

효모에 따른 약주의 품질특성

1. 분리균주의 동정 및 휘발성 향기성분

신귀례 · 김병철 · 양지영[†] · 김용두*

부경대학교 식품생명공학부

*순천대학교 식품공학과

Characterization of *Yakju* Prepared with Yeasts from Fruits

1. Volatile Components in *Yakju* during Fermentation

Kwi-Rye Shin, Byung-Chul Kim, Ji-Young Yang[†] and Yong-Doo Kim*

Div. of Food Sci. & Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food Science & Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

This study was carried out to obtain the basic information for improving the flavor quality of *yakju*. Three kinds of *yakju* were prepared with different yeast strains to investigate the effects of those strains on flavor components. A total of 23 strains were isolated from fruits such as apple, pear, persimmon and citron and two strains were excellent in producing ethanol and flavors. They were identified as *Saccharomyces cerevisiae* S-2 and *Saccharomyces cerevisiae* S-6 from morphological cultural test and physiological quality. *Yakju* A, B and C were prepared with S-2, S-6 and *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950, respectively. Flavor components of *yakju* were analyzed by gas chromatography and mass spectrometry. A total of 57 peaks were detected and 13 compound were identified. They were 4 alcohol, 2 esters, 7 acids and miscellaneous compounds.

Key words: *yakju*, strains, ethanol, flavor components, fermentation, alcohol, esters

서 론

약 · 탁주는 우리나라 술 가운데서 그 역사가 가장 오래된 전통주류로 삼국시대 이전부터 이들 양조법이 발달되었고, 전성기에는 그 양조 기술이 다른 나라에 전해지기도 하였다(1). 탁주의 정확한 기원은 분명치 않으나 오랫동안 약주, 탁주의 구별이 없이 음용되었으며, 제조 방법상에도 약 · 탁주간에 별 차이가 없다. 다만 원료 곡류나 국(곡자)의 첨가량 등을 약간씩 달리하여 발효 숙성시킨 술덧을 맑게 제성한 것은 약주, 탁하게 제성한 것은 탁주로 분류하여, 조선시대에 약주는 증류 이상 계급에서, 탁주는 막걸리란 이름으로 농민층에서 주로 음용되었으며(2), 현재는 주세법으로 약주는 주정도 13% 이하로 맑게 거른 술이고, 탁주는 주정도 6% 이상으로 거칠게 거른 술로 분류하고 있다(3).

약 · 탁주에 관한 과학적인 연구는 1906년 上野가 한국산 누룩에서 최초로 당화력을 갖는 *Mucor*속을 발견한 것을 시초로 하여, 武田가 우리나라 각 지방의 곡자와 막

걸리 술덧을 포집하여 곡자의 일반성분 분석과 미생물을 분리하여 그 중 *Saccharomyces*속에 대한 형태학적 성질을 발표한 것에 이어 대체로 일반적 성질에 대한 연구가 이루어져 왔다(4-7). 즉 발효에 관여하는 미생물의 분리, 동정, 곡자, 주모 및 술덧에 관한 연구가 이루어져오다가, 1960년대에 들어서서 미생물학적, 생화학적 연구가 진행되었으며, 양조의 과학적 관리 및 품질 향상을 위한 미생물학적, 효소학적 연구가 이루어졌다. 또한 곡자의 제조방법을 검토한 결과, 개방발효에 의해 제조되는 재래누룩의 효율이 떨어짐을 보고하였고(8), 양주주의 품질은 원료의 화학성분, 양조에 관여하는 효모의 생리적 성질, 발효가 진행되는 과정의 양조 특성 등에 따라 결정되는 것으로 보고되었다(9).

약 · 탁주의 발효 공정은 곡자와 주모를 사용하는 발효 형태이므로 여러 가지 미생물이 생육하고 있는 것으로 보고되었는데, Lee와 Lee(10) 및 Shin과 Cho(11)에 의하면 탁주 속에는 *Mucor*속을 비롯하여 *Rhizopus*속과 *Aspergillus*속 등의 곰팡이와 *Saccharomyces*, *Phichia*, *Candida*,

[†]To whom all correspondence should be addressed

Trouloopsis, *Hansenular*속 등의 효모, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Pseudomonas*속 등의 세균들이 생육하고 있는 것으로 보고되었다. 약·탁주는 담금후 누룩 중의 미생물에 의한 효소작용으로 인한 원료성분이 분해되어 생성되는 당분, 아미노산, 유기산 등의 맛성분과 효모나 젖산균 등의 미생물에 의한 알코올 발효로 휘발성 풍미 성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루게 된다. 약·탁주의 품질면에서 맛 성분과 함께 향기는 중요한 성분이나, 약·탁주의 품질에 관한 연구는 유리당(12), 유기산(13,14), 아미노산(15) 등의 맛 성분에 관한 연구와 In 등(16)의 유기산에 관한 연구가 있을 뿐 전체적인 향기 성분에 관한 보고는 미약하며, 특히 주모에서 효모가 약주의 향기 성분에 미치는 영향에 관한 보고는 미미하다. 효모는 인류 역사와 함께 오랫동안 사용되어 왔으며 특히 양조와 제빵에 사용되어 왔고, 김 등(17,18)에 의하면 향기 생성력이 좋은 효모에 의해 주질이 개선된다는 보고가 있는 바, 본 연구는 효모 종류에 따른 약주의 향기 성분을 조사하여 약주 품질의 표준화와 과학화를 위한 기초자료를 얻음 목적으로 수행되었다. 특히 과일에서 분리한 알코올과 향기 생성능이 우수한 균주를 분리동정하고, 이들 균주를 약주 제조시 주모로 첨가하여 향기 성분과 관능 검사 등을 조사하였다.

재료 및 방법

효모의 분리 및 동정

1차 선별

효모의 1차 분리는 시중에 판매중인 사과, 감, 배 및 유자 4종의 과피를 분리하여 각각 멸균된 생리 식염수 20ml에 침지하여 vortex한 후 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 배로 희석하고 0.5ml씩 취하여 분리용 평판 배지(malt extract 2%, glucose 2%, peptone 0.1%, agar 2% and pH 6.2)에 도말하였다. 30°C에서 72시간 배양한 후 나타난 colony 중 색, 형태가 효모로 간주되는 독립된 colony를 백금으로 분리하였다. 분리된 균주를 평판배지에 도말하여, 30°C 72시간 동안 다시 배양하고 독립된 colony를 분리하여 알코올 생성능과 향기 생성능을 측정하기 위한 2차 분리 대상 시험균주로 사용하였다. 순수 분리된 효모는 4주에 한번씩 계대 배양하면서 냉장 보존(5°C)하며 사용하였다.

2차 선별

300ml 삼각 플라스크에 알콜생성능측정배지(malt extract 1%, glucose 25%, peptone 2%, pH 4.5) 100ml를 분주하여 121°C로 15분간 살균한 후, 1차 분리된 균주를 각각 접종하고 진탕인큐베이터에서 30°C, 7일 동안 배양하였다. 배양액을 원심분리, 여과하여 그 액을 GC(gas chromatograph, Hewlett Packard 5890)에서 알코올 함량을 측정하고 알코올 생성능이 높은 균주를 선별하였다. 칼럼

은 80/120 Carbopack B on 5% Carbowax 20M(3m×4mm)으로 oven 온도 60°C, 주입 온도는 250°C였고 60°C에서 195°C까지 분당 5°C의 속도로 온도를 상승시켰다. 운반기체로는 N₂를 사용하였다. 검출기는 FID를 사용하였고 에탄올의 함량은 외부 표준법으로 정량하였다.

3차 선별

300ml 삼각 플라스크에 향기성분생성배지(malt extract 2%, glucose 2%, peptone 0.1%, pH 6.2) 100ml씩을 분주하여 121°C에서 15분간 살균한 후, 2차 분리된 알코올 생성능이 우수한 균주를 30°C, 48시간 전배양하고 전배양액 5ml씩 접종하여 30°C로 72시간 동안 배양하여 원심 분리 및 여과하였다. 그 액을 GC와 관능검사를 통하여 향기 생성물질을 측정하고 향기 생성력이 높은 균주를 최종 선별 하였다. 향기 생성능 측정을 위한 추출방법은 수증기 증류법과 Tenax GC 방법을 사용하였다. 즉, 수증기 증류법은 시료 100ml에 김 등(18)의 방법에 따라 90 분간 추출하였으며, 이 때 휘발성 향기 성분의 추출 용매는 di-ethylether 10ml로 추출하였고 추출 시료는 무수황산나트륨을 사용하여 탈수한 후 GC분석을 위한 시료로 사용하였다. Tenax GC방법은 Takashi(19)의 방법으로 추출하였다. 향기생성능의 측정을 위한 GC의 컬럼은 80/120 Carbopack B on 5% Carbowax 20M(3m×4mm)으로 oven 온도는 40°C이고, 150°C까지 분당 5°C의 속도로 온도를 상승시켰다. 운반기체로는 He를 사용하였고 검출기는 FID를 사용하였다.

한편 관능검사에 의한 평가는 분리한 효모의 배양액에서 생성된 향기 성분을 직접 후각으로 측정하였다. 즉, 시험균주를 각각 배양한 후 선별된 10명의 관능요원에게 향기를 맡게한 후 가장 좋은 향을 생성하는 균주를 선별하였다. 관능검사 평가항목은 효모 배양액의 향기에 대하여 5단계 평점법으로 실시하였고, 그 평균값으로 DMRT(20) 검정을 실시하였다.

우수 효모의 동정

분리된 효모 중 알코올과 향기 생성능이 가장 우수하다고 판정된 효모를 Kreger-Van Rij의 The Yeast(21) 방법에 따라 동정하였다.

원료 및 균주

본 실험에 사용한 약주 제조용 원료미는 멍쌀을 시중에서 구입하여 사용하였으며, 양조 용수로는 순천시 가곡동 향림사 내의 샘물을 사용하였고, 양조 용기는 20L들이 유리병을 사용하였다. 입국제조시 사용한 곰팡이는 *Aspergillus kawachii* KCCM 32819를 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였고, 주모제조를 위한 효모는 시중 판매의 사과, 배, 감 및 유자 등을 임의로 구입하여 과피에서 순수 분리하였으며, 대비 균주로 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950을 사용하였다.

입국 및 주모 제조

입국은 멍쌀을 수세하고 침지한 다음 증자하여 30°C로 냉각시킨 후 *Aspergillus kawachii*를 증미의 0.3% 파종하여 보쌈한 다음 뒤집기와 입상, 첫손질, 갈아 썰기, 두 번손질 등의 과정을 거쳐서 출국시킨 것을 사용하였다. 약주 제조를 위한 주모는 멍쌀 200g을 수세하여 5시간 물에 침지한 후 물을 빼고, 고압증기솥에서 121°C로 40분간 증자하여 30°C로 냉각한 후 여기에 입국 80g, 물 600ml 및 각각의 효모 1백균이를 YPD(yeast extract 0.5g, peptone 0.1g, glucose 5g) 액체 배지 100ml에 접종하여 30°C에서 2일간 배양한 배양액 60ml를 혼합하고 25°C에서 48시간 발효하여 주모로 사용하였다.

약주 제조

멍쌀 1.5kg을 수세하여 5시간 물에 침지한 후 물을 빼고, 고압 증기솥에 넣어 121°C에서 40분간 증자하여 30°C로 냉각하였다. 20L들이의 유리병에 물 4.5L, 입국 600g, 각각 분리된 효모 균주의 주모 60ml를 혼합하여 25°C에서 10일간 배양하였다.

향기성분의 동정 및 기호도 평가

향기 성분의 포집은 수증기 증류법에 의한 방법으로 향기 성분을 포집하여 측정하였다. 수증기 증류법에 의한 포집은 시료를 수기에 넣고, 수증기로 증류하면서 그 유액을 diethylether로 분리하여 시료로 사용하였다. 향기 성분의 동정은 GC-MS(5870A, Hewlett-Packed Inc., USA)로 하였으며 분석조건은 GC의 분석조건과 같고 electronic voltage는 70eV로 하였다. 성분의 확인은 컴퓨터에 내장된 Wiley-library를 사용하였다. 약주를 15°C로 유지하면서 종합적인 기호도를 평가하였는데, 관능검사는 잘 훈련된 10명의 관능요원들에게 향기를 맡게 하였으며, 관능검사 평가항목은 종합적인 기호도에 대하여 5단계 평점법으로 실시하였고, 그 평균값으로 유의성의 차이를 DMRT (20) 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

균주의 분리 및 선정

순수 분리 및 분리 균주의 알코올 생성능

시중에서 구입한 배, 사과, 감, 및 유자 4종의 과피에서 효모를 분리하여 colony를 형태적인 특징에 따라 배에서 2종, 사과에서 7종, 감에서 9종 그리고 유자에서 5종 등 총 23종의 균주를 순수 분리하였다. 분리한 23종의 효모를 전배양한 후 알코올 생성능 측정용 배지에 접종하여 7일간 진탕 배양한 후, 알코올 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 23균주 중 다른 균주에 비하여 알코올 생성능이

비교적 우수한 S-1 균주 11.17%, S-2균주 10.86%, S-3균주 9.66% 및 S-6균주 9.22% 등 4균주를 2차 선별하여 향기 생성력 측정 대상 균주로 선정하였다.

분리 균주의 향기 생성능

2차 선정된 4 균주 S-1, S-2, S-3 및 S-6 균주를 향기 성분생성배지에서 배양한 후, Tenax GC에 의한 방법과 수증기 증류법에 의한 방법으로 향기를 포집하여 GC로 분석하였다. Tenax GC에 의한 방법으로 포집한 4균주의 휘발성 향기 성분을 측정 한 결과는 Table 2와 같다. S-1 균주는 총 12종의 물질이 분리되었으며, no. 5 peak가 75.53%로 가장 많은 함량을 보였고, no. 9 peak 7.49%를 나타냈으며 그외 10개 성분의 함량은 총 16.98%로 나타났다. S-2균주는 총 14종의 물질이 분리되었으며, no. 5 peak가 86.15%로 가장 많은 함량을 보였고, no. 9 peak 10.91%로 10% 이상을 나타냈으며 그 외 12개 성분의 함량은 총 2.94%로 나타났다. S-3균주는 총 13종의 물질이 분리되었으며, no. 5 peak가 79.34%로 가장 많은 함량을 보였으며 no. 9 peak 8.03%를 나타냈고, 그외 11개 성분의 함량은 총 12.63%를 보였다. S-6균주는 총 15종의 물질이 분리되어 가장 많은 peak가 검출되었으며, no. 5 peak가 88.73%로 가장 많게 나타났고, 다음으로는 no. 9 peak 8.29%를 나타냈으며 그외 13개 성분의 함량은 총 2.98%를 나타냈다.

수증기 증류법에 의한 방법으로 포집한 4균주의 향기 성분을 측정된 결과는 Table 3과 같다. S-1균주는 총 5종

Table 1. The alcohol producing ability of twenty three strains that was isolated from four species of fruit

Strains No.	Alcohol(%)	Relative activity(%)
S- 1	11.17	100.00
S- 2	10.86	97.22
S- 3	9.66	86.51
S- 4	5.87	52.64
S- 5	4.21	37.72
S- 6	9.22	82.52
S- 7	3.80	27.60
S- 8	6.14	54.91
S- 9	7.44	66.63
S-10	6.08	54.48
S-11	1.54	13.89
S-12	3.55	31.84
S-13	4.67	41.81
S-14	2.48	22.25
S-15	5.09	45.67
S-16	4.17	37.31
S-17	3.82	34.29
S-18	1.47	13.12
S-19	1.93	17.45
S-20	2.26	20.26
S-21	2.95	26.43
S-22	3.11	27.84
S-23	2.49	22.31

Table 2. Volatile compounds in the medium by using tenax GC (% peak area)

Peak No.	RT ¹⁾	Strains			
		S-1	S-2	S-3	S-6
1	6.224	0.01	0.02	0.01	0.01
2	6.270	0.01	0.02	0.01	0.01
3	6.318	0.03	0.04	0.03	0.03
4	6.362	0.39	0.64	0.48	0.53
5	6.412	75.53	86.15	79.34	88.73
6	6.804	0.47	0.44	0.49	0.56
7	8.129	²⁾ -	0.02	-	0.51
8	8.270	-	1.25	1.32	0.92
9	8.736	7.49	10.91	8.03	8.29
10	9.244	1.02	-	-	0.02
11	10.768	0.02	0.02	0.01	0.01
12	12.150	0.05	0.07	0.04	0.06
13	13.410	0.02	0.06	0.02	0.01
14	16.375	0.29	0.37	0.19	0.32
15	16.614	-	0.02	0.02	0.01
No.		12	14	13	15

¹⁾RT: Retention time

²⁾-: Not detected

Table 3. Volatile compounds in the medium by steam distillation (% peak area)

Peak No.	RT ¹⁾	Strains			
		S-1	S-2	S-3	S-6
1	6.805	0.92	0.01	-	-
2	7.335	-	0.02	-	-
3	8.155	-	0.02	-	0.64
4	8.649	96.62	97.89	97.37	98.31
5	9.238	0.94	0.38	0.86	0.27
6	10.733	-	-	0.79	0.07
7	10.768	0.82	0.15	-	-
8	12.149	0.70	0.54	0.98	0.19
9	16.374	-	0.94	-	0.52
10	44.797	-	0.05	-	-
No.		5	9	4	6

¹⁾RT: Retention time

²⁾-: Not detected

의 물질이 분리되었으며, no. 4 peak가 96.62%로 가장 많은 함량을 보였고, 그의 4개 성분의 함량은 총 3.38%로 나타났다. S-2균주는 총 9종의 물질이 분리되어 가장 많은 peak가 검출되었으며, no. 4 peak가 97.89%로 가장 많은 함량을 보였다. S-3균주는 총 4종의 물질이 분리되었고 no. 4 peak 97.37%로 가장 많은 함량을 보였으며 그의 3개 성분의 함량은 총 2.63%를 보였다. S-6균주는 총 6종의 물질이 검출되었으며, no. 4 peak 98.31%로 가장 많이 나타났고, 그의 5개 성분의 함량은 1.69%로 나타났다. Tenax GC법과 수증기 증류법에 의한 방법으로 향기를 포집하여 GC로 분석한 결과 Tenax GC에 의한 방법에서는 S-6균주가, 수증기 증류법에 의한 방법에서는 S-2균주가 가장 많은 물질이 분리되었고, 함량도 높은 것으로 나타났다.

관능검사에 의한 향기 생성능 평가

향기 생성능을 관능검사에 의해 검사하였다. 즉, 잘 훈련된 관능검사요원으로 하여금 배양액의 향기를 검사하게 하여 5단계로 구분하면서 검토한 결과, 수증기 증류법에 의한 방법에서 가장 많은 물질이 분리되었던 S-2균주가 4.76으로 가장 높은 점수를 얻었으며, Tenax GC에 의한 방법에서 가장 많은 종류를 보였던 S-6균주는 그 다음으로 4.58의 점수를 얻었다. S-1과 S-3균주는 각각 3.15와 2.09로 낮은 점수를 얻었다. 따라서 알코올의 생성능이 우수한 4균주 중에서 향기 생성능이 좋은 S-2균주(알코올 함량 10.86%)와 S-6균주(알코올 함량 9.22%)를 본 실험의 우수 균주로 최종 선정하였다.

균주의 동정

S-2균주와 S-6균주의 형태 및 생리학적 특성을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 균주의 형태는 30°C 48시간 배양 후, 슬라이드 글라스에 도말 하여 현미경으로 관찰한 결과 S-2균주와 S-6균주가 모두 난원형으로 판명되었으며, micrometer를 이용하여 크기를 측정한 결과 4.0 × 7.3µm이었다. 당발효성은 S-2균주는 glucose, maltose, galactose, saccachrose를 발효하여 gas를 생성하였고, lactose, raffinose, melibiose, inulin, soluble starch 등은 발효하지 못하는 것으로 나타났으며, S-6균주는 glucose, saccachrose, maltose를 발효하여 gas를 생성하였으며, lactose, raffinose, melibiose, inulin, soluble starch 등은 발효하지 못하였다. 탄소원 자화성에서는 yeast nitrogen base 6.7g을 100ml 증류수에 녹인 후 0.45µm 막여과기로 여과한 후, 각종 당류가 용해된 액과 섞어 여기에 30°C, 48시간 전배양한 균주를 접종하여 생육 유무를 관찰한 결과, S-2균주는 glucose, galactose, raffinose, maltose, sucrose 등의 당류는 자화는 것으로 나타났으며, inositol, soluble starch, D-xylose, L-arabinose, L-rhamnose, lactose, inulin, citric acid 등은 자화하지 못하는 것으로 나타났고, S-6균주는 inositol 등의 당류와 유기산인 citric acid 그리고 D-xylose, L-arabinose, L-rhamnose, lactose, inulin, raffinose 등은 자화하지 못했으나, glucose, galactose, raffinose, sucrose 등은 자화하는 것으로 나타나 S-2균주와 유사성을 보였다. 37°C에서의 생육과 50% glucose yeast extract 배지에서의 생육은 S-2, S-6 두 균주 모두 가능한 것으로 나타났고, S-2균주는 ester 생성력과 산 생성력이 없으나, S-6균주는 ester 생성력은 있었으며 산 생성력은 없는 것으로 나타났고, 요소 생성력은 두 균주 모두 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과를 종합했을 때, 분리한 S-2균주와 S-6균주는 형태, 색깔 및 생리적인 특성으로 *Saccharomyces cerevisiae*형으로 확인하였다. 따라서 분리된 효모를 *Saccharomyces cerevisiae* S-2와 *Saccharomyces cerevisiae* S-6로 각각 명명하였다.

Table 4. Morphological and physiological properties of isolated yeast strains

Test	Strain No.		
	S.C. ¹⁾	S-2	S-6
Shape	Ovoid	Ovoid	Ovoid
Cell size	3.8×6.5 μ m	4.0×7.3 μ m	4.1×5.9 μ m
Fermentation			
Glucose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Lactose	-	-	-
Saccharose	+	+	+
Melibiose	-	-	-
Raffinose	-	-	-
Inulin	-	-	-
Soluble starch	-	-	-
Assimilation of carbon compounds			
Glucose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Raffinose	+	+	+
Inositol	-	-	-
Soluble starch	+	+	+
Maltose	+	+	+
D-Xylose	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-
L-Rhamnose	-	-	-
Citric acid	-	-	-
Sucrose	-	+	+
Lactose	+	-	-
Inulin	-	-	-
Growth at 37°C	+	+	+
Growth at 50% glucose-yeast extract agar	+	+	+
Product of ester	-	-	-
Product of acid	-	-	+
Product of urea	-	+	-

¹⁾S.C.: *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950

+: positive

-: negative

약주의 향기성분

분리된 S-2 및 S-6와 공시균주 IFO 1950을 이용하여 약주 A, B, C를 각각 제조하고 각 약주의 향기성분을 수증기 증류법에 의한 방법으로 포집하여 GC-MS에 의해 동정한 향기성분은 Table 5와 같다. A약주에서 총 57종의 향기성분이 분리되었으며 B약주에서는 17종, C약주에서는 19종의 향기성분이 분리되었다. 이 중 alcohol 4종, ester 2종, acid 7종 등 13종의 향기성분이 동정되었다. 모든 약주에서 공통적으로 검출된 성분은 1-butanol, 3-methyl (*iso*-amyl alcohol)과 1H-indole, 2, 3-dihydro-4-methyl 및 tetradecanoic acid 등이었다. A약주와 C약주는 hexadecanoic acid, ethyl ester의 상대적 함량이 가장 많았으며, B약주는 tetradecanoic acid의 함량이 높게 나타났다. A약주는 alcohol 4종과 ester 2종 및 acid 7종 그리고 B약주는 alcohol 2종과 ester 1종 및 acid 3종이 확인되었고, C약주는 alcohol 3종과 acid 3종이 확인되었다. Alcohol류중 ethyl alcohol은 당류로부터 EMP경로에 의

해 생성되며, 퓨젤유 성분인 1-butanol, 3-methyl (*iso*-amyl alcohol)은 감미있는 바나나 향으로 효모발효에 의해 아미노산인 leucine으로부터 생성되는데(22), alcohol성분 중에서는 가장 넓은 peak면적을 나타내었다. Acetic acid 2-phenylethyl ester는 벌꿀 향으로 청주와 맥주의 향기성분이다(23). 휘발성 유기산은 자극취를 내는 산미 성분으로 미생물에 의한 산화 생성물이며 대부분의 주류에서 검출되는 성분이다. 약주 술덧의 향기성분으로 B약주가 높게 나타났으며, 이러한 결과는 B약주의 산생성력이 A약주에 비해 높은 것에 기인한다.

약주의 관능검사

약주의 관능검사결과 A약주는 4.19, B약주는 3.98로 대조구인 C약주의 3.86과 기호도가 약간 적은 결과를 보였다. 따라서 B약주는 대조구인 C약주와의 유의성이 인정되지 않았으나, A약주는 5% 수준에서 유의성이 인정되었다. B약주에서는 약간의 산미를 느끼는 것으로 나타

Table 5. Volatile compounds of *yakju* by steam distillation

(% peak area)

RT ¹⁾	Volatile compounds	Kinds of <i>yakju</i>		
		A	B	C
	Alcohol			
2.145	3-methyl-1-butanol	3.57	10.58	5.54
4.595	2,3-dihydro-4-methyl-1H-indole	0.85	4.69	0.15
8.138	4-methyl-2-phenylindole	0.15		
9.023	benzeneethanol	0.29		0.31
	Ester			
12.060	acetic acid, 2-phenylethyl ester	0.07		
24.800	hexadecanoic acid, ethyl ester	29.93	6.23	
	Acid			
24.465	tetradecanoic acid	0.24	17.44	0.89
25.810	thiosulfuric acid	0.44	0.02	0.31
27.000	heptadecane-(8)-carbonic acid	0.69	17.39	4.60
27.244	undecanoic acid	9.17		
24.479	9-octadecenoic acid	2.52		
27.993	9,12-octadecadienoic acid	1.11		
47.993	cantleyine	0.35		

A, B and C were *yakjus* prepared *Saccharomyces cerevisiae* S-2, S-6 and IFO 1950, respectively.

났고, A약주에서는 C약주에서와 같이 누룩에서 기인한 향기성분의 감지를 나타내었다. B약주에서의 산미 문제를 약주 담금과 발효시 효모의 산 생성억제 조건을 통해 개선함으로써 해결해야 할 과제로 생각된다.

요 약

약주 품질의 표준화와 과학화를 위한 기초자료를 얻은 목적으로 사과, 배, 감, 유자로부터 알코올 생성능과 향기 생성능이 우수한 균주를 분리하여 약주 제조시 주모로 첨가한 후 일반 성분과 향기 성분을 분석하고 효모가 약주의 향기성분에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 사과, 배, 감, 유자로부터 23종의 효모를 순수 분리하여 분리한 균주에서 알코올 생성능과 향기 생성능이 우수한 S-2, S-6균주를 선발하였고, 형태 및 생리학적 특성을 조사하여 동정한 결과, *Saccharomyces cerevisiae* S-2, *Saccharomyces cerevisiae* S-6로 확인하였다. 분리 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* S-2, *Saccharomyces cerevisiae* S-6과 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950을 주모로 사용하여 약주 제조 과정에서 pH의 변화는 경시적으로 낮아지는 경향을 보였고, 발효 8일 이후에는 *Saccharomyces cerevisiae* S-2균주는 3.0, *Saccharomyces cerevisiae* S-6균주는 2.9, *Saccharomyces cerevisiae* IFO균주는 3.3으로 나타났다. 산도의 경시적인 변화는 완만한 증가를 보였으며, 발효 8일 이후에는 *Saccharomyces cerevisiae* S-2균주는 4.8, *Saccharomyces cerevisiae* S-6균주는 8.7, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950균주는 4.3으로 나타났다. 약주 발효시 유리당 함량의 변화는 3개의 약주에서 공통적으로 검출된 유리당은 glucose, maltose였으며, *Saccharomyces cerevisiae* S-2로 담금한 약주와 *Sacchar-*

omyces cerevisiae IFO 1950균주로 담금한 약주는 발효 초기에 당을 소비하여 발효 6일 후에는 급격히 감소하였으며, *Saccharomyces cerevisiae* S-6균주로 담금한 약주는 발효 기간 전체에 걸쳐 유리당이 검출되어 당의 발효가 잘 이루어지지 않은 것으로 보여진다.

약주 발효시의 알코올 변화를 살펴보면 발효 6일째에 가장 높은 함량을 보였으며, *Saccharomyces cerevisiae* S-2 균주로 담금한 약주의 알코올 함량은 9.5% 그리고 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950균주로 담금한 약주의 알코올 함량은 10.9%로 나타났다. 유기산의 변화를 살펴보면 검출된 유기산으로는 citric acid, tartaric acid, lactic acid였으며, *Saccharomyces cerevisiae* S-2균주로 담금한 약주와 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950균주로 담금한 약주에서는 citric acid가 가장 많이 검출되었고, *Saccharomyces cerevisiae* S-6균주로 담금한 약주에서는 lactic acid의 함량도 높게 나타났다. 효모 균주를 달리한 약주의 향기 성분을 GC-MS로 살펴본 결과 *Saccharomyces cerevisiae* S-2 균주로 담금한 약주는 57개의 *Saccharomyces cerevisiae* S-6균주로 담금한 약주에서는 17개, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950 균주로 담금한 약주에서는 19개의 향기 성분이 나타났으며, *Saccharomyces cerevisiae* S-2 균주로 담금한 약주와 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 균주로 담금한 약주의 향기성분은 hexadecanoic acid, ethyl ester이 가장 많았고, *Saccharomyces cerevisiae* S-6 균주로 담금한 약주의 주성분은 tetradecanoic acid이다. 관능검사 결과 *Saccharomyces cerevisiae* S-2 균주로 담금한 약주가 아주 우수한 것으로 나타났다. 약주의 향기성분은 원료미, 누룩, 주모 및 발효과정 중의 미생물의 발효작용 등으로 생성된다. 여러 종류의 향미 특성이 다른 향기 물질들이 발효 과정 중 생성되어

약주의 맛이나 색과 더불어 약주의 주질을 형성한다. 본 실험결과에서 보는 바와 같이 효모 균주에 따른 약주의 향미 성분이 많은 차이를 보여 일반적인 약주제법에서 주모의 효모 균주를 달리했을 경우 향기 성분의 차이를 볼 수 있고, 따라서 약주 제조시 담금 방법이나 발효 조건 및 효모 균주를 잘 조정하여 맛, 색은 물론 향미가 우량한 물질의 약주제조 및 보급에 관한 많은 연구가 요망된다.

문 헌

1. 성낙계, 박윤중, 정지훈, 이종갑: 최신발효공학. 형설출판사, p.154(1991)
2. 이서래: 한국의 발효식품. 이화여자대학교 출판부, p.206(1996)
3. 송형익, 신중엽: 현대 발효공학. 지구문화사, p.193(1995)
4. Jo, Y. H., Sung, N. K., Chung, D. H. and Yun, H. D.: Microbiological studies on the rice *makkulli* (Part1) Utilization of rice *makkulli koji* with the isolated strain M-80. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **7**, 217-223(1979)
5. Lee, J. S., Lee, T. S., Noh, B. S. and Park, S. O.: Quality characteristics of mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **28**, 330-336(1996)
6. Lee, T. S., Yu, J. H., Chu, Y. H. and Oh, M. J.: Studies on the osmophilic red color yeast(1) Isolation and identification of *Sporobolomyces* sp. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **2**, 26-29(1970)
7. Park, W. S., Koo, Y. J., Shin, D. H. and Suh, K. B.: Analysis of cellular components of starch - utilizing yeast *Sporobolomyces holsaticus*. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **1**, 170-176(1983)
8. Park, S. K., Kang, M. Y. and Kim, D. S.: Studies on the lactose fermenting yeast from *nuruk* starter. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **22**, 129-133(1990)
9. Lee, C. H., Tae, W. T., Kim, G. M. and Lee, H. D.: Studies on the pasteurization conditions of *takju*. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **23**, 44-51(1991)
10. Lee, Z. S. and Lee, T. W.: Studies on the microflora of *takju* brewing. *Korean J. Microbiol.*, **8**, 116-133(1970)
11. Shin, Y. D. and Cho, D. H.: A study on the microflora changes during *takju* brewing. *Korean J. Microbiol.*, **8**, 53-64(1970)
12. 홍순우, 하영철, 임병종: 시중 막걸리의 성분과 그 동태. 양조시험소보, **1**, 18(1968)
13. Choi, S. H., Kim, O. K. and Lee, M. W.: A study on the gas chromatographic analysis of alcohols and organic acids during *takju* fermentation. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **24**, 272-278(1992)
14. Hong, S. W., Hah, Y. C. and Min, K. H.: The biochemical constituents and their changes during the fermentation of *takju* mashes and *takju*. *Korean J. Microbiol.*, **8**, 107-115(1970)
15. 한용석, 이기종: 한국산 우량곡자 및 효모종의 아미노산에 관하여. (제1보)공업연구소, **10**, 119(1960)
16. In, H. Y., Lee, T. S., Lee, D. S. and Noh, B. S.: Volatile components and fusel oils of *soju*s and mashes brewed by Korean traditional method. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **27**, 235-240(1995)
17. 김용두, 강성구, 서재신: 진양주 개선에 관한 연구. 순천대학농업과학연구소 제4보(1990)
18. 김용두, 강성구, 강성균: 진양주 개선에 관한 연구. 순천대학농업과학연구소 제5보(1991)
19. Takashi, T. I., Yoshitaka, D., Tadao, K. and Hiromichi, K.: GC and GC-MS Analysis of Headspace Volatiles by Tenax GC Trapping Techniques. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1351(1979)
20. 이철호, 채수규, 이진근: 식품공업품질관리론. 유림문화사, pp.132-156(1984)
21. Kreger-Van Rij, N. J. W.: The yeast-Ataxonomy study. 3th ed., Elsevier Science Publishers, B.Y.-Amsterdam (1884)
22. Lee, J. S., Lee, T. S., Park, S. O. and Noh, B. S.: Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **28**, 316-323(1996)
23. 布川太郎: 清酒成分一覽(ester). 日本醸造協會雜誌, **62**, 854(1967)

(1999년 5월 17일 접수)