

전통막걸리로부터 분리된 효모균주를 이용해 제조된 막걸리의 물성 분석

전명제¹, 김미향², 이동근¹, 황현정², 강민숙², 김보경², 이승우¹, 장혜지¹, 이상현^{1*}

Analysis and Properties of Makgeollies Made by Isolated Yeast Strains from Traditional Makgeollies

Myong Je Jeon¹, Mihyang Kim², Dong-Gun Lee¹, Hyun-Jung Hwang², Min Suk Kang², Bo Kyung Kim², Seung Woo Lee¹, HyeJi Jang¹, and Sang-Hyeon Lee^{1*}

접수: 2012년 1월 25일 / 게재승인: 2012년 2월 25일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Five yeast strains were isolated from traditional Makgeollies, Makgeollies were made by isolated yeasts after cultivation, and then property changes of Makgeollies were analyzed according to yeasts, storage temperatures and storage periods. Average pHs were shown to be 3.22~3.88 and statistically changed according to yeasts used, storage temperatures and storage periods. Total acidities were statistically changed according to storage periods. Amino-type nitrogen contents were in the ranges of 0.009~0.245% and statistically changed according to storage temperatures especially at 18 and 25°C for 15 days. Average alcohol concentrations were in the ranges of 7.5~18.5% and reduced until 10 days and increased for 15 days according to yeasts used and storage periods. Consequently, Makgeollies, made by isolated yeast strains originated from traditional Makgeollies, revealed that alcohol concentrations and amino-type nitrogen contents were changed but pHs and total acidities were not dramatically changed according to yeasts used. It suggests

that development of various Makgeollies would be possible using isolated yeast strains in this study, and optimal storage condition of ready-made Makgeollies to maintain its original property turned out to be at 4°C for 5 days. Especially, Makgeolli made by F strain showed the best quality on its property, therefore Makgeolli which maintains its property stably until 10 days when stored at 4°C could be made using this strain.

Keywords: Makgeolli, Property analysis, *Saccharomyces cerevisiae*, Traditional Makgeolli, Yeast strain

1. 서론

최근 우리나라 전통 주류인 약주, 탁주, 전통 민속주 등에 대한 민족 고유의 식문화를 재조명하려는 움직임에 많은 관심이 모아지고 있다 [1]. 특히, 막걸리는 우리에게 친숙한 술로 전통주의 계승 발전이란 측면에서 중요한 의미를 가지고 있다 [2]. 또한, 최근 웰빙열풍으로 많은 기능성이 보고된 [3,4] 저도주인 막걸리에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 일본에서는 한류열풍에 힘입어 막걸리에 대한 수요가 증가하고 있다 [5].

전통적인 쌀 막걸리 제조방법은 불린 쌀로 고두밥을 만든 후, 양조용수에 넣고 누룩을 첨가하여 숙성시킨다 [6]. 이렇게 만들어진 막걸리는 알코올에서 유래되는 쓴맛, 발효 중 생성된 유기산에 의한 상큼한 신맛, 단백질 분해산물인

¹신라대학교 대학원 생명공학과
¹Department of Bioscience and Biotechnology, Graduate School, Silla University, San 1-1, Gwaebop-dong, Sasang-gu, Busan 617-736, Korea
Tel: +82-51-999-5624, Fax: +82-51-999-5636
e-mail: slee@silla.ac.kr

²신라대학교 식품영양학과
²Department of Food and Nutrition, Silla University, San 1-1, Gwaebop-dong, Sasang-gu, Busan 617-736, Korea

아미노산과 전분 분해산물인 당류 등이 조화를 이룬 독특한 풍미를 지닌다. 보통 막걸리의 주질은 알코올 농도, 총산, 향미성분 등으로 결정되며, 이 요인들은 저장 조건에 따라 크게 달라진다 [7]. 이러한 요인들 가운데 발효 중에 생성되는 유기산이 총산을 결정하는데, 막걸리에 포함된 유기산으로는 pyruvic acid, malic acid, succinic acid, tartaric acid, oxalic acid, fumaric acid, citric acid, acetic acid 등이 알려져 있다 [8]. 유기산은 막걸리에 고유의 신선함을 주지만 과잉의 유기산이 존재하면 오히려 막걸리의 맛이 떨어지게 된다 [9]. 막걸리의 단맛은 발효 중 알코올 생산에 참여하지 않는 당류에 기인한다.

막걸리에 관한 연구는 누룩과 막걸리의 미생물학적 연구 [10], 곡자로부터 유용 곰팡이를 분리하여 개량곡자의 제조 및 현대식 제국용 균주의 사용에 대한 연구 [11], 막걸리의 발효과정 중 성분 변화에 대한 연구 [8], 원료를 달리하여 제조된 막걸리에 대한 연구 [12] 등이 있었다. 막걸리는 발효 후 완전히 여과하지 않은 주류인 관계로 그 물리적 성상이 불균일하다. 또한 저장 및 유통과정 중 발효가 계속 진행되기 때문에 품질의 균일화를 기하기 어렵고, 저장성이 매우 짧은 단점을 가지고 있다. 따라서 막걸리의 저장성을 연장시키기 위한 저온살균 [13], 고압처리 [14], 그리고 오미자 [15], 키토산 [16], 블루베리 [17] 등을 첨가하여 저장성을 개선하고자 하는 연구가 보고되어 있다 [13-17].

한편 효모는 균주의 종류와 환경에 따라서 알코올 농도 5~21%까지 생존저항성을 가지고 있어 알코올 발효에 사용될 우수한 효모균주의 확보도 필요할 것으로 사료된다 [18]. 포도주와 같은 기타 발효주에서는 품질을 향상시키는 방안으로 포도주 제조용 발효균주의 개발이 진행되고 있지만, 전통막걸리로부터 효모균주를 분리하고 이들을 이용한 막걸리 제조와 보관과정에서의 물성비교에 관한 보고는 거의 이루어지고 있지 않다 [19].

본 연구에서는 전통막걸리들을 수집하고 이들로부터 알코올 발효에 관여하는 효모들을 순수 분리하였고 이들의 동정을 행하였다. 또한, 분리된 각각의 효모를 따로 배양하고 이를 이용하여 막걸리를 제조하였으며 사용된 효모의 종류와 보관온도에 따른 막걸리의 물성 변화에 대해 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 막걸리 발효균주의 분리

여러 지역에서 전통적인 방법으로 제조된 막걸리들을 수집하였고 이들로부터 막걸리의 알코올 발효균주인 효모균들을 분리하였다. 막걸리 시료 200 μ L를 YPD plate (yeast extract 1%, peptone 2%, glucose 2%, agar 1.5%)에 도말하고 30°C의 온도에서 24시간 배양하였다. 얻어진 콜로니들의 모양, 색깔 및 크기를 기준으로 한 육안판정으로 효모균을 선별하고 이들을 YPD plate에 계대 배양하여 순수 배양된 균주들을 확보하였다. 순수 배양된 균주들은 실험에 사용할 때까지 10%의 DMSO가 첨가된 액체배지에 넣어 -70°C에서 보관하였다.

2.2. 18S rDNA 염기서열 분석

분리된 효모균주를 YPD broth (yeast extract 1%, peptone 2%, glucose 2%)에 접종하여 30°C에서 24시간동안 배양하고 원심분리 (3000 \times g, 5 min)하여 균체를 모은 후 Genomic DNA Purification Kit (Promega Co., Madison, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다.

18S rDNA 단편을 증폭하기 위하여 분리한 genomic DNA를 template로 사용하고 NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCT-3')과 NS2 (5'-GGCTGCTGGCACCAGACT-3')를 primer로 사용하였다 [20]. PCR 반응은 94°C에서 5분간 반응시켜 주형 DNA를 변성시키고 다시 94°C에서 1분, 56°C에서 1분, 72°C에서 1분간의 반응을 30회 반복하고, 72°C에서 5분간 최종적으로 반응시켜 18S rDNA 단편을 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물들은 0.8% agarose gel에서 전기영동하여 단편을 확인하였다. DNA의 염기서열 분석은 코스모진텍사 (Cosmo Gene Tech, Korea)에 의뢰하였으며, National Center for Biotechnology Information (NCBI, USA)의 BLAST를 사용하여 18S rDNA 단편의 염기서열의 상동성을 근거로 분리된 균주들을 동정하였다.

2.3. 막걸리 제조 및 시료의 채취

쌀 8.8 kg을 1일 정도 물에 불리고 증기로 찌서 고두밥을 만든 후, 여기에 중국 (산성누룩, 금정산성마을, 부산)을 첨가하여 골고루 잘 버무려 혼합하고 30°C에서 24시간 동안 당화 과정을 수행하였다. 이를 5세트로 준비하여 각각의 멸균된 항아리에 넣고 확보된 5종의 효모균주들을 각각 따로 첨가한 후 물 8.8 L를 넣어 뚜껑을 보자기로 덮고 온도를 유지하며 8일간 발효를 수행하였다. 발효 완료 후, 보관온도가 막걸리의 저장성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 제조된 막걸리를 4°C, 18°C 및 25°C에서 각각 보관하면서 5일 간격으로 각각의 막걸리 시료를 채취하여 막걸리의 물성을 분석하였다.

2.4. pH 및 총산 측정

막걸리의 pH는 시료 50 mL를 취하여 pH meter (Radiometer Analytical, Lyon, France)로 측정하였다. 막걸리의 총산을 측정하기 위하여 시료 10 mL에 증류수를 가하여 100 mL로 희석한 후, 1% phenolphthalein (Sigma, USA)을 지시약으로 사용하여 0.1 N NaOH로 미적색 (pH 8.3)이 될 때까지 적정하였다. 적정에 소비된 NaOH 양에 0.009를 곱하여 lactic acid의 양으로 환산하여 막걸리 시료중의 총산을 측정하였다 [13].

2.5. 아미노태 질소 함량 측정

아미노태 질소 함량은 Formol 법으로 측정하였다 [21]. 막걸리 시료액 5 mL를 취해 증류수로 희석하여 250 mL로 만들고 25 mL를 분취하여 여기에 formalin 용액 (Sigma, USA) 20 mL와 물 20 mL를 섞은 다음 phenolphthalein (Sigma, USA)을 약 6방울을 첨가한 용액 25 mL를 섞은 후 0.05 N NaOH 용액으로 엷은 분홍색이 될 때까지 적정하였으며, 적정에 소비된 NaOH 양을 아미노태 질소 함량으로 표시하였다.

Table 1. Results of BLAST search of the 18S rDNA region sequence of yeast strains obtained from traditional Makgeollios

Yeast	Fragment sequenced (bp)	Species	GenBank accession no.	Similarity (%) ^a
F	491	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	FN393078	100
U	503	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AY251636	99
S	513	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GQ458028	99
K	494	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GQ458028	100
R	500	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	BK006945	100

^aSimilarity of nucleotides in 18S rDNA fragment between isolate and strain of GenBank accession number.

2.6. 알코올 함량 측정

막걸리 시료의 알코올 함량은 증류법으로 측정하였다. 여과한 시료 100 mL와 증류수 50 mL를 500 mL의 증류플라스크에 옮긴 후 냉각관을 연결하여 증류하였다. 증류액이 50 mL 이상 되면 증류를 중지하고 증류수를 가하여 100 mL로 표선을 맞춘 후 증류수와 증류된 알코올을 혼합하였다. 증류 알코올은 온도를 측정 한 후 주정계로 눈금을 읽고, 알코올-온도 보정표에서 15°C로 보정한 알코올 함량을 표준 보정 곡선에 대입하여 알코올 함량 (% v/v)을 측정하였다.

2.7. 통계처리

연구결과로 얻어진 자료는 Aabel 통계 프로그램을 사용하여 하위그룹 각각의 기술 통계치 (mean, SD)를 산출하였다. 분산분석 (ANOVA) 후 Fisher's PLSD의 다중범위 유의성 검증을 실시하였고, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 시료 중의 알코올 함량은 paired t -test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 분리된 발효균주의 동정

18S rDNA 유전자 염기서열의 해석결과로 전통막걸리로부터

분리된 발효균주들이 주류의 알코올 발효에 주로 이용되는 *Saccharomyces cerevisiae*와 99~100%의 염기서열 유사성을 나타내는 것을 확인하였다 (Table 1). 각 효모균주들은 분리원에 따라 대조군으로 사용한 빵효모를 C, 경남지역에서 수집한 솔잎함유 전통막걸리에서 분리한 효모를 F, 울산지역의 전통막걸리에서 분리한 효모를 U, 부산지역의 전통막걸리 3종에서 분리한 효모를 각각 S, K 및 R 효모로 명명하였다.

3.2. 막걸리 발효 후 보관기간 중의 pH 및 총산의 변화

보관온도가 막걸리의 저장성에 미치는 영향을 알아보기 위해 4, 18 및 25°C에서 각각의 막걸리를 보관하면서 pH 및 총산의 변화를 살펴보았다. 보통 누룩으로 제조한 재래식 막걸리의 통상적인 총산함량은 0.38~0.55%이다 [22]. Table 2에서 별표 (*) 표시는 같은 보관온도와 같은 보관기간일 때 빵효모 C와 비교하여 분리균주별로 pH 차이에 유의성이 있음을 나타낸다 ($p < 0.001$). 보관온도별로 보면 분리한 모든 효모 균주들이 0, 5, 10, 15일째 모두 빵효모 C에 비해 pH가 높았고 이러한 경향은 모든 보관온도에서 동일하였다. 플러스 (+) 표시는 동일 보관온도와 동일 효모에서 0일째와 비교하여 각 보관기간별로 pH 차이에 유의성이 있음을 나타낸다 ($p < 0.001$). 4°C에서 보관한 경우, 모든 막걸리가 보관 10일까지 pH가 3.27~3.76의 범위에서 일정하게 유지되었지만, 보관 15일에는 모든 막걸리의 시료에서 pH가 증가하였다. 빵효모

Table 2. Changes in pHs of Makgeollios during storage periods

Temp. (°C)	Storage period (day)	Yeast used					
		C	F	U	S	K	R
4	0	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.00*	3.72 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	5	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.00*	3.72 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	10	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.00*	3.72 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	15	3.38 ± 0.00 ⁺	3.83 ± 0.02 ⁺ *	3.86 ± 0.01 ⁺ *	3.86 ± 0.02 ⁺ *	3.77 ± 0.01 ⁺ *	3.88 ± 0.01 ⁺ *
18	0	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.00*	3.27 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	5	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.01*	3.72 ± 0.01 ⁺ *	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	10	3.27 ± 0.01	3.87 ± 0.01 ⁺ *	3.83 ± 0.00 ⁺ *	3.81 ± 0.02 ⁺ *	3.76 ± 0.02 ⁺ *	3.85 ± 0.01 ⁺ *
	15	3.38 ± 0.00 ⁺	3.83 ± 0.01 ⁺ *	3.77 ± 0.01 ⁺ *	3.72 ± 0.01*	3.46 ± 0.01 ⁺ *	3.80 ± 0.01*
25	0	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.01*	3.72 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	5	3.27 ± 0.01	3.76 ± 0.01*	3.72 ± 0.01*	3.73 ± 0.01*	3.70 ± 0.01*	3.76 ± 0.01*
	10	3.23 ± 0.00	3.71 ± 0.01*	3.56 ± 0.01 ⁺ *	3.48 ± 0.01 ⁺ *	3.51 ± 0.03 ⁺ *	3.62 ± 0.02 ⁺ *
	15	3.22 ± 0.02	3.67 ± 0.01 ⁺ *	3.42 ± 0.02 ⁺ *	3.48 ± 0.01 ⁺ *	3.46 ± 0.01 ⁺ *	3.60 ± 0.01 ⁺ *

Results are represented as mean ± SEM on three measurements. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test * represents the significance ($p < 0.001$) of pH by other yeast compared with that by C yeast at corresponding storage temperature and period. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test and ⁺ represents the significance ($p < 0.001$) of pH at each day compared with that of 0 day with each yeast at corresponding storage temperature.

Table 3. Changes in total acidities of Makgeollies during storage periods

Temp. (°C)	Storage period (day)	Yeast used					
		C	F	U	S	K	R
4	0	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.61 ± 0.11	0.42 ± 0.11	0.41 ± 0.03
	5	0.47 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.68 ± 0.06	0.72 ± 0.04	0.81 ± 0.02 ⁺	0.92 ± 0.04 ⁺⁺
	10	0.94 ± 0.07 ⁺	1.01 ± 0.15 ⁺	1.16 ± 0.23 ⁺	1.32 ± 0.04 ⁺⁺	1.19 ± 0.01 ⁺	1.15 ± 0.10 ⁺
	15	1.54 ± 0.04 ⁺	1.46 ± 0.04 ⁺	1.59 ± 0.02 ⁺	1.69 ± 0.01 ⁺	1.65 ± 0.04 ⁺	1.68 ± 0.02 ⁺
18	0	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.61 ± 0.11	0.42 ± 0.11	0.41 ± 0.03
	5	0.68 ± 0.04	0.48 ± 0.08	0.89 ± 0.07 ⁺	0.82 ± 0.10	0.80 ± 0.06	0.82 ± 0.05 ⁺
	10	1.50 ± 0.11 ⁺	1.23 ± 0.06 ⁺	0.72 ± 0.06 [*]	1.42 ± 0.10 ⁺	1.39 ± 0.06 ⁺	1.12 ± 0.04 ⁺
	15	1.64 ± 0.05 ⁺	1.55 ± 0.04 ⁺	1.87 ± 0.04 ⁺	1.81 ± 0.04 ⁺	1.77 ± 0.19 ⁺	1.70 ± 0.01 ⁺
25	0	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.61 ± 0.11	0.42 ± 0.11	0.41 ± 0.03
	5	0.80 ± 0.03	0.81 ± 0.25	0.89 ± 0.07	0.83 ± 0.04	0.90 ± 0.02 ⁺	1.03 ± 0.11 ⁺
	10	1.38 ± 0.08 ⁺	1.49 ± 0.02 ⁺	1.25 ± 0.19 ⁺	1.39 ± 0.00 ⁺	1.19 ± 0.06 ⁺	1.62 ± 0.05 ⁺
	15	1.93 ± 0.06 ⁺	1.79 ± 0.01 ⁺	1.60 ± 0.15 ⁺	1.91 ± 0.10 ⁺	1.62 ± 0.01 ⁺	1.94 ± 0.09 ⁺

Results are represented as mean ± SEM on three measurements. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test * represents the significance ($p < 0.001$) of total acidity by other yeast compared with that by C yeast at corresponding storage temperature and period. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test and ⁺ represents the significance ($p < 0.001$) of total acidity at each day compared with that of 0 day with each yeast at corresponding storage temperature.

를 이용한 C의 경우 4, 18°C 보관조건에서 15일째 pH가 유의하게 증가하였고 ($p < 0.001$) 25°C에서는 pH의 변화가 통계적으로 유의하지 않았다. 각 사용균주에서 pH가 유의하게 변화한 보관기간을 보면 F 균주는 4°C에서 15일째, 18°C에서 10일째에 증가하였고 25°C에서는 15일째에 오히려 감소하였다. U, S, K, R 균주는 25°C에서 F 균주와 달리 10일째 pH가 감소하였다. 18°C에서는 U 균주만 5일째 pH가 증가하였고 다른 균주들은 10일째 pH가 증가하였으며 모든 균주가 15일째 감소하였다. 이러한 결과는 발효가 끝난 막걸리의 보관온도별 유통기한 조사에 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

모든 막걸리 시료에서 보관온도와 사용균주에 상관없이 보관기간이 경과함에 따라 총산은 전반적으로 증가하였다 (Table 3). 사용된 효모균주별 총산을 ANOVA 분석한 결과, 사용균주와 보관온도별로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.001$). 막걸리는 발효 후 완전히 여과하지 않는 술이기 때문에 막걸리 제조과정 중 첨가한 효모와 유산균의 작용으로 생성된 각종 유기산으로 인하여 총산이 증가되는 것으로 추정된다. 이러한 총산의 변화는 막걸리의 성분 변화를 쉽게 알 수 있는 요인일 뿐 아니라 알코올 생성과정에서 복합적으로 생성되므로 막걸리의 저장성을 알 수 있는 중요한 지표성분이 된다 [23]. 동일한 보관온도와 동일한 보관기간에서 비교하면 pH는 분리 균주들이 빵효모 (C)와 통계적으로 유의한 차이를 보였지만 총산은 거의 유의한 차이를 보이지 않았다. 하지만, 동일한 보관온도와 동일한 사용균주에서 통계적으로 유의한 차이를 보이는 보관기간은 총산이 pH에 비해 5일 내지 10일 정도 빠른 것을 알 수 있었다. 총산이 통계적으로 유의하게 증가된 보관기간을 보면 R 균주는 모든 보관온도에서 5일째였으며, K 균주는 보관온도에 따라 5일 혹은 10일째였고, C, F, S 균주는 10일째였다. 한편, 막걸리의 pH 변화와 총산의 변화를 비교해 보면, 총산은 증가하고 있으나 pH는 비례적으로 감소하지 않음을 알 수 있었다. 이

것은 단백질의 분해로 펩티드와 아미노산이 증가하여 막걸리의 완충능력을 높여주었기 때문인 것으로 판단된다 [22]. 한편, 이러한 총산의 변화가 사용균주와 보관온도별로 차이를 보이는 것이 확인되었다 (Table 3). 그리고 4°C에서 10일 간은 pH가 통계적으로 변화하지 않아 pH 항목에서 보면 물성이 유지되는 보관기간은 4°C의 조건에서 10일이었다. 하지만 총산 항목에서는 10일부터 차이를 보여 막걸리 발효 후 총산항목의 물성이 유지되는 보관기간은 10일 이내인 것으로 나타났다. Lee 등의 연구에서 막걸리 생산업체에서 제조되고 있는 막걸리의 유통과정 중의 pH 및 총산이 4°C에서 보관한 경우, 보관 5일경에 pH가 3.9까지 증가한 이후, 일정하게 유지되었으며, 총산 역시 보관 5일경에 0.54%로 감소한 이후 일정하게 유지되었다 [24].

3.3. 막걸리 발효 후 보관기간 중의 아미노태질소 함량의 변화

모든 막걸리 시료에서 보관온도와 사용균주에 상관없이 보관기간에 따라 아미노태질소 함량은 전반적으로 증가하였다 (Table 4). 4°C에서 보관한 경우, R 균주를 제외하고는 보관 초기에는 0.010~0.026%에서 보관 15일에는 0.082~0.095%로 증가하였다. 반면 25°C에서 보관한 경우, 보관기간이 경과함에 따라 0.245%까지 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 저온에서보다 고온에서 아미노산도가 높았다고 보고한 Jeung 등의 연구결과와 유사하였다 [25]. 동일 보관온도와 동일 보관기간에서 비교하면 pH는 분리 균주들이 빵효모 (C)와 통계적인 차이를 보였지만 아미노태질소는 통계적 차이를 보이는 균주와 그렇지 않은 균주로 구분되었다. 4°C에서 보관한 경우, F, K 균주는 보관 15일째에 빵효모 (C)와 통계적으로 유의한 차이를 보였지만, 나머지 균주들은 보관 15일째에도 유의한 차이를 보이지 않았다. 18°C에서 보관한 경우, 분리한 모든 균주가 보관 15일째에 빵효모 (C)와 유의한 차이를 보였고, 25°C에서 보관한 경우, 10일째에 유의한 차이를 보이는 균주들이 있었다. F, R 균주

Table 4. Changes in amino-type nitrogen contents (%) of Makgollies during storage periods

Temp. (°C)	Storage period (day)	Yeast used					
		C	F	U	S	K	R
4	0	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.007	0.012 ± 0.003	0.020 ± 0.001	0.015 ± 0.004	0.026 ± 0.003
	5	0.024 ± 0.005	0.019 ± 0.002	0.022 ± 0.005	0.042 ± 0.005	0.040 ± 0.010	0.060 ± 0.010
	10	0.031 ± 0.006	0.034 ± 0.006	0.059 ± 0.013	0.041 ± 0.005	0.069 ± 0.001	0.062 ± 0.004
	15	0.082 ± 0.006	0.093 ± 0.007 ⁺	0.089 ± 0.013	0.080 ± 0.002	0.140 ± 0.070 ⁺	0.095 ± 0.008
18	0	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.007	0.012 ± 0.003	0.020 ± 0.001	0.015 ± 0.004	0.026 ± 0.003
	5	0.027 ± 0.004	0.028 ± 0.001	0.031 ± 0.010	0.036 ± 0.008	0.013 ± 0.008	0.058 ± 0.009
	10	0.041 ± 0.006	0.026 ± 0.008	0.055 ± 0.005	0.061 ± 0.005	0.070 ± 0.012	0.059 ± 0.014
	15	0.086 ± 0.008 ⁺	0.099 ± 0.001 ⁺	0.093 ± 0.006 ⁺	0.110 ± 0.028 ⁺	0.130 ± 0.028 ⁺	0.145 ± 0.035 ⁺
25	0	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.007	0.012 ± 0.003	0.020 ± 0.001	0.015 ± 0.004	0.026 ± 0.003
	5	0.037 ± 0.004	0.023 ± 0.006	0.031 ± 0.015	0.044 ± 0.005	0.016 ± 0.003	0.175 ± 0.010 ^{*+}
	10	0.074 ± 0.009 ⁺	0.071 ± 0.026	0.070 ± 0.026	0.046 ± 0.012	0.084 ± 0.004 ⁺	0.100 ± 0.015 ⁺
	15	0.165 ± 0.021 ⁺	0.104 ± 0.002 ^{*+}	0.175 ± 0.007	0.185 ± 0.021 ⁺	0.245 ± 0.007 ^{*+}	0.125 ± 0.007 ⁺

Results are represented as mean ± SEM on three measurements. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test * represents the significance ($p < 0.001$) of nitrogen content by other yeast compared with that by C yeast at corresponding storage temperature and period. Factorial ANOVA with Fisher's PLSD post-hoc test and ⁺ represents the significance ($p < 0.001$) of nitrogen content at each day compared with that of 0 day with each yeast at corresponding storage temperature.

는 25°C에서 15일째에 빵효모 (C)보다 아미노태질소 함량이 낮았고 U, S, K 균주는 그 함량이 높았다. K 효모는 4°C와 25°C에서 가장 높은 아미노태질소 함량을 나타냈고, 18°C에서도 R 효모와 함께 가장 높은 아미노태질소 함량을 보였다. 따라서, 보관온도와 효모균주별로 아미노태질소 함량의 차이를 보이는 것을 알 수 있었다. 하지만 동일 보관온도와 동일 균주에서 통계적으로 유의한 차이를 보이는 보관기간은 18°C와 25°C에서는 모든 균주에서 15일째였고, 4°C에서는 15일째에 차이를 보이는 균주와 15일째까지 차이를 보이지 않는 균주들이 있었다.

일반적으로 막걸리 보관기간 중의 아미노태질소 함량의 증가는 원료에 함유되어 있는 단백질이 미생물 유래 acid protease나 peptidase 등의 단백질 분해효소의 작용에 의한 것이며, 아미노태질소의 증가는 탁주의 감칠맛에 관여하는 것으로 알려져 있다 [13]. 본 연구에서도 각 항목간의 상관관계를 분석한 결과 C, F, U, S, K, R 균주는 total acidity와 아미노태질소 함량 사이에 각각 0.89, 0.90, 0.87, 0.83, 0.83, 0.72 인 양의 상관관계를 보였고, 특히 F 균주가 가장 높은 상관관계를 보였으므로 막걸리의 total acidity와 아미노태 질소와의 높은 연관성을 확인할 수 있었다. 또한, 아미노태질소 함량은 술의 영양적 가치뿐 아니라 술의 향, 맛, 외양에도 기여한다 [26]. 그러나 아미노태질소는 술에 감칠맛에 부여하는 성분이지만 지나치게 많은 양이 생성될 때에는 술의 술덧이 노후화된 것처럼 느끼한 맛을 내며 주질을 하락시킨다 [27]. 또한, 술덧의 일반적인 아미노태질소 함량을 0.150% 이하라고 제시하였고 이 범위에서는 술맛을 상승시키는 효과가 있다고 보고하였다 [28]. 본 실험에서 C, U, S, K 균주는 모두 25°C에서 15일째에 아미노태질소 함량이 0.150% 보다 높았고, R 균주는 18°C에서 15일째에 0.150%를 초과하는 경우도 있었지만, 술덧함유 전통막걸리에서 분리한 F 균주는 모든 보관온도에서 술맛을 상승시키는 범위인 0.150%

이하를 유지하였다.

3.4. 막걸리 발효 후 보관기간 중의 알코올 함량의 변화

알코올 농도는 막걸리의 주질을 결정하는데 있어 중요한 요소 중 하나이다. 알코올 발효는 당분이 에탄올과 CO₂로 분해되는 과정으로 담금 후 기포 발생의 유무로 알코올 발효가 진행되고 있음을 알 수 있다 [29]. 전반적으로 보관 10일째까지 알코올 함량이 감소하다가 15일째에 증가하는 것으로 나타났다 (Table 5). 알코올 함량에 대한 paired *t*-test 분석결과, 보관 0일~5일 사이 및 보관 10일~15일 사이에는 함량 차이를 보였지만 ($p < 0.001$), 보관 5일~10일 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 ($p > 0.01$). 전통적으로 막걸리는 농민들에게 친숙하고 간식을 겸한 알코올성 음료로 이용되었으므로, 알코올 함량이 너무 높아서는 곤란하다. 숙성된 재래식 막걸리의 통상적인 알코올 함량은 14~15%인 점을 고려할 때 [22], 본 실험결과도 전반적으로 유사한 알코올 함량을 보였다. 알코올 함량은 K 균주가 8.5~18.5% (평균 11.9%)로 최대치를 나타냈고, C 균주가 7.5~11.0% (평균 8.8%)로 최소치를 나타냈다. 알코올 함량에 대한 paired *t*-test 분석결과, C 균주와 K 균주 사이에는 통계적으로 유의한 알코올 함량의 차이를 보였으나 ($p < 0.001$), R 균주와 K 균주 사이에는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($p = 0.17$). 한편, 알코올 함량에 대한 paired *t*-test 분석결과, 보관 5일째에만 보관 온도별로 알코올 함량의 차이를 보였고 ($p < 0.01$), 10일째와 15일째는 보관온도와 사용균주별로 차이를 보이지 않았다.

전통막걸리에서 알코올 발효에 관여하는 효모균주 5종을 순수분리하고 각 균주를 이용하여 막걸리를 제조한 후 보관온도와 보관기간별로 물성을 분석한 결과, 각 효모균주별로 알코올 도수와 아미노태질소 함량에서는 차이를 보였지만 pH와 총산에서는 변화가 크지 않았다. 특히, 술덧함유 전통막걸리에서 분리한 F 균주로 제조한 막걸리는 보

관기간 중에 물성이 가장 잘 유지되었으므로, F 균주로 막걸리를 제조하면 4°C에서 보관할 경우에 10일 정도까지는 물성이 안정적으로 유지되는 막걸리의 제조가 가능할 것으로 기대된다.

Table 5. Changes in alcohol concentrations (%) of Makgeollies during storage periods

Temp. (°C)	Storage period (day)	Yeast used					
		C	F	U	S	K	R
4	0	9.0	12.5	10.5	9.5	14.5	12.0
	5	8.0	10.0	9.0	7.5	12.5	11.5
	10	7.5	9.0	7.5	9.0	9.0	10.5
	15	11.0	12.5	9.5	8.5	11.0	12.0
18	0	10.5	11.5	10.5	11.0	18.5	12.0
	5	7.5	9.0	7.5	10.0	10.0	11.0
	10	7.5	11.0	9.5	8.5	10.0	9.0
	15	9.5	10.5	9.8	10.0	13.3	10.0
25	0	10.0	10.5	10.5	10.0	13.0	10.5
	5	8.0	10.0	7.5	11.0	11.5	12.0
	10	7.5	7.5	7.5	7.5	8.5	10.0
	15	10.0	9.8	10.5	11.0	11.5	11.0

4. 결론

전통막걸리들에서 알코올 발효에 관여하는 효모균주 5종을 순수 분리하였고, 분리된 각각의 효모를 따로 배양하여 막걸리를 제조한 후 사용된 효모의 종류와 보관온도, 보관기간에 따른 막걸리의 물성 변화에 대해 조사하였다. 막걸리의 pH는 평균 3.22~3.88이었고 사용균주, 보관온도, 보관기간에 따라 차이를 보였다. 총산은 사용균주별 차이는 크지 않았고, 보관기간에 따라 차이를 보였다. 아미노태질소 함량은 평균 0.009~0.245%이었고, 보관온도에 따라 통계적 차이를 보여 18, 25°C에서는 15일째에 차이를 보였다. 알코올 함량은 평균 7.5~18.5%이었고 사용균주와 보관기간에 따라 차이를 보여 10일째까지는 감소하다가 15일째에 증가하였다. 결과적으로, 전통막걸리에서 분리한 효모균주로 제조한 막걸리는 사용된 효모균주에 따라 알코올 도수와 아미노태질소 함량에서 차이를 보였지만, pH와 총산의 변화는 크지 않았다. 본 연구에서 분리한 균주들을 이용하여 다양한 막걸리의 개발이 가능할 것으로 기대되며, 발효가 끝난 상태의 막걸리의 물성이 유지되는 보관조건은 4°C에서 5일로 나타났다. 특히, F 균주로 제조한 막걸리는 보관기간 중에 물성이 가장 잘 유지되었으므로, F 균주로 막걸리를 제조하면 4°C에서 보관할 경우에 10일 정도까지는 물성이 안정적으로 유지되는 막걸리의 제조가 가능할 것으로 기대된다.

References

- Lee, M. K., S. W. Lee, and T. H. Yoon (1994) Quality assessment of yakju brewed with conventional nuruk. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 23: 78-89.

- Kim, G. S. (2010) A study on the support, regulation and taxation policy for liqueur industry in South Korea. *J. Pol. Sci. Comm.* 13: 43-69.
- Ha, B. J., R. H. Kwon, and G. Y. Chae (2011) The effects of the *Makgeolri* on the antioxidative activity in the endotoxin LPS-treated rats. *J. Food Hyg. Safety* 26: 166-170.
- Lee, H. S., K. H. Hong, J. Y. Kim, D. H. Kim, C. H. Yoon, and S. M. Kim (2009) Blood pressure lowering effect of Korean turbid rice wine (Takju) lees extracts in spontaneously hypertensive rat (SHR). *Kor. J. Food Culture* 24: 338-343.
- Kim, T. Y., S. T. Jung, S. H. Yeo, H. S. Choi, and J. H. Choi (2011) Current address of Korean traditional liquor and globalization strategy. pp. 119-146. In: *Prospects on Agriculture* 2nd ed., Korea Rural Economic Institute, Korea.
- Chung, D. H. (2004) *The developmental history of Korean alcoholic beverages*. pp. 271-298. Shinkwang Publishing Co. Seoul, Korea.
- Lee, D. P. (2006) Policy issues for the globalization of Korean traditional liquor. *Food Ind. Nutr.* 11: 1-9.
- Jin, T. Y., E. S. Kim, J. B. Eun, S. J. Wang, and M. H. Wang (2007) Changes in physicochemical and sensory characteristics of rice wine, *Yakju* prepared with different amount of red yeast rice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 39: 309-314.
- 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. Kor. Agr. Chem. Soc.* 8: 39-43.
- Han, E. H., T. S. Lee, B. S. Noh, and D. S. Lee (1997) Volatile flavor component in mash takju prepared by using different nuruks. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 29: 563-570.
- Seo, M. Y., J. K. Lee, B. H. Ahn, and S. K. Cha (2005) The changes of microflora during the fermentation of takju and yakju. *Kor. J. Food Nutri.* 12: 427-432.
- 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. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28: 330-336.
- Lee, C. H., W. T. Tae, G. M. Kim, and H. D. Lee (1991) Studies on the pasteurization conditions of takju. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 40: 194-200.
- Lim, S., M. K. Jwa, C. Mok, Y. S. Park, and G. J. Joo (2004) Changes in microbial counts, enzyme activity and quality of foxtail millet takju treated with high hydrostatic pressure during storage. *Kor. J. Food. Sci. technol.* 36: 233-238.
- Hong, S. H. (2011) An enhanced health functional schizandra extract Makgeolli and process for preparation thereof. *KS Patent 1020080130783*.
- Kim, M. J., S. Y. Lee, K. B. Kim, W. R. Song, E. J. Song, A. R. Kim, J. H. Kim, K. W. Ji, I. S. Ahn, and D. H. Ahn (2007) Effect of chitosan of shelf-life and quality of takju. *J. Chitin Chitosan* 12: 198-204.
- Jeon, M. H. and W. J. Lee (2011) Characteristics of blueberry added *Makgeolli*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 444-449.
- Alcoholic fermentation, of sugar into CO₂ and alcohol, Alcoholic fermentation by yeast cells. <http://www.yobrew.co.uk/fermentation.php>. (2011).
- Kim, J. I., N. K. Lee, and Y. T. Hahm (2007) Isolation and identification of wild yeast and its use for the production of grapewine. *Kor. J. Microbiol.* 43: 217-221.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (eds.) *PCR Protocols: A guide to*

- methods and applications*, Academic Press, London.
21. AOAC (1965) Official methods of analysis. 10th ed., pp. 349. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
 22. So, M. H., Y. S. Lee, and B. S. Noh (1999) Improvement in the quality of takju by a modified nuruk. *Kor. J. Food Nutr.* 1: 427-432.
 23. Song, J. C., H. J. Park, and W. C. Shin (1997) Change of takju qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29: 895-900.
 24. Lee, T. J., D. Y. Hwang, C. Y. Lee, and H. J. Son (2009) Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processes of *Makgeolli*, traditional alcohol of Korea. *Kor. J. Microbiol.* 45: 391-396.
 25. Jeung, J. H. and S. T. Jeung (1985) The change of quality and microflora during the preservation of Korean takju. *J. Kor. Agric Chem. Soc.* 28: 252-260.
 26. Yu, H., Y. S. Ding, and S. F. Mou (2003) Direct and simultaneous determination of amino acids and sugars in rice wine by high performance anion exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection. *J. Chromatogr.* 11: 721-728.
 27. Cheon, C., I. S. Rhee, S. K. Lee, and S. A. Kang (2008) A study on the qualitative properties of traditional sake using allbanggae. *J. Soc. Food. Sci. Nutr.* 37, 784-791.
 28. Yang, H. S. and J. B. Eun (2011) Fermentation and sensory characteristics of Korean traditional fermented liquor (*Makgeolli*) added with citron (*Citrus Junos* SIEB ex TANAKA) juice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 42: 438-445.
 29. Kim, J. Y., K. W. Sung, H. W. Bae, and Y. H. Yi (2007) pH, acidity, color, reducing sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added takju during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 39: 266-271.