

국내 재배 홉을 이용한 증류식 소주 제조 방법

권예슬¹ · 김미성¹ · 최현진¹ · 이춘화¹ · 강창수² · 박상훈³ · 김송이⁴ · 최한석^{2*}

¹한국농수산대학교 농수산물가공전공 연구원, ²한국농수산대학교 농수산물가공전공 교수,

³농업회사법인홉앤호프주식회사 대표, ⁴농업회사법인홉앤호프주식회사 연구원

Manufacturing of Distilled Soju Using Hops Grown in Korea

Ye Seul Kwon¹, Mi Seong Kim¹, Hyun Jin Choi¹, Chun Hwa Lee¹, Chang-Soo Kang², Sanghun Park³,
Songyi Kim⁴ and Han-Seok Choi^{2*}

¹Researcher, Major of Agriculture & Fisheries Processing, Korea National University of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Republic of Korea

²Professor, Major of Agriculture & Fisheries Processing, Korea National University of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Republic of Korea

³President, HOP&HOPE Agriculture Co., Ltd., Buan 56319, Republic of Korea

⁴Researcher, HOP&HOPE Agriculture Co., Ltd., Buan 56319, Republic of Korea

ABSTRACT

In the present study, using locally grown hops, we aimed to improve the quality of distilled soju by maintaining the hoppy flavor while reducing the grassy flavor. We analyzed the volatile aromatic components of hops grown in Buan, South Korea, and evaluated the effects of hop addition on their fermentability. Hops added to distilled soju proportionately reduced alcohol production, increased isoamyl alcohol content, and decreased 2-phenylethyl alcohol and ethyl acetate content. Among the hop-derived components with floral aromas, the contents of linalool and grassy components such as 1-hexanal increased in proportion to the amount of hops added. The use of hops cultivated with *Aspergillus oryzae* caused a decrease in the contents of linalool and grassy components of distilled soju. Specifically, the content of 1-hexanal was removed to undetectable levels, while those of mycene and cis-3-hexenal were reduced, which improved the quality of the produced distilled soju. Notably, the distillation of hop-added mash after the removal of hops by filtering immediately before distillation selective removed 1-hexenal without altering the linalool components.

Key words: distilled soju, hops, *Humulus lupulus* L., off-odor, grassy odor

서 론

우리나라 증류식 소주의 소비량은 2012년 693 kL에서 2021년 2,567 kL로 지난 10년간 3.70배 상승하였다. 반면 동일 기간 희석식 소주의 소비량은 1.15배 감소했다(KOSIS 2021). 최근 ‘원소주’ 등 대중적으로 인지도를 가진 사람들이 참여하면서 증류식 소주 시장은 더욱 성장할 것으로 예측된다. 국내 농산물을 사용하는 증류식 소주의 소비 증가는 쌀 소비 확대와 관련이 높기 때문에 몇 가지 연구가 진행되어왔다. 쌀 증류식 소주의 제조 방법에 대해서는 미생물 선발(Choi HS 등 2017), 급수량 설정(Bae SM 등 2003), 증류 공정(Ryu LH & Kim YM 2002), 숙성(Kim WK & Lee SJ 2019; Cha J 등 2020) 등에 대한 접근이 있었다. 반면, 제조

현장에서는 다른 제품과의 차별성을 두고 소비자의 선택을 받기 위해 향을 강화시키기 위한 노력을 기울여왔다. 롯데주류에서는 꽃향을 가지고 있는 ‘청하’를 증류시켜 만든 ‘대장부’를 생산하였었고 많은 회사에서 오크통에 숙성한 증류식 소주를 판매하고 있다.

홉은 특유의 향미로 맥주를 물과 차 다음에 많이 마시는 음료로 만들었으며(Bowen R & Miller M 2022), 우리나라에서는 2021년 420톤(8,109천 달러)을 수입하였다(KCS Trade Statistics 2022). 전북 부안에서는 미국에서 2018년 홉 종자 여러 종을 수입하여 국내 재배 가능성을 검토하였고 이 중 2종을 재배에 성공하였다(Park SH 등 2021). 현재 부안을 포함하여 5개 농가에서 홉 종자를 수입하여 재배하고 있으나(KSVS 2022) 큰 소비처를 찾지는 못하고 있는 실정이다. 홉을 사용하여 제조한 증류주는 세계적으로 찾기 어렵기는 하나 독일의 바이에른 지방에서 ‘bierschnaps’는 지역특산주로 판매되고 있다(McCarty K 2015). 우리 팀에서는 부안의 농

* Corresponding author : Han-Seok Choi, Tel: +82-63-238-9321, Fax: +82-63-238-9329, E-mail: coldstone@korea.kr

가와 같이 홉의 향이 부여된 증류식 소주를 제조하기로 하고 예비 시험을 하였다. 그 결과 예상과는 달리 홉의 꽃향보다는 풀냄새가 강하게 느껴졌고 많은 개선이 필요하다는 결론에 도달하였다.

홉의 꽃향은 linalool, geraniol, β -damascenone, β -citronellol, ester 류에 크게 영향을 받으며(Rettberg N 등 2018), 풀취는 (Z)-3-hexenal, hexanal(Hanke S 2009; Rettberg N 등 2018) 및 myrcene(Holt S 등 2019) 성분에 의해서 주로 영향을 받는 것으로 조사되었다. 본 연구에서는 홉에 양조용 곰팡이 배양하여 홉의 꽃향은 유지하면서, 풀취 성분을 선택적으로 제거하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 사용균주

본 실험에 사용한 홉은 국내산의 경우 전북 부안 농업회사법인 홉앤호프(주)(Buan, Korea)에서 일반 품종과 캐스케이드 품종을 제공받았고, 수입산은 캐스케이드 품종(Yakima Chirf Hops, Washington, USA)과 센테니얼 품종(Yakima Chirf Hops, Washington, USA)을 (주)비전바이오캡(Songpa-gu, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 양조용 곰팡이 중 국산 황국균(*Aspergillus oryzae*)과 백국균(*Aspergillus luchuensis*)을 (주)충무발효(Ulsan, Korea)에서 구입하였다. 술덧 제조에 사용한 glucoamylase(Diazyme[®]X4)와 α -amylase(Spezyme Fred)는 (주)비전바이오캡(Songpa-gu, Seoul, Korea)에서 구입하였다. 효모는 실험실에서 분리하여 보관 중인 *Saccharomyces cerevisiae* N9(Choi HS 등 2004; Ahn BH 등 2014)을 YPD배지(BD Difco, New Jersey, USA)에 접종하고 30°C에서 48시간 전배양 한 후 사용하였다.

2. 양조용 곰팡이 배양

건조된 홉 200 g을 30분간 수침하여 수분을 흡수하도록 한 다음 10분간 물빼기를 하였다. 이때 홉의 수분함량은 11.2%에서 89.1%로 상승하였다. 여기에 중국을 건조 홉 중량 대비 1% 접종하고 제국기(HKW-60, Yaegaki Food, Hyogo, Japan)에서 8일간 배양하였다. 제국기의 온도는 38°C를 유지했으며, 상대습도는 제국기 하단에 물을 놓아 포화습도를 유지하도록 하였다. 홉은 균주별, 일자별로 분할하여 배양하였으며 매일 동일한 시간에 회수하여 -80°C에 냉동보관(DF8524, IlshinBioBase Co., Dongducheon, Korea)하면서 분석시료로 사용하였다.

3. 홉첨가 술덧의 제조

쌀을 롤밀(SKS, Roll Type, Kyungchang, Seoul, Korea)을

사용하여 1.5 mm 이하로 거칠게 분쇄하였다. 분쇄된 쌀 500 g에 물 1,000 g을 첨가한 후 glucoamylase와 α -amylase를 총량의 각각 1,000 mg/L가 되도록 넣어 주었다. 이 혼합물에 일반 품종 홉을 전체 양의 2%, 4%, 6%, 8%, 10%가 되도록 첨가하였고 전배양된 효모를 전체 양의 1%를 넣어서 발효를 진행하였다. 발효는 25°C로 조절된 수욕 상에서 14일간 진행하였고 매일 1회 교반 후 무게를 측정하여 줄어드는 무게를 CO₂ 증발량으로 하였다. 배양 홉을 첨가한 술덧 제조에서는 황국균으로 2일간 배양된 홉을 사용하였으며 첨가량은 수분함량을 고려하여 건조 홉 무게 기준 전체 양의 1%로 하였다. 대조구로는 비배양 홉을 동일하게 1% 첨가하여 처리하였다.

4. 증류식 소주의 제조

술덧 800 g을 감압증류(110 mmHg) 하였으며 회전증발농축기(R-114, BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland)를 개조하여 사용하였다. 즉, reciving flask쪽에 튜빙을 연결하여 용량 측정이 가능한 드로핑 핀넬을 제작하여 부착하였다. 수욕의 온도는 80°C로 하였고 회전은 50 rpm으로 조정하여 증류하였다. 증류는 술덧량의 40%인 320 mL의 증류 원액이 받아들 때까지 진행하였다. 이후 알코올 함량을 측정하고 알코올 농도가 25% 되도록 물을 첨가하여 증류식 소주를 제조하였다. 배양 홉이 첨가된 술덧을 증류할 때는 술덧을 거름망에 여과한 것과 여과하지 않은 것으로 구분하여 비교하였다. 거름망은 100 메쉬체를 사용하여 술덧에 첨가된 홉이 제거되도록 하였다.

5. 이화학 성분 분석

홉의 수분함량은 적외선 수분 측정기(JP/FD-720, Kett Engineering Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 홉의 첨가량별 술덧의 pH는 상등액 100 mL를 취하여 pH meter(Orion Star A214, Thermo Scientific Co., MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 알코올 함량은 알코올 측정계(DMA 101, Anton Paar Co., Graz, Austria)로 측정하였다.

6. 휘발성 성분 분석

홉 향기성분 분석은 홉 1 g에 dichloromethane(Sigma Aldrich, Missouri, St. Louis, USA) 50 mL를 넣고 교반한 다음 때때로 흔들어주면서 24시간 동안 추출하였다. Dichloromethane층액을 회수한 후 sodium sulfate(Sigma Aldrich)를 넣어 물을 제거한 다음 0.45 μ m syringe filter(Nylon, Sartorius AG, Goettinge, Germany)로 여과한 것을 분석 시료로 하였다. 증류식 소주(알코올 25%)는 0.22 μ m syringe filter(Nylon, Sartorius AG)로 여과한 것과 증류식 소주 50 mL에 dichloromethane 10 mL를 첨가하여 분배시킨 시료를 비교 분석하

였다.

휘발성 향기성분은 gas chromatography(Nexis GC-2030, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 분석하였다. 분석용 column은 fused silica capillary 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm film thickness(Nukol™, Supelco, Bellefonte Co., PA, USA)를 사용하였다. Column oven의 온도는 50℃(5분), 분당 3℃씩 승온하여 200℃(5분)로 프로그램을 설정하였다. Carrier gas (N₂)의 유속은 24.2 cm/sec(lineary velocity), split ratio는 20:1로 설정하였다. Injector의 온도는 250℃, detector는 FID를 사용하였으며 온도는 280℃로 하였다. 분석에 사용한 표준시약은 Sigma Aldrich사의 제품을 사용하였다. 정량은 외표준방법으로 하였다.

7. 통계처리

통계는 SPSS 프로그램(Version 12.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA) 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 시료 간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 국내 재배 홉의 휘발성 향기성분

국내 재배 홉의 휘발성 향기성분을 Fig. 1과 Table 1에 나타내었다. 국내 부안지역에서 재배된 2개 품종의 휘발성 성

분의 합계는 일반 품종이 370.60 mg/100 g dry base이었고 캐스케이드 품종은 655.99 mg/100 g dry base로 1.8배 차이를 보였다. 본 연구에 사용된 일반 품종의 성분 중 관능적으로 좋은 향(예: 꽃향)을 주는 ethyl isobutyrate, linalool, geraniol, β -ionone, 2-phenyl isovalerate의 합은 18.25 mg/100 g dry base인 반면, 아로마 홉인 캐스케이드 종의 합은 112.41 mg/100 g dry base로 품종 간의 큰 차이를 보였다. 홉의 주된 향으로서 맥주의 관능에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있는 linalool(Hanke S 2009)의 일반 품종의 함량은 9.17 mg/100 g dry base로 캐스케이드 품종에 비해서 약 1.8배 낮았다. 또한 geraniol과 β -ionone의 함량은 모두 불검출로 캐스케이드 품종의 각각 16.64, 33.36 mg/100 g dry base에 비하여 향의 강도가 낮은 것으로 나타났다. 이취(예: 잔디 깎는 냄새)로 작용하는 1-hexanal, myrcene, 6-methyl-5-hepten-2-one, 1-hexanol, *cis*-3-hexen-1-ol, *cis*-3-hexenal의 합계량은 일반 품종이 352.36 mg/100 g dry base이었고 캐스케이드 품종이 543.58 mg/100 g dry base으로 캐스케이드 품종이 높은 것으로 분석되었다.

국내에서 재배된 캐스케이드 품종과 수입된 캐스케이드 품종의 휘발성 향기성분을 비교해 보면 수입된 캐스케이드의 성분합계량이 623.24 mg/100 g dry base로 국내에서 재배된 캐스케이드 품종과 차이가 없었다. 또한 개별 성분량에서도 통계적 유의성이 없는 것으로 나타나 국산 재배에 대한 가능성을 시사하였다.

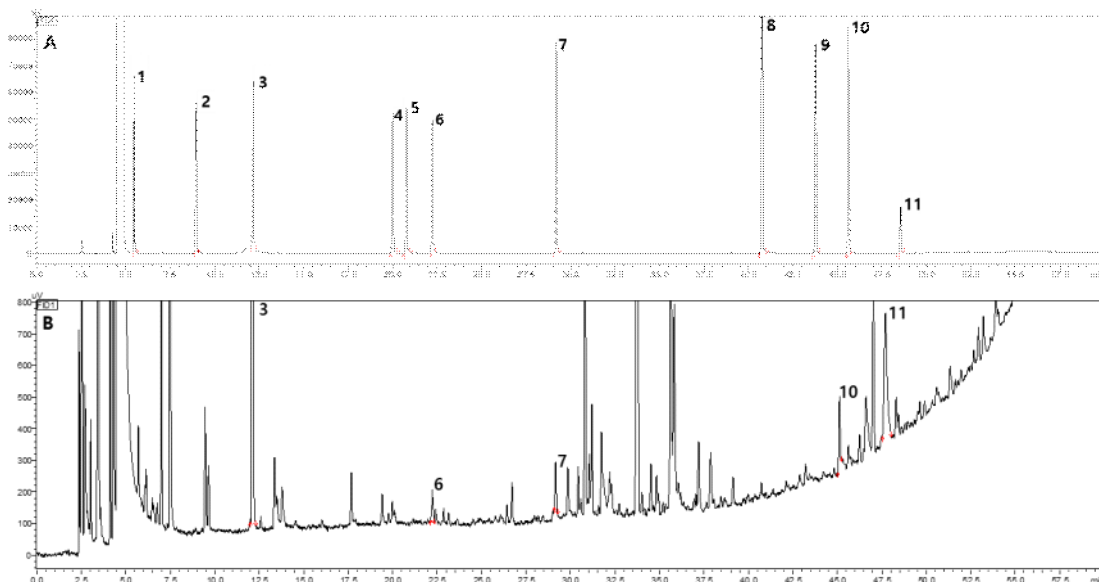


Fig. 1. Typical GC-chromatogram of 11 aromatic volatile components of hops. (A) Standard (B) 'common' variety of hops grown in Buan, Korea.

1: ethyl isobutyrate, 2: 1-hexanal, 3: myrcene, 4: 6-methyl-5-hepten-2-one, 5: 1-hexanol, 6: *cis*-3-hexen-1-ol, 7: linalool, 8: geraniol, 9: β -ionone, 10: 2-phenylethyl isovalerate, 11: *cis*-3-hexenal.

Table 1. Contents of 11 selected aroma compounds in domestically cultivated hop varieties

Compounds	Order quality ¹⁾	Concentration (mg · 100 g ⁻¹ dry matter)			
		Locally cultivated hops		Imported hops	
		Common	Cascade	Cascade	Centennial
Ethyl isobutyrate	Citrus, pineapple, sweet	ND	ND	ND	ND
Linalool	Floral, citrus, terpenic	9.17±0.15 ^c	16.36±1.41 ^b	15.54±1.34 ^b	34.47±1.86 ^a
Geraniol	Floral, rose-like	ND	16.64±0.16 ^b	15.81±0.16 ^b	25.31±0.42 ^a
β -Ionone	Floral, violet-like, berry	ND	33.36±1.03 ^a	31.69±0.98 ^a	17.24±0.41 ^b
2-Phenylethyl isovalerate	Floral, minty	9.08±0.30 ^c	46.05±3.13 ^b	43.75±2.97 ^b	85.12±10.35 ^a
1-Hexanal	Green, leafy	ND	ND	ND	ND
Myrcene	Heraceous, resinous, green ²⁾	230.12±0.33 ^c	496.32±26.17 ^b	471.54±24.87 ^b	1,199.63±39.22 ^a
6-Methyl-5-hepten-2-one	Citrusy, green ³⁾	ND	ND	ND	12.7±0.14
1-Hexanol	Green, leaf	ND	ND	ND	ND
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	Muscat-like, green	12.98±1.52 ^a	ND	ND	ND
<i>cis</i> -3-Hexenal	Green, leafy	109.26±14.57 ^a	47.26±2.67 ^b	44.90±2.54 ^b	59.18±2.68 ^b
Sum		370.60±16.87	655.99±34.58	623.24±32.85	1,433.65±55.08

All values are mean±S.D. (n=3).

ND: Not detected.

^{a~c} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Kishimoto *et al* 2006.

²⁾ Haslbeck *et al* 2017.

³⁾ Kishimoto *et al* 2021.

2. 국내 재배 일반 품종을 첨가한 증류주의 특성

일반 품종 홉의 첨가량별 발효 및 증류 경과를 Fig. 2 및 Table 2, 3에 나타내었다. 발효 중 CO₂ 생성량은 홉을 첨가하지 않은 술덧이 124.7 g으로 가장 높았고 홉 첨가 함량에 의

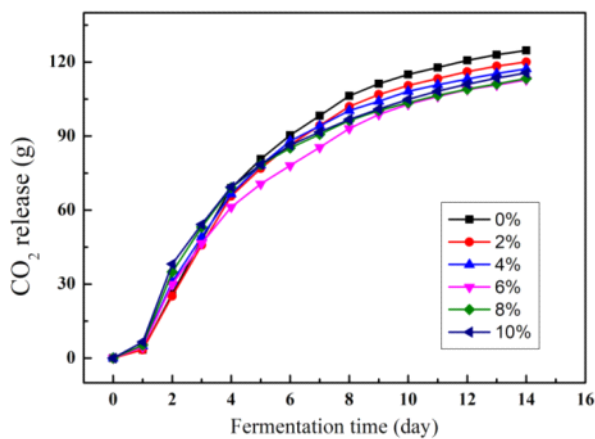


Fig. 2. Fermentation kinetics of mash (CO₂ production) supplemented with hops (up to 10%).

존적으로 낮아졌다. 홉을 6% 이상 첨가한 경우 첨가하지 않은 술덧에 비해 CO₂ 발생량이 10%가량 줄었다. 이는 알코올 생산성(Table 2)에서도 동일한 결과로 이어졌다. 홉 4% 첨가구까지는 약 18%의 알코올 함량을 나타냈으나 그 이상에서는 16~17% 범위로 낮아졌다. 홉의 *iso- α -acid*(humulone, cohumulone, adhumulone)는 맥주의 쓴맛을 부여하는 중요한 성분이지만 pH 4.0 조건에서 *Saccharomyces cerevisiae*의 비증식속도를 상당히 저해하는 것으로 알려져(Hazelwood LA 등 2010) 있다. 발효 술덧의 pH는 주로 유기산류와 관련이 있고 이는 주로 효모의 TCA 회로 대사를 거치면서 생성된다(Asano T & Kurose N 2000). 이를 종합해 보면 홉이 6% 이상 첨가되면 효모의 증식에 영향을 미치면서 알코올 생산성이 낮아지고 대사 작용이 줄어들면서 산 생성에 영향을 받아 pH가 증가하는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 발효 술덧의 알코올 생산성에 일부 손실이 발생하더라도 홉향이 강한 증류식 소주를 제조하고자 하였으며 향기성분을 Table 3에 나타내었다. 홉이 첨가되지 않은 대조구와 비교해 보면 알코올류에 있어 1-propanol과 1-butanol 함량은 큰 영향을 받지 않았으나 isoamyl alcohol은

Table 2. Changes in mash pH and alcohol production with hops and changes in distillate composition

Hops added (%)	Mash		Distillate		
	pH	Alcohol (%)	pH	Alcohol (%)	Distillation yield (%)
0	4.05±0.01 ^d	18.28±0.12 ^a	4.18±0.03 ^e	43.34±0.03 ^b	94.8
2	3.94±0.01 ^e	18.26±0.01 ^a	4.63±0.02 ^a	43.17±0.02 ^c	94.6
4	4.13±0.01 ^c	18.08±0.01 ^b	4.25±0.02 ^b	44.91±0.01 ^a	99.4
6	4.27±0.02 ^b	17.17±0.01 ^c	4.19±0.02 ^e	39.19±0.03 ^c	91.3
8	4.31±0.01 ^a	16.38±0.02 ^e	3.96±0.03 ^d	33.89±0.01 ^f	82.8
10	4.30±0.01 ^a	16.66±0.01 ^d	4.15±0.02 ^e	34.09±0.05 ^d	81.8

All values are mean±S.D. (n=3).

^{a-f} means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

홉 첨가량에 의존적으로 증가하였고 2-phenylethyl alcohol은 감소하였다. 고급 알코올류는 아미노산 대사와 관련이 있는데 isoamyl alcohol은 leucine 대사 과정 중 생성되고 2-phenylethyl alcohol은 phenylalanine 대사에 의해서 생성된다(Lee JG 등 2015). 홉 성분이 일부 아미노산 대사에 영향을 미친 것으로 생각되며 2-phenylethyl alcohol은 장미향을 가지고 있어 그 함량이 높은 것이 품질에 유리하나 홉 첨가에 따라 20%가량 감소하였다. 에스테류에 있어서는 ethyl acetate의 함량 감소가 관찰되었다. Ethyl acetate는 과일향을 가지고 있으나 과량으로 존재할 경우 자극적인 향을 부여한다(Lee JG 등 2015). 황화합물, acetic acid 및 furfural 함량은 모든 시료에서 검출되지 않아 홉 첨가에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

홉 유래 성분에 있어서 꽃향을 가지고 있는 성분 중 linalool 성분은 홉 첨가 증류주에서 0.32~0.66 mg/L로 존재하며 홉 첨가량 증가에 따라 증가하는 방향으로 나타났다. Linalool은 홉향을 느끼게 하는 가장 중요한 성분으로(Hanke S 2009) 맥주에서는 0.20~0.47 mg/L로 정도로 존재하며 분별 역치 값은 0.1 mg/L 정도이며 홉 성분을 효모가 대사하면서도 생성되는 것으로 알려져 있다(Holt S 2019). 풀취를 가지고 있는 성분 중에는 1-hexanal, myrcene, 1-hexanol, cis-3-hexen-1-ol, cis-3-hexenal이 검출되었다. 이 중 1-hexanal, 1-hexanol은 홉 첨가량에 의존적으로 증가하였으나 myrcene 함량은 첨가량과 관계없이 일정한 농도로 존재하고 있었다. cis-3-Hexen-1-ol은 2% 첨가구에서 cis-3-hexenal은 8% 첨가구에서 높게 나타났다. 1-Hexanal, 1-hexanol, cis-3-hexen-1-ol, cis-3-hexenal의 분별 역치는 각각 0.35, 5.00, 0.88, 0.02 mg/L로(Kishimoto T 등 2006; Lee JG 등 2015) 1-hexanal과 cis-3-hexenal이 분별 역치 이상으로 존재하고 있었다. 본 시험에 사용된 일반 홉종은 1-hexanal이 불검출이었으나(Table 1) 발

효 및 증류 공정에 의해서 생성되었고 주로 linoelic acid의 산화에 의해서 발생한다고 알려져 있다(Baert JJ 등 2012). 증류식 소주는 발효주와 달리 당, 산, 색, 탄산 등이 제외되어 있기 때문에 소량의 향기성분에도 민감하기 마련이다. 맥주에도 상당량의 풀취 성분이 포함되어 있으나(Kishimoto T 등 2006) 맥주에서 느껴지는 풀취의 강도보다 홉 증류식 소주에서의 풀취의 강도가 첨가량의 증가에 따라 강하게 느껴졌다.

3. 황국균과 백국균 배양 홉의 향기성분

양조용 곰팡이의 배양에 따른 홉의 향기성분 변화를 Table 4와 Table 5에 나타내었다. 가장 큰 변화를 가져온 것은 myrcene으로 배양 전 230.12 mg/100 g(Table 1)에서 배양 8일 황국균 147.54, 백국균 148.47 mg/100 g으로 각각 35.9%, 35.5% 감소하였다. 다음 linalool 성분으로 9.17 mg/100 g에서 각각 7.25와 7.14 mg/100 g으로 최대 22%가량 감소하였다. Geraniol과 ethyl isobutyrate는 배양 전 불검출이었으며 배양과정에서 추가로 생성되지 않았다. β -ionone과 2-phenylethyl isovalerate는 배양 과정 중에 약간의 증감이 관찰되었다. 이외에 cis-3-hexen-1-ol은 배양 2일차까지는 15~16 mg/100 g 농도로 유지하다가 배양 3일차부터 관찰되지 않았다. cis-3-Hexenal은 배양 8일차 황국균 45.16, 백국균 46.28 mg/100 g으로 배양 전 109.26 mg/100 g 농도에 비하여 각각 41.3%, 42.4% 감소되었다.

Myrcene은 *Aspergillus niger*(Yamazaki Y 등 1988) 및 *Ganoderma applanatum*, *Pleurotus flabellatus*, *Pleurotus sajor-caju* 등 곰팡이류에 의해서 쉽게 산화되고 *Pseudomonas putida* 등 세균류의 탄소원으로 이용되기도 한다(Mander L & Liu HW 2010). 따라서 myrcene이 양조용 곰팡이의 영양원으로 이용되면서 감소한 것으로 추정된다. Linalool 역

Table 3. Changes in the content of volatile aromatic components ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) of distilled soju (25%, v/v) according to hops content

Compounds	Not added	Hops added (%)				
		2	4	6	8	10
1-Propanol	58.84±3.80 ^b	50.2±1.09 ^c	52.34±0.84 ^c	56.09±0.11 ^{bc}	60.00±1.24 ^b	69.29±3.40 ^a
1-Butanol	45.89±0.14 ^{bc}	45.65±0.12 ^c	45.53±0.12 ^c	46.10±0.01 ^b	46.06±0.13 ^b	46.59±0.26 ^a
Isoamyl alcohol	138.68±18.40 ^b	122.81±13.43 ^b	124.09±5.11 ^b	139.74±2.65 ^b	145.03±3.54 ^{ab}	171.61±13.48 ^a
2-Phenethyl alcohol	69.20±2.58 ^a	50.31±0.98 ^c	50.51±1.15 ^c	53.17±1.04 ^{bc}	57.04±2.76 ^b	54.50±0.46 ^{bc}
2-Phenylacetate	ND	ND	ND	ND	44.24±0.11 ^a	ND
Ethyl acetate	55.34±6.34 ^a	28.06±1.95 ^b	32.10±1.33 ^b	25.54±0.03 ^b	28.60±2.96 ^b	36.51±8.73 ^b
Ethyl lactate	ND	32.66±0.00 ^a	ND	ND	ND	ND
Ethyl butyrate	68.00±4.07 ^b	58.74±1.17 ^c	61.04±0.91 ^c	65.06±0.11 ^{bc}	69.25±1.33 ^b	79.2±3.64 ^a
Ethyl valerate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethyl caproate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethyl heptanoate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethyl caprylate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfide	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Disulfide	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dimethyl trisulfide	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acetic acid	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Furfural	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethyl isobutyrate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Linalool	ND	0.32±0.01 ^d	0.37±0.01 ^c	0.47±0.01 ^b	0.47±0.01 ^b	0.66±0.01 ^a
Geraniol	ND	ND	ND	ND	0.44±0.01 ^a	ND
2-Phenylethyl isovalerate	ND	ND	ND	ND	ND	0.12±0.07 ^a
1-Hexanal	ND	0.41±0.01 ^b	0.42±0.01 ^b	0.43±0.01 ^b	0.57±0.02 ^{ab}	0.86±0.01 ^a
Myrcene	ND	2.35±0.01 ^a	2.28±0.01 ^d	2.29±0.01 ^c	2.29±0.01 ^c	2.34±0.01 ^b
6-Methyl-5-hepten-2-one	ND	ND	0.45±0.01 ^b	ND	0.44±0.01 ^c	0.50±0.01 ^a
1-Hexanol	0.41±0.02	0.60±0.02 ^{bc}	0.61±0.03 ^{bc}	0.66±0.19 ^{ab}	0.67±0.02 ^{ab}	0.83±0.01 ^a
cis-3-Hexen-1-ol	ND	1.23±0.02 ^a	0.46±0.02 ^d	0.53±0.01 ^c	0.58±0.01 ^b	0.50±0.01 ^c
cis-3-Hexenal	ND	0.06±0.06 ^d	0.12±0.06 ^d	0.24±0.09 ^c	2.66±0.04 ^a	0.52±0.04 ^b

All values are mean±S.D. (n=3).

ND: Not detected.

^{a-d} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

시 *A. niger*에 의해서 linalool oxide로 산화되기 때문에 (Demyttenaere JC & Willemsen HM 1988) 배양 기간에 따라 감소하는 것으로 판단된다. 다만, 그 감소량은 종균의 종류 (황국균, 백국균)에 따라 차이가 있었고 황국균의 경우 배양

2일째까지 8.70 mg/100 g으로 배양 전 홉에 비하여 5.1%만 감소하였다. 홉에 함유된 linalool은 유리형 외에도 배당체의 형태로도 존재하며 myrcene의 산화에 의해서도 생성된다 (Rettberg N 등 2018). Alcohol dehydrogenase와 aldehyde

Table 4. Effect of culturing brewing fungi (*Aspergillus oryzae* and *Aspergillus luchensis*) with hops on aromatic components (mg·100 g⁻¹)

Compounds	Culture time (day)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Ethyl isobutyrate	ND ¹⁾ (ND) ²⁾	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
Linalool	8.60±0.11 ^{ab} (8.59±0.09 ^a)	8.70±0.07 ^a (7.89±0.05 ^{bc})	7.52±0.04 ^{abc} (7.99±0.04 ^b)	7.46±0.08 ^{abc} (7.87±0.17 ^{bcd})	7.73±1.88 ^{abc} (6.92±0.24 ^e)	7.35±0.02 ^{bc} (7.62±0.15 ^d)	7.68±0.12 ^{abc} (7.67±0.16 ^{cd})	7.25±0.05 ^c (7.14±0.13 ^c)
Geraniol	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
β-Ionone	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (5.75±0.09 ^b)	ND (ND)	ND (ND)	5.74±0.14 ^a (6.84±0.21 ^a)	ND (5.46±0.03 ^c)
2-Phenylethyl isovalerate	9.51±0.32 ^c (9.84±0.05 ^b)	38.72±4.48 ^a (41.14±13.79 ^a)	38.59±6.85 ^a (9.49±0.06 ^b)	8.67±0.17 ^c (9.83±0.23 ^b)	20.27±3.68 ^b (9.51±0.41 ^b)	11.74±0.09 ^c (9.81±0.27 ^b)	9.77±0.43 ^c (11.74±0.84 ^b)	9.97±0.43 ^c (9.88±0.26 ^b)
1-Hexanal	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
Myrcene	230.62±1.49 ^a (241.87±0.85 ^a)	229.08±0.95 ^a (225.75±0.72 ^b)	206.44±0.39 ^b (217.13±0.81 ^c)	186.6±0.32 ^c (173.76±0.75 ^f)	157.52±2.39 ^d (193.28±0.11 ^d)	172.55±1.41 ^e (185.61±0.87 ^e)	160.25±1.41 ^f (173.46±0.77 ^f)	147.54±0.63 ^g (148.47±0.74 ^a)
6-Methyl-5-hepten-2-one	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
1-Hexanol	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
cis-3-Hexen-1-ol	15.39±0.14 ^b (15.03±0.42 ^b)	16.95±0.15 ^a (15.34±0.13 ^a)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)	ND (ND)
cis-3-Hexenal	95.54±2.97 ^a (84.91±0.47 ^{abc})	79.22±1.30 ^b (95.76±2.00 ^{ab})	77.90±4.38 ^b (99.04±16.61 ^a)	60.15±0.40 ^d (89.56±3.92 ^{abc})	62.76±3.98 ^{cd} (77.81±1.57 ^{bcd})	68.64±2.55 ^c (73.09±2.75 ^{cd})	42.84±1.82 ^e (59.88±3.70 ^{ede})	45.16±2.59 ^e (46.28±6.24 ^e)

All values are mean±S.D. (n=3).

ND: Not detected.

^{a-g} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

¹⁾ *A. oryzae*.

²⁾ *A. luchensis*.

dehydrogenase는 C6 aldehyde 화합물을 C6 alcohol류와 C6 carboxylic acid류로 변환시키며(Chiba H 등 1979), cis-3-hexenal은 aldehyde dehydrogenase에 의해서 hexanol로 변환된다(Akacha NB 등 2005; Zhou ZW 등 2020). *A. oryzae*는 alcohol dehydrogenase와 aldehyde dehydrogenase 활성에 의해 장류에 존재하는 aldehyde 함량에 영향을 미친다(Zhao G 등 2012). 이러한 이유로 배양 중 흡에 존재하는 cis-3-hexenal과 cis-3-hexen-1-ol이 감소한 것으로 추정된다.

결과적으로 배양일 수에 따른 특징은 배양 1일차에는 풀취가 강하게 느껴졌고 배양 2일부터 사라지기 시작하였다. 꽃향은 2일차에 강하게 느껴지다 이후 급격하게 낮아지는 경향이였다. 이는 배양 3일차에는 꽃향인 linalool 성분의 소

실이 크기 때문에 판단된다. 배양 2일차 곰팡이의 종류에 따른 향의 비교에 있어는 황국균에 비해 백국균의 풀취의 강도가 높았는데 이는 백국균의 cis-3-hexenal 성분이 황국균에 비하여 1.2배 높은 이유로 해석된다. 배양 흡의 선택에 있어 풀취 성분인 myrcene, cis-3-hexenol, 및 cis-3-hexenal이 일부 존재하더라도 꽃향 성분의 소실이 적은 배양 2일차 흡을 사용하는 것이 좋다고 판단되었다. 이에 황국균 배양 2일차 흡을 사용하여 증류식 소주를 제조하고 그 특징을 Table 5에 나타내었다.

배양 흡 사용에 따른 변화를 살펴보면 알코올류에 있어서는 1-propanol의 함량이 배양 흡 사용에 미배양 흡 사용에 비해 1.7배, 에스테류에 있어서는 ethyl butylate의 함량은 1.7배

Table 5. Content of volatile aromatic components (mg·L⁻¹) of distilled soju (25%, v/v) prepared from added hops cultured with *Aspergillus oryzae*

	Not-cultured		Cultured	
	Not filtered	Filtered	Not filtered	Filtered
1-Propanol	95.89±0.01 ^c	95.9±0.81 ^c	166.99±0.99 ^a	159.26±1.99 ^b
1-Butanol	50.36±0.03 ^c	50.32±0.03 ^c	53.12±0.05 ^a	52.44±0.13 ^b
Isoamyl alcohol	200.91±1.84 ^b	193.75±0.89 ^c	226.23±2.16 ^a	203.05±2.02 ^b
2-Phenethyl alcohol	228.58±0.42 ^a	271.46±0.19 ^a	225.73±2.47 ^c	190.71±1.79 ^b
2-Phenylacetate	44.69±0.02 ^b	44.66±0.03 ^a	44.39±0.02 ^b	44.48±0.01 ^c
Ethyl acetate	23.57±0.01 ^a	23.60±0.06 ^a	23.59±0.03 ^a	23.58±0.02 ^a
Ethyl lactate	36.25±0.17 ^b	37.02±0.70 ^{ab}	37.72±0.04 ^a	36.56±0.01 ^b
Ethyl butyrate	107.71±1.06 ^c	107.72±0.87 ^c	183.91±1.06 ^a	175.62±2.13 ^b
Ethyl valerate	ND	ND	ND	ND
Ethyl caproate	ND	ND	ND	ND
Ethyl heptanoate	ND	ND	ND	ND
Ethyl caprylate	ND	ND	ND	ND
Sulfide	ND	ND	ND	ND
Disulfide	ND	ND	ND	ND
Dimethyl trisulfide	ND	ND	ND	ND
Acetic acid	ND	ND	ND	ND
Furfural	ND	ND	ND	ND
Ethyl isobutyrate	0.24±0.01 ^a	0.23±0.01 ^{ab}	0.23±0.01 ^{ab}	0.22±0.01 ^b
Linalool	0.41±0.06 ^a	0.33±0.01 ^a	0.26±0.06 ^a	0.31±0.08 ^a
Geraniol	ND	ND	ND	ND
2-Phenylethyl isovalerate	ND	ND	ND	ND
1-Hexanal	0.40±0.01 ^a	0.39±0.01 ^a	ND	ND
Myrcene	2.65±0.01 ^a	2.32±0.01 ^b	2.31±0.01 ^b	2.28±0.00 ^c
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.52±0.05 ^a	0.40±0.01 ^b	2.31±0.01 ^b	1.58±0.00 ^b
1-Hexanol	0.91±0.02 ^a	0.89±0.05 ^a	0.87±0.01 ^a	0.84±0.12 ^a
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	0.57±0.01 ^a	0.52±0.14 ^a	0.59±0.01 ^a	0.54±0.01 ^a
<i>cis</i> -3-Hexenal	0.40±0.09 ^a	0.25±0.02 ^b	0.30±0.04 ^{ab}	0.16±0.04 ^b

All values are mean±S.D. (n=3).

ND: Not detected.

^{a-c} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

증가하였다. 황화합물과 acetic acid는 모두 불검출로 변화가 없었다. 홉 성분에서 linanol 성분은 미배양 홉 사용에 비해 36.6%가량 감소하였다. 이취 성분인 1-hexanal, myrcene은 각각 0.40과 2.65 mg/L에서 불검출로 감소하였고, *cis*-3-

hexenal은 0.40 mg/L에서 0.30 mg/L 25% 감소하였다. 1-Propanol은 효모의 threonine 대사에 의해서 생성되며 매운맛과 쓴맛, 알코올향을 나타내나 역치가 600~800 mg/L로 높기 때문에(Lee JG 등 2015) 큰 의미를 부여하기 어렵다. Ethyl

butylate는 중국 고량주의 특징적인 향으로 과인애플향을 나타내며 역치도 0.4 mg/L로 낮아 향의 강도가 높은 성분으로 (Lee JG 등 2015) 함량 증가에 따라 과일향의 강도가 높아지는 것으로 이어질 수 있다. Aldehyde 화합물은 주로 지방산의 산화에 의해서 생성되는데(Baert JJ 등 2012) 홉의 지방산이 효모의 발효과정 중에 대사 되면서 홉에 없던 1-hexanal이 미배양 홉 첨가 증류식 소주에서 검출된 것으로 판단된다. 그러나 배양 홉을 이용한 증류식 소주에서는 검출되지 않았는데 이는 배양 과정 중 홉의 지방산이 곰팡이 대사에 의해 다른 물질로 변환되었기 때문으로 추측된다. *cis*-3-Hexenal의 감소 비율은 배양 기간에 감소율과 유사하여 배양기간 중 감소가 증류식 소주에서의 함량 감소로 나타났다. 술덧의 조여과에 따른 증류식 소주의 성분변화를 살펴보면 대부분 성분이 여과에 따라 함량의 차이가 관찰되지 않았으나, *cis*-3-hexenal은 여과 전 37.5%, 여과 후 46.7%로 감소하였다. 이는 홉 외에 다른 분자와 결합되어 있던 *cis*-3-hexenal 성분이 열에 의해 유리되었을 것으로 추측되나 추가적인 연구가 필요하다.

결과적으로 홉에 황국균을 배양하여 사용하면 꽃향 성분의 소실도 있으나 풀취성분이 급격히 감소 되면서 증류식 소주의 품질에는 긍정적인 영향을 미쳤다. 또한 증류 전에 홉을 제거하고 증류하면 꽃향의 감소 없이 이취 성분을 선택적으로 낮출 수 있어 더욱 효과적이었다. 특히, 홉의 품종에 있어 일반 종보다 캐스케이드 종을 사용하면 linalool 함량과 geraniol 함량이 높아(Table 1) 더욱 향의 강도가 높은 증류식 소주를 생산할 수 있었다(data not shown).

요 약

국내 재배 홉을 이용하여 홉의 꽃향은 유지하고 이취(풀취)는 감소된 증류식 소주를 제조하고자 하였다. 국내 부안 지역에서 재배된 홉의 휘발성 향기성분을 분석하고, 홉 첨가에 따른 발효력 평가하였다. 홉 첨가량에 따라 알코올 생산성이 낮아졌으며 isoamyl alcohol은 홉 첨가량에 의존적으로 증가하였고 2-phenylethyl alcohol과 ethyl acetate의 함량은 감소되었다. 홉 유래 성분에 있어서 꽃향을 가지고 있는 성분 중 linalool 성분과 이취 성분인 1-hexanal, 1-hexanol은 홉 첨가량에 의존적으로 증가하였다. *Aspergillus oryzae*를 배양한 홉을 사용하면 linanol 성분도 감소하지만 이취 성분인 1-hexanal은 불검출 수준으로 제거되고, mycene, *cis*-3-hexenal 성분도 감소하면서 증류식 소주의 품질에 좋은 영향을 미쳤다. 홉이 첨가된 술덧을 증류 직전 홉을 제거(여과)하고 증류하면 linanol 성분의 변화 없이 1-hexanal을 선택적으로 제거할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역특화산업육성+(R&D, S3260115)” 사업의 지원을 받아 수행된 연구 결과입니다.

REFERENCES

- Ahn BH, Kim HR, Kim JH, Kang HR (2014) Brewing yeast *Saccharomyces cerevisiae* 54-3 and brewed alcohol made there with. Korea Patent 20130016006.
- Akacha NB, Boubaker O, Gargouri M (2005) Production of hexenol in a two-enzyme system: Kinetic study and modelling. *Biotechnol Lett* 27(23): 1875-1878.
- Asano T, Kurose N (2000) Mechanism of organic acids production by sake yeast. *J Brew Soc Jpn* 95(4): 227-234.
- Bae SM, Jung SY, Jung IS, Ko HJ, Kim TY (2003) Effect of the amount of water on the yield and flavor of Korean distilled liquor based on rice and corn starch. *J East Asian Soc Diet Life* 13(5): 439-446.
- Baert JJ, De Clippeleer J, Hughes PS, De Cooman L, Aerts G (2012) On the origin of free and bound staling aldehydes in beer. *J Agric Food Chem* 60(46): 11449-11472.
- Bowen R, Miller M (2022) Provenance representations in craft beer. *Regional Studies* 1-11.
- Cha J, Chin YW, Lee JY, Kim TW, Jang HW (2020) Analysis of volatile compounds in *soju*, a Korean distilled spirit, by SPME-arrow-GC/MS. *Foods* 9(10): 1422.
- Chiba H, Takahashi N, Sasaki R (1979) Enzymatic improvement of food flavor II. Removal of beany flavor from soybean products by aldehyde dehydrogenase. *Agric Biol Chem* 43(9): 1883-1889.
- Choi HS, Kang JE, Jeong ST, Kim CW, Baek SY, Yeo SH (2017) Soju brewing characteristics of yeast strains N4 and N9 isolated from Korean traditional *Nuruk*. *Korean J Food Preserv* 24(5): 714-724.
- Choi HS, Kim EG, Kang JE, Choi JH, Yeo SH (2004) Effect of varying the amount of water added on the characteristics of mash fermented using modified *Nuruk* for distilled-*Soju* production. *Korean J Food Preserv* 21(6): 908-916.
- Demyttenaere JC, Willemsen HM (1998) Biotransformation of linalool to furanoid and pyranoid linalool oxides by *Aspergillus niger*. *Phytochemistry* 47(6): 1029-1036.
- Hanke S (2009) Linalool- a Key Contributor to Hop Aroma.

- MBAA Global Emerging Issues. www.mbaa.com (accessed on 12. 28. 2022).
- Hazelwood LA, Walsh MC, Pronk JT, Daran JM (2010) Involvement of vacuolar sequestration and active transport in tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to hop iso- α -acids. *Appl Environ Microbiol* 76(1): 318-328.
- Holt S, Miks MH, de Carvalho BT, Foulquie-Moreno MR, Thevelein JM (2019) The molecular biology of fruity and floral aromas in beer and other alcoholic beverages. *FEMS Microbiol Rev* 43(3): 193-222.
- Kim WK, Lee SJ (2019) Changes in volatile compounds in rice-based distilled *soju* aged in different types of containers. *Korean J Food Sci Technol* 51(6): 543-550.
- Kishimoto T, Wanikawa A, Kono, Shibata K (2006) Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. *J Agric Food Chem* 54(23): 8855-8861.
- Korea Customs Service [KCS] (2022) Trade Statistics, Trade Statistics for Export/Import. <https://unipass.customs.go.kr/ets/> (HS-code 1210) (accessed on 12. 30. 2022).
- Korea Seed & Variety Service [KSVS] (2022). Variety Production/Import Sales Report. <https://www.seed.go.kr> (accessed on 12. 31. 2022).
- Korean Statistical Information Service [KOSIS] (2021) Liquor Tax Return. <https://kosis.kr> (accessed on 12. 31. 2022).
- Lee JG, Moon SH, Bae GH, Kim JH, Choi HS, Kim TW, Jeong C (2015) Distilled Spirits. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Korea Agro-Fisheries and Food Trade Corp & Kwang-moon Kag, Korea. pp 376-392.
- Mander L, Liu HW (2010) Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology. Elsevier, Oxford, UK. pp 856-859.
- McCarty K (2015) Distilled in Maine: A History of Libations, Temperance & Craft Spirits. Arcadia Publishing, Charleston, South Carolina, USA. p 141.
- Park SH, Park JC, Cho KM (2021) Cultivation equipment for hops. Korea Patent 10-2215938.
- Rettberg N, Biendl M, Garbe LA (2018) Hop aroma and hoppy beer flavor: Chemical backgrounds and analytical tools—A review. *J Am Chem Soc* 76(1): 1-20.
- Ryu LH, Kim YM (2002) Esterification of alcohols with organic acids during distilled spirit distillation. *Korean J Food Nutr* 15(4): 295-299.
- YaMazaki Y, Hayashi Y, Hori N, Mikami Y (1988) Microbial conversion of β -myrcene by *Aspergillus niger*. *Biosci Biotechnol Biochem* 52(11): 2921-2922.
- Zhao G, Hou L, Yao Y, Wang C, Cao X (2012) Comparative proteome analysis of *Aspergillus oryzae* 3.042 and *A. oryzae* 100 - 8 strains: Towards the production of different soy sauce flavors. *J Proteomics* 75(13): 3914-3924.
- Zhou ZW, Wu QY, Yao ZL, Deng HL, Liu BB, Yue C, Sun Y (2020) Dynamics of ADH and related genes responsible for the transformation of C₆-aldehydes to C₆-alcohols during the postharvest process of oolong tea. *Food Sci Nutr* 8(1): 104-113.

Date Received	Jan. 12, 2023
Date Revised	Feb. 7, 2023
Date Accepted	Feb. 7, 2023