

첨가 방법을 달리하여 제조한 아로니아 막걸리의 이화학적 특성 및 항산화 활성

이아름 · 오은영 · 정연정 · 노재관 · 윤향식 · 이기열 · 김이기 · [†]엄현주
충청북도농업기술원

Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Aronia (*Aronia melanocarpa*) Makgeolli prepared with the Additive Methods

A Reum Lee, Eun Young Oh, Yeon Jeong Jeong, Jae-Gwan Noh, Hyang-Sik Yoon,
Ki Yeol Lee, Yee Gi Kim and [†]Hyun-Ju Eom

Chungcheongbukdo Agricultural Research and Extension Services, Cheongju 363-883, Korea

Abstract

Aronia melanocarpa (Rosaceae family), black chokeberry, has significantly higher anthocyanin, phenolic compounds, and antioxidant activity than other berries. The aim of this study is to characterize the content of aronia *makgeolli* prepared with the additive method such as fresh-type and crushed-type and to investigate the effect of aronia on the quality of *makgeolli* at 25°C for 8 days. The changes in pH, total acidity, ethanol content, color, antioxidant activity, total polyphenol content, and sensory testing were determined. The pH values were 3.9~4.2 in fresh aronia *makgeolli* (the fresh group), and 3.6~3.9 in crushed aronia *makgeolli* (the crushed group). The total acidity of all samples gradually increased during the fermentation period. The ethanol content was 10~15% after the second stage of fermentation, and was reduced followed by an increase in the addition rate of aronia, showing the lowest values in 50% crushed aronia *makgeolli*. As the aronia content increased, both the antioxidant activity and the total polyphenol content significantly increased. In the fresh group, low values were seen in early fermentation, which significantly increased according to the progress of fermentation, while the crushed group showed high values for 6 days. In the sensory evaluation, the color, flavor, bitterness, and overall acceptance of the *makgeolli* with 30% fresh aronia showed higher values than the control and other samples. In conclusion, the present study suggests that fresh aronia without undergoing the breaking process is a more suitable additive method than the crushed type for antioxidant activity and palatability of aronia *makgeolli*.

Key words: aronia, black chokeberry, *makgeolli*, Korean traditional wine, antioxidant activity

서 론

아로니아(*Aronia melanocarpa*)는 블랙 초크베리(black chokeberry)라고도 알려져 있으며(Wu 등 2008), 그 원산지는 북부 아메리카지역이지만, 현재 유럽에서도 인기를 끌고 있으며, 국내에서도 관심이 높아지며, 재배가 이루어지고 있다(Wu 등 2008; Hwang & Lee 2013). 색과 향이 좋아 잼, 와인, 주스,

차로 사용하는 등 다양한 식자재로서의 이용 가치가 높고(Oszmianski & Wojdylo 2005), 아로니아에 포함되어 있는 다량의 안토시아닌은 짙은 자줏빛을 띠며 항산화물질, 천연 색소로서의 사용이 가능하고, 그밖에 페놀산류, 플라보노이드류와 같은 생리활성물질은 항산화 효과, 항염증 효과(Ohgami 등 2005), 항당뇨 효과(Jankowski 등 1999), 면역조절기능(Gasiorowski 등 2000) 등 다양한 기능을 가지는 것으로 알려

[†] Corresponding author: Hyun-Ju Eom, Chungcheongbukdo Agricultural Research and Extension Services, Cheongju 363-883, Korea. Tel: +82-43-220-5693, Fax: +82-43-220-5679, E-mail: hyunjueom@korea.kr

져 있다.

막걸리는 한국의 전통주로 일명 탁주라고도 불리며, 쌀, 보리, 밀가루 또는 다양한 곡물과 누룩을 원료로 하고(Cho 등 2012), 이 누룩에 포함된 미생물 중 곰팡이의 효소에 의하여 전분이 당화되는 동시에 분해된 당을 효모가 이용하여 알코올로 전환하는 병행발효주에 해당한다(Rhee 등 2003). 일반적인 막걸리는 유백색의 흐리고 탁한 빛깔을 가지며, 단맛, 신맛, 쓴맛, 떫은맛이 잘 어우러져 감칠맛과 청량감을 느낄 수 있고(Park CK 2006; Lee 등 2010; Lee SW 2010), 생효모, 비타민 B군 및 lysine과 leucine 등의 필수 아미노산을 비롯한 기능적 단백질 glutamic acid, proline, glutathion 등을 함유하여, 다른 주류보다 영양학적으로 우수하다(Song & Park 2003). 또한 최근 전통 발효식품에 대한 관심이 높아지면서 막걸리의 신제품과 기능성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며(Shin 등 2008; Lee 등 2011), 주세법의 개정으로 막걸리에 과채류의 첨가가 허용되면서 포도(Kim 등 2010), 배(Lee 등 2009), 석류즙(Kim & Eun 2012), 파프리카(Kim 등 2013) 등 다양한 과채류 첨가된 막걸리가 연구되고 있다.

아로니아는 많은 생리활성 물질을 함유하고 있으나, 과실 특유의 신맛과 떫은맛 때문에 생과로 이용하기보다는 가공용으로 개발할 필요성이 대두되고 있다. 국내에서는 양갱(Hwang & Lee 2013)과 식빵(Yoon 등 2014), 설기떡(Park EJ 2014), 청포묵(Hwang & Nhuan 2014) 등에 첨가하여 품질특성을 분석한 연구와 최근 아로니아 막걸리를 제조 시 입국과 개량누룩을 사용하여 제조한 뒤, 안토시아닌의 안정성을 유지할 수 있는 방법에 관한 연구(Lee 등 2014)가 진행되었지만, 보다 다양한 가공품 및 발효식품에 관한 연구가 부족한 실정이다. 본 연구는 아로니아의 첨가시기, 첨가량 및 첨가 방법에 따라 막걸리를 제조하였을 때 항산화 활성과 색의 불안정 등이 나타남을 발견하여 이런 다양한 현상들을 고려한 아로니아를 첨가한 막걸리 발효 시 최적의 첨가 방법을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에서 제조한 막걸리의 재료로는 아로니아, 쌀, 효모, 누룩, 물을 사용하였다. 효모와 누룩은 한국효모주식회사의 Bio 누룩(Hwasung, Korea)을 사용하였고, 아로니아는 2014년산 충북 청주시 오창읍 아로니아 재배농가에서 재배된 것을 생과 형태와 믹서(Hi-P Poland Sp.z.o.o., Wroclaw, Poland)로 분쇄한 형태를 사용하였다.

2. 막걸리 제조

본 연구진의 아로니아 첨가 방법을 달리한 막걸리 예비실험 중 1단 담금부터 아로니아를 첨가하면 아로니아의 항산화 활성 및 높은 산도 때문에 발효가 잘 일어나지 않아 알코올 함량이 잘 증가하지 않았다(data not shown). 따라서 본 실험 시에는 2단 담금을 실시하였다. 먼저 1단 담금은 생쌀을 수세하여 2시간 수침 후 체에 담아 1시간 동안 물을 뺀 다음 고두밥(1시간 증자)을 제조한 뒤 30분 정도 냉각시켰다. 생쌀 무게를 기준으로 누룩은 2%, 효모는 0.8%를 각각 정량 후 따뜻한 물을 100 mL 첨가하여 30분 정도 방치해서 활성화시켰다. 알코올로 깨끗이 소독한 10 L 술병에 충분히 식힌 고두밥을 넣은 후 전 처리한 효모와 누룩을 넣고, 물은 쌀 양의 150%를 넣고 잘 저어주었다. 끓어오름을 방지하기 위하여 비닐로 밀봉한 발효용기의 윗부분을 소량 열어 두고 25°C에서 48시간 발효시켰다. 48시간 발효 후, 2단 담금을 실시하는데 2단 담금은 1단 담금과 같은 방법으로 생쌀을 전 처리한 후, 물과 누룩을 첨가하여 1단 담금한 밑술에 첨가하였다. 이때 2단 담금 시 효모를 첨가하지 않고 쌀과 누룩, 물의 양은 1단 담금 양의 두 배로 하였다. 2차 담금의 쌀 무게를 기준으로 아로니아 생과와 마쇄한 것을 각각 10, 30, 50%로 혼합하여 25°C에서 6일 더 발효하였고, 아로니아를 첨가하지 않은 것을 대조구로 하고, 그 배합비율은 Table 1에 나타내었다. 아로니아 첨가 방법을 달리한 막걸리의 발효과정 중 이화학적, 생리활성 실험은 8,000 rpm에서 10분 원심분리한 후 여과하여 시료로 사용하였고, 관능평가의 경우는 발효가 끝난 여과하지 않은

Table 1. The mixing ratio of ingredients for preparation of *mkgeolli*

	Sample	Rice(%)	Nuruk(%)	Yeast(%)	Aronia(%)	Water(%)
1 step	All	100	2	0.8	-	150
	Control	200	2	-	-	150
	10% fresh fruit	180	2	-	20	150
	30% fresh fruit	140	2	-	60	150
2 step	50% fresh fruit	100	2	-	100	150
	10% crushed fruit	180	2	-	20	150
	30% crushed fruit	140	2	-	60	150
	50% crushed fruit	100	2	-	100	150

막걸리를 사용하였다.

3. pH 및 총산

pH와 총산 측정을 위하여 막걸리는 감압여과(advantec No. 2, Tokyo, Japan)하여 추출한 시료를 사용하였다. pH는 pH meter(Sartorius AG, Gottingen, Germany)를 이용하여 측정하였고, 총산은 추출 시료 10 mL에 1% phenolphthalein 2-3방울 넣고, 0.1 N NaOH로 미홍색(pH 8.2~8.3)이 될 때까지 적정하였다. 적정에 소비된 NaOH 소비량은 citric acid에 상당하는 유기산 계수를 이용하여 총산으로 환산하여 나타내었다.

4. 알코올 농도

아로니아 막걸리의 알코올 농도는 국제청주류분석법(Kim 등 2013)의 증류법에 의해 측정하였다. 500 mL 플라스크에 여과한 아로니아 막걸리 100 mL와 증류수 100 mL를 넣고 증류시켜 80 mL의 증류액을 얻었다. 그 뒤에 증류수를 가하여 최종 용량이 100 mL가 되도록 조절한 후 15°C가 되면 주정계를 넣어 알코올을 정량하였다.

5. 색도

색도측정은 색도색차계(CM-3500d, Minolta, Japan)를 사용하였고, 시료 5 mL를 취하여 측정된 것의 3회 평균값으로 나타내어 L값(lightness, 명도), a값(redness, 적색도), b값(yellowness, 황색도)을 비교하였다. 표준백판의 값은 L=96.89, a=-0.07, b=-0.18이었다.

6. 환원당

아로니아 막걸리의 환원당 측정은 Dinitrosalicylic acid (DNS) 법(Luchsinger & Cornesky 1962)을 응용하여 사용하였다. 50 배 희석한 시료 200 μ L와 DNS 용액 400 μ L를 2 mL tube에 혼합하고, 이 시료를 원심분리(10,000 rpm, 1분)한 뒤, 5분간 끓는 물에 중탕한 후 증류수 1 mL를 첨가하였다. 다시 혼합 후 원심 분리하여 상등액을 분광광도계(Cary UV-Vis spectrophotometer, Agilent Technologies, Santa Clara CA, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 당 정량은 glucose를 표준물질로 하여 상기의 방법으로 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다.

7. 총 폴리페놀

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법(Amerine & Ough 1980)에 따라 시료 0.1 mL, 증류수 8.4 mL, 2 N Folin-Ciocalteu reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL, 20% Na₂CO₃ 1 mL를 혼합하여 1시간 반응시킨 후, 725 nm에서 분광광도계를 통해 흡광도 값을 측정하였다. 페놀화합물 함량

은 표준물질인 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 상기의 방법으로 작성한 표준곡선으로 양을 환산하였고, 추출물 중의 mg gallic acid equivalent(GAE, dry basis)로 나타내었다.

8. DPPH 라디칼 소거활성능

DPPH 라디칼 소거활성은 항산화도 측정방법인 전자 공여능으로 측정하였으며, Blois(1958) 방법에 따랐다. 추출물 0.2 mL에 0.4 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액 0.8 mL를 가한 후 10초간 진탕하고, 실온에서 10분 방치 후 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자 공여 효과는 시료 첨가구와 시료를 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 백분율로 나타내었다.

9. 관능평가

관능검사는 충북농업기술원 식품개발팀의 연구원 및 직원을 대상으로 아로니아 첨가 막걸리의 색(color), 외관(appearance), 향(flavor), 조직감(texture), 맛(taste), 신맛(sourness), 전반적인 기호도(overall acceptability)를 1점에서 9점까지(1점: 대단히 싫다, 9점: 대단히 좋다) 9점 기호도 척도법으로 실시하였다.

10. 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하였고, Statistical Analysis System (v8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 통계분석하였으며, 결과의 유의성을 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA)을 행한 후 시료 간 차의 유무를 Duncan's multiple range test로 비교 분석하였다($P < 0.05$).

결과 및 고찰

1. pH 및 총산

막걸리 발효에서 pH와 총산은 발효진행 상황을 짐작할 수 있는 중요한 지표 중 하나로 이용된다(Song & Park 2003). 아로니아 생과와 마쇄한 것을 10%, 30%, 50%로 달리 첨가하여 제조한 아로니아 막걸리의 발효날짜 별 pH와 총산은 Fig. 1에 나타냈다. 발효 초기의 pH를 보면 대조구는 4.13, 생과 형태로 첨가한 실험군(생과 첨가군)은 3.9~4.2, 마쇄하여 첨가한 실험군(마쇄후첨가군)은 3.6~3.9로 아로니아를 마쇄하여 첨가한 실험군은 대조구나 생과의 형태로 첨가한 것보다 낮은 값을 나타냈다. 이후 발효가 진행됨에 따라 생과 첨가군은 pH가 감소하다가 4일 이후에 약간 증가하는 경향을 보였고, 마쇄후첨가군은 처음 pH를 유지하다가 4일 이후에 증가하였다.

총산은 대체적으로 증가하는 추세를 보였다. 아로니아 마쇄후첨가군은 제조 직후의 값이 대조구나 아로니아를 생과의 형태로 첨가한 것보다 역시 높은 값을 나타내었다. 발효

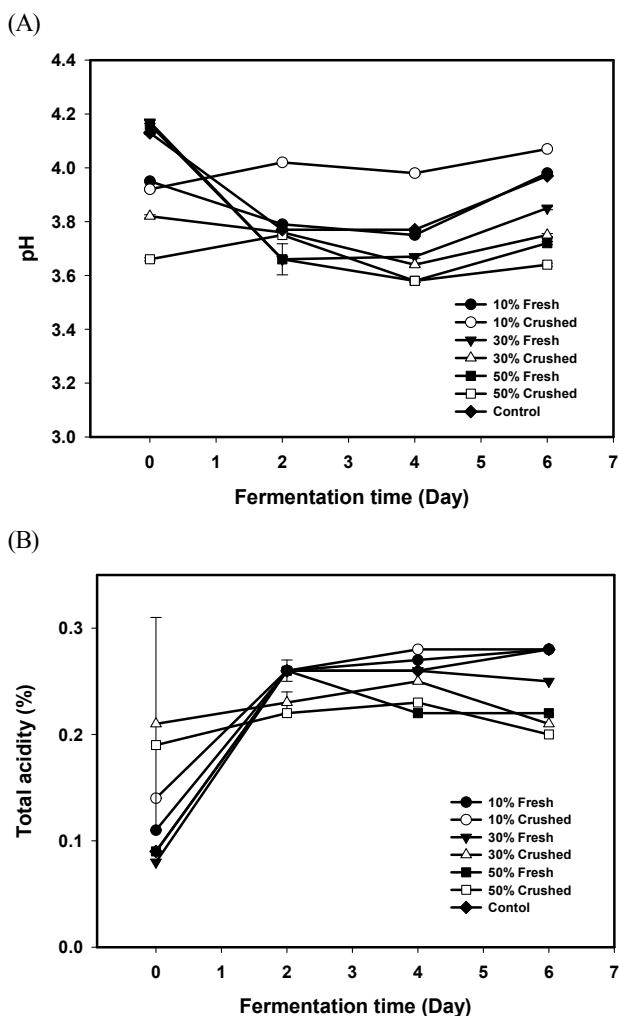


Fig. 1. Changes of pH(A) and total acidity(B) during fermentation of *makeolli* with aronia. ◆, Control (without aronia); ●, *Makeolli* with 10% fresh aronia; ○, *makeolli* with 10% crushed aronia; ▼, *Makeolli* with 30% fresh aronia; △, *Makeolli* with 30% crushed aronia; ■, *Makeolli* with 50% fresh aronia; □, *Makeolli* with 50% crushed aronia

과정 중에는 생과를 첨가한 것과 마쇄 10% 첨가한 실험군들을 대조군과 비슷한 경향을 보이며, 발효 2일 동안 급격히 총산도가 증가하고, 그 이후에는 일정하게 유지된 반면, 마쇄 30, 50% 첨가한 실험구들은 초기의 산도를 유지하다가 발효 후기에 약간 감소하였다.

아로니아를 첨가한 시료에서 초기에 낮은 pH와 높은 총산도를 보이는데, 이는 아로니아 내에 존재하는 사과산(malic acid)과 구연산(citric acid)의 영향으로 첨가량에 비례하여 pH가 감소한 것으로 보이며(Yoon 등 2014), 또한 마쇄과정 후 세포벽이 파괴되어 아로니아에 존재하는 유기산이 더 많이 용출되기 때문에 생과로 첨가한 것보다 마쇄하여 첨가한 시

료가 더 낮은 pH를 보였다. 일반적인 막걸리 발효에서는 초기에 대조군처럼 4~5 정도의 pH를 가지다가 발효가 진행됨에 따라 미생물의 작용으로 생성되는 각종 유기산에 의해 pH가 감소하고, 총산도가 증가하는데(Joung 등 2004; Lee 등 2007), 생과첨가군은 이러한 양상을 보였고, 마쇄후첨가군은 초기 낮은 pH의 영향으로 pH 감소량이 적었다.

2. 알코올

아로니아 생과와 마쇄한 것을 다양한 농도로 첨가한 막걸리의 발효과정 중 에탄올 함량의 변화는 Fig. 2와 같다. 1단 담금 후의 에탄올 함량은 모든 실험구가 11.4%였고, 2단 담금과 섞은 뒤 2일 후부터의 함량을 보면 발효 초기부터 모든 실험구에서 증가하여 발효 6일째에 대조군은 15%이고, 10, 30%로 아로니아를 첨가한 경우에는 13~15%, 50%를 첨가한 경우에는 9~10% 함량의 에탄올 농도를 나타내었다. 아로니아를 많이 첨가할수록 더 낮은 알코올 함량을 보였다. 기존의 연구에서 석류, 포도 등과 같은 과일을 첨가한 다양한 막걸리에서 발효 6~10일째는 평균 14%의 에탄올 함량을 보였는데(Kim 등 2010; Kim & Eun 2012), 10%와 30%의 아로니아를 첨가한 경우, 이와 유사하게 나타났다. 또한 입국과 누룩을 첨가하여 제조한 아로니아 막걸리에도 발효 7일째 14% 에탄올이 측정되어 본 논문과 유사한 경향성을 나타냈다(Lee 등 2014). 다만, 50%로 아로니아를 첨가한 경우는 생과와 마쇄한 것 둘 다 최종 에탄올 농도가 적게 나타났다. 배 막걸리논문에서는 중기 이후 고당화로 효모의 알코올 생성능이 억제되

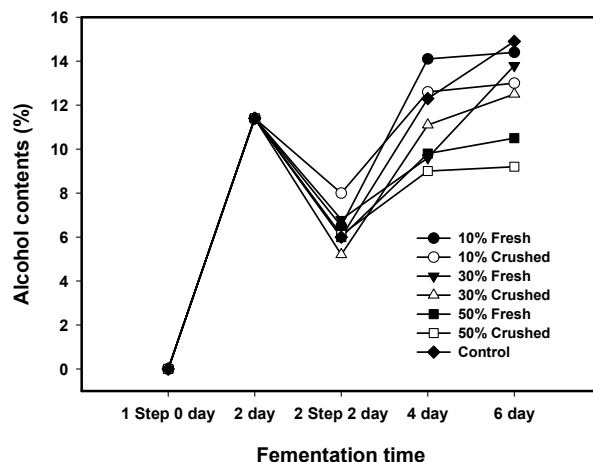


Fig. 2. Changes of alcohol contents during fermentation of *makeolli* with aronia. ◆, Control (without aronia); ●, *Makeolli* with 10% fresh aronia; ○, *Makeolli* with 10% crushed aronia; ▼, *Makeolli* with 30% fresh aronia; △, *Makeolli* with 30% crushed aronia; ■, *Makeolli* with 50% fresh aronia; □, *Makeolli* with 50% crushed aronia

었다고 보고되었는데(Lee 등 2009), 본 연구의 경우 아로니아의 첨가 비율이 높아질수록 pH가 낮아지고, 산도가 높아졌던 결과로 보아, 많은 양의 아로니아를 첨가하여 효모의 생육이 억제되어 알코올 생성능이 떨어진 결과로 예상된다.

3. 환원당

발효주 내의 당 함량은 효모의 에탄올 생산농도를 결정짓고, 주류의 향기성분과 단맛, 신맛, 감칠맛 등에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Lee & Lee 2000; Jin 등 2007). 발효기간에 따른 환원당의 변화는 Table 2에 나타내었다. 아로니아 막걸리의 환원당 함량은 발효를 진행할수록 감소하였는데, 대부분의 실험구에서 발효 0일째 2~3% 수준으로 최대값을 나타냈고, 그 이후 급격히 감소하여 발효 6일차에는 거의 다 소모된 것으로 보인다. 1단 담금에서 미리 충분히 증식된 효모가 존재함으로써 2단 담금 초반부터 당을 에탄올 발효의 기질로 이용할 수 있기 때문에, 이 시기에 당이 소비되고, 활발히 에탄올이 생성되었다. 다른 연구에서도 당 함량이 발효 후기까지 감소하였는데(Park & Lee 2000), 그 이유는 발효 동안 원료 중 쌀에 포함된 전분이 당화 amylase 작용에 의해서 큰 전분분자가 작은 당으로 분해가 일어나고, 이 당은 에탄올 발효의 기질과 미생물을 위한 영양분으로 이용되기 때문이다(NTSTSI 2005).

4. 색도

아로니아를 첨가하여 제조한 막걸리의 색을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 명도를 나타내는 L값을 보면 대조구와 아로니아 생과를 넣은 시료는 제조 직후 60 정도로 나타났고, 발효가 진행 후에도 비슷하게 유지되었다. 아로니아를 마쇄하여 10, 30, 50% 첨가한 실험구의 제조 직후 L값은 각각 48.16, 34.92, 28.82로 함량의 증가에 따라 더 낮은 값을 가졌으며, 발효가 진행되면서 그 값이 증가하였다. 발효 동안 적

색을 나타내는 a값은 대조구와 아로니아를 마쇄하여 첨가한 시료는 값이 감소하였고, 아로니아를 생과의 형태로 첨가한 시료는 값이 증가하였다. 마지막으로 황색도에 대한 b값은 모든 시료에서 값이 증가하는 경향성을 보였다.

이러한 결과는 아로니아에 들어있는 안토시아닌 때문으로, 이것은 식물의 꽃, 과일, 잎, 뿌리 등에 폭 넓게 함유되어 있는 적색, 자색, 청색을 나타내는 수용성 플라보노이드 색소로서 주로 배당체로 존재하며, 천연 식용색소 또는 보존제 등으로 이용되어 식품의 가치를 높일 수 있는데, 아로니아는 특유의 짙은 자줏빛 색소를 함유하고 있다(Kim 등 1996; Son 등 2001; Strigl 등 1995). 따라서 생과 사용 시 과일 안의 안토시아닌이 천천히 용출되므로 발효과정 동안 a값이 천천히 증가하며, 적색이 진해졌고 발효 최종 6일차에는 약간 자주색을 띠는 밝은색을 가지고 있었고, 반면에 마쇄하여 첨가한 경우 처음부터 a값이 큰 것으로 보아 발효 초반부터 적색이 진하고, 발효가 진행되면서 점점 어둡고 진한 자주색을 띠며 탁해지는 경향을 보였다. 아로니아 막걸리의 색소 안정성에 관한 연구를 보면, 아로니아를 마쇄하여 첨가하였을 때 발효 초기보다 말기에 a값이 크게 낮아졌는데, 이것은 본 실험의 결과와 유사하였다. 또한 이때 cyanidin-3-O-galactoside와 같은 안토시아닌의 함량이 감소한다고 보고하였는데, 이는 막걸리의 pH 뿐만 아니라, 안토시아닌 배당체 분해 효소 활성, 온도 광 등의 영향을 받아, 안토시아닌 분해가 촉진되었을 것이라고 하였다(Yoon 등 1997; Lee 등 2014)

5. 총 폴리페놀

폴리페놀 화합물은 flavonoids, anthocyanins, tannins, catechins 등을 총칭하며, 과일 및 엽채류와 같은 식물계에 다량 함유되어 있다(Urquiaga & Leighton 2000). 폴리페놀(polyphenols)에 존재하는 다수의 히드록실기(-OH)는 여러 화합물과 쉽게 결합하는 특성을 가지고 있어, 항산화 효과 및 항암, 항염 효

Table 2. Reducing sugar contents of the *mkeolli* with *Aonia melanocarpa*

(Unit: %)

Sample	Fermentation days			
	0	2	4	6
Control	2.25±0.16 ^{bc1)}	0.98±0.02 ^d	0.33±0.05 ^{bc}	0.24±0.02 ^{bc}
10% fresh	2.71±0.02 ^a	0.39±0.01 ^c	0.57±0.30 ^b	0.26±0.03 ^b
30% fresh	2.09±0.06 ^{cd}	1.21±0.06 ^c	0.21±0.05 ^c	0.17±0.00 ^d
50% fresh	2.31±0.01 ^b	0.19±0.02 ^e	0.20±0.01 ^c	0.19±0.01 ^{cd}
10% crushed	2.05±0.08 ^d	3.85±0.27 ^a	4.25±0.11 ^a	4.48±0.05 ^a
30% crushed	2.72±0.07 ^a	3.49±0.06 ^b	0.17±0.04 ^c	0.21±0.02 ^{bcd}
50% crushed	1.02±0.04 ^e	0.27±0.05 ^e	0.28±0.15 ^c	0.20±0.02 ^{cd}

All values represent mean±S.D.

¹⁾ Means with different letters(^{a-d}) within a column are significantly different($P<0.05$).

Table 3. Colorimetric characteristics of the *makeolli* with aronia

Sample	Fermentation time (Day)			
	0	2	4	6
Control	58.42±1.51 ^{b1)}	64.90±0.16 ^a	62.56±1.22 ^b	65.29±0.16 ^a
10% fresh	60.12±0.56 ^a	64.83±0.19 ^a	64.08±0.23 ^a	64.60±0.40 ^b
30% fresh	59.84±0.52 ^{ab}	61.44±2.62 ^b	58.47±0.46 ^c	60.69±0.24 ^c
L 50% fresh	58.44±0.48 ^b	55.98±0.53 ^d	52.20±0.98 ^d	57.21±0.51 ^c
10% crushed	48.16±0.93 ^c	57.85±0.09 ^c	57.92±0.15 ^c	58.94±0.19 ^d
30% crushed	34.92±0.57 ^d	49.22±0.06 ^c	50.11±0.42 ^c	51.56±0.06 ^f
50% crushed	28.82±0.02 ^e	49.43±0.06 ^c	44.19±0.22 ^f	45.77±0.17 ^g
Control	-1.01±0.15 ^d	-1.38±0.05 ^g	-1.51±0.02 ^f	-1.59±0.04 ^g
10% fresh	-1.18±0.18 ^d	-1.00±0.04 ^f	-0.69±0.09 ^e	-0.57±0.07 ^f
30% fresh	-1.19±0.14 ^d	0.48±0.31 ^e	0.75±0.04 ^d	1.13±0.08 ^c
a 50% fresh	-1.26±0.02 ^d	3.77±0.28 ^d	0.72±0.14 ^d	1.70±0.09 ^d
10% crushed	13.97±0.42 ^c	4.53±0.04 ^c	3.20±0.13 ^c	3.03±0.08 ^c
30% crushed	23.48±0.20 ^b	12.98±0.10 ^b	12.30±0.47 ^b	10.83±0.28 ^b
50% crushed	27.34±0.02 ^a	14.09±0.10 ^a	16.95±0.08 ^a	14.47±0.15 ^a
Control	0.80±0.47 ^{ab}	2.13±0.13 ^{abc}	1.68±0.62 ^d	2.15±0.14 ^f
10% fresh	0.73±0.15 ^{abc}	2.65±0.15 ^{ab}	3.22±0.22 ^c	3.30±0.25 ^e
30% fresh	1.08±0.28 ^a	2.38±1.69 ^{ab}	1.78±0.09 ^d	3.32±0.22 ^e
b 50% fresh	0.41±0.34 ^{bc}	-0.02±0.38 ^d	1.93±0.56 ^d	4.70±0.25 ^c
10% crushed	-2.35±0.44 ^d	3.31±0.05 ^{ab}	4.53±0.12 ^a	5.97±0.12 ^a
30% crushed	-2.16±0.13 ^d	1.05±0.04 ^{cd}	3.93±0.19 ^{ab}	5.56±0.10 ^b
50% crushed	0.22±0.09 ^c	1.66±0.08 ^c	3.55±0.17 ^{bc}	4.18±0.03 ^d

All values represent mean±S.D.

¹⁾ Means with different letters (^{a-g}) within a column are significantly different ($P < 0.05$).

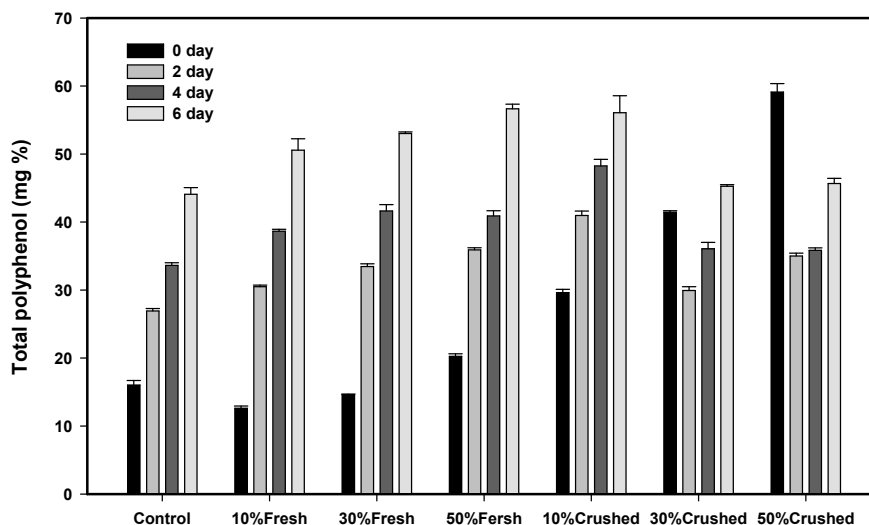


Fig. 3. Changes of total polyphenol during fermentation of *makeolli* with aronia. Control, *makeolli* without aronia; 10% fresh, *makeolli* with 10% fresh aronia; 30% fresh, *makeolli* with 30% fresh aronia; 50% fresh, *makeolli* with 50% fresh aronia; 10% crushed, *makeolli* with 10% crushed aronia; 30% crushed, *makeolli* with 30% crushed aronia; 50% crushed, *makeolli* with 50% crushed aronia; 0, 2, 4, 6 day, fermentation time

과가 뛰어나, 인체 건강에 대한 유용효과가 널리 인정되고 있다(Cha 등 1999; Lu & Foo 2000).

아로니아 막걸리의 발효 중 총 폴리페놀 함량측정 결과는 Fig. 3에 나타났다. 발효 초기를 살펴보면 아로니아의 첨가량이 증가할수록 총 폴리페놀 함량이 증가하였으며, 생과첨가군보다 마쇄후첨가군에서 훨씬 많은 폴리페놀이 측정되었다. 또한 대부분의 시료에서 발효가 진행될수록 총 폴리페놀의 함량이 증가하였고, 반면 아로니아를 마쇄하여 30%와 50% 첨가한 시료는 발효가 진행될수록 총 폴리페놀의 함량이 발효 첫날보다 오히려 감소하였다. 하지만, 대부분의 시료에서 발효기간 동안 폴리페놀 함량이 증가하는 것은 누룩으로부터 유래된 미생물의 효소작용에 의해 발효가 진행됨에 따라 유리된 수용성 형태의 증가에 의한 것으로 판단되었다(Cho 등 2012). 아울러 마쇄 30%와 50% 첨가한 시료의 총 폴리페놀 함량의 감소 원인은 다량의 총 폴리페놀성분(대표적으로 탄닌 등)의 급격한 감소와 다른 유리된 유용성분의 증가로 발효가 진행되면서 약간 상승하는 것으로 추측되나, 정밀한 데이터분석을 위해서는 탄닌 정량분석 등이 필요할 것으로 생각된다.

아로니아에는 다른 베리류보다 더 많은 폴리페놀이 포함되어 있고(Mikulic-Petkovsek 등 2012), 전체 페놀화합물 중 25%가 안토시아닌(anthocyanin)이며, 대부분이 3-O-galactoside, 3-O-glucoside, 3-O-arabinoside와 같은 배당체 형태로 구성되어 있고(Jan & Aneta 2005), 그밖에 다양한 페놀산(phenolic acid), 케르세틴(quercetin) 유도체들로 구성된다고 알려져 있다(Oszmianski & Wojdylo 2005). 비록, 아로니아 첨가 방법별 모

든 실험구에서 대조구보다 총 폴리페놀의 함량이 높았지만, 파쇄한 경우는 10% 첨가구를 제외하고는 첫날보다 발효가 진행될수록 함량이 감소하는 것을 알 수 있었다. 따라서 총 폴리페놀의 감소를 막기 위해서는 마쇄 후 첨가하는 것보다 생과의 형태로 첨가하는 것이 효과적이라 판단된다.

6. DPPH 라디칼 소거활성능

DPPH 라디칼 소거능은 특정물질이 생체의 생리작용 혹은 산화 작용에 의하여 발생하는 hydroxyl radical 혹은 superoxide radical 등을 제거하는 항산화 능력을 평가할 때 사용되는 지표로(Lee 등 2011), 시료 내 항산화 활성을 지닌 페놀성 물질에 의해 free radical 물질인 DPPH가 소거되며, 페놀성 물질의 함량이 높을수록 소거활성이 증가한다(Rice-Evans 등 1997; Kim 등 2012a).

아로니아 막걸리의 발효 기간 중 항산화 활성의 변화는 Fig. 4에 나타났다. 아로니아를 생과의 형태로 첨가한 시료(1.68~1.97%)에 비해 마쇄하여 첨가한 시료(49.73~91.53%)가 발효 초기의 항산화 활성이 월등히 높게 측정되었다. 그러나 생과로 처리한 경우 또한 발효가 진행될수록 항산화 활성이 급격히 증가하였다. 아로니아의 첨가량이 증가할수록 비례하여 막걸리의 항산화 활성이 증가하여 아로니아를 30%만 첨가하여도 발효 6일차에는 항산화능이 94.45%로 나타나 생과로 50% 이상 첨가하거나(94.04%), 마쇄하여 첨가한 것(87.43~93.72%)과 같이 90% 이상의 뛰어난 항산화 활성을 보였다. 따라서 아로니아의 경우, 굳이 마쇄의 과정을 거치지 않아도 막걸리 발효가 끝나는 발효 6일째에는 모든 실험구에서 80%

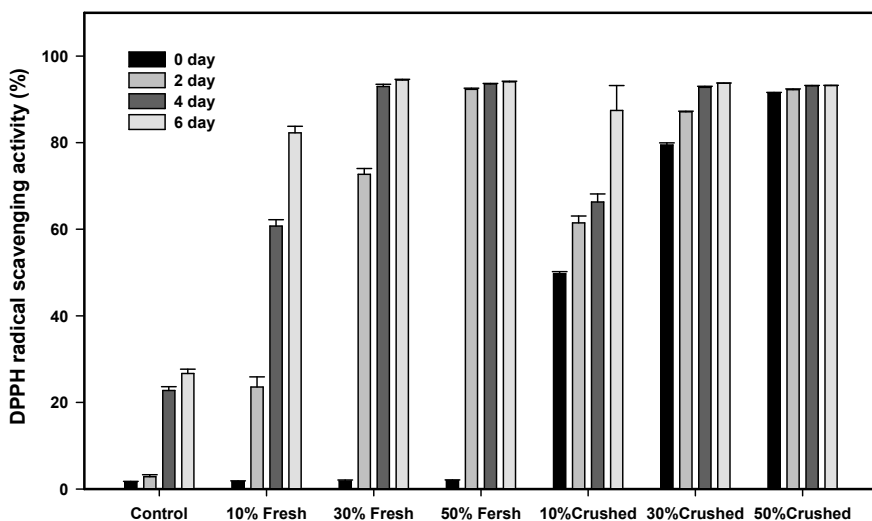


Fig. 4. Changes of DPPH radical scavenging activity during fermentation of *makeolli* with aronia. Control, *makeolli* without aronia; 10% fresh, *makeolli* with 10% fresh aronia; 30% fresh, *makeolli* with 30% fresh aronia; 50% fresh, *makeolli* with 50% fresh aronia; 10% crushed, *makeolli* with 10% crushed aronia; 30% Crushed, *makeolli* with 30% crushed aronia; 50% crushed, *makeolli* with 50% crushed aronia; 0, 2, 4, 6 day, fermentation period.

이상의 항산화 활성이 나타났다. 이는 막걸리에 아로니아를 첨가하는 공정에서 수고스러운 마쇄과정이 굳이 필요치 않음을 알 수 있었다. 다른 연구와 비교해 보면 흑미를 전체 쌀의 20, 40, 60% 첨가하여 막걸리를 제조하였을 때, 5.64~57.50%로 나타났으며, 흑미 첨가량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였다(Kim 등 2012b). 또한 자색고구마를 첨가한 막걸리 연구에서 10% 첨가 시 발효 중기에 69.41%의 항산화 활성을 보였다(Cho 등 2012). 본 연구에서 이들보다 높은 항산화 활성을 보였고, 발효 6일차 대조군의 항산화 활성 26.69%과 비교하여 모든 아로니아를 첨가한 시료에서 매우 높은 항산화 활성을 나타낸 것으로 보아, 이것은 아로니아에 안토시아닌과 폴리페놀류에 기인한 것으로 추정되었다.

8. 관능평가

아로니아를 생과 또는 마쇄한 형태로 첨가하여 막걸리를 제조하고, 색, 향, 단맛, 신맛, 쓴맛, 전체적인 기호도에 대한 만족도를 평가하였다(Table 4). 아로니아 막걸리의 전체적인 기호도는 시료 간 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 반면, 색에 대한 만족도는 아로니아를 생과형태로 10% 첨가한 시료(5.2점)보다 30, 50%를 첨가한 시료(7.2, 6.8점)에서 더 높았고, 마쇄후첨가군보다 생과첨가군이 만족도가 더 높았다. 색차계 검사에서는 크지 않았으나, 눈으로 보았을 때 생과형태로 아로니아를 첨가했을 때는 발효가 진행되면서 천천히 색소성분이 용출되었으나, 마쇄형태로 첨가할 경우에는 발효가 진행되면서 탁해지는 경향을 보여, 색의 기호도가 낮게 평가된 것 같다. 향에 대한 만족도 역시 대조군보다 아로니아 첨가량이 증가했을 때 더 높았다. 반면에 쓴맛에 대한 만족도는 아로니아의 첨가량이 많아질수록 감소하였으며, 마쇄하여 첨가한 시료보다 생과의 형태로 첨가한 시료의 만족도가 더 높았고, 생과를 30% 첨가한 실험군에서 5.4점으로 가장 높았다. 이는 앞서 설명한 아로니아에 포함된 다양한 안토시아닌, 페놀산, 퀘세틴 유도체와 같은 물질들이 우리의 입안에서 떫은 맛을 내는

탄닌(tannin)으로 작용하기 때문에(Oszmianski & Wojdylo 2005) 아로니아의 첨가비율이 높을수록 떫은맛에 대한 기호도가 낮게 평가된 것으로 판단된다. 따라서 관능평가 결과를 종합해 보았을 때, 색, 쓴맛, 전체적 기호도에서 항목에서 높은 점수를 받은 생과 30% 첨가한 시료가 가장 적당한 것으로 나타났다.

요 약

본 연구는 막걸리 제조 시 아로니아의 첨가 방법을 달리하여 제조한 후, 발효하면서 항산화 활성 및 이화학적 품질특성을 분석하였다. 아로니아는 생과와 마쇄한 형태로 첨가하였고, 쌀 함량의 10%, 30% 그리고 50%로 하였다. 막걸리의 pH는 발효 초기에 생과를 첨가한 시료가 3.9-4.2로, 마쇄하여 첨가한 시료(3.6~3.9)보다 높았고, 발효가 진행되면서 생과로 첨가한 경우는 pH가 낮아지다가 다시 증가하는 경향성을 보였다. 총산의 경우는 초기 발효에는 생과보다 마쇄한 시료에서 더 높게 나타났고, 발효가 진행될수록 총산의 함량이 증가하였다. 환원당 함량은 발효가 진행되며 대부분의 시료에서 감소하였다. 에탄올 함량은 1단 담금 시 11.4%로 나타났고, 2단 담금 6일 후에는 10~15%였으며, 특히, 아로니아를 50% 첨가한 실험군은 1단 담금 시 보다 낮은 에탄올 함량을 보였으며, 마쇄하여 첨가할수록 더 낮은 알코올함량을 보였다. 색도 중 a값(적색도)을 비교했을 때 생과 사용 시 천천히 a값이 높아져 마지막 날에는 생과 처리군 간 유의적으로 차이가 낮지만, 마쇄한 경우는 처음부터 마지막 발효까지 높은 a값을 가져 생과를 처리한 경우보다 높게 나타났다. 총 폴리페놀함량 측정과 DPPH radical 소거능 측정 결과는 아로니아 첨가량이 증가할수록 함께 증가하였는데, 생과첨가군의 경우 초기에는 낮은 값을 가지다가 발효가 진행하며 급속히 증가하였고, 마쇄첨가군에서는 초기에서부터 높은 값을 가졌다. 또한 아로니아를 30% 첨가하여도 50%를 첨가한 것과 같이 뛰어

Table 4. Sensory evaluation of the *makeolli* with aronia

Sample	Color	Flavor	Sweetness	Sourness	Bitterness	Overall acceptance
Control	5.2 ^{abc1)}	4.6 ^{ab}	3.4 ^{ab}	4.2 ^{ab}	4.0 ^{abc}	4.0 ^b
10% fresh fruit	5.2 ^{abc}	4.2 ^b	3.4 ^{ab}	4.2 ^{ab}	5.0 ^{ab}	4.4 ^b
30% fresh fruit	7.2 ^a	4.4 ^{ab}	3.4 ^{ab}	4.2 ^{ab}	5.4 ^a	5.6 ^a
50% fresh fruit	6.8 ^{ab}	5.6 ^{ab}	3.2 ^b	4.6 ^{ab}	3.6 ^{bc}	4.6 ^b
10% crushed fruit	3.2 ^c	5.2 ^{ab}	4.0 ^a	5.4 ^a	4.8 ^{abc}	5.2 ^a
30% crushed fruit	5.6 ^{ab}	5.8 ^{ab}	3.0 ^b	4.8 ^{ab}	4.8 ^{abc}	5.4 ^a
50% crushed fruit	5.4 ^{ab}	6.0 ^a	3.0 ^b	3.8 ^b	3.2 ^c	4.0 ^b

All values represent mean±S.D.

¹⁾ Means with different letters(^{a-c}) within a column are significantly different($P<0.05$).

난 항산화 활성을 나타내었다. 관능검사는 생과 30%를 첨가한 시료가 색, 쓴맛, 전체적 기호도에서 높아 관능적 만족도가 우수한 것으로 나타났다. 이상의 결과로 아로니아를 첨가한 기능성 막걸리의 특성을 보았을 때 아로니아를 마쇄한 형태보다 생과 형태로 30%를 첨가하는 것이 관능적 특성과 항산화 활성을 고려하였을 때 가장 적합한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(지역특화작목기술개발사업, 과제번호: PJ01124003)의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Amerine MA, Ough CS. 1980. Methods for analysis of musts and wine. Wiley & Sons, New York, USA. pp. 176-180
- Blios MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 81:1199-1200
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:1310-1315
- Cho HK, Lee JY, Seo WT, Kim MK, Cho KM. 2012. Quality characteristics and antioxidant effects during *makgeolli* fermentation by purple sweet potato-rice *nuruk*. *Korean J Food Sci Technol* 44:728-735
- Gasiorowski K, Brokos B, Tabaka H. 2000. Evaluation of the immunomodulatory activity of four compounds exerting antimutagenic effects on human lymphocytes *in vitro*. *Cell Mol Biol Lett* 5:469-481
- Hwang ES, Lee YJ. 2013. Quality characteristics and antioxidant activities of *yanggaeng* with aronia juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1220-1226
- Hwang ES, Nhuan DT. 2014. Quality characteristics and antioxidant activities of *cheongpomook* added with aronia (*Aronia melanocarpa*) powder. *Korean J Food Cook Sci* 30:161-169
- Jankowski A, Niedworok J, Jankowska B. 1999. The influence of *Aronia melanocarpa* Elliot on experimental diabetes in the rats. *Herba Polonica* 45:345-353
- Jin TY, Kim ES, Wang SJ, Wang MH. 2007. Changes in physicochemical and sensory characteristics of rice wine, *yakju* prepared with different amount of red yeast rice. *Korean J Food Sci Technol* 39:309-314
- Joung EJ, Paek NS, Kim YM. 2004. Studies on Korean *takju* using the by-product of rice milling. *Korean J Food Nutr* 17:199-205
- Kim BH, Eun BJ. 2012. Physicochemical and sensory characteristics of *makgeolli* with pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate added. *Korean J Food Sci Technol* 44:417-421
- Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. 2012a. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44:337-342
- Kim GW, Lee JH, Lee SA, Shim JY. 2010. Brewing characteristics of grape-*makgeolli*. *Food Eng Prog* 16:263-269
- Kim JS, Nam YJ, Kwon TW. 1996. Induction of quinine reductase by genistein, soybean isoflavone. *Food Sci Biotechnol* 5:70-75
- Kim OS, Park SS, Sung JM. 2012b. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:1693-1700
- Kim SH, Park JM, Yoon HS, Song DN, Song IG, Eom HY. 2013. Physiological and sensory characteristics of *makgeolli* with added paprika (*Capsicum annum* L.). *Korean J Food Sci Technol* 45:578-582
- Lee DH, Kim JH, Lee JS. 2009. Effect of pears on the quality and physiological functionality of *makgeolli*. *Korean J Food Nutr* 22:606-611
- Lee HS, Park CS, Choi JY. 2010. Quality characteristics of the mashes of *takju* prepared using different yeasts. *Korean J Food Sci Technol* 42:56-62
- Lee JH, Park AR, Choi DW, Kim JD, Kim JC, Ahn JH, Lee HY, Choe M, Choi KP, Shin IC, Park HJ. 2011. Analysis of chemical compositions and electron-donating ability of 4 Korean wild *sannamuls*. *Korean J Medicinal Crop* 19:111-116
- Lee SA, Kim GW, Hwang ES, Shim JY. 2014. Stability of anthocyanin pigment in aronia *makgeolli*. *Food Engineering Progress* 18:374-381
- Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park SY, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim GW. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial *makgeolli*. *Korean J Food Sci Technol* 43:206-212
- Lee SJ, Kwon YH, Kim HR, Ahn BH. 2007. Chemical and sensory characterization of Korean commercial rice wines (*yakju*). *Food Sci Biotechnol* 16:374-380
- Lee SM, Lee TS. 2000. Effect of roasted rice and defatted soybean on the quality characteristics of *takju* during fermenta-

- tation. *J Nat Sci* 12:71-79
- Lee SW. 2010. Brands of Korean liquor *makgeolli*. *Korean J Marketing* 44:53-64
- Lu Y, Foo LY. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem* 68: 81-85
- Luchsinger WW, Comesky RA. 1962. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method. *Anal Biochem* 4:346-347
- Mikulic-Petkovsek M, Schmizer V, Slatnar A, Stampar F, Veberic R. 2012. Composition of sugar, organic acid, and total phenolics in 25 wild of cultivated berry species. *J Food Sci* 77:C1064-C1070
- NTSTSI. 2005. Manufacturing guideline of *takju* and *yakju*. National Tax Service Technical Service Institute. Seoul, Korea. pp. 195-198
- Ohgami K, Ilieva I, Shiratori K, Koyoma Y, Jin X, Yoshida K, Kase S, Kitaichi N, Suzuki Y, Tanaka T, Ohno S. 2005. Anti-inflammatory effect of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46:275-281
- Oszmianski J, Wojdylo A. 2005. Aronia *melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 221: 809-813
- Park CK. 2006. Changes in pH, total titratable acidity, and microbial cell numbers of *takju* seed mashes during brewing. Theses collection, Chung-Ju National Univ. Cheongju, Korea
- Park CS, Lee TS. 2002. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34:296-302
- Park EJ. 2014. Quality characteristics of *sulgidduk* added with aronia (*Aronia melanocarpa*) powder. *J East Asian Soc Dietary Life* 24:646-653
- Rhee SJ, Lee CYJ, Kim KK, Lee CH. 2003. Comparison of the traditional (*samhaeju*) and industrial (*chongju*) rice wine brewing in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 12:242-247
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2:152-159
- Shin MO, Kang DY, Kim MH, Bae SJ. 2008. Effect of growth inhibition and quinine reductase activity stimulation of *makgeoly* fractions in various cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:288-293
- Son JH, Choung MG, Choi HJ, Jang UB, Son GM, Byun MW, Choi C. 2001. Physiological effect of Korean black soybean pigment. *Korean J Food Sci Technol* 33:746-768
- Song JC, Park HJ. 2003. *Takju* brewing using the uncooked germed brown rice at second stage mash. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:847-854
- Urquiaga I, Leighton F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res* 33:55-64
- Wu X, Gu L, Prior RL, McKay S. 2004. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 52:7846-7856
- Yoon HS, Yu R, Noh JG, Kim YG, Kim SH, Choi SU, Han NS, Eom HJ. 2014. A comparative study on the physiological activities of puffed snack using miscellaneous cereals and grain crops. *Korean J Food Nutr* 27:962-970
- Yoon JM, Cho MH, Hahn TR, Paik YS, Yoon HH. 1997. Physicochemical stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety as natural food colorants. *Korean J Food Sci Technol* 29:211-217

Received 6 July, 2015

Revised 30 July, 2015

Accepted 11 August, 2015