

초고압 처리한 좁쌀약주의 저장 중 미생물수, 효소활성 및 품질변화

임상빈^{1*} · 좌미경¹ · 목철균² · 박영서²

¹제주대학교 식품공학과

²경원대학교 생명공학부

Changes in Microbial Counts, Enzyme Activity and Quality of *Foxtail Millet Yakju* Treated with High Hydrostatic Pressure During Storage

Sangbin Lim^{1*}, Mi-Kyung Jwa¹, Chulkyoon Mok² and Young-Seo Park²

¹Dept. of Food Science and Engineering, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

²Division of Biotechnology, Kyungwon University, Seongnam 461-701, Korea

Abstract

Foxtail Millet Yakju were treated with heat (65°C/15 min) or high hydrostatic pressure (25°C (RT) and 65°C (HT)/400 MPa/10 min), and stored for 64 days at 10°C, 25°C and 37°C. Changes in microbial counts, enzyme activity and quality of *Yakju* during storage were measured. Total viable cells were about 10² CFU/mL, and remained almost constant during storage at 10°C and 25°C, while decreased significantly at 37°C, and undetected after 55 days of storage in heat- and pressure(RT)-treated, but after 25 days in pressure(HT)-treated *Yakju*. Lactic acid bacteria and yeast in heat- and pressure-treated *Yakju* were not detected during storage. The relative activities of α -amylase in heat- and pressure(RT)-treated were more than 100%, while those in pressure(HT)-treated were less than 40% during storage of 64 days at 10°C. However, at 25°C and 37°C the relative activities in untreated and pressure(RT)-treated were decreased greatly and then reached at the point of the activities of heat- and pressure(HT)-treated. The relative activities of glucoamylase in untreated and pressure(RT)-treated were decreased as the increase of the storage temperature during storage, while those in heat- and pressure(HT)-treated increased slightly as the increase of storage period at 10°C and 25°C, and had no change at 37°C. pH in heat- and pressure-treated had almost no change. Turbidity and reducing sugar in heat- and pressure-treated increased as the increase of storage temperature during storage.

Key words: *Foxtail Millet Yakju*, high hydrostatic pressure, pasteurization, enzyme inactivation, quality change

서 론

약주는 우리나라 고유의 전통주로서 곡류와 누룩을 사용하여 병행발효로 제조하는데, 양조 후에 술덧(주요)을 여과하여 제성한 것을 약주라고 한다(1). 주세법상 약주의 알콜분 규격은 13도 이하이며, 비살균 약주는 유통기간이 계절에 따라 실온에서는 6~15일이며, 10°C 이하에서는 15일이다. 살균약주는 65°C에서 15분 이상 가열하거나 이와 동등 이상의 효력이 있는 방법으로 살균하여 오염이 되지 아니하도록 밀봉 포장한 약주로서, 식품공전상 진균(효모 등)이 검출되지 않아야 하며, 유통기간은 상온에서 6개월로 규정하고 있다(1,2).

약주는 저장유통 중에 함유되어 있는 각종 변패미생물과 잔존효소에 의한 변질을 방지하기 위하여 가열 살균하게 되는데, 대부분의 미생물 영양세포들은 65°C 이상의 가열에 의하여 불활성화되는 것으로 알려져 있다(3,4). 그러나 약주를

가열하면 저장성은 연장시킬 수 있으나, 쓴맛의 발현, 강한 약취(화독내)의 생성, 변색, 층분리 등 물리적 성상의 변화로 인하여 상품성을 저하시키는 문제점을 안고 있다(4,5). 따라서 약주의 변질에 관여하는 주요 미생물을 사멸시키면서 품질의 저하를 최소화할 수 있는 처리 방법 및 조건을 확립할 필요가 있다.

초고압 처리기술은 열을 사용하지 않고 미생물 살균, 단백질 변성, 효소 불활성화, 젤 형성 등의 작용을 하므로 새로운 식품가공법으로 기대를 모으고 있다. 고압 하에서는 부피가 줄어드는 방향으로 화학반응이 촉진되므로, 결합이 파괴되면 부피가 감소하는 수소성 결합과 이온결합의 파괴가 촉진되지만, 부피가 증가하는 공유결합과 수소결합은 안정화된다(6). 따라서 초고압 처리기술은 약주와 같은 전통식품의 보존성 향상을 위한 새로운 공정으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 품질의 변화를 최소화하면서 저장

*Corresponding author. E-mail: sblim@cheju.ac.kr
Phone: 82-64-754-3617, Fax: 82-64-755-3601

성이 있는 민속 주류를 제조하기 위하여, 양조원료로 좁쌀을 이용하여 제조한 약주를 대상으로 비열살균법인 초고압처리법을 적용하여, 저장온도 및 저장기간에 따른 미생물수, 효소활성 및 품질변화를 측정하였다.

재료 및 방법

재료

좁쌀약주는 J양조(제주)에서 전통적인 방법으로 제조한 비살균 약주를 구입하여 사용하였다.

가열처리

좁쌀약주를 125 mL 폴리프로필렌병에 채우고 65°C의 water bath(MC-31, JeioTech Co., Korea)에서 15분간 가열한 후 실온에서 냉각하였다.

고압처리

본 실험에 사용한 초고압기(MFP-7000, Mitsubishi Heavy Industries Co., Japan)는 내용적이 600 mL로, 먼저 125 mL 폴리프로필렌병에 좁쌀약주를 채워 기포가 들어가지 않게 밀봉한 다음, 병을 폴리에틸렌 필름으로 두겹포장한 후 증류수가 채워진 고압용기에 넣고 정수압펌프로 피스톤을 상승시켜 가압하였다. 초고압처리는 25°C/300 MPa/10분과 65°C/300 MPa/10분에서 실시하였다. 처리온도는 처리압력에서 처리시간 동안 매분마다 고압용기 내부의 온도를 측정하여 평균한 값으로 나타내었다.

저장 실험

저장실험은 무처리 좁쌀약주, 열처리 좁쌀약주, 초고압처리 좁쌀약주를 10°C, 25°C, 37°C에서 64일간 저장하면서 매 7일 마다 시료를 취하여 미생물수, 효소활성 및 품질특성을 측정하였다.

미생물 검사

탁주의 미생물은 표준한천배양법(7)으로 세균수, 젖산균수, 효모수를 측정하였다. 세균은 표준한천배지에서, 젖산균은 0.133%의 초산을 가하여 최종 pH를 5.5로 조정된 Rogosa SL agar 배지에서 37°C/72시간 배양하였고, 효모는 YM agar 배지에서 25°C/72시간 배양하였다. 집락수 30~100개인 평판을 택하여 집락수를 측정하고 희석배수를 곱하여 단위부피당 미생물수를 산출하였다. 4회 반복 측정하여 평균하였다.

효소활성 측정

조효소액은 시료에 0.5% NaCl 용액을 가하여 실온에서 30분 교반한 후 Toyo No. 2 여지로 여과하여 제조하였다(8). α -Amylase의 활성은 1% 전분용액 1 mL에 조효소액 1 mL를 가하여 30°C/30분간 반응시키고 1 M 초산 10 mL와 N/3000 요오드화 용액 10 mL를 가한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였으며, blank OD값의 10%를 감소시키는 것을 1 unit로 나타내었다(7). Glucoamylase의 활성은 0.5% 전분용액 1 mL에 조효소액 1 mL를 가하여 30°C/30분간 반응시키고

dinitrosalicylic acid reagent(DNS) 3 mL를 가한 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 효소액 1 mL가 1 mg의 glucose을 유리시킬 때의 효소량을 1 unit로 나타내었다(7,9). 2회 반복 측정하여 평균하였다. 상대활성은 저장 시작전 무처리구의 효소활성에 대한 비율로 나타내었다.

pH

좁쌀약주를 균질화시킨 후 pH 미터(Corning, USA)로 측정하였다(10).

탁도

탁도는 좁쌀약주를 흔들어서 균일하여 섞은 후 분광광도계(UV-1201, Shimadzu, Japan)로 420 nm에서의 흡광도를 측정하였다(4).

환원당

좁쌀약주 10 mL를 250 mL로 희석한 후 Toyo No. 2로 여과한 다음 여액 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 가한 후 5분 중탕하여 상온 냉각 후 550 nm에서 흡광도를 측정하고 glucose의 표준곡선을 이용하여 환산하였다(9).

결과 및 고찰

미생물수의 변화

좁쌀약주를 열(65°C/15분) 또는 초고압(25°C/300 MPa/10분: 상온 초고압처리구, 65°C/300 MPa/10분: 고온 초고압처리구)으로 처리한 후 10°C, 25°C, 37°C에서 64일간 저장하는 동안 일반세균수의 변화를 측정한 결과는 Fig. 1과 같았다. 무처리구는 저장온도 10°C에서 저장초기와 비교하여 저장 64일 후 약 1 log cycle 감소하였고, 25°C에서는 약 2 log cycle 감소한 반면, 37°C에서는 급격하게 감소하였으며 저장 55일 후에는 검출되지 않았다. Mok 등(5)도 비살균약주를 4°C, 25°C, 37°C에서 저장하는 동안 일반세균수는 저장기간의 증가에 따라 감소하였는데, 특히 37°C에서는 저장 14일 후 검출되지 않았다고 보고하였다. 한편 열 또는 초고압처리구의 일반세균수는 약 10^2 CFU/mL로 10°C와 25°C에서 저장하는 동안 큰 변화가 없었지만 저장온도 37°C에서는 열처리구와 상온 초고압처리구의 경우 무처리구와 마찬가지로 저장 55일 이후에는 검출되지 않았으나 고온 초고압처리구는 더욱 급격하게 감소하여 저장 25일 이후에는 검출되지 않았다.

열 또는 초고압으로 처리한 좁쌀약주의 저장기간 중 젖산균수의 변화는 Table 1과 같았다. 무처리구인 경우 저장기간에 따라 감소하였는데, 저장초기에 1.94×10^4 CFU/mL에서 저장 64일에는 10°C에서 9.75×10^2 CFU/mL, 25°C에서 1.20×10^1 CFU/mL로 감소한 반면, 37°C에서는 저장 7일 후 검출되지 않았다. Mok 등(5)도 무살균약주의 젖산균은 저장온도 37°C에서 저장기간 7일 후에는 생존하지 않았다고 보고하였다. 한편 열 또는 초고압 처리한 좁쌀약주의 젖산균은 처리 직후 완전히 사멸된 후 모든 저장온도에서 저장기간 내내 검출되지 않아 바람직한 안정성을 나타내었다.

화는 Fig. 2와 같았다. 무처리구와 상온 초고압처리구는 효소활성의 변화 양상이 비슷하였는데, 저장온도 10°C에서는 저장기간 동안 초기보다 다소 높은 양상을 나타낸 반면, 25°C와 37°C에서는 저장초기에 급격히 감소하였으며 저장기간 동안 낮은 값을 유지하였다. 열처리구는 처리 직후 상대활성이 23.2%로 76.8%가 불활성되었고 그 이후 저장기간 동안 변화 없이 낮은 값을 유지하였다. 고온 초고압처리구인 경우는 처리 직후 잔존활성이 6.9%로 93.1%가 불활성된 다음 저장초기에 다소 증가하였다가 변화 없이 낮은 값을 유지하였다. 열처리구와 고온 초고압처리구는 10°C와 25°C보다 37°C에서 더 낮은 활성을 나타내었다.

좁쌀약주의 저장기간에 따른 glucoamylase의 상대활성 변화는 Fig. 3과 같았다. 10°C에서 저장하는 동안 무처리구와 상온 초고압처리구는 활성이 비슷하였으며, 저장 64일에 무처리구는 89.5%, 초고압처리구는 90.2%로 저장기간 동안 상대활성의 변화가 거의 없었다. 한편 열처리구와 고온 초고압처리구는 저장기간 동안 상대활성이 다소 증가하여 저장 64일에 각각 43.2%와 35.8%로 가역적인 활성의 변화를 보였다. 25°C와 37°C에서 저장하는 동안 무처리구와 상온 초고압처리구는 10°C에 비하여 활성이 급격히 감소하였으며, 37°C에서는 25°C에 비하여 감소폭이 더 컸다. 열처리구와 고온 초고압처리구는 25°C에서 저장기간에 따라 활성이 다소 증가하였으나, 37°C에서는 거의 변화가 없었다. Hong과 Park (12)도 동치미를 초고압처리하여 저장하는 동안 pectinesterase의 활성이 감소하였으며 특히 저온인 4°C보다 고온인

37°C에서 저장시 효소활성이 급격히 감소하였다고 보고하였다. Hara 등(11)도 청주를 상온에서 300 MPa로 30분 처리한 후 30°C에서 30일 동안 저장한 후 glucoamylase의 활성은 5.5배 감소하였다고 보고하였다.

품질변화

열 또는 초고압으로 처리한 좁쌀약주의 저장 중 pH의 변화는 Fig. 4와 같았다. 10°C에서 저장기간 동안 모든 시료에 있어서 pH의 변화 양상은 비슷하였으며 초기와 거의 유사하였다. 저장온도 25°C에서는 대부분의 처리구가 저장 7일에 pH가 약간 증가하였다가 그 수준을 유지하여 저장기간 내내 거의 변화가 없었다. 그러나 무처리구는 저장 55일 후 급격히 감소하였으며 저장 64일에 pH 3.70을 나타내었다. 37°C에서는 모든 처리구가 25°C와 마찬가지로 저장 7일에 pH가 약간 증가하였다가 그 후 거의 일정한 경향을 나타내었다. Mok (5)은 비살균약주의 저장온도별 pH가 4°C와 37°C에서는 저장기간 동안 약간 감소하였으나 25°C에서는 현저하게 감소하여 약주의 변패에 관여하는 미생물이 중온균임을 시사한다고 보고하였다.

저장기간 중 좁쌀약주의 탁도 변화는 Fig. 5와 같았다. 10°C에서 저장하는 동안 모든 시료의 탁도는 저장기간에 따라 다소 증가하였는데, 특히 무처리구와 상온 초고압처리구의 증가폭이 더 컸다. 25°C에서는 열처리구와 고온 초고압처리구인 경우 10°C에서의 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 무처리구의 탁도는 저장 34일 후부터 증가하기 시작하여 저

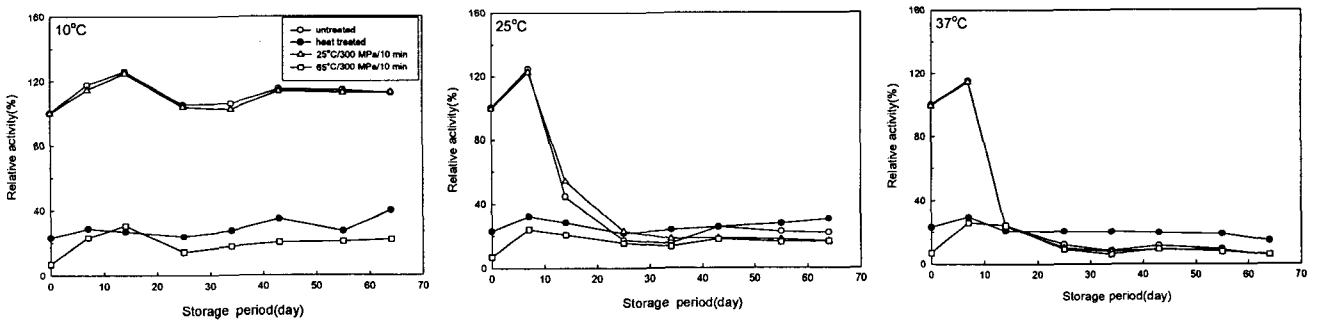


Fig. 2. Changes in α -amylase activity of Foxtail Millet Yakju treated with heat or high hydrostatic pressure during storage at different temperature.

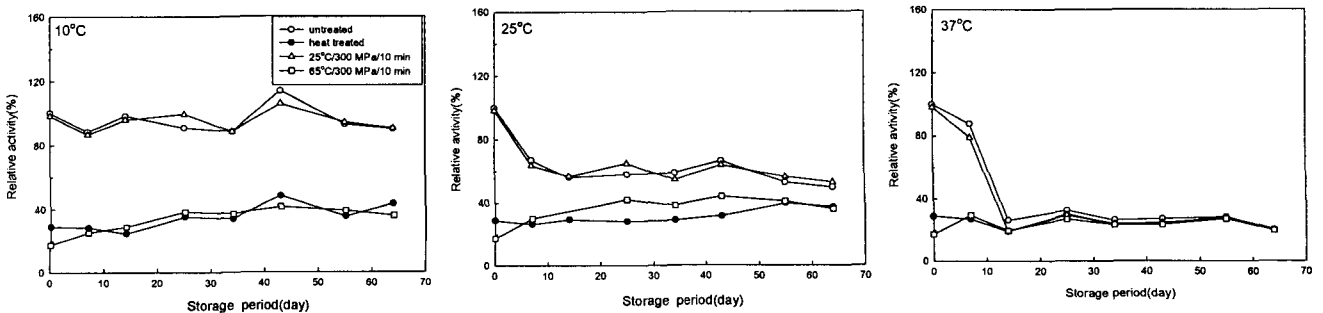


Fig. 3. Changes in glucoamylase activity of Foxtail Millet Yakju treated with heat or high hydrostatic pressure during storage at different temperature.

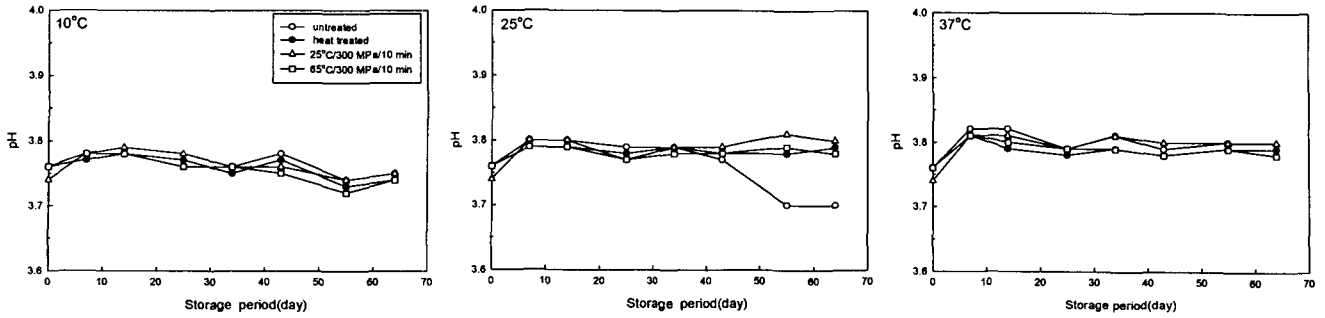


Fig. 4. Changes in pH of Foxtail Millet Yakju treated with heat or high hydrostatic pressure during storage at different temperature.

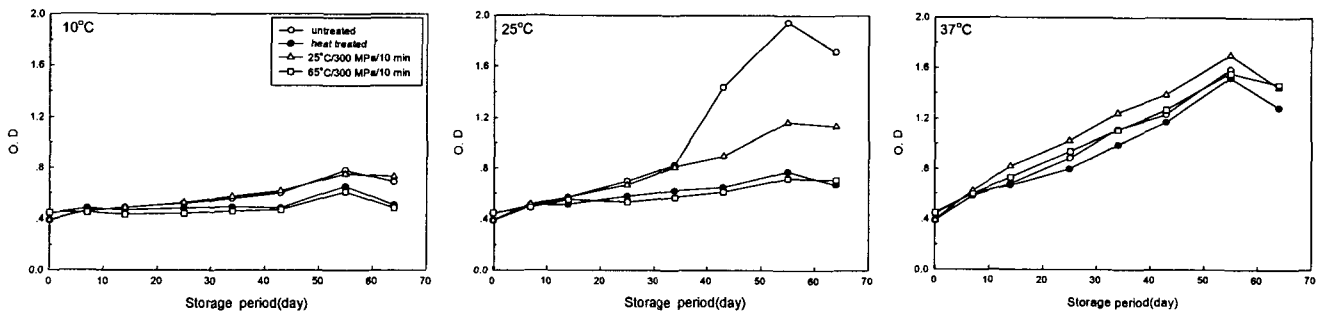


Fig. 5. Changes in turbidity of Foxtail Millet Yakju treated with heat or high hydrostatic pressure during storage at different temperature.

장 55일에 최대값을 나타내었으며, 상온 초고압처리구도 저장기간에 따라 증가하는 경향을 보였지만 무처리구보다는 증가폭이 작았다. 한편 37°C에서 저장한 모든 시료의 탁도는 저장기간 동안 급격하게 증가하였는데 특히 열처리구와 고온 초고압처리구인 경우는 10°C와 25°C보다 더 크게 증가하는 현상을 나타내었다. Lee와 Kim(3)은 살균한 후 tetra-pak에 무균 포장한 약주는 저장온도가 높고 저장기간이 길수록 탁도가 증가하였다고 보고하였다. Lee 등(13)은 약주의 경우 저장기간에 따라 색이 진해지는 것은 국균에서 생성된 de-ferrichrysine이 철과 결합하여 적갈색의 원인물질인 ferri-chrysine을 형성하기 때문이며, 또한 갈색은 청주중의 당류 및 기타 여러 환원성 물질과 아미노산이 반응하여 생성되며 저장 중에 증가한다고 보고하였다.

저장기간 중 열 또는 초고압으로 처리한 좁쌀약주의 환원

당 함량 변화는 Fig. 6과 같았다. 10°C에서 저장하는 동안 모든 시료의 환원당 함량은 저장 14일에 급격히 증가한 후 저장기간 동안 다소의 증감을 보였으나 그 수준을 유지하였다. 25°C에서는 열 또는 초고압으로 처리한 시료의 환원당함량은 저장기간에 따라 증가하는 현상을 보였으나 무처리구인 경우 저장 34일 후부터 감소하여 저장 64일에 1.81로 급격하게 감소하는 현상을 보였다. 37°C에서도 모든 시료의 환원당 함량은 저장기간에 따라 증가하였으며, 10°C와 25°C보다 그 증가폭이 더 컸다. 좁쌀약주의 착색은 환원당함량의 증가와 관련이 있는데, 37°C에서 환원당 함량이 높을수록 착색이 증가됨을 알 수 있었다. 저장기간 중 환원당 함량의 증가는 gluco-amylase의 활성화와 관련이 있는데, 좁쌀약주에서는 저장기간 중에 glucoamylase 활성화의 증가에 따라 환원당 함량이 증가하는 현상을 관찰하였다. 그러나 본 연구의 좁쌀약주에

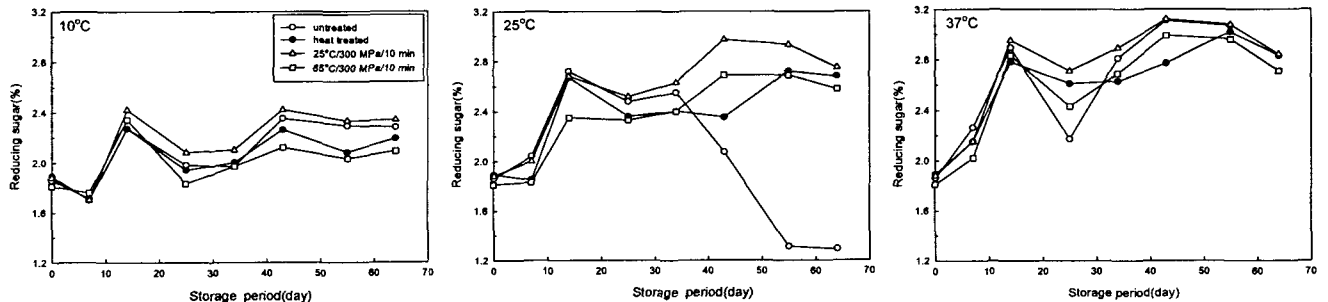


Fig. 6. Changes in reducing sugar of Foxtail Millet Yakju treated with heat or high hydrostatic pressure during storage at different temperature.

서는 그와 다른 양상을 나타내었는데, 이것은 발효후 술덧의 여과 여부에 따라 잔존하는 미생물 및 성분 조성이 다르므로 다른 현상을 나타내는 것으로 추정되었다.

요 약

좁쌀약주를 열 또는 초고압으로 처리한 후 10~37°C에서 64일간 저장하면서 저장기간에 따른 미생물수, 효소활성 및 품질변화를 측정하였다. 열 또는 초고압처리구의 일반세균수는 10°C와 25°C에서 약 10² CFU/mL로 저장기간 동안 큰 변화가 없었지만 37°C 저장에서 열처리구와 상온 초고압처리구는 저장 55일, 고온 초고압처리구는 저장 25일 이후에 검출되지 않았다. 열 또는 초고압 처리구의 젖산균과 효모는 처리 직후 완전히 사멸된 후 모든 저장온도에서 저장기간 내내 검출되지 않았다. α -Amylase의 상대활성은 10°C에서 저장하는 동안 무처리구와 상온 초고압처리구는 약 100% 이상으로 높은 값을 유지하였으나 열처리구와 고온 초고압처리구는 약 40% 이하로 낮은 값을 유지하였다. 반면 25°C와 37°C에서는 무처리구와 상온 초고압처리구의 상대활성이 급격하게 감소하여 열처리구 및 고온 초고압처리구와 비슷한 수준을 유지하였다. 무처리구와 상온 초고압처리구의 glucoamylase 활성은 10°C에서는 거의 변화가 없었지만, 저장온도가 높을수록 감소폭이 더 컸다. 열처리구와 고온 초고압처리구는 10°C와 25°C에서는 저장기간에 따라 활성이 다소 증가하는 양상을 보였으나 37°C에서는 거의 변화가 없었다. 열처리구와 초고압처리구의 pH는 모든 저장온도에서 저장기간 동안 변화가 거의 없었다. 열처리구와 초고압처리구의 탁도는 저장기간 동안 저장온도의 증가에 따라 증가하였으나, 무처리구의 탁도는 저장온도 25°C에서 저장 34일 후부터 급격히 증가하였다. 열처리구와 초고압처리구의 환원당 함량은 저장기간 동안 저장온도의 증가에 따라 증가하였으나, 무처리구의 환원당 함량은 저장온도 25°C에서 저장 34일 후부터 급격히 감소하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구(98-04-02-01-01-3) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. 한국식품공업협회. 1997. 식품공전. 문영사, 서울. p 573-578.
2. 국제청기술연구소. 1997. 주류제조교본. p 167-169.
3. Lee CH, Kim GM. 1995. Determination of the shelf-life of pasteurized Korean rice wine, *Yakju*, in aseptic packaging. *Kor J Food Sci Technol* 27: 156-163.
4. Mok CK, Lee JY, Chang HG. 1998. Optimization of heat sterilization condition for *Yakju*. *Food Eng Prog* 2: 137-143.
5. Mok CK, Lee JY, Chang HG. 1997. Quality changes of non-sterilized *Yakju* during storage and its shelf-life estimation. *Food Eng Prog* 1: 192-197.
6. Lee DU, Park J, Kang JI, Yeo IH. 1996. Effect of high pressure on shelf-life and sensory characteristics of *Angelica keiskei* juice. *Kor J Food Sci Technol* 28: 105-108.
7. Park JM, Oh HI. 1995. Changes in microflora and enzyme activities of traditional *Kochujang meju* during fermentation. *Kor J Food Sci Technol* 27: 56-62.
8. Hong SW, Hah YC, Yoon KS. 1968. On the changes of amylase activity and saccharifying ability in *Takjoo* mashes during the process of brewing. *Kor J Microbiol* 6: 141-146.
9. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31: 426-428.
10. Kang MY, Park YS, Mok CK, Chang HG. 1998. Improvement of shelf-life of *Yakju* by membrane filtration. *Kor J Food Sci Technol* 30: 1134-1139.
11. Hara A, Nagahama G, Ohbayashi A, Hayashi R. 1990. Effects of high pressure on inactivation of enzymes and microorganisms in non-pasteurized rice wine. *J Agric Chem Soc Japan* 64: 1025-1030.
12. Hong KP, Park JY. 1998. Changes in microorganisms, enzymes and texture of *Dongchimi* by high hydrostatic pressure treatment. *Kor J Food Sci Technol* 30: 596-601.
13. Lee MK, Lee SW, Yoon TH. 1994. Quality assessment of *Yakju* brewed with conventional *Nuruk*. *J Kor Soc Food Nutr* 23: 78-89.

(2003년 10월 17일 접수; 2004년 2월 20일 채택)