

## 전처리과정과 분석방법에 따른 막걸리의 총산 함량 비교

김예슬 · 신광섭 · 이정희  
대구대학교 식품영양학과

### Comparative Study of Total Acidity Content of *Makgeolli* with Pre-Treatment and Analysis Methods

Ye Seul Kim, Kwang Seup Shin, and Jeung Hee Lee

Department of Food and Nutrition, Daegu University

**ABSTRACT** The total acidity (TA) of *Makgeolli* was affected by suspended solids and CO<sub>2</sub> produced during the fermentation process. Nine *Makgeollis* (four sterilized and five unsterilized *Makgeollis*) were collected in the market, and their TAs were compared before and after filtration and CO<sub>2</sub> removal. TAs of sterilized *Makgeollis* were 0.379~0.477%, which significantly decreased to 0.167~0.225% after filtration and 0.132~0.170% after CO<sub>2</sub> removal ( $P<0.05$ ). TAs of unsterilized *Makgeollis* were 0.412~0.467% and decreased to 0.157~0.365% after filtration and 0.143~0.280% after CO<sub>2</sub> removal ( $P<0.05$ ). TAs of *Makgeollis* were compared by three methods using different indicators. The TAs of sterilized and unsterilized *Makgeollis* were 0.105~0.123% and 0.105~0.200%, respectively, by bromthymol blue+neutral red (light green), 0.129~0.154% and 0.130~0.255%, respectively, by phenolphthalein (faint pink), and 0.120~0.146% and 0.130~0.232%, respectively, by bromthymol (blue). Nowadays, *Makgeolli* is commercialized with various distinct colors, and thus it is important to select appropriate indicators for proper titration endpoint identification for TA measurement. The compositions of organic acids profiles varied depending on sterilized or unsterilized *Makgeollis*, in which oxalic acid (0.108~0.329 mg/mL), malic acid (ND to 0.134 mg/mL), lactic acid (0.127~0.776 mg/mL), and citric acid (ND to 1.159 mg/mL) were found, and lactic acid was in unsterilized more than sterilized *Makgeollis*.

**Key words:** indicator, organic acid, decarbonation, *Makgeolli*, total acidity

## 서 론

우리나라 전통주인 막걸리는 “전분질 원료와 국(누룩)을 주원료로 하여 발효시킨 술덧을 혼탁하게 제성된 것”으로 정의된다(1). 막걸리는 누룩에 함유된 효소에 의해 찹쌀이나 멥쌀 등의 곡류 전분질이 포도당으로 분해되는 당화과정과 당분이 효모에 의해 혐기적 상태에서 알코올과 탄산가스로 분해되는 발효과정이 동시에 이루어지는 병행 복합효과정으로 제조되며(2), 이후 숙성과정에서 물을 첨가하여 알코올 도수를 조정하고 체 또는 제성기로 거른 다음 단맛, 신맛, 감칠맛 등을 알맞게 조정하는 제성공정을 거친 후 포장되어 생막걸리로 출하되며, 살균막걸리는 저장, 유통 중 부패하거나 효소에 의한 술맛의 변질을 방지하기 위해 살균하여 포장된다(3). 따라서 막걸리는 알코올 함량이 낮고 여과과정을 거치지 않아 누룩과 곡류에 의해 혼탁물질이 생기며, 특히 생막걸리는 유통, 저장 중 발효가 계속 진행되어 품질의 균

질화에 어려움이 있고, 발효액에 존재하는 미생물, 불용성 고형분 등에 의해 부패 또는 산패가 일어날 수 있다(3).

막걸리의 발효과정 중 단백질은 단백질 분해효소에 의해 분해되어 아미노산이나 펩타이드로 분해되고 부산물인 고급알코올류(퓨젤유)를 생성하며, 지방은 지방 가수분해효소에 의해 지방산과 글리세린으로 분해되고 지방산은 다시 에탄올과 결합하여 에스테르를 생성하게 된다(4). 막걸리는 효모에 의한 알코올 발효와 미생물에 의해 생성되는 유기산의 종류에 따라 맛이 달라질 수 있다. 막걸리의 유기산은 succinic acid, malic acid, lactic acid, oxalic acid, citric acid, acetic acid 등이 존재하는데 대부분 효모의 발효 도중 생성된다(3,5). 유기산은 막걸리에 신선함을 부여하지만 누룩 또는 공기 중의 lactic acid bacteria(젖산균)에 의해 lactic acid가 생성되거나, 막걸리의 알코올은 acetic acid bacteria(초산균) 또는 butyric acid bacteria(낙산균)에 의해 acetic acid 또는 butyric acid가 생성될 수 있고(6), 과일 생산된 유기산으로 인해 총산 함량이 높아지고 신맛이 강해지는 산패현상을 겪게 된다(7). 반면 총산 함량이 낮을 경우에는 관능적인 면에서 막걸리의 산미를 잘 느낄 수 없게 되어 맛이 감소한다(8).

Received 14 March 2017; Accepted 5 April 2017

Corresponding author: Jeung Hee Lee, Department of Food and Nutrition, Daegu University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38453, Korea  
E-mail: jeunghlee@daegu.ac.kr, Phone: +82-53-850-6836

식품공전의 주류의 기준 및 규격의 분석항목 중 총산(total acidity)은 휘발성 산을 포함한 주류 내에 들어있는 유기산의 총 함량으로 주질 관리를 위한 중요한 지표 또는 산패현상을 조기에 판단하는 근거자료로 이용되며(7), 막걸리의 총산 규격은 “0.5(acetic acid %) 이하”로 규정되어 있다(1). 총산은 주류 내에 존재하는 모든 산(acid)을 알칼리 표준용액으로 적정한 값(total titratable acidity)으로 측정되며, 미국을 비롯한 대부분 국가에서 Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis (9), 유럽연합(EU)은 Office International de la Vigne et du Vin(10)에서 총산분석법을 규정하고 있다. 우리나라의 주류 총산 측정은 주질 관리 측면에서 식품의약품안전처의 식품공전과 국제청 훈령의 국제청기술연구소 주류분석규정에 검사항목을 설정하여 기준을 제시하고 있다.

AOAC 분석법(9)에 따르면 주류에 부유물이 있는 경우 여과한 후 총산을 측정하고, 탄산이 함유된 주류는 전처리과정을 통해 탄산을 제거한 후 측정하도록 규정하고 있다. 국내에서 생산된 대부분의 막걸리는 여과과정을 거치지 않고 제성된 후 유통되므로 부유물과 같은 혼탁물질이 존재하고, 또한 발효과정 중에 발생한 탄산가스는 총산 함량에 영향을 미치게 된다. 따라서 여과를 통한 전처리과정 및 탄산 제거를 위한 다양한 방법들을 실시하여 이에 따른 총산 함량의 차이를 비교 조사할 필요가 있다. Choi 등(11)은 생막걸리를 여과한 청정막걸리의 총산 함량이 낮다고 보고하였으며, 막걸리의 품질특성 연구논문들에서는 대부분 여과한 후 총산을 측정하였다(7,12,13). 또한, 국내외 총산분석법은 첨가된 지시약의 색상 변화에 의존하여 적정종말점을 정하는데, 근래 들어 국내 주류시장에는 복분자, 오미자, 홍국 등이 첨가되어 붉은색, 자주색 등의 다양한 색상을 띠는 주류가 출시되므로(14-16) 정확한 총산 분석을 위해서는 현행 사용 중인 지시약과 더불어 타 종류의 지시약 사용이 불가피할 것으로 생각한다.

따라서 본 연구에서는 우리나라 전통주인 막걸리의 총산 분석 시 여과과정 및 탄산 제거의 전처리과정 실시에 따른 총산 함량을 비교하고, 지시약의 종류와 적정방법을 달리하여 총산 함량을 비교 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에서는 전처리과정에 따른 총산 함량의 비교 분석을 위해 시중 유통되는 생막걸리와 살균막걸리를 2015년 7월에 각각 1종씩 중형 마트(L 마트)에서 구입하였고, 분석방법에 따른 총산 함량의 비교 분석에 필요한 주류는 2015년 9월에 편의점, 중·대형 마트(L마트, E마트, H마트)에서 판매되고 있는 막걸리 9종(제조일로부터 0~2일의 제품)을 구입하여 시료로 사용하였다. 시료는 알과벳순으로 각각 표기하여 4°C에서 냉장 보관하여 사용하였다. 유기산 표준물

질인 oxalic acid, tartaric acid, malic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 탄산 제거

막걸리 25 mL를 삼각플라스크(100 mL)에 넣고 탄산가스가 더 나오지 않을 때까지(20분) 흔들어서 시료로 사용하였다(shaking by hands). 또한, 비커에 막걸리 25 mL와 stirring bar를 넣고 교반기(Hot plate/stirring PC-420D, Corning, Steuben, NY, USA)를 이용하여 200 rpm에서 1분, 500 rpm에서 더는 탄산가스가 나오지 않을 때까지(약 2분) stirring(stirring by magnetic bar)하거나 동일한 양을 끓여 30초간 유지한 후 한 번 흔들고 식혀서 시료로 사용하였다(boiling).

### pH 및 총산 측정

막걸리는 여과지(Whatman No. 4, GE Healthcare, Amersham, UK)에 여과한 후 시료로 사용하였다. 막걸리의 pH는 pH meter(Laboratory pH meter Lab 850, SI Analytics, Mainz, Germany)를 이용하여 여과 전과 후를 측정하였다.

막걸리의 총산 함량은 2016년 식품공전 분석법(27.주류-1.탁주-6)시험법-(2)총산(1)과 AOAC 분석법(9)을 비교하여 측정하였다. 식품공전 방법(1)은 비커에 끓여 식힌 증류수 30 mL에 막걸리 20 mL를 취하고 지시약 0.07% bromothymol blue + 0.03% neutral red 용액(BTB·NR 혼합 지시액) 2~3방울을 넣은 후, 담녹색(faint green)이 될 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 소비량(mL)을 기록하고 아래의 계산식을 이용하여 초산(acetic acid)으로서 총산을 구하였다.

$$\text{Total acidity (w/v\%)} = \frac{0.006 \times V \times f}{S} \times 100 (\text{초산으로서})$$

V: 0.1 N NaOH의 소비량(mL)

f: 0.1 N NaOH의 factor

S: 검체량(mL)

AOAC 방법(9)으로는 지시약과 pH meter를 이용한 두 가지 적정방법으로 총산 함량을 분석하였다. 지시약을 이용한 적정방법으로는 비커에 끓여 식힌 증류수 200 mL와 지시약 1% phenolphthalein 용액 1 mL를 넣은 후, 0.1 N NaOH 용액으로 담홍색(distinct but faint pink)이 될 때까지 적정한 후 막걸리 5 mL를 첨가하고 0.1 N NaOH 용액을 천천히 넣으면서 담홍색이 30초 동안 유지될 때까지 다시 적정하고, 이때 사용한 0.1 N NaOH 용액의 소비량을 기록하였다. pH meter를 이용한 방법에서는 지시약을 넣지 않고 0.1 N NaOH 용액을 천천히 넣으면서 pH 8.2가 될 때까지 적정하였다. 또한, AOCS 방법(9)을 변형한 분석에서는 지시약인 phenolphthalein 용액 대신 0.4% BTB 용액 1 mL를 첨가하고 0.1 N NaOH 용액을 넣어 푸른색이 될 때까지

적정 또는 pH meter를 이용하여 pH 7.6이 될 때까지 적정하였다. 위의 3가지 방법에서는 여과하고 탄산을 제거한 막걸리 시료를 사용하였으며, 아래의 계산식을 이용하여 초산으로서 총산(w/v%) 함량을 구하였다.

$$\text{Total acidity (w/v\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{Normality of NaOH} \times 0.06}{\text{mL of sample}} \times 100$$

### 탁도 측정

막걸리를 여과지(whatman No. 4)에 여과하여 여과 전과 후의 탁도(turbidity)를 측정하였다. Spectrophotometer (Thermo Scientific Evolution 201 Series, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 탁도로 나타내었다.

### 유기산 분석

막걸리는 filter paper로 여과하고 탄산을 제거한 후 0.45 µm membrane filter로 한 번 더 여과한 다음 High-performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 유기산을 분석하였고 분석조건은 Table 1과 같다. 유기산 표준물질인 oxalic acid, tartaric acid, malic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid를 0.05~1.5 mg/mL의 표준 용액을 조제하여 HPLC로 분석한 후, 검량선을 작성하여 각 유기산을 정량하였다.

### 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하여 평균과 표준편차

(mean±standard deviation)로 나타내었다. 실험결과는 SAS 9.4(Statistical Analysis System, SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 하고 Duncan's multiple range test에 의해 각 평균값의 유의적인 차이를  $P<0.05$ 의 수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 막걸리의 여과 및 탄산가스 제거에 따른 총산, pH 및 탁도의 변화

AOAC의 총산분석법에서는 주류가 부유물이나 탄산가스를 함유하는 경우 전처리 과정을 통해 제거한 후 분석하도록 규정하고 있다(9). 본 연구의 시료인 막걸리는 여과과정을 거치지 않아 부유물이 많고, 발효과정에서 탄산가스가 발생하므로 총산 함량에 영향을 미칠 수 있다. 따라서 본 실험에 앞서 막걸리의 여과 전과 후의 총산을 측정하여 비교하고, 막걸리 여과 후의 적절한 탄산가스 제거방법을 찾고자 AOAC에서 제시한 shaking by hands 방법, boiling for 30 s 방법과 본 연구의 진탕기(stirring by magnetic bar)를 사용한 3가지의 방법을 실시한 후 총산을 측정하여 비교하였다(Table 2). 살균막걸리와 생막걸리의 여과 전의 총산은 각각 0.341%와 0.328%였고 여과 후에는 0.174%와 0.261%로 유의적으로 감소하였으며( $P<0.05$ ), 여과 전의 막걸리 pH는 각각 3.973과 3.718이었으나 여과 후에는 3.959와 3.652로 유의적으로 감소하는 경향을 보였다( $P<0.05$ ). 이는 막걸리를 원심분리 하여 불용성 고형분을 제거한 청징막걸리의 총산이 낮다는 연구결과와 유사하였다(11).

**Table 1.** HPLC conditions for analysis of organic acids in *Makgeolli*

		Condition	
HPLC		Young-lin (SP930D dual pump, Anyang, Korea)	
Detector		UV/VIS Detector (440 nm)	
Column		Hypersil GOLD aQ (250 mm×4.6 mm, 5 µm, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA) SUPELCOGEL C-610H (300 mm×7.8 mm, 9 µm, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)	
Mobile phase		Solvent A: 3 mM HClO <sub>4</sub> (dissolved in H <sub>2</sub> O) Solvent B: BTB solution (dissolved in H <sub>2</sub> O)	
Flow rate		0.9 mL/min	
Injection volume		20 µL	
Oven temperature		80°C	

**Table 2.** Effect of filtration and decarbonation on total acidity of commercial *Makgeolli*

<i>Makgeolli</i>		Filtration		Decarbonation		
		Before	After	Shaking by hands	Stirring by magnetic bar	Boiling for 30 s
Sterilized	pH	3.973±0.002*	3.959±0.001	3.955±0.001 <sup>b2)</sup>	3.979±0.003 <sup>a</sup>	3.877±0.001 <sup>c</sup>
	TA <sup>1)</sup>	0.341±0.007*	0.174±0.001	0.165±0.003 <sup>b</sup>	0.149±0.004 <sup>c</sup>	0.224±0.003 <sup>a</sup>
Unsterilized	pH	3.718±0.002*	3.652±0.001	3.645±0.001 <sup>a</sup>	3.645±0.001 <sup>a</sup>	3.576±0.001 <sup>b</sup>
	TA	0.328±0.001*	0.261±0.007	0.229±0.002 <sup>b</sup>	0.222±0.002 <sup>b</sup>	0.269±0.001 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Total acidity (as acetic acid, %) analyzed by AOAC method.

<sup>2)</sup>Means with the different letters (a-c) within the same row among decarbonation methods are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test (n=4).

\*Significantly different between before and after filtration at  $P<0.05$  by *t*-test (n=4).

여과 후 막걸리의 탄산가스를 Table 2에 제시된 3가지 방법으로 제거한 후 총산 함량을 측정된 결과, shaking과 stirring법의 경우 여과 후 무처리막걸리(after filtration)보다 총산 함량은 감소하였으나, 30초 동안 boiling 하여 탄산가스를 제거한 막걸리의 총산은 여과 후 무처리막걸리보다 높게 나타났다. 막걸리의 탄산 제거 방법 중 shaking법과 stirring법은 boiling법보다 총산 함량이 유의적으로 낮고 ( $P<0.05$ ) stirring은 shaking보다 낮은 경향을 보였으며, 특히 살균막걸리에서는 유의적으로 낮게 분석되었다( $P<0.05$ ). 30초 동안 boiling 한 방법에서는 stirring법보다 살균막걸리와 생막걸리에서 각각 유의적으로 1.5배와 1.2배 높은 총산을 함유하는 것으로 분석되었다( $P<0.05$ ). 이는 AOAC에서 제시한 방법(9)인 여과 후 시료 25 mL에 열을 가하여 끓임을 30초 동안 유지하는 과정에서 시료(막걸리)의 수분이 증발하면서 농축과정이 진행되었고, 이미 농축된 막걸리 시료에서 시료 5 mL를 취하여 분석에 사용하게 되어 총산이 증가한 것으로 생각한다. 따라서 본 연구에서는 여과 후 막걸리의 탄산가스 제거는 magnetic bar를 이용한 stirring 방법으로 총산 분석을 진행하였다. 또한, 총산 측정 시 boiling 하여 막걸리의 탄산을 제거하고자 할 경우에는 맥주의 총산측정법을 기술한 ASBC 분석법(17)과 유사하게 총산 측정에 필요한 양(5 mL)의 막걸리시료를 비커에서 boiling 한 후 시료의 양을 재조정하지 않고 바로 증류수를 첨가하여

총산 분석을 하는 것이 바람직할 것으로 생각한다.

막걸리 총 9종(살균막걸리 4종, 생막걸리 5종)의 여과 전과 후의 총산과 탁도 및 탄산가스 제거 후의 총산을 AOAC 방법(9)으로 분석하여 Table 3에 나타내었다. 생막걸리의 총산은 살균막걸리보다 높은 경향을 보였는데, 이는 생막걸리가 유통 및 저장 기간 동안 효모에 의한 발효가 지속해서 일어난 결과로 생각된다. 살균막걸리의 여과 전 0.379~0.477%의 총산은 여과 후 0.167~0.225%로 감소하였으며 ( $P<0.05$ ), 탄산 제거 후에는 0.132~0.170%로 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 생막걸리는 여과 전 0.412~0.467%의 총산이 여과 후에는 0.157~0.365%로( $P<0.05$ ), 탄산 제거 후에는 0.143~0.280%로 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). Choi 등(11)은 시판 생막걸리의 총산 0.5%는 원심분리 후 0.45%로 감소한 것으로 보고하여 여과 후 총산 함량이 감소한 본 연구와 유사한 경향을 보였으며, 여과된 시판 생막걸리 제품들의 총산 함량(acetic acid%)이 0.17~0.29%로 보고한 Ji와 Chung(18)의 연구결과와도 유사하였다. 또한, 막걸리의 총산 함량을 분석한 논문들은 대부분 시료를 여과한 후에 분석한 것으로 조사되었다(7,12,13).

살균막걸리와 생막걸리의 탁도는 3.02~3.50이었고, 여과 후에 부유물을 제거한 막걸리의 탁도는 0.02~0.69로 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ )(Table 3). 막걸리의 pH는 보통 4.2 내외(19)이고 본 연구에 이용된 막걸리의 pH는 3.095

**Table 3.** Effect of filtration and decarbonation on total acidity, pH and turbidity of commercial *Makgeolli*

<i>Makgeolli</i>		Filtration			Turbidity <sup>1)</sup>	
		Before	After		Before filtration	After filtration
			Uncarbonated	Decarbonated <sup>2)</sup>		
Sterilized	A	pH TA <sup>3)</sup>	3.440±0.010 <sup>4)</sup> 0.384±0.026 <sup>a</sup>	3.530±0.010 <sup>b</sup> 0.225±0.001 <sup>b</sup>	3.690±0.010 <sup>a</sup> 0.156±0.000 <sup>c</sup>	3.23±0.10 <sup>*</sup> 0.13±0.00
	B	pH TA	4.082±0.006 <sup>c</sup> 0.379±0.009 <sup>a</sup>	4.127±0.003 <sup>b</sup> 0.224±0.001 <sup>b</sup>	4.196±0.004 <sup>a</sup> 0.162±0.002 <sup>c</sup>	3.05±0.09 <sup>*</sup> 0.11±0.00
	C	pH TA	3.095±0.000 <sup>b</sup> 0.414±0.001 <sup>a</sup>	3.918±0.007 <sup>b</sup> 0.167±0.004 <sup>b</sup>	3.975±0.001 <sup>a</sup> 0.132±0.001 <sup>c</sup>	3.18±0.03 <sup>*</sup> 0.13±0.00
	D	pH TA	3.827±0.002 <sup>b</sup> 0.477±0.002 <sup>a</sup>	3.849±0.003 <sup>a</sup> 0.224±0.008 <sup>b</sup>	3.862±0.003 <sup>a</sup> 0.170±0.002 <sup>c</sup>	3.32±0.05 <sup>*</sup> 0.13±0.01
Unsterilized	E	pH TA	3.901±0.001 <sup>b</sup> 0.412±0.003 <sup>a</sup>	3.957±0.002 <sup>a</sup> 0.189±0.001 <sup>b</sup>	3.963±0.002 <sup>a</sup> 0.148±0.002 <sup>c</sup>	3.31±0.02 <sup>*</sup> 0.14±0.00
	F	pH TA	4.090±0.001 <sup>a</sup> 0.440±0.002 <sup>a</sup>	4.113±0.001 <sup>a</sup> 0.157±0.002 <sup>b</sup>	4.119±0.003 <sup>a</sup> 0.153±0.002 <sup>c</sup>	3.43±0.01 <sup>*</sup> 0.69±0.01
	G	pH TA	4.019±0.003 <sup>a</sup> 0.461±0.003 <sup>a</sup>	4.013±0.001 <sup>a</sup> 0.207±0.004 <sup>b</sup>	4.007±0.001 <sup>a</sup> 0.153±0.000 <sup>c</sup>	3.37±0.07 <sup>*</sup> 0.21±0.01
	H	pH TA	3.887±0.003 <sup>a</sup> 0.467±0.002 <sup>a</sup>	3.808±0.001 <sup>b</sup> 0.159±0.001 <sup>b</sup>	3.797±0.001 <sup>b</sup> 0.143±0.005 <sup>c</sup>	3.02±0.01 <sup>*</sup> 0.04±0.00
	I	pH TA	3.831±0.004 <sup>a</sup> 0.465±0.002 <sup>a</sup>	3.669±0.003 <sup>b</sup> 0.365±0.007 <sup>b</sup>	3.635±0.002 <sup>c</sup> 0.280±0.008 <sup>c</sup>	3.50±0.00 <sup>*</sup> 0.02±0.00

<sup>1)</sup>Turbidity: absorbance by spectrophotometer at 600 nm.

<sup>2)</sup>Decarbonated by stirring with magnetic bar.

<sup>3)</sup>Total acidity (as acetic acid, %) analyzed by AOAC method.

<sup>4)</sup>Means with the different letters (a-c) within the same row are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test (n=4).

\*Significantly different between before and after filtration at  $P<0.05$  by *t*-test (n=2).

~4.090이었으며, 이 결과는 Park 등(20)의 국내 시판 막걸리 8종의 pH를 분석한 결과(pH 3.6~4.1)와 유사하였다. 살균막걸리는 여과와 탄산 제거 과정을 거치면서 pH 값이 증가하는 경향을 보였지만 생막걸리의 경우 pH 값이 감소 또는 증가하는 경향을 보였는데, 막걸리의 pH는 함유한 유기산의 종류와 농도, 기타 산 유래물질들에 의해 영향을 받은 결과로 생각된다.

막걸리의 발효공정에서 생성되는 부유물이나 탄산가스는 총산 함량에 영향을 주며, 또한 근래에는 청량감을 높이기 위해 탄산을 인위적으로 첨가한 막걸리가 출시되고 있으므로 막걸리의 총산 분석 시험법에는 이러한 요인들을 배제할 수 있도록 전처리 공정이 명시되어야 할 필요가 있다고 생각한다. 따라서 막걸리의 경우 충분히 정지하여 상층액을 시료로 사용하거나, 여과·원심분리 하여 부유물을 제거한 후 플라스크에서 시료를 흔들거나 진탕 또는 교반기를 사용하여 decarbonation 한 후에 총산 함량을 측정하는 것이 적절하다고 생각된다.

#### 분석방법에 따른 막걸리의 총산 비교

국내의 주류의 총산 분석방법들을 살펴보면 총산 함량을 알칼리 용액(NaOH 용액)으로 적정하여 값을 계산하는 측정 원리는 동일하지만, 이들 분석법은 시료의 양, 사용된 지시약과 적정종말점, 환산에 이용된 유기산의 종류가 달라 총산 함량이 상이하므로 본 연구에서는 Table 4와 같이 3가지 방법으로 막걸리의 총산을 측정하여 비교하였다.

BTB+NR 지시약을 사용한 경우(Method I) 살균막걸리와 생막걸리의 총산 함량은 각각 0.105~0.123%와 0.105~0.200%로써 막걸리의 총산 기준 규격인 0.5(acetic acid%) 이하로 분석되었다. 반면 AOAC 분석법(9)인 phenolphthalein 용액을 지시약으로 적정종말점(faint pink)을 정한 경우 살균막걸리와 생막걸리의 총산 함량은 각각 0.129~

0.154%와 0.130~0.255%였고, pH meter를 사용하여 pH 8.2를 적정점으로 한 경우 0.137~0.162%와 0.140~0.279%로써 Method I 분석법보다 총산 함량이 높게 나타났다. 두 가지 분석법의 총산 함량이 다른 이유는 사용하는 지시약과 적정점이 다르기 때문이다. 2016년 식품공전 분석법(1)은 시료 20 mL에 증류수 30 mL와 소량의 BTB+NR 지시약(2~3방울)을 넣고 담녹색을 적정종말점으로 규정하고 있다. Table 4의 BTB+NR 지시약을 사용하여 분석한 막걸리의 적정종말점인 담녹색을 육안으로 확인했을 때의 pH 값은 7.00~7.48의 범위에 있고(data not shown), 이는 AOAC법(9)의 적정점인 pH 8.2보다 낮으므로 적정에 사용된 NaOH 용액의 양이 적어 총산 함량의 값은 상대적으로 낮게 계산되었다. 또한, 총산 함량은 시료의 희석에 사용된 증류수에 의해 영향을 받을 수 있다. 국내 분석법(1) 및 AOAC법(9)에서 증류수의 탄산가스를 제거하기 위해 끓여서 식힌 후 사용한다고 규정하고 있다. 그러나 끓인 과정을 통해 증류수의 탄산을 제거할 수는 있지만, 시간이 지나면 공기 중의 이산화탄소가 다시 물에 용해되어 탄산을 생성하므로 증류수의 탄산은 지속해서 증가하고 pH는 점차 낮아지게 된다. 이런 이유로 AOAC법(9)은 시료를 첨가하기 전 끓인 증류수를 미리 중화시킨(pH 8.2 or faint pink) 후에 시료를 첨가하여 총산 분석이 이루어지므로 희석에 사용된 증류수의 탄산이 시료의 총산 함량에 미치는 영향을 최소화하도록 하고 있다.

근래 들어 국내 주류시장에 복분자, 오미자, 홍국, 뽕, 울금, 머루, 대추, 흑미, 곤드레, 인삼, 블루베리 등을 첨가한 막걸리가 출시되거나 연구 개발 중에 있다(14-16). 이러한 막걸리들은 각종 첨가물질에 의해 총산이 증가하는 경향을 보이며 붉은색, 자주색, 검은색 등의 다양한 색상을 띠게 되는데, 이 경우 BTB+NR(담녹색)이나 phenolphthalein 지시약(담홍색)으로는 막걸리들의 적정종말점 육안구별이 어려울 수 있다. 따라서 본 연구에서는 대체 지시약으로 BTB

**Table 4.** Comparison of total acidity of commercial *Makgeolli* by different analysis methods

<i>Makgeolli</i>		Total acidity <sup>1)</sup>				
		Method I	Method II		Method III	
		BTB+NR <sup>2)</sup> indicator	Phenolphthalein <sup>3)</sup> indicator	pH=8.2 (pH meter)	BTB <sup>4)</sup> indicator	pH=7.5 (pH meter)
Sterilized	A	0.117±0.011 <sup>c5)</sup>	0.151±0.002 <sup>ab</sup>	0.160±0.005 <sup>a</sup>	0.146±0.004 <sup>b</sup>	0.154±0.010 <sup>ab</sup>
	B	0.119±0.005 <sup>b</sup>	0.129±0.005 <sup>b</sup>	0.142±0.007 <sup>a</sup>	0.124±0.009 <sup>b</sup>	0.130±0.007 <sup>b</sup>
	C	0.105±0.000 <sup>d</sup>	0.130±0.006 <sup>ab</sup>	0.137±0.006 <sup>a</sup>	0.120±0.001 <sup>c</sup>	0.123±0.002 <sup>bc</sup>
	D	0.123±0.001 <sup>c</sup>	0.154±0.008 <sup>a</sup>	0.162±0.012 <sup>a</sup>	0.128±0.006 <sup>bc</sup>	0.138±0.004 <sup>b</sup>
Unsterilized	E	0.110±0.000 <sup>b</sup>	0.140±0.007 <sup>a</sup>	0.143±0.012 <sup>a</sup>	0.131±0.004 <sup>a</sup>	0.140±0.009 <sup>a</sup>
	F	0.105±0.014 <sup>c</sup>	0.142±0.009 <sup>ab</sup>	0.156±0.004 <sup>a</sup>	0.130±0.005 <sup>b</sup>	0.148±0.011 <sup>a</sup>
	G	0.144±0.001 <sup>bc</sup>	0.154±0.007 <sup>b</sup>	0.169±0.003 <sup>a</sup>	0.136±0.012 <sup>c</sup>	0.152±0.004 <sup>b</sup>
	H	0.120±0.003 <sup>b</sup>	0.130±0.006 <sup>ab</sup>	0.140±0.005 <sup>a</sup>	0.131±0.012 <sup>ab</sup>	0.138±0.011 <sup>a</sup>
	I	0.200±0.002 <sup>d</sup>	0.255±0.005 <sup>b</sup>	0.279±0.006 <sup>a</sup>	0.232±0.000 <sup>c</sup>	0.247±0.003 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Reported as acetic acid, %.

<sup>2)</sup>Titrated with BTB+NR as indicator according to Korean Food Code method.

<sup>3)</sup>Titrated with phenolphthalein as indicator according to AOAC method.

<sup>4)</sup>Titrated with BTB as indicator according to OIV method.

<sup>5)</sup>Means with the different letters (a-d) within the same row are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test (n=4).

를 사용하고 푸른색 혹은 pH 7.5를 적정점으로 하여 총산 함량을 분석한 결과 막걸리의 총산 함량은 AOAC법보다는 낮고 BTB+NR 지시약 사용방법보다는 높은 것으로 확인되었다(Table 4).

### 막걸리의 유기산 함량

막걸리의 유기산은 발효과정 중 미생물에 의해 생성되며, 그 종류와 생성량에 따라 막걸리의 맛이 달라진다. 막걸리는 제조에 사용되는 전분질 원료와 품종 및 누룩의 종류가 다양하고, 유통과정 및 저장 기간에 유기산이 생성 또는 소실되므로 유기산의 종류와 함량은 막걸리마다 차이가 있다(19, 21, 22). 또한, 막걸리는 발효 후 제성공정을 통해 제품의 특성에 맞게 탄산, 구연산, 젖산 등이 첨가되며, 근래에는 유자과즙, 오미자즙, 머루즙 등을 첨가하여 색다른 과일 맛과 색상을 부여하거나 탄산을 첨가하여 톡 쏘는 맛이 가미되어 포장되므로, 시중 유통되고 있는 막걸리들은 발효 중 생성된 유기산들과 발효 후 첨가된 유기산들에 의해 청량감과 부드러운 신맛 그리고 과즙의 싱그러운 맛을 지니고 있다.

막걸리는 발효과정 중 oxalic acid, citric acid, phosphoric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, fumaric acid, lactic acid, acetic acid의 다양한 유기산들이 생성되며, 발효가 진행됨에 따라 lactic acid의 생성은 가속화되어 다른 유기산들보다 그 함량이 높은 것으로 알려져 있다(19). 국내 시판 살균막걸리(4종) 및 생막걸리(5종)의 유기산을 HPLC로 분석하여 조사한 결과 oxalic acid, malic acid, citric acid, lactic acid, acetic acid+ succinic acid의 조성으로 나타났다(Table 5). Malic acid는 생막걸리 H와 I를 제외한 모든 막걸리에 함유되었으며, 그 함량은 0.030~0.134 mg/mL로 분석되었다. Malic acid는 막걸리 담금에 사용된 균주의 종류에 따라 그 제조 함량이 달라질 수 있으며(23), 발효 후 저장 기간이 길수록 그 함량은 감소하여 저장 후기에는 검출되지 않았다고 보고되고 있다(6). Lactic acid는 본 연구의 막걸리 시료에 0.127~0.776 mg/mL로 함유되어 있으며, 살균막걸리보다 생막걸리에 비교적 많이

함유된 것으로 조사되었다. 막걸리는 알코올 발효 후 *Lactobacillus* sp.와 *Leuconostoc* sp. 등의 유산균에 의해 일어나는 malo-lactic fermentation(MLF) 과정 동안 malic acid가 lactic acid로 전환되므로(24), 살균 처리된 후 유통되는 살균막걸리에 비해 생막걸리는 유통기간 동안 유산균에 의해 지속적인 MLF가 진행되어 lactic acid의 함량이 높은 것으로 생각된다. Lee 등(24)은 시중 유통되는 막걸리의 유기산을 분석하여 생막걸리가 살균막걸리보다 malic acid의 함량은 낮고 lactic acid의 함량은 높다고 보고하였으며 이는 본 연구결과와 유사하였다.

Acetic acid+ succinic acid의 함량은 생막걸리에서 높은 경향을 띠었으며, citric acid의 함량은 살균막걸리 B와 생막걸리 F에서 유의적으로 높고(1.159 mg/mL), 그 외의 막걸리에서는 검출되지 않거나 0.358~0.966 mg/mL로 분석되었다. 이는 막걸리 발효공정에서의 citric acid 생성량과 제성공정에서의 citric acid 첨가량에 따라 그 함량이 다양한 것으로 생각되며, 시료로 사용된 막걸리의 표기사항을 조사한 결과 막걸리 B는 유자과즙이 첨가된 유자 막걸리였으며, 막걸리 A, B, C, D, E, F에 구연산이 첨가된 것으로 표기되었지만 그 첨가량은 기재되지 않았다.

막걸리의 총산은 NaOH 용액으로 중화 적정량 후 환산계수(conversion factor)를 곱하여 그 함량을 계산하는데, 환산에 사용되는 지표 유기산에 따라 환산계수가 다르므로(acetic acid, 0.06; lactic acid, 0.09; malic acid, 0.067; succinic acid, 0.059; citric acid, 0.064) 계산된 총산 함량(w/v%)에 영향을 미치게 된다. 국내 총산분석법에서는 막걸리의 주질 관리를 위해 총산 함량을 acetic acid 0.5% 이하로 규정하고 acetic acid를 총산 함량으로 보고하도록 하고 있지만(1, 5, 20), 국내 막걸리의 총산을 측정 한 논문들에서는 lactic acid로 총산을 구한 연구결과가 많은데(6, 8, 14-16, 19, 25), 이는 lactic acid가 막걸리의 주된 유기산이면서 발효 기간에 그 함량이 가장 많이 증가하기 때문인 것으로 생각되며(6, 13, 22), 이 경우 lactic acid로 환산된 총산 값은 acetic acid로 환산된 총산 함량보다 높게 계산된다. 또한,

**Table 5.** Organic acid content of *Makgeolli*

<i>Makgeolli</i>		Organic acid (mg/mL)				
		Oxalic acid	Malic acid	Citric acid	Lactic acid	Acetic acid + Succinic acid
Sterilized	A	0.148±0.021 <sup>d1)</sup>	0.042±0.001 <sup>d</sup>	0.651±0.045 <sup>c</sup>	0.201±0.051 <sup>de</sup>	0.192±0.021 <sup>cd</sup>
	B	0.149±0.011 <sup>d</sup>	0.078±0.001 <sup>c</sup>	1.159±0.088 <sup>a</sup>	0.132±0.026 <sup>e</sup>	0.100±0.011 <sup>ef</sup>
	C	0.238±0.010 <sup>c</sup>	0.123±0.008 <sup>ab</sup>	0.966±0.047 <sup>b</sup>	0.266±0.002 <sup>d</sup>	0.192±0.018 <sup>cd</sup>
	D	0.108±0.008 <sup>e</sup>	0.030±0.007 <sup>d</sup>	0.529±0.058 <sup>cd</sup>	0.127±0.001 <sup>e</sup>	0.056±0.003 <sup>f</sup>
Unsterilized	E	0.268±0.021 <sup>b</sup>	0.118±0.008 <sup>b</sup>	0.184±0.042 <sup>c</sup>	0.678±0.115 <sup>b</sup>	0.169±0.020 <sup>de</sup>
	F	0.319±0.001 <sup>a</sup>	0.134±0.007 <sup>a</sup>	1.159±0.077 <sup>a</sup>	0.252±0.017 <sup>d</sup>	0.138±0.018 <sup>de</sup>
	G	0.329±0.007 <sup>a</sup>	0.093±0.001 <sup>c</sup>	ND	0.776±0.016 <sup>a</sup>	0.220±0.009 <sup>c</sup>
	H	0.240±0.016 <sup>c</sup>	ND <sup>2)</sup>	0.358±0.001 <sup>d</sup>	0.367±0.037 <sup>c</sup>	0.295±0.007 <sup>b</sup>
	I	0.176±0.007 <sup>d</sup>	ND	ND	0.606±0.038 <sup>b</sup>	0.372±0.032 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means with the different letters (a-f) within the same column are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test ( $n=4$ ).

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

최근 국내에서는 다양한 과일즙을 첨가하여 유통되는 막걸리는 citric acid가 다량 함유된 경우가 많으므로 총산 함량의 환산에 사용되는 지표 유기산의 선정이 중요하다고 생각된다.

## 요 약

막걸리의 총산 함량은 함유된 부유물과 발효과정에서 발생한 탄산가스의 제거 여부 및 분석방법들에 의해 영향을 받는다. 시중 유통되는 막걸리를 여과하여 부유물을 제거하고 magnetic bar로 stirring 하여 탄산가스를 제거한 후 총산을 분석한 결과 살균막걸리(4종)의 여과 전 0.379~0.477% 총산이 여과 후 0.167~0.225%로, 탄산 제거 후에는 0.132~0.170%로 유의적으로 감소하였고( $P < 0.05$ ), 생막걸리(5종)는 여과 전 0.412~0.467%의 총산이 여과 후에는 0.157~0.365%로( $P < 0.05$ ), 탄산 제거 후에는 0.143~0.280%로 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). 총산 분석방법을 비교한 결과 BTB+NR 지시약을 사용한 경우 살균막걸리와 생막걸리의 총산 함량은 각각 0.105~0.123%와 0.105~0.200%로써 막걸리의 총산 기준 규격인 0.5(acetic acid%) 이하로 분석되었다. 반면 AOAC 분석법인 phenolphthalein 용액으로 적정한 경우 살균막걸리와 생막걸리의 총산 함량은 각각 0.129~0.154%와 0.130~0.255%였고, pH 8.2를 적정점으로 한 경우 0.137~0.162%와 0.140~0.279%로 나타나 총산 함량이 높게 나타났다. BTB 용액으로 적정한 경우 BTB+NR 지시약을 사용한 경우보다는 높고 AOAC법보다는 낮은 것으로 확인되었다. 막걸리에 함유된 유기산은 oxalic acid, malic acid, citric acid, lactic acid, acetic acid+succinic acid였으며, malic acid는 H와 I를 제외한 모든 막걸리에서 0.030~0.134 mg/mL, acetic acid+succinic acid는 0.056~0.372 mg/mL, lactic acid는 0.127~0.776 mg/mL로 살균막걸리보다 생막걸리에 비교적 많이 함유되었고, citric acid는 ND~1.159 mg/mL로 분석되었다.

## 감사의 글

본 연구는 2015년 식품의약품안전처의 연구개발비(15162 식품안004)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. MFDS. 2015. *Korea Food Code*. Ministry of Food & Drug Safety, Seoul, Korea. p 184.
2. Kwon YH, Jo SJ, Kim JH, Ahn BH. 2010. Fermentation characteristics and volatile compounds in *yakju* made with various brewing conditions; glutinous rice and pre-treatment. *Kor J Microbiol Biotechnol* 38: 46-52.
3. Kim GW, Kim JH, Noh BS, Ahn BH, Yeo SH, Cho HC. 2012. *Makgeolli and Yakju: Science and Application*. Soohaksa, Seoul, Korea. p 125-177.
4. Rhee SJ, Lee CY, Kim KK, Lee CH. 2003. Comparison of the traditional (*Samhaeju*) and industrial (*Chongju*) rice wine brewing in Korea. *Food Sci Biotechnol* 12: 242-247.
5. Kwon YH, Lee AR, Kim HR, Kim JH, Ahn BH. 2013. Quality properties of *makgeolli* brewed with various rice and *koji*. *Korean J Food Sci Technol* 45: 70-76.
6. Choi GI, Kim HJ, Kim HJ, Kim HR, Kim DH, Ahn JS, Son YG, Song IH. 2012. Changes of organic acids in *takju* during storage conditions. *J Fd Hyg Safety* 27: 127-132.
7. Song JC, Park HJ. 2003. *Takju* brewing using the uncooked germed brown rice at second stage mash. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 847-854.
8. Jeong JW, Park KJ, Kim MH, Kim DS. 2006. Quality characteristics of *takju* fermentation by addition of chestnut peel powder. *Korean J Food Preserv* 13: 329-336.
9. AOAC. 2000. *Official method of analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. Method 962.12, 920.49.
10. OIV. 2015. *Compendium of international methods of wine and must analysis*. International Organization of Vine and Wine, Paris, France. Vol 2, Method OIV-MA-AS313-01.
11. Choi EJ, Jung JJ, Lee JW, Kang ST. 2010. Effect of UV sterilization on quality of centrifuged *Takju* during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 461-466.
12. Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. 2007. 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.
13. Yang HS, Eun JB. 2011. Fermentation and sensory characteristics of Korean traditional fermented liquor (*makgeolli*) added with citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) juice. *Korean J Food Sci Technol* 43: 438-445.
14. Kim OK, Park SS, Sung JM. 2012. Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1693-1700.
15. Kim GW, Lee JH, Lee SA, Shim JY. 2012. Brewing characteristics of grape-*makgeolli*. *Food Eng Proc* 16: 263-269.
16. Jeon MH, Lee WJ. 2011. Characteristics of blueberry added *Makgeolli*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 444-449.
17. ASBC. 2003. *Methods of analysis*. 14th ed. American Society of Brewing Chemists, St. Paul, MN, USA. Method Beer-8.
18. Ji YJ, Chung HJ. 2012. Changes in quality characteristics of *Makgeolli* during storage time. *Korean J Food Cult* 27: 383-390.
19. Lee TJ, Hwang DY, Lee CY, Son HJ. 2009. Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processes of *Makgeolli*, traditional alcohol of Korea. *Kor J Microbiol* 45: 391-396.
20. Park CW, Jang SY, Park EJ, Yeo SH, Kim OM, Jeong YJ. 2011. Comparison of the quality characteristics of commercial *makgeolli* type in South Korea. *Korean J Food Preserv* 18: 884-890.
21. Oh SK, Kim DJ, Ryu SJ, Chun A, Yoon MR, Choi IS, Hong HC, Kim YK. 2011. Quality characteristics of Korean traditional wine using *Seolgaengbyeol* for brewing rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1189-1194.
22. Park CS, Lee TS. 2002. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296-302.
23. Lee WK, Kim JR, Lee MW. 1987. 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.
24. Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park S, Shin WC, Park CS, Hong S, Kim GW. 2011. Composition of organic acids and phys-

- iological functionality of commercial *makgeolli*. *Korean J Food Sci Technol* 43: 206-212.
25. Lee H, Kim YS, Kim DY, Kim SY, Lee WK, Lee SM, Park JD, Shon MY. 2015. A study on manufacturing of red ginseng *Makgeolli* using the red ginseng starch and changes of physicochemical components of red ginseng *Makgeolli* during storage periods. *Korean J Food Preserv* 22: 369-376.