Korean Journal of Life Science
Vol. 12. No. 3. 363~368, 2002

민속주의 품질평가와 Lumitester를 이용한 생균수 측정

김태완 · 류충호*

경상대학교 응용화학식품공학부 · 농업생명과학원

Quality Assessment of Traditional wine and viable cell count by Lumitester

Tae-Wan Kim and Chung-Ho Ryu*

Division of Applied Chemistry and Food Science and Technology and Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju Gyongnam, 600-701, Korea

Abstract

To evaluate the quality of korean traditional wine, 31 different type of wine were selected and examined for the following properties; ethanol contents, pH, acidity, total sugar contents, r educing sugar contents. In addition ATP contents of traditional wines were measured using lumitester and the result were compared with these obtained by viable cell counts. The physical and chemical properties of traditional wines are summarized as follow.; pH were in the range of 3.59~4.76, Total acidities were in the range of 4.23~16.21, Total sugar and reducing sugar contents were in the range of 0.04~1.13 g/100 mL and 0.006~0.999g/100 mL, respectively, ATP contents were in the range of 10^1~10^6 RLU(Relative light unit).

Key words – Lumitester, Traditional wine, ATP, Relative light unit

서 론

우리 나라 전통주인 약 · 탁주의 기원은 정확히 알 수는 없으나 삼한시대에 곡류가 정착되었고 삼국시대에 이미 다양한 술이 존재하였으며 탁주와 청주 등의 주류는 고려시대, 조선시대를 거치면서 양조기술이 고급화되어 360여종이 있었다는 기록이 있다[25].

제조법으로 미루어 탁주가 가장 오랜 역사를 가지며, 탁주에서 재를 제거하여 청주(약주포함)가 되었고, 또 이것을 증류하여 소주가 만들어졌다고 해석된다. 약주란 본래 중국에서 약으로 쓰이는 술이란 뜻이나 우리 나라의 약주는 약용주란 뜻이 아니고 탁주 제조시 숙성후기에 술독 상층에 용수를 반아 맑은 액체만 떠낸 것을 말하며 약 300여년 전부터 약현(현 서울시 중구 중림동)에 살던 약봉 서유거가 좋은 술을 만들었다하여 약주라 부르게되었다고 전해지고 있다[3-7].

약 · 탁주에 관한 연구는 발효에 관여하는 미생물의 분리와 동정, 곡자, 주모, 술덧에 관한 연구[6,13,16]가 이루어져 오다가 1960년대에 들어서면서 미생물학적, 생화학적 연구[10,12]가 진행되었으며, 양조의 과학적 관리 및 품질향상을 위한 미생물학적, 효소학적 연구[10,12,14,21]가 이루어졌다. 양조주의 품질은 원료의 화학성분, 양조에 관여하는 효모의 생리적 성질, 발효 과정중의 물리 · 화학적 조

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 055-751-5482, Fax : 055-753-4630
E-mail : ryu@nongae.gsnu.ac.kr

건 등에 따라 결정되는 것으로 알려져 있다[1,3,19].

시판 중인 민속주 또는 발효 · 숙성 중인 민속주중의 효모 수를 직접 도말법으로 계수하기 위해서는 최소한 18시간이상의 배양기간이 소요됨으로 공정관리나 품질관리 시 즉각적인 조치를 취하기가 현실적으로 어렵다. 최근 Bioluminescence법을 이용하여 미생물이 분비하는 ATP량을 정량 분석함으로써 미생물 수를 측정하는 방법이 우유, 크림 등의 여러 가지 식품분야에서 폭넓게 응용되고 있다[2,5,15,17].

본 연구에서 알콜 함량이 높고 저장성이 좋은 소주류를 제외한 시판중인 민속주 31종을 대상으로 주정분, pH, 산도, 총당 함량, 환원당 함량 등의 이화학적인 특성을 규명하여 민속주의 품질을 표준화와 과학화를 위한 기초자료를 얻고자 수행되었고 Lumitester의 활용가능성을 검토함으로써 품질향상에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

재료

2000년 10월과 2001년 2월에 걸쳐 경상남도 진주지역에서 시판되고 있는 31종의 민속주를 시료로 구입하였다.

에탄올함량

국세청기술연구소 주류분석규정에 준하여 증류법으로 주정분을 측정하였다.

pH와 산도

각 민속주시료의 pH는 pH meter(Orion 420A, U. S. A.)를 사용하여 측정하였으며 시료의 산도는 국세청기술연구소 주류분석규정에 준하여 시료 10 mL에 지시약(bromotymol blue 0.02 g, neutral red 0.01 g/95% ethanol 30 mL)을 2~3방울 적하 후 혼합하고 0.1 N NaOH용액으로 적정하였다. 3회 반복실험으로 소비된 NaOH의 mL수를 평균하여 구하였다.

환원당과 총당

Somogyi 법에 준하여 환원당을 정량하였고 총당은 국세청기술연구소 주류분석법에 준하여 시료를 0.2 N HCl로 가수분해한 후 Somogyi법으로 정량하여 glucose량으로 계산하였다.

생균수측정

민속주 시료중의 총균수는 시료 50 mL을 0.22 ㎛ membrane filter로 감압여과한 후 membrane을 YM (Yeast Malt) 평판배지에 위에 얹어 30℃에서 24시간 배양하여 CFU (Colony forming unit)를 계수하였고 유산균수 측정에는 M17 (Scharlau, European Union)배지를 사용하였다.

ATP함량측정

ATP함량은 swap test 기법[2,17]을 응용하여 Lumitester C-100 (Kikkoman, Japan)를 이용하여 측정하였다. 본 실험에서는 LuciPac (code 60182) swap kit을 사용하였다.

표준곡선은 YM배지에 배양한 청주용 효모를 10^1~10^8 CFU/mL 되도록 청주에 첨가하여 YM 한천배지에 도말하여 총균수를 확인함과 동시에 ATP수치를 측정하였다 (Fig. 1).

결과 및 고찰

에탄올함량

민속주의 용기에 표기된 에탄올함량 즉 주정도와 증류법으로 정량한 알콜 함량을 비교한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 31종의 민속주 시료 중 표기된 알콜 함량과 실제 함량이 일치하는 것은 4종이었고 표기된 에탄올 함량 보다 높은 것이 71.0%(22종)였고 함량 미달된 제품이 16.1%(5종)나 되었다. 두 함량간의 차이를 분석해보면 0.1~1.0%가 12

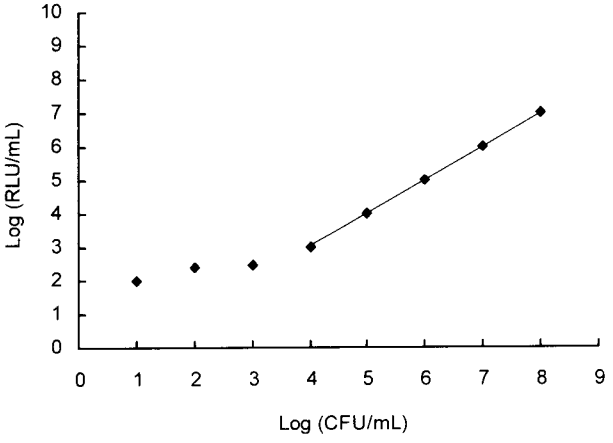

Fig. 1. A standard curve showing the relationship between CFU and RLU in a traditional wine.

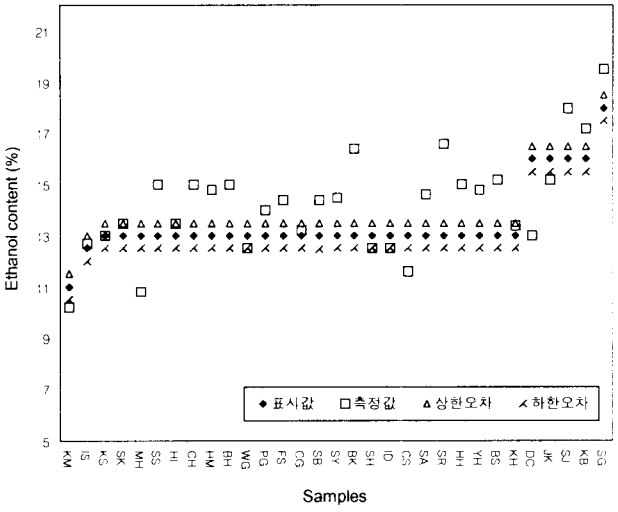

Fig. 2. Ethanol contents of traditional wines.

종, 1.1~2.0%가 14종, 2.1%이상이 4종으로 각각 전체의 38.7%, 45.1%, 12.9%에 해당하며 표시함량 보다 3%, 높게는 3.6%의 차이를 보이는 제품도 있었다. Fig. 2에 나타낸 것처럼 주세법상에 명시된 함량오차인 ±0.5% 범위 내의 제품은 9종(29%)에 불과했고 나머지 71%는 에틸알콜 함량 표기에 문제점이 있는 것으로 판명되었다. 이는 제조공정상의 불균일성에 따른 현상으로 추정된다. 따라서 연중 출고되는 제품의 품질을 일정하게 유지하기 위해서는 최종 제품의 품질검사와 공정의 과학화로 규격화된 품질을 유지하여야 하겠다.

한편, 윤 등[23,24]은 지역별 민속주의 특징과 그 과정별 차이점을 조사하는 과정에서 에탄올 함량을 11~19%라고 보고하였는데 이는 본 실험과 유사했다.

pH

시판 31종의 민속주의 pH를 Fig. 3에 나타내었다. 민속주의 pH 값은 최소 3.60 최대 4.76이었다. 본 실험에서는 소곡주의 경우 pH 4.76, 백하주의 경우 pH 3.6로 나타났으나, 전통주의 제조방법별 발효 특성 및 숙성 후 품질 변화를 실험한 결과[14]에서는 발효 종료시 소곡주와 백하주의 pH를 3.5~3.6라고 보고하여 소곡주의 결과와 다소 차이를 보였다.

산도

민속주 중의 산도를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 시판

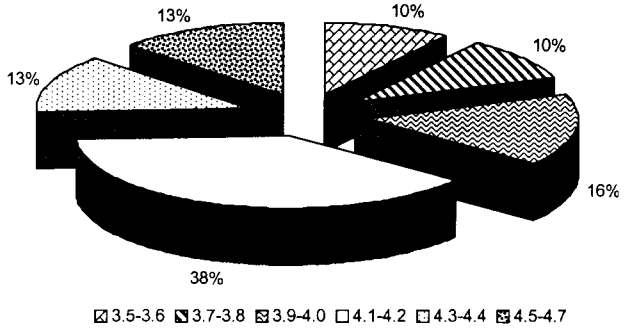

Fig. 3. The pH of traditional wines.

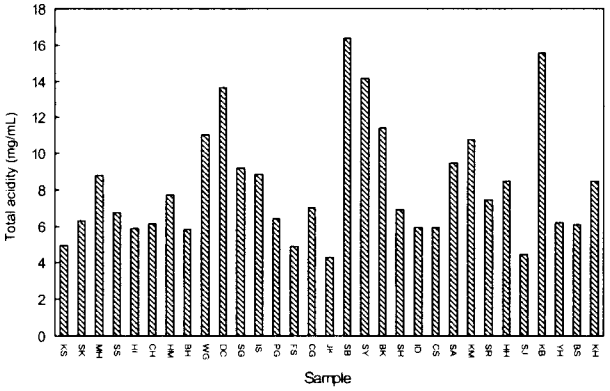

Fig. 4. Total acidity of traditional wines.

되고 있는 민속주의 산도는 4.0~5.0 (4종), 5.1~6.0 (4종), 6.1~7.0 (8종), 8.1~9.0 (2종), 9.1~10.0 (4종), 10.1~11.0 (2종), 11.32, 13.1~14.0 (2종), 15.37 (1종), 16.21 (1종)로 4.0~9.0 ㎎/mL가 전체의 71% (22종)이었고 9.1%이상이 29% (9종)이었으며, 최저 4.23 ㎎/mL에서 최대 16.21 ㎎/mL으로 4배의 차이가 나는 것도 있었다.

민속주 발효과정 중 산도변화에 관한 보고는 소곡주의 경우 3~10 ㎎/mL, 구기자주의 경우 67~70 ㎎/mL이나 저장과정 중 산도는 증가하는 것으로 알려져 있다[3]. 특히 가정에서 전통적인 방법으로 누룩을 빚어 병행복발효법으로 제조되고 있는 민속주의 산도를 일정히 유지하는 것은 상당히 어려울 것으로 예상된다. 현재 유통되고 있는 민속주를 산도별로 분류하여 유통기한 설정자료로 활용하는 방안도 가능할 것이다. 민속주의 품질관리 차원에서 산도를 규격화하기 위해서는 산 생성량이 적합한 곰팡이나 효모를 선별하여 발효과정에 이용하여 제품의 저장이나 유통과정 중에 산도가 증가되는 것을 방지하는 연구가 먼저

수행되어야 할 것으로 사료된다.

환원당 및 총당

민속주 중의 환원당과 총당의 함량을 측정결과를 Fig. 5에 나타내었다. 민속주에 잔존하는 환원당은 0.006 g/100 mL로 춘향주, 국화주, 인동주 및 계명주의 경우 대부분의 당이 효모에 의해 소비되어 거의 환원당 형태로 존재하지 않았고 강쇠와 홍화주의 경우 총당의 대부분이 환원당임을 추측할 수 있었다. 민속주 발효 숙성 후 잔류 환원당은 소곡주 0.51 ㎎/mL, 백하주는 0.33~0.38 ㎎/mL라고 김 등[14]의 보고한 결과보다 다소 낮은 값을 나타내었으나 큰 차이는 없었다.

민속주 중의 총당함량이 0.5 g/100 mL이하인 시료가 23종으로 전체의 74.2% 였고 나머지 8종은 0.5 g/100 mL이상이었다. 특히 천대홍주가 지리산국화주보다 약 27배나 총당함량이 높았다. 민속주 중의 당은 미분해된 비발효성당 중 일부 침전되지 않는 다당류로 예측된다. 원료미 중의 전분질은 국 유래의 amylase에 의해 발효성당으로 분해되거나, 발효후기에 침전되어 제거된다. 원료미의 특성과 국 중 amylase 효소의 종류나 효소량에 의해 발효성당으로 분해되는 정도가 달라진다.

생균수

민속주 중의 생균수를 측정하기 위해 시료를 0.22 ㎛ membrane filter로 균을 포집하여 YM배지 상에 배양한 결과를 Table 1에 나타냈다. 일반세균은 13%이상의 알콜 농

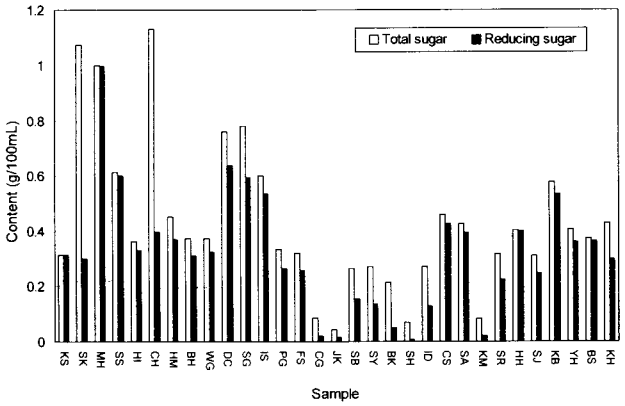

Fig. 5. Total sugar and reducing sugar contents of traditional wines.

Table 1. Viable cell count of traditional wines

(logCFU/mL)

Sample	Viable cell	Sample	Viable cell	Sample	Viable cell
KS	2.08	IS	2.78	CS	3.32
SK	2.32	PG	2.20	SA	1.20
MH	2.18	FS	2.30	KM	5.32
SS	2.60	CG	2.26	SR	2.63
HI	2.93	JK	2.51	HH	3.30
CH	2.53	SB	-	SJ	1.51
HM	2.30	SY	-	KB	1.20
BH	2.72	BK	2.91	YH	2.08
WG	0.90	SH	-	BS	-
DC	4.23	ID	0.60	KH	2.00
SG	2.51				

- : Not detected

도에서는 거의 생육이 불가능하고 소수의 유산균이 증식한다는 보고가[18,22] 있으나 실험에 사용한 31종 시료 중 유산균이 오염된 시료는 발견되지 않아서 효모의 수만 측정하였다. 민속주 중의 균수는 10^3 CFU/mL이상 4종, 10^2 CFU/mL이 18종, 10^1 CFU/mL이 3종, 10^1미만은 3종이었고 전체의 약 9.3%(3종)의 민속주에서만 균이 검출되지 않았다. 이 결과로 미루어 대부분의 민속주 회사에서 사용중인 여과 및 살균공정 개선해야 할 것으로 추측된다. 더구나 아직도 대부분의 주류가 상온 유통되고 있는 우리 나라의 실정을 감안한다면 2차발효에 의한 산미생성, 혼탁, 침전물 발생 등 변질을 초래할 가능성을 배제할 수 없다. 민속주의 병입공정 전에 열처리로 효모을 사멸시키거나 맥주회사 등에서 사용하고 있는 세라믹 여과장치를 이용함으로써 민속주의 주질 향상과 저장, 유통기간을 확대할 수 있을 것으로 사료된다[18,22].

ATP 함량

수집한 민속주의 미생물 생성 ATP함량 측정 결과는 Table 2과 같다. RLU 값과 효모 colony수 사이에 유의적 상관관계가 있었으며 생균수 - RLU 표준그래프에서 유효한 계 범위가 생균수(CFU/mL)가 10^4~10^8일 때 RLU 수치가 10^3~10^7 으로써 2종의 시료를 제외하고는 한계범위 밖의 결과가 도출되었다. Swap test는 간편하고 신속하게 측정할 수 있으나 미생물유래 이외의 잔존하는 ATP에 의한

Table 2. ATP contents of traditional wines

(logRLU/mL)

Sample	ATP	Sample	ATP	Sample	ATP
KS	1.98	IS	2.76	CS	2.80
SK	2.51	PG	2.33	SA	2.60
MH	2.43	FS	2.52	KM	4.33
SS	2.69	CG	2.72	SR	2.78
HI	2.85	JK	2.45	HH	2.64
CH	1.77	SB	1.64	SJ	2.60
HM	2.90	SY	0.65	KB	2.78
BH	2.64	BK	2.23	YH	2.72
WG	1.81	SH	0.72	BS	2.14
DC	3.18	ID	2.45	KH	2.56
SG	2.56				

방해를 받으므로 보다 정확한 실험을 위해 ATP 소거제를 이용하여 실험을 실시 할 경우에 보다 높은 신뢰성을 가질 것으로 사료된다. Lumitester를 이용하여 육안으로 식별 불가능한 10^4 CFU/mL이상의 민속주 시료에 대한 효과적인 미생물 검출시험이 가능하며, 또한 민속주 제조공정관리에 이용함으로써 각 단계별 생균수 검사 및 이상 발효 등을 신속히 예상 할 수 있어 민속주의 제조 및 품질관리에 과학적이고 체계적인 장비로 이용될 것으로 확신한다.

요 약

한국 민속주의 품질평가를 위해 민속주 31종을 대상으로 에탄올 함량, pH, 산도, 총당 및 환원당의 함량과 같은 특성을 조사하였다. 또한 민속주의 ATP함량은 lumitester로 측정하여 생균수와 비교하였다. 민속주의 물리·화학적 특성은 아래와 같이 확인되었다.; pH는 3.59~4.79였고 총산도는 4.23~16.21이였으며 총당과 환원당의 함량은 각각 0.04~1.13, 0.006~0.999 g/100 mL로 나타났고 ATP함량은 10^1~10^6 RLU범위에서 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Bae, S. M., H. J. Kim, T. K. Oh and Y. H. Kho. 1990 Preservation of Takju by Pasteurization. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotech.* **18**, 322-325.
2. Choi, B. K., J. B. Kim, M. K. Shin and S. B. Lee. 1986. Determination of Intracellular ATP of bacteria on the surface of Chicken. *Korean J. Food Sci. Technol.* **18**, 88-92.
3. Choi, S .H., M. H. Lee, C. S. Shin, C. G. Sung, M. J. Oh and C. J. Kim. 1996. Microbiology · Fermenation · Biotechnology : Effect of storage condition on the quality of the wine and Yakju made by Lycium chinense Miller. *J. Korean Agric Chem.* Soc. **39**, 338-342.
4. Choi, S .H., O. K. Kim and M. W. Lee. 1992. A Study on the Gas Chromatographic Analysis of Alcohols and Organic Acids during Takju Fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**, 272-278.
5. Han, S. H., C. H. Kim, J. B. Kim, H. K. Shin and S. B. Lee. 1985. Processing of Animal Products : Determination of Bacterial Number in a Raw Milk by ATP Assay Monitored by Luciferin-Iuciferase Bioluminescence Reaction. *Korean J. Anim. Sci.* **27**, 782-784.
6. Jo, Y. H., N. K Sung, D. H. Chung and H. D. Yun. 1971. Microbiological Studies on the Rice Makkulli (Part1) Utilization of Rice Makkulli Koji with the Isolated Strain M-80. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **7**, 217-223.
7. 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.
8. Jung, J. H and S. T. Jung. 1987. Odor Threshold and Agreeability of Aroma Components of Yakju. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **30**, 272-277.
9. Kang, M. Y., S. S. Yoo, Y. S. Park, C. K. Mok and H. G. Chang. 1999. Analysis of flavors in heat-sterilized yakju. *Food Engineering Progress,* **3**, 170-175.
10. Kim, C. J. 1968. Microbiological and Enzymological Studies on Takju Brewing. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **10**, 69-100.
11. Kim, C. J. 1968. Studies on the Components Korean Sake (Part 2) - Detection of the Free Amino Acids in Takju by Paper Partition Chromatography. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **9**, 59-64.
12. 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.
13. Kim, C. J., W. Y. Choi and M. J. Oh. 1972. Studies on the Utilization of Sweet Potatoes for Takju Brewing. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **15**, 213-219.
14. Kim, I. H., W. S. Park and Y. J. Koo. 1996. Comparison of Fermentation Characteristics of Korean Traditional Alcoholic Beverages Prepared by Dif-

ferent Brewing Methods and Their Quality Changes after Aging. *Korean J. Dietary Culture* **11**, 497-506.
15. Kim, K. M and J. K. Chun. 1993. Development of Automatic Measurement and Control Method based on Single Chip Microcomputer for Tackjoo Fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **25**, 391-394.
16. Kim, S. Y., M. J. Oh and C. H. Kim. 1974. Studies on Takju Brewing with Potatoes, *J. Korean Agric Chem. Soc.* **17**, 81-92.
17. Kim, T. J., J. B. Kim, S. B. Lee and Y. S. Jeon. 1989. Treatment test for bovine mastitis by the determination of ATP based on firefly bioluminescence. *Korean J. Vet Res.* **29**, 383-391.
18. Lee, C. H., W. T. Tae, G. M. Kim and H. D. Lee. 1991. Studies on the Pasteurization Conditions of Takju. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**, 44-51.
19. Lee, J. S., T. S. Lee, B. S. Noh and S. O. Park. 1996. Quality characteristics of mash of takju prepared by different raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 330-336.
20. Lee, M. K., S. W. Lee and T. H. Yoo. 1994. Quality Assessment of Yakju Brewed with Conventional Nuruk. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **23**, 78-89.
21. 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.
22. Mok, C. K., J. Y. Lee and H. G. Chang, 1998. Optimization of Heat Sterilization Condition for Yakju (rice wine). *Food Engineering Progress* **2**, 137-143.
23. Yoon, S. J. and D. H. Park. 1994. Study on Traditional Folk Wine of Korea - In the Southern Region of Korea-Chulla-do, Kyungsang-do and Cheju-do-. *Korean J. Dietary Culture* **9**, 355-364.
24. Yoon, S. J. and M. S. Jang. 1994. Study on Traditional Folk Wine of Korea In the Central Region of Korea-Seoul, Kyoaggi-do, Chungchung-do. *Korean J. Dietary Culture* **9**, 341-353.
25. Yu, T. S., J. Kim, H. S. Kim, J. S. Hyun, H. P. Ha and M. G. Park. 1998. Bibliographical Study on Microorganims of Traditional Korean Nuruk (Since 1945). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 789-799.

(Received May 24, 2002; Accepted June 20, 2002)