

Rhizopus oryzae CCS01로 제조된 쌀누룩을 이용한 곡류 막걸리의 품질 특성

조현국¹ · 서원택² · 이주영¹ · 조계만^{2*}

¹영농조합법인 오름주가
²경남과학기술대학교 식품과학부

Quality Characteristics of Cereal *Makgeolli* Rice *Nuruk* Prepared *Rhizopus oryzae* CCS01

Hyeon Kook Cho¹, Weon Taek Seo², Ju Young Lee¹, and Kye Man Cho^{2*}

¹Farming Corporation OrumJooga Winery, Gyeongnam 664-070, Korea,

²Dept. of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Gyeongnam 660-758, Korea

Abstract

For the production of Korea traditional cereal wine *makgeolli*, a rice fermentation starter *nuruk* was *Rhizopus oryzae* CCS01 commercial *nuruk*. The carbohydrate content of rice *nuruk* was higher, the levels of moisture, ash, crude protein, and crude fat were lower. In particular, the saccharifying activity of rice *nuruk* was 2.2 times higher than commercial *nuruk*. pH, alcohol, and viable yeast cells of *makgeolli* made rice *nuruk* were higher than those of *makgeolli* made commercial *nuruk*. In contrast, the levels of acidity, °Brix, viable lactic acid bacteria (LAB) cells, and browning of *makgeolli* made rice *nuruk* were lower than those of *makgeolli* made commercial *nuruk*, the alcohol content of glutinous rice (GUR) *makgeolli* made rice *nuruk* higher other samples. These results suggest that rice *nuruk* *R. oryzae* CCS01 make new type cereal *makgeolli*.

Key words: *Rhizopus oryzae* CCS01, rice *nuruk*, cereals, *makgeolli*, browning

서 론

현재 웰빙 및 로하스 트렌드 확산으로 우리민족 고유의 전통주에 관한 관심이 높아지면서 특유의 청량미와 낮은 알코올 함량의 혼탁한 술인 막걸리는 새로운 전환기를 맞이하고 있다(1,2). 막걸리는 찹쌀, 멥쌀, 보리쌀, 현미, 옥수수, 고구마, 밀 등의 전분질을 원료로 하고 발효제로서 누룩을 첨가하여 병행 복발효시켜 술덧을 혼탁하게 제성한 우리나라 고유의 전통주로 단맛, 신맛, 쓴맛, 매운맛과 청량감이 있는 알코올 함량 2~8%의 술이다(1,3). 막걸리는 다른 술과 달리 각종 영양원이 풍부하게 함유되어 있다. 특히, 인체 신진대사에 관여하는 비타민 B군을 비롯하여 lysine 및 leucine, arginine 등의 필수아미노산, 풍미물질인 ethyl acetate 및 amyl acetate, ethyl caproate 등의 ester(4,5)와 새콤한 맛을 내어 갈증을 해소시켜주는 유기산, 그리고 간 기능을 도와주는 acetyl choline 등이 함유되어 있다(1,3). 따라서 막걸리는 영양적, 기능적 가치가 높을 뿐만 아니라 생효모가 함유되어 있어 다른 술과 비교할 수 없는 독특한 맛을 가지고 있다(3).

최근에 막걸리의 국내 소비량뿐만 아니라 일본 수출량도 급격히 늘어나고 있는 시점에 막걸리 제조 방법이 한국적이

지 못하다는 지적이 강력히 제기되고 있다. 전통 막걸리의 발효제는 누룩이나, 현재에는 대부분 일본에서 도입된 입국(koji) 방식으로 막걸리를 제조하고 있다(6). 누룩은 삼국시대부터 전통술의 양조에 사용되었으며, 제조방법에 따라서 곰팡이, 효모, 세균류 등의 다양한 미생물의 작용으로 만들어진다. 한편 누룩의 종류에 따라 미생물에 의한 효소활성 및 유기산 생성력, 알코올 발효능 등이 달라지므로 막걸리의 휘발성 풍미 성분 및 맛, 색상 등의 품질특성에 큰 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다(1,6,7). 이 문제를 해결하기 위하여 전통누룩에서 우수한 곰팡이를 분리하여 막걸리의 발효제 제조에 사용하여야 한다는 방안도 새롭게 제기되고 있다.

전통누룩에서 당화 아밀라아제 생성을 주도하는 곰팡이는 *Rhizopus* 속으로 알려져 있었으며(6,8-10), *Rhizopus* 속을 인위적으로 접종하여 누룩의 품질을 향상시키려는 연구도 다수 보고되고 있다(11-15). 본 연구에서는 한국의 전통누룩에서 *Rhizopus(R.)* sp.를 분리하고 동정하여 *R. oryzae* CCS01로 명명하고 균주 CCS01을 이용하여 쌀누룩을 제조하고 시판누룩과 일반성분 및 α-amylase 활성을 비교·분석하였으며, 부가적으로 이 쌀누룩을 이용하여 8가지 곡류 막걸리를 제조하여 품질특성을 살펴보았다.

*Corresponding author. E-mail: kmcho@gntech.ac.kr
Phone: 82-55-751-3272, Fax: 82-51-751-3279

재료 및 방법

재료 및 시약

멥쌀(NGUR, non glutinous rice) 및 찰쌀(GUR, glutinous rice), 현미(BR, brown rice), 발아현미(GBR, germinated brown rice)는 함양군 소재 함양농협미곡처리장에서 구입하였고 녹색미(GRR, green rice) 및 보리(BL, barely)는 거창군 소재 유가농업협동조합에서 구입하였다. 한편 메밀(BW, buckwheat)은 봉평군 봉평영농조합법인에서 구입하였으며, 밀은 진주시 반성면에서 재배된 우리 밀(품종명: 금강밀)을 껍질만 약간 제거하여 도정밀(PW, polishing wheat)을 사용하였다. 한편 대조구로 사용한 시판누룩은 산성누룩(Busan, Korea)을 구입하여 사용하였다.

R. oryzae CCS01 균주 분리 및 동정

시중에 판매되고 있는 제래누룩을 수집한 후 분쇄하였다. 분쇄 누룩 10 g을 달아 90 mL 멸균 증류수에 넣고 강하게 흔든 후 1시간 동안 정치하고 상등액을 potato dextrose agar(PDA, Difco, Detroit, MI, USA)에 chloramphenicol(1.5 mg/mL)이 함유된 배지에 도말하여 일주일간 배양한 후 전형적인 *Rhizopus* 형태의 포자를 선택하여 다시 순수분리하였다. 순수분리된 균주 CCS01의 포자를 멸균증류수에 현탁 시키고 포자를 원심분리 하여 포자를 수집하였고 DNazol kit(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리된 genomic DNA를 주형으로 하여 26S rDNA(0.6 kb)를 증폭하였다. 증폭은 94°C에서 1분간 변성, 52°C에서 30초간 풀림, 72°C에서 30초 신장으로 30 cycle로 수행하였다. 26S rDNA 단편 증폭을 위한 PCR primer는 5'-ACCCGCTGAAAYTTAAGCATAT-3'(forward)과 5'-CTCCTTGGTC-GTGTTC AAGACGG-3'(reverse)을 사용하였다(16). 증폭된 26S rDNA PCR 산물은 1% agarose에 전기영동하고 0.6 kb 단편을 회수 및 정제 후 pGEM-T easy vector(Promega, Madison, WI, USA)에 클로닝하고 *Escherichia coli* DH5α에 형질전환 후 형질전환체를 무작위로 선정하여 순수 분리하였다. 순수 분리된 형질전환체를 50 µg의 ampicillin인 함유된 LB 액체배지에 접종하여 37°C에서 16시간 배양한 후 균체를 모집하고 plasmid purification kit(Intron, Suwon, Korea)에 기술된 대로 plasmid를 분리 정제하였다. 분리된 plasmid를 주형가닥으로 사용하여 DNA 염기서열을 결정하였다. 핵산 염기서열은 PRISM Ready Reaction Dye terminator/primer cycle sequencing kit를 사용한 dideoxy chain termination method를 이용하여 분석하였다. 26S rDNA 염기서열은 BLAST network service와 the nonredundant DNA sequence database를 제공하는 미국 국립생물정보센터(NCBI)에서 얻은 다른 균종의 것과 정렬하여 최종 동정하였다.

누룩 제조

R. oryzae CCS01의 한 plate를 멸균증류수 100 mL에 포

자를 현탁시켜 누룩 제조를 위한 종균으로 사용하였다. 멥쌀 3 kg을 달아 물로 세척한 다음 충분한 물을 부은 후 실온에서 12시간 침치한 후 30분간 물기를 제거하였다. 물기가 제거된 각각의 시료에 미리 준비한 *R. oryzae* CCS01 종균 100 mL(5%, v/w)와 멸균증류수 200 mL를 가하여 반죽하였다. 누룩 틀에 500 g 누룩 반죽을 채우고 다진 후 성형된 누룩을 트레이에 넣고 한지로 덮은 후 20°C에서 5일간 발효를 시켰다(균사가 완전히 성장할 때까지). 발효가 끝난 누룩은 실온에서 자연건조 시킨 후 균사를 제거한 후 분쇄하여 분말을 제조하였다. 분쇄된 누룩은 4°C 냉장고에 보관하면서 이후 실험에 사용하였다. 한편 누룩의 pH와 산도 측정을 위해 누룩 5 g에 증류수 100 mL를 가하고 수화시킨 다음 30°C에서 3시간 동안 침출시켜 4점의 치즈크로스로 여과한 후 사용하였다.

누룩의 일반성분 및 당류

수분 및 회분, 조지방, 조단백질 등의 일반성분 함량은 식품공전의 일반시험법(17)에 따라 분석하였다. 수분함량은 상압가열건조법으로 측정하였으며, 회분은 550°C에서 회화로를 사용한 건열회화법으로 회분함량을 분석하였다. 조지방 함량은 시료를 분쇄한 후 diethyl ether를 이용하여 Soxhlet 법으로 측정하였으며, 조단백질의 함량은 Kjeldahl법으로 측정하였다. 탄수화물의 양은 전체 100%에서 상기 각 성분의 함을 뺀 값을 산술적으로 계산하였다. 각 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 표시하였다.

당류 역시 식품공전의 일반시험법(17)에 따라 HPLC(Agilent 1200 series, Agilent Co., Forest Hill, Australia)를 이용하여 분석하였다. 시료 5 g에 물 25 mL를 가하여 녹인 후 acetonitrile로 50 mL까지 채웠다. 이 용액을 sep-pak NH₂ column(Waters Co., Milford, MA, USA)과 0.45 µm membrane filter(Dismic-25CS, Toyoroshikaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 액을 시험용액으로 사용하였다. 당 분석 column(Polyamine II, 4.6×150 mm, YMC Co., Kyoto, Japan)에 시험용액 20 µL을 주입하고 35°C에서 이동상 용매(acetonitrile : water = 70:30(v/v))를 1.0 mL/min 속도로 이동시키면서 Reflective Index(RI, Agilent 1200 series) 검출기 상에서 당을 검출하였다. 각 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 표시하였다.

누룩의 당화력 측정

당화력은 국세청 기술연구소 주류분석규정(18)과 Woo 등(1)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 20% 가용성 전분용액 50 mL와 pH 5.0의 식초산 완충용액 30 mL를 취하여 55°C 항온수조에서 10분간 예열한 다음 효소용액 10 mL를 가하여 60분간 당화시킨 후 0.5 N NaOH 10 mL를 가하고 급냉시켜 효소작용을 정지시켰으며, 이 효소 반응액의 포도당 함량은 DNS(dinitrosalicylic acid)법으로 측정하여 정량하였다. 당화력은 누룩 1 g이 가용성 전분 1 g에 작용하여 생성된

Table 1. Pairwise similarity between 26S rDNA gene sequence

Strain ²⁾	Similarity (%) with 26S rDNA gene sequence ¹⁾									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. CCS01	100									
2. AY213625	100	100								
3. HQ435039	99.7	99.7	100							
4. AB250191	93.7	93.7	93.4	100						
5. AB250195	82.1	82.1	81.9	80.5	100					
6. AB250198	93.4	93.4	93.4	97.2	80.0	100				
7. AY213627	90.8	90.8	90.8	93.9	79.6	93.2	100			
8. DQ466593	87.8	87.8	87.8	86.6	80.0	86.4	85.2	100		
9. DQ466608	82.1	82.1	81.9	80.5	80.0	79.6	80.0	80.3	100	
10. FN182234	93.2	93.2	93.2	97.7	80.0	93.6	86.7	99.0	80.0	100

¹⁾Calculated with CLUSTAL W and the PAM250 residue weight table.

²⁾The strain *R. oryzae* CCS01 (this study), *R. oryzae* UWFP 846 (AY213625), *R. delemar* ATCC 34612 (HQ435039), *R. casespitosus* CBS 427.87 (AB250191), *R. stolonifer* CBS 319.35 (AB250195), *R. homothallicus* CBS 336.62 (AB250198), *R. sexualis* BCRC 32007 (AY213627), *R. azygosporus* BCRC 31158 (DQ466593), *R. circinans* BCRC 33727 (DQ466608), and *R. microsporus* CBS 261.28 (FN182234).

Table 2. Comparison of pH, acidity, chemical compositions, sugar contents and saccharifying activity of commercial nuruk and rice nuruk of *R. oryzae* CCS01

Contents ¹⁾	Nuruk	
	Commercial nuruk	Rice nuruk of <i>R. oryzae</i> CCS01
pH	6.07±0.02	0.04±0.00
Acidity (% as lactic acid)	3.57±0.01	0.11±0.01
Chemical compositions (%)		
Moisture	12.03±0.04	10.33±0.02
Carbohydrate	71.57±0.11	81.53±0.10
Ash	1.54±0.01	0.20±0.00
Crude protein	13.51±0.05	7.31±0.02
Crude fat	1.35±0.01	0.63±0.01
Free sugar (g/100 g)		
Fructose	nd ²⁾	nd
Glucose	2.63±0.02	2.82±0.02
Sucrose	nd	nd
Maltose	0.51±0.01	0.67±0.01
Lactose	nd	nd
Saccharifying activity ²⁾ (mg%)		
	247±5.02	532±6.11

¹⁾Values indicate the mean's of three replications (n=3).

²⁾The saccharifying activities were assayed at pH 6.0 and 55°C for 60 min.

판누룩의 일반성분을 분석한 결과 수분은 10~13%, 조단백질은 10~18%, 조지방은 0.2~1.0% 및 회분 1.8~2.1%로 보고하였으며, 이런 시판누룩의 성분에 많은 차이가 있는 것은 제조방법이 서로 다르고 품질관리가 제대로 이루어지지 않은 것으로 판단하였고 이는 차후 막걸리의 품질에 영향을 미칠 것으로 추정하였다(20). 본 연구에서 사용한 시판누룩의 경우에는 기존의 보고와 성분이 유사하였으나, 쌀누룩은 탄수화물 함량은 높았고 회분 및 조단백질 함량은 낮았다. 이는 쌀 원료가 다른 곡류에 비해 탄수화물 함량은 높고 조단백질과 회분 함량은 낮기 때문인 것으로 판단되었다. 재래누룩에는 *Rhizopus* 속, *Mucosr* 속, *Penicillium* 속, *Endomyces* 속, *Aspergillus* 속 및 불완전 균류 등의 다양한 진균

들이 존재하나 당화작용은 이들 중 *Rhizopus* 속 균주가 가장 강력한 곡자의 주요 균으로 알려져 있다(6,21,22). 한편 몇몇 연구자들에 의해 *Rhizopus* 속의 곰팡이를 누룩 제조에 인위적으로 접종하여 누룩의 품질을 향상시키려는 연구가 시도되었다(11-15). 최근에 Woo 등(1)은 7종의 재래누룩에서 α-amylase 활성과 관련된 당화율을 확인한 결과 300 mg%로 보고하였다. 한편 Kim과 Koh(20)는 전통누룩에서 분리한 진균의 glucoamylase 활성을 확인한 결과 *Rhizopus* sp.가 *Aspergillus* sp.보다 우수한 것으로 보고하였다.

막걸리의 pH와 산도

시판누룩과 쌀누룩을 이용하여 곡류별 막걸리의 pH를 살펴본 결과는 Fig. 2와 같았다. 쌀누룩으로 제조한 막걸리가 시판누룩으로 제조한 막걸리보다 pH는 높게 나타났다. 시판누룩으로 제조한 보리(BL) 막걸리의 pH는 3.81로 가장 낮았고 찹쌀(GUR) 막걸리가 pH 4.01로 가장 높았으며, 역시 쌀

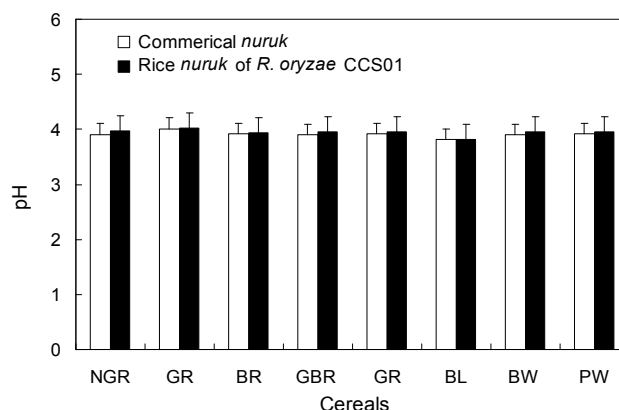


Fig. 2. Comparison of pH of the eight cereals *makgeolli* by commercial nuruk and rice nuruk of *R. oryzae* CCS01. *S. cerevisiae* KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days. Values indicate the mean's of three replications (n=3). NGR, nonglutinous rice; GUR, glutinous rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice; GRR, green rice; BL, barley; BW, buckwheat; PW, polishing wheat.

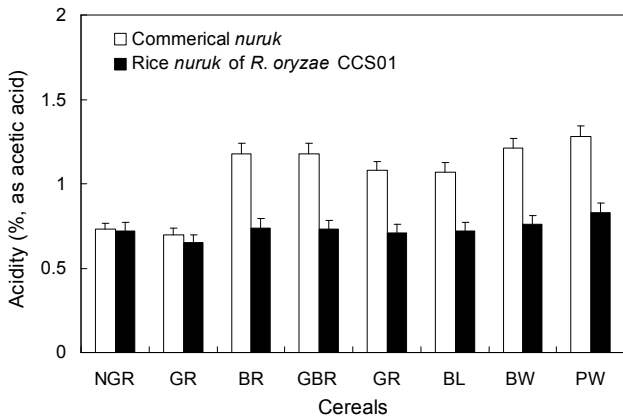


Fig. 3. Comparison of acidity of the eight cereals *makgeolli* by commercial *nuruk* and rice *nuruk* of *R. oryzae* CCS01. *S. cerevisiae* KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days. Values indicate the mean's of three replications (n=3). Cereals are the same as in Fig. 2.

누룩으로 담금한 보리(BL) 막걸리가 pH 3.82로 가장 낮았고 찹쌀(GUR) 막걸리가 pH 4.02로 가장 높게 나타났다. 한편 시판누룩과 쌀누룩을 이용하여 곡류별 막걸리의 산도를 살펴본 결과 Fig. 3과 같았다. 쌀누룩으로 제조한 막걸리가 시판누룩으로 제조한 막걸리보다 산도는 낮게 나타났다. 시판누룩으로 제조한 곡류 막걸리의 산도는 0.70%(찹쌀, GUR)에서 1.28%(도정밀, PW) 수준이었으며, 역시 쌀누룩으로 담금한 막걸리의 경우에도 찹쌀(GUR)이 0.65%에서 도정밀(PW)이 0.83% 수준이었다.

pH는 막걸리의 발효진행 상황과 알코올 생성 정도를 짐작할 수 있는 중요한 지표의 하나로 이용되며(23), pH의 저하는 부패균에 의한 오염방지 역할과 동시에 활발한 효모군의 증식을 가져와 정상적인 발효가 일어나게 한다(24). 한편 막걸리 발효 중 원료나 미생물의 발효작용으로 생성되는 산은 막걸리의 감미 및 신미, 고미, 삼미 등과 더불어 막걸리의 조화미나 보존성에 영양을 주는 성분이다(25). Woo 등(1)은 대구·경북지역에서 수집한 7종의 재래누룩으로 제조한 현미 막걸리의 pH와 산도를 조사한 결과 pH 3.8~4.8 범위이며, 산도는 0.44~0.86%로 이는 부재료인 누룩의 차이에 의해 기인한 것으로 추정하였다. 본 연구에서는 멥쌀과 찹쌀의 경우 시판누룩과 쌀누룩으로 제조한 막걸리의 pH와 산도는 약간 차이가 났으나, 이 외의 곡류들에서는 상당한 차이를 보였다. 특히 산도의 경우 멥쌀과 찹쌀을 제외하고 시판누룩으로 제조한 막걸리가 쌀누룩보다 약 0.5배 이상 높음을 확인할 수 있었다. 이는 부재료인 누룩보다는 주재료인 곡류의 종류에 의해서 차이 나는 것으로 판단되었다.

막걸리의 당도(Brix) 및 알코올 함량

시판누룩과 쌀누룩을 이용하여 곡류별 막걸리의 당도 및 알코올 함량을 살펴본 결과 Fig. 4 및 Fig. 5와 같았다. 쌀누룩으로 제조한 막걸리가 시판누룩으로 제조한 막걸리보다

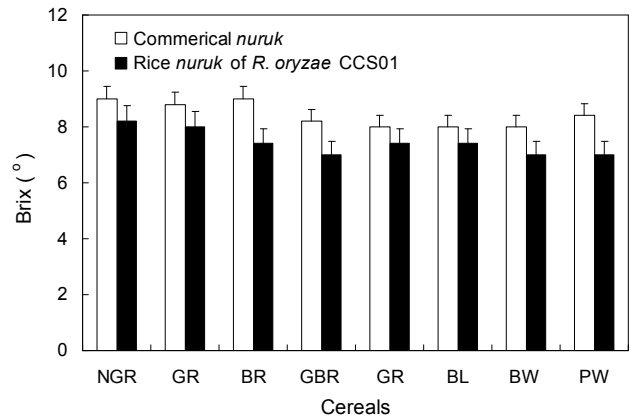


Fig. 4. Comparison of Brix of the eight cereals *makgeolli* by commercial *nuruk* and rice *nuruk* of *R. oryzae* CCS01. *S. cerevisiae* KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days. Values indicate the mean's of three replications (n=3). Cereals are the same as in Fig. 2.

당도는 낮게 나타났으며, 알코올 함량은 높게 나타났다. 시판누룩으로 제조한 막걸리의 당도는 녹색미(GRR) 및 보리(BL), 메밀(BW)이 8.0°로 가장 낮았으며, 멥쌀(NGUR) 및 현미(BR)가 9.0°로 가장 높았다. 쌀누룩으로 담금한 막걸리의 경우 녹색미(GRR) 및 메밀(BW), 도정밀(PW)이 7.0°로 가장 낮았고 멥쌀(NGUR)이 8.2°로 가장 높았다(Fig. 4). 한편 시판누룩으로 제조한 막걸리의 알코올 생성능은 보리(BL)가 6.4%로 가장 낮았으며, 찹쌀(GUR)이 11.0%로 가장 높게 생성되었다. 역시 쌀누룩으로 담금한 막걸리의 경우에도 보리(BL)가 7.2%로 가장 낮았으며, 찹쌀(GUR)이 12.0%로 가장 높게 생성되었다(Fig. 5).

발효주 내의 당 함량은 효모의 에탄올 생산 농도를 결정짓고 주류의 향기성분과 단맛에 영향을 주는 것으로 알려져 있으며(26), 알코올 함량은 술의 보존성이나 향미에 영향을 주는 중요한 성분으로 술덧 중 알코올 함량은 다소 높아야

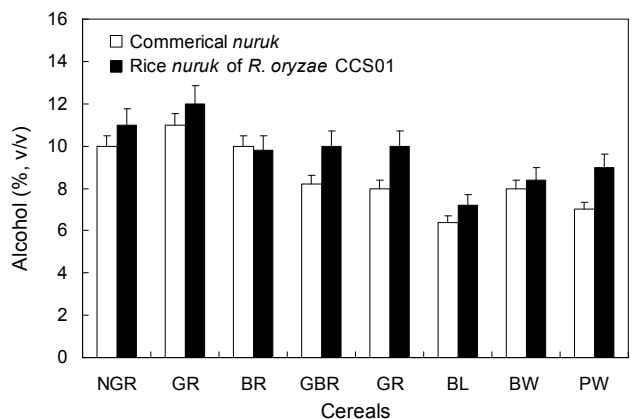


Fig. 5. Comparison of alcohol contents of the eight cereals *makgeolli* by commercial *nuruk* and rice *nuruk* of *R. oryzae* CCS01. *S. cerevisiae* KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days. Values indicate the mean's of three replications (n=3). Cereals are the same as in Fig. 2.

한다고 보고되고 있다(27). 본 연구에서 쌀누룩으로 제조한 막걸리가 시판누룩으로 제조한 막걸리보다 당도는 낮고 알코올 함량이 높은 이유는 누룩의 당화력의 차이인 것으로 판단되었으며, 곡류별 알코올 함량의 차이는 곡류별 탄수화물 함량과 효모의 기질 이용성의 차이에 기인한 것으로 추정되었다. 향후 술덧 발효과정 중 당 함량 및 당화력, 알코올 생성량, 효모 활성과의 상관관계를 구명하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

막걸리의 젖산균수 및 효모균수

시판누룩과 쌀누룩을 이용하여 곡류별 막걸리의 젖산균수와 효모균수를 살펴본 결과는 Table 3과 같았다. 시판누룩으로 제조한 곡류 막걸리의 젖산균수는 7.20 log CFU/mL(찹쌀, GUR)에서 7.75 log CFU/mL(말아현미, GBR) 수준이었고 효모는 6.49 log CFU/mL(메밀, BW)에서 7.00 log CFU/mL(도정밀, PW) 수준이었다. 한편 쌀누룩으로 담금한 막걸리의 젖산균수는 찹쌀(GUR)이 6.59 log CFU/mL로 가장 낮았으며, 메밀(BW)이 7.54 log CFU/mL로 가장 높았고 효모균수의 경우에는 말아현미(GBR)가 6.34 log CFU/mL로 가장 낮았고 멥쌀(NGUR)이 6.77 log CFU/mL로 가장 높게 나타났다.

막걸리 발효가 진행됨에 따라 유기산이 생성되어 pH가 감소하고 알코올과 아미노산, 유기산이 상호반응을 하여 에스테르 등의 향미성분이 생성되며, 이때 알코올 및 유기산, 아미노산 등의 생성에 중요한 역할을 하는 것이 미생물이다

Table 3. Comparison of microbial quality of the eight cereals *makgeolli* by commercial *nuruk* and rice *nuruk* of *R. oryzae* CCS01¹⁾

Cereals	Viable cell numbers (log CFU/mL) ²⁾	
	Lactic acid bacteria	Yeast
Commercial <i>nuruk</i>		
Nonglutinous rice (NGUR)	7.32±0.01	6.59±0.00
Glutinous rice (GUR)	7.20±0.02	6.86±0.02
Brown rice (BR)	7.72±0.01	6.71±0.04
Germinated brown rice (GBR)	7.75±0.04	6.98±0.01
Green rice (GRR)	7.61±0.02	6.91±0.03
Barley (BL)	7.34±0.01	6.93±0.05
Buckwheat (BW)	7.71±0.04	6.49±0.01
Posiling wheat (PW)	7.49±0.00	7.00±0.03
Rice <i>nuruk</i> of <i>R. oryzae</i> CCS01		
Nonglutinous rice (NGUR)	6.72±0.02	6.77±0.02
Glutinous rice (GUR)	6.59±0.04	6.40±0.03
Brown rice (BR)	7.04±0.01	6.57±0.06
Germinated brown rice (GBR)	7.28±0.03	6.32±0.04
Green rice (GRR)	7.41±0.05	6.43±0.05
Barley (BL)	7.28±0.01	6.43±0.04
Buckwheat (BW)	7.54±0.05	6.59±0.07
Polishing wheat (PW)	7.08±0.01	6.63±0.02

¹⁾Sacch. cerevisiae KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days.
²⁾Values indicate the mean's of three replications (n=3).

(28). 본 연구에서는 시판누룩과 쌀누룩으로 제조한 막걸리의 효모균수는 인위적인 접촉에 의해 큰 유의적 차이는 없었으나, 젖산균수의 경우에는 시판누룩으로 제조한 막걸리가 쌀누룩보다 젖산균수가 약간 높음을 확인할 수 있었다. 이는 누룩 원료에 분포하는 젖산균수의 차이와 알코올에 대한 젖산균의 내성과 관련되는 것으로 추정되었다. 한편 Kim 등(3)은 막걸리 발효 후기에는 젖산균수가 효모균수에 비해 생균수가 높게 검출된다고 보고하여, 본 연구 결과와 일치하였다.

막걸리의 갈변도

시판누룩과 쌀누룩으로 제조한 8가지 곡류 막걸리의 갈변도를 살펴본 결과는 Fig. 6과 같았다. 시판누룩으로 제조한 곡류 막걸리 중 갈변도가 가장 낮은 것은 멥쌀(NGUR)로 0.357이었으며, 가장 높은 것은 메밀(BW)로 0.568이었다. 한편 쌀누룩으로 제조한 막걸리 중 갈변도가 가장 낮은 것은 역시 멥쌀(NGUR)로 0.094이었고 가장 높은 것은 메밀(BW)로 0.250이었다.

갈변도는 발효주의 품질을 결정하는 중요 항목 중 하나로 phenolics 함량 및 미생물 활성 등에 영향을 받는다(29). 본 연구에서 시판누룩으로 제조된 막걸리의 갈변도는 쌀누룩의 막걸리보다 약 3배 정도 높게 나타났으며, 이 중에 시판누룩의 제조한 메밀(BW)과 도정밀(PW) 막걸리가 높은 갈변도를 나타냈었다. 이는 부재료인 누룩과 주재료인 곡류에서 유래한 phenolics 함량과 이들의 발효 중 미생물 활성의 차이에 때문인 것으로 판단되었다. 부가적으로 시판누룩으로 제조한 막걸리는 발효 종료 후에도 누룩의 특이취가 발생하였으나, 쌀누룩으로 제조된 막걸리는 누룩의 특이취가 발생되지 않았고 기호성에서 시판누룩(밀누룩)보다 우수한 것을 확인할 수 있었다.

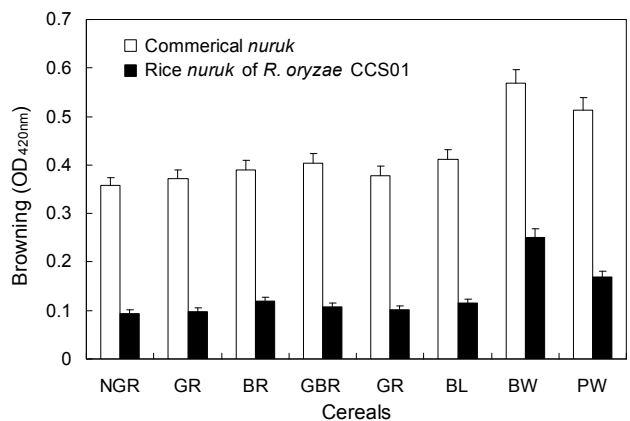


Fig. 6. Comparison of browning of the eight cereals *makgeolli* by commercial *nuruk* and rice *nuruk* of *R. oryzae* CCS01. *S. cerevisiae* KCCM 12684 was inoculated from 5.0% (v/v) into *makgeolli* and fermented at 25°C for 7 days. Values indicate the mean's of three replications (n=3). Cereals are the same as in Fig. 2.

요 약

본 연구에서는 시판누룩에서 분리한 *Rhizopus oryzae* CCS01로 쌀누룩을 제조하고 이를 이용하여 곡류 막걸리 제조하였다. *R. oryzae* CCS01로 제조한 쌀누룩은 시판누룩보다 탄수화물 함량은 높았으나, 수분 및 회분, 조단백질, 조지방 함량은 낮았고 당화력은 약 2.2배 정도 높게 나타났다. *R. oryzae* CCS01로 제조된 쌀누룩으로 제조한 막걸리는 pH와 알코올 함량은 시판누룩보다 높게 나타났으나, 당도 및 산도, 젖산균수, 효모균수, 갈변도는 낮게 나타났다. 특히 쌀누룩으로 제조한 참쌀(GUR) 막걸리의 경우 다른 막걸리들보다 알코올 함량이 가장 높았다. 이 결과로 *R. oryzae* CCS01로 제조된 쌀누룩을 이용하여 새로운 곡류 막걸리 제조가 가능할 수 있을 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 (재)산학협동재단 학술연구사업 및 지식경제부 지역산업기술개발사업(과제번호: 70008597)의 지원에 의하여 수행되었기에 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Woo SM, Shin JS, Seong JH, Yeo SH, Choi JH, Kim TY, Jeong YJ. 2010. Quality characteristics of brown rice *Takju* by different *Nuruks*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 301-307.
2. Kim AR, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim JH, Kim MJ, Ji KW, Ahn IS, Ahn DH. 2008. Effect of *Glycyrrhiza uralensis* on shelf-life and quality of *takju*. *Korean J Food Sci Technol* 40: 194-200.
3. Kim GM, Jung WJ, Shin JH, Kang MJ, Sung NJ. 2011. Preparation and quality characteristics of *Makgeolli* made with black garlic extract and *Sulgidduk*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 759-766.
4. Lee TS, Han EH. 2000. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using *Aspergillus oryzae nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 33: 366-372.
5. Lee GH. 1994. The properties and new technologies of Korean medicinal wine and *Takju*. *J Microbiol Biotechnol* 7: 4036-4046.
6. So MH, Lee YS. 2009. Effects of culture conditions of *Rhizopus* sp. ZB9 on the production of saccharifying amylase during the preparation of rice koji. *Korean J Food Nutr* 22: 644-649.
7. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. 1997. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using different *Nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 29: 563-570.
8. Park JW, Lee KH, Lee CY. 1995. Identification of filamentous molds isolated from Korean traditional *nuruk* and their amyolytic activities. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 23: 737-746.
9. Yu TS, Kim HS, Hong J, Ha HP, Kim TY, Yoon IW. 1996. Bibliographical study on microorganisms of *Nuruk*. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 170-179.
10. Song JH, Kim JH, Ahn BH, Lee JS. 2010. Screening of functional *Rhizopus stolonifer* for alcohol fermentation and production of high quality Korean traditional rice wine. *Microbiology* 38: 122-127.
11. So MH. 1993. Conditions for the production of amylase and protease in making wheat flour *nuruk* by *Rhizopus japonicus* T2. *Korean J Food & Nutr* 6: 96-102.
12. So MH. 1999. Characteristics of a modified *Nuruk* made by inoculation of tractional *Nuruk* microorganisms. *Korean J Food & Nutr* 12: 219-225.
13. So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Changes in microorganisms and main components during *Takju* brewing by a modified *Nuruk*. *Korean J Food & Nutr* 12: 226-232.
14. So MH, Han SH, Noh WS. 1999. Analysis of flavor compounds in *Takju* mash brewed with a modified *Nuruk*. *Korean J Food & Nutr* 12: 421-426.
15. So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Improvement in the quality of *Takju* by a modified *Nuruk*. *Korean J Food & Nutr* 12: 427-432.
16. Joo OS, Kang ST, Jeong CH, Lim JW, Park YG, Cho KM. 2011. Manufacturing of the enhances antioxidative wine using a ripe *Daebong* persimmon (*Dispyros kaki* L.). *J Appl Biol Chem* 54: 126-134.
17. KFDA. 2010. General test methods. In *Korean Food Standard Codex* Korea Food Drug Administration, Seoul, Korea. p. 1-53
18. Korea National Tax Service Liquor Analysis Regulation. 2010. National Tax Service Technical Service Institute, Korea. p 17.
19. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31: 426-428.
20. Kim JY, Koh JS. 2004. Screening of brewing yeasts and saccharifying molds for foxtail millet-wine making. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 78-84.
21. Jo GY, Lee CW. 1997. Isolation and identification of the fungi from *Nuruk*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 759-766.
22. Lee TS, Han EH. 2000. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using *Rhizopus japonicus* *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 691-698.
23. Song JC, Park HJ. 2003. *Takju* brewing using the uncooked germed brown rice at second stage mash. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 847-854.
24. Seo MY, Lee JK, Ahn BH, Cha SK. 2005. The change of microflora during the fermentation of *Takju* and *Yakju*. *Korean J Food Sci Technol* 37: 61-66.
25. Park CS, Lee TS. 2002. Quality characteristics of *Takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296-302.
26. Choi JH, Jeon JA, Jung ST, Park JH, Park SY, Lee CH, Kim TJ, Choi HS, Yeo SH. 2011. Quality characteristics of *Seoktanju* fermented by using different *Nuruks*. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 56-62.
27. Jin TY, Chung HJ, Eun JB. 2006. The effect of fermentation temperature on the quality of *Jinyangju*, a Korean traditional rice wine. *Korean J Food Sci Technol* 38: 414-418.
28. Kim CA, Lee WG, Lee IS, Wang MH. 2008. Changes of phytochemical, sensory, and antioxidant activity characteristics in rice wine. *Yakju* added with different ratio of *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 201-206.
29. Cho KM, Lee JB, Kahng GG, Seo WT. 2006. A study on the making of sweet persimmon (*Diospyros kaki* T) wine. *Korean J Food Sci Technol* 38: 785-792.

(2011년 11월 22일 접수; 2012년 6월 26일 채택)