

석사학위논문

좁쌀주의 품질향상을 위한 누룩으로부터
우수균주의 분리 및 양조특성



제주대학교 대학원

농화학과

유철훈

2001년 12월

좁쌀주의 품질향상을 위한 누룩으로부터
우수균주의 분리 및 양조특성

지도교수 고정삼

유철훈

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함

2001년 12월

유철훈의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____인

위 원 _____인

위 원 _____인

제주대학교 대학원

2001년 12월

Zymological Properties of Foxtail Millet-wine
by Isolated Microorganisms from Nuruk

Cheol-Hun Yu

(Supervised by professor Jeong-Sam Koh)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF
AGRICULTURE.

DEPARTMENT OF AGRICULTURAL CHEMISTRY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

2001. 12

목 차

Summary	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 실험 재료	4
2. 균주 분리 및 균수 측정	4
3. 균주 선발	5
1) 효모	5
2) 사상균	6
4. 종국 및 누룩의 제조	7
5. 누룩 및 원료미의 무기물 함량	8
6. 양조용 효모배양	9
7. 주모의 제조와 좁쌀주 담금 및 발효	9
8. 누룩 종류별로 담금한 좁쌀주 성분 분석	10
9. 관능검사	11

Ⅲ. 결과 및 고찰	13
1. 혼합 배양을 위한 효모 및 사상균의 분리	13
2. 효모의 선발	14
3. 사상균의 선발	17
4. 누룩 및 원료별 무기성분 분석	21
5. 종국의 종류를 달리하여 담금한 좁쌀주의 발효특성	23
1) pH 및 총산	24
2) 가용성 고형물	26
3) 색 도	27
4) 알코올 함량	28
5) 유기산	29
6) 유리당	31
7) 휘발성 향기성분	34
8) 관능검사	39
Ⅳ. 요약 및 결론	40
Ⅴ. 참고문헌	42

Summary

In order to improve the quality of foxtail millet wine which is the traditional Jeju cereal wine, Nuruk was prepared by selected *Aspergillus* sp. M6-3, *Aspergillus awamori* 6970, and *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959(KCTC), respectively, and foxtail millet wine was brewed with the Nuruk. Zymological properties by isolates were investigated. The results are as follows.

1. The average number of microbial populations in the Nuruks were $1.0 \times 10^7 \sim 2.0 \times 10^8$ CFU(colony forming unit) of yeasts, and $1.0 \times 10^7 \sim 2.7 \times 10^8$ CFU of molds. Fifteen yeasts and 15 molds which had good flavor were screened among isolates.
2. Among the 15 yeasts, Y5-1 identified as *Saccharomyces* sp. was the best on ethanol production, ethanol and sugar tolerance during fermentation.
3. Among the 15 molds, strain number M6-3 identified as *Aspergillus oryzae* was the best on enzyme activities of glucoamylase and β -amylase, but α -amylase activity was similar to each other.
4. Inorganic contents of Nuruk, naked barley, glutinous foxtail millet and wheat bran were decreased in order of P, K, Mg, Ca, Na, Fe, Zn and Cu. In glutinous foxtail millet used to brew millet wine, P, K, Mg, Ca contents were 476.9, 278.1, 194.7, 17.79 mg%, respectively.
5. When foxtail millet wine was brewed with Nuruks inoculated by selected microbes, acid content, soluble solids, color(b) and alcohol contents were increased during fermentation. Ethanol concentration of millet wine made with Nuruk by *Aspergillus awamori* 6970 and *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 were higher than the other, 10.6 and 10.1%, respectively.

6. Citric acid was only detected on 1~2 day starting fermentation, and tartaric acid was detected on 1 day's fermentation in only foxtail millet wine brewed with traditional Nuruk. Oxalic acid, lactic acid and acetic acid were detected all during fermentation. Also, oxalic acid, lactic acid, and acetic acid of millet wine were high in the wine made of Nuruk by *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959, *Aspergillus awamori* 6970 and traditional Nuruk, respectively.
7. During fermentation, xylose, arabinose, glucose and maltose were detected. Glucose and xylose was higher than the others. Xylose was increased, but most of other sugar were decreased during fermentation.
8. Acetone, ethyl acetate, methanol, ethanol, n-propanol, iso-butanol and iso-amyl alcohol were detected. In the wine made with Nuruk by *Aspergillus awamori* and *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii*, iso-amyl alcohol and ethanol were high.
9. On sensory evaluation, the wine made with Nuruk by *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* was the best on color and taste, and most of wines were similar on flavor except one brewed with Nuruk by *Aspergillus awamori*.

I. 서론

술에 대한 우리나라의 최초의 기록은 삼국사기에 기술된 건국신화와 얽힌 이야기에 나온다. 삼한과 고구려 시대에 명절마다 술을 빚어 마셨다는 기록이 있으며, 백제의 인번(仁番)이 일본에 양조법을 전하였다. 고려사 등의 문헌에는 고려시대의 다양했던 술의 종류에 대한 기록이 있으며, 조선시대에는 약 300여 종의 술 이름이 기록되어 있어, 술 문화의 전성기를 맞았음을 알 수 있다. 그러나 한일합방이 되면서 술의 자유로운 제조가 금지되었고, 이에 따라 전통주의 맥이 끊기게 되었다. 최근에 우리 술을 되살릴 수 있는 여건이 마련되고 있는 실정이다(이, 1993).

전통주의 양조에 있어서 당화 과정과 발효 과정을 동시에 유도할 수 있도록, 우리 선조들은 누룩을 사용하였다. 전통누룩의 양조학적 기능은 koji와는 달리 증자하지 않은 조분쇄 생녹말을 사용하여 누룩을 제조함으로써, 누룩제조 과정에서 자연적으로 부착하여 증식된 사상균과 효모에 의한 당화와 발효의 기능을 겸비한 것이 특징이다.

누룩의 기원은 한약의 일종인 신국(神麴)에서 유래된 것이라고 할 수 있으며, 그 역사는 주류의 기원과 같이한다. 누룩원료는 주로 밀이며, 이외에 보리나 옥수수, 콩, 팥, 귀리 등을 섞어 만들기도 하고, 지방에 따라 그 형상, 크기, 품질 등이 각각 다르다. 누룩은 분곡(紛麴), 조곡(粗麴)의 구분이 있고, 분곡은 약주제조에 사용하는 것으로서 밀을 분쇄해 만든 것이다. 조곡은 약간 거칠게 분쇄한 밀로 만들며 탁주, 소주용으로 쓰인다(김 등, 1997).

전통주의 양조에 있어서 중요한 누룩 미생물에 관한 연구로서, 1945년 이전까지 누룩으로부터 12속 59종의 사상균이, 8속 29종의 효모가 분리되었다. 누룩사상균은 *Aspergillus*속이 주종을 이루었으며, *Rhizopus*속, *Absidia*속, *Mucor*속의 순으로 분포하고 있었고, *Aspergillus*속과 *Rhizopus*속은 중요한 누룩 당화균으로 작용하였다. 누룩의 대표적 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*로서, 알코올 발효에 가장 큰 역할을 담당하며, *Saccharomyces coreanus*도 전통 민속주인 탁주와 약주의 발효에 관여한다.

1945년 이후 누룩으로부터 *Aspergillus*속 14종과 *Penicillium* 속의 9종이 새로 분리, 동정되어 함께 12속 38종이 분리되었다. 누룩으로부터 새로 분리된 *Aspergillus penicilloides*와 *Penicillium expansum*은 밀가루 배지에서 산 생성능이 높을 뿐만 아니라, amylase 활성이 높고 효소의 안정성도 3개월간 안정한 누룩 사상균이다. 누룩효모는 1945년 이전에는 분리되지 않았던 *Candida*속의 5종, *Hansenula*속의 4종, *Pichia*와 *Schizosaccharomyces*속의 각 1종이 새로 분리·동정되어 함께 8속 18종의 누룩효모가 분리되었다(김 등, 1997).

누룩 미생물에 대한 연구로 이 등(1995)은 전국에서 수집한 누룩에서 쌀녹말 분해능이 강한 효소를 생산하는 곰팡이를 분리하였으며, 김 등(1997)은 시판 전통누룩으로부터 분리한 곰팡이를 대상으로 액화력 및 향기성분 생산능이 우수한 18주의 곰팡이를 선별하여 배양학적인 특성을 조사하였다. 이들 균주의 동정결과 *Aspergillus*속 14균주, *Penicillium*속 3균주 및 *Rhizopus*속 1균주로 확인되었다. 누룩의 주된 재료인 밀기울을 사용한 고체배양에서의 액화력, 당화력, 산 생성능 및 향기성분 생산능을 검토한 결과, *Aspergillus*속 대다수는 균 증식이 양호하고 효소 생산능이 우수하였다. 이들 균주의 혼합배양에 의한 효소생산 및 향기성분 생산능을 비교한 결과, *Aspergillus*속과 *Penicillium*속의 혼합배양시 액화력, 당화력 및 향기성분 생산능이 우수하였다고 하였다(김 등, 1998).

박 등(1995)은 전국에서 재래식 누룩 12개를 지역별로 수집하여 사상균을 분리, 동정한 결과 *Rhizopus*속 19균주, *Aspergillus*속 등 총 159균주가 분리되었으며, 수집지역과 누룩시료에 따라 착생된 사상균의 수와 분포에는 많은 차이를 보였다. 사상균의 분포는 *Aspergillus*속과 *Rhizopus*속이 비교적 고른 분포를 보였으며, 또한 분리균주의 amylase활성과 pH 안정성 그리고 산 생성능을 비교한 결과, *Aspergillus* 속 등이 우수하였다고 하였다.

조 등(1997)은 56개 누룩 시료로부터 곰팡이 111균주를 분리하였으며, 누룩 중의 주요 곰팡이는 *Aspergillus*속, *Rhizopus*속이며, *Aspergillus*속 균주가 가장 높은 빈도로 분리되었다.

김 등(1998)은 액화효소 및 당화효소, 산, 향기성분 등의 생성능이 우수한 누룩 곰

팡이 10균주를 선별한 후, 효소학적 특성과 각 균주를 동정하였다. 액화력의 경우 *Aspergillus*속 및 *Rhizopus*속 균주는 배양시간에 상관없이 양호하였으나, *Penicillium*속 균주는 밀기울 배지에서 30일간 배양시 액화력이 급속히 감소하였다. 또한, 당화력의 경우 *Rhizopus*속을 제외한 대부분의 균주가 배양시간이 경과할수록 효소활성이 감소하는 경향을 보였으나, 일부 *Aspergillus*속 균주 및 *Rhizopus*속 균주는 배양시간이 경과할수록 높은 효소활성을 보였다. glucoamylase의 활성을 지표로 한 각 선발균주의 생녹말 분해력은 전체적으로 낮은 결과를 나타내었다고 하였다.

우리 고유의 전통 약주, 탁주는 곡류를 원료로 하여 누룩의 효소 작용에 의한 당화와 효모에 의한 알코올로 전환시키는 발효과정, 그리고 생화학적 작용의 숙성과정으로 만들어진다(이, 1993). 민속주에 대한 연구로 양 등(1993)은 제주토속 좁쌀약주의 제조를 위하여 좁쌀을 사용한 누룩을 제조하여 우수균주로 *Aspergillus oryzae*를 선발하였다. 소 등(1996)은 *Aspergillus oryzae*의 밀가루누룩과 *Rhizopus japonicus*의 밀가루누룩으로 탁주를 제조할 때 두 누룩의 혼합비율을 달리하여 탁주시료를 제조하고, 탁주의 이화학적 및 관능적 특성들을 조사하였다.

한 등(1997)은 재래누룩, *Mucor racemosus*, *Rhizopus japonicus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus kawachii*균을 접종하여 만든 누룩으로 탁주를 담금한 후 발효과정 중의 품질을 검토하였고, 하 등(1999)은 koji 원료미의 품종에 따른 양조특성을 조사하였다. 홍 등(1999)은 안동소주 제조 발효액으로부터 분리, 선발된 당화력이 우수한 사상균과 알코올 발효력이 우수한 효모를 혼합 배양하여 안동소주의 품질특성에 미치는 영향을 검토하였다.

이 등(2000)은 *Rhizopus japonicus*균을 접종하여 만든 누룩으로 담금한 탁주 술덧의 발효과정 중 휘발성 향기성분을 분석하여 ester 24종, alcohol 19종, acid 9종, aldehyde 10종, 기타 4종 등 66종의 향기성분을 동정하였다.

본 연구는 좁쌀주 양조시 체계적으로 품질을 관리하기 위하여 우수균주를 선발하였으며, 선발된 우수균주, *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usarii* mut *shirousarii* 6959를 사용한 누룩과 시판 누룩으로 양조한 좁쌀주와의 발효특성을 비교함으로써 품질이 우수하고 균일한 제품의 제조와 대량생산 체계를 확립하는데 필요한 기초자료를 얻는데 있었다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

좁쌀주 원료로 차좁쌀을 사용하였고, 누룩의 제조를 위해 보리와 밀기울을 사용하였다. 균주의 분리를 위하여 시판누룩과 실험실에서 제조하여 보관 중인 누룩, 발효화학연구소에서 제조한 중국, 제주민속촌 분양종국을 사용하였으며, 중국별 좁쌀주 발효 특성을 알아보기 위하여 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)에서 분양을 받은 *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 사용하였다.

2. 균주 분리 및 균수 측정



효모 분리를 위해 YM agar 와 YPD agar 배지를, 사상균은 PDA agar 배지를 사용하여 분쇄한 누룩 및 중국에 멸균 생리식염수(0.85% NaCl)를 넣어 140 rpm으로 10분간 진탕한 후 희석하여 상징액 0.1 ml를 각각의 배지에 도말 하였다. 효모는 30℃에서 24~48시간, 사상균은 26℃에서 48~72시간 배양하여 독립된 colony를 얻었다.

순수 분리한 효모와 사상균은 각각 YM agar 배지와 PDA agar 배지에 사면 배양하여 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 생균수는 상징액을 10배 단위로 희석하여 평판배지에 접종하여 일정시간 배양한 뒤 colony 수를 세어, 시료 1g당 colony forming unit(CFU)로 표시하였다. 배지의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. The composition of medium used for isolation and cultivation of microorganism

Medium	Composition (g/ℓ)	
YM agar	Yeast extract	3.0
	Malt extract	3.0
	Peptone	5.0
	Dextrose	10.0
	Agar	20.0
YPD agar	Yeast extract	10.0
	Peptone	20.0
	Dextrose	20.0
	Agar	15.0
PDA agar	Potato dextrose agar (Difco)	39.0



3. 균주 선발

1) 효모

(1) 알코올 생성능

알코올 생성능은 순수 분리된 효모 가운데 향기가 좋은 균주를 YM 배지에 접종하여 48시간 배양한 후, glucose(15%)를 첨가한 YM 액체배지 100 ml에 다시 접종하여 72시간 배양하였다. 이 배양액을 증류하여 주정계로 알코올 함량을 측정하고, 15℃로 보정하여 알코올 생성능이 우수한 효모를 선발하였다.

(2) 내알코올성

내알코올성은 YM 액체배지에 효모를 접종한 후 무수 에탄올(10%)을 첨가하여 30℃에서 48시간 배양하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 내당성

내당성은 glucose(15%)를 첨가한 YM 액체배지에 효모를 접종하여 30℃에서 48시간 배양하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) 사상균

순수분리된 균을 접종하여 국(koji)을 제조하고 glucoamylase activity (GA), β -amylase, α -amylase 활성을 각각 측정하였다.

(1) 국(koji)의 제조

밀기울 25 g을 삼각플라스크에 넣고 물 15 ml를 첨가하여 15분간 121℃에서 살균한 후, 무균실에서 순수분리된 사상균을 접종하여 26℃에서 72시간 배양하였다.

(2) Glucoamylase activity(GA) 측정

조효소액은 koji 1 g을 1% NaCl 용액 5 ml에 현탁하여 5℃에서 12시간 방치한 다음, 실온에서 3시간 교반하여 8000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 사용하였다. 1% 가용성 전분을 기질로 하여 조효소액 0.1 ml와 기질 1 ml를 40℃에서 20분간 반응시킨 다음 Somogyi-Nelson 법으로 반응액 중에 생성된 포도당 양을 측정하였다. 효소활성은 다음과 같이 계산하였으며, koji 1 g에 대한 활성으로 표시하였다.

Glucoamylase activity(GA) unit = 생성된 포도당량(mg) × 60/20

(반응시간) × 1/0.1(효소량) × 100/10(추출율)

(3) 당화력(β -amylase) 측정

조효소액은 koji 1 g에 1% NaCl 용액 20 ml를 가하고, 30℃에서 2시간 진탕 추출하여 8,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 사용하였다. 1% 가용성 전분을 기질로 하여 0.1M acetate buffer(pH 5.0)와 기질, 조효소액을 40℃에서 30분간 반응시킨 다음 Somogyi-Nelson법으로 환원당을 정량하여 회석배수를 곱하여 saccharogenic power(SP)로 나타냈으며, koji 1 g에 대한 활성으로 표시하였다.

(4) 액화력(α -amylase) 측정

조효소액은 koji 5 g에 1% NaCl 20 ml를 가하고 30℃에서 2시간 진탕 추출하여 8000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 사용하였다. 1% 가용성 전분을 기질로 하여 0.1M acetate buffer(pH 5.0)와 기질, 조효소액을 40℃에서 30 분간 반응시킨 다음 냉각 시켜 반응을 정지시킨 후 0.1N I₂ 20 μ l를 가하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다. control(대조구)은 효소액을 대신하여 증류수와 기질을 사용하였다.



$$\text{효소활성 (unit)} = \frac{\text{O.D. (control)} - \text{O.D. (sample)}}{\text{O.D. (control)}} \times 100/30(\text{min})$$

4. 종국 및 누룩의 제조

1) 종국 제조

121℃에서 20분간 가압살균한 밀기울 배지에 분리 선발된 사상균 *Aspergillus oryzae* M6-1과 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)에서 분양을 받은 *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usarii* mut. *shirousarii* 6959를 각각 접종하여 포자가 완전히 생길 때까지 26℃에서 배양하여 누룩의 제조에 사용하였다.

2) 누룩의 제조

분쇄한 보리와 밀기울을 9 : 1 비율로 혼합하고, 원료 중량의 23%에 상당하는 물과 종국을 0.8% 혼합하여 직경 19 cm, 두께 3 cm의 원반형으로 만들었다. 27℃에서 품온이 40℃ 이상 오르지 않게 갈아 쌓기를 하며 7일간 배양하고, 32℃에서 2일간 건조하여 누룩을 제조하였다.

5. 누룩 및 원료미의 무기물 함량

좁쌀주와 누룩의 제조원료인 차좁쌀, 보리, 밀기울, 그리고 미생물 분리를 위하여 수집한 누룩의 무기물 함량을 측정하였다. 각각의 재료를 습식 분해하였다. 시료 1 g에 질산 20 ml를 가하여 12시간 실온에서 방치한 후 노란색의 맑은 용액이 될 때까지 가열한 다음 식혀서, 다시 질산 20 ml를 가하여 재반응을 시켜 완전 분해한 시료를 ICP(induced couple plasma, Germany)로 분석하였다. ICP의 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating condition of ICP emission spectro analyzer

Instrument	Spectro plame EOP
Plasma power	1200 W
Nebulizer pressure	40 PSI
Auxiliary pressure	34 PSI
Coolant pressure	40 PSI
Total preflush time	60 sec
Fast preflush time	20 sec
Nebulizer carrier gas flow rate	0.4 (ℓ/min)

6. 양조용 효모배양

우수효모로 선발되어 *Saccharomyces*속으로 동정된 Y5-1 균주를 glucose(20%)를 첨가한 YM 배지 15 ml에 접종하여 30℃에서 48시간 배양한 후 100 ml의 액체배지에 72시간 증식하여 주모 제조에 사용하였다.

7. 주모의 제조와 좁쌀주 담금 및 발효

차좁쌀을 12시간동안 물에 침지시킨 후 121℃에서 30분간 증자하였다. 증자한 차좁쌀 150 g에 물 550 ml와 각각의 제조 누룩 50 g, 발효액 50 ml를 첨가하여 20℃에서 품온이 22℃ 이상 오르지 않게 하고, 6시간 간격으로 교반하면서 2일간 발효하여 주모를 제조하였다.

우수균주로 선발되어 *Aspergillus oryzae*로 동정된 M6-1, 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)에서 분양을 받은 *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 접종하여 만든 누룩과 일반 재래시장에서 판매하는 누룩으로 좁쌀주를 양조하였다.

좁쌀주의 양조는 발효된 주모에 1.3 kg의 증자 차좁쌀과 누룩 300 g, 물 2 l를 첨가하여 1단 담금하여, 23℃에서 최대 품온이 30℃ 이상 오르지 않게 하고 12시간 간격으로 교반하여 2일간 발효하였다. 2일 후 누룩 500 g, 증자 차좁쌀 1.6 kg에 물 8 l를 첨가하여 최대 품온이 27℃ 이상 오르지 않게 하면서 2단 담금을 하여 8일간 발효하였다.

8. 누룩 종류별로 담금한 좁쌀주 성분 분석

누룩종류별로 담금한 좁쌀주를 발효기간별로 시료를 채취하여 분석하였다.

1) pH 및 총산

pH는 pH meter(Orion 310, USA)로 측정하였고, 총산 함량은 A.O.A.C (1995)법에 준하여 분석하였다.

2) 가용성 고형물(soluble solid, °Brix)

가용성 고형물(soluble solid, °Brix)은 refractoanalyzer(Kyoto Electronics RA-510, Japan)로 측정하였다.

3) 색도

시료를 채취하여 8000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상정액을 color meter(Daego JP7200F/C, Japan)로 측정하여, b(황색도)로 나타내었다.

4) 알코올 함량

알코올 함량은 발효액 100 ml에 증류수 50 ml를 넣어 증류시켜 증류액 80 ml에 증류수를 첨가하여 100 ml로 정용한 후 주정계로 측정하고 15°C에서의 값으로 보정하였다.

5) 유기산 및 유리당

발효액을 8000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상정액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 Table 3과 같은 각각의 HPLC 조건에서 유기산 및 유리당을 분석하였다.

6) 휘발성 향기성분

발효액을 8000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상정액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 GC로 분석하였다. GC의 조건은 Table 4에서와 같다.

9. 관능검사

제주대학교 학생 30명을 대상으로, 선발된 우수균주와 *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 누룩의 제조시 접종하여 양조한 좁쌀주와 시판누룩으로 양조한 좁쌀주에 대해 냄새(aroma), 색(color), 맛(taste)에 대하여 7단계 기호척도법으로 관능검사를 하였다. ‘매우 좋다’를 포함하여 좋은 기호도를 각각 7, 6, 5점으로 하고, 좋지도 싫지도 않은 기호도는 4점, ‘약간 싫다’를 포함하는 싫은 기호도를 각각 3, 2, 1점으로 하여 기호도를 평균치로 표시하였다.

Table 3. Analysis conditions of HPLC for carbohydrate and organic acid

Instrument I (carbohydrate)	Alliance 2690 system Alltech evaporative light scattering detector 2000
Column	Supelco carbohydrate (3.9 mm × 300 mm ID, particle size 5 μ l)
Moblile phase	85% Acetonitrile
Other condition	Detector : ELSD Flow rate : 1.0 ml/min Sample size : 10 μ l
Instrument II (organic acid)	Spectrasystem(spectra-physics, model LC-7000160) P4000 pump, UV/Vis detector
Column	Supelco GEL TM C-610H (7.8 mm × 300 mm ID)
Moblile phase	0.5% Phosphoric acid
Other condition	Detector wavelength : UV 210 nm Flow rate : 0.5 ml/min Sample size : 5 μ l

Table 4. Analysis conditions of GC for flavor

Instrument	Hewlett packard 6890 series
Detector	Flame ionization detector
Column	Crosslinked polyethelene glycol (0.53 mm ID, 30 m length, 0.25 μ m thickness)
Temperature	Injection port : 250°C Column oven : initial temp. : 45°C 2 min temp. rate : 40°C/min final temp. : 100°C 1 min Detector block : 280°C
Gas flow rate	Carrier gas He : 15 ml/min Total flow rate : 30 ml/min
Split ratio	2 : 1
Sample size	1 μ l



II. 결과 및 고찰

1. 혼합 배양을 위한 효모 및 사상균의 분리

누룩과 국(koji), 그리고 실험실에서 제조하여 보관 중인 누룩으로부터 미생물의 분리와 미생물의 분포를 알아보기 위하여 평판배지에 20~30개의 colony가 나타나도록 희석비율을 조정하였다.

미생물 분포를 알아본 결과는 Table 5와 같다. 누룩 1g 당 미생물 수는 colony forming unit(CFU)로 표시하였다. 효모는 평균 4.4×10^7 CFU이었으며, 사상균은 평균 4.3×10^7 CFU로 분포하였다. 효모와 사상균 모두 실험실에서 제조하여 보관 중인 누룩에서 가장 많은 미생물 수를 나타냈으며, 효모는 제주 누룩, 수원 백국, 제주 황국에서 많은 분포를 보였으며, 사상균은 충무 백국, 수원 백국, 제주 황국 순으로 많이 분포하였다.

김 등(1968)은 실험실에서 제조한 누룩 1g에 0.6×10^5 과 시판 누룩에서 1.4×10^5 의 효모가 들어있어서 시판 누룩에서 약 2배 이상 많았으며, 사상균의 경우는 각각 240×10^5 , 836×10^5 이었다고 하였다. 유 등(1998)은 시판되는 경주 누룩, 포천 누룩, 상주 누룩, 보은 누룩에서 각각 20×10^5 , 18×10^5 , 649×10^5 의 효모가 분포하였다. 사상균은 포천 누룩과 충무 누룩의 경우 $3,600 \times 10^5$ 이었으며, 철원 누룩과 상주 누룩에서는 각각 $1,800 \times 10^5$ 과 $1,500 \times 10^5$ 의 사상균이 분포되었고, 춘천, 대구, 경주, 현풍, 진주, 통영 누룩에서는 30×10^5 이하로 사상균수가 적었다고 하였다.

이상과 같이 본 실험에서는 적은 차이였으나, 효모와 사상균 수의 차이는 누룩의 종류와 산지, 실험방법의 차이에 따른 것으로 판단된다.

Table 5. Total viable cell numbers of Nuruk

Sample number	Collected area	Yeast	Mold
1	Nuruk(Cheju Nat. Univ)	2.0×10^8	2.7×10^8
2	Guksundang	1.5×10^7	1.0×10^7
3	Jinju	1.0×10^7	1.5×10^7
4	jungang	1.0×10^7	1.5×10^7
5	Songhank	1.0×10^7	1.0×10^7
6	Jeju Folk Village	6.5×10^7	3.0×10^7
7	Chungmu	2.0×10^7	4.5×10^7
8	Suwon	5.0×10^7	4.5×10^7
9	Chungum	2.0×10^7	5.0×10^6
10	Hanae	2.0×10^7	1.5×10^7
11	Jeju	6.5×10^7	1.0×10^7

sample 7, 8 - Nuruk of Fermentation Chemistry Laboratory.

sample 6, 9 - yellowish Nuruk.

sample 7, 8, 10 - whitish Nuruk.

2. 효모의 선발

좁쌀주 양조를 위한 우수 효모의 선발을 위하여 분리균주에 대한 알코올 생성능과 내당성, 내알코올성 및 pH를 측정된 결과는 Table 6에서와 같다. *Saccharomyces*속으로 동정된 Y5-1 효모가 4.6%의 알코올을 생성하여 가장 우수하였으며, Y5-2, Y5-3 균주도 4% 이상의 알코올을 생성하였다. 내당성, 내알코올 실험에서도 Y5 균주가 우수하였다. 내당성 실험에서 Y5-1 균주가 1.759의 흡광도를 나타내었으며, YM 배지에 효모를 접종한 후 무수 에탄올(10%)을 첨가하여 30℃에서 48시간 배양 후 흡광도를 측정된 내알코올성 실험에서는 1.984의 흡광도를 나타내었다. pH는 4.22~5.93이었다.

김(1999)은 약, 탁주 발효에 알맞은 효모의 선발 및 특징에서 알코올 생성능이 우수한 효모 균주로 4% 이상의 알코올을 생성한 균주를 선발하였고, 신 등(1999)은 알코올 생성능과 향기 생성능이 우수한 균주를 선발하여 *Saccharomyces cerevisiae*로 확인하였다. 강 등(2000)은 알코올 생성이 우수한 효모 균주의 분리 및 동정에서 4~5%의 알코올을 생성한 균주로 *Saccharomyces*속을 동정하였으며, 50%의 포도당에서 매우 좋은 성장을 보인 내당성이 강한 균주를 선발하였다.

발효 말기의 에탄올이 18~20%에 이르면 효모가 사멸하기 쉽고, 효모 균체의 자기소화에 의해서 아미노산이 증가하여 착색과 품질저하의 원인이 된다(신 등, 1994). 김(1999)은 초기 알코올농도 10%까지는 증식하였으나, 12%에서는 효모의 증식이 관찰되지 않아 생육한계의 초기 알코올농도는 12% 정도라 하였다. 따라서 본 실험에서 선발된 내알코올성이 우수한 균주를 이용하면, 좁쌀주 양조시 품질 향상에 도움이 될 것으로 판단된다.

Table 6. Ethanol production, pH, ethanol, and sugar tolerance in YM broth by yeasts isolated from Nuruk

Strains	Ethanol(%)	pH	Ethanol tolerance	Sugar tolerance
Y1-3	2.4	5.71	0.066	0.210
Y1-1	2.4	5.37	8.64	0.151
Y2-1	2.7	5.92	0.085	0.196
Y4-2	3.6	5.80	0.057	0.151
Y4-3	3.3	5.81	0.079	0.196
Y3-3	3.5	5.35	0.029	0.350
Y2-2	2.9	5.70	0.042	0.177
Y3-2	2.9	5.62	0.042	0.163
Y2-3	3.3	4.76	0.047	0.131
Y1-2	2.7	5.93	0.073	0.159
Y5-2	4.4	4.52	0.083	0.748
Y5-1	4.6	4.22	0.311	9.58
Y3-1	2.7	5.53	0.048	0.193
Y5-3	4.3	4.56	0.120	0.728
Y4-1	3.8	5.76	0.059	0.157

Y1-1, Y1-2, Y1-3 : yeast from Nuruk(Cheju National University)

Y2-1, Y2-2, Y2-3 : yeast from Songhank Nuruk.

Y3-1, Y3-2, Y3-3 : yeast from Jinju Nuruk.

Y4-1, Y4-2, Y4-3 : yeast from Jungang Nuruk.

Y5-1, Y5-2, Y5-3 : yeast from Songhak Nuruk.

3. 사상균의 선발

1) Glucoamylase activity(GA)

누룩 제조를 위한 우수 사상균의 선발을 위하여 분리된 균주를 밀기울 배지에 접종하여, 국(koji)을 만들어 glucoamylase 활성을 측정한 결과는 Fig. 1(a)에서와 같다. *Aspergillus*속으로 동정된 황국 M6-3 균주가 924.3 unit로 가장 우수한 glucoamylase 활성을 나타내었다. M9-2, M9-1 균주가 각각 914.7, 903.9 unit으로 높았으며, M1-1 균주가 205.8 unit으로 가장 낮은 활성을 보였다.

glucoamylase는 효소 중, glycoside 가수분해효소의 한 종류로, 1950년 이후에 처음 밝혀진 amylase로서 다당류, 전분 등의 α -1,4 결합 α -1,6 결합을 비환원성 말단부터 순차적으로 가수분해하여 glucose를 생성하는 당화형 amylase이다. *Aspergillus usamii*는 amylase 중 glucoamylase를 주체로 한다(이, 2000).

박 등(1995)은 누룩에 존재하는 사상균의 분리, 동정에서 glucoamylase 활성이 우수한 균주는 *Aspergillus*속이라고 하였고, 이 등(1995)은 밀기울 koji 추출액의 조효소액 특성을 살펴본 결과 *Rizopus*속 생녹말 분해성 glucoamylase 활성은 360 RSU(raw-starch saccharifying unit)이었다고 하였다. 김 등(1997)은 누룩에서 분리한 유용곰팡이의 특성에서 GA가 우수한 균주는 *Aspergillus*속으로 771 unit이었다고 하였다. 김 등(1998)은 곰팡이의 효소학적 특성에서 *Aspergillus*속이 glucoamylase 활성이 우수하였다고 하였다.

본 실험에서 900 unit 이상의 M6-3, M9-2, M9-1 균주를 접종하여 누룩을 제조하면 좋은 품질의 누룩이 될 것으로 여겨진다.

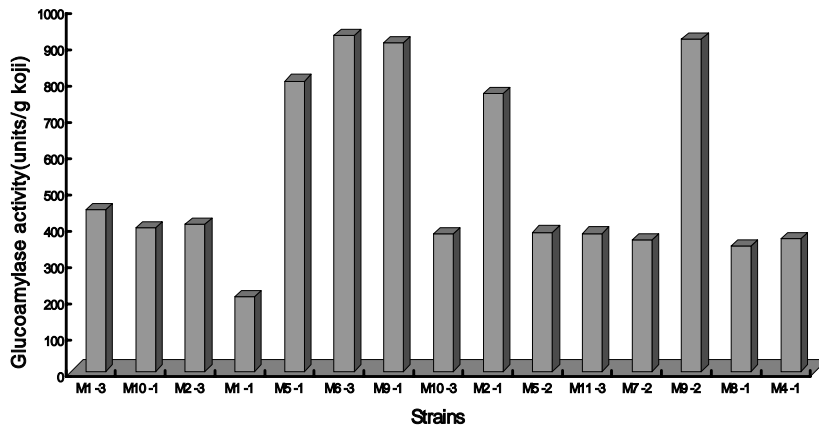
2) 당화력(β -amylase)

분리균주의 β -amylase 효소 활성을 측정하여, 효소활성을 당화력(saccharogenic power, SP)로 나타낸 결과는 Fig. 1(b)에서와 같다. 가장 높은 glucoamylase 활성을

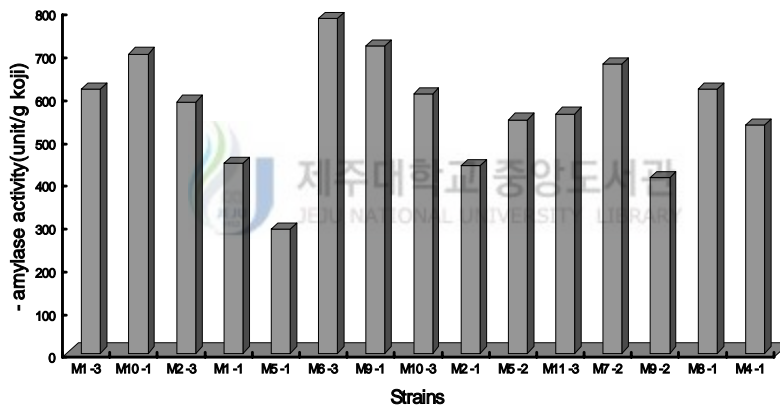
나타내었던 *Aspergillus*속 황국 M6-3 균주가 782.5 unit로 당화력이 우수하였다. 다음으로 717.9 unit인 M9-1 균주이었으며, glucoamylase 활성 900 unit 이상이었던 M9-2 균주는 408.9 unit으로 낮은 활성을 나타내었다. 또한, glucoamylase 활성이 799.2 unit로 다소 높은 활성을 나타내었던 M5-1 균주는 289.0 unit로 가장 낮은 활성을 보였다. 이는 균주의 생리적 특성 때문으로 여겨진다.

녹말원료로 술을 양조하는데 있어서 국(koji)의 효소활성, 특히 당화력이 높으면 국의 사용량을 줄일 수 있고, 또한 국을 제조하는데 소요되는 시간과 경비를 줄일 수 있다(신, 1994). β -amylase는 녹말의 α -1,4 결합을 비환원성 말단 glucose 잔기로부터 β 형의 maltose를 생성하면서 차례로 α -1,6 결합의 분기점에 이르러 작용이 정지된다. 다량의 maltose와 함께 상당히 분자량이 큰 dextrin을 생성한다(이, 2000).

김 등(1997)은 누룩에서 분리된 18균주를 대상으로 7일간 배양하여 당화력을 측정하였다. 김 등(1998)은 균주의 배양시간에 따른 당화력 실험을 하였는데, 대부분의 균주가 시간의 경과에 따라 당화력이 감소한다고 하였다. 효소활성이 균주의 생리적 특성 차이로 다르게 나타날 수 있지만, 실험 오차를 줄이기 위해서는 균주의 특성을 정확히 파악하여 좀 더 동일한 조건에서 실험이 이루어져야 할 것으로 여겨진다.



(a)



(b)

Fig. 1. Glucoamylase activity(a) and β -amylase activity(b) of selected isolates.

M1 : mold from Nuruk(Cheju National University).

M2 : mold from Guksandang Nuruk. M4 : mold from Jungang Nuruk.

M5 : mold from Songhak Nuruk.

M6 : mold from Jeju Folk Village(yellowish Nuruk).

M7 : mold from Chungmu(whitish Nuruk).

M8 : mold from Suwon(whitish Nuruk).

M9 : mold from Chungmu(yellowish Nuruk).

M10 : mold from Hanae(whitish Nuruk). M11 : mold from Jeju Nuruk.

3) 액화력(α -amylase)

분리 균주의 액화력(α -amylase)을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 액화력은 M7-2 균주가 3.15 A.U.(α -amylase unit)로 활성이 가장 좋았으며, M2-3 균주가 2.56 A.U.로 가장 낮은 활성을 나타내었다. 3.0 A.U. 이상의 균주는 7균주였다. glucoamylase 활성 및 당화력에서 높은 활성을 나타내었던 *Aspergillus*속 황국 M6-3 균주, 또한 3.04 A.U.로 우수한 활성을 보였다.

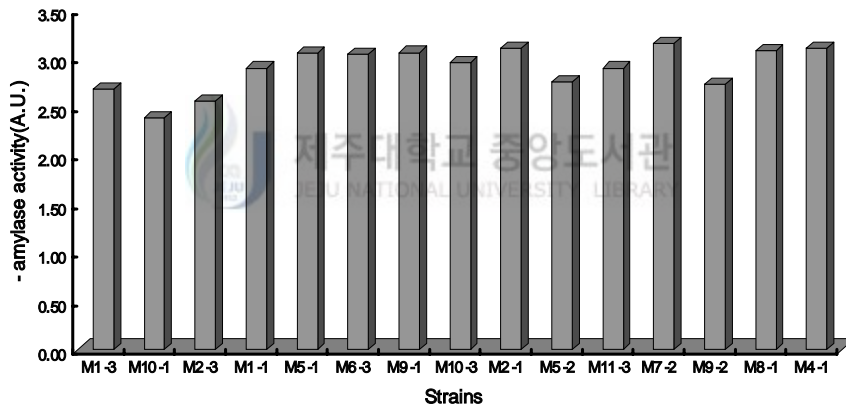


Fig. 2. α -amylase activity of selected isolates.

- M1 : mold from Nuruk(Cheju National University).
- M2 : mold from Guksandang Nuruk. M4 : mold from Jungang Nuruk.
- M5 : mold from Songhak Nuruk.
- M6 : mold from Jeju Folk Village(yellowish Nuruk).
- M7 : mold from Chungmu(whitish Nuruk).
- M8 : mold from Suwon(whitish Nuruk).
- M9 : mold from Chungmu(yellowish Nuruk).
- M10 : mold from Hanae(whitish Nuruk). M11 : mold from Jeju Nuruk.

분리균주의 액화력은 배양일수가 증가함에 따라 효소활성이 증가한다(김 등, 1997). α -amylase는 녹말의 α -1,4 결합을 임의로 분해하나, α -1,6 결합을 분해하지 못한다. 따라서 녹말의 점도는 급속히 저하하며 dextrin화한 결과 환원당의 증가는 대단히 느리고, 반응액의 요오드반응은 청색~적색을 거쳐 무색으로 된다. 최종분해생성물은 dextrin, maltose와 glucose이다. 생성된 환원당은 α 형이어서 α -amylase라 불린다. *Aspergillus oryzae* 균주는 amylase 중 α -amylase를 주체로 한다(김, 1995).

박 등(1995)은 일반가정에서 제조한 누룩과 재래시장에서 판매하는 소규모 제조의 누룩에서 균을 분리하여 액화력을 측정한 결과 *Aspergillus*속이 우수한 활성을 나타냈다고 보고하였다. 신 등(1996)은 황국균(*Aspergillus oryzae*)과 백국균(*Aspergillus usamii* mut.)을 배양하여 만든 국에 대하여 α -amylase 활성을 비교하였다.

이상과 같이 누룩으로부터 분리한 사상균에 대하여 효소활성을 측정한 결과 glucoamylase 활성, 당화력 그리고 액화력에서 우수한 활성을 나타낸 *Aspergillus*속 황국 M6-3 균주를 중국의 종류별로 담금한 좁쌀주의 발효특성 실험에 사용할 균주로 최종선발 하였다.



4. 누룩 및 원료별 무기성분 분석

미생물 분리에 사용한 누룩과 누룩원료인 보리, 밀기울 그리고 좁쌀주 원료미인 차좁쌀의 무기성분 분석의 결과는 Table 7과 같다. Na는 미생물에 대하여 삼투압 조절, 물질 운반, 에너지 대사 등의 기능을 한다. Mg는 세포벽 및 원형질막 구성과 인산에테르 화합물에 결합하여 대사 조절에 관여한다. P는 핵산 인지질 등에 포함되어 있으며 nucleotid계 조효소로서 생체 반응에 중요한 역할을 하고, K는 세포내 무기염류로 존재하면서 삼투압을 조절한다. Ca는 각종 효소의 일부분으로 세포벽과 결합한다. Fe는 산화-환원 반응 조효소의 구성성분이고, Cu와 Zn은 각종 oxygenase, alcohol dehydrogenase등의 효소를 포함한다(김, 1995).

Table 7. Mineral contents of Nuruk, naked barley, glutinous millet, and wheat bran(mg/100g)

Sample number	Collected area	Na	Mg	P	K	Ca	Fe	Cu	Zn
1	Nuruk (Cheju Nat. Univ.)		242.50	632.00	609.00	74.30	1.42	1.05	
2	Guksundang	9.15	234.90	555.00	634.00	49.93	6.43	0.66	3.14
3	Jinju	10.51	133.40	257.80	359.80	41.69	2.21	0.54	2.74
4	Jungang	6.38	153.70	383.80	388.40	41.01	2.40	0.54	1.94
5	Songhank	6.77	184.80	478.80	465.90	45.18	1.32	0.52	2.30
6	Jeju Folk Village		261.50	808.00	465.60	27.18	6.75	0.57	
7	Chungmu	8.16	284.90	815.00	402.10	36.01	24.56	0.48	2.71
8	Suwon	8.61	200.10	627.00	367.30	21.94	5.57	0.50	2.69
9	Chungum	5.75	152.00	446.90	201.10	39.89	1.74	0.62	1.84
10	Hanae	7.59	107.40	321.30	103.30	12.40	1.86	0.81	4.49
11	Jeju	7.67	174.50	441.80	344.70	37.12	1.52	0.62	1.98
12	Naked barley	12.78	62.30	185.30	166.70	25.32	2.43	0.31	1.55
13	Glutinous millet		194.70	476.90	278.10	17.79	1.84	0.70	
14	Wheat bran	20.51	522.00	1262.00	900.00	103.05	6.43	1.27	5.60

Sample 7, 8 - Fermentation Chemistry Laboratory

Sample 6, 9 - yellowish Nuruk

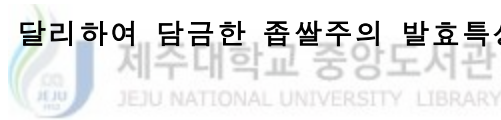
Sample 7, 8, 10 - whitish Nuruk

누룩 중 무기물 함량은 전체적으로 P > K > Mg > Ca > Na > Fe > Zn > Cu 순으로 함량이 많았다. Na의 경우 진주 누룩이 10.51mg%로 많았고, 충무 황국이 5.75 mg%로 가장 낮은 함량이었다. Mg, P, Fe는 충무 백국이 각각 284.9, 815, 24.56 mg%의 함량으로 가장 높았으며, K와 Ca는 국순당 누룩이 634, 49.93 mg%으로 높았다. Cu와 Zn은 실험실에서 제조하여 보관 중인 누룩이 1.05, 4.27 mg%의 함량으로 많았다.

조(2001)는 주질 향상과 수율 향상을 발효환경 개선에서 찾아보고자 발효주정의 원료별 미생물의 세포구성 성분, 알코올 발효 및 대사과정에서 필수적인 각종 무기성분들의 함량을 분석하였다.

보리의 경우 P 185.3 mg%, K 166.7, Mg 62.3, Ca 25.32 mg%의 함량이었다. 좁쌀주의 원료인 차좁쌀의 경우 P 476.9, K 278.1, Mg 194.7, Ca 17.79 mg%의 함량이었고, 밀기울은 P 1262, K 900, Mg 522, Ca 103.05 mg% 등으로 전체적으로 가장 많은 함량이었다.

5. 종국의 종류를 달리하여 담금한 좁쌀주의 발효특성



우수 균주로 분리된 *Aspergillus oryzae* M6-1과 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)에서 분양을 받은 *Aspergillus awamori* 6970, 백국균 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 각각 접종하여 만든 누룩과 일반 재래시장에서 판매하는 누룩으로 좁쌀주를 양조하였다.

약주, 탁주 등 양조공업에 이용되는 사상균의 대부분이 *Aspergillus*속에 속한다. 균 종의 색은 황색, 백색, 흑색으로 색깔에 의하여 황국, 흑국, 백국 등으로 나누며(김, 1994), 황국균인 *Aspergillus oryzae*는 전분 당화력과 단백질 분해력이 강하다(이, 2000). *Aspergillus usamii*는 백국균이며, 알코올 제조용 녹말원료의 당화에 이용되고, 흑국균인 *Aspergillus awamori*는 Okinawa와의 Awamori 제조에 이용된다(김, 1994). 이와 같은 특성을 지닌 각각의 균주를 접종한 누룩으로 좁쌀주를 양조하여 발효특성을 알아보았다.

1) pH 및 총산

좁쌀주의 발효 과정 중 pH 및 총산은 Fig. 3, Fig. 4에서와 같다. 2단 담금 직후의 pH는 3.58~3.81이었다. 발효 1일에서 4일째까지 감소하여 pH가 3.26~3.34까지 떨어졌다가, 발효 5일부터는 완만히 증가하거나 변화가 없었다. 발효 후기에는 3.29~3.47이었다. pH가 일정기간 떨어지는 이유는 효모나 사상균에 의한 산 생성이나 초산균, 젖산균의 생육에 의한 것으로 보인다(홍, 1996).

시험구별로 보면 담금 직후에는 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구가 pH 3.81로 가장 높았고, pH 3.58로 *Aspergillus oryzae* 황국균 M6-1 누룩구가 가장 낮았다. 발효 8일에는 백국균인 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구, 황국균인 *Aspergillus oryzae* M6-1 누룩구, 재래 시판누룩구, 흑국균인 *Aspergillus awamori* 6970 순으로 높았다.

총산은 담금 직후 0.41~0.6%이었으며, 발효 후기까지 계속 증가하였다. 발효하기 시작한 2일부터 백국균인 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구가 다른 처리구에 비해 산 함량의 증가율이 컸다. 발효가 시작된 8일 후에 총산은 2.18%로 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구가 가장 높았고, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구가 1.38%로 가장 낮아 0.8%의 차이를 보였다.

이러한 차이는 누룩에서 유래되는 산 생성력의 차이가 원인으로 보였다. 담금 직후의 산 함량은 누룩이나 원료에서 유래된다. 발효가 진행되면서 효모나 젖산균 등의 미생물 작용으로 각종 유기산이 생성되므로 총산의 함량이 증가하는데(한 등, 1997), 본 실험에서 다른 연구보고보다 발효초기에 높은 산 함량을 나타낸 것은 주모와 밀술의 영향으로 보인다. pH가 낮아지다가 완만히 증가하고, 산 함량이 증가하는 것은 한 등(1997)과 김 등(2000)의 탁주와 벌꿀주의 분석결과와 일치하였다.

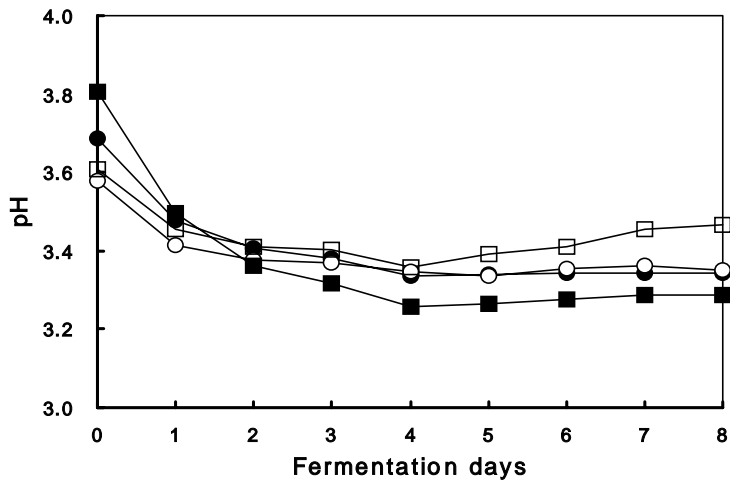


Fig. 3. pH changes during fermentation.

-●- made from Nuruk on city market, -○- made from *Aspergillus oryzae* Nuruk, -■- made from *Aspergillus awamori* Nuruk, -□- made from *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* Nuruk

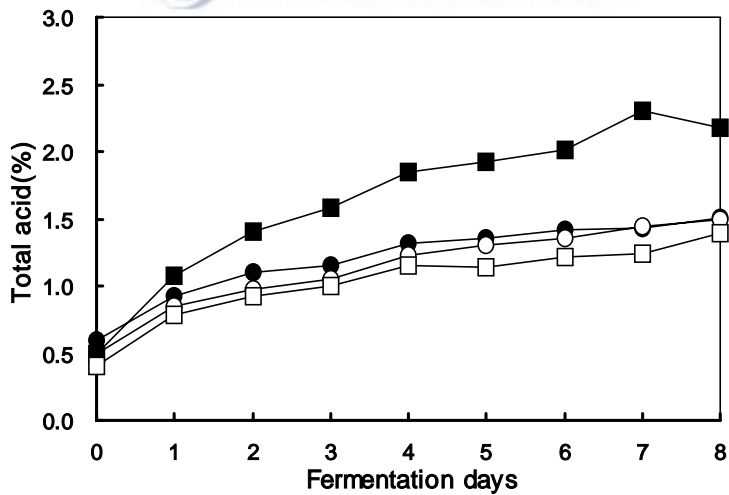


Fig. 4. Acid content changes during fermentation.
symbols refer to Fig. 3.

2) 가용성 고형물

발효과정 중 좁쌀주의 가용성 고형물을 측정된 결과는 Fig. 5에서와 같다. 담금 직후 모든 처리구에서 2.60~2.84°Brix로 낮은 함량이었다. 이는 1단 담금 기간동안 주모의 영향으로 산 생성이 활발히 이루어진 결과로 보인다. 발효 1일부터 가용성 고형물은 증가하여 발효 8일에는 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구가 6.63 °Brix로 가장 높았고, 다음으로 6.35°Brix를 나타낸 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구, 5.86°Brix의 재래 시판누룩구, 5.65°Brix의 *Aspergillus oryzae* 누룩구 순이었다.

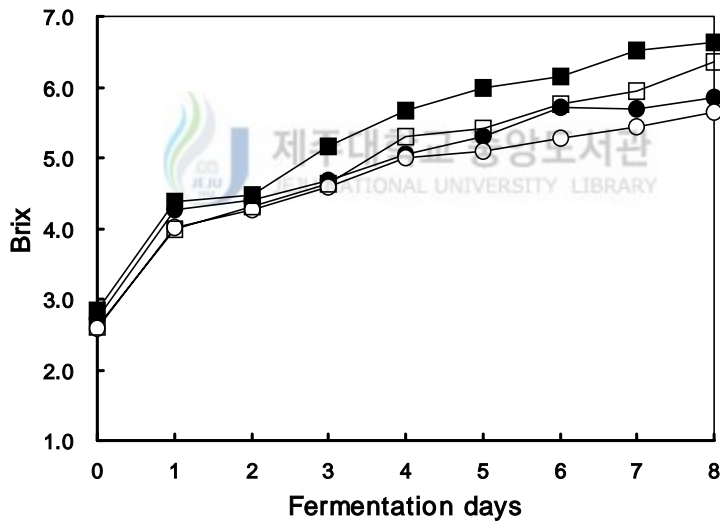


Fig. 5. Changes in soluble solids(°Brix) during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

3) 색 도

발효과정 중 좁쌀주의 황색도 b값을 측정한 결과는 Fig. 6에서와 같다. 담금 직후 황색도인 b값은 재래 시판누룩과 *Aspergillus awamori* 누룩구가 각각 20.28과 19.13이었다. *Aspergillus oryzae* 누룩구, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구의 14.56, 12.2보다 높았다. 담금 직후의 황색도는 누룩 고유의 색깔 때문으로 보인다.

시판 재래누룩은 옅은 황색으로 탁한 색깔이었고, 흑국균인 *Aspergillus awamori* 6970을 접종한 누룩은 흑색을 띠었다. *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 접종하여 제조한 것은 누룩 자체의 색이 다른 처리구보다 탁하지 않았다.

황색도는 발효가 진행될수록 증가하여 발효 8일에는 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구가 28.26으로 가장 높았으며, 재래 시판누룩 26.39, *Aspergillus oryzae* 누룩구가 22.59, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구가 21.94 순이었다. 담금 직후의 경향이 발효 말기까지 변화가 없는 것으로 보아, 좁쌀주의 색은 누룩 자체의 색깔에 영향을 받는 것으로 보인다. 재래 시판누룩과 *Aspergillus awamori* 6970을 접종한 누룩으로 양조한 좁쌀주는 탁한 정도가 강하였고, 다른 처리 누룩구의 경우 맑은 색을 띠었다.

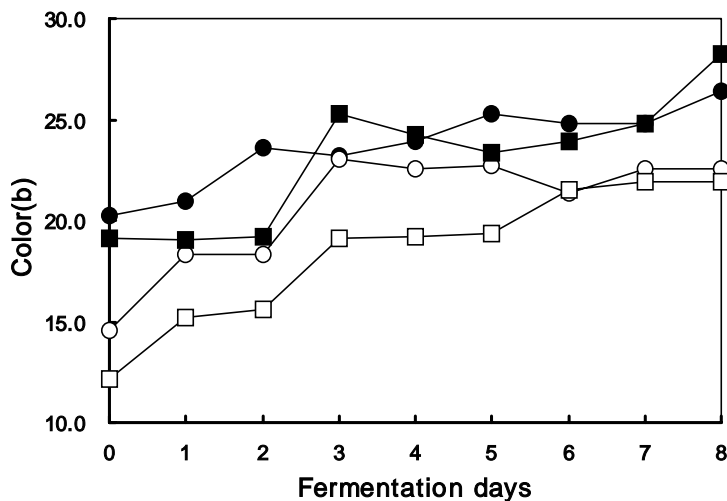


Fig. 6. Changes in color(b) of broth during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

4) 알코올 함량

발효 과정 중 에탄올 함량을 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. 담금 직후의 에탄올 함량은 4.6~4.9%로, 한 등(1997)의 탁주발효에서의 2.0~3.0%보다 높았다. 이는 주모와 1단 담금 기간의 알코올 발효에 따른 것으로 보인다. 발효기간 중 급속한 변화 없이 완만히 증가하여 발효시작 8일에는 9.3~10.6%의 에탄올 함량을 나타내었다. *Aspergillus awamori* 6970 접종 누룩구가 10.6%로 가장 높았으며, 10.1%의 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구, 9.7%의 *Aspergillus oryzae* 누룩구 순이었으며, 재래 시판 누룩구가 차이는 크지 않지만 9.3%로 가장 낮은 에탄올 함량을 나타내었다.

접종한 미생물의 종류에 따른 효소력의 차이가 좁쌀주 발효 중 에탄올 함량에도 영향을 주는 것으로 여겨진다. 본 실험에서 담금 초기에는 에탄올 함량의 차이가 없으나 발효기간이 경과하면서 누룩구별로 조금씩 차이를 보였다. *Aspergillus awamori*와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii*를 이용하면 에탄올 함량이 우수한 좁쌀주를 제조할 수 있을 것이다.

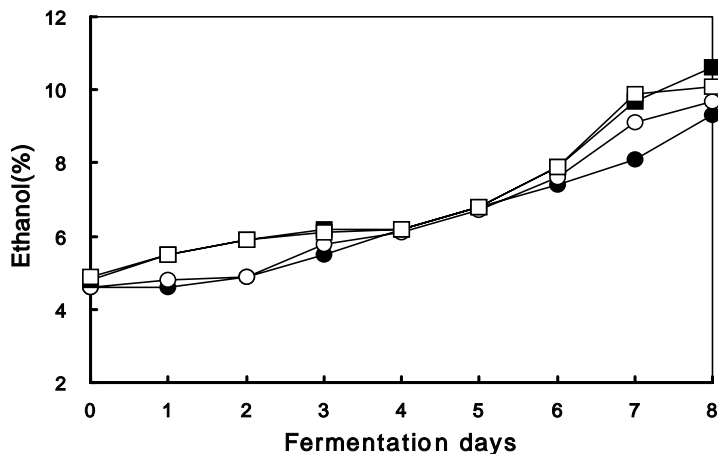


Fig. 7. Changes in ethanol content during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

5) 유기산

누룩의 종류를 달리하여 제조한 좁쌀주의 발효 과정 중, 발효 1일, 2일, 4일, 6일, 8일째의 발효액을 채취하여 유기산으로 oxalic acid, citric acid, tartaric acid, lactic acid, acetic acid의 조성을 알아본 결과는 Table 8과 같다.

oxalic acid는 *Aspergillus oryzae* 누룩구가 발효 1일에 117.52 ppm으로 높았으며, 모든 처리구에서 발효 2일에 감소하였다가 다소 증가하는 경향을 보였다. 발효 8일에는 *Aspergillus usami* mut. *shirousami* 6959 누룩구가 가장 많은 79.51 ppm이었다. citric acid의 경우 *Aspergillus awamori* 누룩구에서 발효 1일에 255.88 ppm이었고, 나머지 발효 기간 중에는 검출되지 않았다. 다른 처리구 에서도 발효 2일까지만 검출되었다.

재래 시판누룩구에서 발효 1일과 2일에 각각 102.39 ppm, 73.10 ppm이었다. *Aspergillus oryzae* 누룩구에서는 129.12 ppm, 65.37 ppm이었으며, *Aspergillus usami* mut. *shirousami* 6959 누룩구는 301.69 ppm, 191.60 ppm이었다. tartaric acid는 재래식 시판 누룩에서 발효 1일에만 51.79 ppm 검출되었고, 다른 처리구에서는 검출되지 않았다.

lactic acid는 다른 유기산에 비하여 가장 많은 함량을 차지하였고, 발효 2일까지는 감소하였다가 증가하였다. 발효 1일에는 2417.44~4544.29 ppm이었으며, *Aspergillus awamori* 누룩구는 발효 4일 후 lactic acid 함량이 급속히 상승하여 발효 8일에는 9347.29 ppm으로 가장 낮은 *Aspergillus usami* mut. *shirousami* 6959 누룩구의 4779.31 ppm과 많은 차이를 보였다. 이는 *Aspergillus awamori* 누룩구가 발효 말기에 젖산 발효가 활발히 일어난 결과로 여겨진다.

acetic acid는 자극취가 있는 산미를 나타내며 세균에 의한 산화생성물(홍, 1996)인데 *Aspergillus usami* mut. *shirousami* 6959 누룩구에서는 발효 1일, 2일에는 검출되지 않았으며, 4일, 6일, 8일에 51.06, 104.04, 96.18 ppm을 나타내었다. *Aspergillus oryzae* 누룩구에서는 발효 1일에만 364.84 ppm 검출되었다. 재래 시판누룩구는 발효 1일에 50.8 ppm에서 발효 6일 후 급속히 상승하여 364.13 ppm으로 가장 많았다. *Aspergillus awamori* 누룩구는 발효 2일에 73.49 ppm으로 떨어졌다가, 다시 증가하면서 발효 8일에 169.92 ppm이었다. *Aspergillus awamori* 누룩구는 발효 2일에 73.49 ppm으로 떨어졌다가 다시 증가하면서 발효 8일에 169.92 ppm이었다.

Table 8. Organic acid contents during fermentation(ppm)

Sample	fermentation day	Oxalic acid	Citric acid	Tartaric acid	Lactic acid	Acetic acid
T	1	67.24	102.39	51.79	2828.84	50.80
	2	46.67	73.10	ND	2608.29	74.52
	4	56.23	ND	ND	4263.92	129.31
	6	57.68	ND	ND	4106.08	167.21
	8	68.73	ND	ND	6043.68	364.13
O	1	41.33	129.12	ND	2969.83	364.84
	2	34.63	65.37	ND	1764.50	ND
	4	31.86	ND	ND	3083.26	ND
	6	33.91	ND	ND	3842.62	ND
	8	36.34	ND	ND	5947.00	ND
A	1	117.52	255.88	ND	4544.29	116.29
	2	47.49	ND	ND	2574.95	73.49
	4	55.81	ND	ND	5760.78	179.07
	6	72.46	ND	ND	9512.62	195.95
	8	74.81	ND	ND	9347.96	169.92
U	1	74.19	301.69	ND	2471.44	ND
	2	62.03	191.60	ND	2365.36	ND
	4	65.68	ND	ND	3421.01	51.06
	6	72.49	ND	ND	4303.68	104.04
	8	79.51	ND	ND	4779.31	96.18

ND : not detected

T : made from Nuruk on city market

O : made from *Aspergillus oryzae* Nuruk

A : made from *Aspergillus awamory* Nuruk

U : made from *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* Nuruk

6) 유리당

좁쌀주 발효과정 중 유리당으로 xylose, arabinose, glucose, maltose의 조성을 알아본 결과는 Fig. 8에서 Fig. 11에서와 같다. xylose는 다른 유리당과는 다르게, 발효가 진행될수록 증가하는 경향을 나타내었다. *Aspergillus awamori* 누룩구는 발효 4일부터 함량이 급속히 상승하였고, 다른 처리구 또한 발효 6일부터 큰 폭으로 상승하여 발효 8일에는 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구, *Aspergillus awamori* 누룩구, *Aspergillus oryzae* 누룩구, 재래 시판누룩구 순으로 많았다.

arabinose는 재래 시판누룩구와 *Aspergillus awamori* 누룩구는 증가하는 경향을 보였고, *Aspergillus oryzae* 누룩구와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구는 감소하였다. 발효초기의 함량은 *Aspergillus awamori* 누룩구, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구, 재래 시판 누룩구, *Aspergillus oryzae* 누룩구 순으로 함량이 많았다.

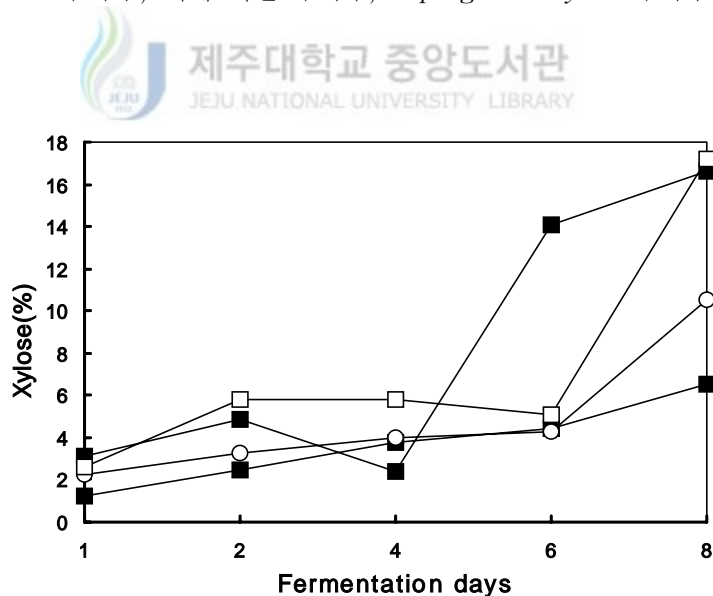


Fig. 8. Changes in xylose content during fermentation symbols refer to Fig. 3.

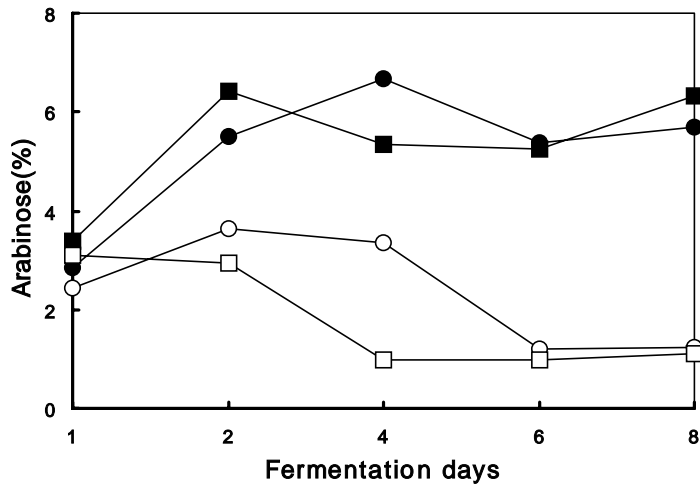


Fig. 9. Change in arabinose content during fermentation.
symbols refer to Fig. 3.



glucose는 처리구 모두 발효가 진행될수록 감소하였다. *Aspergillus oryzae* 누룩구는 발효 1일에 가장 높은 함량을 나타냈으나, 1일 이후 급속히 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 초기의 함량은 *Aspergillus awamori* 누룩구, 재래 시판누룩구, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구, *Aspergillus oryzae* 누룩구 순으로 많았다. maltose는 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 가장 적은 함량을 나타내었고, *Aspergillus oryzae* 누룩구는 발효 8일의 함량이 1일의 함량보다 낮았다.

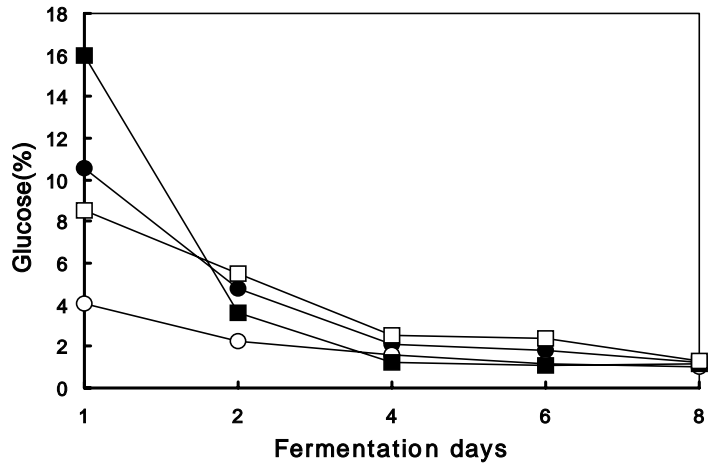


Fig. 10. Changes in glucose content during fermentation.
symbols refer to Fig. 3.

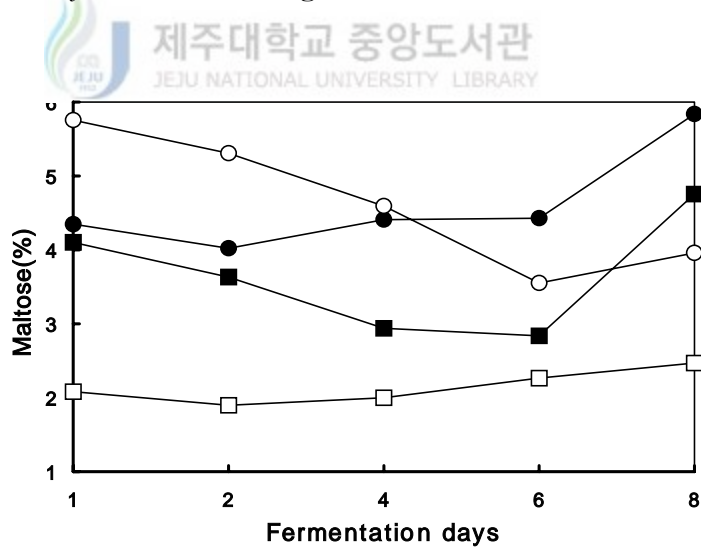


Fig. 11. Changes in maltose content during fermentation.
symbols refer to Fig. 3.

7) 휘발성 향기성분

좁쌀주의 발효과정 중 휘발성 향기성분으로 acetone, ethyl acetate, methanol, ethanol, n-propanol, iso-butanol, iso-amyl alcohol을 분석한 결과는 Fig. 12~Fig. 18에서와 같다.

acetone은 발효 1일에 재래 시판누룩구에서 13.83 ppm으로 가장 많은 함량에서 발효 8일에는 5.46 ppm으로 감소하였고, 다른 누룩구는 발효가 진행될수록 증가하였다. 재래 시판누룩구는 발효일에 따른 함량의 변화가 심하였다. ethyl acetate는 발효 1일에 24.43~82.18 ppm에서 발효 8일에 83.56~223.04 ppm으로 증가하였다. *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구는 발효 6일에 함량이 크게 증가하여 223.04 ppm으로 가장 많은 함량을 나타내었다. methanol은 전체 성분 중 가장 낮은 함량을 나타내어 발효 1일에 3.84~7.16 ppm이었고, 발효 8일에는 6.17~8.8 ppm의 함량이었다.

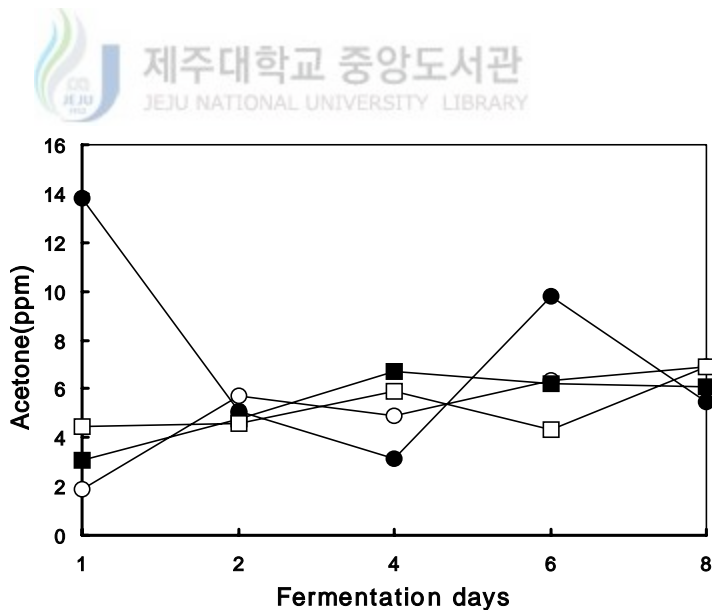


Fig. 12. Changes in acetone content during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

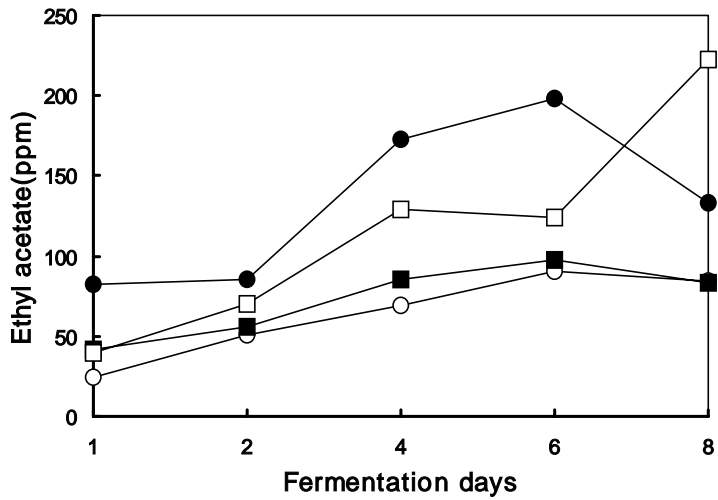


Fig. 13. Changes in ethyl acetate content during fermentation.

symbols refer to Fig. 3.

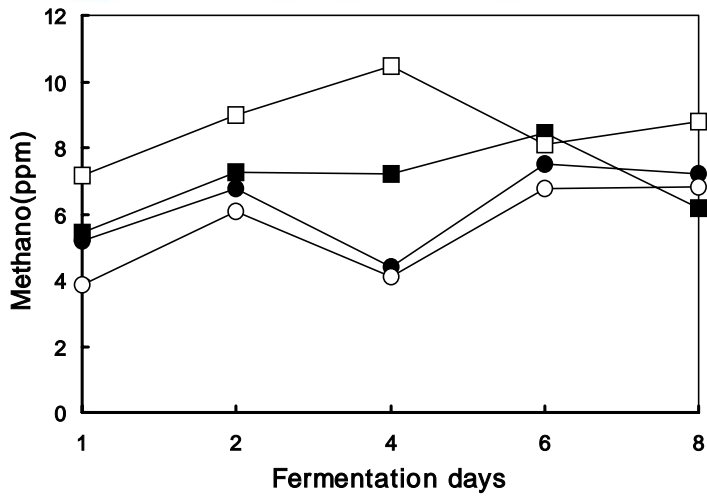


Fig. 14. Changes in methanol content during fermentation.

symbols refer to Fig. 3.

ethanol은 전체 성분 중 가장 많은 함량으로 발효 1일에 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 5.38%로 높았으며, 발효기간 중 증가하여 발효 8일에는 5.63%이었다. n-propanol은 발효 1일에 1.24~63.83 ppm에서 발효 8일에 24.2~82.3 ppm이었다. *Aspergillus oryzae* 누룩구와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구는 함량이 37.18, 63.83 ppm에서 24.2, 42.85 ppm으로 감소하였다.

iso-butanol은 n-propanol과 비슷한 함량이었고, *Aspergillus oryzae* 누룩구와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구는 37.47, 54.15 ppm에서 28.94, 42.49 ppm으로 감소하였다. iso-amyl alcohol은 감미로운 바나나 향으로 효모 발효에 의해 leucine으로부터 생성되고 fusel oil의 일종으로 ethanol과 함께 소주의 주 향기성분으로(홍, 1996) 알려져 있는데, ethanol을 제외하고는 좁쌀주 발효액 중 가장 많이 존재하였다. 발효 1일에 110.42~265.51 ppm에서 발효 8일에 143.28~252.17 ppm이었다.

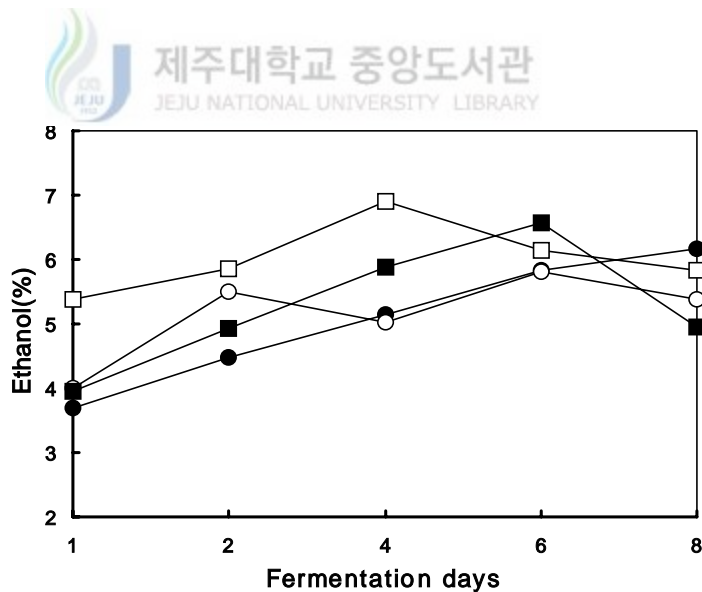


Fig. 15. Changes in ethanol content during fermentation.
symbols refer to Fig. 3.

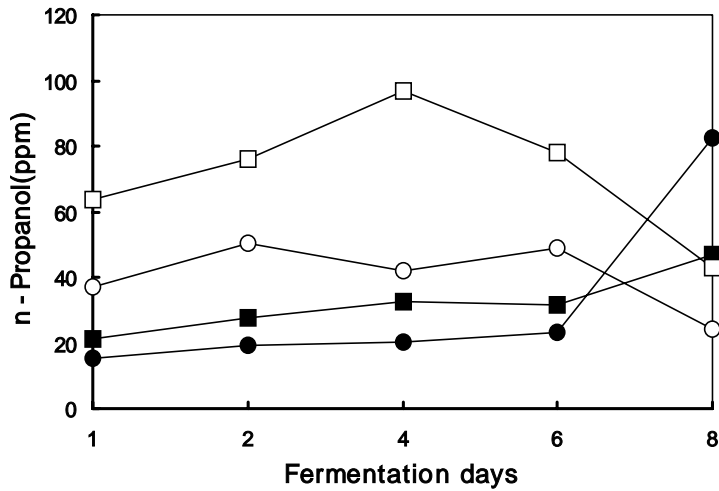


Fig. 16. Changes in n-propanol content during fermentation.

symbols refer to Fig. 3.



Aspergillus usamii mut. *shirousamii* 누룩구는 발효 1일에 265.51 ppm으로 높았으나 발효 4일에 급속히 감소하여 발효초기 보다 낮은 함량을 나타내었다. 재래 시판 누룩구외에 다른 누룩구에서도 발효 6일에 감소하는 경향이였다. 발효과정 중 전체적으로 휘발성 향기성분은 증가하였다.

알코올 함량이 높으면 fusel oil류의 함량도 높은 경향을 보이는데(한 등, 1997), 본 실험에서도 알코올 함량이 높은 *Aspergillus awamori* 누룩구와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 fusel oil의 주성분인 iso-amyl alcohol 함량이 높았다. 이상의 결과에 따라 흑국균인 *Aspergillus awamori* 와 백국균인 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 미생물을 이용하여 좁쌀주를 양조할 경우 좋은 향과 높은 알코올 수율을 기대할 수 있어 품질 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

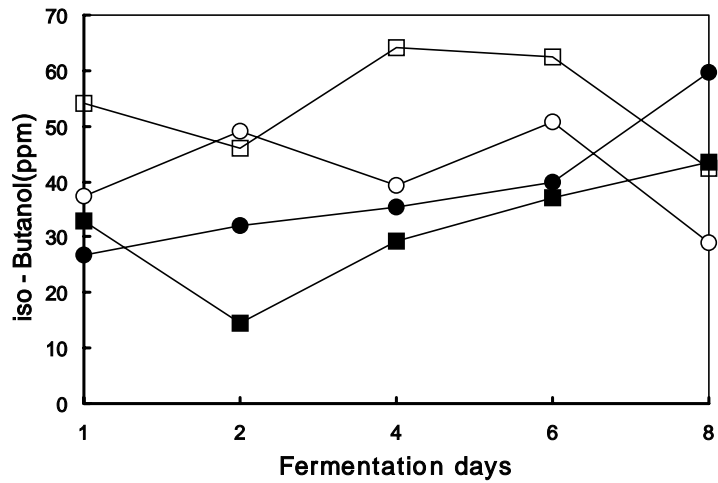


Fig. 17. Changes in iso-butanol content during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

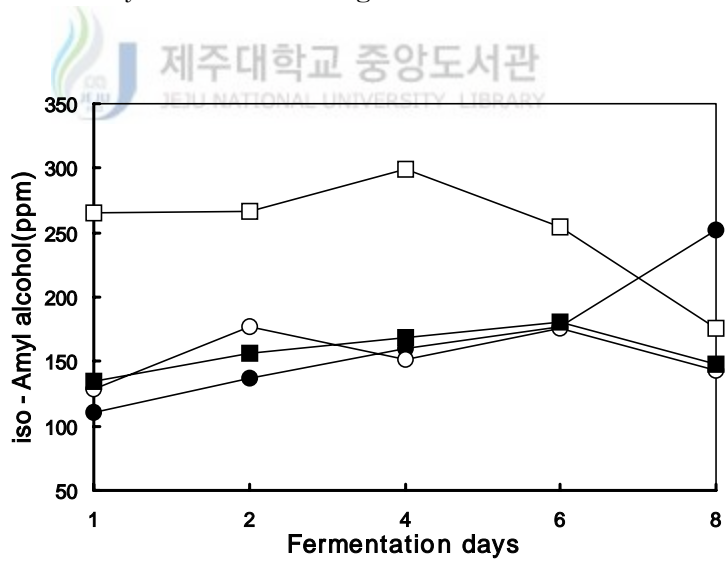


Fig. 18. Changes in iso-amyl alcohol content during fermentation. symbols refer to Fig. 3.

8) 관능검사

제주대학교 학생 16명을 대상으로 각각의 누룩을 가지고 좁쌀주를 양조하여 발효가 끝난 후 색깔(color), 향기(aroma), 맛(taste)에 대하여 관능평가를 한 성적은 Fig. 19와 같다. 색깔에 대한 평가는 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 평균 5.94로 다른 누룩구에 비하여 좋았다. 황색도값이 높았던 *Aspergillus awamori* 누룩구는 탁한 정도가 심하여 관능평가에서 제일 낮은 기호도를 나타내었다.

향기에 대하여서는 비슷한 기호도를 나타냈다. 이는 각각의 처리구에 *Saccharomyces*속으로 동정되어 선발된 효모 Y5-1 균주를 이용하여 주모를 제조한데 기인한 것으로 보인다. 맛에 대한 기호도에서는 색깔에 대하여 좋은 기호도를 보였던 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 좋았으며, 산 함량에서 다른 처리구보다 높았던 *Aspergillus awamori* 누룩구가 신맛의 정도가 심하여 낮은 기호도를 나타내었다. 전체적으로 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 색깔, 향기, 맛에 대하여 좋은 기호도를 나타내었다.

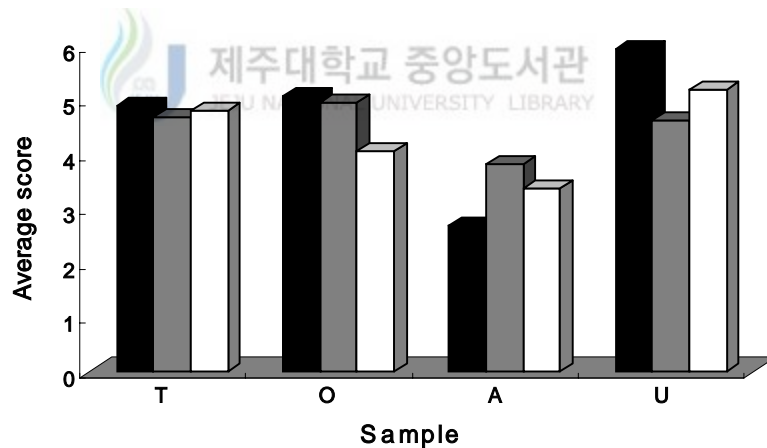


Fig. 19. Sensory evaluation of millet-wine prepared with different Nuruk.

■ : Color, ■ : Aroma, □ : Taste.

T : made from Nuruk on city market

O : made from *Aspergillus oryzae* Nuruk

A : made from *Aspergillus awamory* Nuruk

U : made from *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* Nuruk

IV. 요약 및 결론

제주민속 좁쌀주의 제조를 위하여 누룩에서 분리한 미생물의 특성과 우수균주로 선발된 효모와 사상균 *Aspergillus*속 M6-3 및 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)에서 분양을 받은 *Aspergillus awamori* 6970와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959를 접종하여 만든 누룩과 일반 재래시장에서 판매하는 누룩으로 좁쌀주를 양조하여 발효특성을 분석한 결과는 다음과 같다.

1. 누룩에서 분리한 미생물의 균수는 효모의 경우 $1.0 \times 10^7 \sim 2.0 \times 10^8$ CFU(colony forming unit), 사상균은 $1.0 \times 10^7 \sim 2.7 \times 10^8$ CFU이었으며, 향이 좋은 효모 15 균주와 사상균 15 균주를 선발하여 미생물의 특성 실험에 사용하였다.
2. 효모의 생리적 특성에서 알코올 생성은 2.4~4.6%, pH는 4.22~5.81이었으며, 내알코올성 및 내당성 실험에서는 600nm에서 흡광도가 각각 0.029~0.311, 0.131~1.984이었다.
3. 분리된 사상균에 대하여 glucoamylase, β -amylase, α -amylase의 효소활성을 측정된 결과 glucoamylase 활성은 205.8~924.3 unit, β -amylase 활성은 289.0~782.5 unit, α -amylase의 효소활성은 2.39~3.06 A.U.이었다.
4. *Saccharomyces*속으로 동정된 효모 Y5-1 균주와 황국에서 순수 분리된 사상균 *Aspergillus oryzae* M6-3 균주가 좁쌀주 양조에 가장 우수하였다.
5. 누룩 및 보리, 차좁쌀, 밀기울 중 무기물 함량은 전체적으로 $P > K > Mg > Ca > Na > Fe > Zn > Cu$ 순으로 함량이 많았으며, 좁쌀주의 원료인 차좁쌀의 경우 P 476.9 mg%, K 278.1 mg%, Mg 194.7 mg%, Ca 17.79 mg%이었다.
6. 선발균주 및 분양균주로 담금한 좁쌀주의 발효특성 실험에서 pH는 발효기간 중 감소하였고, 총산, 가용성 고형물, 색(황색도 b), 알코올 함량은 증가하였다. 알코올 함량은 *Aspergillus awamori* 6970, *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구가 각각 10.6%, 10.1%로 높았다.

7. 발효기간 중 유기산으로 citric acid는 발효 1~2일에만 검출되었고, tartaric acid는 발효 1일에 재래 시판 누룩구 에서만 51.79 ppm 검출되었다. 발효가 끝난 후 oxalic acid 함량은 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 6959 누룩구가 가장 많았으며, 유기산 중 대부분을 차지한 lactic acid는 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구, acetic acid는 재래 시판누룩구가 가장 많았다.
8. 발효기간 중 유리당으로 xylose, arabinose, glucose, maltose가 검출되었고, glucose와 xylose가 많았으며, 발효가 경과할수록 감소하는 경향이었으나, arabinose의 경우 *Aspergillus awamori* 6970 누룩구와 재래 시판누룩구에서는 증가하였고, xylose는 증가하였다.
9. 휘발성 향기성분으로는 acetone, ethyl acetate, methanol, ethanol, n-propanol, iso-butanol, iso-amyl alcohol이 검출되었으며, 알코올 함량이 높은 *Aspergillus awamori* 누룩구와 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 ethanol과 함께 주 향기성분인 iso-amyl alcohol 함량이 높았다.
10. 좁쌀 양조주의 관능검사 결과 큰 차이는 아니었으나, 색깔과 맛에서 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구가 좋은 성적을 얻었으며, 향의 평가 부분에서는 가장 낮은 *Aspergillus awamori* 누룩구를 제외하고는 비슷한 기호도였다.

누룩에서 분리한 미생물의 특성과 누룩 종류별로 담금한 제주 좁쌀주의 품질특성을 분석한 결과, 향기는 비슷한 기호도를 나타냈다. 알코올 생성과 맛, 색에서는 *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* 누룩구로 양조한 좁쌀주가 우수하여, 좁쌀주 양조에 이 균주를 활용하면 품질 향상에 도움이 될 것으로 판단된다.

V. 참고문헌

- A.O.A.C., 1995. Official methods of analysis, 16th ed., Chapter 28. p.1-16
- Difco Manual, 1984. p. 557, 689, 1131.
- Jeffrey, N. Strathern., Elizabeth, W. Jones., James, R. Broach, 1882. The molecular biology of the yeast *saccharomyces*. Cold Spring Harbor Laboratory, p. 59-96.
- Kenneth, B. Raper., Dorothy, I. Fennell, 1973. The genus *Aspergillus*, Publishing Company, p. 333-338, 315-319, 370-376.
- 강태영, 오귀환, 김근, 2000. 에탄올 생성능과 생존능이 우수한 효모 균주의 분리와 동정, 산업미생물학회지, 28(6), 309-315.
- 고정삼, 2000. 술의 세계, 광일문화사. p. 13-29, 56-75.
- 고정삼, 양영택, 고영환, 강영주, 1993. 제주토속 좁쌀약주의 양조특성. 한국농화학회지, 36(4), 277-283.
- 국세청기술연구소, 1997. 주류제조교본, p. 21-73.
- 김광옥, 이영춘, 1989. 식품의 관능검사. 학연사. p. 144-165, 243-246.
- 김상희, 1999. 약,탁주 발효에 적절한 효모의 선발 및 특성, 박사학위논문, 고려대학교 대학원.
- 김설희, 김선재, 김보희, 강성국, 정순택, 2000. 누룩과 효모의 혼합사용에 의한 벌꿀주의 제조, 한국식품과학회지, 32(5), 1168-1172.
- 김태영, 1997. 전통누룩과 민속주의 양조특성, 생물산업, 10(4), 17-26.
- 김현수, 유대식, 2000. 누룩사상균으로 제조된 전통누룩의 휘발성 향기성분, 산업미생물학회지, 28(5), 303-308 .

- 김현수, 현지숙, 김정, 하현팔, 유대식, 1997. 한국전통누룩에서 분리한 유용 곰팡이의 특성, 한국식품영양과학회지, 26(5), 767-774.
- 김현수, 현지숙, 김정, 하현팔, 유대식, 1997. 전통 누룩 곰팡이의 연구동향, 생물산업, 10(4), 327-32.
- 김현수, 현지숙, 김정, 하현팔, 유대식, 1998. 한국전통누룩에서 분리한 유용 곰팡이의 효소학적 특성 및 동정, 산업미생물학회지, 26(5), 456-464.
- 박정웅, 이계호, 이찬용, 1995. 한국전통누룩에 존재하는 사상균의 분리 동정 및 Amylolytic 효소 활성, 산업미생물학회지, 23(6), 737-736.
- 배상면, 1995. 전통주 제조기술, 국순당부설효소연구소, p. 25-46, 77-81.
- 배상면, 1999. 전통주의 우수성과 산업화 방안, 식품산업과 영양, 4(1), 9-12.
- 소명환, 이재우, 1996. *Rhizopus japonicus* 누룩과 *Aspergillus oryzae* 누룩의 병용에 의한 탁주양조, 한국영양식량학회지, 25(1), 157-162.
- 식품공전, 1991. 한국식품공업협회, p. 354-372.
- 신귀래, 김병철, 양지영, 김용두, 1999. 효모에 따른 약주의 품질특성 1. 분리균주의 동정 및 휘발성 향기성분, 한국식품영양과학회지, 28(4), 794-800.
- 신철승, 이진석, 박윤중, 1996. 청주의 주질 개선을 위한 국 및 효모의 선정과 그 발효 특성, 한국농화학회지, 39(1), 9-15.
- 양지영, 이계호, 1996. 향토주인 산성막걸리의 미생물학적 고찰과 저장성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 28(4), 779-785.
- 유기원, 성장근, 이상선, 유진영, 1996. 한국전통 식품의 원료인 메주와 누룩에서 분리된 접합균에 대한 연구, 한국균학회지, 24(4), 337-347.
- 유대식, 김정, 김현수, 현지숙, 하현팔, 박문근, 1998. 한국 전통누룩 미생물의 문헌적 고찰(1945년 이후를 중심으로), 한국식품영양과학회지, 27(4), 789-800.

- 유대식, 김현수, 홍진, 하현팔, 김태영, 윤인화, 1996. 총설 : 누룩 미생물의 문헌적 고찰 (1945년 이전을 중심으로), 한국영양식량학회지, 25(1), 170-179.
- 이갑상, 2000. 응용미생물학, 대학서림, p. 109, 215-216.
- 이계호, 1995. 생전분 분해성 누룩미생물을 이용한 전통약, 탁주의 고품질화 및 최적화 공정 개발, 한국음식문화연구원논문집, 6, 325-336.
- 이동선, 박혜성, 김건, 이택수, 노봉수, 1994. 전통민속주의 물리화학적 특성, 한국식품과학회지, 26(5), 649-654.
- 이상선, 박대호, 성창근, 유진영, 1997. 한국전통 식품의 원료인 메주와 누룩에서 분리된 황곡균에 대한 연구, 한국균학회지, 25(1), 35-45.
- 이미경, 이성우, 윤태현, 1994. 전통누룩으로 빚은 발효주의 품질 평가, 한국식품영양과학회지, 23(1), 78-77.
- 이병노, 성창근, 오만진, 1997. 전통누룩 곰팡이의 생화학적 및 양조학적 특성, 생물산업, 10(4), 10-16.
- 이정훈, 유대식, 2000. 누룩으로부터 젖산세균의 분리 및 특성, 한국생물공학회지, 15(4), 359-367.
- 이택수, 한은혜, 2000. *Rhizopus japonicus* 누룩으로 담금한 탁주 술덧의 발효 과정 중 휘발성 향기성분, 한국식품과학회지, 32(3), 691-698.
- 이철호, 1998. 한국 발효식품의 유래와 특징, 한국식품과학회, 133-150.
- 정동효, 1993. 발효와 미생물공학, 선진문화사, p. 228-274.
- 정호권, 1999. 21세기 한국 주류 산업의 전망, 식품산업과 영양, 4(1), 3-8.
- 조갑연, 이철우, 1997. 한국 재래식 누룩 중의 곰팡이의 분리 및 동정, 한국식품영양과학회지, 26(5), 759-766.
- 조갑연, 하덕모, 1995. 누룩 중의 젖산균의 분리 및 동정, 한국농화학회지, 38(2), 95-99.

- 조재선, 1999. 전통 식품의 상품화 및 세계화전략, 농촌생활과학, 20(3). 54-59
- 조훈호, 2001. 주정발효 환경분석을 통한 주질개선 방향모색, 주류산업, 21(4), 67-74.
- 하기용, 김영두, 강춘식, 조수연, 1999. koji 원료미의 품종에 따른 양조 특성, 한국육종학회지, 31(4), 336-340.
- 하덕모, 1994. 식품미생물학, 신광출판사, p. 45-144.
- 한은혜, 이택수, 노봉수, 이동선, 1997. 누룩 종류를 달리하여 담금한 탁주 발효과정 중 술덧의 품질특성, 한국식품과학회지, 29(3), 555-562.
- 한은혜, 이택수, 노봉수, 이동선, 1997. 누룩 종류를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 휘발성 향기성분, 한국식품과학회지, 29(3), 563-570.
- 홍연, 1996. 민속증류주의 제조과정에서 발효미생물분포와 품질특성에 관한 연구, 박사학위논문, 서울여자대학교 대학원.
- 홍연, 박승국, 최언호, 1999. *Saccharomyces*와 *Hansenula*의 혼합배양에 의해 제조한 민속 증류주의 향미특성, 산업미생물학회지, 27(3), 236-245.
- 福井三郎, 別付輝彦, 1985. スクリーニソグ技術, 講談社サイエソテイフイク, p. 55.
- 長谷川治, 1984. 微生物の分類と同定, 學會出版セソター, p. 154.

감사의 글

시간의 빠름을 잊고 지내다가 문득 뒤돌아보면 시간의 빠름을 실감하게 됩니다. 석사과정을 엇그제 시작 한 것 같은데 조그마한 결실을 맺게 되었습니다. 논문이라는 결과도 중요하지만, 대학원 생활과 실험과정 중에 있었던 여러 가지 일들이 저에게는 큰 도움이 되었습니다.

논문이 나오기까지 곁에서 지도편달 해주신 고정삼 지도교수님, 바쁘신 가운데 논문을 심사해주신 김찬식 교수님, 식품공학과 고영환 교수님께 감사드립니다. 많은 가르침을 주신 김형욱 교수님, 강순선 교수님, 유장걸 교수님, 류기중 교수님, 현해남 교수님께도 감사드립니다.

식품생물공학 연구실 선배님들, 그리고 곁에서 함께 생활해온 김지용, 일본 유학중인 김영천, 후배 임자훈, 강혜림, 박시방, 전봉수, 대학원생 여러분과, 논문발표 준비에 많은 도움을 준 유기화학 실험실, 석사과정 4학기를 이수하는데 도움을 주신 농촌진흥청 농업시험장 장장님 이하 여러분께도 감사드립니다. 바쁘다는 이유로 많이 만나지 못한 친구들과 항상 관심을 가져주신 친지분들과 동생 정수에게 고마움을 전합니다.

끝으로, 항상 사랑으로 지켜 봐주신 부모님께 감사한 마음과 함께 이 논문을 드립니다.