

## 시판 전통누룩의 젖산균 분리동정과 제조단양주의 품질특성

박지희 · 정장호\*

세종대학교 조리외식경영학과

### Characteristics of *Takju* (a Cloudy Korean Rice Wine) Prepared with *Nuruk* (a Traditional Korean Rice Wine Fermentation Starter), and Identification of Lactic Acid Bacteria in *Nuruk*

Ji-Hee Park and Chang-Ho Chung\*

Department of Culinary Science and FoodService Management, Sejong University

**Abstract** Five *takju* prepared using four types of *nuruk* (a traditional Korean fermentation starter made of malted wheat; non-cooked, naturally inoculated) labeled SH, SS, JJ, and SJ, and one type of *koji* (cooked, inoculated with an inoculum) labeled MN, were compared. Titratable acidity, pH, sugars, ethanol, amino acids, organic acids, and microbial changes in samples were measured, and the sensory properties were evaluated. Titratable acidity, alcohol, and organic acid content increased as sugar contents decreased. The overall ethanol concentration of all *takju* increased over time, reaching a maximum of 13.08-14.96% (w/v) at 7-21 days. The total amino acid contents of *takju* prepared with *nuruk*, except for one (SJ), were higher than the *takju* prepared with *koji* (MN). Lactic acid bacteria were also isolated from the starters. Sequence analysis of 16S rRNA genes (500 - 600 bp) of 223 isolates revealed that the major strains were in the genera of *Leuconostoc*, *Weissella*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus*.

**Keywords:** *takju*, rice wine, *nuruk*, starter, *koji*

## 서 론

술이란 알코올 성분이 있는 기호성 음료로서 주류 또는 알코올 음료를 말하며 탄수화물이 미생물의 분해 작용을 받아 알코올을 비롯한 여러 가지 성분이 생긴 발효식품이다. 발효원으로는 전분질을 함유하는 곡류와 서류, 그리고 당분을 주성분으로 하는 과실류 등이 있다. 우리나라 전통주류인 탁주는 주로 찹쌀이나 멥쌀을 원료로 하고 생전분과 자연적으로 자란 미생물들이 포함된 누룩을 이용하여 용수와 함께 담금하여 만들어지는 발효주인데(1) 이들 누룩 미생물과 원료물질들로부터 기인하는 효소 작용에 의해 원료 성분이 분해되어 생성되는 당분, 아미노산, 유기산 등의 맛 성분과 주로 효모나 일부 젖산균 등의 미생물에 의한 알코올 발효로 휘발성 풍미성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루게 된다(2).

전통방식의 한국누룩은 원료 소맥을 빻은 다음, 물을 뿌려 잠시 방치하였다가 일정량을 틀에 넣고 성형하고 이를 배양하여 미생물을 번식시킨 것으로써 곡자(麴子)라고도 하며 미생물이 자연적으로 자란 경우를 말하며 국(麴)은 전분을 증자와 같은 열처리 후 미생물을 인위적으로 접종한 것으로써 개량곡자라 부르기도 한다(3).

곡류를 이용한 발효주류의 경우, 곡류전분질을 당분으로 전환시켜 발효과정을 거쳐 술이 제조되며 이때 미생물이나 곡류에서 생성하는 당화효소가 필요한데 그 당화와 발효원이 누룩이며 누룩은 주류의 품질이나 생산량에 영향을 미치는 가장 중요한 요소라고 할 수 있다(4).

일제 강점기 이전 전통적인 양조에서는 전통제조방식의 곡자(누룩)가 주발효제로 사용되었다(5). 이들 곡자의 경우는 미생물 균일화의 어려움과 당화력이 약한 단점이 있으나 각 지역마다 유래되는 다양한 미생물의 번식을 통한 주질 다양성을 가질 수 있다는 장점이 있다. 1938년에 일본 소주제조 곰팡이인 *Aspergillus luchuensis* (과거 *A. kawachii*로 불리움)가 국내에 도입되고, 이의 입국이 탁주양조에 적용되면서 양조방법이 획일화되는 과정을 겪었다(6). 일본주류 제조방식에서 유래된 국균의 경우는 탁주양조에 사용하면 당화력이 높고 산생성이 왕성하여 잡균 오염이 방지되어 술덧이 안전하게 발효되므로 수율이 높고 균일한 품질의 술을 제조할 수 있으나(7) 일반적으로 입국으로 제조한 탁주는 독특한 향이 없고(8,9), 아미노산 함량이 낮으며(10), 입국에서 오는 유기산의 신맛이 지나치게 강하며(11,12) 그 향과 맛의 다양성과 풍부함이 전통 누룩으로 제조한 탁주에 미치지 못한다고 보고 된 바 있다.

일반적으로 상업용 제조장의 경우 복발효 방식을 통해 탁주를 제조하는 것이 일반적이나 본 실험에서는 다른 요소들을 제거하기 위하여 일반 *koji* 형태의 개량누룩 1종류와 현재 국내에서 시판되고 있는 전통제조방식 4종류의 전통누룩을 구입하여 이들 누룩에 존재하는 젖산균들을 분리동정하였고 또한 이들 누룩을 이용하여 단양주를 제조하고 이들 단양주의 발효특성을 비교 분석하고자 하였다.

\*Corresponding author: Chang-Ho Chung, Department of Culinary Science and FoodService Management, Sejong University, Seoul 143-747, Korea  
Tel: 82-2-3408-3222  
Fax: 82-2-3408-4313  
E-mail: cchung@sejong.ac.kr  
Received October 7, 2013; revised December 10, 2013;  
accepted January 6, 2013

## 재료 및 방법

### 누룩 및 탁주 재료

재료는 전통방식 (생진분, 자연접종, 원형누룩 형태)으로 누룩을 제조하는 곳에서 법제된 밀 누룩 4종류(SH, JJ, SS, SJ)와 한국효소(주)에서 제조한 개량누룩(MN) 및 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 사용하였으며 찹쌀은 경기도 남양주시에서 2012년 3월 29일에 도정된 찹쌀을 구입하고 물은 생수(제주 삼다수, 제주특별자치도개발공사)를 끓인 후 식혀서 사용하였다.

### 누룩에 존재하는 젖산균 분리 동정

각 누룩에 존재하는 젖산균을 분리, 동정 하기위해 각 누룩을 분쇄 후 증류수에 10% 희석 후 3시간 추출하여 시료로써 사용하였다. *Lactobacilli* MRS broth (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 agar 2%와 sodium azide 0.005%를 첨가한 배지에 도말, 계대배양 후 순수 colony를 획득하였다. DNA 추출을 위해 순수 분리된 균체에 5% Chelex 100 Resin (Bio-Rad Laboratory Inc., Hercules, CA, USA)을 첨가하여 10분 동안 가열한 후, 원심분리된 상층액을 PCR의 주형 DNA로 사용하였다. Boiling DNA 추출법으로 얻어진 DNA로부터 PCR 반응이 이루어지지 않은 경우에는 genomic DNA를 추출하여 16S rRNA gene 염기서열 결정에 사용하였다. 고체 MRS배지에서 배양된 균체로부터 UltraClean<sup>®</sup> Microbial DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories Inc., Calsbad, CA, USA)를 사용하였으며 제조사의 protocol에 따라 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA의 농도는 spectrophotometer (NanoDrop, ThermoScientific, West Palm Beach, FL, USA)로 측정하였다. 16S rRNA gene의 염기서열은 SolGent (Yuseoung, Daejeon, Korea)에 의뢰하였으며 염기서열 결정을 위하여 DNA Analyzer (ABI 3730XL, Applied Biosystems, Foster, CA, USA)와 BigDye<sup>®</sup> terminator cycle sequencing ready reaction kit (Applied Biosystems)를 사용했다. 분리된 유산균으로부터 얻어진 16S rRNA gene의 부분 염기서열은 길이가 500-600 bp이었다. 이를 이용하여 분리된 유산균을 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) BLAST 분석을 통하여 가장 높은 유사성(similarity)을 나타낸 종으로 잠정적으로 동정하고 참조균주의 16S rRNA 염기서열을 확보하였다. 염기서열의 편집은 BioEdit ver.4.0 프로그램을 사용하였으며 정렬은 ClustalX 프로그램을 이용하였다. Evolutionary distance matrices들은 MEGA 5.0 프로그램을 이용하여 Neighbor-Joining method에 의해 염기서열간의 유전적인 거리와 계통도(phylogenetic tree)를 추론하였다. 계통도내 분지의 안정도를 조사하기 위하여 1000번의 bootstrap 재구성(resampling) 분석을 실시하여 500 이상의 값을 표시하였다.

### 탁주의 제조

탁주를 만드는 방법과 재료의 비율은 술빚기의 기본이 되는 탁주류 중 부의주 만드는 방법을 응용하여 만들었으며(13) 탁주에 첨가할 재료의 비율은 Table 1과 같다. 전통방식으로 제조된 누룩의 첨가량은 개량누룩의 당화력(saccharifying activity; 전통누룩 당화력 평균의 약 4.8배)과 비슷한 수준의 평균값으로 결정하였으며 탁주의 제조를 위해 쌀을 한 방향으로 300번 돌려주면서 씻은 후 맑은 물이 나올 때까지 행균을 한 후 8시간 쌀을 수침하였다. 수침이 끝난 후 맑은 물이 나올 때까지 다시 행균을 한 후에 체에 밭쳐서 10분 동안 물을 뺐다. 그 후 시루에 담아 중불에서 40분 쪄 후 쌀 무게의 10%의 양을 살수 후 밥을 저어주었다. 그리고 센불에서 20분 더 쪄준 후 꺼내어 10분 동안 식힌

Table 1. Formula of *takju*

<i>Takju</i>	Ingredients			
	<i>Nuruk</i> <sup>1)</sup> amount (g)	Yeast (g)	Rice (g)	Water (mL)
T-SH	SH / 120	5	1,000	1,200
T-JJ	JJ / 120	5	1,000	1,200
T-SS	SS / 120	5	1,000	1,200
T-SJ	SJ / 120	5	1,000	1,200
T-MN	MN / 25	5	1,000	1,200

<sup>1)</sup>SH, JJ, SS, and SJ were Korean traditional type (non-cooked, naturally inoculated). MN was a type of semi-traditional (cooked, inoculated with an inoculum). The adding amount were decided to give an equivalent of saccharifying activity to rice wines.

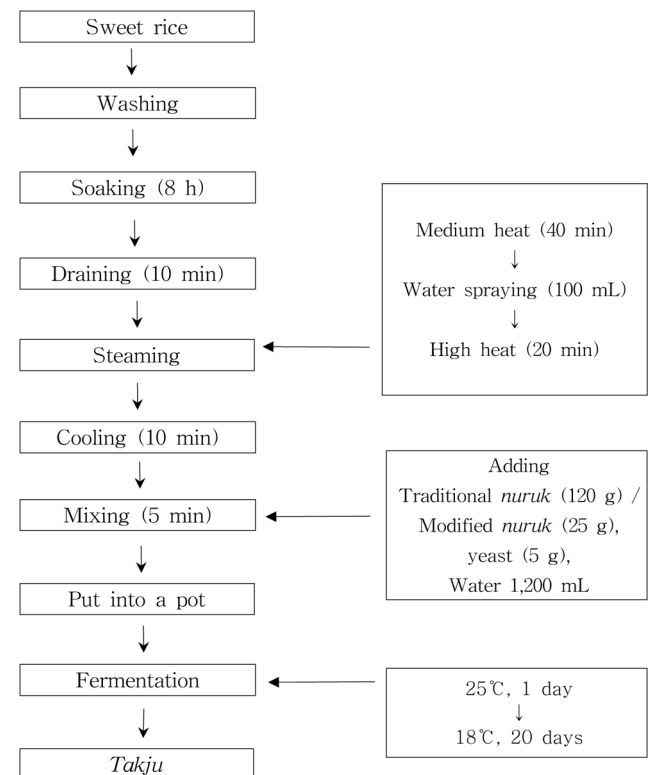


Fig. 1. Preparation procedure of *takju*.

다음 식힌 밥, 물, 누룩, 효모를 넣어 5분 동안 혼합하였다. 저장 용기에 담고, 담금 시작부터 25°C의 항온기에서 1일간 발효시킨 후 숙성을 위해 18°C로 온도를 바꾼 후 저장하며 실험하였다(Fig. 1).

### pH 및 적정산도 측정

담금 시작부터 25°C 항온기에서 0, 6, 12, 24시간 저장하며 측정 후 18°C로 온도를 바꾼 후 2, 7, 14, 21일 간격으로 저장하며 실험하였다. 시료 10g에 증류수 90mL를 가하여 homogenizer (Bag mixer 400W, Interscience, Saint Nom, France)로 1분 동안 균질화 시킨 후 pH meter (TOA HM-7E, TOA DKK Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 0.1N NaOH를 pH 8.2가 될 때 까지 적정하였으며 적정에 소비되는 0.1N-NaOH 용액의 소비량을 유기산함량으로 환산하여 초산 함량(% w/v)으로 표시하였고, 계산식은 다음과 같다.

$$\text{적정산도}(\%, w/v) = \frac{0.006 \times V \times f}{S} \times 100$$

$V=0.1$  N NaOH 소비량

$f=0.1$  N NaOH의 factor

$S=$ 시료량(mL)

\*0.006: N/10 수산화나트륨용액 1 mL에 해당하는 초산량

### 당화력 측정

각 누룩의 당화력 측정은 2% 가용성전분용액을 기질로 하여 국제청 주류분석규정(14)에 따른 방법과 일본국세청 주류분석규정(15)에 따른 방법에 따라 측정하였다. 즉, 20% 가용성 전분용액 50 mL을 55°C 항온수조에서 30분간 예열한 다음 효소용액을 10 mL를 가하여 60분간 당화시킨 후 0.5 N NaOH 10 mL를 가하고 급냉시켜 효소작용을 정지시켰으며, 이 효소 반응액의 포도당 함량은 dinitrosalicylic acid법(16)으로 측정하여 정량하였다. 당화력은 누룩 1 g이 가용성 전분 1 g에 작용하여 생성된 포도당을 가용성 전분 1 g에 대한 백분율로 당화율을 나타내었다.

### 유리당, 유리아미노산, 유기산 함량 측정

각 누룩의 분석은 분쇄 후 증류수에 10% 희석 후 상온에서 3 시간 동안 추출하여 측정하였고 탁주의 경우는 적정시간대에 얻어진 액을 희석하여 측정하였다. 유리당과 에탄올의 경우는 표준용액의 제조는 표준시약급 제품(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)인 maltose, fructose, glucose, ethanol을 사용하였다. 시료들의 당 농도는 각각의 성분의 HPLC 면적 값을 표준용액의 검량곡선을 이용하여 농도를 측정하였다. Column은 Aminex HPX-87c (300×7.8 mm, Bio-rad Lab., Hercules, CA, USA)을 사용하였으며 column 온도는 83, 이동상의 유속은 0.6 μL/min으로 하였고 검출기는 Refractive Index Detector (RI 2414, Waters Co., Milford, MA, USA)를 사용하였다. 탁주의 유리아미노산과 유기산분석은 탁주 0.5 g을 증류수로 현탁시켜 10 mL로 정용한 후, 4,180×g에서 10분간 원심분리(Brinkmann Instruments Inc, Bremen, Germany)하여 얻은 상층액 중 일부를 0.2 μm membrane filter에 통과시킨 후 여액을 사용하였다. 유리아미노산 분석은 아미노산 자동분석기(S430 HPLC, Sykam GmbH, Eresing, Germany)를 이용하였고 column은 cation separation column (LCA K07/Li, 4.6×150 mm)을 사용하였다. Column 온도는 37-74°C, 이동상의 유속은 0.45 mL/min, reaction solution의 유속은 0.25 mL/min으로 하

였고 검출파장은 440 nm와 570 nm을 사용하였다. 유기산의 경우는 HPLC (LC-10Avp Shimadzu Co., Tokyo, Japan)로 분석하였으며 column은 Rezex ROA-Organic Acid (300×7.8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA), column 온도는 30°C, 이동상(0.005 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)의 유속은 0.5 mL/min으로 하였고 검출파장은 210 nm를 사용하였다.

### 미생물 균총의 측정

각 시료를 균일하게 혼합한 후 무균적으로 1 mL을 취하였다. 이를 멸균수를 이용하여 10배 희석법으로 일정 농도로 희석하고, 총 균수는 PCA (plate count agar; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)배지, 총 효모수는 PYGA (peptone 1%, yeast 0.5%, glucose 2%, agar 2%, w/v)배지, 총 젖산균수는 *Lactobacilli* MRS broth (Difco Laboratories)에 agar 2% (w/v)와 sodium azide (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA) 0.005% (w/v)를 첨가한 배지에 평판주입법에 의해 접종하여 28°C에서 48시간 배양시킨 후 생산된 colony forming units (CFU/mL)로 나타내었다.

### 관능검사

검사원은 S 대학교 학생 남성 10명, 여성 10명으로 총 20명을 대상으로 이루어졌다. 패널훈련은 한 시간 동안 선정된 향 특성 및 맛 특성에 대해 standard를 제시하여(14) 패널요원의 이해 정도를 파악하였다. 본 실험에서는 각 시료에 세 자리 난수표로 코드화 한 후 Williams' latin square 법에 의해 random화 하여 제시하였다. 시료는 먼저 코로 향을 입으로 맛을 보는 순서로 하였으며, 한 개의 시료를 먹고 나면 반드시 물로 입안을 행군 후 다음 시료를 평가하도록 하였다. 검사원에게 채점표가 나누어지고 과일향(fruit flavor), 곡물향(grain aroma), 누룩향(*nuruk* aroma), 단맛(sweet taste), 신맛(sour taste), 곡물맛(grain taste), 알코올맛(alcohol taste)의 각각의 항목에 대하여 9점 척도(1: 대단히 약함, 5: 보통, 9: 대단히 강함)에 의해 각 측정 항목의 강도를 측정하도록 하였다. 각 특성의 정의와 사용된 standard는 Table 2과 같다.

### 통계분석

누룩과 탁주에 대한 실험결과는 SPSS (Statistics Package for the Social Science, Ver. 17.0 for Window) program을 이용하여 통계 처리하여 분석하였다. 실험은 3회 반복실험을 하였으며 분석 방법으로 평균과 표준편차 및 분산분석 등을 실시하였으며 Duncan의 다중 범위 검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 유의성 검사를 실행하였다.

**Table 2. Definition of sensory properties and standard recipe on the descriptive analysis for *takju* (14)**

Sensory characteristic	Definition	Standard recipes
Aroma attributes		
Fruit aroma	The smell associated with ripe fruits similar to pears	Crushed pear 15 g/100 mL distilled water
Grain aroma	The smell associated with crushed barley and other grains	Crushed unpolished rice and barely 4 g/20 mL distilled water
<i>Nuruk</i> aroma	The smell associated with <i>nuruk</i>	Crushed <i>nuruk</i> 10 g/100 mL distilled water
Flavor/taste attributes		
Sweet taste	Basic taste descriptor characterized by a solution of sucrose	Sucrose 6% (w/v)
Bitter taste	Basic taste characterized by a solution of caffeine	Anhydride caffeine 0.1% (w/v)
Sour taste	Basic taste descriptor characterized by a solution of organic acid	Citric acid 0.25% (w/v)
Grain taste	Flavor similar to Crushed barley and other grains	Crushed unpolished rice and barley 4 g/20 mL distilled water
Alcohol taste	Alcohol	25% (w/v) Ethanol

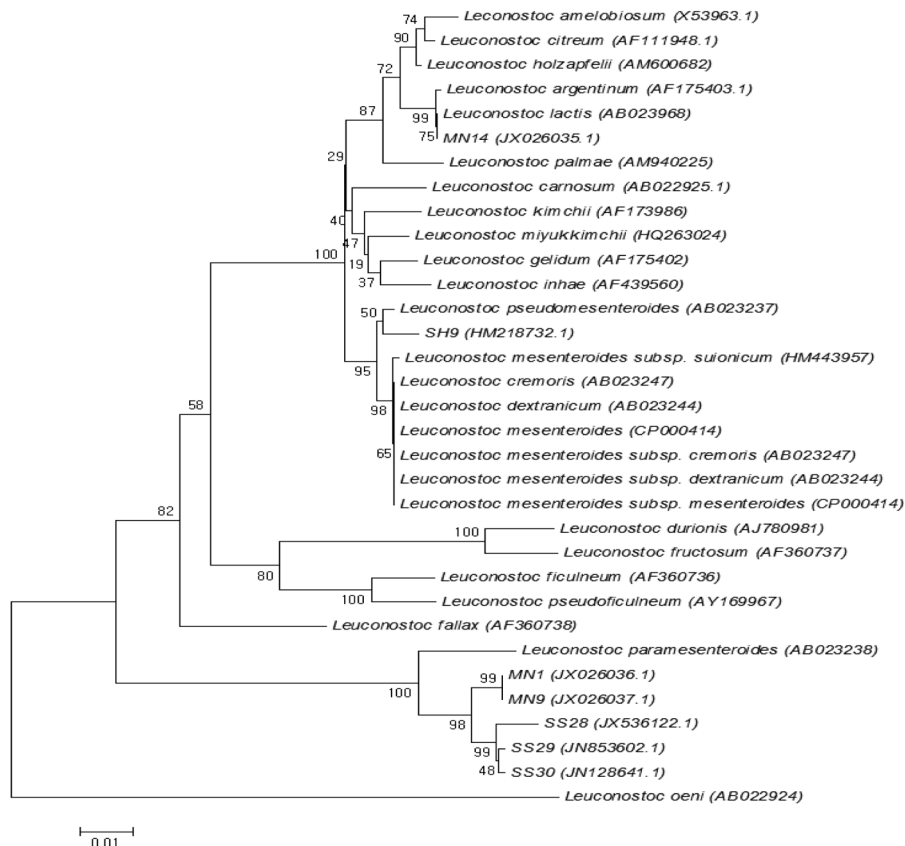


Fig. 2. Phylogenetic consensus tree of the composition of the *Leuconostoc* (A), *Weissella* (B), *Pediococcus* (C), and *Lactobacillus* (D). Numbers at the nodes indicated the bootstrap values on neighbor-joining analyses of 1000 resampled data sets. Bar, 1 % sequence divergence.

## 결과 및 고찰

### 각 누룩의 당화력

전통누룩인 JJ, SS, SJ, SH의 당화력은 각각 236.89 sP, 230.57 sP, 191.57 sP, 230.57 sP를 나타내었고 MN의 당화력은 1135.89 sP로 전통방식의 시판누룩보다 약 4.6-5.6배 높은 값을 나타내었다. 이상의 결과에서 알 수 있듯이 개량누룩은 전분 당화력, 전분 액화력 및 단백질 분해력이 기존 발효제인 전통누룩보다 현저히 높으므로 실제 양조에 사용할 경우에는 기존의 발효제를 사용할 때보다 훨씬 적은 양을 사용하여야 할 것으로 보인다.

### 젖산균 분리 동정

각 누룩으로부터 미생물의 계수에 사용된 MRS와 PYSA 배지로부터 성장된 균을 분리하여 총 223개의 순수 배양체를 확보하였으며 분리균주들을 대상으로 16S rRNA gene 염기서열을 기준으로 총 64종의 젖산균을 분리, 동정하였다. 누룩으로부터 얻어진 균은 NCBI Blast search를 통하여 유사성을 갖는 종의 염기서열을 포함하여 계통분석을 시행하였으며 그 결과는 Table 3와 4, 그리고 Fig. 2와 같다.

JJ에서는 *Pediococcus* 속 4종과 *Weissella* 속 1종을 확보하였고 (Table 3), SS에서는 총 30종의 균주가 분리되었으며 *Weissella* 속 12종, *Leuconostoc* 속 3종, *Lactobacillus* 속 15종이었다 (Table 4). SH에서는 총 9종의 균주가 분리되었으며 *Pediococcus* 속 8종, *Leuconostoc* 속 1종이었으며 SJ에서는 6종의 균주 중 *Pediococcus* 속 4종, *Lactobacillus* 속 2종이 발견되었다 (Table 3). 개량누룩인

MN에서는 총 14종의 균주 중 *Leuconostoc* 속 3종과 *Weissella* 속 11종이 동정되었다 (Table 3).

기존에 보고된 자료에 의하면 누룩에서 분리한 발효 관련성 세균으로는 Jo와 Ha(17)가 누룩으로부터 *Lactococcus* 속, *Pediococcus* 속, *Enterococcus* 속 등을 분리하였고 Lee와 Yu(18)는 전국 각지의 누룩을 수집하여 종균으로 이용이 적합한 젖산균의 특성에 대한 연구를 수행하여 *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus* 등을 동정한 바 있으며 또 한 Kim(19)의 연구에서 *Weissella koreensis* 종을 분리한 바 있는데 본 연구에서는 총 22종의 다양한 *Weissella* 속이 검출되었음을 확인할 수 있었다.

특히 *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* 속 등은 발효에 관련된 유기산 생성 미생물 군집으로도 알려져 이를 이용한 연구로써 다양한 방면으로 연구되고 있는 실정이다. Kwon(20)의 연구에 따르면 산성 누룩을 미생물 다양성의 측면에서 비교했을 때 본 연구와 같은 시료인 SS누룩에서 약 2배 정도 다양성이 높게 분포 한다는 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

### pH와 적정산도

탁주의 발효과정 중에 생성되는 유기산, 탄산가스 및 기타 산물질은 pH에 영향을 주기 때문에 탁주의 성분변화, 발효진행상황 등을 짐작할 수 있는 중요한 지표가 된다(15,21). 누룩의 종류를 달리하여 21일 동안 발효과정 중의 pH 변화는 Fig. 3와 같다. 담금 직후에는 5.55-5.80을 나타내었고 24시간 까지 급격히 감소하는 경향을 보이며 3.85-4.27을 나타내었다. 24시간에 개량누룩으로 제조한 탁주인 T-MN의 pH가 3.85로 유의적으로 가장 낮은

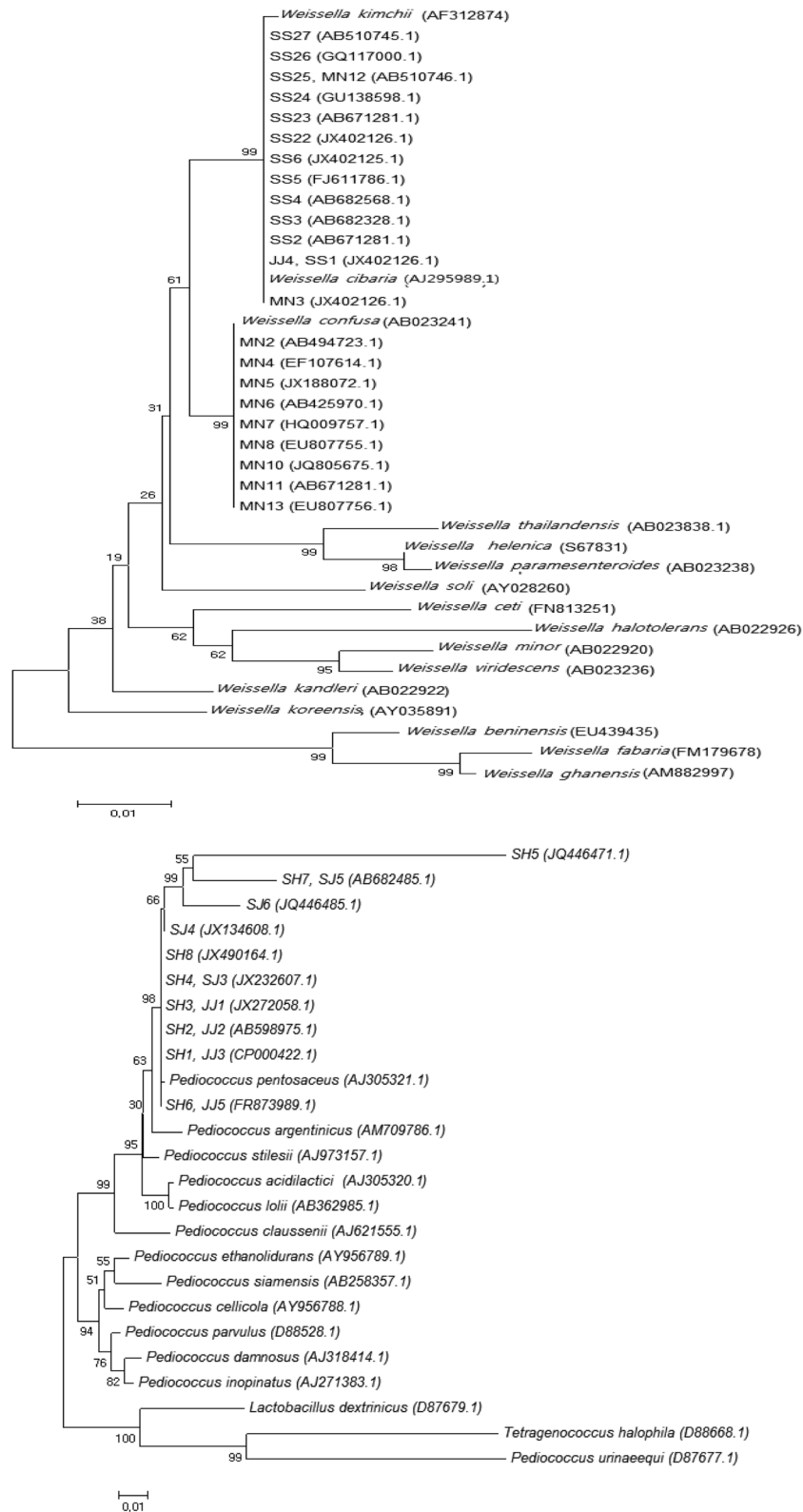


Fig. 2. Continued.

값을 나타낸 것은 높은 당화력으로 인해 포도당 생성이 초기에 증가되고 이를 이용하여 미생물들이 산생성물들을 빨리 만들어 냈기 때문인 것으로 판단된다. 발효기간의 경과에 따라 탁주 술덧에 생육하는 미생물의 작용으로 유기산 생성량이 증가되어 담금일보다 pH가 저하된 것으로 판단되었다. 7일 이후부터는 pH가

큰 변화 없이 완만히 증가하고 있음을 알 수 있었다. 탁주 제조 시 효모 외의 다른 세균을 억제하기 위해 pH 4.0-6.0을 유지하는 것이 적합하며 본 실험과 같은 경향은 Kim 등(22), Yu 등(23)의 연구에서 담금을 끝낸 직후에서 다음날 급격히 감소했다가 점차 증가하는 경향과 유사함을 알 수 있었다. 탁주의 품질에 있어서

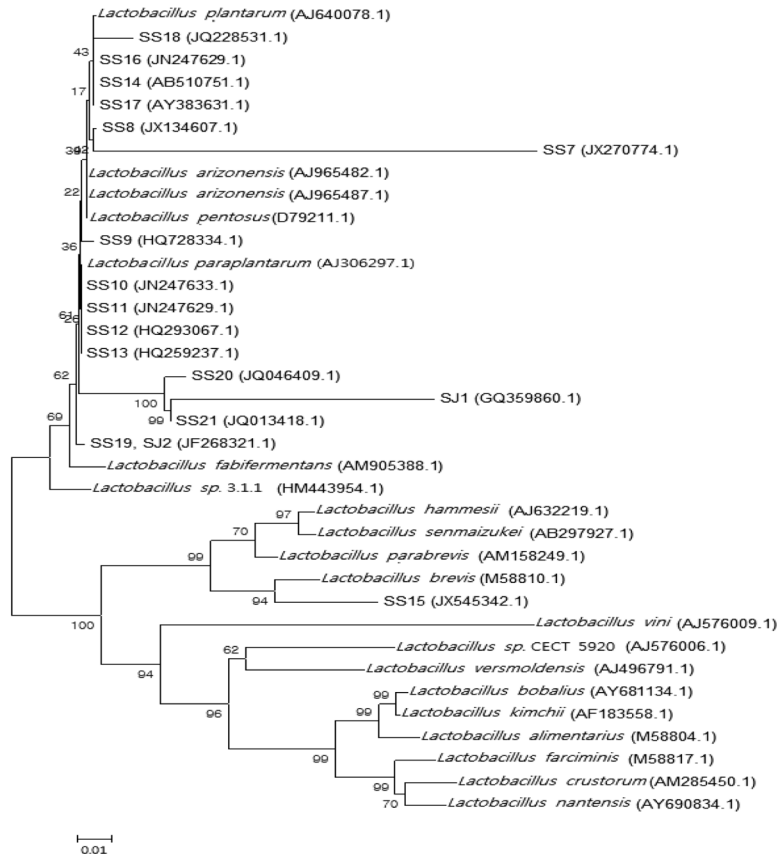


Fig. 2. Continued.

적정산도는 관능적인 면으로는 산미의 원인물질이나 산패현상을 조기 진단할 수 있는 기초자료로서 이용된다. 발효가 진행되면서 효모나 젖산균 등의 미생물 작용으로 각종 유기산이 생성되므로 적정산도는 증가한다(9). 일반적으로 유기산함량이 너무 적으면 제성주에서 특유의 산미를 잘 느낄 수 없게 되고 산 함량이 너무 많으면 이상 발효에 의해 탁주가 산패되고 있는 것으로 짐작할 수 있다(24). 누룩의 종류를 달리하여 제조한 탁주의 21일 동안 발효과정 중의 적정산도의 변화는 Fig. 4과 같다. 담금 직후에는 0.07-0.17%를 나타냈으며 24시간에 0.45-0.67%까지 급격하게 증가하는 경향을 나타내었다. 7일 이후부터는 0.39-0.45%를 나타내며 큰 변화없이 유지되는 경향을 보였다. pH가 떨어지는 시점과 산도가 올라가는 시점이 24시간으로 일치하는 것을 알 수 있었으며, 이 때 산도가 증가하는 요인은 젖산이나 효모 발효로 생성되는 유기산들이 영향을 준 것으로 보여진다.

#### HPLC를 이용한 당과 알코올 함량

발효과정 중 당과 알코올 함량을 HPLC로 분석한 결과 sucrose, fructose, mannitol의 함량은 미량으로 변화에 큰 영향을 보이지 않았으며 전분의 분해물인 maltose (Fig. 5), glucose (Fig. 6)와 ethanol (Fig. 7)을 확인하였다. 전통 누룩을 사용하여 만든 탁주의 경우 병행발효가 일어나므로 발효 정도를 아는 데에 당과 알코올의 함량 변화는 주요한 요인이다(25). Maltose 함량은 담금 직후에는 0.49-2.68% (w/v)였고, glucose의 함량은 1.03-2.07% (w/v)으로 나타났다. 백미와 누룩의 원료를 기질로 한 당화작용으로 인해 Maltose와 Glucose가 생성된 것으로 보여진다. Maltose는 12시간까지 1.46-2.96% (w/v)으로 급격하게 증가하다가 1일째 감소한 후 21일까지 유지하는 경향을 나타내었다. Glucose의 경우도

마찬가지로 12시간까지 1.63-2.30% (w/v)으로 증가하다가 완만하게 감소하는 경향을 나타내었다. Maltose와 glucose는 비슷한 경향을 보였으며 이 때, 원료중의 전분질은 amylase 작용으로 인해 당분으로 분해, 효모의 영양원, 발효의 기질로 이용이 되어 감소된 것으로 사료된다. Kang 등(26)의 연구에 따르면 알코올 생성이 우수한 효모 균주의 분리 및 동정에서 4-5%의 알코올을 생성한 균주로 *Saccharomyces*속을 동정하였으며, 50%의 포도당에서 좋은 성장을 보인 내당성이 강한 균주를 선발하였다. 본 연구에서 T-SH와 T-SS의 ethanol 함량이 7일까지 높은 경향을 나타내었다(Fig. 7). 전체적인 ethanol 함량은 12시간부터 증가하기 시작했으며, 발효 7일부터 21일까지 13.08-14.96% (w/v)로 유지되었다. 젖산균의 증식에 의한 당물질의 발효를 통한 유기산생성, 이를 통한 pH의 저하는 잡균에 의한 오염방지 역할을 함으로써 활발한 효모균의 증식을 가져오고 정상적인 알코올 발효가 일어나게 한다는 연구 결과(27)와 같이 pH 저하, 산도증가, glucose와 maltose 함량 감소, 젖산균과 효모의 증가 시점이 발효를 통한 ethanol 함량이 증가하는 시점으로 보여진다.

#### 유리 아미노산 함량

막걸리는 다른 주류에 비해 발효 부산물 중에 필수아미노산의 함량이 높아 건강에 유익하고, 막걸리속의 아미노산은 술에 담백한 맛을 부여하는 성분으로 술맛을 상승시키는 효과를 한다(28). 또한 막걸리에는 신맛, 감칠맛, 단맛 및 쓴맛을 나타내는 유리아미노산들이 균형 있게 함유되어 있어야 하고 그 함량이 높을수록 좋은 것으로 알려지고 있다(29). 누룩의 종류를 달리하여 제조한 탁주의 총 29종의 유리아미노산이 검출되었으며 이중 미량(최종검출량이 10 mg/100 g 이하)인 아미노산을 제외한 각 아미노

Table 3. List of lactic acid bacteria isolated from SH, JJ, SJ and MN nuruks

Nuruk origin	Strain No.	Accession No.	Identified species	Similarity (%)
SH	SH1	CP000422.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98%
	SH2	AB598975.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97%
	SH3	JX272058.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99%
	SH4	JX232607.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97%
	SH5	JQ446471.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97%
	SH6	FR873989.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98%
	SH7	AB682485.1	<i>Pediococcus sp.</i> NBRC 107186	97%
	SH8	JX490164.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99%
	SH9	HM218732.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97%
JJ	JJ1	JX272058.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98%
	JJ2	AB598975.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98%
	JJ3	CP000422.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99%
	JJ4	JX402126.1	<i>Weissella sp.</i> Wikim SH005	97%
	JJ5	FR873989.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97%
SJ	SJ1	GQ359860.1	<i>Lactobacillus sp.</i> 0-C-2	98%
	SJ2	JF268321.1	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	97%
	SJ3	JX232607.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99%
	SJ4	JX134608.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97%
	SJ5	AB682485.1	<i>Pediococcus sp.</i> NBRC 107186	97%
	SJ6	JQ446485.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98%
MN	MN1	JX026036.1	<i>Leuconostoc sp.</i> MEC9	98%
	MN2	AB494723.1	<i>Weissella confusa</i>	97%
	MN3	JX402126.1	<i>Weissella sp.</i> Wikim SH005	99%
	MN4	EF107614.1	<i>Weissella sp.</i> Rrt5	97%
	MN5	JX188072.1	<i>Weissella confusa</i>	97%
	MN6	AB425970.1	<i>Weissella confusa</i>	98%
	MN7	HQ009757.1	<i>Weissella cibaria</i>	97%
	MN8	EU807755.1	<i>Weissella confusa s</i>	99%
	MN9	JX026037.1	<i>Leuconostoc sp.</i> MEBE2 16S	97%
	MN10	JQ805675.1	<i>Weissella confusa</i>	99%
	MN11	AB671281.1	<i>Weissella sp.</i> A52	97%
	MN12	AB510746.1	<i>Weissella cibaria</i>	97%
	MN13	EU807756.1	<i>Weissella confusa</i>	98%
	MN14	JX026035.1	<i>Leuconostoc sp.</i> MEC8	97%

산의 총량에 대한 결과는 Table 5와 같다. 총량은 T-JJ, T-SS, T-SH, T-MN, T-SJ 순이었으며 주요 아미노산은 Valine, Glutamic acid, Alanine, Tyrosine, Phenylalanine, Arginine, Leucine 등이 검출되었다. 필수 아미노산인 Threonine, Lysine, Methionine 등도 검출되었으며 Lysine은 체내조직의 합성에 유효하며, Methionine은 인지질 합성을 촉진해 간의 지방을 적절히 운반, 지방간이나 간경화를 예방하는 것으로 알려져 있다. 감칠맛을 내는 것으로 알려진 glutamic acid, 단맛을 나타내는 threonine, serine 및 glycine의 총량은 T-JJ가 104.157 mg/100 g, 42.855 mg/100 g, 69.715 mg/100 g, 53.035 mg/100 g으로 가장 높았으며 T-SJ가 48.212 mg/100 g, 16.707 mg/100 g, 28.338 mg/100 g, 24.963 mg/100 g으로 가장 낮은 값을 나타내었다. 단맛과 쓴맛을 동시에 나타내는 proline과 methionine, 쓴맛을 나타내는 leucine, isocleucine, phenylalanine 및 arginine의 함량 역시 T-JJ가 가장 높고 T-SJ가 가장 낮은 값을 나타내었다. 또한 전통누룩 4종의 발효 7일째 아미노산 함량은 발효 1일째와 비교하여 2배 증가하였지만 개량누룩의 차이는 미비한 것으로 나타났다. T-SJ를 제외한 전통제조 방식의 누룩을 이

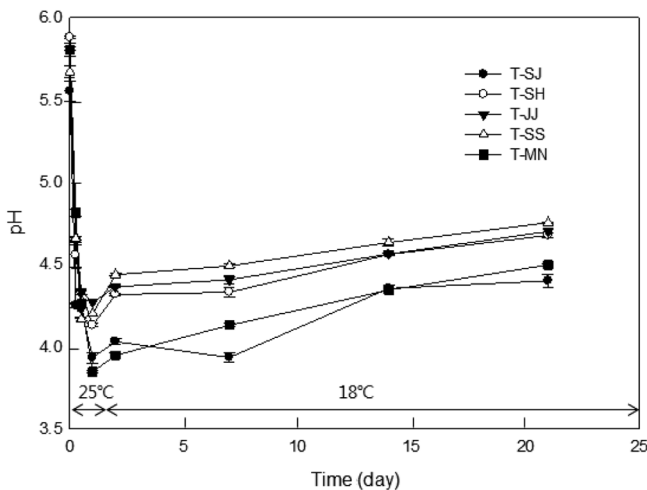
용하여 생산한 단양주에서는 인위적 균주접종을 하여 제조한 T-MN보다 다량의 아미노산이 생산되었는데 이는 전통누룩에서 기인하는 미생물의 다양성으로 인한 단백질 분해가 더 활발히 일어나는 것으로 판단된다. 가장 적은 양의 아미노산이 생산된 T-SJ의 경우는 SJ누룩제조 시 다른 누룩들과 달리 건조 및 숙성기간 없이 판매된다고 하는 보고가 있었는데(30) 이를 고려할 때 숙성기간이 적음에 따른 균주의 생육이 다른 전통방식보다 미생물의 다양성이 적었기 때문으로 판단된다(unpublished data). 이상의 결과를 종합한다면 숙성기간을 충분히 거친 누룩을 사용할 경우 일부 미생물만을 선별적으로 사용하여 제조한 발효주 보다 더 다양한 맛이나 향을 가진 전통주를 생산할 수 있을 것으로 보인다. 또한 이들 발효주들을 이용하여 증류주를 제조한다면 전통주류의 차별화 전략에도 효과적일 것으로 생각된다.

#### 유기산 함량

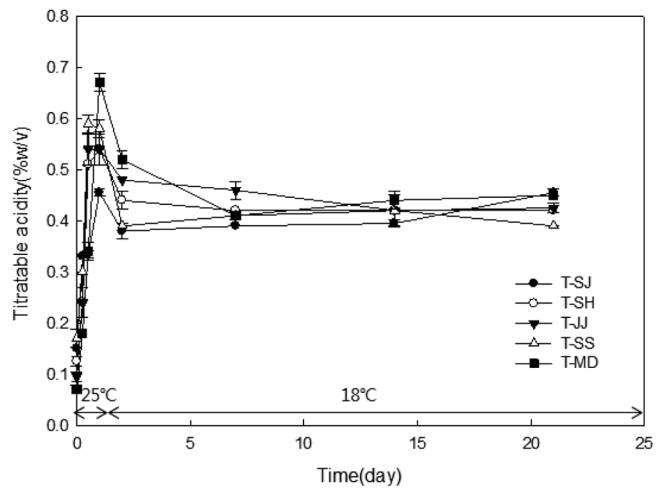
발효과정 중 모든 시료에서 탁주의 주요 유기산은 lactic acid, acetic acid, succinic acid, citric acid 함량 순으로 나타났으며 그

**Table 4. List of lactic acid bacteria isolated from SS nuruk**

Nuruk origin	Strain No.	Accession No.	Identified species	Similarity (%)
SS	SS1	JX402126.1	<i>Weissella sp.</i> Wikim SH005	98%
	SS2	AB671281.1	<i>Weissella sp.</i> A52	97%
	SS3	AB682328.1	<i>Weissella sp.</i> NBRC 106026	99%
	SS4	AB682568.1	<i>Weissella sp.</i> NBRC 107272	97%
	SS5	FJ611786.1	<i>Weissella sp.</i> PSMS4-4 16S	97%
	SS6	JX402125.1	<i>Weissella sp.</i> Wikim SH004	98%
	SS7	JX270774.1	<i>Lactobacillus sp.</i> PC-3 16S	97%
	SS8	JX134607.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99%
	SS9	HQ728334.1	<i>Lactobacillus sp.</i> SXVIII10	97%
	SS10	JN247633.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99%
	SS11	JN247629.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97%
	SS12	HQ293067.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97%
	SS13	HQ259237.1	<i>Lactobacillus sp.</i> 70811	98%
	SS14	AB510751.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97%
	SS15	JX545342.1	<i>Lactobacillus brevis</i>	99%
	SS16	JN247629.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97%
	SS17	AY383631.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97%
	SS18	JQ228531.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	98%
	SS19	JF268321.1	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	97%
	SS20	JQ046409.1	<i>Lactobacillus sp.</i> WX212	98%
	SS21	JQ013418.1	<i>Lactobacillus sp.</i> THK-W4	99%
	SS22	JX402126.1	<i>Weissella sp.</i> Wikim SH005	97%
	SS23	AB671281.1	<i>Weissella sp.</i> A52	97%
	SS24	GU138598.1	<i>Weissella cibaria</i>	98%
	SS25	AB510746.1	<i>Weissella cibaria</i>	97%
	SS26	GQ117000.1	<i>Weissella sp.</i> NTU-112	99%
	SS27	AB510745.1	<i>Weissella cibaria</i>	97%
	SS28	JX536122.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97%
	SS29	JN853602.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	98%
	SS30	JN128641.1	<i>Leuconostoc sp.</i> THK-W39	97%



**Fig. 3. pH changes of takju during fermentation.**



**Fig. 4. Titratable acidity changes of takju during fermentation.**

결과는 Table 6와 같다. Tartaric acid, malic acid, oxalic acid 모두 발효 완료 시점에서의 검출량이 60 mg/100 g 이하로 상대적으로 미량 검출되었다. Lactic acid의 경우 모든 탁주가 발효가 진행됨에 따라 증가하였으며 T-SS가 가장 높은 값인 1537.38 mg/100 g 으로 나타났다. 이는 탁주의 발효에 있어 젖산균의 생육의

증식을 나타내는 것으로 젖산균의 생육이 탁주의 유기산에 중요한 변수가 될 수 있음을 알 수 있다. Succinic acid의 경우 발효 완료시점에서 T-SS가 179.71 mg/100 g으로 가장 높게 나타났으며 T-SH가 134.68 mg/100 g으로 가장 낮게 나타났다. 발효 전 과정에서 증가하는 경향을 나타냈으며 이는 쌀누룩을 이용한 탁주발



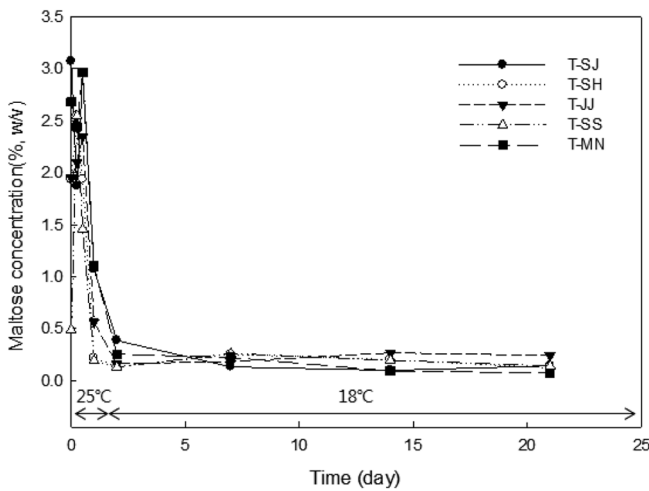


Fig. 5. Changes in maltose concentration of *takju* during fermentation.

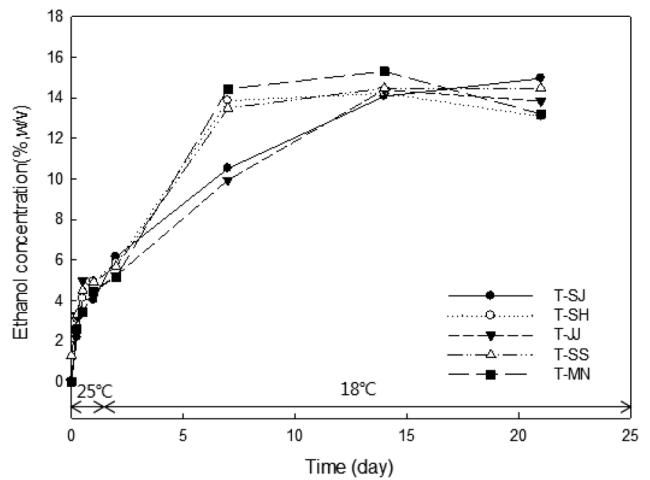


Fig. 7. Changes in ethanol concentration of *takju* during fermentation.

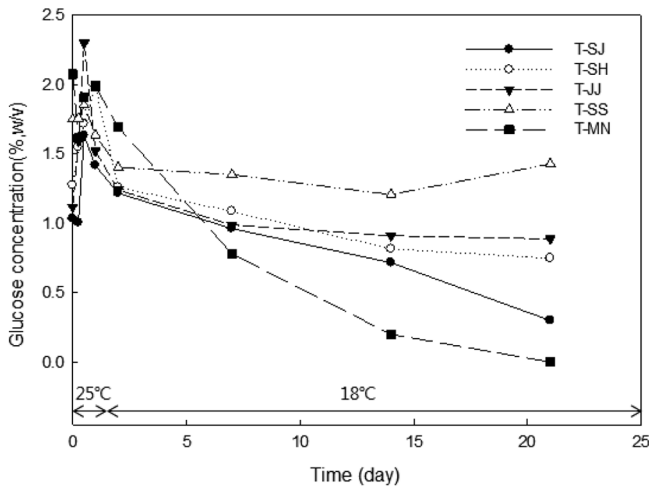


Fig. 6. Changes in glucose concentration of *takju* during fermentation.

효 특성에서 succinic acid의 함량이 발효기간 중 대체로 증가하는 경향을 보인 Lee(31)의 결과와 같은 결과이다. Citric acid의 경우 발효 1일까지 급격히 증가하다가 약간 감소했으며 발효완료 시점 까지 다시 증가하는 경향을 나타냈다. 유리아미노산과 더불어 유기산들은 술맛을 나타내는 중요한 성분 중 하나이며 각 유기산들이 적정량 존재할 경우 탁주의 맛과 향을 높이는 역할을 하지만 acetic acid가 다량 존재하게 되면 발효과정에서 오염되어 알코올성분의 산화로 인해 초산발효 단계로 진행되므로 주질을 저하시키는 요인이 된다. 본 연구에서의 acetic acid 함량은 발효 기간이 진행될수록 증가하는 경향을 나타내었으며 이는 Woo 등(32)의 연구에서 일부 탁주에서 500 mg/100 g 이상 검출된 결과 보다는 낮은 값으로써 안정된 발효가 일어난 것을 알 수 있다. Oxalic acid, tartaric acid는 전 발효 과정에서 검출되었으며 그 양은 미량이었다. 유기산 함량의 총량은 T-SS, T-JJ 가 2286.21 mg/100 g, 1983.5 mg/100 g 순으로 가장 높은 값을 나타내었으며 T-SJ의 총 함량은 1621.55 mg/100 g으로 아미노산 총 함량과 같이 가장 낮은 값을 나타내었다.

총균수, 총효모수, 총젖산균수

탁주 담금 후 측정된 일반 총세균수 결과는 Fig. 8과 같다. 발효과정 중 일반세균수의 경향은 시간이 지날수록 급격히 증가하다가 발효 1일에 감소하다 완만한 증가 후 발효가 끝나는 21일까지 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 1일째 생균수는 증가하여  $7.8 \times 10^7$ - $1.2 \times 10^8$  CFU/mL으로 나타난 후 발효 2일째엔 총균수가 감소하여  $1.7 \times 10^7$ - $5.1 \times 10^7$  CFU/mL으로 나타나고 발효 14일째 1 log cycle 정도 감소한 뒤 발효 21일에는 최저  $7.5 \times 10^5$  CFU/mL을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Seo 등(33)의 연구에서 담금 초기에  $4.5 \times 10^5$  CFU/mL이었으나 24시간 발효 후  $1.0 \times 10^9$  CFU/mL로 증가되고 그 후  $10^8$  CFU/mL 수준의 일반세균수가 측정되었다는 보고와 일치하는 경향을 나타내었다. 탁주 발효 과정 중 총 효모수의 측정 결과는 Fig. 9와 같다. 담금 초기에는  $1.6 \times 10^7$ - $4.9 \times 10^7$  CFU/mL을 나타내었고 발효 1일째까지 급격히 증가하다가 48시간에 약간 증가 후 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 Seo 등(33)의 연구에서 1일부터 총효모수가 증가하기 시작하여 12일까지 효모수가 증가하고 24일째부터 감소하였다는 보고와 유사한 결과이다. 효모수가 증가하다가 알코올 생성이 시작되는 24시간부터 감소하는 것으로 보아 안정적인 발효가 이루어졌음을 알 수 있다. SS와 SH로 제조한 T-SS와 T-SH의 초기 효모 균수가  $2.1 \times 10^7$  CFU/mL,  $2.4 \times 10^7$  CFU/mL 으로 가장 높은 결과값을 나타내었다. 발효 말기의 에탄올이 18-20%에 이르면 효모가 사멸하기 쉽고, 효모 균체가 자기소화에 의해서 아미노산이 증가하여 착색과 품질의 원인이 된다. 또한 초기 알코올 농도 10%까지는 효모수가 증식하였으나, 12%에서는 효모의 증식이 관찰되지 않아 생육한계의 초기 알코올 농도는 12% 정도로 보고되었다(34). 이는 본 실험에서 담금 후 7일째 효모의 수가 감소하는 경향을 나타내며 알코올 농도가 12% 증가하는 시점으로써 김의 결과와 일치하는 결과를 나타내었다. 탁주 발효 과정 중 총젖산균수 측정 결과는 Fig. 10과 같다. 담금 직후에는  $9.5 \times 10^4$ - $2.6 \times 10^5$  CFU/mL이었으며 24시간까지 젖산균 수가 증가하였다. 7일 이후에 감소하는 경향을 나타냈으며 발효가 끝난 21일에는  $1.2 \times 10^5$ - $5.3 \times 10^6$  CFU/mL로 나타났으며 시료간에 비슷한 경향을 나타내었다. 젖산균이 최대로 증가했을 때, pH는 감소하였고, 총산도는 증가하여 연관성을 유추할 수 있다. SS로 제조한 T-SS의

Table 5. Amino acid concentration of *takju* during fermentation

Sample	Time (day)	Amino acid (mg/100 g)													Total
		Valine	serine	Methio- nine	Glutami c acid	Lysine	Gly -cine	Ala -nine	Proline	Tyrosine	Phenyla -lanine	Arginine	Leucine	Isoleu- cine	
T-JJ	0	2.32	0.55	0.24	3.00	0.66	1.22	3.60	9.39	1.86	2.11	3.70	1.73	0.80	39.35
	1	11.26	5.69	2.91	24.23	7.87	6.31	21.15	26.55	7.95	7.89	23.40	11.95	4.92	201.58
	7	34.90	26.10	11.26	51.79	22.44	20.56	44.89	45.28	26.03	29.73	47.75	40.95	19.02	532.65
	21	79.89	69.72	26.77	104.2	59.29	53.04	96.35	85.86	61.74	69.10	99.26	98.68	48.72	1208.38
T-SS	0	2.32	0.55	0.24	3.00	0.66	1.22	3.60	9.39	1.86	2.11	3.70	1.73	0.80	39.35
	1	9.68	4.26	2.36	21.71	8.88	6.53	21.15	23.32	7.89	8.77	22.39	12.28	4.34	194.30
	7	28.69	20.84	9.52	43.18	22.27	17.16	43.16	35.44	23.53	27.30	34.44	38.69	16.70	458.94
	21	74.80	64.53	24.58	91.87	57.72	49.51	98.48	65.47	58.19	63.35	72.00	93.09	47.20	1100.24
T-SJ	0	2.32	0.55	0.24	3.00	0.66	1.22	3.60	9.39	1.86	2.11	3.70	1.73	0.80	39.35
	1	3.46	1.99	1.11	10.99	3.24	3.13	6.37	13.38	2.18	2.42	10.58	3.77	1.41	81.65
	7	8.37	4.35	1.99	19.73	10.01	7.84	20.28	22.02	8.49	8.26	21.20	10.41	3.69	195.26
	21	32.14	28.34	12.44	48.21	26.75	24.96	47.51	38.46	28.09	31.53	50.66	42.79	18.62	567.18
T-SH	0	2.32	0.55	0.24	3.00	0.66	1.22	3.60	9.39	1.86	2.11	3.70	1.73	0.80	39.35
	1	6.43	3.29	1.62	17.80	5.61	4.93	13.78	20.76	3.96	4.04	15.28	6.45	2.53	134.62
	7	23.06	16.08	6.43	34.72	17.85	14.17	34.09	36.25	18.80	20.76	28.21	30.18	12.58	373.71
	21	71.18	62.89	23.38	83.45	54.60	48.33	91.26	74.80	55.77	60.75	67.93	89.53	45.44	1061.37
T-MN	0	1.34	0.26	0.20	1.27	0.12	0.65	1.86	1.62	1.16	1.41	0.61	1.09	0.48	16.25
	1	10.39	5.02	2.05	18.54	6.30	7.46	19.81	12.32	7.10	7.43	28.19	10.96	4.85	177.80
	7	8.82	3.40	1.75	19.55	10.47	9.01	18.84	22.89	8.79	8.31	30.57	10.83	3.63	201.65
	21	47.61	44.30	17.48	73.23	39.08	37.02	64.44	48.04	42.96	49.31	75.06	65.70	27.08	814.48

Table 6. Organic acid concentration of *takju* during fermentation

Sample	Time (day)	Organic acid (mg/100 g)							Total
		Oxalic acid	Citric acid	Tartaric acid	Malic acid	Succinic acid	Lactic acid	Acetic acid	
T-JJ	0	14.10	29.92	15.08	41.07	49.72	95.03	50.31	295.23
	1	7.12	77.01	36.46	57.98	127.03	361.04	267.78	934.42
	7	6.21	58.03	8.98	43.38	123.21	762.26	278.71	1280.78
	21	6.02	76.90	16.73	45.79	166.38	1306.40	365.28	1983.50
T-SS	0	14.10	29.92	15.08	41.07	49.72	95.03	50.31	295.23
	1	4.25	88.06	37.22	30.12	106.71	398.59	185.59	850.54
	7	4.28	72.56	39.81	36.72	103.31	981.74	219.57	1457.99
	21	4.43	94.19	41.92	53.98	179.71	1537.38	374.60	2286.21
T-SJ	0	14.10	29.92	15.08	41.07	49.72	95.03	50.31	295.23
	1	5.73	85.37	35.95	72.88	132.35	202.90	259.26	794.44
	7	5.38	62.37	30.92	55.26	150.19	415.19	296.60	1015.91
	21	5.22	81.29	29.28	77.90	146.94	907.29	373.63	1621.55
T-SH	0	14.10	29.92	15.08	41.07	49.72	95.03	50.31	295.23
	1	4.79	68.88	47.85	44.35	125.71	210.53	243.51	745.62
	7	5.55	54.59	34.84	73.84	126.59	588.07	253.88	1137.36
	21	4.12	71.22	30.25	39.25	134.68	1102.65	300.67	1682.84
T-MN	0	14.10	29.92	15.08	41.07	49.72	95.03	50.31	295.23
	1	5.88	54.66	38.75	53.81	109.96	199.11	175.50	637.67
	7	4.43	44.45	14.90	60.19	92.78	489.66	247.23	953.64
	21	4.01	50.81	22.68	41.61	141.96	1230.31	346.15	1837.53

초기 젖산균수가  $2.6 \times 10^5$  CFU/mL 로 가장 높은 것을 알 수 있다. So 등(35)의 보고에 따르면 전통누룩으로 탁주를 담금하였을 때 발효 2일에 최고치를 보인 후 서서히 감소하였지만 8일까지

도 그 수가 매우 높았다는 결과와 비슷한 경향을 보였으나, 개량누룩(MN)을 사용하였을 때 3일 이후에 급격히 사멸하여 4일 이후에는 검출되지 않았다는 결과와는 다른 결과를 나타내었다.

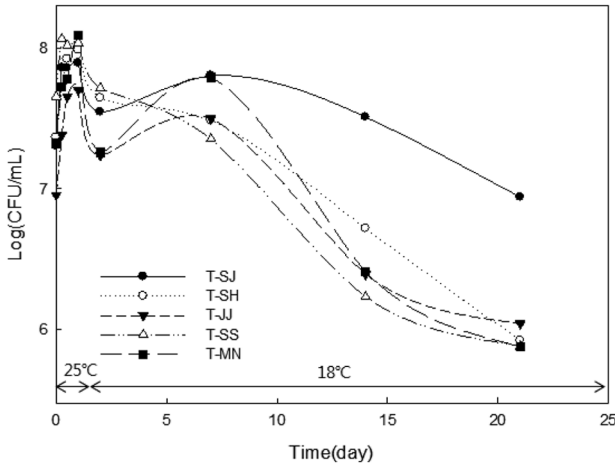


Fig. 8. Changes in total viable cell counts of *takju* during fermentation.

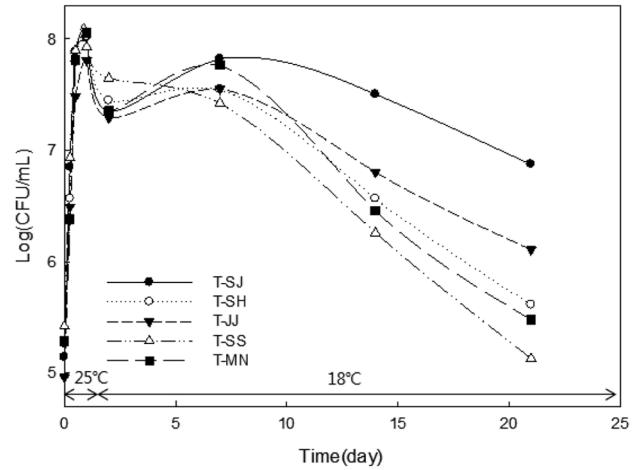


Fig. 10. Changes in lactic acid bacteria cell counts of *takju* during fermentation.

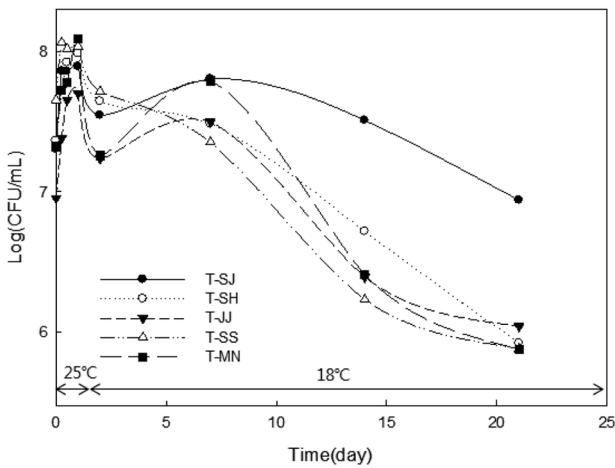


Fig. 9. Changes in yeast cell counts of *takju* during fermentation.

과 같은 과일향을 내며, 데카노익산에틸에스터(Decanoic acid ethyl ester; Ethyl caparate)는 달고, 오일-넛 유사향의 특성이 있어 다량 존재하면 과일 향을 내면서도 부드러운 바디감을 주는 것으로 알려져 있다(36). 이는 차후 각 시판누룩으로 제조된 발효주에 대한 관능적 특성과 향미성분물질의 분석을 통해 더 연구되어질 수 있을 것으로 보인다. 구수한 향은 모든 시료 간에 유의적 차이가 나타나지 않았으며 누룩향은 T-SS가 가장 높은 값을 나타내고 MN이 유의적으로 가장 낮은 값을 나타내었다. 단맛은 T-SS가 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었고 MN의 값이 가장 낮았다. 신맛은 T-MN이 가장 높았으며 JJ가 유의적으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 곡물맛은 SS의 값이 유의적으로 가장 높았으며 T-JJ, T-SJ가 유의적으로 가장 낮은 값을 나타내었으며 알코올맛과 쓴맛은 시료 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 알코올맛과 쓴맛은 관능특성 중 가장 높은 값을 나타내며 높은 양의 상관관계를 나타내었는데 실제 시료의 알코올을 수준이 높을수록 쓴맛의 관능특성도 강하게 자극되어 높은 강도로 평가되는 것으로 나타났다.

관능검사

각 누룩을 달리하여 제조한 탁주의 관능검사에 대한 결과는 Table 7과 같다. 과일향은 T-SH가 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었으며 나머지 시료에서는 유의적인 차이가 없었다. 대부분 바나나, 사과, 파인애플 등과 같은 과일향을 띠는 물질들은 대체적으로 ester류의 향기물질로 알려져 있는데, 예를 들면 에틸 카프릴레이트(ethyl caprylate)의 경우는 살구, 바나나, 파인애플 등

요약

본 연구는 일반 개량누룩 1종류(MN)와 시판되고 전통제조방식으로 제조된 4종류의 전통누룩(SH, SS, JJ, and SJ)을 구입하여 단양주를 제조하고 이들 단양주의 발효특성을 비교 분석하고자 하였다. 각 누룩으로 제조한 탁주의 pH는 담금 직후부터 24시간 까지 급격히 감소하는 경향을 보였고, 적정산도는 급격히 증가하

Table 7. Profile of sensory characteristics of *takju*<sup>2)</sup>

Sensory characteristic <sup>1)</sup>	T-JJ	T-SS	T-SJ	T-SH	T-MN	F-value
Fruit aroma	4.44 <sup>b3)</sup>	5.00 <sup>b</sup>	4.50 <sup>b</sup>	6.72 <sup>a</sup>	5.17 <sup>b</sup>	4.252**
Grain aroma	5.78 <sup>a</sup>	5.39 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	6.06 <sup>a</sup>	5.83 <sup>a</sup>	0.515*
Nuruk aroma	5.11 <sup>ab</sup>	6.11 <sup>a</sup>	5.39 <sup>ab</sup>	5.33 <sup>ab</sup>	4.61 <sup>b</sup>	1.551*
Sweet taste	4.00 <sup>ab</sup>	4.50 <sup>a</sup>	4.06 <sup>ab</sup>	4.22 <sup>ab</sup>	3.17 <sup>b</sup>	1.996*
Bitter taste	6.61 <sup>a</sup>	6.83 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	6.78 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	2.909**
Sour taste	4.38 <sup>b</sup>	4.44 <sup>b</sup>	5.00 <sup>ab</sup>	4.50 <sup>b</sup>	6.39 <sup>a</sup>	2.106*
Grain taste	5.56 <sup>b</sup>	6.94 <sup>a</sup>	5.61 <sup>b</sup>	6.17 <sup>ab</sup>	5.78 <sup>ab</sup>	4.259**
Alcohol taste	7.56 <sup>a</sup>	6.94 <sup>a</sup>	7.22 <sup>a</sup>	7.06 <sup>a</sup>	5.56 <sup>b</sup>	0.416*

<sup>1)</sup>9 point scale (1: very weak, 5: normal, 9: very strong)

<sup>2)</sup>Mean, \* $p < 0.05$  \*\* $p < 0.01$  \*\*\* $p < 0.001$

<sup>3)</sup>Means in a column by different superscripts are significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test.

였다. Maltose 함량은 담금 직후에는 0.49-2.68% (w/v)였고, glucose의 함량은 1.03-2.07% (w/v)으로 나타났다. T-SH와 T-SS의 ethanol 함량이 7일까지 높은 경향을 나타내었다. 전체적인 ethanol의 함량은 12시간부터 ethanol의 함량이 증가하기 시작했으며, 발효 7일부터 21일까지 13.08-14.96% (w/v)로 유지되었다. 발효과정 중 유리아미노산 함량 분석 결과 glutamic acid, threonine, serine과 glycine 함량을 각각 T-JJ은 104.157, 42.855, 69.715, and 53.035 mg/100 g으로 가장 높았다. 탁주 유기산으로 lactic acid, citric acid, succinic acid, acetic acid가 주요 유기산으로 나타났으며 유기산총량은 T-SS, T-JJ 가 2286.21 mg/100 g, 1983.5 mg/100 g 순으로 가장 높은 값을 나타냈다. 총균수, 젖산균수, 효모수 모두 시간이 지날수록 급격히 증가하다가 발효 1일에 감소하다 완만한 증가 후 발효가 끝나는 21일까지 점차 감소하는 비슷한 경향을 나타내었다. 관능검사결과 과일향은 T-SH, 단맛은 T-SS, 신맛은 T-SS가 가장 높았으며 알코올향, 알코올맛, 쓴맛은 시료간 유의적으로 차이가 나타나지 않았다. 따라서 대체적으로 전통누룩으로 담근 탁주의 아미노산 함량과 유기산 함량이 개량누룩으로 담근 탁주의 아미노산 함량보다 높은 것으로 보아 전통누룩으로 담근 탁주의 다양성에 대한 잠재력을 확인할 수 있었다. 또한 각 누룩들의 젖산균을 분리동정하였는데 분리된 균들은 대체적으로 *Leuconostoc*, *Weissella*, *Pediococcus*과 *Lactobacillus*속에 속하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 한식세계화사업(한식우수성·기능성 연구) 용역연구과제의 연구비 지원(11-1541000-001766-01)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## References

- Choi GI, Kim HJ, Kim HJ, Kim HR, Kim DH, Ahn JS, Son YG, Song IH. Changes of organic acids in *takju* during storage conditions. *J. Fd. Hyg. Safety* 27: 127-132 (2012)
- Kwon SJ, Ahn TY, Sohn JH. Analysis of microbial diversity in *makgeolli* fermentation using PCR-DGGE. *J. Life Sci.* 22: 232-238 (2012)
- Kim IH, Park WS, Koo YJ. Comparison of fermentation characteristics of Korean traditional alcoholic beverages prepared by different brewing methods and their quality changes after aging. *Korean J. Dietary Culture* 11: 497-506 (1996)
- Park JH. A study of flavor and chemical compounds in *takju* with *koji* mold selected in traditional *nuruk*. MS thesis. Konkuk University, Seoul, Korea (2001)
- Jeong SC, Yu MJ, Cho YK, Lee SJ. Characteristics of traditional wine-*koji* and isolation of fungi. *J. Natural Sci.* 13: 73-82 (2003)
- Lee DY. The ecological studies on *Aspergillus kawachii* Kitahara. *Korean J. Microbiol.* 6: 113-121 (1968)
- So MH. Characteristics of a modified *nuruk* made by inoculation of traditional *nuruk* microorganism. *Korean J. Food Nutr.* 12: 219-225 (1999)
- Choi SH, Kim OK, Lee MH. A study on the gas chromatographic analysis of alcohols and organic acids *takju* fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24: 272-278 (1992)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using different *nuruks*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 563-570 (1997)
- Lee WK, Kim JR, Lee MH. Studies on the changes in free amino acids and organic acids of *takju* prepared with different *koji* strains. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 30: 323-327 (1987)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different *nuruk* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 555-562 (1997)
- So MH. Improvement in the quality of *takju* by the combined use of *Aspergillus kawachii* and *Aspergillus oryzae*. *Korean J. Food Nutr.* 4: 115-124 (1991)
- Kim EM, Yu AR. A literature review on the culinary characteristics of *Zubangmoon*. *Korean J. Food Cookery Sci.* 28: 675-693 (2012)
- Lee SJ, Ahn BH. Sensory profiling of rice wines made with *nuruks* using different ingredients. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 119-123 (2010)
- Jeong JW, Park KJ, Kim MH, Kim DS. Quality characteristics of *takju* fermentation by addition of chestnut peel powder. *Korean J. Food Preserv.* 13: 329-336 (2006)
- Luchsinger WW, Cornesky RA. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method. *Anal. Biochem.* 4: 346-347 (1962)
- Jo KY, Ha DM. Isolation and identification of the lactic acid bacteria from *nuruk*. *Agric. Chem. Biotechnol.* 38: 95-99 (1995)
- Lee JH, Yu TS. Identification and characteristics of lactic acid bacteria isolated from *nuruk*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 359-365 (2000)
- Kim TH. Microbial diversity analysis of *makgeolli* and *nuruk*. MS thesis, Paichai University, Daejeon, Korea (2011)
- Kwon SJ. Analysis of microbial diversity in *makgeolli* fermentation. MS thesis, Dankook University, Cheonan, Korea (2010)
- Park SH, Lim SI. Quality Characteristics of muffin added red yeast rice flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 272-275 (2007)
- Kim HR, Jo SJ, Lee SJ, Ahn BH. Physicochemical and sensory characterization of a Korean traditional rice wine prepared from different ingredients. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 551-557 (2008)
- Yu CH, Hong SY, Koh JS. Zymological properties of foxtail millet wine-making by isolated strains from *nuruk*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 138-144 (2002)
- Jung W. Characteristic of traditional *nuruk* ratio on the fermentation and quality of germinated brown rice *takju*. MS thesis. Kyungpook National University, Deagu, Korea (2011)
- Yu HN. Fermentation characteristics of *yeonip* (Lotus leaf) *takju*. MS thesis, Sejong University, Seoul, Korea (2011)
- Kang TY, Oh GH, Kim K. Isolation and identification of yeast strains producing high concentration of ethanol with high viability. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28: 309-315 (2000)
- Chung DH. Fermentation and microbial technology. Sunjin Munhwa, Seoul, Korea, pp. 228-275 (1974)
- Lee DS. Analysis of nutritive elements of a local *makgeolli*. MS thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea (2008)
- Shon SK, Rho YH, Kim HJ, Bae SM. *Takju* brewing of uncooked rice starch using *Rhizopus koji*. *Korean J Appl. Microbiol. Biotech.* 18: 506-510 (1990)
- Yu TS, Yu HY. Traditional Korean fermenter, *nuruk* of original form and excellency. Korean Society for Biotechnology and Bioengineering and World Science Co., Ltd. Seoul, Korea. pp. 64-94 (2011)
- Lee HS. Quality characteristics of *takju* using rice *nuruk* during fermentation. MS thesis, Seoul Women's University, Seoul, Korea (2000)
- Woo SM, Shin JS, Seong JH, Yeo SH, Choi JH, Kim TY, Jeong YJ. Quality characteristics of brown rice *takju* by different *nuruk*. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 301-307 (2010)
- Seo MY, Lee JK, Ahn BH, Cha SK. The changes of microflora during the fermentation of *takju* and *yakju*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 61-66 (2005)
- Lee HS, Park CS, Choi JY. Quality characteristics of the mashes of *takju* prepared using different yeasts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 56-62 (2010)
- So MH, Lee YS, Noh WS. Changes in microorganism and main components during *takju* brewing by a modified *nuruk*. *Korean J. Food Nutr.* 12: 226-232 (1999)
- Ahn BH, Kim JH. *Saccharomyces cerevisiae* 90-1 (KCTC11813BP) and the rice wines prepared with the yeast. Korea Patent No. 10-1199545 (2012)