
碩士學位論文

濟州土俗 좁쌀약주의 釀造特性

濟州大學校 大學院

農 化 學 科



1991年 12月

濟州土俗 齣쌀약주의 釀造特性

指導教授 高 正 三

梁 榮 澤

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

1991年 12月 日

梁榮澤의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 ㊦

委 員 ㊦

委 員 ㊦

濟州大學校 大學院

1991年 12月 日

Zymological Characteristics of Foxtail Millet-Wine,
a Traditional Wine in Cheju Island

Young-Taek Yang

(Supervised by professor Jeong-Sam Koh)



A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements
for the Degree of Master of Agriculture

Department of Agricultural Chemistry
Graduate School
Cheju National University

1991. 12.

目 次

Summary

I. 緒 論	3
II. 材料 및 方法	6
2.1 材料	6
2.2 實驗方法	7
1) 原料의 成分分析	7
2) 優秀菌株의 選拔	7
3) 좁쌀약주용 곡자의 製造	8
4) 좁쌀약주의 製造方法	10
5) 좁쌀약주의 成分分析	13
6) 官能檢査	14
III. 結果 및 考察	15
3.1 釀造原料의 特性	15
3.2 優秀菌株의 選拔	16
3.3 좁쌀약주의 製造	20
3.4 좁쌀약주의 成分分析	27
3.5 官能檢査	32
IV. 要 約	33
參考文獻	34

SUMMARY

In order to make foxtail millet wine, a traditional wine in Cheju island, properties of raw materials, screening of mold and yeast strain, optimum brewing conditions were investigated. The results are as follows.

1. Carbohydrate and crude fat content of glutinous foxtail millet were 71.27% and 3.47%. It needed to keep enough time for soaking and steaming millet in order to expose fermentation source contained inner parts. High lipid content of foxtail millet will be easy to cause lipid oxidation during fermentation.
2. Optimum reaction conditions of crude enzyme of *Aspergillus oryzae* on saccharifying soluble starch were 55°C, pH 5.6. Saccharifying activity of crude enzyme was maintained 31.0 - 35.4% at 20 - 25°C, fermentation temperature, compared to optimum enzyme reaction conditions. *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274 was selected for brewing yeast strain.
3. The amount of water added to steamed millet and ethanol production in wine had a negative linear correlation after fermentation. A adding water ratio to steamed millet had to be maintained below 250% for keeping above 13.0% ethanol concentration in wine.
4. Sugar consumption and ethanol production were caused first for 2 days rapidly, principal fermentation was ceased after 4 days.
5. Ethanol production were between 13.0 and 13.4% for only foxtail millet, between 14.0 and 14.3% for 90% millet and 10% rice or barley as fermentation source, respectively.
6. Organic acids in millet wine were mainly consisted of lactic acid, malic acid and succinic acid, and carbohydrates were mainly consisted of xylose and oligosaccharides. Methanol was detected trace in millet wine. The content of fusel oil was very low, and organic acid was high.

7. Optimum conditions of millet wine-making are as follows. Glutinous foxtail millet with 10% rice as fermentation source was to be kept enough in soaking and steaming time. Steamed millet with adding 200v/v% of water was to ferment for 4 days at 23°C. After principal fermentation, fermented broth was filtered with press, and was aged for 1 week. Sensory evaluation of millet wine under optimum conditions was evaluated good for panelists as a traditional wine.

I. 緒 論

우리나라의 전통술인 藥酒와 濁酒는 역사적으로 민족문화의 발달과 함께 오랜 세월 동안 서민생활과 밀접한 관계를 맺어 왔다. 酒類는 그 지역의 기후 및 풍토조건에 알맞는 원료와 좋은 물로 독특한 風味의 酒文化를 형성하여 왔으며, 전래되는 우리 고유 傳統藥酒는 쌀과 누룩으로 單釀 또는 二釀한 이류의 常用藥酒로서 양조방법에 따라 다양한 풍미를 갖고 甘味와 산미가 강한 10-20% 酒精을 함유한 술이다(上野, 1927).

양조원료는 쌀이었으나, 1963년부터 식량절약정책에 의해 외국산 밀가루와 옥분 등으로 대체되었다. 농산물의 개방화와 식생활의 다양화로 쌀 소비가 감소하였으며, 전통식품 개발을 위하여 다시 쌀을 원료로 한 주류제조가 가능하게 되었다.

濟州地域은 기상, 토양 등 자연환경에 의해 주로 발효사가 이루어져 생산되는 곡류로는 좁쌀, 메밀, 수수 맥류 등이었고, 이들을 원료로 한 土俗酒가 있었다. 제주의 술에 관한 기록은 『新增東國輿地勝覽』 濟州牧 風俗條의 文獻이 최초이며, 朝鮮朝 中宗(1520-21)때 金淨의 著述한 『濟州風土錄』에 “而稻絶小 土豪質陸地 而食力不足者 食田穀所以清酒絶貴 冬夏勿論用燒酒”라 引用되어 있으며, 李元鎮의 『耽羅志』 風俗條에도 “多用燒酒”라는 항목으로 기록되어 있다(현 등, 1983). 따라서 제주지역에서는 주로 좁쌀을 원료로 하여 술을 빚었으며, 土俗酒 중에는 한주(소주), 좁쌀약주(오메기술), 탁배기(濁酒), 강술이 있었고, 藥用酒 또는 기타제제주로 생이족발술, 생지황술, 토사자술, 소앵이술, 목마작쿨술, 강이술, 뱀술, 오미자술, 감글주 등이 口傳 또는 個人秘法으로 전해지고 있다.

제주지역 토속주에 대한 조사보고는 民俗學的인 측면에서 일부 소개되고 있는 실정이며(현 등, 1983), 釀造工學的인 내용이나 화학적인 분석 또는 미생물학적인 연구 등 학술적인 연구 보고가 전혀 없었으나, 康等(1987)은 家傳秘法으로 전래되는 오메기술의 釀造工程과 酒質에 영향을 미치는 성분에 관한 연구를 통하여 濟州土俗 좁쌀약주의 製造免許를 얻게되어 濟州民俗村에서 제조하기에 이르렀다.

그러나 지금까지 제주 토속주는 제조법이 단순하고 비위생적인 관리로 저장성이 없

으며, 酸敗가 용이하고, 양조효율이 떨어지며, 釀造者 및 釀造方法에 따라 품질이 일정하지 않아 대량생산에 의한 상품화가 어려운 실정이다. 이에 따라 과학적인 방법을 도입하여 제주 토속주를 양조함으로써 관광상품화는 물론 민속자원의 보존이 시급히 요구되고 있다.

藥酒에 관한 연구는 1906년 한국산 누룩에서 糖化力을 갖는 *Mucor*屬을 발견한 것(上野) 시초로 곡자의 효소력, 제조방법, 원료대체 등의 연구가 이루어졌으며, 1900년대 初 약 40년간은 미생물의 분리와 동정, 곡자, 주모, 술덧에 관한 기초적 연구가 수행되었으며, 1960년대에 들어서서 미생물학적, 생화학적 연구가 이루어졌다.

전분질의 液化 및 糖化作用에 관여하는 아밀라제는 α -amylase, β -amylase, glucoamylase의 3群으로 크게 나눌 수 있으며, 이들 각 효소의 특성은 미생물 또는 동식물 등의 효소원에 따라 다르기 때문에(Manner, 1962) 높은 효소활성을 갖는 균주의 선발과 효소생산 체계의 확립은 양조공업에 매우 중요하다.

1941년 Tokuoka가 *Aspergillus oryzae*의 배양액에서 glucoamylase의 존재를 보고한 후 *Asp. avamori*, *Asp. oryzae*, *Asp. niger*에 의해서 생산되는 glucoamylase를 각각 분리, 정제하여 효소의 화학적 조성과 작용기작 등 그 특성을 밝힌 바 있다(Watanabe et al., 1965, 1966; Morita et al., 1966; Ohga et al., 1966; Lineback, 1969). 또한, 李(1969)는 한국 곡자의 새로운 제조방법에 있어서 원료 소맥을 蒸強하는 방법과 순수배양 균주를 접종하는 방법을 검토하여 개방발효에 의해 제조되는 재래누룩의 비능율성을 보고하였다.

타주에서 분리, 동정한 균주중 *S. cerevisiae* group만이 알콜 발효능이 좋았고, 발효 48시간 경과한 술덧에서 優占種을 이룬 것으로 보아 양조의 주발효에 관여하였으며(金, 1970), 세균류는 발효중에 생성되는 유기산에 의하여 淘汰되나 야생효모는 대부분 술덧에 남아 발효과정과 주질에 영향을 준다고 하였다(龔, 1964; Ouchi et al., 1967; Takeda et al., 1967). 또한, 균주개발에 대한 연구는 곰팡이와 효모의 원형질 체융합에 의한 전분으로부터 직접 에탄올을 생산하는 시도가 있었으며(Sakai et al., 1986; Lee et al., 1989), 고생산성 에탄올 발효균주로 효모와는 다른양식으로 에탄올 저해를 받으며 고급알콜을 생성하는 경향이 낮은 *Zymomonas mobilis*를 酒精工業에 이용하는 연구가 있었다.(Rogers et al., 1981; Lee, 1982).

양조의 미생물학적 관리를 위하여 주정효모의 動態을 TTC agar 重層法으로 그 呈色

별에 따라 類別計數에 이용하였으며(Akiyama et al., 1967), 양조의 과학적 관리 및 품질향상을 위한 종합적인 기초연구로서 미생물학적, 효소학적인 연구를 한 바 있다(金, 1968). 李(1967)는 약탁주의 산도는 낮을 수록 아미노산도는 높을 수록 품질의 양호하며, 洪等(1970)은 술덧중 아미노산도 증가율의 감소는 유기산이나 휴젤유로 轉移되기 때문이며, 휴젤유의 생성을 최대한 억제시키는 것이 중요한 문제라 하였다.

釀造酒에서 품질의 우열은 원료의 화학성분, 양조에 관여하는 효모의 생리적 성질, 원료성분에서 발효가 진행되는 과정의 釀造特性 등에 의한 것으로 알려져 있다(이, 1977; 이 등, 1976). 또한, 양조주의 제조에 있어서는 발효 후 浮遊物을 빨리 침전시키므로써 양조주가 투명할 뿐만 아니라 양조주의 맛, 향기, 그리고 안정성을 유지할 수 있으며, 현탁된 효모를 침전물과 더불어 제거하므로써 양질의 발효주를 얻을 수 있다고 하였다(Cruess et al., 1955). 최근에 쌀 전분을 이용하여 무중자당화법으로 동시당화발효를 행한 결과, 독특한 맛과 원료의 생취(raw flavor)가 발효술덧으로 移行된 穀物固有의 향기가 있는 탁주를 제조한 바 있다(손 등, 1990).

좁쌀약주는 濟州道의 전통적인 民俗酒로서 口傳을 통한 個人秘法으로 전해 왔으나 이에 대한 기초적인 연구보고가 없어 産業化에 어려움을 겪고 있다. 따라서 본 연구는 原料의 特性, 優秀菌株의 選拔, 製造方法의 最適化 등 좁쌀약주의 最適釀造條件을 검토하므로써 이를 제주지역의 土俗酒로서 觀光商品化하는데 있다.

II. 實驗材料 및 方法

2.1 材 料

1) 釀造原料

제주지역에서 생산되는 1990년산 좁쌀(foxtail millet, *Setaria itarica* BEAUVOIS) 인 차조(glutinous millet)와 모조(non-glutinous millet), 그리고 쌀(*Oryza sativa* L.), 보리쌀(*Hordeum vulgare* L. emend. LAMARK)을 사용하였으며, 양조용수로는 지하수(아라동)를 사용하였다.

2) 供試菌株

제주대학교 농화학과 생물공학 연구실에 보존중인 전분당화력이 강한 곰팡이와 알콜 발효능이 큰 효모균주를 사용하였다. 이외에도 제주지역에서 市販되는 在來式 누룩(10점), 회사제품 곡자(3점), 醱酵化學研究所(경기도 수원)에서 제조한 種麴(2점)을 試料로 하였다. 분쇄한 시료를 멸균수로 희석 후, Czapeck-Dox 배지를 이용하여 집적배양법으로 순수분리한 다음 Malt extract agar 사면배지에 배양하여 供試菌株로 하였다 (Table 1).

Table 1. Strains used in this experiments

Strains		The number of strains
Type culture	molds	7
	yeasts	15
Isolated strain	molds	9
	yeasts	13

2.2 實驗方法

1) 原料의 成分分析

양조원료인 좁쌀, 쌀, 보리쌀의 일반성분 분석은 常法(小原, 1973; 酒稅實務要覽, 1975)에 준하여 분석하였으며, 총당은 0.7N HCl로 가수분해한 다음 Somogyi-Nelson법(Hatanaka and Kobara, 1980)에 의해 정량하였고, 조단백질은 Micro-Kjeldahl법으로 분석하였다.

2) 優秀菌株의 選拔

澱粉糖化力이 강한 優秀菌株를 선별하기 위하여 공시균주를 밀기울 10g에 수도물 8ml를 가하여 멸균한 밀기울배지에 접종하여 30°C에서 5일간 배양하였다. 밀기울량에 대하여 20배의 증류수를 가하여 38°C, 3시간 동안 추출·여과한 다음 6,000g에서 10분간 원심분리시켜 얻어진 상정액을 粗酵素液으로 하였으며, toluene 1ml를 가한 후 4°C에 냉장보관하면서 사용하였다.

조효소액의 가용성 전분에 대한 酵素活性은 Lane-Eynone법을 변형한 방법(小原, 1973)에 의해 측정하였다. 2% 가용성 전분 5ml와 0.1N acetate buffer(pH 5.0) 4ml에 조효소 희석액 1ml를 가하여 50°C에서 30분간 반응시켰다. 100°C 수욕조에서 5분간 처리하여 효소를 불활성시킨 후 유리되는 환원당량을 측정하여 전분당화력이 강한 우수균주를 1차 선별하였으며, 각각의 균주를 배양한 밀기울 koji 1g에 대하여 1분간 유리되는 포도당의 mg수를 1 unit로 표시하였다.

우수균주의 좁쌀에 대한 糖化特性은 분쇄한 차좁쌀 0.5g에 증류수 4ml를 가하여 증자한 다음 조효소액 1ml를 가하여 50°C에서 30분간 반응시킨 후 생성되는 환원당량을 측정하므로써 효소가 양조기질에 미치는 영향을 검토하였다. 반응액중의 환원당 함량은 Somogyi-Nelson법에 의해 정량하였으며, 조효소액의 단백질 함량은 BSA(bovine serum albumin, Sigma)를 표준단백질로 하여 Bradford방법(Bradford, 1976)으로 분석하였다. 효소활성단위는 조효소액 1ml가 1분간 가용성 전분에 작용하여 유리되는 포도당의 mg수를 1 unit로 표시하였다.

조효소액의 최적반응온도는 20°C부터 5°C 간격으로 80°C까지 측정하였으며, 2% 가용성 전분 0.5ml와 0.1N acetate buffer(pH 5.0) 0.4ml를 가한 후 각각의 온도에서 5분간 예열한 다음 조효소 희석액 0.1ml을 가하였다. 정확히 10분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 측정하여 각 온도에 대한 영향을 상대활성으로 나타내었다. 조효소액의 pH영향에서 pH 3.6-5.6사이는 0.1N acetate buffer, pH 5.6-8.0사이는 0.1M phosphate buffer를 사용하였으며, 50°C에서 10분간 반응시킨 후, 앞에서와 같이 측정하였다.

양조용 우수효모의 선발에 있어서는 공시균주를 Hayduck 장치한 Table 2의 培地 100ml(朴 等, 1984; Kim et al., 1990)에 접종하여 28°C 3일간 후라스크 배양을 하였다. 발효중에 발생하는 탄산가스의 방출량은 증량법으로 측정하였고, 발효후에 생성된 에탄올 함량은 Gas Chromatograph(PYE Unicam 304, Philips)로 분석하였다. 분석조건은 A.O.A.C.법(15th) 및 Ryu와 Kwon(1982)의 사용한 방법을 변형하였으며, column은 25m Quartz capillary-FFAP(vitreous silica, liquid phase), detector는 F.I.D.를 이용하였다. column 온도 55°C, injection port 온도 250°C, detector 온도 280°C로 하였으며, injection volume은 0.5 μ l, carrier gas로 수소(flow rate 6.8ml/min)를 사용하였다. 가용성 고형물(Brix)은 Abbe굴절계(Atago, Japan)로, pH는 pH meter(Orion 520A, USA)로 측정하였다.



3) 좁쌀약주용 곡자의 제조

Fig.1은 제주지방에 전해오는 오메기술 제조에 이용되는 누룩의 製造過程을 나타내었다. 밀을 맷돌에 갈아 일정한 크기로 성형하여 20-30일 정도 구석진 곳에 쌓아서 발효시켜 참누룩을 만들었으며, 보통 초가을(음력 8월)에 제조한 것이 가장 좋다고 전해지고 있다.

Table 2. Composition of fermentation broth

Glucose	100.0 g	Yeast extract	2.0 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2.0 g	KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5 g	CaCl ₂ 6H ₂ O	0.05 g
pH	5.8	Distilled water	1.0 L

제주토속 좁쌀악주용 곡자는 당화력 및 발효능을 검정하여 우수균주로 선발한 *Aspergillus oryzae*를 전분 당화균으로, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274를 양조효모로서 사용하여 Table 3의 배지(鄭, 1985)에 접종시켜 種菌培養을 한 다음 3%(w/v)혼합종균 분무액을 조제하였다.

본 실험에 사용한 곡자는 재래법(Fig. 1)으로 하지않고, 鄭(1970)의 방법을 변형하여 Fig. 2와 같이 밀가루:차좁쌀가루:밀기울을 45:45:10의 비율로 잘 혼합하여 성형한 후 증자한 다음 혼합종균 분무액을 살포하여 28°C에서 5일간 발효시켜 粉麴型 곡자를 제조하였다.



Fig. 1. Flowsheet of manufacture of traditional Nuruk

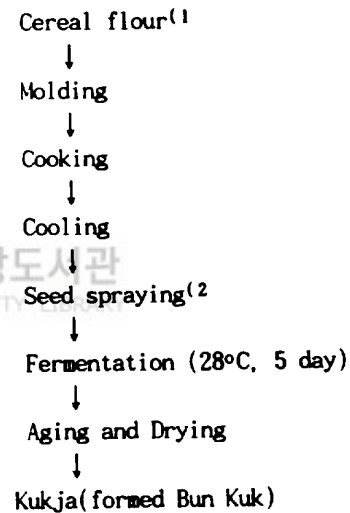


Fig. 2. Flowsheet of manufacture of Kukja for millet wine-making

1) Cereals flour was consisted of foxtail millet flour 45 g, wheat flour 45 g, wheat bran 10 g, and tap water 80 ml.

2) *Asp. oryzae* isolated and *S. cerevisiae* IAM 4274 was used.

4) 좁쌀약주의 製造方法

제주지방의 土俗酒로서 현재 口傳으로 전래되고 있는 오메기술의 釀造工程圖는 Fig. 3에 요약하였으며, 오메기술의 제조방법을 토대로 사라져 가는 토속주의 재현 및 주질 향상을 위하여 Fig. 4와 같이 제주토속 좁쌀약주를 제조하였다.

좁쌀(차조, 모조)을 15시간 浸漬(20°C)하여 충분히 吸水하도록 하였으며, 증자기에 서 120°C, 30분간 증자하여 전분질의 호화를 유도하였다. 증자 후에 고두밥이 잘 풀어 지도록 하여 혼합곡류:물:곡자를 1:2:0.15의 비율로 혼합하여 醱酵曹(10L)에 넣고 발효마개를 한 다음 20°C에서 5일간 熟成시켜 술밑(primary mash)을 제조하였으며, 술밑의 함량은 20%로 하였다.

같은 방법으로 제조한 좁쌀 고두밥에 2배량의 물을 가하여 슬덧담금(main mash)을 하였으며, 양조원료에 따른 담금배합은 Table 4와 같이 단사입 발효를 하였다.

발효기간중에 양조실의 온도는 23°C ± 1을 유지하였으며, 담금 후 일정간격으로 시료를 채취하여 당농도, 에탄올, pH, 산도를 측정하였다. 가수량에 따른 주정농도와 pH는 발효가 끝난 후의 슬덧을 여과하여 시료로하였다.

Table 3. Medium composition and cultivation condition for seed culture

	Brewing yeast (<i>S. cerevisiae</i> IAM 4274)	Saccharifying mold (<i>Asp. oryzae</i>)
Medium Composition	Yeast extract 3 g	Wheat bran 30 g
	Malt extract 3 g	Foxtail Millet 10 g
	Peptone 5 g	ZnSO ₄ · 7H ₂ O 0.01 g
	Glucose 50 g	FeSO ₄ · 7H ₂ O 0.01 g
	Tap water 1000 ml	Tap water 40 ml
	pH 5.6	pH 5.8
Cultivation Condition	30°C	30°C
	3 day	7 day

醱酵終了는 발효조내에 탄산가스의 발생이 매우 완만해지고 고형물이 침전되어 층이 분리되는 시기로 하였으며, 200mesh 나일론포로 압착여과한 후 다른 용기에 옮겨 실온에서 熟成시켰다.

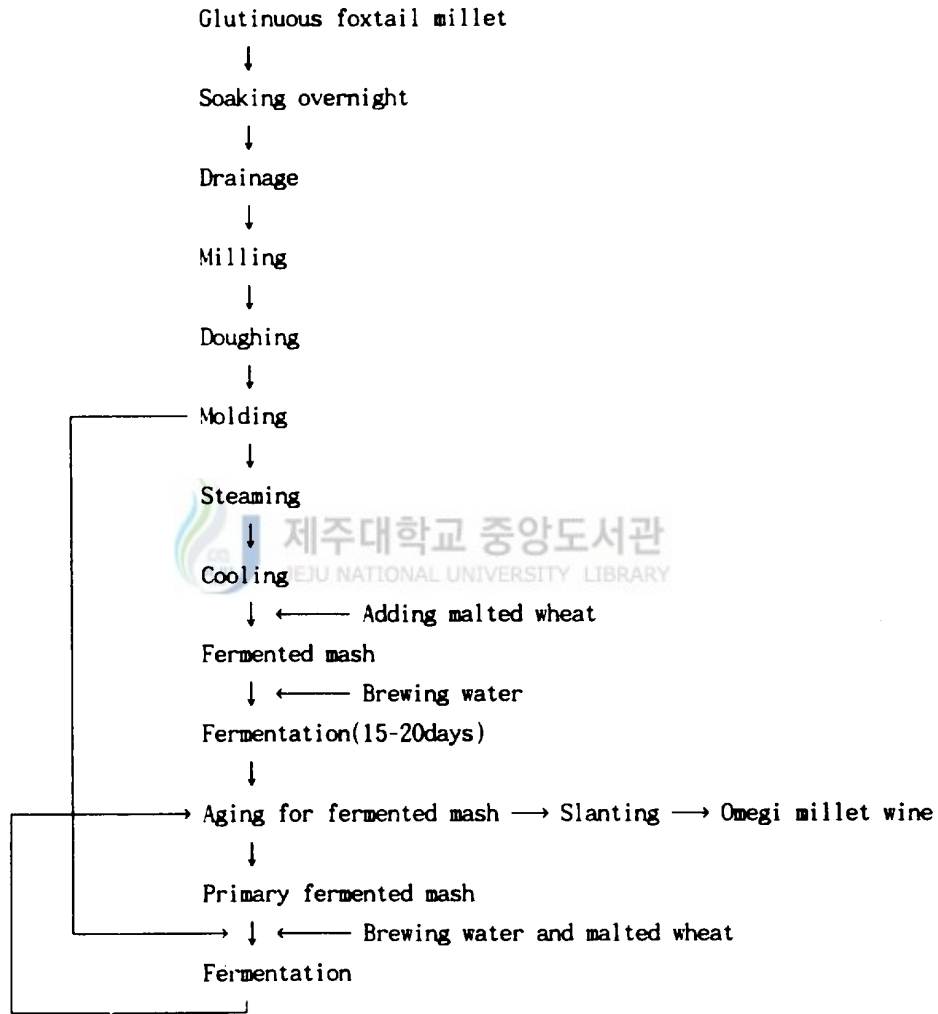


Fig. 3. Flowsheet of traditional millet wine-making(Omegisul)



Fig. 4. Flowsheet of millet wine-making

Table 4. Brewing method of different foxtail millet

Mash compositions		Glutinous millet(100%)	Nonglutinous millet(100%)	Millet(90%) + rice(10%)	Millet(90%) + barley(10%)
Primary mash (20%)	cereals	G.M. * 600 g	NG.M. ** 600 g	G.M. 540 g rice 60 g	G.M. 540 g barley 60 g
	kukja	90 g	90 g	90 g	90 g
	water	900 ml	900 ml	900 ml	900 ml
Main mash (80%)	creals	G.M. 2,400 g	NG.M. 2,400 g	G.M. 2,160 g rice 240 g	G.M. 2,160 g barley 240 g
	kukja	360 g	360 g	360 g	360 g
	water	4,800 ml	4,800 ml	4,800 ml	4,800 ml

* G.M. : Glutinous millet

** NG.M. : Nonglutinous millet

5) 좁쌀藥酒의 成分分析

압착여과한 좁쌀약주는 숙성기간 중에 미세한 고형물이 침전되었으며, 맑은 상등액을 시료로 하여 분석하였다. 비중은 비중계로, 에탄올 함량은 Gas Chromatography와 蒸溜法에 의하여 측정하였다. 시료 100ml에 증류수 50ml를 가하여 증류법으로 증류액이 70~80ml가 되면 증류수를 가하여 100ml로 정용한 다음 주정계로 측정한 후 15°C에서의 酒精度로 환산하였다.

총산 및 휘발산, 엑스분, 휴젤유, 아미노산도(Amino acid value)는 각각 국세청 기술연구소 주류분석법(韓國稅政新報社, 1975)에 준하여 분석하였다. 총산은 시료 10ml를 후라스크에 취하여 혼합지시약(bromothymol blue 와 neutral red)을 가한 후 0.1N NaOH 용액으로 적정하여 succinic acid 함량으로 환산 하였으며, 揮發酸은 시료 20ml를 수증기증류하여 증류액을 약 150ml 받아서 0.1N NaOH용액으로 적정하고 acetic acid 함량으로 하였다.

메탄올 함량은 에탄올 함량을 약 5.5%로 조절한 시료 2ml를 후라스크에 취하여 ice

bath에서 냉각한 후 예냉한 3% KMnO_4 2ml를 가하여 30분간 정치한 다음 극소량의 NaHSO_3 로 탈색하여 5% chromotropic acid 1ml와 진한 H_2SO_4 15ml를 가하여 60-75°C 항온수조에서 15분간 반응시킨 후 냉각하고 증류수를 가하여 50ml로 정용한 다음 575nm에서 비색정량하였다(A.O.A.C., 1975).

탄수화물 분석에 있어서 총당은 25% HCl 용액을 가하여 산 가수분해한 다음 2.5N NaOH 용액으로 중화 후 환원당을 정량하였으며, 환원당은 Somogyi-Nelson법으로 측정하였다. 당 및 유기산의 분석은 HPLC(Waters Model 246, USA)을 이용하였다. 시료를 0.45 μm membrane filter로 여과시킨 후 사용하였으며, 분석조건은 Table 5에 나타내었다(조 등, 1991; A.O.A.C, 1990; 高等, 1989; 李等, 1984). 당 및 유기산의 함량은 동일 조건하에서 실시한 표준용액과 비교하여 정량하였다.

좁쌀약주의 混濁度 평가는 분광광도계(PYE Unicam PU 8650, 영국)를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 OD₆₆₀으로 표시하였으며, 肉眼에 의한 官能評價를 겸하였다.

5) 官能檢査

제주대학교 농화학과 학생 및 대학원생 중에서 27명의 관능검사자를 選定하고 양조 원료를 달리하여 제조한 좁쌀약주를 시료로하여 관능검사를 실시하였다. 評價項目을 외관, 향기, 맛 및 종합기호도로 구분하였으며, 차조(100%)로 제조한 약주를 標準試料로 사용하여 5단계 다시료비교법(multiple comparison)으로 평가하였다. 표준시료보다 매우 좋다는 5점, 차이가 없다는 3점, 매우 나쁘다는 1점으로 표시하고 평균치를 구하여 비교하였다.

Table 5. Operating conditions of HPLC for analysis of sugars and organic acids

	Sugars	Organic acids
Column	Carbohydrate analysis	μ -Bonda pak C ₁₈ (3.9m x 30cm)
Detector	RI-4X(R-401)	UV(214nm)
Mobile phase	Acetonitril:Water(80:20, v/v)	0.2M KH_2PO_4 (pH 2.4)
Flow rate	1.0 ml/min	0.8 ml/min
Chart speed	0.5 cm/min	0.5 cm/min
Injection volume	5.0 μl	2.0 μl

Ⅲ. 結果 및 考察

3.1 釀造原料의 特性

釀造原料로 사용한 곡류의 일반성분은 Table 6과 같다. 좁쌀은 쌀에 비하여 탄수화물 함량이 적었으며, 조섬유 함량은 쌀과 보리쌀의 중간정도였다. 또한, 알갱이가 작고 겹질이 단단하여 관행적인 침지와 증자만으로는 전분질의 노출이 어려운 특징이 있다.

단백질과 무기질이 많을 경우 젖산균과 초산균 증식이 일어나기 쉬워 酒質을 떨어뜨릴 수 있는데 다른 원료보다 차조가 이의 함량이 많았다. 조지방 함량은 쌀과 보리쌀보다 3배 정도가 많아 발효 후에 지질산화에 의한 산패가 우려되었다.

이상의 결과에서 다른 양조원료에 비하여 좁쌀은 蒸煮 후에 대부분 단단한 입자형태가 그대로 유지되며, 발효 후에도 일부는 당질상태로 남아 있어 제성율이 떨어지며, 대량처리할 경우에 발효중 산패취가 발생하는 결점을 가지고 있는 것으로 보인다.

좁쌀의 호화온도가 85°C로 쌀 및 보리쌀의 80°C보다 높은 점을 고려하여 증자시간을 고온(120°C)에서 30분간 처리하여 호화를 용이하게 하였다. 쌀 입자의 중심부까지 호화되는 시간이 15분(金等, 1990)인 점을 감안할때 좁쌀을 충분히 호화시키는데는 증자시간을 연장하는 것이 필요하였다.

Table 6. Chemical compositions of cereals used in this experiments(%)

Cereals	Moisture	Carbohydrate (non-fibrous)	Crude fibre	Crude Protein	Crude fat	Ash
Nonglutinous-foxtail millet	13.21	72.58	0.40	9.41	3.08	1.32
Glutinous-foxtail millet	13.25	71.27	0.43	10.28	3.47	1.28
Rice	12.76	78.02	0.30	7.74	0.62	0.48
Barley	13.77	73.21	0.60	9.88	1.35	0.65

좁쌀이 가지고 있는 原料特性으로 제성율이 떨어지고, 내용성분에 의한 주질저하 등의 문제점을 해결하기 위해서는 충분한 침지 및 증자에 의한 당질의 노출, 당화력 및 발효력의 강한 곡자 사용, 가수량을 높이는 방법 등의 요구되었다.

3.2 優秀菌株의 選拔

供試菌株를 이용한 밀기울 koji의 전분당화력은 Table 7과 같으며, 우수균주를 배양한 후 얻어진 조효소액의 효소활성 및 좁쌀에 대한 당화력은 Table 8과 같다. 전분당화력에서는 *Trichoderma viride* IAM 5141가 비교적 높았으나, 이는 Amylase외에 cellulase활성에 의한 것으로 추정되었으며(李 等, 1976), 좁쌀에 대한 당화력은 *Aspergillus awamori* IAM 2299가 가장 좋았다.

Table 7. Saccharifying activity of crude enzyme on soluble starch

Strain	Enzyme activity*	Strain	Enzyme activity
<i>Aspergillus awamori</i> IAM 2299	70.65	M-243***	63.16
<i>Asp. awamori</i> 86804	31.85	M-251	10.75
<i>Asp. oryzae</i> IAM 2603	8.00	M-258	13.64
<i>Asp. oryzae</i> 86804	27.96	M-259	15.62
<i>Asp. niger</i> IAM 2093	18.16	M-263	10.21
<i>Rhizopus javanicus</i> IAM 6028	10.90	M-264	48.23
<i>Trichoderma viride</i> IAM 5141	74.52	M-271	44.35
<i>Asp. oryzae</i> **	122.40	M-272	30.10

* Enzyme activity is expressed as 1 unit liberated 1mg glucose/min from soluble starch with 1g of cultivated wheat bran.

** Strain isolated from malted wheat of Institute of Fermentation Chemistry(Suweon).

*** M represents mold strain isolated from malted wheat.

발효화학연구소(수원)의 種類에서 분리한 균주인 *Aspergillus oryzae*를 배양한 밀기울 koji의 당화력이 가장 높았으며, 단백질 함량이 *Aspergillus awamori* IAM 2299보다 낮았으나 조효소활성은 2배 정도 높았고, 좁쌀당화력에 있어서도 차이가 없었다. 그러나 제주지역에 市販되는 곡자 중에서 분리한 균주는 전분당화력 및 좁쌀에 대한 당화력이 대체로 약하였으며, 이를 사용하여 제조된 토속주는 제성율이 떨어지고 주질저하가 우려되었다.

전분당화균 중에서 효소활성이 우수한 *Aspergillus oryzae* 86804, *Aspergillus oryzae*, *Asp. awamori* IAM 2299를 배양한 후 이들 조효소액의 가용성 전분에 대한 반응온도와 반응 pH의 영향은 Fig. 5와 Fig. 6과 같다. 조효소액의 온도와 pH에 대한 영향은 50-60°C, pH 4.8-5.5에서 각각 최대활성을 보였는데, *Asp. sp.*가 생산하는 효소의 최적 pH는 4.0-6.5였다(Alazard and Raimbault, 1981)는 보고에 부합하였다.

Asp. awamori IAM 2299와 *Asp. oryzae* 86804는 70°C의 비교적 높은 온도에서도 높은 활성을 유지한 반면, 30°C이하에서는 활성이 상당히 떨어졌다. 또한, pH 7.0 이상에서 대부분 효소활성은 급격히 저하하였으며, *Asp. oryzae* 86804는 산성측에서 효소활성이 높았다.

Table 8. Enzyme activity of crude enzyme on soluble starch and foxtail millet

Strain	<i>A. awamori</i> IAM 2299	<i>A. oryzae</i> 86804	<i>A. oryzae</i> IAM 2603	M-243	M-271	<i>A. oryzae</i> *
pH	6.05	6.58	6.77	4.60	5.60	6.91
Enzyme activity**	3.87	2.59	1.51	1.12	0.71	6.12
Protein(mg/ml)	0.74	0.49	0.54	0.42	0.28	0.62
Reducing sugar(%) liberted from millet	19.34	13.31	12.24	5.72	3.17	19.10

* Strain isolated from malted wheat of Institute of Fermentation Chemistry(Suweon)

** Enzyme activity is expressed as 1 unit liberated 1mg glucose/min.ml from soluble starch with crude enzyme solution.

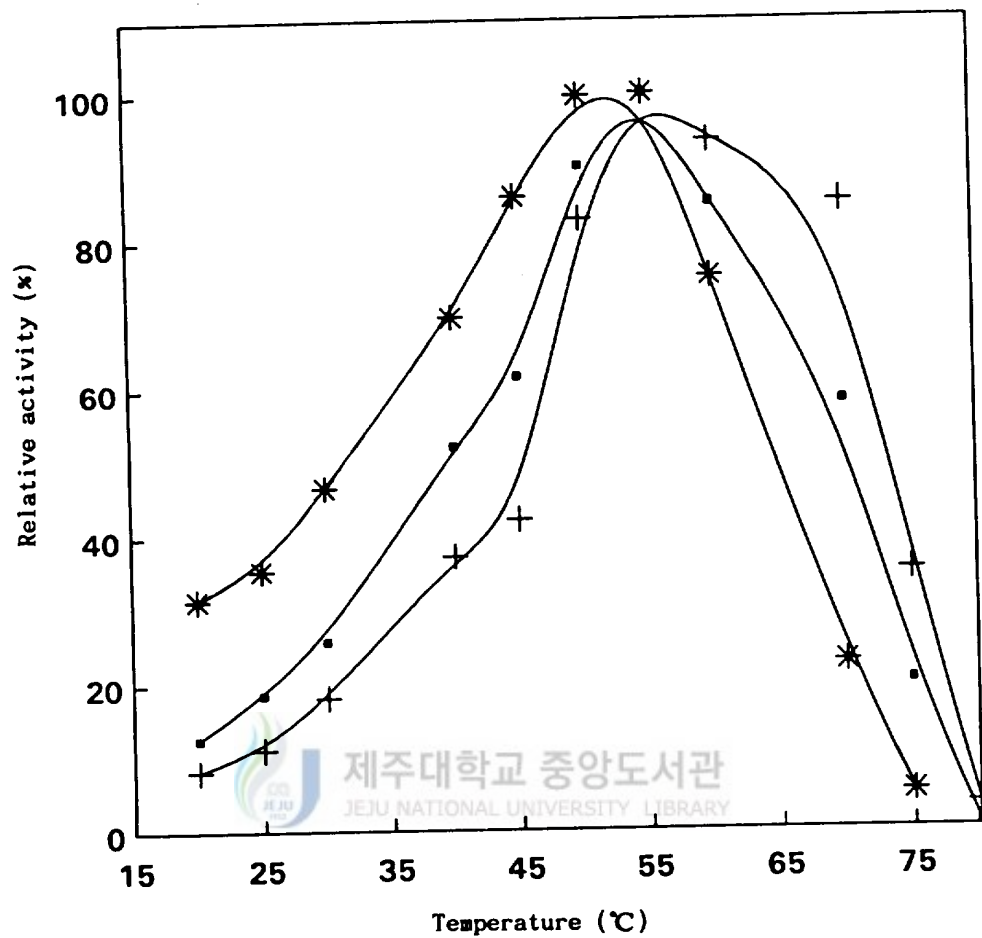


Fig. 5. Effect of reaction temperature of crude enzyme on saccharifying activity of soluble starch

- — ■ *Aspergillus awamori* IAM 2299
- + — + *A. oryzae* 86804
- * — * *A. oryzae* isolated from malted wheat

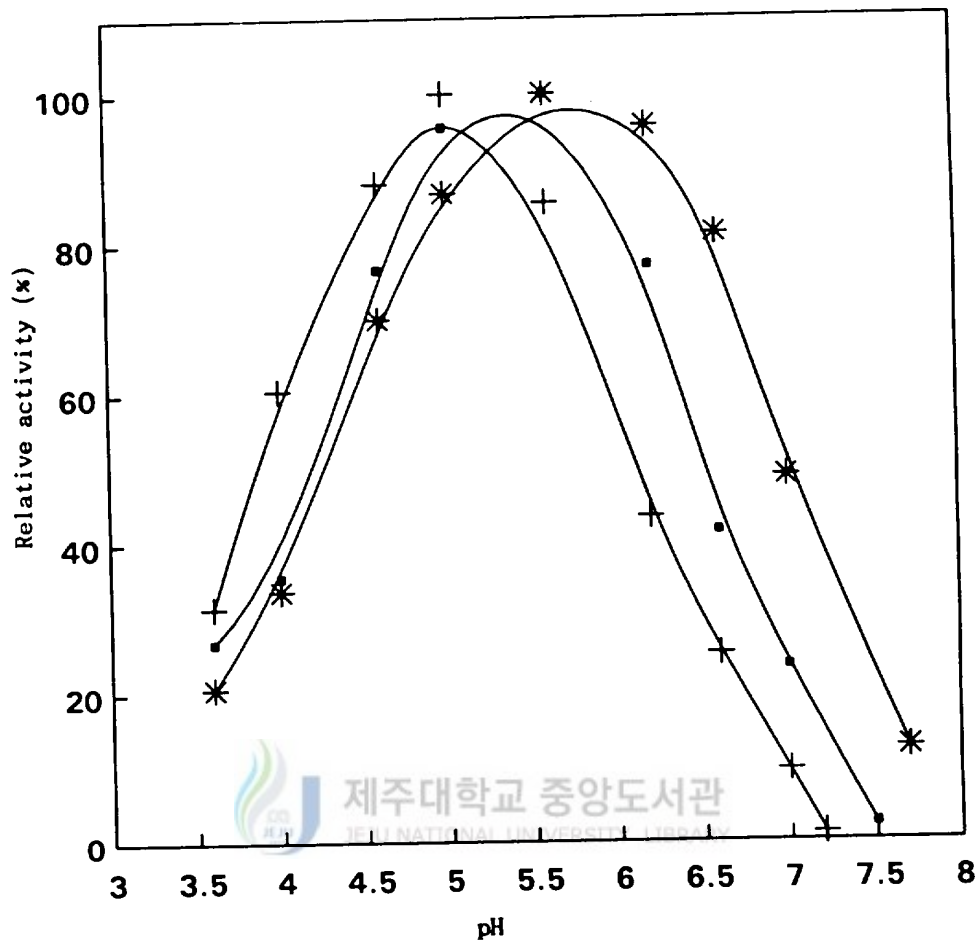


Fig. 6. Effect of reaction pH of crude enzyme on saccharifying activity of soluble starch

- — ■ *Aspergillus awamori* IAM 2299
- + — + *A. oryzae* 86804
- * — * *A. oryzae* isolated from malted wheat

보존균주인 *Aspergillus awamori* IAM 2299는 발효온도인 20°C와 25°C에서 당화활성이 최적온도에 비하여 각각 12.6%와 18.6%에 불과하지만 분리균주인 *Aspergillus oryzae*는 31.4%와 35.4%를 유지하여 비교적 좁쌀당화가 원만히 이루어지는 것을 알 수 있었다. 전통식품으로서 좁쌀약주의 개발은 좀더 체계적인 연구를 통하여 지속적인 우수균주의 탐색과 오메기술의 독특한 風味을 지니며, 주질을 향상시킬 수 있는 균주선발이 필요할 것으로 보인다.

따라서 본 실험의 당화용 균주로 *Aspergillus oryzae*를 選定하였으며, 가용성 전분에 대한 최적반응조건은 55°C, pH 5.6이었다. 좁쌀약주의 제조에는 *Asp. oryzae*를 접종하여 제조한 粉麴型 곡자를 사용하였다.

양조용 효모의 선발 결과는 Table 9와 같다. 공시균주중 분리균주는 대부분 에탄올 생성이 적었으며, pH가 낮아서 유기산 발효가 강함을 알 수 있었다. *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274, *S. cerevisiae* IFO 0243, *S. uvarum*(*cerevisiae*)이 에탄올 생성과 CO₂ 배출량이 많은 것으로 나타났다. 이 중에서 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274는 감귤발효주 생산(高等, 1989)에 있어서도 우수 균주로 선정되어 그의 생리적인 성질을 잘 알 수 있으며, 당의 이용성과 유기산 생성이 많은 점 등을 고려하여 본 실험에서의 釀造酵母로 選定하였다.

3.3 좁쌀약주의 製造



좁쌀약주의 제조는 양조실의 온도를 22-24°C 유지하여 발효시켰다. 품온의 변화는 Fig. 7과 같이 발효초기부터 급격히 상승하여 24시간에 최고품온인 30°C에 도달하였으며, 이후 일정한 품온을 유지하면서 서서히 감소하였다.

품온의 상승은 효소에 의한 전분질의 당화가 진행되면서 알콜발효에 의한 발효열에 기인하며, 12-48시간 사이에 당화와 발효작용이 왕성하게 이루어졌다. 발효 5일째에는 양조실의 온도와 차이가 없었고, 탄산가스방출 빈도가 매우 적어 발효가 끝나감을 알 수 있었다.

효모에 의한 알콜발효에서 약 40°C까지는 세포성장속도와 에탄올 생성속도가 증가하나(Cysewski, 1976), *Saccharomyces* 균주를 사용하는 발효에서 고농도의 에탄올을 얻을 수 있는 최적발효온도는 에탄올에 의한 저해작용으로 효모의 성장을 위한 최적온도

보다 낮은 20-25°C라고 했다(Stokes, 1970; Ryu and Kwon, 1982; 김과 유, 1989).

Table 9. Screening of yeast for millet wine-making

Strain	CO ₂ (g)	EtOH(%)	Brix(°)	pH
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IAM 4274	4.05	6.16	3.3	3.32
<i>S. cerevisiae</i> IAM 4512	3.38	5.35	3.2	4.45
<i>S. cerevisiae</i> IAM 42940	3.20	5.22	3.2	4.46
<i>S. cerevisiae</i> IFO 0243	3.50	6.05	3.2	4.65
<i>S. cerevisiae</i> IFO 7056	3.43	5.44	3.2	4.33
<i>S. uvarum</i> IFO 1167	3.45	6.13	3.2	3.56
<i>S. uvarum</i> IFO 0565	3.41	6.18	3.2	3.59
<i>S. rosei</i> IAM 4991	3.44	5.93	3.2	4.06
<i>Shizosaccharomyces pombe</i> IAM 4863	0.81	4.85	6.7	4.13
<i>Kluyveromyces fragilis</i> IFO 0288	1.74	5.85	3.5	4.22
<i>K. fragilis</i> IAM 12237	2.72	5.87	3.5	4.13
<i>K. marxianus</i> IAM 4985	3.41	5.02	3.2	4.34
<i>Debaryomyces cantarellii</i> IAM 12208	3.16	6.22	3.2	4.00
<i>Torulopsis colliculosa</i> IAM 4426	4.01	6.00	3.2	4.22
<i>Candida kefyr</i> IAM 12195	3.10	4.73	3.2	4.31
Y-201*	3.42	2.30	2.9	3.93
Y-202	1.69	2.99	3.2	4.01
Y-204	2.48	3.07	2.8	3.75
Y-206	1.94	2.89	3.1	3.65
Y-207	2.01	3.79	3.2	4.13
Y-209	2.72	2.05	3.0	4.07
Y-210	1.99	2.16	3.2	4.12
Y-211	1.13	1.69	4.7	2.99
Y-213	3.30	1.38	2.7	3.91
Y-215	1.29	2.32	4.2	2.77
Y-216	3.02	1.15	2.7	3.93
Y-217	3.00	2.80	2.7	3.90
Y-220	3.40	5.86	3.2	3.55

* Y represents yeast strain isolated from malted wheat.

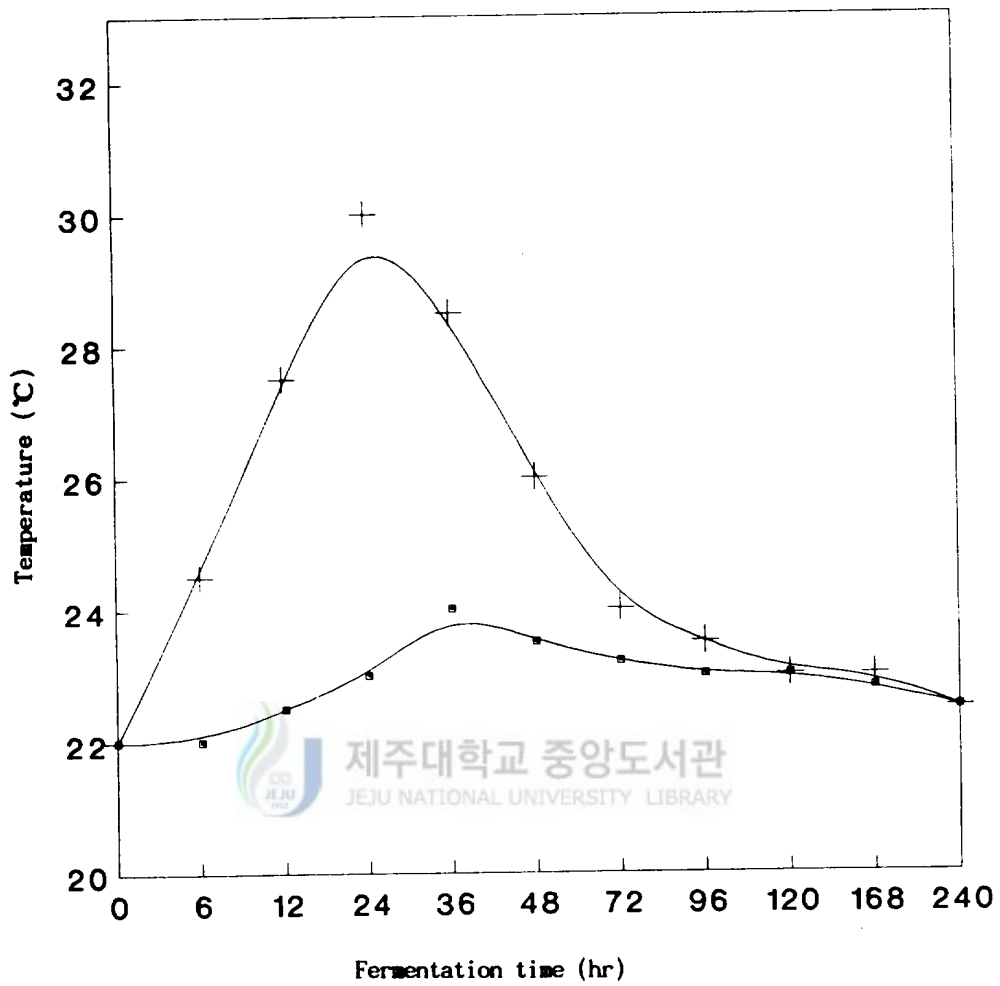


Fig. 7. Change of mash temperature according to room temperature during fermentation

+ — + : Mash temperature ■ — ■ : Room temperature

따라서 발효초기 효소의 활성화와 효모의 증식을 위하여 양조실의 온도를 25°C로 약간 높게 하고 발효 24시간 후에 20-22°C로 조절하여 발효균주의 알콜 내성조건으로 이끌어 주면 발효 그 자체에 의한 품온의 변화에 의해서 자연적으로 양조환경에 알맞게 접근된다고 판단되었다.

양조원료에 대한 加水量을 달리하여 주발효가 끝난 후의 에탄올 생성과 pH의 변화는 Fig. 8과 같다. 가수량이 커짐에 따라 에탄올 생성은 負의 상관관계를 나타내었으며, 에탄올 농도를 13.0%이상 유지하기 위해서는 원료에 대한 가수량을 250%이내로 할 필요가 있었다.

발효액의 pH는 가수량을 200%이상 높였을 때 변화가 적었으며, 이는 원료의 농도에 의한 것보다 발효작용의 차이에 기인한 것 같았다.

가수량을 200%로 조절하여 양조원료의 처리에 따른 에탄올 생성 및 당농도의 경시적 변화는 Fig. 9와 같다. 당농도는 12시간을 前後하여 심한 변화를 나타내었다. 초기 당의 생성은 품온의 증가에 따라 급증하여 12시간 후에 최대값을 보였다. 洪等(1968)이 8시간 전후하여 환원당 함량이 최대치를 나타낸다고 보고한 것 보다 지연된 것은 원료의 糖化特性에 기인하는 것으로 보이며, 이는 副原料로 10% 쌀을 혼용한 경우에 당의 생성이 빠른 것으로 보아 알 수 있었다.

당농도가 100g/L 이상되면, 효모는 기질에 의한 저해를 받는데(Novak et al., 1981) 차조 단용시 110g/L, 쌀 혼용시 122g/L을 유지하는 시간이 짧아 이에 대한 영향은 없을 것으로 판단되었다. 에탄올 생성은 12시간 후에 3.0-3.5%(v/v)로 발효초기 1.6-1.8%(v/v)에 비해 농도증가가 遲滯 되는 것으로 보아 효모가 슬릿환경에 적응하면서 菌體增殖을 위해 당을 이용하는 것으로 보였다.

발효 12-48시간동안 당은 110-122g/L에서 18-24g/L로 감소하였고, 에탄올 생성은 3.0-3.5%에서 10.96-9.64%(v/v)로 급격히 변화하였다. *S. cerevisiae*의 발효시간에 따른 변화는 당농도 110g/L까지 대부분 알콜로 전환되어 에탄올 생성의 증가하며(허 등, 1989), 당의 직선적인 감소는 원료전분에서 환원당으로 轉移하는 속도보다 당이 단위 시간당 에탄올로 轉換되는 양이 많은 결과였다(洪等, 1970; Kawaharada et al., 1970). 생성된 당을 HPLC로 분석한 결과는 대부분 glucose와 maltose 였으며(Table 10), 생성비는 약 4:1 이었고, 10% 쌀 혼용시에 당의 소모가 가장 많았다.

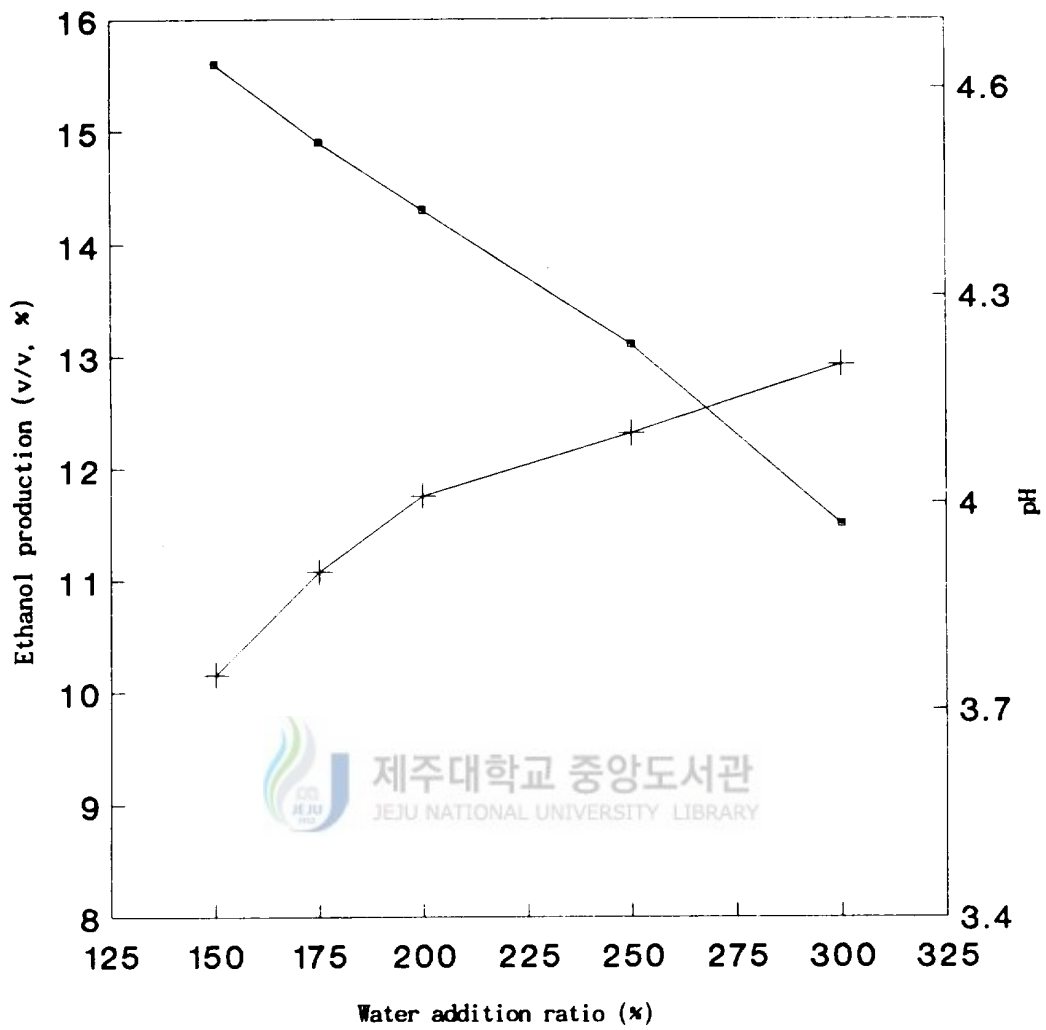


Fig. 8. Ethanol production and pH change according to water addition ratio

■ — ■ : Ethanol + — + : pH

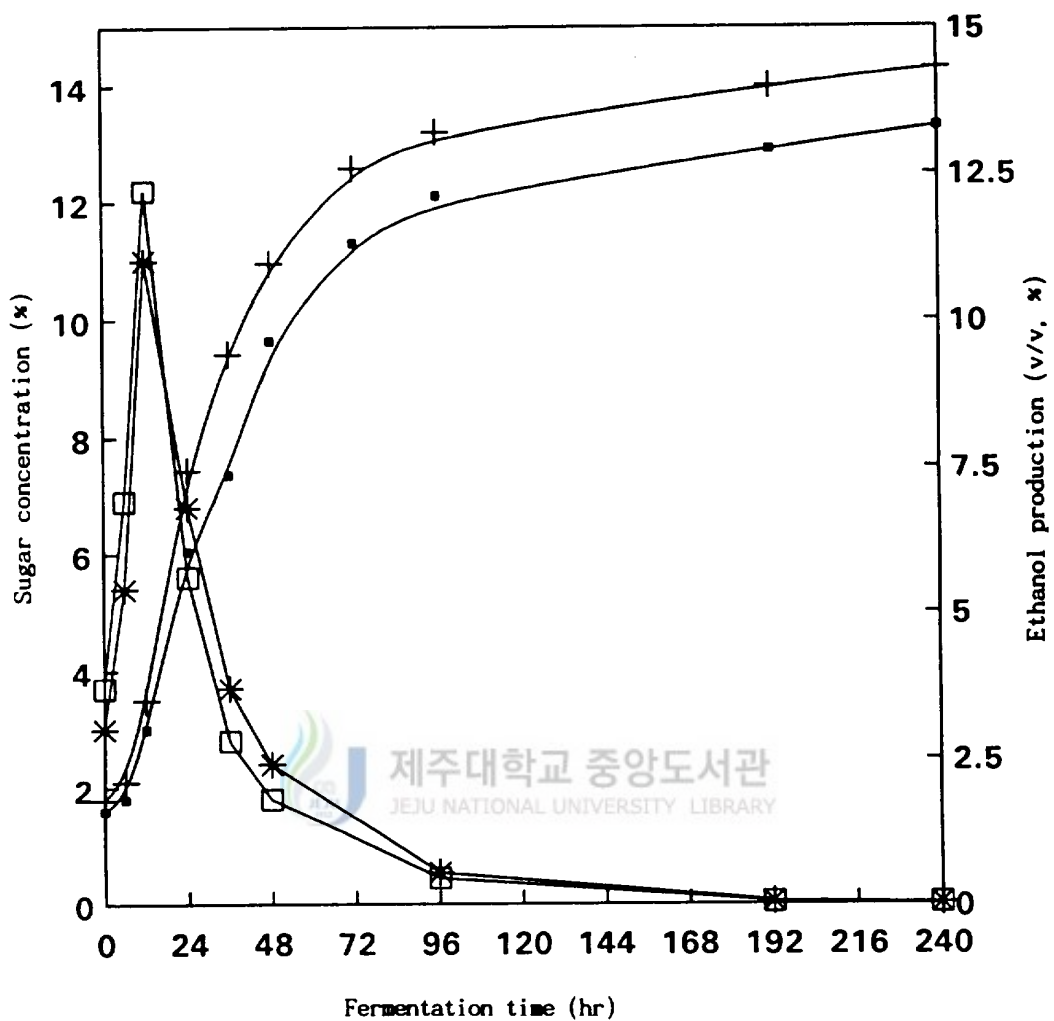


Fig. 9. Ethanol production and sugar consumption during fermentation
 Ethanol (■), sugar (*) with glutinous millet(100%)
 Ethanol (+), sugar (□) with glutinous millet(100%) and rice(10%)

발효기질에 대한 효소활성 및 효모의 대사활동이 발효기간중 최대로 이루어지는 동적평형(steady-state)양상의 뚜렷한 병행복발효가 진행되었으며, 당의 소모곡선이 36 시간에서 처음으로 지체되어 점차 기질의 고갈현상이 나타났고, 생성물의 급증으로 에탄올에 의한 저해(van Uden, 1985; Ingram and Buttke, 1984)가 예상되었다.

알콜 생성이 다른 곡류를 혼용할 때가 단용시보다 높은 것은 발효초기에 양조원료의 당화정도가 균주의 발효환경에 이어져 높은 균체중식을 유도한 결과(Nagodawithana et al, 1976)로 보이며, 대수기에서 대사활동의 총합이 당의 소모와 높은 알콜 생성으로 나타나는 균주의 발효시간에 따른 변화와 일치하였다.

효모는 에탄올 농도 11.4v/vx(= 90g/L)에서 균체의 성장이 저해되는 것으로 알려져 있다(Ghose and Tyagi, 1979). 발효후 48-96시간에 당의 소모곡선은 완만한 감소를 보였으나, 에탄올 생성은 계속 증가하여 거의 최대값에 도달하였다. 당 함량은 차조 단용시 0.54%, 쌀 혼용시 0.44%였으며, 에탄올 함량은 각각 12.1%, 13.2%로 혼용시가 높았으며, 기질의 함량과 생성물의 농도가 일정수준에 도달하여 醱酵終了를 나타냈다.

담금직후 pH는 5.45로 처리간에 차이는 없었으며, pH 및 산도를 결정하는 주요인은 곡자가 갖는 산의 침출, 술밑이 생성하는 유기산, 발효에 의한 유기산 생성에 기인(洪等, 1970)하는 것으로 발효중 pH변화를 측정하므로써 발효경과를 알 수 있었다.

Fig. 10은 발효기간중 시간에 따른 pH와 산도의 변화이다. 발효 6시간후 차조 단용시는 pH 4.43, 쌀 혼용시는 pH 4.25였다. 에탄올 발효에서 *S. cerevisiae*의 최적성장 pH는 4.2라고 보고하였는데(Eroshin et al., 1976), 부원료의 혼용이 단용할 때 보다 한 단계 빨리 술덧환경에 적응하여 발효가 진행됨을 알 수 있었다.

Table 10. Sugars composition after 24hr fermentation

%	Glutinous millet (100%)	Glutinous millet(90%) + Rice(10%)
Xylose	0.211	0.207
Glucose	5.382	4.364
Maltose	1.300	1.027
Oligosaccharide	0.206	0.362

차조 단용시에는 48시간, 쌀 혼용시에는 36시간에서 각각 pH 3.55, pH 3.60으로 pH가 가장 낮았으며, pH가 너무 저하하면 amylase 활성이 감소한다고(Takahara et al., 1966)하였는데, 이때 酵素活性이 저하가 예상되었다.

산도의 변화에 있어서 곡자단용시는 발효초기에 산생성이 현저히 저조하나 후기에 급증한다는 보고(李, 1967)와는 달리 粉麴型 곡자를 사용한 본 실험에서는 발효초기에 증가가 뚜렷하였으며, 이후 완만하게 증가하는 경향이였다

발효기간에서 pH의 저하로 인한 당화활성의 감소는 양조시 피할 수 없으므로 쌀과 같은 부원료 혼용에 의한 발효초기에 효모의 성장을 유도하므로써 높은 균체농도를 유지하는 것이 양조원료의 당화효율을 높임과 아울러 에탄올의 생성을 최대한 높이는 방법이라 생각되었다.

발효후기의 pH변화는 알콜농도 依存性이 뚜렷하였는데, 48-96시간 사이에 높은 에탄올 생성은 세포막의 疏水性을 약화시키고 극성을 증가시켜 細胞가 세포막 안팎의 濃度 區配를 유지시키지 못하여 용질수송(solute transport)에 관련된 계(system)에 의하여 에탄올이 세포밖으로 轉移된 결과이며, 에탄올 농도가 11%(v/v)이상으로 移行되면서 proton influx의 diffusion 상수가 증가하기 때문에 에탄올 농도가 증가함에 따라 pH가 증가한다는 사실과 일치하였다(Thomas et al., 1978; Nabais et al., 1988; Leão and van Uden, 1984).

발효초기에 pH와 산도의 변화가 뚜렷하였으나 후기에 급격한 변화없이 안정된 상태를 유지하는 것을 보아 술덧은 酸敗 및 異常醱酵가 없음을 알 수 있었으며, 쌀 혼용시가 차조 단용시 보다 pH와 산도의 변화가 양호하게 진행되었다.

3.4 좁쌀약주의 成分分析

발효가 끝난 후 발효액을 100mesh 나일론포로 압착여과하였으며, 미세한 고형물을 침전시킨 다음 맑은 상등액을 취하여 분석시료로 하였다. 양조원료에 따라 酒精濃度는 다소 차이가 있었으며 차조 또는 모조를 단독으로 사용한 경우는 주정농도가 각각 13.0%와 13.4%였으며, 양조원료의 10%를 쌀과 보리로 代替한 경우에는 14.3%와 14.0%로 높아졌다.

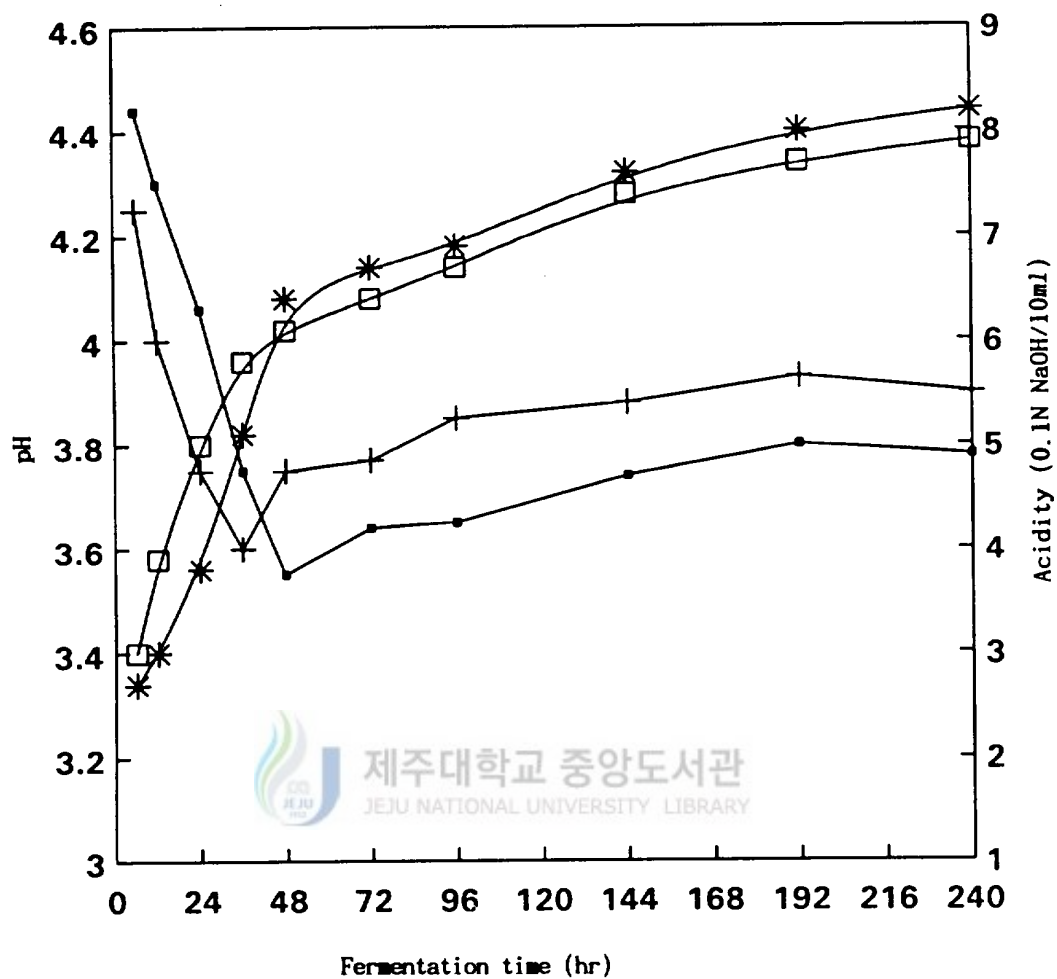


Fig. 10. pH and acidity change during fermentation
 Ethanol(■), sugar(*) with glutinous millet(100%)
 Ethanol(+), sugar(□) with glutinous millet(100%) and rice(10%)

濟州民俗村에서 제조하는 좁쌀약주의 면허조건에 일치시키기 위하여 숙성한 좁쌀약주에 後水를 가하여 주정농도를 11° 전후가 되도록 조절한 다음 성분분석을 실시한 결과는 Table 11과 같다. 약주의 성분은 같은 원료라도 발효미생물의 선택, 제조방법 및 지역에 따라 차이가 있으며(조, 1989), 각각 독특한 특징을 갖기 때문에, 표준을 정하는 것은 곤란하며, 제주지역 특성에 알맞는 좁쌀약주의 제조방법을 설정할 필요가 있을 것으로 보인다.

총산, 휘발산, 엑스분의 함량은 古來酒 중에서 술맛이 뛰어난 것으로 알려진 小麴酒의 성분(張과 劉, 1981)과 유사하였다. 당함량이 상당히 낮은 이유는 발효기간을 연장한 결과(Fig. 9)이며, 차조 단용시가 약간 높은 함량을 보였다. 산은 맛을 내는 중요한 성분의 하나로서 총산의 경우는 市販藥酒에 비하여 높은 편이었고, 모조(100%)와 보리쌀 10%을 혼용한 약주가 이의 함량이 다소 높았다.

Table 11. Chemical compositions of foxtail millet wine

Fermentation source	Glutinous-millet(100%)	Nonglutinous millet(100%)	Millet(90%) + rice(10%)	Millet(90%) + barley(10%)
Density	0.992	0.991	0.992	0.992
Ethanol(15°C, v/v%)	11.1	11.1	11.1	11.1
Total acidity as succinic acid(%)	0.49	0.53	0.47	0.55
Volatile acid as acetic acid(%)	0.03	0.05	0.04	0.05
pH	3.80	3.75	3.90	3.88
Amino acid value as glycine	0.20	0.21	0.26	0.29
Total sugar(mg/100ml)	1298.0	1050.0	1105.0	1098.0
Reducing sugar(//)	26.0	23.8	22.6	23.8
Extracts	4.18	4.70	4.49	4.44
Methanol(v/v%)	Trace	Trace	Trace	Trace
Fusel oil(v/v%)	0.03	0.04	0.02	0.03
Turbidity(OD ₆₆₀)	0.07	0.09	0.05	0.08

제성율을 높이기 위하여 발효기간을 연장하는 것 보다는 발효종료시기를 앞당겨 殘糖含量을 높여 약주 중의 酸味를 masking하므로써 기호성을 좋게하는 방법이 바람직 할 것으로 판단된다.

휴젤유는 각종 아미노산이 탈탄산과 탈아미노화에 의해서 생성되는 성분으로 白米와 소맥분을 이용한 탁주술덧 중의 50-70mg%이라는 보고(金, 1967)보다 적었으며, 메탄올 은 혼적량 검출되었다. 또한, 휴젤유는 약주의 향기성분으로 품질에 관여하며, 휴젤유 의 주성분인 iso-amyl alcohol의 경우 80-350ppm에서 최고의 쾌감을 나타낸다(鄭과 鄭, 1987)는 보고와 같이 좁쌀약주에 香味를 부여하는 것 같았다.

과량으로 존재할 때 인체에 유해한 성분인 메탄올, 휴젤유의 분석값은 國稅廳에서 규정한 약주의 기준값 보다 적어 약주로서 적당한 것으로 판정되었다.

제품의 저장에 있어 混濁度가 높은 약주는 양금이 밑으로 가라앉아 상품가치를 떨어 뜨리는데(오와 이, 1979), 대체로 투명하여 육안에 의한 구별은 어려웠으며, 쌀 혼용 시가 OD₆₆₀ 0.05으로 가장 좋은 결과를 보였다.

HPLC를 이용하여 분석한 좁쌀약주 중의 유기산은 주로 lactic acid와 malic acid였다 (Table 12). 張과 劉(1981))는 한국의 古來藥酒인 小麴酒의 주요 유기산은 lactic acid, fumaric acid, succinic acid이며, 밀가루를 원료로 한 탁주중의 대표적인 유기 산은 succinic acid라고(金, 1963) 하였으나, succinic acid함량이 낮았다.

Table 12. Organic acid contents of different foxtail millet wine(%)

Organic acid	Malic acid	Lactic and tataric acid	Succinic acid
Glutinous millet(100%)	0.12	0.21	0.04
Nonglutinous millet(100%)	0.13	0.27	0.06
Millet(90%) + rice(10%)	0.11	0.24	0.04
Millet(90%) + barley(10%)	0.13	0.30	0.07

이 등(1987)은 麹菌을 달리한 탁주양조 중에는 lactic acid, citric acid, tartaric acid가 높은 함량을 나타내었으며, 약탁주의 맛이 밍고 거친 것은 술덧발효 중에 citric acid가 주로 생성하기 때문이며 malic acid을 많이 생성시키는 것이 바람직하다고 하였다(박과 손, 1980).

본 실험에서의 좁쌀약주는 citric acid가 검출되지 않았으며, malic acid함량의 높아서 다른 원료로 제조한 약주와 구분되는 독특한 맛을 느끼게 하는 것 같았고, 土俗酒로서 특색이 있는 것으로 평가되었다. 10% 보리쌀을 혼용한 경우가 총유기산 함량에서 약간 높았다.

약주중의 당은 대부분 난발효성인 xylose였고, 그외 소당류를 함유하고 있었다. 白米, 전분 및 소맥분 등 원료를 달리 하였을 때 탁주숙성료 중의 주요 당류로는 glucose, fructose, sucrose, xylose였으며(정, 1967), 숙성말기에 유리당은 거의 없었다(金, 1963)는 보고와 차이가 있었다.

Fructose와 sucrose는 검출되지 않았으며, glucose와 maltose함량이 매우 낮게 존재하였다. 또한, 혼용시가 단용시 보다 이의 함량이 높았으며, 총당함량보다는 유리당의 차이가 기호도에 영향을 주는 것 같았다(Table 13).



Table 13. Carbohydrate contents of different foxtail millet wine(%)

Carbohydrate	Xylose	Glucose	Maltose	Oligosaccharides
Glutinous millet(100%)	0.345	0.009	-	0.032
Nonglutinous millet(100%)	0.220	-	-	0.072
Millet(90%) + rice(10%)	0.315	0.023	0.006	0.184
Millet(90%) + barley(10%)	0.252	0.021	-	0.135

3.5 官能檢査

양조원료를 달리하여 제조한 좁쌀약주의 외관, 맛, 향기, 종합기호도를 차조로만 제조한 약주를 標準試料로 사용하여 5단계 다시료비교법(multiple comparison)에 의한 官能檢査를 실시한 결과는 Table 14과 같다.

좁쌀만을 원료로 하였을 때는 투명도가 떨어지고 약간 혼탁하게 보여 쌀 또는 보리 쌀을 혼용한 경우에 비하여 외관이 좋지 않은 것으로 나타났으며, 향기와 맛에서도 부원료를 혼용하는 편이 좋은 것으로 평가되었다.

모조를 사용한 경우 보다는 차조를 사용하는 것이 좋게 평가되었으며, 부원료로 10% 쌀을 혼용하였을 때가 종합기호도에서 가장 좋았다.

가용성 당류가 대부분 발효에 이용되는 시기를 발효종료로 결정하므로써, 이 시점에서는 酒精含量이 높으나 단맛보다는 신맛이 약간 강한 느낌을 주어 좁쌀약주의 기호도를 약간 떨어뜨리는 원인이 되는 것으로 보여졌다.

같은 양조조건이라도 원료의 선택에 따라 품질에 큰 영향을 끼침을 알 수 있었고, 쌀을 혼용하여 양조한 좁쌀약주가 酒精濃度가 높았으며, 기호도가 좋은 것으로 평가되어 고유의 주질을 유지하면서 수율을 높이기 위해서는 일정량의 쌀을 부원료로 사용하는 방안 및 소비자의 기호도 변화에 부응하는 제주지역 土俗酒인 좁쌀약주에서 고소리술의 개발도 검토할 필요가 있는 것으로 보였다.

Table 14. Sensory evaluation of millet wine

Sample	Color	Taste	Flavor	Total evaluation
115	2.59	2.85	2.56	2.74
125	4.74	3.44	3.70	4.11
135	4.06	3.37	2.70	3.11

* Sample 115: Millet wine made with 100% nonglutinous millet

Sample 125: Millet wine made with 90% glutinous millet and 10% rice

Sample 135: Millet wine made with 90% glutinous millet and 10% barley

N. 要約

郷土食品으로서 濟州土俗 좁쌀약주의 제조를 위한 原料特性, 우수균주의 선발, 最適 釀造條件 등 釀造特性을 검토한 結果는 다음과 같다.

1. 釀造原料인 차조의 糖質含量은 71.27%로 다른 양조원료와 유사하였으나 당질노출의 어려운 특성을 가지고 있어 浸漬 및 증자시간을 충분히 유지시킬 필요가 있었으며, 粗脂肪 含量은 3.47%로 다른 원료에 비하여 높아서 양조 중에 지방산화로 인한 酒質低下가 우려되었다.
2. 곡자제조용 優秀菌株로 선발한 *Aspergillus oryzae*의 전분당화력에 대한 粗酵素의 最適反應條件은 55°C, pH 5.6이었으며, 양조온도인 20 - 25°C에서는 最適酵素活性의 31.4 - 35.4%를 유지하였다. 그리고 釀造酵母로서는 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274를 선정하였다.
3. 加水量의 增減에 따라 약주중의 에탄올 생성은 負의 상관관계를 나타내었으며, 酒精濃度를 13.0%이상 유지하기 위해서는 양조원료에 대한 가수량을 250%이내로 할 필요가 있었다.
4. 釀造期間 중에 糖의 消耗과 더불어 에탄올 생성은 釀造開始 2일까지 급격한 변화가 있었으며, 主釀造期間은 4일이었다.
5. 양조원료로 좁쌀만을 사용하는 경우는 酒精濃度가 13.0 - 13.4%였으나 쌀 또는 보리쌀을 10% 混用하였을 때는 14.0 - 14.3%로 향상되었고, 차조에 10% 쌀을 혼용하여 제조한 약주가 종합기호도에서 좋은 결과를 보였다.
6. 좁쌀약주 중의 주요 有機酸은 lactic acid, malic acid, succinic acid였고, 糖은 xylose 및 소당류가 대부분이었다. 또한, 메탄올은 흔적량 검출되었으며, 유질유가 적고 유기산이 많아 土俗酒로서 알맞은 것으로 평가되었다.
7. 좁쌀약주의 最適釀造條件은 차조에 10% 쌀을 혼용한 원료를 사용하여 충분한 浸漬와 증자를 시키고 가수량을 200%로 하며, 23°C에서 일주일간 발효 후에 압착여과하여 熟成시키는 것이 관능평가에서 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

參考文獻

- 康順善, 高泰巖, 1987. 濟州道 黍酒의 製造와 그 成分 및 動態. 濟州大學校 農化學科 微生物學研究室, 未發表 抄錄.
- 高正三, 高男權, 康順善, 1989. 濟州道産 柑橘醱酵酒의 釀造特性. 韓國農化學會誌, 32(4), 416.
- 金俊彦, 李培成, 1970. 韓國産 酵母의 分類學的 研究. 韓國微生物學會誌, 8, 77.
- 金燦祚, 1963. 濁酒 釀造中 有機酸 및 糖類의 消長에 關한 研究. 韓國農化學會誌, 4, 33.
- 金燦祚, 1967. 韓國酒類에 關한 研究(3), 濁酒釀造中 fusel유의 消長에 대하여. 忠南大學校 論文集(自然科學), 6, 1.
- 金燦祚, 1968. 濁酒 釀造에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究. 韓國農化學會誌, 10, 69.
- 金燦祚, 金敦昌, 金道榮, 吳萬鎭, 李錫健, 李壽晤, 鄭舜澤, 鄭址旿, 1990. 醱酵工學. 先進文化社, 서울, p 114.
- 김형진, 유연우, 1989. 알콜발효에서 효모의 에탄올 내성 조건 — 발효온도와 기질 종류에 대한 연구. 한국생물공학회지, 4(2), 167.
- 박윤중, 손천배, 1980. 산생성능을 개량한 효모변이주를 사용하는 약탁주류의 제조 방법. 특허공보, 488, 11.
- 朴允仲, 孫天培, 辛哲昇, 1984. 生澱粉質原料의 Ethanol 醱酵에 있어서 高溫性酵母의 利用. 韓國農化學會誌, 27(4), 217.
- 박종경, 백승운, 유영제, 1989. 에탄올 발효에서의 온도의 영향 및 발효공정의 최적화. 한국생물공학회지, 17(6), 619.
- 襄商冕, 1964. 藥濁酒 酒母사입 實驗報告. 稅政과 釀造界, 2, 76.
- 上野敏勇, 1927. 朝鮮酒, 醬類, 酢의 分析. 朝鮮總督府 中央試驗所報告, 9, 44.
- 小原 哲二郎 編, 1973. 食品分析 Handbook, 建棉社
- 손순기, 노영훈, 김헌진, 배상면, 1990. Rhizopus Koji를 이용한 무증자 쌀탁주 양조. 한국산업미생물학회지, 18(5), 506.
- 오세복, 이준기, 1979. 약주 혼탁도에 관한 시험. 국세청기술연구소보, 4, 14.
- 李啓瑚, 1977. 蒸溜酒 熟成에 關한 研究(第 1 報). 韓國農化學會誌, 20(1), 66.
- 李啓瑚, 高正三, 朴性五, 1976. 農産廢棄物에서 醱酵飼料의 生産에 關한 研究(第三報) *Aspergillus niger* 와 *Trichoderma viride* 에 依한 Cellulase의 生産性에 對하여.

- 韓國農化學會誌, 19(3), 130.
- 이계호, 양차범, 조재선, 고정삼, 박상기, 1976. 증류주별 숙성통제에 있어서 국산 참나무 통재목의 품종별 이용특성에 관한 기초적인 연구. 과학기술처 연구 보고서, R-76-46.
- 李斗永, 1969. 韓國곡자의 醱酵生産力에 관한 研究(第 2 報), 증강小麥을 材料로한 곡자의 製造에 對하여. 한국미생물학회지, 7, 41.
- 李星範, 1967. 藥酒 製造에 있어서 酵素源 및 그의 效率的 添加方法에 關한 研究. 韓國微生物學會誌, 5, 43.
- 이원경, 김정립, 이명환, 1987. 국균을 달리한 탁주 양조 중 유리아미노산 및 유기산의 소장. 한국농화학회지, 30(4), 323.
- 李應昊, 具在根, 李鍾壽, 河礎桓, 1984. 고속액체크로마토그래피에 의한 市販 數種果實類의 遊離糖定量. 韓國農化學會誌, 27(3), 158.
- 張基重, 劉太鍾, 1981. 小麴酒와 市販藥酒의 成分에 關한 研究. 韓國食品科學會誌, 13(4), 307.
- 鄭東孝, 1985. 醱酵와 微生物 工學. 先進文化社, 서울, p 640.
- 鄭址圻, 1967. 原料를 달리하는 탁주숙성료중의 有機酸 및 糖類의 檢索에 關한 研究. 韓國農化學會誌, 8, 39.
- 鄭址圻, 鄭舜澤, 1987. 傳統 香氣成分의 역치와 快感度. 韓國農化學會誌, 30(2), 272.
- 鄭鎬權, 1970. 곡자의 改良에 關한 研究(第 1 報), 改良곡자의 製造 및 그 能力. 韓國食品科學會誌, 2(1), 88.
- 조영숙, 박석규, 이홍열, 1991. 비파의 유리당, 유기산 및 유리아미노산의 조성. 한국영양식량학회지, 20(1), 89.
- 曹哉統, 1989. 韓國의 醱酵食品 研究動向에 關한 調查分析. 韓國飲食文化研究員論文集, 2, 49.
- 韓國稅政新報社, 1975. 酒稅實務要覽, p 181 ~ 256.
- 허병기, 김현성, 목영일, 1989. 효모 *S. cerevisiae*의 돼지감자 발효특성과 발효시간과의 함수관계. 한국생물공학회지, 4(2), 191.
- 현용준, 김영돈, 현길언, 1983. 全國民俗酒調查. 文化財管理局, p 176.
- 洪淳佑, 河永七, 閔庚喜, 1969. 탁주료중의 蛋白質分解酵素에 關한 研究. 韓國微生物學會誌, 7, 115.
- 洪淳佑, 河永七, 閔庚喜, 1970. 濁酒 및 탁주료의 化學成分과 그 變化에 關한 研究. 韓國微生物學會誌, 8, 107.
- 洪淳佑, 河永七, 尹權相, 1968. 탁주료중의 糖化作用과 Amylase Activity 의 變化에 對하여. 韓國微生物學會誌, 6(4), 141.

- Akiyama, H. and N. Sugama, 1967. The use of the TTC-agar-overlay technique for the differentiation of sake yeasts. *J. Ferment. Technol.*, 45, 1093.
- Alazard, D. and M. Raimbault, 1981. *Euro. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 12, 113.
- A.O.A.C., 1975. Official Methods of Analysis, 12th ed., p 158.
- A.O.A.C., 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed., p 741.
- Bradford, M.M., 1976. Microassay, Academic Press, p 248.
- Cruess, W.V., R. Quachia and K. Ericson, 1955. Pectic enzymes in wine making. *Food Technol.*, 9, 601.
- Cysewski, G.R., 1976. Thesis of Ph.D. University of Berkley.
- Eroshin, V.K., I.S. Utkin, S.V. Ladynichev, V.V. Samoylov, V.D. Kuvshinnikov and G.K. Skryabin, 1976. *Biotechnol. Bioeng.*, 18, 289.
- Ghose, T.K. and R.D. Tyagi, 1979. *Biotechnol. Bioeng.*, 21, 1401.
- Hatanaka, C. and Y. Kobara, 1980. Determination of glucose by a modification of Somogyi-Nelson method. *Agric. Biol. Chem.*, 44, 2943.
- Ingram, L.O. and T.M. Buttke, 1984. Effects of alcohols on microorganisms. *Adv. Microb. Physiol.*, 25, 253.
- Kawaharada, H., S. Hayashida and M. Hongo, 1970. The mechanism of formation of high concentration alcohol in sake brewing. IV. Stimulation of yeast growth by koji mold. *J. Ferment. Technol.*, 48, 29.
- Kim, H.S., C.S. Shin and S.S. Wang, 1990. Enhancing effect of egg albumin on ethanol production and its function. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, 5(4), 373.
- Kodama, K., T. Kyonho and S. Matsuyama, 1966. Studies on Wild yeasts which thrive in "sake-moto". *J. Ferment. Technol.*, 44, 8.
- Leão, C. and N. van Uden, 1984. Effects of ethanol and other alkanols on passive proton influx in the yeast *S.cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Acta.*, 774, 43.
- Lee, K.J., 1982. High productivity fermentation for ethanol production. *Kor. J. Microbiol. bioeng.*, 10(1), 59.
- Lee, S.Y., J.S. Lee, and Y.N. Lee, 1989. Protoplast fusion of *Aspergillus oryze*. *Kor. Jour. Microbiol.*, 27(3), 216.

- Linneback, D.R., 1969. Two forms of the glucoamylase of *Asp. niger*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 134(2), 539.
- Manner, D.J., M.L. Wolforn and R.S. Tison, 1962. In "Advances in carbohydrates chemistry". 17th. ed., Academic press, N.Y., 371.
- Morita, Y., K. Shimizu, M. Ohga and T. Korenaga, 1966. Studies on amylase of *Asp. oryzae* cultured on rice, Part I. Isolation and purification of glucoamylase. *Agr. Biol. Chem.*, 30(2), 114.
- Nabais, R.C., I. Sà-Correia, C.A. Viegas and J.M. Novais, 1988. Influence of calcium ion on ethanol tolerance of *Saccharomyces bayanus* and alcoholic fermentation by yeasts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(10), 2439.
- Nagodawitana, T.W. and K.H. Steinkraus, 1976. Influence of the rate of ethanol production and accumulation on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in "rapid fermentation". *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, 158.
- Narba, A., Y. Nishzawa, Y. Tsuchiya and S. Nagai, 1987. *J. Ferment. Technol.*, 65 (3), 277.
- Novak, M., P. Serehaiano, M. Moreno and G. Goma, 1981. *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 201.
- Ohga, M., K. Shimizu and Y. Morita, 1968. Studies on amylase of *Asp. oryzae* cultured on rice, Part II. Some properties of glucoamylase. *Agr. Biol. Chem.*, 30(10), 967.
- Ouchi, K., S. Sugama and K. Noshiro, 1967. Studies on yeasts in Rice Koji, *J. Ferment. Technol.*, 45, 889.
- Rogers, P.L., K.J. Lee, M.L. Skotnicki, and D.E. Tribe, 1981. Ethanol production by highly productive strains of *Zymomonas mobilis*. in "Advances in biotechnology", Pergamon Press, 2, 189.
- Rye, Y.W., and J.J. Kwon, 1982. Effect of fermentation temperature on the production of high content alcohol. *Kor. J. Microbiol.*, 20(2), 67.
- Sakai, T., K. Koo, K. Saitoh, and T. Katsuragi, 1986. Use of protoplast fusion for development of rapid starch fermenting strains of *Saccharomyces*

- diastaticus*. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 297.
- Stokes, S.L., 1970. Influence of temperature on the growth and metabolism of yeasts. In A.H. Rose and J.S. Harrison(ed.), *The yeasts*, vol. 2. Academic Press Inc., London, p 119-134.
- Takahara, Y., O. Shomatsu and A. Tadaharu, 1966. Effect of CMC(carboxymethyl cellulose) on amylase formation in *Rhizopus* species. *Report of the Fermentation Research Institute*. 29, 23.
- Takeda, M. and T. Tsukahara, 1967. Studies on yeasts, fungi in a sake brewery. *J. Ferment. Technol.*, 45, 918.
- Thomas, D.S., J.A. Hossack and A.H. Rose, 1978. Plasmamembrane lipid composition and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, 17, 239.
- van Uden, N., 1985. Ethanol toxicity and tolerance in yeasts. *Ann. Rep. Ferment. Process*. 8, 11.
- Watanabe, T. and Fukimbara, T., 1965. Studies on saccharogenic amylase produced by *Asp. awamori*, III. On the presence of two types of saccharogenic amylase. *J. Ferment. Technol.*, 43, 690.
-
- Watanabe, T. and Fukimbara, T., 1966. Studies on saccharogenic amylase produced by *Asp. awamori*, IV. Purification and general properties of less acid-stable saccharogenic amylase. *ibid.* 44, 392.

謝 辭

본 논문이 완성되기까지 지도하여 주시고 편달을 아끼지 않으신 고정삼 교수님께 깊이 감사드리며, 논문심사에 많은 조언과 격려를 주신 강순선 교수님, 유장걸 교수님 그리고 여러면으로 가르침을 주신 현해남 교수님, 김찬식 교수님과 미국에서 연구중인 류기중 교수님께 감사드립니다.

연구에 많은 충고와 도움을 주신 농화학과 문치택, 이동은 조교선생님, 공동실험실 습관 고정은 선배님, 대학원 선배님과 대학원 학형께 감사의 마음을 전합니다.

또한, 변함없는 우정으로 기기분석에 도움을 아끼지 않은 상호에게, 곁에서 용기를 준 창준형께, 원고정리를 도와준 양록에게, 더불어 실험수행에 자신의 일처럼 정성껏 도와준 영미, 창학에게 고마운 마음을 전합니다.

끝으로 오늘이 있기까지 사랑과 이해로 이끌어 주신 어머니와 외숙부님, 그리고 동생과 모든 가족들에게 감사드리며 언제나 성실한 삶을 주셨던 아버지 영전에 이 작은 결실을 드립니다.

