

# 좁쌀약주 釀造를 위한 균주의 선발\*

梁榮澤 · 康順善 · 高正三

Screening of Strains for Foxtail Millet Wine-making

Yang, Young-taek · Kang, Soon-sun · Koh, Jeong-sam

## Summary

As the manufacturing techniques of foxtail millet wine, a traditional wine in Cheju island, has been transferred by person to person, basic studies on this are not carried out yet. There are many difficulties to industrialize it successfully without improvement of wine quality. The purposes of this study were to screen saccharifying mold strain and brewing yeast for foxtail millet wine-making.

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 as brewing yeast strain for foxtail millet wine-making.

## 結 論

濟州道 土俗酒에 대한 調查報告는 民俗學的인 측면에서 일부 소개되고 있는 實情으로<sup>1)</sup> 釀造工學的인 내용이나 化學的인 分析 또는 微生物學的인 研究 등 學術的인 研究報告가 전혀 없

다. 좁쌀술은 濟州地域의 傳統 土俗酒로서 口傳에 의한 個人秘法으로 전해오다 성읍 민속마을에서 좁쌀 막걸리를 密酒形態로 제조하고 있으며, 濟州民俗村에서는 좁쌀약주를 再現하여 이를 토대로 藥酒 製造免許를 받아 제조하여 販賣하기에 이르렀다.

그러나 지금까지 이에 대한 기초적인 研究가 제대로 이루어지지 않아 酒質改善의 필요성 등

\* 이 논문은 韓國食品開發研究院과의 產學研 協同研究開發 用役에 의하여 이루어진 '濟州土俗 좁쌀藥酒의 釀造特性과 製造方法의 改善'의 報告書의 일부를 修正·補完한 것임.

## 2 亞熱帶農業研究

製造工程상 여러 가지 문제점이 대두되고 있다. 즉, 좁쌀藥酒의 제조에 있어서 곡자의 당화력이 약할 뿐만 아니라 原料特性으로 인하여 제성율이 떨어지고, 제조법이 단순하고 비위생적인 管理로 저장성이 없으며, 酸敗가 용이하고, 釀造者 및 釀造方法에 따라 品質이 일정하지 않아 大量生産에 의한 商品化하기가 매우 어려운 형편이다. 이에 科學的인 方法의 導入에 의한 좁쌀藥酒 製造工程을 改善하여 釀造하므로써 觀光商品化는 물론 民俗資源을 保存할 필요가 있다.

釀造酒에서 品質의 優劣은 原料의 化學成分, 釀造에 관여하는 酵母의 生理的 性質, 原料성분에서 醱酵가 진행되는 과정의 釀造特性 등에 의한 것으로 알려져 있다<sup>2,3)</sup>. 또한, 釀造酒의 제조에 있어서는 발효 후 浮遊物을 빨리 침전시키므로써 釀造酒가 투명할 뿐만 아니라 釀造酒의 맛, 향기, 그리고 안정성을 유지할 수 있으며, 현탁된 酵母를 침전물과 더불어 제거하므로써 良質의 醱酵酒를 얻을 수 있다고 하였다<sup>4)</sup>

좁쌀藥酒는 濟州道의 전통적인 民俗酒로서 이를 보존함은 물론 釀造技術의 開發을 통하여 산업화를 위한 기초적인 研究를 필요로 하고 있다. 따라서 본 연구에서는 좁쌀藥酒의 製造를 위한 곡자용 優秀菌株를 選拔하고 이들의 特性을 검토하였다.

## 材料 및 方法

濟州地域에서 生産되는 1990년산 좁쌀 (foxtail millet; *Setaria itarica*, BEAUVOIS)을 사용하였다.

濟州大學校 農化學科 生物工學 研究室에 保存중인 전분당화력이 강한 곰팡이와 알코올 醱酵能이 큰 酵母菌株를 사용하였다. 이 외에도 濟州地域에서 市販되는 재래식 누룩과 회사제품인 곡자 등 여러 종류의 試料를 수집하고, 試

료에 들어있는 糖化菌 및 酵母를 집적배양법에 의해 평판배양한 다음 純粹分離하여 이들의 糖化力 및 醱酵力을 검정하였다.

연구실에 保存중인 菌株와 市販하는 곡자에서 분리한 菌株를 밀기울 培地에 접종하여 30°C에서 5일간 培養한 다음 밀기울량에 대하여 20배의 증류수를 가하여 抽出한 다음 여과하고, 6,000g에서 10분간 원심분리시켜 얻어진 상정액을 粗酵素液으로 하였다. 粗酵素液의 澱粉糖化力에 대한 酵素活性은 2% 가용성 澱粉 5ml와 0.1N 초산완충액(pH 5.0) 4ml에 조효소액 1ml을 가하여 50°C에서 30분간 反應시킨 후 유리되는 還元糖을 측정하였으며, 각각의 菌株를 배양한 밀기울(koji) 1g에 대하여 1분간 유리되는 포도당의 mg 수를 1 unit로 표시하였다.

또한, 좁쌀의 糖化特性을 알아보기 위하여 100mesh로 분쇄한 차좁쌀 0.5g에 증류수 4ml를 가하여 증자한 다음 여기에 조효소액 1ml를 가하여 50°C에서 30분간 반응시킨 후 生成되는 還元糖을 측정하므로써 곡자에 의한 좁쌀의 당화정도를 측정하였다. 反應液 중의 환원당 함량은 Somogyi-Nelson法<sup>5)</sup>에 의해 分析하였으며, 조효소액의 단백질 함량은 Bradford방법<sup>6)</sup>에 의해 定量하였다.

양조용 優秀酵母의 선발에 있어서는 保存菌株 및 분리한 菌株를 200ml 후라스크에 10% 포도당을 醱酵源으로 하여 각각 접종한 다음 28°C에서 培養하였다. 醱酵중에 발생하는 탄산가스의 放出量은 醱酵期間중에 일어나는 減量을 重量법으로 측정하였다. 발효후에 생성된 에탄올 함량은 FFAP capillary column을 사용하여 GC (PYE Unicam 304, UK) 分析에 의하여 측정하였다. 또한, 殘糖含量은 Abbe굴절계로, pH는 pH meter에 의하여 측정하였다.

## 結果 및 考察

좁쌀은 釀造原料로 사용하는 다른 곡류에 비하여 알갱이가 매우 작고 껍질이 매우 단단하여 관행적인 침지와 증자만으로는 澱粉質의 노출이 어려운 특징을 가지고 있다. 즉, 다른 釀造原料에 비하여 浸漬에 의한 수분흡수가 충분치 못하고 蒸餾 후에도 대부분 단단한 좁쌀 형태가 그대로 유지되며, 발효 후에도 일부는 糖質이 노출되지 않는 상태로 남아 있어 醱酵效率 및

제성율이 떨어지는 결점을 가지고 있어서 우수 균주의 선발이 요구되고 있다.

保存菌株 및 市販 곡자에서 분리한 菌株를 이용한 밀기울 koji의 澱粉 糖化力에 대한 酵素活性의 測定結果는 Table 1과 같으며, 이 중에서 우수 菌株를 배양한 후 얻어진 粗酵素液의 酵素活性 및 좁쌀에 대한 당화력은 Table 2와 같다. 粗酵素의 澱粉 糖化活性에 있어서는 *Trichoderma*

Table 1. Saccharifying activity of crude enzyme on soluble starch

Strain	Enzyme activity <sup>1)</sup>	Strain	Enzyme activity
<i>Aspergillus awamori</i> IAM 2299	70.65	M-243 <sup>3)</sup>	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

- 1) Enzyme activity is expressed as 1 unit liberated 1mg glucose/min · ml on soluble starch with 1g of cultivated wheat bran.
- 2) Strain isolated from fermented wheat, product of Institute of Fermentation Chemistry, Suweon.
- 3) M represents mold strain isolated from fermented wheat.

Table 2. Enzyme activity of crude enzyme form selected mold strain 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-264	<i>A. oryzae</i> <sup>1)</sup>
pH	6.05	6.58	6.77	4.60	5.60	6.91
Enzym activity <sup>2)</sup>	77.4	51.8	30.2	22.4	14.2	122.4
Protein (mg/ml)	0.74	0.49	0.54	0.42	0.28	0.62
Reducing sugar (%) liberated from millet	19.34	13.31	12.24	5.72	3.17	19.10

- 1) Strain isolated from fermented wheat, product of Institute of Fermentation Chemistry, Suweon.
- 2) Enzyme activity is expressed as 1 unit liberated 1mg glucose/min · ml on soluble starch with 1g of cultivated wheat bran.

4 亞熱帶農業研究

viride IAM 5141이 높았으나, 이는 amylase 외에 cellulase 活性에 의한 것으로 推定되었으며<sup>7)</sup>, 좁쌀에 대한 당화력은 *Aspergillus awamori* IAM 2299가 가장 좋았다.

발효화학연구소(수원)에서 제조한 種糖에서 분리한 菌株인 *Aspergillus oryzae*를 배양한 밀기울 koji의 당화력이 가장 높았다. 그러나 濟州地域에 市販되는 곡자중에서 분리한 균주는 전분당화력 및 좁쌀에 대한 糖化力이 대체로 약하였으며, 이를 사용하여 제조한 藥酒는 제성율이 떨어지고 酒質低下가 우려되었다.

전분 당화균 중에서 비교적 酵素活性이 우수한 *Aspergillus oryzae* 86804, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori* IAM 2299을 배양한 후 이들 粗酵素液의 가용성 전분에 대한 反應溫度와 pH에 대한 영향은 Fig.1과 Fig.2와 같다. 50~60°C, pH 4.8~5.5에서 각각 최대활성을 보였으며, *Aspergillus oryzae*의 最適反應溫度와 最適反應 pH

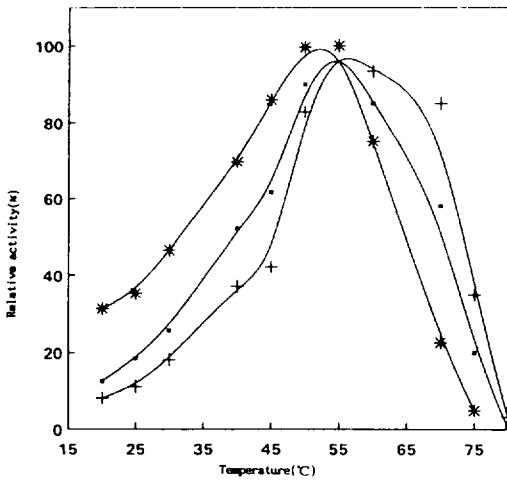


Fig. 1. Effect of reaction temperature of crude enzyme on saccharifying activity of soluble starch

- *Aspergillus awamori* IAM 2299
- +--+ *A. oryzae* 86804
- \*-\* *A. oryzae* isolated from fermented wheat

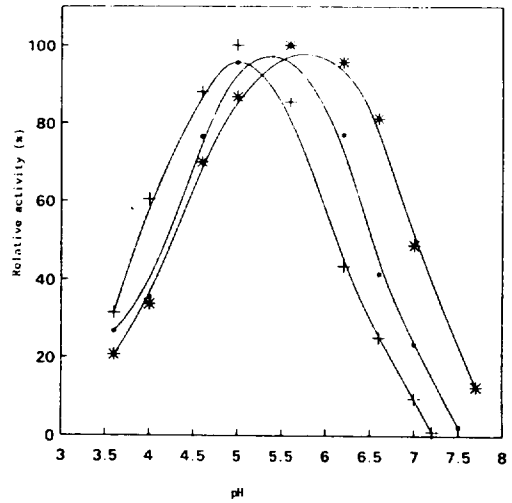


Fig. 2. Effect of reaction pH of crude enzyme on saccharifying activity of soluble starch

- *Aspergillus awamori* IAM 2299
- +--+ *A. oryzae* 86804
- \*-\* *A. oryzae* isolated from fermented wheat

는 55°C, pH 5.6이었다.

*Aspergillus awamori* IAM 2299는 발효온도인 20°C와 25°C에서 糖化活性이 最適溫度에 비하여 각각 12.6%와 18.6%에 불과하지만 分離菌株인 *Aspergillus oryzae*는 31.4%와 35.4%를 유지하여 비교적 좁쌀당화가 원만히 이루어지는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 발효화학연구소에서 제조한 곡자에서 황국균 (*Aspergillus oryzae*)을 순수분리하고 이를 우수 糖化菌으로 選定하였다.

양조용 효모의 선발에 있어서 CO<sub>2</sub>방출량, 에탄올 생성량, 殘糖含量 및 pH를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 市販하는 곡자에서 분리한 酵母菌株는 대부분 에탄올 생성과 CO<sub>2</sub> 방출량이 적었으며, 이 중에서 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274, *S. cerevisiae* IFO 0243, *S. uvarum* (*cerevisiae*) IFO 0565가 에탄올 生成이 많은 것으로 나타났다. 이 중에서도 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274는 감귤발효주 생산<sup>8)</sup>에 있어서도 優

Table 3. Screening of yeast for millet wine-making

Strain	CO <sub>2</sub> (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 <sup>1)</sup>	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

1) Y represents isolated yeast strain from fermented wheat.

秀菌株로 選定되어 그의 生理的인 性質이 잘 알려져 있어서 糖의 이용성과 유기산 생성이 많은 점 등을 고려하여 좁쌀약주 製造의 優秀菌株로 選定하였다.

현재까지 전국적으로 土俗酒 제조에 사용하는 곡자에 대한 研究는 매우 미흡한 實情이며, 좁쌀藥酒에 대한 研究는 報告된 바 없다. 특히

좁쌀을 原料로 하는 경우 다른 釀造原料에 비하여 알갱이가 작고 껍질이 두껍고 단단하기 때문에 醱酵源으로 이용할 수 있는 糖質을 노출시키기 어려운 原料特性으로 인하여 釀造收率을 높이기 위해서는 浸漬 및 증자조건을 조절하거나 당화력 및 발효력이 큰 우수균주를 사용하는 方案이 요구되고 있다.

濟州地域에서 市販하고 있는 재래식 곡자로 부터 분리한 菌株의 당화력 및 발효력은 保存菌株에 비하여 훨씬 떨어졌으며, 이를 사용하여 제조된 土俗酒는 酒質低下를 초래한 것으로 판단되었다. 그러나 발효화학연구소에서 제조한 곡자로 부터 순수분리한 *Aspergillus oryzae*는 당화력이 우수한 것을 알 수 있었으며, 좁쌀약주의 제조에 수율 향상에 도움을 주는 것을 알 수 있었다. 따라서 傳統食品으로서 좁쌀약주의 개발은 앞으로 좀더 체계적인 연구를 통하여 독특한 맛을 낼 수 있고, 酒質을 향상시킬 수 있는 곡자제조가 먼저 이루어져야 할 것으로 보인다.

## 摘 要

製造技術 開發을 통하여 濟州土俗 傳統酒인 좁쌀약주의 産業化를 위한 기초적 研究로서 釀造原料인 좁쌀에 대한 優秀 糖化菌과 釀造酵母를 選定하고 그의 特性을 검토하였다. 좁쌀당 화균으로는 곡자에서 分離한 *Aspergillus oryzae*를, 釀造酵母로서는 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274를 優秀菌株로 選定하였다. 가용성 전분을 基質로 하였을 때 *Aspergillus oryzae*를 밀기울 培地에 培養한 후 抽出한 粗酵素液의 最適反應溫度와 pH는 55°C, pH 5.6였으며, 醱酵溫度인 20와 25°C에서는 最適條件에 비하여 31.0%와 35.4%의 酵素活性을 유지하였다. *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4274는 짧은 醱酵期間에 에탄올 生成이 많고 有機酸 生成이 많아 좁쌀약주 製造를 위한 釀造酵母로서 유용한 것으로 판단되었다.

## 引 用 文 獻

1. 현용준, 김영돈, 현길언, 1986. 全國民俗酒 調査, 문화재관리국, p.176.
2. 이계호, 1977. 증류수 숙성에 관한 연구, 한국농화학회지, 20(1), 66.
3. 이계호, 양차범, 조재선, 高正三, 박상기 : 1976. 증류주별 숙성통제에 있어서 국산 참나무 통재목의 품종별 이용특성에 관한 기초적 연구, 과학기술처 연구보고서, R-76-46
4. Cruess, W.V., Quachia, R. and Ericson, K., 1955. Pectic enzymes in wine making, *Food Technol.*, 8, 601.
5. Hatanaka, C. and Kobara, Y., 1980. Determination of glucose by modification of Somogyi-Nelson method, *Agric. Biol. Chem.*, 44, 2943.
6. Bradford, M.M., 1976. Microassay, Academic Press, p.248.
7. 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, 한국농화학회지, 19(3), 130.
8. 高正三, 고남권, 강순선, 1989. 제주도산 감귤발효주의 양조특성, 한국농화학회지, 32(4), 416.