pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 2, pp. 127~132 (2012)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

전통주 저장조건에 따른 유기산 변화연구

최규일* · 김현정 · 김호진 · 김효린 · 김동호 · 안종성 · 손영규 · 송인호
국립농산물품질관리원 시험연구소

Changes of Organic Acids in *Takju* During Storage Conditions

Gyu-Il Choi*, Hyun-Jeong Kim, Ho-Jin Kim, Hyo-Rin Kim, Dong-Ho Kim, Jong-Sung Ahn, Young-Gyu Son, and In-Ho Song
National Agricultural Products Quality Management Service, Seoul Korea
(Received January 20, 2012/Revised March 9, 2012/Accepted May 4, 2012)

ABSTRACT - This study was conducted to investigate of changes for organic acids in *takju* during storage conditions. Two types of takju, unsterilized and sterilized, were used. Acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid and succinic acid were detected in sample. Residues of malic acid was not detected after 7 days storage in room temperature(25°C). In contrast to lactic acid was increased by times after storage. Acetic acid concentrations was gradually increased in room temperature but was not changed in cold temperature(4°C). After storage for 10 days, the organic acid residues lactic acid > citric acid > succinic acid > malic acid > acetic acid in unsterilized takju. Compared to unsterilized sample, organic acid residues in sterilized sample was not significantly changed. Consequently, organic acids residues mainly affected by sterilization.

Key words : takju, organic acid, sterilized, unsterilized, storage

서 론

예로부터 우리 민족에게 탁주는 매우 중요한 발효식품이었으며 우리나라를 대표하는 전통주 중 하나로 최근에 품질개선, 저가 이미지 탈피를 통한 상품의 고급화, 생균 또는 전통적 이미지를 강화한 제품 차별화, 젊은 여성을 포함한 다양한 소비계층의 공략을 통하여 많은 성장을 이루었다.

일반적으로 술이란 알코올 성분이 있는 기호성 음료로서 주류 또는 알코올 음료를 말하며 탄수화물이 미생물의 분해 작용을 받아 알코올을 비롯한 여러 가지 성분이 생긴 일종의 발효 식품이다[1]. 발효원으로는 전분질을 함유하는 곡류, 서류와 당분을 주성분으로 하는 과실류 등이 있으며 우리나라 전통주류인 탁주는 주로 찹쌀이나 멥쌀을 원료로 하고 누룩을 이용하여 용수와 함께 담금하여 만들어지는 발효주이다.

탁주는 과실주처럼 원료에 함유된 당분을 그대로 발효시키는 단발효주가 아니라 곡류 속 전분질을 당화 효소로 당화시켜 발효하는 복발효주이다. 더욱 세분하여 분류하면, 맥주처럼 당화와 발효의 공정이 구분이 되는 단행복발효주와는 달리 당화와 발효가 동시에 일어나는 병행복발효주로 분류된다. 전분질 원료는 누룩에 포함된 효소에 의하여 포도당으로 분해되고 동시에 분해된 당분은 효모가 이용하여 알코올로 전환시킨다[2].

이러한 탁주의 현재 식품공전상의 규격은 알코올, 총산, 진균수 등으로 되어있으나, 제품의 변질이나 이상 등을 평가하는 항목은 없는 실정이다. 탁주가 발효 도중 산패되는 이유는 곡자 또는 공기 중의 젖산균에 의하여 젖산이 생성되거나 또한 생성된 알코올이 초산균이나 낙산균 등에 의하여 초산이나 낙산이 생성되기 때문이라 알려져 있다.

한편, 국립농산물품질관리원(이하, 품관원)에서는「전통주 등의 산업진흥에 관한 법률」('10. 2. 4. 공포, '10. 8. 5. 시행)이 제정되어 술 품질인증을 시행하고 있으며 2011년부터 전통주의 대표주종인 탁주 (막걸리), 약주, 청주, 과실주 등 4개 주종에 대해 시행하고 2012년에는 증류식소주, 일반증류주, 리큐르 등으로 확대해 나갈 방침이다. 이에 따라 우리술의 품질고급화 및 양조기술 향상과 품질인증 술에 대한 제품정보 제공으로 우리농산물의 소비촉진을 유도하는 한편 국내 생산농가 보호 등 다양한 효과를 기대할 수 있을 것이다.

이를 위해서는 술의 품질을 판단할 수 있는 화학적 물질

*Correspondence to: Gyu-Il Choi, 560. 3-Ga, Dangsan-Dong, Youngdeungpo-Gu, Seoul, Korea
Tel: 82-2-2165-6140, Fax: 82-2-2165-6008
E-mail: dover@korea.kr

등의 지표물질을 찾아내어 품질관리에 활용할 필요성이 요구되며, 이에 본 연구에서는 국내산 쌀 100%를 사용한 술 품질인증제품 (살균, 비살균탁주)을 실온(25ºC) 및 냉장(4ºC) 조건에서 일자별 유기산 7종(acetic acid, citric acid, fumaric acid, lactic acid, malic acid, oxalic acid, succinic acid), pH 및 총산도의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

시료

탁주는 국내산 쌀 100%를 사용한 품질인증제품인 살균탁주와 비살균탁주(생탁주)를 현지공장에서 당일 제조한 시료를 수거하여 실온(25ºC) 및 냉장(4ºC)조건에서 저장하면서 0, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 10, 12, 15, 20, 30일에 시료를 채취하여 분석하였다.

시약

실험에 사용된 유기산 표준물질 중 acetic acid, citric acid 및 succinic acid는 Sigma-Aldrich사의 제품을 fumaric acid는 Sigma사의 제품, lactic acid는 Fluka사, malic acid 및 oxalic acid는 Aldrich사의 순도 99%이상 제품을 사용하였다. Acetonitrile, dichloromethane, methanol은 Merck사의 HPLC급 제품을 SPE C18 카트리지는 Phenomenex사의 Strata(1 g / 6cc) 제품을 사용하였다.

분석기기

HPLC는 autosampler가 부착된 Agilent사의 1100 series를 사용하였으며, 질소미세농축기는 청민과학의 Hurricane-ES, 원심분리기는 Hanil union사의 32R Plus, pH meter는 Mettler Toledo사의 MA 235, SPE 전처리 장치는 Varian사의 SPS 24, 초음파 추출기는 제이오텍사의 JAC 4020, 진탕기는 GFL사의 DE 3017, 증류수 제조기는 Milipore사의 Mili-Q RiOs/Elix water purification system, 시험관 교반기는 Thermolyne사의 Maxi MixII, 핫플레이트는 Schott사의 DE/SLR를 사용하였다.

실험방법

pH

각 시료의 pH는 탁주 시료를 3,200 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 3회 반복 측정하였다[3,4,5,6,7,8,9].

총산도

총산도는 pH 측정에서 얻은 동일한 상층액 10 ml에 1% phenolphthalein (Sigma-Aldrich) 지시약을 2-3 방울을 가한 후 0.1 N NaOH 용액으로 시료가 미색에서 선분홍색으로 변할때까지 적정하고 적정 소비량에 0.009를 곱하여 시료 중의 산을 lactic acid로 계산하였다[3,4,6,7,8].

유기산

유기산의 표준물질은 시료를 0.5 g을 100 ml 증류수로 정용한 다음 농도별로 희석하여 검량선을 작성하였으며 fumaric acid는 물에 대한 용해도가 낮아 0.4% HCl로 정용하여 stock solution을 제조한 후 증류수로 희석하여 분석용 표준물질로 사용하였다.

시료분석은 Chun[12], Lee[4]등의 방법을 참고하여 원심분리한 막걸리 시료 10 ml를 dichloromethane 10 ml로 액액분배하여 세척하고 상층을 SPE 정제용 시료로 사용하였다. SPE C18 카트리지에 5 ml 메탄올, 5 ml 증류수를 순차적으로 가해 활성화시킨 후 시료 1 ml를 loading하고 나서 증류수 4 ml로 용출한 다음 RC filter (Regenerated cellulose, 0.2 μm)로 여과하고 HPLC로 분석하였으며 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

분석법의 회수율 및 정량한계

탁주에서의 유기산 분석은 표준물질을 2개 그룹으로 농도별로 3반복으로 처리한 후 나타내었으며 분석법의 회수율 및 정량한계는 아래의 Table 2와 같다.

Fumaric acid를 제외한 6종의 유기산이 70~120%의 회

Tabel 1. Operating condition of HPLC for determinatin of organic acids

HPLC	: Agilent 1100
Column	: YMC Hydrosphere C18(2.0 mm × 100 mm, 3 μm) Column temperature : 30ºC
Injection volumn	: 3 μl
Detector	: DAD (210 nm)
Mobile Phase	: 50 mM KH_2PO_4(pH 2.8), flow : 0.15 ml/min

Table 2. Recovery and LOD of organic acids in takju

Organic acids	Fortification (mg/kg)	Recovery(%) ± SD(%)[a]	LOQ[b](mg/kg)
Acetic acid	15.0	103.7 ± 7.5	7.0
Citric acid	6.0	70.4 ± 10.0	3.0
Fumaric acid	1.0	47.2 ± 18.2	0.2
Lactic acid	20.0	120.0 ± 9.0	10.0
Malic acid	20.0	102.9 ± 5.0	10.0
Oxalic acid	4.0	78.7 ± 4.1	2.0
Succinic acid	30.0	85.0 ± 3.2	16.0

a) Mean values for triplicate samples with standard deviations
b) LOQ : Limit of quantification

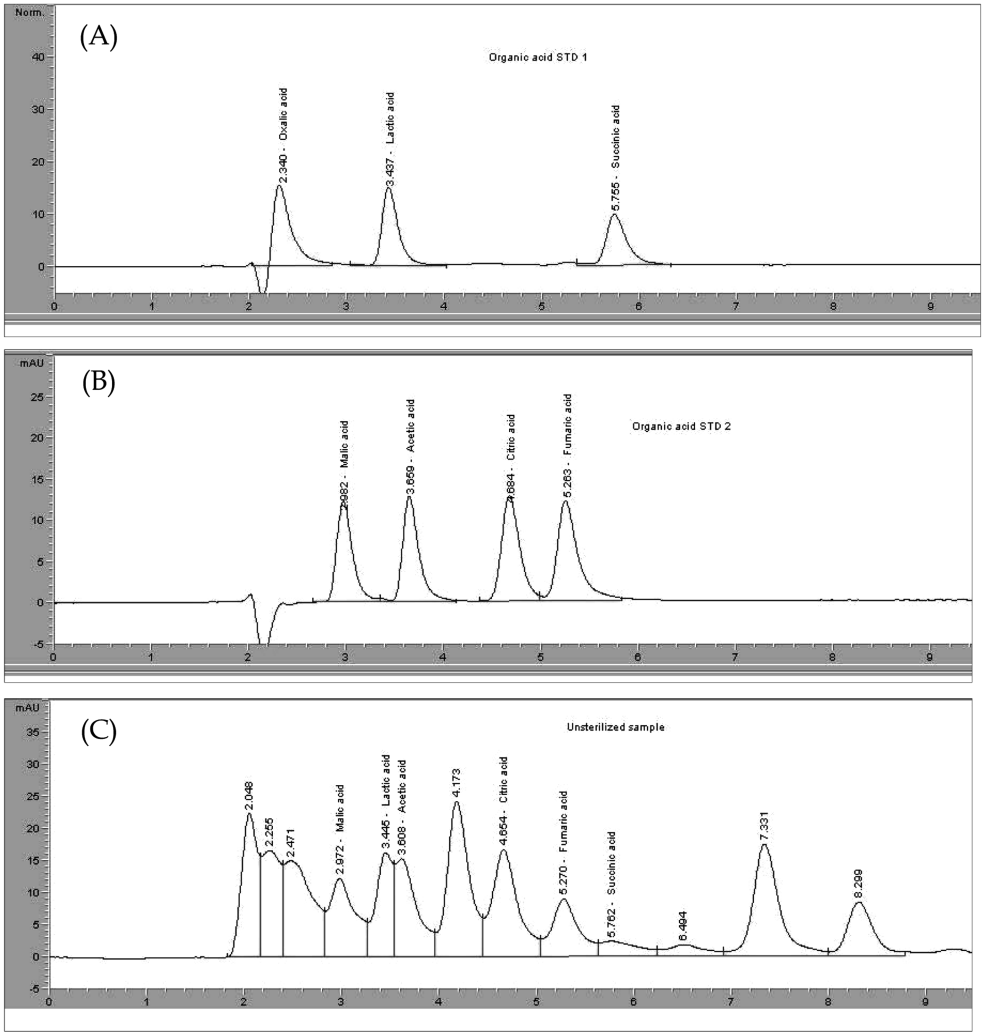

Fig. 1. Typical HPLC chromatogram of organic acid standard (A, B) and unsterilized sample (C).

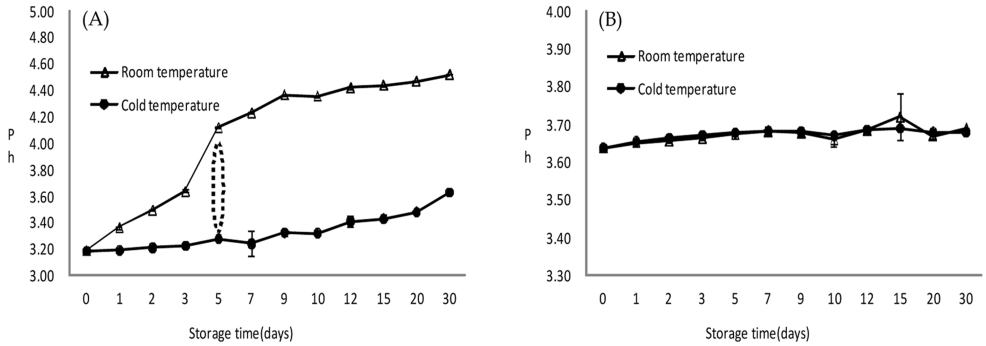

Fig. 2. Changes of pH in unsterilized (A) and sterilized (B) *takju* during storage. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations.

수율을 보였고 정량한계는 0.2~16.0 mg/kg으로 나타났다. 비록 fumaric acid의 회수율이 낮게 나타났지만 본 실험의 탁주에서는 정량한계(0.2 ppm) 수준에서도 검출되지 않은 점을 감안하면 분석에 문제가 없는 것으로 판단되었으며 표준물질 및 시료의 크로마토그램은 Fig. 1에 나타내었다.

pH

생탁주와 살균탁주의 저장에 따른 pH의 변화는 Fig. 2와 같다.

생탁주의 pH는 초기 3.19에서 30일 경과 후 실온 저장시는 4.52로 서서히 증가하였지만 냉장 저장에서는 3.63

으로 약간 증가하였다. 반면에 살균탁주는 저장온도에 상관없이 초기 3.64에서 30일 경과 후 실온 및 냉장저장 모두 3.68수준으로 거의 변화가 없어서 살균탁주의 신선도를 평가하기에는 pH의 측정은 큰 의미가 없는 것으로 판단된다. 이는 Lee 등[6]의 결과와 일치하였다.

Lee 등은 pH와 총산은 발효의 진행정도를 알 수 있는 지표로 사용될 수 있다 하였다[13]. 본 연구결과에서는 생탁주를 실온저장시 특히 3~5일 경과 시점에 급격히 증가하였고(Fig. 2(A)) 냉장저장에서는 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 생탁주는 실온 저장시 지속적으로 발효가 진행되고 있다는 것을 나타내며, 살균탁주는 30일 경과 후에도 pH의 변화가 없는 것으로 보아 미생물에 의한 발효가 진행되지 않는 것을 알 수 있었으며 생탁주는 품질유지를 위해 저장온도가 중요하다고 보여진다.

총산도

총산도는 산패현상을 초기에 판단하는 자료로서 전통주의 맛, 냄새 및 휘발성 향기성분과 관련이 있으며 보존성에도 영향을 주고 있으며 특히 총산이 높으면 신맛이 강하기 때문에 부재료나 calcium carbonate 등을 첨가하여 총산을 낮추는 방법이 사용된다고 한다[10,11].

본 실험결과 총산도는 초기 생탁주와 살균탁주 모두 0.35(%젖산)이었으며 10일 경과 시점에서 0.40 수준으로 약간 증가하였으나 30일 경과 후에는 다시 0.30~0.39 수준으로 큰 차이가 없었다.

이는 담금 직후 총산은 주로 누룩이나 원료에서 유래되나 발효가 진행되면서 술덧 중의 효모나 젖산균 등의 미생물 작용으로 생성된 각종 유기산들이 가산되므로 총산의 함량이 증가하지만, 유기산이 알코올 등과 결합하여 ester와 같은 향미 형성 등에 이용되므로 후기에는 감소된 것으로 추측되며[3] Lee 등[4]의 결과와 비슷하게 나타났다.

이전의 연구에서 So 등[17]은 단백질 분해로 아미노산이 증가하여 술덧의 완충능력을 높여주었기 때문에 총산 함량이 증가하여도 pH가 낮아지지 않는 이유라고 보고한 것과 같이 본 연구의 결과도 비슷한 경향을 나타내었으며 또한 Oh 등[18]의 연구결과도 유사한 패턴을 보였다.

특히 Fig. 3에 나타난 바와 같이 생탁주는 실온에서 30일 경과 후에는 제품이 변질되어 있었지만 실험에서 나타난 수치상으로는 0.39로 나타났다. 이는 현행 술 품질인증품의 총산기준이 0.5로 설정되어 기준에 적합한 것으로 수치상 나타났다.

따라서 총산으로 제품의 품질 기준을 평가하기에는 다소 미흡하다고 판단되어진다. 향후에 좀더 다양한 시료에서 저장과정의 총산도와 제품의 변질도를 조사하면서 실정에 맞는 품질기준을 설정할 필요성이 있다고 보여 진다.

유기산

생탁주의 유기산 변화

술 품질인증품에서 검출된 유기산은 acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid, succinic acid 이었으며, 이들의 저장에 따른 변화는 Fig. 4와 같다.

생탁주는 실온저장에서 malic acid는 초기 352 ppm이 검출되었으나 7일 경과 후 부터는 검출되지 않았다. 이전의 연구에서 나타난 결과에서 malic acid가 밀가루 누룩에서 높게 검출된 사례가 있다는 보고[3]에서 본 실험에 사용된 시료가 쌀 100%로 제조되어 malic acid 검출이 낮았거나 탁주 발효 중 미생물의 대사나 영양원으로 이용[14]되므로 함량이 후기에 감소된 것으로 추측되며 향후 밀가루 원료를 사용한 탁주를 이용하여 비교실험을 할 필요가 있다.

반면 lactic acid는 초기 719 ppm에서 서서히 증가하다가 5일 경과 후부터 급격히 증가하다가 30일 경과 후에 2,089 ppm이 검출되어 양상이 malic acid와 정반대의 패턴을 보여 발효에 의하여 생성되는 탁주의 주요 유기산임을 알 수 있었다. Acetic acid는 실온저장에서는 초기 154 ppm에서 서서히 일정하게 증가하여서 30일 경과 후에 1,214 ppm이 검출되었지만 냉장저장에서는 30일 경과 후에도 변화가 전혀 없어서 온도의 영향을 가장 크게 받는 것으로 나

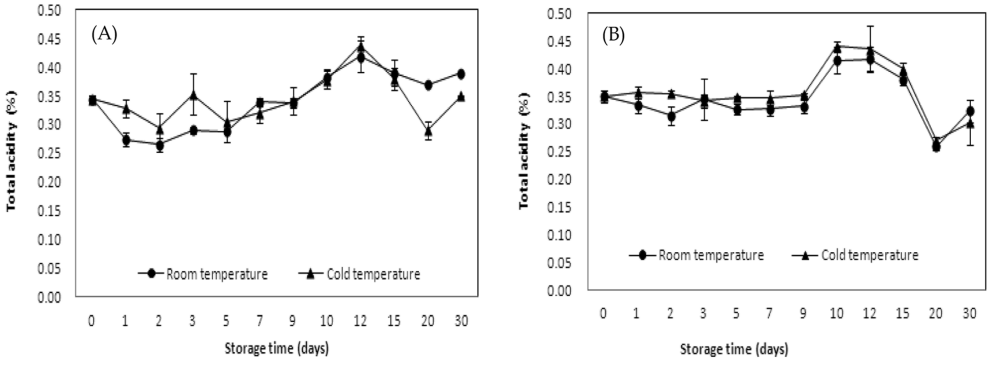

Fig. 3. Changes of Total acidity(%) in unsterilized (A) and sterilized (B) takju during storage. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations.

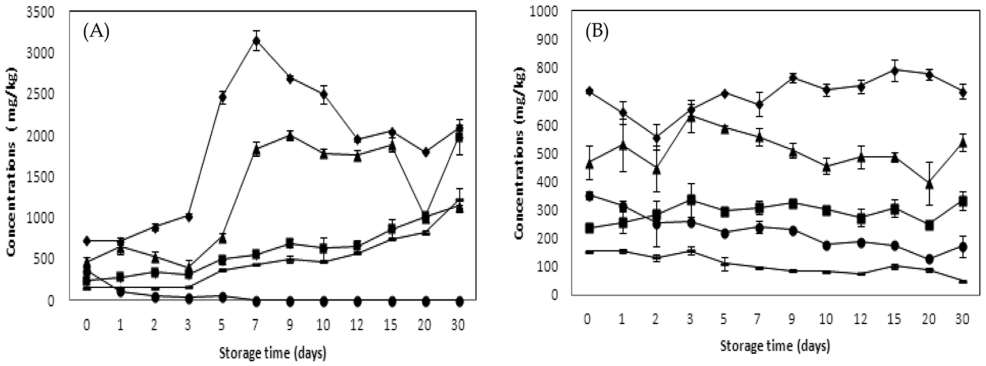

Fig. 4. Changes of organic acid(mg/kg) in unsterilized takju during storage room (A) and cold (B) temperature. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations. —, Acetic acid; —, Citric acid; —, Lactic acid; —, Malic acid; —, Succinic acid.

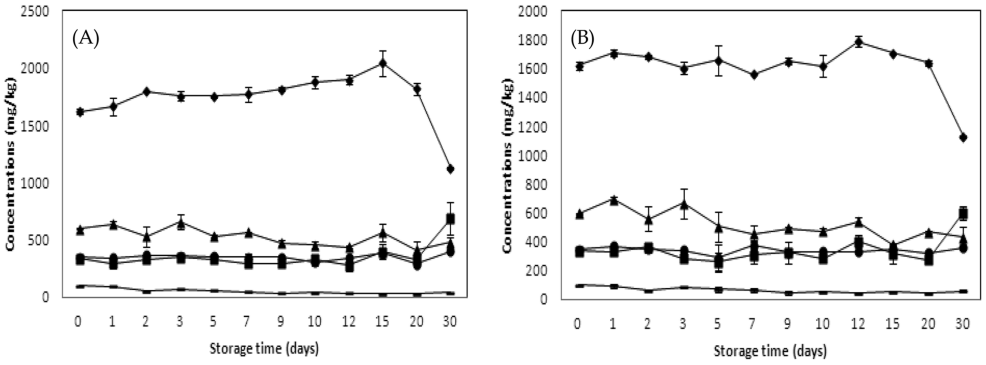

Fig. 5. Changes of organic acid(mg/kg) in sterilized takju during storage room (A) and cold (B) temperature. Values are the average of samples from each of three experiments; error bars represent standard deviations. —, Acetic acid; —, Citric acid; —, Lactic acid; —, Malic acid; —, Succinic acid.

타났다. Citric acid는 초기 467 ppm이 검출되었지만 실온저장에서 서서히 증가하였지만 냉장저장에서는 큰 변화가 없었다. Succinic acid도 citric acid와 유사한 패턴을 보였지만 실온저장에서 특히 20일 이후에 급격히 증가하였다.

살균탁주의 유기산 변화

살균탁주의 저장에 따른 유기산의 변화는 Fig. 5에 나타내었다.

생탁주와 달리 살균탁주는 유기산의 변화가 크게 나타나지 않았다. Lactic acid만이 변화가 없다가 20일 이후에 1,127 ppm 수준으로 약간 감소하였다. Succinic acid는 변화가 없다가 30일 경과 후에 약간 증가하였는데 본 실험의 결과로 lactic acid와 succinic acid가 발효과정 중 주요 유기산으로 보고한 Song[15]의 찹쌀 및 보리쌀 탁주나 Lee[16]의 원료처리를 달리하여 담금한 탁주 술덧의 유기산 결과와 대체로 일치하였다. 따라서 유기산의 변화에 미치는 가장 큰 요인은 미생물의 존재유무 즉 살균과 비살균의 차이이며 살균탁주에서는 저장조건(온도)에 따른 유기산의 함량 차이가 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 국내산 쌀 100%를 사용한 술 품질인증제품 (살균, 비살균탁주)을 실온(ºC) 및 냉장(ºC)조건에서 일자별로 유기산 7종(acetic acid, citric acid, fumaric acid, lactic acid, malic acid, oxalic acid, succinic acid)의 변화를 조사하였다.

그 결과 acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid 그리고 succinic acid 검출되었다. 생탁주는 실온저장에서 malic acid가 초기 352 ppm이 검출되었으나 7일 경과 후부터는 검출되지 않았으며 lactic acid는 초기 719 ppm에서 서서히 증가하다가 5일 경과 후부터 급격히 증가하다가 30일 경과 후에 2,089 ppm이 검출되어 발효에 의하여 생성되는 주요 유기산임을 알 수 있었다. Acetic acid는 실온저장에서 서서히 증가하였지만 냉장저장에서는 30일 경과 후에도 변화가 일어나지 않는 것으로 보아 온도의 영향을 가장 크게 받는 것으로 나타났다. Citric acid와 succinic acid는 실온저장에서 유사하게 증가하는 패턴을 보였다. 생탁주의 유통기간을 감안한 냉장 10일에 유기산의 분포는 lactic acid(722 ppm) > citric acid(454) > succinic acid(299) >

malic acid(177) > acetic acid(83 ppm) 순으로 나타났다.

생탁주와 달리 살균탁주는 유기산의 변화가 크지 않았으며 lactic acid가 초기 1,621 ppm으로 높게 나타났지만 20일 이후에 1,127 ppm으로 약간 감소하였다. 따라서 유기산의 변화에 미치는 가장 큰 요인은 미생물의 존재유무 즉 살균의 유무이며 살균탁주에서는 저장조건(온도)에 따른 유기산의 함량차이가 크지 않은 것으로 나타났다.

이상의 유기산 분석결과에서 acetic acid는 제품의 변질이 없는 생탁주와 살균탁주 모두 실온과 냉장저장에서 존재하는 양이 0~200 ppm 수준이었으나 실온저장 5일경과 후 제품이 변질이 되는 시점에서 350 ppm 수준으로 나타났다. 이는 acetic acid의 양을 기준으로 하였을 때 그 양을 350 ppm 수준으로 관리할 필요성이 있다. 이를 뒷받침 하기 위해 향후에는 제품을 다양화하여 실험을 진행할 계획이다.

생탁주의 pH는 실온저장시 3.19에서 30일 경과 후 4.52로 서서히 증가하였지만 살균탁주는 3.65 수준에서 큰 변화가 없었다. 총산도(%젖산)는 초기 생탁주와 살균탁주 모두 0.35 이었으나 10일 경과 시점에서 0.40 수준으로 약간 증가 후 30일 경과 후 다시 0.30~0.39 수준으로 큰 차이가 없었다. 특히 30일 경과 한 실온보관 생탁주에서 산도가 0.39로 현행 술 품질인증기준의 0.5에 적합한 것으로 나타나 제품의 품질 기준으로 평가하기에는 다소 미흡하다고 판단되어 향후 다양한 시료에서 저장과정의 총산도와 제품의 변질도를 조사하면서 품질기준의 재설정이 요구되었다.

참고문헌

1. Lee, S.R.: Korean Fermented Foods. Ewha Women's University Press, Seoul, Korea. pp. 222-294 (1986).
2. Kim, Z.U.: Food Processing. Moonwoondang, Seoul, Korea. pp. 5 (1985).
3. Park, C.S. and Lee, T.S.: Quality Characeteristics of *Takju* Prepared by Wheat Flour *Nuruks*. *Korean J. Food Sci Technol*., **34**, 296-302 (2002).
4. Lee, H.S., Park, C.S. and Choi, J.Y.: Quality Characetristics of the Mashes of *Takju* Prepared Using Different Yeasts. *Korean J. Food Sci Technol*., **42**, 56-62 (2010).
5. Lee, H.S., Lee, T.S. and Noh, B.S.: Volatile Flavor Components in the Mashes of *Takju* Prepared Using Different Yeasts. *Korean J. Food Sci Technol.,* **39**, 593-599 (2007).
6. Lee, J.W., Jung, J.J., Choi, E.J. and Kang, S.T.: Changes of Quality of UV Sterilized *Takju* during Storage by Honeycomb Type-UV Sterilizer. *Korean J. Food Sci Technol*., **41**, 652-656 (2009).
7. Kim, J.Y., Sung, K.W., Bae, H.W. and Yi, Y.H.: pH, Acidity, Color, Reducing Sugar, Total Sugar, Alcohol and Organoleptic Characteristics of Puffed Rice Powder Added *Takju* during Fermentation. *Korean J. Food Sci Technol*., **39**, 266-271 (2007).
8. Son, H.S., Park, B.D., Ko, B.K. and Lee, C.H.: Quality Characetristics of *Takju* Produced by Adding Different Amonuts of Water. *Korean J. Food Sci Technol.,* **43**, 453-457 (2011).
9. Kim, S.Y., Kim, E.Y., Yoon, S.J., Jo, N.J., Jung, S.K., Kwon, S.H., Chang, Y.H. and Jeong, Y.H.: Physicochemical and Microbial Properties Traditional Rice Wine, *Makgeolli*, Supplemented with Cucumber during Fermentation. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.,* **40**, 223-228 (2011).
10. Hong, H.G.: The effect of on the composition of *takju* of addition of *nuruk* under varied conditions. *MS Thesis*. Seoul Women's University, Seoul, Korea. (1984).
11. Iverson J.: Home winemaking step by step : a guide to fermenting wine grapes. 3rd ed. Stonemark Publishing Co., Medford, MA, USA. pp. 115-125 (2000).
12. Chun, A., Song, J., Hong, H.C. and Son, J.R.: Improvement of cooking properties by milling and blending in rice cultivar Goami2. *Korean J Crop Sci.,* **50**, 88-93 (2005).
13. Lee, S.B., Ko, G.H., Yang, J.Y. and Oh, S.H.: Food Fermentation. Hyoil Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 217-218 (2001).
14. Ryuzo, U., Takeshi, I., Yuzo, I. and Toshio, O.: Studies on changes in microflora and its metabolism during the process of making koji in soy sauce brewing. Seasoning Science 19:31-38(1972).
15. Song, J.Y.: Quality characteristics of *Takju* made of glutinus rice or barley. M.S Thesis, Seoul Women's Univ, Seoul, Korea. (1998).
16. Lee, S.M. and Lee, T.S.: Effect of roasted and defatted soybean on the quality characteristics of *Takju* during fermentation. *J. Nat. Sci.,* **12**, 71-79 (2000).
17. So, M.H., Lee, Y.S. and Noh, W.S.: Changes in microorganisms and main components during Takju brewing by a modified Nuruk. *Korean J Food Nutr.,* **12**, 226-232 (1999).
18. Oh, S.K., Kim, D.J., Ryu, S.J., Chun, Areum., Yoon, M.R., Choi, I.S., Hong, H.C. and Kim, Y.K.: Quality Characetristics of Korean Traditional Wine Using Seolgaengbyeo for Brewing Rice. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.,* **40**, 1189-1194 (2011).