

유기산 첨가 발효가 쌀 증류식 소주의 양조특성에 미치는 영향

최한석* · 김유진 · 강지은 · 여수환 · 정석태 · 김찬우
국립농업과학원 발효식품과

Effect of Organic Acids Addition to Fermentation on the Brewing Characteristics of *Soju* Distilled from Rice

Han-Seok Choi*, Eu-Gen Kim, Ji-Eun Kang, Soo-Hwan Yeo, Seok-Tae Jeong, and Chan-Woo Kim
Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, RDA

Abstract Following supplementation with organic acids (acetic, citric, and lactic acids), the pH of the alcohol mash changed from 4.2 control to 3.73-3.97 supplemented, the acidity from 5.06 to 8.13-9.98, and the alcohol content from 17.8 to 17.0-17.8%. Protease activity decreased owing to the pH change, and the total nitrogen content decreased by 13.1-36.9% following organic acid supplementation. Organic acid supplementation did not affect the distillation efficiency; however, thiobarbituric acid values in the crude distillate (40%) decreased 2.2-3.6 fold following supplementation with citric acid and lactic acid. The total isobutanol (B), isoamyl alcohol (A), and 1-propanol (P) contents in each *soju* (25%) supplemented with organic acid were 1,041.47, 979.50, and 961.48 ppm, respectively, which were higher than those in the control *soju* (935.27 ppm). The A/P, A/B, and B/P ratios of *soju* were altered and the acetaldehyde content decreased following supplementation with the organic acid.

Keywords: *soju*, organic acid, *muruk*, distilled liquor, brewing

서 론

경제성장과 더불어 소비자의 요구가 다양해지고 자유무역협정에 의한 관세철폐와 규제완화 등이 복합적으로 작용하면서 증류수입량이 2009년 10.2 천kL에서 2011년 12.5 천kL, 2013년 17.3 천kL로 해마다 크게 증가하고 있다(1). 수입액은 동년 기준 384, 470, 522백만달러로 증가하였으며 증류주의 비중은 58, 55, 45%로 높은 수준으로 유지되고 있다(1). 이러한 이유는 1991년 증류수입개방 이후 고급 증류주 시장을 외국 유명 위스키, 코냑, 브랜디 회사에 내주었던 것이 현재 까지도 경쟁력을 갖추지 못하고 이어지고 있기 때문으로 생각된다. 2012년 국내생산량은 위스키와 브랜디를 합해 1.3 천kL로(2) 수입량의 약 1/30밖에(1) 되지 않는다. 최근에는 일본식 어묵바 등이 인기를 끌면서 증류식 소주의 수입량이 2009년 83.2 kL에서 2013년 139.5 kL로 급속히 증가하고 있다(1). 증류주는 증류와 숙성과정을 거치면서 다양한 변화가 일어나기 때문에 발효 이외에 증류와 숙성기술도 요구되고 있으나 우리나라에서는 아직 많은 부분이 미진한 실정이다.

우리나라 증류식 소주의 제법은 동의보감(1611)을 비롯하여 지

봉유설(1613), 음식디미방(1670경), 주방문(1600말) 등 1800년대 중반까지 다양한 문헌에 소개되어 있다(3). 그러나 일제의 주세법으로 1916년부터 주막이나 식당 등에서 증류제조가 금지되었고 양조장이 통제되면서 누룩소주가 사라지게 되었으며(4), 1965년 양곡관리법이 시행되면서 증류식 소주 대신 희석식 소주가 만 들어지기 시작하였다. 이 후 1991년부터 증류식 소주의 생산이 가능하게 되었으나 지난 30년간 기술력을 갖추지 못했던 증류식 소주는 높아진 소비자의 기대에 부응하지 못하였고 2012년 192 kL의 낮은 소비량(5)을 보이고 있다. 사회가 고도화되어가면서 소비자들은 더욱 다양한 세계의 증류를 접하게 될 것이기 때문에 우리의 경쟁력을 높이려는 노력이 없으면 국내 증류주 및 연관산업의 어려움은 더욱 커질 것으로 예상되지만 1970년대부터 지금까지의 증류식 소주에 대한 연구보고로는 향기성분의 조성, 숙성과정 중의 성분변화, 상압과 감압증류에 따른 특성의 차이, 증류공정 중 유기산의 에스터화 등 20편(6) 정도에 그치고 있다.

증류식 소주제조에 있어 술덧의 산도는 품질에 중요한 요소로 산도를 증가시키면 잡균의 오염을 방지하고 향을 증가시킬 수 있는 것으로 생각되고 있다(7,8). 일본 증류식 소주에는 citric acid 생성량이 많은 백국균(*Aspergillus luchuensis*)과 흑국균(*A. awamori*)으로 제조한 발효제를 이용해왔고(9) 브랜디제조에는 총산함량이 0.8-1.0%이상인 Ugni blanc 포도품종을 원료로 사용해오고 있다(7). 우리나라에서도 양조용 중국으로 백국이 판매되고 있으나 입국제조에는 장비와 기술이 필요하기 때문에 증소기업에 적용하기에는 어려움이 있다. 따라서 비교적 사용하기 용이한 개량누룩과 시판용 효모를 이용하되 유기산을 첨가하여 술덧의 산도를 높임으로써 소주의 품질을 개선하고자 하였다.

*Corresponding author: Han-Seok Choi, Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, Wanju, Jeonbuk 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3618
Fax: 82-63-238-3843
E-mail: coldstone@korea.kr
Received May 11, 2015; revised July 24, 2015;
accepted August 4, 2015

재료 및 방법

시험재료

쌀은 강원도 철원군 갈말농협미곡종합처리장에서 생산된 오대벼품종을 사용하였다. 개량누룩은 주식회사 한국효소(Hwaseong, Korea)에서 구입하여 사용하였고 효모는 라빠리장(S.I. Lesaffre Co., Marcq-en-Barœul, France)을 사용하였다.

프로테이스(protease) 활성

조효소 추출은 주류분석규정(10)에 따라 누룩 10 g에 1% NaCl 용액 200 mL를 첨가한 후 30°C에서 3시간 추출한 다음 여과(filter paper No. 2, Advantec Co., Tokyo, Japan)하였다. 효소활성은 탈지우유판(skim milk plate)을 사용하였다. 0.1 M citrate-phosphate buffer 50 mL에 1.2%의 agar와 1.0% 탈지우유(Becton Dickinson Co., Bergen County, NJ, USA)를 첨가하고, 수욕 상에서 녹인 다음 유리판(18 cm×16 cm×3 mm)에 채워 굳힌 후, 직경이 4 mm 되도록 구멍을 뚫어 플레이트(plate)를 제작하였다. 조효소 10 µL를 플레이트에 점적하고, 30°C에서 12시간 동안 반응시킨 다음 clear zone의 직경을 측정하였다. 완충용액은 pH 3.0에서 7.0까지 0.5단위씩 증가시키면서 제조하였고 효소 활성은 최대 활성 구간 대비 상대적인 활성으로 표현하였다.

술덧제조

백미 2 kg을 10회 이상 깨끗하게 씻어 1시간 동안 수침한 다음, 2시간 동안 물빼기를 수행하였다. 쌀을 증자기(MS-30, Yaegaki Food & System Inc., Himeji, Japan)에 넣고 1시간 동안 증기를 가해 고두밥을 제조하였다. 여기에 물 3 L, 개량누룩 80 g, 효모 10 g을 넣어 25°C 배양기(VS-1203PFHLN, Vision Scientific Co., Daejeon, Korea)에서 48시간 동안 발효하여 주모를 제조하였다. 쌀 12 kg을 주모제조와 동일한 방법으로 고두밥을 만들고 백미 3 kg에 상당량인 4,015 g씩 무게를 달아 발효용기에 넣었다. 각각의 용기에 개량누룩 60 g, 물 4.0 L, 주모 375 mL (술덧양의 5.0%, v/v)를 순차적으로 넣고 25°C에서 14일간 발효한 후 80 메시(mesh)로 여과하여 소주제조용 술덧으로 사용하였다. 유기산에 의한 발효초기 효모의 증식억제를 방지하기 위하여 각 유기산은(acetic, citric, lactic acid, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 발효 48시간째 첨가되었다. 첨가방법은 각 유기산을 술덧양의 0.3% (w/v)되게 무게를 측정한 후 500 mL의 물에 녹인 다음 술덧을 잘 저어주면서 소량씩 첨가하였다.

증류

증류는 alambic 구리 증류기를 변형하여 제작한(Fig. 1) 대우기계사(Seoul, Korea)의 상압 단식 증류기를 사용하여 수행하였다. 술덧 6 L를 증류기에 넣고 증류시작 후 30-35분에 첫 증류액이 나오기 시작하여 분당 30 mL의 속도로 증류액이 유출되는 조건으로 하였다. 증류액은 별도로 분획하지 않고 처음 증류액이 떨어지기 시작하면서부터 받기 시작하여 증류액의 알코올 함량이 40%될 때까지 하였다. 냉각수는 지하수를 사용하였고 증류액은 유리병에 담아 암소(상온)에서 보관하였다가 1개월 후에 증류수로 알코올 함량이 25% 되게 희석하여 소주를 제조하였다.

이화학성분

pH는 pH 미터(meter) (Thermo Scientific Co., Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 산도, 아미노산도, 알코올 함량은 주류분석 규정(10)에 준하여 측정하였으며, 산도는 시료 10 mL를

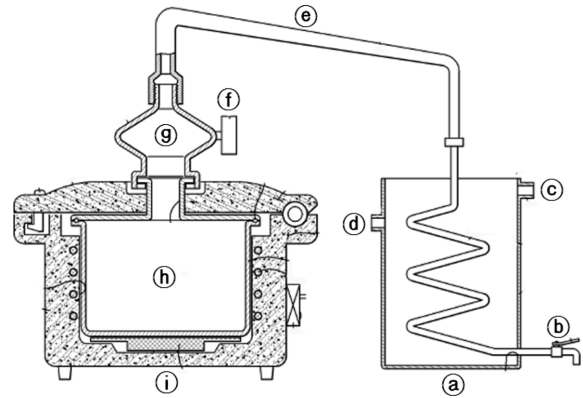


Fig. 1. Pot distillation unit. a: Condenser; b: Outlet valve; c: Cooling water inlet; d: Cooling water outlet; e: Swan's neck; f: Thermometer; g: Header chamber; h: Mash tank; i: Electric heater (a-e and g: copper material)

중화시키는데 필요한 0.1 N NaOH 용액이 소비된 mL수로, 아미노산도는 총산을 측정한 시료에 formalin 용액 5 mL를 첨가한 다음 0.1 N NaOH로 적정한 값으로 나타내었다. 휘발산은 알코올 함량 측정을 위해 증류한 액 30 mL를 0.01 N NaOH로 적정한 값을 acetic acid 함량으로 환산하여 표시하였다. 가용성 고형분 함량은 굴절당도계(Atago Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. Thiobarbituric acid (TBA) 값은 시료 증류액 10 mL에 0.5% 2-thiobarbituric acid (Sigma-Aldrich Co.)를 함유한 50% 에탄올 2 mL를 첨가한 다음 70°C에서 40분간 가열발색한 후 냉각하여 530 nm에서 흡광도를 측정한 후 1000을 곱한 값으로 표시하였다(11). 이때 대조구는 시료 대신 증류수를 사용하였다.

유기산

유기산은 펌프(pump)가 2개로 구성된 High performance liquid chromatography (HPLC, LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 post column방법으로 분석하였다. 유기산 분석용 컬럼(column)은 Shodex Rspack KC-G (6.0×50.0 mm) guard column에 RSpak KC-811 (8.0×300 mm, Showa Denko Co., Tokyo, Japan) 2개를 연결하여 사용하였다. 펌프 A의 이동상은 3 mM perchloric acid를 이용하였으며, 유속(flow rate)은 0.8 mL/분, column oven의 온도는 63°C로 하였다. 컬럼을 통과해 나온 분리물은 펌프 B의 이동상(0.2 mM bromothymol blue, 15 mM Na₂HPO₄, 2 mM NaOH)과 반응(30°C)한 후 UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 pump B의 flow rate는 1.0 mL/분으로 하였다. 시료는 여과(0.2 µm, Millipore Co., Cork, Ireland)후 사용하였다.

질소화합물

질소화합물은 아미노산 자동분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 분석하였다. 시료 5 mL에 5% trichloroacetic acid 5 mL를 첨가한 후 원심분리(4°C, 12,000×g, 15분)하였다. 상등액을 회수한 다음 0.02 N HCl로 5배 희석하고 여과(0.2 µm, Millipore Co.)하여 분석하였으며, 분석조건은 제조사의 매뉴얼을 따랐다(12).

휘발성분

휘발성 향기성분은 Gas chromatography (GC, GC2010, Shimadzu Co.)를 사용하여 분석하였다. 분석용 column은 HP-INNOWAX (60 m×0.25 mm I.d.× 0.25 µm film thickness, J&W Scientific,

Agilent Co., Folsom, CA, USA)를 사용하였으며 Flame ionization detector (FID)로 검출하였다. Column oven의 온도는 45°C (5분 holding), 5°C/분 승온, 100°C (5분), 10°C/분 승온, 200°C (10분)로 프로그램 하였다. 운반가스(carrier gas)는 질소가스를 이용하였으며 유속은 22.0 cm/초(linear velocity), split ratio는 50:1로 설정하였고 주입기의 온도는 250°C, 검출기의 온도는 280°C로 하였다. 시료는 여과(0.2 µm, Millipore Co.)한 다음 바로 주입하였다.

관능평가

유기산을 첨가하여 제조된 증류주의 관능평가를 위하여 전통주 관능평가 경험이 있고 증류주에 친숙한 국립농업과학원 연구원 11명을 패널로 선정하였다. 알코올 농도가 25%로 조절된 증류식 소주의 향, 맛, 전반적기호도에 대하여 7점 척도로 평가를 하였고 각 소주의 특징에 대하여 묘사분석을 수행한 후 대표적인 특징을 찾아내었다.

통계

통계처리는 유의수준 5% ($p < 0.05$)로 설정하여 일원배치분산분석을 하였으며 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA) 프로그램을 사용하였다.

결과 및 고찰

술덧의 일반 특성

유기산 첨가에 따른 증류식 소주용 술덧의 일반성분 변화를 살펴본 결과(Table 1) pH는 4.2에서 3.73-3.97로 낮아진 반면 산도는 5.06에서 8.13-9.98로 증가하였다. 아미노산도는 2.56에서 2.27-2.34로 소폭 감소하였고 휘발산은 66.0에서 89.6-124.8 ppm으로

증가하였다. 고형분 함량은 13.5-14.4°Bx 범위를 보였으며, 알코올 함량은 acetic acid, citric acid, lactic acid 첨가구에서 각각 17.0, 17.8, 17.6%로 대조구 17.8%에 비하여 acetic acid와 lactic acid 첨가구에서 소폭 감소되는 것으로 확인되었다. 백국을 사용하여 제조된 쌀 입국(코지)의 산도가 6.0-7.0 사이이므로(13) 입국 100 g당 1.94-2.24 g의 citric acid가 함유되어 있는 것으로 계산된다. 일본 증류식소주의 제조에는 입국, 백미, 물의 비율을 100:200:480의 비율로 사용하고 증미의 수분함량을 35% 내외로 조절하는 것이 일반적이므로(14) 술덧 1,000 mL당 사용되는 입국 양은 약 118 g이 되고 입국을 통해서 첨가되는 산 함량은 0.23-0.26%가 된다. 따라서 본 시험의 유기산 첨가 조건과 유사하다고 할 수 있다. 발효가 완료된 일본 소주용 술덧의 pH는 3.9-4.2 이고 산도는 6-9의 범위로(15) 소폭의 차이는 있지만 위의 결과와 비교적 유사한 것으로 나타났다. 그러나 일본 양조협회 소주용 효모인 S-2균주를 이용한 술덧의 알코올 함량은 18.5-18.7%로(16) 라삐리장의 경우 보다 높은 알코올 생산성을 보였다. 유기산 첨가구의 알코올 농도는 대조구와 유사하여 라삐리장 효모는 0.3%의 acetic, citric, lactic acid 첨가조건 에서도 알코올 생산이 크게 낮아지지는 않았다. 그러나 0.5%를 첨가한 경우 알코올 농도는 각각 14.8, 16.9, 17.3% (data not shown)로 acetic과 citric acid가 알코올 생산성에 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 술덧 제조 방법에 있어 2단 담금 이상의 중앙담금법을 사용하는 경우 1단 담금은 잡균번식을 방지하기 위해서 입국에 120-130%의 물만 첨가하여 발효시키기 때문에(14) 술덧의 산도는 20-30까지 상승하게 되며, pH는 3.2-3.5의 범위로 된다(15). 이러한 경우 현재 산업에서 사용하고 있는 라삐리장 효모는 알코올 생산성이 낮아지는 문제가 있을 수 있기 때문에 증류식 소주에 적합한 효모의 육종도 필요하다고 생각된다.

Table 1. General components of the alcohol mash fermented by supplementation with organic acids

Samples	pH	Acidity	Amino acidity	Volatile acid (ppm)	Soluble solid (°Brix)	Alcohol (%)
Control	4.29±0.33 ^a	5.06±0.28 ^c	2.56±0.05 ^a	66.0±6.5 ^c	13.5±0.4 ^a	17.8±0.8 ^a
Acetic	3.97±0.22 ^{ab}	9.98±0.62 ^a	2.32±0.03 ^b	124.8±13.7 ^a	14.4±0.6 ^a	17.0±0.9 ^a
Citric	3.74±0.18 ^b	8.73±0.55 ^b	2.27±0.05 ^b	98.0±6.2 ^b	13.5±0.6 ^a	17.8±0.9 ^a
Lactic	3.73±0.19 ^b	8.13±0.44 ^b	2.34±0.05 ^b	89.6±6.9 ^b	14.3±0.3 ^a	17.6±0.8 ^a

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$. The control mash was fermented without supplementation. Acetic, citric, or lactic acid was added to the mashes assigned to the supplementation group on the second day of fermentation to achieve a final concentration of 0.3% (w/v).

Table 2. Organic acid content of the alcohol mash fermented by supplementation with organic acids

Compounds	Organic acids concentration (mg/100 mL)			
	Control	Acetic	Citric	Lactic
Oxalic	n.d. ¹⁾	n.d.	n.d.	n.d.
Citric	11.08±0.14 ^b	8.60±0.14 ^b	298.86±30.78 ^a	7.74±0.09 ^b
Tartaric	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Malic	48.52±1.99 ^a	47.47±2.52 ^a	47.30±1.51 ^a	43.01±2.02 ^b
Succinic	80.84±4.28 ^a	79.70±4.30 ^a	85.62±4.28 ^a	83.59±4.10 ^a
Fumaric	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Lactic	76.99±5.16 ^a	75.29±3.92 ^b	71.55±3.08 ^b	334.73±39.50 ^b
Formic	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Acetic	6.57±0.08 ^b	360.10±40.69 ^a	7.58±0.08 ^b	12.82±0.19 ^b
Total	224.00±11.66 ^c	571.16±51.56 ^a	510.91±39.74 ^{ab}	481.89±45.89 ^b

¹⁾n.d. means not detected.

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3. Nitrogen compound content of the alcohol mash fermented by supplementation with organic acids

Compounds	Nitrogen compounds concentration (mg/100 mL)			
	Control	Acetic	Citric	Lactic
Alanine	42.92 (9.6)	28.73 (7.4)	32.40 (11.5)	36.13 (11.7)
Ammonia	2.50 (0.6)	2.81 (0.7)	2.10 (0.7)	2.23 (0.7)
Anserine	3.86 (0.9)	4.28 (1.1)	n.d. ¹⁾	2.00 (0.6)
Arginine	54.53 (12.2)	58.53 (15.0)	41.05 (14.5)	43.79 (14.1)
Aspartic acid	20.52 (4.6)	16.05 (4.1)	8.88 (3.1)	11.71 (3.8)
α -Aminoadioc acid	3.63 (0.8)	3.83 (1.0)	0.41 (0.1)	2.23 (0.7)
α -Aminobutyric acid	n.d.	n.d.	n.d.	1.13 (0.4)
β -Alanine	4.28 (1.0)	2.74 (0.7)	2.41 (0.9)	2.57 (0.8)
β -Aminoisobutyric acid	5.38 (1.2)	7.02 (1.8)	2.96 (1.0)	3.77 (1.2)
γ -Aminobutyric acid	6.60 (1.5)	5.37 (1.4)	2.23 (0.8)	3.38 (1.1)
Carnosine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cystathionine	5.70 (1.3)	4.62 (1.2)	4.73 (1.7)	4.80 (1.5)
Cysteine	9.08 (2.0)	6.28 (1.6)	7.94 (2.8)	6.95 (2.2)
Ethanolamine	0.29 (0.1)	0.22 (0.1)	n.d.	0.19 (0.1)
Glutamic acid	51.34 (11.4)	39.79 (10.2)	34.17 (12.1)	30.81 (9.9)
Glycine	17.03 (3.8)	11.97 (3.1)	11.13 (3.9)	11.51 (3.7)
Histidine	6.89 (1.5)	6.78 (1.7)	4.97 (1.8)	4.93 (1.6)
Hydroxylysine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Hydroxyproline	n.d.	0.03 (0.0)	n.d.	n.d.
Isoleucine	14.32 (3.2)	13.35 (3.4)	7.61 (2.7)	8.85 (2.9)
Leucine	30.13 (6.7)	28.58 (7.3)	16.56 (5.9)	19.06 (6.1)
Lysine	27.64 (6.2)	29.07 (7.5)	18.04 (6.4)	21.37 (6.9)
Methionine	8.96 (2.0)	8.71 (2.2)	6.32 (2.2)	7.14 (2.3)
1-Methylhistidine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3-Methylhistidine	0.46 (0.1)	n.d.	n.d.	n.d.
Ornithine	9.48 (2.1)	9.74 (2.5)	11.72 (4.1)	11.77 (3.8)
Phenylalanine	23.99 (5.3)	19.98 (5.1)	11.87 (4.2)	13.20 (4.3)
Phosphoethanolamine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Phosphoserine	3.83 (0.9)	3.59 (0.9)	4.06 (1.4)	3.79 (1.2)
Proline	28.05 (6.3)	23.88 (6.1)	21.88 (7.7)	22.68 (7.3)
Sarcosine	2.92 (0.7)	3.50 (0.9)	n.d.	n.d.
Serine	16.19 (3.6)	9.94 (2.5)	4.96 (1.8)	6.01 (1.9)
Taurine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Threonine	9.37 (2.1)	7.30 (1.9)	3.84 (1.4)	4.55 (1.5)
Tyrosine	21.22 (4.7)	17.67 (4.5)	11.70 (4.1)	12.85 (4.1)
Typtophan	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Urea	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Valine	17.56 (3.9)	15.60 (4.0)	9.05 (3.2)	10.58 (3.4)
Total	448.65	389.97	282.98	309.97

¹⁾n.d. means not detected.

The numbers in parentheses indicate the percentage distribution of each compound.

유기산 함량

처리구의 유기산 총량은(Table 2) 각각 571.16, 510.91, 481.89 mg/100 mL로 대조구 224.00 mg/100 mL에 비하여 100 mL당 347.16, 286.91, 257.89 mg 높은 함량을 가지고 있었다. 각 유기산을 300 mg/100 mL의 농도가 되도록 첨가하였으므로 acetic acid 첨가구는 총량이 증가되었고 citric acid, lactic acid 첨가구는 감소한 것으로 나타났다. 대조구의 acetic acid 함량은 6.57 mg/100 mL이었던 반면 acetic acid 첨가구의 함량은 360.10 mg/100 mL로 효모에 의한 생성량(대조구)을 고려하면 53.53 mg/100 mL이 증가하였다. Acetic acid는 영양, 삼투압, 알코올 스트레스 등

에 의해서 생성량에 영향을 받는다고 보고되어 있다(17). Acetic acid 함량이 증가됨에 따라 acetic acid 첨가구의 산도와 휘발산 함량(Table 1) 증가되었다. Citric acid 첨가구의 citric acid 함량은 298.86 mg/100 mL로 효모대사에 의해서 생성되는 양(대조구)을 제외하면 첨가되어진 양 중 287.77 mg/100 mL가 술덧에 남아 있는 것으로 계산되어 첨가량 대비 1.30%의 이용률을 나타내었다. Lactic acid 첨가구의 lactic acid 함량 역시 334.73 mg/100 mL로 첨가량보다 높은 양으로 효모에 의한 생성량을 감안하면 40.57%의 이용률을 보이고 있었다. Citric acid, succinic acid, malic acid는 효모의 TCA 회로를 통해서 생성되고 lactic acid는

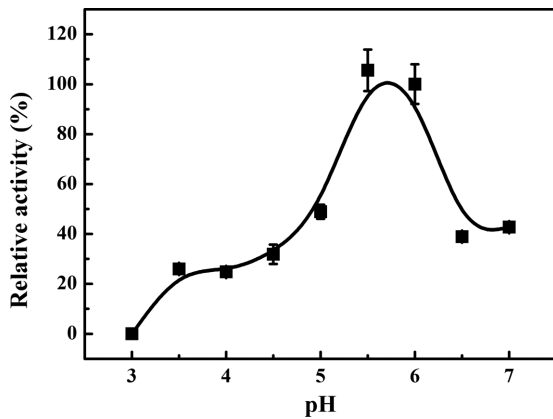


Fig. 2. pH-dependent changes in the relative activity of protease from nuruk

pyruvic acid의 산화에 의해서 생성되며 acetic acid는 알코올과 알데히드 산화에 의해서 만들어진다(7,8). 생성된 유기산류는 효모의 대사과정 중 alcohol류와 반응하면서 방향족 에스터물질로 바뀌게 되면서(18) 소주의 풍미에 많은 영향을 미치게 된다. 그러나 외부의 유기산이 효모의 내부로는 흡수되지 않기 때문에 첨가된 유기산이 어떻게 이용되었는지 현재로서는 알기 어렵다.

질소화합물 함량

유리아미노산을 포함한 질소화합물 총량은(Table 3) 대조구가 488.65 mg/100 mL이었던 반면 유기산 첨가구는 각각 389.97, 282.98, 309.97 mg/100 mL으로 13.1, 36.9, 30.9% 감소하였다. 질소화합물의 감소는 술덧의 아미노산의 감소로(Table 1) 이어졌다. 술덧의 질소화합물은 누룩의 프로테이스에 의한 쌀의 단백질체 (protein body-II, PB-II)의 분해와 발효후반 효모의 자가분해에 의해 주로 생성된다(8). pH 변화에 의한 누룩의 프로테이스 활성을 측정해 본 결과(Fig. 2), pH 3.0에서는 활성이 없었고 pH 증가에 따라 활성도가 증가되는 경향을 보였으며 pH 6.0에서 최대 활성을 나타내었다. 유기산 첨가구의 pH와 유사한 pH 3.5에서의 프로테이스 상대활성은 26.0%인 반면, 대조구의 pH와 유사한 pH 4.5에서의 상대활성은 31.9%이었다. 술덧의 pH 감소로(Table 1) 프로테이스의 활성이 감소되면서 질소화합물의 함량에 영향을 미친 것으로 이해된다.

술덧의 유리아미노산은 alanine, arginine, glutamic acid가 질소화합물 총량의 10% (w/v) 이상씩 함유되어 있어 가장 많은 함량을 차지하고 있었고 leucine, lysine, phenylalanine, proline, tyrosine 이 4% (w/v) 이상씩을 차지하고 있는 주요 아미노산으로 나타났다. 유기산 첨가에 의해서 alanine, arginine, aspartic acid, glutamic acid, isoleucine, leucine, phenylalanine, serine, threonine, tyrosine, valine 등의 함량이 감소되는 것으로 확인되었다. Valine은 효모에

의하여 알코올향을 가지고 있는 iso-butanol로 변환되고 leucine은 알코올향과 달콤한 향을 가지고 있는 iso-amyl alcohol로, threonine은 1-propanol로, phenylalanine은 장미향을 가지고 있는 2-phenethyl alcohol로 변환된다(8). 함황아미노산인 methionine은 발효과정 중 dimethyl sulfide (DMS), dimethyl disulfide (DMDS), dimethyl trisulfide (DMTS)로 합성되면서(19) 증류주에 달콤한 향을 주기도 하나 증류과정 중 methyl mercaptan으로 분해되어(8) 증류주에 강한 자극취를 주게 된다. Cysteine도 증류과정 중 열에 의하여 황화수소로 분해되면서 소주의 자극취 원인물질로 작용한다(8). 유기산 첨가구의 methionine의 함량은 각각 8.71, 6.32, 7.14 mg/100 mL로 대조구의 함량 8.96 mg/100 mL 대비 2.8, 29.4, 20.3% 감소되었고 cysteine 함량은 6.28, 7.94, 6.95 mg/100 mL으로 대조구 9.08 mg/100 mL 대비 30.8, 12.5, 23.4% 감소되는 것으로 나타났으며 이는 누룩의 프로테이스 억제(Fig. 2)에 의한 영향으로 생각된다.

증류 특성

유기산 첨가 술덧의 상압 증류액(알코올 40%)에 대한 일반성분을 Table 4에 나타내었다. pH는 대조구가 5.08이었던 반면, 유기산 첨가구는 각각 3.84, 5.07, 4.65로 acetic 및 lactic acid 첨가구의 pH가 낮게 나타났다. 이는 대조구의 산도가 0.11이었던 것에 비하여 첨가구의 산도가 3.64, 0.09, 0.14로 acetic 및 lactic acid 첨가구의 산도가 높아 증류액의 pH가 낮아진 것으로 해석된다. 산도로부터 acetic acid 첨가구의 총산 함량은 acetic acid 상당량으로 0.22%로 계산된다. Acetic acid의 비점은 118-119°C로 100°C 이상이고 일반적으로 증류액의 산도는 증류 후반 알코올 함량 25% 이하의 분획부터 증가하므로(8) 술덧에 존재하고 있는 것이 적게 이행될 것으로 기대하였으나 술덧에 함유된 함량(0.36%, Table 2)의 61%가 증류액에 포함된 것으로 나타났다.

TBA 값은 대조구가 749.60, 첨가구는 각각 946.60, 207.93, 335.30로 citric 및 lactic acid 첨가에 의해서 3.6, 2.2배 낮아지는 것으로 확인되었다. TBA 값은 유지의 산패도 측정에 이용되는 척도이지만, 소주의 산패취와도 깊은 관련이 있다(11). 소주의 산패취는 주로 다가불포화지방산인 linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3) 및 이의 에스터 화합물에 의해서 발생되는데(11) 유기산 첨가에 의해서 원료의 지방산 분해과정에 영향을 미친 것으로 추정된다. 증류효율은 모든 처리구에서 98.2-99.3%로 비교적 높게 나타났다.

소주의 휘발성분

알코올 함량을 25%로 조절된 소주의 휘발성 성분을 분석한 결과(Table 5), methanol은 유기산 첨가구에서만 14.16-18.28 ppm 범위로 검출되었으나 원인은 명확하지 않다. 알코올 향을 가지고 있는 n-butanol의 함량은 23.55-36.11 ppm으로 대조구 21.33 ppm에 비하여 소량 증가하였다. n-Butanol의 합성에는 threonine과 관

Table 4. General components and the rate of distillation of soju distillates fermented by supplementation with organic acids

Samples	pH	Acidity	TBA value ¹⁾	Alcohol (%)	Distillation ratio (%)
Control	5.08±0.19 ^a	0.11±0.00 ^b	749.60±92.20 ^b	40.10±4.21 ^a	99.0
Acetic	3.84±0.17 ^c	3.64±0.08 ^a	946.60±147.67 ^a	39.90±3.47 ^a	99.1
Citric	5.07±0.12 ^a	0.09±0.00 ^b	207.93±21.83 ^c	40.10±3.73 ^a	99.3
Lactic	4.65±0.14 ^b	0.14±0.00 ^b	335.30±39.23 ^c	40.20±3.38 ^a	98.2

¹⁾TBA value: thiobarbituric acid value
 Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05. Distillation was carried out in a pot at atmospheric pressure.

Table 5. Content of volatile components in soju, with adjusted alcohol content of 25%

Compounds	Volatile compounds concentration (ppm)			
	Control	Acetic	Citric	Lactic
Methanol	n.d. ¹⁾	14.16 ^b	17.86 ^a	18.28 ^a
<i>n</i> -Butanol	21.13 ^b	36.11 ^a	23.97 ^b	23.55 ^b
2-Butanol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isobutanol (B)	183.03 ^b	207.24 ^a	187.81 ^b	190.10 ^b
Isoamyl alcohol (A)	504.22 ^a	559.62 ^a	531.31 ^a	527.88 ^a
<i>n</i> -Hexanol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1-Propanol (P)	248.01 ^b	274.62 ^a	260.37 ^a	243.50 ^b
Phenylethyl alcohol	72.55 ^{ab}	89.33 ^a	53.92 ^b	54.38 ^b
Ethyl acetate	72.03 ^b	92.78 ^a	73.89 ^b	68.20 ^b
Ethyl caproate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ethyl caprylate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ethyl caprate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isoamyl acetate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Acetaldehyde	567.84 ^a	544.79 ^a	444.25 ^b	389.07 ^c
Furfural	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Acetic acid	n.d.	1256.00	n.d.	n.d.
Butyric acid	88.90 ^a	n.d.	n.d.	94.46 ^a
Total	1,757.71 ^b	3,074.64 ^a	1,593.37 ^c	1,609.41 ^c
P+B+A	935.27	1,041.47	979.50	961.48
A/P	2.03	2.04	2.04	2.17
A/B	2.75	2.70	2.83	2.78
B/P	0.74	0.75	0.72	0.78

Values represent means and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾n.d. means not detected.

The alcohol content was adjusted by addition of distilled water to the distillate obtained as per the details in Table 4.

련이 있으며, 관능적 구별 역치는 50 ppm이다(8). 고급알코올류 중 isobutanol (B), isoamyl alcohol (A), 1-propanol (P)의 함량이 가장 많았다. 대조구의 함량은 각각 183.03, 504.22, 248.01 ppm 이었고 첨가구의 함량은 B 187.81-207.24 ppm, A 527.88-559.62 ppm, P 243.50-274.62 ppm으로 유기산 첨가에 의해서 B, A, P 모두 소량 증가하였다. C3 이상의 고급 알코올에서 B, A, P의 함량 및 비율이 증류주의 관능에 중요하게 작용한다. 위스키의 맛에는 A와 B의 비율(A/B)이 많은 영향을 미치는데 스카치위스키는 1.2, 아이리쉬 1.6, 일본 2.5, 버번 5.4, 캐나안은 3.7로 브랜드와 유사하다(7). 유기산 첨가구의 B, A, P 합계는 각각 1,041.47, 979.50, 961.48 ppm으로 대조구(935.27 ppm)보다 높았다. A/P비는 각각 2.04, 2.04, 2.17로 lactic acid 첨가구가 대조구에 비하여 소폭 높았고 A/B비는 2.70, 2.83, 2.78로 citric acid 첨가구가 대조구와 차이가 보였으며 B/P비는 0.75, 0.72, 0.78로 citric 및 lactic

acid 첨가구가 대조구와 차이가 있는 것으로 나타났다. Phenylethyl alcohol의 함량은 대조구가 72.55 ppm, 유기산 첨가구는 각각 89.33, 53.92, 54.38 ppm으로 상당량 감소되는 것으로 나타났다. 이외에 2-butanol과 신선한 과일향을 가지고 있는 *n*-hexanol은 모든 시료에서 검출되지 않았다.

에스터 화합물 중 과일향을 가지고 있는 ethyl acetate의 함량은 대조구 72.03 ppm, 처리구 92.78, 73.89, 68.20 ppm으로 acetic acid 처리구에서만 증가가 확인되었다. 고급지방산과 고급알코올이 에스터 결합한 ethyl caproate는 달콤한 과일향을 가지고 있고 ethyl caprylate는 과일향, ethyl caprate는 장미향, iso-amyl acetate는 바나나향을 가지고 있다. 문턱값도 각각 0.2, 0.2, 1.5, 1.6 ppm (8)으로 비교적 낮은 농도이기 때문에 소량으로도 소주에 좋은 향을 줄 수 있으나 모든 시료에서 검출되지는 않았다. 이들 화합물들은 효모의 alcohol acetyltransferase의 활성과 많은 관련성이 있으며(20) 입국(코지)을 이용한 소주에서는 0.1-25 ppm 농도로 검출되는 것으로 알려져 있다(8). 개량누룩과 라빠리장 효모를 이용한 발효환경에서 검출되지 않은 이유에 대해서는 조사가 더 필요하다. Carbonyl 화합물 중 강한 자극취를 가지고 있는 acetaldehyde의 함량은 대조구가 567.84 ppm이었던 것에 비하여 유기산 첨가구는 각각 544.79, 444.25, 389.07 ppm으로 citric 및 lactic acid 첨가구에서 124-179 ppm 감소되었다. Acetaldehyde는 pyruvic acid에서 alcohol로 변환되는 과정 중 alcohol의 생성이 중지되면서 축적되는 것으로 생각되고 있으며(8) 숙취의 원인물질 중 하나이기도 하기 때문에 함량을 낮추는 것이 소주품질에 도움이 된다. Furfural은 증류 시 술덧에 함유된 유리아미노산이 당, aldehyde, ketone류 등과 아미노카보닐(aminocarbonyl) 반응을 하면서 생성되는 화합물(8) 가열취(탄내)를 가지고 있다. 모든 시료에서 furfural 성분이 검출되지 않았는데 그 이유에 대해서는 명확하지 않다. 유기산 중 acetic acid는 acetic acid 첨가구에서만 1,256 ppm 함유되어 있었고 butyric acid는 대조구와 lactic acid 첨가구에서만 각각 88.90 ppm과 94.46 ppm 함유되어 있는 것으로 나타났다. 휘발성 성분의 총량은 대조구가 1,757.71 ppm, 유기산 첨가구는 각각 3,074.64, 1,593.37, 1,609.41 ppm으로 citric 및 lactic acid 첨가구는 대조구의 함량보다 낮았다.

관능평가 결과(Table 6) 각 소주의 향, 맛, 전체적인 기호도에서는 유의차가 없었으나 acetic acid가 첨가된 소주에서 과일향과 함께 자극적인 향이 부여되면서 향에서 5.27을 획득하여 가장 높은 점수를 얻었다. 이외에 citric acid와 lactic acid 첨가구에서도 허브향과 후추향이 나타나면서 대조구 대비 높은 점수를 획득하였다. 맛에서도 acetic acid 첨가구는 단맛, citric acid와 lactic acid 첨가구에서는 금속맛과 쓴맛이 나타났다. 위의 결과들을 종합하여 볼 때 유기산 첨가는 오염방지(7,8)와 더불어 술덧의 유기산 조성과 질소함량 등의 변화로 소주의 향기성분 변화를 유도하면서 관능에도 영향을 미치는 것으로 이해된다. 따라서 유기산 첨가는 소주의 다양성 확대에 도움이 될 것으로 판단되나 유기산

Table 6. Sensory properties of soju, with adjusted alcohol content of 25%

Soju	Sensory attribute			Sensory characteristics	
	Flavor	Taste	Overall acceptability	Taste	Odor
Control	4.18±1.54 ^a	4.73±1.49 ^a	4.45±1.29 ^a	soju-like	pungent
Acetic	5.27±1.68 ^a	4.73±1.10 ^a	4.36±1.03 ^a	sweet	fruity, pungent
Citric	4.36±1.03 ^a	4.45±1.63 ^a	4.45±1.04 ^a	metallic, smooth	herb-like
Lactic	4.82±1.47 ^a	4.18±1.60 ^a	4.27±1.35 ^a	bitter, smooth	black pepper-like

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

이 어떠한 성분으로 변하여 관능에 영향을 미쳤는지는 명확하지 않기 때문에 더욱 많은 조사가 필요하리라 생각된다.

요 약

유기산(acetic acid, citric acid, lactic acid)이 쌀 증류식 소주의 양조특성에 미치는 영향을 살펴보았다. 유기산 첨가에 의해서 술덧의 pH는 4.2에서 3.73-3.97, 산도는 5.06에서 8.13-9.98, 아미노산도는 2.56에서 2.27-2.34, 휘발산은 66.0에서 89.6-124.8 ppm으로 변화였다. 알코올 함량은 대조구는 17.8%, 첨가구는 각각 17.0, 17.8, 17.6%이었다. 술덧에 남아있는 acetic acid는 첨가된 양보다 증가한 반면 citric acid와 lactic acid는 첨가된 양보다 각각 1.30, 40.57% 감소되었다. pH변화에 의해 프로테이스 활성이 감소하였고 질소화합물 총량은 유기산 첨가에 의해서 각각 13.1, 36.9, 30.9% 감소하였다. 유리아미노산 중 alanine acid, arginine acid, glutamic acid가 질소화합물 총량의 10% 이상씩 함유되어 있었고 유기산 첨가에 의해서 methionine은 2.8-29.4%, cysteine은 12.5-30.8% 감소되었다. 첨가된 유기산은 증류효율에 영향을 미치지 않았으며 citric 및 lactic acid에 의해서 증류원액(알코올 함량 40%)의 TBA 값이 2.2-3.6배 낮아졌다. 알코올 함량이 25%로 조절된 소주의 isobutanol (B), isoamyl alcohol (A), 1-propanol (P) 함량의 합은 각각 1,041.47, 979.50, 961.48 ppm으로 대조구(935.27 ppm)보다 증가되었다. 유기산 첨가에 의해서 소주의 A/P 비, A/B비, B/P비가 변화되었으며 acetaldehyde 함량의 감소를 가져왔다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ008600)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

References

1. Korea Wines & Spirits Importers Association. Alcohol imports in 2103 of Korea. Available from: http://www.kwsia.or.kr/notice/view.php?tb=tb_news&no=42&page=1&sd=&sg=&st=&search_yes. Accessed Aug. 15, 2014.
2. Statistics Korea. Liquor tax return (2006-). Available from: http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=133&tblId=DT_133N_1012&conn_path=I2. Accessed Aug. 15, 2014.
3. Kim YT, Kim JH, Yeo SH, Lee DH, Im JU, Jeong ST, Choi JH, Choi HS, Hwang HJ. *Uri Sul Bomulchang-go* (The treasure houses of Korean liquor). The Foundation of Agricultural Technology Commercialization and Transfer, Suwon, Korea. pp. 146-181 (2011)
4. Jo HC. *Uli Sul Bijgi* (Korean traditional liquor-making). Nexus Press, Seoul, Korea. pp. 96-103 (2010)
5. Statistics Korea. Delivered quantity of traditional liquors (2005-). Available from: http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=133&tblId=TX_13301_A197&conn_path=I2. Accessed Aug. 15, 2014.
6. Cho HC, Kang SA, Cho SI, Cheong C. Quality characteristics of fruit spirits from a copper distillation apparatus. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 743-752 (2013)
7. Yoshizawa Y, Ishikawa TA, Tadenuma M, Nagasawa M, Nagami K. Encyclopedia of brewing and fermentation food. Asakura Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japan. pp. 70-366 (2004)
8. Brewing Society of Japan. Component of the alcoholic beverages. Shin Nippon Printing Co. Ltd., Tokyo, Japan. pp. 50-62 (1999)
9. Hong SB, Lee MA, Kim DH, Varga J, Frisvad JC, Perrone G, Gomi K, Yamada O, Machida M, Houbraken J, Samson RA. *Aspergillus luchuensis*, an industrially important black *Aspergillus* in east asia. *Plos One* 8: e63769 (2013)
10. National Tax Service Technological Service Institute (NTSTSI). Manufacturing guideline of *takju* and *yakju*. NTSTSI, Seoul, Korea. pp. 195-198 (2005)
11. Ohba T. Analysis of traditional *shochu* presented to the contest. *J. Soc. Brew. Japan* 86: 645-650 (1991)
12. Hitachi High-Technologies Corporation. Physiological fluid analysis of beer. Available from: <http://hitachi-hita.com/sites/default/files/appnotes/lc56.pdf>. Accessed Jul. 29, 2015.
13. Iwazaki I, Fujita S, Nagatomo M, Tarumi S, Takahashi K. Studies on a sweet potato *shochu* made from sweet potato-*koji* instead of rice-*koji* (Part 1): Development of sweet potato-*koji* and its characteristics. *J. Soc. Brew. Japan* 98: 367-375 (2003)
14. Bae SM. Japanese distilled beverage manufacturing technology. Juya Print Planning Co., Seoul, Korea. pp. 114-209 (2003)
15. Matsuda M. Rice Shochu. *J. Soc. Brew. Japan* 95: 817-829 (2000)
16. Yoshidome T, Maki N, Yonetamari T, Yoshida K, Nakahara K. Traditional *shochu* brewing using dry *shochu*-yeast. *J. Soc. Brew. Japan* 96: 433-439 (2001)
17. Erasmus DJ. Production of acetic acid by *Saccharomyces cerevisiae* during icewine fermentations. PhD thesis, University of British Columbia, Vancouver, Canada (2005)
18. Iwami A, Kajiwara Y, Takashita H, Okazaki N, Omori T. Factor analysis of the fermentation process in barley *shochu* production. *J. I. Brewing* 112: 50-56 (2006)
19. Tamaki T, Takamiya Y, Takaesu C, Nishia T. Changes in sulfur compounds of *Awamori* during aging. *J. Ferment. Technol.* 64: 129-136 (1986)
20. Fujii T, Nagasawa N, Iwamatsu A, Bogaki T, Tamai Y, Hamachi M. Molecular cloning, sequence analysis, and expression of the yeast alcohol acetyltransferase gene. *Appl. Environ. Microb.* 60: 2786-2792 (1994)