

전통주류 향기성분의 연구개발동향

I. 서 론



김 현 수

〈계명대학교 미생물학과 교수〉

유 대 식

〈계명대학교 미생물학과 교수〉

전통주의 향기성분과 관련하여 제조방법에 따라 양조곡주와 증류주로 나뉘며 양조곡주는 다시 순곡주와 혼양곡주로 구분된다. 순곡주는 거르는 방법에 따라 탁주와 청주로 대별되며, 빚는 방법에 따라 일반주와 이양주로 나뉜다. 이양주(異釀酒)란 생나무통, 대나무 대롱 등을 이용하거나, 술항아리를 땅에 묻거나 물 속에 담그는 등 특이한 숙성과정을 거쳐 빚어낸 술이다(와송주, 죽통주, 지주, 청서주, 송하주, 신선벽도춘). 혼양곡주는 술에 독특한 향을 내기 위해 꽃이나 식물의 잎을 넣어 빚은 가향곡주(송절주, 도화주, 범주, 두견주, 국화주, 매화주, 송국주, 송엽주, 송자주, 연엽주, 하엽청, 경향 옥액주, 복사꽃술, 송순주, 연화주, 송화주, 백화주), 약재를 넣어 빚은 약용곡주(오가피주, 창포주, 복령주, 고본주, 천문동주, 밀주, 백화주, 자주, 백세주)로 불린다. 우리 전통주의 제조방법은 대개가 비슷하며 통밀을 물과 반죽해 발효시킨 누룩에 쌀, 찹쌀 등의 곡물과 물을 함께 버무린 다음 응기 술독에 넣어 발효시켜 노란 빛의 맑은 물이 흔히 '약주'라 불리는 전통청주(면천두견주, 교동범주, 백하주 등). 전통청주 제조방법은 저온 장기간 발효법이나 고온 단기간 발효시킨 술덧에 물을 섞고 밥알을 으깨 체로 걸러낸 것이 막걸리, 즉 탁주이다. 또 술덧을 술에 넣고 끓이면 낮은 온

■ 目 次 ■

- I. 서 론
- II. 전통주향기성분의 연구동향
- III. 일본주향기성분의 연구동향
- IV. 결 론

도에서 끓는 알코올 성분이 기화되어 이슬로 맷히는데, 이를 받아낸 것이 소주다(안동소주, 문배주, 이강주 등). 이같은 우리 전통주의 매력은 원료와 발효, 보관기술에 따라 술맛이 아주 다양하며 누룩의 종류와 쌀의 품종, 첨가하는 약재 등 부원료의 종류에 따라 다양한 맛과 향기를 만들어낸다. 누룩은 곡류를 조분쇄하여 살균하지 않고 물로 반죽하여 일정한 형태로 성형하여 공기중의 미생물을 자연접종으로 제조된다는 것이 일본의 고오지(麴)와 가장 큰 차이점이라 할수 있다. 이와 같이 자연 접종으로 제조된 전통누룩의 미생물은 매우 다양하여 사상균에 의한 당화제의 역할과 효모에 의한 발효제의 역할을 겸비하므로 전통 주의 양조에 있어서 주모(酒母)를 사용하지 않고 누룩단독사용으로 양조가 가능했다. 특히 누룩에는 제조과정에서 수백가지의 미생물이 성장하는데, 미생물의 생태분포는 지역적으로 달라서 맛과 향기도 지역마다 독특한 술맛을 자랑하고 있다.

최근 급격한 경제 발전과 더불어 식생활 수준의 향상으로 술의 기호도의 다양화와 고급화가 두드러져 술의 소비성향이 서구화됨에 따라 전통주인 탁주와 약주의 소비는 매년 감소하여 전통주의 위치가 위협을 받고 있다. 이러한 감소현상은 서구 주류에 비해 전통주의 품질개선, 고급화 등에 정부 및 주류생산업자의 무관심도 중요한 요인이라 생각된다. 1997년 이후 우리는 전통문화로의 회귀현상이 두드러지게 나타나 전통주의 소비가 증가되고 있고 외국주류의 수입 개방에 의한 국내 주류 산업의 경쟁력의 강화와 민족고유의 전통식문화를 계승시키기 위해 전통주류의 품질향상과 규격화, 산업화 기술의 개발이 고조되어 정부에서 선도기술 개발과제로서 전통주의 연구를 다년간 추진한 결과 상당한 연구업적 및 개발이 계속 진행되고 있으나 아직 선진국에 비해

미흡하다. 최근 정부의 규제개혁에 힘입어 민속주, 특산주 등 전통주제조허가가 완화되고 또한 소비자의 선호가 변화하여 이에 대응하는 주류신제품에 대한 요구가 증가하고 있다. 따라서 전통주 제조업체, 각 지방에 따른 특산주제조가 활성화되어 다양한 종류의 주류가 제조되면서 술의 기호를 변화시키고 있다. 본고에서는 전통주류의 품질개선에 맛과 향이 큰 비중을 차지하는 점에서 선진국에 비해 향기성분에 대한 연구가 미흡한 우리전통주의 연구동향과 맛과 향기가 우수한 일본주(청주)의 연구동향을 소개하고자 한다.

II. 전통주 향기성분의 연구동향

우리전통주의 품질향상을 위한 노력으로 과학적인 생산을 통한 제품의 균일화가 주류의 개방화시대에 국제경쟁력을 위해 필수적이다. 따라서 최근 정부의 선도기술개발과제로서 “전통누룩과 전통주의 기능성 향상 및 산업화 기술연구”가 수행되어 특정 전통주의 품질개선을 위한 연구가 이루어지고 있으며, 새로운 기능을 가진 전통주의 연구 개발이 시작되고 있다. 주류의 향기성분과 관련하여 일본청주의 경우 Koji(麹)로부터 향기성분을 포집, 추출하여 분석한 결과 청주의 향기성분에는 효모의 향기생성시 Koj향기성분의 역할이 크다는 연구가 되어있다(1). 이같은 연구결과에서 보면 우리 전통주의 향기생성에도 누룩의 중요성이 인식되어야 한다. 지금까지 전통누룩은 전통주의 양조에 필수적인 물료이나 누룩에 관한 연구는 단편적이고 기초적 연구에 불과했으며(2, 3, 4), 최근 누룩으로부터 누룩사상균을 분리하여 균학적 특성에 관한 연구 그리고 누룩효모에 관한 연구가 수행되고 있으나(4, 5, 6, 7) 전통누룩제조시 향기생성에 관여하는 유용미생물에 관한 연구는 전무하여 이에 관한 체계

적인 연구가 필요하다고 사료된다. 본인들은 1994년부터 전통 민속주의 양조에 필수적인 누룩에 관한 연구를 수행하여 누룩으로부터 분리된 누룩사상균인 *Aspergillus* sp. 3-6 과 *Penicillium* sp. 7-7은 액화력과 당화력이 우수 할 뿐 아니라 향기성분의 생산능도 높아 양호 한 누룩의 제조가 가능한 균주임을 확인했다 (8). 특히, 위의 두 사상균은 *Aspergillus oryzae* NR 3-6 과 *Penicillium expansum* NR 7-7로 동정 되었다(9). 양조주의 향기성분은 원료, 누룩(국)미생물, 사용효모, 오염미생물, 제품의 보존증 산소, 빛 등의 영향으로 다양한 성분이 생성되며 200종류 이상 알려져 있다. 발효에 의한 향기성분은 Alcohol, Ester, Carbonyl 및 휘발성 황화합물 등 복합적인 향기성분이 알려져 있다(10).

우리 전통주 향기성분의 연구는 최근 들어 술덧을 대상으로 탁주, 약주, 소주를 중심으로 연구가 수행되고 있어 그 연구동향을 소개하고자 한다.

1. 탁주의 향기성분

지금까지 탁주의 향기성분으로 주로 alcohol 류를 분석한 결과는 있으나 향기성분의 주된 성분인 Ester류를 비롯한 Aldehyde, Ketone, Organic acid 등의 분석은 이주선 등(11)이 4 종류의 원료로서 맵쌀, 찹쌀, 보리쌀, 밀가루를 사용한 탁주 술덧의 휘발성 향기성분을 보고하였다. 이들 향기성분은 비극성 Column을 이용하여 GC 및 GC/MS를 통하여 분석하였으며, 이들 성분을 요약하여 사용원료에 따라 같이 생성되는 성분은 팔호안에 원료의 수를 표시하였다(Table 1). 즉, 2종류의 원료에서 동시에 생성된 성분은 팔호안에 (2)로 표기하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이, 탁주의 향기성분은 Alcohol 7종, Ester 15종, Acid 3종, Aldehyde

1종, Benzene 4종, Phenol 3종, Alkane 8종, Ketone 2종, 기타 5종 등 55종이 검출되었다. 각 제조원료에 따라 공통향기성분으로 9종이 감출되었으며, 다량으로 생성된 향기성분으로 Acetic acid ethyl ester, 3-Methyl-1-butanol, Acetic acid, 2-phenylethanol이 확인되었다.

한은혜 등(12)은 전통누룩 및 *Mucor racemosus*, *Rhizopus japonicus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus kawachii*으로 제조한 누룩을 사용하여 탁주 술덧의 휘발성 향기성분을 분석하였다. 5종류의 누룩에 의해 생성된 술덧의 휘발성 향기성분을 Table 2에 정리하였으며 사용누룩에 따라 같이 생성되는 성분은 팔호안에 누룩의 수를 표시하였다.

전체 탁주술덧의 휘발성 향기성분으로 Alcohol 20종, Ester 26종, Acid 10종, Aldehyde 10종, 기타 6종 등 모두 72종이 검출되었으며 사용누룩에 따라 성분의 수는 차이가 있으나 54종의 향기성분이 공통으로 검출되었다. alcohol이외 Ester류분석 Spectrum의 면적비율이 높아 술덧의 주된 향기성분임이 입증되었다. 또한 사용 누룩균주에따라 생성된 향기성분의 종류 및 양적차이가 확인되어 누룩제조시에 생성된 물질이 발효중에 향기성분으로 변환되는 관계구명이 필요하다고 판단된다.

또한 이 등(13)은 찹쌀 및 보리쌀 탁주 술덧의 휘발성 향기성분을 분석하여 Alcohol 10 종, Ester 9종, Acid 2종, Aldehyde 7종 등 28 종의 향기성분을 동정하였으며 찹쌀탁주가 보리쌀 탁주보다 다소 많은 향기성분이 검출되었다고 보고하였다. 그중 12종의 향기성분은 공통으로 생산되었으며 주된 향기성분인 Ester 는 Ethyl acetate, 2-Phenylethyl acetate가 많이 생성되었으며, 그외 청주, 맥주의 주된 향기성분인 Isoamyl acetate, Ethyl Caprylate, Ethyl propionate, Ethyl nonanoate, Ethylphenyl acetate 등을 미량이 검출되었다고 보고하였다.

Table 1. Volatile compounds of *Takju* by GC and GC-MS using non-polar column

Volatile compound	Volatile compound
Alcohols	Esters
2-Methyl-1-propanol(1)	Acetic acid, ethyl ester(4)
3-Methyl-1-butanol(4)	Propanoic acid, ethyl ester(1)
3-(Methylthio)-1-propanol(1)	Acetic acid, butyl ester(1)
Phenylmethanol(2)	Acetic acid, 3-methylbutyl ester(4)
5-Nonanol(2)	Hexanoic acid, ethyl ester(1)
2-Phenylethanol(4)	Butanedioic acid, diethyl ester(3)
1H-indole-3-ethanol(2)	Butanedioic acid, monomethyl ester(1)
Acids	Acetic acid, 2-phenylethyl ester(3)
Acetic acid(4)	Ethyl 2-benzimidazole-carbamate(1)
2-Hydroxy-4-methylpentanoic acid(1)	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester(4)
2-Hydroxy-pentyl propanoic acid(2)	Hexadecanoic acid, ethyl ester(3)
Phenyl acetic acid(2)	1,2-Benzenehexadecanoic acid, di-2-ethylhexyl ester(2)
Ethyl benzoic acid(1)	9-Octadecenoic acid(Z)-, ethyl ester(1)
2-Hydroxy-3-phenyl propanoic acid(1)	Linoleic acid, ethyl ester(2)
Plumbagin acid(4)	Hexanedioic acid, dioctyl ester(2)
Tridecanoic acid(1)	
Hexadecanoic acid(2)	
2-Methylpropyl octadecanoic acid(1)	
Aldehydes	Benzenes
4-Methoxy benzaldehyde(2)	Ethyl benzene(4)
Alkanes	1,3-Dimethyl benzene(2)
2-Methyl butane(1)	1-Ethyl-3-methyl benzene(1)
3-Methyl pentane(1)	1,2,4-Trimethyl benzene(1)
1,1-Diethoxy ethane(2)	
2,2,4-Trimethyl hexane(2)	
1,8-Diaza-2,9-diketocyclotetradecane(1)	
Ketones	Phenols
5-Pentyl-2(3H)-dihydro furanone(2)	4-Ethyl-2-methoxy phenol(1)
	4-Methoxymethyl phenol(2)
	2,6-di-tert-butyl-4-methyl phenol(4)
	Others
	Ethanethioamide(2)
	Styrene(1)
	Diethyl sulfide(1)
	Ethyltetramethyl cyclopentadiene(1)
	Compound non-identified(4)

이들 결과에서 이 등(11)의 보고와 이 등(13)의 보고에서 동일한(찹쌀, 보리쌀) 원료를 사용하였으나 휘발성 향기성분의 종류가 다른 것은 누룩의 종류, 발효시간 및 향기성분의 분석조건 등의 차이에서 비롯된다고 사료된다.

2. 종류주의 향기성분

민속증류주인 안동소주의 향기성분은 홍 등(14)이 분석하였다. 안동소주 제조용 누룩에서 분리한 *Rhizopus sp.*으로 조제한 누룩과 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Hansenula anomala*를 사용하여 제조한 안동소주와 공장제조 소주의 휘발성 향기성분을 포집하여 분석한 결과, Acid 6종, Alcohol 19종, Aldehyde 3종, Alkane 10종, Ester 12종, 기타 5종으로 모두 55종류의 성분이 검출되었다. 이들 중 Ester화합물은 Ethyl acetate와 2-Hydroxy propanoic acid ethyl ester가 가장 많이 함유되어 있으며 그외 포도향종류의 Ethyl caprate, Di-tert-butyl succinate, Ethyl laurate, Ethyl myristate와 Isoamyl acetate, Ethyl palmitate 및 Ethyl pelargonate, Ethyl caprylate 등이 생성되었다. 이들 *Rhizopus sp.*으로 조제한 누룩과 공장제조누룩으로 제조한 소주중의 향기성분이 다소 다르다고 보고한 것은 전술한 탁주의 누룩의 종류에 따른 향기성분의 결과와 유사한 경향을 보였으며 이는 누룩에 존재하는 누룩미생물의 다양성에 기인한다고 사료된다.

3. 효모의 종류에 따른 향기성분

일반 양조주의 발효에 관여하는 효모의 향기성분의 생성은 널리 알려진 바와 같이 일본주(청주)에서는 수많은 연구가 수행되어 있으나 우리전통주의 경우 향기생성에 관한 효모의 연구는 극히 미흡한 실정이다. 최근 김 등

(15)은 향기생성능이 우수한 효모에 의한 주질의 개선에 대한 보고로부터 신 등(16)은 과일(사과, 배, 감, 유자)에서 23종의 효모를 분리하여 그 중 알코올생산과 향기생성능이 우수한 효모를 분리동정하여 휘발성 향기성분을 분석하였다. *Saccharomyces cerevisiae* S-2와 S-6으로 동정된 분리균주와 시험균주인 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950를 사용하여 제조한 약주의 휘발성 향기성분을 수증기 포집법으로 분석한 결과, S-2약주에서 57종, S-6약주에서 17종 그리고 IFO 1950약주에서 19종의 향기성분을 분리하였으며 이중 alcohol 4종 (3-methyl-1-butanol, 2,3-dihydro-4-methyl-1H-indole, 4-methyl-2-phenylindole, benzeneethanol), ester 2종(acetic acid, 2-phenylethyl ester, hexadecanoic acid, ethyl ester), acid 7종 (tetradecanoic acid, thiosulfuric acid, undecanoic acid, heptadecane-8-carboxylic acid, 9-octadecenoic acid, 9,12-octadecadienoic acid, cantleyine) 모두 13종의 향기성분을 동정하였다. 시험균주와 공통 향기성분으로 3-methyl-1-butanol(isoamyl alcohol), 2,3-dihydro-4-methyl-1H-indole, tetradecanoic acid 등이 동정되었다. 분리균주 S-2에서는 향기성분인 Hexadecanoic acid ethyl ester가 가장 많이 생성되었다고 보고하였다. 이들 효모와 향기성분의 생성에 관여하는 누룩 또는 누룩미생물의 영향에 대한 보고는 아직 발표되지 않고 있다.

4. 누룩의 향기성분

일본 청주의 경우 Koji(麹)로부터 향기성분을 포집, 추출하여 분석한 결과 중성향기성분으로 Alcohol 9종, Ester 23종, Carbonyl 화합물 9종을 보고한 결과(17)와 청주의 향기성분에는 효모의 향기생성에 Koji의 향기성분과 국균이 분해생성한 물질의 역할이 크다는 보고(1)

Table 2. Volatile compounds of *Takju* prepared from different Nuruks

Volatile compound	Volatile compound
Alcohols	Esters
Ethanol(5)	Acetic acid, ethyl ester(5)
1-Propanol(5)	Propanoic acid, ethyl ester(5)
2-Methyl-1-propanol(5)	Acetic acid, n-propyl ester(5)
1-Butanol(5)	Butanoic acid, ethyl ester(5)
3-Methyl-1-butanol(5)	Isoamyl formate(3)
1-Pentanol(4)	Hexanoic acid, ethyl ester(5)
1-Hexanol(5)	Propanoic acid, 2-hydroxy, ethyl ester(5)
3-Ethoxy-propanol(5)	Octanoic acid, ethyl ester(5)
1-Heptanol(5)	Nonanoic acid, ethyl ester(1)
2,3-Butanediol(D,L)(5)	Pentanoic acid, 2-hydroxy, 4-methyl ethyl ester(4)
3-Methyl-2-hexanol(5)	Succinic acid, diethyl ester(5)
2,3-Butanediol(meso)(5)	2-Oxo, propanoic acid, ethyl ester(5)
3-Methyl-2-hexanol(3)	Acetic acid, 2-phenyl ethyl ester(5)
2,3-Butanediol(meso)(5)	1-Butanoic acid, 3-methyl, butyl ester(5)
1,2-Propanediol((5))	Benzeneacetic acid, 2-prophenyl ester(5)
4-Methyl-2-hexanol(3)	Decanoic acid, ethyl ester(1)
Benzeneethanol(5)	Benzeneacetic acid, 4-methyl, phenyl ester(4)
1-Dodecanol(5)	Butanoic acid, monoethyl ester(5)
2-Methyl-hexanol(1)	Benzeneacetic acid,, α -hydroxy, ethyl ester(4)
1,2,3-Propanetriol(5)	Ethanedidoic acid, diethyl ester(5)
Ethanol,2,2-oxy, bis-dipropionate(5)	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diprophenyl ester(3)
1-Phenyl-1,2-ethanediol(4)	Methyl phenidate(5)
	Benzene acetic acid, 4-acetoxy, 3-methyl ethyl ester(5)
Acids	Aldehydes
Acetic acid(5)	Acetaldehyde(5)
Butanoic acid(5)	Isobutyl aldehyde(5)
3-Methyl butanoic acid(5)	Furfural(5)
Pentanoic acid(5)	Benzaldehyde(5)
Hexanoic acid(5)	p-Ethyl benzaldehyde(5)
Octanoic acid(5)	o-Ethoxy benzaldehyde(5)
Benzoic acid(2)	3-Methoxy benzaldehyde(4)
Phenyl propanoic acid(5)	3-Phenyl 2-propanal(3)
Ethyl benzoic acid(5)	p-Ethoxy benzaldehyde(4)
1,2-Benzenedicarboxylic acid(5)	Benzaldehyde, 3-(phenylmethoxy)(4)
Others	Compound non-identified(5)
4-Hydroxy-3-hexanone(4)	
Butyrolactone(5)	
3-Methylthio-1-propanone(5)	
N-Methyl octane amine(2)	
2-Ethyl phenol(3)	
N-(2-Phenylethyl)acetamide(2)	

로부터 본 저자들은 전통누룩의 향기성분을 분석하였다(18). 본 연구에서 사용한 사상균은 시판누룩으로부터 분리된 균주로서, 생밀기울 고체배지에서 액화력, 당화력 및 산생성능이 우수할 뿐 아니라 악취를 생성하지 않으며, 후각적으로 향기성분을 생성하는 Asp. oryzae NR 3-6 과 Pen. expansum NR 7-7(19)을 사용하여 누룩을 제조하였다. 제조누룩의 휘발성 향기성분은 활성탄 column에 흡착시켜 추출하여 극성 및 비극성 휘발성 향기성분을 GC 및 GC/MS분석을 통하여 분석하였다. Table 3에서 보인 바와 같이, 전통누룩의 향기성분으로 동정된 극성 휘발성 향기성분은 3-Methyl-1-butanol과 Dodecamethyl-cyclohexasiloxane의 2종이 검출되었으며, 3-Methyl-1-butanol은 누룩 사상균에 의하여 새로이 생성된 휘발성 성분이었다. 3-Methyl-1-butanol(isoamyl alcohol)은 된장의 향기성분(20), seibel 포도즙의 향기성분(21)과 민속주의 향기성분(16)으로도 검출되는 향기성분이다.

전통누룩의 비극성 향기성분은 21종이 검출되었으며 Octadecane, 2, 5-Cyclohexadiene-1, 4-Dione, 1, 2-Benzendicarboxylic acid, Hexadeca-ne, Tridecane, Tetradecane, Pentadecane, Heptadecane과 Dodecamethyl-Cyclohexasiloxane이 주된 향기성분이었다. 생밀기울에서 검출된 Dodecamethyl-Cyclohexasiloxane은 전통누룩의 극성과 비극성 분획에서 모두 검출되었으며, Octadecane은 Dodecamethyl-cyclohexasiloxane과 같이 생밀기울에서도 검출되어 생밀기울 유래 전통누룩의 휘발성 향기성분으로 추정되었다. Undecane(22), Dodecane(22), 2, 5-Cyclohexadiene-1,4-Dione(23)은 간장과 된장의 향기성분으로 알려져 있을 뿐아니라 Dodecane(11)은 탁주의 향기성분이며, Tridecane은 Katuo bushi(24)의 향기성분, 홍차의 향기성분(25)과 민속주의 향기성분의 대표적인 휘발성 물질이

며(14), Tridecane과 Hexadecane은 홍차의 유류성 향기성분으로 잘 알려진 물질이다(25). 전통누룩의 휘발성 향기성분중 Tridecane, Pentadecane, Heptadecane, 3, 8-Dimethylundecane은 katuo bushi 의 주된 향기 성분으로 확인되었다(24). 전통누룩의 휘발성 향기성분의 특징은 Tridecane, Tetradecane, Pentadecane, Hexadecane, Heptadecane, Octadecane, Undecane, Dodecane 과 Pentacosane 등의 Alkanes 화합물이 주성분으로 구성되어 있다는 것이라 할 수 있다. 그리고 Alkanes 화합물은 23종의 전통누룩의 향기성분중 17종으로서 검출된 휘발성 물질의 약 74%를 차지하여 높은 빈도수를 나타내었다.

전통누룩의 향기성분은 시료의 종류, 추출용매, 증류방법 등에 기인하여 다른 결과가 나타날 수 있으며, 추출방법과 추출조건에 따른 실험균주에 의한 향기성분의 생성에 관여하는 효소의 활성에 따라 최종적으로 추출되는 향기성분의 함량이 달라 질 수 있다고 사료된다.

5. 기타 연구동향

김 등(26)은 전통 민속주에서 독성관련 향기성분(Asarone, Coumarin, Thujone)을 분석한 연구결과를 보고하였다. 이들 연구는 방향성분 중 Asarone, Coumarin, Thujone 등은 독성이 강한 성분으로 유럽각국의 보건당국 및 세계보건기구에서 식품내 함유량을 규정 및 제한하고 있으나 국내에서는 연구 및 규제가 없는 점에서 전통 민속주중 방향재료나 약용재료를 첨가한 가향주에 있어서 약효성분이외 독성을 유발하는 방향성 물질의 존재를 조사하였다. 이들 물질의 최적분석조건을 확립하고 시판전통 민속주 56종을 대상으로 조사한 결과 18종의 민속주에서 Thujone이 확인되었으며, 4종의 민속주에서 Coumarin이 검출되었다고 보고하

Table 3. Volatile flavor components in the traditional Korean Nuruk produced by *Asp. oryzae* NR 3-6 and *Pen. expansum* NR 7-7.

Volatile compound	
Polar compound	
1-Butanol, 3-methyl-	
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	
Nonpolar compound	
Undecane	Tetradecane, 3-methyl-
Dodecane	Pentadecane
Dodecane, 2,6,11-trimethyl-	Hexadecane
Tridecane	Heptadecane
Dodecane, 1-fluoro-	Octadecane
Undecane, 4,7-dimethyl-	Isopropyl myristate
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	Pentacosane
Undecane, 3,8-dimethyl-	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-me
1-Heptadecanamine	Bis(2-ethylhexyl)phthalate
Tetradecane	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione	

였다. Thujone함유 민속주는 대부분 가향재료로 국화, 약쑥 및 다른 약재를 사용하였고 Coumarin함유 민속주도 식물성 방향재료나 약용재료를 다양으로 첨가한 것이 확인되었다. 이같은 연구에서 볼 때 전통민속주의 품질향상을 위해 이들 독성 향기성분의 제한사용과 민속주 제조업체의 교육이 활성화 되어야 한다고 사료된다.

III. 일본주(청주) 향기성분의 연구동향

일본주(청주)는 제조공정에서 유산균, 국(麴)균, 효모 등의 미생물을 적절히 사용하여 제조되므로 청주제조기술이 매우 발달이 되어 있다. 청주제조의 기본적인 원료는 쌀과 물로서 무미무취의 원료로부터 복잡한 청주 특유

의 맛과 향을 생성하므로 이는 청주양조에 관여하는 미생물(국균, 효모)에의한 분해와 발효작용이 주된 기능을 하고 있다. 일본청주의 품질은 92년부터 실시된 '製法品質表示基準'에 따라 고품질인吟釀酒, 純米酒, 本釀造酒는 제법기준이 명시되어 특정명칭의 청주는 원료, 제조방법 등의 차이에 의해 8종류로 분류되어 있다. 특히 음양주의 특징은 음양향으로 과실향을 가지며 〈甘, 酸, 辛, 苦, 滋〉 꼭 5味가 있는 술로서 잘 알려져있다. 이들 음양주의 향기가 뛰어난 것은 향과 맛을 구성하는 성분이 보통청주보다 많은 것이 아니고 사과향과 바나나향인 Capronate ethyl와 Isoamyl acetate 등 의 Ester성분이 음양향의 주성분으로 이들 향의 전체적인 균형이 필수적이다. 따라서 다양한 미생물상을 가지는 누룩을 사용하는 우리 전통주와 달리 국(麴, Koji)에 의한 전분의 분

해와 효모의 Alcohol발효 과정에서 이들 향의 균형을 조절하는 기술이 개발되어 있다. 이들 기술의 개발은 국세청양조연구소를 중심으로 일본주조조합 중앙회산하 회원으로 지방자치 별로 47개의 주조조합(연합회)이 첨단기술을 도입한 유기적이고 종합적인 연구개발을 통하여 새로운 기능을 가지는 음양효모의 지속적인 개발과 향기생성기구의 체계적인 연구를 통하여 신제품 개발에 주력하여 일본주의 위치를 확고히 하고 있다. 본고에서는 일본주의 향기성분에 대한 연구개발 동향을 일부 소개하고자 한다.

1. 국(麹, Koji)의 향기성분

일본주(청주)제조의 주된 당화제인 국은 옛부터 청주제품의 중요한 요인이 되어 왔다. 따라서 국제조시의 판단기준은 맛, 색상, 破精의 상태 그리고 옛부터 '栗香'이라는 국 특유의 芳香의 유무가 중요시 되고 있다. 이 栗香의 생성조건과 성분의 검색이 연구되어 왔으며, 본고에서는 국의 휘발성 향기성분을 분석한 결과를 소개하고자 한다. 이들의 연구는 자동 제국기에서 振散하는 향기성분을 자연상태로 활성탄으로 포집하여 GC 및 TLC로 분석하였다(Table 4). 그 결과 중성향기 성분으로 Alcohol 9종, Ester 23종, Carbonyl화합물 9종을 검출하였으며(17), 그후 휘발성 유기산류 7종, 휘발성 Amine 7종, 휘발성 Phenol 12종(27) 등 67종을 동정하였다.

Table 4. Chemically neutral aroma components of rice-koji.

Neutral aroma component		
Alcohol		
Ethyl alcohol	n-Butyl alcohol	n-Hexyl alcohol
n-Propyl alcohol	i-Amyl alcohol	n-Octyl alcohol
i-Butyl alcohol	n-Amyl alcohol	β-Phenethyl alcohol
Ester		
Ethyl acetate	i-Butyl carproate	i-Butyl caprate
n-Propyl acetate	Ethyl lactate	i-Amyl caprate
Ethyl n-propionate	Ethyl n-carylate	Ethyl benzoate
i-Butyl acetate	i-Amyl n-caproate	Diethyl succinate
Ethyl n-butyrate	i-Butyl n-caprylate	Diethyl fumarate
i-Amyl acetate	Diethyl malonate	Phenethyl acetate
Ethyl n-caproate	Ethyl n-caprate	Ethyl laurate
n-Hexyl acetate	i-Amyl n-caprylate	
Carbonyl compound		
Acetaldehyde	i-Butyl aldehyde	n-Valeric aldehyde
Propion aldehyde	n-Butyl aldehyde	n-Caproic aldehyde
Acetone	Diacetyl	Acetoin

또한 이들 향기성분이 청주향기의 발생에 미치는 영향을 분석하기위해 麴菌에의해 생성된 米麴의 성분을 추출하여 청주효모로 발효시켜 청주향기생성을 검토한 결과(1, 28), 향기생성에 관여하는 성분으로 米麴의 불휘발성 성분중 Chloroform가용성 산성성분과 Chloroform불용성 중성성분이며 GC분석에 의해 특이적으로 Ethyl acetate, Isobutyl acetate, isoamyl acetate, Ethyl n-valerate, Ethyl caproate, Ethyl caprylate와 Ethyl leucinate 등이 확인되었다. 이들 결과에서 청주의 향기성분은 麴菌이 일부의 쌀성분에 작용하여 향기생성의 전구체가 형성되고 효모의 발효에 의해 이들 화합물이 향기성분의 일부로 변환한다고 보고하였다.

2. 청주의 향기성분에 대한 연구

- 1) Alcohol acetyltransferase(AATase, EC 2.3.1.84) 및 Alcohol acyltransferase (AACTase)

청주, 특히 吟釀酒의 주된 향기성분으로 가장 중요한 휘발성 Ester성분인 Isoamyl acetate(바나나향기), Ethyl caproate(사과향기), Ethyl acetate(과일향)가 알려져 있다. 이들 중 Isoamyl acetate와 Ethyl acetate는 AATase에 의해 생산되며 이 효소의 특징은 막 결합형으로 불포화 지방산 등의 다양한 지질에 의해 저해되며 현재 생합성유전자인 ATF1이 Cloning되어 많은 연구가 수행되고 있다(29, 30, 31, 32).

栗山(33)는 Isoamyl acetate 생성효소인 AATase의 청주 술덧에서의 거동, Isoamyl acetate생산량 증대조건의 해석에 의해 Ester 고생산효모의 육종에 이어 대단히 향기가 높은 청주의 양조를 실현하였다. 또한 Ethyl caproate의 합성 및 분해에 관여하는 효소인

esterase와 Alcohol acyltransferase(AACTase)의 해석을 수행하여 청주 술덧에 있어 Ethyl Caproate생산에 대한 효모와 국균의 역할 및 제한인자를 규명하였다. 이들 결과에 의하면 Isoamyl acetate의 기질로서 Acetyl CoA와 Isoamyl alcohol이며 Isoamyl acetate의 생산에 국의 역할이 크며, 올속인자로서 Isoamyl alcohol이 관여한다는 보고와 술덧중의 Isoamyl acetate를 증가시키기 위해 초기의 AATase활성의 증대 및 Isoamyl alcohol이 생산되는 시기까지 저온으로 활성을 유지하는 것이 중요하다고 보고하였다. 이들 결과에서 향기생산능력이 높은 효모의 육종을 위해 Fig. 1의 Isoamyl alcohol의 생합성경로에 Feedback inhibition을 해제한 효모를 개발하여 親株보다 Isoamyl alcohol 및 Isoamyl acetate의 생산성이 3배나 높은 청주의 제조를 실현하였다.

또한 청주의 향기성분으로 중요한 성분인 Ethyl caproate의 생합성은 2가지 경로로부터 생성되며 관여하는 효소로 Esterase는 Capronic acid와 ethanol로부터 Ethyl caproate의 생성 및 분해에 관여하며, Alcohol acyltransferase (AACTase)는 Capronic acid와 Ethanol로부터 Ethyl caproate의 생성에 관여한다. 栗山(33)는 이들 두효소의 Ethyl caproate생합성 활성을 검토한 결과, 기질인 Capronic acid는 효모에 의해 생산되며 Ethyl caproate도 효모에 의해 생합성되는 것을 밝혔다. 또한 술덧중의 AACTase의 활성은 발효기간중 거의 일정하게 유지한다는 것을 밝혔다. 이들 결과를 바탕으로 Ethyl caproate생성 model을 추정하여 Fig. 2에 서와 같이 지방산 생합성 경로 또는 β -산화계에 의해 생성된 Caproyl-CoA는 효모균체내에서 AACTase에 의해 Ethyl caproate이 되어 세포외로 방출되며, Caproyl-CoA는 CoA hydrolase에 의해 Capronic acid가 되어 방출되거나 막부근의 Esterase에 의해 Ethyl caproate

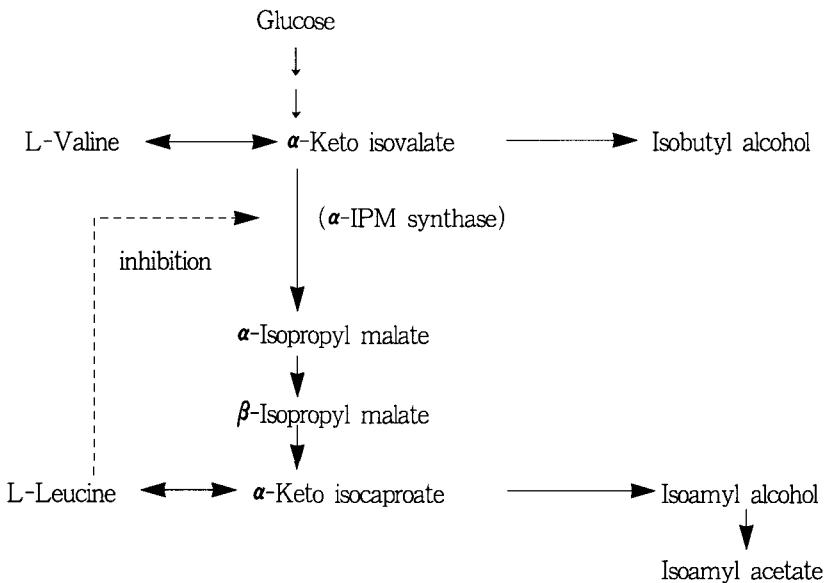


Fig. 1. Pathways for isoamyl alcohol production.

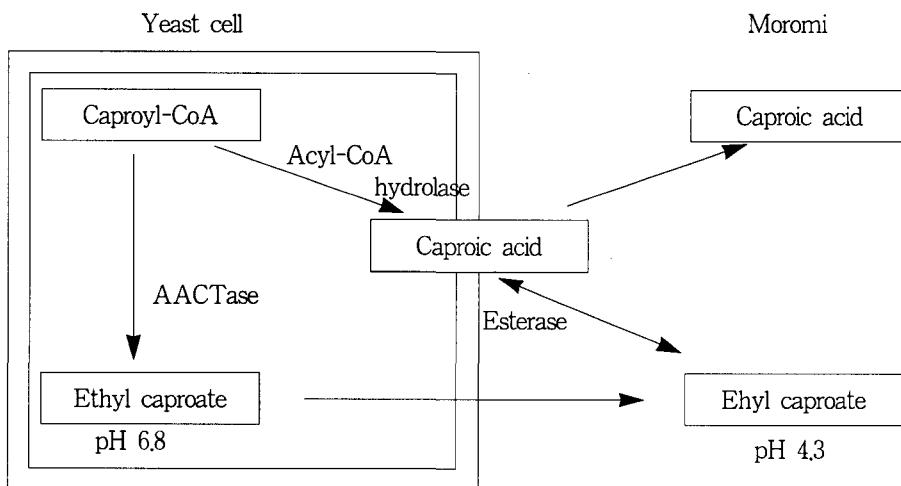


Fig. 2. Model of ethyl caproate pathway.

로 변환된다고 추정하였다.

2) 향기생성 청주효모의 개발동향

청주증의 Isoamyl acetate, Ethyl caproate 등 향기성분을 대량생산하는 효모의 개발이 일본

의 양조회사를 비롯한 각지에서 활발히 수행되고 있다. 이를 대다수는 특정 약제에 대한 내성주를 육종하는 방법으로 Isoamyl acetate 고생산효모의 경우 Leucine과 Valine 유도체 耐性을 이용하는 방법이 알려져 있다. 최근 白鶴

社는 제초제인 Fluazifop와 Haloxylfop의 내성주에서 불포화지방산 첨가시에도 AATase활성의 저해가 적어 親株보다 Isoamyl acetate다량 생산하는 변이주를 개발하였으며, 静岡縣 沼津工業技術센터에서는 Asparagine산 유도체인 Asparagine산 Dimethylester에 의해 생육억제를 받지 않는 변이주에서 Isoamyl acetate고생산 주를 육종하였다. Ethyl caproate고생산 효모의 경우 白鶴社는 Capronate 2-fluoroethyl내성주 중 Ethyl caproate저분해성 균주로부터 Ethyl caproate고생산주를 분리하였다. 또한 月桂冠社는 Cerulenine 내성주에서 Capronic acid을 대량으로 생산하는 균주로부터 Ethyl caproate 다량생산에 성공했으며 이는 항진균 항생물질인 Cerulenine의 지방산 대사저해기능으로부터 초산 저생산성 효모의 육종과 함께 지방산과 초산 생성기구의 관계가 주목되고 있다(34). 최근 愛媛縣 工業技術센터에서는 Isoamyl acetate 및 ethyl caproate의 2종의 Ester고생산 능을 가진 효모의 육종을 위해 Canavanine내성효모 및 Cerulenine내성효모로부터 세포융합을 통하여 향기성분 생산능이 우수한 효모의 육종연구와 PCR법에 의해 증폭한 Isoamyl acetate분해효소 유전자를 Plasmid에 삽입후 형질전환시킨 효모에서 Isoamyl acetate분해활성의 저하를 확인하였으며 연구를 계속 수행하고 있다. 静岡縣 沼津工業技術센터의 河村 등(35)은 새로운 type의 청주제조를 위해 향기성분, 유기산, 생리활성물질을 고생산하는 효모의 개발에着手하여 이를 향기 이외 꽃향기 또는 과일향(포도향)을 생산하는 효모를 개발하였다. 그 결과 Alanine대사계를 이용하여 Alanine유도체인 4,4,4 Trifluoro-DL-Valine 및 3-Chloro-L-alanine내성주 그리고 Serine유도체인 DL-cycloserine 및 D-o-methylserineso 성주로부터 포도향을 생산하는 효모의 분리를 수행하였다.

청주제조와 관련하여 청주술덧의 발효중 효모의 균체내에는 Glucose->Pyruvate-> Acetaldehyde->Alcohol의 순으로 대사가 진행되며 이 과정에서 pyruvin산의 농도는 발효前半에 증가하여 後半에 감소한다. Pyruvin산이 과량함유된 단계의 술덧에 양조 Alcohol을 첨가하여 짜게 되면 효모의 대사에 Shock가 가해져 木香臭를 발생하는 Acetaldehyde가 과량 존재하여, Pyruvin산의 자연산화에 의해 Diacetyl로 변화하여 劣化臭가 발생하므로 품질이 저하된다. 특히 청주(음양주)는 10°C 전후의 저온에서 완만히 발효시키므로 감소속도가 늦어 Pyruvin 산이 남기 쉽다. 따라서 술덧의 짜는 시기는 Pyruvin산이 충분히 감소된 상태가 최적이므로 고도의 판단이 요구된다. 月桂冠社(36)는 최근 청주의 최적 짜는 시기를 판정하는 Pyruvin산 측정용 Kit를 개발하여 판매를 시작하였다. 원리는 Pyruvin산에 특이적인 효소 반응에 의해 발색하며 0~300ppm의 농도에서試驗紙의 색도에 따라 판정이 가능하다고 한다.

V. 결 론

지금까지 주류의 향기성분에 관한 연구동향으로 우리 전통주의 향기성분과 일본주(청주)의 향기성분의 연구개발 동향을 중심으로 소개하였다. 외국주류의 수입개방과 함께 우리 전통주류의 품질개선이 시급히 요구되는 상황에서 최근 전통주의 향기성분에 관한 몇몇의 연구보고가 시작되고 있으나 아직 체계적인 연구개발은 미흡하다. 일본의 경우를 보면 주류의 연구개발, 강습, 연수 등을 담당하는 국립기관으로 국세청양조연구소가 있으며 연구소내의 7개 연구실에서 종합적인 연구개발이 수행되고 있다. 이를 연구실에서는 주류제조와 관련된 각 분야에서 첨단기술을 도입한 유기적이고 종합적인 연구개발이 활발히 수행되고

있고, 연구성과 검토회에서 5개년 연구계획의 특별연구테마의 평가를 실시하고 있으며, 특별 연구·특정연구별 연구결과를 매년 공개하고 있다.

또한 일본주조조합 중앙회산하 회원으로 지방자치별로 47개의 주조조합(연합회)에서 개발한 고부가가치의 각종 주류가 생산판매되고 있어 일본 주류의 경쟁력 강화에 서로 협력하고 있다. 그 예로 福島縣 酒造組合連合會의 酒製造 근대화 사업으로 4년간의 연구결과, 新吟釀酵母(F701酵母)를 개발하여 향기가 뛰어나며, 산미가 적고 부드러운 최고급 吟釀酒를 개발하였으며 그와 고객의 요구대로 조합시켜 술을 제조하는 system의 개발, 지오라이트를 이용하는 속성발효연구, 수용성 식이섬유소를 첨가한 기능성 청주제조 등 다양한 기술의 개발에 따른 새로운 주류개발로 일본술의 부가 가치를 높이고 있다.

따라서 우리나라 주류산업의 지속적인 성장과 국제경쟁력의 확보를 위해서는 정부의 주도 아래 주류의 연구개발, 환경보전, 국민건강 등의 문제를 종합적으로 관리할 수 있는 정부와 지방자치단체 및 민간연구소의 활성화와 지속적인 지원이 필요하다. 그리고 분야별 전담연구기구를 설치하여 주류업체간의 기술적 교류, 주류평가회, 강습, 교육 및 홍보를 통하여 경쟁력 있는 국제적 기업의 양성과 계속적인 우리고유기술의 개발, 보전을 통한 고부가 가치 주류의 생산과 개발이 요구된다고 사료된다. 최근 신제품의 개발에 따른 수출의 증가와 전통주 재현 및 기술축적, 다양한 제품의 개발 그리고 지방자치단체의 특산주의 지원에 따른 활성화에 힘입어 전통주류의 향기성분에 대한 체계적인 연구개발도 병행되어야 한다고 사료된다.

참고문헌

1. Suzuki, M., H. Yoneyama, T. Koizumi. 1980. Effect of rice-koji on strength of aroma in sake. *Hakkokogaku* 58: 171-177.
2. Jo, G. Y. and C. W. Lee. 1997. Isolation and identification of the fungi from Nuruk. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 759-766.
3. Lee, D. Y. 1967. Studies on the industrialization of the Korean Kockja(I), It's isolation and physiological characteristics of model from Kockja. *Kor. Jour. Microbiol.* 5: 51-54.
4. Park, J. W., K. H. Lee, and C. Y. Lee. 1995. Identification of filamentous molds isolated from Korean traditional Nuruk and their amylolytic activities. *Kor. J. App. Microbiol. Biotechnol.* 23: 737-746.
5. Shin, Y. D. and D. H. Cho. 1970. A study on the microflora changes during Takju brewing. *Korean J. Microbiol.* 8: 53-64.
6. Lee, Z. S. and T. W. Rhee. 1970. Studies on the microflora of Takju brewing. *Kor. J. Micorbiol.* 8: 116-133.
7. Park, J. W., K. H. Lee, and C. Y. Lee. 1995. Identification of filamentous molds isolated from Korean traditional Nuruk and their amylolytic activities. *Kor. J. App. Microbiol. Biotechnol.* 23: 737-746.
8. Kim, H. S., J. S. Hyun, J. Kim, H. P. Ha, and T. S. Yu. 1997. Characteristics of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 767-774.
9. Kim, H. S., J. S. Hyun, J. Kim, H. P. Ha, and T. S. Yu. 1998. Enzymological characteristics and identification of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26: 456-464.

10. 慶田順一. 1976. 酿造成分, 酿酵香氣成分. 日本釀造協會雜誌 71: 819-830.
11. 이주선, 이택수, 박성오, 노봉수. 1996. 원료를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 향기성분. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 316-323
12. 한은혜, 이택수, 노봉수, 이동선. 1997. 누룩종류를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 휘발성 향기성분. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 563-570
13. 이택수, 최진영. 1998. 찹쌀 및 보리쌀 탁주 술덧의 발효과정중 휘발성 향기성분의 특성. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 638-643
14. 홍연, 박승국, 최언호. 1999. *Saccharomyces*와 *Hansenula*의 혼합배양에 의해 제조한 민속증류주의 향미특성. Kor. J. Microbiol. Biotechol. 27: 236-245
15. 김용두, 강성구, 강성균. 1991. 진양주 개선에 관한 연구. 순천대학농업과학연구소 제5보
16. 신귀례, 김병철, 양지영, 김용두. 1999. 효모에 따른 약주의 품질특성. 1. 분리균 주의 동정및 휘발성 향기성분. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 794-800
17. Suzuki, M., H. Yoneyama, T. Koizumi, and M. Suzuki. 1977. A collection apparatus for Koji-aroma and detection of the neural aroma components in rice-koji. Hakkokogaku 55: 167-174.
18. 김현수, 유대식. 2000. 누룩사상균으로 제조된 전통누룩의 휘발성 향기 성분. Kor. J. Microbiol. Biotechol.(투고중)
19. Kim, H. S., J. S. Hyun, J. Kim, H. P. Ha, and T. S. Yu. 1998. Enzymological characteristics and identification of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26: 456-464.
20. Ji, W. D., S. H. Yang, M. R. Choi., and J. K. Kim. 1995. Volatile component of Korean soybean paste produced by *Bacillus subtilis* PM3. J. Microbiol. Biotechnol. 5: 143-148.
21. Koh, K. H. and W. Y. Chang. 1999. Changes of volatile flavor compounds of seibel grape must during alcohol fermentation and aging. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 491-499.
22. Kim, G. E., M. H. Kim, B. D. Choi, T. S. Kim, and J. H. Lee. 1992. Flavor compounds of domestic Meju and Doenjang. J. Korean Soc. Food Nutr. 21: 557-565.
23. Shin, M. R., and K. J. Joo. 1999. Fractionated volatile flavor components of soybean plaste by dynamic headspace method. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 305-311.
24. Suzuki, T. and M. Motosugi. 1996. Changes in volatile flavor compounds and antioxidant activity of absorbed phenolic compounds of dried bonito stick(katuo bushi) during smooking process. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 43: 29-35.
25. Choi, K. H., M. A. Choi., and J. C. Kim. 1997. Flavor of fermented black tea with fungus. Korean J. Life Science. 7: 309-315.
26. 김경수. 1999. 전통 민속주에서 독성관련 향기(Asarone, Coumarin, Thujone) 성분분석. 보건의료기술연구개발사업 보고서. 보건복지부
27. Koizumi, T., K. Kakuta, T. Hara, and M. Suzuki. 1978. Volatile organic acid and volatile amines of rice-koji. Hakkokogaku 55: 167-174.
28. Suzuki, M., H. Yoneyama, and T. Koizumi. 1980. The fraction of some precursors of sake-aroma substance from rice-koji.

- Hakkokogaku 58: 377-383.
29. Yoshioka, K. and N. Hasimoto. 1981. Ester formation by alcohol acetyltransferase from Brewers' Yeast. Agric. Biol. Chem. 45, 2183-2190
30. Yoshioka, K. and N. Hasimoto. 1983. Cellular fatty acid and ester formation by Brewers' Yeast. Agric. Biol. Chem. 47, 2287-2294
31. Fujii, T., N. Nagasawa, A. Iwamatsu, T. Bogaki, T. Tamai, and M. Hamachi. 1994. Molecular cloning, sequence analysis, and expression of the yeast alcohol acetyltransferase gene. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2786-2792.
32. Fujiwara, D., O. Kobayashi, H. Yosimoto, S. Harasima and Y. Tamai. 1999. Molecular mechanism of the multiple regulation of the *Saccharomyces cerevisiae* ATF1 gene encoding alcohol acetyltransferase. Yeast 15: 1183-1197
33. Kuriyama K. 1989. Enzymatic studies of sake brewing. Hakkokogaku 67: 105-117
34. 청주효모의 향기생성에 관한 정보. 1998. 日本釀造協會誌 193, 665-670
35. Kawamura D. and Y. Sugimoto. 新開
기능성 효모의 개발에 관한 연구, Maskat樣香氣生成酵母의 개발. 靜岡縣 沼津工業技術센터 보고서(제1보: 1995, 제2보: 1996, 제3보: 1997).
36. Pyruvin산 측정 stick. 1999. 月桂冠뉴스

事窮勢蹙之人，當原其初心。功成行滿之士，要觀其末路。

일이 막히어 궁지에 빠진 사람은 마땅히 그 처음의 마음으로 되돌아가 생각해야 하고, 공을 이루어 만족하고 있는 사람은 반드시 그 말로를 내다보아야 한다.

- 菜根譚 중에서 -