

Saccharomyces와 Hansenula의 혼합배양에 의해 제조한 민속증류주의 향미특성

홍연 · 박승국¹ · 최언호*

서울여자대학교 식품 · 미생물공학과, ¹경희대학교 생명과학부

Flavor Characteristics of Korean Traditional Distilled Liquors Produced by the Co-culture of *Saccharomyces* and *Hansenula*. Hong, Yeun, Seung-Kook Park¹, and Eon-Ho Choi*. Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea, ¹Department of Food Science and Technology, Kyunghee University, Yongin-Si 449-701, Korea - Andong Soju is a Korean traditional distilled liquor brewed with *Nuruk* which is cultured with wild microorganisms. To provide useful information for scientific production and systematic quality control of traditional distilled liquor, the effects of mixed culture of the alcoholic yeasts and saccharifying molds isolated from the *Nuruk*, and mashes on the flavor and sensory characteristics were investigated. Distillate from mashes cocultured with *Saccharomyces cerevisiae* and *Hansenula anomala* using *Mucor Nuruk* was compared with distillate from mashes brewed with *Andong Nuruk* and with distillate from plant fermented mashes to analyze their flavor characteristics. The volatile flavor compounds in distillates were analyzed by GC and GC-MS using direct injection, solvent extraction, and purge & trap methods. Alcohols such as 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 1-propanol, and 2-phenyl ethanol; aldehydes such as acetaldehyde and 2-furancarboxaldehyde; esters such as ethyl ester of acetic acid, hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid; alkanes, alkenes, ketone, sulfur, and pyrone compounds were detected. Alcohols were chief components of flavor compounds. No significant difference in overall acceptability test was shown among three experimental groups ($p < 0.05$), but *Nuruk*-like aroma, *Kaoliangchiew*-like aroma, sweet taste, and well rounded mouthfeel showed significant differences among them ($p < 0.05$).

Key words : distilled liquor, alcohol fermentation, mixed culture, flavor, sensory evaluation

시장개방으로 외국의 주류에 비해 국산 주류가 경쟁력을 잃어가고 있다[26]. 그러나 민속주는 외국 주류와의 경쟁시 유리하고 소비자의 관심도 증가되고 있어 발전시킬 가치가 있다고 판단된다. 우리나라의 대표적인 재래주로는 탁주, 약주, 소주가 있다. 소주는 찐쌀 또는 찐잡곡과 조곡(組糶, 거칠게 빻은 누룩)으로 빻은 술을 토고리로 증류시켜 얻은 증류주(알코올 30% 내외)를 숙성시킨 것이다[4, 12]. 증류식 소주로 분류되는 전통소주는 서양 주류의 역사와 비교할 때 오랜 전통을 지니고 있으나 이를 우리나라의 고유 민속주로 자신있게 소개하기 위해서는 과학적인 생산을 통한 품질의 균일화가 필수적이다. 이를 위해 소주 제조용 누룩으로부터 좋은 향미를 생성하는 우수한 발효균주를 찾고 소주의 성분분석 자료를 확보하여 제조 및 저장 중 품질특성을 정확하게 파악함으로써 전통의 맛과 향을 강화시키고 체계적인 품질관리를 꾀하여야 한다. 전통소주의 품질특성은 곡향을 기본향으로 하고 가향제나 향약제를 넣어 다양한 맛과 향기를 가지고 있다[1, 12]. 또 곡자법의 특성상 누룩에 번식한 미생물군이 복잡하며[5, 16, 29]

알코올 발효와 함께 여러 성분의 상호작용이 활발하게 일어난다[14]. 이러한 민속주의 품질특성에 대해서는 탁주와 약주를 중심으로 일반성분[27]과 유기산[3, 14, 19, 28], 아미노산[15, 28], 유리당[6, 14], 비타민[17, 18] 등 주로 맛 성분에 관한 것이 대부분이다. 전통증류주에 관한 연구로는 진도홍주의 발효과정 중 성분변화[21]와 색소의 안정성, 그리고 삼일주의 최적증류조건 및 백하주의 증류현상에 관한 보고들이 있었다[1, 31]. 주류의 품질은 맛과 향기의 조화로 결정되며 증류식 소주의 경우는 맛 성분 보다 휘발성인 향기성분에 의해 품질이 크게 좌우된다고 볼 수 있다. 주류의 향기성분에 관한 국내의 연구들로는 박[35]이 맥주의 향기성분을 CO₂로 추출하여 GC로 분석하였으며 약주[13]와 탁주[7, 24, 25]의 휘발성 화합물을 GC로 분석한 보고들이 있고 박[36]은 시판되는 소주의 향기성분을 분석하였다. 최근 민속주의 향기성분 분석에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나 외국의 주류 연구와 비교하였을 때는 상당히 부족한 실정이며 전통소주의 발효에 관련된 미생물이나 발효공정에 관한 연구는 극히 드물다.

저자 등[10, 11]은 이미 안동소주 제조용 누룩과 발효액의 미생물분포와 이화학적 특성을 발효기간별로 검토하였고 누룩과 발효액으로부터 분리된 우수발효미생물의 선발

*Corresponding author

Tel. 82-2-970-5634, Fax. 82-2-970-5639

E-mail: ehchoi@swift2.swu.ac.kr

과 혼합발효에 관하여 보고하였다. 본 연구에서는 안동소주 제조용 누룩 및 발효액으로부터 분리, 선발한 *Mucor* sp.로 누룩을 제조하고 starter로 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Hansenula anomala*를 혼합배양하여 제조한 소주의 향미를 공장에서 공급받은 누룩과 물, 쌀로 실험실에서 담금하여 제조한 소주와 공장에서 직접 제조된 소주와 비교하여 조사함으로써 순수분리 균주의 혼합배양에 의한 발효공정의 개선 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험구 선정 및 술담금

안동소주 공장에서 공급받은 거칠게 분쇄한 밀(미국산)을 1L 삼각 플라스크에 넣고 먼전하여 2회 고압증기멸균(121°C, 15 min) 하였다. 이를 실온까지 냉각하여 멸균수를 밀 부피의 약 15-20% 가한 후 본 실험실에서 안동소주 공장의 누룩으로부터 분리, 선발[10, 11]한 곰팡이(*Mucor* sp.)를 접종하고 25°C에서 1주일간 배양하여 종균을 제조하였다. 또, 안동 공장누룩과 발효액에서 분리, 선발[10, 11]한 효모균주, *Saccharomyces cerevisiae*와 *Hansenula anomala*를 YPD 액체배지에서 전배양한 후 세척, 원심분리하여 균체현탁액을 얻었다. 쌀과 *Mucor* 누룩, 물을 동량비로 무균적으로 혼합하여 당화한 후 원심분리하고 0.45 µm membrane filter로 여과한 당화액에 효모균체 현탁액을 넣고 30°C에서 48시간 진탕배양하여 이를 술 담금의 starter로 사용하였다. 즉, 쌀을 12시간 물에 침지한 후 물을 빼서 121°C에서 40분간 증자하고 순수배양한 *Mucor* 누룩을 10 L 들이 발효용기에 무균적으로 약 4/5를 채운 후 starter 효모를 접종하여 25°C에서 24 일간 배양시켰다. 이때 발효용기는 70% 에탄올과 자외선으로 살균하여 사용하였고 물은 멸균수를 사용하였으며 효모의 접종량은 5%, 증자미와 물, 누룩의 혼합배율은 부피로서 동량비로 조정하였다(순수 혼합배양발효구).

또한, 안동소주의 담금방식대로 공장에서 공급받은 쌀을 12시간 물에 담그었다가 물을 빼서 121°C에서 40분간 증자하고 여기에 공장에서 제조한 누룩과 공장에서 사용하는 수돗물을 부피로서 동량비로 혼합하여 10 L 들이 유리 병에 약 4/5를 채워서 25°C에서 24일간 배양하였다(공장 누룩-실험실발효구).

실험실제조 소주와 비교하기 위하여 (주)민속주 안동소주 공장에서 다음과 같이 제조한 발효액을 직접 채취하여 분석하였다. (주)민속주 안동소주 공장에서는 자연배양한 누룩과 물, 증자미를 부피로 동량비로 혼합하여 3,000 L 발효조에 사입하고 하루 3회씩 교반하여 3일간 주발효 시키고 그 후 지하실에 있는 7,000 L 발효조에 옮겨 실온에서 개방식으로 후숙시킨다. 누룩은 미국산 밀을 사용하여 하룻밤 물에 담그었다가 물을 완전히 빼고 이미 만들어 두었던 증

국을 10% 정도 혼합하여 두 번 분쇄하고 빻아서 30×90×5 cm의 장방형으로 성형된 것이다(공장담금-공장발효구).

휘발성 향기성분 분석

담금 24일째의 발효액을 상압에서 단식 증류하여 얻은 증류액(알코올 함량 약 20%)을 한번 더 증류하여 알코올 함량 45%로 조정된 소주를 시료로 하였다.

Direct injection method(직접주입법)의 경우는 증류액을 0.2 µm membrane filter로 여과하여 autosampler를 이용하여 GC에 직접 주입하였다. 용매추출법은 증류액 20 mL에 탈이온수 80 mL를 가하여 희석하고 methylene chloride 100 mL로 5회에 나누어서 향기성분을 추출한 후 methylene chloride 층을 취하여 sodium sulfate anhydrous를 가하여 혼합된 수분을 제거한 후 0.2 µm nylon membrane filter로 여과하였다. 이 여과액을 수욕조(40-60°C)에서 Kuderna-Danish 장치를 이용하여 약 600 µL까지 농축하였다. Purge and trap method의 경우는 100 mL 시료병에 증류액을 5 g 넣고 purge and trap(Tekmar LSC 2000, Cincinnati Co., USA) 장치에 연결하고 40 °C 수욕상에서 질소(50-70 mL/min)로 30분간 purging하여 향기성분을 dynamic headspace method로 추출하였다. 이렇게 추출된 향기성분을 60-80 mesh의 Tenax-GC(polymer based on 2,6-diphenyl-*p*-phenylene oxide)가 충전된 흡착관(12"×1/8" stainless steel)에 흡착시키고 dry purge를 5분간 실시하여 수분을 제거하였다. 흡착관을 100°C로 예열한 후 200°C에서 4분간 향기성분을 가열탈착시켜 GC에 자동주입하였다. Purge and trap system의 각 부분의 온도는 100°C로 고정하였고 stand-by temperature를 30°C 이하로 하였다.

GC는 flame-ionization detector가 장착된 Hewlett-Packard 5890 Series II를 사용하였고 HP-INNOWax fused silica capillary column(30 m, 0.25 mm i.d., 0.5 µm film thickness, Hewlett-Packard)을 사용하였다. Carrier gas로는 helium(head pressure 12psi)이 사용되었고 injector와 detector의 온도는 각각 200°C와 250°C로 고정하였다. Oven 온도는 40°C에서 5분 정지 후 6°C/min으로 100°C까지 올려 3분 머무른 후 8°C/min으로 220°C까지 올려 25분간 정지시켰다. Split ratio는 1 : 30으로 조정하였고 직접주입의 경우는 1 µL를, 용매추출한 시료는 0.2 µL를 주입하였다. 향기성분의 동정은 직접주입의 경우 33개의 외부표준물질을 사용하여 향기성분을 확인, 정량하였다. 용매추출하여 얻은 GC-FID chromatogram의 각 peak 성분은 표준물질의 머무름시간과 비교하여 확인하였고 dynamic headspace법으로 포집한 향기성분은 GC-MS(HP 5972 MSD, Hewlett-Packard) 분석결과 얻어진 mass spectrum 과 WILEYNBS 138 library 를 비교하여 동정하였다.

관능검사

주류 연구의 경험이 있거나 주류를 선호하고 증류식 소주를 마셔본 경험이 있는 30-60세의 남자 12명을 대상으로 표준물질과 시료로서 훈련시킨 후 관능검사에 참여하게 하였고 overall acceptability test의 경우는 증류식 소주의 주소비계층으로 판단되는 40-50세의 남자 30명을 검사원으로 참여하게 하였다.

알코올 농도 45%인 증류식 소주를 시료로 하여 flavor profile analysis(FPA) 방법[30]과 정량적표사분석법(QDA) [30]을 도입하여 12명의 검사원들에게 각자 느껴지는 관능적 특성의 표현용어를 맛과 냄새, 입속느낌으로 구분하여 모두 기술하도록 하였고 이들 중 유사한 성질의 표현을 검사원간의 토의를 거쳐 통합하여 그 표현 빈도수에 의하여 평가할 주요 관능적 특성의 용어를 선택하였다. 이들 검사원에게 각 관능 특성의 표준물질과 함께 3개의 시료를 제시하고 그 순서를 바꾸어 3회 반복 시험하였다. 표준물질은 모두 인체에 해가 없는 물질들을 골라서 가장 강하게 느껴지는 시료의 1/2 강도로 그 농도를 조정하였다. Overall acceptability test[22]의 경우는 세가지 시료 중 가장 선호하는 시료에 1점, 가장 싫어하는 시료에 3점을 주도록 하였

다. QDA의 평가는 선척도(10 cm)를 이용하였고 관능검사의 결과분석은 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다범위 검정[22]으로 해석하였다.

결과 및 고찰

휘발성 향기성분

알코올 함량 8.8-9.5%인 발효 24일째의 발효액을 증류하여 알코올 함량을 45%로 조정한 소주를 GC에 직접주입 (direct injection)하여 외부표준물질법으로 휘발성 향기성분을 분석한 결과 Fig. 1a, Table 1과 같이 acid 1종, 알코올류 10종, 알데히드류 4종, ketone류 2종, 에스테르류 11종 등 모두 28종의 성분이 검출, 정량되었다.

Acetic acid는 공장누룩-실험실발효구(B)의 시료가 230.2 µg/mL로 다른 증류액에 비해 많이 함유되었는데 그 이유는 인동소주 제조시 사용하는 누룩은 인공 접종이 아니므로 야생의 각종 미생물이 혼재되어 있고[12] 이 중 초산균에 의해 알코올이 산화되어 acetic acid가 생성되었다고 생각되며 공장담금-공장발효구(C)의 경우는 개방식 발효로 인한 acetic acid의 휘발로 공장누룩-실험실발효구보다 적게 검출되었으리라 본다.

알코올류는 증류주에 다량으로 존재하는 대표적인 향기 성분이다. 세 실험구 모두 3-methyl-1-butanol(isoamyl alcohol)과 2-methyl-1-propanol(isobutanol), 1-propanol(n-propanol), 2-phenyl ethanol(benzene ethanol) 등을 다량 함유하였다. 증류식 소주에 ethanol 다음으로 가장 많이 함유된 3-methyl-1-butanol은 “감미로운 바나나향”으로 효모 발효에 의해 leucine으로부터 생성되고 fusel oil의 일종으로 에탄올과 함께 소주 및 기타 주류의 주 향기성분으로 알려져 있다[8, 32, 38]. 다음으로 많이 검출된 2-methyl-1-propanol은 “cough-provoking, weak amyl alcohol”로 맥주, 청주, 일본소주에서도 검출되었다[32, 38]. 1-Propanol은 ethanol보다 냉향으로 중국 주류인 마오타이쉐에서 함량이 높은 것으로 알려져 있으며[8, 32] 2-phenyl ethanol은 “장미와 벌꿀냄새”로 원료중의 phenylalanine 으로부터 유래되며 맥주의 방향족 알코올 성분 중 가장 중요한 향기성분으로 알려져 있다[38]. 소주의 품질평가기준 중 하나인 ABP ratio(isoamyl alcohol : iso-butanol : n-propanol의 비율)를 계산하면 순수혼합매양 발효구 (A)의 경우 3-methyl-1-butanol : 2-methyl-1-propanol : 1-propanol의 함량 비율이 약 4.5 : 2 : 1로 이 등[23]이 보고한 전통민속주의 비율인 4 : 2 : 1과 비슷하였다. 공장담금-공장발효구에는 타 실험구보다 1-butanol(n-butanol)의 양이 많았고 타 실험구에 없는 2-butanol과 2-pentanol이 검출된 반면 다른 알코올류의 함량은 적었다. 에탄올을 제외한 전체 알코올 함량을 비교하면 순수혼합매양발효구는 1,991.0 µg/mL로 가장 많았고 공장누룩-실험실발효구 1,472.9 µg/mL, 공장담금-공장발효구 441.1 µg/mL의 순서였다. 이는 acetic acid의 경

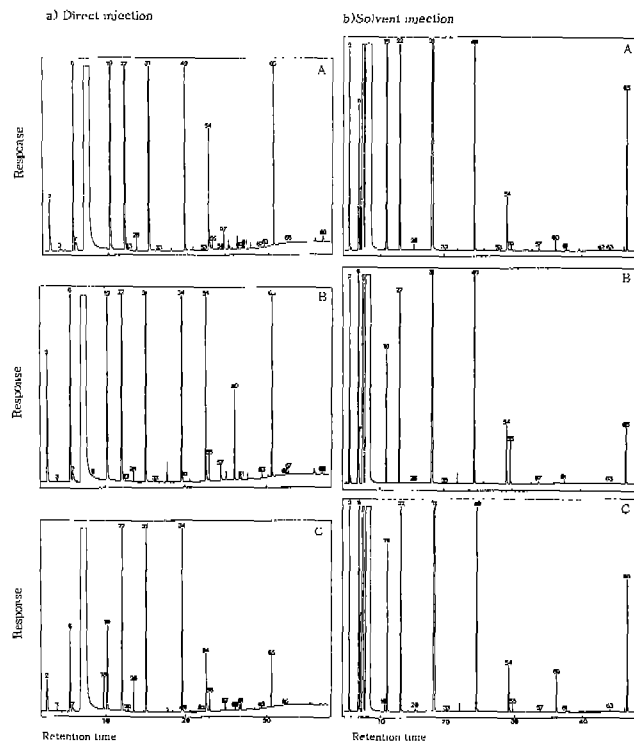


Fig. 1. GC-FID chromatograms of volatile flavor compounds in distillates (45% alcohol) from mashes for Andong traditional distilled liquor after 24 day fermentation.

- A: Distillate from mashes co-cultured with *Saccharomyces cerevisiae* and *Hansenula anomala* using *Mucor Nuruk*
- B: Distillate from mashes brewed with *Andong Nuruk* in the laboratory
- C: Distillate from plant-fermented mashes of the *Andong Soju* Co.

Table 1. Volatile flavor compounds in distillates from mashes for Andong traditional distilled liquor after 24 day fermentation; direct injection method, GC-FID

Peak No. ¹⁾	Compounds identified	Concentration (mg/mL)		
		A ²⁾	B ²⁾	C ²⁾
Acid				
54	Acetic acid	142.2	230.2	69.0
Alcohols				
7	Methanol	33.9	37.5	15.2
18	2-Butanol	nd ³⁾	nd	13.6
19	1-Propanol	231.0	193.9	45.9
22	2-Methyl-1-propanol	489.2	279.2	99.0
26	2-Pentanol	nd	nd	1.0
28	1-Butanol	4.0	3.1	9.1
31	3-Methyl-1-butanol	1069.7	872.9	246.2
33	1-Pentanol	0.7	0.9	nd
49	1-Hexanol	97.1	2.1	0.9
65	2-Phenyl ethanol	65.4	83.3	10.2
	Total alcohol content	1991.0	1472.9	441.1
Aldehydes				
2	Acetaldehyde	97.2	263.2	76.6
55	2-Furancarboxaldehyde	4.4	11.3	8.2
57	Benzaldehyde	7.5	5.3	0.9
67	Cinnamyl aldehyde	nd	0.5	nd
	Total aldehyde content	109.1	280.3	85.7
Ketones				
3	Acetone	1.7	2.0	2.7
8	2,3-Butanedione	nd	1.8	nd
	Total ketone content	1.7	3.8	2.7
Esters				
6	Acetic acid, ethyl ester	163.6	337.3	52.7
23	Acetic acid, 3-methyl-1-butyl ester	0.8	1.0	nd
34	2-Hydroxypropanoic acid, ethyl ester	nd	388.1	293.7
53	Octanoic acid, ethyl ester	0.5	nd	0.9
56	Nonanoic acid, ethyl ester	0.5	nd	nd
60	Decanoic acid, ethyl ester	0.8	0.4	1.2
61	Butanedioic acid, Bis ester	2.5	2.2	3.9
62	Benzene acetic acid, ethyl ester	0.4	nd	nd
63	Dodecanoic acid, ethyl ester	0.3	1.8	0.4
66	Tetradecanoic acid, ethyl ester	6.0	0.8	0.7
68	Hexadecanoic acid, ethyl ester	5.8	2.3	nd
	Total ester content	181.2	733.9	353.5
	Total volatile flavor compound content	2425.2	2721.1	952.0

¹⁾Corresponding to peak numbers of chromatograms of Fig. 1
²⁾A: Distillate from mashes co-cultured with *Saccharomyces cerevisiae* and *Hansenula anomala* using *Mucor Nuruk* (45% alcohol)
 B: Distillate from mashes brewed with *Andong Nuruk* in the laboratory (45% alcohol),
 C: Distillate from plant fermented mashes of the *Andong Soju Co.* (45% alcohol)
³⁾Not detected

우와 마찬가지로 공장에서의 개방식 발효로 인한 향기성분의 증발에 의한 손실에 그 원인이 있다고 추정된다.

에스테르 화합물은 지방산의 methyl 및 ethyl ester가 대부분으로서 술덧에 함유된 저급지방산이 효모와 세균의 작용으로 에스테르화되어 생성되며 주류에서 알코올보다 향에 대해 기여도가 높다 [32, 38]. 본 실험에서 에스테르 화합물의 대부분이 ethyl ester였다. 에스테르류 중에서는 acetic acid의 ethyl ester가 세 실험구 공통으로 많이 함유되어 있었는데 “과실향, 파인애플”을 연상시키는 “특징적인 에테르향”으로 맥주와 일본소주의 주요 에스테르 성분이기도 하고 [32, 38] 청주에서도 검출된 [33] 이 성분은 맥주에서 함량이 높으면 오히려 쓴맛의 원인이 되는 것으로 알려져 있다 [38]. 2-Hydroxypropanoic acid의 ethyl ester(ethyl lactate)는 공장담금-공장발효구와 공장누룩-실험실발효구에서 각각 293.7 µg/mL와 388.1 µg/mL로 상당량이 검출되었으나 순수혼합배양발효구에서는 검출되지 않았다. 순수혼합배양발효구는 순수배양을 통해 누룩을 제조하였으므로 통상 누룩에 존재하는 젖산균이 없어서 이 성분이 검출되지 않은 것이라고 추측된다. 포도를 연상시키는 향으로 알려진 decanoic acid의 ethyl ester(ethyl caprate)와 butanedioic acid의 Bis(1,1-dimethylethyl) ester(di-tert-butyl succinate), dodecanoic acid의 ethyl ester(ethyl laurate), tetradecanoic acid의 ethyl ester(ethyl myristate) 들은 모든 실험구에 존재하고 있었다. 반면 acetic acid의 3-methyl-1-butyl ester(isoamyl acetate)와 hexadecanoic acid의 ethyl ester(ethyl palmitate)는 공장담금-공장발효구에서만 검출되지 않은 성분이다. “Cognac향” [38]의 nonanoic acid의 ethyl ester(ethyl pelargonate)와 benzene acetic acid의 ethyl ester(phenyl ethyl acetate)는 순수혼합배양발효구에서만 검출되었으며 “cocoic, cognac향” [38]의 octanoic acid의 ethyl ester(ethyl caprylate)는 공장누룩-실험실발효구에서만 검출되었다. 에스테르 화합물 중 acetic acid의 ethyl ester와 2-hydroxypropanoic acid의 ethyl ester 두 성분이 에스테르 전체 함량의 대부분을 차지하였다. 알코올류 중 많은 3-methyl-1-butanol과 acid류 중 많은 양 포함된 acetic acid의 에스테르 화합물인 acetic acid의 3-methyl-1-butyl ester는 소량 존재하였다. “산뜻한 향” [37]의 성분인 butanedioic acid의 Bis(1,1-dimethylethyl) ester도 어느 정도 검출되어 유기산 분석시 [9] 많은 함량 존재하였던 acetic acid와 lactic acid, succinic acid의 ester들이 향기성분에서도 적지 않게 검출되었음을 알 수 있다. 에스테르류의 전체함량은 공장누룩-실험실발효구, 공장담금-공장발효구, 순수혼합배양발효구의 순서로 많았다. 공장담금-공장발효구의 경우 각 성분들의 휘발이 있을 수 있으며 여러 종류의 효모가 다량으로 증식되어 있는 공장누룩 [11]에 비해 순수혼합배양발효구는 2종의 효모만을 혼합배양하여 에스테르 생성이 미약했을 것으로 생각된다. 그러나 생성된 에스테르의 종류면에서는 누룩을 사용한 경우에 뒤지지 않았음을 알 수 있다. 알데히드로는 acetaldehyde의 함량이 절대적으로 많았고 benzaldehyde와 2-furancarboxaldehyde(furfural)가 검출되었

으며 알데히드의 전체적인 함량은 공장누룩-실험실발효구가 가장 많았다. 또한, 이 실험구에는 타실험구에는 없는 cinnamyl aldehyde가 0.5 µg/mL 존재하였다. 2-Furancarbox-aldehyde는 “이몬드의 휘발성 정유향”인 benzaldehyde와 유사한 향으로[37] 증류시 술덧이 늘어붙어 당류의 가열에 의해 생성되며 소주의 초취(焦臭)의 원인으로 알려져 있는 물질[32, 34]로 세 개의 실험구에서 모두 검출되었다. Acet-aldehyde는 발효과정 중 효모에 의한 에탄올의 산화에 의해 생성되며[2, 34] ether와 같은 강한 자극취를 나타내고 청주, 맥주, 일본소주에서도 검출되는 성분이며 특히 맥주의 미숙취로 알려져 있다[32, 34, 38]. 본 실험에서 다른 알데히드에 비해 함량이 많은 이유도 acetic acid의 높은 함량에 기인된 것으로 생각된다.

이상 순수혼합배양발효구의 경우 화합물들의 전체 함량을 비교하면 3-methyl-1-butanol이 1,069.7 µg/mL로 가장 많았고 2-methyl-1-propanol(489.2 µg/mL), 1-propanol(231.0 µg/mL), acetic acid의 ethyl ester(163.6 µg/mL), acetic acid(142.2 µg/mL)의 순서로 많이 검출되었다.

증류액을 직접주입한 경우와 peak pattern을 비교하기 위해 methylene chloride로 추출, 농축하여 GC-FID로 분석한 결과 Fig. 1b와 같은 chromatogram을 얻었다. 3-Methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 1-hexanol, 1-propanol 등 주로 알코올류에 속하는 성분들이 다량 검출되었고 그의 acetic acid와 acetic acid의 ethyl ester, acetaldehyde도 상당량 검출되었다.

상기 결과를 보충하기 위해 dynamic head space(purge & trap)법으로 향기성분을 포집하여 분석한 결과 Fig. 2와 같은 total ion chromatogram을 얻었고 이들 성분을 GC-MS로 동정하여 Table 2에 peak 면적과 함께 나타내었다. 총 55종의 성분이 확인되었는데 이를 화학적 관능기별로 살펴보면 acid류 6종, 알코올류 19종, 알데히드류 3종, alkane류 10종, 에스테르류 12종, 기타 5종으로서 알코올의 종류가 가장 많았고 에스테르류와 alkane류가 그 다음으로 많은 화합물군 이었다. 검출된 성분들 중 3-methyl-1-butanol(peak No. 31)은 그 함량이 많아서 3-methyl-1.5-pentane-diol(peak No. 30)과 분리가 불완전하여 공장누룩-실험실발효구와 공장담금-공장발효구의 경우 검출되지 않은 것으로 분석 결과가 나타났다. 그러나 3-methyl-1-butanol의 실험구별 함량은 순수혼합배양발효구, 공장누룩-실험실발효구, 공장담금-공장발효구의 순서로 peak 면적이 감소하여 Table 1의 GC-FID 결과와 같았다.

실험구별 향기성분의 종류를 비교하면 모든 실험구에서 공통으로 검출된 성분으로 acid 류에 속하는 2-hydroxy-, ethyl propionic acid와 alcohol 류에 속하는 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, 1-butanol, 3-methyl-1-butanol, 알데히드류인 2-furancarboxaldehyde, ester에 속하는 acetic acid의 ethyl ester, hexanoic acid의 ethyl ester(ethyl caproate), octanoic acid의 ethyl ester, decanoic acid의 ethyl ester 들이 있었다.

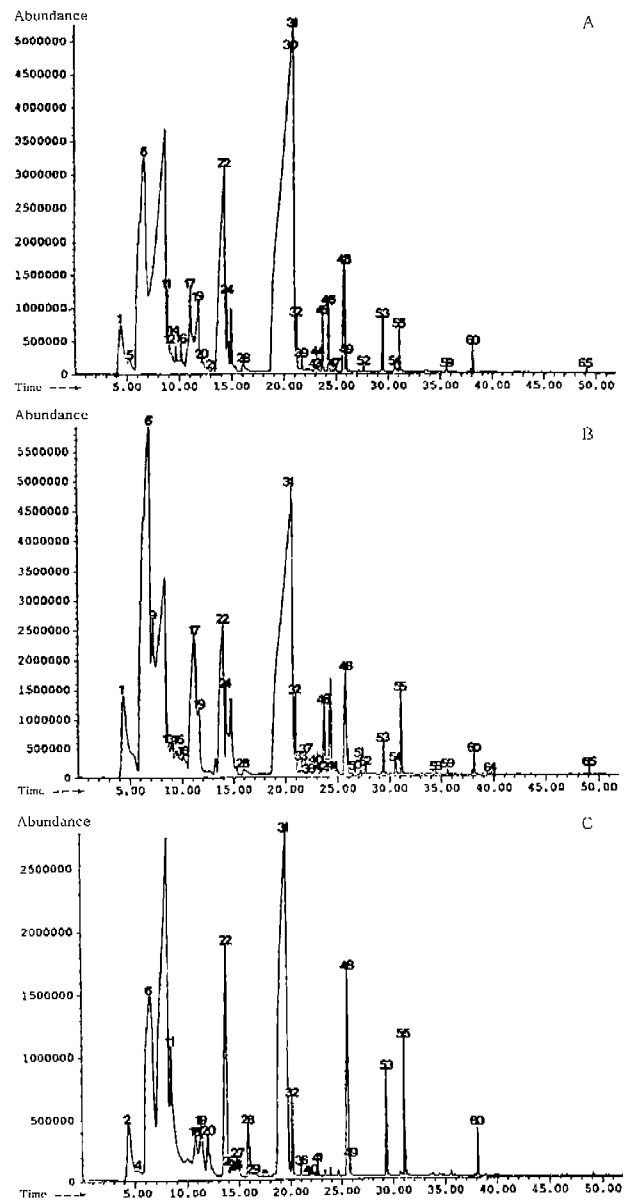


Fig. 2. Total ion chromatogram of volatile compounds in distillate (45% alcohol) from mashes for Andong tradiional distilled liquor after 24 day fermentation.

A, B, C: Refer to Fig. 1.

순수혼합배양발효구는 다른 실험구에 비해서 ester 화합물의 종류가 비교적 다양했고 공장누룩-실험실발효구는 alkane류(hydrocarbon류)가, 공장담금-공장발효구는 알코올류가 다양하게 분포하였다. 다른 두 실험구에서는 검출되었으나 순수혼합배양발효구에서는 존재하지 않는 성분은 furfuryl formic acid로 휘발성 향기성분의 분포는 공장누룩을 사용하거나 공장에서 제조한 시료와 큰 차이가 없는 것으로 판단되었다.

직접주입 했을 때 순수혼합배양발효구에서만 검출되지 않은 2-hydroxy propanoic acid의 ethyl ester가 용매추출과 purge & trap의 경우는 세 실험구에서 모두 검출되지 않았

다. 직접주입한 경우와 peak pattern은 비슷하였으나 전체적으로 검출된 에스테르류의 갯수나 양이, 특히 저분자량 지방산의 에스테르가 직접주입의 경우보다 적은 것으로 보아 가온하여 추출, 농축하는 과정에서 휘발성이 강한 저급 지방산의 에스테르 화합물이 상당량 소실된 것으로 생각된다. 한편, acetaldehyde 는 purge & trap method 의 경우 공

장담금-공장발효구에만 존재했으나 직접주입법과 용매추출의 경우 세 개의 실험구에서 모두 검출되었다. 알코올류는 함량이 많은 알코올의 종류는 직접주입과 용매추출, purge & trap의 경우 동일하였다. 공장담금-공장발효구에만 2-butanol 이 존재한 것과 이 실험구의 알코올류의 함량이 적은 것도 세 가지 전처리 방법에서 공통된 결과이다. 에스

Table 2. Volatile flavor compounds in distillates from mashes for Andong traditional distilled liquor; purge and trap method, GC-MSD

Peak No. ¹⁾	Compounds identified	Peak area			Odor description[38]	
		A ²⁾	B ²⁾	C ²⁾		
Acids						
38	2-Methyl propanoic acid	nd ³⁾	86	nd	Diffusive sour, pleasant fruity	
40	Furfuryl formic acid	nd	106	77		
45	2-Methyl-, 1-methyl propanoic acid	520	nd	nd		
48	2-Hydroxy-, ethyl propionic acid	1900	2451	1948		
54	Acetic acid	93	262	nd	Pungent	
64	3-Methyl-butanoic acid	nd	27	nd	Diffusive, acrid-acidic, cheesy	
Alcohols						
13	1-Propoxy-2-propanol	nd	608	nd	Alcoholic and slightly stupefying	
18	2-Butanol	nd	nd	500		
19	1-Propanol	2461	1872	756		
21	1,3-Dioxan-5-ol	73	nd	nd		
22	2-Methyl-1-propanol	10239	7102	3078		
25	3-(1-Methylbutoxy)-2-butanol	nd	nd	57		
26	2-Pentanol	nd	nd	421		
27	3-Methyl-2-butanol	nd	nd	232		
28	1-Butanol	298	307	584		Weak fusel oil
29	2-Methyl-3-pentanol	nd	nd	120		
30	3-Methyl-1,5-pentanediol	18255	nd	nd	Banana-like, disagreeable odor	
31	3-Methyl-1-butanol (impure)	41784	33273	12574		
33	1-Pentanol	nd	188	nd		
35	3-Buten-1-ol	nd	nd	133		
36	3-Methyl-3-buten-1-ol	nd	nd	66		
43	4-(1-Methylethyl)-cyclohexanol	38	nd	nd		
49	1-Hexanol	130	nd	60		Wine-like, slightly fatty and fruity
58	2,7-Dimethyl-4,5-octandiol	nd	33	nd		
65	2-Phenyl ethanol	37	90	nd		Rose, honey, floral
Aldehydes						
2	Acetaldehyde	nd	nd	1166	Pungent	
4	Butanal	nd	nd	470	Volatile oil of almond	
55	2-Furancarboxaldehyde	383	951	691		
Alkanes (Hydrocarbons)						
5	1-(Ethenyloxy)-2-methyl propane	608	nd	nd	Volatile oil of almond	
9	1-(Ethenyloxy)-3-methyl butane	nd	5163	nd		
10	Ethane	nd	560	nd		
15	1,1-Diethoxy ethane	nd	927	nd		
24	1-(1-Ethoxyethoxy)-pentane	843	2337	nd		
39	1,2,3-Trimethyl-cyclohexane	152	nd	nd		
41	7-D2-methylene cyclohexane	nd	nd	77		
42	Tridecane	nd	74	nd		
44	2,2'-Oxybis-pentane	124	117	nd		
52	Tetradecane	47	135	nd		

Table 4. Sensory evaluation data¹⁾ of distillates from mashes for Andong traditional distilled liquor

Attributable terms expressed	Standard substances	Distillates		
		A ²⁾	B ²⁾	C ²⁾
Aroma				
Alcoholic	<i>Soju</i> (distilled liquor)	5.89	5.71	6.55
Aromatic		5.16	5.63	5.61
<i>Nuruk</i> -like	Suspension of <i>Nuruk</i>	6.91 ^a	7.38 ^a	5.06 ^b
<i>Kaoliangchiew</i> -like	<i>Kaoliangchiew</i>	5.41 ^b	7.10 ^a	7.16 ^a
Taste				
Bitter	Gin tonic	7.16	6.56	6.40
Sweet	Sucrose solution (1%)	4.36 ^c	6.16 ^a	5.49 ^b
<i>Soju</i> -like	<i>Soju</i> (distilled liquor)	4.90	4.65	4.68
Mouthfeel				
Pungent		7.28	7.33	7.93
Well-rounded		5.76 ^{ab}	6.88 ^a	5.33 ^{ab}
Overall acceptability ³⁾		61	65	54

¹⁾Mean scores of 3 replications: Values with different letters in the same row are significantly different (p<0.05).

²⁾Refer to footnote of Table 1.

³⁾Sum of ranking order

The data were obtained from 30 panel members.

rounded mouthfeel 등이 주요 용어로 결정되었다. 이러한 주요 관능특성들을 나타낼 수 있는 표준물질들을 찾아내어 관능검사 때 시료와 함께 제시하였다. 표준물질의 향이나 맛, mouthfeel을 10 cm 선척도의 중심점에 표시하고 표준 물질과 시료에서 느껴지는 강도를 비교하여 척도 위에 표시하도록 하였다. 이처럼 주요 관능특성들을 시료간에 비교하여 그 유의적인 차이를 overall acceptability test 를 실시한 결과와 함께 Table 4에 나타내었다. 시료간에 유의적 차이(p<0.05)를 보인 항목들로 향에서 누룩향과 고량주향, 맛에서는 단맛, mouthfeel로는 well-rounded 가 있는데 단맛은 실험구간에 모두 차이가 있었고 공장누룩-실험실발효구, 공장담금-공장발효구, 순수혼합배양발효구의 순서로 높은 값을 보였다. 누룩향은 공장누룩-실험실발효구와 순수혼합배양발효구가, 고량주향은 공장누룩-실험실발효구와 공장담금-공장발효구가 높은 값을 보였다. Well-rounded mouthfeel은 공장누룩-실험실발효구, 순수혼합배양발효구, 공장담금-공장발효구의 순서로 높은 값을 보였다. Overall acceptability는 공장담금-공장발효구, 순수혼합배양발효구, 공장누룩-실험실발효구의 순서로 높은 값을 보였으나 통계적으로 유의한 차이(p<0.05)는 없었다. 이 결과로 세 실험구간에 overall acceptability 차이가 없어서 관능품질 면에서 차이를 보이지 않았음을 알 수 있고, 누룩향과 고량주향, 단맛에서 다른 시료보다 유의적으로 높은 값을 보인 증류주가 well-rounded mouthfeel에서도 유의적으로 높은 값을 보였음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때 실험실에서 선발균주들로서 순수 배양하여 제조한 누룩으로 담근 순수혼합배양발효구가 향

기성분 분석에서와 마찬가지로 관능검사시에도 통계적으로 유의적인 차이가 없이 다른 두 실험구의 품질에 접근하였으므로 순수배양에 의한 누룩을 사용하여 안동소주를 제조할 수 있는 가능성을 제시하였다고 본다. 한편, 향기성분 중에는 알코올류처럼 많이 포함되어 있으나 역치가 높은 성분이 있는 반면 에스테르 화합물이나 알데히드처럼 극미량 함유되었더라도 역치가 낮아 품질에 큰 영향을 주는 성분들도 있으므로 향기성분의 절대량보다는 어느 성분이 향미를 결정하는 주요 성분인지를 아는 것이 더욱 중요할 것으로 생각된다. 또한 제반 발효조건에 따른 향기성분의 변화와 관능검사 결과를 연관지어 해석하기 위해서 GC-sniffing 실험을 비롯하여 향기성분의 역치를 결정하고 관능특성에의 기여도를 확인하는 연구가 요구된다고 본다.

요 약

안동소주는 누룩을 이용해서 제조하는 우리나라의 대표적인 전통증류주의 하나이다. 전통증류주의 과학적 생산과 체계적 품질관리에 유용한 기초 자료들을 제시하기 위해 안동소주 제조용 누룩과 발효액으로부터 분리, 선발된 당화력이 우수한 사상균과 알코올 발효력이 우수한 효모를 혼 배양하여 안동소주의 품질특성에 미치는 영향을 검토하였다. *Mucor* 누룩을 사용하고 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Hansenula anomala*를 혼배양한 “순수혼합 배양발효구”와 (주)안동소주 공장의 발효조에서 채취한 “공장담금-공장발효구” 공장에서 제공받은 누룩과 원료로 제조하여 실험실에서 발효한 “공장누룩-실험실발효구”들의 증류액의 휘발성 향기성분을 분석하고 관능검사를 실시하였다. 휘발성 향기성분은 직접주입법과 용매추출, purge & trap법을 이용하여 GC와 GC-MS로 분석하였다. 3-Methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 1-propanol, 2-phenyl ethanol 등 알코올류와 acetaldehyde, 2-furancarboxaldehyde 등의 알데히드류, acetic acid, hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid 등의 ethyl ester 화합물, 그리고 alkane, alkene, ketone, sulfur, pyron 화합물들이 증류액의 휘발성 향기성분들로 검출되었다. 이 중 알코올류의 함량이 가장 많았다. 이들 증류액의 관능검사 결과 소주의 주요 관능특성들로는 aromatic 향, 알코올향, 누룩향, 고량주향과 쓴맛, 단맛, 소주맛, pungent mouthfeel, well-rounded mouthfeel 등이 결정되었고 overall acceptability는 세 가지 실험구에서 유의적으로(p<0.05) 차이를 보이지 않았으나 관능특성 중 누룩향과 고량주향, 단맛, well-rounded mouthfeel의 항목들은 실험구간에 유의적인(p<0.05) 차이를 보였다.

감사의 말

본 연구는 1997년도 서울여자대학교 교내연구비 및 한국

과학재단(KOSEF Project No. 951-0603-058-2, 1995-1996)의 지원으로 수행되었기에 감사로 드립니다.

REFERENCES

- Ahn, B. H. 1994. Research status of traditional liquors. *Bull. Food Technol.* **7**: 42-47. Korea Food Research Institute, Songnam.
- Asasio, H. and H. Kikotsuka. 1967. A view of soysauce (flavor component). *J. Soc. Brew. Japan* **62**: 1106-1117.
- Chang, K. J. and T. J. Yu. 1981. Studies on the components of *Sokokju*, and commercial *Yakju*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **13**: 307-313.
- Chung, D. H. 1988. Alcoholic beverages. *Food Sci. Technol.* **21**: 1-46.
- Chung, D. H. and N. K. Sung. 1980. Microbiological studies on the rice *Makkulli*. *Korea J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **8**: 1-8.
- Chung, J. H. 1967. Studies on the identification of organic acids and sugars in the fermented mash of the *Takju* made from different raw-materials. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **8**: 39-43.
- Han, E. H., T. S. Lee, B. S. Noh, and D. S. Lee. 1997. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using different *Nuruks*. *Korean J. Food Sci. Tech.* **29**: 563-570.
- Hara, S. 1967. A view of *Sake* component; Alcohols. *J. Soc. Brew. Japan* **62**: 1195-1205.
- Hong, Y. 1996. Studies on the microflora and cultural characteristics for production of a Korean traditional distilled liquor. *Ph. D. Thesis*, Seoul Women's University, Seoul, Korea.
- Hong, Y., S. O. Park, and E. H. Choi. 1998. Quality characteristics of *Andong Soju* type mashes produced by the co-culture of wild microorganisms isolated from *Nuruk* and mashes for *Soju* (Korean Traditional Distilled Liquor). *Food Sci. Biotechnol.* **7**: 236-241.
- Hong, Y., Y. B. Kim, S. O. Park, and E. H. Choi. 1997. Microflora and physiochemical characteristics of *Nuruk* and main mashes during fermentation of a traditional *Andong Soju*. *Foods Biotechnol.* **6**: 297-303.
- Jang, J. H. 1989. The history of Korean alcoholic liquors. *Korean J. Dietary Culture* **4**: 271-274.
- Jung, J. H. and S. T. Jung. 1987. Comparison of the aroma components in the Korean traditional *Yakjus*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **30**: 264-271.
- Kim, C. J. 1963. Studies on the quantitative changes of organic acid and sugars during the fermentation of *Takju*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **4**: 33-42.
- Kim, C. J. 1968. Studies on the components of Korean *Sake*: Part 2. Detection of the free amino acids in *Takju* by paper partition chromatography. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **9**: 59-64.
- Kim, C. J. 1968. Microbiological and enzymological studies on *Takju* brewing. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **10**: 69-90.
- Kim, C. J. and W. Y. Choi. 1970. Studies on the quantitative changes of thiamin during *Takju* brewing. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **13**: 105-109.
- Kim, C. J. and W. Y. Choi. 1970. Studies on the quantitative changes of riboflavin during *Takju* brewing. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **13**: 219-222.
- Kim, J. H., K. R. Kim, J. Y. Chai, H. K. Park, and K. S. Choi. 1994. Rapid gas chromatographic screening of alcoholic beverages for volatile and nonvolatile organic acids. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 162-166.
- Kim, K. 1995. Multivariate analytical approach and microscopic determination of aldehydes and esters. *Ph. D. Thesis*, Seoul Women's University, Seoul, Korea.
- Kim, Y. S., S. H. Kang, and J. H. Jung. 1991. Studies on the processing of Korean traditional *Soju*, *Jindo-Hongju*: I. Changes in components of *Hong-ju* mash fermented by different methods. *Korean J. Dietary Culture* **6**: 245-249.
- Larmond, E. 1970. *Methods for Sensory Evaluation of Food*, pp. 19-26. Department of Agriculture, Ottawa, Canada.
- Lee, D. S., H. S. Park, K. Kim, T. S. Lee, and B. S. Noh. 1994. Gas chromatographic and mass spectrometric determination of alcohol homologues in the Korean folk *Sojues*. *J. Korean Chem. Soc.* **38**: 640-652.
- Lee, J. S., T. S. Lee, J. Y. Choi, and D. S. Lee. 1996. Volatile flavor components in mash of nonglutinous rice *Takju* during fermentation. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **39**: 249-254.
- Lee, J. S., T. S. Lee, S. O. Park, and B. S. Noh. 1996. Flavor components in mash of *Takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food Sci. Tech.* **28**: 316-323.
- Lee, K. H. 1989. The production and market status of distilled liquor. *Korean J. Dietary Culture* **4**: 301-309.
- Lee, S. B., W. J. Chang, B. J. Im, and D. C. Kim. 1969. Studies on chemical components of fermented mash in the brewing of *Maggerley* (Korean wine). *Korean J. Appl. Microbiol.* **7**: 153-158.
- Lee, W. K., J. R. Kim, and M. W. Lee. 1987. Studies on the changes in free amino acids and organic acids of *Takju* prepared with different *koji* strains. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **30**: 323-327.
- Lee, Z. S. and T. W. Rhee. 1970. Studies on the microflora of *Takju* brewing. *Korean J. Microbiol.* **8**: 116-132.
- Meilgaard, M., G. V. Civille, and B. T. Carr. 1987. Descriptive analysis techniques, Chap. 8. *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Min, Y. K., H. S. Yun, H. S. Jeong, and Y. S. Jang. 1992. Changes in compositions of liquor fractions dis-

- tilled from *Samil-ju* with various distillation conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**: 440–446.
32. Nishiya, T. 1977. Brewing component; Spirits (component). *J. Soc. Brew. Japan* **72**: 415–432.
33. Nunokau, T. 1967. A view of sake component; Ester. *J. Soc. Brew. Japan* **62**: 854–860.
34. Owaki, K. 1967. A view of sake component; Carbonyl. *J. Soc. Brew. Japan* **62**: 1098–1105.
35. Pack, M. Y. 1975. Evaluation of batch fermentation conditions on beer flavor development. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **3**: 23–29.
36. Park, H. S. 1993. Gas chromatographic-mass spectrometric analyses of flavor compounds in Korean folk *Sojues* with porous polymer. *MS. Thesis*, Seoul Women's University, Seoul, Korea.
37. Windholz, M. 1983. *Merck Index*, p. 177, p. 514, p. 644, p. 652, p. 729, p. 1643. Merck Co. Pathway, USA.
38. Yuda, J. 1976. Brewing component; Beer (fermented flavor component). *J. Soc. Brew. Japan* **71**: 819–830.

(Received March 17, 1999)