

통밤을 첨가한 탁주의 품질특성 및 생리활성

손중연[†] · 정일진

한경대학교 식품생물공학과 식품생물산업연구소

Quality Characteristics and Physiological Activities of *Takju* with Whole Chestnut

Jong-Youn Son[†] · Il-Jin Jung

Dept. of Food and Biotechnology & Institute of Food Industry and Biotechnology, Hankyong National University

Abstract

This study investigated the quality characteristics and physiological activities of *takju* prepared with whole chestnut (15%, 30% and 50% with steamed rice) during fermentation. The pH level began to decrease after the secondary brewing stage. The total acid as well as the organic acid content increased during fermentation. Lactic acid and succinic acid were the main organic acids in *takju* fermented with whole chestnut. The level of total sugar and reducing sugars in *takju* fermented with whole chestnut increased at the first brewing stage and then slowly decreased after 4 days of fermentation. Also, the total number of viable cells and microbial populations such as lactic acid bacteria and yeast in the treatments increased to about 108 CFU/mL after 1 days of fermentation and then decreased gradually afterward. The ethanol content in *takju* fermented with whole chestnut rapidly increased during the initial 4 days of fermentation, to a maximum content of 18.2% after 8 days. The colour values of the treatments did not show any significant differences between 0% and 15% chestnut content. However L value decreased, while the a and b values increased when the whole chestnut content above 30%. The total polyphenol level, electron donating ability, nitrite-scavenging ability and ferrous ion effect also increased as the ratio of whole chestnut increased. Sensory scores of *takju* fermented with 15% chestnut were greater than those of *takju* prepared by other treatments.

Key words: whole chestnut, *takju*, fermentation, quality characteristics, physiological activities

I. 서론

최근 식문화 향상과 더불어 건강에 대한 관심이 증가하면서 전통 주류인 약주, 탁주, 전통 민속주도 고급화 현상을 나타내고 있다. 그러나 탁주는 서구식 주류의 범람, 물리적 성상의 불균일성, 유통과정 중 지속적인 발효 진행으로 품질의 균일화가 어려워 소비자의 기호를 충족시키지 못하고 있는 실정이다(Lee CH 등 1989).

탁주는 곡류와 누룩을 병행 복발효하여 양조한 후 증류하지 않고 발효된 술덧을 걸러서 외관이 백탁한 상태로 음용하는 전통주로서, 다른 주류와는 달리 생효모나 비타민 B군을 비롯한 필수아미노산인 lysine, leucine, glutamic acid, proline 및 glutathion 등이 풍부하며, 유기산은 갈증을 해소하고 신진대사를 원활히 하는 효과가 있다(Han EH 등 1997). 그러나 탁주는 알코올함량이 6% 정도로 저장성이 짧고, 제품화한 후 후숙과정을 거치므로

탄산가스를 발생시킬 수 있고, 잡균이나 초산균에 의해 부패되기 쉽기 때문에 보존성을 위해 65°C에서 30분간 가열 살균하는 것이 일반적이다(Kang MY 1998). 가열살균법은 저장성 연장에는 어느 정도 효과가 있으나, 향미의 변화 및 변색, 층 분리를 일으키는 단점이 있어 이를 방지하기 위해 저온 살균 및 lysozyme, nisin을 보존제로 첨가하여 잡균번식을 방지하는 방법과 도토리외의 타닌성분으로 약주의 저장성을 연장하는 방법이 보고되고 있다(Lee CH 등 1987, Choi SH 등 1998).

밤의 제조과정 중 박피공정은 외관의 향상, 식용 또는 가공을 용이하게 할 목적으로 껍질 부분을 제거하는 공정이다. 이때 발생하는 율피는 부산물로서 식품소재로의 활용도가 미진하여 대부분 폐기처분되고 있으나, 박피시 함께 소량 제거되는 밤 과육의 전분과 항산화물질로 알려진 타닌은 그 이용가치가 충분하다. 밤 가공에서 수작업에 의해 발생하는 밤껍질 중에서 속껍질 비율은 약 50%로 밤 생산량의 약 30% 이상을 가공, 수출하고 있는 실정을 감안할 때 폐기량은 무시할 수 없는 양이다(Jeon BK와 Moon JS 1998). 율피에는 total polyphenol의 함량이 깎 밤에 비하여 비교적 높으며, 항산화력이 있는 페놀산인 ellagic acid, gallic acid, protocatechuic acid, gallic acid

[†]Corresponding author: Jong-Youn Son, Dept. of Food and Biotechnology & Institute of Food Industry and Biotechnology, Hankyong National University, Gyeonggi-do 456-749, Korea
Tel : +82-31-670-5155
Fax : +82-31-670-5159
E-mail : nawin98@hknu.ac.kr

acid, syringic acid, salicylic acid 등이 다량 함유되어 있다. 이 중 ellagic acid와 gallic acid는 각각 172.22 mg%, 107.39 mg%로 다른 페놀산에 비해 월등히 함량이 높아, 총 페놀산의 70% 이상을 차지한다(Kim YC 등 2002). 또한 Kang YH 등(1996)은 여러 종류의 페놀성 화합물의 DPPH에 의한 전자공여능과 아질산염 소거능을 조사한 결과 gallic acid가 강한 활성을 보였다고 하였고, Guo G 등(1997)은 과일류로부터 분리한 페놀화합물 중 caffeic acid, ferulic acid, gallic acid 등의 페놀산이 강한 라디칼 소거능을 가진다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 밤 박피 가공 공정을 거치지 않고, 강한 항산화성을 갖고 있는 통밤을 직접 사용하여 식품 소재로서의 활용도 제고 및 품질을 향상시키기 위해 통밤 첨가 비율별로 탁주의 발효 중 성분 변화와 최종 제품을 분석하여 탁주의 품질특성에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

쌀과 밤은 2012년 10월 충남 공주시 계룡면에서 수확한 것을 구매하였고, 당화를 위해 사용된 발효제는 Bio 누룩(개량누룩, 한국효소 주식회사, 성남, 한국)을, 효모는 시판 건조효모인 *Saccharomyces cerevisiae*(비전바이오캡, S.I. Lesaffre, France)을 사용하였다. 효모의 증식 및 미생물군 측정용에 사용한 YM배지, palte count agar, lactobacillus MRS agar 및 potato dextrose agar는 Difco사(Difco Lab., Detroit, MI, USA)의 것을 사용하였다.

2. 탁주제조

백미를 세미 후 2시간 물에 침지하고 30분 동안 물을 뺀 후 증미기(Model-1, Bluebrewlab, Seongnam, Korea)로 100°C에서 2시간 증자하여 실온에서 냉각한 다음 양조에 사용하였다. 담금 용기 4개에 제조한 고두밥 1,500 g, 담금 용수 2,250 g, 누룩 30 g, 건조효모 12 g를 각각 혼합하여 23~25°C에서 12시간 간격으로 교반하면서 48시간 동안 1단 담금하였다. 2단 담금에는 통밤을 세척 후 껍질을 제거하지 않고 분쇄기를 이용하여 마쇄한 후 증미기로 100°C에서 2시간 동안 증자하여 실온에서 냉각한 후 1단 담금된 용기에 증자한 쌀과 통밤을 중량비로 대조구(0%), 15%, 30% 및 50%로 첨가하고 각각 누룩 75 g, 담금 용수물 5,625 g을 첨가한 뒤 23~25°C에서 12시간 간격으로 교반하면서 8일간 발효하였다.

3. pH, 총산 및 유기산 함량

pH는 pH meter (Accument 925 pH/ion meter, Fisher Scientific, Hanover, IL, USA)를 이용하여 측정하였으며, 총산도는 국제청의 주류분석규정(National Tax Service 2010)

에 의해 여과한 시료 10 mL에 혼합지시약(bromotymol blue 0.2 g, neutral red 0.2 g, 95 mL/ethanol 300 mL) 2~3방울 가하여 pH 7.5까지 적정하여 적정 소비량을 측정된 후 초산함량으로 환산하였다.

$$\text{총산도(g/100 mL)} = a \times F \times 0.006 \times 10$$

a: 적정에 소요된 0.1 N NaOH 용액의 mL 수

F: 0.1 N NaOH의 역가

유기산은 시료를 일정량 취해 여과(Whatman No.2)하여 Sepak C₁₈ (Waters, MA, USA)으로 정제시킨 다음 0.45 um membrane filter 로 여과한 여액을 Table 1과 같은 조건에서 HPLC로 분석하고, 유기산(lactic acid, succinic acid, citric acid, acetic acid, malic acid)의 검량곡선으로부터 정량하였다.

4. 총당 및 환원당 함량

총당은 페놀-황산법에 의해 측정하였다(Kim JY와 Lee YH 2010). 200~500배 희석한 시료 1 mL에 5% 페놀 1 mL, 진한 황산 5 mL를 가하고 30°C에서 30분 냉각한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 총당 함량은 glucose (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 작성한 검량곡선을 이용하여 구하였다. 검량곡선의 사용한 glucose의 농도는 0.02~0.06 mg/mL이었다. 환원당 함량은 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid)법에 의해 측정하였다(Miller GL 1959). 즉, 10~20배 희석한 시료 0.5 mL에 DNS 시약 2 mL를 가하고 끓는 수욕 중에서 5분간 발색시킨 후 얼음수조에서 급냉하고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 glucose를 표준물질로 작성한 검량곡선을 이용하여 구하였다.

5. 미생물 균총

발효 기간에 따른 탁주의 생균수 측정은 균일하게 혼합된 시료 1 mL를 0.85% 멸균 생리 식염수 용액에 단계별로 희석하여 다음의 방법으로 측정하였다. 즉, 총균수의 측정은 Petrifilm™ arobbicount (PCA, 3M, St. Paul,

Table 1. HPLC analysis condition for organic acid

Items	Condition
Instrument	Waters alliance 2695
Detector	UV/VIS detector 200 nm (Waters Co. U.S.A)
Column	Cosmosil 5C18-PAQ (250 m × 4.6 mm ID) (Manf.NO.K67628)
Solvent	0.2 mM KH ₂ PO ₄
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	30 uL

MN, USA)을 이용하여 하였으며, 젖산균수는 MRS (Difco Lab., Detroit, Michigan, USA) 배지를 121°C에 15분간 멸균한 후 약 45°C로 식힌 후 Amphotericin B (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 2.5 ppm이 되게 배지를 제조하여 희석된 시료액 200 μ L를 도말한 후 35°C에서 48시간 배양하여 계수하였다. 효모수는 Petrifilm™ yeast and mold count (PYMC, 3M, St. Paul, MN, USA)을 이용하여 35°C에서 72시간 배양한 후 희석된 시료의 미생물 수를 측정하였다.

6. 알코올 함량

알코올 함량은 국세청 주류분석규정(National Tax Service 2010)에 의해 측정하였다. 즉, 시료 100 mL를 메스실린더에 취하고 500 mL 플라스크에 옮긴 후, 이 메스플라스크를 약 15 mL의 증류수로 2회 씻은 액을 플라스크에 합치고 냉각기에 연결한 후 메스실린더를 받는 용기로 하여 증류하였다. 증류액 80 mL가 되면 회수하여 100 mL까지 증류수를 채운 후 주정계를 이용하여 실온에서 측정된 뒤 Gay-Lussac표(National Tax Service 2010)에 의해 15°C로 보정하였다.

7. 색도

색도는 색차계(CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 L값(lightness), a값(redness) 및 b값(yellowness)으로 나타냈으며, 3회 반복 측정하여 통계 분석을 하였다. 시료를 원심분리기를 이용하여 4,500 \times g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 여과하여 색도 측정에 사용하였다.

8. Total polyphenol 함량

Total polyphenol 함량은 Folin-Ciocalteu reagent가 알칼리 조건에서 시료중의 polyphenol성 화합물에 의해 환원된 결과 노란색에서 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다(Folin O와 Denis W 1912). 즉, 시료 용액(200 μ g/mL) 0.2 mL에 2% Na₂Cl₃용액 2 mL를 가하고 3분간 방치하였다. 여기에 1 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 0.1 mL를 가하고 30분간 암소에 방치한 후 반응액의 흡광도를 750 nm에서 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 tannic acid (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하여 작성하였으며, total polyphenol 함량은 시료 g당 mg tannic acid equivalent로 나타내었다.

9. DPPH에 의한 전자공여능 측정

DPPH에 의한 전자공여능(EDA, electron donating ability)은 Blois MS (1958)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 일정농도의 시료(0.5, 1.0 및 2.0 mg/mL) 1.0 mL를 각

각 취하여 10 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; D9132, Sigma Co., Louis, MO, USA)용액 4.0 mL를 잘 혼합하여 실온 암소상태에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 3반복하여 측정하였다. DPPH에 의한 전자공여능은 시료 첨가구와 시료 대신 용매를 첨가한 대조군의 흡광도 차이를 아래의 식에 의하여 백분율(%)로 구하였으며, 단순회귀분석을 통하여 DPPH 라디칼을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(mg/mL)를 IC₅₀값으로 나타냈다. 비교군은 ascorbic acid (Sigma Co., St. Lotus, MO, USA)를 이용하여 위와 동일한 방법으로 전자공여능을 측정하여 시료군과 비교하였다.

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

A: 시료첨가구의 흡광도

B: 시료 무첨가구의 흡광도

10. Ferrous ion chelating 효과 측정

Ferrous ion chelating 효과 측정은 Marcocci L 등(1994)의 방법으로 측정하였다. 시료용액 1 mL (0.1, 0.5 및 1.0 mg/mL), 2 mM FeCl₂·4H₂O [iron(II) chloride tetrahydrate; 220299, Sigma, St. Louis, MO, USA]용액 0.1 mL를 넣은 후 30분간 실온에서 반응시킨 후, 5 mM ferrozine [3-(2-pyridyl)-5, 6-diphenyl-1, 2, 4-triazine-4', 4"-disulfonic acid; P5338, Sigma Co., St. Lotus, MO, USA] 용액 0.1 mL를 첨가한 다음 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켰으며, 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 chelating 효과는 아래의 수식에 따라 산출한 후, 대조구로는 대표적인 chelating agent인 EDTA(0, 0.01, 0.02 및 0.03 mg/mL)를 사용하였다.

$$\text{Chelating activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도

B: 용매 첨가구의 흡광도

11. 아질산염소거능 측정

아질산염(NaNO₂) 소거능은 Gray JI와 Dugan Jr LR (1975)의 방법으로 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂용액 2 mL에 시료용액(2 mg/mL) 1 mL를 가하고 0.1 N HCl (pH 1.2), 0.2 M 구연산완충액(pH 3.0 및 pH 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정된 후 반응액을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL와 Griess 시약(30% 초산용액에 1% sulfanilic acid 와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합하였다. 이 혼합액을 15분간 실온에서 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 3반복

측정하여 아질산량을 구하였다. 대조구는 Griess시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 무첨가한 경우의 아질산염 백분율로 나타내었다.

$$N (\%) = 1 - \frac{A-C}{B} \times 100$$

N: 아질산염 소거능

A: 1 mM NaNO₂용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응후의 흡광도

B: 1 mM NaNO₂용액에 시료 대신에 증류수를 첨가하여 1시간 반응후의 흡광도

C: 시료 추출물 자체의 흡광도

12. 관능검사

대조구와 15%, 30%, 50% 첨가한 탁주의 관능검사는 훈련된 대학생 20명을 대상으로 색(color), 향(flavor), 맛(taste), 종합적 기호도(overall acceptability)에 대해 9점 척도법(9점: 대단히 좋다, 5점: 좋지도 싫지도 않다, 1점: 대단히 싫다)으로 평가하였다.

13. 통계분석

모든 실험은 3회 반복하여 분석했으며, 실험결과는 SAS package (release 8.01)를 이용하여 평균±표준편차로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test (SAS 1990)에 의해 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. pH, 총산 및 유기산

발효 중의 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 pH 변화를 측정된 결과(Table 2), 2단 담금 직후의 pH는 5.02이었으나, 발효 2일에 4.18~4.54로 크게 저하되고 그 후 발효 4일 pH 3.93~4.25로 서서히 저하되어, 발효 6일~8일 pH 4.14~4.44까지 완만히 증가하였다. 일반적으로 탁주의 발효초기에 pH가 낮아지는 것은 호기적인 탄수화물대사로 인한 산성 중간생성물과 효모에 의한 발효 중에 생성되는 유기산에 기인된다고 알려져 있다(Gottschalk G 1986). 또한 발효 후기에 pH가 증가되는 것은 발효후기에 유기산과 알코올의 상호 반응으로 ester류가 형성되어 결국 유기산이 감소되기 때문이다(Lee TJ 등 2009). 한편 So MH (1999)은 단백질 분해로 생성된 아미노산과 펩타이드의 완충작용에 의한 것으로 판단하였다.

전체적으로 통밤을 첨가한 탁주의 발효 중 pH의 변화는 쌀로만 제조한 대조구와 비슷한 경향을 보였으나 대조구보다 높은 pH를 보였다. 또한, 통밤 첨가량이 증가할수록 pH가 높아지는 경향을 보였다. Jeong JW 등(2006)은 울피가루의 첨가량(5%, 10%, 20% 및 30%)에 따른 탁주의 pH 변화를 조사한 결과, 울피가루 첨가량이 증가할수록 pH가 크게 증가하였다고 하여 본 연구의 결과와 잘 일치하였다.

한편 주세법상의 막걸리의 pH 범위는 3.8~4.7(Lee SB 등 2001)로 본 연구에서의 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 pH (4.21~4.44)는 적합한 pH 규격 범위 내에 속하고 있음을 알 수 있었다.

Table 2. Changes of pH, total acid and ethanol content of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

Item	Sample ¹⁾	Fermentation period (days)				
		0	2	4	6	8
pH	0	5.02±0.06 ^{aA}	4.18±0.05 ^{cB}	3.93±0.01 ^{cB}	4.11±0.05 ^{aB}	4.14±0.02 ^{cB}
	15	5.02±0.06 ^{aA}	4.20±0.02 ^{cB}	4.00±0.03 ^{bB}	4.18±0.06 ^{bB}	4.21±0.04 ^{bB}
	30	5.02±0.06 ^{aA}	4.30±0.04 ^{bB}	4.05±0.06 ^{bB}	4.28±0.03 ^{cB}	4.40±0.01 ^{aB}
	50	5.02±0.06 ^{aA}	4.54±0.06 ^{aA}	4.25±0.00 ^{aAB}	4.36±0.01 ^{cB}	4.44±0.02 ^{aB}
Total acid (%)	0	0.18±0.02 ^{aB}	0.37±0.02 ^{aA}	0.38±0.01 ^{aA}	0.39±0.03 ^{aA}	0.39±0.00 ^{aA}
	15	0.18±0.02 ^{aB}	0.38±0.03 ^{aA}	0.39±0.03 ^{aA}	0.40±0.01 ^{aA}	0.41±0.04 ^{aA}
	30	0.18±0.02 ^{aB}	0.38±0.01 ^{aA}	0.39±0.04 ^{aA}	0.39±0.02 ^{aA}	0.40±0.01 ^{aA}
	50	0.18±0.02 ^{aB}	0.29±0.03 ^{bA}	0.30±0.03 ^{bA}	0.30±0.01 ^{bA}	0.31±0.01 ^{bA}
Ethanol content (%)	0	3.70±0.01 ^{aE}	12.0±0.11 ^{aD}	15.2±0.32 ^{aC}	17.3±0.20 ^{aB}	18.2±0.12 ^{aA}
	15	3.70±0.01 ^{aE}	12.0±0.22 ^{aD}	14.9±0.31 ^{aC}	16.8±0.10 ^{aB}	17.6±0.11 ^{abA}
	30	3.70±0.01 ^{aE}	11.8±0.14 ^{aD}	14.0±0.52 ^{bC}	15.2±0.62 ^{bB}	16.9±0.41 ^{bA}
	50	3.7±0.01 ^{aC}	10.7±0.01 ^{bB}	11.3±0.60 ^{cAB}	11.7±0.72 ^{cAB}	11.8±0.82 ^{cA}

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)

^{a-c}Values with different superscript within a same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

^{A-D}Values with different superscript within a same row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

대조구, 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 총산 함량을 측정된 결과(Table 2), 2단 담금 직후 0.18%이었으나, 발효 2일 급격히 증가(0.29~0.38%)하였으며, 이는 pH의 급격한 저하 시점과 일치하였다. 발효 2~8일에는 완만히 증가(0.31~0.41%)하였다. 전체적으로 통밤 15% 및 30% 첨가 탁주의 총산 함량은 각각 0.41 및 0.40으로 대조구(0.39)와 비슷하였으나, 통밤 50% 첨가 탁주의 총산 함량(0.31%)은 대조구보다 낮았다. 탁주의 총산 함량은 담금 직후에는 원료 중의 유기산이 주로 관여하나, 발효가 점차 진행되면서 젖산이나 효모의 발효로 생성되는 유기산에 의해 총산이 점차 증가하게 된다(Lee ST 등 2000). 이렇게 생성된 유기산이 생성된 알코올 등과 반응하여 ester류 등의 향기성분 형성에 이용되어 후기에 감소된다고 보고되어 있다(Han EH 등 1997). 이러한 산도 변화는 알코올 생성 과정에서 복합적으로 생성되므로 pH와 함께 탁주의 발효 진행 상황을 알려 주는 중요한 지표성분이 되며, 휘발성 향기 성분과 함께 탁주의 풍미와 보존성에 영향을 준다(Lee JW와 Shim JY 2010).

일반적으로 총산 함량이 너무 낮으면 제성주에서 특유의 산미를 잘 느낄 수 없고, 총산 함량이 0.53% 이상으로 너무 높으면 이상 발효에 의해 탁주가 산패된 것으로 짐작할 수 있다(Lee JO와 Kim CJ 2011). 본 연구에서의 통밤을 첨가한 탁주의 산도는 0.30~0.40%로, 정상적인 발효가 진행되었음을 알 수 있었다.

탁주에서 알코올 함량은 술 품질을 결정하는데 중요한 요소로 탁주의 보존성이나 향미에 영향을 주는 중요한 성분으로 다소 높아야 한다. 알코올 발효는 누룩에 의해

당화된 당을 효모가 분해시키는 과정에서 에탄올이 만들어져 알코올 함량이 높아지며(Lee DH 등 2005), 발효가 많이 진행 될수록 알코올 함량이 증가하며 담금 후 기포 발생의 유무로 알코올 발효가 진행되고 있음을 알 수 있다(Choi KW 등 2013). 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 알코올 함량을 측정된 결과(Table 2), 2단 담금 직후의 알코올 함량은 3.6~3.7%이었으나, 발효 2일째 10.7~12.0%로 급속히 증가하였으며, 그 후 완만히 증가하였다. 발효 8일째의 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 알코올 함량은 각각 18.2%, 17.6%, 16.9% 및 11.8%이었다 이상의 결과에서 탁주에 대한 통밤의 첨가량이 증가함에 따라 알코올함량은 낮았으며, 특히 통밤 50% 첨가 탁주의 경우 알코올 함량이 매우 낮았다. 그러나 통밤 15% 및 30% 첨가 탁주의 알코올 함량은 대조구와 큰 차이는 보이지 않았다.

Jeong JW 등(2006)의 율피가루를 첨가한 탁주의 품질 특성 연구에서 율피가루 무첨가 탁주는 발효 8일째 9.5%의 최대 알코올 함량을 나타냈으며, 5% 첨가구와 비슷한 알코올 함량을 나타냈으나 20% 이상 첨가한 경우에는 10% 이하의 율피가루를 첨가한 탁주에 비해 전반적으로 발효가 지연된다고 하였는데 본 실험에서도 비슷한 결과를 보였다. 알코올 함량이 다른 이유는 알코올 발효의 영양분인 당의 부족과 페놀산의 함량이 높아 미생물 증식 저해 요인으로 관여하였을 것으로 판단된다.

2. 유기산 함량

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 발효 최

Table 3. Changes of organic acid content of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut (mg%)

Organic acid	Days	Sample ¹⁾			
		0	15	30	50
Lactic acid	0	78.0±0.1 ^c	106.4±0.0 ^a	94.5±0.2 ^b	94.5±0.2 ^b
	8	354.8±0.2 ^c	459.6±0.2 ^a	431.8±0.1 ^b	348.8±1.1 ^d
Succinic acid	0	43.5±0.2 ^d	59.6±0.5 ^b	60.4±0.3 ^a	51.9±0.2 ^c
	8	274.0±0.0 ^b	255.3±0.3 ^d	280.3±0.2 ^a	270.8±0.8 ^c
Citric acid	0	9.2±0.1 ^c	10.4±0.1 ^b	10.7±0.2 ^b	11.6±0.3 ^a
	8	132.9±0.3 ^c	174.7±0.4 ^a	152.7±0.5 ^b	131.6±1.1 ^d
Acetic acid	0	79.4±0.4 ^a	41.6±0.3 ^b	32.5±0.4 ^c	30.2±0.1 ^d
	8	78.0±0.1 ^c	114.8±0.4 ^a	82.7±0.1 ^b	76.0±0.1 ^d
Malic acid	0	28.4±0.3 ^c	42.7±0.1 ^b	58.1±0.1 ^a	24.0±0.5
	8	96.6±0.2 ^b	74.8±0.1 ^c	61.7±0.6 ^d	100.1±1.2 ^a
Total	0	238.5±0.1 ^c	260.7±0.2 ^a	256.2±0.4 ^b	190.0±0.1 ^d
	8	936.3±0.1 ^c	1,079.2±0.1 ^a	1,009.1±0.8 ^b	927.3±1.0 ^d

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)

^{a-d}Values with different superscript within a same row are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean±SD (n=3).

중 8일째의 유기산 함량을 측정된 결과(Table 3), lactic acid, succinic acid, citric acid, acetic acid 및 malic acid 등이 검출되었으며, 이 중에서 lactic acid 함량이 가장 높았고, 다음으로는 succinic acid이었으며, acetic acid의 함량이 가장 낮았다. Lactic acid와 succinic acid의 함량(발효 8일)은 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주 모두에서 총 유기산의 66% 이상을 차지하였다.

한편 발효 최종 8일째의 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 lactic acid 함량은 각각 459.6, 431.8 및 348.8 mg%로, 통밤 15% 첨가 탁주의 경우 가장 높은 lactic acid 함량을 보였다. 전체적으로 통밤 15% 및 30% 첨가 탁주의 lactic acid 함량은, 대조구(354.8 mg%)보다 높았으며, 통밤 50% 첨가 탁주의 경우는 오히려 대조구보다 조금 낮았다. Jeong JW 등(2006)은 율피가루를 10% 첨가한 탁주 중의 유기산함량이 가장 높았으며, 20% 이상 첨가한 탁주의 경우는 오히려 감소하였다고 하여 본 연구의 결과와 비슷하였다. 약주나 탁주는 제조시 발효제로 누룩을 사용하기 때문에 누룩에 함유되어 있는 젖산균이 탁주 발효 중에 생육하여 lactic acid의 생성량이 많은 것으로 알려져 있다(Lee SJ 등 2011). 따라서 본 연구 결과로부터, 탁주에 통밤 15~30% 첨가할 때는 젖산균의 생육에 영향을 주지 않고 오히려 생육을 촉진하며, 통밤 50% 첨가시에는 젖산균생육이 억제되는 것으로 생각되었다.

한편, 유기산은 신맛을 나타내는 중요한 성분이며, 탁주에 적당량이 함유되면 상큼한 맛을 주지만, 과량이 함유되면 강한 신맛으로 기호성이 떨어진다. 특히, acetic acid가 다량 존재하면, 식초와 같은 자극성 냄새를 주어 술 품질의 저하요인으로 작용한다(Im CY 등 2012).

종합적으로 볼 때 대조구와 통밤 15%, 30% 첨가한 탁주가 전체적으로 유기산 함량이 높고, acetic acid의 함량

이 낮아 상큼한 맛이 관능평가에 좋은 영향을 줄 것으로 판단되었다.

3. 총당 및 환원당 함량

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 총당 함량의 변화를 측정된 결과(Table 4), 담금 직후에는 19.88~21.54%이었으며, 발효 2일에는 23.77~25.23%로 증가하였으며, 발효 4일부터는 9.20~10.94%로 급격히 감소하였고 발효 6일 이후에는 서서히 감소되어 6.98~8.03%의 값을 보였다. 한편 발효기간 중의 대조구, 통밤 15, 30 및 50% 첨가 탁주의 총당 함량은 대조구와 비교할 때 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 Jeong JW 등(2006)의 율피가루를 첨가한 탁주의 품질 특성 연구에서 탁주의 발효기간에 따라 총당 함량 변화와 유사하게 나타났다. 당화 amylase 작용으로 원료의 전분질은 당분으로 분해되고 동시에 효모의 영양원이 발효기질로 이용되므로 발효 후기의 총당 함량이 감소하였다는 Choi KW 등(2013)의 결과와 일치하였다.

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 환원당 함량의 변화를 측정된 결과(Table 4), 담금 직후에는 4.10~4.80%이었으며, 발효 2일에는 7.22~7.95%로 증가한 후 감소되어 발효 8일째의 환원당 함량은 1.72~1.95%이었다. 발효 최종 8일째의 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주간의 환원당 함량은 유의적 차이는 보이지 않았으며($p < 0.05$), 통밤 50% 첨가 탁주는 다소 낮았다. 이러한 결과는 Jeong JW 등(2006)의 율피가루를 첨가한 탁주의 품질 특성 연구에서 탁주의 발효기간에 따라 환원당 함량 변화와 유사하게 나타났다. 탁주 발효 기간 중 총당 및 환원당의 변화는 미생물의 생육과 밀접한 상관관계를 보였으며, 환원당 변화는 알코올 발효로 인한 당분의 소비로 급격히 감소된 것으로 판단된다.

Table 4. Changes of total sugar and reducing sugar of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

Item	Sample ¹⁾	Fermentation period (days)				
		0	2	4	6	8
Total sugar (mg/g)	0	20.48±0.01 ^{cb}	24.43±0.12 ^{ba}	10.48±0.07 ^{bc}	9.52±0.03 ^{bd}	7.78±0.01 ^{be}
	15	21.54±0.12 ^{ab}	25.23±0.02 ^{aA}	10.94±0.08 ^{aC}	9.90±0.01 ^{aD}	8.03±0.04 ^{aE}
	30	20.62±0.02 ^{bb}	24.12±0.14 ^{cA}	10.21±0.12 ^{cC}	9.23±0.02 ^{cD}	7.26±0.03 ^{cE}
	50	19.88±0.02 ^{db}	23.77±0.04 ^{dA}	9.20±0.09 ^{dC}	8.84±0.06 ^{dD}	6.98±0.02 ^{dE}
Reducing sugar (mg/g)	0	4.54±0.01 ^{cb}	7.62±0.07 ^{ba}	2.10±0.11 ^{bc}	1.96±0.10 ^{abd}	1.90±0.04 ^{ad}
	15	4.80±0.03 ^{ab}	7.95±0.02 ^{aA}	2.27±0.04 ^{aC}	2.05±0.05 ^{aD}	1.96±0.01 ^{aE}
	30	4.63±0.04 ^{bb}	7.71±0.05 ^{bA}	2.12±0.07 ^{bc}	1.99±0.03 ^{aD}	1.94±0.02 ^{aD}
	50	4.10±0.02 ^{db}	7.22±0.07 ^{cA}	2.00±0.02 ^{bc}	1.82±0.12 ^{bd}	1.72±0.06 ^{bd}

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)

^{a-d}Values with different superscript within a same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

^{A-D}Values with different superscript within a same row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

Table 5. Changes of total cell, lactic bacteria, yeast count of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

(CFU/mL)

Microbial	Days	Sample ¹⁾			
		0	15	30	50
Total cell	0	$7.0 \times 10^6 \pm 0.12^c$	$8.2 \times 10^6 \pm 0.02^b$	$9.2 \times 10^6 \pm 0.41^a$	$6.8 \times 10^6 \pm 0.01^d$
Lactic bacteria		$6.2 \times 10^6 \pm 0.01^c$	$7.8 \times 10^6 \pm 0.14^b$	$8.8 \times 10^6 \pm 0.04^a$	$4.6 \times 10^6 \pm 0.21^d$
Yeast		$7.1 \times 10^7 \pm 0.02^c$	$8.0 \times 10^7 \pm 0.30^b$	$8.4 \times 10^7 \pm 0.00^a$	$6.8 \times 10^7 \pm 0.43^d$
Total cell	1	$9.0 \times 10^8 \pm 0.02^c$	$9.4 \times 10^8 \pm 0.01^b$	$9.8 \times 10^8 \pm 0.20^a$	$8.0 \times 10^8 \pm 0.13^d$
Lactic bacteria		$7.0 \times 10^8 \pm 0.13^c$	$9.2 \times 10^8 \pm 0.14^b$	$9.6 \times 10^8 \pm 0.12^a$	$6.2 \times 10^8 \pm 0.15^d$
Yeast		$8.9 \times 10^8 \pm 0.20^c$	$9.2 \times 10^8 \pm 0.11^b$	$9.6 \times 10^8 \pm 0.31^a$	$7.8 \times 10^8 \pm 0.22^d$
Total cell	2	$3.7 \times 10^8 \pm 0.11^c$	$5.7 \times 10^8 \pm 0.01^b$	$7.7 \times 10^8 \pm 0.44^a$	$2.4 \times 10^8 \pm 0.04^d$
Lactic bacteria		$2.2 \times 10^8 \pm 0.21^c$	$7.2 \times 10^8 \pm 0.16^b$	$8.2 \times 10^8 \pm 0.20^a$	$1.2 \times 10^8 \pm 0.40^d$
Yeast		$7.3 \times 10^8 \pm 0.62^c$	$8.3 \times 10^8 \pm 0.41^b$	$8.7 \times 10^8 \pm 0.02^a$	$6.1 \times 10^8 \pm 0.20^d$
Total cell	4	$7.5 \times 10^7 \pm 0.02^c$	$8.5 \times 10^7 \pm 0.32^b$	$9.2 \times 10^7 \pm 0.31^a$	$6.8 \times 10^7 \pm 0.02^d$
Lactic bacteria		$6.5 \times 10^7 \pm 0.03^c$	$7.5 \times 10^7 \pm 0.20^b$	$8.7 \times 10^7 \pm 0.24^a$	$3.2 \times 10^7 \pm 0.04^d$
Yeast		$6.9 \times 10^7 \pm 0.11^c$	$7.2 \times 10^7 \pm 0.11^b$	$8.1 \times 10^7 \pm 0.01^a$	$4.8 \times 10^7 \pm 0.30^d$
Total cell	6	$2.4 \times 10^7 \pm 0.02^c$	$3.7 \times 10^7 \pm 0.00^b$	$4.4 \times 10^7 \pm 0.02^a$	$1.4 \times 10^7 \pm 0.04^d$
Lactic bacteria		$1.9 \times 10^7 \pm 0.02^c$	$3.8 \times 10^7 \pm 0.04^b$	$5.8 \times 10^7 \pm 0.02^a$	$1.0 \times 10^7 \pm 0.01^d$
Yeast		$2.7 \times 10^7 \pm 0.02^c$	$3.8 \times 10^7 \pm 0.01^b$	$4.7 \times 10^7 \pm 0.01^a$	$1.0 \times 10^7 \pm 0.01^d$
Total cell	8	$6.5 \times 10^6 \pm 0.12^c$	$7.2 \times 10^6 \pm 0.02^b$	$8.3 \times 10^6 \pm 0.04^a$	$5.8 \times 10^6 \pm 0.08^d$
Lactic bacteria		$4.0 \times 10^6 \pm 0.36^c$	$6.2 \times 10^6 \pm 0.02^b$	$7.2 \times 10^6 \pm 0.02^a$	$2.0 \times 10^6 \pm 0.02^d$
Yeast		$5.7 \times 10^6 \pm 0.10^c$	$6.8 \times 10^6 \pm 0.06^b$	$7.4 \times 10^6 \pm 0.04^a$	$1.8 \times 10^6 \pm 0.01^d$

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)^{a-d}Values with different superscript within a same row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean \pm SD (n=3).

4. 미생물 균총

탁주의 발효 과정 중 미생물 균총 변화를 분석한 결과 (Table 5), 총균수, 젖산균수 및 효모수의 변화가 발효 1일에 급격히 증가한 후 발효 8일까지는 서서히 감소하였다. 이와 같은 결과는 Kim SD 등(2000)과 Seo MY 등(2005)의 연구에서 발효의 경과에 따라 균수가 증가하였다가 발효 2일 이후부터 감소하였고 젖산균수와 효모수도 동일한 경향을 나타내었다는 결과와도 일치하였다. 전체적으로 총균수, 젖산균수 및 효모수의 변화는 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주에서 유사한 경향을 나타내었으며, 발효 기간 동안 대조구와 통밤 첨가 탁주간에 유의적 차이는 없었다($p < 0.05$).

대조구에서 총균수는 담금 직후 7.0×10^6 CFU/mL에서 발효 1일에 9.0×10^8 CFU/mL로 증가하였고 이후 발효 시간이 경과됨에 따라 서서히 감소하여 발효 8일에 6.5×10^6 CFU/mL로 감소하였다. 젖산균수는 대조구에서 담금 직후 6.2×10^6 CFU/mL에서 발효 1일에 7.0×10^8 CFU/mL로 증가하였는데, 이는 쌀과 통밤 전분의 분해에 의한 올리고당 생성에 의한 것으로 판단된다. 이후 발효 시간이 경과됨에 따라 서서히 감소하여 발효 8일에 5.7×10^6 CFU/mL로 감소하였다. 또한 통밤의 첨가량에 따른 탁주의 발효 과정 중 효모수의 변화를 알아본 결과 대조구에서 효모수는 담금 직후 7.1×10^7

CFU/mL에서 발효 1일에 8.9×10^8 CFU/mL로 증가하였고 이후 발효 시간이 경과됨에 따라 서서히 감소하여 발효 8일에 6.5×10^6 CFU/mL로 감소하였다. 이는 탁주 내의 영양분의 점차적인 고갈과 젖산균의 산의 생성으로 pH의 감소가 효모의 생육을 저해했기 때문으로 판단된다.

5. 색도

대조구와 통밤 첨가 탁주의 색도를 측정된 결과(Table 6), 담금 직후의 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 L값은 각각 28.20, 28.10, 24.71 및 24.20으로, 15% 첨가탁주의 L값은 대조구와 유의적 차이($p < 0.05$)를 보이지 않았으나, 통밤 30% 및 50% 첨가 탁주의 L값은 크게 낮았다. 또한 담금 직후의 통밤 15% 첨가 탁주의 a값 및 b값은 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으나, 통밤 30% 및 50% 첨가 탁주의 a값 및 b값은 대조구보다 높았다.

전체적으로 통밤 30% 이상 첨가 탁주는 대조구에 비해 L값은 낮고, a, b값은 높았으며, 이러한 경향은 발효기간이 경과함에 따라 증가되는 것으로 나타났다. Seo JH 등(2000)은 감 발효음료를 제조할 때 원료로 사용되는 감 과실의 품종 및 탈삼정도에 따라 발효기질에 함유되어있는 tannic acid 성분은 발효제품의 외관 등 품질에 영향을

Table 6. Changes of color value of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

Color value	Sample ¹⁾	Fermentation period (days)				
		0	2	4	6	8
L	0	28.20±0.04 ^{aC}	28.88±0.11 ^{aB}	31.45±0.20 ^{aA}	31.62±0.15 ^{aA}	31.63±0.14 ^{aA}
	15	28.10±0.06 ^{aE}	28.69±0.03 ^{bD}	31.26±0.14 ^{aC}	31.47±0.10 ^{aB}	31.88±0.11 ^{aA}
	30	24.71±0.02 ^{bC}	25.88±0.07 ^{cB}	28.69±0.10 ^{bA}	28.71±0.12 ^{bA}	28.81±0.09 ^{bA}
	50	24.20±0.14 ^{cD}	25.49±0.08 ^{dC}	28.01±0.11 ^{cB}	28.11±0.16 ^{cB}	28.66±0.19 ^{bA}
a	0	0.78±0.03 ^{bB}	0.80±0.12 ^{bB}	0.88±0.01 ^{abAB}	0.93±0.07 ^{bA}	0.94±0.02 ^{bA}
	15	0.79±0.04 ^{bC}	0.85±0.04 ^{bBC}	0.89±0.02 ^{bAB}	0.94±0.04 ^{bA}	0.95±0.03 ^{bA}
	30	0.91±0.02 ^{aC}	1.01±0.00 ^{aB}	1.02±0.02 ^{aB}	1.05±0.03 ^{aAB}	1.10±0.06 ^{aA}
	50	0.94±0.02 ^{aC}	1.02±0.02 ^{aBC}	1.04±0.06 ^{aAB}	1.05±0.04 ^{aAB}	1.12±0.07 ^{aA}
b	0	2.00±0.14 ^{bB}	2.06±0.06 ^{bB}	2.38±0.11 ^{bA}	2.40±0.05 ^{bA}	2.47±0.13 ^{bA}
	15	2.04±0.13 ^{bB}	2.10±0.08 ^{bB}	2.42±0.18 ^{bA}	2.50±0.10 ^{bA}	2.56±0.03 ^{bA}
	30	3.02±0.06 ^{aC}	3.33±0.15 ^{aB}	3.49±0.02 ^{aBA}	3.53±0.10 ^{aA}	3.55±0.13 ^{aA}
	50	3.08±0.02 ^{aA}	3.48±0.11 ^{aA}	3.58±0.10 ^{aA}	3.60±0.13 ^{aA}	3.64±0.14 ^{aA}

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)

^{a-d}Values with different superscript within a same column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

^{A-D}Values with different superscript within a same row are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean±SD (n=3).

미친다고 보고하여, 통밤이 첨가된 탁주의 경우 크게 영향을 받을 것으로 예측하였으나, 본 실험에서는 통밤 15% 이내 첨가한 탁주는 탁주제품 색 등의 외관 품질에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

6. Total polyphenol 함량

폴리페놀화합물은 식물에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며, 분자내의 phenolic hydroxy기는 산화촉진제인 금속 또는 지질 라디칼, 효소단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질을 갖고 있어, 과산화지질의 생성 억제, 항균, 항암 등의 여러 생리활성을 나타낸다(Woo HS 등 2003).

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 total polyphenol 함량을 측정된 결과(Fig. 1), 각각 16.0, 22.4, 25.2 및 27.6 mg/g으로, 통밤 첨가량이 증가할수록 증가되어, 대조구에 비해 각각 1.40배, 1.57배, 1.72배 높은 것으로 나타났다. 한편 백미만으로 제조된 대조구에서도 16.0 mg/g의 폴리페놀 화합물이 함유되어 있는 것으로 나타났다. Vichapong J 등(2010)이 백미 100 g당 18 mg의 총페놀 화합물이 함유되어 있으며, 페놀성분으로는 p-coumaric acid, ferulic acid 등이 있었다고 하였다.

7. DPPH에 의한 전자공여능 측정

Phenol성 화합물들의 hydroxyl group은 DPPH와 반응하기 쉬운 입체구조를 갖는 것으로 알려져 있으며, DPPH 전자공여능은 수소 혹은 전자를 받아 짙은 자색에서 노란색으로 변하는 정도에 따라 항산화능을 평가한다(Kim

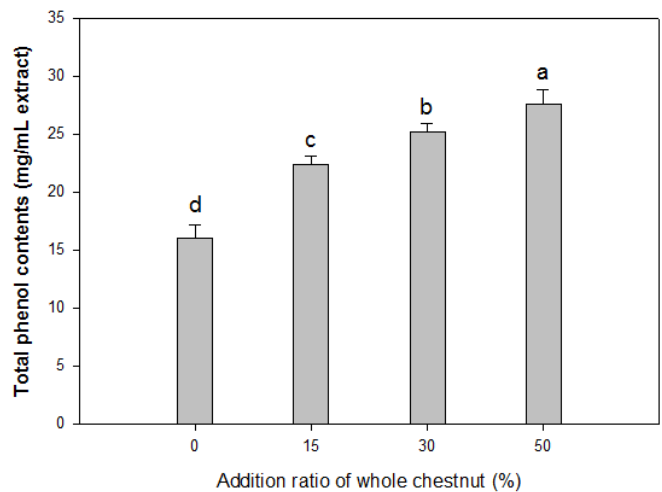


Fig. 1. Content of total polyphenols of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

^{a-d}Means with the different letters above the bars are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test.

OS 2012). 대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 전자공여능을 측정된 결과(Fig. 2), 시료 1.0 mg/mL 농도에서 각각 7.14%, 16.24%, 22.61% 및 42.51%로, 통밤 첨가량이 증가할수록 전자공여능이 증가함에 따라 항산화 효과가 증가되었다. 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 DPPH 라디칼을 50% 제거시키는 시료의 농도(IC₅₀)는 각각 3.098, 2.213 및 1.256 mg/mL로, 대조구(4.036 mg/mL)에 비해 소거능이 강하였으며, 대조구에 비해 각각 1.30배, 1.82배 및 3.21배 높았다.

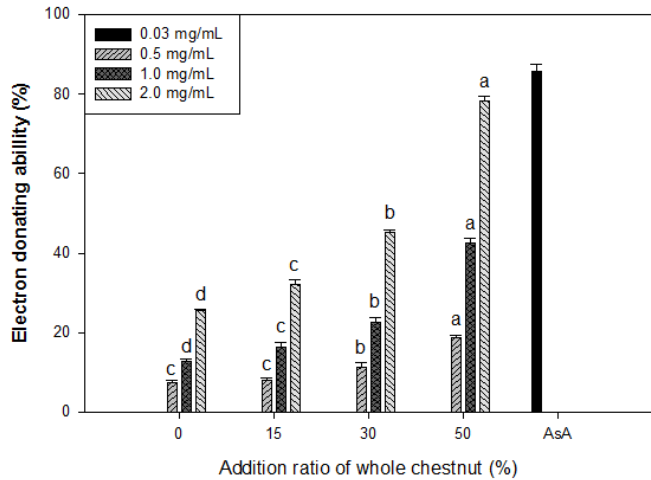


Fig. 2. Electron donating abilities of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

^{a-d}Means with the different letters above the same bars are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

AsA: Ascorbic acid

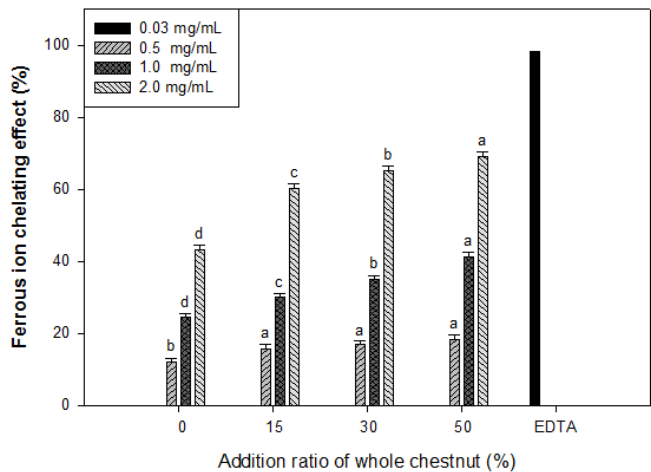


Fig. 3. Ferrous ion chelating effects of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

^{a-d}Means with the different letters above the same bars are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

8. Ferrous ion chelating 효과 측정

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 ferrous ion chelating 효과 측정한 결과(Fig. 3), 시료 0.5 mg/mL 농도에서의 대조구, 15, 30 및 50% 첨가 탁주의 ferrous ion chelating 효과는 각각 12.09%, 15.85%, 16.93% 및 18.38%이었으며, 시료 1.0 mg/mL 농도에서는 각각 24.40%, 30.05%, 35.02% 및 41.35%이었다, 또한 시료 2.0 mg/mL 농도에서는 각각 43.20%, 60.39%, 65.29% 및 69.23%로 대조구보다 높은 ferrous ion chelating 효과를 보여 체내에서 생성된 ferrous ion을 효과적으로 제거할 수 있는 천연물로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

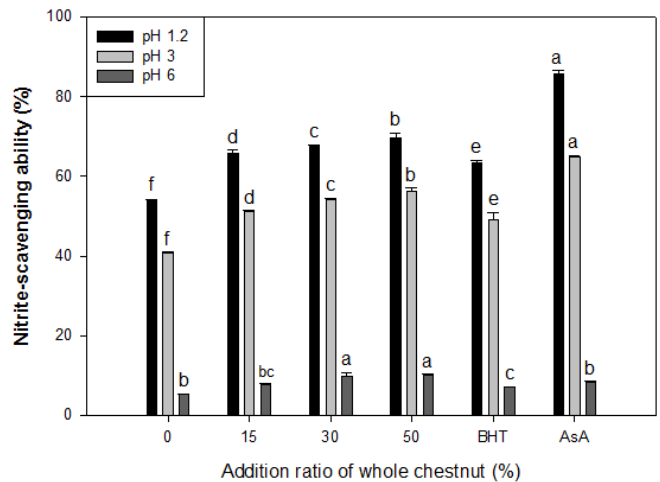


Fig. 4. Nitrite-scavenging abilities of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

^{a-f}Means with the different letters above the bars are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

AsA: Ascorbic acid

15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 ferrous ion chelating을 50% 제거시키는 시료의 농도(IC₅₀)는 각각 0,825, 0.736 및 0.658 mg/mL로, 대조구(1.209 mg/mL)에 비해 소거능이 강한 것으로 나타났으며, 대조구에 비해 각각 1.46배, 1.64배 및 1.83배 높은 것으로 나타났다.

9. 아질산염 소거능 측정

대조구, 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주의 아질산염 소거능을 측정한 결과(Fig. 4), pH 1.2에서 각각 53.90%, 65.89%, 67.57% 및 69.62%로 통밤 첨가량이 높아짐에 따라 아질산염 소거능이 높아졌으나 그 차이는 그다지 크지 않았다. 이들의 결과에서 ascorbic acid(76.71%)보다 낮지만, 대조구를 제외한 통밤 15%, 30% 및 50% 첨가 탁주 모두에서 BHT(63.45%)보다는 높은 값을 나타내었다. Kim HK 등(2002)은 팽이버섯 추출물의 기능적 특성 연구에서 팽이버섯 추출에 함유된 폴리페놀성 물질들의 아질산염 소거능은 pH 3.0~6.0보다 pH 1.2에서 비교적 높은 수치를 보였으며 이는 위장내의 낮은 pH 조건에서 nitrosamine 형성을 보다 효과적으로 억제할 수 있다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서, pH 1.2 조건하에서 측정된 통밤 첨가 탁주의 아질산염 소거능을 낮은 pH 조건에서도 비교적 안정하게 나타나, 위장 내에서의 nitrosamine 형성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

10. 관능검사

통밤 첨가 비율별로 만든 탁주의 색(color), 향(flavor), 맛(taste), 종합적 기호도(overall acceptability)를 비교한 결과(Table 7), 색, 향, 맛의 선호도는 통밤 15%첨가 탁주

Table 7. Sensory evaluation of *takju* fermented with different ratios of whole chestnut

Sample ¹⁾	Sensory attribute			
	Color	Flavor	Taste	Overall preference
0	6.02±0.08 ^b	5.80±0.33 ^b	5.42±0.06 ^c	5.82±0.06 ^c
15	6.28±0.16 ^a	6.27±0.17 ^a	6.41±0.12 ^a	6.40±0.02 ^a
30	5.94±0.09 ^b	6.05±0.26 ^{ab}	6.20±0.09 ^b	6.11±0.01 ^b
50	5.27±0.04 ^c	5.23±0.06 ^c	3.54±0.02 ^d	3.84±0.14 ^d

¹⁾Addition ratio of whole chestnut (%)

^{a-d}Values with different superscript within a same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test. Values are mean ±SD (n=3).

(6.28/6.27/6.41) > 통밤 30% 첨가 탁주(5.94/6.05/6.20) > 대조구(6.02/5.8/5.42) > 통밤 50% 첨가 탁주(5.27/5.23/3.54) 순이었으며, 전반적인 기호도는 통밤 15%첨가 탁주(6.40) > 통밤 30% 첨가 탁주(6.11) > 0%(5.82) > 통밤 50% 첨가 탁주(3.84) 순이었다. 이상의 결과에서 통밤 15% 및 30% 첨가 탁주가 대조구보다 전체적인 기호도가 높았으나, 통밤 첨가량이 50% 이상 증가할수록 기호도가 더 낮아졌으며, 색, 향, 맛, 종합적 기호도를 볼 때 통밤 15% 첨가 탁주가 가장 적합하다고 판단되었다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 통밤을 증자미에 대해 15%, 30% 및 50%로 첨가한 탁주의 발효 중의 품질특성 변화 및 생리활성을 비교, 조사하였다. 통밤을 첨가한 탁주의 pH 변화는 발효가 진행됨에 따라 감소하였으며, 총산과 유기산함량은 증가하였다. 탁주에서 확인된 유기산은 lactic acid, succinic acid, citric acid, acetic acid 및 malic acid이었으며, 주요 유기산 lactic acid와 succinic acid이었다. 총당 및 환원당 함량은 발효 2일에는 모든 탁주가 증가하였으나 발효 4일 경과 후 감소하였으며, 총균수, 젖산균 및 효모수는 발효 2일에는 모든 탁주가 증가하다가 발효 4일 후 감소하였다. 알코올은 발효 2일째부터 함량이 급속히 증가하여 발효 4일부터는 완만하게 증가하였고 발효 종료 시점인 8일에는 11.8~18.2%의 최대치를 나타냈다. 색도 L, a, b 값은 대조구와 15% 첨가 탁주와는 유의적인 차이가 없으나, 30% 이상부터는 L값은 낮아지고, a, b 값은 높아졌다. Total polyphenol 함량은 통밤 첨가량이 증가할수록 증가하였으며, DPPH에 의한 전자공여능, 아질산염 소거능, ferrous ion chelating 효과도 통밤 첨가량이 증가할수록 항산화 활성이 증가하였다. 관능평가의 종합적인 결과는 15% 첨가한 탁주가 가장 우수하였다.

References

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable

free radical. *Nature* 181(10):1199-1200

Choi KW, Lee JK, Jo HJ, Lee KJ, Yoon JA, An JH, Chung KH. 2013. Fermentation characteristics of Makgelli made with loquant fruits (*Eriobotrya japonica* Lindley). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(6):975-982

Choi SH, Bock JY, Nam SH, Bae JS, Choi WY. 1998. Effect of tannic substances from acorn on the storage quality of rice wine. *Korean J Food Sci Technol* 30(6):1420-1425

Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12(2):239-243

Gottschalk G. 1986. *Bacterial Metabolism*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York, USA, pp 210-214

Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40(4):981-985

Guo G, Cao G, Sofic E, Ronald LP. 1997. High-performance liquid chromatography coupled with coulometric array detection of electroactive compound in fruits and vegetables, relationship to oxygen radical absorbance capacity. *Agric J Food Chem* 45(5):1787-1796

Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. 1997. Quality characteristics in mash of takju prepared by using different nuruk during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 29(3):555-562

Im CY, J ST, Choi HS, Choi JH, Yeo SH, Kang WW. 2012. Characteristics of Gammakgeolli added with processed forms of persimmon. *Korean J Food Preserve* 19(1):159-166

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

Jeon BK, Moon JS. 1998. A study on the production of chestnut powder in the inner shell (*endo carp*) of chestnut from its treatment plant- study on physicochemical properties of starch separated from chestnut inner shell-. *J Environmental Res* 3(1):57-69

Kang MY, Park YS, Mok CG, Jang HG. 1998. Improvement of shelf-life of Takju by membrane filtration. *Korean J Food Sci Technol* 3(5): 1134-1139

Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compound. *Korean J Food Sci Technol* 28(2):232-239

Kim HK, Choi YJ, Kim KH. 2002. Functional activities of

- microwave-assisted extracts from *Flammulina velutipes*. Korean J Food Technol 34(6):1013-1017
- Kim JY and Lee YH. 2010. pH, acidity, color, amino acids, reducing sugars, total sugars, and alcohol in puffed millet power containing miller takju during fermentation. Korean J Food Sci Technol 42(6):727-732
- Kim OS, Park SS, Sung JM. 2012. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. J Korean Soc Food Sci Nutr 41(12):1693-1700
- Kim SD, Kim MH. and Han SS. 2000. Preparation and quality of uncooked-colored wine using black rice. J Korean Soc Food Sci Nutr 29(2):224-230
- Kim YC, Kim MY. and Chung SK. 2002. Phenolic acid compound and antioxidative activity of chestnut endoderm. Korean J Soc Agric Chem Biotechnol 45(3):162-167
- Lee CH, Lee HD, Kim JY, Kim KM. 1989. Sensory quality attributes of Takju and their changes during pasteurization. Korean J Diet Cult 4(4):405-410
- Lee CH, Tae WT, Kim GM. and Lee HD. 1987. Studies on the pasteurization conditions of Takju. Korean J Food Sci Technol 23(1):44-51
- Lee DH, Park WJ, Lee BC, Lee JC, Lee DH, Lee JS. 2005. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional wine by using *Gugija* (*Lycii fructus*). Korean J Food Sci Technol 37(5):789-794
- Lee JO, Kim CJ 2011. The influence of adding buckwheat sprouts on the fermentation characteristics of Yakju. Korean J Food Culture 26(1):72-79
- Lee JW, Shim JY. 2010. Quality characteristics of makgeolli during freezing storage. Food Eng Prog 14(4):328-334
- Lee SB, Ko GH, Yang JY, Oh SH. 2001. Food fermentation. Hyoil Publishing Co, Seoul, Korea. pp 217-218
- Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park SY, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim KW. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial Makgeolli. Korean J Food Sci Technol 43(2):206-212
- Lee ST, Kim MB, Song GW, Choi SU, Lee HJ, Heo JS. 2000. Effect of *Dunggulle* (*Polygonatum odoratum*) extracts on quality of Yakju. Korean J Postharvest Sci Technol 7(3): 262-266
- Lee TJ, Hwang DY, Lee CY, Son HJ. 2009. 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(4):391-396
- Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L. 1994. Nitric Oxide Scavenging by Curcuminoids. Biochem Biophys Res Comm 201(10):748-755
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Chem. 31(3):426-428
- National Tax Service. 2010. Analysis of alcoholic beverages. National Tax Service. Seoul, Korea. p 40
- SAS Instiute Inc. 1990. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute. Cary NC USA.
- Seo JH, Jeong YJ, Shin SR, Kim KS. 2000. Effect of tannins from astringent persimmon in alcohol fermentation for persimmon vinegars. Korean J Soc Food Sci Nutr 29(3): 407-411
- Seo MY, Lee JK, Ahn BH. and Cha SK. 2005. The changes of microflora during the fermentation of Takju and Yakju. Korean J Food Sci Technol 37(1):61-66
- So MH. 1999. Characteristics of a modified nuruk made by inoculation of tractional nuruk microorganisms. Korean J Food Nutr 12(3):219-225
- Vichapong J, Sooksem M, Srihesdaruk V, Swatsitang P, Sriaranai S. 2010. High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties. LWT-Food Sci Technol 43(9):1325-1330
- Woo HS, Choe HJ, Han HS, Park JH, Son JH, An BJ, Son GM, Choe C. 2003. Isolation of polyphenol from green tea by HPLC and its physiological activities. Korean J Food Sci Technol 35(6):1199-1203

Received on Oct.28, 2014/ Revised on Dec.2, 2014/ Accepted on Dec.3, 2014