

## 야생 효모 종류에 따른 알코올 발효 특성

백성열<sup>1,2</sup>, 이유정<sup>1</sup>, 김명동<sup>3</sup>, 이재형<sup>4</sup>, 문지영<sup>1</sup>, 여수환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효식품과

<sup>2</sup>경북대학교 농업생명과학대학 식품공학과

<sup>3</sup>강원대학교 식품생명공학과

<sup>4</sup>강원도농업기술원 농식품연구소

Received: July 15, 2015 / Revised: August 5, 2015 / Accepted: August 5, 2015

### Characterization of Ethanol Fermentation with Wild Type Yeast Strains

Seong Yeol Baek<sup>1,2</sup>, You Jung Lee<sup>1</sup>, Myoung-Dong Kim<sup>3</sup>, Jae-Hyoung Yi<sup>4</sup>, Ji-Young Mun<sup>1</sup>, and Soo-Hwan Yeo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fermented Food Division, Department of Agro-food Resource, NAAS, RDA, Jeollabuk-do 565-851, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea

<sup>4</sup>Agro-food Research Institute, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 200-822, Republic of Korea

The objective of this study was to improve the quality of Korean rice wine with wild type yeast strains isolated from various traditional Korean fermented foods. Herein the fermentation and sensory characterization of wild yeast, for the purposes of brewing Korean rice wine, was investigated. 12 yeast strains were examined for their ethanol and glucose tolerance. In addition, the pH, soluble solids, acidity, amino acidity, ethanol content, organic acids, and volatile compounds were also studied for the alcoholic beverages made with the wild yeasts. Almost all *Saccharomyces* genera yeasts were showed to have a tolerance at 10% ethanol, but non-*Saccharomyces* genera yeasts displayed a low tolerance. The alcoholic beverages fermented by non-*Saccharomyces* yeasts demonstrated higher levels of soluble solids, titratable acidity, amino acids, and lower ethanol content, when compared with the alcoholic beverages fermented by *Saccharomyces* genera yeasts. The organic acid content, such as malic acid, acetic acid, and succinic acid, was seen to also be higher. The electronic nose was analyzed, and discriminant function analysis (DFA) was used for discriminating wild yeast strains. The DFA plots indicated a significant separation of *Saccharomyces* genera and non-*Saccharomyces* yeast strains. For volatile compounds, ethyl acetate from non-*Saccharomyces* yeasts, and ethanol from *Saccharomyces* genera yeast, a high area ratio was observed.

**Keywords:** Korean rice wine, fermentation, volatile compound, non-*Saccharomyces*, electronic nose

## 서 론

발효는 오래전부터 자연발생적으로 미생물에 의해 생겨난 현상으로 미생물이 밝혀지기 전부터 이를 이용해 왔다. 과학이 발달하면서 미생물의 존재와 그 기능이 밝혀지게 되었고, 사람들은 미생물을 이용하여 다양한 발효식품을 만들어왔다 [20]. 최근 대부분의 발효는 자연계에서 분리된 미생물을 배양하여 종균(starter) 형태로 개발된 균을 사용하고 있다. 이

러한 목적으로 다양한 종류의 효모가 분리·동정되었으며 그 중 일부는 빵과 술을 만드는 *Saccharomyces cerevisiae*로 알려져 있다[15]. 우리나라의 경우도 전통주를 빚기 전에 주모를 제조한다. 주모란 밀술 또는 술밑으로 효모를 순수하게 배양해 놓은 일종의 스타터이다. 주모로 사용하는 대표적인 미생물은 *S. cerevisiae*이며, 효모 중에서 알코올 생산에 관여하는 미생물이다[9, 10]. 우리 고유의 전통주인 탁주는 자연 상태의 곰팡이, 효모 및 세균에 의해 발효된 누룩을 이용하여 전분질 원료를 병행복 발효 방식으로 알코올 발효한 것이다. 병행 복발효주는 전분질을 미생물이 생성한 효소로 당화시켜 효모에 의해 알코올 발효한 것으로 탁주, 약주 및 청주 등이 있다. 효모에 의한 발효는 탁주의 맛을 좌우하는

### \*Corresponding author

Tel: +82-63-238-3610, Fax: +82-63-238-3843

E-mail: yeobio@korea.kr

© 2015, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

여러 요인 중 하나이며 효모의 종류에 의해 고유의 향미를 생성 한다고 알려져 있다[8].

수입 주류와 경쟁력을 갖춘 우리 술을 개발하기 위해서는 주류 제조의 원천 기반 기술인 우수한 토착 발효미생물의 확보가 필수적이다. 예로부터 우리나라는 발효공학적으로 가장 특징적인 누룩을 이용한 양조기술이 발전되었지만, 일제강점기를 거쳐 주류 제조법의 현대화 과정에서 주 미생물원인 누룩의 가치가 제대로 평가 받지 못하면서 전통 양조기술이 위축되었다[11]. 그러나 최근 전통주에 대한 소비자의 관심 증대와 소비가 늘어남에 따라 전통주의 품질 향상을 위해, 전국의 전통누룩으로부터 분리한 야생 효모의 향미 증가와 양조 특성에 관한 연구가 수행되고 있다.

유럽의 와인 산업계에서는 *Saccharomyces* 속 효모가 아닌 야생 효모에 대한 관심과 연구가 증가하고 있다. 특히, non-*Saccharomyces* 효모는 포도밭에서 분리되는 야생 효모로 다양한 효소를 생산함으로써 와인의 향미에 중요한 역할을 한다고 보고되었다[2]. 와인 제조사 및 미생물학자들은 non-*Saccharomyces* 효모가 와인의 관능적 특성에 관여하고 있음을 인지하고, 산업적 응용에 대해 관심을 가지고 있다. 그리고 non-*Saccharomyces* 효모의 일부 종과 *S. cerevisiae*와의 혼합 발효를 통해 와인의 풍미와 품질을 향상시킨 연구 결과도 보고되었다[3]. 발효능이 낮은 레몬형 효모인 *Hanseniaspora uvarum*과 이의 무성세대인 *Kloeckera apiculata*는 포도 과피 표면에 가장 많이 존재하는 미생물로서 와인의 알코올 발효 초기에 우점종으로 작용하는 야생 효모로 보고되었다[5]. 이러한 효모들은 와인의 휘발성 향기성분 생성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[3]. 전통주에 관한 non-*Saccharomyces* 효모 연구는 Kim 등[12]에

의해 *Pichia anomala*를 이용한 막걸리의 품질 향상 연구가 수행되었다.

우리 술의 주질 개선 연구 중 야생 효모에 관한 연구로는 Kim 등[11]의 청주제조, Lee 등[16]의 탁주 향기성분, Kim 등[13]의 포도주 제조, Lee 등[17]의 오미자 발효주의 제조 등으로 대부분 *S. cerevisiae*에 관한 연구이며, non-*Saccharomyces* 효모에 관한 연구는 Kim 등[12]의 *P. anomala* 효모에 관한 막걸리 연구가 처음 보고되었다.

본 연구는 전보[1]에서 선별된 야생 효모 12 균주에 대한 알코올과 당 내성을 조사하였으며, 낱알누룩의 당화액을 야생 효모로 알코올 발효시켜 이들의 양조적성을 분석하여 우리 술의 품질 향상과 다양성 확보를 위한 야생 효모의 활용 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 효모 균주

본 실험에 사용한 효모는 전보[1]에서 선별한 효모 12균주를 사용하였다(Table 1). 비교 균주로 시판효모인 Fermivin (*Saccharomyces cerevisiae*, Oenobrands, France), Frootzen (*Pichia kluyveri*, Chr. Hansen, Denmark)을 사용하였다. 실험 효모는 YPD 액체배지에 배양 후, 글리세롤을 20% 함유하도록 첨가하여 초저온냉동고(-80°C)에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 당화액 및 알코올 발효액 제조

본 연구에서는 효모에 의한 알코올 발효 특성을 조사하기 위해, Kim 등[11]의 방법을 응용하여 낱알누룩을 이용한 당

**Table 1. List of isolated wild type yeasts from different kind of fermented foods and commercial yeasts.**

Species	Strain	Source
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	N43-8	Nuruk, Jeonju-si, Jeollabuk-do
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	SM2-7	Yakju (Sinju), Bucheon-si, Gyeonggi-do
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Y685	Meju, Jeongseon-gun, Gangwon-do
<i>Pichia kudriavzevii</i>	N77-4	Nuruk, Seoul
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	HP1-2	Peach, Suwon-si, Gyeonggi-do
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	N56-10	Nuruk, Seogwipo-si, Jeju-do
<i>Candida tropicalis</i>	Y447	Meju, Gunsan-si, Jeollabuk-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	BY30-1	Fermented Liquid, Namyangju-si, Gyeonggi-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	A9-2	Apple wine, Gongju-si, Chungcheongnam-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CM4-5	Yakju (Chukbae), Bucheon-si, Gyeonggi-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	M1-9	Nuruk, Bucheon-si, Gyeonggi-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	SD1-2	Yakju (Sinju), Bucheon-si, Gyeonggi-do
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fermivin	Strain n°8906 Champagne, France
<i>Pichia kluyveri</i>	Frootzen	Wine, New Zealand

화액을 제조하였다. 당화액 제조는 황국균(*Aseprgillus oryzae*, Choongmoo Fermentation Co. Ltd., Ulju, Korea)으로 낱알누룩을 제조하여, 낱알누룩 250 g을 물 2 L에 혼합 후, 고두밥 1 kg을 넣고 60°C에서 110 rpm으로 24시간 당화하였다. 당화액을 원심분리(8,000 rpm, 10 min)하여 상등액만 회수하여 당도를 16 brix로 조정하였다. 또한 젖산(lactic acid)을 첨가하여 pH 3.7로 조정하고 65°C에서 30분간 저온 살균하였다. 발효를 위한 효모 접종은 글리세롤 보존된 효모를 YPD broth 5 ml에 500 µl 넣어 접종 후 30°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 효모를 200 ml YPD broth에 1 ml씩 접종하여 30°C에서 48시간 배양한 후, 배양액을 1/200 희석하여, 세포계수기(hemocytometer)에 10 µl씩 분주하여 세포수를 측정하였다. 각 효모를 당화액에  $1 \times 10^6$  cell/ml이 되도록 접종하고 25°C에서 5일간 정치 배양한 후, 8,000 rpm에서 10분 원심분리하여 효모를 제거하고, 상등액을 분석하였다.

#### 알코올 내성 및 내당성

알코올 내성은 YM (yeast extract 3%, malt extract 3%, peptone 0.5%, glucose 1%) 액체 배지에 무수 에탄올 농도를 5, 10, 15% (v/v)가 되도록 각각 첨가하였다. 효모를 접종하고 30°C에서 5일간 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다. 내당성은 YM 액체 배지에 glucose가 20, 30, 40% (w/v)가 되도록 첨가한 후 30°C에서 2일간 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다[10].

#### 이화학적 분석

pH는 시료 10 ml를 취하여 pH meter (FE20, Mettler Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였으며, 고형분 함량은 당도계(ATAGO Pocket PAL-1, ATAGO Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 적정 산도는 시료 10 ml에 0.5% phenolphthalein 2-3방울을 떨어뜨린 다음, 0.1 N NaOH로 중화 적정하였으며 소비된 용액의 양을 acetic acid (%)로 환산하였다. 아미노산도는 시료 10 ml를 0.1 N NaOH로 중화시킨 후, 중성 포르말린 용액 5 ml를 가하여 혼합하고 여기에 0.1 N NaOH 용액을 적정하여 pH 8.3이 될 때까지 소요된 0.1 N NaOH의 ml 수로 표시하였다[6]. 알코올 함량은 시료 100 ml를 가열하여 증류액을 80 ml까지 받은 후, 100 ml까지 물로 정용한 후, 온도계와 주정계를 사용하여 그 표시도를 읽어 Gay-Lussac 표로서 15°C로 보정하여 나타내었다[19].

#### 유기산 분석

야생 효모에 의한 알코올 발효액의 유기산은 다음과 같이 분석하였다. 시료 2 ml을 17,000 rpm에서 15분간 원심분리

후, 0.45 µm membrane filter (Millipore Co., Bedford, MA, USA)로 여과한 다음 Sep-pak C18 cartridge (Waters Oasis, Milfort, MA, USA)로 색소를 제거하고 high performance liquid chromatography (HPLC, Chromaster 5000, Hitachi, Ltd, Tokyo, Japan)로 분석하였다. 분석 컬럼은 ODS-100W (4.6 mm × 250.0 mm)를 사용하였다. 이동상은 3 mM perchloric acid를 사용하였으며, flow rate는 0.6 ml/min, column oven 온도는 63°C로 하였다. 컬럼을 통과한 분리물은 반응 용액(0.2 mM bromothymol blue, 15 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 mM NaOH)과 반응한 후, UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 반응 용액의 flow rate는 0.9 ml/min로 하였다.

#### 전자코 분석

Metal oxide sensor (MOS)가 장착된 전자코 시스템(FOX-2000, Alpha MOS, Toulouse, France)을 이용하여 야생 효모에 의한 알코올 발효액의 향기 양상을 측정하였다. 시료 1 ml를 10 ml 헤드 스페이스 용기에 담아 밀봉하고, 실온에서 24시간 방치 후 측정하였다. 시료는 80°C에서 20분간 250 rpm으로 교반하고, 주입구 온도는 130°C 상태에서 주입하였다. 이때 사용한 가스는 공기이며 분당 150 ml의 유속으로 흘러 분석하였다. 각 시료는 3회 반복을 실시하였다. 통계 처리는 Alpha MOS에서 제공된 소프트웨어를 사용하였으며, 판별함수분석(Discriminant Function Analysis; DFA)으로 각 시료간의 휘발성분의 차이를 전체적인 패턴으로 나타내었다[14].

#### 휘발성 화합물 분석

야생 효모에 의한 알코올 발효액의 향기성분은 GC-MS로 분석하였다. 시료를 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 Oasis™ HLB Plus LP 추출 카트리지(Waters Co., MA, USA)에 시료를 흡착시켰다. 펜탄(pentane)과 에테르(ether)를 1:1로 혼합한 용액 1 ml을 카트리지에 넣어 흡착된 성분을 튜브에 받은 후, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣어 용매 성분을 제거하여 전용 용기에 담아 분석하였다. 분석은 가스크로마토그래피 GCMS-QP2010 PLUS (Shimadzu Co., Kyoto, Japan) 기기를 사용하였다. 컬럼은 HP-Innowax fused silica capillary column (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film thickness)을 사용하였고, 컬럼의 온도는 40°C에서 5분, 230°C에서 30분, 주입구와 검출기의 온도는 250°C로 하였다. flow rate는 1.0 ml/min, 시료의 양은 1 µl를 주입하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 야생 효모의 알코올 내성과 당 내성

야생 효모의 알코올 내성(alcohol 5, 10, 15% (v/v))과 당

**Table 2. Effect of alcohol and glucose tolerance about different wild yeasts and commercial yeasts.**

Yeast strains	Alcohol tolerance (OD <sub>600</sub> ) <sup>1</sup>				Glucose tolerance (OD <sub>600</sub> ) <sup>2</sup>			
	0	5	10	15	1	20	30	40
<i>Non-Saccharomyces yeasts</i>								
N43-8	0.92±0.09 <sup>d</sup>	0.78±0.05 <sup>g,h</sup>	0.01±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00	0.96±0.05 <sup>b,c,d,e</sup>	1.24±0.03 <sup>c</sup>	1.07±0.04 <sup>d,e</sup>	0.56±0.00 <sup>d</sup>
SM2-7	0.89±0.02 <sup>d</sup>	0.79±0.01 <sup>g,h</sup>	0.01±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00	0.96±0.02 <sup>b,c,d,e</sup>	1.31±0.01 <sup>c,d</sup>	1.13±0.01 <sup>e</sup>	0.57±0.02 <sup>d</sup>
Y685	0.76±0.01 <sup>c</sup>	0.85±0.07 <sup>h,i</sup>	0.01±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00	1.02±0.08 <sup>d,e,f</sup>	1.39±0.02 <sup>d,e</sup>	1.21±0.02 <sup>f</sup>	0.66±0.04 <sup>d,e</sup>
N77-4	0.56±0.09 <sup>b</sup>	0.66±0.05 <sup>f</sup>	0.24±0.01 <sup>b</sup>	0.00±0.00	1.04±0.00 <sup>e,f</sup>	1.25±0.03 <sup>c</sup>	1.01±0.01 <sup>d</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>
HP1-2	0.37±0.00 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00	0.87±0.07 <sup>a,b</sup>	1.04±0.06 <sup>a</sup>	0.43±0.08 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>
N56-10	0.39±0.01 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00	0.84±0.04 <sup>a</sup>	1.07±0.02 <sup>a</sup>	0.90±0.00 <sup>c</sup>	0.44±0.01 <sup>c</sup>
Y447	0.83±0.01 <sup>c,d</sup>	0.92±0.06 <sup>i</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00	1.08±0.03 <sup>f</sup>	1.07±0.05 <sup>a</sup>	0.37±0.07 <sup>a</sup>	0.04±0.05 <sup>a</sup>
Frootzen	0.91±0.02 <sup>d</sup>	0.72±0.03 <sup>f,g</sup>	0.01±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00	1.11±0.00 <sup>f</sup>	1.15±0.01 <sup>b</sup>	0.83±0.00 <sup>b,c</sup>	0.25±0.01 <sup>b</sup>
<i>S. cerevisiae</i>								
A9-2	0.90±0.02 <sup>d</sup>	0.78±0.00 <sup>g,h</sup>	0.50±0.05 <sup>c</sup>	0.00±0.00	0.92±0.03 <sup>a,b,c</sup>	1.40±0.00 <sup>e</sup>	1.30±0.05 <sup>g,h</sup>	0.72±0.02 <sup>e,f</sup>
CM4-5	0.79±0.01 <sup>c</sup>	0.82±0.00 <sup>h</sup>	0.57±0.04 <sup>c</sup>	0.00±0.00	1.01±0.01 <sup>c,d,e,f</sup>	1.43±0.02 <sup>e</sup>	1.23±0.04 <sup>f,g</sup>	0.79±0.01 <sup>f,g</sup>
SD1-2	0.78±0.00 <sup>c</sup>	0.48±0.03 <sup>d</sup>	0.50±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00	1.10±0.07 <sup>f</sup>	1.44±0.08 <sup>e</sup>	1.22±0.01 <sup>f,g</sup>	0.81±0.08 <sup>f,g</sup>
M1-9	0.86±0.05 <sup>c,d</sup>	0.57±0.00 <sup>e</sup>	0.77±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00	1.06±0.01 <sup>e,f</sup>	1.59±0.05 <sup>f</sup>	1.34±0.00 <sup>h</sup>	0.89±0.11 <sup>g</sup>
BY30-1	0.91±0.03 <sup>d</sup>	0.34±0.01 <sup>c</sup>	0.21±0.09 <sup>b</sup>	0.00±0.00	0.93±0.03 <sup>a,b,c,d</sup>	1.39±0.03 <sup>d,e</sup>	0.79±0.04 <sup>b</sup>	0.31±0.07 <sup>b</sup>
Fermivin	0.84±0.02 <sup>c,d</sup>	0.67±0.06 <sup>f</sup>	0.52±0.04 <sup>c</sup>	0.00±0.00	0.92±0.04 <sup>a,b,c,d</sup>	1.42±0.00 <sup>e</sup>	1.27±0.01 <sup>f,g,h</sup>	0.76±0.04 <sup>e,f</sup>

<sup>1</sup>Yeast strains were cultured at 30°C for 5 days in YM broth containing 0%, 5%, 10% or 15% ethanol.

<sup>2</sup>Yeast strains were cultured at 30°C for 24 hours in YM broth containing 1%, 20%, 30% or 40% glucose.

내성(glucose 20, 30, 40% (w/v)) 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. 알코올 10%에서 효모 M1-9의 흡광도 값은 0.77이며 대조군(Fermivin)은 0.52로 M1-9가 알코올 내성이 높았으며, BY30-1을 제외한 나머지 *S. cerevisiae* 효모는 대조군과 유사한 내성을 나타내었다. *Non-Saccharomyces* 효모 중 알코올 10%에서 내성을 나타내는 효모는 N77-4 뿐이었으며, *S. cerevisiae*보다 전반적으로 알코올 내성이 낮은 것으로 나타났다. 그리고 알코올 15%에서 내성을 보인 효모는 없었다. 당 40%에서 내성은 M1-9가 가장 높았으며, 대조군의 흡광도 값은 0.76이며 M1-9는 0.89로 당 내성이 높았다. 당 40%에서 *non-Saccharomyces* 효모보다 *S. cerevisiae* 효모들이 내성이 높았으며, HP1-2, Y447을 제외한 효모들은 glucose 40%에서 내성을 가지는 것으로 나타났다. Kim 등 [11]이 보고한 알코올 내성 효모와 비교해 본 결과, 본 연구에 사용한 효모는 알코올 15%에서 내성이 매우 낮았으며, 당에 대한 내성도 비슷한 것으로 나타났다.

#### 알코올 발효액의 이화학적 특성

당화액에 야생 효모를 5일간 발효한 발효액의 pH, 고형분, 적정산도, 아미노산도 및 알코올 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. *Saccharomyces* 속 효모의 pH는 3.28–3.49로 나타났다. A9-2 효모가 가장 낮았고 BY30-1가 가장 높게 나타났다. *non-Saccharomyces* 속 효모의 pH는 3.01–3.61로 나

타났으며, N77-4가 가장 낮았으며, Y447 효모가 pH 3.61로 가장 높게 나타났다.

*Saccharomyces* 속 효모의 고형분 함량은 8.73–9.27 °Brix로 나타났으며, M1-9가 가장 낮았고 SD1-2가 가장 높았다. *non-Saccharomyces* 속 효모의 고형분 함량은 8.90–13.10 °Brix로, N77-4가 가장 낮았고 Y447가 가장 높게 나타났다. *Saccharomyces* 속 효모의 고형분 함량은 *non-Saccharomyces* 속 효모보다 낮은 함량을 나타내었고, 이는 *Saccharomyces* 속 효모가 당을 이용하여 알코올 발효가 더 진행된 것으로 보인다.

*Saccharomyces* 속 효모의 적정산도는 0.25–0.28%로 나타났으며, M1-9가 가장 낮았고 SD1-2가 가장 높았다. *non-Saccharomyces* 속 효모는 0.28–0.33%로 나타났으며, Y447가 가장 낮았고 Y685가 가장 높았다. *Non-Saccharomyces* 속 효모의 적정산도가 *Saccharomyces* 속 효모보다 높은 경향을 보였다.

*Saccharomyces* 속 효모의 아미노산도는 1.61–2.02 g/100 ml로 나타났으며, CD4-5가 가장 낮았고 SD1-2가 가장 높았다. *non-Saccharomyces* 속 효모는 1.91–2.61 g/100 ml로 나타났으며, N77-4가 가장 낮았고 N56-10가 가장 높았다.

야생 효모의 알코올 생성 능력을 비교하기 위하여 초기 당화액의 당도를 16 °Brix로 하여 발효하였다. 5일 발효 후의 알코올 함량은 A9-2가 8.5%로 가장 높았으나 대조군을 포

**Table 3. Chemical content of alcohol fermentation with different wild yeasts and commercial yeasts.**

Yeast strains		pH	Soluble solid (°Brix)	Titrateable acidity (%)	Amino acid contents (g/100 ml)	Alcohol (%)
Non-Sacchromyces yeasts						
N43-8	<i>W. anomalus</i>	3.40±0.005 <sup>b,c</sup>	10.05±0.150 <sup>c,d</sup>	0.32±0.025 <sup>c</sup>	2.12±0.057 <sup>e</sup>	3.80±1.13 <sup>c</sup>
SM2-7	<i>W. anomalus</i>	3.40±0.000 <sup>b,c</sup>	9.65±0.250 <sup>b,c</sup>	0.32±0.006 <sup>c</sup>	2.10±0.021 <sup>e</sup>	3.65±0.21 <sup>c</sup>
Y685	<i>W. anomalus</i>	3.41±0.025 <sup>b,c</sup>	10.45±0.650 <sup>d,e</sup>	0.33±0.008 <sup>c</sup>	2.11±0.028 <sup>e</sup>	3.10±0.14 <sup>a,b,c</sup>
N77-4	<i>P. kudriavzevii</i>	3.01±0.020 <sup>a</sup>	8.90±0.100 <sup>a,b</sup>	0.29±0.006 <sup>b,c</sup>	1.91±0.014 <sup>c</sup>	2.25±0.07 <sup>a</sup>
HP1-2	<i>H. opuntiae</i>	3.47±0.157 <sup>c</sup>	11.70±0.200 <sup>f</sup>	0.31±0.026 <sup>c</sup>	2.26±0.007 <sup>f</sup>	2.50±0.42 <sup>a,b</sup>
N56-10	<i>H. uvarum</i>	3.51±0.030 <sup>c,d</sup>	11.45±0.050 <sup>e,f</sup>	0.29±0.003 <sup>b,c</sup>	2.61±0.021 <sup>g</sup>	3.60±0.85 <sup>b,c</sup>
Y447	<i>C. tropicalis</i>	3.61±0.049 <sup>d</sup>	13.10±1.131 <sup>g</sup>	0.28±0.055 <sup>b,c</sup>	2.21±0.007 <sup>f</sup>	3.00±0.28 <sup>a,b,c</sup>
Frootzen	<i>P. kluyveri</i>	3.05±0.025 <sup>a</sup>	12.15±0.150 <sup>f</sup>	0.31±0.011 <sup>c</sup>	1.75±0.014 <sup>b</sup>	3.10±0.14 <sup>a,b,c</sup>
<i>S. cerevisiae</i>						
A9-2	<i>S. cerevisiae</i>	3.28±0.078 <sup>b</sup>	9.13±0.577 <sup>a,b</sup>	0.26±0.042 <sup>a,b</sup>	1.72±0.021 <sup>b</sup>	8.50±0.42 <sup>d</sup>
CM4-5	<i>S. cerevisiae</i>	3.31±0.098 <sup>b</sup>	8.83±0.493 <sup>a</sup>	0.26±0.015 <sup>a,b</sup>	1.61±0.014 <sup>a</sup>	7.50±0.14 <sup>d</sup>
SD1-2	<i>S. cerevisiae</i>	3.39±0.074 <sup>b,c</sup>	9.27±0.643 <sup>a,b</sup>	0.28±0.021 <sup>a,b,c</sup>	2.02±0.021 <sup>d</sup>	8.40±0.28 <sup>d</sup>
M1-9	<i>S. cerevisiae</i>	3.30±0.081 <sup>b</sup>	8.73±0.651 <sup>a</sup>	0.25±0.026 <sup>a,b</sup>	1.88±0.028 <sup>c</sup>	7.80±0.00 <sup>d</sup>
BY30-1	<i>S. cerevisiae</i>	3.49±0.080 <sup>c,d</sup>	8.90±0.000 <sup>a,b</sup>	0.26±0.011 <sup>a,b</sup>	1.62±0.021 <sup>a</sup>	7.40±0.71 <sup>d</sup>
Fermivin	<i>S. cerevisiae</i>	3.29±0.091 <sup>b</sup>	9.00±0.624 <sup>a</sup>	0.24±0.038 <sup>a</sup>	1.75±0.007 <sup>b</sup>	8.20±0.00 <sup>d</sup>

Data are means±standard deviations of two independent experiments. Values displaying different superscript letter (<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>) according to the Duncan test (0.05%).

**Table 4. Concentrations of organic acid of alcohol fermentation with different wild yeasts and commercial yeasts.**

(Unit: g/l)

Yeast strains		Oxalic acid	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
Non-Sacchromyces yeasts							
N43-8	<i>W. anomalus</i>	0.27±0.001 <sup>e,f,g</sup>	0.21±0.033 <sup>a,b</sup>	1.66±0.031 <sup>a</sup>	1.56±0.032 <sup>d</sup>	0.10±0.036 <sup>a,b</sup>	0.20±0.048 <sup>b,c</sup>
SM2-7	<i>W. anomalus</i>	0.29±0.008 <sup>f,g</sup>	0.26±0.025 <sup>b</sup>	1.68±0.033 <sup>a</sup>	1.72±0.220 <sup>d</sup>	0.12±0.042 <sup>a,b</sup>	0.22±0.068 <sup>b,c</sup>
Y685	<i>W. anomalus</i>	0.29±0.001 <sup>f,g</sup>	0.26±0.090 <sup>b</sup>	1.75±0.154 <sup>a,b</sup>	1.58±0.180 <sup>d</sup>	0.15±0.002 <sup>b</sup>	0.17±0.067 <sup>a,b,c</sup>
N77-4	<i>P. kudriavzevii</i>	0.24±0.018 <sup>c,d,e,f</sup>	0.60±0.197 <sup>c</sup>	1.86±0.162 <sup>a,b</sup>	0.29±0.018 <sup>a,b</sup>	0.09±0.048 <sup>a,b</sup>	0.27±0.071 <sup>c</sup>
HP1-2	<i>H. opuntiae</i>	0.28±0.007 <sup>f,g</sup>	0.29±0.069 <sup>b</sup>	1.94±0.164 <sup>a,b</sup>	0.41±0.071 <sup>b</sup>	0.08±0.022 <sup>a</sup>	0.18±0.077 <sup>b,c</sup>
N56-10	<i>H. uvarum</i>	0.30±0.003 <sup>g</sup>	0.32±0.110 <sup>b</sup>	1.82±0.079 <sup>a,b</sup>	0.77±0.275 <sup>c</sup>	0.10±0.025 <sup>a,b</sup>	0.21±0.140 <sup>b,c</sup>
Y447	<i>C. tropicalis</i>	0.23±0.027 <sup>c,d,e</sup>	0.24±0.034 <sup>a,b</sup>	1.94±0.258 <sup>a,b</sup>	0.30±0.085 <sup>a,b</sup>	0.08±0.023 <sup>a</sup>	0.22±0.038 <sup>b,c</sup>
Frootzen	<i>P. kluyveri</i>	0.29±0.004 <sup>f,g</sup>	0.61±0.175 <sup>c</sup>	1.96±0.026 <sup>a,b</sup>	0.49±0.007 <sup>b</sup>	0.10±0.020 <sup>a,b</sup>	0.14±0.039 <sup>a,b,c</sup>
<i>S. cerevisiae</i>							
A9-2	<i>S. cerevisiae</i>	0.16±0.035 <sup>a</sup>	0.26±0.033 <sup>b</sup>	1.95±0.103 <sup>a,b</sup>	0.31±0.079 <sup>a,b</sup>	0.06±0.016 <sup>a</sup>	0.10±0.011 <sup>a,b</sup>
CM4-5	<i>S. cerevisiae</i>	0.18±0.033 <sup>a,b</sup>	0.25±0.056 <sup>a,b</sup>	1.92±0.146 <sup>a,b</sup>	0.36±0.062 <sup>a,b</sup>	0.08±0.004 <sup>a</sup>	0.12±0.092 <sup>a,b,c</sup>
SD1-2	<i>S. cerevisiae</i>	0.21±0.020 <sup>b,c,d</sup>	0.28±0.003 <sup>b</sup>	1.91±0.082 <sup>a,b</sup>	0.49±0.071 <sup>b</sup>	0.08±0.006 <sup>a</sup>	0.22±0.005 <sup>b,c</sup>
M1-9	<i>S. cerevisiae</i>	0.18±0.030 <sup>a,b</sup>	0.28±0.047 <sup>b</sup>	1.89±0.145 <sup>a,b</sup>	0.43±0.099 <sup>b</sup>	0.06±0.004 <sup>a</sup>	0.13±0.060 <sup>a,b,c</sup>
BY30-1	<i>S. cerevisiae</i>	0.22±0.000 <sup>b,c,d</sup>	0.21±0.019 <sup>a,b</sup>	2.06±0.298 <sup>b</sup>	0.35±0.026 <sup>a,b</sup>	0.08±0.029 <sup>a</sup>	0.13±0.060 <sup>a,b</sup>
Fermivin	<i>S. cerevisiae</i>	0.19±0.020 <sup>a,b,c</sup>	0.19±0.052 <sup>a,b</sup>	2.00±0.033 <sup>a,b</sup>	0.25±0.152 <sup>a,b</sup>	0.08±0.020 <sup>a</sup>	0.16±0.017 <sup>b,c</sup>
Medium		0.31±0.040 <sup>g</sup>	0.05±0.039 <sup>a</sup>	1.89±0.132 <sup>a,b</sup>	0.09±0.041 <sup>a</sup>	0.09±0.021 <sup>a</sup>	nd <sup>a</sup>

Data are means±standard deviations of two independent experiments. Values displaying different superscript letter (<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>) according to the Duncan test (0.05%).

nd : Not detected.

함한 *S. cerevisiae* 6종류는 7.4–8.5%로 유의적인 차이는 없었다. 대조군을 포함한 non-*Saccharomyces* 속 8종류는 최소 2.25%에서 최대 3.8%까지 알코올 생성 능력을 보였으며, N43-8, SM2-7이 non-*Saccharomyces* 속에서 가장 높은 알코올 함량을 나타내었다. 최근, Kim 등[11]이 보고한 알코올 함량은 유사하거나 높은 편으로 나타났다.

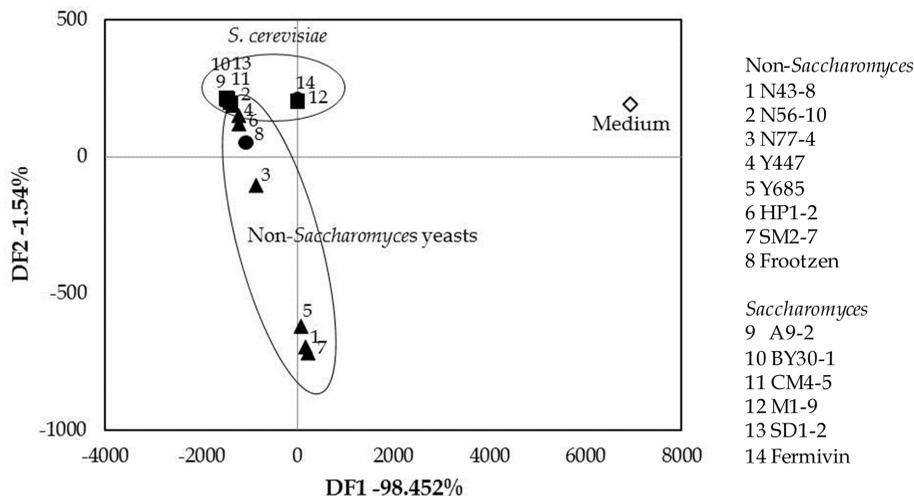
**야생 효모에 따른 알코올 발효액의 유기산 분석**

당화액에 효모를 5일간 발효한 다음 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 유기산 중 사과산(malic acid) 함량은 *Saccharomyces* 속 효모의 경우, 0.21–0.28 g/l로 나타났으며, BY30-1가 가장 낮았으며 SD1-2과 M1-9가 가장 높은 함량을 나타내었다. non-*Saccharomyces* 속 효모의 사과산 함량은 0.21–0.60 g/l로 나타났으며, N77-4은 N43-8보다 약 3배 가량 높았다. *P. kudriavzevii* N77-4 효모로 발효한 당화액의 사과산 함량이 높았으며 이는 시판 효모(Frootzen)와 유사한 결과를 나타내었다. Kim 등[12]의 연구에서도 *S. cerevisiae* 보다 *P. anomala*가 생성한 사과산이 더 높았으며, 본 연구의 결과와 유사하였다. 초산(acetic acid) 함량은 *Saccharomyces* 속 효모의 경우 0.31–0.49 g/l로 나타났으며, A9-2가 가장 함량이 낮았으며 SD1-2가 가장 높은 함량을 나타내었다. Non-*Saccharomyces* 속 효모의 초산 함량은 0.29–1.72 g/l로 나타났으며, *P. kudriavzevii* N77-4가 가장 낮았으며, *W. anomalus* SM2-7가 가장 높았다. 주류 제조 중 품질에 나쁜 영향을 미치는 초산 함량은 전반적으로 non-*Saccharomyces* 속 효모에서 함량이 높은 것으로 보아 이들 야생 효모는 *Saccharomyces* 속 효모보다 초산을 더 생산하는 것으로 추측된다. 하지만 N77-4의 초산 함량은 *Saccharomyces*

속 효모와 유사하거나 낮은 결과를 나타내었다. 호박산(succinic acid) 함량은 *Saccharomyces* 속 효모의 경우 0.10–0.22 g/l로 나타났으며, A9-2가 가장 낮았고 SD1-2가 가장 높게 나타났다. Non-*Saccharomyces* 속 효모는 0.17–0.27 g/l로 나타났으며, *W. anomalus* Y685가 가장 낮았으며, *P. kudriavzevii* N77-4가 가장 높았다. 야생 효모에 따른 유기산 분석 결과 사과산, 초산, 호박산 등이 초기 당화액에 비해 증가하였으며, 그 중 *P. kudriavzevii* N77-4는 낮은 초산 함량과 사과산, 호박산의 높은 함량을 보여 유기산에 의한 관능적 특성이 뛰어난 것을 알 수 있었다.

**야생 효모에 따른 알코올 발효액의 전자코 분석**

당화액에 효모를 접종하여 5일간 발효한 다음, 각 효모의 향기 패턴을 조사하기 위해, 전자코를 사용하여 시료간의 판별함수 분석 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서와 같이 당화액과 효모에 의한 알코올 발효액을 대상으로 분석한 결과, 당화액이 오른쪽에 위치하였고 효모 12균주의 발효액 시료가 DF1 값의 왼쪽에 위치하는 것으로 보아 DF1 값이 오른쪽 방향에서 왼쪽으로 이동할수록 휘발성분이 감지되는 것으로 분석되었다. 그 결과, 가로축에 해당하는 DF1의 F 값이 98.45%, 세로축에 해당하는 DF2의 값이 1.54%로 시료간의 차별성이 x축과 y축이 60:1의 비율로 영향을 받아 구분되었다. 당화액 시료는 DF1의 오른쪽 범주에 속했으며, 효모에 의한 알코올 발효액은 DF1의 왼쪽 범주에 속하여 발효에 따른 뚜렷한 차이를 보였다. 또한 *S. cerevisiae*와 비교하였을 때 non-*Saccharomyces* 속의 일부 효모는 DF2의 아래쪽 범주에 속하여 효모 발효에 의한 향기 패턴의 차이가 나타났다. Cordero-Bueso 등[4]이 보고한 포도주 발효를 위



**Fig. 1. Discriminant function analysis (DFA) of the obtained data from electronic nose date for the flavor patterns of alcohol fermentation with different wild yeasts and commercial yeasts.** ◇ ; Medium, ▲ ; Non-*Saccharomyces* yeasts, ■ ; *S. cerevisiae*.

한 non-*Saccharomyces* 연구에 의하면 효모의 종에 따라 생산하는 주요 향기성분의 차이를 주성분분석(PCA, principal component analysis)으로 나타내었으며, *S. cerevisiae*, *P. kudjavevii*, *W. anomalus*, *C. stellate* 등이 서로 다른 군집을 형성하는 것으로 보고되어 본 연구의 결과와 유사하였다. 효모 종마다 생산하는 주요 향기 성분과 기질에 따른 변화 등 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

**야생 효모에 따른 알코올 발효액의 휘발성 향기성분**

당화액에 효모 종류를 달리하여 5일간 발효한 알코올 발효액의 휘발성 향기성분을 GC-MS로 분석한 결과를 Table 5, 6에 나타내었다. Non-*Saccharomyces* 속 효모의 주요 휘발성 향기성분은 ethyl acetate (11.71-91.88%)와 ethanol (2.16-52.26%)로 나타났다. 반면 *S. cerevisiae* 효모의 주요 휘발성 향기성분은 ethanol (37.67-62.89%)과 ethyl acetate (1.32-11.97%)로 분석되었다. 알코올류에 대해 시험구별로

살펴보면 *S. cerevisiae*와 non-*Saccharomyces* 속 효모로 크게 구별되었는데, *S. cerevisiae*는 ethanol 외에도 3-methyl-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol 등 다양한 종류의 알코올들이 검출되었다. 반면 non-*Saccharomyces* 속 효모는 에탄올 및 알코올류 등의 휘발성 향기성분들이 낮은 비율을 나타내었다. 국내 생산되는 대부분의 막걸리 향기 성분은 원료, 누룩, 주모 및 담금 후 술덧에 생육하는 각종 미생물의 발효작용에 의해 생성되며, 고급 알코올류에 속하는 향기성분들은 isoamyl alcohol과 2-methyl-1-propanol로 보고되었다[16]. 본 연구에서 2-methyl-1-propanol은 모든 *S. cerevisiae* 시험구에서 검출되었으며(0.68-3.12%), non-*Saccharomyces* 속 효모는 *C. tropicalis* Y447에서 4.41%로 가장 높게 나타났다.

Non-*Saccharomyces* 속 알코올 발효액의 주요 휘발성 향기성분은 ethyl acetate로 나타났다. *W. anomalus* 효모 (N43-8, SM 2-7, Y685)의 ethyl acetate의 휘발성 향기 성분

**Table 5. Volatile compound content of alcohol fermentation with different non-*Saccharomyces* yeasts and commercial yeast.**

(Unit : peak area %)

Volatile compounds	N43-8	SM2-7	Y685	N77-4	HP1-2	N56-10	Y447	Frootzen	Medium
Acetic acid	0.69	nd	0.6	nd	0.89	1.81	nd	nd	nd
Tetrahydro-2-methyl-furan	nd	nd	nd	nd	0.33	23.64	nd	0.08	0.61
Ethyl acetate	91.88	90.82	78.97	74.72	34.2	25.03	11.71	60.81	5.41
Isoamyl acetoacetate	0.49	0.125	nd	0.715	1.09	1.025	4.49	nd	nd
Ethanol	2.3	2.16	2.91	8.89	41.16	20.17	52.26	17.47	nd
Heptyl alcohol	nd	nd	nd	nd	nd	0.63	nd	0.11	1.29
2-Butanol	nd	nd	nd	nd	0.12	nd	nd	nd	nd
1-Heptanol	nd	nd	nd	nd	0.31	nd	nd	nd	nd
2-Methyl-1-pentanol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.58
3-Methyl-1-butanol	0.04	nd	0.07	nd	nd	0.58	nd	nd	1.23
2-Methyl-1-propanol	0.15	0.08	nd	nd	0.93	nd	4.41	nd	nd
2-Methyl-1-butanol	0.15	nd	0.25	nd	0.8	1.03	1.42	nd	nd
2-Phenyl ethanol	nd	nd	nd	nd	0.37	nd	nd	nd	nd
3,3-dimethyl-4-[(1-methyl-ethyl)amino]-2-Butanone	1.25	2.94	1.61	6.23	nd	5.05	7.42	13.59	19.23
2-Methylheptane	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.19
Benzene	nd	nd	7.18	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methoxyethyl) ester	nd	nd	2.38	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2,4-dimethyl hexane	1.15	0.89	0.9	4.34	7.18	6.79	11.18	7.31	6.59
Decane	1.25	0.56	0.72	2.76	6.57	7.70	7.55	1.50	5.21
Dodecane	nd	nd	nd	1.32	nd	nd	nd	5.42	10.43
Propadiene	0.08	nd	nd	nd	0.4	1.03	nd	nd	nd
1-Decene	0.08	nd	nd	nd	0.40	1.03	nd	nd	1.2

nd : Not detected.

Table 6. Volatile compound content of alcohol fermentation with different wild-type *S. cerevisiae* yeasts and commercial yeast.

(Unit : peak area %)

Volatile compounds	A9-2	CM4-5	SD1-2	M1-9	BY30-1	Fermivin	Medium
Acetic acid	0.39	nd	0.43	nd	nd	nd	nd
Tetrahydro-2-methyl-furan	0.24	nd	0.14	nd	0.2	nd	0.61
Ethyl acetate	4.01	8.29	2.49	3.44	5.02	5.35	5.41
Isoamyl acetoacetate	4.00	9.15	1.32	3.80	5.46	11.97	nd
Ethanol	62.89	41.71	51.96	37.67	40.19	37.12	nd
Heptyl alcohol	0.54	nd	0.18	nd	0.47	nd	1.29
2-Butanol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1-Heptanol	0.10	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2-Methyl-1-pentanol	0.57	nd	nd	nd	nd	nd	1.58
3-Methyl-1-butanol	0.52	0.43	0.17	0.37	nd	0.24	1.23
2-Methyl-1-propanol	2.27	3.12	0.68	2.31	1.22	2.58	nd
2-Methyl-1-butanol	2.12	3.24	0.63	2.57	0.79	3.04	nd
3,3-dimethyl-4-[(1-methyl-ethyl)amino]-2-Butanone	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2-Methylheptane	7.71	9.16	nd	12.76	13.36	6.39	19.23
Benzene	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methoxyethyl) ester	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2,4-dimethyl hexane	3.74	nd	nd	3.68	15.69	8.68	11.19
Decane	6.45	11.06	9.26	12.34	13.19	9.32	6.59
Dodecane	1.88	10.77	0.94	11.19	11.84	10.24	5.21
Propadiene	nd	nd	47.84	3.11	nd	nd	10.43
1-Decene	0.48	nd	0.2	0.4	nd	0.53	nd

nd : Not detected.

이 높게 나타났으며, 그 중 *W. anomalus* N43-8 효모가 91.88%로써 시판 효모인 Frotzen과 Fermivin보다 1.5배에서 17배 이상 높게 나타났다. 그리고 *P. kudriavzevii* N77-4 효모도 74.72%로 높게 나타났다. 특히, ethyl acetate 화합물은 시럽의 향료로 사용되며 배향, 바나나향, 사과향 등의 향을 내는 에스테르 중의 하나로 알려져 있다[21]. 휘발성 향기성분인 ethyl acetate는 우리나라 전통주, 맥주뿐만 아니라 일본 증류식 소주의 대표적인 에스테르 성분이지만 농도가 높으면 오히려 쓴맛의 원인물질로 알려져 있고[7], 방향성 향기성분으로서 알코올류보다 향미 기여도가 높다고 보고되었다[16]. Acetic acid는 주류의 발효 과정에서 세균과 효모의 발효 작용으로 생성되는 산화 생성물로서 자극취를 나타내는 산미 성분이며[15], non-*Saccharomyces* 속 효모 중 *H. uvarum* N56-10, *H. opuntiae* HP1-2, *W. anomalus* N43-8, Y685에서 소량(1.81%, 0.89%, 0.69%, 0.6%) 생성되었다. *S. cerevisiae* A9-2와 SD1-2의 초산은 각각 0.39%, 0.43%로 나타나 non-*Saccharomyces* 속 효모에 비해 초산 함량이 낮기

나 거의 생성되지 않았다.

본 연구의 결과는 Lee 등[18]의 누룩 종류를 달리한 탁주 술덧과 효모 종류를 달리한 탁주 술덧[16]보다 향기성분의 종류는 적었지만 검출된 휘발성 향기성분 중 ethanol, ethyl acetate, 2-methyl-1-propanol, acetic acid 등 5종은 Lee 등 [16, 18]의 결과와 공통된 향기성분을 가지고 있었다. 그러나 tetrahydro-2-methyl-furan, isoamyl acetoacetate, decane, dodecane 등 17종은 본 연구에서만 검출된 것으로 보아 효모 종류에 따라 면적 비율이나 주성분 등에 차이가 있을 것을 알 수 있었다.

## 요 약

발효식품에서 분리한 야생 효모 12 균주의 주류 제조 가능성을 조사하기 위해, 알코올 발효에 관여하는 특성을 분석하였다. 알코올 및 당 내성을 조사한 후, 당화액을 제조하여 pH, 고형분 함량, 적정산도, 아미노산도, 알코올, 유기산 및

향기성분 등을 분석하였다. *S. cerevisiae* 효모의 알코올 내성은 10%에서 보였으나 non-*Saccharomyces* 효모는 *P. kudriavzevii* N77-4를 제외하고 내성이 낮았다. 당 내성은 *H. opuntiae* HP1-2, *C. tropicalis* Y447을 제외한 효모에서 모두 우수하였다. 야생 효모를 이용한 알코올 발효액의 pH는 3.01–3.61, 고형분 함량은 8.73–13.10°Brix로 *S. cerevisiae* 보다 non-*Saccharomyces*가 높았다. 적정산도는 0.25–0.33%로, 아미노산도는 1.61–2.61 g/100 ml으로 non-*Saccharomyces* 효모가 높은 값을 나타내었다. 알코올 함량은 2.25–8.5%로 *S. cerevisiae*에 비해 non-*Saccharomyces* 효모가 매우 낮았다. 야생 효모로 알코올 발효시 유기산은 사과산, 초산, 호박산 등이 증가하였고, 그 중 *P. kudriavzevii* N77-4는 낮은 초산 함량과 높은 사과산 및 호박산 함량을 나타내었다. 당화액을 전자코로 분석한 결과, DF1의 오른쪽 범주에 속했으며, 효모 발효액은 DF1의 왼쪽 범주에 속하여 발효에 따른 뚜렷한 차이를 보였다. 휘발성 향기성분은 non-*Saccharomyces* 효모에서 ethyl acetate가, *S. cerevisiae* 효모는 ethanol 화합물이 높은 향기성분을 나타내었다.

## Acknowledgments

This work was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ00947701)” Rural Development Administration, Republic of Korea.

## References

- Baek SY, Lee YJ, Kim JH, Yeo SH. 2015. Isolation and characterization of wild yeasts for improving liquor flavor and quality. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **43**: 56–64.
- Charoenchai C, Fleet GH, Henschke PA, Todd BEN. 1997. Screening of non-*Saccharomyces* wine yeasts for the present of extracellular hydrolytic enzymes. *Australian J. Grape Wine Res.* **3**: 2–8.
- Ciani M, Beco L, Comitini F. 2006. Fermentation behavior and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* **108**: 239–245.
- Cordero-Bueso G, Esteve-Zarzoso B, Cabellos JM, Gil-Diaz M, Arroyo T. 2013. Biotechnological potential of non-*Saccharomyces* yeasts isolated during spontaneous fermentations of Malvar (*Vitis vinifera* cv.L.). *Eur. Food Res. Technol.* **236**: 193–207.
- Fleet GH. 1993. The microorganisms of winemaking-isolation, enumeration and identification. In: Fleet GH (ed) *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Academic Publishers, Switzerland. pp. 1–25.
- Im SY, Baek CH, Baek SY, Park HY, Choi HS, Choi JH, et al. 2014. Quality characteristics of *Takju* according to different rice varieties and mixing ratio of *Nuruk*. *Korean J. Food Preserv.* **21**: 892–902.
- In HY, Lee TS, Lee DS, Noh BS. 1995. Volatile components and fusel oils of sojues and mashes brewed by Korean traditional method. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**: 235–240.
- Jeon HJ, Yu JC, Kim GW, Kong HS. 2014. Quality characteristics of *Takju* by yeast strain type. *Korean J. Food Nutr.* **27**: 971–978.
- Jin TY, Kim ES, Eun JB, Wang SJ, Wang MH. 2007. Changes in physicochemical and sensory characteristics of rice wine, *yakju* prepared with different amount of red yeast rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**: 309–314.
- Jung HK, Park CD, Park HH, Lee GD, Lee IS, Hong JH. 2006. Manufacturing and characteristics of Korean traditional liquor, *Hahyangju* prepared by *Saccharomyces cerevisiae* HA3 isolated from traditional *Nuruk*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**: 659–667.
- Kim HR, Baek SH, Seo MJ, Ahn BH. 2006. Feasibility of Cheongju Brewing with wild type yeast strains from *Nuruks*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 244–249.
- Kim HR, Kim JH, Bai DH, Ahn BH. 2012. Feasibility of brewing *Makgeolli* using *Pichia anomala* Y197-13, a Non-*Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 1749–1757.
- Kim JI, Lee NK, Hahm YT. 2007. Isolation and Identification of wild Yeast and its use for the production of grapewine. *Korean J. Microbiol.* **43**: 217–221.
- Kim KH, Dong HM, Han HJ, Lee YH, Moon JY, Bang KH, Noh BS. 2013. Analysis of geographical origin of red ginseng extract using mass spectrometer-based electronic nose. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 652–656.
- Kurtzman CP, Fell JW. 1998. *The Yeasts, A Taxonomic Study* (fourth edition). Elsevier, Amsterdam, Netherlands. pp. 358–371.
- Lee HS, Lee TS, Noh BS. 2007. Volatile flavor components in the mashes of *Takju* prepared using different yeasts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**: 593–599.
- Lee SH, Park HK, Kim MH. 2010. Isolation and identification of wild yeasts from *Schizandra* (*Schizandra chinensis*) for wine production and its characterization for physicochemical and sensory evaluations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 1860–1866.
- Lee TS, Choi JY. 2005. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using *Aspergillus kawachii* nuruks. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 944–950.
- Min YK, Lee MK, Jeong HS. 1997. Fermentation characteristics of jujube alcoholic beverage from different additional level of jujube fruit. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **40**: 433–437.
- Montville TJ, Matthews KR. 2005. *Food microbiol.* : an introduction. ASM Press, Washington, D.C., USA. pp. 223–239.
- Nishiya T. 1997. Composition of soju. *J. Jpn. Soc. Brew.* **72**: 415–432.