

Aspergillus oryzae 누룩으로 담금한 탁주 술덧의 발효 과정 중 휘발성 향기성분

이택수 · 한은혜

서울여자대학교 식품·미생물공학과

Volatile Flavor Components in Mash of *Takju* prepared by using *Aspergillus oryzae* *Nuruks*.

Taik-Soo Lee and Eun-Hey Han

Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University

Volatile flavor components in the mash of *Takjus* prepared by using *Aspergillus oryzae nuruk* were identified by using Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Twenty-four esters, 21 alcohols, 10 acids, 9 aldehydes and 4 others were found in the mash of *Takju*. Thirty six components including 13 esters and 12 alcohols were detected in the beginning of fermentation. Twenty nine components were more detected after second day of fermentation and 68 components were detected after 12 days of fermentation. Thirty five flavor components including 12 alcohols such as ethanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol and benzeneethanol, 13 esters such as ethyl acetate, ethyl caprylate, ethyl butyrate and isoamyl acetate, 4 aldehydes and 6 acids were usually detected in the fermentation process. Ethanol was predominantly found in the range of 79.86~89.54% as a major component by using relative peak area. 3-Methyl-1-butanol, ethyl caprylate and benzeneethanol were some of the major volatile components through the fermentation respectively. Peak area of 2-methyl-1-propanol, 1-hexanol, 1-dodecanol, ethyl acetate, monoethyl butanoate, acetic acid and isobutylaldehyde among the same group were higher than other components depending upon fermentation time.

Key words : *Takju*, *Aspergillus oryzae*, nuruk, volatile flavor compound

서 론

탁주는 약주, 소주, 재제주등과 더불어 우리나라의 전통주류로 농주, 가주, 막걸리로도 불리운다^(1,3). 탁주는 감미, 산미, 고미, 신미, 샛미의 5미가 고루 조화되고, 특유의 청량미와 지미가 있는 알코올 함량 2~8%의 술이다^(1,3). 탁주는 찹쌀, 멥쌀등의 곡류와 누룩으로 빻어 발효후 그대로 걸러서 음용하므로 생효모, 비티민B 및 lysine등의 필수 아미노산이 함유되어 다른 주류보다 영양학적으로 우수하다^(2,4). 현재 탁주제조에는 여러종류의 곡류가 사용되고 있으나 전통 재래의 탁주는 찹쌀이나 멥쌀에 발효제인 누룩을 섞어 용수로 담금하여 양조하여 왔다^(1,3). 탁주의 주질은 쌀, 누룩, 용수, 용기, 청결, 온도등의 6재(材)에 좌우되나^(1,2), 이중 담금에 사용하는 누룩의 종류나 품질에 의한 영향이 크다고 추측된다.

재래누룩에는 *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus tritici*, *Monascus purpureus*, *Saccharomyces*, *Torula*, 젖산균, 고초균등의 미생물이 생육하고 이중 *Aspergillus*속과 *Mucor*속 곰팡이가 많다^(1,2,5). 시판누룩에는 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Mut. kawachii*, *Rhizopus*속, *Mucor*속, *Sacchromyces cerevisiae*, 젖산균, 고초균이 생육하나 *Aspergillus oryzae*가 주 미생물이다^(1,2,5). 누룩에는 이와 같이 여러 종류의 미생물이 생육한다. 누룩중의 미생물이 생산하는 효소활성, 알코올 발효력, 유기산 생산력등은 누룩의 종류에 따라 다르게 되므로 탁주의 맛, 향기, 색 등의 품질 차이도 예상된다. 탁주의 품질 면에서 맛과 더불어 향기도 중요한 성분이나 탁주의 유리당, 유기산, 아미노산등의 맛 성분과 관련한 연구가 많다⁽⁶⁻¹²⁾. 탁주의 휘발성 향기성분에 관한 연구로 이등⁽¹³⁾의 원료를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 향기성분, 이등^(14,15)의 멥쌀, 찹쌀, 보리쌀 탁주 술덧의 발효과정중 휘발성 향기성분, 한등⁽¹⁶⁾의 누룩종류를 달리한 발효 16일 탁주술덧의 휘발성 향기성분에 관한 연구가 있으나 누룩종류에 따른 탁주술덧의 발효과정별 휘발성 향기성분에 관한 연구는 미약하다. 저자들은 탁주의 품질특성과 휘발성 향기성분을 규명할 목적으로 전보⁽¹⁷⁾에서 *Rhizopus japonicus* 누룩으로 담금한 탁주 술

Corresponding author: Taik-Soo Lee, Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University, 126 Kongleung-dong Nowongu 139-774, Korea
 Tel: 82-2-970-5635
 Fax: 82-2-970-5639
 E-mail: tslee@swu.ac.kr.

덧의 발효과정 중의 휘발성 향기성분에 대하여 보고하였다. 이어서 본보에서는 전분 당화력이나 단백질 분해력이 강하여 탁주, 청주, 감주, 장류 등의 제조에 넓이 사용되는 중요 곰팡이인 *Aspergillus oryzae* 균⁽¹⁸⁾을 사용하여 만든 누룩으로 탁주를 제조하였다. 발효과정중 탁주 술덧의 휘발성 향기성분을 GC, GC-MS로 분석동정한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

누룩제조

전보⁽¹⁷⁾에서 언급한 방법대로 누룩을 제조하여 탁주담금에 사용하였다. 즉, 통밀을 거칠게 파쇄 한 것과 파쇄 하지 않은 통 밀을 10:3의 비율로 섞고 40%의 물을 가해 혼합하였다. 800 g씩 포에 싸서 누룩 틀에 넣고 원형으로 성형하여 *Aspergillus oryzae*의 멍쌀 종국을 2 g씩 표면에 접종하여 25°C 배양실에서 14일간 배양한 후, 15일간 자연건조 시켜 누룩을 제조하였다.

탁주제조

멍쌀 2 kg을 5시간동안 물에 침지 한 후 물을 빼고 고압 증기 솥에 넣어 121°C, 40분간 증자하여 30°C로 방냉하였다. 25 L들이의 유리병(24×24×32 cm)에 물 6 L와 위의 방

법으로 제조하여 분쇄한 *Aspergillus oryzae*의 누룩 800 g을 혼합하여 미리 만들어 둔 수국에 냉각시킨 증자 멍쌀과 주모 600 mL를 가해 혼합시켜 24°C의 항온실에서 12일간 발효시켰다⁽¹⁴⁾.

휘발성 향기성분 분석

술덧 100 mL를 냉동원심분리기를 이용해 0~10°C에서 8,000 rpm으로 10분간 원심분리하고 상등액을 Whatman No. 2로 여과하여 시료로 사용하였다. 유리칼럼(2.0 cm×10.0 cm, 80 mesh)에 다공성 중합체인 polyvinyl benzene(porapak-Q, 50~80 mesh, Waters) 4.0 g을 충전하여 탈 이온수 70 mL로 습윤시킨 다음 시료를 흘려서 다공성 중합체에 흡착시킨 후 용출 용매인 methylene chloride(Sigma Chem. Co.) 80 mL를 사용하여 유기성분을 용출하였다. 추출액 내의 물층은 무수 황산 나트륨으로 제거한 후 수욕조에서 Kuderna Danish장치를 이용하여 600 µL가 될 때까지 농축하였다⁽¹⁶⁾. 이 농축액 0.2 µL를 극성 column(Fused silica capillary CBP 20)을 사용하여 GC(Shimadzu GC 17A)로 분석하였으며, 이 때 flame ionization detector와 mass spectrometric detector를 각각 검출기로 사용하였다. 휘발성 향기성분의 측정을 위한 GC와 GC-MS(Shimadzu QP 2000A/GC 14A) 작동조건은 Table 1과 같다. GC분석에 의하여 분리된 각 peak 성분의 동정은 표준물질의 머무름 시간 및 GC-MS에 의한 mass spectrum을 토대로 하여 컴퓨터에 수록된 NIST library로 검색한 자료와 표준물질과 비교하여 동정하였다. 이때 ethanol, 3-methyl-1-butanol(iso-amylalcohol), diethyl succinate, benzeneethanol, 2-methyl-1-propanol(iso-butanol), acetic acid, butanoic acid, acetaldehyde 등의 물질을 표준물질로 사용하였으며 이들 물질의 단용 또는 혼합물로 표준 크로마토그램을 구했다.

결과 및 고찰

Aspergillus oryzae 누룩을 사용한 탁주술덧의 발효과정 중 휘발성 향기성분

휘발성 향기성분 분석에 사용한 *Aspergillus oryzae* 누룩기의 탁주술덧 성분 중 에탄올은 담금일에 2.3%, 발효 4일에 7.1%, 12일에 8.7%였으며, 발효과정 중 총산은 0.22~1.04%, 총당 17.68~4.89%, pH 4.85~3.42의 범위였다⁽¹⁹⁾. 발효과정 중 상기 성분의 탁주술덧 시료를 용매추출법으로 추출 농축한 후 극성 column을 사용하여 GC 분석 결과로 얻어진 chromatogram은 Fig. 1과 같고 GC-MS에 의하여 동정한 향기성분은 Table 2와 같다.

Aspergillus oryzae 누룩으로 담금한 탁주술덧에서 ester 24종, alcohol 21종, aldehyde 9종, acid 10종, 기타 4종등 68종의 휘발성 향기성분이 동정되었다. 동정된 향기성분수는 담금일에 ester 13종, alcohol 12종등 36종이었으나, 발효 2일에 65종으로 담금일보다 29종이 증가되었다. 이후 큰 변화가 없는 편이었다. 발효12일에는 향기성분 수가 68종으로 가장 많았다.

발효 전과정을 통하여 검출된 성분은 ethyl caprylate, ethyl acetate, isoamyl acetate, ethyl butyrate등 ester류 13종, ethanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, benzeneethanol

Table 1. Operating condition of GC and GC-MS for analyses of volatile compounds

GC	Shimadzu GC 17A
Column	PEG fused silica, capillary (CBP20)
Length	25 m
I.D	0.32 mm
Film thickness	0.25 µm
Injector	220°C
Detector(FID)	220°C
Oven program	
Initial	35°C (2 min.)
Rate (1st step)	1.5°C/min.
Final	40°C (0 min.)
Rate (2nd step)	8°C/min.
Final	210°C (20 min.)
Carrier gas (N ₂)	
Flow rate	1 mL/min.
Split ratio	50 : 1
Sample size	0.2 µL
GC-MS	QP 2000A with GC 14A
Column	PEG fused silica capillary (CBP 20) 0.22 mm i.d. × 25 m, 0.25 µm
Oven program	40°C (2 min.) → 8°C/min. → 210°C (15 min.)
Injector	220°C
Ion source temperature	250°C
EI ionization voltage	70 eV
Carrier gas	He (2.0 mL/min.)
Split ratio	100 : 1
Sample size	1.0 µL
NIST library	

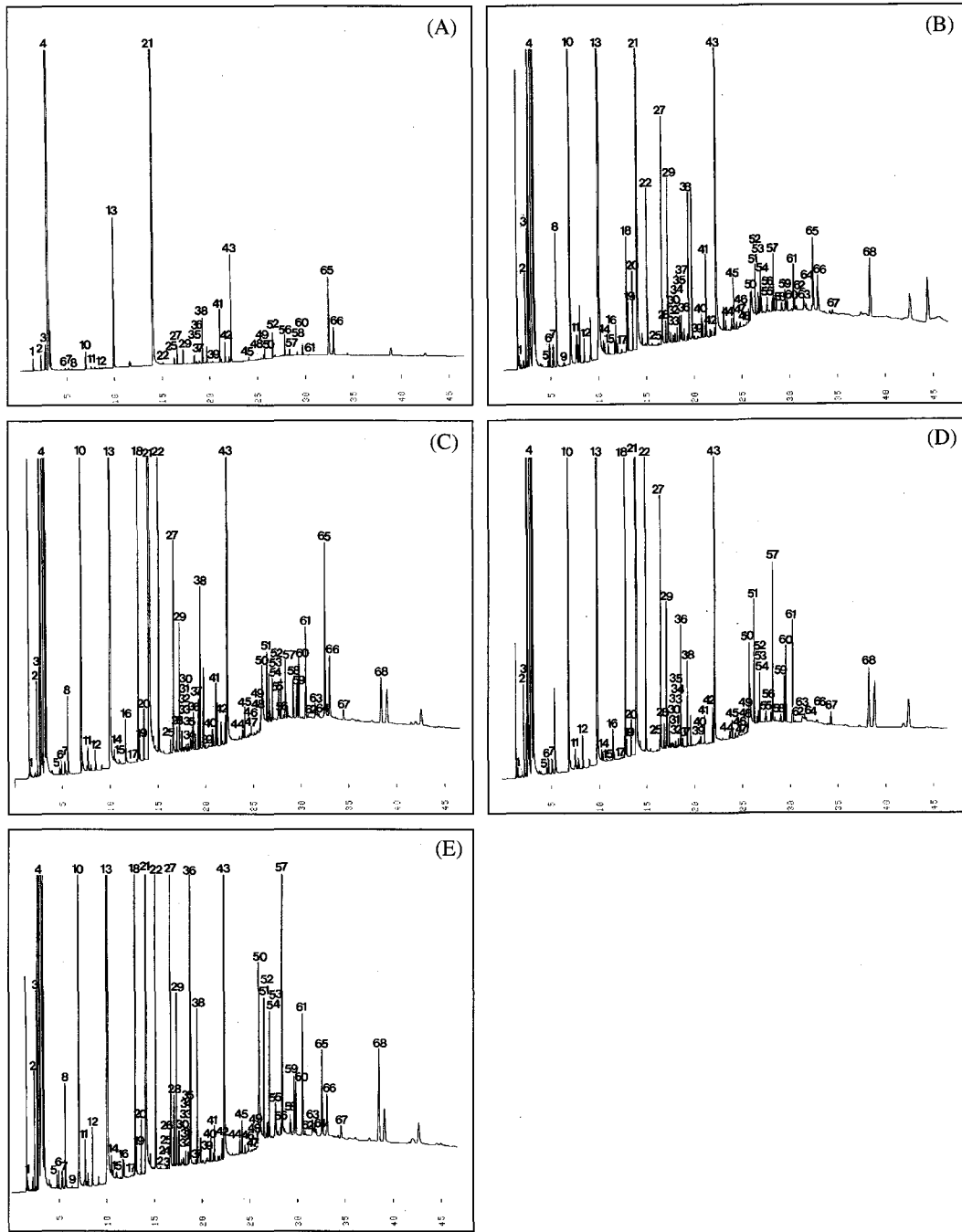


Fig. 1. GC chromatogram of volatile compounds in the mash of *Takju* using *Aspergillus oryzae* nuruk during fermentation A: 0, B: 2, C: 4, D: 8, E: 12 day

등 alcohol류 12종, acetaldehyde, isobutyl aldehyde 등 aldehyde류 4종, acetic acid, 3-methylbutanoic acid 등 acid류 6종 등 총 35종이었다. 또한 ethyl propionate, ethyl caproate, 1-pentanol, 1-hexanol, 1,2-propanediol, butanoic acid, P-ethyl-benzaldehyde 등 29 종은 발효 2일 이후 검출되었고 ethyl 2-hydroxy 4-methyl pentanoate, 1-heptanol, furfural은 발효 12일에만 검출되어 발효기간에 따라 생성된 향기성분에 차이를 보였다.

휘발성 향기성분의 면적비율(peak area %)은 ester류 3.28~12.48%, alcohol류 85.39~95.38%, aldehyde류 0.03~0.04%,

acid류 0.15~0.32%로 alcohol류의 면적비율이 월등히 높았고 다음이 ester류였다. Ethanol은 면적비율이 79.86~89.54%로서 *Aspergillus oryzae* 누룩을 사용하여 담금한 탁주 술덧중의 다 향기 성분보다 월등히 높았다. Ethanol을 제외하고 발효 전 과정을 통하여 면적비율이 높은 휘발성 향기성분은 ethyl caprylate, 3-methyl-1-butanol, benzeneethanol 등이었다. 상기의 향기성분외에 발효기간에 따라서는 alcohol류 중 2-methyl-1-propanol, 1-hexanol, 1-dodecanol이, ester류 중 ethyl acetate, 2-phenylethyl acetate, monoethyl butanoate 등이, acid류 중 pentanoic acid, ethyl benzoic acid, acetic acid가, aldehyde

Table 2. Volatile compounds in the mash of Takju using Aspergillus oryzae nuruk during fermentation

(unit: peak area %)

Peak No.	Volatile compounds	Fermentation periods (day)				
		0	2	4	8	12
1	Acetaldehyde	0.0029	0.0011	0.0019	0.0038	0.0027
2	Isobutylaldehyde	0.0156	0.0162	0.0144	0.0159	0.0153
3	Ethyl acetate	0.0227	0.0254	0.0172	0.0104	0.0256
4	Ethanol	87.2158	88.0912	79.8619	89.5432	85.7654
5	Ethyl propionate	—	0.0023	0.0027	0.0025	0.0037
6	n-Propyl acetate	0.0031	0.0077	0.0046	0.0055	0.0042
7	Ethyl butyrate	0.0055	0.0111	0.0061	0.0079	0.0074
8	1-Propanol	0.0023	0.0460	0.0254	0.0315	0.0272
9	Isoamyl formate	—	0.002	—	—	0.0009
10	2-Methyl-1-propanol	0.0322	0.2777	0.3323	0.2748	0.3324
11	Isoamyl acetate	0.0019	0.0100	0.0088	0.0085	0.0135
12	1-Butanol	0.0033	0.0073	0.0053	0.0101	0.0125
13	3-Methyl-1-butanol	0.2558	3.2080	2.7149	1.3431	2.8019
14	Ethyl caproate	—	0.0033	0.0030	0.0063	0.0040
15	1-Pentanol	—	0.0041	0.0018	0.0033	0.0019
16	n-Amyl butyrate	—	0.0041	0.0126	0.0101	0.0038
17	Ethyl heptanoate	—	0.0013	0.0016	0.0010	0.0008
18	1-Hexanol	—	0.0302	0.0797	0.0919	0.2259
19	Ethyl lactate	—	0.0121	0.0049	0.0048	0.0056
20	3-Ethoxy-propanol	—	0.0200	0.0123	0.0096	0.0106
21	Ethyl caprylate	11.3097	3.0397	12.2432	5.2080	4.3333
22	Acetic acid	0.0031	0.0374	0.1530	0.1153	0.1210
23	1-Heptanol	—	—	—	—	0.0069
24	Furfural	—	—	—	—	0.0007
25	Benzaldehyde	0.0100	0.0100	0.0036	0.0020	0.0007
26	Ethyl 2-hydroxy-4-methyl pentanoate	—	—	—	—	0.0297
27	2,3-Butanediol(D,L)	0.0234	0.0547	0.0434	0.0642	0.0719
28	3-Methyl-2-hexanol	—	0.0014	0.0074	0.0110	0.0183
29	2,3-Butanediol(meso)	0.0189	0.0392	0.0275	0.0377	0.0317
30	1,2-Propanediol	—	0.0029	0.0061	0.0104	0.0085
31	4-Methyl-2-hexanol	—	0.0010	0.0012	0.0020	0.0008
32	4-Hydroxy-3-hexanone	—	0.0016	0.0014	0.0058	0.0019
33	Butanoic acid	—	0.0030	0.0023	0.0020	0.0035
34	Butyrolactone	—	0.0038	0.0020	0.0027	0.0032
35	3-Methylbutanoic acid	0.0040	0.0069	0.0057	0.0032	0.0046
36	Diethyl succinate	0.0021	0.0027	0.0086	0.0325	0.2797
37	3-Methylthio-1-propanol	0.0021	0.0022	0.0124	0.0034	0.0014
38	Pentanoic acid	0.0254	0.0351	0.0347	0.0217	0.0266
39	Ethyl pyruvate	0.0031	0.0010	0.0013	0.0010	0.0016
40	p-Ethylbenzaldehyde	—	0.0040	0.0028	0.0022	0.0046
41	2-Phenylethyl acetate	0.0726	0.0204	0.0101	0.0076	0.0068
42	Hexanoic acid	0.0127	0.0024	0.0075	0.0108	0.0072
43	Benzeneethanol	0.1448	3.5602	2.1888	1.0884	2.1644
44	o-Ethoxybenzaldehyde	—	0.0025	0.0034	0.0038	0.0042
45	Octanoic acid	0.0066	0.0131	0.0081	0.0057	0.0065
46	3-Methoxybenzaldehyde	—	0.0024	0.0013	0.0018	0.0019
47	N-Methoxyoctane amine	—	0.0013	0.0037	0.0017	0.0008
48	3-Phenyl propanol	0.0013	0.0021	0.0029	0.0020	0.0020
49	p-Ethoxybenzaldehyde	0.0090	0.0044	0.0028	0.0034	0.0036
50	1-Dodecanol	0.0134	0.0194	0.0355	0.0726	0.0891
51	2-Ethylphenol	—	0.0198	0.0233	0.0396	0.0319
52	Ethyl isovalerate	0.0366	0.0077	0.0039	0.0020	0.0044
53	3-Phenylmethoxy-benzaldehyde	—	0.0056	0.0019	0.0038	0.0043

Table 2. Continued.

Peak No.	Volatile compounds	Fermentation periods (day)				
		0	2	4	8	12
54	2-Propenyl-benzeneacetate	—	0.0135	0.0117	0.0148	0.0261
55	1,2,3-Propanetriol	—	0.0065	0.0134	0.0060	0.0165
56	Phenyl-4-methyl-benzeneacetate	0.0347	0.0049	0.0012	0.0033	0.0032
57	Monoethyl butanoate	0.0133	0.0172	0.0200	0.0497	0.2084
58	Benzoic acid	0.0090	0.0040	0.0134	0.0045	0.0080
59	Ethyl α -hydroxy-benzeneacetate	—	0.0094	0.0127	0.0203	0.0185
60	Ethanol,2,2-oxy,bis-dipropanoate	0.0238	0.0050	0.0207	0.0303	0.0163
61	Ethyl oxalate	0.0042	0.0214	0.0361	0.0488	0.0420
62	Dipropenyl phathlate	—	0.0029	0.0014	0.0020	0.0017
63	Phenylpropanoic acid	—	0.0055	0.0060	0.0026	0.0056
64	1-Phenyl-1,2-ethanediol	—	0.0033	0.0031	0.0059	0.0049
65	Ethylbenzoic acid	0.2200	0.0374	0.0789	—	0.0323
66	Methyl phenidate	0.0854	0.0199	0.0302	0.0020	0.0209
67	1,2-Benzenedicarboxylic acid	—	0.0030	0.0063	0.0087	0.0061
68	Ethyl 3-(4-acetyloxy)-3-methyl-benzeneacetate	—	0.0464	0.0335	0.0493	0.0535
Compound non-identifiend		0.3395	1.1107	1.7167	1.6053	2.9945
Total		100	100	100	100	100

- no detection

중 isobutylaldehyde 등의 성분이 각각 동종계열간의 향기성분 중에서 면적비율이 높게 나타나기도 하였다. 상대적으로는 하나 발효기간별 비교시 2-phenylethyl acetate, ethyl isovalerate, hexanoic acid, benzaldehyde 등 9종은 담금일에, ethyl butyrate, ethyl lactate, 3-methyl-1-butanol, benzeneethanol, isobutylaldehyde 등 16종은 발효 2일에, n-amyly butyrate, ethyl caprylate, acetic acid, benzoic acid 등 9종은 발효 4일에, ethyl caproate, diethyl succinate, ethanol, 1,2-propanediol, acetaldehyde 등 13종은 발효 8일에, ethyl acetate, ethyl propionate, 2-methyl-1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol, 1,2,3-propanetriol, furfural 등 21종은 발효 12일에 면적비율이 각각 높아 발효기간에 따른 차이를 보였다.

탁주의 향기 성분은 원료, 누룩, 주모 및 담금후 술덧 중에 생육하는 미생물의 발효나 대사작용으로 생성된다.

알코올

*Aspergillus oryzae*의 누룩으로 담금한 탁주 술덧에서 ethanol은 발효 전과정을 통하여 면적비율이 월등히 높아 탁주 향미나 알코올의 주성분으로 나타났다. 이는 술덧의 증류 후 Gay-Lussac meter로 정량한 *Aspergillus oryzae* 누룩구의 ethanol 함량이 담금일에 2.3%, 발효 16일에 9.1%로⁽¹⁹⁾ 다른 알코올류 보다 함량이 월등히 높았던 결과⁽¹⁹⁾와 일치하나, 담금일에 면적비율이 높으나 발효후기에 낮게 나타난 이 등⁽¹⁷⁾의 *Rhizopus japonicus* 누룩구의 보고와는 다소 차이를 보였다. 발효 전기간을 통하여 검출된 퓨젤유 성분은 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 1-propanol의 순으로 면적비율이 높았다. 퓨젤유성분중 아미노산 발효로 생성되는 바나나향의 3-methyl-1-butanol은 감미성의 방향을 지니며 맥주의 향미와 음용(飲用)에 영향이 큰 고급 알코올 성분으로 중요시한다⁽²⁰⁾. 본 실험 탁주에서 3-methyl-1-butanol은 알코올류중 ethanol 다음으로 면적비율이 높았다. Benzeneethanol은 본 실험 탁주

에서 ethanol, 3-methyl-1-butanol 다음으로 면적비율이 높은 알코올류로 나타났다. 장미꽃향의 benzeneethanol은 장미, 오렌지 꽃과 같은 천연 정유(精油)에 발견되며⁽²¹⁾ 뽕쌀탁주⁽¹⁴⁾, 보리쌀탁주⁽¹⁵⁾, 찹쌀탁주⁽¹⁵⁾에서도 면적비율이 높은 알코올류이고 맥주에서는 방향족 알코올 성분 중 가장 중요한 향기 성분으로 보고되어 있다⁽²⁰⁾. *Aspergillus oryzae* 누룩구의 탁주 발효중 benzeneethanol의 면적비율은 이 등⁽¹⁷⁾의 *Rhizopus japonicus* 누룩구의 탁주와 유사한 경향을 보였다. 이상의 알코올류를 제외하면 발효기간에 따라 1-dodecanol, 2, 3-butanediol, 1-hexanol이 면적비율이 다소 높은 알코올류에 속하였다. 1-dodecanol은 카카오나 바나나 향의 지방산 향기성분으로 맥주⁽²⁰⁾, 청주⁽²²⁾ 및 탁주⁽¹⁷⁾에 함유되는 성분이다. 본 실험 탁주에서 발효 전과정을 통하여 검출되었고 면적비율은 이 등⁽¹⁷⁾의 *Rhizopus japonicus* 누룩구의 탁주보다 높았다. 2, 3-butanediol(DL)은 맥주, 포도주, 탁주등의 주류나 빵, 치즈 등의 발효식품에 함유되어 풍미를 부여하는 지방족의 2가 알코올성분이다⁽²¹⁾. 본 실험탁주에서는 발효 후기에 면적비율이 증가되는 경향이나 한 등⁽¹⁶⁾의 탁주중의 보고 보다는 면적비율이 낮았다. 1-Hexanol은 청취(靑臭)의 불쾌향으로 맥주⁽²⁰⁾, 청주⁽²²⁾, 탁주⁽¹⁴⁾에서도 함유되는 알코올이다. 본 실험탁주에서는 담금일에 검출되지 않았으나 발효기간의 경과에 따라 증가되어 향미 저하의 원인이 될 수 있으므로 탁주 발효기간의 적절한 조절이 필요하다고 본다. 상기의 알코올류 외에 감미성의 액체로 주류의 향기에 영향을 주는 다가 알코올의 1,2,3-propanetriol⁽²¹⁾, glycerol성분의 1,2-propanediol⁽²³⁾, 1-phenyl-1,2-ethanediol⁽²³⁾, 알코올 향으로 의약품의 1-pentanol^(20,21) 등의 알코올도 검출되어 *Aspergillus oryzae* 누룩구의 탁주 술덧에서 생성되는 알코올의 향기 특성이 다양하였다.

에스테르

*Aspergillus oryzae*의 누룩으로 담금한 탁주 술덧에서 생성

된 25종의 에스테르중 배향의 n-propyl acetate⁽²³⁾, isoamyl acetate⁽²³⁾, 사과향의 ethyl caprylate⁽²³⁾, ethyl caproate⁽²⁰⁾, 살구향의 n-amyl acetate⁽²³⁾, 딸기향의 ethyl lactate⁽²⁰⁾, 파인애플향의 ethyl butyrate⁽²³⁾, 강한 과일향의 ethyl acetate^(20,21) 등 여러 과일향의 에스테르와 2-phenylethyl acetate와 같은 벌꿀향⁽²⁰⁾의 향기성분이 생성되었다. Ethyl caprylate는 발효기간에 따라 다소의 차이는 있으나 본 실험 탁주에서 ethanol 다음으로 면적비율이 높아 탁주 향미에 영향이 큰 에스테르로 추측된다. 본 실험 탁주의 발효 중 ethyl caprylate의 면적비율은 이등⁽¹⁷⁾의 *Rhizopus japonicus* 누룩구의 탁주보고와 유사한 경향을 보였다. 탁주 담금일에 ethyl caprylate 다음으로 면적비율이 높은 2-phenylethyl acetate는 phenylethyl alcohol이 초산으로 에스테르화 되어 생성된다^(21,23). 벌꿀향을 비롯한 장미향⁽²⁰⁾, 사과향⁽²⁰⁾ 등의 여러종류의 향미를 생성함으로 Fantasy 향료나 과일에센스 제조에 많이 이용되는 좋은 향기 성분이다⁽²¹⁾. 과일 에센스, 과즙, 리큐르, 탄산음료, 과자 등의 향료로 많이 사용되는 ethyl acetate는 강한 과일향으로 발효 중 술덧중에 함유되는 저급지방산이 효모나 세균의 작용으로 에스테르화 되어 생성된다^(21,23). 본 실험에서 발효 초기와 후기에 에스테르중 면적비율이 다소 높은 편이었으나 이등⁽¹⁵⁾의 찹쌀이나 보리쌀 탁주보다 면적비율은 상당히 낮은 편이다. 탄산수나 시럽의 향료로 사용되는 isoamyl acetate는 주향기는 배향이나 바나나, 사과의 향미도 생성하는 주요 에스테르류이다^(20,21,23). 본 실험탁주에서 발효 전과정을 통하여 검출되었으나 면적비율은 낮은 편이다. 인공과일향의 제조원료로 이용되는 ethyl caproate는 무색이나 황색의 액체로 좋은 향^(21,23)이나 본 실험탁주에서 면적비율은 낮은 편이다. *Aspergillus oryzae* 누룩을 사용한 본 실험 탁주에서 여러 종류의 에스테르가 검출되었으나 이중 ethyl acetate, ethyl caprylate, ethyl caproate, isoamyl acetate 및 2-phenylethyl acetate는 맥주⁽²⁰⁾, 청주⁽²⁴⁾, 소주⁽²⁵⁾의 중요한 향기성분이며, 멥쌀탁주⁽¹⁴⁾, 찹쌀탁주⁽¹⁵⁾, 보리쌀탁주⁽¹⁵⁾에서도 함유되며, 면적비율이 대체로 높은 에스테르류이다. 상기 5종의 에스테르는 과일과 같은 향기가 강하고 주류에서 함유 농도도 비교적 높은 중요한 미량 향기성분이다⁽²⁵⁾. 주류에서 에스테르는 일반적으로 양적인 면에서 함유량은 적으나 방향(芳香)을 가지므로 미량향기 성분으로 중요시되어 향미 기여도가 알코올류보다 크다^(20,25). 탄소수 12 이상의 고급 지방산 에스테르는 향미 특성이 무취에 가까우나 탄소수 10 이하의 저급 지방산 에스테르는 주류의 방향에 주로 관여한다⁽²⁵⁾. 본 실험의 결과에서 보는 바와 같이 여러 종류의 방향성 저급 지방산 에스테르가 생성되어 탁주중에 함유되는 다른 종류의 에스테르와 조화를 이루어 탁주 특유의 향미가 형성되는 것으로 추측된다. 또한 탁주 발효중 에스테르의 종류나 면적비율이 상이하여 발효기간별 향미도 차이가 예상된다.

유기산

산류는 총면적비율이 에스테르류보다 낮으나 알데하이드류보다는 높게 나타났다. 산류중 acetic acid, ethylbenzoic acid 및 pentanoic acid의 면적비율이 높았다. acetic acid는 주류의 발효과정중 세균과 효모의 발효작용으로 생성되는 자극취의 산이다^(21,23). 본 실험 탁주에서 초산 계열의 여러 에스

테르 성분이 검출되었고 발효과정중 면적비율이 대체로 증가되는 사실로 보아 *Aspergillus oryzae* 누룩구의 탁주에서 휘발성 유기산의 주성분으로 추측된다. Ethylbenzoic acid는 담금일에 산류중 면적비율이 가장 높았으나 발효경과에 따라 저하경향을 보였다. 낙산취의 pentanoic acid는 불쾌취의 향으로⁽²¹⁾ 본 실험 탁주에서 발효 2-4일에 면적비율이 다소 높았다. 이외 버터나 치즈의 불쾌한 산패취인 butanoic acid^(21,23), 3-methylbutanoic acid^(21,23), octanoic acid^(21,23) 및 땀냄새의 불쾌취인 hexanoic acid⁽²¹⁾ 등의 유기산도 본 실험 탁주에서 검출되었으나 면적 비율이 낮아 향미 관여도는 미약한 것으로 추측된다. 탁주에 함유되는 휘발성 유기산 그 자체는 일반적으로 자극취나 불쾌한 산패취이다. 그러나 발효중 생성되는 알코올이 유기산과의 결합으로 여러 종류의 에스테르를 형성하여 탁주의 향미에 관여하므로 중요시된다. 본 실험 탁주에서 생성된 대부분의 산류는 탄소수 12 이하의 저급 지방산으로 탁주의 향미 형성에 영향이 큰 유기산으로 추측된다.

알데하이드

Aspergillus oryzae 누룩으로 담금한 탁주의 알데하이드로 과일향이나 녹색 풀 향의 acetaldehyde⁽²⁰⁾, 바나나향의 isobutylaldehyde⁽²⁰⁾, 고편도유향의 benzaldehyde⁽²³⁾, 방향의 3-methoxybenzaldehyde⁽²³⁾ 등 10종의 aldehyde가 검출되었으나 면적비율은 극히 낮았다. isobutylaldehyde는 발효 전과정을 통하여, benzaldehyde는 발효 2일까지 각각 면적비율이 높았다. 알데하이드류중 ethylalcohol의 산화로 생성되는 acetaldehyde는 맥주, 소주의 향기에 관여하는 중요한 알데하이드이고^(20,25) 멥쌀탁주, 찹쌀탁주 등에서도 함유된다^(14,15). 본 실험탁주에서 발효 전 과정을 통하여 검출되었으나 면적비율은 극히 낮았다. 알데하이드의 종류가 다양하고 주류의 향미에 미치는 영향도 크나⁽²⁰⁾ 본 실험 탁주에서는 검출된 종류가 적고 면적비율도 낮아 에스테르, 알코올 등의 향기물질보다 탁주 향미에의 영향은 적은 것으로 추측된다. 기타 성분으로 2-ethylphenol 등 4종의 성분이 검출되었으나 면적비율은 낮은 편이다.

Aspergillus oryzae 누룩으로 담금한 탁주 술덧의 휘발성 향기성분은 ethanol, 3-methyl-1-butanol, ethyl acetate, acetic acid, acetaldehyde 등 20여종의 성분이 이등^(14,15)의 멥쌀탁주, 찹쌀탁주의 성분보고와 같았으나 1-butanol, ethyl butyrate, furfural 등 40여종은 멥쌀 탁주나 찹쌀 탁주에서 검출되지 않아 향기성분의 조성은 이등^(14,15)의 보고와 많은 차이를 보였다. 이것은 탁주 제조의 원료 및 배합비율, 발효조건, 분석방법 등의 차이가 그 원인으로 추측된다. 본 실험 탁주에서 생성된 향기성분의 종류나 수는 *Rhizopus japonicus* 누룩으로 담금한 이등⁽¹⁷⁾의 탁주 발효과정중의 향기 성분 보고와 대체로 일치하였으나 발효과정별 향기의 수나 면적비율에서는 이등⁽¹⁷⁾의 보고와 차이를 보였다. 이상의 실험 결과로 볼 때, *Aspergillus oryzae* 누룩으로 담금한 탁주 술덧에서 68종의 향기성분이 동정되었으나 이중 35종이 발효전과정을 통하여 공통으로 존재하는 성분으로 나타났다. 그러나 발효 기간에 따라 면적비율이나 주 피이크(peak) 성분 등에 차이를 보여 탁주의 향미도 차이가 예상된다. 탁주의 품질을 좌우하는 여러

요인중 누룩의 영향은 크다. 양질의 누룩으로 맛, 색은 물론 향미가 우수한 탁주제조로 우리 전통주류의 경쟁력을 강화하여야한다. 따라서 *Aspergillus oryzae* 이외의 다른 유용 미생물의 누룩을 사용한 탁주 발효 과정중의 향미성분에 대한 연구가 계속 필요한 것으로 본다.

요 약

Aspergillus oryzae 균을 파종하여 만든 누룩으로 담금한 탁주 술덧의 발효과정 중 휘발성 향기성분을 GC와 GC-MS를 사용하여 분석 동정한 결과 ester 24종, alcohol 21종, acid 10종, aldehyde 9종, 기타 4종 등 68종의 향기 성분이 동정되었다. 동정된 향기성분 수는 담금일에 ester 13종, alcohol 12종을 비롯한 총 36종이었으나, 발효 2일에 ester 10종, alcohol 8종을 포함한 29종이 추가 검출되어 65종으로 증가되었다. 발효 12일에는 68종으로 향기 성분수가 최대에 달하였다. ethanol, 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, benzeneethanol 등 alcohol류 12종, ethyl acetate, ethyl caprylate, ethyl butyrate 등 ester류 13종, acetaldehyde, isobutyl aldehyde 등 aldehyde 4종, pentanoic acid, acetic acid 등 acid 6종 등 총 35종은 발효 전과정을 통하여 검출되었다. 향기 성분의 면적비율은 ethanol이 79.86~89.54%로 발효 전기간을 통하여 탁주 술덧에서 타 성분 보다 월등히 높았다. ethanol을 제외하고 발효 전과정을 통하여 면적비율이 높은 성분은 ethyl caprylate, 3-methyl-1-butanol, benzeneethanol이었다. 이외 발효기간에 따라서 2-methyl-1-propanol, 1-hexanol, 2,3-butanediol(D.L), 1-dodecanol, 2-phenylethyl acetate, ethyl acetate, monoethyl butanoate, diethyl succinate, ethylbenzoic acid, acetic acid, isobutylaldehyde 등의 성분도 동종 계열간의 향기 성분중 면적비율이 다소 높게 나타나기도 하였다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 서울여자대학교 자연과학 연구소의 연구 지원비에 의하여 이루어진 것으로 학교 당국에 감사를 드리고 아울러 본 연구를 수행하는데 시중 협력하여 준 이선민, 박창숙 대학원생에게 감사를 표하는 바입니다.

문 헌

1. Lee, S.R. Korean Fermented Foods. pp. 222-294 Ewha Women's University Press, Seoul (1986)
2. Kim, C.J., Kim, K.C., Kim, D.Y., Oh, M.J., Lee, S.K., Lee, S.O., Chung, S.T. and Chung, J.H. Fermentation Technology. pp.79-103 Sunjinmunhasa, Seoul (1990)
3. Dong-A Encyclopedia. Vol. 11 p. 368 Dong-A Publishing & Printing Co. Ltd. Seoul (1992)
4. Lee, K.H. Characteristics and new technology of Korean *Takju* and Korean cleared rice wine. Proceeding of symposium on cur-

- rent status and technical advance in brewing industry. pp. 51-73 Korean Soc. Appl. Microbiol. Bioeng. Seoul (1994)
5. Kim, C.J. Microbiological and enzymological studies on *Takju* brewing. J. Kor. Agric. Chem. Soc. 10: 69-100 (1968)
6. Lee, J. Studies on the qualities of *Takju* with various *koji* strains. M.S. thesis, Seoul Women's Univ. Seoul, Korea (1982)
7. Chung, J.H. Studies on the identification of organic acids and sugars in the fermented mash of the *Takju* made from different raw-materials. J. Korean Agric. Chem. Soc., 8: 39-43 (1967)
8. Hong, S.W., Hah, Y.C. and Min, K.H. The biochemical constituents and their changes during the fermentation of *Takju* mashes and *Takju*. Korean J. Microbiol. 8: 107-115 (1970)
9. Kim, C.J. Studies on the quantitative changes of organic acid and sugars during the fermentation of *Takju*. J. Korean Agric. Chem. Soc. 8: 33-42 (1963)
10. Lee, W.K., Kim, J.R. and Lee, M.W. Studies of the changes in the free amino acids and organic acids of *Takju* prepared with different *koji* strains. J. Korean Agric. Chem. Soc. 30: 323-327 (1987)
11. Lee, W.K. Studies on the qualities of *Takju* prepared with different *koji* strains. M.S. thesis, Seoul Women's Univ. Seoul, Korea (1986)
12. Kim, C.J. Studies on the components Korean Sake(part2). Detection of the free amino acids in *Takju* by paper partition chromatography. J. Korean Agric. Chem. Soc. 9: 59-64 (1968)
13. Lee, J.S., Lee, T.S., Park, S.O. and Noh, B.S. Flavor components in mash of *Takju* prepared by different raw materials. Kor. J. Food Sci. Technol. 28: 316-323 (1996)
14. Lee, J.S., Lee, T.S., Choi, J.Y. and Lee, D.S. Volatile flavor components in mash of nonglutinous rice *Takju* during fermentation. J. Korean Agric. Chem. Soc. 39: 249-254 (1996)
15. Lee, T.S. and Choi, J.Y. Volatile flavor components in *Takju* fermented with mashed glutinous rice and barley rice. Kor. J. Food Sci. Technol. 30: 638-643 (1998)
16. Han, E.H., Lee, T.S., Noh, B.S. and Lee, D.S. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using different nuruks. Kor. J. Food Sci. Technol. 29: 563-570 (1997)
17. Lee, T. S. and Han, E. H. Volatile flavor components in mash of *Takju* by using *Rhizopus japonicus* nuruks. Kor. J. Food Sci. Technol. 32: 691-698 (2000)
18. Kim, Z.U. Food Processing. p.5 Moonwoondang, Seoul, Korea (1985)
19. Han, E.H., Lee, T.S., Noh, B.S. and Lee, D. S. Quality characteristics in mash of *Takju* prepared by using different nuruk during fermentation. Kor. J. Food Sci. Technol. 29: 555-562 (1997)
20. Yuda, J. Volatile compounds from beer fermentation. J. Soc. Brew, Japan 71: 818-830 (1976)
21. Encyclopedia CHIMICA Vol. 11, p.847, p. 110, 811, Vol. 2, p. 481 Kyolis Publishing & Printing Co. Ltd. Tokyo, Japan (1964)
22. Hara, S. Composition of sake. J. Soc. Brew, Japan 62: 1195-1205 (1967)
23. Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 12th, p.1130, 1270, 552, 547, 1129, 737, 88, 97, 149, 326, 8, 243, 220, 752 Merck Co. Inc.. New Jersey USA. (1992)
24. Nunokawa, Y. Composition of sake. J. Soc. Brew. Japan 62: 854-860 (1967)
25. Nishiya, T. Composition of soju. J. Soc. Brew. Japan 72: 415-432 (1977)

(2001년 2월 8일 접수)