

머루주 제조방법 개선과 건강 기능성에 관한 연구

고경희

(가톨릭대학교 식품영양학 전공)

Study on the Improvement of Moru-Ju Making and Healthy Functional Activity

Kyung-Hee Koh

Major of Food Science and Nutrition, The Catholic University

적 요

무공해 재배 머루를 이용한 머루주 제조방법을 달리했을 때 발효기간 중 화학성분들의 변화와 효모의 생균수를 관찰하였다. pH는 3.47에서 증가하여 NMII>NMII>CM 순 이었고, 총산도는 감소하는 경향이 CM=NMI>NMII이었다. Ethanol 함량은 발효초기에 급격히 증가하여 NMII(14.4%)>CM(13.5%)>NMI(13.2%)이었으며, total SO₂ 함량은 발효초기에 증가하다가 중기 이후에 감소하여 0.5 g/L를 나타내었다. *S. cerevisiae*의 생균수는 CM, NMI, NMII가 정상기 7.8, 7.8, 7.6 log cfu/ml에서 2.7, 4.1, 4.7 log cfu/ml로 감소했다. *S. cerevisiae*의 glucose, fructose의 발효속도는 111.2, 119.6g/L에서 18일 이후로 잔존량이 0.3 g/L이하로 감소하였다. 또한 최근 Phytochemical 성분으로 주목을 받고 있는 머루주 천연색소인 polyphenolic compounds 함량을 제조방법이 다른 CM, NMI, NMII에서 관찰하였다. 머루주의 total phenolic content는 CM, NMI, NMII가 1665, 3296, 1942 mg/l gallic acid로 나타났다. Elettron spin resonance spectrometer로 superoxide radical scavenging 효과를 측정하였으며 total phenolic 함량이 가장 높은 NMII에서 가장 크게 나타났다. Hunter colorimeter로 머루주의 L value, a value, b value의 변화를 관찰하였으며 발효 과정 색깔의 변화는 L value는 Black, a value는 red, b value는 blue의 경향을 나타내었다. 머루주의 polyphenolic compounds는 HPLC로 분석하여 gallic acid, protocatechuic acid, catechin, chlorogenic acid, caffelic acid, syringic acid, epicatechin, 4-methyl-catechol, p-coumaric acid의 9가지 물질을 확인, 관찰하였다.

I. 서론

머루는 포도(*Vitis vinifera*)와 비슷한 낙엽과수로 전국 산야에서 자생한다. 우리나라에 자생하고 있는 것은 왕머루(*Vitis amurensis*), 새머루(*Vitis flexuosa*), 머루(*Vitis coignetiae*)와 까마귀머루(*Vitis thunbergii*)등 4종이다. 약간 각이 진 듯 둥글며, 겉면은 주름이 많고 녹색이며 뒷면은 솜털이 많은 회갈색이다. 꽃은 연한 녹색으로 작으며 가을에 새까맣게 익은 과실은 직경 7mm 전후로 포도와 같으며 맛은 매우 시다. 머루재

배는 노동력이 적게 들고 고수익 품목으로 각광을 받고 있으며 무공해 약용 식품으로 농약없이 재배가 가능한 자연 친화적인 작물로 건강에도 일익을 담당하고 있다[조용운(1995)].

최근에는 산소 반응물질에 의한 생체의 산화적 장애를 억제하려는 의도로 superoxide dismutase(SOD) 유사활성을 지닌 천연물 소재 개발의 연구가 상당하게 이루어지고 있다. 지금까지는 주로 과채류 내의 β -carotene과 vitamin C에 대해서 연구가 이루어져 왔지만, 최근 각종 과채류에 다양으로 존재하는 천연물질인 플라보노이드류(flavonoids)에 관심이 모아지고

있다[(Cook(1996)]. 플라보노이드류는 폴리페놀 화합물로서 안토시아닌류(anthocyanins), 플라보놀류(flavonols), 플라본류(flavones), 카테킨(catechins) 및 플라바논류(flavanones) 등으로 구성되어 있다. 이들은 과일, 채소, 견과, 씨, 꽃 등에 존재하고 인간은 식사를 통해 섭취하게 된다[Halliwell(19995)]. 특히 산소는 인간의 생존에 결정적인 작용을 하는 것으로 공기 중에서는 안정한 삼중항 산소($^3\text{O}_2$)로 존재하는데, 호흡을 통해 체내로 들어온 산소는 ATP형태에서 에너지를 생산해 내는 전자전달체계에서 궁극적인 전자 수용체이다. 그러나 이 과정을 거치면서 어떤 경우에는 전자 흐름이 짹을 짓지않게 되고 자유 라디칼의 형성을 유도한다. 즉, 과산화 음이온 라디칼(superoxide anion radical, O_2^-), 수산라디칼(hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$), 과산화수소(hydrogen peroxides, H_2O_2), 일중항 산소(singlet oxygen, $^1\text{O}_2$) 등과 같은 반응성이 매우 큰 산소반응물질(reactive oxygen species, ROS)들을 형성하게 된다[Hanaki(1994)].

이들은 건강한 조직에서는 백혈구 등이 이를 이용하여 외부에서 침입한 각종 물질들을 비특이적으로 제거하는 필수적인 물질이기도 하지만 주로 불포화지방산이 풍부한 생체막에서 자유라디칼 반응에 관여함으로써 지질 과산화를 일으키는 것으로 알려져 있다[Frankel(1993)]. 또한 지질 외에 단백질, 아미노산, 효소, DNA 등과도 반응하여 기질 자체에 유해한 영향을 끼칠 뿐 아니라 그로 인해 세포 기능을 손상시키고 염증, 암, 동맥경화증, 노화 등의 만성적인 퇴행성 질환의 원인이 된다[Hertog(1993)]. Zutphen Elderly 연구에 의하면, 조사 대상자들은 평균 26mg/day의 플라보노이드류를 섭취하며 대부분이 차(61%), 양파(13%), 사과(10%)에서 비롯된다고 한다. 또한 플라보노이드류의 섭취와 차의 섭취는 모두 CHD(Coronary Heart Disease, 심장질환)로 인한 사망률을 낮추는데 유의적이었고, 가장 상관관계가 좋은 식이내 화학적 성분은 플라보놀류의 하나인 케르세틴(quercetin)이었다고 보고하였다[Hertog(1993)]. 차나 사과 외에도 포도나 포도주스 또는 포도주는 훌륭한 폐놀계 물질의 급원으로 높은 농도로 존재한다고 하였다[Bisson(1995), Kanner(1994), Kinsella(1993),

Middleton(1994)]. 우리나라 고유의 개량품종인 머루, 머루주 등이 체내에서 포도에 못지않게 항산화 기능을 가질 것으로 예상된다. 국내 머루 관련 연구로는 황(1975) 등의 머루 안토시아닌에 관한 연구와 조(1995)의 머루 발효 중 유기산의 변화의 연구로 머루의 건강 기능성에 관한 연구가 미비하다.

본 실험은 경기도 파주시 적성면 감악산 일대에서 노지 재배하는 머루를 9월중순경 최적기 당함량이 12% 이상일 때 수확하여 머루의 폐놀성분 함량을 높이기 위한 발효 제조기술로 만든 머루주 개발과 건강 기능성 성분을 연구하고 머루주의 총폐놀함량과, HPLC로 머루주 폐놀물질 분석, ESR로 과산화 음이온 라디칼 소거 능력을 측정하여 머루의 건강 기능적인 측면에서 비교 연구하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료 및 방법

경기도 파주시 감악산 일대에서 재배한 개량머루를 1999년도 9월28일 수확하여 제경(destemming)과 파쇄(crushing)를 한 660리터 머루즙에 SO_2 를 아황산(H_2SO_3 , sulfurous acid 6%)의 형태로 50ppm 첨가하였다. 착즙한 과즙에서 고형분(pomace, 粕)을 제거하기 위하여 가아제로 여과한 머루즙(Conventional Method, MN), 머루를 파쇄하여 머루껍질, 씨와 함께 함께 발효(New Method I, NM I), NM I에 50% 물을 첨가하여 발효(New Method II, NM II)하고 11%의 알코올을 얻기 위해 당도가 23.0°brix가 되도록 saccharose(백설ퟜ, 제일제당)로 보당하여 발효조에 $2.0 \times 10^6\text{CFU}/\text{ml}$ 의 *Saccharomyces cerev-isiae*(Gist-brocades, France) 건조효모를 접종하여 15°C의 통성 협기성 조건하에서 Fig. 1의 방법으로 제조하여 발효를 실시하였다. 실험기간 동안 시료는 4±1°C에서 저장하며 분석하였다.

2. 시약

총폐놀 함량 측정에는 Folin & Ciocalteau's phenol

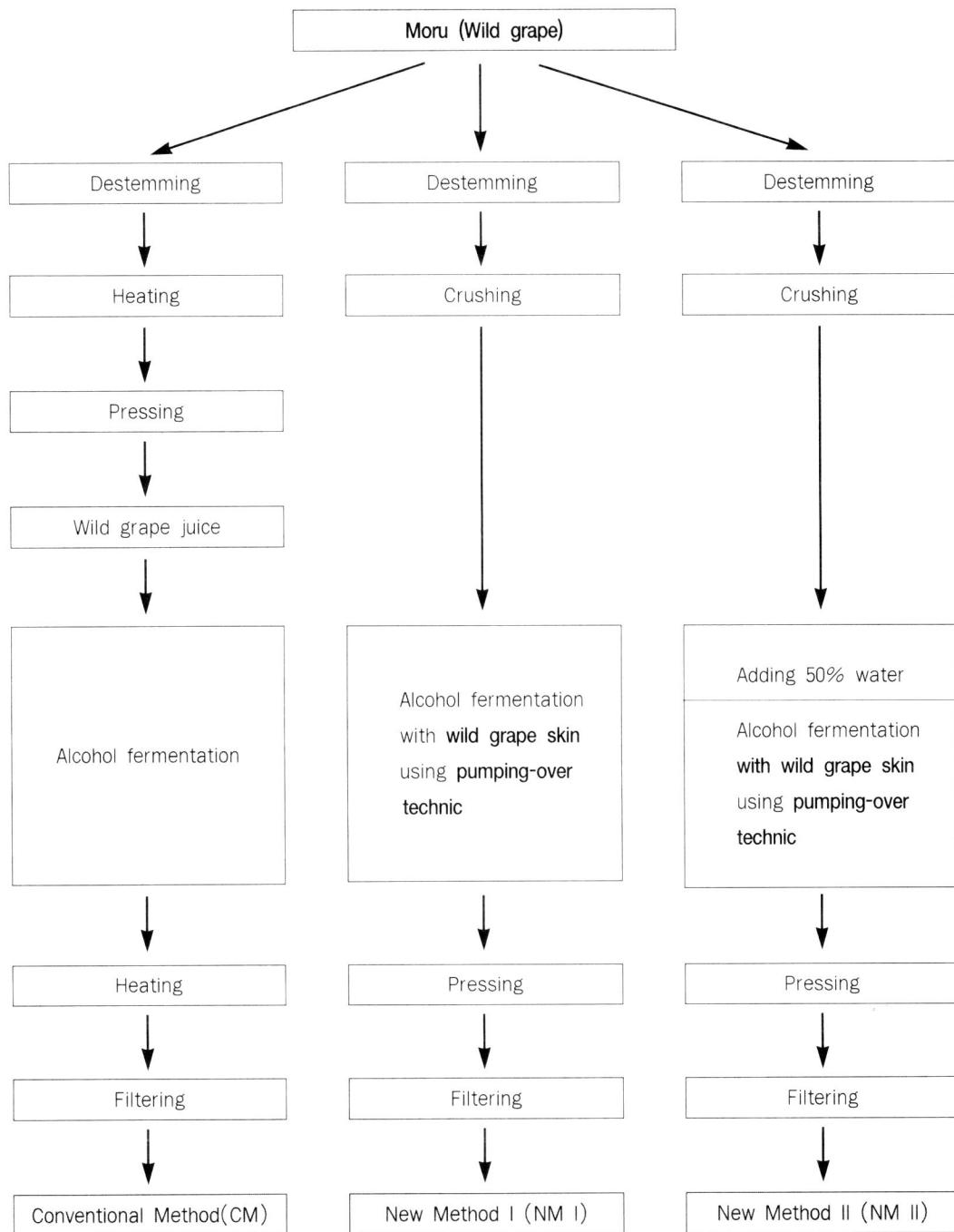


Fig. 1. Diagram of Moru-Ju (wild grape wine) making.

reagent(Junsei, Japan), sodium carbonate(Korea)가 사용한다. HPLC분석에 필요한 phenolic compound 12종류를 HPLC급 시약을 구입한다. ESR 측정을 위해서 사용된 hypoxanthine(HPX), xanthin oxidase(XOD), diethylene triamine pentaacetic acid(DETAPAC), 5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide(DMPO)는 Sigma(USA)사의 제품을 사용한다.

3. PH 와 총산도

pH는 25°C에서 pH meter(pH/Ion meter 150, Corning, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. 총산도(total acidity)은 AOAC법에 준하여 실시하였다. 탈 가스 시킨 포도즙을 0.1N NaOH로 적정하여 총산을 구하였다.

$$\text{Total acidity(g tartaric acid/l)} = \frac{(\text{ml base})(\text{N base})(0.075)(1000)}{\text{ml sample}}$$

4. 당도와 알코올

당도는 상온에서 hand refractometer(model N-1E, ATAGO, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 알코올 함량은 Boehringer Mannheim GmbH(Mannheim, W-Germany)을 사용하여 효소학적 방법으로 측정하였다[Boehringer Mannheim(1985)].

5. 생균수

효모의 생균수는 pour plate counting method로 발효 중인 포도즙을 채취하여 생균수를 측정하였다. YM 고체배지(Difco, U.S.A)를 이용하여 25°C에서 48시간 배양하여 효모의 생균수를 계수하였다[Atlas(1995)].

6. SO₂ 함량 측정

머루주내의 총 SO₂의 함량은 효소적 방법에 의해 측정하였다[Boehringer Mannheim(1985)].

7. Hunter colorimeter 측정

Hunter colorimeter(Model TC-3600, Denshoku Co., Tokyo, Japan)로 발효기간 동안 L-value, a value, b value를 측정하였다[Zocklein(1990)].

8. 총 페놀 함량 측정

Folin-Dennis법을 사용하여 시료의 총페놀 함량을 측정한다. 10배 회석한 시료 1ml에 증류수 60ml를 가지고, Folin-Ciocalteu's reagent 5ml를 첨가해 30초간 반응시킨다. 15ml의 포화 탄산나트륨 용액을 혼합하여 실온에서 2시간 방치한 뒤, 765nm에서 흡광도(Spectronic 21, USA)를 측정한다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 mg/L GAE로 환산한다[(Zocklein(1990)].

9. 과산화 음이온 라디칼 소거작용의 측정

Sato(1997)등과 Mitsuta(1990)등의 방법을 수정, 보완하여 hypoxanthin-xanthin oxidase(HPX-XOD) 체계에서 인위적으로 발생하는 과산화 음이온 라디칼을 electron spin resonance(ESR) spectrometer(Bruker ER200D, USA)로 측정한다. 필요한 시약들은 인산 완충용액(0.1M, pH 7.8)을 용매로 하여 조제하여 인산 완충용액(0.1M, pH 7.8) 40μl, hypoxanthin(2.0mM) 50μl, DETAPAC(5.5mM, diethylene triamine pentaacetic acid) 30μl, DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) 30μl, sample 40μl, xanthin oxidase 10μl를 잘 혼합하여 1분 안에 ESR측정을 한다. 대조군의 과산화 음이온 라디칼 피크의 높이와 시료의 높이를 비교하여 강도(intensity)로 비교한다.

10. Polyphenolic compounds 분석

머루액 30g과 동량의 ethyl acetate를 혼합한 후 분별 깔대기에서 ethyl acetate층을 분리, 추출하였으며 이 과정을 3회 반복하여 ethyl acetate 추출물을 합한 후 무수황산나트륨을 가하고 여과하여 회전 진공농

축기 50으로 완전히 농축한 후 시액(0.2M 인산완충액, pH 3.0:메타놀:물 = 2:3:15, v/v/v)으로 잘 희석한 용액을 0.45 μ m로 여과한 후 HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA)로 측정하였다. 칼럼은 HP Hypersil ODS(200 406mm, 40 C). 이동상은 acetonitrile:acetic acid:methanol:wate r(113:5:20:862, v/v/v/v). 검출기는 DAD(280nm), 유속은 1.0ml/min, 주입량은 20 μ l로 하였다. gallic acid, protocatechuic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, syringic acid, epicatechin, 4-methyl catechol, p-coumaric acid 등 표준품을 농도 별로 조제한 후 검량선을 작성하여 정량하였다 [Salagoity-Auguste(1984), Oszmianski(1988)].

III. 결과 및 고찰

1. pH 및 총산도 측정

1999년 9월 25일 경기도 파주시 감악산 산머루 농원에서 수확한 머루로 만든 머루즙의 화학성분으로는 당도 12.0 brix, pH는 3.52, 총산도는 5.1g/l 이었으며 saccharose로 23.0 brix가 되도록 보당하였다. 발효를 위한 효모 균주는 *Sacchromyces cerevisiae*(Gist-brocades, France)를 2.3 x 10⁶ CFU/ml가 되도록 접종하였다. Fig. 2에서 CM의 pH는 초기 3.47, 6일째 3.62, 18일째 3.72, 37일째 3.73으로 증가하였다. NM I의 pH는 각각 3.47, 3.72, 3.76, 3.76이었고 NM II는 3.47, 3.62, 3.64, 3.69로 증가하였다. Fig. 2에서 CM의 총산도는 3 일째 4.1g/l, 9일째 5.1g/l, 18일째 3.6g/l, 37일째 3.0g/l로 총 산도가 낮게 나타났다. NM I의 pH는 6일째 4.4g/l, 18일째 3.8g/l, 37일째 2.9g/l을 나타내었고 NM II는 3일째 2.0g/l, 9일째 2.4g/l, 37일째 1.4g/l를 나타내었다. 머루주 발효 중 머루즙의 pH는 높아지고 총 산도는 낮아지는 경향을 나타내었다.

2. 당도와 알코올

머루즙 발효 중 당도의 변화는 Fig. 2와 같다. Brix는 초기 23.0에서 CM은 3일째 14.5 18일째 8.6, 37일째 8.1 brix로 나타났고, NM I은 21.0, 9.0, 8.2를 NM II

18.0, 8.4, 8.2로 방법을 달리한 머루즙의 당도는 발효 기간 동안 감소하는 경향을 나타냈으며, 제조 방법에 따라 큰 차이는 없었다. Fig. 2의 알코올 함량은 CM은 초기 0, 3, 6일째 75.4, 9일째 227.7, 18일째 278.3 g/l를 나타내고 NM I은 0.3, 97.6, 239.9, 286.9g/l로 나타내었다. NM II는 0.30, 55.0, 72.7, 22.7 g/l로 나타났다. 알코올 발효력은 CM(NM I NM II 순으로 나타났다. Fig. 3에서 glucose와 fructose의 함량은 20일 발효기간 동안 급속히 감소하였으며 SO₂의 총함량은 NM I이 가장 높은 것으로 나타났다.

3. 생균수

Fig. 3은 머루즙에 *S. cerevisiae*를 접종하여 알코올 발효 기간 동안 생균수를 희석하는 방법으로 YM agar 배지에서 48시간 25°C에서 배양하여 관찰한 그림이다. Fig. 3에서 CM은 초기에 2.4x10⁶, 3일째는 3.9x10⁷, 6일째 2.4x10⁸, 9일째 3.6x10⁸, 18일째 3.7x10⁸ CFU/ml를 나타내었다. NM I 초기에 5.8x10⁷, 3일째는 2.3x10⁷, 6일째 6.3x10⁷, 9일째 5.9x10⁷, 18일째 4.3x10⁷ CFU/ml를, NM II 초기에 2.5x10⁶, 3일째는 4.0x10⁷, 6일째 4.1x10⁷, 9일째 2.6x10⁷, 18일째 8.5x10⁵ CFU/ml로 나타났다. 모든 시료에서 6일째 최고의 생균수를 나타내었으며 18일 이후 효모 생균수는 서서히 감소하였다.

4. 총 페놀 함량

Fig. 4는 제조 방법을 달리한 머루즙 발효 과정 중 총 페놀 함량결과이다. 이 총 페놀 함량은 gallic acid equivalent로써 검량 곡선을 이용하여 계산하였다. Fig. 4에서 머루즙의 경우 CM 는 초기 1.425 mg/l gallic acid였으며 6일째 1.942 mg/l, 18일째 3.235 mg/l 이었으며 NM I은 초기에 2.130 mg/l, 4.027 mg/l, 5.096 mg/l로 나타났다.

NM II 초기 1.223 mg/l, 6일째 2.781 mg/l, 18일째 3.081 g/l로 일코올 발효 과정 중 머루즙 내에 phenolic compound의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 37일째 머루즙 발효조에 상층액 만을 시료로 채

취한 총 페놀 함량은 각각 NM은 1,758 mg/l, NM I은 3,812 mg/l, NM II는 2,004 mg/l gallic acid의 함량을 보였다. 머루 씨와 겹질 채 발효한 NM I, NM II의 방법에 50% 물을 첨가한 NM II는 머루즙만 발효한 CM보다 총 페놀 함량이 높게 나타났다.

5. ESR에 의한 과산화 음이온 라디칼 소거작용

Fig. 4에서 머루주의 superoxide signal intensity는

CM보다는 NM I, NM II가 작게 나타났고, NM I이 가장 작은 것으로 보아 radical scavenging 효과가 가장 큰 것을 알 수 있다. SOSA value는 NM I>NM II>CM 순이었는데, NM I, NM II는 발효과정이 진행 할수록 SOSA value가 증가했고, CM은 증가하다 감소하였다. SOSA value가 가장 큰 NM I의 radical scavenging 효과가 가장 큰 것으로 보인다. Fig. 4는 머루주의 발효과정중 phenolic content가 가장 큰 18일 째의 radical peak를 나타낸 그림이다. Control보다

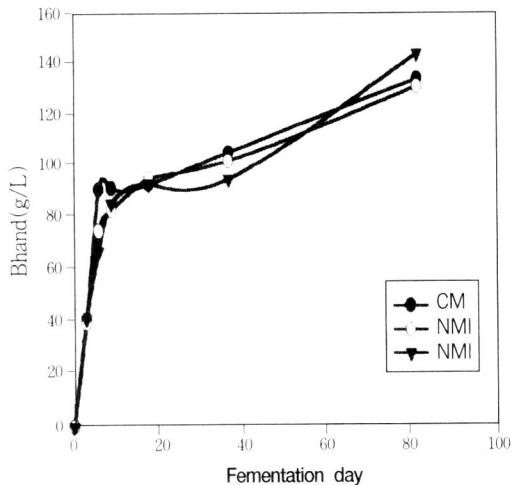
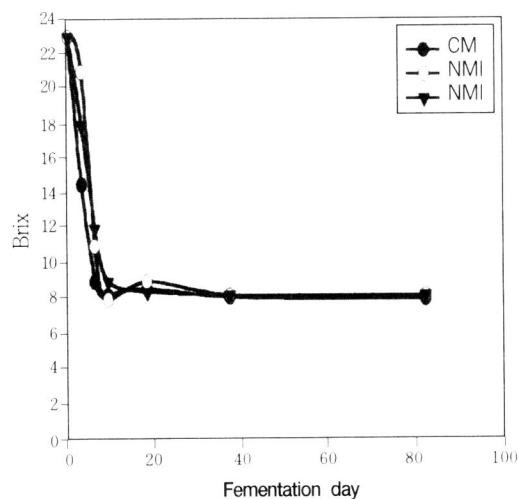
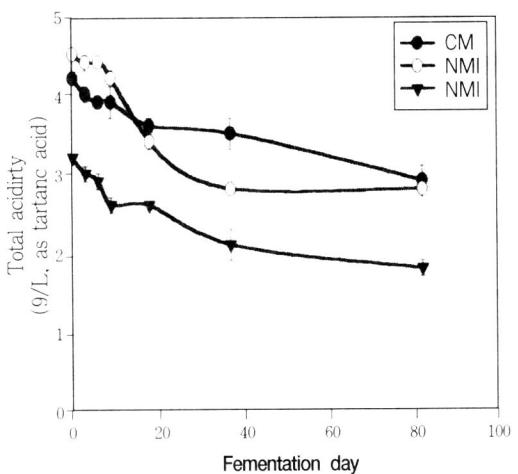
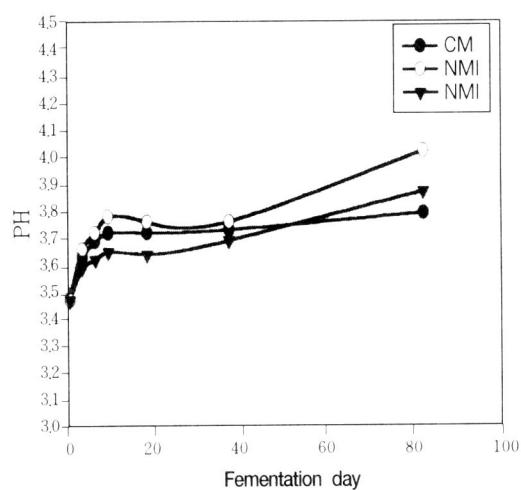


Fig. 2. Changes on pH, total acidity, brix and ethanol contents during Moru-Ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I, NM II : New Method II

CM, NM I, NM II의 peak가 모두 작은 것으로 보아 radical scavenging 효과가 있는 것을 알 수 있고, 각 머루주의 peak는 NM I<NM II<CM으로 NM I의 radical scavenging 효과가 가장 크게 나타났다.

6. Polyphenolic compounds 함량 변화

HPLC로 머루주의 polyphenol 화합물을 분석한 결과 Fig. 5, 6에서 gallic acid, protocatechic acid,

catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, syringic acid, epicatechin, 4-methyl catechol, *p*-coumaric acid의 8가지 물질을 확인 및 관찰하였다. CM에 비해 NM I, NM II에서 총 polyphenolic 화합물 성분 함량이 더 큰 것이 관찰되었다.

Fig. 5에서 gallic acid는 발효과정중 증가하는 경향을 보였는데, CM, NM I, NM II가 초기에 0.24, 1.19, 0.55mg/100g에서 말기에는 0.88, 5.30, 4.12mg/100g으로 증가하여 CM보다 NM I, NM II가 그 함량이 더

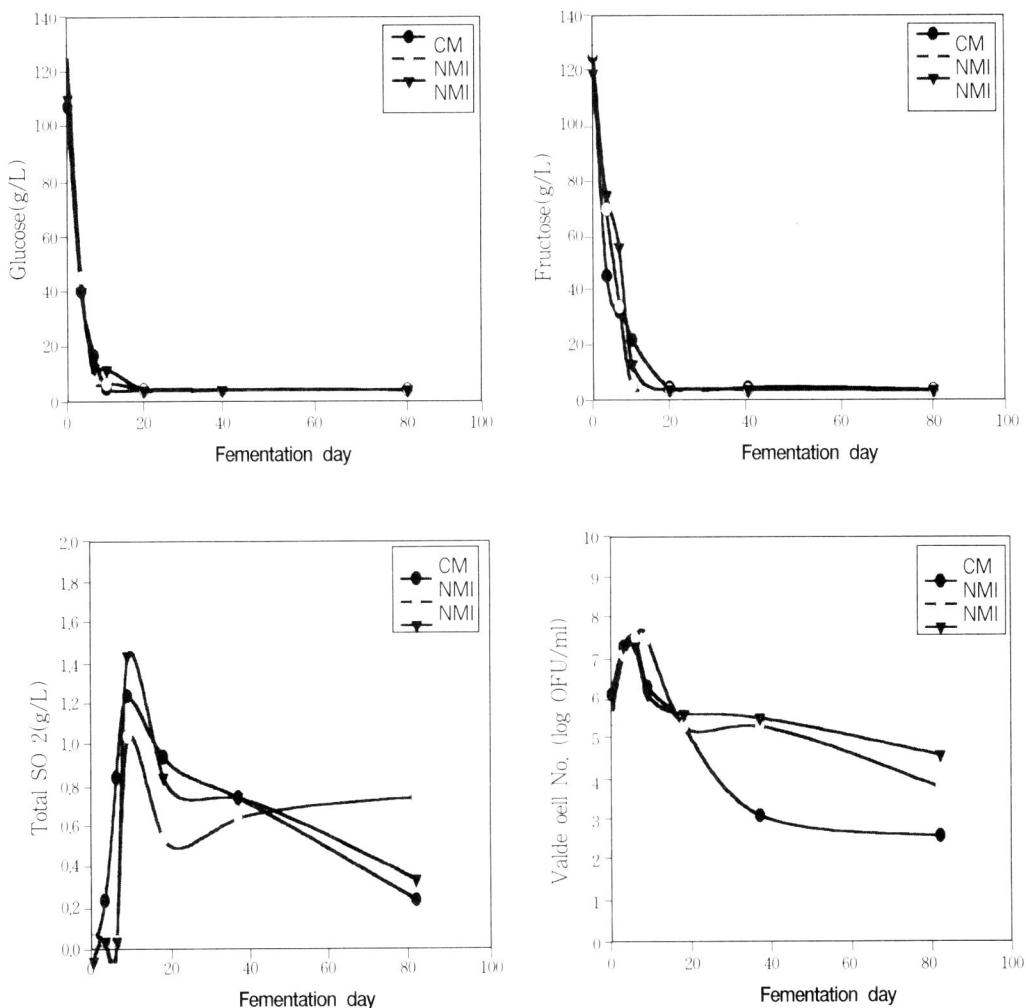


Fig. 3. Changes on glucose, fructose, total SO₂ contents and viable cell number during Moru-Ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I, NM II : New Method II

높은 것을 알수 있다. Protocatechuic acid는 CM, NM I, NM II가 초기에 0.02, 0.02, 0.04mg/100g에서 증가하여 말기에는 0.41, 0.80, 0.70mg/100g이었고 역시 CM 보다 NM I, NM II가 그 함량이 더 높은 것을 알수 있다. Catechin은 발효과정 중 점점 증가하였고, CM, NM I, NM II가 초기에 0.11, 0.57, 0.16mg/100g에서 말기에는 NM I(5.69mg/100g) > NM II(3.87mg/100g) > CM(0.27mg/100g)로 나타났다. Chlorogenic acid

는 점점 증가하여 말기에는 NM I(1.71mg/100g) > NM II(0.71mg/100g) > CM(0.29mg/100g)로 CM 보다 NM I, NM II에서 더 높게 나타났다.

Fig. 6에서 caffeic acid는 CM에서는 거의 나타나지 않았고, 발효말기에 NM I, NM II는 0.93, 0.10mg/100g을 나타내었다. NM I이 NM II보다 9배 가량 그 함량이 더 크게 나타난 것을 알 수 있다. Syringic acid는 CM, NM I, NM II가 초기에 0.06, 0.13, 0.09mg/100g에

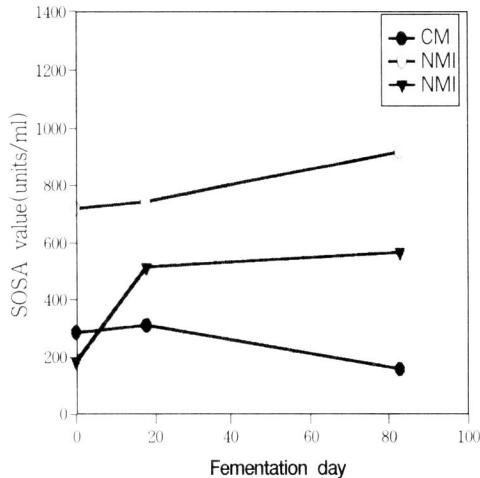
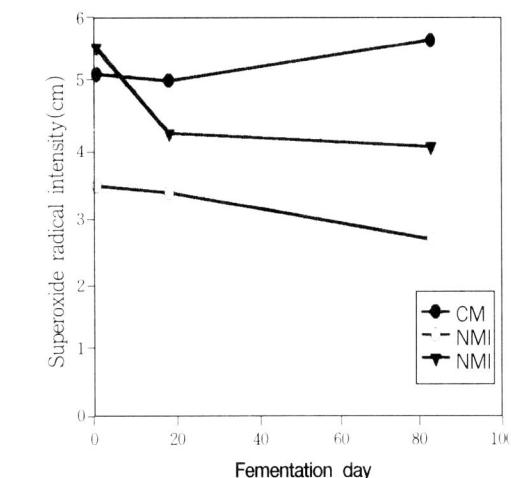
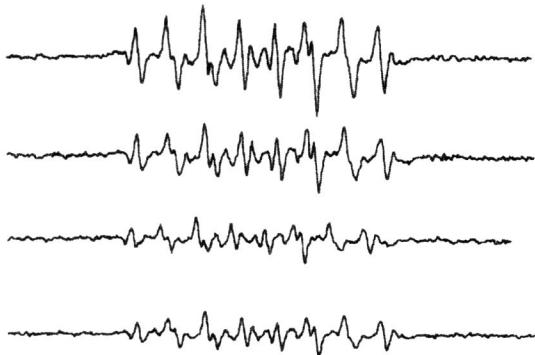
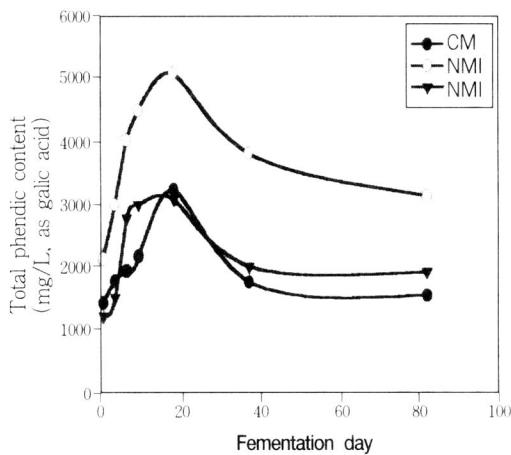


Fig. 4. Changes on total phenolic content, superoxide radical intensity, SOSA value and electron spin resonance spectrum during Moru~Ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I, NM II : New Method II

서 말기에 0.30, 0.36, 0.24mg/100g으로 증가하였다. Epicatechin은 발효과정 중 꾸준히 증가하였지만 CM(0.57mg/100g)과 비교해볼 때 NM I(6.75mg/100g), NM II(5.25mg/100g)가 약 10배 정도 그 함량이 더 높게 나타났다. 4-methyl catechol은 CM, NM I, NM II가 초기에 약 0.02mg/100g으로 비슷하였으나 말기에는 증가하여 0.19, 1.38, 2.14mg/100g를 보였다. 4-methyl catechol은 다른 polyphenol 화합물과는 달리 NM II 가 NM I 보다 더 높은 양을 나타내었다. p-

Coumaric acid는 CM, NM I, NM II가 초기에 약 0.02mg/100g으로 비슷하였으나 말기에는 0.08, 0.28, 0.55mg/100g으로 증가했고, NM II가 NM I보다 더 높은 양을 나타내었다.

7. 색도변화

Hunter colorimeter로 머루주의 투과색을 측정하여 L value, a value, b value를 관찰하였다. Fig. 7에서 L

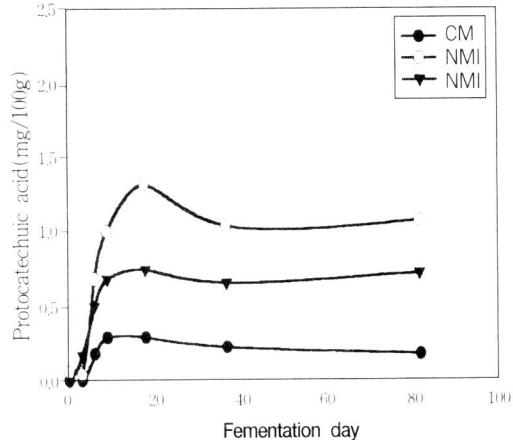
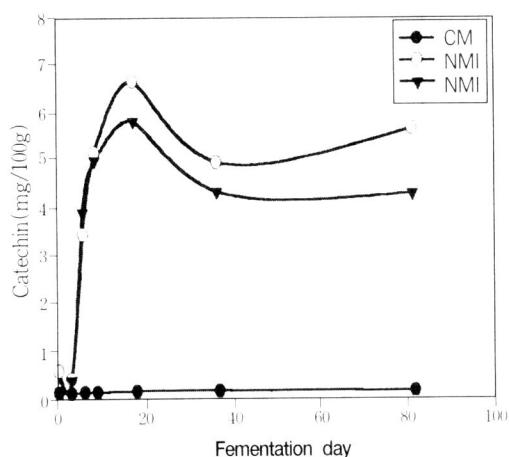
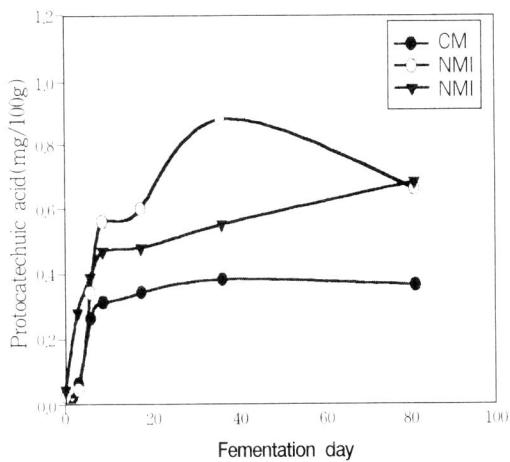
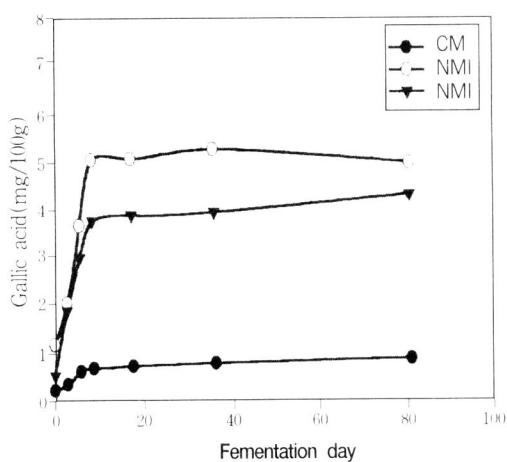


Fig. 5. Changes on gallic acid, protocatechuic acid, catechin and chloegenic acid contents during Moru-ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I , NM II : New Method II

value는 발효초기에 증가하다 발효 9일 이후로 감소하여 white보다는 black에 가까운 경향을 보였다. a value는 발효 초기에 증가하여 6일 이후로 감소했고 발효 말기에는 다시 조금 증가했는데 green보다는 red에 가깝게 나타났다. b value는 발효 말기에 전반적으로 yellow보다 blue의 경향을 보였다.

IV. 결론

우리 나라 전통 과실인 무공해 채배 머루를 이용한 머루주 제조방법을 달리했을 때 발효기간 중 화학성분들의 변화와 효모의 생균수를 관찰하였다. pH는 3.47에서 증가하여 NMII>NMII>CM 순이었고, 총산도는 감소하는 경향이 CM=NMI>NMII이었다. Ethanol 함량은 발효초기에 급격히 증가하여 NM

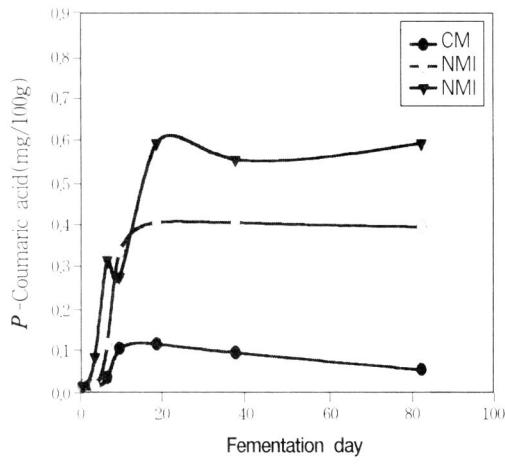
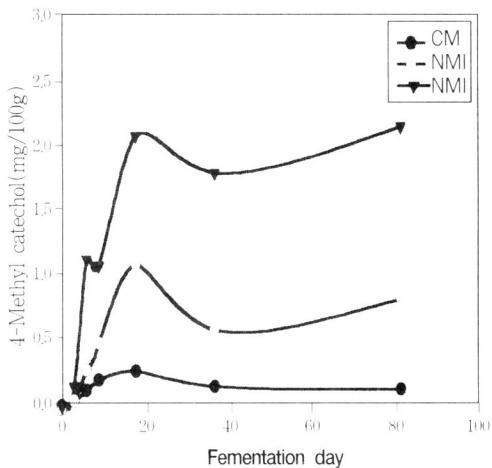
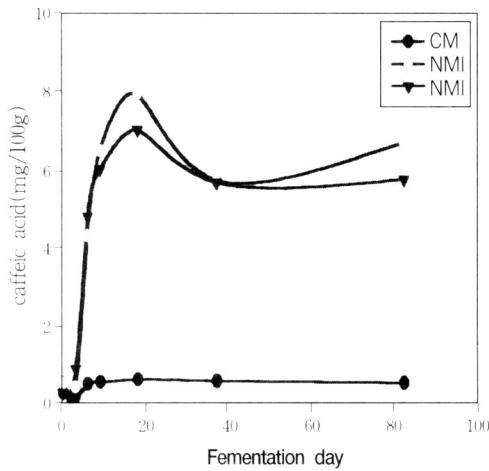
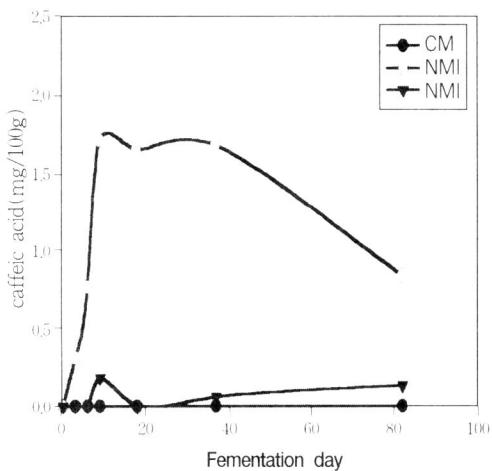


Fig. 6. Changes on caffeic acid, epicatechin, 4-methyl catechol and *p*-coumaric acid contents during Moru-Ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I , NM II : New Method II

II(14.4%)>CM(13.5%)>NM I(13.2%)이었으며, total SO₂ 함량은 발효초기에 증가하다가 중기 이후에 감소하여 0.5 g/L를 나타내었다. *S. cerevisiae*의 생균수는 CM, NM I, NM II가 정상기 7.8, 7.8, 7.6 log cfu/ml에서 2.7, 4.1, 4.7 log cfu/ml로 감소했다. *S. cerevisiae*의 glucose, fructose의 발효속도는 111.2, 119.6 g/L에서 18일 이후로 잔존량이 0.3 g/L이하로 감소하였다. 또

한 최근 Phytochemical 성분으로 주목을 받고 있는 머루주 천연색소인 polyphenolic compounds 함량을 제조방법이 다른 CM, NM I, NM II에서 관찰하였다. 머루주의 total phenolic content는 CM, NM I, NM II가 1665, 3296, 1942 mg/l gallic acid로 나타났다. Eletro spin resonance spectrometer로 superoxide radical scavenging 효과를 측정하였으며 total phenolic 함량이

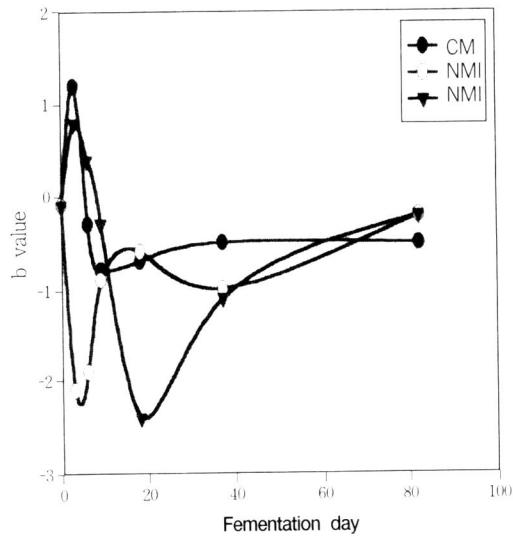
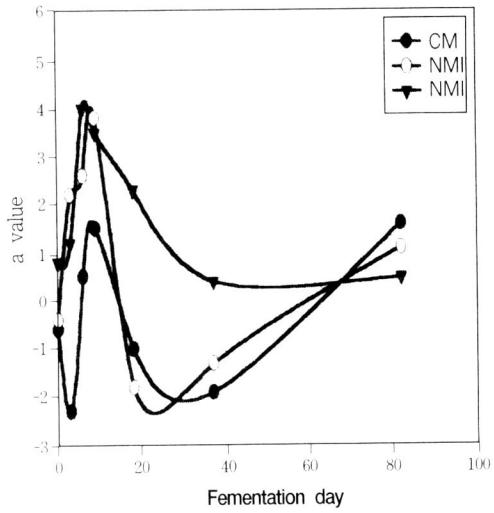
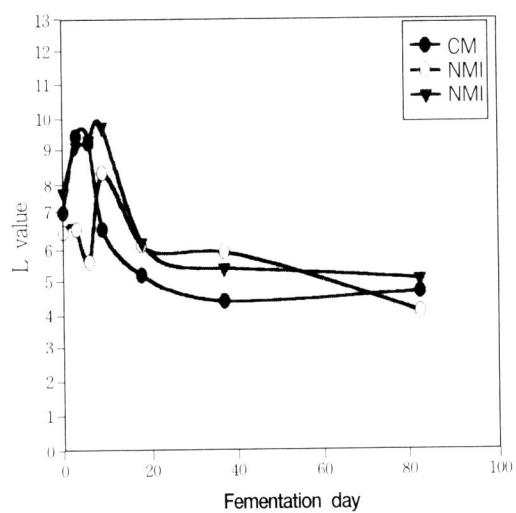


Fig. 7. Changes on L, a and b values during Moru-Ju fermentation at 15°C

CM : Conventional Method, NM I : New Method I, NM II : New Method II

가장 높은 NM I에서 가장 크게 나타났다. Hunter colorimeter로 머루주의 L value, a value, b value의 변화를 관찰하였으며 발효 과정 중 색깔의 변화는 L value는 black, a value는 red, b value는 blue의 경향을 나타내었다. 머루주의 polyphenolic compounds는 HPLC로 분석하여 gallic acid, protocatechuic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, syringic acid, epicatechin, 4-methyl-catechol, p-coumaric acid의 9가지 물질을 확인, 관찰하였다. 이상의 결과로 머루주 제조에 껍질과 씨와 함께 발효 한 머루주의 건강기능성 효과를 나타내는 superoxide radical scavenging 효과가 가장 컸으며, polyphenolic compounds의 함량도 높게 나타났다. 앞으로의 연구는 관능검사를 통한 머루주 저장 중 변화 및 임상실험을 통한 머루 천연색 소가 체내에 미치는 영향 등, 생체 내 생화학적 변화에 관한 연구 및 생리활성 기능에 관한 과학적 연구로 머루의 우수성을 국제화할 수 있으리라 사려된다.

참고문헌

1. 조용운(1995). 한국산 개량머루를 이용한 발효 주의 개발. 농림수산부 보고서.
2. 황인경, 안승요(1975). 머루(*Vitis amurensis Ruprecht*) Anthocyanin에 관한 연구. 제1보. 한국농화학회지 18: 183.
3. 황인경, 안승요(1975). 머루(*Vitis amurensis Ruprecht*) Anthocyanin에 관한 연구. 제2보. 한국농화학회지 18: 188.
4. 후지이무네기요(1997). 전통비약의 야마포도주. 조선일보.
5. Akaile, T., Ijiri, S., Sato, K., Katsuki, T., and Maeda, H.(1995), Determination of peroxyl radical-scavenging activity in food by using bacterial action of alkyl peroxy radical. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 1864.
6. Atlas, R. M., Parks, L. C. and Brown, A. E. (1995). Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, Inc.
7. Bisson, L. F., Butzke, C. E., Ebeler, S. E.(1995), The role of moderate ethanol consumption in Health and human nutrition. *Am. J. Enol. Vitic.*; 46.
8. Cook, N. C., Samman, S.(1996). Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr. Biochem.*, 7: 66.
9. Criqui, M. H., and Ringel, B. L.(1994), Does diet or alcohol explain the French paradox? *Lancet.* 344: 1719.
10. Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., Mar a, I. G. and Tomás-Lorente, F.(1991), An HPLC technique for flavonoid analysis in honney. *J. Sci. Food Agric.*, 56: 49.
11. Frankel, E. N., Kanner, J., German, B., Parks, E., Kinsella, J. E.(1993). Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet.* 341: 454.
12. Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. and Aruoma, O. I.(1995). Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: What they do and how they work. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, 35: 7.
13. Hanasaki, Y., Ogawa, S., and Fukui, S.(1994), The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.*, 16: 845.
14. Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., Kromhout, D.(1993), Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Eldery Study. *Lancet.* 342: 1007.
15. Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., Betty van de Putte(1993), Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 1242.
16. Kanner, J., Frankel, E. N., Granit, R., German, B., Kinsella, J. E.(1994), Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 64.

17. Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B., Kanner, J.(1993). Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods, *Food Tecchnol.*, 147: 85.
18. Koh K. H, Lee J. H.(1996), Phenolic content and superoxide radical intensity of Korean wines, *Foods Biotechnol.*, 5: 338.
19. Koh K. H, Lee J. H, Yoon K. R, Choi S. Y, and Seo K. L.(1998), Phenolic compounds of Korean red wine and their superoxide radical scavenging activity, *Food Sci. Biotechnol.*, 7: 131.
20. Kondo, K., Matsumoto, A., Kurata, H. (Tanahashi), H., Koda, H., Amachi, T., Itakura, H., 1994, Inhibition of oxidation of low-density lipoprotein with red wine, *Lancet*, 344: 1152.
21. Mangiapane, H., Thomson, J., Salter, A., Brown, S., Duncan Bell, G., and White, D. A.(1992). The inhibition of the oxidation of low density lipoprotein by (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid, *Biochemistry Pharmacology*, 43: 445.
22. Middleton, E. Jr. and Kandaswami, C.(1994), Potential health-promoting properties of citrus flavonoids, *Food Technol.*, 48: 115.
23. Mitsuta, K., Mitsuta, Y., Kohno, M., Hiramatsu, M. and Mori, A.(1990), The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 63: 187.
24. Moroney, M. A., Alcanaz, M. J., Forder, R. A., Carey, F. and Hault, J. R. S.(1988), Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitor by an antiinflammatory flavonoid glycoside and related flavonoids, *J. Pharm. Pharmacol.*, 40: 787.
25. Papas, A. M.(1966), Determinants of antioxidant status in humans, *Lipids*, 31, S-77.
26. Renaud, S., De Lorgeril, M.(1992), Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease, *Lancet*, 339: 1523.
27. Salago ty-Auguste, M. H. S. and Bertrand, A. (1984). Wine phenolics- Analysis of low molecular weight components by high performance liquid chromatography, *J. Sci. Food Agric.*, 35: 1241.
28. Sefrani, M., Ghiselli, A. and Ferro-Luzzi, A. (1994), Red wine, tea, and antioxidants, *Lancet*, 344: 621.
29. Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Ochi, H.(1995), Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from differnt sources, *J. Agric. Food Chem.*, 44: 80.
30. Sato, M., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Ramarathnam, N., Takeuchi, M., Ochi, H.(1995), Correlation between phenolic contents in wines and supe-roxide radical scavenging activitie: Distribution of the activites in wine fractions, *ASEV Jpn. Rep.*, 6: 233.
31. Torel, J., Cillard, J. and Cillard, P.(1986), Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical, *Phytochem.*, 25: 383.
32. Warner, H. R.(1993), Overview: Mechanisms of antioxidant action on life span, *Toxicol. Ind. Health*, 9: 151.
33. Waterhouse, A. L.(1995), Wine and heart disease, *Chemistry & Industry*, 5: 338.
34. Wiseman, H.(1996), Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease, *J. Nutr. Biochem.*, 7: 2.
35. Zoëcklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H. and Nury, F. S.(1990), Production wine analysis, 196, Van Nostrand Reinhold, New York, USA.