

으름 열매를 첨가한 막걸리의 이화학적 특성 및 생리활성

이준기 · 조현주 · 김경임¹ · 윤진아² · 정강현 · 송병춘³ · 안정희^{3,*}

서울과학기술대학교 식품공학과, ¹혜전대학교 호텔조리외식계열,
²배화여자대학교 식품영양과, ³건국대학교 식품생명과학부

Physicochemical Characteristics and Biological Activities of *Makgeolli* Supplemented with the Fruit of *Akebia quinata* during Fermentation

Jun-Ki Lee, Hyeon-Ju Jo, Kyung-Im Kim¹, Jin-A Yoon², Kang-Hyun Chung, Byeong Chun Song³, and Jeung Hee An^{3,*}

Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science & Technology

¹Division of Hotel Culinary Arts & Foodservice, Hyejeon College

²Department of Food & Nutrition, Baewha Women's University

³Division of food Bioscience, Konkuk University

Abstract We investigated the characteristics and biological activity of *makgeolli* supplemented with different levels (0%, 1%, 3%, 5%, and 7%) of *Akebia quinata* fruit during fermentation. Our results showed that supplementation with *Akebia quinata* fruit led to an increase in the acidity level, amino acid concentration, alcohol content, and total sugar level. *Makgeolli* supplemented with 7% *Akebia quinata* fruit showed the highest total sensory score. Supplementation with *Akebia quinata* fruit resulted in a significant increase in the antioxidant activity and nitric oxide inhibitory activity. Further, *makgeolli* supplemented with *Akebia quinata* fruit showed anticancer activity against DU145, HeLa, MCF-7, and U87cells, and significantly enhanced antibacterial activity against *Shigella flexneri*. Our results indicate that *Akebia quinata* fruit represents an effective natural additive for enhancing the biological activities of *makgeolli*.

Keywords: *Akebia quinata*, *makgeolli*, anticancer activity, antioxidant activity, nitric oxide inhibitory activity

서 론

우리나라의 전통발효식품에 대한 문헌적 기록은 BC 1-6세기경에 처음으로 등장하였고 18세기에 이르는 긴 세월을 거치면서 시행착오를 통하여 발효식품의 종류 또한 다양하게 개발되었다(1). 막걸리에는 일반 주류와는 달리 상당량의 단백질과 식이섬유 및 당질이 들어 있고 소량의 비타민과 유기산 및 생리활성 물질과 많은 양의 젖산균 등이 함유되어 있어 영양적, 기능적 가치가 높아 최근 국내와 일본 등에 소비가 크게 증가하는 추세이다(2). 막걸리는 쌀과 누룩가루를 원료로 담금하여 만드는 술로, 누룩 미생물 중 곰팡이의 *amylase*에 의한 쌀 전분의 당화 공정과 발효성 당의 alcohol 발효기능을 가진 효모에 의한 ethanol로의 전환과정 등 두 가지의 공정을 여러 미생물의 효소 반응의 조화에 의해 병행 복 발효시켜 만드는 순수한 조주이다(3). 근래에 들어 전통 발효 식품에 대한 관심이 높아지면서 그에 관한 연구가 활발히 진행되어 막걸리 발효에 미치는 미생물의 다양성 분석(4), 막걸리 농축액이 흰쥐의 혈중 지질 및 효소 활성에 미치는 영향(5), 막걸리 분획물에 의한 암세포 성장 억제 및 *quinone reductase* 활

성 증가 효과(6), 막걸리의 쥐 혈장 과산화물 생성 억제효과(7), 막걸리의 혈행, 지질개선 효과 및 *in vitro*에서의 ACE 저해 효과(8), 누룩균을 이용한 RAW264.7 세포에 관한 연구(9)가 보고되었다. 최근 지역특산물을 첨가하여 제조한 막걸리의 연구가 활발히 이루어지고 있고 배(10), 석류(11), 등글레(12), 마늘(13), 감(14), 오디(15), 유자(16) 등이 있으며 이들의 이러한 지역특산물을 첨가한 막걸리를 조사한 결과 마늘막걸리의 생리활성, 등글레막걸리의 항산화, 오디 막걸리의 폴리페놀 그리고 안토시아닌, 유자 막걸리의 헤스페리딘, 나린진 등의 연구가 보고 되었다(10-16).

으름은 쌍떡잎식물 미나리아재비속 으름덩굴과의 낙엽 덩굴식물로서 학명은 *Akebia quinata*로 분포지역은 한국(황해도 이남), 일본, 중국 등이 있다(17). 으름덩굴의 뿌리 및 줄기는 창달(暢達), 인후(咽喉), 진해(鎮咳), 해열(解熱), 소염(消炎), 배농(排膿), 구충(驅蟲), 부종(浮腫) 등에 약재로 사용되어 왔었고, phenol성 물질과 saponin 함유가 높은 물질로 알려져 있다(18). 또한 항산화 및 항암효과(17), 항균 성분 분리 및 함량분석(18), 으름 유래 사포닌의 HepG2간암세포에 대한 세포 독성 및 세포자살유도 연구(19), 으름 줄기의 triterpene glycosides 관한 연구(20), 으름 추출물의 hemodynamic의 영향을 끼치는 이노제의 대한 평가(21), 으름줄기 그리고 말린 과일로부터 에센셜 오일 성분에 관한 연구(22), 목동(으름줄기)의 줄기로부터 트리테르펜 사포닌에 관한 연구(23), 으름꽃과 잎의 물추출물은 DNA 손상을 유도한 human lymphocytes에서 항산화 및 보호효과에 관한 연구(24) 등이 있다. 그러나 으름에 관련된 생리 활성에 대한 연구는 미진하며 또한 으름을 이용한 산업적 활용 제품에 대한 연구도 부족한 실정이다.

*Corresponding author: Jeung Hee An, Division of Food Bioscience, Konkuk University, Chungju, Chungbuk 380-701, Korea
Tel: 82-43-840-3584
Fax: 82-43-840-3585
E-mail: anjhee@kku.ac.kr
Received May 21, 2013; revised July 7, 2013;
accepted July 22, 2013

본 연구에서는 다양한 생리 활성이 있는 것으로 알려진 으름을 이용하여 건강 증진 효과가 향상된 기능성막걸리의 개발 가능성을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

재료

막걸리 제조 원료로 여주 이천쌀을 구입하여 사용하였다. 으름은 충청남도 홍성군 광천읍 담산리 부근 자생열매를 채취하여 사용하였다. 누룩은 충청북도에 소재한 단월양조장에서 생산된 누룩을 구매하여 사용하였다.

막걸리 담금

본 연구에 사용된 막걸리는 쌀 2 kg을 세척하여 5시간 동안 물에 침지한 후, 체에 받쳐 60분 동안 물기를 제거하였다. 물기를 제거한 쌀을 찹쌀에 넣고 100°C에서 40분 동안 증자하고 10분 뜸을 들인 후 고두밥을 만들었다. 막걸리제조는 고두밥을 식힌 후(25°C) 10L의 유리병에 고두밥(2 kg), 누룩(400 g)을 버무린 후 생수 (5 L)을 넣고 골고루 섞어주어 대조군을 제조하였다. 으름 첨가군 1%는 고두밥(2 kg), 누룩(400 g)을 버무린 후 으름(20 g)을 넣어 섞어주었다. 이후 생수 (5 L)를 넣어 제조하였다. 으름 첨가군 3%는 고두밥(2 kg), 누룩(400 g) 버무린 후 으름 (60 g)을 섞어주었다. 이후 생수 (5 L)를 넣어 제조하였다. 으름 첨가군 5%는 고두밥(2 kg), 누룩(400 g)를 버무린 후 으름(100 g)을 섞어주었다. 이후 생수 (5 L)를 넣어 제조하였다. 으름 첨가군 7%는 고두밥(2 kg), 누룩(400 g)을 버무린 후 으름(140 g)을 섞어주었다. 이후 생수 (5 L)를 넣어 제조한다. 막걸리는 25°C 인큐베이터에 20일간 보관하여 사용하였다.

pH 측정

pH측정은 여과한 시료 5 mL를 pH meter (HI 8014, HANNA instruments, Seoul, Korea)로 총 3회 측정하였다.

산도 측정

산도 측정은 국제청의 주류분석 규정에 명시된 방법으로 측정하였다(25). 여과한 시료 10 mL에 1% phenolphthalein 지시약을 2-3방울 떨어트린 후 0.1 N NaOH용액으로 담홍색이 나타날 때까지 적정하여 적정 소비량을 측정한 후 시료중의 총산량을(%)로 측정하였다.

아미노산 측정

아미노산 glycine함량은 국제청의 주류분석 규정(25)에 따라 총산을 측정한 시료 10 mL에 formalin용액 5 mL를 가하여 아미노산을 유리시킨 후 0.1 N NaOH용액으로 시료가 담홍색이 될 때까지 적정하여 적정 소비량을 측정한 후에 시료 중의 아미노산을 glycine으로 환산하였다.

알코올 측정

알코올 함량 측정은 메스실린더에 시료 100 mL를 취한 후 500 mL 삼각 플라스크에 옮긴 후에 증류수 10 mL를 3회 나누어 시료를 담았던 100 mL 메스실린더에 씻은 후 그 액을 500 mL 삼각플라스크에 합친 후 알코올을 증류하였다. 증류액이 70 mL가 되면 중지하고 증류수를 30 mL를 보충하여 메스실린더 눈금이 100 mL까지 정용한 후 주정계를 사용하여 값을 읽고, 온도측정을 한 후 Gay-Lussac의 주정환산표로 주정분을 결정하였다(25).

총당 측정

총당 함량측정은 phenol-sulfuric acid법으로 측정하였다(26). 막걸리 시료 1 mL을 증류수로 1000배 희석한 후 그중에서 2 mL을 취한 후 5% phenol용액 1 mL를 넣고 혼합 시켰다. 여기에 95% 황산 5 mL 천천히 가하여 발열시킨 후 30분 동안 암실 안에서 상온방치 후 spectrometer (UV-2101(PC)S, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 당정량은 glucose를 표준물질로 사용하여 표준곡선으로 환산하였다.

총균수 측정

총균수 측정은 막걸리 시료를 균일하게 섞어 1 mL을 멸균한 생리 식염수에 10진 희석법에 따라 희석하고 희석된 시료 1 mL와 Plate Count Agar (Difco Co., Detroit, MI, USA) 20 mL petri dish에 균일하게 잘 혼합한 후 37°C에서 24-48시간 동안 배양한 후 총균수를 계수하였다.

효모수 측정

효모수 측정은 막걸리 시료를 균일하게 섞어 1 mL을 멸균한 생리 식염수에 10진 희석법에 따라 희석하고 희석된 시료 1 mL와 Potato Dextrose Agar (Difco Co.) 20 mL를 petri dish에 균일하게 혼합하여 25°C에서 120시간 동안 배양한 후 효모수를 계수하였다.

관능검사

관능검사는 색, 단맛, 신맛, 쓴맛, 향, 목넘김, 전반적 기호도의 항목으로 7점 척도법으로 서울과학기술대학교 학생 20명을 선정하여 관능평가를 실시하였다.

DPPH Radical 소거활성 측정

각각의 시료를 전자 공여에 의해 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)의 유리 Radical이 소거되어 hydrazin 형태로 환원되고, 이에 따라 색이 보라색에서 노란색으로 탈색되는 원리를 이용하여 DPPH의 전자공여능을 측정하였다. DPPH 시약을 ethanol에 녹여 0.2 mM 용액을 준비하였으며, 시료는 여과하여 50 µL씩 취한 후 DPPH 용액 200 µL에 첨가한 다음 30분간 암실에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(17).

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Control의 흡광도} - \text{검체의 흡광도}}{\text{Control 흡광도}} \times 100$$

Nitric Oxide (NO) 생성량 측정

NO의 생성량을 확인하기 위하여 1×10^6 개의 RAW 264.7 세포를 96-well plate에 분주하였다. 세포가 plate에 부착된 24시간 후 0.5-5 mg/mL의 농도로 시료를 처리하고 lipopolysaccharides (LPS), L-arginine, IFN- γ , BH4 (tetrahydrobiopterin)로 24시간 동안 염증반응을 유도하였으며 그 배양 상층액을 수거하여 사용하였다. Macrophage로부터 생성된 NO는 Griess Reagent (Sigma-Aldrich)와 RAW 264.7 배양 상층액을 동량으로 넣고 10분 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

함암활성(MTT assay)

종양 세포 5×10^4 cells/mL의 세포가 분주된 96 well plate를 24시간 배양 후, 시료를 처리하고 24시간을 추가로 배양한다. 그 후 각 well에 MTT용액(5 mg/mL)을 첨가하고 4시간 동안 배양하였

다. 그 후 배양액을 제거한 후, 생성된 formazan 결정을 DMSO에 용해시켜 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 측정된 흡광도는 생존하는 세포의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 MTT가 formazan으로 전환된 양을 나타내며 생존하는 세포수와 비례 하다.

항균활성

막걸리 시료 300 mL을 농축수기에 담아 이를 rotary vacuum evaporator (R-114, Buchi Co., Sandy, UT, USA)로 농축하여 시료를 다시 동결건조기(Ilshin Co., Yangju, Korea)에 분말화하였다. 증류수 1 mL에 시료 100 mg을 녹여 40 µL을 paper disk (0.8 mm)에 주입한 후 *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica subsp. Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* 을 20 mL를 균한 평판배지에 100 µL 넣은 후 삼각병으로 도말하여 paper disk (8 mm)를 깔아 항균활성 효과를 확인하고 paper disk 주위에 생기는 clear zone의 생성 유무를 확인하였다.

통계분석

모든 값은 SPSS Version 18.0 package program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 시험구의 평균과 표준편차를 산출하고 Tukey법, Duncan법을 이용하여 각 시험구간의 유의차를 5% ($p < 0.05$) 유의수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

으름 첨가 막걸리의 pH 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 pH를 측정 한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 담금 직후 pH는 대조군에서는 4.24, 으름 첨가군 1%에서는 4.41, 으름 첨가군 3%에서는 4.53, 으름 첨가군 5%에서는 4.63, 으름 첨가군 7%에서는 4.71로 으름을 첨가함에 따라 pH가 높은 경향을 보였다. 담금 직후 감소하는 경향을 보였고 발효 5일 대조군에서는 3.63, 으름 첨가군 1%에서는 3.53, 으름 첨가군 3%에서는 3.55, 으름 첨가군 5%에서는 3.47, 으름 첨가군 3.62으로 나타났다. 발효 5일 이후부터 점차 증가하여 발효 20일 대조군에서는 4.05, 으름 첨가군 1%에서는 4.01, 으름 첨가군 3%에서는 4.17, 으름 첨가군 5%에서는 4.21, 으름 첨가군 7%에서는 4.15로 나타났다. 대조군에 비해 으름첨가 막걸리가 발효 8일 후부터는 유의적인 pH 차이를 나타냈다. 발효 초기의 pH의 감소 원인은 술덧이나 으름에서 생성된 유기산 증가에 의한 것이나, 이후 지속적으로 생성된 알코올과 아미노산, 유기산이 상호 반응을 하여 에스테르 등의 향미성분을 생성하여 pH가 증가되는 것으로 보고되었고(27), 이는 설기떡을 이용한 흑마늘 막걸리 제조시의 품질 특성과 동일한 경향을 보였다.

으름 첨가 막걸리의 산도 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 총산 함량을 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 담금 직후 총산 함량은 대조군에서는 0.07%, 으름 첨가군 1%에서는 0.07%, 으름 첨가군 3%에서는 0.07%, 으름 첨가군 5%에서는 0.08%, 으름 첨가군 7%에서는 0.09%로 나타났다. 발효 3일 점차 증가하여 대조군에서는 0.15%, 으름 첨가군 1%에서는 0.17%, 으름 첨가군 3%에서는 0.29%, 으름 첨가군 5%에서는 0.3%, 으름 첨가군 7%에서는 0.4%로 증가하였다. 이후 점차 증가하여 최종 발효 20일에서는 대조군에서는 0.53%, 으름 첨가군 1%에서는 0.68%, 으름 첨가군 3%에서는 0.75%, 으름 첨가군 5%에서는 0.82%, 으름 첨가군 7%에

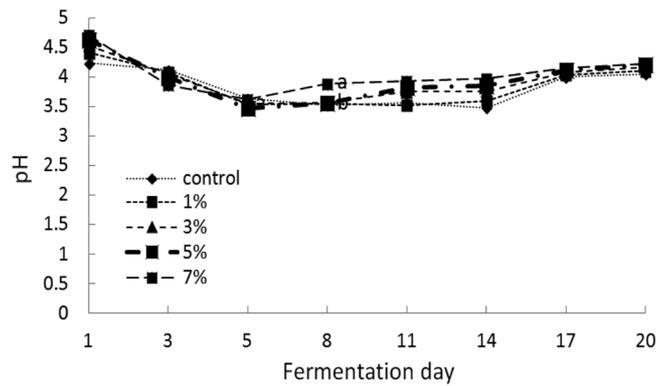


Fig. 1. Changes in pH of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period. Values are mean ± standard deviations of triplicate determination. Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

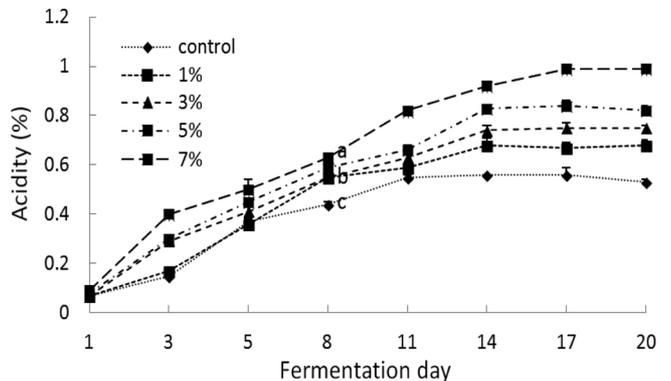


Fig. 2. Changes in acidity of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period. Values are mean ± standard deviations of triplicate determination. Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

서는 0.99%로 나타났다. 으름 첨가량에 따라 총산도는 증가하였다. 발효가 진행되면서 효모나 젖산균 등 미생물의 작용으로 생성된 각종 유기산에 의해 산도 함량이 증가된 것으로 사료된다(12). 이러한 총산의 변화는 막걸리의 성분 변화를 쉽게 알 수 있는 요인일 뿐 아니라 알코올을 생성 과정에서 복합적으로 생성되므로 막걸리의 발효 진행상황을 알 수 있는 중요한 지표성분이 된다(28). 한편 막걸리의 pH 변화와 총산의 변화를 비교해 보면, 총산은 증가하고 있으나 pH는 비례적으로 감소하지 않음을 알 수 있었다. 이것은 단백질 분해로 펩티드와 아미노산이 증가하여 막걸리의 완충능력을 높여주었기 때문인 것으로 판단된다(29).

으름 첨가 막걸리의 아미노산 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 아미노산을 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 담금 직후 대조군에서는 0.01%, 으름 첨가군 1%에서는 0.02%, 으름 첨가군 3%에서는 0.02%, 으름 첨가군 5%에서는 0.03%, 으름 첨가군 7%에서는 0.03%로 나타났다. 이후 발효 8일까지 소폭 증가하여 대조군에서는 0.09%, 으름 첨가군 1%에서는 0.1%, 으름 첨가군 3%에서는 0.1%, 으름 첨가군 5%에서는 0.1%, 으름 첨가군 7%에서는 0.12%로 나타났다. 발효 8일 이후 다시 점차 증가하여 발효 20일까지 증가하여 대조군에서는 0.15%, 으름 첨가군 1%에서는 0.21%, 으름 첨가군

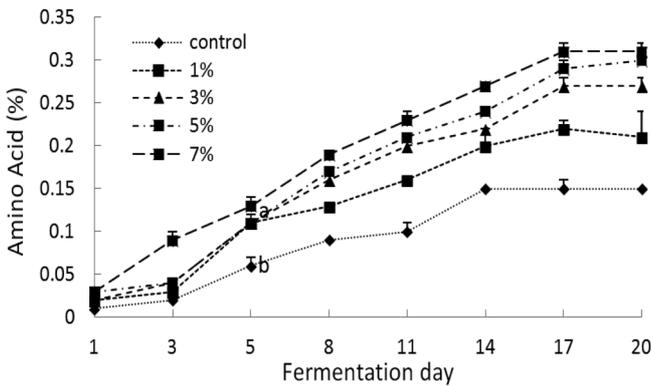


Fig. 3. Changes in amino acid of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$).

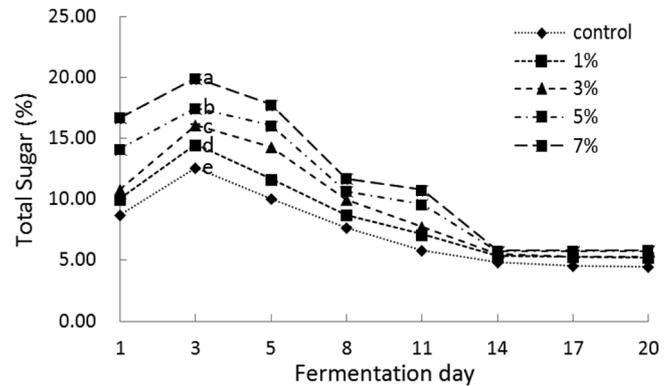


Fig. 5. Changes in total sugar of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$).

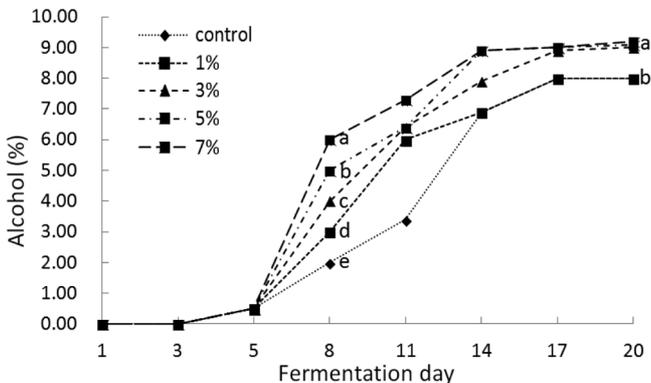


Fig. 4. Changes in alcohol of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$).

3%에서는 0.27%, 으름 첨가군 5%에서는 0.3%, 으름 첨가군 7%에서는 0.31로 나타났다. 이는 산도와 비슷한 경향을 보였으며 대조군에 비해서 으름 첨가군의 아미노산 함량이 높았고 이는 으름열매 단백질과 누룩의 발효과정 중 미생물이 생산하는 acid protease와 peptidase 등의 효소 작용으로 분해되어 아미노산이 생성되어 막걸리의 감칠맛 및 아미노산 함량에 영향을 준 것으로 보여준다(30). 유자즙의 첨가량을 달리한 막걸리에서 유자즙 첨가가 증가됨에 따라 아미노산도 증가되었다(16). 이러한 결과는 으름 막걸리와 유사한 경향을 보여 주었다.

으름 첨가 막걸리의 알코올 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 알코올함량을 측정한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 담금 직후 모든 실험군에서 0%로 시작하여 발효 3일까지 알코올 변화가 나타나지 않았다. 발효 5일 대조군에서는 0.5%, 으름 첨가군 1%에서는 0.5%, 으름 첨가군 3%에서는 0.5%, 으름 첨가군 5%에서는 0.5%, 으름 첨가군 7%에서는 0.53%로 나타났다. 이후 점차 증가하여 발효 8일 대조군에서는 2%, 으름 첨가군 1%에서는 3%, 으름 첨가군 3%에서는 4%, 으름 첨가군 5%에서는 5.03%, 으름 첨가군 7%에서는 6%로 나타났다. 이후 발효가 진행됨에 따라 증가하여 발효 20일 대조군에서는 7.97%, 으름 첨가군 1%에서는 8%, 으름

첨가군 3%에서는 9%, 으름 첨가군 5%에서는 9.1%, 으름 첨가군 7%에서는 9.2%로 나타났다. 즉, 알코올 함량은 발효가 진행됨에 따라 으름 첨가량에 따라 증가하였다. 알코올 함량은 발효의 진행 정도와 더불어 탁주의 주질에 가장 큰 영향을 미치는 요인 중 하나이다(31). 누룩에 의해 당화된 당을 효모가 분해시키는 과정에서 에탄올이 만들어져 알코올 함량이 높아지게 된다. 따라서 발효가 많이 진행될수록 알코올 함량이 증가하게 된다(31). 누룩 중의 amylase 작용으로 전분질이 당분으로 분해되면서 효모 발효로 일정기간까지 탁주 술덧 중의 에탄올 함량은 상승되었다(30). 누룩에 존재하는 당화효소에 의한 전분의 당화과정 동안 으름에 함유되어 있는 당류를 먼저 발효하여 14일까지 으름이 첨가됨에 따라 알코올 생성이 증가되었으나, 이후 전분 당화로 당을 충분히 발효시키지 못하여 효모의 알코올 발효력이 다소 약화되어 으름 첨가군 간의 차이가 나타나지 않은 것으로 사료된다.

으름 첨가 막걸리의 총당 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 총당 함량을 측정한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 담금 직후 대조군에서는 8.72%, 으름 첨가군 1%에서는 10.05%, 으름 첨가군 3%에서는 10.78%, 으름 첨가군 5%에서는 14.13%, 으름 첨가군 7%에서는 16.71%로 나타났다. 발효 3일 최대 증가하여 대조군에서는 12.6%, 으름 첨가군 1%에서는 14.5%, 으름 첨가군 3%에서는 16.1%, 으름 첨가군 5%에서는 17.5%, 으름 첨가군 7%에서는 19.94%로 나타났다. 이후 발효가 진행됨에 따라 서서히 감소하여 발효 20일 대조군에서는 4.48%, 으름 첨가군 1%에서는 5.23%, 으름 첨가군 3%에서는 5.33%, 으름 첨가군 5%에서는 5.76%, 으름 첨가군 7%에서는 5.84%로 나타났다. 당은 환원당과 비환원당으로 나누며 이를 합하여 총당이라고 한다(32). 발효과정 중 총당함량이 서서히 감소되는 이유는 당이 효모에 의하여 이용되거나, 당의 이용에 속도차이가 있음을 보여준다(33). Amylase 작용으로 당분으로 분해됨과 동시에 효모의 영양원이나 발효 기질로 이용되므로 발효가 진행됨에 따라 총당함량은 감소하게 된다(34). 석류즙을 첨가하여 제조한 막걸리에서 발효 초기 석류즙 첨가가 될수록 더 높은 당 함량을 나타냈으며, 발효가 진행됨에 따라 총당 함량은 석류즙 첨가량에 비례하여 증가된 경향을 보여주었다(11). 으름의 당 함량이 높기 때문에 막걸리 발효 초기에 으름 첨가군에서 총당 함량이 높았고 최종 20일에서 총당은 으름 첨가량이 증가

함에 따라 높았다. 이는 유자 과피를 첨가하여 제조한 진양주의 품질 및 향산화 특성 변화와 비슷한 경향을 보였다(34).

으름 첨가 막걸리의 총균수 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 총균수의 변화를 측정된 결과는 Table 1에 나타내었다. 담금 직후 대조군에서는 9.2×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 9.7×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 7.5×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 8.6×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 1.0×10^5 CFU/mL로 나타났다. 이후 발효 3일 미생물수가 최대로 증가하여 대조군에서는 1.0×10^{14} CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 1.5×10^{14} CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 1.6×10^{14} CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 1.9×10^{14} CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 2.1×10^{14} CFU/mL로 나타났다. 이후 발효 5일 이후부터 서서히 감소하여 최종 발효 20일에 대조군에서는 6.6×10^7 CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 1.3×10^8 CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 5.7×10^7 CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 1.3×10^8 CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 1.7×10^8 CFU/mL로 나타났다. 대조군에 비해 으름을 첨가한 막걸리에서 총균수가 다소 높게 나왔으며, 이와 같은 분석은 개량 누룩에 의한 탁주의 품질 개선과 비슷한 경향을 보였다(35). 으름의 당 함량이 높기 때문에 곰팡이와 효모 등의 미생물의 활동을 왕성하게 진행시켜 으름 첨가 막걸리에서 총균수가 증가되는 것으로 보인다.

으름 첨가 막걸리의 효모수 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 효모수의 변화를 측정된 결과는 Table 2에 나타내었다. 담금 직후 대조군에서

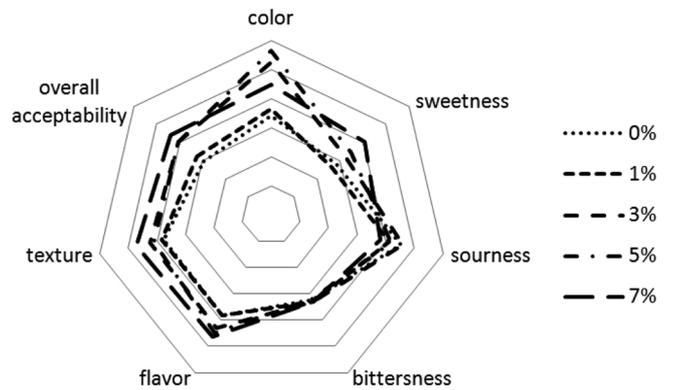


Fig. 6. Sensory evaluation of makgeolli with different levels of *Akebia quinata*.

는 5.4×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 8.2×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 9.8×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 7.3×10^4 CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 8.2×10^4 CFU/mL로 나타났다. 이후 발효 5일 최대로 증가하여 대조군에서는 2.4×10^{11} CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 9.0×10^{10} CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 8.1×10^{10} CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 8.0×10^{10} CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 5.1×10^{10} CFU/mL로 나타났다. 이후 발효 8일부터 서서히 감소하여 최종 발효 20일에 대조군에서는 1.6×10^7 CFU/mL, 으름 첨가군 1%에서는 8.7×10^7 CFU/mL, 으름 첨가군 3%에서는 4.4×10^8 CFU/mL, 으름 첨가군 5%에서는 4.0×10^8 CFU/mL, 으름 첨가군 7%에서는 9.5×10^8 CFU/mL로 나타났다. 대조군 보다 으름 첨가한 막걸리의 콜로니수가

Table 1. Changes in microbial cell counts of makgeolli added 0, 1, 3, 5 and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period (CFU/mL)

Day	<i>Akebia quinata</i> (%)				
	0	1	3	5	7
1	9.2×10^{4a}	9.7×10^{4a}	7.5×10^{4a}	8.6×10^{4a}	1.0×10^{5a}
3	1.1×10^{14d}	1.5×10^{13c}	1.6×10^{14bc}	1.9×10^{14ab}	2.1×10^{14a}
5	2.8×10^{11a}	2.6×10^{11a}	7.6×10^{10b}	2.4×10^{11a}	2.0×10^{10b}
8	1.3×10^{10c}	1.6×10^{10c}	2.0×10^{10b}	2.5×10^{10b}	3.0×10^{10a}
11	5.3×10^{8b}	9.6×10^{8a}	4.2×10^{8b}	3.4×10^{8b}	3.9×10^{8b}
14	7.2×10^{8c}	2.4×10^{9a}	1.2×10^{9b}	1.2×10^{9b}	6.7×10^{8c}
17	1.5×10^{8b}	1.6×10^{9b}	8.5×10^{8c}	1.3×10^{8c}	2.2×10^{9a}
20	6.6×10^{7b}	1.3×10^{8a}	5.7×10^{7b}	1.3×10^{8a}	1.7×10^{8a}

Values are mean±standard deviations of triplicate determination, Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$)

Table 2. Changes in mold colony counts of makgeolli added 0, 1, 3, 5 and 7% of *Akebia quinata* during fermentation period (CFU/mL)

Day	<i>Akebia quinata</i> (%)				
	0	1	3	5	7
1	5.4×10^{4c}	8.2×10^{4ab}	9.8×10^{4a}	7.3×10^{4b}	8.2×10^{4ab}
3	1.5×10^{6a}	4.3×10^{5bc}	6.4×10^{5b}	1.6×10^{5c}	4.6×10^{5bc}
5	2.4×10^{11a}	9.0×10^{10b}	8.1×10^{10bc}	8.0×10^{10bc}	5.2×10^{10c}
8	5.8×10^{9d}	2.5×10^{10b}	3.1×10^{10a}	3.8×10^{10a}	1.7×10^{11c}
11	5.8×10^{9b}	2.7×10^{10a}	3.1×10^{10a}	8.4×10^{9b}	6.6×10^{9b}
14	6.2×10^{9b}	1.8×10^{10a}	1.5×10^{10a}	1.2×10^{10ab}	6.2×10^{9b}
17	5.8×10^{8d}	1.1×10^{9c}	1.3×10^{9c}	1.9×10^{9b}	2.5×10^{9a}
20	1.6×10^{7c}	8.7×10^{7a}	4.4×10^{8b}	4.0×10^{8bc}	9.5×10^{8a}

Values are mean±standard deviations of triplicate determination, Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$)

더 높은 것으로 나타났다. 이는 개량누룩에 의한 탁주의 품질 개선과 비슷한 경향을 보였다(35). 으름의 당 함량이 높기 때문에 곰팡이와 효모 등의 미생물의 활동을 왕성하게 진행시켜 으름 첨가 막걸리에서 효모수가 증가되는 것으로 보인다.

으름 첨가 막걸리의 관능검사

으름 열매를 첨가하여 만든 막걸리의 관능검사 결과는 Fig. 6에 나타났다. 색은 으름 첨가군 5%에서, 단맛은 비파첨가군 7%에서 기호도가 높게 나왔으며, 신맛은 으름 첨가군 3%에서 기호도가 높았으며, 쓴맛은 으름첨가군 1, 3, 7%에서 기호도가 높게 나왔으며 향은 으름첨가군 7%에서 높게 나왔고 으름 첨가량이 증가할수록 기호도가 증가하였다. 목넘김은 비파첨가군 7% 그리고 전반적인 기호도는 비파첨가군 7%에서 가장 높게 나타났다. 으름첨가량이 증가할수록 기호도가 더 높아지는 경향을 보였다. 관능적인 기호도를 볼 때 으름첨가량 7% 첨가군이 가장 적합하다고 판단되었다.

으름 첨가 막걸리의 DPPH Radical 소거능

으름 열매를 첨가하여 만든 막걸리의 DPPH Radical 소거능 결과는 Fig. 7에 나타났다. 으름은 phenol성 물질과 saponin 함유가 높은 물질로 알려져 있으며(18), phenol성 화합물들의 hydroxyl group은 DPPH와 반응하기 쉬운 입체구조를 갖는 것으로 알려져 있다(36). DPPH Radical 소거능은 항산화물질의 전자공여능에 의하여 수소 혹은 전자를 받아 짙은 자색에서 노란색으로 변하는 정도에 따라 항산화능을 평가한다(37). 실험 결과에 따르면 으름 첨가군이 증가할수록 DPPH Radical 소거능이 증가하였다. 시료 5 mg/mL에서 대조군은 33%, 으름 첨가군 1%에서는 46%, 으름 첨가군 3%에서는 49%, 으름 첨가군 5%에서는 49%, 으름 첨가군 7%에서는 57%로 으름을 첨가함에 따라 항산화능이 증가됨을 보여주었다. 이는 막걸리가 발효되면서 생성되는 알코올이 으름 성분인 phenol성 성분을 추출하여 phenol성 물질이 증가되어 DPPH Radical 소거능이 증가하는 경향을 보인 것으로 판단되었다. 또한 으름 과피와 열매의 에탄올 추출물에서 DPPH Radical 소거능이 비타민 C보다 우수한 것으로 보고되었으며(17) 이러한 성분에 의해 으름 막걸리 제조 시 항산화능이 증가되는 것으로 보인다.

으름 첨가 막걸리의 염증 반응 억제 효과

으름 열매를 첨가하여 만든 막걸리의 염증 반응 억제 효과 결과는 Fig. 8에 나타났다. 산화질소(nitric oxide, NO)는 대식세포에서 LPS에 의한 pro-inflammatory 작용에 의해 증가되는 것으로 보고되고 있다(38). 시료 2.5 mg에서 대조군은 28%, 으름 첨가군 1%에서는 77%, 으름 첨가군 3%에서는 72%, 으름 첨가군 5%에서는 72%, 으름 첨가군 7%에서는 85%로 농도가 증가됨에 따라 산화질소 저해활성이 있었다. 또한 0.5, 5 mg/mL도 농도 의존적으로 대조군에 비해 으름 첨가군에서 저해활성효과가 있었다.

으름 첨가 막걸리의 종양세포 성장억제효과

으름 열매를 첨가하여 만든 막걸리의 종양세포 성장억제효과 결과는 Fig. 9에 나타났다. 시료의 농도가 증가됨에 따라 전립선암(DU145)세포에서 세포의 성장률이 감소되는 것을 보여주었다. 특히 DU145에서의 결과를 보면 시료 5 mg/mL에서 대조군은 91%, 으름 첨가군 1%에서 74%, 으름 첨가군 3%에서 76%, 으름 첨가군 5%에서 59%, 으름 첨가군 7%에서 62%의 세포 생존률을 보였고 으름이 첨가함에 따라 세포의 성장이 감소된 것으로 보여

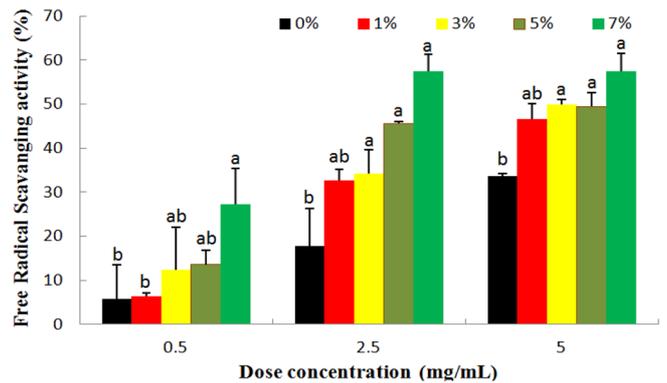


Fig. 7. Free radical scavenging activity of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata*. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$).

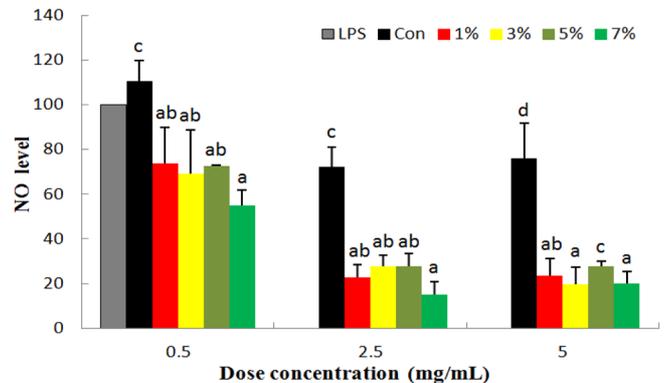


Fig. 8. No level of makgeolli added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata*. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$).

주었다. 또한 자궁경부암(HeLa)에서도 시료 5 mg/mL에서 대조군은 101%, 으름 첨가군 1%에서 76%, 으름 첨가군 3%에서 79%, 으름 첨가군 5%에서 81%, 으름 첨가군 7%에서 67%의 세포 성장률이 대조군에서는 종양세포의 증식을 유도하였지만 으름 첨가군에서는 종양세포의 성장이 감소됨을 보여주었다. 유방암(MCF-7)에서의 시료 5 mg/mL에서 대조군은 86%, 으름 첨가군 1%에서는 74%, 으름 첨가군 3%에서는 47%, 으름 첨가군 5%에서는 52%, 으름 첨가군 7%에서는 42%로 나타났다. 이는 대조군에 비해서 으름 첨가군 7%가 종양세포 억제능이 44%가 증가됨을 보여주었다. 뇌종양(U87) 에서 시료 5 mg/mL에서 대조군은 85%, 으름 첨가군 1%에서 82%, 으름 첨가군 3%에서 83%, 으름 첨가군 5%에서 86%, 으름 첨가군 7%에서 63%로 나타났으며 대조군에 비해 으름 첨가군 7%에서 종양세포 성장이 22% 감소됨을 보여주었다. *Akebia quinata* versus에서 oleanane 이당체 및 그 분해산물의 종양세포 성장억제 효과와 NO 생성억제 효과를 보고 하였다(39). 으름의 항산화 및 항암효과는 으름 과피와 열매의 에탄올 추출물을 HepG2에 처리하였을 때 10 µg의 농도에서 90%와 98%의 억제율을 보고하였다(17). 본 실험에서도 발효 과정이 진행됨에 따라 막걸리의 알코올 양이 증가되고 으름성분이 추출되어 종양세포의 성장억제효과를 보였다고 추정된다.

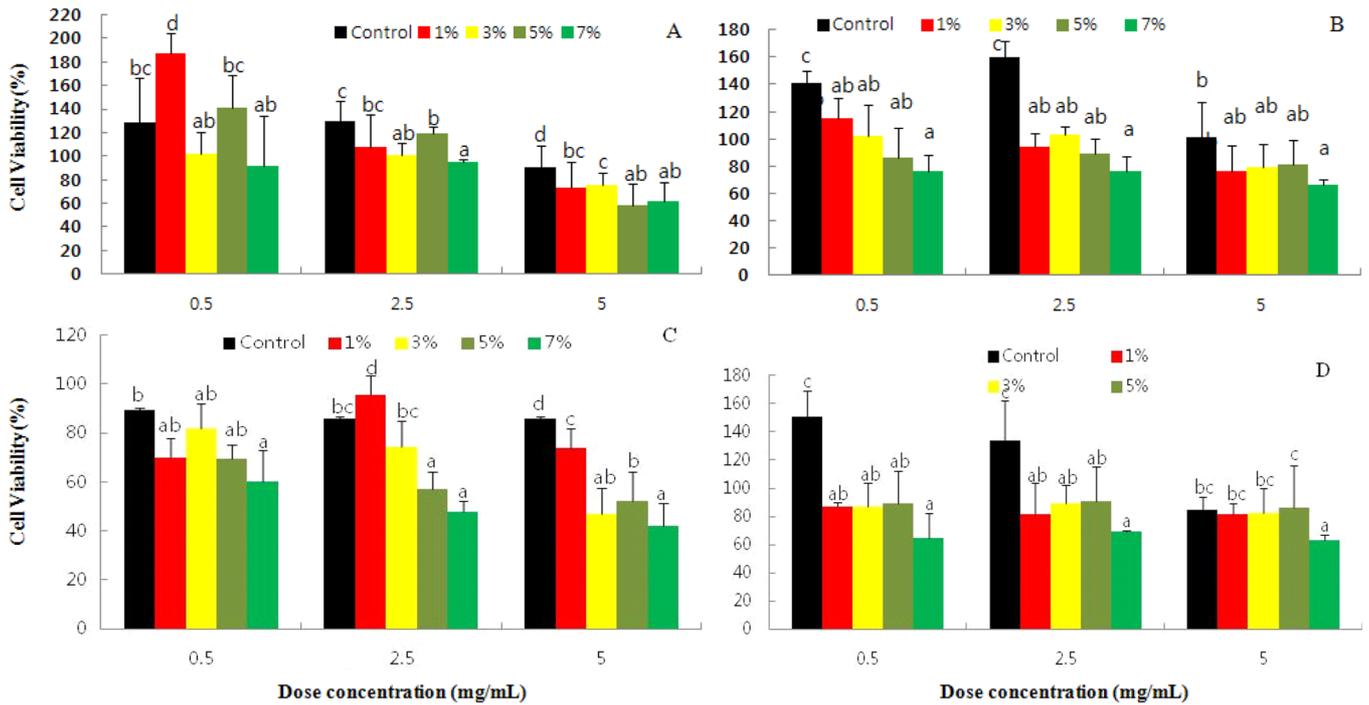


Fig. 9. Cell viability of *makgeolli* added control, 1, 3, 5, and 7% of *Akebia quinata*. (A) prostate cancer cell (Du145 cell), (B) human cervical cancer cell (HeLa cell), (C) human breast cancer cell (MCF-7 cell), and (D) human glioblastoma cell (U87 cell). Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$).

으름 첨가 막걸리의 항균활성의 변화

으름열매를 첨가하여 제조한 막걸리의 항균활성을 측정한 결과는 Table 3에 나타내었다. Paper disc agar diffusion법에 따라 생육 저해환의 유무를 관찰하였다. *S. flexneri*균에서 대조군은 11 mm, 으름 첨가군 1%에서는 12 mm, 으름 첨가군 3%에서는 12 mm, 으름 첨가군 5%에서는 12 mm, 으름 첨가군 7%에서는 12 mm로 대조군에 비해 으름 첨가한 막걸리에서 유의적으로 증가됨을 보여주었다. *K. pneumoniae*균에서 대조군은 10 mm, 으름 첨가군 1%에서는 10 mm, 으름 첨가군 3%에서는 10 mm, 으름 첨가군 5%에서는 10 mm, 으름 첨가군 7%에서는 10.03 mm로 대조군에 비해 활성이 증가되지 않았다. *B. subtilis*에서 대조군은 11 mm, 으름 첨가군 1%에서는 12 mm, 으름 첨가군 3%에서는 13 mm, 으름 첨가군 5%에서는 13 mm, 으름 첨가군 7%에서는 13 mm로 대조군에 비해 으름 첨가군에서 유의적으로 증가됨을 보여주었다. *E. coli*에서 대조군은 11 mm, 으름 첨가군 1%에서는 12 mm, 으름 첨가군 3%에서는 12 mm, 으름 첨가군 5%에서는 12 mm, 으름 첨가군 7%에서는 12 mm로 대조군에 비해 으름 첨가군에서 유의적

으로 증가됨을 보여주었다. *Sal. enterica*균에서 대조군은 11 mm, 으름 첨가군 1%에서는 12 mm, 으름 첨가군 3%에서는 12 mm, 으름 첨가군 5%에서는 12 mm, 으름 첨가군 7%에서는 12 mm로 대조군에 비해 으름 첨가군에서 유의적으로 증가됨을 보여주었다. *B. cereus*균에서 대조군은 11 mm, 으름 첨가군 1%에서는 12 mm, 으름 첨가군 3%에서는 12 mm, 으름 첨가군 5%에서는 12 mm, 으름 첨가군 7%에서는 13 mm로 대조군에 비해 으름 첨가군에서 유의적으로 증가됨을 보여주었다. 대조군에서 *S. flexneri*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Sal. enterica*, *B. cereus* 균에서 활성을 보였고 으름첨가막걸리에서는 *S. flexneri*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Sal. enterica*, *B. cereus*에서 유의적으로 증가됨을 보여주었다. 이와 같은 이유는 대조군에 비해 으름 첨가 막걸리의 알코올, 아미노산 등이 증가하면서 나타나는 추출물들에 대한 작용으로 기인하는 것으로 보여지며, 으름 덩굴 열매 메탄올추출물이 구강 내 미생물에서 항균력을 보이며 또한 *Streptococcus mutans*, *St. sobinus*의 사멸효과를 보였다(40). 이에 으름 막걸리에서 으름 첨가량에 따라 항균활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

Table 3. Antimicrobial effect of *makgeolli* added 0, 1, 3, 5 and 7% of *Akebia quinata*

different strains	<i>Akebia quinata</i> (%)				
	0	1	3	5	7
<i>S. flexneri</i>	1.07±0.06 ^b	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a
<i>K. pneumoniae</i>	1.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	1.03±0.06 ^a
<i>B. subtilis</i>	1.07±0.06 ^c	1.17±0.06 ^b	1.30±0.00 ^a	1.30±0.00 ^a	1.30±0.00 ^a
<i>E. coli</i>	1.10±0.00 ^b	1.17±0.06 ^{ab}	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a
<i>Sal. enterica</i>	1.10±0.00 ^b	1.17±0.06 ^{ab}	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a
<i>B. cereus</i>	1.07±0.06 ^b	1.17±0.06 ^{ab}	1.17±0.06 ^{ab}	1.17±0.06 ^{ab}	1.30±0.00 ^a

Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a column are significant differences ($p < 0.05$).

요 약

으름열매를 각각 0, 1, 3, 5 그리고 7%를 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 이화학적 특성과 생리활성에 대하여 조사하였다. 총산도, 아미노산, 알코올, 총당은 으름의 첨가량에 따라 증가하였다. 총균 및 효모수는 모든 실험구가 발효 3일 최대값을 나타내었고 이후 꾸준히 감소하였다. 종합적 관능검사 평가결과는 으름 첨가군 7%에서 종합적 기호도가 가장 높게 나타났다. 항산화활성은 으름 첨가군 7%에서는 항산화 활성이 대조군에 비해서 24% 증가하였고 산화질소 억제활성 역시 으름 첨가군 7%에서 대조군에 비해 56% 증가하였다. 항암활성은 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa), 유방암(MCF-7), 뇌종양(U87) 세포주에서 으름 첨가 시 항암활성이 증가하였고, 항균활성은 *S. flexneri* 균에서 으름첨가 시 항균력이 유의적으로 증가하였다. 본 연구의 결과는 으름의 생리활성이 막걸리 및 기타식품에서 기능성 소재 이용으로 사용될 것으로 보여준다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원 고부가 식품기술개발사업 (112123-3)에 의해 이루어진 것임.

References

- Lim BS. R&D trend of the traditional fermented foods in Korea. Korean J. Dietary Culture 4: 265-269 (1989)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using different *nuruk*s. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 563-570 (1997)
- Kim JH, Kwon YH, Lee AR, Kim HR, Ahn BH. Manufacture of *koji* using fungi isolation from *nuruk* and identification of *koji* molds. Kor. J. Mycol. 40: 187-190 (2012)
- Kwon SJ, Ahn TY, Sohn JH. Analysis of microbial diversity in *makgeolli* fermentation using PCR-DGGE. J. Life Sci. 22: 232-238 (2012)
- Kim MH, Kim WH, Bae SJ. The effect of *makgeolli* to serum lipids and enzyme activities in the rat. J. Nat. Sci. Silla Univ. 9: 73-84 (2001)
- Shin MO, Kang DY, Kim MH, Bae SJ. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of *makgeolli* fractions in various cancer cells. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 288-293 (2008)
- Wang SJ, Lee HJ, Cho JY, Jang MY, Park KH, Moon JH. Inhibition effect against the rat blood plasma oxidation of the *makgeolli* (*takju*) Korean rice wine. Korean J. Food Preserv. 19: 116-122 (2012)
- Shin MO, Kim MH, Bae SJ. The effect of *makgeolli* on blood flow, serum lipid improvement and inhibition of ACE *in vitro*. J. Life Sci. 20: 710-716 (2010)
- Kim JE, Jung SK, Lee SJ, Lee KW, Kim GW, Lee HJ. *Nuruk* extract inhibits lipopolysaccharide-induced production of nitrite and interleukin-6 in RAW 264.7 cells through blocking activation of p38 mitogen-activated protein kinase. J. Microbiol. Biotechnol. 18: 1423-1426 (2008)
- Lee DH, Kim JH, Lee JS. Effect of pears on the quality and physiological functionality of *makgeolli*. Korean J. Food Nutr. 22: 606-611 (2009)
- Kim BH, Eun JB. Physicochemical and sensory characteristics of *makgeolli* with pomegranate (*Punica Granatum* L.) juice concentrate added. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 417-421 (2012)
- Koo HM. Quality characteristics of *makgeolli* added with polyonatum odoratum. MS thesis. Myongji University, Seoul, Korea (2012)
- Ko YJ, Kang SD, Kang ST, Ryu CH. Quality properties and anti-allergic effect of *makgeolli* added with garlic. J. Life Sci. 21: 1592-1598 (2011)
- Im CY, Jeong ST, Choi HS, Choi JH, Kang WW. Characteristics of *gamgakgeolli* added with processed forms of persimmon. Korean J. Food Preserv. 19: 159-166 (2012)
- Kim SH. Quality characteristics of mulberry *makgeolli* fermented with different ratios of mulberry and types of mit-sool. PhD thesis. Myongji University, Seoul, Korea (2012)
- Yang HS. The fermentation characteristics and sensory characteristics of *mageolli* added with different kinds of Citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA). MS thesis. Chonnam National University, Gwangju, Korea (2011)
- Park GH. Antioxidant and anticancer effect of *Akebia quinata*. Ms thesis, Inje University, Gimhae, Korea (2007)
- Hwang HN, Lee IS, Kim JE, Moon HY. The investigation of antibiotic substances isolation and quantitative analysis from *Akebia quinata*. Biotechnol. Bioproc. Eng. 4: 253-256 (2002)
- Kang HS, Kang JS, Jeong WS. Cytotoxic and apoptotic effects of saponins from *Akebia quinata* on hepG2 hepatocarcinoma cells. Korean J. Food Preserv. 17: 311-319 (2010)
- Mimaki Y, Doi S, Kuroda M, Yokosuka A. Triterpene glycosides from the stems of *Akebia quinata*. Chem. Pharm. Bull. 55: 1319-1324 (2007)
- Han SH, Kim YW, Hyun CB. Evaluation of diuretic and hemodynamic effect of extract from *Akebia quinata* Decaisne in dogs. J. Vet. Clin. 29: 203-206 (2012)
- Kawata J, Kameda M, Miyazawa M. Constituents of essential oil from the dried fruits and stems of *Akebia quinata* (THUNB.) DECNE. J. Oleo Sci. 56: 59-63 (2007)
- Mimaki Y, Kuroda M, Yokosuka A, Harada H, Fukushima M, Sashida Y. Triterpenes and triterpene saponins from the stems of *Akebia trifoliata*. Chem. Pharm. Bull. 51: 960-965 (2003)
- Rim AR, Kim SJ, Jeon KI, Park EJ, Park HR, Lee SC. Antioxidant activity of extracts from *Akebia quinata* Decne. J. Food Sci. Nutr. 11: 84-87 (2006)
- NTSTSI. Manufacturing guideline of *takju* and *yakju*. National Tax Service Technical Service Institute, Seoul, Korea. pp. 195-198 (2008)
- Kim JY, Yi YH. pH, Acidity, color, amino acids, reducing sugars, total sugars, and alcohol in puffed millet powder containing millet *takju* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 727-732 (2010)
- Kim GM, Jung WJ, Shin JH, Kang MJ, Sung NJ. Preparation and quality characteristics of *makgeolli* made with black garlic extract and *sulgidduk* J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 759-766 (2011)
- Song JC, Park HJ, Shin WC. Changes of *takju* qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 895-900 (1997)
- Lee TJ, Hwang DY, Lee CY, Son HJ. Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processes of *makgeolli*, traditional alcohol of Korea. Korean J. Microbiol. 45: 391-396 (2009)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different *nuruk* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 555-562 (1997)
- Kim SG, Kim EY, Yoon SJ, Jo NJ, Jung SK, Kwon SH, Chang YH, Jeong YH. Physicochemical and microbial properties of Korean traditional rice wine, *makgeolli*, supplemented with cucumber during fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 223-228 (2011)
- Yang HS, Hwang SJ, Lee SH, Eun JB. Fermentation characteristics and sensory characteristics of *makgeolli* with dried citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 603-610 (2011)
- Ji SH, Han WC, Lee JC, Kim BW, Jang KH. Fermentation characteristics of moru wine fermented with *Rose rugosa* Thun. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 186-190 (2009)
- Jin TY, Wang MH, Yin Y, Eun JB. Effect of *Citrus junos* peel on the quality and antioxidant activity of traditional rice wine, *jin-yangju*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 76-82 (2008)
- Lee YS. Improvement in the quality of *takju* by a modified *nuruk*. MS thesis, Dongguk University, Seoul, Korea (1999)

36. Lee SM, You YH, Kim KG, Park JJ, Jeong CS, Jhon DY, Jun WJ. Antioxidant activities of native gwangyang *Rubus coreanus* Miq. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 327-332 (2012)
37. Kim OS, Park SS, Sung JM. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 1693-1700 (2012)
38. Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park SY, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim GW. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial *makgeolli*. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 206-212 (2011)
39. Jung HJ, Lee CO, Lee KT, Choi JW, Park HJ. Structure-activity relationship of oleanane disaccharides isolated from *Akebia quinata* versus cytotoxicity against cancer cells and NO inhibition. Biol. Pharm. Bull. 27: 744-747 (2004)
40. Lee GD, Kwon YR, Lee YS, Jeon JG, Han SK, Chang KW. Inhibitory effects of *Akebia quinata* fruit extract against mutans streptococci. J. Korean Acad. Dent. Health 32: 485-494 (2008)