

## 청주의 주질 개선을 위하여 분리된 효모의 균학적 성질

신철승 · 이석건\* · 박윤중

충남대학교 농과대학 식품공학과

**초록 :** 청주의 주질을 향상시키기 위한 전보의 연구에서, 유용효모로서 분리된 균주에 대하여 균학적 성질을 조사하고, 일부의 사항에 대하여는 일본청주효모와 그 특성을 비교하였다. 분리효모 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주는 모두 *Saccharomyces cerevisiae*로 동정되었고, TTC 염색성이 pink계이었다. 맥아즙 배지에서의 피막(被膜) 형성능은 KP-16 및 KP-21 균주는 약하였으나, KP-54균주는 강하였다. 당의 발효성과 탄소원의 자화성은 KP-16과 KP-21 균주는 동일하였고, KP-54 균주는 다소 달랐다. 분리효모는 모두  $\alpha$ -methyl-D-glucoside를 발효도 자화도 하지 못하였으며, 이는 현재 사용되고 있는 일본청주효모와 다른 점 중의 하나였다. 비타민 요구성에 있어서 분리균주는 모두 biotin과 pantothenate를 요구하였으며, biotin을 요구하는 점은 일본청주효모와는 다른 특성이었다. 내알코올성은 분리균주 모두 일본청주효모 K-7 및 K-9 균주보다 강하였다(1995년 11월 17일 접수, 1996년 1월 22일 수리).

### 서 론

전보<sup>1)</sup>에서 필자 등은 청주의 주질 개선을 위하여 분리한 유용효모로서 KP-16 등 3균주의 효모를 분리하고 그 발효 특성을 검토한 바, 분리균주는 쌀과 쌀국(황국균배양)을 원료로 하는 청주양조에는 부적당하나 국으로서 밀기울국(백국균배양)만을 사용하거나 밀기울국과 쌀국을 병용(併用)할 경우에는 술덧 발효시, 유기산 특히 호박산 생성이 적어서 깨끗한 주질의 발효주를 얻는데 매우 유용함을 발표하였다. 본 보에서는 이들 분리효모의 균학적 특성을 살피기 위하여 형태적, 생리적 성질 등을 상세하게 시험하였다.

### 재료 및 방법

#### 배양 및 생리적 성질 시험

Lodder<sup>2)</sup>의 효모 분류학적 연구시험법에 준하였으며, TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) 염색은 秋山<sup>3)</sup>의 방법에 따라서 중층법으로 실시하였다.

#### 비타민 요구성 시험

中田 등<sup>4)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 포도당 20 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.55 g,  $\text{KCl}$  0.425 g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.125 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.125 g,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2.5 mg,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.5 mg, inositol 25 mg, Ca · pantothenate 2.5 mg, biotin 0.025 mg, thiamine · HCl 0.5 mg 및 pyridoxine · HCl 0.5 mg/l를 기본배지로 한 것과 이것에 구연산 1g 및 구연산 칼륨 5g을 첨가한 두가지 배지에 대하여 각각의 비타민을 제외시키는 생략법으로, 세척 균체의

현탁액을  $8 \times 10^8/\text{ml}$ 로 접종하고 25°C에서 3일간 배양하여 효모의 증식정도를 관찰하였다.

#### 내알콜성 시험

맥아즙에 25°C에서 3일간 배양한 효모를 생리식염수로 1회, 0.1 M 인산 완충액 (pH 4.5)을 함유하는 17%(V/V) 에탄올 용액으로 1회 세척하고 동일 에탄올 용액에 효모수가 약  $2 \times 10^8/\text{ml}$ 가 되도록 현탁하여 25°C에서 72시간 보존한 후 평판 배양법으로 생균수를 측정하여 생존율을 표시하였다.

### 결과 및 고찰

#### 형태학적 성질

분리한 KP-16, KP-21 및 KP-54 균주의 형태학적 성질을 시험한 결과는 표 1과 같다. 영양세포의 형태는 모두 구형~난형이었으며, KP-54균주는 KP-16 또는 KP-21균주보다 약간 작았다. Gorodokowa 한천배지에서 분리효모는 모두 비교적 포자를 잘 형성하였고, 포자의 형태는 난형이었으며 세포당 1~3개의 포자를 형성하였다. Potato dextrose 한천배지로 slide 배양하여 검경한 결과 분리균주는 모두 위균사를 잘 형성하였다.

#### 배양 및 생리적 성질

분리효모의 배양 및 생리적 성질을 시험한 결과는 각각 표 2, 3 및 4와 같다. Ballg. 10°의 맥아즙 배지에 25°C에서 2주간 시험관 배양한 결과 KP-54는 피막을 잘 형성한 반면에 KP-16 및 KP-21은 피막형성이 약하였다. 중층법으로 TTC 염색을 실시한 결과 분리균주 모두

찾는말: 청주효모, *Saccharomyces cerevisiae*

\*연락처자

Table 1. Morphological characteristics of the isolated strains

Strains	Cell form		Ascospore		Pseudomycelium
	size (μm)	shape	number	shape	
KP-16	6.4± 0.50~5.3± 0.30	globose, oval	1~3	ovoid	+
KP-21	6.2± 0.50~5.3± 0.35	globose, oval	1~3	ovoid	+
KP-54	5.9± 0.59~5.3± 0.30	globose, oval	1~3	ovoid	+

Table 2. Cultural and physiological characteristics of the isolated strains

	Strains		
	KP-16	KP-21	KP-54
Formation of sediment	+	+	+
Formation of pellicle	weak	weak	heavy
Splitting of arbutin	-	-	-
Growth in vitamin free medium*	+	+	+
Growth in 50% (W/W) glucose yeast extract agar	-	-	-
Production of acid	+	+	+
Hydrolysis of gelatin	-	-	-
Assimilation of KNO <sub>3</sub>	-	-	-
Assimilation of ethylamine hydrochloride	-	-	-
Cycloheximide resistance	-	-	-
T.T.C. stain	redish pink	redish pink	redish pink

\*Bacto-Vitamin Free Yeast Base (Difco Lab., Michigan, U.S.A.) as medium was used.

Table 3. Fermentation of carbohydrates by the isolated strains

Carbohydrates	Strains		
	KP-16	KP-21	KP-54
Glucose	+	+	+
Galactose	+	+	+
α-Methyl-D-glucoside	-	-	-
Sucrose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Cellobiose	-	-	-
Trehalose	+	+	-
Lactose	-	-	-
Melibiose	-	-	-
Raffinose	+	+	+
Inulin	-	-	-
Soluble starch	-	-	-
Melizitose	-	-	-

적색을 띠는 pink색 효모였다. 당 발효성에 있어서 분리균주는 모두 α-methyl-D-glucoside를 발효하지 못하였고 또한 cellobiose, lactose 및 melibiose를 발효하지 못하였으며 raffinose는 1/3 발효하였다. 분리효모 중 KP-16과 KP-21은 trehalose를 발효하였으나, KP-54균주는 발효하지 못하였다. 한편 탄소원의 자화성에 있어서도

Table 4. Assimilation of carbon sources by the isolated strains

Carbon compounds	Strains		
	KP-16	KP-21	KP-54
Glucose	+	+	+
Galactose	+	+	+
α-Methyl-D-glucoside	-	-	-
Sucrose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Cellobiose	-	-	-
Trehalose	+(weak)	+(weak)	+(weak)
Lactose	-	-	-
Melibiose	-	-	-
Raffinose	+	+	+
Melizitose	-	-	-
Inulin	+(weak)	+(weak)	-
Soluble starch	-	-	-
L-Sorbose	-	-	-
Salicin	-	-	-
D-Xylose	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-
D-Ribose	-	-	-
L-Rhamnose	-	-	-
Ethyl alcohol	+	+	+
Glycerol	+(weak)	+(weak)	+
Erythritol	+	+	+
Ribitol	-	-	-
Galactitol	-	-	-
D-Mannitol	-	-	-
D-Glucitol	-	-	-
myo-Inositol	-	-	-
DL-Lactic acid	+	+	+
Succinic acid	-	-	-
Citric acid	-	-	-

분리효모는 모두 α-methyl-D-glucoside를 자화하지 못하였고, KP-16과 KP-21균주는 inulin을 약하게 자화하였으나 KP-54균주는 자화하지 못하였다.

이상의 결과로 보아 분리효모 중 KP-16과 KP-21균주는 균학적 성질 면에서 동류의 효모로 인정되었으며, KP-54 균주는 이들과는 다소 차이가 있었다. 그러나 Loddner<sup>2)</sup>의 효모분류동정법에 의하여 분리효모는 모두 *Saccharomyces cerevisiae*로 동정되었다.

竹田<sup>5)</sup>는 액체배지에서의 환, 피막형성은 배지의 종류나 당농도, 배양일수에 따라서 다르나 동일조건에서는 비교가 가능하며, 일본청주효모 중에서 TTC 염색 red

Table 5. Vitamin requirement of the isolated yeasts

Carbohydrates	Strains		
	KP-16	KP-21	KP-54
Pantothenate	+(±)	+(±)	+
Biotin	+	+	+
Thiamine	-	-	-
Inositol	-	-	-
Pyridoxine	-	-	-

Composition of basal medium: glucose 20 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.55 g, KCl 0.425, CaCl<sub>2</sub> 0.125 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.125 g, FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 2.5 mg, MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 2.5 mg, inositol 25 mg, Ca-pantothenate 2.5 mg, biotin 0.025 mg, thiamine · HCl 0.5 mg, pyridoxine · HCl 0.5 mg per liter. Media for test was omitted each vitamins or all vitamins in above media.

( ), containing citric acid 1 g and K<sub>3</sub> · citrate 5 g per liter; +, requirement; -, no requirement; ±, weak requirement.

Table 6. Ethanol tolerance of the isolated yeasts and the Japanese sake yeasts (control strain)

Strains	Viabe cell (/ml)		Survival rate (%)
	0 hr	72 hrs	
Isolated yeast			
KP-16	2.10 × 10 <sup>8</sup>	5.97 × 10 <sup>5</sup>	0.28
KP-21	2.44 × 10 <sup>8</sup>	9.04 × 10 <sup>5</sup>	0.37
KP-54	2.19 × 10 <sup>8</sup>	1.07 × 10 <sup>5</sup>	0.05
Sake yeast			
K-7	2.31 × 10 <sup>8</sup>	0.32 × 10 <sup>5</sup>	0.01
K-9	2.13 × 10 <sup>8</sup>	0.20 × 10 <sup>5</sup>	0.01

The yeasts were cultivated in the malt extrated medium at 25°C, 2 days, and washed with physiological salt solution and 17% ethanol - 0.1 M phosphate buffer(pH 4.5). And then the yeast were tested in the above ethanol solution.

계는 피막형성이 왕성하고 pink계는 약하다고 보고한 바 있는데, TTC 염색성이 pink계인 분리효모 중에서 KP-16, KP-21은 피막 형성이 약한 반면 KP-51균주는 피막형성이 왕성하여 같은 pink계에서도 피막형성능에 차이가 있었다.

### 비타민 요구성

분리효모의 비타민 요구성을 中田 등<sup>4)</sup>의 방법에 따라서 시험한 결과는 표 5와 같다. 표에서 보는 바와 같이 분리효모는 모두 biotin과 panthothenate를 요구하였으나, 구연산과 구연산칼륨을 함유하는 배지에서는 KP-16과 KP-21균주는 panthothenate를 약하게 요구하였다. 비타민 요구성으로 보면 분리효모는 biotin을 요구하는 점에서 일본청주효모와는 다르고, 맥주효모, 포도주효모 등과 비슷하였다.

### 내알코올성

분리효모와 일본청주효모를 각각 0.1 M 인산완충액을 함유하는 17% 에탄올 용액에 현탁시켜 25°C, 72 시간 경과 후의 생균수를 측정한 결과는 표 6과 같다. 분리효모 중 KP-16과 KP-21균주는 일본청주효모 K-7 및 K-9에 비하여 생존율이 상당히 높았고, KP-54균주는 약간 높은 것으로 나타났다.

청주 술덧의 발효 말기에 에탄올 생성량이 18~20%에 이르면 효모는 사멸되기 쉽고, 효모균체의 자기소화에 의하여 아미노산이 증가되어 착색과 품질저하의 원인이 되는데, 분리효모는 일본청주효모에 비하여 내알콜성이 높아 청주 양조에 있어서 보다 유리하게 이용될 수 있다고 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. 신철승, 이석건, 박윤중 (1996) 청주의 주질 개선을 위한 국 및 효모의 선정과 그 발효 특성. 한국농화학회지, **39**, 9-15.
2. Lodder, J. (Eds) (1971) The Yeasts, A taxonomic study. Delft, Netherland
3. 秋山裕一 (1963) 酵母の平板培養法について, 清酒醸造の微生物管理法(その3). 日本醸造協會誌, **58**, 1155-1158.
4. 中田久保, 穂坂 賢, 坂井 劭 (1985) 泡盛, 焼酎, 清酒酵母および他の *Saccharomyces cerevisiae* 間の差異. 醸酵工學會誌, **63**, 509-515.
5. 竹田久保 (1985) 協會清酒酵母の分類. 清酒酵母の分類學(竹田正久 編), p. 122-131, 建帛社, 東京

---

**Characteristics of the yeast strains which isolated for improvement of *Choungju* quality**

Cheol-Seung Shin, Suk-Kun Lee\* and Yoon-Joong Park (*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, 306-764, Korea*)

**Abstract :** The yeast strains isolated for *Choungju* brewing in the previous report were examined for their microbiological characteristics, together with some comparative tests with Japanese sake yeasts. The isolates KP-16, 21 and 54 were identified as the strains belong to *Saccharomyces cerevisiae* according to the morphological and physiological properties described in Lodder's 'The Yeasts - A taxonomic study'. The isolates were grouped into the pink-colored strains by 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride over-lay method. The strains KP-16 and 21 were found to be distinguished from the strain KP-54 in aspects of fermentation of sugars, assimilation of carbon sources, and pellicle formation on malt extract broth.  $\alpha$ -Methyl-D-glucoside was not assimilated or fermented by the isolated yeast strains and this is one of the different characters from the Japanese sake yeasts. The isolated strains appeared to have the requirements for biotin and pantothenate, and to have higher tolerance to ethanol than the Japanese sake yeasts. The biotin requirement was not found in the sake yeasts.

---

\*Corresponding author