



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년04월01일

(11) 등록번호 10-1608626

(24) 등록일자 2016년03월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/36 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12M 41/48 (2013.01)

C12M 23/22 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0115998

(22) 출원일자 2015년08월18일

심사청구일자 2015년08월18일

(56) 선행기술조사문헌

조병관, 고품질 막걸리 생산을 위한 현장 적용형 실시간 품질 모니터링 시스템 개발, 일반연구자지원사업 최종(결과)보고서, 교육과학기술부, 기초연구사업 (2013.07.30.)*

Meat Science, Vol. 78, pp. 217-224 (2008.)

Korean J. Food Preserv., Vol. 18, pp. 884-890 (2011.)

Korean J. Microbiol. Biotechnol., Vol. 41, pp. 168-175 (2013.)

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

조병관

대전광역시 유성구 학하로 33, 103동 701호(계산동, 학하리슈빌 학의뜰아파트)

김대용

경상남도 밀양시 백민로5길 5 (내이동)

(74) 대리인

이충환

전체 청구항 수 : 총 3 항

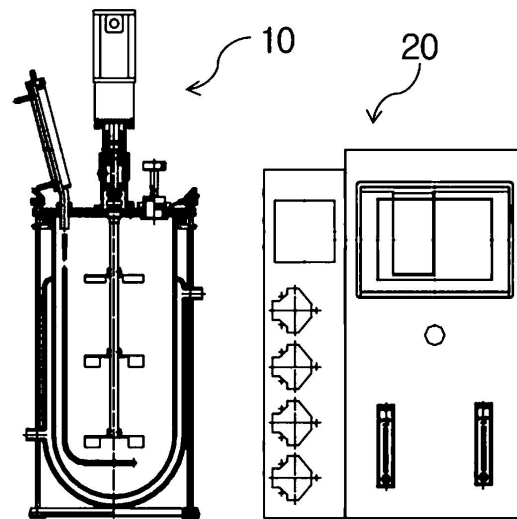
심사관 : 황상필

(54) 발명의 명칭 막걸리 품질 예측 온라인 시스템

(57) 요약

막걸리 품질 예측 온라인 시스템에 관한 것으로, 막걸리를 발효하는 발효조, 상기 발효조 내부의 환경을 일정하게 유지하도록 상기 발효조의 동작을 제어하는 발효조 제어부, 상기 발효조로부터 푸리에 변환 근적외선 분광기를 이용한 분광분석을 통해 막걸리의 스펙트럼을 획득하는 막걸리 발효 모니터링 시스템 및 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템에서 측정된 투과 스펙트럼을 분석해서 막걸리의 품질을 예측하고 품질예측 모델을 선정해서 데이터베이스화하는 제어부를 포함하는 구성을 마련하여, 발효 중인 막걸리의 품질인자를 비파괴적으로 신속하게 측정할 수 있는 근적외선 분광분석 방법을 이용해서 품질예측 모델을 선정하고, 이를 통해 발효 중인 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 실시간으로 예측할 수 있다는 효과가 얻어진다.

대표도 - 도12



(52) CPC특허분류

C12M 41/18 (2013.01)
C12M 41/32 (2013.01)
C12M 41/42 (2013.01)
G01N 21/3577 (2013.01)
G01N 21/359 (2013.01)
G01N 33/146 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545009729

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물기술기획평가원

연구사업명 기술사업화지원사업

연구과제명 이병종자 신속 전수검역을 위한 복합 초분광 영상시스템 개발

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교 산학협력단

연구기간 2013.12.04 ~ 2016.12.03

명세서

청구범위

청구항 1

막걸리를 발효하는 발효조,

상기 발효조 내부의 환경을 일정하게 유지하도록 상기 발효조의 동작을 제어하는 발효조 제어부,

상기 발효조로부터 푸리에 변환 근적외선 분광기를 이용한 분광분석을 통해 막걸리의 스펙트럼을 획득하는 막걸리 발효 모니터링 시스템 및

상기 막걸리 발효 모니터링 시스템에서 측정된 투과 스펙트럼을 분석해서 막걸리의 품질을 예측하고 품질예측 모델을 선정해서 데이터베이스화하는 제어부를 포함하여

막걸리 품질인자의 예측 모델을 선정해서 상기 발효조에서 발효되는 막걸리의 품질을 예측하고, 예측 결과를 이용하여 막걸리 발효 모니터링 시스템의 성능을 평가하며,

상기 품질인자는 고성능 액체크로마토그래피를 이용해서 측정한 알코올 함량, CBC 방법으로 측정한 환원당 함량 및 고성능 액체크로마토그래피를 이용해서 측정한 유기산 중 호박산(succinic acid)을 주산으로 선정하여 적정 산도로 계산하되,

상기 발효조는 멸균 가능하도록 강화내압유리 재질로 제조되고, 이중구조로 구성되며, 수냉식으로 온도 조절이 가능하고,

상기 발효조에는 막걸리를 균일하게 발효시키도록 모터의 구동에 의해 구동되는 터빈 임펠러가 마련되며,

상기 발효조 제어부는 막걸리의 발효가 진행되는 동안 온도 및 상기 터빈 임펠러의 회전수와 시간간격, 온라인 측정을 위해 상기 발효조에서 발효된 막걸리 샘플을 튜브를 따라 순환시키는 튜브연동 펌프의 흐름속도를 조절하도록 제어하고,

상기 발효조에는 내부에 삽입된 튜브를 감싸 막걸리를 1차 필터링하는 제1 여과장치가 마련되고,

상기 튜브에는 상기 튜브연동 펌프를 지나 상기 막걸리 발효 모니터링 장치의 석영 큐벳에 진입하기 전에 2차 필터링을 수행하는 제2 여과장치가 마련되고,

상기 제어부는 자동측정 프로그램을 실행시켜 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템으로부터 발효가 진행 중인 막걸리에서 온라인 투과 스펙트럼을 획득하고, 획득된 스펙트럼을 데이터베이스화하여 저장하도록 제어하며,

상기 자동측정 프로그램은 기준 스펙트럼, 다크 스펙트럼, 샘플 스펙트럼을 획득하여 흡광도를 그래프로 표시하고, 기초 실험에서 설정한 통합 시간, 스캔 넘버, 이동 평균을 조절하며, 측정된 투과 스펙트럼을 선정된 품질 예측 모델을 이용해서 연산하여 품질인자별로 표시하고,

상기 막걸리 발효 모니터링 시스템은 할로젠 광원과 막걸리 샘플용 지그 및 휴대형 분산형 근적외선 스펙트로미터를 포함하고,

상기 막걸리 샘플은 투과 스펙트럼 측정시 석영 큐벳에 담기며,

상기 석영 큐벳은 0.1mm의 경로길이를 갖고,

상기 광원과 휴대형 분산형 근적외선 스펙트로미터 사이의 거리는 100mm로 설정되고, 노출시간은 3ms 이상으로 설정되며, 구간평균은 3포인트로 설정되고,

상기 제어부는 품질인자 중에서 알코올 함량에 대해 전처리를 미수행하고, 상기 환원당에 대해 MSC 전처리를 실시하며, 상기 적정산도에 대해 Savitzky-Golay의 2차 미분 전처리를 실시하므로써 측정된 막걸리 샘플의 투과 스펙트럼을 분석하는 것을 특징으로 하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 막걸리 발효 모니터링 시스템은 상기 발효조에서 튜브를 통해 이동된 막걸리 샘플의 온라인 투과 스펙트럼을 측정하고,

상기 제어부는 선정된 품질인자별 품질예측 모델을 이용한 예측값과 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템에서 실측된 실측값을 비교해서 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템의 성능을 평가하는 것을 특징으로 하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제2항에 있어서,

상기 발효조에서 발효된 막걸리 샘플은 튜브를 통해 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템으로 이동되고, 투과 스펙트럼 측정 후 다시 상기 발효조로 회수되는 것을 특징으로 하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 막걸리 품질 예측 온라인 시스템에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 복발효식 주류인 막걸리를 대상으로 실시간 모니터링을 위한 품질인자를 선정해서 발효 동안 품질을 관리하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 지난 2008년 1인당 약 0.5 L이던 막걸리 소비량이 2009년 약 0.95 L로 두 배 가까이 증가하고, 소주와 위스키 같은 증류주의 소비량이 상대적으로 감소함에 따라, 이 시기의 막걸리 소비 증가는 막걸리 열풍으로 평가되고 있다.

[0003] 이러한 막걸리 열풍의 대표적인 사회적 원인은 첫 번째 경기 침체기에 따른 소비위축 현상으로 저렴하면서 알코올 도수가 낮은 막걸리를 찾는 소비자가 증가하게 된 점, 둘째 여성 음주인구의 증가로 여성 소비자를 겨냥한 다양한 막걸리 제품이 출시된 점, 셋째 well-being(참살이) 문화와 더불어 건강에 대한 관심의 고조로 누룩에 파생되는 생효모, 유산균, 단백질, 비타민, 필수아미노산 등의 건강에 유용한 성분이 함유되어 있음이 알려진 점, 넷째 막걸리 프랜차이즈 및 전문점의 증가 등을 중요한 요인이라 할 수 있다.

[0004] 막걸리 열풍으로 막걸리의 위상과 산업적 규모의 증가에도 불구하고, 여전히 국내 막걸리 생산 업체는 소규모 영세업체가 대부분인 실정이다.

- [0005] 즉, 2010년 국세청 발표에 따르면, 주류 면허 현황으로 볼 때, 전체 주류의 90%를 소비하고 있는 맥주와 소주의 경우 불과 63개소와 17개소로 대기업이 대부분인 반면, 막걸리 주류 면허 소지자는 2012년 873개소로 연매출 10억 미만인 영세업체가 95%를 차지하는 것으로 분석되었다. 특히, 이들 영세업체는 가격이 저렴한 수입산 원료의 존도가 높고, 인력에 의존한 단순한 발효공정으로 균일한 제품생산이 어려우며, 시설낙후로 품질 및 위생 관리가 어려운 실정이다.
- [0006] 경쟁력 있는 고품질 막걸리 생산을 위해서는 영세업체의 시설개선 및 품질관리 시스템의 필요성이 강조되고 있다. 이는 발효조(담금조)마다 동일한 재료와 동일한 환경조건(온도, 기간)으로 발효공정을 거치더라도, 발효의 복잡한 생화학적 메커니즘 때문에 발효조마다 생성되는 품질이 달라져 균일한 제품출하가 어렵기 때문이다.
- [0007] 이러한 문제에도 불구하고 현재 일부 막걸리 제조업체들은 종합적인 품질 관리가 아닌, 제조의 마지막 단계에서 품질 검증차원으로 알코올 함량, 당도, pH, 유기산 함량 등의 개별인자를 확인하는 수준에 머물고 있다.
- [0008] 한편, 종래기술에 따른 막걸리 품질관리 모니터링에는 흐름 주입식 분석법(flow injection analysis)을 이용한 전극센서, 바이오센서, 분광기술 등이 다양한 생산 공정에 적용되고 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0009] (비특허문헌 0001) Andres, S., A. Silva, A. L. Soares-Pereira, C. Martins, A. M. Bruno-Soares, I. Murray. 2008. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef M. Longissimus thoracis et lumborum quality attributes. Meat Sci. 78:217-224.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 그러나 상기한 기술 중 전극센서, 바이오센서 기술은 주류 생산 공정에 적용할 경우 다양한 성분을 동시 측정하는데 한계가 있을 뿐만 아니라, 여러 영양성분을 종합적으로 모니터링해야 하는 주류 품질관리의 적용에는 어려움이 따른다.
- [0011] 반면, 분광기술은 시료의 전처리가 필요 없으며, 측정 시간이 빠르고, 비파괴 방식으로 다양한 성분을 동시 측정할 수 있는 장점을 가짐에 따라, 주류의 품질관리 모니터링 기법에 가장 적합한 기술이라 할 수 있다.
- [0012] 특히, 분광기술 중 근적외선 분광기술은 최근 농식품 성분의 정량분석에 가장 많이 활용되고 있는 기술로서 질차가 까다로운 기존의 성분분석 방법을 대체하는 기술로 각광을 받고 있다.
- [0013] 또한, 근적외선 영역은 800 ~ 2500nm로, 중적외선에서 유래하는 -CH, -OH, -NH 작용기의 분자진동에 따른 결합대(combination band)와 배음대(overtone)로 흡수 영역이 잘 나타나므로, 측정하고자 하는 시료의 유기화합물 특징이 잘 드러나게 된다.
- [0014] 막걸리는 발효를 통해 품질 또는 맛이 결정된다. 즉, 막걸리의 유산균 및 효모는 발효 당시 미생물 생육조건을 결정하는 온도, pH, 산도 등의 발효환경 인자에 영향을 받으며, 막걸리의 주성분인 알코올 함량, 당도 및 유기산 함량의 조화로운 배합은 품질을 결정하게 된다. 따라서 고품질 막걸리 생산을 위해서는 재료 및 발효과정 동안 증점 관리대상인 품질인자를 선정하고 제품화될 때까지 정확한 모니터링을 통한 품질 관리가 이루어져야 한다.
- [0015] 따라서 막걸리 발효 동안 변화하는 품질인자인 알코올, 당, 산 등에 대한 분광정보를 동시에 제공함으로써, 막걸리의 품질관리 모니터링 기술의 개발이 필요한 요구되고 있다.
- [0016] 본 발명의 목적은 상기한 바와 같은 문제점을 해결하기 위한 것으로, 복발효식 주류인 막걸리를 대상으로 실시간 모니터링을 위한 품질인자를 선정해서 발효 동안 품질 관리를 수행하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템을 제공하는 것이다.
- [0017] 본 발명의 다른 목적은 근적외선 분광분석법을 이용해서 막걸리 품질을 비파괴적으로 모니터링할 수 있는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템을 제공하는 것이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 목적은 막걸리 발효조를 구축하고 막걸리 품질을 실시간으로 모니터링하고, 복발효식 막걸리 발효를 통해 실시간으로 성능을 평가할 수 있는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에 따른 막걸리 품질 예측 온라인 시스템은 막걸리를 발효하는 발효조, 상기 발효조 내부의 환경을 일정하게 유지하도록 상기 발효조의 동작을 제어하는 발효조 제어부, 상기 발효조로부터 푸리에 변환 근적외선 분광기를 이용한 분광분석을 통해 막걸리의 스펙트럼을 획득하는 막걸리 발효 모니터링 시스템 및 상기 막걸리 발효 모니터링 시스템에서 측정된 투과 스펙트럼을 분석해서 막걸리의 품질을 예측하고 품질예측 모델을 선정해서 데이터베이스화하는 제어부를 포함하여 막걸리 품질인자의 예측 모델을 선정해서 상기 발효조에서 발효되는 막걸리의 품질을 예측하고, 예측 결과를 이용해서 막걸리 발효 모니터링 시스템의 성능을 평가하며, 상기 품질인자는 알코올 함량, 환원당 함량 및 유기산에 의해 결정되는 적정산도 중에서 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0020] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 막걸리 품질 예측 온라인 시스템에 의하면, 발효 중인 막걸리의 품질인자를 비파괴적으로 신속하게 측정할 수 있는 근적외선 분광분석 방법을 이용해서 품질예측 모델을 선정하고, 이를 통해 발효 중인 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 실시간으로 예측할 수 있는 온라인 시스템을 개발하며, 개발된 시스템의 성능을 평가할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0021] 그리고 본 발명에 의하면, 푸리에 변환 근적외선 스펙트로미터를 이용할 경우, 혼탁한 막걸리의 최적 스펙트럼을 획득하기 위한 석영 큐벳(quartz cuvette)의 최적의 경로길이(pathlength)를 획득할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0022] 또, 본 발명에 의하면, 온라인용 분광분석 시스템 개발을 위한 기초용 분광분석 시스템을 제작하고, 광원과 분산형 근적외선 스펙트로미터 간의 거리는 100mm, 노출시간은 3ms, 구간평균을 3포인트로 하여 최적의 흡광 스펙트럼을 획득할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0023] 또한, 본 발명에 의하면, 막걸리 발효 동안 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피와 분산형 근적외선 스펙트로미터로 막걸리의 투과스펙트럼을 획득하고, 막걸리 품질인자 중에서 알코올 함량은 고성능 액체크로마토그래피를 이용해서 측정하며, 환원당은 CBC 분석법으로 측정하였으며, 주요 유기산을 고성능 액체크로마토그래피로 측정하여, 선정한 후 적정법으로 적정산도를 측정할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0024] 또한, 본 발명에 의하면, 푸리에 변환 근적외선 시스템보다 경제적이고, 현장 적용성이 뛰어나며, 실시간 온라인 분광분석 시스템 및 프로그램 개발이 용이한 분산형 근적외선 스펙트로미터를 이용하여 부분 최소 자승 회귀 분석의 모델을 개발할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0025] 또한, 본 발명에 의하면, 온라인 시스템 구축을 위한 발효조를 설계해서 시스템 제어부에서 온도, 임펠러, 튜브연동 펌프 등을 제어함으로써, 막걸리 발효 동안 일정한 환경을 유지할 수 있도록 제작할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0026] 이와 함께, 본 발명에 의하면, 자동측정 프로그램을 개발하여 실시간으로 스펙트럼 획득과 동시에 부분 최소 자승 회귀분석 모델로부터 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 자동적으로 계산해서 표시할 수 있다는 효과가 얻어진다.

[0027] 또한, 본 발명에 의하면, 막걸리를 튜브연동 펌프에 의해 발효조에서 분광분석 시스템으로 이동시켜 스펙트럼 획득 후 발효조로 다시 합류시킬 수 있고, 맥주를 이용한 고두밥과 물을 1:2 비율로 혼합해서 제조된 막걸리 샘플과 동일한 조건의 막걸리를 발효조에서 제어하고, 온라인 큐벳으로 투과스펙트럼을 획득하여 품질인자별로 우수한 모델을 적용함으로써, 개발된 모델의 검증 및 성능을 평가할 수 있다는 효과가 얻어진다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 당화와 알코올 발효 과정 동안 생성된 화학성분의 화학 구조를 나타내 도면,

도 2는 매질로 전파된 광의 감쇄 특성을 예시한 도면,

도 3은 PLSR의 개념도,

- 도 4는 본 발명에서 사용된 막걸리의 제조방법을 단계별로 설명하는 공정도,
- 도 5는 막걸리 샘플의 전처리 과정을 설명하는 예시도,
- 도 6은 투과 스펙트럼을 획득하는데 필요한 경로길이별 석영 큐벳을 예시한 도면,
- 도 7은 석영 큐벳에 막걸리 시료를 담아 측정된 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피로 투과스펙트럼을 흡광도로 나타낸 도면,
- 도 8은 평활화를 통하여 스펙트럼에 포함된 노이즈를 제거하기 위한 과정을 예시한 도면,
- 도 9는 휴대형 근적외선 분광분석 장치의 구성도,
- 도 10은 기초실험용 막걸리 품질 예측 온라인 시스템의 예시도,
- 도 11은 스펙트로미터를 이용해서 60분간 측정된 스펙트럼,
- 도 12는 본 발명에 따른 막걸리 발효 모니터링 시스템의 구성도,
- 도 13은 도 12에 도시된 막걸리 발효 모니터링 시스템을 포함하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템의 구성도,
- 도 14는 본 발명에 따른 막걸리 품질 예측 분광분석 방법을 단계별로 설명하는 공정도,
- 도 15는 제어부에서 자동측정 프로그램을 실행한 화면의 예시도,
- 도 16은 고성능 액체크로마토그래피에서 측정된 알코올 피크를 예시한 도면,
- 도 17은 고성능 액체크로마토그래피에 나타난 피크의 면적을 계산하여 검량식으로 나타낸 도면,
- 도 18은 고두밥 투입 후 에탄올 변화를 예시한 도면,
- 도 19는 CBC 방법을 이용한 환원당의 표준 검량식을 예시한 도면,
- 도 20은 막걸리의 환원당 변화를 예시한 도면,
- 도 21은 유기산의 고성능 크로마토그래피를 이용하여 측정한 각각의 유기산 표준물질의 농도별 피크를 예시한 도면,
- 도 22는 고성능 크로마토그래피에서 농도별 피크의 면적을 구해서 각각의 유기산으로 검량식을 작성한 도면,
- 도 23은 발효 초기, 중기, 말기 샘플의 고성능 크로마토그래피로 분석한 결과 그래프,
- 도 24는 10일 동안 측정한 적정산도 결과 그래프,
- 도 25는 분산형 근적외선 스펙트로미터로 획득한 투과스펙트럼의 예시도,
- 도 26은 휴대형 근적외선 스펙트로미터로 획득한 전체 투과스펙트럼의 예시도,
- 도 27은 막걸리의 흡광도 변화 그래프,
- 도 28은 회귀 계수 그래프,
- 도 29는 개발된 모델의 그래프,
- 도 30은 가장 우수한 모델을 이용한 예측 결과와 예측값에 대한 편차 그래프,
- 도 31은 가장 우수한 모델의 회귀 계수 그래프이고,
- 도 32는 개발된 모델의 측정된 값과 예측된 값을 나타낸 그래프,
- 도 33은 가장 우수한 모델을 이용한 예측 결과와 예측값에 대한 편차 그래프,
- 도 34는 가장 우수한 모델에서의 회귀계수를 나타낸 그래프,
- 도 35는 개발된 모델의 예측값을 나타낸 그래프,
- 도 36은 개발된 모델을 이용하여 검증한 예측 결과와 예측값의 편차 그래프,
- 도 37은 10일 동안 온라인 시스템을 이용하여 획득된 투과스펙트럼을 흡광도로 나타낸 그래프,

도 38은 뽕쌀을 고두밥으로 이용하여 제조된 막걸리의 실제 화학적 분석방법으로 측정한 값과 온라인 스펙트럼 획득을 통해 예측한 값을 비교한 결과 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하 본 발명의 바람직한 실시 예에 따른 막걸리 품질 예측 온라인 시스템을 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명한다.
- [0030] 세계 주류시장을 선점하고 있는 술 수출국들은 이미 시설개선과 기술보급, 품질관리 시스템 도입으로 전통적인 양조산업을 과학과, 표준화, 세계화로 진화를 거듭하여 막대한 수익을 창출할 뿐만 아니라 술을 매개로 문화까지도 수출하고 있다.
- [0031] 최근 우리 막걸리에 대한 관심과 기대로 국내외 시장 확대를 위해 노력을 기울이고 있으나, 막걸리에 관한 연구는 여전히 이화학적 성분, 개량 누룩의 개발, 향기성분 비교, 저장 및 유통 개선을 위한 연구 등으로 제조 유형별 품질특성 및 주질 개선 연구로 국한되어 있는 실정이다.
- [0032] 이에 따라, 본 발명은 발효 중인 막걸리의 품질인자를 비파괴적으로 신속하게 측정할 수 있는 근적외선(900 ~ 2500nm) 분광분석방법을 이용해서 품질예측 모델을 선정하고, 이를 이용해서 발효 중인 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 실시간으로 예측할 수 있는 온라인 시스템을 제공하며, 온라인 시스템의 성능을 평가한다.
- [0033] 먼저, 막걸리의 제조공정은 여러 과정을 거쳐야 하는 복잡한 공정으로 막걸리 제조공정에 대한 이해를 돕기 위하여, 이하에서 사용되는 용어를 정리한다.
- [0034] ① 당화(糖化, saccharification)는 전분질이 분해되어 당류로 변하는 것을 말한다. 효모는 뽕쌀, 찹쌀, 밀가루 등 다양한 곡물에서 유래하는 전분질의 큰 분자를 직접 분해할 수 없다. 따라서 다당류인 전분질을 효소나 산 등을 통해 가수분해 된 단당류(포도당)나 이당류(엿당)로 변화시키는 당화과정이 필요하다. 막걸리에서 당화 역할을 하는 것이 국과 맥아이다. 당화 과정에 의해 만들어진 포도당이나 맥아당은 효모에 의해 분해되어 알코올로 변하게 된다.
- [0035] ② 맥아(麥芽, malt)는 밀, 보리 등의 싹을 건조시킨 것으로 녹말을 맥아당(엿당)으로 분해시키는 아밀라아제가 포함되어 있다. 누룩에 포함되어 있는 맥아는 녹말을 이당류나 단당류로 만드는 효소를 포함하여 당화를 촉진하는 역할을 한다.
- [0036] '엿기름'이라고도 하며, 지방에 따라 '엿질금' 또는 '질금'이라는 용어로도 사용된다. 엿이나 식혜를 만들 때 많이 쓰인다.
- [0037] ③ 국(麴, koji)은 알코올 생성 및 전분질을 당화시키는 주조용 발효제를 말한다. 국은 밀(소맥, 小麥), 뽕쌀, 좁쌀 등의 전분질 원료에 곰팡이류를 번식시킨 것으로 전분을 당화시키는 효소 등이 포함되어 있다. 국의 종류에는 한국 전통누룩, 개량누룩, 입국, 조효소제, 정제효소제 등이 있다.
- [0038] 전통누룩(麴子, nuruk)은 분쇄한 밀, 호밀 등의 곡물가루를 물과 함께 반죽하여 형질, 짚에 싼 후 누룩 틀에서 성형한 다음 공기 중의 곰팡이를 자연 번식시켜 각종 효소를 생성·분비하게 만든 재료를 한국 전통의 국(麴)이라 한다. 다른 말로는 곡자(穀子)라고도 한다. 야생 효모를 지니고 있으므로, 주모(酒母)의 역할을 겸한 발효제이다. 술에 필요한 균뿐만 아니라 술을 망치는 잡균에도 노출된다는 단점이 있다. 잡균의 유입을 방지하기 위하여 예로부터 누룩을 사용하기 전에 거칠게 부순 다음 2 ~ 3일간 햇볕과 이슬에 노출시키는 '법제'는 잡균을 살균하고 나쁜 냄새를 제거하며 효소와 효모를 활성화시키는 역할을 한다.
- [0039] 개량누룩(改良麴子)은 국의 일종으로 밀과 밀기울 등을 배양지로 하여 우수한 곰팡이만을 배양시킨 것이다. 전통누룩에 비해 당화력이 강하고 주조의 실패율이 낮다.
- [0040] 입국(粒麴, koji, ipguk)은 전분질 원료(쌀, 밀가루 등)를 찢 후, 배양한 곰팡이류(종국, 種麴)를 인위적으로 뿌려 번식시킨 국의 일종이다. 생산 효율이 좋아 대부분의 양조장에서 사용하고 있는 방식으로 일본식 제조 방식을 도입한 것이다. 입국을 만들 때 찢 전분질 원재료에 종국을 고루 뿌려 균등하게 섞이도록 혼합하고 배양을 촉진시키기 위해 먼보로 보쌈 하듯 싸둔다.
- [0041] 종국(種麴, seed malt)은 국을 제조할 때 종균(種菌)으로 사용되는 곰팡이의 씨앗으로 특정한 곰팡이만을 이용하여 입국 등의 국을 제조할 때 사용된다. 조제종국과 분말종국이 있으며 술의 종류에 따라 백국균(白麴菌), 황

국균(黃麴菌), 흑국균(黑麴菌) 등이 사용된다. 탁주는 백국균, 청주는 황국균과 백국균, 소주는 백국균과 흑국균을 사용하는 것이 일반적이다.

[0042] 조효소제(組酵素劑)는 밀기울(피질) 등 전분질을 함유한 재료를 찌거나, 혹은 생피를 그대로 살균한 다음, 당화효소 생성균을 인공적으로 배양시킨 국의 일종이다.

[0043] 정제효소제(精製酵素劑)는 고체나 액체의 배양지에서 당화효소 생성균을 배양시킨 후 전분질을 당화·분해시키는 효소를 추출·분리해 정제한 국의 일종이다.

[0044] ④ 효모(酵母, yeast)는 당분을 알코올로 분해하는 미생물로 효모균, 이스트, 발효균이라고 부른다. 효모는 당분을 분해하여 알코올과 탄산가스, 유기산, 에스테르, 알데히드 등을 생성한다. 이들 성분이 술맛과 향에 크게 영향을 준다. 발효 시 기포가 생기는 것과 마셨을 때의 청량감도 효모 작용에 의한 것이다. 천연 효모와 배양 효모가 있으며 전자는 공기 중이나 곡물의 표면, 전통누룩에 자생한다. 후자는 천연 효모 중에서 우량 효모를 뽑아 인위적으로 배양한 것이다. 야생 효모를 자연적으로 번식시킨 것이 전통누룩이다. 입국을 사용하는 막걸리 양조장에서는 거의 배양효모가 쓰인다.

[0045] ⑤ 고두밥(steamed rice)은 당화를 쉽게 하기 위해 햅쌀과 찰쌀을 찐 것으로 '지예밥', '술밥'이라 한다. 전통주를 빚을 때 가장 일반적인 사용되는 주원료이다. 양조장에서는 밀가루 등을 찐 것도 고두밥이라고도 한다. 고두밥은 입국 제조에 사용되거나 입국의 원료가 아닌 담금에서만 사용되기도 한다. 담금에서만 사용되는 고두밥을 '덧밥'이라고 한다. 찐 고두밥은 넓게 펼쳐서 충분히 식힌 후 사용해야 한다. 양조 용어로 쌀을 씻는 것을 세미(洗米), 물에 담그는 것을 침미(沈迷, soaking), 찌는 것을 증자(蒸煮, steam)라고 한다. 고두밥 재료는 햅쌀을 쓰는 것이 좋으며 단맛을 내기 위해서는 햅쌀보다 알코올 발효가 되지 않고 당분으로 남는 성분이 풍부한 찰쌀을 사용하는 것이 좋다.

[0046] ⑥ 술덧(mash)은 술독에 고두밥과 누룩, 물을 넣어 발효시킨 것을 술덧이라고 하며, 때로는 술독까지 합쳐서 말하기도 한다. 즉 당화와 알코올 발효가 이루어진 것을 말한다.

[0047] ⑦ 주모(酒母, seed mash)는 쌀가루를 죽처럼 만든 후 누룩을 섞은 것으로 '밑술'이라고도 한다. 술을 빚을 시는 알코올 발효를 촉진하는 우량 효모가 충분히 있어야 한다. 따라서 초기에 알코올 발효에 관여하는 효모를 확대 증식시키고 또한 안전하게 배양하기 위해 주모를 제조하여 이용하게 된다. 주모는 활성도가 높은 효모로 인해 배지 농도가 진하고 구연산과 젖산 등으로 인해 산도가 높다.

[0048] ⑧ 덧술은 주모에 고두밥이나 떡과 죽 등을 더하는 작업을 말한다. 덧술을 하는 것으로 본격적으로 알코올 발효가 진행된다. 전통주의 경우, 덧술의 횟수에 따라 이양주, 삼양주, 사양주 등의 이름으로 불리고, 횟수를 더할수록 도수가 높아지고, 술의 양이 늘어나며, 향이 좋아진다.

[0049] ⑨ 담금은 알코올 발효를 위한 공정을 말하며, 1차 담금은 발효에 필요한 효모를 확대 배양하는 공정이며, 2차 담금은 당화와 알코올 발효가 동시에 이루어지는 병행복발효 공정이라고 할 수 있다.

[0050] ⑩ 제성(製成)은 막걸리 공정에서 발효가 끝난 술덧을 여과해 물을 타서 알코올 도수를 낮추거나 당류나 산류 등을 첨가하는 공정을 말한다.

[0051] 1. 막걸리의 특성

[0052] 가. 막걸리 발효과정

[0053] 막걸리는 당의 생성과 알코올 생성이 복합적으로 나타나는 복합효식 주류의 한 종류로서, 세계 어떤 주류보다도 독창적인 술이다.

[0054] 특히, 막걸리 발효방식은 담금 초기에 누룩곰팡이에서 발생하는 당화효소로 곡류의 전분을 당으로 전환시키고 유산균에 의해 낮은 pH가 형성된다. 또한, 효모의 개체수를 안정적으로 증가시키기 위해 발효 초기에 밑술을 제조하는 방식이 사용된다.

[0055] 오늘날에도 양조장에서의 막걸리 생산은 대부분이 초기에 밑술을 제조하는 방식을 이용하고 있어, 입국(koji)과 효모(yeast)의 사용량이 감소되고 미생물의 활성도가 높아 막걸리 발효기간이 단축되어 경제적으로 시간 및 비용이 절감되는 효과를 얻고 있다.

[0056] 오늘날 막걸리 제조에 사용되는 발효제는 재래누룩, 개량누룩, 입국, 정제효소 등이 있다.

[0057] 재래누룩은 막걸리 발효에 필요한 다양한 미생물이 자연 발생되도록 전분질 재료를 이용하여 만든 것이며, 개량

누룩은 특정한 곰팡이를 전분질 재료에 인위적으로 배양한 것이며, 입국은 증자한 쌀에 곰팡이를 인위적으로 접종한 것이다.

[0058] 따라서 입국, 개량누룩은 산업적 막걸리 제조에 많이 사용되고 있는데, 이는 당화력과 역가가 높아 막걸리의 발효가 빠르고 재래누룩으로 제조한 막걸리보다 균일한 제품이 생산되는 장점이 있다.

[0059] 산업적 막걸리 제조과정은 전통누룩이 아닌 입국과 배양효모의 사용과 산업화를 통한 현대식 장비의 발달로 전통방식과는 다소 차이가 있다.

[0060] 또한, 곡물의 처리를 위한 연미과정 도입, 전분질 원료를 당화시키는 장치인 자동 제국기 개발, 제품화를 위한 제성, 병입, 포장 과정 등 다양한 공정들이 추가되고 있다.

[0061] 나. 막걸리의 이화학적 특성

[0062] 막걸리의 이화학적 성분은 막걸리 양조 표준화를 위한 제조기술 개발과 주질 개선에 기초자료로 활용될 수 있는 품질인자이다. 일반적인 막걸리 이화학적 성분은 알코올 함량, 당 함량, 미생물 균수, 적정산도, pH, 아미노산 함량, 유기산 함량 등이며, 소비자의 막걸리 선호도를 반영하기 위해서 반드시 제품생산에 고려되어야 하는 인자이다.

[0063] 1) 알코올 함량

[0064] 알코올 함량의 측정방법은 막걸리를 증류하여 주정계로 알코올 함량을 측정하고 Gay-Lussac 주정도수환산표로 온도 보정 후 최종 알코올 함량을 나타내는 방법인 증류법과 가스크로마토그래피(gas chromatography, GC)를 이용하여 에탄올의 피크를 정량하고 이를 알코올 도수로 환산하는 가스크로마토그래피 측정법이 활용되고 있다.

[0065] 특히, 가스크로마토그래피 측정법은 고급 알코올류의 성분 분석에도 많이 이용되는 방법이다. 기타 방법으로 굴절계(Refractometer)로 알코올의 굴절율을 이용하여 알코올 함량을 측정하는 방법이 사용되고 있다.

[0066] 이 방법은 가스크로마토그래피 측정법과 동일하게 미리 농도를 알고 있는 알코올 혼합물로 검량식을 제작하고 미지의 시료를 측정하여 알코올 농도를 계산하는 방식이다.

[0067] 2) 당 함량

[0068] 막걸리에서 알코올 다음으로 중요한 품질인자로는 당 성분을 들 수 있다.

[0069] 막걸리에 존재하는 다양한 당류들은 주재료인 쌀의 전분이 효소와 누룩곰팡이에 의해 유리당의 형태로 전환된 것이다. 막걸리 발효 동안 생성되는 유리당(free sugar)은 단당류로 포도당(glucose), 과당(fructose)이 있으며 이당류로는 젖당(lactose), 엿당(maltose), 자당(sucrose)이 있다. 유리당의 알데히드(-CHO)그룹의 유무에 따라 환원당(reducing sugar)과 비환원당(non-reducing sugar)으로 나누는데 막걸리에서는 자당을 제외한 모두를 환원당으로 구분하고 있다. 환원당과 비환원당 전체를 전당 혹은 총당이라 한다.

[0070] 막걸리 발효 동안 생성되는 당 성분의 측정은 고성능 액체크로마토그래피(High performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 각각의 유리당을 정성 혹은 정량적으로 측정할 수 있으며, 유리당 중 환원당만을 대상으로 하는 측정방법으로는 DNS 방법(dinitrosalicylic acid method), Bertrand 법, Somogyi 법, CBC 방법(Copper bicinchoninate method) 등이 이용된다

[0071] 또한, 굴절계를 이용하여 당도(Brix degree)를 정량적으로 측정 할 수 있다.

[0072] 여기서, 당도는 물 100g(mL)속에 들어있는 자당의 양(g)으로 정의되어 있다.

[0073] 그러나 측정에는 비환원당인 자당만을 측정에 반영하는 것이 아니라, 다양한 당, 산, 아미노산, 수용성 펙틴 등도 측정에 영향을 미치게 된다.

[0074] 따라서 굴절당도는 가용성 고형분 함량이라는 용어와 함께 혼용되고 있어 막걸리 발효에서 당 성분의 변화를 설명하기에는 적합하지 않는 것으로 판단된다. 그 외에 당을 가수분해하여 총당을 정량적으로 측정하는 방법이 막걸리에 함유된 당을 측정하는데 많이 활용되었다.

[0075] 3) 미생물 수

[0076] 막걸리가 영양학적으로 우수한 이유 중의 하나는 생효모, 유산균을 그대로 음용할 수 있다는 점이다. 쌀(전분질)을 주원료로 하는 막걸리는 누룩에 포함된 자연 상태의 곰팡이, 효모, 세균을 이용하여 발효된다. 이때, 미생물(곰팡이)의 효소 작용으로 쌀이 분해되어 당, 아미노산, 유기산 등으로 전환되고 효모, 유산균에 의

해 알코올과 풍미 성분이 생성된다(Kim 등, 2012). 막걸리 발효의 주원인인 미생물은 다양한 방법으로 측정된다.

[0077] 효모, 유산균, 일반세균을 대상으로 측정한 막걸리 발효 동안의 미생물의 변화 관련 문헌의 경우 효모 수, 유산균 수, 일반세균 수는 막걸리 발효의 완료시점에서 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL의 범위를 나타내는 것으로 확인되었다. 담금 후 1 ~ 2일 이내 각각의 미생물 수의 증가는 동일한 경향을 보였으며 이는 미생물의 생육을 위한 증식과 관련이 있는 것으로 판단되었다.

[0078] 4) 적정산도 및 pH

[0079] 효모는 낮은 pH조건에서 알코올발효가 원활하게 진행되는데 발효초기에 유산균의 증식으로 다양한 유기산(organic acid)이 생성되고 이는 유기산에 의해 낮은 pH가 조성되어 효모생육의 최적 환경 조건이 되기 때문이다. 즉, 유산균은 막걸리 담금 초기에 활발히 활동하여 유기산을 생성하고, 이때 생성된 유기산은 효모의 배지가 되는 밀술 혹은 주모의 낮은 pH를 형성하여 효모가 생육하는데 최상의 배지가 된다. 따라서 유기산에 의한 막걸리 발효를 가능하게 하는 방법으로 pH와 적정산도(titratable acidity)를 활용할 수 있다.

[0080] pH의 측정값은 유의미한 수준에서 비슷하게 측정되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 적정산도의 수치는 비슷하지만 각각의 연구마다 주산을 달리 사용하여 환산하였음을 볼 수 있었다. 따라서 막걸리에 함유된 유기산의 종류 및 함량을 조사한 후 대표적인 유기산을 선정할 필요가 있을 것으로 판단된다.

[0081] 5) 유리 아미노산 및 유기산 함량

[0082] 유리 아미노산과 유기산은 막걸리 발효로 연계 되는 부산물들이다. 막걸리 누룩에는 다양한 효소와 여러 종류의 곰팡이 균들인 황국균(*Aspergillus oryzae*), 백국균(*Aspergillus kawachii*), 흑국균(*Aspergillus niger*) 등이 존재한다.

[0083] 발효가 완료된 막걸리에는 미량의 유리 아미노산이 존재하는데 이는 주원료인 쌀과 누룩 중에 함유된 단백질이 발효 동안 미생물이 생산하는 단백 분해 효소(peptidase, protease)에 의해 분해되어 아미노산으로 전환된 것이다.

[0084] 유기산은 유산균의 작용으로 다양한 유기산이 생성되어 낮은 pH를 형성하므로 효모가 안정적인 발효를 할 수 있는 환경을 조성하게 된다. 따라서 아미노산과 유기산은 막걸리의 조화로운 맛을 내는 동시에 건강에 유익하여 막걸리의 중요한 품질인자라 할 수 있다.

[0085] 막걸리 성분 중 아미노산의 분석은 아미노산 분석기로 성분 분석 및 함량을 측정하는 경우와 아미노태 질소를 정량하는 포르말법(formal method)을 이용하여 측정하는 것이 대표적이다.

[0086] 다. 발효의 품질관리 모니터링 기법

[0087] 발효의 품질관리 모니터링은 발효 동안 일어나는 품질의 변화를 실시간 측정하여 이상이 발생하였을 경우, 근본 원인을 밝혀내서 제거하므로 안정적인 발효를 유도하여 궁극적으로 고품질의 제품을 생산하는 것이 목적이다.

[0088] 막걸리는 제조과정이 까다롭고 다양한 미생물이 관여됨에 따른 단순 관리로는 품질관리가 어려워 전문 인력양성의 필요하다. 또한, 막걸리 발효에서 가장 중요한 인자는 발효 속도를 제어하는 온도관리가 중요하다 할 수 있다.

[0089] 막걸리는 발효 속도가 낮을수록 풍미가 깊어지는 특징을 가지고 있다. 따라서 현재 교반기와 온도센서를 부착한 자동제어 발효조가 등장하고 있으나, 막걸리 제조에서는 아직도 인력에 의존한 품질관리가 대부분 이루어지고 있는 실정이다.

[0090] 발효 모니터링 시스템의 핵심부분인 성분 측정 센서로는 반도체형 센서 또는 산소전극을 이용한 전류법형 센서 등이 많이 활용되어 왔다.

[0091] 최근에는 광섬유 및 광학센서 기술의 발달로 분광분석 기술이 많이 활용되고 있는 추세이다.

[0092] 분광분석 기술은 비파괴 방식으로 실시간(real-time) 측정이 가능하고, 다양한 성분을 동시에 측정할 수 있는 장점이 있다.

[0093] 따라서, 본 발명은 막걸리 제조 시 알코올 함량, 환원당, 적정산도 등을 근적외선 분광분석 방법으로 예측 가능하며, 이를 실시간 온라인 모니터링 시스템으로 구축한다.

- [0094] 즉, 본 발명은 예측 정확도가 높은 모델을 개발하기 위해, 발효 온도, 대상물의 특성, 기기와 외부환경의 영향 등을 종합적으로 고려하여 모델을 개발하였다.
- [0095] 2. 막걸리에 대한 이론적 고찰
- [0096] 가. 막걸리의 발효 원리
- [0097] 막걸리의 사전적 의미는 곡류와 누룩으로 빚어 발효 후 만든 곡주를 말하며, 주세법에 정의하고 있는 막걸리는 녹말이 포함된 재료, 국 및 물을 원료로 하여 발효시킨 술덧을 여과하지 아니하고 혼탁하게 제성한 것을 말한다.
- [0098] 우리나라 주세법 시행령에는 막걸리 성분 함량을 규격화하고 있는데, 알코올 함량의 경우 6% 이상, 8% 이하이며 두통, 숙취의 원인이 되는 퓨젤유 함량을 1 mg/mL이하로 규정하고 있다. 또한, 막걸리의 적정산도는 0.5% 이하로 규정하고 있으며, 0.5% 이상일 경우 이상발효 현상이 진행된 것으로 간주하고 있다. pH는 3.8~ 4.7로 규정하고 있다.
- [0099] 막걸리는 쌀이나 밀 등의 곡물을 주재료로 누룩과 물을 섞어 빚은 술이다. 즉, 곡식의 전분(녹말, 다당류)이 미생물(누룩곰팡이, 효모)의 작용으로 알코올이 된 것이다.
- [0100] 이 과정은 당화와 알코올 발효라는 두 단계로 이루어진다. 알코올 발효를 일으키는 것은 효모이다.
- [0101] 효모는 녹말을 바로 알코올로 분해할 수 없기 때문에, 우선 곡식에 들어있는 녹말을 포도당으로 전환하는 과정인 당화를 거쳐야 한다. 이 역할을 하는 것이 누룩곰팡이이고, 누룩곰팡이에는 아밀라아제가 함유되어 있어 녹말을 가수분해하여 단당류 형태인 포도당으로 전환시킨다. 그래서 효모는 전환된 포도당을 알코올과 유기산으로 변환시키는 것이다.
- [0102] 또한, 누룩에는 단백 분해 효소, 지방 분해 효소 등도 포함되어 있어 단백질을 다양한 아미노산으로 분해하고, 지방은 글리세린이나 에스테르 계열의 휘발성 화합물로 전환시킨다.
- [0103] 이러한 일련의 과정이 동시에 일어남에 따라, 막걸리는 병행발효주라고 한다.
- [0104] 도 1은 당화와 알코올 발효 과정 동안 생성된 화학성분의 화학 구조를 나타내 도면이다.
- [0105] 막걸리는 발효되는 동안 효모의 활동으로 알코올이 생성되고, 이는 화학반응식 1과 화학반응식 2로 나타낼 수 있다.
- [0106] 1) 혐기성 호흡 : 효모의 증식
- [0107]
$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 674 \text{ Cal} \text{ ----- [화학반응식 1]}$$
- [0108] 2) 혐기성 호흡 : 발효, 알코올 생성
- [0109]
$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 27 \text{ Cal} \text{ -----[화학반응식 2]}$$
- [0110] 즉, 산소가 있을 경우에 효모는 포도당을 물과 이산화탄소로 분해하면서 다량의 에너지를 방출하고, 이때 에너지는 효모의 개체수를 증가시키는 동력이 된다.
- [0111] 이후에 발효조 내부의 공기층과 투입된 고두밥에 의해 얇은 막이 형성되면 자연히 효모에 유입되는 산소가 차단된다. 이때부터 산소가 없는 혐기성 호흡이 진행되고, 이때 효모는 포도당을 완전히 분해시키지 않고 알코올로 변하게 만든다.
- [0112] 화학반응식 2와 같이 혐기성 호흡은 효모가 발효를 통해 알코올을 생성시키게 되고 이때 부가적으로 얻은 약한 에너지로 효모는 생명력을 유지할 수 있다.
- [0113] 나. 근적외선 분광분석법
- [0114] 광학 분광법은 각종 전자기 복사선(electromagnetic radiation)과 물질과의 상호작용을 분광계 또는 분광광도계 등으로 측정영역 내에서 광 스펙트럼의 세기를 측정하고 해석하는 것으로, 빛을 어떤 대상체에 조사하였을 때, 원자, 분자, 이온에 의해 유발되는 현상인 빛의 투과, 반사, 굴절 및 흡수 현상을 계측하여 대상체의 정성적 또는 정량적 특성을 분석한다.
- [0115] 근적외선은 가시광선과 중적외선 사이에 존재하는 전자기파로서, 800 ~ 2500 nm의 파장영역에 해당한다.

- [0116] 근적외선 분광법은 상기한 영역에 해당하는 빛의 전기적 성분(electronic component)을 이용하여 관심대상이 되는 현상, 즉, 투과, 반사, 굴절 및 흡수를 빠르고 간단하게 비파괴적으로 측정하는 기술을 말한다.
- [0117] 근적외선의 흡수는 기본적으로 분자 진동 운동에 기인하며, 주로 중적외선에서 유래되는 -CH, -OH, -NH 작용기의 결합대(combination band)와 1차, 2차, 3차 배음대(overtone band)로 나타난다.
- [0118] 이러한 근적외선에서의 흡수는 중적외선에서 나타나는 형태와 달리, 작용기의 흡수대가 중첩되어 강하게 나타나는 특징이 있다. 따라서 정확한 분석을 위해서는 통계적인 분석이 반드시 수행되어야 한다.
- [0119] 1) 근적외선 분광분석 원리
- [0120] 조사된 광이 물체에 도달하면 입사광의 일부는 표면에서 반사되는데, 이를 정반사(regular reflectance 또는 specular reflectance)라고 한다. 이와 같은 표면 반사는 입사광의 약 4% 정도에 불과하다.
- [0121] 입사광의 나머지는 물체 내로 전파되어 일부는 표면 쪽으로 다시 반사(body reflection)되고, 일부는 흡수(absorbance)되며, 일부는 물체 내로 계속 전파된다.
- [0122] 물질에 의해서 흡수되는 광의 양은 광의 파장, 물질의 물리 화학적 조성 및 물질 속으로 전달된 거리에 의해 결정된다. 흡수 매질 속으로 전파된 광의 감쇄 특성은 Beer-Lambert 법칙으로 설명할 수 있다.
- [0123] 도 2는 매질로 전파된 광의 감쇄 특성을 예시한 도면이다.
- [0124] 도 2에 도시된 바와 같이, 용액을 용기에 넣어 측정하는 경우, 일정한 강도의 빛에너지 P_0 가 대상체를 지나는 동안 산란, 반사 및 흡수 현상이 발생하여 빛의 강도는 P_1 으로 감소하게 된다.
- [0125] 이때, 투과율(Transmittance)과 흡광도(Absorbance)는 아래의 수학적 식 1과 수학적 식 2로 나타낼 수 있다.
- [0126] 즉, 흡광도는 투과율의 역수를 상용대수로 나타내며, 다른 용어로 광밀도(optical density)라고도 한다.

수학적 식 1

$$T = \frac{P_1}{P_0}, \quad \%T = 100 \times T$$

[0127]

수학적 식 2

$$A = \log_{10} \frac{P_0}{P_1} = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \left(\frac{100}{\%T} \right) = 2 - \log_{10} (\%T)$$

[0128]

[0129] 여기서, T : Transmittance, A : Absorbance, P_0 : Initial light power, P_1 : Power of light through a sample

[0130] 나) 스펙트럼 전처리

[0131] 근적외선 스펙트럼의 측정은 외부환경 및 측정 장치의 영향을 많이 받을 뿐만 아니라, 측정 시료의 형태에 따라 측정방법 및 결과가 달라질 수 있다.

[0132] 막걸리 시료는 액체로서, 주된 성분이 수분이고, 나머지는 알코올과 미량의 당, 유기산, 필수 아미노산 등으로 구성되어 있다.

[0133] 따라서 막걸리 시료는 고체와 달리, 시료의 크기 차이에 따른 투과 길이보다는 액체 내부에 존재하는 품질인자의 농도가 스펙트럼에 더 큰 영향을 미치게 된다.

[0134] 특히, 대량으로 생산되는 막걸리 발효조를 대상으로 실시간 스펙트럼을 획득할 경우, 더욱 많은 변수가 고려되어야 한다.

- [0135] 근적외선 스펙트럼은 측정 시 내부 품질 인자와 함께, 외부 환경변화도 고려되어야 한다. 특히, 온습도 변화와 같은 외부 환경변화는 광학적 특성을 파악하는데 사용되는 스펙트럼에 영향을 주어 내부품질의 정보와 상관없는 스펙트럼의 변이를 발생시키므로, 예측에 오류를 유발할 뿐만 아니라, 품질 판정의 성능을 저하시키는 주요한 원인이 된다.
- [0136] 이러한 외부 환경요인을 감소시키기 위해서는 물리적으로 균일한 측정환경을 유지해야 하고, 소프트웨어적으로 스펙트럼 전처리 과정을 거쳐야 한다.
- [0137] 상기 스펙트럼 전처리는 외부 환경변화 및 광학 측정상의 노이즈를 제거하고, 그 영향에 따른 오차를 줄이는 매우 중요한 과정이다.
- [0138] 스펙트럼 전처리의 주요 방법은 평활화(smoothing), MSC(Multiplicative Scatter Correction), SNV(Standard Normal Variate), 평균과 최대값, 일정 범위의 값을 이용한 3종의 정규화, 1차와 2차 미분(derivative) 특성을 이용한 Savitzky-Golay과 Norris Gap 방법 등이 있다.
- [0139] 이 중 평활화 방법은 스펙트럼 측정 장치의 노이즈를 감소시키기 위해 사용되며, 구간 평균법(boxcar averaging), 이동 평균법(moving averaging), 다항식 평활화(polynomial smoothing) 등으로 구분될 수 있다.
- [0140] 한편, 평활화 방법은 노이즈를 제거할 수 있는 장점이 있으나, 너무 많은 구간을 평활화할 경우 스펙트럼 피크가 손실될 수 있으며, 중요한 결합대와 배음대를 나타내는 파장의 위치가 변경(shift)될 수 있으므로 주의가 필요하다.
- [0141] 정규화는 평균, 최대값, 일정범위 값을 찾아내어 그 크기로 나누어 주어 규격화하는 방법을 말하며, 스펙트럼의 편차가 심할 경우 유용하다.
- [0142] MSC와 SNV 기법은 광 산란보정의 효과가 있다.
- [0143] 즉, 광원의 종류, 시료 표면이나 시료 내부의 불균일성 때문에 광의 산란 정도가 달라져 동일 시료에 대한 반복 측정의 재현성이 떨어지는 경우에 효과적인 기법이다.
- [0144] MSC 기법의 원리는 이상적인 스펙트럼을 기준으로 측정된 모든 스펙트럼을 보정하는 것으로, MSC는 이상적인 스펙트럼으로 평균 스펙트럼을 이용한다.
- [0145] SNV 기법의 원리는 이상적인 스펙트럼이 필요 없으므로, 전체 스펙트럼의 표준편차로 정규화한 스펙트럼을 이용한다.
- [0146] 전처리 중 가장 많이 사용하는 방법 중 하나로 미분법을 이용한 전처리가 있다. 1차 미분 전처리는 시료의 위치 변화에 기인하는 베이스라인(baseline)의 이동을 제거하는 효과가 있다.
- [0147] 2차 미분은 미소성분의 스펙트럼을 증폭시키는 효과가 있어 많이 사용된다.
- [0148] 미분은 Norris Gap 미분, Savitzky-Golay 미분 전처리가 주로 사용되며, 미분간격에 따라 미분 스펙트럼의 특성이 달라지므로 적절한 간격 조정이 필요하다
- [0149] 본 발명은 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피 및 휴대형 근적외선 스펙트로미터의 스펙트럼에 대한 전처리 방법으로 평활화 기법, 3종(평균, 최대값, 일정 범위값)의 정규화방법, MSC, SNV, Savitzky-Golay와 Norris Gap의 1차와 2차 미분법인 9가지 방법을 적용하였고, 전처리 스펙트럼을 후 부분 최소 자승 회귀식에 적용하여 품질예측모델을 개발하였다.
- [0150] 본 발명에서 적용한 스펙트럼 전처리 방법의 수학적 원리는 다음과 같다.

- [0151] ① 구간 평균법 평활화

$$\overline{A}_i = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=-m}^m A[i+j]$$

- [0153] 여기서, $\overline{A}_i$: i^{th} mean intensity of spectrum, m : Segment size

② 평균값을 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{mean}}$$

여기서, A'_i : i^{th} intensity normalized by mean, A_i : i^{th} intensity of spectrum, A_{mean} : Mean of i^{th} intensity of the entire spectra

③ 최대값을 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{max}}$$

여기서, A'_i : i^{th} intensity normalized by maximum, A_i : i^{th} intensity of spectrum, A_{max} : Maximum of i^{th} intensity of the entire spectra

④ 일정 범위를 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{max} - A_{min}}$$

여기서, A'_i : i^{th} intensity normalized by range, A_i : i^{th} intensity of spectrum, A_{max} : Maximum of i^{th} intensity of spectrum, A_{min} : Minium of i^{th} intensity of spectrum

⑤ MSC

이상적인 스펙트럼을 아래의 수학적식 3과 같이 전체스펙트럼을 이용하여 평균스펙트럼을 구한 후 각 파장에 적용한다(수학적식 4).

그리고 선형회귀를 이용하여 구한 a_i 와 b_i 값을 이용하여 보정한다(수학적식 5).

수학적식 3

$$\overline{A}_j = \frac{\sum_{i=1}^m A_{i,j}}{m}$$

여기서, A : Spectra matrix ($m \times n$), $\overline{A}_j$: Mean spectrum of j^{th} wavelength ($1 \times n$), m : Number of spectrum

수학적식 4

$$A_i = \alpha_i \overline{A} + \beta_i$$

여기서, A_i : Regression spectrum about mean spectrum ($1 \times n$), α_i : Slope, β_i : Intercept

수학적식 5

$$A_{iM} = \frac{A_i - \beta_i}{\alpha_i}$$

여기서, A_{MS} : Spectrum transformed by MSC

⑥ SNV

$$\bar{m}_i = \frac{\sum_{j=1}^n M_{i,j}}{n}$$

$$A_{iS} = \frac{(A_i - \bar{m}_i)}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (A_{i,j} - \bar{m}_i)^2}{(n-1)}}}$$

여기서, $\bar{m}_i$: Mean for all wavelength of i^{th} spectrum ($n \times 1$), $M_{i,j}$: j^{th} intensity of spectrum for i^{th} sample, A_i : Intensity of spectrum of i^{th} wavelength, A_{iS} : Intensity of spectrum transformed by SNV, n : Number of sample

⑦ 미분법

Norris Gap 미분은 두 단계로 구성되어 있으며, 신호 대 잡음비(signal-to-noise)를 줄이기 위해 평활화를 한 다음 미분을 하는 방식이다.

수학식 6은 평활화 방법이며, 수학식 7 및 수학식 8은 1차, 2차 Norris Gap 미분 전처리이다.

수학식 6

$$A_{smooth,i} = \frac{\sum_{j=-m}^m A_{orig,i+j}}{2m+1}$$

여기서, m : Number of point, i : Current measurement point

수학식 7

$$A'_i = A_{smooth,i+gap} - A_{smooth,i-gap}$$

수학식 8

$$A''_i = A_{smooth,i-gap} - 2 \times A_{smooth,i} + A_{smooth,i+gap}$$

Savitzky-Golay 미분은 평활화 전처리가 수행된 데이터를 이용하여 1차 또는 2차 미분을 하는 방법이다. 평활화된 스펙트럼의 각 점을 중심으로 $2m+1$ 개의 점으로 다항식 회귀한 수학식 6으로부터 미분하여 추정한다.

여기서, 추정에는 관측된 값과 미분에 의해 최소 제곱의 합이 최소가 되도록 한다(수학식 11). 수학식 9는 다항식을 나타내며, 수학식 10은 이를 미분한 것을 나타낸다.

수학식 9

[0185]

$$f_i = \sum_{k=0}^{n-1} b_{nk} i^k = b_{n0} + b_{n1} i + b_{n2} i^2 + \dots + b_{nn} i^n$$

[0186]

여기서, n : Polynomial of degree (n less than $2m+1$)

수학식 10

[0187]

$$\frac{df_i}{di} = b_{n0} + b_{n1} i + 2b_{n2} i^2 + \dots + nb_{nn} i^{n-1}$$

[0188]

$$\frac{d^2 f_i}{di^2} = 2b_{n2} + 3 \times 2b_{n3} i + \dots + (n-1)b_{nn} i^{n-2}$$

[0189]

$$\frac{d^n f_i}{di^n} = n! b_{nn}$$

수학식 11

[0190]

$$\frac{\partial}{\partial b_k} \left[\sum_{i=m}^{i=m} (f_i - y_i)^2 \right] = 0$$

[0191]

$$\frac{\partial}{\partial b_k} \left[\sum_{i=m}^{i=m} b_{n0} + b_{n1} i + \dots + (b_{nn} i^n - y_i)^2 \right] = 0$$

[0192]

이와 같이, 다양한 스펙트럼 전처리는 스펙트럼 측정 시 기기에 의해 발생하는 노이즈를 제거하거나 샘플에 의한 영향 및 온도, 습도와 같은 환경적인 외부 영향을 보정하는데 사용하는 기법들이다.

[0193]

전처리된 스펙트럼은 통계적인 방법에 의해 샘플에 포함되어 있는 복합적인 화학 성분 사이의 관계를 구명하는데 사용된다.

[0194]

3) 다중회귀 통계 모델

[0195]

a) 부분 최소 자승 회귀분석법(Partial Least Square Regression)

[0196]

부분 최소 자승 회귀분석법(이하 'PLSR'라 함)은 스펙트럼과 같은 수많은 변수들 사이의 다중공선성(multicollinearity)이 일어나는 경우 회귀분석을 수행하기 위해 제안된 분석방법이다.

[0197]

PLSR은 PCA(Principal Component Analysis)를 토대로 응용된 주성분 회귀식인 PCR(Principal Component Regression)에서 스펙트럼으로만 회귀식을 구하는 것과는 달리, 종속변수인 스펙트럼의 score vector와 독립변수인 Y의 score vector의 inner correlation을 이용하여 스펙트럼(independent variables)과 실제 측정된 값과의 관계를 회귀 모델로 개발하고 예측하는 방법이다.

[0198]

도 3은 PLSR의 개념도이다.

[0199]

PLSR에서 스펙트럼 변수(X)는 수학식 12와 같이, score vector $t_h (h=1, \dots, \alpha)$ 와 load vector $p_h (h=1, \dots, \alpha)$ 의 곱으로 나타내어지고, 품질인자 변수(Y)는 score vector $u_h (h=1, \dots, \alpha)$ 와 load vector $q_h (h=1, \dots, \alpha)$ 의 곱으로 표시된다.

수학식 12

[0200]

$$X = \sum_{h=1}^a t_h p_h^T + E$$

[0201]

$$Y = \sum_{h=1}^a u_h q_h^T + F$$

[0202]

$$u_h = \sum_{h=1}^a b_h t_h + r_h$$

[0203]

수학식 12에서 a 는 채택될 잠재변수의 개수를 나타내며, b_h 는 입력 변수의 scores vector $t_h (h=1, \dots, a)$ 간의 회귀계수이다. 행렬 Y 의 한 열을 선택하여 u_1 의 초기값으로 놓은 후, 아래의 수학식 13 내지 수학식 16을 수행한다.

수학식 13

[0204]

$$w_1 = \frac{X^T u_1}{\|X^T u_1\|}$$

[0205]

$$t_1 = X w_1$$

수학식 15

[0206]

$$q_1 = \frac{Y^T t_1}{\|Y^T t_1\|}$$

[0207]

$$u_1 = Y q_1$$

[0208]

수학식 16에서 계산된 u_1 값이 일정 오차범위 내에 수렴하면, 다음 수학식 17 내지 수학식 19를 수행하고, 수렴하지 않으면 수학식 13으로 되돌아간다.

수학식 17

[0209]

$$p = \frac{X^T t_1}{t_1^T t_1}$$

수학식 18

[0210]
$$p_1 = \frac{p}{\|p\|}$$

수학식 19

[0211]
$$t_1 = t_1 \|p\|$$

[0212] t_1 과 u_1 이 구해지면, 수학식 20에 따라 두 score vector 간의 회귀계수를 구한다.

수학식 20

[0213]
$$b_1 = \frac{u_1^T t_1}{t_1^T t_1}$$

[0214] 첫 번째 잠재변수가 결정되면, 수학식 21에 따라 데이터 블록 X 와 Y 의 오차행렬 E 와 F 를 구한다.

수학식 21

[0215]
$$E_1 = X - t_1 p_1^T$$

[0216]
$$F_1 = Y - b_1 t_1 q_1^T$$

[0217] 한편, 또 다른 잠재변수가 필요한 경우에는 행렬 X 와 Y 를 각각 E_1 와 F_1 으로 바꾸어서 상기한 알고리즘을 다시 수행한다. 이때, 아래 첨자는 1씩 증가한다.

[0218] PLSR 모델에 사용되는 잠재변수의 개수 a 는 일반적으로 독립변수의 개수보다는 적으며, 보통 cross-validation 방법으로 결정된다.

[0219] 잠재변수의 개수가 독립변수의 개수와 같아질수록 오차행렬 E 와 F 는 점점 0에 가까운 값을 갖게 된다.

[0220] 수학식 12와 수학식 21에 의해 계산된 load vector p_h , q_h ($h=1, \dots, a$)와 회귀계수 b_h ($h=1, \dots, a$)를 사용하여 학습에 사용되었거나 혹은 사용되지 않은 입력변수 데이터 블록 X 에 대한 출력변수인 데이터블록 Y 의 예측값을 계산하려면, 먼저 수학식 12에서 ($E \approx 0$)를 만족하는 t_h ($h=1, \dots, a$)를 수학식 22로 산출한다.

수학식 22

[0221]
$$t_h = \frac{X p_h}{p_h^T p_h} \quad (h=1, \dots, a)$$

[0222] t_h ($h=1, \dots, a$)가 계산되면, b_h ($h=1, \dots, a$)와 수학식 12에서 ($r_h \approx 0$)을 이용하여 u_h ($h=1, \dots, a$)를 구한

후, 최종적으로 $q_k(k=1, \dots, \alpha)$ 와 수식 12를 이용하여 Y 의 예측값을 구한다.

b) 부분 최소 자승법 모델 선정 조건

본 발명에서는 개발된 예측모델의 적합성을 분석하기 위해 R^2 , SEP(Standard Error of Prediction), factor 수 그리고 RPD(Residual Predictive Deviation) 값을 활용할 수 있다.

수식 23

$$RPD = \frac{SD}{SE}$$

여기서, RPD : Residual predictive deviation, SD : Standard deviation, SE : Standard error

3. 재료 및 연구방법

가. 공시재료

본 발명에서는 사용된 막걸리 제조용 원료로 햅쌀(rice, 품종: 신동진) 20kg, 찰쌀(glutamic rice, 품종: 혼합) 4kg용 5포대, 밀을 이용해서 제조된 누룩을 이용하였다.

표 1은 실험에 이용된 막걸리 재료의 비율 테이블이다.

표 1

Ratio (Water : Ingredients)		1:1	1:1.5	1:2
Ingredients	Rice flour	500 g	500 g	500 g
	Steamed rice	2 kg	2 kg	2 kg
Total amount		2.5 kg	2.5 kg	2.5 kg
Water		2.5 L	3.75 L	5 L

재료는 찰쌀 및 햅쌀 고두밥을 이용한 두 개의 큰 그룹으로 나누었고, 각 그룹은 재료의 구성에 따라 3개의 그룹으로 나누어져 총 6종류의 막걸리 시료를 준비하였다.

찰쌀 및 햅쌀과 고두밥을 넣은 3종류씩의 시료는 각각 물과 재료의 비율이 1(재료:2.5kg):1(물:2.5L), 1(재료:2.5kg):1.5(물:3.75L), 1(재료:2.5kg):2(물: 5L)로 구성하였다.

표 2는 제작된 시료를 각기 다른 기호로 구분한 테이블이다.

표 2

Sample name	Ingredient	Ratio	
		Ingredient	Water
G1	Steamed glutamic rice	1	1
G1.5	Steamed glutamic rice	1	1.5
G2	Steamed glutamic rice	1	2
R1	Steamed rice	1	1
R1.5	Steamed rice	1	1.5
R2	Steamed rice	1	2

나. 막걸리 제조과정

막걸리는 덧술의 횟수에 따라 단양주, 이양주, 삼양주로 나눌 수 있으며. 덧술의 횟수가 증가할수록 풍미가 우수한 막걸리가 생산되는 것으로 알려져있다.

도 4는 본 발명에서 사용된 막걸리의 제조방법을 단계별로 설명하는 공정도이다.

제조방식은 누룩에 있는 효모나 젖산균 등 다양한 미생물의 증식을 위해, 배지역할을 하는 밀술(seed mash)을

제작하고, 배양된 밀술에 고두밥을 넣어 발효시키는 전통적인 방식이다.

- [0240] 일반적인 막걸리 제조에서 재료(쌀, 밀가루 등)와 물과의 배합비율은 대부분 1:1~ 1:2이고, 담금 유형은 누룩, 입국, 정제효소, 조효소 등을 다양하게 이용한다.
- [0241] 본 발명은 일반적인 막걸리 제조방법과 비교하면, 담금 유형과 발효제에서 다소 차이가 있으나, 배합비율에 따라 막걸리가 발효되는 동안 생성되는 근본적인 이화학적 성분은 알코올, 당, 유기산 등의 함량만 달라지므로, 담금 유형과 발효제를 달리하더라도 막걸리 품질에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.
- [0242] 즉, 재료의 배합비율이 달라지면, 생성되는 성분 함량의 범위가 커지므로, 막걸리 품질 예측을 위한 모델의 개발이 용이하게 된다.
- [0243] 막걸리 제조를 위하여 사용되는 밀술은 뭍쌀 700g을 물에 3시간 동안 침지한 후 물기를 제거하고, 쌀에 포함된 수분함량이 동일하도록 30분 동안 온도 40℃, 상대습도 40%의 건조실에서 건조하였다.
- [0244] 도 4에서 건조된 뭍쌀은 그라인더를 이용하여 곱게 간 다음, 710 μ m망(25호)을 이용하여 일정한 크기의 쌀가루 500g을 선별하였다(S10).
- [0245] 또한, 누룩도 쌀가루와 같은 방식으로 710 μ m망을 이용하여 일정한 크기로 선별하였다(S12).
- [0246] 제조된 쌀가루 500g에 끓인 물 2.5L를 넣어 호화(gelatinization)시켜 범벅을 제작한 후, 범벅이 25℃ 이하로 충분히 식은 후 누룩 200g을 넣어 5분간 버무린다(S14).
- [0247] 버무린 재료는 25℃의 항온 챔버에서 저장한 다음, 밀술이 완성된 24시간 후(S16) 고두밥(뭍쌀, 찹쌀)을 제작하여 투입하였다(S18).
- [0248] 뭍쌀은 1시간 동안 증자하였고, 찹쌀은 40분간 증자하여 완성된 밀술에 투입하고, 10일 동안 발효하였다(S20). 10일 동안의 항온 챔버를 이용한 발효과정을 거쳐 막걸리를 제조하였다(S22).
- [0249] 다. 막걸리 품질측정
- [0250] 1) 시료 채취
- [0251] 다른 재료 및 비율로 제작된 6개의 막걸리 시료는 24시간 간격으로 10일 동안 근적외선 스펙트럼과 품질인자의 측정을 실시하였다.
- [0252] 채취한 시료는 스펙트럼 측정 후 수행하는 막걸리의 품질측정에서 발효과정동안 발생한 막걸리 지게미가 품질 측정에 오차를 발생시킬 수 있으므로, 도 5에 도시된 바와 같이, 전처리를 실시한 후 품질 측정에 사용하였다.
- [0253] 도 5는 막걸리 샘플의 전처리 과정을 설명하는 예시도이다.
- [0254] 도 5에 도시된 바와 같이, 시료는 원심분리기로 8,000G에서 10분간 작동하여 상등액을 취한 후, 0.45 μ m실린지 필터를 이용하여 여과하였다. 여과된 시료는 막걸리 품질 측정을 위해 냉동 보관하였다.
- [0255] 2) 알코올 함량 측정
- [0256] 알코올 함량 측정에는 주정계를 이용한 측정 방법과 액체 크로마토그래피를 이용하여 정량하는 방법이 있다.
- [0257] 주류분석규정에서 발간한 알코올 함량 측정에는 주정계를 이용하여 측정하는 방법을 제시하고 있으나, 주정계를 이용한 알코올 함량 측정은 시료를 많이 소모하여 전체 발효에 영향을 미치고 발효 초기에 생성된 낮은 알코올 함량을 정확하게 측정하기 어려운 단점이 있다.
- [0258] 따라서 본 발명에서는 미량의 시료로 측정이 가능한 고성능 액체크로마토그래피 분석법(High performance liquid chromatography, HPLC))을 이용하였다.
- [0259] 분석에 사용된 시료는 0.005 N sulfuric acid로 희석하여 고성능 액체크로마토그래피에 전용으로 사용하는 0.2 μ m 실린지 필터(Syringe Filter)로 여과한 후 분석을 실시하였다.
- [0260] 표 3은 분석에 사용된 전용 칼럼 및 장치와 실험 조건 테이블이다.

표 3

Item	Condition
Instrument	Dionex Ultimate 3000 HPLC

Column	Rezex ROA organic acid column
Column temperature	60℃
Mobile phase	0.005 N sulfuric acid
Flow rate	0.5 mL/min
Detector	Shodex RI-101 refractive index detector

3) 환원당 함량 측정

막걸리는 발효 동안 전분질의 당화에 의해 환원당으로 변환된다. 환원당은 -OH의 환원성 말단기를 가지는 성분을 말한다.

환원당을 측정하는 대표적인 방법으로는 디니트로살리실산법(Dinitrosalicylic acid method: DNS method)이 가장 많이 활용되고 있으나, 이 방법은 시약과 반응이 높은 온도에서 일어나므로, 일부의 환원당이 파괴가 되고, 낮은 농도의 환원당 측정에는 감도가 낮은 단점이 있다.

또 다른 방법으로는 CBC(Copper bicinchoninate method) 방법이 있다.

상기 CBC 방법은 감도가 높은 장점을 가지고 있으나, 측정 시 단백질의 영향을 받을 수 있는 단점이 있다.

그러나 막걸리는 단백질 함량이 매우 낮으므로, CBC 측정방법에 큰 영향을 주지 못한다. 따라서 본 발명에서는 환원당 측정 방법으로 CBC 방법을 선정하였다.

표 4는 CBC 방법을 위한 시약 제조 과정 및 조건 테이블이다.

표 4

Items	Condition
Reagent A	97.1 mg of 2,2'-acid disodium salt
	3.2 g of sodium carbonate monohydrate
	1.2 g of sodium bicarbonate in 50 ml H ₂ O
Reagent B	62 mg of copper sulfate pentahydrate
	63 mg of L-serine in 50 ml H ₂ O
Copper reagent	reagent A : reagent B = 1 : 1

CBC 방법은 시약 A와 시약 B를 제조하고, 제조된 시약 A와 B를 1:1의 비율로 섞어 copper 시약을 제조한다.

각각의 막걸리 시료는 검량식에 적합한 농도가 되도록 희석한 후, 시료 100 μ l와 0.1 N NaOH 100 μ l, copper 시약 200 μ l를 섞은 후 80℃에서 35분간 반응시킨다.

반응 후 시료를 15분간 냉각시킨 후 피펫을 이용하여 300 μ l 시료를 microplate로 옮긴 후, 575nm에서 흡광도를 측정하고, 검량식으로부터 환원당의 함량을 계산한다.

본 발명에서 상기 검량식은 측정에 안정적인 값을 나타내는 엿당으로 구성하여 환원당으로 계산하였다.

4) 적정산도 측정

적정산도 함량 측정에 앞서, 적정산도 환산에 필요한 주된 유기산 성분을 HPLC로 분석하였다.

유기산 측정은 표 3에 나타낸 바와 같이, 알코올 측정의 경우와 시험조건이 동일하다.

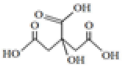
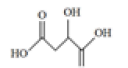
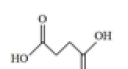
유기산 함량 측정은 총 5가지(acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid, succinic acid)에 대한 것으로, 막걸리의 이화학적 성분 분석 문헌을 참고하여 선정하였다.

막걸리 시료들 중 1일차, 5일차, 10일차의 샘플만을 측정하여 5가지의 유기산 함량을 비교한 후, 함량이 가장 높은 유기산을 막걸리 적정산도 측정에 필요한 주된 산으로 선정하였다.

표 5는 막걸리에 포함된 유기산의 속성 테이블이다.

표 5

[0280]

Type	Molecular formula	Molar mass (g/mol)	Chemical structure	Titer of 1 N NaOH (<i>f</i> value)
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60.05		0.060
Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	192.12		0.064
Lactic acid	C ₃ H ₆ O ₃	90.08		0.090
Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	134.09		0.067
Succinic acid	C ₄ H ₆ O ₄	118.09		0.059

[0281]

유기산은 표 5에 기재된 바와 같이, 분자량과 분자구조에 따라 수산화나트륨과의 반응 역가가 달라진다. 이는 유기산의 분자구조에 수산화나트륨과 반응할 수 있는 H⁺ 이온의 결합 가능한 수와 분자량에 따라 1 N NaOH에 대응하는 산의 량(g)이 달라지기 때문이다.

[0282]

따라서 본 발명에서는 주된 산으로 선정된 유기산 중 표 5의 *f* 값을 수산화나트륨 역가로 이용하였다.

[0283]

적정산도는 시료 20mL에 페놀프탈레인 지시약을 2 ~ 3 방울을 떨어뜨린 후, 1 N 수산화나트륨(Samchun Chemical Co., Korea)로 적정한 후 수학적 24를 이용하여 환산하였다.

수학적 24

[0284]

$$Total\ acid(\%) = N \times \frac{f}{S} \times 100$$

[0285]

여기서, *N* : Volume of 1 N NaOH added (mL), *f* : Titer of organic acid using 1 N NaOH solution, *S* : Amount of sample (mL)

[0286]

라. 근적외선 분광측정

[0287]

근적외선 분광기의 초기 방식은 필터(filter) 방식이 주류를 이루었으나, 점차 분산형(dispersiv)방식의 분광기로 교체되었다.

[0288]

그러나 상기한 두 방식 모두 단점이 존재하여 사용에 제한이 많았다.

[0289]

필터 방식의 분광기는 파장을 선택하는데 한계가 존재하여 충분한 데이터를 확보하지 못하는 단점이 있다.

[0290]

그리고 분산형 근적외선 분광기는 단색광 장치(monochromator)에 들어있는 격자(grating)의 기계적인 회전과 슬릿(Slit)의 움직임으로 측정이 가능하므로, 빠르고 정확하게 현장에서 바로 사용할 수 있는 장치이다.

[0291]

이에 따라, 본 발명은 푸리에 변환 근적외선 연구로 최적의 경로길이를 획득할 수 있는 연구를 토대로 온라인 분광분석 장치 구축이 용이한 휴대형 근적외선 분광분석 장치를 이용하여 현장 적용성이 뛰어나고, 가격이 보다 저렴한 산업용 막걸리 품질 모니터링 시스템을 개발하고 성능을 평가하였다.

[0292]

1) 푸리에 변환 근적외선 분광측정

[0293]

근적외선 분광광도계는 분광하는 방식에 따라 분산형과 간섭형으로 나눌 수 있다.

- [0294] 간섭형은 푸리에 변환 분광광도계에 사용하는 방식으로 광원에서 나온 복사선이 빔 스플리터(beam splitter)에 의해 두 개의 빔으로 갈라진다. 하나는 반사되어 고정거울로 진행하고, 다른 하나는 투과한 다음 이동거울에 의해 반사되어 다시 하나로 합쳐져 간섭형태가 된다.
- [0295] 이러한 현상은 고정거울에서 반사된 복사선과 1 ~ 2초간에 2 ~ 3 mm를 이동하는 이동거울에서 반사된 복사선의 광로차 때문에 간섭파가 발생하는 원리이다.
- [0296] 간섭파를 푸리에 변환하면, 시간 영역에서 진동수 영역으로 각 파장에 따른 흡수 혹은 투과스펙트럼이 얻어지게 된다.
- [0297] 표 6은 본 발명에서 사용된 푸리에 변환 근적외선 분광분석 장치의 제원 테이블이다.

표 6

Items	Specifications
Detection	High-sensitivity, high-stability matched InGaAs
Interferometer	Proven frictionless, stable, long-life michelson
Instrument dimensions	40.6 cm (width) x 68.5 cm (depth) x 33 cm (height)
Weight	47.7 kg
Source	Long-life, high intensity halogen NIR source; spare source included with system, guaranteed filament image alignment
System status indicators	Indicator lights report scan, laser, power, and source status continuously
Operator communication indicators	Red, yellow and green LED indicators communicate pass/fail/prompt
Sealed and desiccated	Yes
Purge	Optional
Operating temperature range	15 ~ 35 °
Power requirements	90-264 VAC
Integrated computing	Optional
Communications	Plug and Play USB communications to PC, no addressing or administration required
Network and control System communications	Direct PC to ethernet allows file system and OPC communications
Spectral range	12000 ~ 3800 cm^{-1} (833 ~ 2630 nm)
Resolution	4 cm^{-1} across spectral range (0.6 nm at 1250 nm); 2 cm^{-1} option across spectral range (0.3 nm at 1250 nm)
Wavenumber reproducibility (system to system)	Better than 0.05 cm^{-1} (0.008 nm at 1250 nm)
Wavenumber repeatability (single system)	10 measurement standard deviation < .006 cm^{-1}
Wavenumber accuracy	$\pm 0.03 \text{ cm}^{-1}$ (0.005 nm at 1250 nm)
Photometric linearity (USP)	Slope 1.0 ± 0.05 and an intercept of 0.0 ± 0.05

- [0299] a) 푸리에 변환 근적외선의 최적 스펙트럼 획득 연구
- [0300] 막걸리는 탁도가 높고, 입사되는 근적외선의 에너지는 가시광선에 비해 낮기 때문에, 막걸리 시료에 대한 투과 스펙트럼을 측정하는 것은 쉽지 않다.
- [0301] 따라서 최적의 투과 스펙트럼을 획득하기 위해서는 석영 큐벳(quartz cuvette)의 경로길이(pathlength)를 조절하여 에너지 손실을 줄이고, 스펙트럼의 정보손실을 최소화하는 것이 중요하다.
- [0302] 도 6은 투과 스펙트럼을 획득하는데 필요한 경로길이별 석영 큐벳을 예시한 도면이다.
- [0303] 막걸리 샘플을 이용하여 스펙트럼을 얻은 후 분석에 적합한 최적의 경로길이를 가지는 석영 큐벳을 선정하였다.
- [0304] 도 6에서 왼쪽부터 경로길이가 크고, 오른쪽으로 갈수록 작은 경로길이를 가지는 석영 큐벳이다(1mm, 0.5mm, 0.2mm, 0.1mm).
- [0305] 약 0.5mm 경로길이의 석영 큐벳부터는 시료를 큐벳 면에 뿌린 후, 시료가 가지는 표면장력을 이용하여 덮개로

덮어 스펙트럼 측정을 위한 시료를 제작하였다.

[0306] 도 7은 각각의 다른 경로길이를 가지는 석영 큐벳에 막걸리 시료를 담아 측정한 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피로 투과스펙트럼을 흡광도로 나타낸 도면이다.

[0307] 근적외선의 투과는 Beer-Lambert 법칙을 따른다.

[0308] 수학식 2와 같이 흡광도가 2에 가깝거나 2 이상의 값이 될 경우 투과되는 빛이 거의 없는 것으로 판단할 수 있다.

[0309] 본 발명에서는 다양한 경로길이를 가지는 석영 큐벳을 막걸리 시료 측정에 적용함으로써, 고흡광도 현상이 발생하지 않는 큐벳의 경로길이를 구명한다.

[0310] 도 7의(a), (b), (c)는 흡광도가 2 이상의 영역이 많아 투과된 신호가 매우 낮아 분석에 활용 가능한 스펙트럼으로 보기 어렵다.

[0311] 그러나 도 7의 (d)에 도시된 0.1mm 경로길이인 석영 큐벳에서 투과된 스펙트럼의 흡광도는 2 이하로 나타났으므로, 투과된 스펙트럼이 분석에 활용될 수 있는 것으로 판단되었다.

[0312] 따라서 이를 이용하여 막걸리가 발효되는 동안 막걸리 시료의 스펙트럼을 획득하였다.

[0313] 또한, 해상도는 4cm^{-1} 로 하여 3113의 데이터로 구성된 스펙트럼을 획득하였다.

[0314] 0.1mm 경로길이의 석영 큐벳은 적합한 흡광도 범위를 가지나, 흡광도의 변환과정에서 수분 영역에 해당하는 중요한 2개의 피크에 노이즈가 포함되어 있었다.

[0315] 도 8은 평활화를 통하여 스펙트럼에 포함된 노이즈를 제거하기 위한 과정을 예시한 도면이다.

[0316] 도 8의 (a)는 최초 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피에서 획득한 스펙트럼이고, 도 8의 (b)는 X축을 파수(wavenumber)를 파장(wavelength)으로 변환하여 나타낸 것이며, 도 8의 (c)에는 평활화 방법을 통해 노이즈가 제거된 상태가 예시되어 있다.

[0317] 2) 분산방식 근적외선 분광측정

[0318] 본 발명에서는 온라인 분광분석 시스템 및 예측모델을 개발하기 위하여 휴대형 분산형(Dispersive) 근적외선 분광분석 장치를 이용하였다.

[0319] 휴대형 분산형 근적외선 분광분석 장치는 투과스펙트럼의 분석과 실시간 모니터링을 위한 장치로 사용되었다.

[0320] 도 9는 휴대형 근적외선 분광분석 장치의 구성도이고, 표 7은 휴대형 근적외선 분광분석 장치의 제원 테이블이다.

표 7

[0321]	Item	Specifications
	Manufacturer	Ocean Optics
	Model	NIRQuest512-2.5
	Dimensions	$182 \times 110 \times 47 \text{ mm}$
	Detector	InGaAs linear array
	Wavelength range	$900 \sim 2500 \text{ nm}$
	Integration time	$1 \sim 200 \text{ ms}$
	Signal-to-noise ratio	4000:1 @ 10 ms integration
	Dark noise	24 RMS counts@ 30 ms
	Grating-standard	Grating NIR1, 75 I/mm
	Standard slit	$200 \mu\text{m}$
	Order-sorting filter	OSF-NIRQUEST256-2.5
	Resolution	25 nm FWHM (full width half maximum)
	Fiber optic connector	SMA 905

[0322] 도 9에 도시된 바와 같이, 휴대형 근적외선 분광분석장치는 SMA 커넥터(1), 입구 슬릿(2), 롱 패스 필터(3), 광축 조정 미러(4), 회절부(5), 초점 미러(6), 검출기(7)를 포함할 수 있다.

- [0323] 즉, 광원부에서 나온 빛이 샘플을 통과한 후, 휴대형 근적외선 스펙트로미터의 입구 슬릿(slit)을 지나 분산 장치를 통과하여 거울을 통한 회절부(grating)로 이동하게 된다. 회절부를 지난 빛은 분산되어 검출기(InGaAs sensor)에 도달하고 전기신호로 바뀌게 된다.
- [0324] 일반적으로, 휴대형 스펙트로미터는 유리광섬유를 이용하여 스펙트럼을 획득하는 구조로 되어 있으며, 유리광섬유를 이용할 경우 대략 10 ~ 20% 정도의 에너지 손실을 야기하게 된다.
- [0325] 본 발명에서는 2100nm 이상의 영역에서 막걸리 품질과 관련된 중요한 스펙트럼이 손실될 수 있다고 판단하여, 유리광섬유를 사용하지 않고, 도 10에 도시된 바와 같이, 온라인 모니터링 시스템을 구축하였다.
- [0326] 도 10은 기초실험용 막걸리 발효 모니터링 시스템의 예시도이다.
- [0327] 기초실험용 막걸리 발효 모니터링 시스템은 도 10에 도시된 바와 같이, 광원과 휴대형 스펙트로미터를 포함한다.
- [0328] 광원은 할로겐램프를 사용하고, 광원과 샘플용 지그 및 휴대형 스펙트로미터와의 거리를 약 10cm간격으로 일정하게 유지하였다.
- [0329] 스펙트로미터의 수광부가 비스듬히 되어 있어 진행방향에 맞게 각도를 조절하여 최상의 스펙트럼을 획득할 수 있다.
- [0330] a) 분산방식 스펙트로미터의 최적 스펙트럼 획득 연구
- [0331] 본 발명에서는 휴대형 스펙트로미터와 0.1mm 경로길이의 석영 큐벳으로 최적의 스펙트럼을 획득하기 위하여, 노출시간(integration time), 최적 평균스펙트럼 획득 수, 잡음 제거방식 등을 선택하는 실험을 수행하였다.
- [0332] 스펙트로미터가 지원하는 최대 강도는 약 65,000이므로, 광원으로부터 공기를 통과하여 스펙트로미터에 도달하는 레퍼런스 강도(reference intensity) 값이 약 50,000 정도가 되도록, 프로그램에서 노출 시간을 최소 3ms로 하고, 8회 평균하여 스펙트럼을 나타내도록 설정하였다.
- [0333] 광원의 세기는 광원세기 조절장치를 이용하여 컴퓨터로 제어가 가능하다.
- [0334] 본 실험에서는 최대 100W의 광원의 세기를 최대값의 약 33%로 설정하여 약 50,000의 강도를 가지는 스펙트럼을 받을 수 있었다.
- [0335] 도 11은 스펙트로미터를 이용해서 60분간 측정된 스펙트럼이다.
- [0336] 이에 따라, 도 11에 도시된 바와 같이, 30분 이후 측정된 스펙트럼 강도가 일정한 값을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0337] 실험 장치에서 발생하는 노이즈를 줄이기 위해, 프로그램에서 제공하는 구간 평균법 평활화를 3포인트로 설정하여 노이즈에 의한 미세영역의 스펙트럼 손실을 최소화할 수 있도록 설정한 후, 푸리에 변환 근적외선 스펙트럼 스코피와 유사한 스펙트럼을 획득할 수 있었다.
- [0338] 마. 막걸리 발효 자동 모니터링 시스템
- [0339] 1) 막걸리 발효조 구축
- [0340] 도 12는 막걸리 발효 모니터링 시스템의 구성도이고, 도 13은 도 12에 도시된 막걸리 발효 모니터링 시스템을 포함하는 막걸리 품질 예측 온라인 시스템의 구성도이다.
- [0341] 도 12 및 도 13에 도시된 바와 같이, 막걸리 발효 자동 모니터링 시스템은 막걸리를 발효하는 발효조(10)와 발효조(10)의 동작을 제어하는 발효조 제어부(20)를 포함할 수 있다.
- [0342] 그리고 본 발명에 따른 막걸리 품질 예측 온라인 시스템(30)은 상기한 막걸리 발효 자동 모니터링 시스템과 광원(31), 광원 제어부(32), 휴대형 스펙트로미터(33) 및 제어부(34)를 포함할 수 있다.
- [0343] 발효조(10) 내부의 용량은 약 10L이며, 최대 7L의 막걸리를 발효할 수 있다.
- [0344] 발효조(10)는 멸균이 가능하도록 강화내압유리(pyrex) 재질로 제조될 수 있다.
- [0345] 이러한 발효조(10)는 이중구조로 구성되고, 수냉식으로 온도를 조절할 수 있다.
- [0346] 발효조(10)에는 막걸리를 균일하게 발효시킬 수 있도록 모터(11)의 의해 구동되는 3단 터빈 임펠러(turbine

impeller)(12)가 마련될 수 있다.

- [0347] 발효조 제어부(20)는 발효조(10)에 마련된 각 장치 및 발효조(10)에서 발효된 막걸리를 튜브를 따라 순환시키는 튜브연동 펌프(peristaltic pump)(21)의 동작을 제어할 수 있다.
- [0348] 예를 들어, 발효조 제어부(20)는 발효가 진행되는 동안 온도 및 임펠러(12)의 회전수(rpm)와 시간간격, 온라인 측정을 위한 튜브연동 펌프(21)의 흐름속도를 조절하도록 제어할 수 있다.
- [0349] 튜브연동 펌프(21)는 튜브를 롤러로 밀어주어서 액체를 이송시키는 펌프 종류 중의 하나로서, 방식에 따라 불과 같은 단일 롤러의 형태와 여러 개의 롤러를 이용하여 움직이는 연동펌프 형태가 있다.
- [0350] 본 발명에서 튜브연동 펌프(21)는 2개의 롤러를 이용해서 액체를 이송시킬 수 있다.
- [0351] 발효조(10)에서 발효된 막걸리는 튜브연동 펌프(21)의 동작에 의해 실리콘 재질로 제조된 튜브를 따라 막걸리 품질 예측 온라인 시스템(30)으로 이동되어 측정되고 다시 발효조(10) 내부로 회수된다.
- [0352] 본 발명에서는 안정된 스펙트럼 측정을 위해, 막걸리의 지게미를 제거하도록 2차에 걸쳐 필터링을 수행한다.
- [0353] 이를 위해, 발효조(10)에는 내부에 삽입된 튜브를 감싸 막걸리의 지게미 등을 1차 필터링하는 제1 여과장치(13)가 마련되고, 상기 튜브에는 튜브연동 펌프(21)를 지나 0.1 mm 경로길이인 석영 큐벳(35)으로 진입하기 전에 2차 필터링을 수행하는 제2 여과장치(22)가 마련될 수 있다.
- [0354] 2차 여과장치(22)는 내부에 약 100매쉬(mesh)의 거름망을 포함할 수 있다.
- [0355] 제어부(34)는 막걸리 샘플이 석영 큐벳(35)을 통과할 때 일정한 시간동안 스펙트럼을 획득하고, 획득된 스펙트럼을 데이터베이스(도면 미도시)에 저장하도록 제어할 수 있다.
- [0356] 그리고 측정된 막걸리는 품질인자 검증을 위해 샘플로 채취될 수 있다.
- [0357] 2) 발효공정 자동 모니터링 측정시스템
- [0358] 도 14는 본 발명에 따른 막걸리 품질 예측 분광분석 방법을 단계별로 설명하는 공정도이고, 도 15는 제어부에서 자동측정 프로그램을 실행한 화면의 예시도이다.
- [0359] 도 14의 S30단계에서 발효조(10)는 내부에 저장된 막걸리를 발효하고, 이때 발효조(10)에 마련된 터빈 임펠러(12)가 모터(13)의 구동에 의해 구동되어 막걸리를 균일하게 발효시킨다.
- [0360] S32단계 및 S34단계에서 휴대형 근적외선 스펙트로미터(33)는 노이즈 스펙트럼과 기준 스펙트럼을 측정한다.
- [0361] S36단계에서 발효조 제어부(20)는 튜브연동 펌프(21)의 구동시키고, 튜브를 통해 이동하는 막걸리의 흐름속도를 조절하도록 튜브연동 펌프(21)의 구동을 제어한다.
- [0362] S38단계에서 휴대형 근적외선 스펙트로미터(33)는 막걸리 샘플의 샘플 스펙트럼을 측정한다.
- [0363] 이에 따라, 제어부(34)는 측정된 막걸리 샘플의 분광분석을 수행하고, 분석결과를 화면에 표시하도록 제어한다(S40).
- [0364] 이때, 제어부(34)는 도 15에 도시된 바와 같이, 메모리(도면 미도시)에 저장된 자동측정 프로그램을 실행시켜 발효가 진행 중인 막걸리에서 온라인 투과스펙트럼을 획득할 수 있다.
- [0365] 상기 자동측정 프로그램은 기준 스펙트럼(reference spectrum), 다크 스펙트럼(dark spectrum), 샘플 스펙트럼(sample spectrum)을 획득하여 흡광도를 그래프로 표시할 수 있다.
- [0366] 또한, 상기 자동측정 프로그램은 기초 실험에서 설정한 통합 시간(integration time), 스캔 넘버(scan number), 이동 평균(moving average)을 조절할 수 있다.
- [0367] 자동측정 프로그램은 측정된 스펙트럼을 내부에 장착된 예측모델을 이용해서 연산하여 품질인자인 알코올함량, 당 함량, 적정산도를 표시할 수 있다.
- [0368] 분광분석 과정이 완료되면, S42단계에서 터빈 임펠러(12) 및 튜브연동 펌프(21)의 구동을 중지하고, 종료한다.
- [0369] 4. 결과

- [0370] 가. 막걸리 발효 품질 분석
- [0371] 막걸리의 맛은 감미, 산미, 고미, 신미, 잡미의 5미와 알코올이 어우러져 특유의 맛을 낸다. 이는 미생물에 의한 발효 동안 생성되는 것으로, 주로 알코올 함량, 당도, 유기산 함량 등이 맛을 결정하게 된다.
- [0372] 영양적인 측면으로 볼 때, 막걸리는 단백질, 탄수화물, 비타민 등 다양한 성분을 함유하고 있는데, 다른 주류와 비교하여 상당히 높은 함량 수준을 보인다.
- [0373] 본 발명에서는 막걸리의 품질을 나타내는 대표적인 품질인자인 알코올 함량, 환원당 그리고 유기산에 의해 결정되는 적정산도의 발효 동안 품질 변화를 측정하고 분석할 수 있다.
- [0374] 1) 알코올 함량 분석 결과
- [0375] 알코올 함량은 고성능 액체크로마토그래피에 알코올 전용칼럼을 장착하여 측정하였다. 표준 에탄올을 준비하여 각각 0.1, 0.2, 0.5, 0.8% 농도가 되도록 제조하여 측정하였다.
- [0376] 도 16은 고성능 액체크로마토그래피에서 측정된 알코올 피크를 예시한 도면이고, 도 17은 고성능 액체크로마토그래피에 나타난 피크의 면적을 계산하여 검량식으로 나타낸 도면이다.
- [0377] 도 18은 고두밥 투입 후 에탄올 변화를 예시한 도면이다.
- [0378] 도 18의 (a)와 (b)에는 각각 멥쌀 고두밥과 찰쌀 고두밥 투입 당일부터 10일동안의 에탄올 변화가 도시되어 있다.
- [0379] 여기서, 재료와 물의 농도에 따라 에탄올의 농도가 3일 이후부터 차이가 두드러지게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.
- [0380] 그리고 고두밥 투입시기인 초기부터 2일까지는 알코올 함량이 급격히 증가하였고, 2일 후부터 6일까지는 완만히 증가하였다가 6일 이후부터는 매우 완만한 증가를 보였다.
- [0381] 본 발명에서 제조된 막걸리 샘플의 에탄올 함량은 멥쌀 고두밥으로 제조된 막걸리의 경우, 막걸리 제조 초기에서 발효 완료 시점까지 약 0.16 ~ 17.94% 정도로 나타났으며, 찰쌀 고두밥으로 제조된 막걸리는 약 0.15 ~ 17.73%로 나타났다.
- [0382] 멥쌀로 제조한 막걸리 중에 재료와 물의 비율이 1:1인 막걸리가 초기에 가장 낮은 알코올 함량과 발효 완료시점에서 가장 높은 알코올 함량을 보였다.
- [0383] 또한, 물의 비율이 낮을수록 알코올 함량이 높아지는 것으로 나타났다.
- [0384] 2) 환원당 함량 분석 결과
- [0385] 환원당은 미생물과 효소에 의해 막걸리의 주재료인 멥쌀과 찰쌀로부터 전분이 떨어져 나온 당으로, CBC 분석방법을 이용하여 액체 속에 녹아 있는 환원당의 함량을 측정하였다.
- [0386] 우선, 본 발명에서는 1 ~ 20 μ 의 농도로 제조된 표준 엿당으로 575nm 흡광도를 얻어 검량식을 작성하였다.
- [0387] 도 19는 CBC 방법을 이용한 환원당의 표준 검량식을 예시한 도면이다.
- [0388] 도 19에 도시된 바와 같이, 검량식의 결정계수에 영향을 미치는 1, 15, 16, 17 μ 의 측정값을 제외하고, 0.999의 결정계수(R^2)를 획득하였다.
- [0389] 막걸리 샘플에 대한 측정은 표 4에 나타난 시험조건과 같이 실시하였으며, 농도가 높은 샘플은 희석하여 검량식의 범위 내에서 환원당을 측정하고 환산하여 나타내었다.
- [0390] 도 20은 막걸리의 환원당 변화를 예시한 도면이다.
- [0391] 도 20의 (a)와 (b)에는 각각 멥쌀 고두밥과 찰쌀 고두밥 투입 당일부터 10일동안의 환원당 변화가 도시되어 있다.
- [0392] 도 20에 도시된 바와 같이, 환원당은 효모에 의해 알코올 대사에 이용되므로 시간이 지날수록 소모되어 낮아지게 된다.
- [0393] 특히, 고두밥 투입 직후보다는 하루가 지난 시점에서 함량이 최대를 나타내는데, 이는 고두밥이 주모와 반응하

여 초기에 고두밥의 전분이 당으로 전환이 가장 활발히 진행되었기 때문에 판단된다.

- [0394] 본 발명에서는 투입 직전부터 막걸리 완료시기까지 뽕쌀로 제조된 막걸리의 경우 약 0.32 ~ 20.63%의 환원당 함량이 확인되었으며, 찹쌀의 경우는 약 0.30 ~ 17.56%로 나타났다.
- [0395] 그리고 당도가 알코올 도수와 밀접한 관련이 있으므로, 당이 높게 검출된 G1, R1의 막걸리 샘플이 가장 높은 알코올 도수를 보였다.
- [0396] 3) 적정산도 분석 결과
- [0397] 적정산도는 주된 산을 대상으로 하며 산을 중화시키기 위해 투입된 수산화나트륨의 양을 환산하여 분석하는 방법이다.
- [0398] 따라서 적정산도를 계산하기 위해서는 본 발명에서 제조한 막걸리의 대표적인 유기산을 우선 확인할 필요가 있다.
- [0399] 막걸리에 대표적으로 포함되는 5종류의 유기산(citric acid, malic acid, lactic acid, succinic acid, acetic acid)을 대상으로 고성능 크로마토그래피로 정량하였다.
- [0400] 도 21은 유기산의 고성능 크로마토그래피를 이용하여 측정한 각각의 유기산 표준물질의 농도별 피크를 예시한 도면이고, 도 22는 고성능 크로마토그래피에서 농도별 피크의 면적을 구해서 각각의 유기산으로 검량식을 작성한 도면이다.
- [0401] 도 23은 발효 초기, 중기, 말기에 해당하는 1일차, 5일차, 10일차 샘플의 고성능 크로마토그래피로 분석한 결과 그래프이다.
- [0402] 약 89 ~ 94% 정도가 호박산으로 나타났으며, 호박산을 제외한 4종류의 유기산은 거의 미미한 함량이거나 검출되지 않았다.
- [0403] 따라서 본 발명에서는 적정산도를 계산하는데 호박산을 주산으로 하여 계산하였다.
- [0404] 적정산도의 실험방법은 20mL의 막걸리 시료를 이용하여 페놀프탈레인 지시약 1 ~ 2방울을 떨어뜨린 후 교반기에서 360rpm의 속도로 시료가 골고루 섞이도록 회전시켰다.
- [0405] 그리고 디지털 뷰렛(Digital burette III, BRAND, Germany)을 이용하여 1N 수산화나트륨을 교반기에서 회전하고 있는 막걸리 시료에 떨어뜨려 분홍색이 될 때까지 사용된 1N 수산화나트륨의 양을 호박산 1N의 역가인 0.059로 하여 적정산도를 구하였다.
- [0406] 도 24는 10일 동안 측정한 적정산도 결과 그래프이다.
- [0407] 도 24에서 재료와 물의 배합비율에 따라 확연한 차이를 나타내었다.
- [0408] 적정산도는 초기 2일차까지 크게 변하여 높은 적정산도를 나타내었으며, 이 후 일정하게 유지되었다.
- [0409] 다른 품질인자와 같이 적정산도 역시 재료와 물의 비율이 1:1인 경우 높은 적정산도의 함량을 나타내었고, 재료와 물의 배합비율에 따라 확연한 차이를 나타내었다.
- [0410] 뽕쌀로 제조된 막걸리의 경우, 약 0.15 ~ 0.72%를 나타내었으며, 찹쌀로 제조된 막걸리의 경우 0.14 ~ 0.71%를 나타내었다.
- [0411] 나. 근적외선 분광분석
- [0412] 1) 푸리에 변환 근적외선 분광분석
- [0413] 막걸리의 샘플 시료는 총 132개이고, 그 중에서 80%는 모델을 개발하는데 사용하였고, 20%는 모델을 검증하는데 사용하였다. 따라서 106개의 데이터를 모델을 개발하는데 이용하였고 26개의 데이터를 이용하여 검증하였다.
- [0414] 표 8은 개발 및 검증을 위해 나눠진 데이터의 평균과 최소값, 최대값, 표준편차 테이블이다.

표 8

	Number	Mean	Range	Standard deviation
Calibration	106	10.71	0.15 ~ 17.94	4.75
Prediction	26	10.59	0.16 ~ 17.11	4.69

[0416] 표 9는 환원당의 PLSR 회귀 모델을 개발하기 위하여 사용된 데이터의 평균, 표준편차, 데이터 범위 테이블이다.

표 9

[0417]

	Number	Mean	Range	Standard deviation
Calibration	106	4.52	0.30 ~ 20.63	4.81
Prediction	26	4.23	0.33 ~ 16.06	4.42

[0418]

알코올 함량을 예측하기 위한 데이터 구성과 동일한 방법을 사용하였다.

[0419]

표 10은 적정산도의 예측모델을 개발하기 위해서 사용된 데이터 구성테이블이다.

표 10

[0420]

	Number	Mean	Range	standard deviation
Calibration set	106	0.54	0.14 ~ 0.71	0.12
Prediction set	26	0.54	0.18 ~ 0.70	0.12

[0421]

데이터를 나누는 방법은 알코올 함량의 예측모델 개발에서와 같이 동일한 방법을 사용하였다.

[0422]

2) 분산방식 근적외선 분광분석

[0423]

본 발명에서는 푸리에 변환 근적외선 분광기를 이용하여 막걸리 품질 예측모델을 개발하는 기초실험과 이를 토대로 경제적이고, 현장적용성이 뛰어나며, 실시간 온라인 분광분석이 용이한 분산형 NIR 스펙트로미터로 막걸리 품질 모니터링 시스템을 개발하고자 하였다.

[0424]

도 25는 분산형 근적외선 스펙트로미터로 획득한 투과스펙트럼의 예시도이고, 도 26은 휴대형 근적외선 스펙트로미터로 획득한 전체 투과스펙트럼의 예시도이다.

[0425]

획득한 스펙트럼의 약 1550 ~ 1618nm 영역에서 기기 자체에서 발생하는 노이즈가 있어 평활화 기법을 이용하여 최소화하였다.

[0426]

획득한 스펙트럼은 약 900 ~ 2500nm이었으나, 실제 분석에서는 앞부분과 뒷부분의 기기적인 노이즈를 제거한 약 950 ~ 2450nm 영역에 해당하는 총 478개의 스펙트럼 데이터를 이용하였다(도 37 참조).

[0427]

투과스펙트럼은 푸리에 변환 근적외선 스펙트로스코피에서 획득한 흡광도와 유사하게 나타났으며, 약 1450nm의 범위에서 0-H 그룹과 관련된 흡수 영역이 나타났으며, 1950 nm범위에서 수분의 흡수 영역이 확인되었다.

[0428]

또한, 알코올의 함량과 관련된 약 2200 ~ 2350nm 영역에서도 미세한 스펙트럼의 변화가 관찰되었다.

[0429]

도 27은 막걸리의 흡광도 변화 그래프이다.

[0430]

도 27의 (a)와 (b)에는 맵쌀을 이용하는 경우가 도시되어 있고, 도 27의 (c)와 (d)에는 찰쌀을 이용하는 경우가 도시되어 있다.

[0431]

이는 0.1 mm 경로길이를 가지는 큐벳으로 정지된 상태의 시료를 측정하여 나타낸 투과스펙트럼이다.

[0432]

초기에는 막걸리 조성에 사용된 재료 및 물의 비율이 서로 달라 스펙트럼의 흡수가 물의 농도에 많은 영향을 받는 흡광도로 나타났다. 이후, 도 38의 (b)와 (d)의 10일차 그래프와 같이 발효가 진행되면서 피크의 변화 폭이 줄어들고, 약 2200 ~ 2350nm 영역의 변화가 발생하는 것을 확인할 수 있었다.

[0433]

약 1000 ~ 1650nm 영역의 초기의 흡광스펙트럼에서는 평평한 형태를 나타내나, 10일차에서는 기울기를 가지는 흡광도가 관찰되었다.

[0434]

본 발명에서의 스펙트럼도 약 1000 ~ 1200nm 영역에서 평평하게 나타났으며, 발효 동안 증가한 알코올 함량 때문에 점차 기울기를 가지는 흡광도로 변화하였다.

[0435]

막걸리의 샘플 시료는 푸리에 변환 근적외선에서 언급한 방식과 동일하게 데이터를 분리하여 사용하였다.

[0436]

즉, 총 132개의 스펙트럼에서 outlier 3개의 스펙트럼을 제외하고 129개의 스펙트럼 중 80%는 모델을 개발하는

데 사용하였고 20%는 모델을 검증하는데 사용하였다.

[0437] 각각은 모델 개발과 검증으로 나누는 과정에서 에탄올과 적정산도를 개발하는 모델은 104개를 이용하였고 25개를 검증에 사용하였다.

[0438] 환원당을 이용한 모델은 103개로 모델을 개발하는데 이용하였고, 26개를 검증에 이용하였다.

[0439] 표 11은 휴대형 근적외선 장치로 획득한 스펙트럼으로 알코올 함량을 모델링한 결과 테이블이다.

표 11

[0440]

Preprocessing		Calibration		Validation		Pc No.	Prediction		RPD
		R_c^2	SEC(%)	R_v^2	SEV(%)		R_p^2	SEP(%)	
Raw		0.975	0.745	0.959	0.965	7	0.968	0.841	5.82
Normal-ization	Mean	0.943	1.124	0.924	1.309	5	0.919	1.409	3.47
	Max.	0.964	0.887	0.949	1.066	6	0.951	1.071	4.57
	Range	0.980	0.656	0.970	0.822	7	0.966	0.891	5.49
MSC		0.977	0.706	0.967	0.858	6	0.986	0.568	8.62
SNV		0.980	0.655	0.966	0.877	8	0.982	0.657	7.45
Norris-gap	1 st deri.	0.976	0.731	0.954	1.019	5	0.979	0.723	6.77
	2 nd deri.	0.973	0.762	0.939	1.165	5	0.980	0.704	6.95
S. Golay	1 st deri.	0.973	0.775	0.954	1.013	5	0.977	0.747	6.55
	2 nd deri.	0.970	0.818	0.927	1.278	5	0.968	0.879	5.57

[0441] 개발된 모델 모두 0.95 이상의 우수한 결정계수를 나타내었다.

[0442] 몇몇의 전처리 모델에서 아무런 전처리를 하지 않은 모델보다 우수한 결과를 나타내었지만 결정계수가 높아 과적합(over-fitting)의 경향으로 간주하였다.

[0443] 따라서 가장 우수한 모델은 아무런 처리를 하지 않은 모델로 선정하였으며, 0.968의 결정계수와 0.841%의 SEP를 보였다. RPD는 5.82로 나타났다.

[0444] 도 28은 회귀 계수 그래프이고, 도 29는 개발된 모델의 그래프이며, 도 30은 가장 우수한 모델을 이용한 예측 결과와 예측값에 대한 편차 그래프이다.

[0445] 표 12는 환원당의 PLSR 결과 테이블이다.

표 12

[0446]

Preprocessing		Calibration		Validation		Pc No.	Prediction		RPD
		R_c^2	SEC(%)	R_v^2	SEV(%)		R_p^2	SEP(%)	
Raw		0.960	0.969	0.935	1.248	8	0.930	1.176	3.78
Normal-ization	Mean	0.950	1.087	0.925	1.344	7	0.915	1.282	3.47
	Max.	0.964	0.919	0.943	1.163	8	0.934	1.138	3.91
	Range	0.961	0.958	0.931	1.287	8	0.933	1.148	3.87
MSC		0.982	0.654	0.936	1.233	10	0.962	0.812	5.47
SNV		0.980	0.691	0.932	1.276	11	0.956	0.899	4.94
Norris-gap	1 st deri.	0.967	0.878	0.926	1.324	10	0.954	0.952	4.67
	2 nd deri.	0.970	0.831	0.937	1.224	7	0.955	0.873	5.09
S. Golay	1 st deri.	0.976	0.752	0.918	1.400	10	0.940	1.012	4.39
	2 nd deri.	0.964	0.912	0.906	1.496	8	0.942	0.980	4.54

[0447] 환원당의 PLSR 결과, 모든 PLSR의 결과에서 0.915 이상의 결정계수를 나타내었다.

[0448] 가장 낮은 SEP는 0.812%로서, 알코올 함량의 PLSR과 같이 MSC 전처리를 한 모델에서 도출되었는데, 이때 검증된 결정계수는 0.962이었으며 RPD는 5.47이었다.

[0449] 도 31은 가장 우수한 모델의 회귀 계수 그래프이고, 도 32는 개발된 모델의 측정된 값과 예측된 값을 나타낸 그래프이며, 도 33은 가장 우수한 모델을 이용한 예측 결과와 예측값에 대한 편차 그래프이다.

[0450] 표 13은 적정산도를 예측하기 위한 전처리별로 PLSR 결과 테이블이다.

표 13

Preprocessing		Calibration		Validation		Pc No.	Prediction		RPD
		R_c^2	SEC(%)	R_v^2	SEV(%)		R_p^2	SEP(%)	
Raw		0.920	0.036	0.908	0.039	5	0.851	0.043	2.74
Normal- ization	Mean	0.924	0.035	0.891	0.042	7	0.827	0.047	2.51
	Max.	0.913	0.037	0.901	0.040	5	0.864	0.041	2.88
	Range	0.914	0.037	0.895	0.042	6	0.834	0.043	2.74
MSC		0.892	0.042	0.873	0.046	3	0.868	0.039	3.03
SNV		0.894	0.041	0.873	0.046	4	0.855	0.042	2.81
Norris-gap	1 st deri.	0.923	0.035	0.910	0.038	5	0.864	0.042	2.81
	2 nd deri.	0.929	0.034	0.904	0.040	4	0.893	0.038	3.10
S. Golay	1 st deri.	0.931	0.033	0.910	0.038	6	0.878	0.040	2.95
	2 nd deri.	0.940	0.031	0.920	0.036	6	0.896	0.037	3.19

[0452] 적정산도를 예측하기 위한 전처리별로 PLSR 결과, 개발된 모델은 약 0.827 ~ 0.896의 결정계수를 나타내었으며, 가장 우수한 모델은 Savitzky-Golay의 2차 미분 처리를 하였을 경우, SEP가 0.037%이었으며, 이때 결정계수는 0.896이었다.

[0453] 특히, Savitzky-Golay 미분은 평활화를 41포인트로 하였을 때 가장 좋은 모델을 획득할 수 있었다. 이때 RPD는 3.19이었다.

[0454] 적정산도 역시 FT-NIR의 스펙트럼 분석과 같이 낮은 수치를 나타내었으나, 모델의 적합성에서는 더 나은 결과를 보였다.

[0455] 도 34는 가장 우수한 모델에서의 회귀계수를 나타낸 그래프이고, 도 35는 개발된 모델의 예측값을 나타낸 그래프이며, 도 36은 개발된 모델을 이용하여 검증한 예측 결과와 예측값의 편차 그래프이다.

[0456] 다. 막걸리 발효 자동모니터링 결과

[0457] 1) 온라인 모니터링용 분광분석 장치 구축

[0458] 본 발명에서는 튜브연동 펌프를 통해 발효조로부터 막걸리를 분광분석 시스템으로 이동시키고, 스펙트럼을 측정 후 발효조로 다시 들어가도록 구성하였다.

[0459] 투과스펙트럼 획득은 안정적인 값을 획득하기 위하여 초기 8회 스캔하여 하나의 스펙트럼을 획득하도록 구성하였고, 또한 프로그램에서 일정시간 동안 스펙트럼을 획득한 후 평균하여 나타내도록 하였다.

[0460] 따라서 8회를 받아서 평균하여 하나의 스펙트럼으로 저장하고, 3초 간격으로 하나의 스펙트럼을 획득하는 방식으로 총 300개의 데이터를 획득하고, 하나의 평균 스펙트럼으로 나타내어 예측에 활용하였다.

[0461] 자동측정 프로그램에서 품질인자 디스플레이 부분은 기초 실험에서 개발된 PLSR 모델 중 가장 우수한 모델을 이용하여 알코올, 당도, 적정산도를 예측하여 나타내도록 하였다.

[0462] 즉, 수학적 식 25에 나타낸 바와 같이, 실험 분석을 통해 개발한 우수한 모델로부터 알코올, 환원당, 적정산도의 β_i, β_0 를 데이터베이스화하고, 입력되는 스펙트럼과 연산한 후 알코올 함량, 환원당, 적정산도 값을 나타내도록 하였다.

수학적 식 25

$$\hat{Y} = \beta_i \times X_i^m + \beta_0$$

- [0464] 여기서, i : Vector size (478), $\hat{Y}$: Predicted result (ethanol amount, reducing sugar amount, and titratable acid), β_i : β -coefficient Calculated by optimal developed PLSR, X_i^n : Each sample spectrum (absorbance), β_0 : Constant
- [0465] 도 37은 10일 동안 온라인 시스템을 이용하여 획득된 투과스펙트럼을 흡광도로 나타낸 그래프이다.
- [0466] 온라인 시료는 재료와 물의 배합비율을 R2와 동일하게 실험하였다.
- [0467] 획득한 스펙트럼은 정지 상태에서 획득한 스펙트럼으로부터 개발된 PLSR 모델 중 가장 우수한 모델로 예측 가능성을 평가하였다.
- [0468] 도 38은 맵쌀을 고두밥으로 이용하여 제조된 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 고두밥 투입 일부 10일차까지 실제 화학적 분석방법으로 측정한 값과 온라인 스펙트럼 획득을 통해 예측한 값을 비교한 결과 그래프이다.
- [0469] 도 38의 (a)에는 알코올 함량 예측을 위하여 가장 우수한 모델인 전처리를 하지 않은 PLSR 알코올 모델을 이용하여 예측된 값과 실측값과의 산포도가 도시되어 있다.
- [0470] 상관계수(r)는 0.991이며, SEP는 0.615%이었다.
- [0471] 도 38의 (b)에는 실측값과 예측된 값을 날짜별로 나타낸 그래프이다.
- [0472] 2 ~ 5일차에는 예측된 값과 실측값이 유사하게 나타났으나, 그 외의 날짜별로 예측된 값은 실측값과 다소 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었다.
- [0473] 도 38의 (c)는 환원당 함량을 예측하기 위하여 가장 우수한 모델인 MSC 전처리를 한 PLSR 모델로 예측된 값과 실측값으로 나타낸 산포도이다. 상관계수가 0.947이고, SEP가 1.298%로 알코올 함량의 예측보다 낮은 예측결과를 나타내었다.
- [0474] 도 38의 (d)에서 1일차는 유사한 결과를 나타내었으나, 다른 날짜에서는 모두 예측된 값이 실측값보다 높게 나타났다.
- [0475] 도 38의 (e)에는 가장 우수한 Savitzky-Golay의 2차 미분 전처리를 한 PLSR 적정산도 모델을 이용하여 예측값과 실측값으로 나타낸 산포도가 도시되어 있다.
- [0476] 상관계수가 다른 모델에 비해 가장 낮은 0.927이었으며, 0.042%의 SEP를 나타내었다.
- [0477] 도 38의 (f)에는 날짜별 예측된 값과 실측값을 비교한 그래프가 도시되어 있고, 초기 3일차까지 오차가 매우 낮았으나, 4일 이후부터 오차가 커지는 경향을 보였다.
- [0478] 품질인자별 예측된 값과 실측값을 비교한 결과 모델의 성능은 품질인자들 중에서 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도의 순으로 우수한 결과를 보였다.
- [0479] 각각의 품질인자별로 편차가 발생한 이유는 시료가 정지해 있을 때와 온라인 측정에서는 시료가 계속 큐벳을 통과하는 동안 스펙트럼을 측정할 때, 측정조건에 차이가 발생하므로 정지 상태에서 개발한 PLSR 모델을 흐름주입식 온라인 측정방식에 적용한 것이 오차를 유발한 것으로 판단된다.
- [0480] 5. 종합결론 및 요약
- [0481] 본 발명에서는 발효 중인 막걸리의 품질인자를 비파괴적으로 신속하게 측정할 수 있는 근적외선(900 ~ 2500 nm) 분광분석방법을 이용하였다. 분광분석법에 의해 개발된 품질예측 모델을 이용하여 발효 중인 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 실시간으로 예측할 수 있는 온라인 시스템을 개발하고 개발된 시스템의 성능을 평가할 수 있다.
- [0482] 그리고 푸리에 변환 근적외선 스펙트로미터를 이용하여 막걸리 품질 측정을 위한 최적의 스펙트럼을 획득하기 위한 연구를 수행하였고, 최적의 투과스펙트럼은 0.1 mm 경로길이를 적용했을 때 획득할 수 있었다.
- [0483] 또, 온라인용 분광분석 시스템 개발을 위한 기초용 분광분석 시스템을 제작하고, 광원과 분산형 근적외선 스펙트로미터 간의 거리는 100mm, 노출시간은 3ms, 구간평균을 3포인트로 하여 최적의 흡광 스펙트럼을 획득하였다.
- [0484] 또한, 막걸리 발효 동안 분산형 근적외선 스펙트로미터로 막걸리의 투과스펙트럼을 획득하고, 막걸리 품질인자

로 알코올 함량은 고성능 액체크로마토그래피를 이용해서 측정하며, 환원당은 CBC 분석법으로 측정하였으며, 주요 유기산을 고성능 액체크로마토그래피로 측정하여, 선정한 후 적정법으로 적정산도를 측정하였다.

- [0485] 알코올 함량은 약 0.15 ~ 17.73%의 범위를 나타내었고, 환원당은 약 0.30 ~ 20.63%의 범위를 보였으며, 적정산도는 0.14 ~ 0.72%의 범위를 나타내었다.
- [0486] 또한, 푸리에 변환 근적외선 시스템보다 경제적이고, 현장적용성이 뛰어나며, 실시간 온라인 분광분석 시스템 및 프로그램 개발이 용이한 분산형 근적외선 스펙트로미터를 이용하여 PLSR의 모델을 개발하였다.
- [0487] 알코올 함량의 경우 전처리를 하지 않은 모델에서 가장 우수한 모델이 개발되었으며, 결정계수는 0.968이며, SEP와 RPD는 각각 0.841%과 5.82이었다.
- [0488] 환원당은 MSC의 전처리를 실시한 경우 가장 우수한 모델이 개발되었으며, 0.962의 결정계수와 0.812%, 5.47의 SEP 및 RPD를 나타내었다.
- [0489] 적정산도는 Savitzky-Golay의 2차 미분 전처리에서 가장 우수한 모델이 개발되었다. 이때, 결정계수는 0.896이며, SEP와 RPD는 각각 0.037%와 3.19이었다.
- [0490] 또한, 온라인 시스템 구축을 위한 발효조를 설계하였으며, 시스템 제어부는 온도, 임펠러, 튜브연동 펌프 등을 제어할 수 있게 설계하여 막걸리 발효 동안 일정한 환경을 유지할 수 있도록 제작하였다.
- [0491] 이와 함께, 자동측정 프로그램을 개발하여 실시간으로 스펙트럼 획득과 동시에 PLSR 모델로부터 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도가 자동적으로 계산되어 표시되도록 하였다.
- [0492] 막걸리는 튜브연동 펌프에 의해 발효조에서 분광분석 시스템으로 이동하여 스펙트럼 획득 후 발효조로 다시 합류하도록 설계하였다.
- [0493] 또한, 개발된 모델의 검증 및 성능을 평가하기 위하여, R2와 동일한 조건의 막걸리를 발효조에서 제어하고 온라인 큐벳으로 투과스펙트럼을 획득하여 품질인자별로 우수한 모델을 적용하였다.
- [0494] 스펙트럼의 획득은 3초 간격으로 총 300개의 데이터를 획득하고, 하나로 평균하였다.
- [0495] 알코올 함량의 예측된 값의 경우, 상관계수가 0.991로 나타났으며, SEP는 0.615%이었다.
- [0496] 환원당의 예측된 값의 경우, 상관계수가 0.947이었으며, SEP는 1.298%로 나타났다.
- [0497] 적정산도는 0.927의 상관계수가 확인되었으며, SEP는 0.042%이었다.
- [0498] 각각의 품질인자는 예측된 값과 실측값이 초기에 유사하게 나타나는 경향을 보였으며, 시간이 지날수록 오차가 커지는 것을 확인할 수 있었다.
- [0499] 이는 모델의 개발을 위해 측정한 스펙트럼과 온라인 시스템에서 측정한 스펙트럼의 측정 조건이 달랐기 때문으로 판단된다.
- [0500] 이상 본 발명자에 의해서 이루어진 발명을 상기 실시 예에 따라 구체적으로 설명하였지만, 본 발명은 상기 실시 예에 한정되는 것은 아니고, 그 요지를 이탈하지 않는 범위에서 여러 가지로 변경 가능한 것은 물론이다.
- [0501] (산업상 이용가능성)
- [0502] 본 발명은 발효 중인 막걸리의 품질인자를 비파괴적으로 신속하게 측정할 수 있는 근적외선 분광분석방법을 이용해서 품질예측 모델을 선정하고, 이를 이용해서 발효 중인 막걸리의 알코올 함량, 환원당 함량, 적정산도를 실시간으로 예측할 수 있는 온라인 시스템을 제공하며, 온라인 시스템의 성능을 평가하는 기술에 적용된다.

부호의 설명

- [0503] 10: 발효조 11: 모터
12: 터빈 임펠러 20: 발효조 제어부
21: 튜브연동 펌프 22: 제2 여과장치
30: 막걸리 발효 예측 온라인 시스템
31: 광원 32: 광원제어부

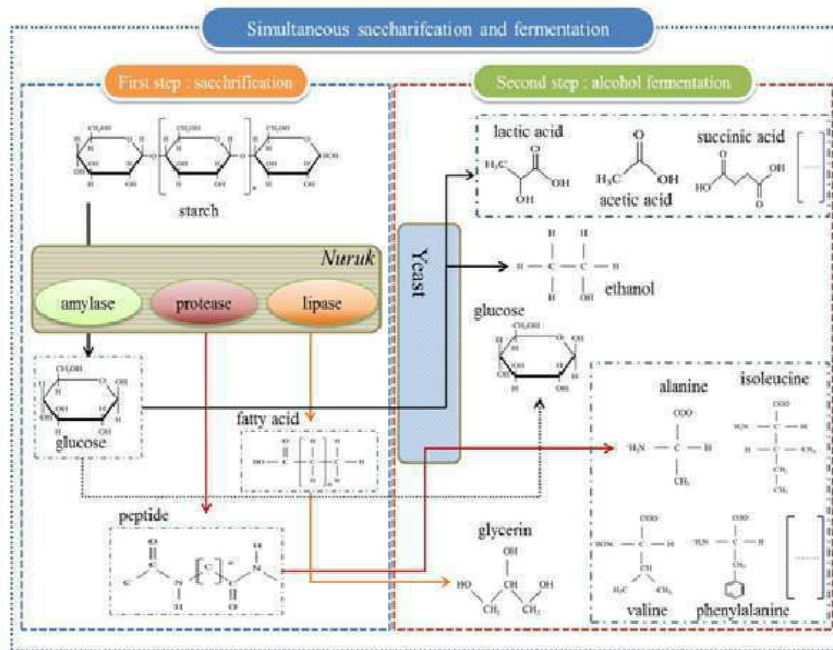
33: 휴대형 근적외선 스펙트로미터

34: 제어부

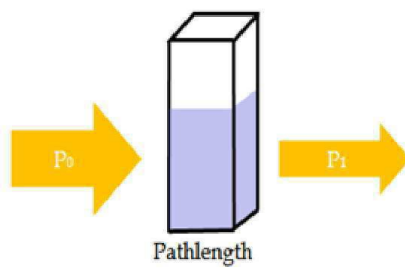
35: 석영 큐벳

도면

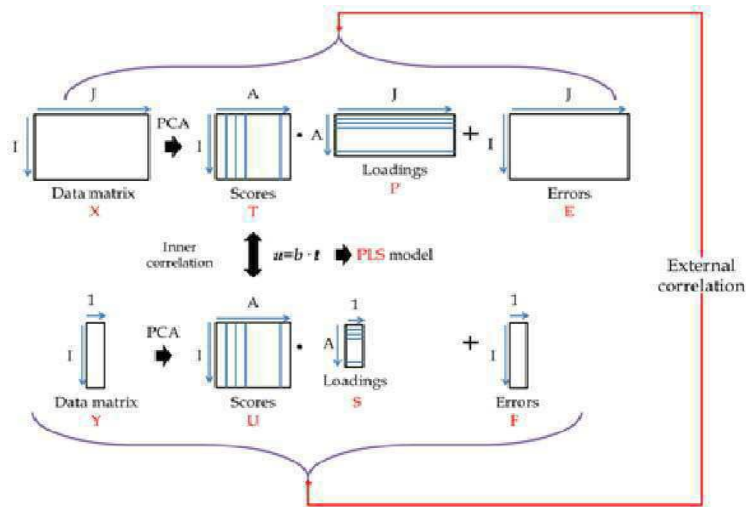
도면1



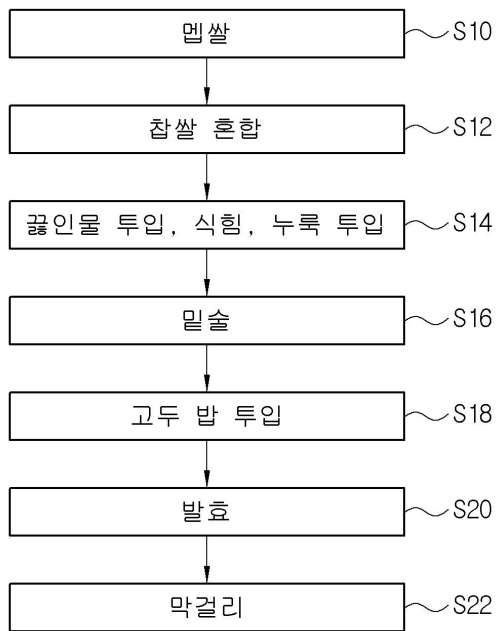
도면2



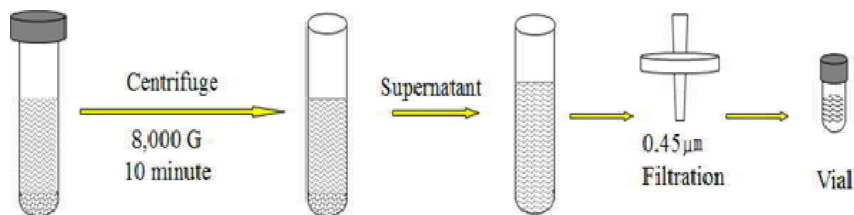
도면3



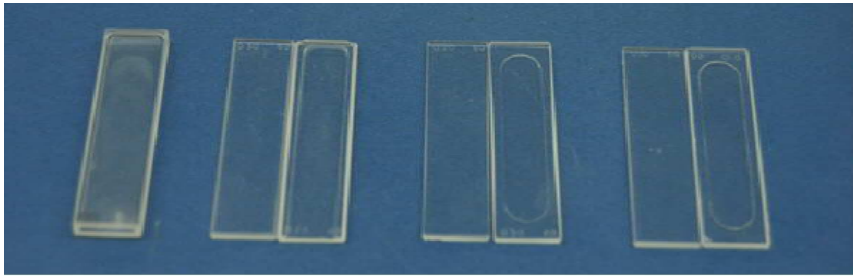
도면4



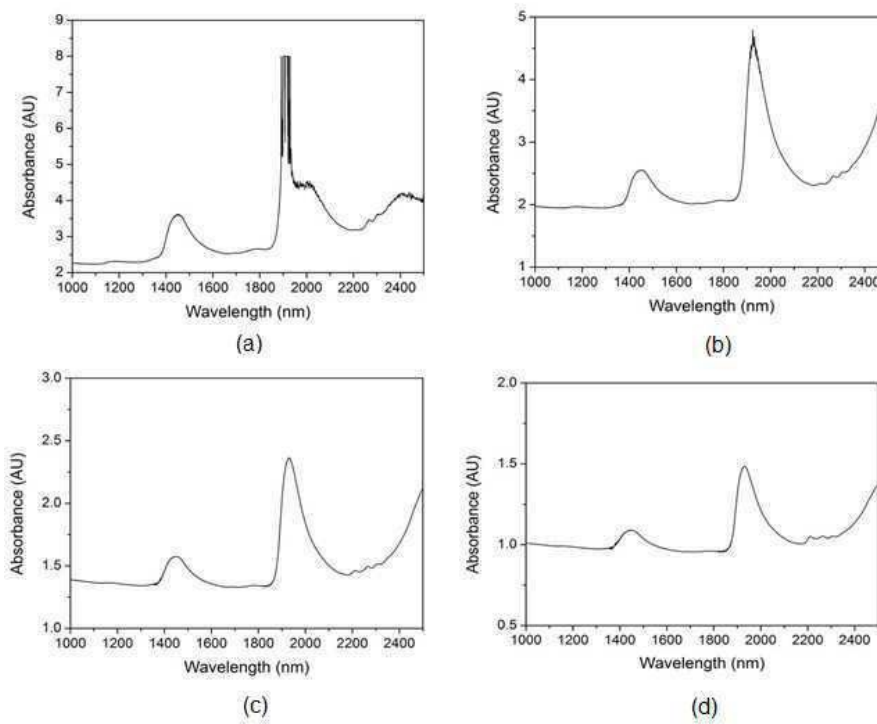
도면5



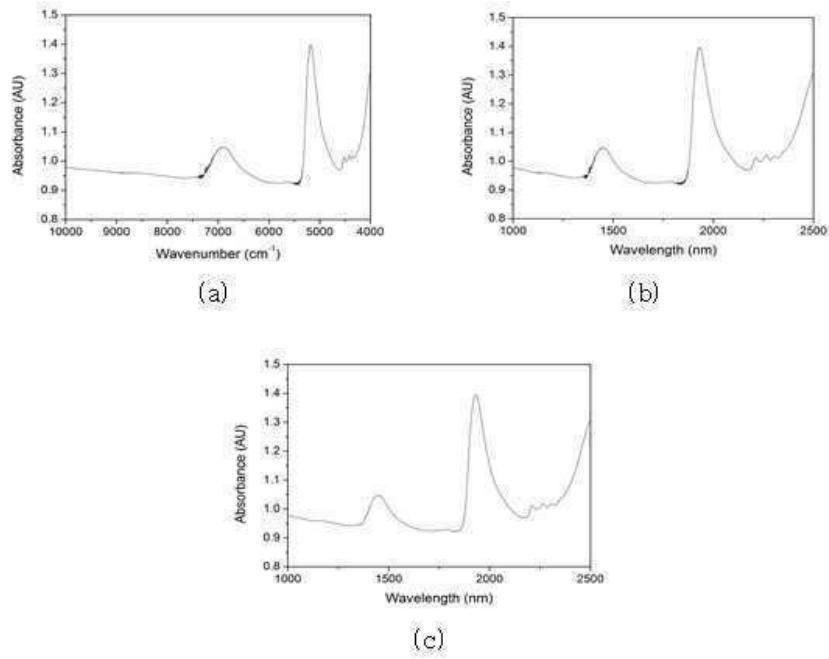
도면6



도면7



도면8



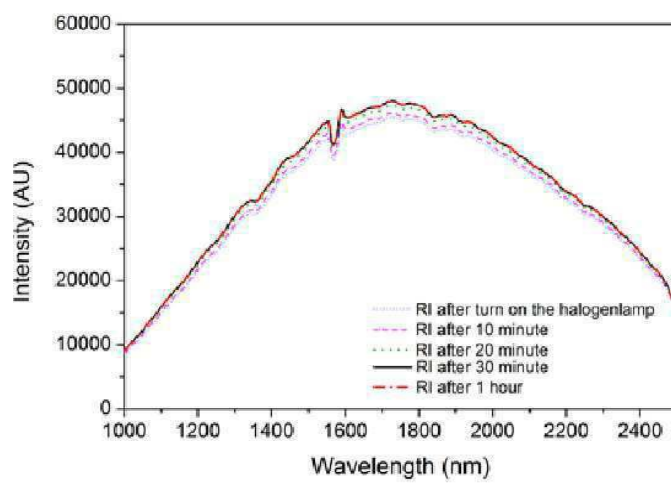
도면9



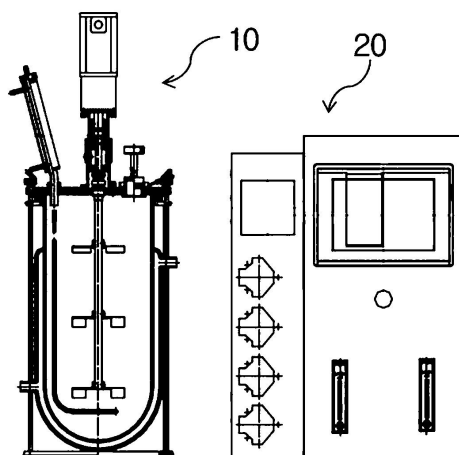
도면10



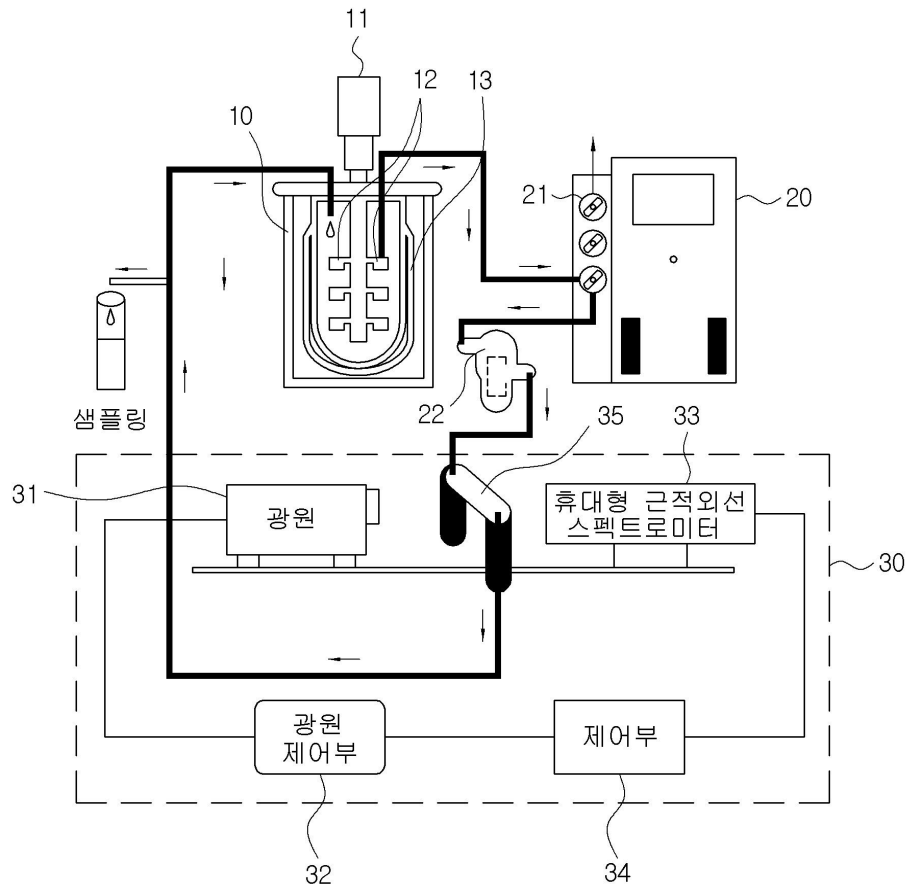
도면11



도면12



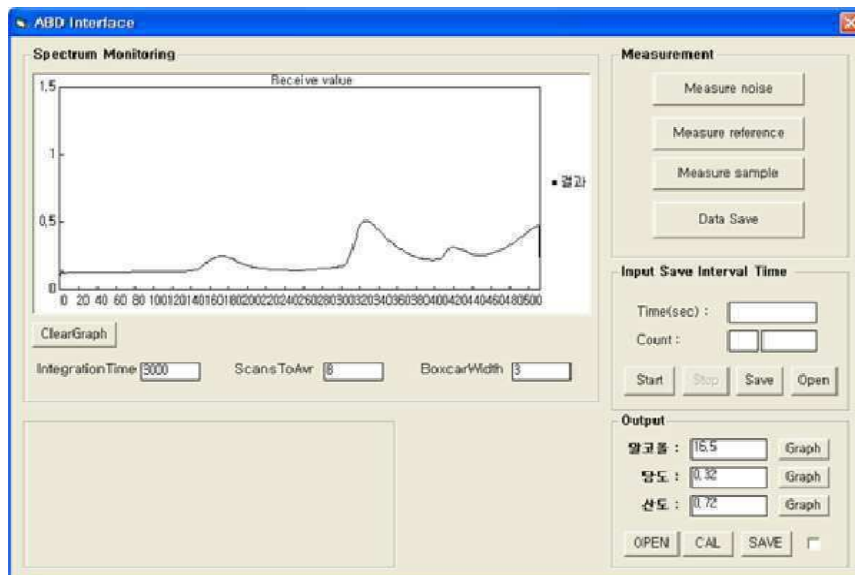
도면13



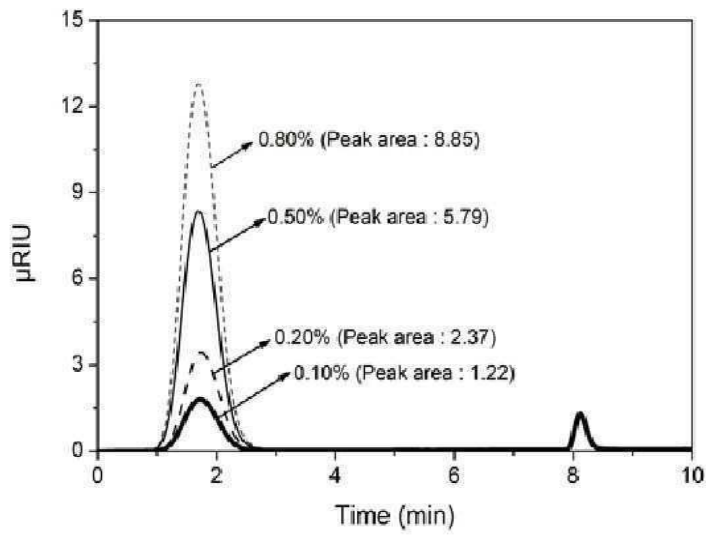
도면14



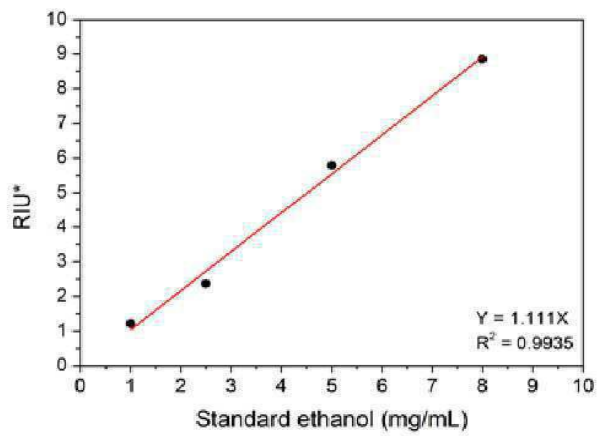
도면15



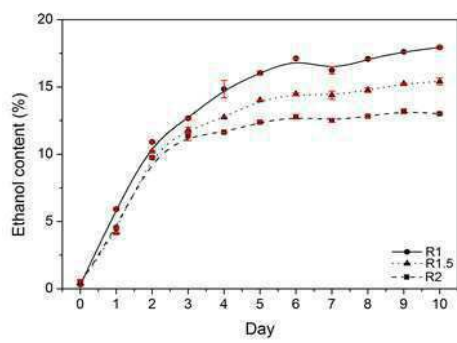
도면16



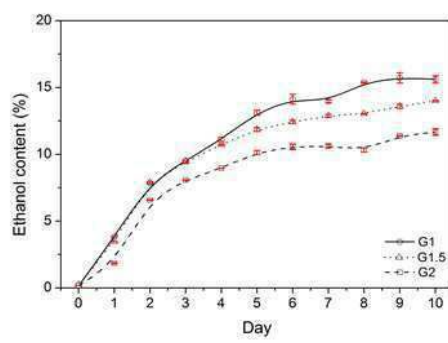
도면17



도면18

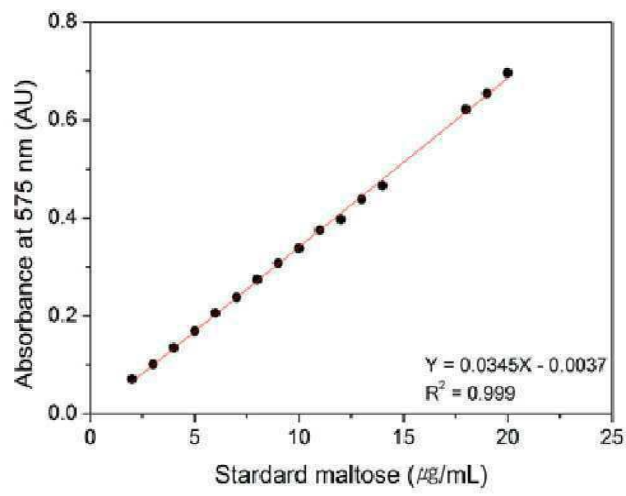


(a)

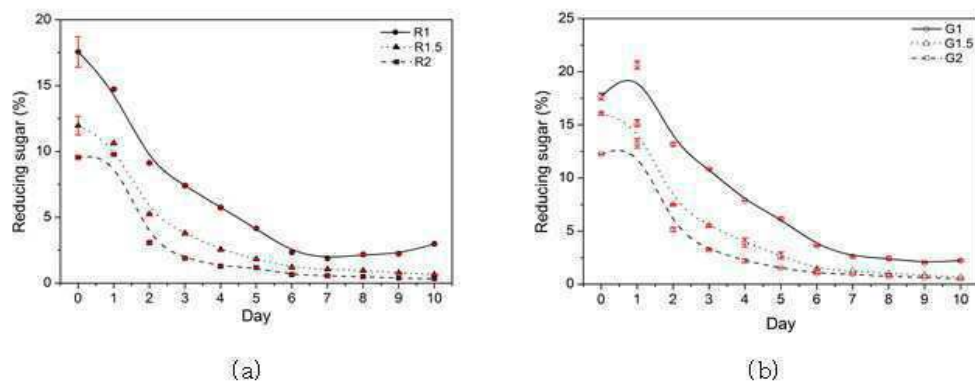


(b)

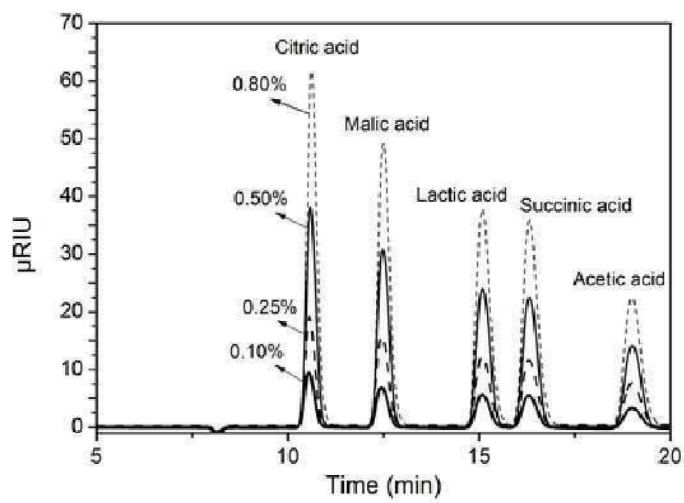
도면19



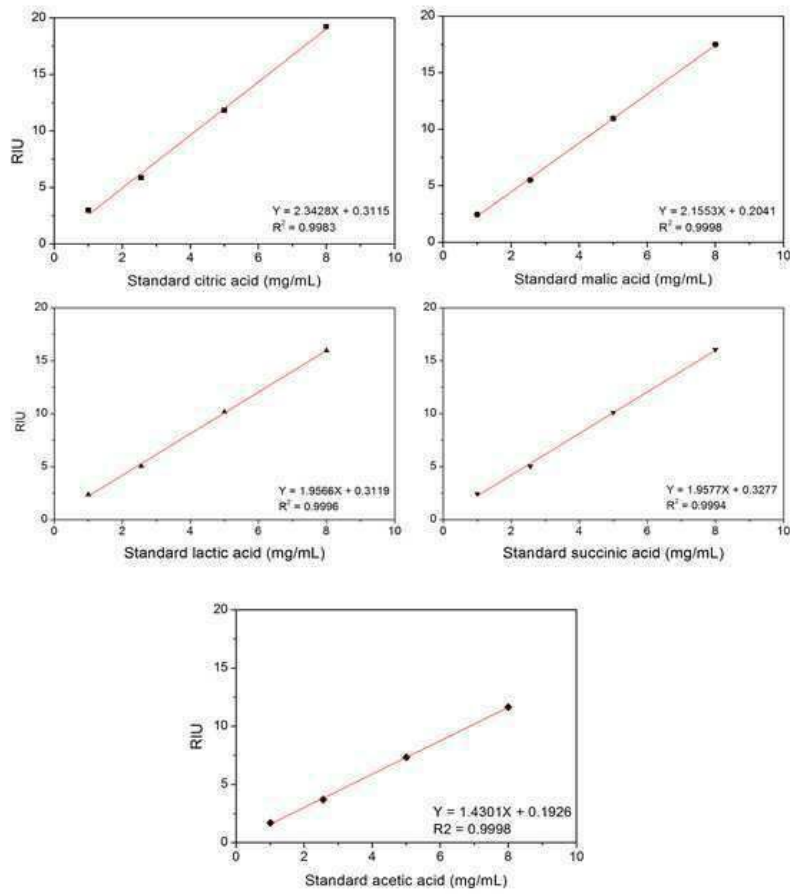
도면20



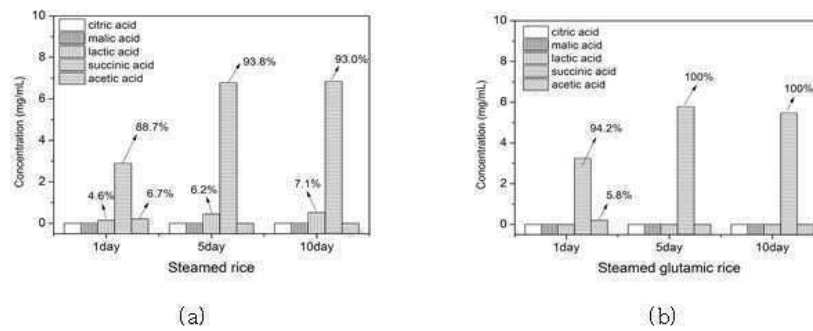
도면21



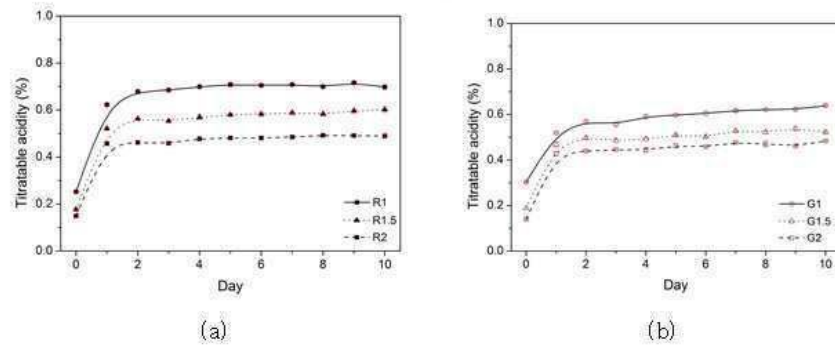
도면22



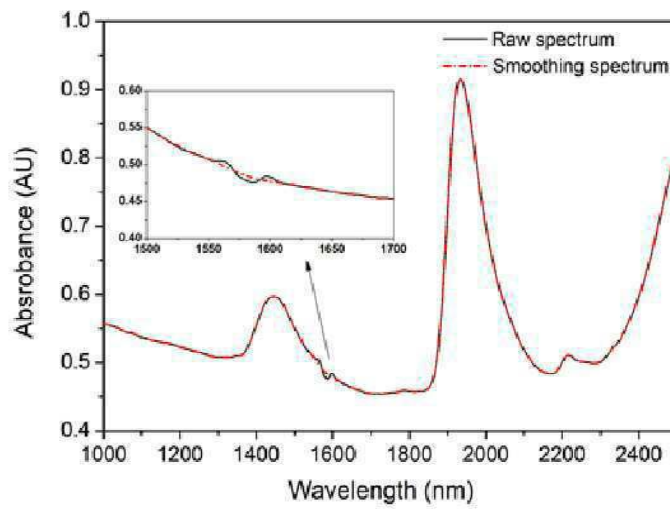
도면23



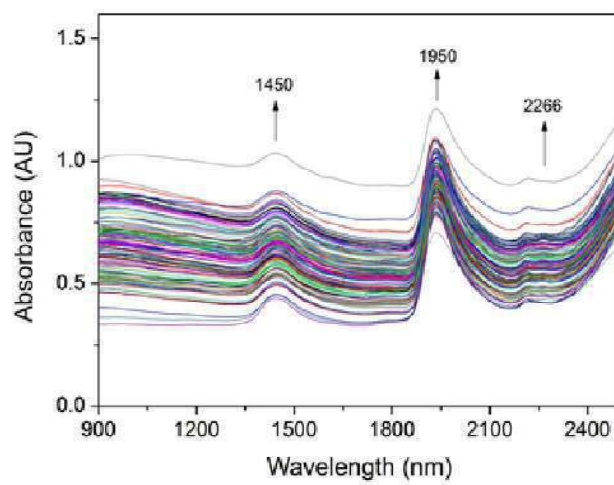
도면24



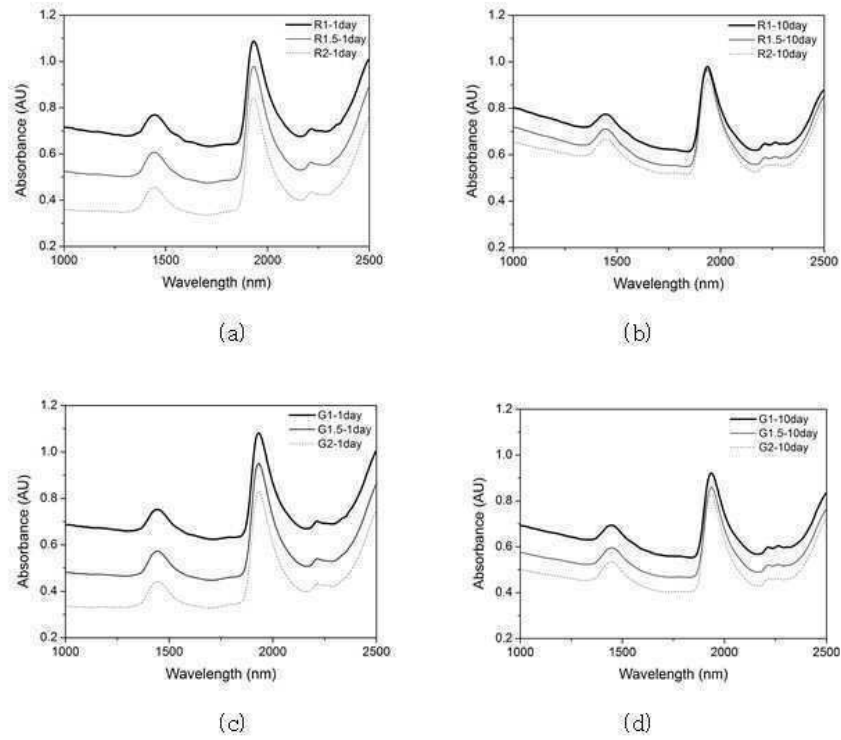
도면25



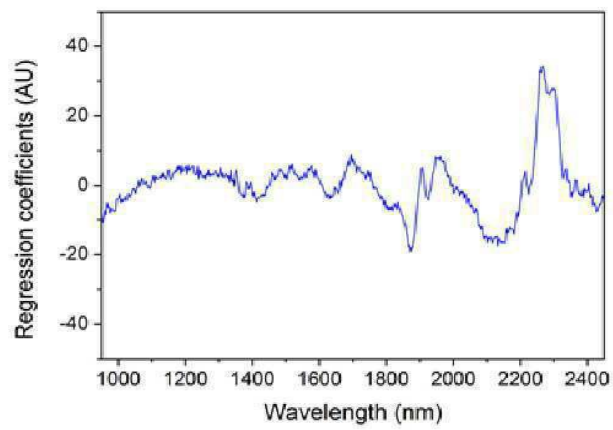
도면26



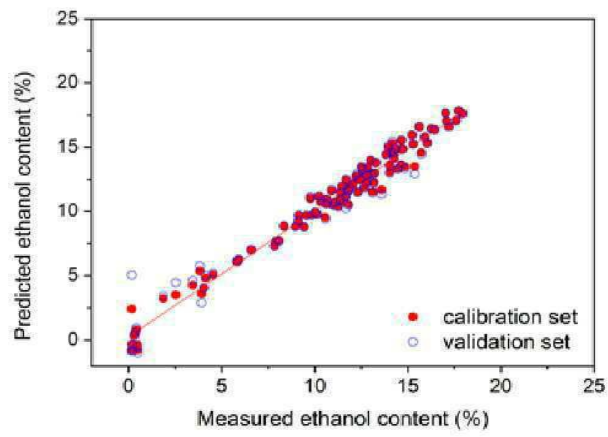
도면27



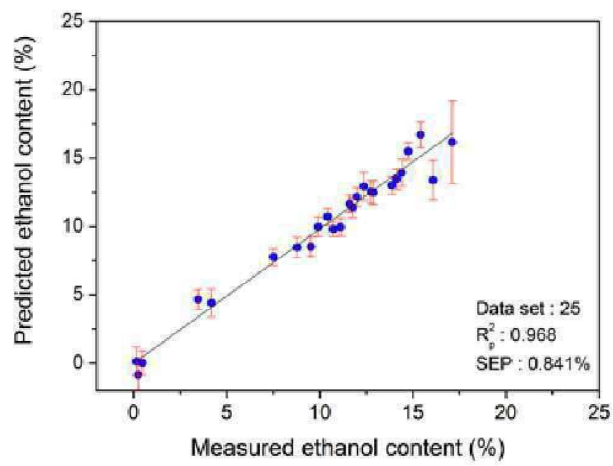
도면28



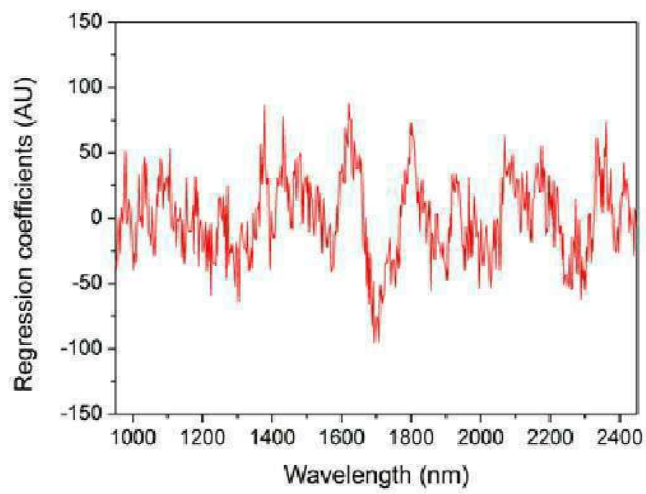
도면29



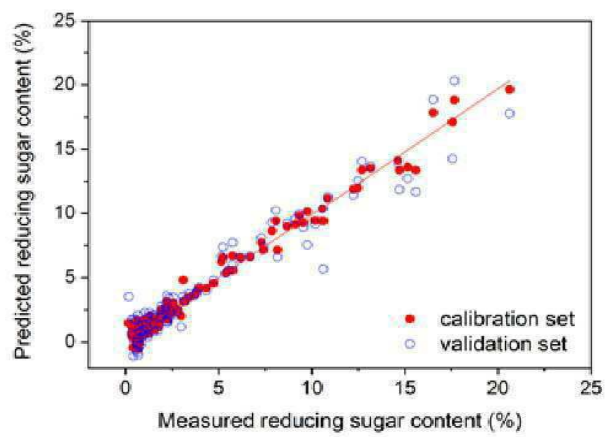
도면30



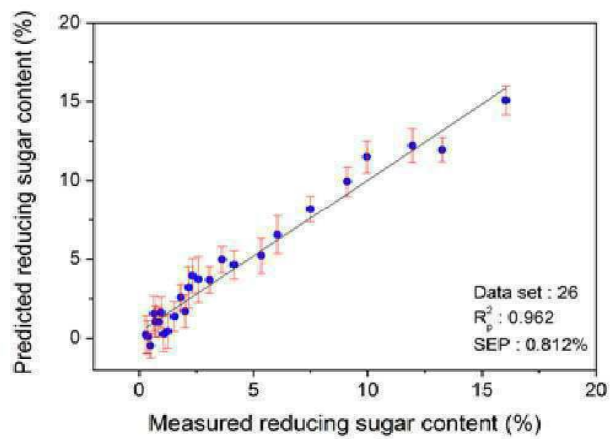
도면31



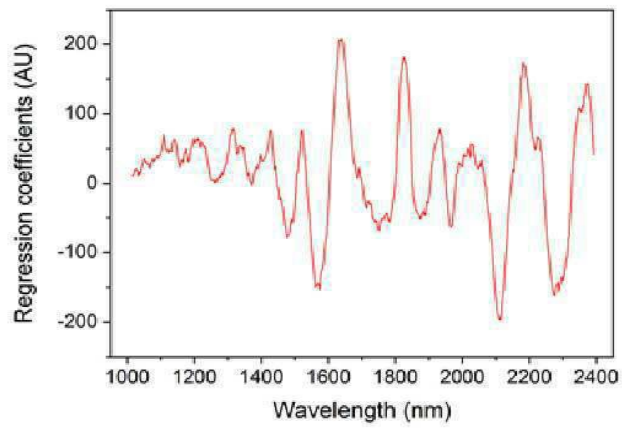
도면32



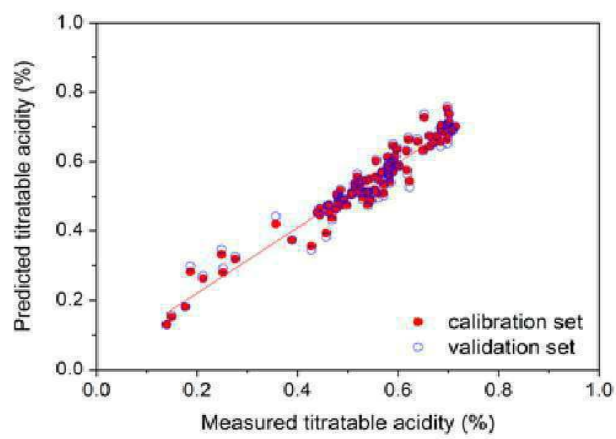
도면33



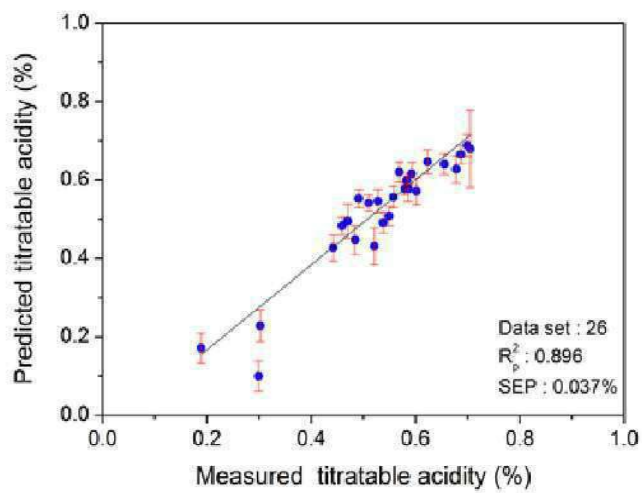
도면34



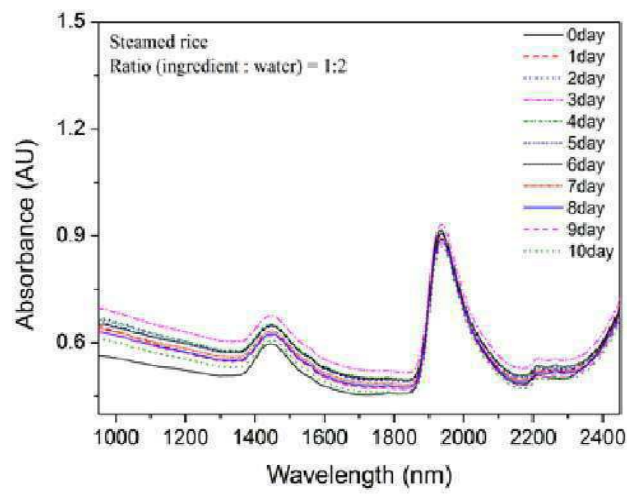
도면35



도면36



도면37



도면38

