

한산 소곡주의 시어짐에 관한 연구

이찬용 · 김태욱 · 성창근*

대전대학교 미생물학과, 충남대학교 식품공학과*

Studies on the Souring of *Hansan Sogokju* (Korean Traditional Rice Wine)

Chan Yong Lee, Tae Wook Kim and Chang Keun Sung*

Department of Microbiology, Taejon University

*Department of Food Technology, Chungnam National University

Abstract

In order to find the reason for souring of *Hansan sogokju* (Korean traditional rice wine), microbial distribution, pH change and organic acids were analysed. Besides 161 mM of lactic acid as a major organic acid, small amount of acetic acid, malic acid, propionic acid were found in *sogokju*. Four different microbial strains were identified from the *sogokju*. These are two strains of *Lactobacillus* spp., *Bacillus* sp. and yeast. The pH of *sogokju* was changed from 4.01 to 3.29 during 18 days storage at 30°C. Amount of total acidity increased from 9 to 34.86 at the same condition. Notable change in the soured *sogokju* was an increase of the lactic acid (from 161 mM to 192 mM). So, we could assume that it was soured by an additional production of lactic acid by lactic acid bacteria during storage. The shelf life of *sogokju* was 41 days below 15°C degree because this temperature was hard condition for the growth of *Lactobacillus* spp., causative bacteria responsible for additional lactic acid production.

Key words: *Hansan sogokju*, souring, storage, *Lactobacillus* spp.

서 론

우리의 한민족이 옛날부터 즐겨 마셨던 술은 그 종류가 대단히 많고, 양조방법이 다양하였음을 산림경제(山林經濟), 양주방(釀酒方), 규각총서(閩閩叢書), 방사제요(放事提要) 등의 고문헌을 통하여 알 수 있으며, 이중에서도 고급약주로서는 소곡주, 청명주, 삼해주, 하향주, 녹과주 등을 들 수 있다⁽¹⁾. 이중 한산 소곡주는^(2,3) 충청남도 무형문화재로 지정되어 있는 우리나라 전통술의 하나이다. 소곡주와 유사한 제조과정을 거치는 청주 등의 제품중에 포함되어 있는 유기산의 신맛은 제품의 특이한 술 맛을 구성하는 데에 필수적인 요소이다. 그러나, 화입 공정을 거치는 청주 등^(4,5)과는 다르게 전통적인 제조과정의 소곡주는 화입과정을 거치지 않기 때문에 발효에 관여한 미생물이 그대로 존재하므로 자연상태로 보관하면 여름에는 10일, 겨울에는 한달 반 정도면 시어져서 상품으로서의 가치를

를 잃어 버리게 된다. 19세기말 프랑스 파스퇴르의 포도주 산패에 관한 고전적인 연구가 있는 후 포도주·과실주의 시어짐에 관한 많은 연구보고가 있었으나, 국내에서 "약·탁주의 변패와 미생물과의 관계"에 관한 구체적인 연구는 거의 없었다^(6,7).

본 연구에서는 한산 소곡주를 시어지게 하는 원인을 규명하기 위하여 소곡주의 유기산 조성, 소곡주에 존재하는 미생물 균총, 시간 경과에 따른 소곡주의 pH와 산함량 변화, 시간 경과에 따른 소곡주의 미생물 균총의 변화, 시어진 소곡주의 유기산 조성, 시어짐을 일으키는 원인균의 생육 정지 온도, 그 온도에서 소곡주 품질이 유지되는 기간 등을 조사하고 고찰하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

소곡주는 충남 서천군 한산면에 위치한 '한산 소곡주'(대표: 라장연)에서 제공받아 본 실험에 사용하였다. 소곡주의 제법은 다음과 같다. 누룩물에 흰무리떡

Corresponding author: Chan-Yong Lee, Department of Microbiology, Taejon University, Yongwoon-dong, Dong-ku, Taejon 300-716, Korea

가루인 술밥을 넣고 발효시켜 밀술을 만든다. 밀술을 여과한 후 이 밀술을 물 대신 사용하여 다시 누룩물을 만들고 여기에 술밥을 첨가해 발효시킨 후 '여과, 누룩물 제조, 술밥 첨가, 발효' 과정을 다시 한번 행한다. 그 다음 이를 통에 담아 지하실에서 100일 동안 숙성시킨 에탄올 함량 16.0~16.8%의 술을 시료로 하였다⁽¹⁾.

소곡주에 존재하는 미생물 균총

소곡주에 존재하는 미생물상을 살피기 위하여 LB plate 배지에 소곡주액 0.1 ml을 접종하여 30°C에서 배양하고, 혐기성 plate 배지에 소곡주액 0.1 ml을 접종한 후 이 위에 2% agar 용액을 45°C로 식혀 부어 중층을 만들어 굳힌 후 역시 30°C에서 배양하였다⁽⁹⁾. Colony가 얻어지면 이들을 먼저 형태에 따라서 분리한 후 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*에 따라서 genus 수준까지 동정하였다^(10,11).

시간 경과에 따른 소곡주의 pH와 산함량 변화

멸균된 용기에 소곡주를 넣고 밀봉한 후 30°C 배양기에서 매 24시간 마다 pH와 산 함량을 18일간 측정하였다. 산 함량은 시료 10 ml에 pH 값이 7이 될 때까지 가한 0.1 N NaOH 용액의 양(ml)으로 나타내었다⁽¹²⁾.

소곡주의 유기산 분석

정상적인 소곡주 제품과 30°C에서 18일간 보관되어 시어진 소곡주의 유기산 조성을 HPLC로 분석하였다. 분석은 실온에서 하였으며 이때 column은 Aminex

Ion Exclusion HPX-87H를 사용했고 용리액으로는 0.008 N의 H₂SO₄ 용액을 사용했다. Flow rate는 1.0 ml/min 로 하였고 검출은 파장 214 nm를 이용했으며 injection volume은 20 µl로 하였다.

결과 및 고찰

소곡주에 존재하는 미생물 균총

시판 소곡주 제품에서 8종류의 colony를 형성하는 미생물들이 발견되었다(Table 1). 이중 4종류는 *Lactobacillus*속 세균이었고, 2종류는 *Bacillus*속 세균이었으며, 그리고 2종류는 yeast로 판명되었다. 그러므로 소곡주에는 *Lactobacillus*속 세균 이외의 젖산균은 존재하지 않음을 알 수 있었다. Table 1에서 볼 수 있듯이 a와 e, b와 f, c와 g, d와 h는 각각 그 형태가 서로 거의 동일하며, 동정결과에서 동일한 결과를 나타내었으므로 LB와 혐기성 plate에 각각 같은 종류의 균에 의해 형성된 colony라고 판정하였다. 그리고 a와 e colony를 형성한 균을 *Lactobacillus A*, b와 f colony를 형성한 균을 *Lactobacillus B*, c와 g colony를 형성한 균을 *Bacillus C*, d와 h colony를 형성한 균을 yeast D라고 명명하였다. 가장 많은 수를 차지하고 있는 세균은 *Lactobacillus A*로서 5.7×10^5 CFU/ml이었으며 yeast D의 세포수는 8.25×10^3 CFU/ml이었다.

시간 경과에 따른 소곡주의 pH와 산 함량 변화.

시간 경과에 따른 소곡주의 pH와 산 함량 변화는

Table 1. Microorganisms in normal sogokju

Medium	Colony name	Colony shape	Shape	Gram staining	Catalase	Spore	Oxygen demand	Genus	Number (CFU/ml)
LB	a	round, yellow	rod	+	-	-	microaerophilic	<i>Lactobacillus</i>	560000
LB	b	round, white	rod	+	-	-	microaerophilic	<i>Lactobacillus</i>	8900
LB	c	circular cone, yellow	rod	+	+	+	facultative anaerobic	<i>Bacillus</i>	1700
LB	d	round(large), yellow	yeast		+	+	facultative anaerobic	Yeast	8500
AM ¹⁾	e	oval, yellow	rod	+	-	-	microaerophilic	<i>Lactobacillus</i>	580000
AM	f	round, white	rod	+	-	-	microaerophilic	<i>Lactobacillus</i>	9000
AM	g	round, yellow	rod	+	+	+	facultative anaerobic	<i>Bacillus</i>	1500
AM	h	oval(large), yellow	yeast		+	+	facultative anaerobic	Yeast	8000

¹⁾AM=Anaerobic medium

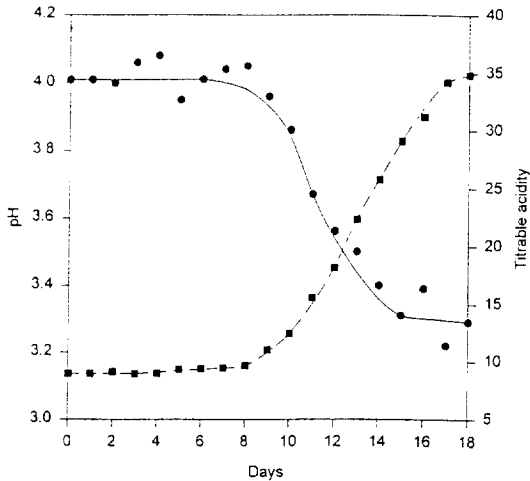


Fig. 1. Change of pH and titrable acidity of sogokju as time course —: pH, —·—·: titrable acidity

Fig. 1과 같다. 정상적인 소곡주의 초기 pH는 4.01이었으며, 30°C에 방치한 후 8일이 경과되었을 때부터 pH가 급격하게 하강하여 15일 후 3.31에 도달하였으며, 16일 이후 부터는 소곡주가 산패되어 상품으로서의 가치를 잃어버렸음을 관능검사결과로 알 수 있었다.

시간 경과에 따른 소곡주의 미생물 균총 변화.

시간 경과에 따른 소곡주의 미생물 균총 변화는 Fig. 2와 같다. *Bacillus C*를 제외한 나머지 균들은 시간이 경과함에 따라 전반적으로 수가 감소하였다. yeast *D*의 감소현상은 소곡주내 영양분의 점차적인 고갈과 시어짐 원인균이 일으킨 유기산량의 증가에 의한 pH의 감소가 yeast *D*의 생육을 저해했기 때문인 것으로 해석된다. *Bacillus C*가 비교적 일정한 수로 유지된 것은 내생포자 형태로 계속 존재해 왔기 때문인 것으로 생각된다. *Bacillus C*를 액체 LB배지에서 배양한 결과 배지표면에 막을 형성하였고 점성을 띤 물질을 대량 생산해냈는데 18일간 방치한 이 소곡주 sample에서는 이러한 일이 일어나지 않았다. 이 사실은 *Bacillus C*가 소곡주 내에서 생육이 거의 일어나지 않고 내생포자 형태로 계속 존재해 왔을 것이라는 생각을 뒷받침해 주는 증거이다. 따라서 *Bacillus C*는 시어짐의 원인균이 아님을 알 수 있다.

소곡주와 시어진 소곡주의 유기산 조성.

정상 소곡주제품과 시어진 소곡주의 유기산 조성은 Table 2와 같다. 소곡주에 존재하는 유기산의 대부분이 lactic acid였으며 그 외의 유기산으로는 acetic acid, malic acid, propionic acid가 lactic acid의 10분의

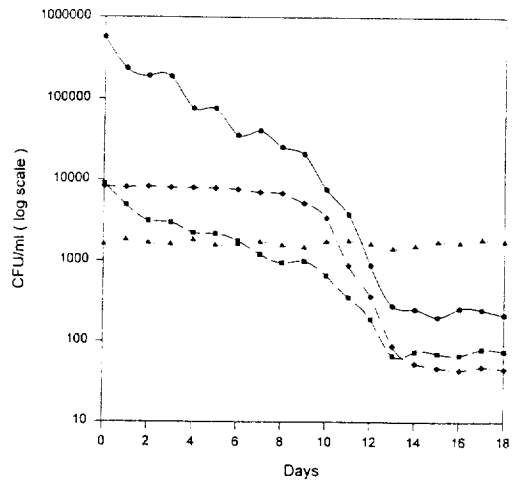


Fig. 2. Numerical change of each microorganism in sogokju as time course. It was appeared that average value of number in LB plate medium and number in anaerobic plate medium ●—●: *Lactobacillus A*, ■—■: *Lactobacillus B*, ▲—▲: *Bacillus*, ◆—◆: *Yeast D*

Table.2. Organic acids in normal sogokju and soured sogokju unit=mM

Organic acid	Normal sogokju	Soured sogokju
Acetic acid	15	14
Citric acid	-	-
Lactic acid	161	192
Oxalic acid	-	-
Fumaric acid	-	-
D,L-Malic acid	3.8	5.1
Succinic acid	-	-
Propionic acid	9.4	10.8
Butyric acid	-	-

1 이하로 존재하였으며, citric acid, oxalic acid, fumaric acid, succinic acid, butyric acid 등은 존재하지 않았다. 이 결과와 시어진 소곡주의 유기산 조성을 비교해 보면 lactic acid만이 30 mM정도 증가하였으며, 기타 유기산의 함량은 거의 차이가 없음을 알 수 있다. 즉 소곡주의 시어짐 현상은 저장기간 동안에 이루어진 lactic acid의 추가적인 생성으로 인한 것임을 알 수 있다. 따라서 소곡주에 존재하는 젖산균인 *Lactobacillus A*와 *Lactobacillus B*가 소곡주 시어짐의 원인균인 것이라고 추측하였다. 이는 약주와 탁주가 발효보관 중에 시어지는 이유가 약탁주 중의 알코올을 초산균이나 낙산균에 의하여 초산이나 낙산으로 전환되는 데에 그 이유가 있다고 한 정 등의 보고⁽¹³⁾와는 다른 것이며, 민 등은⁽¹⁴⁾이를 해결하기 위하여 탁주에 5-nitro-2-furaldehyde-semicarbazone의 첨가를 시도하였다.

시어짐의 원인균 생육 정지온도와 이 온도에서 소곡주 품질이 유지되는 기간

시어짐의 원인균으로 생각되는 *Lactobacillus A*와 *Lactobacillus B*의 각 온도에 따른 colony형성에 필요한 기간은 Table 3과 같다. 두 젖산균의 생육 정지온도는 15°C임을 알 수 있었으며, 15°C에서의 소곡주 품질 변화는 Table 4와 같았다. 즉 두 젖산균이 자라지 못하는 15°C에서 약 41일 동안 약주인 소곡주로서의 고유한 향기와 맛을 지닌 품질이 유지됨을 알 수 있었다. 따라서 *Lactobacillus A*와 *Lactobacillus B*를 소곡주의 시어짐 원인균일 것이라고 결정하였으며, 15°C 이하의 온도가 소곡주 보관의 적정온도임을 알게 되었다 (앞에서 제시한 Fig. 1과 Fig. 2를 비교해보면 8-14일 사이에 산 함량은 급격히 증가했는데 시어짐 원인균일 것이라고 판정한 두 균의 수는 급격히 감소함을 알 수 있다. 본 연구에서는 pH가 크게 떨어지고 산 함량이 크게 증가한 상태인 14-18일 사이에 일정 수로 계속 유지된 *Lactobacillus A, B*가 낮은 pH에 저항성을 갖는 strain이고 이들에 의해서 대부분의 젖산이 생성되어졌기 때문에 이러한 결과가 얻어졌을 것이라고 추정하였다. 그리고 소곡주를 냉장고에 보관했을 때 품질이 유지되는 기간은 45일 정도였다. 즉 특별한 기술적 처리없이 소곡주를 보관하려 할 경우 보관 가능한 기간은 45일 정도이다.

이상의 결과를 고찰해봄으로써 한산 소곡주를 시어지게 하는 원인균은 *Lactobacillus*속 세균일 것으로 판

정할 수 있었으며, 이 균들의 생육 정지온도는 15°C이었으므로, 한산 소곡주의 보관을 위한 적정 온도는 15°C 이하임을 알 수 있었다. 이상의 연구결과가 소곡주 제조와 보관에 적용된다면 유익한 효과를 얻을 수 있을 것으로 예상된다.

요 약

한국 전통민속주의 한 종류인 한산 소곡주는 여름철에는 저장 도중 급속히 시어져 상품으로서의 가치를 잃게 된다. 본 연구에서는 이 시어짐의 원인을 규명하기 위하여 소곡주 제품에 잔존하고 있는 미생물의 분리 및 동정, 정상 소곡주와 시어진 소곡주에서의 미생물 균총의 차이, pH변화, 유기산 함량 등을 조사하였다. 정상 소곡주에 존재하는 유기산의 대부분은 lactic acid였고 그 농도는 161 mM 였으며 그 외에도 소량의 acetic acid, malic acid, propionic acid가 존재하였다. 소곡주에 존재하는 미생물 균총은 *Lactobacillus*속 균, *Bacillus*속 균, 그리고 yeast로 동정되었다. 30°C에 18일 동안 방치한 소곡주는 pH가 4.01에서 3.29로 떨어졌고 산함량은 9에서 34.86으로 증가했다. 정상 소곡주와 비교한 경우 시어진 소곡주에 현저하게 증가한 양이 존재하는 유기산은 lactic acid로서 그 농도는 192 mM이었으며, 그외의 다른 유기산의 농도는 거의 변화가 없었다. 따라서 소곡주 시어짐의 원인은 소곡주 내에 잔존하는 *Lactobacillus*속 세균에 의한 추가적인 젖산의 생성때문인 것으로 추정되었다. 소곡주의 품질은 15°C에서 41일 동안 유지되었다.

감사의 글

본 연구를 위해 소곡주를 제공해주신 '한산 소곡주' (대표: 라장연)에 감사드리며, HPLC분석에 많은 도움을 주신 제일제당(주) 종합연구소 분석연구팀 여러분께 심심한 사의를 표하는 바입니다.

문 헌

1. 고려대 민족문화연구소 : 고려대 한국민속대관 (2). 고려대 민족문화연구소 출판부, p.493 (1982)
2. 이현재 : 한국민족문화 대백과사전 12권. 한국정신문화연구원, 5th ed, p.647 (1994)
3. 한국민속사전 편찬위 : 한국민속대사전 2권. 민족문화사, p.860 (1991)
4. 충청남도 도청 문화재계 : 충청남도 지정 문화재자료집. 내무부, p.245 (1970)

Table 3. Growth of *Lactobacillus A* and *Lactobacillus B* in each temperature

Temperature(°C)	Time for colony formation	
	<i>Lactobacillus A</i>	<i>Lactobacillus B</i>
14	none growth	none growth
15	none growth	none growth
16	4 days	5 days
17	3 days	5 days
25	10 hours	48 hours
30	10 hours	48 hours

Table 4. Change of *sogokju's* quality at 15°C

Period at 15°C (days)	pH	Titration acidity	Taste
0	3.77	11.5	normal
14	3.74	11.5	normal
18	3.71	11.7	normal
27	3.73	11.9	normal
34	3.70	12.1	normal
41	3.70	12.5	normal
45	3.66	13.0	sour

5. 박호준 : 고향음식의 맛과 멋. 한국문화재보호협회, p. 112 (1990)
 6. 이갑상, 홍재식, 최동성, 노완섭 : 응용미생물학. 학문사, pp.178-179 (1990)
 7. 장기중, 유태중 : 소곡주와 시판 약주의 성분에 관한 연구. 한국식품과학회지, **13**, 307 (1981)
 8. 김영신 편저 : 한국 주류문헌해제(현대편). 진로(주), pp. 128-197 (1982)
 9. 한국미생물학회 : 미생물학 실험. 아카데미서적, p.25 (1987)
 10. MacFaddin, J.F.: *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. 2nd ed., Williams & Wilkins, p. 51 (1980)
 11. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Holt, J.G. and Sharpe, M.E.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2, Williams & Wilkins, p.1104 (1986)
 12. 김재욱 : 식품학 실험서. 開文社, p.247 (1985)
 13. 정동효 : 한국 식품연구문헌 총람. Vol 2, 한림원, p.304 (1977)
 14. 민경락, 정우태 : 탁주양조에 있어서 5-nitro-2-furaidehyde-semicarbazone의 방부효과. 충북대학 논문집, **4**, 311 (1970)
-
- (1995년 9월 11일 접수)