

자몽씨 추출물을 첨가한 석이버섯주의 저장 중 품질 특성

강혜영^{1*} · 이상권^{2*} · 이선영¹

¹충남대학교 식품영양학과
²석이원

Quality Characteristics of *Umbilicaria esculenta* Yakju Added with Grapefruit Seed Extract during Storage

Hae-Young Kang^{1*}, Sang-Kwon Lee^{2*}, and Sun-Yung Ly¹

¹Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

²Seok Yee Won

ABSTRACT This study was performed to investigate changes in characteristics of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with 0.5% and 1% grapefruit seed extracts (GSE) during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C. Quality characteristics of pH, titratable acidity, turbidity, total aerobic microbes, and ethanol, glucose, acetic acid, and lactic acid contents were analyzed. Control group showed sharply increased pH, titratable acidity, turbidity, and acetic acid and lactic acid has contents while the 0.5% and 1% GSE groups added to Yakju did not show significant changes in pattern ($P<0.05$). Total aerobic microbes increased rapidly during storage from 15 days in the control group, and the 0.5% and 1% GSE groups showed gradually increased total aerobic microbes from 30 days of storage compared to the control group ($P<0.05$). In addition, in all test groups, coli, yeast, and fungus were not detected. Ethanol content slightly increased during storage and glucose content slightly decreased, but there were no large changes during storage between the control group and GSE groups. Therefore, 3 months and 4°C are considered safe for 6 months of storage, and GSE is effective to improve shelf-life and quality improvement of Yakju.

Key words: *Umbilicaria esculenta*, Yakju, grapefruit seed extract, quality characteristics, during storage

서 론

생활수준의 향상 및 의료기술의 발달로 건강관리에 대한 국민의 관심이 높아짐에 따라 기호와 건강유지라는 두 가지 기능을 모두 만족시킬 수 있는 기능성 식품의 개발이 활발해지고 있다. 또한 이러한 식품 소재와 약재의 잎이나 뿌리 등을 이용한 건강기능성 음료 및 주류의 개발도 활발히 진행되고 있다. 주류의 개발 분야에서는 비타민류나 항산화물질 등이 풍부한 천연식물류를 첨가하여 알코올 해독작용을 하고 산화적 스트레스를 줄이는 등의 건강보조 기능성을 추구한 약주의 개발이 주목을 이루고 있다(1).

우리나라 고유의 술인 약주는 막걸리 원료인 찹쌀, 멥쌀, 고구마, 조, 옥수수 등을 누룩으로 발효시켜 맑게 거른 술로서 당질, 단백질, 비타민과 같은 영양소와 생리활성물질 등이 함유되어 영양 및 기능적으로 뛰어난 뿐만 아니라(2), 낮은 도수(13% 이하)로 부담 없이 즐길 수 있다는 장점이 있어

이에 대한 연구개발이 활발히 진행되고 있는 상황이다(3). 그러나 약주는 숙성과정이나 후처리 과정 및 보존 기간 동안 주류 고유의 특성이 쉽게 변화하거나 손실된다는 단점이 있다. 이러한 단점을 해결하기 위해 약주를 가열살균 처리하여 생산하기도 하는데 저장성 연장은 어느 정도 효과가 있으나 열에 의해 약주 내용물의 산화 및 분해가 촉진되어 이취가 발생하고 단백질 등이 열변성에 의해 백탁 현상과 더불어 맛에 영향을 미치며, 향기 성분의 변화 등을 일으킬 수 있다(4).

석이버섯(*Umbilicaria esculenta*, P.E)은 석이과 석이속의 지의류로 돌버섯지의, 바위버섯지의라고 불리며 고산의 절벽 바위 위에서 자라고, 채취 시기는 연중 가능하나 아직 인공재배가 이루어지지 않아 채취하기가 무척 어려운 편이다(5). 또한 여러 대사산물을 생성하여 건조, 강한 자외선 등의 물리 화학적 및 생물학적 공격에 저항하면서 생존하는 특유의 생물이다(6,7). 석이버섯에 관한 연구로는 다당류가면역조절능(8,9)을 보이거나 치매 예방(10), 항혈전 효과(11,12), 항산화 및 아질산염 소거작용(13) 등이 보고되고 있어 이를 활용한 식품관련 제품을 개발하기 위해 많은 연구가 진행되고 있으나 전통주로 개발된 사례는 많지 않다. 전통적인 방법으로 석이버섯주를 제조하고 제품화하는 과정

Received 5 October 2015; Accepted 8 December 2015

Corresponding author: Sun-Yung Ly, Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea
E-mail: sunly@cnu.ac.kr, Phone: +82-42-821-6838

*These authors contributed equally to this work.

에서 해결되어야 할 문제로 저장성 확보 문제가 대두되어 본 연구를 수행하게 되었다.

한편 자몽씨의 추출물(grapefruit seed extract, GSE)은 항균 효과와 항산화 효과가 있다고 발표되었으며(14-17), 특히 GSE에 들어 있는 ascorbic acid, tocopherol 등이 병원성 및 부패성 미생물의 세포벽과 세포막의 기능을 약화시켜 효소 활성을 억제한다고 알려졌다(18,19). 본 연구에서는 석이버섯주를 제조하고 GSE를 농도별로 첨가하여 4°C와 25°C에 저장하면서 약주 품질이 유지되는 정도를 살펴보고자 다양한 지표를 측정하였다.

재료 및 방법

석이버섯주의 재료

본 실험에 사용한 석이버섯은 강원도 인제군과 홍천군 지역에서 2014년에 채취한 버섯을 구입하여 사용하였으며, 약주제조용 쌀은 대전광역시에서 생산한 동진찰(참쌀)을 사용하였다. 누룩은 우리밀을 자연 발효시킨 전통누룩으로 광주광역시 광산구 농업법인 (주)송학곡자에서 구입하였으며 양조용수는 대전광역시 상수도 용수를 사용하였다. 약주에 사용되는 30가지 한약재는 대전광역시 동구 정동 소재 경일 건재약업사에서 국내산 재료를 구입한 후 맛, 향, 색의 조화를 고려하여 원료미 대비 0.4%를 참쌀 증자 시 혼합하고 증자한 후 25°C 이하에서 식혀 사용하였다.

석이버섯주의 제조

석이버섯주 제조 방법은 Fig. 1과 같다. 참쌀 4 kg을 세척한 후 2시간 물에 침지하고 물을 뺀 다음 30분간 증자하고 25°C 이하로 냉각하여 고두밥을 제조하였다. 제조한 고두밥에 누룩 0.8 kg, 물 6 L, 효모 2 g을 첨가하여 21~24°C에서 발효시켜 주모를 완성하였다. 다시 참쌀 4 kg에 50 g의 한약

재와 석이버섯 추출물을 함유한 발효용수 6 L를 가하여 제조한 고두밥과 누룩 0.5 kg을 주모와 혼합하여 5일간 2단 담금을 하였다. 석이버섯 추출물은 석이버섯 120 g을 1시간 열탕 하여 제조하였다. 3단 담금은 참쌀 4 kg을 누룩 0.5 kg과 물 12 L를 첨가하여 15일간 발효시켜 술덧을 완성하였다. 술덧에 석이버섯과 술잎을 넣어 만든 청을 넣고 알코올 도수를 13도와 18°Brix의 당도를 유지할 수 있게 조절하였다. 완성된 술덧을 12 µm 규조토 여과와 0.5 µm membrane filter를 사용하여 2회 여과과정을 거쳐 정제하고 자몽씨 추출물을 각각 0%, 0.5%, 1% 첨가하여 1회 분석에 사용할 만큼 소분하고 polypropylene conical tube에 담아 4°C는 165일간, 25°C는 75일간 항온기에서 보관하면서 분석에 사용하였다. 실험군의 이름은 GSE 0%, 0.5%, 1% 첨가 순서에 따라 4°C 저장군의 경우 GLT0, GLT0.5, GLT1로, 25°C 저장군의 경우 GHT0, GHT0.5, GHT1로 명명하였다.

석이버섯주의 성분 분석

제조한 석이버섯주의 가용성 고형분, 베타글루칸, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 아미노질소 함량을 분석하였다. 가용성 고형분 함량은 발효 상등액을 굴절당도계(ABBE, Atago Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며 °Brix로 표시하였다. 베타글루칸 함량은 Megazyme kit(Megazyme Co., Wicklow, Ireland)을 이용하여 total glucan 함량과 α-glucan 함량을 측정하여 두 값의 차이를 β-glucan 함량으로 하였다. Total glucan 함량 측정을 위하여 시료 100 mg에 37% HCl 1.5 mL를 넣고 30°C에서 45분간 교반한 후 증류수 10 mL를 가하여 100°C에서 2차 교반한 다음 2 N KOH 10 mL를 가하여 혼합하였다. 이 혼합물에 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.0)를 가하여 100 mL로 정용한 후 원심분리(1,500×g, 10분) 하여 상등액 0.1 mL에 exo-1,3-β-glucanase(20 U/mL)+ β-glucosidase(4 U/

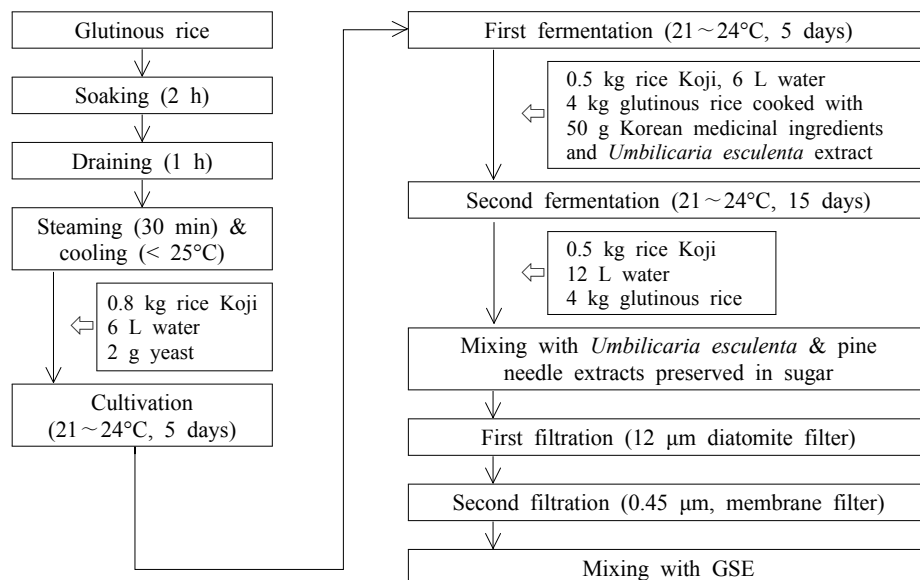


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of *Umbilicaria esculenta* Yakju manufacturing. GSE: grapefruit seed extract.

mL) 용액 0.1 mL를 가하고 40°C water bath에서 60분간 반응시킨 다음 GOPOD(glucose oxidase/peroxidase, Megazyme) 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시켜 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 α-glucan 함량 측정을 위하여 시료 100 mg에 2 N KOH 3 mL를 넣고 ice/water bath에서 20분간 교반한 후 1.2 M sodium acetate buffer(pH 3.8) 8 mL와 amyloglucosidase(1,630 U/mL)+ invertase(500 U/mL) 0.2 mL를 가하여 40°C water bath에서 30분간 교반한 다음, 원심분리(1,500 rpm, 10분) 한 상등액 0.1 mL에 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.0) 0.1 mL와 GOPOD 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법(20)을 변형하여 시료 1 mL에 1 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 2 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 35% Na₂CO₃ 2 mL를 넣고 실온에서 30분간 정지한 다음 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 계산하였다. 플라보노이드 함량은 Davis 변법(21)을 이용하여 시료 1 mL에 diethylene glycol 10 mL 및 1 N NaOH 1 mL를 가하고 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아미노산은 국제청 주류 면허지원센터 주류분석 규정에 따라 시료액 10 mL에 페놀 프탈렌 지시약을 떨어뜨리고 0.1 N NaOH로 담홍색이 될 때까지 중화한 후 중성포르말린 용액 5 mL를 가하여 0.1 N NaOH로 담홍색이 될 때까지 적정한 다음 glycine으로 환산하여 아래와 같이 백분율로 나타내었다. 각 시료당 3회 반복 측정하였다.

$$\text{아미노산(glycine) g/100 mL} = \text{적정 mL 수} \times 0.0075 \times 10$$

pH 측정 및 산도 측정

pH는 약주 10 g에 100 mL의 증류수를 넣고 homogenizer(T18 digital, IKA Co., Staufen, German)로 9,000 rpm에서 60초간 균질화한 후 균질액 5 mL를 취하여 pH meter(pH-200L, Istek Inc., Seoul, Korea)로 측정하였다. 산도는 균질액 10 mL를 취하여 증류수로 2배 희석한 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하고 소요 되는 mL 수를 lactic acid 함량(%)으로 환산하여 총산 함량을 표시하였다. 각 시료당 3회 반복 측정하였다.

탁도 측정

탁도는 분광광도계(UV-1800, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료당 10회 반복 측정하였다.

일반세균수

Fume hood(CHC Lab Co., Daejeon, Korea) 내에서 무균적으로 채취한 석이버섯주 10 g에 멸균증류수 100 mL를 첨가한 후 homogenizer(IKA Co.)를 이용하여 9,000 rpm에서 60초간 균질화한 다음 균질액 1 mL를 멸균증류수를 사용하여 적정 희석하고 사용하였다. 이때 일반세균 분석에는 Aerobic Count plate(3M™ Perifilm™ Plate, Brookings, SD, USA)를 사용하였고, 대장균 분석에는 Coliform Count plate(3M™ Perifilm™ Plate)를 사용하였으며, 효모·곰팡이 분석에는 Rapid Yeast and Mold Count Plate(3M™ Perifilm™ Plate) 건조필름을 사용하여 제조사인 3M사의 사용설명서에 따라 실시하였다. 일반세균, 대장균, 효모·곰팡이 측정은 각각 AC plate 필름, CC plate 필름, RYM plate 필름의 상위필름을 열고 내부에 시료를 접종한 다음 37°C에서 24~48시간 동안 배양하였으며 나타나는 colony를 계수하였다.

Ethanol, glucose, acetic acid, lactic acid 함량

저장기간 동안 약주의 ethanol, glucose, acetic acid, lactic acid 함량을 분석하였으며 모든 측정은 3회 반복하였다. 약수 시료 10 mL를 원심분리(3,000 rpm, 30 min) 한 후 상등액을 취하여 여과지(Whatman No. 2, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 1차 여과한 다음, 여액을 다시 0.22 μm membrane filter(Merck Millipore, Ltd., Cork, Ireland)로 여과하여 HPLC용 분석 시료로 사용하였다. HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다.

통계 처리

실험 결과는 SPSS/Windows 21.0(Statistical Package for the Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계처리를 하였고, 평균±표준편차를 구하였다. GSE를 첨가한 약주의 품질 특성 지표의 차이를 검증하기 위하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 한 후 Duncan's multiple range test로 변인 간의 차이를 사후 검증하였다. 모든 통계적인 유의성은 α=0.05 수준에서 시행하였다.

Table 1. The condition of HPLC for analysis

Instrument	HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)
Detector	Reflective index (RI) detector
Column	Rezex Roa-organic acid H ⁺ (8%) column (Phenomenex, Torrance, CA, USA)
Solvent	0.005 N H ₂ SO ₄
Column temp	Heated at 85°C
Flow rate	0.6 mL/min
Injection volume	80 μL

Table 2. Analysis of chemical composition of *Umbilicaria esculenta* Yakju

	Samples	
	Control	UKY
°Brix	11.77±0.12 ²⁾	17.80±0.26*
β-Glucan (%)	0.08±0.00	0.48±0.02*
Total polyphenol (mg/kg)	524.18±3.63	582.35±2.65
Total flavonoid (mg/kg)	13.74±0.11	4.29±0.07
Amino nitrogen (mg%)	46.67±1.16	38.27±0.23
Fructose (%)	0.00±0.00	0.11±0.01*
Glucose (%)	1.17±0.03	3.04±0.06
Sucrose (%)	0.00±0.00	0.00±0.00

¹⁾Control: general traditional Yakju, UKY: *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju.

²⁾Mean±SD (n=3). *P<0.05

결과 및 고찰

석이버섯주의 성분 분석

제조한 석이버섯주의 성분 분석 결과는 Table 2와 같다. 가용성 고형분 함량 분석 결과 석이버섯주는 17.8°Brix로 대조군 11.8°Brix보다 높게 나타났으며 유의한 차이를 보였다(P<0.05). 이는 3단 담금을 하면서 찐량 대비 양조용수의 양을 1:1의 비율로 발효시킴으로써 효소에 의한 전분의 당 분해와 발효시간이 경과함에 따라 당도가 증가한 것으로 판단된다. 베타글루칸 성분의 분석 결과 석이버섯주는 0.48%로 대조군 0.08%보다 높게 검출되었으며 유의한 차이를 보였다(P<0.05). 이는 누룩과 한약재의 일부 성분에 의해 발효과정에서 생성되는 것으로 판단된다. 총 폴리페놀의 분석 결과 대조군은 524.18 mg/kg이며, 석이버섯주는 582.39 mg/kg으로 더 높은 함량을 나타냈지만 유의한 차이는 보이지 않았다. 총 플라보노이드 분석 결과 대조군은 13.74 mg/kg으로 석이버섯주의 4.29 mg/kg 값보다 높게 관찰되었으며, 아미노산 질소 성분 분석 결과에서 석이버섯주는 38.27 mg%로 대조군보다 낮게 검출되었다. 유리당 측정 결과 대조군과 석이버섯주에서 sucrose는 검출되지 않았으나 fructose는 석이버섯주에서 0.11%가 검출되어 유의하게 높았으며(P<0.05), glucose에서도 마찬가지로 석이버섯주는 3.04%로 대조군보다 높게 검출되었지만 유의한 차이를 보이지 않았다. 일반적인 약주의 알코올 농도가 13%이므로 국세청 신고기준에 따른 알코올 함량을 맞추기 위해 glucose 함량이 높은 당을 첨가하여 가수에 따른 쓴맛을 줄였기 때문에 포도당 함량이 높아진 것으로 판단된다.

pH 및 산도

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 pH 및 총산도 변화는 Fig. 2, 3과 같다. 저장 초기의 pH는 모두 5.13으로 군 간의 차이가 없었으나 4°C에 저장한 군들 중 대조군은 60일째 pH가 5.10까지 감소하였으며, GSE 0.5%, 1% 첨가군에 비하여 유의하게 낮아지기 시작하였다(P<0.05). 이러

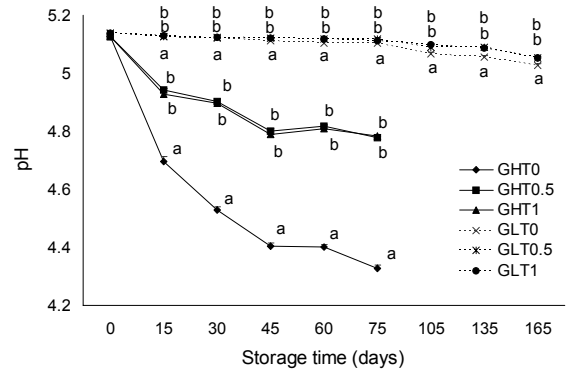


Fig. 2. Changes in pH of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C. GHT0, control group of *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju during storage for 75 days at 25°C; GHT0.5, *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 0.5% grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C; GHT1, *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 1% grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C; GLT0, control group of *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju during storage for 165 days at 4°C; GLT0.5, *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 0.5% grapefruit seed extract during storage for 165 days at 4°C; GLT1, *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 1% grapefruit seed extract during storage for 165 days at 4°C. Values are mean±standard deviation (n=3). Means with different letters (a,b) in the same storage are significantly different (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

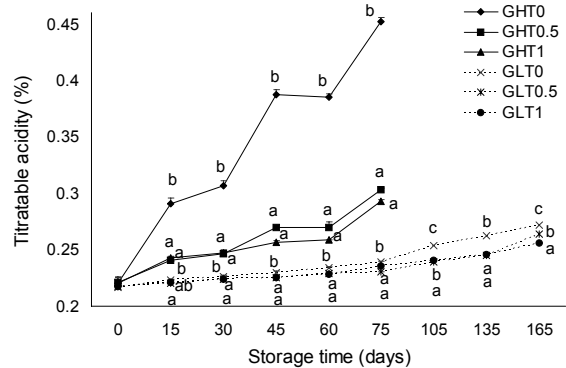


Fig. 3. Changes in titratable acidity of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C. Samples are the same as Fig. 2. Values are mean±standard deviation (n=3). Means with different letters (a-c) in the same storage time are significantly different (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

한 차이는 165일까지 지속되었다. 즉 GSE를 첨가한 실험군들의 pH가 더 잘 유지되고 있어 저장기간을 연장하는 데 효과적이므로 4°C에서 6개월 정도의 저장이 가능할 것으로 판단된다. 가속저장을 위하여 25°C에 저장했던 군들에서는 대조군이 15일째부터 감소하기 시작하여 저장 45일째 pH 4.40으로 감소하였으며, 저장 75일차에 4.33까지 감소하였다. 반면 GSE 0.5%, 1% 첨가군은 pH의 감소 정도가 완만하여 저장 15일째부터 대조군과 유의한 차이가 나기 시작하였다(P<0.05).

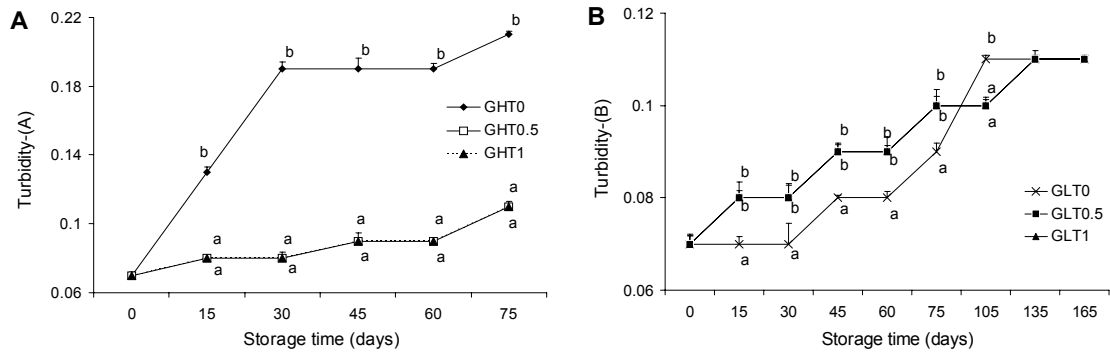


Fig. 4. Changes in turbidity of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C. Samples are the same as Fig. 2. Values are mean±standard deviation (n=3). Means with different letters (a-c) in the same storage time are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

총산도는 저장 초기 대조군과 GSE 0.5%, 1% 첨가군이 0.21~0.22%로 군 간의 차이가 없었다. 4°C에서 저장하는 동안 대조군의 경우 저장 15일째부터 증가하기 시작하여 저장 165일째에는 0.27%로 가장 높은 수치를 보였다. GSE 0.5%, 1% 첨가군은 저장 15일째부터 대조군에 비하여 유의하게 낮은 값을 보이기 시작하여 저장기간 내내 대조군과 유의하게 차이가 벌어지고 있었으며($P<0.05$), 저장 165일 차에는 총산도가 0.25~0.26%로 나타났다. 25°C에 저장한 군들 중 대조군은 저장 75일 동안 지속적으로 산도가 증가하여 75일째에는 0.45%로 급격한 증가를 보였으나 GSE 0.5%, 1% 첨가군들에서는 완만하게 증가하고 있었으며, 저장 15일째부터 대조군과 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 또한 저장기간 동안 GSE 1% 첨가군은 GSE 0.5% 첨가군보다 총산도 변화량이 적어 저장 45일째부터는 두 군 간에 유의한 차이가 있었다($P<0.05$). 알코올 도수가 낮은 술은 저장기간 중 유기산의 농도 증가 등 품질 변화가 일어나며 이로 인하여 산도나 pH, 맛, 풍미가 변화하게 되는데, 이러한 결과는 대추술을 대상으로 실험한 Park 등(22)의 연구 결과나 약주의 저장 중 변화를 연구한 Mok 등(23)의 연구 결과와 유사한 결과이다. 따라서 본 연구 결과 자몽씨 추출물의 첨가는 석이버섯주의 pH와 산도의 변화를 억제하여 약주의 저장성을 늘릴 수 있는 소재로 판단된다.

탁도

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 탁도(660 nm에서의 흡광도) 변화는 Fig. 4와 같다. 저장 초기 대조군과 GSE 0.5%, 1% 첨가군 모두 0.07로 비슷한 값을 나타내었다. 4°C 저장 조건의 경우 저장기간 동안 모든 시험군은 완만하게 증가하였으며, 저장기간 15일부터 75일째까지는 GSE 0.5%, 1% 첨가군이 대조군보다 높은 값을 나타내었으나($P<0.05$), 저장기간 135일 이후부터는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 4°C에서는 6개월 저장기간 동안 GSE 첨가군이나 대조군 간에 차이가 없었으므로 GSE의 효과는 유의미한 결과라 보기 어렵다. 그러나 25°C 저장 조건에서는 대조군에서 저장 30일째부터 급격히 증가하여

배탁의 형성이 육안으로도 관측 가능한 정도였다. 대조군의 이러한 결과는 60일째까지 유지된 반면에 GSE 0.5%, 1% 첨가군은 15일째부터 대조군에 비하여 탁도가 많이 낮았고 75일째에도 0.11~0.13으로 소폭 증가에 그쳤다. 또한 75일째는 GSE 두 간에 차이를 보였으나($P<0.05$) 1% 첨가군이 0.5% 첨가군에 비하여 탁도가 더 높아 0.5% 첨가군도 1.0% 첨가군만큼 유효한 농도로 판단되었다. Membrane filtration에 의한 약주의 저장성 증진을 연구한 Kang 등(4)은 0.45 μm membrane filter를 통과시킨 약주는 약주 내의 고분자 물질과 변패미생물이 여과과정 중에 대부분 제거되어 저장기간 동안 탁도의 변화가 적은 것으로 판단하였다. 따라서 저장기간 동안 일반세균, 대장균, 효모, 곰팡이는 검출되지 않았기 때문에 탁도의 변화가 다른 연구 결과에 비해 적었던 것으로 판단된다.

일반세균수

25°C에서 75일간 저장한 석이버섯주에서 미생물 수를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 일반세균수 측정 결과 75일 저장 후 대조군에서는 5.67×10^3 CFU/mL였으며, GSE 0.5% 첨가군에서는 4.00×10^3 CFU/mL, GSE 1% 첨가군에서는 2.33×10^3 CFU/mL로 대조군보다 유의하게 균수가 적었다($P<0.05$). 따라서 GSE 0.5%, 1% 첨가 시 미생물학적 안전

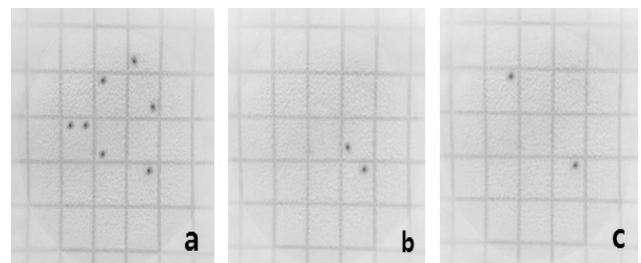


Fig. 5. Changes in microbiological properties of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract storage after 75 day at 25°C. (a) control group of *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju, (b) *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 0.5% GSE, (c) *Umbilicaria esculenta* Korea medicine Yakju added with 1% GSE.

성이 월등히 높은 것을 알 수 있었다. 한편 저장기간 동안 모든 시험군에서 대장균과 효모·곰팡이는 검출되지 않았다. 한편 4°C 저장 조건에서는 저장기간 165일 동안 모든 시험군에서 일반세균, 대장균, 효모·곰팡이는 검출되지 않았다. 약주류 제품에 문제가 되는 균주로는 발효 주체인 효모와 제품을 변질시키는 유산균 등으로 보고되고 있으나(24), 저장기간 동안 검출되지 않았으므로 석이버섯주는 미생물학적으로 안전성 있는 약주라고 판단된다.

Ethanol 함량

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 ethanol 함량 변화는 Table 3과 같다. 25°C 저장조건에서는 저장기간이 증가함에 따라 ethanol 함량이 저장 초기 101.04±1.35 g/L에서 115.03±2.64 g/L로 약간씩 증가하는 경향을 보였으나 대조군과 GSE 첨가군의 유의한 차이는 보이지 않았다. 4°C 저장조건에서는 165일의 저장기간 동안 ethanol 함량이 101.04±1.35 g/L에서 109.98±2.36 g/L로 미미하게 증가하였으며 역시 대조군과 GSE 첨가군의 유의한 차이는 보이지 않았다. Min과 Choi(25)는 약주의 발효 초기 ethanol 농도는 급격히 증가하고 발효 중반 이후부터는 완만히 증가한다고 하였는데, 본 연구에서 사용한 약주는 발효 및 숙성이 완료된 약주로 ethanol 함량이 더 이상 증가하지는 않았으며, 25°C 저장 조건 하에서도 최종 세 군 간에 유의한 차이가 없었으므로 GSE 첨가가 ethanol 함량 변화에 영향을 미치지 않은 것으로 볼 수 있다. 따라서 GSE는 약주의 알코올 도수에 영향을 주지 않는 첨가제로 사용 가능할 것으로 사료

된다.

Glucose 함량

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 glucose 함량 변화는 Table 4와 같다. Cho 등(26)의 순바닥선인장약주, Lee 등(27)의 인삼박 약주 및 Kim과 Koh(28)의 제주좁쌀약주 보고와 같이 glucose는 주요 유리당이며, 첨가물에 따라 당 종류에는 다소 차이가 있지만 약주 또한 주원료인 쌀을 사용하여 발효시켜 제조하였기 때문에 glucose 함량 변화를 측정하였다. 저장조건 25°C의 glucose 함량은 저장 초기 30.85±0.15 g/L에서 저장 말기 28.42±0.19 g/L로 저장기간이 증가함에 따라 미미하게 감소하는 경향을 보였으며, 저장조건 4°C의 경우에도 저장 초기 30.85±0.15 g/L에서 저장 말기 30.06±0.08 g/L로 미미하게 감소하였고 전반적으로 큰 변화 없이 안정되게 유지되었다. 전반적으로 약주의 경우 발효과정 중 환원당의 함량은 감소한다고 보고되었지만(29) 본 실험에서 사용한 약주는 발효 및 숙성이 완료된 약주를 사용하였으므로 glucose 함량 또한 저장기간 동안 큰 변화량을 보이지 않는 것으로 판단된다. 또한 GSE를 첨가하여도 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으므로 이는 GSE 첨가가 glucose 함량 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Acetic acid 함량

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 acetic acid 함량 변화는 Table 5와 같다. 저장 초기 대조군과 GSE 0.5

Table 3. Changes in ethanol contents of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C (g/L)

Samples ¹⁾	Days									
	0	15	30	45	60	75	105	135	165	
GHT0	101.04±1.35 ²⁾	104.57±2.60	106.79±5.05	111.13±3.47	113.92±2.10	115.03±2.64	—	—	—	
GHT0.5	100.58±1.75	104.60±2.60	105.78±2.51	110.60±3.39	113.72±1.72	115.07±0.36	—	—	—	
GHT1	100.67±1.79	104.90±3.46	105.53±1.05	110.40±4.44	112.82±2.04	115.05±2.42	—	—	—	
GLT0	101.04±1.35	100.85±1.89	100.95±1.70	101.24±2.41	102.66±2.35	104.87±2.59	105.16±4.05	106.74±2.67	109.98±2.36	
GLT0.5	100.58±1.75	100.72±1.70	100.96±1.97	101.08±2.67	102.70±2.51	104.75±2.39	105.40±1.52	106.87±2.49	109.76±1.94	
GLT1	100.67±1.79	100.39±1.78	100.95±2.40	101.12±2.49	102.74±2.55	104.88±2.27	105.21±2.28	106.71±2.11	109.72±2.33	

¹⁾Samples are the same as Fig. 2.

²⁾Mean±SD (n=3).

Table 4. Changes in glucose contents of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C (g/L)

Samples ¹⁾	Days									
	0	15	30	45	60	75	105	135	165	
GHT0	30.85±0.15 ²⁾	30.58±0.47	30.55±0.50	30.37±0.34	30.17±0.21	28.42±0.19	—	—	—	
GHT0.5	30.75±0.15	30.71±0.10	30.62±0.12	30.55±0.16	30.15±0.22	28.73±0.53	—	—	—	
GHT1	30.55±0.18	30.46±0.20	30.42±0.17	30.27±0.29	29.85±0.51	28.18±0.55	—	—	—	
GLT0	30.85±0.15	30.75±0.10	30.58±0.14	30.55±0.72	30.45±0.29	30.42±0.18	30.37±0.08	30.19±0.09	30.06±0.08	
GLT0.5	30.75±0.15	30.72±0.19	30.62±0.18	30.47±0.29	30.30±0.18	30.26±0.07	30.16±0.18	30.12±0.09	30.06±0.18	
GLT1	30.55±0.18	30.50±0.05	30.46±0.08	30.41±0.14	30.26±0.08	30.19±0.02	30.14±0.13	30.13±0.12	30.05±0.14	

¹⁾Samples are the same as Fig. 2.

²⁾Mean±SD (n=3).

Table 5. Changes in acetic acid contents of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C (g/L)

Samples ¹⁾	Days									
	0	15	30	45	60	75	105	135	165	
GHT0	0.18±0.00 ²⁾	0.20±0.01 ^{b3)}	0.21±0.01 ^b	0.23±0.02 ^b	0.24±0.02 ^b	0.27±0.01 ^b	—	—	—	
GHT0.5	0.17±0.02	0.18±0.01 ^a	0.19±0.00 ^a	0.20±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.22±0.01 ^a	—	—	—	
GHT1	0.17±0.00	0.18±0.01 ^a	0.19±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.21±0.00 ^a	—	—	—	
GLT0	0.18±0.00	0.18±0.00	0.19±0.00 ^b	0.19±0.01 ^b	0.20±0.01 ^b	0.21±0.01 ^b	0.21±0.01 ^b	0.22±0.01 ^b	0.23±0.01 ^b	
GLT0.5	0.17±0.02	0.17±0.01	0.18±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.18±0.00 ^a	0.19±0.01 ^a	0.19±0.00 ^a	0.19±0.01 ^a	0.20±0.00 ^a	
GLT1	0.17±0.00	0.17±0.01	0.17±0.01 ^a	0.17±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.19±0.00 ^a	0.20±0.01 ^a	

¹⁾Samples are the same as Fig. 2.

²⁾Mean±SD (n=3).

³⁾Means with different letters (a,b) in the same storage time are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 6. Changes in lactic acid contents of *Umbilicaria esculenta* Yakju added with grapefruit seed extract during storage for 75 days at 25°C and 165 days at 4°C (g/L)

Samples ¹⁾	Days									
	0	15	30	45	60	75	105	135	165	
GHT0	2.98±0.11 ²⁾	4.44±0.15 ^{b3)}	4.88±0.30 ^b	5.13±0.22 ^b	5.30±0.25 ^b	5.39±0.14 ^b	—	—	—	
GHT0.5	2.97±0.14	3.02±0.16 ^a	3.05±0.11 ^a	3.11±0.12 ^a	3.12±0.11 ^a	3.16±0.15 ^a	—	—	—	
GHT1	2.97±0.13	3.02±0.07 ^a	3.06±0.11 ^a	3.05±0.11 ^a	3.08±0.16 ^a	3.11±0.16 ^a	—	—	—	
GLT0	2.98±0.11	2.99±0.11	3.13±0.12 ^b	3.19±0.15 ^b	3.25±0.11 ^b	3.27±0.13 ^b	3.31±0.12 ^b	3.41±0.14 ^b	3.51±0.13 ^b	
GLT0.5	2.97±0.14	2.97±0.13	3.04±0.15 ^a	3.06±0.17 ^a	3.08±0.11 ^a	3.31±0.16 ^a	3.12±0.17 ^a	3.16±0.17 ^a	3.23±0.13 ^a	
GLT1	2.97±0.13	2.97±0.12	3.03±0.15 ^a	3.06±0.11 ^a	3.08±0.15 ^a	3.09±0.10 ^a	3.13±0.12 ^a	3.17±0.15 ^a	3.21±0.12 ^a	

¹⁾Samples are the same as Fig. 2.

²⁾Mean±SD (n=3).

³⁾Means with the different letters (a,b) in the same storage time are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

%, 1% 첨가군의 acetic acid 함량은 0.17~0.18 g/L였으며, 모든 시험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 4°C 저장 조건의 경우 저장기간 동안 acetic acid 함량은 저장기간이 증가함에 따라 서서히 증가하여 저장 말기에는 대조군이 0.23±0.01 g/L, GSE 0.5%, 1% 첨가군 0.20 g/L로 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 25°C 저장 조건의 경우 저장기간 동안 모든 시험군의 acetic acid 함량은 증가하였으나 GSE0.5%, 1% 첨가군은 저장 말기 0.21~0.22 g/L로 서서히 증가하는 반면에 대조군은 저장 말기 0.27±0.01 g/L로 급격하게 증가하였으며, 4°C 저장조건 결과와 마찬가지로 저장기간 30 일째부터 대조군과 GSE 첨가군은 유의적인 차이를 보였다($P<0.05$). Cho 등(30)의 오미자 발효약주의 acetic acid는 검출되지 않았다는 연구 결과와 다르게 본 실험에서 사용한 약주는 발효 및 숙성이 완료된 약주를 사용하였으므로 저장기간 동안 약주의 맛과 향을 결정하는 중요한 지표인 총산도가 증가할 수 있는 영향요인으로 작용하였을 것으로 생각된다. 따라서 GSE의 첨가는 낮은 농도에서도 고농도에서와 동일하게 acetic acid 함량의 증가를 억제할 수 있는 것으로 판단된다.

Lactic acid 함량

저장기간에 따른 저장 온도별 석이버섯주의 lactic acid 함량 변화는 Table 6과 같다. 저장 초기 대조군과 GSE 0.5%, 1% 첨가군은 2.97~2.98 g/L로 모든 시험군 간의 유의적

인 차이는 없었으나 저장조건 4°C, 25°C 모두 저장기간 동안 lactic acid 함량은 증가하였다. 25°C의 저장조건에서는 대조군이 15일째부터 급격한 증가를 보였으며, GSE 0.5%, 1%는 대조군에 비해 서서히 증가하였고 저장 15일째부터 대조군에 비하여 유의하게 낮은 값을 보였다($P<0.05$). 4°C의 저장조건에서는 대조군의 경우 초기 2.97~2.98 g/L에서 165일째 3.21~3.51 g/L로 비교적 증가폭이 컸으며, GSE 첨가군들은 대조군에 비하여 증가폭이 유의하게 작아 저장 30일째부터 대조군에 비하여 낮은 값을 보였다($P<0.05$). 약주는 발효 특성상 lactic acid의 함유량이 가장 높은 비율을 차지하고 있으며(31), 약주의 맛과 향기 성분에 관여하는 중요한 요소인 총산 함량의 비교에서와 같이 GSE 첨가군의 lactic acid 함량이 대조군에 비하여 낮은 편이며 그 변화폭도 적은 것으로 나타났는데, 이는 GSE에 의한 품질 보존 효과라고 볼 수 있다.

요 약

석이버섯과 한방재료를 첨가하여 만든 숙성된 석이버섯주에 grapefruit seed extract(GSE)를 0.5%, 1% 첨가하여 4°C는 165일간, 25°C 75일간 저장하면서 약주의 저장성과 품질 특성에 미치는 영향을 조사하였다. 품질 특성은 pH, 총산도, 탁도, 일반세균수 및 ethanol, glucose, acetic acid, lactic acid 함량을 분석하였다. GSE 무첨가 약주는 저장

중 pH, 총산도, 탁도, acetic acid, lactic acid가 급격하게 증가한 반면에 GSE 0.5%, 1% 첨가 약주는 미미하게 증가하여 큰 변화 양상을 보이지 않았으며 GSE 무첨가 대조군과 유의적인 차이를 보였다($P < 0.05$). 일반세균수는 대조군보다 GSE 첨가군에서 유의하게 적었으며($P < 0.05$), 모든 시험군에서 대장균, 효모·곰팡이는 검출되지 않았다. Ethanol 함량은 저장 중 조금씩 증가하였고, glucose 함량은 저장 중 약간 감소하였으나 저장 중 큰 변화는 없었으며, ethanol, glucose 함량 모두 대조군과 GSE 첨가군의 유의적인 차이는 없었다. 따라서 식품규격에 따라 품질 유지기한이 25°C는 3개월, 4°C는 6개월까지 섭취가 가능할 것으로 판단되며 이로써 GSE는 약주의 저장성 향상 및 품질 증진에 효과적인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 충남대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Lee JB, Lee JS, Kim MH. 2012. Physicochemical and sensory characteristics of *Yakju* fermented with different ratios of dandelion (*Taraxacum platycarpum*) root powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 834-839.
- Kim MJ, Kim BH, Ham JW, Lee SY, Kim KS. 2011. Analysis of quality properties and fermentative microbial profiles of Takju and Yakju brewed with or without teaming process. *J Fd Hyg Safety* 26: 64-69.
- Lee JO, Kim CJ. 2011. The influence of adding buckwheat sprouts on the fermentation characteristics of *Yakju*. *Korean J Food Culture* 26: 72-79.
- Kang MY, Park YS, Mok CK, Chang HG. 1998. Improvement of shelf-life of *Yakju* by membrane filtration. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1134-1139.
- Kim SH, Suh MC. 2010. Effects of the combination of *Umbilicaria esculenta* extract and anticancer drugs on human cancer cells. *MS Thesis*. Korea Polytechnic University, Siheung, Korea.
- Alexopoulos CJ, Mims CW. 1979. *Introductory mycology*. John Wiley & Sons, New York, NY, USA. p 573-587.
- Herbert RA. 1992. A perspective on the biotechnological potential of extremophiles. *Trends Biotechnol* 10: 395-402.
- Du YQ, Liu Y, Wang JH. 2015. Polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* cultivated in Huangshan Mountain and immunomodulatory activity. *Int J Biol Macromol* 72: 1272-1276.
- Kim HS, Kim JY, Lee HK, Kim MS, Lee SR, Kang JS, Kim HM, Lee KA, Hong JT, Kim Y, Han SB. 2010. Dendritic cell activation by glucan isolated from *Umbilicaria esculenta*. *Immune Netw* 10: 188-197.
- Lee JS, Min GH, Lee JS. 2009. Nutritional and physicochemical characteristics of the antidementia acetylcholinesterase-inhibiting methanol extracts from *Umbilicaria esculenta*. *Mycobiology* 37: 203-206.
- Kim MS, Lee KA. 2006. Antithrombotic activity of methanolic extract of *Umbilicaria esculenta*. *J Ethnopharmacol* 105: 342-345.
- Wang Y, Shao J, Yao S, Zhang S, Yan J, Wang H, Chen Y. 2014. Study on the antithrombotic activity of *Umbilicaria esculenta* polysaccharide. *Carbohydr Polym* 105: 231-236.
- Jeong EJ. 1998. Antioxidative and nitrite-scavenging effects of solvent extracts from *Gyrophora esculenta*. *Korean J Food & Nutr* 4: 426-430.
- Cho SH, Seo IW, Choi JD, Joo IS. 1990. Antimicrobial and antioxidant activity of grapefruit and seed extract on fishery products. *Bull Korean Fish Soc* 23: 289-296.
- Cho S, Lee SY, Kim JW, Ko GH, Seo IW. 1995. Development and application of natural antimicrobial agent isolated from grapefruit and seed extract - antimicrobial activities of grapefruit and seed extract - . *J Fd Hyg Safety* 10: 33-39.
- Reagor L, Gusman J, McCoy L, Carino E, Hegggers JP. 2002. The effectiveness of processed grapefruit and seed extract as an antibacterial agent. *J Altern Complement Med* 8: 325-332.
- Xiong H, Li Y, Slavik MF, Walker JT. 1998. Spraying chicken skin with selected chemicals to reduce attached *Salmonella typhimurium*. *J Food Prot* 61: 272-275.
- Chio OK, Noh YC, Hwang WY. 2000. Antimicrobial activity of grapefruit and seed extracts and polylysine mixture against food-borne pathogens. *Korean J Dietary Culture* 15: 9-15.
- Giamperi L, Fraternali D, Bucchini A, Ricci D. 2004. Antioxidant activity of *Citrus paradisi* seeds glyceric extract. *Fito-terapia* 75: 221-224.
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J Agric Food Chem* 44: 37-41.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal* 10: 178-182.
- Park HJ, Kim KY, Jeong HS. 2009. Quality changes of jujube wine hydrostatic pressure and freezing treatment during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 89-97.
- Mok C, Lee JY, Chang HG. 1997. Quality changes of non-sterilized *Yakju* during storage and its shelf-life estimation. *Food Eng Prog* 1: 192-197.
- Bae SM. 2002. *Processing technology of Korean traditional alcoholic beverage*. Baesangmyun's Research Lab., Seoul, Korea. p 120-220.
- Min YK, Choi JG. 1994. Fermentation characteristics of some medicinal herb rice wine. *Agric Chem Biotechnol* 37: 175-181.
- Cho IK, Huh CK, Kim YD. 2010. Quality characteristics of yakju (a traditional Korean beverage) after addition of different tissues of *Opuntia ficus indica* from Shinan, Korea. *Korean J Food Preserv* 17: 36-41.
- Lee IS, Yang EJ, Jeong YJ, Seo JH. 1999. Fermentation process and physicochemical characteristics of *Yakju* (Korean cleared rice wine) with addition of ginseng powder. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 463-468.
- Kim JY, Koh JS. 2004. Fermentation characteristics of Jeju foxtail millet-wine by isolated alcoholic yeast and saccharifying mold. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 85-91.
- Kim CJ. 1963. Studies on the quantitative changes of organic acid and sugars during the fermentation of Takju. *J Korean Agric Chem Soc* 4: 33-42.
- Cho KS, Jeong EY, Choi HS, Kim MK. 2012. Brewing and quality characteristics of *Schisandra chinensis* Yakju. *J Appl Biol Chem* 55: 163-167.
- Kang SG, Yang EY, Jo GH, Park YK, Jung ST. 2008. Brewing and quality characteristics of Korean traditional grape wine. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1030-1038.