

토종효모를 이용한 복분자 발효주의 바이오제닉아민 함량 및 향기성분 분석

윤해훈·손락호·류은혜·정지혜†

(재)베리&바이오식품연구소

Analysis of Biogenic Amines Content and the Main Volatile Flavor Compounds in Black Raspberry Wine Using Traditional Yeast

Hae-Hoon Yoon · Rak-Ho Son · Eun-Hye Ryu · Ji-Hye Jung†

Berry & Biofood Research Institute, Jeonbuk 585-943, Korea

Abstract

We investigate black raspberry (*Rubus occidentalis*) wine made using traditional yeast (*Saccharomyces cerevisiae* A8, B6, GBY2, GBY3) and *S. cerevisiae* Fermivin (FM), which is widely used in wine manufacturing, and analyze the biogenic amine content and the volatile flavor compounds. Black raspberries were separately inoculated with yeast up to 1×10^9 CFU/kg, followed by incubation at 25°C for 7 days. FM produced the highest alcohol content, however the final fermentation characteristics of the wine made using four different yeasts were similar. *S. cerevisiae* A8 had a large biogenic amine (BA) content, specifically tryptamine, thus we excluded this yeast from fermentation. *S. cerevisiae* GBY3 was selected for black raspberry wine fermentation as a result of sensory evaluation. The volatile flavor compounds of two wines (*S. cerevisiae* GBY3 and FM) were analyzed by gas chromatography and mass spectrometry. 37 compounds in the samples were separated, and several ester compounds were identified in greater amounts in the wine made with *S. cerevisiae* GBY3 than in the wine made with FM. A greater amount of the major compound, ethyl benzoate, giving the sweet and fruity flavor, was identified in wine made with *S. cerevisiae* GBY3 than in the wine made with FM. In conclusion, *S. cerevisiae* GBY3 was confirmed to produce no major BAs and a better flavored wine. These results give new leads in the production of high quality wine.

Key words: black raspberry, traditional yeast, wine, biogenic amine, flavor compound

I. 서론

복분자(*Rubus occidentalis*)는 장미과의 낙엽관목이며 우리나라 남부 및 중부 지방에서 재배되고, 6월 중순에서 7~8월에 열매가 성숙되는데 둥글고 붉은색으로 익은 후 검붉은 색으로 완숙되어 단맛과 신맛, 독특한 향을 갖는다(Park PJ 등 2004). 영양 성분으로는 무기질이 함유되어 있고 특히 유기산과 비타민 C가 많이 포함되어 있으며, anthocyanin, tannin, polyphenol 등의 유용한 성분이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Lee MW 1995). 복분자에 관한 연구로는 항산화활성, 항균효과, 항암활성, 면역증진효과 등(Cha HS 등 2001, Shin KS 등 2003, Jeong EJ 등 2007) 다양한 생리활성을 나타낸다고 보고되어 있

으며 최근에는 항알레르기, 항고지혈증 및 항고혈당증 등에 관한 연구가 보고되었다(Park JH 등 2006, Shin TY 등 2006, Choi JW 등 2008). 이처럼 복분자는 생리활성이 우수하여 젤리(Yu OK 등 2008), 드레싱(Jung SJ 등 2008), 잼(Jin TY 등 2008), 초콜릿(Yu OK 등 2007) 등의 다양한 가공식품 개발 연구가 진행되었으나 복분자 가공 식품으로는 주류가 대부분을 차지하고 있다. 그러나 수입 와인에 비해서는 국내 복분자주의 품질이나 기호도가 낮은 실정이므로 복분자주의 품질 개선과 더불어 가치를 상승시킬 수 있는 연구가 필요하다. 복분자주는 원재료인 복분자의 품질 및 특성이 주질에 큰 영향을 미치지만(Lee SJ & Ahn BM 2009), 효모나 제조 방법 또한 맛에 영향을 주는 중요한 요소이다(Park YH 1975). 복분자주에 관한 연구로는 국내 복분자 산지별 복분자주 제조 및 발효 특성 분석(Lee SJ & Ahn BM 2009), pectinase 효소 처리에 따른 복분자 추출 수율 향상과 알코올 발효 중 이화학적 특성(Jeong EJ 등 2007)에 관한 연구 등이 있다. 또한 효모에 관한 연구로는 효모 종류 및 효소 첨가에 따른 복

†Corresponding author: Ji Hye Jung, Berry & Biofood Research Institute, 558 Bokbunja-ro, Buan-myeon, Gochang-gun, Jeonbuk 585-943, Korea
Tel: +82-63-560-5160
Fax: +82-63-563-6680
E-mail: 5011402@hanmail.net

분자주의 발효 과정 중 이화학적 특성 분석(Choi HS 등 2005), 활성 건조 효모를 이용한 복분자주의 품질 및 아미노산 함량 분석 연구(Moon YJ 등 2005, Moon YJ 등 2006), 효모의 종류를 달리한 black raspberry 발효주의 품질특성(Lee YJ 등 2013) 연구 등으로 주로 와인 발효에 적합한 상업적인 효모를 이용한 발효 특성 연구가 대부분이다. 따라서 본 연구에서는 국내 발효식으로부터 분리된 토종효모와 시판효모를 이용하여 복분자 발효주를 제조하였으며, 이를 이용한 바이오제닉아민 함량, 향기성분 분석, 관능검사를 통하여 안전성과 기호성을 증진시킬 수 있는 토종효모를 선발하여 우수한 복분자 발효주 제조 가능성을 제시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용된 복분자는 전라북도 고창군에서 2013년에 수확한 것을 구입하여 -40°C에서 냉동 보관하여 사용하였다. 보당에 사용된 설탕은 (주)삼양사(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 발효에 사용된 토종효모 *Saccharomyces cerevisiae* A8과 *S. cerevisiae* B6는 국내 복분자로부터 분리되었으며 발효미생물산업진흥원(Microbial Institute for Fermentation Industry, Sunchang, Korea)로부터 받아 실험에 사용하였고, *S. cerevisiae* GBY2는 김치, *S. cerevisiae* GBY3는 국내 오디로부터 직접 분리하였다. 총 4종의 토종효모를 사용하였고 바이오제닉아민 함량 및 향기성분 비교를 위해 대조구로 시판효모 *S. cerevisiae* Fermivin (FM, DSM Food Specialties, Heerlen, Netherlands)을 사용하였다.

2. 복분자 발효주 제조

복분자 발효주 제조 과정은 Fig. 1과 같다. 복분자 과실은 실온에서 자연 해동한 후 과실 무게(kg)에 대한 16%의 설탕을 첨가하여 초기 당도를 29°Brix로 조정하였다. 토종효모 4종 및 시판효모는 1×10^9 CFU/kg이 되도록 접종하였다. 이 때 4종의 토종효모는 YPD(1% bacto yeast extract, 2% bacto peptone, 2% dextrose) 배지(Difco, Sparks, MD, USA)를 사용하여 25°C에서 48시간 동안 진탕 배양한 후 10,000 ×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 균체를 사용하였으며 시판효모는 계량하여 15% 설탕 용액에 20°C에서 10~15분간 배양하여 활성화시켜 발효에 사용하였다. 효모 접종 후 25°C에서 7일동안 발효시켰으며, 발효 후 유압착즙기(Stainless 70L, Tomotech Ltd, Seoul, Korea)를 사용하여 착즙하고 -5°C에서 2일 동안 냉동 보관하여 pore size 1.2 μm membrane filter(RAWP14250, Merck Millipore, Darmstadt, Germany)로 여과하였다.

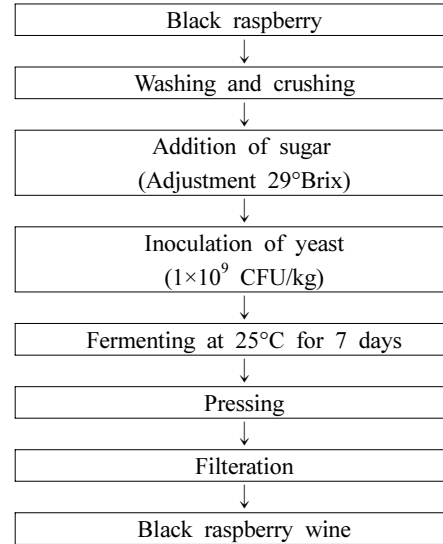


Fig. 1. Flow chart of black raspberry wine making.

3. 발효 특성 확인

효모에 따른 복분자 발효주의 특성을 확인하기 위하여 각각의 발효주는 원심분리(4°C, 10,000 ×g, 15 min)한 후 상정액을 이용하여 분석하였다. 알코올 함량은 알코올 분석기 세트(Alcoholizer wine, Anton Paar, Graz, Austria)를 이용하여 측정하였으며, 당도는 상온에서 당도계(PAL-1 Pocket Refractometer, ATAGO, Bellevue, WA, USA)를 이용하여 측정하였다. 환원당은 dinitrosalicylic acid method에 따라 UV/VIS spectrophotometer(UV2450, Shimadzu, Kyoto, Japan)을 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하고 표준물질 glucose(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 농도별로 제조하여 정량하였다(Miller GL 1959). 3,5-dinitrosalicylic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 0.75 g, sodium hydroxide(Daejung, Siheung, Korea) 1.4 g, potassium sodium tartrate(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 21.61 g 과 sodium bisulfide(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 0.59 g을 증류수 100 mL에 희석하였다. 이 용액 3 mL과 시료 100 μL를 잘 섞은 후 100°C에서 5분간 중탕하였다. 상온에서 충분히 식힌 후 흡광도를 측정하였다. pH는 pH meter(S20, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였으며, 총산은 시료 10 mL을 취하고 여기에 증류수 90 mL을 가한 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3까지 중화시키는데 소비된 0.1 N NaOH의 소비량으로 정의하였으며 citric acid(% w/w)로 표시하였다.

4. 바이오제닉아민 분석

바이오제닉아민의 분석은 국제청주류면허지원센터 주류분석규정의 분석법을 변형하여 사용하였다(Cho TY 등 2006). 시료 5 mL를 정확하게 취하여 0.1 N HCl 5 mL를 가한 후 10 mL로 정용한 것을 시험용액으로 하였다. 포

준용액 1.5 mL와 시험용액 1 mL를 마개 달린 시험관에 취하여 포화 Na₂CO₃ 용액 0.5 mL와 1% dansyl chloride acetone 용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 45°C에서 1시간 유도체화 하였다. 유도체화 시킨 표준용액 및 시험용액에 10% proline 용액 1 mL 및 ether 5 mL를 가하여 10분간 진탕 후 상층액을 취하여 질소가스로 농축한 뒤 acetonitrile 2 mL를 가하여 여과한 것을 Table 1의 조건하에 고속액체 크로마토그래피(LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 분석하였다. 각 성분들은 표준물질들의 retention time (tR)과 비교하여 동정하였으며, 각 표준물질들을 대상으로 검량곡선을 작성하여 외부표준법에 의하여 정량하였다.

5. 향기성분 분석

복분자 발효주의 휘발성 성분을 포집하기 위하여 headspace solid-phase microextraction(SPME)을 실시하였으며 SPME에 사용되는 섬유관은 50/30 µm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane(DVB/CAR/PDMS, Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 이용하였다. 시료 5 mL를 15 mL headspace vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 40°C에서 10분간 교반하였으며 SPME 섬유관을 시료 내부로 주입하여 30분 동안 휘발성 향기성분을 흡착한 다음, 250°C의 GC/MS injector(240-MS, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA)에서 5분간 탈착하여 분석하였다. 포집된

향기성분은 GC/MS(GCMS-QP 2010plus, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 분석하였다. GC 분석조건은 주입기의 온도는 250°C로 하였고 오븐온도는 40°C에서 5분간 유지한 다음 분당 3°C씩 150°C까지 승온한 후 280°C까지는 분당 15°C씩 승온한 다음 10분간 유지하였다. 컬럼은 ZB-5MS(0.25 µm I.D. × 60 mL., 0.25 µm film thickness, RESTEK, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였고 운반기체는 헬륨을 사용하였으며 유속은 0.8 mL/min으로 설정하였다. GC/MS를 이용하여 분석된 각각의 화합물들은 mass spectrum library 프로그램(wiley ver. 7.0, Wiley, Hoboken, NJ, USA/FFNSC ver. 2.0, Chromalont, Messina, Italy/NIST ver. 5.0, NIST, Gaithersburg, MD, USA)을 이용하여 동정되었으며, 각 시료에 내부표준물질로서 첨가된 n-butylbenzene과 각 동정된 휘발성 향기성분의 peak area를 이용하여 시료 1 L에 함유된 휘발성 향기성분을 상대적으로 정량하였다.

6. 관능검사

관능검사는 효모의 종류에 따른 복분자 발효주의 관능도를 평가하기 위하여 토종효모와 시판효모로 제조한 복분자 발효주를 이용하여 색상(color), 향미(flavor), 맛(taste), 종합적 기호도(overall acceptability)에 대한 평가를 진행하였다. 본 검사에 참여한 15명(남자: 7명, 여자: 8명; 40~50대: 7명, 20~30대: 8명)은 주류 관능검사 교육을 통하여 잘 훈련된 베리&바이오식품연구소 연구원을 선발하였으며 9점 척도법(1점: 매우 좋지 않음, 5점: 보통, 9: 매우 좋음)으로 관능검사를 실시하였다. 각각의 시료는 70 mL씩 와인잔에 담아 세자리 난수표로 코드화 하여 관능검사 요원에게 제공하였으며 블라인드 테스트로 진행되었다.

7. 통계처리

본 연구는 각 시험항목별로 3회 반복하여 분석하였으며, 분석 결과에 평균과 표준편차는 SPSS program 20.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하여 계산하였고, 최소 유의차 검정(LSD)에 의해 평균 간의 유의차를 95% 유의수준($p < 0.05$)에서 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 발효 특성 확인

복분자 발효에 적합한 효모 선발을 위해 토종효모 *S. cerevisiae* A8, B6, GBY2, GBY3 4종 및 대조구로 시판효모 FM을 이용하여 복분자 발효주를 제조하였고 0일부터 7일까지의 발효 기간에 따른 특성 변화를 Fig. 2에 나타

Table 1. HPLC conditions for biogenic amines analysis

Parameters	Conditions		
HPLC	Shimadzu, UFLC XR, Tokyo, Japan		
Column	Shiseido, Capcellpak C18, UG120, S-5 µm, 4.6 × 250 mm, Tokyo, Japan		
Detector	Shimadzu, SPD-M20A PDA (254 nm)		
Mobile phase	A : 100% H ₂ O	B : 100% ACN	
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	45	55
	7	45	55
	11	35	65
	15	28	72
Gradient step	20	25	75
	25	10	90
	28	10	90
	29	0	100
	32	0	100
	35	45	55
Flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	10 µL		

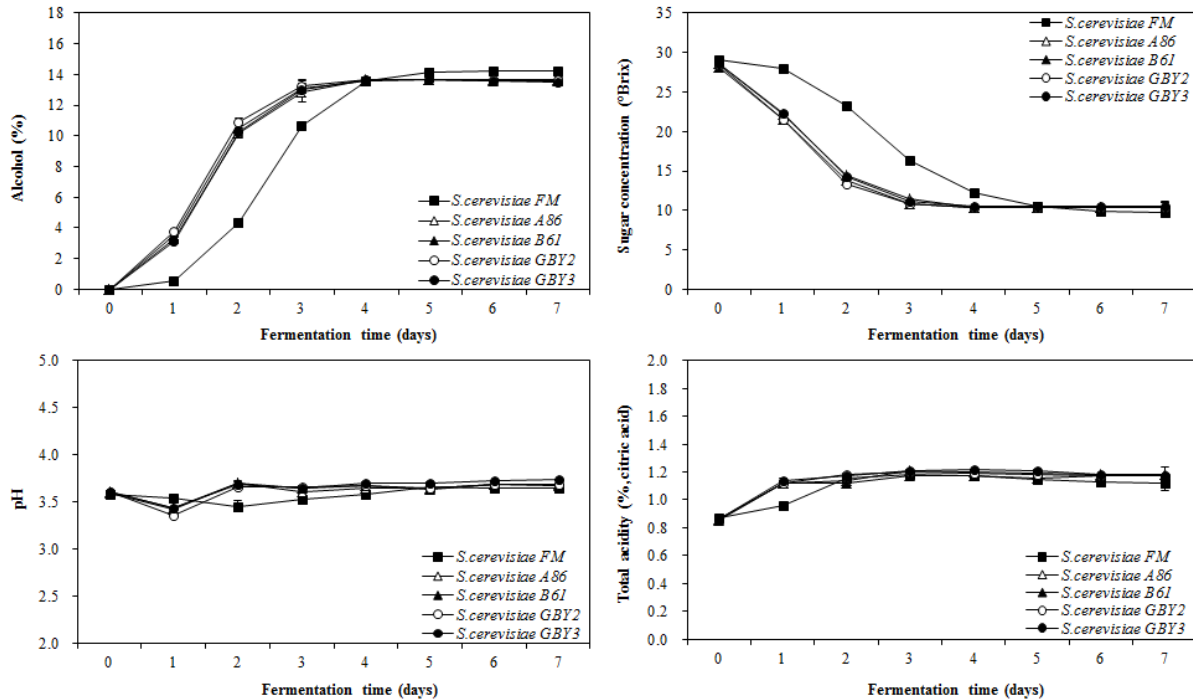


Fig. 2. Changes in fermentation characteristics (alcohol, sugar concentration, total acidity and pH) of black raspberry wines.

냈으며, 최종 발효 특성 결과를 Table 2에 나타내었다. 본 연구에서는 발효주를 제조하기 위하여 당도를 모두 29°Brix가 되도록 보당하여 발효하였다. 제조된 발효주의 품질특성 확인 결과 대조구인 FM 발효주의 알코올 함량이 14.22%로 가장 높았으며 토종효모 4종의 발효주는 13.51~13.65%로 대조구보다 낮은 알코올 생성량을 보였다. 토종효모 발효주의 당도 및 환원당 함량은 10.3~10.5°Brix, 3.07~3.11 g/100 mL로 4종의 효모간에 유사한 수준을 보였으며 대조구는 당도 9.8°Brix, 환원당 2.79 g/100 mL를 나타내었다. Lee SJ & Ahn BM(2009)은 복분자 발효가 끝난 후의 당도는 산지에 따라 9.6~11.1°Brix를 보인다는 보고와 유사한 결과값을 나타내었으며, 이는 복분자 과실 자체가 가지고 있는 fructose와 glucose를 효모가 발

효에 이용하여 감소한 것으로 생각되어진다(Lee YJ 등 2013). 또한 Hwang Y 등(2004)은 초기 당도가 28°Brix 이상으로 상승할수록 오히려 알코올 농도가 낮아지는 경향을 보인다고 하였으나 본 실험에서는 발효 초기 당도 29°Brix의 비교적 높은 당 농도에서도 정상적인 발효가 이루어진 것으로 미루어보아 실험에 사용된 4종의 효모는 내당성이 비교적 우수한 효모인 것으로 판단된다.

제조한 복분자 발효주의 pH는 3.65~3.73였으며 총산도는 구연산을 기준으로 하였을 때 1.12~1.18%로 토종효모간의 유의적인 차이는 보이지 않았으나 대조구보다는 높은 총산도를 보였다. pH와 총산도는 발효 진행 상황을 판단할 수 있는 지표가 되며(Song JC 등 1997), 신맛이 와인의 품질과 관능에 영향을 미친다. 일반적으로 과실주

Table 2. Fermentation characteristics of black raspberry wines

Sample	Alcohol (% v/v)	Sugar concentration (°Brix)	Reducing sugar (g/100 mL)	pH	Total acidity (% as citric acid)
<i>S. cerevisiae</i> FM	14.22±0.21 ^{c1)2)}	9.8±0.42 ^a	2.79±0.22 ^a	3.65±0.02 ^a	1.12±0.05 ^a
<i>S. cerevisiae</i> A8	13.64±0.26 ^b	10.3±0.58 ^b	3.11±0.11 ^b	3.68±0.06 ^a	1.18±0.02 ^b
<i>S. cerevisiae</i> B6	13.55±0.78 ^a	10.4±0.58 ^{bc}	3.07±0.35 ^b	3.67±0.10 ^a	1.18±0.06 ^b
<i>S. cerevisiae</i> GBY2	13.65±0.12 ^b	10.4±0.58 ^{bc}	3.08±0.33 ^b	3.69±0.12 ^a	1.17±0.11 ^b
<i>S. cerevisiae</i> GBY3	13.51±0.71 ^a	10.5±0.58 ^c	3.09±0.29 ^b	3.73±0.06 ^b	1.17±0.11 ^b

1) Each value represents the mean±standard deviation.

2) Values within a column (different wine) followed by different superscripts are significantly different (Duncan's multiple range test at $p < 0.05$).

및 와인의 총산 함량이 0.4~0.8%(Kim JC 2009) 정도인 것과 비교하였을 때 복분자 발효주는 총산이 약 1.2% 정도로 나타났다. 이는 복분자 과실 자체의 총산이 약 1.0% 정도로 높기 때문이며 Seo SH 등(2014)은 가수를 하지 않은 복분자 발효 구간의 최종 총산이 1.2%라고 하여 본 실험과 비슷한 결과를 나타내었다.

2. 바이오제닉아민 함량 분석

복분자 발효에 적합한 안전성을 지닌 토종효모 선발을 위하여 4종의 토종효모로 제조된 복분자 발효주와 대조구인 FM 발효주와의 바이오제닉아민(Biogenic amine, BA) 생성량을 비교 분석하였다(Table 3). AGM(Agmatine), TRY(Tryptamine), PHE(2-Phenylethylamine), PUT(Putrescine), CAD(Cadaverine), HIS(Histamine), SER(Serotonin), TYR(Tyramine), SPD(Spermidine), NOR(Noradrenaline), DOP(Dopamine), SPM(Spermine) 총 11종의 BA를 검사하였다. 대조구에서는 AGM이 40.74±0.13 mg/L로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 이를 비롯한 DOP, SPM이 각각 1.08±0.24 mg/L, 1.37±0.01 mg/L로 소량 검출되었다. 4종의 토종효모 발효주의 BA 생성여부를 비교한 결과, 모든 시료에서 AGM이 35.02±0.54~46.86±1.89 mg/mL로 검출되었으며 대조구에서 검출되지 않은 SPD가 0.84±0.02~1.15±0.20 mg/mL로 소량 검출되었다. 4종의 토종효모 중 A8은

대조구에서 검출되지 않은 TRY과 NOR이 각각 16.39±0.05 mg/L, 1.33±0.16 mg/L로 유일하게 검출되었다. 나머지 3종의 효모는 TRY, HIS, TYR과 같은 독성을 일으키는 주요 바이오제닉아민이 검출되지 않았으며 DOP, SPM이 대조구보다 다소 증가하는 경향을 보였다.

BA는 발효식품, 와인, 맥주 같은 발효주 등 다양한 식품에 함유되어 있으며 이는 식품의 성질과 미생물의 존재에 의해 좌우된다(Brink B 등 1990). 와인에서는 효모와 세균에 의해 BA가 생성되고 검출되는 BA에는 주로 agmatine, histamine, cadaverine, putrescine, tyramine, phenylethylamine 등이 있다고 하였다(Landete JM 등 2007, Ancin-Azpilicueta C 등 2008). 대부분 와인에 함유된 BA는 소비자에게 독성을 나타내지 않았지만 방향족 화합물인 tyramine과 phenylethylamine, 헤테로화합물인 histamine과 tryptamine은 과량 섭취 시 신경계 및 혈관계를 자극하여 독성을 유발하는 vasoactive amine으로 알려져 있다(Fritz SB & Baldwin JL 2003). 가장 많은 BA 함량을 보인 agmatine은 복분자를 이용한 발효진액 및 발효주 등 복분자로 제조한 모든 시료에서 검출된다는 보고(Beneduce L 등 2010, Choung MG & Lim JD 2012, Kim JH 등 2013)와 일치하였다. 복분자 발효주의 바이오제닉아민 함량 분석 결과, 독성 유발 가능성이 높은 tryptamine이 검출된 *S. cerevisiae* A8 발효주는 복분자 발효주 제조

Table 3. Biogenic amines contents in black raspberry wines

(mg/L)

Sample	AGM ¹⁾	TRY	PHE	CAD	HIS	SER	TYR	SPD	NOR	DOP	SPM	Total
<i>S.cerevisiae</i> FM	40.74±0.13 ^{b3)}	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.28±0.24 ^a	1.37±0.01 ^a	43.39±0.36 ^a
<i>S.cerevisiae</i> A8	42.91±0.78 ^c	16.39±0.05 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	1.10±0.19 ^b	1.33±0.16 ^a	3.45±1.06 ^c	7.08±1.25 ^b	72.26±3.12 ^c
<i>S.cerevisiae</i> B6	35.02±0.54 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.84±0.02 ^a	ND	2.12±0.37 ^{ab}	6.26±0.14 ^b	44.23±1.06 ^a
<i>S.cerevisiae</i> GBY2	35.46±0.03 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.91±0.01 ^b	ND	2.25±0.27 ^{ab}	6.58±0.24 ^b	44.89±0.38 ^a
<i>S.cerevisiae</i> GBY3	46.86±1.89 ^d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.15±0.20 ^b	ND	2.99±0.29 ^{bc}	7.35±0.33 ^b	57.97±2.16 ^b

¹⁾ AGM: agmatine, TRY: tryptamine, PHE: 2-phenylethylamine, PUT: putrescine, CAD: cadaverine, HIS: histamine, SER: serotonin, TYR: tyramine, SPD: spermidine, NOR: noradrenaline, DOP: dopamine, SPM: spermine.

²⁾ Not detected.

³⁾ Each value represents the mean±standard deviation.

⁴⁾ Values within a column (different wine) followed by different superscripts are significantly different (Duncan's multiple range test at $p<0.05$).

Table 4. Sensory evaluation of black raspberry wines

Sample	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
<i>S.cerevisiae</i> FM	7.08±1.08 ^{a1)2)}	6.67±1.50 ^a	6.53±1.46 ^a	6.33±1.29 ^a
<i>S.cerevisiae</i> B6	7.00±1.07 ^a	6.87±1.30 ^a	6.73±1.28 ^{ab}	6.53±1.13 ^a
<i>S.cerevisiae</i> GBY2	7.13±0.99 ^a	6.67±1.59 ^a	6.27±1.58 ^a	6.33±1.23 ^a
<i>S.cerevisiae</i> GBY3	7.27±0.80 ^a	7.27±0.88 ^{ab}	7.33±1.05 ^b	7.47±0.74 ^b

¹⁾ Each value represents the mean±SD.

²⁾ Values within a column (different wine) followed by different superscripts are significantly different (Duncan's multiple range test at $p<0.05$).

가 가능한 효모 종류에서 제외하였으며, *S. cerevisiae* B6, GBY2, *S. cerevisiae* GBY3 발효주는 독성을 일으키는 주요 바이오제닉아민이 검출되지 않아 안전성을 확인하였다.

3. 관능검사

효모를 달리하여 제조한 복분자 발효주의 색상, 향미, 맛, 전체적인 기호도를 평가하였다. 관능검사 시료는 BA 분석 결과를 토대로 *S. cerevisiae* A8 발효주를 제외하고 FM 대조구를 포함한 총 4종의 발효주를 이용하여 실시하였다(Table 4). 향미, 맛, 전체적인 기호도에서 각각 7.27점, 7.33점, 7.47점을 받은 *S. cerevisiae* GBY3가 가장 높게 평가되었다. Kim TH 등(2009)은 포도주의 경우 resveratrol을 포함한 각종 phenol 화합물의 농도가 높을수록 관능적 특성에 영향을 주어 색, 향, 맛 등이 우수하다고 보고하였다. 복분자 발효주 또한 발효시 생성되는 에탄올에 의하여 각종 phenol 화합물이 용출되었을 것으로 예상되며 관능검사 결과가 높았던 *S. cerevisiae* GBY3의 phenol 화합물의 함량이 더 높을 것으로 기대된다.

안전성이 확보된 토종효모 3종을 이용한 복분자 발효주는 유사한 품질 특성을 보였으나, 관능검사 결과 *S. cerevisiae* GBY3 복분자 발효주의 관능도가 가장 우수하여 이를 이용하여 복분자 발효주를 개발하였을 때 관능적 기호도가 높은 제품을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

4. 향기성분 분석

관능도가 우수한 토종효모 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 실제로 향미와 식향에 도움을 줄 수 있는지 확인하기 위해 대조구인 FM 발효주와의 향기 성분을 분석·비교하였다(Table 5). 복분자 발효주의 휘발성 향기성분은 총 38종의 화합물이 동정되었으며 alcohol류 14종, ester류 13종, hydrocarbon류 4종, aldehyde류 3종, ketone류 2종 및 acid류 1종이 동정되었다. 술의 향기 성분에 크게 관여하며 과일향의 주성분인 ester류 화합물이 복분자 발효주에서 가장 높은 비율을 차지하였으며 이의 함량은 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 1,396.24 µg/L로 FM 발효주의 함량인 1,160.86 µg/L보다 높았다. 이 중에서도 복분자 발효주의 주요 향미 성분은 달고 과일향을 나타내는 ethyl benzoate로 확인되었으며 이의 함량 또한 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 높게 나타났다. 또한 라일락 혹은 장미향을 지닌 phenethyl alcohol(Furia TE & Bellanca N 1975) 화합물은 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 FM 발효주보다 약 4배 많은 함량을 나타내었다. 그 밖의 지방산 ester류인 ethyl butanoate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate 등은 부드러운 waxy 향과 꿀의 향미를 지녔으며 이는 와인의 향미를 증가시켜주는 화합물(Escudero A 등 2007) *S. cerevisiae*

Table 5. Volatile organic compounds in black raspberry wines

RI ¹⁾	Compound	ID ²⁾	Content (ug/L)	
			<i>S.cerevisiae</i> FM	<i>S.cerevisiae</i> GBY3
1	803 Ethyl butyrate	MS, RI	4.84	4.88
2	872 n-Hexanol	MS, RI	3.87	2.98
3	878 Isoamyl acetate	MS, RI	20.86	27.40
4	880 2-Methylbutyl acetate	MS, RI	5.10	5.07
5	891 Phenylethene	MS, RI	2.40	2.64
6	903 2-Heptanol	MS, RI	4.41	3.25
7	964 Benzaldehyde	MS, RI	47.50	44.59
8	999 Ethyl hexanoate	MS, RI	19.88	30.23
9	1027 p-Cymene	MS, RI	2.65	3.06
IS ³⁾	1059 n-Butylbenzene	MS, RI	-	-
10	1072 1-p-Menthen-9-al	MS	1.98	1.68
11	1093 p-Cymenene	MS, RI	23.87	20.48
12	1097 Methyl benzoate	MS, RI	12.39	14.67
13	1101 Linalool	MS, RI	62.80	50.07
14	1115 Phenethyl alcohol	MS, RI	49.30	185.23
15	1120 Dehydrocamphor	MS	9.42	1.05
16	1147 trans-Pinocarveol	MS, RI	1.92	1.78
17	1167 Octanoic acid	MS	2.72	8.96
18	1175 Ethyl benzoate	MS, RI	1,003.96	1,159.23
19	1179 Diethyl succinate	MS, RI	2.61	2.32
20	1183 1,8-Menthadien-4-ol	MS	1.88	2.17
21	1186 4-Terpineol	MS, RI	63.23	57.33
22	1191 p-Cymen-8-ol	MS, RI	18.39	19.81
23	1196 Ethyl octanoate	MS, RI	70.96	108.21
24	1200 α-Terpineol	MS, RI	198.59	209.19
25	1207 Borneol	MS	1.49	1.62
26	1214 Verbenone	MS, RI	7.91	8.64
27	1224 trans-Carveol	MS, RI	2.71	2.40
28	1228 Citronellol	MS, RI	9.85	8.85
29	1232 cis-Carveol	MS, RI	1.66	1.70
30	1255 trans-Isocarveol	MS, RI	7.25	7.53
31	1265 Isoterpinolene	MS	1.67	1.60
32	1275 Propyl benzoate	MS, RI	3.29	2.89
33	1295 Ethyl nonanoate	MS, RI	1.45	1.52
34	1316 Camphoraldehyde	MS	2.22	2.20
35	1333 Isobutyl benzoate	MS, RI	4.36	8.65
36	1395 Ethyl decanoate	MS, RI	3.61	9.75
37	1444 Isopentyl benzoate	MS, RI	7.55	21.42
Total			1,690.55	2,045.05

¹⁾ Retention index on a ZB-5ms column in reference to n-alkanes (C8 ~ C20).

²⁾ MS, NIST and Wiley libraries and literature; RI, Kovats index.

³⁾ IS, Internal standard.

GBY3 발효주에서 FM 발효주보다 약 1.5배 높게 나타났다. 이와 같은 복분자 발효주의 향기성분 분석 결과 토종 효모 *S. cerevisiae* GBY3를 이용한 발효주가 FM 발효주보다 풍미나 식향을 향상시킬 수 있는 휘발성 물질을 다량 함유하고 있어 *S. cerevisiae* GBY3를 이용하여 복분자 발효주 제조 시 식향이나 풍미 향상에 도움을 줄 것으로 생각된다.

IV. 결론

본 연구에서는 국내 발효식품으로부터 분리된 토종 효모 4종(*S. cerevisiae* A8, B6, GBY2, GBY3)과 대조구로 시판효모 *S. cerevisiae* FM을 이용하여 복분자 발효주를 제조하였고, 바이오제닉아민 함량과 향기성분을 분석하였다. 토종효모 4종 및 시판효모를 29°Brix로 보당한 복분자에 1×10^9 CFU/kg이 되도록 접종하여 25°C에서 7일간 발효를 진행하였다. 토종효모 4종을 이용한 복분자 발효주의 최종 품질은 알코올 13.51~13.65%, 당도 10.3~10.5°Brix, 산도 1.17~1.18%였으며, FM을 이용한 복분자 발효주는 알코올 14.22%, 당도 9.8°Brix, 산도 1.12%로 나타났다. 4종의 토종효모간의 품질 특성은 큰 차이를 보이지 않았으며 시판효모보다는 약 0.7% 낮은 알코올 함량을 보였다.

복분자 발효주의 안전성 확인을 위하여 바이오제닉아민 함량을 분석한 결과 A8 발효주에서 주요 독성 물질 중 하나인 tryptamine이 유일하게 검출되어 복분자 발효 적합 효모에서 제외하였으며 *S. cerevisiae* B6, GBY2, GBY3 발효주는 독성을 일으키는 주요 바이오제닉아민이 검출되지 않아 안전성을 확인하였다. *S. cerevisiae* A8 발효주를 제외하고 대조구인 FM 발효주를 포함한 총 4종의 복분자 발효주를 이용하여 관능검사를 실시한 결과 향미, 맛, 전체적인 기호도에서 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 가장 우수한 기호도를 보였다.

관능도가 우수한 *S. cerevisiae* GBY3와 대조구인 FM 복분자 발효주의 휘발성 향기 성분 분석 시 과일향의 주성분인 ester류 화합물이 높은 비율을 차지하였으며 이의 함량은 *S. cerevisiae* GBY3 발효주가 FM 발효주보다 높게 나타났다. 달고 과일향을 나타내는 ethyl benzoate가 주성분이었으며 라일락 혹은 장미향을 지닌 phenethyl alcohol 및 부드러운 waxy 향과 꿀의 향미를 지닌 ethyl butanoate, ethyl hexanoate, ethyl octante 등 물질이 *S. cerevisiae* GBY3 발효주에서 다량 검출되었다.

결과적으로, 토종효모 *S. cerevisiae* GBY3를 이용한 복분자 발효주는 독성을 일으키는 바이오제닉아민이 검출되지 않아 안전성을 확보하였다. 시판효모 FM 발효주와 관능 및 향기성분을 비교 분석한 결과, 향미, 맛, 전체적인 기호도에서 높은 관능도를 나타냈으며 상대적으로 풍

부한 ester류 화합물을 지녀 향미나 식향에 도움이 되는 것으로 확인하였다. 토종효모 *S. cerevisiae* GBY3는 안전성, 관능성이 증진된 복분자 발효주 개발에 적합한 효모임을 확인하고 산업적으로 이용가치가 높을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 ‘산업통상자원부’, ‘한국산업기술진흥원’, ‘호남지역사업평가원’의 ‘광역경제권 선도산업 육성사업’으로 수행된 연구결과의 일부로서 연구비 지원에 깊은 감사를 드립니다.

References

- Ancín-Azpilicueta C, González-Marco A, Jiménez-Moreno N. 2008. Current knowledge about the presence of amines in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48(3):257-275
- Beneduce L, Romano A, Capozzi V, Lucas P, Barnavon L, Bach B, Vuchot P, Grieco F, Spano G. 2010. Biogenic amine in wines. *Ann Microbiol* 60(4):573-578
- Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huis in't Veld JHJ. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol* 11(1):73-84
- Cha HS, Park MS, Park KM. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 33(4):409-415
- Cho TY, Han GH, Bahn KN, Son YW, Jang MR, Lee CH, Kim SH, Kim DB, Kim SB. 2006. Evaluation of biogenic amines in Korean commercial fermented foods. *Korean J Food Sci Technol* 38(6):730-737
- Choi HS, Kim MG, Park HS, Shin DH. 2005. Changes in physicochemical characteristics of bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) wine during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 37(4):574-578
- Choi JW, Yoo YM, Kim MY, Nam JH, Nugroho A, Park HJ. 2008. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of the triterpenoid-rich fraction from *Rubus coreanus* and *Rubus crataegifolius* and their main component, niga-ichigoside F1, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nat Prod Sci* 14(4):260-264
- Choung MG, Lim JD. 2012. Antioxidant, anticancer and immune activation of anthocyanin reaction from *Rubus coreanus* Miquel fruits (*bokbunja*). *Korean J Medicinal Crop Sci* 20(4):259-269
- Escudero A, Campo E, Fariña L, Cacho J, Ferreira V. 2007. Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. *J Agric Food Chem* 55(11):4501-4510
- Fritz SB, Baldwin JL. 2003. In *Food allergy : Adverse reactions to foods and food additives*. Blackwell publishing. Oxford,

- England. pp 395-407
- Furia TE, Bellanca N. 1975. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. 2nd ed. The Chemical Rubber Co. Cleveland, OH, USA. p 461
- Hwang Y, Lee KK, Jung GT, Ko BR, Choi DC, Choi YG, Eun JB. 2004. Manufacturing of wine with watermelon. Korean J Food Sci Technol 36(1):50-57
- Jeong EJ, Kim HE, Shin DH, Kim YS. 2007. Effect of pectinase treatment on the extraction yield improvement from *Rubus coreanus* juice and physicochemical characteristics. Korean J Food Preserv 14(6):702-708
- Jin TY, Heo SI, Lee WG, Lee IS, Wang MH. 2008. Manufacturing characteristics and physicochemical component analysis of bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) jam. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(1):48-52
- Jung SJ, Kim NY, Jang MS. 2008. Formulation optimization of salad dressing added with bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) juice. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(4):497-504
- Kim JC. 2009. Enology. Baeksan Press. Seoul, Korea. pp 21-62
- Kim JH, Ryu SJ, Lee JW, Kim YW, Hwang HJ, Kwon OK. 2013. Investigation on biogenic amines in plant-based minor Korean fermented foods. J Korean Soc Appl Bi 56(2):113-117
- Kim TH, Yi DH, Kim HJ. 2009. Effect of resveratrol on wine sensory evaluation preference analysis. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(12):1740-1745
- Landete JM, Ferrer S, Pardo I. 2007. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. Food Control 18(12):1569-1574
- Lee MW. 1995. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanus*. Pharm Soc 39(2):200-204
- Lee SJ, Ahn BM. 2009. Changes in physicochemical characteristics of black raspberry wines from different regions during fermentation. Korean J Food Sci Technol 41(6):662-667
- Lee YJ, Kim JC, Hwang KT, Kim DH, Jung CM. 2013. Quality characteristics of black raspberry wine fermented with different yeasts. J Korean Soc Food Sci Nutr 42(5):784-791
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Chem 31(3):426-428
- Moon YJ, Lee MS, Sung CK. 2005. Physicochemical properties of raspberry wine using active dry yeast strains. Korean J Food Nutr 18(4):302-308
- Moon YJ, Lee MS, Sung CK. 2006. Contents of amino acids in raspberry wine using active dry yeast strains. Korean J Food Nutr 19(4):392-397
- Park JH, Oh SM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Seok OY, Choe NH, Park JH, Kim JK. 2006. Induction of heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effects of the ethanol extract of *Rubus coreanus* in murine macrophages. Biochem Biophys Res Commun 351(1):146-152
- Park PJ, Lo SC, Han SS. 2004. Control of disease, insect pest and weed cultivation area of *Rubus coreanus* Miquel. J Life Sci Nat Res 26(1):56-67
- Park YH. 1975. Studies on the grape variety and the selection of yeast strain for wine-making in Korea. Korean J Agric Chem Soc 18(4):219-227
- Seo SH, Yoo SA, Kang BS, Son HS. 2014. Quality characteristics of Korean black raspberry bokbunja wines produced using different amounts of water in the fermentation process. Korean J Food Sci Technol 46(1):33-38
- Shin KS, Park PJ, Boo HO, Ko JY, Han SS. 2003. Chemical components and comparison of biological activities on the fruit of natural bogbunja (*Rubus coreanus* Miquel). Korean J Plant Res 16(2):109-117
- Shin TY, Shin HY, Kim SH, Kim DK, Chae BS, Oh CH, Cho MG, Oh SH, Kim JH, Lee TK, Park JS. 2006. *Rubus coreanus* unripe fruits inhibits immediate-type allergic reaction and inflammatory cytokine secretion. Nat Prod Sci 12(3):144-149
- Song JC, Park HJ, Shin WC. 1997. Changes of takju qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. Korean J Food Sci Technol 29(5):895-900
- Yu OK, Kim MA, Rho JO, Sohn HS, Cha YS. 2007. Quality characteristics and the optimization recipes of chocolate added with bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel). J Korean Soc Food Sci Nutr 36(9):1193-1197
- Yu OK, Kim JE, Cha YS. 2008. The quality characteristics of jelly added with bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel). J Korean Soc Food Sci Nutr 37(6):792-797

Received on May4, 2015/ Revised on May18, 2015/ Accepted on May19, 2015