

## 누룩추출물로 제조한 약주의 품질특성

강지은\* · 최한석 · 김재운 · 김찬우 · 여수환 · 정석태  
국립농업과학원 발효식품과

## Quality Characteristics of *Yakju* with *Nuruk* Extracts

Ji-Eun Kang\*, Han-Seok Choi, Jae-Woon Kim, Chan-Woo Kim, Soo-Whan Yeo, and Seok-Tae Jung  
Fermented Food Science Division, National Institute of Agricultural Science

**Abstract** We investigated the fermentation characteristics of *yakju* made with *nuruk* extracts. Alcoholic fermentation was performed in an incubator set at 25°C for 14 days. The study results are as follows: the alcohol content of *yakju* made with modified *nuruk* (18.67%) was higher than that made with other *nuruk* extracts (14.80-17.50%). The pH value of this modified *nuruk* (4.13) was higher than that of traditional *nuruk* (3.70-4.00). The *yakju* containing modified *nuruk* showed the highest acidity (3.64 mL/10 mL), amino acidity (4.72 mL/10 mL), soluble solid (1.20°Bx), and color difference (39.78). The concentration of organic acids in traditional *nuruks* was 212.25-312.97 mg/100 mL, whereas that in modified *nuruk* was 295.92 mg/100 mL. Nitrogen compound concentrations in modified *nuruk* (2285.89 mg/L) were 2-14 times higher than that in traditional *nuruk*. Nitrogen compound concentration and amino acidity are the physiochemical characteristics with the highest impact on off-flavor and browning of *yakju*. In order to reduce these unfavorable characteristics, material with a lower protein content should be used.

**Keywords:** *yakju*, traditional *nuruk*, modified *nuruk*, extracts

### 서 론

우리나라의 양조법은 외국과 달리 발효제로 누룩을 첨가하여 제조하는 특징을 가지고 있다(1). 누룩은 밀이나 보리, 쌀 등 곡류에 물을 뿌려 반죽하고 성형한 다음 자연적으로 발효시켜서 제조한다(2). 따라서 단일균주만 사용하는 일본 입국과 달리 다양한 미생물이 자연적으로 착생하여 생육하므로, 누룩이 생산된 지역의 기후나 풍토, 제조 환경 등에 따라 특색 있는 누룩이 만들어 지게 된다. 과거 1945년 이전 누룩에는 곰팡이의 경우 *Aspergillus*속이 주종을 이루고 *Rhizopus*속, *Absidia*속, *Mucor*속 순으로 분포하고 있었고 효모는 엿당(maltose)을 이용하지 못하는 *Saccharomyces cerevisiae*가, 세균류는 점액 세균인 *Bacillus viscosus*가 다빈도로 분리되었다(3). 1945년부터 1990년대 누룩에서는 *Aspergillus*속 다음으로 *Penicillium*속이 다량 검출되었고 1945년 이전에는 분리되지 않았던 *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*속 및 *B. pumilus*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc mesenteroides* 등이 주요 균총으로 나타났다(4). 최근의 누룩에는 세균, 곰팡이, 효모, 젖산세균의 분포가 10 g당 약 3.5-7.9 log CFU 정도이며, *Aspergillus oryzae*보다 *Lichtheimia corymbia*가 더욱 많이 발견되었고 효모도 *S. cerevisiae*보다 *Pichia jadinii*가 존재하는 누룩이 많은 것으로 확

인되었다(5). 이는 우리나라의 자연환경변화와 누룩제조에 사용되는 밀품종 등의 변화와 무관하지 않은 것으로 보여지며 효소 활성, 알코올 발효력, 유기산과 유리아미노산 함량 등에서 차이를 나타내게 되고 이는 전통주의 맛, 향기, 색 등의 품질 특성에 영향을 미치게 된다(6).

특히 누룩취라고 인식되어 있는 약주의 이취는 한국사람들에 있어서는 곰팡이 냄새, 유기용매 냄새로 묘사되는(7) 반면 외국인들은 효모향(8)으로 표현되며 전통주의 저변확대에 걸림돌로 작용되고 있다. 따라서 이취를 제어하고자 누룩 대신 효소제(9)와 쌀, 후미 등으로 제조한 누룩(10)을 사용하기도 하였으며 *Rhizopus oryzae (japonicus)*, 1998 이전)와 *Aspergillus oryzae*를 배양시켜 놓은 개량 누룩(11)의 이용이 검토되기도 하였으나 아직 이취 성분이 동정되거나 이의 생성경로가 밝혀지지 않아 해결에 어려움을 겪고 있다. 이취의 생성은 크게 누룩제조 과정 중에 생성되는 대사산물이 술에 유입되어 생성되거나 누룩에 살고 있던 미생물이 발효에 의해 생성되는 것, 또는 이들의 복합적 변화 등으로 나누어 볼 수 있다. 그러나 상업적으로 판매되는 누룩은 대부분 이취가 없기 때문에 누룩에 함유된 성분이 술에 유입되었 다기보다는 술덧 발효과정 중 성분변화에 의해서 주류의 이취가 발생할 가능성이 높다. 일본은 청주의 이취 성분의 하나로 2,4,6-트라이클로로아니솔(2,4,6-trichloroanisole, TCA)을 지목하고 있는데 이 성분은 입국 제조 중 나무의 리그닌(lignin)류가 2,4,6-트라이클로로페놀(2,4,6-trichlorophenol, TCP)로 변환된 후 술덧 발효 과정에서 입국의 효소에 의해 TCP가 TCA로 전환되는 것으로 추정되고 있다(12). 그러나 TCA는 musty, muddy향을 가지고 있는 성분으로 전통주의 이취와는 차별된다. 또한, 예비실험 결과 누룩에 포함되어 있는 *B. amyliquefaciens* (5)가 발효가 완료된 술덧에서 발견되었으나 이취와는 관련이 적은 것으로 나타났다.

\*Corresponding author: Ji-Eun Kang, Fermented Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, Wanju, Jeonbuk 55365, Korea  
Tel: 82-63-238-3617  
Fax: 82-63-238-3843  
E-mail: kje0516@korea.kr  
Received February 16, 2016; revised May 10, 2016;  
accepted May 11, 2016

따라서 약주의 이취 원인이 누룩의 대사산물 또는 이외의 원료가 발효과정 중 어떠한 변화에 의해서 발생하는 것으로 추정하고 재래누룩 및 개량누룩을 추출한 다음 제공하여 미생물의 영향을 배제한 후 약주를 제조하여 이취 및 갈변 발생과의 상관성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

쌀은 강원도 철원군 갈말농협미곡종합처리장에서 생산된 오대벼 품종을 사용하였고, 효모는 (주)비전바이오켄(Seongnam, Korea)에서 구매한 라빠리장(S.I. Lesaffre Co., Marcq-en-Barœul, France)을 사용하였다. 개량누룩(당화력 1800 SP)은 주식회사 한국효소(Hwaseong, Korea)에서, 재래누룩은 송학곡자(Gwangju, Korea), 진주곡자(Jinju, Korea), 산성누룩(Busan, Korea)에서 판매하는 재래누룩을 구입하여 사용하였다.

### 누룩추출물 제조

각 건조누룩을 롤밀(Dongkwang Co., Daegu, Korea)로 분쇄한 다음 100 메시체를 통과시켰다. 분쇄누룩 200 g에 물 2 L를 붓고 4°C에서 때때로 흔들면서 12시간 추출한 다음, 3,000 rpm, 4°C에서 10분 동안 원심분리(CR22G Hitachi Co., Tokyo, Japan) 하였다. 상층액을 회수하고 거름종이(filter paper) (No. 2, Advantec Co., Tokyo, Japan)로 여과한 다음 무균실에서 0.45 µm 막거르개(membrane filter) (Millipore Co., Cork, Ireland)로 제공하여 추출물을 제조하였다.

### 약주제조

쌀 1 kg을 깨끗하게 씻어서 하루 전날 수침한 다음, 다음날 1 시간 동안 물빼기 하였다. 쌀을 증자기(MS-30, Yaegaki Food & System Inc., Himeji, Japan)에 넣고 김이 올라오기 시작한 후부터 40분간 수증기를 더 가해 고두밥을 제조하였다. 10 L 플라스틱 병에 물 0.6 L와 누룩추출물 1 L, 효모를 쌀 양의 0.2% (w/w)되게 넣은 다음 증자미를 더했다. 발효는 항온배양기(VS-1203PFHLN, Vision Scientific, Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용, 25°C에서 14일간 하였다. 발효가 완료된 술덧을 원심분리(7,000 rpm, 4°C, 30분)한 다음 상층액을 여과(filter paper No. 2, Advantec Co.)하여 약주를 제조하였다.

### 이화학적분

pH는 pH 측정기(Thermo Scientific Co., Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 산도, 아미노산도, 알코올 함량은 주류분석 규정(13)에 준하여 측정하였다. 산도는 시료 10 mL를 중화시키는 데 필요한 0.1 N 수산화소듐(NaOH) (Yakuri pure chemicals Co., Ltd., Kyoto, Japan) 용액이 소비된 mL수로, 아미노산도는 산도를 측정된 시료에 포말린(formalin) (Yakuri pure chemicals Co., Ltd.) 용액 5 mL를 첨가한 다음 0.1 N 수산화소듐으로 적정한 값으로 나타내었다. 알코올 함량은 약주 100 mL에 증류수 100 mL를 혼합하여 증류한 다음 주정계(Dongmyung, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 가용 고형물 함량은 굴절당도계(Atago Co., Tokyo, Japan)를, 환원당 분석은 DNS법을(14), 색차는 색차계(Ultra Scan PRO, Hunter Lab Inc., Reston, VA, USA)를 사용하여 측정하였다.

### 유기산

유기산 분석을 위해서 HPLC (LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하였으며 post column방법을 사용하여 분석하였다. 유기산 분석용 컬럼은 Shodex RSpak KC-G (6.0 mm×50.0 mm) guard column에 RSpak KC-811 (8.0 mm×300 mm, Showa Denko, Tokyo, Japan) 2개를 연결하여 사용하였다. 이동상은 3 mM 과염소산(perchloric acid) (Kanto chemical, Tokyo, Japan)을 이용하였으며, 유속은 0.8 mL/min, 컬럼오븐의 온도는 63°C로 하였다. 분리물은 반응용액 0.2 mM 브로모티몰블루(bromothymol blue) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 15 mM 인산수소이소듐( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (Sigma Chemical Co.), 2 mM 수산화소듐과 반응한 후 UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 반응용액의 유속은 1.0 mL/min, 반응온도는 30°C로 하였다. 시료는 여과(0.2 µm, Millipore Co.)후 사용하였다.

### 유리 질소화합물

유리 질소화합물은 아미노산 자동분석기(L-8900, Hitachi Co.)를 사용하였다. 시료 5 mL에 5% 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid) (Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan) 5 mL를 첨가한 후 원심분리(12,000 rpm, 4°C, 15분)하였다. 상층액을 회수한 다음 여과(0.2 µm, Millipore Co.)한 것을 분석하였으며, 분석에는 PF #2622 (4.6×60 mm, Hitachi Co.) 컬럼을 사용하였으며 컬럼오븐의 온도는 57°C, reactor의 온도는 136°C로 설정하였고 발색에는 닌하이드린(ninhydrin) (Wako pure chemical Industrial, Ltd., Osaka, Japan) 용액을 사용하였다(15).

### 효소활성 측정

글루코아밀레이스(glucoamylase) 활성 측정을 위해 녹말 용액(Wako pure chemical Industrial, Ltd.) 1 mL에 0.2 M 아세트산 완충용액 0.2 mL를 가해서 40°C에서 5분간 예열시켰다. 여기에 누룩 추출물 1 mL를 가한 후 40°C에서 20분간 반응시킨 다음 1 N 수산화소듐 용액 0.1 mL를 첨가하여 반응을 정지시키고 30분간 방치하였다. 1 N 염산(HCl) (Junsei Chemical Co.) 0.1 mL를 가해 중화시킨 후 DNS법(14)을 이용하여 포도당량을 측정하였다(16).

#### 효소활성(Unit/g)

$$= (\text{생성 포도당량}(\text{mg}) \times 1 / 0.1 (\text{효소량, g}) \times 100 / 10 (\text{추출물})) / \text{반응시간}(\text{h})$$

알파아밀레이스( $\alpha$ -amylase) 활성은 1% 녹말 용액(Wako pure chemical Industrial, Ltd.) 2 mL를 시험관에 취해, 40°C에서 5분간 예열하고, 효소액 0.1 mL를 가해서 반응을 개시하였다. 이때 효소액을 넣고 반응액( $T_0$ )과 반응개시 30분 후의 반응액( $T_{30}$ ) 0.1 mL를 피펫으로 취해 미리 아이오딘(iodine) (Sigma Chemical Co.) 10 mL를 넣어둔 시험관에 넣어 혼합한 후, 670 nm 투과율( $T_{670}$ )을 측정하였다(16).

$$\text{효소활성}(\text{Unit/g}) = (12.75 \times (T_{30} \text{ min} - T_0 \text{ min}) / 30 \text{ min}) \times 100 / 10$$

산성 프로테이스(acidic protease)는 카세인(casein) 용액 1.5 mL에 pH 3.0 맥바인(MacIlvaine) 완충용액 1.0 mL를 가해서 40°C에서 예열하였다. 여기에 효소액 0.5 mL를 가하여 40°C에서 60분간 반응시킨 후 0.4 M 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid) 3 mL를 가해서 반응을 정지시켜 침전물을 제거하였다. 이 반응액 1 mL에 0.4 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5 mL와 페놀시약 1 mL를 가해 40°C에서 30분간 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다(16).

효소활성(Unit/g)  
 =(생성 포도당량(mg)×1/0.1(효소량, g)×100/10(추출률))/반응시간(h)

**이취 관능평가**

관능검사는 국립농업과학원 26-45세 남자 5명, 여자 5명으로 총 10명이 참여하였고 기존의 전통주 관련 관능평가 경험이 있는 연구원으로 구성하였다. 생산된지 1달 이내의 신선한 약주와 비교했을 때 누룩추출물 약주에서 나타나는 이취를 3가지 항목으로 구분하여 0-4점 척도로 표시하게 하였다. 항목은 전반적인 향의 강도, 카라멜향 혹은 탄내, 황내 3가지 항목을 5점 척도로 평가하여 0점 “매우 약하다”, 4점 “매우 강하다”로 표시하였다. 총 3회에 걸쳐 평가를 실시하여 평균 점수가 3점 이상일 경우 이취가 생성되었다고 판단하였다(17). 패널들에게 제공된 시료는 모두 난수로 표시되어 Williams latin square 방식으로 제공되었으며, 한 시료의 향기를 평가한 후 다음 시료를 평가하는데 약 3-5분 정도의 시간이 소요되게 하였다.

**통계**

효소활성과 일반성분 변화에 대한 비교는 주성분분석(XLSTAT, version 2014, Addinsoft, Paris, France)을 통해 하였으며, 각 처리구들 사이의 성분변화는 Minitab 16 (Minitab Inc., State college, PA, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 성분의 함량은 유의수준 5% ( $p<0.05$ )로 설정하여 일원분산분석을 수행하였으며 누룩추출물이 이취에 미치는 영향은 상관분석을 수행하였다.

**결과 및 고찰**

**일반성분**

시판누룩의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1와 같다. 누룩별

수분함량(%)은 12.29(진주), 8.15(송학), 11.40(산성), 6.80(개량) 범 위였으며, 조단백질 함량(g/100 g)은 14.78(진주), 15.42(송학), 15.76(산성), 16.36(개량)으로 각각 유의적인 차이가 없는 것으로 조사되었다. 조지방은 재래누룩 0.70(산성)-1.16(진주), 개량누룩 2.33 g/100 g으로 개량누룩 함량이 재래누룩보다 2.0배 이상 높은 것으로 나타났다. 조회분 함량은 재래누룩 1.82(진주)-1.98(산성), 개량누룩 3.46 g/100 g으로 개량누룩이 재래누룩보다 1.7배 이상 높아 유의적인 차이를 보였다( $p<0.05$ ).

**이화학적성분**

누룩추출물 약주의 일반성분을 Table 2에 나타내었다. 알코올 함량(%)은 재래누룩이 14.80-17.50, 개량누룩이 18.67로 개량누룩 이 재래누룩보다 1.1-1.3배 높은 생산성을 나타내었다. pH는 재래누룩이 3.64-4.00, 개량누룩이 4.13으로 개량누룩의 pH 값이 높 게 나타났으며 이외에 산도, 아미노산도, 가용 고형물, 환원당 함 량 역시 개량누룩에서 각각 1.2-2.2, 2.2-6.8, 1.6-5.3, 1.1-2.4배 높 게 나타났다. 술의 색상에 있어서는 개량누룩의 L값이 64.16으로 재래누룩 78.37-88.28보다 1.2-1.4배 낮고, 적색도와 황색도는 재래누룩의 평균치보다 각각 0.9-4.0, 2.2-3.2배 높아 개량누룩 약주 가 재래누룩 약주보다 어두운 것으로 조사되었다. 이들의 색차 ( $\delta E$ )는 재래누룩 13.37-22.31, 개량누룩 39.78로 개량누룩이 1.8-3.0배 높은 것으로 계산되었다. 재래누룩보다 개량누룩의 일반성 분 함량이 높게 나타난 원인은 효소활성의 차이로 판단된다. 개량누룩 추출물의 글루코아밀레이스 활성은 2528.0 U/mL로 재래 누룩의 활성 64.0-792.0 U/mL보다 3.2-44.0배 높은 활성을 보였 으며 이러한 높은 효소활성은 약주의 가용 고형물 함량( $r=0.965$ ) 및 색차( $r=0.954$ ) 증가에 유의적인 상관성을 나타내었다(Table 3). 누룩추출물의 알파아밀레이스의 활성은 통계적 유의성은 없었으 나 아미노산도( $r=0.891$ ), 가용 고형물( $r=0.909$ ), 색차(0.933)와 높

**Table 1. Proximate analysis of *nuruk***

Proximate composition	Traditional			Modified	
	Jinju	Songhak	Sanseong		
Moisture (% fresh base)	12.29±0.06 <sup>a1)</sup>	8.15±0.09 <sup>c</sup>	11.40±0.05 <sup>b</sup>	6.80±0.02 <sup>d</sup>	
Crude (% dry base)	Protein	12.97±0.28 <sup>c</sup>	14.28±0.03 <sup>b</sup>	13.95±0.24 <sup>b</sup>	15.29±0.01 <sup>a</sup>
	Fat	1.02±0.01 <sup>b</sup>	0.94±0.03 <sup>b</sup>	0.62±0.04 <sup>c</sup>	2.18±0.02 <sup>a</sup>
	Ash	1.60±0.04 <sup>b</sup>	1.71±0.02 <sup>b</sup>	1.75±0.06 <sup>b</sup>	3.23±0.00 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD ( $n=3$ ), different letters within the same row differ significantly ( $p<0.05$ ).

**Table 2. Changes in the chemical characteristics of *yakju* with *nuruk* extracts (25 °C, 14 days)**

Component	Traditional			Modified	
	Jinju	Songhak	Sanseong		
Alcohol (%)	16.70±0.70 <sup>c1)</sup>	14.80±0.17 <sup>d</sup>	17.50±0.20 <sup>b</sup>	18.67±0.25 <sup>a</sup>	
pH	3.70±0.03 <sup>c</sup>	3.64±0.01 <sup>d</sup>	4.00±0.02 <sup>b</sup>	4.13±0.02 <sup>a</sup>	
Acidity (mL/10 mL)	6.79±0.10 <sup>b</sup>	3.64±0.01 <sup>d</sup>	4.79±0.04 <sup>c</sup>	8.32±0.05 <sup>a</sup>	
Amino acidity (mL/10 mL)	2.00±0.05 <sup>b</sup>	0.69±0.10 <sup>c</sup>	2.16±0.05 <sup>b</sup>	4.72±0.11 <sup>a</sup>	
Soluble solid (°Bx)	2.92±0.43 <sup>c</sup>	9.44±0.30 <sup>b</sup>	5.67±0.61 <sup>bc</sup>	15.41±4.10 <sup>a</sup>	
Reducing sugar (%)	1.10±0.00 <sup>b</sup>	0.50±0.00 <sup>c</sup>	0.50±0.00 <sup>d</sup>	1.20±0.00 <sup>a</sup>	
Hunter color value	L	80.57±0.05 <sup>b</sup>	78.37±0.03 <sup>c</sup>	88.28±0.15 <sup>a</sup>	64.16±0.06 <sup>d</sup>
	a	0.45±0.01 <sup>c</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>	0.66±0.01 <sup>d</sup>	0.60±0.01 <sup>a</sup>
	b	7.90±0.02 <sup>b</sup>	5.48±0.02 <sup>d</sup>	6.41±0.01 <sup>c</sup>	17.23±0.05 <sup>a</sup>
	$\delta E$ <sup>2)</sup>	20.98±0.04 <sup>c</sup>	22.31±0.04 <sup>b</sup>	13.37±0.13 <sup>d</sup>	39.78±0.04 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD ( $n=3$ ), different letters within the same row differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>2)</sup> $\delta E$  was calculated by the difference of whiteness ( $\sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ ).

**Table 3. Changes in the enzymic activity of yakju with nuruk extracts (unit/ mL)**

Type		Glucoamylase	$\alpha$ -Amylase	Acidic protease
Traditional	<i>Jinju</i>	64.0 $\pm$ 32.1 <sup>1)</sup>	19.50 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>	1825.20 $\pm$ 33.8 <sup>b</sup>
	<i>Songhak</i>	792.0 $\pm$ 183.0 <sup>b</sup>	97.05 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	724.78 $\pm$ 16.7 <sup>c</sup>
	<i>Sanseong</i>	104.10 $\pm$ 48.9 <sup>b</sup>	64.51 $\pm$ 8.5 <sup>b</sup>	1114.0 $\pm$ 204.0 <sup>c</sup>
Modified		2528.0 $\pm$ 546.0 <sup>a</sup>	780.10 $\pm$ 32.5 <sup>a</sup>	10298.0 $\pm$ 271.0 <sup>a</sup>
Correlation coefficient <sup>2)</sup>	Alcohol	0.497	0.678	0.753
	pH	0.597	0.737	0.739
	Acidity	0.600	0.722	0.839
	Amino acidity	0.769	0.891	0.943
	Reducing sugar	0.516	0.600	0.729
	Soluble solid	0.965 <sup>3)</sup>	0.909	0.817
	$\delta$ E	0.954 <sup>*</sup>	0.933	0.932

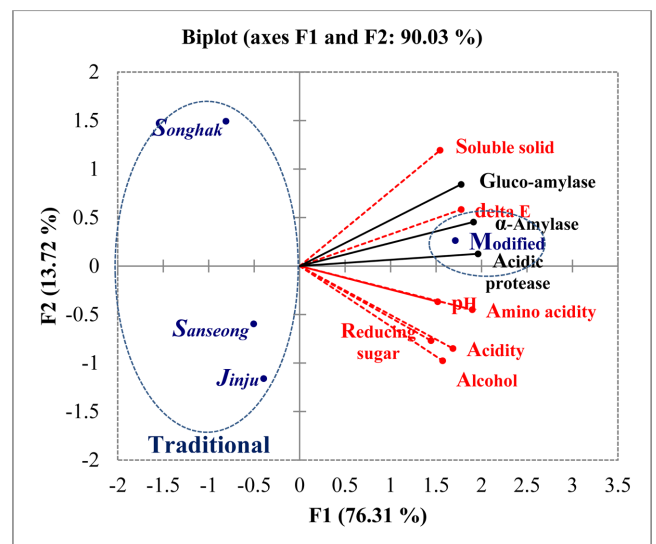
<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SD ( $n=3$ ), different letters within the same column differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>2)</sup>Correlation coefficient is a correlation between the enzyme activity and the components.

<sup>3)</sup>Values in “\*” are different with a significance level  $\alpha=0.05$ .

은 상관성을 나타내고 있었으며, 재래누룩과 개량누룩의 활성은 각각 19.50-64.51, 780.10 U/mL로 개량누룩 추출물의 활성이 8.0 배 이상 높은 것으로 확인되었다. 산성 프로테이스의 활성은 산도( $r=0.838$ ), 아미노산도( $r=0.943$ ), 색차( $r=0.932$ ) 등에 영향을 미치는 것으로 나타났으며 개량누룩 추출물이 재래누룩 추출물의 활성보다 5.6배 이상 높았다. 한 가지 특이한 점으로 글루코아밀레이스와 알파아밀레이스의 활성이 약주의 아미노산도와 높은 상관계수를 가지고 있었다. 이는 쌀 표면에 protein body (PB)가 있고 중심부 쪽에는 PB-II가 다른 화합물들과 결합되어 분포하고 있기 때문에(16) 글루코아밀레이스와 알파아밀레이스가 중심부의 녹말까지 잘 분해시킴으로써 프로테이스가 내부 단백질까지 분해시킬 수 있는 환경이 조성되었기 때문으로 판단된다. 한편 글루코아밀레이스의 활성은 당화력을 크게 좌우하여(18) 알코올 생산성에도 많은 영향을 미치는데 약주의 알코올 함량에 대한 상관계수는 0.497로 비교적 낮게 나타났다. 주류제조에 있어 쌀을 당화시켜 알코올 발효를 일으키는 당화력(saccharifying power)은 원료 쌀 g당 27 당화력이면 가능하다(19). 따라서 쌀 1kg을 알코올 발효하기 위해서는 재래누룩은 약 90g, 개량누룩은 약 30g이 필요하다. 그러나 맛과 이상발효 억제를 위하여 통상 본 시험과 동일하게 쌀 양의 20%를 첨가하게 된다. 본 실험에서 약주 제조를 위해 첨가된 누룩양은 쌀 분해에 충분한 효소 활성이 공급되어 모든 시료에서 정상적인 알코올을 생성하였다고 볼 수 있다.

Fig. 1은 누룩에 따른 일반성분과 효소활성 변화에 대하여 주 성분 분석을 수행한 것이다. 주 성분 분석의 설명력은 전체 변동에 대하여 90.03%로 매우 높은 값을 보이고 있어 해당 모델이 누룩변화에 따른 성분변화에 대하여 잘 설명하고 있는 것으로 나타났다. 이 중 제1주성분(F1)은 전체변동의 76.31%를 설명하고 있으며 산성 프로테이스, 알파아밀레이스, 색차, 아미노산도, 산도가 주요성분이고, 제2주성분은 전체의 13.72%를 설명하며 가용 고형물이 주요성분으로 나타났다. 즉 개량누룩의 산성 프로테이스, 알파아밀레이스의 활성이 높아 색차, 아미노산도, 산도의 증가를 가져왔으며 재래누룩은 그림의 좌측에, 개량누룩은 그림의 우측에 위치하게 되는 것으로 분석되었다. 결국, 개량누룩이 재래누룩보다 원료를 비교적 잘 분해시킴으로써 약주의 일반성분들이 증가되는 것으로 해석될 수 있다. 약주에 있어 일반성분들이 적으면 맛이 가볍고, 많으면 잡미가 증가하여 품질을 저하시키기 때문에 적절한 함량을 유지하는 것이 중요하다.



**Fig. 1 Principal component analysis of the enzyme activity and chemical composition change. Blue spot: nuruk, red spot: chemical composition, black spot: enzyme activity**

### 유기산

누룩추출물을 활용한 약주의 유기산 함량은 Table 4와 같다. 유기산 총량(mg/100 mL)은 각각 312.97(진주), 212.25(송학), 215.91(산성), 295.92(개량)으로 산도(Table 2)와 유사한 경향으로 나타났다. 쌀과 누룩을 주원료로 제조한 술에 함유되어 있는 유기산은 효모에 의해서 약 73%가 생성되며, 주모로부터 17.2-17.4%, 쌀과 누룩으로부터 10%가 유입되는 것으로 보고되고 있다(20). 정상적으로 발효된 주류에는 숙신산(succinic acid), 젖산(lactic acid), 말산(malic acid)이 전체의 약 80%를 차지하고 그 밖에 시트르산(citric acid), 피루브산(pyruvic acid), 아세트산(acetic acid) 등이 생성된다(21). 누룩추출물 약주에서 분석된 유기산은 와인 과 맥주의 일반적인 맛 성분으로 짠맛, 쓴맛, 신맛의 복합체인 숙신산(재래누룩 97.16-115.85, 개량누룩 89.83)과 효모의 해당과정에서 생성되어 청주 및 막걸리 발효에서 사용되는 젖산(재래누룩 79.07-192.45, 개량누룩 158.35) 및 말산의 함량(재래누룩 11.35-19.17, 개량누룩 11.47)이 가장 높게 나타났다. 시트르산, 숙신산,

**Table 4. Concentration of organic acids in yakju with nuruk extracts (mg/100 mL)**

Compounds	Traditional			Modified
	Jinju	Songhak	Sanseong	
Oxalic	1.61±0.47 <sup>a1)</sup>	0.37±0.64 <sup>b</sup>	0.32±0.30 <sup>b</sup>	1.12±0.26 <sup>ab</sup>
Citric	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	ND
Tartaric	1.19±1.06 <sup>b</sup>	4.30±0.74 <sup>a</sup>	1.90±1.15 <sup>b</sup>	1.33±0.95 <sup>b</sup>
Malic	13.34±0.82 <sup>b</sup>	11.35±0.90 <sup>b</sup>	19.17±1.24 <sup>a</sup>	11.47±1.29 <sup>b</sup>
Succinic	97.16±2.93 <sup>bc</sup>	115.85±8.81 <sup>a</sup>	105.16±3.18 <sup>b</sup>	89.83±2.39 <sup>c</sup>
Fumaric	ND	ND	ND	ND
Lactic	192.45±6.23 <sup>a</sup>	79.07±6.49 <sup>c</sup>	80.90±2.36 <sup>c</sup>	158.35±3.84 <sup>b</sup>
Formic	0.80±0.13 <sup>a</sup>	ND	0.11±0.04 <sup>a</sup>	0.13±0.23 <sup>a</sup>
Acetic	5.83±0.47 <sup>b</sup>	1.31±0.18 <sup>c</sup>	6.91±0.95 <sup>b</sup>	25.86±1.09 <sup>a</sup>
Pyroglutamic	1.31±0.75 <sup>b</sup>	ND	1.51±0.91 <sup>b</sup>	7.83±2.48 <sup>a</sup>
Total	312.97±9.38 <sup>a</sup>	212.25±17.4 <sup>b</sup>	215.91±7.63 <sup>b</sup>	295.92±7.93 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD (n=3), different letters within the same row differ significantly (p<0.05).

<sup>2)</sup>ND means not detected.

말산은 효모의 TCA 회로를 통해서 생성되고, 젖산은 피루브산의 산화에 의해 생성되며, 아세트산은 알코올과 알데하이드 산화에 의해서 만들어진다(22). 개량누룩의 젖산과 아세트산 함량이 재래누룩보다 0.8-2.0배, 3.7-19.7배 높게 나타난 것은 개량누룩 제조 시 젖산 생산능력이 있는 *R. japonicus* (23)를 사용하기 때문에 누룩제조 과정 중 생성되었던 젖산이 술에 유입된 것으로 판단된다. Huh 등(24)은 *R. japonicus*를 접종한 누룩으로 제조한 약주의 유기산 함량을 조사한 결과 젖산과 아세트산이 다른 유기산 성분보다 비교적 높은 함량을 보이고 있어 본 결과와 유사한 경향을 보이고 있다. 파이로글루탐산(pyroglutamic acid)은 글루탐산(glutamic acid)의 일부가 비효소적으로 변한 것으로 특이적인 맛은 없으나(25), 파이로글루탐산의 함량이 높다는 것은 아미노산의 함량이 상대적으로 높을 수 있다고 해석될 수 있는데 개량누룩에서 0-1.51, 개량누룩에서 7.83으로 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 그 외 푸마르산(fumaric acid) 및 폼산(formic acid)은 모든 술에서 미량으로 검출되었다. 유기산류는 효모의 대사과정 중 알코올류와 반응하면서 방향족 에스터 물질로 바뀌게 되는데(26), 이는 주류의 풍미에 많은 영향을 미치는 중요한 요소이다. 누룩추출물을 활용한 약주의 총 유기산 함량은 212.25-312.97의 범위로 서로 비슷한 양상을 보였다.

**유리 질소화합물**

유리아미노산을 포함한 질소화합물 함량은 Table 5와 같다. 누룩추출물 약주의 유리 질소화합물 총량(mg/L)은 각각 605.52(진주), 155.31(송학), 859.30(산성), 2285.89(개량)으로 나타났다. 개량누룩 약주의 유리 질소화합물 총량이 재래누룩 약주보다 2.7-14.7배 높게 검출되었는데 이는 아미노산도(Table 2)와 유사한 결과로 나타나 아미노산도 함량이 유리질소화합물 함량을 비교적 잘 설명하고 있음을 알 수 있다. 주류의 아미노산은 쌀이나 누룩에 함유되어 있는 단백질의 30-40%가 누룩의 산성 프로테이스 또는 산성 카복실화효소(acidic carboxylase) 등에 의해 아미노산이나 펩타이드로 분해되면서 생성되며, 이중 일부는 효모에 의해 이용되기도 한다(27). 따라서 쌀의 도정비율을 높여 원료의 단백질 함량을 낮추거나 무기이온을 첨가하여 효모의 증식력이 현저히 높아져 효모에 의한 흡수량이 증가한 경우에는 아미노산 함량이 줄어들게 된다(17). 누룩추출물 약주의 유리아미노산 중에는 알라닌(alanine), 아르기닌(arginine)의 함량이 재래누룩 20.1-150.2, 18.0-

106.6 mg/L, 개량누룩 241.9, 431.9 mg/L으로 질소화합물 총량의 약 10-20% 정도 함유되어 있어 가장 많은 함량을 차지하고 있었고, 다음으로 루신(leucine), 라이신(lysine), 페닐알라닌(phenylalanine), 프롤린(prolin), 타이로신(tyrosine)이 6-9% 함량을 차지하고 있었다. 알라닌과 아르기닌은 단맛을 가지고 있으며(28) 개량누룩 약주가 재래누룩 약주보다 각각 1.6-1.9, 4.2-24.0배 높았다. 이외에 미세한 쓴맛을 가지는 루신 및 타이로신(28)의 함량도 개량누룩 약주가 각각 3.0-18.5, 2.4-9.2배 높았고, 약한 단맛을 가지는 라이신, 페닐알라닌, 프롤린(28) 역시 각각 3.3-31.2, 2.5-11.8, 1.2-692.0배 높은 것으로 확인되었다. 또한, 효모의 대사에 의하여 아이소부탄올(isobutanol, 알코올 향)로 변하는 발린(valine)과 2-페닐알코올(2-phenylalcohol) (장미향)로 변하는 페닐알라닌(phenylalanine)(16)의 함량은 각각 114.8, 137.0 mg/L로 재래누룩 약주에 비하여 각각 2.1, 2.5배 이상 높은 것으로 나타났다. 주류에 아미노산이 적으면 맛이 가볍고, 많으면 잡미가 증가하여 품질을 저하(29)시키기 때문에 적절한 함량을 유지하는 것이 중요하나 최적 함량에 대해서는 아직 밝혀진 바는 없다. 또한 아미노산은 주류의 숙성과정에도 관여하는데, 메싸이오닌(methionine)은 이황화다이메틸(dimethyl disulfide, DMDS)로 변하여 주류에 숙성취(노주취)를 발생시키고, 환원당과의 마이야르 반응(Mailard reaction)에 의하여 푸르푸랄(furfural), 알데하이드(aldehyde)류 등으로 변하면서 약주의 향에 영향을 끼친다(21).

**약주의 이취와 갈변에 미치는 영향**

각 누룩추출물 약주의 이취를 3가지 항목(전반적인 향의 강도, 카라멜향 혹은 탄내, 황내)에 대해 평가하여 평균 점수가 3점 이상인 시료 선택수는 진주, 송학, 산성, 개량누룩 약주가 각각 0, 3, 2, 4명으로 나타나(data not shown) 개량누룩 약주에서 이취를 가장 높게 느끼는 것으로 나타났다. 신선한 청주와 3년 이상 장기 숙성한 청주의 향기성분을 분석한 결과 숙성과정에서 자극취를 생성하는 향기성분이 증가하는 것을 확인할 수가 있었다(30). 신선주에서는 과일향, 신선한 풀향, 꿀향을 형성하는 아세트산 아이소아밀(isoamyl acetate), 아세트산 펜에틸(penethyl acetate) 등이 주로 함유된 반면, 오래된 청주의 향기강도(dilution factor)는 황내를 내는 이황화다이메틸이 신선주에 비해 5배, 삼황화 다이메틸(dimethyl trisulfide, DMTS) 125배, 주류에서 탄내를 형성하는 푸르푸랄 및 피라진(pyrazine)류 5배, 메싸이오날(methional)이 25

**Table 5. Nitrogen compounds in *yakju* with *nuruk* extracts (mg/ L)**

Compounds	Traditional			Modified
	Jinju	Songhak	Sanseong	
Alanine	126.7 (20.9) <sup>1)</sup>	20.1 (12.9)	150.2 (17.5)	241.9 (10.6)
Ammonia	7.8 (1.3)	4.2 (2.7)	9.7 (1.1)	18.9 (0.8)
Anserine	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	35.8 (1.6)
Arginine	106.6 (17.6)	18.0 (11.6)	102.6 (11.9)	431.9 (18.9)
Aspartic acid	ND	ND	ND	ND
$\alpha$ -Aminoadioic acid	ND	ND	ND	30.1 (1.3)
$\alpha$ -Aminobutyric acid	3.6 (0.6)	ND	2.6 (0.3)	28.3 (1.2)
$\beta$ -Alanine	7.3 (1.2)	ND	5.7 (0.7)	25.6 (1.1)
$\beta$ -Aminoisobutyric acid	7.7 (1.3)	ND	1.1 (0.1)	31.9 (1.4)
$\gamma$ -Aminobutyric acid	21.1 (3.5)	5.4 (3.5)	23.6 (2.8)	66.8 (2.9)
Carnosine	ND	ND	ND	5.4 (0.2)
Citrulline	ND	ND	0.8 (0.1)	20.1 (0.9)
Cystathionine	13.1 (2.2)	2.3 (1.5)	11.9 (1.4)	47.2 (2.1)
Cysteine	ND	ND	ND	ND
Ethanol amine	4.8 (0.8)	ND	1.9 (0.2)	4.2 (0.2)
Glutamic acid	ND	ND	ND	ND
Glycine	10.7 (1.8)	7.4 (4.8)	42.1 (4.9)	103.0 (4.5)
Histidine	8.8 (1.5)	ND	12.0 (1.4)	51.5 (2.3)
Hydroxylysine	ND	ND	ND	ND
Hydroxyproline	0.4 (0.1)	0.7 (0.4)	0.5 (0.1)	0.9 (0.0)
Isoleucine	14.0 (2.3)	3.2 (2.1)	24.8 (2.9)	80.4 (3.5)
Leucine	44.3 (7.3)	9.8 (6.3)	59.3 (6.9)	180.8 (7.9)
Lysine	59.5 (9.8)	7.5 (4.8)	70.1 (8.2)	233.9 (10.2)
Methionine	7.5 (1.2)	0.8 (0.5)	18.0 (2.1)	72.0 (3.2)
1-Methylhistidine	ND	ND	ND	ND
3-Methylhistidine	ND	ND	ND	5.5 (0.2)
Ornithine	43.0 (7.1)	5.9 (3.8)	49.0 (5.7)	57.7 (2.5)
Phenylalanine	37.7 (6.2)	11.6 (7.4)	53.9 (6.3)	137.0 (6.0)
Phosphoethanolamine	ND	ND	ND	ND
Proline	0.2 (0.0)	31.2 (20.1)	112.3 (13.1)	138.4 (6.1)
Phosphoserine	6.9 (1.1)	ND	5.9 (0.7)	9.5 (0.4)
Sarcosine	ND	ND	ND	ND
Serine	ND	1.0 (0.6)	ND	ND
Taurine	ND	ND	ND	ND
Threonine	ND	1.0 (0.5)	ND	ND
Tryptophan	ND	ND	ND	ND
Tyrosine	36.5 (6.0)	12.1 (7.8)	45.5 (5.3)	111.1 (4.9)
Urea	ND	ND	ND	1.7 (0.1)
Valine	37.6 (6.2)	13.5 (8.7)	56.0 (6.5)	114.8 (5.0)
Total	605.5 (100)	155.3 (100)	859.3 (100)	2285.9 (100)

<sup>1)</sup>The numbers in parentheses indicate the percentage distribution of each compound.

<sup>2)</sup>ND means not detected.

배 증가하였다(30). 이와 비교했을 때 탄내와 황내가 높게 나타난 개량누룩 약주는 장기 숙성한 청주와 비슷한 이취가 나타날 것으로 사료된다. 이에 누룩추출물 약주의 이취에 영향을 미치는 요인을 살펴보기 위해 이화학적 성분(Table 2)과의 상관성을 분석한 결과(Table 6) 총 유리질소화합물과의 상관계수가 0.539로 가장 높았고, 아미노산도가 0.433으로 두번째로 높게 나타났다. 반면 환원당은 -0.065, 총 유기산 함량은 -0.301로 다소 낮은 음의 상관성을 보여 주고 있다. 즉, 술덧의 유리질소화합물 함량이 높아질수록 이에 비례하여 이취가 증가하게 되고, 유기산 함량이 증

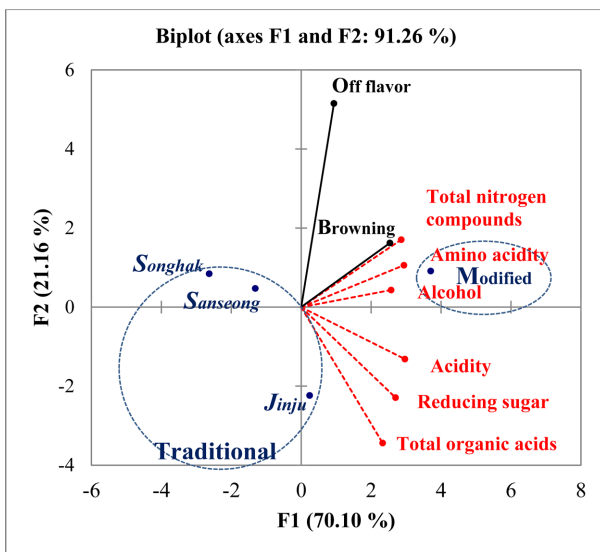
가할수록 이취가 소폭 감소하게 되는 것으로 해석될 수 있다. 그러나 아세트산이나 프로피온산(propionic acid) 또는 뷰티르산(butyric acid) 등의 저급지방산의 함량이 비정상적으로 높으면, 야생효모나 젖산균 등의 세균에 오염되었을 가능성이 높고, 산패취나 불쾌취 같은 바람직하지 않은 향이 생성된다. 약주의 갈변에는 유리질소화합물과 아미노산도의 상관계수가 각각 0.792, 0.766으로 가장 높은 것으로 확인되었다. 누룩추출물 약주의 이취와 갈변에 대한 각 이화학적 성분의 주성분 분석 결과(Fig. 2)에서도 개량누룩약주의 질소화합물의 총량과 아미노산도가 높기 때문에 이



**Table 6. The correlation coefficient on the *nuruk* extracts in off flavor and browning**

Components	Coefficient correlation <sup>1)</sup> (p value)	
	Off flavor	Browning
Alcohol	0.219 (0.781)	0.472 (0.528)
Acidity	0.076 (0.924)	0.734 (0.266)
Amino acidity	0.433 (0.567)	0.766 (0.234)
Reducing sugar	-0.065 (0.935)	0.719 (0.281)
Total organic acid	-0.301 (0.699)	0.542 (0.458)
Total nitrogen compounds	0.539 (0.461)	0.792 (0.208)

<sup>1)</sup>Correlation coefficient is a correlation between the off flavor and browning with the components.



**Fig. 2. Principal component analysis of the chemical composition change with off flavor and browning.** Blue spot: *nuruk*, red spot: chemical composition, black spot: off flavor and browning

취와 갈변이 재래누룩 약주보다 큰 것으로 나타났다. 요컨대 단백질은 효모의 알코올 대사에 꼭 필요한 영양소이지만 술덧의 아미노산 함량을 증가시켜 pH를 상승시키고 이취와 갈변의 원인물질로 작용하는 것으로 해석 될 수 있다. 즉 약주의 이취와 갈변은 누룩 제조 시 자연 증식된 미생물의 직접적인 영향보다는 이들이 생산해 놓은 효소가 발효과정 중 원료 단백질 분해에 작용하면서 발생하는 것으로 판단된다. 따라서 국내약주의 이취와 갈변 발생을 제어하기 위해서는 단백질이 적은 원료를 사용하는 것이 바람직할 것으로 보인다.

### 요 약

본 연구에서는 약주의 이취와 갈변 원인물질을 알아보기 위해 제공한 누룩추출물을 첨가하여 약주를 제조하고 특성을 확인하였다. 알코올 함량은 재래누룩에서 16.33%, 개량누룩에서 18.67%로 개량누룩에서 1.1배 높게 나타났다. 산도(mL/10 mL)는 재래누룩 5.07, 개량누룩 8.32, 아미노산도 함량(mL/10 mL)도 각각 1.61, 4.72로 개량누룩이 약 2.9배 증가하였다. 당화력에 크게 영향을 미치는 글루코아밀레이스는 재래누룩에 비해 개량누룩이 3.2-44.0 배 높은 활성을 보였고, 가용 고형물( $r=0.965$ )과 색차( $r=0.954$ )와

매우 높은 상관성을 보였다. 유기산은 숙신산과 젖산 함량이 가장 높게 나타났으며, 유리 질소화합물 함량(mg/L)은 재래누룩 540.0, 개량누룩 2285.9로 개량누룩에서 4.2배 높게 나타났다. 각 누룩추출물 약주의 이취 및 갈변은 유리질소화합물( $r=0.539, 0.792$ )과 높은 상관성을 보였다.

### 감사의 글

이 논문은 국립농업과학원 기관고유사업(과제번호:PJ008600)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

### References

- Lee SR. Korean fermented foods. Ewha womans university press, Seoul, Korea. pp. 222-294 (1986)
- Jung MJ, Nam YD, Roh SW, Bae JW. Unexpected convergence of fungal and bacterial communities during fermentation of traditional Korean alcoholic beverages inoculated with various natural starters. Food Microbiol. 30: 112-123 (2012)
- Yu TS, Kim HS, Jin H, Ha HP, Kim TY, Yoon IW. Bibliographical study on microorganisms of *nuruk* (until 1945). J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 170-179 (1996)
- Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG. Bibliographical study on microorganisms of traditional Korean *nuruk* (since 1945). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 789-799 (1998)
- Song SH, Lee CH, Park JM, Lee HJ, Bai DH, Yoon SS, Choi JB, Park YS. Analysis of microflora profile in Korean traditional *nuruk*. J. Microbiol. Biotechnol. 23: 40-46 (2013)
- 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)
- Lee SJ, Lee KG. Understanding consumer preferences for rice wines using sensory data. J. Sci. Food Agri. 88: 690-698 (2008)
- Kwak HS, Ahn BH, Kim HR, Lee SY. Identification of sensory attributes that drive the likeability of Korean rice wines by American panelists. J. Food Sci. 80: 161-170 (2015)
- Kwak HS, Kim MS, Lee YS, Eon TK, Seo YJ, Shim HS, Ha SH, Ok HY, Jeong YH. Reduction of *nuruk* flavor in Korean rice-distilled liquor using sumizyme™. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 928-934 (2015)
- Lee SJ, Ahn BH. Sensory profiling of rice wines made with *nuruks* using different ingredients. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 119-123 (2010)
- So MH. Characteristics of a modified *nuruk* made by inoculation of traditional *nuruk* microorganisms. Korean J. Food Nutr. 12: 219-225 (1999)
- Atsushi M, Atsuko I, Hitoshi U, Hiroshi I. Identification of 2,4,6-trichloroanisole (TCA) causing a musty/muddy off-flavor in sake and its production in rice koji and moromi mash. J. Biosci. Bioeng. 100: 178-183 (2015)
- NTS. Analysis of liquor regulatory. National Tax Service. Sejong, Korea. pp. 41-42 (2009)
- Chae SK, Kang KS, Ma SJ, Bang KY, Oh MH, Oh SH. Standard food analytics. Jigu, Seoul, Korea. pp. 460-463 (2009)
- Hitachi High-Technologies Corporation. Amino acid analysis of beer. Available from: <http://hitachi-hta.com/sites/default/files/app-notes/lc56.pdf>. Accessed Jul. 29, 2015.
- Brewing Society of Japan. Component of the alcoholic beverages. Shin nippon printing Co. Ltd, Tokyo, Japan. pp. 50-62 (1999)
- Atsuko I, Hitoshi U, Ryoko K, Hiroshi I. Change in the aroma compounds of sake during aging. J. Agr. Food Chem. 53: 4118-4123 (2005)
- Bae SM. Sake manufacturing technology. Design plus Co., Seoul, Korea. pp. 166-217, 268-273 (2008)
- Bae SM. Traditional liquor manufacturing technology. Baesangmyeon Brewery Institute, Seoul, Korea. pp. 62-66 (2002)
- Lee MK, Lee SW, Yoon TH. The bibliographical study on *nuruk*. J. East Asian Soc. Dietary Life 4: 19-29 (1994)

21. Kim KW, Kim JH, Noh BS, An BH, Yeo SH, Ji HC. *Makgeolli* and *yakju*; Science and application. Ministry of Agriculture, Food and rural affairs, Sejong, Korea. pp. 85-87 (2012)
22. Lee WK, Kim JR, Lee MW. Studies on the changes in free amino acids and organic acids of *takju* prepared with different koji strains. J. Korean Agric. Chem. Soc. 30: 323-327 (1987)
23. Lee TS, Han EH. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using *Rhizopus japonicus nuruks*. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 691-698 (2000)
24. Huh CK, Lee JW, Kim YD. Comparison of organic acids, fusel oil contents and antioxidant activities of *yakju* with the additions of various rice cultivars. Korean J. Food Preserv. 20: 365-371 (2013)
25. Yoshizawa Y, Ishikawa TA, Tadenuma M, Nagasawa M, Nagami K. Encyclopedia of brewing and fermentation food. Asakira publishing Co., Ltd., Tokyo, Japan. pp. 70-366 (2004)
26. Iwami T, Takamiya Y, Takaesu C, Nishia T. Change in sulfur compounds of Awamori during aging. J. Ferment. Technol. 64: 129-136 (1986)
27. In HY, Lee TS, Lee DS, Noh BS. Volatile components and fusel oils of sojues and mashes brewed by Korean traditional method. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 235-240 (1995)
28. Choi HS, Kang JE, Jeong ST, Kim CW, Kim MK. Changes observed in *doenjang* (soybean paste) with added fermented-*Rhus verniciflua* extract during aging. Korean J. Food Sci. Technol. 47: 599-607 (2015)
29. Encyclopedia chimica. Kyolis Publishing & Printing Co Ltd, Tokyo, Japan. pp. 11, 110, 811, 847 (1964).
30. Atsuko I. Aroma compounds in aging sake. Bioengineering 89: 720-723 (2011)