## (시험 7) 수제맥주용 종균 대량 배양기술 개발

종균 최적 배지조건 탄소원, 질소원, 온도, 교반속도(5L 발효조 이용),파일릿 규모 발효조 이용(500L 발효조이용)으 이용하여 대량배양조건을 확립하였다

## (시험 8) 수제맥주용 종균 활성유지·보존기술 개발

부형제 종류별 생육 평가를 위하여 동결보호제 첨가(skim milk, maltose 등) 및 저장 조건별 생육 온도(-80~25℃), 기간(6개월) 평가하였고, 효모 생균수, 대장균군 기준으로 종균 규격 설정하였다.

## (시험 9) 수제맥주 휘발성 향기성분 분석

SPME GC-TOF/MS 이용 정성, 정량분석법을 이용하여 휘발성 향기성분 분석법을 확립하였고 수제맥주별 주요 향기성분 프로파일링을 하였다.

## (시험 10)종균 활용 수제맥주 제조공정 개발(폐일에일타입)

종균 활용 수제맥주 발효, 숙성, 조건 확립 하고 에탄올, 메탄올 등 주질을 분석하였다.

### (시험 11) 체험용 수제맥주 제조 키트 개발

맥아즙 농축 조건(농도, 온도 등), 포장용기 개발 등을 설정하고, 키트 활용 맥주 제조 및 주질 분석: 에탄올, 메탄올, 알데히드, 당도 등 체험용 수제맥주 제조 키트 사용법 확립: 가이드라인(재료사용법, 발효조건 등)을 설정하였다.

### (시험 12) 개발 수제맥주 소비자 기호도 조사

개발 수제맥주 관능평가 2회(홍천메디칼허브연구소 성과보고회, 농진청 신제품 시장성 테스트) 실시하였다.

### (시험 13)사위에일용 종균 선발

발효미생물 균주은행 기보유 균주(166주)에서 내산성, 디아세틸 함량, EPS 생성, 홉 내성 등 평가하고, 유기산, pH, 알코올, 발효도, 디아세틸함량, 향기성분 등을 분석하였다.

### (시험 14) 고비중맥주용 종균 선발

가. 시험재료: 발효미생물 균주은행 기보유 균주(764주) 중 말토트리오스 분해능, 전분 분해능 특성 평가 후 발효도, 알코올 도수, 비중, 유리당 등을 분석하였다.

### (시험 15) 강원지역 수제맥주 양조장 소개 책자발간

지역 양조장 소개(10개소)를 방문 인터뷰를 통해 맥주 소개, 지역 농산물 활용 안주 레시피(10종)를 수록하였다.

## 3 결과 및 고찰

### 〈제1세부과제: 수제 맥주용 토착효모 선발 및 상품화〉

#### (시험 1) 수제맥주용 토착효모 분리 및 균주특성 평가

전국에서 발효자원 59점을 수집하여, 추출액을 YPD 배지에 도말하여 25℃에서 48시간배양한 후, 단일 콜로니만 획득하여 다시 순수배양하여 총 274주의 효모 균주를 확보하고 저장하였다.

표 1. 수집자원 목록

번호	수집자원명	원산지 및 회사	번호	수집자원명	원산지 및 회사
1	딸기	전라남도 곡성군	4	고랭지 사과	경상북도 예천군
2	감귤	제주도 서귀포시	5	누룩	경상북도 안동시
3	참다래	전라남도 보성군	6	재래누룩	경기도 양평군

번호	수집자원명	원산지 및 회사	번호	수집자원명	원산지 및 회사
7	이화백주	서울특별시 강남구	34	쌀입국	강원도 춘천시
8	손막걸리	울산광역시울주군	35	춘천 왕수 생막걸리	강원도 춘천시
9	이화주	경기도 용인시	36	춘천 생막걸리	강원도 춘천시
10	백련 생막걸리 스노우	충청남도 당진시	37	춘천양조장 국	강원도 춘천시
11	산양산삼 생막걸리	경기도 광주시	38	춘천양조장 입국(분쇄)	강원도 춘천시
12	퇴촌 토마토 생막걸리	경기도 광주시	39	고품질이화곡	전남 강진구
13	호랑이배꼽 생막걸리	경기도 광주시	40	명품이화곡	전남 강진구
14	다랭이팜 백미 생막걸리	경상남도 남해군	41	팔봉산 양조장(밀누룩)	강원도 홍천군
15	우리도가 알밤생주	경기도 가평군	42	영지 양조장(밀누룩)	강원도 홍천군
16	문경주조 오미자 막걸리	경상북도 문경시	43	예술양온소(쌀누룩)	강원도 홍천
17	김포금쌀 선호생막걸리	경기도 김포시	44	예술양온소(밀누룩)	강원도 홍천
18	삼양춘	인천광역시	45	물안마을(밀누룩)	강원도 춘천시
19	곰취 생막걸리	강원도 인제군	46	두루 전통양조(밀누룩)	강원도 홍천군
20	산천어 생막걸리	강원도 화천군	47	이화곡	강원도 홍천군
21	주문진 쌀 동동주	강원도 강릉시	48	향온곡	강원도 홍천군
22	지장수 호박 생 막걸리	강원도 동해시	49	홍천누룩1(밀누룩)	강원도 홍천군
23	솔향 옥수수 동동주	강원도 속초시	50	홍천누룩2(벼씨누룩)	강원도 홍천군
24	평장 생 메밀막걸리	강원도 평창군	51	홍천누룩3	강원도 홍천군
25	봄봄 생막걸리	강원도 춘천시	52	홍천누룩4(향온곡)	강원도 홍천군
26	사임당 옥수수 생 동동주	강원도 강릉시	53	홍천누룩5(내분비국)	강원도 홍천군
27	봄봄 생막걸리	강원도 춘천시	54	홍천누룩6	강원도 홍천군
28	우리밀 전통누룩 1호	충청남도 예산군	55	홍천누룩7	강원도 홍천군
29	우리밀 전통누룩 2호	충청남도 예산군	56	홍천누룩8	강원도 홍천군
30	천년향 약선누룩	충청남도 예산군	57	홍천누룩9(백수 환동곡)	강원도 홍천군
31	이화곡	충청남도 예산군	58	홍천누룩10(내분비국 분쇄)	강원도 홍천군
32	미백누룩	충청남도 예산군	59	홍천누룩11(이화곡_가루)	강원도 홍천군
33	통밀입국	강원도 춘천시			

분리 효모 균주 특성 평가는 274주 효모균주의 내당성, 내산성, 알코올 내성, 효소활성, 향기성분 생성, 이취생성(H2S 생성), 바이오제닉아민 생성을 분석하였다. 쌀 및 사과 이용 맥주 레시피 개발 시 고농도의 포도당 및 말토오스를 함유할 것으로 예상되며 이러한 환경에서 발효능이 우수한 효모가 필요하므로 Glucose 및 Maltose 농도별(1~40%) 배지에서 내당성 테스트를 진행하여 내당성 우수 균주 12주를 확보하였다. 잔존하고 있는 전분의 분해를 위하여 전분분해효소( $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -glucosidase)와 맥주 여과시 문제가 되는  $\beta$ -glucan을 분해할 수 있는  $\beta$ -glucanase, 효모 증식에 영양원과 에스테르 생성에 영향을 미치는 유리아미노산질소(FAN, Free amion nigtrogen)함량을 증가시키는 protease 활성을

평가하여 55주 균주를 확보하였다. 개발하고자 하는 맥주는 에일맥주로서 에일효모인 *Saccharomyces cerevisiae* 외의 균주는 제외시켜야 하므로 *S. cerevisiae* 균주가 Urease 음성인 특성을 이용하여 모든 선발 균주에서 URE 양성 균주(38주)는 제외하였다. L-Leucine 유사물질인 TFL 저항성 평가를 통하여 바나나향이 나는 아이소아밀 알코올 고생성 균주를 선발하였고, cerulenin 저항성 평가로 지방합성효소를 저해하여 사과향을 내는 ethyl caproate을 고생성 하는 균주를 선발하여 향기성분 고생성 균주 43주를 확보하였다. 황화수소( $H_2S$ )는 휘발성으로 맥주 잔존농도는 낮으나 역치가 낮아 맥주의 불쾌한 향을 생성하므로 황화수소 고생성 균주는 모두 제외하였고, 발효식품의 안전성 확보를 위하여 아미노산(His, Tyr, Phe, Trp, Lys) 탈탄산화반응 양성 균주(61주)도 제외하여 최종적으로 91주를 1차 선발하였다. 셀룰레닌은 지방산 합성 억제제로서 셀룰레닌 내성 균주는 중쇄 지방산 생성이 증가하여 궁극적으로 주류의 주요 향기성분인 에스테르(지방산+알코올) 생성을 증가시키기 때문에 향기성분 고생성 균주를 선발하기 위하여 셀룰레닌 내성 균주를 선발하였다.

표 2. 분리 효모의 스트레스내성, 효소활성, 향기 및 바이오제닉아민 생성 결과

평가항목		분리균주(주)						합계
		-	+	++	+++	++++	+++++	
스트레스 내성 <sup>1)</sup>	Glucose tolerance (30%)	5	174	67	28	-	-	274
	Maltose tolerance (30%)	59	153	43	13	6	-	274
	Ethanol tolerance (10%)	260	14	-	-	-	-	274
	Acid tolerance (3.0)	29	90	153	2	-	-	274
효소활성 <sup>2)</sup>	$\alpha$ -amylase	22	89	89	22	38	14	274
	$\beta$ -Glucosidase	115	23	24	26	21	65	274
	Glucanase	15	40	42	55	80	42	274
	Protease	35	17	19	26	57	120	274
	Urease <sup>3)</sup>	236	2	9	9	8	10	274
향기관련	H <sub>2</sub> S <sup>4)</sup>	180	25	25	21	18	5	274
	TFL <sup>5)</sup>	47	26	25	72	74	30	274
	Cerulenin <sup>5)</sup>	117	24	55	31	36	11	274
바이오제닉아민 생성	Histamine	69	11	45	77	28	44	274
	Tyramine	180	6	14	24	14	36	274
	Phenethylamine	45	40	80	49	44	16	274
	Tryptamine	118	25	50	37	21	23	274
	Cadaverine	51	13	27	51	78	54	274

1) colony size: no result (-), 0.5~1.5 mm (+), 3~4.5 mm (++) , 5~6.5 mm (+++), 7~8.5 mm(++++), 9 mm 이상 (+++++)

2) colony size: no result (-), 1 mm (+), 2 mm (++) , 3 mm (+++), 4 mm (++++), 5 mm (+++++)

3) clear color: no result (-), slightly light pink (+), light pink (++) , pale pink (+++), pink (++++), dark pink (+++++)

4) colony color: white (-), light tan (+), tan (++) , light brown (+++), brown (++++), black (+++++)

5) colony size: no result (-), 1 mm (+), 2 mm (++) , 3 mm (+++), 4 mm (++++), 5 mm (+++++)

바이오제닉아민은 발효식품에서 유해물질로 알려져 있으며, 이는 균주가 생성해 내는 아미노산 탈탄산 효소에 의하여 아미노산을 아민으로 전환시킨다. 바이오제닉아민 비생성 균주를 선발하기 위하여 BCP (Bromocresol purple)를 첨가한 배지에서 아민류 생성 시 pH가 증가해 노란색을 띄는 배지가 보라색으로 변하는 원리를 이용하여 바이오제닉아민 비생성 균주를 탐색하였다. 셀룰레닌 고내성 균주 11주 중에서 바이오제닉아민을 생성하지 않은 균주 'AFY-6'을 선발하였다. 응집성과 발효능이 높은 균주를 선발하기 위하여 분리효모 274주의 응집성을 분석한 결과 가장 높은 응집성을 보이는 균주 2주를 최종 확보하였다.

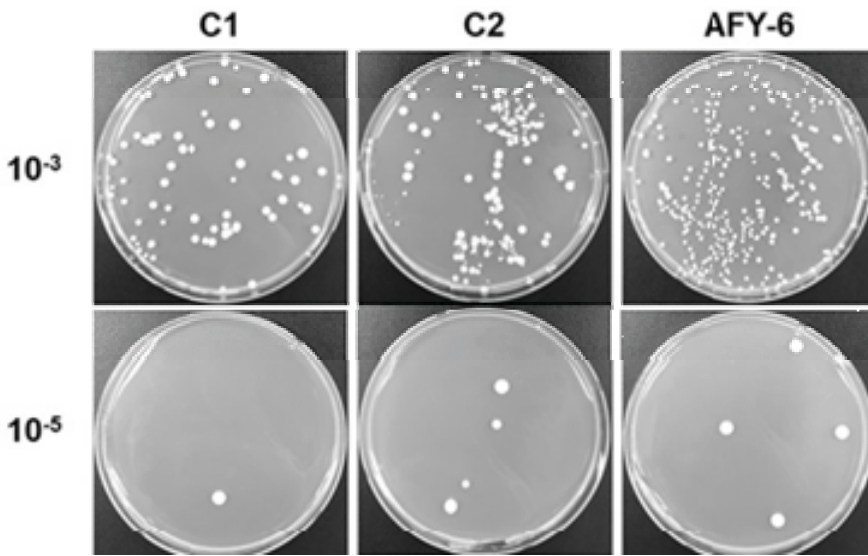


그림 1. 셀룰레닌 내성 비교

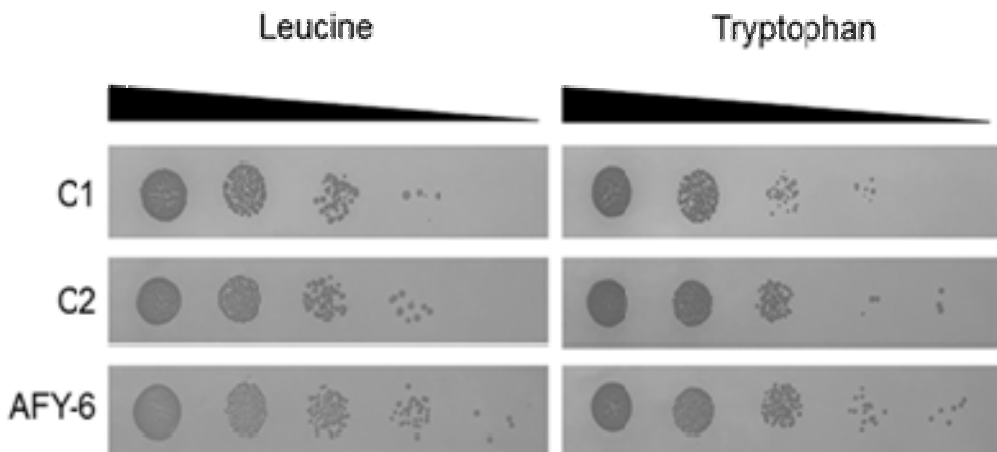


그림 2. 아미노산 첨가배지 바이오제닉아민 생성 확인

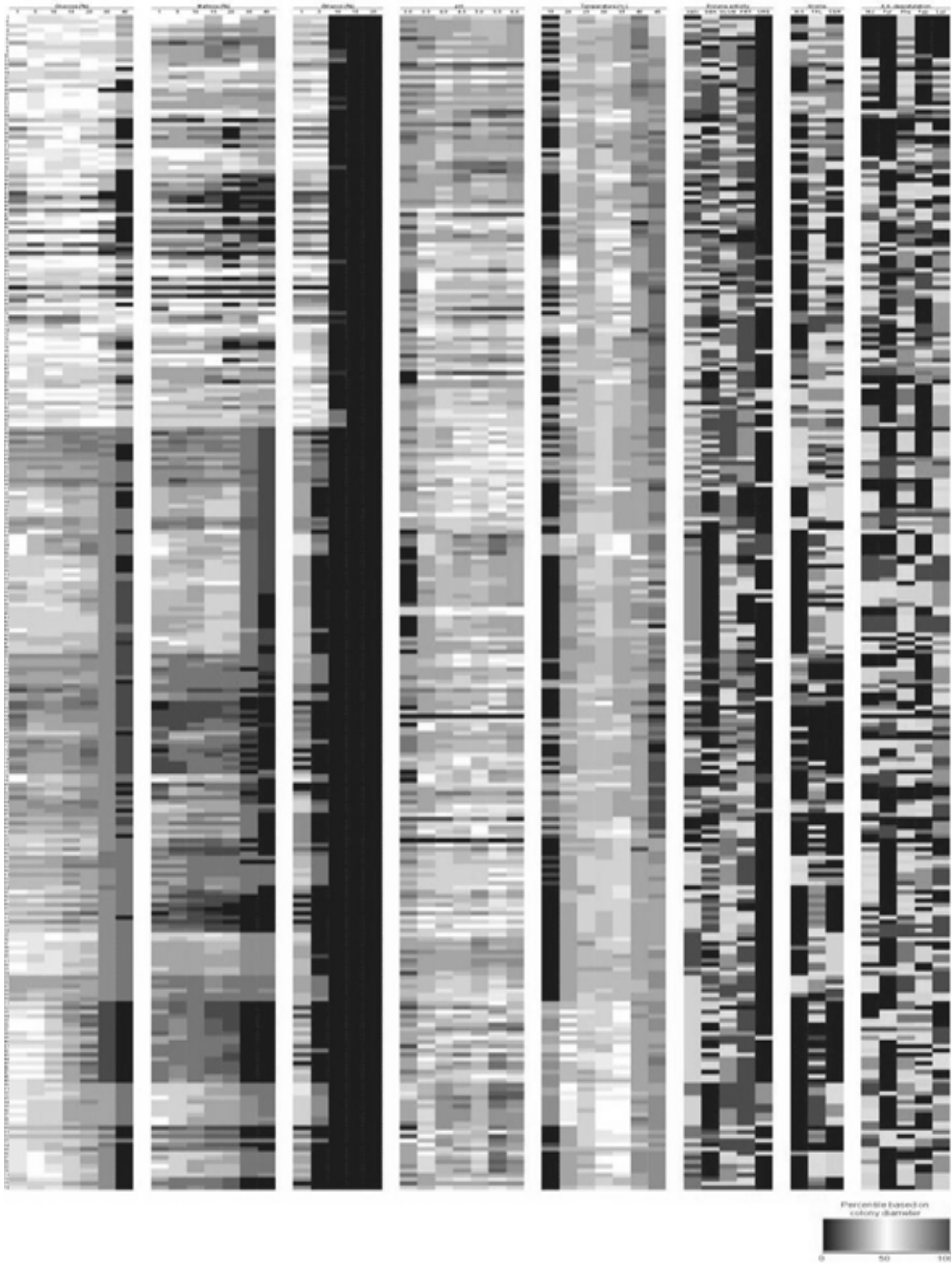


그림 3. 분리 효모균주의 스트레스 내성, 효소활성, 향기 및 바이오제닉아민 생성 평가

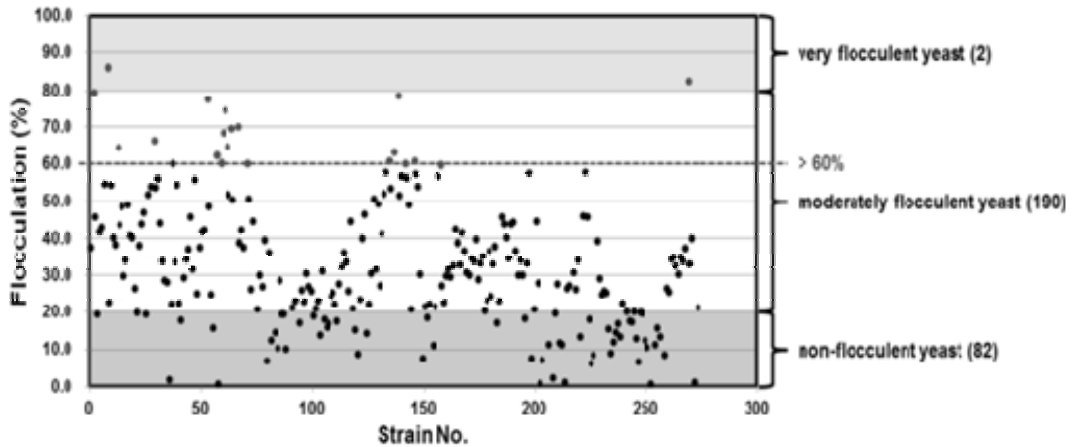


그림 4. 분리 효모(274주) 응집을 비교

응집성과 관련된 유전자 FLO1, FLO5 (cell-cell adhesion, 관련 유전자, strong flocculation), FLO11 (cell-substrate adhesion 관련 유전자, weak flocculation)을 PCR하여 유전자 발현을 분석하였고, 13번 균주가 상업효모 중에서도 양조장에서 가장 많이 사용하는 균주 중 하나인 US-05 효모와 비교하여 응집성 유전자가 높게 발현되는 것을 확인하였다.

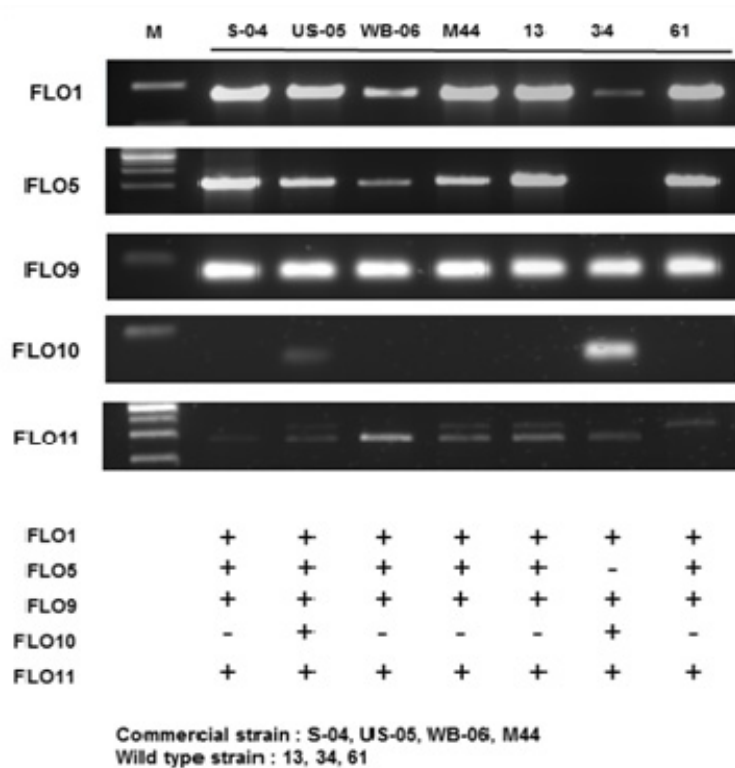


그림 5. FLO gene family PCR



구 분		균주(주)	균주 번호
내성	내당성(Maltose 30%)	7	13, 14, 15, 17, 36, 69, 74
	알코올 내성(Ethanol 10%)	6	36, 58, 70, 72, 95, 96
	내산성(pH 3.0)	6	14, 16, 139, 140, 209, 274
효소 활성	전분·단백질분해능 우수 균주	55	1, 17, 18, 25, 27, 29, 33, 34, 36, 37, 41, 45, 52, 54, 55, 59, 60, 69, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 157, 163, 193, 194, 204, 207, 209, 215, 216, 217, 219, 220, 221, 222, 224, 233, 240, 241, 242, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 265, 267, 269, 271, 272, 274
	α-Amylase 고활성	11	215, 216, 217, 219, 220, 221, 222, 224, 267, 269, 271
	β-Glucosidase 고활성	16	17, 18, 33, 34, 36, 41, 45, 52, 55, 69, 204, 207, 209, 233, 272, 274
	β-Glucanase 고활성	9	1, 25, 49, 157, 180, 181, 240, 265, 274
	Protease 고활성	40	1, 27, 29, 36, 37, 54, 55, 59, 60, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 163, 193, 194, 207, 219, 220, 221, 231, 233, 234, 235, 236, 237, 240, 241, 242, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 265, 271, 274
	Urease 양성	38	57, 63, 66, 67, 68, 79, 88, 89, 90, 93, 97, 110, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 135, 137, 151, 160, 178, 179, 186, 239, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 263, 266
향기 관련	향기생성 우수 균주	43	6, 12, 13, 15, 17, 22, 34, 36, 37, 41, 58, 69, 71, 72, 73, 74, 85, 95, 96, 99, 101, 111, 146, 147, 149, 182, 183, 194, 196, 200, 204, 205, 207, 209, 229, 231, 233, 242, 244, 246, 261, 272, 274
	TFL 저항성	42	6, 12, 13, 15, 17, 22, 34, 36, 37, 41, 58, 69, 71, 72, 73, 74, 85, 95, 96, 99, 101, 111, 146, 147, 149, 182, 183, 194, 196, 200, 204, 205, 207, 209, 231, 233, 242, 244, 246, 261, 272, 274
	Cerulenin 저항성	14	6, 12, 22, 58, 69, 71, 72, 73, 74, 95, 96, 99, 101, 229
	H <sub>2</sub> S 고생성 (> ++)	44	3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 19, 20, 21, 23, 30, 80, 86, 87, 92, 102, 103, 104, 105, 107, 108, 150, 151, 152, 154, 155, 156, 159, 160, 170, 176, 184, 188, 197, 198, 201, 202, 203, 225, 226, 227, 228, 266
바이오 제닉 아민	바이오제닉아민(5개) 비생성	6	13, 25, 97, 164, 181, 182
	바이오제닉아민(5개) 생성	61	24, 35, 42, 46, 47, 48, 56, 60, 64, 66, 81, 82, 83, 84, 104, 105, 106, 107, 108, 116, 117, 118, 119, 129, 130, 131, 132, 134, 135, 136, 137, 138, 141, 142, 143, 144, 156, 165, 166, 167, 170, 171, 174, 175, 176, 178, 179, 187, 191, 211, 213, 214, 215, 224, 237, 238, 239, 252, 261, 263, 264

표 4. 1차 선발 균주(91주) 특성

No.	Strain	Glucose (30%)	Maltose (30%)	Ethanol (10%)	pH (3.0)	Enzyme activity					Aroma			Biogenic amines				
						$\alpha$ -amy lase	$\beta$ -Gluc osidase	Gluc a nase	Prote ase	Urease	H2S	TFL	Cerul enin	His	Tyr	Phe	Trp	Lys
1	1	++	++	-	++	-	+++	++++	++++	-	-	+++	-	-	-	++	-	-
2	2	+++	++	-	+	++	++++	++	++	-	-	+++	-	-	-	++	-	-
3	5	+++	++	-	++	+	++++	+++	+++	-	-	+++	+	-	-	++	-	-
4	6	+++	+	-	+	+	++++	-	-	-	-	++++	++++	-	-	+	-	-
5	12	+++	+++	-	+	++++	-	+++	++++	-	+	++++	++++	+++	-	++++	-	++++
6	13	++	+++	-	+	+++	+++	-	+	-	-	++++	-	-	-	-	-	-
7	14	+++	++++	-	++	++++	++	++	+	-	-	+++	++	++	-	+++	+	+++
8	15	+++	++++	-	+	++++	-	++	+	-	-	++++	++	+	-	++	-	+
9	17	+++	+++	-	+	+	++++	-	+	-	-	++++	+	+	-	++	-	+
10	18	++	++	-	++	+	++++	++	-	-	-	+	+	+	-	+++	-	++
11	22	++	++	+	++	+	++++	++++	++++	-	++	++++	++++	-	-	++++	++	+++
12	25	+	-	-	++	-	-	++++	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	-
13	27	++	+	-	++	+++	-	+++	++++	-	-	+	+	-	-	-	++	-
14	29	++	+	-	+	-	+++	++	++++	-	-	+	-	-	-	-	-	-
15	33	++	++	-	++	+	++++	+	+	-	-	+++	+	-	-	++++	+++	++++
16	34	+++	++	-	++	+	++++	++	++	-	-	++++	-	+++	-	+++	+++	++++
17	36	+++	+++	+	+	+	++++	+	++++	-	-	++++	+++	++++	++	++++	-	++++
18	37	++	++	-	+	++	+++	++++	++++	-	-	++++	-	+++	-	+	++++	++
19	41	++	+	-	++	++	++++	-	-	-	-	++++	+++	+++	-	++	++	++
20	45	++	+	-	++	+	++++	+	++	-	-	+++	-	++++	-	+++	-	++++
21	48	+++	++	-	++	+	++	+	+++	-	-	+++	-	++++	+++	++++	+++	++++
22	49	+	+	-	++	+	-	++++	+	-	-	++	-	+++	-	++	++++	+++
23	52	++	+	-	+	+	++++	-	-	-	-	+++	-	++	-	+	+	-
24	54	+	+	-	+	+	+	+	++++	-	-	++	+	++++	+++	++++	-	++++
25	55	+	+	-	++	++	++++	++++	++++	-	-	+++	-	+++	-	+++	+++	++
26	58	+++	++	+	++	+++	++++	++++	+++	-	+	++++	++++	++	-	++++	-	++++
27	59	++	+	-	++	+	+++	++++	++++	-	-	+++	++	++++	-	++++	-	++++
28	60	+++	+++	-	+	+	++++	+	++++	-	-	++++	+++	++++	++++	++++	+++	++++
29	69	+++	+++	-	+	+++	++++	+++	+	-	-	++++	++++	+++	-	++	-	++++
30	71	+++	++++	-	++	+	-	+++	++++	-	+	++++	++++	++++	++	+++	-	++++
31	72	+++	++++	+	+	+	-	-	++++	-	+	++++	++++	++++	++++	+++	-	++++
32	73	+++	++	-	++	+	-	++	++++	-	-	++++	++++	+++	-	++	++++	++++
33	74	++	+++	-	+	++	+++	+	++++	-	-	++++	++++	-	-	-	++++	++++
34	75	++	++	-	++	+	-	+	++++	-	-	+++	+++	+++	-	+++	++++	++++
35	76	++	+	-	+	+++	+++	+	++++	-	-	+++	++	-	-	+	-	++
36	77	+	+	-	++	+	+++	+	++++	-	-	++	-	++++	-	+++	++++	++++
37	78	++	+	-	+	+++	+++	+++	++++	-	-	++	+	-	+	+	+	++
38	85	++	++	-	-	+++	-	++	++++	-	-	++++	+++	-	-	-	++++	+
39	95	+++	++	+	++	++	++++	++++	+++	-	+	++++	++++	+++	-	++++	-	++++
40	96	+++	++	+	++	++	++++	++++	++++	-	+	++++	++++	+++	++	++++	-	++++
41	99	+	+	-	++	++	++++	++++	+++	-	++	++++	++++	++	-	++	-	++
42	101	+	+	-	++	++	++++	++++	+++	-	++	++++	++++	+++	-	++	-	++
43	111	+	+	-	+	++++	++	++	-	-	-	++++	++	-	-	+	-	++
44	146	+	+	-	++	++++	-	++	-	-	-	++++	++	-	-	++	-	+++
45	147	+	+	-	+	+++	-	++	+++	-	-	++++	++	+++	+++	-	++	++++

No.	Strain	Glucose (30%)	Maltose (30%)	Ethanol (10%)	pH (3,0)	Enzyme activity					Aroma			Biogenic amines				
						$\alpha$ -amy lase	$\beta$ -Gluc osidase	Glucan ase	Prote ase	Urease	H2S	TFL	Cerul enin	His	Tyr	Phe	Trp	Lys
46	149	+	+	-	-	++++	-	+	-	-	-	++++	++	+++	++	-	+	++++
47	157	+	+	-	++	+	-	++++	++++	-	-	++	-	+	++	-	-	+++
48	163	+	+	-	++	+	-	+++	++++	-	-	-	-	+++	+++	++	-	++++
49	180	+	+	-	++	-	-	++++	+++	-	-	+++	-	-	++++	++	-	+
50	181	+	+	-	++	+	++	++++	+++	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
51	182	+	-	-	+	+	+++	+++	++	-	-	++++	-	-	-	-	-	-
52	183	+	+	-	++	+	+	++++	++++	-	-	++++	-	-	-	-	-	+
53	193	+	-	-	-	-	-	+	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	194	+	+	-	++	++	++++	+	++++	-	-	++++	-	+++	-	++	++	-
55	196	+	+	-	++	++	++++	+	++++	-	-	++++	-	+++	-	++	++	-
56	200	+	+	-	++	++	++++	++++	++++	-	++	++++	++++	+++	-	+++	++++	++++
57	204	+	+	-	++	-	++++	+++	+++	-	-	++++	-	+++	-	+++	++++	+++
58	205	+	+	-	+	++	+++	+++	++++	-	-	++++	-	++	-	+	-	-
59	207	+	-	-	++	+	++++	+++	++++	-	-	++++	-	+++	-	++	-	-
60	209	+	-	-	++	++	++++	+++	-	-	-	++++	-	-	-	++	-	+++
61	215	+	+	-	++	++++	+++	++	+	-	-	+++	++	++++	++++	++++	++++	++++
62	216	+	+	-	++	++++	++	++	-	-	-	+	++	+++	-	+++	+++	+++
63	217	+	+	-	++	++++	-	+	++	-	-	+++	++	-	-	+	-	-
64	219	+	+	-	+	++++	-	+++	++++	-	-	+	++	+++	-	+	++	+++
65	220	+	+	-	++	++++	-	++++	++++	-	-	+++	++	++	-	+	++	+
66	221	+	+	-	+	++++	+	++++	++++	-	-	+++	++	++	-	+	++	+
67	222	+	+	-	+	++++	-	++++	++++	-	-	+	++	-	-	++	-	+++
68	224	+	+	-	+	++++	+	+++	+	-	-	+++	+++	++++	++++	+++	+++	++++
69	229	+	+	-	++	++	+++	++++	++	-	+	-	++++	-	-	++	++	+++
70	231	+	-	-	+	++	++	+++	++++	-	-	++++	-	-	-	+	++	-
71	233	+	-	-	++	++	++++	+++	++++	-	-	++++	-	-	+++	+++	+++	-
72	234	+	-	-	+	++	++	+++	++++	-	-	++	-	-	+++	+	+	-
73	235	+	-	-	++	++	+++	++++	++++	-	-	+++	-	++	+++	+	+	-
74	236	+	-	-	+	++	-	+++	++++	-	-	-	-	+++	+++	++	+++	-
75	237	+	-	-	++	++	-	++++	++++	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++
76	240	+	-	-	++	++	-	++++	++++	-	-	-	-	+++	-	+++	+++	++++
77	241	+	-	-	+	++	-	+++	++++	-	-	-	-	+++	-	-	-	++
78	242	+	-	-	++	++	+++	+++	++++	-	-	+++	-	++	-	++	++	-
79	244	+	-	-	++	++	++++	++++	++++	-	-	++++	-	++++	-	++++	+++	+++
80	245	+	-	-	++	++	+++	+++	++++	-	-	++	-	++++	-	++++	-	+++
81	246	+	-	-	++	++	+++	+++	++++	-	-	++++	-	++++	-	++++	+++	+++
82	247	+	-	-	+	++	-	+++	++++	-	-	-	-	++	-	++	+	-
83	248	+	-	-	++	++	+++	+++	++++	-	-	+++	-	++	-	++	+++	-
84	249	+	-	-	++	++	+++	+++	++++	-	-	-	-	+	-	+++	++	++++
85	261	++	-	-	++	+	++++	++++	++++	-	-	++++	-	++	+++	+++	+++	+
86	265	+	+	-	++	++	++++	++++	++++	-	-	-	-	++	-	+	-	-
87	267	+	+	-	++	++++	-	++	++	-	-	+++	++	++	-	-	-	++++
88	269	+	+	-	+	++++	-	+	+++	-	-	+++	++	+++	-	+++	-	++++
89	271	+	+	-	+	++++	-	+++	++++	-	-	+++	++	++	-	++	+	++
90	272	+	-	-	++	+	++++	+++	+++	-	-	++++	-	++	-	++	+	++
91	274	+	-	-	++	+	++++	++++	++++	-	-	++++	-	+++	-	-	+	++

(시험 2) 수제맥주용 종균 선발 및 시판효모와의 발효능 비교

향기성분 고생성 균주 43주 효모의 ITS 1,4 유전자 부위를 PCR로 증폭시킨 후, 염기서열분석 분석 후, BLAST를 통하여 균주를 동정하였으며, 최종적으로 12주의 에일용 효모 *Saccharomyces cerevisiae*를 확보하였다.

표 5. 1차 선발효모(43주) 16S rRNA 동정결과

No.	균주 번호	동정결과	No.	균주 번호	동정결과
1	6	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	23	146	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>
2	12	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	24	147	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
3	13	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	25	149	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>
4	15	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	26	182	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
5	17	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	27	183	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
6	22	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	28	194	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
7	34	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	29	196	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
8	36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30	200	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
9	37	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31	204	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
10	41	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	32	205	<i>Saccharomyces paradoxus</i>
11	58	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33	207	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
12	69	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	34	209	<i>Saccharomyces paradoxus</i>
13	71	<i>Millerozyma farinosa</i>	35	229	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
14	72	<i>Millerozyma farinosa</i>	36	231	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
15	73	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	37	233	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
16	74	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	38	242	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
17	85	<i>Meyerozyma caribbica</i>	39	244	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
18	95	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	40	246	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
19	96	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	41	261	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
20	99	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	42	272	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
21	101	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	43	274	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
22	111	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>			

시판효모와의 발효능 비교하기 위해 (재)홍천메디칼허브연구소에서 제조한 맥아즙(wort)을 사용하여 시판효모 2주와 에일 효모 12주를 이용하여 20°C에서 1주일 1차 발효 후, 탄산 생성을 위해 2차 발효하여 맥주를 제조하였다. 플라토와 알코올 도수를 측정한 결과, 시판효모 A는 6.2% B는 5.8%로 나타났다. 선발효모 중에서는 34번(6.0%), 37번(5.4%), 73번(5.5%), 196번(5.2%) 균주가 시판효모 수준으로

나타났다. 시판효모 A는 거품이 적게 생성되었고, B는 2 cm 생성되었으며, 선발효모 중에서 34번, 37번, 58번, 194번, 196번, 272번, 274번 균주가 거품이 많이 생성되었다

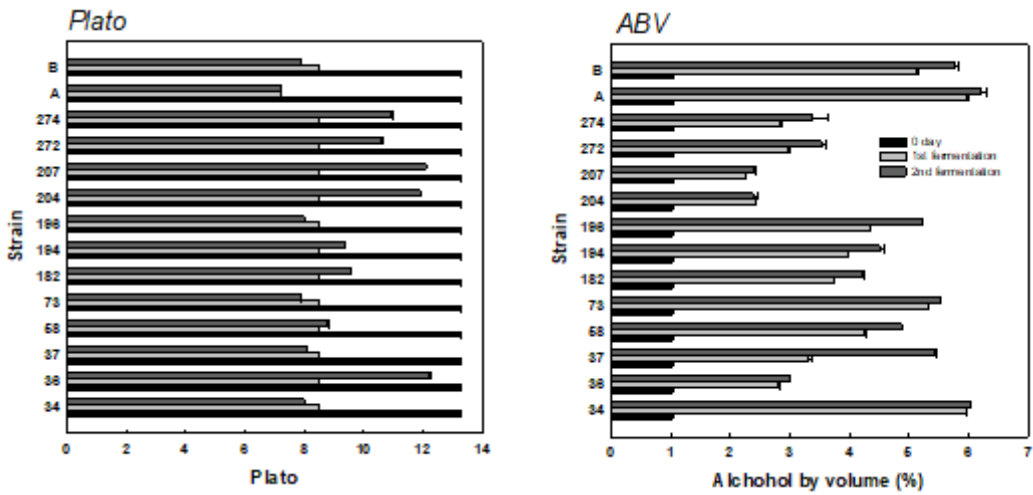


그림 8. 플라토와 알코올 도수

표 6. 선발효모 및 시판효모의 거품생성 및 거품안전성



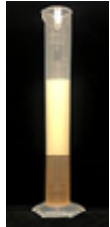











사진					
균주번호	34	36	37	58	73
거품생성(cm)	4	0.5	9	7	0.1
거품안전성	$18.38 \pm 0.37$	$69.22 \pm 8.67$	$37.72 \pm 3.94$	$99.09 \pm 10.64$	$13.58 \pm 3.13$
사진					
균주번호	182	194	196	204	207
거품생성(cm)	4	4	4	-	-
거품안전성	$78.21 \pm 0.79$	$66.31 \pm 8.33$	$92.71 \pm 4.99$	$82.50 \pm 13.24$	$38.35 \pm 2.97$

사진					
균주번호	272	274	A	B	
거품생성(cm)	6.5	7	0.2	2	
거품안전성	102.74±15.14	77.98±1.60	60.40±1.01	68.00±10.12	

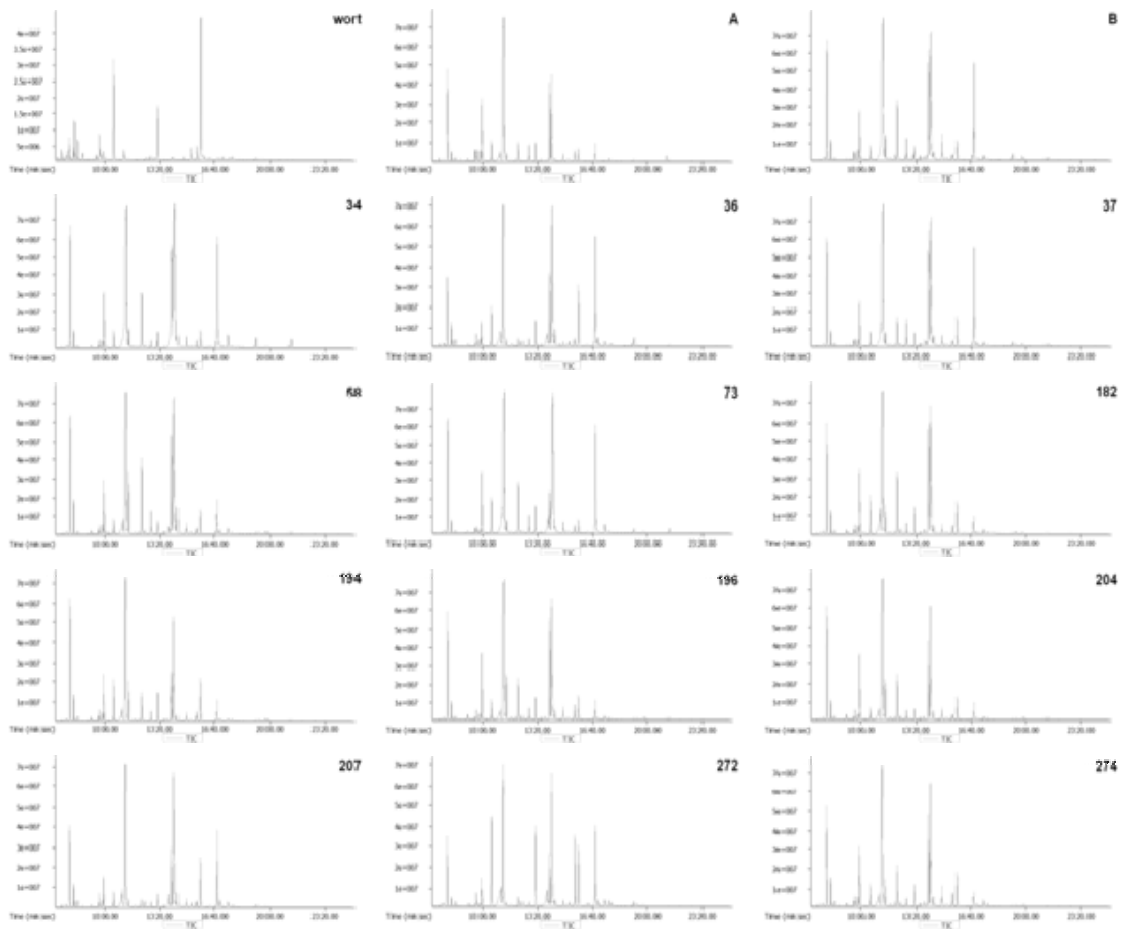


그림 9. SPME-HS-GC-TOF/MS 총이온크로마토그램

SPME-HS-GC-TOF/MS를 이용하여 휘발성 향기성분을 분석한 결과 총 310종의 물질이 동정되었다. 다변량 통계분석을 통하여 VIP(Variable importance in the projection)값이 1.0 이상인 주요 휘발성성분 23개가 선정되었고, 맥아즙에서는 2,4-DI-Tert-butylphenol, 2-methylbutyl isobutyrate, cyclomethicone 5,

cyclomethicone 4, 2-pentyl propionate, humulene 6개 물질이 높았고, 나머지 17개의 휘발성 성분들은 발효된 맥주에서 높게 나타나 발효과정을 통하여 에스테르 계열의 휘발성 성분이 다량 생성되는 것을 확인하였다. 12개의 선발효모 중 34번 균주(AFY-5)는 시판효모 B와 비교하여 가장 유사한 향기성분 프로파일을 나타내었으며, Ethyl laurate (1.8배), ethyl-9-decenoate (5.7배), decyl acetate (1.6배), 2-pentyl propionate (1.1배), isoamyl decanoate (12.9배), ethyl palmitate (2.5배) 6개 성분은 시판효모 보다 높게 나타났다.

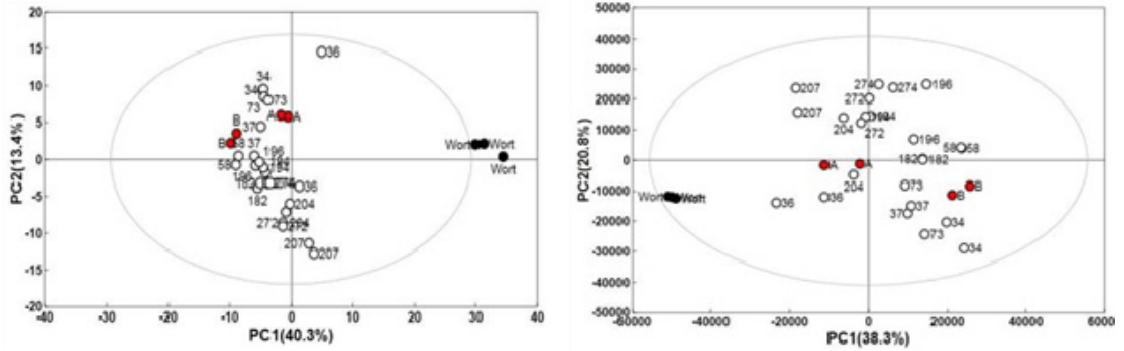


그림 10. 다변량 통계분석(좌: PCA, 우: PLS-DA)

표 7. 시판효모 및 선발효모의 주요 향기성분 비교

(단위: Peak area)

No	Compound	synonym	description	VIP	W	A	B	34	36	37	58	73	182	194	196	204	207	272	274	274	
1	Decanoic acid, ethyl ester	Ethyl caprate	Odor:sweet, waxy, fruity, apple, grape, oily, brandy Flavor:waxy,fruity,sweet, apple	8.11177																	
2	Dodecanoic acid, ethyl ester	Ethyl laurate	Odor:sweet, waxy, floral, soapy, clean Flavor:waxy, soapy and floral with a creamy, dairy and fruity nuance	5.66906																	
3	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	Phenethyl acetate	Odor: floral rose sweet honey fruity tropical Flavor: sweet, honey, floral, rosy with a slight green nectar fruity body and mouthfeel	4.89654																	
4	Hexanoic acid, ethyl ester	Ethyl caproate	Odor: Sweet, fruity, pineapple, waxy, fatty and estry with a green banana nuance Flavor: Sweet, pineapple, fruity, waxy and banana with a green, estry nuance	4.33538																	
5	Phenylethyl Alcohol	2-Phenylethanol	Odor: floral, rose, dried rose, flower rose water	4.16843																	
6	Ethyl 9-decenoate	9-Decenoic acid, ethyl ester		4.16149																	
7	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	2,4-DI-tert-butyl phenol		4.11775																	

No	Compound	synonym	description	VIP	W	A	B	34	36	37	58	73	182	194	196	204	207	272	274	274		
8	Acetic acid, octyl ester	Octyl acetate	Odor: green, earthy, mushroom, herbal waxy Flavor:waxy, fatty, cognac winey, mushroom, citrus, citruspeel	4.08594	Dark Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
9	Acetic acid, hexyl ester	Hexyl acetate	Odor: fruity, green, apple, banana, sweet Flavor: fruity, green, fresh, sweet, banana, peel, apple and pear	3.62297	Dark Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
10	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutyl ester	2-Methylbutyl isobutyrate	fruity ethereal tropical banana	2.44179	Light Red	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
11	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	Cyclomethicone 5		2.09292	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
12	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	Isoamyl caprylate	sweet oily fruity green soapy pineapple coconut	2.03715	Dark Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
13	Acetic acid, decyl ester	Decyl acetate	Odor: waxy, clean, fresh, laundered cloths, citrus, soapy Flavor: waxy, soapy and fatty	1.96376	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
14	Cyclotetrasiloxane, octamethyl-	Cyclomethicone 4		1.91009	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
15	Hexanoic acid	Caproic acid	Odor: mild, fatty Taste: sharp, acidic, cheesy, fruity notes	1.6846	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
16	Nonanoic acid, ethyl ester	Ethyl nonanoate	Waxy, cognac, estery, fruity apple and banana, tropical, winey	1.60583	Dark Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	
17	2-Pentanol, propanoate	2-pentyl propionate		1.58243	Light Red	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
18	Ethyl tridecanoate	Tridecanoic acid ethyl ester		1.39149	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
19	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	Isoamyl decanoate	Odor: waxy, banana, fruity, sweet with a dirty green nuance Flavor: waxy, fruity, banana, green, creamy, cheesy	1.33106	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
20	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Ethyl palmitate	Odor: mild, waxy, fruity, creamy, milky, balsam Flavor: waxy, fruity, creamy and fermented with a vanilla, balsamic nuance	1.23212	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
21	Benzeneacetaldehyde			1.22589	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
22	3-Methylheptyl acetate	3-Methylheptyl acetate		1.21424	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	
23	Humulene	Alpha-humulene	Odor: woody, oceanic-watery, spicy-clove	1.10648	Light Red	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	

셀룰레인 내성이 높고 바이오제닉아민 생성이 낮은 균주로 선발한 'AFY-6'의 향기성분과 바이오제닉 아민을 정량분석한 결과, 상업효모 C1, C2에 비하여 과일향이 나는 에스테르인 ethyl caprylate, ethyl caprate 함량이 높고, 장미향이 나는 phenylethyl alcohol 함량이 높은 것으로 확인되었다.

표 8. 향기성분 비교 (단위: mg/L)

구 분	향기 특징	R.T.	맥아즙	C1	C2	AFY-6
Ethyl caprylate	Fruity, sweet apricot banana	pear 11:20.7	0.02	1.37	1.66	1.81
Ethyl caprate	Fruity, apple, grape, brandy	14:06.4	0.04	0.41	0.34	0.46
Phenylethyl alcohol	sweet, floral, bread, rose, honey	10:07.8	0.02	0.16	0.17	0.31

※ C1, C2 상업효모(프랑스)

표 9. 바이오제닉 아민류 분석 (단위: mg/L)

구 분	Tryptamine	Putrescine	Cadaverine	Histamine	Tyramine	합 계
맥아즙	7.03	0.58	6.79	0.85	0.84	16.08
C1	440.84	0.96	10.16	0.18	0.31	452.45
C2	527.74	1.18	11.71	0.24	0.47	541.34
AFY-6	384.14	0.60	5.21	0.02	0.26	390.23

※ C1, C2 상업효모(프랑스)

바이오제닉 아민류 함량은 상업효모 C1, C2와 비교하여 'AFY-6' 균주가 낮게 생성하는 것을 확인하여 안전성 부분에서 더 유리할 것으로 사료된다. 응집성이 높은 균주로 선발된 'AFY-7'와 상업효모 발효도를 유리당 함량과 겔보기 발효도를 통하여 비교한 결과, 상업용 효모 C1, C2에 비하여 말토오스와 포도당 잔당의 함량이 낮았으며, 알코올 도수와 겔보기 발효도가 높게 나타나 상업용 효모로서의 가능성을 확인하였다.

표 10. 상업효모와 AFY-7 균주의 발효능 비교 (단위: g/L)

구 분	맥아즙	C1	C2	AFY-7
Maltose	44.29±1.15	0.84±0.07	1.27±0.08	0.70±0.05
Glucose	12.83±0.73	1.58±0.09	0.53±0.04	0.25±0.04
Sucrose	2.04±0.09	-	-	-

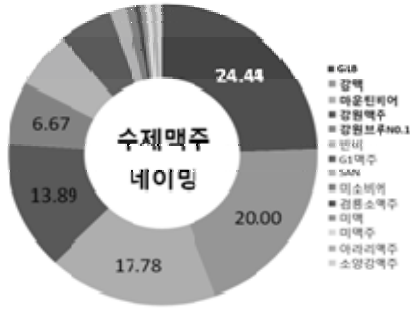
※ 겔보기 발효도(apparent attenuation): (초기비중-나중비중)/(초기비중-1) × 100

표 11. 알코올 도수와 겔보기 발효도

구 분	상업효모		AFY-7
	C1	C2	
알코올 도수 (%)	5.06	4.35	5.30
겔보기 발효도 (%) (Apparent attenuation)	77.05	66.27	80.77

(시험 3) 상품성 강화를 위한 BI 및 라벨 개발

수제맥주 네이밍 선호도 조사를 통하여 ‘강원사랑맥주’라는 뜻의 GLB(Gangwon Lovely Beer)가 최종 선정되었다. 상표등록을 위한 선행조사를 통하여 GLB로 상표등록이 가능할 것으로 판단되어 상표출원을 하였으며, 등록되었다.



※ 반비넷 온라인설문조사 130명,  
2018 홍천강 별빛음악 맥주축제 50명  
설문조사 합산

이름명	득표	(%)
GLB	44	24.44
강맥	36	20.00
마운틴비어	32	17.78
강원맥주	25	13.89
강원브루N0.1	12	6.67
반비	11	6.11
G1맥주	10	5.56
SAN	3	1.67
미소비어	2	1.11
검룡소맥주	1	0.56
미 맥	1	0.56
미맥주	1	0.56
아라리맥주	1	0.56
소양강맥주	1	0.56
합 계	180	100.00

그림 11. 수제맥주 네이밍 선호도 조사 결과

표 12. 수제맥주 후보 네이밍 상표등록 선행조사

1	<b>GLB</b>	본 상표는 심사관에 따라 타인의 선등록상표와 유사하다는 지적을 받을 우려가 있어 정확한 등록여부는 심사를 받아보아야 알 수 있음 - 지엘바이오테크 GLBT (등록번호 40-0858181)
2	<b>강원맥주</b>	본 상표는 ‘강원도에서 만들어진 맥주’등으로 인식되어 식별력을 갖추지 못한 상표이므로, 도안화되거나 다른 식별력있는 부분이 추가되지 않는 한 등록이 어렵다고 판단된다.
3	<b>마운틴비어</b>	본 상표는 맥주 등과 관련하여 유사한 선등록상표가 발견되어 상표등록이 어려울 것으로 판단된다. - Mountain Dew (등록번호 40-0517011) - Mountain Dew (등록번호 40-0446291) - Mountbeer (등록번호 40-1275735)
4	<b>강맥</b>	본 상표는 맥주 등과 관련하여 동일 또는 유사한 선등록 및 선출원 상표가 발견되지 않으므로 상표등록이 가능할 것으로 판단된다.

수제맥주 BI 및 라벨디자인 개발 BI 및 라벨디자인을 개발하여 최종적으로 강원도를 연상케 하는 녹색과 자연환경을 배경으로 하는 이미지를 선정하였다.



그림 12. 수제맥주 BI 및 라벨디자인 개발

(시험 2) 쌀 이용 맥주양조 레시피 개발(바이젠타입)

강원도원에서 개발한 쌀 4품종(오륜, 오래, 고향찰, 강원24호)과 농촌진흥청 개발 5품종(설향찰, 한가루, 삼광, 삼광1호, 대안)을 확보하였다. 맥주 당화를 위하여 쌀 전처리는 200 mesh로 분쇄 후 사용하였으며, 맥아, 쌀, 정제수를 투입하고, 효소는  $\alpha$ -amylase는 0.2%, Gluco-amylase는 0.15% 농도로 첨가한 후 맥주제조를 실시하였다. 찹쌀계열(고향찰, 설향찰)은 여과가 어려웠으며, 오륜, 오래 품종이 가공적성이 우수하였다. 품종별(오륜쌀, 오래쌀)·농도별(30%, 50%) 맥주 4종, 대조군으로 맥아 100% 사용맥주 1종을 제조하여, 관능평가, 주질분석에 사용하였다.

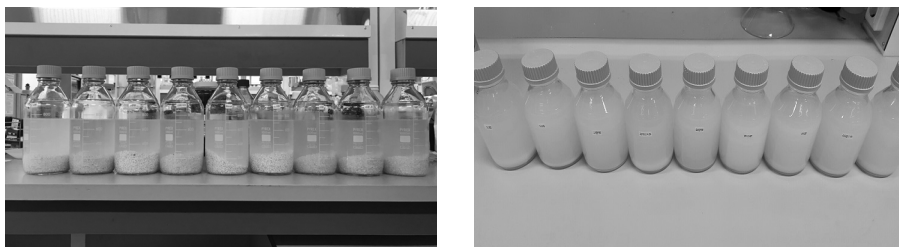


그림 13. 품종별 쌀 추출 전·후 비교



오륜

오래

고향찰

강원24호

설향찰



그림 14. 품종별 쌀 여과 비교

쌀 맥주 제조를 위하여 다음과 같이 맥주를 제조하였다.

- (1) 쌀: 오류 오대 / 30~50% 첨가(200 mesh 분쇄)
- (2) 맥아: Pilsner, Wheat, Carahell, Acidulated malt: Weyermann)
- (3) 홉: Hallertaur, Cascade, Saaz: Joh.Barth&Sohn GmbH@Co.KG
- (4) 효모: WB-06: Fermentis, (주)비전바이오켐)
- (5) 효소:  $\alpha$ -amylase(0.2%), Gluco-amylase(0.15%)
- (6) 당화: 쌀첨가, 45°C(10분) → 52°C(40분) → 63°C(60분, 당화) → 78°C(10분)
- (7) 여과: 1차 여과 → 2차여과
- (8) 자비: 100°C(60분, 홉 투입) → 완료 후, 냉각
- (9) 발효: 18°C, 7일

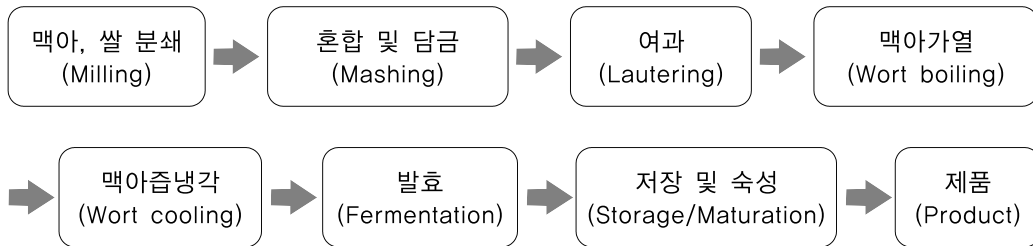


그림 15. 맥주제조공정도

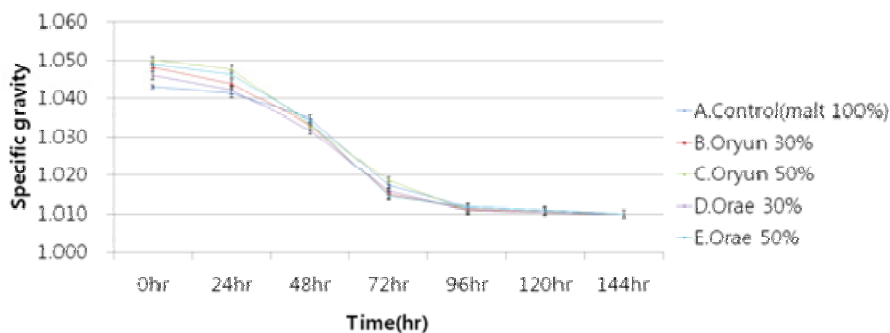


그림 16. 제조 맥주 비중 측정결과

맥아즙 제조 후 초기비중(Original Gravity, OG)은 오륜쌀 50%에서 1.050, 오래쌀 50%에서 1.049, 오륜쌀 30%에서 1.048, 오래쌀 30%에서 1.046으로 나타났고, 모든 시료에서 96시간에서 모든 샘플에서 비중값이 1.01정도 낮아지는 것을 확인되어 발효는 거의 완료되는 것으로 확인되었다. 플라토 역시 유사한 패턴을 보이는 것을 확인하였다. 에탄올, 메탄올 함량 분석결과, 메탄올은 모든 시료에서 검출되지 않았으며, 알코올 함량은 오륜쌀 50%에서 5.6%로 가장 높게 나타났다. 최종적으로는 강원도에서 많이 재배되고, 맥주가공적성에 적합하며, 원료 수매가 용이한 품종으로 오륜쌀, 오래쌀을 선정하였다.

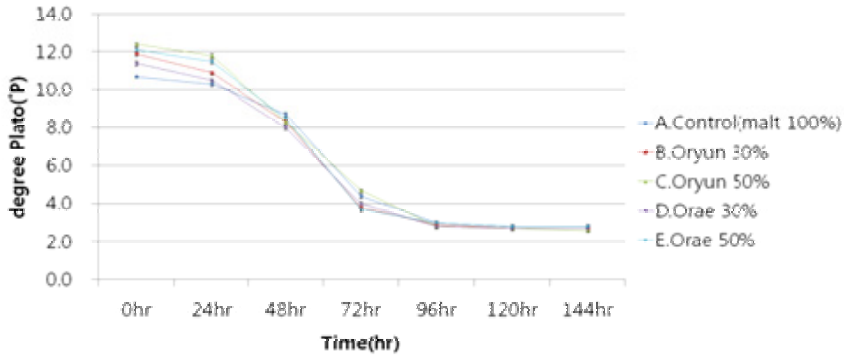


그림 17. 제조 맥주 플라토 측정결과

표 13. 맥주 5종 에탄올, 메탄올 함량 결과

시험항목	Control 맥아 100%	오륜쌀 30%	오륜쌀 50%	오래쌀 30%	오래쌀 50%
에탄올 (%)	4.8 %	5.3 %	5.6 %	5.0 %	5.4 %
메탄올 (mg/ml)	ND	ND	ND	ND	ND

관능평가는 홍천메디칼허브연구소, 하티(소규모맥주제조업체), 강원대 학생 등 20~40대 25명 대상으로 진행되었으며, 통계분석은 (주)식품환경연구센터에 의뢰하여 진행하였다. 시료는 총 6종이며, 쌀맥주 4종(오륜쌀 30%, 50%, 오래쌀 30%, 50%), 100% 맥아사용 맥주 1종, 시판맥주(버드와이저) 1종으로 진행하였다. 관능평가는 여섯 가지 맥주에 대한 외관, 아로마, 풍미, 입안의 느낌, 전반적인 인상에 대하여 평가하였다..

표 14. 시료번호 별 제품

구 분	시료번호	비 고	ABV(%)
대조군	97	시판맥주	5.0
대조군	306	맥아100% control	4.8

구 분	시료번호	비 고	ABV(%)
실험군	105	쌀맥주(오륵)30%	5.3
실험군	107	쌀맥주(오륵)50%	5.6
실험군	203	쌀맥주(오래)30%	5.0
실험군	205	쌀맥주(오래)50%	5.4

표 15. 맥주 6종의 관능검사 결과

특 성	샘플번호 <sup>1)</sup>					
	97	306	105	107	203	205
외관	2.16±0.55 <sup>c</sup>	2.44±0.65 <sup>bc</sup>	2.68±0.48 <sup>ab</sup>	2.56±0.51 <sup>ab</sup>	2.84±0.37 <sup>a</sup>	2.52±0.51 <sup>b</sup>
아로마	6.52±2.52 <sup>c</sup>	7.72±1.70 <sup>b</sup>	7.36±1.08 <sup>bc</sup>	8.76±1.42 <sup>a</sup>	6.68±1.41 <sup>c</sup>	7.96±1.40 <sup>ab</sup>
풍미	10.04±3.41 <sup>d</sup>	12.00±3.43 <sup>c</sup>	13.64±1.70 <sup>b</sup>	15.64±2.84 <sup>a</sup>	11.84±2.21 <sup>c</sup>	13.84±2.23 <sup>b</sup>
입안의 느낌	3.36±0.81 <sup>a</sup>	3.56±0.65 <sup>a</sup>	2.72±0.54 <sup>c</sup>	3.52±0.96 <sup>a</sup>	2.76±0.93 <sup>bc</sup>	3.20±0.82 <sup>ab</sup>
전반적인 인상	5.72±1.79 <sup>a</sup>	6.32±1.25 <sup>a</sup>	5.60±1.73 <sup>a</sup>	6.16±1.49 <sup>a</sup>	5.44±1.42 <sup>a</sup>	5.60±1.73 <sup>a</sup>
총합 평균	27.8±7.05 <sup>cd</sup>	32.04±6.39 <sup>bc</sup>	32.00±3.88 <sup>bc</sup>	36.64±5.55 <sup>a</sup>	29.56±3.20 <sup>cd</sup>	33.12±3.48 <sup>b</sup>

샘플번호<sup>1)</sup>

97: 시판맥주(대조군), 306: 수제맥주(대조군), 105: 쌀맥주(오륵)30%, 107: 쌀맥주(오륵)50%, 203: 쌀맥주(오래)30%, 205: 쌀맥주(오래)50%

\* 값: 평균±표준편차, n=25

\* 유의적 확률: 확률값 p가 0.05보다 작을 때 유의적 차이가 있음.

외관에 대한 평가는 여섯 가지 제품 모두 2.00점 이상으로 평가되었으며, 203번(오래 30%)이 다른 다섯 가지 제품보다 유의적으로 높은 것으로 나타났으며, 97번의 외관이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다. 아로마에 대한 평가는 107번(오륵 50%)이 8.76점으로 평가되었으며, 97번, 306번, 105번, 203번보다 유의적으로 높게 평가되었다. 풍미에 대한 평가는 107번(오륵 50%)이 15.64점으로 평가되었으며, 다른 다섯 가지 제품보다 유의적으로 높은 것으로 평가되었다. 입안의 느낌에 대한 평가는 97번(시판맥주(대조군)), 306번(수제맥주(대조군)), 107번(오륵 50%), 205번(오래 50%)이 3.36점, 3.56점, 3.52점, 3.20점으로 평가되었으며, 이 중 97번, 306번, 107번이 105번, 203번보다 유의적으로 높은 것으로 평가되었다. 전반적인 인상에 대한 평가는 여섯 가지 제품에 대하여 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 97번(시판맥주(대조군))과 306번(수제맥주(대조군))과 대비하여 107번제품은 유의적으로 높게 평가되어 소비자에게 긍정적인 것으로 판단되며, 관능평가 결과 최종레시피는 107번(오륵쌀 50%) 맥주로 선정되었다. 6종의 맥주에 대한 관능검사 이후 쌀맥주에 대한 설문조사를 실시하였다.

표 16. 연령별 맥주를 마시는 횟수 조사결과

(단위: 명)

구 분	20대	30대	40대
1~2회	0	0	0
3~4회	1	5	2

구 분	20대	30대	40대
5회 이상	5	7	5
합계	6	12	7

표 17. 연령별 수제맥주 선택 시 주요 고려사항(중복선택) (단위: 명)

구 분	가격	브랜드	맛	향	기타	합 계
20대	0	2	5	2	0	9
30대	7	8	13	6	1	35
40대	3	3	6	4	0	16

표 18. 연령별 쌀맥주 구매의사 (단위: 명)

구 분	20대	30대	40대	합계
구매희망이 있다	4	11	5	20
구매희망이 없다	2	1	2	5

표 19. 연령별 쌀맥주 구매 희망 사유(중복선택) (단위: 명)

구 분	부드러운 목넘김	쌀맥주의 신기함	향이 좋음	기 타
20대	2	4	1	0
30대	5	9	2	4
40대	0	5	1	0

표 20. 연령별 쌀맥주 구매 희망 장소(중복선택) (단위: 명)

구 분	수제맥주 전문점	대형마트	편의점
20대	2	4	3
30대	6	9	6
40대	0	5	2

수제맥주에 대한 소비자 인식은 ‘맛’이 가장 중요한 선택요인이 되며, ‘브랜드’, ‘향’이 그 다음으로 선택되어 쌀맥주가 수제맥주에 비해 ‘맛’과 ‘향’의 선호도가 높게 되면 구매의사가 높을 것으로 판단되었다. 쌀맥주에 대한 구매의사는 높게 평가되었으나, 구매의사 사유가 ‘쌀맥주의 신기함’에 대한 이유가 높음으로 호기심으로 구매 후 차후 구매까지 이루어 질 수 있도록 지속적인 홍보와 소비자의 기호에 맞게 개선될 필요가 있을 것으로 사료된다. 쌀맥주의 구매 희망 장소로는 ‘대형마트’와 같이 쉽게 찾아가서 구매할 수 있는 곳이 가장 높게 선택되었으며, 그 다음으로 ‘편의점’이 선택되었다. 하지

만 40대에서는 ‘수제맥주 전문점’의 선택이 0명으로 나타나 연령이 높을수록 특정 장소에서 구매하는 것에 대한 부담이 있는 것으로 판단된다.

### (시험 5) 사과 이용 수제맥주 양조 레시피 개발

사과 품종으로는 강원도 품종이면서 홍천지역에서 많이 재배되어지고 있는 아리수, 홍로 품종을 구입하여 원료로 사용하였다. 사과의 고유의 향과 맛을 유지하기 위하여 사과착즙액을 제조하였고, 갈변을 억제하기 위해 Ascorbic acid 0.1% 첨가하여 제조하였다. 사과의 pH는 3~4 정도로 맥주발효 시 영향을 미칠 수 있으며, 사과 고유의 향을 유지하기 위하여 사과착즙액을 맥주 발효공정 이후, 저장 및 숙성공정에 첨가하여 레시피를 개발하였다. 제조한 맥아즙에 발효를 시킨 후 저장 및 숙성 공정에 아리수, 홍로 품종 사과착즙액을 각각 농도별 5%, 10%, 20%로 첨가하여 맥주를 제조하였다.

표 21. 사과맥주 레시피 개발

번호	원료명	규격	배합비율(%)						
			Type1	Type2	Type3	Type4	Type5	Type6	Type7
1	맥주	4.8%	100	95	95	90	90	80	80
2	사과착즙액 (아리수)	고형분 10%이상	-	5	-	10	-	20	-
3	사과착즙액 (홍로)	고형분 10%이상	-	-	5	-	10	-	20
계			100	100	100	100	100	100	100

훈련된 관능검사 요원을 대상으로 실시하였으며, sample은 제조 후 0~4℃에 보관하였다가 기호성을 나타내는 관능적 요소로 색, 흡향, 맛, 전체적인 기호도를 조사하였다. 사과맥주는 대조군과 비교하였을 때 농도의존적으로 사과 고유의 맛, 향이 높게 느껴졌으나, 반면에 알코올, 탄산감, 거품은 약한 것으로 확인되었다. 사과맥주(type2~7)는 대조군(type1)과 비교하였을 때, 전반적으로 사과착즙액 첨가 농도의존적으로 맛, 향이 높게 느껴졌으나, 반면에 알코올, 탄산감, 거품은 약한 것으로 나타났다. 아리수 품종(type 2,4,6)과 홍로 품종(type 3,5,7)별 비교에서는 아리수 품종이 맛, 전체적인 기호도에서 전반적으로 좋은 결과가 확인되었다. 전체적인 기호도에는 type 4(아리수, 사과착즙액 10%) 맥주에서 가장 높은 결과로 확인되어 최적 레시피로 선정되었다. 에탄올, 메탄올 함량 분석결과, 최종 사과맥주의 알코올 함량은 4.4%로 확인되었으며, 메탄올을 검출되지 않았다.

### (시험 6) 수제맥주 전용 용기 및 잔 개발

수제맥주 전용 용기 및 잔 디자인 개발을 위해 4종의 맥주병 디자인 개발하였고, 선호도 조사를 통한 최종 디자인은 C type로 선정되었다. 수제맥주 전용잔은 2종의 맥주잔 중 최종 B type(420 mL)으로 선정하였다. 맥주병과 맥주잔에는 농식품연구소에서 개발한 라벨 및 BI를 적용하여 작업을 진행하였다. 맥주 잔 디자인 개발을 위하여 최종적으로 2종 중에서 B안을 선택하였다.



그림 18. 맥주 용기 디자인 4종



그림 19. 맥주 잔 디자인 2종





그림 20. 맥주 전용용기, 잔 제작

### (시험 7) 수제맥주용 종균 대량 배양기술 개발

최적 배지조건 확립을 위하여 탄소원 Maltose 1~8%에서 생육조건을 비교한 결과 Maltose 4% 생균수와 건조균체량이 가장 높았다. 질소원으로 Yeast extract 1%, peptone 2%, tryptone (0.5%, 1%), ammonium sulfate (0.5%, 1%) 조건으로 처리한 결과 yeast extract 1%, peptone 2%, tryptone 0.5% 가장 우수하였고, ammonium sulfate 첨가 효과는 낮았다. 무기질을 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(0.004%, 0.008%), MgSO<sub>4</sub> (0.02%, 0.04%), ZnSO<sub>4</sub> (0.02%, 0.04%), Biotin (0, 0.0001%) 조건으로 처리한 결과, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.004%, MgSO<sub>4</sub> 0.02%, ZnSO<sub>4</sub> 0.02%(Biotin 무처리) 가장 우수하였다. 최적 배지조건으로서 maltose 4%, tryptone 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.004%, MgSO<sub>4</sub> 0.02%, ZnSO<sub>4</sub> 0.02% 조건을 선정하였다.

표 22. 탄소원 처리조건별 생육 비교

구 분	처 리	흡광도(OD600nm)	생균수(Log CFU/ml)	건조균체량(g/L)
1	Maltose 1%	2.31±0.01	7.91±0.02	5.02±0.02
2	Maltose 2%	2.31±0.00	7.99±0.02	5.94±0.01
3	Maltose 4%	2.34±0.01	8.08±0.04	6.09±0.02
4	Maltose 6%	2.40±0.01	7.71±0.06	6.31±0.02
5	Maltose 8%	2.42±0.00	7.44±0.06	6.58±0.04

표 23. 질소원 처리조건별 생육 비교

구 분	처 리	흡광도(OD600nm)	생균수(Log CFU/ml)	건조균체량(g/L)
1	Tryptone 0.5%	2.44±0.02	8.48±0.01	11.97±0.09
2	Tryptone 1%	2.33±0.00	8.43±0.02	11.98±0.12
3	Ammonium sulfate 0.5%	2.24±0.02	8.20±0.02	6.25±0.01
4	Ammonium sulfate 1%	2.28±0.00	8.21±0.02	5.92±0.01
5	Tryptone 0.5%, Ammonium sulfate 0.5%	2.37±0.03	8.21±0.04	10.19±0.04

표 24. 무기질 처리조건별 생육 비교

구 분	처 리	흡광도(OD600nm)	생균수(Log CFU/ml)	건조균체량(g/L)
1	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.004%, MgSO <sub>4</sub> 0.02%, ZnSO <sub>4</sub> 0.02%	2.48±0.00	8.19±0.01	10.29±0.10
2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.004%, MgSO <sub>4</sub> 0.02%, ZnSO <sub>4</sub> 0.02%, Biotin 0.001%	2.49±0.00	8.17±0.01	10.01±0.16
3	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.008%, MgSO <sub>4</sub> 0.04%, ZnSO <sub>4</sub> 0.04%	2.47±0.00	8.15±0.01	9.85±0.08
4	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.008%, MgSO <sub>4</sub> 0.04%, ZnSO <sub>4</sub> 0.04%, Biotin 0.001%	2.45±0.01	8.15±0.00	9.75±0.01

최적 배지조건을 바탕으로 발효조건을 확립하기 위하여 온도, rpm 조건별 생균수 및 건조균체량을 비교하였다. 온도 조건 20℃, 25℃, 30℃에서 생육을 비교한 결과, 30℃에서 생육이 가장 우수하였고, 온도가 상승할수록 건조균체량 증가하는 경향을 보였다. 교반속도를 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm 3가지 조건으로 설정하여 발효한 결과, 200 rpm에서 생육이 가장 우수, 교반속도에 따른 건조균체량 최소, 최대 2배 차이가 났다. 적 배지조건

표 25. 온도별 생육 비교

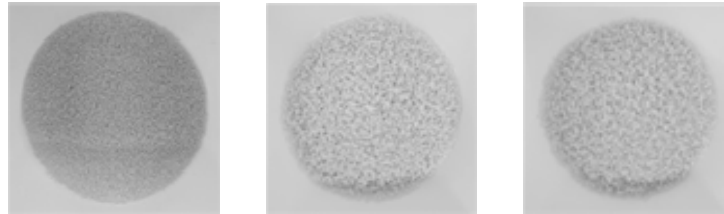
구 분	온도(℃)	흡광도(OD600nm)	생균수(Log CFU/ml)	건조균체량(g/L)
1	20	2.21±0.06	7.64±0.05	4.50±0.09
2	25	2.21±0.06	7.73±0.04	5.00±0.07
3	30	2.27±0.03	7.80±0.03	5.47±0.11

표 26. 교반속도별 생육 비교

구 분	교반속도(rpm)	흡광도(OD600nm)	생균수(Log CFU/ml)	건조균체량(g/L)
1	100	2.06±0.03	7.49±0.04	3.13±0.06
2	150	2.23±0.02	7.79±0.09	5.59±0.44
3	200	2.35±0.03	7.87±0.04	6.27±0.17

본 과제를 통하여 선발한 토착효모를 종균으로 사용하기 위하여 상업 대량생산 공정을 확립하였다. 500 L 발효기(춘천 바이오산업진흥원)를 이용하여 대량배양을 수행하였고, 원심분리를 하여 세포회수 후, 동결보호제를 첨가하여 동결건조한 다음 부형제를 첨가하여 최종 종균 시제품을 개발하였다.

정제포도당 보다는 유당이 끈적거림이 덜하여 제형화하기 용이하여 최종적으로 부형제는 유당으로 결정하였다. 대량배양을 통하여 제조한 종균 시제품은 수분함량이 4% 이하로 건조가 잘 되었으며, 상온 유통이 가능할 것으로 사료된다. 효모수는 시판효모와 비교하여 유사한 수준으로 나타났다.



시판효모                      정제포도당                      유당

그림 22. 부형제를 이용한 건조 효모 제형화

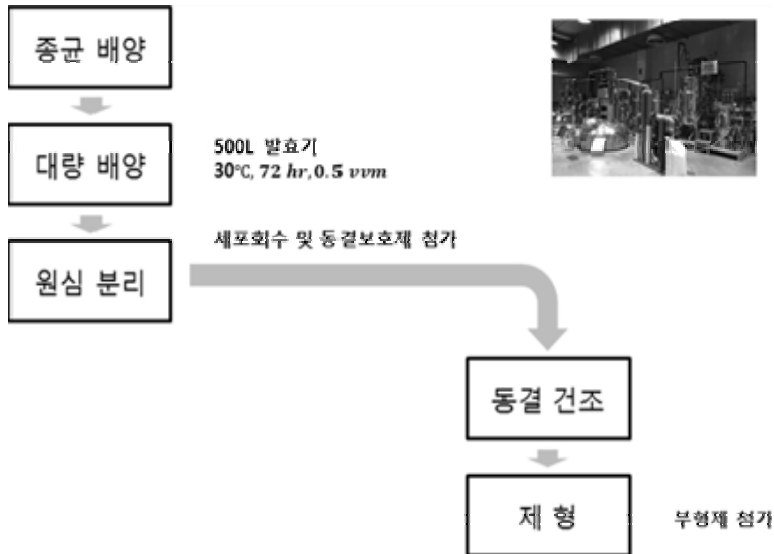


그림 21. 수제맥주용 종균 대량생산공정

표 27. 종균 시제품 스펙

	항 목	spec.
	건조무게	2.914 kg
	수분함량	3.37%
	효모수	1X10 <sup>10</sup> CFU/g
	대장균군	음성

(시험 8) 수제맥주용 종균 활성유지·보존기술 개발

동결보호제 종류와 저장온도에 따른 종균의 활성유지와 보존력을 평가하기 위하여 Skim milk, maltose, lactose, trehalose, E491, 무처리 조건에서 6개월간 종균을 -70℃, -20℃, 4℃, 25℃조건에서 보관하여 생균수를 비교하였다. 상온에서는 동결보호제 중 Maltose 첨가 시 생균수와 생존율이 가장 높았으며, 동결보호제 종류와 상관없이 저장온도는 -70℃, -20℃가 가장 우수하였고, 상온에서는 생균수가 시간이 지날수록 급격히 감소되는 것을 확인하였다. 상온에서는 종균의 활성유지와 보존이 어려울 것으로 보이며, -70℃은 초저온냉동고가 필요하므로 종균의 상업화를 위하여 냉장(4℃)또는 냉동(-20℃)에 유통 및 보관이 유리할 것으로 사료된다.

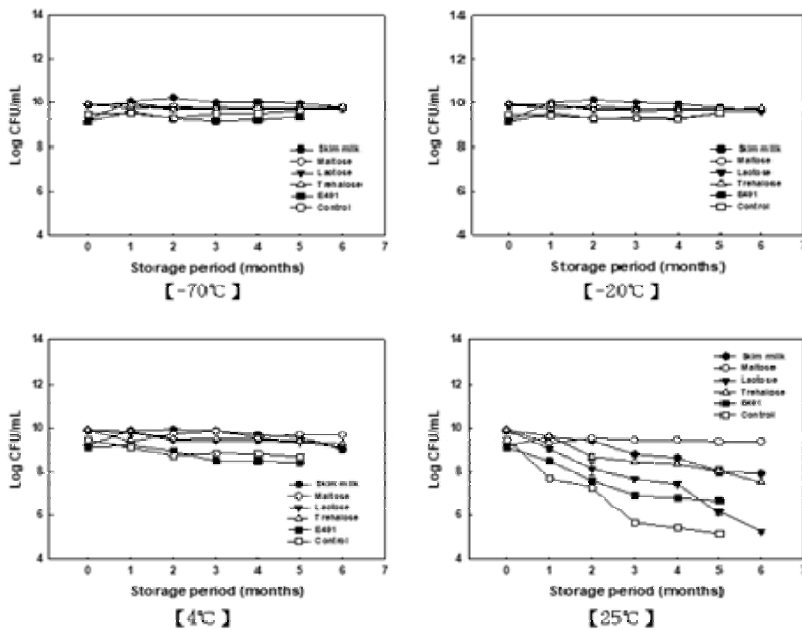


그림 23. 동결보호제 종류 및 저장조건별 생균수 비교

표 28. 동결보호제 종류 및 저장온도에 따른 생균수 및 생존율 비교

구분	온도	6개월 저장	
		생균수(Log CFU/g)	생존율(%)
.무처리	-70℃	9.45±0.01	99.76±0.08
	-20℃	9.24±0.011	97.56±0.08
	4℃	8.46±0.06	89.36±0.65
	25℃	7.95±0.01	83.90±0.11
E491	-70℃	9.31±0.08	101.19±0.91
	-20℃	9.42±0.07	102.34±0.73
	4℃	8.55±0.00	92.92±0.04
	25℃	7.74±0.02	84.14±0.20

구분	온도	6개월 저장	
		생균수(Log CFU/g)	생존율(%)
Skim milk	-70℃	9.77±0.01	107.85±0.06
	-20℃	9.66±0.07	106.58±0.80
	4℃	9.02±0.17	99.56±1.84
	25℃	7.91±0.03	87.31±0.35
Maltose	-70℃	9.67±0.01	97.61±0.12
	-20℃	9.67±0.05	97.57±0.46
	4℃	9.69±0.04	97.81±0.41
	25℃	9.38±0.02	94.63±0.23
Lactose	-70℃	9.73±0.02	99.42±0.19
	-20℃	9.57±0.02	97.74±0.16
	4℃	9.11±0.08	93.11±0.84
	25℃	5.27±0.07	53.81±0.70
Trehalose	-70℃	9.79±0.00	98.36±0.04
	-20℃	9.73±0.01	97.77±0.14
	4℃	9.26±0.02	92.99±0.18
	25℃	7.50±0.02	75.30±0.25

### (시험 9) 수제맥주 휘발성 향기성분 분석

고상미세추출법(Solid phase microextraction, SPME)을 이용하여 수제맥주의 향기성분 분석조건을 확립하였다. 향기성분 정량조건을 확립하기 위하여 표준품으로 Phenyl alcohol, ethyl caprate, ethyl caprylate를 이용하여 분석한 결과 표준곡선이 R<sup>2</sup> 값이 0.99%이상으로 나타나 검량이 잘 수행되는 것을 확인하였다.

표 29. SPME GC-TOF/MS 분석 조건

Sample	5 ml into 20mL SPME vials
Auto Sampler	50/30 μmDVB/CAR/PDMS fiber at 50℃. Incubated for 10 min, 500rpm. Extraction for 30s, 100rpm
Front Inlet	Splitless mode
Injection	SPME desorption for 15s @ 250℃
Carrier Gas	He @ 1.0 ml/min
Column	Rxi-5ms, 30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 μmcoating
Temperature Program	2 min at 40℃, ramped 10℃/min to 250℃, held 2min
Transfer Line	Temperature set to 250℃
TOF/MS Conditions	33-510 m/z at 15 spectra/s with source temp of 250℃

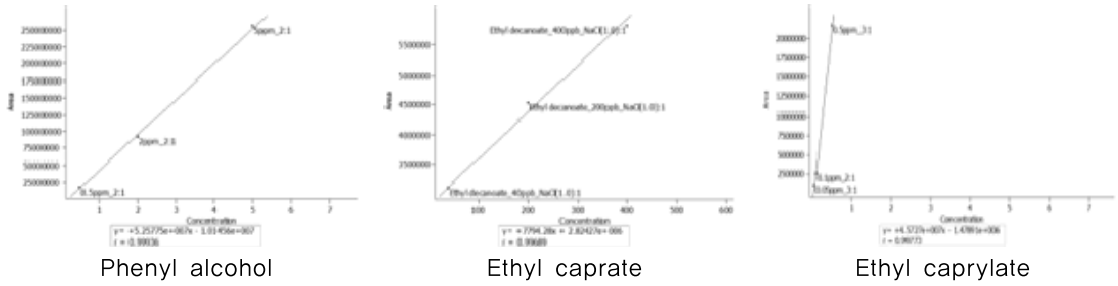
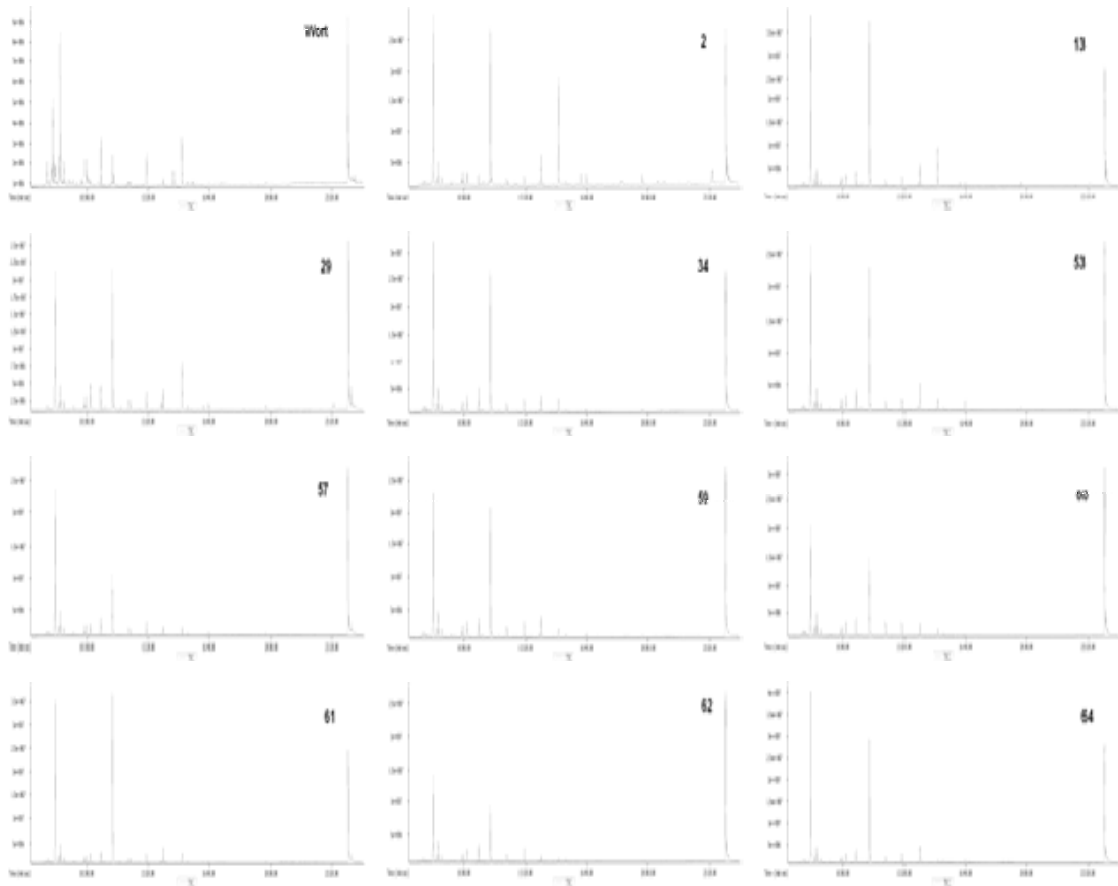


그림 24. 주요 향기성분 SPME-GC-TOFMS 검량선

SPME-GC-TOF/MS를 이용하여 선발 효모를 이용한 페일에일의 향기성분을 분석한 결과 총 131종의 휘발성 향기성분의 검출되었다. 다변량 통계 분석을 통하여  $VIP > 1.0$ ,  $p < 0.05$ 이 만족되는 유효성분 10종을 선발하였다. 과일향이 나는 Ethyl caprylate, ethyl hexanoate, isoamyl acetate, 꽃향이 나는 phenylethyl alcohol, 2-phenylethyl acetate, 흙향이 나는 2-methyl butyl isobutyrate,  $\alpha$ -myrcene, humulene이 유의성을 갖는 물질로 선정되었다. 또한 다변량 통계분석을 통하여 외국산 시판효모(적색)와 분리한 효모(흑색)이 뚜렷이 구별되는 것을 확인하였다.



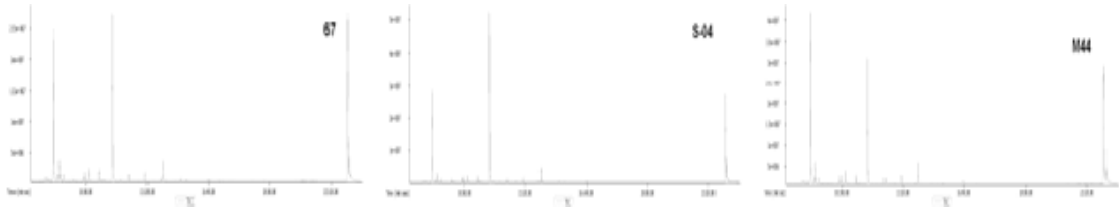


그림 25. SPME-GC-TOF/MS 총이온크로마토그램

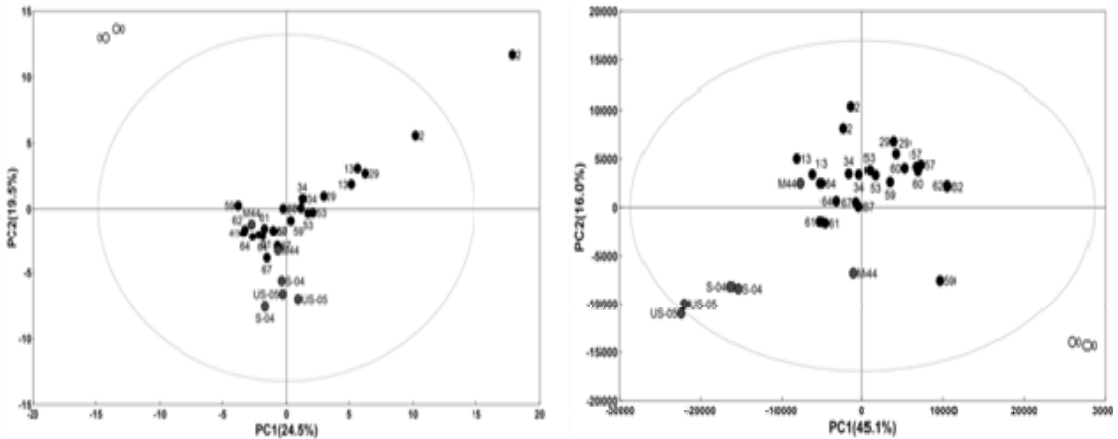


그림 26. 다변량 통계 분석(좌: PCA, 우: PLS-DA)

(시험 9) 종균 활용 수제맥주 제조공정 개발(페일에일타입)수제맥주 휘발성 향기성분 분석

개발 종균 활용에 앞서 기존 시판 효모(S-04, US-05, WLP002) 3종을 이용하여 발효조건과 숙성조건 확립하였다. 균주별 페일에일 선호도조사로 항목별 20점 만점, 총 100점 만점으로 하여 외관, aroma, 풍미, 입안의 느낌, 전반적인 인상 항목에 대하여 연구소 내부 직원 15명을 대상으로 평가하였다. 시판효모 US-05와 홉 2종과 첨가제 1종을 사용한 페일에일의 선호도가 시판맥주와 비교하여 높은 총점을 받았다. 수제맥주 발효조건을 확립하기 위하여 발효기간을 3~14일로 달리하여 선호도조사를 실시한 결과 6일 발효한 페일에일이 가장 높은 총점을 받았다. 통상적인 수제맥주 숙성온도(1℃)에서 숙성기간을 1~3주으로 달리하여 선호도 조사를 실시한 결과 숙성을 2주간 한 페일에일의 선호도가 가장 높았다.

표 30. 균주별 페일에일 제조 및 특성

시료명	시판	S-04-1	S-04-2	US-05-1	US-05-2	WLP002-1
효모		S-04		US-05		WLP002-1
첨가물	세븐브로이 전라 에일	맥아 2종, 홉2종, 첨가제	맥아 3종, 홉3종	맥아 2종, 홉2종, 첨가제	맥아 3종, 홉3종	맥아 3종, 홉1종
도수	4.6	5.1	4.9	5.0	4.9	4.8

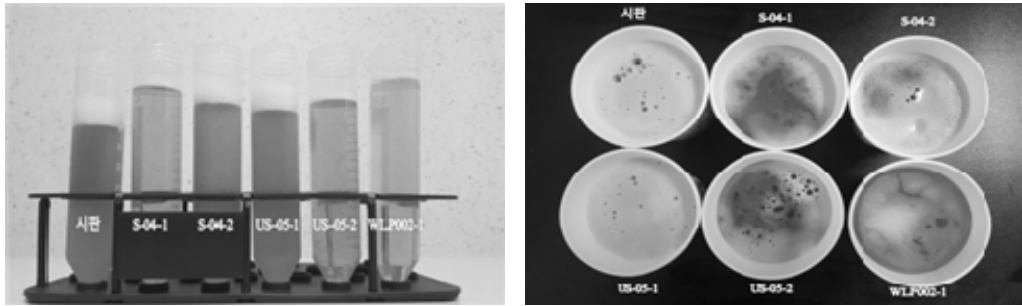


그림 27. 군주별 폐일예일 외관 특성(좌: 색상, 우: 거품생성)

표 31. 군주별 폐일예일 6종의 관능검사 결과

구 분	시 료 명					
	시 판	S-04-1	S-04-2	US-05-1	US-05-2	WLP002-1
외 관	15.87±1.13	14.4±1.35	15.8±0.94	15.33±1.05	13.53±0.83	14.07±1.09
아로마	16.33±0.90	14.47±1.41	15.53±1.30	16.47±1.25	14.80±1.26	14.93±1.03
풍 미	16.47±1.19	13.93±0.70	15.93±1.16	15.93±0.88	14.53±0.83	14.73±1.16
입안의 느낌	14.07±1.62	14.27±1.49	15.27±0.59	15.13±0.99	14.53±1.12	14.13±1.60
전반적인 인상	15.33±0.72	14.27±0.80	15.33±0.72	15.13±0.35	14.60±1.05	13.87±0.91
총 점	78.07±3.63	71.33±3.88	77.87±3.4	78.00±3.50	72.00±2.92	71.73±4.02

표 32. 발효 기간별 선호도 조사

구 분	발효 기간		
	3일	6일	14일
외 관	13.33±2.44	15.00±2.07	13.87±1.92
아로마	10.93±1.98	14.27±1.94	13.27±1.39
풍 미	10.00±1.13	14.67±1.76	13.60±1.60
입안의 느낌	11.60±1.99	14.40±2.23	13.07±1.94
전반적인 인상	11.73±1.71	15.33±1.91	13.07±1.39
총 점	57.60±6.87	73.67±8.18	66.87±6.67

표 33. 숙성 기간별 선호도 조사

구 분	숙성 기간		
	1주	2주	3주
외관	13.73±1.44	15.60±0.74	16.27±0.96
아로마	13.80±1.26	16.60±1.06	16.80±0.56
풍미	13.27±1.53	15.80±0.86	15.67±0.72

구 분	숙성 기간		
	1주	2주	3주
입안의 느낌	13.67±1.45	15.00±0.65	15.40±0.74
전반적인 인상	14.00±1.20	16.07±0.46	15.87±0.834
총점	68.47±5.67	79.07±2.49	80.00±2.73

주관기관인 강원도농업기술원 농식품연구소에서 개발한 'AFY-6' 종균을 이용하여 페일에일 제조 조건을 확립하였다. 시판효모의 대체가능성을 확인하기 위하여 외관, 아로마, 풍미, 입안의 느낌, 전반적인 인상에 대하여 선호도 조사를 한 결과 시판효모로 제조한 페일에일과 비교하여 'AFY-6' 종균으로 제조한 페일에일의 총점은 유사하게 나타났다. 홍천메디칼허브연구소 내부 직원 15명을 대상으로 효모 대체에 따른 유사성 검사를 실시한 결과, 효모를 AFY-6로 교체할 시에도 높은 선호도를 보였으며, 1명 이외의 사람들이 유사하다 느끼며 매우 유사하다고 느끼는 비율이 높아 토종 종균인 AFY-6가 US-05를 대체할 수 있다고 판단되었다. 종균 'AFY-6'을 활용하여 제조한 페일에일의 맥주 주질을 평가한 결과 5차 모두 정상, 도수, 메탄올, 아세트알데히드 기준에 적합하였다.

표 34. 페일에일 제조 조건

맥아	Pale ale malt, Vienna
홉	Simcoe, Cascade, Amarillo
효모	US-05, AFY-6
당화	맥아투입 및 급수(35℃) → 가열(50℃, 20분) → 당화(67℃, 90분 → 77℃, 15분) → 여과
자비	101℃(90분, 홉 투입) → 완료 후 냉각
발효	효모 투입 후 18~20℃, 6일
숙성 및 저장	1℃, 2주
알코올 농도	5.2%

표 35. 종균(AFY-6) 및 시판효모로 제조한 페일에일 선호도 비교

구 분	US-05	AFY-6
외 관	15.13±0.35	15.20±0.94
아로마	15.20±0.68	15.8±0.94
풍 미	14.93±1.10	14.80±1.26
입안의 느낌	14.53±0.83	14.40±1.24
전반적인 인상	14.27±0.80	14.13±1.60
총 점	74.06±3.76	74.33±5.98

표 36. 효모 대체에 따른 유사성 검사

평가자	접 수	평가자	접 수
1	100	9	100

평가자	점 수	평가자	점 수
2	100	10	75
3	75	11	75
4	75	12	100
5	100	13	50
6	75	14	100
7	100	15	75
8	100	평균	87

표 37. 종균 활용 페일에일 맥주의 주질 검사

시험항목	기준	검사결과					항목 판정	
		1차	2차	3차	4차	5차		
1	성상 고유의 색택과 향미를 가지고, 이미·이취가 없음.	적합	적합	적합	적합	적합	적합	
2	도수(V/V%)	5.2%±0.5%	5.3 %	5.1 %	5.2 %	5.3 %	5.1 %	적합
3	메탄올(mg/ml)	0.5이하	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	적합
4	아세트알데히드 (mg/ml)	1이하	0.6	0.5	0.6	0.4	0.7	적합

### (시험 11) 체험용 수제맥주 제조 키트 개발

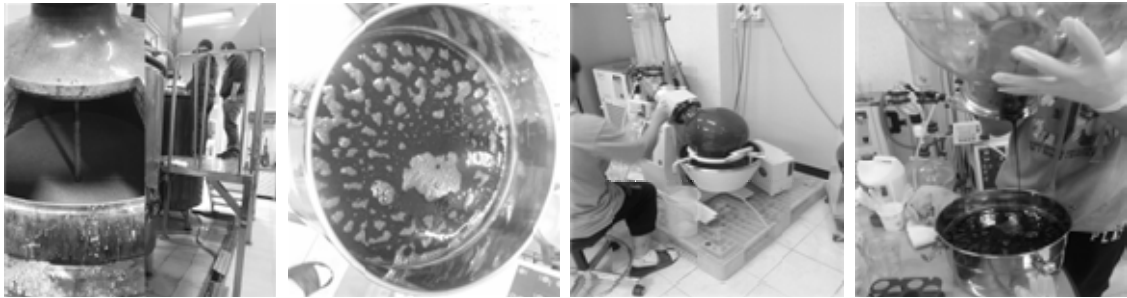
시판 맥주키트의 제품명, 가격, 용량, 원액 구성, 효모 동봉량, 기타 약제사리 제품에 대한 현황을 조사하였다. 일반적으로 키트의 기본 구성품은 발효조, 원액, 효모로 구성되어 있었으며, 추가적으로 제조된 수제맥주를 담을 수 있는 내압 페트병용기와 도수를 측정하기 위한 비중계 및 오염 방지를 위한 소독제 등이 함께 구성되어 있었다.

표 38. 시판 맥주키트 현황

제조사	제품명	가격(원)	발효조	원액 용량	효모(팩)	용기(병)	기타
BeerNara	맥홈발효Kit_1	69,000	38ℓ	-	-	-	스티커, 실린더,
	맥홈발효Kit_2	149,000	38ℓ	1.5kg×2	2		계량컵, 비중계
쿠퍼스	쿠퍼스키트 발효조세트	139,000	23ℓ	-	-	30	
	쿠퍼스+ 오리지널시리즈	195,000	23ℓ	1.7kg×1	1	30	주걱, 비중계, 병입대
	쿠퍼스+문톤스 골드레인시리즈	199,000	23ℓ	1.5kg×2	2		

제조사	제품명	가격(원)	발효조	원액 용량	효모(팩)	용기(병)	기타
MR.BEER	비어리필9종세트	269,100	8.5ℓ	1.3kg×9	9	9	
	홈비어키트 (리필포함)	87,900	8.5ℓ	1.3kg×1	1	8	스티커
	홈비어키트 (리필미포함)	62,000	8.5ℓ	-	-	8	

시판 제품 유사(malt extract)와 유사하도록 맥아와 홉이 함유된 맥아즙을 55 Brix로 농축하여 원액을 제조하였다. 1차 발효는 23L 발효조 이용하여 상온에서 1주일 발효하였고, 탄산 생성을 위하여 설탕을 첨가하여 병입한 후, 2차 발효를 진행하였다. 개발된 맥주 키트로 제조한 맥주의 알코올 도수는 14일차까지 유사하였고, 18일차 이후에는 시판 맥주 키트보다 높았음. 일반적으로 맥주 키트로 맥주 제조 시 2주간 발효하는 경우가 많이 있는 점을 감안했을 때, 개발한 맥주 원액으로 맥주 제조 시 시판 맥주 키트와 유사한 발효능을 보였다. 선호도 조사 결과, 외관, 아로마, 풍미 등의 5가지 항목에서 시판 맥주 키트와 유사한 평가를 받았음. 점수가 가장 낮은 항목은 풍미가 부족하다고 평가되었다.



맥아 당화 후 자비과정 중 홉을 추가하여 맥주 원액 제조

감압식회전농축기를 사용하여 55brix까지 맥주 원액을 농축

그림 28. 맥주 원액 제조 과정



그림 29. 맥주 원액이용 맥주 제조

표 39. 맥주 키트로 제조한 맥주의 기간별 도수 변화

일 수	시판 맥주 키트		개발 맥주 키트	
	비중	도수(%)	비중	도수(%)
초기비중	1.03	-	1.035	-
5일차	1.022	1.048	1.024	1.441
6일차	1.014	2.096	1.012	3.013
7일차(병입)	1.014	2.096	1.012	3.013
14일차	1.007	3.668	1.007	3.668
18일차	1.007	3.668	1.002	4.323
19일차	1.007	3.668	1.002	4.323

표 40. 맥주 키트로 제조한 맥주의 선호도 조사

구 분	시판 맥주 키트	개발 맥주 키트
외 관	15.40±0.98	15.20±0.94
아로마	15.20±0.68	16.33±1.047
풍 미	14.93±1.10	13.47±1.25
입안의 느낌	14.47±1.13	14.40±1.24
전반적인 인상	14.87±0.99	15.00±1.00
총 점	74.87±2.99	74.40±3.36

시판 맥주 키트 대비 부족하게 느껴졌던 풍미를 개선하기 위하여 레시피 수정하였다. 추가적인 드라이 몰트 투입이 필요함에 착안하여 드라이 몰트 양을 조절하기 위한 실험을 진행하였다. 드라이몰트를 추가로 첨가하였을 때 풍미와 아로마가 증가하는 양상을 보였으나, 드라이몰트를 1.5kg 추가하였을 시 입안의 느낌이 좋지 않으며, 외관이 탁한 느낌을 많이 받았음. 최종적으로 키트 구성 시 드라이 몰트를 1kg 추가하였다. 개발 맥주 키트를 이용하여 맥주를 제조하여 주질 검사를 실시한 결과 5차례 모두 기준치에 적합하였다.

표 41. 드라이 몰트 함량별 선호도 조사

구 분	제조 맥주 키트	드라이 몰트 1kg 추가	드라이 몰트 1.5g 추가
외관	15.87±1.13	15.8±0.94	14.93±1.10
아로마	15.53±1.30	15.93±0.88	15.87±1.13
풍미	14.07±1.62	15.33±0.72	15.33±1.05
입안의 느낌	14.27±0.80	14.53±1.12	13.93±0.70
전반적인 인상	14.27±0.80	14.93±1.03	14.73±1.16
총점	74.01±5.65	76.52±4.69	74.79±5.14

표 42. 개발 맥주 키트 이용 제작 맥주의 주질 검사

시험항목	기준	검사결과					항목 판정	
		1차	2차	3차	4차	5차		
1	성상 고유의 색택과 향미를 가지고, 이미·이취가 없음.	적합	적합	적합	적합	적합	적합	
2	도수 (V/V%)	4.3%±0.5%	4.3 %	4.2 %	4.2 %	4.3 %	4.1 %	적합
3	메탄올 (mg/ml)	0.5이하	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	적합
4	아세트알데히드 (mg/ml)	1이하	0.7	0.5	0.7	0.6	0.5	적합

상기 실험결과를 바탕으로 키트 구성을 확정하여 발효조, 원액, 종균(AFY-6 효모, 5g), 드라이몰트 (500g), 비중계, 매스실린더로 구성하였다. 맥주 제조 가이드라인을 개발하여 체험용 키트를 개발하였다.



그림 30. 맥주 키트 시제품 구성

- ①드라이몰트(1kg) ②발효조(28ℓ) ③비중계  
④효모(AFY-6, 5g) ⑤맥주원액 ⑥매스실린더



그림 31. 맥주 키트를 이용한 맥주 제조 가이드라인

## (시험 12) 개발 수제맥주 소비자 기호도 조사

### 가. 성과보고회

#### ○ 행사개요

- 행사명: 2019 홍천군 수요자맞춤형 기업지원사업 성과보고회
- 일 시: 2019. 12. 17(화) 13:00 ~ 17:00
- 장 소: (재)홍천메디칼허브연구소 3층 행사장
- 참석대상
  - 홍천군 수요자맞춤형 기업지원사업 참여기업 및 수혜기업 임직원
  - 홍천군 기업체 임직원 및 홍천군 관계자
  - 홍천군 청년창업지원센터 입주기업
  - 예비창업자, 귀농귀촌인 등 창업을 준비중인 홍천군민
- 평가대상: 중균으로 제조한 쌀맥주, 사과맥주, 키트로 제조한 페일에일

### 나. 소비자패널 대상 농식품 신제품 시장성 테스트 ※주관기관 협조

#### ○ 행사개요

- 행사명: 소비자패널 대상 농식품 신제품 시장성 테스트 계획



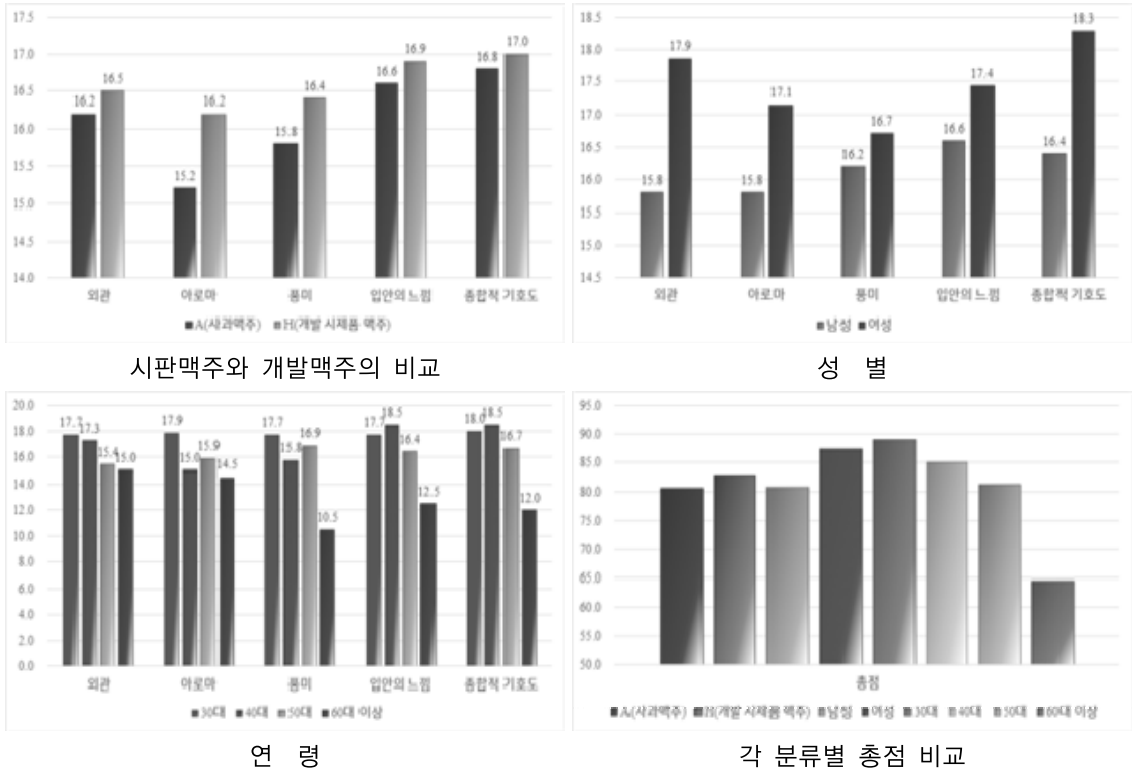


그림 33. 맥주 시음 설문 결과

맥주 시음 설문 결과, 개발된 시제품 맥주는 1차년도 결과물인 사과맥주에 비해 전체적인 기호도가 높았으며 특히 아로마 느낌에서 큰 차이를 보였다. 성별에 따른 선호도는 남성보다 여성에서 높은 선호도를 보였다. 연령에 따른 선호도는 30대 이하에서 높게 나왔으며, 연령이 높아질수록 선호도가 낮았으며, 추후 제품화 진행 시 젊은 여성층을 대상으로 한 마케팅 공략이 필요하다고 판단된다.

### (시험 13) 사워에일용 종균 선발

사워에일용 종균을 선발하기 위하여 농식품연구소 기보유 유산균 166주에 대하여 내산성, 흡내성, 디아세틸 생성, 홉 내성,  $\beta$ -glucosidase 활성에 대하여 평가하였다. 사워링을 할 경우, 통상적으로 48 시간 이내에 마치기 때문에 산 생성능은 사워맥주용 유산균의 가장 중요한 특성 중 하나로 18 균주 중 최종 pH가 3.5 미만인 유산균은 L208, L213, L240, L241, AFY-10 균주였다. 또한 분리된 유산균이 맥주 부패 미생물로 작용하는지 확인하기 위하여 EPS와 디아세틸 생성을 확인한 결과, L196, L208 균주가 EPS를 생성하였고, 디아세틸은 모든 균주에서 생성되지 않는 것으로 나타났다. 홉 내성 평가 결과를 보면, 5 IBU의 홉 농도에서 18 균주 모두 생육이 우수하였으나, 2배 농도인 10 IBU에서 모든 균주의 생육이 1/5 수준으로 눈에 띄게 감소하였다. 분리 유산균들이 홉이 있는 환경에서 전혀 생육하지 못하는 것은 아니지만 IBU가 증가하였을 때 생육이 감소하는 것으로 보아 홉 내성이 아닌 홉 민감성(hop-sensitive)을 갖는 것으로 사료된다. 일부 홉 내성을 갖는 맥주 부패 미생물은 비 홉 내성

미생물에 비하여 8~20배 높은 홉 저항성을 가져 맥주의 부패를 일으킨다고 보고되어 홉 내성 균주보다는 홉 민감성 균주가 선호된다. 18 균주 모두 홉 내성을 보이지 않아 맥주 부패 위험성은 없는 것으로 사료된다.  $\beta$ -glucosidase는 배당체를 분해하여 비배당체로 전환시켜주는 효소로 와인 제조에서  $\beta$ -glucosidase 활성이 있는 유산균은 향이 나지 않는 glycosidic aroma precursors로부터 향기가 나는 비배당체로 전환시키는 능력이 있다고 보고되었다. 사워맥주 제조에도 유산균의  $\beta$ -glucosidase 활성이 향기성분 생성에 영향을 줄 것으로 사료되어  $\beta$ -glucosidase 활성을 평가하였다. 그 결과 7 균주 L213, L221, L222, L237, L240, L261, AFY-10 유산균이  $\beta$ -glucosidase 활성이 있는 것으로 나타났다. 최종적으로 본 사워맥주용 유산균 탐색 결과를 토대로 L213, L240, AFY-10 균주는 산 생성능이 우수하고, EPS와 디아세틸을 생성하지 않으며, 홉에 대한 민감성과  $\beta$ -glucosidase 활성을 나타내어 사워맥주 제조에 적용 가능성이 높은 것으로 사료되어 사워맥주용 후보 균주로 선발하였다.

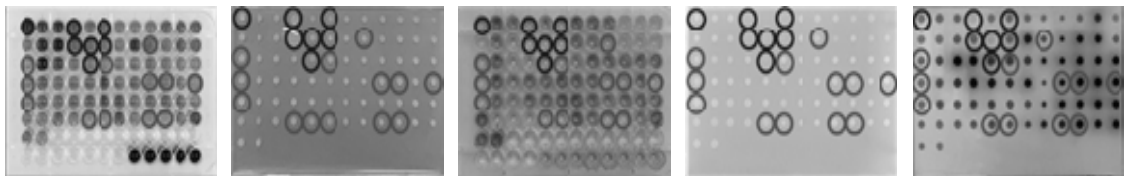


그림 34. 사워에일용 유산균 스크리닝

표 43. 김치에서 분리한 유산균의 균주 특성 평가

No	Strain name	Species	Acid production <sup>1)</sup>	EPS production <sup>2)</sup>	Diacetyl production <sup>3)</sup>	Hop tolerance <sup>4)</sup>	$\beta$ -glucosidase activity <sup>5)</sup>
1	L193	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	+	-	-	+++++/+	-
2	L196	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	++	+++	-	+++++/-	-
3	L198	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	+++	-	-	+++++/-	-
4	L208	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	+++	+++++	-	+++++/-	-
5	L209	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	+++	-	-	+++++/-	-
6	L210	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	+++	-	-	+++++/-	-
7	L213	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	+++++	-	-	+++++/+	+
8	L217	<i>Latilactobacillus curvatus</i>	++++	-	-	+++++/+	-
9	L221	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	++++	-	-	+++++/+	+
10	L222	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	++++	-	-	+++++/+	+
11	L229	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	++++	-	-	+++++/+	-
12	L237	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	++++	-	-	+++++/+	++
13	L240	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	+++++	-	-	+++++/+	++
14	L241	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	++++	-	-	+++++/+	-
15	L257	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	++++	-	-	+++++/+	-
16	L258	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	++++	-	-	+++++/+	-

No	Strain name	Species	Acid production <sup>1)</sup>	EPS production <sup>2)</sup>	Diacetyl production <sup>3)</sup>	Hop tolerance <sup>4)</sup>	β-glucosidase activity <sup>5)</sup>
17	L261	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	++++	-	-	+++++/+	+
18	AFY-10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	+++++	-	-	+++++/+	++

- 1) reaction color: no result (-), slightly light green (+), light green (++), pale green (+++), green (++++), dark green (+++++)
- 2) slime production: no result (-), 1 mm (+), 2 mm (++) , 3 mm (+++) , 4 mm (++++), 5 mm (+++++)
- 3) reaction color: no result (-), slightly light pink (+), light pink (++) , pale pink (+++) , pink (++++), dark pink (+++++)
- 4) colony size (5 IBU/10 IBU): no result (-), 1 mm (+), 2 mm (++) , 3 mm (+++) , 4 mm (++++), 5 mm (+++++)
- 5) black zone size: no result (-), 1 mm (+), 2 mm (++) , 3 mm (+++) , 4 mm (++++), 5 mm (+++++)

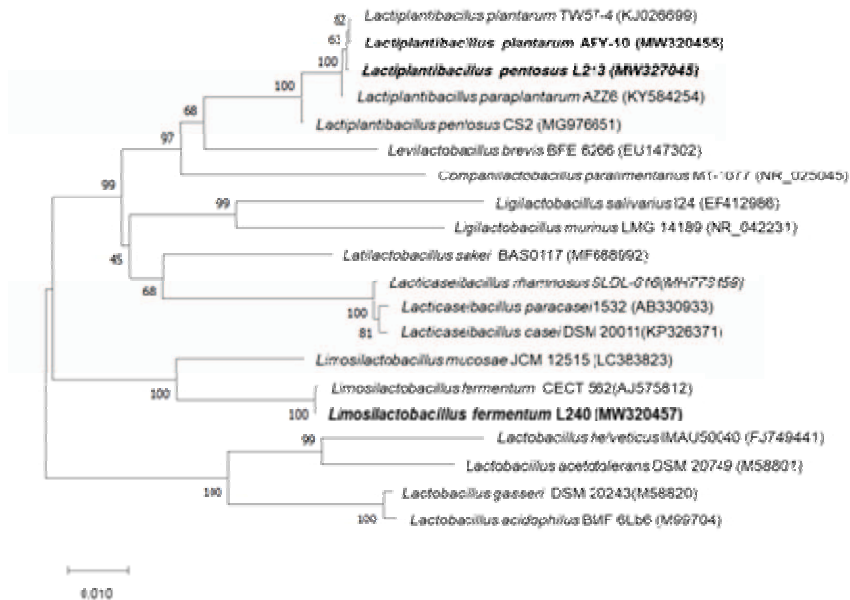


그림 35. 사워에일용 선발 균주의 계통수

시판유산균 *Lb. plantarum* Sour pitch 대조구로 이용하여 사워맥주를 제조하여 특성을 비교한 결과, 유리당 함량은 알코올 발효 후, 모두 감소하였고, Maltose 소모량 유의적 차이가 없었다. 사워링 발효특성은 비교한 결과, 시판 유산균 Sour pitch와 같은 종임에도 불구하고 'AFY-10' 균주는 pH 감소능력과 유산 생성능 가장 우수하였다. 유산균을 달리하여 제조한 사워맥주에 대한 맥주 특성을 비교한 결과, Sour Pitch 시판 유산균으로 제조한 사워 맥주는 알코올 도수 가장 높고, 발효도 우수, FAN 함량 가장 높았다. 선발한 'L213' 유산균으로 제조한 사워맥주는 발효도 가장 낮았고, 디아세틸 함량 가장 높아 품질이 좋지 않았음. 'L240' 유산균으로 제조한 사워맥주는 발효도 가장 우수하였지만 거품 안전성이 가장 낮았다. 'AFY-10' 유산균으로 제조한 사워맥주는 pH 가장 낮음, 거품 안전성 가장 좋음, 디아세틸 함량 가장 낮아 사워맥주 종균으로 가장 적합할 것으로 사료된다.

표 44. 발효 단계에 따른 균주별 유리당

구분	균주명	유리당 (g/L)			
		Glucose	Fructose	Maltose	Maltotriose
사워링 (유산발효)	Sour Pitch	5.57±0.02d	5.55±0.01d	50.12±0.05d	10.93±0.03e
	L213	4.46±0.02a	5.27±0.02c	51.61±0.53e	11.12±0.31e
	L240	4.75±0.00b	5.14±0.03a	43.46±0.38c	8.51±0.23d
	AFY-10	5.39±0.02c	5.21±0.01b	41.09±1.12b	11.14±0.11e
알코올 발효	Sour Pitch	N.D.	N.D.	0.27±0.00a	0.49±0.01a
	L213	N.D.	N.D.	0.20±0.00a	1.78±0.01c
	L240	N.D.	N.D.	0.26±0.00a	1.42±0.02b
	AFY-10	N.D.	N.D.	0.25±0.00a	1.97±0.01c

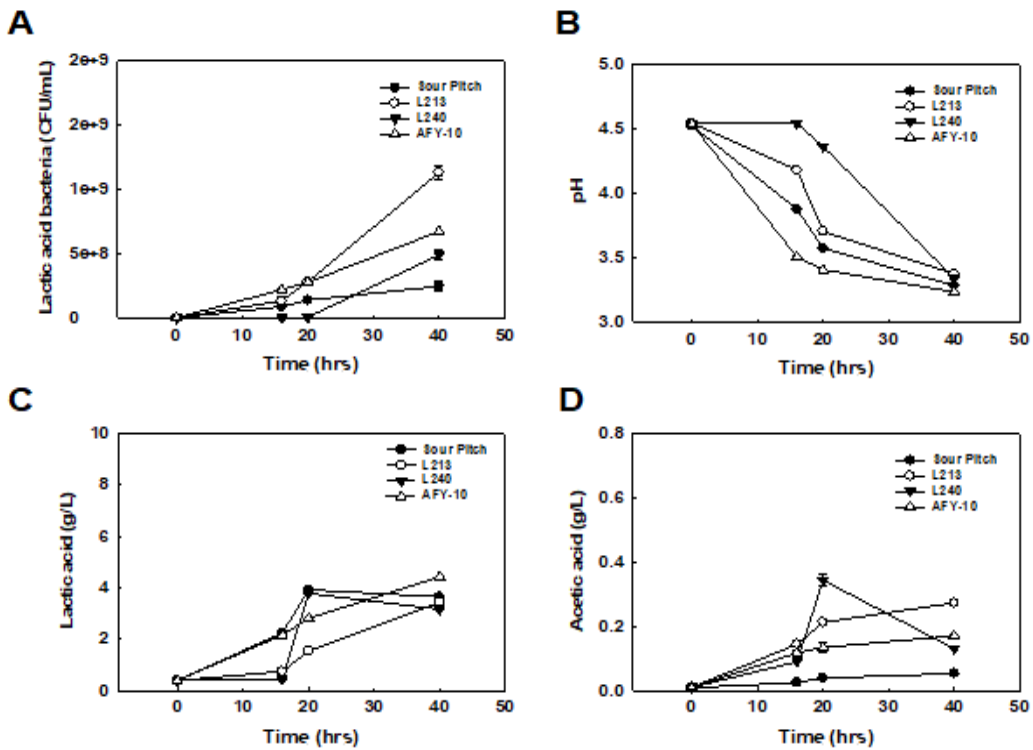


그림 36. 사워링 전후에 따른 특성 비교(A: 유산균수, B: pH, C: 유산, D: 초산)

표 45. 유산균을 달리한 사워에일의 최종 맥주 특성

특 성	균주명			
	Sour Pitch	L213	L240	AFY-10
ABV (%)	4.24±0.01c	4.11±0.01b	4.10±0.00b	3.86±0.01a

특 성	균주명			
	Sour Pitch	L213	L240	AFY-10
pH	3.27±0.01c	3.27±0.00c	3.24±0.02b	3.17±0.00a
Attenuation (%)	80.73±0.20b	78.36±0.10a	82.54±0.22c	79.89±1.96a
Foam stability	22.30±6.78b	30.01±5.40b	12.62±0.91a	48.58±1.24c
Diacetyl (mg/L)	0.63±0.00b	0.72±0.01d	0.65±0.01c	0.50±0.00a

표 46. 유산균을 달리한 사워에일의 유리아미노질소 함량

구 분	FAN (mg/L)			
	Sour Pitch	L213	L240	AFY-10
맥아즙	172.43±0.78d			
사워링	283.16±0.52f	273.67±0.52f	204.07±0.90e	294.24±1.48f
알코올 발효	109.15±2.22c	83.84±0.39b	49.04±0.20a	75.93±1.22ab

사워맥주 특성 간 상관분석을 실시한 결과, 특히 사워링 단계에서 유산발효에 의하여 생성된 유산이 맥주 품질 전반에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 유산의 농도가 증가할수록 pH ( $r=-0.771$ ), 알코올 도수 ( $r=-0.721$ ), 발효도( $r=-0.704$ ), 디아세틸( $r=-0.844$ )은 음의 상관관계를 보였다.( $p<0.05$ )

표 47. 사워맥주 특성 간 상관분석

Correlation analysis	Lactic acid	Acetic acid	pH	ABV	Attenuation	Maltose	Maltotriose	Diacetyl	FAN	Foam stability
Lactic acid	1	-0.241	-0.771**	-0.721**	-0.704*	0.119	0.327	-0.844**	0.196	0.899**
Acetic acid	-0.241	1	0.228	-0.125	-0.420	-0.879**	0.581*	0.532	-0.268	0.108
pH	-0.771**	0.228	1	0.918**	0.339	-0.245	-0.572	0.907**	0.363	-0.656*
ABV	-0.721**	-0.125	0.918**	1	0.564	0.132	-0.832**	0.718**	0.463	-0.760**
Attenuation	-0.704*	-0.420	0.339	0.564	1	0.591*	-0.561	0.254	-0.209	-0.880**
Maltose	0.119	-0.879**	-0.245	0.132	0.591*	1	-0.590*	-0.524	0.126	-0.246
Maltotriose	0.327	0.581*	-0.572	-0.832**	-0.561	-0.590*	1	-0.215	-0.637*	0.555
Diacetyl	-0.844**	0.532	0.907**	0.718**	0.254	-0.524	-0.215	1	0.057	-0.621*
FAN	0.196	-0.268	0.363	0.463	-0.209	0.126	-0.637*	0.057	1	0.110
Foam stability	0.899**	0.108	-0.656*	-0.760**	-0.880**	-0.246	0.555	-0.621*	0.110	1

SPME-HS-GC TOF/MS를 이용하여 휘발성 향기성분을 분석하였으며, 동정된 향기성분 중 의미있는 향기성분을 얻기 위하여 기여도(VIP) 값이 1.0이 넘는 향기성분만 추출하였다. 주요 향기성분은 총 9종으로 Ethyl decanoate, ethyl 9-decanoate, phenethyl acetate, ethyl laurate, phenethyl alcohol, octanoic

acid, ethyl palmitate, ethyl 9-hexadecenoate, n-decanoic acid가 검출되었다. 특히 달콤하고, 꽃향이 나는 Phenethyl alcohol은 VIP값이 5.07로 가장 높았으며, Phenethyl alcohol은 알코올 발효 이후 크게 증가하였는데 이는 효모의 알코올 발효 중 생성되는 주요 향기성분 중 하나로 보고되었다.

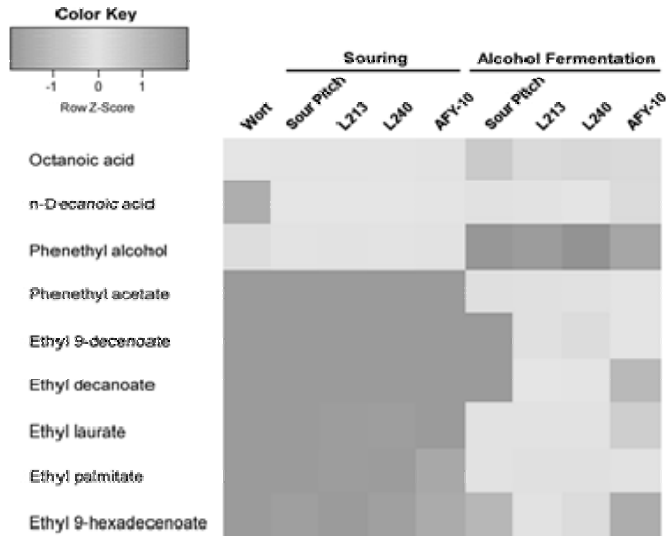


그림 37. 발효단계별 주요 향기성분 변화 열지도

다변량 통계분석 결과 주성분 1의 x축의 음의 방향에서는 알코올 발효한 사워맥주가 x축의 양의 방향에서는 사워링한 사워맥주가 높게 발현되었다. 앞서 열지도에서 알코올 발효 전후에 따라 향기성분이 증가한 것과 연관이 있는 것으로 판단된다. PLS-DA의 주성분 1의 x축 양의 방향에서 발현되는 것은 모두 사워링 이후의 사워맥주로 균주별 차이가 크지 않은 반면 x축 음의 방향에서 발현되는 알코올 발효 후 사워맥주의 향기성분은 균주별 차이가 사워링 전보다 상대적으로 더 큰 것이 확인되었다. 특히 김치 유산균 L213, L240, AFY-10 3주로 제조한 사워맥주는 주성분 2의 y축 양의 방향에서 발현되는 것으로 나타났고, 외국 시판 유산균인 Sour Pitch로 제조한 사워맥주는 y축 음의 방향에서 발현되어 김치 유산균로 제조한 사워맥주의 향기성분이 Sour Pitch로 제조한 사워맥주와 뚜렷하게 구별되는 것을 확인하였다.

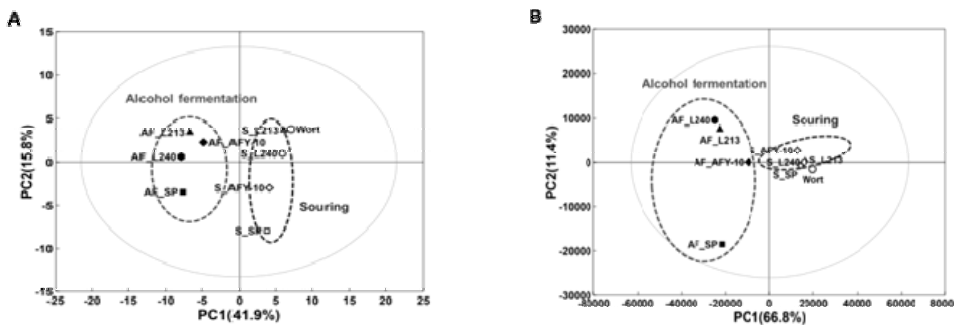


그림 38. 균주별 사워링 전후 사워에일 향기성분 분석(A: PCA, B: PLS-DA)

### (시험 14) 고비중맥주용 종균 선발

농식품연구소 기보유 효모 764주를 선발하여 내당성, 알코올 내성, 효소 활성( $\alpha$ -amylase, protease,  $\beta$ -glucosidase), POF (Pheolic off-flavor) 생성, H<sub>2</sub>S 생성, 디아세틸 생성, 셀룰레닌 및 TFL 내성을 평가하여 1차적으로 말토트리오스 분해능과 전분 분해능이 우수한 4주의 효모 균주를 선발하였고(S. cerevisiae 404, 416, 542, 687), 추가적으로 기개발된 'AFY-6' 균주도 함께 비교균으로 실험을 진행하였다.

표 48. 고비중 맥주용 효모 스크리닝 결과

구분	균주 번호	비고	균주명	pH			Malto triose 10%	Mal tose 40%	Ethan ol 18%	$\alpha$ -amy lase	protea se	$\beta$ -glu cosi dase	POF	H <sub>2</sub> S	Diace tyl	Ceru lenin	TFL
				3	3.5	4											
1	405	막걸리	S. cerevisiae	+++	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-	1.462	no growth	-	-	-
2	416	김치	S. cerevisiae	-	-	-	+++	++	-	++	+++	-	1.665	no growth	-	-	-
3	542	막걸리	S. cerevisiae	++	+++	++	+++	+++	+++	++	-	+	1.602	+	-	-	+++
4	687	막걸리	S. cerevisiae	+++	+++	+++	+++	+++	-	++	-	+	1.506	+	-	-	+++
5	AFY-6 (541)	막걸리	S. cerevisiae	++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	1.674	no growth	-	+	+++
6	K-97	프랑스	S. cerevisiae	++	+++	++	++	+++	-	+	-	++	1.137	++	-	-	+++
7	WB-06	프랑스	S. cerevisiae var. diastaticus	++	++	++	+++	+++	-	+	-	+	1.073	+	-	-	+++
8	BE-134	프랑스	S. cerevisiae var. diastaticus	++	+++	++	+++	+++	-	++	-	++	0.808	+++	-	-	+++
9	HA-18	프랑스	S. cerevisiae (+glucoamylase)	++	+++	++	+++	+++	-	+	-	+	1.122	++	-	-	+++
10	WLP 001	미국	S. cerevisiae var. diastaticus	++	++	++	+++	+++	-	++	-	-	1.647	-	-	-	+++

시판 효모와 선발 효모를 이용하여 고비중 맥주를 제조하여 특성을 비교하였다. 알코올 도수는 시판 효모 5종은 6.14~10.93%, 선발 효모 5종은 5.15~6.40%으로 선발효모 중 '405' 효모가 가장 높게 나타났다. 발효도는 시판 효모는 59.7~99.7%로 나타났고, 선발 효모 47.01~61.3%으로 시판효모에 비하여 낮은 편이었으며, '405' 효모가 선발 효모중 가장 높았다. 디아세틸 함량은 0.75~0.83% 범위로 큰 차이는 없었고, 유리아미노질소(FAN) 함량은 56.22~295.18 mg/L로 균주별로 상이한 것으로 나타났다.

표 49. 균주별 고비중맥주 특성 비교

구 분	균주명	pH	알코올 도수(%)	발효도(%)	디아세틸(mg/L)	FAN(mg/L)
선발 효모	405	4.21±0.00	6.40±0.02	61.31±0.06	0.82±0.00	93.71±1.21
	416	4.14±0.01	5.49±0.04	53.55±0.07	0.80±0.01	156.18±3.25
	541	4.05±0.01	5.58±0.03	52.46±0.14	0.80±0.00	106.20±2.89
	542	4.31±0.00	5.17±0.03	47.09±0.17	0.80±0.00	129.63±2.28
	687	4.05±0.01	5.15±0.01	48.04±0.04	0.81±0.02	145.25±1.77
시판 효모	K-97	3.57±0.01	6.14±0.04	59.70±0.08	0.83±0.01	184.29±2.02
	WB-06	4.07±0.01	8.45±0.03	79.61±0.20	0.84±0.01	56.22±3.23
	BE-134	3.54±0.01	8.75±0.02	81.20±0.11	0.75±0.02	295.18±0.89
	HA-18	4.21±0.01	10.93±0.08	99.70±0.19	0.78±0.02	248.33±2.41
	WLP001	4.30±0.01	6.86±0.02	63.78±0.09	0.83±0.01	143.69±1.84

균주별로 제조한 고비중 맥주의 유리당 함량을 측정된 결과, Maltose는 시판효모 모두 소모하였고, 선발 효모중에서는 '405', '542' 효모가 모두 소모한 것으로 나타났다. Maltotriose 함량은 시판 효모는 0~0.27 g/L로 나타났고, 선발효모 '405'는 0.34 g/L로 나타나 고비중 맥주용 종균으로서 선발 효모 '405'이 가장 가능성이 높을 것으로 사료된다. 휘발성 향기성분을 분석한 결과 주요성분은 ethyl decanoate 함량 차이 가장 크고, 균주별로 상이한 것으로 나타났다. 다변량 통계 분석을 통하여 선발 효모 '405' 효모가 다른 선발효모에 비해 상대적으로 시판효모와 가장 유사한 것으로 나타났다.

표 50. 균주별 고비중 맥주 유리당

구 분	유리당(g/L)					
	Maltose	Maltotriose	Glucose	Sucrose	Fructose	
발효 전	134.63±0.93	24.40±0.68	21.24±1.04	10.58±0.36	3.15±0.1	
선발 효모	405	-	0.34±0.00	-	-	0.88±0.02
	416	0.73±0.01	17.92±0.12	0.68±0.01	-	0.89±0.01
	541	0.23±0.00	21.20±0.56	0.31±0.00	-	0.95±0.04
	542	-	35.81±0.31	0.71±0.02	-	1.04±0.05
	687	0.73±0.03	35.59±0.35	0.46±0.01	-	1.25±0.01
시판 효모	K-97	-	-	-	-	1.00±0.03
	WB-06	-	-	0.13±0.00	-	0.95±0.01
	BE-134	-	-	0.38±0.01	-	1.17±0.03
	HA-18	-	-	0.37±0.01	0.13±0.00	0.96±0.00
	WLP001	-	0.27±0.00	-	-	0.88±0.02

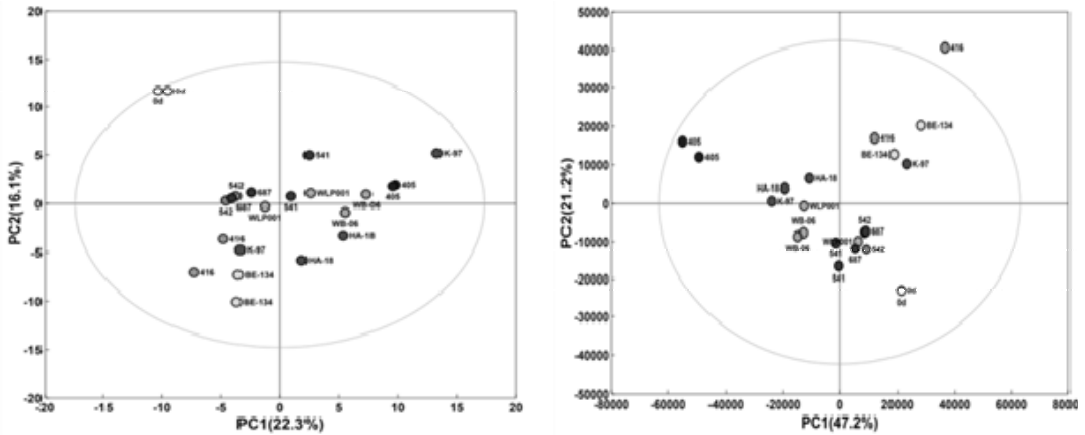


그림 39. 군주별 고비중맥주 향기성분 분석(A: PCA, B: PLS-DA)

### (시험 15) 강원지역 수제맥주 양조장 소개 책자발간

수록 내용은 Part 1에서는 전반적인 수제맥주 이야기를 담았으며, Part 2에서는 강원지역의 수제맥주 양조장을 소개하는 부분으로 나누었다. 부록으로 강원도 특산물로 만드는 간단 맥주 안주 레시피 10종을 수록하였다. 양조장은 총 10개소로 양조장의 소개 및 개발된 맥주에 대한 소개, 양조장 주변 지역 관광지 등이 수록되어 관광객들에게 유용한 정보를 제공하고자 하였다.(발간등록번호 72-6420057-000092-01)

표 51. 수록 양조장 목록

	지역	양조장
1	춘천	스퀴즈 브루어리
2	원주	브로이 하우스
3	강릉	버드나무 브루어리
4		강릉 브루어리
5	속초	몽트 비어
6		크라프트 루트
7	홍천	브라이트 바흐
8	평창	화이트 크로우 브로잉
9	정선	아리랑 브루어리
10	고성	문베어 브루잉



그림 40. 「강원도 수제맥주 여행」 책자 겉표지

## Contents

<p> <b>발간사</b> 3  <b>Part 1. 수제맥주 이야기</b>          1. 수제맥주 산업 8          2. 맥주 이야기 10  <b>Part 2. 수제맥주 투어</b>  <b>스퀴즈 브루어리 춘천</b> 22          Squeeze Brewery          춘천시 공평면 353 / 033-418-1543     <b>문베어 브루잉 고성</b> 30          Moonbear Brewing          고성군 북평면 월원로 26 / 033-4320211     <b>어리랑 브루어리 경선</b> 38          Arirang Brewery          동진군 안동읍 재의길 24-55 / 033-178-7177     <b>문베어 브루잉 고성</b> 30          Moonbear Brewing          고성군 북평면 월원로 26 / 033-4320211     <b>브로이 하우스 원주</b> 54          Bruu Haus          원주시 남원로 64 / 033-764-2589     <b>브라이트 바흐 용진</b> 46          Bruu Bach          용진군 남면 남4리 44-17 / 033-432-8859     <b>용트 비어 속초</b> 60          Moon Beer          속초시 학사영길 7-1 / 033-636-9010     <b>크라프트 루트 속초</b> 68          Craft Root          속초시 관갈로 418 / 030-8872-1908     <b>강릉 브루어리 강릉</b> 76          Gangneung Brewery          강릉시 용서초길 11-9 / 033-655-4253     <b>버드나무 브루어리 강릉</b> 82          Budnam Brewery          강릉시 9간면 156-1 / 033-920-9888     <b>화이트 크로우 브루잉 행창</b> 90          White Crow Brewing          행창면 안평면 고령로 15 / 033-319-1201     <b>[부록] 강원도 특산물로 만드는 안주 레시피</b> 99       </p>
--

그림 41. 「강원도 수제맥주 여행」 책자 목차

## 1. 수제맥주 산업

### 1) 수제맥주 산업

최근 마트나 편의점, 양조장에 가면 개성 넘치는 다양한 수제맥주를 쉽게 만나 볼 수 있다. 수제맥주(Craft beer)는 기존 맥주와 무엇이 다른가? 수제맥주는 주세법 상 소규모 주류 제조자가 제조하는 맥주로서 법률상 명칭은 아니다.

#### 맥주 주류제조장 시설기준

입금·저장·제성설비 총용량  
잔발효조 25kL 이상  
주발효조 50kL 이상

#### 소규모 주류제조장(맥주) 시설기준

입화·여과·저비조 등의  
총용량 0.5kL 이상  
입금 및 저장조 시설기준이  
5kL 이상 120kL 미만

국내에 처음 'Craft beer'가 들어왔을 때 '수제맥주'로 번역된 명칭이 현재까지 이어지고 있다. 그렇다면 'Craft beer'라는 말은 어디서 유래되었을까? 이어오는 1970년 대 말 미국양조협회(American Brewers Association)에서 작은 생산량(연간 953,400 kL 이하), 독립성(외부자본 비율 25% 이하), 전통 양조방식을 지향하는 맥주로 정의하였다.

수제맥주는 대량생산을 하는 대기업 맥주와는 달리 소규모로 제조하기에 한 양조장에서 다양한 종류의 맥주를 만드는 것이 가능하여 독특 튀는 개성과 특색이 있는 제품들을 선보일 수 있는 것이 큰 장점이다.

정부에서는 주세법 개정으로 증가세에서 중앙세로 세제를 개편하였고, 기존 수제맥주에 대한 규제 완화 및 개선을 위하여 배달, 주류 생산 위탁제조(OEM), 일반 판매 차량 주류 운반 등을 허용하여 앞으로 국내 수제맥주 산업이 더욱 활성화 되도록 산업 기반을 마련하였다.

강원도는 경기, 서울 다음으로 전국에서 3번째로 많은 수제맥주 양조장이 있으며, 인구수 기준으로 보면 전국에서 가장 많이 있다. 현재 춘천, 원주, 강릉, 속초, 홍천, 평강, 평강, 정선, 고성 9개 시군에 11개소 양조장이 있다. 각각의 수제맥주 양조장은 속해 있는 지역의 특색을 담은 독특하고, 다양한 맥주를 제조하고 있다.

강원도 수제맥주 양조장

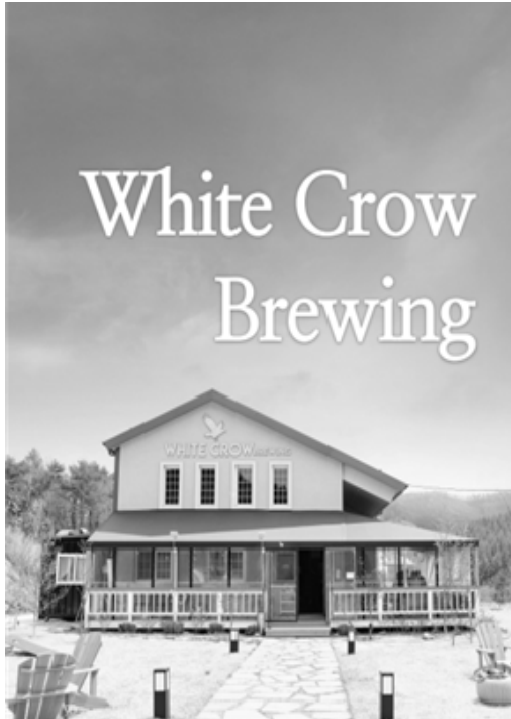


### 2) 수제맥주를 연구하는 농식품연구소

강원도농업기술원 농식품연구소는 도내 양조장들과 협업하여 지역 농산물 쌀, 감자, 옥수수, 사과, 복숭아 등을 이용한 지역 특산 수제맥주 양조기술을 연구하고 있다. 수제맥주의 주 원료인 맥아를 대체하기 위하여 건분질이 풍부한 쌀, 감자, 옥수수와 같은 곡물류와 숙성과정 중 풍미를 더하기 위하여 사과, 복숭아 등의 과일류의 양조 전처리 기술을 개발 중이다.

또한 대부분 수입에 의존하고 있는 맥주를 교묘의 국산화를 위하여 전국에서 누룩, 맥걸리, 토종 과수 등을 수집하여 토착 효모 약 800주를 확보하였다. 수많은 균주들의 특성과 양조 적성 테스트를 통하여 지금까지 과일향이 풍부하고, 발효능과 응집성이 우수한 효모 등 3종에 대한 특허출원을 마쳤다. 현재도 다양한 맥주 스타일에 맞는 특별한 균주를 찾기 위한 연구를 수행하고 있다.

그림 42. 「강원도 수제맥주 여행」 Part 1



## 화이트 크로우 브루잉

White Crow Brewing

사람은 누구나 메나는 고함에 대한 그리움과 함께 낯선 곳에 대한 호기심도 갖고 있는 듯하다. 막상 떠나고 나면 그리워지는 내 살의 타질이 자꾸만 귀소본능을 켜드리지만, 돌아온 일상에 익숙해지면 또 새로운 데 대한 갈증이 서서히 고개를 들기 시작하지 않는다. 그런 일련의 행위들 중 가장 큰 변화라고 말할 수 있는 것이 타국의 연인을 만나서도 사랑을 하게 되는 일이 아닐까 싶다. 자신이 살아온 환경과 먼 나라에서 성장 과정을 거치는 젊은 남녀가 만나 사랑에 빠져 결혼을 하고, 두 사람 중 한 사람에게서는 타국인 곳에서 동거를 하고 싶어한다는 것이 그리 간단한 일은 아닐 것이다.



그림 43. 「강원도 수제맥주 여행」 양조장 소개



그림 44. 「강원도 수제맥주 여행」 지역 관광지 소개



그림 45. 「강원도 수제맥주 여행」 맥주 소개



### 남녀노소 좋아하는 닭갈비 그라탕

닭갈비는 충분히 향도음식으로 명품, 소양강령 손꼽히는 길 등 시내 곳곳에 많은 닭갈비 상점들이 있다. 남녀노소 누구나 좋아하는 닭갈비로 간단히 만들 수 있는 닭갈비 그라탕은 아이들에게는 건강으로 어른들에게는 수제맥주 안주로 제격이다.

어울리는 맥주 사워 에일, 세종 난이도 상

재료 및 분량

**주재료** 닭다리살 4족, 감자 500g, 방울토마토 200g, 양배추 100g, 피타치즈 100g  
**부재료** 버터 2큰술, 생크림 1/2컵, 피마산 치즈가루 1/4컵, 계란 노른자 1개, 파슬리 약간, 소금 약간, 후춧가루 약간

**닭갈비 양념** 고추장 2큰술, 간장 2큰술, 설탕 2큰술, 참주 1큰술

만드는 방법

- 1 감자는 끓는 물에 10~15분 정도 삶고, 완전히 익으면 마늘서 곱질을 벗기고 1cm 두께로 썬다.
- 2 방울토마토는 반으로 자르고, 파슬리는 곱게 다진다. 닭갈비는 미리 양념하여 굽는다.
- 3 생크림과 계란 노른자는 볼에 함께 달걀 휘핑크림 살살 섞은 후, 소금으로 간을 맞춘다.
- 4 버터로 오븐을 그릇 안쪽을 골고루 발라준 후에 슬라이스한 감자와 닭갈비를 한 층 얹는다.
- 5 감자 위에 소금, 후춧가루, 피마산 치즈가루, 피타치즈를 골고루 뿌린 후, 생크림을 위에 부어준다.
- 6 알 뺀 더웬 뒤에 피마산 치즈와 피타 치즈를 골고루 뿌려준 후, 180°C로 예열한 오븐에 25분 정도 굽는다.

117

그림 46. 「강원도 수제맥주 여행」 간단 맥주 안주 레시피(부록)

## 4 적 요

### 〈제1세부과제: 수제 맥주용 토착효모 선발 및 상품화〉

#### (시험 1) 수제맥주용 토착효모 분리 및 균주특성 평가

가. 발효자원 59점(누룩, 막걸리, 과일)을 수집하여 274주의 토착효모를 분리하여 스트레스 내성, 효소활성, 바이오제닉 아민 생성, 향기생성을 조사하였다.

나. 향기생성 우수 효모 43주를 선발하여 동정한 결과, 13주가 에일 효모로 동정되었다.

#### (시험 2) 수제맥주용 선발 종균 동정 및 시판효모와의 발효능 비교

가. 향기생성이 우수한 에일 효모 13주와 시판효모(수입) 2주를 각각 바이젠타입 맥주(밀맥주)로 제조하여 발효특성을 비교하였다.

나. 최종적으로 수입효모와 비교하여 알코올 생성, 가성 발효도, 거품 생성, 향기성분이 우수한 *Saccharomyces cerevisiae* AFY-5 균주를 선발하였다.

#### (시험 3) 상품성 강화를 위한 BI 및 라벨 개발

가. 개발 수제맥주의 상품화를 위하여 네이밍 선호도를 조사한 결과, GLB (Ganwon Lovely Beer, 강원사랑맥주)로 최종 선정되었고, 이를 바탕으로 라벨 디자인을 개발하였다.

#### (시험 4) 쌀 이용 수제맥주 양조 레시피 개발(바이젠타입)

가. 쌀 품종 9품종(오륜, 오대 등)의 분쇄 및 침지 유무 등 전처리 조건을 설정하였고, 레시피 개발 후 쌀 30~50% 당화공정에 첨가하여 맥주 제조 후, 주질분석을 하였다.

#### (시험 5) 사과 이용 수제맥주 양조 레시피 개발

가. 2품종(아리수, 홍로)를 이용하여 사과 착즙액 5~20% 숙성공정에 첨가하여 맥주 제조 후, 주질 분석을 하였다.

#### (시험 6) 수제맥주 전용 용기 및 잔 개발

가. 전용 용기: 4종 디자인 개발 및 시제품 제작하여, 2종의 디자인 개발 및 시제품 제작하였다.

#### (시험 7) 수제맥주용 종균 대량 배양기술 개발

가. 1차년도에 기분리한 274주의 효모로부터 셀룰레닌 내성 평가와 향기성분 분석, 통하여 과일향이 풍부한 AFY-6 균주를 확보하였고, 응집성 평가 및 PCR을 통하여 응집성 이 높은 AFY-7 효모를 확보하였다.

나. 탄소원은 Maltose 8%, 질소원은 Yeast extract 1%, Peptone 2%, Tryptone 0.5% 가, 무기질은  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.004%,  $\text{MgSO}_4$  0.02%,  $\text{ZnSO}_4$  0.02%(Biotin 무처리) 첨가배지에서 종균 생육이 가장 우수하였다.

다. 500L 발효기로 대량배양 하여 종균을 회수하여 동결건조하여 종균을 제조하여 대량생산 공정을 확립하였다.

#### (시험 8) 수제맥주용 종균 활성유지·보존기술 개발

가. 저장온도에 따른 생균수를 비교한 결과 동결보호제를 maltose를 사용하였을 때 종균의 생존율이 6개월까지 유지됨을 확인함

#### (시험 9) 수제맥주 휘발성 향기성분 분석

가. SPME 법을 이용하여 맥주의 주요 향기성분인 고급알코올, 에스테르 정량법을 확립하였음

#### (시험 10) 종균 활용 수제맥주 제조공정 개발(페일에일타입)

가. 종균 활용 수제맥주 발효, 숙성, 조건 확립 하고 에탄올, 메탄올 등 주질을 분석하였다.

#### (시험 11) 체험용 수제맥주 제조 키트 개발

가. 맥아즙 농축 조건(농도, 온도 등), 포장용기 개발 등을 설정하고, 키트 활용 맥주 제조 및 주질 분석: 에탄올, 메탄올, 알데히드, 당도 등 체험용 수제맥주 제조 키트 사용법 확립: 가이드라인 (재료사용법, 발효조건 등)을 설정하였다.

### (시험 12) 개발 수제맥주 소비자 기호도 조사

가. 개발 수제맥주 관능평가 2회(홍천메디칼허브연구소 성과보고회, 농진청 신제품 시장성 테스트) 실시하였다.

### (시험 13) 사위에일용 종균 선발

가. 발효미생물 균주은행 기보유 균주(166주)에서 내산성, 디아세틸 함량, EPS 생성, 흡 내성 등 평가 하고, 유기산, pH, 알코올, 발효도, 디아세틸함량, 향기성분 등을 분석하였다.

### (시험 14) 고비중맥주용 종균 선발

가. 시험재료: 발효미생물 균주은행 기보유 균주(764주) 중 말토트리오스 분해능, 전분 분해능 특 성평가 후 발효도, 알코올 도수, 비중, 유리당 등을 분석하였다.

### (시험 15) 강원지역 수제맥주 양조장 소개 책자발간

가. 지역 양조장 소개(10개소), 맥주 소개, 지역 농산물 활용 안주 레시피(10종)를 수록하였다.

## 5 인용문헌

- 엄영철, 장윤아, 윤형권, 서명훈, 이해은, 이준구. 2013. 농업기술길잡이 173. 싹채소와 어린잎채소. 농촌진흥청.
- 정철, 박천석, 여수환, 조호철, 노봉수. 2015. 맥주개론. 광문각.
- Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, and Sonomoto K. 2013. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol. Adv.* 31, 877-902.
- Bamforth CW. 1985. The foaming properties of beer. *J. Inst. Brew.* 91, 370-383.
- Boio E, Lloret A, Medina K, Carrau F, and Dellacasa E. 2002. Effect of  $\beta$ -glucosidase activity of *Oenococcus oeni* on the glycosylated flavor precursors of Tanta wine during malolactic fermentations. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2344-2349.
- Bokulich NA, Bamforth CW, and Mills DA. 2012. Brewhouse-resident microbiota are responsible for multi-stage fermentation of American coolship ale. *PLoS One.* 7, e35507.
- Branyik T, Vicente AA, Dostalek P, and Teixeira JA. 2008. A review of flavour formation in continuous beer fermentations. *J. Inst. Brew.* 114, 3-13.
- Chan MZA, Chua JY, Toh M, and Liu SQ. 2019. Survival of probiotic strain *Lactobacillus paracasei* L26 during co-fermentation with *S. cerevisiae* for the development of a novel beer beverage. *Food Microbiol.* 82, 541-550.

- Ciosek A, Rusiecka I, and Poreda A. 2020. Sour beer production: Impact of pitching sequence of yeast and lactic acid bacteria. *J. Inst. Brew.* 126, 53–58.
- D’Incecco N, Bartowsky E, Kassara S, Lante A, Spettoli P, and Henschke P. 2004. Release of glycosidically bound flavour compounds of Chardonnay by *Oenococcus oeni* during malolactic fermentation. *Food Microbiol.* 21, 257–265.
- Dongmo SN, Procopio S, Sacher B, and Becker T. 2016. Flavor of lactic acid fermented malt based beverages: Current status and perspectives. *Trends Food Sci. Technol.* 54, 37–51.
- Dual Chandra and Ji Gang Kim. 2011. Effects of Different Sanitizers on the Quality of ‘Tah Tasai’ Chinese Cabbage(*Brassica campestris* var. *narinosa*) Baby Leaves. *Korean J. Food Preserv.* 18(4):429–435.
- Dysvik A, Liland KH, Myhrer KS, Westereng B, Rukke E, De Rouck G, and Wicklund T. 2019. Pre-fermentation with lactic acid bacteria in sour beer production. *J. Inst. Brew.* 125, 342–356.
- Garcia-Villanova RJ and Estepa RMG. 1993. Spectrophotometric determination of total vicinal diketones with isoniazide and a zirconium salt. *Fresenius J. Anal. Chem.* 347, 276–279.
- Guerra EJ, Estepa RG, and Rivas IR. 1995. Analysis of diacetyl in yogurt by two new spectrophotometric and fluorimetric methods. *Food Chem.* 53, 315–319.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41, 95–98.
- Hughenoltz J. 2013. Traditional biotechnology for new foods and beverages. *Curr. Opin. Biotech.* 24, 155–159.
- Jespersen L and Jakobsen M. 1996. Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection. *Int. J. Food Microbiol.* 33, 139–155.
- Krogerus K and Gibson B. 2013. 125 th anniversary review: Diacetyl and its control during brewery fermentation. *J. Inst. Brew.* 119, 86–97.
- Leem JY. 2016. Discrimination model of cultivation area of *Alismatis rhizoma* using a GC-MS based metabolomics approach. *Yakhak Hoeji.* 60, 29–35.
- Lewis M and Bamforth C. 2007. *Essays in brewing science*, pp. 93–104. Springer Science & Business Media, New York, NY, USA
- Lowe DP and Arendt EK. 2004. The use and effects of lactic acid bacteria in malting and brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing: a review. *J. Inst. Brew.* 110, 163–180.
- Lowe DP, Arendt EK, Soriano AM, and Ulmer HM. 2005. The influence of lactic acid bacteria on the quality of malt. *J. Inst. Brew.* 111, 42–50.
- Makanjuola DB, Tymon A, and Springham DG. 1992. Some effects of lactic acid bacteria on laboratory-scale yeast fermentations. *Enzyme Microb. Technol.* 14, 350–357.
- Matthews A, Grimaldi A, Walker M, Bartowsky E, Grbin P, and Jiranek V. 2004. Lactic acid bacteria as a potential source of enzymes for use in vinification. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5715–5731.

- Meilgaard MC. 1975. Flavor chemistry of beer: Part II: Flavor and threshold of 239 aroma volatiles. *Tech. Quart. Master. Brew. Assoc. Am.* 12, 151–168.
- Narendranath NV, Thomas KC, and Ingledeu WM. 2001. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 26, 171–177.
- O'Bryan C, Crandall PG, Ricke SC, and Ndahetuye JB. 2015. Lactic acid bacteria (LAB) as antimicrobials in food products: Types and mechanisms of action. pp. 117–129. In Taylor TM. (ed.), *Handbook of Natural Antimicrobials for Food and Safety and Quality*, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, UK.
- Ono M, Hashimoto S, Kakudo Y, Nagami K, Kumada J. 1983. Foaming and beer flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 41, 19–23.
- Osburn K, Amaral J, Metcalf SR, Nickens DM, Rogers CM, Sausen C, Caputo R, Miller J, Li H, Tennessen JM, and Bochman ML. 2018. Primary souring: A novel bacteria-free method for sour beer production. *Food Microbiol.* 70, 76–84.
- Peyer L. 2017. Doctor thesis. Lactic acid bacteria fermentation of wort as a tool to add functionality in malting, brewing and novel beverages. University College Cork, Cork, Ireland.
- Peyer LC, Zarnkow M, Jacob F, De Schutter DP, and Arendt EK. 2017. Sour brewing: Impact of *Lactobacillus amylovorus* FST2.11 on technological and quality attributes of acid beers. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 75, 207–216.
- Pittet V, Morrow K, and Ziola B. 2011. Ethanol tolerance of lactic acid bacteria, including relevance of the exopolysaccharide gene *gtf*. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 69, 57–61.
- Rathore S, Salmeron I, and Pandiella SS. 2012. Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. *Food Microbiol.* 30, 239–244.
- Ruiz Rodriguez LG, Mohamed F, Bleckwedel J, Medina R, De Vuyst L, Hebert EM, Mozzi F. 2019. Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Front. Microbiol.* 10, 1091.
- Saitou N, and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406–425.
- Sakamoto K and Konings WN. 2003. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *Int. J. Food Microbiol.* 89, 105–124.
- Salmeron I, Loeza-Serrano S, Perez-Vega S, and Pandiella SS. 2015. Headspace gas chromatography (HS-GC) analysis of imperative flavor compounds in *Lactobacilli*-fermented barley and malt substrates. *Food Sci. Biotechnol.* 24, 1363–1371.
- Schildbach R. 1978. Studies of the nitrogen content and nitrogen composition of barley, malt and beer. *Brewers Digest.* 52, 42–47,53.
- Shim KS, Park GG, and Park YS. 2014. Bioconversion of puffed red ginseng extract using  $\beta$ -glucosidase-producing lactic acid bacteria. *Food Eng. Prog.* 18, 332–340.

- Simpson WJ and Smith ARW. 1992. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *J. Appl. Microbiol.* 72, 327-334.
- Simpson WJ. 1993. Ionophoric action of trans-isohumulone on *Lactobacillus brevis*. *Microbiol.* 139, 1041-1045.
- Simpson WJ. 1993. Studies on the sensitivity of lactic acid bacteria to hop bitter acids. *J. Inst. Brew.* 99, 405-411.
- Spitaels F, Wieme AD, Janssens M, Aerts M, Van Landschoot A, De Vuyst L, and Vandamme P. 2015. The microbial diversity of an industrially produced lambic beer shares members of a traditionally produced one and reveals a core microbiota for lambic beer fermentation. *Food Microbiol.* 49, 23-32.
- Stefanovic E, Thierry A, Maillard MB, Bertuzzi A, Rea MC, Fitzgerald G, McAuliffe O, and Kilcawley KN. 2017. Strains of the *Lactobacillus casei* group show diverse abilities for the production of flavor compounds in 2 model systems. *J. Dairy Sci.* 100, 6918-6929.
- Suzuki K, Iijima K, Sakamoto K, Sami M, and Yamashita H. 2006. A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *J. Inst. Brew.* 112, 173-191.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, and Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725-2729.
- 김성겸. 2013. 어린잎채소 및 산채 상품화 기술 세미나(제1주제: 어린잎채소 생산 시스템 개선). pp1-20. 농촌진흥청 국립원예특작과학원.

## 6 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2018(1년)	학술발표	한국 발효식품에서 분리한 맥주용 효모 스크리닝
	특허출원	향기성분 고생산성 효모 및 이를 이용한 주류 제조방법
	상표출원	GLB, Gangwon Lovely Beer 상표 2건
	생명정보등록	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AFY-5 26S rRNA 염기서열
	생물자원기탁	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AFY-5
2019(2년)	특허출원	AFY-6, AFY-7 균주 특허 2건
	학술발표	AFY-5 균주 특성
	기술이전	AFY-6 종균을 이용한 수제맥주 제조기술
	생물자원기탁	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AFY-6, AFY-7
	홍 보	토종 종균활용 지역 수제맥주 상품화

연도(연차)	활용방안	제 목
2020(3년)	논문게재	김치 유산균을 이용한 사워에일 제조 특성 평가(미생물학회)
	컨설팅	감자아일랜드 컨설팅 4건
	학술발표	our brewing with different lactic acid bacteria isolated from Kimch(한국미생물생명공학회)
	영농정보	AFY-6 토종효모를 이용한 수제맥주 제조방법
	기술이전	홍천 브라이트바흐 브로이(무상, 유상) 홍천 에이앤씨 브루어잉(무상) 속초 유니콘협동조합(무상)
	기술보급서	강원도 수제맥주 여행
	생물자원기탁	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AFY-10
	생명자원등록	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> L240 16S rRNA <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> L213 16S <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AFY-10 16S rRNA

성과지표명		연 도		1년차(2018)		2년차(2018)		3년차(2020)		계	
		목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적		
논문 게재	SCI										
	비SCI							1	1	1	1
특허	출원	1	3		2					1	5
	등록										
학술 발표	국제			1	1	1	1	1	1	2	2
	국내	1	1							1	1
영농 활용	기술										
	정보							1	1	1	1
기술이전				1	1				3	1	4
생물자원기탁		1	1					1	1	2	4
생명자원등록		1	1							3	3
홍 보				1	21					1	21
컨설팅									4		4
기술보급서								1	1	1	1
계		4	6	3	25	5	12	5	12	14	47