KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 30, No. 1, pp. 161~167 (1998)

# *Kluyveromyces marxianus*와 젖산균의 혼합배양에 의한 치즈 유청의 알코올 발효

심영섭 · 김재원 · 윤성식
연세대학교 생물자원공학과

# Alcohol Fermentation of Cheese Whey by *Kluyveromyces marxianus* and Lactic Acid Bacteria

Young-Sup Shim, Jae-Won Kim and Sung-Sik Yoon
*Department of Biological Resources and Technology Yonsei University*

**Abstract**

Whey is by-product from natural cheese manufacturing process. For alcoholic fermentation, the initial lactose content and pH were adjusted to 4.5% and 4.2, respectively. Two strains of yeasts (*Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces cerevisiae*) and seven strains of lactic acid bacteria (*Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus lactis, Leuconostoc cremoris, Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus*) were examined for their alcohol production and sensory acceptability. Ethanol content in the whey fermented by lactose-fermenting *K. marxianus* was 2.8% at 4th day of incubation and that fermented by non-lactose fermenting *S. cerevisiae* was 0.2%. In case of mixed fermentation with yeasts and lactic acid bacteria (LAB being inoculated at 0 hr), the maximum ethanol production was obtained in the sample inoculated at 16 hr by *S. cerevisiae*, and in the sample inoculated at 24 hr by *K. marxianus*. The optimum temperature was 37°C for alcohol production under static condition. The production of $CO_2$ gas was higher in the whey fermented by *K. marxianus* (1.88%) than by *S. cerevisiae* (0.04%). The titratable acidity of the whey gradually increased with fermentation time and its content was 0.39% at 4th day of fermentation by *K. marxianus* and 0.52% by *S. cerevisiae*. Among seven strains of lactic acid bacteria tested, *Lactococcus lactis* exerted synergistic effect for acid production with *K. marxianus*. Therefore, overall results suggested that the combination of *Lactococcus lactis* and *K. marxianus* was best choice in fermenting cheese whey for edible purpose.

Key words: whey, alcohol fermentation, *Kluyveromyces marxianus,* lactic acid bacteria

## 서 론

Whey는 치즈 제조시 얻어지는 액상의 부산물로 지금까지는 대부분 폐기되고 있으며, 소량만 제빵용 분말이나 가축 사료 등으로 쓰이고 있다. Whey에는 lactose, 무기질, 수용성 vitamin 및 whey protein 등의 유용한 성분이 함유되어 있어서 미생물의 좋은 성장 배지가 될 수 있다[1]. Whey의 일반 조성은 수분이 93~95%, 고형분 5.4~6.7%, 단백질이 0.53~0.8%, lactic acid가 0.14~0.8%, lactose가 4~4.5% 정도이다[2].

Whey를 효율적으로 이용하는 방법으로는 whey를 액상 그대로 발효시켜 whey wine, whey beer, whey champagne, whey juice 등으로 가공하는 방안이 연구되었다.

Whey를 이용하여 음료를 제조한 예를 살펴보면 1898년 Graeff[3]는 whey를 열처리하고 이산화탄소를 넣어 만든 whey 음료에 대한 특허를 냈다. Brunner 등[4]은 "O-Way"라는 제품을 개발하여 특허를 출원한 바 있는데, 농축 오렌지 쥬스와 탈취한 whey를 1:4의 비율로 혼합한 음료이다. Webb[5]는 65%의 토마토 즙, 34.6%의 sweet whey와 whey cream, 0.4%의 염을 혼합한 수프 음료를 개발했다. Besserezhnov[6]는 요구르트향의 whey음료를 만드는 간단한 방법을 개발했는데, 저온 살균한 sweet whey에 *Lactobacillus bulgaricus, Lb. acidophilus, Lb. casei, Streptococcus thermophilus*의 혼합 culture 10%를 접종하고 24시간 배양 후 냉각한 다음 포장한 제품이다. Anatovskii와 Yaroshenko[7]는

Corresponding author: Sung-Sik Yoon, Department of Biological Resources and Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

sparkling whey beverage를 만들기 위해 sweet whey에 *Lb. acidophilus* 또는 *Streptococcus lactis*를 접종하여 24시간 동안 배양시킨 후, 효모와 8%의 sugar를 첨가하였다. Schulz와 Fackelmeier[8,9]는 알코올이 0.8%인 Milone이라 부르는 새로운 발효 음료를 개발했는데, 이는 whey를 kefir culture로 접종하여 lactic acid가 1%, lactose의 함량이 3.5%가 될 때까지 발효시킨 것이다.

한편 whey를 이용해서 알코올 발효를 할 경우에는 유당을 직접 분해할 수 있는 *Kluyveromyces*속과 유당을 분해하지 못하는 대표적인 효모로 *Saccharomyces* 속을 사용할 수 있으며, 유당을 분해하지 못하는 효모를 이용할 때는 유당을 단당류(glucose와 galactose)로 분해할 수 있는 미생물인 젖산균을 같이 이용함으로써 효모가 단당류를 이용하도록 만들어 줄 수 있다.

국내에서 유청을 이용한 연구를 살펴보면, 에탄올 발효를 위한 유청의 이용과 유청을 이용한 유산균 발효제품에 관한 연구가 주로 많으며, 후자의 경우 대개 몇 종류의 유산균만 사용하였다[16-19].

본 연구는 알코올 생산량이 높은 효모 균주와 이와 잘 어울리는 젖산균을 선별하여 풍미와 관능면에서 우수한 알코올 whey 발효 음료를 개발하기 위한 기초 연구로 *K. marxianus*와 *S. cerevisiae*를 이용하여 젖산 및 알코올 생성능을 비교한 실험이다.

## 재료 및 방법

### Whey 시료

본 실험에 사용된 whey는 국내에서 가공 치즈용 Cheddar cheese 제조시에 얻어지는 것으로 S 유가공장(주)에서 제공받았다. 이 whey를 조 등[10]의 방법에 따라 100°C에서 30분간 가열처리한 후 냉각시킨 다음 침전물을 여과하여 clear whey를 만들고, 다시 100°C에서 30분간 살균한 후 사용하였다. 이 때 whey의 조성은 유당을 4.5%로 조정하여 사용하였다.

### 사용균주

알코올발효에 사용되는 대표적인 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 12028와 *Kluyveromyces marxianus* KCCM 32422 2균주를 YM배지(Difco Lab., USA)에서 계대배양하여 사용하였다. 유제품에 사용되는 대표적인 유산균인 *Lactobacillus brevis* KCCM 40061, *Lb. casei* KCCM 35465, *Lb. bulgaricus* Lb-12 (Chr. Hansen's Lab., Denmark), *Lb. acidophilus* KCCM 32820, *Lb. lactis* KCTC 2181, *Leuconostoc cremoris* KCCM 35467와 *Lactococcus lactis* KCCM 32406, *Streptococcus thermophilus* KCCM 35496의 8균주는 10%의 멸균 환원탈지유배지(Difco Lab., USA)에서 계대배양하여 활력을 키운 후 사용하였다.

### 발효능력 측정

$CO_2$ gas의 생성량 측정: Nakashini 등의 방법[11]에 따라 측정하였다. 즉 혼합 배양액 50 mL를 각 flask에 넣은 다음 5 mL의 $H_2SO_4$을 넣은 흡수관을 부착시켜 배양시키면서 $CO_2$ gas 발생에 따른 중량 감소를 측정하여 $CO_2$ gas 생성량을 %로 표시하였다.

적정산도 측정: Nakashini의 방법[12]에 의해 시료 10 g을 취하여 0.1 N NaOH 용액으로 적정한 후 환산하여 계산하였다. 적정시 1% 페놀프탈레인 지시약 0.5 mL를 넣고 0.1 N NaOH로 적정하면서 미홍색이 30초간 소실되지 않는 점을 종말점으로 했다.

Alcohol 함량 측정: Amerine 등의 방법[13]에 따라 steam distillation을 하여 채취된 증류액을 gas chromatography (Italy, Carlo Erba Co, GC 6000 VEGA series, ICU 600 MEGA series integrator)에 의하여 측정하였다.

### Yeast의 선발

효모 2균주(*S. cerevisiae* KCCM 12028, *K. marxianus* KCCM 32422)와 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 각각의 whey 배지(유당이 4.5%)에 2%씩 혼합접종하고(*S. cerevisiae* 2%와 *Lb. bulgaricus* 2%, *K. marxianus* 2%와 *Lb. bulgaricus* 2%) 37°C에서 배양하면서 각각의 알코올 생산량, 산도의 변화, $CO_2$ gas의 생성량을 측정하여 효모 1균주를 선발하였다.

### 젖산균의 선발

선발된 효모를 whey에 2% 접종하고 7가지의 젖산균(*Lb. brevis* KCCM 40061, *Lb. casei* KCCM 35465, *Lb. acidophilus* KCCM 32820, *Lb. lactis* KCTC 2181, *Leu. cremoris* KCCM 35467, *Lactococcus lactis* KCCM 32406, *Streptococcus thermophilus* KCCM 35496)을 2%씩 접종하여 37°C에서 혼합배양한 후 각각의 알코올 생산량, 산도의 변화, $CO_2$ gas의 생성량을 측정하고, 관능검사를 실시하여 기호도가 우수한 균주를 최종 선발하였다.

### 관능검사

관능검사는 김 등[14]의 방법에 따라 젖산균의 선발시 실시하였는데, 48시간 혼합배양한 시료에 대해서만

행하였다. 패널 요원으로는 남녀대학생 10명을 선정하여 관능검사방법을 훈련시킨 후 신맛(전혀 나지 않는다 1점~ 너무 강하다 5점), 알코올 맛(전혀 나지 않는다 1점~ 너무 강하다 5점), 쓴맛(전혀 나지 않는다 1점~ 너무 강하다 5점), 전체적인 기호도(매우 좋지 않다 1점~ 매우 좋다 5점)에 대하여 5점 기호 척도시험법으로 평가하였다. 통계적 유의수은 상위 0.05%이하와 하위 0.05%이상으로 잡았다.

### 배양온도의 선택

최종 선발된 효모와 젖산균을 각 온도별(20°C, 30°C, 37°C, 42°C)로 각각 배양하고 알코올 생산량, 산도의 변화, $CO_2$ gas의 생성량을 각각 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### Yeast의 선택

**효모균주에 따른 알코올 생성**: *S. cerevisiae* KCCM 12028과 *Lb. bulgaricus* Lb-12, *K. marxianus* KCCM 32422와 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 단독 또는 혼합배양하여 37°C에서 발효시키면서 알코올의 변화를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. *S. cerevisiae* KCCM 12028은 발효 96시간 후 알코올 함량이 최고 0.2%인 것에 비하여, *K. marxianus* KCCM 32422는 발효 96시간 후 최고 함량이 2.8%였다. 김 등[1]은 유당 농도를 5.2%로 조절한 whey에 2%의 *K. marxianus*를 접종하여 37°C에서 3일간 배양하여 2.3%의 알코올을 얻었다고 보고하였는데, 이것은 본 연구의 결과와 비슷하였다. 김 등[14] 은 9%의 포도당을 첨가한 whey에 6%의 *S. cerevisiae*를 접종하여 30°C에서 32시간 배양하여 3.3%의 알코올이 생산되었다고 보고하였는데 이것은 *S. cerevisiae*가 직접 이용할 수 있는 포도당을 whey에 첨가했기 때문에 미생물이 이용할 수 있는 당농도가 높아서 발효 효율이 좋은 것으로 보인다. 그러나 본 실험에서 *S. cerevisiae* KCCM 12028의 알코올 생산이 저조한 것은 포도당을 첨가해 주지 않고 *S. cerevisiae*가 *Lb. bulgaricus*에 의하여 분해된 포도당에 의존하기 때문에 당농도가 낮아서 알코올 생산이 낮은 것으로 생각되었다. 효모의 접종 시간에 따른 알코올 변화를 보면 *S. cerevisiae* KCCM 12028은 젖산균을 접종한 후 16시간에, *K. marxianus* KCCM 32422는 접종한지 24시간이 되었을 때 접종하는 것이 알코올을 생산하는 속도가 가장 빨랐다.

**발효액의 $CO_2$ 함량 변화**: 발효 중 *S. cerevisiae* KCCM 12028과 *Lb. bulgaricus* Lb-12, *K. marxianus* KCCM 32422와 *Lb. bulgaricus* Lb-12의 단독 또는 혼합배양액의 $CO_2$ gas의 변화는 Fig. 2와 같은데, 젖산균을 접종한 다음 24시간 후에 *K. marxianus* KCCM 32422를 접종한 경우에는 $CO_2$ gas 생성량이 1.88%로 최고 값을 보였으며, *S. cerevisiae* KCCM 12028도 젖산균을 접종한 다음 24시간후에 접종한 것이 0.04%로 다른 실험군에 비하여 높은 값을 나타내었다. 조 등[10]은 *K. marxianus*와 *Lb. bulgaricus*를 각각 2%씩 접종하여 6일간 배양하여 2.1%의 $CO_2$ gas가 생성되었다고

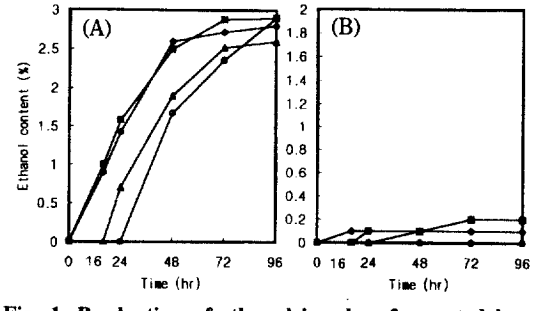


**Fig. 1. Production of ethanol in whey fermented by A (*K. marxianus* and *Lb. bulgaricus*), B (*S. cerevisiae* and *Lb. bulgaricus*), *K. marxianus* and *S. cerevisiae* being inoculated at different time.** (A) ◆—◆: *K. marxianus* at 0 hr, ■—■: *K. marxianus* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, △—△: *K. marxianus* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ○—○: *K. marxianus* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*. (B) ◇—◇: *S. cerevisiae* at 0 hr, □—□: *S. cerevisiae* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, ▲—▲: *S. cervisiae* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ●—●: *S. cerevisiae* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*.

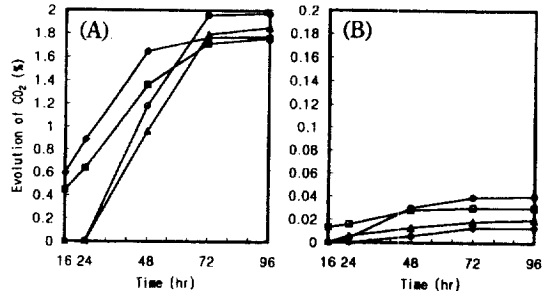


**Fig. 2. Evolution of $CO_2$ gas in whey fermented by A (*K. marxianus* and *Lb. bulgaricus*), B (*S. cerevisiae* and *Lb. bulgaricus*), *K. marxianus* and *S. cerevisiae* being inoculated at different time.** (A) ◆—◆: *K. marxianus* at 0 hr, ■—■: *K. marxianus* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, △—△: *K. marxianus* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ○—○: *K. marxianus* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*. (B) ◇—◇: *S. cerevisiae* at 0 hr, □—□: *S. cerevisiae* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, ▲—▲: *S. cervisiae* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ●—●: *S. cerevisiae* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*.

보고한 바 있다. 조 등[10]은 산 생성량이 월등히 높을 때에는 효모의 증식이 저해되어 알코올 발효과정 중 $CO_2$ gas의 양이 적어진다고 보고하였다. 김 등[1]은 유당의 농도가 5.2%인 whey에 2%의 *K. marxianus*를 접종하여 37°C에서 3일간 배양하여 1.8%의 $CO_2$ gas가 생성되었다고 보고하였다.

발효액의 적정산도의 변화: Fig. 3에 나타난 바와 같이 *S. cerevisiae* KCCM 12028과 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 단독 또는 혼합배양하였을 때 적정산도는 혼합배양한 경우 96시간에 0.52%였다. *K. marxianus* KCCM 32422와 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 혼합배양하였을 때 적정산도는 96시간에 0.59%였다. 이는 조 등[10]에서 보고된 1.3%와 큰 차이를 보이는데, 본 실험에서 행한 다른 실험군의 적정산도 값도 모두 낮은 것을 감안할 때 앞으로 연구를 더할 필요가 있을 것 같다. 김 등[1]이 보고한 바에 의하면, 1%의 *K. marxianus*를 단독으로 유당 함량이 5.2%인 whey에 접종하였을 때 발효 3일후에는 적정산도가 0.35%였다.

이상의 결과에서 나타난 바와 같이, cheese whey의 발효시 생성되는 알코올, $CO_2$ gas, 적정산도의 함량으로 판단한 바, 본 실험에 사용한 두 종류의 효모 균주 중에서 *K. marxianus* KCCM 32422가 *S. cerevisiae* KCCM 12028보다 우수한 것으로 나타났다.

## 젖산균의 선택

젖산균주에 따른 알코올 생성: Fig. 4는 *K. marxianus* KCCM 32422와 7균주의 젖산균을 혼합배양 하였을 때의 알코올 생산량이다. *K. marxianus* KCCM 32422를

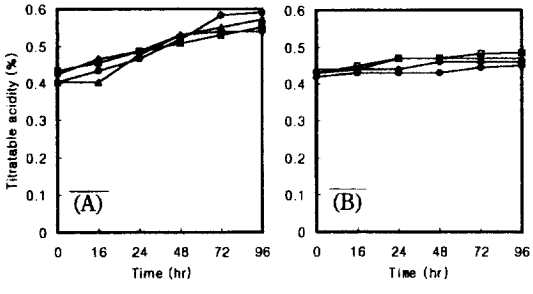


**Fig. 3. Changes of titratable acidity in whey fermented by A (*K. marxianus* and *Lb. bulgaricus*), B (*S. cerevisiae* and *Lb. bulgaricus*), *K. marxianus* and *S. cerevisiae* being inoculated at different time.** (A) ◆—◆: *K. marxianus* at 0 hr, ■—■: *K. marxianus* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, △—△: *K. marxianus* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ○—○: *K. marxianus* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*. (B) ◇—◇: *S. cerevisiae* at 0 hr, □—□: *S. cerevisiae* at 0 hr and *Lb. bulgaricus*, ▲—▲: *S. cervisiae* at 16 hr and *Lb. bulgaricus*, ●—●: *S. cerevisiae* at 24 hr and *Lb. bulgaricus*.

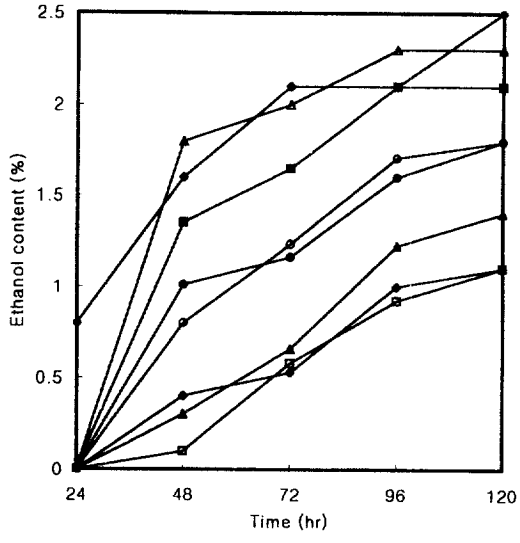


**Fig. 4. Production of ethanol in whey fermented by *K. marxianus* and seven strains of lactic acid bacteria.** ◆—◆: *K. marxianus*, ■—■: *K. marxianus* and *Leu. cremoris*, ▲—▲: *K. marxianus* and *Lb. casei*, ●—●: *K. marxianus* and *Lb. lactis*, ◇—◇: *K. marxianus* and *Str. thermophilus*, □—□: *K. marxianus* and *Lb. acidophilus*, △—△: *K. marxianus* and *L. lactis*, ○—○: *K. marxianus*, and *Lb. brevis*.

단독 배양한 것은 72시간까지는 일정한 속도로 알코올을 생산했으며, 발효 120시간 후 알코올 함량은 2.5%였다. *K. marxianus* KCCM 32422와 *L. lactis* KCCM 32406을 혼합 배양한 것은 48시간까지는 알코올 생산 속도가 빨랐으며, 그 이후로는 서서히 증가되어 발효 120시간후 최고 2.3%였다. 알코올이 생산된 양은 *K. marxianus*이 가장 높았으며, *K. marxianus*와 *L. lactis* KCCM 32406, *K. marxianus*와 *Leu. cremoris* KCCM 35467, *K. marxianus*와 *Lb. brevis* KCCM 40061, *K. marxianus*와 *Lb. lactis* KCTC 2181, *K. marxianus*와 *Lb. casei* KCCM 35465, *K. marxianus*와 *Str. thermophilus* KCCM 35496의 순으로 높았고, *K. marxianus*와 *Lb. acidophilus* KCCM 32820의 혼합배양이 가장 낮게 나타났다.

젖산균주에 따른 $CO_2$ 생성: Fig. 5은 *K. marxianus* KCCM 32422와 7 균주의 젖산균을 각각 2%씩 혼합배양하여 37°C에서 5일간 발효시킨 것인데, *K. marxianus* KCCM 32422를 단독배양했을 때 $CO_2$ gas의 생성량은 서서히 증가되어 120시간에 2.25%, *K. marxianus* KCCM 32422와 *L. lactis* KCCM 32406를 혼합배양한 것도 서서히 증가하여 120시간에 1.9%였다.

적정산도의 변화: *K. marxianus* KCCM 32422와 7균주의 젖산균을 혼합배양하여 적정산도를 구한 것

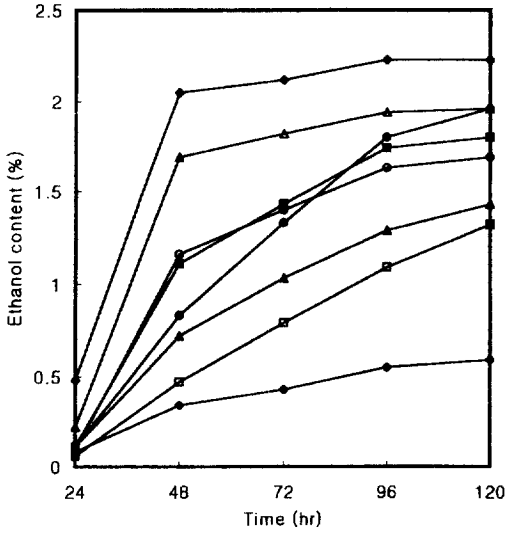


**Fig. 5. Evolution of $CO_2$ gas in whey fermented by *K. marxianus* and seven strains of lactic acid bacteria.** ◆—◆: *K. marxianus*, ■—■: *K. marxianus* and *Leu. cremoris*, ▲—▲: *K. marxianus* and *Lb. casei*, ●—●: *K. marxianus* and *Lb. lactis*, ◇—◇: *K. marxianus* and *Str. thermophilus*, □—□: *K. marxianus* and *Lb. acidophilus*, △—△: *K. marxianus* and *L. lactis*, ○—○: *K. marxianus*, and *Lb. brevis*.

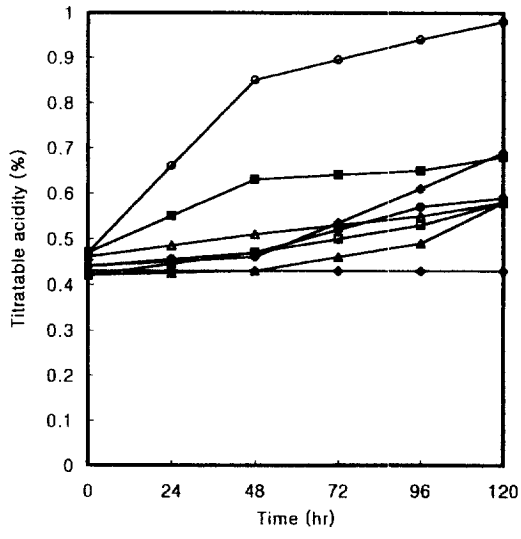


**Fig. 6. Changes of titratable acidity in whey fermented by *K. marxianus* and seven strains of lactic acid bacteria.** ◆—◆: *K. marxianus*, ■—■: *K. marxianus* and *Leu. cremoris*, ▲—▲: *K. marxianus* and *Lb. casei*, ●—●: *K. marxianus* and *Lb. lactis*, ◇—◇: *K. marxianus* and *Str. thermophilus*, □—□: *K. marxianus* and *Lb. acidophilus*, △—△: *K. marxianus* and *L. lactis*, ○—○: *K. marxianus*, and *Lb. brevis*.

을 보면(Fig. 6), *K. marxianus* KCCM 32422와 *Lb. brevis*를 혼합배양한 것은 산도가 0.97%로 가장 높은 값을 보였으며, 젖산균의 다른 균주들 간에는 큰 차이가 없었다. *L. lactis* KCCM 32406과 *K. marxianus*, *Lb. acidophilus* KCCM 32820과 *K. marxianus*, *Lb. casei* KCCM 35465와 *K. marxianus*, *Lb. lactis* KCTC 2181과 *K. marxianus*는 120시간에 적정산도가 0.58%였고, *K. marxianus* KCCM 32422를 단독배양한 것은 산도가 0.43%였다.

## 관능검사

*K. marxianus* KCCM 32422와 7균주의 젖산균을 혼합배양하였을 때 전체적인 기호도를 측정하였다(Table 1). *Leu. cremoris* KCCM 35467와 *Lb. lactis* KCTC 2181은 신맛과 알코올맛이 각각 3.9, 3.8점으로 조금 강한 편이었으며, 전체적인 기호도에서 각각 2.7점과 3.2점을 받았다. *Lb. casei* KCCM 35465는 신맛과 알코올맛이 적당하였으나 쓴맛이 3.8점으로 너무 강하여 기호도가 매우 떨어졌으며(2.5점), *Str. thermophilus* KCCM 35496은 신맛이 강한 편이고(3.9점), 쓴맛은 거의 없으며, 알코올 맛도 약한 편으로 전체적인 기호도는 3.1점이었다. *Lb. acidophilus* KCCM 32820은 신맛이 조금 강하고, 쓴맛과 알코올맛은 조금 났으며 전체적인 기호도는 3.2점이었다. *L. lactis* KCCM 32406는 신맛은 조금 강하고 쓴맛은 전혀 없으며 알코올맛은 조금 강하게 났다. 전체적인 기호도는 3.9점으로 7가지의 젖산균 중 가장 높은 기호도를 나타내었다. *Lb. brevis* KCCM 40061은 신맛이 4.3점으로 너무 강하여 전체적인 기호도가 매우 낮았다(2.8점).

**Table 1. Sensory evalution of whey fermented by *Kluyveromyces marxianus* and seven strains of lactic acid bacteria**

| Item | Sample group and Mean | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Sour taste | 2.8 | 3.7 | 3.5 | 3.6 | 3.9 | 3.5 | 3.2 | 4.3 |
| Bitter taste | 2.4 | 2.2 | 3.8 | 1.7 | 1.4 | 2.4 | 1.7 | 2.3 |
| Alcohol | 4.2 | 3.9 | 3.7 | 3.8 | 2.5 | 2.3 | 4.2 | 3.8 |
| Overall acceptability | 2.9 | 2.7 | 2.5 | 3.2 | 3.1 | 3.2 | 3.9 | 2.8 |

1: *K. marxianus*, 2: *K. marxianus* and *Leu. cremoris*, 3: *K. marxianus* and *Lb. casei*, 4: *K. marxianus* and *Lb. lactis*, 5: *K. marxianus* and *Str. thermophilus*, 6: *K. marxianus* and *Lb. acidophilus*, 7: *K. marxianus* and *L. lactis*, 8: *K. marxianus* and *Lb. brevis*.

이상의 결과에서 보는 바와 같이, *L. lactis* KCCM 32406를 이용하였을 때 높은 알코올과 $CO_2$ gas생성량을 얻을 수 있었으며, 관능면에서도 가장 우수한 것으

로 나타났다.

### 배양온도의 선택

Fig. 7은 *K. marxianus* KCCM 32422와 *L. lactis* KCCM 32406를 혼합 배양하였을 때 온도변화에 따른 알코올 생산량이다. 발효 96시간 후에 알코올이 가장 많이 생산된 온도는 37℃이다. 김 등[1]은 1%의 *K. marxianus*를 접종한 whey를 30℃, 32℃, 34℃, 37℃, 42℃로 조절된 항온기에서 발효시켰을 때에 37℃에서 발효가 가장 빨리 일어났다고 보고하였는데, 이것은 본 실험의 결과와 비슷하였다.

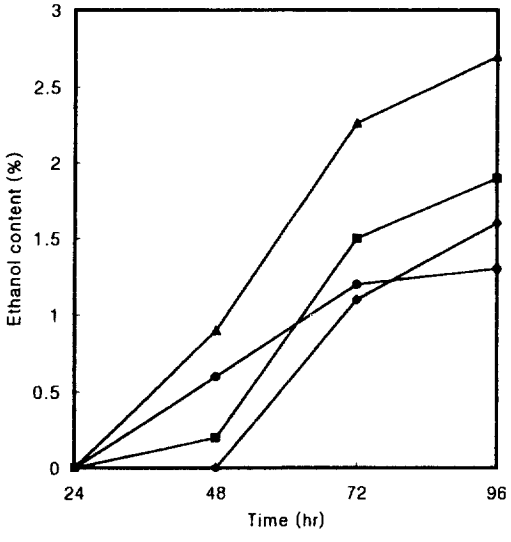


**Fig. 7. Effect of temperature on the production of ethanol by mixed culture of *K. marxianus* and *L. lactis*.** ◆—◆: 20℃, ■—■: 30℃, ▲—▲: 37℃, ●—●: 42℃.

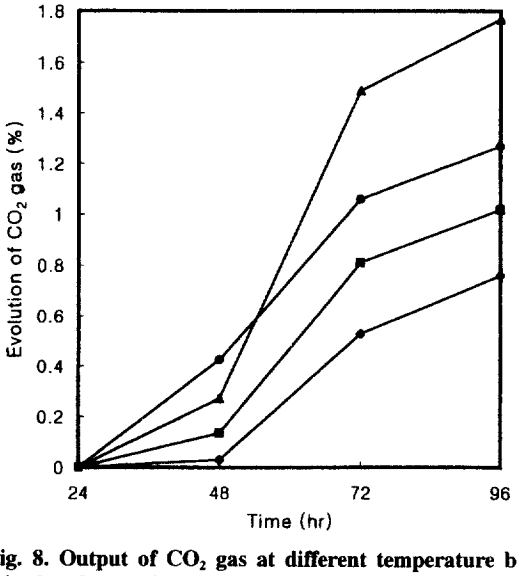


**Fig. 8. Output of $CO_2$ gas at different temperature by mixed culture of *K. marxianus* and *L. lactis*.** ◆—◆: 20℃, ■—■: 30℃, ▲—▲: 37℃, ●—●: 42℃.

온도의 변화에 따른 $CO_2$ gas의 생성량은 Fig. 8과 같은데, *K. marxianus* KCCM 32422와 *L. lactis* KCCM 32406를 각각 2%씩 접종하여 발효시켰으며 배양 4일 후 20℃에서는 0.7%, 30℃에서는 1.4%, 37℃에서는 1.8%, 42℃에서는 1.3%의 $CO_2$ gas 생성량을 보였다. 中西 등[15]은 $CO_2$ gas 생성량과 알코올의 생성량 사이에는 밀접한 상관관계가 있다고 보고한 바 있다.

## 요 약

치즈 제조시 생기는 부산물인 유청을 이용하여 알코올 발효 음료를 만들기 위해 유당을 이용하는 효모인 *K. marxianus* KCCM 32422와 유당을 이용하지 않는 *S. cerevisiae* KCCM 12028의 2종류의 효모 균주와 7균주의 젖산균을 혼합 배양하여 알코올 생성량, $CO_2$ gas의 생산량, 적정산도의 변화, 그리고 관능적 특성을 조사하였다. *K. marxianus* KCCM 32422와 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 혼합배양시에는 4일째에 알코올 함량이 2.8%였으며, *S. cerevisiae* KCCM 12028과 *Lb. bulgaricus* Lb-12를 혼합배양시에는 4일째 알코올 함량이 0.2%였다. 효모를 첨가하는 최적시간은 *K. marxianus* KCCM 32422는 젖산균을 접종후 24시간에, *S. cerevisiae* KCCM 12028은 젖산균 접종후 16시간에 하는 것이 효과적이었다. *K. marxianus* KCCM 32422와 7균주의 젖산균을 혼합배양시에는 *K. marxianus* KCCM 32422와 *L. lactis* KCCM 32406가 배양 96시간에 알코올은 2.3%, $CO_2$ gas는 1.9%로 다른 젖산균에 비하여 알코올과 $CO_2$ gas의 높은 생산량을 나타내었다. 배양온도는 37℃에서 하는 경우가 20℃, 30℃, 42℃에서 발효시키는 것보다 높은 알코올과 $CO_2$ gas생산량을 나타내었다. 전반적인 기호도는 *L. lactis* KCCM 32406가 신맛은 조금 강하고 쓴맛은 전혀 없으며 알코올 맛은 조금 강하여 가장 적당하다고 평가되었다.

## 문 헌

1. Kim, Y.A.: Studies on the conditions of alcohol production from whey by *Kluyveromyces fragilis*. *M.S. Thesis*. Korea Univ., Seoul, Korea (1979)
2. Sienkiwicz, T. and Riedel, C.L.: Whey and whey utilization, *Verlag Th. Mann. Gelsenkirchen-Buer*, Germany (1990)
3. Graeff, F.W.H.: Effervescent milk beverage and method

of making same. *U.S. Patent* 607,362 (1898)
4. Brunner, J.R., Finley, J.W. and Blakely, L.: Whey forms base for new dairy drinks. *Amer. Dairy Rev.*, **31**, 60 (1969)
5. Holsinger, V.H., Posati, L.P. and DeVilbiss E.D.: Whey beverages: A review. *J. Dairy Sci.*, **57**, 849 (1974) [*Food Res.*, **3**, 233 (1938)]
6. Besserezhnov, A.S.: Method for the preparation of a whey beverage. USSR Patent 21 0,645; *Dairy Sci. Abstr.*, **31**, 2867 (1969)
7. Anatovskii, A. and Yaroshenko, V.: Preparation of fermented whey. *Moloch. Prom.*, **11**, 31 (1950)
8. Holsinger, V.H., Posati, L.P. and DeVilbiss E.D.: Whey beverages: A review. *J. Dairy Sci.*, **57**, 849 (1974) [*Chem. Abstr.* **44**, 6572c (1950)]
9. Holsinger, V.H., Posati, L.P. and DeVilbiss E.D.: Whey beverages: A review. *J. Dairy Sci.*, **57**, 849 (1974) [*Milchwissenschaft*, **3**, 165 (1948)]
10. Cho, C.H., Lee, M.S., Ko, M.S., Kim, C.H. and Han S. H.: Studies on the characteristics of alcohol fermented milk from whey (in Korean). *Korean J. Food Sci. Resour.*, **14**, 41-46 (1994)
11. Nakanishi, T.: 牛乳と 乳製品の 微生物. p. 157 (1967)
12. Nakanishi, T.: 牛乳と 乳製品の 微生物. p. 246 (1983)
13. Amerine, M.A., Berg, H.W. and Cruess, W.V.: *The technology of wine making.* 2nd ed. AVI company Inc., Westport, CT.p. 696 (1967)
14. Kim, K.O.: Quality evaluation by sensorial analysis (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol*, **19**, 10 (1986)
15. 中西武雄, 荒井威 : 乳糖酸酵性 酵母に關する研究(II), 酪農科研, 18A-20 (1969)
16. Park, H.M., Hong, Y.H. and Oh, S.H.: Studies on the development of whey drinks. (in Korean). *Korean J. Dairy Sci.*, **10**, 92-100 (1988)
17. Yoo, E.J. and Heo, T.R.: Preparation of the fermented product by lactic acid bacteria from cheese whey (in Korean). *Korean J. Food Sci.Technol.*, **23**, 471-477 (1991)
18. Park, I.D. and Hong Y.H.: Development of fresh cheeses and whey drinks using milk components (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 209-214 (1992)
19. Kim, S.P., Park, H.K., Kim, D.H. and Heo, T.R.: Utilization of cheese whey for alcohol fermentation medium (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol*, **27**, 878-884 (1995)

(1997년 9월 22일 접수)