

## 막걸리 술덧의 발효성 당 분석방법 비교 연구

김병수<sup>1</sup> · 김계원<sup>2</sup> · 심재용<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>한경대학교 식품생물공학과, <sup>2</sup>한경대학교 산학협력단 양조연구센터

### A Comparative Study of the Assay Methods Used to Quantify Fermentable Sugar in *Makgeolli Sul-dut*

Byong-Soo Kim<sup>1</sup>, Gye-Won Kim<sup>2</sup>, and Jae-Yong Shim<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science & Biotechnology, Food and Bio-Industrial Research Center, Hankyong National University

<sup>2</sup>Brewing Research Center, Academic Industry Cooperation, Hankyong National University

**Abstract** The objective of this study was to evaluate the accuracy and efficiency of different methods used for the fermentable sugar assay in the production of *Makgeolli sul-dut*. In the initial stage of fermentation, *Ipguk* treatment produced a higher alcohol content compared to the *Nuruk* treatment. However, the alcohol content was not significantly different between the two starters at the final stage of fermentation. Acidity in the *Ipguk* treatment was higher than that of *Nuruk* throughout the fermentation period. After analyzing the fermentable sugars using dinitrosalicylic acid (DNS), Fehling's method, refractometer, glucose kit, and high performance liquid chromatography (HPLC), it was confirmed that the HPLC method was the most accurate for fermentable sugar quantification. In both types of starters, DNS and Fehling's methods showed results comparable to HPLC in terms of fermentable sugar content, while the glucose kit and refractometer analyses showed relatively large discrepancies, indicating that the Fehling's method could also be effective for the analysis of fermentable sugars in the manufacture of *Makgeolli*.

**Keywords:** fermentable sugar assay, *makgeolli*, alcohol fermentation, DNS, Fehling

## 서 론

막걸리는 쌀 등의 곡물과 누룩을 원료로 담금하여 만드는 술로, 누룩 미생물 중 곰팡이가 생산하는 아밀레이즈(amylase)에 의한 쌀 녹말의 당화 공정과 발효성 당의 알코올(alcohol) 발효 기능을 가진 효모에 의한 에탄올(ethanol)로의 전환과정 등 여러 미생물의 제 효소 반응의 조화에 의해 병행발효시켜 만드는 양조주이다(1). 전통적 막걸리의 원료는 쌀, 찹쌀, 보리쌀, 현미, 옥수수, 고구마 등이며, 곡류의 주성분인 전분질을 당분으로 전환시켜 술을 제조하기 때문에 미생물이 생산하는 효소가 필요하며 당화효소원인 발효제로 누룩이 이용되고 있다(2). 전분질의 당화는 글루코아밀레이즈(glucoamylase) 또는 알파아밀레이즈( $\alpha$ -amylase)와 같이 작용하는 메커니즘(mechanism)이 상이한 아밀레이즈의 상호 보완 작용에 의해 주로 이루어진다(3). 알파아밀레이즈는 전분내의 알파-1,4-글루코시드( $\alpha$ -1,4-glucosidic) 결합을 가수분해하는 효소로서 다양한 미생물과 식물, 동물에 널리 분포되어 있다(4). 누룩은 제조방법에 따라서 자연 상태에서 많은 종류의 미생물이 접종, 번식되어 만들어지는 재래누룩과 살균한 전분질 원료에 *Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus oryzae* 등 순수 배양한 균을 접

종하여 만드는 개량누룩 또는 입국으로 분류되고 있으며(3), 일부 막걸리 양조업체에서 재래누룩이나 개량누룩을 사용하고 있기는 하나 대부분의 막걸리 양조업체에서는 *A. luchuensis*를 쌀에 배양한 입국을 주발효제로 사용하고 있다(5). 막걸리 술덧 양조와 같은 병행발효에서는 발효성 당의 생성과 알코올 발효 속도의 조절이 정상발효와 설계품질의 구현에 핵심기술이므로 발효 과정에서 술덧 중 알코올과 발효성 당의 분석 정확도가 매우 중요하다 할 수 있는데 술덧 또는 막걸리의 성분 분석에 관한 연구로는 막걸리의 원료 외 누룩에 따른 막걸리의 품질특성(6,7), 막걸리의 발효과정 중 성분 변화에 대한 연구, 저장 방법에 따른 막걸리의 품질특성에 관한 연구(8,9), 누룩종류를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 휘발성 향기성분 특성(10)에 관한 연구 등 막걸리의 이화학분석에 관한 연구들은 모두 발효제에 따른 특성의 차이, 산도, 고형분, 색도, 알콜, 발효성 당의 차이를 확인하고 품질 개선 및 저장성 향상을 위한 막걸리 술덧 양조에 관한 연구들이 대부분이다. 최근, 다수의 막걸리 양조업체에서 발효성 당 분석 시 굴절계(refractometer)를 적용하고 있음에도 이에 대한 분석 정확도 검증 등에 대한 연구 결과는 보고되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 막걸리 양조업체에서 주로 사용되고 있는 발효제인 입국과 개량누룩을 이용한 막걸리 술덧 양조 시 발효성 당 함량의 경시적 변화를 확인하고자 하였으며, HPLC 분석결과를 기준으로 DNS (Dinitrosalicylic acid)법, 펠링(Fehling)법, 포도당키트(D-glucose kit), 굴절계를 사용한 분석결과와의 유의성 검정을 통하여 분석방법 간 차이를 확인하고자 하였고, 이를 통하여 영세 규모 막걸리 양조업체에서도 용이하게 발효성 당 분석을 실시할 수 있는 분석방법 적용에 대한 근거를 제시하고자 하였다.

\*Corresponding author: Jae-Yong Shim, Department of Food & Biotechnology, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea  
Tel: 82-31-670-5158  
Fax: 82-31-677-0990  
E-mail: jyshim@hknu.ac.kr  
Received December 18, 2015; revised January 5, 2016;  
accepted January 5, 2016

**Table 1. Ingredients of experimental *Makgeolli*** (Unit: g)

Step	Sample materials	<i>Nuruk</i> method	<i>Ipguk</i> method
Seed mash	<i>Ipguk</i>		264.0
	Yeast		11.3
	Water		396.0
First mash	<i>Nuruk</i>	23.4	
	<i>Ipguk</i>		1086.0
	Yeast	11.3	
	Water	2250.0	1854.0
Second mash	<i>Nuruk</i>	1500.0	150.0
	<i>Nuruk</i>	46.8	
	Water	4500.0	4500.0
	Rice	3000.0	3000.0

**재료 및 방법**

**재료**

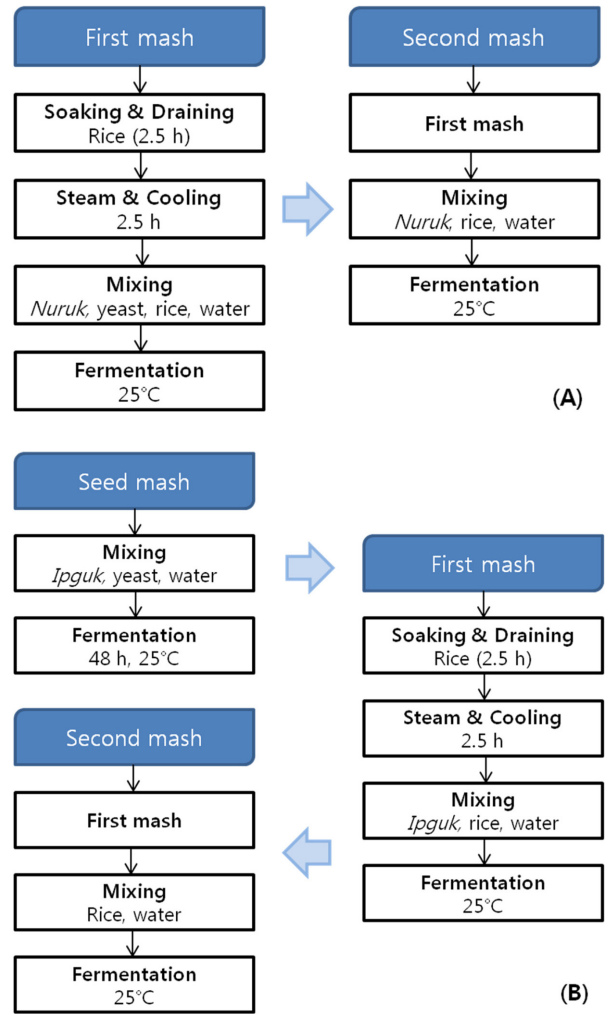
본 실험에 사용된 쌀은 경기도 안성시 석정동 소재의 농협에서 구매한 국내산 안성마춤 쌀(추청)을 사용하였으며, 입국은 조은곡식(*Ipguk*, Jo Eun Cereal, Hwaseong, Korea)에서 구입하였고, 개량누룩은 한국효소 주식회사에서 구입한 바이오 누룩(*Bio Nuruk*, Korea Hyosowon, Hwaseong, Korea)을 사용하였으며, 효모는 La Parisienne Brown (S.I. Lesaffre, France)을 사용하였다.

**막걸리 술덧 발효**

개량누룩과 입국을 발효제로 사용한 담금 레시피는 Table 1에 나타내었다. 백미는 물로 5번 정도 수세 후 물 온도 25°C에서 2시간 침지한 다음 체로 30분간 물 빼기 후 증미기(Model-1, Bluebrew Lab, Seongnam, Korea)를 이용하여 100°C에서 2시간 동안 증미 한 다음 30분 냉각 한 뒤 담금 원료로 사용하였다. 개량누룩을 발효제로 사용한 술덧 발효의 경우, 1단 담금 시 효모를 접종하는 2단 담금 방식을 적용하였고, 입국을 발효제로 사용한 술덧 발효는 효모를 접종하여 모액 담금 후 1단 및 2단 발효를 실시하는 방식을 적용하였다(Fig. 1).

**발효제의 이화학적 특성**

발효제의 산도는 국제첨기술연구소 주류분석규정(11)에 따라 분석하였다. 시료 10 g을 취하여 물 50 mL를 가해 30°C에서 3시간 이상 침출한 다음 여과 후 여액 10 mL에 혼합지시액(Bromothymol blue 0.2 g 및 neutral red 0.1 g을 알코올 300 mL에 녹임) 2-3방울을 가하여 0.1 N 수산화소듐(NaOH) 용액으로 담홍색에서 담록색으로 될 때까지 적정하여 적정에 소비된 0.1 N NaOH 용액량을 산도로 하였다. 발효제의 전분 당화력은 국제첨기술연구소 주류분석규정(12)에 따라 각 발효제에 1% 염화소듐(NaCl) 용액을 가하여 30°C에서 3시간 침출시킨 액 또는 이의 희석액을 효소 시료로 하고, 2% 전분 용액을 기질로 사용하였다. 기질용액 50 mL와 아세트산염 완충액 30 mL를 55°C 수욕조에서 10분간 방치한 다음 시험용액 10 mL를 가해주고 60분 후 0.5 N NaOH를 가하여 효소반응을 중지시킨 다음 상온으로 냉각하고 물을 가해서 100 mL로 조정 후 이 액 10 mL와 시험용액대신 물을 취하여 동일하게 처리한 대조액 10 mL를 각각 취하여 발효성당을 측정하였다. 발효성당 측정은 펠링 용액 10 mL, 물 40 mL, 포도당 표준용액 10 mL를 가해주고 끓여주면서 포도당 표준용액



**Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of *Makgeolli* by *Nuruk* (A) and *Ipguk* (B) methods.**

으로 적정하였다. 황산구리의 청색이 거의 없어지면 메틸렌블루 시약 4-5방울을 더 가하여 적정을 계속하였고, 종말점은 메틸렌블루의 청색이 없어지는 점으로 하였다. 따로 펠링 용액 10 mL, 물 40 mL, 대조액 10 mL 및 포도당 표준용액 10 mL를 사용하여 같은 방법으로 공시험을 한 다음 다음과 같은 방법으로 녹말 당화력을 구하였다.

$$SP = \frac{(B - S) \times 2}{W \times I}$$

- S: 소비된 포도당 표준용액의 소비 mL수
- B: 공시험에 소비된 포도당 표준용액의 소비 mL
- 2: Factor (20/10)로서 포도당 표준용액(2 mg/1 mL)과 사용된 표준용액 10 mL의 양에서 산출된 수치임
- W: 시험용액 10 mL에 함유된 검체의 양(g)
- SP: Saccharogenic Power (unit: SP)

글루코아밀레이즈 활성도(glucoamylase activity)는 Kim 등(13)의 방법에 준하여 기질 1% 녹말 용액(pH 7.4) 1 mL에 0.2 M 아세트산 완충용액(acetate buffer) 0.2 mL를 넣고 40°C에서 5분간 예열한 후 효소 시료 100 µL를 첨가한 다음 40°C에서 20분간 반응

후 1 N NaOH 100  $\mu$ L를 넣고 중화한 다음 생성된 발효성 당을 정량하여 구하였으며, 녹말로부터 1 mg의 포도당을 생성하는 효소 활성을 1 unit으로 하였다. 알파아밀레이즈 활성도( $\alpha$ -Amylase activity)는 Kim 등(13)의 방법에 준하여 1% starch 2 mL을 시험관에 취해, 40°C에서 5분간 예열한 후 효소 시료 100  $\mu$ L를 첨가한 다음 반응을 개시하였다. 반응액 0.1 mL을 넣어둔 시험관에 넣어 혼합한 후 25°C에서 2분간 방치하고 670 nm에서 투과율 T%를 측정하였다. 효소의 활성도는 아래의 식으로 산출하였다.

$$U \text{ (unit/g koji)} = (12.75 \times (T_{30 \text{ min}} - T_0 \text{ min}) / 30 \text{ min}) \times 5 \text{ (희석비율)}$$

T30 min: 30분간 효소반응을 시킨 후의 투과도

T0 min: 효소반응을 시키기 전의 투과도

### 술덧 알코올 함량 및 산도

술덧의 알코올 함량은 국제청 주류분석규정(14)에 따라 시료 100 mL을 메스실린더에 취하고 500 mL 삼각플라스크에 옮긴 다음 메스실린더에 다시 증류수 30 mL을 가하여 씻은 후 삼각플라스크에 옮긴 다음 소포제를 넣고 증류장치에 연결하여 증류액이 메스실린더에 80 mL 이상이 될 때 회수한 다음 증류수를 가하여 100 mL로 맞춘 후 Density meter (DMA 35 Portable Density Meter, Anton Paar, Graz, Austria)를 이용하여 20°C에서 측정하였다. 술덧의 산도는 발효제의 산도 측정과 마찬가지로 국제청 주류분석규정(11)에 따라 10 mL의 시료를 취하여 혼합지시약(Bromothymol Blue 0.2 g, Neutral Red 0.1 g, 95% ethyl alcohol 300 mL)을 2-3방울 떨어뜨린 다음 0.1 N NaOH로 중화 적정 후 적정에 소비된 0.1 N NaOH 용액량을 산도로 하였다.

### 발효성 당 함량

술덧을 4,500 rpm에서 15분간 원심분리 한 다음 상층액을 취하여 여과(Whatman No. 2) 후 0.45  $\mu$ m의 나일론(Nylon) 필터 (Agela Technologies, Wilmington, DE, USA)로 여과한 다음 발효성 당 함량 분석 시료로 사용하였고, HPLC, DNS법, 펠링법, 굴절계 및 포도당 키트(K-GLUC, Megazyme, Wicklow, Ireland) 분석 방법 등을 적용하여 분석을 실시하였으며, 각 방법 모두 3반복으로 실시하였다. 술덧 중 포도당(glucose), 엿당(maltose) 함량은 식품공전(15)의 방법을 변형하여 HPLC (Alliance 2690, Waters Corp., Milford, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. 시료 주입량은 20  $\mu$ L였으며, 컬럼은 Shodex Asahipak NH2P-50 4E (10  $\mu$ m, 3.9 $\times$ 300 mm) HPLC column (Shoko America Inc., Torrance, CA, USA), 검출기는 Waters 410 RI detector (Waters Corp.)를 사용하였다. 컬럼의 온도는 30°C, 유속은 1.0 mL/min으로 유지하였다. Mobile phase는 acetonitrile과 증류수(distilled water)를 75:25 (v/v)로 혼합하여 사용하였다. 표준당은 D-(+)-glucose, D-(+)-maltose (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 표준품으로 사용하여 각각 1 g씩 100 mL 용량플라스크에 정밀히 달아 3차 증류수로 정용한 다음 농도 별로 희석한 표준용액으로 검량선을 작성하여 함량을 분석하였다. DNS법을 사용한 발효성 당 분석은 Chae 등(16)의 방법을 참조하여 실시하였다. 시료 1 mL에 DNS 용액 3 mL을 넣고 100°C에서 10분간 가열하여 식힌 다음 분광광도계 (Genesys 10-S, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 550 nm에서 측정하였으며, 표준당은 D-(+)-glucose (Sigma-Aldrich)을 사용하였다. 펠링법에 따른 발효성 당 분석은 국제청주류분석규정(17)의 직접환원당법의 변법에 따라 실시하였으며, 당도(brix)는 와인 굴절계(HI 96811, Hanna Instru-

**Table 2. Characteristics of Koji**

	pH	Acidity (mL) <sup>1)</sup>	SP <sup>2)</sup>
<i>Nuruk</i>	5.08 $\pm$ 0.12 <sup>a*</sup>	0.85 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1,241 $\pm$ 79.3 <sup>a</sup>
<i>Ipguk</i>	3.10 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	1.95 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	61.8 $\pm$ 1.97 <sup>b</sup>

\*Values are mean $\pm$ standard deviation.

<sup>a</sup><sup>b</sup>Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple test.

<sup>1)</sup>Acidity: Titratable acidity

<sup>2)</sup>SP: Saccharogenic power

ments, Woonsocket, RI, USA)를 이용하여 측정하였다.

술덧 중 포도당 분석은 시판 포도당 키트를 사용하여 실시하였다. Reagent blank는 GOPOD reagent 3.0 mL+증류수 0.1 mL, glucose standard는 GOPOD reagent 3.0 mL+D-glucose standard 0.1 mL, 시료는 GOPOD reagent 3.0 mL+sample 0.1 mL을 각각 혼합하여 40°C에서 20분간 발색시켰다. 이후 분광광도계를 이용하여 510 nm에서 측정하였다.

$$D\text{-}(+)\text{glucose } (\mu\text{g}/0.1 \text{ mL}) = \frac{\Delta A_{\text{Sample}}}{\Delta A_{\text{D-glucose standard (100 } \mu\text{g)}}} \times 100$$

### 통계처리

3회 반복실험을 통한 실험결과의 통계적 유의성을 SAS Package (Ver. 9.0) program으로 이용하여 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 던킨시험(Duncan's multiple range test)에 의해  $p < 0.05$  수준에서 각 실험 군 간의 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 발효제 분석

막걸리 술덧 발효에 사용된 개량누룩과 입국의 pH, 산도 및 당화력을 Table 2에 나타내었다. 누룩의 pH와 산도는 각각 5.08 및 0.85이었고, 입국의 pH와 산도는 각각 3.10 및 1.95로 입국의 산도가 개량누룩에 비해 두 배 이상 높게 나타났다. 이는 시판 입국 배양에 적용된 백국균, *A. luchuensis*가 유기산 생성능이 높은 것에 기인하는 것으로 생각된다(18). 개량누룩은 입국에 비해 당화력이 약 20배 높은 1,241 SP으로 나타났는데 배양에 사용된 곰팡이의 당화효소 생성능 차이로 생각된다.

### 발효제에 따른 당화효소활성

Kim 등(18)과 Hwang 등(19)은 누룩에 존재하는 알파아밀레이즈, 글루코아밀레이즈가 당화 과정 중 쌀 전분을 가수분해하여 포도당과 엿당이 주로 생성된다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 사용한 발효제의 당화 효소 활성을 Table 3에 나타내었다. 글루코아밀레이즈 활성도는 개량누룩이 14.05 unit/g, 입국이 5.32 unit/g으로 개량누룩이 2.6배 이상 높은 활성을 가지는 것으로 나타났으며, 알파아밀레이즈 활성도는 개량누룩 576.58 unit/g, 입국 8.08 unit/g으로 누룩의 알파아밀레이즈 활성이 70배 이상인 것으로 확인되었다. 알파아밀레이즈와 글루코아밀레이즈의 활성 비율은 개량누룩 41.05, 입국 1.52로 개량누룩이 더 높은 비율을 보였다. 개량누룩의 총 당화력이 입국 대비 약 20배 정도 큰 것으로 확인된 바 있으므로(Table 2) 술덧 발효 중 개량누룩의 당화력은 알파아밀레이즈 활성도, 입국의 당화력은 글루코아밀레이즈 활성도가 상대적으로 더 큰 영향을 끼칠 수 있을 것으로 추정된다.

**Table 3. Characteristics of enzyme activity**

	Glucoamylase (unit/g)	$\alpha$ -Amylase (unit/g)	$\alpha$ -Amylase/ Glucoamylase ratio
<i>Nuruk</i>	14.05±0.27 <sup>a*</sup>	576.58±16.23 <sup>a</sup>	41.05±1.43 <sup>a</sup>
<i>Ipguk</i>	5.32±0.12 <sup>b</sup>	8.08±0.44 <sup>b</sup>	1.52±0.10 <sup>b</sup>

\*Values are mean±standard deviation.

<sup>a,b</sup>Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple test.

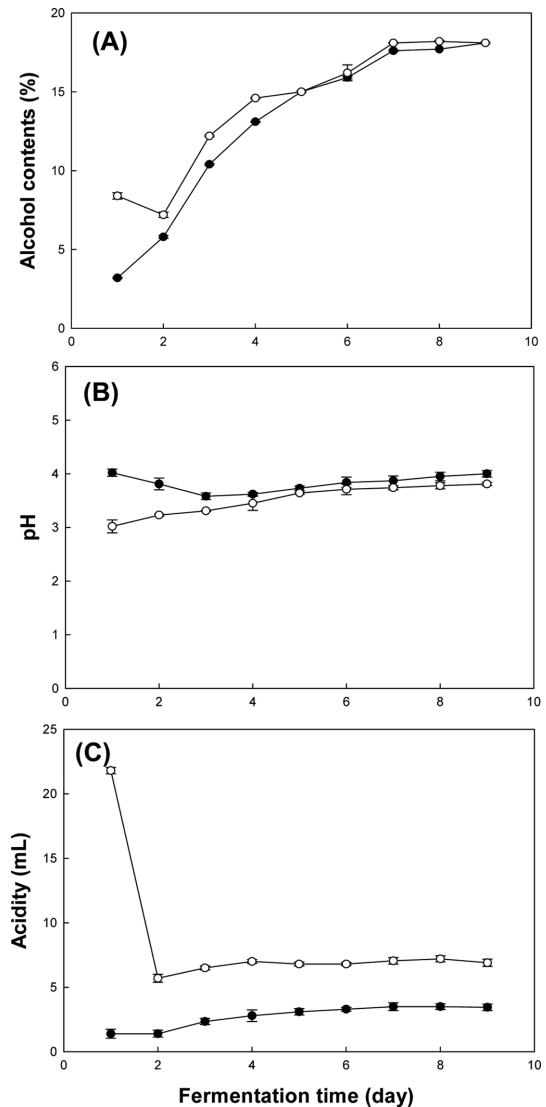
### 발효제에 따른 막걸리 술덧의 알코올 함량, pH 및 산도

알코올은 막걸리의 주질을 좌우 하는 가장 중요한 성분으로, 발효제의 아밀라아제의 작용으로 인해 전분이 당으로 분해되고, 효모의 발효기질로 이용되어 일정기간 에탄올 함량이 상승하게 된다(20). 개량누룩과 입국을 발효제로 사용한 술덧의 발효 과정 중 알코올 함량 변화를 Fig. 2(A)에 나타내었다. 입국 시험구의 경우 7일차에 알코올 발효가 완료되었고, 발효기간 동안 두 시험구의 술덧 간 알코올 함량의 경시적 차이가 관찰되기는 하였지만 발효 9일차에는 18.1%로 동일하게 측정되었다. 이와 같은 결과는 입국을 사용한 처리구보다 개량누룩을 사용한 시험구의 알코올 생성 속도가 늦은 것으로 확인된 Park 등(21)의 보고와 유사한 것으로 생각되었다. 막걸리 술덧의 pH와 총산 함량은 발효 과정에서 생성되는 다양한 유기산의 종류와 농도 등에 영향을 받으므로, 발효진행 상황을 예측할 수 있는 중요한 지표(22)이며, 풍미와 보존성에 영향을 주는 중요한 요인이다. 술덧의 발효 과정 중 pH 변화와 산도의 변화는 각각 Fig. 2(B)와 Fig. 2(C)에 나타내었다. 입국을 발효제로 사용한 술덧에서 개량누룩 대비 담금 초기뿐 아니라 발효 종료 시에도 pH는 낮고, 총산 함량은 높은 것으로 확인되었는데 이는 입국 배양 시 평균적으로 사용된 *A. luchuensis*균의 특성상 유기산 생성력이 높고 내산성 당화효소를 생성하기 때문에 pH가 낮게 나타난 것으로 추정되었다(23). 결과적으로 두 시험구 모두 9일간의 발효기간 동안 정상적인 발효가 진행됨을 확인할 수 있었고 이러한 정상적인 발효과정 중에 발효성 당 함량의 경시적 변화를 다양한 방법을 통해 분석하여 분석방법간의 차이를 확인 할 수 있었다.

### 분석방법에 따른 막걸리 술덧 중 발효성 당 함량의 비교

발효제에 의해 전분질이 당화되고 당화된 포도당이 효모에 의해 알코올로 전환되는 병행발효 과정에서 발효성 당의 함량과 알코올 함량과는 상관성이 크고, 정밀한 발효 경과와 확인 및 발효관리를 위하여는 발효성 당 함량을 정확히 분석하는 것이 매우 중요하다. 발효성 당은 염기성 용액에서 알데하이드 또는 케톤을 형성하는 당의 일종으로 포도당, 엿당, 과당, 젓당 등이 속한다(24). 본 연구에서 막걸리 술덧의 발효성 당 함량을 개량누룩과 입국을 발효제로 사용하여 9일간의 발효 기간 동안 HPLC를 이용한 분석 결과를 기준으로 다양한 분석방법을 적용하여 얻은 결과를 Table 4와 5에 나타내었다.

HPLC 분석 결과, 개량누룩 시험구에서는 발효1일차 전체 발효성 당 함량이 74.41 mg/mL로 측정되었고 발효가 진행됨에 따라서 서서히 감소되었다. 또한 발효 초기 4일차까지는 포도당과 엿당이 함께 검출되었으나 발효가 진행됨에 따라 엿당의 함량이 줄어 발효 5일차부터는 포도당만 검출되었다(Table 4). 입국 시험구에서는 발효 1일차 전체 발효성 당 함량이 8.88 mg/mL로 낮게 측정되었으나 2일차에 28.99 mg/mL로 급격히 증가했다가 3일차부터 다시 감소되었다(Table 5). 입국 시험구에서는 개량누룩 시험구와 달리 전체 발효과정 중에 엿당이 거의 검출되지 않았



**Fig. 2. Changes in alcohol contents (A), pH (B) and acidity (C) during fermentation of Makgeolli by Nuruk (●) and Ipguk (○).**

는데(<1 mg/mL) 이는 Table 3에서 볼 수 있는 것처럼 개량누룩의 당화력은 알파아밀레이즈 활성도, 입국의 당화력은 글루코아밀레이즈 활성도가 상대적으로 더 큰 영향을 끼치는 당화효소 활성 특성에 기인하는 것으로 생각된다. DNS 방법을 이용한 술덧 중 발효성 당 분석 결과, 입국 시험구 1일차 분석 결과를 제외하면 개량누룩과 입국 시험구에서 공히 HPLC를 사용한 분석 결과와 유사한 결과를 나타내는 것으로 확인되었다. 입국 시험구 1일차에서의 분석 불안정성은 입국 시험구 술덧의 1일차 산도가 높아 DNS 방법 적용 시 발효성 당이 알데하이드를 형성하는 염기성 조건 유지에 영향을 끼쳤기 때문인 것으로 생각된다. 펠링법을 이용한 술덧 중 발효성 당 분석 결과, 개량누룩 시험구에서 발효성 당 함량이 높은 발효 초기에는 HPLC 및 DNS 분석 방법 대비 낮은 값을 나타내었으나 전반적으로 HPLC 분석 결과와 유사한 경향을 나타내는 것으로 생각된다. 포도당 키트를 이용한 포도당 분석 결과, 개량누룩 시험구와 입국 시험구에서 모두 전반적으로 HPLC, DNS 및 펠링분석 방법 대비 낮은 값을 나타내었으나 그 차이는 개량누룩 시험구에서 더 큰 것으로 확인되었는데 이는 분석 과정에서의 효소 반응에 Table 3에 나타낸 것처럼

**Table 4. Comparative data of fermentable sugar in *Nuruk Makgeolli* by different analysis methods** (Unit: mg/mL)

Sample	day	Reducing sugar						
		HPLC			DNS	Fehling	Glucose Kit	Refractometer
		Total	Glucose	Maltose				
Nuruk	1	74.41±0.95 <sup>b</sup>	53.92±1.71	20.49±0.76	70.39±2.49 <sup>a*</sup>	64.04±2.60 <sup>d</sup>	18.03±0.17 <sup>c</sup>	124.0±0.00 <sup>a</sup>
	2	62.65±0.13 <sup>b</sup>	44.60±0.44	18.04±0.31	54.47±0.54 <sup>c</sup>	54.27±1.65 <sup>c</sup>	12.61±0.25 <sup>d</sup>	123.3±0.60 <sup>a</sup>
	3	45.19±0.60 <sup>b</sup>	32.96±0.81	12.23±0.21	43.27±1.39 <sup>c</sup>	37.88±0.21 <sup>d</sup>	6.56±0.25 <sup>c</sup>	132.0±0.00 <sup>a</sup>
	4	37.47±0.58 <sup>b</sup>	36.43±0.58	1.04±0.00	19.07±0.32 <sup>c</sup>	19.05±0.95 <sup>c</sup>	10.06±0.05 <sup>d</sup>	113.7±0.60 <sup>a</sup>
	5	19.30±0.57 <sup>b</sup>	19.30±0.57		15.47±0.72 <sup>c</sup>	15.29±0.67 <sup>c</sup>	3.93±0.06 <sup>d</sup>	105.0±0.00 <sup>a</sup>
	6	10.51±0.05 <sup>b</sup>	10.51±0.05		7.68±0.07 <sup>c</sup>	6.33±0.34 <sup>d</sup>	2.57±0.10 <sup>c</sup>	94.7±0.60 <sup>a</sup>
	7	7.02±0.15 <sup>b</sup>	7.02±0.15		5.73±0.02 <sup>c</sup>	4.75±0.27 <sup>d</sup>	2.73±0.09 <sup>c</sup>	91.7±1.20 <sup>a</sup>
	8	4.04±0.05 <sup>b</sup>	4.04±0.05		3.28±0.05 <sup>c</sup>	2.50±0.40 <sup>d</sup>	1.45±0.03 <sup>c</sup>	90.0±0.00 <sup>a</sup>
	9	2.23±0.01 <sup>b</sup>	2.23±0.01		2.40±0.01 <sup>b</sup>	2.42±0.37 <sup>b</sup>	0.97±0.04 <sup>c</sup>	93.7±0.60 <sup>a</sup>

\*Values are mean±standard deviation.

<sup>a-c</sup>Means in the same row not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple test.

**Table 5. Comparative data of fermentable sugar in *Ipguk Makgeolli* by different analysis methods** (Unit: mg/mL)

Sample	day	Reducing sugar						
		HPLC			DNS	Fehling	Glucose Kit	Refractometer
		Total	Glucose	Maltose				
Ipguk	1	8.88±0.10 <sup>c</sup>	8.88±0.10		11.28±0.22 <sup>b*</sup>	9.87±1.36 <sup>c</sup>	7.70±0.21 <sup>d</sup>	91.3±0.60 <sup>a</sup>
	2	28.99±0.37 <sup>b</sup>	28.99±0.37		27.25±0.13 <sup>c</sup>	25.27±0.23 <sup>d</sup>	20.23±0.32 <sup>c</sup>	88.7±0.60 <sup>a</sup>
	3	16.08±0.24 <sup>b</sup>	15.42±0.23	0.67±0.03	15.46±0.92 <sup>b</sup>	16.32±1.21 <sup>b</sup>	8.73±0.14 <sup>c</sup>	101.7±0.60 <sup>a</sup>
	4	10.61±0.12 <sup>b</sup>	10.27±0.11	0.34±0.01	7.67±0.21 <sup>c</sup>	8.33±1.76 <sup>c</sup>	7.50±0.13 <sup>c</sup>	103.3±1.50 <sup>a</sup>
	5	7.36±0.07 <sup>b</sup>	6.87±0.06	0.49±0.01	6.56±0.20 <sup>c</sup>	6.96±0.90 <sup>bc</sup>	4.43±0.14 <sup>d</sup>	105.7±0.60 <sup>a</sup>
	6	6.36±0.02 <sup>b</sup>	5.75±0.01	0.61±0.01	6.01±0.07 <sup>bc</sup>	5.59±0.67 <sup>c</sup>	3.87±0.05 <sup>d</sup>	105.7±0.60 <sup>a</sup>
	7	4.91±0.03 <sup>c</sup>	4.91±0.03		5.19±0.04 <sup>b</sup>	5.11±0.16 <sup>b</sup>	3.60±0.05 <sup>d</sup>	106.7±0.60 <sup>a</sup>
	8	4.79±0.01 <sup>b</sup>	4.79±0.01		4.90±0.06 <sup>b</sup>	4.60±0.42 <sup>b</sup>	3.51±0.06 <sup>c</sup>	106.3±0.60 <sup>a</sup>
	9	5.75±0.02 <sup>b</sup>	5.75±0.02		5.86±0.08 <sup>b</sup>	5.38±0.08 <sup>c</sup>	4.45±0.06 <sup>d</sup>	112.7±1.50 <sup>a</sup>

\*Values are mean±standard deviation.

<sup>a-c</sup>Means in the same row not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple test.

럼 개량누룩과 입국의 효소 활성이 영향을 끼쳤기 때문인 것으로 생각된다.

현재 대부분의 영세규모 업체에서 적용하고 있는 굴절계를 이용한 당도 분석 결과, 개량누룩 시험구와 입국 시험구에서 모두 다른 분석방법으로 실시한 결과값보다 매우 큰 값을 보였으며 발효 전주기를 통하여 경시적 변화가 크지 않았다. 특히 발효성 당이 대부분 소비되는 발효 말기에도 매우 높은 당함량을 나타내는 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과는 막걸리 제조를 위한 병행발효 술덧 중 발효성 당 분석 시 굴절계를 이용한 당도 분석은 적합하지 않으며, 술덧 발효 관리 시 오류를 발생시킬 수 있는 가능성이 크다는 것을 의미하는 것으로 생각된다. 따라서 HPLC 분석결과와 가장 유사한 결과를 나타낸 DNS와 펠링법 중에서 분광광도계와 같은 별도 분석장비를 사용하지 않으면서 시료간 측정값이 동등 수준으로 용이하게 발효성 당 분석을 실시할 수 있는 펠링법의 적용이 양조업체에서 적용할 수 있는 가장 정확하고 효율적인 방법이라고 볼 수 있다.

### 요 약

본 연구에서는 막걸리 양조업체에서 주로 사용되고 있는 발효제인 입국과 개량누룩을 이용한 막걸리 술덧 양조 시 발효성 당

함량의 분석방법간 결과 비교를 통하여 다수의 막걸리 양조업체에서 발효성 당 분석 시 적용하고 있는 굴절계 분석 방법의 정확도 검증 및 HPLC 분석결과를 기준으로 DNS법, 펠링법, 포도당 키트를 사용한 분석결과와의 유의성 검증을 통하여 분석방법간 차이를 확인함으로써 영세 규모 막걸리 양조업체에서도 정밀 분석 장비를 사용하지 않고 용이하게 발효성 당 분석을 실시할 수 있는 분석방법 적용에 대한 근거를 제시하고자 하였다. DNS법과 펠링법은 발효성 당 분석 기준으로 설정한 HPLC 분석결과와 가장 유사한 결과를 나타내었으나 포도당 키트와 굴절계를 사용한 분석결과는 HPLC 분석결과와 큰 차이를 나타내는 것으로 확인되었다. 특히, 굴절계를 사용한 분석 결과의 경우 발효 전주기를 통하여 경시적 변화가 확인되지 않았으며, 발효성 당이 대부분 소비되는 발효 말기에도 매우 높은 당도를 나타내는 것으로 확인되었다. 따라서, 현재 다수의 막걸리 양조업체에서 발효성 당 분석 시 적용하고 있는 굴절계를 이용한 당도 분석은 적합하지 않으며, 술덧 발효 관리 시 오류를 발생시킬 수 있는 가능성이 매우 클 수 있으므로 분광광도계와 같은 별도의 분석장비를 사용하지 않고 용이하게 발효성 당 분석을 실시할 수 있는 펠링법의 적용이 양조업체에서 적용할 수 있는 가장 정확하고 효율적인 방법으로 볼 수 있다.

## 감사의 글

본 연구는 2014년도 환경대학교 교비 과건 연구비의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

## References

1. So MH. Aptitudes for *takju* brewing of wheat flour-*nuruks* made with different mold species. Korean J. Food Nutr. 8: 6-12 (1995)
2. So MH, Lee JW. *Takju* brewing by combined use of *Rhizopus japonicus-nuruk* and *Aspergillus oryzae-nuruk*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25: 157-162 (1996)
3. Park JH, Bae SM, Yook C, Kim JS. Fermentation characteristics of *takju* prepared with old rice. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 609-615 (2004)
4. Vihinen M, Mantsiila P. Microbial amylolytic enzyme. Crit. Rev. Biochem. Mol. 24: 329-418 (1989)
5. So MH, Park SY, Kim SH, Oh HJ. Conditions for the production of amylase and protease in marking wheat flour *nuluk* by *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* S1. Korean J. Food Nutr. 7: 51-57 (1994)
6. Lee JS, Lee TS, Park SO, Noh BS. Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 316-323 (1996)
7. Song JC, Park HJ. *Takju* brewing using the uncooked germed brown rice at second stage mash. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 847-854 (2003)
8. Chung JH. Studies on the identification of organic acids and sugars in the fermented mash of the *takju* made from different raw materials. J. Korean J. Food Soc. Appl. Bi. 8: 39-43 (1967)
9. 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)
10. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Volatile flavor components in mash *takju* prepared by using different *nuruks*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 563-570 (1997)
11. NTS. Acidity Analysis Regulation. Technical Service Institute of Tax Service. Sejong, Korea. p.41 (2009)
12. NTS. Saccharogenic Power Analysis Regulation. Technical Service Institute of Tax Service. Sejong, Korea. pp. 12-16 (2009)
13. Kim JS, LEE JH, Chang YE, Kim GC, Kim KM. The quality characteristics of rice mash by mixing ratios of rice and rice *koji*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 2035-2041 (2013)
14. NTS. Alcohol Analysis Regulation. Technical Service Institute of Tax Service. Sejong, Korea. pp. 20-21 (2009)
15. MFDS. Food Standards Codex. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea (2007)
16. Chae SK, Kang KS, Ryu ID, Ma SJ, Bang KY, Oh MH, Oh SH. Food Analysis. Jigu Publishing, Co. Seoul, Korea. pp. 403-404 (2008)
17. NTS. Reducing Sugar Analysis Regulation. Technical Service Institute of Tax Service. Sejong, Korea. pp. 7-8 (2009)
18. Kim SC, Kim HS, Kang YJ. Changes of components in the rice-porrridge fermented by *nuruk*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 1017-1021 (1999)
19. Hwang IG, Yang JW, Kim JY, Yoo SM, Kim GC, Kim JS. Quality characteristics of saccharified rice gruel prepared with different cereal *koji*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1617-1622 (2011)
20. Park CS. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. MS thesis, Seoul Women's University, Seoul, Korea (2001)
21. Park CW, Jang SY, Park EJ, Yeo SH, Jeong YJ. Quality characteristics of rice *makgeolli* prepared by mashing types. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 207-215 (2012)
22. Song JC, Park HJ, Shin WC. Changes of *takju* qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 895-900 (1997)
23. 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)
24. Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added *takju* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 266-271 (2007)