KOREAN J. POSTHARVEST SCI. TECHNOL.
Vol. 7. No. 2, pp.228~232(2000)

감자에서 분리한 알콜발효 효모의 특성

정용진* · 김옥미 · 서지형 · 이명희 · 정소형 · 김대현
*계명대학교 응용과학부 식품가공학과, 경북과학대학 전통식품연구소

Characteristics of Alcohol Fermentation Yeast Isolated from Potatoes

Yong-Jin Jeong*, Ok-Mi Kim, Ji-Hyung Seo, Myung-Hee Lee,
So-Hyoung Jung and Tae-Hyun Kim
**Department of Food Science and Technology, Keimyung University*
Traditional Food Institute, Kyongbuk College of Science

Abstract

To utilize abundant potatoes effectively, it was studied on alcohol fermentation strains which were isolated and identified. Fifteen yeast strains with high alcohol fermentation ability were isolated from rotted potatoes. Among them, two isolated strains, 5-3A and 10-4B showing the highest alcohol fermentation ability were identified as *Zygosaccharomyces fermentati* based on the morphological and physiological characteristics. Their optimum conditions for the alcohol fermentation in 25% glucose were pH 3.0, 30℃ and 150 rpm of shaking speed, respectively.

Key words : potato, alcohol fermentation, *Zygosaccharomyces fermentati*

서 론

감자는 저온성 작물로 생육기간이 짧고 단위 면적당 생산량이 많으며 토질에 대한 적응성이 커서 전세계적으로 재배되고 있다. 국내에서 감자는 6월 중순부터 생산되는 봄감자와 9월 하순부터 생산되는 가을감자로 대별되며 전분질과 칼륨, 인, 마그네슘 등의 무기질과 비타민 B군 및 C의 함량이 풍부한 대표적인 알칼리성 식품으로 주식 뿐만 아니라 가공식품으로 이용되고 있다(1). 국내에서 감자는 강원도와 제주도에서 주로 생산되고 있으나 수분함량이 높아 저장에 어려움이 많고, 중량 80g 이하의 상품성이 없는 불량 감자가 약 30% 정도 발생되고 있으며, 불균형한 과잉생산 및 냉동감자의 수입 등으로 생산 농가에 경제적 손실을 초래하고 있다(1,2). 현재 감자를 주원료로 하는 가공식품은 potato chip, french fried potato, potato flour 등(3) 일부 항목에 국한되어 소비자의 다양한 기호성을 충족시키지 못하고 있으며 상품성이 저하된 감자의 활용이 불가능한 실정으로 새로운 가공제품 개발이 요구되고 있다. 이러한 측면에서 감자에 함유된 다량의 전분질을 이용해서 발효시킨 '증류식 감자소주' 및 '감자식초'는 기존의 가공제품과는 달리 불량감자의 활용이 가능하고, 최근의 천연건강식품을 선호하는 소비자의 구매요건을 충족시킴으로서, 안정된 고부가가치를 창출할 것으로 기대된다(4,5). 현재 감자를 이용한 술, 식초의 개발에 관한 연구는 국내·외적으로 거의 없는 실정으로, 저장성이 떨어지는 감자 및 상품성이 없는 불량감자를 활용하여 식초 및 증류식 소주로 개발하기 위해서는, 먼저 감자를 기질로 알콜발효력이 우수한 균주의 개발과 개량이 필수적이다. 알콜발효균주의 개발에 관한 연구는 김 등(6)의 glucoamylase를 분비하는 효모의 개발, Jones과 Ingledew(7)의 연료용 알콜균주 개발, 박 등(8)의 고농도 알콜 내성 균주의 개발, 손 등

Corresponding author : Yong-Jin, Jeong Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Taegu, 704-200, Korea
E-mail : yjjeong@kmucc.kmu.ac.kr

(9)의 응집성 효모, 정 등(10)이 감식초 제조를 위하여 알콜발효력과 탄닌 내성이 우수한 효모를 감과실에서 분리하여 그 특성에 관한 연구 등 다양한 분야의 활용을 위한 균주의 분리 동정에 관한 연구가 되었으나 (11-14), 감자를 원료로 알콜발효력이 우수한 균주의 개발 및 특성에 관한 연구는 없는 실정이다.

본 연구에서는 저장성이 떨어지는 감자 및 상품성이 없는 불량 감자의 효율적인 활용의 일환으로, 감자 식초의 전단계인 감자 알콜발효를 효율적으로 이루기 위하여 부패감자로부터 알콜 내성을 가지는 동시에 알콜 발효력이 우수한 효모를 분리, 동정하여 배양조건에 따른 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 배지

본 실험에 사용된 감자는 강원도에서 재배된 것을 대구 칠성시장에서 구입하여 사용하였다. 효모의 분리 및 생리적 특성 실험에는 YPD 배지(1% yeast extract, 2% peptone 2% dextrose)와 정 등(15)의 방법을 변형하여 감자를 파쇄, 증자후 당화시켜 만든 감자 배지를 사용하였으며 기타 시약은 분석용 특급을 사용하였다.

효모의 분리 및 동정

부패된 감자 배양액을 5, 10 및 15%의 알콜을 함유한 YPD 배지에 각각 접종하여 30℃에서 24~72시간 진탕배양하여 배양액을 생리식염수로 단계적으로 희석하고 YPD 한천배지에 평판배양한 후 나타난 여러 종류의 독립된 colony를 분리하고 그 중 YPD 배지 및 감자 추출물배지에서 알콜 발효력이 가장 우수한 균주를 선별하였다(11). 그리고 선별된 균주의 형태학적 특성을 조사하였으며(16), 동정은 생명공학연구소 유전자은행 (Korean Collection for Type Culture)에 의뢰하였다. 즉, 분리 균주를 BUY agar (Biolog Universal Yesat Agar, Biolog, Inc.)에 접종한 후, 26℃에서 16~48시간 배양하여 사용하였다. 배지위에 자란 균체를 증류수에 현탁하여 탁도의 범위가 44~45%가 되도록 조절하여 이 현탁액을 Biolog YT plate에 100㎕/well 씩 접종한 후, 26℃에서 24시간, 48시간, 72시간 배양한 결과를 automatic reader로 분석하여 Data Library (Biolog, Inc.)와 비교 분석하여 동정하였다(9).

알콜함량 측정

발효액을 원심분리하여 얻은 상징액을 증류한 다음 증류액을 alcohol hydrometer로 측정하여 Gay Lussac table로 온도 보정하여 환산하였다(12).

발효수율

알콜 수율은 초기당 농도에 따른 알콜 생성량에 대한 이론적 수득율로 아래와 같이 계산하였다(15).

$$\text{Alcohol yield}(\%)=\frac{\text{Final alcohol concentration}(g/\ell)}{\text{Initial glucose concentration}(g/\ell)}\div 0.51\times 100$$

배양조건의 검토

기본 배지 및 배양은 초기 당 농도가 17%로 조정된 YPD 배지(pH 6.0)를 사용하였으며 30℃에서 150rpm의 속도로 배양하였다. 온도에 대한 영향은 각각의 균주를 당농도 17%, 초기 pH 6으로 조절한 배지에서 25, 30, 35, 40℃에서 38시간 배양하여 알콜함량 및 발효수율을 비교하였다. 또한 당 농도에 대한 영향은 YPD 배지의 초기 당농도를 10~30%로 각각 조절하여 pH 6으로 조절하여 38시간 배양하여 비교하였으며 진탕속도의영향은 정치배양, 50, 100, 150, 200rpm으로 조건을 달리하여 각각 비교·분석하였다.

결과 및 고찰

효모의 분리 및 동정

부패감자로부터 알콜 발효력이 우수한 효모균 선발을 위하여 배양액을 5, 10 및 15%의 알콜을 함유한 YPD 액체배지에 각각 접종하고 24~72시간 진탕배양한 후 다시 액체배지와 동일한 알콜 농도를 함유한 YPD 한천배지에 평판배양한 결과, 15%를 제외한 5 및 10% 알콜을 함유한 배지에서 성장하는 15여종의 독립된 colony를 분리하였다. 이들 균주들을 YPD 및 감자 배지에 접종하여 알콜 발효력을 조사한 결과 Table 1에서 보는 것처럼 발효력이 가장 우수한 5-3A 및 10-4B의 2종의 균을 최종 선발하였다. 또한 두 균주의 형태학적 특성은 Fig. 1 및 Table 2와 같이 두 균주 모두 출아에 의해 영양증식을 하였고, 위균사와 진균사는 형성하지 않았으며 1~3개의 자낭포자를 형성하였다. 배양학적 특성으로는 YM 액체배지에서 두 균주 모두 피막을 형성하지 않았으며, YM 한천배지상에서 집락의 색상은 white- cream색을 나타내었다. 한편 37℃에서 두 균주 모두 생육이 가능하였으나 gelatin 액화성은 없었고, ester 생성력은 없었다. 그러나 5-3A는 cycloheximide 내성이 나타났으나 10-4B는 내성이 없었다. 두 균주는 생명공학연구소 유전자 은행에 의뢰하

여 metabolic fingerprint (Biolog)로 동정한 결과 5-3A 및 10-4B 균주는 glucose, galactose, sucrose, raffinose, palatinose, turanose, methyl- glucoside 및 galactose, xylose를 자화하였고 maltose, stachyose 및 trehalose 등에서는 다소의 차이를 나타내었으나 그외 탄소원은 자화하지 못하였다(Table 3). 이상의 결과에서 두 균주 모두 *Zygosaccharomyces fermentati* 또는 유연균으로 판단되어 5-3A를 Z. *fermentati* KTF 53으로, 10-4B는 Z. *fermentati* LJK 10으로 명명하였다.

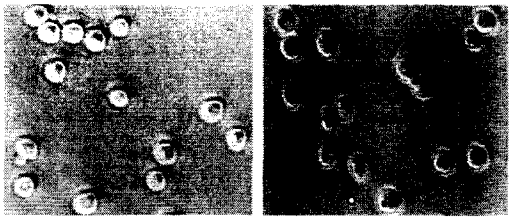
Table 1. Ethanol production of isolated yeast strains in the YPD and potato extract medium(PEM)

Strains	Ethanol(%)	
	YPD	PEM
5-1A	7.4	5.4
5-2B	7.6	5.0
5-3A	8.0	6.0
5-3B	7.5	5.8
5-4A	7.3	5.4
5-5B	7.2	6.0
5-7A	7.8	5.6
5-8A	8.0	5.0
5-9A	7.7	5.3
5-10A	7.4	5.4
10-2B	7.2	5.8
10-3A	7.6	5.5
10-4B	8.0	6.0
10-7A	7.5	5.8
10-7B	7.8	5.5
10-8A	7.3	5.1

Table 2. Morphological and cultural characteristics of the isolated strains from potatoes

Classification	Strains	
	5-3A	10-4B
Cell shape	oval	round
Cell size	3.7~4.5 × 5.5~7.0	4.0~6.0 × 6.5~8.0
Vegetative reproduction	budding	budding
Ascospore	present(1-4)	present(1-4)
Pseudomycelium	absent	absent
True mycelium	absent	absent
Cuture in YM media		
Pellicle	absent	absent
Ring	absent	absent
Growth on YM agar		
Edge	entire	entire
Elevation	raised	raised
Surface	smooth	smooth
Color	white creamy	white creamy
Growth at 37℃	+	+
Gelatin liquefaction	-	-
Acid production	-	-
Urea hydrolysis	-	-
Ester production	+	+
Splitting of glucoside	-	-
Cycloheximide resistance		
0.01%(100ppm)	+	-
0.1%(1000ppm)	+	-

* + : positive, − : negative.



(A) (B)

Fig. 1. Microphotographs(×400) of the alcohol fermentation yeasts isolated from rotted potatoes.
* A : 5-3A, B : 10-4B

Table 3. Assimilation and utilization of various carbon sources by the isolated strains

Source	Strains		Source	Strains	
	5-3A	10-4B		5-3A	10-4B
α-D-Glucose	+	+	i-Erythriol	-	-
D-Galactose	+	+	D-Manniol	-	-
Sucrose	+	+	D-Sorbitol	-	-
Maltose	V	V	D-Arabitol	-	-
Malhotriose	-	-	Xylitol	-	-
Cellobiose	-	-	Glycerol	-	-
Genliobiose	-	-	Tween 80	-	-
D-Arabinose	-	-	Acetic acid	V	-
L-Arabinose	-	-	Formic acid	-	-
D-Ribose	-	-	Propionic acid	-	-
D-Xylose	V	-	Succinic acid	-	-
D-Melezitose	-	V	Methyl succinate	-	-
D-Melibiose	-	-	L-Asparic acid	-	-
Palatinose	+	+	L-Glutamic acid	-	-
D-Raffinose	+	+	L-Proline	-	-
Stachyose	V	V	D-Gluconic acid	-	-
D-Trehalose	V	V	Fumaric acid	-	-
D-Glucosamine	-	-	L-Malic acid	-	-
N-Acetyl-D-glucosamin	-	-	Bromo-succinic acid	-	-
Turanose	+	+	γ-Amino-butyric acid	-	-
L-Rhamnose	-	-	2-Keto-D-gluconic acid	-	-
Sorbose	-	-	α-Keto-glutaric acid	-	-
D-Psicose	-	-	Acetoin + D-xylose	-	-
L-Sorbose	-	-	Dextrin + D-xylose	-	-
α-Methyl-D-glucoside	+	+	α-D-Lactose + D-xylose	-	-
β-Methyl-D-glucoside	-	-	D-Galactose + D-xylose	+	+
Amygdalin	-	V	Methyl succinate + D-xylose	V	V
Arbutin	-	-	N-Acetyl-L-glutamic acid + D-xylose	-	-
Dextin	-	V	Quinic acid + D-xylose	-	-
Inulin	-	-	D-Glucuronic acid + D-xylose	-	-
Salicin	-	-	D-Melibiose + D-xylose	-	-
Mahitol	-	-	m-Inositol + D-xylose	-	-
Adonitol	-	-	1,2-Propanediol + D-xylose	-	-
Arabitol	-	-			

* + : positive, − : negative, V : variable.

배양온도의 영향

알콜발효 효모 *Z. fermentati* KTF 53 및 *Z. fermentati* LJK 10의 배양온도에 대한 영향을 조사하기 위하여, glucose 농도를 17%로 조정한 YPD배지(pH 6.0)에서 배양온도를 25, 30, 35 및 40℃로 달리하여 각각 38시간씩 배양하여 알콜 수율을 측정하였다. 그 결과 Table 4에서와 같이 30℃에서 가장 높은 알콜수율을 나타내었으며 35℃ 이상에서는 수율이 감소하는 경향이었다. 이상의 결과는 일반적인 효모의 최적배양 온도와 유사한 경향이었다(9,10).

Table 4. Effect of temperature on the ethanol production in the YPD medium by the isolated strains

Temperature (℃)	*Z. fermentati* KTF 53		*Z. fermentati* LJK 10	
	EtOH(%)	Yield(%)	EtOH(%)	Yield(%)
25	8.1	93.42	8.0	92.27
30	8.0	92.27	8.0	92.27
35	8.0	92.27	7.9	91.11
40	7.8	89.96	7.8	89.96

The strains were cultured in the YPD medium(pH 6.0) containing 17%glucose for 38hrs.

초기 pH의 영향

초기 pH의 영향을 조사하기 위하여 glucose 농도를 17%로 조정한 YPD 배지의 초기 pH를 3.0~8.0까지 조절하여 30℃, 150rpm 속도로 배양하여 알콜수율을 측정하였다. 그 결과 Table 5와 같이 *Z. fermentati* KTF 53 및 *Z. fermentati* LJK 10은 pH 3.0~6,0의 넓은 범위에서 발효수율이 우수하였으며 낮은 pH에서도 수율이 높아 다른 효모보다는 비교적 내산성이 있는 것으로 나타났다(8-10).

Table 5. Effect of pH on the ethanol production in the YPD medium by the isolated strains

pH	*Z. fermentati* KTF 53		*Z. fermentati* LJK 10	
	EtOH(%)	Yield(%)	EtOH(%)	Yield(%)
3.0	8.3	95.73	8.4	96.88
4.0	8.0	92.27	8.3	95.73
5.0	8.0	92.27	8.2	94.57
6.0	8.0	92.27	8.0	92.27
7.0	7.8	89.96	7.9	91.11
8.0	7.8	89.96	7.9	91.11

진탕속도의 영향

진탕속도가 알콜 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 glucose 농도를 17%로 조정한 YPD 배지를 pH 6.0으로 조절하여 30℃에서 진탕속도를 0, 50, 100 및 150rpm으로 38시간 배양하여 알콜수율을 조사하였다. 그 결과 Table 6에서 두 균주 모두 정치배양에서 알콜수율이 가장 낮았으며 100 및 150rpm에서 알콜수율이 가장 높았다. Hayashida 등(14)은 정치배양보다 진탕배양에서 알콜수율이 낮다고 보고하였지만 *Z. fermentati* KTF 53 및 *Z. fermentati* LJK 10은 적당한 속도로 통기를 해 주는 것이 알콜수율이 높게 나타나는 결과는 이들과는 약간 다른 경향이었다.

Table 6. Effect of shaking speed on the ethanol production in the YPD medium by the isolated strains

Shaking speed (rpm)	*Z. fermentati* KTF 53		*Z. fermentati* LJK 10	
	EtOH(%)	Yield(%)	EtOH(%)	Yield(%)
0	5.9	68.05	5.9	68.05
50	7.7	88.81	7.9	91.11
100	7.9	91.11	8.0	92.27
150	8.0	92.27	8.0	92.27
200	8.0	92.27	7.8	89.96

The strains were cultured in the YPD medium(pH 6.0) containing 17%glucose for 38hrs.

초기 당 농도의 영향

초기 당 농도가 알콜 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 YPD 배지(pH 6.0)의 glucose 농도를 10~30g/ℓ까지 5g/ℓ간격으로 조정한 다음 30℃에서 38시간 배양하여 알콜 수율을 조사하였다. Table 7에서와 같이 두 균주 모두 초기 당 농도 25%에서 가장 높은 수율을 나타내었으며 10 및 30g/ℓ에서는 당의 이용성이 낮아 수율이 감소하는 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 정 등(10)이 감과실에서 분리한 효모의 경우 10g/ℓ의 당의 농도에서 알콜수율이 가장 높았다는 보고와는 차이가 있었다.

Table 7. Effect of sugar concentration on the ethanol prduction in the YPD medium by the isolated strains

Sugar concentration (%)	*Z. fermentati* KTF 53		*Z. fermentati* LJK 10	
	EtOH(%)	Yield(%)	EtOH(%)	Yield(%)
10	4.2	82.35	4.3	84.31
15	7.1	92.81	7.1	92.81
20	9.8	96.07	9.6	94.11
25	12.4	97.25	12.4	97.25
30	12.4	81.04	12.4	81.04

요 약

상품성이 떨어지는 불량 감자의 효율적 활용을 위하여 부패된 감자로부터 알콜 발효력이 우수한 균주를 선별, 동정하고 그의 배양학적인 특성을 조사하였다. 부패된 감자로부터 알콜발효력이 우수한 15종의 효모균을 분리하였다. 그 중 알콜 발효력이 가장 우수한 5-3A, 10-4B를 선별하여 동정한 결과, 두 균주 모두 *Zygosaccharomyces fermentati*와 형태학적, 배양학적 특성이 유사하였다. 이들 균주의 온도, pH, 당농도 및 진탕속도의 영향에 대해 조사한 결과, 최적온도는 30℃, pH 3.0, glucose농도 25% 및 진탕속도 150rpm에서 알콜수율이 가장 높았다.

감사의 글

본 연구는 98 한국학술진흥재단 대학부설연구소 과제 '발효균주의 개발 및 발효부산물의 기능성 검색 (98-005-G00328)'에 의하여 수행된 결과입니다.

참고문헌

1. 정용진, 서지형, 윤성란, 이진만, 이기동, 김옥미, 방광웅 (2000) 감자 알콜발효를 위한 액화 및 당화 조건. 한국농산물저장유통학회지, 7(1), 94-98
2. 남경아, 노완섭 (1992) 감자 전처리 방법에 따른 환원당 함량과 potato chip의 색상. 한국농화학회지, 35(6), 437-442
3. 최옥자, 고무석 (1991) 마이크로파 가열이 감자가루 저장중 지방산 조성에 미치는 영향. 한국영양식량회지, 20(5), 461-466
4. 권승혁, 정은재, 이기동, 정용진 (2000) 2단계 발효에 의한 과실식초 제조방법과 식초함유 음료. 식품산업과 영양, 5(1), 18-24
5. 정용진, 이명희 (2000) 식초산업의 현황과 전망. 식품산업과 영양, 5(1), 7-12
6. Kim Y.H. and Seu J.H. (1988) Culture condition for glucoamylase production and ethanol productivity of heterologous transformant of *Saccharomyces cerevisiae* by glucoamylase gene of *Saccharomyces diastaticus*, *Kor. J. Microbiol. Bioteng.*, 16, 494
7. Jones M.A., and Ingledew W.M., (1994) Fuel alcohol production optimization of temperature for efficient very-high-gravity fermentation. *Apple. Envioron. Micrebiol.*, 60, 1048
8. Park, Y.M., Kim C.H., and Rhee S.K., (1992) Selection of an ethanol tolerant Clostridium thermohydrosulfuricum strain. J. Microbiol. Biotechnl., 2, 226
9. Son, S.M., Kim, I.G. and Pyun, Y.R. : High productivity of ethanol fermentation using flocculant yeast. *Kor. J. Appl. Micobiol. Biotechnol.*, 20, 607, 1992.
10. 정용진, 서권일, 신승렬, 서지형, 강미정, 김광수 (1997) 감과실 알콜 발효를 위한 효모의 분리. 동아시아식생활학회지, 7(4), 538-543
11. Ji, K.S., Park, S.Y., Lee, J.N., Rhee Y.H., and Min K.H. (1991) Isolation of ethanol-tolerant strains of yeast in relation to their tolerant mechanism. *Kor. J. Microbiol.*, 29(2), 136-142
12. P. Strehaiano, Mota M., and G. Goma(1983) Effect of inoculum on kinetics of alcoholic fermentation. *Biotech. Letters*, 5, 135-149
13. Alison M.J., and Ingedew W.M., (1994) Fuel alcohol production ; Optimization of temperature for efficient very high gravity fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1048-1051
14. Hayashida, C.A., Feng D.D., and Hongo M. (1974) Function of the high concentration alcohol-producing factor. *Agr. Biol. Chem.*, 38, 2001-2006
15. 정용진, 이기동, 김광수 (1996) 반응표면분석에 의한 감식초 제조조건의 최적화. 한국식품과학회, 30(5), 1203-1208
16. Barnett, J.A., Pyene R.W. and Yarrow D. (1984) Yeasts characteristics and identification. Cambridge University Press, Cambrige, UK

(접수 2000년 3월 7일)