

전분분해 효모융합체를 이용한 전통 발효주의 제조와 품질특성

주민노 · 홍성욱 · 김관태¹ · 염성관¹ · 김계원¹ · 정진섭*
연세대학교 생명과학기술학부, ¹(주)국순당

Preparation of Korean Traditional Alcoholic Beverage (*Yakju*) by a Protoplast Fusion Yeast Strain Utilizing Starch and its Quality Characteristics

Min No Ju, Sung Wook Hong, Kwan Tae Kim¹, Sung Kwan Yum¹, Gye Won Kim¹, and Kun Sub Chung*

Division of Biological Science and Technology, Yonsei University

¹Kooksoondang Brewery Co. Ltd.

Abstract The objectives of this study were to evaluate the physico-chemical and sensory characteristics of a Korean traditional alcoholic beverage (*yakju*) prepared using different *nuruk* (Korean-style *koji*) concentrations and yeasts such as the fusant FA776 and *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, respectively. The fusant FA776, which has alcohol-fermenting and starch-utilizing properties, was formed by *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1 and *Saccharomyces diastaticus* KCTC1804. The fermentation trial was conducted in a 5 L lab-scale jar at 25°C. The maximum alcohol production of the K-100 and F-50 reached levels of 135.0 mg/mL and 119.4 mg/mL, respectively. The pH values were in a range of 4.3-4.5. Total acidity was in a range of 0.47-0.60%. Organic acids and amino acids were analyzed in order to evaluate variations in its composition and content via HPLC analysis. Organic acids including lactic acid, citric acid, malic acid, and pyruvic acid, and 16 kinds of amino acids, including aspartic acid, were detected in all treatments. K-100 showed the highest amino acid contents, whereas F-50 exhibited the lowest amino acid contents. Volatile flavor components such as phenylethyl alcohol, isoamyl alcohol, 2-methylthiophane, isobutyl alcohol, and ethyl succinate were detected as a major component in all treatments, as determined via gas chromatography. The results of our sensory evaluation demonstrated that *Yakju* fermented by the FA776 fusant yielded more favorable results than *S. cerevisiae* KOY-1.

Key words: alcohol fermentation, *yakju*, protoplast fusion yeast, starch-utilizing

서 론

술은 예로부터 각 민족마다 독특한 양조방법으로 제조되어 왔다. 우리나라의 전통주는 원료와 제조방법, 관능적 특성에 따라 25여종으로 구분되며, 그 중 가장 대표적인 발효주로는 탁주와 약주가 알려져 있다. 탁주와 약주는 곡류나 국(麴)의 첨가량을 약간씩 달리하여 발효 숙성시킨 술덧을 체로 걸러서 외관이 백탁한 상태인 것을 막걸리 또는 탁주라고 하고, 발효된 술덧을 여과한 맑은 술을 약주라고 한다(1,2). 전통 발효주는 알코올에서 유래되는 쓴맛과 발효 중에 생성되는 유기산에 의한 상큼한 신맛, 단백질 분해산물인 아미노산 맛, 산과 알코올의 esterification 산물인 향기, 전분분해 산물인 당류 등이 잘 조화를 이루며 독특한 풍미를 지닌 술이다. 지금까지 전통주에 관한 연구로는 미생물(3,4) 및 효소(5,6), 성분변화(7,8), 약재를 첨가한 발효주의 품질평가(9), 누룩에 의한 전통주의 품질과 성분변화(10,11,12), 전통

주의 기능성(13) 등이 보고되었는데 이와 같은 연구보고를 통해 전통 발효주의 연구에 있어서 과학화를 이루어왔다. 누룩은 전분질 원료에 자연계에 존재하는 곰팡이가 배양된 것을 말하거나 혹은 전분 분해에 이용되는 대표적인 곰팡이를 배양한 것을 말한다. 누룩에는 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus kawachii*, *Aspergillus shirousamii*, *Rhizopus tritici*와 같은 곰팡이와 *Saccharomyces cerevisiae*와 같은 효모, 그리고 고초균, 젓산균 등의 많은 미생물들이 생육하면서 다양한 효소 및 유기산을 생성하는데 이에 따라 전통주의 맛, 향기, 그리고 색상에 있어서 품질적인 차이가 있다고 보고되어 있다(14). 종래의 미생물 육종 및 개량방법은 우수한 형질을 가진 균주를 분리하거나 돌연변이를 유발시킨 후 목적에 알맞은 특성을 보유한 균주를 선발하는 방법이 사용되어 왔으나, 최근에 분자생물학과 분자유전학이 급속한 발전을 이루면서 이전과는 다른 원형질체 융합과 유전자 조작기술을 이용한 새로운 미생물 육종방법이 개발되고 있다. 원형질체 융합법은 산업적으로 유용한 실용균주의 육종이 가능하고 훨씬 빠르고 많은 유전자를 도입할 수 있기 때문에, 알코올 발효와 같이 많은 유전자가 관여하는 대사계의 개량에 매우 유리한 방법이다. 또한 원형질체 융합으로 육종한 균주는 genetically modified organism(GMO)의 법적 규제를 받지 않고 사용이 가능하므로 실용효모의 육종에 적합하다고 보고된 바 있다(15). 전통주의 발효공정은 포도당과 같은 저분자 물질을 이용하는 효모가 전분질인 곡류를 기질로 이용하기 위해서는 누룩의 사용이 반드시

*Corresponding author: Kun Sub Chung, Division of Biological Science and Technology, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-710, Korea
Tel: 82-33-760-2252
Fax: 82-33-760-2183
E-mail: kschung@yonsei.ac.kr
Received July 20, 2009; revised August 28, 2009; accepted August 30, 2009

시 필요하다. 그러나 이 과정에서의 필수조건인 누룩의 생산설비와 생산비용 문제, 그리고 누룩취로 인하여 기호성이 낮아지는 단점이 있다. 현재까지 전통주 발효공정에서 효모융합 방법을 이용하여 전분 분해활성과 알코올 발효능이 동시에 존재하는 효모융합체를 개발하고 이를 응용한 산업화는 아직 미흡한 실정이다. 전보에서 전분 분해활성이 우수한 효모와 알코올 발효능이 우수한 효모간의 세포융합을 수행하여 효모융합체를 개발하고 그 중에서 두 가지 특성이 모두 우수한 효모융합주를 선발한 바 있다(16). 따라서, 본 연구는 전분분해 활성을 보유한 효모융합체를 이용한 발효주의 성분분석 및 관능적인 특성변화를 통하여 누룩취가 적고 기호성이 우수한 발효주의 제조 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험균주 및 배양

본 실험에 사용된 전분 분해활성과 알코올 발효능을 모두 보유한 효모융합체 FA776 균주는 전보에서 *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1와 *Saccharomyces diastaticus* KCTC1804 균주간의 세포융합을 통하여 획득하였고(16), 알코올 발효능이 우수한 *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1 균주는 (주)국순당에서 분양받아 사용하였다. 사면배지에 순수배양한 효모를 YPD medium(1%(w/v) yeast extract, 2%(w/v) peptone, 2%(w/v) dextrose)에 접종하여 30°C 항온교반기에서 2일동안 150 rpm 조건으로 교반배양한 후, 주모로 사용하였다.

발효주 제조과정

전분 분해활성과 알코올 발효능을 보유한 효모융합체를 이용한 발효주 제조는 Fig. 1과 같은 과정으로 수행하였다. 원료미를 수세하고 20°C 상온에서 2시간동안 침지한 후, 1시간동안 탈수하였다. 침지미를 40분동안 증자하고 실온에서 40분동안 방치한 후, 25°C로 냉각하였다. 누룩(s.p 2000U, Korea enzyme Co. Ltd., Seoul, Korea)은 당화력에 따른 원료의 전분가와 사용량을 적용하여 누룩 1.2 g을 원료미 1 kg 대비 100% 누룩 첨가량으로 하였다. 원료미 1 kg당 증류수를 1.6 L의 비율로 담금하고 Table 1에 나타낸 비율로 누룩을 첨가한 다음, 주모(5×10^7 cell/mL)를 첨가하여 25°C에서 10일동안 발효하였다.

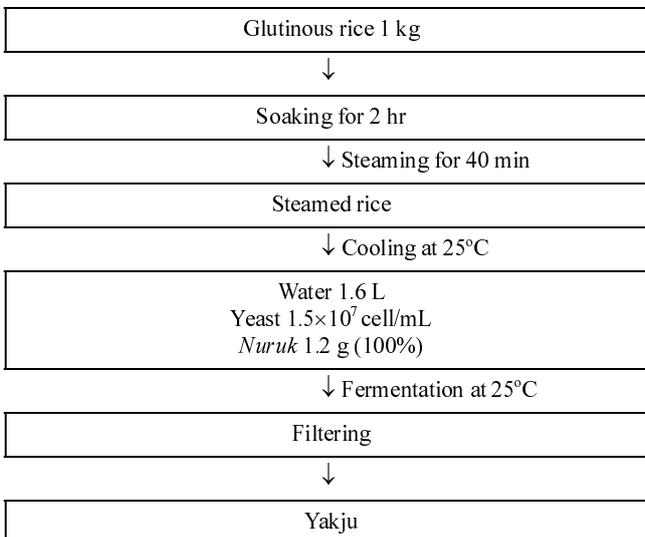


Fig. 1. The processing procedure of *Yakju* fermentation.

Table 1. Amount of *Nuruk* added and strains in *Yakju*

Name	Strains	Amount of <i>Nuruk</i> used
K-100	KOY-1 ¹⁾	1.2 g of <i>nuruk</i> /1 kg of rice (100%)
K-50	KOY-1 ¹⁾	0.6 g of <i>nuruk</i> /1 kg of rice (50%)
F-100	FA 776 ²⁾	1.2 g of <i>nuruk</i> /1 kg of rice (100%)
F-50	FA 776 ²⁾	0.6 g of <i>nuruk</i> /1 kg of rice (50%)

¹⁾KOY-1: *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1

²⁾FA776: *Fusant* FA 776

이화학적 분석

발효주 50 mL을 취하여 원심분리(4,000×g, 10 min)한 후, pH는 원심분리한 상등액에 pH meter(ATI orion, Research Inc., Boston, MA, USA)를 사용하여 측정하였고 적정산도는 상등액 10 mL에 1%(w/v) phenolphthalein 지시약을 2-3방울을 적가한 후, 0.1 N NaOH 용액을 이용하여 시료가 미색에서 선홍색으로 변할 때까지 소요된 양에 NaOH 역가와 유기산 계수(0.009)를 곱하여 젯산 함량으로 나타내었다. 발효주의 알코올 함량은 ethanol kit(D-64293, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany)를 이용하였고 환원당 함량은 dinitrosalicylic(DNS) 방법으로 측정하였다. 1%(w/v) Dinitrosalicylic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 1%(w/v) sodium hydroxide(Sigma Chemical Co.), 0.05%(w/v) sodium sulfate(Sigma Chemical Co.), 0.2%(v/v) phenol(Duksan Chemical Co., Asan, Korea)이 함유된 DNS 시약 1 mL과 100배 희석한 시료용액 1 mL을 혼합하여 100°C에서 15분동안 반응시킨 후, 냉각하고 증류수 3 mL을 혼합하여 546 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준당으로는 D(+)-glucose (Sigma Chemical Co.)를 사용하여 정량하였다.

아미노산 분석

아미노산 분석은 시료 20 mL을 20% trichloroacetic acid(TCA) 용액 40 mL과 혼합하여 균질화한 후, 원심분리(4,000×g, 20 min)하고 상등액을 감압 농축하였다. 시료에 methanol 200 μL, 0.2 N sodium acetate 200 μL, triethylamine 100 μL을 첨가하여 혼합한 후, 진공건조하였다. 그리고 유도체 시약 30 μL을 첨가하여 혼합한 후 진공 건조하였다. 건조한 시료에 acetate phosphate buffer 300 μL을 넣고 희석하여 AccQ Tag amino acid column을 사용한 HPLC(Waters Co., Milford, MA, USA)로 분석을 수행하였다.

Parameters	Conditions
Column	AccQ Tag amino acid analysis column (3.9×150 mm, 4 μm)
Detector	Flame ionization detector (ex: 250 nm, em: 395 nm)
Mobile phase A	Waters AccQ Tag Eluent A (WAT052890)
Mobile phase B	60% acetonitrile
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp	40°C

유기산 분석

유기산은 시료 20 mL을 취하여 원심분리(4,000×g, 20 min)하고 그 상등액을 0.45 μm membrane filter(Advantec, Toyo Roshikai-sha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 후, Alltech Prevail Organic Acid column을 사용한 HPLC(Waters Co., Milford, MA, USA)로 분석하였다. 정량은 분석 peak의 retention time과 면적을 표준시료와 비교하였다.

Parameters	Conditions
Column	Alltech prevail organic acid (4.6×150 mm, 3 μm)
Detector	UV detector, 210 nm (2487 UVD)
Mobile phase	25 mM phosphate buffer (pH 2.5)
Flow rate	0.5 mL/min
Column temp	40°C

향기 분석

향기성분은 headspace sampler를 장착한 gas chromatograph (5975B, Agilent, Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 시료 20 mL을 vial에 넣고 공기를 질소로 치환한 후, 40°C water bath에서 30분간 평형시키고 gas-tight syringe로 headspace gas 0.5 mL을 취하여 DB-WAX column을 사용한 GC로 분석하였다. 정량은 분석 peak의 retention time과 면적을 표준시료와 비교하였다.

Parameters	Conditions
Instrument	HP-5975B GC series with autosampler
Column	DB-WAX (30 m×0.53 mm I.D., 1.2 μm)
Carrier gas	He
Flow rate	1.0 mL/min
Oven Temp.	40°C/3 min→10°C/min→210°C/3 min
Injection Temp.	230°C
Detector	Flame ionization detector (FID)
Detector Temp.	300°C

관능검사

발효주의 관능검사는 훈련된 14명의 관능요원을 대상으로 맛, 색깔, 향, 종합적인 기호도의 4개 검사항목에 대하여 5점 평점법 (발효주로서의 특성이 1: 매우 나쁘다, 2: 비교적 나쁘다, 3: 보통이다, 4: 비교적 좋다, 5: 매우 좋다)으로 실시하였으며 관능검사 결과의 통계처리는 ANOVA test를 이용하였고 Duncan's Multiple Range test로 유의성을 검정하였다(17).

결과 및 고찰

pH 및 산도의 변화

누룩을 100%와 50%로 첨가하고 *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1과 효모융합체 FA 776을 각각 접종한 후, 25°C에서 10일 동안 발효하면서 24시간 간격으로 시료를 취하여 이화학적 성분 분석을 수행하였다. 담금 직후 pH 5.0을 나타내었으며 발효가 진행됨에 따라 모든 처리구에서 pH가 감소하는 경향을 보이며 발효 2일에는 pH 3.5-3.6을 나타내었다. 그 이후로부터 pH는 서서히 증가하여 발효 10일에 pH 4.0-4.3으로 증가하였다(Fig. 2). 담금 직후부터 pH가 감소되는 경향은 발효기간의 경과에 따라 술덧에 생육하는 미생물이 생산하는 유기산의 함량이 증가하여 담금 직후보다 pH가 낮아지다가 점차적으로 증가하는데, 이것은 발효가 진행됨에 따라 생성된 유기산과 알코올이 서로 반응하여 ester와 같은 향미를 형성하는 것으로 사료되었다. 산도의 변화는 담금 직후 초기에 0.02%를 나타내었으나 발효 1-3일간 급격히 증가하여 발효종료시 F-100와 F-50의 경우, 0.59%-0.60%를 나타내었으며, K-100와 K-50은 0.47%-0.48%를 나타내었다(Fig. 2). *S. cerevisiae* KOY-1와 효모융합체 FA 776에 따른 처리구를 비교하였을때 효모융합체 FA 776에 의한 발효주의 산도가 더 증가하였는데, 이는 담금 직후에 효모에 의한 발효가 진행되며 생성되는 유기산에 의해 산도가 증가하였고 이를 통해 효모융합체 FA

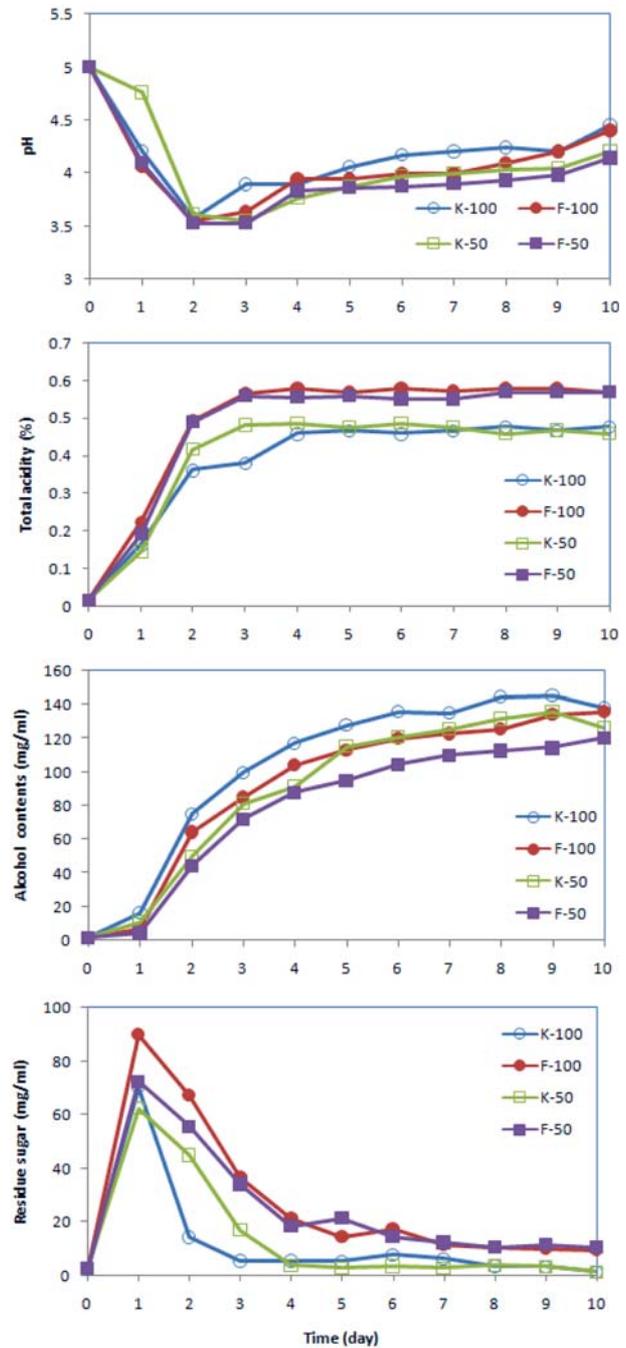


Fig. 2. Changes of physico-chemical characteristics in Yakju. (A) pH, (B) total acidity, (C) alcohol content, (D) residue sugar content. -○-, K-100, *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 1.2 g of nuruk/kg of rice. -□-, K-50, *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 0.6 g of nuruk/kg of rice. -●-, F-100, Fusant FA 776, 1.2 g of nuruk/kg of rice. -■-, F-50, Fusant FA 776, 0.6 g of nuruk/kg of rice

776이 *S. cerevisiae* KOY-1보다 많은 유기산을 생성하는 것으로 사료되었다. Han 등(18)은 발효시 생성된 유기산은 알코올 등과 결합하여 ester와 같은 향미 형성에 이용된다고 보고하였다.

알코올 함량

발효과정 중 알코올 함량의 변화는 Fig 2와 같다. 알코올 함량은 발효 1일부터 발효 8일까지 급격하게 증가하여 발효종료시

Table 2. Composition and content of amino acids in *Yakju* by HPLC analysis

Amino acid	Fermentation (pmol/mL)			
	K-100 ¹⁾	K-50 ²⁾	F-100 ³⁾	F-50 ⁴⁾
Asp	70.27±1.89	27.41±0.23	24.95±2.35	20.94±0.20
Ser	100.34±1.07	52.50±3.12	32.82±0.22	17.15±0.85
Glu	139.61±2.43	70.75±2.02	67.11±1.24	62.92±1.80
Gly	85.62±2.89	55.76±3.29	49.14±3.84	47.13±0.34
His	60.84±0.14	42.37±1.12	48.21±2.45	40.84±3.85
Arg	93.62±4.87	64.91±1.29	94.63±3.12	69.92±4.21
Thr	34.12±0.86	24.94±1.52	31.42±1.38	14.07±4.39
Ala	238.91±1.12	164.96±0.83	99.69±3.18	107.33±1.67
Pro	153.84±4.81	123.92±4.12	86.44±3.83	69.83±2.36
Tyr	50.32±0.85	50.61±0.57	54.29±1.12	43.34±0.32
Val	67.40±3.22	45.13±0.86	36.77±1.47	33.21±2.14
Met	41.98±1.24	36.15±1.73	40.14±1.82	30.78±0.74
Lys	154.21±0.12	100.88±1.54	134.42±0.42	112.83±1.41
Ile	53.17±4.81	37.28±0.89	33.84±1.21	26.58±1.84
Leu	49.16±2.12	78.10±1.81	80.18±1.26	63.55±0.45
Phe	58.62±0.21	45.32±1.12	48.31±0.82	34.78±1.27

¹⁾K-100; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice

²⁾K-50; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice

³⁾F-100; Fusant FA 776, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice

⁴⁾F-50; Fusant FA 776, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice

K-100(135.0 mg/mL), F-100(132.2 mg/mL), K-50(125.3 mg/mL), F-50(119.4 mg/mL)의 순서로 알코올 함량이 생성되었다. 전분 분해활성을 가진 효모융합체를 이용한 발효를 통해 알코올 함량의 증가 또는 발효시간의 단축과 같은 누룩사용 대체 가능성을 기대했지만, 원료미 대비 누룩량 100%와 50%를 각각 첨가한 처리군 모두 *S. cerevisiae* KOY-1이 최종 알코올 함량과 발효시간에서 효모융합체 FA 776보다 우수하였다. 이는 전분에서 개발한 효모융합체 FA 776이 전분을 기질로 하는 배지에서 알코올 생산능은 확인하였지만(16), 효모융합체 FA 776이 생산한 전분 분해효소의 역할은 누룩에서 유래된 전분 분해효소의 역할엔 미치지 못했다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 발효균주에 따른 알코올 함량측정 결과, 효모융합체 FA 776을 이용한 발효주가 *S. cerevisiae* KOY-1을 이용한 발효주에 비해 알코올 생성수율이 낮은 이유는 효모융합체 FA 776가 알코올 생성보다는 유기산 생성에 더 많은 포도당을 이용하였기 때문으로 사료된다.

환원당 함량

발효과정 중에서 환원당 함량의 변화는 Fig. 2와 같다. 발효초기의 환원당 함량은 2.64 mg/mL로 나타났고 발효 1일에 F-100(90.00 mg/mL), F-50(70.33 mg/mL), K-100(70.11 mg/mL), K-50(62.41 mg/mL)의 순으로 최대값을 나타내었다. 원료 중의 전분질이 당화효소의 작용으로 인해 당분으로 분해되고 동시에 효모의 영양원이나 발효기질로 이용되었기 때문에 발효 4일까지 환원당 함량이 급격히 감소하여 발효 5일부터는 환원당 함량이 최소로 유지되는 것을 관찰하였다.

아미노산 분석

HPLC 분석을 통한 발효주의 아미노산 조성 및 함량은 Table 2와 같이 나타내었다. 발효주의 맛에 영향을 주는 아미노산은 aspartic acid를 비롯한 16종류가 확인되었으며, 주요 아미노산은 alanine, proline, lysine으로 확인되었다. K-100을 사용한 발효주에

서 대부분의 아미노산 함량이 가장 높게 나타났으며, F-50을 사용한 발효주의 아미노산 함량이 가장 낮은 것으로 확인되었다. Iwano 등(19)은 단백질은 맛이 없으나 그 분해 산물인 아미노산은 각각 특유의 맛을 갖고 있어 단맛, 쓴맛, 신맛, 기타 등 4종류로 분류하였고, So 등(6)과 Youn 등(20)은 발효주에 존재하는 아미노산 중에서 aspartic acid는 신맛을 나타내고 alanine, glycine, serine, threonine은 단맛을 나타내며, proline과 methionine은 단맛과 쓴맛을 함께 나타내고 arginine, lysine, leusine, isoleusine, phenylalanine, histidine, tyrosine 및 valine은 쓴맛을 나타낸다고 보고하였다. 누룩첨가량이 많을수록 아미노산의 함량도 높게 나타났고 효모융합체인 FA 776을 사용하여 제조한 발효주는 *S. cerevisiae* KOY-1을 사용하여 제조한 발효주보다 아미노산 함량이 낮아 발효주의 잔맛이 적을 것으로 사료된다.

유기산 분석

HPLC 분석을 통한 발효주의 유기산의 조성 및 함량은 Table 3과 같이 pyruvic acid, malic acid, lactic acid, citric acid, fumaric acid, succinic acid 등이 검출되었다. 누룩첨가량에 따른 유기산의 함량은 효모융합체인 FA 776을 사용하여 제조한 발효주에서 *S. cerevisiae* KOY-1을 사용하여 제조한 발효주보다 유기산함량이 높게 나타내었다. 모든 발효주에서 lactic acid(2,090±2.3-2,608±4.9 g/mL)와 citric acid(1,805±4.8-2,314±4.2 g/mL)의 함량이 가장 많았고 특히 효모융합체 FA 776을 사용한 발효주에서는 fumaric acid(2±0.3-2±1.8 g/mL)와 succinic acid(60±3.2-88±4.2 g/mL)가 확인된 반면, *S. cerevisiae* KOY-1을 사용한 발효주에서는 검출되지 않았다. Chang 등(21)은 탁주, 누룩 및 분곡에서 lactic acid, oxalic acid, malonic acid, fumaric acid, succinic acid, malic acid, citric acid 등이 검출되었고, 입국(koji)에서는 lactic acid, oxalic acid, fumaric acid, succinic acid, citric acid 등의 유기산을 정량 및 정성 분석하였다고 보고하였다. 그리고 Lee 등(22)은 *Aspergillus niger*, *Aspergillus shirousamii*, *Aspergillus kawachii*로

Table 3. Composition and content of organic acids in *Yakju* by HPLC analysis

	Fermentation (g/mL)			
	K-100 ¹⁾	K-50 ²⁾	F-100 ³⁾	F-50 ⁴⁾
Pyruvic acid	60±2.8	45±0.3	201±2.3	174±0.2
Malic acid	248±4.2	354±1.9	457±2.8	388±1.2
Lactic acid	2608±4.9	2229±2.4	2404±1.4	2090±2.3
Citric acid	1825±1.4	1805±4.8	2314±4.2	1954±4.7
Fumaric acid	nd ⁵⁾	nd ⁵⁾	2±1.8	2±0.3
Succinic acid	nd ⁵⁾	nd ⁵⁾	88±4.2	60±3.2

¹⁾K-100; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice
²⁾K-50; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice
³⁾F-100; Fusant FA 776, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice
⁴⁾F-50; Fusant FA 776, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice
⁵⁾nd; not detected

제조한 코오지와 누룩을 단용 또는 혼용하여 담금한 탁주발효 과정 중에서 citric acid, tartaric acid, pyruvic acid, malic acid, lactic acid, acetic acid가 검출되었으며, 이 중에서 lactic acid가 가장 많이 함유되어 있었다고 보고하였는데, 이는 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

향기성분 분석

발효주의 향기성분 분석결과는 Table 4에 나타내었다. 휘발성 향기성분은 모든 발효주에서 phenylethyl alcohol(50.60-58.88%), isoamyl alcohol(31.86-38.10%), 2-methylthiophane(2.81-4.56%), isobutyl alcohol(1.33-2.07%), ethyl succinate(0.45-0.96%) 등의 함

량으로 구성되어 있음을 관찰하였다. Phenylethyl alcohol과 isoamyl alcohol은 모든 처리구에서 주요 향기성분으로 확인되었으며, 탁주, 맥주, 청주 등에서 중요한 향기성분으로 알려진 isoamyl alcohol과 isobutyl alcohol의 함량 및 함량비가 발효주의 향과 맛에 큰 영향을 주는 것으로 평가되고 있는데 isoamyl alcohol은 isopentyl alcohol이라 불리기도 하며, leucine을 전구체로 하여 형성되는 fusel oil의 일종으로 주로 바나나향을 갖는 반면, isobutyl alcohol은 valine으로부터 형성되고 ethanol과 유사한 관능적 특성을 가지는 것으로 보고되어 있다(2,23,24,25). 향기성분 중에서 isobutyl alcohol, isoamyl alcohol, 1-butanol, ethyl caproate, 1-butanamine-nitro, 3-(methyl thio)-1-propanol, 2-methylthiophane 등은 *S. cerevisiae* KOY-1보다 효모융합체 FA 776을 이용한 발효주에서 더 많은 함량을 나타내는 것으로 확인되었다. 발효과정 중에 생성된 유기산의 함량이 많을수록 알코올과 반응하여 esters류의 향미성분은 더욱 증가하는 것으로 사료된다. 또한, 사용하는 효모에 따라 발효주의 향미특성에 영향을 주는 것으로 확인되었는데, 이는 So 등(6)은 탁주의 고급알콜이나 에스테르의 함량은 발효용 효모와 첨가하는 누룩에 따라 현저히 다르다는 연구보고와 유사한 경향을 나타내었다.

관능검사

Saccharomyces cerevisiae KOY-1과 효모융합체 FA 776을 사용하고 각각의 누룩첨가량을 100%와 50%로 담금하여 25°C에서 10 일동안 제조한 발효주에 대해 맛, 향기, 색, 종합적 기호도의 정도를 5단계로 나누어 관능요원(14명)을 대상으로 관능검사를 실시한 결과(Table 5), 맛은 F-100과 F-50 처리구가 3.00점으로 높은 평점을 받았으며, 색과 향기의 경우는 F-50 처리구가 3.40점

Table 4. Composition and content of volatile flavor compounds in *Yakju* by GC analysis

	RT	Compound	Fermentation (unit: peak area%)			
			K-100 ¹⁾	K-50 ²⁾	F-100 ³⁾	F-50 ⁴⁾
1	5.103	ethyl butyrate	0.12	0.13	0.12	0.09
2	5.2	1-propanol	0.34	0.81	0.36	0.82
3	6.112	isobutyl alcohol	1.33	1.85	1.97	2.07
4	6.619	isoamyl acetate	0.64	0.95	0.74	0.98
5	7.04	1-butanol	0.11	0.14	0.54	0.72
6	8.094	isoamyl alcohol	31.86	38.10	37.25	37.93
7	8.485	ethyl caproate	0.07	0.00	0.08	0.07
8	10.137	1-butanamine-N,nitro	0.00	0.09	0.00	0.14
9	10.65	3-ethoxy-1-propanol	0.32	0.41	0.29	0.47
10	11.428	ethyl caprylate	0.08	0.00	0.03	0.09
11	12.55	ethyl-3-hydroxy butanoate	0.24	0.26	0.00	0.00
12	12.81	2-buten-1-ol,propanoate	0.00	0.59	0.00	0.21
13	13.26	1,3-butanediol	0.00	0.21	0.03	0.11
14	14.383	propanol, 3-methoxy	0.12	0.13	0.00	0.00
15	14.453	ethyl succinate	0.85	0.54	0.96	0.45
16	14.975	1-propanol,3-methyl thio	0.34	0.31	0.69	0.44
17	15.189	1,6-dideoxydulcital	0.81	0.65	0.74	0.61
18	15.922	2-methylthiophane	2.83	2.81	4.56	4.05
19	16.08	phenylethyl acetate	0.47	0.52	0.33	0.56
20	16.349	caproic acid	0.60	0.22	0.20	0.19
21	17.11	phenylethyl alcohol	58.88	51.28	51.13	50.60

¹⁾K-100; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice
²⁾K-50; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice
³⁾F-100; Fusant FA 776, 1.2 g of *nuruk*/kg of rice
⁴⁾F-50; Fusant FA 776, 0.6 g of *nuruk*/kg of rice

Table 5. Sensory evaluation of *Yakju*

	Fermentation			
	K-100 ¹⁾	K-50 ²⁾	F-100 ³⁾	F-50 ⁴⁾
Taste	2.80 ^b	2.00 ^{bc}	3.00 ^a	3.00 ^a
Color	1.80 ^c	2.20 ^b	2.20 ^b	3.40 ^a
Flavor	2.60 ^{bc}	2.80 ^b	3.00 ^b	3.60 ^a
Overall acceptance	2.20 ^{bc}	2.40 ^{bc}	3.00 ^b	4.00 ^a

Each value indicates the average of the sensory scores in the range of 1 (dislike extremely) to 5 (like extremely) tested by 14 panels. In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level.

¹⁾K-100; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 1.2 g of *Nuruk*/kg of rice

²⁾K-50; *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1, 0.6 g of *Nuruk*/kg of rice

³⁾F-100; Fusant FA 776, 1.2 g of *Nuruk*/kg of rice

⁴⁾F-50; Fusant FA 776, 0.6 g of *Nuruk*/kg of rice

과 3.60점으로 가장 우수하였고, 종합기호도의 경우도 F-50 처리구가 4.00점으로 기호도가 가장 우수한 것으로 확인하였다. F-50 처리구는 전체적으로 아미노산 함량이 낮고 유기산 함량이 높은 발효주로서, 단맛과 쓴맛을 나타내는 alanine과 proline이 감소할 수록 기호도는 증가하였으며, isoamyl alcohol과 isobutyl alcohol의 함량 및 함량비가 발효주의 향과 맛에 큰 영향을 주는 것으로 평가되고 있는데, 관능검사와 향기성분을 비교분석한 결과, F-50 처리구가 isoamyl alcohol과 isobutyl alcohol의 함량이 높았으며, 향기 관능검사에서도 가장 높은 평점을 받아 유사한 경향을 나타내었다.

요 약

전분 분해활성과 알코올 발효능을 모두 보유한 효모융합체 FA776과 알코올 발효능이 우수한 *Saccharomyces cerevisiae* KOY-1을 각각 이용하여 누룩의 첨가량에 따른 발효주를 제조하여 이 화학적 성분분석과 관능검사를 수행하였다. 발효주의 알코올 함량은 K-100과 F-50이 각각 135.0 mg/mL과 119.4 mg/mL으로 확인되었으며, 효모융합체 FA776이 전분을 기질로 하는 배지에서 알코올을 생산한다는 사실은 관찰하였지만, 전분 분해효소의 역가는 실제 약주 담금과정 중의 누룩에서 유래된 전분 분해효소의 역가보다 낮음을 확인하였다. pH는 발효종료시 모든 처리구에서 pH와 산도는 pH 4.3-4.5과 0.47-0.60%로 각각 유지되었다. 효모융합체 FA776을 이용하여 제조한 발효주에서 유기산 함량이 높은 반면, 아미노산 함량은 더 적게 나타났다. 모든 처리구에서 lactic acid와 citric acid의 함량이 높게 관찰되었으며, 특히 *S. cerevisiae* KOY-1을 사용한 발효주에서는 fumaric acid와 succinic acid가 검출되지 않았고 효모융합체 FA 776을 사용한 발효주에서만 각각 2 g/mL와 60-141 g/mL의 함량이 확인되었다. 발효주의 향기성분은 *S. cerevisiae* KOY-1을 사용한 발효주보다 효모융합체 FA 776을 사용하였을 때 향기성분의 함량이 더 높은 것으로 나타났으며, 관능검사에서는 효모융합체 FA 776을 이용하여 제조한 발효주가 종합기호도가 4.00점으로 가장 우수한 것으로 확인되었다. 이로써 효모융합체 FA 776을 이용할 때, 기호성이 우수한 발효주로서의 제조 가능성이 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신 인력양성사업(2006-2008)으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Bae SM. Manufacture Technology of Traditional Wine. Laboratory of BSM brewery. 156-178 (2002)
- Kang MY, Yoo SS, Park YS, Mok CK, Chang HG. Analysis of flavors in eat-sterilized *yakju*. Food Eng. Prog. 3: 170-175 (1999)
- Kim JO, Kim JG. Microbial and enzymatic properties related to brewing of traditional Ewhaju. Korean J. Food Cook. Sci. 9: 266-271 (1993)
- Kim TW, Ryu CH. Quality assessment traditional wine and viable ceel by lumitester. Korea J. Life Sci. 12: 363-368 (2002)
- Shin CS, Lee SK, Park YJ. Selection of *koji* and yeast strain for improvement of *cheoungju* quality. Agric. Chem. Biotechnol. 29: 16-19 (1996)
- So MH, Lee YS, Noh WS. Changes in microorganisms and main components during *takju* brewing by a modified *nuruk*. Korean J. Food. Nutr. 12: 226-232 (1999)
- Jo JW, Kim SM, Kim KS. Analysis of asarone, coumarine and thujone in medicinal plants used in brewing a Korean traditional folk wine. J. Korea Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 42: 210-217 (1999)
- Lee EN, Lee DH, Kim SB, Lee SW, Kim NM, Lee JS. Effects of medicinal plants on the quality and physiological functionalities of traditional ginseng wine. J. Ginseng Res. (2007)
- Kim JH, Jeong SC, Kim NM, Lee JS. Effect of Indian millet *koji* and legumes on the quality and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of Korean traditional rice wine. Korean J. Food. Sci. Technol. 35: 733-737 (2003)
- Kim TY. Brewing property of Korean traditional wine and *nuruk*. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 10: 17-26 (1997)
- Lee TS, Park CS. Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. Korean J. Food. Sci. Technol. 34: 296-302 (2002)
- Park IB, Park BS, Chung ST. Brewing and functional characteristics of *hongkukju* prepared with various *hongkuks*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 943-950 (2003)
- Kim JS, Ko SH, Lee WY, Kim GW. Cytotoxic effects of Korean rice-wine on cancer cells. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 812-817 (2004)
- Seo MY, Lee JK, Ahn BH, Cha SK. The changes of microflora during the fermentation of *takju* and *yakju*. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 61-66 (2005)
- Lee SM. Study of breeding yeast by cell fusion. Anseong Agricultural Jr. College, Korea 24: 231-235 (1992)
- Ju MN, Hong SW, Kim KT, Yum SK, Kim GW, Chung KS. Breeding of yeast strains with starch utilizing and alcohol fermenting ability by protoplast fusion. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 36: 158-164 (2008)
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA (1990)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different *nuruk* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 555-562 (1997)
- Iwano K, Ito T, Nakazawa N. Characteristics of amino acid compositions of *gniniyo-shu*, *jummai-shu*, *honjyozo-shu*, and *futsu-shu*. J. Brew. Soc. Japan 99: 526-533 (2004)
- Youn SK, Lee HJ, Moon TW, No BS. Food Chemistry. Suhak Press, Seoul, Korea. pp. 202-206 (2002)
- Chang KJ, Yu TJ. Studies on the components of *sokokju* and commercial *yakju*. Korean J. Food Sci. Technol. 13: 307-313 (1981)
- Lee WK, Kim JR, Lee MW. Studies on the changes in free amino acids and organic acids of *Takju* prepared with different *Koji* strains. J. Korean Agric. Chem. Soc. 30: 323-327 (1987)
- Jung JH, Jung ST. Comparison of the aroma components in the Korean traditional *yakjus*. J. Korean Agric. Chem. Soc. 30: 264-271 (1987)
- Lee HS, Lee TS, Noh BS. Volatile flavor components in the mashes of *takju* prepared using different yeasts. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 593-599 (2007)
- Lee JS, Lee TS, Park SO, Noh BS. Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 316-323 (1996)