

연잎을 첨가한 탁주의 발효 특성

유하나 · 정장호[†]

세종대학교 조리외식경영학과

Fermentation Characteristics of *Takju* Prepared with Lotus Leaf

Ha-Na Yoo and Chang-Ho Chung[†]

Dept. of Culinary & Food Service Management, Sejong University

Abstract

In this study, lotus leaf was added to a *Takju* (Korean milky rice wine) preparation to evaluate its effects on physicochemical and fermentation properties. For rapid saccharification *Takju* was stored at 25°C for 2 days and then temperature was switched to 18°C to mature the wine for 21 days. From the start of fermentation to 2-days, the pH of *Takju* decreased rapidly and acidity increased. Maltose, a byproduct of starch saccharification, increased for 2 days then rapidly decreased. Glucose fluctuated for 7 days and of the 21-days fermentation. The ethanol production rate was highest during the first 7 days, then slowed. Total viable yeast and lactic acid bacterial counts increased rapidly for 2 days and then decreased gradually thereafter. *Leuconostoc* spp. grew rapidly for 1 day and sharply disappeared with decreasing pH. DPPH radical scavenging activity was significantly higher for *Takju* prepared with lotus leaf than without. The overall acceptance of *Takju* tended to increase when it was prepared with lotus leaf.

Key words : lotus leaf, *takju*, *nuruk*, fermentation, HPLC

1. 서론

음식의 선호패턴이 유기농, 건강식, 자연식 등이 인기를 끌고 있으며(Kim JS 2005), 이러한 추세는 식품뿐만이 아닌 약재나 기타 식물추출물 등을 첨가한 기능성 주류에 대한 소비자 수요가 증가로 나타나면서, 주류가공업에도 이에 부

응한 건강기능성 주류개발이 활발히 진행되고 있다(Jin TY 등 2007).

우리나라 주세법 상에서 술이란 알코올 성분이 1%이상 들어 있는 모든 기호음료를 총칭하며 전통적인 한국 술은 고문헌 속에 나오는 양조법도 있으나 가구마다, 계절별로 전해져오는 전통적 가양주의 형태로 발전하였다. 이들 전통주를 크게 분류하면 탁주, 약주, 소주, 혼양주가 대표적이라 할 수 있다(Lee JS 등 1996). 이 중 탁주는 양조 후에 술덧을 체에 걸러 외관이 백탁한 상태인 것을 말하며(Jwa MK 등 2001), 곡류와 누룩으로 빚어 발효하여 그대로 걸러 음용하는 술이기 때문에 원료나 방법에 따라 독특한 맛과 향기가 생성되며 특히 전통누룩을 사용한 탁주의 경우는 일반 국균이나 개량누룩을 이용한 것보다 다양한 균주가 발효과

[†]Corresponding author : Chang-ho Chung, Department of Culinary & Food Service Management, Sejong University
Tel : 82-3408-3222
Fax : 82-3408-4313
E-mail : cchung@sejong.ac.kr

정에서 생성되는 부산물들로 인하여 풍부한 맛과 향을 주며 lysine 등의 필수아미노산이 풍부하여 영양학적으로도 소주나 혼양주 보다 우수하다 할 수 있다(윤태현과 이미경 1992). 탁주 개발에 있어 율피(Jeong JW 등 2006), 감초, 박하, 오미자, 및 키토산(Kim JH 등 2007), 등이 첨가되어 이를 통한 기능성과 저장성에 관한 연구가 진행되었으며, 탁주 담금방법이나 이를 통한 일반적 이화학적 특성을 연구한 연구들이 진행되었다.

식품재료 중 연(Lotus, *Nelumbo nucifera*)은 인도와 중국을 중심으로 열대온대의 동부아시아를 비롯한 한국, 일본 등에 널리 분포하는 식물로(Kim SB 등 2005) 연잎(lotus leaf), 연자육(lotus seed), 연근(lotus root) 등의 부위에 따라 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔다(육창수 1989). 그 중 연잎은 roemerine, nuciferine 등과 같은 alkaloid 성분을 함유하고 있어 진정작용과 해열작용 그리고 당뇨 및 고지혈증에 효과가 있고(Km DC 등 2006), 그 외 β -carotene, 비타민 C, E와 같은 항산화 비타민은 자유라디칼을 제거하여 암, 백내장, 동맥질환의 예방과 노화의 지연에 효과를 주며(Kim SH 1997, Buring JH와 Hennekens CH 1977), 연잎 등의 녹색잎에 많이 들어 있는 flavonoids는 항산화 효소의 활성을 증가시켜 지질과산화와 low density lipoprotein(LDL)의 산화를 방지해 준다(Ishikawa T 등 1997). 또한 비만을 유발한 쥐의 실험에서는 연잎 추출물을 투여한 결과 지방효소의 지방분해를 촉진하고 흡수를 억제하여 비만 억제에 탁월한 효과가 있는 연구가 보고 된 바 있다(Ono Y 등 2006). 연잎을 가공식품에 활용한 기능성식품에 관한 연구는 연잎가루를 첨가한 설기떡(Son KH 와 Park DY 2007), 어묵(Shin YJ 2007), 쿠키(Kim GS와 Park GS 2007), 연잎절편의 품질 특성연구(Han KY와 Yoon SJ 2007) 등, 연잎을 첨가하여 기능성과 기호성을 증진시키려는 연구가 진행되고 있다.

본 연구는 전통탁주의 가치증진을 위해 일반인에게 기능성 식재료물질로 친숙한 연잎을 첨가하여 탁주를 제조한 후, 발효기간 동안 미생물을 통한 탁주의 발효특성변화를 조사하고 기호도 검사를 실시하여, 전통탁주의 고유 기능성과 맛, 향미 증진, 그리고 소비층의 기호성이 감안될 수 있는 탁주 제품개발에 이용될 수 있도록 하는데 그 목적을 두었다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에서 사용한 연잎은 2010년 7월 경기도 시흥시 사중동 연근농장에서 생연잎을 일괄 구입하여, 흐르는 물에 연잎을 3회 수세 후 물기를 제거하고, 가로 5 cm, 세로 2 cm로 자른 후 -60℃에서 냉동 보관하여 사용하였으며, 이때 생연잎 수분함량은 47.7%(w/w)이었다. 찹쌀은 2009년 충북 괴산에 위치한 월드그린에서 2009년 가을에 수확한 쌀을 중계동 롯데마트에서 구입하여 사용하였고, 누룩은 경북 상주시 중덕동에 위치한 상주곡자에서 법제된 밀누룩을 구입하여 사용하였으며, 물은 수도물을 끓여서 식힌 후에 사용하였다.

2. 연잎을 첨가한 탁주 제조

탁주를 만드는 방법과 재료의 비율은 술빛기의 기본이 되는 탁주류 중 부의주 만드는 방법(박록담 2005)을 응용하여 만들었고, 탁주에 첨가할 생 연잎의 양은 예비실험을 하여 배합비를 조절하였다. 탁주에 첨가할 연잎의 비율은 물 무게에 대해 0, 3, 5, 10% (w/w)로 첨가량을 결정하였으며, Table 1과 같았다. 탁주의 제조를 위해 찹쌀을 한 방향으로 300번 돌려주면서 씻은 후 맑은 물이 나올 때 까지 행굼을 한 후 8시간 쌀을 수침하고, 수침이 끝난 후 다시 행굼을 한 후에 체에 받쳐서 10분 동안 물 빼기를 한 다음 시루에 담아 증불에서 40분 쪄 후 쌀 무게의 10%의 양을 살수(찬물을 쪄고 있는 쌀에 뿌려줌)후 밥을 저어준다. 그리고 연잎을 넣은 후 센불에서 20분을 더 쪄준 후 꺼내어 식힌 다음 식힌 밥, 물, 누룩을 넣어 혼합한 후 항아리에 담고, 빠른 당화를 이루기 위해 담금 시작부터 25℃의 항온기에서 2일간 발효시킨 후, 숙성을 위해 18℃로 온도를 바꾼 후 저장하며 실험하였다(박록담 2005). 각 실험에 필요한 샘플들은 적당한 시간에 적당량 채취하여 -65℃에 저장한 후 실험하였으며 미생물 실험의 경우는 채취 후 2시간 이내 실험을 하였다.

3. 연잎을 첨가한 탁주의 발효특성 측정

1) pH 및 적정산도

각 시료의 pH와 총산도는 시료 10 g 에 증류수 90 mL를 가하여 homogenizer (Nohon Seiki, ACE, Japan)로 2분 동안 균질화 시킨 후 pH는 pH meter(TOA HM-7E, TOA Electronic Ltd, Japan)를 사용하여 측정하였고, 적정산도는 0.1 N NaOH를 pH 8.2가 될 때 까지 적정하였으며 적정에 소비되는 0.1 N-NaOH 용액의 소비량을 초산함량으로 환산하여 총산 함량(% , w/v)으로 표시하였고, 계산식은 다음과 같다.

$$\text{적정산도}(W/V\%) = \frac{0.006 \times V \times f}{S} \times 100$$

V : 0.1 N NaOH의 소비량

f : 0.1 N NaOH의 factor

S : 시료량(mL)

* 0.006 : N/10 수산화나트륨용액 1 mL에 해당하는 초산량

2) HPLC를 이용한 당과 알코올함량 분석

표준용액의 제조는 표준시약급 제품인 maltose, glucose, ethanol(w/w)을 사용하였다. 시료들의 농도는 0.5%(w/w)이하 표준용액의 HPLC 면적에서 얻어진 직선의 표준용액들의 검량선을 희석된 각각의 시료들의 HPLC 면적 값과 비교하여 측정하였다. HPLC 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. HPLC operating parameters for sugar and ethanol analysis

Parameters	Condition
Column	Aminex HPX-87c
Detector	Waters RI- 2414
Flow rate	0.6 mL/min
Mobile phase	Water
Oven temp	83℃
Injection Vol	20 μL

3) 미생물 균총의 측정

발효초기 미생물 균총의 변화를 측정하고자 발효 1일째에는 0, 6, 12, 24시간으로 측정 하였고 이후 2, 7, 14, 21일

간격으로 실험을 실시하였다. 각 시료를 균일하게 혼합한 후 무균적으로 1 mL 취하였다. 이를 멸균수를 이용하여 10 배 희석법으로 일정 농도로 희석하고, 총균수는 PCA(plate count agar, Difco, USA)배지, 총효모수는 PYGA(peptone 1%, yeast 0.5%, glucose 2%, agar 1.5%) 배지, 총젖산균수는 Latobacilli MRS broth에 agar 1.5%와 sodium azide 0.005%를 첨가한 배지, Leuconostoc속 젖산균수는 bromo cresol purple agar(peptone 1%, yeast 0.5%, sucrose 10%, agar 2%, purple bromo cresol 0.0015%, sodium azide 0.005%) 배지에 평판주 가법에 의해 접종하여 28℃에서 48시간 배양 시킨 후 생성된 colony 수를 탁주 1 mL당의 colony forming units(CFU/mL)로 나타내었다.

4) DPPH 자유 라디칼 소거활성 측정

DPPH 자유 라디칼 소거능 활성은(Kim SH 등 2010), (Oh HS 등 2003)의 방법에 준하여 실험하였다. 연잎의 시료는 막자사발로 으갠 생연잎 5 g, 탁주의 시료는 발효 21일째의 탁주 5 g에 각각 80%(v/v) 에탄올 20 g 을 넣고 10초간 진탕교반기를 이용하여 혼합하고 30분 동안 방치 후 3600 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 여과지(Whatman No. 2)에 여과한다. 여과액 0.4 mL와 DPPH용액 1 mL를 상온에서 10 초간 진탕교반기를 이용하여 혼합 후 어두운 곳에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여, 흡광도의 비로 계산하였다.

$$\text{DPPH 소거능}(\%) = \frac{[(\text{무첨가구의 흡광도} - \text{시료첨가구로의 흡광도}) / \text{무첨가구의 흡광도}] \times 100}{1}$$

5) 기호도 검사

기호도 검사는 연잎분말의 첨가비율을 달리하여 제조한 연잎탁주에 난수표를 이용하여 무작위로 선정하였고, 관능검사 요원은 세종대학교 조리외식경영학과 학부생 중 남자 30명, 여자 30명 총 60명을 선정하여 기호도 검사를 실시하였다.

기호도 검사 채점법은 9점 척도로 하였으며, 색(color), 과일향(fruit aroma), 구수한 향(grain aroma), 단맛(sweet taste) 신맛(sour taste), 구수한 맛(grain taste), 알코올맛(alcohol taste), 전체적인 기호도(overall-acceptability)의 각각의 항목에

대하여 9점 평점법으로 평가 하여, 가장 좋다는 9점, 가장 싫다는 1점으로 표시하도록 하였다.

6) 통계분석

연구의 실험결과는 SPSS(Statistics Package for the Social Science, Ver. 17.0 for Window) program을 이용하여 통계 처리하여 분석하였다. 실험은 3회 반복실험을 하였으며 분석 방법으로 평균과 표준편차 및 분산분석 등을 실시하였으며 Duncan의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 유의성 검사를 실행하였다.

III. 결과 및 고찰

1. pH 및 적정산도

연잎의 첨가량을 달리하여 21일 동안 발효과정 중 탁주의 pH변화는 Fig. 1과 같으며, 탁주의 적정산도변화는 Fig. 2와 같다. 담금 직후 탁주의 pH는 6.26-5.93였고, 탁주의 적정산도는 0.03%의 값을 나타내었으며, 발효 1일에 탁주의 pH는 3.91-3.67로 급격히 감소한 반면 탁주의 적정산도는 0.26-0.28%로 증가하였다. 이는 탁주의 발효과정 중에 생성되는 유기산, 탄산가스, 및 기타 산 물질이 pH에 영향을 주며 이런 탁주의 성분변화는 발효진행상황 등을 짐작할 수 있는 중요한 지표가 되는데(Jeong JW 등 2006, Park SH와 Lim SI 2007) 이때 유기산의 생성량 증가로 인하여 탁주의 pH가 감소된 것으로 보여 진다. 탁주의 pH는 2일에 3.22-3.64로 감소한 후 7일부터 21일까지 큰 변화가 없이 pH가 유지되었다. 이는 Seo MY 등(2005)의 연구에서 1단 담금의 경우 담금 초기에 탁주의 pH는 6.66에서 담금 1일에는 4.66으로 급격히 감소되었고, 발효가 끝나는 21일째에는 탁주의 pH가 3.72로 감소한 경향과 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 이러한 경향성은 탁주 제조시 25℃에서 진행된 48시간의 발효진행을 통해 빠르게 유기산 생성과 이산화탄소의 생성이 일어나면서 나타나는 현상으로 보이며 이후 18℃에서는 이미 낮아진 pH와 산도로 인하여 이후 발효기간 동안 큰 변화가 나타나지 않을 것으로 사료된다.

탁주의 적정산도는 2일째 0.56-0.64%에서 7일째에

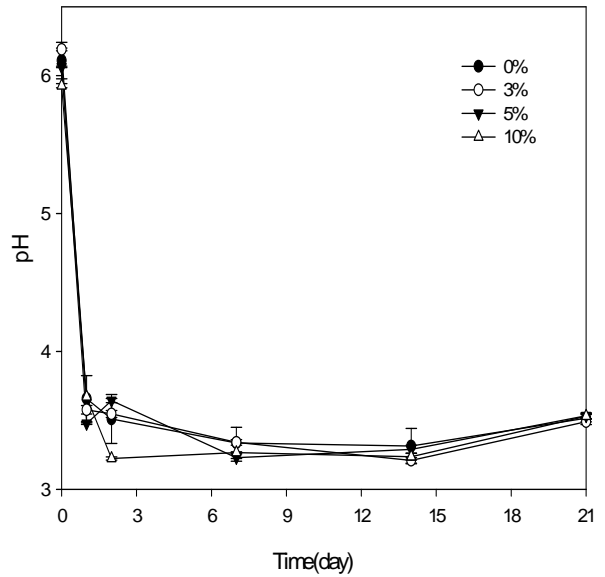


Fig 1. pH changes of lotus leaf Takju during fermentation

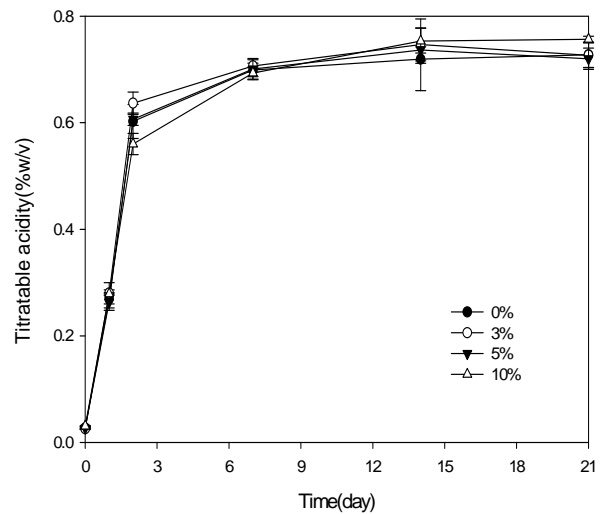


Fig 2. Titratable acidity changes of lotus leaf Takju during fermentation

0.69~0.71% 증가한 후 발효가 끝나는 21일까지 탁주의 pH와 같이 큰 변화를 나타내지 않았으며 이러한 경향은 시판 누룩(전통누룩)을 사용하여 만든 탁주의 경우 발효 1-4일간 매우 급격하게 증가한 후 6일부터는 서서히 증가하여 0.91%에서 거의 변화가 없었다는 So MH 등(1999)의 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

연잎첨가량의 증가에 따른 큰 변화는 없었지만 발효 2일

에 연잎 10% 첨가구가 3.22로 다른 첨가구에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타냈고, 적정산도는 대조구의 경우, 0.61%, 연잎 3, 5% 첨가구는 각각 0.64, 0.61%로 대조구와 비슷한 값을 나타내었다. 발효 21일째, pH와 적정산도는 시료간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

2. HPLC를 이용한 당과 ethanol 함량

발효과정 중 maltose 함량과 glucose의 함량변화는 각각 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 전통 누룩을 사용하며 만든 탁주의 경우 병행복발효가 일어나므로 당과 알코올의 함량 변화로 발효양상을 알 수 있다. 담금 직후 탁주의 maltose의 함량은 2.96~3.53%(w/v)였고, glucose의 함량 0.45~0.58%(w/v)로 나타났으며 이는 백미에 glucose, fructose, maltose, 밀누룩에는 glucose, fructose, maltose, sucrose 등의 당류가 존재한다는 김상순(1985)과 Choi SH 등(1992)의 연구와 유추하여 보면 백미와 누룩의 원료인 밀의 당화작용으로 maltose와 glucose가 생성된 것으로 보여 진다.

Glucose의 함량의 변화를 보면 발효 2일째 까지 1.39~3.79%(w/v)로 증가한 후 7일에는 감소하다 21일까지 3.60~4.59%로 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 4). 반면에 maltose는 점차 증가하는 경향을 보이다 발효 2일째부터 5.79~3.40%(w/v) 감소하였고 발효 7일에는 0.69~1.06%(w/v) 급격히 감소된 후 발효 21일까지는 유지하는 경향을 보였다. 이는 Lee HS(2008)의 효모종류를 달리한 탁주의 품질특성의 연구에서는 유리당 중 glucose의 함량이 가장 높았다는 결과를 보인 것과는 일치하였으나, 탁주의 담금원료, 발효기간, 발효온도 조건에 의한 차이에 의한 것이라 사료된다. 연잎 첨가량에 따른 변화를 보면, maltose는 발효 2일에는 연잎의 첨가가 없는 대조구가 5.78%(w/v), 연잎 10% 첨가구가 3.40%(w/v)로 비교적 낮은 함량을 보였으며, 7일부터 21일까지는 시료 간에 큰 차이는 없었으나 연잎 5, 10% 첨가구가 대조구에 비해서 높은 함량을 나타냈다. Glucose는 담금 초기부터 14일까지는 연잎첨가량이 많을수록 함량이 높게 나타났고, 특히 발효2일째에는 연잎 10% 첨가구가 대조구 보다 높은 함량을 보였으나, 21일에는 대조구 함량이 높게 나타났다.

Maltose와 glucose는 감소하는 시점은 달랐으나 2~7일까지는 감소한 것은 같은 경향을 보였으며, 이 때 원료중의 전

분질은 amylase 작용으로 당분으로 분해되며 또 효모의 영양원, 발효의 기질로 이용 되어 감소된 것으로 사료된다. 그

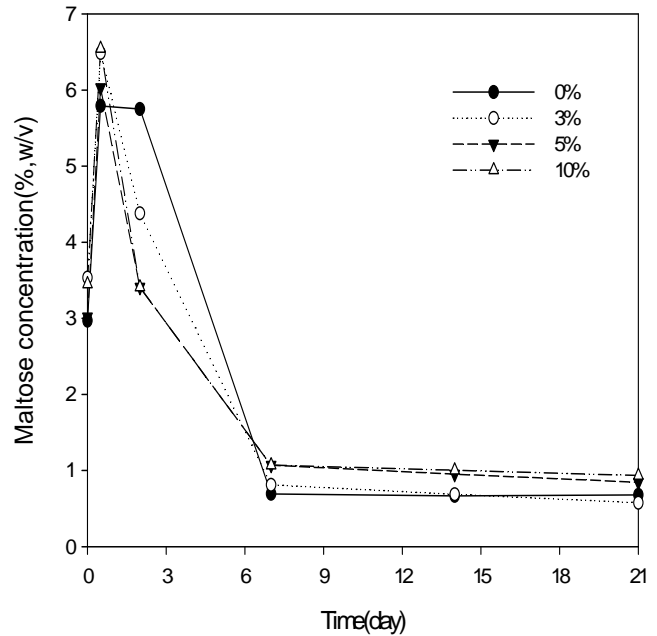


Fig 3. Changes in maltose concentration of lotus leaf *Takju* during fermentation

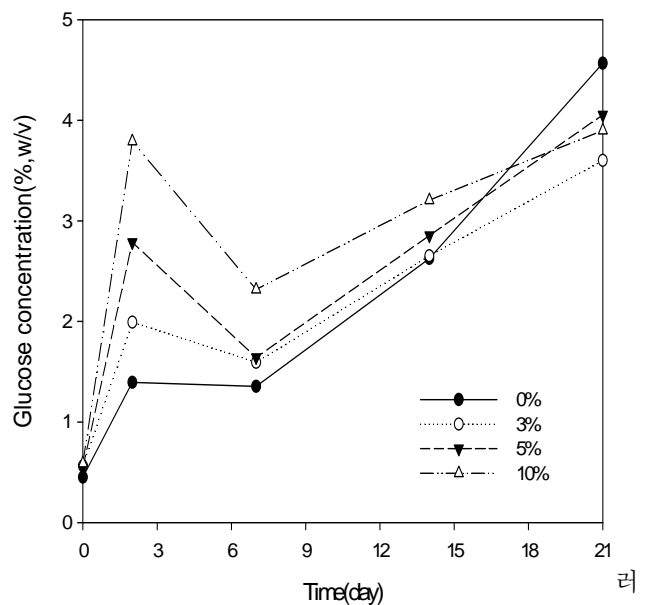


Fig 4 . Changes in glucose concentration of lotus leaf *Takju* during fermentation

나 7일 이후에는 효모가 이용한 maltose가 유리되므로 glucose는 증가하였는데 이는 발효일수에 따라 탁주의 감미 차이가 있을 것으로 보여 진다.

발효과정 중의 ethanol 함량변화는 Fig. 5와 같다. Ethanol의 함량을 보면 발효초기부터 생성되며, 발효 7일까지 급격한 증가를 보였다. 이후 ethanol 함량은 계속 증가하여 7일 이후에는 10.36-14.65%(w/v)의 ethanol을 나타냈으며, 21일에는 16.59-17.58%(w/v)을 나타내었다. 연잎첨가량에 따른 ethanol의 변화는 발효 2일에는 대조구가 2.71%(w/v), 연잎 10% 첨가구가 3.80%(w/v), 14일에는 각각 13.50%(w/v), 16.98%(w/v)로 차이를 보였으나 21일에는 17.29, 17.58%(w/v)로 차이를 보이지 않았다. 이처럼 발효 2일째에는 연잎 10% 첨가구가 다른 발효양상을 보였으며 특히 glucose는 발효 2일에는 연잎 10% 첨가구는 3.79%(w/v)에서 7일에는 2.31%(w/v)로 감소되었고 대조구는 1.39%(w/v)에서 1.35%(w/v)로 감소된 경향을 나타내었다 이는 2일부터 7일까지는 연잎 첨가로 인해 연잎의 성분 중 당이나 쉽게 분해할 수 있는 당 형태의 탄수화물이 포함되어 있거나 연잎에 찹쌀 전분을 분해할 수 있는 효소들이 있으므로 포도당 생성 속도가 빨라지거나, 당 함량이 많아짐에 따라 알코올 함량도 연잎 첨가구가 높아진 것으로 사료되나, 그 원인 규명을 위해 추가적인 실험이 필요할 수 있다.

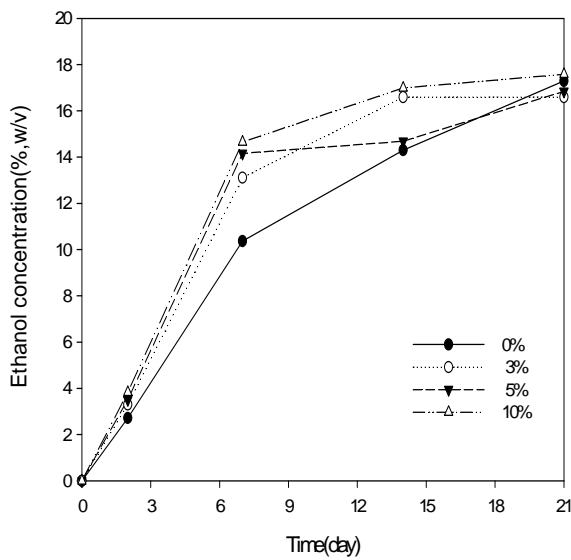


Fig 5. Changes in ethanol concentration of lotus leaf *Takju* during fermentation

3. 총균수

탁주 담금 후 측정된 일반 총세균수 결과는 Fig. 6과 같다. 발효과정 중 일반세균수의 경향은 시간이 지날수록 점차 증가하다가 발효 1일에 급격히 증가하였고, 발효 2일부터는 감소하기 시작하여 발효가 끝나는 21일까지 점차 감소하는 경향을 보였다. 연잎 첨가량에 따른 변화는 대조구와 연잎 3% 첨가구는 담금직후 7.8×10^6 , 8.1×10^6 CFU/mL에서 발효 1일에는 각각 3.2×10^8 , 2.4×10^8 CFU/mL로 나타났으며, 연잎 5% 첨가구와 연잎 10% 첨가구는 담금직후 4.0×10^6 , 1.4×10^7 CFU/mL에서 발효 1일에는 각각 9.5×10^7 , 1.0×10^8 CFU/mL로 변화를 나타내었다. 연잎첨가량에 따른 경향성은 나타나지 않았으나 7일째의 연잎 10% 첨가구는 6.1×10^7 CFU/mL로 다른 실험군보다 낮은 값을 나타냈고, 모두 급격히 감소하는 21일에는 연잎 10% 첨가구가 6.0×10^6 CFU/mL으로 가장 낮은 값을 나타내었다. Han KY와 Yoon SJ(2007)의 연잎을 첨가한 절편에서, Yun SJ(2007)의 연잎을 첨가한 설기떡이 다른 실험군에 비해 총균수가 현저하게 낮아 연잎가루의 첨가량이 많을수록 미생물을 억제함을 알 수 있었다는 연구 결과를 보고하였으나 연잎의 성분으로 인하여, 생균수가 감소한 것인지에 대해서는 명확하지 않다.

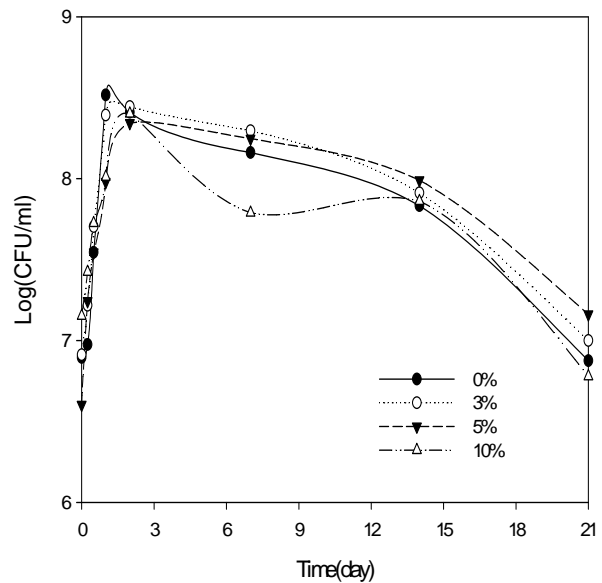


Fig 6. Changes in total viable cell counts of lotus leaf *Takju* during fermentation

4. 총효모수

탁주 담금 후 측정된 총 효모수 결과는 Fig. 7과 같다. 담금 초기에는 3.9×10^6 - 1.2×10^7 CFU/mL에서 발효 1일에는 1.0×10^8 - 3.1×10^8 CFU/mL로 증가되었고 발효 7일째에는 6.8×10^7 - 1.9×10^8 CFU/mL로 발효 1일째보다 감소하였으며 발효가 끝나는 21일에는 1.07 - 6.0×10^7 CFU/mL의 값을 나타내었다. 특히 연잎 10% 첨가구가 1.0×10^7 CFU/mL로 가장 낮은 효모수의 값을 보였다. 이는 Seo MY 등(2005)의 연구에서는 1일부터 증가하기 시작하여 12일까지 효모수가 증가하고 24일째부터 감소하였다는 결과와 유사하여 볼 때 효모수가 증가한 시기는 같으나 효모수가 감소되기 시작한 시점은 상이하였으며 효모가 증가한 후 감소되는 경향을 보였다는 결과와는 유사하였다.

연잎첨가량에 따른 효모수의 변화를 보면 대조구는 초기 106 CFU/mL에서 발효 1일째 3.1×10^8 CFU/mL으로 증가하여 발효 2일째까지 유지되다 차츰 감소하는 경향을 나타내었다. 연잎첨가구의 경우는 대조구와 비슷한 현상을 나타내었다. 효모균의 차이는 7일 이후 모든 시료에서 큰 차이가 나타나지 않았다.

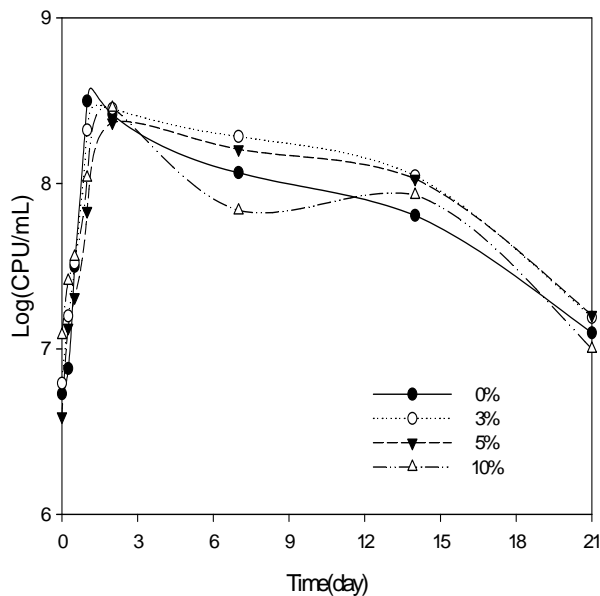


Fig7. Changes in yeast cell counts of lotus leaf *Takju* during fermentation

5. 총젖산균 수

탁주 발효 과정 중 총 젖산균 측정 결과는 Fig. 8와 같다. 담금 직후에는 7.5×10^3 - 1.3×10^4 CFU/mL를 나타냈고, 발효 2일까지 젖산균수가 4 log cycle까지 급속히 증가하였으며 시료 간에 큰 차이 없이 증가 하였다. 7일부터 21일까지는 젖산균수가 감소하여 21일에는 대조구는 9.0×10^4 CFU/mL, 연잎 10% 첨가구는 5.0×10^4 CFU/mL로 대조구보다 낮게 나타났다. So MH 등(1999)의 연구결과 시판누룩(전통누룩)으로 탁주를 담갔을 때 발효 2일에 최고치를 보인 후 서서히 감소하였지만 8일까지도 그 수가 매우 높았다는 결과와 비슷한 경향을 보였으며, 또 개량누룩을 사용하였을 때 3일 이후에 급격히 사멸하여 4일 이후에는 검출 되지 않았다는 보고와 비교 했을 때, 전통누룩을 사용하여 만든 탁주에 젖산균 함량이 높은 것을 확인 할 수 있었다.

젖산균 속 중 이형발효세균인 *Leuconostoc*속 젖산균수의 변화결과는 Fig. 9와 같다. *Leuconostoc*속 젖산균은 김치발효 초기에 우점하여 초기에 풍미향상과 유기산 및 탄산가스 생성을 하고, 김치 외에도 채소, 유제품 및 포도주 등의 발효에서 중요한 역할을 하는 미생물(Stamer JR 등 1971, Choi HJ 등 1996)로 알려져 있다. 담금 직후에는 연잎 첨가구에서 102 CFU/mL 이하로 나타났으나 24시간 이내에 급속히 증가하여 대조구와 연잎 10% 첨가구에서 각각 4.7×10^6 CFU/mL, 1.9×10^6 CFU/mL을 나타내었다. 하지만 발효 1일 이후 *Leuconostoc*속 젖산균이 101 CFU/mL이하로 급격히 감소하였는데 이는 2-7일째 나타난 낮은 pH로 인하여 *Leuconostoc*속 젖산균이 급속히 사멸되어 가는 것으로 사료된다. *Leuconostoc* 속 젖산균은 김치발효의 적숙기인 pH 4.3 부근에서 균수가 최대로 증가하고 김치의 풍미에 좋은 영향을 주며 pH가 그 이하로 떨어질 경우는 유기산의 영향을 덜 받는 동형 젖산발효균인 *Lactobacillus*속 젖산균이 급속히 증가하여 김치의 과숙에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Han GJ 등 2009). 이러한 사실들을 유추하여 보면 *Leuconostoc*속 젖산균은 pH 4 이하로 떨어지기 전인 1일까지는 왕성하게 증가하고 그 이하로 유기산이 증가하는 1일 이후부터는 소멸되는 것으로 보여진다. 따라서 *Leuconostoc*속 젖산균의 생육이 탁주제조에 바람직하다면 초기 담금 온도를 낮추거나 *Leuconostoc*속 젖산균의 생육이 우세할 수 있는 환경의 조성이 필요할 것으로 보여진다. 또한 젖산균

의 증식에 의한 pH의 저하는 잡균에 의한 오염방지 역할을 함으로서 활발한 효모균의 증식을 가져오고 정상적인 알코올 발효가 일어나게 한다는 Chung DH(1974)의 결과를 보면 젖산균의 수가 탁주 발효에 영향을 미치는 연관성을 유추할 수 있었다.

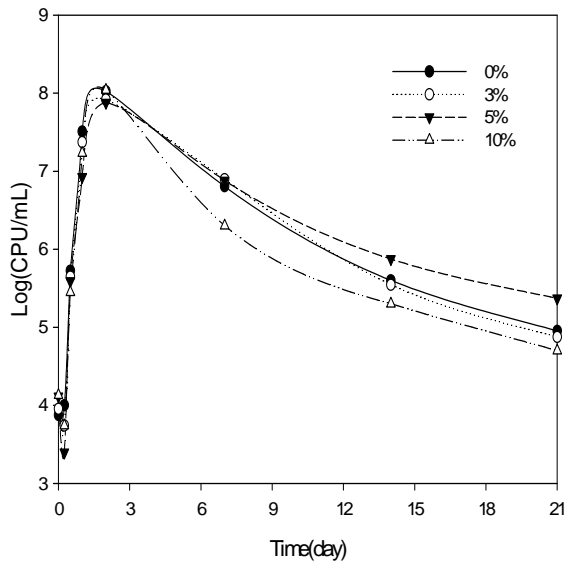


Fig 8. Changes in lactic acid bacteria cell counts of lotus leaf *Takju* during fermentation

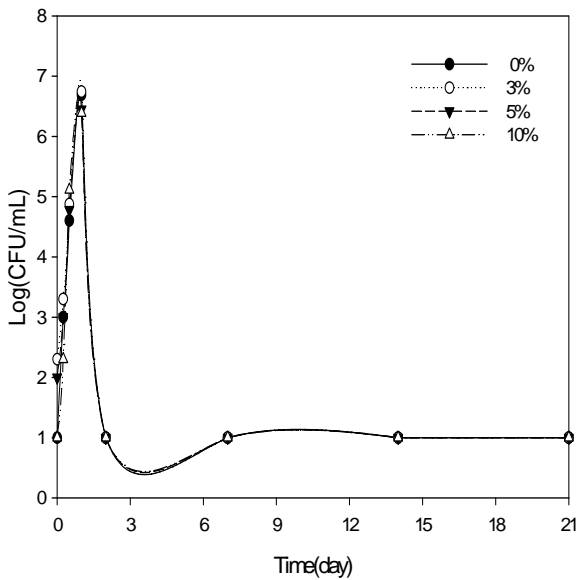


Fig 9. Changes in *Leuconostoc* spp. cell counts of lotus leaf *Takju* during fermentation

6. DPPH 자유 라디칼 소거활성

생연잎 시료와 탁주 발효 21일째 채취한 시료의 DPPH법에 의한 자유 라디칼 소거활성은 Table 3과 같다. DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 보라색이 탈색됨으로 항산화 물질의 전자공여능을 측정하는 방법으로(Swain T 등, 1959), 생 연잎자체의 DPPH 자유 라디칼 소거능은 41.79%이고, 탁주 대조구는 39.44%로 가장 낮게 나타났으며, 연잎 3% 첨가구는 44.20%였으며, 연잎 5, 10% 첨가구는 각각 46.10, 46.18%로 연잎의 첨가량이 증가 할수록 DPPH 라디칼 소거능도 높게 나타나는 경향을 보였다. Park SS 등(2010)의 연구에서 강낭콩을 첨가한 탁주의 항산화성은 강낭콩 첨가량이 증가할 수 록 탁주의 항산화성 높게 나타난 결과와 유추해 보면 항산화성이 있는 재료의 첨가로 인해 탁주의 항산화성이 높게 나타난 것으로 보여 진다. Lee KS 등(2006)의 연구 에서 연잎 추출물의 ethyl acetate 분획물이 합성 항산화제인 BHT보다 우수한 전자 공여능을 나타내었다는 보고와 Jo TO(2009)의 연구에서 연잎, 연자, 연근은 40% 이상의 라디칼 소거능을 나타내어 항산화능이 높다는 결과와 유추하여 보면, 본 연구에서는 연잎을 첨가하여 만든 탁주의 경우, 40% 이상의 자유 라디칼 소거능을 나타내었기 때문에 연잎의 첨가량이 높을수록 자유 라디칼 소거능과 같은 항산화작용이 높아지는 것으로 보인다.

Table 3. Effect of DPPH radical-scavenging activity of lotus leaf and *Takju* prepared with lotus leaf

Sample	DPPH(%)
Ethanol extract of lotus leaf ¹⁾	41.79±0.02 ^{3)C4)}
Control <i>Takju</i>	39.44±0.65 ^{D)}
3% ²⁾	44.20±0.44 ^{B)}
5% ²⁾	46.10±0.01 ^{A)}
10% ²⁾	46.18±0.01 ^{A)}
F-value	207.506 ^{***)}

¹⁾ Ethanol extract; refer to Materials and Methods

²⁾ *Takju* samples prepared with each percent (w/w) addition of lotus leaf

³⁾ Means±S.D. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

⁴⁾ ABCDMean in a column by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

Table 4. Preference of test1) on lotus leaf *Takju* (men=30/women=30)

	Properties	Lotus leaf (%)				F-value
		0	3	5	10	
Men	Color	4.97±1.83 ^{2)h3)}	5.10±1.92 ^b	6.20±2.47 ^a	4.93±2.03 ^b	2.540
	Fruit aroma	4.60±2.27 ^a	4.83±2.72 ^a	5.40±2.37 ^a	4.67±2.14 ^a	0.697
	Grain aroma	3.63±1.90 ^a	3.77±1.63 ^a	3.97±1.73 ^a	4.27±2.16 ^a	0.651
	Sweet taste	3.53±2.60 ^a	3.57±2.34 ^a	4.03±1.99 ^a	3.93±2.02 ^a	0.382
	Sour taste	4.37±2.48 ^a	4.50±2.56 ^a	4.40±2.06 ^a	4.83±2.83 ^a	0.219
	Grain taste	3.67±2.15 ^a	3.93±2.10 ^a	3.70±1.88 ^a	4.27±2.39 ^a	0.502
	Alcohol taste	4.73±2.29 ^a	4.87±2.22 ^a	5.60±2.06 ^a	5.17±2.76 ^a	0.805
	Overall acceptance	4.30±1.95 ^a	4.40±2.13 ^a	5.50±2.24 ^a	4.87±2.79 ^a	1.705
Women	Color	5.17±1.95 ^{2)h3)}	5.37±1.88 ^a	5.43±1.74 ^a	5.10±1.65 ^a	0.231
	Fruit aroma	5.53±1.98 ^a	5.33±2.06 ^a	4.17±1.98 ^b	4.10±2.34 ^b	3.902*
	Grain aroma	4.30±1.68 ^a	4.57±2.16 ^a	4.07±1.82 ^a	3.87±1.78 ^a	0.783
	Sweet taste	4.87±2.30 ^a	5.13±2.34 ^a	4.70±2.15 ^a	4.40±2.33 ^a	0.543
	Sour taste	4.77±2.14 ^a	5.10±2.47 ^a	4.83±2.32 ^a	4.17±2.13 ^a	0.902
	Grain taste	4.77±2.34 ^a	4.53±2.29 ^a	4.27±1.70 ^a	4.17±2.07 ^a	0.492
	Alcohol taste	5.30±2.34 ^a	5.33±2.14 ^a	4.87±2.21 ^a	4.97±1.97 ^a	0.352
	Overall acceptance	5.20±2.14 ^a	5.63±2.09 ^a	5.47±2.22 ^a	5.13±2.03 ^a	0.362

1) 9-pt hedonic scale (1: extremely dislike, 9: extremely like)

2) Means±S.D. *p<0.05,

3) abMean in a row by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

7. 기호도

평가원들의 연잎을 첨가한 탁주의 기호도를 분석한 결과는 Table 4와 같다. 성별에 따른 기호도 분류에서는 남성, 여성 기호도를 분석한 결과 시료별 유의적 차이는 없었으나 남성의 경우는 색, 과일향, 단맛, 알코올맛, 전반적인 기호도에서는 연잎 5% 첨가구가 높은 점수를 보였으며, 구수한 향, 신맛의 항목에서는 10% 연잎첨가구가 높은 점수를 나타낸 반면, 연잎 0, 3% 첨가구는 낮은 점수를 나타내었다. 여성의 경우는 색은 연잎 5% 첨가구가 남성의 경우와 같이 가장 높았고 과일향, 구수한 맛은 대조구가 높았고 구수한 향, 단맛, 신맛, 알코올 맛, 전반적인 기호도에서는 연잎 3% 첨가구의 점수가 가장 높게 나타났다. 전반적인 기호도 평가에서 연잎 첨가구가 대조구보다 높은 점수를 보여 연잎의 첨가가 탁주의 기호도에 좋은 영향을 미치는 것으로 보여진다.

IV. 요약 및 결론

전통방식 탁주제조에 기능성 성분들을 포함하고 있는 것으로 알려진 생연잎을 0, 3, 5, 10%(w/w) 첨가하여, 탁주를 제조한 후 25℃에서 2일, 18℃에서 19일 총21일간의 발효기간 동안 탁주의 pH, 적정산도, 당과 알코올 함량 분석, 미생물측정, DPPH 자유라디칼 소거활성, 기호도 검사를 실시하였다. 발효과정 중 pH는 담금 직후부터 발효 2일까지 감소하였고 총산은 증가하였다. 전분당화의 부산물인 maltose의 농도는 2일까지는 증가하다 발효 2일부터 7일사이에 급격히 감소하였고 glucose는 발효 7일부터 증가하였다. Ethanol은 발효초기부터 생성되기 시작하여 발효 7일에는 10.36~14.65%(w/v)로 증가하였고 그 후 증가속도는 둔화되었다. 총균수, 효모수, 젖산균수는 2일까지는 증가하였으나, *Leuconostoc*속 젖산균은 1일까지 증가하였고 그 이후에는 pH의 감소와 산도의 증가에 따라 급격히 감소하였다. 이상

의 결과를 종합하여 볼 때, 발효과정 중 2일까지는 발효가 급격히 일어나고, 7일부터 21일까지는 발효가 서서히 진행되며 속성되는 것으로 보인다. 연잎 3%, 5% 첨가구는 발효과정 중 확연한 차이를 보이지는 않았으나, 연잎 10% 첨가구는 발효 2일째에는 총균수, 효모수, 젖산균수가 다른 시료보다 낮았다. DPPH를 이용한 자유라디칼 소거활성의 경우는 생연잎이나 연잎첨가 탁주에서 유의적으로 높게 나타났다. 기호도의 경우는 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 연잎첨가 탁주의 기호도가 대조구보다 높은 경향성을 보였다. 일반인에게 기능성 식재료로 친숙한 연잎을 첨가하여 탁주를 제조할 경우 관능적 품질과 자유라디칼 소거능 향상을 통한 탁주의 가치 증진에 도움이 될 수 있을 것으로 보여진다.

참고문헌

- 김상순. 1985. 한국전통식품의 과학적 고찰. 숙명여자대학교 출판부. 서울. p 57
- 박록담. 2005. 한국의 전통명주 다시 쓰는 주방문. 코리아쇼케이스. 서울. pp 279-280
- 육창수. 한국약용식물도감. 1989. 아카데미서적. 서울. pp 219-230
- 윤태현, 이미경. 1992. 전통 누룩으로 빚은 발효주의 품질평가 및 누룩 문헌 고찰. 한국음식문화연구원. 농촌진흥청 p 285
- Buring JE, Hennekens CH. 1977. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Nutrition Review* 55(1):53-60
- Choi HJ, Shin YJ, YU JH, Yoon SS. 1996. A new selective medium for the isolation of *Leuconostoc* in foodstuffs. *Korean J Food Sci Technol* 28(2):279-284
- Choi SH, Kim OK, Lee MW. 1992. A study on the gas chromatographic analysis of alcohols and organic acids during Takju fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 24(3):272-278
- Chung DH. 1974. Fermentation and microbial technology. Sunjin Munhwasa Seoul, pp 228-275
- Han GJ, Son AR, Lee SM, Jung JK, Kim SH, Park KY. 2009. Improved quality and increased in vitro anticancer effect of Kimchi by using natural sea salt without bitter and baked (Guwun) salt. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 38(8):996-1002
- Han KY, Yoon SJ. 2007. Quality characteristics of Lotus leaf during storage. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 36(12):1604-1611
- Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hara Y, Nakamura H. 1997. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 66(2):261-266
- Jeong JW, Park KJ, Kim MH, Kim DS. 2006. Quality characteristics of Takju fermentation by addition of chestnut peel powder. *Korean J Food Preserv* 13(3):329-336
- Jin TY, Kim ES, Eun JB, Wang SJ, Wang MH. 2007. Changes in physicochemical and sensor, characteristics of rice wine, Yakju prepared with different amount of red yeast rice. *Korean J Food Technol* 39(3): 309-314
- Jo TO. 2009. Functional of lotus(*Nelumbo nucifera*) and quality characteristics of Korean rice cake added with lotus powder. Sejong University. Korean Seoul, p 44
- Jwa MK, Lim SB, Mok CK, Park YS. 2001. Inactivation of microorganisms and enzymes in foxtail millet Takju by high hydrostatic pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 33(8):225-230
- Kim DC, Kim DW, In MJ. 2006. Preparation of Yeonip(lotus leaf) tea and its quality characteristics. *Korean J Soc Appl Biol Chem* 49(2): 163-164
- Kim GS, Park GS. 2007. Quality characteristics of cookies prepared with lotus leaf powder. *Korean J Food Cookery Sci* 24(3): 398-404
- Kim JH, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim AR, Kim MJ, Ji KW, Ahn IS, Ahn DH . 2007. Effects of *Glycyrrhiza uralensis*, *Menthae herba*, *Schizandra chinensis* and chitosan on the shelf life and quality of Takju. *Korean J Soc. Food Sci Nutr* 36(11):1436-1443
- Kim JS. 2005. Universalizing Korean food. *Korean J Food Culture* 20(5) 499-507
- Kim SB, Rho SB, Rhyu ,DY, Kim DW. 2005. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic bio FIB hamster. *Korean J Phamaogn* 36(3):229-234
- Kim SH, Chung MJ, Jang HD, Ham SS. 2010. Antioxidative activities of the *Codonopsis lanceolata* extract in vitro and in vivo. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(2):193-202.
- Kim SH. 1997. Oil seeds refining & oil consumption pattern. *Korean J Nutr Soc* 30(5):546-552

- Lee HS. 2008. Quality characteristics of Takju using different kinds of yeast. Seoul Womens University. Seoul p 61
- Lee JS, Lee TS, Noh BS, Park SO. 1996. Quality characteristics of mash of Takju prepared by different raw materials. Korean J Food Sci Technol 28(2):330-336
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus(*Nelumbo nucifera*) leaf. Korean J Soc Food Sci Nutr 35(2):182-186
- Oh HS, Kim JH, Lee MH. 2003. Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of red bean and mung bean. Korean J Soc Food Cookery Sci 19(3):263-270.
- Ono Y, Hattori E, Fukaya Y, Imai S, Ohizumi Y. 2006. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. J Ethnopharmacol 106(2):238-244
- Park SH, Lim SI. 2007. Quality characteristics of muffin added red yeast rice flour. Korean J Food Sci Technol 39(3):272-275
- Park SS, Yoon JA, Kim JJ. 2010. Quality properties of Takju(rice wine) added with kidney bean. J East Asian Soc Dietary Life 24(4):575-581
- Seo MY, Lee JK, Ahn BH, Cha SK. 2005. The changes of microflora during the fermentation of Takju and Yakju. Korean J Food Sci Technol 37(1):61-66
- Shin YJ. 2007. Quality characteristics of fish paste containing lotus leaf powder. Korean J Food Cookery Sci 23(6):947-953
- So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Changes in microorganisms and main components during Takju brewing by a modified nuruk. Korean J Food Nutr 12(3):226-232
- Son KH, Park DY. 2007. The quality characteristics of sulgi prepared using different amounts of mulberry leaf powder and lotus leaf powder. Korean J Food Cookery Sci 23(6):977-986
- Stamer JR, Stoyla BO, Dunkel BA. 1971. Growth rates and fermentation patterns of lactic acid bacteria associated with the sauerkraut fermentation. J Milk Food Technol 34(1):521-525
- Swain T, Hills WE. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica* L. -The quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric 10(1):63-68
- Yoon SJ. 2007. Quality characteristics of Sulgitteok added with lotus leaf powder. Korean J Food Cookery Sci 23(4):433-442