

Comparison for enzymic activity of *Nuruk* and quality properties of *Yakju* by different fungi

Chang-Ki Huh¹, So-Mang Kim², Yong-Doo Kim^{2*}

¹*Imsil Institute of Cheese Science, Insil 566-700, Korea*

²*Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-950, Korea*

곰팡이 균주에 따른 누룩의 효소활성 및 약주 품질특성 비교

허창기¹ · 김소망² · 김용두^{2*}

¹(재)임실치즈과학연구소, ²순천대학교 식품공학과

Abstract

The enzymatic activity of *Nuruk* and the quality properties of *Yakju* were investigated according to different fungi. The fungi that were used in this study were *Aspergillus kawachii* KCCM 32819, *Aspergillus niger* KCCM 32005, *Rhizopus japonicus* KCCM 11604, *Rhizopus oryzae* KCCM 11272, *Rhizopus oryzae* KCCM 11273, *Rhizopus oryzae* KCCM 11276, and *Mucor rouxii* KCCM 60148. The study results are as follows. The saccharogenic power of *Rhizopus oryzae* KCCM 11272 *Nuruk* was the highest (3,647.72 SP/g) among all the samples. The α -amylase production and protease activities were highest (3.76 DU and 4.7 tyrosine mg/min, respectively) in the *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 *Nuruk*. The pH levels of the *Yakju* made with commercial *Nuruk* and *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 *Nuruk* were 4.14 and 4.07, respectively. The total titratable acid content of the *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11273 *Nuruk* was the highest (0.56%) among all the samples. *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 and *Rhizopus oryzae* KCCM 11272 had the highest ethanol yields (15.18% and 15.10%, respectively). In the sensory evaluation carried out in this study, the panel preferred the *Yakju* made with *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 *Nuruk*. Overall, however, the panel did not like the *Yakju* made with *Aspergillus niger* KCCM 32005 *Nuruk*.

Key words : fungi, *nuruk*, *yakju*, enzymic activity, quality property

서 론

우리나라의 전통주는 일제 강점기부터 약 100년 동안 자유롭게 제조할 수 없어서 산업화와 전통주 관련 연구가 매우 부족한 실정이다. 그러나, 최근 한국 문화의 세계화 추세와 한류의 영향으로 국내외적으로 전통 민속주에 대한 관심이 높아지고 있으며, 전통주를 복원하려는 노력이 시도되고 있다(1).

기존의 전통 발효주는 구전되거나 가정용으로만 주조되어 표준화된 제조방법이 없고, 전통 발효주의 맛과 풍미를 결정하는 맛, 향, 색 및 영양 발현에 대한 개별적인 고려가 없어 단일한 맛과 저장 기간을 보장하는 전통주의 제조가

어려운 실정이다.

현재 우리 술을 세계 주류 시장에서 경쟁력을 갖춘 전통 술로서 상품성을 높이기 위해서는 전통누룩 및 물료의 특성에 적합한 누룩의 고품질 대량생산 기술개발 연구가 이루어져야 하며, 이와 같은 문제점을 해결하기 위해서는 누룩의 미생물학적 측면과 효소학적 측면에서 보다 체계적인 연구 개발 필요성이 제시된바 있다(2).

전통주 제조에는 다양한 미생물이 관여하며 이러한 미생물의 종류 및 활성 등에 따라 술의 품질이 결정되고, 그 중에서 다양한 종류의 사상균이 쌀의 전분질을 당분으로 전환시키는 역할을 한다(3-5).

1945년 이전의 누룩 사상균에 대한 연구에서 연구 빈도가 높은 사상균은 *Absidia sp.*, *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus sp.*, *Endomyces sp.*, *Aspergillus glaucus*, *Monascus purpureus*, *Penicillium glaucum* 등이 있고, 1945년 이후에는 한국 전통

*Corresponding author. E-mail : kyd4218@sunchon.ac.kr
Phone : 82-61-750-3256, Fax : 82-61-750-3208

누룩으로부터 *Absidia*, *Rhizopus*, *Circinella*, *Actinomucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium* 및 *Botryotrichum*속의 7속 17종의 사상균이 분리 동정되었다(6-9).

전분의 구조는 α -D-glucose가 α -1,4 glucoside 결합만으로 선형 구조인 amylase와 α -1,4 및 α -1,6 glucoside 결합의 가지 구조로 이루어진 amylopectin이 있는데, 조밀하게 배열된 결정부분은 α -amylase 효소의 작용을 받기 어려우나 비결정부분은 효소의 작용이 비교적 용이하며, 발효과정 동안 효소의 작용으로 가수분해되어 glucose나 maltose 등의 단순 당으로 분해된다(10-12).

전분은 그 종류에 따라 입자구조, 내부 형태 및 표면의 특징이 다르고, X-선 회절도에 의해 곡류 전분은 A형, 괴경과 열매 전분은 B형 그리고 근경과 두류 전분은 C형으로 그 결정구조가 구분이 되는데 B형 전분은 효소의 작용을 쉽게 받지만 A형과 C형은 효소에 대한 저항성이 큰 것으로 알려져 있다(13-15). 따라서 양조에 많이 사용되는 곡류의 A형 전분 이용률을 높이고, 양조 관련 미생물과의 관련성을 검증하기 위한 균주 선택 및 발효조건에 대한 연구가 필요하다.

양조를 위한 누룩 제조시 사용되는 균주들은 각각의 특성이 있는데, *Rhizopus* 속은 누룩으로부터 쉽게 분리되며 소맥분의 증자여부에 관계없이 생육 및 효소생성도 높으며, *Aspergillus*는 증자한 쌀에서 생육력이 높으며 강력한 당화효소를 생성하는 것으로 알려져 있다(16). 이처럼 전분의 효소적 가수분해는 전분의 종류와 사용되는 균주의 특성에 크게 영향을 받는다.

따라서 전분의 특이적 기질에 맞는 효소를 생산할 수 있는 균주를 선택하여 맞춤형 균주를 연구하는 것은 매우 중요한 일이라 하겠다. 이에 본 연구에서는 쌀 전분의 사상균별 누룩에 따른 발효적성 확인을 위해 7종의 곰팡이로 누룩을 제조하고 당화력, 액화력, 단백질 분해력 비교하였고, 누룩별 약주의 품질특성을 측정하여 쌀 전분의 맞춤형 사상균을 검토하고 쌀을 주원료로 이용하는 우리나라 전통 약주의 품질개선을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

재료 및 사용균주

본 실험에 사용한 양조용 원료 쌀은 2013년 전남 농업기술원에서 재배한 한아름 품종을 사용하였고, 양조용수는 정수기(CHP-8800, Coway Co., Ltd, Korea)의 냉수를 100℃로 가열한 후 22~25℃로 냉각하여 사용하였다. 누룩 제조용 통밀은 2012년 수확한 보성 농업협동조합제품을 분쇄하여 사용하였고, 곰팡이는 *A. kawachii* KCCM 32819, *A. niger* KCCM 32005, *Rhizopus japonicus* KCCM 11604, *R. oryzae* KCCM 11272, *R. oryzae* KCCM 11273, *R. oryzae* KCCM

11276, *Mucor rouxii* KCCM 60148 총 7종을 한국미생물보존센터에서 분양 받아 사용하였으며, 시판누룩은 송학곡자(Major genus : *Aspergillus*)제품을 사용하였다. 효모는 송천 효모(배양효모, 100g당 효모수 400억 이상, *Saccharomyces cerevisiae*)제품을 구입하여 사용하였다.

Seed Koji 제조

곰팡이 균주를 달리한 seed koji 제조는 각 곰팡이를 멸균 생리식염수 10 mL가 들어있는 시험관에 첨가하여 150 rpm으로 10분간 진탕시킨 후 이를 PDA배지에 도말하여 28℃에서 3일간 배양시켰다. 통밀은 거칠게 분쇄하여 110℃에서 15분간 고압증기로 살균한 다음, 정제수 30%를 첨가하고 잘 혼합한 후 배양시킨 각 곰팡이에 접종하고 28℃에서 3일간 배양시켜 seed koji를 제조하였다. 제조된 seed koji는 Fig. 1과 같다.

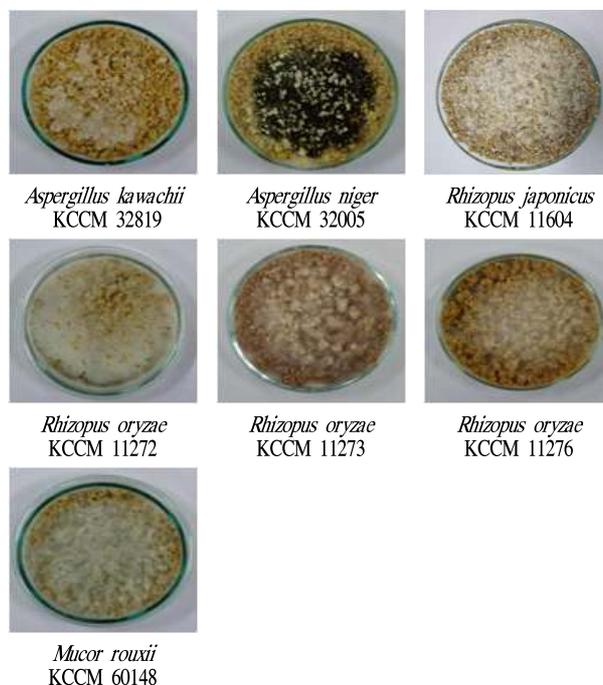


Fig. 1. Photographs of seed Koji made with different fungi.

누룩제조

누룩의 제조는 So(17)의 방법을 참고하여 Fig. 2와 같이 제조하였다. 즉, 분쇄한 통밀에 110℃에서 15분간 고압증기로 살균하고, 정제수 30%를 가하여 seed koji로 제조된 *A. kawachii* KCCM 32819, *A. niger* KCCM 32005, *R. japonicus* KCCM 11604, *Rhizopus oryzae* KCCM 11272, *R. oryzae* KCCM 11273, *Rhizopus oryzae* KCCM 11276, *M. rouxii* KCCM 60148를 각각 단독 접종하여 성형 없이 30℃에서 24시간 1차 배양하였다. 성형한 후 30℃, 습도 85%에서 48시간 2차 배양한 다음 30℃에서 수분함량이 10%내외가 되게 건조시켰다.

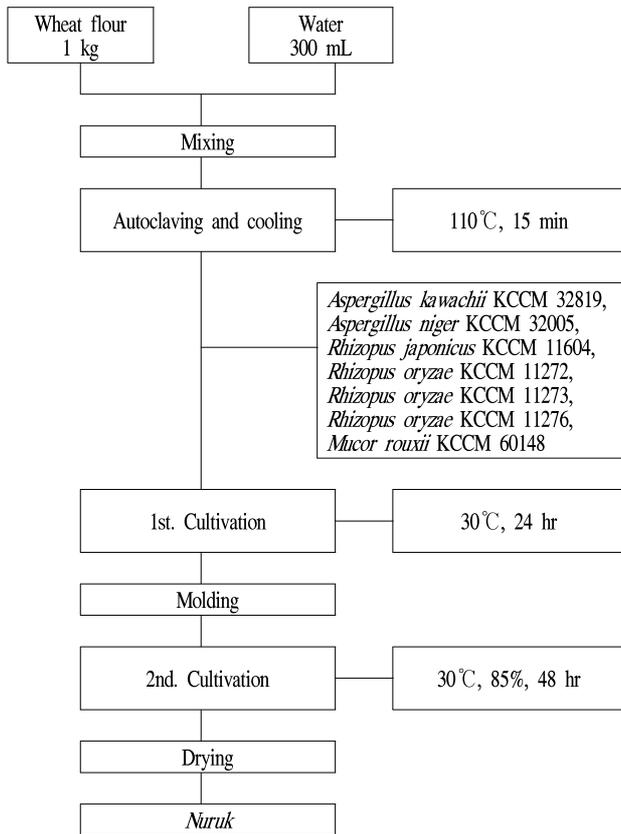


Fig. 2. Process for the preparation of *Nuruk* inoculated with various fungi.

주모 제조

누룩별 주모 제조는 쌀 500 g을 수세하여 5시간 물에 침지하고, 1시간 물 빼기를 한 후 분쇄하여 물 750 mL를 첨가하여 죽으로 제조한 후 상온까지 방냉하였다. 균주별로 각각 제조한 누룩 100 g에 주모 총량에 대한 젖산 0.5%, 전 배양한 효모액 *S. cerevisiae* 50 mL를 첨가하여 주모를 제조하여 23°C에서 3일간 발효시켰다.

약주 제조

1단 담금은 쌀 2 kg을 수세하여 5시간 동안 물에 수침하고, 1시간 동안 체에서 물기를 제거하고 1시간 동안 증자한 후 30°C로 냉각하였다. 2 kg씩 증자한 쌀에 각각의 균주별 누룩 400 g, 물 3 L와 함께 제조한 주모를 혼합하여 24±1°C에서 3일간 발효시켰다. 2단 담금은 쌀 10 kg을 1단 담금과 동일한 방법으로 제조한 후 물 15 L와 함께 1단 담금한 술과 혼합하여 24±1°C에서 8일간 발효시켰다

당화력(β-amylase) 측정

누룩의 전분 당화력 측정은 국제청기술연구소 주류분석규정(18)에 따라 각 누룩에 1% NaCl 용액을 가하여 30°C에

서 3시간 침출시킨 액 또는 희석액을 시험용액으로 하고, 2% 전분액을 기질로 하였다. 기질용액 50 mL와 초산염완충액 30 mL를 55°C 수욕조에서 10분간 방치하였다. 시험용액 10 mL를 가해주고 1시간 후 0.5 N NaOH를 가하여 효소 작용을 중지시킨 다음 상온으로 방냉하고 물로 100 mL로 정용하였고, 100 mL로 정용한 액의 10 mL와 시험용액 대신 물을 취하여 동일하게 처리한 대조액 10 mL를 각각 취하여 환원당을 측정하였다. 환원당 측정은 Fehling용액 10 mL, 물 40 mL, 포도당 표준용액 10 mL를 가해주고 끓여주면서 포도당표준용액으로 적정하였다. 황산동의 청색이 거의 없어도 메틸렌블루시액 4~5방울을 더 가하여 적정을 계속하였고, 종말점은 메틸렌블루의 청색이 없어지는 점으로 이 때 소비된 포도당표준용액의 소비 mL수를 S라 하였다. 따로 Fehling용액 10 mL, 물 40 mL, 대조액 10 mL 및 포도당 표준용액 10 mL를 사용하여 같은 방법으로 공시험을 행하고 이 때 소비된 포도당표준용액의 소비 mL수를 B로 하였다.

$$\text{Saccharogenic power(SP)} = \frac{(B-S) \times 2}{W \times 1}$$

- 2 : Factor(20/10)로서 포도당표준용액(2 mg/1 mL)과 사용된 표준용액 10 mL의 양에서 산출된 수치임
- W : 시험용액 10 mL에 함유된 검체의 양(g)
- 1 : 반응시간(시간).

액화력(α-amylase) 측정

누룩의 액화력 측정은 국제청기술연구소 주류분석규정(18)에 따라 각 누룩에 0.5% NaCl용액을 가하여 실온(20°C 이하)에서 3시간 침출시켜 여과 후 효소용액으로 하고 pH 5.0으로 보유했던 1% 녹말용액을 기질용액으로 하였다. 녹말용액 10 mL를 40°C에서 예열한 후 효소용액 0.5 mL를 작용시켜 작용혼합용액 중에서 0.5~1분마다 0.1 mL씩 요오드용액 10 mL에 가하고 녹말요오드 반응색조를 분광광도계(HP 8453, Hewlett Packard, Germany. wavelength 670 nm)로 비색하여 투과율(T)이 66%가 되는 반응시간을 구하고 비교용액은 물 10 mL에 효소액 0.5 mL를 가한 후 0.1 mL를 요오드용액에 가한 것을 투과율(T) 100%로 하였다. 종점 전후의 반응시간을 비례 계산하여 T(66%)가 될 때까지의 시간을 측정하였으며, 액화력은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Dextrinogenic activity units} = \frac{10 \text{ mL} \times 1}{/0.5(\text{효소량})} \times \frac{30}{T(66\% \text{가 되는 반응시간})}$$

Protease 활성도 측정

누룩의 단백질 분해력은 Anson(19) 개량법에 따라 pH 5.0로 조정된 0.6% casein용액을 기질로, 누룩침출액을 효

소액으로 하여 40°C에서 10분간 반응 시켰다. 이 때 생산되는 Folin 발색성 비단백성 물질의 양을 Folin 비색법(20)으로 측정하여 누룩 1 g이 1분 동안 생성되는 tyrosine을 mg으로 나타내었다.

pH, 총산 측정

곰팡이 균주에 따른 누룩으로 담금한 약주의 pH는 술덧 여액 20 mL를 취하여 pH meter(Orion 940. U.S.A)로 측정하였고, 총산 함량은 Huh 등(21)의 방법에 따라 시료를 원심분리하여 상등액 10 mL를 취해 0.1N NaOH 용액으로 적정 후 0.009를 곱하여 lactic acid로 환산하였다.

Ethanol 함량 측정

곰팡이 균주에 따른 누룩으로 담금한 약주의 ethanol 분석은 술덧을 여과하여 여액 1 µL를 GC에 주입하였으며 외부 표준법으로 계산하였다. GC분석조건은 Carbowax B/5% Carbowax 20 M 3 M(L)×4 mm(φ)을 사용하여 오븐온도는 60°C에서 150°C까지 5°C/min속도로 상승 시켰고 주입기와 검출기의 온도는 각각 220°C와 250°C, carrier gas는 N₂를 사용하였다.

관능평가

곰팡이 균주에 따른 누룩으로 담금한 약주의 관능검사는 20명의 패널을 선정하여 향(flavor), 색(color), 맛(taste), 전체적인 기호도(overall preference)를 9단계 평가법으로 실시하였다. 채점 기준은 아주 좋다; 9점, 보통이다; 5점, 아주 나쁘다; 1점으로 하였고, 2시간 간격으로 시료의 번호를 바꾸어 같은 panel로 3회 반복하였으며 각 반복 시 가장 높은 점수와 가장 낮은 점수를 제외하고 평균 득점을 구하였다.

통계처리 방법

본 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 SPSS 통계분석 프로그램(SPSS INC., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 실험군간 평균치와 표준편차를 계산하였고, Duncan's multiple range test에 의해 평균치간의 유의성을 검정하였다

결과 및 고찰

균주별 누룩의 효소활성

당화력(β-amylase)

곰팡이 균주를 달리한 누룩의 당화력 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 균주별 당화력은 *Rhizopus oryzae* KCCM 11272으로 제조한 누룩에서 3,647.72 SP/g으로 가장 높았고, 그 다음으로 *Rhizopus japonicus* KCCM 11604로 제조한 누룩은

3,551.9 SP/g, *R. oryzae* KCCM 11273으로 제조한 누룩은 3,287.86 SP/g, *R. oryzae* KCCM 11276으로 제조한 누룩이 2,832.78 SP/g의 순으로 높은 당화력을 보였다. 시판 누룩과 본 연구에서 제조한 누룩의 당화력은 본 연구에서 제조한 누룩 중 *A. kawachii* KCCM 32819, *A. niger* KCCM 32005 및 *M. rouxii* 60148 로 제조한 누룩이 약간 낮았고, 그 외 누룩은 시판 누룩의 당화력 보다 높았다. 시판 누룩과 유의적 차이를 볼 때 본 연구에서 사용된 7종의 곰팡이 중 *R. oryzae* KCCM 11272와 *R. japonicus* KCCM 11604로 제조한 누룩 2종이 유의적 차이가 있었다. 속별 당화력은 *Aspergillus* 속 및 *Mucor* 속보다 *Rhizopus* 속이 높은 당화력을 보였는데 이는 So(17)의 전통 누룩 미생물들로 제조한 개량누룩의 특성에서 *Rhizopus*속이 *Aspergillus* 속보다 당화력이 높았다는 결과와 일치하였다.

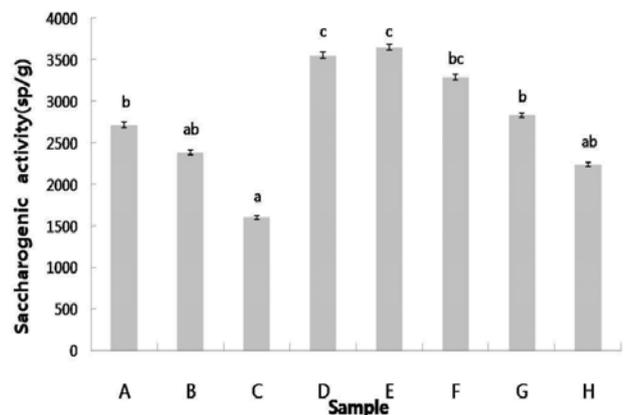


Fig. 3. Saccharifying activity of *Nuruk* by various fungi(pH 5.0).

A : Commercial *Nuruk*(Major genus : *Aspergillus*)
 B : *Nuruk* of *Aspergillus kawachii* KCCM 32819
 C : *Nuruk* of *Aspergillus niger* KCCM 32005
 D : *Nuruk* of *Rhizopus japonicus* KCCM 11604
 E : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11272
 F : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11273
 G : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11276
 H : *Nuruk* of *Mucor rouxii* KCCM 60148.

All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a bar is significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

액화력(α-amylase)

균주별 누룩의 액화력을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 전분의 액화제로 작용하는 α-amylase의 활성을 균주별로 보면 시판 누룩과 비교해 *R. japonicus* KCCM 11604로 제조한 누룩과 *M. rouxii* KCCM 60148로 제조한 누룩이 유의적 차이를 보였다. 속별 액화력은 *Rhizopus*속으로 제조한 누룩이 *Aspergillus*속으로 제조한 누룩 보다는 높은 활성을 보였으나, *Mucor*속으로 제조한 누룩의 α-amylase활성은 *R. japonicus*로 제조한 누룩을 제외하고는 활성이 낮았다. Kim 등(3)은 균별 액화력 측정 결과 *Aspergillus*속과 *Mucor*속의 활성이 높다고 보고하였는데 본 연구에서는 *Rhizopus*속과 *Mucor*속의 활성이 높았다. 이러한 결과는 누룩 제조시에 사용된 재료로 Kim 등(3)은 밀기울을 사용하였고, 본 연구

에서는 통밀을 그대로 분쇄하여 사용해 균주별 영양 요구성에서 배양 재료들의 영양성분 차이로 인해 나타난 결과로 판단된다.

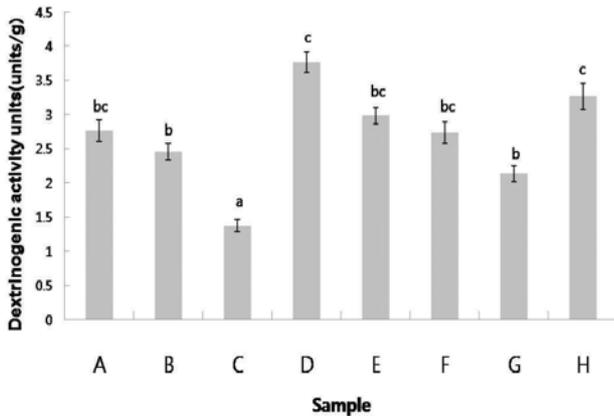


Fig. 4. Liquifying activity of *Nuruk* by various fungi(pH 5.0).

A : Commercial *Nuruk*(Major genus : *Aspergillus*)
 B : *Nuruk* of *Aspergillus kawachii* KCCM 32819
 C : *Nuruk* of *Aspergillus niger* KCCM 32005
 D : *Nuruk* of *Rhizopus japonicus* KCCM 11604
 E : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11272
 F : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11273
 G : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11276
 H : *Nuruk* of *Mucor rouxii* KCCM 60148.
 All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a bar is significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Protease 활성도

균주별 *Nuruk*의 단백질 분해력을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 균주별 단백질 분해력은 시판 *Nuruk*과 비교해 *R. japonicus* KCCM 11604로 제조한 *Nuruk*과 *R. oryzae* KCCM

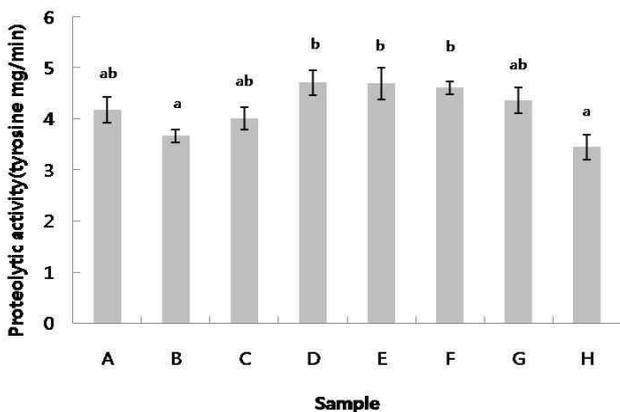


Fig. 5. Proteolytic activity of *Nuruk* by various fungi(pH 5.0).

A : Commercial *Nuruk*(Major genus : *Aspergillus*)
 B : *Nuruk* of *Aspergillus kawachii* KCCM 32819
 C : *Nuruk* of *Aspergillus niger* KCCM 32005
 D : *Nuruk* of *Rhizopus japonicus* KCCM 11604
 E : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11272
 F : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11273
 G : *Nuruk* of *Rhizopus oryzae* KCCM 11276
 H : *Nuruk* of *Mucor rouxii* KCCM 60148.
 All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a bar is significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

11272 및 *R. oryzae* KCCM 11273으로 제조한 *Nuruk*이 유의적으로 높았다. *A. niger* KCCM 32005으로 제조한 *Nuruk*의 경우 당화력 및 액화력은 다른 균종에 비해 낮은 활성을 보였으나, 단백질 분해력은 *A. kawachii* KCCM 32819와 *M. rouxii* KCCM 60148로 제조한 *Nuruk*에 비해 유의적으로 높았다. 속별 단백질 분해력은 *Rhizopus* 속이 *Aspergillus* 속과 *Mucor* 속에 비해 유의적으로 높았다. So(17)의 전통 *Nuruk* 미생물들로 제조한 개량 *Nuruk*의 특성에서 *R. japonicus*로 제조한 *Nuruk*의 protease 활성이 높다고 보고된 바 있어 본 연구와 유사한 경향을 보였다.

누룩별 약주의 품질 특성

pH 및 총산

*Nuruk*별 약주의 pH 및 총산 함량 측정 결과는 Table 1과 같다. pH는 시판 *Nuruk*으로 담금한 약주가 4.14로 가장 높았고 *R. japonicus* KCCM 11604 균주로 제조한 *Nuruk*으로 담금한 약주가 시판 *Nuruk*과 유의적 차이를 보이지 않았다. 그 외 *R. oryzae* KCCM 11276 균주로 제조한 *Nuruk*으로 담금한 약주가 시판 *Nuruk* 및 *R. japonicus* KCCM 11604 균주로 제조한 *Nuruk*으로 담금한 약주들과 유의적 차이가 적었다. 총산 함량은 *R. oryzae* KCCM 11273 균주로 제조한 *Nuruk*으로 담금한 약주가 가장 높은 함량을 보였고, 시판 *Nuruk*과 *R. japonicus* KCCM 11604 균주로 제조한 *Nuruk*으로 담금한 약주 2종이 유의적으로 가장 낮은 함량을 보였다. 이 2종의 약주의 경우 pH는 높고 총산 함량은 낮은 결과를 보여 다른 약주와 비교해 관능평가 기호도에서 차이가 예상된다.

Table 1. Physicochemical properties in *Yakju* made with different *Nuruk*s of final products

Sample ¹⁾	pH	Total titratable acid (lactate %)
A	4.14±0.23 ^b	0.51±0.02 ^a
B	3.97±0.25 ^a	0.54±0.03 ^{ab}
C	3.92±0.16 ^a	0.55±0.02 ^b
D	4.07±0.33 ^b	0.51±0.01 ^a
E	3.98±0.28 ^a	0.53±0.02 ^{ab}
F	3.97±0.28 ^a	0.56±0.03 ^b
G	4.01±0.25 ^{ab}	0.52±0.02 ^{ab}
H	3.93±0.28 ^a	0.54±0.03 ^{ab}

¹⁾A : *Yakju* made with commercial *Nuruk*
 B : *Yakju* made with *Aspergillus kawachii* KCCM 32819 *Nuruk*
 C : *Yakju* made with *Aspergillus niger* KCCM 32005 *Nuruk*
 D : *Yakju* made with *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 *Nuruk*
 E : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11272 *Nuruk*
 F : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11273 *Nuruk*
 G : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11276 *Nuruk*
 H : *Yakju* made with *Mucor rouxii* KCCM 60148 *Nuruk*
 All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a column is significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Ethanol 함량

곰팡이 균종을 달리한 누룩으로 약주 담금을 한 후 ethanol 함량을 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 발효가 끝나는 8일째 누룩별 약주의 ethanol 함량은 *R. oryzae* KCCM 11272 누룩으로 제조한 약주가 15.28%로 가장 높았고, 다음으로 *R. Japonicus* KCCM 11604 누룩으로 제조한 약주가 15.10%이었으며, 이 두 시료구의 유의적인 차이는 없었다. *A. niger* KCCM 32005 누룩과 *M. rouxii* KCCM 60148 누룩으로 제조한 약주 경우 12.41%와 12.33%로 다른 시료구와 비교해 유의적으로 가장 낮았다. 균주 속별 ethanol 생성능은 *Rhizopus* 속의 균주가 *Aspergillus* 속과 *Mucor* 속 보다 높았다. Han(4)은 누룩 종류별 탁주의 ethanol 함량에서 *Rhizopus japonicus* 누룩구가 가장 높았고, *Aspergillus* 속 누룩구와 *Mucor* 속 누룩구는 낮았다고 보고하여 본 연구와 일치하였다. 이러한 결과를 효소 활성도와 비교할 때 활성도가 높았던 *Rhizopus* 속으로 담금한 약주가 ethanol 함량 또한 높게 나와 효소 활성도와 ethanol 함량의 연관관계를 확인 하였다.

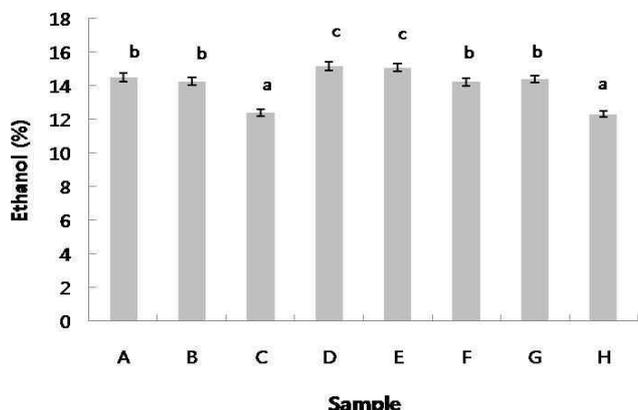


Fig. 6. The contents of ethanol in *Yakju* made with different Nuruks of final products.

¹⁾A : *Yakju* made with commercial Nuruk
 B : *Yakju* made with *Aspergillus kawachii* KCCM 32819 Nuruk
 C : *Yakju* made with *Aspergillus niger* KCCM 32005 Nuruk
 D : *Yakju* made with *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 Nuruk
 E : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11272 Nuruk
 F : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11273 Nuruk
 G : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11276 Nuruk
 H : *Yakju* made with *Mucor rouxii* KCCM 60148 Nuruk
 All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a bar is significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

관능평가

곰팡이 균종을 달리한 누룩으로 약주 담금을 한 후 관능 평가를 실시한 결과는 Table 2와 같다. 향은 *Rhizopus oryzae* KCCM 11276 누룩으로 담금한 약주가 6.9로 가장 높은 기호도를 보였으나, *A. kawachii* KCCM 32819, *R. japonicus* KCCM 11604, *R. oryzae* KCCM 11272 및 *R. oryzae* KCCM 11273로 담금한 약주들과 비교해 유의적인 차이는 없었다. 색은 시판 누룩으로 담금한 약주가 다른 시료구와 비교해

유의적으로 가장 높았고, 맛은 *A. kawachii* KCCM 32819 누룩으로 담금한 약주가 6.6가장 높았으나 *R. japonicus* KCCM 11604 누룩으로 담금한 약주와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 종합 기호도는 *R. japonicus* KCCM 11604 누룩으로 담금한 약주가 5.7로 유의적으로 가장 높았다. *A. niger* KCCM 32005 누룩으로 담금한 약주의 경우 색, 향, 맛 및 종합기호도 모두 다른 누룩에 비해 낮은 기호도를 보였는데 이는 *A. niger*는 흑국균(22)으로서 약주 담금시 균의 색이 용출되어 기호도가 낮게 나타난 것으로 판단 된다.

Table 2. Sensory evaluation of *Yakju* made with different Nuruks of final products

Sample ¹⁾	Sensory evaluation			
	Flavor	Color	Taste	Overall preference
A	5.0±0.81 ^b	5.7±0.67 ^c	5.9±1.85 ^b	4.8±0.91 ^b
B	6.5±0.85 ^c	5.4±0.69 ^{bc}	6.6±1.50 ^c	5.5±0.70 ^{bc}
C	4.2±0.78 ^a	4.9±0.56 ^a	4.9±1.59 ^a	3.6±0.96 ^a
D	6.5±0.70 ^c	5.3±0.67 ^{bc}	6.5±1.71 ^c	5.7±0.82 ^c
E	6.5±0.97 ^c	5.3±0.67 ^{bc}	6.1±1.44 ^b	5.5±0.97 ^{bc}
F	6.5±0.85 ^c	5.2±0.42 ^{bc}	6.1±1.59 ^b	5.5±0.85 ^{bc}
G	6.9±0.73 ^c	5.3±0.48 ^{bc}	6.1±1.66 ^b	4.8±0.42 ^b
H	4.4±0.96 ^{ab}	5.0±0.51 ^a	6.1±1.85 ^b	4.0±0.94 ^a

¹⁾A : *Yakju* made with commercial Nuruk
 B : *Yakju* made with *Aspergillus kawachii* KCCM 32819 Nuruk
 C : *Yakju* made with *Aspergillus niger* KCCM 32005 Nuruk
 D : *Yakju* made with *Rhizopus japonicus* KCCM 11604 Nuruk
 E : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11272 Nuruk
 F : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11273 Nuruk
 G : *Yakju* made with *Rhizopus oryzae* KCCM 11276 Nuruk
 H : *Yakju* made with *Mucor rouxii* KCCM 60148 Nuruk
 All values are mean±SD. Any mean with a different superscript within a column is significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

요 약

쌀 전분의 사상균별 누룩에 따른 발효적성을 확인을 위해 7종의 곰팡이로 누룩을 제조하여 당화력, 액화력, 단백질 분해력을 비교하고, 누룩별 약주의 품질특성을 측정한 결과는 다음과 같다. 균주별 당화력은 *R. oryzae* KCCM 11272으로 제조한 누룩이 3,647.72 SP/g으로 가장 높았다. 시판 누룩과 본 연구에서 제조한 누룩의 당화력은 *A. kawachii* KCCM 32819와 *A. niger* KCCM 32005로 제조한 누룩 외 시판 누룩의 당화력 보다 높았다. α-amylase 활성은 *R. japonicus* KCCM 11604로 제조한 누룩이 가장 높았고, *M. rouxii* KCCM 60148로 제조한 누룩의 액화력 또한 높았다. 단백질 분해력은 *R. japonicus* KCCM 11604로 제조한 누룩이 가장 높았다. 결과적으로 곰팡이 균주별 누룩의 당

화력, 액화력 및 단백질 분해력의 효소활성은 *Rhizopus* 속이 *Aspergillus* 속 및 *Mucor* 속 보다 높았다. 누룩별 약주의 pH는 시판누룩으로 담금한 약주가 4.14로 가장 높았고 *R. japonicus* KCCM 11604 균주로 제조한 누룩으로 담금한 약주가 시판 누룩과 유의적 차이를 보이지 않았다. 총산 함량은 *R. oryzae* KCCM 11273 균주로 제조한 누룩으로 담금한 약주가 가장 높은 함량을 보였다. Ethanol 함량을 측정된 결과 *R. oryzae* KCCM 11272 누룩으로 제조한 약주가 15.28%로 가장 높았고, 다음으로 *R. japonicus* KCCM 11604 누룩으로 제조한 약주가 15.10%이었다. 균주 속별 ethanol 생성능은 *Rhizopus* 속의 균주가 *Aspergillus* 속과 *Mucor* 속 보다 높았다. 관능평가 종합 기호도는 *R. japonicus* KCCM 11604 누룩으로 담금한 약주가 5.7로 높은 기호도를 보였다. 누룩별 효소활성 측정 결과 *Rhizopus* 속의 균주가 높은 활성을 보였고, 누룩별로 담금한 약주의 품질 특성 결과도 *Rhizopus* 속으로 제조한 누룩의 약주가 품질이 우수한 결과를 보여 쌀 전분의 발효에 적합한 곰팡이는 *Rhizopus* 속이라 판단되며, 그 중 *R. japonicus* KCCM 11604 균주로 누룩을 제조해 쌀약주를 담금할 경우 발효적성이 우수할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 및 전남농업기술원의 연구비 지원으로 수행된 연구 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

References

1. Yeo SH, Jeong YJ (2010) Current trends and development a plan in the korean *Makgeolli* industry. Korean J Food Sci Industry, 4, 55-64
2. Kim KH, Park SH (1995) Liquefaction and saccharification of tapioca starch for fuel ethanol production. Korean J Biotechnol Bioeng, 10, 304-316
3. Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yu TS (1997) Characteristics of useful fungi isolated from traditional korean *Nuruk*. J Korean Food Sci Nutr, 26, 767-774
4. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS (1997) Quality characteristics in mash of Takju prepared by using different *Nuruk* during fermentation. Korean J Food Sci Technol, 29, 555-562
5. Park CS, Lee TS (2002) Quality characteristics of Takju prepared by wheat flour *Nuruk*. Korean J Food Sci Technol, 34, 296-302
6. Yu TS, Kim HS, Hong J, Ha HP, Kim TY, Yoon IW (1996) Bibliographical study on microorganisms of traditional korean *Nuruk* (Since 1945). J Korean Soc Food Sci Nutr, 25, 170-179
7. Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG (1998) Bibliographical study on microorganisms of traditional Korean *Nuruk* (Since 1945). J Korean Soc Food Sci Nutr, 27, 789-799
8. Jo GY, Lee CW (1997) Isolation and identification of the fungi from *Nuruk*. J Korean Food Sci. Nutr, 26, 759-766
9. 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
10. Celia ML Franco, Renato AF Cabral, Debora Q Tavares (2002) Structure and physicochemical characteristics of lintnerized native starch and sour cassava starches. Starch/stärke, 54, 469-475
11. Marsden WL, Gray PP (1986) Enzymetic hydrolysis of cellulose in lignocellulosic materials. Critical Reviews Biotechnol, 3, 235-276
12. Kim HY, Park KH (1986) Characterization of bacterial α -amylase by determination of rice starch hydrolysis product. J Korean Agri Chem Soc, 3, 29-35
13. G Williamson, NJ Belshaw, DJ Self, TR Noel, SG Ring, Paul Cains, VJ Morris, SA Clark, ML Parker (1992) Hydrolysis of A- and B-type crystalline polymorphs of starch by α -amylase, β -amylase and glucoamylase, Carbohydr Polym, 18, 179-187
14. Jane JL, Wong KS, McPherson, AE (1997) Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrins, Carbohydr Res, 300, 219-227
15. Gallent DJ, Bouche B, Buleon A, Perez S (1992) Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. European J Clinical Nutr, 46, 3-16
16. Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yu DS (1997) Research trend of traditional *Nuruk* fungal. Korean J Microbiol Biotechnol, 10, 27-32
17. So MH (1999) Characteristics of a modified *Nuruk* made by inoculation of traditional *Nuruk* microorganisms. J Korean Soc Food Sci Nutr, 12, 219-225
18. NTS Liquors Licence Aid center (2010) Regulation for analysis of alcoholic beverages, p 12-16
19. Greenberg DM (1955) Plant proteolytic enzymes. Methods in Enzymol., 2, Academic Press, New York, p 54-64, USA
20. Folin O, Ciocalteu V (1927) On tyrosine and tryptophane

- determination in protein. J Biol Chem, 73, 627
21. Huh CK (2006) Effect of recipe for chestnut wine on fermentation and quality characteristics. Suncheon National University Thesis, Suncheon, Korea, p 50
22. Kang DJ, Wen YH, Choi KH, Oh DH, Eun JB (2009) Microbiological, physical and sensory characteristics of microbial-fermented tea manufactured with *Aspergillus niger* during fermentation. J Korean Tea Soc, 15, 107-113

(접수 2014년 5월 14일 수정 2014년 7월 1일 채택 2014년 8월 1일)