

매실 첨가 막걸리의 이화학적 특성 및 항균/항산화 특성 연구

박소영 · 윤채은 · 김민정 · 손종연 · 심재용*

국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터

Study of Physicochemical Properties and Antioxidant/Antimicrobial Activity of Makgeolli with *Prunus mume* Extract

So Young Park, Chae Eun Yun, Min Jung Kim, Jong-Youn Son, and Jae-Yong Shim*

School of Food Biotechnology & Chemical Engineering (Department of Food Science & Biotechnology) and Global K-Food Research Center, Hankyong National University

Abstract

Makgeolli's fermentation characteristics and antioxidant and antimicrobial activities were investigated to examine the effect of *Prunus mume* extract addition. *Makgeolli*, with the addition of various levels (0, 1, 3, and 5%) of *Prunus mume* extract (PME), was brewed with fermenting agents, *Ipguk* and *Nuruk*. The alcohol content of all samples remarkably increased during the initial 3 days and then gradually increased up to over 18% by the end of fermentation (7 days for *Nuruk* and 15 days for *Ipguk*). Although the alcohol content was slightly reduced and acidity was increased with the concentration of PME, there was no other negative effect of PME on the fermentation of *Makgeolli*. The contents of total phenols and flavonoids for *Ipguk* samples were higher than those for *Nuruk* samples, and these values significantly increased at over 3% PME addition. As the PME content increased, the antioxidant activity increased for both *Nuruk* and *Ipguk* samples. Only *Makgeolli* with *Ipguk* had vigorous antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus* at over 3% addition of PME. These results indicate that PME can be an effective natural additive for enhancing *Makgeolli*'s antioxidant and antimicrobial activities.

Keywords: *Prunus mume*, *Makgeolli*, brewing characteristics, antioxidant activity, antimicrobial activity

서 론

한국 전통주인 막걸리는 주로 찹쌀이나 멥쌀 등의 곡류에 발효제와 용수를 첨가하여 발효시켜 만든 술로 단백질, 당질, 식이섬유 등이 풍부하고 비타민과 유기산 및 발효과정에서 생성된 다양한 생리활성 물질이 많아 영양학적으로 가치가 있는 것으로 알려져 있다(Lee, 2001; Lee et al., 2011). 막걸리는 당화 효소에 의해 곡류의 전분을 포도당으로 분해하는 당화 과정과 효모가 분해된 당분을 이용하여 알코올로 전환시키는 알코올 발효가 동시에 일어나는 병행발효주로 담금에 사용되는 재료나 발효제의 종류에 따라 발효 profile의 변화로 인해 알코올 함량, 유기산의 종류 등 최종 제품의 품질 특성 차이를 보인다(Son et al.,

2011; Ma et al., 2019). 발효제로는 과거 전통 누룩을 주로 사용하였으나 효소활성의 균일성을 유지하기 어렵고 대량생산을 위한 발효 안정성과 제품의 품질 일관성을 유지하기 어려운 단점이 있다(Lee et al., 2004). 또한 일본의 소주 제조 곰팡이 *Aspergillus kawachii*를 전분질 원료에 배양한 입국은 술덧의 pH를 산성으로 유지하여 전통 누룩에 비해 발효 안정성과 알코올 수율의 향상 및 양조시간 단축 등의 등 이점을 가지고 있지만 제품에 독특한 향이 적고 유기산의 신맛이 지나쳐 전통 누룩으로 제조하였을 때보다 향미가 떨어진다고 알려져 있다. 이를 보완하기 위해 최근에는 전통누룩에 효소 생산능력과 알코올 발효능이 높은 균주를 접종한 개량 누룩이 개발되어 사용되고 있다(So et al., 1999).

최근 건강기능성 식품에 대한 소비가 증가하면서 안전성이 확보된 천연 항산화 소재를 찾고자 하는 노력이 이루어지고 있는데 대표적인 천연 항산화제로는 tocopherol과 L-ascorbic acid가 있으나 tocopherol의 경우 단독으로는 산화반응 저지 능력이 낮고 가격이 비싼 단점이 있다. 따라서 항산화 효과가 높으면서 안전하고 경제적인 천연 항산화 물질을 식용 식물체로부터 분리하여 이용하려는 연구가 지

*Corresponding author: Jae-Yong Shim, School of Food Biotechnology & Chemical Engineering (Department of Food Science & Biotechnology) and Global K-Food Research Center, Hankyong National University, 327 Jungang-ro, Anseong-si, Gyeonggi-do 17579, Korea
Tel: +82-31-670-5158; Fax: +82-31-670-5159
E-mail: jyshim@hknu.ac.kr
Received November 8, 2022; revised December 26, 2022; accepted January 27, 2023

속적으로 진행되고 있다(Kim et al., 1997; Song et al., 2000; Yoon et al., 2003; Hwang, 2004).

매화나무의 핵과를 매실(*Prunus mume Sieb. et Zucc*)이라 하는데 수확기간이 짧고 수확 후 상온에서 3-4일 내에 조직이 급격히 연화되기 쉽고, 독성으로 인해 생과로의 섭취가 어려워 주로 매실청으로 만들어 숙성하여 물에 희석하여 음용하거나 매실장아찌, 매실절임, 매실김치 등으로 만들어 섭취하고 있다(Lim & Eun, 2012). 매실은 무기질과 유기산이 다량 함유되어 있는 대표적인 알칼리성 식품으로 다른 과일과 비교하여 우수한 항산화 활성을 띠는 것으로 알려져 있으며 매실 추출물은 항균활성이 높고 넓은 범위의 온도 및 pH에 안정하여 이상적인 천연 항균제로서의 가능성을 제시한 연구도 보고되었다(Shim et al., 2002; Choi et al., 2004).

최근 소규모 양조장에 대한 규제가 완화되고 전통주에 관심을 갖는 소비자들이 증가하면서 다양한 식물성 소재를 이용한 기능성 막걸리에 대한 연구가 보고되었는데 석류(Kim et al., 2014), 오미자(Song et al., 2015), 아로니아(Lee et al., 2015), 파프리카(Kim et al., 2013), 으름열매(Lee et al., 2013) 등을 이용한 연구로 매실을 이용한 기능성 막걸리에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 매실의 항산화 및 항균 효과를 가진 기능성 막걸리를 만들기 위해 매실농축액의 첨가량을 조절하고 발효제로서 입국과 개량누룩을 사용하여 막걸리 담금 시 발효 특성을 비교하고 제조된 막걸리 술덧의 이화학적 특성과 항산화 및 항균 활성을 측정하여 매실의 생리활성을 부여한 기능성 막걸리 제조 가능성을 평가해 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

막걸리 양조에 사용한 쌀은 2022년 경기도 이천시 이천남부농협 쌀 조합 공동사업법인에서 도정한 백미를 구입하여 사용하였고 매실 농축액은 가담농원 영농조합법인에서 구매하여 사용하였다. 발효제로는 입국(Fermentation Plus, Seoul, Korea)과 누룩(Korea Fermentation Co., Hwaseong, Korea), 한국발효주식회사)을 사용하였다. 효모는 시판 La Parisienne (S.I. Lesaffre, France)를 사용하였다.

입국 발효

먼저 입국 70 g에 효모 0.56 g, 물 105 mL를 넣고 23°C에서 48시간 발효시켜 주모 담금을 실시하였다. 이후 백미 140 g을 수세하고 2시간 동안 침지한 후 30분간 물빼기를 하고 2시간 증미한 후 실온에서 30분간 냉각시켰다. 증미한 백미와 입국 140 g, 물 420 mL를 앞서 주모 담금한 밑술에 넣고 23°C에서 24시간 발효시켜 1단 담금을 진행하였다. 24시간 발효 후, 백미 700 g을 1단 담금과 같은 방법으로

처리 후, 물 1050 mL를 1단 담금한 밑술에 첨가하여 2단 담금을 실시하였다. 매실농축액은 2차 담금 시 쌀 무게 기준 1, 3, 5%를 첨가하여 진행하였다. 총 15일간 발효를 진행하면서 2일 간격으로 생성된 발효 생성물을 분석하였다.

누룩 발효

백미 350 g을 수세 후, 2시간 동안 침지한 후 30분간 물빼기를 하고 2시간 동안 증미한 후 실온에서 30분간 냉각시켰다. 증미한 백미와 누룩 7 g, 효모 2.8 g, 물 525 mL을 넣어 23°C에서 24시간 발효시켜 1단 담금을 실시하였다. 24시간 발효 후, 백미 700 g을 1단 담금과 같은 방법으로 처리 후, 누룩 14 g, 물 1050 mL를 1단 담금한 밑술에 첨가하고 23°C에서 발효시켜 2단 담금을 진행하였다. 매실농축액은 2단 담금 시 쌀 무게 기준 1, 3, 5%를 첨가하여 진행하였으며 총 7일간 담금을 진행하면서 2일 간격으로 생성된 발효 생성물을 분석하였다.

총산도 및 pH

총산도는 국제청 주류분석규정(NTS, 2010)에 따라 여과된 시료 10 mL에 혼합지시약(B.T.B & N.R)을 2-3방울을 가하고 0.1 N NaOH로 중화 적정하였으며 적정치 값을 초산(%)으로 환산하였다. pH는 pH meter (Ecomet pH mV TEMP Meter P25, iSTEK, Korea)로 측정하였다.

알코올 함량

에탄올 함량은 국제청 주류분석규정(NTS, 2010)에 따라 원심분리(4000 rpm, 20분)한 술덧 100 mL를 메스실린더에 취하고 15 mL의 물로 2회 씻은 액을 합쳐 500 mL 삼각플라스크에 옮긴 후 소포제를 첨가하였다. 삼각 플라스크를 증류장치에 연결하고 증류하면서 100 mL 메스실린더에 증류액이 70 mL가 되면 전원을 차단하고 100 mL가 되도록 증류수로 채워주었다. 내용물을 잘 혼합한 다음 density meter (DAMA35 version3, Anton paar, Austria)로 알코올 함량을 측정하였다.

환원당

환원당은 DNS법을 이용하여 측정하였다. 원심분리(4000 rpm, 20분)한 술덧을 여과하여 1 mL를 취한 후 DNS (dinitrosalicylic acid) 용액을 3 mL 첨가하고 70°C에 7분간 반응시킨 다음 차가운 물에 담가 반응을 정지시켜준다. 증류수 16 mL를 첨가하여 섞어준 후 분광광도계(Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 분석결과는 표준 포도당 용액을 이용하여 검량선을 작성하여 계산하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법에 따라 시료 0.4 mL

에 2% sodium carbonate 용액 4 mL를 가하여 3분 동안 반응시킨 후, 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 가하여 30분간 암소에서 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준 검량 곡선을 통해 계산하였고, 시료 중의 mg gallic acid equivalent (GAE)로 작성하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 시료 1 mL에 diethylene glycol 10 mL, 1 N NaOH 1 mL를 첨가하여 혼합한 후, 37°C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량곡선은 quercetin을 사용하였고 시료 중의 mg quercetin equivalent로 작성하였다.

DPPH에 의한 전자공여능

DPPH에 의한 전자공여능(EDA, electron donating ability)은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 1 mL에 증류수 3 mL와 0.2 mM DPPH 4 mL를 가하여 10초간 섞은 다음 30분 동안 방치한 후 분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 대신 시료추출용매로 공시험도 함께 진행하였다. DPPH에 의한 전자공여능은 아래 식을 이용하여 백분율(%)로 나타내었다. 비교군은 ascorbic acid (0.06 mg/mL)를 사용하였다.

$$EDA(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A : 시료첨가구의 흡광도, B : 시료 무첨가구의 흡광도

아질산염 소거능

아질산염 소거능은 Gray & Dugan (1975)의 방법으로 측정하였다. 시료 1 mL에 1 mM NaNO₂ 2 mL를 첨가한 뒤 0.1 N HCl 용액과 0.2 M 구연산 완충용액을 첨가하여 각각 pH 1.2, 3.0과 6.0으로 조절하여 1시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 각 반응액 1 mL를 취하여 2% acetic acid 용액 5 mL와 Griess 시약 0.4 mL를 첨가하여 잘 혼합한 후 15분간 실온에서 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 동일하게 진행하였다. 아질산염 소거능은 아래 식을 이용하여 백분율로 나타내었다. 비교군은 ascorbic acid (2 mg/mL)를 이용하였다.

$$N(\%) = (1 - (A - B)/C) \times 100$$

N : 아질산염 소거능

A : 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응한 후의 흡광도

B : 시료 추출물 자체의 흡광도

C : 시료대신 증류수를 1 mM NaNO₂ 용액에 첨가하여 1시간 반응한 후의 흡광도

항균활성

사용한 균주는 *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli* C3000, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923로 3회 계대배양하여 활성화시킨 후 *L. plantarum*은 액체배지 10 mL에 1백금이를 접종하고, *E. coli*와 *S. aureus*는 액체배지 100 mL에 1 plate 접종하여 37°C에서 16-24시간 배양하였다. *L. plantarum*은 Lactobacilli MRS agar (Difco)배지 10 mL당 seed의 O.D 값이 1로 희석된 균액 0.1 mL을 넣어 항균활성 분석용 평판을 제조하였고 *E. coli* 및 *S. aureus*는 nutrient agar (Difco) 배지 10 mL당 seed의 O.D 값이 1로 희석된 균액 0.1 mL을 넣어 항균활성분석용 평판을 제조하였다. 대조물질은 ampicillin을 10 ppm으로 희석하여 사용하였으며 시료는 13,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 상등액을 취해 *L. plantarum*은 원액, *E. coli* 및 *S. aureus*는 1/2 희석액으로 희석하여 항균활성 분석 시료로 사용하였다. 항균활성 분석용 평판 위 iron cylinder를 올린 후에 안에 150 µL씩 대조물질 및 시료를 피펫을 통해 주입하였다. 1시간 동안 diffusion되게 유지한 후 30°C에서 24시간 배양하였다. 항균활성정도는 clear zone의 유무와 지름으로 구분하였다.

통계처리

3회 반복 측정한 실험결과 값은 평균±표준편차로 표시하였고 SPSS (IBM SPSS Statistics 21)프로그램을 이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

양조특성 분석

입국과 누룩을 발효제로 사용하고 매실 농축액의 첨가량에 따른 막걸리 술덧의 이화학적 특성 변화는 각각 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. 효모가 당 성분을 분해시키는 과정에서 알코올이 생성되어 알코올 함량이 증가하게 된다 (Choi et al., 2013). 알코올 함량변화는 입국의 경우 1일차에 매실 무첨가구(0%)가 7.9%였고 매실 함량이 증가함에 따라 낮은 값을 보였다. 발효 3일 차에 0%가 13.95%, 나머지첨가군들이 12.75-13.35%의 값을 보여 모든 실험군에서 알코올함량의 급격한 증가를 보였다. 이후 서서히 증가하여 발효 종료 시점인 15일에는 0%가 18.9%로 가장 높았으며 나머지 매실 첨가군들은 18-18.6%로 낮은 값을 보였다(Fig. 1a). 매실의 산 성분으로 인해 효모의 생육 저해가 발생하는 것으로(Jeong et al., 2010) 보여지는데 매실 첨가량이 크지 않아 최종 알코올 함량에는 유의적인 차이는 보이지 않았다. 누룩의 경우 1일차에 모든 실험군의 알

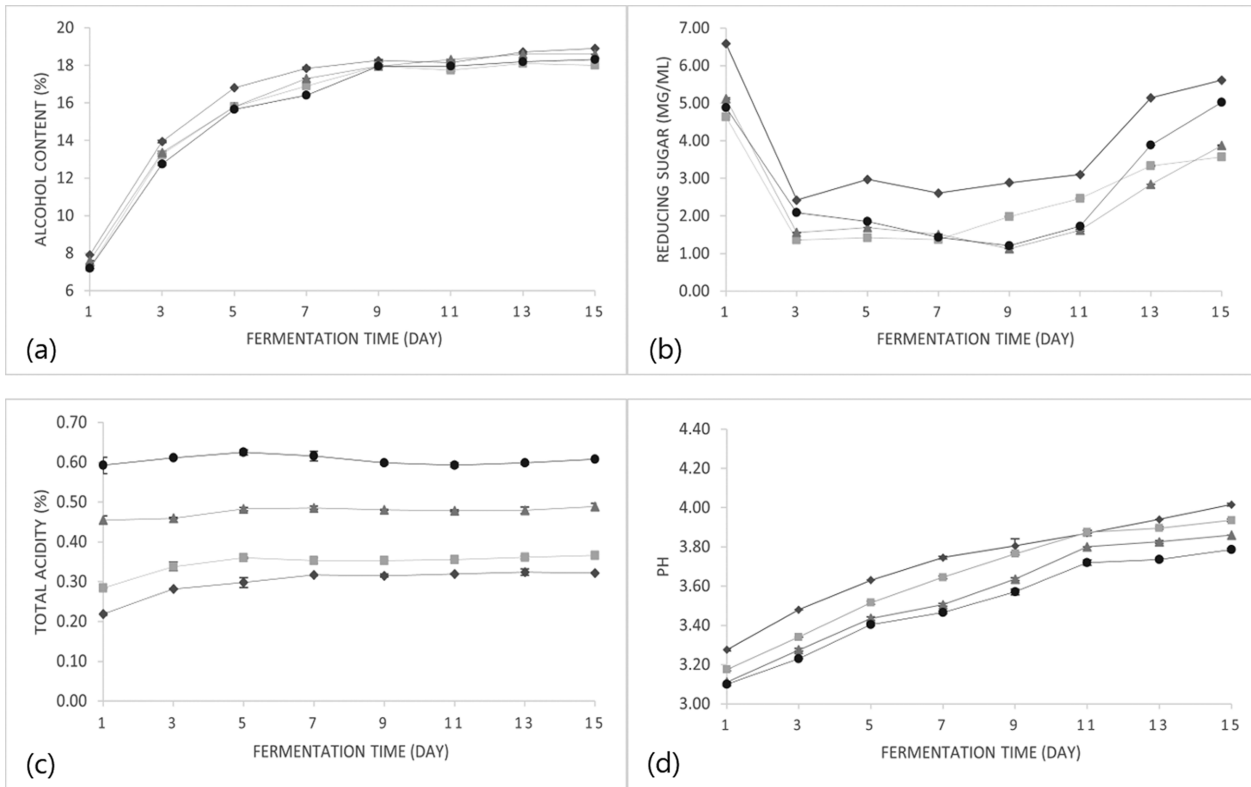


Fig. 1. Changes in (a) alcohol contents, (b) reducing sugar, (c) total acidity, (d) pH of *Makgeolli* containing *Prunus mume* extract using *Ipguk*. ◆: 0%, ■: 1%, ▲: 3%, ●: 5%.

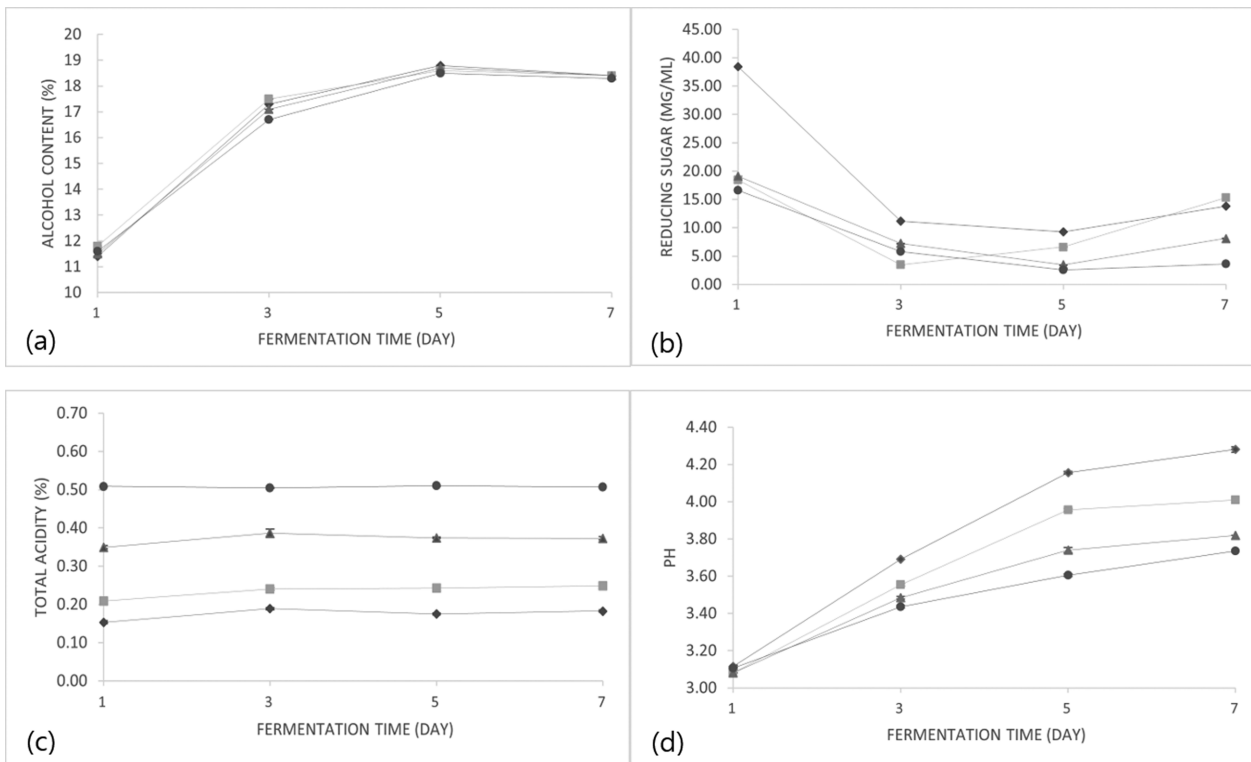


Fig. 2. Changes in (a) alcohol contents, (b) reducing sugar, (c) total acidity, (d) pH of *Makgeolli* containing *Prunus mume* extract using *Nuruk*. ◆: 0%, ■: 1%, ▲: 3%, ●: 5%.

코올 함량이 11%를 넘어서며 급격한 증가를 보였고 3일차에 17%를 넘어 서서히 증가하여 발효 종료 시점인 7일차에는 18.4%까지 증가하였다(Fig. 2a). 누룩의 경우 매실의 첨가에 따른 알코올 함량의 변화 차이는 입국에 비해 작았다. 결과적으로 입국과 누룩 모두 매실의 첨가가 알코올 생성에는 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 환원당은 입국의 경우 발효 초기 1일 차에 0%가 6.59 mg/mL로 매실첨가군들의 값 4.63-6.12 mg/mL에 비해 높은 값을 보였다(Fig. 1b). 발효 3일 차에 모든 실험군들에서 이전 값에 비해 대폭 감소하여 1.36-2.42 mg/mL의 값들을 보였으나 매실 첨가에 의한 차이는 적었다. 이후 11일까지 일정한 값을 유지하다 이후 증가하는 경향을 보였다. 누룩의 경우 입국에 비해 높은 값을 보였는데 발효 1일차에는 0%가 38.42 mg/mL로 매실첨가군들(16.6-19.08 mg/mL)에 비해 큰 값을 보였고 매실의 첨가에 따라 약간 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2b). 발효 3-5일 차에 걸쳐 모든 실험군에서 급격한 감소를 보였다가 이후 증가하는 경향을 보였는데 매실의 첨가에 따라 환원당의 함량은 감소하는 경향을 보였다. 입국과 누룩 사용시 모두 환원당은 알코올 생성에 관여되어 알코올 생성이 원활할 때 환원당은 감소하며 알코올 생성이 원활하지 않을 때 환원당이 증가하는 경향을 보여 이는 효모가 환원당을 이용하여 알코올 발효를 진행하다가 일정 수준의 알코올 농도에서 효모가 발효를 진행하지 못하게 되어 나타나는 결과로 생각된다. 산도는 입국과 누룩 모두 발효 진행동안 유사한 값을 나타내었고 입국의 산도가 누룩의 산도보다 유의적으로 높은 값을 보였다(Fig. 1c, Fig. 2c). 입국의 경우 발효 종료 시 0%가 0.32, 1%가 0.37, 3%가 0.49, 5%가 0.61의 값을 보였고 누룩의 경우 발효 종료 시 0%가 0.18, 1%가 0.25, 3%가 0.37, 5%가 0.51의 값을 보여 매실 첨가량이 증가함에 따라 총 산도값이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 이와

같은 결과는 매실에 함유된 유기산에 기인함으로 생각된다. pH 값은 입국과 누룩 모두 발효가 진행됨에 따라 대체로 증가하는 경향을 보였는데 매실 첨가량이 증가할수록 낮은 값을 나타내었다(Fig. 1d, Fig. 2d). 다만 입국에 비해 누룩의 경우 매실 첨가량에 따른 pH 감소가 두드러지게 나타났다. 결과적으로 매실의 첨가가 막걸리의 정상적인 발효에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 발효 종료 시점을 알코올 함량이 더 이상 증가하지 않고 알코올 발효에 필요한 환원당 사용이 감소하여 환원당 함량이 증가할 때로 결정하였는데, 입국의 경우 15일, 누룩의 경우 7일로 나타나 누룩을 사용할 경우 담금 기간이 단축될 수 있음을 알 수 있었다.

총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량

입국과 누룩을 사용한 막걸리의 매실 첨가량에 따른 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량의 변화를 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 입국을 발효제로 사용한 막걸리의 경우 총 페놀 함량은 매실 무첨가군(0%)의 경우 3.66 mg/mL로 나타났고 매실의 첨가량이 1%와 3%일 경우 각각 3.67과 3.70 mg/mL로 무첨가군에 비해 유의적인 증가는 보이지 않았으나 매실 첨가량이 5%일 때 3.82 mg/mL로 유의적으로 증가하였으며 증가폭은 그리 크지 않았다. 누룩의 경우 모든 실험군에서 입국에 비해 낮은 총 페놀 함량을 보였으나 매실 첨가량이 증가함에 따라 2.93, 2.98, 3.11 mg/mL의 값을 보여 2.87 mg/mL의 무첨가군에 비해 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3a). 이와 같은 결과는 입국을 발효제로 사용하였을 때 발효과정에서 누룩보다 많은 페놀성 화합물이 생성되고 막걸리 자체 내에 페놀성 화합물이 존재하여 매실 첨가로 인한 증가는 그리 크지 않은 것으로 생각된다. 총 플라보노이드 함량의 변화도 총 페놀 함량의 변화와 비슷한 양상을 보였는데 입국의 경우 매실 첨가량

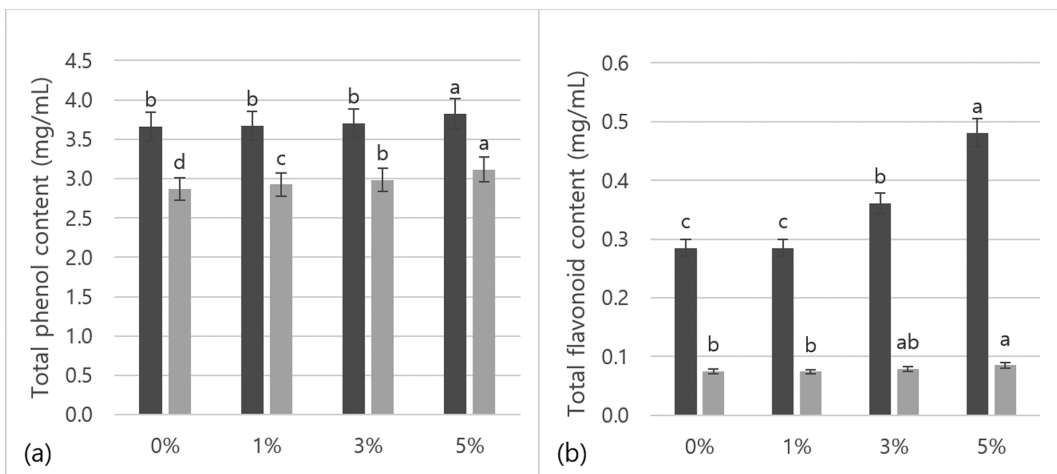


Fig. 3. Total phenol (a) and total flavonoid contents (b) of *Makgeolli* containing *Prunus mume* extract using *Ipguk* (black) and *Nuruk* (grey).

이 증가함에 따라 0.285, 0.285, 0.361, 0.481 mg/mL로 증가하였고 누룩의 경우도 입국과 마찬가지로 매실 첨가량에 따라 0.074, 0.074, 0.079, 0.085 mg/mL로 증가하였다. 입국을 사용하여 제조한 막걸리가 누룩을 사용한 막걸리보다 총 플라보노이드 함량이 유의적으로 높은 값을 보였다(Fig. 3b). 매실 첨가에 의한 총 페놀과 총 플라보노이드 함량의 유의적인 증가는 적어도 3% 이상 매실을 첨가하였을 때 나타남을 확인할 수 있었다.

DPPH에 의한 전자공여능

입국과 누룩을 발효제로 사용한 막걸리의 매실 첨가량에 따른 DPPH에 의한 전자공여능 분석결과는 Fig. 4에 나타내었다. 입국을 발효제로 사용한 경우 매실함량이 증가함에 따라 56.98, 63.18, 78.06, 81.58%로 순차적인 증가가

유의적으로 측정되었다. 비교군으로 사용한 ascorbic acid의 효과는 82.29%로 모든 매실첨가군은 이보다 낮은 값을 보였다. 누룩을 발효제로 사용한 막걸리의 경우 매실 첨가량이 증가함에 따라 59.65, 81.64, 82.78, 82.36%의 값을 보여 매실 첨가로 인해 유의적인 증가를 보였으나 매실 첨가량의 증가에 따른 유의적인 차이는 없었다. 비교군으로 사용한 ascorbic acid의 효과는 73.78%로 입국에서의 비교군보다 낮은 값을 보였고 매실첨가군에서의 활성이 ascorbic acid 보다 약 8% 높은 효과를 보였다. 페놀성 화합물들의 hydroxyl group은 DPPH와 반응하기 쉬운 입체구조를 가지고 있어 페놀성 물질의 증가는 DPPH radical 소거능의 증가를 보이는데 (Lee et al., 2012; Kim et al., 2012) 발효시 생성된 알코올에 의해 추출된 매실의 페놀성 물질에 기인한다고 생각된다.

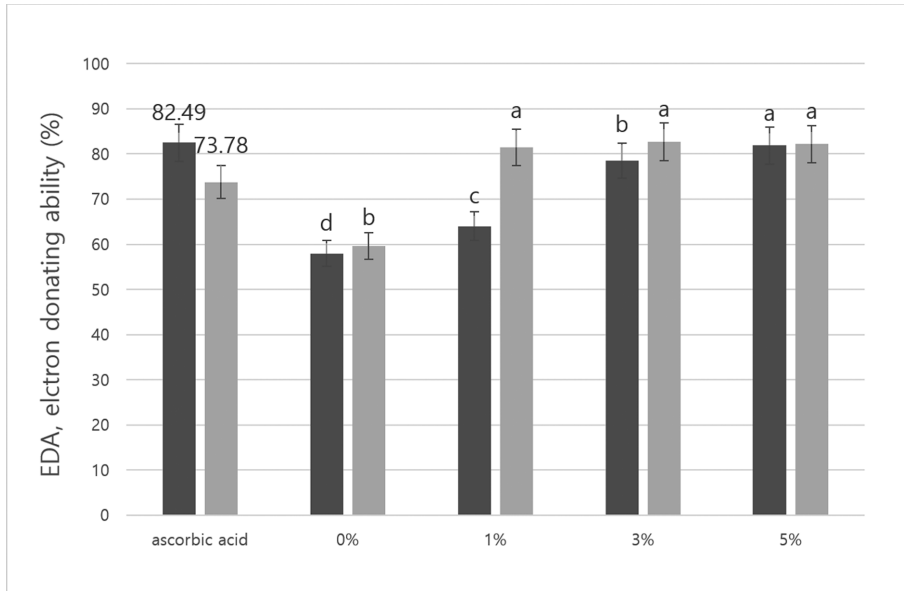


Fig. 4. DPPH free radical scavenging activity of *Makgeolli* containing *Prunus mume* extract using *Ipguk* (black) and *Nuruk* (grey).

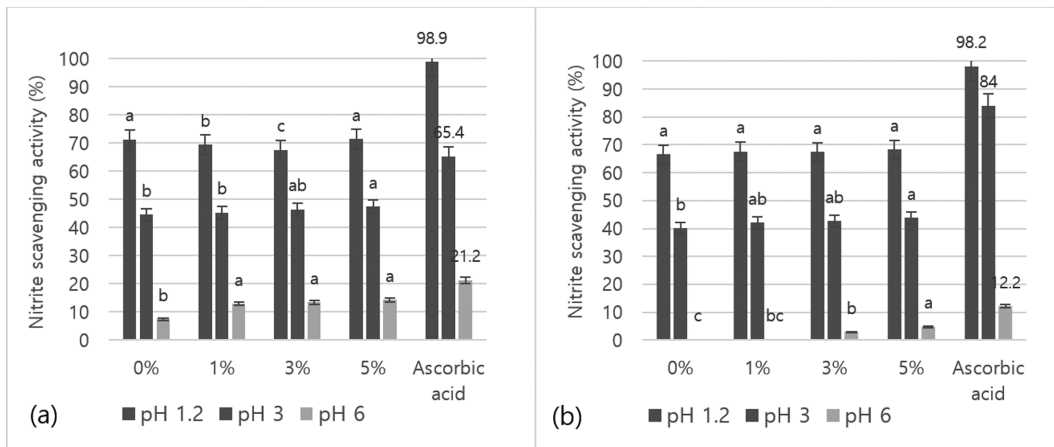


Fig. 5. Nitrite scavenging activity of *Makgeolli* containing *Prunus mume* extract using *Ipguk* (a) and *Nuruk* (b).

아질산염 소거능 분석

입국과 누룩을 발효제로 사용한 막걸리의 매실 첨가량에 따른 아질산염 소거능은 Fig. 5에 나타내었다. 입국의 경우 pH 1.2에서 매실 첨가량이 증가함에 따라 71.25, 69.46, 67.63, 71.47% 값을 보여 유의적인 증감은 보이지 않았으나 pH 3과 pH 6에서는 매실 첨가에 따른 증가를 보였는데 pH 6에서 매실 첨가로 인한 증가가 확실하게 나타났다. 비교균인 ascorbic acid의 아질산염 소거능은 pH 1.2 일 때 98.9%, pH 3 일 때 65.4%, pH 6 일 때 21.2%로 나타났다. 누룩의 경우 pH 1.2에서 매실 첨가량이 증가함에 따라 66.62, 67.59, 67.46, 68.29%로 유의적인 증가는 보이지 않았다. pH 3과 pH 6에서는 매실 첨가량에 따른 유의적인 증가를 나타냈다. 비교균인 ascorbic acid의 아질산염 소거능은 pH 1.2 일 때 98.16%, pH 3 일 때 84.0%, pH 6일 때 12.6%로 나타났다. 모든 실험군에서 pH 1.2에서 pH 6으로 증가함에 따라 아질산염 소거능이 낮아지는 결과를 나타내었다.

항균활성 분석

입국과 누룩을 사용하여 제조한 막걸리의 매실 첨가에 따른 항균활성 효과는 Table 1에 나타내었다. *L. plantarum*는 막걸리에 존재하는 유산균의 일종으로 프로바이오틱스로서 건강 기능성을 가지는 것으로 알려져 있다(Nguyen et al., 2007). *L. plantarum*에서는 입국과 누룩을 발효제로 사용하였을 때 모든 실험군에서 뚜렷한 clear zone이 관찰되지 않아 매실 첨가로 인한 *L. plantarum*에 대한 항균활성이 나타나지 않았다. *E. coli*에서는 누룩을 사용하였을 경우 뚜렷한 clear zone이 관찰되지 않았으나 입국을 사용하였을 경우 매실 1% 첨가구에서 1.1 cm, 3% 첨가구에서 1.15 cm, 5% 첨가구에서 1.5 cm의 clear zone이 관찰되어 매실 첨가량이 증가할수록 *E. coli*에 대한 항균효과가 증가함을 알 수 있었다. *S. aureus*에서도 누룩을 사용하였을 경우 뚜렷한 clear zone이 관찰되지 않았으나 입국을 사용하

였을 경우 매실 3% 첨가구에서 0.9 cm, 5% 첨가구에서 1 cm의 clear zone이 관찰되어 매실 첨가량이 3% 이상일 경우 *S. aureus*에 대한 항균효과가 나타남을 알 수 있었다. 특히, 입국을 발효제로 사용한 경우 매실 5% 첨가구에서 *E. coli*에 대해 ampicillin과 같은 항균효과를 보이는 것으로 나타났다. 매실의 첨가는 입국 사용 시 *S. aureus*보다 *E. coli*에 대한 항균효과가 높았는데 이는 매실 착즙액의 식중독 유발균에 대한 항균작용(Lee et al., 2003)과 같은 결과였다. 결과적으로 매실의 첨가는 막걸리 내 유산균인 *L. plantarum*의 증식에는 영향을 미치지 않는 반면, 식중독 유발균으로 그람 음성균인 *E. coli*균과 그람 양성균인 *S. aureus*균에 대한 항균효과가 비교적 큰 것으로 확인되었다. 또한, 발효제로 사용된 입국과 누룩을 비교하였을 때, 대체적으로 입국에서의 뚜렷한 clear zone이 관찰되는 것을 보아 입국을 이용하여 제조한 막걸리가 누룩을 이용해 제조한 막걸리보다 매실 첨가에 의한 항균효과가 큰 것으로 확인되었다. 이상의 본 연구결과는 매실추출물을 첨가하여 제조한 막걸리는 식중독 균의 생육을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 누룩과 입국을 발효제로 사용하고 매실의 함량을 달리하여 제조한 막걸리의 발효특성과 항산화 및 항균효과를 측정 분석하였다. 발효 시 막걸리의 알코올 함량의 변화는 누룩과 입국 모두 발효 3일차에 급격한 증가를 보이고 이 이후 서서히 증가하여 발효 종료 시 18% 이상의 알코올 함량을 보였고 매실 첨가에 의해 알코올 함량은 감소하는 경향을 보였으나 매실로 인한 알코올 생성에는 문제가 없었다. 알코올 함량의 증가로 본 발효 종료시점은 누룩의 경우 7일, 입국의 경우 15일로 누룩을 사용하였을 때 발효기간을 단축시킬 수 있었다. 환원당 함량은 알코올 생성과 밀접한 관계를 가져 알코올 함량이 증가 시 환원당

Table 1. Antimicrobial activities of Makgeolli containing *Prunus mume* extract using *Ipguk* and *Nuruk*

% <i>Prunus mume</i>	Antimicrobial activity					
	<i>L. plantarum</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>Ipguk</i>	<i>Nuruk</i>	<i>Ipguk</i>	<i>Nuruk</i>	<i>Ipguk</i>	<i>Nuruk</i>
0%	- ^{a)}	-	-	-	-	-
1%	-	-	++ 73.3 ^{b)}	-	-	-
3%	-	-	++ 76.6	-	+ 69.2	-
5%	-	-	+++ 100	-	++ 76.9	-

^{a)} diameter of clear zone
 -: not detected, +: 0.9-1.0 cm, ++: 1.0-1.2 cm, +++: >1.2 cm.
^{b)} % of clear zone size of ampicillin.

의 감소를 보였고 매실 첨가에 의한 환원당 함량은 감소하는 경향을 보였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 입국 사용시 누룩보다 높은 값을 보였고 매실 함량이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였으나 매실 3% 이상의 첨가에서 유의적인 증가를 보였다. 항산화 효과에서는 누룩에 비해 입국 사용시 매실 첨가 효과가 크고 매실 첨가량은 적어도 3% 이상이 되어야 유의적인 증가를 확인할 수 있었다. 항균효과에서는 누룩의 경우 사용 균주 모두에서 항균효과를 보이지 않았으나 입국 사용시 3% 이상 매실 첨가구에서 *E. coli*와 *S. aureus*에서 뚜렷한 clear zone을 보여 항균효과가 확인되었다. 결과적으로 매실 첨가는 막걸리의 정상적 발효에 영향을 미치지 않으며 매실이 가진 생리활성 물질로 인한 항산화 효과와 식중독 균에 대한 항균활성을 보여 기능성 막걸리의 제조가 가능한 것으로 판단된다. 추후 매실 첨가 막걸리의 유기산 및 향기성분 분석과 소비자의 관능평가 등을 통해 항산화 및 항균효과를 가진 매실 막걸리의 실용화를 위한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

References

- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Choi KW, Lee JK, Jo HJ, Lee KJ, Yoon JA, An JH, Chung KH. 2013. Fermentation characteristics of *Makgeolli* made with loquat fruits (*Eriobotrya japonica* Lindley). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 975-982
- Choi MY, Won HR, Park HJ. 2004. Antimicrobial activities of *Maesil* (*Prunus mume*) extract. *Korean J. Community Living Science* 15: 61-66.
- Gray JI, Dugan Jr. LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40: 981-984.
- Hwang JY, Han JW, Nam SH. 2004. The antioxidant activity of *Maesil* (*Prunus mume*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 461-464.
- Jeong ST, Kong MH, Yeo SW, Choi JH, Choi HS, Han GJ. 2010. Studies on the mixture wine processing using omija and pear. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 20: 896-902.
- Kim NS, An MJ, Choi SU. 2014. Quality characteristics and antioxidant activities of *Makgeolli* using pomegranate powder. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 24: 811-818.
- Kim OS, Park SS, Sung JM. 2012. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1693-1700.
- Kim SH, Park JM, Yoon HS, Song DN, Song IG, Eom HJ. 2013. Physiological and sensory characteristics of *Makgeolli* with added Paprika (*Capsicum annum* L.). *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 578-582.
- Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. 1997. Isolation of antioxidative components of *Perillae* semen. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 38-43.
- Lee AR, Oh EY, Jeong YJ, Noh JG, Yoon HS, Lee KY, Kim YG, Eom HJ. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) *Makgeolli* prepared with the additive methods. *Korean J. Food Nutr.* 28: 602-611.
- Lee CH. 2001. Fermentation technology in Korea. Korea University Press, Seoul, Korea. 44-69.
- Lee HA, Nam ES, Park SI. 2003. Antimicrobial activity of *Maesil* (*Prunus mume*) juice against selected pathogenic microorganisms. *Korean J. Food Nutr.* 16: 29-34.
- Lee HS, Lee TS, Noh BS. 2004. Organic acid, free sugar and free amino acid of *Takju* prepared using rice Nuruks. *J. Natural Sci. SWINS* 16: 75-83.
- Lee JK, Jo HJ, Kim KI, Yoon JA, Chung KH, Song BC, An JH. 2013. Physicochemical characteristics and biological activities of *Makgeolli* supplemented with the fruit of *Akebia quinata* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 619-627.
- Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park SY, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim GW. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial *Makgeolli*. *Korean J. Food Sci. Technol* 43: 206-212.
- Lee SM, You YH, Kim KG, Park JJ, Jeong CS, Jhon DY, Jun WJ. 2012. Antioxidant activities of native Gwangyang *Rubus coreanus* Miq. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 327-332.
- Lim SJ, Eun JB. 2012. Processing and distribution of *Maesil*, Japanese apricot in Korea. *Food Sci. Ind.* 45: 2-9.
- Ma SH, Kim GY, Son JY. 2019. Quality characteristics and antioxidant effects of *Makgeolli* with onion skin by Nuruk and Ipguk. *Korean J. Food Cook Sci.* 35: 288-298.
- Nguyen TD, Kang JH, Lee MS. 2007. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Int J. Food Microbiol.* 113: 358-361.
- NTS. 2010. Alcohol analysis regulation. Technical Service Institute of National Tax Service. National Tax Service. Korea.
- Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. 2002. Screening of antioxidant in fructus *Mume* (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) extract. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 119-123.
- So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Improvement in the quality of *Takju* by a modified Nuruk. *Korean J. Food Nutr.* 12: 427-432.
- Son HS, Park BD, Ko BK, Lee CH. 2011. Quality characteristics of *Takju* produced by adding different amounts of water. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 453-457.
- Song YR, Lim BU, Song GS, Baik SH. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of *Makgeolli* supplemented with *Omija* berries (*Schizandra chinensis* Baillon). *Korean J. Food Sci. Technol.* 47: 328-335.
- Song JC, Park NK, Hur HS, Bang MH, Baek NI. 2000. Examination and isolation of natural antioxidants from Korean medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 8: 94-101.
- Yoon I, Wee JH, Moon JH, Ahn TH, Park KH. 2003. Isolation and identification of quercetin with antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanum* Miquel. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 499-502.

Author Information

박소영: 국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학 전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터

윤채은: 국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학 전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터

김민정: 국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학 전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터

손종연: 국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학 전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터

심재용: 국립한경대학교 식품생명화학공학부(식품생명공학 전공) 및 글로벌 K푸드 연구센터