

청주의 주질 개선을 위한 국 및 효모의 선정과 그 발효 특성

신철승 · 이석건* · 박윤중

충남대학교 농과대학 식품공학과

초록 : 쌀을 원료로 하는 청주 양조에 있어서, 원료의 이용률을 높이고 현대인의 기호에 맞는 청주를 얻기 위하여 국(麴)의 이용상의 차이를 비교하였고, 발효주의 술덧에서 분리한 효모균주에 대하여 발효특성을 검토하였다. 백국균(*Aspergillus usamii* mut. *shirousami*)을 배양한 밀기울국은 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 배양한 쌀국에 비하여 glucoamylase, α -amylase 및 산성 protease 활성이 모두 높은 반면, 산성 carboxypeptidase 활성은 오히려 낮았다. 양조시험에 있어서 밀기울국(추출하여 사용함)은 소량으로도 술덧(酒醪)의 당화 및 발효를 효과적으로 진행시킬 수 있었으며, 숙성 술덧은 국취가 적고 아미노산도가 낮아 주질이 깨끗하였다. 또 밀기울국을 사용하고 분리효모로 발효시킨 청주는 일본 청주효모 K-7 및 K-9의 경우에 비하여 유기산 특히 호박산의 양이 적어 주질면에서 보다 좋았다. 한편 밀기울국과 쌀국을 병용(併用)하고 분리효모로 발효시킨 경우에는 밀기울국과 쌀국의 사용량에 따라 술덧의 아미노산도를 어느 정도 조정할 수 있었다. 그러나 쌀국을 사용하고, 분리효모로 발효시킨 경우에는 술덧의 에탄올 발효가 늦고 산 생성량이 많아 부적합하였다 (1995년 11월 7일 접수, 1996년 1월 22일 수리).

서 론

세계 각국에는 고유의 술이 있고 그 종류와 주질은 매우 다양하다. 이는 술 양조에 사용되는 원료가 다양하고, 같은 원료라도 사용하는 방법 등의 차이에 따라서 독특한 양조 기술이 전래되어 왔기 때문이다. 한국의 약주, 일본의 청주 및 중국의 황주는 쌀 또는 기타 곡류와 국(麴)을 원료로 당화·발효시킨 맑은 술이며, 이들은 모두 청주류에 속한다. 우리나라의 약주와 탁주는 그 제조 방법상 큰 차이가 없고, 다만 원료 곡류나 국(곡자)의 제조 방법 등을 약간씩 달리하여 발효 숙성시킨 술덧을 맑게 또는 탁하게 제성한 것이다. 이러한 약·탁주는 오래동안 자가비법으로 제조되어 왔으나, 일제 통치로 주류면허 제도가 시행되면서 자가양조의 전통 주는 명맥만을 유지하게 되었다. 광복 이후에는 어려운 식량사정 등으로 인하여 일시 백미 이외의 곡류, 밀가루 등을 원료로 하는 양조방법이 시행되었고, 국으로서는 현재 재래의 국(곡자) 외에 백국균을 배양한 쌀국이나 밀가루국을 사용하는 방법이 실시되고 있다.

약·탁주에 관한 연구^{1~6} 중 국에 대하여는, 번식하는 곰팡이의 종류나 전분당화 효소 등의 연구가 단편적으로 발표되었으나, 곡자에 *Rhizopus*속 곰팡이가 주균으로 번식하게 되는 현상은 근년에 생태학적 연구로 밝혀졌다.¹⁾ 이밖에 곡자 또는 약·탁주 술덧(酒醪)에서 분리한 효모의 성질, 발효 술덧의 성분 등에 대하여도 연구되었으나, 주질개선을 위한 연구는 거의 찾아 볼 수 없다. 한편 일본식 청주에 있어서는 그 질을 개선시키기 위한

많은 연구^{2,3)}가 이루어져 다수의 우량효모가 분리·사용되고 있으며, 원료의 종자 및 제국(製麴)이 기계화되는 등 양조법이 다양하게 발전되고 있다. 그러나 일본 청주는 고도정미(도정수율 75% 이하)를 원료로 사용하여 쌀의 이용률이 낮으므로, 백미에 함유되어 있는 단백질을 젖산액으로 용출, 제거하고 또 지방을 초임계 탄산으로 추출, 제거하여 이용하는 방법⁴⁾도 연구되었으나, 이 경우에는 용제의 사용에 따른 경비와 공정 상의 부담이 있다.

재래의 약주(일종의 청주)는 종래 주질개선에 관한 기술개발이 거의 이루어지지 못하여 오늘날 소비자의 기호에 맞지 않게 되었다. 그러므로 쌀을 주원료로 하는 청주의 주질개선을 위해서는 청주의 종류나 양조 방식의 규제에서 벗어나 새로운 양조법의 개발이 요망된다. 이러한 관점에서 본 연구에서는 저도정미(백미)를 사용하면서도 주질이 좋은 청주를 양조하기 위하여, 국의 여러 성질을 비교·검토하였고 그에 적합한 효모를 분리하여 발효시험을 실시하였다.

재료 및 방법

국제조 및 효소활성의 측정

밀기울, 밀가루 및 쌀을 국 원료로 사용하고 이들 원료에 황국균(일본 菱六회사 제품의 종국에서 순수 분리한 *Aspergillus oryzae*)과 백국균(충남대, 식품공학과에 보관하고 있는 *Aspergillus usamii* mut. *shirousami* Y-79)을 배양하여 만든 각각의 국에 대하여 전분 당화효소

찾는말: 청주, 밀기울국, 쌀국, 호박산

*연락처자

활성, 추출액의 산도 및 국취 등을 비교한 결과, 백국균을 배양한 밀기울국이 본 연구에서 의도하는 청주 양조시험에 적합한 것으로 인정되어 황국균을 배양한 쌀국과의 효소활성 및 기타 특성 등을 검토하였다.

(1) 국제조

밀기울국은 밀기울 중량의 0.8배 량의 수도물을 첨가하여 잘 혼합한 후, 500 ml들이 삼각 플라스크에 50 g씩 넣고, 121°C에서 20분간 가열 살균한 후 시험관 사면 배양의 국균을 접종하고 충분히 혼들어 준 다음, 30°C에서 2일간 배양한 것을 풍건하여 사용하였다.

쌀국은 백미(충청북도 보은산 秋晴 품종)를 세척하고 실온에서 하루밤 담가 놓은 다음, 물을 빼고 500 ml 삼각플라스크에 100 g씩 넣고 상압에서 약 1시간 동안 증자한 후, 시험관 사면 배양의 국균을 접종하여 충분히 혼들어 준 다음, 30°C에서 2일간 배양한 것을 풍건하여 사용하였다.

(2) 효소활성의 측정

국의 glucoamylase 활성은 國稅廳所定分析法注解의 방법⁵⁾에 준하여 측정하였으며, 효소력은 소정 조건(40 °C에서 70분간 반응)에서 국 1g이 생성하는 glucose의 mg수로 표시하였다. α-Amylase의 활성은 Wohlgemuth 변법⁶⁾으로 측정하였고, 효소력은 옥소-전분 정색이 적자색이 되는 점을 기준으로 하여 국 1g이 40°C, 30분간에 분해할 수 있는 1% 가용성 전분의 mL수로 나타내었다. Protease는 國稅廳所定分析法注解의 방법⁵⁾에 준하여 38 °C에서 60분간(중성 protease의 경우는 2시간) 반응시켜 산성(pH 3.0) 및 중성(pH 6.0) protease의 활성을 측정하였고, 효소력은 국 1g이 변화시키는 흡광도를 산정하여 표시하였다. 산성 carboxypeptidase의 활성은 中台 등의 방법⁷⁾에 의하여 측정하였고, 효소력은 국 1g이 1 분간에 1 μmole의 아미노산(tyrosine으로서 환산)을 유리하는 능력을 1 단위로 하여 나타내었다.

효모의 분리

대전 및 충남북 일원에서 쌀, 밀가루, 옥수수 가루 등의 곡류를 원료로 하는 발효주 양조장의 술넛과 시판탁주 등을 효모의 분리원으로 하였고, 분리시료는 회석하여 맥아즙 한천 평판배지에 도말한 다음, 25°C에서 48시간 배양한 접착을 임의로 취하여 시험관 사면배지에 이식한 후 이들을 사용하여 유용 효모 선발시험을 실시하였다.

주모 제조

밀기울국 당화 주모는 밀기울국과 증미(백미로서의 중량)를 1:4의 비율로, 쌀국 당화 주모는 쌀국과 증미(백미로서의 중량)를 1:1의 비율로 하여 그 총 중량의 2.5 배량의 수도물을 넣고 55°C의 수욕에서 6시간 당화한 후 여과하여, 100 mL들이 삼각 플라스크에 각각 분주하고 121°C에서 15분간 살균한 다음 각 시험 효모를 접종하고, 젖산을 0.5% 농도가 되도록 첨가하여 25°C에서 3일간 배양한 것을 주모로 사용하였다. 주모 중의 생존 효모

Table 1. Proportion of raw materials for Choungju brewing with wheat bran koji

| Materials | Addition | | | Total |
|-----------------------------------|----------|--------|-------|-------------------|
| | First | Second | Final | |
| Steamed rice ^{a)} (g) | 40 | 84 | 176 | 300 |
| Wheat bran koji ^{b)} (g) | 0.6 | 1.0 | 1.4 | 3.0 ¹⁾ |
| | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 6.0 ²⁾ |
| | 1.6 | 3.0 | 4.4 | 9.0 ³⁾ |
| Water (ml) | 50 | 110 | 230 | 390 |
| Yeast starter ^{c)} (mL) | | 20 | | |

^{a)} Material rice was polished to 92% of the yield ratio, and the weight of steamed rice was calculated as that of raw one.

^{b)} Wheat bran koji was cultivated with *Asp. usamii* mut. *shirousami* Y-79 on wheat bran medium.

^{c)} Yeasts were inoculated in saccharified medium prepared with wheat bran koji and steamed rice(1:4), and cultivated in Erlenmeyer flask at 25°C for 3 days. The number of viable cell in the starters was 1.7~2.1×10⁸/mL.

1), 2) and 3) were 1, 2 and 3% of wheat bran koji to the weight of total rice, respectively.

Table 2. Proportion of raw materials for Choungju brewing with rice koji

| Materials | Addition | | | Total |
|-----------------------------------|----------|--------|-------|-------|
| | First | Second | Final | |
| Steamed rice ^{a)} (g) | 28 | 64 | 148 | 240 |
| Wheat bran koji ^{b)} (g) | 12 | 20 | 28 | 60 |
| Water (ml) | 50 | 110 | 230 | 390 |
| Yeast starter ^{c)} (mL) | | 20 | | |

^{a)} Material rice was polished to 92% of the yield ratio, and the weight of steamed rice was calculated as that of raw one.

^{b)} Rice koji was cultivated with *Asp. oryzae* onto the steamed rice.

^{c)} Yeasts were inoculated in saccharified medium prepared with rice koji and steamed rice(1:1), and cultured in Erlenmeyer flask at 25°C for 3 days after inoculation. The number of viable cell in the starters was 1.7~2.1×10⁸/mL.

수는 1.7~2.1×10⁸/mL이었다.

청주의 담금(mashing) 및 온도 관리

원료의 배합에 있어서, 밀기울국 사용의 경우는 표 1, 쌀국 사용의 경우는 표 2와 같이 하여 담금을 하였다. 담금 용기는 φ 8 cm×20 cm의 원통형의 병(담금 후 마개를 가볍게 덮어 놓음)을 사용하였다. 백미(충청북도 보은산 秋晴 품종)는 세척하여 하루밤 동안 물에 담가 두었다가 1시간 정도 물빼기를 한 다음, 상압에서 1시간 증자한 후 식혀서 사용하였으며, 그 양은 침지 및 증자하기 전의 백미 무게로 환산하여 사용하였다. 담금용 수는 수도물을 사용하였고, 밀기울국은 직접 첨가하거나 또는 담금 용수로 추출(실온에서 3시간)하여 사용하였다. 1단 담금하여 항온기에 넣고 2일과 3일 뒤에 각각 2단 및 3단 담금을 하였으며, 발효 온도는 표 3과 같이 하여 관리하였다. 그리고 온도를 변경할 때의 변경 온도에

Table 3. Temperature control during the brewing process in this experiment

| | Brewing time (days) | | | | | | | |
|-------------------------|---------------------|----------|----------|----|----|----|----|----|
| | 0 | 2 | 3 | 8 | 11 | 14 | 18 | 22 |
| Mixture of raw material | 1st work | 2nd work | 3rd work | | * | * | * | * |
| Temperature (°C) | 8 | | | 10 | 12 | 15 | 12 | 10 |

Time needed for the change of mash temperature was about 2 hours.

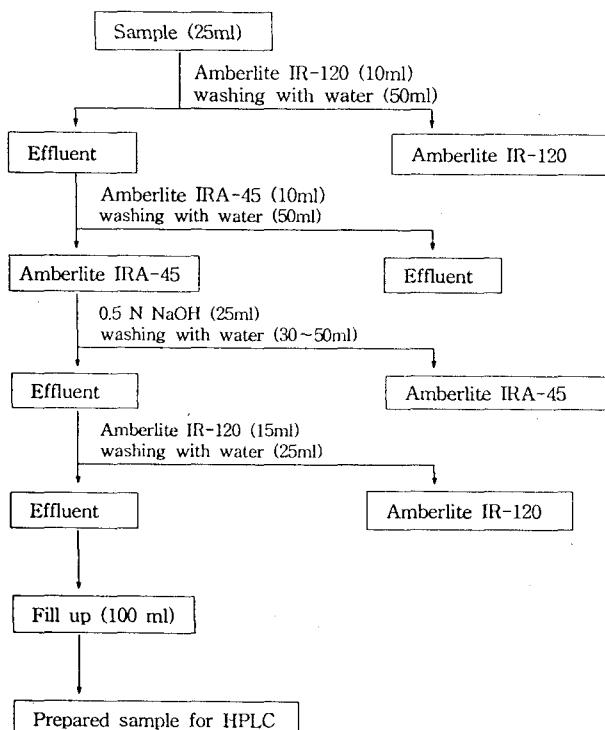


Fig. 1. Sample preparation for assay of organic acids in the fermented mash

이르는 시간은 약 2시간이었다.

숙성 술덧의 분석 및 관능시험

숙성된 술덧은 원침(遠沈)하여 박을 제거하고, 63~65 °C에서 15분간 열처리 한 다음, 활성탄을 700 ppm의 농도로 첨가하여 3시간 방치한 후, 탈취 여지(東洋瀘紙 No. 5B, 약 5분간 끓는 물에 넣어 두었다가 건조시킴)로 여과하여 분석 및 관능시험을 실시하였다.

산도는 술덧 여액 10 ml를 0.1N-수산화나트륨 용액으로 적정하여 적정 ml/수로 표시하였다. 아미노산도(for-mol-nitrogen)는 술덧 여액 10 ml를 0.1N-수산화나트륨 용액으로 중화한 후 중성 포르말린 용액을 넣고 다시 0.1N-수산화나트륨 용액으로 적정하여 적정 ml/수로 표시하였다. 에탄올은 수증기 증류 후 주정계를 사용하여 정량하였다. 환원당은 DNS법⁸⁾으로 정량하고 포도당으로

Table 4. Enzyme activities in wheat bran and rice koji

| Enzymes | Activity (units/g koji) | |
|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| | Wheat bran koji ¹⁾ | Rice koji ²⁾ |
| Glucoamylase | 1,517 | 234 |
| α-Amylase | 2,400 | 1,200 |
| Protease (pH 3.0) | 11.5 | 1.4 |
| (pH 6.0) | 0.4 | 0.3 |
| Carboxypeptidase (pH 3.0) | 1.7 | 2.0 |

¹⁾ prepared with *Asp. usamii* mut. *shirousami*, Y-79

²⁾ prepared with *Asp. oryzae*

환산하여 나타내었다. 술덧의 착색도는 0.45 μm의 membrane filter로 여과하고 분광광도계로 430 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표시하였다.

유기산은 그림 1과 같이 술덧 여액을 이온교환수지 column을 통하여 정제한 다음 HPLC(Perkin Elmer, model LC-50 pump system)로 분석하였다. Column은 Inert-sil C₈(φ 4.6 mm × 15 cm, Gasukuro Kogyo Inc., 일본)을 사용하였고, 0.1M 인산암모늄 용액(pH 2.5~2.7)을 유속 1.0 ml/min로 하여, U.V. 검출기(Perkin Elmer, UV-VIS spectrophotometer model LC-290)의 210 nm의 파장으로 분석하였다.

관능검사는 심사원 5명을 선발하여 향의 세기와 조화, 국취의 강약, 이취의 유무 등으로 향을, 짙은 정도, 깨끗함과 잡미, 부드러움, 자극의 세기 및 조화 등으로 맛을 평가하도록 한 후, 종합적으로 우열을 가리는 방법으로 실시하였다.

결과 및 고찰

국의 효소활성 비교

예비시험 결과 전분의 용해 및 당화에 있어서, 주역 할을 하는 amylase의 활성은 밀기울에 백국균(*Aspgillus usamii* mut. *shirousami* Y-79)을 배양한 것이 가장 강하였다. 따라서 양조시에 국취가 문제가 되지 않는다면 이 국을 사용하는 것이 바람직하다고 생각되어, 현행 일본청주 제조에 사용되는 증자 쌀에 황국균(*Aspgillus oryzae*)을 배양한 쌀국과의 효소활성을 비교하였다. 표 4에서와 같이 국 1g에 대한 glucoamylase의 활성은 밀기울국과 쌀국이 각각 1,517 및 234 unit/g국으로 밀기울국이 약 6.5배 높았으며, α-amylase 활성은 밀기울국과 쌀국이 2,400 및 1,200 Wohlgemuth滴/g국으로 밀기울국이 2배 높았다. 산성 protease의 경우는 각각 11.5 및 1.4 unit/g국으로 밀기울국이 약 8배 높았으며, 중성 protease의 활성은 두 국 간에 별 차이가 없었다. 산성 carboxypeptidase 활성은 쌀국이 약간 높았다.

청주 양조에 관여하는 여러 효소에 관해서는 岩野 등⁹⁾의 상세한 연구가 있으며 증자한 쌀의 용해 및 당화에 있어서는 glucoamylase, α-amylase 및 산성 protease의 상호 관계가 필요하며, 산성 protease에 의해서는 아미-

Table 5. Composition of the fermented mash brewing with wheat bran koji by the solid form or extracted solution addition

| Koji addition | Amount (%) | Acidity (mL) | Amino acidity (mL) | pH | Reducing sugar (%) | Ethanol (v/v%) | OD _{430nm} |
|---------------|------------|--------------|--------------------|------|--------------------|----------------|---------------------|
| Solid | 1 | 2.5 | 1.3 | 4.42 | 0.67 | 19.3 | 0.058 |
| | 2 | 2.3 | 2.0 | 4.95 | 0.31 | 20.4 | 0.078 |
| | 3 | 2.1 | 2.5 | 4.80 | 0.31 | 21.4 | 0.100 |
| Extracted* | 1 | 2.1 | 0.8 | 4.45 | 1.01 | 18.3 | 0.033 |
| | 2 | 2.1 | 1.1 | 4.60 | 0.97 | 20.0 | 0.051 |
| | 3 | 1.9 | 1.4 | 4.92 | 0.39 | 20.6 | 0.060 |

Acidity, titre of 0.1 N NaOH per 10 mL of sample; Amino acidity, titre of 0.1 N NaOH per 10 mL of sample by the formol method.
Reducing sugar was calculated as glucose concentration by w/v%.

*Wheat bran koji was used in solution after extracted with brewing water.

Strain KP-16 was used as yeast starter.

노산은 전혀 생성되지 않는다고 보고하였다.

표 4의 결과와 같이 밀기울국은 쌀국에 비하여 증자 쌀의 용해·당화에 관여하는 효소활성이 강하므로 양조시에 그만큼 사용량이 적어도 된다. 반면 산성 carboxypeptidase의 활성은 오히려 낮아 술덧의 아미노산 생성이 적게 되므로 청주 양조에서 유리한 조건으로 이용될 수 있다고 생각된다.

효모의 선정

시험관 사면배양의 각 분리효모를 사용하여 주모를 제조하고, 증자한 백미와 밀기울국을 원료로 담금(표 1의 담금방법을 1/4로 축소함)하여 숙성시킨 술덧의 일반성분 분석 및 관능시험을 실시하였다. 각 효모에 대하여 발효시험을 실시한 결과, 숙성 술덧의 산도 및 아미노산도가 비교적 낮고, 에탄올 함량이 높으며 주질이 좋다고 인정되는 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주를 선발하였다. 위의 세 균주를 제외한 대부분의 시험효모는 산도가 지나치게 높거나, 에탄올 발효력이 떨어지거나, 또는 관능시험에 있어서 미숙취, 자극취, 잡미 및 지나친 산미 등의 결함이 있었다.

밀기울국의 사용방법에 관한 시험

술덧 담금에 있어서, 밀기울국(원료 쌀 총량의 1~3%)을 직접 첨가하거나 또는 담금용수로 실온에서 3시간 동안 추출·여과하여 사용하고, 분리한 효모 중 KP-16 균주를 배양한 주모로 23일 동안 발효시킨 술덧을 분석한 결과는 표 5와 같다. 밀기울국을 1% 사용한 것은 직접 첨가하거나 또는 담금용수로 추출하여 사용한 경우 모두, 발효진행이 부진하여 국의 사용량이 부족함을 알 수 있었다. 국의 사용량이 2%와 3%인 경우는 산도 및 에탄올 함량에 차이가 별로 없었다. 아미노산도(formol-nitrogen)는 어느 경우나 국의 사용량이 많을수록 다소 높아졌는데, 이는 국 사용량이 많아지므로써 아미노산도를 증가시키는 carboxypeptidase의 총활성도가 증가하였기 때문이라고 생각된다. 술덧 여액의 착색도를 비교하기 위하여 측정한 흡광도는 국 사용량이 많은 쪽이 더 높았다. 또한 국을 직접 첨가하여 사용한 것은 추출하여 사용한 것보다 착색도가 높았는데, 이는 양조

Table 6. Sensory evaluation of koji odor in the fermented mash according to amount and addition of wheat bran koji

| Amount of koji (%) | Addition | |
|---------------------|------------|-------|
| | Extracted* | Solid |
| Wheat bran koji | 1 | + |
| | 2 | ++ |
| | 3 | +++ |
| Rice koji (control) | 20 | +++ |

Number of plus sign means degree of odor.

*Wheat bran koji was used in solution after extracted with brewing water.

Strain KP-16 was used as yeast starter.

전과정을 통하여 밀기울국의 고형물이 그대로 발효 술덧에 남아 착색을 많게 한 것으로 생각된다. 따라서 착색도가 낮은 맑은 술을 제조하는 데에는 국을 그대로 사용하는 것보다 담금용수로 추출하여 사용하는 것이 보다 유리하다고 생각된다.

청주의 향은 효모의 발효 부산물로 생성되는 향기 성분 외에 양조에 사용하는 국에서 유래되는 향취 성분에 따라 달라질 수 있으며, 국취가 특이하거나 어느 정도 이상 강하면 주질을 저하시킨다. 밀기울국의 사용량과 방법에 따라 숙성 술덧에 미치는 국취의 정도를 관능 평가한 결과는 표 6과 같다. 표 6에서와 같이 밀기울국을 그대로 사용하기보다는 담금용수로 추출하여 사용하는 것이 국취가 적었으며, 원료 쌀량에 대하여 적은 양(2~3%)을 담금용수로 추출하여 사용하면 국취는 별 문제가 되지 않았다.

국과 분리효모를 관련시킨 양조시험

황국균을 배양한 쌀국 또는 백국균을 배양한 밀기울국을 사용하고 분리효모와 일본청주효모(대조균주)를 각각 배양한 주모를 사용하여 발효시킨 숙성 술덧의 일반성분을 분석한 결과는 표 7 및 8과 같다. 표 7에서 명백히 알 수 있는 바와 같이 쌀국을 사용하고 분리효모 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주로 발효시킨 경우는 발효의 진행이 부진하고 에탄올 생성이 낮았다. 일본청주효모 K-7 및 K-9 균주는 에탄올 발효는 잘 이루어졌으나

Table 7. Composition of the mash fermented by the isolated yeasts and Japanese sake yeasts brewing with rice koji

| Strains | Acidity (mL) | Amino acidity (mL) | pH | Reducing sugar (%) | Ethanol (v/v%) |
|----------------------------|-----------------|-----------------------|------|-----------------------|-------------------|
| Isolated yeast | | | | | |
| KP-16 | 3.0 | 3.1 | 4.60 | 3.27 | 17.2 |
| KP-21 | 3.0 | 3.0 | 4.61 | 3.19 | 16.9 |
| KP-54 | 2.7 | 2.8 | 4.83 | 3.27 | 17.4 |
| Japanese sake yeast | | | | | |
| K-7 | 2.5 | 2.9 | 4.98 | 0.99 | 19.0 |
| K-9 | 2.4 | 3.0 | 4.87 | 1.52 | 19.2 |

Table 8. Composition of the mash fermented by the isolated yeasts and Japanese sake yeasts brewing with wheat bran koji*

| Strains | Acidity (mL) | Amino acidity (mL) | pH | Reducing sugar (%) | Ethanol (v/v%) |
|----------------------------|-----------------|-----------------------|------|-----------------------|-------------------|
| Isolated yeast | | | | | |
| KP-16 | 2.3 | 1.1 | 4.60 | 0.97 | 20.0 |
| KP-21 | 2.3 | 1.3 | 4.70 | 0.75 | 19.8 |
| KP-54 | 1.7 | 1.3 | 4.83 | 1.24 | 19.2 |
| Japanese sake yeast | | | | | |
| K-7 | 2.8 | 1.2 | 4.66 | 0.27 | 20.2 |
| K-9 | 2.7 | 1.2 | 4.67 | 0.25 | 20.1 |

*2% of wheat bran koji to the weight of total rice was used in solution after extracted with brewing water.

아미노산도가 높아 본 실험에서 의도하는 깨끗한 주질의 청주를 얻을 수 없었다. 이와 같이 쌀국을 사용하여 양조된 청주가 아미노산도가 높은 것은 저도정미(백미)를 원료하였기 때문이며, 일본청주 양조에서 고도정미(도정수율 75% 이하)를 원료로 사용하는 이유의 하나가 되고 있다.

표 8에 표시한 바와 같이 밀기울국을 사용한 경우는 쌀국 사용시에 비하여 효모균주에 관계없이 숙성술덧의 아미노산도가 낮았다. 밀기울국을 사용하고 분리효모로 발효시킨 경우는 산도와 아미노산도가 모두 낮아 양질의 청주를 얻는데 유리한 조건이 되었으며, 균주에 따라 산도가 다소의 차이는 있었으나 양조 목적에 따라 알맞게 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 저도정미를 사용하면서도 산도와 아미노산도가 낮고 국취가 적은 깨끗한 주질의 청주를 양조하는데는 백국균을 배양한 밀기울국을 추출하여 사용하고, 이 조건에서 분리효모를 사용하는 것이 바람직하다고 생각된다.

본 연구에서 유용효모로서 분리한 균주는 TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) 염색성 pink계이었으며, 백미를 주원료로하여 밀기울국과 함께 사용할 경우, 유기산의 생성이 적고 에탄올 발효가 정상적으로 진행되어 그 유용성이 인정되었는데, 이는 국으로서 쌀국만을 사용하는 일본식 청주에 있어서 TTC 염색성 pink계인 효모는 일반적으로 산의 생성이 많고, 에탄올 발효가 떨어져 불리한 효모라는 인식과는 상반된다. 이와 같은

Table 9. Organic acids of the mash fermented by the isolated yeasts or Japanese sake yeasts brewing with wheat bran koji* (mg/l)

| Acids | Isolated yeast | | | Japanese sake yeast | |
|---------------|----------------|-------|-------|---------------------|-----|
| | KP-16 | KP-21 | KP-54 | K-7 | K-9 |
| Malic acid | 172 | 179 | 138 | 480 | 495 |
| Lactic acid | 411 | 359 | 374 | 345 | 342 |
| Acetic acid | 83 | 83 | 98 | 55 | 55 |
| Citric acid | 173 | 163 | 166 | 163 | 169 |
| Succinic acid | 463 | 449 | 416 | 957 | 931 |

*2% of wheat bran koji to the weight of total rice was used in solution after extracted with brewing water.

현상은 竹田 등¹¹⁾이나 鈴木¹²⁾의 보고에서도 시사되고 있는 바와 같이 술덧의 구성 원료에 따라 각각 유리하게 관여할 수 있는 효모균주가 존재하기 때문인 것으로 생각된다.

밀기울국을 사용하고 분리효모와 일본청주효모를 각각 배양한 주모로 발효시킨 숙성 술덧의 유기산을 분석한 결과는 표 9와 같다. 일본청주효모로 발효시킨 술덧은 호박산이 liter 당 1 g에 가까운 양으로 많았다(별도의 시험에서 일본청주효모는 쌀국 사용시에도 호박산의 생성량이 많은 것을 알 수 있었다). 그러나 분리효모의 경우는 일본청주효모의 것에 비하여 호박산의 양이 약 1/2 정도로 그 함량이 낮았다. 발효 중 술덧에 생성되는 호박산의 양은 여러가지 요인에 따라 변하는 것으로 알려져 있으나,^{13,14)} 본 실험의 결과로 볼 때 효모균주에 따라서 그 차가 상당히 큰 것을 알 수 있었다.

한편 발효주의 유기산 조성에 관한 연구로는 일본청주에 대한 佐藤 등,^{15,16)} 岩井,¹⁷⁾ 中村 등,¹⁸⁾ Oyashiki 등¹⁹⁾의 보고, 포도주에 관한 Shimazu 등,²⁰⁾ 渡邊 등²¹⁾의 보고, 맥주에 대한 Coote 등²²⁾의 보고가 있다. 이들의 보고를 보면 호박산이 많은 것은 산도가 높은 포도주의 경우뿐이며, 그 양이 제성주 1 liter 당 1 g 정도이다. 일본청주에서는 호박산을 중요한 정미성분으로 인정하고 있으나 과다할 경우에는 주질이 거칠어 진다. 본 실험의 결과와 같이 저도정미를 원료로 사용하고 일본청주효모로 발효시킨 술덧은 호박산이 과다하였다. 이상으로 미루어 원료로써 저도정미와 밀기울국을 사용하여 청주를 양조하는 경우에는 유기산의 조성면에서도 일본청주효모보다 분리효모가 적합한 것으로 생각된다.

밀기울국을 사용하고 분리효모와 일본청주효모(대조 시험효모)를 각각 배양한 주모로 발효시킨 숙성 술덧(정제처리 한 후)에 대하여 관능시험을 실시한 결과는 표 10과 같다. 표 10에서 명백히 알 수 있는 바와 같이 분리효모로 발효시킨 술덧은 일본청주효모로 발효시킨 것에 비하여 주질이 부드럽고 뒷맛이 깨끗하다는 것이 심사원 5인 전원의 일치된 판단이었다. 이 결과는 일반성분과 유기산 분석에 의한 예측과 합치되는 것이다.

Table 10. Sensory evaluation of the fermented mash by the isolated yeast (KP-16) or Japanese sake yeast(K-7) brewing with wheat bran koji

| Panels | Ranking number in quality | |
|--------|---------------------------|-----|
| | KP-16 | K-7 |
| A | 1 | 2 |
| B | 1 | 2 |
| C | 1 | 2 |
| D | 1 | 2 |
| E | 1 | 2 |

Table 11. Composition of the fermented mash, brewing with wheat bran koji and rice koji together

| Koji* used (%) | Acidity | Amino | pH | Reducing sugar (%) | Ethanol (%) |
|----------------|------------|-------|--------------|--------------------|-------------|
| WK | RK | (ml) | acidity (ml) | | |
| 2 | 0(control) | 2.2 | 1.1 | 4.53 | 1.15 |
| 2 | 1 | 2.3 | 1.3 | 4.51 | 2.07 |
| 2 | 2 | 2.4 | 1.6 | 4.53 | 2.18 |
| 2 | 4 | 2.6 | 1.7 | 4.57 | 2.33 |
| 2 | 8 | 2.8 | 2.0 | 4.62 | 3.39 |
| | | | | | 18.7 |

*The amount of koji used was shown with weight percentage to total rice. Wheat bran koji (WK) was used in solution extracted with brewing water, and rice koji (RK) was substituted from steamed rice for final addition shown in Table 1.

Strain KP-16 was used as yeast starter.

쌀국 및 밀기울국을 병용한 양조시험

청주양조에 있어서 KP-16 균주를 배양한 주모를 사용하고 국으로써 밀기울국 2%(원료 쌀 총량에 대한 중량)와 함께 쌀국 1~8%(사용 총 쌀량 중의 쌀국량, 표 1의 최종 담금용 증자쌀의 일부를 쌀국으로 바꾸어 담금함)를 병용하여 발효시킨 술덧의 일반성분과 유기산 조성을 분석한 결과는 표 11 및 12와 같다. 표 11에서와 같이 밀기울국과 함께 쌀국을 병용한 경우에는 쌀국 사용량이 증가함에 따라서 산도와 아미노산도가 높아지고, 쌀국 사용량 4% 이상에서는 에탄올 생성이 멀어졌다. 이 결과와 표 7의 결과로 미루어 보면, 쌀국을 어느 정도 이상 첨가한 술덧에서 분리효모는 에탄올 발효가 약화되고, 동시에 유기산 생성이 증가되는 원인이 주어진다고 생각된다. 한편 표 12에서 보면 쌀국을 밀기울국과 함께 각각 2% 사용한 경우에는 밀기울국만을 사용한 것보다 호박산이 약간 많았다.

2종의 국을 병용한 경우와 밀기울국을 단용하여 분리효모로 발효시킨 청주에 대하여 주질의 차이를 관찰 시험으로 비교한 바, 양자 간에 약간의 차이가 인정되었다. 즉 밀기울국(원료쌀 양에 대하여 2%)만을 단용한 청주는 주질이 보다 깨끗하고 맛이 짙으나, 밀기울국과 쌀국(각각 원료쌀 양에 대하여 2%)을 병용하여 제조한 청주는 보다 맛이 짙고 조화된 느낌이었다. 표 11의 결과와 같이 밀기울국과 쌀국을 병용하고 분리효모로 발효시킬 경우에는, 2종의 국의 사용량에 따라서 술덧의

Table 12. Organic acids of the fermented mash brewing with 2% of rice koji and 2% of wheat bran koji* to total rice used (mg/l)

| Acids | Koji used | |
|---------------|-----------------|-------------------------------|
| | Wheat bran koji | Wheat bran koji and rice koji |
| Malic acid | 202 | 182 |
| Lactic acid | 408 | 392 |
| Acetic acid | 92 | 90 |
| Citric acid | 152 | 160 |
| Succinic acid | 534 | 454 |

*Wheat bran koji was used in solution extracted with brewing water. And addition method of two kinds of koji and seed culture of yeast were same as Table 11.

산도 및 아미노산도를 어느 정도 조정할 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

- 小泉武夫 (1984) 麴カビと麹の話, p. 56-58, (株)光琳, 東京.
- 五味勝也 (1987) 清酒醸造法, 日本特許公報, 昭62-11585.
- 山下仲雄 (1991) 清酒の製造方法, 日本特許公報, 平3-15376.
- フ-ズバイオテクノロジ-事典編集委員会編 (1988) 醸造における周邊技術, p. 374-377, フ-ズバイオテクノロジ-事典, (株)技秀堂, 東京.
- 注解編集委員会編 (1974) 第3回改正國税廳所定分析法注解, p. 212-218, p. 222-225, 新日本印刷(株), 東京.
- 순태화, 홍영석, 하영선 (1980) 식품분석, p. 337-338, 형설 출판사.
- 中台忠信, 那須野精一, 井口信義 (1971) 麴のペプチダ-ゼ活性の測定法, 調味科學, **18**, 435-441.
- 中村道徳, 鈴木繁男 (1977) 濃粉科學ハンドブック, p. 188-189, 朝倉書店, 東京.
- 岩野君夫, 布川彌太郎 (1976) 清酒醸造に關連する諸酵素の研究(第5報), 蒸米溶解に及ぼす α -amylase, glucoamylase, acid proteaseの影響, 日本醸造協會誌, **71**, 943-947.
- 岩野君夫, 布川彌太郎 (1977) 清酒醸造に關連する諸酵素の研究(第10報), 清酒醸造における transglucosidase의役割, 日本醸造協會誌, **72**, 521-525.
- 竹田正久, 塚原寅次 (1971) *Saccharomyces sake*の特性(第7報) 醸造酵母の混合培養, 東京農業大學 農學集報 特別號(創立80週年記念) p. 130-134.
- 鈴木昌治 (1985) 紹興酒酵母の分類, 清酒酵母の分類學(竹田正久 編), p. 122-131, 建帛社, 東京.
- Oura, E. (1977) Reaction products of yeast fermentations. *Process Biochemistry*, **12**, 19-21.
- Heerde, E. and F. Radler (1978) Metabolism of the anaerobic formation of succinic acid by *saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, **117**, 269-276.
- 佐藤 信, 大場俊輝, 高橋康次郎 (1977) 清酒中の乳酸, コハク酸, リンゴ酸のプロピルエステル化による同時定量法, 日本醸造協會誌, **72**, 159-163.
- 佐藤 信, 大場俊輝, 高橋康次郎, 國分伸二, 小林幹男, 小林宏治 (1977) 清酒の味覺に關する研究(第7報) 清酒の多様化

- について. 日本醸造協会誌, **72**, 801-805.
17. 岩井芳則 (1988) 清酒醸造における有機酸. 日本醸造協会誌, **83**, 579-583.
 18. 中村明弘, 飯盛直樹, 須藤茂俊, 三上重明, 伊藤清, 石川雄章 (1990) 焼酎白麴菌を用いた清酒もろみの醸酵特性. 日本醸造協会誌, **85**, 114-119.
 19. Oyashiki, H., K. Murata, N. Hirai, N. Kurose, M. Uchida, A. Obayashi and S. Oka (1988) Use of koji prepared with a high citric acid producing mutant of *Aspergillus usamii* as a raw material for Sake brewing. *J. Ferment. Technol.*, **66**, 111-115.
 20. Shimazu, Y. and M. Watanabe (1981) Effects of yeast strains and environmental conditions on formation of organic acids in must during fermentation. *J. Ferment. Technol.*, **59**, 27-32.
 21. 渡邊正澄, 藤原正雄 (1988) ワインの酸と料理. 日本醸造協会誌, **83**, 171-176.
 22. Coote, N. and B. H. Kirsop (1974) The content of some organic acids in beer and other fermented media. *J. Inst. Brew.*, **80**, 474-483.

Selection of koji and yeast strain for improvement of *Choungju* quality

Cheol-Seung Shin, Suk-Kun Lee* and Yoon-Joong Park (*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, 306-764, Korea*)

Abstract : To improve the quality of *Choungju*, a kind of rice wine, two different types of koji were prepared and compared : one from wheat bran with *Aspergillus usamii* mut. *shirousami* Y-79 and the other from rice with *A. oryzae*, and yeast strains from cereal wine mashes were newly isolated and applied for the brewing method. Levels of the related enzymes such as glucoamylase, α -amylase and acid protease in the wheat bran koji were higher than those in the rice koji, whereas *vice versa* in the case of acid carboxypeptidase. An amount of 2~3% wheat bran koji to the weight of total rice was adequate for saccharification of the mash and resulted in improved quality of the fermented mash, accompanied by decrease in koji odor and amino acidity. When the solution of wheat bran koji and the isolated yeast strains were employed, the better *Choungju* taste was obtained in comparison with those fermented with Japanese sake yeasts, the strain K-7 and 9, due to the lower content of organic acids especially succinic acid. The amino acidity of the fermented mash was able to be controlled to some extent, when the two types of koji and the isolated strains were employed, by changing the ratio of the two koji types. However, the application of the rice koji with the isolated strains was not desirable for the brewing process because organic acids were produced in excess and ethanol fermentation was retarded.

*Corresponding author

청주의 주질 개선을 위하여 분리된 효모의 균학적 성질

신철승 · 이석건* · 박윤중

충남대학교 농과대학 식품공학과

초록 : 청주의 주질을 향상시키기 위한 전보의 연구에서, 유용효모로서 분리된 균주에 대하여 균학적 성질을 조사하고, 일부의 사항에 대하여는 일본청주효모와 그 특성을 비교하였다. 분리효모 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주는 모두 *Saccharomyces cerevisiae*로 동정되었고, TTC 염색성이 pink계이었다. 맥아즙 배지에서의 피막(被膜) 형성능은 KP-16 및 KP-21 균주는 약하였으나, KP-54균주는 강하였다. 당의 발효성과 탄소원의 자화성은 KP-16과 KP-21 균주는 동일하였고, KP-54 균주는 다소 달랐다. 분리효모는 모두 α -methyl-D-glucoside를 발효도 자화도 하지 못하였으며, 이는 현재 사용되고 있는 일본청주효모와 다른 점 중의 하나였다. 비타민 요구성에 있어서 분리균주는 모두 biotin과 pantothenate를 요구하였으며, biotin을 요구하는 점은 일본청주효모와는 다른 특성이었다. 내알코올성은 분리균주 모두 일본청주효모 K-7 및 K-9 균주보다 강하였다(1995년 11월 17일 접수, 1996년 1월 22일 수리).

서 론

전보¹⁾에서 필자 등은 청주의 주질 개선을 위하여 분리한 유용효모로서 KP-16 등 3균주의 효모를 분리하고 그 발효 특성을 검토한 바, 분리균주는 쌀과 쌀국(황국균배양)을 원료로 하는 청주양조에는 부적당하나 국으로서 밀기울국(백국균배양)만을 사용하거나 밀기울국과 쌀국을 병용(併用)할 경우에는 술더 발효시, 유기산 특히 호박산 생성이 적어서 깨끗한 주질의 발효주를 얻는데 매우 유용함을 발표하였다. 본 보에서는 이들 분리효모의 균학적 특성을 살피기 위하여 형태적, 생리적 성질 등을 상세하게 시험하였다.

재료 및 방법

배양 및 생리적 성질 시험

Lodder²⁾의 효모 분류학적 연구시험법에 준하였으며, TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) 염색은 秋山³⁾의 방법에 따라서 중총법으로 실시하였다.

비타민 요구성 시험

中田 등⁴⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 포도당 20 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 g, KH_2PO_4 0.55 g, KCl 0.425 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg, inositol 25 mg, Ca · pantothenate 2.5 mg, biotin 0.025 mg, thiamine · HCl 0.5 mg 및 pyridoxine · HCl 0.5 mg/l를 기본배지로 한 것과 이것에 구연산 1 g 및 구연산 칼륨 5 g을 첨가한 두 가지 배지에 대하여 각각의 비타민을 제외시키는 생략법으로, 세척 균체의

현탁액을 $8 \times 10^3/\text{ml}$ 로 접종하고 25°C에서 3일간 배양하여 효모의 증식정도를 관찰하였다.

내알콜성 시험

맥아즙에 25°C에서 3일간 배양한 효모를 생리식염수로 1회, 0.1 M 인산 완충액 (pH 4.5)을 함유하는 17%(V/V) 에탄올 용액으로 1회 세척하고 동일 에탄올 용액에 효모수가 약 $2 \times 10^8/\text{ml}$ 가 되도록 현탁하여 25°C에서 72시간 보존한 후 평판 배양법으로 생균수를 측정하여 생존율을 표시하였다.

결과 및 고찰

형태학적 성질

분리한 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주의 형태학적 성질을 시험한 결과는 표 1과 같다. 영양세포의 형태는 모두 구형~난형이었으며, KP-54균주는 KP-16 또는 KP-21균주보다 약간 작았다. Gorodokowa 한천배지에서 분리효모는 모두 비교적 포자를 잘 형성하였고, 포자의 형태는 난형이었으며 세포당 1~3개의 포자를 형성하였다. Potato dextrose 한천배지로 slide 배양하여 검경한 결과 분리균주는 모두 위균사를 잘 형성하였다.

배양 및 생리적 성질

분리효모의 배양 및 생리적 성질을 시험한 결과는 각각 표 2, 3 및 4와 같다. Ballg. 10°의 맥아즙 배지에 25°C에서 2주간 시험판 배양한 결과 KP-54는 피막을 잘 형성한 반면에 KP-16 및 KP-21은 피막형성이 약하였다. 중총법으로 TTC 염색을 실시한 결과 분리균주 모두

찾는말: 청주효모, *Saccharomyces cerevisiae*

*연락처자

Table 1. Morphological characteristics of the isolated strains

| Strains | Cell form | | Ascospore | | Pseudomycelium |
|---------|------------------------|---------------|-----------|-------|----------------|
| | size (μm) | shape | number | shape | |
| KP-16 | 6.4±0.50~5.3±0.30 | globose, oval | 1~3 | ovoid | + |
| KP-21 | 6.2±0.50~5.3±0.35 | globose, oval | 1~3 | ovoid | + |
| KP-54 | 5.9±0.59~5.3±0.30 | globose, oval | 1~3 | ovoid | + |

Table 2. Cultural and physiological characteristics of the isolated strains

| | Strains | | |
|--|--------------|--------------|--------------|
| | KP-16 | KP-21 | KP-54 |
| Formation of sediment | + | + | + |
| Formation of pellicle | weak | weak | heavy |
| Splitting of arbutin | - | - | - |
| Growth in vitamin free medium* | + | + | + |
| Growth in 50% (W/W) glucose yeast extract agar | - | - | - |
| Production of acid | + | + | + |
| Hydrolysis of gelatin | - | - | - |
| Assimilation of KNO_3 | - | - | - |
| Assimilation of ethylamine hydrochloride | - | - | - |
| Cycloheximide resistance | - | - | - |
| T.T.C. stain | reddish pink | reddish pink | reddish pink |

*Bacto-Vitamin Free Yeast Base (Difco Lab., Michigan, U.S.A.) as medium was used.

Table 3. Fermentation of carbohydrates by the isolated strains

| Carbohydrates | Strains | | |
|------------------------------|---------|-------|-------|
| | KP-16 | KP-21 | KP-54 |
| Glucose | + | + | + |
| Galactose | + | + | + |
| α -Methyl-D-glucoside | - | - | - |
| Sucrose | + | + | + |
| Maltose | + | + | + |
| Cellobiose | - | - | - |
| Trehalose | + | + | - |
| Lactose | - | - | - |
| Melibiose | - | - | - |
| Raffinose | + | + | + |
| Inulin | - | - | - |
| Soluble starch | - | - | - |
| Melizitose | - | - | - |

적색을 띠는 pink색 효모였다. 당 발효성에 있어서 분리균주는 모두 α -methyl-D-glucoside를 발효하지 못하였고 또한 cellobiose, lactose 및 melibiose를 발효하지 못하였으며 raffinose는 1/3 발효하였다. 분리효모 중 KP-16과 KP-21은 trehalose를 발효하였으나, KP-54균주는 발효하지 못하였다. 한편 탄소원의 자화성에 있어서도

Table 4. Assimilation of carbon sources by the isolated strains

| Carbon compounds | Strains | | |
|------------------------------|----------|----------|----------|
| | KP-16 | KP-21 | KP-54 |
| Glucose | + | + | + |
| Galactose | + | + | + |
| α -Methyl-D-glucoside | - | - | - |
| Sucrose | + | + | + |
| Maltose | + | + | + |
| Cellobiose | - | - | - |
| Trehalose | + (weak) | + (weak) | + (weak) |
| Lactose | - | - | - |
| Melibiose | - | - | - |
| Raffinose | + | + | + |
| Melizitose | - | - | - |
| Inulin | + (weak) | + (weak) | - |
| Soluble starch | - | - | - |
| L-Sorbose | - | - | - |
| Salicin | - | - | - |
| D-Xylose | - | - | - |
| D-Arabinose | - | - | - |
| L-Arabinose | - | - | - |
| D-Ribose | - | - | - |
| L-Rhamnose | - | - | - |
| Ethyl alcohol | + | + | + |
| Glycerol | + (weak) | + (weak) | + |
| Erythritol | + | + | + |
| Ribitol | - | - | - |
| Galactitol | - | - | - |
| D-Mannitol | - | - | - |
| D-Glucitol | - | - | - |
| <i>myo</i> -Inositol | - | - | - |
| DL-Lactic acid | + | + | + |
| Succinic acid | - | - | - |
| Citric acid | - | - | - |

분리효모는 모두 α -methyl-D-glucoside를 자화하지 못하였고, KP-16과 KP-21균주는 inulin을 약하게 자화하였으나 KP-54균주는 자화하지 못하였다.

이상의 결과로 보아 분리효모 중 KP-16과 KP-21균주는 균학적 성질 면에서 동류의 효모로 인정되었으며, KP-54균주는 이들과는 다소 차이가 있었다. 그러나 Loddet²⁾의 효모분류동정법에 의하여 분리효모는 모두 *Saccharomyces cerevisiae*로 동정되었다.

竹田⁵⁾는 액체배지에서의 환, 피막형성은 배지의 종류나 당농도, 배양일수에 따라서 다르나 동일조건에서는 비교가 가능하며, 일본청주효모 중에서 TTC 염색 red

Table 5. Vitamin requirement of the isolated yeasts

| Carbohydrates | Strains | | |
|---------------|---------|-------|-------|
| | KP-16 | KP-21 | KP-54 |
| Pantothenate | + (±) | + (±) | + |
| Biotin | + | + | + |
| Thiamine | - | - | - |
| Inositol | - | - | - |
| Pyridoxine | - | - | - |

Composition of basal medium: glucose 20 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 g, KH_2PO_4 0.55 g, KCl 0.425, CaCl_2 0.125 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg, inositol 25 mg, Ca-pantothenate 2.5 mg, biotin 0.025 mg, thiamine·HCl 0.5 mg, pyridoxine·HCl 0.5 mg per liter. Media for test was omitted each vitamins or all vitamins in above media.

(), containing citric acid 1 g and $\text{K}_3\text{-citrate}$ 5 g per liter; +, requirement; -, no requirement; ±, weak requirement.

Table 6. Ethanol tolerance of the isolated yeasts and the Japanese sake yeasts (control strain)

| Strains | Viabe cell (/ml) | | Survival rate (%) |
|-----------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | 0 hr | 72 hrs | |
| Isolated yeast | | | |
| KP-16 | 2.10×10^8 | 5.97×10^5 | 0.28 |
| KP-21 | 2.44×10^8 | 9.04×10^5 | 0.37 |
| KP-54 | 2.19×10^8 | 1.07×10^5 | 0.05 |
| Sake yeast | | | |
| K-7 | 2.31×10^8 | 0.32×10^5 | 0.01 |
| K-9 | 2.13×10^8 | 0.20×10^5 | 0.01 |

The yeasts were cultivated in the malt extracted medium at 25°C, 2 days, and washed with physiological salt solution and 17% ethanol - 0.1 M phosphate buffer(pH 4.5). And then the yeast were tested in the above ethanol solution.

계는 피막형성이 왕성하고 pink계는 약하다고 보고한 바 있는데, TTC 염색성이 pink계인 분리효모 중에서 KP-16, KP-21은 피막 형성이 약한 반면 KP-51균주는 피막형성이 왕성하여 같은 pink계에서도 피막형성능에 차이가 있었다.

비타민 요구성

분리효모의 비타민 요구성을 中田 등⁴⁾의 방법에 따라서 시험한 결과는 표 5와 같다. 표에서 보는 바와 같이 분리효모는 모두 biotin과 pantothenate를 요구하였으나, 구연산과 구연산칼륨을 함유하는 배지에서는 KP-16과 KP-21균주는 pantothenate를 약하게 요구하였다. 비타민 요구성으로 보면 분리효모는 biotin을 요구하는 점에서 일본청주효모와는 다르고, 맥주효모, 포도주효모 등과 비슷하였다.

내알코올성

분리효모와 일본청주효모를 각각 0.1 M 인산완충액을 함유하는 17% 에탄올 용액에 혼탁시켜 25°C, 72 시간 경과 후의 생균수를 측정한 결과는 표 6과 같다. 분리효모 중 KP-16과 KP-21균주는 일본청주효모 K-7 및 K-9에 비하여 생존율이 상당히 높았고, KP-54균주는 약간 높은 것으로 나타났다.

청주 술덧의 발효 말기에 에탄올 생성량이 18~20%에 이르면 효모는 사멸되기 쉽고, 효모균체의 자기소화에 의하여 아미노산이 증가되어 착색과 품질저하의 원인이 되는데, 분리효모는 일본청주효모에 비하여 내알코올성이 높아 청주 양조에 있어서 보다 유리하게 이용될 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. 신철승, 이석건, 박윤중 (1996) 청주의 주질 개선을 위한 국 및 효모의 선정과 그 발효 특성. 한국농화학회지, **39**, 9-15.
2. Lodder, J. (Eds) (1971) The Yeasts, A taxonomic study. Delft, Netherland
3. 秋山裕一 (1963) 酵母の平板培養法について, 清酒醸造の微生物管理法(その3). 日本醸造協会誌, **58**, 1155-1158.
4. 中田久保, 穂坂賢, 坂井劭 (1985) 泡盛, 燃酌, 清酒酵母および他の *Saccharomyces cerevisiae* 間の差異. 酸酵工學會誌, **63**, 509-515.
5. 竹田久保 (1985) 協會清酒酵母の分類. 清酒酵母の分類學(竹田正久 編), p. 122-131, 建帛社, 東京

Characteristics of the yeast strains which isolated for improvement of *Choungju* quality

Cheol-Seung Shin, Suk-Kun Lee* and Yoon-Joong Park (*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, 306-764, Korea*)

Abstract : The yeast strains isolated for *Choungju* brewing in the previous report were examined for their microbiological characteristics, together with some comparative tests with Japanese sake yeasts. The isolates KP-16, 21 and 54 were identified as the strains belong to *Saccharomyces cerevisiae* according to the morphological and physiological properties described in Lodder's 'The Yeasts - A taxonomic study'. The isolates were grouped into the pink-colored strains by 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride over-lay method. The strains KP-16 and 21 were found to be distinguished from the strain KP-54 in aspects of fermentation of sugars, assimilation of carbon sources, and pellicle formation on malt extract broth. α -Methyl-D-glucoside was not assimilated or fermented by the isolated yeast strains and this is one of the different characters from the Japanese sake yeasts. The isolated strains appeared to have the requirements for biotin and pantothenate, and to have higher tolerance to ethanol than the Japanese sake yeasts. The biotin requirement was not found in the sake yeasts.

*Corresponding author