

Original Article

Quality characteristics of improvement pellet *nuruk* inoculated from *Aspergillus luchuensis* 34-1

Eui-Hyoun Jung, Ji-Young Mun, So-Young Kim, Soo-Hwan Yeo*

Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea

Aspergillus luchuensis 34-1 was inoculated into wheat pellets with different conditions of raw materials to produce *nuruk*. The degree of substrate reactivity improvement of steam treated raw materials compared with that of non-heat treated was analyzed. The water content of the pellet was adjusted to 25% and 35%, and steam treatment for 10 minutes improved the substrate reactivity at 2.1-fold and 3.1-fold, and sterilization was also possible. The characteristics of improvement pellet *nuruk* were investigated according to the degree of crushing and water content of raw materials according to the temperatures and humidities (23°C, 30°C and RH 60%, RH 80%). The pH of the pellet *nuruk* was higher depending on the temperature, humidity and moisture content of the koji were lower, and the pH of the flour-pellet *nuruk* was lower than that of 2 mm milling wheat-pellet *nuruk* according to milling degree. It can be seen that the milling degree affects the growth of mold. The acidity and amino acid were generally higher as fermentation time increased. Also, the higher the incubation temperature, humidity and moisture content, the higher the value. Glucoamylase activity was significantly the highest in moisture content 35% D2b *nuruk*, cultured at 30 °C and 80% RH for 38 hours. This is higher than the previous reports on glucoamylase of rice-koji or commercial *nuruk* using fungi isolated from traditional *nuruk*. From these study, it is expected that making of improvement pellet *nuruk* would save the fermentation time considerably compared with traditional *nuruks*.

Key words: *Aspergillus luchuensis*, *nuruk*, water content, fermentation, enzyme activity

Introduction

당분과 전분질이 풍부한 원료에 곰팡이의 효소작용과 효모의 알코올 발효로 만들어진 것이 발효주이다. 발효주는 과일이나 곡물 등을 이용하여 만들어지며, 알코올 도수가 20% 이하로 저장성은 낮지만 원료에 따라 다양한 성분과 관능적 특성을 가진다. 곡류를 이용한 발효주는 누룩곰팡이가 생산하는 전분분해효소를 이용하여 전분을 환원당으로 바꾸어 주며 동시에 효모가 당을 이용하여 발효시키는 병행 복합효를 통하여 곡주가 생산된다[1]. 시판되는 재래누룩 또는 자가생산 누룩은 낱곡류를 거칠게 빻고, 성형하여 원료나 부원료에 주변 환경에 존재하는 야생 미생물이 착생, 번식되어 만들어지며, 살균한 전분질 원료에 순수 배양한 곰팡이를 접종하여 만드는 개량누룩 등이 보고되었다[2-4].

재래누룩은 지역과 원료별 관여하는 미생물의 조성이 다양하여 이들 누룩으로 빻은 곡주는 독특한 맛과 풍미를 가지는 것이 특징이다[5, 6]. 특히, 재래누룩은 술 발효에 유용 및 위해미생물을 동시에 함유하고 있어 공장규모의 대량생산에 있어서 품질관리와 균일한 제품 생산이 어렵다[7-9]. 따라서, 술덧의 안전한 발효와 균일한 주질을 유지하기 위하여 유기산과 당화효소 생산능이 우수한 단일 종균에 의한 입국이 주발효제로써 자리를 차지하게 되었다[10]. 막걸리는 술덧 그 자체를 탁하게 걸러서 마시는 술이기 때문에 담금 시에 발효제로 투입된 곰팡이 효소와 그 대사산물을 함께 음용함으로써 발효제에 사용된 곰팡이의 특성이 주질의 맛과 향에 중대한 영향을 미치게 된다[11]. 누룩에 관한 연구는 시판 재래누룩의 산 생성 균주의 특성과 시중 막걸리의 유기산 및 생리활성 등에 관한 연구와 더불어[12, 13], 재래누룩을 저온 살균하여 잡균을 제거하여 사용하거나[14], 증자 처리한 소맥, 보리, 쌀 등의 전분질에 선별된 단일 또는 복합 미생물을 배양하여 특정 미생물이 대량 번식된 개량누룩을 사용하고 있다[11, 15]. 이러한 노력의 일환으로 Yeo 등[16]은 유용 양조미생물의 자원화 및 종균화를 위해 재래누룩을 수집하였고, 이들 누룩에서 481주의 유용한 미생물을 분리, 동정하였다고

*Corresponding author: Soo-Hwan Yeo

Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea

Tel: +82-63-238-3609, E-mail:yeobio@korea.kr

보고하였다. 본 연구에서는 재래누룩 제조에 주로 사용하는 통밀을 원료로 하여 Yeo 등[16]이 누룩에서 분리·동정한 곰팡이 중 전분분해 능력이 뛰어난 *Aspergillus luchensis* 34-1 (KACC no. 46420, previous name; *A. acidus*) 균주를 이용하여 가락형태로 성형한 개량형 pellet 누룩의 제조방법과 발효조건에 따른 누룩의 품질특성을 규명하고자 한다. 시판 재래누룩의 제조방식은 입국과 비교하여 제조기간이 10배 이상 소요되어 제조 효율의 개선과 품질 균일화가 요구되어왔다. 또한 발효산업에서 입국 사용은 일본식 기법이라는 논란으로 전통주의 정체성에 대하여 지속적으로 문제가 제기되고 있다. 따라서 누룩의 정체성 확립과 제조 효율성 향상을 통한 재래누룩의 문제점 개선을 목적으로 단일 곰팡이 종균(백곡균)을 이용한 개량형 펠렛 누룩의 특성을 규명하여 발효제로서의 가능성을 조사하고자 하였다.

Materials and Methods

공시재료

누룩 제조용 통밀(금강밀)은 2017년산(産)으로 시중에서 구입하였고, 종균은 국립농업과학원 발효가공식품과에서 보관한 *Aspergillus luchuensis* 34-1 (KACC No.46420)을 (주)충무발효(Ulsan, Korea)에서 조제종균으로 제조한 것을 사용하였다.

누룩 성형

펠렛 누룩에 사용한 통밀은 롤밀(Daewoo Machine, Seoul, Korea)을 사용하여 완전히 가루 낸 분곡형과 롤밀의 분쇄 간극을 2 mm로 2회 거친 분쇄물의 조곡형으로 제조하였다. 수분함량은 수분측정용 저울(MX-50, And Co., Ltd, Tokyo, Japan)로 측정하고 가수량은 아래의 방정식으로 25%, 35%로 수분함량을 조정해 누룩 제조에 사용하였으며, 에코로지(Hwasung, Korea)사에서 제작한 직경 6 mm 펠렛 사출기를 통하여 누룩을 성형하였다.

$$\text{가수량} = A * (B - C) / (100 - B)$$

- A: 원료 중량(g),
B: 목표 수분함량(%),
C: 원료 수분함량(%)

기질 반응성 및 살균 유무

증자시간에 따른 원료곡의 기질 반응성을 조사하기 위하여 수분함량을 25% 및 35%으로 설정한 후, 원료를 증자기에 투입하고, 10분 단위로 채취하여 생원료 무게 대비 400% 가수하고, 아래의 방정식으로 정제효소를 처리하였다. 이 혼합물을 55℃ 항온수조에서 1시간 효소 반응시켜 기질 반응성(°Brix)을 분석하였다. 비열처리 원료 또한 400% 가수하고, 효소 미처리 1시간 정치 및 효소 처리 원료는 25℃와 55℃에서 1시간 효소 반응을 하였고, 55℃에서 반응한 비열처리 원료를 기준으로 비교하였다. 원료곡의 미생물 살균 유무는 증자 시간별로 시료 3 g씩을 증류수 30 mL에 추출하여 0.2 mL를 PDA배지에 접종한 후, 28℃에 3일간 배양하여 원료의 살균 유무를 확인하였다.

Table 1. Changes in soluble solids of non heated wheat by different Saccharification conditions (°Brix)

	Saccharification conditions		
	Non ¹⁾	25℃	55℃
Non heated wheat	1.00±0.00 ^b	1.80±0.00 ^a	1.87±0.11 ^a

¹⁾Non enzyme, non heated treatment

Values represent means ± S.D. and values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

$$\text{정제효소 처리량} = (A * B) / C$$

- A: 원료 중량(g),
B: 목표 SP (100 SP),
C: 정제효소 SP (15,000 SP)

Pellet 누룩 배양

수분함량을 조정한 원료(분곡 및 조곡)를 펠렛 사출기로 성형한 후, 증자 및 냉각하여(<40℃), *A. luchuensis* 34-1 균주를 접종하고, 온도(23℃, 30℃) 및 습도(60%, 80% RH) 별로 교차한 4가지 조건으로 배양하였다. 누룩의 제육관리는 일본양조협회(8)의 방법을 참고하였으며, 발효 중 펠렛 누룩 품온이 42℃가 넘지 않도록 하였고, 배양중의 펠렛 누룩은 발효시간(32, 40, 48 h)별로 시료를 채취하였다. 배양이 완료된 시료는 -20℃에 보관하며 각종 분석에 사용하였다.

누룩 일반분석 및 효소활성

pH, 산도, 아미노산도 측정은 주류분석 규정(16)에 준하여 측정하였다. 분석을 위하여 펠렛 누룩 10 g에 물 50 mL를 첨가하여 실온에서 3시간 추출하였고, 추출물을 여과(filter paper No.2, Whatman International Ltd., Maidstone, England)한 뒤, 10 mL를 취해 0.1 N NaOH로 적정하고 그 양(mL)을 산도로 표시하였다. 아미노산도는 여과액 10 mL를 0.1 N NaOH 용액으로 중화한 다음, 중성 포르말린 용액 5 mL를 가하여 유리된 아미노산을 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 소요된 0.1 N NaOH의 mL수로 표시하였다. 효소활성 측정을 위한 조효소액은 펠렛 누룩 10 g에 0.5% NaCl 함유 10 mM acetate buffer (pH 5.0) 50 mL로 실온에서 3시간 추출한 뒤 여과하여 제조하였다. Glucoamylase, α -amylase 및 산성 carboxypeptidase는 양조용 효소 측정 kit (Kikkoman Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 분광광도계 UV-2450 (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 흡광도를 측정된 값을 계산식으로 산출하였으며, 측정값은 wet base를 기준으로 표기하였다.

통계처리

통계처리는 모든 시험의 3회 반복 실험값을 평균±편차로 표시하였고, 유의성은 SPSS (statistical package for social sciences, Version 20, chicago, IL, USA)에 의해

검증하였으며, 각 실험군 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

Results

원료 증자 및 살균 최적시간

비열처리 원료 대비 증자시간에 따른 원료의 기질 반응성을 Table 2에 나타내었다. 원료별 수분함량을 조정된 pellet을 60분간 증자하면서 10분 간격으로 시료를 채취하여 기질 반응성을 분석한 결과, 수분함량 25%로 만든 펠렛은 10분 증자 3.97 °Brix로 가장 높게 나타났고 비열처리 원료대비 2.1배 향상되었으며, 수분함량 35%는

Table 2. Changes in soluble solids of heated wheat by different moistures during saccharification time (°Brix)

Steaming time (min)	Moisture (%)	
	25%	35%
10	3.97 ± 0.12 ^a	5.77 ± 0.51 ^a
20	3.23 ± 0.25 ^b	6.37 ± 0.38 ^a
30	3.57 ± 0.40 ^{ab}	6.07 ± 0.25 ^a
40	3.80 ± 0.26 ^a	5.97 ± 0.64 ^a
50	3.97 ± 0.21 ^a	6.50 ± 0.98 ^a
60	3.97 ± 0.15 ^a	5.43 ± 0.25 ^a

Values represent means ± S.D. and values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

증자시간별로 유의적인 차이 없이, 증자 10분에 5.77 °Brix로 비열처리보다 3.1배 기질 반응성이 향상되었다.

증자시간에 따른 원료의 살균여부 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 2종류의 수분함량(25%, 35%) 조건으로 B자하였을 때, 증기가 올라온 후 10분이 경과하면 비살균 원료에서 생육하는 미생물들이 나타나지 않는 것으로 보아 원료에 대한 살균 조건이 확보되었다.

일반분석

제조한 펠렛 누룩의 일반성분 분석결과를 Table 3에 나타내었다. pH는 배양 온도, 습도 및 누룩의 수분함량이 낮을수록 높게 나타났다. 이러한 것은 누룩 자체의 수분함량과 주변의 낮은 습도로 인하여 건조 속도가 빨라지면서 미생물 생육이 어려웠던 것으로 보인다. 수분함량 25% 누룩은 분곡형이 조곡형보다 pH가 낮으며 원료의 제분형태가 곰팡이 생육에 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 본 연구결과에서도 23°C 60% RH 조건에서 배양한 펠렛 누룩은 발효시간이 경과되면서 다른 배양 조건보다(23°C, 80% RH; 30°C, 60% RH; 30°C, 80% RH) pH가 유의적으로 높게 나타났다.

산도(mL)는 발효시간이 경과됨에 따라 높아지며, 38시간 및 44시간의 경우, 배양 온도, 습도 및 수분함량이 높을수록 산도가 높게 나타났다. 배양온도와 습도, 수분함량이 가장 높은 D2b 시료의 산도가 3.33-3.85로 가장 높았으며, 이와 반대로 가장 낮은 조성을 가진 A1a 시료는 0.49-0.69로 나타났다.

아미노산도(Glycin %) 또한 온도, 습도 및 수분함량이 높을수록 유의적으로 높은 결과를 보였으며, 같은 배양조건에서도 수분함량 25%보다 35% 펠렛 누룩에서

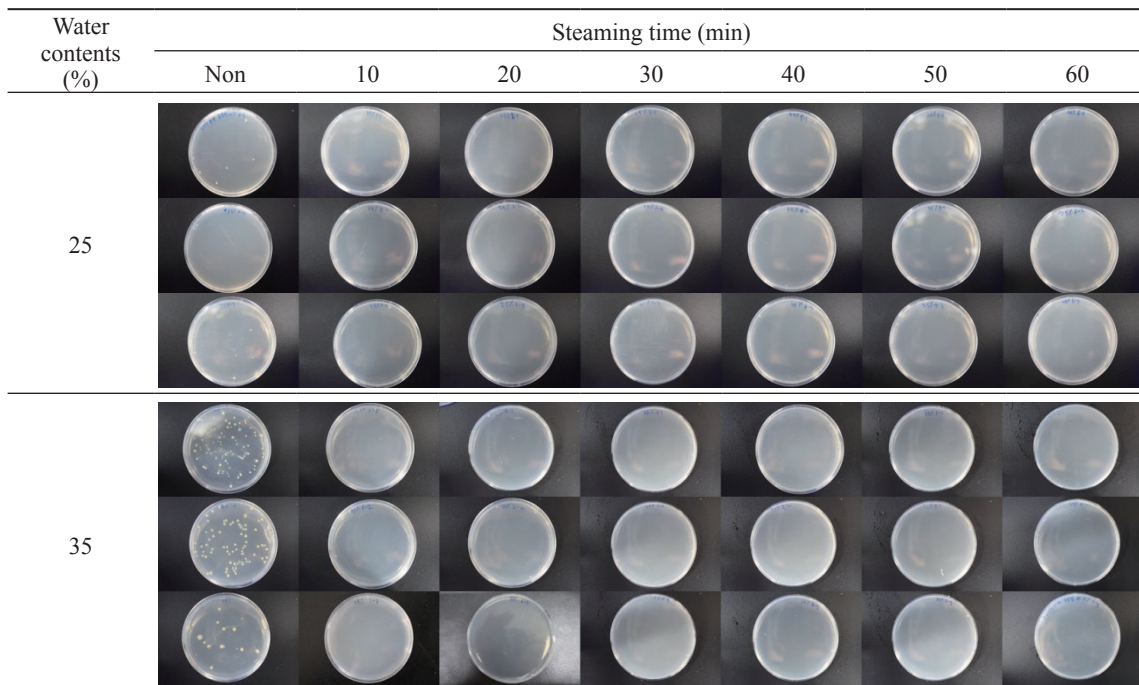


Fig. 1. Microbial bactericidal effects by water content and steaming time.

Table 3. Changes in general components of pellet *nuruk* during fermentation periods

Sample ¹⁾	pH				Acidity (mL)				Amino acidity (Glycine %)			
	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h
A1a	6.21 ± 0.01 ^{ba}	5.85 ± 0.03 ^{bc}	5.91 ± 0.01 ^{eb}	0.49 ± 0.02 ^{ib}	0.74 ± 0.04 ^{ka}	0.69 ± 0.04 ^{la}	0.11 ± 0.03 ^{ba}	0.14 ± 0.02 ^{ia}	0.13 ± 0.02 ^{ba}			
A2a	6.28 ± 0.01 ^{aa}	5.90 ± 0.03 ^{bc}	6.18 ± 0.02 ^{bb}	0.55 ± 0.05 ^{ib}	0.78 ± 0.05 ^{ka}	0.76 ± 0.06 ^{la}	0.12 ± 0.01 ^{bb}	0.16 ± 0.02 ^{bba}	0.16 ± 0.01 ^{gha}			
A1b	5.84 ± 0.01 ^{cb}	5.75 ± 0.01 ^{cc}	5.94 ± 0.00 ^{ba}	0.79 ± 0.07 ^{mb}	0.79 ± 0.04 ^{kb}	0.98 ± 0.08 ^{ka}	0.21 ± 0.01 ^{dea}	0.21 ± 0.01 ^{fa}	0.18 ± 0.02 ^{fga}			
A2b	5.65 ± 0.03 ^{ga}	5.36 ± 0.01 ^{gb}	4.66 ± 0.01 ^{ic}	0.75 ± 0.03 ^{ic}	0.88 ± 0.03 ^{jb}	1.17 ± 0.09 ^{la}	0.15 ± 0.02 ^{gb}	0.19 ± 0.01 ^{ga}	0.14 ± 0.02 ^{ghb}			
B1a	4.88 ± 0.01 ^{ea}	4.54 ± 0.01 ^{eb}	4.56 ± 0.02 ^{bb}	1.08 ± 0.06 ^{gb}	1.79 ± 0.05 ^{ba}	1.71 ± 0.02 ^{ba}	0.12 ± 0.01 ^{bc}	0.25 ± 0.02 ^{cdea}	0.16 ± 0.03 ^{ghb}			
B2a	5.24 ± 0.10 ^{ka}	4.84 ± 0.01 ^{ib}	4.76 ± 0.02 ^{mb}	1.16 ± 0.01 ^{gc}	1.51 ± 0.07 ^{la}	1.41 ± 0.04 ^{ib}	0.19 ± 0.00 ^{eda}	0.18 ± 0.01 ^{ghab}	0.16 ± 0.01 ^{ghb}			
B1b	4.37 ± 0.01 ^{la}	4.25 ± 0.01 ^{mb}	4.11 ± 0.00 ^{cc}	1.58 ± 0.03 ^{ec}	2.19 ± 0.04 ^{eb}	3.91 ± 0.10 ^{aa}	0.23 ± 0.01 ^{db}	0.25 ± 0.01 ^{cedb}	0.35 ± 0.02 ^{eda}			
B2b	4.26 ± 0.01 ^{la}	4.10 ± 0.01 ^{bb}	3.95 ± 0.01 ^{cc}	1.75 ± 0.05 ^{ic}	2.31 ± 0.04 ^{bb}	3.62 ± 0.03 ^{ca}	0.23 ± 0.01 ^{db}	0.26 ± 0.01 ^{cb}	0.32 ± 0.02 ^{da}			
C1a	4.61 ± 0.01 ^{ib}	4.49 ± 0.01 ^{ic}	4.71 ± 0.01 ^{da}	2.27 ± 0.08 ^{ba}	1.90 ± 0.05 ^{bb}	1.70 ± 0.06 ^{bc}	0.22 ± 0.01 ^{da}	0.22 ± 0.02 ^{efa}	0.16 ± 0.02 ^{ghb}			
C2a	4.99 ± 0.02 ^{la}	4.75 ± 0.03 ^{bb}	5.00 ± 0.00 ^{ba}	1.53 ± 0.06 ^{ib}	0.59 ± 0.00 ^{cc}	1.75 ± 0.04 ^{ba}	0.18 ± 0.01 ^{fga}	0.22 ± 0.02 ^{fa}	0.22 ± 0.03 ^{efa}			
C1b	4.51 ± 0.01 ^{ib}	4.28 ± 0.01 ^{kc}	4.59 ± 0.01 ^{ba}	1.78 ± 0.03 ^{ic}	2.59 ± 0.04 ^{bb}	2.79 ± 0.10 ^{ea}	0.31 ± 0.00 ^{bb}	0.33 ± 0.02 ^{bab}	0.37 ± 0.04 ^{ca}			
C2b	4.25 ± 0.02 ^{la}	4.08 ± 0.01 ^{mb}	4.27 ± 0.01 ^{ka}	2.13 ± 0.02 ^{cc}	3.60 ± 0.04 ^{ba}	3.13 ± 0.09 ^{ab}	0.27 ± 0.02 ^{cb}	0.36 ± 0.01 ^{aa}	0.35 ± 0.02 ^{eda}			
D1a	4.64 ± 0.06 ^{la}	4.32 ± 0.01 ^{ic}	4.43 ± 0.01 ^{ib}	1.58 ± 0.03 ^{ec}	2.16 ± 0.05 ^{eb}	2.44 ± 0.08 ^{fa}	0.16 ± 0.01 ^{fgb}	0.23 ± 0.01 ^{defa}	0.16 ± 0.02 ^{ghb}			
D2a	4.69 ± 0.03 ^{bb}	4.56 ± 0.00 ^{cc}	4.75 ± 0.01 ^{ea}	1.64 ± 0.05 ^{eb}	2.09 ± 0.10 ^{la}	2.00 ± 0.03 ^{ga}	0.17 ± 0.02 ^{fgb}	0.21 ± 0.02 ^{fb}	0.26 ± 0.03 ^{ca}			
D1b	4.35 ± 0.01 ^{kb}	4.36 ± 0.03 ^{ib}	4.56 ± 0.00 ^{aa}	2.23 ± 0.12 ^{bc}	3.23 ± 0.05 ^{bb}	3.74 ± 0.16 ^{bca}	0.32 ± 0.02 ^{bb}	0.36 ± 0.02 ^{ab}	0.60 ± 0.03 ^{aa}			
D2b	4.24 ± 0.01 ^{la}	4.08 ± 0.02 ^{mc}	4.14 ± 0.01 ^{ib}	3.33 ± 0.05 ^{ac}	3.60 ± 0.08 ^{bb}	3.85 ± 0.08 ^{aba}	0.36 ± 0.02 ^{ab}	0.36 ± 0.01 ^{ab}	0.42 ± 0.02 ^{ba}			

1) A) 1) b) a)

a) Temperature, humidity : A, 23 °C, 60% RH; B, 23 °C, 80% RH; C, 30 °C, 60% RH; D, 30 °C, 80% RH.

b) Wheat milling degree : 1, 2 mm milling at 2 times; 2, flour.

c) Water contents : a : 25%, b : 35%.

Values represent means ± S.D. and values with different superscripts in the same column (small letter) or row (capital letter) are significantly different at $p < 0.05$.

Table 4. Changes in enzyme activities of pellet nuruk during fermentation periods (Units : unit/g)

Sample ¹⁾	Glucoamylase				α -Amylase				Acidic carboxypeptidase			
	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h	32 h	38 h	44 h
A1a	4.75 ± 0.02 ^{bC}	8.51 ± 0.13 ^{bB}	9.75 ± 0.25 ^{aA}	6.56 ± 0.00 ^{cC}	7.05 ± 0.04 ^{bB}	24.98 ± 0.03 ^{aA}	32.01 ± 0.30 ^{cC}	34.91 ± 0.60 ^{bB}	52.54 ± 0.50 ^{mA}			
A2a	7.31 ± 0.03 ^{kA}	5.40 ± 0.16 ^{cC}	6.16 ± 0.32 ^{bB}	9.11 ± 0.01 ^{mB}	7.88 ± 0.10 ^{cC}	12.18 ± 0.02 ^{pA}	36.76 ± 2.86 ^{bB}	61.51 ± 0.57 ^{mA}	15.71 ± 0.46 ^{cC}			
A1b	32.78 ± 0.04 ^{cC}	63.14 ± 0.13 ^{kA}	34.53 ± 0.28 ^{bB}	22.68 ± 0.02 ^{cC}	22.92 ± 0.03 ^{bB}	43.19 ± 0.03 ^{iA}	60.65 ± 0.11 ^{cC}	185.73 ± 0.69 ^{aA}	142.89 ± 0.11 ^{jB}			
A2b	24.66 ± 0.04 ^{cC}	35.94 ± 0.13 ^B	60.50 ± 0.16 ^A	20.20 ± 0.01 ^{cC}	30.43 ± 0.09 ^{bB}	38.38 ± 0.03 ^{iA}	51.68 ± 0.71 ^{mC}	158.34 ± 0.50 ^{kA}	134.71 ± 0.41 ^{kB}			
B1a	10.20 ± 0.02 ^{bC}	16.63 ± 0.16 ^{mB}	31.86 ± 0.04 ^{mA}	18.15 ± 0.00 ^{mB}	15.87 ± 0.07 ^{mC}	40.88 ± 0.07 ^{kA}	68.57 ± 0.50 ^{kA}	44.42 ± 0.11 ^{nB}	6.60 ± 0.50 ^{cC}			
B2a	15.18 ± 0.03 ^{kB}	10.36 ± 0.16 ^{cC}	51.20 ± 0.09 ^{kA}	27.25 ± 0.01 ^{bc}	35.11 ± 0.04 ^{bB}	43.04 ± 0.02 ^{iA}	59.20 ± 0.00 ^{iA}	37.29 ± 0.82 ^{cC}	46.73 ± 0.59 ^{mB}			
B1b	119.58 ± 0.05 ^{cC}	132.08 ± 0.09 ^{bB}	436.03 ± 0.16 ^{aA}	35.84 ± 0.02 ^{bB}	22.63 ± 0.05 ^{kC}	67.07 ± 0.05 ^{bA}	197.47 ± 0.50 ^{cC}	409.07 ± 0.20 ^B	1,001.89 ± 0.2 ^{aA}			
B2b	169.71 ± 0.07 ^{bB}	90.50 ± 0.19 ^C	388.66 ± 0.26 ^{bA}	36.20 ± 0.02 ^{bB}	17.07 ± 0.04 ^{cC}	47.29 ± 0.04 ^{bA}	212.85 ± 0.71 ^{ec}	583.18 ± 0.60 ^{aA}	375.81 ± 0.79 ^{jB}			
C1a	66.63 ± 0.46 ^{cC}	140.14 ± 0.19 ^{iA}	80.07 ± 0.09 ^{bB}	23.45 ± 0.03 ^{bB}	9.7 ± 0.09 ^{mC}	30.92 ± 0.02 ^{nA}	104.81 ± 0.50 ^{cC}	128.57 ± 1.02 ^B	256.74 ± 1.09 ^{bA}			
C2a	48.21 ± 0.02 ^{bC}	86.19 ± 0.20 ^A	54.03 ± 0.25 ^B	22.17 ± 0.03 ^{cC}	26.47 ± 0.05 ^B	37.94 ± 0.04 ^{mA}	246.05 ± 0.30 ^{aA}	176.22 ± 0.52 ^B	92.20 ± 0.30 ^C			
C1b	92.36 ± 0.06 ^{cC}	151.18 ± 0.20 ^{eA}	142.82 ± 0.25 ^{bB}	28.27 ± 0.03 ^{cC}	51.20 ± 0.03 ^{bA}	49.86 ± 0.03 ^{bB}	225.66 ± 0.46 ^B	206.85 ± 0.89 ^{cC}	309.41 ± 1.09 ^{bA}			
C2b	83.50 ± 0.02 ^{bB}	126.00 ± 0.22 ^{bA}	34.66 ± 0.19 ^C	28.23 ± 0.04 ^{bC}	38.21 ± 0.03 ^B	53.96 ± 0.05 ^{iA}	143.82 ± 0.70 ^{cC}	196.55 ± 0.41 ^{bA}	151.27 ± 0.69 ^B			
D1a	293.67 ± 0.31 ^{bB}	339.85 ± 0.31 ^{eA}	261.24 ± 0.06 ^{cC}	56.55 ± 0.05 ^{bB}	47.63 ± 0.03 ^{dC}	59.90 ± 0.05 ^{eA}	928.76 ± 4.58 ^{aA}	556.06 ± 0.30 ^{bB}	501.14 ± 1.10 ^{cC}			
D2a	214.67 ± 0.09 ^{cC}	238.63 ± 0.22 ^{bB}	292.29 ± 0.19 ^{aA}	33.44 ± 0.03 ^{cC}	49.03 ± 0.03 ^{bB}	59.02 ± 0.01 ^{dA}	508.07 ± 1.03 ^{dC}	534.41 ± 0.86 ^{bB}	630.11 ± 0.57 ^{bA}			
D1b	284.54 ± 31.8 ^{bB}	355.88 ± 0.19 ^{bA}	335.09 ± 0.16 ^{eA}	49.24 ± 0.06 ^{bC}	94.23 ± 0.05 ^{aA}	68.10 ± 0.02 ^{bB}	892.53 ± 0.46 ^{bA}	889.95 ± 0.41 ^{aB}	729.77 ± 0.50 ^{kC}			
D2b	268.40 ± 12.23 ^{bB}	554.95 ± 0.13 ^{aA}	207.58 ± 0.06 ^{cC}	35.51 ± 0.04 ^{cC}	47.25 ± 0.07 ^{bB}	57.50 ± 0.05 ^{eA}	546.82 ± 1.00 ^{cC}	743.30 ± 0.59 ^{bA}	663.77 ± 0.41 ^{eB}			

1) A^{a)} B^{b)} C^{c)}

a) Temperature, humidity : A, 23 °C, 60% RH; B, 23 °C, 80% RH; C, 30 °C, 60% RH; D, 30 °C, 80% RH.

b) Wheat milling degree : 1, 2 mm milling at 2 times; 2, flour.

c) Water contents : a : 25%, b : 35%.

Values represent means ± S.D. and values with different superscripts in the same column (small letter) or row (capital letter) of same component are significantly different at $p < 0.05$.

아미노산도가 높게 나타났다.

제조된 펠렛 누룩의 일반성분 분석결과를 Baek 등 [17]이 보고한 시판누룩 16종과 비교한 결과, pH는 발효기간 전체를 보면 펠렛 누룩이 낮게 나타났고, 산도는 23°C RH 60%의 시험구를 제외하고는 대체로 높은 수치를 보였다. 아미노산 수치는 펠렛 누룩이 전체적으로 낮은 수치를 나타내었다.

효소활성

제조된 펠렛 누룩의 발효 기간별 효소활성(units : unit/g, wet base) 결과를 Table 4에 나타내었다. 효소활성은 습도와 누룩의 수분함량이 높을수록 높게 나타났으며, 전분 분해력의 지표인 glucoamylase 활성은 30°C, RH 80%에서 38시간 발효한 수분함량 35%, 분곡형의 D2b 시료가 554.95 ± 0.13으로 유의적으로 가장 높게 나타났다. 반면 동일한 조건에서 조곡형의 D1b는 355.88 ± 0.19로 156%의 차이를 보였다. B1b(23°C, RH 80%, 44 hr, 35% 수분함량)의 효소활성은 436.03 ± 0.16으로 두 번째로 높은 전분 분해력을 보였으나 포자 생성이 보이기 시작한 시점으로 발효시간을 오래 동안 유지하는 것은 누룩의 품질에 좋지 못하다고 판단되며, Jung 등 [18]이 펠렛 누룩 제조시 32시간을 기점으로 포자의 생성이 관찰된다고 보고한 결과와 유사하였다. Baek 등 [17]이 보고한 시판누룩 15점을 분석한 결과, 당화력은 209.1 ± 95.5(73-348)이었으며, Kim 등 [19]이 전통누룩에서 분리한 45주로 제조한 입국과 비교 분석한 결과와, 29개 입국의 당화력이 197.6 ± 36.2(98-244) unit/g이었다고 보고한 결과보다 높은 당화력을 가진 펠렛 누룩을 생산할 수 있어 산업적 유용성을 높일 수 있다.

α -Amylase 활성은 발효경과 44시간에 유의적으로 높은 수치를 보였고 발효경과 38시간의 D1b 누룩이 94.23 ± 0.05로 가장 높게 나타났으며, 그 후, 발효 6시간이 경과된 44시간의 액화력은 68.10 ± 0.02로 활성이 낮아지는 양상을 나타내었지만 동시간대에 유의적으로 가장 높은 활성을 유지하였다.

술덧에 있어서 고두밥을 용해하는 액화효소나 당화효소가 배유세포층의 전분립에 도달하여야 한다. 이 과정 중에서 배유세포 구성성분에 장애를 받기 때문에 다른 효소의 보조적 작용이 필요하다. 특히 단백질 분해효소는 고두밥의 단백질을 용해시켜 다양한 펩타이드를 생산하며 단백질과 흡착된 액화효소를 유리함으로 고두밥 용해에 있어서 큰 보조 작용을 한다 [20]. 제조한 펠렛 누룩의 산성 carboxypeptidase 활성을 분석한 결과, 낮은 온도와 습도 및 25% 수분함량으로 처리한 시험구는 효소활성이 현저히 낮게 나타났다. 온도와 습도가 높은 30°C, 80% RH 처리구는 활성이 비교적 높았으며, 특히, 32시간 발효한 처리구(D1a)는 928.76 ± 4.58로 가장 높은 활성이 나타났으나, 발효 44시간에 501.14 ± 1.10까지 크게 저하되는 경향을 보였다. 38시간의 α -amylase 활성이 높게 나타났던 D1b의 산성 carboxypeptidase 활성은 889.95 ± 0.41로 유의적으로 가장 높은 활성을 보였으며, glucoamylase 활성이 가장 높았던 D2b시료가 743.3 ±

0.59로 두 번째로 높은 활성을 보였다.

Discussion

본 연구는 재래누룩에서 분리·동정한 *Aspergillus luchuensis* 34-1을 활용하여 원료와 배양조건에 따른 펠렛 누룩의 특성을 검토하였다. 비열처리 원료 대비 증자시간별 원료의 기질 반응성 향상 정도를 분석한 결과, 수분함량 25% 및 35% 펠렛을 10분간 증자하면 각각 2.1배 및 3.1배 기질반응성이 향상되었고, 원료의 살균도 가능하였다. 배양시간별 펠렛 누룩의 특성을 조사한 결과, pH는 온도, 습도 및 누룩의 수분함량이 낮을수록 높았다. 이는 누룩 자체 수분함량과 주변의 낮은 습도로 인하여 건조 속도가 빨라지면서 미생물 생육이 어려운 것으로 보이며 분곡형이 조곡형보다 pH가 낮게 나타나 원료의 제분형태가 곰팡이의 생육에 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 산도(mL)와 아미노산도(Glycin %)는 발효가 경과됨에 따라 높아졌으며, 온도, 습도 및 수분함량이 높을수록 높았다. 효소활성 또한 습도와, 누룩의 수분함량이 높을수록 높게 나타났다. Glucoamylase 활성은 D2b(30°C, 80% RH, 38 h, 수분함량 35%, 분곡형)가 554.95 ± 0.13으로 유의적으로 높게 나타났으며, 이는 기존에 보고된 재래누룩에서 분리한 균주로 제조한 쌀 입국이나 시판 재래누룩들의 당화력보다 높은 당화력 수치로서 펠렛 누룩에 곡균을 배양하면 기존 재래식누룩이나 입국에 비하여 품질을 떨어뜨리지 않으며, 제조효율도 상당히 높일 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

Acknowledgements

이 논문은 농촌진흥청 농업과학기술개발사업(과제번호 PJ01248301)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

ORCID

Eui-Hyoun Jung, <https://orcid.org/0000-0002-4606-8612>

Ji-Young Mun, <https://orcid.org/0000-0002-7442-4725>

So-Young Kim, <https://orcid.org/0000-0002-9729-6869>

Soo-Hwan Yeo <https://orcid.org/0000-0001-7722-7447>

References

1. Yu JH, Pyun YR. Alcoholic liquors. In: Biotechnology. Seoul: Hyoil. 2008. p. 256-257.
2. Park CS, Lee TS. Quality characteristics of Takju prepared by wheat flour *Nuruks*. Korean J Food Sci Technol 2002;34:296-302.
3. Bae SM, Lee YH, Lee MK, Kang SA, Cheong C. Ef-

- fect of traditional *Nuruk* ratio and yeast on the fermentation and quality of Yakju. J East Asian Soc Diet Life 2008;18:41-48.
4. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Quality characteristics in mash of Takju prepared by using different *Nuruk* during fermentation. Korean J Food Sci Technol 1997;29:555-562.
 5. Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG. Bibliographical study on microorganisms of traditional Korean *Nuruk* (since 1945). J Korean Soc Food Sci Nutr 1998;27:789-799.
 6. Lee HH, Lee JH, Ko YJ, Park MH, Lee JO, Ryu CH. Changes in allergenicity and quality of *Nuruk* during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 2009;38:76-82.
 7. Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yoo DS. Enzymological characteristics and identification of useful fungi isolated from traditional Korean *Nuruk*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1998;26:456-464.
 8. Choi JS, Jeong ST, Choi JH, Choi HS, Baek SY, Yeo SH. Quality characteristics of wheat *Nuruks* by storage conditions of liquid starters using *Rhizopus oryzae* N174. Korean J Microbiol Biotechnol 2012;40:319-324.
 9. Kim MS, Jeon JA, Jeong ST, Choi JH, Choi HS, Yeo SH. Characteristics of Byeo-*Nuruk* according to the mixing ratio of wheat and the addition rate of moisture. J East Asian Soc Diet Life 2011;21:897-904.
 10. Rha KY. Seed mold, important in brewing. Korean J Food Nutr 1989;1:108-110.
 11. So MH, Lee JW. Takju brewing by combined use of *Rhizopus japonicus*-*Nuruk* and *Aspergillus oryzae*-*Nuruk*. J Korean Soc Food Sci Nutr 1996;25:157-162.
 12. Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park SY, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim GW. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial Makgeolli. Korean J Food Sci Technol 2011;43:206-212.
 13. Park JH, Chung CH. Characteristics of Takju (a cloudy Korean rice wine) prepared with *Nuruk* (a traditional Korean rice wine fermentation starter), and identification of lactic acid bacteria in *Nuruk*. Korean J Food Sci Technol 2014;46:153-164.
 14. Park JH, Choi JH, Yeo SH, Jeong ST, Choi HS, Kang JE, Kim SR. A study on the quality characteristics of Makgeolli using heat treatment of traditional Korean *Nuruk* extract. J East Asian Soc Diet Life 2013;23:620-628.
 15. So MH. Improvement in the quality of Takju by the combined use of *Aspergillus kawachii* and *Aspergillus oryzae*. Korean J Food Nutr 1991;4:115-124.
 16. Yeo SH, Baek SY, Jeong ST, Choi JH, Choe HS, Park HY, Jo YM, Kim JY, Baek CH, Lee YJ, Jeong DH, Yun HJ. Application technology of useful brewing microorganisms. Wansan, Korea: National Institute of Agricultural Science; 2014. p. 265.
 17. Baek SY, Yun HJ, Choi HS, Hong SB, Koo BS, Yeo SH. Screening and characteristics of useful fungi for brewing from commercial *Nuruk* in Chungcheong provinces. Korean J Microbiol Biotechnol 2010;38:373-378.
 18. Jung EH, Kim YS, Jeon JA, Yeo SW, Jung ST. Properties of Yakju and pellet *Nuruk* inoculated with *Aspergillus oryzae*. Korean J Food Preserv 2018;25:722-729.
 19. Kim JH, Kwon YH, Lee AR, Kim HR, Ahn BH. Manufacture of Koji using fungi isolation from *Nuruk* and identification of Koji molds. Korean J Mycol 2012;40:187-190.
 20. Japan Brewing Association. *Koji* Management. In: Bae SM (ed.). Cheongju manufacturing technology. Seoul: Woogok publisher; 2008. p. 179-204.