

碩士學位論文

濟州民俗 齣살藥酒와 蒸溜酒의 製造를
위한 優秀菌株 選拔과 釀造特性

濟州大學校 大學院

農化學科

田 承 燁

1998年 12月

Screening of Strains and Zymological
Characteristics of millet Wine and Distilled liquor,
a Traditional Wine in Cheju Island

Seung-Yeob Jeon

(Supervised by professor Jeong-Sam Koh)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF MASTER OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF AGRICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1998. 12.

濟州民俗 齣쌀藥酒와 蒸溜酒의 製造를
위한 優秀菌株 選拔과 釀造特性

指導教授 高正三

田承燁

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함.

1998年 12月

田承燁의 農學 碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長 金贊植 印

委員 高榮煥 印

委員 高正三 印

濟州大學校 大學院

1998年 12月

목 차

| | |
|---------------------------|----|
| Summary | 6 |
| I. 서 론 | 8 |
| II. 재료 및 방법 | 10 |
| 1. 재료 | 10 |
| 1) 양조원료 | 10 |
| 2) 공시균주 | 10 |
| 2. 분석방법 | 10 |
| 1) 전분 당화균주의 효소활성 | 10 |
| (1) 효소액의 조제 | 10 |
| (2) 효소활성 | 11 |
| 2) 알콜 발효균주 선발 | 12 |
| (1) 효모배양 | 12 |
| (2) 발효력 | 12 |
| 3. 누룩 및 좁쌀약주의 제조방법 | 13 |
| 1) 누룩 | 13 |
| 2) 좁쌀약주 | 13 |
| 4. 원료처리 및 담금배합비율에 따른 양조특성 | 14 |
| 1) 증자방법 | 14 |
| 2) 입국원료미 | 14 |
| 3) 급수비율 | 14 |
| 4) 누룩함량 | 14 |
| 5) 성분분석 | 14 |
| 5. 좁쌀약주 및 증류주의 향기성분 분석 | 15 |

| | |
|---------------------------|----|
| Ⅲ. 결과 및 고찰 | 16 |
| 1. 전분 당화균주의 효소활성 | 16 |
| 2. 알콜 발효균주 선발 | 19 |
| 3. 원료처리 및 담금배합비율에 따른 발효특성 | 21 |
| 1) pH | 21 |
| 2) 총산함량 | 25 |
| 3) 알코올함량 | 28 |
| 4) 가용성고형물 | 31 |
| 5) 총당 | 34 |
| 6) 환원당 | 37 |
| 4. 좁쌀약주 및 증류주의 향기성분 분석 | 40 |
| Ⅳ. 요약 | 44 |
| Ⅴ. 참고문헌 | 46 |

Summary

In order to develop traditional millet wine, screening of mold and yeast, nuruk to make the wine. The following is the summary of the compared results of the ingredients of various millet wine, each produced with different materials.

1. The result of the fermentation with mold is that G3 mold, named *Rhizopus* SP., showed a high fermentation level in the SP analysis and the GA analysis. And in the a-SP analysis, we found that B1 mold, which is *Asp.kawachii* fungus was the highest. In the comparison analysis of the amount of generated reducing sugar, G3 and B2 showed the highest fermentation activation respectively.

2. In the analysis of pH and soluble solids to select the best ferment, similar results showed. In the analysis of the alcohol content and weight loss, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274 showed the highest fermentability.

3. pH change depending on the material; In the treatment platforms through a process of steaming grain, grains and a portion of water, the pH started to decrease after the first day of fermentation and then, after the second day, it tended to increase. However, in the habitat with a portion of nuruk, it tended to increase from the first day for fermentation. Also, the more nuruk was put in, the more pH increased.

4. In the analysis of total acid content, the combined habitats of glutinous millet and barley from the material grain treatment habitat, showed a relatively high content. And, the more the portion of water increased, the lower the content was. As the portion of nuruk increased, the total acid content increased.

5. In the analysis of alcohol content, the processed steamed grain group used by autoclave, the combined group of glutinous millet and rice, and the water portion(120%) treatment groups showed up the most. In the groups where the treatment group of the portion of the nuruk was put in, the alcohol content appeared higher in the 20% nuruk treatment group than in the 15% treatment group until the 6th day of fermentation. However, after the 7th day of fermentation, the 15% nuruk treatment group appeared higher than in the 20% group.

6. In the analysis of soluble solids, the treatment group with material grains and the combined groups of glutinous millet and barley appeared high, and among the treatment groups with a portion of water, the less brewing liquid you put in, the higher the soluble solids content was. In the treatment group with a portion of nuruk, the more nuruk you put in, the higher the soluble solids content was.

7. In the analysis of total sugar content, if you compare all treatment groups, the group with a portion of nuruk appeared high. Among the treatment groups with a portion of nuruk, the more nuruk you put in, the higher the total sugar content was.

8. In the analysis of the reducing sugar content, in each group, the reducing sugar content tended to decrease.

9. The ingredients of the odor of the clear strained rice wine and the clear strained glutinous millet wine were mostly *i*-amyl alcohol, *i*-butyl alcohol, and *n*-propyl alcohol, which all belong to the fusel oil class. In clear strained glutinous millet wine, ethylacetate was detected, which was not detected in clear strained rice wine. The ingredients of the odor of the distilled rice liquor and the distilled glutinous millet liquor were also mostly from the fusel oil class, and especially *i*-amyl alcohol, *i*-butyl alcohol, methyl alcohol and acetone appeared high in distilled glutinous millet liquor.

10. In the change of the odor ingredients through each stage of distillation, the more the distillate increased, the less the amount of detected odor ingredients decreased. Especially, in the latter distillations, nothing except acetaldehyde, acetone and methyl alcohol were detected in rice suldeot. And in glutinous millet suldeot, everything except ethylacetate and *n*-propyl alcohol were detected. In both treatment suldeot groups, when the alcohol content was 60~30v/v%, ethylacetate was detected.

I. 서론

술은 인류의 기원과 함께 시작되어 오랜 세월을 거쳐 인류 문화의 발전에 영향을 주었다. 또한, 술은 여러 지역, 민족, 기후, 풍토에 따라 특색 있는 개성 있는 술로 발전하였으며 세계 각국에는 여러 형태의 주류가 다양하게 분포되어 있다.

우리 나라 술인 탁주와 약주는 삼한시대 이전에 전래되어 오랜 세월을 거치는 동안 발전된 것으로 보여진다(장, 1991). 삼한시대를 거쳐 고려 중기에 이르러 다채로운 양조가 실시되었으며, 이때부터 탁주, 약주(청주), 소주 등의 주류가 문헌에 나타난다. 조선시대에 지방, 가정, 계절, 용도 등에 따라 양조 방법이 다양해져 그 종류도 많이 나타났으며, 약주류, 탁주류, 소주류, 약용주류(가향주류) 등으로 분류되었다. 지방 민속주는 대부분이 약주류와 약주 제조시 식물약재 등을 첨가하여 제조하는 약용주류에 속하는 것이 많았다(장, 1990).

제주의 민속주는 섬이라는 지형적인 특수성 때문에 독자적인 특색을 띄게 되었다. 술의 재료와 제법도 독특하여 술 빛는 용기도 다양하게 발전하였다. 제주 민속주 중에서도 좁쌀을 이용한 술이 품질 면에서 우수하여 좁쌀약주(오메기술)는 발효가 끝난 다음 윗부분의 맑고 노란 청주를 따로 퍼낸 것으로 주정도가 적당하여 고급술로 각종 제의(祭儀)에 쓰였다. 청주의 밑부분인 탁주는 일용주로 농사일이나 바닷일을 하면서 중참으로 마시거나 관혼상제 시에 손님 접대용으로 이용하였다. 또한, 고소리술이라 불리는 한주는 좁쌀 등을 원료로 술을 빚어 술덧을 증류시켜 얻어진다. 고려말부터 빚기 시작한 한주는 조선시대에는 널리 보급되어 저장용 술로 자리잡아 제주의 대표적인 술이 되었다.

1907년 조선총독부령에 의한 주세령공포(酒稅令公布)로 전통주는 잠적하기 시작하여 밀주가 민속주의 맥을 이어갔다. 1916년 1월에는 주류단속이 강화되면서 민속주 가운데서 약주, 막걸리, 소주만으로 획일화시켰다. 1917년부터는 주류제조업의 정비가 시작되면서 자가양조는 전면적으로 금지되었으며, 약주(단순 양조주류)와 막걸리, 그리고 소주만이 판매되었다(장, 1990).

가정에서 빚는 민속주를 밀주(密酒)로 단속함에 따라 제주의 전통 민속주는 거의 사라질 위기에 있었으나, 1980년대에 들어오면서 우리 술을 되살리려는 몇몇 사람들의 노력으로 전통 민속주에 대하여 제조허가가 주어졌다(황, 1995). 제주 좁쌀술도 구전에 의한 개인비법으로 전해오다 성읍 민속마을에서 좁쌀 막걸리를 제조하고 있으며, 제주 민속촌에서는 좁쌀 약주를 재현하여 이를 토대로 약주 제조면허를 받아 제조하여 시판하기에 이르렀다(양 등, 1993).

제주지역 민속주에 대한 연구는 민속학적인 측면에서 일부 소개되었고,(현 등, 1983; 양 등, 1993)에 의해 좁쌀약주의 제조를 위한 곡자용 우수균주의 선발과 특성, 좁쌀약주의 청정방법을 검토한 바 있다. 그러나, 지금까지 좁쌀약주 양조에 대한 기

초적인 연구가 제대로 이루어지지 않았으며, 이에 따라 제조법이 단순하고 비위생적인 관리로 저장성이 없으며, 산패가 용이하고, 곡자의 당화력이 약할 뿐만 아니라 원료특성으로 인하여 양조효율이 떨어지며, 양조자 및 양조방법에 따라 품질이 일정하지 않아 대량생산에 어려움을 겪고 있는 실정이다.

본 연구는 제주전통누룩 개발을 위한 우수균주 선별과 누룩을 자체 제조하여 좁쌀약주의 발효특성 및 좁쌀증류주의 양조특성을 규명하여, 전통 제주 민속주의 특성을 살리면서 균일한 품질을 유지하기 위한 기초적인 생산기술을 개발하기 위해 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 양조원료

제주지역에서 생산되는 1997년산 차좁쌀(*Setaria itarica* BEAUVOIS)과 쌀(*Oryza sativa* L.), 보리쌀(*Hordeum vulgare* L. emend. LAMARK)을 사용하였으며, 양조용수로 는 수돗물을 사용하였다.

2) 공시균주

제주대학교 농화학과 식품생물공학연구실에 보존 중인 증인 전분당화력이 강한 곰팡이와 알코올 발효능이 우수한 효모균주를 사용하였다. 이외에도 시판곡자(12점), 발효화학연구소(수원, 충무)에서 제조한 종국(2점), 제주민속촌 분양종국(1점) 등을 분리 시료로 하였다.

분쇄한 시료를 멸균수로 희석한 후 Czapek-Dox 한천배지를 이용하여 집적배양법으로 순수 분리한 다음 곰팡이는 potato dextrose agar(PDA) 사면배지, 효모는 yeast extract-malt extract(YM) agar 사면배지에 배양하여 공시균주로 하였다.

2. 분석방법

1) 전분 당화균주의 효소활성

(1) 효소액의 조제

당화력을 비교하기 위하여 밀기울 배지에서 28℃, 5일간 배양한 koji 5g을 1% NaCl 100ml를 가하여 3시간 진탕시킨 후, 여과시키고 6,000rpm에서 10분간 원심 분리한 다음 상등액을 효소용액으로 사용하였다.

당화력(SP)의 측정에는 koji 1g을 취한 후 1% NaCl 20ml를 가하여 30℃에서 3시간 효소를 침출시킨 다음 정성여지로 여과한 여액을 5% 조효소용액으로 하였다. 이를 물로 희석하여 1% 및 0.5% 효소용액으로 한 다음 당화력을 측정하여 비교하였다.

Glucosylase activity(GA)의 측정에는 koji 1g을 0.5% NaCl용액 5ml에 5℃에서 12시간동안 방치한 다음 실온에서 3시간 교반하여 추출한 상등액을 0.01M Na-acetate buffer(pH 5.0)에서 하루동안 투석한 후 효소액으로 사용하였다.

내산성 당화력(a-SP)의 측정에는 당화력 측정 효소액 조제에서 얻어진 5% 효소

액 50ml에 0.1N HCl을 가하여 pH 2.5로 조절 한 후, 40℃의 항온수조에서 30분간 작용시킨 다음 0.1N NaOH 용액을 가하여 pH 5.0으로 조절하였다. 이와 같이 산 처리한 효소액을 물로 100ml되도록 하여 2.5%의 효소액을 조제하였다.

(2) 효소활성

호화된 차좁쌀가루에 물 10ml를 넣고 0.1N Na-acetate buffer(pH 5.0) 4ml를 가한 후 기질용액으로 하여 희석효소액 1ml를 가하였다. 항온수조에서 50℃, 60분간 반응시킨 다음 0.5N NaOH 1ml를 가하여 효소작용을 중지시키고 급랭시킨 후 Somogyi-Nelson법으로 환원당을 정량하였다(Hatanaka and Kobara, 1980).

당화력은 2% 가용성 전분용액을 기질로 하여 국제청 주류 분석규정에 따른 SP와 일본 국제청 주류분석규정에 따른 glucoamylase의 활성을 분석하여 비교하였다.

SP는 기질용액을 55℃에서 60분간 효소반응시킨 다음 생성된 환원당의 양을 Somogyi-Nelson법으로 측정하여 기질의 당화율이 15%되는 범위에서의 당화율에 희석배수를 곱하여 산출하였다.

$$\text{당화율(\%)} = \frac{\left(\frac{\text{전분당화액의 당분\%} - \text{희석효소액의}}{\left(2\% \text{ 가용성전분의 총당} \times 1/2 \right) + \left[\text{희석효소액의 총당\%} \right.} \right.}{\left. \left. \frac{\text{당분} \right) \times 1/10}{- \text{희석효소액의 환원당} \right] \times 1/10} \right) \times 100$$

Glucoamylase의 활성은 40℃에서 20분간 반응시킨 효소-기질 반응액 1ml를 사용하여 Somogyi-Nelson법으로 반응액 중에 생성된 포도당 양을 측정하였으며 아래 식에 의해 효소활성도를 계산하였다.

$$\text{효소활성도(Unit)} = \text{생성포도당량(mg)} \times \frac{60}{20} (\text{반응시간}) \times \frac{1}{0.1} (\text{효소량}) \times \frac{100}{10} (\text{추출율})$$

내산성당화력(a-SP)은 산 처리한 효소용액을 사용하여 국제청 주류분석규정에 따른 SP의 분석과 동일한 방법으로 산출하였다. SP와 a-SP의 단위는 누룩 혹은 koji 1g에 대한 활성으로 표시하였다.

2) 알코올 발효균주 선발

(1) 효모 배양

전 배양은 YPD배지(1% yeast extract, 2% bacto peptone, 2% glucose, pH 6.0)에 보존균주와 분양균주를 접종한 후 30°C에서 120rpm의 속도로 24시간 진탕 배양하였다. 알코올 생산성을 조사하기 위한 본 배양은 15% glucose를 함유하는 YPD 배지를 erlenmeyer flask에 분주하여 살균한 후 전 배양액 5%(v/v)를 접종하여 30°C에서 120rpm으로 진탕 배양하였다.

(2) 발효력

발효 중에 발생하는 CO₂의 생성량은 배양기간 중에 일어나는 감량을 중량법으로 측정하였고, 발효 중에 생성된 알코올 함량은 gas chromatography(HP, USA)에 의하여 측정하였다. 분석조건은 Table 1에서 보는 바와 같다.

Table 1. Condition of gas chromatographic analysis.

| | |
|----------------------|----------------|
| Detector | F.I.D |
| Column | HP-INNOWAX |
| Injector temperature | 150°C |
| Detector temperature | 150°C |
| Column temperature | 60°C |
| Carrier gas | N ₂ |
| Flow rate | 30ml/min |

또한, 발효종료 후 총산 함량은 AOAC법에 준하여 분석하였고, 가용성고형물(Brix)은 Refractoanalyzer(model RA-510, Kyoto Electronics, Japan)를 사용하여 실온에서 측정하였다. pH는 pH meter(model 310, Orion, USA)로 측정하였다.

3. 누룩 및 좁쌀약주의 제조방법

1) 누룩

배(1995)의 방법을 변형하여 좁쌀약주용 누룩을 제조하였다. 즉, 밀기울배지에 당 화력이 우수하다고 판단된 *Rhizopus* 속 2균주와 향기성분을 비교적 다량으로 생산하는 황국균을 접종하여 배양하였고, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274를 YM배지에 종균배양을 한 다음 3%(w/v) 혼합하여 종균분무액을 조제하였다.

밀가루 : 차좁쌀가루 : 밀기울을 9 : 9 : 2 비율로 혼합하고 여기에 원료당 120%의 물을 가하여 잘 혼합하여 직경 32cm, 두께 3.6cm의 원반형으로 성형한 후 증자한 다음 혼합 종균 분무액을 살포하여 28℃에서 7일간 배양하고 2일간 32℃에서 건조시켜 조곡으로 제조하였다.

2) 좁쌀약주

구전으로 전래되고 있는 오메기술의 제조방법을 토대로 민속주의 주질 향상을 위하여 좁쌀약주를 제조하였다. 먼저 입국제조용 원료미를 세미하여 침지한 다음 120℃에서 30분간 증자기에서 증자를 한 후 40℃로 냉각하여 가와지 백국균 (*Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*)을 입국원료미당 0.25% 접종한 후 2일 동안 28℃에서 배양하여 출국하였다. 그리고, 5L 하구병에 출국한 입국 30g, 물 45ml, 배양효모(*Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274) 1.5ml를 넣은 후 밀술을 제조하였다. 담금 품온을 22℃ 내외로 유지하고, 하루에 3번 교반한 후, 3일 후 숙성에 이르면 다시 입국 270g, 물 435ml를 가하여 1단담금을 실시하였다. 1단담금 후 최대품온을 30℃ 미만으로 조절하여 하루 2회 교반하고 2일 후 2단담금을 하였다. 2단담금에 사용한 원료는 차좁쌀 700g, 물 1,120ml, 자체 제조한 누룩 20g이었고, 담금 후 최고 품온을 28℃ 내외로 조절하고 하루 1~2회 교반하였다. 발효는 숙성술덧 물료가 괴어 오른 다음 일주일 후에 종료하였다. 발효가 종료된 숙성술덧은 압착여과를 거치고 냉장저장 후 몇 차례 여과공정을 거쳐 상등액을 취하여 좁쌀약주로 하였다.

4. 원료처리 및 담금 배합비율에 따른 양조특성

1) 증자방법

증자방법을 압력솥, 멸균기, 증기를 각각 이용하여 증자처리한 원료미를 사용하여 좁쌀약주를 빚었다.

2) 입국원료미

입국원료미를 차좁쌀입국(차좁쌀 단용), 보리쌀입국(차좁쌀+보리쌀 혼용),쌀입국(차좁쌀+쌀 혼용) 처리구로 나누어 술을 빚었다.

3) 급수비율

전체 원료미당 급수비율을 120%, 140%, 160%, 180%로 각각 조절한 후 술을 빚었다.

4) 누룩 함량

누룩 함량을 전체 원료미당 2%, 5%, 10%, 15%, 20%로 각각 조절한 후 술을 빚었다.

5) 성분분석

원료를 달리한 처리구를 발효기간별로 성분을 분석하였다. pH는 pH meter(model 310, Orion, USA)로, 가용성고형물(。Brix)은 Refractoanalyzer (model RA-510, Kyoto Electronics, Japan)를 사용하여, 총산 함량은 AOAC법에 준하여 각각 분석하였다. 총당은 술덧 중 상등액을 취하여 0.7N HCl로 가수분해한 용액을 0.7N NaOH으로 중화한 다음 정용한 후 여과한 여액을 분석액으로 하여 Somogyi-Nelson법으로 정량하였다. 환원당은 Somogyi-Nelson법으로, 알코올 함량은 시료 100ml를 정확히 취하여 증류법으로 증류액이 80ml 정도가 되면 증류수를 가하며 100ml로 정용하여 잘 혼합하여 완전히 기포를 없앤 후 주정계로 측정, 15℃에서의 주정도로 환산하였다.

5. 좁쌀약주 및 증류주의 향기성분 분석

쌀과 차좁쌀을 각기 다른 원료처리구로 하여 급수비율과 누룩 함량을 원료미당 150%와 2%로 하여 술을 빚은 후, 알코올분을 13° 와 42°로 조절한 약주와 증류주를 제조하였다.

약주의 경우는, 쌀약주와 차좁쌀약주의 향기성분을 분석하여 비교하였고, 증류주의 경우 쌀증류주와 차좁쌀증류주를 증류액량 기준으로 초류, 본류, 후류 순으로 향기성분을 분석한 후 비교하였다. gas chromatography(HP, USA)에 의한 향기성분의 분석조건은 Table 2에서 보는 바와 같다.

Table 2. Condition of gas chromatographic analysis.

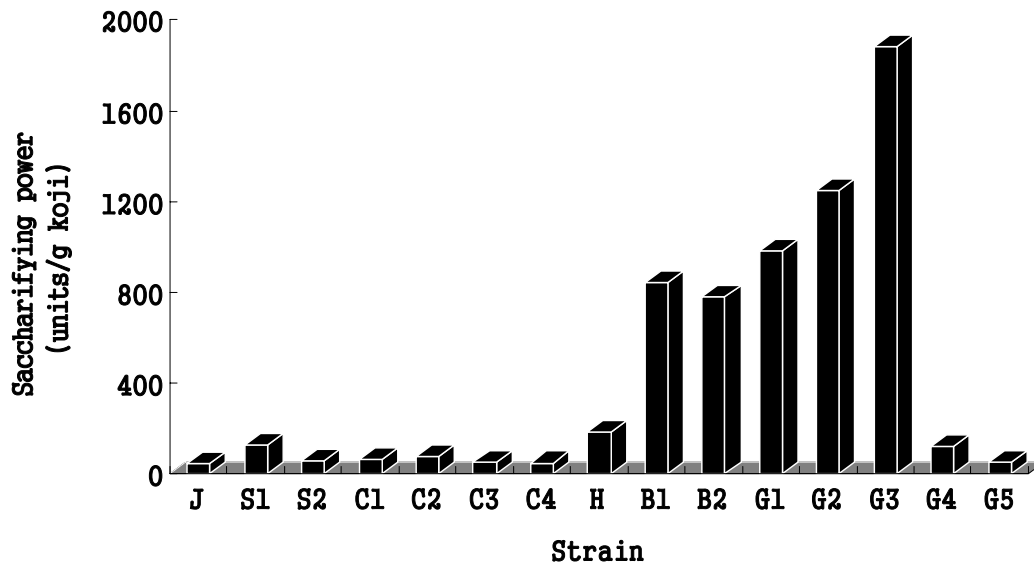
| | |
|----------------------|----------------|
| Detector | F.I.D |
| Column | PEG 6000 |
| Injector temperature | 200℃ |
| Detector temperature | 220℃ |
| Column temperature | 120℃ |
| Carrier gas | N ₂ |
| Flow rate | 15ml/min |

Ⅲ. 결과 및 고찰

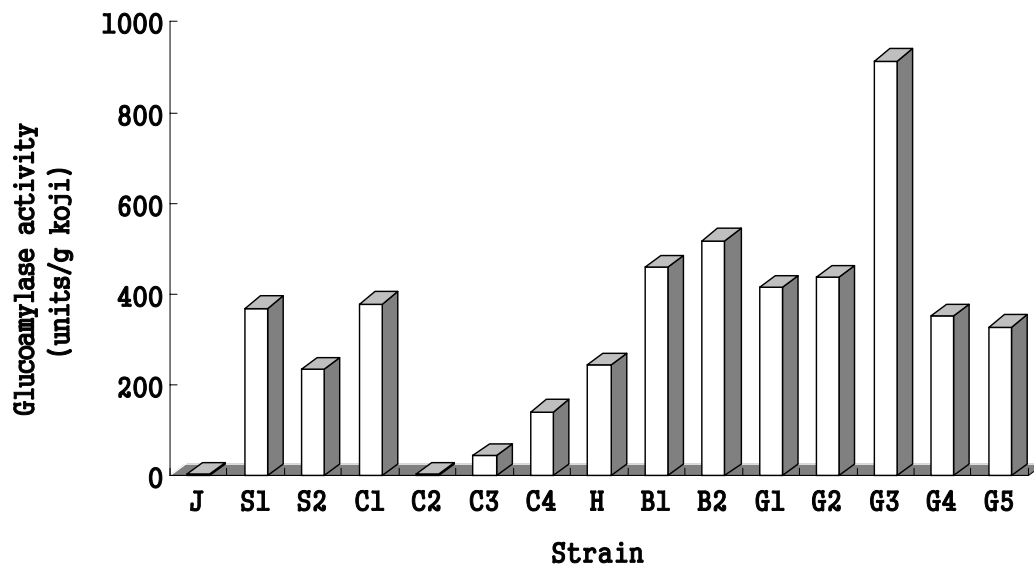
1. 전분 당화균주의 효소활성

전분을 분해하는 효소는 α -아밀라제, 글루코아밀라제, 내산성 아밀라제가 *Aspergillus*속, *Rhizopus*속으로부터 생산되고 있다. α -아밀라제는 액화효소라고도 하며, 전분에 작용하여 포도당 6개로 된 dextrin으로 끊은 다음 여기에서 맥아당을 생성하는 효소로 점도를 감소시켜 액화가 이루어지고, 나중에는 당화작용에 관여한다. 글루코아밀라제는 전분분자의 비환원성 말단에 작용하여 glucose분자 단위로 끊어서 전분분자를 거의 100% glucose로 분해한다(이 등, 1996). 선발된 우수곰팡이 15종에 대한 SP, GA 분석결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, SP의 경우 *Rhizopus*속으로 동정된 G1, G2 곰팡이균주와 *Aspergillus*속으로 동정된 G3 곰팡이균주가 다른 균주에 비해 당화력이 매우 우수함을 알 수 있었다. 주류제조교본(국세청, 1997)에 보고된 바처럼 당화균주 중 당화력에서는 *Aspergillus*속과 *Rhizopus*속 계열의 곰팡이균주가 우수함을 알 수 있었다. GA분석의 경우에는 *Aspergillus*속의 B1, B2 균주와 G3 균주가 높은 활성을 나타냈다.

Fig. 1에서의 당화력(SP)은 α -amylase와 β -amylase의 효소작용을 나타내었다. 일반적으로 곰팡이는 균주에 따라 생성되는 α -amylase와 β -amylase의 비(比)가 다르므로 필요한 당화력에서는 차이가 생기게 된다. 또한, α -amylase는 내산성이 약하고 β -amylase는 내산성을 갖고 있다(국세청기술연구소, 1996). 따라서 비교적 내산성이 강한 β -amylase를 많이 생산하는 우수 곰팡이를 선발하기 위해 a-SP를 측정하였고, 좁쌀약주의 전분질 원료인 차좁쌀에 작용하여 당화력이 우수한 곰팡이 균주를 얻기 위해 환원당 생성량을 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 *Aspergillus kawachii* 백국균으로 동정된 B1균주가 다른 균주보다 내산성 당화력이 우수함을 알 수 있었다. 그리고, SP, GA, a-SP 분석실험에서 우수하다고 판단된 G3, B1, B2 균주가 환원당 생성량에서도 높은 효소활성을 나타냈다.



(a)



(b)

Fig. 1. Saccharifying power(a) and Glucoamylase activity(b) of selected isolates;

■ : Saccharifying power □ : Glucoamylase activity

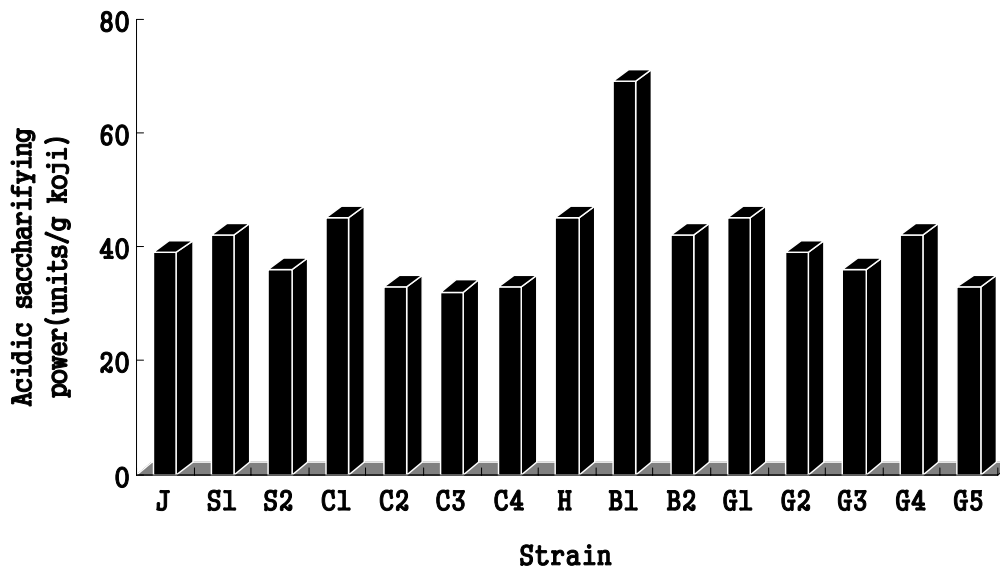
J - mold from Jinju Gogja S1, S2 - mold from Songhak Gogja

C1, C2, C3, C4 - mold from Choongang Gogja

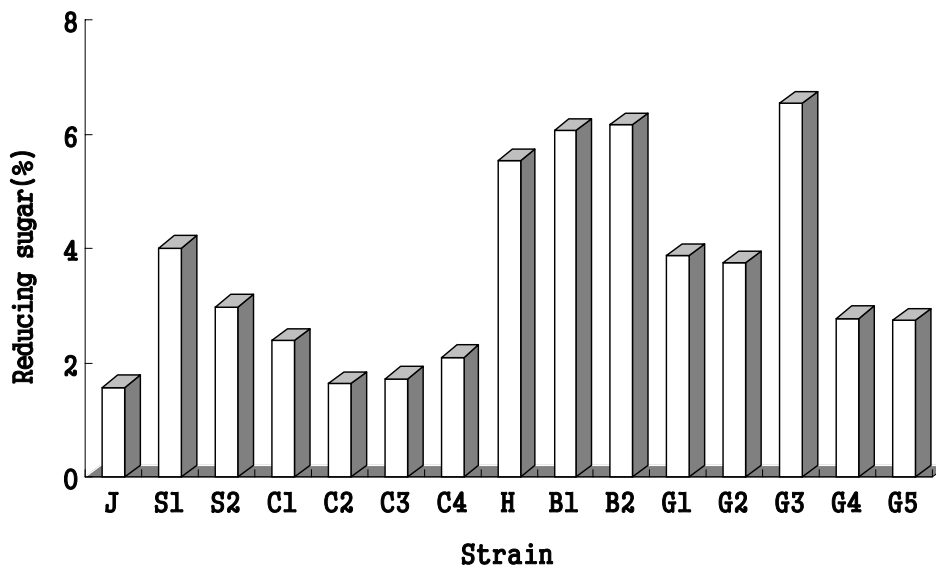
H - mold that was sent out from a Folk Village

B1, B2 - mold that was sent out from the Fermentation Chemistry Laboratory

G1, G2, G3, G4, G5 - mold from Garayng Nuruk



(a)



(b)

Fig. 2. Acidic saccharifying power(a) and Enzyme activity(b) of selected isolates;

■ : Acidic saccharifying power □ : Enzyme activity

J - mold from Jinju Gogja S1, S2 - mold from Songhak Gogja

C1, C2, C3, C4 - mold from Choongang Gogja

H - mold that was sent out from a Folk Village

B1, B2 - mold that was sent out from the Fermentation Chemistry Laboratory

G1, G2, G3, G4, G5 - mold from Garayng Nuruk

2. 알콜 발효균주 선발

효모균주 중 비교적 발효력이 강한 우수균주를 선발하기 위해 J1, J2, J3, J4, J5, CB1, CB3, CB9, P3, P6, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 42940, *Saccharomyces uvarum* IFO 1167, *Saccharomyces sake*, *Saccharomyces coreanus* 등을 분석한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 모든 시험균주에서 pH와 Brix 분석값은 pH 4.5, 7.4 Brix 부근이었고, 효모의 발효력에 따른 CO₂ 생성에 의한 무게감량과 알코올 함량을 분석한 결과, *Saccharomyces* 속 효모인 S3, S5 균주가 우수한 발효능을 보여 주었고, 이 중에서 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274는 감귤발효주 생산(고 등, 1989)과 제주토속 좁쌀약주의 양조특성(양 등, 1993)에 있어서도 우수 균주로 선정되어 그의 생리적인 성질을 잘 알 수 있으며, 당의 이용성과 유기산 생성이 많은 점 등을 고려하여 우수한 발효효모로 선발되었다.

3. 원료처리 및 담금 배합비율에 따른 발효특성

양조에 사용되는 원료의 종류와 처리방법에 따라 품질특성이 다르므로 증자방법, 입국원료미, 급수비율, 누룩 함량을 달리하여 각 처리구간 성분변화를 분석하였다. 담금 1일 후 pH는 4.0~4.5로 처리간에 차이는 없었으며, pH 및 총산을 결정하는 주요인은 누룩이 갖는 산의 침출, 밀술이 생성하는 유기산, 발효에 의한 유기산 생성에 기인(홍 등, 1970)하는 것으로 발효 중 pH 변화를 측정하므로써 발효경과를 알 수 있었다.

1) pH

발효과정 중 증자방법과 입국원료미에 따른 pH 변화는 Fig. 4와 같다. 담금 직후 pH는 어느 처리구나 발효 2일까지 감소되었으나 발효 3일로부터 발효종료 시점인 10일까지는 반대로 증가추세를 보였다. 각 처리구에 따른 pH변화를 보면 증자방법에 따른 처리구에서는 압력술 증자, 멸균기 증자, 증기 증자처리구 모두 발효 2일까지 각각 pH 값이 감소하다가 발효종료일인 발효 10일에는 pH 값이 3.7~4.0으로 비슷하였다. 입국원료미에 따른 pH 변화를 보면 쌀입국 처리구와 보리쌀입국 처리구에서는 발효 1일에서 2일까지는 pH 값이 저하되었다. 차좁쌀입국 처리구에서는 반대로 pH 값이 4.18에서 4.24로 증가하는 경향을 보였으나, 발효 3일에 들어서서 pH 값이 4.13으로 감소하였다. 그리고 쌀입국 처리구와 보리쌀입국 처리구는 비슷한 pH 변화를 보였으나 차좁쌀입국처리구에서는 pH 값이 불규칙한 변화를 나타냈다. 이는 알코올 발효에서 *Saccharomyces cerevisiae*의 최적성장 pH는 4.2라고 보고하였는데(Eroshin et al., 1976), 입국 원료로 쌀과 보리쌀을 사용한 처리구가 차좁쌀을 입국원료로 사용한 처리구보다 한 단계 빨리 술덧환경에 적응하여 발효가 진행됨을 알 수 있었다. 입국원료미로 쌀을 사용한 처리구는 발효 2일, 보리쌀을 사용한 처리구는 발효 2일, 차좁쌀을 사용한 처리구는 발효 3일에서 각각 pH 4.07, pH 4.24, pH 4.13으로 pH가 가장 낮았으며, pH가 너무 저하하면 amylase 활성이 감소한다고(Takahara et al., 1966) 하였는데, 이 때 효소활성의 저하가 예상되었다(양, 1993). 발효기간에서 pH의 저하로 인한 당화활성의 감소는 양조시 피할 수 없으므로 입국 원료미로 쌀을 사용할 경우에는 발효초기에 효모의 성장을 유도함으로써 높은 균체 농도를 유지하는 것이 양조원료의 당화효율을 높임과 아울러 알코올의 생성을 최대한 높이는 방법이라 생각되었다.

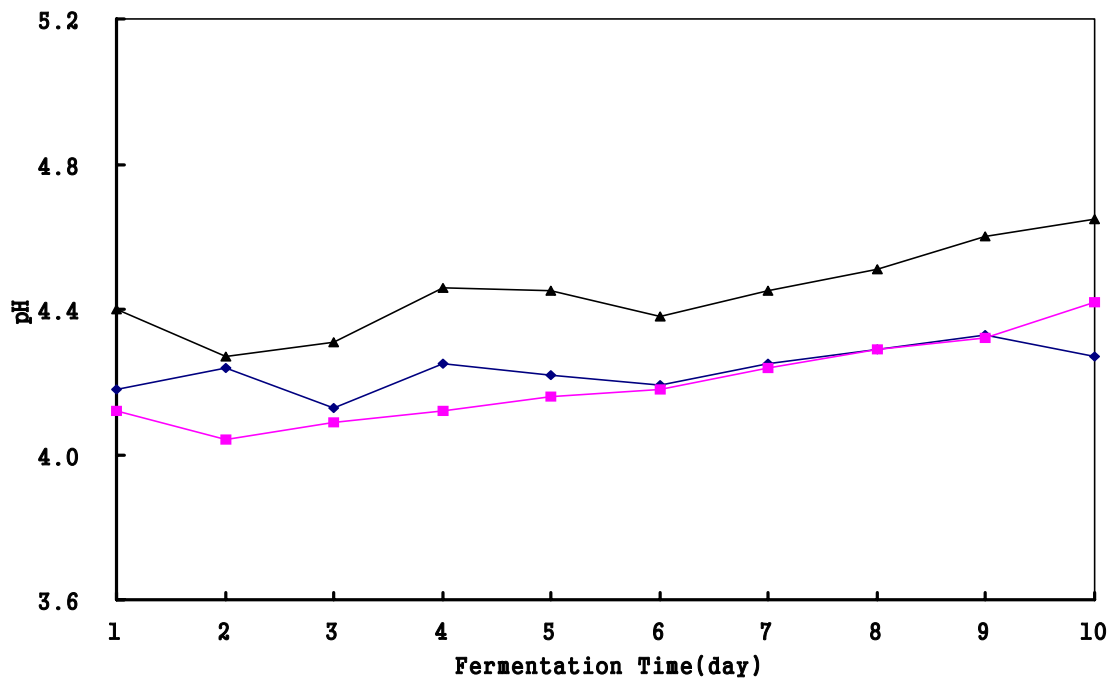
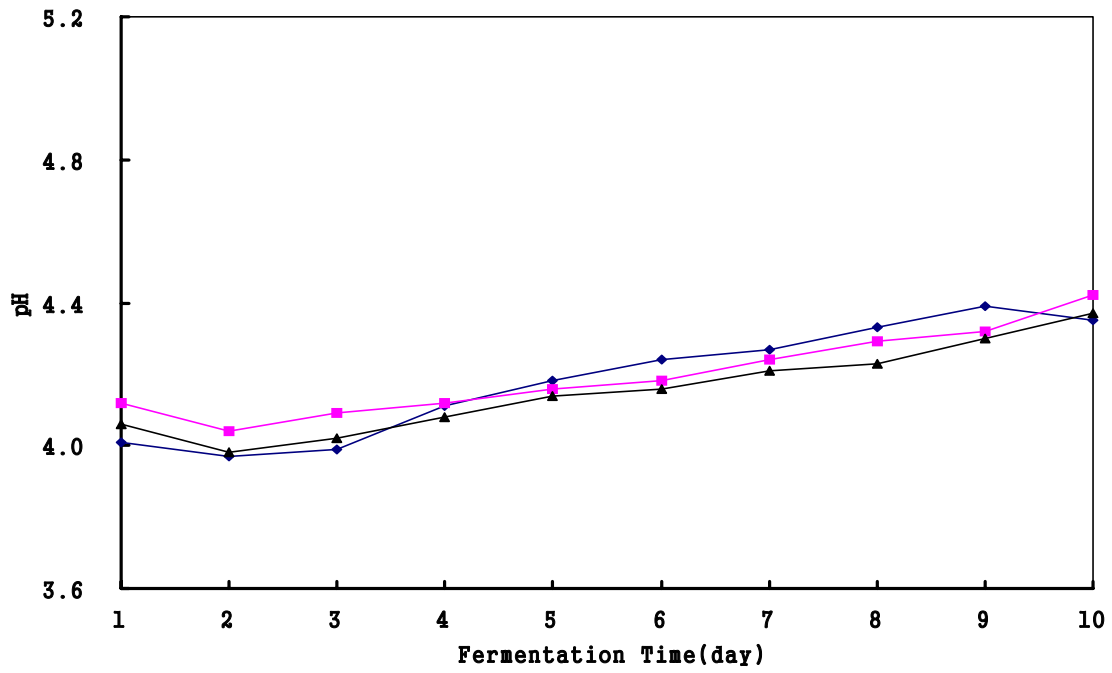


Fig. 4. pH change by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

급수비율과 누룩첨가율에 따른 pH 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 급수비율에 따른 pH 변화에서는 담금발효 1일까지 모든 급수처리구가 pH 값이 4.1이었으나 발효 2일에 들어서는 급수비율 140% 처리구가 비교적 심한 감소추세를 보였고, 급수비율 160%, 급수비율 120%, 급수비율 180% 처리구 순서로 완만한 감소추세를 보였다. 특히 급수비율 120% 처리구에서는 발효 3일까지 pH 값이 감소하는 추세를 보였으나 발효가 진행될수록 다른 급수처리구에 비해 높은 pH 증가추세를 보였다. 누룩 함량에 따른 처리구에서는 다른 처리구에 비해 발효 2일에도 pH 값이 변화가 없거나 오히려 증가하였다. 그리고 발효가 진행될수록 pH 값은 계속 증가하였고, 발효 종료 10일에는 누룩 함량이 많을수록 pH 값은 높게 나타났다. 발효후기의 pH 변화는 알코올 농도 의존성이 뚜렷하였는데, 발효 2일~발효 4일 사이에 높은 알코올 생성은 세포막의 통수성을 약화시키고 극성을 증가시켜 세포가 세포막 안팎의 농도 구배를 유지시키지 못하여 용질수송(solute transport)에 관련된 계(system)에 의하여 알코올이 세포밖으로 전이된 결과이며, 알코올 농도가 11%(v/v) 이상으로 이행되면서 proton influx의 diffusion 상수가 증가하기 때문에 알코올 농도가 증가함에 따라 pH가 증가한다는 사실과 일치하였다(Thomas et al., 1978 ; Nabais et al., 1988 ; Leao and van Uden, 1984).

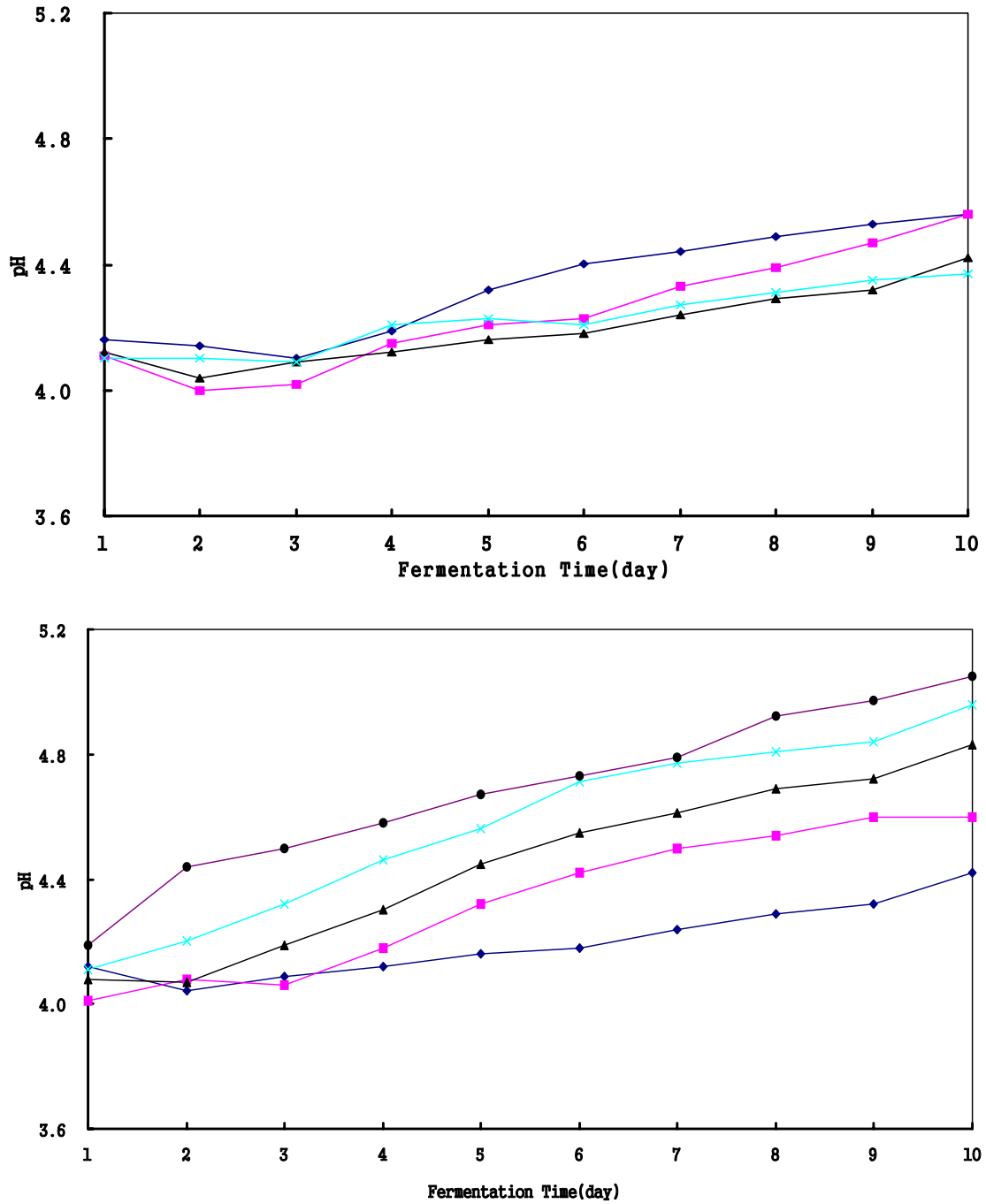


Fig. 5. pH change by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

2) 총산 함량

총산의 변화에 있어서 누룩단용시는 발효초기에 산생성이 현저히 저조하나 후기에 급증한다는 보고(이, 1967)와는 달리 밀술과 1단담금에 산생성능이 우수하다는 *Aspergillus kawachii* 백국균을 사용한 본 실험에서는 발효초기에 총산 함량의 증가가 뚜렷하였으며, 이후 완만하게 증가하는 경향을 보였다. 총산 함량은 담금 직후에 0.3%로 모든 처리구에서 함량이 적게 나타났으며, 서로간에 유의차도 없었으나 발효가 진행되면서 점차 증가추세를 보였다. 특히 누룩 함량에 따른 처리구에서는 발효 10일에는 0.58%의 총산 함량을 나타내어 다른 처리구에 비해 높은 함량을 보였다.

발효과정 중 증자방법과 입국원료미에 따른 총산 함량을 분석한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 증자방법에 따른 처리구에서는 발효가 진행되면서 처리구별로 총산 함량이 완만한 증가추세를 나타내다가 발효 10일에는 모두 0.38%의 함량을 나타내었다. 입국원료미에 따른 처리구에서는 차좁쌀입국 처리구와 쌀입국 처리구는 발효가 진행될수록 총산 함량이 증가하는 경향을 보였으나, 보리쌀입국 처리구에서는 발효 1일에 0.41%에서 발효 3일에는 0.36%로 0.05%가 감소하였다.

급수비율과 누룩 함량에 따른 총산 함량변화를 분석한 결과는 Fig. 7과 같다. 급수비율에 따른 처리구에서는 모든 처리구가 발효 1일에서 2일까지는 높은 증가추세를 보였고, 발효가 진행될수록 완만히 증가하였다. 그리고 급수비율이 180%에서 120%로 낮아질수록 총산 함량은 높은 결과를 나타내었다. 누룩 함량에 따른 총산 함량변화에서는 누룩 함량 2% 처리구에서 20% 처리구로 높아질수록 비례적으로 총산 함량은 높아졌다. 담금 직후의 총산은 주로 누룩이나 원료미에서 유래되나 발효가 진행되면서 술덧 중의 효모, 젖산균 등의 미생물의 작용으로 생성된 각종 유기산(이, 1982)들이 생성되어 총산 함량은 증가한 것으로 사료된다. 이상의 결과로 보아 술덧 중의 총산 함량이 발효일수의 경과에 따라 다소 차이를 보여 원료 종류 및 처리 방법에 따른 약주의 품질 차이가 예상된다.

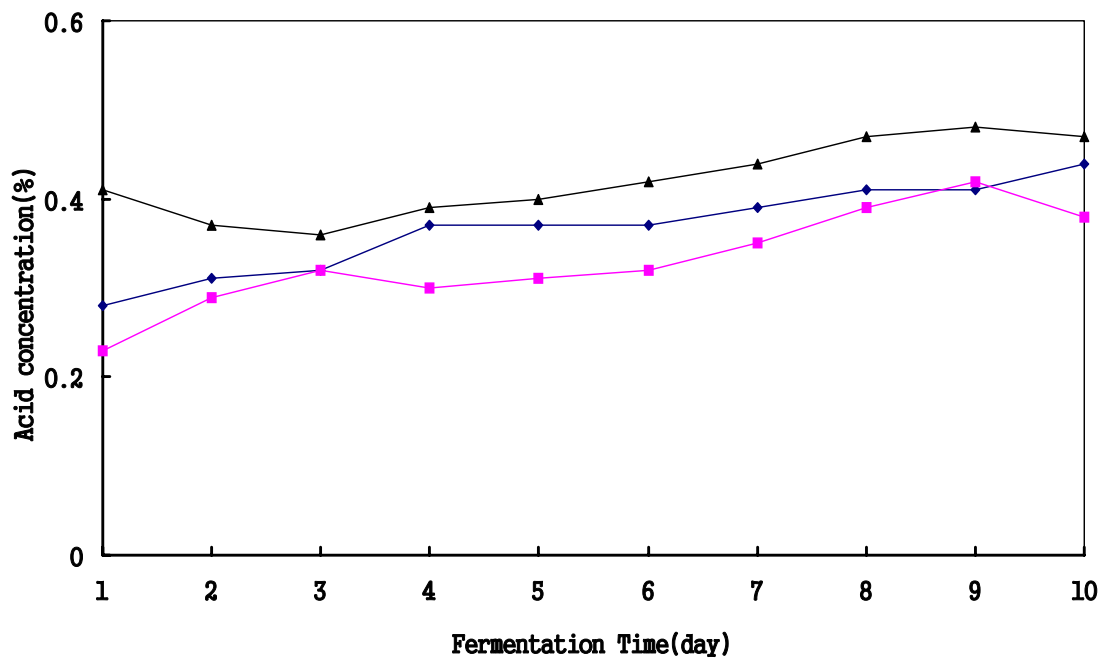
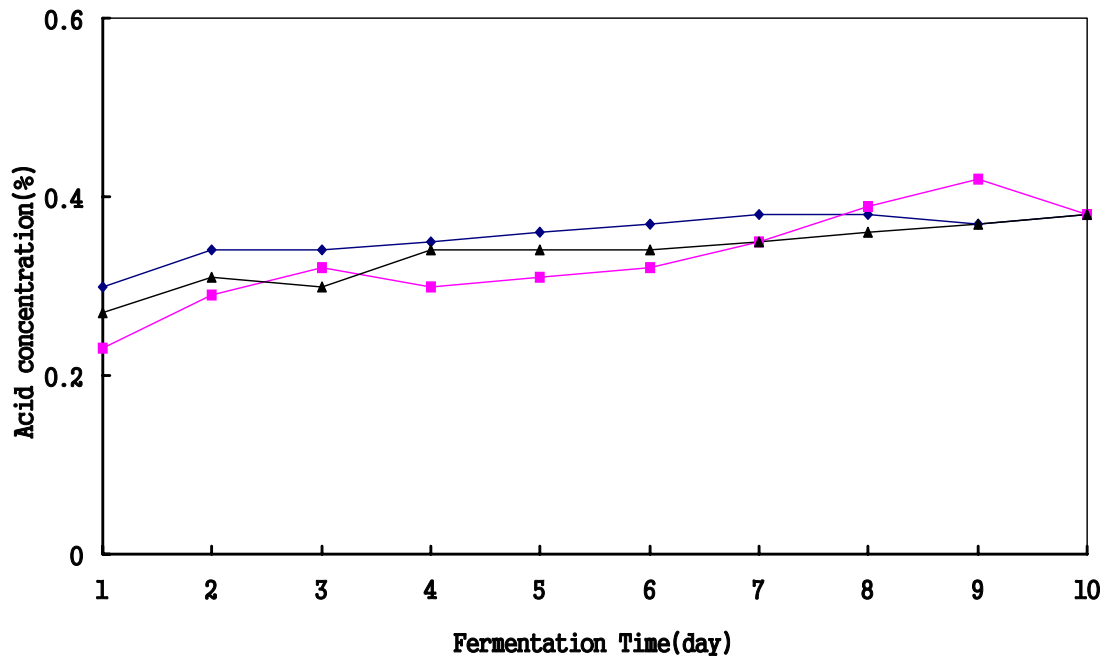


Fig. 6. Changes in acid concentration by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

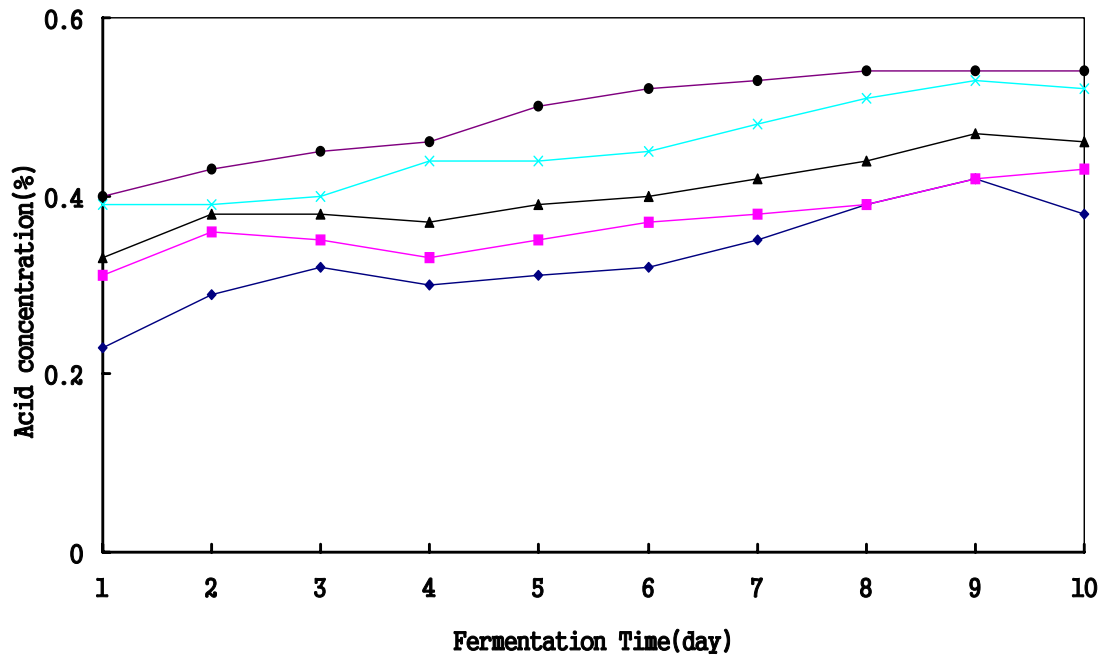
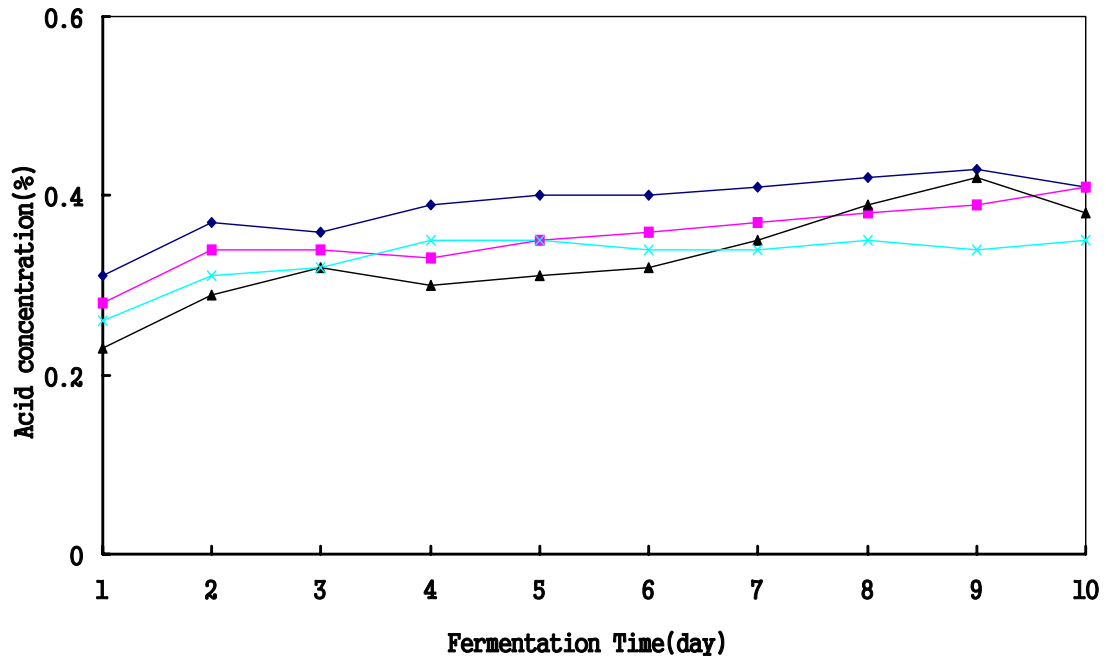


Fig. 7. Changes in acid concentration by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

3) 알코올 함량의 변화

알코올 함량은 모든 처리구에서 발효 2일까지는 높은 증가를 보였으나 발효 2일 이후 발효가 진행될수록 완만한 증가추세를 보였다.

증자방법과 입국원료미에 따른 알코올 함량 분석결과는 Fig. 8에 나타내었다. 증자방법에 따른 알코올 함량변화를 보면 증기를 이용한 증자처리구가 발효 초기에는 다른 처리구에 비해 알코올 함량이 증가하였으나 발효 종료일에는 14.7%로 가장 낮은 농도를 보였다. 압력솥 증자처리구, 멸균기 증자처리구, 증기 증자처리구 모두 발효 종료일에는 비슷한 알코올 함량을 보였다. 입국원료미에 따른 알코올 함량변화는 쌀입국 처리구가 차좁쌀입국 처리구와 보리쌀입국 처리구에 비해 높은 알코올 함량을 보였고 발효 종료일에는 15.1%의 알코올 함량을 보였다. 특히 입국원료미로 차좁쌀을 사용한 처리구보다 쌀과 보리쌀을 각각 사용한 처리구가 알코올 함량이 높은 것은 발효초기에 양조원료의 당화 정도가 균주의 발효환경에 이어져 높은 균체 증식을 유도한 결과(Nagodawithana et al, 1976)로 보이며, 대수기에서 대사활동의 총합이 당의 소모와 높은 알코올 생성으로 나타나는 균주의 발효시간에 따른 변화와 일치하였다.

급수비율과 누룩 함량에 따른 알코올 함량 분석결과를 Fig. 9에 나타내었다. 급수비율에 따른 알코올 함량변화에서는 발효 초기에는 모든 처리구가 비슷한 함량을 보였으나 발효가 진행되면서 급수비율이 적어질수록 알코올 함량은 높게 나타났으며, 발효 종료 후에는 급수비율이 180% 처리구가 알코올 함량 14.0%, 급수비율 160% 처리구가 15.1%, 140% 처리구가 16.2%의 알코올 함량을 나타낸 것에 비해 급수비율 120% 처리구는 17.0%의 높은 알코올 함량을 보였다. 이는 발효종료일 기준으로 15개 모든 처리구 중에서 가장 높은 수치였다.

누룩 함량에 따른 알코올 함량변화에서는 증자방법, 입국원료미, 급수비율에 따른 처리구보다 특히 높은 함량을 보였다. 발효 6일까지는 누룩 함량이 높을수록 알코올 함량도 높아졌으나 발효 7일부터 발효 종료일까지는 오히려 누룩함량 20% 처리구가 15% 처리구보다 함량이 낮았다. 그리고, 발효 10일까지 알코올 함량이 계속적으로 증가추세를 보인 결과는 이 등(1996)의 보고와 비슷한 경향을 보였으나 알코올 함량에서는 높은 함량을 보였다.

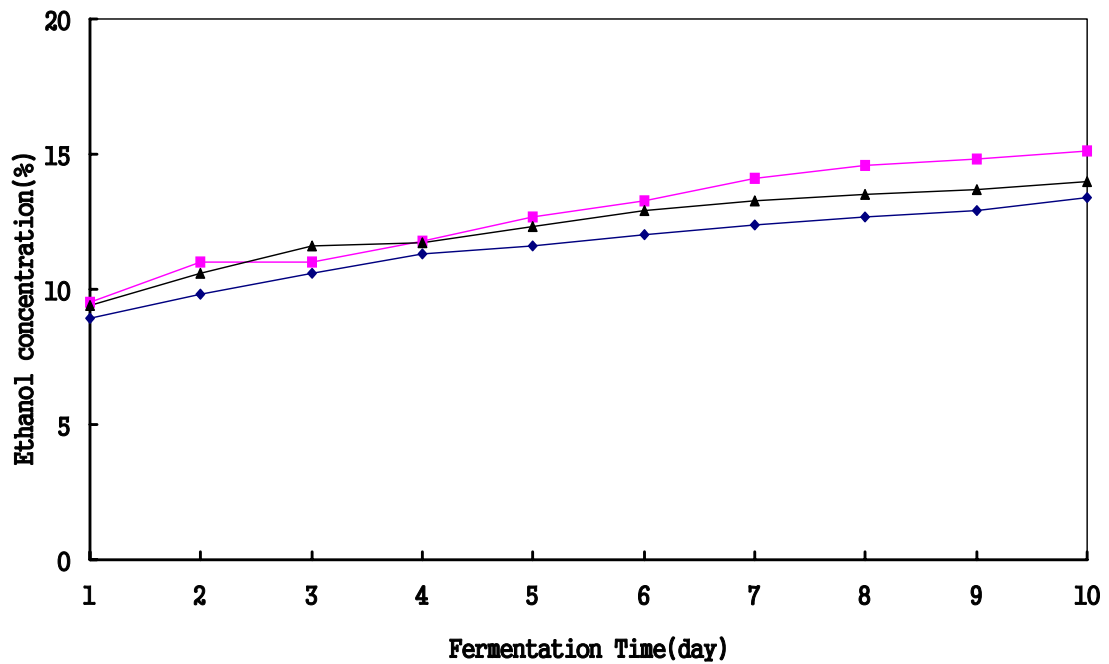
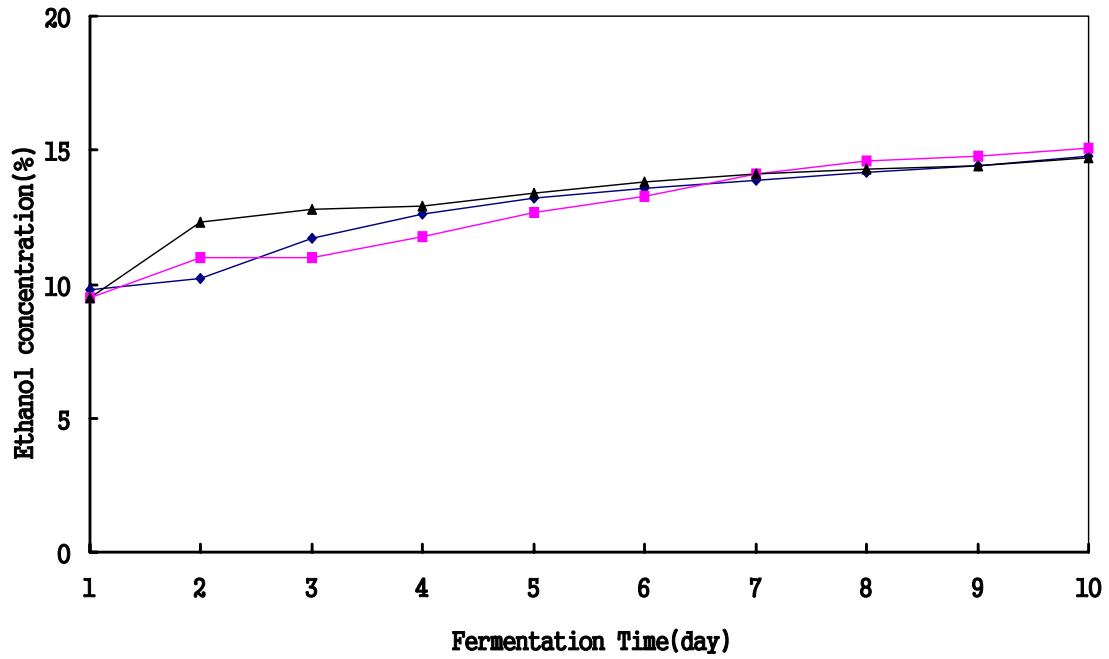


Fig. 8. Changes in ethanol concentration by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

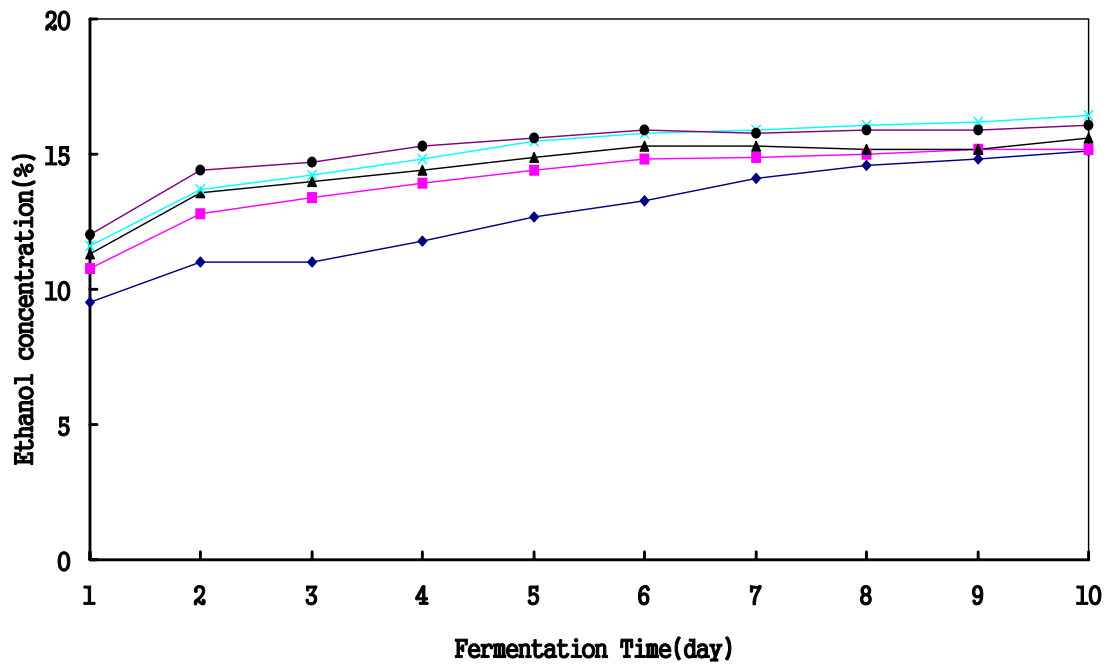
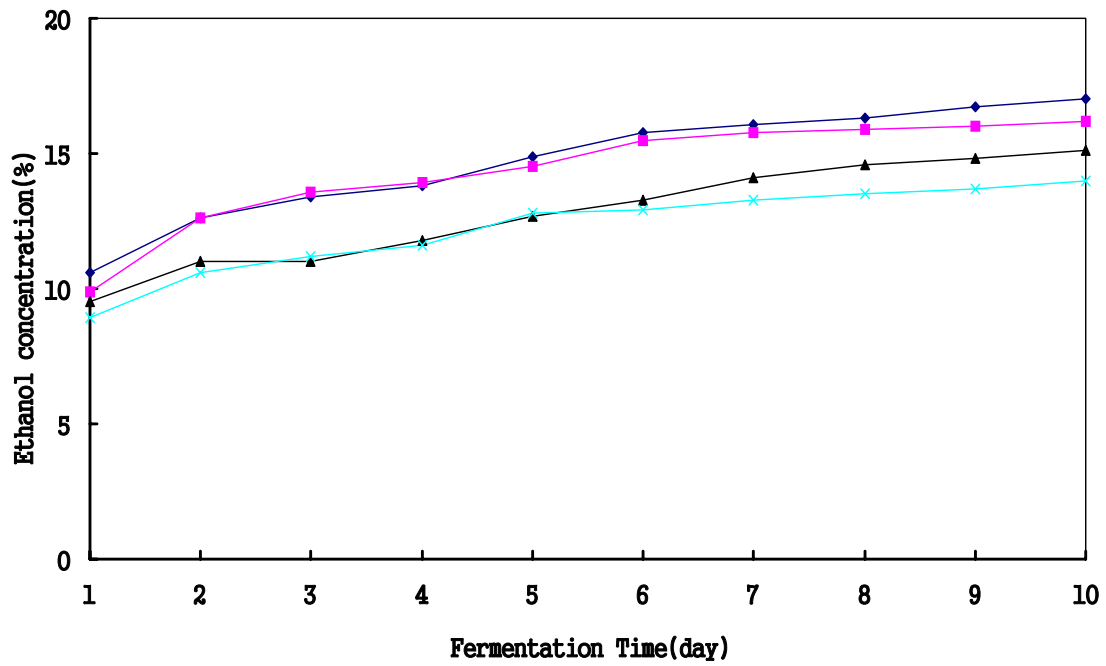


Fig. 9. Changes in ethanol concentration by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

4) 가용성고형물의 변화

발효 중의 가용성고형물 함량을 Fig. 10에 나타내었다. 전체적으로 보면 발효 1일에서 2일까지 가용성고형물 함량이 감소하고, 발효 3일부터 증가하는 경향을 보였다. 증자방법에 따른 가용성고형물 함량에서는 3개 처리구 모두 비슷한 경향을 보였고, 발효 종료일에는 압력솥 증자처리구가 7.46. Brix, 멸균기 증자처리구가 7.68. Brix, 증기 증자처리구가 7.64. Brix 함량을 보였다. 입국원료미에 따른 가용성고형물 함량에서는 차좁쌀입국 처리구와 쌀입국 처리구는 발효 초기에 가용성고형물 함량이 감소했다가 발효가 진행되면서 증가추세를 보였으나, 보리쌀입국 처리구에서는 발효 초기부터 종료일까지 계속적으로 가용성고형물 함량이 증가하였다.

Fig. 11에서 나타낸 급수비율에 따른 가용성고형물 함량에서는 급수비율 120% 처리구와 급수비율 140% 처리구가 9. Brix 함량을 나타냈고, 급수비율 160% 처리구와 급수비율 180% 처리구는 6. Brix 함량을 나타내었으나, 발효가 진행되면서 급수비율이 낮을수록 가용성고형물 함량은 높게 나타났다. 누룩 함량에 따른 가용성고형물 함량에서는 각 처리구마다 발효 2일까지 서로 다른 경향을 보였다. 누룩 함량 15%, 20% 처리구는 발효가 진행될수록 계속 증가하였으나, 누룩 함량 2%, 5%, 10% 처리구에서는 발효 2일까지 가용성고형물 함량이 감소하였고, 발효가 진행되면서 증가하였다. 발효 종료일에는 누룩 함량이 높을수록 가용성고형물 함량도 높아졌다. 누룩 함량이 높을수록 효소작용에 의한 당화작용이 활발하였고, 이에 따른 대수증식기 효모들의 작용으로 높은 알코올 생성량을 보여 알코올이 굴절계를 이용한 가용성고형물의 분석에 영향을 주었기 때문으로 사료된다.

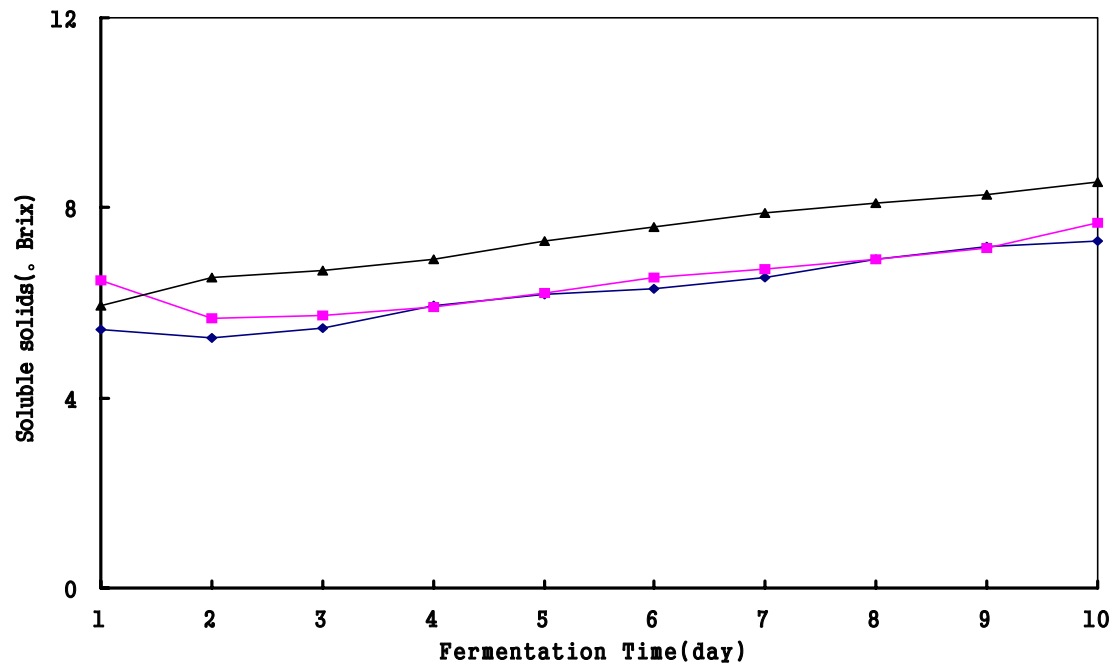
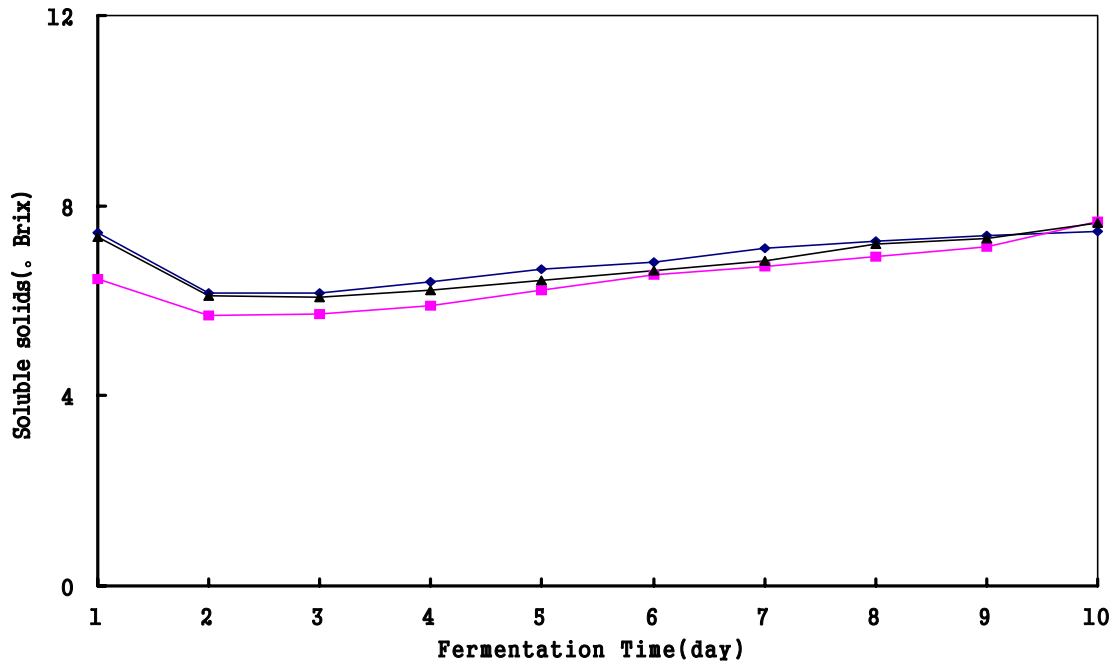


Fig. 10. Changes in soluble solids by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

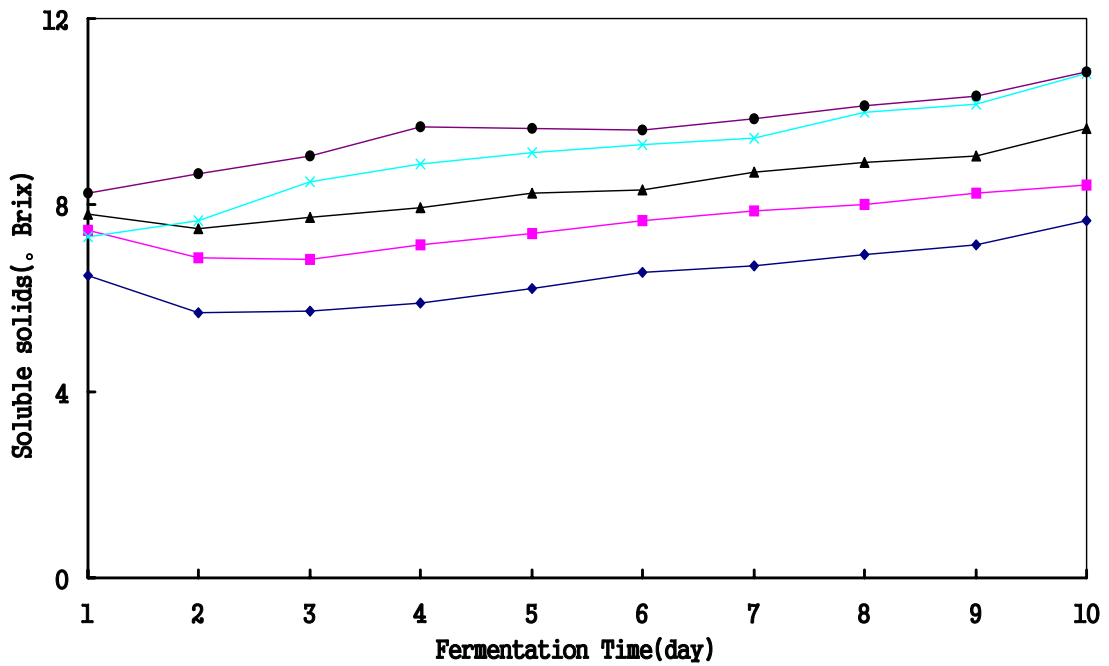
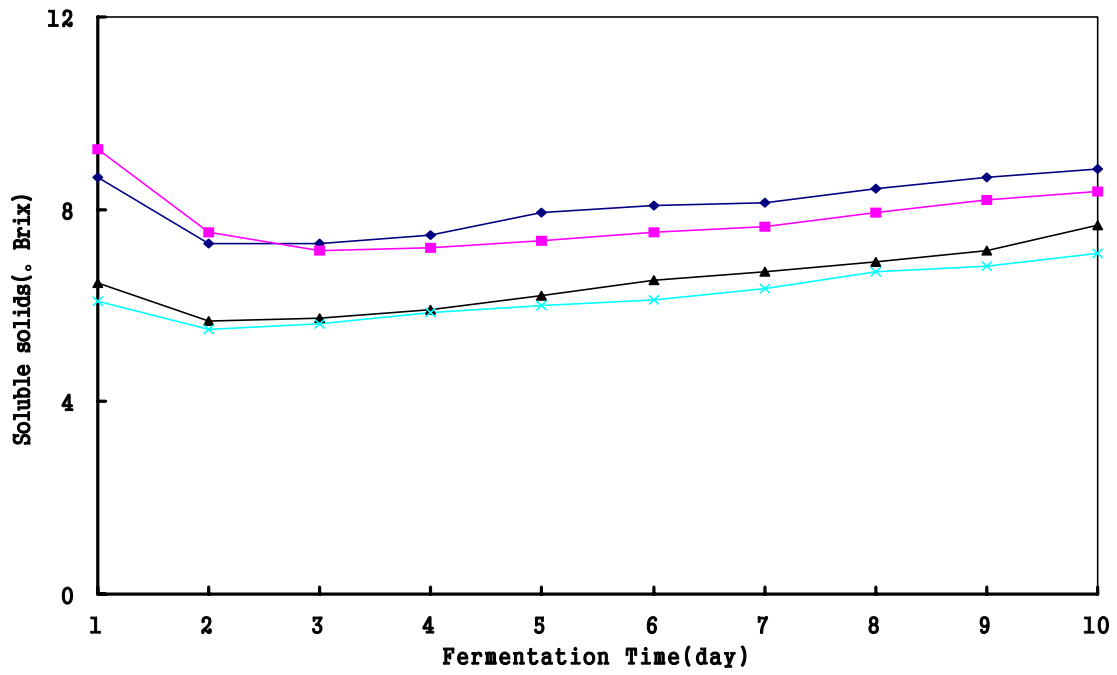


Fig. 11. Changes in soluble solids by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

5) 총당

발효 중 술덧의 총당 함량은 Fig. 12와 같다. 모든 처리구에서 발효 초기에는 총당 함량이 감소하였으나, 누룩 함량 10% 처리구와 15% 처리구에서는 증가하였다. 증자방법에 따른 총당 함량에서 압력솥 증자 처리구는 발효 1일 5.13%의 총당 함량을 보였으나, 발효 2일에서는 2.35%로 급격히 감소하였고, 멸균기 증자 처리구와 증기 증자 처리구는 완만한 감소 추세를 보였다. 입국원료미에 따른 총당 함량에서는 쌀입국 처리구는 발효 3일까지 급격히 감소함을 보였고, 다른 처리구에서는 비교적 완만한 감소 추세를 보였다. 그리고 발효가 진행되면서 3 처리구 모두 총당 함량의 감소 추세는 거의 없이 2.1%를 나타내었다.

Fig. 13에 나타낸 급수비율에 따른 총당 함량에서는 급수비율 120%, 140% 처리구에서 총당 함량 감소가 많았고, 특히 발효 1일~2일 동안 당은 5.5~5.0%에서 2.5~2.0%으로 감소하였고, 알코올 함량(Fig. 9)은 9~10%(v/v)에서 13~14%(v/v)로 급격히 변화하였다. *Saccharomyces cerevisiae*의 발효시간에 따른 변화는 당농도 11%까지 대부분 알코올로 전환되어 알코올 생성이 증가하며(허 등, 1989), 당의 직선적인 감소는 원료전분에서 환원당으로 전이하는 속도보다 당이 단위 시간당 알코올로 전환되는 양이 많은 결과였다(홍 등, 1970 ; Kawaharada et al., 1970). 급수비율 160%, 180% 처리구에서는 감소 추세가 완만했다. 발효 종료일에는 네 개 처리구가 서로 비슷하게 2.2%의 총당 함량을 나타내었다. 누룩 함량에 따른 총당 함량에서도 증자방법, 입국원료미, 급수비율에 따른 처리구와 비슷한 추세를 보였으나 상대적으로 높은 총당 함량을 나타냈다. 발효 종료일 총당 함량은 누룩 함량 20% 처리구는 2.70%, 누룩 함량 15% 처리구는 2.43%, 누룩 함량 10% 처리구는 2.15%, 누룩 함량 5% 처리구는 2.23%, 누룩 함량 2% 처리구는 2.10%의 총당 함량을 나타내었다.

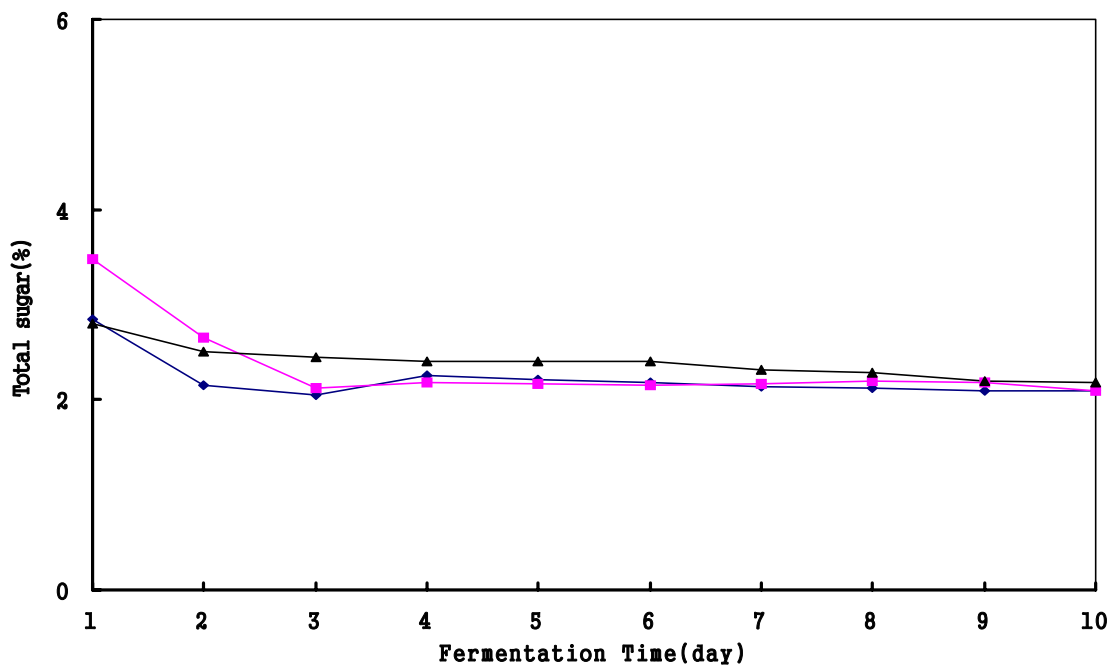
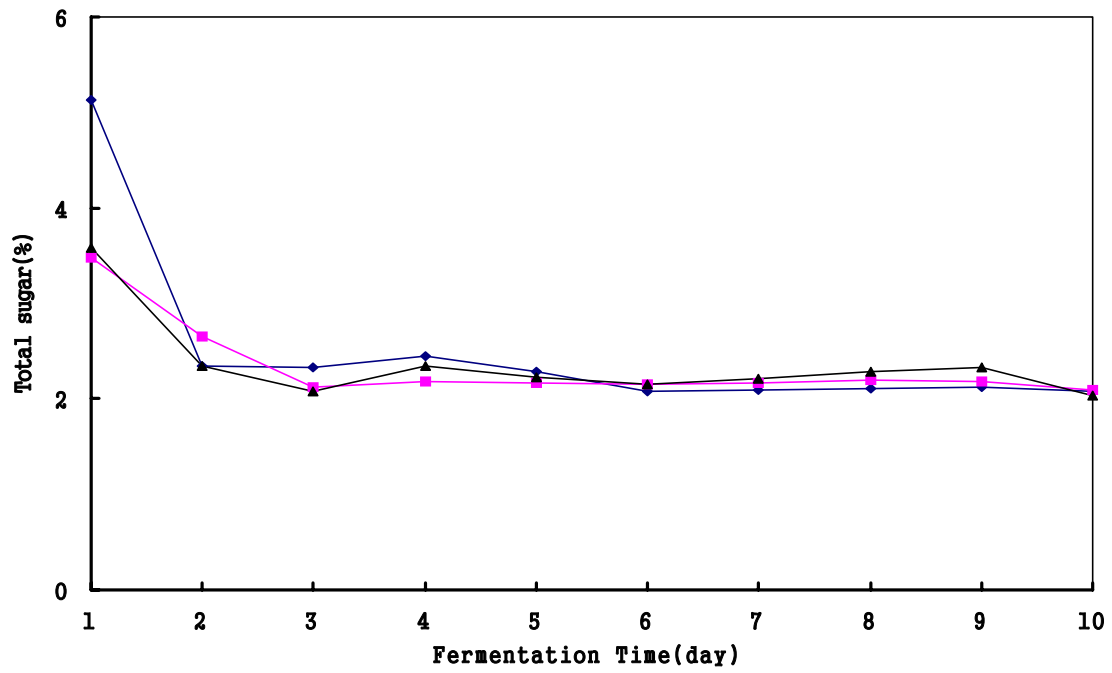


Fig. 12. Changes in total sugar by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

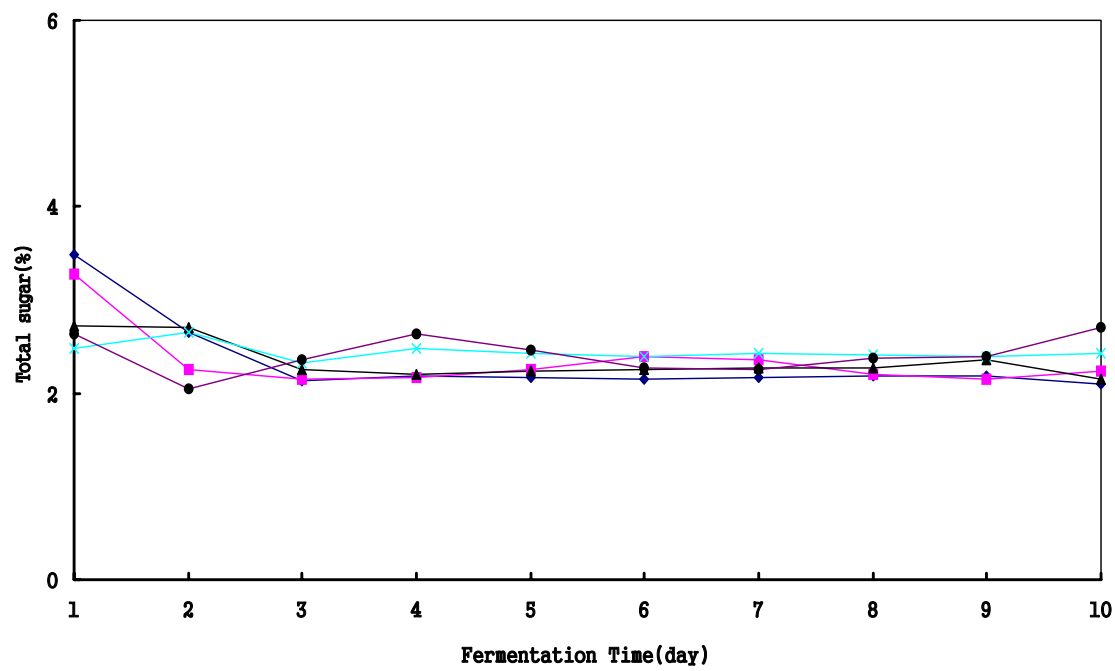
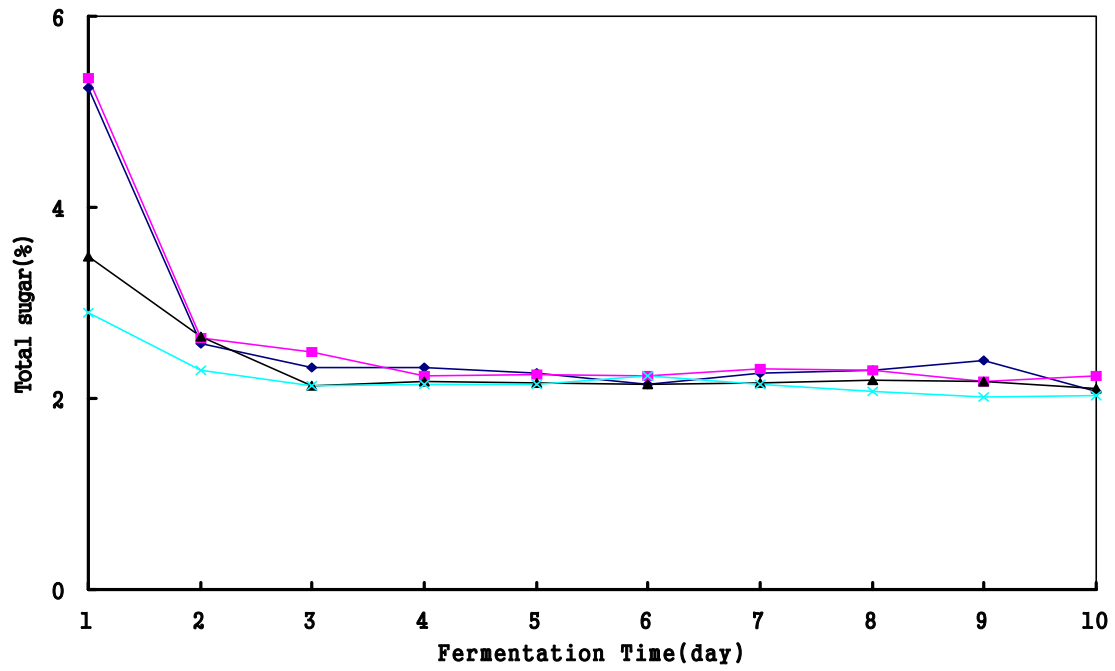


Fig. 13. Changes in total sugar by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

6) 환원당 함량

발효과정에서 술덧 중 환원당 함량에서는 발효 초기와 중기에서 환원당 함량이 감소하다가 증가하였고, 발효 말기에는 환원당 함량의 변화가 없거나 다시 감소하였다. Fig. 14에 나타난 증자방법에 따른 환원당 함량에서는 각 처리구 모두 발효 6일에 환원당 함량이 1.06%로 감소하였고, 발효가 진행되면서 완만한 증가 추세를 나타내었다. 발효기질에 대한 효소활성 및 효모의 대사활동이 발효기간 중 최대로 이루어지는 동적 평형(steady-state) 양상의 뚜렷한 병행복발효가 진행되었으며, 당의 소모곡선이 발효 2일에서 처음으로 지체되어 점차 기질의 고갈현상이 나타났고, 생성물의 급증으로 알코올에 의한 저해(van Uden, 1985 ; Ingram and Buttke, 1984)가 예상되었다. 입국원료미에 따른 환원당 함량에서도 발효 6일까지 함량이 감소하였고, 차좁쌀입국 처리구와 보리쌀입국 처리구에서 발효 9일에 1.6%의 큰 증가 추세를 나타냈고, 다시 발효 종료일에는 크게 감소하였다.

Fig. 15에 나타난 급수비율에 따른 환원당 함량에서는 다른 성분 함량과 마찬가지로 급수비율 120%와 140% 처리구 그리고, 급수비율 160%와 180% 처리구로 대별되는 추세를 보였다. 발효 초기에 급수비율 120%, 140% 처리구는 큰 감소폭을 나타냈으나, 급수비율 160%, 180% 처리구에서는 완만한 감소폭을 나타내었다. 발효 종료일에는 급수비율 120% 처리구는 1.31%, 급수비율 140% 처리구는 1.15%, 급수비율 160% 처리구는 1.31%, 급수비율 180% 처리구는 1.32%의 환원당 함량을 나타내었다. 누룩 함량에 따른 환원당 함량은 발효 6일까지는 누룩 함량 2%, 5%, 10%, 15% 처리구에서 비슷한 감소 추세를 나타냈고, 발효 9일까지 증가하였다. 그리고 다시 함량이 감소하여 발효 10일에는 비슷한 환원당 함량을 나타내었다. 그러나, 누룩 함량 20% 처리구는 발효 3일까지는 감소하였고, 발효 7일 환원당 함량이 1.6%로 높아졌다가 다시 감소하였다. 술덧 중의 총당 함량은 알코올의 발효기질로 이용되고 주류의 향기 생성과 감미도에 영향을 주는 성분이다. 따라서 누룩 함량을 높게, 급수비율을 낮게 할수록 총당 함량이 다른 처리구 술덧보다 감미가 강하다고 사료되었다.

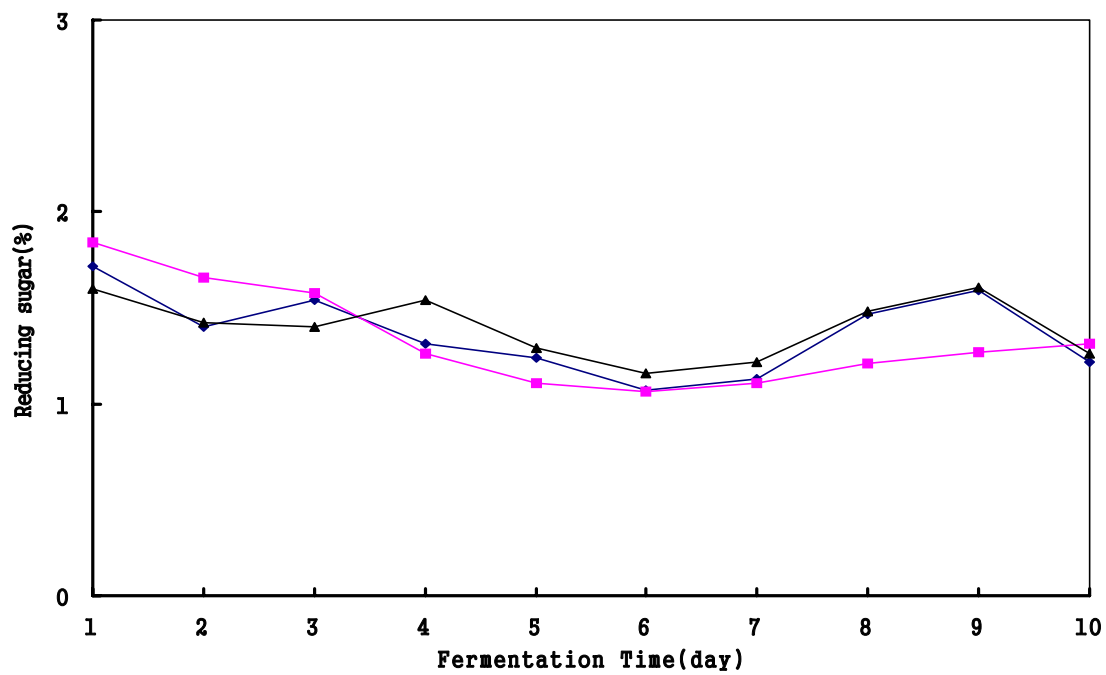
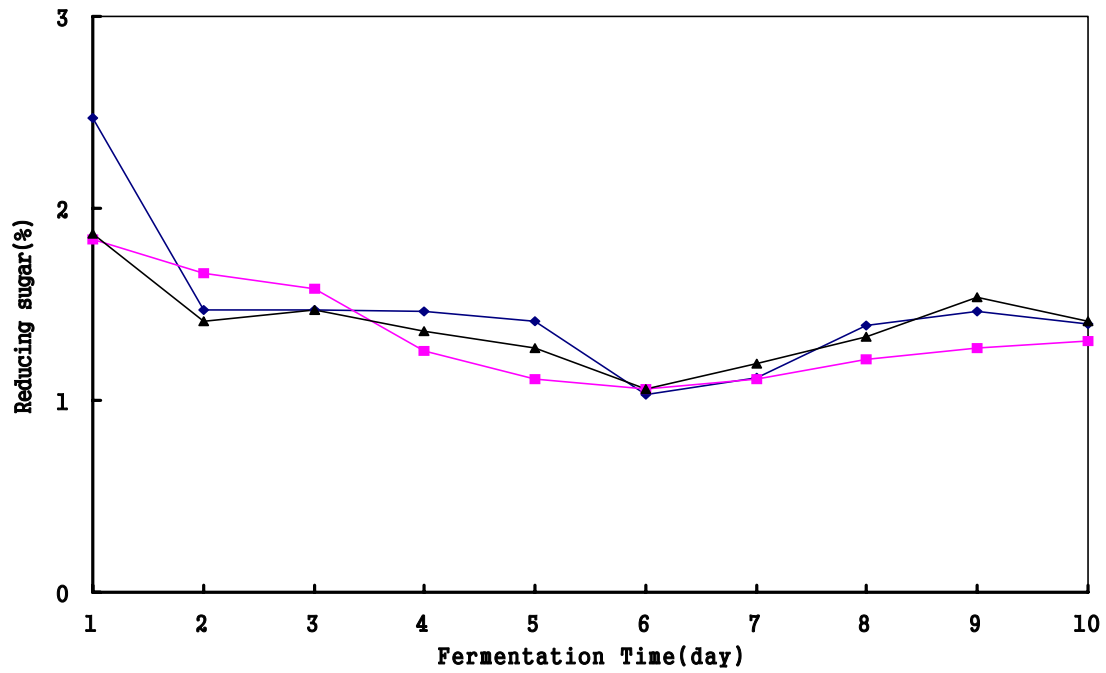


Fig. 14. Changes in reducing sugar by various treatment during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of cooked conditions;

—◆— : pressure chamber —■— : autoclave —▲— : steam boiler

Below - fermentation characteristics of ipkuk source;

—◆— : glutinous millet —■— : rice —▲— : barley

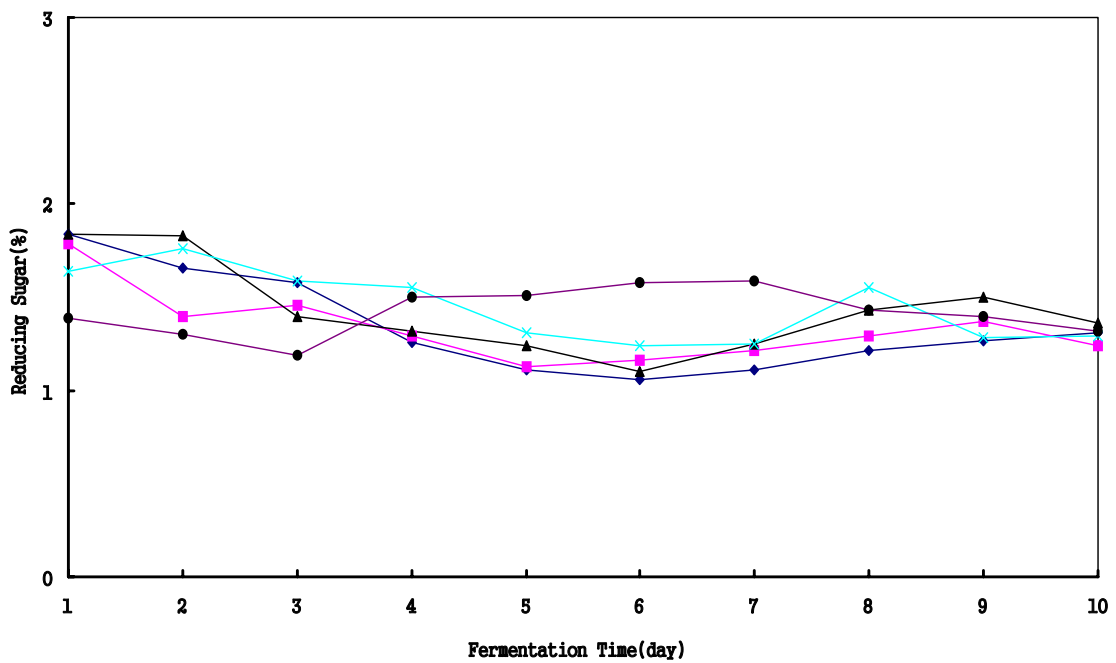
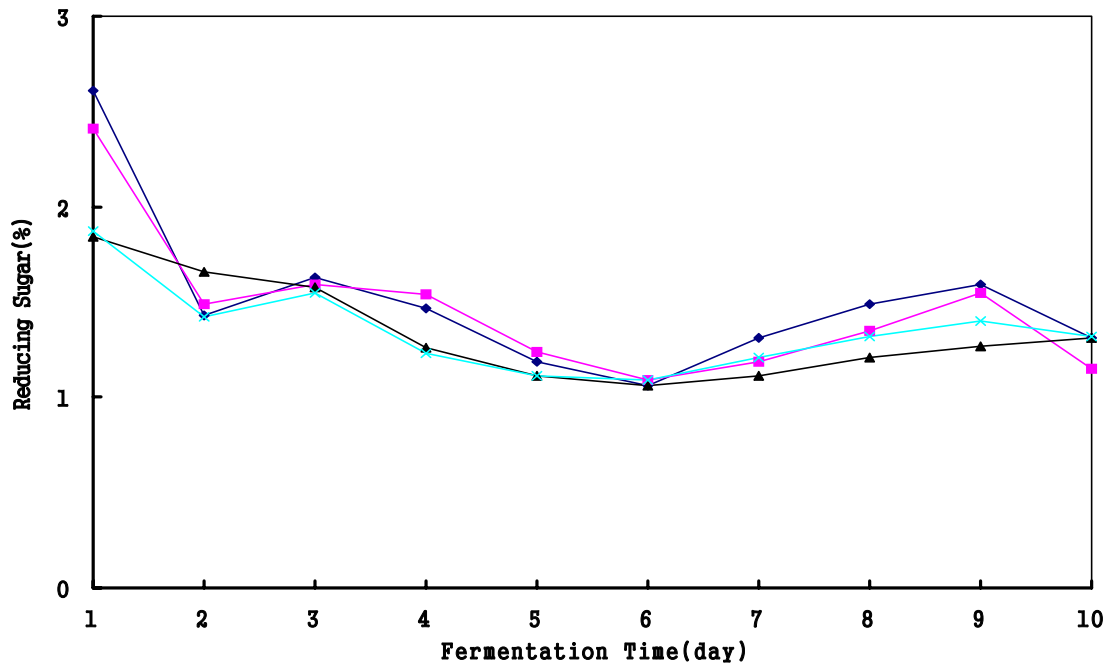


Fig. 15. Changes in reducing sugar by water-addition ratio and nuruk-addition ratio during fermentation at 30°C for 24hrs.

Above - fermentation characteristics of water-addition ratio;
 -◆- : water(120%) -■- : water(140%) -▲- : water(160%) -x- : water(180%)
 Below - Fermentation characteristics of nuruk-addition ratio;
 -◆- : nuruk(2%) -■- : nuruk(5%) -▲- : nuruk(10%) -x- : nuruk(15%) -●- : nuruk(20%)

5. 좁쌀약주 및 증류주의 향기성분 분석

약주는 발효 중 주로 누룩에 있는 효소 작용으로 원료 성분이 분해되어 생성되는 당분, 아미노산, 유기산 등에 의한 맛 성분과 효모나 젖산균 등 미생물에 의한 알코올 발효로 휘발성 향기성분이 생성되어 색과 함께 약주품질의 조화를 이루게 된다. 따라서 쌀과 차좁쌀을 원료로 하여 술을 빚은 후 약주(13 v/v%)와 증류주(42 v/v%)를 제조하여 향기 성분을 측정된 결과는 Table 3에, 그리고 숙성술덧의 증류 단계별로 향기 성분을 측정된 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 약주의 주된 향기 성분은 fusel oil류의 *i*-amyl alcohol, *i*-butyl alcohol, *n*-propyl alcohol 이었고 이들은 원료 중 함유되어 있는 아미노산으로부터 알코올 발효시에 효모에 의한 탈아미노 반응과 탈카르복시 반응에 의해 생성된다(原, 1967 ; 態, 1976). 주류 중의 fusel oil류는 그 함량이 많으면 향미가 나빠지고 숙취의 원인이 되기도 하는 등 인체에 유해한 영향을 미치지만 소량이 존재할 경우 술의 맛과 향을 높이는 역할도 한다(인 등, 1995). 식품공전(보건사회부, 1989)의 주류규격에는 증류주 중의 fusel oil류 0.1% 이하로 규정되어 있는데 본 실험의 증류주에서는 규격에 적합하였다. 쌀 약주와 차좁쌀 약주간에도 향기 성분별 함량차이가 있어, acetaldehyde, methyl alcohol, *n*-propyl alcohol, *i*-butyl alcohol은 쌀 약주에서 높게 나타났고, acetone, *i*-amyl alcohol은 차좁쌀 약주에서 높게 나타났다. 특히 쌀 약주에서 검출되지 않은 ethylacetate가 차좁쌀 약주에서 96.42ppm 검출되었다.

Table 3. Flavor components of rice and glutinous millet wine(ppm).

| | acet aldehyde | acetone | ethyl acetate | methyl alcohol | <i>n</i> -propyl alcohol | <i>i</i> -butyl alcohol | <i>i</i> -amyl alcohol |
|---------------------|------------------|---------|------------------|-------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| rice | 18.04 | 5.75 | - | 139.29 | 243.94 | 726.37 | 1185.67 |
| glutinous millet | 14.55 | 6.49 | 96.42 | 23.16 | 178.81 | 682.56 | 1455.86 |

Table 4. Flavor components of distilled white liquor from rice wine and glutinous millet wine(ppm).

| | acet aldehyde | acetone | methyl alcohol | <i>n</i> -propyl alcohol | <i>i</i> -butyl alcohol | <i>i</i> -amyl alcohol |
|---------------------|------------------|---------|-------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| rice | 19.73 | 6.51 | 151.62 | 224.85 | 665.55 | 1083.90 |
| glutinous millet | 16.53 | 7.43 | 186.37 | 202.80 | 759.92 | 1615.52 |

숙성술덧의 증류단계별로 검출된 향기 성분도 약주(13 v/v%)와 증류주(42 v/v%)를 제조하여 향기 성분을 측정한 결과와 마찬가지로 주로 fusel oil류였으며, 증류 초류부에서 높게 나타났고 증류 후류부로 진행될수록 향기 성분함량은 낮게 나타났다. 증류주의 향기성분은 원료, 누룩, 발효과정, 증류과정, 후숙과정에서 유래된다. 본 실험에서 검출된 향기성분 중 *i*-amyl alcohol은 감미있는 바나나향으로 효모발효에 의해 아미노산인 leucine으로부터, *i*-butyl alcohol은 증류주 향미의 주성분인 ethyl alcohol과 유사한 향으로 valine으로부터 각각 탈 아미노와 탈카르복시반응으로 생성되는데 특히 *i*-butyl alcohol은 저질소배지에서 많이 생성되는 것으로 보고되어 있다(原, 1967 ; 熊, 1976). *n*-propyl alcohol은 ethanol보다 냉향으로 중국주류인 마오타이췌에서 함량이 높은 것으로 알려지고 있다(原, 1967; 西, 1977). 전술한 바와 같이 fusel oil류의 주성분인 이들 alcohol은 본 실험의 모든 술덧이나 증류주에서도 검출되었고, 특히 *i*-amyl alcohol은 본 실험 증류주의 주성분으로 나타났다. aldehyde 향기성분 중 acetaldehyde는 발효과정 중 ethylalcohol의 효모에 의한 산화나 아미노산으로부터 탈 아미노, 탈카르복시기구에 의하여 생성된다(大, 1967 ; 淺, 1967). ester와 같은 강한 자극취를 나타내는 acetaldehyde는 청주, 맥주, 일본소주에서도 검출된 성분이나 특히 맥주의 미숙취로 알려져 있다(熊, 1976 ; 西, 1977 ; 大, 1967). 쌀 숙성술덧의 증류 후류부에서는 향기성분 중 acetaldehyde, acetone, methyl alcohol 만이 검출되었으나, 차좁쌀 숙성술덧의 증류 후류부에서는 acetaldehyde, acetone, methyl alcohol, *i*-butyl alcohol, *i*-amyl alcohol이 검출되어 쌀 숙성술덧보다 차좁쌀 숙성술덧이 다양한 향기성분과 높은 함량을 나타냈다. ester 향기성분 중 본 실험의 쌀 숙성술덧을 제외한 모든 술덧이나 증류주에서 검출된 ethylacetate는 과실향으로 술덧중에 함유되는 저급 지방산이 효모와 세균의 작용으로 ester화 되어 생성된다(熊, 1976; 西, 1977). 맥주, 일본소주의 주요 ester 성분이고(熊, 1976; 西, 1977), 청주에서도 검출되었는데(布, 1967), 맥주의 ester류 중에서 ethylacetate가 가장 많은 것으로 보고되어 있는데 농도가 높으면 오히려 고미의 원인이 되는 것으로 알려졌다(熊, 1976).

Table 5. Flavor components in the stage of distilled white liquor from rice wine(ppm).

| | acet aldehyde | acetone | ethyl acetate | methyl alcohol | <i>n</i> -propyl alcohol | <i>i</i> -butyl alcohol | <i>i</i> -amyl alcohol |
|--------|------------------|---------|------------------|-------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| A | 122.87 | 55.05 | - | 2595.53 | 577.62 | 2508.42 | 3413.84 |
| B- I | 83.60 | 20.84 | - | 964.72 | 542.20 | 2209.02 | 3390.73 |
| B- II | 31.65 | 8.88 | - | 145.16 | 478.24 | 1597.27 | 2633.22 |
| B- III | 13.92 | 6.52 | 11.99 | 20.78 | 389.88 | 954.76 | 1670.35 |
| B- IV | 7.14 | 5.42 | 5.58 | 18.15 | 246.92 | 385.75 | 686.82 |
| B- V | 6.22 | 5.35 | - | 16.07 | 124.30 | 114.58 | 196.48 |
| B- VI | 6.31 | 5.76 | - | 12.12 | 31.60 | 21.95 | 30.89 |
| B- VII | 5.96 | 5.39 | - | 6.04 | - | - | 4.84 |
| C | 5.59 | 5.44 | - | 4.40 | - | - | - |

Table 6. Flavor components in the stage of distilled white liquor from glutinous millet wine(ppm).

| | acet aldehyde | acetone | ethyl acetate | methyl alcohol | <i>n</i> -propyl alcohol | <i>i</i> -butyl alcohol | <i>i</i> -amyl alcohol |
|--------|------------------|---------|------------------|-------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| A | 100.20 | 53.00 | - | 3219.99 | 499.68 | 2794.81 | 4958.43 |
| B- I | 56.56 | 18.28 | - | 799.24 | 412.51 | 2079.60 | 4251.95 |
| B- II | 16.09 | 7.17 | 32.23 | 30.36 | 324.22 | 1162.73 | 2557.63 |
| B- III | 7.38 | 5.75 | 6.42 | 27.16 | 207.68 | 437.92 | 1014.45 |
| B- IV | 6.68 | 6.00 | 5.46 | 22.42 | 62.37 | 66.36 | 150.57 |
| C | 5.97 | 5.35 | - | 8.45 | - | 7.92 | 10.63 |

A - initial stage of distillation B - central stage of distillation

C - final stage of distillation

IV. 요약

제주지역 전통 좁쌀약주를 제조하기 위하여 우수 곰팡이와 효모를 선발하고, 선발된 균주를 사용하여 누룩을 제조하였고 담금원료 및 처리에 따른 좁쌀약주의 발효특성과 증류주의 증류특성을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 전분당화균주의 효소활성을 분석한 결과 *Rhizopus* 속으로 동정된 G3 곰팡이가 SP와 GA에서 높은 효소활성을 나타내었고, a-SP에서는 *Asp. kawachii* 백국균인 B1 곰팡이가 우수하였다. 환원당 생성량에서도 G3, B2 순서로 높은 효소활성을 나타내었다.

2. 우수 발효효모를 선발하기 위한 pH와 가용성고형물 분석에서는 비슷한 결과를 보였고, 알코올 함량과 무게감량에서는 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274가 높은 발효력을 보였다.

3. 원료처리에 따른 pH 변화는 증자방법, 입국원료미, 급수비율 처리구에서는 발효 1일 후 pH가 감소하다가 2일 후 다시 증가하는 경향을 보였으나, 누룩 함량 처리구에서는 발효 1일부터 지속적으로 증가하는 경향을 보였다. 또한 전체적으로도 누룩을 많이 사용할수록 pH는 증가하였다.

4. 총산 함량에서는 입국 원료미 처리구 중 차좁쌀과 보리쌀혼용구가 비교적 높은 함량을 보였고, 급수비율이 증가할수록 함량은 낮아졌다. 그리고 누룩 함량이 높을수록 총산 함량도 증가하였다.

5. 알코올 함량에서는 멸균기를 이용한 증자처리구, 차좁쌀과 쌀 혼용처리구, 급수비율 120% 처리구가 높게 나타났다. 그리고 누룩 함량처리구에서는 발효일수 6일까지는 누룩 함량 20% 처리구가 15% 처리구보다 알코올 함량이 높았으나 발효 7일 이후부터는 누룩 함량 15% 처리구가 20% 처리구보다 높게 나타났다.

6. 가용성고형물 함량에서는 입국 원료미별 처리구에서 차좁쌀과 보리쌀을 혼용한 처리구가 높게 나타났고, 급수비율별 처리구에서는 양조용수를 적게 사용할수록 가용성고형물 함량이 높아졌다. 누룩 함량 처리구에서는 누룩을 많이 사용할수록 높게 나타났다.

7. 총당 함량에서는 전체 처리구별로 비교하면 누룩 함량 처리구가 높게 나타났고, 누룩 함량 처리구에서도 누룩을 많이 사용할수록 총당 함량은 높아졌다.

8. 환원당 함량에서는 전체 처리구마다 환원당 함량이 점차 감소하는 경향을 보였다.

9. 쌀약주와 차좁쌀약주의 향기성분은 fusel oil류에 속하는 *i*-amyl alcohol, *i*-buty -1 alcohol, *n*-propyl alcohol이 대부분이었고, 차좁쌀약주에서는 쌀약주에서 검출되지 않은 ethylacetate가 검출됐다. 쌀증류주와 차좁쌀증류주의 향기성분도 대부분 fusel oil류였으며, 특히 *i*-amyl alcohol, *i*-butyl alcohol, methyl alcohol, acetone은 차좁쌀증류주에서 높게 나타났다.

10. 증류단계별 향기성분 변화에서는 증류액이 증가할수록 향기성분의 검출량은 감소하였다. 특히 후류부 쌀술덧에서는 acetaldehyde, acetone, methyl alcohol외에는 검출되지 않았고, 차좁쌀술덧에서는 ethylacetate, *n*-propyl alcohol 외에는 모두 검출되었다. 그리고, 두 개의 처리구 술덧 모두 증류액 중에 알코올 분이 60~30 v/v%일 때 ethylacetate가 검출되었다.

참 고 문 헌

- 고정삼, 고남권, 강순선, 1989. 제주도산 감귤발효주의 양조특성, 한국농화학회지, 32(4), pp. 416.
- 국세청기술연구소, 1997. 주류제조교본, pp. 17-72.
- 목철균, 이주연, 장학길, 1997. 비살균 약주의 저장 중 품질변화 및 품질수명 산출, 산업식품공학회지, 1(3), pp. 192-197.
- 민경호, 김휘동, 허병기, 1995. 발효초기조건이 에탄올 발효 특정치에 미치는 영향, 산업미생물학회지, 23(4), pp. 479-484.
- 박정웅, 이계호, 이찬용, 1995. 한국전통누룩에 존재하는 사상균의 분리 동정 및 Amylolytic 효소활성, 산업미생물학회지, 23(6), pp. 737-746.
- 배상면, 1995. 전통주 제조기술, 국순당부설효소연구소, pp. 78.
- 보건사회부, 1989. 식품공전, 한국식품공업협회, pp. 330.
- 신철승, 이석건, 박윤중, 1996. 청주의 주질개선을 위한 국 및 효모의 선정과 그 발효 특성, 한국농화학회지, 39(1), pp. 9-15.
- 양영택, 1993. 제주도속 좁쌀약주의 양조특성, 한국농화학회지, 36(4), pp. 277-283.
- 양지영, 이계호, 1996. 향토주인 산성막걸리의 미생물학적 고찰과 저장성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 28(4), pp. 779-785.
- 유진영, 이성, 1997. 탁주 발효에 대한 Nisin의 이용, 산업미생물학회지, 25(2), pp. 203-206.

- 이계호, 지근익, 이찬용, 농촌진흥청, 1995. 전분발효성 접합균류(Zygomycetes)를 활용한 쌀의 액화, 당화 최적기준 설정, 농업특정연구과제 결과요약집-1994, 농촌진흥청, pp. 92-93.
- 이성범, 1967. 약탁주 제조에 있어서 효소원 및 그의 효율적 첨가방법에 관한 연구, 한국미생물학회지, 5, pp. 43
- 이정, 1982. 국균의 종류가 탁주 품질에 미치는 영향에 관한 연구, 서울여자대학교 석사학위 논문.
- 이종수, 이성훈, 권수진, 안철, 유진영, 1997. 재래식 메주로부터 효모의 분리, 동정 및 배양조건, 산업미생물학회지, 25(5), pp. 435-441.
- 이주선, 이택수, 노봉수, 박성오, 1996. 원료를 달리하여 담금한 탁주 발효 과정중의 술덧의 품질특성, 한국식품과학회지, 28(2), pp. 330-336.
- 이주선, 이택수, 최진영, 이동선, 1996. 멥쌀 탁주 술덧의 발효 과정중 휘발성 향기성분, 한국농화학회지, 39(4), pp. 249-254.
- 이창호, 박희동, 1997. 감 과실로부터 알코올 발효효모의 분리 및 특성, 산업미생물학회지, 25(3), pp. 266-270.
- 인혜영, 이택수, 이동선, 노봉수, 1995. 전통 방법으로 제조한 소주 술덧의 품질특성, 한국식품과학회지, 27, pp. 134.
- 장지현, 1990. 전통주류와 쌀을 이용한 주류개발, 식품과학과 산업, 23(1), 42.
- 장지현, 1991. 우리나라 전통주의 역사, 식품과학과 산업, 24(4), 61.
- 허병기, 김현성, 목영일, 1989. 효모 *S.cerevisiae*의 돼지감자 발효특성과 발효시간과의 함수관계, 한국생물공학회지, 4(2), pp. 191.
- 현용준, 김영돈, 현길언, 1983. 전국민속주조사, 문화재관리국, pp. 176.
- 홍순우, 하영철, 민병희, 1970. 탁주 및 탁주료의 화학성분과 그 변화에 관한 연구, 한국미생물학회지, 8, pp. 107.

- 홍순우, 하영칠, 윤권상, 1968. 탁주 중의 당화 작용과 amylase activity의 변화에 대하여, 한국미생물학회지, 6, pp. 141.
- A.O.A.C., 1975. Official Methods of Analysis, 12th ed., pp. 158.
- A.O.A.C., 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed., pp. 741.
- Eroshin, V.K., I.S. Utkin, S.V. Ladynichev, V.V. Samoylov, V.D. Kuvshinnikov and G.K. Skryabin, 1976. *Biotechnol. Bioeng.*, 18, pp. 289.
- Kawaharada, H., S. Hayashida and M. Hongo, 1970. The mechanism of formation of high concentration alcohol in sake brewing, IV. Stimulation of yeast growth by koji mold. *J. Ferment. Technol.*, 48, pp. 29.
- Leao, C. and N. van Uden, 1984. Effects of ethanol and other alkanols on passive proton influx in the yeast *S.cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Acta.*, 774, pp. 43
- Nabais, R.C., I. Sa-Correia, C.A. Viegas and J.M. Novais, 1988. Influence of calcium ion on ethanol tolerance of *Saccharomyces bayanus* and alcoholic fermentation by yeasts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(10), pp. 2439.
- Ingram, L.O. and T.M. Buttke, 1984. Effects of alcohols on microorganisms, *Adv. Microb. Physiol.*, 25, pp. 253.
- Nagodawitana, T.W. and K.H. Steinkraus, 1976. Influence of the rate of ethanol production and accumulation on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in "rapid fermentation". *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, pp. 158
- Takahara, Y., O. Shomatsu and A. Tadaharu, 1966. Effect of CMC(carboxymethyl cellulose) on amylase formation in *Rhizopus species*. Report of the Fermentation Research Institute, 29, pp. 23.

- Thomas, D.S., J.A. Hossack and A.H. Rose, 1978. Plasmamembrane lipid composition and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, 17, pp.239.
- van Uden, N., 1985. Ethanol toxicity and tolerance in yeasts, *Ann. Rep. Ferment. Process*, 8, pp. 11.
- 大脇京子, 1967. 清酒成分一覽(carbonyl 化合物), 日本醸造協會雜誌, 62, pp. 1098.
- 西谷尙道, 1977. 釀造成分-本格焼酒(製品成分), 日本醸造協會雜誌, 72, pp. 415.
- 原昌道, 1967. 清酒成分一覽(alcohol), 日本醸造協會雜誌, 62, pp. 1196.
- 淺尾保夫, 1967. しょうゆ成分一覽(香氣成分), 日本醸造協會雜誌, 62, pp. 1106.
- 態田順一, 1976. 釀造成分-Beer(醱酵香氣成分), 日本醸造協會雜誌, 71, pp. 819.
- 布川太郎, 1967. 清酒成分一覽(ester), 日本醸造協會雜誌, 62, pp. 854.

감 사 의 글

본 논문이 완성되기까지 부족한 저에게 끝없는 지도와 보살핌을 아끼지 않으신 고정삼 교수님께 진심으로 감사드리며, 바쁘신 가운데에도 세심하게 논문을 심사하고 교정하여주신 김찬식 교수님, 식품공학과 고영환 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 그리고 평소 많은 가르침을 주신 강순선 교수님, 유장걸 교수님, 류기중 교수님, 현해남 교수님께도 감사드립니다.

따뜻한 관심과 배려로 본 연구를 수행할 수 있도록 실험여건을 마련해 주신 공동실험실습관 고정은 선생님, 현중선 선생님과 농화학과 강봉천 선생님, 문창용 선생님께 감사드립니다. 특히 가장 가까운 곳에서 많은 학문적 충고와 실험적 도움을 주신 제주도 농업기술원 좌창숙 연구사님, 양영택 연구사님, 김성학 연구사님, 그리고, 논문을 편집하는데 많은 도움을 주신 안성웅 선배님, 오상호 선배님, 고광섭 후배에게도 깊은 감사를 드립니다.

언제나 변함없는 우정과 격려를 보내준 강지한, 송상철, 송은영 원우와, 김지용, 강문장, 김완택, 이상용 후배, 자주 연락은 못하지만 열심히 자기에 길을 가고 있는 친구 김동언, 김진성, 김희철, 박윤희, 전병추, 전석민, 전철삼에게도 고마움을 전합니다.

끝으로 오늘의 제가 있기까지 끊임없는 사랑과 격려로 언제나 힘이 되어주신 할머니, 외할머니, 아버지, 어머니, 그리고 장인어른, 장모님께 이 글을 빌어서 진심으로 감사와 존경에 말씀을 올립니다. 항상 곁에서 따뜻한 미소와 사랑, 그리고 격려를 보내 준 사랑하는 나의 아내 고유경, 해맑은 웃음으로 밝은 세상을 비춰준 사랑하는 나의 아들 진호와 조카 서희에게 이 논문을 전합니다.