



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0103169  
(43) 공개일자 2012년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12G 3/02 (2006.01) C12G 3/04 (2006.01)  
C12R 1/66 (2006.01) C12R 1/865 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2011-0021271  
(22) 출원일자 2011년03월10일  
심사청구일자 없음

(71) 출원인  
전북대학교산학협력단  
전주시 덕진구 덕진동1가 664-14  
(72) 발명자  
이강수  
전라북도 전주시 덕진구 인후동1가 아중현대아파트 106-1001  
이은미  
전라북도 전주시 완산구 효자동3가 포스코2차 204동 1202호  
(뒷면에 계속)

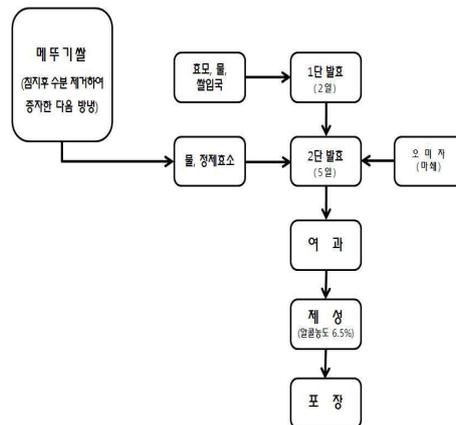
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 오미자 막걸리의 제조방법 및 그로부터 제조된 오미자 막걸리

**(57) 요약**

본 발명은 오미자 막걸리의 제조방법 및 그로부터 제조된 막걸리에 관한 것으로서, 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정을 수행하고, 2) 상기 1단 담금하는 공정을 수행한 후 지에밥에 물, 정제 효소를 넣고 잘 섞은 다음 익일에 씨가 제거된 마쇄된 오미자를 첨가하는 2단 담금하는 공정을 수행하며, 3) 상기 2단 담금하는 공정을 수행한 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 실온에서 정치시켜 맛과 향미 등을 안정화시키는 숙성공정을 거침으로써 오미자 막걸리를 완성한 결과 맛과 향기 등 기능성을 제고시켜 상품 가치를 향상시키는 것을 특징으로 한다.

**대표도 - 도1**



(72) 발명자

**서향입**

전라북도 전주시 완산구 강변로 220-16, 4동 1202호 (효자동1가, 삼호아파트)

**차연수**

전라북도 전주시 덕진구 호성동1가 진흥더블파크1단지아파트 107동 1003호

**김명곤**

전라북도 전주시 완산구 새터로 63, 동아2차아파트 202동 1001호 (서신동)

**송근섭**

전라북도 익산시 선화1로 31-46, 스위트밸리 아파트 102동 1309호 (마동)

**백상호**

전라북도 전주시 완산구 세내로 241, 엘드수목토아파트 103동 2005호 (효자동2가)

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

오미자를 쌀에 첨가하여 제조하는 막걸리의 제조방법에 있어서,

- 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 항온기에서 2일 동안 발효시켜 1단 담금하는 공정,
- 2) 상기 1단 담금 후 지에밥에 물, 정제 효소를 함께 넣고 잘 섞은 다음 익일에 마쇄된 오미자를 첨가시켜 2단 담금하는 공정,
- 3) 상기 2단 담금 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 숙성 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 사과 막걸리의 제조방법.

### 청구항 2

오미자를 쌀에 첨가하여 제조하는 막걸리의 제조방법에 있어서,

- 1) 쌀 입국 1.8kg, 물 2.88ℓ 과 건조 효모 10.8g을 20ℓ 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정,
- 2) 상기 1단 담금 후 지에밥 4.2kg에 물 6.72ℓ, 정제 효소 3.6g을 넣고 잘 섞은 다음 익일에 씨가 제거된 마쇄된 오미자 1.0kg을 첨가하는 2단 담금하는 공정,
- 3) 상기 2단 담금 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 숙성 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리의 제조방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 건조 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*인 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리의 제조방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 정제 효소는 데코자임 역가 SP 150인 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리의 제조방법.

### 청구항 5

제1항 또는 제4항 중 어느 하나의 항의 제조방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리.

## 명세서

### 기술분야

본 발명은 오미자 막걸리의 제조방법 및 그로부터 제조된 오미자 막걸리에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정을 수행하고, 2) 상기 1단 담금하는 공정을 수행한 후 지에밥에 물, 정제 효소를 넣고 잘 섞은 다음 익일에 마쇄된 오미자를 첨가하는 2단 담금하는 공정을 수행하며, 3) 상기 2단 담금하는 공정을 수행한 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 실온에서 정치시켜 맛과 향미 등을 안정화시키는 숙성공정을 거침으로써 오미자 막걸리를 완성한 결과 맛과 향기 등 기능성을 제고시켜 상품 가치를 향상시키는 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리의 제조하는 방법 및 그로부터 제조된 막걸리에 관한 것이다.

[0001]

## 배경 기술

- [0002] 술은 건강과 여가생활을 중시하는 웰빙문화의 확산에 따라 취하기 위한 문화에서 먹고 마시며 즐기는 문화로 전환되고 있는바, 이러한 문화의 전환으로 인하여 현대인은 알코올 도수가 낮고 영양학적 가치가 높은 막걸리를 선호하고 있는 실정이다.
- [0003] 여러 가지 술 가운데 막걸리는 우리나라 고유의 대표적인 전통 발효주로서 애주가들로부터 많은 사랑을 받고 있으며, 현재에도 꾸준히 애용되고 있는 전통술 중 하나이다. 일반적으로 막걸리는 쌀 등을 원료로 하여 제조되는데, 그 제조 방법은 다음과 같다.
- [0004] 먼저 쌀을 잘 씻어 불린 후에 물기를 걸러 준비해 둔 다음 찜통이나 시루에 준비된 쌀과 물을 적당량 넣고 찜 후 수분을 건조시켜 지에밥을 만들어 상온에서 충분히 식힌 후에 누룩, 물을 함께 넣고 섞어 일정 시간 발효시키면 막걸리를 제조할 수 있게 된다. 이렇게 하여 제조된 막걸리는 여러 가지 실험을 통하여 알려진 바와 같이, 암 예방, 손상된 간 조직의 회복, 갱년기 장애 해소 효과가 있으며, 또한 생효모를 많이 함유하여 간경화, 지방간의 예방에 효과가 있는 것은 물론이고, 유효 성분으로서 각종 영양분을 풍부하게 함유하고 있다.
- [0005] 그러나 막걸리는 출고가격이 1병당 천원 미만으로서 업체간 과당 경쟁에 의하여 시장질서가 붕괴될 가능성이 있고, 품질 및 표준화에 대한 연구개발이 미진하여 언제든지 불품없는 술로 전략할 가능성이 있을 뿐 아니라 최근의 고급주 선호, 건강 중시, 맛과 다양성을 즐기는 주류 소비 형태에 부합하기 위해서는 막걸리의 품질 향상이 절대적으로 필요한 실정이다. 나아가 이러한 막걸리의 약점을 극복하고 막걸리가 지닌 영양학적 가치를 활용하는 방안으로서 막걸리의 품질 향상을 통한 고급화 및 다양화 전략이 필수적이다. 최근에는 막걸리의 고급화 및 다양화 전략의 일환으로서, 영양뿐만 아니라 냄새 및 맛을 개선시키기 위하여 다양한 성분이 막걸리에 첨가되고 있는데, 구체적으로 상황버섯, 술, 인삼 등을 포함하는 막걸리가 제조되어 시중에 판매되고 있는 실정이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정을 수행하고, 2) 상기 1단 담금하는 공정을 수행한 후 지에밥에 물, 정제 효소를 넣고 잘 섞은 다음 익일에 마쇄된 오미자를 첨가하는 2단 담금하는 공정을 수행하며, 3) 상기 2단 담금하는 공정을 수행한 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 실온에서 정치시켜 맛과 향미 등을 안정화시키는 숙성 공정을 거침으로써 맛과 향기 등 상품 가치를 향상시키는 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리의 제조방법 및 그로부터 제조된 막걸리를 제공하고자 한다.

### 과제의 해결 수단

- [0007] 본 발명의 하나의 구현 예인 오미자 막걸리의 제조방법은
- [0008] 오미자를 쌀에 첨가하여 제조하는 막걸리의 제조방법에 있어서,
- [0009] 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 항온기에서 2일 동안 발효시켜 1단 담금하는 공정,
- [0010] 2) 상기 1단 담금 후 지에밥에 물, 정제 효소를 함께 넣고 잘 섞은 다음 익일에 마쇄된 오미자를 첨가시켜 2단 담금하는 공정,
- [0011] 3) 상기 2단 담금 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 숙성 공정을 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0012] 또한 본 발명은 오미자를 쌀에 첨가하여 제조하는 막걸리의 제조방법에 있어서,
- [0013] 1) 쌀 입국 1.8kg, 물 2.88ℓ 과 건조 효모 10.8g을 20ℓ 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정,
- [0014] 2) 상기 1단 담금 후 지에밥 4.2kg에 물 6.72ℓ, 정제 효소 3.6g을 넣고 잘 섞은 다음 익일에 마쇄된 오미자 1.0kg을 첨가하는 2단 담금하는 공정,
- [0015] 3) 상기 2단 담금 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 숙성 공정을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0016] 또한 본 발명은 상기 건조 효모가 *Saccharomyces cerevisiae*인 것을 특징으로 한다.
- [0017] 또한 본 발명은 상기 정제 효소가 테코자임(역가 SP 150)인 것을 특징으로 한다.
- [0018] 마지막으로 본 발명은 상기의 제조방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 오미자 막걸리이다.

### 발명의 효과

- [0019] 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 제조방법 및 그로부터 제조된 오미자 막걸리는 맛, 향기, 청량감 등 전체적인 기능성 평가에서 뛰어난 관능 평가를 나타냈는바, 이를 바탕으로 국산 쌀과 지역 특산물인 오미자를 원료로 사용하여 고급 막걸리 생산이 가능함과 동시에 나아가 국내와 막걸리 시장의 성장과 함께 지역경제의 활성화를 도모할 수 있는 효과가 기대된다.

### 도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 제조방법을 나타내는 공정도.
- 도 2는 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 알코올 함량의 변화를 나타내는 도표.
- 도 3은 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 당도 변화를 나타내는 도표.
- 도 4는 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 총산 변화를 나타내는 도표.
- 도 5는 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 아미노산 변화를 나타내는 도표.
- 도 6은 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 환원당 및 총당 변화를 나타내는 도표.
- 도 7은 본 발명에 의한 오미자 막걸리의 pH 변화를 나타내는 도표.
- 도 8은 본 발명에 의한 쌀 및 오미자 막걸리의 관능 항목별 기호도를 나타내는 도표.
- 도 9는 본 발명에 의한 gallic acid의 검량선을 나타내는 도표
- 도 10은 본 발명에 의한 농도별 처리에 따른 세포증식 활성 비교를 나타내는 도표
- 도 11은 본 발명에 의한 RIN 세포주에서 개발한 막걸리의 세포증식활성을 나타내는 도표

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 위와 같은 과제를 달성하기 위한 본 발명의 품질이 향상된 오미자 막걸리의 제조방법을 첨부된 도면을 참조하여 이하에서 상세하게 설명한다. 그리고 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지기능 혹은 공지 구성에 대한 구체적인 설명 또는 당업자에게 자명한 사항으로서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는

그 상세한 설명을 생략하기로 한다.

- [0022] 먼저, 본 발명의 오미자 막걸리 및 그 제조방법에 있어서, 쌀은 전북 장수산 메뚜기 쌀을 사용하였고, 오미자는 전북 장수에서 생산된 잘 익은 오미자에서 씨를 제거한 후 믹서기로 마쇄한 후 필터프레스로 여과하여 사용하였으며, 쌀 입국은 국산 쌀입국{동산(주)}을, 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*(La Parisienne, France)를, 정제효소는 테코자임(역가 SP 150, 두영에비오)을 구입하여 사용하였으며, 물은 생수인 석정수{(주)석정수}를 구입하여 사용하였다.
- [0023] 그 제조방법을 이하에서 도 1을 참조하여 구체적으로 설명하기로 한다.
- [0024] 오미자 막걸리의 주 원료인 쌀은 장수 산 메뚜기쌀을 잘 세척하여 12시간 동안 침지(浸漬)시킨 후 물을 제거하여 수분을 30~35%로 유지한다. 이를 121℃에서 40분 동안 증자(蒸煮)한 후 실온으로 방냉(放冷)하여 지에밥을 제조하였다.
- [0025] 본 발명에 따른 오미자 막걸리는
- [0026] 1) 쌀 입국, 물과 건조 효모를 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃ 항온기에서 2일 동안 발효시키는 1단 담금하는 공정을 수행한다.
- [0027] 2) 상기 1단 담금하는 공정을 수행한 후 지에밥에 물, 정제 효소를 넣고 잘 섞은 다음 익일에 씨를 제거한 오미자를 마쇄하여 첨가하는 2단 담금하는 공정을 수행한다.
- [0028] 3) 상기 2단 담금하는 공정을 수행한 후 상기 유리병 속을 교반하면서 5일 동안 발효시킨 다음 실온에서 정치시켜 맛과 향미 등을 안정화시키는 숙성공정을 거쳐 물로 걸러서 알코올의 농도를 6.5%로 유지시킴으로써 오미자 막걸리를 완성한다.
- [0029] <실시예> 오미자를 이용한 막걸리 제조
- [0030] (1) 지에밥의 제조
- [0031] 장수 산 메뚜기쌀 3kg을 잘 세척하여 12시간 동안 침지시킨 후 물을 제거하여 수분을 30~35%로 유지한다. 이를 121℃에서 40분 동안 증자(蒸煮)한 후 실온으로 방냉(放冷)하여 지에밥을 제조하였다.
- [0032] (2) 1단 단금공정
- [0033] 쌀 입국 1.8kg, 물 2.88ℓ, 건조 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 10.8g을 20ℓ 유리병에 함께 넣고 잘 섞은 후 21℃의 항온기에서 2일 동안 발효시킨다.
- [0034] (3) 2단 단금공정
- [0035] 지에밥 4.2kg에 물 6.72ℓ, 정제 효소 3.6g을 넣고 잘 섞었으며, 오미자는 2단 담금 익일에 씨를 제거한 뒤 마쇄하여 1.0kg을 첨가하였다.
- [0036] (4) 발효, 숙성 및 완성공정
- [0037] 상기의 2단 단금 후 유리병 속을 아침 저녁으로 교반하면서 5일 동안 발효시킨다. 발효가 끝난 액을 3일 동안 실온에서 정치시켜 맛과 향미, 외관 등을 안정화시키는 숙성과정 및 여과를 거쳐 알코올 농도 6.5%의 오미자 막걸리를 완성한다.
- [0038] (5) 오미자 막걸리 평가
- [0039] 본 발명에서 완성된 오미자 막걸리의 기능성을 평가하기 위하여 일반성분 분석인 알코올분 분석, 당도 변화, 총산 분석, 아미노산 분석, 환원당 및 총당 분석, pH 변화, 기호도 평가를 하였다. 술덧에서 채취한 시료를 취한 후 원심분리(10,000×g, 10분)하여 상등액을 얻고 이를 0.45μm 멤브레인 필터로 여과한 다음 여과한 액을 분석 시료로 사용하였으며, HPLC(High performance liquid chromatography)로 시험분석한 결과는 다음과 같다.
- [0040] <실험예 1> 알코올 함량 분석

- [0041] 알코올 함량은 주류분석규정에 준하여, 즉 시료를 100ml 메스플라스크의 눈금까지 취하고 이것을 500ml 플라스크에 옮긴 후 15ml의 물로 2회 씻은 액을 플라스크에 합쳐 냉각기에 연결한 다음 100ml 메스플라스크에 유액이 80~90ml 정도되면 증류를 중지하고 15℃에서 100ml 메스플라스크의 눈금까지 증류수로 채운 다음 주정계로 측정하였다.
- [0042] 술덧의 발효과정 중 오미자 막걸리의 에탄올 함량 변화를 살펴본 결과는 도 2와 같은데, 에탄올은 탁주의 품질 및 생산수율을 좌우하고, 탁주의 보존성이나 향미에 영향을 주는 가장 중요한 성분으로 술덧 중 에탄올 함량이 높아야 한다. 1단담금에서 생성된 에탄올에 의해 탁주 2단담금시 에탄올 함량이 약 4%였으나, 발효 2~3일에 에탄올 함량이 현저하게 증가되었으며, 3단 담금시 오미자 첨가로 약간 희석효과가 나타났으나 발효일수 경과에 따라 지속적으로 증가하여 발효 7일째에는 17% 까지 생성되었다.
- [0043] <실험예 2> 당도 변화
- [0044] 당도(brix)는 당도계(ATAGO, RX-5000 a)로 측정하였고 잔당은 Dinitrosalicylic acid Method에 따라 550nm에서 흡광도를 측정하여 포도당으로 환산하여 정량하였다. 술덧의 발효과정 중 당도(brix)의 변화는 도 3에 나타내었는바, 1단 담금시 약 4 brix에서 15 brix까지 증가하였으나, 2단 담금시점에서는 희석으로 인하여 약 6.5 brix까지 낮아진 후 발효 3일째까지 급격하게 증가된 다음 4일째 이후에는 서서히 감소하다가 6일째 이후에는 약 12 brix로 유지되었다.
- [0045] <실험예 3> 총산 분석
- [0046] 총산은 주류분석규정에 준하여, 즉 시료 10ml에 B.T.B(Brom thymol blue) & N.R(Neutral red) 혼합 지시약 2~3방울을 가하여 0.1N NaOH로 담록색이 될 때까지 적정하여 산도를 측정하고, 계수(초산 : 0.006)를 이용하여 총산으로 표시하였다.
- [0047] 총산은 휘발성 향기 성분과 함께 탁주의 맛, 냄새에 직접적으로 영향을 미치고 또한 보존성에도 영향을 준다. 담금 직후 적정산도는 9.5 정도 였으나 1일째에 급격히 증가하여 약 25까지 높아졌다. 2단 담금 시점에는 희석으로 인하여 약 7 정도까지 낮아졌으나 오미자첨가로 인하여 약 12까지 증가된 다음 발효 종료시 까지 큰 변화가 나타나지 않았다(도 4).
- [0048] 담금 직후의 총산은 주로 누룩이나 입국 원료에서 유래되며, 발효가 진행되면서 술덧 중의 효모 및 젖산균 등의 미생물 작용으로 생성된 각종 유기산들이 가산되므로 총산의 함량이 증가되나, 후기에는 유기산이 알코올 등과 결합하여 ester와 같은 향미형성 등에 이용되므로 감소되는 것으로 보고되어 있다.
- [0049] <실험예 4> 아미노산 분석
- [0050] 아미노산은 주류분석규정에 준하여, 즉 시료 10ml에 페놀프탈레인 지시약 5ml을 가하고 0.1N NaOH 용액으로 담홍색이 될 때까지 중화시킨 다음, 여기에 중성 포르말린액 5ml를 첨가하여 유리된 산을 0.1N NaOH 용액으로 담홍색이 될 때까지 적정하여 아미노산도를 측정하고, 계수(글리신 : 0.0075)를 이용하여 아미노산으로 표시하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0051] 도 5에서 보는 바와 같이, 오미자 막걸리의 아미노산도는 발효 2일까지 증가하였고 2단담금으로 인하여 희석된 다음 3일째에는 더 낮아졌으나 발효일수가 경과함에 따라 다시 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다.
- [0052] <실험예 5> 환원당 및 총당 분석
- [0053] 환원당은 DNS(3,5-Dinitrosalicylic acid)에 의한 비색정량법으로 측정하였다. 적당히 희석시킨 시료 용액 1ml에 DNS 시약 3ml을 첨가하고 끓는 물에서 15분간 가열한 다음 급냉각시켜 575nm에서 흡광도(Shimadzu UV/VIS spectrophotometer)를 측정하고, 표준물질로 글루코오스를 사용하여 작성한 검량선으로부터 유리당 함량을 환산하였다. 한편 총당은 시료 10ml에 증류수 40ml와 35% 염산 10ml을 첨가하여 공기냉각관을 연결한 후 끓는 물에서 30분간 가열하고 냉각한 다음 메틸오렌지 지시약을 이용하여 20% NaOH 용액으로 중화한 후 적당히 희석하여 환원당 정량법에 준하여 총당을 산출하였으며, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

- [0054] 술덧 중의 당분은 미생물 생육과 에탄올 생성은 물론 탁주의 감미도에 관여하는 성분으로 중요시된다. 환원당 함량은 1단담금일에는 약 1.3%였으나 발효 2일째에 급격히 상승하여 약 3.9% 까지 증가되었고, 2단담금시점에서는 희석으로 인하여 낮아졌다가 3일째까지 급격히 상승되어 4%까지 도달된 이후에는 감소하는 경향을 나타내어 발효 종료시점에서는 약 1% 수준까지 낮아졌다. 일반적으로 탁주 담금 후 원료 중의 탄수화물이 입국에 함유되어 있는 당화 amylase 작용으로 분해되어 총당은 감소하고 환원당이 증가되나 효모나 세균의 생육 및 발효 기질로 환원당이 이용됨으로서 발효 후기에는 총당과 환원당의 감소가 나타난다.
- [0055] <실험예 6> pH 변화
- [0056] 발효 과정 중 막걸리 술덧의 pH 변화는 도 7과 같다. 일반적으로 술덧 발효 초기의 pH가 낮게 유지되어야 잡균의 오염이 방지되고 정상적인 알코올 발효 진행에 유리한 것으로 알려져 있는데, 담금 직후 pH 3.2 정도였으며 발효 1일째에 약간 감소된후 다시 증가하여 pH가 거의 유지되었고, 2단담금시점에는 희석으로 인하여 약 pH 3.3으로 높아졌으나 발효 3일째에 다시 pH 3.2까지 낮아졌다. 3단담금시점에서 오미자 첨가로 pH가 약간 낮아졌으나 발효가 진행됨에 따라서 서서히 증가하는 경향을 보였고, 발효 종료시점에서는 pH 3.4-3.5의 범위였다.
- [0057] <실험예 7> 기호도 평가
- [0058] 기호도 평가는 2가지, 즉 쌀, 오미자로 개발된 막걸리에 대해서 발효가 완료된 술덧을 여과하고 알코올 농도를 6.5%가 되도록 물을 첨가하여 희석한 다음 제정하여 하룻밤 동안 냉장 보관한 것을 이용하여 실시하였는바, 총 12가지 관능항목인 외관, 향기, 쓴맛, 단맛, 신맛, 구수한맛, 청량감(특쓰는 맛), 텁텁함, 목넘김, 알코올맛, 뒷맛 및 전체적인 평가에 대해서 5점 척도법으로 평가하였다.
- [0059] 기호도 평가에 대한 유의성 검증을 위해 Statistical Package for Social Science (SPSS) version 12.0을 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 검증하였다.
- [0060] 쌀, 오미자로 개발된 2개 막걸리에 대해서 성인 남녀 31명을 대상으로 실시한 기호도 결과는 도 6.에 나타내었는바, 대상자는 남자 13명, 여자 18명이었고, 연령대별 분포는 20대 12명, 30대 11명, 40대 3명, 50대 5명이었다.
- [0061] 도 8에서 알 수 있는 바와 같이 쌀 막걸리의 경우 외관, 목넘김이 좋다는 평가를 받았는데 비하여, 오미자 막걸리는 전체적으로 고른 평가를 받았으며, 특히 외관이 좋다는 평가를 받았다. 이는 오미자가 가지는 고유의 색깔 때문인 것으로 생각된다( $p < 0.05$ ).
- [0062] 개발된 각각의 제품에 대한 전체 대상자 및 성별에 따른 '전체적인평가' 항목의 기호도는 도 9, 도 10과 같은데, 전체 대상자, 여성 및 남성 모두 오미자 막걸리에 대한 기호도가 높은 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ).
- [0063] 특히 오미자는 단맛, 신맛, 매운맛, 쓴맛, 짠맛 등 5가지 맛을 지닌 약재로 항산화 기능이 뛰어난 안토시아닌 등 기능성성분이 다량 함유 되어 있고, 오미자 막걸리는 오미자의 향과 색이 막걸리에 이행됨으로서 막걸리의 flavor와 관능적 품질 향상효과가 나타났다.
- [0064] 또한, 오미자 막걸리의 기능성 검증을 통하여 기능적 우수성을 증명하고자 생리 활성 물질 정성 및 정량 분석을 위해 총 폴리페놀 함량, 총 플라바놀 함량 및 항산화 지표로서 DPPH 라디칼 소거능, Superoxide dismutase (SOD) 유사활성능, Hydroxyl 라디칼 소거능 및 환원력을 분석지표로 분석하였다.
- [0065] 이를 위해 오미자 막걸리와 쌀 막걸리는 metanol (5% HCl), water, ethyl acetate, ethanol의 4가지의 다른 용매로 추출하였다. 막걸리 100 mL를 100 mL의 용매를 각각 가한 후, MeOH:HCl, water, ethyl acetate을 가한 샘플은 40°C에서 1시간 동안 추출되었고, ethanol을 가한 샘플은 75°C에서 3시간 동안 추출되었다. 원심분리 (10,000 rpm, 10 min, 4°C)를 통하여 회수된 상정액은 여과지 (whatman No.1)로 여과한 후, 회전진공농축기로 25°C에서 농축하였다. 각 농축물은 동일한 용매를 사용하여 20 ml로 조정되어 여과 (0.45  $\mu$ m, Advantec, Toyo, Japan)한 후 4°C에서 보관하면서 적당한 농도로 희석해서 아래의 분석을 위해 사용되었다.

[0066] <실험예 8> 총 폴리페놀(polyphenol) 함량 분석

[0067] 총 폴리페놀 함량 (total polyphenol content)은 각 농도별 막걸리 샘플을 가지고 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하여 측정하였다. 즉, 시료 10 µL를 취하여 증류수 790 µL에 희석한 뒤, Folin-Ciocalteu 시약 50 µL를 첨가하여 교반하였다. 120분 동안 상온에서 방치하여 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준 물질로 gallic acid를 사용한 검량선(도 9)에 근거하여 산출하였다.

[0068] 페놀화합물은 식물계에서 널리 분포되어 있는 식물체 유래의 대사산물 주 하나이다. 이들 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하려는 성질을 가지고 있으므로 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가진다. 본 분석에서는 polyphenol성 물질인 gallic acid를 기준으로 하여 추출물 중의 polyphenol성 물질의 함량을 알아보고자 하였다. 추출방법에 따른 오미자 막걸리의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과를 표 1.에 나타내었다.

**표 1**

[0069] 오미자 막걸리의 총 폴리페놀 함량 분석

		(mg/L)
추출 용매		오미자 막걸리
MeOH:HCl		3083.6 ± 114.9 <sup>C</sup>
Water		5956.3 ± 543.7 <sup>A</sup>
Ethyl acetate		4718.5 ± 432.0 <sup>AB</sup>
EtOH		3652.6 ± 170.7 <sup>AC</sup>
All measurements were done triplicate, and values are average of three replication.		
Means with the same letter among samples are not significantly different (p<0.05).		

[0070] 추출용매를 달리하여 추출한 오미자 막걸리의 총 페놀 함량을 측정한 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, metanol:HCl, water, ethyl acetate, ethanol을 이용한 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 각각 막걸리 추출물에서는 2928.3, 5567.9, 1845.2, 3335.0 mg/L, 오미자 막걸리 추출물에서는 3083.6, 5956.3, 4718.5, 3652.6 mg/L 이었다. 이상의 결과로 4가지의 용매 중 water 추출물에서 폴리페놀 함량이 가장 높은 것을 확인할 수 있었고, 모든 추출물에서 일반 막걸리에 비하여 오미자 막걸리의 총 폴리페놀 함량이 높은 것으로 나타났다.

[0071] <실험예 9> RIN 세포주에서 세포증식활성

[0072] 본 발명의 기능성 특히 세포증식 활성 정도를 평가하기 위하여 RIN 세포주에서 개발된 본 발명의 막걸리를 MTT assay를 통한 세포증식활성 확인하였다.

[0073] 이를 위해, 먼저 Rin cell 배양을 위해 100mm dish에 10% FBS-RPMI-1640배지로 37℃, 5% CO2에서 배양한 후 cell count하여 96well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다.

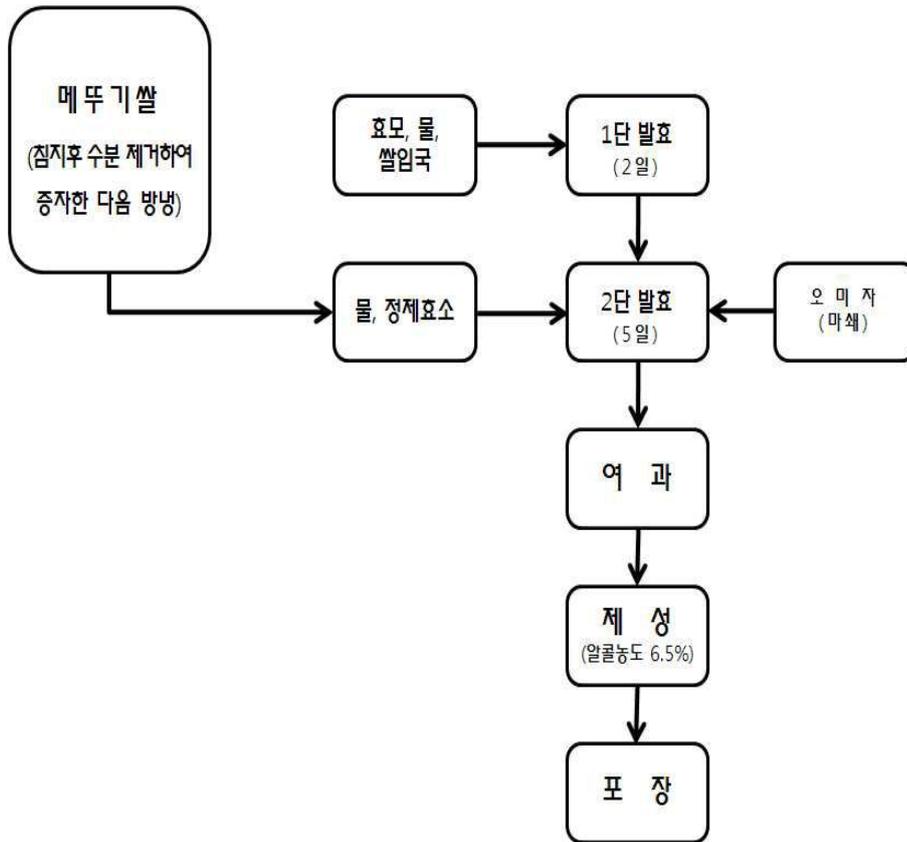
[0074] 그리고 Rin cell에 각 군별로 시료를 처리하고 대조군에는 PBS를 처리하였고, MTT solution을 넣어 4?시간 동안 반응시킨 후 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0075] RIN cell에서 개발된 쌀막걸리(일반 막걸리) 및 오미자 막걸리의 세포증식 활성을 확인한 결과는 도 10~도 11과 같다. 각각의 시료에 대한 세포 증식 활성을 나타내는 최적 농도를 도출하기 위하여 도 10 같이 1, 5, 10µl/ml를 처리한 결과 일반 및 오미자 막걸리 모두 10µl/ml를 처리한 군에서 유의적으로 가장 높은 세포증식 활성을 확인하였다. 또한, 도출된 최적 농도를 처리한 후 일반 및 오미자 막걸리의 세포증식활성을 비교한 결과는 도 11과 같다.

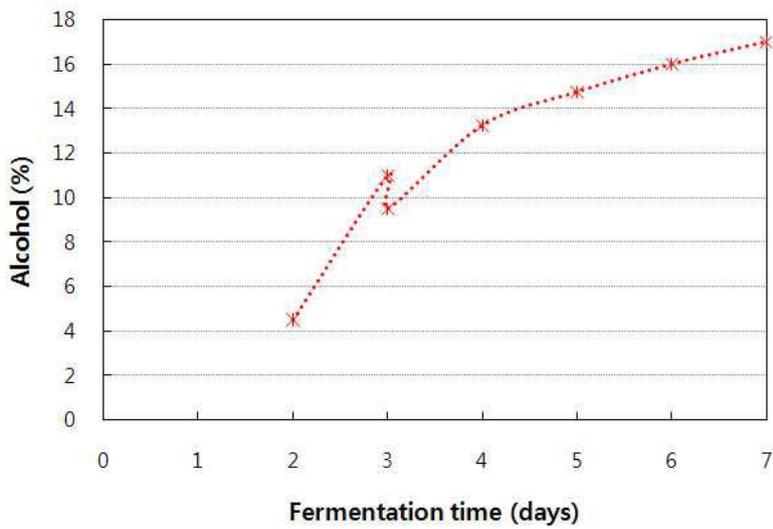
[0076] 결론적으로 일반 막걸리 처리군에 비해 오미자 막걸리 처리군에서 유의적으로 높은 세포증식활성을 보였다.

도면

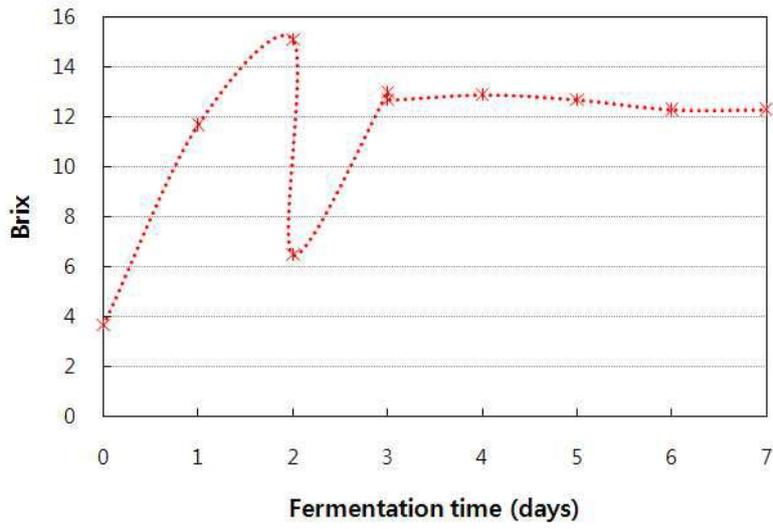
도면1



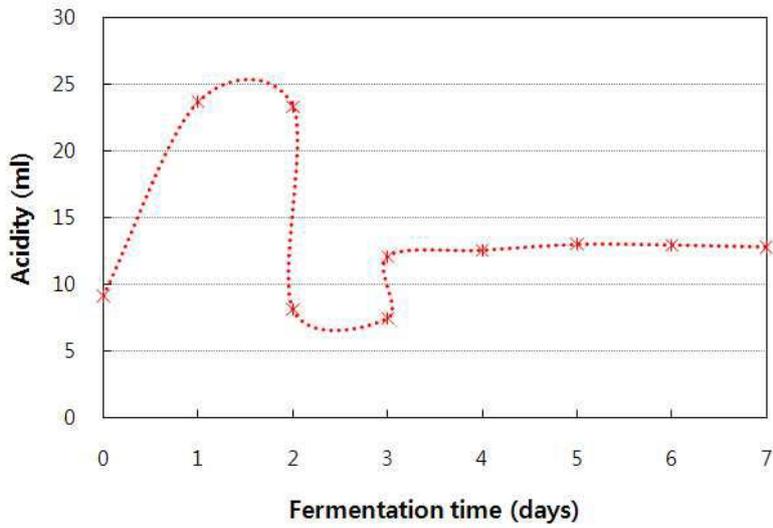
도면2



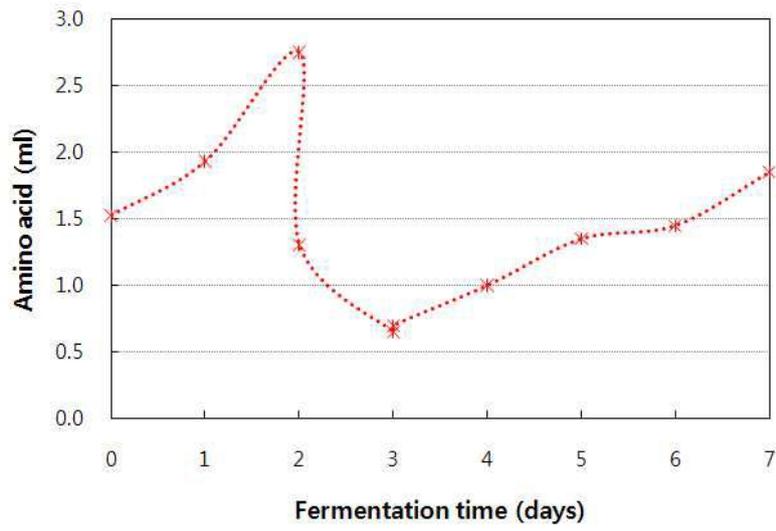
도면3



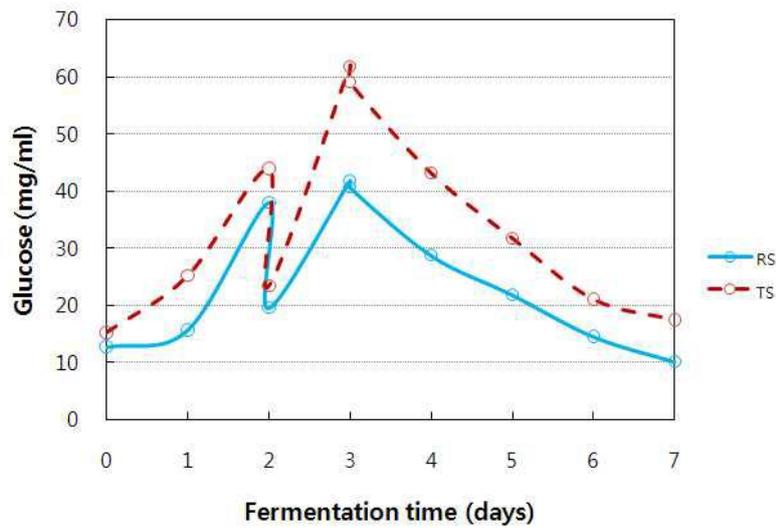
도면4



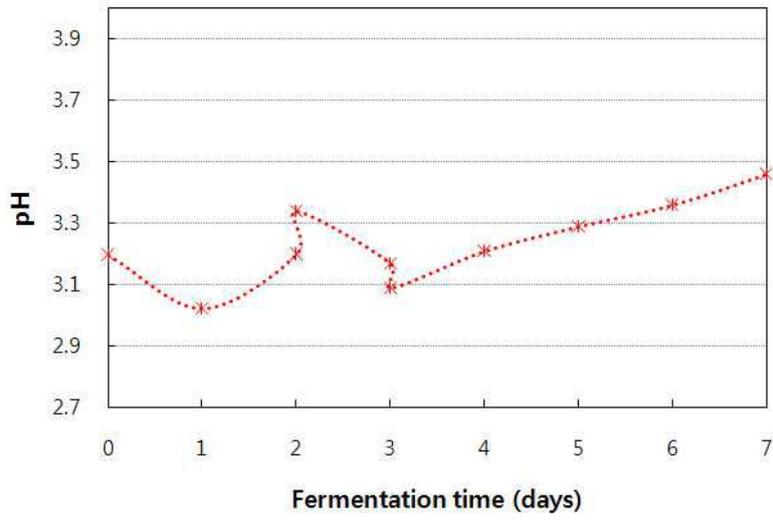
도면5



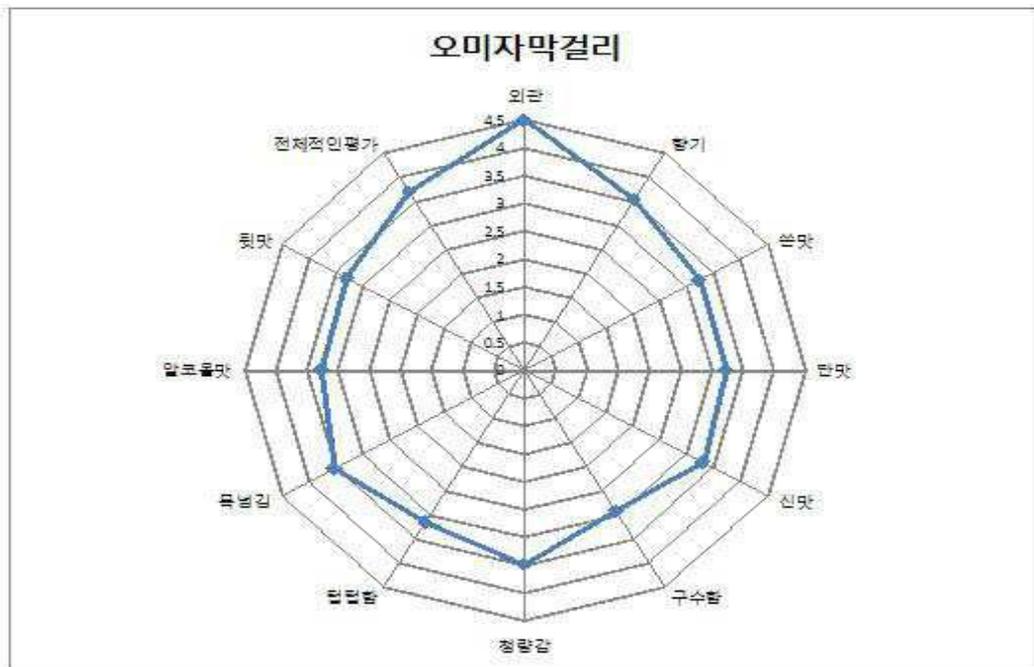
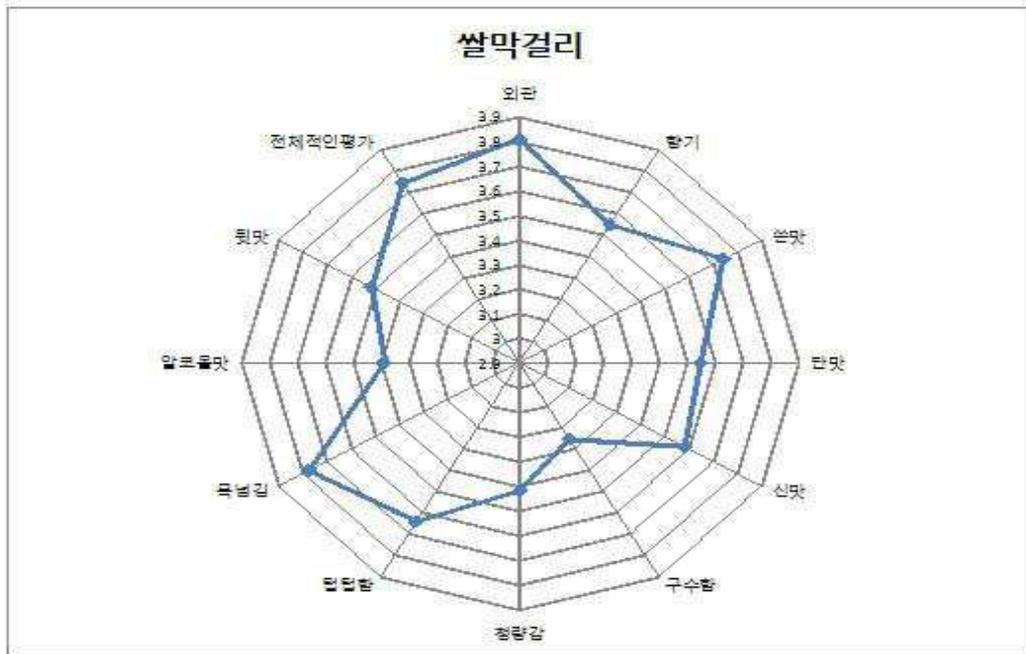
도면6



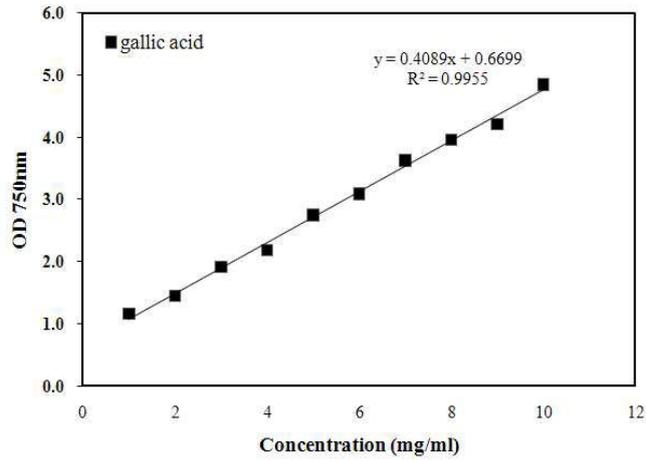
도면7



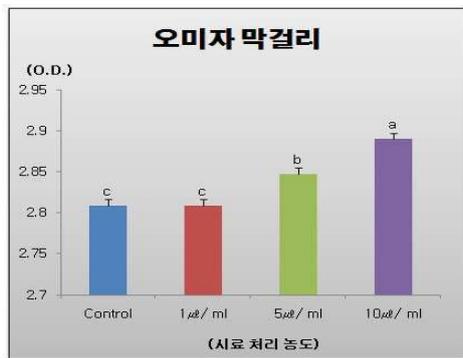
도면8



도면9



도면10



도면11

