

효소 농도별 막걸리의 쓴맛 감소 차이 비교

허좌영¹, 손은심², 정철^{1*}

¹서울벤처대학원대학교, ²(주)비엔에프솔루션

Comparison of the reduction in bitter taste of *Makgeolli* by enzyme concentration

Joa-Young Her¹, Eun-Shim Son², Chul Cheong^{1*}

¹Dept. of Convergence Industry, Seoul Venture University, ²BNF Solution Co., Ltd.

요 약 본 연구에서는 발효제를 달리하고 혼합효소 농도별로 처리한 후 발효시킨 막걸리의 쓴맛 차이를 비교하고자 하였다. 측정된 알코올은 모두 18~20% 정도로, 발효제와 혼합효소 처리와는 큰 관련이 없는 것으로 나타났다. pH 변화는 누룩과 입국 모두 4~4.3으로 차이가 없었다. 누룩과 입국의 총산도는 누룩의 경우 혼합효소를 처리하지 않은 시료에서 0.480으로 낮았으며, 다른 시료에서는 특별한 변화가 없었다. 유기산 총량은 혼합효소 각각의 농도에 대해서 누룩의 경우 입국보다 3배 정도 높았으며, 각각의 발효제에서 혼합효소의 농도 360ppm에서 유기산 함량이 가장 많이 증가한 것으로 나타났다. 향기성분에서 고급 알코올의 경우에는 누룩과 혼합효소 180ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 입국에서는 혼합효소 3600ppm을 투입한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보였다. 쓴맛 강도의 변화는 누룩과 입국 모두에게서 농도가 증가할수록 감소하였으며, 색, 향, 맛의 기호도 검사시 누룩과 입국 모두 혼합효소 360ppm 첨가시 가장 높은 점수를 받았다. 따라서 본 연구결과 입국을 사용하며 혼합효소의 농도 360ppm으로 막걸리를 제조하는 것이 소비자의 요구에 부합되리라 본다.

Abstract This study compared and examined the difference in bitter taste of makgeolli fermented after treatment with different fermenters and varying concentrations of mixed enzymes. All measured alcohols were in the range 18 to 20%, and no significant relationship was observed between the different treatments with fermenters and mixed enzymes. The pH range remained unchanged (between 4 and 4.3) in both Nuruk and Koji. The total acidity of Nuruk and Koji was determined to be 0.480 in the samples not treated with mixed enzymes, with no particular change observed in the other samples. For each concentration of the mixed enzymes, the total amount of organic acid was 3 times higher when treated with Koji than with Nuruk, with maximum organic acid content obtained at 360 ppm concentration of the mixed enzymes in each fermenting agent. Determination of high-quality alcohol revealed significantly highest levels in makgeolli containing 180 ppm Nuruk and mixed enzymes. The change in bitter taste intensity decreased with increasing concentration in both Nuruk and Koji. Highest scores for color, aroma, and taste preferences in both Nuruk and Koji were obtained with the addition of 360 ppm mixed enzymes. Taken together, the results of this study indicate that fermentation of makgeolli using 360 ppm concentration of mixed enzymes and Koji will yield a product most acceptable to consumers.

Keywords : Makgeolli, Nuruk, Koji, Mixed Enzymes, Bitter Taste

본 논문은 농림식품기술기획평가원 연구사업(과제명: 막걸리의 쓴맛 원인규명 및 저감화 기술 개발, 과제번호: 119I12-01)의 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

*Corresponding Author : Chul Cheong(Seoul Venture Univ.)

email: chulcheong@hotmail.com

Received April 9, 2021

Revised April 30, 2021

Accepted September 3, 2021

Published September 30, 2021

1. 서론

최근 들어서 전통주의 온라인 판매 및 소규모 주류제조 면허의 허용에 따라 막걸리 산업분야로의 진출이 젊은층을 중심으로 창업이 활발하며, 이와 더불어 전통주점 등의 창업 등 전후방산업에도 긍정적인 영향을 미치고 있고 전체 전통주 중 막걸리를 소비하는 층이 54%에 달해 매우 높은 수준임을 알 수 있다. 2019년도 주류산업정보실태조사(농식품부)에 따르면 전통주별 구매요인으로는 공통적으로 부드럽고 순하며 깔끔한 맛을 상대적으로 우선시하는 경향이 있는 것으로 조사되었으며, 주류소비자는 막걸리를 비롯한 전통주의 개선사항으로 홍보, 가격 및 맛 개선을 꼽아 막걸리의 품질향상이 막걸리에 소비에 주요한 요소인 것으로 조사되었다[1]. 하지만 소비자의 막걸리 소비패턴에 걸림돌이 되는 주된 맛이 쓴맛 등으로 밝혀져 쓴맛의 저감화 노력이 요구되는 시점이다.

지금까지 연구에 의하면 Murray & Baker[2]는 상업적 단백질 분해효소에서 얻은 카제인과 락트알부민의 효소 가수분해물 안에서 쓴맛을 확인하였으며, Guigoz et al.[3]는 단백질이 풍부한 식품은 단백질 분해효소의 단백질 가수분해로 인한 펩타이드에 의해 종종 매우 쓴 물질을 동반한다고 보고하였다. Maehashi & Huang[4]는 쓴맛이 에이징 과정인 효소의 단백질 가수 분해물을 생성하는 발효제품에서 자주 발생한다고 하였다. 된장의 대두 단백질의 가수분해물은 분해 정도, 펩타이드의 구조, 크기 및 아미노산의 염기 배열 등에 따라 기호성 및 기능성이 다르게 나타나고 그 특성 또한 다양하며[5], Hong과 Lee[6]는 재래식 된장과 *Aspergillus oryzae*를 이용한 개량식 된장의 쓴맛 펩타이드를 추출하여 그 특성을 연구하였다. 저장 또는 숙성 중에 발생하는 치즈의 쓴맛을 줄이기 위해 그 형성 과정이나 식별 및 마스킹 방법[7], 병아리콩 단백질 가수분해물의 생산에 향료의 사용으로 쓴맛을 감소시키기 위해 다양한 연구가 시도되었다[8]. 그 예로 국내에서는 쑥마귀[9], 인삼[10], 도라지[11], 여주차[12], 오징어[13] 관련 쓴맛을 감소시키는 연구가 진행되었다. 단백질 기질과 효소의 조합에 의해 생성된 가수분해물의 용해성과 쓴맛에 대해 비교연구도[14] 진행되었다. 맥주에도 디-펩타이드와 환상 Diketopiperazine은 쓴맛을 유발한다고 하였으며[15], 'zatsumi'라는 불쾌한 맛으로 알려진 Sake의 아린 맛은 저농도에서 발견된 쓴맛 화합물이 원인이라고 하였다[16]. Sake 속의 펩타이드는 Koji 효소에 의한 쌀 단백

질의 가수분해로 생산되며, 발효 후에도 일부는 술에 남아 있어 짧은 펩타이드는 일반적으로 바람직한 맛을 나타내고[17], 일부 디펩타이드 또는 그 무수물은 Sake에서 쓴 화합물로 확인되었다[18].

따라서 본 연구에서는 혼합효소 농도별로 발효제를 달리하여 발효한 막걸리의 쓴맛 강도 감소에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

실험재료에 사용된 쌀은 2020년 생산된(10분도-8%도정) 추정을 사용하였고, 누룩은 송학곡자(소율곡)를 사용하였다. 입국은 좋은곡식에서 판매하는 쌀입국을 구매하였다. 효모는 활성건조 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 사용하였다.

2.2.1 주류의 제조

병행 복발효에서 쌀의 전처리와 주류의 특성에 미치는 영향이 상당하다. 누룩을 발효제로 사용하는 단양주의 경우는 산도가 높은 시료의 가능성이 있어 2단 담금법으로 제조를 하였다.

Table 1에서는 누룩과 입국을 발효제로 사용하여 Endopeptidase와 Exopeptidase가 섞여 있는 혼합효소를 각각 129.60 mg, 259.20 mg, 518.40 mg, 1036.80 mg, 2592.00 mg씩을 넣은 5개의 시료로 실험을 하였다. 가수량은 곡물의 120%, 발효제는 곡물 사용량의 8%로 하였으며, 22℃의 온도를 유지한 발효실에서 7일간 발효를 한 후 덧술을 제조, 밑술과 잘 섞어 14일간 발효를 하였다.

2.2.2 혼합효소(Endopeptidase와 Exopeptidase)

Endopeptidase는 비말단 아미노산 (즉, 분자내)의 펩티드결합을 파괴하는 단백질 분해성 펩티다아제이고, Exopeptidase는 아미노산의 말단부로부터 펩티드결합을 끊는 펩티다아제로, 펩타이드 사슬로부터 단일 아미노산 또는 디 펩타이드를 방출한다. 혼합효소는 중성 또는 약산성 조건에서 단백질 가수분해를 위한 복합체로 낮은 수준의 가수분해에서 쓴 단백질 다수 분해물을 분해하는 기능이 있다.

Table 1. Comparison between mitsul and deotsul according to mixed enzyme treatment

Division	Mixed enzyme (mg)	Mitsul				Deotsul		Total		Rate(%)		Mixed enzyme/Rice (ppm)
		Rice (g)	Water (ml)	Fermenting agent (g)	Yeast (g)	Rice (g)	Water (ml)	Rice (g)	Water (ml)	Water/Rice (%)	Fermenting agent/Rice (%)	
Nuruk	129.6	180	540	57.6	-	540	320	720	860	120	8	180
	259.2	180	540	57.6	-	540	320	720	860	120	8	360
	518.4	180	540	57.6	-	540	320	720	860	120	8	720
	1036.8	180	540	57.6	-	540	320	720	860	120	8	1440
	2592.0	180	540	57.6	-	540	320	720	860	120	8	3600
Koji	129.6	-	170	110	0.55	610	840	720	1010	140	15	180
	259.2	-	170	110	0.55	610	840	720	1010	140	15	360
	518.4	-	170	110	0.55	610	840	720	1010	140	15	720
	1036.8	-	170	110	0.55	610	840	720	1010	140	15	1440
	2592.0	-	170	110	0.55	610	840	720	1010	140	15	3600

2.3 실험방법

2.3.1 당도

당도 측정은 당도측정계(ATAGO, Japan, PAL-1)를 이용하여 시료를 1 ml 채취하여 3회 반복 측정하였고 평균값을 기재하였다.

2.3.2 총산도

총산도는 검체 10 mL를 취하고, 이에 끓여서 식힌 물을 가하여 100 mL로 하고, 그 20 mL를 페놀프탈레인시액을 지시약으로 하여 0.1NaOH 로 중화 적정하였다.

0.1 N 수산화나트륨액 1 mL = 0.006 g CH₃COOH

2.3.3 알코올

mess cylinder에 시료 100 ml를 채취한 다음 500 ml삼각 flask에 옮긴 후 증류수 100 ml를 mess cylinder에 넣어 세척하여 flask에 혼합해 준 후 증류장치에 연결하였다. 증류액 80 ml가 되면 전원을 차단하고 증류액에 증류수를 가하여 100 ml로 정용 후, 온도를 20℃ 이하로 보정 해주어 주정계를 띄워 수치를 읽은 다음 주정분 온도 환산표에서 알코올도수 함량을 측정하였다.

2.3.4 pH

pH는 시료 100 ml를 취하여 pH meter (ORION 3STAR)의 유리전극을 담그고 안정화된 값을 측정하였다.

2.3.5 유기산 분석

유기산 분석을 위해 시료를 0.2 µm membran filter로

여과한 후 HPLC(Waters 2489, UV/Visible Detector)로 정량하였다. Column은 TSKgel ODS-100 (4.6 mm×250 mm×5 µm, JAPAN)를 사용하여 분석하였다. 분석조건으로는 Column oven의 온도를 35℃로 설정하였고, 이동상은 150 mM NaH₂PO₄ Phosphate를 사용하였으며, 유속 1.0 ml/min으로 흘려주었다. 분석 조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Organic acid analysis conditions

Waters 2489	
Column	TSK-GEL ODS 100V (4.6mm i.d. X 250mm, 5µm, 12nm)
Temperature	35℃
Flow rate	1 ml/min
UV	210, 220 nm
Eluent	150 mM NaH ₂ PO ₄ phosphoric acid
Injection volume	2 µl

2.3.6 향기성분 분석

향기성분은 Agilent 7890B GC System(Agilent 7697A headspace Sampler, Flame Ionization Detector(FID))로 분석하였다. 분석을 위한 column은 HP-INNOWAX (30 m*0.25 mm, 0.5 µm)를 사용하였다. 오븐 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 4℃/min의 속도로 승온하여 5분간 유지시켰다. Injector 온도는 200℃로 분석하였으며, Carrier gas는 N₂ gas를 1 ml/min으로, H₂ gas와 Air는 각각 30 ml/min과 300 ml/min으로 흘려주었다. 향기성분을 구성하는 발효부산물 추출은 60℃에서 20분 동안 교반하면서 평형 시킨

후 20분 동안 100 μ m polydimethylsiloxane fiber에 포집하여 GC에 주입하였다.

2.3.7 관능평가

본 실험의 목적은 발효제를 달리해서 발효한 막걸리를 혼합효소 농도별 첨가에 따른 쓴맛 차이를 비교하고자 하였다. 관능평가는 Lee 등[19]의 연구방법에 따라 색(color), 맛(taste), 향(flavor)을 평가하였으며 쓴맛 강도에 대해서는 따로 관능검사를 실시하였다. 쓴맛 강도를 통해서 효소 농도에 따른 쓴맛 강도 저감 정도를 파악하려고 하였다. 평가항목은 매우 그렇다(5점), 그렇다(4점) 보통이다(3점), 그렇지 않다(2점), 매우 그렇지 않다(1점)로 평가하는 5점 척도법을 이용하였으며, 점수가 높을수록 쓴맛의 강도 및 기호도가 높아짐을 의미하였다. 관능검사는 한국양조기술연구소에서 양조전문가 과정을 이수한 패널 10명을 대상으로 하였다.

2.4 통계처리

실험에 사용된 막걸리는 처리구별로 3반복 실시한 뒤 평균과 표준편차로 나타내었다. 실험결과의 통계분석은 SPSS program (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 일원배치분산분석(One way ANOVA Test)을 한 후 Duncan's multiple range test(DMRT)에 따라 $p < .05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 이화학적 분석

pH와 총산 함량이 막걸리 발효시 중요한 이유는 적당한 산은 맛을 좋게 하고 술덧을 발효하는데 잡균의 번식을 억제하는 긍정적인 면이 있기 때문이다[20]. 술덧은 산 함량의 변화가 적은 것이 정상적이며, 산 함량이 급격히 상승하면 술덧 제조에 있어서 이상발효가 일어난 것으로 간주 할 수 있다[21].

Table 3과 같이 발효제를 달리해서 발효한 막걸리를 혼합효소 농도별로 처리한 후 측정된 알코올은 모두 18~20% 정도로, 발효제와 혼합효소 처리와는 큰 관련이 없는 것으로 나타났다. pH 변화는 누룩과 입국 모두 4~4.3으로 차이가 없었다. 당도는 입국보다 누룩이 많은 것으로 나타났고($p < .05$), 누룩과 입국의 총산도는 누룩의 경우 혼합효소를 처리하지 않은 샘플에서 0.480으로 낮았으며, 다른 시료에서는 특별한 변화가 없었다.

3.2 유기산 분석

유기산 함량 측정 결과는 Table 4에 나타내었다. 혼합효소 각각의 농도에서 발효제에 상관없이 Lactic acid가 가장 많은 함량을 나타내었고, 다음으로 Acetic acid 순이었다. Lactic acid의 경우 젖산균에 의해 생성되는 것으로 추측되며, Acetic acid의 경우 Bacillus의 작용으로 증가되는 것으로 보고되었다[22]. 유기산 총량은 각

Table 3. Chemical content according to the amount of Mixed enzyme input

Division	Mixed enzyme input(ppm)	Alcohol(%)	Brix	pH	Total acids(W/V%)
Nuruk	0	^{nsA} 18.0±0.11	^{aA} 13.2±0.15	^{nsNS} 4.3±0.10	^{bb} 0.480±0.04
	180	^B 18.6±0.05	^{bb} 9.7±0.08	4.1±0.22	^A 0.618±0.10
	360	^{BC} 17.6±0.19	^{aA} 12.9±0.26	4.2±0.02	^A 0.540±0.05
	720	^C 17.4±0.10	^{aA} 12.7±0.04	4.1±0.07	^A 0.560±0.05
	1,440	^C 17.2±0.38	^{aA} 13.0±0.53	4.2±1.14	^A 0.610±0.01
	3,600	^{BC} 18.1±0.06	^{bb} 10.3±0.04	4.2±0.02	^A 0.672±0.05
Koji	0	^{nsA} 20.1±0.07	^{cd} 5.2±0.08	^{ns} 4.1±0.01	^{nsA} 0.630±0.17
	180	^A 20.4±0.14	^{bd} 6.8±0.18	4.2±0.04	^A 0.582±0.04
	360	^B 18.8±0.09	^{aC} 8.5±0.11	4.1±0.02	^A 0.654±0.06
	720	^B 18.8±0.03	^{aC} 7.7±0.03	4.1±0.10	^A 0.618±0.12
	1,440	^B 18.9±0.20	^{aC} 7.7±0.01	4.1±0.02	^A 0.624±0.07
	3,600	^A 20.5±0.07	^{bd} 6.1±0.03	4.2±0.04	^A 0.576±0.06

Each value represents the mean±standard deviation of three independent experiments.

^a ^c, ^{ns} Duncan's multiple range test in sample(depending on the type of Nuruk and Koji respectively).

^A ^D, ^{NS} Duncan's multiple range test in fermentation (all regardless of Nuruk and Koji).

^{ns}, ^{NS} : Not significant.

Table 4. Organic acid analysis according to the amount of Mixed enzyme input(mg%)

Division	Mixed enzyme input(ppm)	Oxalic acid	Formic acid	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Cirtic acid	Succinic acid	ΣOrganic acid
Nuruk	0	^{bb} 132.18±0.9	-	-	^{cc} 3972.84±23.2	^{bb} 3519.58±82.3	^{ba} 1089.18±32.9	119.12±18.4	^{bb} 8700.72±18.3
	180	^{ab} 222.64±4.9	160.32±4.9	-	^{bb} 6431.54±34.2	^{ab} 5832.30±63.3	^{bb} 951.48±61.4	9.13±3.1	^{ab} 13607.41±10.9
	360	^{ab} 256.56±3.4	160.41±9.5	-	^{ab} 9032.14±13.6	^{ab} 6023.90±90.1	^{ba} 1077.82±30.5	12.62±3.8	^{ab} 16563.45±26.1
	720	^c 87.48±3.2	-	-	^{bb} 6760.80±50.1	^{ab} 5975.16±25.6	^{ab} 1207.28±34.1	7.43±1.4	^{ab} 14038.15±58.1
	1,440	^{ab} 197.56±7.3	140.68±3.2	-	^{bb} 7043.76±26.2	^{bb} 4416.40±88.9	^{ab} 1298.02±12.8	11.98±0.9	^{ab} 13108.40±48.8
	3,600	^{ab} 223.26±1.3	206.04±8.9	-	^{ab} 9932.44±62.1	^{ab} 5490.56±12.4	^{ab} 1397.62±80.3	6.96±2.1	^{ab} 17256.88±21.1
Koji	0	^a 331.94±0.3	-	-	^{cd} 677.92±52.4	^{cd} 373.40±64.5	^c 500.96±43.6	-	^{bc} 1884.22±14.6
	180	^a 398.34±2.1	-	-	^{bd} 1445.54±16.2	^{bc} 1369.46±20.1	^{bb} 748.92±11.9	38.60±3.8	^a 4000.86±67.1
	360	^a 331.94±1.9	-	-	^c 2677.92±10.2	^{ab} 2599.52±39.5	^{bb} 605.96±31.9	-	^{ab} 6215.34±56.4
	720	^a 383.60±8.3	-	-	^c 2620.64±38.9	^{ab} 2373.40±15.8	^c 379.46±12.7	18.64±9.3	^{ab} 5775.74±23.2
	1,440	^{bc} 102.18±5.4	-	-	^c 2487.40±62.1	^{bc} 1553.78±19.3	^c 510.72±84.7	-	^a 4654.08±23.8
	3,600	^a 395.82±9.3	-	-	^c 3266.20±25.2	^{bc} 1171.76±51.4	^a 1145.4±33.4	-	^{ab} 5979.18±66.7

Each value represents the mean±standard deviation of three independent experiments.

^a ^c, ^{ns} Duncan's multiple range test in sample(depending on the type of Nuruk and Koji respectively).

^A ^D, ^{NS} Duncan's multiple range test in fermentation (all regardless of Nuruk and Koji).

^{ns}, ^{NS} : Not significant.

Table 5. Fragrance content of Nuruk according to the amount of Mixed enzyme input

Item(ppm)	the amount of Mixed enzyme input					
	0	180	360	720	1,440	3,600
Acetaldehyde	^{ns} 45.10±1.1	^a 46.13±0.8	^a 42.67±2.5	^a 42.21±3.8	^a 41.20±1.9	^a 45.25±2.6
Acetone	^b 1.62±0.5	^b 2.14±0.6	^b 1.68±0.1	^b 1.64±0.3	^b 1.72±0.2	^a 2.06±0.1
Furfural	^b 0.00±0.0	^a 3.97±0.7	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0
Benzaldehyde	^c 0.00±0.0	^a 2.03±0.2	^b 1.75±0.1	^b 1.60±0.1	^b 1.52±0.4	^b 1.25±0.2
Diacetyl	^a 10.13±1.9	^a 10.60±0.9	^a 10.44±1.4	^b 7.52±0.7	^a 10.51±3.1	^b 5.95±0.1
Esters						
Methyl acetate	^b 0.47±0.1	^{ab} 0.71±0.1	^{ab} 0.79±0.1	^a 0.87±0.1	^a 1.13±0.1	^a 0.85±0.1
Ethyl acetate	^b 104.38±7.1	^a 126.46±5.6	^{ab} 119.37±11.2	^a 121.45±8.7	^a 135.20±3.4	^a 135.57±10.1
Isoamyl acetate	^b 16.41±4.4	^c 10.19±0.9	^b 16.85±4.2	^a 19.94±1.9	^a 20.97±6.0	^b 14.66±4.9
Ethyl caproate	^{ab} 1.82±0.1	^b 0.56±0.0	^a 2.67±0.9	^a 2.61±0.2	^a 2.77±0.2	^b 0.93±0.3
Ethyl caprylate	^a 1.26±0.0	^b 0.34±0.1	^a 1.41±0.5	^a 1.92±0.2	^a 1.67±0.1	^b 0.53±0.3
ΣEsters	^b 124.34±8.5	^b 138.26±9.8	^a 141.09±2.7	^a 146.79±3.3	^a 161.74±11.3	^a 152.54±24.0
Higher alcohols						
Methyl alcohol	^c 11.23±3.1	^b 13.59±1.5	^b 12.71±2.4	^{bc} 12.17±1.7	^b 12.88±1.6	^a 16.14±0.3
2-butanol	^{ns} 0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0
N-propanol	^b 226.95±4.4	^b 224.11±8.3	^{ab} 261.76±4.1	^{ab} 255.20±13.5	^a 272.24±7.5	^a 322.11±11.1
Isobutanol	^{ab} 378.79±5.9	^b 302.21±6.4	^{ab} 379.99±8.2	^a 406.66±4.5	^a 419.85±6.6	^a 400.41±17.7
N-butanol	^a 9.63±1.4	^b 5.68±1.6	^b 5.54±0.6	^a 8.07±1.7	^a 6.64±1.9	^b 6.65±1.2
Isoamyl alcohol	^{ab} 1037.96±2.2	^b 892.28±10.8	^a 1111.66±38.2	^a 1109.04±5.3	^a 1170.79±16.5	^a 1158.17±99.3
N-amyl alcohol	^{ns} 0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0
ΣHigher alcohols	^b 1,664±8.1	^b 1,437±31.1	^{ab} 1,771±23.8	^{ab} 1,791±62.3	^a 1,882±31.8	^a 1,903±66.3

Each value represents the mean±standard deviation of three independent experiments.

^a ^c, ^{ns} Duncan's multiple range test in row sample.

^{ns} Not significant.

각의 혼합효소 농도별 비교시 누룩의 경우 입국보다 3배 정도 높았으며, 누룩의 경우 혼합효소의 농도 3,600 ppm에서 유기산 함량이 가장 많이 증가한 것으로 나타났다. 입국의 경우 360 ppm에서 유기산의 함량이 가장 높게 나타났다. 발효제와 상관없이 혼합효소 3,600 ppm의 누룩에서 유기산 함량이 가장 높게 나타났다.

3.3 향기 성분 분석

혼합효소 투입량에 따른 누룩 막걸리의 향기성분의 변화는 Table 5와 같다. 누룩과 혼합효소 180 ppm를 투입한 막걸리의 아세트알데히드가 혼합효소 무첨가 시험구와 360 ppm 투입한 시험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 그리고 혼합효소 1,440 ppm 투입한 막걸리에서 가장 높은 농도를 보였다. 벤즈알데히드는 혼합효소 첨가량에 따라 증감이 일정하지 않았다. 한편 에스테르류의 경우 혼합효소 1,440 ppm 투입한 막걸리에서 유

의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소 180 ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 나타내었다. 고급 알코올의 경우에는 혼합효소 180 ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소 1,400 ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 나타내었다. 한편 혼합효소 투입량에 따른 입국 막걸리에서의 향기 성분 변화는 Table 6과 같다. 아세트알데히드는 혼합효소 투입량에 관계없이 입국 막걸리에서 유의적 차이를 보이지 않았고, 벤즈알데히드의 경우는 혼합효소 360 ppm과 720 ppm을 투입한 술덧에서 유의적으로 가장 높은 수치를 보였다. 에스테르류의 경우 혼합효소를 1,440 ppm 투입한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소를 무첨가한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 나타내었다. 고급 알코올의 경우는 혼합효소 3,600 ppm을 투입한 입국 막걸리에서 유의적

Table 6. Fragrance content of Koji according to the amount of Mixed enzyme input

Item(ppm)	the amount of Mixed enzyme input					
	0	180	360	720	1,440	3,600
Acetaldehyde	^b 41.55±2.3	^c 26.86±5.4	^a 41.15±5.7	^a 41.94±1.1	^a 54.71±0.7	^{ab} 37.57±2.8
Acetone	^{ab} 1.35±0.3	^a 1.48±0.1	^{ab} 1.31±0.5	^a 1.48±0.4	^b 1.22±0.1	^a 1.69±0.1
Furfural	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0	^a 4.34±0.6	^b 0.00±0.0	^b 0.00±0.0
Benzaldehyde	^b 1.30±0.1	^{ab} 1.86±0.2	^a 2.07±10.3	^{ab} 1.74±0.1	^a 2.48±0.1	^a 2.40±0.3
Diacetyl	^a 6.41±1.3	^c 0.80±0.2	^{ab} 3.00±0.6	^{ab} 4.47±0.6	^a 5.11±0.2	^a 5.43±0.4
Esters						
Methyl acetate	^{ns} 0.62±0.1	0.34±0.1	0.67±0.2	0.59±0.2	0.60±0.1	0.26±0.0
Ethyl acetate	^b 150.39±9.1	^c 51.59±0.3	^b 148.46±2.3	^b 125.06±8.3	^a 216.68±7.2	^c 82.74±1.4
Isoamyl acetate	^a 1.50±0.2	^b 0.35±0.1	^a 1.49±0.3	^{ab} 1.02±0.4	^a 2.60±0.4	^b 0.51±0.1
Ethyl caproate	^a 0.91±0.1	^b 0.57±0.1	^a 1.01±0.1	^a 0.90±0.1	^b 0.61±0.1	^b 0.44±0.1
Ethyl caprylate	^b 0.49±0.1	^b 0.55±0.1	^a 0.99±0.2	^a 0.81±0.1	^b 0.64±0.1	^a 0.82±0.1
ΣEsters	^{ab} 153.91±2.8	^c 53.4±2.6	^a 152.62±12.3	^{ab} 128.38±5.4	^a 221.13±9.8	^{bc} 84.77±5.3
Higher alcohols						
Methyl alcohol	^b 0.86±0.1	^a 16.73±1.9	^a 19.60±2.6	^a 18.40±0.6	^a 18.74±3.2	^a 17.77±1.6
2-butanol	^c 0.00±0.0	^b 1.63±0.9	^c 0.00±0.0	^c 0.00±0.0	^c 0.00±0.0	^a 2.74±0.7
N-propanol	^a 157.25±4.3	^{ab} 139.14±4.8	^b 121.47±4.7	^a 148.11±6.6	^b 92.74±2.2	^{ab} 131.30±13.2
Isobutanol	^{ab} 324.70±2.4	^a 399.90±4.7	^b 266.49±4.3	^b 209.59±8.9	^b 226.49±5.9	^a 384.72±26.6
N-butanol	^a 9.45±2.8	^b 5.04±1.3	^b 5.78±2.3	^b 5.44±0.9	^c 2.90±0.1	^b 5.78±2.3
Isoamyl alcohol	^a 958.80±9.9	^a 1102.33±61.1	^b 815.17±14.8	^b 843.68±4.1	^b 708.25±7.3	^a 995.68±31.3
N-amyl alcohol	^{ns} 0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0
ΣHigher alcohols	^a 1,451±35.4	^a 1,664±45.1	^{ab} 1,228±41.8	^{ab} 1,225±7.3	^b 1,049±53.7	^a 1,537±45.3

Each value represents the mean±standard deviation of three independent experiments.

^a ^c ^{ns} Duncan's multiple range test in row sample.

^{ns} Not significant.

Table 7. Sensory characteristics of Makgeoli according to the Milling degree and Fermentation agent

Division	Mixed enzyme input(ppm)	Color	Flavor	Taste	Bitter Intensity
Nuruk	0	^{cC} 3.13±0.63	^{cC} 3.12±0.63	^{cB} 3.08±0.36	^{aA} 4.61±0.26
	180	^{abA} 3.91±0.82	^{bcC} 3.44±0.61	^{aA} 3.91±0.28	^{aA} 4.45±0.67
	360	^{aA} 4.03±0.52	^{aA} 4.11±0.75	^{aA} 4.08±0.25	^{bAB} 4.12±0.14
	720	^{aA} 4.08±0.75	^{bbB} 3.87±0.73	^{bbB} 3.52±0.57	^{bbB} 3.88±0.27
	1,440	^{bbB} 3.50±0.84	^{cC} 3.19±0.55	^{bcC} 3.31±0.48	^{cC} 3.08±0.42
	3,600	^{bbB} 3.72±0.61	^{bbB} 3.81±0.16	^{cC} 3.16±0.25	^{cD} 2.89±0.81
Koji	0	^{aA} 3.94±0.52	^{bbB} 3.63±0.41	^{bcB} 3.69±0.14	^{aA} 4.31±0.33
	180	^{bbB} 3.56±0.84	^{bbB} 3.63±0.82	^{aA} 3.98±0.25	^{abB} 4.06±0.47
	360	^{cC} 3.19±0.82	^{aA} 4.00±0.75	^{aA} 4.24±0.48	^{bbB} 3.98±0.19
	720	^{aAB} 3.87±0.52	^{aA} 3.93±0.63	^{aA} 4.06±0.28	^{bbB} 3.72±0.24
	1,440	^{bbB} 3.56±0.75	^{abB} 3.87±0.52	^{abAB} 3.88±0.27	^{cB} 3.38±0.43
	3,600	^{cC} 3.11±0.36	^{cC} 3.00±0.29	^{cB} 3.53±0.54	^{cC} 3.06±0.52

Each value represents the mean±standard deviation of three independent experiments.

^a~^c, ^{ns} Duncan's multiple range test in sample(depending on the type of Nuruk and Koji respectively).

^A~^D, ^{NS} Duncan's multiple range test in fermentation (all regardless of Nuruk and Koji).

^{ns}, ^{NS} :Not significant

로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소 180 ppm을 투입한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 보였다.

3.4 관능검사

Table 7은 누룩과 입국의 혼합효소 투입에 따른 막걸리의 색, 향, 맛의 기호도를 검사하였으며 이에 더하여 쓴맛 강도를 검사하였다. 혼합효소를 180 ppm에서 720 ppm 투입한 경우에 쓴맛의 효과가 서서히 감소하였으며, 1,440 ppm을 투입하고부터 쓴맛의 감소가 두드러지게 나타났다. 이는 Lee 등[23]의 맥주의 Bitter Intensity 연구에서도 효소의 양이 증가할수록 쓴맛이 감소하는 경향을 보였다고 한 결과와 유사하다. 이는 효소 첨가로 인하여 생성된 당 함량 증가와 함께 단백질 분해로 인하여 쓴맛이 상쇄된 것이 아닌가 사료된다. 누룩과 입국 모두 향과 맛의 기호도에서 혼합효소 360 ppm 농도를 투입한 막걸리가 다른 농도보다 기호도 점수가 높게 나타났으며($p < .05$), 색의 경우 누룩이나 입국 모두 720 ppm의 농도에서 가장 높은 점수를 받았다. 그리고 맛의 기호도에서는 누룩과 입국 모두에서 입국을 발효제로 사용하고 혼합효소 360 ppm을 투입한 막걸리의 맛의 기호도가 가장 높은 점수를 받았다. Blinkovsky et al.[17]은 Sake속의 펩타이드가 Koji에 의해서 가수분해로 생산되며 짧은 펩타이드는 바람직한 맛을 나타내고, 일부 디펩타이드 또는 그 무수물은 쓴 화합물로, 종종 불쾌한 쓴맛 혹은 떼려름한 맛을 보여주며 과도하게 함유

되어 있으면 맛의 조화를 저해한다고 하였다. Hashizume et al.[24]은 Sake 샘플에서 두 개의 새로운 미각 활성 에틸 에스테르화 된 펩타이드를 발견했고, 확인된 화합물의 정도를 측정하였다. 본 연구에서 사용하였던 혼합효소가 중성 또는 약산성 조건에서 단백질 가수분해를 위한 복합제로 쓴맛을 유발하는 단백질을 다수 분해한다[25]는 연구결과에 의해서 쌀의 표면에 많이 존재하는 쓴맛을 유발하는 성분을 가수분해하여 쓴맛 생성을 감소시킨 것이 아닌가 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 발효제를 달리하고 혼합효소 농도별로 처리한 후 발효시킨 막걸리의 쓴맛 차이를 비교하고자 하였다. 측정된 알코올은 모두 18~20% 정도로, 발효제와 혼합효소 처리와는 큰 관련이 없는 것으로 나타났다. pH 변화는 누룩과 입국 모두 4~4.3으로 차이가 없었다. 당도는 입국보다 누룩이 많은 것으로 나타났고, 누룩과 입국의 총산도는 누룩의 경우 혼합효소를 처리하지 않은 샘플에서 0.480으로 낮았으며, 다른 시료에서는 특별한 변화가 없었다. 유기산 총량은 혼합효소 각각의 농도에 대해서 누룩의 경우 입국보다 3배 정도 높았으며, 각각의 발효제에서 혼합효소 농도 360 ppm에서 유기산 함량이 가장 많이 증가한 것으로 나타났다. 향기성분의 경우 누룩과 혼합효소 180 ppm을 투입한 막걸리의 아세

트알데히드가 혼합효소 무첨가 시험구와 360 ppm 투입한 시험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 고급 알코올의 경우에는 혼합효소 180 ppm을 투입한 막걸리에 유의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소 1,400 ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 나타내었다. 혼합효소 투입량에 따른 입국 막걸리에서의 향기 성분 변화는 벤즈알데히드의 경우는 혼합효소 360 ppm과 720 ppm을 투입한 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 수치를 보였다. 고급 알코올의 경우는 혼합효소 3,600 ppm을 투입한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보인 반면, 혼합효소 180 ppm을 투입한 입국 막걸리에서 유의적으로 가장 낮은 농도를 보였다. 쓴맛 강도의 변화를 보기 위한 관능검사의 경우 혼합효소를 180 ppm에서 720 ppm 투입한 경우에 쓴맛의 효과가 서서히 감소하였으며, 1,440 ppm 투입 시 쓴맛의 감소가 두드러지게 나타났다. 색, 향, 맛의 기호도 검사시 누룩과 입국 모두 혼합효소 360 ppm 첨가시 가장 높은 점수를 받았다. 따라서 본 연구결과 입국을 사용하며 혼합효소의 농도 360 ppm으로 막걸리를 제조하는 것이 소비자의 요구에 부합되리라 본다.

References

- [1] Lee KH, Lee SK, Park HY, Sim EY, Woo KS, Oh SK, "Quality characteristics of barley Makgeolli prepared with different barley cultivars and milling recovery", *Korean J. Food Preserv.*, Vol.23, No.4, pp.530-537, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.4.530>
- [2] Murray, T. K., & Baker, B. E, "Studies on protein hydrolysis. I-preliminary observations on the taste of enzymic protein-hydrolysates", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.3, No.10, pp.470-475, 1952.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740031006>
- [3] Guigoz, Y., & Solms, J, "Bitter peptides, occurrence and structure", *Chemical Senses*, Vol.2, No.1, pp.71-84, 1976.
- [4] Maehashi, K., & Huang, L., "Bitter peptides and bitter taste receptors", *Cellular and molecular life sciences*, Vol.66, No.10, pp.1661-1671, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8755-9>
- [5] Kim SY, Park PS, Rhee KC, "Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.38, No.3, pp.651-656, 1990.
- [6] Hong HJ and Lee HS, "Characteristics of bitter peptides from Doenjang", *Korean Journal of Food and Cookery Science*, Vol.10, No.1, pp.45-50, 1994.
- [7] Lemieux, L., & Simard, R. E, "Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition", *Le Lait.*, Vol.72, No.4, pp.335-385, 1992.
- [8] Real Hernandez, L. M., & Gonzalez de Mejia, E., "Enzymatic Production, Bioactivity, and Bitterness of Chickpea (*Cicer arietinum*) Peptides", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.18, No.6, pp.1913-1946, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12504>
- [9] Lim SJ, "A Sensory Evaluation of the Bitter Compounds from *Ixeris dentata* Nakai", *Korean Journal of Food and Cookery Science.*, Vol.12, No.1, pp.115-121, 1996.
- [10] Choi JW, Oh MJ, Ha, SK, Park YK, Park. HY, "Characterization and optimization for beverage manufacture using Korean red ginseng extract", *Korean J. Food Preserv.*, Vol.23, No.3, pp.319-325, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.3.319>
- [11] Chang YJ, Kim EM, Choi YS, Chun KH, Kim YB, "Development Process for Decreasing Bitterness of Doraji (*Platycodon grandiflorum*)", *Korean J. Food & Nutr.* Vol.44, No.10, pp.1550-1557, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.11.1386>
- [12] Kim BH, Jo MR, Kim DW, Kang KW, Kim SG, Kim JS, "Pre-Processing and Manufacturing Process for the Improvement of the Bitter Taste of Bitter Gourd Tea", *Korean Soc of Med. Crop Sci.*, Vol.24, No.2, pp.84, 2016.
- [13] Kim SJ, Lee JS, Yoon IS, Kang SI, Park SY, Jung YC, "Characteristics of Aminopeptidase Retentate Fraction from the Common Squid *Todarodes pacificus* Hepatopancreas Obtained by Ultrafiltration, and Its Lowering the Bitterness", *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol.53, No.1, pp.112-122, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2020.0112>
- [14] Kim MR, "Bitterness and Solubility of Soy Protein, Casein, Gluten, and Gelatin Hydrolysates Treated with Various Enzymes", *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol.39, No.4, pp.587-594, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.4.587>
- [15] Engel, E., Tournier, C., Salles, C., & Le Quéré, J. L., "Evolution of the composition of a selected bitter Camembert cheese during ripening: Release and migration of taste-active compounds", *Journal of agricultural and food chemistry.*, Vol.49, No.6, pp.2940-2947, 2001.
DOI: <https://doi.org/10.1021/jf000966u>
- [16] Hashizume, H, Okuda, M, "Bitter-Tasting Sake Peptides Derived from the N-Terminus of the Rice Glutelin Acidic Subunit", *Food Science and*

Technology Research, Vol.13, No.3, pp.270-274, 2007.

DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.13.270>

- [17] Blinkovsky, A.M., Byun, T., Brown, K.M. and Golightly, E. J., "Purification, characterization, and heterologous expression in *Fusarium venenatum* of a novel serine carboxypeptidase from *Aspergillus oryzae*", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol.65, No.8, pp.3298-3303, 1999.
DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.65.8.3298-3303.1999>
- [18] Takahashi, K., Tadenuma, M., Kitamoto, K., & Sato, S., "L-Prolyl-L-Leucine anhydride a bitter compound formed in aged sake", *Agricultural and Biological Chemistry*, Vol.38, No.5, pp.927-932, 1974.
DOI: <https://doi.org/10.1080/00021369.1974.10861271>
- [19] Lee HS, Kwon SY, Lee SO, Lee SP, "Production of fermented Omija (*Schizandra chinensis*) beverage fortified with high content of gamma-amino butyric acid using *Lactobacillus plantarum*", *Korean J. Food Preserv.*, Vol.23, No.3, pp.326-334, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.3.326>
- [20] Park JH, Yeo SH, Choi JH, Jung ST, "Production of Makgeolli Using Rice Treated with Gaeryang-Nuruk (for Non-steaming Process) Extract", *Korean J. Food Preserv.*, Vol.19, No.1, pp.144-152, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.11002/KJFP.2012.19.1.144>
- [21] Park JH, Bae SM, Yook C, Kim J, "Fermentation characteristics of Takju prepared with old rice", *Korean J Food Sci Technol.*, Vol.36, No.4, pp.609-615, 2004.
- [22] Gil NY, Song J, Eom JS, Park SY, Choi HS, "Changes of physicochemical properties of Cheonggukjang prepared with various soybean cultivars and *Bacillus subtilis* HJ18-9", *Korean J. Food Preserv.*, Vol.23, No.6, pp.811-818, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00163-010-0086-1>
- [23] Lee SJ, Kwon YA, Lee KG, Hong KW, "Improving Qualities of Rice Beer Using Enzymes and Amino Acids", *Food Engineering Progress*, Vol.16, No.2, pp.151-156, 2012.
- [24] Hashizume, K., Okuda, M., Numata, M., & Iwashita, K., "Bitter-tasting sake peptides derived from the N-terminus of the rice glutelin acidic subunit", *Food science and technology research.*, Vol.13, No.3, pp.270-274, 2007.
DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.13.270>
- [25] Kim CW, Choi HJ, Han BK, Yoo SS, Kim CN, "Derivatization of Rice Wine Meal Using Commercial Proteases and Characterization of Its Hydrolysates", *Korean J Food Sci Technol.*, Vol.43, No.6, pp.729-734, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.13.270>

허 작 영(Joa-Young Her)

[정회원]



- 1993년 8월 : 동국대 경대원 전자 계산학 석사
- 2017년 3월 : 서울벤처대학원대학교 발효식품 양조학 박사과정 재학
- 2012년 6월 ~ 현재 : (사) 한국가양주협회 이사장
- 2015년 4월 ~ 현재 : 충남6차산업 제조 전문위원
- 2020년 3월 ~ 현재 : 고창 심원행복학습센터장

<관심분야>

전통주개발

손 은 심(Eun-Shim Son)

[정회원]



- 1996년 2월 : 이화여자대학교 식품영양학과 졸업(이학사)
- 1999년 2월 : 이화여자대학교 식품영양학과 (이학석사)
- 2011년 2월 : 수원대학교 식품영양학과 (이학박사)
- 2006년 1월 ~ 2019년 12월 : 안산대학교 식품영양학과 겸임교수
- 2019년 8월 ~ 2020년 5월 : 네이처센스농업법인 연구소장
- 2020년 6월 ~ 현재 : ㈜비앤에프솔루션 식품사업부 본부장

<관심분야>

식품개발, 발효식품학, 관능검사

정 철(Chul Cheong)

[정회원]



- 1996년 2월 : 독일 뮌헨공대 식품
- 2002년 2월 : 독일 베를린공대 생물공학과 (이학박사)
- 2006년 2월 ~ 현재 : 서울벤처대학원대학교 융합산업학과 교수
- 2010년 3월 ~ 현재 : 한국식품연구원 주류품질인증 심사위원
- 2015년 2월 ~ 현재 : 한국식품과학회 양조분과위원회 위원장

<관심분야>

양조학, 발효식품학