

G 1154-0760

19702844

제 2 차 년 도
최 종 보 고 서

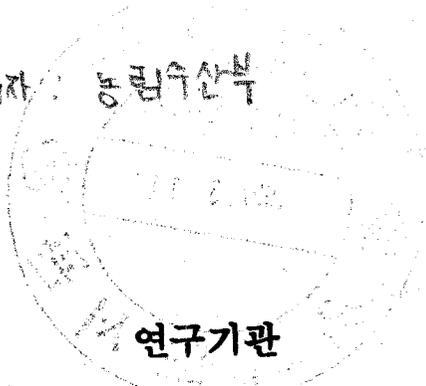
663.13
L293 8
U.2

전통주의 품질개선 기술개발

A Study on Quality Improvement of Traditional Alcoholic Beverages

KW-1 대로

이전서자 : 농림수산부



연구기관

한국식품개발연구원

농 립 부

제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “전통주의 품질개선 기술개발” 사업의 최종 보고서로 제출합니다.

1996년 11월 29일

연구기관 : 한국식품개발연구원

연구책임자 : 안 병 학(생물공학연구부)

참여연구원 : 박 완 수(생물공학연구부)

이 명 기(생물공학연구부)

배 중 호(국순당)

위촉연구원 : 최 은 향(생물공학연구부)

김 선 주(생물공학연구부)

요 약 문

I. 제목

전통주의 품질개선 기술개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

품질과 가격면에서 고급 수입주류와 경쟁력이 있고 제조공정상 품질관리가 가능하며 우리 고유의 우수한 향미를 갖는 전통주의 산업적 생산을 위하여 당화력과 향이 우수한 곰팡이를 선발하고 순수배양에 의한 누룩을 제조함으로써 제조공정을 과학화한다.

2. 연구개발의 중요성

본 연구의 중요성은 경제발전에 의한 주류 소비의 고급화 및 주류시장 개방에 의한 국내산 주류의 경쟁력 약화에 따라 외국주류가 빠른속도로 국내시장을 점유해가고 있어 국내 주류업계는 외국주류와 경쟁력이 있는 현대적 감각의 주류 개발이 절실한 실정이다. 그러나 국내 현실은 전통적으로 쌀을 이용하는 민속주의 제조방법이 1927년 조선총독부의 주세령 공포 후 전통주 제조의 단속 및 일본식 개량양조법에 의한 획일적 대량생산과 해방 후 극심한 식량부족으로 인한 양곡관리법의 공포에 따른 제조중단으로 전래의 제조방법이 소멸되거나 변형되어 본래의 풍미가 사라져 가고

있으며, 이러한 사회적 배경은 우리술에 대한 과학적 연구까지 위축시켜 기초자료조차 조사되어 있지 않은 상태에서 전통의 맥이 끊겨 있다. 전통적으로 쌀을 이용하는 민속주는 전래의 제조방법이 소멸되거나 변형되어 본래의 풍미가 사라져 갈 위기에서 88올림픽을 대비하여 1986년에 46종의 전통민속주가 발굴되었고 1995년 10월 현재 문배주, 안동소주 등 38종의 민속주가 제조면허를 득하였으나 산업적 대량 생산기술의 부족으로 우수한 고유의 맛과 향이 완벽하게 재현되지 않아 품질과 가격면에서 외국산 주류와의 경쟁에 어려움을 겪고 있다. 전통주제조시 주효소원과 발효미생물원으로서 사용되는 누룩은 소맥을 주원료로 만들어지는데 그 제조방법은 증자하지 않은 생소맥분에 물을 30-40% 가하고 틀에 넣고 압착하여 성형한 후 소맥중에 존재하던 미생물과 자연중의 세균, 효모, 곰팡이 등이 부착되어 충분히 번식케함으로서 amylase, protease 등의 효소 생성을 유도하고 동시에 알콜발효를 위한 효모를 증식시킨 후 건조시킨다. 그러나 전통술의 맛과 향 및 발효에 직접적인 영향을 미치는 누룩의 미생물이 완전하게 밝혀져 있지 않으며 제조방법도 확립되어 있지 않은 상태이다. 따라서 민속주의 품질개선 및 관리에는 누룩의 품질관리가 필수적이고 이를 위해서는 순수배양균주의 이용이 필연적이다.

III. 연구개발내용 및 범위

1. 전통누룩 및 전통주의 수집, 분석

전국에서 누룩 및 전통주류를 수집하여 형태, 크기, 수분함량, 침출물의 pH 및 산도, 색도, 당화력, α -amylase 및 acidic protease 활성 등 국제청주류분석규정에 따른 특성분석

2. 전통술의 이화학적 특성분석

전통 약주류를 수집하여 국제청주류분석규정에 따라 pH, 산도, 환원당, 총당, 아미노산도, 굴절계에 의한 Brix도 등 이화학적 특성 분석 및 저장성과 관련된 일반세균 및 효모 등 미생물학적 분석

3. 전통술의 향미특성분석

전통주류의 향미특성을 구명하기 위한 ethyl acetate 및 고급 알코올 등 휘발성 방향물질의 분석, 유리 아미노산 함량 및 유기산 분석

4. 우수 곰팡이의 분리

생전분당화력 및 향미생성 능력이 우수한 곰팡이 균주를 수집된 누룩으로부터 분리

5. 누룩의 제조 및 시험양조

선발된 우수 균주를 starter로하는 누룩의 제조와 시험양조

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

전국에서 누룩 115점을 수집하여 형태, 크기, 수분함량, 침출물의 pH 및 산도, 색도, 당화력, α -amylase 및 acidic protease 활성 등을 분석, 측정하였으며, 전통주류 19점을 수집하였다.

전국에서 수집된 115개의 누룩 중 형태를 확인할 수 있는 것은 대부분이 원판형이었고 평균 크기는 지름 15 - 22 × 두께 3 - 6cm였으며 국제청 주류분석규정에 따른 일반특성 및 효소적 특성을 분석한 결과, 수집된 누룩의 평균 수분함량은 13%, 물 침출액의 pH는 6.2, 0.1N NaOH 소모량으로 표시한 산도는 0.2였다.

누룩의 당화력은 평균 700를 나타내었으며 수집누룩의 약 31%가 900 이상의 당화력을 보였으며 우수 당화효소 생성 미생물의 존재 가능성이 높은 1,200 이상의 높은 당화력을 보이는 시료가 다수 수집되었다.

α -Amylase 활성은 평균 1,051을 나타내었으며 전혀 활성을 나타내지 않는 시료와 3,000 이상의 높은 값을 나타낸 시료 등 시료에 따라 큰 차이를 보였다. 산성 프로테아제 활성은 평균 5,000 수준이었고 시료의 약 10%는 평균값의 2배 이상을 나타내는 등 다른 효소력과 같이 심한 개체 차이를 나타내었다. 당화력, α -Amylase 활성, 산성 프로테아제 사이의 유의적인 관계는 활성이 낮은 시료에서는 모두 낮은 값을 나타내었으나 높은 값을 보인 시료 사이에서는 유의적인 관계가 관찰되지 않았다.

전통 약주의 pH는 4.2, 산도는 6.0 정도였으며 환원당함량은 편차가 매우 크고 다른 주류에 비해 당도가 높았다. 전통주의 향기성분으로 formaldehyde, acetaldehyde, ethyl acetate, ethanol, propanol, iso-butanol, iso-amyl alcohol, dimethylsulfide가 분리되었다. 전통주의 주된 유기산은 fumaric, malic, succinic, citric, oxalic였으며 glutamic acid, histidine, arginine, methionine, proline, leucine등이 주된 유리 아미노산이었다.

115점의 누룩으로부터 생쌀전분 및 호화전분 자화성 곰팡이를 각각 298균주 및 304균주 등 602균주를 분리하였으며 생쌀전분 자화성 우수균주 42균주 및 호화전분 자화성 우수균주 38균주 등 80균주를 선발하고 생밀기울에 접종하여 누룩 1g이 2% 가용성 전분을 55℃에서 60분간 가수분해하

여 생성하는 포도당 mg수를 백분율로 표시하는 당화력 4,000 이상의 높은 활성을 갖는 35균주를 포함하여 최종적으로 50균주를 선발하였다.

선발된 균주를 접종한 누룩으로 제조한 약주의 일반분석 결과는 기존 약주와 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 청징액의 색은 균주에 따라 짙은 갈색부터 미황색까지 큰 차이를 나타내었다. 관능적 향기특성은 우수균주로 선정된 균주의 대부분인 황녹색 포자형성균주가 주로 약주향과 유사한 우수한 향을 생성하였으나 일부 균주는 노화취를 생성하였다. 맛성분인 유기산은 균주의 그룹에 따라 황녹색 포자형성균주들은 malic acid, 검은색 포자형성균주들은 oxalic acid를 특징적으로 생성하였으며 lactic acid는 모든 균주들이 1,500~1,900ppm정도를 생성하였다.

이상과 같이 효소활성이 높은 균주 접종에 의한 누룩의 생산은 누룩의 품질과 주질관리를 용이하게 할 것이며, 또한 균주에 따른 유기산 생성 등의 차이를 맛의 차등화에 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

여 백

Summary

I. Title of Research

A Study on Quality Improvement of Traditional Alcoholic Beverages

II. The Object and Importance of the Research

1. Object of the research

This research was launched for the industrial production of traditional alcoholic beverages that have competitive power with imported counterparts in quality and price wise, and to make quality control possible, and to impart excellent flavor. In doing so, fungal strains, that are good in saccharification activity and flavor, were isolated and used for the scientific manufacture of *Nuruk*.

2. Importance of the research

It is strongly required to develop alcoholic beverages of today that could compete with imported counterparts. However, after the declaration of wine tax in 1927 by Japanes governor during colonial period, production of home made traditional alcoholic beverages was

banned, thereafter, Japanese style uniform brewery replaced traditional method. Even after the independence, traditional way of brewery was interrupted, vanished or modified due to severe lack of rice. This social pressure contracted research atmosphere and basic study of traditional brewery came to an end. To prepare '88 olympic game, 46 traditional alcoholic beverages were discovered in 1986, and at present 38 traditional alcoholic beverages have acquired license to produce. However, they are still produced in small scale and reviving traditional taste and flavor are far away to accomplish. This make our traditional alcoholic beverages in low competetion level with imported alcoholic beverages.

The *Nuruk*, a starter for traditional brewery, is being made from wheat. It is prepared by adding 30-40% water to unsteamed wheat powder, molded and the production of microbial amylase and protease are induced by natural flora such as molds, bacteria and yeasts. Finally it is dried after the growth of yeasts. However, the nature of microorganisms that affect the taste and flavor of the alcoholic beverages is not fully understood and the industrial production of *Nuruk* making is yet to be established. Therefore, quality control of *Nuruk* is prerequisite to improve the quality of traditional alcoholic beverages and use of pure culture is very important.

III. Content and scope of the research

1. Collection of traditional *Nuruk*, alcoholic beverages and their analysis

Nuruk and traditional alcoholic beverages were widely collected from the nation. Shape, size, water content, pH and acidity of the exudate, color, saccharification activity, α -amylase and acidic protease activities were examined.

2. Physicochemical properties of traditional alcoholic beverages

Acidity, pH, reducing sugar and total sugar contents, amino acid, Brix were measured from traditional '*Yakju*'. Also, the number of total bacteria and yeast were measured.

3. Flavor analysis of traditional alcoholic beverages

Volatile aromatic compounds, such as ethyl acetate and higher alcohol, content of free amino acids and organic acids were measured.

4. Isolation of molds

Molds of high saccharification activity and good flavor production were isolated from *Nuruk*.

5. Preparation of *Nuruk* and its application

Quality improvement of *Nuruk* using the isolated strains and analysis of fermentation characteristics.

IV. Conclusion and Recommendation

From 115 *Nuruk* samples collected nation wide, shape, size, water content, pH and acidity of the exudate, color, saccharification activity, α -amylase and acidic protease activities were examined. Nineteen traditional alcoholic beverages were collected as well.

Most of the *Nuruk* were circular shaped and their size was 15-22 x 3-6 cm. Water content, pH of the water exudate and acidity expressed in the consumption of 0.1N NaOH were 13%, 6.2 and 0.2, respectively.

The average saccharification activity of *Nuruk* was 700 and 31% of the samples showed more than 900, and several samples exhibited more than 1,200.

The average α -amylase activity was 1,051 and it varied from sample to sample. The mean value for acidic protease was 5,300 and 10% of the samples were 2 times higher than their mean value. Saccharification, α -amylase and acidic protease activities were commonly low in samples of low activity, whereas, the relationship was not related between sample of higher activity.

The pH and acidity of traditional alcoholic beverages were 4.2 and 6.0, respectively. The reducing sugar content varied from sample to sample. Formaldehyde, acetone, acetaldehyde, ethyl acetate, ethanol, propanol, iso-butanol, iso-amylalcohol and dimethylsulfide were isolated from the traditional alcoholic beverages. Fumaric acid, malic acid, succinic acid, citric acid and oxalic acid were the major organic acids and glutamic acid, histidine, arginine, methionine, proline and leucine

were the major free amino acid of traditional alcoholic beverages.

Among 115 *Nuruk* samples, 298 strains with raw starch saccharification activity and 304 strains of steamed starch saccharification activity were isolated. Growth, raw starch saccharification activity, production of saccharifying enzyme in wheat bran medium were studied. Selected strains were inoculated to the wheat bran sterilized by ethylene oxide and the medium was incubated at 30°C for 2 days. After drying the sample, saccharifying activity, water content, and the production of saccharifying enzymes were compared. As a result, 50 strains of fungi were selected.

The result of general analysis of *Yakju* brewed by *Nuruk* of isolated strains did not show remarkable difference with traditional *Yakju*. However, the color of exudate varied from dark brown to light yellow and each strain showed remarkable difference. The selected strains, most of the yellowish green spore-formers, produced good flavor that is close to *Yakju* flavor. However, some of them imparted old flavor. Yellowish green spore-formers distinctively produced malic acid, whereas black spore-former produced oxalic acid, and lactic acid was produced at 1,500~1,900 ppm from both groups.

As a conclusion, the use of strains with high enzyme activity in *Nuruk* preparation will enhance the quality of *Nuruk* and will provide the quality control of *Yakju* easier and the differences in organic acid production by different strains will be applied in differentiating the taste of *Yakju*.

여 백

Contents

I. Introduction	19
II. Materials and Methods.....	24
1. Materials	24
1) Source of microorganism isolation.....	24
2) Media and Reagents	24
2. Methods.....	25
1) Chemical analysis of <i>Nuruk</i>	25
① Moisture	25
② pH	25
③ Aicdity	25
④ Saccharogenic power.....	26
⑤ Total sugar	27
⑥ Color	27
2) Analysis of volatile compounds.....	27
3) Analysis of organic acid.....	28
4) Analysis of free amino acid	28
5) Isolation of microorganisms from <i>Nuruk</i>	30
6) <i>Nuruk</i> and <i>Koji</i> making.....	31
7) Fermentation experiment.....	31

III. Results and Discussion	32
1. Characteristics of <i>Nuruk</i>	32
2. Characteristics of traditional alcoholic beverages	51
1) General composition of <i>Yakju</i>	51
2) Volatile compound of <i>Yakju</i>	51
3) Organic acid of <i>Yakju</i>	55
4) Free amino acid of <i>Yakju</i>	57
3. Isolation of microorganisms from <i>Nuruk</i>	59
1) Isolation of raw rice starch assimilating fungi.....	59
2) Isolation of gelatinized starch assimilating fungi.....	69
3) Results of <i>Nuruk</i> and <i>Koji</i> making.....	75
4) Results of fermentation experiment.....	78
IV. References.....	95

목 차

I. 서론	19
II. 재료 및 방법.....	24
1. 실험재료.....	24
1) 균주의 분리원.....	24
2) 배지 및 시약	24
2. 실험방법.....	25
1) 누룩의 분석.....	25
가) 수분분석	25
나) pH 측정	25
다) 산도 측정.....	25
라) 당화력 측정.....	26
마) 총당 함량 측정	27
바) 색도의 측정.....	27
2) 휘발성화합물의 분석.....	27
3) 유기산 분석.....	28
4) 유리 아미노산 분석	28
5) 누룩 미생물의 분리	30
6) 누룩 및 입국의 제조	31
7) 시험양조.....	31

III. 결과 및 고찰.....	32
1. 전통누룩의 특성.....	32
2. 전통술의 특성.....	51
1) 전통 약주의 일반성분.....	51
2) 전통 약주의 휘발성 화합물.....	51
3) 전통 약주의 유기산	55
4) 전통 약주의 유리 아미노산.....	57
3. 누룩 곰팡이의 분리.....	59
1) 생쌀전분 자화성 곰팡이의 분리.....	59
2) 호화전분 자화성 곰팡이의 분리.....	69
3) 누룩 및 입국 제조 결과.....	75
4) 시험양조 결과	78
IV. 참고문헌.....	95

I. 서 론

술은 자연적으로 발생되어 지역, 민족, 기후, 풍토에 따른 인간의 문화적 발전에 의해 여러 형태의 개성있는 술로 발전되어 각 민족은 독특한 주조법의 고유의 전통주를 갖게 되었다. 우리의 민속주는 기후적인 영향으로 고온 다습한 여름에 자연적으로 곡물에 발생하는 곰팡이를 착색시킨 누룩을 사용하는 곡류위주의 병행복발효의 양조방식으로 발달하였다. 우리민족은 삼한시대에 곡주를 정착시켰으며 삼국사기, 삼국유사, 고려도경 등의 문헌은 삼국시대에 이미 다양한 술이 존재하였음을 기록하고 있다. 고려시대 이전에 탁주와 청주가 정착되었고 이에 귀속되는 대부분의 주품들의 토대가 마련되었으며 고려시대를 거쳐 조선시대에 들어서면서 양조기술이 고급화되어 수 많은 중양약주류(重釀藥酒類)가 탄생하였으며, 새로운 재제주류(再製酒類)와 혼양주류(混釀酒類)가 새롭게 개발되는 등 문헌상에 360여종의 술이름을 남기는 전성기를 맞이하였으나 일제시대를 거치면서 급속한 몰락의 길을 걷게 되었다.

우리 민족에게 술은 필수 제수용품이었기 때문에 대부분의 가정에서 만들어 왔으며 1900년대 초까지는 술제조에 관한 원칙적인 규제와 세금이 없었으나, 한일합방후 1907년에 조선총독부령으로 주세령이 공포되면서 가정에서의 술제조가 금지되었으며 일본이 지정하는 방법으로만 약주, 탁주, 소주가 획일적으로 생산되면서(1916년) 우리민족의 전통적인 고급술은 사라지고 일본청주가 고급술이 되었고 막걸리와 재(滓)를 거르지 못하게한 저급술이 우리술로 남게 되었다. 광복 이후에도 일제시대의 주세법이 그대로 적용되어 전통술의 생산이 거의 불가능하였으며 1962년 극심한 식량난에 따른 양곡관리법공포에 의하여 그나마 명맥을 유지하여오던 쌀을 이

용한 전통주가 자취를 감추게 되었다. 그후 극히 일부지역에 한하여 쌀을 사용하는 민속주의 생산이 유지되었으나 대부분의 민속주는 제조기능보유자가 노령에 이르게 되어 제조기능의 맥이 끊기는 상황에 이르게 되었고 양조방식도 서구적 양조방식과 외래주류의 모방 및 개발에 치중하여 민속주는 쇠퇴일로로 거듭하게 되었다.

1980년대에 들어서 경제발전과 더불어 민족 고유문화의 재조명 및 88서울올림픽을 대비한 문화유산의 복원을 위하여 1986년에 이미 발굴된 24종의 민속주에 대하여 88년 9월에 주류생산을 예비허가함으로써 80여년 만에 전통적인 방법에 의한 술의 생산이 가능하게 된 후 1995년 12월 현재 38종의 민속주가 지정되었으며 새롭게 7종이 곧 허가를 받을 것으로 알려져 있다. 1994년 4월의 법인에 대한 주류 면허 개방과 법인이 아니더라도 주류제조면허를 받을 수 있게한 1995년 9월 30일의 시행령 개정으로 민속주의 산업적 생산이 크게 증가하는 추세에 있으나 오랜 기간의 연구 단절로 산업화에 어려움을 겪고 있다. 이와같은 상황에 따라 민속주의 현대적 제조공정 확립연구와 UR대응책으로서 민속주의 세계 명주화를 위한 연구가 절실하게 되었다.

해방 후 현재까지의 국내 주류관련 연구는 매우 미미하며 이들 중 많은 보고들이 일본식 koji를 이용한 주류의 제조, 정제 당화효소의 이용 및 쌀 대체 원료를 이용한 주류 제조에 관한 것들이며 전통 누룩 및 이를 이용한 주류에 관한 연구보고는 매우 적다.

전통누룩에 대한 과학적인 연구는 주로 일제시대에 일본인들에 의해 이루어졌는데 1929년 長西¹⁾는 당화력이 강한 곡자의 제조를 목적으로 18종의 누룩에서 사상균 37주, 효모 9주, 세균 4주를 분리하였으며 출현 빈도가 높은 균주로 *Absidia* sp., *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus* sp., *Endomyces* sp., *Aspergillus glaucus*, *Saccharomyces corlaussaito*,

Saccharomyces sp., 유산균 및 고초균 등을 보고하였다. 1930년 武田²⁾은 119개소에서 수집한 곡자와 167개소에서 채취한 술덧에서 균을 분리한 결과 곡자에서는 *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Saccharmyces*, *Torula*, *Willia* 및 *Monillia*속 균류를 분리하였고 술덧에서는 상기의 균종외에 *Monascus*, *Oidium*속 균류가 분리되었다고 하였다.

해방 후 한 등³⁾은 전국 14개소의 누룩에서 42종의 효모를 분리하여 당발효성과 colony형태에 따라 분류한 바 있으며 정⁴⁾은 개량곡자 제조를 위한 연구에서 당화력이 높고 불취발성산의 생성력이 강한 *Aspergillus*와 알콜발효능력이 우수한 *Saccharomyces*를 분리하였다고 보고하였으며 한 등⁵⁾은 *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*속 등의 균주에 대한 형태적 특성과 당화력을 조사하였다. 이⁶⁾는 누룩에서 *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*속 등의 균을 분리, 보고하였고 이 등⁷⁾과 신 등⁸⁾은 *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*속 등의 곰팡이와 *Saccharomyces*, *Phichia*, *Candida*, *Totulopsis*, *Hansenular*속 등의 효모, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Aerbacter*, *Pseudomonas*속 등의 세균을 분리, 보고하였다.

최근 전통주의 개량을 목적으로 이 등^{9, 10)}은 18개 지역의 누룩으로부터 생전분 분해성이 우수한 균주로 *Rhizopus*속균을 선발하였고 12개 지역에서 수집된 시료로부터 *Absidia*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Actinomucor*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*속 균을 분리하였으며 amylase활성과 산생성능력이 우수한 균주로 *Aspergillus niger*를 선발하였다. 손 등¹¹⁾은 *Rhizopus*를 밀기울에 접종하여 제조한 koji로 무증자 탁주제조를 보고하였다.

한편 구 등¹²⁾은 쌀을 이용한 명주개발을 목적으로 전통민속주인 백하주, 삼해주, 호산춘, 소곡주, 과하주 등의 제조를 고문헌의 방법대로 재현하고 품질을 비교하여 기호성이 우수한 술로 백하주를 선발, 보고 하였다.

일본의 경우를 보면 그들의 전통주인 청주의 미생물학적 연구를 1880대에 서구의 근대과학의 도입과 더불어 시작하였으며 2차대전 후 일반 미생물학적인 급속한 발전과 함께 크게 발전되었다. 일본 청주를 특징짓는 중요한 미생물인 麴菌에 대해서 1945년 이전에는 주로 분류 및 생산물에 대한 연구가 수행되었으며 실용화에 관한 연구는 전후에 활발히 진행되어 현재 국균이라는 명칭은 *Aspergillus*속에서 사상균을 지칭하게 되었다¹³⁾.

1950년에 村上¹⁴⁾은 일본에서 사용되고 있는 국균을 편의상 黃麴菌, 白麴菌, 黑麴菌, 溜麴菌으로 분류하고 양조용 균주를 분리선발한 결과 黃麴菌이 가장 우수하다고 보고하였으며 계속된 연구에서 동일 균종의 균주를 비교한 결과 양조관리에 있어서 균주를 일정하게 하는 것이 가장 중요하다고 하였다¹⁵⁾.

小泉 등¹⁶⁾은 쌀 koji균인 *Aspergillus oryzae*의 유래를 벼로 만든 koji로부터 *Aspergillus oryzae* 분리하여 입증하였으며 또한 맥류에 서식하는 사상균은 *Rhizopus*균이 우세함을 밝혔고 이들 균종을 쌀과 소맥에 증식시킨 결과 *Rhizopus*는 무증자 소맥에서 왕성하게 번식하고 증자한 소맥에서도 잘 증식하였으나 무증자 쌀에서는 증식이 잘되지 않았고 반대로 증자한 쌀에서는 *Aspergillus*가 가장 잘 증식하였다고 하였으며 효소의 생산도 균의 증식과 같았다고 보고하였다¹⁷⁾. *Rhizopus*속균이 증자된 쌀에서 증식하지 못하는 이유로는 가열에 의한 쌀 단백질의 변성으로 효소작용이 어렵게 되어 acidic carboxypeptidase활성이 낮은 *Rhizopus*는 질소원 부족 때문에 증식이 정지된다고 알려졌다¹⁸⁾ 月岡 등¹⁹⁾은 질소원으로 아미노산을 공급하면 *Rhizopus*를 이용한 쌀 koji의 제조가 가능하다고 하였으며 内村 등은 한국의 누룩중의 *Absidia*속 균을 분리하여 *Absidia ramosa*와 *Asidia corymbifer*로 동정하였으며 amylase 활성에 따라 액화와 당화활성을 갖는 성장최적온도가 25℃ 이상인 그룹과 당화활성만을 갖는 2그룹으로

분류하는 등²⁰⁾ 당화효소 생성 곰팡이에 관한 연구가 매우 활발하다.

그러나 전통 민속주에 관련된 연구는 매우 단편적으로 수행되어 아직 전통 민속주의 종류 및 제조방법조차 조사, 정리되어 있지 못하다. 전통술 제조상 가장 특징적이며 독특한 효소 및 발효미생물원으로서 사용되는 누룩은 소맥을 주원료로 만들어지는데 그 제조방법은 증자하지 않은 생소맥 분에 물을 30-40% 가하고 틀에 넣고 압착하여 성형한 후 소맥중에 존재하던 미생물과 자연중의 세균, 효모, 곰팡이 등이 부착되어 충분히 번식함으로써 amylase, protease 등의 효소 생성을 유도하고 동시에 알콜발효를 위한 효모를 증식시킨 후 건조시켜 제조하기 때문에 균일한 품질을 기대하기가 어렵다. 따라서 민속주의 품질개선 및 관리에는 누룩의 품질관리가 필수적이고 이를 위해서는 순수배양균주의 이용이 필연적이다.

우리술의 현대화 전략은 근본이 우리의 전통술과 같은 일본청주의 개발과 유사할 수 있으나 일본청주는 증자한 쌀로 koji를 만들어 주된 균이 *Aspergillus*이나 누룩의 주원료는 생밀가루로 분리되는 주된 균이 *Rhizopus*, *Absidia*, *Aspergillus* 등으로 보고되고 있어 외국주류와 경쟁력이 있는 우리 술을 개발하기 위하여는 전통술의 향미 생성 및 발효에 관여하는 누룩으로부터 우수한 미생물을 분리, 선별하여 응용함으로써 전통의 맛과 향을 강화시키며 제조공정을 단순, 과학화할 수 있는 우수균주 선별 연구가 절실하다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 균주의 분리원

전국 115개 지역에서 누룩을 수집하여 4℃의 냉장고에 보관하면서 전통주용 우수 곰팡이 분리원으로 사용하였다.

2) 배지 및 시약

생전분 분해균주 분리에 사용된 배지의 조성은 표 1과 같고 일반 배지는 potato dextrose agar(PDA)를 기본으로 사용하였으며 기타 분석시약은 특급 또는 일급제품을 사용하였다.

표 1. 생전분 분해 및 산생성 곰팡이 분리용 배지

(NH ₄) ₂ SO ₄	1.4g		
KH ₂ PO ₄	2.0g	Mineral solution	
CaCl ₂	0.3g	FeSO ₄ 7H ₂ O	5.0g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.3g	MnSO ₄ H ₂ O	1.6g
Urea	0.3g	ZnSO ₄ 7H ₂ O	1.4g
Polypepton	1.0g	CoCl ₂	2.0g
Agar	18.0g	D.W.	1L
Mineral solution	1.0ml		
Bromocresol green	0.04g		
Rose bengal	0.05g		
Raw rice starch	20.0g		
Chloramphenicol	0.1g		
D.W.	1L		

2. 실험방법

1) 누룩의 분석

국세청 기술연구소 주류분석규정²¹⁾에 따라 형태, 색상, 균번식상태, 크기 등 외관적 특징과 수분함량, 물침출액의 pH, 산도, 당화력 등을 측정하였다.

가) 수분분석²²⁾

105°C 상압가열건조법으로 조분쇄된 시료 4-5 g을 칭량병(정온건조기에서 1-2시간 가열하여 항량에 도달한)에 넣고 3-5시간 건조시킨 뒤 데시케이터에 옮겨 방냉하였다. 실온에 도달하면 재빨리 칭량하고 다시 뚜껑을 열고 1 시간이상 건조시켜 항량에 도달하면 시료무게에 대한 감소된 무게를 백분율로 나타내었다.

나) pH 측정

누룩의 물침출액 pH는 누룩 20g에 증류수 100ml을 가하고 실온에서 3시간 침출하여 그 여액을 측정하였으며 시험제조된 민속주의 pH는 발효액을 일차적으로 거즈로 여과하고 얻은 액을 다시 Sorvall 원심분리기를 사용하여 5000rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 맑은 배양액으로 측정하였으며, 사용된 pH meter는 Orion Model SA 520이었다.

다) 산도 측정

산도는 pH 측정에서 얻은 같은 액 10ml를 표준 후탈산수소칼륨용액으로 표정한 0.1N NaOH 용액으로 적정하여 의하여 pH 7.0에 이를 때까지의 NaOH용액 소비량으로 정의하였으며 pH meter로 직접 측정하였다.

라) 당화력 측정

곡자 1g이 가용성 전분 1g에 작용하여 생성된 포도당을 가용성전분 1g에 대한 백분율로 당화율을 표시하고 이 당화율에 효소액의 희석배수를 곱한 값을 당화력으로 나타내었다.

효소반응액의 포도당량은 Lane-Eynone법²³⁾과 DNS방법²⁴⁾으로 측정하였다.

① 효소액의 조제

누룩 10g을 250ml 삼각플라스크에 취하고 30°C의 온수 200ml을 가하고 30°C에서 3시간동안 효소를 침출시켰다.

② 당화

2%의 가용성전분용액 50ml, pH 5.0의 식초산 완충용액 30ml을 250ml 삼각플라스크에 취하여 55°C의 항온수조에서 10분간 예열한 다음 효소용액 10ml를 가하여 60분간 당화시킨 후 0.5N-NaOH 10ml를 가하고 급냉시켜 효소작용을 정지시켰다.

③ 당분정량

㉠ Lane-Eynone 방법

Fehling A액 및 B액을 각각 5ml씩 250ml 삼각플라스크에 취하고 가열, 비등시키며 위의 당화액을 적하하여 황산동의 청색이 점차 없어지면 1% Methylen blue 4방울을 가하고 계속 비등시키면서 당화액을 적하하여 청색이 없어진 점을 종말점으로 한다. 포도당량은 이때의 당화액 소비량을 당류환산표로 읽고 당화력은 포도당량/100 X 희석배수로 계산한다.

㉡ DNS 방법

표준당 포도당으로 작성한 검량선 농도 정도로 희석시킨 위의 당화액 1ml에 DNS시약 3ml를 넣고 5분간 끓인 다음 실온으로 냉각하고 16ml의 증류수를 넣고 혼합한 후 분광광도계(JASCO V-550 UV/VIS Spectro-

photometer) 550nm 파장에서 흡광도를 측정하여 검량선과 비교하여 정량하였다.

마) 총당 함량 측정

백미, 밀가루, 누룩에 함유된 총당은 다음과 같은 방법에 의한 산가수 분해후 DNS 방법에 의하여 표준당으로 포도당을 사용하여 환원당의 양으로 정량하였다. 즉, 약 1.0 - 5.0g 내외의 각 시료에 물 50ml을 가하여 Waring blender로 마쇄한 다음 250ml 용적플라스크에 담고 증류수로 250ml로 맞추었다. 이 용액 1ml에 9.9ml의 25% HCl과 물 90ml을 혼합하여 끓는 물에서 3 시간동안 분해하여 식힌 후 3N NaOH로 중화하여 환원당함량을 측정하였다.

바) 색도의 측정

누룩의 물침출액 및 시험양조주의 색도 측정은 색차계(Color and color difference meter, Yasuda Seiki Seisakusho사, VC600-IV)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도) 값으로 나타내었다. 표준백색판의 L, a, b 값은 각각 100, -0.07, 0.03 이었다. 사용된 (L, a, b) 색차계의 값은 L의 수치가 커질수록 명도가 커지며(즉 색이 밝으면 밝을수록 L값이 커진다), (+)측의 a값이 커질수록 적색의 정도가 커지고 (-)측의 값이 커질수록 녹색의 정도가 커진다. b값은 (+)측에서 황색을, (-)측에서는 청색을 표시한다.

2) 휘발성화합물의 분석

전통주의 방향성화합물의 분석은 headspace GC 방법에 의하여 실시하였다.

시료 주류 20ml를 50ml용의 reaction vial에 넣고 GC 컬럼충진물질

을 보호하기 위하여 병내부의 공기를 질소로 치환시킨 후 teflon lined silicon septum과 알루미늄 뚜껑으로 밀봉하여 시료병을 40°C의 수조에 서 30분간 평형시키고 40°C로 보온한 gastight syringe로 그 headspace gas 0.5ml을 정확히 취하여 GC에 주입, 분석하였다. 한편 표준물질로서 ethyl acetate, ethyl 2-methylpropionate, ethyl butyrate, ethyl 2-methylbutyrate, 2-methylpropyl acetate 및 2-methylbutyl acetate 등의 농도를 단계적으로 희석하여 시료와 같은 방법으로 headspace gas를 분석하였다. GC의 분석조건으로서 FID가 부착된 GC(Varian 3400, USA)에 10% FFAP를 입힌 Chromosorb W-HP(80~100 mesh)를 충전한 packed column(4m x 2mm i.d.)을 장치하여 컬럼의 온도를 55°C에 10분간 유지시킨 후 분당 2.5°C의 속도로 상승시켰으며 운반기체인 질소의 유속은 분당 30ml로 하였다. 표준물질의 크로마토그램의 피크 면적비 및 농도비로부터 표준곡선을 작성하고 크로마토그램 피크 면적비로부터 각 화합물의 양을 산출하였다.

3) 유기산의 분석²⁵⁾

유기산의 분석은 HPLC로 하였다. 분석 column은 YMC-Pack ODS-A(250 mm x 4.6 mm, YMC Co. Ltd., Japan) 및 C-KGC-EF Precolumn을 장착하여 사용하였으며 이동상은 20 mM Metaphosphoric acid(pH 2.8)를 사용하였다. 이동상의 흐름 속도는 0.7 ml, 분석 온도는 25 °C이었다. 시료는 Waters 사의 C₁₈ Sep-pak 및 0.45 μm 멤브레인으로 여과하여 사용하였다.

4) 유리 아미노산의 분석²⁶⁾

시료의 아미노산 분석은 White등²⁷⁾의 Pico-tag method에 따라 다음과

같이 HPLC를 이용하여 분석하였다.

① 시료의 전처리

시료 약 20 g을 20 % Trichloroacetic acid 용액 40 ml와 섞어 Homogenizer(Dynamics corp., U.S.A.)로 3,000rpm에서 15 분간 균질화 한 후 원심분리기(Beckman, Model J2-21M/E, U.S.A)로 6,000 rpm에서 20 분간 원심 분리하고 상등액을 Separating funnel에 취하고 20 ml의 ethylether로서 2회 반복하여 세척한 후 수용액 층을 취하여 감압 건조하였다.

② 시료의 유도체화

건조한 유리 아미노산 액은 HPLC 용 물 50 ml에 녹이고 이 용액 10 ml를 취하여 Sample Tube에 넣고 Workstation에서 건조한다. 건조된 시료에 (Methanol 200 μ l 0.2 N Sodium acetate 200 μ l, triethylamine 100 μ l) 섞을 섞은 후 각 tube에 30 μ l을 첨가하여 Voltex한 후 진공 건조한다. 그후 유도체 시약(Methanol 350 μ l, HPLC Grade Water 50 μ l, Triethylamine 50 μ l, PITC 50 μ l 혼합액) 30 μ l을 첨가하여 Vortex하고 상온에서 20분간 정치 후 진공 건조하여 Methanol 30 μ l를 넣어 다시 Vortex한 후 재 건조한다. 건조된 시료에 Sodium acetate buffer 300 μ l를 넣고 5 배 희석하여 10 μ l를 주입하였다.

③ 아미노산 표준 용액

16 종의 아미노산(2.5 μ mol/ml)과 Cysteine(1.25 μ mole/ml)이 함유되어 있는 표준 용액을 0.1 N HCl용액으로 10 배 희석하여 20 분간 초음파 처리하고 0.45 μ m Syringe filter로 여과한 후 10 μ l취하여 사용하였다.

④ 분석

이동상으로서 Eluent A 에는 (Na)₂EDTA(2 mg/ml) 100 μ l를 넣어 잘

혼합한 후 Glacial Acetic acid를 약 15 - 20 drops 넣어 pH를 6.2로 하고 Eluent B는 $(\text{Na})_2\text{EDTA}$ (2 mg/ml) 100 μl 를 넣어 혼합하여 사용한다.

시료는 10 μl 주입하였으며 기기는 Dual Pump System(Model 510)이 부착된 Waters 사의 HPLC를 사용하였고 분석은 Pico-tag Column(3.9 x 150 mm, ϕ 4 μm , Waters), Detector는 UV Detector(Model 975, JAS)을 사용하였으며 분석 온도는 35 $^{\circ}\text{C}$ 이었다.

5) 누룩 미생물의 분리

생전분 분해 및 산생성 곰팡이의 분리는 직경 0.5cm 이하로 파쇄한 누룩 10g을 90ml의 생리식염수에 넣고 Waring blender로 30초간 균질화하여 단계별로 희석한 후, 각 희석액을 표 1의 분리용 평판배지에 도말하여 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5일간 배양하면서 균주를 선발하였다.

표 1의 분리용배지는 곰팡이의 균사발육을 지연시켜 독립 colony를 용이하게 분리하기 위하여 rose bengal을 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 첨가하였고 세균의 발육 억제를 위하여 소량의 ethanol에 녹여 여과 제균한 chloramphenicol을 가압멸균한 다음 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 첨가하였다. 산생성 능력을 비교하기 위하여 pH indicator인 Bromocresol green을 첨가하였으며 생쌀전분 자화 능력을 비교하기 위하여 탄소원으로 ethylene oxide로 살균한 쌀전분을 분주 직전에 현탁배지에 현탁시켜 균체생육에 따른 전분 현탁 배지의 투명화 정도와 산생성에 의한 배지의 변색을 비교하여 1차 선발하였다.

탄소원으로 생쌀전분을 사용한 배지에서 분리된 균주는 다시 동일 배지에 희석배양하여 단일균주임을 확인하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 다음 실험에 사용하였다. 우수균주의 선발은 ethylene oxide로 살균한 생쌀전분을 현탁시킨 배지와 가압멸균으로 호화된 전분배지를 두께 2mm정도로 얇게 고화

시키고 분리균주들을 평판 증상에 접종하여 배지중에 포함된 pH지시약의 변색으로 산생성력, colony의 크기로 균체성장능력 및 요오드 발색에 의한 투명환의 크기로 전분자화력을 비교 선발하였다.

6) 누룩 및 입국의 제조

선발된 우수균주들의 생밀기울에서의 당화효소생성 및 산생성능력시험은 ethylene oxide로 살균된 밀기울 100g을 500ml 삼각 flask에 넣고 수분함량을 40%수준으로 조정하기 위한 멸균수도수에 포자를 1 백금이 현탁시켜 접종하고 30℃에서 48시간 배양하여 비교하였다.

증자미에서의 당화효소생성 및 산생성능력시험은 쌀을 하루밤 침지시킨후 건져내어 100℃에서 1시간동안 증자하고 무균적으로 실은까지 냉각시킨 후 138g을 500ml 삼각 flask에 넣고 생밀기울의 경우와 같은 방법으로 비교하였다.

7) 시험양조

시험양조는 이양법으로 시행하였다. 즉, 증자미 130g, 건조효모(송천효모연구소) 0.7g, 생밀기울 누룩 5g, 젖산 1ml, 급수 150ml를 1L 유리용기에 1단 담금하여 20℃에서 2일간 발효시켜 주모를 제조하고, 2단으로 증자미 290g, 생밀기울 6g, 급수 340ml을 첨가하여 20℃에서 4일간 발효시켜 여과포로 거르고 20℃에서 5일간 숙성시킨 후 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 전통누룩의 특성

전국에서 누룩 115점을 수집하여 형태, 크기, 수분함량, 침출물의 pH 및 산도, 색도, 당화력, α -amylase 및 acidic protease 활성 등을 분석, 측정하였으며, 전통주류 19점을 수집하였다.

수집된 누룩의 형태, 크기 및 외관상의 특징은 표 2와 같다. 제조자별로 분류한 누룩은 인가된 곡자회사 제품 3점, 자가제조가 확인된 제품 29점, 비인가 공장제품으로 추정되는 시장구입품 75점, 조효소제 1점이었고 형태를 확인할 수 있는 84점 중 77점이 원판형이었으며 사각형 3점, 주먹 크기의 납작한 공형태 2점, 타원형의 원판형태 2점 등 이었다.

원판형태의 크기는 원판형 84점중 39점이 지름 15-23cm, 두께 2-5cm로 50%정도를 차지하였고 지름 38cm의 큰 제품과 두께 8cm의 두꺼운 제품도 수집되었다.

수집된 누룩의 외관적 특성으로 원형의 경우 원판형과 대접모양의 두 형태로 구분되었으며 두께가 두꺼운 것은 중심부가 오목하게 파여있었으며 이는 누룩제조시 과도한 내부품온의 상승을 억제하고 건조시 수분발산을 쉽게하여 중심부의 부패를 방지하기 위한 것으로 추정된다.

자가제조 누룩은 표면의 균사퍼짐이 관찰되었으나 곡자회사 및 시장구입품의 대부분은 표면의 균사 퍼짐이 관찰되지 않았다. 누룩의 내부는 균사가 정상적으로 잘 생육한 것은 회백색을 나타내고 누룩 고유의 향을 나타내었으나 일부 제품들은 중심부가 검게 되는 이상발효를 일으켜 이취를 나타내는 것도 발견되었다.

표 2. 누룩의 형태 및 특징

번호	수집지역	형태	크기 (cm)	특징
1	수원			밀기울
2	현풍	정사각형메주모양	가로:16, 두께:5.5	자가제조
3	창녕	원판형	지름:28, 두께:1.3	자가제조(음식점)
4	제천곡자회사	"	지름:22, 두께:4.5	
5	태안	"	지름:30, 두께:5.5	표면에 흰색균사, 자가
6	현풍 하향주	정사각형메주모양	가로:16, 두께:2.7	표면에 흰색균사, 자가
7	계룡 백일주	(가루)		밀가루 함량 높음, 자가
8	제약회사	정사각형메주모양	가로:13.5, 두께:3	가운데가 오목
9	광주곡자회사	원판형	지름:18, 두께:2.5	
10	이강주	"	지름:23, 두께:4.0	자가제조
11	진도 I	(가루)		
12	진도 II	원판형	지름:16, 두께:4.0	오목한 부분 균사몽침
13	장흥	"	지름:20, 두께:3.5	표면에 황색포자
14	추성주	(가루)		자가제조
15	강진	원판형	지름:14, 두께:1.5	표면에 흰색균사
16	안동 I	"	지름:15, 두께:2.5	표면에 흰색균사
17	안동 II	원판, 중심부 오목	지름:21, 두께:2.5	중심부에 흰색균사
18	안동 III	원판형	지름:27, 두께:2.0	
19	교동법주	"	지름:38, 두께:2.0	표면에 균사막, 자가
20	안동송화주	(가루)		자가제조
21	경주	원판형	지름:38, 두께:2.0	
22	김천범양사	(가루)	지름:17, 두께:5.0	곰팡이취 많음, 자가
23	상주곡자회사	(가루)		
24	제주 I	전빵형태	지름:10, 두께:7.5	표면에 황색포자, 자가
25	용문	원판형	지름:17.5, 두께:4.0	
26	포천	"	지름:18, 두께:8.0	황토색
27	횡성	"	지름:17, 두께:5.0	표면에 얇은 균사막
28	이천	원판, 중심부 볼록	지름:17, 두께:7.0	표면에 푸른곰팡이
29	정선	"	지름:17, 두께:4.5	
30	강릉	대접, 중심부 오목	지름:14-7, 두께:6.0	곰팡이취 많음

표 2. 계속

번호	수집지역	형태	크기 (cm)	특징
31	속초	대접, 중심부 오목	지름:14-7, 두께:7.0	황토색
32	평창	원판, 중심부 오목	지름:17, 두께:4.5	
33	화천	"	지름:16.5, 두께:5.0	
34	의정부	대접, 중심부 오목	지름:14-7, 두께:7	곰팡이취 많음
35	양구	원판, 중심부 오목	지름:17, 두께:5.0	곰팡이취 많음
36	원통	"	지름:16, 두께:5.0	
37	신철원	원판형	지름:18, 두께:4.5	표면에 흰색 균사
38	양양	"	지름:16.5, 두께:5.0	
39	목호	"	지름:21, 두께:3.5	
40	제주II	"	지름:12, 두께:1.5	표면에 흑색 곰팡이
41	관기	원판, 중심부 오목	지름:18.5, 두께:4.0	표면에 푸른색 균사
42	예천	원판형	지름:27.5, 두께:1.5	표면에 곰팡이
43	제천 I	"	지름:16.5, 두께:4.2	
44	제천 II	"	지름:26.5, 두께:2.5	표면에 흰색 포자
45	영월	원판, 중심부 오목	지름:17, 두께:5.0	곰팡이 냄새
46	충주	원판형	지름:16, 두께:6.0	
47	풍기	"	지름:18.5, 두께:1.7	표면에 흰색 포자
48	단양	"	지름:15.5, 두께:2.5	
49	영주	원판, 중심부 볼록	지름:16.5, 두께:5.0	
50	성남 I	원판, 아래로 볼록	지름:18, 두께:6.0	표면에 썩이 있음
51	성남 II	원판형	지름:18, 두께:5.0	곰팡이 냄새, 흰색 포자
52	성남 III	"	지름:18.5, 두께:5.0	색이 진함
53	상주	"	지름:20.5, 두께:4.0	
54	청주	(가루)		
55	보은	(가루)		
56	경동시장 I	원판, 중심부 오목	지름:17, 두께:6.0	메주와 유사한 냄새
57	경동시장 II	원판, 아래로 볼록	지름:18, 두께:5.0	
58	경동시장 III	원판형	지름:36, 두께:2.0	표면에 초록색 균사
59	서산	"	지름:26, 두께:5.5	표면에 작은 구멍 많음
60	함양 I	원판, 중심부 오목	지름:23.5, 두께:5.2	표면에 균사

표 2. 계속

번호	수집 지역	형 태	크 기 (cm)	특 징
61	함양 II	원판형	지름:33, 두께:1.8	표면에 군사가 많음
62	은양	"	지름:29, 두께:5.0	군사,곰팡이 냄새
63	경남 고성	"	지름:37, 두께:1.8	군사가 많음
64	해미	"	지름:29, 두께:5.5	군사 있음
65	청양	"	지름:약 35, 두께:11	표면이 검은색
66	군산 I	"	지름:19,16, 두께:7	위,아래의 지름이 다름
67	군산 II	원판, 중심부 오목	지름:20.5,16.5, 두께:6	표면 흰색,곰팡이 냄새
68	군산 III	"	지름:19, 두께:5.5	군사 있음
69	군산 IV	"	지름:19.5,14, 두께:6	군사 있음
70	남원 I	타원형	지름:15.5, 두께:5.5	
71	남원 II	원판형	지름:20.5, 두께:3.5	표면에 군사
72	안성	원판, 중심부 오목	지름:16.7, 두께:8.5	흙색, 가벼움
73	김천	길쭉한 원형	지름:21, 두께:3.0	군사, 포자 있음
74	담양	원판형	지름:18, 두께:4.0	
75	홍성	"	지름:16.5, 두께:4.3	
76	천안	원판, 위로 볼록	지름:17.5, 두께:8.0	흙색
77	서천	원판형	지름:17.5, 두께:6.0	
78	용인	"	지름:19, 두께:5.0	
79	구례	"	지름:21, 두께:3.3	
80	경산	"	지름:14.5, 두께:2.0	
81	덕산 I	(가루)		
82	대천	(가루)		
83	김제	(가루)		회색에 가까움
84	덕산 II	(가루)		
85	신천	(가루)		
86	옥천	(가루)		
87	고창	(가루)		술알, 죽알이 섞임
88	순창	(가루)		곰팡이 냄새
89	합천 I	(가루)		
90	합천 II	(가루)		

표 2. 계속

번호	수 집 지역	형 태	크 기 (cm)	특 징
91	합천 III	(가루)	-	
92	점촌	원판형	지름:16, 두께:4.5	표면에 곰팡이
93	순창	뭉쳐진 모양	주먹크기	
94	안동 I	원판형	지름:17, 두께:3.5	
95	안동 II	"	지름:17, 두께:3.5	
96	가평	"	지름:17, 두께:4.5	곰팡이 냄새
97	임실	"	지름:35, 두께:5.0	회갈색
98	계룡백일주 II	(가루)	-	연한 황색
99	안동소주	(가루)	-	통밀사용
100	한산소곡주	원판형	지름:30, 두께:5.0	통밀사용
101	제주오메기술	(가루)	-	
102	제주3	원판형	지름:12.5, 두께:1.4	표면에 곰팡이
103	제주4	"	지름:11.2, 두께:1.9	표면에 곰팡이
104	진주곡자1	"	지름:21.7, 두께:3.9	
105	진주곡자2	"	지름:21.5, 두께:4.4	
106	부산산성누룩	"	지름:25, 두께:2.5	
107	부산누룩	"	지름:33.3, 두께:1.2	
108	합천누룩(2)	(가루)	-	우리밀 사용
109	합천누룩(3)	(가루)	-	
110	합천누룩(4)	(가루)	-	
111	안동누룩	(가루)	-	
112	고흥백일주	(가루)	-	
113	경남하동군	(가루)	-	밀사용
114	경남산청 I	(가루)	-	우리밀 사용
115	경남산청 II	(가루)	-	밀,보리 사용

국세청 주류분석규정에 따른 누룩의 수분함량, pH 및 산도분석치는 표 3과 같다.

누룩의 수분함량 범위는 7.4 - 24.0%였으며 10 - 14%의 것이 전체의 약 75%를 차지하였으며 누룩의 물침출액 pH는 최저 4.7에서 최고 7.2까지 분포하였으나 대부분이 pH 5.8 - 6.6을 나타내어 물침출액의 평균 pH는 6.0이었고 0.1N-NaOH 소모량으로 나타낸 산도는 장홍 1.4, 평창 1.2, 양양 1.0, 조효소제 1.0 및 이천 0.8 등이 특이하게 높았으나 대부분은 0.3이하의 값을 나타내었다.

누룩 물침출액의 색도 측정결과는 표 4와 같다. 침출액의 명도 L 값은 70 이상의 밝은 것이 대부분이었으나 L 값 10 이하의 짙은 갈색의 누룩도 9개가 수집되었는데 이 누룩들은 발효가 비정상적으로 진행되어 내부가 검게 변색을 일으킨 결과로 생각된다. 적색도를 나타내는 a 값은 -1.2에서부터 1 이하의 매우 좁은 범위의 값을 보였으며 65%이상이 음의 값을 보였고 명도와는 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 황색도 b 값은 -6에서 34까지의 비교적 넓은 범위의 값으로 측정되었고 L 값이 10 이하로 낮은 시료의 경우 모두 음의 값으로 나타나 명도가 낮을 경우에는 상관관계가 있음을 보여주었으나 높은 L 값에서는 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

표 3. 누룩의 일반특성

번호	수 집 지역	수 분(%)	pH	산 도*
1	수원	7.4	5.8	1.0
2	현풍	12.0	5.6	< 0.1
3	창녕	11.8	6.0	0.3
4	제천곡자회사	11.1	5.9	0.1
5	태안	12.0	6.6	< 0.1
6	현풍 하향주	10.6	6.5	0.1
7	계룡 백일주	11.0	5.3	0.1
8	제약회사	9.8	5.0	0.4
9	광주곡자회사	11.0	6.0	0.1
10	이강주	13.0	6.6	< 0.1
11	진도 I	13.0	5.7	0.2
12	진도 II	12.0	6.1	0.1
13	장흥	11.0	4.7	1.3
14	추성주	14.0	5.3	0.3
15	강진	13.0	5.9	0.2
16	안동 I	10.8	5.5	0.5
17	안동 II	11.8	6.2	0.2
18	안동 III	11.7	6.2	0.3
19	교동범주	13.9	7.0	-
20	안동송화주	11.9	6.1	0.5
21	경주	13.2	6.9	< 0.1
22	김천범양사	12.0	6.0	0.1
23	상주곡자회사	11.0	6.1	0.1
24	제주 I	14.9	5.8	0.1
25	용문	13.3	6.2	0.2
26	포천	13.8	6.7	< 0.1
27	횡성	12.5	6.1	0.3
28	이천	14.6	6.0	0.8
29	정선	12.6	6.3	0.3
30	강릉	11.6	6.1	0.3

표 3. 계속

번호	수 집 지 역	수 분(%)	pH	산 도*
31	속초	11.6	6.6	0.3
32	평창	11.4	5.0	1.2
33	화천	15.3	6.2	0.2
34	의정부	11.3	6.2	0.3
35	양구	14.3	6.6	< 0.1
36	원통	13.8	6.7	< 0.1
37	신철원	12.7	6.1	0.3
38	양양	13.0	5.6	0.1
39	목호	14.0	6.0	0.4
40	제주Ⅱ	13.9	5.8	0.2
41	관기	13.3	6.5	0.1
42	예천	14.7	6.8	0.1
43	제천Ⅰ	17.2	6.5	0.1
44	제천Ⅱ	16.2	5.8	0.2
45	영월	12.1	6.1	0.3
46	충주	12.9	6.3	0.2
47	풍기	12.6	6.1	0.1
48	단양	12.2	6.2	0.2
49	영주	12.6	6.1	0.3
50	성남Ⅰ	14.0	6.2	0.2
51	성남Ⅱ	20.8	7.2	-
52	성남Ⅲ	12.2	6.7	0.2
53	상주	10.9	6.4	0.1
54	청주	14.8	6.8	0.1
55	보은	14.9	6.8	0.1
56	경동시장Ⅰ	19.6	7.2	-
57	경동시장Ⅱ	12.9	6.7	0.2
58	경동시장Ⅲ	13.4	5.2	0.3
59	서산	12.0	6.4	0.2
60	함양Ⅰ	12.6	6.2	0.2

표 3. 계속

번호	수 집 지 역	수 분 (%)	pH	산 도*
61	함양 II	12.4	6.4	0.2
62	온양	12.8	6.7	0.1
63	경남 고성	11.8	5.5	0.1
64	해미	15.2	6.8	0.1
65	청양	16.3	6.4	0.2
66	군산 I	13.2	6.3	0.2
67	군산 II	24.0	7.0	-
68	군산 III	13.6	6.5	0.1
69	군산 IV	13.4	6.4	0.2
70	남원 I	12.4	6.6	0.1
71	남원 II	11.2	6.1	0.2
72	안성	9.5	6.6	0.2
73	김천	10.8	6.4	0.2
74	담양	11.9	6.5	0.2
75	홍성	13.8	6.3	0.2
76	천안	13.8	6.7	0.3
77	서천	13.3	6.4	0.2
78	용인	18.1	5.8	0.3
79	구례	12.5	6.2	0.2
80	경산	11.7	6.3	0.2
81	덕산 I	11.8	6.6	0.2
82	대천	12.5	6.2	0.2
83	김제	11.8	6.2	0.1
84	덕산 II	14.2	6.4	0.2
85	신천	13.3	6.2	0.2
86	옥천	16.0	6.2	0.2
87	고창	17.0	5.9	0.3
88	순창	12.7	6.2	0.1
89	합천 I	13.2	6.3	0.2
90	합천 II	13.0	6.2	0.4

표 3. 계속

번호	수 집 지 역	수 분 (%)	pH	산 도*
91	합천 III	13.0	6.0	0.3
92	점촌	12.8	6.4	0.1
93	순창	10.7	6.0	0.3
94	안동 I	9.7	6.3	0.2
95	안동 II	10.0	6.2	0.2
96	가평	11.5	6.6	0.1
97	임실	12.9	7.1	-
98	계룡백일주 II	13	5.9	0.2
99	안동소주	12	6.4	0.1
100	소곡주	14.6	6.6	0.1
101	제주오메기술	14.9	6.4	0.2
102	제주3	15.2	5.9	0.2
103	제주4	10.7	6.4	0.1
104	진주곡자1	10.4	6.4	0.1
105	진주곡자2	9.7	6.6	0.1
106	부산산성누룩	15.1	6.1	0.4
107	부산누룩	18.1	4.8	1.0
108	합천누룩(2)	11.8	5.9	0.4
109	합천누룩(3)	11.5	6.5	0.3
110	합천누룩(4)	13.1	6.4	0.3
111	안동누룩	15.2	6.7	0.1
112	고흥백일주	12	5.8	0.4
113	경남하동군	10.9	6.7	0.1
114	경남산청 I	1.7	6.2	0.2
115	경남산청 II	11.1	6.1	0.2

* 0.1N - NaOH 소모량

표 4. 누룩 침출액의 색도

번호	수 집 지 역	L 값	a 값	b 값	A-E
1	수원	62.3	2.9	24.9	45.1
2	현풍	75.6	0.9	20.1	31.6
3	창녕	86.7	-1.1	15.4	20.4
4	제천곡자회사	92.8	-0.8	8.0	10.7
5	대안	47.1	19.5	30.4	64.0
6	현풍 하향주	84.6	-0.8	16.4	22.4
7	계룡 백일주	93.6	-1.0	7.3	9.7
8	제약회사	90.8	-2.3	20.1	22.1
9	광주곡자회사	77.5	0.1	10.7	24.9
10	아강주	75.3	0.4	19.2	31.3
11	진도 I	82.0	-0.1	10.0	20.5
12	진도 II	77.7	-0.1	11.0	24.8
13	장흥	74.9	0.1	21.7	33.1
14	추성주	66.9	0.6	12.2	35.2
15	강진	78.4	0.1	11.2	24.3
16	안동 I	10.0	0.4	-6.6	90.2
17	안동 II	11.4	-4.4	-0.9	88.6
18	안동 III	10.7	-2.1	-3.0	89.3
19	교동법주	10.0	0.4	-6.6	90.2
20	안동송화주	10.0	0.4	-6.6	90.2
21	경주	10.0	3.1	-6.6	90.3
22	김천범양사	6.1	1.2	-6.7	94.1
23	상주곡자회사	6.1	1.2	-6.7	94.1
24	제주 I	4.7	7.4	-18.4	97.4
25	용문	82.3	-0.6	18.5	25.5
26	포천	67.9	4.0	32.3	45.7
27	횡성	82.0	-0.5	18.1	25.5
28	이천	68.5	3.9	34.2	46.4
29	정선	72.3	1.7	23.1	36.0
30	강릉	81.9	-0.6	20.9	27.7

표 4. 계속

번호	수 집 지 역	L 값	a 값	b 값	L-E
31	속초	67.6	2.0	30.0	44.1
32	평창	78.9	-0.2	30.7	37.5
33	화천	71.6	3.1	24.1	37.2
34	의정부	76.7	-0.2	22.9	32.6
35	양구	76.3	-0.5	21.0	31.6
36	원통	65.5	1.4	25.8	43.0
37	신철원	66.6	0.9	24.4	41.3
38	양양	69.4	4.5	35.5	47.0
39	목호	71.7	2.5	30.1	41.7
40	제주Ⅱ	62.7	0.6	14.2	39.8
41	관기	86.5	-1.3	16.6	21.4
42	예천	83.9	-1.1	13.2	20.8
43	제천Ⅰ	85.6	-0.8	9.1	16.9
44	제천Ⅱ	87.2	-0.9	10.9	16.8
45	영월	84.6	-1.6	18.9	24.4
46	충주	86.0	-1.4	20.9	24.8
47	풍기	80.9	-1.2	12.6	22.8
48	단양	69.9	-0.1	24.1	38.5
49	영주	89.4	-1.5	13.1	16.8
50	성남Ⅰ	70.3	0.3	21.7	36.7
51	성남Ⅱ	67.9	-0.2	21.2	38.4
52	성남Ⅲ	76.1	-0.1	27.2	36.1
53	상주	90.3	-0.4	6.0	11.3
54	청주	81.5	-0.9	12.8	22.4
55	보은	75.8	0.1	17.4	29.8
56	경동시장Ⅰ	81.0	-0.5	19.9	27.5
57	경동시장Ⅱ	77.6	-1.5	15.8	27.4
58	경동시장Ⅲ	81.4	-0.5	8.0	20.1
59	서산	81.2	-0.8	22.0	28.9
60	함양Ⅰ	90.5	-1.6	11.4	14.8

표 4. 계속

번호	수 집 지 역	L 값	a 값	b 값	Δ -E
61	함양 II	84.0	-0.9	7.8	17.7
62	은양	91.1	-1.3	7.7	11.8
63	경남 고성	92.7	-0.7	3.8	8.2
64	해미	86.8	-1.4	16.0	20.7
65	청양	88.9	-0.7	9.6	14.6
66	군산 I	88.4	-1.3	9.2	14.8
67	군산 II	88.9	-1.2	11.5	16.0
68	군산 III	86.7	-1.0	9.9	16.5
69	군산 IV	81.9	-0.4	10.3	20.7
70	남원 I	87.6	-2.3	17.3	21.3
71	남원 II	83.1	-0.8	17.4	24.2
72	안성	80.1	-1.0	24.5	31.6
73	김천	86.8	-1.0	13.5	18.8
74	담양	83.2	-0.7	18.1	24.6
75	홍성	88.2	-1.6	12.7	17.3
76	천안	82.4	-0.6	16.3	23.9
77	서천	76.8	0.7	14.6	27.3
78	용인	86.3	-0.7	15.0	20.2
79	구례	83.5	-1.3	16.5	23.3
80	경산	88.7	-0.5	9.0	14.3
81	덕산 I	80.9	0.2	24.9	31.3
82	대천	81.9	0.4	27.2	32.6
83	김제	89.0	-1.4	7.9	13.5
84	덕산 II	76.4	1.0	29.2	37.5
85	신천	80.8	-0.5	19.4	27.2
86	옥천	81.0	-0.7	16.0	24.8
87	고창	77.6	-0.3	19.2	29.5
88	순창	85.8	0.3	16.5	21.7
89	합천 I	75.7	0.1	15.5	28.8
90	합천 II	55.0	2.2	20.5	49.4

표 4. 계속

번호	수 집 지 역	L 값	a 값	b 값	Δ -E
91	합천 III	54.6	1.7	15.0	74.8
92	점촌	88.8	-1.9	14.6	18.4
93	순창	81.1	-0.6	10.9	21.7
94	안동 I	91.2	-1.2	7.5	11.4
95	안동 II	92.1	-1.9	8.6	11.7
96	가평	90.7	-1.9	10.0	13.7
97	임실	86.1	-0.9	10.5	13.7
98	계룡백일주 II	90.0	-1.6	11.3	15.1
99	안동소주	85.1	-0.8	10.5	18.1
100	소곡주	89.5	-1.1	12.1	16.0
101	제주오메기술	85.2	-1.6	14.4	20.6
102	제주3	82.9	-0.6	12.8	21.3
103	제주4	87.1	-1.4	13.9	18.9
104	진주곡자1	90.1	-1.8	11.6	15.3
105	진주곡자2	86.2	-2.0	18.5	23.1
106	부산산성누룩	84.0	-1.8	17.1	23.4
107	부산누룩	91.3	-0.9	6.0	10.5
108	합천누룩(2)	86.6	-0.9	20.5	24.4
109	합천누룩(3)	83.4	-0.8	13.3	21.2
110	합천누룩(4)	89.0	-1.1	10.2	15.0
111	안동누룩	92.5	-0.3	6.5	9.9
112	고흥백일주	78.9	0.2	31.6	37.9
113	경남하동군	48.3	3.0	18.5	54.8
114	경남산청 I	53.3	2.0	17.0	49.7
115	경남산청 II	64.2	3.8	28.4	45.8

누룩의 당화력, α -Amylase 활성 및 산성 프로테아제 활성은 표 5와 같다.

누룩1g이 가용성 전분 1g에 작용하여 생성된 포도당을 가용성 전분 1g에 대한 백분율로 하여 효소액의 희석배수를 곱한 값으로 나타낸 누룩의 당화력은 평균 700정도를 나타내었으며 수집누룩의 약 31%가 900이상의 당화력을 보였으며 조효소제가 3,500 수준으로 가장 높았다. 인가된 공장 제품의 당화력은 약 1,000 수준을 유지하였으며 우수 당화효소 생성 미생물의 존재 가능성이 높은 국제청 분석기준 당화력 3단위인 900부터 1200이하인 누룩이 29점, 4단위인 1200이상 1500이하가 4점, 5, 6, 7단위인 1,500, 1,800 및 2,100 이상의 매우 높은 당화력을 갖는 것이 각각 1개씩 수집되었다.

40°C에서 30분간에 분해되는 1% 가용성 전분량(ml)로 표시한 α -amylase 활성(단위/g 누룩)은 평균 1,051을 나타내었으며 전혀 활성을 나타내지 않는 12점의 시료와 3,000이상 7,700까지 높은 값을 나타낸 시료 9점 등 시료에 따라 큰 차이를 보였으며 특히, 현풍, 합천, 순창누룩은 α -amylase 활성이 5,000이상이므로 매우 높은 값을 나타냈다.

40°C에서 60분간에 1 μ g의 tyrosine을 발색시키는 활성을 1단위로 표시한 산성 프로테아제 활성(단위/g 누룩)은 평균 5,000 수준이었고 시료의 약 10%는 평균값의 2배 이상을 나타내는 등 다른 효소력과 같이 심한 개체 차이를 나타내었다. 당화력, α -Amylase 활성, 산성 프로테아제 사이의 유의적인 관계는 활성이 낮은 시료에서는 모두 낮은 값을 나타내었으나 높은 값을 보인 시료 사이에서는 유의적인 관계가 관찰되지 않았다.

표 5. 누룩의 당화력 및 효소활성

번호	수집지역	당화력	α -Amylase	Acidic Protase
1	수원	3,500	-	-
2	현풍	2,170	5,387	2,808
3	창녕	915	-	3,144
4	제천곡자회사	1,057	1,070	1,536
5	태안	1,951	-	1,632
6	현풍 하향주	920	1,974	2,400
7	계룡 백일주	686	244	-
8	제약회사	-	-	864
9	광주곡자회사	1,017	766	2,088
10	이강주	971	1,705	3,432
11	진도 I	1,014	1,316	2,568
12	진도 II	1,138	1,428	2,976
13	장흥	712	215	2,400
14	추성주	940	1,992	1,824
15	강진	666	916	3,336
16	안동 I	1,156	219	1,056
17	안동 II	1,206	612	1,776
18	안동 III	1,634	1,714	3,216
19	교동범주	697	776	2,232
20	안동송화주	1,090	-	2,880
21	경주	346	734	2,736
22	김천범양사	895	2,128	2,304
23	상주곡자회사	980	2,913	2,520
24	제주 I	340	1,523	2,040
25	용문	870	719	2,328
26	포천	756	1,546	2,496
27	황성	1,120	654	480
28	이천	308	750	1,968
29	정선	1,094	763	600
30	강릉	971	1,054	2,280

표 5. 계속

번호	수 집 지역	당 화 력	α -Amylase	Acidic Protase
31	속초	943	1,709	2,424
32	평창	447	-	480
33	화천	1,163	73	2,400
34	의정부	1,085	55	2,448
35	양구	1,214	71	3,048
36	원통	810	-	2,448
37	신철원	1,216	365	2,616
38	양양	525	-	48
39	목호	1,068	-	1,320
40	제주 II	1,156	644	-
41	관기	1,046	283	4,824
42	예천	989	-	3,816
43	제천 I	1,138	577	5,688
44	제천 II	1,220	686	8,088
45	영월	919	-	600
46	충주	1,014	834	8,568
47	풍기	980	472	8,784
48	단양	1,020	353	6,360
49	영주	820	313	1,200
50	성남 I	1,156	851	3,264
51	성남 II	378	334	3,984
52	성남 III	306	414	3,120
53	상주	788	906	3,048
54	청주	660	270	72
55	보은	576	915	2,400
56	경동시장 I	422	-	3,264
57	경동시장 II	537	1000	10,728
58	경동시장 III	267	242	5,240
59	서산	476	813	5,736
60	함양 I	538	321	2,094

표 5. 계속

번호	수 집 지 역	당 화 력	α -Amylase	Acidic Protase
61	함양 II	284	372	3,792
62	은양	626	760	2,256
63	경남 고성	106	-	1,056
64	해마	377	600	6,384
65	청양	405	559	6,960
66	군산 I	449	857	4,320
67	군산 II	382	545	2,544
68	군산 III	369	441	8,424
69	군산 IV	389	375	2,760
70	남원 I	459	1,667	8,976
71	남원 II	339	357	4,848
72	안성	298	517	5,136
73	김천	476	896	5,160
74	담양	493	673	6,126
75	홍성	273	726	6,624
76	천안	385	522	2,928
77	서천	407	339	2,256
78	용인	445	1,224	10,560
79	구례	257	600	2,400
80	경산	472	1,304	5,544
81	덕산 I	185	704	6,744
82	대천	325	1,008	1,272
83	김제	405	588	2,280
84	덕산 II	523	511	14,640
85	신천	444	932	3,600
86	옥천	222	250	1,992
87	고창	257	202	3,144
88	순창	395	577	1,08
89	함천 I	582	1,190	4,320
90	함천 II	739	3,390	6,840

표 5. 계속

번호	수 집 지 역	당 화 력	α -Amylase	Acidic Protase
91	합천 III	1,045	7,692	12,504
92	접촌	274	1,232	5,760
93	순창	563	6,897	8,472
94	안동 I	596	3,141	6,312
95	안동 II	990	1,729	7,872
96	가평	494	1,917	8,688
97	임실	534	1,500	600
98	계룡백일주 II	304	-	1,176
99	안동소주	451	769	1,560
100	한산소곡주	548	851	3,288
101	제주오메기술	396	811	5,304
102	제주3	590	1,243	7,584
103	제주4	374	1,350	11,448
104	진주곡자1	472	342	1,968
105	진주곡자2	451	464	1,296
106	부산산성누룩	610	1,902	4,872
107	부산누룩	542	683	600
108	합천누룩(2)	589	1,249	1,152
109	합천누룩(3)	696	751	5,088
110	합천누룩(4)	495	2,561	4,272
111	안동누룩	354	688	96
112	고흥백일주	417	3,000	2,184
113	경남하동군	215	4,983	3,216
114	경남산청 I	192	3,539	2,292
115	경남산청 II	441	4,444	2,004

* 당화력(단위/g 누룩)은 2% 가용성전분을 55℃에서 60분간 당화하여 생성되는 glucose를 가용성전분 1g에 대한 백분율에 효소의 회석배수 곱하여 표시

** α -Amylase 활성(단위/ g 누룩)은 40℃에서 30분간에 분해되는 1% 가용성 전분량(ml)으로 표시

*** 산성 프로테아제 활성(단위/g 누룩)은 40℃에서 60분간에 1 μ g의 tyrosine을 발색시키는 활성을 단위로 표시

2. 전통술의 특성

1) 전통 약주의 일반성분

전통 약주류 9점을 국제청주류분석규정에 따른 pH, 산도, 환원당, 총당, 아미노산도, 굴절계에 의한 Brix도 등을 측정하여 이화학적 특성을 비교하였으며 저장성과 관련하여 일반세균 및 효모 등 세균검사를 실시하였다.

국제청주류분석규정에 따른 일반분석 결과는 표 6과 같다. 전통 약주의 pH는 4.2부근이었으며 산도는 6.0 정도였으며 환원당 및 총당함량은 편차가 매우 심하여 10배 차이가 나는 것도 있었으며 평균적으로 다른 주류에 비해 당도가 높았고 아미노산도 1.7 - 8.1, 굴절계에 의한 Brix도는 10 - 24 사이였다. 전통약주류의 미생물 분석결과는 표 7에 나타낸 바와 같이 일부 주류에서는 세균 및 효모가 생존하여 저장중에 문제를 일으킬 수 있는 것으로 판명되었다.

2) 전통 약주의 휘발성 화합물

전통주의 향기성분으로 formaldehyde, acetone, acetaldehyde, ethyl acetate, ethanol, propanol, iso-butanol, iso-amyl alcohol, dimethylsulfide 등이 분리되었으며 술의 종류에 따라 acetataldehyde는 동동주, ethylacetate와 n-propanol은 녹과주, iso-butanol과 iso-amyl alcohol은 청명주에서 각각 그 함량이 높았다는 보고²⁸⁾와 유사하였으며 headspace gas 분석에 의한 전통주류의 주된 휘발성 방향화합물은 표 9에 나타낸 바와 같고 ethyl acetate와 1-propanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol로 그 함량은 각각 30-110, 20-120, 10-120, 50-140 ppm으로 존재하였으며 비교적 단순한 GC pattern을 나타내었다.

표 6. 전통 약주류의 일반분석

분석항목 주류명	pH	산도	환원당	총당	아미노산도	Brix
백일주	4.4	4.8	12.1	17.9	3.3	12.0
소곡주	4.5	5.8	107.2	140.4	7.3	22.2
오곡주	4.2	3.7	29.7	64.1	1.7	10.6
두견주	4.6	5.2	132.1	141.6	8.0	23.8
과하주	4.7	2.8	18.6	28.0	6.2	11.4
송절주	4.2	5.6	50.3	58.5	6.3	14.4
대추술	4.0	7.3	10.2	17.0	2.8	10.0
국화주	4.0	8.1	27.1	28.1	8.1	12.0
연엽주	3.8	12.9	15.5	20.	7.7	11.0

표 7. 전통 약주류 제품의 생균수

주류명	총세균수 (CFU/ml)	효모수 (CFU/ml)
백일주	-	-
소곡주	3.6×10^{-2}	5.1×10^{-2}
오곡주	1	-
두견주	7	$1.0 \times 1^{0-1}$
과하주	8.3×10^{-2}	6.3×10^{-2}
송절주	1.2×10^{-2}	3.0×10^{-1}
대추술	-	-
국화주	-	-
연엽주	3.0×10^5	$1.0 \times 1^{0-1}$

표 8. 전통 약주류의 주요 휘발성 화합물

(단위 : ppm)

휘발성화합물 주류명	Ethyl acetate	1-Propanol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol
백일주	73	110	107	140
소곡주	103	43	43	50
오곡주	27	117	123	127
두견주	83	123	123	137
과하주	40	47	73	70
송절주	87	80	93	110
대추술	80	43	87	110
국화주	107	23	77	93
연엽주	110	43	10	53

3) 전통 약주의 유기산

전통주의 유기산에 관한 연구보고는 탁주원료의 유기산으로 백미에서 fumaric, malic, succinic, citric, acetic acid, 곡자에서 fumaric, succinic, acetic, citric, malic, oxalic acid, 술덧에서 lactic, succinic, acetic acid가 검출되었다는 보고²⁹⁾, *Aspergillus niger*, *A. shirousamii* 및 *A. kawachii*로 제조한 코오지와 누룩을 단독 또는 혼용했을 때 citric, tartaric, pyruvic, malic, maleic, malonic, oxalic, succinic, α -keto glutaric, acetic acid 등이 검출되었으며 이 중 lactic, citric, tartaric acid의 함량이 높았다고 하는 정성적인 보고^{30, 31)}가 있다. 정량적인 결과가 보고된 또 다른 경우에는 탁주, 누룩 및 분국 중에 lactic, oxalic, malonic, fumaric, succinic, maleic, citric acid가 검출되었고 입국(koji)에서는 lactic, oxalic, fumaric, succinic, maleic, citric acid가 검출되었으며 특히 탁주에는 succinic acid가 12~16mg/100ml 수준 함유되었으며³²⁾ 약주에서는 lactic acid가 다량 검출되었으며 fumaric + succinic acid의 함량이 비교적 높았다는 보고³³⁾가 있는데 ODS-A column과 20mM phosphoric acid buffer를 용매로 HPLC로 분석한 전통약주의 유기산은 표 9에 나타낸 바와 같이 기 연구보고와 유사하게 lactic acid, succinic acid, glycolic acid가 주된 것으로 나타났으며 pyruvic acid도 모든 약주에서 검출되었다.

주종간의 유기산 종류에 따른 함량의 차이가 매우 크게 나타났다. 젓산의 경우 송절주는 257mg/100ml로 오크주나 국화주의 17mg/100ml보다 15배 이상높았으며 백일주는 glycolic acid, 소곡주는 pyroglutaric acid, 오크주는 pyruvic acid, 과하주는 젓산과 succinic acid가 다른 주종에 비해 매우 높았다.

표 9. 전통 약주류의 유기산 함량

(mg/100ml)

유기산 주류명	Lactic acid	Pyruvic acid	Glycolic acid	Succinic acid	Tartaric acid	Pyroglutaric acid
백일주	46.4	0.7	119.3	88.3	-	3.5
소곡주	94.7	5.8	40.8	63.9	-	42.0
오곡주	16.8	98.9	29.1	56.3	-	-
두견주	110.2	3.5	10.4	73.3	-	4.0
과하주	179.7	5.2	64.3	101.9	-	-
송절주	256.8	2.3	14.0	56.3	6.3	3.8
대추술	91.9	12.6	21.3	72.5	-	3.2
국화주	16.6	6.4	72.2	72.3	-	-
연엽주	97.6	14.9	50.1	38.3	-	3.7

4) 전통 약주의 유리 아미노산

전통주류의 유리 아미노산분석 결과는 표 10과 같다.

탁주의 정미성분으로 술맛에 영향을 주는 유리 아미노산은 미곡을 이용하여 숙성시킨 술덧에서 aspartic acid를 비롯한 16종이 검출되었으며 주된 아미노산은 glutamic acid, alanine, leucine, phenylalanine 등 이었다고 하였으나³⁰⁾ 전통 약주류의 유리 아미노산분석 결과는 glutamic acid, histidine, arginine, methionine proline, leucine등이 주된 아미노산이었고 lysine, phenylalanine, isoleucine 등 소수성 아미노산의 함량이 낮았다. 주품별로는 소곡주, 두견주, 과하주, 송절주, 연엽주 등은 유리 아미노산 함량이 1,000mg% 이상이였으나 백일주 587mg%, 오희주 287mg%, 대추술 478mg%, 국화주는 382mg%로 낮은 값을 나타내었다.

표 10. 전통 약주류의 유리 아미노산 함량

(mg%)

주류명 아미노산	백일주	소곡주	오곡주	두견주	과하주	송절주	대추술	국화주	연엽주
Aspartic acid	22.1	56.6	11.8	85.9	68.8	62.3	19.0	11.3	87.8
Glutamic acid	42.4	89.2	24.5	102.9	85.6	79.5	34.9	31.2	97.4
Serine	19.1	58.9	9.8	100.4	127.3	73.3	20.4	16.4	87.8
Glycine	28.1	53.8	11.8	52.3	55.2	43.4	16.2	13.5	54.6
Histidine	39.7	44.7	22.7	52.1	32.6	55.0	37.8	33.7	33.7
Arginine	53.9	109.7	31.1	113.0	66.8	109.7	36.5	11.7	95.1
Threonine	36.5	69.0	13.6	65.1	59.5	59.7	26.1	22.1	33.6
Alanine	48.2	85.7	25.9	88.2	78.7	88.2	40.1	46.8	86.3
Proline	77.8	112.3	33.5	145.8	96.5	95.1	47.9	37.8	83.3
Tyrosine	15.2	72.5	16.3	82.6	52.1	65.2	35.7	27.4	16.2
Valine	7.5	58.7	11.7	57.7	45.8	47.5	21.5	19.9	61.9
Methionine	35.5	46.8	10.0	24.8	38.3	36.3	18.1	14.2	34.1
Cystine	5.1	-	3.7	9.2	11.9	16.2	4.1	-	19.3
Isoleucine	6.1	41.7	-	9.2	36.2	-	-	12.4	39.7
Leucine	70.9	117.3	29.8	146.2	90.5	118.6	60.2	38.9	93.1
Phenylalanine	39.7	65.9	16.2	71.1	48.4	54.9	27.2	22.5	82.4
Lysine	39.4	45.9	14.5	59.9	40.3	34.4	32.6	22.8	89.4
Total	587.5	1,128.7	286.9	1,266.4	1,040.8	1,039.3	478.3	382.6	1,098.4

3. 누룩 곰팡이의 분리

115개의 누룩으로부터 표 11에 나타낸바와 같이 탄소원으로 생쌀전분 가한 배지에서 생육하는 곰팡이는 298균주를 분리하여 누룩당 2.6균주가 분리되었으며 호화전분배지 생육 곰팡이는 79개 누룩에서 304균주가 분리되어 누룩당 3.8균주가 분리되었다. 총 602균주의 누룩곰팡이를 대상으로 전분 당 화력과 산생성능력이 우수한 균주를 선발하였다.

1) 생쌀전분 자화성 곰팡이의 분리

산생성 능력을 비교하기 위하여 pH indicator인 Bromocresol green을 첨가하고 생쌀전분 자화 능력을 비교하기 위하여 탄소원으로 ethylene oxide로 살균한 쌀전분을 분주 직전에 한천배지에 현탁시켜 균체생육에 따른 전분현탁 배지의 투명화 정도와 산생성에 의한 배지의 변색을 비교하여 298균주중 212균주를 1차 선발하였다. 균주는 다시 동일 배지에 획선배양하여 단일균주임을 확인하고 생전분 자화성을 투명환으로 정확히 비교하기 위하여 ethylene oxide로 살균한 생쌀전분을 현탁시킨 배지를 두께 2mm 정도로 얇게 고화시키고 분리균주들을 평판 중앙에 접종하여 배지중에 포함된 pH지시약의 변색으로 산생성력, colony의 크기로 균체성장능력 및 요오드 발색에 의한 투명환의 크기로 전분자화력을 비교하였다(표 12).

생쌀전분 배지에서 생육하는 곰팡이의 대부분은 호화전분배지에서 균체 성장이 빨랐으며 전분자화력의 경우도 호화전분에서 대부분 높았으나 표 13에 선발된 42균주들은 균체성장이 호화전분배지에서의 배양과 비슷할 정도로 왕성하여 2차로 선발하였다. 생쌀전분 배지에서 균체성장력이 좋은 42균주는 산생성력이 우수한 38균주와 산생성력이 미약한 4균주로 분류되었으며 ethylene oxide gas로 살균한 밀기울에 접종하여 산생성 및 당화효소 생성력을 비교하였다.

표 11. 누룩의 곰팡이 분리 현황

누룩 번호	균주수		누룩 번호	균주수		누룩 번호	균주수	
	RF*	SF**		RF	SF		RF	SF
1	7		51	4	2	86	3	6
2	4		52	3	3	87	4	6
3	7		53	2	3	88	1	3
4	6		54	2	5	89	4	4
5	4		55	3	5	90	6	6
6	4		56	1	3	91	4	6
7	7		57	3	4	92	7	7
9	5		58	2	1	93	8	4
10	6		59	1	4	94	8	8
11	6		60	2	1	95	2	4
12	2		61	3	4	96	1	2
13	2		62	3	3	97	3	5
14	2		63	3	4	98	.	3
15	5		64	1	4	99	.	7
18	2		65	4	5	100	2	4
20	2		66	2	3	101	3	3
24	4		67	2	2	102	3	3
25	1		68	3	4	103	2	3
26	2		69	1	2	104	3	4
28	2		70	3	5	105	3	3
33	2		71	3	6	106	2	5
35	2		72	3	6	107	.	4
36	3		73	4	4	108	1	3
37	5		74	3	5	109	2	7
40	3	4	75	1	4	110	2	5
41	3	6	76	2	2	111	.	1
42	1	2	77	2	3	112	4	6
43	2	2	78	1	3	113	4	3
44	3	3	79	1	2	114	6	5
45	.	5	80	1	3	115	1	5
46	5	5	81	4	3	Koji	2	2
47	2	3	82	2	3	밀	2	4
48	3	3	83	1	3	입국	1	1
49	4	.	84	2	3			
50	3	6	85	5	1	계	298	304

* RF : 생쌀전분배지

** SF : 호화전분배지

표 12. 생쌀전분배지 생육균주의 산생성, 전분자화력 및 균체성장력

번호	균주	산생성력		전분 자화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
1	1-1	+++	+++	++++	++++	++	+++
2	4-5	+++	+++	++++	++++	+++	+++
3	6-4	++++	++++	++	++++	+	+++
4	7-6	+++	++++	+	++	++	++
5	10-1	+++	++++	+++	++++	++	++++
6	10-3	++++	++++	++	+++	+	+
7	10-4	++++	++++	-	-	++++	++++
8	11-5	+++	+++	-	+	+	+
9	15-3	+++	++++	++	+++	++	+++
10	18-1	++++	+++	+	+	++	+++
11	18-2	+++	+++	+++	++	++	++++
12	18-②	+++	+++	++++	++++	++	+++
13	20-1	++++	+++	+++	++	++	+++
14	20-2	++++	++++	-	-	+++	++++
15	24-1	+++	+++	++	+++	++	+++
16	24-3	+++	+++	+++	+++	+++	+++
17	24-4	++++	++++	++++	++++	++++	++++
18	25-1	++++	++++	++++	++++	+++	+++
19	26-1	+++	+++	+	+	+	++
20	28-1	++++	++	++	++	+++	+++
21	28-2	+++	++++	++++	++++	+++	++++
22	33-1	+++	+++	++	+++	++	+++
23	35-1	+++	++++	++++	++++	+++	+++
24	35-2	+++	+++	-	++	+	+++
25	36-1	-	++	-	++	+	+
26	36-2	+	+	-	-	+	++
27	36-3	-	++	-	++	+	+
28	37-2	++	+++	-	+	+	+
29	37-5	++	++	-	++	++	++
30	37-6	++	+++	-	++	++	+

표 12. 계속

번호	군주	산생성력		전분 소화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
31	37-7	++	++	+	+	+	+
32	37-8	+++	-	-	-	++	-
33	40-1	+++	+++	++++	++++	++	++++
34	40-2	+++	+++	+++	+++	+	+
35	40-3	+++	+++	-	+	++	++++
36	41-1	+++	+++	-	++	++	++
37	41-2	++++	++	+++	++	+	+
38	42-1	+	+	++	++	+	+
39	42-①	+++	+++	+	+	+++	++++
40	43-1-1	++++	+++	-	+	+	+
41	43-1-2	++++	+++	-	+	+	+
42	43-2	++++	++++	+	++	+++	+++
43	44-1	+++	++++	+	++	++	+++
44	44-2	+++	++++	-	+	+	++
45	44-3	+++	+++	++++	+++	+	+
46	46-1	++++	++++	+++	++++	++	+++
47	46-2	++	++	++++	++++	+	+
48	46-3	++	++	-	+++	+	++
49	46-4	+++	+++	-	++++	+	+
50	46-5	+++	+++	++	++	+	+
51	47-1	+++	+++	-	+++	+	++
52	48-1	++	+++	++++	-	+	++
53	48-2	+++	++++	-	+++	++	++++
54	48-3	++++	++++	++	++	+++	+++
56	49-1	+++	++++	-	++++	++	+++
57	49-2	+++	+++	-	+	++	++
58	49-3	+++	+++	-	+	+	++
59	49-4	++++	++++	+++	+++	+++	+++
60	50-1	+	+	++++	++++	+	++

표 12. 계속

번호	군수	산생성력		전분 자화력		군체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
61	50-3	++	++	+++	+++	+	+++
62	51-1	++++	++++	+++	++++	+++	+++
63	51-2	+++	+++	+++	++++	++	++
64	51-3	+	+	+++	+++	+	++
65	51-4	++++	++++	++	+	++	+++
66	52-1	++	+++	+	+	+	+
67	52-2	+	+	+	+++	+	++
68	52-3	++	+++	-	+++	+	+
69	53-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
70	53-①	+++	++++	-	+++	+++	+++
71	53-2	+++	++++	++	++++	++	++++
72	54-1	++++	+++	+++	++	+++	++++
73	54-2	+++	+++	+	+++	+++	+++
74	54-②	+++	+++	+	++++	+++	+++
75	55-1	+++	++++	+	+	+++	+++
76	55-2	+++	+++	+++	++++	+++	++++
77	55-3	+++	+++	++	+++	++	+++
78	55-②	+++	+++	-	+++	+++	+++
79	56-1	++++	-	+++	-	+++	-
80	56-1-1	++++	+++	++++	++++	+	+
81	56-1-2	+	++++	+++	++++	+	+
82	57-1	+++	+++	-	++	+	++
83	57-2	++	++	+	++	+	++
84	57-3	++	++	-	-	+	+
85	58-1	+	+	+++	+++	+	+++
86	58-①	+	+	+++	+++	+	++
87	58-2	++++	++++	++++	++++	+++	++++
88	58-②	+++	+++	+++	+++	++	+++
89	58-3	+++	++	+++	++	++	+++
90	59-1	++	+++	-	+++	+	+++

표 12. 계속

번호	군주	산생성력		전분 소화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
91	60-1	+++	++++	+	+	++	+++
92	60-2	+++	+++	-	-	+	++
93	61-1	++	++	-	++++	+	++
94	61-2	++++	++++	+	+++	+++	++++
95	61-3	-	++	-	+	-	+
96	62-1	+++	+++	+++	+++	++	+++
97	62-2	+++	++++	+	+	+++	++++
98	62-3	++++	++++	-	+++	+++	++++
99	63-1	++++	++++	-	++	+++	++++
100	63-2	+	++	-	-	+	+
101	63-3	++++	+++	-	++	+++	+++
102	63-3-1	++	++	-	+++	++	++
103	63-3-2	+++	+++	-	-	++	++
104	63-③	+++	+++	-	-	++	++
105	64-1	+++	++++	+	+	+	+
106	65-1	+++	++++	-	+++	++	+++
107	65-2	+++	+++	++	+++++	+	+
108	65-3	++	+++	++	+++	+	+
109	65-4	++++	+++	-	+++	+	+
110	66-1	++	++	+	+	+	+
111	66-2	+++	++++	++	+	++	++
112	67-1	++	+++	-	-	+	+
113	67-2	++	+++	-	-	+	+
114	68-1	++++	+++	++++	+++	+	+
115	68-2	++++	++++	++	++	+	++
116	68-3	++++	++++	-	-	+	+
117	69-1	++++	++++	+++	+++	+	+
118	70-1	++	+++	-	+	+	++
119	70-2	+++	++++	-	++++	++	++
120	70-3	+++	+++	+	+	+++	+++

표 12. 계속

번호	군주	산생성력		전분 소화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
121	70-①	++	++	-	-	+	+
122	70-③	++	++	-	+	+	+
123	71-1	++	+++	-	-	+	++
124	71-2	+++	+++	+	+++	++	++
125	71-3	+++	++	-	+	+	+
126	72-1	-	+	-	+++	-	+
127	72-2	+	++++	-	-	+	+
128	72-3	+	+	-	-	+	+
129	73-1	++	++	++++	++++	++	+++
130	73-2	++	++	+++	+++	+	+++
131	73-2-1	++	++	+++	+++	++	++
132	73-3	+++	+++	+++	++++	+	+
133	73-3-2	+++	+++	+++	++++	+++	+++
134	73-4	++++	++++	++++	++++	+++	++++
135	74-1	++++	+++	++++	++++	+	+
136	74-2	++++	++++	++++	++++	+	+
137	74-3	+++	++	++++	++++	+	+++
138	75	++	+++	+	+++	++	+++
139	76-1	+++	+++	-	+	+	++
140	76-2	++	++++	+	++	++	+++
141	77	+++	+++	+	+	+	++
142	77-2	++	++	+	+	+	+
143	80	+++	++++	-	++	+++	++++
144	81-1	+++	++	++	++	++	++
145	81-2	++++	-	-	-	+++	-
146	81-3	++	+++	+	++	+	+
147	81-4	+++	+++	++	+++	++	+++
148	82	+++	+++	-	+	++	++
149	84-1	+++	++++	-	++	++	+++
150	84-2	+++	+++	-	-	++	++

표 12. 계속

번호	군주	산생성력		전분 소화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
151	85-1	++++	++++	-	+	++	++
152	85-2	++++	++++	-	-	+++	+++
153	85-3	+++	+++	+++	++	++	+++
154	85-5	++++	++++	++++	++++	+	+
156	86-1	++++	++++	-	-	++++	++++
157	86-3	++++	+++	++	++	+	+
158	87-1	++++	+++	+	+++	+++	+++
159	87-2	+++	++	+++	++	++	+++
160	87-3	++++	++++	+++	++++	+++	+++
161	87-4	++++	++++	-	+	++++	++++
162	88-1	+++	+++	+++	++++	+++	+++
163	89-1	+++	++++	+	+	+++	+++
164	89-2	++++	++++	+	+	+++	+++
165	89-4	+++	+++	++++	++++	+++	++++
166	90	++++	++++	-	-	+++	+++
167	90-1	++++	++++	-	-	+++	+++
168	90-2	++++	++++	++++	++++	++++	++++
169	90-3	++++	++++	++	+++	++	++
170	90-4	++++	+++	-	++	++++	++++
171	90-6	+++	+++	-	-	++	++
172	91-1	+++	++++	+++	+++	++	++
173	91-2	++++	++++	+	++	++	++
174	91-3	++++	++++	++++	++++	+++	+++
175	91-4	+	++	+++	++++	+	++
176	92-1	-	-	+++	+++	+++	+++
177	92-5	++++	++++	++	+++	+++	++++
178	92-6	+++	++	+++	+++	++	+++
179	92-7	-	++	-	+++	+	++
180	93-1	++++	++++	-	++++	+	+

표 12. 계속

번호	군 주	산생성력		전분 소화력		균체 성장	
		RF	SF	RF	SF	RF	SF
181	93-2	+++	+++	++	++	+	++
182	93-3	++++	++++	+++	+++	+	++
183	93-4	++++	++++	++	+++	+++	+++
184	93-8	+++	-	-	-	+	+
185	94-1	++++	++++	-	-	++	++++
186	94-2	+++	++++	++	+++	++	++
187	94-3	++++	++++	-	++	+++	++++
188	94-4	++++	+++	+++	++++	+	+
189	94-8	+	+	+	++	+	++
190	95-2	++++	++++	+	-	+++	+++
191	95-2-1	+++	+++	+		++	++
192	95-3	-	-	-	-	-	-
193	95-3-2	+	+	-	-	+	+
194	96-1	++++	++++	++++	++++	++	++
195	97-1	+	++++	+	++++	+	+
196	97-2	++	+++	++++	++	+	+++
197	97-3	+++	++++	+++	++++	+	++
198	99-1	+++	+++	-	++++	++	++
199	106-1	++++	++++	-	-	++	++
200	106-2	++++	++++	+++	++	+++	+++
201	108	+++	+++	+	+	+++	++++
202	109-1	-	++	++	++	++	++
203	109-2	++++	+++	+	+	++	+++
204	110-1	++++	++++	++	++++	+++	++++
205	110-2	++++	+++	+	+	+++	+++
206	KOJI-1	++++	++++	+++	++++	+	++
207	KOJI-2	++++	++++	++++	++++	++	+++
208	KOJI-3-1	+	+	++++	++++	++	+++
209	KOJI-3-2	+	+	++++	++++	+	+
210	밀-1	-	-	-	-	-	-
211	밀-2	+	+	++++	++++	+	+
212	입국	++++	++++	++++	++++	+++	+++

* RF : 생쌀전분배지

** SF : 호화전분배지

표 13. 생살전분 자화성 선발균주

번호	균주	번호	균주	번호	균주
1	1-1	16	51-1	31	89-4
2	4-5	17	51-2	32	90-2
3	6-4	18	53-2	33	91-3
4	10-1	19	54-②	34	91-4
5	18-②	20	55-2	35	96-1
6	24-3	21	58-2	36	97-2
7	24-4	22	61-1	37	97-3
8	25-1	23	70-2	38	99-1
9	28-2	24	73-1	39	110-1
10	35-1	25	73-3	40	KOJI-2
11	37-7	26	73-3-2	41	KOJI-3-1
12	40-1	27	73-4	42	입국
13	46-1	28	74-3		
14	49-1	29	87-3		
15	50-1	30	88-1		

2) 호화전분 자화성 곰팡이의 분리

호화전분 배지에서 분리한 304균주를 대상으로 호화전분배지에서의 산생성능력, 균체성장 능력 및 요오드 발색에 의한 전분 자화력을 비교하여 1차로 144균주를 선발(표 14)하고 동일실험의 반복을 통하여 전분자화력과 산생성능력이 우수한 38균주(표 15)를 선발하였다.

표 14. 호화전분배지 생육균주의 산생성, 전분자화력 및 균체성장력

번호	균 주	산생성력	전분자화력	균체 성장
1	40-1	+++	-	++
2	40-3	++	++	+
3	40-4	+	++	+
4	41-3	+++	++	+
5	41-4	++++	++	++
6	41-5	++	++	++
7	41-6	++++	-	+
8	42-2	+++	-	++
9	44-1	+	-	++
10	45-2	+	-	+
11	45-3	++	-	+
12	45-4	+	-	+
13	46-1	+++	+++	++
14	46-2	++++	++	++
15	47-2	-	++	+
16	47-3	++	++	++
17	48-1	++	-	+
18	48-2	++++	+++	++
19	48-3	+++	++	++
20	50-2	++++	++	++

표 14. 계속

번호	군 주	산생성력	전분자화력	균체 성장
21	50-3	+++	++	++
22	50-4	+++	++	+
23	51-1	++++	+++	+++
24	52-2	++++	+++	++
25	53-1	++++	+++	++
26	54-2	++++	+++	++
27	54-3	+++	-	+
28	54-5	-	++	+
29	55-1	-	-	+
30	55-5	++++	++	++
31	56-3	++++	++	++
32	59-2	+	++	+
33	59-3	++++	++	++
34	59-4	+++	-	+
35	61-2	++++	++	++
36	61-4	++++	+++	++
37	62-3	+	++	+
38	63-2	++	++	+
39	64-1	+	+++	+
40	64-2	++++	-	++++
41	64-3	++++	-	+++
42	65-1	++	++	+
43	65-2	++	++	+
44	65-5	++++	++	++
45	66-1	++++	++	++
46	66-2	++	++	+
47	67-2	+++	+++	+
48	68-1	++	++	++
49	68-2	+++	++	+
50	68-4	+++	+++	++

표 14. 계속

번호	관 주	산생성력	전분자화력	균체 성장
51	69-1	++++	+++	+
52	69-2	+	-	+
53	70-1	++++	++	++
54	70-3	++++	++	++
55	70-4	++++	-	++++
56	70-5	+++	++	++
57	71-1	++	-	+
58	71-3	-	-	+
59	71-5	++++	++	++
60	71-6	++++	++	++
61	71-⑥	++++	-	++
62	72-3	-	++++	+
63	72-4	+++	+	++
64	72-6	++++	++	+
65	73-2	++++	++	++
66	73-3	++	++	++++
67	74-1	++	++	++
68	74-2	+++	-	+
69	74-3	+	++	++
70	75-1	++++	++	++
71	75-2	+	++	+
72	75-3	++	++	+++
73	76-1	++	++	++++
74	77-1	+++	+++	++++
75	77-3	++++	++	++
76	78-2	+++	+++	++
77	79-1	+	+++	+++
78	80-1	+++	++	+++
79	80-3	-	++++	++
80	81-2	+	++	+++

표 14. 계속

번호	군 주	산생성력	전분자화력	균체 성장
81	81-3	-	++	+
82	82-2	++++	-	++++
83	82-3	++++	+++	++
84	83-2	+	++++	+
85	83-3	+++	+++	++
86	84-2	++++	++	++
87	85-1	+	-	+++
88	85-2	-	-	+
89	85-3	+	-	+++
90	86-1	++++	++	+++
91	86-5	++	++	++
92	87-1	++	++	++
93	87-3	+	++	+++
94	88-1	++++	++	++
95	88-2	++++	++	+++
96	88-3	++++	+++	+
97	89-3	++++	++	++++
98	89-4	++	+++	++++
99	90-4	++++	++	++
100	90-5	+	+++	+
101	90-6	++++	++	++
102	91-1	++++	++	++
103	91-6	++++	++	+++
104	92-1	+	+++	+
105	92-7	++++	+++	+
106	92-⑦	++	++	++
107	92-8	+++	+++	++
108	94-1	+	++	++
109	94-3	+	-	+++
110	94-4	++++	-	++++

표 14. 계속

번호	군 주	산생성력	전분자화력	균체 성장
111	94-5	++	-	+++
112	94-8	-	++++	+
113	95-1	++++	+++	++
114	95-3	+	-	++
115	95-4	+	++++	+
116	96-1	++++	+++	++
117	97-1	++++	+++	+++
118	97-2	++++	++	+++
119	97-3	+	+	+
120	98-2	-	+++	+
121	98-3	++++	++	+++
122	99-1	-	++++	++
123	99-2	++++	++	+++
124	99-3	++++	++	+++
125	99-4	-	+++	++
126	99-5	++	++	+++
127	99-6	+	+++	+++
128	106-1	++++	-	++++
129	106-3	++++	+	++
130	106-4	+	++++	+
131	107-1	++++	-	++++
132	108-2	++++	+++	++
133	108-4	++++	++	+++
134	109-1	+++	++	++
135	109-6	++++	-	+
136	109-7	+	-	+
137	110-1	++++	+++	++
138	110-3	++++	++	++++
139	110-4	++++	+++	+
140	112-1	+	++	++
141	합1-2	++	++	++
142	합4-2	+++	++	++
143	합4-3	+++	+++	++
144	안동술-1	+	-	+++

표 15. 호화전분자화성 선발균주

번호	균주	번호	균주	번호	균주
1	46-1	16	80-3	31	99-1
2	48-2	17	82-3	32	99-4
3	51-1	18	83-2	33	99-6
4	52-2	19	83-3	34	106-4
5	53-1	20	88-3	35	108-2
6	54-2	21	89-4	36	110-1
7	61-4	22	90-5	37	110-4
8	64-1	23	92-1	38	합4-3
9	67-2	24	92-7		
10	68-4	25	92-8		
11	69-1	26	94-8		
12	72-3	27	95-1		
13	77-1	28	95-4		
14	78-2	29	96-1		
15	79-1	30	97-1		

3) 누룩 및 입국 제조 결과

분리균주의 생밀기울 접종배양에서의 당화효소 및 산생성력 비교를 위하여 잘 알려진 *Aspergillus kawachii* 균주를 입국으로부터 분리하여 ethylene oxide gas로 살균한 생밀기울에서 가수량, 배양기간 및 배양온도에 따른 당화효소 생성력을 비교한 결과 가수량은 수분함량 40%까지는 증가하였으나 그이상에서는 완만히 감소하였고 배양기간에 따른 변화는 배양 18시간부터 48시간까지는 효소활성이 급격히 증가하였으며 그후에는 완만하게 증가하였으며 포자형성이 급격하게 진행되었다.

배양온도는 25, 30, 35℃를 비교한 결과 30℃에서 효소생성이 가장 높았다. 그러나 산생성은 일반적으로 알려진 바와같이 온도의 전이에 의해서 촉진되는 것으로 판명되었다. 즉 배양 18시간 후 30℃에서 26℃로 낮추었을 때 산생성량이 높았다. 생밀기울 누룩의 제조는 산생성조건을 무시하고 당화효소 생성을 비교하기 위하여 동일온도에서 수행하였다.

생밀기울 누룩에서의 당화효소 생성조건은 가수량 40%, 배양시간 48시간, 배양온도 30℃를 기준으로 수행하였으며 접종균주는 표 13과 표 15에 선발된 균주중 생쌀전분 자화 우수균주와 호화전분 자화 우수균주가 동일 누룩에서 분리되었으며 형태가 같은 종으로 여겨지는 균주는 생전분자화성균주를 시험균주로 사용하였으며 총 50균주를 선정하여 ethylene oxide gas로 살균한 생밀기울에 접종, 배양하였으며 선정된 균주의 대부분은 *Aspergillus* 속으로 추정되는 황녹색포자형성균이었다.

선발균주와 이를 접종하여 발효시킨 생밀기울 누룩의 특성은 표 16과 같다. 누룩 1g이 2% 가용성 전분을 55℃에서 60분간 가수분해하여 생성하는 포도당 mg수를 백분율로 표시하는 당화력은 최저 약 1,000부터 5,000까지 분포하였으며 활성 1,000~2,000, 2,000~3,000, 3,000~4,000, 4,000 이상이 각각 2균주, 6균주, 7균주 및 35균주였다. 4,000이상의 활성을 나타낸 균주

표 16. 선발균주 접종 생밀기울 누룩의 특성

번호	균 주	당 화 력		물침출액 pH	수분함량 (%)
		생 전 분	호화전분		
1	R 10-1	311	4120	5.9	54
2	R 24-3	293	4728	5.9	54
3	R 24-4	209	3132	5.8	59
4	R 28-2	243	4479	5.8	58
5	F 35-1	314	4623	5.8	50
6	F 37-7	220	2556	5.9	54
7	R 40-1	292	3407	6.0	64
8	S 46-1	275	4100	5.6	48
9	R 46-1	399	4139	5.9	60
10	S 48-2	347	4361	6.0	58
11	R 49-1	237	3838	5.7	60
12	R 51-1	381	4701	5.9	47
13	R 51-2	247	2556	5.8	55
14	S 55-1	301	2177	5.1	56
15	R 55-2	285	4793	5.7	52
16	R 58-2	274	2883	5.9	64
17	R 61-1	274	4008	5.8	56
18	S 68-4	343	4034	5.7	52
19	R 70-2	282	4479	5.7	56
20	R 73-3	264	4610	6.0	48
21	R 74-3	334	3668	5.7	56
22	R 85-3	397	4191	5.8	52
23	S 86-1	323	4047	5.7	52
24	R 89-1	223	4034	5.8	53
25	S 89-4	339	4126	5.8	56

표 16. 계속

번호	균 주	당 화 력		물침출액 pH	수분함량 (%)
		생 전 분	호화전분		
26	R 91-3	336	3747	5.8	56
27	S 92-8	172	4688	5.8	50
28	R 93-1-1	262	4061	5.9	59
29	S 96-1	285	4924	5.9	48
30	R 96-1	401	4427	6.0	47
31	S 97-2	300	4885	5.9	48
32	R 97-2	285	4178	6.0	51
33	R 97-3	153	1445	5.7	48
34	S 98-3	245	4140	5.9	59
35	S 99-2	190	4074	6.0	57
36	S 99-5	332	4662	6.0	53
37	R 99-1	307	4989	6.0	52
38	R 101-1	357	4361	6.0	48
39	R 106-2	221	2242	6.0	58
40	S 110-1	327	4701	6.0	50
41	R 110-1	318	4767	5.8	49
42	S 112-1	305	3289	5.9	58
43	R 113-2	371	4139	5.9	55
44	R 114-4	283	4688	5.9	52
45	S 115-1	321	4178	5.9	54
46	Koji-1	442	4623	6.0	47
47	Koji-2	317	2739	6.0	60
48	Koji-3-1	411	3943	6.1	54
49	입국	121	1929	5.8	56
50	합천술 4-3	350	4741	5.9	45

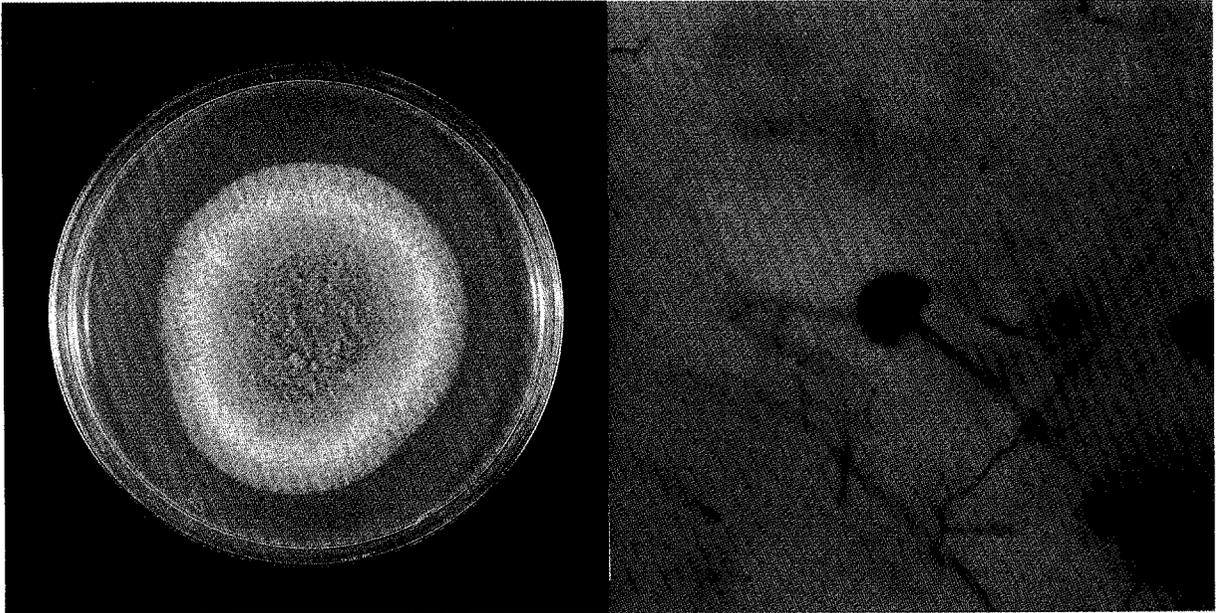
35균주 중 16균주는 4,500이상의 높은 활성을 나타냈다. 생전분당화력으 25 균주가 300이상 나타냈는데 이중 20균주는 호화전분당화력 4,000이상을 함께 나타내는 균주였다. 밀기울 누룩의 수분함량은 평균 55%정도 였으며 물 침출액의 pH는 평균 5.9부근으로 나타나 안전주조를 위한 양조초기의 낮은 pH 유지를 위하여 산생성을 위한 조건설정이 필요한 것으로 나타났다.

생밀기울에서의 당화효소 생성능력이 높은 균주들은 대부분 황녹색의 포자를 생성하여 *Aspergillus oryzae* 속하는 것으로 추정되었다. 그러나 본 실험에서는 당화효소 생성균주에 따른 주질의 차이를 확인하기 위하여 *Aspergillus oryzae* 속하는 것으로 여겨지는 높은 당화력의 6균주(사진 1)를 선발하고 당화력은 비교적 낮지만 전통누룩의 주요 균주로 추정되고 있으며 검은 색포자를 형성는 *Rhizopus*속으로 추정되는 균주(사진 2,3)와 *Aspergillus niger*로 추정되는 균주 및 균청색의 포자를 형성하는 균주(사진 4)등을 선발하여 밀기울 누룩 및 입국을 제조하고 그 특성을 조사하였으며 밀기울 누룩을 당화효소로 하는 탁주를 시험제조하여 균주가 향미에 미치는 영향을 비교하였다.

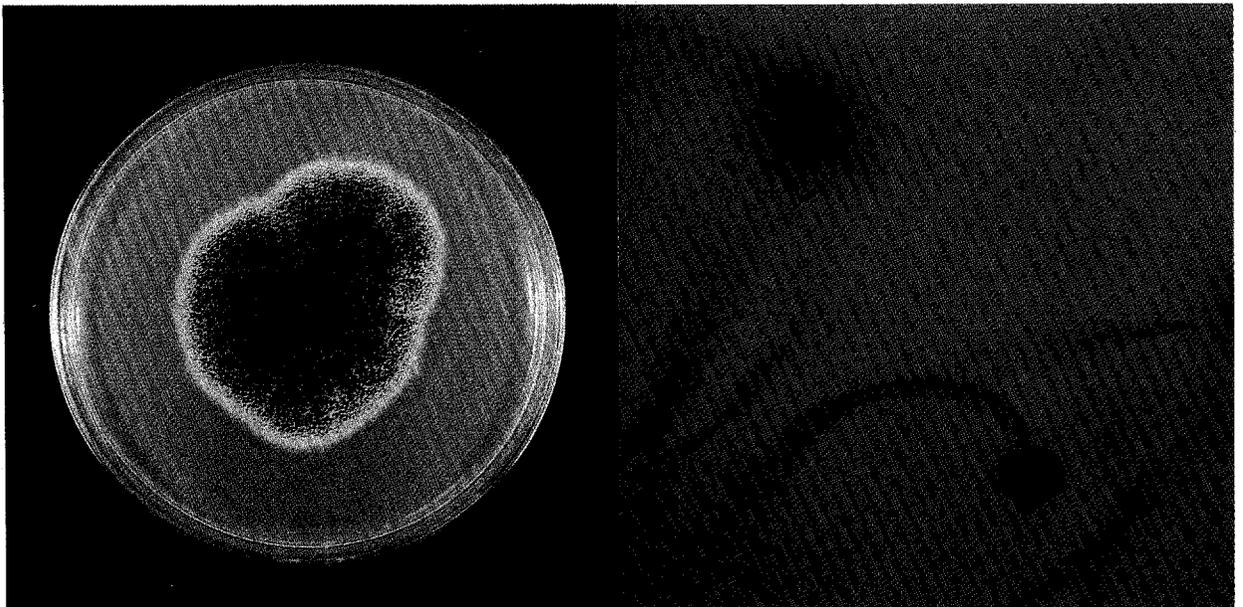
4) 시험양조 결과

분리균주를 접종한 누룩의 특성은 표 17과 같다.

밀기울에 접종한 균주중에는 황녹색의 포자를 형성하는 *Aspergillus* 속으로 여겨지는 R28-2, R51-1, R55-2, S97-2, 합천술 S4-3, koji-1 균주등 6균주의 호화전분당화력 및 생전분당화력은 각각 4897, 4963, 4924, 4335, 4806, 4636과 351, 351, 322, 312, 343, 221로 검은색포자를 형성하는 R52-2a, S55-1, R55-3, S104-3균주의 2070 및 290과 균청색 포자를 형성하는 R24-4, F3707, R94-4, S97-1균주의 2860 및 220보다 훨씬 높았다. 균청색 포자형성균주는 검은색 포자형성균주보다 호화전분당화력은 높았으나 생전

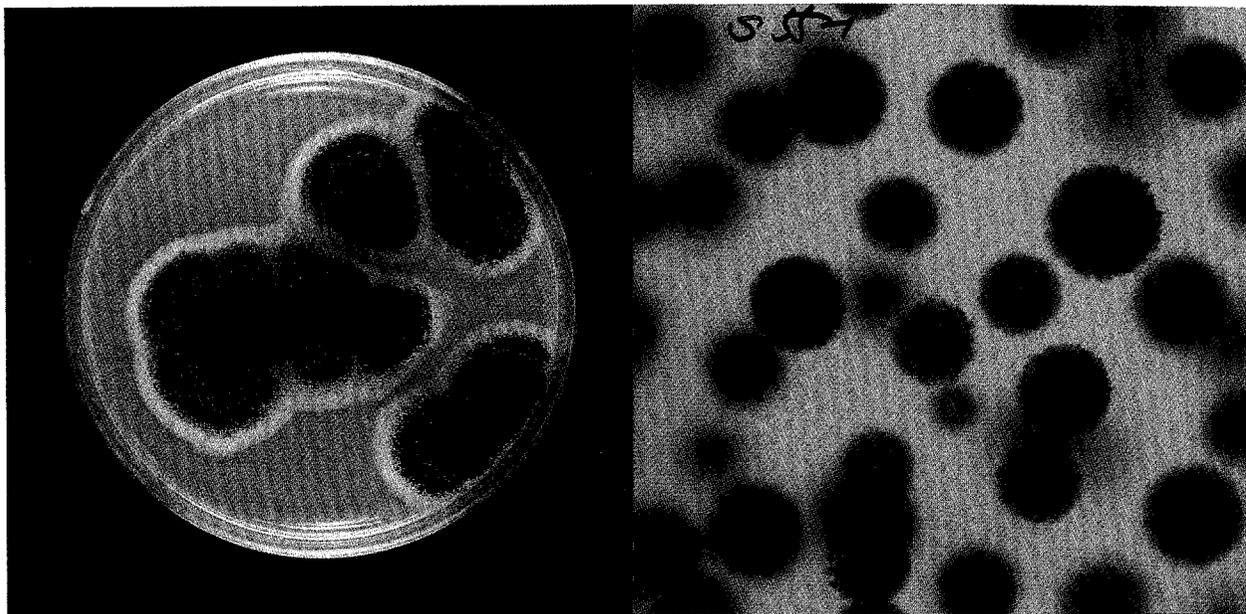


< 사진 1, R 51-1 >

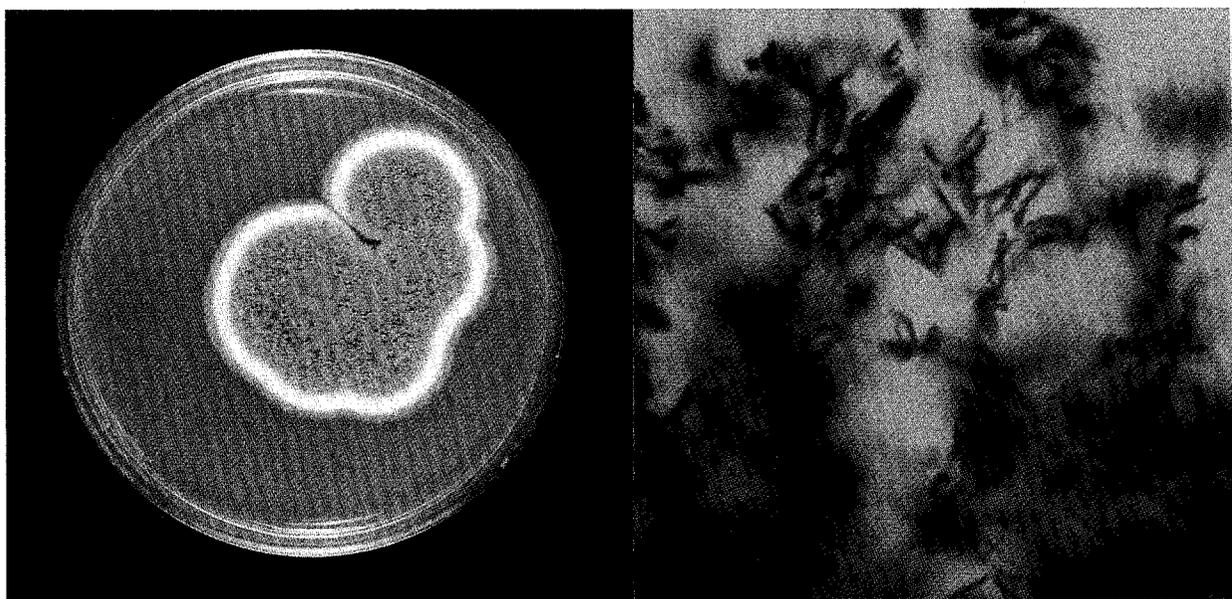


< 사진 2, R 55-3 >

여 백



< 사진 3, S 55-1 >



< 사진 4, S 97-1 >

여 백

분당화력은 낮은 것으로 나타났으며 검은색 포자형성균주는 호화전분당화력에서 두 그룹으로 분리되어 *Aspergillus*속균주와 *Rhizopus*속균주로 나누어지는 것으로 판단되었다.

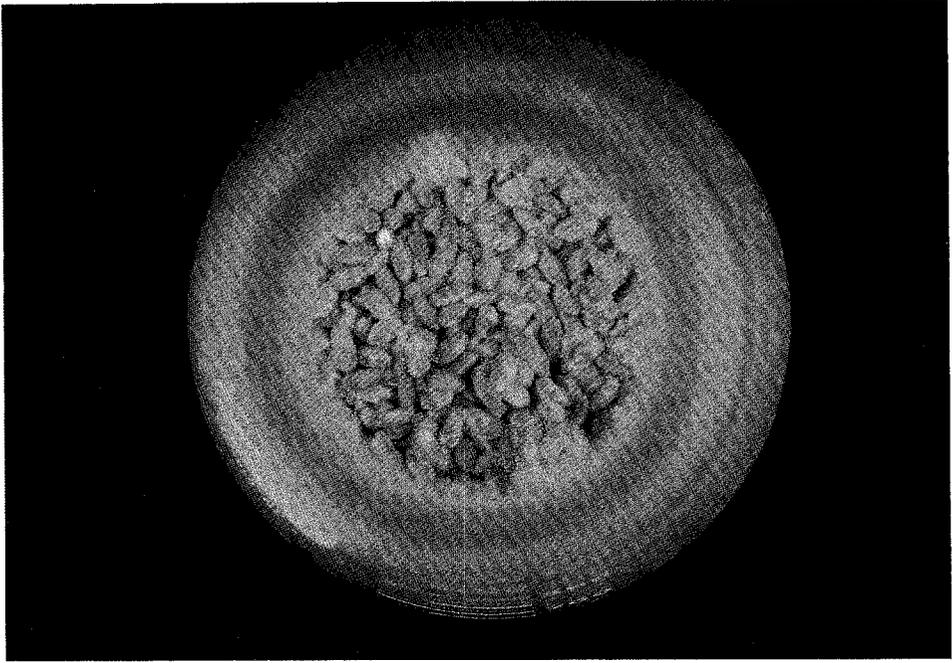
밀기울 누룩 물침출액의 pH는 황녹색 포자형성균과 균청색 포자형성균은 큰 차이가 없이 pH 5.8 ~ 6.0 사이의 값을 보였으나 검은색 포자형성균주는 pH 5.0 ~ 5.7 사이로 비교적 낮은 값을 나타냈다. 수분함량은 균주간에 유의성 있는 차이가 없이 49 ~ 59% 수준이었다.

분리균주를 증자미에 접종하여 제조한 입국의 상태는 사진 5~6과 같고 입국의 특성은 표 18과 같다. 입국의 경우에서도 황녹색 포자형성균주의 호화전분 및 생전분 당화력의 평균이 3060 및 560으로 검은색 포자형성균의 960 및 510, 균청색포자형성균의 820 및 240보다 월등하게 높았다. 그러나 검은색 포자형성균과 균청색 포자형성균의 밀기울 배양에서와 달리 검은색 포자형성균의 호화전분 및 생전분 당화력이 높았으며 누룩의 경우에서와 같이 검은색 포자형성균주는 두 그룹으로 나누어 졌다.

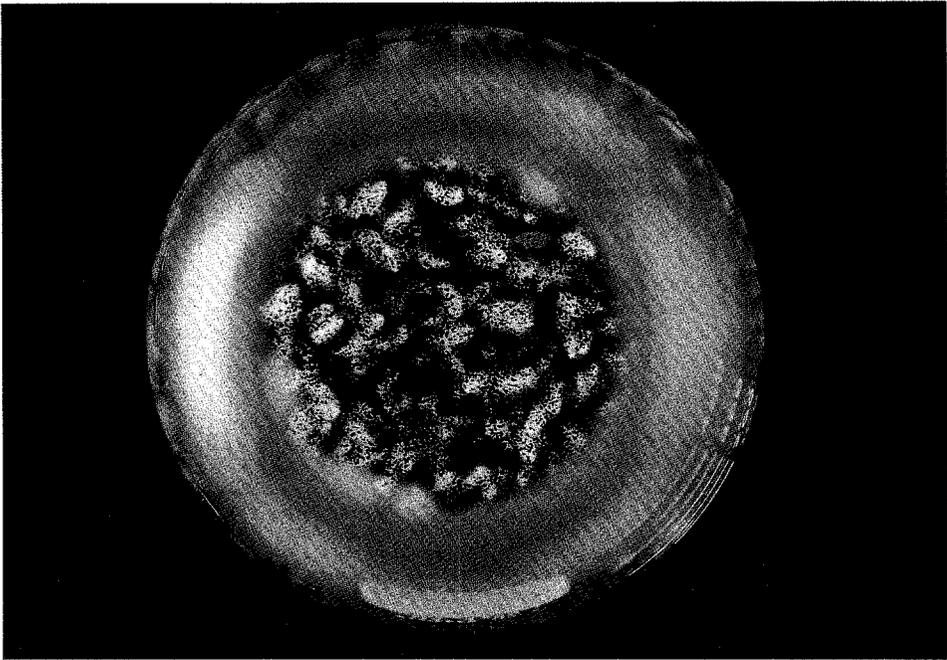
동일균주 그룹에 대한 누룩과 입국을 비교하면 황녹색 포자형성균주들의 호화전분 당화력은 누룩이 입국보다 1.5배정도 활성이 높았으나 생전분 당화력은 입국이 누룩보다 활성이 1.75배 높게 나타났다. 검은색 포자형성균주는 호화전분 당화력이 입국보다 누룩이 2.1배 정도 높았으나 생전분 당화력은 누룩이 1.75배 높았다. 균청색 포자형성균주의 경우에는 호화전분당화력은 역시 누룩이 입국보다 약 3.5배 높았으나 생전분 당화력은 큰 차이를 보이지 않았다.

입국의 물추출물의 pH는 검은색 포자형성균주들은 약 4.1이었고 황녹색 및 균청색 포자형성균주들은 약 5.0으로 누룩의 수소이온농도가 약 10배 정도 낮았으며 수분함량은 누룩보다 9% 정도 낮았다.

여 백

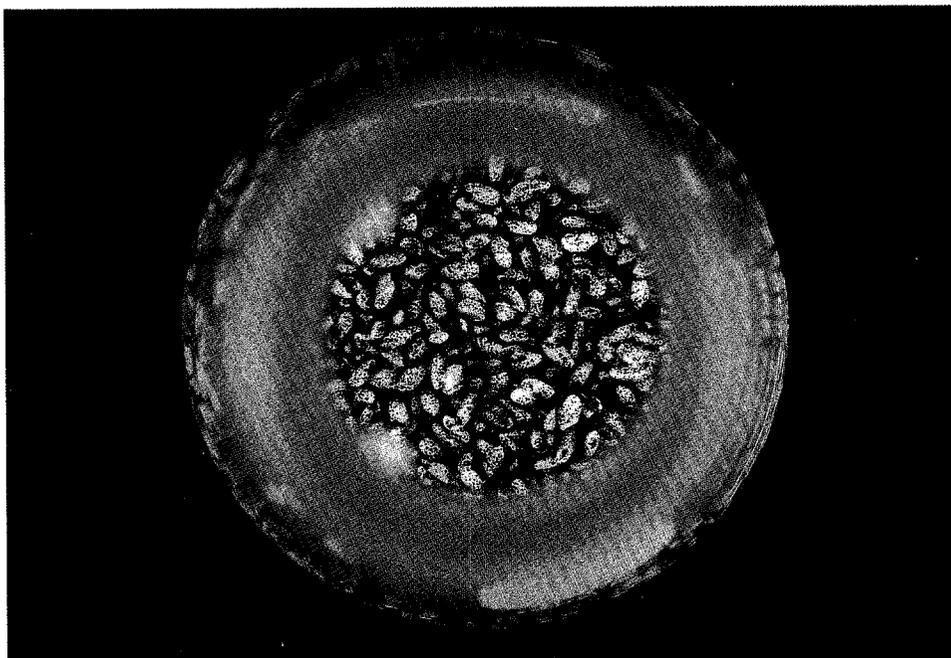


< 사진 5, R 51-1 >

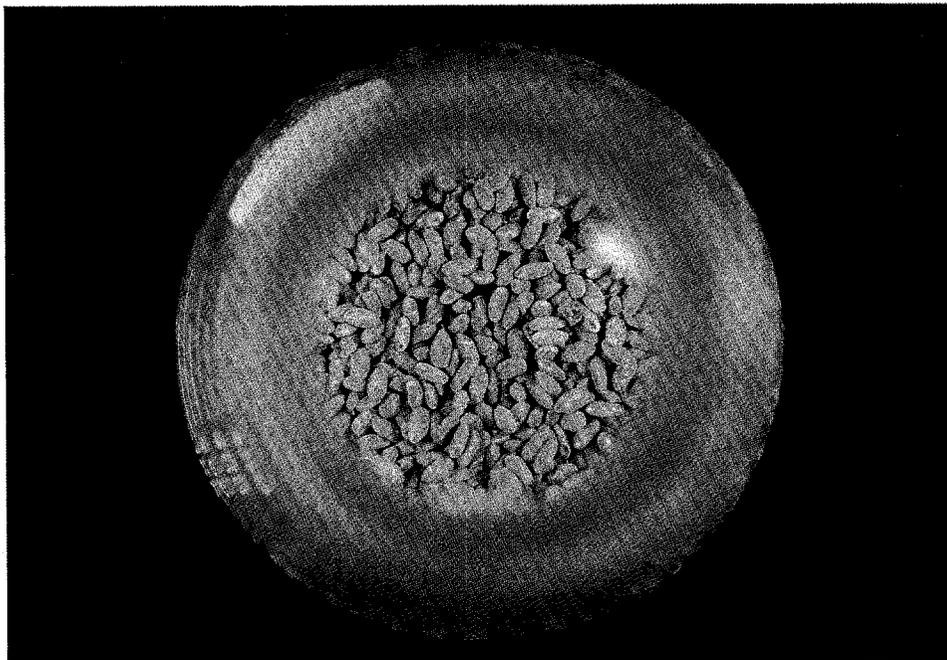


< 사진 6, R 55-3 >

여 백



< 사진 7, S 55-1 >



< 사진 8, S 97-1 >

여 백

표 17. 선발균주 접종 생밀기울 누룩의 특성

번호	균 주	당 화 력		물침출액 pH	수분(%)	포자색
		생전분	호화전분			
1	R 28-2	351	4897	5.8	55	황녹색
2	R 51-1	351	4963	5.8	53	황녹색
3	R 55-2	322	4924	5.8	53	황녹색
4	S 97-2	312	4335	6.0	49	황녹색
5	S 합천술4-3	343	4806	5.8	59	황녹색
6	Koji-1	221	4636	5.8	54	황녹색
7	입국	136	1785	5.9	49	황갈색
8	R 52-2 a	352	2347	5.1	54	흑갈색
9	S 55-1	331	2517	5.0	57	흑갈색
10	R 55-3	213	1667	5.7	54	검은색
11	S 104-3	289	1758	5.4	54	검은색
12	R 24-4	246	3171	5.8	56	균청색
13	F 37-7	228	2844	5.9	52	균청색
14	R 94-4	297	2347	5.9	49	균청색
15	S 97-1	123	3066	6.0	50	균청색

표 18. 선발균주 접종 입국의 특성

번호	균 주	당 화 력		물침출액 pH	수분(%)	포자색
		생전분	호화전분			
1	R 28-2	538	3263	5.0	46	황녹색
2	R 51-1	454	2909	5.0	45	황녹색
3	R 55-2	471	2849	5.0	43	황녹색
4	S 97-2	524	3400	5.0	46	황녹색
5	S 합천술4-3	619	3885	5.0	44	황녹색
6	Koji-1	776	4910	5.1	36	황녹색
7	입국	97	706	5.0	42	황갈색
8	R 52-2 a	483	1250	4.2	42	흑갈색
9	S 55-1	535	1329	4.2	38	흑갈색
10	R 55-3	511	879	4.1	39	검은색
11	S 104-3	509	369	4.1	40	검은색
12	R 24-4	422	1596	5.0	44	군청색
13	F 37-7	341	1331	5.0	45	군청색
14	R 94-4	95	113	5.0	37	군청색
15	S 97-1	104	236	4.9	38	군청색

선발된 균주를 접종한 생밀기울 누룩을 당화원으로 하고 이양법으로 제조한 약주의 일반분석 결과는 표 19와 같다. 균주에 따라 생성된 알코올 도수는 18~23%, Brix 농도 6~10, pH 4.0~4.6, 산도 3.9~9.2의 수준으로 전통 약주에 비해 Brix농도가 비교적 낮게 나타났는데 이는 사용원료의 차이, 즉 전통약주의 경우에는 찹쌀을 사용하여 잔당이 많이 남기 때문이며 그이외의 일반분석에서는 기존 약주와 큰 차이를 보이지 않았다.

그러나 청정액의 외관상 색은 큰 차이를 나타내었다. 즉, 황녹색 포자형성균인 R 28-2, R 51-1, R55-2, S97-2, S 합천술 4-3 등은 짙은 갈색내지 갈색을 나타내었다. 그러나 같은 황녹색 포자형성균이지만 Koji 1 균주는 미황색을 나타내었다. *Rhizopus* sp. 또는 *Aspergillus niger*로 추정되는 검은색 포자형성균과 균청색 포자형성균주 접종누룩으로 제조한 약주들은 미황색을 띠었다.

관능적 향기특성은 황녹색 포자형성균은 주로 기존의 약주향과 유사한 우수한 향을 생성하였으나 일부 균주는 노화취를 생성하였다. 검은색포자형성균주들은 비교적 향기생성이 미약하였으며 균청색 포자형성균주들은 각기 와인향, 곰팡이취, 노화취, 이취 등 각기 다른 특성의 향기를 생성하였다.

시험제조된 약주의 유기산 분석결과는 표 20과 같다. 표에 나타난 바와같이 균주의 그룹에 따라 생성되는 유기산의 차이가 나타났다. 즉, 황녹색 포자형성균주들은 malic acid, 검은색 포자형성균주들은 oxalic acid를 특징적으로 생성하였다. Lactic acid는 모든 균주들이 1,500~1,900ppm정도를 생성하였으며 succinic acid는 황녹색 포자형성균들은 0.1~0.2%를 생성하였으나 다른 균주들은 0.1%이하를 생성하였다. Citric acid는 검은색 포자형성균인 R 52-2a, S 55-1 두균주는 300ppm 가까이 높은 농도로 생성하였으나 다른 균주들은 약 80ppm 수준을 생성하였다.

표 19. 선발균주 누룩으로 제조한 약주의 일반분석

번호	균 주	주정도	Brix	pH	산도	상징액의 색	향 기*
1	R 28-2	23	9.6	4.5	4.1	갈색	6 (약주향)
2	R 51-1	22	8.6	4.6	3.9	농갈색	8 (약주향)
3	R 55-2	21	8.0	4.4	5.2	갈색	8 (약주향)
4	S 97-2	21	8.4	4.6	4.2	갈색	8 (약주향)
5	S 합천술 4-3	23	8.6	4.4	4.6	미황색	4 (노화취)
6	Koji-1	20	8.8	4.4	4.4	미황색	7 (탁주향)
7	입국	18	6.2	4.1	6.5	미황색	4 (이취)
8	R 52-2 a	20	7.4	4.0	7.5	미황색	5 (약주향)
9	S 55-1	21	6.8	4.1	6.2	미황색	5 (약주향)
10	R 55-3	20	7.8	4.3	5.7	미갈색	5 (향미약)
11	S 104-3	18	6.2	4.2	5.8	미황색	5 (향미약)
12	R 24-4	21	7.4	4.1	4.4	미갈색	8 (와인향)
13	F 37-7	20	6.2	4.1	9.2	미황색	3 (노화취)
14	R 94-4	20	7.2	4.1	4.6	황갈색	1(곰팡이취)
15	S 97-1	21	6.1	4.1	4.2	미갈색	4 (이취)

* 9 : 매우 좋음 7 : 좋음 5 : 보통임 3 : 나쁨 1 : 매우 나쁨

표 20. 선발균주 접종 누룩으로 제조한 약주의 유기산 함량 (ppm)

번호	균 주	Lactic acid	Succinic acid	Citric acid	Fumaric acid	Malic acid	Oxalic acid	Acetic acid	Tartaric acid
1	R 28-2	1717	17313	85	33	105			
2	R 51-1	1491	18954	82	34	110			
3	R 55-2	1569		90	5	108			
4	S 97-2	1871	16749	87		87			
5	S 합천술 4-3	1682	14500	66		76			
6	Koji-1	1997	10069	122		58			
7	입국	1616	10155	136	2				13
8	R 52-2a	1535	14937	304	3		90		
9	S 55-1	1579	5633	256	2		55		
10	R 55-3	1781		91			88		
11	S 104-3	27	5600	93	4		49		
12	R 24-4	1520	8903		2			49	
13	F 37-7	1801	3762					54	
14	R 94-4	1712	17313	85	33	105			
15	S 97-1	1939	7036	98	2				
16	시판탁주	4033	1795	208	4			899	22

여 백

IV. 참고문헌

1. 長西敏男 : 日釀造學, 6, 513(1929) 『김찬조 : 한국농화학회지, 10, 69(1968)』
2. 武田義人 : 農化, 6, 1023(1930) 『김찬조 : 한국농화학회지, 10, 69(1968)』
3. 한용석, 김기주 : 중앙연구소연구보고, 9, 131(1959) 『김찬조 : 한국농화학회지, 10, 69(1968)』
4. 정호권 : 한국식품과학회지, 2, 88(1970)
5. 한용석, 박병득 : 중앙연구소연구보고, 9, 147(1959) 『정호권 : 한국식품과학회지, 2, 88(1970)』
6. 이두영 : 한국미생물학회지, 7, 41(1969)
7. 이주식, 이태우 : 한국미생물학회지, 8, 116(1970)
8. 신용두, 조덕현 : 한국미생물학회지, 8, 116(1970)
9. 이계호 등 : 생전분 분해성 *Rhizopus* sp.에 의한 전통약주 제조 및 그 최적화 공정 기술개발, 과학기술처 연구보고서(1991)
10. 이계호 등 : 전분 발효성 접합 균주(*Zygomycetes*)를 활용한 쌀의 액화, 당화 최적기준 설정, 농촌진흥청 연구보고서(1993)
11. 손순기, 노영훈, 김현진, 배상면 : 한국산업미생물학회지, 18, 506(1990)
12. 구영조 등 : 한국식품개발연구원 연구보고서, G1009-0196(1992)
13. 野白喜久雄 : 釀協, 79, 33(1984)
14. 村上英也 : 釀協, 47, J25(1952)
15. 村上英也, 大脇京子, 山本友厚 : 釀協, 59, 77(1964)
16. 小泉武夫, 鈴木昌治, 野白喜久雄 : 釀協, 79, 500(1984)

17. 小泉武夫, 鈴木昌治, 角田潔和, 長坂進, 野白喜久雄 : 釀協, 80, 807 (1985)
18. 田中利雄, 岡崎直人, 木谷光伸 : 釀協, 77, 831(1982)
19. 月岡本, 黃井忠夫, 鈴木恒夫 : 農化, 62, 1643(1988)
20. 內村泰, 高木重樹, 渡 堅二, 小崎道雄 : 釀協, 85, 888(1990)
21. 國世淸 技術연구소 주류분석규정 : 國世淸훈령 제 743호(1979. 11. 28)
22. 정 동효, 장 현기 : 식품분석, 진로연구소 (1979)
23. 신 효선: 식품분석, 신광출판사 (1983)
24. G. L. Miller : Anal. Chem., 31, 426 (1959)
25. Hyoung, S. Lee : J. Agri. Food Chem., 41, 1991 (1993)
26. 영인과학 : Amino acid Analysis System 원리 및 응용 (1994)
27. White, J. A., Hart, R. J., and Fry, J. C. : J. Automatic Chem. 8(4) 167, 170-177 (1986)
28. 정지훈, 정순택 : 한국농화학회지, 30, 264 (1987)
29. 김찬조 : 한국농화학회지, 4, 33 (1963)
30. 이원경, 김정립, 이명환 : 한국농화학회지, 30, 323 (1987)
31. 최선희, 김옥경, 이명환 : 한국식품과학회지, 24, 272 (1992)
32. 조덕현, 신용두 : 기술연구소보, 2, 1 (1969)
33. 장기중, 유대중 : 한국식품과학회지, 13, 307 (1981)