

Aspergillus awamori 입국으로 제조한 Aronia 막걸리의 발효특성 및 항산화 활성

이경행 · 윤지선 · [†]황종현
한국교통대학교 식품영양학과

Fermentative Characteristics and Antioxidant Activity of Aronia (*Aronia melanocarpa*) *Makgeolli* prepared with Ipguk cultured by *Aspergillus awamori*

Kyung-Haeng Lee, Ji-Sun Yun and [†]Jong-Hyun Hwang

Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

Abstract

Aronia makgeolli was manufactured using *Asp. kawachi* (AK) and *Asp. awamori* (AA) with tannase activity, and physicochemical properties were examined during the fermentation period. The pH was decreased during the fermentation period after the first day, while the acidity increased. Reducing sugars increased highly on the first day of fermentation, and then they gradually decreased as the fermentation period elapsed. On the 7th day of fermentation, it was in the range of 0.38~0.61%. The alcohol content gradually increased during the fermentation period and it ranged from 13.4~14.2 v/v% by the 7th day of fermentation, and the alcohol content of *makgeolli* added with Aronia was somewhat lower than that of *makgeolli* prepared without aronia. The L value increased as the fermentation period elapsed, and the L value of *makgeolli* added with aronia increased rapidly. The a value gradually decreased, while the b value gradually increased as the fermentation period elapsed. The content of total polyphenols increased during the fermentation period of AK *makgeolli*. However, the AA *makgeolli* was not significantly increased, as compared to the initial stage of fermentation, and it was lower than that of the AK *makgeolli*. The radical scavenging activity of the DPPH was higher in the *makgeolli* added with aronia, and the antioxidant activity of AA *makgeolli* was higher than that of AK *makgeolli*. In the sensory evaluation, in the AK *makgeolli*, the palatability deteriorated due to the bitter taste and the astringent taste derived from the aronia. However, in the AA *makgeolli*, astringent taste was very weak and the sensory quality was good.

Key words: *Aspergillus awamori*, aronia, *makgeolli*, tannase, antioxidant activity

서 론

막걸리는 우리나라의 대표적인 전통술로써 1960년대까지 오랜 사랑을 받아온 대중주이였으나, 사회변천과 함께 술 소비의 다양화와 고급화에 따라 1970년대 이후 급격한 쇠퇴기와 정체기를 거치게 되었다. 2008년부터 전통주의 세계화 사업과 한류의 붐을 타고 막걸리가 ‘몸에 좋은 곡주’로 인식되면서 일본으로의 수출증가와 내수시장의 활성화로 2009년에

서 2011년까지 호황을 누렸으나, 다시 점차 감소하여 현재 막걸리 시장은 2011년에 비하여 20% 감소하였다(Heo JK 2011). 이와 같이 막걸리가 대중주으로써 지속적인 성장을 하지 못하고 있는 것은 주류시장의 다변화에 따른 소비자의 기호변화가 주원인이겠으나, 막걸리의 소비증가를 위하여 소비자의 기호성과 다양성에 부응하여 담금 방법의 개선, 원부재료의 차별화와 다양화, 향기성분의 개선 등 고품질의 쌀 막걸리 개발이 요구된다고 지적되고 있다(Yeo & Jeong 2010).

[†] Corresponding author: Jong-Hyun Hwang, Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5332, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: jhhwang@ut.ac.kr

그러나 막걸리는 발효에 의한 알코올 외에 곡물이 분해되어 단백질, 식이섬유, 무기질, 각종 유기산과 비타민 등이 풍부하여 영양학적으로도 우수하고(Yoo 등 1981; Kim 등 2007), 심혈관계질환 개선, 전지방세포 분화 억제, 항암효과, 피부 기능성 효과 등 다양한 기능이 보고되고 있음(Lee & Shin 2011)에도 불구하고, 와인이 ‘프렌치 패러독스’를 통한 마케팅의 성공으로 건강에 좋은 술로 인식되어 소비가 크게 늘어나고 있는 것과는 반대로 막걸리는 건강에 대한 인식의 부족으로 이에 대한 적극적인 개선이 필요하다(Ko 등 2012). 이에 따라 막걸리의 건강 이미지를 강화하고, 품질을 고급화하는 다양한 시도를 위하여 와인과 같이 유용한 과실을 이용하여 건강 기능성을 향상시킨 막걸리 제조가 가능할 것으로 보이며, 주세법의 개정으로 막걸리 원료로 과실을 사용할 수 있도록 허용되어 이에 대한 산업화가 필요할 것으로 전망된다.

막걸리에 과실을 이용한 연구로는 배(Lee 등 2009), 키위(Kim 등 2013), 석류(Kim & Eun 2012), 파인에플(Seo 등 2014) 등을 첨가하여 막걸리의 기호성을 높이기 위하여 품질 특성을 조사한 연구와 오디의 항당뇨, 항고혈압 특성(Kim 등 2014), 오미자의 항산화 활성(Song 등 2015), 블루베리의 항산화 활성(Jeon & Lee 2011) 등과 같이 과실이 지니는 기능성과 막걸리의 기호성을 개선하기 위한 연구 등이 있으나, 연구 결과의 활용성이 낮고 집중적인 연구가 부족한 실정이다.

한편, 최근 과실의 항산화 활성에 대한 효과가 부각되면서 베리류에 대한 관심과 소비가 높아지고 있는데, 그 중 아로니아는 베리류에 비해 총 폴리페놀활성이 2~15배 높으며, DPPH 라디칼 소거능과 RAP 활성 등 항산화 활성이 포도에 비해 4~5배 높고(Nam 등 2015), 안토시아닌 함량이 300~630 mg/100 g으로 베리류 중에 가장 많이 함유되어(Oszmianski & Sapis 1988) 기능이 우수한 식품소재로서의 이용이 활발하게 연구되고 있으며, 와인과 같은 건강 기능이 강조되는 주류의 이용 가능성이 높다. 우리나라에서 아로니아의 주류의 이용 연구로는 아로니아를 와인 제조 시 혼합하여 양조함으로써 와인의 바디감을 향상시키려는 연구(Yoon 등 2017), 아로니아 막걸리의 색소 안정성에 관한 연구(Lee 등 2014), 아로니아를 농도별로 첨가하거나 첨가방법을 달리한 연구(Lee 등 2015; Park 등 2016) 등이 있으나, 아로니아의 tannin 성분에 의한 떫은맛으로 인하여 관능 품질이 저하되는 문제점을 안고 있으며, 이를 개선하기 위한 연구는 아직 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 tannase 활성이 있는 누룩균으로 입국을 제조하고, 이를 아로니아를 첨가된 막걸리 제조 시에 사용하여 발효 경과 중의 품질 특성과 항산화 효과를 분석함으로써 관능품질과 기능이 향상된 아로니아 막걸리를 개발하기 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

막걸리 제조용 백미와 현미는 2016년에 수확한 진천 추청미를 충북 증평의 H마트에서 구입하여 사용하였고, 아로니아는 충북 진천의 농장에서 2017년에 수확한 것을 구입하여 사용하였다. 효모는 K사의 생막걸리 제품에서 순수 분리한 탁주효모를 계대 배양하여 사용하였다. 입국제조용 곰팡이 균주로 *Aspergillus kawachi*는 충북 증평 소재의 신일누룩에서 막걸리 제조용 종균을 분양받아 사용하였고, *Asp. awamori* KCCM60246은 한국미생물보존협회로부터 분양받아 사용하였으며, 누룩은 국내산 누룩(당화력 300 sp 이상, 송화곡자, 국내산)을 구입하여 사용하였다.

2. 입국 제조

*Asp. kawachi*와 *Asp. awamori* 균주의 포자를 각각 PDA 배지에서 평판 배양하여 포자를 형성시킨 후 배지에 0.85% 생리식염수 10 mL를 가하여 백금으로 긁어서 포자 현탁액을 제조하였다. 믹서기(HB-310, Hibell, Kyungki, Korea)로 마쇄한 현미 100 g을 500 mL Erlenmeyer flask에 넣고 물을 가수 혼합하여 가압증자(121°C, 20 min)한 다음, 포자현탁액 2 mL를 무균적으로 접종하여 25°C에서 5일간 배양하여 포자를 제조하였다. 입국 제조를 위해 백미는 세미 후 12시간 물에 침지하고, 60분간 탈수 후 가압증자(121°C, 20 min)하여 식힌 증미에 0.5% 증량의 포자를 접종하여 균일하게 혼합 후 입국 배양장치(Mini 15, Yaegaki Co., Tokyo, Japan)에 넣어 42~48시간 배양하여 입국을 제조하였다.

3. 막걸리 담금

담금에 사용한 원료는 증미는 12시간 침지하여 60분간 물 빼기를 한 다음 가압 증자(121°C, 30 min) 후 방냉하여 사용하였다. 아로니아는 믹서기(HB-310, Hibell, Kyungki, Korea)로 파쇄하여 전체 원료 고형분의 10%가 되도록 2단 담금 시 원료와 함께 첨가하였다. 담금에 사용한 효모는 2 °Brix로 조제한 입국 당화액에 접종하여 종효모를 배양하였고, 주모배양 시 2%가 되도록 첨가하여 25°C, 48시간 배양하였다. 담금 비율은 Table 1과 같으며, 1단 담금은 25°C에서 48시간 배양 후 2단 담금 원료와 합쳐서 25°C에서 7일간 배양하면서 발효 경과를 분석하였다.

4. pH 및 산도 분석

pH는 pH meter(Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였고, 적정 산도는 여과한 시료 10 mL를 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 될 때까지 적정하여

Table 1. The mixing ratio of ingredients for preparing of makgeolli (Unit: g)

Step	Raw materials	Treatment ¹⁾			
		AK-0	AK-10	AA-0	AA-10
Mother culture	Ipguk	20	20	20	20
	Water	30	30	30	30
1 st mash	Ipguk	480	480	480	480
	Water	720	720	720	720
2 nd mash	Rice	2,000	1,750	2,000	1,750
	Nuruk	40	40	40	40
	Aronia		250		250
	Water	3,000	3,000	3,000	3,000

¹⁾ AK-0: *Makgeolli* prepared with *Ipguk* cultured by *Aspergillus kawachi* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipguk* cultured by *Aspergillus kawachi* with 10% aronia of steamed rice, AA-0: *Makgeolli* prepared with *Ipguk* cultured by *Aspergillus awamori* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipguk* cultured by *Aspergillus awamori* with 10% aronia of steamed rice.

이 때 소비된 값을 아래의 계산식에 의하여 초산(%)으로 환산하여 표시하였다(Hwang JH 2015).

$$\text{적정산도 (Acetic acid \%)} = \frac{\text{적정에 사용한 NaOH량 (mL)} \times F \times 0.006}{\text{시료 채취량 (g)}} \times 100$$

5. 환원당

막걸리의 환원당은 Dinitrosalicylic acid(DNS)법(Luchsinger & Comesky 1962)을 응용하여 측정하였다. 막걸리 여과액을 50배 희석한 시료 200 μ L와 DNS 용액 400 μ L를 2 mL tube에 넣어 혼합한 후 원심분리(8,000 \times g, 30 min)하여 상정액을 5 분간 끓는 물에 물중탕한 후 증류수 1 mL를 첨가하였다. 다시 혼합 후 원심분리하여 상정액을 UV-Vis Spectrophotometer (Optizen 2120UV, Mecasys Co., Daejeon, Korea)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 포도당을 표준물질로 상기와 동일한 방법으로 측정하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하여 구하였다.

6. 알코올 농도

막걸리의 알코올 농도는 국제청 주류분석법(Kim 등 2013)에 따라 증류법으로 측정하였다. 여과한 막걸리 100 mL를 500 mL 증류 플라스크에 넣고 물을 100 mL 가수한 후 증류시켜 100 mL volumetric flask에 70~80 mL 정도의 증류액을 받은 후 표정하여 15 $^{\circ}$ C에서 주정계를 넣어 알코올을 정량하였다.

7. 색도

색도 측정은 여과한 시료를 색차계(CR-300, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 3회 측정된 값의 평균값을 구하였다. 색도는 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness) 값으로 나타냈으며, 사용한 표준 백판의 색도는 L=96.12, a=+0.03, b=+2.22이었다.

8. 총 폴리페놀함량

Folin-Ciocalteu's 방법(Dewanto 등 2002)에 따라 여과된 시료 100 μ L에 50% Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 100 μ L를 가하고, 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 30분 간 반응시킨 다음 UV/VIS spectrophotometer(Optizen 2120UV, Mecasys Co., Daejeon, Korea)를 통해 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀화합물 함량은 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 작성한 표준곡선에 의하여 양을 환산하였고, gallic acid equivalent (mg GAE/100 mL)로 나타내었다.

9. DPPH 라디칼 소거활성

항산화 활성 측정은 전자 공여능(Electron donating ability, EDA)으로 측정하였으며, Blois(1958)법을 변형하여 측정하였다. 즉, 여과한 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH용액(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, 99% Ethanol 용액)(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.8 mL를 가한 후, vortexing mixer로 10 초간 진탕하고, 실온에서 30분 방치 후 UV-Vis Spectrophotometer(Optizen 2120 UV, Mecasys Co., Daejeon, Korea)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료 첨가구와 시료를 첨가하지 않은 대조구와 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

10. 관능평가

관능검사는 한국교통대학교 식품영양학과와 교원과 연구학생 31명을 대상으로 막걸리에 대한 소정의 관능평가 교육을 시행한 후 실시하였다. 막걸리는 면포로 여과한 후 알코올을 분석하여 6%(v/v)로 조정된 다음 5 $^{\circ}$ C에서 24시간 보관하여 냉각한 다음 평가에 제공하였으며, 관능 평가는 막걸리의 색상, 떫은맛, 쓴맛, 신맛, 단맛, 향, 전반적인 기호도에 대하여 5점 척도법(1점 대단히 싫다, 5점 대단히 좋다)으로 실시하였다.

11. 통계분석

실험결과는 3회 반복 측정하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, SPSS Ver 12.0 package program(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을

이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시한 후, 각 측정값 간의 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. pH 및 산도

입국을 달리하여 제조한 막걸리의 발효 경과 중 분석한 pH 및 산도의 변화는 Fig. 1, 2와 같다. 1단 담금액과 2단 담금액을 혼합한 담금 직후 *Asp. kawachi*로 제조한 입국의 아로니아 미첨가구(이하 AK-0)는 4.00, 첨가구(이하 AK-10)는 3.95 이었고, *Asp. awamori*로 제조한 입국의 아로니아 미첨가구(이하 AA-0)가 3.93, 첨가구(이하 AA-10)는 3.88로써 아로니아 첨가구의 pH가 다소 낮았으며, 발효경과에 따라 1일차에는 모두 급격히 낮아진 이후 점차 상승하여 7일차에 AK-0와 AK-10은 각각 3.87과 3.83이었으며, AA-0와 AA-10의 경우에는 3.82와 3.61로써 발효과정 중 전체적으로 *Asp. kawachi*로 제조한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori*로 제조한 막걸리의 pH가 다소 낮았다. 발효 1일차에 pH가 급격히 낮아진 것은 입국의 용해과정에서 산의 용출과 아로니아 과육으로부터 용출된 유기산에 의한 것으로 보이며, 아로니아를 농도별로 첨가하여 제조한 막걸리의 pH를 비교하였을 때 아로니아 첨가농도가 높을수록 pH가 저하되었으며, 아로니아를 파쇄하였을 때 생과를 첨가하는 것보다 발효초기에 pH가 더욱 낮아지는 것과 유사한 결과를 보여주었다(Lee 등 2015; Park 등 2016).

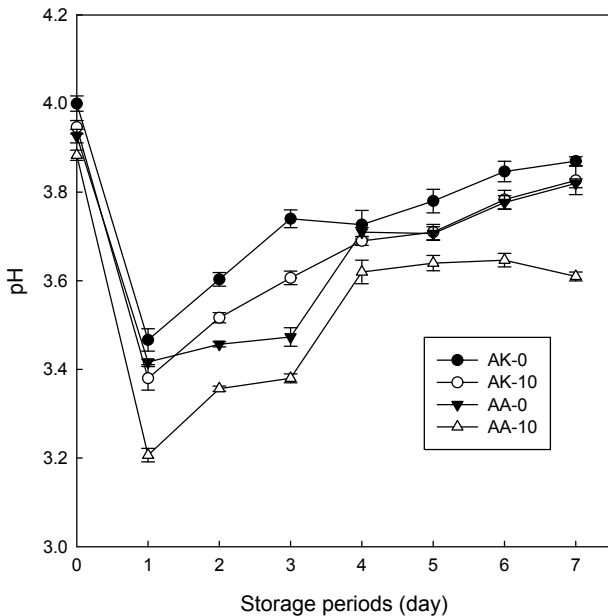


Fig. 1. Changes in pH of aronia makgeolli during fermentation period.

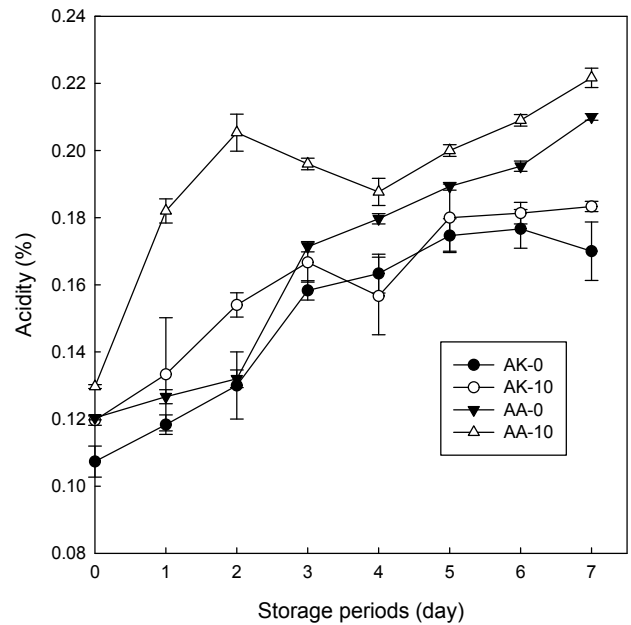


Fig. 2. Changes in acidity of aronia makgeolli during fermentation period.

입국의 종류에 따라 pH가 다르게 나타나는 것은 입국에 사용한 곰팡이의 산 생성력에 차이가 있는 것으로 보인다. 실험에 사용된 *Asp. awamori* KCCM 60246은 tannin으로부터 gallic acid를 생산하고, 구연산 생성력이 높아 오끼나와의 아와모리 소주 제조에 이용되는 곰팡이로 알려져 있으며(Ichishima 등 1973), 우리나라의 막걸리 제조에는 사용하지 않은 균이나 선행 연구(Noe 등 2004; Beena 등 2010; Chhokar 등 2010)에서 tannase 활성이 있는 균주로 선발되어 사용한 결과, *Asp. kawachi*의 입국에 비하여 산생성력이 높은 것으로 판단된다. 또한, 아로니아를 사용한 시험구가 두 균주 모두 대조구에 비하여 pH가 낮은 것은 아로니아 주스의 주요 성분으로 사과산이 5~19 g/L 정도 함유되어 있고, 평균 3.46~3.9 정도의 낮은 pH를 유지하고 있기 때문에 pH가 낮아진 것으로 보인다(Kulling & Rawel 2008).

산도의 경우(Fig. 2)에는 pH의 저하에 따라 산도가 증가하여 AK-0와 AK-10의 경우, 초기에 0.11과 0.12에서 점차 증가하여 발효 3일차에 0.16과 0.17로 증가한 이후 약간 증가하였으며, AA-0과 AA-10에서도 초기 산도 0.12와 0.13에서 점차 증가하여 발효 3일차에 최대 0.17과 0.20으로 되었다가 이후 완만하게 상승하였다.

일반적으로 막걸리 제조 시 사용되는 곰팡이 균주는 산생성력이 좋은 백국균을 사용하는 데, 이는 초기에 산생성력이 높은 균주를 사용함으로써 발효초기의 pH를 낮추어 잡균의 오염을 막기 위함이다. 두 균주 모두 산생성력이 우수하여 초기에 안전하게 발효가 진행하는데 적합한 것으로 보이며, 이

들은 아로니아 막걸리 발효 연구에서 보여주는 pH와 산도 변화와 유사하였으며(Lee 등 2015), 본 연구에서의 pH가 다소 낮은 이유는 안전 발효를 도모하기 위하여 입국의 사용비율이 높았기 때문인 것으로 보인다. 그러나 상대적으로 입국비율을 30%로 한 연구에서는 pH가 3.27~3.85인 것과 비교할 때 약간 높은 것으로 나타나(Lee 등 2014), 입국비율이 초기 pH에 영향을 미치는 것으로 생각되며, pH의 경우와 마찬가지로 발효과정 중 전체적으로 *Asp. kawachi*로 제조한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori*로 제조한 막걸리의 산도가 다소 높았던 것은 곰팡이 균주에 따른 입국의 산생성력의 차이로 판단된다.

2. 환원당

발효 경과 중 당 함량의 변화는 Fig. 3과 같다. 당 함량은 발효제로 사용한 입국의 당화력과 알코올 생성량과 관계가 깊다. 환원당 함량은 발효 초기에 증가하였다가 알코올의 생성에 따라 점차 감소하였다. 즉, AK-0와 AK-10의 경우는 발효 1일차에 최대 3.82%와 1.23%로 증가하였다가 점차 감소하여 발효 7일차에는 0.41%와 0.38%로 감소하였으며, AA-0와 AA-10의 경우에는 발효 1일차에 2.00%와 0.83%로 증가하였다가, 발효 7일차에 0.61%와 0.59%로 감소하여 발효 6일차 이후에는 알코올 발효가 거의 종료되는 것으로 나타났다. 이것은 입국에 의한 전분의 당화가 진행됨에 따라 1일차에 급격하게 상승하였다가 이후 알코올 발효가 본격적으로 진행되면서 당의 소비가 빠르게 진행된 것으로 볼 수 있으며, 아로니아 미첨가구에서 환원당 함량이 초기에 다소 높게 나온

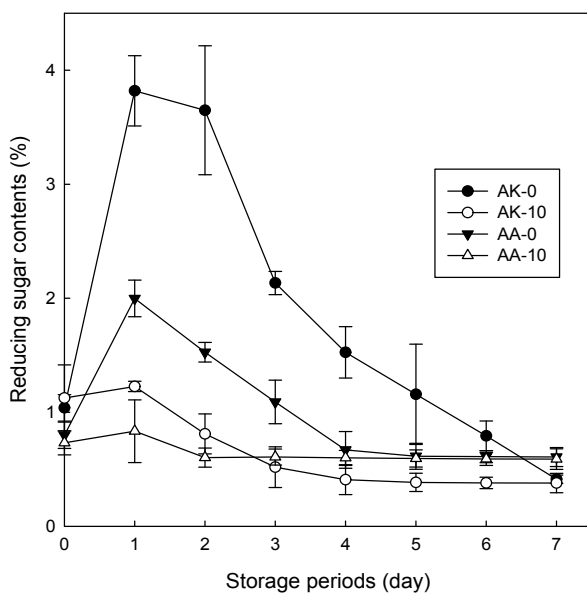


Fig. 3. Changes in reducing sugar contents of aronia *makgeolli* during fermentation period.

것은 실험구가 아로니아의 pH 영향을 받아 상대적으로 당화 속도가 낮았던 것으로 판단된다. 이는 아로니아를 농도별로 첨가한 막걸리 발효연구에서 아로니아를 첨가하지 않은 막걸리가 아로니아를 첨가한 막걸리에 비하여 초기에 환원당 함량이 높게 나오는 경향과 유사하였고(Lee 등 2015), pH가 낮은 오미자를 첨가한 막걸리 발효에서 본 담금 1일차에 오미자를 첨가하지 않은 대조구가 오미자 첨가구에 비하여 환원당 함량이 1% 가량 높게 나오는 것이 pH에 의한 영향으로 보고하고 있다(Song 등 2015).

3. 알코올

균주를 달리한 막걸리의 발효경과 중 알코올을 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 두 균주간의 입국을 달리하여 제조한 막걸리의 발효 경과 중 알코올 함량은 1단 담금과 2단 담금을 합친 초기의 알코올 함량은 AK-0와 AK-10은 4.4%와 4.0%이었고, AA-0와 AA-10은 5.6%와 4.7%이었으며, 발효경과에 따라 점차 증가하여 발효 7일차에 AK-0와 AK-10은 13.8%와 13.4%이었고, AA-0와 AA-10은 14.2%와 13.7%이었다. 입국만을 사용하였을 때 비하여 아로니아를 첨가한 막걸리에서 알코올 함량이 적게 나온 것은 아로니아 첨가구가 미첨가구에 비하여 상대적으로 전분질 함량이 적고 아로니아의 첨가로 인해 상대적으로 당분이 적기 때문에 알코올 생성량이 적은 것으로 보인다. 이러한 결과는 아로니아를 첨가하여 제조한 막걸리와 와인의 연구에서도 아로니아 첨가량이 증가할수록 알코올 함량이 적게 생산되는 것으로 나타났으며(Lee 등 2015; Yoon 등 2017), 파쇄한 아로니아를 10% 첨가한 막걸

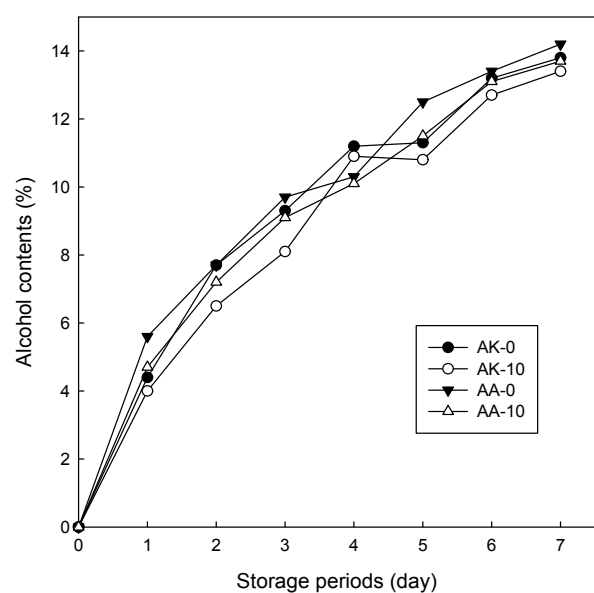


Fig. 4. Changes in alcohol contents of aronia *makgeolli* during fermentation period.

리 발효에서 6일차에 알코올 농도가 13%이었던 결과와 유사한 것으로 판단되었다.

4. 색도

아로니아를 첨가한 막걸리의 색도 변화를 측정된 값은 Table 2와 같다. 두 균주를 사용하여 제조한 막걸리의 여액으로부터 색차계를 이용하여 측정된 결과, 명도를 나타내는 L값(lightness)은 제조 직후에 AK-0, AK-10, AA-0, AA-10의 값이 각각 45.20, 42.09, 41.47, 50.22에서 발효경과에 따라 점차 증가하여 발효 7일차에는 각각 65.50, 66.45, 64.82, 67.32로 시간 경과에 따라 점차 증가하는 경향이였다. 모든 시료가 유사한 수준의 값으로 증가하였는데, 아로니아를 첨가한 시험구가 첨가하지 않은 대조구에 비해서 초기의 밝기가 빠르게 증가하였다. 이는 측정 시료가 여과액의 시료이므로 아로니아 과육의 색상은 어둡지만, 초기 알코올 발효에 의해 용해된 액과 같이 추출된 액의 맑은 부분이 측정되므로 아로니아의 색상은 초기에 용해되어 발효액 중에 추출되는 것으로 보인다.

적색도인 a값(redness)의 경우에는 제조 직후에 AK-0, AK-10, AA-0, AA-10의 값이 각각 0.30, 4.19, 0.34, 7.11에서 발효경과에 따라 점차 감소하여 발효 7일차에는 각각 -2.01,

0.84, -2.09, 1.70으로 발효초기에 비해 감소하였으며, 적색도의 값이 감소하는 것은 발효가 진행되면서 원료인 쌀이 용해되어 알코올로 변하면서 초기에 비해 발효액의 농도가 묽어지고 색상이 연해지는 것으로 보이며, 아로니아 첨가구가 대조구에 비하여 a값이 높은 것은 아로니아가 갖는 색소에 의한 것으로 보인다.

아로니아와 같은 색소를 지닌 식물은 안토시아닌 색소에 의해 적색에서 자색에 이르기까지 폭넓은 스펙트럼을 지니고 있어 이에 따른 색소의 용출에 의하여 적색 값을 나타내며, 아로니아를 파쇄하여 막걸리를 제조하였을 때 a값이 발효경과에 따라 낮아지는 것으로 보고한 내용과 일치하였다 (Lee 등 2015).

황색도인 b값(yellowness)의 경우에는 제조 직후에 AK-0, AK-10, AA-0, AA-10의 값이 각각 4.29, 2.44, 1.93, 0.42에서 발효경과에 따라 점차 증가하여 발효 7일차에는 각각 10.58, 9.29, 8.22, 9.00으로 점차 b값이 증가하였는데, 이것은 발효경과에 따라 술덧의 물성이 묽어지면서 아로니아와 입국의 용해로부터 황색도가 증가하는 것으로 해석되며, 발효 7일차의 막걸리를 비교 시 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 막걸리가 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리에 비해서 약간 높게 나왔으나, 큰 차이가 없이 유사한 수준으로 나타났다. 이와 같은 결과는

Table 2. Colorimetric characteristics of aronia *makgeolli* during fermentation period

Storage period (day)	Treatment ¹⁾				
	AK-0	AK-10	AA-0	AA-10	
L	0	45.20±0.89 ^{bd2)}	42.09±0.77 ^{cd}	41.47±0.09 ^{cd}	50.22±0.79 ^{ad}
	1	44.76±0.87 ^{cd}	56.54±0.34 ^{bc}	43.26±0.28 ^{dc}	61.38±0.11 ^{ac}
	3	47.63±1.37 ^{dc}	63.30±0.40 ^{bb}	52.35±0.07 ^{cb}	65.37±0.44 ^{ab}
	5	67.36±0.46 ^{aa}	62.72±1.57 ^{cb}	64.33±0.83 ^{ba}	67.02±0.10 ^{aa}
	7	65.50±1.22 ^{bcB}	66.45±0.64 ^{abA}	64.82±1.82 ^{ca}	67.32±0.14 ^{aa}
a	0	0.30±0.09 ^{ca}	4.19±0.28 ^{ba}	0.34±0.13 ^{ca}	7.11±0.01 ^{aa}
	1	-0.30±0.18 ^{cb}	2.88±0.02 ^{bb}	-0.62±0.06 ^{db}	3.05±0.06 ^{ab}
	3	-0.71±0.05 ^{cc}	2.81±0.03 ^{ab}	-0.80±0.03 ^{dc}	1.72±0.10 ^{bd}
	5	-0.66±0.04 ^{cc}	1.32±0.03 ^{bc}	-1.28±0.03 ^{dd}	1.80±0.04 ^{ac}
	7	-2.01±0.03 ^{cd}	0.84±0.02 ^{bd}	-2.09±0.02 ^{de}	1.70±0.01 ^{ad}
b	0	4.29±0.33 ^{ae}	2.44±0.25 ^{be}	1.93±0.13 ^{cd}	0.42±0.12 ^{de}
	1	5.96±0.51 ^{bd}	5.67±0.21 ^{bd}	2.78±0.18 ^{cc}	6.64±0.04 ^{ad}
	3	7.55±0.08 ^{bc}	8.06±0.03 ^{ac}	3.02±0.15 ^{cc}	7.95±0.04 ^{ac}
	5	9.04±0.04 ^{ab}	8.84±0.33 ^{ab}	4.02±0.20 ^{cb}	8.47±0.01 ^{bb}
	7	10.58±0.09 ^{aa}	9.29±0.08 ^{ba}	8.22±0.27 ^{da}	9.00±0.01 ^{ca}

¹⁾ AK-0: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus kawachi* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus kawachi* with 10% aronia of steamed rice, AA-0: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus awamori* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus awamori* with 10% aronia of steamed rice.

²⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-d}) and a column (^{A-E}) were significantly different ($p < 0.05$).

아로니아 막걸리의 안토시아닌 색소의 안정성 연구에서도 b 값은 발효경과에 따라 증가하였고, 안토시아닌 색소의 안정성은 β -glucosidase 등 배당체 분해효소 활성, 온도, 광, pH 및 효소제 등의 영향에 의해 분해가 촉진되며, 개량입국을 사용한 경우가 재래식 누룩을 사용한 것에 비하여 색소안정성이 높다고 보고하여(Yoon 등 1997) 입국을 사용한 본 실험결과가 동일한 결과를 보여주었다.

5. 총 폴리페놀

아로니아를 첨가한 막걸리의 총 폴리페놀 함량은 Fig. 5와 같다. 제조 직후에 AK-0, AK-10, AA-0, AA-10의 값은 각각 18.63, 24.93, 18.63, 20.93 mg%로써 두 균주의 입국 모두에서 아로니아를 첨가한 막걸리가 첨가하지 않은 막걸리에 비하여 다소 높았다. AK-0와 AK-10은 발효시간 경과함에 따라 점차 증가하여 발효 7일차에 각각 34.53 및 42.47 mg%로 증가하였으나, AA-0와 AA-10은 발효시간 경과에 따라 발효 1일차에 낮아졌다가 2일차 이후 약간 증가하여 유사한 수준으로 유지되면서 발효 7일차에 각각 21.80 및 26.73 mg%로 되어, *Asp. kawachi* 입국으로 제조한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리는 폴리페놀 함량이 유의성 있게 낮은 수준을 보여주었다. 누룩을 이용한 막걸리 발효에서 아로니아의 첨가량을 아로니아를 10~50% 첨가한 결과, 폴리페놀 함량이 발효경과에 따라 10% 첨가 시에는 점차 증가하였으나, 파쇄한 아로니아를 30 및 50% 첨가 시에는 발효 2일차에 낮아졌다가 다시 증가하였으나 발효 초기에 비해 낮아졌으며,

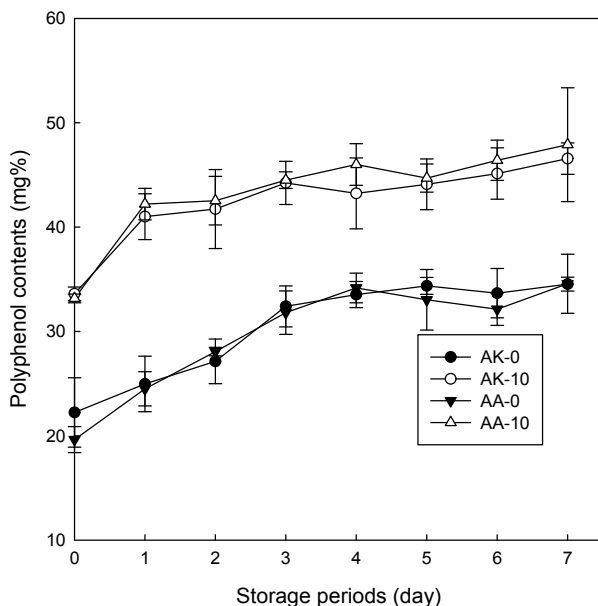


Fig. 5. Total polyphenol contents of aronia *makgeolli* during fermentation period.

발효경과 시 폴리페놀 함량의 증가는 누룩에 함유된 미생물의 효소 작용에 의하여 수용성 물질의 증가에 의한 것으로 보고하고 있다(Lee 등 2015, Park 등 2016).

본 연구에서는 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 경우에는 유사한 결과를 보여 주었으나, *Asp. awamori* 입국을 사용한 경우는 폴리페놀이 크게 증가하지 않았다. 한편 토양, 해수로부터 분리한 *Asp. niger*와 *Asp. awamori* 균주가 *Aspergillus* sp.의 다른 종류나 *Penicillium* sp.의 곰팡이에 비하여 강력한 tannase를 분비한다고 보고하고 있어(Beena 등 2010; Chhokar 등 2010; Noe 등 2004), *Asp. awamori*의 입국에 의한 막걸리가 폴리페놀 함량이 상대적으로 낮은 것은 입국에 사용한 균주의 tannase 활성의 차이에 의한 것으로 생각되었다.

6. DPPH 라디칼 소거활성

균주를 서로 달리한 입국으로 제조한 아로니아 막걸리 발효 중의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. AK-10, AA-0, AA-10의 DPPH 라디칼 소거활성은 각각 14.32, 35.77, 24.32, 40.95%이었으며, 발효경과에 따라 점차 증가하여 발효 7일째에는 각각 25.08, 49.12, 34.54, 59.25%로 증가하였고, 아로니아를 첨가한 AK-10과 AA-10 시험구가 아로니아를 첨가하지 않은 AK-0와 AA-0의 대조구에 비하여 높은 값을 나타내었으며, *Asp. kawachi*의 입국을 사용한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리가 더 높은 값을 나타내었다.

일반적으로 우리나라는 오랫동안 누룩과 *Asp. kawachi*를

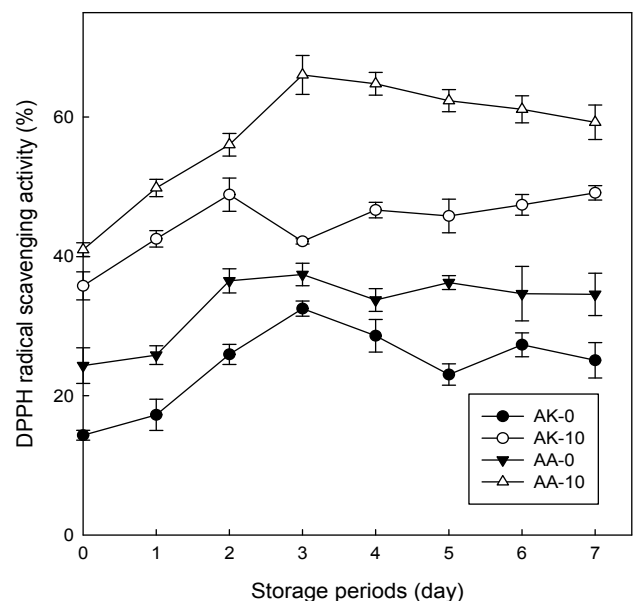


Fig. 6. DPPH radical scavenging activity of aronia *makgeolli* during fermentation period.

이용한 입국을 사용하여 막걸리를 제조하여 왔으며, 재래누룩을 이용한 흑미 막걸리의 발효과정에서 DPPH 라디칼 소거능은 흑미 함량에 따라 5.64~57.50%로 나타났으며(Kim 등 2012), 입국을 사용한 오미자 막걸리 제조에서 오미자를 첨가한 막걸리가 첨가하지 않은 대조구에 비하여 발효 폴리페놀 함량(1.83~5.96 mg GAE/mL)과 DPPH 라디칼 소거능(21.5 mg/mL~15.9 mg/mL)이 유의적인 양의 상관관계를 보인다고 보고하였으나(Song 등 2015), 발효 종료 후의 시료만을 측정하여 발효경과 중의 상관성을 비교할 수 없었다. 누룩과 아로니아를 사용한 막걸리 제조 연구에서 아로니아 첨가량에 따라 DPPH 라디칼 소거능이 49.73~91.53%로 증가하였다고 보고하여 발효 6일차에 총 폴리페놀 함량은 감소하였으나, DPPH 라디칼 소거능은 증가한 것으로 보고하여(Lee 등 2015) 본 연구결과와 일치하였으며, Oszmianski & Wojdylo(2005)가 제시한 총 폴리페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능과 비례한다는 결과와는 상이하였다. 이것은 아로니아를 생과형태로 분석한 것과 달리 발효과정에서 미생물 효소에 의해 페놀성 물질의 분해가 일어나면서 페놀 함량은 감소하지만, 분해산물에 의한 항산화능이 증가하는 것으로 보여진다. 이러한 결과는 tannase에 의해 유리된 gallic acid는 유의적으로 항산화 효과를 증대시키며, 녹차의 tannase처리 시 라디칼 소거능의 향상은 효소처리에 의한 카테킨의 구조 변화에 기인한다는 연구 보고(Lu 등 2008)와 열대과일인 라이치(*Litchi chinensis*)의 과피가 함유된 배지에서 *Asp. awamori*를 배양한 결과, 총 페놀성 물질은 감소하였으나, DPPH 라디칼 소거능은 배양 초기 19.5±1.12%에서 6일간 배양 후 36.82±2.19%로 증가하는 것을 확인된 바(Lin 등 2012)와 같이 *Asp. awamori*에 의한 입국을 이용한 아로니아 막걸리의 발효과정에서는 입국의 tannase에 의하여 총 폴리페놀의 함량은 감소하지만, DPPH 라디칼 소

거능은 증가하는 것으로 판단되었다.

7. 관능검사

입국 제조에 사용한 곰팡이를 달리하여 파쇄한 아로니아와 함께 발효한 막걸리에 대하여 관능검사를 한 결과는 Table 3과 같다. 전체적인 막걸리의 관능 품질을 비교할 때 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리가 신맛이 좀 더 강한 것으로 나타났으며, 쓴맛과 감미는 약간 낮은 것으로 나타났다. 향미에 대하여는 두 종류의 막걸리가 거의 동등 수준으로 표현되었다. 색상의 경우에는 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 막걸리에 비하여 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리의 선호도가 좀 더 높았는데, *Asp. awamori* 입국의 경우, 완성된 상태가 밝은 노란색이 혼재되어 있는 수준이었으므로 발효과정에서 입국의 용해에 따라 밝은 색상이 나타나면서 막걸리의 색상의 선호도에 영향을 미친 것으로 보여진다. 떫은맛의 경우에는 *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리가 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 막걸리에 비하여 뚜렷하게 적었고, 전체적으로 떫은맛이 없어서 부드러운 풍미를 나타내었으며, 이는 *Asp. awamori* 입국의 tannase 작용에 의해 아로니아의 탄닌이 분해되어 페놀성 물질이 감소됨으로써 떫은맛이 감소되는 것으로 보여진다. 이에 대한 영향으로 전체적인 풍미에서는 *Asp. kawachi* 입국을 사용한 막걸리에서는 쓴맛과 떫은맛이 감지되어 막걸리의 관능 품질에 좋지 않은 영향을 끼치는 것으로 나타났으며, *Asp. awamori* 입국을 사용한 막걸리의 경우에는 떫은맛이 느껴지지 않아, 부드러운 느낌으로 선호도가 상대적으로 높았다. 따라서 향후 tannase 활성이 있는 *Asp. awamori*와 같은 균주를 막걸리의 입국으로 이용함으로써 아로니아와 같이 기능성이 우수하지만 떫은맛을 내는 원료를 사용할 수 있는 기

Table 3. Sensory evaluation of aronia *makgeolli* prepared with different microorganism

	Treatment ¹⁾			
	AK-0	AK-10	AA-0	AA-10
Sourness	3.43±0.57 ^{b2)}	3.67±0.61 ^{ab}	3.83±0.65 ^a	3.70±0.47 ^{ab}
Bitterness	3.83±0.59 ^a	3.80±0.71 ^a	3.53±0.63 ^a	3.63±0.56 ^a
Astringency	3.80±0.55 ^a	3.90±0.61 ^a	2.77±0.43 ^b	2.93±0.37 ^b
Sweetness	2.67±0.48 ^a	2.57±0.50 ^a	2.47±0.51 ^a	2.43±0.50 ^a
Flavor	3.43±0.50 ^a	3.30±0.53 ^a	3.43±0.63 ^a	3.40±0.50 ^a
Color	3.10±0.40 ^b	3.43±0.63 ^a	3.50±0.51 ^a	3.67±0.48 ^a
Overall acceptance	3.33±0.55 ^{bc}	3.10±0.48 ^c	3.57±0.50 ^{ab}	3.67±0.48 ^a

¹⁾ AK-0: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus kawachi* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus kawachi* with 10% aronia of steamed rice, AA-0: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus awamori* without aronia, AK-10: *Makgeolli* prepared with *Ipkuk* cultured by *Aspergillus awamori* with 10% aronia of steamed rice.

²⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-c}) was significantly different ($p < 0.05$).

술 개발이 필요할 것으로 생각된다.

요약 및 결론

막걸리 제조에 사용하는 효소원으로 *Asp. kawachi*(AK)와 tannase 활성이 있는 *Asp. awamori*(AA)를 이용하여 제조된 입국과 원료량의 10%에 해당되는 아로니아를 사용하여 제조된 막걸리를 7일간 발효하면서 이화학적 특성을 측정하였다. 발효 경과에 따라 pH는 모두 감소하는 경향이었으며, 발효 7일째 AA 막걸리의 산생성이 다소 높은 것으로 나타났다. 환원당 함량은 모두 발효 1일차에 증가하였다가 점차 감소하였고, 발효 7일차에는 0.38~0.61% 범위로 거의 유사한 수준이었다. 알코올 함량은 발효경과에 따라 점차 증가하여 발효 7일차에 13.4~14.2 v/v% 수준에 달하였으며, 아로니아를 첨가한 막걸리의 알코올 생성이 다소 적은 것으로 나타났다. 색도의 경우에는 발효시간이 경과함에 따라 L(lightness)은 전체적으로 높아졌으며, 아로니아 첨가구의 L값이 빠르게 증가하였다. a값(redness)은 점차 감소하였고, 아로니아 첨가구가 다소 높게 나왔으며, b값(yellowness)은 점차 증가하였고 AA 막걸리가 높은 값을 나타냈다. 총 폴리페놀의 함량은 AK 막걸리의 경우에는 발효경과에 따라 점차 증가하였으나, AA막걸리의 경우는 발효초기에 비하여 크게 증가하지 않았으며, AK 막걸리에 비하여 낮은 값을 유지하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 아로니아를 첨가한 막걸리에서 높게 나타났으며, AK 막걸리에 비하여 AA막걸리의 항산화 활성이 높게 나왔다. 관능검사에서는 AK 막걸리에서는 입국의 특성에 따른 쓴맛과 아로니아로부터 유래하는 떫은맛으로 인해 기호성이 저하되었으나, AA 막걸리에서는 떫은맛이 거의 느껴지지 않을 정도로 약하여 거부감이 없고 관능 품질이 양호하였다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 한국교통대학교 교내학술연구비의 지원을 받아 수행한 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

References

- Beena PS, Soorej KK, Elyas KK, Bhat Sarita G, Chandraserkan. 2010. Acidophilic tannase from marine *Asergillus awamori* BTMFW032. *J Microbiol Biotechnol* 20:1403-1414
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1203
- Chae SK, Yu TJ. 1973. Studies on the hydrolysis of tannin in food by fungal tannase. *Korean J Food Sci Technol* 5:258-267
- Chhokar V, Sangwan M, Beniwal V, Nehra K, Nehra KS. 2010. Effect of additives on the activity of tannase from *Aspergillus awamori* MTCC9299. *Appl Biochem Biotechnol* 160:2256-2264
- Dewanto V, Xianxhong W, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:4959-4964
- Heo JK. 2011. A folklore study on the decrease in the consumption of *makgeolli* in the 1970s-1980s in South Korea. A Master's Thesis of College of Humanities, Jung-ang Univ. Korea. pp.1-98
- Yu KW, Min HI, Moon SH, Shin EH, Hwang JH. 2016. Fermentative characteristics and antioxidant activity of aronia (*Aronia melanocarpa*) *makgeolli* prepared with *Ipguk* cultured by *Aspergillus awamori*. 2016 KFN International Symposium and Annual Meeting. pp.06-35
- Ichishima E, Yamane A, Nitta T, Kinoshita M, Nikkuni S, Oka T, Yokoyama S. 1973. Production of a new type of acid carboxypeptidase of molds of the *Aspergillus niger* group. *Appl Microbiol* 26:327-331
- Jeon MH, Lee WJ. 2011. Characteristics of blueberry added *makgeolli*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:444-449
- Kim BH, Eun JB. 2012. Physicochemical and sensory characteristics of *makgeolli* with pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate added. *Korean J Food Sci Technol* 44:417-421
- Kim EK, Chang YH, Ko JY, Jeong YH. 2013. Physicochemical and microbial properties of Korean traditional rice wine, *makgeolli*, supplemented with mulberry during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1682-1689
- Kim EK, Chang YH, Ko JY, Jeong YH. 2013. Quality characteristics of *makgeolli* added with kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1821-1828
- Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. 2007. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added *takju* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 39:266-271
- Kim OS, Park SS, Sung JM. 2012. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:1693-1700
- Ko, JY, Kim HY, Choi TH. 2012. A study on distinctions between *makgeolli* and wine of purchase intention for health awareness and benefits. *Journal of Hotel & Resort* 11:203-220

- Kulling SE, Rawel HM. 2008. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristics components and potential health effects. *Planta Med* 74:1625-1634
- Lee AR, Oh EY, Jeong YJ, Noh JG, Yoon HS, Lee KY, Kim YG, Eom HJ. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of aronia (*Aronia melanocarpa*) *makgeolli* prepared with the additive methods. *Korean J Food Nutr* 28:602-611
- Lee DH, Kim JH, Lee JS. 2009. Effect of pears on the quality and physical functionality of *makgeolli*. *Korean J Food & Nutr* 22:606-611
- Lee SA, Kim GW, Hwang ES, Shim JY. 2014. Stability of anthocyanin pigment in aronia *makgeolli*. *Food Engineering Progress* 18:374-381
- Lee SJ, Shin WC. 2011. Physiological functionalities of *makgeolli* (Korean paradox). *Food Science and Industry*
- Nam JS, Han YJ, Yeo SM. 2015. Antioxidant and antimicrobial activities of various berry juices. *Korean J Food Nutr* 28:328-334
- Noe AC, Cruz M, Rodriguez R, Sanchez GG, Coronel AR, Augur C. 2004. Catechin degradation by several fungal strains isolated from mexican desert. *J Microbiol Biotechnol* 14: 426-429
- Oszmianski J, Sapis JC. 1988. Anthocyanins in fruits of *Aronia melanocarpa* (chokeberry). *Journal of Food Science* 53: 1241-1242
- Oszmianski J, Wojdylo A. 2005. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 221: 809-813
- Park MJ, Kim HK, Choi KK, Koo BY, Lee SK. 2016. Fermentation characteristics of *makgeolli* containing aronia *Aronia melanocarpa*, black chokeberry). *Korean J Food Sci Technol* 48:27-35
- Seo SH, Park SE, Yoo SA, Son HS. 2014. Quality characteristics of *makgeolli* supplemented with pineapple. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1283-1288
- Song YR, Lim BU, Song GS, Baik SH. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of *makgeolli* supplemented with *omija* berries (*Schizandra chinensis* Baillon). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:328-335
- Yeo SH, Jeong YJ. 2010. Current trends and development a plan in the Korean *makgeolli* industry. *Food Sci & Industry* 43: 55-64
- Yoo TJ. 1981. Korean Famous Wine. Central New Book. Seoul. Korea. pp.1-96
- Yoon HS, Park HJ, Park JH, Jeon JO, Jeong CW, Choi WI, Kim SD, Park JM. 2017. Quality characteristics and volatile flavor components of aronia wine. *Korean J Food Nutr* 30: 599-608
- 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 11 December, 2017

Revised 03 January, 2018

Accepted 12 January, 2018