Research Article

Effects of *ipguk* (*koji*) and zeolite combination on odor component suppression and alcohol productivity of solid-fermented spirits

입국과 제올라이트 사용이 고체 발효 증류주의 이취 성분 억제와 알코올 생산성에 미치는 효과

Je Young Shin¹, Heui-Yun Kang², Chang-Soo Kang¹, Han-Seok Choi¹* 신제영¹・강희윤²・강창수¹・최하석¹*

Abstract This study aimed to investigate the effect of using a combination of *ipguk* (koji) and zeolite, as an alternative to the traditional nuruk fermented agents and rice and rice husks combination, on off-flavor suppression in solid fermented spirits. In alcohol production from solid fermented mash, the traditional brewing combination (nuruk + rice husks) produced over 1.3 times more alcohol than that obtained using the alternative combination (ipguk + zeolite). The levels of acetic, butyric, isovaleric acids, and methyl mercaptan, the components causing the offensive odor of distilled liquor (25% alcohol), were significantly reduced upon using the alternative combination as compared to that by the traditional combination. The acetic acid level decreased from 99.38 mg/L to 19.34-24.12 mg/L when using the alternative combination. Butyric acid, isovaleric acid, and methyl mercaptan levels decreased from 95.90, 5.37, and 426.78 mg/L, respectively, to undetectable levels. The furfural content decreased up to 4.3 times. In contrast, acetaldehyde levels increased from 228.04 mg/L to 529.74-578.71 mg/L when using the alternative combination. As the moisture content of the solid-fermented mash prepared with the alternative combination increased (from 40 to 55%), the alcohol production also increased proportionally, and the alcohol content of the distillate was elevated (from 37.14 to 43.74%).

Keywords solid-state fermentation, distilled liquor, zeolite, alcohol productivity, off-flavor

OPEN ACCESS

Citation: Shin JY, Kang HY, Kang CS, Choi HS. Effects of *ipguk* (*koji*) and zeolite combination on odor component suppression and alcohol productivity of solid-fermented spirits. Korean J Food Preserv, 29(3), 455-465 (2022)

Received: March 11, 2022 Revised: May 13, 2022 Accepted: May 18, 2022

*Corresponding author Han-Seok Choi

Tel: +82-63-238-9321 E-mail: coldstone@korea.kr

Copyright © 2022 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

국내에서 소비되고 있는 고량주는 특유의 과일 향을 가지고 있으며, 100% 수입에 의존하고 있다. 2021년 수입된 고량주의 양은 7,123톤, 금액으로는 156억 원 규모이다(KCS, 2022).

¹Major of Agriculture & Fisheries Processing, Korea National University of Agriculture and Fisheres, Jeonju 54874, Korea

²Department of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

¹한국농수산대학교 농수산가공전공. ²국립농업과학원 발효가공식품과

2020년 국내 증류식 소주 생산량은 1,929 kL(KOSIS, 2022)로 화요, 안동소주 등의 증류식 소주보다 고량주의 소비량이 3.7배나 많다. 이는 고량주가 수입되는 것 이외에 외국산 수수가 수입되는 것을 의미하며, 2009년 기준 국내수수 생산량의 2.7배(Shin 등, 2021)에 상당하는 수수가 고량주로 수입되고 있는 실정이다.

상황이 이렇다 보니 농촌진흥청에서는 2020년부터 고량 주 국산화를 위해 고체발효법을 이용한 증류주 생산을 시도 하고 있다(RDA, 2021). 고체 발효법은 급수 비율을 50-60%로 술덧의 수분함량을 적게 하여 강렬한 향을 생성시키 도록 하는 것을 특징으로 한다(Bea, 2001). 이때 사용되는 원료는 전통 누룩과 수수이며, 부원료로 왕겨를 첨가한다 (Xu 등, 2017). 왕겨는 수수 곡물과 곡물 사이에 위치하여 미생물과 원료와의 접촉 기회를 증가시키며, 미생물의 번식 을 가속화하여 발효효율을 증가시킨다(Wood 등, 2016). 그러나 전통 누룩과 왕겨에는 다양한 미생물이 분포하고 있 으며, lactic acid와 butyric acid와 같은 이취 성분을 만들 어낸다(Zou 등, 2018). 국내 전통 누룩과 왕겨를 사용한 고체 발효증류주에서도 이러한 이취 성분(Seo 등, 2021; Shin 등, 2021)이 확인되었다. 이렇게 발생된 고체 술덧의 이취는 감압증류를 통해 일부 제거되지만, 여전히 남아 있 어 관능적 특성이 좋지 못하다(Shin 등, 2021).

따라서 본 연구에서는 누룩과 왕격의 대체제로 입국과 제올라이트(zeolite)를 사용하여 고체 발효 증류주의 이취를 저감화하고자 하였다. 입국은 한 종의 곰팡이를 비교적 순수하게 배양시켜 놓은 것으로서 세균 등의 다른 미생물의 작용을 제외시킬 수 있다. 제올라이트는 식초의 고정화 발효법에 사용되는 소재로 다공성 물질이며, 내부에 물을 흡수할 수 있는 특징(Cheong, 2019)이 왕겨와 유사할 것 같은 이유로 선정하였다.

또한, 고체 발효는 술덧의 알코올 함량이 4-5%로, 기존액체 발효에 비해 낮은 알코올 생산성을 가지고 있는 문제점이 있다(Seo 등, 2021; Shin 등, 2021). 이는 수분함량이 적어 효모와 원료가 접촉할 수 있는 물리적 환경요인이큰 것으로 판단하고, 가수량에 따른 알코올 생산성도 같이검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 사용 균주

본 실험에 사용한 고체 발효 술덧의 원료인 수수는 충남지 역에서 재배된 2020년산 청풍 수수를 사용하였다. 전통 누룩 은 산성누룩(Sanseong Nuruk, Busan, Korea)을 사용하였 으며, 왕겨는 정미소(Leeseo Rice Mill, Waniu, Korea)에 서 구입하였다. 입국 중 백국(Aspergillus luchuensis)은 조은곡식회사(Gyunggi, Korea)의 제품을 구매하여 사용 하였고, 황국(A. orvzae)은 제조하여 사용하였다. 황국을 제 조할 때 종국은 충무발효(Ulsan, Korea)의 제품을 사용하였 고, 고두밥에 종국을 0.1%(w/w) 접종하고, 제국기(Mini-15, Yaegaki Food Co., Hyogo, Japan)에서 품온을 38℃로 유지시키면서 43시간 동안 배양한 후 50℃에서 6시간 동 안 건조하였다. 제올라이트는 1.40-2.36 mm 크기로 된 것을 덕산종합과학(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 효모 는 Saccharomyces cerevisiae N9(Anh 등, 2014; Choi 등, 2004)를 yeast extract peptone dextrose(YPD) 배 지(BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)에 접종하고, 3 0℃에서 24시간 배양하여 사용하였다.

2.2. 고체 술덧 제조

수수, 전통 누룩 및 백국과 황국을 각각 롤밀 (Kyungchang Co., Seoul, Korea)을 사용하여 1.5 mm 이하로 거칠게 분쇄하였다. 분쇄된 수수에 40%의 물을 첨 가하고 30분간 방치한 후, 수수의 40%(w/w)되는 왕겨를 혼 합한 다음 100℃ 스팀(14 kw, Pyeong Hwa Machinary Co., Daegu, Korea)으로 40분간 증자하였다. 증자된 원 료를 35℃ 이하로 냉각한 다음, 수수와 왕겨 혼합물 무게에 대하여 누룩 10%, 효모(S. cerevisiae N9) 1%, 물 50%를 추가로 첨가한 후 잘 혼합하였다. 혼합물을 22 L 플라스틱 상자(Komax Industrial Co., Ltd., Seoul, Korea)에 담 고 수분이 증발되지 않도록 상단에 비닐을 덮은 다음 뚜껑 을 닫았다. 발효는 27℃ 발효실에서 14일간 고체 발효시켜 증류주용 술덧으로 사용하였다. 발효가 완료된 고체 술덧의 수분함량은 40.99%(Shin 등, 2021)이었다. 입국과 제올라 이트를 사용한 처리구는 왕겨 대신 제올라이트를 첨가하였 고 전통 누룩 대신 입국을 사용하여 제조하였다.

2.3. 이화학 성분 분석

고체 술덧의 수분함량은 적외선수분측정기(JP/FD-720, Kett Engineering Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 고체 술덧의 이화학적 특성 분석을 위해 술덧 10~g에 증류수를 넣어 1,000~mL를 정용하고 10분간 교반하였다. 이후 원심분리기(CR22N, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 $12,000~\times g$ 에서 20분간 원심 분리한 상등액을 국세청 주류분석규정(NTS Liquor Licence Aid Center, 2010)을 준용하여 분석하였다.

알코올 함량은 알코올 측정계(DMA 101, Anton Paar Co., Graz, Austria)로 측정하였다. pH는 상등액 100 mL를 취하여 pH meter(Orion Star A214, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다.

총산도는 상등액 10 mL를 취하여 0.1% phenolphthalein (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 지시약을 2-3방울 떨어뜨린 다음, 0.1 N NaOH(Samchun Co., Seoul, Korea)로 중화(pH 8.3)가 될 때까지 적정하였다. 적정 소비량에 0.0064를 곱하여 총산을 citric acid 함량으로 환산하여 표시하거나 mL 수로 나타내었다(Lee, 2008).

총아미노산은 상등액 10 mL에 0.1% phenolphthalein 시약을 2-3방울 넣고, 0.1 N NaOH 용액으로 시료가 담홍색이 될 때까지 중화시킨 후 중성 formalin 용액 5 mL를 첨가하였다. 여기에 0.1 N NaOH 용액으로 시료가 담홍색이 될 때까지 적정한 후 그 수치를 glycine 함량으로 표시하였다(Joung 등, 2004).

환원당은 상등액 10 mL를 Somogyi변법(Hatanaka와 Kobara, 1980)에 준하여 정량한 후 glucose 함량으로 표시하였다.

2.4. 유기산 분석

고체 술덧 10 g에 증류수를 넣어 1,000 mL로 정용하고 10분간 교반하였다. 그 후 원심분리($12,000 \times g$, 20 min)하여 $0.45~\mu$ m syringe filter(Nylon, Sartorius AG Co., Goettinge, Germany)로 여과한 다음 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 분석하였다. 분석 방법은 post column 방법을 사용하였다. 분석용 column은 TSKgel ODS-100V($5~\mu$ m, 4.6~mm ID×25.0~cm, Tosoh Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 이동상은 8~mM perchloric

acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하였으며, 유속은 1.0 mL/min, 칼럼 오븐의 온도는 40℃로 하였다. 칼럼에서 분리된 유기산은 반응용액 0.2 mM bromothymol blue(Sigma Chemical Co.), 15 mM Na₂HPO₄(Sigma Chemical Co.), 7 mM NaOH(Sigma Chemical Co.)와 반응한 후 UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 반응용액의 유속은 1.0 mL/min, 반응온도는 25℃로 하였다.

2.5. 고체 술덧 증류주 제조

술덧 700 g을 상압 증류법으로 증류하였다. 증류기의 구 조는 중국 고량주 증류기를 참조하여(Ye 등, 2021) 고체 술 덧 하단에 수증기가 공급되도록 제작하여 사용하였다. 증류 기는 스팀 발생부, 증류부, 냉각부의 3개 부분으로 구성하였 다. 스팀 발생부는 3 L 라운드 플라스크에 1.5 L 증류수를 넣 은 다음 히팅맨틀(MS-DMB, Mtops Co., Yangju, Korea) 로 가열하여 발생된 스팀이 증류부로 이동되게 하였다. 증 류부는 바닥에 밸브가 부착된 3 L 반응조를 사용하였고, 하 단 3 cm 부근에 원형 타공판이 거치되도록 제작하였다. 타 공판은 1 mm 직경의 구멍이 사방 2 mm 간격으로 있는 원형 플라스틱 타공판을 제작하여 사용하였다. 반응조 내 타공판 위에 고체 술덧을 넣고 상단은 수증기가 새지 않도 록 유리 덮개로 막은 다음 밸브를 부착하여 수증기가 냉각 부로 이동되게 하였다. 냉각부는 코일형 진공 냉각관과 하 단에 밸브가 부착된 500 mL 메스실린더를 수직으로 연결 시켜 사용하였다. 냉각수조(LCC-R160, LabTech Co., Namvangiu, Korea)를 이용하여 4℃ 물이 냉각코일에 흐 르도록 하여 증류액을 회수하였다. 증류액의 알코올 함량을 수시로 측정하면서 떨어지는 증류액의 알코올 농도가 10% 가 될 때 증류를 종료하였다. 모아진 증류액에 물을 첨가하 여 알코올 함량을 25%로 조절한 것을 증류주 시료로 사용 하였다.

2.6. 휘발성 성분 분석

휘발성 향기성분은 gas chromatography(GC2010, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 분석하였다. 분석용 column은 fused silica capillary 30 m×0.32 mm ID, 0.25 μm thickness(Nukol, Supelco Inc.,

Bellefonte, PA, USA)하였다. Column oven의 온도는 50℃(5분), 5℃/분 승온, 100℃(5분), 10℃/분 승온, 22 0℃(10분)로 프로그램하였다. 운반가스(질소) 유속은 24.2 cm/초(linear velocity), split ratio는 50:1로 설정하였다. 주입기 온도는 250℃, FID 검출기를 사용하였으며, 온도는 280℃로 하였다. 증류주는 0.22 μ m syringe filter (Nylon, Sartorius AG Co.)로 여과하여 사용하였다. 정량 분석은 외부표준물질로 검량선을 작성한 후 산출하였다.

2.7. 휘발산 및 furfural 분석

휘발산은 알코올 농도 측정에 사용한 증류액 10 mL를 취한 후, phenolphthalein용액을 2-3방울 가하여 0.01 N NaOH 용액으로 담녹색이 나타날 때까지 중화 적정하였고, 소비된 NaOH의 양을 mL 수로 표시하였다(TSINTSA, 1997). Furfural은 흡광도로 산출하였다(Lee 등, 2015). 시료를 2.0 mL 큐벳(Kartell, Milan, Italy)에 넣은 다음 분광광도계(UV spectrophotometer, JP/UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 275 nm에서 측정하였다.

2.8. 통계처리

통계는 SPSS 프로그램(Version 12.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA) 후 유의차가 있는 항목에 대하여는 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 시료 간의 유의차를 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 발효제의 일반특성

본 연구에 사용한 3종류 발효제의 일반적인 특성을 Table 1에 나타내었다. 입국의 수분함량은 황국, 백국이 각각 15.31%와 18.46%로 나타났다. pH는 황국 5.23, 백

국 3.46이었고, 총산 함량은 각각 0.24와 1.68%로 백국이 7배 이상 높았다. 이는 백국이 황국에 비하여 입국 자체의 총산 함량이 높은 특성(Nakamura 등, 1990)으로 이해된다. 효모의 질소원인 총아미노산 함량은 각각 0.04와 0.06%로 큰 차이가 없었다. 전통 누룩인 산성누룩의 수분함량은 8.86%이었고, pH는 6.91, 총산 0.39%, 총아미노산 함량 0.06%로, 황국에 비해 수분함량이 1.7배 낮고, pH는 1.3배 높은 특징이 있었다.

3.2. 고체 술덧의 일반특성

발효가 종료된 고체 술덧의 일반성분을 Table 2에 나타 내었다. 알코올 함량을 살펴보면 황국+제올라이트 4.34%, 백국+제올라이트 4.24%, 전통 누룩+왕겨 5.62%로 전통 누룩과 왕겨 조합의 알코올 생산성이 다른 처리구보다 1.3 배 이상 높았다. 한편, 알코올 생산성에 직접적 영향을 미치는 환원당 함량은 각각 3.28, 3.23, 2.12%로 전통 누룩+왕겨가 다른 처리구에 비해 1.5배 정도 낮았다.

pH는 각각 5.09, 4.46, 4.22로 알코올 생산성에 영향을 미칠 정도로 낮지는 않았다. 총아미노산 함량 역시 각각 0.87, 0.53, 0.52%로 효모 생육에 필요한 200 mg/L(Sung과 Lee, 2017) 이상을 함유하고 있었다. 이 결과로 볼 때전통 누룩+왕겨를 첨가한 고체 술덧에서 환원당을 많이 사용해 술덧의 환원당 함량은 낮고 알코올 함량은 증가한 것으로이해된다. Shin 등(2021)의 연구에서 설명한 것처럼 술덧의수분함량이 40% 부근인 물리적 환경에서 효모의 이동은 제한적이다. 왕겨는 제올라이트에 비해 껍질이 얇고 부피가 작으며 탄력성이 있어 수수 가루 사이에 밀착될 수 있으나, 제올라이트는 수수 가루 사이에 공극이 발생시킨다. 이러한 이유로 전통 누룩+왕겨가 입국+제올라이트 고체 술덧에 비하여 효모의 환원당 이용환경이 유리했던 것으로 판단된다.

Table 1. Typical characteristics of fermented agents

Starter	Moisture (%)	pH	Acidity % (citric acid d.b.)	Amino acidity (% glycine d.b.)
A. oryzae (yellow koji)	15.31±0.18 ^b	5.23±0.02 ^b	0.24±0.03 ^b	0.04±0.00 ^b
A. luchuensis (white koji)	18.46±0.33°	3.46±0.02°	1.68±0.06ª	0.06±0.00°
Traditional (sanseong)	8.86±0.15°	6.91±0.15 ^a	0.39±0.05 ^b	0.06±0.01 ^a

All values are mean±SD (n=3).

^{a-c}Values in the column with different lowercase superscripts are significantly different at p(0.05.

Table 2. Characteristics of solid-state fermented mashes made from different combinations of fermented agents and auxiliary material

Fermented agents + auxiliary material	A. oryzae (yellow koji) + zeolite	A. luchuensis (white koji) + zeolite	Traditional <i>nuruk</i> (<i>sanseong</i>) ¹⁾ + rice husks
Alcohol (%)	4.34±0.02 ^b	4.24±0.02 ^b	5.62±0.03°
рН	5.09±0.00°	4.46±0.00 ^b	4.22±0.00°
Acidity (% citric acid)	0.34±0.04°	0.73±0.00°	0.40±0.02 ^b
Amino acidity (% glycine)	0.87±0.06°	0.53±0.06 ^b	0.32±0.00°
Reducing sugar (%)	3.28±0.01 ^a	3.23±0.01 ^a	2.12±0.00 ^b

All values are mean±SD (n=3).

3.3. 고체 술덧의 유기산 함량

각 고체 술덧의 유기산 함량은 Table 3에 나타내었다. 조합한 3종류의 유기산 총량은 황국+제올라이트 59.05, 백국 +제올라이트 137.59, 전통 누룩+왕겨 357.62 mg/100 g으로, 전통 누룩과 왕겨를 혼합한 고체 술덧이 입국+제올라이트에 비하여 최대 6.1배 이상 높게 나타났다. 개별 유기산으로는 formic, lactic, acetic, succinic acid의 함량이 입국+제올라이트 고체 술덧에 비하여 높게 나타났다. 술 덫의 유기산은 효모에 의해서 약 73%가 생성되는데(Brewing Society of Japan, 1999), citric, succinic, malic acid는 tricarboxylic acid cycle(TCA) 대사에서 만들어지며 acetic acid는 알코올과 알데히드 산화에 의해서 생성된다

(Yoshizawa 등, 2004). 황국을 사용한 액체 술덧의 유기산 함량은 formic 0-2.95, lactic 28.10-57.83, acetic 3.48-19.46, citric 0-37.66, succinic acid 23.97-87.86 mg/100 mL의 분포를 보인다(Brewing Society of Japan, 1999). 백국을 사용한 액체 술덧은 백국 자체에 citric acid 함량이 높기 때문에 술덧의 citric acid 함량도 56.10 mg/100 mL로 상승되나, 그 외의 유기산 함량은 크게 차이를 보이지 않는다(Nakamura 등, 1990).

입국에 제올라이트를 혼합한 고체 술덧의 유기산 함량은 formic 0-5.40, lactic 0, acetic 30.06-33.85, citric 0-71.11, succinic 14.08-32.63 mg/100 g으로, 정상 발효한 액상 술덧에 비해 낮거나 유사한 함량을 보인다. 반면,

Table 3. Contents of organic acids in solid-state fermented mashes made from different combinations of fermented agents and auxiliary material

Organic acids	Concentration (mg/100 g)				
	A. oryzae (yellow koji) + zeolite	A. luchuensis (white koji) + zeolite	Traditional <i>nuruk</i> (<i>sanseong</i>) ¹⁾ + rice husks		
Formic acid	5.40±0.25°	ND	36.61±0.93ª		
Lactic acid	ND	ND	156.55±1.13 ^a		
Acetic acid	30.06±0.50°	33.85±0.38 ^b	66.74±1.03 ^a		
Citric acid	ND	71.11±0.44 ^b	ND		
Succinic acid	14.08±0.23 ^b	32.63±0.54 ^b	97.72±0.86 ^a		
Malic acid	ND	ND	ND		
Propionic acid	9.51±0.24°	ND	ND		

ND, not detected.

All values are mean±SD (n=3).

a-oValues in the column with different lowercase superscripts are significantly different at p(0.05.

¹⁾Traditional *nuruk* + rice husks cited in Shin et al. (2021).

^{a-c}Values in the column with different lowercase superscripts are significantly different at p(0.05.

¹⁾Traditional *nuruk* + rice husks cited in Shin et al. (2021) except malic and propionic acid.

전통 누룩에 왕겨를 혼합한 고체 술덧의 경우, formic 36.61. lactic 156.55, acetic acid 66.74 mg/100 g♀ 로, 일반적인 액체 술덧에 비해 각각 14.1, 2.7, 3.4배 높은 함량으로 확인되었다. Seo 등(2021)의 연구에서도 마찬가 지로 전통 누룩과 왕겨를 혼합한 고체 술덧의 유기산 함량 조사에서 lactic과 acetic acid의 함량이 다른 산에 비하여 높게 나타났다. 이러한 경향은 주로 산패된 술에서 나타나는 것이며, 산패된 술에서는 formic, lactic, acetic acid의 함 량이 높으며(Lee 등, 2015), Lactobacillus acidophillus, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus acidilactici 등의 젖산균이 이러한 유기산 류를 생성하는 것으로 확인되었다(Özcelik 등, 2016). 특 히, formic acid는 자극취가 있고(Lee 등, 2015) 효모 내 활성산소종의 축적을 증가시켜 효모의 사멸을 유도(Du 등, 2008)하기 때문에 고농도로 존재할 때는 정상적인 발효를 방해할 수 있다.

3.4. 휘발성 향기성분

고체 술덧으로 제조한 증류주의 알코올 함량을 25%로 조 절하여 휘발성 성분을 분석하였다(Table 4). 휘발성 성분의 총량은 입국+제올라이트 증류주의 경우, 황국 1,099.76, 백국 1,034.08 mg/L로 입국 종류에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 반면, 전통 누룩+왕겨로 제조한 증류주는 2,145.52 mg/L로 2배 정도 높은 함량으로 나타났다. 전통 누룩+왕 겨 증류주의 개별 향기성분을 살펴보면 이취로 작용하는 acetic acid와 butyric acid 함량이 각각 99.38과 95.90 mg/L의 농도로 증류주에 유입되었다. 또한, 자극적이며 간 장 냄새를 가진 isovaleric acid(Kang 등, 2018)의 함량도 5.37 mg/L 함유되어 있었다. 중국 고량주에서 isovaleric acid는 누룩에 존재하는 Enterobacteriaceae류에 의해 생성되는 것으로 확인되었으며(Wang 등, 2021), 분별 역 치값이 0.7 mg/L(Salo, 1970)로 매우 낮아 강한 향을 지 니고 있다. Seo 등(2021)의 결과에서도 전통 누룩+왕겨로 발효시킨 고체 술덧 증류주에 함유된 acetic acid 함량이 394.7-4,671.8 mg/L이었고, butyric acid는 0-24.5 mg/L, isovaleric acid는 37.6-60.7 mg/L로 이취 성분 이 매우 높은 농도로 함유되어 있었다. 반면, 입국+제올라 이트 고체 술덧 증류주에서는 acetic acid의 함량만 19.34-24.12 mg/L로 함유되어 있을 뿐, butyric acid와 isovaleric acid는 검출되지 않았다.

증류주에 있어 꽃 향 및 과일 향을 주기 때문에 긍정적인 영향을 미치는 성분이 지방산 에스테르 화합물이다(Lee 등, 2015). Ethyl acetate는 꼬냑 향 및 과일 향(Lee 등, 2015) 을 가지고 있으며, 입국+제올라이트 증류주에서는 41.99-145.98 mg/L, 전통 누룩+왕겨 증류주에서는 362.27 mg/L로 최대 8.6배 높은 함량을 보였다. Ethyl butyrate 는 파인애플 향(Lee 등, 2015)을 가지고 있으며, 각각 152.76-162.65와 124.93 mg/L로 유사하였다. 고량주 지 표물질로 달콤한 향(Shiraishi 등, 2016)과 사과 향(Lee 등, 2015)을 가지는 대표적인 휘발성 향기성분인 ethyl hexanoate(Fan 등, 2019)의 함량은, 입국+제올라이트 증 류주에서는 검출되지 않았고, 전통 누룩+왕겨 증류주에는 6.81 mg/L로 함유되어 있었다. Table 3의 유기산 함량 결 과와 비교해 보면 비교적 높은 농도로 존재하였던 유기산이 효모의 대사과정에서 에스테르 형태로 전환되었던 것(Kong 등, 2021)으로 보인다.

증류주에서 또 하나 주목해야 할 성분이 장미 향 등 꽃 향 을 가지는 monoterpene 유도체(Vankar, 2004)이다. α-Terpineol, linalool, nerol, geraniol, β -damascenone 성분을 조사한 결과, 황국+제올라이트 증류주에서는 검출되 지 않았고, 백국+제올라이트에서 geraniol만 13.03 mg/L 함유되어 있었다. 반면, 전통 누룩+왕겨 증류주에서는 α terpineol과 geraniol이 각각 10.85 mg/L와 99.05 mg/L 의 매우 높은 농도로 함유되어 있었다. 테르펜류는 수수에 존재하고 있는 성분으로(Chen 등, 2021), 중국의 고량주에 서는 82종의 terpene류가 검출되었으나(Wang 등, 2020), 그 함량은 조사되지 않아 절대적 비교는 어렵다. 식물체에 서 terpene류는 주로 배당체로 존재하며, 열이나 효소(β glucosidase)에 의해 유리되는데(Lee 등, 2015), pH가 낮 은 조건에서 함량이 높아진다(Knoll 등, 2011). Table 2에 서 전통 누룩+왕겨 고체 술덧의 pH가 가장 낮았으며, 전통 누룩의 β-glucosidase의 활성이 입국에 비해 3.2-5.9배 높은(Yoshizaki 등, 2015) 특성이 terpene류의 함량을 증 가시킨 것으로 판단된다.

황화합물인 methyl mercaptan은 전통 누룩+왕겨 증류 주에서만 검출되었으며, 426.78 mg/L로 상당히 많은 양이

Table 4. Contents of volatile compounds in the distilled spirits (25% alcohol) of solid fermented mashes made from different combinations of fermented agents and auxiliary material

Compounds	Concentration (mg/L)					
	A. oryzae (yellow koji) + zeolite	A. luchuensis (white koji) + zeolite	Traditional <i>nuruk</i> (sanseong) + rice husks			
cetaldehyde 578.71±0.65 ^a		529.74±2.91 ^a	228.04±1.04 ^b			
Ethyl acetate	41.99±1.73°	145.98±1.63 ^b	326.27±4.96 ^a			
Ethyl butyrate	152.76±0.40°	162.65±0.95 ^a	124.93±2.63 ^b			
Ethyl hexanoate	ND	ND	6.81±0.42 ^a			
Ethyl lactate	ND	ND	136.75±3.35 ^a			
Ethyl palmitate	ND	ND	ND			
Ethyl nonanoate	ND	ND	ND			
Acetic acid	19.34±0.40°	24.12±0.40 ^b	99.38±3.10°			
Propionic acid	ND	ND	ND			
Butyric acid	ND	ND	95.90±3.10°			
Isovaleric acid	ND	ND	5.37±0.19 ^a			
Valeric acid	ND	ND	ND			
Hexanoic acid	ND	43.20±0.13 ^a	44.26±3.49°			
lpha-Terpineol	ND	ND	10.85±0.03°			
Linalool	ND	ND	ND			
Nerol	ND	ND	ND			
Geraniol	ND	13.03±0.46 ^b	99.05±2.28°			
β-Damascenone	ND	ND	ND			
1-Butanol	ND	ND	ND			
1-Propanol	220.03±0.54°	ND	164.52±4.62 ^b			
3-Methyl-1-butanol	ND	ND	ND			
Methyl mercaptan	ND	ND	426.78±1.36 ^a			
Furfural	86.93±1.11°	115.39±1.49 ^b	376.61±5.40°			
Total	1,099.76±4.83 ^b	1,034.11±7.97 ^b	2,145.52±32.87°			

ND, not detected.

All values are mean±SD (n=3).

함유되어 있었다. Methyl mercaptan은 매우 자극적이며 부패한 양배추 향을 가지고 있고, 분별 역치값도 $4.0~\mu g/L$ 로 매우 낮아(Lee 등, 2015) 주질 저하의 주요 성분이다. 중국 고량주에는 108종의 황화합물이 확인되었고, Bacillus subtilis 등의 미생물에 의한 생성과 증류 시 cysteine의 분해에 의한 생성 등이 확인되었으나(Sun 등, 2021), 아직까지 명확하게 규명되지 않았다.

알데히드류 중 acetaldehyde 함량은 전통 누룩+왕겨 증류주가 228.04 mg/L로, 입국+제올라이트 증류주 529.74-578.71 mg/L보다 최대 2.5배 낮게 나타났다. Acetaldehyde 는 90%의 사람이 인지할 수 있는 분별 역치값이 83 mg/L (Oishi 등, 2013)로 높아 증류주의 향에는 크게 영향을 미치지 못한다. 다만, 안전성의 문제로 국내에서는 소주, 위스키, 브랜디, 일반 증류주에 700 mg/L 이하로 제한하고 있

 $^{^{}a-c}$ Values in the column with different lowercase superscripts are significantly different at p $\langle 0.05.$

다(So, 1999). 국산 증류주의 acetaldehyde 평균 함량은 13.37 mg/L인 것을 갂안하면(Park 등, 2006), 고체 발효 로 제조한 증류주의 함량이 매우 높기 때문에 이에 대한 적 절한 관리가 요구된다. Furfural은 입국+제올라이트 증류 주에서 86.93-115.39 mg/L이지만, 전통 누룩+왕겨 증류 주는 376.61 mg/L로 최대 4.3배 높게 나타났다. 증류 시 amino carbonyl 반응으로 생성되며, 가열취의 지표가 되 는 성분이다(Lee 등, 2015). Furfural의 생성은 술덧에 함 유된 유기산의 종류, pH의 영향과 더불어 잔당의 종류와 양에 의해서 그 생성이 다르다(Lee 등, 2015). 전통 누룩+ 왕겨 증류주에 있어 furfural 함량이 높은 이유는 첫째, 고 체 술덧의 환원당 함량과 아미노산 함량은 낮으나(Table 2), 유기산 함량이 높고(Table 3), pH가 낮은(Table 2) 요 인이 있다. 둘째, 증류 시 물리적 환경에 있어 제올라이트는 수수 가루 사이에 위치하여 단단하게 공극을 유지하여 주지 만, 왕겨는 수수 가루와 밀착해 있으므로 수증기의 이동이 어렵기 때문에, 수증기의 체류 시간이 길어지면서 많은 열 을 받은 요인으로 생각된다.

전체적으로 증류주를 평가하면 전통 누룩+왕겨 증류주는 에스테르 성분은 많지만, 강한 이취를 지닌 isovaleric acid, methyl mercaptan, furfural 향이 지배적이었다. 입국+제올라이트 증류주는 이취가 없이 쌀 증류식 소주의 향이 농축되어 강한 냄새를 가진 특징이었다.

3.5. 고체 술덧의 수분함량에 따른 알코올 생산성

Table 4에서 백국+제올라이트 증류주에서 monoterpen alcohol류가 황국+제올라이트 증류주에 비해 다소 높게 나타남에 따라, 백국+제올라이트 고체 술덧의 수분함량에

따른 알코올 생산성을 검토하였다(Table 5). 수분함량이 40%에서 55%로 증가함에 따라 고체 술덧의 알코올 함량은 5.48%에서 9.53%로 1.7배 상승하였다. 수분함량에 대한 알코올 농도를 일차식으로 나타내면 수분 1% 증가에 따라 알코올 농도는 1.26% 상승하는 것으로 나타났으며, 이의 상관계수는 0.89로 비교적 높았다. 이에 따라 고체 술덧의 수분함량이 알코올 생산성에 크게 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 이는 고체 술덧의 물리적 환경에 있어 수분함량이 낮으면 효모의 이동이 자유롭지 못하기 때문에, 술덧 전체적으로 효모가 퍼지지 못하기 때문으로 이해된다.

고체 술덧의 알코올 함량 증가에 따라 증류액의 알코올 함량도 37.14%에서 43.74%로 농도 의존적으로 증가하였다. 고체 술덧의 알코올 함량에 대한 증류액의 알코올 농도를 일차식으로 나타내면 고체 술덧 알코올 농도 1% 증가에따라 증류액의 알코올 농도는 1.57% 증가하였으며, 이의상관계수는 0.55로 나타났다. 상관계수 값이 낮아 고체 술 덧의 알코올 농도에 정비례하여 증류액의 알코올 함량이 증가한다고 단정하기 어렵지만, 고체 술덧의 알코올 농도가5.48%에서 9.53%로 증가함에 따라 증류액의 알코올 함량은 1.18배 증가하였다. 따라서 고체 술덧의 수분함량에 대한 증류액의 알코올 함량을 살펴보면 수분함량이 1% 증가함에 따라 증류액의 알코올 함량은 2.58%씩 증가하였으며이의 상관계수는 0.82로 나타났다.

이에 따라 furfural에 해당하는 흡광도 값도 2.08에서 0.48로 4.3배 낮아졌으며, 휘발산도 2.80에서 1.00으로 2.8배 낮아졌다. 다만, 고체 발효의 목적이 향을 강하게 하기 위한 것이므로, 수분함량을 늘린다면 기존 쌀 증류식 소주와의 차별성이 없어질 수 있다. 따라서 적정 수분함량을

Table 5. The effect of moisture content on alcohol production of solid fermented mashes and distillates made from *A. luchuensis* (white *koji*) + zeolite combination

Initial moisture (%)	Mash			Distillate	Distillate		
	pН	Acidity (mL)	Alcohol (%)	Alcohol (%)	OD (275 nm)	Volatile acidity (mL)	
40	4.56±0.02°	2.60±0.28 ^b	5.48±0.06 ^d	37.14±0.04°	2.08±0.00 ^a	2.80±0.14°	
45	4.42±0.03°	2.40±0.57°	8.06±0.03°	36.59±0.05 ^d	1.43±0.36 ^b	2.45±0.07 ^b	
50	4.52±0.01 ^b	2.00±0.00 ^d	8.50±0.00 ^b	42.56±0.04 ^b	0.85±0.00°	1.15±0.07°	
55	4.51±0.02 ^b	2.80±0.00°	9.53±0.01°	43.74±0.02°	0.48±0.00 ^d	1.00±0.00 ^d	

All values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values in the column with different lowercase superscripts are significantly different at p(0.05.

도출하는 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

4. 요약

본 연구는 전통 누룩과 왕겨를 사용하는 전통적인 방법 대신 입국과 제올라이트를 사용하여 고체 발효 증류주의 이 취 생성을 억제하고자 하였다. 고체 술덧의 알코올 생산에 있어서는 전통 누룩+왕겨가 입국+제올라이트보다 1.3배 이상 높았다. 전통 누룩+왕겨 고체 술덧의 유기산 총량은 357.62 mg/100 g으로 입국+제올라이트 술덧에 비하여 최대 6.1배 이상 높았으며, formic 36.61, lactic 156.55, acetic acid 66.74 mg/100 g으로 많은 양이 검출되었다. 전통 누룩+왕겨 고체 술덧 증류주(알코올 25%)의 이취 성 분인 acetic acid, bytyric acid, isovaleric acid, methyl mercaptan 함량이 입국+제올라이트 사용에 따라 크게 줄 어들었다. Acetic acid는 99.38 mg/L에서 19.34-24.12 mg/L로 butyric acid, isovaleric acid, methyl mercaptan은 각각 95.90, 5.37, 426.78 mg/L에서 불검 출로 줄어들었다. 탄내 성분인 furfural 성분은 376.61 mg/L에서 86.93-115.39 mg/L로 4.3배 감소하였다. 반 면, acetaldehyde 성분은 228.04 mg/L에서 529.74-578.71 mg/L로 증가하였다. 고체 술덧의 수분함량 증가에 따라 알코올 생산량도 비례적으로 증가하였고, 증류액의 알 코올 함량도 증가하였다. 고체 술덧의 수분함량이 40%에서 55%로 증가됨에 따라 증류액의 알코올 함량은 37.14%에 서 43.74%로 상승하였다. 이에 따라 furfural에 해당하는 흡광도(275 nm)값도 2.08에서 0.48로 4.3배 낮아졌으며, 휘발산도 2.80에서 1.00으로 2.8배 낮아졌다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ015294) 의 지원에 의해 수행되었습니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Kang CS, Choi HS. Formal analysis:

Shin JY. Methodology: Kang HY, Choi HS. Writing - original draft: Shin JY, Choi HS. Writing - review & editing: Shin JY, Choi HS.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Je Young Shin (First author)
https://orcid.org/0000-0001-8359-7241
Heui-Yun Kang
https://orcid.org/0000-0001-5479-7973
Chang-Soo Kang
https://orcid.org/0000-0002-3284-9987
Han-Seok Choi (Corresponding author)
https://orcid.org/0000-0001-6792-5620

References

Ahn BH, Im HR, Kim JH, Kan HR. Brewing yeast Saccharomyces cerevisiae 54-3 and brewed alcohol made there with. Korea Patent No. 20130016006 (2014)

Bea SM. Distilled *Soju* Manufacturing Technology. Bae Sang-myeon Liquor Research Institute Co, Seoul, Korea, p 228 (2012)

Brewing Society of Japan. Component of the Alcoholic Beverages. Shin Nippon Printing Co, Ltd, Tokyo, Japan, p 2-57 (1999)

Chen S, Wang L, Ni D, Lin L, Wang H, Xu Y. Characterization of aroma compounds in cooked sorghum using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry. Molecules, 26, 4796 (2021)

Cheong C. Vinegar Brewing. Altamira Co, Seoul, Korea, p 174-182 (2019)

Choi HS, Kim EG, Kang JE, Choi JH, Yeo SH. Effect of varying the amount of water added on the characteristics of mash fermented using modified

- *Nuruk* for distilled-*Soju* production. Korean J Food Preserv, 21, 908-916 (2004)
- Du L, Su Y, Sun D, Zhu W, Wang J, Zhuang X, Lu Y. Formic acid induces Yca1p-independent apoptosis-like cell death in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Res, 8, 531-539 (2008)
- Fan W, Xu Y, Qian M. Current practice and future trends of aroma and flavor research in Chinese *Baijiu*. In sex, smoke, and spirits: The role of chemistry. J Am Chem Soc, 12, 145-175 (2019)
- Hatanaka C, Kobara Y. Determination of glucose by a modification of Somogyi-Nelson method. Agric Biol Chem, 44, 2943-2949 (1980)
- Joung EJ, Paek NS, Kim YM. Studies on Korean *Takju* using the by-product of rice milling. Korean J Food Nutr, 17, 199-205 (2004)
- Kang JE, Kim CW, Yeo SH, Jeong ST, Kim YS, Choi HS. Effect of heat-treated *Nuruk* on the quality characteristics of aged *Yakju*. Food Sci Biotechnol, 27, 715-724 (2018)
- Knoll C, Fritsch S, Schnell S, Grossmann M, Rauhut D, Du Toit M. Influence of pH and ethanol on malolactic fermentation and volatile aroma compound composition in white wines. LWT-Food Sci Technol, 44, 2077-2086 (2011)
- Kong CL, Ma N, Yin J, Zhao HY, Tao YS. Fine tuning of medium chain fatty acids levels increases fruity ester production during alcoholic fermentation. Food Chem, 346, 128897 (2021)
- Korea Customs Service (KCS). Statistics on trade, Daejeon: Import and export trade statistics. Available from: https://unipass.customs.go.kr/ets/hmpg/openTRS0107001Q.do?hsSgn=22089 06000&hsSgnLen=10. Accessed Sep. 01, 2021.
- Korean Statistical Information Service (KOSIS). Liquor tax return. Available from: https://kosis.kr/stat Html/statHtml.do?orgId=133&tblId=TX_13301_A188&conn_path=I2. Accessed Sep. 08, 2021.
- Lee JG, Moon SH, Bae KH, Kim JH, Choi HS, Kim TW, Jung C. Distilled Spirits. Gwangmunkag Co, Seoul, Korea, p 384-407 (2015)

- Lee KS, Kim GH, Kim HH, Lee CG, Lee JY, Lee HD, Oh MJ. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional alcoholic beverage by using lily (*Lilium lancifolium*) scales. J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 598-604 (2008)
- Nakamura A, Iimori N, Sudo S, Mikami S, Ito K, Ishikawa T. Fermentation characteristics of sake mash made by using rice *Koji* prepared with *Aspergillus kawachii*. J Brew Soc Japan, 85, 114-119 (1990)
- NTS Liquors Licence Aid Center. Analysis of Alcoholic Beverages. National Tax Service, Seoul, Korea, p 79 (2010)
- Oishi M, Nekogaki K, Kajiwara Y, Takashita H, Shimoda M, Okazaki N. Sensory attributes and classification of odor compounds in barley-shochu. J Brew Soc Japan, 108, 113-121 (2013)
- Ozcelik S, Kuley E, Ozogul F. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. LWT-Food Sci Technol, 73, 536-542 (2016)
- Park YS, Lee YJ, Lee KT. Analysis of formaldehyde and acetaldehyde in alcoholic beverage. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35, 1412-1419 (2006)
- Rural Development Administration (RDA). "Korean *Koryangju*" to revitalize the sorghum industry. Available from: https://www.rda.go.kr/board/board.do?mode=view&prgId=day_farmprmninfo Entry&dataNo=100000773556#script on. Accessed Sep. 01, 2021.
- Salo P. Determining the odor thresholds for some compounds in alcoholic beverages. J Food Sci, 35, 95-99 (1970)
- Seo HR, Jeong ST, Iim BR, Kang JE, Kang HY, Yun SI. Effect of grain raw materials on the quality characteristics of *'Kaoliang'* spirit. Korean J Food Preserv, 28, 948-957 (2021)
- Shin JY, Kang HY, Jeong ST, Seo HR, Kang CS, Choi HS. Characteristics of distillation fractions obtained by various methods for the distillation of solid-state fermented mash by adding dried

- milk. Korean J Food Preserv, 28, 958-967 (2021)
- Shiraishi Y, Yoshizaki Y, Ono T, Yamato H, Okutsu K, Tamaki H, Takamine K. Characteristic odour compounds in *Shochu* derived from rice *koji*. J Inst Brew, 122, 381-387 (2016)
- So MH. Characteristics of a modified *Nuruk* made by inoculation of traditional *Nuruk* microorganisms. Korean J Food Nutr, 12, 219-225 (1999)
- Sun J, Wang Z, Sun B. Low quantity but critical contribution to flavor: Review of the current understanding of volatile sulfur-containing compounds in *Baijiu*. J Food Compos Anal, 103, 104079 (2021)
- Sung SA, Lee SJ. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers. Korean J Food Sci Technol, 49, 35-43 (2017)
- TSINTSA. Textbook of Alcoholic Beverage-Making. Technical Service Institute, National Tax Service Administration, Seoul, Korea, p 1-343 (1997)
- Vankar PS. Essential oils and fragrances from natural sources. Resonance, 9, 30-41 (2004)
- Wang L, Gao M, Liu Z, Chen S, Xu Y. Three extraction methods in combination with GC× GC-TOFMS for the detailed investigation of volatiles in Chinese herbaceous aroma-type *Baijiu*. Molecules, 25, 4429 (2020)
- Wang L, Zhong K, Luo A, Chen J, Shen Y, Wang X, He Q, Gao H. Dynamic changes of volatile compounds and bacterial diversity during

- fourth to seventh rounds of Chinese soy sauce aroma liquor. Food Sci Nutr, 9, 3500-3511 (2021)
- Wood IP, Cao HG, Tran L, Cook N, Ryden P, Wilson DR, Moates GK, Collins SRA, Elliston A, Waldron KW. Comparison of saccharification and fermentation of steam exploded rice straw and rice husk. Biotechnol Biofuels, 9, 193 (2016)
- Xu Y, Sun B, Fan G, Teng C, Xiong K, Zhu Y, Li J, Li X. The brewing process and microbial diversity of strong flavour Chinese spirits: A review. J Inst Brew, 123, 5–12 (2017)
- Ye H, Wang J, Shi J, Du J, Zhou Y, Huang M, Sun B. Automatic and intelligent technologies of solid-state fermentation process of *Baijiu* production: Applications, challenges, and prospects. Foods, 10, 680 (2021)
- Yoshizaki Y, Kim HM, Okutsu K, Ikenaga M, Tamaki H, Takamine K. "Nuruk", Korean traditional *koji*, as a possible material for producing Japanese *Shochu*. J Brew Soc Japan, 110, 170-178 (2015)
- Yoshizawa Y, Ishikawa TA, Tadenuma M, Nagasawa M, Nagami K. Encyclopedia of Brewing and Fermentation Food. Asakura Publishing Co Ltd, Tokyo, Japan, p 70-366 (2004)
- Zou W, Zhao C, Luo H. Diversity and function of microbial community in Chinese strong-flavor *Baijiu* ecosystem: A review. Front Microbiol, 9, 671 (2018)