

사과酒 釀造에 관한 研究

사과酒酵母 *Saccharomyces* sp. R-11의 合成培地에서의 培養 條件

鄭 基 澤 · 李 鍾 洙*

慶北大學校 農科大學 · 慶北大學校 大學院*

Studies on the Brewing of Apple Wine

Culture Conditions of a Cider Yeast, *Saccharomyces* sp. R-11
on the Synthetic Medium

Ki-Taek Chung and Jong-Soo Lee*

College of Agriculture, Kyungpook National University, Dae-gu 635 and

* Graduate School, Kyungpook National University, Dae-gu 635, Korea

Abstract: As a primary study for cell growth and alcohol production of a cider yeast, *Saccharomyces* sp. R-11, cultural and nutritional characteristics of the strain were investigated. The results obtained were as follows:

The optimum culture medium for this strain was a synthetic medium, Henneberg B, and sucrose was the best carbon source for yeast growth and alcohol production. Optimum sugar concentrations for yeast growth and alcohol production were 15% and 25%, respectively. Optimum pH and temperature of the basal medium for growth of this strain were 4.5 and 30°C, respectively. The yeast growth was enhanced by the addition of 100 ppm of Mg²⁺, but significantly inhibited by the addition of 100 ppm of Co²⁺. Lower temperature and maintenance of optimum pH for yeast growth increased the final alcohol concentration. Under optimum condition for cell growth at stationary culture, generation time and specific growth rate of the strain were 7.5 hr and 0.092 hr⁻¹, respectively. At 8% initial alcohol concentration, yeast growth was inhibited about 50% and this strain could not be grown at more than 12% initial alcohol. The strain could be grown at less than 125ppm SO₂ without alcohol addition, and at less than 75 ppm SO₂ with 8% initial alcohol. The higher sulfur dioxide concentration of a medium, the longer lag phase in yeast growth was observed. This strain could induced alcoholic fermentation at less than 10% initial alcohol concentration with 0 and 25 ppm SO₂, at less than 8% initial alcohol with 50 and 75 ppm SO₂, and at less than 6% initial alcohol with 100 and 125 ppm SO₂.

緒 論

알코올 釀造는 酵母 가운데 주로 *Saccharomyces* 屬에 의하여 生化學的인 過程을 거쳐 이루어진다. 그 중에서도 果實酒 生産과 關連하여 培養酵母가 利用된 것은

비교적 最近의 일로서 오늘날 世界的으로 果實酒 특히 葡萄酒의 生産과 消費가 급격히 增大되는 추세에 있다. 그러나 우리나라의 경우는 果實酒 가운데서도 사과酒가 제일 먼저 開發 · 市販되기에 이르렀으며 이미 1960年代에 純粹培養酵母 *Saccharomyces* 屬을 利用한 사과주釀造에 관한 研究가 李等(1961), 張等(1963), 鄭等(1967)

에 의해 이루어진 바 있다.

일반적으로 알코올 발효는 培養液內的 여러가지 營養因子 및 環境因자의 영향을 크게 받으므로 적절한 營養 및 環境條件을 부여해야 만이 양질의 製品을 얻을 수가 있다. 果實을 原料로 하는 사과酒 釀造가 穀類를 利用한 清酒나 濁酒 釀造와 다른 점을 보면, 果實酒는 併行復發酵가 아닌 單發酵인 바 사과 자체의 제한된 糖含量 때문에 糖을 添加·發酵시켜야 하므로 어느 정도 糖에 대한 耐性이 있는 酵母가 요구되며 果實의 特有한 香氣成分을 製品에 이행시키기 위해 果汁의 殺菌을 止揚하고 SO₂ 添加가 必須의이므로 酵母의 SO₂에 대한 耐性이 요구된다는 점이다.

그러나 現在까지의 사과酒 釀造에 관한 研究는 대부분이 天然培地인 사과汁을 利用한 사과酒의 生産面에 치중된 나머지 가장 基礎的으로 檢討되어야 할 使用菌株의 釀造學的인 性質에 관한 研究는 그리 많지 않은 實情이다.

이런 점을 감안하여 本 實驗에서는 사과果皮에서 分離된 *Saccharomyces* sp. R-11(鄭等, 1967)을 실제 사과酒 釀造에 應用하기 위한 基礎的인 資料를 마련할 目的으로 純粹釀造學的인 側面에서 各種 營養 및 環境條件의 영향을 檢討하였다. 우선 組成이 언제나 均一한 酵母用 合成培地 가운데 Henneberg B 培地를 選定하고 糖, 金屬, 알코올, SO₂, 溫度, 培養方法, pH 등의 제한인자가 供試菌에 미치는 영향을 菌生育 및 알코올生成의 두가지 側面에서 檢討한 바 그 結果를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 供試菌株

本大學 釀造學研究室에 소장 중인 사과酒 酵母 *Saccharomyces* sp. R-11(鄭等, 1967)을 使用하였다.

2. 菌의 培養

(1) 種酵母 培養

500ml 삼각 flask에 100ml의 糖蜜培地를 넣고 15LB/in²에서 15分間 加壓殺菌한 後 供試菌(agar slant에 培養된 것으로 냉장고에 保存中인 것) 1白金耳를 接種하고 30°C에서 48時間 振盪培養한 것을 3,000rpm에서 10分間 원심분리하여 種酵母로 使用하였다.

이 實驗에 使用한 糖蜜培地는 宮崎等(1965)의 方法에 準하여 당밀 14g(전당 68.9%), (NH₂)₂CO 0.55g, NH₄H₂PO₄ 0.2g, MgSO₄·7H₂O 0.05g, DL-malic acid 1.0g을 各各 添加하여 증류수로 100ml가 되게 調整한

것이다.

(2) 菌의 培養

培地의 選擇實驗에서는 合成培地 100ml를 넣고 殺菌한 後 上記 種酵母를 적량 接種하여 30°C에서 2~9일 간 靜置培養하였으며 그 밖의 實驗에서는 Henneberg B 培地를 使用하여 같은 方法으로 培養하였다.

3. 菌의 生育度 測定

菌의 生育度는 菌數計測과 濁도로 나타났으며 generation time과 specific growth rate로 計算하였다(Stainer, 1979).

菌數測定은 菌培養液을 0.01 N HCl로 희석한 後 Thoma의 血球計數器를 使用하여 현미경 下에서 計測하였으며(本村, 1969) 濁度는 Shimadzu製 spectrophotometer(model, UV-200)를 使用하여 660nm에서 培養液의 吸光度를 測定하고 이 값에서 初期의 吸光度를 公제하여 나타내었다.

4. 成分分析

알코올은 一般蒸溜法에 準하여 測定하였으며 pH는 Fisher製의 pH meter (model 230)로써 測定하였고 總酸은 Amerine等(1974年)의 方法에 準하여 試料 10ml에 대한 0.1N-NaOH 소비 ml수를 사과산으로 나타냈다. 또한 培養液의 糖度는 Brix meter로 測定하였다.

5. 試藥 및 材料

糖蜜은 Africa產을 大邱市 所在 豊國酒精株式會社에서 分讓받아 使用하였으며, L-asparagine은 日本昭和化學 製品을, sucrose는 第一製糖 製品을 使用하였으며 기타 一般試藥은 1級品을 購入·使用하였다.

結果 및 考察

1. 培地의 選擇

供試菌의 生育에 미치는 各種 培地의 영향을 檢討하기 위하여 酵母用 合成培地로 널리 알려져 있는 Hayduck液, Henneberg A液 및 B液, Czapeck-Dox液을 使用하였다.

各 培地의 初期菌體濃도가 2.01×10^6 cells/ml 되게 接種한 後 30°C에서 48時間 靜置培養하여 菌生育度を 測定하였다(Table I).

Table I에서 나타난 바와 같이 Henneberg B 培地에서 供試菌의 生育이 가장 良好하였으므로 以下의 實驗에서는 Henneberg B 培地를 基本培地로 使用하였다.

2. 炭素源의 영향

供試菌의 生育 및 알코올 生成에 미치는 炭素源의 영향을 檢討하기 위하여 基本培地의 糖 대신에 單糖類

Table I. Effect of various media on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11.

	Cell No. ($\times 10^7$ /ml)	Generation time(hr)	Specific growth rate(μ , hr $^{-1}$)
Hayduck	6.65	10.2	0.068
*Henneberg(A)	3.76	12.7	0.054
*Henneberg(B)	7.36	9.9	0.070
Czapeck-Dox	4.71	11.4	0.060

* Without CaCO₃

Initial cell concentration of each medium was 2.01×10^6 cells/ml. Cultivation was carried out at 30°C for 48hr. statically.

인 glucose와 二糖類인 sucrose, lactose를 各各 添加하여 供試菌을 接種·培養하였다.(Table I).

Table II에 나타난 바와 같이 sucrose 添加가 菌生育과 알코올生成이 가장 良好하였고 다음이 glucose 添加가 좋았다. 反面에 lactose 添加는 菌生育에 있어서는 극히 不振하였고 알코올生成은 거의 불가능하였다.

Table II. Effect of carbon sources on growth and alcohol production.

	Growth		Total acid (%, malate)	Residual sugar(°Bx)	Final alc. (v%)
	O.D.(660nm)	Relative(%)			
Glucose	9.78	100	0.446	-1.0	7.9
Sucrose	10.72	110	0.442	-2.0	8.8
Lactose	2.04	21	0.730	14.0	0

Basic medium was the same as Henneberg(B) except for carbon source.

Initial cell concentration of each medium was 2.60×10^6 cells/ml.

Cell growth was tested at 5 days after inoculation, but others were determined at 7.5 days.

Glucose 添加가 sucrose 添加에 비해 菌生育이 저조한 원인은 單糖類인 glucose(M.W. 180)가 二糖類인 sucrose (M.W. 342)보다 滲透壓이 2배 정도 높다.(徐等, 1981)인데 기인되었다고 사료된다. 이상에서 볼 때 菌生育과 알코올生成에는 sucrose가 가장 적당함을 알 수가 있으며 Henneberg B 培地의 糖과 一致되었다.

3. 糖濃도의 영향

本 培地인 Henneberg B 培地에서 sucrose 濃도의 變化에 따른 菌生育 및 알코올生成을 檢討하였다(Fig. 1).

Fig. 1에 나타난 바와 같이 菌生育은 糖含量이 높을수록 낮아지는 傾向을 보였으며 糖 15% 添加가 가장 良好하였다. 總酸은 糖濃도가 높을수록 增加하였고 알코올 生成은 糖濃도 25%까지는 增加하지만 그 以後

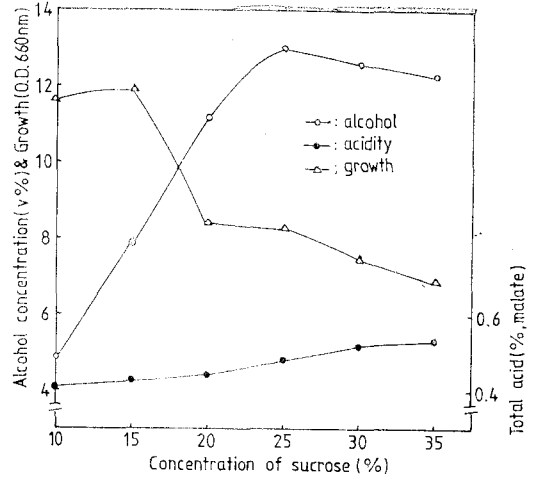


Fig. 1. Effect of sucrose concentration on growth and alcohol production. Initial cell concentration of each medium was 2.6×10^6 cells/ml. Growth was tested at 5 days after inoculation, but others were determined at 10 days.

부터는 減少하는 傾向을 보였으며 最大 알코올生成量은 糖 25% 濃度에서 약 13%였다.

고농도의 糖溶液에서 菌生育이 沮害되는 現象은 일반적인 알코올醱酵 酵母에서 흔히 볼 수 있는 현상으로서 糖含量이 增加할수록 滲透壓이 커지기 때문이라 사료된다. Franz(1961) 및 Amerine等(1972)은 糖濃도에 따른 菌生育은 各各 17.5% 및 25% 以上에서 沮害된다고 했으며 Ough(1966)는 糖濃도 5~20° Bx가 酵母의 生育에 가장 效果的이라고 報告하고 있어 本 實驗 結果와는 다소 차이가 있었다.

最大알코올生成은 포도汁의 糖含量이 25~35%일 때 일어났다고 한 Amerine等(1972年)과 糖 30%에서 最大의 알코올生成을 나타냈다는 Shimazu等(1981年)의 報告로 미루어 볼 때 本 實驗의 最大알코올 生成을 위

Table III. Effect of temperature on growth and alcohol production.

	Cell No. ($\times 10^7$ /ml)	Generation time(hr)	Specific growth rate(μ . hr $^{-1}$)	Total acid (%, malate)	Final alc. (v%)
15°C	3.77	14.3	0.048	0.432	8.8
20	4.56	13.2	0.052	0.450	8.8
25	6.05	11.9	0.058	0.506	8.6
30	7.59	11.0	0.063	0.528	8.5
37	7.14	11.2	0.062	0.586	8.1

Cell counts were tested at 2 days after inoculation and alcoholic fermentation was carried out at about dryness (<0° Brix).

한 糖濃度 25%와는 다소 차이가 있으나 培地나 菌株가 다른 점을 감안하면 別다른 문제가 없으리라 사료된다.

당함량에 비례하여 總酸이 增加하는 것은 醱酵가 正當的으로 일어나지 않고 遲延되기 때문이 아닌가 생각된다.

4. 培養 溫도의 영향

菌의 生育과 알코올生成에 있어서 溫도의 영향을 檢討하기 위하여 基本培地에 供試菌을 接種하고 15, 20, 25, 30 및 35°C에서 靜置培養하였다. 培養 2日 後에 菌數, generation time 및 specific growth rate를 測定하고 總酸과 알코올生成量은 알코올醱酵가 終了된 後에 測定하였다(Table III).

Table III에 나타난 바와 같이 30°C까지는 溫度가 增加함에 따라 菌生育은 增加하고 generation time은 短縮되었으나 37°C에서는 오히려 菌生育은 減少하고 generation time이 연장되었으며 供試菌의 生育은 30°C에서 가장 良好하였다.

總酸은 溫度가 높아질수록 增加하였으며 알코올生成은 온도가 低下될수록 增加하는 傾向을 보이거나 이 結

果는 포도주醱酵實驗에서 醱酵溫度 7~22°C에서 最大 알코올生成을 보이며 溫度가 높아질수록 알코올生成이 급격히 低下되었다는 Hohl等(1936)의 報告와 비교할 때 거의 같은 傾向이었다. 溫度가 높아질수록 알코올生成이 低下되는 理由는 알코올의 蒸發現象 때문인데 이 같은 현상은 高溫醱酵에서는 알코올증발이 급속도로 빨라진다는 見解도 있다.(Prescott 1959, Rogosa 1947)

5. pH의 영향

基本培地를 各 pH로 조절한 後 供試菌을 接種하여 菌의 生育과 알코올生成에 미치는 pH의 영향을 檢討하였다(Table IV).

Table IV에 나타난 바와 같이 菌의 生育과 알코올生成은 다같이 pH 4.0~5.0에서 대체로 良好하였지만 pH 4.0에서 가장 良好하였으며 이 범위를 벗어날수록 菌生育은 급속히 低下되어 pH 3.0에서 가장 低調하였다. 또한 總酸은 最適 pH를 벗어날수록 增加하는 傾向을 나타내었다.

本實驗의 最適 pH 4.0~5.0은 포도주醱酵에서 *Saccharomyces ellipsoideus*의 pH 4.8(財團法人 醱酵協會,

Table IV. Effect of pH on growth and alcohol production.

	Cell No. ($\times 10^7$ /ml)	Generation time(hr)	Specific growth rate(μ . hr $^{-1}$)	Total acid (%, malate)	Final alc. (v%)
3.0	6.29	11.7	0.059	0.535	8.1
4.0	7.81	10.9	0.064	0.523	8.5
5.0	7.40	11.1	0.062	0.503	8.4
6.0	6.79	11.5	0.060	0.591	8.2
7.0	6.64	11.6	0.059	0.566	8.1
8.0	6.43	11.7	0.059	0.591	8.1

Alcohol concentration and acidity were tested at 7.5 days after inoculation, but others were determined at 2 days.

Initial cell concentration of each medium was 3.73×10^8 cells/ml.

Table V. Effect of initial cell concentration on growth and alcohol production

Cell No. ($\times 10^7$ /ml)	Generation time(hr)	Specific growth rate(μ . hr $^{-1}$)	Final alc. (v%)
0.5 \times 10 ⁸ /ml	4.13	7.5	0.092
1.5	5.71	9.1	0.076
2.5	6.26	10.3	0.067
3.5	7.11	11.0	0.063
5.0	7.28	12.4	0.056

Cell counts were tested at 2 days after inoculation and alcoholic fermentation was carried out at 30°C for 7.5days.

1963) 및 4.0(Shimazu, 1981), molasses 利用時의 *Saccharomyces cerevisiae*의 pH 4.0~4.5(Prescott, 1959)와 거의 일치되었다. 이는 사용한 균주가 동일한 *Saccharomyces*屬이기 때문이 아닌가 사료된다.

6. 接種菌體량의 영향

菌의 生育과 알코올 生成에 미치는 接種菌體량의 영향을 檢討하기 위하여 各 培地의 接種菌體濃도를 달리하여 實驗한 結果는 Table V와 같다.

Table V에 나타난 바와 같이 接種菌體濃도가 낮아질수록 generation time은 短縮되고 specific growth rate는 큰 값을 나타냈으며 알코올 生成에 있어서는 菌體濃度別로 차가 인정되지 않았다. Generation time이 初期菌體濃도가 낮을수록 단축되는 이유는 本 實驗과 같이 알코올 生成과 菌 生育을 함께 檢討하는 實驗 system下에서는 generation time을 測定하기에는 初期 菌體濃도가 지나치게 많기 때문이 아닌가 사료되며 純粹微生物學的인 의미에서의 generation time의 개념과는 다소 차이가 있음을 알 수 있다.

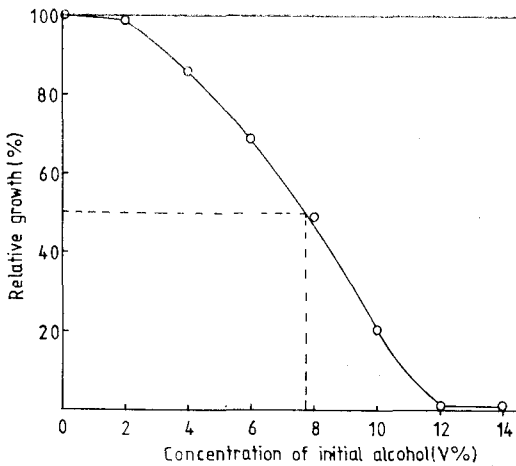
7. 酸素의 영향

遊離酸素의 供給有無에 따른 菌의 生育度を 檢討하기 위하여 基本培地에 供試菌을 接種하고 30°C에서 靜置培養과 振盪培養(90 strokes/min, amplitude 5cm)을 併用하여 菌의 生育도는 2日 後에 pH는 7日 後에 각각 測定하였다(Table VI).

Table VI. Effect of aeration on growth.

	Growth		Generation time(hr)	Specific growth rate (μ . hr $^{-1}$)	Final pH
	Cell No. ($\times 10^7$ /ml)	O.D. (660nm)			
Static	7.37	7.72	11.1	0.063	4.2
Shaking	15.27	18.40	8.9	0.078	3.9

Growth was tested at 2 days after inoculation, but pH was determined at 7.5days. Initial cell concentration of each medium was 3.66×10^6 cells/ml.



← **Fig. 2.** Effect of initial alcohol concentration on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 5 days. Initial cell concentration of each medium was 2.60×10^6 cells/ml.

Table VI에 나타난 바와 같이 菌의 生育은 혐기적인 靜置培養보다 산소의 공급이 良好한 振盪培養이 良好하였다. 또한 pH는 靜置培養한 것이 다소 높은 傾向이었다.

8. 菌生育에 미치는 알코올의 영향

基本培地에 알코올을 各 濃도가 되게 添加한 後 供試菌을 接種하여 菌 生育에 미치는 알코올의 영향을 檢討하였다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 初期알코올 濃도가 上昇함에 비례하여 菌 生育은 減少하는 傾向을 보였으며 菌 生育이 50% 沮害되는 初期알코올濃도는 약 8%였다.

初期알코올濃度 12%이상에서는 供試菌의 生育은 거의 不可能하였다.

9. 菌生育에 미치는 SO₂의 영향

供試酵母 *Saccharomyces* sp. R-11이 사과酒 酵母인 점을 감안하여 사과酒 製造時 必須의으로 사용되는 SO₂의 濃度別 영향을 檢討하였다. 먼저 培養日數에 따른 供試菌의 生育에 미치는 SO₂의 영향을 檢討하기 위하여 SO₂濃도가 0, 50, 100, 125 및 150ppm이 되도록 K₂S₂O₅를 각각 添加한 後 30°C에서 7日間 培養하여 그 結果를 Fig. 3에 表示하였다.

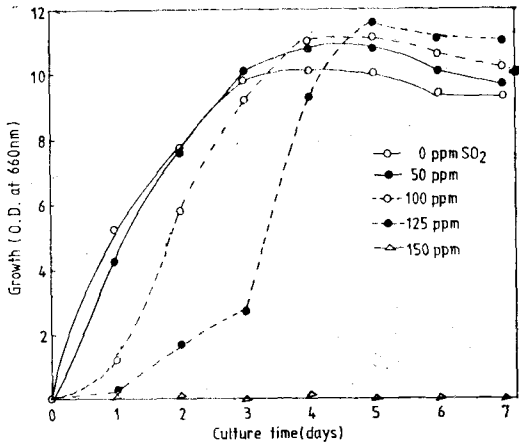


Fig. 3. Effect of SO₂ concentration on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11 at 30°C with culture time. Initial cell concentration of each medium was 2.60×10^6 cells/ml.

Fig. 3에 나타난 바와 같이 SO₂ 125 ppm 농도까지는 添加 SO₂ 濃도가 높아질 수록 lag phase가 延長되었으나 培養 4~5日 後에는 同一한 生育에 도달하였으며 SO₂ 150ppm 以上에서는 菌生育은 거의 不可能하였다. 一般的으로 사과酒 製造時는 SO₂를 50~100ppm 정도 添加하는 것이 바람직하므로 本 供試菌의 125ppm 까지의 SO₂ 耐性은 사과酒 製造에 아무런 지장이 없으리라 본다.

Fig. 4는 알코올無添加와 50%菌生育 沮害濃度인 알코올 8% 添加로 구분하여 菌生育에 미치는 SO₂의 영향을 檢討한 것으로, 알코올을 添加하지 않았을 때는 SO₂ 125ppm 濃度까지 菌生育이 可能하였으며 8% 알코올을 添加時는 SO₂ 75ppm 濃度까지 菌生育이 可能하였다. 이는 알코올과 共存時의 菌生育에 미치는 SO₂의 沮害가 커짐을 나타내고 있다.

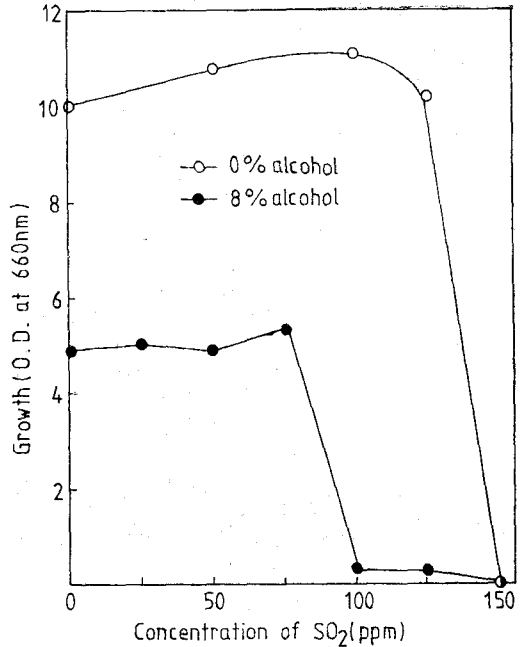


Fig. 4. Effect of SO₂ on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 5 days. Initial cell concentration of each medium was 2.60×10^6 cells/ml.

10. 금속이온의 영향

供試菌의 生育과 알코올 醱酵에 미치는 금속이온의 영향을 檢討하기 위하여 MgSO₄·7H₂O를 添加하지 않은 기본배지에 鹽化物로서 금속이온을 各各 100ppm 濃

Table VII. Effect of metal ion on growth and alcohol production.

	Growth		Final alc. (v%)
	O.D. (660nm)	Relative (%)	
Control	8.09	100	8.5
Mg ²⁺	10.11	125	8.8
Co ²⁺	4.56	56	5.9
Fe ²⁺	8.11	100	8.7
Ca ²⁺	8.69	107	8.7
Zn ²⁺	8.21	101	8.6

Each metal ion was added to medium at concentration of 100ppm on a metal ion basis. Growth was tested at 5 days after inoculation and alcoholic fermentation was carried out at 30°C for 7.5 days.

Table VIII. Effect of initial alcohol and SO₂ on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 5 days.

(unit: O.D. 660nm)

Initial alcohol(v%)	Concentration of initial SO ₂ (ppm)					
	0	25	50	75	100	125
0	10.26(100)	11.99(117)	10.64(104)	11.50(112)	12.39(121)	14.55(142)
2	10.02 (98)	10.40(101)	9.64 (94)	10.30(100)	9.65 (94)	9.95 (97)
4	8.11 (79)	8.88 (86)	8.49 (83)	8.20 (80)	8.07 (79)	9.65 (94)
6	5.73 (56)	6.52 (64)	6.68 (65)	6.79 (66)	7.80 (76)	6.42 (63)
8	4.92 (48)	5.03 (49)	4.92 (48)	5.27 (51)	0.15 (1)	0.20 (2)
10	2.62 (26)	3.04 (30)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Value in parenthesis denotes relative cell growth (%).

도가 되게 添加하여 供試菌을 接種 培養하였다.

Table VII에 나타난 바와 같이 菌生育은 Mg²⁺에 의해 促進되었고 Co²⁺에 의해 菌生育과 알코올生成이 크게 阻害作用을 나타냈으며 Fe²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺ 添加는 별다른 영향을 나타내지 않았다.

Zhirova 等(1977)에 따르면 *Saccharomyces carlsbergensis*의 알코올生成은 Zn²⁺ 1.5ppm에서 促進된다고 報告하고 있어서 本實驗의 結果와는 다소 차이가 있었다.

11. 알코올 및 SO₂ 添加가 菌生育과 알코올 生成에 미치는 영향

먼저 알코올과 SO₂가 共存時의 菌의 生育에 미치는 영향을 檢討하기 위하여 基本培地에 初期알코올濃도와 SO₂濃도를 各各 달리 調整하고 初期菌體濃도가 2.60 × 10⁶cells/ml 되게 接種한 後 30°C에서 5日間 培養하여 菌의 生育도를 測定하였다(Table VIII).

그 結果 菌生育은 同一한 SO₂濃度에서는 初期알코올濃도가 높아질수록 크게 阻害되었으며 初期알코올濃도 6%까지는 SO₂濃도에 關係없이 큰 差가 인정되지 않았고 그 以上の 알코올濃度에서는 生育이 급격히 低下되었다. 알코올농도 8%에서는 SO₂ 100ppm 以上, 알코올 10%일 때는 SO₂ 50ppm 以上에서 菌生育이 不可能하였다.

Fig. 5는 앞서와 同一한 條件에서 30°C에서 9日間 알코올醱酵을 行한 後 알코올生成을 檢討한 것으로 初期알코올농도와 SO₂濃도가 增加할수록 알코올生成이 阻害되었으며, SO₂ 無添加 및 25ppm에서는 初期 알코올濃도 10%, SO₂ 50 및 75ppm에서 알코올 8%, SO₂ 100 및 125ppm에서는 初期 알코올濃도 6%까지 알코올生成이 가능했다.

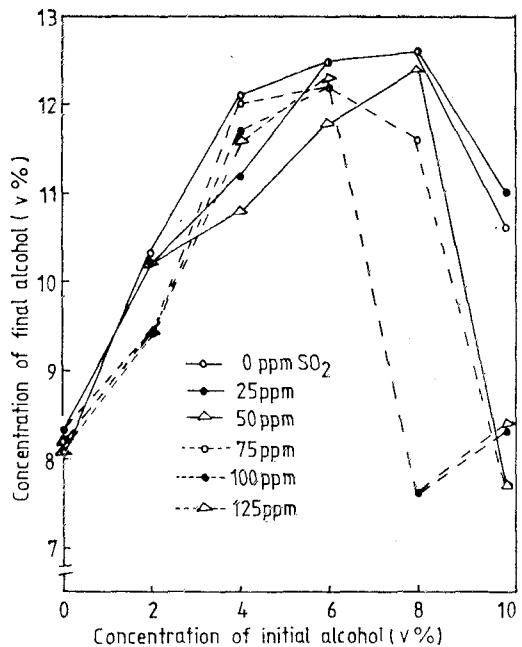


Fig. 5. Effect of initial alcohol and SO₂ on alcohol production by *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 9 days.

12. pH 및 初期 알코올濃도가 菌生育과 알코올 生成에 미치는 영향

基本培地の pH를 3.5, 4.0 및 4.5로 調整한 後 初期 菌體濃도가 2.60 × 10⁶cells/ml가 되게 接種한 後 30°C에서 5日間 培養하여 菌의 生育도를 測定하였다 (Table IX).

Table IX에 나타난 바와 같이 初期 알코올濃도에 關係없이, 菌生育은 pH 4.5에서 가장 良好하였으며, pH

Table IX. Effect of pH and initial alcohol concentration on the growth of *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 5 days.

(unit: O.D. 660nm)

Initial pH	Concentration of initial alcohol (v%)					
	0	2	4	6	8	10
3.5	7.70(100)	6.93 (90)	6.51 (85)	5.26 (68)	4.16 (54)	1.83 (24)
4.0	8.95(116)	7.08 (92)	6.35 (82)	4.97 (65)	3.92 (51)	2.13 (28)
4.5	9.57(124)	8.10(105)	5.62 (73)	5.27 (68)	3.90 (51)	2.32 (30)

Value in parenthesis denotes relative cell growth (%).

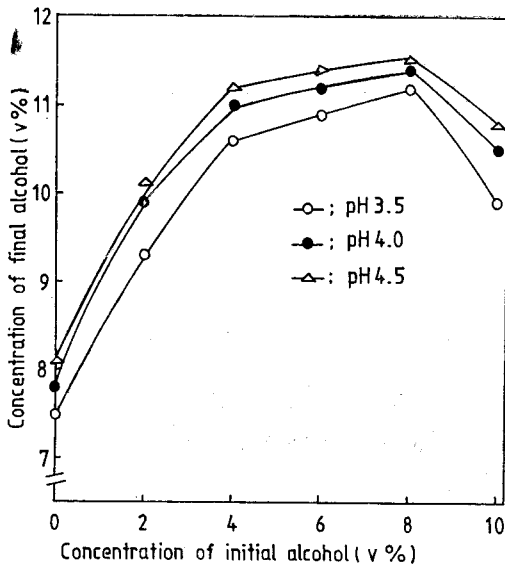


Fig. 6. Effect of pH and initial alcohol on alcohol production by *Saccharomyces* sp. R-11 cultivated at 30°C for 9 days.

3.5에서는 대체로 큰沮害를 보이므로 最適生育 pH에 가까울수록 알코올에 의한 菌生育沮害는 減少되는 傾向이었다.

Fig. 6은 앞서와 同一한 條件에서 9日間 培養한 後 알코올生成을 檢討한 것으로 初期 알코올濃度 8%까지는 알코올生成이 增大되었으며 8% 以上の 알코올濃度에서는 알코올生成이 低下되었다. 이 結果는 *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*를 利用한 葡萄酒製造時의 Ough(1966)의 報告와 一致되었다.

한편 初期 알코올濃도와 관계없이 最適生育 pH인 4.5에서 알코올生成이 가장 良好했으며 pH가 낮아질수록 알코올生成이 低下되는 것으로 나타났다.

要 約

사과酒 酵母의 *Saccharomyces* sp. R-11의 培養條件을 菌生育과 알코올生成의 側面에서 檢討한 結果는 다음과 같다.

基本培地로서는 Henneberg B 培地가 가장 良好하였으며 炭素源으로 sucrose가 가장 우수하여 菌의 生育面으로는 15%, 알코올生成을 위해서는 25% 添加가 가장 적당하였다. 供試菌의 生育을 위한 最適 pH는 4.5, 溫度는 30°C였다. 한편 Mg^{2+} 添加는 菌生育을 促進시켰으며 Co^{2+} 는 沮害하였다. 알코올生成은 培養溫度가 낮을수록, 最適 pH에 가까울수록 良好하였다. Generation time은 靜置培養時 最適生育條件에서 7.5時間이었으며 specific growth rate 0.092 hr⁻¹이었다. 菌生育은 알코올濃度 8%에서 약 50%沮害되었으며 12% 以上에서는 거의 不可能하였다. 本供試菌은 알코올 無添加時 SO₂ 125ppm까지, 알코올濃度 8%에서는 75ppm까지 生育이 可能하였으며, SO₂濃도가 높아질수록 lag phase가 길어지는 傾向을 보였다. 알코올濃도와 SO₂ 關係에서는, 菌生育은 初期 알코올濃度 6%까지는 SO₂濃도에 관계없이 別다른 差가 인정되지 않았으며, SO₂ 無添加 및 25ppm에서는 初期 알코올濃度 10%, SO₂ 50ppm 및 75ppm에서는 8%, SO₂ 100 및 125ppm에서는 初期 알코올濃度 6%까지 알코올生成이 가능했다.

文 獻

宮崎禮五, 長野 修, 吉田弘一, 赤木盛郎(1965): 酒母 省略清酒釀造に 關する研究(第1報) 振盪培養による 清酒酵母の製造について, 日釀協誌 60:989-992.
本村輝正(1969): 應用微生物實驗書, 農學圖書株式會

- 社, 東京 p. 60.
- 徐正埏等(1981): 最新微生物學, 螢雪出版社, p. 141.
- 李星範, 孫俊植(1961): 果實酒(사과酒)의 試驗釀造에 관해서, 釀苑, 4:22-33.
- 張在善(1963): 不良한 사과를 利用한 사과酒 釀造試驗, 농촌진흥청, 농공이용소보, p. 9.
- 財團法人 釀酵協會(1963): 알코올 핸드북, 東京, p. 74.
- 鄭基澤, 孫泰華, 徐正埏, 俞大植(1967): 사과酒 釀造에 관한 研究, 生産技術, 慶北大生産技術研究所, 2:47-55.
- Amerine, M.A., Berg, H.W. and W.V. Cruess (1972): *The technology of wine making*, The Avi. Pub. Co., Inc., Westport, Connecticut, p. 183-184.
- Amerine, M.A., and C.S. Ough(1974): *Wine and must analysis*. Wiley, New York, p. 15.
- Franz, B(1961): Untersuchungen über die kinetik der alkoholischen Gärung unter den Bedingungen der Backhefezüchtung. *Nachrung*, 5:457-481.
- Hohl, L.A., and W.V. Cruess(1936): Effect of temperature, variety of juice and method of increasing sugar content on maximum alcohol production by *Saccharomyces ellipsoideus*, *Food Research* 1: 405-411.
- Ough, C.S(1966): Fermentation rates of grape juice, II. Effect of initial Brix, pH, and fermentation temperature, *Am. J. Enol., Vitic.*, 17:20-26.
- Prescott, S.C., and C.G. Dunn(1959): *Industrial microbiology*, 3rd ed., Kogakusha Co., LTD., Tokyo, p. 108-109.
- Rogosa, M., Browne, H.H. and E.O. Whittier (1947): Ethyl alcohol from whey, *J. Dairy Sci.*, 30:263-269.
- Shimazu, Y., and M. Watanabe(1981): Effect of yeast strains and environmental conditions on fermentation of organic acids in must during fermentation, *J. Ferment. Technol.*, 59:27-32.
- Stainer, R.Y., Adelberg, E.A., Ingraham, J.L., and M.L. Wheelis (1979): *Introduction to the microbial world*, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, p. 103-105.
- Zhirova, V.V., Ivanova, L.A., and Yu. P. Grachev (1977): Influence of trace elements on the fermentation of acids and ethanol element by the yeast *Saccharomyces carlsbergensis*, *Microbiology*, 46: 337-341.

<Received 4 April 1982>