

Sumizyme™을 이용한 쌀 증류주의 누룩취 저감화

곽한섭^{1,2} · 김미숙^{1,2} · 이영승^{1,2} · 엄태길^{1,2} · 서유진¹ · 심형석³ · 하상형³ · 윤옥현⁴ · 정운화^{1,2}

¹단국대학교 식품영양학과, ²단국대학교 글로벌식품산업연구소
³배혜정도가, ⁴김천대학교 식품영양학과

Reduction of *Nuruk* Flavor in Korean Rice-Distilled Liquor Using Sumizyme™

Han Sub Kwak^{1,2}, Misook Kim^{1,2}, Youngseung Lee^{1,2}, Taekil Eom^{1,2}, Yoojin Seo¹,
Hyongsuk Shim³, Sang-Hyoung Ha³, Ok Hyun Yoon⁴, and Yoonhwa Jeong^{1,2}

¹Department of Food Science and Nutrition and ²Institute of Global Food Industry, Dankook University
³BHD Brewery Co., Ltd.

⁴Department of Food and Nutrition, Gimcheon University

ABSTRACT The objective of this study was to reduce *Nuruk* flavor in Korean rice-distilled liquor using different ratios of Sumizyme™ and *Nuruk*. After 9 days of fermentation at 28°C, alcohol contents and pH were 16.0~17.1% and 3.82~4.16, respectively. An increased ratio of Sumizyme™ decreased alcohol content while increased pH of the mash. In alcohol contents, there were no significant differences up to 30% substitution of *Nuruk* to Sumizyme™. A descriptive analysis was conducted with trained panelists for determining the intensity of *Nuruk* flavor. The intensities of *Nuruk* flavor in mashes and distilled liquors brewed by traditional *Nuruk*, cultured *Nuruk*, and a mixture of 30% Sumizyme™ and 70% cultured *Nuruk* were evaluated. The mash and distilled liquor prepared using a mixture of 30% Sumizyme™ and 70% cultured *Nuruk* showed significantly lower intensities of *Nuruk* flavor when compared with those of mashes and distilled liquors produced by the traditional and cultured *Nuruk*.

Key words: *Nuruk*, distillation, distilled liquor, yeast flavor, alcoholic beverage

서 론

한국의 술 제조 역사는 2000년 이전이며, 중국으로부터 전해진 발효체 기술을 이용하여 술을 만들어 왔다고 알려져 있다(1). 한국에는 누룩이라는 전통적인 발효체가 있으며, 곡류를 이용하여 자연 접종된 곰팡이와 효모 및 젖산균 등의 균류가 번식하여 각종 효소 및 효모를 다량 함유하는 발효 스타터로 이용되고 있다(2). 제조방법에 따라 자연 상태에서 존재하는 곰팡이, 효모, 세균류 등이 번식하여 만들어지는 전통누룩과 살균한 전분질 원료에 *Aspergillus kawachi*, *Aspergillus oryzae* 등의 배양균을 접종하여 만드는 개량 누룩으로 분류된다(3). 다양한 누룩 형태를 막걸리 및 약주에 적용한 품질 특성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 전통 누룩에서 동정한 *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus japonicas*, *Rhizopus oryzae* 등을 막걸리에 적용한 연구가 이루어져 왔으며(4-7), 전통 누룩 추출물을 열처리한 막걸리의 품질 특성에 관한 연구(8)도 보고되었다. 또한 누룩과

입국을 달리한 막걸리에서 항균 활성이 있는 미생물을 분리 동정하는 연구도 진행되어 왔다(9).

반면 전통 증류주 제조에 있어 다양한 누룩의 적용에 대한 연구는 막걸리 연구에 비하여 매우 미진하다. 증류주 연구는 주로 전통 누룩 또는 개량 누룩을 이용한 이화학적 특성에 대한 연구(3,10,11)가 보고되었다. 개량 누룩을 사용하였을 때의 술덧 알코올 함량이 전통 누룩을 이용하였을 때보다 높았다고 보고되었다(3). Yi 등(10)은 국과 개량 누룩을 사용한 증류주의 휘발성 성분을 비교하여 국의 사용 시 위해 휘발성 물질이 적게 검출되었다고 보고하였다. Cho 등(11)은 국내에서 주로 사용하고 있는 스테인리스 증류기(단식 및 감압식)로 제조한 과실 증류주와 다단식 동증류기를 이용한 과실 증류주의 품질 특성을 비교하였다. Cho 등(11)은 국내에서 주로 사용하고 있는 스테인리스 증류기(단식 및 감압식)로 제조한 과실 증류주와 다단식 동증류기를 이용한 과실 증류주의 품질 특성을 비교하였다.

막걸리 및 약주의 발효와 유사하게 증류주의 제조를 위한 발효 술덧도 누룩을 이용하여 발효하기 때문에 증류 후에 증류주 누룩취가 남아있게 된다. 누룩취는 한국 증류주의 저면 확대에 부정적인 요소가 될 수 있다. 특히 서양에서는 누룩취가 yeasty aroma/flavor로 인식되며, 이는 한국 전통주의 접근에 부정적인 요소로 평가된다(12). 누룩취에 대한

Received 12 February 2015; Accepted 13 March 2015

Corresponding author: Yoonhwa Jeong, Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Yongin, Gyeonggi 448-701, Korea

E-mail: yjeong@dankook.ac.kr, Phone: +82-31-8005-3176

연구로 Lee와 Ahn(13)은 누룩원료를 달리한 쌀약주에서 원료에 따른 누룩취의 차이와 시판 약주에서 누룩취의 차이를 보고하였다(14). 그러나 증류주에 있어서 누룩취에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다.

누룩취를 저감하는 방법으로는 누룩취를 적게 발생하는 효소를 전통 누룩에서 분리 동정하여 사용하는 방법과 누룩의 사용량을 상업용 정제효소로 일정 부분 대체하는 방법이 있다. 본 연구에서는 쌀 증류주의 누룩취를 저감화하기 위하여 기존에 사용되고 있는 전통 누룩 배양 효소 대신 *Rhizopus species*의 배양물에서 얻어진 정제 효소를 일정 부분 이용하여 증류주를 제조한 뒤 전통누룩, 개량누룩 증류주와 누룩취의 강도를 비교 평가하였다.

재료 및 방법

재료

쌀은 화성시에서 재배되어 2012년에 수확된 충청 쌀을 동신양곡(Ansan-si, Korea)에서 직접 구입하였다. 누룩은 배혜정도가(Hwaseong-si, Korea)에서 제공된 *Rhizopus japonicas*를 접종한 개량누룩(RHN)과 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 제조한 개량누룩(ASN)을 사용하였다. RHN과 ASN의 최적의 pH는 4.0~6.0이고, 최적의 온도는 50~60°C이다. 정제효소는 glucoamylase인 Sumizyme™(Shin Nihon Chemical Co., Ltd., Aichi, Japan)을 구입하여 사용하였다. Sumizyme™은 *Rhizopus sp.*의 배양물에서 얻어졌으며, 주로 탁주 및 약주의 제조에 사용되고 최적의 pH는 4.0~8.0, 온도는 50~60°C이다. 효모는 La Parisienne®(S.I. Lesaffre, Normandie, France)를 사용하였다.

당화력 측정

당화력은 국제청 주류분석 규정에 따라 측정하였다(15). 쌀 분말(1.0 g)과 증류주(8.0 mL)를 혼합한 후 효소액(1.0 mL)을 첨가하여 23°C의 배양기에서 10분간 반응시켰다.

효소액은 효소(1.0 g)에 증류수(9 mL)를 가한 후 23°C의 항온 수조에서 40 rpm으로 2시간 교반 후 여과하여 제조하였다. 그 후 1 M의 NaOH 수용액 1.0 mL를 첨가하여 반응을 중지하였다. 원심분리(5분, 3,600 rpm, 4°C) 후 상등액 100 µL를 DNS 시약(3,5-dinitrosalicylic acid 7.06 g/L, sodium hydroxide 13.2 g/L, rochell salt 204 g/L, sodium metabisulfite 5.53 g/L, phenol 5.06 mL/L) 300 µL에 가한 후 100°C의 수조에서 5분간 반응시킨 후 냉각하였다. 흡광도는 원심분리기(VS-15000CFN II, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)로 13,000 rpm에서 3분간 원심분리 한 후 상등액 300 µL를 96-well plate에 분주 후 흡광광도계(Infinite 200 pro, Tecan, Mannedorf, Switzerland)로 550 nm에서 측정하였다. 측정 결과는 포도당을 이용한 표준 곡선(R²=0.989)에 대입하여 계산하였다. 1분 동안 가용성 전분을 분해하여 1 µmole의 포도당을 생성하는 능력을 1 unit으로 하였다.

발효 술덧 제조 및 증류

쌀 증류주 생산을 위한 1차 담금의 발효 술덧의 배합비율은 Table 1과 같으며, 상업적 생산에 사용되는 쌀 증류주 배합비를 이용하였다. 최종 당화력이 동등하도록 RHN의 사용량을 줄이면서 정제효소의 양을 늘려 술덧을 제조하였다. 쌀(1,600 g)은 수돗물을 이용하여 5회 세척한 다음 2시간 동안 침지 후 침지수를 제거하였다. 30분간 물기를 제거한 후 121°C에서 15분간 증자하고 10분간 뜸을 들여 고두밥을 만들었다. 고두밥을 잘 퍼서 상온에 60분간 식힌 다음 술덧의 제조에 사용하였다. 누룩(RHN, ASN)은 사용량의 10배에 해당하는 20~25°C의 물에 교반하여 2시간 동안 추출한 후 표준체(125×125 µm)에 걸러 액상 부분을 사용하였다. 이때 사용된 물은 발효 시 사용할 물에서 덜어 사용하였다. 발효 배치에 고두밥, 효소액, 효모를 넣은 후 물을 부어서 1차 담금을 완료하였다. 초기 발효 온도는 23±2°C로 설정되었으며, 산패균의 증식을 차단하기 위해 젯산을 사용하여 pH

Table 1. Formula for Korean rice-distilled liquors, and saccharogenic power of *Nuruk* made by *Rhizopus japonica* (RHN) and *Aspergillus oryzae* (ASN), and Sumizyme™

Sample ¹⁾	Ingredient							Saccharogenic power		
	Rice (g)	Water (mL)	Yeast (g)	<i>Nuruk</i> (RHN) (g)	<i>Nuruk</i> (ASN) (g)	Sumizyme™ (g)	Lactic acid (mL)	<i>Nuruk</i> (RHN)	<i>Nuruk</i> (ASN)	Sumizyme™
Control	1,600	3,200	20.0	40.9	4.8	0.0	12.0	176,472	46,560	0
S10	1,600	3,200	20.0	36.8	4.8	0.6	12.0	158,825	46,560	17,647
S20	1,600	3,200	20.0	32.7	4.8	1.1	12.0	141,178	46,560	35,294
S30	1,600	3,200	20.0	28.6	4.8	1.7	12.0	123,530	46,560	52,942
S40	1,600	3,200	20.0	24.5	4.8	2.2	12.0	105,883	46,560	70,589
S50	1,600	3,200	20.0	20.4	4.8	2.8	12.0	88,236	46,560	88,236
S60	1,600	3,200	20.0	16.3	4.8	3.3	12.0	70,589	46,560	105,883
S70	1,600	3,200	20.0	12.3	4.8	3.9	12.0	52,942	46,560	123,530
S80	1,600	3,200	20.0	8.2	4.8	4.4	12.0	35,294	46,560	141,178
S90	1,600	3,200	20.0	4.1	4.8	5.0	12.0	17,647	46,560	158,825
S100	1,600	3,200	20.0	0	4.8	5.5	12.0	0	46,560	176,472

¹⁾S10, S20, S30, S40, S50, S60, S70, S80, S90, and S100 mean the percentages of substitution of *Nuruk* (RHN) by Sumizyme™.

를 3.2로 맞추었다(16). 2차 담금은 48시간 후 쌀(3,200 g)로 고두밥을 만들고 물(4,800 mL)을 1차 담금 배치에 넣어 최종적인 술덧 제조를 완료하였다. 1일 2회 교반작업을 진행하여 술 배치 안에서 균일한 발효가 일어나도록 하였다.

증류는 발효 술덧을 125×125 µm 표준체를 사용하여 제성한 후 그 원액을 증류에 사용하였다. 수제 제작된 20 L 용량의 상압 단식 동 증류기(Copper Traditional Alembic Still, Cooper Master, Oliveira de Azemeis, Portugal)를 이용하여 1, 2차 증류를 진행하였다. 1차 증류는 증류되어 나오는 술을 100 mL씩 분획하였으며, 분획물의 알코올 농도가 3%(v/v) 이하가 되면 증류를 중지하고 알코올 농도가 3%(v/v) 이상인 부분을 2차 증류에 사용하였다. 2차 증류 시에도 증류되어 나오는 술을 100 mL씩 분획하여 첫 번째 분획을 초류로 간주하고, 두 번째 분획부터 백탁 현상이 나오기 직전까지의 분획물을 본류로 간주하였다. 본류는 증류수를 이용하여 40%(v/v)의 알코올 농도로 희석하여 최종 증류주를 제조하였다.

알코올 함량 측정

발효 술덧의 알코올 함량은 종이필터(pore size: 5 µm) (No. 20, Hyundai Micro Co., Ltd., Seoul, Korea)로 여과한 시료 100 mL를 300 mL 수기에 취한 후 알코올램프를 이용하여 가열하였다. 시료가 가열되어 증류된 부분이 70 mL가 되면 증류를 중지하고, 증류수를 첨가하여 100 mL로 맞춘 후 알코올 비중계로 알코올 함량(%)을 3회 반복하여 측정하고 온도 보정표를 이용하여 15°C 상태로 표기하였다(15).

pH 및 총산 측정

여과된 시료를 잘 섞은 후 pH meter(Thermo Electron Co., Beverly, MA, USA)를 이용하여 3회 측정하였다(15). 총산은 여과된 시료 10 mL에 pH meter(Thermo Electron Co.)를 넣고 0.1 N NaOH 용액을 넣어주면서 pH가 7.0이 될 때까지 소비된 0.1 N NaOH 용액의 양으로 구하였다. 총산 함량은 0.05% 초산 상당량으로 표기하였다(15).

가용성 고형분 함량 측정

가용성 고형분 함량은 refractometer(HI 96801, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA)를 이용하여 3회 반복 측정하여 평균값을 °Brix 단위로 표기하였다.

묘사 분석

묘사 분석은 12명(남 5명, 여 7명, 19~26세)의 단국대학교 학부 및 대학원생을 훈련하여 묘사 분석 패널로 활용하였다. 패널은 본 묘사 분석에 참여하기 전에 31주(3시간/주)에 걸쳐서 총 93시간 동안 술의 평가에 대한 기초 훈련 및 묘사 분석 경험을 쌓은 후 본 묘사 분석에 참여하였다. 누룩취 평가에 대한 훈련은 하루 1시간씩 5회에 걸쳐서 진행되었다.

훈련기간 동안 패널은 다양한 농도(5~15%)의 전통누룩(Songhakgokja, Gwangju-si, Korea), 개량누룩(BHD Brewery, Hwaseong-si, Korea) 및 정제효소(Sumizyme™) 수용액의 누룩취 강도를 평가하고, 누룩취에 익숙해지도록 하였다. 또한 발효 술덧 및 증류주와 누룩취 레퍼런스(reference)를 비교 평가하는 훈련을 통해서 레퍼런스의 강도를 설정하였다. 훈련을 통해서 최종적으로 5% 개량누룩 수용액의 강도를 8로 설정하였다. 대조군으로서 개량누룩 및 전통누룩으로 제조된 발효 술덧과 증류주를 이용하였다. 발효 술덧의 알코올 농도는 16%(v/v), 증류주의 알코올 농도는 40%(v/v)로 증류수를 이용하여 희석한 후 제공하였다. 시료는 189 mL 용량의 종이컵에 20 mL 제공하였다. 시료간의 carry-over 효과를 최소화하고자 Williams 시료 제시 순서(17)를 이용하였다. 시료의 평가는 독립된 공간의 적색 등 아래에서 이루어졌다. 패널은 16점 척도(0: 누룩취 없음, 15: 누룩취 매우 강함)가 인쇄된 종이 설문지를 이용하여 적색등 조명 아래의 독립된 공간에서 평가하였다. 시료와 시료 간에는 입안을 행구기 위해서 상온의 물이 제공되었으며, 물로 입안을 행구 후 3분이 지난 다음에 시료를 평가하도록 하였다.

통계처리

통계분석은 XLSTAT(version 2012, Addinsoft, Paris, France)을 사용하였으며, 유의수준은 $P < 0.05$ 에서 검증하였다. 이화학 분석의 실험 결과는 일원분산분석(one-way ANOVA)을 하였으며, 묘사 분석의 결과는 반복, 시료, 패널을 독립변수로 하여 이원분산분석(two-way ANOVA)을 하였다. 통계적으로 유의차가 있을 경우 Fisher's least significant difference test를 사용하여 종속변수 간의 유의차를 확인하였다.

결과 및 고찰

당화력

본 연구에 사용된 전통누룩의 균주를 분리하여 배양한 개량누룩(RHN)의 당화력은 4,320 units/g이고, 정제효소(Sumizyme™)의 당화력은 31,800 units/g이었다. 이는 전통누룩의 당화력인 429~499(units/g)보다 높았으나(8), 가수량 대비 전통누룩의 사용량이 본 연구에 사용된 RHN보다 약 10배 많이 첨가되어 발효 술덧의 초기 당화력은 기존의 연구와 차이가 없었다. 측정된 당화력을 이용하여 샘플의 RHN 사용량을 대조군(100%)에서 10%씩 감소시키면서 동등한 당화력을 가지도록 정제효소(Sumizyme™)로 대체하여 샘플 제조의 배합을 하였다(Table 1).

알코올 함량

발효기간 동안 발효 술덧의 알코올 함량 변화는 Table 2와 같다. 2차 담금이 완료된 발효 3일차부터 발효 종료일인

Table 2. Alcohol contents of mash during 9 days of fermentation (% v/v)

Samples ¹⁾	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Control	10.8±0.1 ^{b2)}	15.1±0.1 ^b	8.9±0.2 ^a	13.3±0.1 ^a	15.6±0.2 ^b	16.2±0.1 ^b	16.8±0.1 ^{ab}	17.2±0.1 ^a	17.0±0.1 ^a
S10	11.3±0.1 ^a	15.8±0.1 ^a	8.5±0.2 ^b	13.1±0.2 ^a	16.0±0.2 ^a	16.5±0.3 ^a	16.9±0.2 ^a	17.0±0.1 ^{ab}	17.1±0.0 ^a
S20	10.6±0.1 ^b	15.2±0.1 ^b	8.6±0.2 ^{ab}	13.0±0.1 ^a	15.8±0.2 ^{ab}	16.2±0.1 ^{bc}	16.6±0.2 ^b	16.9±0.1 ^b	17.0±0.1 ^a
S30	10.7±0.1 ^b	14.9±0.2 ^b	8.9±0.2 ^a	13.1±0.1 ^a	15.2±0.3 ^c	16.3±0.1 ^{ab}	16.9±0.1 ^a	17.0±0.1 ^{ab}	17.1±0.1 ^a
S40	10.2±0.1 ^c	13.2±0.1 ^c	7.3±0.1 ^c	13.2±0.1 ^a	14.8±0.1 ^d	16.0±0.1 ^c	16.7±0.2 ^{ab}	16.8±0.2 ^{bc}	16.8±0.1 ^b
S50	8.5±0.3 ^d	12.5±0.3 ^{de}	6.3±0.2 ^e	9.7±0.2 ^d	13.6±0.3 ^f	14.6±0.2 ^e	15.9±0.1 ^c	16.6±0.1 ^c	16.6±0.1 ^c
S60	6.4±0.2 ^f	12.6±0.2 ^d	6.9±0.2 ^d	10.3±0.2 ^b	14.4±0.1 ^e	15.4±0.1 ^d	16.1±0.2 ^c	16.2±0.3 ^d	16.4±0.1 ^{de}
S70	6.1±0.1 ^g	13.0±0.1 ^c	5.3±0.2 ^f	9.8±0.0 ^{cd}	13.2±0.1 ^g	14.3±0.1 ^f	15.8±0.1 ^{de}	15.9±0.1 ^e	16.5±0.1 ^{cd}
S80	6.2±0.1 ^{fg}	12.2±0.3 ^{ef}	7.5±0.2 ^c	10.5±0.2 ^b	13.1±0.1 ^g	14.2±0.1 ^{fg}	15.5±0.2 ^f	16.0±0.2 ^{de}	16.2±0.0 ^f
S90	6.8±0.1 ^e	11.8±0.2 ^g	6.0±0.3 ^e	10.4±0.2 ^b	12.9±0.3 ^g	14.4±0.1 ^{ef}	15.6±0.1 ^{ef}	16.0±0.1 ^{de}	16.3±0.1 ^{ef}
S100	5.0±0.1 ^h	11.9±0.0 ^{fg}	5.5±0.2 ^f	10.0±0.1 ^c	12.5±0.1 ^h	14.0±0.0 ^g	15.2±0.1 ^g	15.8±0.1 ^e	16.0±0.2 ^g

¹⁾S10, S20, S30, S40, S50, S60, S70, S80, S90, and S100 mean the percentages of substitution of *Nuruk* (RHN) by SumizymeTM.
²⁾Different letters within a column meant significant differences at $P<0.05$ by Fisher's least significant difference test.

9일차까지 시료의 알코올 함량은 증가하는 경향성을 보였다. 발효 술덧의 최종 알코올 함량은 16.0~17.1%였으며, 정제효소의 첨가량에 따라서 시료 간에 유의적으로 알코올 함량이 차이가 있었다($F=53.88, P<0.001$). 대조군, S10, S20, S30의 알코올 함량은 각각 17.0, 17.1, 17.0, 17.1%로 유의적인 차이가 없었다. 정제효소가 40% 이상 첨가된 시료의 경우 대조군보다 발효 술덧의 최종 알코올 생성 능력은 낮았다($P<0.05$). 효소의 양은 초기 당화력이 같도록 첨가되었고, 같은 효모가 이용되었음에도 알코올 생성에 차이가 있는 이유는 α -amylase activity의 차이 때문이라 보인다. 당화력에 따라서 RHN과 정제효소의 양이 조절되었으나, 동등한 당화력 조건에서 RHN의 α -amylase activity가 정제효소보다 높아서(18) 알코올 생성에 필요한 환원당의 생성량에 차이가 발생하는 것으로 사료된다.

pH 및 총산 함량 변화

pH와 총산은 술덧의 발효 정도를 알 수 있는 지표이며, 일반적으로 발효 과정 중에 급격한 변화가 적다(18). 급격한 변화는 이상 발효에 의한 것으로 술덧의 오염 정도를 유추할 수 있는 중요한 지표이다(20). 발효기간 동안 발효 술덧의 pH 변화는 Table 3과 같다. pH는 2차 담금이 끝난 발효 3일차부터 모든 시료에서 증가하는 경향성을 보였다. 발효

후 최종 pH는 3.82~4.16으로 나타났으며, 시료 간에 유의적인 차이가 존재하였다($F=52.81, P<0.001$). 발효 초기에는 오염 방지를 위한 젖산의 첨가로 인해 효소의 역가가 최적치보다 낮아 발효가 느리게 진행되었으나, S100의 경우 발효 6일차부터 정제효소의 최적 pH 범위에 진입하여 Sumizyme의 활성에는 문제가 없다고 판단된다. 이는 발효 술덧의 pH가 3.5~3.9로 보고한 Kim 등(3)과 3.92~4.14로 보고한 Huh 등(21)의 연구 결과와 유사하였다.

정제효소의 함량이 높을수록 pH가 증가하였다. 일반적으로 pH 4 이하에서 발효가 되었을 경우 발효 술덧이 유해미생물의 오염 없이 안전하게 발효가 되었다고 간주하므로(22), 정제효소가 40% 이상 포함되어 있을 경우 발효 과정 중에 술덧이 유해미생물에 오염될 가능성이 있다고 판단된다. 발효 술덧의 pH는 유기산의 함량에 영향을 받으며, pH가 낮을 경우 유기산이 다량 생성된다고 보고되었다(21,23). 따라서 정제효소(SumizymeTM)의 첨가가 발효에 영향을 미쳤으며, 첨가량이 증가할수록 유기산의 생성이 대조군보다 적을 것이라 추정된다.

술덧의 발효기간 동안 총산의 변화는 Table 4와 같다. 2차 담금이 완료된 발효 3일차에서 4일차 사이에 총산 함량은 증가하였고, 그 후 발효가 완료될 때까지 일정한 수준을 유지하였다. 발효 4일차 이후 급격한 총산 함량의 변화는 없

Table 3. pH of mash during 9 days of fermentation

Samples ¹⁾	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Control	3.25±0.03 ^{h2)}	3.53±0.05 ^{ef}	3.33±0.03 ^f	3.48±0.11 ^c	3.54±0.02 ^f	3.66±0.08 ^c	3.72±0.02 ^f	3.75±0.06 ^d	3.83±0.03 ^c
S10	3.28±0.02 ^{fgh}	3.52±0.02 ^f	3.32±0.02 ^f	3.45±0.04 ^c	3.62±0.03 ^c	3.67±0.02 ^c	3.77±0.01 ^e	3.80±0.02 ^{cd}	3.82±0.02 ^c
S20	3.30±0.03 ^{gh}	3.50±0.02 ^f	3.33±0.01 ^f	3.49±0.05 ^c	3.61±0.03 ^c	3.71±0.04 ^{de}	3.76±0.03 ^c	3.83±0.03 ^c	3.90±0.04 ^d
S30	3.29±0.02 ^{gh}	3.63±0.05 ^d	3.38±0.03 ^e	3.50±0.04 ^e	3.59±0.03 ^c	3.68±0.03 ^e	3.72±0.03 ^f	3.85±0.04 ^c	3.90±0.04 ^d
S40	3.35±0.04 ^{ef}	3.58±0.03 ^{de}	3.38±0.03 ^e	3.60±0.03 ^d	3.68±0.01 ^d	3.76±0.04 ^d	3.89±0.03 ^d	4.01±0.03 ^b	4.03±0.04 ^c
S50	3.33±0.05 ^{efg}	3.69±0.04 ^c	3.65±0.02 ^c	3.68±0.02 ^c	3.70±0.03 ^d	3.89±0.01 ^c	3.99±0.03 ^c	4.08±0.04 ^a	4.05±0.04 ^c
S60	3.42±0.03 ^{cd}	3.78±0.05 ^b	3.58±0.05 ^d	3.69±0.01 ^c	3.72±0.02 ^d	3.95±0.03 ^{bc}	4.08±0.02 ^{ab}	4.06±0.04 ^{ab}	4.11±0.03 ^{ab}
S70	3.38±0.03 ^{de}	3.69±0.01 ^c	3.70±0.03 ^b	3.72±0.02 ^{bc}	3.80±0.04 ^c	3.89±0.04 ^c	4.06±0.03 ^b	4.09±0.05 ^a	4.08±0.03 ^{bc}
S80	3.46±0.03 ^c	3.76±0.03 ^b	3.69±0.03 ^{bc}	3.78±0.04 ^{ab}	3.81±0.03 ^c	3.92±0.03 ^c	4.10±0.02 ^a	4.12±0.03 ^a	4.15±0.04 ^a
S90	3.52±0.01 ^b	3.78±0.03 ^b	3.82±0.02 ^a	3.79±0.03 ^{ab}	3.88±0.01 ^b	4.12±0.03 ^a	4.09±0.02 ^{ab}	4.09±0.02 ^a	4.11±0.01 ^{ab}
S100	3.60±0.04 ^a	3.89±0.04 ^a	3.72±0.03 ^b	3.85±0.02 ^a	3.97±0.03 ^a	4.00±0.03 ^b	4.11±0.03 ^a	4.12±0.04 ^a	4.16±0.02 ^a

¹⁾S10, S20, S30, S40, S50, S60, S70, S80, S90, and S100 mean the percentages of substitution of *Nuruk* (RHN) by SumizymeTM.
²⁾Different letters within a column meant significant differences at $P<0.05$ by Fisher's least significant difference test.

Table 4. Total acidity of mash during 9 days of fermentation

Samples ¹⁾	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Control	6.20±0.09 ^{e2)}	6.90±0.03 ^c	2.60±0.08 ^{ef}	3.00±0.01 ^c	3.30±0.02 ^a	3.30±0.01 ^b	3.10±0.03 ^d	3.20±0.02 ^{bc}	3.23±0.05 ^b
S10	6.50±0.03 ^a	7.10±0.04 ^a	2.70±0.07 ^{bcd}	3.09±0.05 ^b	3.20±0.01 ^b	3.40±0.04 ^a	3.50±0.04 ^a	3.40±0.03 ^a	3.40±0.02 ^a
S20	6.41±0.04 ^{bc}	7.02±0.04 ^b	2.72±0.04 ^{bc}	3.22±0.03 ^a	3.31±0.03 ^a	3.42±0.02 ^a	3.31±0.04 ^b	3.24±0.04 ^b	3.25±0.03 ^b
S30	6.11±0.04 ^f	6.84±0.05 ^e	2.71±0.03 ^{bcd}	3.04±0.07 ^{bc}	3.13±0.04 ^b	3.23±0.04 ^c	3.23±0.02 ^c	3.14±0.03 ^c	3.06±0.04 ^c
S40	6.06±0.02 ^f	6.64±0.06 ^e	2.61±0.01 ^{de}	2.81±0.01 ^e	2.84±0.01 ^{cd}	2.90±0.08 ^d	2.81±0.07 ^f	2.92±0.07 ^e	2.82±0.02 ^e
S50	6.23±0.04 ^e	6.54±0.05 ^f	2.51±0.07 ^f	2.73±0.04 ^f	2.75±0.06 ^e	2.91±0.03 ^d	2.85±0.03 ^f	2.92±0.04 ^e	2.82±0.02 ^e
S60	6.23±0.01 ^e	6.31±0.07 ^g	2.63±0.06 ^{cde}	2.82±0.05 ^e	2.84±0.03 ^d	2.75±0.03 ^f	2.92±0.01 ^e	2.82±0.02 ^f	2.93±0.02 ^d
S70	6.25±0.06 ^{de}	6.74±0.03 ^d	2.72±0.01 ^{bc}	2.92±0.03 ^d	2.84±0.02 ^d	2.82±0.02 ^e	2.74±0.04 ^g	2.74±0.03 ^g	2.70±0.03 ^f
S80	6.42±0.02 ^{ab}	6.73±0.02 ^d	2.63±0.02 ^{cde}	2.82±0.02 ^e	2.94±0.02 ^c	2.93±0.02 ^d	2.93±0.01 ^e	3.00±0.03 ^d	2.95±0.03 ^d
S90	6.33±0.02 ^{cd}	6.62±0.03 ^e	2.74±0.03 ^b	2.92±0.01 ^d	2.73±0.02 ^e	2.83±0.02 ^e	2.93±0.02 ^e	2.93±0.01 ^e	2.82±0.02 ^e
S100	6.23±0.03 ^e	6.73±0.05 ^d	2.91±0.04 ^a	2.71±0.05 ^f	2.81±0.04 ^{de}	2.93±0.02 ^d	2.84±0.04 ^f	2.81±0.03 ^f	2.90±0.02 ^d

¹⁾S10, S20, S30, S40, S50, S60, S70, S80, S90, and S100 mean the percentages of substitution of *Nuruk* (RHN) by SumizymeTM.

²⁾Different letters within a column meant significant differences at $P < 0.05$ by Fisher's least significant difference test.

었으며, 이는 산패 또는 이상 발효 없이 안정적인 발효 형태를 보여주는 것으로 여겨진다. 발효 종료 후 총산 함량은 정제효소의 첨가량에 비례하여 감소하였다($F=191.23$, $P < 0.001$). Huh 등(201)과 Kong 등(23)은 발효 과정 중 총산 함량의 변화가 발효 중 생성된 젖산과 유기산의 증가에 의한 것이라고 보고하였고, 특히 발효 초기(3~4일)에 총산 함량의 변화가 큰 것으로 본 연구 결과와 유사하였다. 총산 함량은 pH와 강한 부의 상관관계($r=-0.838$, $P < 0.001$)를 가지는 것으로 나타나 pH와 총산은 밀접한 관계를 가지고 있다고 판단된다.

가용성 고형분 함량

정제효소의 함량을 다르게 하여 제조한 술덧의 가용성 고형분의 함량의 변화는 Table 5와 같다. 1차 담금 후 가용성 고형분 함량은 18.8~19.6°Brix로 나타났으며 발효가 진행될수록 가용성 고형분의 함량은 감소하였고, 발효 종료 후의 가용성 고형분의 함량은 13.5~14.3°Brix였다. 이와 같은 발효 경과 기간에 따른 가용성 고형분 함량의 변화는 2단 담금을 한 Kim 등(24)의 연구 결과와 유사하다. 발효 후의 가용성 고형분 함량은 시료 간에 유의적으로 차이가 있었으며($F=7.76$, $P < 0.001$), 정제효소 함량이 높을수록 높은 가용성 고형분 함량도 높았다. 통계적으로 40%의 정제효소 함량

까지가 낮은 가용성 고형분 함량을 가지는 것으로 나타났다. 본 연구의 고형분 함량은 Park 등(8)이 보고한 막걸리의 가용성 고형분 함량(13.27~14.37°Brix)과 유사하였으며, 효소에 의해 정상적으로 당화과정이 진행되었다고 판단된다.

누룩취 묘사 분석

발효 술덧 및 증류주의 누룩취 강도를 평가하고자 묘사 분석을 하였다. 묘사 분석에 사용된 정제효소(SumizymeTM)를 이용한 시료는 대조군과 동등한 알코올 생성량을 보이는 SumizymeTM 30% 대체 시료(S30)를 사용하였다. 발효 술덧($F=0.001$, $P=0.974$) 및 증류주($F=0.921$, $P=0.348$)의 반복 평가는 통계적으로 유의차가 없으므로 누룩취에 대한 패널의 훈련은 충분히 이루어졌으며, 패널은 반복성을 재현하였다. 시료와 패널의 상관관계 분석 결과, 발효 술덧($F=1.844$, $P=0.080$)과 증류주($F=1.829$, $P=0.082$)에서 모두 통계적으로 유의차가 없어 시료의 평가에 있어서 패널 간의 영향은 유의미하지 않는 것으로 나타났다.

전통누룩, 개량효소 및 30% 정제효소(S30)를 사용하여 제조한 발효 술덧과 쌀 증류주의 누룩취 강도는 Table 6과 같다. 발효 술덧의 누룩취 강도는 시료 간에 유의적으로 차이가 있었다($F=31.49$, $P < 0.001$). 전통누룩을 사용하였을 때 발효 술덧의 누룩취 강도가 9.0으로 가장 높았으며, 개량

Table 5. Total soluble solid contents of mash during 9 days of fermentation

Samples ¹⁾	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Control	19.6±0.2 ^{a2)}	16.6±0.2 ^c	16.4±0.2 ^b	15.0±0.2 ^f	14.4±0.1 ^e	14.1±0.1 ^d	13.8±0.1 ^d	13.6±0.2 ^d	13.5±0.1 ^c
S10	19.6±0.1 ^a	16.5±0.2 ^c	16.5±0.1 ^b	15.2±0.2 ^{ef}	14.6±0.2 ^{de}	14.2±0.2 ^d	13.7±0.3 ^d	13.6±0.1 ^d	13.6±0.2 ^c
S20	19.4±0.1 ^{ab}	16.6±0.2 ^c	16.4±0.2 ^b	15.4±0.3 ^e	14.6±0.1 ^{de}	14.1±0.1 ^d	13.7±0.2 ^d	13.6±0.0 ^d	13.8±0.3 ^{bc}
S30	19.6±0.2 ^a	16.6±0.2 ^c	16.4±0.1 ^b	15.4±0.2 ^e	14.5±0.1 ^{de}	14.0±0.1 ^d	13.6±0.1 ^c	13.4±0.2 ^d	13.5±0.2 ^c
S40	19.2±0.1 ^{bc}	17.2±0.2 ^b	16.8±0.1 ^a	16.0±0.1 ^{cd}	14.8±0.2 ^d	14.6±0.2 ^{bc}	14.3±0.2 ^d	14.2±0.1 ^c	13.8±0.1 ^{bc}
S50	19.0±0.1 ^{cde}	17.3±0.1 ^b	16.9±0.2 ^a	16.2±0.1 ^{bc}	15.8±0.2 ^{ab}	14.9±0.2 ^{bc}	14.7±0.2 ^b	14.4±0.2 ^{bc}	14.1±0.1 ^a
S60	19.0±0.2 ^{de}	17.2±0.1 ^b	16.8±0.1 ^a	16.6±0.1 ^a	16.0±0.3 ^a	15.5±0.2 ^a	15.2±0.3 ^a	14.5±0.1 ^{bc}	14.0±0.1 ^{ab}
S70	19.1±0.1 ^{cd}	17.6±0.2 ^a	16.2±0.1 ^c	15.8±0.1 ^d	15.5±0.2 ^b	15.2±0.3 ^{ab}	14.7±0.1 ^b	14.5±0.1 ^{bc}	14.2±0.2 ^a
S80	19.0±0.2 ^e	17.4±0.2 ^{ab}	16.0±0.1 ^{cd}	16.3±0.2 ^{ab}	15.9±0.2 ^a	15.0±0.1 ^b	14.8±0.2 ^b	14.8±0.2 ^a	14.2±0.1 ^a
S90	18.6±0.1 ^f	17.3±0.2 ^b	15.8±0.2 ^{de}	15.8±0.2 ^d	15.2±0.2 ^c	15.0±0.1 ^b	14.6±0.1 ^{bc}	14.5±0.3 ^{ab}	14.3±0.3 ^a
S100	18.8±0.2 ^e	17.3±0.2 ^b	15.6±0.1 ^e	15.8±0.2 ^d	14.8±0.1 ^d	14.2±0.2 ^d	14.6±0.3 ^{bc}	14.3±0.2 ^{bc}	14.2±0.3 ^a

¹⁾S10, S20, S30, S40, S50, S60, S70, S80, S90, and S100 mean the percentages of substitution of *Nuruk* (RHN) by SumizymeTM.

²⁾Different letters within a column meant significant differences at $P < 0.05$ by Fisher's least significant difference test.

Table 6. Intensity of *Nuruk* flavor from mash and distilled liquors fermented by traditional *Nuruk*, cultured *Nuruk*, and 30% Sumizyme™+70% cultured *Nuruk*

Sample	Traditional <i>Nuruk</i>	Cultured <i>Nuruk</i>	30% Sumizyme™+70% cultured <i>Nuruk</i>
Mash	9.0±3.3 ^{a1)}	6.8±2.2 ^b	4.8±2.0 ^c
Distilled liquor	12.0±3.3 ^a	8.0±1.7 ^b	7.0±3.1 ^b

¹⁾Different letters within a row meant significant differences at $P<0.05$ by Fisher's least significant difference test.

누룩은 6.8, S30이 4.8로 평가되었다. 증류주의 누룩취 강도는 발효 술덧의 누룩취 강도보다 강하다고 평가되었다($F=37.34, P<0.001$). 이는 증류과정 중 누룩취가 증발되지 않고 응축되었다고 생각된다. 전통누룩을 사용한 경우 12.0으로 가장 높게 평가되었으며($P<0.05$), 개량누룩은 8.0, S30의 경우 7.0으로 평가되었다. 개량누룩과 S30 시료의 경우 통계적으로 유의차는 없었다. 묘사 분석 결과 개량누룩의 30%를 정제효소로 대체하였을 경우 전통누룩 또는 개량누룩을 사용하였을 때보다 발효 술덧과 증류주 모두에서 누룩취의 향이 줄었다. 그러나 개량누룩을 사용한 증류주의 경우 누룩취의 강도는 높았으나 통계적으로 유의미하지 않았다($P=0.124$). S30 시료의 표준편차가 커서(표준편차: 3.1), 특정 패널들 사이에서 평가 점수의 편차가 큰 것이 통계적인 유의차가 나오지 않은 이유로 보인다. S30 시료에서 평균 대비 가장 큰 차이를 보인 패널 1명을 제외하고 재분석하였을 경우 개량누룩 시료와 S30 시료 간의 강도 차이는 통계적으로 유의미하였다($P=0.023$). 따라서 증류주에서 S30 시료의 누룩취가 개량누룩을 이용하여 제조한 증류주의 누룩취에 비하여 강도가 낮다고 할 수 있다. 본 연구에서 정제효소를 사용할 경우 누룩취가 낮아지는 이유는 누룩과 달리 특정 효소만을 함유하고 있어서 발효에 영향을 미치는 다른 균이 거의 없는 것이 원인일 수 있으며(25), Sumizyme™의 사용 시 전반적으로 생성되는 향미 성분이 적은 것이 원인이 될 수 있다(26,27).

요 약

본 연구에서는 개량누룩을 정제효소로 대체하여 제조한 발효 술덧의 품질 특성을 알아보고, 정제효소의 대체가 누룩취 저감에 효과가 있는지를 검증하였다. 정제효소로의 대체량이 늘어날수록 발효 술덧의 특성은 부의 방향성을 보였다. 알코올 함량이 낮아 술의 생산 원가에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났으며, pH가 높아져서 발효 시 유해미생물에 오염될 가능성이 높아질 것이라 보인다. 또한 가용성 고형분 함량도 높아서 개량누룩을 사용했을 때보다 발효가 늦게 진행되는 것이 발견되었다. 개량누룩의 사용량을 최대 30%까지 정제효소로 대체하였을 때 발효 술덧의 품질 변화에 유의미한 차이가 없었다. 정제효소(Sumizyme™)로 30% 대체하여 제조된 발효 술덧 및 증류주는 누룩취의 강도에 있어서

개량누룩과 전통누룩으로 제조된 발효 술덧 및 증류주와 비교해서 통계적으로 낮은 누룩취 강도를 보여주었다. 누룩의 일부분을 정제효소로 대체함으로써 쌀 증류주의 누룩취를 저감할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품개발 사업(과제번호 112116-05-2-HD050)의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee CH. 2001. *Fermentation technology in Korea*. 1st ed. Korea University Press, Seoul, Korea. p 44-69.
2. Shin KR, Kim BC, Yang JY, Kim YD. 1999. Characterization of *yakju* prepared with yeast from fruits volatile components in *yakju* during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 794-800.
3. Kim M, Lee Y, Kim I, Eom T, Kim SH, Jo N, Yu S, Jeong Y. 2013. Physicochemical characteristics of Korean traditional spirits brewed with *Phellinus linteus* by different *Nuruks*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 2042-2048.
4. Cho HK, Seo WT, Lee JU, Cho KM. 2012. Quality characteristics of cereal *makgeolli* rice *nuruk* prepared *Rhizopus oryzae* CCS01. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1002-1008.
5. So MH, Lee JW. 1996. *Takju* brewing by combined use of *Rhizopus japonicus-nuruk* and *Aspergillus oryzae-nuruk*. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 157-162.
6. Lee TS, Han EH. 2000. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using *Rhizopus japonicus nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 691-698.
7. Lee TS, Han EH. 2001. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using *Aspergillus oryzae nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 33: 366-372.
8. Park JH, Choi JH, Yeo SH, Jeong ST, Choi HS, Kang JE, Kim SR. 2013. A study on the quality characteristics of *makgeolli* using heat treatment of traditional Korean *nuruk* extract. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 620-628.
9. Lee JK, Jo HJ, Yoon JA, Chung KH, Song BC, Kim KI, An JH. 2014. Isolation and identification of microorganisms with antimicrobial activity in *makgeolli* of different kinds koji and *nuruk*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 577-583.
10. Yi HC, Moon SH, Park JS, Jung JW, Hwang KT. 2010. Volatile compounds in liquor distilled from mash produced using *koji* or *nuruk* under reduced or atmospheric pressure. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 880-886.
11. Cho HC, Kang SA, Choi SI, Cheong C. 2013. Quality characteristics of fruit spirits from a copper distillation apparatus. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 743-752.
12. Kwak HS, Ahn BH, Kim HR, Lee SY. 2015. Identification of sensory attributes that drive the likeability of Korean rice wines by American panelists. *J Food Sci* 80: S161-S170.
13. Lee SJ, Ahn BH. 2010. Sensory profiling of rice wines made with *nuruks* using different ingredients. *Korean J Food Sci Technol* 42: 119-123.
14. Lee SJ, Lee KG. 2008. Understanding consumer preferences for rice wines using sensory data. *J Sci Food Agric* 88: 690-698.
15. National Tax Service. 2009. *Analysis of liquor regulatory*.

- National Tax Service, Seoul, Korea. p 12-41.
16. Bae SM. 1994. *Manufacture technology of tradition wine (Yakju, Takju)*. Kuksundang Enzyme Research, Seoul, Korea. p 188.
 17. Williams EJ. 1948. Experimental designs balanced for the estimation of residual effects of treatments. *Aust J Chem* 2: 149-168.
 18. Bae G. 2013. Quality characteristics of Korean traditional rice wine, *Makgeolli* made with raw rice. *MS Thesis*. Dankook University, Gyeonggi, Korea. p 23-32.
 19. Park JH, Bae SM, Yook C, Kim JS. 2004. Fermentation characteristics of *Takju* prepared with old rice. *Korean J Food Sci Technol* 36: 609-615.
 20. Park CS, Lee TS. 2002. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296-302.
 21. Huh CK, Lee JW, Kim YD. 2012. Fermentation and quality characteristics of *Yakju* according to different rice varieties. *Korean J Food Preserv* 19: 925-932.
 22. So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Improvement in the quality of *Takju* by a modified *Nuruk*. *Korean J Food & Nutr* 12: 427-432.
 23. Kong MH, Jeong ST, Yeo SH, Choi JH, Choi HS, Han GJ, Jang MS, Chung IM. 2011. Determination of ginseng *Yakju* quality using different percentages and application dates of ginseng. *J East Asian Soc Dietary Life* 21: 207-214.
 24. Kim E, Chang YH, Ko JY, Jeong Y. 2013. Quality characteristics of *Makgeolli* added with kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1821-1828.
 25. Bae SM, Lee YH, Lee MK, Kang SA, Cheong C. 2008. Effects of traditional *Nuruk* ratio and yeast on the fermentation and quality of *Yakju*. *J East Asian Soc Dietary Life* 18: 41-48.
 26. Ueda S, Teramoto Y, Saigusa N, Ueki T, Ohba R, Yoshizawa K. 1991. Improvement of the quality of aromatic red rice wine. *J Ferment Bioeng* 72: 173-178.
 27. Teramoto Y, Saijusa N, Yoshida Y, Ueda S, Yoshizawa K. 1994. Production and characteristics of red rice sake. *J Inst Brew* 100: 3-6.