

# 막걸리용 효모의 분리 및 선발

## Screening and Selection of Yeasts for Makgeolli

김혜련, 안병학\*

HyeRyun Kim, ByungHak Ahn\*

한국식품연구원 우리술연구센터

Korean Alcoholic Beverage Research Center, Korea Food Research Institute

### I. 서론

최근 우리 술을 한식문화와 연계해 전통주는 문화를 마시고 농촌을 살리는 것이라는 인식을 확산시켜 문화상품으로 발전시키려는 노력이 확대되고 있다. 그동안 우리 술 산업은 제조원료를 대부분 수입에 의존하여 국내농업과 연계가 미흡하고 고급주류 시장은 수입산이 주도했다. 그러나 현재 한국과 일본에서는 막걸리 소비가 증가하고 있다. 지난 5년간 국내 막걸리 시장의 점유율은 5%에 불과했지만 2009년에 7.8%, 2011년 상반기에는 12%를 차지해 눈에 띄게 성장하였다. 탁주(濁酒), 농주(農酒), 재주(滓酒), 회주(灰酒)라고도 불리는 막걸리는 찹쌀, 멥쌀, 보리, 밀가루 등을 찌서 누룩과 물을 섞어 발효시킨 빗갈이 쌀뜨물처럼 희고 탁한 알코올 함량 6~7%의 한국고유의 술이다. 막걸리는 발효 후 균질화하여 그대로 음용함으로써 비타민 B군, lysine, leucine과 같은 필수아미노산 및 glutathione 등을 섭취할 수 있고, 단백질, 당질, 생효모가 함유되어 다른 주류와 차별화된 영양학적 특

질을 가지고 있다(1). 따라서 웰빙 열풍이 계속됨에 따라 이러한 막걸리가 소비자들에게 각광받고 있다. 막걸리의 소비 증가에 따라 막걸리 관련 연구도 꾸준히 늘어나고 있는데 누룩추출물의 항염증 작용의 가능성에 대한 연구(2), 막걸리의 항암효과에 대한 연구(3), 부원료 첨가에 의한 막걸리의 품질증진 효과에 대한 연구(4, 5, 6) 등 막걸리의 기능성에 관한 연구는 보고되어 있지만 막걸리의 양조용 미생물에 관한 연구는 부족한 실정이다. 또한 소수의 업체만이 자체 보유 효모를 사용하고 대부분은 효모생산 업체에서 생산하는 동일한 양조효모를 사용함으로써 술의 특성이 유사하게 되고 있다. 외국산 주류와 경쟁력이 있는 우리 술을 개발하기 위해서는 주류제조에 있어 원천 자원인 우수 발효미생물의 탐색, 확보 및 개량 등의 중근에 관한 연구가 필수적이다. 이러한 기능성이 우수한 막걸리의 품질을 안정화하고 고급화하기 위한 방법으로 효모 연구를 수행하였고 지금까지 수행한 막걸리용 효모의 분리 및 선발에 관한 연구결과를 소개하고자 한다.

\*Corresponding author: Byung Hak Ahn

Korean Alcoholic Beverage Research Center, Korea Food Research Institute, 516, Baekhyeon-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 463-746, Republic of Korea

Tel: +82-31-780-9102

Fax: +82-31-709-9876

email: bhahn@kfri.re.kr.

표 1. 막걸리 양조효모 1차 선발

효모No.	발효시간 (hr)					향 특성	거품	Etc
	8	24	48	52	72			
24-5		+	++++			단내, 쓴내		
30-3		++++				달콤한 과일 향		
55-3		++++				과인애플 향	o	
68-4			+	++	++++	신 향, 냄새 약함		
89-2-3	+	++++				단내, 신 향	o	
89-5-3		++++				복숭아, 단내	o	
90-3	+	++++				포도 향	o	
93-2		+	++++			아세톤		산막

## II. 본론

### 1. 막걸리 양조 효모 선발

막걸리 양조를 위한 효모 선발을 위해 연구원내 보유하고 있는 전국에서 수집한 300여점의 누룩으로부터 분리한 효모 1,000여 균주를 대상으로 막걸리의 발효제로 가장 많이 쓰이는 입국을 배지로 제조하고 durham tube를 사용하여 효모의 알코올 발효에 의한 CO<sub>2</sub> gas 생성 및 산 생성능력, 향 생성능력을 각 균주 별로 비교, 분석하여 1차 선발하였다. 그 결과, 자극적인 향, 간장냄새, 쓴내, 먼지 냄새, 배지냄새 등 불쾌취 생성균과 산막 형성균 및 발효 중 부유물 생성균은 제외하고 단 향, 과일 향, 신 향, 거품 생성균 및 알

코올 생산능력, 산 생성능력이 우수한 효모 206균주를 1차 선발하였고 표 1은 결과의 예시이다.

1차 선발된 206균주를 대상으로 300mL 용량으로 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 25°C에서 7일 동안 발효시켜 알코올 함량, pH, 산도, 고형분 함량 및 향 생성능력을 비교하고 혼탁 및 침전 정도를 조사하여 막걸리 양조 효모를 2차 선발하였다. 향 특성에서 곰팡이 냄새, 먼지 냄새, 아세톤취, 암모니아, 막걸리 썩은 냄새, 건어물 냄새, 신 김치, 쓴내를 제외하고 단내, 술내, 과일 향(과인애플, 바나나, 포도, 참외), 누룽지사탕, 구수한 향, 상큼한 신 향, 꽃 냄새를 선별하였으며 알코올 함량 10% 이하 효모는 제외하여 80균주를 2차 선발하였고 표 2와 3에 결과를 예시하였다.

표 2. 막걸리 양조효모 2차 선발

효모No.	고형분 함량(Brix,%)	pH	알코올함량(%)	향 특성
89-2-3	8.8	3.61	13.65	단내, 신 향, 술 냄새
89-3-1	9.0	3.55	10.64	알코올, 곰팡이, 먼지 냄새
90-3	8.6	3.62	13.29	술 내, 신 향, 단내, 탄산미
94-7	8.9	3.54	9.86	알코올, 단내, 누룽지 냄새
105-4	11.3	3.42	11.63	탄산미, 단내, 꿀 향
113-5	8.4	3.56	10.5	단내, 상큼한 신 향, 과일 향, 알코올
129-6	9.0	3.47	12.3	달콤한 과일주, 포도 향
145-10	13.2	3.45	7.76	단 포도주 향, 신 향

표 3. 1차 선발 막걸리 양조효모의 발효양상

효모 No.	발효 2 일		그림	발효 4 일		발효 6 일	
	혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜬 정도 (상, 중, 하)		혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜬 정도 (상, 중, 하)	혼탁 정도 (강, 중, 약)	밥알 뜬 정도 (상, 중, 하)
89-1-4	강	상		강	상	중	상
91-6	약	하		약	상	강	상
129-6	중	상		약	상	약	상
133-6	약	상		약	상	강	상

2차 선발된 80균주를 입국과 물을 1 : 3(w/v)으로 혼합하여 제조한 당화액에 접종하고 발효온도를 5°C, 15°C, 35°C, 39°C로 세분화하여 각각의 온도에서 듀람관의 가스 포집량으로 발효 속도를 비교하였다. 발효 온도 5°C에서는 효모 89-2-3만이 일주일 만에 gas를 생성하여 알코올 발효능을 보였고 나머지 효모는 모두 활성이 약하게 나타났다. 발효 온도 15°C에서는 효모 91-6을 제외하고 모든 균주가 3일 내에 듀람관을 가득 채우는 알코올 발효능을 보였고 25°C에서는 모든 효모가 1, 2일 만에 듀람관을 가득 채웠으며, 35°C에서는 효모 133-5 외 8종을 제외한 대부분의 효모가 2, 3일안에 왕성하게 가스를 발생하였다. 발효 온도 39°C에서는 80균주 중 효모 30-4외 23균주가 2일안에 듀람관을 가득 채울 만큼의 gas를 발생하였으며 알코

올 함량을 확인한 결과 0.5-9.57%로 나타났고 5% 이상의 고알코올을 생성한 고온성 균주에 대해서는 일반적인 효모의 생육적정 온도가 25-30°C인 것을 고려하여 추가적인 실험을 진행하고 있다(표 4, 5).

2차 선발된 80균주를 대상으로 1,500mL 용량으로 맥쌀, 발효제(입국sp85), 효모(0.02%), 물을 넣고 25°C에서 2일 동안 발효하여 밀술을 제조한 후 맥쌀과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 발효제 입국을 사용한 80개 발효주를 제조하였다. 당도는 효모 109-3 사용 술이 8.4Brix로 가장 낮게, 효모 225-6 사용 술이 19.3Brix로 가장 높게 나타났다. pH는 효모 129-6 사용 술이 3.19로 가장 낮게, 효모 133-5 사용 술이 4.06으로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 대부분 3.3-3.6 수준을 보였다.

표 4. 막걸리 양조효모 80균주의 온도별 발효특성

온도(°C)	발효기간(일)	알코올 발효능 있는 효모	균주 수
5	7	89-2-3	1
15	3	91-6 을 제외한 모든 효모	79
25	2	모든 균주	80
35	2	133-5 외 8종을 제외한 모든 효모	71
39	2	30-4외 23균주	24



표 5. 39°C 발효 효모의 알코올 함량 및 고형분 함량

효모No.	알코올 함량(%)		고형분 함량 (Brix)	효모No.	알코올 함량 (%)		고형분 함량 (Brix)
	2일	6일			2일	6일	
30-4	1.94	5.64	16.9	126-2	3.77	3.92	18.2
55-2	1.45	2.9	20.2	129-6	0.46	7.08	14.6
89-2-3	1.62	2.46	19.4	140-5	0.77	4.98	15.5
98-2	0.61	1.3	21.1	172-6	0.49	8.41	14.7
98-5	0.7	2.06	21.1	183-2	0.88	1.1	21.0
109-3	2.52	3.82	20.6	192-4	4.03	3.78	17.4
111-5	0.76	1.98	21.3	270-11	0.2	0.2	19.0
113-5	0.86	2.68	20.7	272-7	0.19	7.49	15.9
113-7	2.51	2.74	20.2	282-6	0.5	0.5	18.6
113-8	4.53	4.59	17.2	282-9	0.52	0.91	22.5
113-9	1.17	2.38	20.6	284-16	0.83	4.21	18.8
125-7	0.38	9.57	15.3	H4-3	0.54	1.78	21.5

총산은 효모 64-5 사용 술이 0.41%로 가장 적게 나타났고 효모 129-6 사용 술이 0.89%로 가장 높게 나타났다. 알코올 함량은 효모 192-4 사용 술이 16.98%로 가장 높게 나타났고 효모 282-7 사용 술이 5.09%로 가장 낮게 나타났으며 이와 역의 관계로 환원당은 효모 192-4 사용 술이 4.98mg/ml로 가장 적게, 효모 282-7 사용 술이 117.62mg/ml로 가장 높게 나타났다. Oxalic acid는 효모 98-3 사용 술 외 32종에서 검출되었지만 그 함량은 0.08mg/ml 이하로 미량이었다. 상큼한 신맛을 내는 citric acid 함량이 전체적으로 가장 높게 나타났고 효모 282-7 사용 술이 4.98mg/ml로 가장 높은 함량을 보였으며 lactic acid는 효모 133-5 사용 술에서 5.29mg/ml로 특이적으로 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.02-1.19mg/ml 수준을 보였다. Acetic acid 또한 효모 133-5 사용 술에서 1.49mg/ml로 가장 높게 나타났고 나머지 술에서는 0.02-1.12mg/ml 수준을 보였다. Succinic acid는 전체적으로 0.01-0.29mg/ml 함량으로 나타났고 malic acid는 0.02-0.47mg/ml 함량을 보였으며 효모 282-6 사용 술에서 가장 높게 나타났다(data not shown).

3차 선별된 25균주 를 대상으로 1,500mL 용량으로 맥쌀, 발효제(입국sp85), 효모(0.02%), 물을 넣고 25°C에서 2일 동안 발효하여 밀술을 제조한 후 맥쌀

과 물을 추가로 첨가하여 덧술을 제조한 후 5일 동안 발효하여 25개 술을 제조하였고 그 중 10균주 이용 술을 알코올 함량 6%로 하여 막걸리를 제조하였다. 알코올 함량을 6%로 동일하게 희석한 막걸리의 pH는 3.15-3.33 수준을 보였고 고형분 함량은 2.8-4.6%, 총산은 0.22-0.37%, 환원당 함량은 1.43-5.49%를 나타내었다. 알코올 희석 전 술덧의 확인했던 차이는 물을 섞음으로써 그 특성의 격차가 줄어들어 획일화된 양상을 보였고 희석 급수량이 상대적으로 적어 환원당 함량이 5.49%로 가장 높게 나타나고 glucose 함량이 5.44mg/mL로 높게 나타난 효모 111-5 막걸리는 과일 향과 함께 관능특성이 우수하게 나타났다. 또한 신맛이 강하고 탄산미가 느껴지는 효모 141-1과 197-13 막걸리에서는 acetic acid가 검출되었고 특히 효모 141-1 막걸리에서는 상큼한 신맛인 citric acid가 1.42mg/mL로 가장 높은 함량으로 나타났다(표 6, 7).

분석결과 알코올 함량이 10% 이상으로 16.98%를 나타낸 고알코올 생성 효모 192-4를 포함하여 25균주를 선별하였다. 선별된 25균주의 휘발성 향기성분 분석결과를 주성분 분석(principal component analysis, PCA)한 결과는 그림 1에 나타내었다. 주성분 분석결과는 그림에서 보여 지는 바와 같이 첫 번째, 두 번째 주성분(PC1, 2)은 전체 데이터 편차의 33.6%와

표 6. 선발 효모 10균주 이용 막걸리의 특성

효모 No.	원주	물	pH	SS <sup>1)</sup> (%)	TA <sup>2)</sup> (%)	Alc (%)	RS <sup>3)</sup>	관능특성(제성 직후)	관능특성(25°C에서 하루 숙성 후 냉장상태)
98-5	300	573	3.3	3.1	0.28	6%	1.98±0.08	요구르트 향, 단맛, 신맛, 맛있음	향 좋음(부드러움), 신맛 약함, 깔끔함, 요구르트 맛
111-5	300	513	3.33	4.2	0.24	6%	5.49±0.10	누룽지 향과 맛, 신맛(끝에 살짝), 상큼	요구르트 향, 과일 향, 단맛 약간, 신맛 약함
113-8	300	600	3.31	2.9	0.22	6%	1.43±0.05	신 향, 짙음, 신맛, 무난한 맛	단 향, 신맛 중간, 단맛 깔끔함, 멍멍함, 짙음
113-9	300	611	3.28	2.8	0.22	6%	1.39±0.03	멍멍함, 깨끗함, 신맛	상큼한 향, 멍멍함, 신맛중간, 쓴맛
141-1	300	477	3.22	4.6	0.37	6%	3.96±0.11	누룩, 신맛 강함, 상큼, 꽃 향	탄산미, 신맛, 향 약함
157-1	300	579	3.3	3.1	0.22	6%	2.28±0.33	우유 향, 단 향, 신 향, 신맛, 짙음	향이 좋음, 신맛 약함, 부드러움, 단맛 약간
183-2	300	551	3.18	3.4	0.27	6%	1.79±0.09	포도 맛, 신맛	청량함, 부드러움 신맛적당, 깔끔함
192-4	300	604	3.25	2.8	0.22	6%	1.81±0.08	신 향, 신맛, 멍멍함, 맛이 약함, 짙음	향 좋음, 멍멍함, 신맛 약함, 짙음
197-13	300	506	3.15	4	0.22	6%	3.01±0.17	누룽지 향, 단맛, 신 향, 꽃 향	향 좋음, 탄산미, 신맛중간, 단맛 약간
263-4	300	567	3.15	3.3	0.30	6%	2.01±0.08	신맛, 상큼, 우유 향	향 좋음, 짙음, 신맛 중간, 꽃 향, 과일 향, 상큼한 신 향

<sup>1)</sup> 고형분(Soluble solid, % Brix) <sup>2)</sup> 총산(Total acid, % citric acid) <sup>3)</sup> 환원당(Reducing sugar, mg/mL)

표 7. 선발 효모 10균주 이용 막걸리의 유기산 및 유리당 함량 (mg/mL)

효모 No.	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic	Glucose	Sucrose
98-5	0.12	-	-	1.15	0.07	0.77	0.15
111-5	0.07	0.06	-	1.14	0.03	5.44	0.17
113-8	0.10	-	-	0.91	0.07	0.41	0.13
113-9	0.11	-	-	1.04	0.07	0.43	0.10
141-1	-	0.09	0.27	1.42	0.07	3.46	0.10
157-1	0.08	0.12	-	1.14	0.05	0.90	0.12
183-2	0.04	0.08	-	1.27	0.11	0.82	0.22
192-4	0.06	0.09	-	1.04	0.06	0.58	0.26
197-13	0.03	0.10	0.05	1.11	0.05	2.26	0.07
263-4	0.14	0.10	-	1.25	0.06	0.52	0.09

18.2%를 각각 대표하고 있다. 휘발성 향기성분의 분포를 보면 PC2상의 위쪽으로 alcohol류가 아래쪽으로 ethyl ester류가 나타나 대비를 나타냈다. 관능특성 조사결과 단맛, 단 향, 신맛, 쓴맛, 탄산미가 조화를 이루는 맛 좋은 효모로 10균주를 선별하였고 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 5균주로 나타났다. 추가적으로 과일 향을 생성하는 균주로 12균주를

선별하였으며 이 중 고알코올 생성 효모와 중복되는 효모는 4균주로 나타났다. 고알코올 생성, 과일 향, 맛 좋은 3가지 모두를 만족하는 효모는 2균주였다. 선별된 25균주는 이미 보고(7)했던 찹쌀을 이용한 약주용 효모 10균주와 일치하는 것이 1균주 밖에 나타나지 않아 술을 만드는 원료와 발효제에 따라 균주의 발효특성이 확연히 달라지는 결과를 확인할 수 있었다.

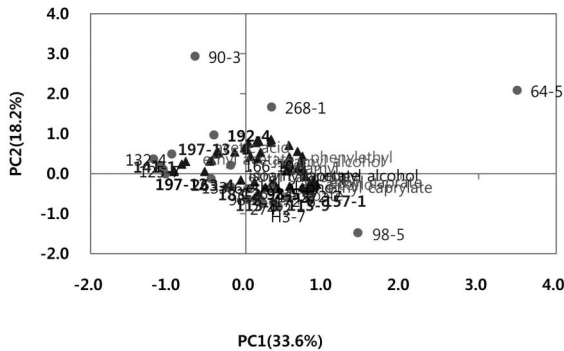


그림 1. 선발효모 25균주의 휘발성 향기성분 결과의 주성분분석

선발된 효모의 내당성, 내산성, 내알코올성, 응집성, 침강성 등 양조관련 특성을 분석하고 18S rRNA gene sequence 방법으로 동정하고 고알코올, 과일 향, 탄산미, 산(신맛) 생성 등 막걸리용 효모를 특성화하고 있다.

### III. 맺음말

막걸리는 맥쌀 등의 전분질을 원료로하여 발효제로서 누룩 및 입국을 첨가하여 병행 복발효시킨 우리 고유의 전통술로 알코올 함량을 5-8%로 제성한 저도주이다. 청주나 약주와 같이 맑게 거른 술이 아니라 발효 후 발효물 전체를 균질화한 술로서 원료 당질의 분해물과 발효 미생물 및 다양한 발효산물을 함유한 감칠맛과 청량감이 있는 막걸리는 레스베라트롤이나 폴리페놀과 같은 항산화 물질로 전 세계인에게 사랑받고 있는 와인과 달리 아직 그 기능이 다 보고되지 않은 영양적인 요소와 기능적인 면이 부각될 수 있는 잠재적인 술이다. 이러한 막걸리를 양조하기 위한 효모에 관한 연구는 일본의 청주용 효모연구와 비교할 때 이제 시작단계에 있다. 본 저자의 실험실에서는 수년간 청주 및 약주용 효모를 분리·선발 및 동정하였으며 그 특성을 데이터 베이스화하였고 최근 막걸리 양

조용 효모에 관한 연구를 수행하고 있다. 막걸리는 약주와 달리 저알코올 술로서 고알코올을 생성하는 균주뿐만 아니라 10도 정도의 저알코올을 생성해도 막걸리 특유의 탄산미, 물에 희석된 멍멍한 맛을 잡아줄 수 있는 바디감과 신맛을 생성하는 wild type 효모를 탐색 중에 있다. 신규한 막걸리 양조용 효모 발굴은 제빵효모나 국내 몇몇 업체에서 생산하는 효모로 그 맛이 획일화 되어 부재료나 단맛에 의존하는 현 막걸리 시장에서 가치가 상승할 것으로 기대된다.

### 참고문헌

1. Lee JW, Shim JY. Quality characteristics of Makgeolli during freezing storage. *Food Engineering Progress*. 14: 328-334 (2010)
2. Kim JE, Jung SK, Lee SJ, Lee KW, Kim GW, Lee HJ. Nuruk extract inhibits lipopolysaccharide-induced production of nitrite and interleukin-6 in RAW 264.7 cells through blocking activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Microbial. Biotechnol.* 18: 1423-1426 (2008)
3. Shin MO, Kang DY, Kim MH, Bae SJ. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of Makgeolli fractions in various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 288-293 (2008)
4. Kim AR, Lee SY, Kim KB, W R, Song EJ, Kim JH, Kim MJ, Ji KW, Ahn IS, Ahn DH. Effect of Glycyrrhiza uralensis on Shelf-life and Quality of Takju. *Korean. J. Food Sci. Technol.* 40: 194-200 (2008)
5. Kim TY, Kim SB, Jeong YJ, Shin JS, Park NY. Quality Properties of Takju Mash Vinegar Added Muskmelon. *Korean. J. Food Preservation.* 10: 522-526 (2003)
6. Park SS, Kim JJ, Yoon JA, Lee JH, Jung BO, Chung SJ. Preparation and Quality Characteristics of Takju (Rice Wine) with *Opuntia ficus-indica* var., saboten and Chito-oligosaccharide. *J. Chitin Chitosan.* 16: 164-169 (2011)
7. Kim HR, Kim JH, Bai DH, Ahn BH. Characterization of yakju brewed from glutinous rice and wild-type yeast strains isolated from nuruks. *J. Microbiol. Biotechnol.* 20: 1702-1710 (2010)