

# 연잎(*Nelumbo nucifera*) 분말을 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 품질 특성 및 항산화 활성

김소희<sup>1,2</sup> · 전은비<sup>1,2</sup> · 송민규<sup>1,2</sup> · 박신영<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>경상국립대학교 해양산업연구소, <sup>2</sup>경상국립대학교 해양식품공학과

## Quality Characteristics and Antioxidant Activity of the Traditional Korean Rice Wine *Makgeolli* Containing Lotus Leaf *Nelumbo nucifera* Powder During Fermentation

So Hee Kim<sup>1,2</sup>, Eun Bi Jeon<sup>1,2</sup>, Min Gyu Song<sup>1,2</sup> and Shin Young Park<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Seafood Science and Technology, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Republic of Korea

As an aquatic plant, the lotus leaf *Nelumbo nucifera* is rich in polyphenols, carotenoids, and flavonoids. We analyzed the chemical (pH, acidity, sugar, alcohol), microbiological (lactic acid bacteria, yeast), and antioxidant activity of *Makgeolli* supplemented with 5% and 10% lotus leaf (ll) during fermentation for 7 days. The pH of the non-additive group (control) was 3.10–6.03, that of the 5% added group was 3.17–5.77, and that of the 10% added group was 3.27–5.70, which decreased significantly ( $P < 0.05$ ) as the fermentation time elapsed. The acidity and sugar content were 1.89–2.12% and 9.10–12.90 Brix, respectively, which were significantly higher ( $P < 0.05$ ) as the amount of added ll increased. The alcohol content was 5.90–7.20% and was the highest on the seventh day of fermentation. The lactic acid bacteria was 6.07–7.17 log CFU/mL, which was higher in ll *Makgeolli*. Yeast increased until day 3 and then decreased to 3.27–5.86 log CFU/mL. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical scavenging activities were higher in ll *Makgeolli* (DPPH 68.72–81.48%, ABTS 90.71–91.67%). In this study, the commercialization potential of ll *Makgeolli* was expanded by enhancing the quality and antioxidant function of *Makgeolli* added with ll.

Keywords: Lotus leaf, *Makgeolli*, Alcohol, Lactic acid bacteria, Antioxidant

### 서론

연(*Nelumbo nucifera*)은 수생식물 중 부엽식물에 속하는 식물로서, 인도와 중국을 중심으로 온대지역에서 열대지역까지 널리 분포하고 있다. 연잎은 맛이 쓰고, 성질이 유하기 때문에 우리나라를 포함하는 동아시아에서는 예부터 식품 재료 및 위염, 치질, 출혈, 설사, 두통, 야뇨증, 해독작용에 쓰이는 등 민간 치료제로 사용했었다(Moon et al., 2016). 특히, 연잎에는 비타민C, 폴리페놀, 카로티노이드, 플라보노이드, 토코페롤 등의 화합물이 풍부하게 함유되어 있다(Shin et al., 2019). 연잎의 카로티노이드와 비타민C는 자유 라디칼을 제거함으로써, 암, 백내

장 등 예방 및 노화방지에도 효과적이다. 플라보노이드는 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxide, catalase 등의 항산화 효소의 활성을 증가시키며, 지질 과산화와 low density lipoprotein (LDL)의 산화를 방지한다(Lee et al., 2012). 또한, 연잎에 항산화 활성이 존재하는 이유는 연잎에 함유되어 있는 폴리페놀 성분이 항산화, 항균 등의 생리활성 작용을 하기 때문이다. 다양한 연잎의 효능으로 인해 생 연잎을 이용한 탁주 및 약주를 개발한 연구(Kong et al., 2011; Yoo, 2011; Choi et al., 2016) 등이 이미 보고되었다. 또한, 이외에도 연잎의 기능성에 대한 연구에는 연잎의 지질저하 효과(Kim et al., 2005; Shin and Han, 2006), 연잎 추출물의 항산화 효과(Lee et al., 2006)가

\*Corresponding author: Tel: +82. 55. 771. 9143 Fax: +82. 55. 772. 9149

E-mail address: sypark@gnu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0769>

Korean J Fish Aquat Sci 55(6), 769-776, December 2022

Received 3 June 2022; Revised 14 July 2022; Accepted 22 September 2022

저자 직위: 김소희(대학원생), 전은비(대학원생), 송민규(대학원생), 박신영(교수)

있으며, 연잎을 활용한 식품연구에는 연잎 분말을 첨가한 어묵(Shin, 2007), 두부(Park et al., 2009a), 식빵(Park et al., 2009b), 증편(Kim, 2006) 등이 보고되었다.

막걸리는 우리나라에서 가장 오래된 역사를 가진 대표적인 전통 주류로서, 쌀과 보리, 찹쌀 등으로 밥을 찌서 누룩과 물을 첨가하여 일정 온도에서 발효한 곡류 기반 술이다. 누룩이 전분을 당화효소(α-amylase)로 당화시킨 용액에 효모를 작용시켜 당을 섭취하여 에너지를 얻는 과정에서 분해 부산물로 알코올과 탄산가스가 생산되어 알코올 발효가 동시에 이루어지는 병행복발효주가 된다(Kim and Park, 2019). 막걸리에는 탄수화물, 단백질, 지방, 식이 섬유, 비타민 등 영양성분이 많이 함유되어 있다. 또한, 각종 폴리페놀 화합물, 유산균과 효모가 다량 포함되어 있으며(Song et al., 2015), 향산화(Le, 2020), 항암(Shin et al., 2008), 혈행 및 지질개선(Shin et al., 2010), 면역증강(Rhee et al., 2014) 등 다양한 생리활성 효과가 보고되고 있다. 이외에도 피부 개선(Lee et al., 2012), 비만 예방 효과(Kang et al., 2016)도 있다는 보고가 있다. 이러한 막걸리의 효능으로 인해 막걸리의 수요가 점점 증가하는 추세이며, 파인애플(Seo et al., 2014), 파프리카(Kim et al., 2013), 단호박(Kim et al., 2021) 등과 같은 농산물을 이용한 막걸리 연구는 다양하다. 최근, 청각(Jeon et al., 2019), 가시파래(Kim et al., 2020)와 같이 해조류를 활용한 막걸리 개발 연구 보고가 있지만 다양한 수산식물을 활용한 막걸리에 관한 연구확대가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 막걸리의 풍미와 향산화 효능을 더하기 위하여 시중에 유통되고 있으며 연중 언제 어디서나 사용이 가능한 연잎 분말을 비울 별로 첨가하여 제조하였다. 또한, 이에 따른 이화학적(pH, 당도, 총산도, 알코올) 및 생물학적(유산균수, 효모수) 특성과 향산화 활성을 분석하여 우리나라 전통적인 막걸리의 우수성을 알리고 연잎분말 첨가 막걸리에 대한 소비자의 기호성을 확대시키고 제품화를 위한 기초자료로 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 원료 및 균주

본 실험에 사용한 연잎 분말은 경북 영천에서 제조된 국내산 연잎 100% 분말을 사용하였고, 막걸리 제조를 위한 쌀은 시중에 판매되고 있는 일반 백미를 구입하여 사용하였다. 발효균주는 시중에 판매되고 있는 우리밀 전통누룩 소울곡(300 sp 이상; Songhaggogja, Gwangju, Korea)을 사용하였다.

### 연잎 분말 막걸리의 제조

연잎 분말 막걸리의 제조과정은 Fig. 1과 같다. 연잎 분말 막걸리를 제조하기 위하여 쌀을 깨끗이 씻은 후 약 12시간 정도 물에 불리고, 쌀을 체에 받쳐 3시간 동안 물기를 제거하였다. 물기를 제거한 쌀을 찜통에 넣고 100°C에서 50분 증자 후 뜸을 들여 고

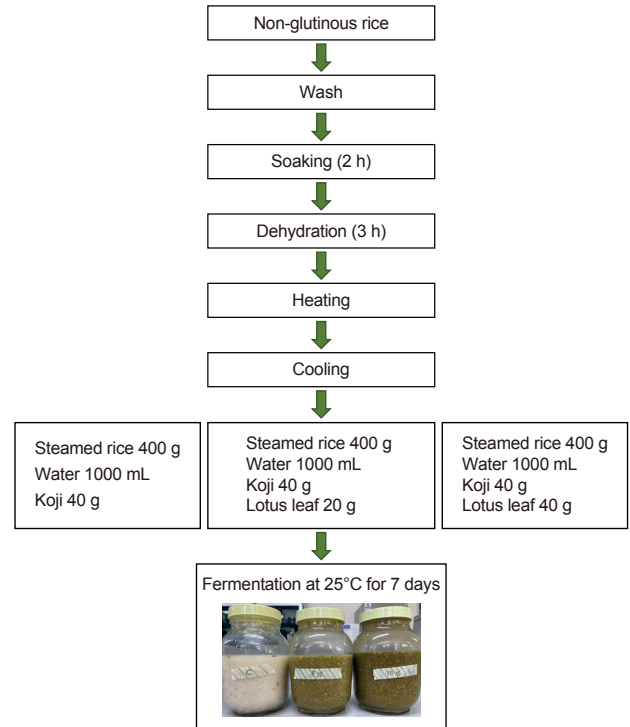


Fig. 1. A flow diagram for the preparation of *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder.

두밥을 만들고 실온에 방냉하였다. 대조구는 고두밥 400 g, 누룩 40 g, 물 1000 mL, 연잎 막걸리는 고두밥 400 g, 누룩 40 g 및 물 1000 mL와 함께 쌀 중량의 연잎 분말 20 g (5%)과 40 g (10%)을 각각 멸균된 유리병에 넣고 골고루 섞어준 후  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에 7일간 발효하였다. 1일 1회 교반 하면서 발효하였으며, 7일간의 발효기간 동안 막걸리의 이화학적, 미생물학적 및 향산화 활성을 평가하였다.

### pH 및 산도 측정

pH는 막걸리 10 mL를 원심분리기(SUPRA22K; Hanil Science Industrial Co., Gimpo, Korea)로 원심분리한 후 상등액을 취하여 pH meter (A211; Thermo Orion, Benchtop, MI, USA)를 이용하여 측정하였다. 산도는 시료 10 mL에 증류수 90 mL를 넣어 희석한 후, 희석된 시료액 20 mL를 삼각플라스크에 넣고 1% phenolphthalein 지시약을 2-3 방울 떨어뜨린다. 0.1 N NaOH 적정용액으로 담홍색이 나타날 때까지 적정하였다. 다음과 같은 Lactic acid 함량식(%)으로 계산하여 결과를 나타냈고, pH와 산도는 3회 반복 측정 후 평균값으로 도출하였다.

산도(%)=

$$\frac{0.009 \times \text{NaOH 소비량(mL)} \times \text{NaOH역가} \times \text{희석배수}}{\text{시료의 부피(mL)}} \times 100$$

### 당도와 알코올 함량 측정

당도는 막걸리 10 mL를 원심분리기로 원심분리한 후 상등액을 취하여 전자 당도계(PAL-1; ATAGO Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 알코올 함량 측정은 국세청주류면허지원센터(National Tax Service Liquor License Support Center)에 따라 실시하였다. 메스실린더에 시료 100 mL를 취하여 증류용 플라스크에 옮기고, 이 메스실린더를 약 10 mL의 증류수로 3회 씻은 후 그 액을 증류용 플라스크에 넣어 알코올을 증류하였다. 증류액이 70 mL가 되면 증류를 중지하고 증류수를 넣어 100 mL까지 정용한 후 15°C에서 주정계(211-DK-12; Deakwang, Seoul, Korea)로 측정하여 0.1도 당 알코올 온도환산표를 통하여 알코올 값을 측정하였다.

### 유산균 및 효모수 측정

유산균과 효모수 측정은 막걸리 시료 1 mL와 멸균 생리 식염수 9 mL를 10진 희석법에 따라 희석하여 그 시료액을 사용하여 실험하였다. 유산균은 희석된 시료액 1 mL와 Lactobacillus MRS (Difco Co., Detroit, MI, USA)를 petri dish에 분주하여 균일하게 혼합한 후 37°C에서 48-72시간 배양하였다. 효모수 또한 동일한 방법으로 실험하고 시료액 1 mL와 potato dextrose agar (Difco Co.)를 petri dish에 분주 후 균일하게 혼합하여 25°C에서 5-7일간 배양 후 황색 집락을 계수하였다. 각 생성된 집락의 단위는 시료 1 mL당 colony forming unit (CFU/mL)으로 표시하였다.

### 향산화 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능은 Kang et al. (2016)의 연구를 바탕으로 실험을 진행하였다. 시험용액은  $1.5 \times 10^{-4}$  DPPH 시약(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 에탄올을 혼합하여 제조하였다. 막걸리 시료는 원심분리(8000 rpm, 3분)한 후 시료의 상등액과 DPPH 용액을 각각 100  $\mu$ L씩 1:1로 혼합하고 냉장고에서 30분 방치 후 분광광도계(Spectronic2D; Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 연잎 무첨가군과 연잎 첨가군의 흡광도를 구하여 아래와 같이 백분율(%)로 표시하였다.

DPPH 라디칼 소거활성(%)=

$$\frac{(A_{517} \text{ of control} - A_{517} \text{ of sample})}{(A_{517} \text{ of control})} \times 100$$

[2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium), ABTS] 라디칼 소거활성능의 측정은 ABTS 시약(Sigma-Aldrich Co.)과 potassium persulfate (Sigma-Aldrich Co.)를 증류수에 혼합하여 냉장고에서 14-16시간 동안 암실에 방치하였다. ABTS cation radical (ABTS<sup>+</sup>)을 형성시킨 후 1.5-1.6 nm의 흡광도가 되도록 희석하여 용액을 제조하였다.

이 용액과 막걸리 시료의 상등액을 각각 100  $\mu$ L씩 1:1로 혼합하고 분광광도계를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 연잎 무첨가군을 대조군 시료로 사용하여 측정하였으며, 아래와 같이 백분율(%)로 나타냈다.

ABTS 라디칼 소거활성(%)=

$$\frac{(A_{415} \text{ of control} - A_{415} \text{ of sample})}{(A_{415} \text{ of control})} \times 100$$

### 통계분석

모든 실험은 각 시료당 3회 반복하여 얻은 평균값과 표준편차를 이용하여 진행하였으며, 통계 프로그램은 SPSS version 12.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 중 Duncan's 다중범위검정(multiple range test)를 사용하여 P<0.05에서 유의성을 조사하였다.

### 결과 및 고찰

Kong et al. (2011)은 연잎의 처리법(생잎, 데치기, 스팀, 덩음, 건조)을 달리하여 제조된 연잎약주의 품질특성을 조사하였고 특히 폴리페놀 함량, 유기산 분석, 색도측정 및 기호도 분석을 통하여 덩음과 스팀처리하여 제조된 연잎약주가 품질특성이 가장 우수하다고 강조하고 있다(Choi et al., 2016). 또한 냉동 전·후에 처리(데치기, 덩음, 건조처리)를 달리하여 제조된 약주의 영양학적·기능적 성분분석(아미노산도, 휘발산, 폴리페놀, 유기산 함량)에 초점을 맞추고 있다. Yoo (2011)는 연잎막걸리의 제조방법과 관련된 연구로써 연잎 자체를 밥과 함께 찐 후 발효기간 동안 탁주의 특성변화 및 한 종류의 DPPH 라디칼 소거능 분석을 했다. 그러나, 본 연구에서는 위의 세 연구와는 달리 시중에서 상업적으로 판매되고 있으며 언제 어디서든 구입이 가능한 연잎분말을 밥을 찌고 난 후 물 및 누룩과 함께 넣고 섞는 간편한 방식으로 막걸리를 제조하였다. 예비실험결과 분말은 많이 첨가하게 되면 걸쭉해지는 특성이 있어 막걸리의 풍미를 저하시켰기 때문에 본 연구에서는 5%와 10%만 첨가하였다(Data not shown). 아울러, Kong et al. (2011) 및 Choi et al. (2016)은 연잎약주의 폴리페놀함량 등과 같은 품질특성에 중점을 두었으나 본 연구에서는 향산화 기능성이 강화된 연잎분말 막걸리의 제품 개발 가능성 타진을 위해 향산화 효과에 중점을 맞추었고 이를 위해 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성과 같은 두 종류의 향산화 분석을 하였다.

### pH 및 산도의 변화

연잎 막걸리의 발효기간 중 pH 측정결과는 Table 1과 같다. 발효기간이 지날수록 pH가 점점 감소되는 것을 확인할 수 있다. 막걸리 담근 당일의 pH는 연잎 무첨가군은 6.03이었고 5% 및 10%첨가군은 각각 5.77과 5.70이었으며, 무첨가군이 첨가군보

다 pH가 높았다. 발효 1일차부터 급격히 pH가 감소하는 경향을 보였고 5% 첨가군이 4.70으로 가장 낮았다. 3일차에는 첨가군(5%, 10%)은 무첨가군과 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 5일차는 10% 첨가군이 가장 높게 나왔으며, 3일차의 결과와는 유의적인 차이가 없었고( $P>0.05$ ), 5% 첨가군은 3.17로 3일차보다 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 7일차의 최종 pH는 무첨가군이 3.10이고, 5-10% 첨가군은 각각 3.17, 3.27로 무첨가군과 첨가군(5%, 10%)은 유의적으로 차이가 없었다( $P>0.05$ ). pH는 발효시간이 길어질수록 점점 낮아지는 것을 확인할 수 있으며, 연잎 분말을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것은 차이가 나지 않았다. 일반적으로 막걸리의 pH는 발효 1-3일차에 급격히 감소하였다가 점차 완만해지는 경향을 볼 수 있다. 이는 발효기간의 경과에 따라 미생물의 작용으로 인해 유기산의 생성이 증가하기 때문에 pH의 변화에 영향을 준다(Kim et al., 2007; Park et al., 2016).

연잎 막걸리의 발효 기간에 따른 산도의 결과는 Table 1에 나타났다. 발효기간에 따른 산도는 점차 증가하는 경향을 보였으며, 발효 마지막 날인 7일차에 연잎 무첨가군 및 첨가군(5-10%) 모두 가장 높게 나왔다. 막걸리 담근 직후에는 무첨가군이 0.09이었고, 연잎 5%와 10% 첨가군이 각각 0.14%와 0.30%로 나타났다. 발효 1일차에는 무첨가군이 0.20%이었으며, 5%와 10% 첨가군 모두 0.45%로 유의적인 차이( $P>0.05$ )가 없었다. 발효 3일차는 무첨가군이 1.60%이었고, 5%와 10% 첨가군 각각 1.71%와 1.94%로 급격히 증가하였다. 발효 5일차에는 연잎 5% 첨가군이 1.76%로 가장 낮게 나타났으며, 무첨가군과 10%

첨가군은 각각 1.87%와 1.91%로 유의적인 차이( $P>0.05$ )가 나타나지 않았다. 발효 마지막날에는 무첨가군이 1.89%로 가장 낮았으며, 연잎분말 5%와 10% 첨가군이 1.94%와 2.12%로 나타났다. 연잎 첨가량이 증가할수록 산도의 함량이 높아지며, 발효기간에 따라 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). pH의 변화 양상과는 반대로 나타나는 것을 볼 수 있었다. 산도는 누룩이나 원료에서 발생하며 발효가 진행됨에 따라 효모, 젖산균 등의 미생물 작용으로 인해 생성된 각종 유기산들의 영향으로 산도가 점차 증가하였다(Jeon and Lee, 2011). 또한, 발효 기간 동안 pH와 산도의 변화 양상은 반비례의 결과를 보였다. 이는 단백질 분해로 펩티드와 아미노산이 증가하여 막걸리의 완충 능력을 높여주었기 때문이라고 보고하였다(Lee et al., 2009; Jeon and Lee, 2011). 산도의 변화는 막걸리의 성분 변화를 쉽게 알 수 있고, 발효 진행 상황을 알 수 있는 중요한 지표 성분이 된다. 또한, 산도의 함량은 발효 또는 저장 중 막걸리의 산패 현상을 미리 판단할 수 있는 요소로서 작용한다 (Park et al., 2016).

#### 당도의 변화

발효 기간에 따른 당도의 변화는 Table 2와 같다. 연잎 막걸리 담근 당일은 무첨가군이 0.90으로 가장 낮았으며, 5%와 10%는 각각 1.0 Brix와 1.33 Brix로 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 1일차부터는 당도가 급격히 증가하였고, 무첨가군은 7.10 Brix이고, 5%와 10%첨가군은 각각 6.60 Brix, 6.90 Brix로 무첨가군이 가장 높았으며, 5%가 가장 낮았다. Park et al. (2016)은

Table 1. Changes of pH and acidity (%) in *Makgeolli* added with *lotus leaf Nelumbo nucifera* powder during fermentation

| Lotus leaf powder (%) |         | Fermentation time (day) |                         |                         |                          |                         |
|-----------------------|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|                       |         | 0                       | 1                       | 3                       | 5                        | 7                       |
| pH                    | Control | 6.03±0.06 <sup>ab</sup> | 4.93±0.12 <sup>bc</sup> | 3.33±0.06 <sup>cd</sup> | 3.13±0.06 <sup>cd</sup>  | 3.10±0.17 <sup>ad</sup> |
|                       | 5       | 5.77±0.06 <sup>ba</sup> | 4.70±0.00 <sup>cb</sup> | 3.37±0.06 <sup>ac</sup> | 3.17±0.06 <sup>abd</sup> | 3.17±0.06 <sup>ad</sup> |
|                       | 10      | 5.70±0.00 <sup>ba</sup> | 5.20±0.00 <sup>ab</sup> | 3.33±0.06 <sup>ac</sup> | 3.33±0.12 <sup>ac</sup>  | 3.27±0.06 <sup>ac</sup> |
| Acidity (%)           | Control | 0.09±0.00 <sup>cd</sup> | 0.20±0.03 <sup>bc</sup> | 1.60±0.03 <sup>cb</sup> | 1.87±0.03 <sup>ab</sup>  | 1.89±0.03 <sup>ba</sup> |
|                       | 5       | 0.14±0.00 <sup>be</sup> | 0.45±0.01 <sup>ad</sup> | 1.71±0.00 <sup>bc</sup> | 1.76±0.00 <sup>bb</sup>  | 1.94±0.00 <sup>ba</sup> |
|                       | 10      | 0.30±0.04 <sup>ad</sup> | 0.45±0.00 <sup>ac</sup> | 1.94±0.00 <sup>ab</sup> | 1.91±0.03 <sup>ab</sup>  | 2.12±0.06 <sup>ab</sup> |

Control is not-added lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (A-E) and a column (a-c) are significant differences ( $P<0.05$ ).

Table 2. Changes of Brix in *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder during fermentation

| Lotus leaf powder (%) |         | Fermentation time (day) |                         |                         |                         |                          |
|-----------------------|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                       |         | 0                       | 1                       | 3                       | 5                       | 7                        |
| Brix                  | Control | 0.90±0.00 <sup>ce</sup> | 7.10±0.01 <sup>ad</sup> | 7.60±0.00 <sup>ac</sup> | 8.93±0.00 <sup>ab</sup> | 9.10±0.00 <sup>ca</sup>  |
|                       | 5       | 1.00±0.00 <sup>be</sup> | 6.60±0.00 <sup>cd</sup> | 6.93±0.06 <sup>cc</sup> | 7.90±0.01 <sup>bb</sup> | 9.70±0.06 <sup>ba</sup>  |
|                       | 10      | 1.33±0.06 <sup>ae</sup> | 6.90±0.00 <sup>bd</sup> | 7.23±0.06 <sup>bc</sup> | 7.90±0.01 <sup>bb</sup> | 12.90±0.00 <sup>ab</sup> |

Control is not-added lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (A-E) and a column (a-c) are significant differences ( $P<0.05$ ).



아로니아 첨가 막걸리에 관한 연구에서 당도가 발효 2일차부터 급격히 증가하였는데, 이는 쌀의 전분이 누룩에 의해 분해되어 급격히 증가하였다고 보고하였다. 3일차, 5일차에서 무첨가군이 가장 높았으며, 발효 기간이 경과함에 따라 막걸리의 당도가 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 발효 마지막날에는 무첨가군이 9.10 Brix, 5%와 10% 첨가군은 각각 9.70 Brix, 12.90 Brix로 10% 첨가군의 당도가 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). Lee et al. (2008)에 의하면 연잎의 일반성분 중 탄수화물의 함량이 가장 높으며, 녹차보다 탄수화물의 함량이 높다고 보고하였다. 이로 인해 연잎 첨가량이 많을수록 탄수화물의 함량도 증가하여 10% 첨가군이 가장 높게 나타난 것으로 판단된다.

**알코올 함량의 변화**

알코올 함량은 막걸리의 발효의 진행 정도와 품질을 결정하는 주된 요인으로, 막걸리의 보존성과 향미에 영향을 주는 중요한 성분이다(Song et al., 2015). 연잎분말을 첨가하여 제조한 막걸리의 발효 중 알코올 함량 측정 결과는 Table 3과 같다. 막걸리 담금 직후는 무첨가군이 2.20%, 5%와 10%첨가군이 각각 2.20%, 2.93%으로 10%첨가군에서 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 발효 3일차부터 알코올 함량이 증가하기 시작하였으

며, 무첨가군, 5%와 10%첨가군이 각각 2.67%, 5.05%, 5.20%로 담금 직후보다 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 발효 마지막 날인 7일차에는 무첨가군이 5.90%, 5%와 10%첨가군은 각각 7.10%, 7.20%로 모두 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 연잎분말 첨가군이 무첨가군보다 알코올 함량이 유의적으로 높은 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 이는 Jeon et al. (2019)의 청각을 첨가하여 제조된 막걸리 연구에서 발효 기간에 따른 알코올 변화 양상과 유사하게 나타났다. 발효 2일차부터 알코올 함량이 유의적으로 증가하였으며( $P<0.05$ ), 발효 마지막 날의 알코올 함량이 가장 높게 나왔고, 무첨가군보다 첨가군의 알코올 함량이 가장 높게 나왔다. 발효 2-3일차에 당도와 환원당의 함량이 급증하면서 효모의 알코올 생성 반응이 활발히 일어나 연잎분말 첨가군의 알코올 함량이 더 높은 것으로 보여진다(Ying et al., 2013). 알코올 발효는 당분을 에탄올과 이산화탄소( $CO_2$ )로 분해된 것으로, 담금 후의 기포 발생의 유무로 알코올 발효의 진행을 대략적으로 알 수 있다(Park et al., 2016). 또한, 시중에 판매되고 있는 일반적인 막걸리의 경우 평균 6%로 본 연구의 결과와 유사한 것으로 보여진다.

**유산균과 효모수의 변화**

연잎 막걸리의 발효 기간에 따른 유산균수의 변화는 Table 4와 같다. 담금 직후의 연잎 무첨가군은 2.30 log CFU/mL, 5%와 10% 첨가군은 각각 2.80 log CFU/mL, 3.10 log CFU/mL으로, 10% 첨가군에서 유의적으로 가장 높게 나왔다( $P<0.05$ ). 발효 1일차에도 연잎분말 10% 첨가 막걸리가 5.22 log CFU/mL로 가장 높게 나타났다. 발효 3일차에서는 무첨가군과 5%와 10% 첨가군이 유의적으로 차이가 나지 않았지만( $P>0.05$ ), 5일차에서는 10% 첨가군이 가장 높았으며, 무첨가군이 가장 낮게 나타났다. 발효 7일차에는 연잎분말 5%와 10% 첨가군이 각각 6.88 log CFU/mL, 7.17 log CFU/mL으로 유의적으로 차이가 나지 않았지만( $P>0.05$ ), 무첨가군의 경우 6.07 log CFU/mL로 유의적으로 가장 낮게 나타났다( $P>0.05$ ). 따라서 본 연구에서는 연잎분말의 첨가량이 많을수록, 발효기간이 경과함에 따

Table 3. Changes of alcohol contents (%) in *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder during fermentation

| Lotus leaf powder (%) | Fermentation time (day) |                         |                         |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                       | 0                       | 3                       | 7                       |
| Control               | 2.20±0.10 <sup>bc</sup> | 2.67±0.21 <sup>bc</sup> | 5.90±0.14 <sup>ba</sup> |
| Alcohol 5             | 2.20±0.20 <sup>bc</sup> | 5.05±0.07 <sup>ab</sup> | 7.10±0.99 <sup>ba</sup> |
| 10                    | 2.93±0.06 <sup>ac</sup> | 5.20±0.14 <sup>ab</sup> | 7.20±0.14 <sup>aa</sup> |

Control is not-added lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (A-C) and a column (a-c) are significant differences ( $P<0.05$ ).

Table 4. Changes of lactic acid bacteria and yeast cell counts (log CFU/mL) in *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder during fermentation

| Lotus leaf powder (%)             |         | Fermentation time (day)  |                         |                         |                           |                         |
|-----------------------------------|---------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
|                                   |         | 0                        | 1                       | 3                       | 5                         | 7                       |
| Lactic acid bacteria (log CFU/mL) | Control | 2.30±0.43 <sup>ad</sup>  | 4.07±0.27 <sup>bc</sup> | 5.17±0.10 <sup>bb</sup> | 5.78±0.05 <sup>ca</sup>   | 6.07±0.27 <sup>ba</sup> |
|                                   | 5       | 2.80±0.44 <sup>abd</sup> | 4.87±0.20 <sup>bc</sup> | 6.05±0.38 <sup>ab</sup> | 5.97±0.04 <sup>bb</sup>   | 6.88±0.22 <sup>aa</sup> |
|                                   | 10      | 3.10±0.34 <sup>ae</sup>  | 5.22±0.22 <sup>bd</sup> | 5.87±0.08 <sup>ac</sup> | 6.45±0.01 <sup>ab</sup>   | 7.17±0.34 <sup>aa</sup> |
| Yeast (log CFU/mL)                | Control | 5.29±0.60 <sup>bb</sup>  | 5.41±0.31 <sup>cb</sup> | 6.14±0.45 <sup>ba</sup> | 5.11±0.16 <sup>bb</sup>   | 3.27±0.23 <sup>cc</sup> |
|                                   | 5       | 5.89±0.01 <sup>aba</sup> | 6.21±0.01 <sup>ba</sup> | 6.36±0.41 <sup>ba</sup> | 5.79±0.18 <sup>aa</sup>   | 4.25±0.51 <sup>bb</sup> |
|                                   | 10      | 6.28±0.01 <sup>ac</sup>  | 6.59±0.01 <sup>ab</sup> | 7.41±0.13 <sup>aa</sup> | 6.00±0.22 <sup>abcd</sup> | 5.86±0.25 <sup>ad</sup> |

Control is not-added lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (A-E) and a column (a-c) are significant differences ( $P<0.05$ ).

라 유산균수가 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이는 연잎 중 다량 함유되어 있는 식이 섬유가 유산균의 먹이가 되기 때문에 유산균의 수가 증가한 것으로 판단되며, Kim et al. (2006)의 연구에 따르면 연잎차의 성분 중 식이섬유가 47.6 g으로 가장 많이 함유되어 있다고 보고하였다. 유산균은 항균능력이 뛰어나며, 식중독 원인 세균을 사멸시키고 장내 유해세균의 증식을 억제한다. 또한, 다양한 생리활성물질의 생산능력이 뛰어난 것으로 보고되고 있다(Jeon et al., 2019).

연잎 막걸리의 발효 기간에 따른 효모수의 변화는 Table 4에 나타났다. 담금 직후에는 연잎분말 무첨가군이 5.29 log CFU/mL, 5%와 10% 첨가군이 각각 5.89 log CFU/mL, 6.28 log CFU/mL로 5%와 10% 첨가군은 유의적인 차이가 없었지만 ( $P>0.05$ ), 무첨가군은 첨가군보다 낮게 나왔다. 발효 1일차에는 10% 첨가군이 6.59 log CFU/mL로 유의적으로 가장 높았으며 ( $P<0.05$ ), 대조군은 5.41 log CFU/mL로 가장 낮았다. 발효 3일차에도 10% 첨가군이 7.41 log CFU/mL로 가장 높았으며, 무첨가군과 5% 첨가군은 각각 6.14 log CFU/mL, 6.36 log CFU/mL로 유의적인 차이가 없었다 ( $P>0.05$ ). 발효 5일차부터는 효모수가 점차적으로 감소하여 무첨가군 5.11 log CFU/mL, 5%와 10% 첨가군이 각각 5.79 log CFU/mL, 6.00 log CFU/mL로 나타났다. 무첨가군이 유의적으로 가장 낮았으며 ( $P<0.05$ ), 5%와 10% 첨가군은 유의적으로 차이가 나지 않았다 ( $P>0.05$ ). 발효 마지막날에는 무첨가군이 3.27 log CFU/mL, 5%와 10% 첨가군이 각각 4.25 log CFU/mL, 5.86 log CFU/mL로 나타났으며, 10% 첨가군이 유의적으로 가장 높았고 ( $P<0.05$ ), 무첨가군이 가장 낮았다. Kim et al. (2011)의 설기떡을 이용한 흑마늘 막걸리의 제조와 품질에 관한 연구에서 효모수가 담금 직후부터 발효 3일차에 급격히 증가하다가 감소하였다고 하였으며, 이는 본 연구의 결과와 유사한 경향을 나타냈다. 발효 초기에는 누룩에서 유래한 일반세균, 곰팡이 및 효모가 공생관계를 유지하다가 유산균이 생성되면서 환경이 산성화됨으로 인해 효모가 급격히 증가하는 것으로 보고되고 있다 (Kim et al., 2012).

### DPPH 라디칼 소거 활성능

DPPH 라디칼 소거 활성능은 항산화 측정에 대표적으로 쓰이는 방법으로, DPPH는 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용된다. DPPH는 phenol, flavonoid와 같은 페놀성 물질에 대한 항산화작용의 지표이며, 항산화 활성이 있는 물질과 만나 라디칼이 소거되는 원리로 항산화물질의 전자공여능을 측정한다 (Lee et al., 2011; Kim et al., 2021). 연잎분말 첨가 막걸리의 DPPH 라디칼 소거활성능의 결과는 Fig. 2에 나타났다. 연잎분말 무첨가군은 58.14%이며, 연잎분말 5%와 10% 첨가군은 각각 68.72%, 81.48%로 측정되었다. 10% 첨가군의 경우 무첨가군 및 5% 첨가군보다 유의적으로 높았으며 ( $P<0.05$ ), 무첨가군과 5% 첨가군은 유의적으로 차이가 나지 않았다 ( $P>0.05$ ).

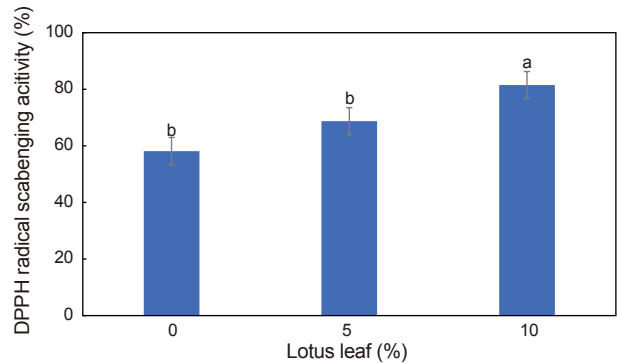


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity in *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. DPPH, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl.

DPPH 라디칼 소거 활성능이 10% 첨가군에서 가장 높음으로 첨가량이 증가할수록 항산화 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Park (2017)의 연잎분말을 첨가하여 제조한 식빵의 연구에서 연잎분말 첨가 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 능력이 유의적으로 증가 ( $P<0.05$ )하는 경향을 보였으며, 본 연구의 결과와 유사하다. 이는 연잎에 함유된 다양한 페놀성 물질의 영향으로 증가한 것이며, 다른 연구에서도 시료 첨가에 의해 시료에 함유된 총 폴리페놀의 영향으로 보고하였다. 항산화 작용은 식품 중의 지방산화를 억제할 뿐만 아니라 인체의 질병 및 노화 방지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Lee et al., 2011).

### ABTS 라디칼 소거 활성능

항산화 활성은 인체 내에서 지질, 단백질과 결합하여 각종 질병 및 노화를 일으키는 산화성 free radical의 반응을 정지시키는 것이다 (Cho et al., 2016). ABTS 라디칼 소거 활성능은 potassium persulfate와의 반응으로 생성된 ABTS 자유 라디칼이 시료 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 청록색이 탈색되어 측정되는 것이다 (Jeon et al., 2019). 연잎분말 첨가 막걸리의 결과는 Fig. 3에 나타났다. 무첨가군의 경우 72.18%이며, 5%와 10%첨가군은 각각 90.71%, 91.67%로 나타났다. 10% 첨가군의 경우 5%와 유의적으로 차이가 나지 않았지만 ( $P>0.05$ ), 무첨가군보다는 유의적으로 높게 나타났다 ( $P<0.05$ ). DPPH 라디칼 소거 활성능 측정의 결과와 동일하게 연잎분말의 첨가량이 많을수록 ABTS 소거 활성능이 증가하였다. ABTS 라디칼 소거활성능은 수소공여항산화제(hydrogen-donating antioxidant)와 연쇄절단형 항산화제(chain-breaking antioxidant) 모두 측정할 수 있고, 수용상(aqueous phase)과 유기상(organic phase)에 적용이 가능하기 때문에 DPPH 라디칼 소거활성능보다 더 높게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Kim et al., 2011).

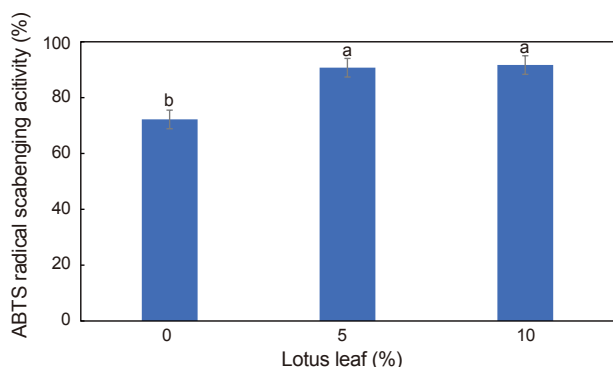


Fig. 3. ABTS free radical scavenging activity in *Makgeolli* added with lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder. ABTS, 2,2'-Azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium).

본 연구에서 연잎분말 5%와 10% 첨가한 막걸리의 이화학적 (pH, 당도, 총산, 알코올) 및 미생물학적 (유산균 및 효모수) 특성 분석한 결과 무첨가군(0%)과 유사하거나 더 우월한 양상을 보였으며, 항산화활성은 연잎분말 첨가량이 많을수록 더 높은 경향을 보였다. 따라서 막걸리의 품질 및 항산화 기능 강화로 연잎막걸리의 개발 상품화 가능성이 높으며 우리 전통주의 다양성과 전통주시장의 확대 가능성을 높일 것으로 사료된다. 그러나, 추후 상품개발을 위한 영양성분 분석 및 소비자 기호도 평가 등 추가적인 연구개발의 확대에 이어져야 한다.

## References

- Cho KM, Hwang CE, Lee HY, Ahn MJ and Joo AS. 2016. Quality characteristics and antioxidant activities of *makgeolli* prepared using rice *nuruk* containing bitter melon (*Momordica charantia*). Korean J Food Preserv 23, 259-266. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.2.259>.
- Choi JS, Yeo SH, Choi HS and Jeong ST. 2016. Quality characteristics of *Yakju* containing pretreated lotus leaves. Korean J Food Preserv 23, 204-210. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.2.204>.
- Jeon EB, Choi MS and Park SY. 2019. Quality and antioxidant effects of the Korean traditional rice wine *Makgeolli* supplemented with *Codium fragile* during fermentation. Korean J Fish Aquat Sci 52, 224-231. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0224>.
- Jeon MH and Lee WJ. 2011. Characteristics of blueberry added *Makgeolli*. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 444-449. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2011.40.3.444>.
- Kang DH, Park EM, Kim JH, Yang JW, Kim JH and Kim MY. 2016. Bioactive compounds and antioxidant activity of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica* Engl.). J Life Sci 26, 1074-1081. <https://doi.org/10.5352/jls.2016.26.9.1074>.
- Kang SM, Kim SJ, Ko KH and Nam SH. 2016. Formation of biogenic amines and bioactivities of *Makgeolli* under different fermentation conditions. Korean J Food Preserv 23, 402-412. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.3.402>.
- Kim CA, Kim ES, Eun JB, Wang SJ and 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.
- Kim DC, Kim DW and In MJ. 2006. Preparation of lotus leaf tea and its quality characteristics. J Korean Soc Appl Biol Chem 49, 163-164.
- Kim GM, Jung WJ, Shin JH, Kand MJ and Sung NJ. 2011. Preparation and quality characteristics of *Makgeolli* made with black garlic extract and *Sulgidduk*. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 759-766. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2011.40.5.759>.
- Kim JY, Jeon EB, Choi MS and Park SY. 2020. Effect of *Enteromorpha prolifera* on quality characteristics and antioxidants activities of the *Makgeolli* (Korean traditional rice-based wine). Korean J Fish Aquat Sci 53, 231-236. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0231>.
- Kim JY, Song MG, Jeon EB and Park SY. 2021. Quality properties and antioxidant activities of Korean traditional rice-based wine, *Makgeolli* added with sweet pumpkin. J Food Hyg Saf 36, 271-279. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.3.271>.
- Kim MK and Park SS. 2019. Research trends on quality characteristics and physiological functions of Korean traditional *Makgeolli* (Korean Rice Wine): A literature review. J Korean Soc Food Sci Nutr 42, 149-160. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2019.48.2.149>.
- Kim OS, Park SS and Sung JM. 2012. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. J Korean Soc Food Sci Nutr 41, 1693-1700. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.12.1693>.
- Kim SB, Rho SB, Rhyu DY and Kim DW. 2005. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic bio F1B hamster. Korean J Pharmacogn 6, 229-234.
- Kim SH. 2006. Quality characteristics of *Jeung-Pyun* with lotus leaf powder. M.S. Thesis, University of Daegu Catholic, Daegu, Korea.
- Kim SH, Park JM, Yeon HS, Song DN, Song IG and Eom HJ. 2013. Physiological and sensory characteristics of *Makgeolli* with added paprika (*Capsicum annuum* L.). Korean J Food Sci Technol 45, 578-582. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.5.578>.
- Kong MH, Yeo SH, Choi JH, Choi HS and Jeong ST. 2011. Characteristics of the *Yakju* fermented with differently-processed lotus leaf. J East Asian Soc Diet Life 21, 911-917.
- Lee JB, Park HK, Lee JS and Kim MH. 2011. Studies on antioxidant activity, total flavonoids and polyphenols, and reducing power in *Yakju* with different ratios of dandelion root. J East Asian Soc Diet Life 21, 882-887.
- Lee KS, Kim MG and Lee KY. 2006. Antioxidative activity of

- ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. Korean J Soc Food Sci Nutr 35, 182-186. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.2.182>.
- Lee KS, Kwon YJ and Lee KY. 2008. Analysis of chemical composition, vitamin, mineral and antioxidative effect of the lotus leaf. J Korean Soc Food Sci Nutr 37, 1622-1626. <http://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.12.1622>
- Lee NG. 2020. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Makgeolli*. J Converg Cult Technol 6, 739-745. <https://doi.org/10.17703/JCCT.2020.6.4.739>.
- Lee SS, Imm JY and Han YS. 2012. The improvement effect of lotus leaf extracts on acne skin. Kor J Aesthet Cosmetol 10, 405-413.
- Lee TJ, Hwang DY, Lee CY and Son HJ. 2009. Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processed of *Makgeolli*, traditional alcohol of Korea. Korean J Micro 45, 391-396.
- Moon JH, Hong KW and Yoo SS. 2016. Antioxidant properties of the lotus leaf powder content of *Cheongpomuk*. Culi Sci Hos Res 22, 112-130. <https://doi.org/10.20878/cshr.2016.22.7.010>.
- Park BH, Cho HS, Jeon ER and Kim SD. 2009a. Quality characteristics of soybean curd prepared with lotus leaf powder. Korean Soc Food Cul 24, 315-320.
- Park LY. 2017. Effect of lotus leaf on the quality characteristics and antioxidant properties of bread. Korean J Food Preserv 24, 266-273. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.2.266>.
- Park MJ, Kim HK, Choi KK, Koo BY and Lee SK. 2016. Fermentation characteristics of *Makgeolli* containing aroina (*Aroina melanocarpa*, Black chokeberry). Korean J Food Sci Technol 48, 27-35. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2016.48.1.27>.
- Park SH, Chang KH, Byun GI and Kang WW. 2009b. Quality characteristics of bread made with flour partly substituted by lotus leaf powder. Korean J Food Preserv 16, 47-52.
- Rhee YK, Nam SH, Kim HR, Cho CW, Lee YC, Kim YC and Hong HD. 2014. Effect of crude polysaccharide isolated from *Makgeolli* mash under different fermentation conditions on immune-stimulating activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 43, 1835-1842. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.12.1835>.
- Seo SH, Park SE, Yoo SA and Son HS. 2014. Quality characteristics of *Makgeolli* supplemented with pineapple. J Korean Soc Food Sci Nutr 43, 1283-1288. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.8.1283>.
- Shin DJ, Choe JH, Hwang KE, Kim CJ and Jo CR. 2019. Antioxidant effect of lotus (*Nelumbo nucifera*) root and leaf extracts and their application on pork patties as inhibitors of lipid oxidation, alone and in combination. Int J Food Prop 22, 383-394. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1588295>.
- Shin MK and Han SH. 2006. Effect of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf powder on lipid concentrations in rats fed high fat diet rats. Korean J Food Culture 6, 202-208.
- Shin MO, Kang DY, Kim MH and Bae SJ. 2008. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of *Makgeolli* fractions in various cancer cells. J Korean Soc Food Sci Nutr 37, 288-293. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.3.288>.
- Shin MO, Kim MH and Bae SJ. 2010. The effect of *Makgeolli* on blood flow, serum lipid improvement and inhibition of ACE *in vitro*. J Life Sci 20, 710-716. <https://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.5.710>.
- Shin YJ. 2007. Quality characteristics of fish paste containing lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf powder. Korean J Food Cook Sci 23, 947-953.
- Song YR, Lim BU, Song GS and Baik SH. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of *Makgeolli* supplemented with *Omija* berries (*Schizandra chinensis Baillon*). Korean J Food Sci Technol 47, 328-335. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.3.328>.
- Ying C, Hwang JA and Chang YH. 2013. Quality characteristics of *Makgeolli* added with red bean. Korean J Food Cook Sci 29, 777-784. <https://doi.org/10.9724/kfcs.2013.29.6.777>.
- Yoo HN. 2011. Fermentation characteristics of Yeonip (Lotus leaf) Takju. M.S. Thesis, University of Sejong, Seoul, Korea.