

# 몇 가지 酵母의 酸 및 알콜生成에 미치는 酵醇條件의 影響

朴允仲·孫天培

## The Influence of Fermentation Conditions on the Formation of Acid and Alcohol by Some Yeast Strains

Yoon-joong Park and Cheon-bae Sohn\*

### SUMMARY

These experiments were conducted to investigate the formation of organic acid and ethanol during fermentation by three yeast strains. One of these was industrial strain (No.7) from Japan, and the others were wild types (No. 47, No. 239) isolated from Takju-mash and Strawberry, respectively. Conditions of fermentation were varied by differing the supply of oxygen (air), and by using different fermentation media. The results obtained were as follows:

- 1) All the yeast strains produced higher amount of total organic acid and ethanol under the conditions which were aerobic, i.e. the flasks were opened during fermentation, than in case of using the flasks with fermentation bung.
- 2) Organic acid and ethanol were produced rapidly in the mash medium than in the semi-synthetic medium, i.e. total amount of organic acid and ethanol was maximized in a short time in the mash medium.
- 3) On the mash medium, the highest amount of organic acid was obtained by the strain No. 239, the next by No. 7 and the lowest by No. 47. Ethanol was produced on this medium with decreasing order of No. 47, No. 239, and No. 7.
- 4) The strain No. 239 was proved to be a powerful organic acid producer, yielding higher amount of organic acid especially under the aerobic conditions.
- 5) Above results suggests that the strain No. 239 could be of useful in alcoholic drink

\* Dept. of Food Sci. & Technol., Coll. of Agr., Chungnam Univ.

industry, due to its powerful ethanol-producing characteristic accompanying with high yielding of organic acids.

### 酵母

## I. 緒論

酵母는 菌株에 따라 알콜釀酵力, 生酸性等이 다르며 이의한 酵母의 特徵은 酒質에 影響을 미치게 된다. 特히 酵母가 生成하는 有機酸은 酒類에 있어서 呈味成分 및 緩衝物質로서 重要한 役割을 한다.<sup>1,2)</sup> 따라서 우수酵母를 選擇하는데 있어서는 알콜釀酵力 뿐만 아니라 生酸性을 비롯한 其他の 特性을 살피게 된다.

酵母와 그것이 生成하는 有機酸과의 關係에 對하여는 酵母의 種類에 따라 生成하는 酸量이 다르며 有機酸組成에도 差異가 있다는 菅野等<sup>3)</sup>의 報告, 酵母의 種類에 따라 乳酸生成量이 다르다는 Ferreira의 報告<sup>2)</sup>, TTC 染色이 桃色인 酵母는 赤色인 酵母에 比하여 酴中에 生成하는 酸量이 많다는 菅野의 報告<sup>6)</sup>, 桃色으로 染色되는 酵母가 반드시 多酸性은 아니라는 馬場<sup>1)</sup>等의 報告 많은 研究가 있다.

한편 酵母의 酸生成과 酢酵條件과의 關係를 살폈을 研究로서는 小仕込試驗에서大量仕込의 酴의 경우 보다 挥發酸이 增加하고 酸度가 커진다는 報告<sup>7)</sup>, 培養溫度와 培地中の 糖濃度가 酸生成에 影響을 미친다는 報告<sup>3,4)</sup>等이 있다.

그러나 酵母의 酸生成에 미치는 培地, 培養方法等의 影響이 酵母의 種類에 따라 어떻게 되는가를 [檢討한 報告는 찾아볼 수 없다. 따라서 筆者等은 이의한 問題를 究明하기 위하여 酢酵能이 우수한 몇種의 酵母를 使用하여 酵母의 酸生成 및 CO<sub>2</sub> 發生에 미치는 酢酵條件의 影響을 檢討하였으며 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.]

## II. 材料 및 方法

### 1. 試驗菌株

No. 7; 協會 7號酵母(日本清酒酵母)

No. 47; 濁酒醪에서 分離한 酵母

No. 239; 瓶에 붙은 酵母를 集殖培養하여 分離

### 2. 酵母의 前培養(seed mashing)

100ml 容 三角 flask에 balling 10°의 麥芽汁 80ml를 넣어 15Lbs로 15分間 加壓殺菌하고 이것에 斜面培養한 試驗菌株의 菌體 1白金耳杓을 接種하여 30°C에서 2日間 培養한 後 훈들어서 使用하였다.

### 3. 酢酵試驗 培地

培地組成에 따라 다음 2種의 것을 使用하였다.

#### (1) 半合成 培地(semi-synthetic medium)

5% rice bran extract*	1,000ml
glucose**	200g
urea	1g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1g

\* 水道水에 5%의 脫脂米糠粉末을 加하고 100°C에 1時間 加熱한 後 冷却하고 濾過한 濾液

\*\*培養4日 後에 培地의 10%量의 glucose를 追加로 添加 補糖 하였다.

#### (2) 酴 培地(mash medium)

water autoclaved	180ml
Kojia	3.5g
flour steamed	100g
(as dry matter)	

@ Koji 麴은 Asp. usamii mut. shirousamii를 밀기울(麴)에 常法으로 培養한 것으로서 糖化酵素力價 sp. 650의 것을 使用하였다.

⑥ 밀가루(中力粉, 一等品)에 25%의 물로 撒水하여 잘 썩어주고 냉여리를 문질려 잘 부순 다음 이것을 gauze를 덮은 金網 위에 올려놓아 Autoclave에서 平壓으로 1時間 蒸煮한 後 12mesh의 金網을 通過할 수 있는 程度로 부수어 使用하였다.

#### 4. 酿酵方法

##### (1) 半合成培地에서 嫌氣的 酿酵

500ml 三角 flask에 半合成培地 350ml를 넣고 綿栓을 하고 15Lbs로 15分間 加壓殺菌한 後 前培養한 酵母液 10ml 씩을 接種하고 酒釀栓을 끌어고 30°C에서 靜置培養 시켰다. 培養4日 後에는 35g의 glucose를 添加하였다.

##### (2) 半合成培地에서 好氣的 酿酵

上記 (1) 과 같이 하되 三角 flask에 마개를 하지 않고 (開口로) 靜置培養 시켰다.

##### (3) 酴培地에서 嫌氣的 酿酵

500ml容 三角 flask에 前記한 酴培地의 原料를 表示量 그대로 차례로 넣고 前培養한 酵母液 10ml씩 을 接種한 後 酿酵栓을 끌어고 靜置培養 시켰다.

##### (4) 酴培地에서 好氣的 酿酵

上記 (3)과 같이 하되 三角 flask에 마개를 하지 않고 靜置培養 시켰다.

#### 5. 測定方法

##### (1) 酸 度

半合成培地의 경우에는 酿酵液 10ml에 對한 N/10-NaOH의 滴定 ml數로 表示하고 滴定終點은 pH meter에 依하여 pH 7.0으로 하였다. 酴培地의 경우에는 酢를 2.5倍 稀釋한 것의 澤液 10ml에 對하여 上記와 같이 測定한 N/10-NaOH의 滴定 ml數를 2.5倍하여 酢 10ml에 對한 次으로 表示하였다.

##### (2) 炭酸 gas發生量

培地의 減量으로 表示하였다.

### III. 結果 및 考察

#### 1. 半合成培地에서의 酸生成

供試한 3菌株를 嫌氣的 및 好氣的으로 酿酵시키면서 酸生量을 測定한 結果는 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서

알수 있는 바와 같이 供試 3菌株가 모두 嫌氣的條件에서 보다 好氣的 條件에서 酸을 많이 生成하였다. 그리고 嫌氣的 條件에서는 No. 7菌이 酸生成이 가장 높았으나 好氣的 條件에서는 No. 239菌이 가장 높았다. 이러한事實은 嫌氣的 條件보다 適當한 好氣的 條件에서 酸生成이 잘 이루어지며 No. 239菌은 好氣的 條件에서 特히 酸을 많이 生成한다는 것을 示唆한다.

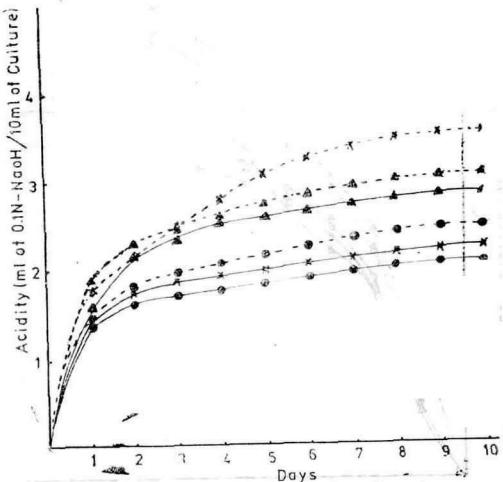


Fig. 1. Formation of acid by three yeast strains fermented anaerobically and aerobically in the semi-synthetic medium. Fermentation temp : 30°C, Vessel used: 500ml  $\triangle$  flask

yeast strain No.	anaerobically	aerobically
No. 7	▲—▲	▲···▲
No. 47	●—●	●···●
No. 239	×—×	×···×

本 試驗에서와 같이 酿酵栓을 끌어 flask內에서는 嫌氣狀態가 完全히 이루어진다고 할 수 없으나 酸酵가始作되면 CO<sub>2</sub>의 發生에 依하여 곧 嫌氣狀態로 된다고 생각된다. 또 本 試驗의 好氣的 條件에서는 生酸性菌의 汚染이 있을 수 있다고 생각되나 檢討한 結果試驗에 影響을 주는 汚染은 없었다.

#### 2. 半合成培地에서의 CO<sub>2</sub>發生

半合成培地에서 嫌氣的 및 好氣的으로 酿酵시키면서酵母 3菌株에 依한 CO<sub>2</sub>發生量을 測定한 結果는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에 依하여 알수 있는 바와 같

이 供試한 3菌株의  $\text{CO}_2$ 發生量의 順位는 嫌氣的 條件과 好氣的 條件에서 同一하였다. 그러나 全體的으로 볼때 嫌氣的 條件에서보다 好氣的 條件에서  $\text{CO}_2$ 의 發生量이 많았다. 이 結果는 適當한 好氣的 條件이 알콜醣酵의 最適條件이라는 川原田等<sup>5)</sup>의 報告와 一致한다.

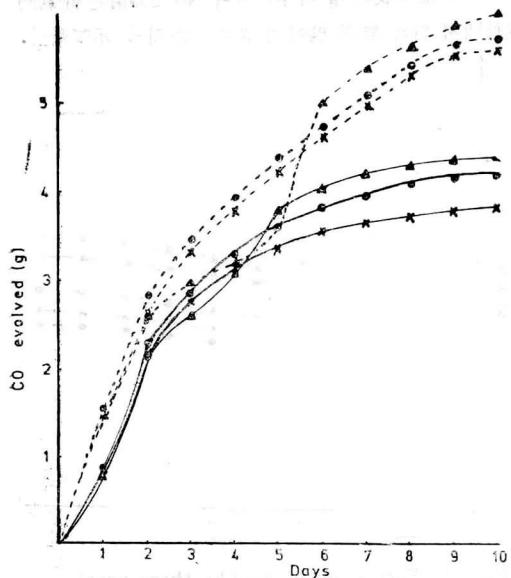


Fig. 2. Evolution of  $\text{CO}_2$  by three yeast strains fermented anaerobically in the semi-synthetic medium.

yeast strain No.	anaerobically	aerobically
No. 7	▲—▲	▲···▲
No. 47	●—●	●···●
No. 239	×—×	×···×

### 3. 酸培地에서의 酸生成

酸培地에서 嫌氣的 및 好氣的으로 供試한 3菌株를 酸酵시키면서 이들의 酸生成을 測定한 結果는 Fig. 3 과 같다. 試驗結果에 依하면 嫌氣의이던 好氣의이던 간에 No. 47菌의 酸生成은, 酸酵 2日後에 거의 終了되었으며, No. 239菌과 No. 7菌의 酸生成은 酸酵 2日後에도 약간씩 增加되었다. 그러나 3菌株 모두 好氣的 條件에서는 嫌氣的 條件에서보다 酸生成이 뛰어이 많았으며 No. 7 및 No. 47菌에 比하여 No. 239菌의 生酸量이 훨씬 많았다. 好氣的 條件에서 酸生成이 많을 것은 酵母에 依하여 生成되는 酸이 主로 酸化分解過程인 TCA cycle을 通하여 生成되기 때문이

라고 해석된다. 그리고 No. 239菌의 生產量이 特히 많은 것은 이菌의 酸化能이 特히 크기 때문이라고 고찰된다. 또 Fig. 1과 Fig. 3의 比較에 依하여 알 수 있는 바와 같이 半合成培地의 경우에 比하여 酸培地에서는 酸生成이 速히 이루어졌으며 酸生成量도 많았다.

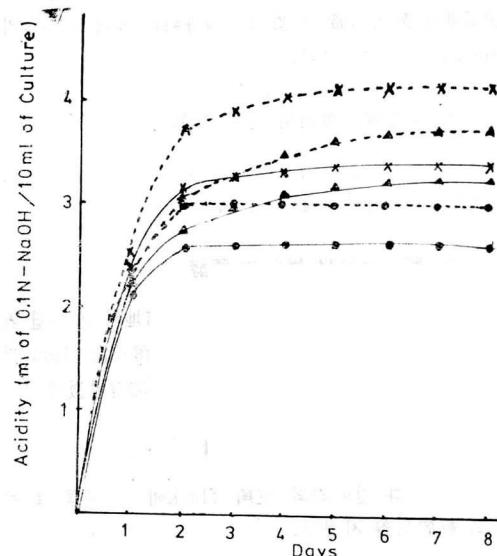


Fig. 3. Formation of acid by three yeast strains fermented anaerobically and aerobically in the mash medium.

yeast strain No.	anaerobically	aerobically
No. 7	▲—▲	▲···▲
No. 47	●—●	●···●
No. 239	×—×	×···×

### 4. 酸培地에서의 $\text{CO}_2$ 發生

酸培地에서 嫌氣的 및 好氣的으로 供試한 3菌株를 酸酵시키면서 經時의으로 이들의  $\text{CO}_2$ 發生量을 測定한 結果는 Fig. 4와 같다.

試驗結果로 보아 供試한 3菌株의  $\text{CO}_2$ 發生은 모두 半合成培地의 경우와 같이 好氣的 條件에서 많았다. 그리고 Fig. 2 및 Fig. 4에서 보는 바와 같이 半合成培地의 경우에 比하여 酸培地에서는  $\text{CO}_2$ 의 發生이 速히 이루어졌다. 이것은 酵母菌의 알콜醣酵力이 酸培地에서 特히 強하다는 것을 뜻한다. 또한 半合成培地에서는 嫌氣 및 好氣의 어느 경우나  $\text{CO}_2$ 發生量의 順位가 No. 7>No. 47>No. 239인데 對하여 酸培地

에서는 嫌氣 및 好氣의 경우에 모두 No. 47>No. 239>No. 7로 되었다. No. 239菌은 前項과 本項의 試驗으로 보는 바와 같이 好氣的 條件의 膠培地에서 酸化能이 매우 強하여 酸을 많이 生成하며 酸酵能도比較的 強한 菌株임을 알수 있다.

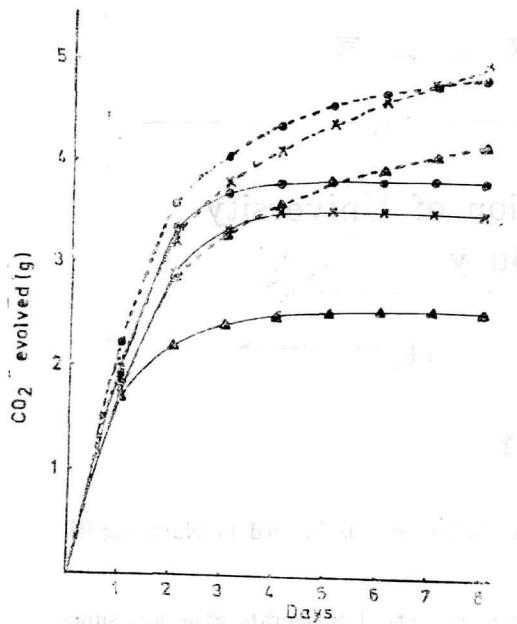


Fig. 4. Evolution of CO<sub>2</sub> by three yeast strains fermented anaerobically and aerobically in the mash medium

yeast strain No.	anaerobically	aerobically
No. 7	▲—▲	▲···▲
No. 47	●—●	●···●
No. 239	×—×	×···×

#### IV. 摘要

3種의 酵母를 試驗菌株로 使用하여 酵母의 酸 및 알콜生成에 미치는 酸酵條件의 影響을 檢討하였다. 試驗結果는 다음과 같다.

1. 3菌株는 모두 嫌氣的條件에서보다 培地面에 空氣가 닿아있는 好氣的條件에서 酸生成과 알콜生成

(CO<sub>2</sub> 發生)이 많았다.

2. 半合成培地의 경우에 比하여 膠培地에서는 酸과 알콜의 生成이 速히 이루어졌으며 最高值에 이르는 時間이 짧았다.

3. 膠培地의 경우에는 嫌氣的 또는 好氣的의 어느 條件에서도 酸生成量의 順位는 No. 239>No. 7>No. 47로 되었으며 알콜生成量의 順位는 No. 47>No. 239>No. 7로 되었다.

4. No. 239菌은 酸化能이 強한 뿐만 아니라 酸酵能도相當히 強하므로 多酸性의 釀造酒製造에 利用할 수 있다고 생각된다.

#### 引用文獻

- 1) 馬場茂外 3人, 1968, 清酒實地釀造における 酸酵管理について, 第1報 分離酵母の諸性質および酵母の種類を異にした 膠(モデル実験)の諸成分経過, 日本釀協誌 63, 6, 689.
- 2) Ferreira, J.D., 1959, The growth and fermentation characteristics of six yeast strains at several temperatures. Am. J. Enol. Viticul. 10, 1.
- 3) 伊藤康, 1965, 酵母による生酸について, 日本釀協誌, 60, 10, 908.
- 4) 井上貞三外 2人, 1962, 清酒酵母に關する研究(第8報), 清酒酵母の高糖濃度培地中に於ける増殖ならびに生酸について, 日本釀工誌, 40, 12, 602.
- 5) 川原田肇外 2人, 1969, 清酒釀造における高濃度アルコール生成機構, (第4報)酵母の増殖とアルコール生成との關係, 日本釀工誌, 47, 11, 682.
- 6) 菅野信男, 1965, もろみ酸度と酵母の關係, 日本釀協誌, 60, 1, 83.
- 7) 菅野信男外 2人, 1970, 野生清酒酵母に關する研究(第1報), 清酒酵母がもろみにおいて生成する有機酸組成について, 日本釀協誌 65, 10, 902.