

11-154300  
0-002758-  
01

발간 등록 번호

11-1543000-002758-01

쌀 발효제  
이용  
산업적  
감주 가공  
기술 개발  
및  
소재  
상품화

최종보고서

2019

농림축산식품부

고부가가치식품기술개발사업 R&D Report

# 쌀 발효제 이용 산업적 감주 가공기술 개발 및 소재 상품화

최종보고서

2019. 02. 28.

주관연구기관 / (주)한산에프앤지  
협동연구기관 / 강원대학교 산학협력단  
위탁연구기관 / 건국대학교 산학협력단

농림축산식품부

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “쌀 발효제 이용 산업적 감주 가공 기술 개발 및 소재 상품화”(개발기간 : 2017. 06. 15 ~ 2018. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 02. 28.

주관연구기관명 : (주)한산에프앤지 (대표자) 이 종 무 (인)  
협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단 (대표자) 윤 경 구 (인)  
위탁연구기관명 : 건국대학교 산학협력단 (대표자) 송 창 선 (인)

주관연구책임자 : 김 태 영  
협동연구책임자 : 김 명 조  
참여기관책임자 : 백 현 동

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	117076-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.06.15. ~ 2018.12.31.	단 계 구 분	1단계
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	쌀 발효제 이용 산업적 감주 가공기술 개발 및 소재 상품화			
연구책임자	김 태 영	해당단계 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 5 명 외부: 9 명	해당단계 연구개발비	정부:450,000천원 민간:150,000천원 계:600,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 5 명 외부: 9 명	총 연구개발비	정부:450,000천원 민간:150,000천원 계:600,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)한산에프엔지 강원대학교 산학협력단			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 건국대학교 산학협력단			연구책임자: 백 현 동	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	본 연구는 1년 6개월의 짧은 기간의 응용연구성과로 쌀감주 시제품제조 단계이므로, 본 시험연구결과를 공개시 국내 음료대기업인 '한국야구르트' 및 '웅진식품'등의 상위 중견기업 등에서 모방제품개발이 가능하므로 본 기업에서 제품이 생산되어 어느 정도의 시장이 형성될 기간(3년)동안 비공개 '보안등급'으로 분류하여줄 것을 건의함
-------------------------	---

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		3	1								

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약

- 쌀 발효제를 이용한 쌀당화 소재 및 이를 활용한 쌀감주를 개발하고자 쌀당화에 쌀누룩(Koji, 입국) 제조에 적합한 균주 3가지(*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus anka*)를 효소력과 제국적성을 검정하여 선정하였고, 각 균주들의 특성에 맞는 최적 제국공정기술을 확보하였음.
- 쌀 발효제의 산업적 생산을 위하여 쌀 입국(황국, 흑국, 홍국)의 제국적성 및 입국의 효소력, 당화발효시의 이화학적 특성과 당화 반응시간별 감주특성을 검정하였고, 제품화에 대한 기본 소재 특성을 구명하고 제품제조의 기초자료를 확립하였음.
- 쌀누룩(입국)의 산업적 생산을 위해서 원균주의 Starter계대방법 즉 Seeding용 포자접종과 액체종국(홍국) 배양법을 확립함.
- 쌀감주의 상품다양화를 위하여 각 균주별 쌀효소제별 최적 배합비, 당화발효공정의 최적화 그리고 제품화를 위한 쌀음료레시피 개발과 쌀감주의 영양적 특성을 분석하여 상품화 개발력을 제고함.
- 쌀감주에 유산균 발효를 접목한 쌀음료 개발을 위하여 위탁과제로부터 황국 감주용(2종), 흑국감주용(3종) 그리고 홍국감주용(3종)의 유산균을 확보하고 이들 균배양물을 감주제조공정에 도입하는 기술을 개발함.
- 쌀감주의 차별화 및 다양화 제품개발을 목적으로 발효쌀누룩별 혼용감주의 품질특성구명과 국내농산물 소비촉진 및 기호성 증진을 위해 과일농축액(딸기, 배, 유자 등) 및 인삼첨가제품 7품목의 레시피를 개발함.
- 쌀감주의 특성상 살균시 갈변에 의한 색택이 변화하므로 상온 유통성 향상을 위한 고온 및 저온살균 기술방법을 확립하였음.
- 쌀감주액의 식소제화를 위하여 농축형(brix° 65이상) 천연당시제품을 개발하여 최근 대두되는 이유식, 노인식, 보건식 등 설탕대체제품, 요리술용(미림, 미향)소재로서의 가능성을 확인함.
- 국내 약용식물자원 중 생리활성과 기능성 성분이 검정된(머위, 비타민나무, 우영 등) 추출물을 이용한 보건형 쌀감주제품 개발기술 확보
- 주관연구기관(한산에프앤지)에서는 연구결과물로 쌀감주 제조 관련 특허출원물 3건, 시제품개발(품목신고) 7건의 연구성과를 도출함.

174



<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>&lt;연구 최종 목적: 쌀소비 촉진 및 새로운 쌀가공 식품개발을 위하여 쌀발효제를 이용한 쌀감주 제조 및 쌀감주의 활용성을 제고하고자 식소재화기술개발을 목적으로 함&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 건강기능성 감주 제품개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 제품화 4종 : 호상(딸기, 망고, 블루베리, 인삼), 액상(딸기, 망고, 블루베리, 인삼)</li> </ul> </li> <li>○ 쌀 발효에 적합한 유산균의 선별 및 기능성검증</li> <li>○ 쌀 발효음료의 건강기능성 및 품질유통성 확인</li> <li>○ 주관기관: (주)한산에프앤지             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 식품소재용 및 건강증진형 감주 상품화(다양한 형태의 발효감주 제조)</li> <li>• 황국, 흑국, 홍국균을 이용한 Koji 제조 최적화</li> <li>• 황국, 흑국, 홍국 Koji를 이용한 감주 최적화 공정개발</li> <li>• 과일, 곡류를 달리한 감주의 최적화 공정개발</li> </ul> </li> <li>○ 위탁기관: 건국대학교             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 쌀의 발효 및 감주의 제조에 적합한 유산균의 선별 및 특성 검토</li> <li>• <i>in vitro</i>상의 실험을 통해 프로바이오틱스 및 제품의 기능성 검증</li> <li>• 동물실험을 통한 제품의 기능성 검증과 미생물적 위생 안전성 확보</li> </ul> </li> <li>○ 협동기관: 강원대학교             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 건강기능성 감주의 유용성분 분석</li> </ul> </li> </ul>																		
<p>연구개발성과</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">구분</th> <th style="width: 20%;">당초 목표치</th> <th style="width: 25%;">연구성과</th> <th style="width: 40%;">비고</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>사업화지표</td> <td>특허출원 : 2건 고용창출 : 5명</td> <td><b>특허출원 : 3건</b> <b>고용창출 : 6명</b></td> <td rowspan="3">○ 품목신고된 7건의 쌀 감주제품에 대해서는 특화된 유통업체(한살림, 초록마을, 자연드림)와 연계해서 상품 런칭화 추진 (2019년 하반기)</td> </tr> <tr> <td>연구기반지표</td> <td>학술발표 : 2건</td> <td><b>학술발표 : 7건</b> 국내(5건), 국외(2건)</td> </tr> <tr> <td>제품개발 및 소재화</td> <td>시제품화 : 4건</td> <td><b>시제품화 : 7건</b> <b>소재화 : 1건</b></td> </tr> </tbody> </table>					구분	당초 목표치	연구성과	비고	사업화지표	특허출원 : 2건 고용창출 : 5명	<b>특허출원 : 3건</b> <b>고용창출 : 6명</b>	○ 품목신고된 7건의 쌀 감주제품에 대해서는 특화된 유통업체(한살림, 초록마을, 자연드림)와 연계해서 상품 런칭화 추진 (2019년 하반기)	연구기반지표	학술발표 : 2건	<b>학술발표 : 7건</b> 국내(5건), 국외(2건)	제품개발 및 소재화	시제품화 : 4건	<b>시제품화 : 7건</b> <b>소재화 : 1건</b>
구분	당초 목표치	연구성과	비고																
사업화지표	특허출원 : 2건 고용창출 : 5명	<b>특허출원 : 3건</b> <b>고용창출 : 6명</b>	○ 품목신고된 7건의 쌀 감주제품에 대해서는 특화된 유통업체(한살림, 초록마을, 자연드림)와 연계해서 상품 런칭화 추진 (2019년 하반기)																
연구기반지표	학술발표 : 2건	<b>학술발표 : 7건</b> 국내(5건), 국외(2건)																	
제품개발 및 소재화	시제품화 : 4건	<b>시제품화 : 7건</b> <b>소재화 : 1건</b>																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p><b>[학술적·기술적 측면]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 학술적 기초 연구자료 제공 : 미생물의 산업적 이용과 활성화에 대한 이론적 배경을 확립할 수 있으며 다양한 발효 식품 연구에 기초 자료를 제공할 수 있음</li> <li>○ 저명학술지 논문게재 및 국제적 기술 우위 : 프로바이오틱스를 이용한 발효와 다양한 약용식물의 첨가에 따른 기능성 연구를 수행함으로써 일본이 압도적으로 기술우위를 점하고 있는 관련 연구 분야에서 선도적 역할도 기대할 수 있음</li> <li>○ 쌀 발효물의 소재화 : 다양한 식품군에 적용가능하며 기능성을 기대할 수 있음</li> </ul> <p><b>[경제적·산업적 측면]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 쌀의 소비 촉진 : 현재 침체되어 지속적으로 감소 추세인 쌀의 소비를 촉진하여 농가의 부흥에 도움을 줄 수 있음</li> </ul> <p><b>[사회적 측면]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 소비자의 니즈 충족 : 쌀을 이용해 발효음료를 제조함으로써 1인 가구 및 맞벌이 가족의 편의 향상을 위해 간편식과 같이 식사 대용품으로 제공할 수 있을 뿐만 아니라 첨가물 종류의 다양화를 통해 다양한 연령대에서 원하는 방향으로 기호성을 충족시킬 수 있음</li> </ul>																		
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>감주</p>	<p>발효</p>	<p>품질관리</p>	<p>약용작물</p>	<p>공정화기술</p>														
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>rice beverage</p>	<p>fermentation</p>	<p>quality control</p>	<p>medicinal plant</p>	<p>processing technique</p>														

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	6
1.1. 연구개발 목적 .....	6
1.2. 연구개발의 필요성 .....	8
1.3. 연구개발 범위 .....	31
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	34
2.1. 주관기관 .....	34
2.2. 협동기관 .....	90
2.3. 위탁기관 .....	133
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	165
3.1. 목표 .....	165
3.2. 목표 달성여부 .....	166
3.3. 목표 미달성 시 원인 및 차후대책 .....	166
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	167
5. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 및 국내음료시장 .....	173
붙임. 참고 문헌 .....	180

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적



### [최종목표]

○ 보건용(Healthy형) 쌀감주 대량생산 제조공정 개발 및 식품소재 상품화

### [연구 추진 체계]

	(주)한산에프앤지	강원대학교	건국대학교
최종목표	식품소재용 및 건강증진형 감주 상품화	약용식물 첨가 감주의 개발 및 기능성 검증	쌀 발효에 적합한 프로바이오틱스 및 제품의 기능성, 미생물적 안전성 검증
1차년도	쌀 감주 제조용 적정 발효제의 선정 및 제조공정 최적화	발효제에 따른 감주의 생리활성 및 성분분석	쌀 발효에 적합한 균주의 선정 및 기능성 검증, 발효조건 최적화
2차년도	쌀 감주의 품질 다양화 및 유통저장성 향상 기술 개발	약용식물 추출물 첨가에 따른 시제품의 생리활성 및 기능성분석	프로바이오틱스와 제품의 기능성 및 미생물적 위생 안전성 검증

## [세부 추진 체계]

### ■ 주관연구기관 (주)한산에프앤지 : 식품소재용 및 건강증진형 감주 상품화

- 1년차 : 쌀감주 제조용 적정 발효제의 선정 및 제조공정 최적화
  - 곡류별, 균주(Koji)별, 유산균 발효에 따라 제조된 감주의 최적의 감주 제조조건 확인
- 2년차 : 쌀감주의 품질 다양화 및 유통저장성 향상 기술개발
  - 균주(Koji)별, 유산균 발효에 따라 제조된 감주의 병행 단 발효 및 병행 복 발효에 따른 감주제조 최적화기술 확립
  - 보건기능성 향상을 위한 대량 생산형 감주 제조법 확립 및 제품다양화 (4종)
  - 식소재형 및 음료형 감주의 시작품 제작

### ■ 협동연구기관 강원대학교 : 약용식물 첨가 감주의 개발 및 기능성 검증

- 1년차 : 발효제에 따른 감주의 생리활성 및 성분 분석
  - 곡류별, 균주(Koji)별, 유산균 발효에 따라 제조된 감주의 생리활성 및 성분 분석
- 2년차 : 약용식물 추출물 첨가에 따른 시제품의 생리활성 및 기능성분 분석
  - 감주에 첨가될 약용식물의 생리활성 검증 및 기능성분 분석
  - 시제품의 생리활성 검증 및 기능성분 분석

### ■ 위탁연구기관 건국대학교 : 쌀 발효에 적합한 프로바이오틱스 및 제품의 기능성, 미생물적 안전성 검증

- 1년차 : 발효에 적합한 균주의 선정 및 기능성 검증, 발효 조건 최적화
  - 전통발효식품으로부터 프로바이오틱스 분리·선별 및 발효 소재에 따른 조건 최적화
- 2년차 : 프로바이오틱스 및 제품의 기능성과 미생물적 위생 안전성 검증
  - *in vitro*상에서 프로바이오틱스 기능성 및 제품의 기능성 검증
  - 동물실험을 통한 제품의 기능성 검증
  - 제품의 미생물학적 위생 안전성 검증

## 1-2. 연구개발의 필요성

### ■ 쌀 소비량 감소

- 통계청이 발표한 쌀 소비량조사에 따르면 1985년 국민 1인당 연간 128.1kg을 소비하였으나, 지난해 1인당 연간 쌀 소비량은 62.9kg으로 최근 30년간 절반 이하로 떨어졌고, 전년(65.1kg)에 비해 3.4% 감소한 것으로 나타났다. 이는 최근 10년간 연평균 소비감소비율 2.4%를 상회하는 수준으로 이 같은 추세가 계속된다면 10년 후인 2025년에는 49.2kg까지 떨어질 것으로 전망된다.

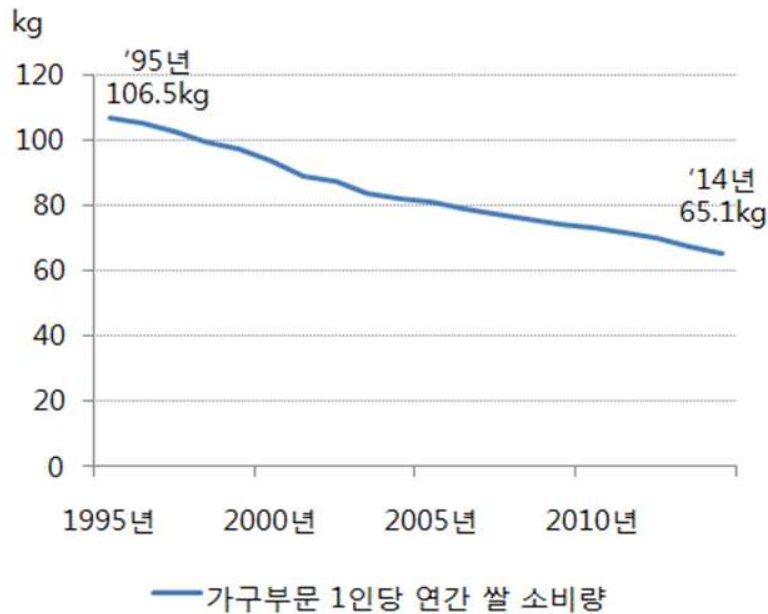


그림 1-1. 가구부문 1인당 연간 쌀 소비량 (출처 : KREI, 2015 농업전망)

- 패스트푸드 소비증가와 1인가구와 맞벌이부부 증가 등의 사회구조인 변화와 외국 쌀과 품질 및 가격경쟁으로 인하여 국내산 쌀 소비가 지속적으로 감소하고 있는 현시점에서 국내산 쌀의 우수성을 홍보하고, 농가소득 증진을 위해서는 건강기능성 규명 및 산업적 유용성 증진을 위한 국제적 수준의 연구와 쌀 소비를 촉진할 수 있는 제품개발을 통해 쌀의 부가가치 창출을 이끌 수 있는 연구가 필요하다.
- 우리나라의 쌀 가공화율은 5% 미만이며, 특히 국내산 쌀의 경우는 가공화율이 극히 미진한 실정으로 쌀의 가치에 대한 인식변화가 절실히 필요한 시점에서 편의화 및 서구화되는 식생활 변화에 부응하는 쌀 가공 제품의 개발이 필요하다.
- 국제 곡물가격 파동 등 외부적인 영향을 쉽게 받을 수 있는 우리나라는 쌀의 중요성이 또 다시 부각되며 고기능성, 프리미엄 원료 개발이 필요 시 되었고 다른 원료들을 대체할 수 있는 새로운 기초 원료 산업 모색에 대한 노력이 절실히 필요하며 자급율이 높은 국내 쌀을 활용한 신수요처 개발이 요구되고 있다.

## ■ 쌀 가공식품 개발현황

- 전통적으로 쌀 가공식품은 밥, 죽, 떡, 한과, 술 등이 있으며, 그중에서도 쌀 생산량의 95%는 밥으로 소비되고 있으며, 2002년도 가공용 쌀 이용율은 4.8%로 전체 쌀 생산량의 3~5%정도 수준으로만 가공용으로 이용되고 있다.
- 2004년도 기준으로 가공용 쌀의 소비 형태는 떡국 떡, 떡볶이 떡이 중심이 되는 떡류 제품이 전체 소비량의 56%를 차지하고 있으며, 쌀 막걸리, 청주 등의 주류가 약 25%로 쌀 떡류 및 주류제품에서 전체 가공용 쌀의 약 80% 정도를 소비하고 있다.
- 쌀 가공제품이 다양하지 못한 것은 가공식품 제조에 적합하지 못한 쌀의 특성도 있지만, 쌀 가공식품 제조업체들이 대부분 연구개발이 어려운 영세업체들로 구성되어 있는 것도 중요한 이유 중 하나이다.
- 정부는 쌀 가공식품산업육성을 위해 쌀 가공식품을 체계적으로 연구할 수 있는 연구기관을 설립하고 원료의 저가공급지원과 시설현대화 자금을 지원 쌀 가공식품 육성기반을 마련하기 위해 노력하였으나 이러한 정부의 지원과 업계의 노력에도 불구하고 쌀 가공식품산업이 활발한 성장을 하지 못하고 있는 실정이다.

표 1-1. 국내의 쌀 가공제품 종류

생산품목		분류기준
대분류	소분류	
떡면류	즉석 떡면류 떡면류 전통떡류	즉석으로 조리가 가능한 떡국 떡, 떡볶이 떡, 국수, 라면 등의 즉석 떡류 떡류, 국수, 생면 등 인절미, 절편 등 전통떡
쌀과자	쌀과자 한과류 쌀튀밥 누룽지	비스킷, 건빵, 스낵 등의 쌀과자, 비스킷, 건빵 스낵 등의 쌀과자 쌀강정, 유과 등 전통 한과류 제품 쌀을 단순 퍼핑한 상태의 쌀과자 누룽지 및 누룽지형태의 과자
쌀가루	생미분 알파 미분  습식미분	쌀을 건식으로 단산분쇄한 쌀가루 제품 알파미분, 활곡, 익스트루더미분, 볶음 쌀가루 등의 제품으로 쌀의 성분이 호화된 형태의 쌀가루 침지공정 등의 공정과정을 거쳐 습식으로 분쇄한 쌀가루 제품
주류	탁약주 소주 맥주 청주	탁주와 약주 제품 소주제품 맥주제품 청주제품
조미식품	엿류 장류 식초	엿 및 조청류 제품 고추장, 된장, 간장제품 식초제품
기타	죽류 식혜 스낵 부원료 꼬치류 선식류 쌀음료 쌀빵 가공쌀밥 쌀라면	죽류제품 식혜류제품 스낵류 과자 부원료 꼬치에 끼운 쌀 제품 미숫가루 등 선식제품 쌀음료 제품 빵류제품 무균화 포장쌀밥, 레토르트 포장쌀밥, 냉동쌀밥, 건조쌀밥, 컵라이스 라면류

\* 출처 : 한국쌀가공식품협회, 2008

## ■ 쌀 발효음료 개발현황

- 쌀은 생리활성물질인 protease inhibitor(오리자시스타친, 트립신 인히비터 ett) 및 Amylase inhibitor가 있으며,  $\gamma$ -oryzanol, 항산화물질(phytic acid), octacosanol, 항종양물질(다당류, 단백질) 식이섬유 및 안지오텐신 변환효소저해물질 등의 기능성성분이 존재하는 가장 우수한 식품가공 재료이다.
- 현재 농림축산식품부의 쌀 소비 활성화 방안 중 하나인 쌀 가공산업 활성화 방안을 보면 쌀을 가공하여 제조한 제품으로는 떡류, 면류, 빵류, 과자류, 프리믹스, 전분당류, 곡물가공류, 도시락류, 주류로서 쌀을 이용한 음료에 대한 부분은 개발이 되지 않고 있다.
- 쌀음료는 우유나 대두 알레르기가 있는 소비자들의 대체식품으로 이용되고 있어 주목을 받고 있다.
- 특히 최근 선진국을 중심으로 기능성강화 쌀음료, 쌀 요구르트, 라이스 밀크 등의 수요가 증가하며 미국, 중국 등 30개 국으로 수출하고 있는 실정임. 일본의 경우 쌀 소비 촉진대안으로 출시된 ‘라이스밀크’ 판매량이 증가하고 있다.
- 한국의 대표적인 쌀음료의 경우 ‘웅진’에서 제조한 아침햇살이며 1999년 처음 출시되어 큰 인기를 끌다가 현재는 판매가 예전만 못한 상황이고, 한국 전통식품인 식혜의 국내 생산량은 1995년 말 기준으로 2,500억 원에서 현재 1,000억 원으로 시장이 감소한 상황이다.
- ‘한국 쌀가공식품협회’ 자료에 따르면 쌀음료 수출실적은 2014년 기준 수출량 833톤, 수출액 104만 7000불을 기록하여 증가하는 추세이임. 이를 바탕으로 국내 쌀음료 시장을 활성화와 국외 수출을 더욱 늘리기 위해서는 특히 도시민, 젊은 층을 겨냥한 다양한 형태의 쌀음료 개발이 필요한 실정이다.
- 국내 쌀음료의 경우 일반적으로 백미 또는 현미의 쌀을 볶음-분쇄-액화-당화-유화시켜 음료수화 시킨 것으로 쌀 등의 곡류를 발효하여 음료 화 한 제품은 현재 출시되지 않은 상황이다.
- 쌀을 이용한 발효식품의 생리활성기능은 발효 중 물리화학적 조건에 의해 새롭게 생성되어 현재화로 나타나기도 하고, 또한 인류가 과학의 진보로 발효물이 음식으로 된 것이 상당수이며, 안정성인 면에서도 실지 증명되었고, 이와 같은 관점에서 발효식품은 기능성 식품으로서 응용을 목적으로 한 연구가 진행되어 상품화로 끊임없이 검토되고 있다.
- 일본의 아마자케(甘酒)의 가공재료가 되는 Koji와 주박(술지게미)의 기능성을 살펴보면 다음과 같다. (일본월계관 연구소, 2005년)
  - ✓ 혈압강화작용: 고혈압의 예방으로 술지게미에 함유되어 있는 수종의 peptide는 혈압을 강화 시키는 작용이 있는 것으로 밝혀졌다.
  - ✓ 과산화물의 제어: 유해한 과산화물과 반응해서 해독작용을 하는 글루타치온이 있으며, 이는 효모에 의해서 만들어진다.
  - ✓ 혈압상승억제작용: 항이뇨작용 호르몬(바소프레신)의 분비를 억제해서 혈관을 확장하고 연수의 혈관중추에 작용해서 혈압을 강화시키고, 신장 기능개선, 간 기능개선작용을 한다.
  - ✓ 기억력유지: 학습이나 기억에 관여하는 호르몬이 있는 바소프레신이라는 물질을 분해하는 PEP(폴리엔도펩티다제)의 움직임을 저해하는 물질이 발견되었으며, 이러한 물질은 청주나 와인에서도 존재한다고 보고되었다.

- ✓ 치매방지: 노인성치매에 효과가 있다고 알려진 S-아데노실메티오닌이 청주 나 주박에 함유되어 있으며, 이 물질은 관절염이나 우울증 치료에 사용되고 있다.
- ✓ 알레르기억제기능: 화분(꽃가루)알레르기에 관여하여진다고 생각되어지는 히스티딘프로테아제를 저해하는 에폭시혹박산 유도체가 주박이나 청주에 함유되어 있다.
- ✓ NK세포활성화: 주박 중에는 암세포를 살해하는 NK세포(자연살해세포)를 활성화하는 물질이 함유되어 있다.
- ✓ 암 저항성: 주박 중에는 암세포에서 분비되어지는 독소호르몬 L-독소의 운동을 저해하는 물질(글루코사민)이 함유되어 있다.
- ✓ 인슐린 전구물질 : 주박 중에는 성인 당뇨병의 원인이 되는 인슐린에 기능화 되지 않는 환자에 인슐린과 같은 효과를 갖고 있는 물이 함유되어 있는 것으로 판명되었다.

(*in vivo* 실험결과)

- 이상의 과학적 규명에 의한 고령화 또는 기후환경 이상으로 인한 각종 질병 및 생활 습관병의 기능성 식품보조제로서의 소재 및 상품화 개발로는 충분하다고 판단된다.
- 일본뿐만 아니라 한국에도 심화되고 있는 쌀 소비감소의 대응책으로 새로운 상품개발이 이루어지면 일부 소비확대에 부응할 수 있을 것으로 보인다.
- 식생활의 변화 특히 젊은 층의 쌀 소비가 현저히 줄어들고 있는 요즈음, 쌀 상품의 개발과 제안이 절실히 필요할 때이다.
- 따라서 본 연구에서는 쌀 등의 곡류를 Koji(국)를 이용하여 발효한 후 기능성 원료를 첨가하여 건강기능성 발효음료인 감주를 다양한 방법으로 개발하여 국내 쌀음료 활성화와 국외 수출을 통하여 국내 쌀 소비 촉진에 이바지 하고자 한다.

## ■ 발효 미생물에 대한 관심 증가

- 각종 발효미생물에 대한 기능적, 의학적 연구가 진행되고 있으며 미생물에 의해 발효된 전통식품에게서 새롭게 생성된 물질들에 대한 의학적인 기능 또한 많은 연구에 의해 밝혀진 바 있다.
  - 간장, 된장: 항암효과, 노인성 치매 예방, 고혈압 예방, 간 기능 회복
    - ✓ Jung et al. (2006) Longer aging time increases the anticancer and antimetastatic properties of Doenjang. Nutrition 22, 539-545.
    - ✓ Park et al. (2003) Antimutagenic effects of Doenjang(Korean fermented soypaste) and its active compounds. Mutat. Res. 523-524, 43-53.
    - ✓ Park et al. (2000) Inhibitory effect of Doenjang(fermented Korean soypaste) extracts and linoleic acid on the growth of human cancer cell lines. J. Food Sci. Nutr. 5, 114-118.
    - ✓ Kim et al. (2014) Identification and quantification of antitumor thioproline and methylthioproline in Korean traditional foods by a liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. J. Pharmaceut. Biomed. 100, 58-63.
    - ✓ Song et al. (2014) Anti-colitic effects of Kanjangs(fermented soy sauce and sesame sauce) in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. J. Med. Food 17, 1027-1035.



- 고추장: 항균, 항암, 혈액순환 촉진, 면역체 활성화
  - ✓ Kwon et al. (2009) Kochujang, a Korean fermented red pepper plus soybean paste, improves glucose homeostasis in 90% pancreatectomized diabetic rats. *Nutrition* 25, 790-799.
  - ✓ Shin et al. (2012) Diterpene glycosides from Korean fermented red pepper paste (Gochujang) and their origin. *Food Chem.* 130, 1024-1030.
  - ✓ Cha et al. (2013) Kochujang, fermented soybean-based red pepper paste, decreases visceral fat and improves blood lipid profiles in overweight adults. *Nutr. Metab.* 10, 24.
  
- 청국장: 항암효과, 면역 증강, 혈전 용해 효과, 간해독 기능, 비만 억제 효과
  - ✓ Kwak et al. (2007) Higher antioxidant properties of Chungkookjang, a fermented soybean paste, may be due to increased aglycone and malonylglycoside isoflavone during fermentation. *Nutr. Res.* 27, 719-727.
  - ✓ Kwon et al. (2010) Antidiabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. *Nutr. Res.* 30, 1-13.
  - ✓ Shon et al. (2007) Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of Chungkukjang. *J. Food Compos. Anal.* 20, 113-118.
  
- 김치: 소화촉진, 면역 강화, 생체조절 기능, 항암, 항균, 항돌연변이 억제, 항산화 기능, 노화 억제
  - ✓ Kim et al. (2011) Fermented Kimchi reduces body weight and improves metabolic parameters in overweight and obese patients. *Nutr. Res.* 31, 436-443.
  - ✓ Lee et al. (2014) Effect of baechu Kimchi added *Ecklonia cava* extracts on high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *Prev. Nutr. Food Sci.* 19, 170-177.
  - ✓ Lee et al. (2014) Immunomodulatory effects of Kimchi in chinese healthy college students: A randomized controlled trial. *Clin. Nutr. Res.* 3, 98-105.
  - ✓ Kim et al. (2014) Kimchi protects against azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colorectal carcinogenesis in mice. *J. Med. Food* 17, 833-841.
  - ✓ Yun et al. (2014) Kimchi methanol extract and the kimchi active compound, 3'-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid, downregulate CD36 in THP-1 macrophages stimulated by oxLDL. *J. Med. Food* 17, 886-893.

## ■ 발효 음료 시장 동향



그림 1-2. 5-Forces model을 이용한 발효음료 산업 분석  
(출처: 발효음료 산업동향보고서, 식품의약품안전처, 2012)

### ○ 발효음료 산업 분석 (5 Forces model)

- 신규진입자의 위협(Threat of new entrants)
  - ✓ 발효음료의 경우 초기설비투자비용이 약 700~900억 원 수준임. 이로 인해 기존에 생산설비를 보유하고 있거나, 혹은 OEM라인을 갖추고 있는 업체가 아니라면 새롭게 시장에 진입하기가 다소 어려운 실정이다.
  - ✓ 반면 발효음료를 제외한 발효음료는 초기 투자비가 상대적으로 많이 필요하지 않음.
- 산업 내 경쟁강도(Rivalry among existing competitors)
  - ✓ 산업 내 다수의 대기업이 존재함. 또한 기존 대기업들의 시장장악력이 강해 글로벌 발효음료 기업 및 타 산업군의 대기업 등이 시장에 진입하여도 강한 경쟁강도로 인해 퇴출되는 사례도 존재한다.
- 구매자의 교섭력(Bargaining power of buyers)
  - ✓ 발효음료의 대부분은 주로 대형마트 및 편의점에서 판매됨. 대형마트와 편의점에 납품하여 진열대에 올라가기까지 경쟁이 치열하다.
  - ✓ 치열한 경쟁으로 인해 대형마트 및 편의점의 가격결정력 등이 높은 편이기 때문에 구매자의 교섭력은 상당히 높은 편이다.
- 공급자의 교섭력(Bargaining power of suppliers)
  - ✓ 해외 곡물 등 원재료 가격이 상승하고 있고, 이로 인해 사료 값 인상이 예상되며, 이는 원유 값 인상으로 이어질 수 있지만, 원유는 상품 특징 상 시장수급 등에 가격이 결정되지 않고 농림수산식품부(낙농진흥회) 고시에 의해 가격이 결정된다.
  - ✓ 이러한 환경으로 공급자의 교섭력은 낮은 편으로 보여 지나 그 외 원료의 경우 대부분 수입에 의존하기 때문에 이러한 부분에서는 다소 공급자의 교섭력이 강하다고 볼 수 있다.
- 대체제의 위협(Threat of substitute products or services)
  - ✓ 발효음료를 대체할 제품은 현재 거의 없는 실정이다.
  - ✓ 발효음료를 섭취하는 소비자 형태가 ‘음료’의 섭취라기보다는 ‘건강음식’의 섭취로 보여 지기 때문에, 발효음료를 제외한 발효식품이 대체제로 보일 수 있으나, 소비 형태의 차이로 그리 큰 영향을 끼치지 못할 것으로 판단된다.

○ 발효음료 시장규모

- 발효음료 시장규모는 2012년 기준 약 1조 6,163억 원이며, 이는 전체 음료시장의 40.6%임. 발효유는 발효음료 시장의 약 81.2%인 1조 3,120억 원을 기록하였다.
- 발효유의 시장규모는 연평균 8.4%씩 성장률을 보이는 반면, 발효음료 시장규모의 성장률의 경우 연평균 47.1%로 월등히 높다.

■ 건강기능식품의 현황 및 문제점

- 식품의약품안전처에 따르면 ‘13년 건강기능식품 총 생산액은 1조 4,820억 원으로 ’ 12년의 1조 4,091억 원에 비해 5% 증가하였음. 수출은 754억 원으로 ’ 12년(584억 원)보다 29% 늘어났고, 수입도 3,854억 원으로 ’ 12년(3,532억 원)보다 9% 증가하였다. (메디파나 뉴스, 2014. 8. 6.)
- ‘13년 국내 건강기능식품 시장규모(생산+수입-수출)는 1조 7,920억 원으로 ‘10년 1조 2,804억 원, ‘11년 1조 6,855억 원, ‘12년 1조 7,039억 원에 이어 지속적인 성장세를 유지하였다. 수출은 754억 원으로 ’ 12년(584억 원)보다 29% 증가했으며, 수입도 3,854억 원으로 ’ 12년(3,532억 원)보다 9% 증가하였다.
- 국내 건강기능식품 중 프로바이오틱스가 차지하는 비중이 5%(804억 원)에 육박하였으며, 전년 대비 55% 증가하며 성장을 주도하였다.

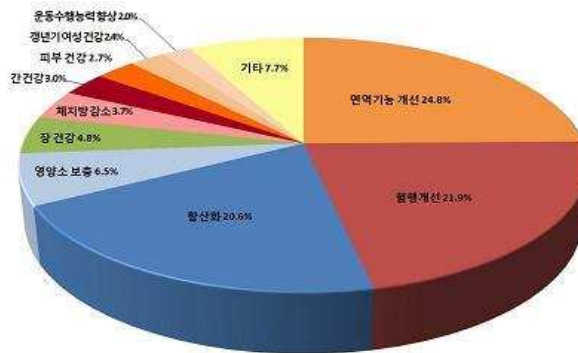


그림 1-3. 기능성별 건강기능식품 2013년 생산 실적(점유율)  
(출처: 프로바이오틱스. 백수오 건강기능식품 성장 주도)

- 프로바이오틱스의 국산화는 (주)셀바이오텍, (주)비피도, (주)프로바이오틱 등에 의해 이루어지고 있으며, 이 분야에서도 수입이 차지하는 비중이 더 큼. 최근 구강 냄새 제거, 장 건강으로 각광을 받고 있는 VSL#3의 경우, 미국 직배송으로 한달치 가격이 138,000 원으로 고가에 해당하며, 이러한 제품을 국산 제품으로 대체한다면 고부가가치 산업으로 발전 가능성은 충분히 크다.



그림 1-4. 직배송 수입되고 있는 프로바이오티스 제품  
(출처: <http://www.vsl3.com/>)

- 소비자들의 건강 지향성에 힘입어 프로바이오티스 생균제는 앞으로도 더욱 각광을 받을 것으로 보임. 향후 프로바이오티스 시장을 주도하는 유산균 제품은 고기능성 및 다기능성 의약식품(medifoods)으로 발전할 전망이다. 이에 부응하는 제품 제형 개발이 필요한 실정이다.
- 현재 프로바이오티스 포함 제품은 생균제와 발효유에 국한되는 한계점을 가진다.
- 프로바이오티스를 포함한 건강기능식품의 효능 표시에 대한 보다 전향적인 정책으로 수입품과의 경쟁을 향상시키는 정책이 매우 절실하다.

## ■ 국내 기술 수준 및 시장현황

### ○ 기술현황

#### • 쌀 가공식품 기술 개발

- ✓ 쌀 가공식품은 옛날부터 다양한 취반법과 조리방식에 따라 여러 가지 밥류와 죽류가 있고, 주식 외의 가공식품으로는 떡류와, 한과류가 있으며, 음료식품으로는 술과 식혜 등이 있다. 최근에는 제과, 제빵 등에 쌀이 이용되고 있고 현미를 원료로 한 건강식품류도 판매되고 있다.
- ✓ 쌀 가공제품 및 소재화 기술 개발에 쌀과 대두단백질 인조육(쌀고기), 즉석누룽밥, 송늬, 미숫가루, 씻지 않는 쌀(무세미)가공기술, 무균 포장 밥, 쌀국수 등이 산업화가 되었다.
- ✓ 쌀 가공제품은 짧은 life-cycle과 사후관리체계가 미흡하고, 기술이전 업체의 기술 개발 능력 미흡으로 실용화 및 기술개선이 미진하며, 연구비 및 연구기간 제한으로 지속적인 사후 기술지원이 불가능하기 때문에 다양하고 고품질의 쌀 가공제품이 매우 제한적이다.
- ✓ 쌀 가공제품의 경우 원천기술개발 및 생산 저해기술보다 제품개발에 치중하여 기업체와 차별화되지 못한 제품 개발로 인하여 실용화가 매우 미흡하고, 과도한 기술이전 비용과 신규시설투자에 대한 업체의 비적극성 및 쌀 가공제품 생산을 위한 생산가공 시스템에 관한 연구도 미흡한 편이다.
- ✓ 국내 식품제조회사의 경우 쌀만의 제품개발 시도로 인하여 탄산음료 및 커피에 어울리는 제품개발이 전무하여 신세대에 부합되는 새로운 제품개념의 도입이 어려운 실정이다.

- ✓ 또한 간편한 식사 대체용 쌀 가공제품의 기술개발이 부족하며, 장소와 시간에 제한받지 않고 아침식사 대용으로 소비할 수 있는 제품이 없으며, 우리의 식문화에 어울릴 수 있는 밥과 과자의 중간제품이 필요하나 이러한 제품개발을 위한 노력이 미비한 형편이다.
- ✓ 향후 쌀 가공산업을 활성화하기 위해서는 쌀 가공제품의 신규 시장 개척 및 새로운 산업기반을 구축하여야 하나 이에 대한 연구는 매우 미비하거나 전무한 실정이며, 쌀 가공산업 육성을 위한 정부 R&D 투자 및 산업화를 위한 산·학·연의 협력체계가 미흡하다.

• **국내 쌀 음료 기술**

- ✓ 국내 전통음료인 식혜는 쌀을 맥아로 발효하여 제조한 것으로 맥아의 당화력과 단맛에 대한 품질제시가 부족하게 돼 동일한 수준의 제품생산이 어려워 농가 중심의 소규모 단위의 가공업체에서는 실용화하기가 어려운 점이 있다.
- ✓ 식혜 등과 같은 액상형태의 제품은 쌀 음료시장에서 경쟁력이 부진하기도 하지만 패스트푸드의 강세, 현대인의 서구화 된 식품소비 패턴에 따라 쌀 소비는 계속해서 감소하고 있어 자연지향, 다양화 지향, 퓨전화 지향 등의 새로운 식품소비 트렌드를 겨냥한 음료제품이 개발이 필요하다.
- ✓ 현재 쌀을 이용해 만들어 먹는 식혜 등 제품은 음료시장에서 제품 경쟁력이 부진한 상태이므로 다양한 맛과 향, 건강기능성을 즐길 수 있는 새로운 타입의 제품 개발을 통해 다양한 연령층에서의 쌀 소비를 지속적으로 유도할 필요가 있다.
- ✓ 기존 문헌이나 보고된 기술에 보면 크게 2가지 형태로 나누어 볼 수 있으며 하나는 전분분해효소력을 가진  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, glucoamylase 등의 효소를 직접 사용하거나, 향미를 증진하기 식용용 유기산(구연산 등)을 일정량 혼합하는 방법이 대부분이며, 유용미생물을 접종해 기질을 분해, 발효하는 방식으로 관능적 특성이 많이 떨어지는 것으로 상용화되지 못하는 기술이 대부분이다.

### < 쌀가공산업 경쟁력 분석(SWOT) >

※ SWOT 기법 : 강점(Strengths), 약점(Weaknesses), 기회(Opportunities), 위험(Threats) 등 4가지 요인을 분석하여 향후 사업 추진방향을 모색 하는 경영기법		<b>기 회 [O]</b>	<b>위 험 [T]</b>
		■ 쌀 가공산업 육성 및 쌀 소비 촉진에 관한 법률 제정 ■ 식량자급률 목표 설정 ■ 국제 곡물가격 상승기조 ■ K-FOOD(한류) 소비 붐	■ 쌀 가공식품의 수입증가 ■ 1인당 쌀 소비 감소 ■ 국내 쌀 생산 변동성 심화 (과잉생산 기조 붕괴)
		<b>우선 수행과제(O-S전략)</b>	<b>Risk 해결과제(S-T전략)</b>
<b>강 점 [S]</b>	■ 영양학적으로 우수한 제품 인식 - 웰빙 이미지 제품 (글루텐프리) ■ 육성필요성에 대한 사회적 인식 공감	◆ 산업 경쟁력 제고를 위한 적극적 투자 확대 - 쌀가공업체 경쟁력 제고 (자금지원, 제도개선 등) - 쌀 가공제품의 수출 상품화 추진 - 가공용 쌀 전용 재배 단지 조성	◆ 쌀 소비기반 유지 - 농업·외식산업과 연계 강화로 부가가치 창출 - 지역 및 농업 연계형 쌀 가공기업 육성 및 지원 - 쌀가공제품의 다양화 및 고급화
		<b>우선 보완과제(W-O전략)</b>	<b>장기 보완과제(W-T전략)</b>
<b>약 점 [W]</b>	■ 원료의 안정적 공급 기반 취약 ■ 밀 등 대체원료에 비해 높은 쌀값과 가공성 부족 ■ 쌀 가공산업 구조의 영세성	◆ 정부쌀 공급 안정성 확보 - 국산 재고미, 수입쌀의 안정적 공급 지원을 통한 가공산업 육성 ◆ R&D 및 기술투자 확대	◆ 가공용 원료 안정공급 체계 구축 ◆ 쌀 가공식품 소비홍보 강화를 통한 소비자 신뢰강화 (지속 소비기반 유지)

그림 1-5. 쌀 가공산업 경쟁력 분석 SWOT (출처 : 농림축산식품부, 2014)

• **발효식품의 쌀 소비현황**

- ✓ 발효식품의 쌀 소비 대체 가능물량을 추정할 경우 261,667톤(주류 238,304, 된장 1,705, 고추장 2,258, 조청 19,392, 식초8)으로 국내산 원료곡의 가격 경쟁력의 취약성을 극복하기 위한 정책지원이 필요하다.
- ✓ 우리나라 약주, 증류식 소주 시장규모가 일본시장과 유사하게 확대 될 경우 약 35만톤(약주 20, 증류식 소주 15)추가 소비가 가능하다.

표 1-2. 주류 쌀소비 물량 및 대체 가능물량 추정

구분	주류시장 규모( '14)		쌀 사용량 (톤)			쌀소비 대체 가능량(톤)	
	출고량(kL)	출고액 (백만원)	합계	국내	수입	가능량	대체 가능원료
합계	3,808,167	9,126,908	238,304	200,688	37,617	197,763	
막걸리	430,896	479,222	63,422	29,745	33,677	77,749	수입밀
약주	12,320	72,716	2,537	2,261	276	811	수입전분
청주	19,466	117,565	5,470	5,470	-	-	
과실주	17,617	121,115	-	-	-	-	
증류식소주	755	14,259	1,469	1,469	-	-	
맥주	2,055,761	4,328,539	684	677	7	54,299	수입전분
희석식소주	957,656	3,370,812	-	-	-	-	
위스키	907	70,352	-	-	-	-	
브랜디	67	843	-	-	-	-	
일반증류주	6,068	24,210	1,265	1,205	60	-	
리큐르	284	2,687	908	908	-	811	수입전분
기타주류	3,293	20,223	6,797	3,200	3,597	19,846	타피오카
주정	303,077	504,365	155,754	155,754	-	44,246	

\* 출처 : 국세청(주세신고현황), 농식품부(주류산업실태보고)

\* 쌀 소비량 : 막걸리 750ml(115g), 증류식 소주 750ml(840g), 청주 300ml(85g), 약주 375ml(80g)

#### • 국내 쌀 발효음료 기술

- ✓ 농촌진흥청은 맥아 대신에 쌀코지(쌀누룩)를 이용한 쌀 발효음료제조방법을 개발하였고, 이는 유용미생물을 접종 배양한 쌀코지를 쌀전분의 분해 및 유기산 생성 등의 역할을 하는 효소제로 이용한 것으로, 일정한 온도와 시간으로 쌀을 당화하고, 이를 당화액으로 조제한 후 기타 다른 식품을 첨가하면 되는 형태로 아직 시중에 제품으로 개발되어 판매되고 있지 않는 실정이다.
- ✓ 쌀 발효음료의 경우 가장 큰 장점으로 ‘알러지가 없는 것’ 과 ‘non sugar’, ‘non cholesterol’ 으로서 천식이나 아토피처럼 면역관련 질환이 있는 어린이, 노인, 환자들에게 매우 좋은 건강식이 될 수 있을 뿐만 아니라 바쁜 직장인과 학생들의 아침식사대용의 영양식과 웰빙시대에 맞춘 다이어트건강식으로서 발전가능성을 가지고 있다.
- ✓ 최근 1인·맞벌이 가구 등의 수요 확대로 즉석섭취, 즉석조리 식품 및 신선편의식품 등 국내 가정간편식(Home Meal Replacement: HMR) 시장이 5년 사이 50% 이상 성장한 것으로 나타나는 추세에 맞추어 쌀음료의 경우 식사대용으로 활용이 가능하여 쌀 소비 촉진에도 큰 도움을 줄 수 있을 것이라 판단된다.



○ 시장현황

• 국내 음료시장 현황

- ✓ 농림축산식품부와 한국농수산물유통공사가 발표한 시장 보고서에 따르면 국내음료시장은 2012년 약 3조 7527억 원 규모로, 작년대비 6.2% 성장한 것으로 나타났으며, 이 중 탄산음료, 스포츠음료, 생수, 차 음료, 초코드링크는 판매가 증가한 반면 두유, 음용식초, 과일·채소음료는 감소한 것으로 나타났다.
- ✓ 국내 음료시장은 2010년 이후 한차례의 역성장 없이 증가 추세가 계속되고 있으며, 식품제조업에서 음료가 차지하는 비중이 2010년 11.6%에서 2016년 12.9%로 1.3% 상승할 것으로 예상되었고, 2016년 국내 음료 시장규모는 11조 4,482억 원으로 전년대비 4.8%증가할 것으로 전망되었다.
- ✓ 국내 전통음료시장은 1995년 3,000억 원에서 2008년 730억 규모로 감소하여 전체 시장의 2%에 불과하며 국내 음료시장은 매출액 기준(2009년) 3조 6천억 원으로 탄산음료(33.3%), 과일음료(22.5%)가 대부분을 차지하고 있다.

[ 음료 류 판매액 현황 ]

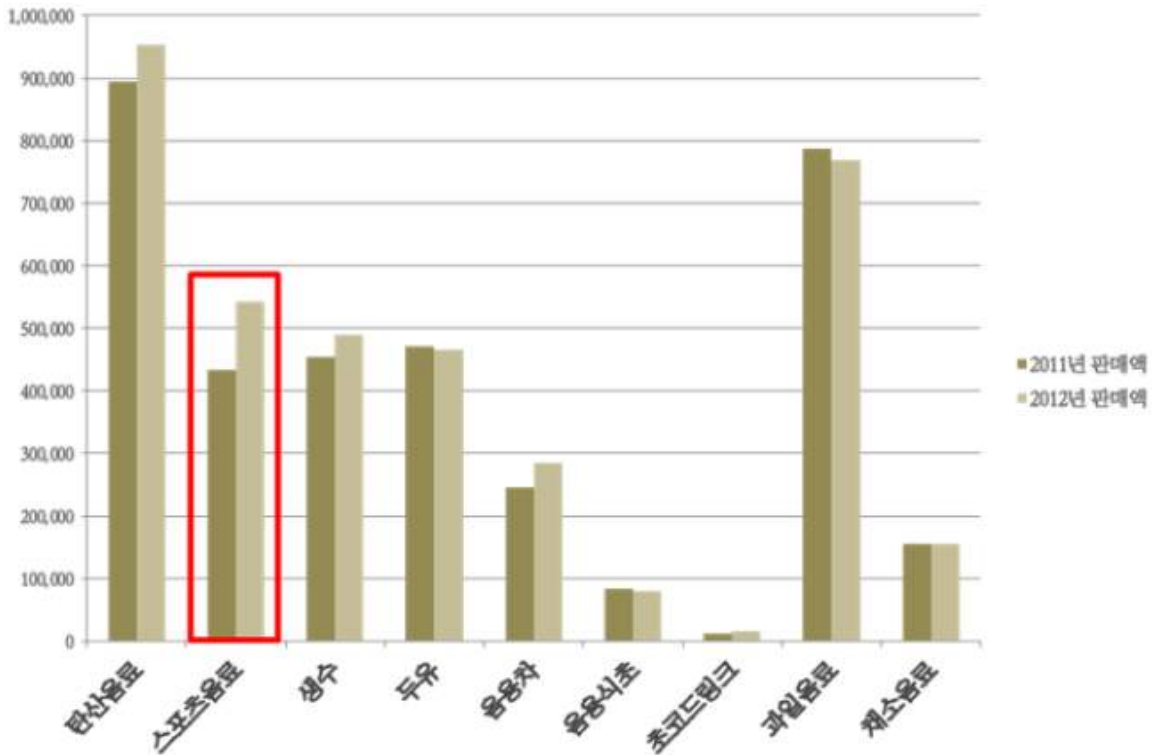


그림 1-6. 국내 음료류 판매액 현황(출처: 2014 음료산업 글로벌 트렌드)

• 국내 쌀 음료시장 현황

- ✓ 해외에서는 다양한 쌀 가공식품을 개발하여 섭취하고 있는 반면, 국내에서는 계속 비슷한 유형의 제품만 시장에서 반복 출시하는 매우 심각한 답보상태로서 해외와 국내시장 간의 가장 큰 차이는 쌀에 대한 관점에 있는 것으로 보인다.



- ✓ 쌀을 이용한 대표적인 음료류는 식혜를 들 수 있고, 식혜는 전성기인 1995년도에는 판매 업체수가 85개로 시장규모가 약 2,500억 원대를 형성하였으나 이후 수요 감소가 지속돼 2007년에는 490억 원의 매출에 머물렀다.
- ✓ 1999년 1월 첫 선을 보인 ‘아침햇살’ 은 쌀로 음료를 만들었다는 점과 고소한 맛으로 출시 첫 해 400억 원의 매출을 올리는 등 히트를 쳤으나 다른 트렌드 음료들에 밀리고 시장에 가세했던 음료업체들이 철수하면서 시장이 쇠퇴기에 접어들어 현재는 120억 원대의 매출에도 미치지 못하는 상황이다.
- ✓ 쌀 이용 음료 중에는 미숫가루 캔 제품도 판매되었으나 판매실적은 집계가 힘들 정도로 미미한 실정이다.
- ✓ 국내 쌀음료의 경우 1999년 ‘웅진식품’ 에서 출시 한 ‘아침햇살’ 이후 다른 형태의 쌀음료제품이 출시되지 않았다가 2016년 (주)이룸에서 ‘라이스 밀크’ 를 개발하여 2016년 쌀 가공품 TOP 10에 선정되었다.
- ✓ 쌀 소비촉진을 위해서라도 소비자의 기호성을 고려한 새롭고 다양한 형태의 쌀음료 제품개발이 필요한 실정이다.
- ✓ 현재 중국에 약 300만 달러 정도 수출되는 쌀음료 1.5리터 한 병에는 약 150g의 국내산 쌀이 함유되어 있어 60톤가량의 쌀이 중국에 수출되는 효과가 있다.



그림 1-7. 국내 쌀 가공 음료 (출처 : 웅진식품, (주)이룸)

#### ○ 경쟁기관현황

- ✓ 웅진식품의 ‘아침햇살’ 은 1999년 세계 최초로 쌀을 이용한 곡물 음료로 출시되어 올해로 출시 19주년이 되었고, 2001년 한국, 미국 등에서 이 음료의 제조에 이용된 기술의 특허가 발효되었음.
- ✓ ‘아침햇살’ 은 출시 초기에 큰 인기를 누렸으나 현재 그 인기가 시들해져, 마를 첨가하는 등 맛, 성분, 패키지 디자인 등을 새롭게 한 ‘아침햇살’ 을 선보이며 예전의 인기를 만회하기에 부심하고 있다.
- ✓ (주)이룸의 ‘라이스 밀크’ 는 2015년 11월에 출시되어 ‘2016 쌀 가공품 TOP10품평회’ 에서 TOP10에 선정되었음.

- ✓ (주)이룸 ‘라이스 밀크’는 쌀의 우수성을 가득 담은 저지방, 저칼로리, 건강식 식물성 음료로 1팩 기준 90kcal로 가벼우면서 영양의 보고인 쌀눈과 쌀 추출액을 주 원료로 하여 부족한 칼슘과 비타민 A와 비타민E를 함유해 건강하게 마실 수 있는 음료로서 다양한 방법으로 활용이 가능하다.

#### ○ 지식재산권현황

##### ■ 쌀음료 관련 특허 및 논문

- ✓ 특허청에 등록된 쌀음료 관련특허의 경우 98건이 검색되며 그 중 쌀음료 제조와 관련된 특허는 19건으로 특허가 등록되었다.
- ✓ 쌀 발효음료와 관련된 특허는 쌀 발효물과 쌀 당화액, 김치유산균을 이용한 발효 음료 쪽으로 연구되어 특허가 등록 되어있다.
- ✓ 쌀 발효 음료와 관련하여 연구된 논문의 경우 ‘쌀 당화액을 이용한 우유혼합 쌀 발효음료의 제조’ (박성용 외 3명, 2012년)와 ‘다양한 균주를 이용한 혼합곡물 발효음료의 제조와 일반성분 비교’ (이재성 외 8명, 2014년)이 발표되었다.
- ✓ 기존의 특허와 논문의 경우 쌀을 이용하여 제조한 쌀음료의 경우 제품화가 된 것은 응진식품의 ‘아침햇살’ 과 (주)이룸의 ‘라이스밀크’ 만 출시되어 판매 중이다.

#### ○ 표준화현황

- ✓ 「건강기능식품에 관한 법률」 제14조의 규정에 의한 건강기능식품의 제조·가공, 생산, 수입, 유통 및 보존 등에 관한 기준 및 규격, 「건강기능식품에 관한 법률」 제15조의 규정에 따른 건강기능식품의 원료 또는 성분, 「건강기능식품에 관한 법률」 제17조의 규정에 따른 건강기능식품의 표시기준을 포함하여 건강기능식품의 기준 및 규격(제2014-207호)으로 고시하고 있다.
- ✓ 최근 일부 개정되어 라피노스, 분말한천, 크레아틴, 유단백가수분해물, 상황버섯추출물, 토마토추출물, 곤약감자추출물 총 7개의 기능성 원료의 기준 및 규격과 이에 따른 시험법이 신설되었으며 디시안디아미드, 디하이드로트리아진, 크레아틴 모노하이드레이트, 알파에스1카제인( $\alpha$  S1-casein)(f91-100), 라이코펜, 글루코실세라미드 등 6개 시험법을 신설하였다. (식품의약품안전처 고시 제 2016-63호)

### ■ 국외 기술 수준 및 시장 현황

#### ○ 기술현황

##### • 쌀 가공식품 기술 개발

- ✓ 일본의 쌀에 대한 연구는 우리나라와 마찬가지로 벼의 품종개량이나 재배방법 등의 생산과정에 대한 연구가 중요시되어 왔으며 쌀의 다양한 조리 및 가공과정에 따른 용도별 적성에 대한 연구는 근래에 와서야 활성화되었다.
- ✓ 일본 농림수산성 및 식약청에서는 1970년 후반부터 쌀의 가공적성을 규명하고 새로운 가공식품개발에 관한 연구를 수행, 다양한 시제품이 개발되었고, 일본의 전통적인 쌀 가공제품의 종류는 모찌류, 미과류, 조미료 류, 곡분류, 주류 및 음료류가 있다.

표 1-3. 일본의 쌀 가공식품 종류

모찌류	백옥모찌, 냉동백옥모찌, 즉석모찌 등
미과류	아라래, 센베이 등
조미료 류	쌀식초, 쌀된장 등
곡분류	백옥분, 알과미분 등
주류 및 음료	청주, 소주, 라이스와인, 현미차 등
쌀밥류	레토르트쌀밥, 쌀밥통조림, 즉석쌀밥, 알과화미, 냉동쌀밥, 전자레인지 용
가공미류	강화미, 비타민, 강화미 등 *간단히 취반할 수 있는 현미
포장떡류	포장 모찌(세절형, 판상형, 구형)
당고류	냉동멥쌀당고, 진고오장당고 등
즉석죽류	현미죽, 죽, 이유식 등
빵류	하이스브레드, 크래커타입 등
스낵류	현미크래커, 칸트리모닝 등
국수류	라이스누들, 생면, 건면 등

\* 출처 : 한국쌀가공식품협회, 2008

- ✓ 최근 일본에서는 쌀가루 붐이 일어나면서 기업, 농업단체, 지자체 등에서 쌀가루에 관한 연구와 신제품의 개발 경쟁이 심화되고 있다.
- ✓ 일본의 쌀 이용기술은 기존가공기술인 쌀과자, 조리용 이외의 쌀국수, 과자, 제빵 등의 용도에 사용되는 쌀이 있고, 쌀 gel 같은 가공법은 쌀은 소맥분보다 경질이며 제분이 난이한 기술적인 문제를 해결하고자 쌀 미분에 가수량과 온도제어기술로 호화(gel화)시켜 물리적 특성을 부여하고자 고속기계교반기로 교반하여 쌀에 이러저러한 가공물성을 부여·변환 하는 1차산물이다
- ✓ 이를 이용한 쌀의 2차 가공품(빵, 면 등)의 완성도가 소맥분처럼 용이한 새로운 direct gel을 제조한 것으로 빵, 면 과자 등에 사용되고 있으므로, 앞으로 高아밀로스 쌀은 이러한 신규 수요 쌀로서 기대되어지고 있다.
- ✓ 쌀 미분은 보존성, 운반성이 우수하지만 제분에 시간이 많이 소요되고, 가공경비가 높지만 쌀 gel의 경우 보존성, 운반성은 낮지만 제분 시 공정의 간략화, 비용이 낮고 등의 서로 미분과 쌀 gel의 상호보완성의 관계에서 쌀의 새로운 수요시장은 이제부터 한층 더 확대 될 것이라 생각된다.
- ✓ 중국에서는 경제력의 향상과 쌀의 양식미화가 진행되고 있고, 동북3성이나 강소성 등을 중심으로 일부에서는 무균미반이나 미과 등의 가공이 행여 지고 있으며, 기능성 식품분야는 대학에서 연구단계에 있다.
- ✓ 대만에서도 전통적인 쌀국수와 쌀과자 등의 가공과 미분의 신규용도 개발이 수행되고 있고, 최근 저혈당 무균 미반, 발아현미, 즉석현미, 잡곡취반, 글루텐프리 쌀 카스테라 등이 개발되고 있다.
- ✓ 태국에서는 향미쌀이나 유기재배 쌀 등의 고부가가치 벼의 재배가 증가하고 있다.

- ✓ 농협중앙회의 조사에 의하면 미국에서 쌀 소비는 꾸준히 증가하는 추세이며, 미국 국민 1인당 1년간 소비량은 1990년 11.9kg에서 2003년 134.0kg으로 증가하였고, 동기산 소맥은 148.5kg에서 114.4kg으로 감소하였는데, 이는 쌀은 나트륨이 적어서 요리가 간편하고 용도가 다양한 특징이 있으며, 조리법의 다양성과 편의성이 고려되는 시대에 적합한 제품이 개발되고 있기 때문이다.
- ✓ 미국의 경우 쇠고기 또는 닭고기와도 잘 어울리며, 각종 조미료와의 브랜드 적성이 좋아 라이스 프라이크에서 팝라이스, 곡물 믹스에 이르기까지 다양한 형태의 제품이 개발되고 있다.

• **국외 쌀 발효음료 기술**

- ✓ 일본의 경우 쌀 소비 감소에 따른 대안으로 쌀을 원료로 한 다양한 음료(쌀우유, 쌀콜라, 쌀맥주 등)가 연이어 출시되고 있으며, 쌀을 이용한 탄산음료의 경우 자국 농산물을 사용하여 음료를 제조하기 위하여 일본을 대표하는 쌀과 광천수를 접목한 탄산음료를 제조하였고, 쌀의 자연스러운 단맛과 감미로움을 끌어내기 위해 쌀가루와 누룩을 이용해 미당화 액기스를 만들어 사용하였다.
- ✓ 최근 우유 유헤론이 인터넷과 SNS 등을 타고 급속히 전파되면서 우유 대체품에 대한 관심이 늘어나고 있는 추세로 해외에서는 이미 우유 대체품으로서 non-dairy milk 또는 milk substitute 등의 카테고리도 제법 많은 제품이 런칭되어 있는 상태이다.
- ✓ 라이스밀크는 미국, 유럽, 호주 등 서양 여러 나라에서 쌀을 먹는 또 하나의 방식으로 이해되고 있으며, 최근 글루텐프리 식품에 대한 관심이 높아지면서 자연스럽게 쌀 우유에 대한 관심이 높아지는 상태이며, 근래 인터넷을 통해 만드는 방법이 다양하게 공유되면서 시장 또한 점점 확대되는 중이다.

○ **시장현황**

• **국외 음료시장 현황**

- ✓ 미국에서는 지난 몇 년간 에너지 드링크 제품의 인기에 가려 큰 인기를 누리지 못했던 신경안정 기능성 음료(anti-energy drink, 혹은 non-energy drink)가 최근 미국 음료시장에서 두각을 나타내기 시작했으며, 소비자들의 스트레스가 상승할 때 마시면 긴장·스트레스 완화, 수면효과가 있는 anti-Energy 제품에 관심이 고조되고 있다.
- ✓ 미국 내에서 쌀음료는 이미 시장규모를 확보한 두유에 이어 주요한 우유대체음료로 부상하고 있는데, 아직 시장진출규모가 미흡하여 생산관련 통계 및 구체적인 자료는 확보하기 어려우나 기존의 두유 생산에서 생산되는 쌀음료를 포함하여 미국 내 쌀 음료 생산업체 수는 15개 정도로 파악되고 있다. (농수산물무역정보, 2009)
- ✓ 중국 국가통계국에 따르면 2012년 중국 음료시장의 연간 매출액은 4,716억 위안으로 식품·음료시장에서 가장 많은 매출을 올렸고, 2003년부터 연평균 20.8%씩 증가하고 있으며 중국 소비자들의 음료 선택기준은 맛, 건강, 브랜드의 순서이며, 품종별로 보면 탄산음료생산이 감소하는 반면, 과즙·야채즙 등 건강음료 생산량은 지속적으로 증가하는 추세이다.

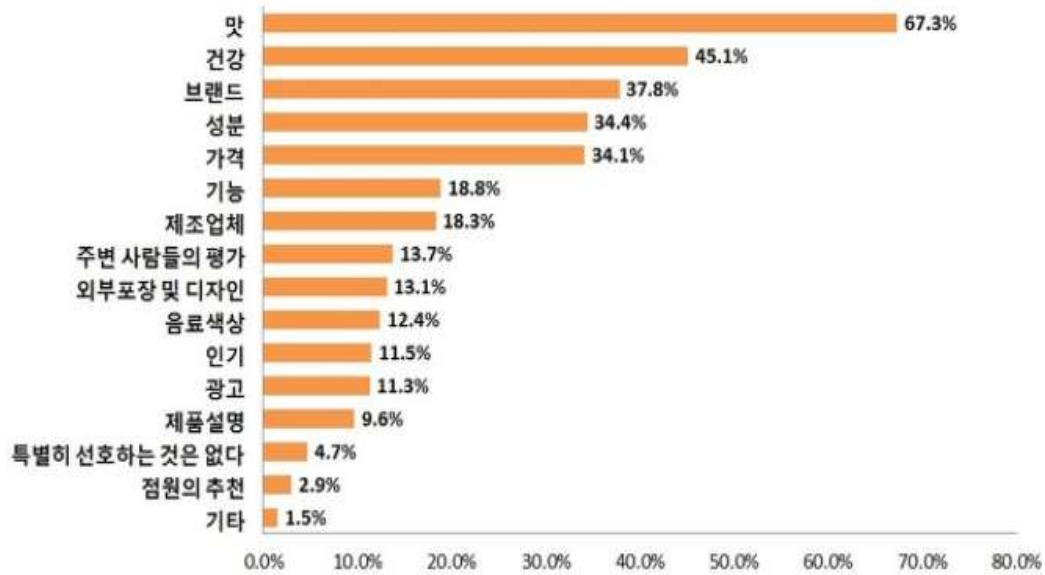


그림 1-8. 중국 소비자들의 음료 선택기준 (출처 : 2014 음료산업 글로벌 트렌드)

- ✓ 프랑스 농업부의 자료에 따르면 프랑스 내 청량음료시장은 꾸준히 증가해 2010년 330억 유로에 달하며 2011년 대비 탄산을 함유하지 않은 과일음료시장이 18%, 차 음료시장이 17%증가했음. 이는 소비자들이 탄산음료보다 당도가 낮고, 좀 더 가볍고 건강한 음료를 찾는 것으로 이러한 소비자 트렌드에 맞춰서 조금 더 비싸더라도 더 신선하고 품질이 좋은 원료를 사용하는 프리미엄제품이 대세를 이루는 것으로 나타났다.
- ✓ 호주의 경우 건강에 관심이 많은 호주인을 중심으로 유기농 음식이 인기를 얻고 있으며, 최근에는 유기농 과일이나 야채 등의 천연재료를 소재로 한 건강음료가 소비자들의 주목을 받고 있고, IBIS World보고서에 따르면 호주의 천연 과일음료시장 규모는 3억 2,800만 오스트레일리아 달러로 추정되며 주요 고객은 주로 10~30대 젊은 세대들이며 이들 고객이 천연음료시장의 64%를 점유하고 있다.

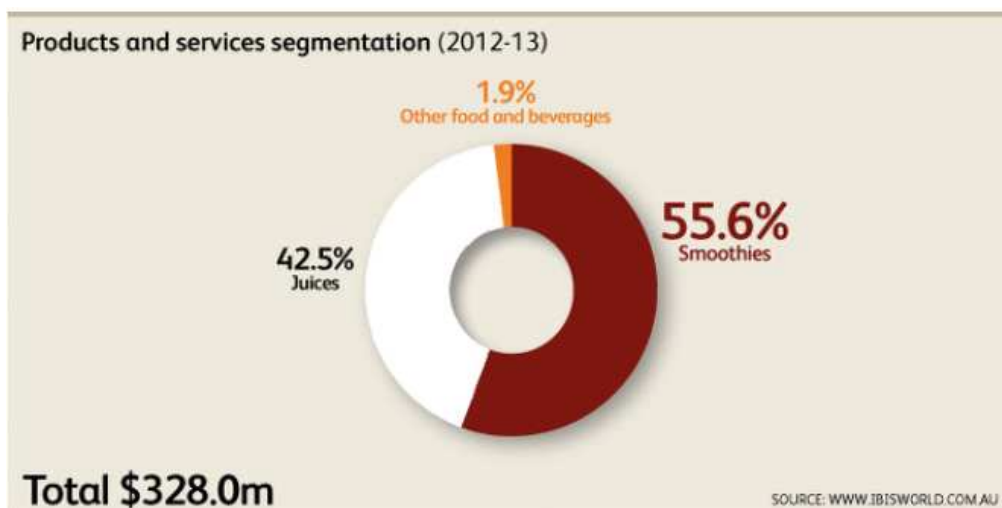


그림 1-8. 호주 천연음료제품시장 현황 (출처 : IBS World)

- ✓ 태국 음료 시장은 2011년 기준 매출액과 수량 측면에서 6%의 성장을 보였으며, 매출 성장을 주도한 제품분야는 생수, 과일주스 RTD차(Ready to drink tea)등이고, 음료시장은 2,240억 바트(74억 6,000만 달러)으로 가장 큰 비중을 차지하는 제품분야는 탄산음료로 2011년 기준 1,185억 바트(39억 5,000만 달러)의 매출을 보였고, 그 다음으로 판매가 많이 된 제품은 생수, 스포츠 및 에너지 드링크, RTD차 등으로 나타났다.
- ✓ 일본의 경우 쌀을 원료로 사용한 음료가 다채로워지고 있고, 2015년부터 라이스밀크가 시장에서 주목을 받은 것을 시작으로 최근에는 쌀로 만든 콜라등도 탄생하고 있으며, 6차 산업화의 일환으로 대량의 쌀을 사용한 맥주도 탄생했다.
- ✓ 최근 일본(도쿄 식품박람회, 오사카 농업박람회, 2016년)에서는 고령화 인구의 증가 및 건강과 관련한 관심이 높아짐에 따라 쌀을 이용한 발효음료가 노년층뿐만 아니라 젊은 세대까지 관심을 갖고 옛날 아마자케(감주)의 맛의 현대화, 대량생산화, 기능의 차별화가 산업체의 주요 이슈로 대두되고 있다.
- ✓ 아직 일본을 제외하고는 감주식의 쌀 발효음료는 아직 초보단계이며, 금후 건강측면을 중시하는 경향으로 보아 동남아 쌀 생산국의 쌀 가공 이용기술에 대한 제품화와 기술수출도 가능하리라 생각된다.

#### ○ 경쟁기관현황

- ✓ 미국의 쌀 가공식품의 경우 건강식품 전문점이 주요 유통시장이지만, ‘Rice Dream’ 과 같은 제품은 주류시장 슈머마켓에 진열되고 있어 쌀음료 시장의 성장세를 반영하고 있다.
- ✓ 일본의 경우 쌀을 사용해 만든 음료라고 하면 ‘니혼슈’가 대표적이며 최근에는 술이 아닌 탄산음료에도 쌀을 사용해 ‘쌀 만들기(米づくり)’ 음료를 제조하였고 2012년에 등장하여 인기를 얻고 있다.
- ✓ 일본에 유명한 초밥 체인점 ‘쿠라코포레이션’은 7월말에 ‘샤리콜라’를 발매하였으며, 10년에 걸쳐 첨가물이 들어가지 않는 쌀 유래의 탄산음료를 개발하였고, 막걸리 같은 맛에 탄산을 가미하여 깔끔하게 마실 수 있다는 것이 이 음료의 특징이며, 필수아미노산을 함유하여 피로회복에도 효과적일 것으로 기대된다고 한다.
- ✓ 일본에서 쌀을 원료로 사용하는 맥주는 그밖에도 있지만 코시히카리엘은 쌀의 사용비율이 높고 생산 담당자에 따르면, 다른 맥주는 5%정도를 사용하나 코시히카리엘은 20%를 사용하고 있다고 한다.
- ✓ 일본 철도 JR동일본 워터비즈니스는 기간 한정으로 ‘유메빠리카차’를 판매하기 시작했고, 여성층을 주요 타겟으로 인기 브랜드 쌀을 사용하였으며, 논 카페인에 구수한 맛이 특징이다.

		
<p>샤리콜라(탄산음료) 1컵 / 194엔</p>	<p>코시히카리엘(쌀맥주) 330ml 3병 / 1,555엔</p>	<p>유메피리카차(쌀청량음료) 150ml / 150엔</p>

그림 1-9. 최근 일본에서 개발된 쌀 음료 (출처 : 지구촌리포트-일본 2016년)

○ 지식재산권현황

- ✓ 전 세계적으로 쌀음료에 대한 관심이 높아지고 현 시점에서 쌀음료에 대한 연구가 미국, 일본, 중국, 동남아 지역으로 확대되고 있는 실정이다.
- ✓ 일본 농림수산업성 및 식약청에서는 1970년 후반부터 쌀 소비량 감소에 대비하여 쌀을 이용한 가공식품에 대한 연구를 활발히 진행하였으며, 이에 따라 다양한 형태의 쌀 가공제품을 개발하여 출시하고 있다.
- ✓ ‘키프리스’의 해외 특허 검색에 따르면, 일본의 쌀음료 특허의 경우 10건으로 가장 많으며, ‘PCT’ 출원으로 보면 2건으로 검색되어 주로 일본에서 쌀음료에 관한 특허가 가장 많은 것으로 나타났다.

■ 연구개발의 중요성

○ 연구개발의 기술적 측면

- 국내 쌀 소비가 지속적으로 감소하고 있는 현 상황에서 쌀을 이용한 가공식품 개발의 확대에 의한 쌀 소비 촉진이 필요한 상황이다.
- 국내 쌀음료 개발현황을 보면 응진식품에서 개발한 ‘아침햇살’ 과 (주)이룸에서 개발한 ‘라이스밀크’ 2가지 종류의 쌀음료만 개발되어 판매되고 있어 다양한 형태의 쌀음료가 개발되어 소비자의 선택을 폭을 넓힐 필요가 있다.
- 국내 쌀음료의 경우 쌀을 볶음-분쇄-액화-당화-유화 시킨 것과 쌀을 추출하여 음료로 개발한 것 외에 쌀을 Koji(국류)와 유산균을 용하여 발효한 음료제품을 개발한 것은 없는 실정이다.
- 감주의 주요성분은 다음과 같다.
  - ✓ 감주 분석 시 포도당이 주 성분이며 약 20%정도다.
  - ✓ 쌀 단백질이 분해 되어 필수아미노산류로 전환된다.
  - ✓ 국균이 쌀에 증식 시 생리작용에 필요불가결한 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, 판토텐산, 비오틴 등의 비타민 등이 발생된다.
  - ✓ 일본에서는 여름철 떨어진 기초체력유지에 적극적 효과가 있는 것(180~200g/일)으로서 여름철(7~9월)에 많이 소비된다.

- ✓ 쌀의 종합영양 드링크이고 노인 용양병원의 고령자나 환자의 체력회복제의 기능성 식품으로 사용가능하다
  - ✓ 예부터 생활의 일부분으로서 발효를 통한 자양식품으로 지금까지 서민의 식품으로 내려온다.
  - ✓ 최근 일본에서는 고령화 사회에 빠르게 진입하면서 건강보조식품 및 고령자의 원료회복용, 젊은 층의 기호에 맞춘 형태의 감주 등으로 인기리에 판매되고 있다.
- 유산균은 프로바이오틱스로써 건강기능식품으로 고시되었으며 기존 발효식품에서 건강 및 기호성을 강화하기 위해 다양한 유산균들을 기능성 검증을 통해 선별하고 수집하는 상황이다.
  - 2013년도 건강기능식품 총 생산액은 12조 4,820억 원으로 2012년 1조 4,091억 원에 비해 5% 증가함. 또한 2013년 국내 건강기능식품 시장규모는 1조 7,920억 원으로 2009년 이후 지속적으로 성장하고 있다. (식품의약품안전처, 2014. 08. 06.)

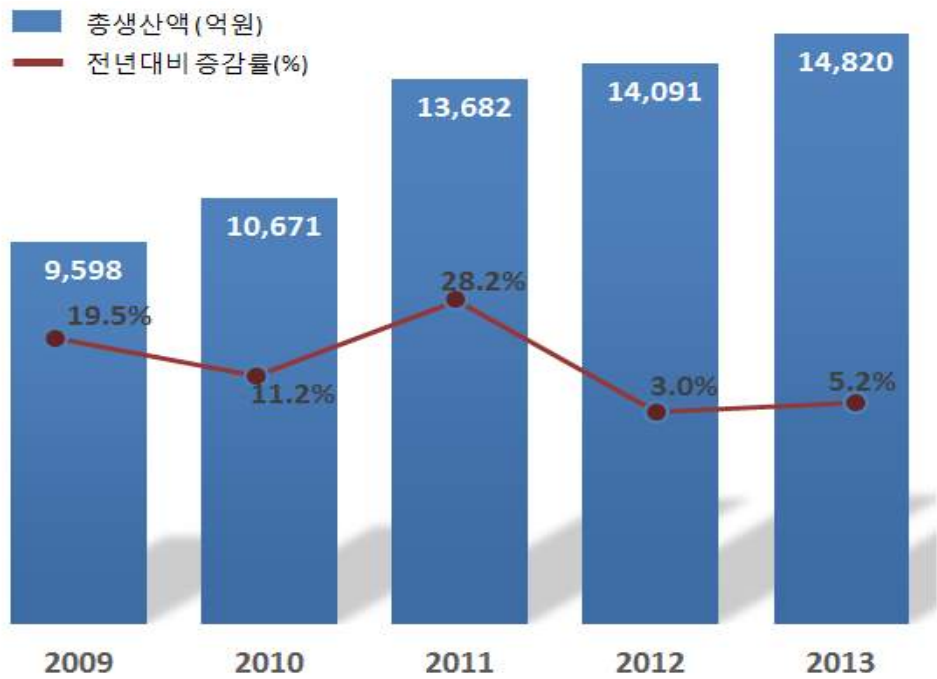


그림 1-10. 건강기능식품 생산실적 (출처: 식품의약품안전처, 2013)



- 건강기능성식품의 생산량은 매년 꾸준히 증가하고 있으며, 건강기능성식품은 홍삼, 개별 인정형, 비타민·무기질, 프로바이오틱스, 알로에 순으로 생산되고 있다.

표 1-4. 품목별 생산실적 현황

순위	구분	총 생산액 (억원)						증감률 (13/12, %)
		2011년	점유율 (%)	2012년	점유율 (%)	2013년	점유율 (%)	
1	홍삼	7,191	52.6	6,484	46.0	5,869	39.6	△9.5
2	개별인정형	1,435	10.5	1,807	12.8	2,324	15.7	28.6
3	비타민·무기질	1,561	11.4	1,646	11.7	1,747	11.8	6.1
4	프로바이오틱스	405	3.0	518	3.7	804	5.4	55.2
5	알로에	692	5.1	687	4.9	628	4.2	△8.6
6	가르시니아 캄보지아 추출물	207	1.5	440	3.1	541	3.7	23.0
7	오메가-3 지방산 함유 유지	509	3.7	497	3.5	490	3.3	△1.4
8	인삼	381	2.8	450	3.2	466	3.1	3.6
9	밀크씨슬추출물	138	1.0	135	1.0	308	2.1	128.1
10	감마-리놀레산 함유 유지	224	1.6	152	1.1	186	1.3	22.4

(출처: 식품의약품안전처, 2013)

표 1-5. 품목별 수입 현황

순위	품목유형	수입액 (억원)	점유율 (%)	수입량 (톤)	점유율 (%)
1	비타민·무기질	1,640	42.5	3,401	36.2
2	오메가-3 지방산함유유지	586	15.2	1,423	15.2
3	개별인정형	213	5.5	237	2.5
4	단백질	202	5.2	1,462	15.6
5	프로바이오틱스	187	4.9	74	0.8
6	알로에	143	3.7	212	2.3
7	감마-리놀레산 함유 유지	97	2.5	240	2.6
8	식이섬유	85	2.2	329	3.5
9	공액리놀레산	73	1.9	172	1.8
10	가르시니아캄보지아 추출물	71	1.8	262	2.8

(출처: 식품의약품안전처, 2013)

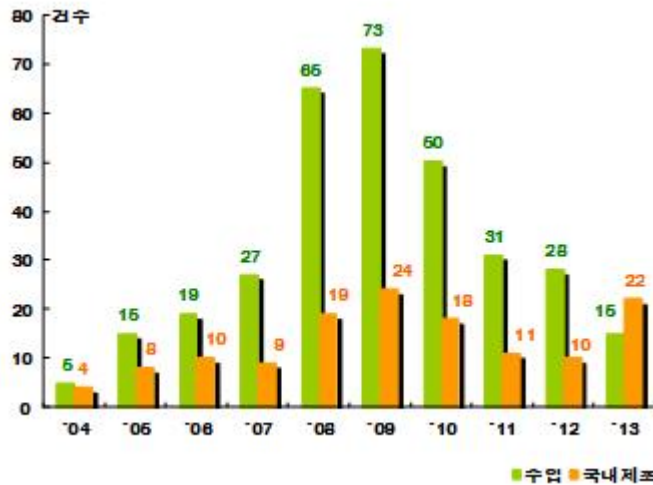


그림 1-11. 기능성원료 수입 및 국내 제조 현황  
(출처, 식품의약품안전처, 2014)

- 국내 식품시장의 원료의 다수는 수입에 의존하고 있으며, 특히 기능성 원료 수입 또한 꾸준히 이뤄지고 있다.
- 국내 식품산업의 다각화, 생명공학의 발달, 정부의 다양한 식품정책에 따라 발효식품의 관심이 높아짐에 따라 발효산업의 모체가 될 수 있는 발효미생물에 대한 중요성이 대두된다.
- 정부의 식품산업에 대한 투자 증가와 대규모 식품 클러스터 조성은 식품 3대 전략의 하나로 전통식품의 상품화를 채택함에 따라 전통발효식품에 숨어 있는 무한한 기능성의 식품미생물에 대한 중요성이 대두되고 있다.
- 프로바이오틱스는 성인뿐만 아니라 유아용 식품 또는 간식에도 적용되고 있어 성장하는 유아 간식 시장에서도 가능성을 보인다.

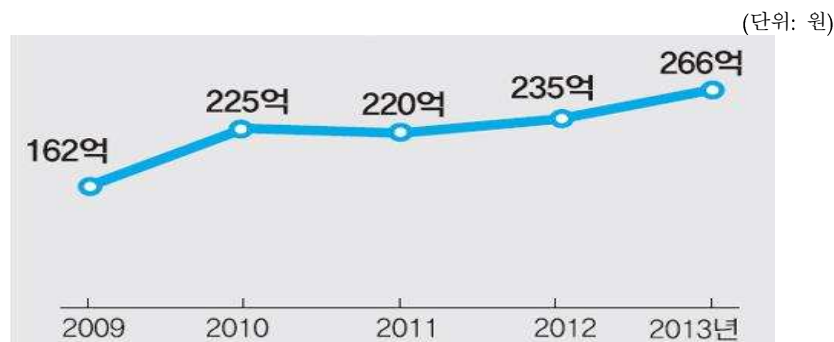


그림 1-12. 유아 간식 시장 규모. (출처: 링크아즈텍코리아)

- 전분 가수 분해능이 있는 유산균을 이용하여, 전분의 가수분해와 텍스트린화로 고분자의 탄수화물을 분해시키고 그로 인해 죽과 같은 형태의 영유아식 개발에 적용할 수 있으며, 상대적으로 소화기관이 미성숙한 영유아의 소화흡수율을 향상시킬 수 있다.

- 최근 유산균 배양체(사균)에서도 면역활성이 보고되고 있어 제품 적용 범위가 확대 될 수 있다.
- 프로바이오틱스 관련 제품들은 미디어를 통한 홍보로 사균도 건강에 유익한 효과를 준다는 것이 집중 조명을 받고 있기 때문에 프로바이오틱 시장이 꾸준히 성장하고 있다.
- 유산균은 병원성 미생물이 장내 정착하여 증식하고 유해한 물질을 생산하는 것을 막아주며 유산균에 의해 생성된 항생물질이 설사를 유발하는 병원성 미생물이나 장내 유해균을 죽이거나 증식을 억제한다.
- 병원균을 감지하고 내재 및 습득면역의 개시 또는 매개에서 주요 역할을 하는 대식세포주의 활성화를 통한 세균과 바이러스의 신속한 감지하고 입과구 분열 촉진으로 인한 암세포 증식 방지 및 혈액내 항체인 IgA의 생산을 증가시키고 감마 인터페론 생성으로 면역력 증진시키며 실험동물과 배양세포를 중심으로 유산균의 알러지 억제 효과의 기능이 나타나고 있다. 특히 아토피성 피부염을 중심으로 그 효과가 입증된다.

### 1-3. 연구개발 범위

#### [1차년도]

#### ○ 쌀감주 제조용 적정 발효제의 선정 및 제조공정 최적화 [주관 - ㈜한산에프앤지]

- 쌀 발효제용 균주의 선정 및 제국 (Koji) 특성 규명
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국 균 선정
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국의 제국특성 확인 : 균주별 온습도, 향습, 발효시간 등
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국 Koji의 제국시간 설정 (황국, 흑국: 38시간, 홍국: 42시간)
- 제국 과정 중 효소활성 분석 및 관능특성조사
  - ✓ 제국과정 중  $\alpha$ -Amylase, B-Glucosidase, Protease 효소활성화 확인
  - ✓ 제국과정 중 향, 제국형태의 관능특성조사(균사 침투, 성장, 침출액 산도 등)
- 쌀감주 제조공정 확립
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국 감주 제조기술 확립
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국을 이용한 다양한 곡류 및 과일 첨가 감주제조 확립
  - ✓ 쌀 발효제의 첨가비율, 감주분석(brix, 산도, pH, 아미노산 산존, 색과, 관능, 5점 기호 식법 등)
  - ✓ 부재료(맥아, 누룩 등), 첨가 당화 특성 : 3점 기호식별법
- 균주별 감주 품질 특성 규명
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국을 이용하여 제조한 감주 품질특성 확인 : Brix, 유리아미노산, 색도(L.a.b), 적정산도
- 감주의 이화학적 성분 분석
  - ✓ 감주의 점도, 색차, 산도, 유기산류, 당도 및 관능특성분석
  - ✓ 관능 특성(5점 기호식별법과 음료 기호)

#### ○ 발효제에 따른 감주의 생리활성 및 성분분석 [협동-강원대학교]

- 감주의 pH 및 당도(Brix) 측정
  - ✓ Koji별, 다양한 소재로 만든 감주별
- 발효물의 생리활성 검정 및 성분 분석
  - ✓ Koji별, 다양한 소재로 만든 감주별 항산화 활성(DPPH, Reducing power)
  - ✓ Koji별, 다양한 소재로 만든 감주별 기능성 성분 분석
- HPLC를 이용한 감주의 유리당 분석
  - ✓ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 및 UPLC(Ultra Performance Liquid Chromatography)등의 정밀기기를 통한 함유 성분의 함량 차이를 비교 분석
  - ✓ 당 조성 분석 : Fructose, Glucose, Sucrose, Maltose, Lactose 함량
- 기기분석 및 문헌검색을 통한 발효물의 지표(기능)성분 설정
  - ✓ 감주의 지표물질(maltose) 설정

○ 쌀 발효에 적합한 유산균의 선정 및 기능성 검증, 발효조건 최적화 [위탁-건국대학교]

- 전통발효식품 유래 유산균 확보
  - ✓ 전통발효식품으로부터 유산균의 분리
- 발효 소재에 따른 조건 최적화 및 유산균 선별
  - ✓ 세 가지 감주 각각에게 적합한 쌀 발효 유산균의 선정
- 선별 유산균의 프로바이오틱스 특성 확인
  - ✓ 내산, 내담즙성, 효소 생산능, 장 부착능, 항생제 저항성
- 선별 유산균의 쌀 발효 적합성 확인
  - ✓ Amylase 및 Protase 생성능, 내열성

[2차년도]

○ 쌀감주의 품질 다양화 및 유통저장성 향상 기술 개발 [주관 - ㈜한산에프앤지]

- 쌀감주의 품질 다양화
  - ✓ 황국, 흑국, 홍국별 유산균 발효에 따라 제조된 감주의 병행 단발효 및 병행 복발효에 따른 감주제조 최적화 기술 확립
  - ✓ 다양한 과일 및 곡류를 이용한 감주 제조공정 확립
  - ✓ 보건기능성 향상을 위한 대량 생산형 감주 제조공정 확립
  - ✓ 약용식물을 활용한 감주 제조공정 확립
- 쌀감주제조 최적화 기술 확립
  - ✓ 농후(호상형), 액상형(음료형)제조기술 최적화 공정개발
  - ✓ 식소재형 및 음료형 감주의 시작품 제작
- 보건기능성 향상을 위한 대량 생산형 감주 제조공정 확립
  - ✓ 홍국첨가에 따른 상품 및 기능성분석 : 색소, 항산화력, 저장성
  - ✓ 곡류 단백질 첨가에 따른 기능성분석 : 유리아미노산, GABA, 식이섬유소, 비타민류, 무기질
  - ✓ 과일류(유자, 베리류 등), 약용식물류(첨가 감주 상품화)
- 쌀감주유형별 상품특성분석
  - ✓ 색상, 유리아미노산, 당류, 유기산류, 무기질 등 성분분석
- 쌀 보존성 향상을 위한 유통저장성 열처리기술 개발
  - ✓ 호상, 액상 감주의 살균기술 확립
  - ✓ 온도별, 시간별 품질변화 분석(Brix, 적정 산도, pH 등 이화학적 성상)
  - ✓ 기호성, 휘발성 향기성분 분석(에스테르류) 관능특성 검정(5점기호식별법)
  - ✓ 색차, 색도, 점도 등

○ 약용식물 추출물 첨가에 따른 시제품의 생리활성 및 기능성분 분석 [협동-강원대학교]

- 감주에 첨가될 약용식물 조사 및 선정근거 자료 분석
  - ✓ 가시오갈피, 머위, 우엉, 우엉껍질, 오미자, 비타민나무
- 감주에 첨가될 약용식물의 생리활성 검정 및 기능성분 분석

- ✓ 생리활성 검정: DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, Reducing power
- ✓ 기능성분 분석: Total phenol contents, Total flavonoid contents
- 감주에 첨가될 약용식물의 지표물질 설정 및 함량 분석
  - ✓ 가시오가피(Eleutheroside E), 머위(Quercetin, Kaempferol, Bakkenolide B), 우엉, 우엉겉질(2,4-di-tert-butylphenol), 오미자(Shizandrin), 비타민나무(비타민C)
- 감주에 첨가될 약용식물의 추출조건 확립
  - ✓ 추출방법, 추출시간, 추출부위 등
- 시제품의 생리활성 검정 및 기능성분 분석
  - ✓ 생리활성 검정: DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, Reducing power
  - ✓ 기능성분 분석: Total phenol contents, Total flavonoid contents
- HPLC를 이용한 감주의 유리당 분석
  - ✓ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 및 UPLC(Ultra Performance Liquid Chromatography)등의 정밀기기를 통한 함유 성분의 함량 차이를 비교 분석
  - ✓ 당 조성 분석 : Fructose, Glucose, Sucrose, Maltose, Lactose 함량
- 시제품의 약용식물의 지표물질 함량 측정
  - ✓ 가시오가피(Eleutheroside E), 머위(Quercetin, Kaempferol, Bakkenolide B), 우엉, 우엉겉질(2,4-di-tert-butylphenol), 오미자(Shizandrin), 비타민나무(비타민C)

○ 프로바이오틱스와 제품의 기능성 및 미생물적 위생 안전성 검증 [위탁-건국대학교]

- *in vitro*상에서 프로바이오틱스의 기능성과 제품의 기능성 평가
  - ✓ 항산화능 측정 (DPPH, ABTS, Ferric thiocyanate test,  $\beta$ -Carotene bleaching 활성)
  - ✓ 면역력 증강 효과 실험 (Nitric oxide(NO) 생성 저해능, Reactive oxygen species(ROS) 생성 저해능, 염증관련 cytokine 생성 저해활성 측정, Western blot assay)
  - ✓ 항비만 효과 실험 (3T3-L1의 분화유도율 실험, 지방세포 세포생존율 실험, 지방축적률 측정 실험)
- 동물실험을 통한 제품의 *in vivo*상의 생리활성 검증
  - ✓ 항실험동물: BALB/c mice
  - ✓ LPS 유도 모델에서의 항염증 효과 검증
- 감주제품의 일반세균수 및 병원성 식중독균의 측정

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 주관기관 : (주)한산에프앤지

#### ○ 식품소재용 및 건강증진형 감주 상품화

##### 1. 발효제에 따른 제국(Koji) 및 다양한 감주의 특성 규명 연구방법

###### 1) 특성 측정 방법

###### (1) pH 측정

- pH메타 (TOA, Japan)를 이용하여 측정하였다.)

###### (2) Brix 측정

- 당도계(Atago, Japan)를 이용하여 측정하였다.)

###### (3) 일반성분

- 수분, 회분, 단백질, 지방, 탄수화물 및 환원당 분석은 상법(AOAC, 1955)에 준하여 실시하였고 색도는 CM3500d (Minolta Co., Japan)를 사용하여 Hunter의 L (lightness), a (redness), b (yellowness)로 표현하였다.

###### (4) 적정 산도 측정

- 여과지(No5. TOYO)를 여과한 당화액 10ml를  $\Delta$ -flask에 취하여 여기에 등량의 D.10를 가하고 B.T.B지시약을 2~3적 떨어뜨려 혼합한 후 0.1N-NaOH 용액으로 적정하여 나온 적정ml를 적정산도로 하였다.

###### (5) 총산 측정 <국세청기술연구소 주류분석기준 참조>

- 시약 : N/10 수산화나트륨용액 : 수산화나트륨 포화용액을 만들어 수일간 방치한다. 윗부분의 맑은 용액을 피펫으로 용액 온도 20℃인 때에는 5 ml, 15℃인 때는 6 ml를 1 L 메스플라스크에 넣고 탄산을 함유하지 아니한 물을 가하여 전체용량을 1 L로 한다. 그 역가는 다음과 같이 표정한다.
- (표정법) : 후탈산수소칼륨[KHC6H4(COO)2] 약 0.5g을 정밀히 달아서 탄산을 함유하지 아니한 물 약 50ml에 녹여 상기의 페놀프타렌지시약 2방울을 가하고 표정하고자 하는 수산화나트륨용액으로 담홍색을 나타낼 때까지 적정하여 그 적정 ml 수를 a라 하면 역가 (F)는 다음 식에 의하여 산출한다.

$$F = \frac{\text{후탈산수소칼륨의 ml 수}}{20.42 \times a}$$

- 이 액은 고무마개로 밀폐하던가 또는 소다석회관을 붙인 병에 보관하여 가끔 표정하여 사용하여야 한다. 주(註)는 탄산을 함유하지 아니한 물이라 함은 새로운 물 또는 끓여 서 실온까지 식힌 물을 말한다.

- 브롬티몰블루(B.T.B) 뉴트랄레드(N.R) 혼합지시약 : B.T.B (Brom Thymol Blue) 0.2g 및 N.R (Neutral Red) 0.1g을 95% 주정 300ml에 용해시킨다.
- 시험조작 : 검사재료 10ml를 준비하여 상기의 혼합지시약 2~3방울을 가하여 N/10 수산화나트륨용액으로 담록색을 나타낼 때까지의 적정 ml 수를 a라 하면 다음 식에 따라 산도로 표시한다.

$$\text{산도} = a \times F \text{ (소수점 이하 둘째자리를 반올림)}$$

- 초산으로 하여야 할 경우에는 다음 식에 따른다.

$$\text{초산(g/100ml)} = \text{산도} \times 0.006 \times 10$$

### (6) Amino 산도 측정 <국세청기술연구소 주류분석기준 참조>

- 페놀프타렌지시약 : 페놀프타렌(phenolphthalein) 0.5g을 95%주정 50ml에 용해시킨다.
- N/10 수산화나트륨용액 : 4-4-1에 준한다.
- 중성포르말린 : 포르말린 (Formalin) 50ml에 상기 페놀프타렌지시약 몇방울을 가하고 N/10 수산화나트륨용액으로 담홍색이 될 때까지 중화한 것에 물을 가하여 100ml로 한다. 이 용액은 시험할 때마다 조제한다.
- 시험조작 : 검사재료 10ml를 준비하여 페놀프타렌지시약 몇방울을 가하고 N/10 수산화나트륨용액으로 담홍색이 될 때까지 중화한 후 여기에 중성포르말린용액 5ml를 가하여 유리된 산을 N/10 수산화나트륨용액으로 담홍색이 될 때까지 적정하여 그 적정 ml 수를 a라 하면 다음 식에 따라 아미노산도로 하여 표시한다.

$$\text{아미노산도} = a \times F \text{ (소수점 이하 둘째자리를 사사오입)}$$

- 아미노산을 글리신(Glycine)으로 하여 산출할 경우에는 다음 식으로 산출한다.

$$\text{아미노산(g/100ml)} = \text{아미노산도} \times 0.0075 \times 10$$

- 주(註) : 3-5)-(2)에서 적정을 끝낸 검사재료에 페놀프타렌지시약 5방울을 가하여 이하 3-6)-(2)와 같이 적정하여 아미노산도를 구하여도 좋다.

## 2) 전통 밀누룩 및 쌀누룩의 효소 역가 측정 방법

### (1) Gluco-amylase

- 가용성 전분으로부터 40℃에서 60분간 1mg의 포도당을 생성하는 활성을 1단위(unit)로 하였으며, 코오지 1g의 glucoamylase 활성은 아래의 식을 이용하여 구하였다.

$$\begin{aligned} \text{효소활성} \\ \text{(Unit/코오지)} &= \text{생성포도당량(mg)} \times 60/20(\text{반응시간}) \times 1/0.1(\text{효소량}) \times 100/10(\text{추출률}) \end{aligned}$$



## (2) $\alpha$ -Amylase

- 전분용액(1%) 2 ml을 시험관에 취해, 40°C에서 5분간 예열다음 효소액 0.1 ml을 가해서 반응을 개시하였다. 반응액 0.1 ml을 피펫으로 취해 1분 간격으로 미리 요오드용액 10 ml을 넣어둔 시험관에 넣어 혼합한 다음 25°C에서 2분 방치한 후 670 nm에서 투과율 T%을 측정하였다.
- 효소의 활성도(unit)는 Wohlgemuth value에 준한 아래의 식으로 산출하였다.

$$U(\text{units/g Koji}) = \{(12.75 \times (T_{30\text{min}} - T_{0\text{min}})/30\text{min})\} \times 5(\text{희석배율})$$

T30min: 30분간 효소반응을 시킨 후의 투과도

T0min: 효소반응을 시키기 전의 투과도

## (3) Acid Protease

- 카제인 용액 1.5ml에 pH 3.0 맥바인 완충액 1.0ml을 가해, 40°C에서 5분간 예열한 다음 효소액 0.5ml을 가해서 40°C에서 60분간 반응시켰다. 반응물에 TCA 용액 3ml을 가해서 반응을 중지시키고 침전을 제거한 다음 이액 1ml에 탄산나트륨용액 5ml와 페놀시약 1ml을 가해서 40°C에서 30분간 발색시킨 후 660nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 대조구로는 TCA용액을 가하기 직전에 효소액을 첨가해서 이하 위의 방법과 동일하게 하여 흡광도를 측정하였으며, 효소활성은 아래식에 의해서 산출하였다.

$$\text{효소활성(Unit/g코오지)} = y \times 6/1(\text{반응액량}) \times 1/0.5(\text{효소액량}) \times 100/10(\text{추출율})$$

## (4) 무기질 분석

- 시료 약 1g을 달아 microwave digestion tube에 넣고 미량 무기성분 분해용 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1ml 와 HNO<sub>3</sub> 5ml을 가한 후 microwave digestion system(mlS 1200mega)에서 시료를 용해화 하였다. 이액을 여과한 후 증류수를 사용하여 100ml mass up하여 시험용액으로 사용하였다. 표준물질은 Fe, Zn, Ca, Mg, P, Cu를 사용하였으며, ICP에 의한 무기질 분석은 GBC integra XL(Australia)로 측정하였다.

## 3) 기기분석

### (1) 유리당

- 각 시료 원액을 membrane filter (0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 유리당 분석용 시료로 하였다. 또한 각 시료의 여과액은 표준품의 검량선 범위 내에 들어가도록 적당한농도로 희석하여 분석에 사용하였다.
- 유리당 조성은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 기기는 Waters 600E system controller, Waters 717 plus autosampler, Waters 424 differential refractometer (RI)를 사용하였으며, column은 Agilent제 ZORBAX Carbohydrate (4.6 mm x 150 mm, 5  $\mu$ m)를 사용하였다.
- 성분 분리는 상온 (23°C)에서 용매로서 acetonitrile : water (80 : 20, v/v)를 사용하여 isocratic mode로 분석하였다. 유량은 0.8 ml/min, 주입량은 20  $\mu$ L로 하여 분석하였다.
- 표준품으로서 fructose, glucose, sucrose 및 maltose를 25 - 1000 ug/ml (7개 농도)의 농도로 희석하여 검량선을 작성한 후 절대검량선법으로 정량하였으며, 결과는 3회 분석의 평균±표준편차로 표시하였다.

## (2) 유기산

- 시료 원액을 membrane filter (0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과한 후 유기산 분석용 시료로 하였다. 또한 각 시료의 여과액은 표준품의 검량선 범위 내에 들어가도록 적당한 농도로 희석하여 분석에 사용하였다.
- 유기산 조성은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 기기는 Waters 1515 binary pump, Waters 717 auto-sampler 및 Waters 996 photodiode array detector(PDA)를 사용하였으며, column은 Bio-Rad제 Aminex HPX-87H Ion Exclusion (300 x 7.8 mm)를 사용하였다.
- 성분분리는 isocratic mode로 하였으며, 이동상은 5 mM sulfuric acid로 분리하였다. 분석은 상온에서 실시하였으며, 유량은 0.6ml/min, 주입량은 20ul, 검출기 파장은 210nm로 하여 분석하였다.
- 표준품으로서 oxalic, citric, succinic, malic, lactic 및 acetic acid를 25 - 1000ug/ml (7개 농도)의 농도로 희석하여 검량 선을 작성한 후 절대검량선법으로 정량하였으며, 결과는 3회 분석의 평균±표준편차로 표시하였다.

## (3) 유리 아미노산

- 각 시료 5.0 ml씩을 취한 다음 45°C 이하에서 감압농축, 건조하였다. 건조된 시료에 아미노산 분석용 sample dilution buffer solution (pH 2.2) 5.0 ml를 가하여 용해시킨 다음 membrane filter (0.45  $\mu\text{m}$ ) 후 아미노산 분석용 시료로 하였다.
- 아미노산 분석기는 Sykam(Germany)사의 S7130 amino acid reagent organizer, S5200 sample injector와 S2100 solvent delivery system을 사용하였으며, column은 cation separation column LCA K06/NA(4.6 mm  $\times$  250 mm)을 사용하여 분석하였다. 이동상의 유속은 0.45ml/min, ninhydrin은 0.4ml/min으로 하여 분석하였다. 분석결과는 3회 분석의 평균±표준편차로 표시하였다.

## (4) GC 휘발성 성분 분석기기 조건

- System: 7890A GC System (HP 7694 Headspace sampler)
- Column: HP-INNOWAX, 30mx0.25mm, 0.5
- Column oven

Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
	40	3
7	100	0
8	200	10

- Injection temp.: 200°C, Detection temp.: 250°C
- Carrier gas: gas (gas: 30ml/min, Air: 300ml/min)
- Flow rate: 1ml/min, Injection volume: 1  $\mu\text{g/ml}$

## 4) 관능검사기기분석

- 발효가 끝난 액에 대하여 관능평가요원 10명을 대상으로 실시하였으며, 색, 향, 맛을 포함한 전체적인 기호도에 대하여 5점법으로 실시하였다.

## 2. 쌀감주 발효음료 제조용 적정 균주의 선정 및 제국 제조

### 1) 균주

- 균주는 (주)한산에프엔지 식품연구소에서 보관중인 양조용 곰팡이 (주류,장류) 6종과 상업용미생물 2종 모루용종을 대상으로 쌀알누룩 (입국, Koji)에 접합한 제국적성을 기준으로 하여 선정하였고 효모를 제빵용으로 내당성이 25brix - 30brix 사이의 *Saccharomyces cerevisiae* (Red star)을 사용하였다.

표 2-1. 본 연구에서의 사용된 균주 목록

No.	Stains	Sources
1	<i>Aspergillus oryzae</i>	<sup>1</sup> HS - 2015Y1
2	<i>Aspergillus oryzae</i>	<sup>2</sup> KACC 44967
3	<i>Aspergillus sojae</i>	HS - 2015Y2
4	<i>Aspergillus kawachii</i>	HS - 2015W3
5	<i>Aspergillus shrousamii</i>	HS - 2015W1
6	<i>Aspergillus awamori</i>	HS - 2015B5
7	<i>Monascus anka</i>	HS - 2015R1
8	<i>Monascus purpureus</i>	<sup>3</sup> KCCM 35473
9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Commercial(제빵용)

<sup>1</sup>HANSAN Food CO. LTD

<sup>2</sup>Korean Agriculture Culture Collection

<sup>3</sup>Korean Culture Center of Microorganisms

### 2) 원재료

- 원재료는 쌀누룩(입국, Koji)제조 사용된 백미, 찹쌀, 흑미는 RPC공장이나 농협마트에서 구입하여 사용하였다.
- 감주제조용 쌀누룩제조 및 쌀감주용 덧밥으로 사용한 원료의 일반성분을 표 2-2와 같다.

표 2-2. 쌀 감주 제조용 원료미의 성분

원료	구분	일반성분(%)				비고	
		수분	조단백	조지방	탄수화물		조회분
정백미		13.4	6.1	0.4	79.7	0.4	7분도 및 흑미 -농협구입
7분도미		13.8	6.9	0.4	78.5	0.4	
현미		13.2	3.0	1.0	75.8	1.0	현미, 백미참쌀 (RPC구입)
참쌀		12.2	7.4	0.4	79.3	0.7	
흑미		12.2	8.4	2.8	74.9	1.7	

- 도정을 덜한 7분도미, 현미 및 흑미는 조단백질과 조지방함량이 정백미에 비하여 약간 높았는데 이는 쌀의 도정도에 따라 쌀겨층이 쌀에 남아 있는데 기인하여 더 높았던 것으로 생각되어진다.
- 탄수화물 값은 75~80%로 대부분 분해할수 있는 전분성분이며 무기질은 쌀겨층이 남아있는 7분도미나, 흑미에서 백미보다 2~3배가 높았다.

### 3) 부재료

- 부재료는 쌀감주용 부재료는 국내산 농축과즙이나 수입산 농축과즙을 구입하여 사용하였다. 감주에 사용한 과일 및 베리류농축의 당도(brix)는 50~72brix° 사이였으며 딸기, 망고, 바나나, 블루베리를 제외하고는 나머지 부재료는 국내산 농축과즙액을 구입 사용하였다.

표 2-3. 감주제조에 사용한 부재료 특성

구분	품명	딸기	망고	바나나	블루베리	유자	사과	복분자	배	인삼	오디
주요특성	brix°	65±1	53.7±1	65±1	65±1	50±1	72±1	61±1	61.0	수삼 (미삼)	57
	산도 (%)	2.52	1.46	1.42	3.08	1.37	3.13	3.82	1.26		1.4
	제조국	이스라엘	이스라엘	이스라엘	미국	국내산	국내산	국내산	국내산	국내산	국내산

### 4) 쌀입국 (Koji) 제조 방법

- 일반미(백미) 10kg을 깨끗하게 세척 후 물에 2시간동안 수침한 다음 30분간 물빼기를 행한 고 증미기에서 김이 올라오기 시작한 후부터 40분간 수증기를 더 가해 고두밥을 제조하였다.
- 그런 다음 40℃ 까지 식히고 종국(*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Monascus* sp.)을 0.2%(w/w) 중량으로 접종하여 제국기(Mini 15, Yaegaki Co., Japan)에서 배양하였다.
- 이때, 배양 개시 14시간 후에 1차 손질을 하였으며, 이후 5시간이 경과한 다음 2차 손질을 하였고 배양 42시간에 출국하였다. 출국한 Koji는 냉동보관(-18℃)하며 사용하였다.

### 5) 쌀감주 제조 방법

- 찹쌀을 세척한 후 물에 에 약 3시간 불린 후 체로 거른 다음 실온에서 약 1시간 정도 방치 후 찹쌀 무게 대비 2배수의 물을 가하여 밥을 짓는다. 밥이 되면 다시 물을 2배수를 가하여 밥을 풀어 준다.
- 당화 온도에 도달하면 입국을 사용한 찹쌀 중량과 동일한 중량을 첨가하여 약 8시간 당화시킨다. 당화가 완료되면 100℃ 까지 가열하여 각 효소 실험과 살균을 행한다.

### 3. 쌀감주 제조용 제국(Koji) 특성 규명

#### 1) 쌀알누룩(입국)의 고체 발효 특성

- 확보된 황국균과 흑국균의 고체발효특성을 알아보기 위하여 소형제국기(용량 15kg)에서 백미 1kg 용량씩 구분하여 습도 90~95%, 온도 30~35℃ 상태에서 44시간 배양(뒤섞기는 배양 12시간 이후부터 4시간 간격으로 4회함) 후 쌀알누룩(이하 입국이라 칭함)을 제조하였으며 황국균은 7일간 배양한 후 입국 특성을 조사한 결과를 표 2-4와 같다.

표 2-4. 균주별 배양된 쌀 입국의 검정 특성

No.	균주	포자 형성	pH	Acidity(% (citric acid))	균사활착
1	<i>Aspergillus oryzae</i>	×	5.64±0.21	0.21±0.02	우수
2	<i>Aspergillus oryzae</i>	×	5.49±0.82	0.18±0.03	양호
3	<i>Aspergillus sojae</i>	×	5.47±0.29	0.19±0.02	우수
4	<i>Aspergillus kawachii</i>	△	4.52±0.04	0.78±0.06	양호
5	<i>Aspergillus shrousamii</i>	△	4.45±0.02	0.94±0.05	양호
6	<i>Aspergillus awamori</i>	×	4.47±0.04	1.18±0.07	우수
7	<i>Monascus anka</i>	×	5.21±0.24	0.10±0.02	진선흥색
8	<i>Monascus purpureus</i>	×	5.16±0.17	0.12±0.02	선흥색

\*Means ± SD(n=3)

- 포자형성유무는 *Aspergillus kawachii*와 *Aspergillus shrousamii*는 입국전체의 약 10~15% 내외의 연회색의 포자가 형성되기 시작하였으며 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae* 균주로 포자가 아직 형성되지 않았다. 균사 활착정도는 *Aspergillus*속 균주는 No. 1. 3. 6번 균주가 우수하였으며 황국균은 No. 7번 균주인 *Monascus anka* 균 쌀입국이 진선흥색의 색소분비력이 우수하였다.
- 산도에서는 *Aspergillus awamori*균주가 1.18%로 가장 높았으며, 흑국균의 변종인 *Aspergillus shrousamii*는 0.94% *Aspergillus kawachii* 균은 0.78%이었고 황국균은 0.18~0.21%범위로 비교적 흑국균 계열이 황국균보다 산도가 4~5배 높았다.
- 이러한 결과는 균이 Koji상태에서 유기산(구연산, 호박산, 등)을 주로 구연산생산이나 주류공업에서는 소주제조에 많이 사용되어지며 황국류는 유기산분비가 낮아 장류나 찹주 제조에 사용되어왔던 것이다.

## 2) 제국시간에 따른 Koji의 품질특성

- 제국시간을 30h, 34h, 38h, 42h 으로 황국,흑국의 pH, 산도, 아미노산도, Brix 측정하였다. Koji 10 g을 증류수 50 mL로 over night 동안 추출하였다. 황국, 흑국 Koji 모두 제국시간이 증가함에 따라 pH가 낮아졌으며, 산도와 아미노산도는 황국Koji는 점차 증가하다 감소하는 경향을 보인 반면, 흑국 Koji는 점차 증가하는 경향을 보였다.
- 황국과 흑국 Koji 제조 시, 38시간 이후로 일반성분의 변화가 적어지는 경향을 보였으며, 따라서 제국시간은 38시간 전후로 설정하였다.

표 2-5. 제국시간에 따른 황국과 흑국 Koji의 품질특성

	제국시간	pH	산도(mL)	아미노산도(mL)	Brix°
황국	30	4.83	0.8	0.6	5.3
	34	4.87	1.1	1.3	7.1
	38	5.09	1.0	1.3	7.2
	42	5.41	0.9	1.0	6.9
흑국	30	2.91	6.0	0.5	3.1
	34	2.83	7.3	0.9	3.8
	38	2.74	11.0	1.4	3.9
	42	2.8	11.6	1.5	4.5

## 3) 전통 밀누룩 및 쌀누룩의 효소활성

- 전통적으로 식혜제조에 원료로 사용되고 있는 엿기름과 전통주 제조에 있어 발효제로 사용되고 있는 밀누룩 및 Koji의 효소활성 및 일반성분을 Table 1에 나타내었다. 각 발효제의 효소활성은 상당한 차이를 보였는데, 밀에 *Rhizopus* 및 *Aspergillus sp.*등을 혼합 배양시킨 개량누룩이 다른 발효제에 비하여 모든 효소의 종류에서 높은 활성을 가지고 있는 것으로 나타났다.
- 특히, 당화에 주요하게 작용할 것으로 생각되는  $\alpha$ -amylase의 활성은 개량누룩이 다른 발효제에 비하여 2배가량 높았으며, 황국(Koji,yellow), 엿기름, 재래누룩, 흑국(Koji,black) 순으로 높았다.
- Protease의 활성역시 전통적으로 식혜제조에 이용되어왔던 엿기름보다 미생물 기원의 발효제에서 더욱 높게 나타났다. 황국의 protease활성은 15.6U/g으로 엿기름에 비하여 2.6배 높았으며, 흑국은 37배, 개량누룩은 113배 높은 활성을 가지고 있는 것으로 조사되었다.
- pH는 흑국이 2.90으로 가장 낮았는데, 흑국에 사용된 *A. niger*는 산생성력이 우수한 것으로 알려져 있다. 환원당량은 *A. oryzae*가 증식된 황국에서 가장 높은 것으로 나타났다.

표 2-6. Enzyme activity of malt or commercial starter (Nuruk, Koji)

Sample	Enzymatic activity(Unit/g)			pH	Sugar (°Bx)	Reducing sugar (mg/g)
	amylase		protease			
	$\alpha$ -	gluco-				
Malt	1,757	14,310	6.0	5.82	-	90.8
Nuruk(traditional, T-NR)	1,299	10,529	184.8	6.62	-	23.5
Nuruk(improved, I-NR)	4,177	17,370	678.0	6.14	-	148.1
Koji(yellow)	1,999	945	15.6	5.02	-	220.1
Koji(black)	348	317	222.0	2.90	-	159.5

### 3. 황국균을 이용한 황국감주 제조 및 제조공정 확립

#### 1) 쌀감주 제조

- 찹쌀을 세척한 후 물에 에 약 3시간 불린 후 체로 거른 다음 실온에서 약 1시간 정도 방치 후 찹쌀 무게 대비 2배수의 물을 가하여 밥을 짓는다. 밥이 되면 다시 물을 2배수를 가하여 밥을 풀어 준다.
- 당화 온도에 도달하면 입국을 사용한 찹쌀 중량과 동일한 중량을 첨가하여 약 8시간 당화시킨다. 당화가 완료되면 100℃까지 가열하여 각 효소 실험과 살균을 행한다.
- 표4 에서 쌀의 수침시간과 쌀의 수분흡수율을 비교한 결과 백미는 3시간, 7분도미는 약 4시간 수침하면 쌀의 수분함량이 약 29% 정도에 다달아 증미하는데 충분히 수분이 흡수된 것으로 판단되었다

표 2-7. 쌀 침지시간별 쌀의 수분함량 변화 (단위 : %)

구분	침지시간					
	1시간	2시간	3시간	4시간	5시간	6시간
일반백미	24.8	27.4	29.6	30.2	30.4	30.6
7분도미	23.7	26.8	28.8	29.2	29.6	30.2

\*일반미 수분함량은 초기 : 14.6%

\*8분도미 수분함량은 초기 : 15.6%

- 표 2-7은 수침된 쌀알의 심부는 공기층이 아직 있어서 물빼기 시간을 충분히 두어 채반에서 방치하면 쌀 외부의 수분이 쌀알내부로 서서히 침투하면서 공기층이 밖으로 빠져나와, 쌀 심부까지 수분이 침투하여 증미가 고루 잘 이루어진다.
- 본표에서 보면 물빼기 1시간 이후부터는 쌀의 수분함량이 증가량이 미비하여 물빼기는 1시간이면 충분한 걸로 판단되어진다.

표 2-8. 침지후 물빼기 시간별 쌀의 수분함량

시료 \ 물빼기시간	1시간	2시간	3시간	4시간
백미	30.2±0.2	30.4±0.3	30.5±0.4	30.0±0.6
8분도미	30.0±0.4	30.5±0.4	30.4±0.2	29.6±0.3

\*3시간 침지후 물빼기 직후 쌀수분함량 30.2±0.3%

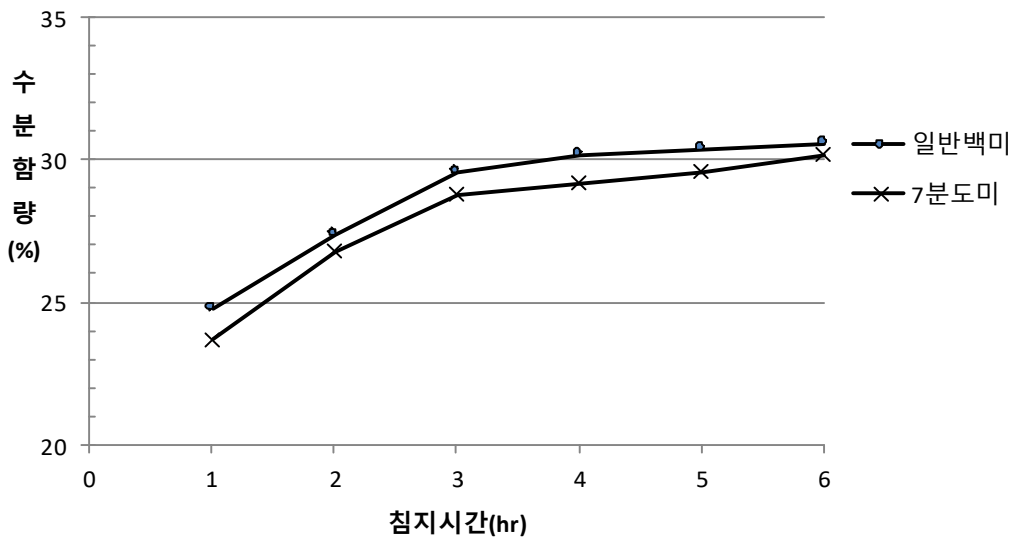


그림 2-1. 쌀 침지시간별 쌀의 수분함량 변화

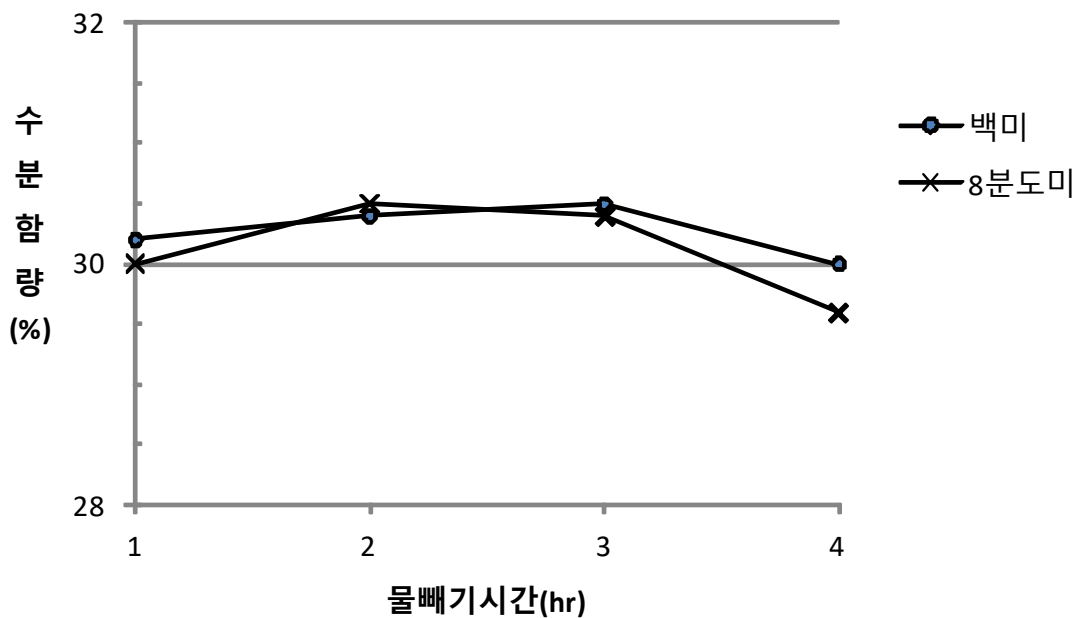


그림 2-2. 침지후 물빼기 시간별 쌀의 수분함량



## 2) 황국 종균 접종량 설정

- 종균접종량에 따른 쌀 입국의 과정(군사가 쌀 안으로 침투되는 정도)상태와 당화 효소력을 측정하여 제국시 쌀입국 품질이 양호하고 효소력이 균일한 쌀 발효제를 제조할 목적으로 황국 포자 접종량을 달리하여 제국한 특성은 표 2-9와 같다.
- 일반적인 중국이란 7분도미나 현미를 분쇄하여 침지, 증자한 후 국균포자를 접종하여 5~6일간 제국하여 포자착상을 충분히 성숙시킨 후 건조한 것으로 가격이 상당히 고가이다.
- 이에 감주용 쌀입국으로 적정한 포자를 접종하는 것이 경제성과 관련이 있고, 입국 품질과도 어느 정도 연관이 있다. 접종방법은 쌀무게대비 포자를 처리한 만큼 칭량하여 증량제(진분)에 넣어 포화 후 접종하였다.
- 제국과정 중 12시간까지는 접종량에 따라 증미에 군사의 발아가 아직 안되었으나 18시간에서도 0.2% 접종한 증미의 10%내외의 군사활착이 되었으나, 0.5% 및 0.2% 접종구에서는 증미에 20%이상 군사가 활착되었다.
- 제국30시간부터는 모든 처리구에서 군사활착이 60%이상 진행되었으며 출국후 쌀 입국의 쌀의 군사 상태는 쌀알내부로 군사가 60%정도 침투한 상태였으며 품질은 포자접종량에 관계없이 이취나 잡미가 없는 우수한 관능을 보였으나 당화력 측정에서는 53~56 SP의 범위로 중국접종량의 많고 적음에 따라 큰 차이가 없었다.
- 이상의 결과를 보아 황국접종량은 하절기 오염의 우려나 온도의 편차가 있는 경우를 고려한다면 15%이내 접종하는 것이 적정한 것으로 판단되었다.

표 2-9. 황국 종균접종량에 따른 쌀 입국 품질

포자접종량(%) 구분	배양시간별군사 활착(hr)					출국후 입국향미 (관능)	당화력 (SP)	비고
	12	18	24	30	42			
0.2	a	b	b	d	e	이취없고 국 특유향	53±2	포자수 3x10 <sup>8</sup> cell/g 이상 <i>Aspergillus oryzae</i>
0.5	a	c	d	d	e	이취없고 국 특유향	57±3	
1.0	a	c	d	d	e	이취없고 국 특유향	56±2	

\*SP : Sacchrogenic Power(국새청주류분석규정)

\*a : 미흡, b : 10% 활착, c : 20-30% 활착, d : 60-80% 활착, e : 전체고루착상

### 3) 흑국 종균 접종량 설정

- 흑국 종균의 접종량에 따른 쌀입국의 과정(군사가 쌀 안으로 침투되는 정도)상태와 당화 효소력을 측정한 결과이다. 흑국균 입국을 황국입국에 비하여 군사활착이 제국 12시간정도에서 증미에 10%정도 군사가 활착되었으며 제국 18시간에서는 30%정도 증미에 군사가 배양되었으며 제국 24시간부터는 0.1%접종구를 제외하고는 60%이상 증미표면에 군사활착이 있었다.

표 2-10. 흑국 종균접종량에 따른 쌀 입국 품질

포자접종량(%)	배양시간별군사 활착(hr)					출국후 입국항미 (관능)	당화력 (SP)	비고
	12	18	24	30	42			
0.2	b	b	c	d	e	산미향 이취없음	58±1	포자수 3x10 <sup>8</sup> cell/g
0.5	b	c	d	e	e	산미향 이취없음	61±2	이상
1.0	b	c	d	e	e	산미향 이취없음	62±1	<i>Aspergillus awamori</i>

\*SP : Sacchrogenic Power(국새청주류분석규정)

\*a : 미흡, b : 10% 이내, c : 20-30% 활착, d : 60-80% 활착, e : 전체고루착상

- 제국 42시간에서는 전처리구 모두 군사가 활착이 잘 되었다. 또한 제국 42시간 이후 출국시 1.0%포자 접종구에서 검은색 포자의 발생이 약 5.10정도 나타났다. 이러한 이유는 흑국균의 생육특성상 발효시 균포자와 비례해 빠른 포자발아와 군사의 활착이 빠르는데 기인하고 또한 대사열에 의한 수분증발이 어느정도 있어서 일부 쌀 입국이 건조한 상태로 되어 포자가 일찍 형성되지 않았나 생각되어진다. 흑국균 쌀입국의 효소는 58~62SP사이로 황국입국보다 약간 높았다.
- 이상의 결과로 흑국균 종균접종량은 3x10<sup>8</sup>기준(3억cell)으로 보아 0.5내외 접종하는 것이 적절한 것으로 판단된다.

### 4) 흑국균 쌀누룩의 감주당화시간별 당도 변화

- 쌀감주의 맛을 달리하고자 발효제인 황국에 흑국을 30%첨가하여 감주제조과정중 당도 (brix°)등을 분석한 결과는 표 2-11과 같다. 당화1시간 후 brix° 는 전체당화율의 80%가량이 진행되었는데 이는 황국감주와 비교시 약 7~8%정도가 높았다.
- 당화시간에서는 당화 5시간에서 전체당화율의 약 98%가 진행되었다. 당화후 brix° 는 28.1 brix° 로 황국입국보다 약 1brix° 정도 낮았다.
- 적정산도는 흑국균(*Aspergillus awamori*) 특성상 발효중 유기산류를 많이 분비하는 특성이 있어서 황국감주보다 5배가량 높았다. 이러한 결과로 흑국균의 특성상 구연산 등의 유기산류를 발효과정 중 많이 분비하는 능력이 있어서 쌀감주 제조시 적정비율로 혼용한다면 관능적 측면에서나 영양적 측면에서도 긍정적인 것으로 판단되어진다.

표 2-11. 흑국균 쌀누룩의 감주당화시간별 당도변화

당화시간 (hr)	품온 (℃)	pH	brix°	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	비고
1	58.8	4.31	22.5	-	
2	58.6	4.33	24.1	3.1	
3	58.9	4.34	24.7	-	<원료배합비> 참쌀:입국:물 ( 1 : 1 : 4 )
4	58.2	4.32	26.5	4.2	
5	57.8	4.30	27.2	-	
6	57.6	4.33	27.5	4.6	<입국비율> (황국 : 흑국 = 7 : 3) 당화온도60±1℃
12	56.7	4.40	27.8	4.8	
가열살균 (100℃, 5분)	-	4.42	2.81	4.7	

- 표 2-12에서 나타난 바와 같이 황국 100% 쌀감주와 흑국쌀누룩을 30% 가하여 만든 일반성분 및 무기질 함량은 거의 비슷한 수준을 보였으며 성분간에도 차이가 미미하였다.

표 2-12. 쌀감주의 일반성분분석

구분	일반성분(%)						무기질(mg/100g)						
	수분	단백질	지질	탄수화물	brix°	조회분	Na	K	Ca	Hg	PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Fe	Zn
황국쌀감주	74.1	1.7	0.1	21.8	23.9	0.2	60	14	3	5	21	0.1	0.3
황국 + 흑국쌀감주 ( 7 : 3 )	73.1	1.9	0.1	22.0	24.7	0.2	61	16	4	4	23	0.1	0.3

#### 4) 감주용 입국별 최적배양시간 분석

- 제국시간별 황국의 품질특성을 분석하여 적정출국시간을 알아 품질이 좋은 입국을 확인하고자 실험을 실시하였다.
- 황국은 제국 38시간에서 당화력이 42sp정도였으며 제국 42시간에서 56sp, 44시간에서는 57sp범위로 출국시간을 입국의 상태를 보아 42~44시간사이에서 출국하는 것이 적정한 것으로 판단되었다. 이때 쌀입국의 pH5.41~5.40, 적정산도는 0.9~1.0범위, 입국내의 당도는 6.9~7.1brix° 를 나타내었다.

표 2-13. 황국균 입국제국시간에 따른 품질변화

제국시간 (hr)	성분				당화력 (SP)	비고
	pH	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	아미노산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	brix°		
30	4.83	0.8	0.6	5.3	-	
34	4.87	1.1	1.3	7.1	-	44시간까지
38	5.09	1.0	1.3	7.2	42±1	포자는
42	5.41	0.9	1.0	6.9	56±2	발생 않음
44	5.40	1.0	1.2	7.1	57±1	

- 한편 흑국의 제국시간별 품질변화를 보면 제국 38시간에 당화력이 52SP로 황국보다 10%정도 당화력이 높았으며 제국 42시간에서는 흑국당화력이 59SP로 황국에 비하여 약 13%정도 높았다. 그러나 제국 44시간에서는 당화력이 58SP수준으로 더 이상 증가하지 않았고 제국 42시간 이후부터는 쌀입국에 포자가 약간씩 발생하였다.
- 흑국균 입국이 황국균입국보다 포자가 입국에서 빠르게 나타난 원인은 균의 특성에 의한 포자의 발아번식이 빨랐으며 균사가 활착 후에 수분 및 영양원의 소실에 의한 포자형성이 빠르지 않았나 생각되어진다. 한편 당화력이 황국균 입국보다 흑국균입국이 높았던 것은 흑국균의 당화 효소력 중  $\alpha$ -Amylase의 역가가 황국보다 높다는 연구보고로 보아 이러한 결과에 의한 당화력의 차이가 난 것으로 생각되어진다.
- 이상의 결과로 감주용 황국균입국의 출국시간은 약42~44시간, 흑국균입국의 출국시간은 42시간이내 하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다.

표 2-14. 흑국균 입국제국시간에 따른 품질변화

제국시간 (hr)	성분			당화력 (SP)	비고
	pH	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	아미노산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)		
30	2.91	6.0	0.5	3.1	-
34	2.83	7.3	0.9	3.8	-
38	2.74	11.0	1.4	3.9	52±2
42	2.81	11.6	1.5	4.5	62±1
44	2.81	11.8	1.5	4.7	61±2

5) 황국 감주 제조 공정에 따른 당도 변화

- 다음과 같이 황국 감주 제조 최적온도 조건을 구명하기 위해서 표 2-15와 같이 감주 당화 배합 비율로 온도별 제조공정 연구를 실시하였다.

표 2-15. 황국 감주 제조 최적온도 조건구명 (감주 당화 배합 비율)

재료	사용량
참쌀	1,000g
입국	1,000g
물	4,000ml

- 황국 감주 제조시 당화온도와 시간별로 pH 및 당도(brix°)의 변화로 본 결과는 표 2-16과 같다. 50°C~65°C까지의 처리구 당화온도에서 당화시간 5시간 경과 후에는 전체 당도의 95%이상 당화가 되었으며 6시간이후에는 당도상승이 미미하였다.
- 온도별 최종 brix° 는 65°C 및 60°C 에서 28brix° 로 가장 높았으며 55°C 와 50°C 당화온도에서는 당도가 각각 27.2, 26.6 brix° 를 나타냈고, 온도에 따라 약 1brix° 가 차이가 났다. 이상의 결과로 쌀감주 제조시 당화온도는 60~65°C 가 적절한 걸로 판단되었다.

표 2-16. 황국감주의 당화온도별 당도변화

경과 시간 (hr)	65℃		60℃		55℃		50℃	
	pH	Brix	pH	Brix	pH	Brix	pH	Brix
1	5.75	24.0	5.71	23.1	5.72	23.9	5.80	21.8
2	5.64	27.4	5.68	25.5	5.67	24.4	5.74	23.4
3	5.60	27.2	5.61	25.7	5.63	26.0	5.71	24.7
4	5.58	26.3	5.58	27.2	5.61	25.9	5.72	25.0
5	5.58	28.5	5.56	28.7	5.60	26.8	5.71	26.0
6	5.57	28.2	5.55	27.8	5.58	27.6	5.70	26.0
7	5.53	28.0	5.54	28.0	5.57	27.3	5.72	26.5
8	5.52	28.0	5.53	28.0	5.58	27.2	5.70	26.6



그림 2-3. 황국

- 황국균 입국 제조시 출국시간에 따른 감주의 당도를 조사하기 위하여 감주 당화를 실시한 결과는 표 2-17과 같다.
- 30시간 및 40시간 제국 후 출국한 입국으로 감주 제조 시 최종 당도는 약 21.6brix° 로 낮았으며 44시간 제국후 제조한 감주는 25.4brix° 48시간 제국 후 제조한 감주는 28.3brix° 로 가장 높았으며 50시간 제국한 감주는 24brix° 를 나타내었다.

- 이러한 결과로 제국 44시간이전에 출국하면 아직 증미에 균사의 활착이 부족하여 이에 따른 효소력가가 낮아 감주 당화시 당분의 생성이 불충분 한 것으로 판단되며 50시간에 출국한 입국은 과숙에 의한 효소력이 낮아져서 감주 제조시 당도가 낮아진 것으로 생각된다.
- 이러한 결과로 황국균입국제시 정상적인 발효시간을  $44 \pm 2$ 가 적정한 것으로 판단된다.

표 2-17. 황국 입국 출국 시간에 따른 감주당도 변화

단위(brix°)

출국시간(hr) 당화시간	출국시간(hr)				
	30	40	44	48	50
1	7.9	7.9	21.2	24.5	22.8
2	13.9	14.3	22.6	25.5	23.2
3	13.9	16.9	23.0	26.4	23.5
4	13.9	17.4	23.7	26.5	24.2
5	19.4	17.4	24.0	27.0	24.0
6	19.9	18.3	24.6	28.8	24.3
7	21.9	18.3	25.4	28.3	24.1
8	21.6	21.0	25.4	28.3	24.0

- 감주 제조시 쌀알누룩(쌀 입국)의 원료확보 및 실온저장을 검토하고자 제국 시 바로 나온 생쌀입국과 열풍( $60^{\circ}\text{C} \pm 1$ )건조한 건조쌀 입국을 사용하여 감주 당화시간동안 brix° 등의 성분변화를 검토한 결과는 표 2-18과 같다.
- 생쌀입국을 사용한 감주 당화물은 당화1시간에 전체의 약 77%이상의 당화가 이루어졌으며 건조쌀누룩의 경우는 약 72%정도의 당화가 이루어 졌으며 2시간이후부터 5시간까지는 당화가 서서히 진행되어 brix° 가 미미하게 상승되었다. 당화 6시간에서는 생입국이 0.4brix° 가 높았으나 가열살균후 당화물의 brix° 는 오히려 건조곡침가구에서 0.6brix° 가 높았고, 아미노산도는 0.8~0.9로 비슷한 값을 보였다.
- 이러한 결과는 건조입국이 당화시간내에서 미분해된 전분질이나 입국의 전분질이 가열과정에서 효소가 작용하여 brix° 가 약간 높아진 것으로 생각된다. 이상의 결과로 감주 제조시 생입국 대신 건조입국을 사용하여도 감주발효액의 품질에는 별다른 차이가 나지 않으므로 생쌀입국을 사용하지 못할 경우나 부득이한 경우 냉장저장중 오염과 균의 포자발생문제방지, 쌀입국 유통편의성제고 및 실온저장성 확보에서도 긍정적인 것으로 판단되어진다.

표 2-18. 습곡 및 건조 황국균 쌀누룩의 당화 특성 비교

당화 시간	생입국				건조입국				비고
	품온 (℃)	pH	brix°	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	품온 (℃)	pH	brix°	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	
1	60.3	5.81	22.6	0.6	61.2	5.63	21.8	0.5	○ 원료 배합 비율
2	60.0	5.72	25.7	-	60.6	5.58	24.8	-	(참쌀:황국: 물, 1:1:4)
3	59.3	5.70	26.6	0.8	60.7	5.55	27.0	0.7	○ 건조국은 생입국대비 수분함량을 감안하여 생 입국(수분 25±1%)1kg 량에대한 건조입국(수 분10±0.5%) 은 약830g 비 율로 투입 ○ 당화 온도 :60~62℃
4	60.3	5.68	27.8	-	61.2	5.53	28.1	-	
5	59.7	5.68	28.2	-	60.2	5.55	28.2	-	
6	58.4	5.68	28.6	0.8	58.1	5.55	28.4	0.8	
12	57.8	5.61	29.0	-	57.3	5.61	28.7	-	
가열 살균 (100℃, 5분)	-		29.2	0.9	-		29.8	0.8	



6) 황국 감주 제조 공정에 따른 성분 및 관능검사

- 가수율별 brix° 의 변화와 관능을 검사한 결과 찹쌀대비 가수율이 200%에서는 40.4이였으며 300% 가수에서는 38.0, 400% 가수에서는 29.3, 600% 가수율에서는 26.5brix° 를 나타내었다.
- 한편 관능에서는 가수율이 낮을수록 brix° 가 높았으며 이는 가수율이 적을수록 상대적으로 당도가 올라가지 않았다 판단되어지며 brix° 는 가수율에는 비례하지 않았다.
- 음미했을 때 200% 가수 찹감주는 brix° 가 40.4임에도 불구하고 대조구(400%감주)에 비하여 단맛이 높게 느껴지지 않았는데 이는 미분해 올리고당류에 의한 단맛저하 및 농후한 바디감이 있었다.
- 300% 가수감주는 단맛이 강하고 깨끗하였으며 살균시 갈변이 쉽게 오는 경향이였다. 600% 가수감주는 brix° 가 대조구에 비해 3brix° 가량 낮았지만 감미도는 대조구와 비슷한 단맛을 느낄 수 있었다.
- 본 결과로 가수율 조정에 의한 찹음료 베이스의 다양화가 가능할 것으로 판단되었다.

표 2-19. 가수율별 황국찰감주의 성분 및 관능검사

가수율	pH	적정산도		관능	비고
		0.1N-NaOH (ml/10ml)	brix°		
200%	5.48	0.7	40.4	당도에 비해 감미는 높지 않음 바디감진함	○ 황국 찰감주 배합비에 가수량만 달리함
300%	5.39	0.7	38.0	단맛이 강하고 깨끗함 갈변에 예민	
400% (대조구)	5.71	0.8	29.3	단맛이 좋음 요구르트형	○ 6시간 반응 후 살균처리
600%	5.79	0.8	26.5	brix° rk 대조구보다 낮으나 감미도는 비슷함	

- 찹감주의 당화 후 찹알부유성과 점성을 높이기 위하여 황국균입국에 양조용 효소를 원료쌀의 0.1%를 첨가하여 감주 당화시간동안의 성분 변화를 분석한 결과를 표 2-20과 같다. 당화 후 pH는 5.60 적정산도는 0.7정도며 황국균 입국감주와 비슷한 값을 보였으며 brix° 는 28.5로 비교적 브릭스 값에 비해 감미가 높게 느껴졌다. 또한 입안으로 느끼기에도 바디감이 있었고 40mesh정도로 분쇄 후 1일 방치후 침강정도는 황국감주에 비하여 부유성이 있어 덜 침전되는 경향이였다.
- 이상의 결과로 상품화시 양조용 효소제를 처리한다면 다른 첨가물 없이도 감미도가 있고 농후한 느낌의 감주 제조가 가능할 것으로 판단되었다.

표 2-20. 효소첨가에 의한 쌀감주의 당화 중 성분함량변화

당화시간\구분	품온 (°C)	pH	brix°	적정 산도	비고
1	57.4	5.62	17.6	0.4	
2	57.8	5.61	20.5	0.6	
3	57.6	5.62	24.6	0.6	○ 배합비 (참쌀:황국:효소:물) (1 : 1 : 0.1 : 4)
4	58.1	5.55	25.7	0.7	○ 효소:양조용 cellulase MS8201 Japan)
5	57.8	5.48	26.8	0.7	
6	57.6	5.62	27.2	0.6	
살균후 (100°C/5분)	-	5.60	28.5	0.7	

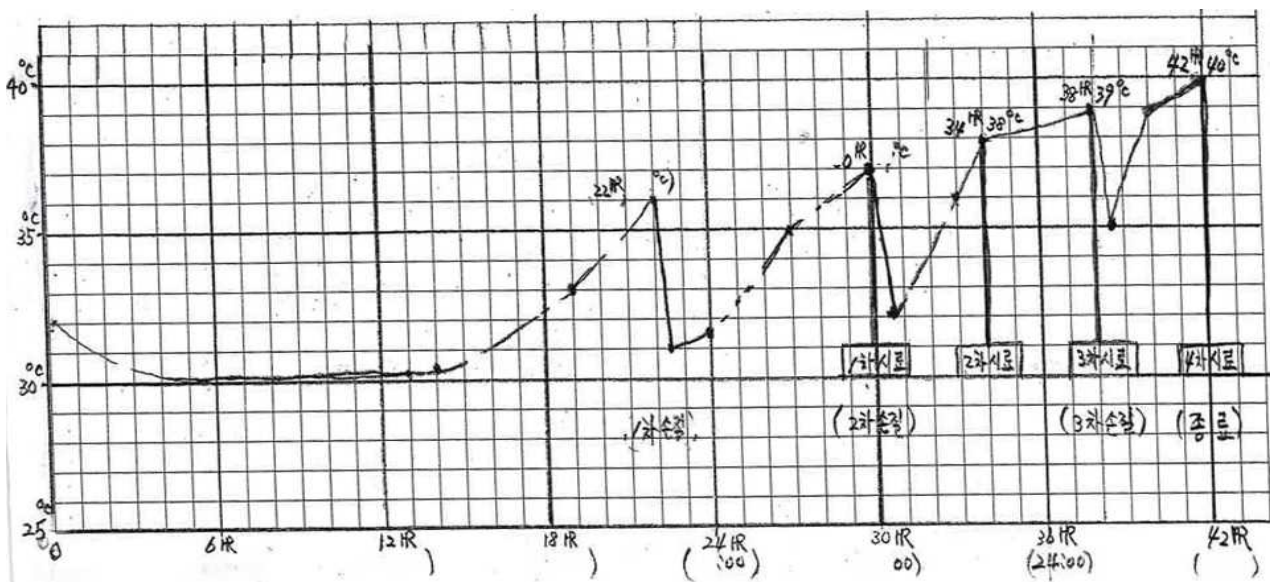


그림 2-4. 입국배양과정중 품온변화추이

<감주제조용 제국온도표준서>

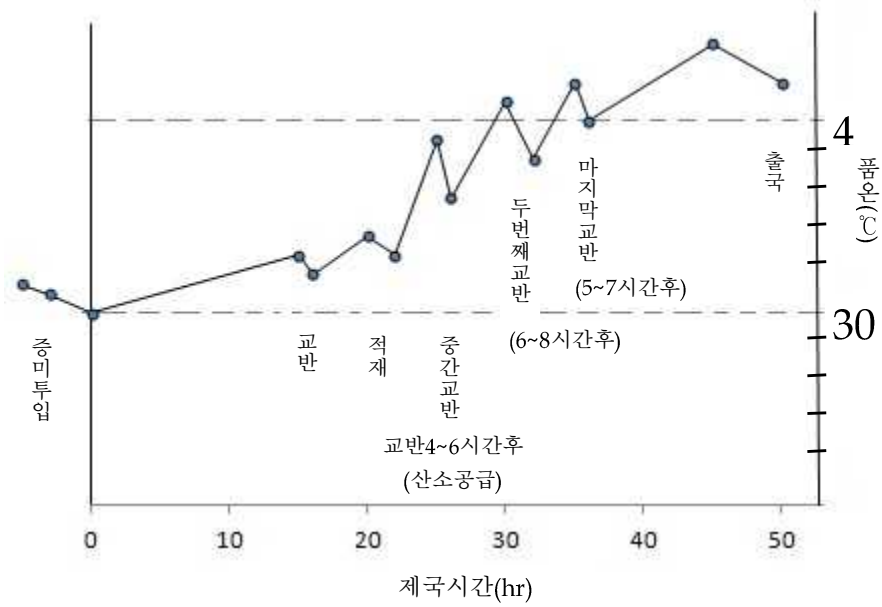


그림 2-5. 진한맛감주용 제국온도 표준서

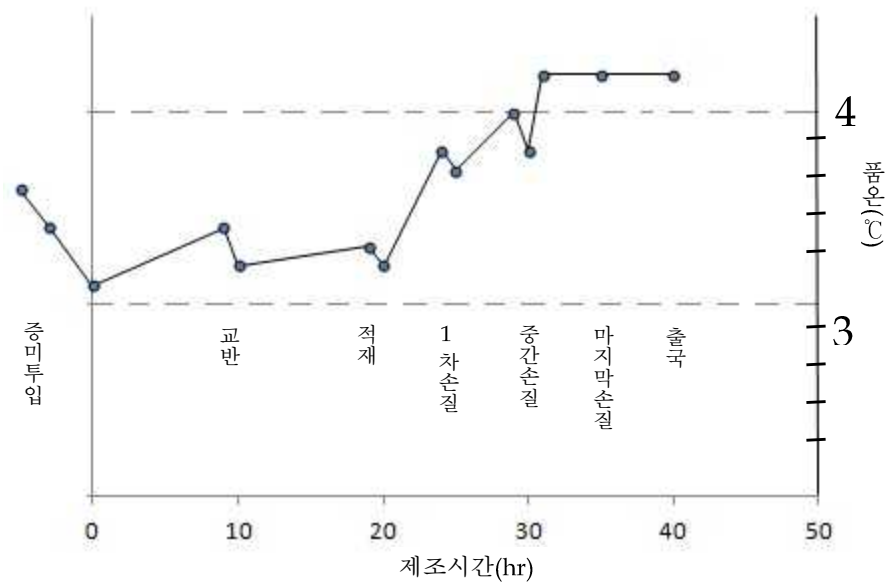


그림 2-6. 온화한맛감주용 제국온도 표준서

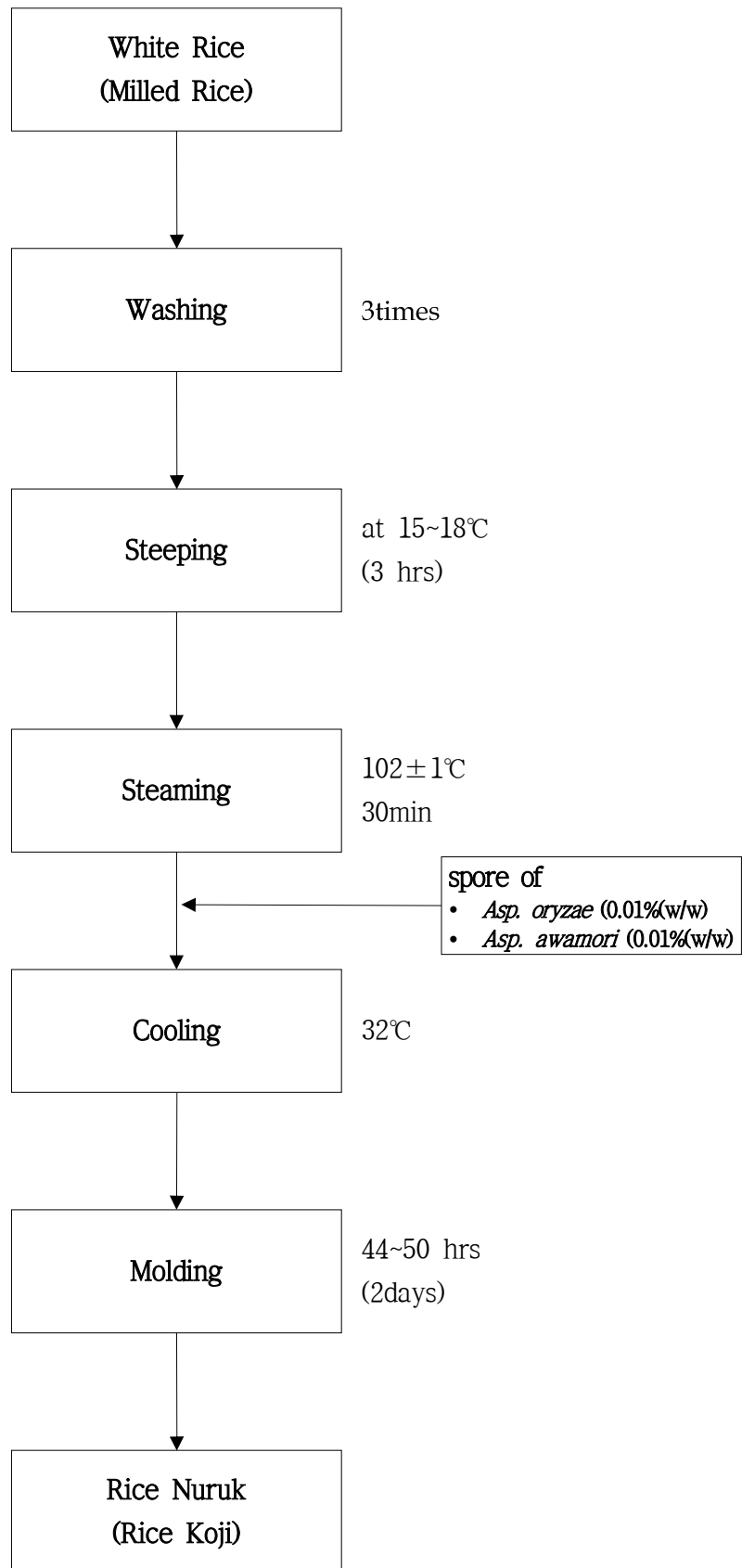


그림 2-7. 제국 표준공정 지침도

<대형기계 제국에 의한 제국표준서(60kg이상)>

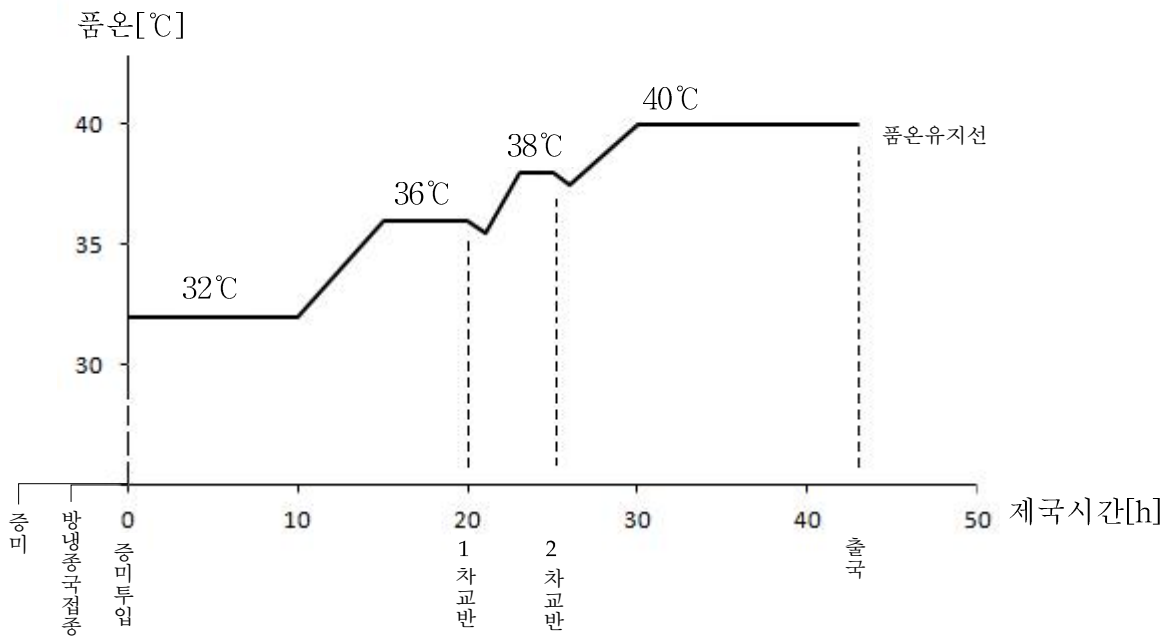


그림 2-8. 쌀누룩(입국) 제조까지의 표준온도그래프

표 2-21. 감주용 쌀알누룩(입국) 제국온도 표준서

구분	발효실온도설정	쌀누룩품온설정	주의점
1 발효실에 증미투입	여름 : 30~32°C 춘,추 : 34~36°C 겨울 : 38°C	입국쌀의 중심온도 36°C	○ 쌀 40kg기준 증미적제두께 13±1cm ○ 보통 10~11시간까지도 군사가 발아단계임
2 입국교반	여름 : 30~32°C 춘,추 : 34~36°C 겨울 : 38°C	입국쌀의 중심온도 38°C 이하유지	○ 균 접종후 12~16시간 경과 후 실시 ○ 교반시 36°C 이상 유지되게 ○ 향기소실, 군사끊어짐 ○ 교반은 빨리한다
3 출국 (입국완성)	외부의 공기 순환시킴	입국쌀의 품온 40°C	○ 겨울의 경우 외부공기가 낮으므로 주의 ○ 품온 30°C 유지 ○ 군사접종후 42~44시간에 발효를 마침 ○ 포자 생성에 주의

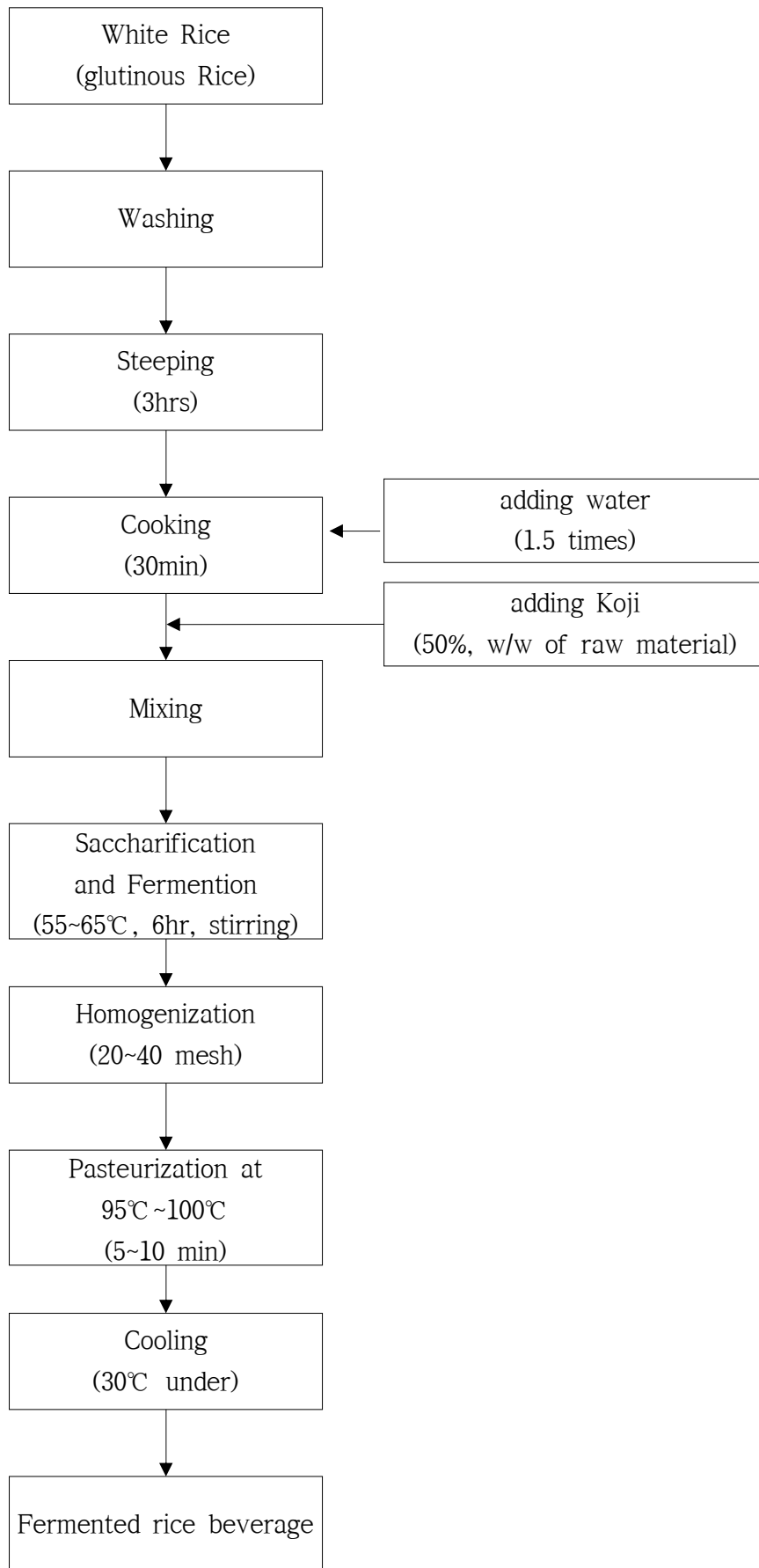


그림 2-9. 쌀감주 제조용 공정도

7) 황국 감주 제조 공정에 따른 생리활성분석

- 쌀누룩별 감주발효액의 생리활성을 탐색하기 위해 polyphenol 함량, 항산화 효과, tyrosinase저해활성 및 ACE(angiotensia converting enzyme) 저해활성도를 측정하였다.
- 결과에서 황국과 흑국을 혼용한 쌀누룩 감주발효액의 폴리페놀 함량이 황국 단용 쌀누룩 감주보다 약10% 가량 높게 나타났으나 전자공여능에서는 황국 쌀 누룩감주에서 약 9%정도 높게 나타났다.
- 저해활성을 보면 황국과 흑국쌀누룩을 혼용한 감주가 tyrosinase활성은 약 4% 높았으며 ACE저해활성은 비슷하였다.
- 이상의 결과로 보아 황국쌀감주나 흑국을 첨가한 감주모두 tyrosinase저해활성은 90%이상 ACE저해활성도는 53%이상인 것으로 확인되었다.

표 2-22. 쌀누룩별 감주발효액의 생리활성분석

시료	polyphenol (mg gallic acid/10ml)	전자공여능 (%)	저해활성(%)	
			tyrosinase	ACE
황국쌀누룩감주	4.26	28.26	90.20	53.4
황국+흑국감주 (7 : 3)	4.82	25.88	93.64	54.2

4. 홍국균을 이용한 황국 홍국감주 제조 및 제조공정 확립

1) 홍국균 이용 홍국쌀입국 제조법

- 쌀을 수침, 증자하고 고두밥을 만드는 과정은 황국제조와 같으며 증미의 수분이 32%정도에서 쌀 5% 배지액체중국을 쌀량의 1% 내외 접종하여 습도 85~90% 온도 32~35℃에서 7~8일 배양하여 쌀입국의 내부색소침착이 95%이상이면 Dry oven상에서 수분 12% 이하로 건조하여 냉동(-18℃)실에 보관하여 감주제조에 사용하였다.

2) 홍국쌀 제조공정

- 홍국균쌀입국을 제조한 공정도는 그림 2-10과 같다

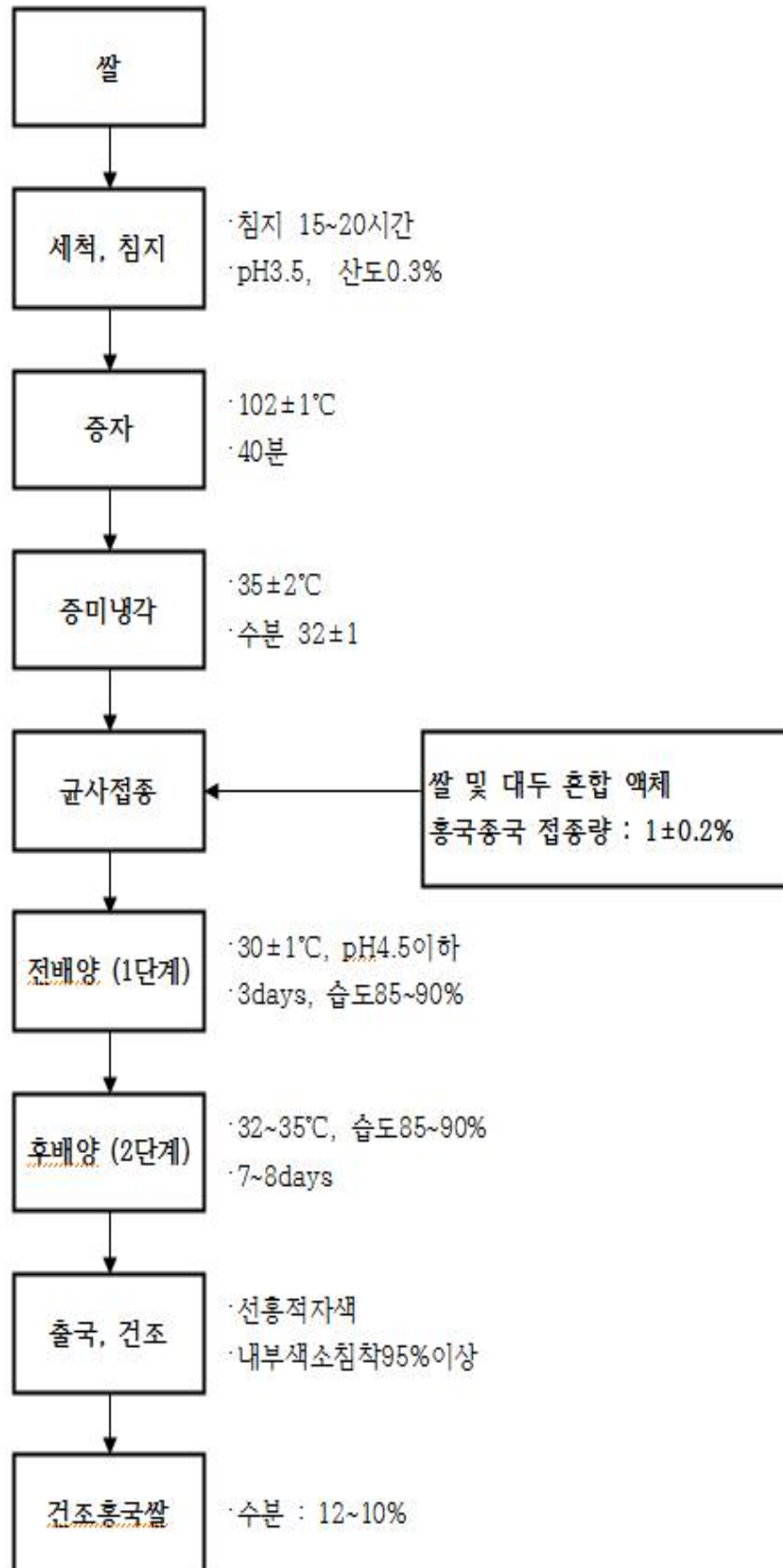


그림 2-10. 홍국균 입국제조공정도



- 홍국균의 액체배양을 위하여 쌀가루 5%에 PDB배지와 무기염류를 가하여 pH를 구연산 용액으로 조정한 후 32°C에서 6일간 진탕배양한 후 적자색상의 발색을 육안으로 관찰한 결과는 배지의 pH5.0이하에서 발색이 좋았으며 pH4.5에서는 *Monascus anka*액체종균을 진적자색 *Monascus purpureus*균은 적자색을 나타냈다.
- pH가 중성쪽으로 갈수록 두균 모두 적자색의 발색이 잘 생성되지 않았으며 pH 6.5에서는 *Monascus anka*균은 연갈색 *Monascus purpureus*균은 연황색을 나타내어서 두균 모두 pH 5.0 이하에서 발색이 잘 되었다.

표 2-23. 홍국균의 pH별 액체배양 특성

균명	배지의 pH별 색상					비고
	6.5	6.0	5.5	5.0	4.5	
<i>Monascus anka</i>	연갈색	연황색	연적색	진적홍색	진적자색	<액체배지조성> 쌀가루 500g, PDB배지 6g K <sub>2</sub> HSO <sub>4</sub> 0.2g, MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0.1g D.W 1000ml pH 조정 : Citric acid 배양온도기간 : 6일, 32°C 진탕 150rpm
<i>Monascus purpureus</i>	연황색	연황갈색	연적색	적색	적색	



그림 2-11. pH별 액상 중국 홍국 Koji 및 첨가물별 홍국 Koji

- 액체종균배지의 최적조건을 구명하고자 쌀가루 농도를 4~10%로 조정하여 32℃에서 6일간 진탕배양한 결과는 표 2-24와 같다. 두 균주 모두 미분첨가량이 낮을수록 발색이 잘 되었으나 균체량은 미분 첨가량이 높을수록 이에 비례해 균체량이 증가하였다.
- 이러한 결과는 쌀전분량이 높으면 당을 분해하여 균체량을 높이는 효과는 있으나 적자색상의 발현은 오히려 둔화하였다. 이는 홍국균 배양 특성상 일반황국균에 비하여 호기성이며 또한 전분분해효소력이 낮아서 배양이 늦어진 것으로 생각되며 진탕배양시 물성이 호상형이면 공기의 접촉면이 적어서 산소의 공급이 원활치 못해 적자색의 발현이 늦게 된 것으로 판단된다.
- 실제 고체배양에서는 8일이상 소요되는 기간중에 과도한 수분으로 인한 살알이 달라붙어서 산소공급이 원활치 못하면 쌀알이 접촉된 부분은 배양이 끝난 후에도 적자색 색상이 나타나지 않았다.
- 이상의 결과로 홍국균의 Seeding을 위한 pH는 4.5내의 미분첨가량은 4%내외가 적절한 것으로 판단되며 홍국쌀입국제조용 균으로는 발색이 잘되는 *Monascus anka*균이 감주용으로 적합한 균으로 판단된다.

표 2-24. 홍국균별 미분농도별 색상과 균체량

균주\구분	미분첨가량(%)					비고
	4	5	7.5	10		
<i>Monascus anka</i>	색상	농적색	적자색	적황색	연자색	<배양조건> 온도 : 32±1℃ 진탕 150rpm
	건조 균체량	3.02	3.52	4.01	7.61	
<i>Monascus purpureus</i>	색상	적자색	연적자색	적황색	자황색	<배지조성> 쌀가루 5% PDB+무기염배지 pH4.5
	건조 균체량	3.12	3.24	3.78	6.81	

- 홍국쌀입국을 제조하기 위해서는 무엇보다 배양기간이 길며 8일~10일 배양기간 동안에 발효대사열 및 제국기간 중 국의 손질(교반작업) 때문에 수분을 보충해주어 적절한 수율(34%내외)이 되어야 건조에 의한 균사체 결발립 홍국이나 과습에 의한 변질이 일어나지 않는다.
- 본 실험은 이러한 점을 감안하여 배양된 액체종균의 적정 접종량을 설정하기 위하여 액체종균을 증미에 5~15%까지 범위로 설정하여 접종량에 따른 홍국색상 발현을 검정하고 균사활착이 원활하고 쌀입국에 적자색의 색소발현이 잘되는 지를 육안과 관능을 통하여 검정하였다.

- 적자색상 발현은 5% 접종구에서도 6일 정도에서 7.5% ~15%에서는 4일 이후부터 적자색상 발현이 일어났으며 배양 8일에서 7.5, 10, 12.5%는 적자색상 발현이 잘 이루어졌으나 5% 첨가구나 15% 첨가구는 색상발현이 늦게 되었다. 또한 10일 이후에 출국한 관능검사결과 5%첨가도 건습하여서 15%첨가는 과습하여 쌀알끼리 붙거나 짓무른 현상으로 킁킁한 불쾌취가 약간 느껴졌다.
- 이상의 결과로 보아 홍국 제조시 액체종균의 접종량은 발효기간이 긴점을 감안하고 제국 후 홍국 품질을 고려할시 10%내외 접종하는 것이 적정하였다.

표 2-25. 액체종균 접종량에 따른 홍국쌀입국의 색상품질

액체종균첨가량(%)	배양기간(일)					관능	
	2	4	6	8	10		
5	발색안함	발색안함	연홍색	홍색	적색	약간쓴맛 킁킁한취 불쾌취	
7.5	발색안함	연홍색	홍색	적자색	적색	약간쓴맛 불쾌취	
10	색상	발색안함	연홍색	적색	적자색	적자색	약간쓴맛 산미약간
12.5		발색안함	연홍색	적색	적자색	적자색	약간쓴맛 산미약간
15		발색안함	연홍색	홍색	적색	적색	약간쓴맛 킁킁한취



그림 2-12. 홍국배양 모습

#### 4. 황국에 홍국을 첨가한 감주당화

##### 1) 홍국균 쌀누룩첨가 감주 당화시간별 성분변화

- 감주에 홍국의 색소 특성을 살리기 위하여 홍국을 황국에 10% 첨가하여 감주당화 시간 동안 brix° 등의 성분함량변화를 분석한 결과는 표23과 같다. 당화 1시간 후의 감주 당화액의 brix° 는 황국감주나 흑국감주의 당도보다 2brix° 낮았으며 당화시간의 경과에 따라서도 황국이나 흑국첨가 감주에 비하여 당도의 증가가 느리게 상승되었다.
- 이러한 이유는 홍국의 효소 분비력 측정에서도 나타난바와 같이 Amylase분해력이 황국이나 흑국에 비하여 현저히 낮아서 홍국이 첨가된 양에 비례해 Amylase 효소력가가 낮아져서 당화과정에 영향을 미친 것으로 판단된다.
- 그러나 감주의 색상면에서는 홍국 특유의 연한선흥색이 나타나서 시각적으로 상품성을 높일 수 있는 것으로 판단되어지며 기존문헌에 홍국에 대한 건강기능성인 콜레스테롤 억제 및 다이어트 고혈압 예방 등의 연구결과가 발표되어서 영양과 보건기능적 측면에서는 긍정적인 것으로 생각된다.

표 2-26. 홍국균 쌀누룩첨가 감주 당화시간별 성분변화

당화시간	품온 (°C)	pH	brix°	적정산도 0.1N-NaOH (ml/10ml)	비고
1	61.4	5.45	21.4	0.5	
2	60.7	5.44	22.5	-	
3	61.2	5.42	23.1	0.6	
4	59.4	5.45	23.5	-	○배합비: 참쌀:황국:홍국:물 (1 : 0.9 : 0.1 : 4)
5	60.1	5.44	25.1	0.7	
6	59.5	5.38	26.3	0.8	○당화온도 : 60~62°C
12	61.3	5.34	26.6	0.7	
살균 (100°C, 5분)	-	-	27.0	0.7	

2) 쌀입국 혼합별 성분변화

표 2-27. 쌀입국 혼합별 비율

실험구\입국별	황국		흑국		홍국		사용량합계
	혼합비	사용량	혼합비	사용량	혼합비	사용량	
대조구	100%	250g	-	-	-	-	250g
1조합	70%	175g	30%	75g	-	-	250g
2배합	70%	175g	20%	50g	10%	25g	250g
3배합	90%	-	-	-	10%	25g	250g

표 2-28. 쌀입국별 감주 당화시간별 성분변화

구분	측정항목	1시간	2시간	3시간	4시간	5시간	6시간	7시간
대조구 (황국)	품온	61.7	58.9	63.6	63.9	60.2	62.5	59.2
	pH	5.69	5.51	5.56	5.56	5.51	5.49	5.45
	brix°	19.5	23.4	24.2	24.3	24.2	24.9	25.1
1배합 (황국:흑국) (0.7 : 0.3)	품온	57.4	59.3	61.4	62.4	63.0	61.2	61.0
	pH	4.21	4.28	4.41	4.33	4.31	4.33	4.34
	brix°	21.4	22.8	23.9	24.1	24.8	24.4	24.1
2배합 (황국:흑국:홍국) (0.7 : 0.2 : 0.1)	품온	56.2	57.3	57.8	62.2	61.4	58.7	55.8
	pH	4.43	4.52	4.52	4.53	4.51	4.52	4.51
	brix°	21.0	22.4	23.7	24.7	25.1	24.8	24.7
3배합 (황국:홍국) (0.9 : 0.1)	품온	52.9	56.6	60.9	59.8	59.2	60.2	57.5
	pH	5.39	5.35	5.44	5.41	5.39	5.39	5.37
	brix°	20.5	21.0	22.4	23.9	24.0	24.5	24.0

### 3) 쌀입국 혼합별 특성 및 관능평가

- 입국종류별로 배합비를 달리하여 맛과 색상을 달리한 brix° 의 변화가 어느정도인지 알기 위하여 쌀입국(황국, 흑국, 홍국)의 비율을 달리하고 가수율을 400%하여 당화 시간별로 brix° 변화를 검출한 결과는 표 2-29와 같다.
- 대조구인 황국감주는 당화 7시간 후 25.1brix° 이고, 흑국을 30% 첨가한 1배합구의 감주는 24.1brix로 약 1brix° 정도 낮았다.
- 황국 70%에 흑국 20%와 홍국 10%를 첨가한 2배합구는 24.7brix° 이고, 황국 90%에 홍국 10%를 첨가한 3배합구는 24.0brix° 로 각각 대조구에 비하여 0.4, 1.1brix° 가 낮았다.
- 살균 후 감주의 brix° 는 대조구가 25.8, 1배합구 25.1, 2배합구 25.0으로 차이는 0.7brix° 이내였으나, 3배합구는 22.8brix° 로 대조구에 비해 3brix° 가 낮았다.
- 한편 pH는 흑국 입국의 배합량이 높을수록 낮아지는 경향을 보였는데 이는 흑국균입국의 유기산에 기인된 결과로 생각되어진다.
- 이러한 결과는 황국입국의 효소력에 다른 흑국이나 홍국에 비하여 당화력이 높는데 기인된 결과로 판단되어지나, 관능면에서의 감미도 차이는 미미한 것으로 생각되어진다.
- 관능검사에서 대조구는 단맛이 깊고 깨끗하며 입국 특유의 밤 삶은 향기가 났고, 제 1배합구는 약간의 신맛이 느껴지고 엷은 모주 맛이었으며, 제 2배합구는 약간 신맛의 엷은 선홍색이었고, 제 3배합구는 단맛이 많고, 산맛은 없고 엷은 선홍색을 띄는 관능을 보였다.

표 2-29. 살균후 품질 특성

구분	pH	brix°	관능
대조구	5.30	25.8	단맛이 깊고 깨끗함. 입국 특유의 밤 삶은 향기
1배합	4.28	25.1	약간의 신맛이 느껴짐, 엷은 모주 맛
2배합	4.38	25.0	약간 신맛의 엷은 선홍색
3배합	5.11	22.8	단맛이 많고, 산맛이 없고 엷은 선홍색

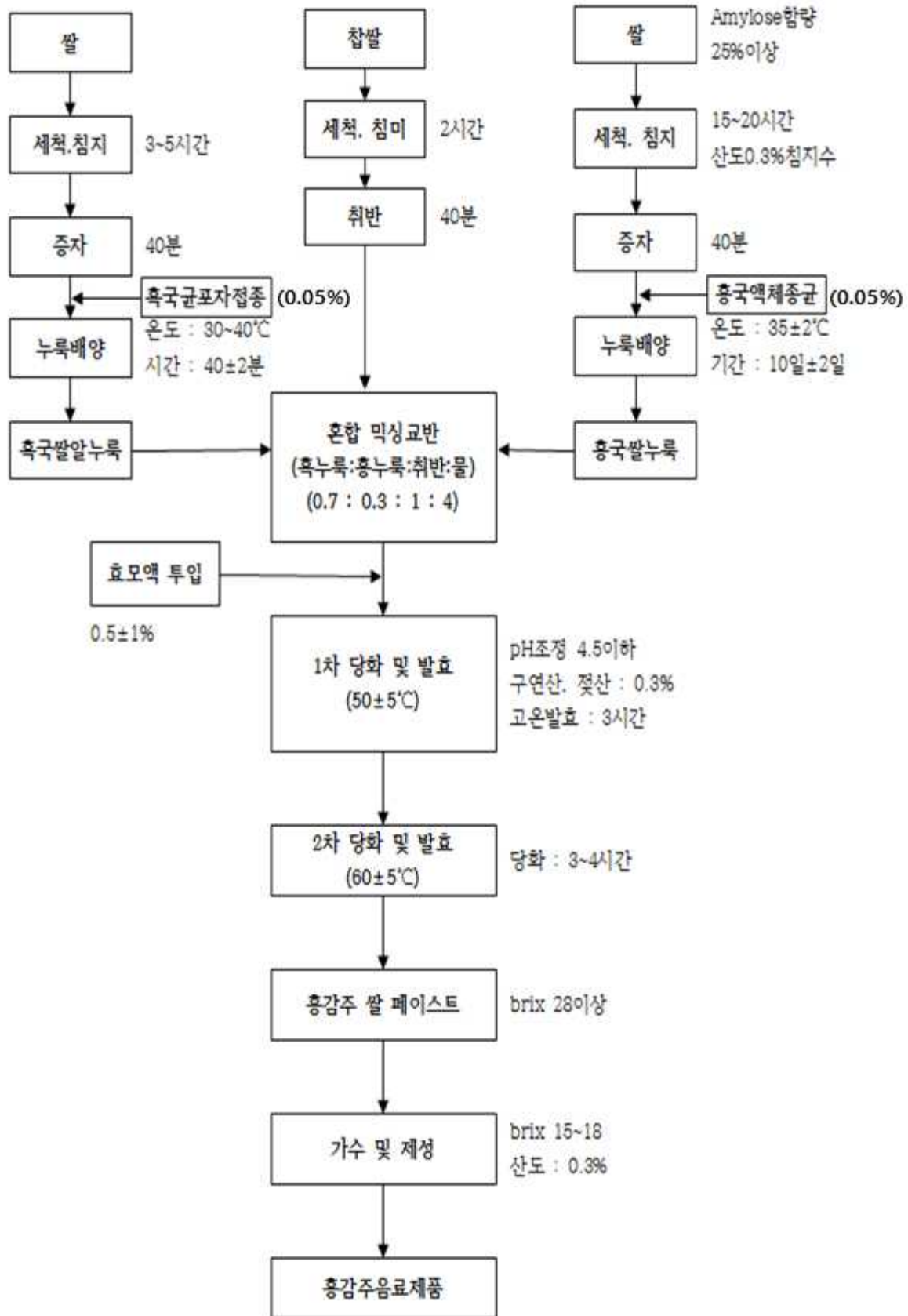


그림 2-13. 홍감주 쌀발효액 대표공정도

## 5. 다양한 제국의 최적 제조 조건 확립

### 1) 황국 제조 최적 조건 설정

- 황국 Koji 제국시간이 증가함에 따라 pH가 낮아졌으며, 산도와 아미노산도는 점차 증가하다 감소하는 경향을 보였다.
- 38시간 이후로 일반성분의 변화가 적어지는 경향을 보임. 따라서 제국시간은 38시간 전후로 설정하였다.
- 황국균 입국 제조기간 중 적정출국시간을 설정하여 제조하고자 입국배양시간별 품질특성을 분석한 결과는 표 27과 같다.
- pH는 입국제국시간이 경과함에 따라 34시간까지는 pH 4.87로 낮아지다가 그 이후에는 다시 증가하다 제국 42시간에는 pH 5.41을 나타내었다.
- 적정산도와 아미노산도도 pH가 변화함에 따라 34시간까지 증가하다 배양38시간이후에는 약간 감소하는 추세를 보였다.
- 당화력은 배양42시간 54sp로 입국품질로서는 효소력이 40sp이상이면 당화하는데 충분한 역할을 지니므로 쌀입국의 효소력은 충분한 것으로 판단되었다.

표 2-30. 제국시간에 따른 황국 Koji의 품질특성

제국시간	pH	산도 (0.1N-NaOH mL/10ml)	아미노산도 (0.1N-NaOH mL/10ml)	Brix°	당화력 (SP)
30	4.83	0.8	0.6	5.3	-
34	4.87	1.1	1.3	7.1	-
38	5.09	1.0	1.3	7.2	45
42	5.41	0.9	1.0	6.9	54



## 2) 흑국의 최적 배양 시간

- 흑국 Koji는 제국시간이 증가함에 따라 pH가 낮아졌으며, 산도와 아미노산도는 점차 증가하는 경향을 보였다.
- 38시간 이후로 일반성분의 변화가 적어지는 경향을 보임. 따라서 제국시간은 38시간 전후로 설정하였다.
- 흑국균입국의 배양시간별 품질특성을 분석한 결과는 표28과 같다.
- 제국 30시간부터는 균사의 활착이 증미에 60%이상 이루어진 상태이기 때문에 pH는 2.91로 낮아져서 이에 비례해 적정산도 6.0이였고, 아미노산도는 0.5를 나타내었다.
- 배양기간이 지나감에 따라 pH는 낮아지고 산도와 아미노산도도 높아졌으며 당화에 의한 입국의 당도도 증가하였다.
- 배양 38시간에서는 당화력이 51SP를 나타내었으며 출국전 배양 42시간에서는 58SP의 당화력을 보였다.
- 그러나 42시간부터는 흑국특성상 포자가 10~15% 증미에 형성되므로 이로 인한 감주의 색상저하가 우려되므로 흑국균입국은 배양 40시간정도에서 흑색포자가 발생하기 전에 출국이 적절한 것으로 판단된다.

표 2-31. 제국시간에 따른 흑국 균입국의 품질특성

제국시간	pH	산도 (0.1N-NaOH mL/10ml)	아미노산도 (0.1N-NaOH mL/10ml)	Brix°	당화력 (SP)
30	2.91	6.0	0.5	3.1	-
34	2.83	7.3	0.9	3.8	-
38	2.74	11.0	1.4	3.9	53
42	2.8	11.6	1.5	4.5	58

## 6. 다양한 감주별 화학성분분석결과

### 1) 쌀감주별 당도 측정

- 제품화를 위하여 제조된 감주의 당도를 분석한 결과는 표 2-32와 같다. 당도는 23.9~26.1범위였으며 황국감주가 23.9 brix°, 흑국감주가 24.7 brix° 그리고 홍국감주가 26.1brix° 순으로 높았다.
- 이는 각 균주별 특성에 의한 당도로서 제품화시 소비자의 기호도에 따라 당도를 낮출 필요가 있으며 기호성을 증진시키기 위하여 다른 감미료나 부재료를 사용할 경우 각감주의 특성에 맞게 당/산비율을 가감할 필요가 있는 것으로 생각되어진다.

표 2-32. 쌀감주별 당도 (brix° )

	황국감주	홍국감주	흑국감주
Brix°	23.9±0.2	26.1±0.2	24.7±0.2

### 2) 쌀감주별 유기산 측정

- 감주별 유기산조성을 분석한 결과는 표 2-33과 같다. 각 감주별 유기산 흑국감주가 전체 유기산중 Lactic+Succinic acid가 약 73%로 홍국감주가 약 62% 황국감주는 약 60%정도 비율로 높았다.
- 그 다음 순으로 Malic acid가 약 10%내외 함유되었으나 홍국감주는 특이하게 acetic acid가 약 25%를 차지하였다. 그 외 citric acid가 3~9%를 차지하였다. 그밖에 oxalic acid도 미량 함유되어 있었다.

표 2-33. 쌀감주별 유기산

(µg/ml)

Acid	황국감주	홍국감주	흑국감주
Oxalic acid	4.52±0.25	4.12±0.09	9.04±0.40
Citric acid	114.79±2.51	175.17±0.52	920.92±10.81
Malic acid	339.07±12.79	435.52±15.80	699.85±27.71
Lactic acid + succinic acid	720.72±4.27	2902.2±22.44	4345.41±146.70
Acetic acid	29.49±10.84	1196.26±51.40	319.31±33.34
Total	1207	4712	5973

### 3) 쌀감주별 유리아미노산 측정

표 2-34. 쌀감주별 유리 아미노산 측정

(mg/ml)

Amino acid	황국감주	홍국감주	흑국감주
Aspartic acid	0.7±0.04	0.65±0.02	0.57±0.02
Threonine	0.25±0.00	0.25±0.03	0.21±0.00
Serine	0.31±0.00	0.44±0.01	0.38±0.01
Asparagine	0.02±0.00	0.03±0.00	0.19±0.00
Glutamic acid	0.87±0.06	0.71±0.02	0.55±0.02
Proline	0.07±0.00	0.04±0.00	0.07±0.00
Glycine	0.21±0.01	0.20±0.00	0.20±0.00
Alanine	0.33±0.02	0.36±0.02	0.36±0.00
Valine	0.21±0.01	0.27±0.00	0.26±0.02
Methionine	0.11±0.02	0.13±0.01	0.16±0.00
Isoleucine	0.33±0.04	0.43±0.04	0.42±0.01
Leucine	0.54±0.04	0.58±0.02	0.86±0.03
Tyrosine	0.31±0.01	0.40±0.00	0.46±0.01
Phenylalanine	0.37±0.04	0.36±0.02	0.61±0.01
$\beta$ -Alanine	-	-	0.13±0.01
$\beta$ -Aminoisobutyric acid	-	-	1.83±0.01
$\gamma$ -Aminobutyric acid	0.82±0.06	0.62±0.09	1.06±0.02
Histidine	0.10±0.00	0.10±0.00	0.13±0.01
Ornithine	0.35±0.02	0.03±0.00	-
Lysine	0.72±0.02	0.66±0.02	0.95±0.05
Ammonia	0.30±0.00	0.18±0.00	0.24±0.00
Arginine	-	0.80±0.01	1.39±0.02
<b>Total</b>	<b>6.98±0.24</b>	<b>7.30±0.28</b>	<b>11.07±0.11</b>

# # 붙임 자료: Amino acid chromatogram

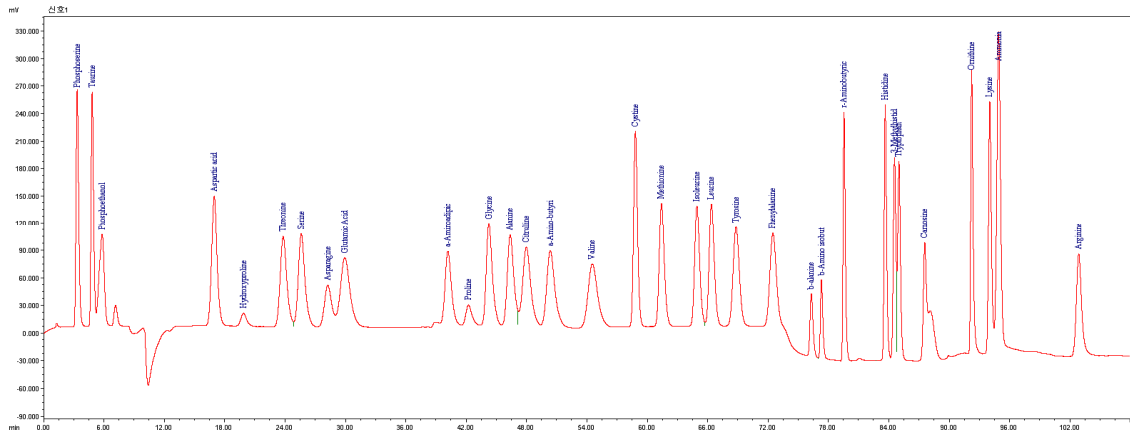


그림 2-14. STD mixture

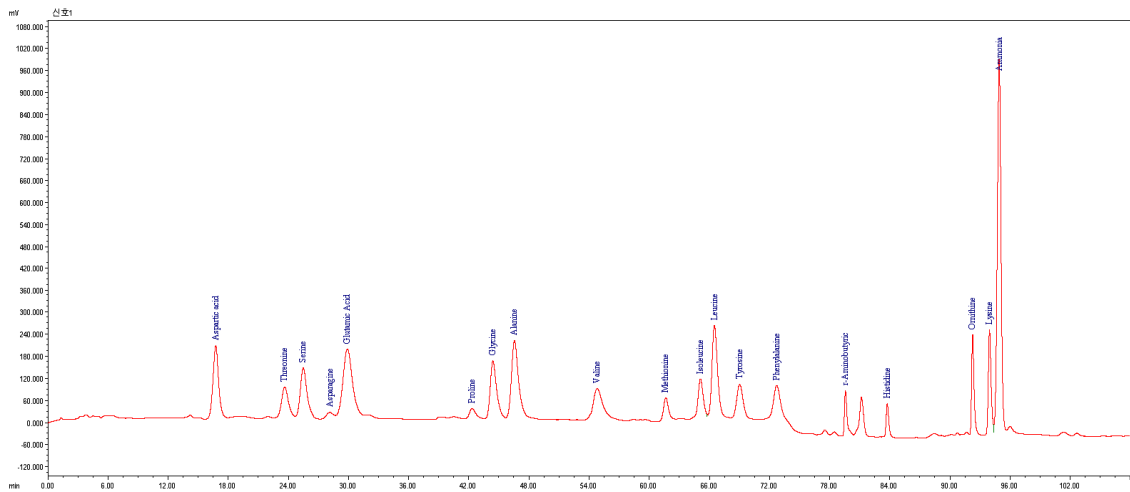


그림 2-15. 황국감주-1

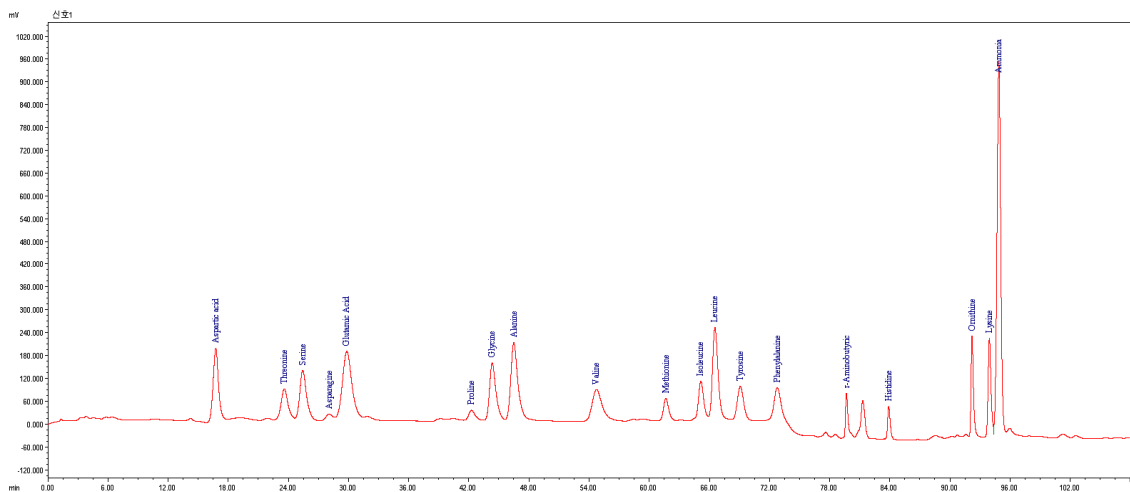


그림 2-16. 황국감주-2

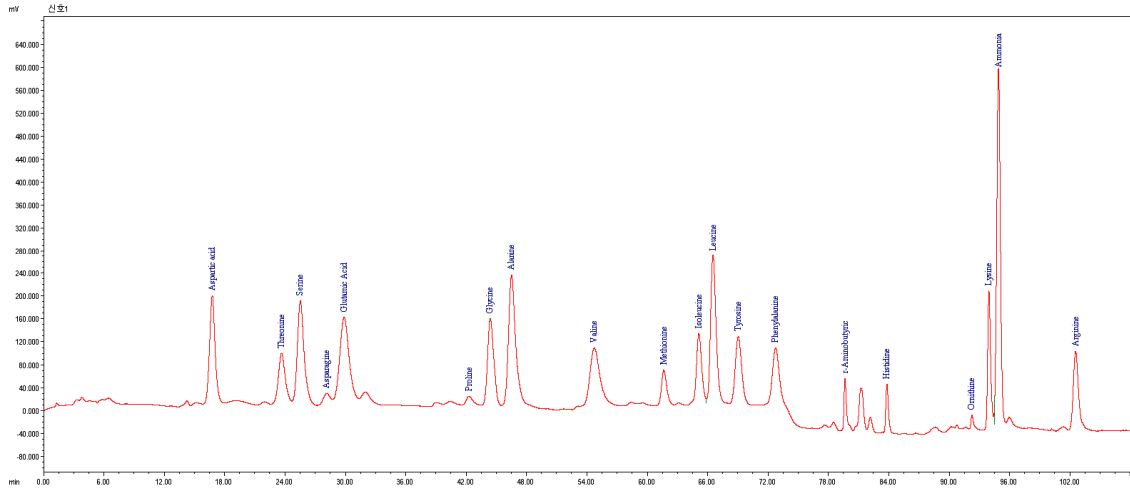


그림 2-17. 홍국감주-1

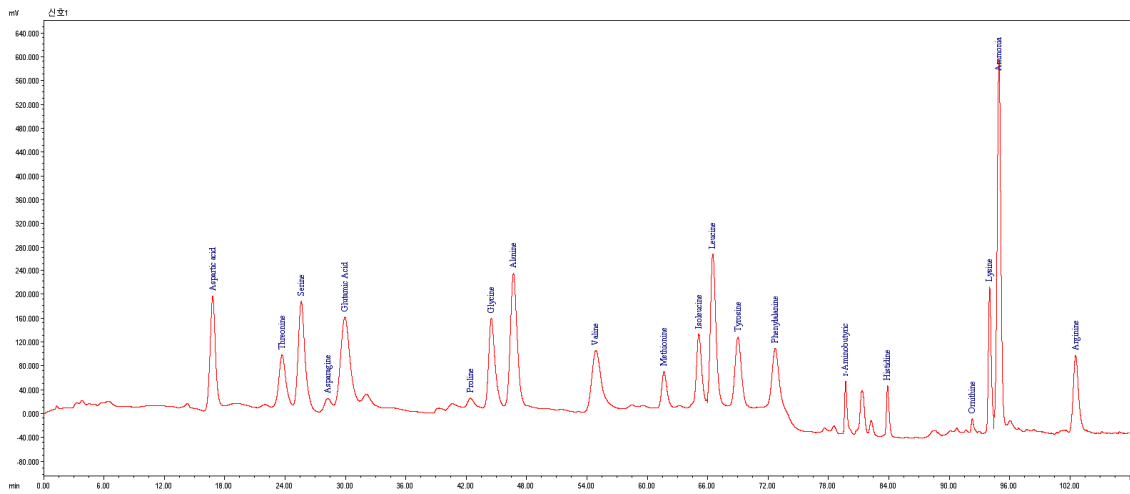


그림 2-18. 홍국감주-2

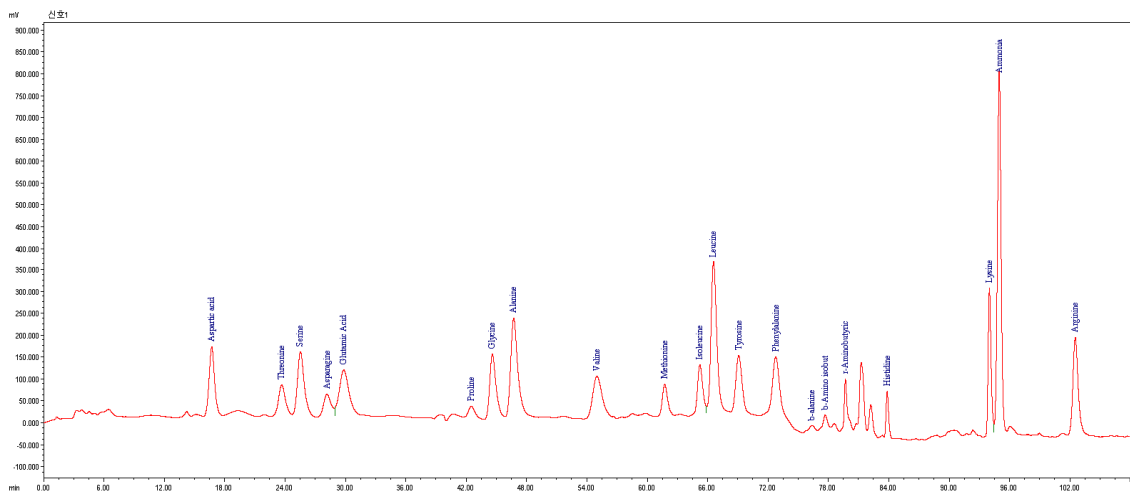


그림 2-19. 흑국감주-1

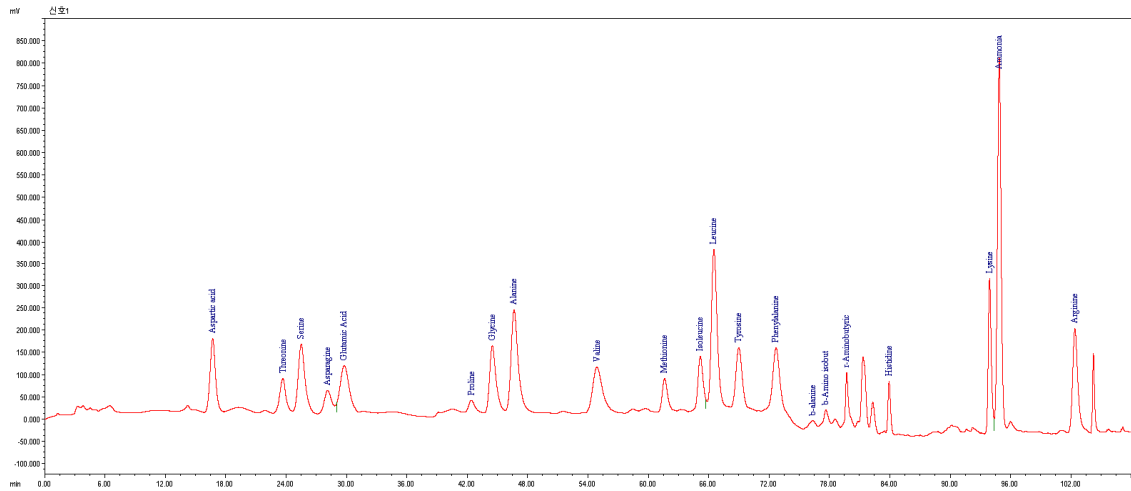


그림 2-20. 흑국감주-2

#### 4) 쌀감주별 향기성분 분석

- 황국쌀감주 향기성분 분석 결과는 표 2-35 및 그림 2-21, 2-22에 나타내었다.
- 여러 가지 향기성분들 중 바나나, 서양배 향기를 내는 Isoamyl alcohol, 식초 냄새의 Acetic acid, 납두, 곡류발효물의 향을 내는 Tetramethyl pyrazine, 복숭아 또는 살구향을 내는 Benzaldehyde 등이 황국쌀감주의 주요 향기성분인 것으로 나타났다.

표 2-35. *Aspergillus oryzae* 발효제를 이용한 쌀감주의 향기성분 분석결과

PEAK#	RET TIME	TYPE	AREA	HEIGHT	AREA	비고
1	3.61941	BB	2.6547	0.97225	0.06655	
2	3.93778	BB	3.09425	1.84295	0.07757	
3	4.07408	BB	0.98462	0.54887	0.02468	
4	4.21189	BB	1.1195	0.55066	0.02807	
5	4.35876	BB	11.42496	3.75462	0.02864	
6	4.70741	BB	1.30416	0.71264	0.03269	
7	5.01228	BB	7.80553	3.42097	0.19568	
8	5.27254	BB	2.48851	0.90137	0.06239	
9	6.00784	BV	4.37583	1.70284	0.1097	
10	6.0907	VB	2.83635	1.02748	0.07111	
11	6.66359	BB	2.70927	0.6245	0.06792	
12	6.84387	BB	2611.6687	911.89148	65.47359	Ethyl alcohol
13	7.84875	BB	8.74855	1.66353	0.21932	Me. prop. Ketone
14	9.62866	BB	7.59288	1.87745	0.19035	
15	14.32856	BB	1.87376	0.55677	0.04697	2-Heptanone
16	14.91942	BB	51.08633	12.4624	1.28072	Isoamyl alcohol
17	16.15911	BB	4.49765	1.13108	0.11275	
18	16.75154	BB	5.48957	1.58426	0.13762	
19	19.01518	BB	3.47416	0.79929	0.0871	
20	19.81712	BB	5.22382	1.2967	0.13096	

표 2-35(계속). *Aspergillus oryzae* 발효제를 이용한 쌀감주의 향기성분 분석결과

PEAK#	RET TIME	TYPE	AREA	HEIGHT	AREA	비고
21	21.55234	BB	38.04295	9.37725	0.95372	Hexanol
22	25.07215	BB	8.95821	1.55469	0.22458	2, 3, 5-Trimethyl pyrazine
23	25.67253	BB	3.22483	0.69249	0.08085	
24	26.50091	BB	6.26319	1.61609	0.15702	
25	26.84319	BV	5.57451	1.35305	0.13975	
26	26.9735	VB	517.91241	59.6769	12.98388	Acetic acid
27	28.63719	BB	323.42142	63.36952	8.10806	Tetramethyl pyrazine
28	29.95157	BB	5.54842	1.25627	0.1391	
29	31.78979	BB	14.85835	2.58102	0.37249	Benzaldehyde
30	32.37758	BB	3.71288	0.80837	0.09308	
31	33.18767	BB	18.83592	4.20676	0.47221	Isobutyric acid
32	33.78871	BB	27.8651	3.36143	0.69857	Propylene glycol
33	35.63991	BB	2.56913	0.56369	0.06441	
34	36.56016	BB	8.80513	1.87566	0.22074	Butyric acid
35	37.05912	BB	11.71918	2.49135	0.2938	L-Menthol
36	37.94349	BB	4.52328	0.88684	0.1134	
37	38.68304	BB	73.22257	14.83478	1.83566	Isovaleric acid
38	39.15572	BB	13.51929	3.00955	0.33892	Estragol
39	40.38406	BB	10.75447	1.28995	0.26961	Salicylic aldehyde
40	45.30842	BB	27.7604	5.36395	0.69594	Me. Salicylate
41	45.77945	BB	4.55859	0.98815	0.11428	4-Merhyl valeric acid
42	46.84192	BB	3.53943	0.75042	0.08873	
43	47.97359	BB	27.81516	5.93726	0.69732	
44	49.03445	BB	4.5237	0.88379	0.11341	Hexanoic acid
45	49.56008	BB	9.78504	2.00273	0.24531	
46	49.84855	BB	3.41964	0.70787	0.08573	
47	50.11422	BB	8.34195	1.67253	0.20913	Benzyl alcohol
48	51.82307	BB	9.35418	1.84314	0.23451	Phenyl ethyl alcohol
49	52.02128	BB	2.84721	0.60496	0.07138	
50	53.0471	BB	7.25585	1.52626	0.1819	2-Ethyl hexanoic acid
51	53.32903	BB	3.75358	0.82539	0.0941	Heptanoic acid
52	58.47769	BB	11.70809	2.40981	0.29352	Octanoic acid
53	65.62621	BB	21.29642	4.11308	0.53389	4-Vinyl guaiacol
54	73.46985	BB	3.14543	0.70255	0.07885	

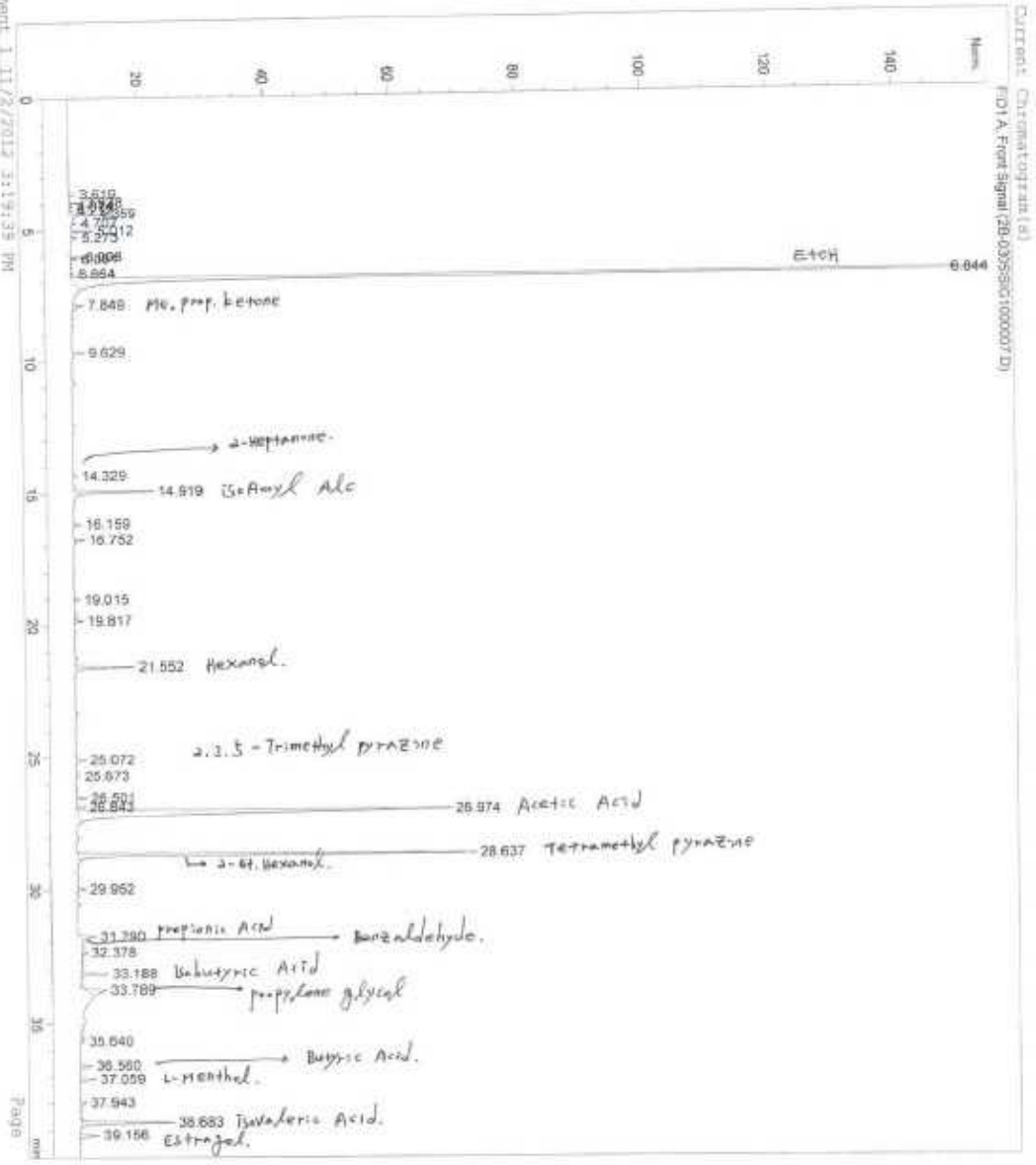


그림 2-21. 발효제를 이용한 잠곡발효물의 향기성분 분석결과



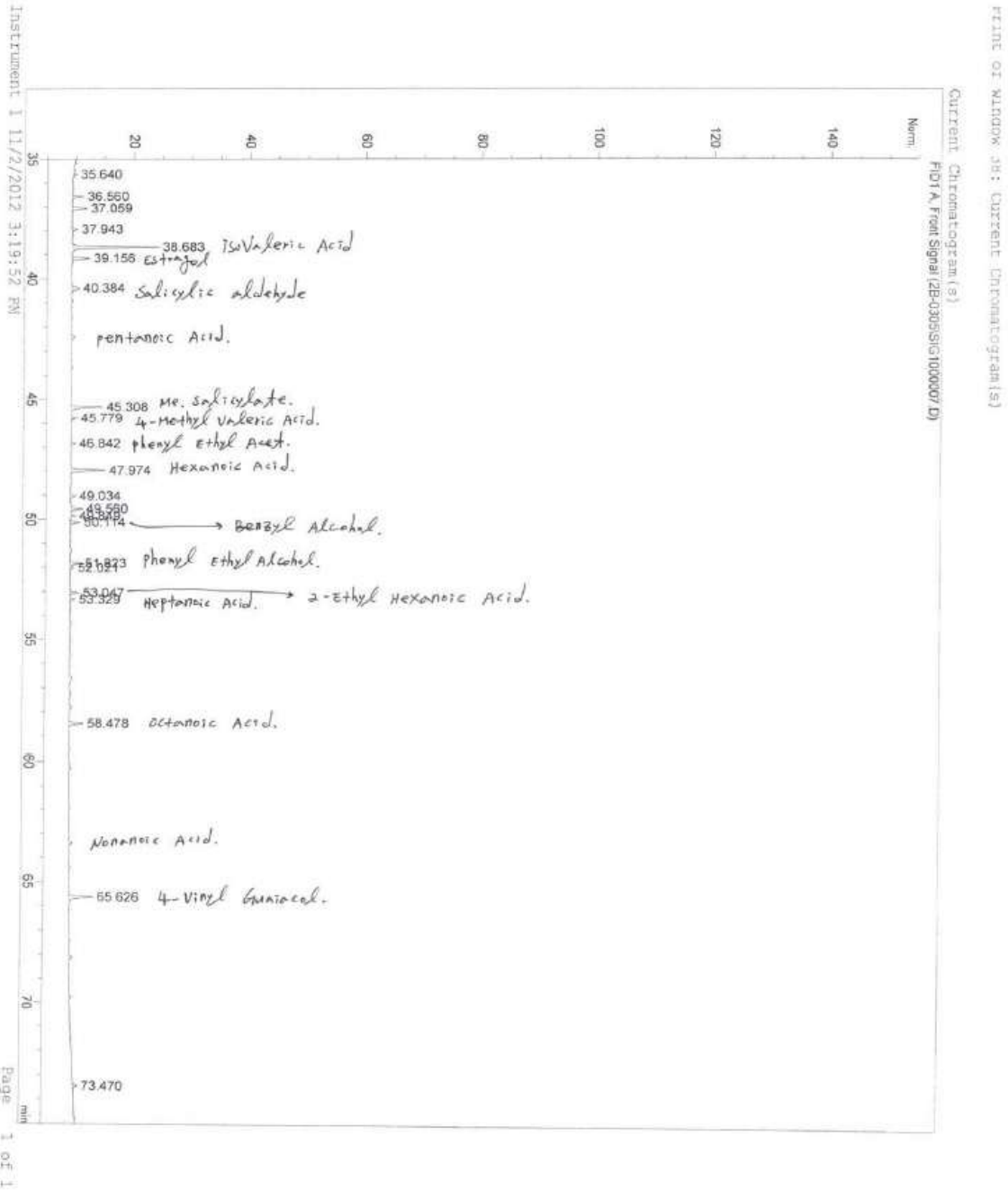


그림 2-22. 발효제를 이용한 잡곡발효물의 향기성분 분석결과

### 5) 감주조청의 유리아미노산 분석

- 감주별 유리아미노산 분석은 표 2-36과 같다. 감주별 총 유리아미노산 함량은 흑국감주가 11.07mg/ml로 가장 높았으며, 그다음으로 홍국감주가 7.30mg/ml, 황국감주는 6.98mg/ml 순으로 많았다.
- 아미노산도도 그자신으로는 뚜렷한 맛을 갖고 있지는 않지만 함께 존재함으로써 다른 물질의 맛을 변화시키거나 강화시키는 성질을 갖고 있다.
- 식품 중에 쓴맛을 내는 아르기닌(Arginine)의 함량은 황국감주에는 분석되지 않았으나 흑국감주가 1.39mg/ml로 가장 높았고 홍국감주에서도 0.8mg/ml로 보였다. 체내에서 합

성되지 않는 필수아미노산인 루신(Leucine), 이소루신(Isoleucine), 발린(Valine) 및 트레오닌(Threonine)함량은 각각 0.86~0.54mg/ml 0.43~0.33mg/ml 0.27~0.21mg/ml를 범위로 함유되어있었다.

- 식품에 단맛을 내는 알라닌(Alanine), 라이신(Lysine), 세린(Serine)은 각각 0.36 - 0.33mg/ml, 0.44 - 0.31mg/ml, 0.95 - 0.72mg/ml의 범위를 보였으며 특히 흑국감주에서 많았다.
- 또한 인체의 생활습관병 예방기능과 고혈압, 항산화 및 기억력증진에 도움이 되는 GABA 성분인 r-Amino butyric acid는 흑국감주에서 1.06mg/ml로 가장 높았고 그다음이 황국감주로 0.82mg/ml, 홍국감주는 0.62mg/ml 순으로 많이 함유되어 있었다. 또한 흑국감주도 타 감주에 비하여 유리아미노산이 약 1.5배가량 많이 함유되어 영양적 측면에서도 우수함을 보였다.

표 2-36. 감주조청의 유리아미노산 분석

(단위 : mg/g)

Amino acid	참쌀조청	참쌀홍국조청	보리조청	팽화미조청
Aspartic acid	0.7	1.0	1.6	0.9
Threonine	0.6	1.0	1.0	0.7
Serine	0.8	1.1	1.6	1.0
Asparagine	0.2	0.3	0.2	0.2
Glutamic acid	1.3	1.8	3.0	1.8
Proline	0.1	0.2	0.2	0.1
Glycine	0.4	0.5	0.8	0.5
Alanine	0.8	1.0	1.3	0.9
Valine	0.6	0.8	0.9	0.6
Methionine	0.3	0.4	0.5	0.3
Isoleucine	1.0	1.2	1.5	1.0
Leucine	1.3	1.7	2.1	1.3
Tyrosine	0.8	0.9	1.4	0.2
Phenylalanine	0.9	1.1	1.4	0.9
$\gamma$ -Aminobutyric acid	3.1	3.9	2.8	3.0
Histidine	0.2	0.4	0.3	0.2
Lysine	1.4	1.9	2.1	1.4
Ammonia	0.3	0.4	0.5	0.3
Arginine	0.6	0.4	2.6	0.9
<b>Total</b>	<b>15.6</b>	<b>19.6</b>	<b>25.8</b>	<b>16.1</b>

## 7. 금후 가공공정별 문제점 검토 및 보완

표 2-37. 대량생산공정으로서 Scaleap에서 나타나는 예상 문제점 검토 및 보완

공정	문제점	원인	보완사항
제국공정	○ 홍국액체 균사체 접종시 오염에 의한 이취 및 색소발 현지연	○ 개방식 수작업에 의한 오염 ○ 균사체를 분쇄 혼용시 오염	○ Pilot 배양기 내에서 분쇄 기능 및 공기압축 분사 기능 추가
증자공정	○ 수입산사용시 미질특성상 알파화도가 낮음	○ 인디카 쌀의 특성규명 미흡 (전분특성, 수침법등)	○ 수침수의 pH조정 쇠미형 수침법
당화공정	○ 고농도 사입시초기 교반기의 부하로 당화시간지연 ○ 당화후 1차살균지연에 의한 유산발효방지 기술 개선	○ 액화 지연으로 인한 저항 증가 ○ 하절기는 55℃이하로 될 경우 유산균발효로 산미증가	○ 균처리 $\alpha$ -Amylase 처리 방법 구명 ○ 직각 수침식온도상승방법 개선으로 살균시간단축
조미, 제성공정	○ 감미료첨가에의한 기호도 저하 ○ HMR화 기술 미흡	○ 무첨가 트렌드 반영 ○ S.D공법부재	○ 효소처리에 의한 감미 상승법 강구 ○ 분말 감취법 인스턴트
상균	○ 레토르트 살균시 갈변현상 발생	○ 고온장시간살균에 의한 갈 변화	○ 초고온 단시간 살균(UHT) 공정도입
제품화	○ 외식 산업체 소재기술 부재 ○ 감주 HMR화 시료	○ 기본 기자재 포장보다 SD 분말의 외주필요	○ 4배 농축형 감주의 HMR화

## 8. 다양한 감주별 관능평가

### 1) 감주종류별 당화액의 관능평가

- 감주당화액을 당도를 20brix° 로 맞추어서 사직원 및 연구원을 대상으로 제품개발 취지를 설명하고 5점기호 식별법으로 관능검사를 실시한 결과는 표 2-38과 같다.
- 색(color)의 선호도에 대해서는 황국감주가 홍국특유의 진선흥색으로 선호도가 4.72로 제일 좋았으며 흑국감주나 황국감주도 이보다 낮은 각각 3.65, 3.41의 수치를 나타내었다.
- 맛(taste)선호도에 있어서는 흑국감주가 4.54로 제일 높았으며 그다음이 홍국감주> 황국감주 순이었다. 흑국감주가 맛의 선호도가 좋았던 것은 흑국균에서 분비하는 호박산과 구연산 등의 영향으로 당/산의 비가 잘 맞은데 기인된 것으로 생각된다.
- 향(flavor)선호도는 보통의 수준으로 3.21~3.72 수치이므로 3종류 비슷한 범위였다. 이는 아직 옛기름에 익숙한 향 때문인지 입국향 특유의 밤 삶은 냄새에는 그다지 선호도는 아니었다.
- 한편 전반적인 기호도는(overall) 흑국감주가 4.02로 좋음 수준이었으며 그다음이 홍국감주로 3.92 그리고 황국감주도 3.74로 보통이상의 선호도를 보였다.
- 이상의 결과로 상품화 시 과일류나 허브류 등 향미가 있는 과채류나 당/산비를 각 감주의 특성에 맞게 혼용하여 제품화한다면 상품성이 있을 것으로 전망된다.

표 2-38. 감주종류별 당화액의 관능평가

Sample	황국감주	홍국감주	흑국감주
색(color)	3.41	4.72	3.65
맛(taste)	4.12	4.20	4.54
향(flavor)	3.60	3.21	3.72
기호도(overall)	3.85	3.58	4.20
<b>평균</b>	<b>3.14</b>	<b>3.92</b>	<b>4.02</b>

5점만점채점법(매우좋음:5, 좋음:4, 보통:3, 약간나쁨:2, 나쁨:1)

### 2) 감주응용제품의 관능평가

- 감주를 이용한 5점기호식별법에 의해 응용제품 8가지를 평가한 결과로 표 2-39와 같다.
- 색(color)의 선호도에서는 안토시아닌계열의 과채류를 혼용한 감주를 선호하는 경향으로 딸기>토마토>블루베리>망고>유자 순으로 높게 평가했다.
- 맛(taste)의 선호도는 당/산 비가 잘 맞은 딸기>망고>유자>블루베리>파인애플 순위로 평가되었다.
- 향(flavor)의 선호도는 유자>망고>바나나>딸기 등의 순위였으며 전반적인 기호도는 딸기>망고>유자>파인애플 순위였다.
- 또한 평균값을 보면 제일 관능이 좋은 감주가 딸기로 5점만점에 4.52의 선호도였으며 그다음이 망고, 유자, 바나나 순으로 평가되었다.

- 특히 수삼을 가미한 감주는 호불호가 있어서 중, 장년층이 선호하였으나 젊은 세대는 그다지 익숙하지 못하여 과일감주에 비해 상대적으로 낮게 평가되었다.
- 이상의 결과를 상품화시 우선 소비자 계층별 선호도를 분석하여 장년 이상은 우선 건강을 생각하는 경향으로 기능성이 있는 첨가물 즉 인삼, 당근 및 토마토 등을 가미한 감주 제품을 선호하였다.
- 젊은층도 색상과 향미가 좋은 열대과일이나 국내산과일류를 혼용한 과일 감주가 좋은 것으로 판단되며 특히 딸기첨가 감주는 계층을 떠나 두루 좋은 평가를 받았다.

표 2-39. 과채류첨가에 의한 감주 시제품 관능평가

Sample	1 파인 애플	2 유자	3 딸기	4 망고	5 토마토	6 바나나	7 블루 베리	8 인삼
색 (color)	3.70	3.75	4.75	4.25	4.54	5.21	4.35	3.25
맛 (taste)	4.12	4.24	4.55	4.40	3.84	4.13	4.24	3.70
향 (flavor)	3.75	4.36	4.12	4.24	3.62	4.12	3.85	3.62
기호도 (overall)	4.12	4.45	4.65	4.53	3.81	3.64	3.88	3.75
<b>평균</b>	<b>3.92</b>	<b>4.22</b>	<b>4.52</b>	<b>4.35</b>	<b>4.20</b>	<b>3.95</b>	<b>4.08</b>	<b>3.58</b>

황색계열감주는 흑국감주베이스

자색계열감주는 홍국감주베이스

5점기호식별법 5:아주좋음 4:좋음 3:보통 2:약간나쁨 1:나쁨



그림 2-23. 감주응용시제품 - 과일감주푸딩



그림 2-24. 다양한 감주응용시제품

### 3) 감주응용제품별 색차 특성 분석

- 감주제품별 색차 특성을 분석한 결과는 표 2-40과 같다.
- 조미전 감주 당화액의 색상은 흑국감주 및 황국감주액의 밝기(Lightness) 각각 74.97, 75.61로 비슷하였으나, 홍국 당화액은 홍국색소가 영향을 미쳐서 밝기가 35.40으로 황국 및 흑국 당화액에 비해 약 2배정도 어두웠다.
- 반면 적색도(Redness)는 진선흥색의 영향으로 적색도가 23.35정도가 되어 선흥색의 색상이었다.
- 대조구로 일본고유의 아마자케와 비교시 흑국감주나 황국감주는 비슷한 밝기(Lightness)의 값을 나타냈으나 a값(Redness)은 황국감주는 비슷하였지만 흑국감주는 2배정도 적색도가 높았다.
- b값은(Yellowness) 일본 아마자케가 황국감주보다 황색이 약간 높았으며 흑국 감주에 비해서는 1.8배 정도 더 노란색을 띄었다.
- 한편 조리용 및 조청 대응으로 사용한 감주조청은 a값(Redness)가 3.85로 약간의 적색도를 Y값(Yellowness)은 4.76으로 노란색을 띤 붉은색상의 농후한 갈색의 색상을 보였다.
- 또한 과일첨가 과일은 과일의 색상에 영향을 받아, 적자색과 띤 색상감주와 진노란색을 띤 감주의 색상값을 보였다.
- 이상의 결과로 보아 쌀감주의 3가지 기본감주는 천연 첨가물에 따라 첨가물이 나타내는 기본색상을 방해하지 않고 잘 살려주는 칼라적 특징이 있다는 알 수 있었다.

표 2-40. 감주제품별 색차 특성분석

시료	색차			ΔE
	L값 (Lightness)	a값 (Redness)	b값 (Yellowness)	
흑국감주	74.97	0.36	9.44	25.80
황국감주	75.61	0.20	14.33	27.48
홍국감주	35.40	23.35	10.37	68.46
블루베리감주	53.41	14.73	5.45	48.12
바나나감주	71.35	3.63	32.33	42.88
토마토감주	39.49	26.03	14.88	66.69
딸기감주	38.07	25.49	11.48	66.97
망고감주	68.16	6.70	45.56	55.63
일본감주(대조구)	75.51	0.18	16.63	29.68
감주조청	25.56	3.85	4.76	71.55

mean(n=3)

L : Lightness(100=white 0=black)

a : Redness (-60=green +60=Redd)

b : Yellowness (-60=blue +60=Yellow)

9. 다양한 감주 제품화

1) 감주제품화를 위한 품목별 배합비조성표(%)

표 2-41. 감주제품화를 위한 품목별 배합비조성표(%)

구분	황국	홍국	흑국	바나나	블루 베리	망고	딸기	토마토	유자	파인 애플	인삼
황국	70	0	0	50	20	50	30	20	50	50	60
흑국	0	0	70	10	40	10	30	20	20	10	0
홍국	0	70	0	0	2	0.5	1	20	0	0	0
농축액	0	0	0	3	2	2	3	5	3	2	0.1
Vit-C	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Citric Acid	0	0	0	0	0.02	0.02	0.03	0.04	0.00	0.02	0.02
Sucrallose	0	0	0	0.0014	0.0015	0.0025	0.001	0.0017	0.0014	0.0015	0.001
Beta- Carotein	0	0	0	0.006	0.009	0.012	0	0	0.006	0.009	0
합성향료	0	0	0	0.2	0.2	0.27	0.2	0.26	0	0.2	0.05
정제수	30.0	30.0	30.0	36.8	35.8	37.2	35.8	34.7	27.0	37.8	39.8



2) 제조공정도

제 조 공 정 도					
제 품 명	쌀감주 발효 음료			제정일	2019.01.11
업 체 명	한산에프엔지	내용량	340 ml	작성일	2019.01.11
공 정	작 업 방 법			조 건	
원료 검수	정제수:R/O 용수 (pH 6.5±0.5), 원재료 검사(당도, pH), 첨가물 등			배합원료 계량	
배 합	①본 배합탱크에 아마자케 발효 원액을 투입한다.			<b>황국, 홍국, 흑국, 유자농축액, 파인애플농축액, 딸가농축액, 토마토페이스트, 바나나퓨레, 인삼농축액, 블루베리농축액.</b>	
	②첨가물용해탱크에 정제수를 소량 이송하고 농축과즙을 투입한다. 용해 후 본 탱크로 이송				
	③첨가물 용해 탱크에 정제수와 비타민 C, 구연산, 수크랄로스, 베타카로틴 등을 투입하여 용해하고 본 탱크로 이송한다.				
	④ 본 배합탱크에 잔량의 정제수 투입 하여 배합을 완료한다.			-	
	⑤ 1 차 규격 검사 후 보정			당도, pH, 산도	
	⑥ 향 투입 후 (20 분 이상 교반)				
검 사	배합액 규격/관능 검사			당도, pH, 산도	
여 과	40 mesh Cartridge Filter				
균 질	고압균질기 100bar				
예 열	예열온도 50℃ 이상				
탈 기	40cmHg				
살 균	H.T.S.T 98℃±2(holding 30 초)				
여 과	40 mesh line filter				
충 전	① 90℃ 이상 (Start 88℃ 이상), 340 ml (용량 검사)				
	②완제품검사 (Brix, 산도, pH )				
Capping	Torque : 6~18Lbs			병구세척, 스팀분사	
Cap 살균	40 초 이상 유지			28mm	
용기 날인	(ex) : 0000.00.00, 시간(00:00)			유통기한 date coding	
검 병	외관, 날인, 내용량, 이물, Capping, 라벨 상태 등 확인				
냉 각	냉각온도 35-45℃유지				
포 장	340ml : 20 입 Box				
포장 날인	유통기한. 시간				
적 재	자동 Palletizer				

그림 2-26. 제조공정도

3) 쌀감주음료 배합례시표

- 황국감주

황 국 감 주	
원재료명	%
황국 감주	70.000
Vit C	0.020
정제수	29.980
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 홍국감주

홍 국 감 주	
원재료명	%
황국 감주	70.000
Vit C	0.020
무수구연산	0.020
수크랄로스	0.009
정제수	29.951
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 흑국감주

흑 국 감 주	
원재료명	%
황국 감주	70.000
Vit C	0.020
수크랄로스	0.005
정제수	29.975
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

4) 채소감주음료 배합례시표

- 딸기감주

딸 기 감 주	
원재료명	%
흑국	40.000
홍국	20.000
딸기농축액	0.200
비타민C	0.020
구연산	0.120
수크랄로스	0.009
딸기향 GB-18863	0.080
딸기향 S050805	0.014
정제수	39.557
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 토마토감주

토 마 토 감 주	
원재료명	%
황국	20.000
홍국	40.000
토마토페이스트	5.000
비타민C	0.020
수크랄로스	0.010
토마토향 JS-20391	0.200
정제수	34.770
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

5) 과일감주음료 배합례시표 1

- 망고감주

망 고 감 주	
원재료명	%
황국	50.000
흑국	10.000
망고농축액	0.200
비타민C	0.020
구연산	0.020
수크랄로스	0.012
베타카로틴	0.030
망고향 NR-14246	0.070
망고향 M-13063	0.170
정제수	39.478
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 파인애플감주

파 인 애플 감 주	
원재료명	%
황국	50.000
흑국	10.000
파인애플농축액	0.300
비타민C	0.020
구연산	0.100
수크랄로스	0.008
베타카로틴	0.010
파인애플향 SF-18877	0.200
정제수	39.362
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

6) 과일감주음료 배합례시표 2

- 바나나감주

바 나 나 감 주	
원재료명	%
황국	50.000
흑국	10.000
바나나페이스트	1.600
비타민C	0.020
베타카로틴	0.010
수크랄로스	0.0014
바나나향 TF-33814	0.100
정제수	38.269
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 블루베리감주

블 루 베 리 감 주	
원재료명	%
황국	20.000
흑국	40.000
블루베리농축액	0.240
비타민C	0.020
구연산	0.024
수크랄로스	0.008
포도과피색소	0.010
블루베리향 WR-14573	0.240
정제수	39.458
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

7) 과일 및 허브감주음료 배합례시표

- 유자감주

유 자 감 주	
원재료명	%
황국	50.000
흑국	20.000
유자농축액	0.300
비타민C	0.020
베타카로틴	0.010
수크랄로스	0.0014
유자향 NR-13204	0.100
정제수	29.569
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

- 인삼감주

인 삼 감 주	
원재료명	%
황국	60.000
인삼농축액	0.100
비타민C	0.020
수크랄로스	0.0010
인삼향 WR-17221	0.050
정제수	39.829
<b>합 계</b>	<b>100.000</b>

## 2-2. 협동기관 : 강원대학교 산학협력단

### ○ 약용식물 첨가 감주의 개발 및 기능성 검증

#### 1. 발효제에 따른 감주의 생리활성 및 성분 분석

##### 1) Koji별 감주의 pH 및 당도측정

- Koji별 감주의 pH 측정은 감주 50 ml를 취하여 pH meter (Sartorius, PB-101, Germany)로 3회 반복 측정하였다. 당도는 감주를 10 ml 취하여 12000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 취하여 당도계 (Now tokyo, Japan)로 3회 반복 측정하였다.
- 홍국을 이용한 감주의 pH가 가장 높게 측정되었으며, ° Brix도 29.5로 가장 높게 나타났다. 황국과 흑국은 비슷한 양상을 나타냈다.

표 2-42. Koji별 감주의 pH 및 당도 측정

Koji	pH	° Brix
홍국	5.65±0.01	29.5±0.12
황국	4.48±0.01	22.4±0.03
흑국	4.48±0.01	22.3±0.14

##### 2) Koji별 감주의 DPPH radical 소거 활성

- Koji별 감주의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 실험하였다. 제조된 발효물을 0.15 mM의 DPPH와 혼합 한 후 실온에서 30 분 동안 반응시키고 이 반응액을 UV spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- Koji별 감주의 항산화활성 역시 홍국에서 28.63±1.22%로 가장 높게 나타났으며, 황국은 23.26±0.63%, 흑국은 22.60±0.67%로 가장 낮게 나타났다.

표 2-43. Koji별 감주의 DPPH radical 소거 활성

Koji	DPPH(%)
홍국	28.63±1.22
황국	23.26±0.63
흑국	22.60±0.67

##### 3) Koji별 감주의 Reducing power

- Koji별 감주의 환원력은 Oyaizu (1986)의 방법을 변형하여 실시하였다. 시료 0.1 ml에 0.2 M의 sodium phosphate buffer 0.1 ml (pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide 0.1 ml를 혼합 한 후 50°C 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 0.1ml를 첨가하여 동량의 증류수와 0.1% ferric chloride 0.05ml를 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- 홍국에서  $0.345 \pm 0.0054$ 로 가장 높은 환원력을 나타냈으며, 황국  $0.146 \pm 0.004$ , 흑국  $0.134 \pm 0.004$ 로 가장 낮은 환원력을 나타냈다. 이는 DPPH와도 유사한 결과로 항산화 활성과 환원력 사이의 상관관계를 뒷받침해주는 것으로 사료한다.

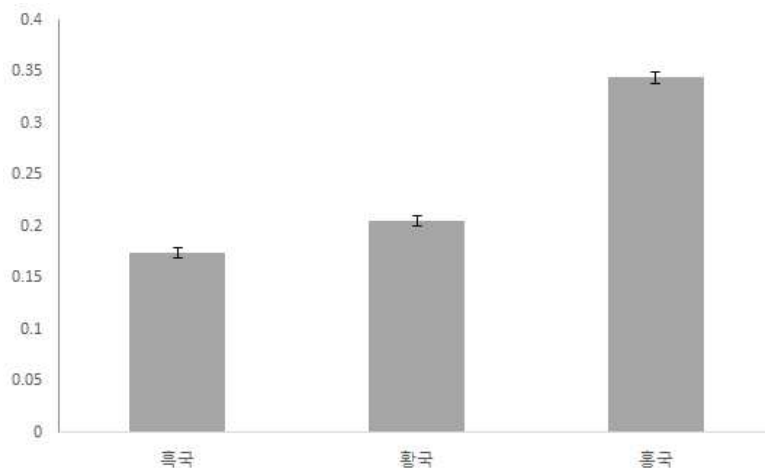


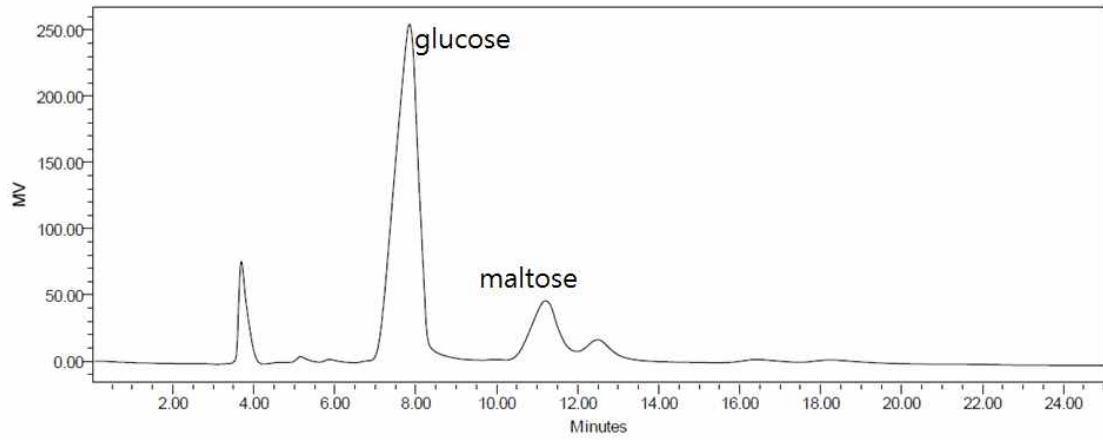
그림 2-27. Koji별 감주의 Reducing power

#### 4) Koji별 감주의 성분분석

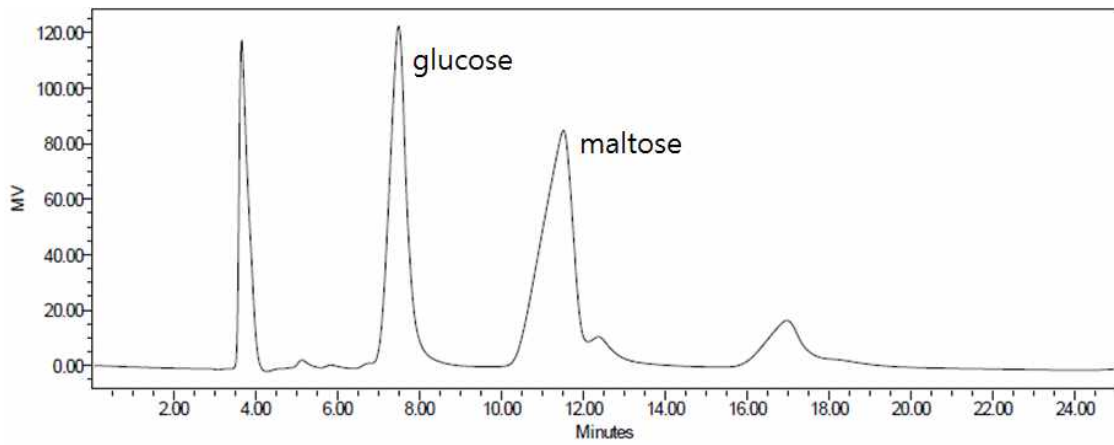
- Koji별 감주의 유리당 성분을 분석하기 위하여 각 감주를 원심부리한 후 상층액을 취하여 HPLC를 이용하여 분석하였다. 모든 시료는 분석 전에  $0.45\mu\text{m}$  membrane filter로 여과하여 시료로 사용하였다. HPLC 분석조건은 다음과 같다.
  - ✓ Column : Zorbax Carbohydrate Analysis, 4.6mm ID  $\times$  150mm ( $5\mu\text{m}$ )
  - ✓ Mobile Phase : 75/25 Acetonitrile/Water
  - ✓ Detector : Waters RI 2414
  - ✓ Flow rate : 1ml/min
- (A) 홍국의 유리당 분석 결과 glucose 함량이 10,356,588(area), 69.62(% area)로 가장 높게 나타났으며, maltose는 2,132,082(area), 14.33(% area)로 나타났다.
- (B) 황국은 glucose 함량이 3,639,917(area), 32.48(% area)로 홍국에 비해서는 함량이 적게 나타났으며, maltose는 4,462,309(area), 39.82(% area)로 가장 높은 함량을 나타냈다.
- (C) 흑국의 경우 glucose 함량이 9,804,347(area), 74.82(% area)로 가장 높게 나타났으며, maltose의 함량은 매우 낮게 나타났다.



(A) 홍국



(B) 황국



(C) 흑국

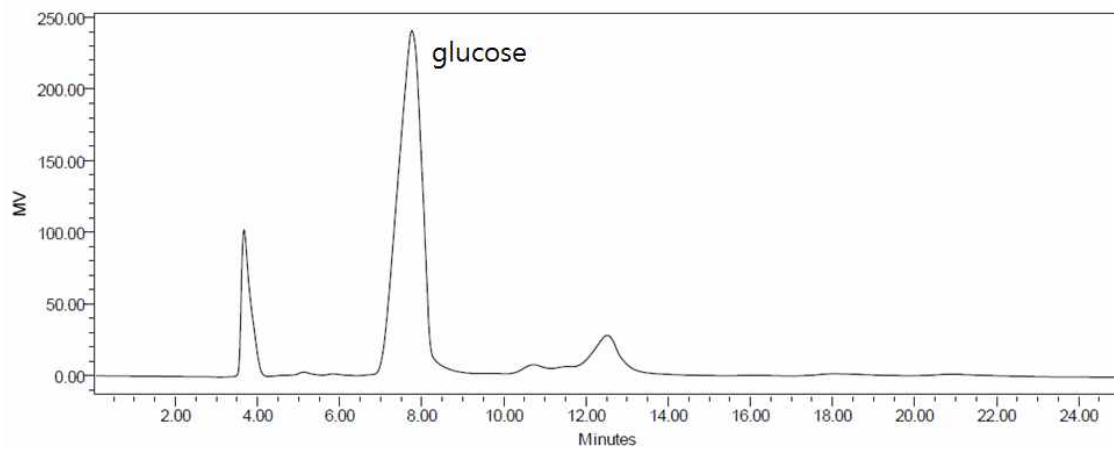


그림 2-28. Koji별 감주의 유리당 분석

6) 다양한 소재로 만든 감주의 pH 및 당도 측정

- 다양한 소재별 감주의 pH 측정은 감주 50 ml를 취하여 pH meter로 3회 반복 측정하였다. 당도는 감주를 10 ml 취하여 12000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 취하여 당도계(Now tokyo, Japan)로 3회 반복 측정하였다.
- 찰현미로 만든 감주의 ° Brix가 36.2±0.2로 가장 높았으며, 쌀유산균 감주가 21.9±0.14로 가장 낮은 당도를 나타냄. 또한 당도가 높을수록 pH도 높아지는 경향을 보였다.

표 2-44. 다양한 소재로 만든 감주의 pH 및 당도 측정

종류	pH	° Brix
찰현미 감주	5.28±0.01	36.2±0.2
갈아먹는 인삼	5.68±0.01	22.9±0.01
쌀유산균	4.04±0.02	21.9±0.14
황국	4.54±0.01	22.4±0.03

7) 다양한 소재로 만든 감주의 DPPH radical 소거 활성

- 다양한 소재별 감주의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 실험하였다. 제조된 발효물을 0.15 mM의 DPPH와 혼합 한 후 실온에서 30분 동안 반응시키고 이 반응액을 UV spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 찰현미 감주가 52.46±2.14%로 가장 높은 활성을 나타냈다. 당도가 높아질수록 항산화 활성도 높아지는 양상을 나타냈으나 쌀유산균으로 만든 감주의 경우 26.38±2.56%로 황국보다 높은 항산화력을 나타냈다.

표 2-45. 다양한 소재로 만든 감주의 DPPH radical 소거 활성

종류	DPPH(%)
찰현미 감주	52.46±2.14
갈아먹는 인삼	33.89±1.89
쌀유산균	26.38±2.56
황국	23.54±2.90

8) 다양한 소재로 만든 감주의 Reducing power

- 다양한 소재별 감주의 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 변형하여 실시하였다. 시료 0.1 ml에 0.2 M의 sodium phosphate buffer 0.1 ml (pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide 0.1 ml를 혼합 한 후 50℃ 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 0.1 ml를 첨가하여 동량의 증류수와 0.1% ferric chloride 0.05 ml를 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- 환원력 분석결과 항산화 활성과 유사하게 나타났다. 찰현미로 만든 감주가  $0.99 \pm 0.024$ 로 다른 감주들에 비해 환원력이 월등히 높았으며, 갈아먹는인삼 감주  $0.293 \pm 0.016$ , 쌀유산균 감주  $0.242 \pm 0.025$ , 황국  $0.211 \pm 0.019$ 로 나타났다.

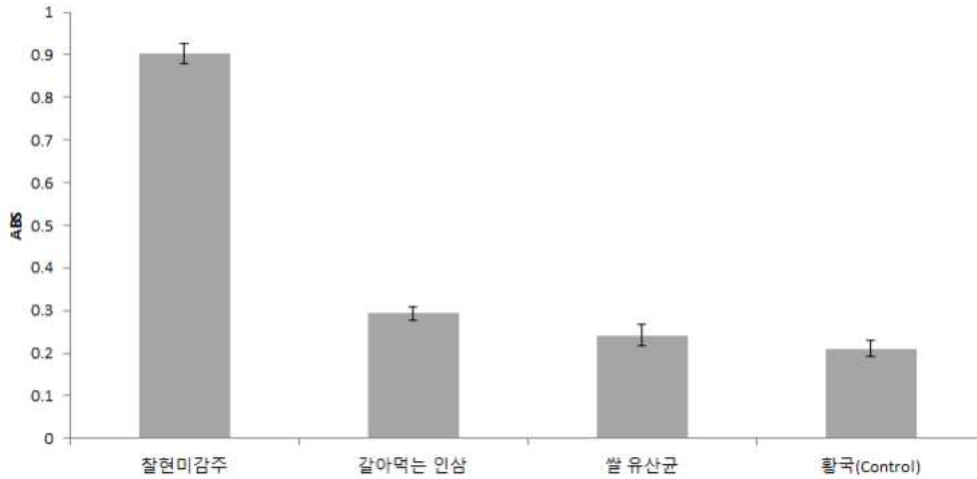
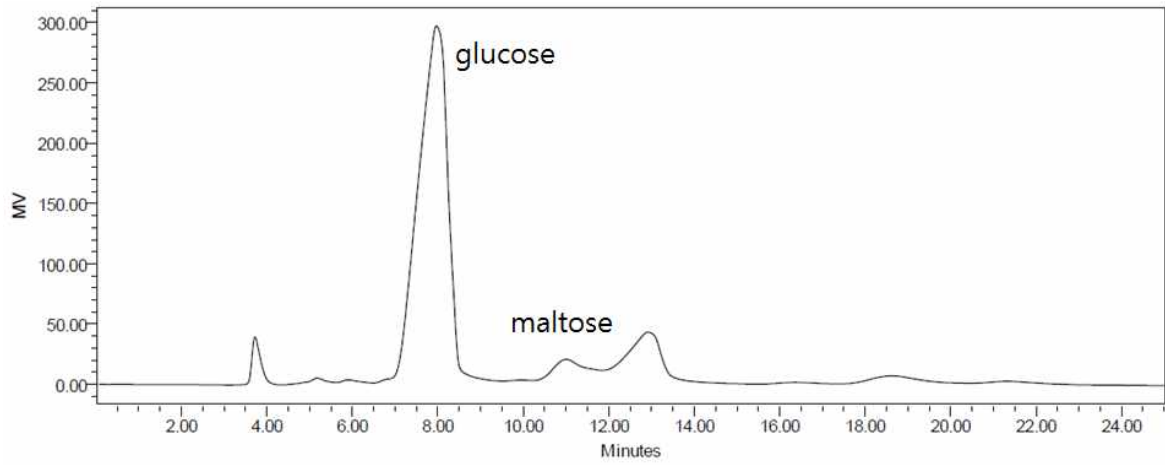


그림 2-29. 다양한 소재로 만든 감주의 Reducing power

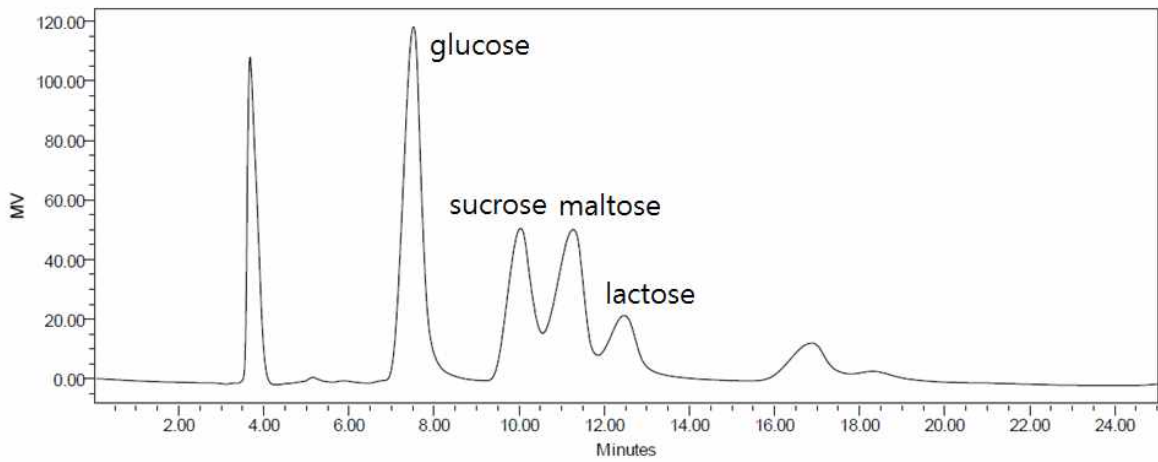
#### 9) 다양한 소재로 만든 감주의 성분분석

- 다양한 소재별 감주의 유리당 성분을 분석하기 위하여 각 감주를 원심부리한 후 상층액을 취하여 HPLC를 이용하여 분석하였다. 모든 시료는 분석 전에  $0.45 \mu\text{m}$  membrane filter로 여과하여 시료로 사용하였다. HPLC 분석조건은 다음과 같다.
  - ✓ Column : Zorbax Carbohydrate Analysis,  $4.6\text{mm ID} \times 150\text{mm}$  ( $5\mu\text{m}$ )
  - ✓ Mobile Phase : 75/25 Acetonitrile/Water
  - ✓ Detector : Waters RI 2414
  - ✓ Flow rate : 1ml/min
- (A)찰현미로 만든 감주의 glucose 함량은 14,114,478(% area), 75.45(% area)로 가장 높게 나타났으며, maltose는 2,320,598(% area), 12.40(% area)로 다양한 감주들 중 가장 높은 유리당 함량을 나타냈다.
- (B) 갈아먹는인삼으로 만든 감주의 경우 glucose, sucrose, maltose, lactose가 골고루 함유되어 있었으며, glucose 3,696,218(% area), 32.57(% area), sucrose 2,012,754(% area), 17.74(% area), maltose 2,330,259(% area), 20.54(% area)로 나타났다.
- (C) 쌀유산균으로 만든 감주는 glucose 7,067,048(% area), 60.75(% area), maltose 1,662,974(% area), 14.30(% area), lactose 1,040,813(% area), 8.95(% area)의 함량을 나타냈다.
- (D) 황국으로 만든 감주는 glucose 함량은 4,689,296(% area), 46.73(% area)로 가장 높게 나타났으며, maltose는 2,189,870(% area), 21.82(% area)로 나타냄으로써 다른 감주들에 비해 maltose의 비율이 높게 나타났다.

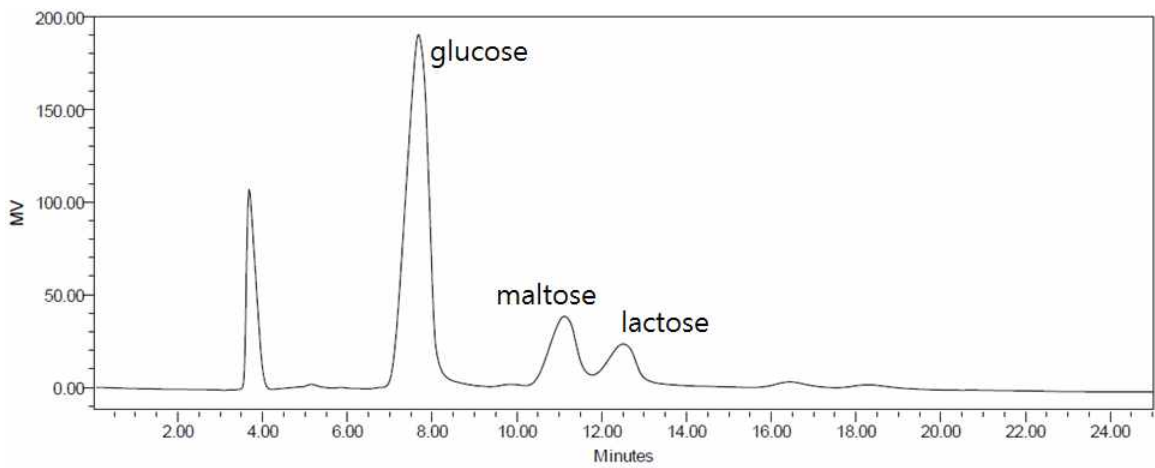
(A) 찰현미감주



(B) 갈아먹는 인삼 감주



(C) 쌀유산균 감주



(D) 황국

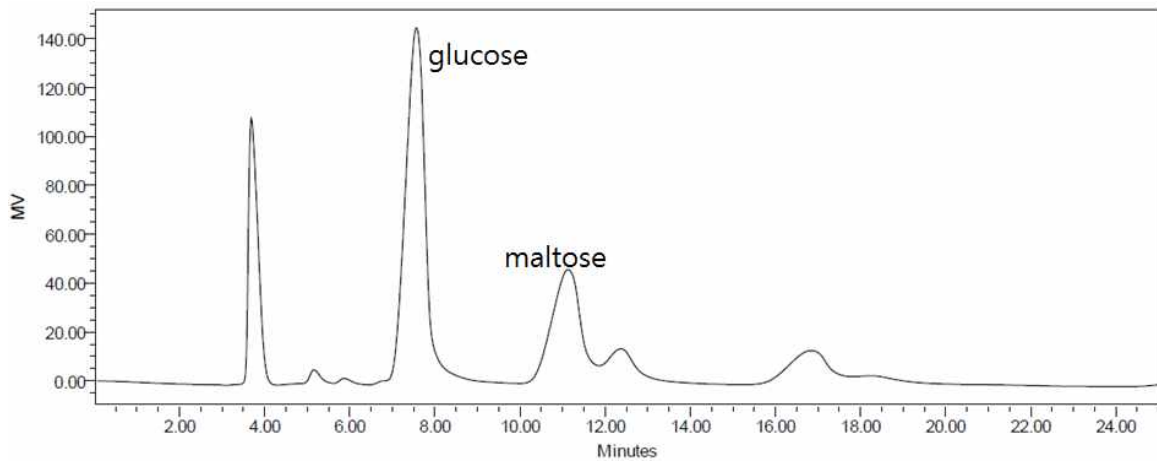


그림 2-30. 다양한 소재로 만든 감주의 유리당 분석

10) 다양한 소재로 만든 감주의 미네랄 성분분석

- 다양한 소재로 만든 감주의 유효미네랄 성분을 분석한 결과, 노화방지에 높은 셀레늄은 홍국감주에 가장 많이 함유하고 있었다
- 대체적으로 유산균감주에서 뼈를 튼튼하게 하는 유효 미네랄 성분인 아연, 철, 칼슘의 함유가 많았으며, 세포 및 혈액을 구성하는 마그네슘과 인은 찰현미감주에서 다량 함유하였다.

표 2-46. 다양한 소재로 만든 감주의 미네랄 성분분석

	Minerals contents (mg/l)								
	Ca	Fe	K	Na	Mg	P	Se	V	Zn
황국	1.255	0.109	4.746	0.170	1.199	2.600	0.011	0.022	0.014
홍국	1.840	0.012	37.030	7.276	1.281	3.378	0.019	0.023	0.035
흑국	2.510	0.092	5.985	0.306	1.762	5.005	0.008	0.026	0.167
인삼	6.582	0.047	15.350	7.653	1.903	6.720	0.008	0.025	0.033
유산균	13.800	0.148	29.540	6.491	3.330	13.930	0.006	0.033	0.267
찰현미	1.151	0.028	20.500	0.153	8.390	20.800	0.002	0.057	0.084
황국 -control	1.146	0.000	5.775	0.173	1.251	2.899	0.016	0.023	0.046

## 2. 감주에 첨가될 약용식물 조사 및 선정근거 자료 분석

- [동의보감], [본초강목]에서 뿌리, 줄기 및 가지의 껍질 등 복용하면 몸을 가볍게 한다고 기재됨
- 과거 중국, 러시아로부터 연간 190톤 수입
- 현재 삼척, 평창 등 강원도 주산지
- 번식기술 개발로 2016년도 국내 생산량 150톤 추정
- 오갈피속 식물 중 eleutheroside E 가장 높은 함유량 (1.92 mg/g)
- Eleutheroside B와 E는 효소적 생물전환(발효시)을 이용 할 때 추출되는 양이 유의적으로 증가
- 강원도 산채는 기능성 웰빙식품으로 각광을 받음
- 재배농가수는 약 3천여명으로 전국의 30% 이상 차지
- 충남은 전국 시설재배 머위 생산량의 70%로 단지화
- 연간 43톤 이상의 생산량 확보 (출처; 충남농업기술원)
- 머위추출물은 해독작용, 항알레르기, 항산화효과 다수
- Bakkenolide B는 항알레르기 및 항염증 효과가 높음
- 강원도 산채를 활용한 융복합 특산품 개발로 활용가치 높음
- 지역 간 (충북, 강원) 경제발전 경쟁력 강화 기대됨
- 비타민나무는 세계 각지에서 재배되고 있는 임목자원
- 잎과 열매에 비타민 A, C, E, D, B, P, K 다량 함유
- 아미노산, 불포화지방산, 미네랄과 플라보노이드, 카로테 노이드, 폴리페놀 등 다양한 영양소가 함유
- 강원대와 산학공동연구 중인 ㈜삼성생약 직영농장에서 친환경적인 방법으로 연간 1,380톤 이상 직접 생산, 원료 공급 원할
- 적박한 땅에서 주로 생육하며, 환경적 영향을 적게 받아 면적당 생산량이 안정적이므로 소비자 가격 변화율에 영향이 적음



- 특유의 향기와 식이섬유가 풍부, 오랫동안 식재료로 사용
- 항혈전 및 항산화활성효과, 에탄올추출물의 지질과산화 억제효과, 내인성 염증물질에 의한 염증 유도 저해 효과
- 최근 우영 재배면적은 310ha 재배면적과 생산량이 증가
- 100g 당 식이섬유가 8.84g, 리그닌과 사포닌 다량 함유
- 추출 후 남은 우영 부산물 첨가 가능, 원료 활용도 높음
- 항산화 및 항비만 등 기능성효과가 확인된 우영껍질 이용
- 우영껍질은 버려질 수 있는 농작물 부산물 활용방안에서 적안점을 줌
- [동의보감]에서 위장, 간, 신장, 폐 등 오장에 도움을 줌
- 유해 지방성분과 콜레스테롤 분해 및 배출
- 혈관건강 도움, 신장 기능을 강화, 진액 생성에 효과적
- 유기산과 비타민이 풍부, 체내 피로 회복에 효과
- 여름철 아이들 건강관리와 성인스트레스 해소에 효과적
- 오미자추출물은 붉은 계열의 천연 색소를 이용할 수 있음
- 특히 주권기관에서 개발한 홀곡과 접목 가능
- 감주술리시, 감주무딩 등 아이들이 좋아하는 건강간식 개발 가능

### 1) 가시오갈피 (Eleutheroside E)

- 가시오갈피는 두릅나무과에 속하는 식물로 [동의보감]이나 [본초강목]에서 뿌리, 줄기 및 가지의 껍질 등을 복용하면 몸을 가볍게 한다고 기재되어 있다.
- 가시오갈피는 현재 식약처에서 건강기능식품원료로 고시되었으며, 관절염, 골다공증, 간 건강, 혈당저하, 혈액순환, 면역력 향상, 다이어트, 심신안정 등 만병을 치료하는 효과를 가지고 있으며, 특히 알코올 분해 및 항염증 효과가 탁월하여 (Yoon and Jo, 2010), 건강보조식품에 다양하게 응용되고 있다.
- 특히 가시오갈피는 오갈피속 식물 중 지표물질인 eleutheroside E가 1.92 mg/g · 생체중으로 가장 높은 함유량을 갖고 있으며 (출처; 농촌진흥청), eleutheroside E는 2013년도 한국식품연구원으로부터 인슐린 저항성을 개선하고 혈당을 저하시켜 당뇨병 개선효능이 있다는 연구결과를 과학적으로 입증하였다.
- 가시오갈피의 eleutheroside B와 E는 효소적 생물전환(발효시)을 이용할 때 추출되는 양이 유의적으로 증가하며, 효소별로 가시오갈피로부터 다양한 유효성분이 추출된 연구결과도 보고되었다 (Kim et al., 2016).
- 가시오갈피는 과거에 중국, 러시아로부터 연간 190톤 이상 수입하였으나, 현재는 주로 삼척, 평창 등 강원도가 주산지이며, 번식기술 (종묘, 삽목) 개발로 전국 재배지가 2016년도 기준 약 9천 평 이상으로 확대되고 국내 생산량이 150톤으로 추정된다. (출처; 통계청)
- 가시오갈피 구매 단가는 약 2만원/kg으로 비싸지만 반복추출이 가능하고 낮은 첨가비율에도 높은 항산화활성을 나타내며, 대량구매 시 원가 절감이 가능하여 제품의 원가에 미치는 영향이 거의 없으며, 소비자가격 변동 폭도 크지 않을 것으로 사료된다.
- 가시오갈피를 첨가하여 만든 감주 제품은 감주의 Koji에 따라 다양한 유효성분이 추출될 뿐만 아니라, 기존의 감주 제품 보다는 혈당조절작용, 인슐린 저항성, 알코올 분해능, 항염증 효과 등 기능성이 증대될 것으로 기대된다.

## 2) 머위 (Quercetin, Kaempferol)

- 강원도 산채는 기능성 웰빙식품으로 각광을 받고 있으며, 재배농가수는 약 3 천여명으로 전국의 30% 이상을 차지하고, 특히 강원도 주산물인 감자소득 (통계청, 2010년 기준 700억원)을 뛰어넘을 정도로 산채 소득은 급속한 성장세를 보인다. (통계청, 2010년 기준 1,200억원)
- 강원도 지역별로 다양한 산채마을, 산채단지, 산채연구회, 산채협력단 등을 구성하고 있으며, 강원산채 명품 브랜드화, 기능성 물질을 이용한 산채 가공식품 개발 등을 추진하고 있다.
- 머위는 저온성 작물로 10-23℃ 내외의 서늘한 기온과 배수가 양호한 토양에서 잘 자라기 때문에 청정지역 강원도 산간에서 재배하는 것이 수량증대와 품질향상에 적합하다.
- 또한 충남은 전국 시설재배 머위생산량의 70%로 단지화가 되어 있고, 수요 증가에 따라 재배면적도 점차 증가하고 있어 연간 43톤 이상의 생산량을 확보하고 있다. (출처; 충청남도 농업기술원)
- 머위는 시설재배 시 계절변화에 따라 생산량 변동폭이 비교적 적으며, 구매단가가 생체중 1kg 당 약 9천원으로 대량구매시 구매단가가 저렴하여 제품의 원가 및 소비자가격에 미치는 영향이 거의 없을 것으로 사료한다.
- 머위는 국화과 다년생 초본으로 머위 새순은 민간요법이나 한방에 따라 면역강화 및 알레르기 치료에 사용됐으며 (Cho et al., 2007), 특히 청정지역 강원도 산채작물 중 하나이다.
- 머위추출물은 해독작용, 콜레스테롤 저해효과, 항알레르기 효과 및 항산화 효과가 다수 보고되었으며 (Kim et al., 2008), 지표성분 bakkenolide B는 특히 항알레르기 및 항염증에 효과가 높아 (Lee et al., 2013) 지표성분으로 설정하였다.
- 또한 머위에는 칼슘, 비타민A, 비타민B1-B2 등 다양한 영양소들이 풍부하게 함유되어 있으며, 특히 폴리페놀이 풍부하게 함유되어 있어 소화기능을 촉진시켜 소화력 개선과 변비해소에 도움을 준다.
- 머위를 첨가하여 만든 감주 제품은 강원도 산채를 활용한 융복합 특산품 개발로 활용 가치가 높고, 지역 간 (충북, 강원) 경제발전 경쟁력을 강화시킬 것으로 기대된다.
- 또한 기존의 감주 제품 보다는 해독작용, 항산화, 항염증, 미백 등 기능성이 증대될 것으로 기대된다.

## 3) 우영 (2,4-di-tert-butylphenol)

- 우영은 국화과의 2년생 작물로 오래전부터 종자, 잎, 뿌리를 약재로 사용하였으며, 특히 뿌리는 특유의 향기와 식이섬유가 풍부하고 씹는 맛이 좋아 오랫동안 식이로 사용하였다. (Moon et al., 2017)
- 우영뿌리는 항혈전 및 항산화 활성 효과 (Kim et al., 2014), 에탄올추출물의 지질과산화억제효과 (Kim et al., 2011), 미백효과 및 항돌연변이 활성을 검증한 연구 (Lee, 2011), 내인성 염증물질에 의한 염증 유도 저해 효과에 관한 연구 (Kim et al., 2012)가 보고되었다.
- 또한 발효우영은 무처리구보다 항산화 활성 및 지방세포 분화 억제 활성이 증가하였으며, 폴리페놀과 플라보노이드 함량도 증가하여 발효 시 기능성 성분이 증가한다고 보고되었다. (Kim et al., 2015a)

- 우엉껍질에는 식이섬유인 리그닌과 배당체인 사포닌의 함량이 높아 대장운동과 혈중 콜레스테롤 수치를 낮춰주며 (Lee et al., 2011), 껍질이 제거된 우엉보다 1.6 배 이상의 페놀과 플라보노이드를 함유하고 있으며 항산화 활성도 2배 이상 높아 다이어트 식품, 건강차 등으로 각광받고 있다. (Park et al., 2016)
- 항산화 및 항비만 등 기능성 효과가 확인된 우엉껍질을 이용하여 버려질 수 있는 농작물 부산물 활용방안에 착안점을 두어 감주에 첨가될 약용식물로 추가 선정하였다.
- 우엉은 2013년 기준 3,083톤 국내 생산 및 17,741톤 수입하고 있으며, 최근 우엉 재배면적은 310ha로 재배면적과 생산량이 증가하고 있다.
- 우엉 구매단가는 1kg 당 3천원으로 가장 저렴하여 제품의 원가에 미치는 영향이 거의 없고, 생산량도 꾸준히 증가하고 있어 원가 가격변화율에 미치는 영향이 적을 것으로 사료된다.
- 100g 당 식이섬유가 8.84g으로 다량 함유되어 있어 활용가치가 높으며, 추출 후 남은 우엉 부산물도 제품 개발 시 첨가 가능할 것으로 사료되어 원료 활용도가 높을 것으로 사료된다.
- 우엉을 첨가하여 만든 감주 제품은 감주의 Koji에 따라 다양한 유효성분이 추출될 뿐만 아니라, 기존의 감주 제품 보다는 항산화 및 항비만 효과 등 다이어트 관련 기능성이 증대될 것으로 기대된다.

#### 4) 오미자 (Shizandrin)

- 오미자는 [동의보감]에서 위장, 간, 신장, 폐등 오장에 도움을 주며, 특히 혈관 속 유해 지방성분과 콜레스테롤 분해 및 배출하여 혈관 건강에도 도움을 주는 것으로 보고되었다. (Jeong et al., 2012)
- 오미자는 유기산과 비타민이 풍부하게 들어 있어 체내 피로 새초에 효과적이며, 신장 기능을 강화하며 진액 생성에 효과적이라 여름철 아이들 건강관리와 스트레스를 많이 받는 성인들에게 효과적이다. (Kim et al., 2015b)
- 오미자추출물은 붉은 계열의 천연 색소를 이용할 수 있으며 특히 주관기관에서 개발한 홍국과 접목하여 감주슬러시, 감주푸딩 등 아이들이 좋아하는 건강간식 개발에 도움을 줄 것으로 기대되어 감주에 첨가될 약용식물로 추가 선정하였다.
- 오미자는 국립산림과학원 보고에 따르면 전국에서 재배하는 특용작물로 2015년 기준 (출처; 통계청) 오미자 재배농가는 7708 농가구, 재배면적은 13,391 ha로 원료 대량 수급이 가능하다.
- 생오미자는 구매단가가 1kg 당 8천원으로 비싸지만 추출수율이 20% 이상으로 높고 추출 후 부산물도 제품 활용가치가 높아 다양한 방면으로 이용할 수 있으며, 대량구매 및 계약재배 시 원가 절감이 가능하여 제품단가를 적정하게 책정 가능하다.

#### 5) 비타민나무 (Vitamin)

- 비타민나무는 세계 각지에서 재배되고 있는 임목자원으로 잎과 열매에 비타민 A, C, E, D, B, P, K 뿐만 아니라 아미노산, 불포화지방산, 미네랄과 플라보노이드, 카로테노이드, 폴리페놀 등 다양한 영양소가 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. (Geetha et al. 2003)



- 비타민나무 추출물은 항산화 활성, 면역조절효과, 항염증효과 (Ganju et al., 2005) 등 뛰어난 효능이 보고되었으며, 참여기관 책임자인 김명조교수님께서 지금까지 꾸준히 생리활성 연구를 진행하고 있어 감주에 첨가될 약용식물로 효능이 뛰어난 비타민나무를 추가로 선정하였다.
- 현재 비타민나무는 강원대학교와 산학협력공동연구를 진행하고 있는 춘천시 (주)삼성생약 농업회사법인에서 연간 1,380톤 이상을 본사직영농장에서 직접 친환경적인 방법으로 재배하고 있어 보다 안정적으로 원료를 공급할 수 있으며, 철원군과 춘천시에 약 300평 이상의 농장 확장을 추진하고 있어 원료 수급을 원활하게 할 수 있을 것으로 기대된다.
- 또한 비타민나무는 척박한 땅에서 주로 생육하며 환경적 영향을 적게 받아 면적당 생산량이 안정적이므로, 원가 가격변화율 및 소비자 가격에 미치는 영향이 적을 것으로 사료된다.
- 추가로 우영겍질, 오미자, 비타민나무를 첨가하여 만든 감주 제품은 감주의 Koji에 따라 다양한 유효성분이 추출될 뿐만 아니라, 기존의 감주 제품 보다는 생리활성, 면역기능, 항산화효과, 항비만효과, 항균효과 등 기능성이 증대될 것으로 기대된다.

### 3. 감주에 첨가될 약용식물의 생리활성 검정 및 기능성분 분석

#### 1) 감주에 첨가될 약용식물의 DPPH radical 소거 활성

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우영, 우영겍질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 실험하였다. 제조된 발효물을 0.15 mM의 DPPH와 혼합 한 후 실온에서 30분 동안 반응시키고 이 반응액을 UV spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 생리활성 분석 중 처리구를 두 가지로 하였는데 우선 주된 약용작물인 가시오갈피는 주정 농도별과 온도별 (상온, 70°C, 100°C)로 세부적으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다.
- 가시오갈피를 추출용매인 물과 에탄올 농도별 (30%, 50%, 70%, 100%)과 온도별 상온 25°C, 70°C, 100°C에서 복합처리시 상온 물추출물에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다.
- 또한 주정으로 추출할 시 오히려 항산화력이 감소하는 경향을 보였으며, 주정을 추출할 시에는 온도를 가할 경우 항산화력이 증가하는 경향을 보였다.
- 가온시 주정을 용매로 한 대량 추출은 산업체에서 화재 및 폭발 위험이 있기에 항산화력이 증가하여도 열수추출을 권고하였다.

표 2-47. 가시오갈피 추출용매별과 온도별 복합처리 시 DPPH 라디칼 소거능 활성

Sample	DPPH IC <sub>50</sub> (μg/ml)		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	246.61 ± 12.93	908.45 ± 42.55	561.98 ± 7.05
EtOH 30%	658.53 ± 33.39	756.59 ± 14.72	505.11 ± 16.75
EtOH 50%	611.65 ± 18.50	641.69 ± 6.99	304.06 ± 2.96
EtOH 70%	460.62 ± 3.60	342.83 ± 1.85	309.10 ± 4.91
EtOH 100%	389.33 ± 2.08	549.61 ± 4.99	381.02 ± 3.58

- 다른 처리구로 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물인 eleutheroside E (가시오갈피)를 대조구로 두어 비교 실험을 하였다.
- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 항산화력을 나타냈고, 열수추출에서는 상온추출물에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보여주었다.
- 또한 가시오갈피의 지표성분인 eleutheroside E와 비교하였을 때에도 5배 이상의 높은 활성을 나타냈고 비타민C (ascorbic acid)와 견주는 비슷한 항산화력을 나타냈다.

표 2-48. 추출조건별 가시오갈피의 DPPH 라디칼 소거능 활성 및 지표성분과 비교

Sample (1 mg)	Solvent				Standards	
	DW		EtOH		Ascorbic acid	Eleutheroside E
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C		
DPPH radical scavenging activity (%)	102.94 ± 3.18	35.62 ± 4.08	94.01 ± 0.45	93.49 ± 0.12	> 130	21.16 ± 0.43

- 생리활성 분석 중 처리구를 두 가지로 하였는데 우선 주된 약용작물인 머위는 주정 농도별과 온도별 (상온, 70°C, 100°C)로 세부적으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다.
- 머위를 추출용매인 물과 에탄올 농도별 (30%, 50%, 70%, 100%)과 온도별 상온 25°C, 70°C, 100°C에서 복합처리시 전반적으로 50% 에탄올 추출물에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다.
- 머위 열수추출 시 항산화력이 감소하는 경향을 보였으며, 열수로 추출하던 주정으로 추출하던 온도를 가할 경우 항산화력의 차이는 크게 나타나지 않았다.
- 머위추출물은 추출온도 보다는 추출용매에 따라 항산화력이 크게 달라지는 것을 확인하였으며, 50% 주정추출물이 가장 높은 항산화력을 나타냈다.

표 2-49. 머위 추출용매별과 온도별 복합처리 시 DPPH 라디칼 소거능 활성

Sample	DPPH IC <sub>50</sub> (μg/ml)		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	494.12 ± 28.33	389.21 ± 9.69	407.32 ± 3.69
EtOH 30%	254.28 ± 5.62	295.05 ± 0.72	233.11 ± 4.17
EtOH 50%	204.74 ± 7.10	214.00 ± 3.30	360.14 ± 4.48
EtOH 70%	282.99 ± 6.79	276.39 ± 2.57	420.21 ± 2.33
EtOH 100%	577.62 ± 6.41	365.41 ± 2.93	353.01 ± 3.61

- 다른 처리구로 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물인 bakkenolide B (머위)를 대조구로 두어 비교 실험을 하였다.
- 머위 1 mg을 처리한 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 항산화력을 나타냈고, 물추출물에서는 상온에서 가온 보다 항산화력이 증가하는 것을 확인하였다.
- 또한 머위의 지표성분인 bakkenolide B는 뚜렷한 항산화력을 나타내지 않았다.

표 2-50. 추출조건별 머위의 DPPH 라디칼 소거능 활성 및 지표성분과 비교

Sample (1 mg)	Solvent				Standards	
	DW		EtOH		Ascorbic acid	Bakkenolide B
	Temp.	25°C	60°C	25°C		
DPPH radical scavenging activity (%)	25°C	60°C	25°C	60°C	> 130	-

- 생리활성 분석 중 처리구를 두 가지로 하였는데 우선 주된 약용작물인 우엉은 주정 농도별과 온도별 (상온, 70°C, 100°C)로 세부적으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다.
- 우엉을 추출용매인 물과 에탄올 농도별 (30%, 50%, 70%, 100%)과 온도별 상온 25°C, 70°C, 100°C 에서 복합처리시 전반적으로 에탄올의 농도가 증가할수록 추출온도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 높아지는 것을 확인하였다.
- 우엉 열수추출 시 항산화력이 가장 낮은 것으로 확인이 되었으며, 가온시 항산화력이 2 배 증가하는 것을 확인하였다. 우엉추출물은 주정 70% 용매와 100°C 온도에서 추출할 때 가장 높은 항산화력을 나타냈다.
- 가온 시 주정을 용매로 한 대량 추출은 산업체에서 화재 및 폭발 위험이 있기에 항산화력이 증가하여도 가온을 한 열수추출을 권고하였다. 이 외에도 주정을 용매로 추출하였을 때에 상온추출을 권고하기도 하였다.

표 2-51. 우영 추출용매별과 온도별 복합처리 시 DPPH 라디칼 소거능 활성

Sample	DPPH IC <sub>50</sub> (μg/ml)		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	1420.24 ± 44.73	1260.96 ± 111.40	587.95 ± 35.75
EtOH 30%	1267.63 ± 37.94	535.82 ± 20.41	519.09 ± 32.52
EtOH 50%	672.04 ± 4.80	497.68 ± 9.61	743.32 ± 23.40
EtOH 70%	639.99 ± 3.14	361.04 ± 3.31	152.87 ± 30.60
EtOH 100%	701.66 ± 6.30	337.68 ± 2.30	183.83 ± 6.37

- 다른 처리구로 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물인 2,4-di-tert-butylphenol (우영)을 대조구로 두어 비교 실험을 하였다.
- 우영 1 mg을 처리한 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 비슷한 항산화력을 나타냈고, 물추출물에서는 가온에서 상온 보다 8배 이상의 항산화력이 증가하는 것을 확인하였다.
- 또한 우영의 지표성분인 2,4-di-tert-butylphenol은 DPPH 50% 소거능이 536.37±35.23 ug/ml 이므로, 1 mg 처리시 항산화력은 100% 이상이었다.
- 즉 우영에 지표성분인 2,4-di-tert-butylphenol의 함량이 높을수록 항산화력이 증가하는 결과를 확인하였다. 우영추출물은 60°C 열수추출 시 산업체로 가장 활용도가 높을 것으로 사료한다.

표 2-52. 추출조건별 우영의 DPPH 라디칼 소거능 활성 및 지표성분과 비교

Sample (1 mg)	Solvent				Standards	
	DW		EtOH		Ascorbic acid	2,4-di-tert-butylphenol
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C		
DPPH radical scavenging activity (%)	11.48 ± 2.90	97.83 ± 1.54	72.72 ± 0.45	92.81 ± 0.13	> 130	> 100

- 우영껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60°C) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 DPPH 라디칼 소거능을 확인하였다.
- 우영껍질의 경우 60°C 가온 추출 시 추출용매 조건과 관계없이 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈고, 100%에 도달하는 활성을 나타냈다.
- 가온시 주정을 용매로 한 대량 추출은 산업체에서 화재 및 폭발 위험이 있기에 항산화력이 증가하여도 우영껍질은 가온을 한 열수추출을 권고하였다.
- 오미자의 경우 60°C 가온 추출 시 주정추출물에서 물 추출보다 높은 항산화력이 나타났고 주정 추출시 100%에 가까운 활성을 나타냈다.

- 비타민나무의 경우 추가된 약용식물 및 첨가 예정인 약용식물을 통틀어 가장 항산화력이 탁월하였으며, 추출용매에 관계없이 60°C 가온 추출 시 가장 높은 활성을 나타냈다.

표 2-53. 추출조건별 우엉껍질, 오미자, 비타민나무의 DPPH 라디칼 소거능 활성

Sample (1 mg)	우엉껍질		오미자		비타민나무		Standard Ascorbic acid
	DW	EtOH	DW	EtOH	DW	EtOH	
DPPH radical scavenging activity (%)	92.81 ± 0.12	93.92 ± 0.82	26.82 ± 2.34	93.02 ± 0.86	104.14 ± 1.54	118.05 ± 1.14	> 130

## 2) 감주에 첨가될 약용식물의 ABTS radical 소거 활성

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우엉, 우엉껍질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정하였다.
- ABTS radical 소거 활성은 Re 등 (1999)에 의해 실시된 ABTS+ radical cation assay 방법을 변형하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 2.6 mM potassium persulfate (Daejung, Siheung, Korea)를 1 : 1 비율로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 방치 후 radical을 형성시키고, UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 732 nm에서 흡광도 값이 0.70 (±0.03)이 되게 phosphate saline (PBS, pH 7.4)로 희석한 후, 희석용액 990 µl에 시료 10 µl를 가하여 10분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다.
- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 항산화력을 나타냈고, 열수추출에서는 상온추출물에서 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능을 보여주었다.
- 전반적으로 모든 가시오갈피 추출물에서 높은 항산화력을 나타냈으며, 비타민C (ascorbic acid)와 견주는 비슷한 항산화력을 나타냈다.

표 2-54. 추출조건별 가시오갈피의 ABTS 라디칼 소거능 활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards Ascorbic acid
	DW		EtOH		
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C	
ABTS radical scavenging activity (%)	100.00 ± 1.30	99.25 ± 0.00	102.51 ± 3.04	104.01 ± 3.55	> 150

- 머위 1 mg을 처리한 경우 상온추출물과 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 항산화력을 나타냈다.
- 전반적으로 모든 머위 추출물에서 높은 항산화력을 나타냈으며, 비타민C (ascorbic acid)와 견주는 비슷한 항산화력을 나타냈다.

표 2-55. 추출조건별 머위의 ABTS 라디칼 소거능 활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
ABTS radical scavenging activity (%)	99.25 ± 0.00	99.25 ± 0.75	103.76 ± 1.49	93.98 ± 3.45	> 150

- 우엉 1 mg을 처리한 경우 상온추출물에서 주정추출물 보다 약간의 ABTS 라디칼 소거능이 높았다.
- 전반적으로 모든 우엉 추출물에서 높은 항산화력을 나타냈으며, 비타민C (ascorbic acid)와 견주는 비슷한 항산화력을 나타냈다.

표 2-56. 추출조건별 우엉의 ABTS 라디칼 소거능 활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
ABTS radical scavenging activity (%)	98.25 ± 1.57	96.74 ± 0.43	99.00 ± 0.87	96.24 ± 0.00	> 150

- 우엉껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60°C) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 ABTS 라디칼 소거능을 확인하였다.
- 전반적으로 모든 약용식물추출물에서 높은 항산화력을 나타냈으며, 비타민C (ascorbic acid)와 견주는 비슷한 항산화력을 나타냈다.
- 우엉껍질과 오미자의 경우 60°C 가온 추출 시 열수추출물이 주정추출물 보다는 높은 항산화력을 나타냈으며, 비타민나무는 추출용매 종류와 상관없이 높은 항산화력을 나타냈다.

표 2-57. 추출조건별 우엉겉질, 오미자, 비타민나무의 ABTS 라디칼 소거능 활성

Sample (1 mg)	우엉겉질		오미자		비타민나무		Standard
	DW	EtOH	DW	EtOH	DW	EtOH	Ascorbic acid
ABTS radical scavenging activity (%)	104.76 ± 1.57	99.50 ± 0.87	103.51 ± 3.04	96.99 ± 1.99	96.99 ± 1.99	96.99 ± 3.01	> 150

### 3) 감주에 첨가될 약용식물의 환원력 측정 (Reducing Power)

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우엉, 우엉겉질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1mg 당 환원력 검정인 Reducing power assay를 실시하였다.
- 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 변형하여 실시하였다. 시료 0.1ml에 0.2M의 sodium phosphate buffer 0.1ml (pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide 0.1 ml를 혼합 한 후 50°C 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 0.1ml를 첨가하여 동량의 증류수와 0.1% ferric chloride 0.05ml를 첨가하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 상온에서 물추출물은 15배 이상, 주정추출물은 5배 이상의 높은 환원력을 나타냈다.
- 또한 물추출물에서 주정추출물보다 2배 이상의 환원력을 나타냈다.
- 

표 2-58. 추출조건별 가시오갈피의 환원력

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		Ascorbic acid
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C	
Reducing power (abs)	0.32 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.03 ± 0.01	1.40 ± 0.02

- 머위 1mg을 처리한 경우 모든 추출물에서 비슷한 환원력을 나타냈지만 전반적으로 상온에서 추출한 것이 약간 높은 환원력을 나타냈다.
- 또한 주정추출물에서 물추출물보다 약간 높은 환원력을 나타냈으며, 상온에서 주정으로 추출하는 것을 권고한다.

표 2-59. 추출조건별 머위의 환원력

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Reducing power (abs)	0.18 ± 0.01	0.11 ± 0.00	0.26 ± 0.01	0.12 ± 0.01	1.40 ± 0.02

- 우영 1 mg을 처리한 경우 상온에서 주정추출물이 가장 높은 항산화력을 나타냈고, 열수추출물도 마찬가지로 상온에서 높은 환원력을 나타냈다.

표 2-60. 추출조건별 우영의 환원력

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Reducing power (abs)	0.05 ± 0.00	0.02 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.04	1.40 ± 0.02

- 우영껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60°C) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 환원력을 측정하였다.
- 우영껍질과 오미자는 환원력이 거의 나타나지 않았으며, 미세했다.
- 비타민나무는 추출용매 종류와 상관없이 높은 환원력이 나타났으며, 실험군인 전체 약용식물 중에서도 가장 높은 환원력을 나타냈다.

표 2-61. 추출조건별 우영껍질, 오미자, 비타민나무의 환원력

Sample (1 mg)	우영껍질		오미자		비타민나무		Standard	
	Solvent	DW	EtOH	DW	EtOH	DW		EtOH
Reducing power (abs)		0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.35 ± 0.08	0.34 ± 0.04	1.40 ± 0.02



#### 4) 감주에 첨가될 약용식물의 미백활성 (Tyrosinase activity)

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우엉, 우엉겉질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 미백활성인 Tyrosinase activity를 실시하였다.
- Tyrosinase 저해 활성은 Bernard와 Berthon (2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 기질 L-dopa (3,4 Dihydroxy-L- phehylalanine; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 8.3 mM와 tyrosinase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 125 U/ml로 각각 준비하였다. 96-well plate에 L-dopa와 시료액을 첨가하여 혼합한 후 tyrosinase를 첨가하고 37°C, 암조건 하에서 30분간 반응시켜 micro-plate reader 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 상온에서 물추출물이 가장 높은 미백활성을 나타냈으며, 상온에서 주정추출물은 가장 낮은 활성을 나타냈다.
- 또한 주정추출물에서는 가온시에 미백활성이 10배 이상 증가하는 것으로 나타났지만 가온 시 물추출물에서의 미백활성과 비슷한 결과를 나타냈다.
- 가시오갈피는 상온 시 열수추출을 할 때 가장 높은 미백활성을 나타냈기에 상온에서 물로 추출하는 것을 권고한다.

표 2-62. 추출조건별 가시오갈피의 미백활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards	
	DW		EtOH			
	Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C	Ascorbic acid
Tyrosinase inhibition activity (%)		31.00 ± 3.29	23.90 ± 5.42	2.48 ± 1.14	23.19 ± 4.33	100.00 ± 0.35

- 머위 1 mg을 처리한 경우 상온에서 물추출물이 뛰어난 미백활성을 나타냈으며, 상온에서 주정추출물은 가장 낮은 활성을 나타냈다.
- 또한 주정추출물에서는 가온시에 미백활성이 1.3배 이상 증가하는 것으로 나타났지만 가온 시 물추출물에서의 미백활성 보다 낮은 결과를 나타냈다.
- 머위는 상온 시 열수추출을 할 때 가장 높은 미백활성을 나타냈기에 상온에서 물로 추출하는 것을 권고한다.

표 2-63. 추출조건별 머위의 미백활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25℃	60℃	25℃	60℃
Tyrosinase inhibition activity (%)	63.96 ± 2.76	48.16 ± 5.71	19.58 ± 3.26	25.32 ± 0.73	100.00 ± 0.35

- 우엉 1 mg을 처리한 경우 가온 시 약 5~9배 이상 미백활성이 높아지는 경향을 보였다.
- 가온 시 물추출물에서 주정추출물 보다 높은 미백활성을 나타냈으며, 열수추출물이 가장 높은 미백활성을 나타냈기에 우엉은 가온에서 물로 추출하는 것을 권고한다.

표 2-64. 추출조건별 우엉의 미백활성

Sample (1 mg)	Solvent				Standards
	DW		EtOH		
	Temp.	25℃	60℃	25℃	60℃
Tyrosinase inhibition activity (%)	0.71 ± 0.54	9.58 ± 1.78	1.18 ± 0.73	5.08 ± 2.14	100.00 ± 0.35

- 우엉껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60℃) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 미백활성을 측정하였다.
- 우엉껍질은 우엉과 마찬가지로 가온 시 열수추출에서 주정추출 보다 높은 미백활성을 나타냈으며, 오미자는 가온 시 추출용매와 상관없이 비슷한 활성을 나타냈다.
- 비타민나무는 추출용매 종류와 상관없이 높은 미백활성을 나타냈으며, 실험군인 전체 약용식물 중에서도 가장 높은 환원력을 나타냈고 대조구인 비타민C (ascorbic acid) 보다도 높은 미백활성을 보여주었다.

표 2-65. 추출조건별 우엉껍질, 오미자, 비타민나무의 미백활성

Sample (1 mg)	우엉껍질		오미자		비타민나무		Standard
	DW	EtOH	DW	EtOH	DW	EtOH	
Tyrosinase inhibition activity (%)	6.62 ± 1.50	2.95 ± 1.02	14.20 ± 0.54	16.44 ± 6.5	77.63 ± 1.42	67.21 ± 1.08	100.00 ± 0.35

5) 감주에 첨가될 약용식물의 총 페놀 함량 분석 (Total phenolic contents)

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우영, 우영겉질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 총 페놀 함량을 측정하였다.
- 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent가 알칼리 조건에서 추출물의 polyphenol성 화합물에 의해 환원된 결과 노란색에서 몰리브덴의 청색으로 발색하는 것을 원리로 Folin-Ciocalteu assay (Singleton and Rossi, 1965)를 이용하여 수행하였다.
- 약용식물추출물 1.0 mg/ml에 50 µl의 Folin-Ciocalteu reagent (Sigma, Kawasaki, Japan)를 넣고 섞어 준 후, 5분 후에 20% sodium carbonate (Junsei, Kyoto, Japan) 300 µl를 넣고 섞어주었다. 15분 후에 증류수 1 ml을 넣은 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하였으며, 검량선을 작성하여 총 페놀 함량을 분석하였다.
- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 상온에서 주정추출물이 총 페놀 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 가온 보다 상온에서 총 페놀 함량이 추출 용매 조건 상관없이 높은 것으로 나타났다.

표 2-66. 추출조건별 가시오갈피의 총 페놀 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Phenolic Content (ug · GAE)	49.25 ± 1.10	31.08 ± 0.95	90.98 ± 0.28	43.10 ± 2.64

<sup>1)</sup>GAE : gallic acid equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 머위 1 mg을 처리한 경우 상온에서 추출 한 것보다 약 40 배 이상의 높은 페놀을 함량하고 있으며, 특히 추출용매에 상관없이 머위 1 mg 안에 100 ug 약 10% 정도의 페놀을 함유하고 있는 것으로 나타났다.

표 2-67. 추출조건별 머위의 총 페놀 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Phenolic Content (ug · GAE)	3.94 ± 0.22	123.85 ± 2.32	16.20 ± 0.73	132.37 ± 2.98

<sup>1)</sup>GAE : gallic acid equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 우영 1 mg을 처리한 경우 추출온도 변화와는 상관없이 주정추출물에서 가온 시 다소 높은 페놀 함량을 나타냈으나 그 차이는 미세한 것으로 사료된다. 우영추출물은 전반적으로 비슷한 페놀 함량을 나타내는 경향을 보인다.

표 2-68. 추출조건별 우영의 총 페놀 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Phenolic Content (ug · GAE)	26.70 ± 0.10	29.93 ± 0.48	34.32 ± 2.88	32.93 ± 0.51

<sup>1)</sup>GAE : gallic acid equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 우영껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60°C) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 총 페놀 함량을 측정하였다.
- 우영껍질과 오미자는 물추출물 보다는 주정추출물에서 약 2배 이상의 높은 함량을 나타냈으며, 비타민나무는 추출용매 종류와 상관없이 높은 미백활성을 나타냈다.
- 비타민나무는 실험군인 전체 약용식물 중에서도 가장 높은 페놀 함량을 나타냈고 항산화 실험결과와 비슷한 양상을 나타냈다.

표 2-69. 추출조건별 우영껍질, 오미자, 비타민나무의 총 페놀 함량

Sample (1 mg)	우영껍질		오미자		비타민나무	
	DW	EtOH	DW	EtOH	DW	EtOH
Total Phenolic Content (ug · GAE)	6.04 ± 0.08	15.34 ± 0.32	4.36 ± 0.22	7.84 ± 0.26	285.05 ± 2.99	281.77 ± 2.48

<sup>1)</sup>GAE : gallic acid equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

#### 6) 감주에 첨가될 약용식물의 총 플라보노이드 함량 분석 (Total flavonoid contents)

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우영, 우영껍질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 생리활성을 검정하였다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 mg 당 총 플라보노이드를 측정하였다.
- 총 플라보노이드 함량은 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 µl (10 mg/ml)에 80% EtOH (Daejung, Siheung, Korea) 900 µl을 혼합하여 희석한 시료 500 µl에 10% aluminium nitrate (Junsei, Kyoto, Japan) 100 µl, 1 M potassium acetate (Junsei, Kyoto, Japan) 100 µl, 80% EtOH 4.3 ml를 차례로 가하고 40분간 상온에서 반

응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin을 사용하였으며, 검량선을 작성하여 총 플라보노이드 함량을 분석하였다.

- 가시오갈피 1 mg을 처리한 경우 가온 시 용매추출 종류에 상관없이 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 주정추출물에서 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다.

표 2-70. 추출조건별 가시오갈피의 총 플라보노이드 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Flavonoid Content (ug · QE)	N.D	2.02 ± 0.11	3.83 ± 0.15	9.15 ± 0.90

<sup>2</sup>QE : quercetin equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 머위 1 mg을 처리한 경우 가온 시 용매추출 종류에 상관없이 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 주정추출물에서 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다.
- 그러나 물추출물과 주정추출물의 플라보노이드 함량 차이는 뛰어나게 차이나지 않았으며, 그 차이는 다소 미세하게 나타났다.

표 2-71. 추출조건별 머위의 총 플라보노이드 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Flavonoid Content (ug · QE)	N.D	28.52 ± 1.51	3.02 ± 0.06	34.56 ± 0.71

<sup>2</sup>QE : quercetin equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 우영 1 mg을 처리한 경우 물추출물은 상온 시에는 60°C로 가온하였을 때 플라보노이드 함량이 증가하였으며, 주정추출물에서는 반대로 감소하는 경향을 보여주었다.
- 우영은 상온에서 주정으로 추출할 때 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다.

표 2-72. 추출조건별 우영의 총 플라보노이드 함량

Sample (1 mg)	Solvent			
	DW		EtOH	
	25°C	60°C	25°C	60°C
Total Flavonoid Content (ug · QE)	N.D	8.42 ± 0.57	12.55 ± 1.76	6.78 ± 0.49

<sup>2)</sup>QE : quercetin equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

- 우영껍질, 오미자, 비타민나무는 추출용매 물 (DW)과 주정 (EtOH), 가온 (60°C) 처리한 총 2 조건으로 추출한 후, 추출물 1 mg 당 총 플라보노이드 함량을 측정하였다.
- 우영껍질과 오미자는 물추출물 보다는 주정추출물에서 약 2배 이상의 높은 함량을 나타냈으며, 이는 총 페놀 함량과 비슷한 연구결과 경향을 보여주었다.
- 비타민나무는 대조적으로 물추출물에서 주정추출물보다 약 1.8배의 높은 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 나타났다.
- 비타민나무는 실험군인 전체 약용식물 중에서도 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냈고 항산화 실험결과와 비슷한 양상을 나타냈다.

표 2-73. 추출조건별 우영껍질, 오미자, 비타민나무의 총 플라보노이드 함량

Sample (1 mg)	우영껍질		오미자		비타민나무	
	DW	EtOH	DW	EtOH	DW	EtOH
Total Flavonoid Content (ug · QE)	1.06 ± 0.04	3.16 ± 0.15	0.23 ± 0.00	0.50 ± 0.04	26.27 ± 0.83	14.22 ± 0.07

<sup>2)</sup>QE : quercetin equivalent, Each value is mean ± standard derivation of three replicate tests

### 7) 감주에 첨가될 약용식물의 지표물질 설정 및 함량 분석

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우영, 우영껍질, 오미자, 비타민나무)의 추출방법별 지표물질 함량을 분석하였다.
- 처리구를 두 가지로 하였는데 우선 주된 약용작물인 가시오갈피, 머위, 우영은 주정 농도별과 온도별 (상온, 70°C, 100°C)로 세부적으로 지표물질 함량을 측정하였다. 각 약용식물 추출물 1 g당 mg으로 나타났다.
- 가시오갈피의 지표물질은 eleutheroside E 이며, 관절염의 항염증과 혈당저하에 효과적이다. 가시오갈피의 HPLC 분석조건은 이동상은 ACN:Water로 0분 0%:100%, 20분 25%:75%로 1.0 ml/min으로 이동해 주었으며, 10 ul 볼륨으로 주입한 후 205 nm에서 검출하였다.

- 가시오갈피의 지표물질은 가온을 하거나 주정으로 추출하였을 때에만 검출이 되는 것을 확인하였고 특히 물 100℃에서 가장 많은 양의 지표성분 함량이 검출되는 것을 확인하였다.
- 또한 주정의 농도가 증가할수록 지표성분의 함량이 증가하였으며, 가온을 하면 할수록 지표성분의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 주정의 농도와 온도가 증가함에 따라 지표물질의 함량은 꾸준히 증가하는 것이 아니라 어느 순간부터는 일정하게 유지, 추출하는 것으로 나타났다.

표 2-74. 가시오갈피 추출용매별과 온도별 복합처리 시 지표성분 함량 비교

Sample	Eleutheroside 검출량 (mg/g) ext.		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	N.D	4.20	14.54
EtOH 30%	5.17	8.50	8.87
EtOH 50%	6.89	9.14	9.35
EtOH 70%	8.07	9.42	9.88
EtOH 100%	9.90	9.45	7.64

- 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25℃)과 가온 (60℃)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 각각의 지표성분 물질의 함량을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물은 eleutheroside E 이다.
- 가시오갈피의 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 지표물질 함량을 나타냈으며, 열수추출물보다는 주정추출물에서 더 높은 함량을 나타냈다.
- 가시오갈피는 주정추출물을 이용하여 감주시제품을 개발하면 기능성 물질 증대 및 생리활성 효과가 높은 것으로 사료된다.

표 2-75. 추출조건별 가시오갈피의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Eleutheroside E (mg/g)	N.D	4.39 ± 0.43	10.36 ± 3.87	9.175 ± 0.38

- 머위의 지표물질은 bakkenolide B로 항알레르기 작용을 가지고 있다. 머위의 HPLC 분석조건은 이동상은 ACN:Water로 0분 50%:50%, 20분 100%:0%로 1.0 ml/min으로 이동해 주었으며, 10 ul 볼륨으로 주입한 후 215 nm에서 검출하였다.
- 머위를 추출용매인 물과 에탄올 농도별 (30%, 50%, 70%, 100%)과 온도별 상온 25°C, 70°C, 100°C에서 복합처리시 전반적으로 지표성분이 추출되지 않은 경향을 나타냈다.
- 머위를 주정으로 추출할 때 주정의 농도가 100%이면 지표물질인 bakkenolide B가 검출

되는 것을 확인하였으며, 가온 유무 보다는 용매의 종류에 따라 지표물질 여부를 검출할 것으로 판단된다.

- 지표성분으로 제시하였던 Bakkenolide B의 함량이 거의 불검출하여 플라보노이드 계열 중의 quercetin과 kaempferol을 지표물질로 설정하여 분석하였다. 두 지표물질은 에탄올 50% 이상과 열수추출에서는 검출이 되지 않았으며, kaempferol 보다는 quercetin의 함량이 모든 추출조건에서 더 높았다.

표 2-76. 머위 추출용매별과 온도별 복합처리 시 지표성분 함량 비교

Sample	Bakkenolide B 검출량 (mg/g) ext.		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	N.D	N.D	N.D
EtOH 30%	N.D	N.D	N.D
EtOH 50%	N.D	N.D	N.D
EtOH 70%	N.D	6.13	N.D
EtOH 100%	5.71	5.67	6.43

표 2-77. 머위 추출용매별과 온도별 복합처리 시 플라보노이드계역 지표성분 함량 비교

Sample (mg/g ext.)	상온 추출		70°C 추출		100°C 추출	
	Q	K	Q	K	Q	K
DW 100%	0.57±0.40	0.47±0.30	1.31±0.96	0.48±0.31	0.31±0.07	0.47±0.30
EtOH 30%	0.68±0.47	0.47±0.29	0.89±0.90	0.51±0.32	0.60±0.36	0.47±0.29
EtOH 50%	1.26±1.00	0.47±0.29	N.D	N.D	N.D	N.D
EtOH 70%	1.29±0.86	0.48±0.30	N.D	N.D	N.D	N.D
EtOH 100%	0.87±0.54	0.45±0.27	N.D	N.D	N.D	N.D

Q : quercetin, K : kaempferol

- 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 각각의 지표성분 물질의 함량을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물은 bakkenolide B 이다.
- 계획서에 제시한 지표성분 bakkenolide (항알레르기 효능) 성분 불검출하였고, 플라보노이드 계열 중의 quercetin과 kaempferol을 지표물질로 설정하여 분석하였다. 두 지표성분은 주정추출물 보다는 물추출물에서 지표물질 함량이 높았으며, 가온주정추출 시 검출되지 않았다.
- 플라보노이드 계열은 머위에 소량으로 함유되었으며, 열수추출에서 가장 많은 함량이 들어있는 것을 확인하였다.



표 2-78. 추출조건별 머위의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Bakkenolide B (mg/g)	N.D	N.D	N.D	N.D
Quercetin (mg/g)	0.57 ± 0.40	1.31 ± 0.96	0.87 ± 0.54	N.D
Kaempferol (mg/g)	0.47 ± 0.30	0.48 ± 0.31	0.45 ± 0.27	N.D

- 우영의 지표물질인 2,4-di-tert-butylphenol는 항산화작용이 뛰어난 화합물이다. 우영의 HPLC 분석조건은 이동상은 MeOH:Water로 0분 80:100, 5분 100%:0%, 10분 100%:0%로 1.0 ml/min으로 이동해 주었으며, 10 ul 볼륨으로 주입한 후 276 nm에서 검출하였다.
- 우영을 추출용매인 물과 에탄올 농도별 (30%, 50%, 70%, 100%)과 온도별 상온 25°C, 70°C, 100°C에서 복합처리시 지표성분 함량을 측정하였다.
- 우영 열수추출 시 용매 종류와는 상관없이 지표물질이 검출되지 않은 것을 확인하였으며, 가온을 하였을 때 전반적으로 지표물질이 검출되었다. 우영의 지표물질인 2,4-di-tert-butylphenol은 용매 종류 보다는 추출온도에 영향을 많이 받는 것으로 판단되며, 추출 함량은 온도에 따라 변함없이 일정하게 검출되었다.

표 2-79. 우영 추출용매별과 온도별 복합처리 시 지표성분 함량 비교

Sample	2,4-di-tert-butylphenol 검출량 (mg/g) ext.		
	상온추출	70 °C 추출	100°C 추출
DW 100%	N.D	10.88	10.84
EtOH 30%	N.D	23.53	11.23
EtOH 50%	N.D	13.40	13.42
EtOH 70%	N.D	14.26	14.19
EtOH 100%	N.D	16.32	14.23

- 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 각각의 지표성분 물질의 함량을 측정하였다. 지표성분으로 지정한 화합물은 2,4-di-tert-butylphenol 이다.
- 우영 1 g을 처리한 경우 주정추출물에서 온도와 관계없이 높은 지표물질 함량을 나타냈고, 우영은 주정추출물을 이용하여 감주시제품을 개발하면 기능성 물질 증대 및 생리활성 효과가 높은 것으로 사료된다.

표 2-80. 추출조건별 우영의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
2,4-di-tert-butylphenol (mg/g)	N.D	9.37±1.31	8.68±0.51	12.75±5.04

- 우영겉질의 지표물질인 2,4-di-tert-butylphenol는 항산화작용이 뛰어난 화합물이다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 지표성분 물질의 함량을 측정하였다.
- 우영겉질 1 g을 처리한 경우 상온에서는 지표성분이 검출되지 않았으며, 60°C로 가온하였을 때에 비슷한 함량으로 검출되었다.

표 2-81. 추출조건별 우영겉질의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
2,4-di-tert-butylphenol (mg/g)	N.D	17.65	N.D	17.67

- 오미자의 지표물질인 Schizandrin은 혈중 콜레스테롤 저하 효능은 물론 항염증, 면역, 항진균에 효과가 탁월한 것으로 보고되었다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도 조건 상온 (25°C)과 가온 (60°C)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 지표성분 물질의 함량을 측정하였다.
- 오미자 1 g을 처리한 경우 가온 시 주정추출물에서 가장 많은 양의 지표물질이 검출되는 것을 확인하였으나, 물 추출물에서는 온도와 상관없이 모두 지표물질이 검출되는 것을 확인하였다. 또한 각 처리구별로 함량의 차이는 미세했으며, 오미자는 열수추출물을 이용하여 감주시제품을 개발하면 기능성 물질 증대 및 생리활성 효과가 높은 것으로 사료된다.

표 2-82. 추출조건별 오미자의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25°C	60°C	25°C	60°C
Schizandrin (mg/g)	3.37	2.59	0.68	3.71

- 비타민나무의 지표물질인 Ascorbic acid는 비타민C로 피로회복과 건강에 좋으며, 특히 비타민나무 잎은 녹차와는 달리 카페인이 없는 것이 특징이다. 추출용매는 물 (DW)과 주정 (EtOH), 온도조건 상온 (25℃)과 가온 (60℃)을 복합 처리한 총 4 조건으로 추출한 후 추출물 1 g 당 지표성분 물질의 함량을 측정하였다.
- 비타민나무 1 g을 처리한 경우 가온 시 비타민C가 파괴되어 검출이 되지 않는 것을 확인하였으며, 상온시 물 추출물에서 다량의 지표물질이 검출되는 것을 확인하였다. 비나민나무 열수추출물을 이용하여 감주시제품을 개발하면 기능성 물질 증대 및 생리활성 효과가 높은 것으로 사료된다.

표 2-83. 추출조건별 비타민나무의 지표성분 함량 비교

Sample (1 g)	Solvent			
	DW		EtOH	
Temp.	25℃	60℃	25℃	60℃
Ascorbic acid (mg/g)	18.07	N.D	10.21	N.D

#### 8) 감주에 첨가될 약용식물의 추출조건 확립

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우엉, 우엉껍질, 오미자, 비타민나무)의 추출조건을 확립하였다.
- 가시오갈피는 60℃ 온도에서 물과 주정으로 추출한 추출물을 시제품 감주에 첨가될 가시오갈피 약용식물 원료로 주관기관에 제공하였으며, 감주 시제품과 양호하게 혼합 가능한 물추출물과 기능성 효과가 높은 주정추출물을 선택하였다.
- 머위는 60℃ 온도에서 물과 주정으로 추출한 추출물을 시제품 감주에 첨가될 머위 약용식물 원료로 주관기관에 제공하였으며, 플라보노이드 지표성분 함량이 높은 물추출물과 항산화 효과가 높은 주정추출물을 선택하였다.
- 우엉은 60℃ 온도에서 물과 주정으로 추출한 추출물을 시제품 감주에 첨가될 우엉 약용식물 원료로 주관기관에 제공하였으며, 지표성분 함량이 높고 항산화 효과가 높은 60℃ 물추출물과 주정추출물을 선택하였다.
- 우엉껍질, 오미자, 비타민나무는 60℃ 온도에서 물과 주정으로 추출한 추출물을 시제품 감주에 첨가될 우엉껍질, 오미자, 비타민나무 약용식물 원료로 주관기관에 제공하였으며, 각각의 지표성분 함량이 높고 항산화 효과가 높은 60℃ 물추출물과 주정추출물을 선택하였다.
- 주관기관은 제공받은 약용식물 추출물을 활용하여 약용식물을 첨가한 감주를 개발하였으며, 각각의 항산화 효능 및 기능성이 높은 시제품을 선별하여 제품화를 추진하였다.

표 2-84. 약용식물의 추출조건 확립

Sample	Solvent	추출수율 (%)	Brix (° Bx/100ml)
가시오갈피	DW	5.3	14.0
	EtOH	3.0	6.2
머위	DW	20.4	12.0
	EtOH	8.0	5.0
우영	DW	18.0	11.0
	EtOH	9.2	8.0
우영껍질	DW	17.0	17.0
	EtOH	43.0	32.0 이상
오미자	DW	43.9	26.0
	EtOH	37.2	23.0
비타민나무	DW	17.1	15.0
	EtOH	7.7	12.7

#### 4. 약용식물 첨가 감주 시제품의 생리활성 검정 및 기능성 분석

##### 1) 약용식물 첨가 감주 시제품 개발 현황

- 감주에 첨가될 약용식물 (가시오갈피, 머위, 우영, 우영껍질, 오미자, 비타민나무)를 활용하여 코지별로 약용식물 첨가 감주 시제품을 개발하였다.
- 약용식물 종류별, 추출방법에 따른 추출물별, 제국별, 당화방법 등 복합처리하여 총 48개의 시제품을 주관기관에서 이를 제공받아 기능검정을 진행하다.
- 각각의 약용식물 첨가 감주 시제품의 당도와 산도는 다르게 나타났으며, 산미가 있으면서 당도가 높은 제품을 우선 선호하며, 기능성도 높은 시제품을 제품화할 것이다.
- 보통 당도는 20 brix 안팎으로 측정이 되었으며, 대조군인 황국, 흑국, 홍국의 산도와 약용식물을 첨가한 감주는 각각의 코지의 산도와 비슷한 결과를 나타냈다. 즉 황국보다는 홍국이 더 시큼한 맛을 내는 것을 확인하였다.
- 또한 당화방법으로 약용식물과 함께 동시당화하는 것과 당화 후 약용식물을 첨가하는 방법으로 당도를 측정한 결과 주로 당화 후 약용식물을 첨가한 것이 당도가 높은 것을 확인하였다. 이는 동시 당화시 약용식물의 기능성 성분과 코지의 미생물들이 당류의 결합을 모두 끊었을 것으로 사료되며, 이에 따라 당도가 낮아진 것으로 사료된다.

표 2-85. 약용식물 첨가 감주 시제품의 이화학적 특성

	약용식물	코지	추출방법	당화방법	Brix	pH
1	가시오갈피	황국	열수추출	동시당화	20	6.1
2				당화후첨가	21.8	5.9
3		흑국	열수추출	동시당화	18.6	3.8
4				당화후첨가	25.6	3.8
5		홍국	열수추출	동시당화	18	4
6				당화후첨가	21.4	3.9
7	우영	황국	열수추출	동시당화	15	6
8				당화후첨가	19.8	5.9
9		에탄올추출	동시당화	13.4	6.2	
10			당화후첨가	21.8	5.9	
11		흑국	열수추출	동시당화	19	3.8
12				당화후첨가	25.4	3.8
13	에탄올추출	동시당화	17.8	3.7		
14		당화후첨가	25.6	3.9		
15	홍국	열수추출	동시당화	19.8	4	
16			당화후첨가	21.4	3.9	
17		에탄올추출	동시당화	19.4	3.9	
18			당화후첨가	16.6	3.9	
19	우영겉질	황국	열수추출	동시당화	17.2	5.9
20				당화후첨가	18.4	5.8
21		흑국	열수추출	동시당화	19.2	3.8
22				당화후첨가	25.4	3.7
23		홍국	열수추출	동시당화	14.4	3.9
24				당화후첨가	21.8	3.9
25	머위	황국	열수추출	동시당화	18	5.6
26				당화후첨가	21.6	5.7
27		흑국	열수추출	동시당화	18	3.9
28				당화후첨가	23.8	3.8
29		홍국	열수추출	동시당화	14.8	4
30				당화후첨가	21.8	3.9

표 2-85(계속). 약용식물 첨가 감주 시제품의 이화학적 특성

	약용식물	코지	추출방법	당화방법	Brix	pH
31	오미자	황국	열수추출	동시당화	19	5.7
32				당화후첨가	22	5.7
33		흑국	열수추출	동시당화	18.4	3.8
34				당화후첨가	25.2	3.8
35		홍국	열수추출	동시당화	19.6	3.9
36				당화후첨가	21.8	3.9
37	비타민나무	황국	열수추출	동시당화	19.6	6
38				당화후첨가	21.6	5.9
39		에탄올추출	동시당화	19	6	
40			당화후첨가	22	6	
41		흑국	열수추출	동시당화	19	3.8
42				당화후첨가	25.6	3.8
43	에탄올추출	동시당화	19.4	3.7		
44		당화후첨가	23	3.8		
45	홍국	열수추출	동시당화	16.2	4	
46			당화후첨가	21.8	4	
47		에탄올추출	동시당화	20	3.9	
48			당화후첨가	21	3.9	
49	황국	대조군		22	5.9	
50	흑국	대조군		25.8	3.8	
51	홍국	대조군		21.5	4	

- 가시오가피를 열수추출법으로 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화와 동시에 첨가하였을 경우에는 대조군에 비하여 2.0~7.5 범위에서 Brix 값이 감소하여 당도가 감소하였으나, 당화 후 첨가한 경우 대조군과 비교하였을 때 Brix 값은 0.1~0.2 차이가 있고 가시오가피 추출물이 당화 후 첨가한 경우 당도에 영향을 미치지 않았다.

- 머위를 열수추출로 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화와 동시에 첨가하였을 경우에는 대조군에 비하여 4.0~7.8 범위에서 Brix 값이 감소하여 당도가 감소하였으나, 당화 후 첨가한 경우 대조군과 비교하였을 때 Brix 값은 0.3~2.0 차이가 있고 가시오가피 추출물이 당화 후 첨가된 경우 당도에 영향을 미치지 않았다.
- pH 값은 약용 식물 추출물을 당화 후 첨가한 경우에 유지되거나 0.1~0.2 범위 내에서 감소하였다.



그림 2-31. 약용식물 첨가 감주 시제품

## 2) 약용식물 첨가 감주 시제품 항산화 활성 검정

- 약용식물 첨가 감주 시제품의 전반적인 항산화 활성 데이터는 표 2-87와 같다.
- 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 각각 첨가하였을 때 DPPH 항산화활성 검정에서 대조군보다 증가된 값을 갖고 대조군보다 항산화력이 증가되었다.
- 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 각각 첨가하였을 때 ABTS 항산화활성 검정에서 대조군보다 증가된 값을 갖고 대조군보다 항산화력이 증가되었다.
- 가시오가피를 열수 추출하여 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 첨가하였을 때 총 페놀 함량이 대조군에 비하여 증가하였으므로 항산화력이 증가되었다.
- 머위를 열수 추출하여 황국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 첨가하였을 때 총 페놀 함량이 대조군에 비하여 증가하였으므로 항산화력이 증가되었다.
- 환원력 측정의 대조군으로는 항산화제로 잘 알려져 있는 아스코르브산(ascorbic acid (AA))을 사용하였는데, 아스코르브산의 경우 0.086 mg/ml의 IC<sub>50</sub>값을 갖는다.
- 가시오가피, 머위 추출물을 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 첨가하였을 때, 각각의 대조군보다 환원력이 증가되었다.
- 약용 식물 추출물을 첨가한 쌀 발효 음료의 환원력 검정 결과 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 추출물을 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 첨가하였을 때, 당화 후에 첨가한 황국 쌀 발효 음료가 추출물을 첨가하지 않은 대조군 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료보다 환원력이 증가했다.

표 2-87. 약용식물 첨가 감주 시제품의 항산화 활성 검정

	Sample	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Total Phenolic Contents (mg · GAE/g)
1	가시오갈피 황국 열수추출 동시당화	67.31 ± 1.68	61.50%±0.66	251.72 ± 6.30
2	가시오갈피 황국 열수추출 당화 후 첨가	68.24 ± 5.13	65.70%±0.76	275.33 ± 7.30
3	가시오갈피 흑국 열수추출 동시당화	69.16 ± 3.53	75.66%±0.38	358.64 ± 2.76
4	가시오갈피 흑국 열수추출 당화 후 첨가	72.58 ± 1.92	82.52%±0.03	454.78 ± 5.82
5	가시오갈피 홍국 열수추출 동시당화	77.65 ± 0.97	72.78%±0.38	351.48 ± 4.87
6	가시오갈피 홍국 열수추출 당화 후 첨가	84.21 ± 0.48	80.53%±0.76	412.01 ± 3.07
7	우영 황국 열수추출 동시당화	60.94 ± 2.54	51.32%±0.38	200.97 ± 5.19
8	우영 황국 열수추출 당화 후 첨가	73.50 ± 3.94	59.95%±0.38	256.94 ± 8.25
9	우영 황국 에탄올추출 동시당화	52.54 ± 6.20	45.35%±1.01	187.80 ± 7.71
10	우영 황국 에탄올추출 당화 후 첨가	80.79 ± 4.49	64.82%±1.99	294.74 ± 4.23
11	우영 흑국 열수추출 동시당화	73.41 ± 2.54	75.00%±1.01	367.02 ± 5.39
12	우영 흑국 열수추출 당화 후 첨가	80.42 ± 2.77	84.29%±1.01	457.46 ± 0.02
13	우영 흑국 에탄올추출 동시당화	68.88 ± 1.28	73.23%±1.38	355.64 ± 5.34
14	우영 흑국 에탄올추출 당화 후 첨가	83.29 ± 1.58	82.30%±0.38	455.03 ± 4.54
15	우영 홍국 열수추출 동시당화	81.90 ± 0.70	75.00%±0.76	367.06 ± 7.26
16	우영 홍국 열수추출 당화 후 첨가	83.66 ± 2.00	83.62%±1.01	389.16 ± 5.46
17	우영 홍국 에탄올추출 동시당화	83.47 ± 3.44	83.18%±1.01	384.37 ± 2.06
18	우영 홍국 에탄올추출 당화 후 첨가	77.75 ± 1.62	67.69%±1.01	312.93 ± 9.40



표 2-87(계속). 약용식물 첨가 감주 시제품의 항산화 활성 검정

	Sample	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Total Phenolic Contents (mg · GAE/g)
19	우영 껍질 황국 열수추출 동시당화	60.02 ± 1.89	68.38%±0.00	214.84 ± 1.20
20	우영 껍질 황국 열수추출 당화 후 첨가	61.59 ± 2.56	64.94%±0.74	229.63 ± 2.85
21	우영 껍질 흑국 열수추출 동시당화	65.00 ± 1.89	78.70%±1.70	367.52 ± 3.15
22	우영 껍질 흑국 열수추출 당화 후 첨가	76.08 ± 0.97	85.16%±1.11	430.31 ± 6.42
23	우영 껍질 홍국 열수추출 동시당화	63.62 ± 4.15	73.11%±2.44	251.83 ± 1.66
24	우영 껍질 홍국 열수추출 당화 후 첨가	75.16 ± 0.58	89.67%±0.00	353.77 ± 2.61
25	머위 황국 열수추출 동시당화	78.21 ± 2.94	67.95%±2.07	233.99 ± 6.36
26	머위 황국 열수추출 당화 후 첨가	90.03 ± 0.48	69.24%±0.37	304.17 ± 0.53
27	머위 흑국 열수추출 동시당화	87.90 ± 2.24	80.43%±0.37	366.51 ± 3.98
28	머위 흑국 열수추출 당화 후 첨가	92.06 ± 0.16	84.08%±0.37	432.96 ± 9.84
29	머위 홍국 열수추출 동시당화	88.55 ± 0.97	76.77%±0.64	317.28 ± 6.05
30	머위 홍국 열수추출 당화 후 첨가	92.52 ± 0.00	81.50%±0.37	400.91 ± 7.80
31	오미자 황국 열수추출 동시당화	60.02 ± 8.58	64.08%±0.74	249.02 ± 4.64
32	오미자 황국 열수추출 당화 후 첨가	66.67 ± 4.56	67.52%±0.37	280.02 ± 0.33
33	오미자 흑국 열수추출 동시당화	55.68 ± 2.92	74.62%±0.74	347.24 ± 4.35
34	오미자 흑국 열수추출 당화 후 첨가	77.75 ± 3.82	88.81%±0.37	415.72 ± 6.50
35	오미자 홍국 열수추출 동시당화	76.55 ± 2.32	81.50%±1.62	357.73 ± 7.82
36	오미자 홍국 열수추출 당화 후 첨가	80.61 ± 1.27	85.16%±0.00	382.42 ± 6.05
37	비타민나무 황국 열수추출 동시당화	89.57 ± 2.40	61.87%±1.72	259.16 ± 2.88
38	비타민나무 황국 열수추출 당화 후 첨가	92.80 ± 1.39	79.63%±2.09	349.41 ± 5.26
39	비타민나무 황국 에탄올추출 동시당화	87.81 ± 0.42	61.41%±1.04	250.03 ± 6.34
40	비타민나무 황국 에탄올추출 당화 후 첨가	91.60 ± 0.16	66.21%±0.79	315.36 ± 6.51

표 2-87(계속). 약용식물 첨가 감주 시제품의 항산화 활성 검정

Sample	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Total Phenolic Contents (mg · GAE/g)
41 비타민나무 흑국 열수추출 동시당화	94.09 ± 0.32	77.85%±0.39	368.21 ± 2.05
42 비타민나무 흑국 열수추출 당화 후 첨가	93.72 ± 0.16	85.38%±0.79	465.50 ± 5.43
43 비타민나무 흑국 에탄올추출 동시당화	94.55 ± 0.32	76.94%±0.79	373.32 ± 0.98
44 비타민나무 흑국 에탄올추출 당화 후 첨가	93.72 ± 0.16	81.27%±0.39	416.81 ± 6.00
45 비타민나무 홍국 열수추출 동시당화	92.61 ± 0.42	71.91%±0.00	333.77 ± 6.95
46 비타민나무 홍국 열수추출 당화 후 첨가	93.54 ± 0.16	81.96%±0.79	418.69 ± 6.44
47 비타민나무 홍국 에탄올추출 동시당화	92.61 ± 0.16	80.13%±0.68	395.36 ± 3.43
48 비타민나무 홍국 에탄올추출 당화 후 첨가	93.63 ± 0.28	78.31%±1.58	398.15 ± 3.95
49 황국 대조군	55.49 ± 5.05	72.90%±1.58	287.61 ± 3.65
50 흑국 대조군	71.10 ± 2.80	84.73%±0.74	444.13 ± 3.59
51 홍국 대조군	74.42 ± 4.96	81.29%±0.64	398.60 ± 6.17

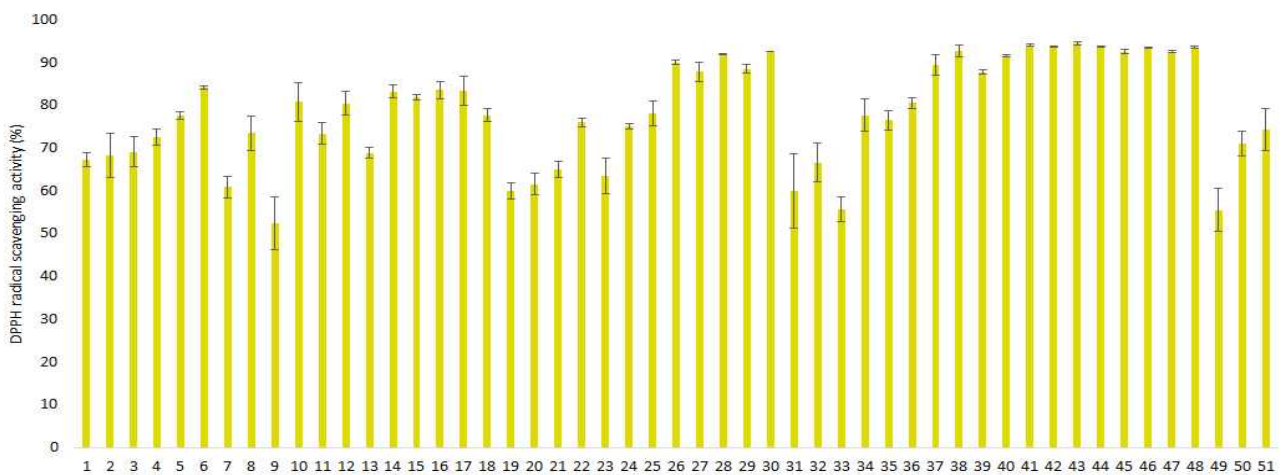


그림 2-32. 약용식물 첨가 감주 시제품의 DPPH 라디칼 소거능

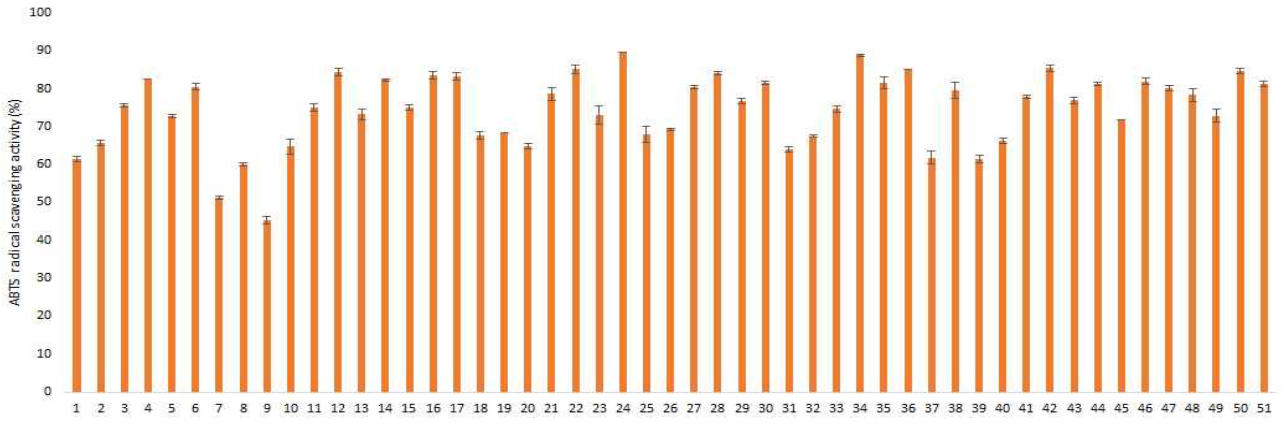


그림 2-33. 약용식물 첨가 감주 시제품의 ABTS 라디칼 소거능

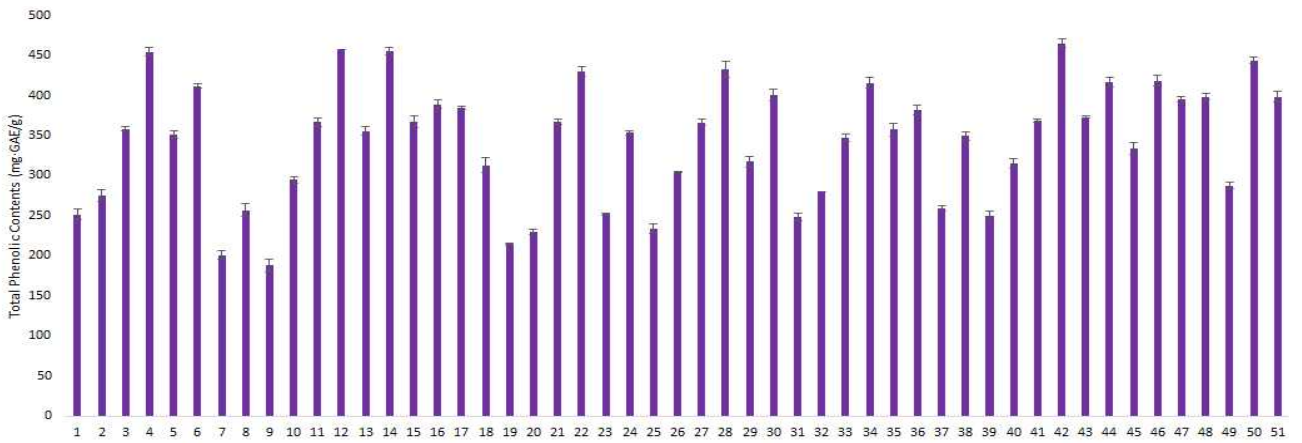


그림 2-34. 약용식물 첨가 감주 시제품의 총 페놀 함량 분석

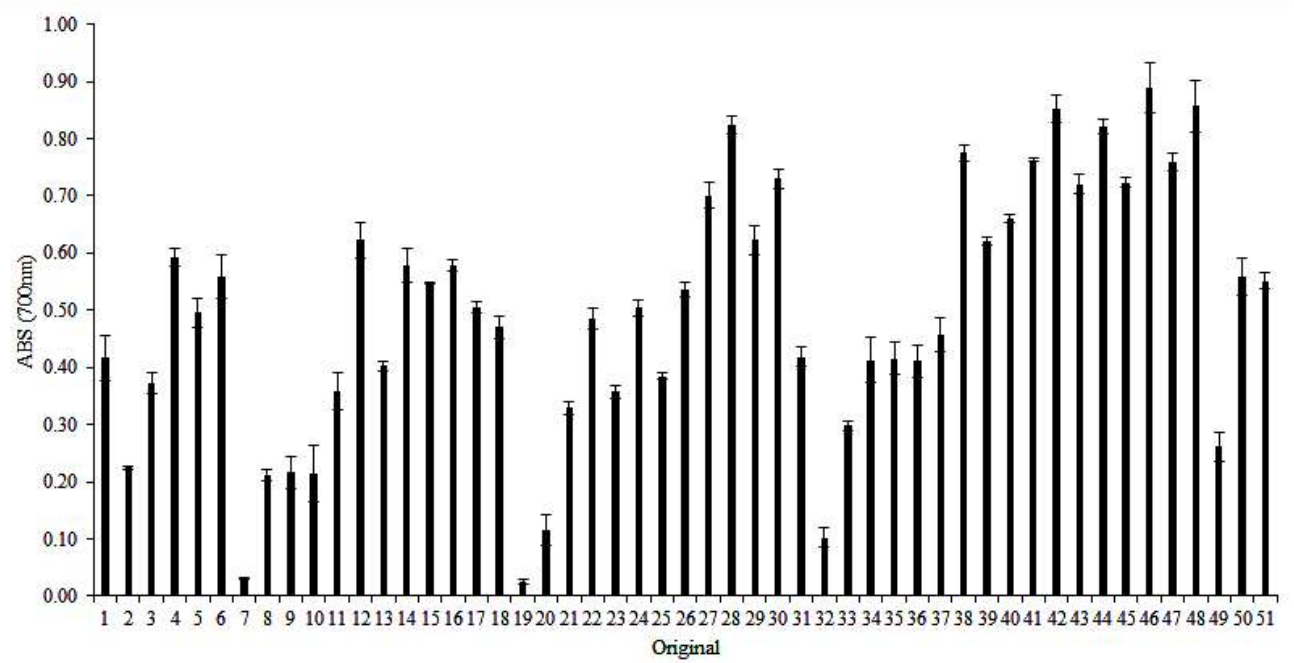


그림 2-35. 약용식물 첨가 감주 시제품의 환원력

### 3) 약용식물 첨가량에 따른 약용식물 첨가 감주 시제품의 항산화 활성 검정

- 가시오가피와 머위는 약용식물 추출물의 첨가량을 다르게 하여서 실험을 진행하였다. 시제품으로 개발한 것은 약용식물 20g을 첨가한 것 (표 2-88)인데 본 연구는 10g과 15g을 처리 (표 2-87)해보았다.
- 가시오가피를 열수 추출하여 추출물 10g 또는 15g을 황국 쌀 발효 음료에 첨가하였을 때, 당화 후에 첨가한 황국 쌀 발효 음료가 당화와 동시에 첨가한 황국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가했으나, 추출물을 첨가하지 않은 대조군인 황국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가하지 않았다.
- 가시오가피를 열수 추출하여 추출물 10g 또는 15g을 흑국 쌀 발효 음료에 첨가하였을 때, 당화 후에 첨가한 황국 쌀 발효 음료가 당화와 동시에 첨가한 흑국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가했으나, 추출물을 첨가하지 않은 대조군인 흑국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가하지 않았다.
- 가시오가피를 열수 추출하여 추출물 10g 또는 15g을 홍국 쌀 발효 음료에 첨가하였을 때, 추출물을 첨가하지 않은 대조군인 홍국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가하지 않았다.
- 머위를 열수 추출하여 추출물 10g 또는 15g을 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 첨가하였을 때, 당화 후에 첨가한 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료가 당화와 동시에 첨가한 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가했으나, 추출물을 첨가하지 않은 대조군인 황국 쌀 발효 음료보다 항산화력이 증가하지 않았다.
- 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 각각 20g을 첨가하였을 때 DPPH 항산화활성 검정에서 대조군보다 증가된 값을 갖고 대조군보다 항산화력이 증가되었다.
- 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 각각 20g을 첨가하였을 때 ABTS 항산화활성 검정에서 대조군보다 증가된 값을 갖고 대조군보다 항산화력이 증가되었다.
- 총 페놀 함량 측정 및 검량가시오가피를 열수 추출하여 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 20g을 첨가하였을 때 총 페놀 함량이 대조군에 비하여 증가하였으므로 항산화력이 증가되었다.
- 머위를 열수 추출하여 황국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 20 g을 첨가하였을 때 총 페놀 함량이 대조군에 비하여 증가하였으므로 항산화력이 증가되었다.
- 가시오가피, 머위를 열수 추출하여 황국, 흑국, 홍국 쌀 발효 음료에 당화 후에 각각 20 g을 첨가한 결과 항당뇨 활성 검정은 대조군에 비하여 증가한 값을 갖고 이를 통해 각 쌀 발효 음료의 항산화력이 증가하였다.

표 2-88. 약용식물을 10g과 15g을 첨가할 때 감주의 항산화 검정

감주종류	10g 첨가할 때		15g 첨가할 때	
	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)
1 가시오가피 황국 열수추출 동시당화	21.98 ± 2.16	40.56 ± 0.65	38.41 ± 2.22	55.26 ± 1.95
2 가시오가피 황국 열수추출 당화 후 첨가	34.84 ± 2.27	46.33 ± 0.55	48.75 ± 3.66	60.32 ± 1.27
3 가시오가피 흑국 열수추출 동시당화	29.90 ± 1.86	65.14 ± 0.29	45.42 ± 1.92	73.89 ± 1.21
4 가시오가피 흑국 열수추출 당화 후 첨가	32.64 ± 1.69	72.94 ± 0.88	48.66 ± 2.15	81.78 ± 1.05
5 가시오가피 홍국 열수추출 동시당화	31.19 ± 0.44	64.40 ± 1.05	49.22 ± 0.64	74.70 ± 1.53
6 가시오가피 홍국 열수추출 당화 후 첨가	46.21 ± 3.63	62.77 ± 4.58	62.33 ± 2.99	73.98 ± 0.35
7 머위 황국 열수추출 동시당화	32.41 ± 0.94	30.34 ± 1.27	50.32 ± 0.58	45.98 ± 1.29
8 머위 황국 열수추출 당화 후 첨가	70.04 ± 0.47	44.80 ± 0.87	79.41 ± 0.16	58.70 ± 1.21
9 머위 흑국 열수추출 동시당화	54.27 ± 1.74	62.52 ± 1.36	69.06 ± 2.24	73.68 ± 0.93
10 머위 흑국 열수추출 당화 후 첨가	69.08 ± 1.34	78.76 ± 0.40	85.32 ± 0.96	86.84 ± 1.53
11 머위 홍국 열수추출 동시당화	47.86 ± 0.43	52.92 ± 0.50	65.01 ± 0.00	66.19 ± 0.70
12 머위 홍국 열수추출 당화 후 첨가	69.11 ± 1.20	72.57 ± 0.48	79.96 ± 0.85	81.58 ± 1.95
13 황국 대조군	55.49 ± 5.05	72.90%±1.58	55.49 ± 5.05	72.90%±1.58
14 흑국 대조군	71.10 ± 2.80	84.73%±0.74	71.10 ± 2.80	84.73%±0.74
15 홍국 대조군	74.42 ± 4.96	81.29%±0.64	74.42 ± 4.96	81.29%±0.64

표 2-89. 약용식물을 20g을 첨가할 때 감주의 항산화 검정

	감주종류	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Total Phenolic Contents (mg · GAE/g)	$\alpha$ -Glucosidase inhibition activity (%)
1	가시오가피 황국 열수추출 동시당화	67.31 ± 1.68	75.30 ± 1.26	251.72 ± 6.30	83.79 ± 1.37
2	가시오가피 황국 열수추출 당화 후 첨가	68.24 ± 5.13	78.54 ± 0.70	290.33 ± 5.30	88.15 ± 1.08
3	가시오가피 흑국 열수추출 동시당화	69.16 ± 3.53	83.81 ± 0.35	358.64 ± 2.76	89.93 ± 1.45
4	가시오가피 흑국 열수추출 당화 후 첨가	72.58 ± 1.92	91.70 ± 0.93	454.78 ± 5.82	93.32 ± 0.83
5	가시오가피 홍국 열수추출 동시당화	77.65 ± 0.97	86.64 ± 1.61	351.48 ± 4.87	91.51 ± 1.14
6	가시오가피 홍국 열수추출 당화 후 첨가	84.21 ± 0.48	87.20 ± 1.61	412.01 ± 3.07	95.30 ± 0.27
7	머위 황국 열수추출 동시당화	78.21 ± 2.94	67.95%±2.07	233.99 ± 6.36	85.54 ± 1.71
8	머위 황국 열수추출 당화 후 첨가	90.03 ± 0.48	74.15%±1.37	304.17 ± 0.53	88.94 ± 0.26
9	머위 흑국 열수추출 동시당화	87.90 ± 2.24	80.43%±0.37	366.51 ± 3.98	90.82 ± 0.20
10	머위 흑국 열수추출 당화 후 첨가	92.06 ± 0.16	85.10%±0.37	450.70 ± 8.62	93.51 ± 0.52
11	머위 홍국 열수추출 동시당화	88.55 ± 0.97	76.77%±0.64	317.28 ± 6.05	87.39 ± 1.05
12	머위 홍국 열수추출 당화 후 첨가	92.52 ± 0.00	81.50%±0.37	400.91 ± 7.80	92.05 ± 0.56
13	황국 대조군	55.49 ± 5.05	72.90%±1.58	287.61 ± 3.65	87.19 ± 0.15
14	흑국 대조군	71.10 ± 2.80	84.73%±0.74	444.13 ± 3.59	91.59 ± 0.68
15	홍국 대조군	74.42 ± 4.96	81.29%±0.64	398.60 ± 6.17	89.96 ± 0.65

4) 약용식물 첨가 감주 시제품의 유리당 분석

- HPLC (High Performance Liquid Chromatography)를 활용하여 정밀기기를 통한 유리당 성분의 함량 차이를 비교 분석하였다.
- 대체적으로 Glucose 함량이 가장 많은 것을 확인하였으며, 가시오갈피 동시당화시 코지에서는 검출이 되지 않았던 Sucrose가 검출이 되었다
- Fructose는 전반적 모든 감주 시제품에서 검출이 되지 않았으며, 흑국에서는 Maltose가 검출이 되지 않았다.

표 2-90. 약용식물을 첨가한 감주 시제품의 유리당 분석

Sample	Isolated sucrose contents (ug/ml)				
	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Lactose
가시오갈피 황국 열수추출 동시당화	-	148004.64	329.73	31112.07	14101.7
가시오갈피 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	-
가시오갈피 홍국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	16112.44
우영 황국 열수추출 동시당화	-	107890.94	-	25616.66	17656.96
우영 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	13163.246
우영 홍국 열수추출 동시당화	-	-	-	8155.61	16137.26
우영 껌질 황국 열수추출 동시당화	-	122330.42	-	34186.75	16826.13
우영 껌질 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	11185.72
우영 껌질 홍국 열수추출 동시당화	-	157522.94	-	-	8796.87
머위 황국 열수추출 동시당화	-	129566.74	-	31063.75	12011.64
머위 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	10590.93
머위 홍국 열수추출 동시당화	-	155490.2	-	-	7991.59
오미자 황국 열수추출 동시당화	-	143229.29	-	26464.37	20709.43
오미자 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	5035.09	13189.95
오미자 홍국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	16130.54
비타민나무 황국 열수추출 동시당화	-	137374.65	-	33157.57	17032.92
비타민나무 흑국 열수추출 동시당화	-	-	-	-	8610.93
비타민나무 홍국 열수추출 동시당화	-	-	-	5094.47	15649.68
황국 대조군	-	156606.42	-	42426.6	15823.91
흑국 대조군	-	-	-	-	14312.37
홍국 대조군	-	-	-	3829.62	18526.38

5) 약용식물 첨가 감주 시제품의 지표물질 분석

- 약용식물 첨가 감주 시제품의 지표물질이 검출되는지 확인하고자 분석을 시행하였다. (우영:2,4-di-tert-butylphenol, 가시오갈피: eleutheroside E, 머위: bakkenolide B)
- 가시오갈피를 첨가한 감주에서는 황국보다는 홍국 Koji를 첨가하였을 때 지표성분의 함량이 높게 나타났다.
- 지표성분 eleutheroside E 성분은 증류수보다는 MeOH로 희석하였을 때 검출이 조금 더 잘 되는 것을 확인하였다.
- 감주에 당성분이 많아서 우영과 머위 지표성분은 대부분 극소량이거나 검출이 되지 않았다.

표 2-91. 약용식물을 첨가한 감주 시제품의 가시오갈피 지표물질 분석

Sample	분석방법	Eleutheroside E (mg/g)
가시오갈피 황국 열수추출 동시당화	water (1/2)희석	0.87 ± 0.10
	MeOH (1/2)희석	0.85 ± 0.08
가시오갈피 황국 열수추출 당화 후 첨가	water (1/2)희석	0.84 ± 0.05
	MeOH (1/2)희석	0.86 ± 0.09
가시오갈피 흑국 열수추출 동시당화	water (1/2)희석	0.98 ± 0.07
	MeOH (1/2)희석	1.02 ± 0.21
가시오갈피 흑국 열수추출 당화 후 첨가	water (1/2)희석	0.95 ± 0.12
	MeOH (1/2)희석	1.53 ± 0.54
가시오갈피 홍국 열수추출 동시당화	water (1/2)희석	1.28 ± 0.56
	MeOH (1/2)희석	1.43 ± 0.54
가시오갈피 홍국 열수추출 당화 후 첨가	water (1/2)희석	1.44 ± 0.61
	MeOH (1/2)희석	1.00 ± 0.06
가시오갈피	70°C DW 100%	4.39 ± 0.43



표 2-92. 약용식물을 첨가한 감주 시제품의 우영과 우영껍질 지표물질 분석

Sample	2,4-di-tert-butylphenol (mg/g)
우영 황국 열수추출 동시당화	N.D
우영 황국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 황국 에탄올추출 동시당화	N.D
우영 황국 에탄올추출 당화 후 첨가	N.D
우영 흑국 열수추출 동시당화	N.D
우영 흑국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 흑국 에탄올추출 동시당화	N.D
우영 흑국 에탄올추출 당화 후 첨가	N.D
우영 홍국 열수추출 동시당화	N.D
우영 홍국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 홍국 에탄올추출 동시당화	N.D
우영 홍국 에탄올추출 당화 후 첨가	N.D
우영 열수추출물	9.37 ± 1.31mg/g
우영 주정추출물	12.75 ± 5.04mg/g
우영 껍질 황국 열수추출 동시당화	N.D
우영 껍질 황국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 껍질 흑국 열수추출 동시당화	N.D
우영 껍질 흑국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 껍질 홍국 열수추출 동시당화	N.D
우영 껍질 홍국 열수추출 당화 후 첨가	N.D
우영 껍질 열수추출물	N.D

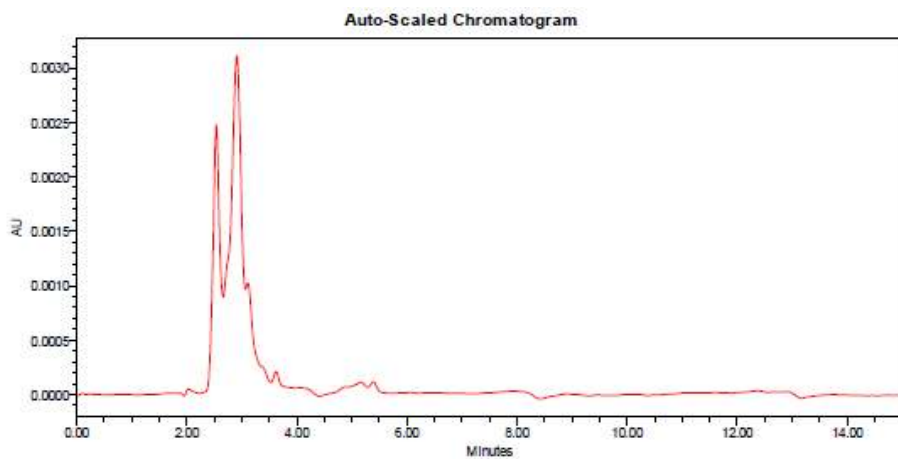


그림 2-36. 머위첨가 감주 시제품의 지표성분 (bakkenolide B) 분석

## 2-3. 위탁기관 : 건국대학교 산학협력단

### ○ 쌀 발효에 적합한 프로바이오틱스와 제품의 기능성 및 미생물적 위생 안전성 검증

#### 1. 전통발효식품으로부터 프로바이오틱스 분리·선별 및 발효 소재에 따른 조건 최적화

##### 1) 전통발효식품 유래 유산균 확보

- 전통발효식품 분리균주를 확보한 결과 총 유산균 12주를 확보하였다.

표 2-93. 전통발효식품 유래 유산균의 확보 현황(총 12주)

Strains	분리원	배지조성	배양온도(°C)	산소요구성
SC28	낙지젓갈	MRS	37	F. aerobe <sup>1</sup>
KU15040	배추김치	MRS	37	F. anaerobe <sup>2</sup>
KU15120	깍두기	MRS	37	F. anaerobe
KU15147	배추김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15148	배추김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15149	깍두기	MRS	37	F. anaerobe
KU15151	알타리김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15152	알타리김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15154	배추김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15156	배추김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15159	배추김치	MRS	37	F. anaerobe
KU15176	배추김치	MRS	37	F. anaerobe

<sup>1</sup>Facultative aerobe, <sup>2</sup>Facultative anaerobe

##### 2) 감주에 따른 쌀 발효에 적합한 유산균 1차 선정

- 소비자의 기호성에 적합한 균주를 먼저 선별하기 위해 황국, 흑국, 홍국으로 발효한 감주에 전통발효식품으로부터 분리한 유산균 12주를 각각 발효한 후, pH 측정과 관능평가 (소비자기호도)를 진행하였다.
- 전날 MRS broth에 유산균을 접종하여 37°C, 18시간 배양한 배양액을 PBS buffer로 3회 washing한 후, 얻어진 균체를 감주에 10<sup>5</sup> CFU/ml로 접종하여 32°C, 18~20 시간 배양하여 발효감주를 얻었다.
- 관능평가 방법은 5점 척도법(1점: 매우 안 좋다, 2점: 안 좋다, 3점: 보통이다, 4점: 좋다, 5점: 매우 좋다)을 사용하였으며 과일향을 기준으로 전체적인 향미를 평가함. 관능평가에는 훈련된 요원으로서 남성 3명, 여성 3명이 참여하였다.

- 전통발효식품 유래 유산균 12주를 이용하여 감주를 발효한 후 향미성분에 대한 pH 측정과 관능평가 결과, 흑국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 SC28, KU15148, KU15151이었으며, 황국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 SC28, KU15040, KU15147이었으며, 홍국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 SC28, KU15154, KU15156으로 선정되었다. 보고된 바에 의하면, 과일향 성분으로는 acetaldehyde (green apples), ethyl acetate (fruity, sweet, brandy-like)로 추정하고 있다. 선별된 균주는 이후 프로바이오틱스 특성과 쌀 발효 적합성 검사를 진행하였다.

표 2-94. 전통발효식품 유래 유산균의 pH 측정과 1차 관능평가 결과(총 12주)

Strains	관능평가			pH 측정		
	황국	흑국	홍국	황국	흑국	홍국
SC28	23	23	25	3.34	3.41	3.52
KU15040	22	15	15	3.36	3.34	3.50
KU15120	19	15	18	3.03	3.06	3.23
KU15147	22	14	15	3.22	3.33	3.46
KU15148	14	20	17	3.22	3.31	3.45
KU15149	18	18	15	2.98	3.03	3.20
KU15151	16	19	13	3.18	3.32	3.47
KU15152	19	18	13	3.22	3.36	3.49
KU15154	16	18	22	3.22	3.30	3.32
KU15156	17	17	26	3.02	3.06	3.21
KU15159	17	16	16	3.13	3.17	3.32
KU15176	12	16	17	3.11	3.14	3.27

Acceptability was evaluated on a 5-point scale as follows: 1=very poor, 2=poor, 3=accept, 4=good, 5=very good.

## 2. 유용균주, 상용균주, 표준균주의 프로바이오틱스 특성 확인

### 1) 내산성·내담즙성 측정

- 건강기능식품 및 유제품에 사용되는 유산균의 경우 체내 섭취 시, 장까지 도달하기 위해서 내산성과 내담즙성이 우수해야한다.
- 내산성 측정 방법은 다음과 같다. 전통발효식품 분리균주들은 하루 전에 MRS broth에 접종시킨 후 16시간~18시간 정도 37°C incubator에서 배양함. 3 mg/ml pepsin을 첨가한 pH 2.5 MRS broth 9 ml에 균 배양액 1 ml를 접종시킨 후 접종된 균수와 37°C에서 3시간 배양 뒤의 생존수를 각각 MRS agar에 도말하여 계수하였다. 접종액과 pH 2.5 배양액의 생존수를 비교하여 생존율을 구하고 이 중에서 내산성을 지닌 균주를 선별하였다.
- 내산성 실험에 대한 생존율을 측정하는 식은 다음과 같다.

$$\text{Survival rate(\%)} = \frac{\text{Log } N_1(\text{CFU/ml})}{\text{Log } N_0(\text{CFU/ml})} \times 100$$

$N_1$ , total viable count of strains after treatment by simulated gastrointestinal juices

$N_0$ , total viable count of strains before treatment

- 내담즙성 실험은 MRS broth에 유산균을 접종하여 16시간~18시간 배양시킨 후 3 mg/ml oxgall을 첨가한 pH 7 MRS broth 9 ml에 균 배양액 1 ml를 접종시킨 후 접종균수와 37°C에서 24시간 배양 뒤의 생균수를 도말을 통해 비교하여 생존율을 측정하였다.
- 내담즙성 실험에 대한 생존율을 측정하는 식은 다음과 같다.

$$\text{Survival rat}(\%) = \frac{\text{Log } N_1(\text{CFU/ml})}{\text{Log } N_0(\text{CFU/ml})} \times 100$$

$N_1$ , total viable count of strains after treatment by simulated gastrointestinal juices

$N_0$ , total viable count of strains before treatment

- 관능평가를 통해 선별한 전통발효식품 분리균주 유산균 7주에 대한 내산·내담즙성 실험 결과, 내산·내담즙성 모두 생존율 70%기준으로 볼 때, KU15040 균주를 제외한 유산균 6주가 내산·내담즙성이 우수한 균으로 판단되어 다음 단계인 효소생산능 실험을 실시하였다(표 2-1).

표 2-95. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 내산·내담즙성(총 7주)

Strains	Acid tolerance (%)	Bile salt tolerance (%)
SC28	98.11	91.17
KU15040	46.92	103.17
KU15147	98.94	106.99
KU15148	100.34	106.78
KU15151	99.89	113.20
KU15154	100.54	109.47
KU15156	98.23	74.63

## 2) 효소 생산능 측정

- 내산·내담즙성 실험에서 70%이상 생존율을 보인 전통발효식품 분리 유산균 6주에 대해 유해 효소를 생산하는지 확인하기 위해 API zym kit를 이용한 효소 생산능 측정하였다.
- 효소 생산능 실험방법은 하루 전 미리 MBS broth에 균을 접종시켜 16시간~18시간 배양시킨 후 원심분리기를 이용하여 균 상등액을 제거해 균을 washing한 후 균체를 수집하여  $10^6$  CFU/ml로 희석한 후 API zym kit에 65  $\mu$ L씩 접종하고 37°C에서 4시간 반응시킨 다음 zym A, zym B 시약을 순서대로 넣고 10분간 반응시킨 후 색깔 변화를 통해 균의 유해효소 생산여부를 확인하였다.
- 내산·내담즙성 실험에서 70%이상의 생존율을 보인 유산균 6주에 대해 효소 생산능을 측정한 결과(표 2-96), 유산균 6주가 유해효소인  $\beta$ -glucuronidase를 생성하지 않으므로 산업적으로 사용가능한 것으로 판단되었다.

표 2-96. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 효소 생산능(총 6주)

Strains	Enzyme activity									
	C	ALP	ES	ESL	LIP	LAS	VAS	CAS	TR	$\alpha$ -CT
SC28	0	0	0	0	1	4	3	0	0	0
KU15147	0	0	1	1	0	3	2	1	0	0
KU15148	0	0	1	1	0	3	2	1	0	1
KU15151	0	0	1	1	1	3	2	1	0	0
KU15154	0	0	1	0	0	3	2	0	0	0
KU15156	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0

C, Control; ALP, Alkaline phosphate; ES, Esterase; ESL, Esterase lipase; LIP, Lipase; LAS, Leucine arylamidase; VAS, Valine arylamidase, CAS, Cystine arylamidase, TR, Trypsin;  $\alpha$ -CT,  $\alpha$ -Chymotrypsin 0, 0 nmol; 1, 5 nmol; 2, 10 nmol; 3, 20 nmol; 4, 30 nmol; 5,  $\geq 40$  nmol

표 2-96(계속). 전통발효식품 유래 선별 유산균의 효소 생산능(총 6주)

Strains	Enzyme activity									
	ACP	NABP	$\alpha$ -GAL	$\beta$ -GAL	$\beta$ -GU	$\alpha$ -GL	$\beta$ -GL	NAG	$\alpha$ -Man	$\alpha$ -Fuc
SC28	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
KU15147	1	1	1	4	0	2	4	0	0	0
KU15148	1	1	1	4	0	2	4	0	0	0
KU15151	1	1	1	3	0	1	3	0	0	0
KU15154	1	1	1	2	0	1	3	0	0	0
KU15156	0	1	0	2	0	0	1	2	0	0

ACP, Acid phosphate; NABP, Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase;  $\alpha$ -GAL,  $\alpha$ -Galactosidase;  $\beta$ -GAL,  $\beta$ -Galactosidase;  $\beta$ -GU,  $\beta$ -Glucuronidase;  $\alpha$ -GL,  $\alpha$ -Glucosidase; GL,  $\beta$ -Glucosidase; NAG, N-Acetyl- $\beta$ -glucosaminidase;  $\alpha$ -Man,  $\alpha$ -Mannosidase,  $\alpha$ -Fuc;  $\alpha$ -Fucosidase 0, 0 nmol; 1, 5 nmol; 2, 10 nmol; 3, 20 nmol; 4, 30 nmol; 5,  $\geq 40$  nmol

### 3) 장 부착능 측정

- 인체에 균의 유용한 기능성을 전달하기 위해서는 장에 잘 부착하여 생존해야하기 때문에 장 부착능은 중요한 프로바이오틱스 특성 중 한가지이다.
- 효소생산능 실험에서 인체에 유해한 효소를 생산하지 않는 전통발효식품 분리균주 유산균 6주에 대해 대장암세포(HT-29)를 이용한 장 부착능을 측정하였다.

- 장 부착능 실험방법은 24 well plate에 대장암세포(HT-29)를  $1 \times 10^5$  cells/well로 깔아 놓은 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 배양시켰다. 미리 MRS broth에 접종시킨 균액을 원심분리기(12,000 rpm, 10분)를 이용하여 균체를 회수한 후 항생제가 첨가되지 않은 RPMI배지를 넣어 희석시킨 후 미리 배양시킨 대장암세포(HT-29)에 접종시키고 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 2시간 배양하였다. 배양 상등액을 제거한 후 PBS buffer로 3번 washing 후 1% Triton X-100 용액을 10분간 처리한 뒤 상등액을 담아 희석·도말하여 부착 균수를 측정한 후 부착 전 균수와 부착균수를 비교하여 장 부착능을 측정하였다.
- 장 부착능을 측정하는 식은 다음과 같다.

$$\text{Cell adhesion (\%)} = \frac{V_1}{V_0} \times 100$$

V<sub>0</sub>, initial viable bacterial count tested

V<sub>1</sub>, viable bacterial count obtained from the HT-29 cells after 2 h

- 효소생성능 실험에서 유해효소를 생성하지 않은 유산균 6주 중 4주에 대해 장 부착능을 측정한 결과(표 2-3) 1% 기준으로 볼 때 유산균 6주가 장 부착능이 우수한 것으로 판단되어 다음 실험으로 항생제 저항성 실험을 진행하였다.

표 2-97. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 장 부착능(총 6주)

Strains	Cell adhesion (%)
SC28	4.22
KU15147	4.12
KU15148	1.21
KU15151	3.87
KU15154	6.38
KU15156	1.79

#### 4) 항생제 저항성 측정

- 장 부착능 실험에서 장 부착능이 우수한 전통발효식품 분리균주 유산균 6주에 대해 paper disc을 이용한 항생제 저항성을 측정하였다.
- 항생제 저항성 실험방법은 미리 MRS broth에 접종시킨 균액을 원심분리기(12,000 rpm, 15분)를 이용하여 균체를 회수한 후 10<sup>5</sup> CFU/ml로 희석하여 MRS agar에 도말하였다. 그 위에 미리 멸균시킨 paper disc를 올려놓은 뒤 European Food Safety Authority(EFSA)기준에 사용되는 항생제를 허용 농도로 희석하여 50 μL씩 분주한 후 37°C에서 24시간 배양시켰다. 배양 후 inhibition zone의 크기에 따라 항생제 저항성 정도를 판별하여 측정하였다.
- 항생제 저항성 정도를 판별하는 기준은 다음과 같다 (그림 2-37).

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria nearest whole mm			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
<b>PENICILLINS</b>									
A	Ampicillin	10 µg	≥17	14-16	≤13	≤8	16	≥32	(4) Results of ampicillin testing can be used to predict results for amoxicillin. See comment (2).
B	Piperacillin	100 µg	≥21	18-20	≤17	≤16	32-64	≥128	
O	Mecillinam	10 µg	≥15	12-14	≤11	≤8	16	≥32	(5) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only.
<b>B-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS</b>									
B	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥18	14-17	≤13	≤8/4	16/8	≥32/16	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥15	12-14	≤11	≤8/4	16/8	≥32/16	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥21	18-20	≤17	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4	
B	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥20	15-19	≤14	≤16/2	32/2-64/2	≥128/2	
<b>CEPHEMS (PARENTERAL) (including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)</b>									
(6) <b>WARNING:</b> For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active <i>in vitro</i> , but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.									
(7) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions, revised interpretive criteria for cephalosporins (cefazolin, cefotaxime, ceftazidime, ceftioxcime, and ceftriaxone) and aztreonam were first published in January 2010 (M100-S20) and are listed in this table. Cefazolin interpretive criteria were revised again in June 2010 and are listed below. Cefepime and ceftazidime (parenteral) were also evaluated; however, no change in interpretive criteria was required for the dosages indicated below. When using the current interpretive criteria, routine ESBL testing is no longer necessary before reporting results (i.e. it is no longer necessary to add results for cephalosporins, aztreonam, or penicillins from susceptible to resistant). However, ESBL testing may still be useful for epidemiological or infection control purposes. For laboratories that have not implemented the current interpretive criteria, ESBL testing should be performed as described in Table 2A Supplemental Table 1.									
Note that interpretive criteria for drugs with limited availability in many countries (i.e. moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone) were not evaluated. If considering use of these drugs for <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , or <i>Proteus</i> spp., ESBL testing should be performed (see Table 2A Supplemental Table 1). If isolates test ESBL positive, the results for moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone should be reported as resistant.									
(8) <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , and <i>Serratia</i> may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins as a result of derepression of AmpC β-lactamase. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.									
A	Cefazolin	30 µg	≥23	20-22	≤19	≤2	4	≥8	(9) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 2 g every 8 h. See comment (7).
U	Cephalothin	30 µg	≥18	15-17	≤14	≤8	16	≥32	(10) Cephalothin interpretive criteria can be used only to predict results to the oral agents, cefadroxil, cefprozime, cephalexin, and loracarbef. Older data that suggest that cephalothin results could predict susceptibility to some other cephalosporins may still be correct, but there are no recent data to confirm this.

그림 2-37. 장내 미생물에 대한 항생제 저항성 기준 (CLSI, 2012).

- 장부착능이 우수한 유산균 6주에 대한 항생제 저항성을 측정한 결과 (표 2-96), 관련논문에 따르면 대부분의 유산균은 gentamycin, kanamycin, streptomycin, ciprofloxacin에 대해 본래 내성을 지니는 것이 일반적인 특징이므로 이에 관련된 내성에 대해서는 안전성에 문제가 없다고 판단되었다.

표 2-98. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 항생제 저항성(총 6주)

Strains	Ampicillin	Gentamycin	Kanamycin	Streptomycin	Tetracycline	Ciprofloxacin	Chloramphenicol	Doxycycline
SC28	S	R	R	R	S	R	S	S
KU15147	S	S	R	R	S	R	S	S
KU15148	S	S	R	R	S	R	S	S
KU15151	S	S	R	R	S	R	S	S
KU15154	S	S	R	R	S	R	S	S
KU15156	S	S	R	R	I	R	S	S

S, sensitive; I, intermediate; R, resistant

5) 16S rDNA 염기서열 분석을 통한 균주 동정

- 전통발효식품 분리균주 중 스크리닝 및 기초생리활성 단계를 통해 우수한 균주로 확인된 유산균 6주에 대한 16S rDNA 염기서열을 통한 산업용 후보 균주 동정은 표 2-99와 같이 동정되었다.

표 2-99. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 16S rDNA 염기서열 분석을 통한 동정 결과(총 6주)

Strains	16S rDNA 염기서열 분석 결과
SC28	<i>Pediococcus pentosaceus</i> SC28
KU15147	<i>Lactobacillus brevis</i> KU15147
KU15148	<i>Lactobacillus brevis</i> KU15148
KU15151	<i>Lactobacillus brevis</i> KU15151
KU15154	<i>Lactobacillus brevis</i> KU15154
KU15156	<i>Lactobacillus plantarum</i> KU15156

3. 유용균주, 상용균주, 표준균주의 쌀 발효 적합성 확인

1) Amylase 및 protease 활성

- Amylase 및 protease 활성이 있을 경우, 다양한 대사산물이 생성되는데 그 중에 건강기능성 성분 및 향미성분이 발생할 가능성이 높기 때문에 protease 및 amylase 활성이 있는지를 확인할 필요성이 있었다.
- Amylase 활성 측정방법은 다음과 같다. Amylase 활성 유/무를 확인하기 위해 유산균 4주를 MRS broth에 하루 전 접종시킨 후 37°C에서 16시간~18시간 배양시킨 후 1% starch agar에 균 배양액을 백금으로 찍은 후 48시간 배양하였다. clear zone 유/무를 확인한 후 clear zone이 있는 균주의 경우 amylase 활성 측정실험을 진행하였다.
- Protease 활성 측정방법은 다음과 같다. Protease 활성 유/무를 확인하기 위해 유산균 4주를 MRS broth에 하루 전 접종시킨 후 37°C에서 16시간~18시간 배양시킨 후 균 1% skim milk agar에 배양액을 백금으로 찍은 후 37°C에서 24시간 배양하였다. clear zone 유/무를 확인한 후 clear zone이 있는 균주의 경우 protease 활성 실험을 진행하였다.
- 프로바이오틱스 특성을 확인한 전통발효식품 유래 유산균 6주에 대해 amylase 존재여부에 대한 실험결과, 유산균 3주가 amylase활성이 양성으로 나왔다(표 2-100).

표 2-100. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 amylase activity 결과(총 6주)

Strains	Clear zone
SC28	-
KU15147	-
KU15148	-
KU15151	+
KU15154	+
KU15156	+

-, no inhibition; +, 1-2 mm clear zone; ++, 3-5 mm clear zone; +++, > 5 mm clear zone.



- 프로바이오틱스 특성을 확인한 전통발효식품 유래 유산균 6주에 대한 protease 존재여부에 대한 실험결과(표 2-101), 유산균 5주가 protease 활성이 양성을 나타내었다.

표 2-101. 전통발효식품 유래 선별 유산균의 protease activity 결과(총 5주)

Strains	Clear zone
SC28	+++
KU15147	+
KU15148	+
KU15151	-
KU15154	+
KU15156	+

-, no inhibition; +, 1-2 mm clear zone; ++, 3-5 mm clear zone; +++, > 5 mm clear zone.

## 2) 2차 관능평가를 통한 감주에 따른 발효유산균 최종선정

- 프로바이오틱스 특성을 검증한 유산균을 이용하여 각 감주에 맞는 선별유산균으로 발효한 감주에 대해 관능평가 (소비자기호도)를 진행하였다.
- 관능평가 방법은 5점 척도법(1점: 매우 안 좋다, 2점: 안 좋다, 3점: 보통이다, 4점: 좋다, 5점: 매우 좋다)을 사용하였으며 맛과 향, 전반 만족도를 기준으로 평가하였다. 관능평가에는 훈련된 요원으로서 10명이 참여하였다.
- 전통발효식품 유래 유산균 6주를 이용하여 감주를 발효한 후 관능평가를 진행한 결과, 흑국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 KU15151이었으며, 황국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 KU15147이었으며, 홍국으로 발효한 감주에 적합한 균주는 KU15154로 선정되었다. 이후 선별된 균주는 내열성 실험과 기능성 실험을 진행하였다.

표 2-102. 전통발효식품 유래 유산균의 2차 관능평가 결과(홍국 감주)

Characteristics	<i>P. pentosaceus</i>	<i>L. brevis</i>	<i>L. plantarum</i>
	SC28	KU15154	KU15156
단맛	3.60	3.20	2.60
쓴맛	1.60	1.80	1.90
신맛	2.50	2.80	3.70
텃텃한 맛	2.80	2.70	2.60
과일 향	2.80	3.10	2.90
구수한 향	2.20	2.40	2.70
이취	2.00	2.00	2.50
전반 만족도	3.50	3.60	2.90

표 2-103. 전통발효식품 유래 유산균의 2차 관능평가 결과(황국 감주)

Characteristics	<i>P. pentosaceus</i> SC28	<i>L. brevis</i> KU15147
단맛	2.70	3.30
쓴맛	1.80	1.80
신맛	3.10	3.80
텃텃한 맛	3.00	3.10
과일 향	2.80	2.50
구수한 향	3.10	3.20
이취	2.90	2.40
전반 만족도	2.40	3.40

표 2-104. 전통발효식품 유래 유산균의 2차 관능평가 결과(흑국 감주)

Characteristics	<i>P. pentosaceus</i> SC28	<i>L. brevis</i> KU15148	<i>L. brevis</i> KU15151
단맛	3.20	3.00	3.30
쓴맛	1.90	1.70	1.60
신맛	2.40	2.60	3.00
텃텃한 맛	2.70	2.80	2.40
과일 향	2.90	3.00	2.90
구수한 향	2.70	2.20	2.50
이취	2.30	2.20	1.90
전반 만족도	3.20	2.90	3.30

### 3) 내열성 측정

- 내열성 측정방법은 다음과 같음. 하루 전에 MRS broth에 균주를 접종하여 배양한 후, 균체를 PBS buffer로 씻어준 후, 현탁하여 이용하고, 온도 범위는 60°C에서 20분간 반응시킨 균을 회수하여 37°C, 정상배지에서 도말·배양하여 생존율을 통해 내열성을 확인하였다.
- 내열성 실험에 대한 생존율을 측정하는 식은 다음과 같다.

$$\text{Survival rat}(\%) = \frac{\text{Log } N_1(\text{CFU/ml})}{\text{Log } N_0(\text{CFU/ml})} \times 100$$

$N_1$ , total viable count of strains after treatment by heating

$N_0$ , total viable count of strains before treatment

- KU15147, KU15151, KU15154 세 가지 균주에 대해 내열성을 측정된 결과, KU15147 균주가 20분 동안 반응시킨 후에도 생존율이 60% 이상 나타냈으므로 가장 내열성이 좋은 균주라 판단하였다. 5분 반응시켰을 경우에는 KU15154 균주도 KU15147 균주와 유사한 내열성을 나타내었으나, 20분 후에는 KU15151, KU15154 균주와 유사하게 약 40%의 생존율을 나타내어 상대적으로 약한 내열성을 갖고 있다는 것을 확인하였다.

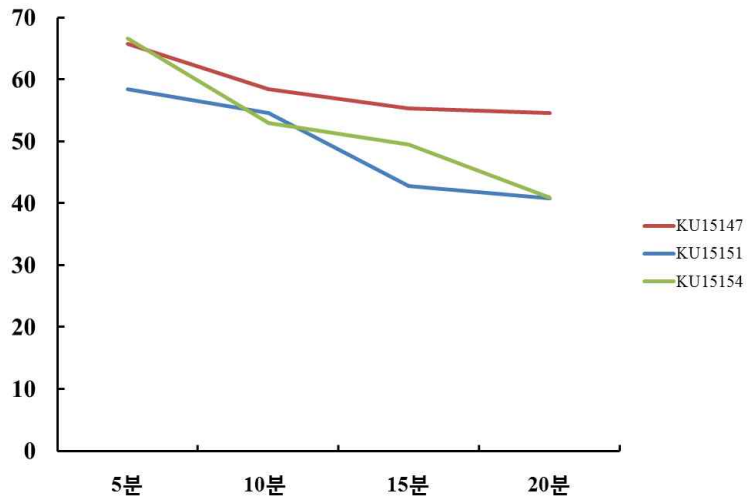


그림 2-38. 선별 유산균에 대한 내열성 실험 결과

#### 4. *in vitro*상에서 프로바이오틱스의 기능성과 제품의 기능성 평가

##### 1) 프로바이오틱스 선별 유산균의 항산화 효과 확인

- DPPH 라디칼 소거능

- ✓ 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 제조한다. DPPH 용액 2 ml과 균액 2 ml를 혼합하였다. 실온에서 30분간 방치 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{O.D. of sample}}{\text{O.D. of control}}\right) \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 517 nm)

- ABTS 라디칼 소거능

- ✓ ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid) radical 소거활성은 증류수에 녹인 7 mM의 ABTS와 5 mM의 potassium persulfate를 혼합한 후 빛을 차단시키면서 상온에서 16-24시간 반응시켜 라디칼을 발생시켰다. 라디칼 유도 후 ABTS 용액의 흡광도는 734 nm에서  $0.7 \pm 0.02$  정도가 되도록 물로 희석하여 조정하였다. 균액 150  $\mu$ L와 ABTS 용액 1.35 ml를 넣어 37°C에서 10분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{O.D. of sample}}{\text{O.D. of control}}\right) \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 734 nm)

- $\beta$ -carotene bleaching 활성능
  - ✓ Linoleic acid 66  $\mu$ L,  $\beta$ -carotene 3 mg, tween 80 300  $\mu$ L를 클로로포름에 녹인 후, 감압농축기를 이용해 40°C에서 용액을 농축시키고 증류수 75 ml을 넣어  $\beta$ -carotene 시약을 완성했다. 균액 0.2 ml과  $\beta$ -carotene 시약 4 ml을 혼합한 뒤, water bath에서 50°C, 2 시간 반응시켜 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\beta\text{-carotene bleaching inhibitory activity} = \frac{A_{\text{sample},2\text{h}} - A_{\text{control},2\text{h}}}{A_{\text{control},0\text{h}} - A_{\text{control},2\text{h}}} \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 470 nm)

표 2-105. 선별 유산균의 항산화 실험 결과(총 3주)

Strains	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	$\beta$ -carotene bleaching inhibitory activity (%)
<i>L. brevis</i> KU15147	35.19±0.30	22.30±2.22	23.82±2.91
<i>L. brevis</i> KU15151	31.14±3.18	6.37±0.49	6.00±1.22
<i>L. brevis</i> KU15154	38.56±2.03	14.24±2.06	21.42±0.47

- 항산화 실험결과, *L. brevis* KU15147과 *L. brevis* KU15154 균주가 두 가지 라디칼 소거능 실험 결과에서 *L. brevis* KU15151 균주보다 높은 항산화 효과를 나타내고 있다는 것을 확인하였다. 같은 균주에 대해 지질 산패 억제능을 측정한 결과 라디칼 소거능 실험과 유사한 결과를 나타내었다. 위 세가지 결과를 종합하였을 때 *L. brevis* KU15147와 *L. brevis* KU15154 균주가 우수한 항산화 효과를 나타내었고, 두 가지 균주 중에서는 *L. brevis* KU15147 균주가 조금 더 우수한 결과를 나타내었다.

## 2) 프로바이오틱스 선별 유산균의 면역증진 효과 확인

- 프로바이오틱스 선별 유산균의 면역증진 효과를 확인하기 위해 NO 생성량을 확인한 후, 면역관련 cytokine 생성량을 RT-PCR로 측정하였다.
- 10 ng/ml LPS(lipopolysaccharide)에 의해 유도된 대식세포 RAW 264.7 cell로부터 생성된 nitric oxide의 양을 측정하였다. 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>를 griess시약을 이용하여 비색 정량하기 위해 배양액과 griess 시약을 혼합하여 10분 동안 반응시킨 후 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하고, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 양은 NaNO<sub>2</sub>의 표준곡선을 이용하여 정량하였다.

- 마우스 유래 RAW 264.7 cell을 배양 후 10 ng/ml LPS를 처리한 군 (LPS(+))과 처리하지 않은 군 (LPS(-))과  $10^6$  CFU/ml 유산균을 처리 후, 세포주를 회수하여 2회 washing한 후 RNA isolation kit를 사용하여 순수한 mRNA를 분리하였다. RT-PCR시약을 이용하여 cDNA로 전환시키고 각각의 특이적 프라이머를 이용하여 RT-qPCR을 실시하여 iNOS, TNF- $\alpha$  와 같이 면역관련 인자의 발현 여부 확인하였다.

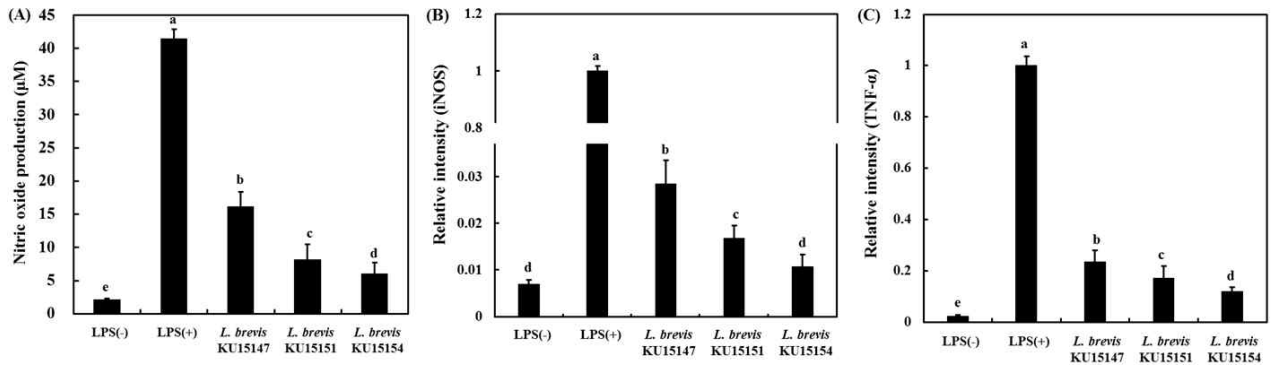


그림 2-39. 선별 유산균의 면역증진 실험 결과 (총 3주). 유산균을 처리한 RAW 264.7 cells에서의 (A) NO 발생량 및 (B) iNOS 상대적 발현량, (C) TNF- $\alpha$  상대적 발현량. LPS (-), non-lipopolysaccharide treated; LPS(+), 10 ng/ml lipopolysaccharide treated.

- RAW 264.7 cell에  $10^6$  CFU/ml 유산균을 처리한 결과, LPS를 처리하지 않은 대조군에 비해 유산균을 처리한 모든 실험군에서 NO, iNOS, TNF- $\alpha$  가 모두 유의적으로 증가하였다. Nitric Oxide는 염증 유발 시 주로 생성되는 물질로 염증 반응을 확인하는 인자 중 하나로 알려져 있다. iNOS는 NO를 합성하는 효소로, NO와 마찬가지로 염증 반응이 일어났을 때 발현이 증가되는 효소이다. TNF- $\alpha$  역시 염증성 사이토카인으로 염증 반응이 발생했을 때, 발현 정도가 증가한다.
- 세 가지 균주를 처리하였을 때 모두 NO가 생성되기는 하였으나, 염증 인자들에 대한 상대적인 발현 정도를 측정하였을 때, 그 정도가 약하기 때문에 염증이 발생했다고 판단하기 보다는, 면역 세포에 자극을 주게 되어 면역 반응이 촉진되어 이러한 염증성 인자들이 증가했다고 볼 수 있다. 위 결과를 봤을 때 *L. brevis* KU15147 균주가 다른 균주들에 비해 염증 인자들의 발현이 가장 높았으므로, 가장 높은 면역 증강 효과를 나타내었다 판단되었다.

### 3) 감주 추출물의 항산화 효과 확인

- 전날 MRS broth에 유산균을 접종하여 37°C, 18시간 배양한 배양액을 PBS buffer로 3회 washing한 후, 얻어진 균체를 감주에  $10^5$  CFU/ml로 접종하여 32°C, 18~20 시간 배양하여 발효감주를 얻었다. 감주 100 ml당 용매 300 ml (methanol:acetone:water=4:3:3) 비율로 혼합하여 room temperature에서 24시간 추출하였다. 추출액을 0.45  $\mu$ m filter로 여과한 후, 감압농축기를 이용하여 50°C에서 농축하였다. 그 후, 5일 동안 동결건조하여 감주 추출물을 제조하였다.

- DPPH 라디칼 소거능

- ✓ 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 제조한다. DPPH 용액 2 ml과 추출물 (25 mg/ml) 2 ml를 혼합하였다. 실온에서 30분간 방치 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{O.D. of sample}}{\text{O.D. of control}}\right) \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 517 nm)

- ABTS 라디칼 소거능

- ✓ ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid) radical 소거활성은 증류수에 녹인 7 mM의 ABTS와 5 mM의 potassium persulfate를 혼합한 후 빛을 차단시키면서 상온에서 16-24시간 반응시켜 라디칼을 발생시켰다. 라디칼 유도 후 ABTS 용액의 흡광도는 734 nm에서  $0.7 \pm 0.02$  정도가 되도록 물로 희석하여 조정하였다. 추출물 (25 mg/ml) 150  $\mu$ L와 ABTS 용액 1.35 ml를 넣어 37°C에서 10분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{O.D. of sample}}{\text{O.D. of control}}\right) \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 734 nm)

- $\beta$ -carotene bleaching 활성능

- ✓ Linoleic acid 66  $\mu$ L,  $\beta$ -carotene 3 mg, tween 80 300  $\mu$ L를 클로로포름에 녹인 후, 감압농축기를 이용해 40°C에서 용액을 농축시키고 증류수 75 ml을 넣어  $\beta$ -carotene 시약을 완성했다. 추출물 (25 mg/ml) 0.2 ml과  $\beta$ -carotene 시약 4 ml을 혼합한 뒤, water bath에서 50°C, 2 시간 반응시켜 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\beta\text{-carotene bleaching inhibitory activity(\%)} = \frac{A_{\text{sample.2h}} - A_{\text{control.2h}}}{A_{\text{sample.0h}} - A_{\text{control.0h}}} \times 100$$

O.D., optical density (absorbance at 470 nm)

표 2-106. 감주 추출물 (25 mg/ml)의 항산화 실험 결과(총 3주)

Samples <sup>1</sup>	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	$\beta$ -carotene bleaching inhibitory activity (%)
Y	16.61 ± 0.78	44.47 ± 2.00	32.39 ± 3.63
Y(147)	18.95 ± 1.33	43.99 ± 2.61	47.28 ± 1.61
R	20.08 ± 0.43	39.58 ± 1.77	38.63 ± 0.20
R(154)	7.53 ± 0.56	10.70 ± 6.35	50.33 ± 0.96
B	20.52 ± 1.06	57.51 ± 0.33	53.59 ± 1.12
B(151)	13.87 ± 2.91	60.21 ± 0.88	55.03 ± 1.60

- 항산화 실험 결과, 라디컬 소거 활성 실험의 경우 모든 감주 추출물에서 유사한 결과가 나타났는데, 소거 활성이 증가하더라도 그 정도가 미약하였고, 대부분의 경우 비발효, 발효 추출물이 유사한 라디컬 소거 활성을 나타내거나, 오히려 발효를 한 후 그 정도가 감소하는 결과를 나타내었다.
- 지질 산패 억제 실험 결과, *L. brevis* KU15147로 발효한 황국 감주 추출물과 *L. brevis* KU15154로 발효시킨 홍국 감주 추출물에서 지질 산패 억제 활성이 각각 약 15%, 12% 증가하는 결과를 나타내었고, *L. brevis* KU15151로 발효시킨 흑국 감주 추출물의 경우에는 발효 전후 큰 차이를 나타내지 않았다.
- 위 결과를 종합하였을 때, 발효시킨 황국 감주 추출물과 홍국 감주 추출물에서 항산화 효과가 증가되는 결과를 나타내었다.

#### 4) 감주 추출물의 면역증강 효과 확인

- 감주 추출물의 면역증진 효과를 확인하기 위해 NO 생성량을 확인한 후, 면역관련 cytokine 생성량을 RT-PCR로 측정하였다. 10 ng/ml LPS(lipopolysaccharide)에 의해 유도된 대식세포 RAW 264.7 cell로부터 생성된 nitric oxide의 양을 측정하였다. 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>를 griess시약을 이용하여 비색 정량하기 위해 배양액과 griess 시약을 혼합하여 10분 동안 반응시킨 후 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하고, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 양은 NaNO<sub>2</sub>의 표준곡선을 이용하여 정량하였다.
- 마우스 유래 RAW 264.7 cell을 배양 후 10 ng/ml LPS를 처리한 군 (LPS(+))과 처리하지 않은 군 (LPS(-))과 감주 추출물 (50 mg/ml)을 처리 후, 세포주를 회수하여 2회 washing 한 후 RNA isolation kit를 사용하여 순수한 mRNA를 분리함. RT-PCR시약을 이용하여 cDNA로 전환시키고 각각의 특이적 프라이머를 이용하여 RT-qPCR을 실시하여 iNOS, TNF- $\alpha$ 와 같이 면역관련 인자의 발현 여부 확인하였다.

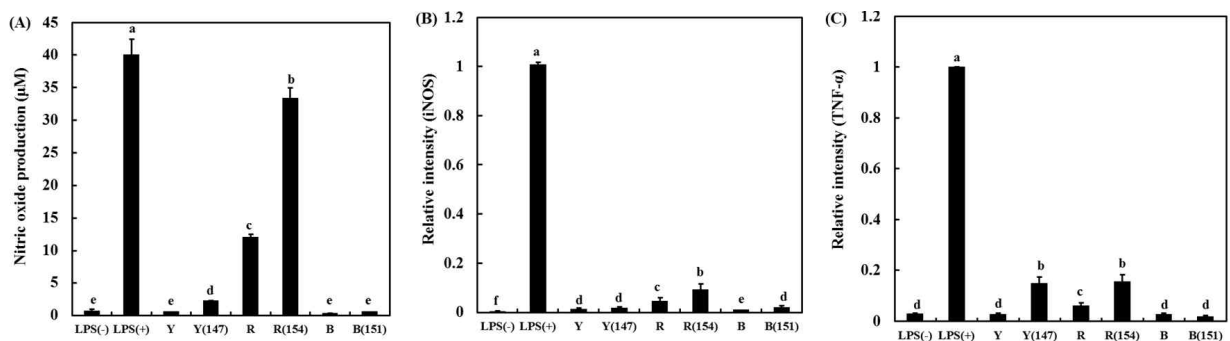


그림 2-40. 감주 추출물의 면역증진 실험 결과. 감주 추출물 (50 mg/ml)을 처리한 RAW 264.7 cells에서의 (A) NO 발생량 및 (B) iNOS 상대적 발현량, (C) TNF- $\alpha$  상대적 발현량. LPS (-), non-lipopolysaccharide treated; LPS(+), 10 ng/ml lipopolysaccharide treated; Y, 비발효 황국감주 추출물 처리군; Y(147), *L. brevis* KU15147 군주로 발효한 황국감주 추출물 처리군; R, 비발효 홍국감주 추출물 처리군; R(154), *L. brevis* KU15154 군주로 발효한 홍국감주 추출물 처리군; B, 비발효 흑국감주 추출물 처리군; B(151), *L. brevis* KU15151 군주로 발효한 흑국감주 추출물 처리군.

- RAW 264.7 cell에 50 mg/ml 감주추출물을 처리한 결과, LPS를 처리하지 않은 대조군에 비해 발효황국, 비발효 홍국, 발효 홍국 추출물을 처리한 실험군에서 NO, iNOS, TNF- $\alpha$ 가 유의적으로 증가하였다. 모든 추출물에서 20% 이하의 iNOS 발현 정도를 나타내었는데, 그 중에서도 발효 홍국 추출물의 경우 LPS(+)와 유사한 수준의 NO가 생성됨에 따라 더 강하게 면역 반응을 촉진한 것이라 생각되었다.
- 비발효 추출물과 발효 추출물간의 면역 증강 정도를 비교하였을 때는, 발효하지 않은 감주에 비해 발효 감주에서 더 높은 면역증강 효과를 보였으며, 6가지 샘플 중에서는 *L. brevis* KU15154 균주로 발효한 홍국 추출물이 가장 높은 면역증강 효과를 나타내었다.

### 5) 감주 추출물의 항비만 효과 확인

- 감주 추출물의 항비만 효과를 확인하기 위해 3T3-L1 cell에 비발효 감주추출물과 감주추출물 (50 mg/ml)을 처리하여 중성지방 축적량을 측정하였다.
- 3T3-L1 preadipocyte를 6-well culture plate에서 100% confluence 상태가 될 때까지 배양하고 2일 후 분화배지 [MDI solution(isobutylmethylxanthine(IBMx), dexamethasone, insulin)]를 3일 동안 처리하였고 다시 10% FBS와 insulin(10  $\mu$ g/ml)이 포함된 DMEM 배지로 교환한 후 배양하여 지방세포로 분화시켰다. 감주추출물은 50 mg/ml의 농도로 분화과정의 각 단계마다 처리하였다. 분화가 완료된 3T3-L1 세포를 PBS로 2회 세척하고 Oil Red O 염색을 위해서 10% formalin으로 고정한 세포에 Oil Red O solution을 처리한 후 실온에서 30분간 염색하였다. 그 이후에 Oil Red O solution을 제거하고 증류수로 세척하여 건조시킨 후, 흡광도를 측정하였다.

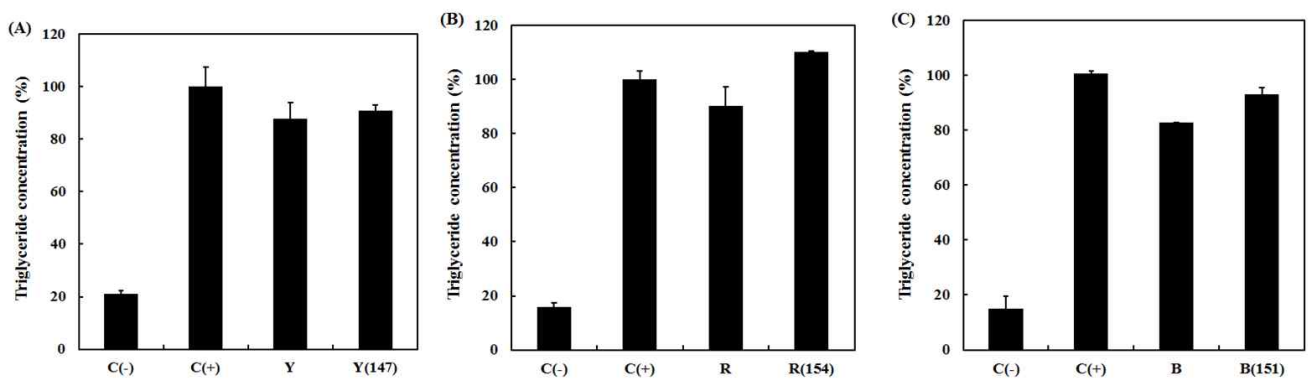


그림 2-41. 감주 추출물의 항비만 실험 결과. (A) 황국감주 추출물 (50 mg/ml), (B) 홍국감주 추출물 (50 mg/ml), (C) 흑국감주 추출물 (50 mg/ml)을 처리한 3T3-L1 cells에서의 중성지방 축적량. C(-), 지방전구세포; C(+), 지방세포; Y, 비발효 황국감주 추출물 처리군; Y(147), *L. brevis* KU15147 균주로 발효한 황국감주 추출물 처리군; R, 비발효 홍국감주 추출물 처리군; R(154), *L. brevis* KU15154 균주로 발효한 홍국감주 추출물 처리군; B, 비발효 흑국감주 추출물 처리군; B(151), *L. brevis* KU15151 균주로 발효한 흑국감주 추출물 처리군.



- 3T3-L1 cell에 비발효 감주추출물과 감주추출물 (50 mg/ml)을 처리하여 중성지방 축적량을 측정한 결과 모든 비발효 감주추출물에서 지방전구세포에 비해 중성지방 축적량이 감소하였음을 확인하였다.
- 세 가지 비발효 감주추출물 중에서는 황국, 흑국감주 추출물을 처리하였을 때 중성지방이 축적되는 정도가 감소하였고, 세 가지 발효 감주추출물 중에서는 황국감주 추출물을 처리하였을 때 중성지방 축적량이 가장 적게 축적되었으며, 다음으로는 흑국감주 추출물을 처리하였을 때 중성지방 축적이 감소되었다. 발효 황국감주 추출물의 경우에는 반대로 중성지방 축적량이 증가하는 결과를 나타내었다.

## 5. 동물실험을 통한 제품의 *in vivo*상의 생리활성 측정

### 1) 동물실험 modeling

- 동물처리 : (주)코아텍(Gyeonggi-do, Korea)에서 16 g 내외의 4주령 수컷 Balb/c 마우스를 공급받았다. 본 실험은 경남대학교 동물실험윤리 위원회의 심의 (승인번호 KUIAC\_18\_03)를 거친 후 진행하였다. 명암은 12시간 (light/dark cycle), 온도는  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ , 상대습도는  $50 \pm 5\%$ 인 조건에서 1주 동안 적응기를 거쳐 실험에 이용하였다. 적응기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 평균 체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 각 군당 8마리의 마우스를 이용하여 군 분리를 하였다. 음성대조군(negative control; NC), 양성대조군(positive control; PC), 일반감주군(sweet rice drink; SR), 발효감주군(fermentation sweet rice drink; FSR)으로 분리하여 음성대조군을 제외한 모든 군의 마우스는 수영을 실시하였다. 발효감주와 일반감주는 성인 1일 음료 섭취량 (Korean Statistical Information Service. [http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=117&tblId=DT\\_11702\\_N021&vw\\_cd=MT\\_ZTITLE&list\\_id=117\\_11702\\_A01\\_033&seqNo=&lang\\_mode=ko&language=kor&obj\\_var\\_id=&itm\\_id=&conn\\_path=MT\\_ZTITLE](http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=117&tblId=DT_11702_N021&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=117_11702_A01_033&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE) (accessed 2016))을 기준으로 외삽법을 적용하여 산출하였으며, 매일 동일한 시간에 존대를 사용하여 2주간 경구 투여하였다. 실험기간 동안 고형식이와 음용수는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 체중과 식이섭취량을 측정하였으며, 수영시간을 측정하여 평균 시간을 해부 직전 수영시간으로 결정하였다.
- 혈청 및 조직처리 : 실험동물은 12시간 절식시킨 후 마취시켜 안와동맥을 통해 채혈하였다. 혈액은 원심분리(3,000 rpm, 30 min,  $4^\circ \text{C}$ ) 한 다음 상층액 혈청 부분만을 분리하였다. 복강대식세포를 분리하기 위해 3일 전 마우스에 thioglycollate medium (Sigma-Aldrich Co.) 2 ml를 복강에 주사하였다. 마우스를 경추 탈골하여 Roswell Park Memorial Institute medium 1640 medium (RPMI-1640; Gland Island, NY, USA) 14 ml를 주사한 후 회수하여 이용하였다. 복강대식세포를 분리한 후 개복하여 비장을 적출하였다. 비장은 적출 즉시 RPMI 1640 medium으로 세척하여  $0.45 \mu\text{m}$  cell strainer (BD Biosciences)를 사용하여 얻어진 세포 부유액을 red blood cell lysing buffer (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로 적혈구를 용혈시켰다. 분리된 비장세포를 면역글로블린, cytokine과 T, B 세포 증식능 측정에 이용하였다. 분리한 복강대식세포는 대식세포 활성화 측정에 이용하였다.

- 세포 증식능 측정 : 분리한 비장세포를 96-well plate에 각 well당  $1 \times 10^6$  cells로 분주하였다. T 세포 mitogen인 concanavalin A (ConA; Sigma-Aldrich Co.)  $5 \mu\text{g/ml}$ 와 B 세포 mitogen인 lipopolysaccharides (LPS; Sigma-Aldrich Co.)를  $5 \mu\text{g/ml}$  처리한 후  $37^\circ \text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 에서 배양하였다. 48시간 후 Ez-Cytox(Dugen, Seoul, Korea) 용액  $20 \mu\text{L}$ 를 첨가하고 microplate reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- Cytokine 분비량 측정 : 분리한 비장세포를 96-well plate에 각 well당  $1 \times 10^6$  cells씩 분주한 뒤, IL-2, IFN- $\gamma$ 는 ConA를  $5 \mu\text{g/ml}$ 로 처리하였다. IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ 는 LPS를  $5 \mu\text{g/ml}$ 로 처리하였다.  $37^\circ \text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 에서 배양하여 IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ 는 24시간 후, IFN- $\gamma$ 는 72시간 후에 상층액을 수거하여 mouse ELISA set kit (BD Biosciences, San Diego, USA)을 이용하여 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 혈청 면역 글로불린 측정 : 모든 실험동물을 희생시켜 얻은 혈액을 3,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 혈청을 얻은 후 mouse IgA, E, G ELISA kit (LSBio, Seattle, WA, USA)을 이용하여 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 대식세포의 활성화 측정 : 분리한 복강대식세포를 96-well plate에 각 well당  $5 \times 10^5$  cells씩 분주한 후,  $37^\circ \text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 에서 24시간 동안 배양하였다. Cytoselect 96-well phagocytosis assay (zymosan substrate) kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하여 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 분석지표
  - ✓ 체중 및 조직무게(간, 신장, 비장, 흉선) 변화 관찰
  - ✓ T 세포 및 B 세포 증식능 측정
  - ✓ Th1/Th2, 및 macrophage cytokine 생성 측정(IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ )
  - ✓ 면역글로불린 측정(IgG, IgA, IgE)
  - ✓ Yac-1 세포에 대한 NK cell 활성화능 측정
  - ✓ 대식세포의 탐식능 측정



그림 2-42. 발효홍국감주의 면역증강 효과 확인을 위한 동물실험 사진. (좌), (우상): 강제 수영 실시 모습. (우하): 2주간의 사육 모습.

## 2) 실험 동물의 체중변화와 식이효율

- 2주의 실험기간 동안 일반감주 및 발효감주의 섭취가 실험동물의 체중 변화 및 식이효율에 미치는 영향을 표 5-1에 나타내었다. 일일 체중증가량, 일일 식이섭취량 및 식이섭취효율은 각 그룹 간의 차이를 보이지 않았다.

표 2-107. 그룹별 실험동물의 2주 동안의 체중변화와 식이효율

Group <sup>1)</sup>	Weight gain(g/day)	Food intake(g/day)	(n=8/group)
			FER <sup>2)</sup>
NC	3.13±0.00 <sup>3)ns4)</sup>	0.05±0.01 <sup>ns</sup>	1.52±0.38 <sup>ns</sup>
PC	3.50±0.00	0.05±0.02	1.53±0.51
SR	2.98±0.00	0.05±0.05	1.80±0.35
FSR	3.14±0.00	0.07±0.05	2.11±1.54

<sup>1)</sup>NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink

<sup>2)</sup>FER; food efficiency rate(weight (g)/food intake (g))×100

<sup>3)</sup>mean±S.E

<sup>4)</sup>ns; not significantly different at  $p < 0.05$  as Duncan's multiple range tests after one-way ANOVA

### 3) 실험동물의 장기 무게 변화

- 일반감주와 발효감주 섭취 2주 후 실험동물의 장기 무게 변화를 비교한 결과(표 5-2), 간, 신장, 비장, 심장 모두 그룹간의 유의적인 차이를 확인할 수 없었다.

표 2-108. 그룹별 실험동물의 2주 동안 장기 무게 변화

Group <sup>1)</sup>	(n=8/group)			
	Liver(g)	kidney(g)	spleen(g)	heart(g)
NC	0.82±0.06 <sup>2)ns3)</sup>	0.28±0.01 <sup>ns</sup>	0.06±0.00 <sup>ns</sup>	0.11±0.01 <sup>ns</sup>
PC	0.82±0.05	0.29±0.01	0.07±0.01	0.11±0.00
SR	0.85±0.06	0.28±0.01	0.06±0.00	0.10±0.01
FSR	0.85±0.4	0.28±0.01	0.07±0.00	0.11±0.00

<sup>1)</sup>NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink

<sup>2)</sup>mean±S.E

<sup>3)</sup>ns; not significantly different at  $p < 0.05$  as Duncan's multiple range tests after one-way ANOVA

### 4) 세포 증식능 측정

- T 세포 증식능 측정 결과, ConA를 처리 시 PC군의 세포 증식능이 NC군보다 유의적으로 증가하였고, 일반감주 및 발효감주의 섭취에 따른 T 세포 증식능 변화는 보이지 않았다.
- LPS를 처리하여 B 세포 증식능을 측정한 결과, NC군과 비교하여 PC군의 세포 증식능이 유의적으로 증가하였다. FSR군의 B 세포 증식능은 PC군보다 유의적으로 감소할 뿐만 아니라, NC군과 유사한 수준의 B 세포 증식능을 보였다.
- SR군은 B 세포 증식능이 감소하는 경향은 보였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 mitogen 처리 시 증가되는 B 세포의 증식능을 발효감주 섭취에 의해 조절되는 것을 확인하였다.

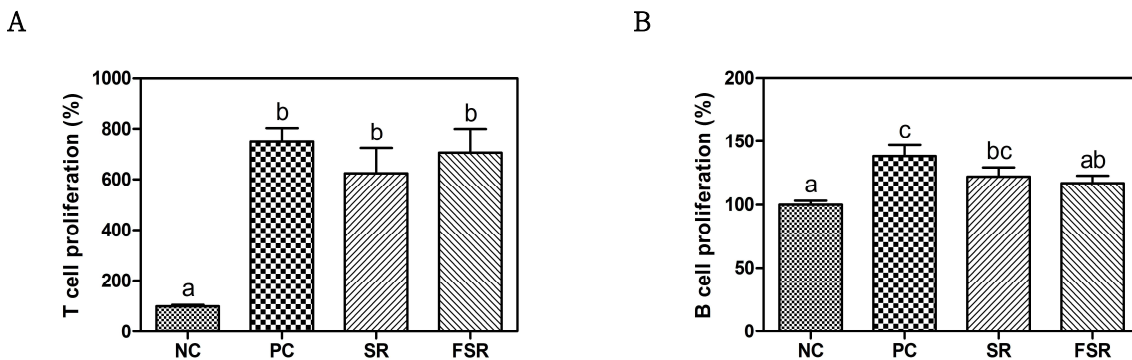
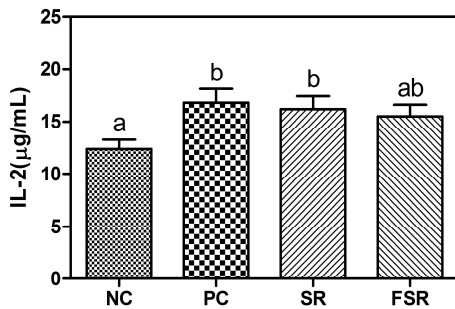


그림 2-43. Effects of fermentation sweet rice drink on T and B cell proliferation from splenocytes in Balb/c mice. NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink.

### 5) Th1 type cytokine 생성 측정

- Th1 type cytokine인 IL-2와 IFN- $\gamma$  생성 측정 결과, NC군과 비교하여 PC군에서 유의적으로 증가하였다.
- IL-2의 경우 FSR군에서 PC군보다 감소하는 경향은 보였으나, 유의적이지 않았고, IFN- $\gamma$ 에서는 SR군이 PC군보다 감소하는 경향은 보였으나, 유의적이지 않았다.
- 이는 T 세포 증식능에서 SR와 FSR의 섭취가 세포 증식능에 큰 영향을 미치지 못한 결과와 동일한 결과를 나타내고 있다.

A



B

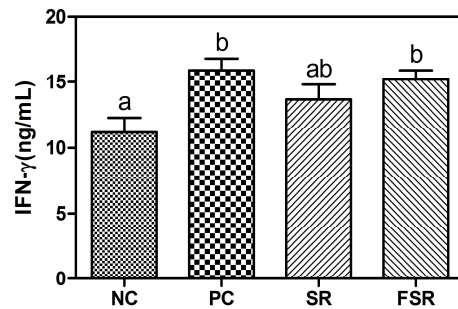


그림 2-44. Effects of fermentation sweet rice drink on Th1 type cytokine (IL-2 and IFN- $\gamma$ ) production from splenocytes in Balb/c mice. NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink.

### 6) Th2 type cytokine 생성 측정

- Th2 type cytokine인 IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ 의 생성 측정 결과, NC군과 비교하여 PC군에서 유의적으로 cytokine의 생성이 증가되었으나, IL-4는 유의적인 차이를 보이지 않았다.
- TNF- $\alpha$ 는 PC군보다 SR군에서 유의적으로 감소하여 NC군과 유사한 수준을 나타내었으며, FSR군은 감소하는 경향은 보였으나, 유의적인 차이는 없었다.
- SR군과 FSR군의 IL-6와 IL-10 cytokine 생성 변화는 확인할 수 없었다.

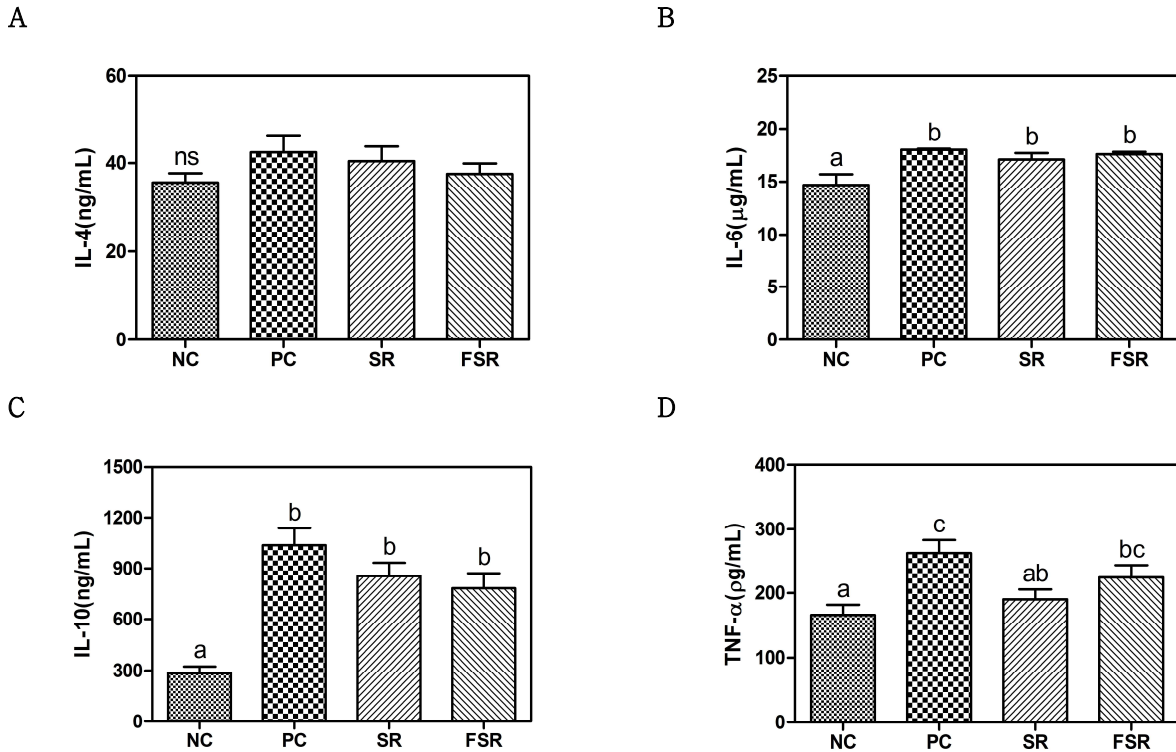


그림 2-45. Effects of fermentation sweet rice drink on Th2 type cytokine (IL-4, IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$ ) production from splenocytes in Balb/c mice. NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink.

### 7) 면역글로불린 측정

- 일반감주 및 발효감주 섭취에 의한 혈청 면역글로불린 농도 변화를 측정한 결과, NC군과 비교하여 PC군에서 IgG의 생성량이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다.
- SR군과 FSR군에서 IgG의 생성량이 LPS군보다 유의적으로 감소하여 면역 불균형으로 면역글로불린이 과생성되는 것을 억제하는 효과를 확인하였다.
- IgA와 IgE의 농도에서는 유의적인 변화를 보이지 않았다.

표 2-109. 그룹별 실험동물의 면역글로불린 측정

(n=8/group)

Group1)	IgA ( $\mu$ g/ml) <sup>2)</sup>	IgE(ng/ml)	IgG ( $\mu$ g/ml)
NC	52.3 $\pm$ 5.13 <sup>ns4)</sup>	64.4 $\pm$ 2.2 <sup>ns</sup>	433.5 $\pm$ 13.6 <sup>a</sup>
PC	69.4 $\pm$ 7.9	75.7 $\pm$ 4.5	803.3 $\pm$ 83.4 <sup>b</sup>
SR	66.9 $\pm$ 7.3	69.6 $\pm$ 6.4	412.2 $\pm$ 44.8 <sup>a</sup>
FSR	62.5 $\pm$ 4.9	65.9 $\pm$ 2.1	502.6 $\pm$ 45.8 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink

<sup>2)</sup>IgA; , IgE; , IgG;

<sup>3)</sup>mean $\pm$ S.E

<sup>4)</sup>ns; not significantly different at  $p < 0.05$  as Duncan's multiple range tests after one-way ANOVA

### 8) Yac-1 세포에 대한 NK cell 활성화 평가

- 일반감주 및 발효감주 섭취에 의한 실험동물의 자연살해세포 활성화 측정 결과는 그림 5-4에 나타내었다. 자연살해세포 활성화 측정 결과 NC군에 비해 PC군의 활성능이 유의적으로 감소하였으며, SR군과 FSR군에서 유의적으로 증가하였다.
- 따라서 수영에 의해 자연살해세포 활성능이 감소하였으며, 일반감주 및 발효감주의 섭취 시 자연살해세포의 활성능이 증가하는 것을 확인하였다.

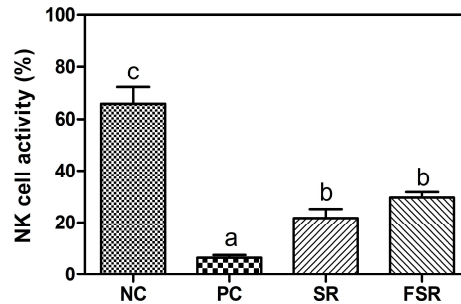


그림 2-46. Effects of fermentation sweet rice drink on Natural killer cell activity against Yac-1 from peritoneal macrophage in Balb/c mice. NC; negative control, PC; positive control, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink

### 9) 대식세포의 탐식능 측정

- 대식세포를 활성화시켜 탐식작용을 자극하는 zymosan을 처리한 NC+ZY군에서의 탐식작용 활성을 100%로 비교하였을 때(그림 5-5), NC군보다 유의적으로 증가된 것을 보아 zymosan이 정상적으로 작용하였음을 확인할 수 있었다.
- SR군과 FSR군에서는 대식세포 탐식작용이 NC군보다 유의적으로 증가하여 NC+ZY군과 유의적인 차이가 없었다. 이는 일반감주 및 발효감주 섭취가 면역 시스템을 조절에 도움을 주는 것으로 사료된다.

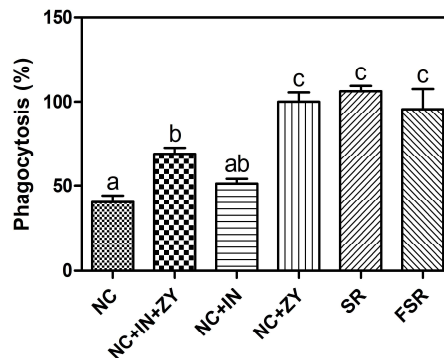


그림 2-47. Effects of fermentation sweet rice drink on phagocytic activity from peritoneal macrophage in Balb/c mice. NC; cell only, NC+ZY+In; NC+zymosan+zymosan inhibitor, NC+in; NC+zymosan inhibitor, NC+zy; NC+zymosan, SR; sweet rice drink, FSR; fermentation sweet rice drink



## 6. 감주제품의 일반세균수 및 병원성 식중독균의 측정

### 1) 일반세균수 측정

- 식품공전에 공시되어 있는 시험법을 사용하여 일반세균수를 측정하였다.
- 시료 1 ml과 10배 단계 희석액 1 ml씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하여 43~45°C로 유지한 표준한천배지 약 15 ml를 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하고, 좌우로 회전하면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시켰다. 확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준한천배지 3~5 ml를 가하여 중첩시킨 후, 응고시킨 페트리접시를 거꾸로 하여 35~37°C에서 24~48시간 배양한 후, 집락수를 측정하여 일반세균수를 측정하였다.

### 2) 병원성 식중독균 측정

- 식품공전에 공시되어 있는 시험법을 사용하여 *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria* spp.의 검출 여부를 확인하였다.
- *Escherichia coli* O157:H7의 검출 여부를 확인하기 위하여 시료 1 ml를 3개의 EC 배지에 가한 후 44°C에서 24시간 동안 배양한 후, 가스발생을 인정한 발효관은 추정시험을 양성으로 한다. 추정시험이 양성일 때에는 해방 EC발효관으로부터 EMB배지에 접종하여 35~37°C에서 24시간 배양하고 녹색의 금속성 광택이 확인된 집락을 확인하였다.
- *Staphylococcus aureus*의 검출 여부를 확인하기 위하여 시료 25 g을 취하여 225 ml의 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지에 가한 후 35~37°C에서 18~24시간 동안 증균 배양시켰다. 증균 배양액을 MSA 한천배지에 접종하여 35~37°C에서 18~24시간 배양한 후, 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 집락을 선별하여 확인시험을 실시하였다.
- *Salmonella* spp.의 검출 여부를 확인하기 위하여 시료 25 g을 취하여 225 ml의 펄톤수에 가한 후 35~37°C에서 24시간 동안 증균 배양시켰다. 증균 배양액을 XLD 한천배지에 접종하여 35~37°C에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락을 선별하여 확인시험을 실시하였다.
- *Bacillus cereus*의 검출 여부를 확인하기 위하여 시료 25 g을 취하여 225 ml의 희석액을 가하여 균질화한 검액을 MYP 한천배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 선별하여 확인시험을 실시하였다.
- *Listeria* spp.의 검출 여부를 확인하기 위하여 시료 25 g을 취하여 225 ml의 Listeria 증균배지를 가한 후 30°C에서 48시간 증균 배양시켰다. 증균 배양액을 Oxford 한천배지에 접종하여 30°C에서 24~48시간 배양한 후 집락을 선별하여 확인시험을 실시하였다.
- 각 시제품에 대하여 일반 세균수를 측정된 결과, 흑국 감주와 바나나 감주에서 1,000개 이상의 세균수가 측정되었다. 식품공전(제 4. 식품별 기준 및 규격 9. 음료류 9-6 발효 음료류)에 제시된 기준에 따라 나타난 균수가 1,000개 이하인 시제품이 적합하다 판단하였다. 실험 결과 흑국 감주와 바나나 감주를 제외한 5종의 감주 시제품은 일반 세균수 기준에 적합하다고 판단하였다.
- 병원성 식중독균인 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria* spp.에 대해 안전성 검사를 하였고, 위의 표 4-1과 같이 병원성 균에 대해서는 모두 음성 결과를 나타내었다.



표 2-110. 감주 시제품의 일반 세균수 및 병원성 식중독 균에 대한 안전성 검사

Samples	일반 세균 (log CFU/ml)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria</i> spp.
홍국 감주	2.50±0.08	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
흑국 감주	3.21±0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
딸기 감주	2.59±0.17	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
망고 감주	0.50±0.50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
블루베리 감주	1.90±0.05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
바나나 감주	3.91±0.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
토마토 감주	1.24±0.24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. : Not detected





### 3. 학술발표 7건 달성

1) 양서진 외 5명. (2017) Screening of Lactic Acid Bacteria for Fermentation of Gamju Produced by Black Koji. 한국미생물학회연합국제학술대회

The screenshot shows the website interface for the Korean Microbiological Societies. The header includes the organization's name and logo, along with navigation links like Home, Sitemap, and English. A sidebar on the left lists menu items such as '학술대회' (Academic Conference) and '초록제출' (Abstract Submission). The main content area displays '초록제출 정보' (Abstract Submission Information) with a note: '※ 초록 제목을 클릭하시면 수정하실 수 있습니다.' (Clicking on the abstract title allows you to edit it). Below this is a table with the following data:

코드	제목	교신저자	제출일
I	Screening of lactic acid bacteria for fermentation of	백현동	2017-09-29

2) 양서진 외 5명. (2017) Gamju Fermented by *Aspergillus oryzae* and Lactic Acid Bacteria Isolated from Korean Traditional Foods. 한국미생물학회연합국제학술대회

This screenshot is similar to the one above, showing the same website interface. The table in the main content area contains the following data:

코드	제목	교신저자	제출일
I	Gamju fermented by <i>Aspergillus oryzae</i> and lactic acid	백현동	2017-10-10

### 3) 양서진 외 5명. (2018) Screening and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From Korean Traditional Foods for Fermentation of Gamju Saccharified by Monascus Ruber. 2018 Institute of Food Technologists

**Advance Your Career.**

IFT education and training opportunities include short courses and online learning to give you access to the latest in scientific, technical, and regulatory information from the top minds in food science.

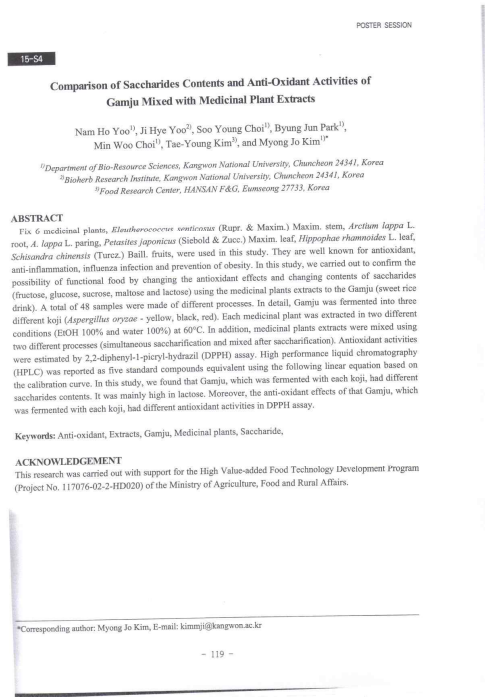
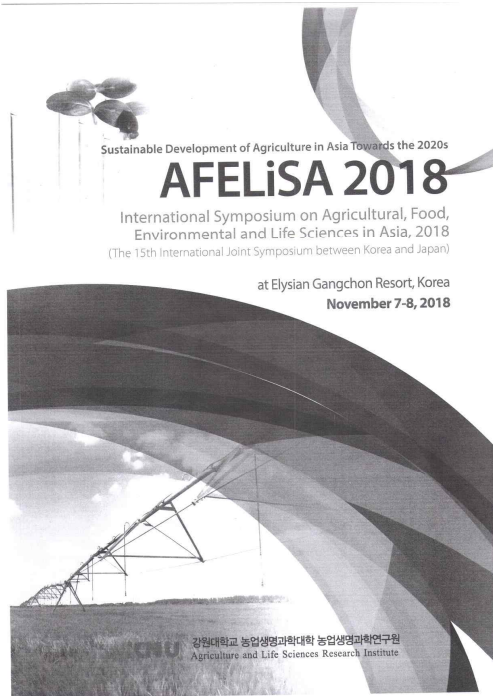
**Sample courses include:**

- Clean Label Product Innovation
- Certified Food Scientist Prep Course
- Flavor Interactions in Foods
- Food Science for the Non-Food Scientist
- Formulating for Function
- Fundamentals of Sensory Science
- Labeling Requirements and Implications for Foods Marketed in the U.S.
- Microbiological Concerns in Food Plant Sanitation

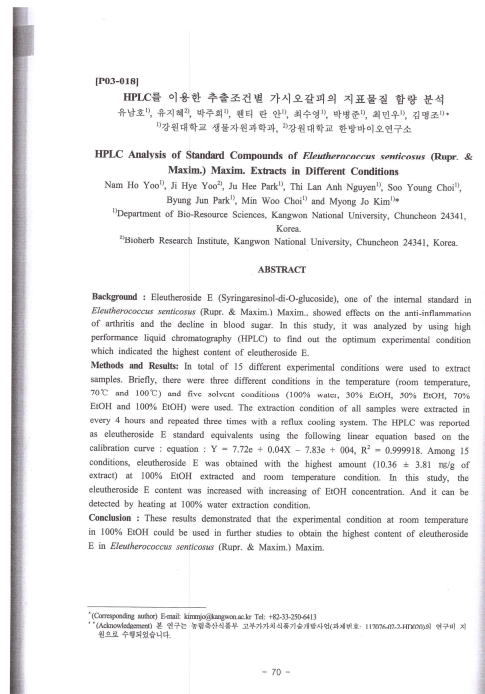
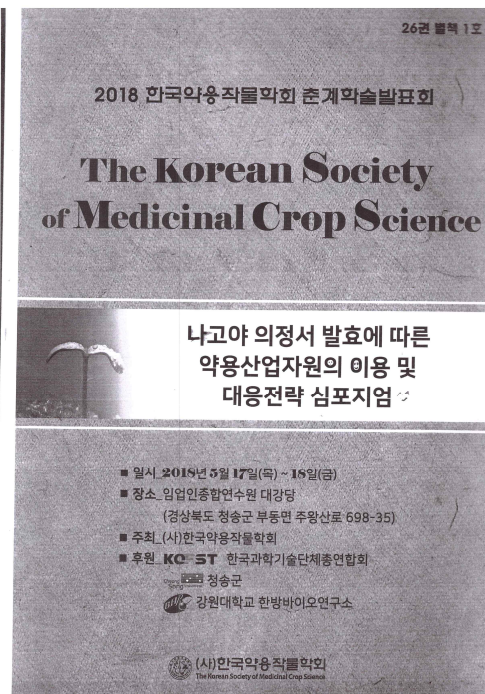
**Learn more at [ift.org/knowledge-center](http://ift.org/knowledge-center)**

**IFT** Feeding the minds that feed the world

4) 유남호 외 6명. (2018) Comparison of saccharides contents and anti-oxidant activities of Gamju mixed with medicinal plant extracts. International Symposium on Agricultural, Food, Environmental and Life Sciences in Asia, 2018.



5) 유남호 외 7명. (2018) HPLC를 이용한 추출조건별 가시오갈피의 지표물질 함량 분석. 2018 한국약용작물학회 춘계학술발표회






6) 유남호 외 10명. (2018) 비타민나무 잎 추출물을 함유한 감주의 항산화 활성. 2018 한국약용작물학회 추계학술발표회

26권 별책 2호

**2018 한국약용작물학회 추계학술발표회**

**The Korean Society  
of Medicinal Crop Science**



**한·중 약용식물자원을 이용한  
기능성 식품, 의약품 및  
화장품 산업화 전략 심포지엄**

일 시 : 2018년 10월 17일(수) ~ 19(금)  
장 소 : 제주 호텔바레브(제주특별자치도 서귀포시 김정문화로 15)  
주 관 : 국립원예특작과학원  
주 최 : (사)한국약용작물학회  
후 원 : 농촌진흥청

(사)한국약용작물학회  
The Korean Society of Medicinal Crop Science

[P03-031]

비타민나무 잎 추출물을 함유한 감주의 항산화 활성  
유남호<sup>1</sup>, 유지혜<sup>2</sup>, 최수영<sup>3</sup>, 박병준<sup>4</sup>, 최민우<sup>5</sup>, 손순기<sup>6</sup>, 김태영<sup>7</sup>, 박주희<sup>8</sup>, 김태경<sup>9</sup>, 장화나<sup>10</sup>, 김영조<sup>11</sup>  
<sup>1</sup>강원대학교 생물자원과학과, <sup>2</sup>강원대학교 한방바이오연구소, <sup>3</sup>(주)한산에프앤지, <sup>4</sup>(주)림바이오

**Antioxidant Activity of Ganju with *Hippophae rhamnoides* L. Leaf Extracts**  
Nam Ho Yoo<sup>1</sup>, Ji Hye Yoo<sup>2</sup>, Soo Young Choi<sup>3</sup>, Byung Jun Park<sup>4</sup>, Min Woo Choi<sup>5</sup>, Soon Ki Son<sup>6</sup>, Tae Young Kim<sup>7</sup>, Ju Hee Park<sup>8</sup>, Tae Kyoung Kim<sup>9</sup>, Ha Na Jang<sup>10</sup> and Myoung Jo Kim<sup>11</sup>\*

<sup>1</sup>Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.  
<sup>2</sup>Bioherb Research Institute, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.  
<sup>3</sup>Food Research Center, HANSAN F and G, Eumseong 27733, Korea.  
<sup>4</sup>Lambio Bio Ventures Co., Chuncheon 24341, Korea.

ABSTRACT

**Background :** *Hippophae rhamnoides* L. are known for antioxidant, immunodeficiency, skin protection, influenza infection and prevention of heart disease. This study was carried out to confirm the possibility of functional food by changing the antioxidant effect using *H. rhamnoides* L. leaf extracts to the Ganju (sweet rice drink).

**Methods and Results :** A total of 12 samples were made of different processes. Briefly, the *H. rhamnoides* L. leaf were extracted at 60°C in two different conditions (EtOH 100%, water 100%). Ganju was fermented into three different koji (*Aspergillus oryzae* - red, yellow, black). In addition, The addition of *H. rhamnoides* L. leaf extracts were mixed in two ways (simultaneous saccharification, mixed after saccharification). Antioxidant activities were estimated by 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) and reducing power assay. Total phenolic content (TPC) was determined by Folin-Ciocalteu method. In this study, we found that Ganju mixed with *H. rhamnoides* L. leaf increased antioxidant effects and TPC than the control (original Ganju). Moreover, the anti-oxidant effects of the mixed *H. rhamnoides* L. leaf with Ganju after saccharification exhibited more activity than simultaneous saccharification in DPPH assay.

**Conclusion :** These results demonstrated that samples of added to the *H. rhamnoides* L. leaf could be use as functional food.

\*Corresponding author E-mail: kimnj@kangwon.ac.kr Tel: +82-33-250-6413  
\*Acknowledgement 본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 117076-02-2-HD020)의 일부가 지원으로 수행되었습니다.


- 130 -

7) 유지혜 외 8명. (2018) 우엉뿌리의 추출조건별 항산화 활성 및 지표물질 함량 분석. 2018 한국약용작물학회 추계학술발표회

26권 별책 2호

**2018 한국약용작물학회 추계학술발표회**

**The Korean Society  
of Medicinal Crop Science**



**한·중 약용식물자원을 이용한  
기능성 식품, 의약품 및  
화장품 산업화 전략 심포지엄**

일 시 : 2018년 10월 17일(수) ~ 19(금)  
장 소 : 제주 호텔바레브(제주특별자치도 서귀포시 김정문화로 15)  
주 관 : 국립원예특작과학원  
주 최 : (사)한국약용작물학회  
후 원 : 농촌진흥청

(사)한국약용작물학회  
The Korean Society of Medicinal Crop Science

[P03-028]

우엉뿌리의 추출조건별 항산화 활성 및 지표물질 함량 분석  
최수영<sup>1</sup>, 유지혜<sup>2</sup>, 박주희<sup>3</sup>, 유남호<sup>4</sup>, 박병준<sup>5</sup>, 최민우<sup>6</sup>, 손순기<sup>7</sup>, 김태영<sup>8</sup>, 김영조<sup>9</sup>  
<sup>1</sup>강원대학교 생물자원과학과, <sup>2</sup>강원대학교 한방바이오연구소, <sup>3</sup>(주)한산에프앤지

**Analysis of Standard Compound Contents and Antioxidant Activities of *Arctium lappa* L. Roots Extracts in Different Conditions**  
Soo Young Choi<sup>1</sup>, Ji Hye Yoo<sup>2</sup>, Ju Hee Park<sup>3</sup>, Nam Ho Yoo<sup>4</sup>, Byung Jun Park<sup>5</sup>, Min Woo Choi<sup>6</sup>, Soon Ki Son<sup>7</sup>, Tae Young Kim<sup>8</sup> and Myoung Jo Kim<sup>9</sup>\*

<sup>1</sup>Department Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.  
<sup>2</sup>Bioherb Research Institute, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.  
<sup>3</sup>Food Research Center, HANSAN F and G, Eumseong 27733, Korea.

ABSTRACT

**Background :** *Arctium lappa* L., Composite plant, has been consumed as a vegetable and beverage in China, Taiwan, and Japan for a long time. Several studies have reported for the herb to include antioxidant activity, hepatoprotective efficacy, anti-inflammatory activity, anti-proliferative and apoptotic effects, anti-microbial and antiviral activity. Thus, *A. lappa* is considered a promising plant for the treatment of chronic diseases, such as cancer, diabetes, and AIDS and due to the increasing evidence of functional compounds contributions over a variety of health beneficial properties the *A. lappa* has received increasing scientific interest. The primary aim of the present study was determined antioxidant activities and analysis of standard compound in *A. lappa*.

**Methods and Results :** There were five different solvent conditions (100% water, 30% EtOH, 50% EtOH, 70% EtOH, 100% EtOH), extract in the room temperature. Comparatively, 70% EtOH extract showed higher values of DPPH radical scavenging activity than others. As the increasing of EtOH percentage contents, we confirmed increase total phenol and flavonoid contents. The 2,4-dinitro-phenylboric acid standard compound was detected by HPLC analysis used on the calibration curve: equation:  $Y = 8.17x + 0.03X - 14.42x + 0.05$ ,  $R^2 = 0.996227$ . The amount of standard compounds were similar in all each different solvent conditions, but not detected in water extract.

**Conclusion :** These results showed that *A. lappa* could be used as potential materials of antioxidant, and should be need more study.

\*Corresponding author E-mail: kimnj@kangwon.ac.kr Tel: +82-33-250-6413  
\*Acknowledgement 본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 117076-02-2-HD020)의 일부가 지원으로 수행되었습니다.

- 127 -

4. 인력양성 1명 달성

1) 석사진학 유남호 학생 학부 졸업 후 강원대학교 석사 진학

문서확인번호 □ XD6A-4A14-FAF0-CF26 □

## 재학증명서

제 2019I - 1136169 호

성 명 : 유남호 성 별 : 남

생 년 월 일 :

소 속 : 일반대학원 생물자원과학과

과 정 : 석사과정

전 공 : 식물자원응용과학

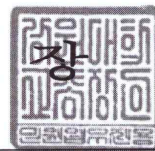
입 학 일 : 2018년 3월 2일

재 학 학 기 : 제 2 학기

위 사실을 증명합니다.

2019년 2월 8일

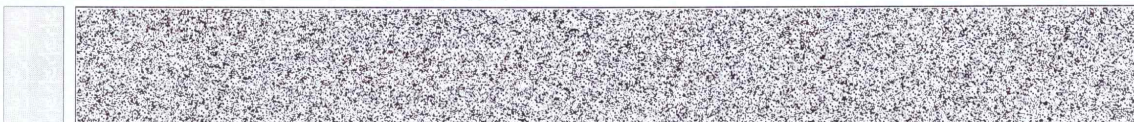
강원대학교 총장



춘천시 효자2동 192-1번지 춘천캠퍼스 학사지원과 TEL : 033)250-8272

삼척시 중앙로 1 삼척캠퍼스 학사지원팀 TEL : 033)570-6211

본 증명서는 인터넷으로 발급 되었으며, 해당 대학 및 cert.kangwon.ac.kr에서 원본대조 메뉴를 통해 상단 원본확인문서번호로 원본문서를 확인 또는 증명서 하단의 바코드로 증명서 내용의 위·변조 여부를 확인해 주십시오. 단, 증명서 원본대조번호를 통한 확인은 발급일로부터 90일까지 가능합니다.





## 2-5. 사업화 성과 및 매출실적

### 1. 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	- 억원
			향후 3년간 매출	2 억원
		관련제품	개발후 현재까지	- 억원
			향후 3년간 매출	2 억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : - % 국외 : - %
			향후 3년간 매출	국내 : 0.5 % 국외 : - %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : - % 국외 : 1 %
			향후 3년간 매출	국내 : - % 국외 : 1 %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		0위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		10위

### 2. 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		3년		
	소요예산(백만원)		1,000		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			-	5	10
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	0.5	1
국외		-	-	-	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		○ 본사계열의 조청에 접목하여 요리술용 미림, 쌀물엿 의 액상당류화, 아이스크림 대체 스무디소재 등 개발			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)		현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)		-	-	-
	수 출		-	-	-

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문 SCI	논 문 비 SCI	논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	30					60			10											
최종목 표	2	1		1	4	1,2 00	20 0	5			1			2						
1 차 년 도	목 표							1						1						
	실 적							2						2						
2 차 년 도	목 표	2		1	4			4						1	0					
	실 적	3			7			4						5	1					
소 계	목 표 실 적	2			4			5						2	0					
	실 적	3			7			6						7	1					
종료 1차년도				1			50 0					1								
종료 2차년도		1					70 0	20 0												
소 계		1					1,2 00	20 0				1								
합 계	2	1		1	4	1,2 00	20 0	5			1			2						

### 3-2. 목표 달성여부

연차별	성과목표	목표 달성 여부	달성도
1차년도	○ 고용창출 1명	○ 연구인력 1명 채용 ○ 현장인력 1명 채용	200% 초과 달성
	○ 학술발표 1건	○ 학술포스터 2건 발표	200% 초과 달성
2차년도	○ 특허출원 2건	○ 특허 3건 출원	150% 초과 달성
	○ 사업화 4건	○ 상품화 7건 등록	175% 초과 달성
	○ 고용창출 4명	○ 현장인력 4명 채용	100% 달성
	○ 학술발표 1건	○ 학술포스터 5건 발표	250% 초과 달성
	○ 인력양성 0명	○ 석사학위 1명 진학	100% 초과 달성
합 계	○ 특허출원 2건	○ 특허 3건 출원	150% 초과 달성
	○ 사업화 4건	○ 상품화 7건 등록	175% 초과 달성
	○ 고용창출 5명	○ 연구·현장인력 6명 채용	120% 초과 달성
	○ 학술발표 2건	○ 학술포스터 7건 발표	350% 초과 달성
	○ 인력양성 0명	○ 석사학위 1명 진학	100% 초과 달성

### 3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등) - 해당없음

## 4. 연구결과의 활용 계획 등

### [학술적·기술적 측면]

#### ○ 학술적 측면

##### - 학술적 기초 연구자료 제공

- ✓ 쌀을 누룩과 유산균으로 발효함으로써 기능성과 기호성을 증진시킬 수 있는 요소에 대해 생물전환의 관점에서 연구함으로써 미생물의 산업적 이용과 활성화에 대한 이론적 배경을 확립할 수 있으며 다양한 발효 식품 연구에 기초 자료를 제공할 수 있다.

##### - 저명학술지 논문게재 및 국제적 기술 우위

- ✓ 세계적으로 주요하게 생산되는 곡물 중 하나인 쌀을 프로바이오틱스를 이용한 발효와 다양한 약용식물의 첨가에 따른 기능성 연구를 수행함으로써 국제저명학술지에 다수의 논문을 발표할 수 있다. 또한 국제경쟁력 측면에서 기술우위를 선점할 수 있으며, 일본이 압도적으로 우위를 점하고 있는 관련 연구 분야에서 선도적 역할도 기대할 수 있다.

#### ○ 기술적 측면

- 쌀 및 곡류를 이용한 호상 및 액상발효 음료제조방법에 대한 과학적, 종합적 자료 확보 및 최적화 개량방법제시로 식가공기업 활성화 기대한다.
- 유용발효미생물(곰팡이, 유산균 등)이용 신기능발효식품의 기업화에 따른 모든 기술적 뒷받침으로 제품개선 및 다양화, 편의화 가능하다.
- 곡류발효음료의 새로운 시도와 건강기능성 및 생리활성물질 확인으로 우리나라 발효식품의 우수성확인 가능하다.
- 쌀 발효식품 및 이를 이용한 가공식품 관련분야 발전과 외식산업체의 새로운 후식메뉴 개발기여한다.

#### ○ 경제적·산업적 측면

- 쌀 가공품의 건강성, 다양성, 편의성, 휴대성 개선으로 쌀 가공식품산업 매출증가에 따른 고용창출효과 및 쌀 가공제품 다양화에 따른 소비자 선택기회 확대한다.
  - ✓ 쌀 가공산업 시장규모: 4.1조( '13) → 5.3조( '18) (29%증가)
  - ✓ 고용창출효과: 22천명( '13) → 29천명( '18) (32%증가)
  - ※고용유발계수 5.4명 (10억원 매출 시)기준
  - ✓ 쌀 가공식품추출액 : 54백만 달러( '13) → 90백만 달러( '18) (85%증가)
- 쌀 가공 및 소재화 이용분야에 쌀 발효식품을 건강, 웰빙식품으로 소비자에게 이미지를 부각시킴으로 새로운 쌀 수요시장 개척효과 및 쌀 소비 촉진된다.

- 현재 식생활 형태변화로 쌀 소비량이 지속적으로 감소하고 있으나(1인당 쌀 소비량 : ('08)75.8kg → ('10)72.8kg → ('13)67.2kg → ('16)61.9kg) 쌀 가공 조리식품에 대한 수요는 증가하고(1인당 가공용 쌀 소비량 : ('08)5.4kg → ('10)6.9kg → ('13)9.2kg) 있으므로 금후 상품화가 된다면 쌀 소비량은 현격히 증가할 것이다.
- 웰빙에 대한 관심증가 및 쌀이 건강식이라는 인식 등으로 유럽 등지의 쌀 소비가 증가하는 추세이므로, 현지인의 기호와 기능에 맞게 제품을 개발한다면 수출효과 상품으로 자리매김한다.
- 새로운 건강기능형 쌀 발효식품(음료형, 고상형(DIY형) 개발과 쌀의 수급 불균형 해소 및 자급률 제고와 쌀 발효식품 산업을 통한 고부가가치화(1차 생산 → 3차 발효가공식품)로 농가 소득안정 및 제조업체의 수익이 창출된다.
- 현재 쌀 가공산업의 시장규모는 4.1조원 대비 정부 R&D투자 및 산업화를 위한 산,학,연 협력이 미흡(투자비용은 0.24%기준(1조3100억원)하나 금후 새로운 시장개척으로(웰빙, 영양학적 우수, 신기능식품, 면역 등)쌀 소비 기반을 유지한다.
- 동남아 및 유럽등지에 쌀 발효식품의 HMR(가정간편식) 및 DIY형 제품으로 상품화 시 쌀 가공식품 주요 수출국으로 국제 경쟁력확보와 쌀 산업활성화로 인한 농가소득 증대 및 식품가공회사의 내수발전으로 인한 고용창출 기여한다.
- 학교급식, 군대 급식, 기업체 구내식당 등을 대상으로 쌀 발효음료와 식품의 디전트화, 간식화 등의 쌀 가공품 수요확대가 가능하다.
- 쌀 가공식품 프랜차이즈 등 외식산업체와 연계하여 간식과 건강디저트 음료로 소비 시 쌀 가공제품 중심 외식 프랜차이즈 육성 활성화에 기여함.
- 밥쌀용에서 쌀 발효식품용 신제품 개발에 의한 국가 연구기관의 품종육성 활성화와 가공용 원료미 생산에 의한 제품의 가격 경쟁력 확보가 가능하다.
- 금후 쌀 발효음료는 농업의 6차 산업(재배가공판매 및 발효 체험)프로그램의 개발이 가능하여 귀농, 귀촌인의 인구증가로 농업경제 활성화에 기여가 가능하다.

#### ○ 사회적 측면

- 웰빙 쌀 발효식품 6차 산업화로 농업, 농촌 활력증진 및 경쟁력 제고
  - ✓ 쌀 발효 감주 및 이를 이용한 저염 누룩조미료 식품의 소재화 기술개발에 의한 체험문화 상품화로 인한 농가의 소득이 증대된다.
  - ✓ DIY형 프리믹스 중간소재 및 분말형 간편 제품의 Hand made화가 가능하여 관광 상품화로 인한 지역경제의 활성화가 된다.
  - ✓ 개발기술의 소규모 농가형 실용화 제조 모델 개발에 의한 귀농인 6차 산업화 신규상품 개척으로 농촌문화가 활성화가 된다.
- 쌀 발효 식품의 기술의 현지화로 지역 쌀 가공기업육성과 쌀 가공식품의 보건성 제고로 쌀 식단 문화 자리매김에 이바지한다.

## [감주 상품화 추진방안]

### (1) 쌀감주발효음료 사업 확장을 위한 준비

쌀감주발효음료 제품의 생산 기술에 대한 특허 등록 및 산업화에 의한 기업의 수익증진 유도. 원료쌀 및 산채류의 계약재배(농장), 전처리(농협RPC), 쌀감주발효음료 생산 공장 등 관련 사업군을 음성 (주)한산에프앤지 공장 및 OEM을 통한 전문화, 효율화를 통한 물류비 등의 초기 사업부담 절감 및 부가가치 극대화를 추구.

### (2) 매출 증대를 위한 마케팅 전략

- ① 주 타겟 계층 : 홈쇼핑 판매의 주 타겟은 가정주부이며, 바쁜 일과로 아침을 챙겨먹지 못하는 가족 구성원들이 실 소비 계층임. 가정주부를 통한 가족 구성원들에게로의 제품 인지도 및 소비 확산.
- ② 제품의 판매
  - 홈쇼핑을 통해 쌀감주발효음료를 주 구매계층인 주부들에게 지속적으로 노출시킴으로써 제품의 차별성(보건성 발효음료)을 홍보.
  - 홈쇼핑은 정보 전달이 제한될 수밖에 없는 지면광고 혹은 CF에 비해 방송할당 시간이 길어 소비자들에게 생소한 쌀감주발효음료에 대한 정보를 효과적으로 전달할 수 있음.
  - 쌀감주의 영양성분 및 기능성, 유산균 발효유의 장점들을 시각자료를 통해 방송시간 동안 지속적으로 노출함으로써 쌀감주발효음료에 대한 고정 수요 창출 가능.
  - 자사 판매망((주)한누리F&D)유통을 통한 제품 인지도 확산 후 그룹 계열사의 판매 네트워크를 적극 활용하여 마트/단체급식 외식 시장 진입.
  - 자사판매망
    - 도매물류 : 전국 20여개 도매업체 거래중  
일일 단위 주 5일 물류  
지역별 거점센터(업체)운영, 대전-한맥물류, 광주전남지사 등
    - 소매물류(직판)
      - 서울 전 지역 및 경기 지역 충청지역 일부까지 물류  
현재 150~170여개 학교업체 거래중
    - 식자재물류
      - 서울전지역 및 경기 일부지역 물류  
현재 100~120여개 체인점 거래중  
체인점 물류 대행 : 본뿌스또, 에스푸드

(3) 상품전략

제품	추진전략	비고
황국 및 홍국 쌀감주	.홍국 첨가 건강 감주 .홍국 첨가 저산미감주 .유산균발효 쌀감주 .산야채류 첨가 쌀감주	-30~40대 주부 -조리 관계자 -학교 급식 관계자 -프리미엄감주 -건강지향형 실버 식품
B2B 전용 쌀감주	.소재 안전성 확보 및 가격 경쟁력 제고 .5배 농축 쌀감주 .유산발효 쌀감주(쿨피스형 쌀감주)	-학교 요양원 급식 -외식업체 단체 등 대량소비업소 급식

(4) 가격전략

- 저비용 고효율 기술 확보, 원재료 계약재배 및 자사물류시스템, 잉여농산물 활용으로 원료조달 물류비용 절감 등 가격경쟁력 강화
  - . B2C제품 : 고품질 프리미엄 제품 개발(홍국 및 흑국 감주, 유산균쌀감주, 산야채첨가 쌀감주 등)
  - . B2B제품 : 소재 납품용 저가 제품 개발(5배 농축 쿨피스형 유산발효 농축 감주 등 )
- 유사상품 가격 조사

제품명	시장가격	주요판매처	비고
참다움전통식혜(1,000mL)	5,000원	외식업체	설탕첨가(65°Bx)
비락식혜(1.8L)	4,000원	외식업체	(주)팔도
잔치집식혜(240mL)	670원	마트등	(주)롯데칠성
정식혜(238mL)	410원	마트등	(주)동원
큰집식혜(238mL)	750원	마트등	(주)해태

- 가격전략 : 제품특성, 유통경로, 설비효율 등 종합적으로 고려하여 합리적 적정가격 도출

(5) 유통전략(Place)

- . 도매물류 : 전국 20여개 도매업체
- . 식자재류 (서울, 경기)100~120여개
- . 소매물류 학교급식 150여 개소
- . (주)한누리 F&D를 통한 식자재 업체 유통
- . 특판/총판/대리점 활용 : 팔도, 오리온 등

- 기타 : 본쁘스또, 에스푸드등 체인점 물류 대행
- 백화점 입점 소스업체 진소스(현대백화점, 롯데백화점)

(6) 판촉전략(Promotion)

- 사업 모델별 적합한 프로모션 아이템 발굴을 위해 다양한 채널 검토
- 오프라인 : (주)한누리유통(도매물류20여개)  
           서울 경기 충청 150여개 체인점  
           물류 2개소(본쁘스또, 에스푸드)
- 온라인 : 인터넷 쇼핑몰(쿠팡 등), SNS 홍보 등

대상제품	주요판매처	주요 프로모션 전략
농축살감주 (홍국, 유산균, 산야채)	자체체인점2개소, 홈쇼핑, 외식, 단체급식(150여개소)	퍼블리시티, 전시회 및 박람회를 활용한 체험 및 시식, 교육 홍보 연계 등
B2B전용 발효식초	식자재, 직판, 관계회사(OEM) 체인점물류 등	자체물류 전문점과의 협업을 통 한 홍보, 시식 등의 행사 마케팅

- (주)한누리 F&D 현황

한누리 F&D는 "고객만족" 과 "깨끗한 먹거리" 를 기업경영의 가장 큰 이념으로 삼고 있는 기업으로서, 지속적인 물류서비스 혁신을 통해 고객 여러분들의 성공 사업 파트너가 되도록 최선을 다할 것을 약속드립니다.



각종 매점 납품 도·소매(학교, PC방, 도서관, 병원)  
 공장, 관공서, 공사현장 간식 납품, 식자재 납품, 원재료 납품



## • 물류서비스 운영 현황



- ◆ **도매물류**
  - (1) 현재 전국 20여개 도매업체 거래중
  - (2) 일일 단위 주5일 물류
  - ※ 지역별 거점센터[업체] 운영
  - 대전-한맥물류, 광주-광주전남지사 등
- ◆ **소매물류[직판]**
  - (1) 서울 전 지역 및 경기 지역 충청지역 일부까지 물류
  - (2) 현재 150~170여개 학교업체 거래중
- ◆ **식자재물류**
  - (1) 서울전지역 및 경기 일부지역 물류
  - (2) 현재 100~120여개 체인점 거래중
  - (3) 체인점 물류 대형
  - 폰보스도, 에스푸드

- 고객 NEEDS에 맞춘 다양한 상품보유 (약 3,000~4,000가지)
- OEM 상품개발
- 전국 365일 물류 NETWORK SYSTEM 구축
- 1일 차량운영 "최대 37대" (5t~1t)

## 5. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 및 국내음료시장

### 1. 동경 대형마켓 시장조사 (2017. 8. ~ 2018. 12. )

제품명	제조회사	원재료명	제품특징	사용방법	홈페이지
鹽麹 (시오코지) 120g 	쥬이세소우	쌀코지, 식염, 청주	코지와 염을 숙성시킨 발효 조미료(쌀코지조미료)	(1)야채 : 야채의 10 % 정도의 시오코지를 용기에 넣어 하루밤 재워둔 다음 사용 (2)육류,생선 : 소재의 표면에 얇게 바르고 24 시간 정도 두고 나서 시오코지를 씻지 않고 그대로 굽는다. (3) 삶은 계란과 두부 : 랍으로 싸서 수일간 침지(두부는 물기 빼기)	isesou.co.jp
미야코 코지 -사각형 200g 	쥬이세소우	상백미, 코지균	장모균을 사용 - 균사가 길어 효력이 특히 강하다.	감주, 된장, 염코지 등의 제조에 사용하는 코지(감주 : 코지 200g, 쌀 150g 사용)	isesou.co.jp
鹽麹 (시오코지) 200g 	新床(신조)	쌀코지, 식염, 청주	고토나다의 소금사용, 식품재료(야채 등)의 무침, 혼합에 소금 대신 사용. 기타, 구이, 볶음, 조림 등에 폭 넓게 사용하는 가정 요리의 기본	[돈육] : 양면에 액을 두르고 랍으로 싸서 냉장고에서 3시간 보관 후 굽는다. [야채] : 야채를 자르고 폴리팩에 야채와 제품을 넣은 후 냉장고에서 2시간 방치 후 꺼내어 취식한다.	shinryo-miso.co.jp
乾燥 米코지 (건조 쌀코지), 300g	쥬마루야미소	쌀	맛있는 수제 된장, 감주, 절임류 제조	[감주 煮] : 건조쌀코지 1봉(300g), 따뜻한 밥 약 450g, 열탕 300ml [쌀된장] : 건조쌀코지 300g, 식염 100g, 대두 120g, 대두 삶은물 200ml	
시오코지 550g 	쥬히카리미소	쌀코지, 식염, 청주	누룩과 소금을 섞어 발효·숙성시킨 일본 전통 조미료. 비가열이기 때문에 효소의 활성에 의해 고기나 생선의 맛을 한층더 고급스럽게 함. (편리성을 높인 병타입 제품)	[야채와 Bacon의 시오코지 파스타 2인분] 파스타 160g, 베이컨 30g, 양배추 2~3매, 시오코지 3큰술, 올리브오일 2큰술, 기타 조미료 약간	hikarimiso.co.jp

제품명	제조회사	원재료명	제품특징	사용방법	홈페이지
생시오코지 200g 	마루코메	쌀코지, 식염, 청주	효소가 남아있는 생타입의 시오코지, 소재의 맛을 끌어내어 자연의 맛있는 만능조미료	[구운 시오코지 연어]시오코지로 하루밤 재운뒤 연어를 구운면 지미가 상승한다.	marukome.co.jp
생소유코지 (생간장코지) 200g 	마루코메	간장, 쌀코지, 식염, 청주	누룩 균이 만드는 효소의 힘으로 만든 부드러운 맛의 조미료, 간장 대신 사용하면 품위있는 맛을 지닌 요리가 가능하다.	[간장코지 계란 덮밥] 순한 감칠맛과 계란의 진한맛이 어우러진 상상 이상의 맛을 실현 [간장코지스끼야끼] 품위있는 스키야끼 실현 가능	marukome.co.jp
코지시오 20g 	마루코메	식염, 염코지분말, 덱스트린, 전분, 인산칼슘, 유화제	식염과 비교하여 염분 40 % 이하. 순하고 맛있는 코지소금.	소금 대신 table salt로 사용	marukome.co.jp
시오코지 분말타입 100g 	쯔게모노쥬	쌀코지, 식염, 쌀가루	깊은 맛을 실현할 수 있는 분말 조미료(발효조미료)	국이나 찌개의 요리소재로 적용(조미료 용도로 사용) 본 제품을 이용 동량의 온수를 넣고 혼합시키면 페이스트 조미료가 가능(1일 1회 잘 섞어 주고, 1주간숙성 후 냉장보관)	tsukemoto.co.jp

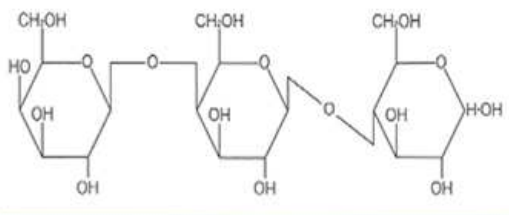
### 일본 효소식품의 시장동향

2. 동경 식품개발전 2018. 3.

**기능성 감미료 Oligomate**  
Yakult약품공업(주)

Structure of the main constituent of galacto-oligosaccharide

**Gal  $\beta$ 1-4Gal  $\beta$ 1-4Glc (4'-galactosyllactose)**



Gal-(Gal)n-Glc (n=1~3  $\beta$ -1,4 link)  
Gal-Glc ( $\beta$ -1,3 link, etc., disaccharides)

Oligomate는 유당에 효소를 작용시켜 제조,  
Galacto올리고당을 55%이상 함유하는  
기능성감미료

- 장내 Bifidus균의 증식효과
- 배변기능 효과
- 내열 및 내산성(가공적성 우수)
- 보습성 및 흡습성 향상
- 감미도(설탕의 32%)
- 난소화성 및 저중치성
- 물성개선 및 Masking 기능(쓴맛, 신맛, 냄새)
- 용도 : 유제품, 음료, 제과, 반찬, 개호식 등

**기능성 당류 Puretose**  
群栄化学工業(株)



식품중의 물 상태에 대한 연구를 진행하여  
물에 가장 가까운 당질인 Puretose를 개발

- 보습효과(촉촉한 느낌을 유지)
- 저감미(설탕의 35%)
- 풍미증가(유제품, 과즙, 두유 등 음료)
- 전분의 노화방지(전분식품의 유통 및 보관 중 식감변화 최소화)
- 이수방지(신선함 유지)
- 냉동내성(냉해동시의 이수방지)

일본 발효관련 당류가공품 기술동향



## AglyMax(발효대두 배아추출물) Nichimoboitics (주)

■ニチモウ独自の特許技術による発酵大豆胚芽抽出物=AglyMax®製造工程



独自の 발효 기술로 Isoflavone을 Aglycon화  
(고흡수형화 및 고향산화능)

▶독자의 발효 기술로 Isoflavone을 Aglycon화  
대두 이소플라본에는 'Glycoside형'과 'Aglycon형'의 두 가지 유형이 있음.

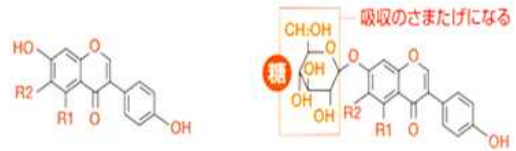
"배당체형'은 당이 결합하여 분자량이 크기 때문에 체내에 흡수되기 위하여는 장내 세균에 의한 분해가 필요하지만, '어그리콘형'은 흡수를 방해하는 당부분이 빠져있는 것으로, 장내 세균의 기능에 관계없이 위·장에서 신속하고 효율적으로 체내에 흡수된다.

AglyMax는 유전자 조작을 하지 않은 양질의 대두 배아를 원료로 자체 누룩곰팡이 발효기술로, aglycon화하고 흡수성을 향상시킨 상품이다.

[발효대두배아 추출물'의 제조과정]

원료 증숙 → 냉각 → 혼합 → 제곡 → 가수분해  
→ 건조 → 추출 → 농축

Aglycon형 isoflavone      Glycoside형 isoflavone



### AglyMax(발효대두 배아추출물) 관련 상품



**Isolacom®** (イソラコン)

AglyMax에 비타민C, 비타민E, 백운석(칼슘, 마그네슘) 등을 더한 주로 여성 취향의 보충.  
※ Aglycon형 Isoflavone : 10mg /1정 (1일 3정 기준)



**ISOLACOM**  
PREMIUM (イソラコン プレミアム)

AglyMax에 환원형 코엔자임Q10, 아스타잔틴, α 리포산, L-시스틴 외에 비타민 9 가지, 미네랄 6종을 추가했다. Aging care를 위한 보충.



**LifeMax®** (ライフマックス)

AglyMax에 톱 야자 추출물, 호박 씨앗 등을 더한 중년 남성을 위한 보충.  
※ 아그 리콘 형 이소 플라본 : 7.5mg / 알갱이 (1 일 4 마리 기준)

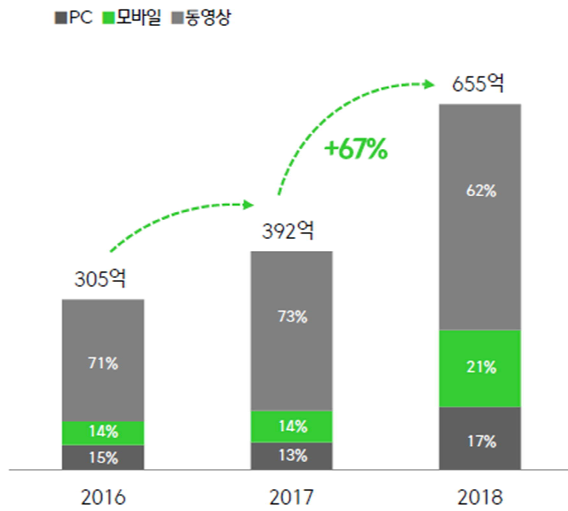
일본 발효대두 기술동향

### 3. 국내 음료시장 동향

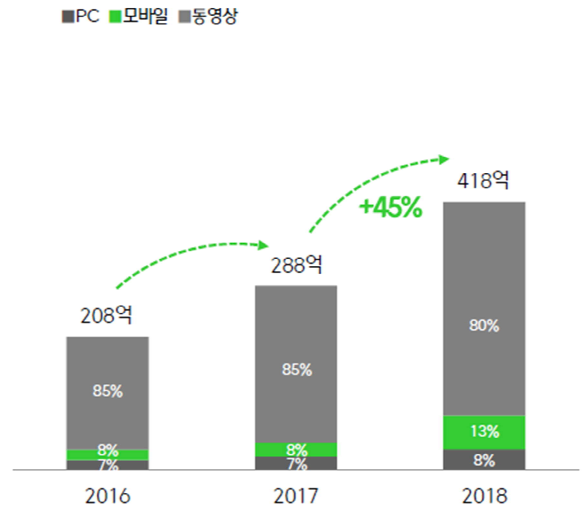
## 모바일 광고를 중심으로, 식음료 시장 고성장

- 식품, 음료/기호식품 모두 높은 광고 성장세를 보임
- 젊은층을 타겟으로 한 아이돌 · SNS 마케팅 증가와 함께, 모바일 중심의 성장세는 지속될 전망

식품 - 연도별 디지털 광고비



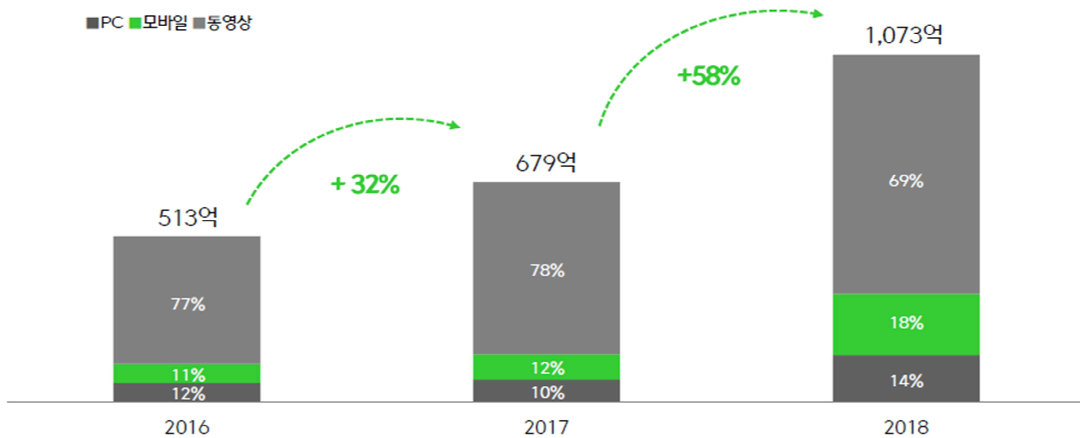
음료 및 기호식품 - 연도별 디지털 광고비



## 식음료 업종 디지털 광고비 전년 대비 58% 고성장

- 전체 광고 시장규모는 성장 둔화를 보이거나, 디지털 광고는 58%의 높은 성장률을 보임
- 식/음료 시장의 상품라인 확대, 소비 트렌드 변화에 따른 마케팅 경쟁은 지속될 전망

국내 식음료 업종 - 연도별 디지털 광고비

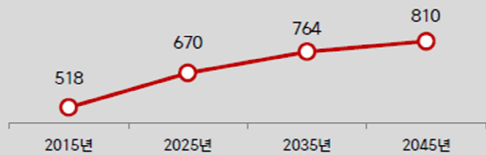


# 가정간편식 시장, 4조 원대 급성장

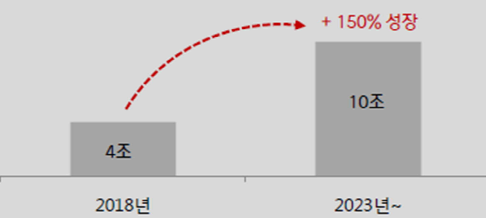
- 1인 가구는 2045년까지 810만 확대가 예상되며, 간편식 시장 또한 약 10조 원대로 성장 전망
- 주요 식품/유통 기업들 또한 카테고리 확대, 제품 고급화 등 가정간편식 사업 강화에 박차

## 1인가구 증가와 함께, 가정간편식 매출은 지속적인 고성장 예상

1) 1인가구 성장 (통계청, 2018.05) 단위: 만 가구



2) 가정간편식 매출 성장 (아시아경제, 2018.11)



## 주요 기업들의 간편식 출시 현황

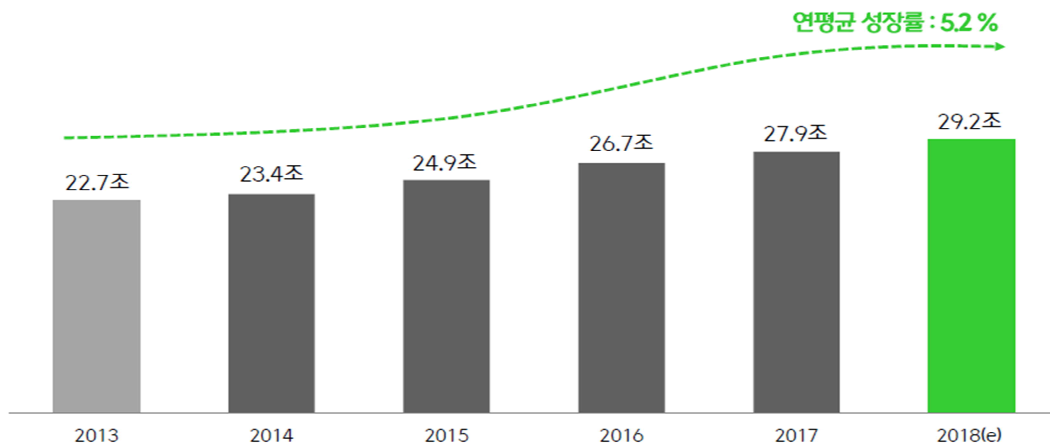
기업명	내용
CJ 제일제당	죽석밥에 이어 '비비고 고메' 브랜드로 냉동면 시장 적극 진출 추진
오뚜기	시장 점유율 1위인 냉동피자 카테고리에서 신제품 출시 통해 간편식 부문 매출 확대 모색
대상	프리미엄 한식 '종가집 종가반상', 서양식 휘슬링 쿡, 온라인 전용 '정정원 집으로온(ON)' 등 브랜드 세분화
신세계	에어프라이어 전용 가정간편식 라인업 확대
현대백화점	'원 테이블(1 TABLE)'의 종류 다양화 추진 및 유명 셰프 레시피, 맛집과의 콜라보 통한 밀키트 출시 박차
GS리테일	온라인 전용 간편식 '심플리룩' 제품 오프라인으로 판매 채널 확대

※ 참고 - 각종 기사 및 해당 기업 홈페이지

# 성장 둔화 식음료 시장, 19년도 성장세 기대

- 국내 경기 침체, 원재료 가격 상승 등의 이유로 국내 식음료 시장은 최근 성장 둔화 현상
- 가정간편식(HMR) 및 간편대용식(CMR), K푸드 해외 진출 등으로 19년도 성장세 기대

## 국내 식음료 업종 - 연도별 전체 시장 규모





# 언택트족 증가, 식음료 업계의 새로운 변화

- 비대면 선호로 '주문, 결제, 음식 제공' 등 식음료 및 외식 관련 서비스의 무인/자동화 활발
- O2O서비스와의 제휴, 키오스크, 자판기 등 다양한 식음료 업계에 비대면 서비스 확산

● 언택트족 : 접촉(Contact)을 뜻하는 콘택트에 언(un)이 붙어 '접촉하지 않는다'는 의미로, 사람과의 접촉을 최소화하거나 접촉하지 않으려는 사람들을 칭하는 신조어

## 앱 제휴 O2O 서비스



최근 배달앱은 기존의 음식 카테고리에서 베이커리, 간편식, 반찬 등으로 품목 확대 적극 추진하고 있으며 식음료 업체들도 자체 딜리버리 서비스 시작

SPC: 소비자가 원하는 장소로 케이크, 빵, 샌드위치 등을 배달해 주는 '파바 딜리버리 서비스' 시작

CJ푸드빌: 계절밥상 메뉴 20여 종을 포장, 배달앱 업체와 제휴해 '계절밥상 그대로' 서비스 운영

## 매장내 키오스크



최근 맥도날드, 롯데리아, KFC 등 국내 패스트푸드업체 키오스크 적극 도입 추진

또한 커피숍, 마트 등에서도 매장 내 무인 결제 주문기기 키오스크 설치 빠르게 확산 중

무인 자동화 기기를 통해 주문, 결제가 가능함은 물론, 적립 등 각종 혜택도 이용 가능

## 무인 자판기



아이스크림, 신선식품, 도넛 등 다양한 식음료 품목을 무인 자판기를 통해 제공하는 사례 증가

코카콜라: 코카콜라 슬러쉬 제품을 구입할 수 있는 '슈퍼 칠드 코-크' 운영

풀무원: 신선식품을 판매하는 '인텔리전스 밴딩머신' 서비스 운영하며, 휴게소 등에서 녹음, 유산균음료, 핫도그 등 간식류 판매

※ 참고 - 각종 기사 및 해당 기업 홈페이지

## 인터넷이용행태

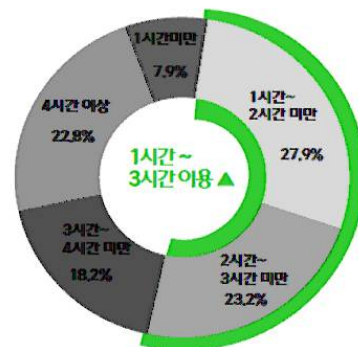
# 저녁~밤 시간대 주로 인터넷 이용, 일 평균 1시간~3시간 미만 사용

- 식음료 업종 소비자는 저녁 8시~밤 11시 이후의 사용률이 92.8%로 높게 나타남
- 일 평균 이용시간은 대체로 1시간~3시간 미만으로 응답률 51%로 나타남

Q. 식음료 소비자 - 인터넷 이용 시간대 (1.2순위 중복응답)



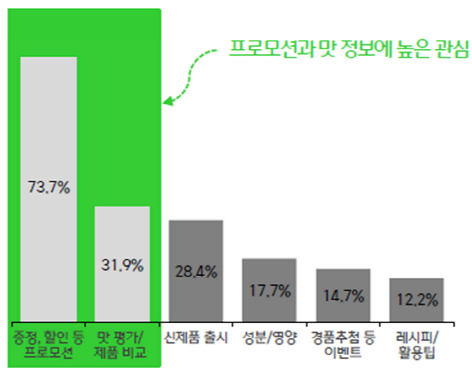
Q. 식음료 소비자 - 일 평균 인터넷 이용 시간 (1.2순위 중복응답)



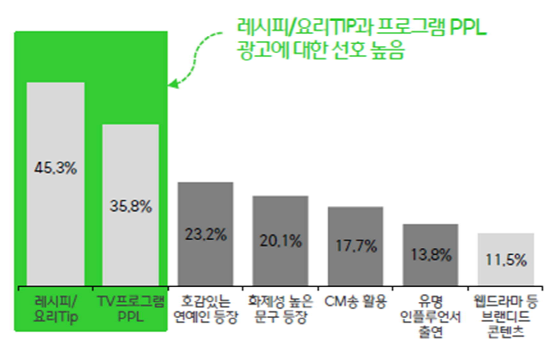
## 식음료 업종은 프로모션과 함께, 맛/제품 활용 정보 중요

- 프로모션 정보와 함께 맛과 제품 비교에 대한 검색률이 높게 나타남
- 또한 제품 활용한 레시피, 푸드 프로그램 PPL 같은 자연스런 제품 노출 형태의 광고 선호

Q. 인터넷 검색시 가장 관심 있는 식음료 정보 (1,2순위 중복응답)



Q. 식음료 광고 중 가장 오감가는 광고 요인 (1,2순위 중복응답)





## 붙임. 참고문헌

1. Andreasen AA. drink alcohol production, p46, 1982, Joseph E. Seagram & Sons, Inc. Louisville, Kentucky.
2. AOAC. 1955. Official methods of analysis, 16th ed. Association of Official Chemists, Washington DC., USA.
3. Caplice, E. and F. Fitzgerald, G., 1999. "Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation" , Int. J. Food Microbiol. 50,:131-149.
4. Cheung HS, Cushman DW. 1971. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20:1637-1641.
5. Cho HK, Seo WT, Lee JY and Cho KM, 2012. "Quality Characteristics of Cereal Makgeolli Rice Nuruk Prepared Rhizopus oryzae CCS01" , J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41(7):1002-1008.
6. Choi JS, Jung ST, Kim JY, Choi JH, Choi HS and Yeo SH, 2011. "Quality Characteristics of wheat Nuruk and Optimum Condition of Liquid Starters for *Aspergillus* sp." , Korean J. Microbiol. Biotechnol. 39(4):357-363.
7. Chung MJ, 1996. "Purification and characteristics of raw starch hydrolyzing enzyme from *Aspergillus niger*" , 한국과학재단 연구결과 보고서, KOSEF 951-0603-077-1.
8. Geetha S, Sai RM, Singh V, Ilavazhagan G and Sawhney RC. 2002. Anti-oxidant and immunomodulatory properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) - an in vitro study. J Ethnopharmacol 79:373-378.
9. George AB, Madhusudan GS, Ioana GC. 2001. Evaluation of health aspects of Kojic acid in food. Regulatory Toxicology and Pharmacology 33:80-101.
10. Huh CK, Lee JW and Kim YD, 2012. "Quality Characteristics of Rice Wine according to the Rice Wine Seed Mash with Lactic Acid Concentration" , Korean J Food Preserv, 19(6):933-938.
11. Hwang IG, Kim JS, Yoo SM, Kim JY and Yang JW, 2011 "Quality Characteristics of Saccharified Rice Gruel Prepared with Different Cereal Koji" , Korean J. Food Cookery Sci. 27(6):1617-1622.
12. Jeong SI, Kim SJ, Kwon TH, Yu KY and Kim SY. 2012. Schizandrin prevents damage of murine mesangial cells via blocking NADPH oxidase-induce ROS signaling in high glucose, Food and Chem 50:1045-1053.
13. Jo YH, Sung NK, Chung DH and Yun HD, 1979. "Microbiological Studies on the Rice Makkulli (Part 1) Utilization of Rice Makkulli Koji with the Isolated Strain M-80" , Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng. 7(4):217-223.
14. Jung NC. 1998. Biological activity of urushiol and flavonoids from Lac tree (*Rhus verniciflua* Stokes). Ph.D. Thesis, Chonnam National University, Kwang-ju, South Korea.
15. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. Kor. J. Food Sci. Technol. 27:891-896.

16. Kang SG, Park IB and Jung ST, 1997. "Characteristics of Fermented Hot Pepper Soybean Paste (Kochujang) Prepared by Liquid Beni-Koji", Korean J. Food Sci. Technol. 29(1):82-89.
17. Kim DB, Shin GH, Lee JS, Lee OH, Park IJ and Cho JH. 2014. Antioxidant and nitrite scavenging activities of *Acanthopanax senticosus* extract fermented with different mushroom mycelia. Korean J. Food Sci. Technol. 46:205-212.
18. Kim DC, Choi JW and In MJ, 2011. "Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* 310-12 Strain in the Fermentation of a Traditional Korean Rice-based Beverage", J. Appl. Biol. Chem. 54(1):21-25.
19. Kim DH, Kim SH, Choi NS, Bai S and Chun SB, 1998. "Biochemical Characteristics of Whole Soybean Cereals Fermented with *Aspergillus* Strains", Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26(6):551-557.
20. Kim DJ, Jung JH, Kim SG, Lee HK, Lee SK, Hong HD, Lee BY and Lee OH. 2011. Antioxidants and anti-obesity activities of hot water and ethanolic extracts from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). Korean J. Food Preserv. 18:366-373.
21. Kim HS, Moon HK, Lee YJ and Lee CY. 2015. Comparison of the Content of Shizandrin, Gomisin A and Gomisin N in Schisandra Fruit by Water Extraction Condition. J. Food Hyg. Safety 30(1):59-64.
22. Kim IT, Park YM, Shin KM, Ha J, Choi J, Jung HJ, Park HJ, Lee KT. 2004. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of the extract from *Kalopanax pictus*, *Pueraria thenbergiana* and *Rhus verniciflua*. J. Ethnopharm. 94:165-173.
23. Kim MH, Kim JG and Choi JH. 2015b. Antioxidant and Anti-Obesity Activity of Ethanol Extracts from Fermented *Arctium lappa* L. J. Food & Nutr. 28(5):752-758.
24. Kim MR, Seo JY, Heo OS, Oh SH and Lee KS, 2002. "Physicochemical and sensory qualities of commercial Sikhes", J. Korean Soc. food Sci. Nutr. 31(5):728-732.
25. Kim MY, Yi JH, Hwang Y, Song KS and Jun M. 2008. Isolation and Identification of Antioxidant Substances from the Stems of Butterbur (*P. etasites japonicus*). J. Food & Nutr. 37(8):979-984.
26. Kim NR, Park JS, Lee DS and Shim JH. 2016. Eleutherosides Extraction from *Acanthopanax sessiliflorus* Seeman and *Eleutherococcus senticosus* Maxim Using an Enzymatic Process. J. Food & Nutr. 45(9):1273-1278
27. Kim SC, Kim HS and Kang YJ, 1999. "Changes of Components in the Rice-porridge Fermented by Nuruk", J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28(5), pp. 1017-1021.
28. Kim TY, Kim ES, Eun JB, Wang SJ and Wang MH, 2007. "Changes in physicochemical and Sensory Characteristics of Rice Wine, Yakju Prepared with different Amount of Red Yeast Rice", Korean J. food Sci. Technol. 39(3), pp. 309-314.
29. Kim YJ, Kang SC, Namkoong S, Choung MG and Sohn EH. 2012. Anti-inflammatory effects by *Arctium lappa* L. root extracts through the regulation of ICAM-1 and nitric oxide. Korean J. Plant Res. 25:1-6
30. Kitts DD, Lim KT. 2001. Antitumorigenic and cytotoxic properties of an ethanol extract

- derived from *Rhus verniciflua* Stokes (RVS). *J. Toxicol. Environ. Health* 64:357-371.
31. Kwak BH, Yang CY and Lee OT, 1998. "Production and Properties of an Acid Amylase from *Aspergillus* sp. BH-31" , *J. Korean Soc. Food Technol.*, 2(1):30-37.
  32. Kwon YH, Lee AR, Kim HR, Kim JH and Ahn BH, 2013. "Quality Properties of Makgeolli Brewed with Various Rice and Koji" , *Korean J. Food Sci. Technol.* 45(1):70-76.
  33. Lee HK, Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee SH, Woo SH, Lee JS and Jeong HS, 2010. "Physicochemical Characteristic and Antioxidant Activities of Cereals and Legumes in Korea" *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39(9):1399-1404.
  34. Lee JC, Kim J, Lim KT, Yang MS, Jang YS. 2001. Ethanol eluted extract of *Rhus verniciflua* Stokes showed both antioxidant and cytotoxic effects on mouse thymocytes depending on the dose and time of the treatment. *Biochem. Mol. Biol.* 34.:250-258.
  35. Lee JH, Park AR, Choi DW, Kim JD, Kim JC, Ahn JH, Lee HY, Choe M, Choi KP, Shin IC and Park HJ. 2011. Analysis of chemical compositions and electron-donating ability of 4 Korean wild Sannamuls. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 19:111-116.
  36. Lee JS, Lee TS, Choi JY and Lee DS, 1996. "Volatile Flavor components in mash of nonglutinous rice Takju during fermentation" , *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 39(4):249-254.
  37. Lee KP, Kang S, Park JS, Choi YW, Lee YG and Lim DS. 2013. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of bakkenolide B isolated from *Petasites japonicus* leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 148(3):890-894.
  38. Lee MS. 2011. Antioxidative and antimutagenic effects of *Artium lappa* ethanol extract. *Korean J. Food & Nutr.* 24:713-719
  39. Lee TS, Park SO and Kung SS, 1984. "Changes of Chemical Composition during the Aging of Liquid Koji Kochujang" , *Korean J. Food Sci. Technol.* 16(1):1-6.
  40. Lee TS, Park SO and Kung SS, 1984. "Free Amino Acid and Free Sugar Contents of Liquid Koji Kochujang" , *Korean J. food Sci. Technol.* 16(1):1-7.
  41. Liao W, Liu Y, Frear C, Chen S, 2007. "A new approach of pellet formation of a filamentous fungus -*Rhizopus oryzae*" , *Bioresource Technology* 98:3415-3423.
  42. Lim KT, Chun H, Kitts DD. 2001. Antioxidant activity of a *Rhus verniciflua* Stokes ethanol extract. *Food Chem. Toxicol.* 39:229-237.
  43. Moon JS, Lee JH and You SH. 2017. Antioxidant Activity and Cytotoxicity on cell of *Arctium lappa* L. root extract. *J. of Korean Oil Chemists' Soc.* 34(1):41-49.
  44. Park GS, An SH, Choi KH, Jeoung JS, Park CS and Choi MA, 2000. "Preparation of the Functional Beverages by Fermentation and Its Sensory Characteristics" , *Korean J. Soc. Food. Sci.* 16:663-669.
  45. Park KY, 2012. "Increased Health Functionality of Fermented Foods" , *Food industry and nutrition.* 17(1):1-8.
  46. Park KY, Jung GO, Lee KT, Choi JW, Choi MY, Kim GT, Jung JJ, Park HJ. 2004. Antimutagenic activity of flavonoids from the heartwood of *Rhus verniciflua*. *J. Ethnopharm.* 90:73-79.

47. Park MY, Yu C and Park YH. 2016. Effects of Roasting and Peeling Process and Extraction Temperature on the Antioxidant Activity of Burdock Tea. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 24(5):351-359.
48. Pearson A, Budin M, Brocks J. 2003. Phylogenetic and biochemical evidence for sterol synthesis in the bacterium *Gemmata obscuriglobus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 15352-15357.
49. Rha KY, 1989. "Seed mold important in brewing" , *Korean J. Food & Nutr.* 1(2):108-110.
50. Shahidi, F. Chandrasekara, A, 2013. "Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: A review" , *Journal of functional foods.* 5(2):570-581.
51. Sivaramakrishnan S, Gangadharan D, Nampoothiri KM, Soccol CR and Paney A, 2006. "  $\alpha$ -Amylases from microbial sources - and overview on recent developments" , *Food Technol. Biotechnol.* 44(2):173-184.
52. So MH and Lee YS, 2009. "Effects of Culture Conditions of *Rhizopus* sp. ZB9 on the Production of Saccharifying Amylase during the Preparation of Rice Koji" , *Korean J. Food & Nutr.* 22(4):644-649.
53. So MH, 1999. "Characteristics of a Modified Nuruk Made by Inoculation of Traditional Nuruk Microorganisms" , *Korean J. Food & Nutr.* 12(3):219-225.
54. So MH, 1993. "Characteristics of Koji Molds Isolated from Koji-Starters for Brewing in Korea and Japan" , *Korean J. Food & Nutr.* 6(1):1-7..
55. So MH, 1993. "Cultural Conditions for the Production of Saccharogenic Amylase During Rice-Koji Making by *Aspergillus awamori* var. *kawachii*" , *Korean J. Food & Nutr.* 6(4): 294-300.
56. So MH, 1991. "Improvement in the Quality of Takju by the Combined Use of *Aspergillus kawachii* and *Aspergillus oryzae*" , *Korean J. Food & Nutr.* 4(2):115-124..
57. So MH, Lee YS and Noh WS, 1999. "Changes in microorganisms and Main Components during Takju Brewing by a Modified Nuruk" , *Korean J. Food & Nutr.* 12(3):226-232.
58. Toshihiko S, Kiyotaka F, Kanefumi K. 2007. Some distinguishable properties between acid-stable and neutral type of  $\alpha$ -amylase from acid-producing Koji. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 104. 353-362.
59. Woo KS, Ko JY, Song SB, Lee JS, Oh BG, Kang JR, Nam MH, Ryu IS, Jeong HS and Seo MC, 2010. "Physicochemical Characteristics of Korean Traditional Wines Prepared by Addition of Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Using Different Nuruks " , *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39(4):548-553.
60. Yang J, Du Y, Huang R, Sun L, Liu H, Gao X, Kennedy JF. 2005. Chemical modification and antitumor activity of Chinese lacquer polysaccharide from lac tree *Rhus vernicifera*. *Carbohydr. Polym.* 59. 101-107.
61. Yoon TJ and Jo SY. 2010. Effect of *Acanthopanax senticosus* Extracts on Alcohol Degradation and Anti-Inflammatory Activity in Mice. *Korean. J. Food & Nutr.* 23(4):542-548.
62. 과학기술부. 1998. "전통누룩과 전통주의 품질향상 및 산업화 기술연구" , 농촌진흥청 작물시험장, 연구보고서.

63. 박정희, 2001. “재래누룩에서 분리한 Koji균별 탁주의 성분분석과 향기성분에 관한 연구”, 건국대학교 농축대학원 석사학위논문, 건국대학교, 2001.
64. 백운화, 1996. “전통 음청류의 산업화 현황과 전망”, 인제식품과학 FORUM 논총 4권, pp. 75-95.
65. 안용근, 이석건. 1996. 식혜산업의 문제점과 품질 향상방안. 한국식품영양과학회지 9:45-51.
66. 오동순, 2004. “포자형성능이 우수한 *Aspergillus oryzae* 의 육종 및 최적 포자생성 조건”, 우석대학교 석사학위논문, 우석대학교.
67. 이시경, 주현규, 안종국. 1997. 식혜제조시 쌀 품종이 당화에 미치는 영향. 한국식품과학회지 29:470-475.
68. 이효지, 전희정. 1976. 식혜제조의 과학적 연구. 대한가정학회지 14.:685
69. 한국식품연감(2008-2009). 2008. 농수축산신문
70. 한국식품정보원. 2008. 식품세계 : 김언경. 음료시장 동향
71. 현영희 외 4명 공저, 2000. 식품재료학, 형성출판사, pp. 48-54.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.