

Saccharomyces cerevisiae C-2로 제조한 구기자-맥문동 막걸리의 저장 중 품질특성의 변화

백승예¹ · 남윤규² · 주정일² · 이종수^{1*}

¹배재대학교 생명유전공학과, ²충남 농업기술원 청양 구기자 시험장

Changes of Quality Characteristics during Storage of *Gugija-Liriope tuber Makgeolli* Made by *Saccharomyces cerevisiae* C-2

Seung-Ye Baek¹, Yun-Gyu Nam², Jung-Il Ju² and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Department of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

²Cheongyang Boxhorn Experimental Station, Chungnam Agriculture Research & Extension Service, Cheongyang 345-872, Korea

(Received 14, July 2011., Accepted 21, July 2011)

ABSTRACT : The goal of this study was to provide shelf-life of *Gugija-Liriope tuber raw makgeolli*. After we prepared *Gugija-Liriope tuber raw makgeolli* by using *Gugija, Liriope tuber, nuruk*, cooked rice and *Saccharomyces cerevisiae* C-2, changes of its quality and physiological functionality were investigated during the storage at 4°C and 20°C. Ethanol contents was decreased from 8.3% to 7.2% for storage of 9 days at 4°C and 6 days storage at 20°C, respectively. Antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of *Gugija-Liriope tuber makgeolli* was increased from 63.1% to 66.0% after storage for 9 days at 4°C. Total acceptability of 9 days storage *makgeolli* at 4°C was still good. In conclusion, shelf-life of *Gugija-Liriope tuber raw makgeolli* was 9 days at 4°C in this respect of ethanol contents, antihypertensive action and total acceptability.

KEYWORDS : *Gugija-Liriope tuber raw makgeolli*, Physiological functionality, Quality characteristics, *Saccharomyces cerevisiae* C-2.

서 론

최근 막걸리를 포함하는 전통주의 기호성 다양화와 이에 따른 수요증가로 풍미 개선과 건강 측면에서 다양한 약용 식물과 허브 등의 부원료가 첨가되어 많은 전통주들이 개발, 시판되고 있다(송 등, 2011). 그러나 우리 전통주들의 국내 유통 및 해외 수출에서 가장 중요한 것 중의 하나는 유통 및 저장 기간의 연장이다(민 등, 2011). 이런 측면에서 당화와 알콜 발효 및 저장성에 영향을 주는 부원료와 더불어 누룩과 주모종의 곰팡이와 효모등의 선발 또한 매우 중요하다.

한편, 구기자 열매에는 carotinoid, cholin, meliscic acid, zeaxanthine, betaine, β -sitosterol 등이 다량 함유되어 있어 자양강장 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려져 있다(송 등, 2009). 또한 구기자와 구기자 가공품들의 항산화 활성과 항고혈압 활성 등의 우수한 생리 기능성이 보고되었고(박 등, 2007; 이 등, 2008) 구기자 엑기스를 첨가하여 제조한 전통 구기자 탁주에도 75.3%의 높은 항고혈압성 안지오텐신 전환 효소(ACE) 저해활성이 있음이 보고 된 바 있다(송 등, 2009). 맥문동은 β -sitosterol, stigmasterol 등의

기능성 물질을 함유하고 있어 면역증강, 항산화활성, 진정 작용, 혈당강화작용, 강심작용 등이 있는 것으로 알려져 있는 약용 식물이다(Rhee and An, 2003).

그러나 위와 같이 구기자와 맥문동이 생리 기능성이 우수한 약용식물임에도 이들을 이용한 건강 제품이나 주류 등의 개발과 이들의 저장 연장 기술 개발 연구가 매우 미흡한 실정이다. 따라서 기호성과 생리기능성이 우수한 새로운 고품질의 구기자-맥문동 전통주를 개발하고자 전보(송 등, 2011)에서는 전통 구기자-맥문동 전통주(약주) 제조에 적합한 알콜 발효 효모로 *Saccharomyces cerevisiae* C-2를 선발하고 이들의 최적 발효 조건을 보고 하였다. 본 연구에서는 *S. cerevisiae* C-2로 제조한 전통 구기자-맥문동 막걸리의 최적 저장기간을 확립하기 위해 이들의 저장 중 물리 화학적 성질과 생리기능성의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

원료, 균주 및 시약

구기자(장명)와 맥문동(맥문동 1호)은 2010년 9월에 청양에서 재배된 것을 청양 구기자 시험장에서 분양받아 사용하였고 맥쌀은 시중에서 국내산 원산지가 표시된 것을 구

*Corresponding author <E-mail : biotech8@pcu.ac.kr>

입하여 사용하였다. 누룩은 SJ곡자 제품을 사용하였고, 주모 제조용 효모는 시판 알콜 발효 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* C-2를 사용하였다.

항고혈압활성 측정용 시약으로 Hip-His-Leu과 표준 안지오텐신 전환효소(Angiotensin I-converting enzyme; ACE)를 함유한 rabbit lung acetone powder는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였고 그 밖의 시약은 분석용 특급을 사용하였다.

주모 제조, 담금 및 발효

주모 제조 및 담금은 송 등(2011)의 구기자 전통주 담금법을 일부 변형시켜 다음과 같이 실시하였다.

증자 맥쌀 60 g과 밀가루 5 g을 끓는 물 50 ml에 넣고 반죽한 후 10분간 냉각 시킨 다음 누룩 32 g과 30°C에서 150분간 증류수에서 활성화 시킨 *S. cerevisiae* C-2 10 ml를 첨가한 다음 30°C에서 2일간 발효시켜 주모를 제조하였다.

담금은 증자 맥쌀 75 g과 찹쌀 50 g을 물 240 ml에 넣고 구기자(장명)와 맥문동(맥문동 1호)을 각각 6 g씩 첨가한 다음 위에서 제조한 주모를 첨가하여 25°C에서 5일간 발효시킨 후 사별제성하여 분석용 시료로 하였다.

성분분석 및 관능검사

에탄올 함량은 원심 분리한 발효액을 수증기 증류한 다음 주정계로 측정하였고, pH는 pH meter로 측정하였으며, 총산과 휘발산은 1% 페놀프탈레인을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH용액으로 적정한 후 호박산으로 표시하였다(송 등, 2011). 구기자-맥문동 막걸리의 관능검사는 Lee 등(2005)의 방법을 일부 변형시켜 30~40대의 훈련된 관능 평가원에 의하여 정량적 묘사 분석 방법(Quan-ti-tative descriptive analysis: QDA)으로 다음과 같이 실시하였다. 먼저 관능 평가원들로 하여금 구기자-맥문동 막걸리에서 느낄 수 있는 향과 맛 특성을 묘사하게 하고 이들 중에서 공통적으로 묘사된 특성을 선정하였다. 선정된 향과 맛 특성에 대하여 1~5의 강도로 표시하게 한 후 그 평균값을 구하여 다각형 그림으로 나타내었고, 향과 맛을 고려한 전체적인 기호도는 가장 싫다 1, 가장 좋다 5의 점수로 표시하여 그 평균값을 QDA 그래프로 도시하였다.

안지오텐신전환효소 저해활성과 Xanthine oxidase 저해활성

구기자-맥문동 막걸리 50 ml를 감압 건조하여 알콜을

모두 제거하고 증류수를 사용하여 50 ml로 정용한 후 Cushman(1971)과 송 등(2011)의 방법에 따라 아래와 같이 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE)저해 활성과 xanthine oxidase 저해활성을 측정하였다.

먼저 ACE 저해 활성은 시료액에 동일 용량의 에틸아세테이트를 처리하여 얻은 추출액 50 µl를 rabbit lung acetone powder에서 추출한 ACE 용액 150 µl(2.8~3.0 Unit)과 기질 용액(pH 8.3의 100 mM sodium borate 완충용액 2.5 ml에 300 mM NaCl과 25 mg Hip-His-Leu을 용해) 50 µl와 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고, 시료 무 첨가구를 대조구로 하여 저해율을 구하였다.

ACE 저해활성(%) =

$$\left[\frac{\{C(\text{대조구 흡광도}) - T(\text{시료 처리구 흡광도})\}}{\{C(\text{대조구 흡광도}) - B(\text{기질 처리구 흡광도})\}} \right] \times 100$$

또한, 항통풍성 잔틴옥시데이즈(xanthine oxidase) 저해 활성은 Noro등(1983)과 강 등(2011)의 방법에 따라 먼저 0.1 M 인산완충용액(pH 7.5) 600 µl에 막걸리 농축(5 mg/ml) 시료 100 µl을 가하고 1 mM xanthine을 녹인 기질용액 200 µl를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.2 U/ml) 100 µl를 가하고 37°C에서 5분간 반응 시킨 후 1 N HCl 200 µl를 가하여 반응을 정지 시켰다. 다시 12000 rpm으로 10분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후 생성된 uric acid 함량을 292 nm에서 분광분석기로 측정하였다.

Xanthine oxidase 저해활성(%) =

$$[1 - (\text{시료처리구의 흡광도} - \text{시료자체 흡광도})] \times 100$$

결과 및 고찰

S. cerevisiae C-2로 제조한 구기자-맥문동 막걸리의 에탄올 함량과 생리기능성

위와 같이 *S. cerevisiae* C-2로 제조한 전통 구기자-맥문동 막걸리의 품질특성을 조사한 결과 Table 1과 같이 에탄올 함량은 8.3%이었고 총산 함량은 0.45%, 휘발산 함량은 0.002% 이었다. 이 결과는 원료와 부원료가 쌀, 구기자, 맥문동 등으로 비슷하고 유사한 방법으로 제조한 전통 구

Table 1. Physicochemical properties and functionalities of the traditional *Gugija-Liriope tuber* (G-Lt) *makgeolli*

	pH	Ethanol (%)	Total acid (%)	Volatile acid (%)	ACE ^{a)} inhibitory activity (%)	XOD ^{a)} inhibitory activity (%)
G-Lt <i>makgeolli</i>	3.51	8.3	0.45	0.002	63.1	n.d ^{b)}

^{a)}ACE : angiotensin I-converting enzyme, XOD : Xanthine oxidase

^{b)}n.d : not detected.

기자 탁주의 에탄올 함량(13.4%) 보다는 낮은 에탄올 생성량이었으나 전보(송 등, 2011)의 전통 구기자-맥문동 약주의 에탄올 함량(7.8%)과 전통 맥문동 탁주의 에탄올 함량(6.3%) (송 등, 2009)보다는 높은 결과이었다. 이는 부원료의 첨가량과 발효 효모 및 기간 등에 따라 에탄올 생성량이 달라진 것으로 추정 된다.

한편, 구기자-맥문동 전통 약주(송 등, 2011)와 구기자가 항고혈압활성과 항통풍활성이 있음이 보고(박 등, 2007)된 바 있어 구기자-맥문동 막걸리에 대한 이들의 활성을 측정한 결과 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(angiotensin I-converting enzyme; ACE)저해활성이 63.1%로 비교적 높았으나 항통풍성 xanthine oxidase(XOD) 저해활성은 없거나 매우 미약 하였다(Table 1). 이와 같은 ACE 저해활성은 알콜 발효성 *S. cerevisiae*의 무세포 추출물이 42.1%의 ACE 저해활성이 있었다는 Kim 등(2004)의 보고와 같이 효모와 누룩 및 주원료인 쌀 등으로부터 발효 중 ACE 저해물질이 생성되기 때문인 것으로 추정된다.

이 결과는 전통 구기자-맥문동 약주의 ACE 저해활성(79.0%)와 XOD 저해활성(25.5%)(송 등, 2011)보다 낮았고 영지버섯 전통주의 항고혈압성 ACE 저해활성(63%)(Kim et al., 2004)과는 유사하였다. 또한 구기자 전통주의 ACE 저해활성(68.5%)(Lee et al., 2005)과 비늘버섯을 첨가한 구기자 전통주의 ACE 저해활성(85.8%)(Kim et al., 2006), 전통 맥문동 탁주의 ACE 저해활성(90.5%)(송 등, 2009) 보다는 낮았고, 케모마일 전통주의 36.7%(Lee et al., 2002) 보다는 높은 ACE저해 활성이었다. 이와 같이 기 보고된 전통주들과 본 연구의 구기자-맥문동 막걸리와 ACE저해 활성이 차이가 있는 것은 주원료인 쌀과 알콜발효 효모 및 발효 조건이 이들과 유사한것을 감안 했을때 부원료인 약용식물로부터 발효 중 용출되어 나오는 미지의 대사산물 등의 차이에 의한 것으로 추정된다.

구기자-맥문동 막걸리의 저장 중 품질변화

구기자-맥문동 생 막걸리의 최적 저장(유통)기간을 확립하기 위한 자료를 얻고자 구기자-맥문동 막걸리를 4°C와 20°C에서 각각 저장하면서 에탄올 함량과 생리기능성의 변화를 조사 하였다.

Table 2. Changes of ethanol contents and pH in *Gugija-Liriope tuber makgeolli* during storages at different temperature

	Storage temp.	Storage periods (Days)						
		0 ^{a)}	3	6	9	15	21	30
Ethanol (%)	4°C	8.3	8.4	7.6	7.2	7.2	7.0	7.0
	20°C	8.3	7.6	7.2	7.0	7.0	6.8	6.8
pH	4°C	3.30	3.26	3.54	3.47	3.48	3.52	3.51
	20°C	3.30	3.33	3.56	3.44	3.37	3.35	3.36

^{a)}0 day : filtrates after main fermentation at 25°C for 5 days

먼저 에탄올 함량은 4°C와 20°C 모두 저장 9일에 각각 7.2%와 7.0%로 급격히 낮아진 후 변화가 없었고 4°C에 비하여 20°C 저장에서 약 2%의 에탄올이 더 감소되었다 (Table 2). pH의 경우, 저장 기간이 길어짐에 따라 4°C 저장의 경우 pH 3.30에서 3.51로 약간 증가 하였으나 20°C 저장에서는 변화가 없었다.

생리기능성으로 항고혈압 활성을 나타내는 ACE 저해활성은 4°C 저장의 경우 저장 9일에 약 3% 증가된 66.0%을 보였고 이후에는 변화가 없었다(Table 3). 20°C 저장의 경우도 저장 3일에 66.9%로 약간 증가한 후 역시 큰 변화가 없었다. 이러한 결과는 비록 3%의 적은 ACE 저해활성의 증가였지만 *S. cerevisiae*를 사용하여 제조한 포도주들이 숙성 기간이 길어짐에 따라 ACE 저해활성이 증가하였다는 노 등(2008)과 장 등(2011)의 보고와 같은 경향으로 짧은 저장 기간이지만 다양한 ACE 저해물질들이 저장 중 생성되는 것으로 추정되고 이들의 물질 규명 실험이 추가로 요구되었다.

한편 항통풍성 xanthine oxidase 저해 활성은 4°C와 20°C 모두 저장 9일에 각각 2.6%와 5.4%을 보인 후 다시 2.0% 이하로 낮아졌다.

4°C에서 6일, 9일, 15일간씩 저장한 구기자-맥문동 막걸리들에 대한 관능검사를 실시한 결과 Fig. 1과 같이 쓴맛과 신맛, 알콜향과 구기자-맥문동 향 등은 저장기간이 길어짐에 따라 약간 낮아 졌을 뿐 단맛과 썩미, 기타 향등은 대체로 발효직후의 구기자-맥문동 막걸리와 비슷하였다. 따라서 전체적인 총 기호도는 저장 15일된 구기자-맥문동 막걸리가

Table 3. Changes of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and xanthine oxidase inhibitory activity in *Gugija-Liriope tuber makgeolli* during storages at different temperature

	Storage temp.	Storage periods (Days)						
		0 ^{a)}	3	6	9	15	21	30
Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity	4°C	63.1 ± 0.6	64.7 ± 0.2	65.0 ± 0.8	66.0 ± 0.4	65.2 ± 0.1	66.1 ± 0.5	66.5 ± 0.2
	20°C	63.1 ± 0.6	66.9 ± 0.3	64.2 ± 0.1	63.8 ± 1.3	65.5 ± 0.2	64.2 ± 0.5	64.1 ± 0.7
Xanthine oxidase inhibitory activity	4°C	n.d ^{b)}	n.d	n.d	2.6 ± 0.4	1.8 ± 0.8	1.5 ± 0.9	1.4 ± 0.8
	20°C	n.d	n.d	n.d	5.4 ± 0.5	3.8 ± 0.9	2.5 ± 0.7	2.0 ± 0.2

^{a)}0 day : filtrates after main fermentation at 25°C for 5 days

^{b)}n.d : not dateted

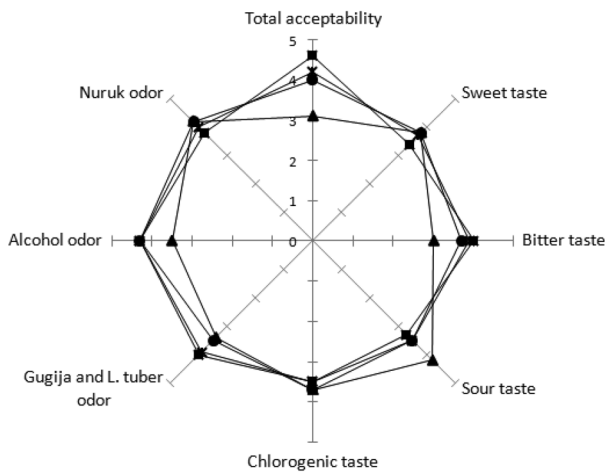


Fig. 1. The quantitative descriptive analysis profile for taste and odor of the *Gugija-Liriope tuber makgeolli* after storage for 6, 9 and 15 days at 4°C. 0 day(■), 6 day(*), 9 day(●), 15 day(▲).

제일 낮았고 저장 6일과 9일 막걸리는 여과 직후와 큰 차이가 없어 기호도가 비교적 우수 하였다. 이상의 결과들을 종합했을때, 저장 9일의 구기자-맥문동 막걸리의 에탄올 함량이 약1% 낮아졌지만 향고혈압 활성과 향통풍 활성 모두 약간의 활성 증가를 보였고 총 기호도도 발효 직후와 큰 차이가 없었으므로 본 연구에서 개발한 구기자-맥문동 생막걸리는 4°C와 20°C에서 9일까지 저장(유통)이 가능한 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 청양 그린 웰리스 연구 사업단 (2010년 지식경제부 RIS사업)의 연구비 지원으로 수행된 연구의 일부임.

참고문헌

강민구, Z. Bolormaa, 이종석, 서건식, 이종수. 2011. 능이버섯의 향고혈압활성과 향통풍활성. 한국 균학회지. 39:53-56.
 민진홍, 백승예, 이종수, 김하근. 2011. 전통 막걸리의 저장 중 효모와 세균의 변화. 한국 균학회지 39:151-153.

송정화, 백승예, 이대형, 정재홍, 김하근, 이종수. 2011. 구기자-맥문동 전통주 제조용 진균 발효제와 알콜 발효 효모의 선발 및 최적 발효조건. 한국 균학회지. 39:78-84.
 박원중, 이봉춘, 이주찬, 이은나, 송정은, 이대형, 이종수. 2007. 구기자 품종과 교배종의 부위별 심혈관관련 질환 예방 기능성 및 항산화 활성 비교. 한국 약용작물학회지. 15:39-397.
 송정화, 이지수, 이은나, 이승환, 김재호, 이종수. 2009. 전통 구기자 탁주의 제조 및 품질특성. 한국 식품영양학회지. 22:86-91.
 송정화, 장정훈, 김하근, 이종수. 2009. 전통 맥문동 탁주의 제조 및 품질특성. 배재대 자연과학 논문집. 20:22-29.
 Cushman, D. W. and Cheung, H. S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20:1637-1648.
 Jang, J. H., Yi, S. H., Kim, J. H., Lee, D. H. and Lee, J. S. 2011. Effect of *Vitis coignetiae* on the quality and antihypertension of *Vitis hybrid* red wine. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 39:126-132.
 Kim, J. H., Lee, D. H., Choi, S. Y., Park, J. S. and Lee, J. S. 2006. Effect of *Lycii fructus* and edible mushroom, *Pholiota adiposa* on the quality and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of Korean traditional rice wine. *Food Biotech.* 20:183-191.
 Kim, J. H., Lee, D. H., Lee, S. H., Choi, S. Y. and Lee, J. S. 2004. Effect of *Ganoderma lucidum* on the quality and functionality of Korean traditional rice wine, yakju. *Japan J. Biosci. Bioeng.* 97:24-28.
 Kim, J.H., Lee, D. H., Jeong, S. C., Chung, K. S. and Lee, J. S. 2004. Characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 14:1318-1323.
 Lee, D. H., Park, W. J., Lee, B. C., Lee, J. C., Lee, D. H. and Lee, J. S. 2005. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional wine by using *Gugija (Lycii fructus)*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:789-794.
 Lee, D. H., Kim, J. H., Kim, N. M. and Lee, J. S. 2002. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using chamomile (*Matricaria chamomile*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 34:109-113.
 No, J. D., Lee, E. N., Seo, D. S., Chun, J. P., Choi, S. Y. and Lee, J. S. 2008. Changes of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of red wines during fermentation and post-fermentation. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 36:291-298.
 Noro, T., Yasushi, O., Toshio, M., Akira, U. and Fukushima, S. 1983. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of alaphne genkwa. *Chem. Pharm. Bull.* 31:3984-3989.
 Rhee, I. J. and An J. Y. 2003. Hepatoprotectives effects of water extract of liliopis tube on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* 34:166-171.