



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0126892  
(43) 공개일자 2020년11월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12N 1/16 (2006.01) C12G 3/022 (2019.01)  
C12R 1/865 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C12N 1/16 (2013.01)  
C12G 3/022 (2019.02)
- (21) 출원번호 10-2020-0030177
- (22) 출원일자 2020년03월11일  
심사청구일자 2020년03월11일
- (30) 우선권주장  
1020190050502 2019년04월30일 대한민국(KR)

- (71) 출원인  
재단법인 발효미생물산업진흥원  
전라북도 순창군 순창읍 민속마을길 61-27
- (72) 발명자  
정도연  
전라북도 순창군 순창읍 민속마을길 61-27, 백공  
관 302호
- 조승화  
전라북도 순창군 순창읍 순창4길 12  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
최규환

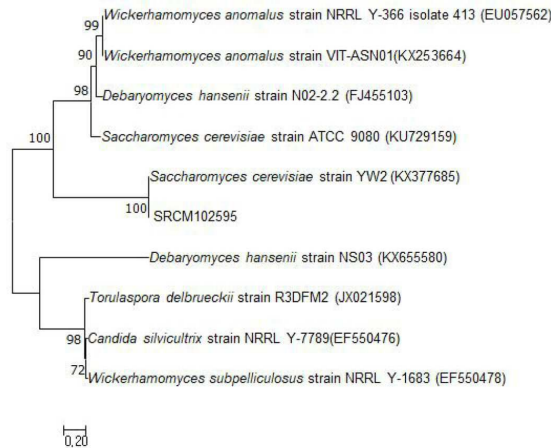
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주를 이용한 막걸리의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않는 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P), 상기 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물을 유효성분으로 포함하는 알코올 생산용 조성물, 상기 균주를 이용하여 막걸리의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 막걸리에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류  
C12R 1/865 (2013.01)

(72) 발명자

**김진경**

전라북도 남원시 주천면 용담2길 30-10

**김은지**

광주광역시 북구 서강로54번길 50, 203동 103호 (운암동, 벽산 블루밍 메가씨티)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	발효미생물산업진흥원2018-1
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	전라북도청 농촌활력과
연구사업명	향토산업육성사업
연구과제명	친환경 쌀 융복합 고부가 제품개발
기여율	1/1
과제수행기관명	재단법인 발효미생물산업진흥원
연구기간	2018.05.01 ~ 2019.04.30

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P).

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 바이오제닉 아민은 히스타민, 푸트레신, 카다베린 및 티라민인 것을 특징으로 하는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P).

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항의 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물을 유효성분으로 포함하는 알코올 생산용 조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 알코올은 막걸리인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 5

- (1) 물에 불린 쌀을 증자하여 고두밥을 제조하는 단계;
- (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 누룩 및 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P)를 첨가하는 단계; 및
- (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 발효하는 단계를 포함하여 제조하는 것을 특징으로 하는 막걸리의 제조방법.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 (3)단계의 발효는 22~28℃에서 4.5~5.5일 동안 발효하는 것을 특징으로 하는 막걸리의 제조방법.

#### 청구항 7

제5항 또는 제6항의 방법으로 제조된 막걸리.

### 발명의 설명

#### 기술분야

[0001] 본 발명은 피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P) 및 이의 용도에 관한 것이다.

#### 배경기술

[0002] 막걸리는 알코올 함량 2~8%의 우리나라 고유의 술로서, 곡류와 누룩으로 빚어 발효한 후 막 거른 술이라는 데서 비롯된 것으로, 탁주 또는 농주(農酒)라고도 한다. 전통재래의 탁주는 멥쌀이나 찹쌀을 원료로 하고 누룩을 발효제로 양조하였고, 1960년대 초까지 멥쌀을 사용하였으나, 그 이후 식량정책에 따라 원료인 멥쌀을 주로 소맥분으로 대체하여 제조하여 왔다.

[0003] 막걸리는 다른 주류에 비해, 알코올 도수가 상대적으로 낮고 단백질이 약 1.9%로 많이 함유되어 있으며, 그 외

비타민 B군, 유기산, 미량의 생리활성물질과 효모가 함유되어 있기 때문에 영양적, 기능적 가치가 높을 뿐만 아니라 다른 주류와 달리 독특한 관능적인 특성을 가지고 있다.

[0004] 이와 같이 막걸리는 영양학적 측면에서도 다른 어떤 술보다 웰빙주로 인정받아 소비자들에게 좋은 반응을 얻고 있으며, 지역경제 살리기와 국내 쌀 소비촉진을 위한 우리술 산업 경쟁력 강화방안 등 정책 지원과 함께 고급화 및 다양화를 통해 시장 저변이 확대되고 있다.

[0005] 한국등록특허 제1159263호에는 초고압처리 원료미를 이용한 막걸리의 제조방법이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1462257호에는 풍미와 안정성이 향상된 막걸리의 제조방법이 개시되어 있으나, 본 발명의 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주를 이용한 막걸리의 제조방법과는 상이하다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명에서는 고품질의 막걸리를 제조할 수 있는 효모를 선별하고자 하여, 막걸리로부터 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주를 분리하였고, 상기 균주는 피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않음을 확인하였다. 따라서, 본 발명에서 분리한 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주는 바이오제닉 아민을 생성하지 않으면서 고품질의 막걸리 제조에 중요하게 사용될 수 있는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

#### 과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않는 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P)를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물을 유효성분으로 포함하는 알코올 생산용 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 (1) 물에 불린 쌀을 증자하여 고두밥을 제조하는 단계; (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 누룩 및 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P)를 첨가하는 단계; 및 (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 발효하는 단계를 포함하여 제조하는 것을 특징으로 하는 막걸리의 제조방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 막걸리를 제공한다.

### 발명의 효과

[0011] 본 발명에서는 막걸리로부터 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주를 분리하였고, 상기 균주가 피트산 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민을 생성하지 않음을 확인하였다. 따라서, 본 발명에서 분리한 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주는 바이오제닉 아민을 생성하지 않으면서 고품질의 막걸리 제조에 중요하게 사용될 수 있어, 관련 업계에 매우 중요한 발명으로 평가된다.

### 도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 선발된 효모의 28S rRNA 유전자 염기서열을 분석하여 GenBank에 등록되어 있는 효모들과 상동성을 분석한 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피트산(phytic acid) 분해능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민(biogenic amine)을 생성하지 않는 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P)를 제공한다.

[0014] 본 발명에 따른 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주는 막걸리로부터 분리된 균주들 중에서 피트산 분해

능 및 알코올 생성능과 알코올, 당 및 아황산에 대한 내성을 가지며, 바이오제닉 아민을 생산하지 않아 막걸리 제조용 발효 균주로서 가장 적합한 균주로 선발된 것이다.

- [0015] 막걸리의 주원료는 쌀, 현미와 같이 피트산이 높은 곡류로서 피트산 함량이 높으면 장내흡수율이 낮아 식품에 피트산이 결합된 무기질의 생체 이용률이 감소된다. 따라서, 본 발명의 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주는 피트산 분해능을 지녀 막걸리 섭취 시 무기질의 흡수율을 높일 수 있을 것으로 판단된다.
- [0016] 상기 선발된 본 발명의 SRCM102595 균주는 28S rRNA 영역의 염기서열 분석을 실시한 결과, 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*)로 동정되었다.
- [0017] 본 발명의 균주 사카로마이세스 세레비지에 SRCM102595 균주를 한국미생물보존센터에 2019년 4월 29일자로 기탁하였다(기탁번호: KCCM12504P).
- [0018] 본 발명의 일 구현 예에 따른 균주에서, 상기 바이오제닉 아민은 히스타민, 푸트레신, 카다베린 및 티라민인 것을 특징으로 한다.
- [0019] 또한, 본 발명은 상기 균주, 이의 배양액, 상기 배양액의 농축액 또는 그의 건조물을 유효성분으로 포함하는 알코올 생산용 조성물을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 일 구현 예에 따른 조성물에서, 상기 알코올은 곡류를 발효시킨 알코올일 수 있으며, 가장 바람직하게는 곡류를 발효시킨 막걸리일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 본 발명의 균주를 배양하는 방법은 당업계에 통상적으로 이용되는 방법에 따라 배양할 수 있으며, 특별한 방법에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 또한, 본 발명은
- [0023] (1) 물에 불린 쌀을 증자하여 고두밥을 제조하는 단계;
- [0024] (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 누룩 및 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P)를 첨가하는 단계; 및
- [0025] (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 발효하는 단계를 포함하여 제조하는 것을 특징으로 하는 막걸리의 제조방법을 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명의 막걸리의 제조방법은, 보다 구체적으로는
- [0027] (1) 물에 불린 쌀을 110~130℃에서 8~12분 동안 증자하여 고두밥을 제조하는 단계;
- [0028] (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 고두밥 대비 누룩 8~12 중량% 및 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P) 8~12 중량%를 첨가하는 단계; 및
- [0029] (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 22~28℃에서 4.5~5.5일 동안 발효하는 단계를 포함할 수 있으며,
- [0030] 더욱 구체적으로는
- [0031] (1) 물에 불린 쌀을 121℃에서 10분 동안 증자하여 고두밥을 제조하는 단계;
- [0032] (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 고두밥 대비 누룩 10 중량% 및 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P) 10 중량%를 첨가하는 단계; 및
- [0033] (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 25℃에서 5일 동안 발효하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명은 또한, 상기 방법으로 제조된 막걸리를 제공한다.
- [0035] 이하, 본 발명의 실시예를 들어 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] **제조예 1. 막걸리 제조**
- [0037] (1) 1시간 동안 물에 불린 쌀을 꺼내어 30분 동안 물기를 제거하고, 오토클레이브를 이용하여 121℃에서 10분 동안 증자하여 고두밥을 제조하였다.
- [0038] (2) 상기 (1)단계의 제조한 고두밥에 고두밥 대비 누룩 10 중량% 및  $8.32 \pm 0.10 \log_{10}$  cfu/ml 농도의 사카로마

이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) SRCM102595 균주(기탁번호: KCCM12504P) 10 중량%를 첨가하였다.

[0039] (3) 상기 (2)단계의 첨가한 고두밥 혼합물을 25℃에서 5일 동안 발효하였다. 상기 발효 시 2일간은 호기성 배양 후 나머지 3일은 혐기성 배양으로 진행하였다.

[0040] **재료 및 방법**

[0041] **1. 균주의 분리 및 특성 분석**

[0042] 가. 균주의 분리

[0043] 발효식품(현미 막걸리)으로부터 효모 균주를 분리하기 위하여 발효식품 1 g을 멸균 생리식염수 9 mL에 현탁한 후 10<sup>6</sup>까지 십진 희석하여 사용하였다. 분리용 배지는 페니실린/스트렙토마이신이 함유된 YM(BD) 고체 배지에 현탁액을 100 mL 도달하여 29℃에서 48시간 배양한 후 독립된 콜로니를 선별하였다. 이후 YM broth(BD)에 계대 배양하여 30% 글리세롤과 동량으로 혼합 후 -80℃에 보관하며 사용하였다.

[0044] 나. 균주 특성 분석 방법

[0045] 1) 피타아제(phytase) 활성보유 효모의 분리

[0046] 1-1) PSM 배지에서 투명한 확인을 통한 1차 스크리닝

[0047] 피타아제 활성 여부를 파악하기 위하여 PSM 한천 평판을 사용하여 각 단일 균주가 피트산(phytic acid)을 분해하는 양상을 투명한의 크기로 확인하였다. PSM 배지(0.5% Ca-phytate, 1% galactose, 0.3% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, 0.01% CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.01% MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, pH를 5.5, 2% Agar)를 멸균 후 여과 멸균(0.2 mm membrane filter)한 ca-판토텐산염(20 mg/L), 티아민(20 mg/L), 이노시톨(20 mg/L), 피리독신(20 mg/L), 니코틴산(5 mg/L), 비오틴(0.2 mg/L)을 각각 배지에 첨가하여 PSM agar plate를 이용하였다. 전배양한 효모 배양액을 2 mL씩 PSM 한천 평판에 접종하고, 29℃에서 48시간 동안 정지 배양 후 투명한의 크기를 측정하였다.

[0048] 1-2) 델프트(Delft) 배지에서의 생육 확인을 통한 2차 스크리닝

[0049] 피트산(phytic acid) 이용률을 파악하기 위하여 delft + phy 배지와 delft + p 배지를 사용하여 각 단일 균주가 피트산(phytic acid)을 분해하여 성장한 정도를 분광광도계를 이용하여 측정하였다. 사용된 배지는 delft + phy(phytic acid 첨가)와 delft + p(phosphate 첨가)를 사용하였다. [Delft + phy 배지: D-Glucose(20 g/L), KCl(1.7 g/L), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(7.5 g/L), MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O(740 mg/L), pH 5.5(50 mmol/L succinic acid/NaOH buffer)에 여과한 EDTA(30 mg/L), CaCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O(8.3 mg/L), ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O(9 mg/L), FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (6 mg/L), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>(3 mg/L), MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O(1.5 mg/L), Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O(0.77 mg/L), CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O(0.85 mg/L), CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O(0.59 mg/L), KI(0.2 mg/L), d-biotin(0.05 mg/L), p-aminobenzoic acid(0.2 mg/L), nicotinic acid(1 mg/L), calcium pantothenate(1 mg/L), pyridoxine HCl(1 mg/L), thiamine HCl(1 mg/L), myo-inositol(25 mg/L) 첨가]. 기질로 사용되는 피트산 디포타슘염(phytic acid dipotassium salt, 1.85 g/L)는 버퍼에 녹인 후, 0.2 mm 필터로 제균한 후 배지에 첨가하였다. Delft + p 배지는 상기의 배지에 피트산(phytic acid) 대신 포스페이트(phosphate)를 첨가하여 사용하였다. 전배양한 균주의 흡광도 값을 OD<sub>600</sub>= 1.0으로 조정 후, 각각의 배지를 500 mL 분주한 48 웰 플레이트에 5 mL 접종하였다. 48시간 동안 진탕 배양(29℃, 240 rpm) 후 마이크로플레이트 분광광도계로 OD<sub>600</sub>에서 생육 정도를 측정하였다.

[0050]

[0051] 1-3) 피트산(Phytic acid) 분해능

[0052] 피트산(phytic acid) 분해능을 측정하기 위하여 균주를 접종한 delft + phy 배양액에서 피트산 디포타슘염(phytic acid dipotassium salt)의 분해 정도를 흡광도법으로 측정하였다. 흡광도 값을 OD<sub>600</sub>= 0.1로 조정된 전배양한 균주 1%(v/v)를 delft + phy 배지에 접종하여 29℃에서 48시간 배양하였다. 배양액 0.5 mL와 1 mL NH<sub>4</sub> · Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 반응액(0.2 g NH<sub>4</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O + 0.2 mol/L HCl 100 mL/L)을 혼합 후 100℃에서 30분 동안 반응시켜 철(iron)과 피트산(phytic acid)을 결합시켰다. 반응 종료 후 얼음물에서 15분 동안 냉각시킨 후, 10000 rpm, 15분간 원심분리시켜 침전물을 분리시켰다. 반응 상층액 1 mL에 1.5 mL의 2',2-비피리딘 용액(64 mM 2,2-



bipyridine + 1% thioglycolic acid)을 섞은 후 볼텍싱하였다. 519 nm에서 발색된 철의 양을 측정하여 이를 피트산 값으로 측정하였다.

[0053] 2) 발효적합성 평가

[0054] 2-1) 분리 효모 균주의 알코올 생성능

[0055] 분리 효모의 알코올 발효능은 30%(w/v)의 글루코스를 첨가한 YM 액체배지 (21 g/L)를 121°C에서 15분 동안 가압 멸균 후 전배양액 1% (v/v)를 접종하여 29°C, 180 rpm으로 48시간 동안 진탕 배양하였다. 추가적으로 29°C에서 48시간 정지 배양을 수행함으로써 알코올 발효를 유도하였다. 생성된 알코올 함량을 측정하기 위한 배양액의 전 처리는 4°C에서 4,000 rpm으로 10분간 원심분리(GYROZEN, 1580MGR, Daejeon, Korea)하여 상등액을 수집한 후 내부표준(internal standard)으로써 동량의 10%(v/v) 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)을 섞은 후 증류하였다. 최종적으로 얻어진 증류액은 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 GC-FID로 분석하였다. 생성된 알코올의 GC(HP 6890 system) 분석을 위해 컬럼은 DB-5(30 m × 0.25 mm id, 0.25 μm film thickness), 검출기는 FID(flame ionization detector), 이동상은 헬륨가스, 컬럼 유량은 1.3 mL/분, 분할비는 50:1, 검출기 온도는 250°C, 오븐 온도는 70°C에서 2분간 유지 후 1분당 20°C씩 150°C까지 증가하도록 설정하고, 시료는 10 μL 주입하였다. 내부표준(internal standard)은 이소프로판올(isopropanol)을 사용하였으며 정량 분석을 위한 표준물질로서 농도별 에탄올과 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)을 사용하여 작성된 표준곡선을 기준으로 시료의 알코올 농도를 계산하였다.

[0056] 2-2) 효모균주의 알코올, 당, 아황산 내성

[0057] 효모 균주의 알코올, 당, 아황산 내성 평가를 위하여 YM broth를 48-웰 플레이트에 500 μL씩 분주한 후 효모 균주를 배지의 1% (5 μL, v/v) 접종하여 파라필름으로 커버 후 29°C, 240 rpm으로 48시간 동안 진탕 배양하여 전 배양을 실시하였다. 본배양을 위하여 당내성의 경우 YM broth에 글루코스를 1, 40, 50, 60%(w/v) 농도로 첨가하여 농도별 당 함유 배지를 제조하였으며, 아황산 내성평가를 위하여 메타중아황산칼륨(potassium disulfite)을 0, 250, 500 ppm(mg/L, w/v) 첨가한 아황산 배지를 이용하였다. 에탄올 내성을 평가하기 위하여 에탄올을 0, 10, 12.5, 15%(v/v) 농도로 첨가한 알코올 배지를 이용하였다. 121°C에서 15분 동안 가압 멸균하였다. 전배양 후 농도별 당, 아황산, 알코올 첨가 YM 액체 배지를 48-웰 플레이트에 500 μL씩 분주하고 효모 전배양액을 배지의 1%(5 μL, v/v) 접종 후에 48-웰 플레이트를 파라 필름으로 커버하여 29°C, 240 rpm으로 72시간 동안 진탕 배양하였다. 각각의 배지에서의 생육도를 24, 48, 72시간 간격으로 600 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였다.

[0058] 3) 효모 균주의 바이오제닉 아민 생산능

[0059] 효모의 바이오제닉 아민 생성 여부는 대표적으로 인체에 유해한 것으로 알려진 4종의 히스타민(histamine), 푸트레신(putrescine), 카다베린(cadaverine), 티라민(tyramine)과 같은 바이오제닉 아민의 전구체인 리신(lysine), 히스티딘(histidine), 티로신(tyrosine), 오르니틴(ornithine)에 pH 지시제인 크레졸 퍼플(cresol purple), 글리세롤(glycerol)을 첨가한 배지를 사용하였다(표 1). 최종적으로 전구체를 대사하여 염기성 바이오제닉 아민이 생성되면 노란색에서 보라색으로 색이 변화하는 원리로 생성 유무를 흡광도로 판별하였다. 제조한 배지를 48-웰 플레이트에 500 μL씩 분주한 후, 효모 전배양액을 배지의 10% (50 μL, v/v) 접종하였다. 48-웰 플레이트를 파라필름으로 감아 29°C, 240 rpm으로 72시간 동안 진탕 배양하였고, 흡광도는 590 nm에서 측정하였다. 음성대조군으로 상업용 효모인 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 표준 균주와 safale-U04, US05를 사용하여 결과를 비교하였다. 결과는 전구체를 넣은 배지와 넣지 않은 배지의 상등액을 분리하여 흡광도를 측정하였고 전구체를 넣지 않은 배지를 blank로 설정하여 계산하였다.

표 1

바이오제닉 아민 정성분석을 위한 배지 조성

[0060]

성분	함량(중량%)
효모 추출물	1
펩톤	2
글루코스	2
pH 지시약(bromocresol purple)	0.006
글리세롤	0.25
생체아민 전구체	0.1
pH	pH 5.0

[0061] 4) 효모 균주의 동정

[0062] 분리 효모의 1차적인 생화학적 동정을 위하여 YM broth에 29℃에서 48시간 증균 배양한 후 yeast extract glucose chloramphenicol agar plate(Becton)에 29℃에서 48시간 선택 배양하여 효모 배양 상등액을 회수하였다. 배양 상등액을 API 20C AUX kit(Bio Merieux)를 사용하여 표준 효모 균주의 데이터베이스 결과와 비교함으로써 동정에 이용하였다. 또한 효모 균주들의 분자계통학적 동정은 28S rDNA 및 5.8S rRNA의 염기서열을 이용하였다. 분리 균주의 28S rDNA 유전자의 염기서열 분석을 위한 프라이머는 universal primer인 NL1 (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-3'; 서열번호 1)와 NL4 (5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3'; 서열번호 2), 5.8S rRNA region의 증폭은 primer ITS-1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'; 서열번호 3)과 ITS-4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'; 서열번호 4)를 사용하였다. 염기서열의 크로마토그램을 이용하여 갭을 최소화한 후 NCBI(National Center for Biotechnology Information)에서 서열 일치도가 높은 표준 균주들의 28S rDNA 유전자 염기서열을 확보하여 계통도를 작성하였다. 계통도 분석은 Tamura-Nei 모델에 기초한 Maximum Likelihood 방법을 사용하여 분석하였고, 산출한 각각의 계통수에서 각 분지에 대한 통계학적 신뢰도를 산출하기 위해 bootstrap 분석을 1,000회 실행하였으며, 분석은 MEGA 7.0.26 program을 사용하였다.

[0063] **2. 막걸리 제조**

[0064] 전통주 발효 효모 사카로마이세스 세레비지에(*S. cerevisiae*) SRCM102595 균주 및 이를 이용한 막걸리 제조방법에 관한 것으로서, 알콜 생성능과 탄산 생성이 높은 균주를 이용하여 막걸리의 발효능과 독특한 풍미를 확인하고자 하였다.

[0065] 1) 실험 재료 및 방법

[0066] 1-1) 쌀 막걸리 제조공정

[0067] 쌀 막걸리 제조시 쌀은 전복순창 광식이네 우렁눈쌀(친환경쌀)을 사용하였으며, 누룩은 소금나무 송학곡자 우리 밀 누룩을 이용하였다. 효모는 선별된 사카로마이세스 세레비지에 5종 SRCM102594, SRCM102595, SRCM102596, SRCM102597, SRCM102598를 YM broth(Yeast Malt Broth, BD Difco)에 28℃에서 48시간 배양 후 10% 접종하여 막걸리 제조를 하였다. 막걸리 발효 조건은 25℃에서 2일간 호기성 배양 후 나머지 3일은 혐기성 배양으로 진행하였다.

[0068] 1-2) 생균수 측정

[0069] 생균수는 시료를 멸균 생리식염수에 순차적으로 10배수로 희석하여 YM agar media에 도말하여, 28℃에서 2일간 배양한 후 콜로니를 계수하여 측정하였다.

[0070] 1-3) pH 및 산도 측정

[0071] 막걸리의 pH 및 산도는 시료 1 g을 10배 희석하여 pH 미터(Mettler Toledo CH/MPC227, Switzerland)로 측정하였고 적정 산도는 0.1N-NaOH를 가하여 pH 8.3까지 적정된 소비량을 젯산함량으로 환산하여 계산하였다.

[0072] 1-4) 유리당, 유기산 및 알코올 분석

[0073] 유기산과 유리당의 분석은 표 2와 같다. 시료 1 g에 증류수 9 mL를 가하여 1시간 동안 균질화시킨 후 0.45 μm 멤브레인 필터에 통과시킨 후 표 2의 분석조건으로 HPLC로 동시에 분석하였다.

**표 2**

유리당, 유기산 및 알코올 HPLC 분석조건

[0074]

장치	Agilent Technologies 1200 Series
검출기	RID, DAD 210nm
컬럼	Aminex column HPX-87P(300×7.8 mm)
온도	50℃
주입 용량	20 μl
유속	0.6 mL/min
이동상	0.005N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>



[0075] 1-5) 유리 아미노산 분석

[0076] 유리 아미노산 분석은 표 3과 같다. 시료 10 g을 취하여 3차 증류수 30 mL를 넣고 교반한 후 50 mL로 정용하였다. 초음파를 이용하여 20분간 추출한 후 원심분리(3000 rpm, 10분)한 다음 상등액 2 mL에 5% TCA 2 mL를 넣고 원심분리(10,000 rpm, 10분)한 후 상등액을 취하여 0.02N HCL로 희석한 후 0.2 μm 실린지 필터에 통과하여 아미노산 분석기로 분석하였다.

**표 3**

유리 아미노산 분석기 분석조건

장치	Amino acid analysis (Hitachi L-8900)
검출기	UV/Vis (440nm-570nm)
컬럼	Hitachi 4.6×60mm (speration) Hitachi 4.6×40mm (Ammonia filtering)
완충액 유속(Buffer flow rate)	0.40 mL/min
닌하이드린 유속(Ninhydrin flow rate)	0.35 mL/min
온도	50℃
주입 용량	20 μl
이동상	Buffer set(PH-SET KANTO)

[0078] 1-6) 관능평가

[0079] 관능평가는 색(color), 향(flavor), 맛(taste), 목넘김(texture), 종합기호도(overall)의 강도를 5점 척도(1점: 매우 나쁘다, 2점: 나쁘다, 3점: 보통, 4점: 좋다, 5점: 매우 좋다)로 평가하도록 하였다. 그리고 전반적인 기호도(overall acceptability) 또한 5점 척도로 위와 같다.

[0080] **실시예 1. 균주의 알코올 생성능 비교**

[0081] 선별된 균주 5종의 GC/FID 분석을 통한 알코올 생성량을 비교한 결과, SRCM102595 균주가 16.6%를 나타내어, 다른 균주에 비해 알코올 생성능이 우수하였다.

**표 4**

알코올 생성능

균주 번호	에탄올(%)
SRCM102594	15.31
SRCM102595	16.60
SRCM102596	15.08
SRCM102597	15.26
SRCM102598	15.62

[0083] **실시예 2. 균주의 분리동정 및 특성**

[0084] 실시예 1에서 선별된 알코올 생성능이 우수한 SRCM102595 균주의 특성을 실험한 결과는 하기와 같다.

[0085] 1) 효소활성

[0086] 1-1) 균주의 피트산(phytic acid) 함유 배지에서의 생육도

[0087] Delft + phy 배지와 delft + p 배양액에서 그 생장을 비교해보았을 때, 거의 피트산(phytic acid)을 분해하여 유리된 인산염(phosphate)를 사용하여 성장이 가능하였다. 막걸리에서 분리한 사카로마이세스 세레비지애(*S. cerevisiae*) SRCM102595 균주가 높은 생장능을 보여 피트산 분해능이 높음을 알 수 있었다.

**표 5**

[0088]

균주의 피트산 함유 배지에서의 생육도

균주번호	Clear zone (cm) in PSM media	Delft + phy (OD <sub>600</sub> )	Delft + p (OD <sub>600</sub> )	OD <sub>600</sub> Delft + phy/Delft + p
SRCM102595	1.2	1.51	1.50	1.01

[0089]

1-2) 균주의 피트산 분해능 측정

[0090]

피트산 분해능은 delft + phy 배지의 피트산 농도와 48시간 동안 배양한 배양액을 비교하여 잔존한 피트산 함량을 표준물질의 스탠다드 커브로 계산하고 감소량을 퍼센트로 나타냈다. Delft + phy 배지의 피트산 함량은 240.79 mmol이었다. 피트산 분해 능력은 22.09%를 나타내었다.

표 6

[0091]

균주의 피트산 분해능 측정

균주번호	피트산 함량(Residual quantity of phytic acid, mmol)	피트산 분해능(Degradation of phytate concentration, %)
SRCM102595	240.79	22.09

[0092]

2) 당, 아황산, 알코올 내성 평가

[0093]

균주의 발효적합성 규명을 위한 알코올, 당 및 아황산 내성은 양조 시, 사용 가능한 기준으로 검토하였다. SRCM102595 균주가 아황산 250, 500 ppm에서 생육 저해를 보이지 않아 아황산에 강한 내성을 보이는 것을 알 수 있었다. 고농도의 당과 알코올의 함량에 의해 알코올 생성 스타터 효모 균주는 심각한 저해를 받게 되어 발효율이 급감하고 발효시간이 길어짐에 따라 최종 제품의 품질에 영향을 미칠 수 있다. 또한, 발효주에서 아황산의 첨가는 항산화 작용과 선택적 살균 작용으로 유해한 미생물을 제어하기 위해 사용되지만 이러한 아황산은 50 mg/L 이상의 농도에서 효모에 의한 알코올 발효에 영향을 미칠 수 있다고 알려져 있다. 하지만 분리된 균주의 당, 에탄올, 아황산에 의한 내성은 발효주용 평균으로써 적합한 특성을 보유하고 있음을 나타낸다.

표 7

[0094]

당, 아황산, 알코올 내성 평가(OD<sub>600</sub>)

균주번호	알코올 내성			당 내성			아황산 내성	
	10%	12.5%	15%	40%	50%	60%	250 ppm	500 ppm
SRCM102595	1.87 ±0.01	1.79 ±0.05	1.55 ±0.18	1.44 ±0.01	0.69 ±0.09	0.07 ±0.00	1.65 ±0.04	1.77 ±0.08

[0095]

3) 바이오제닉 아민 생성능

[0096]

바이오제닉 아민은 아미노산의 탈탄산 작용, 아미노기 전이작용 등의 화학적 작용에 의해 주로 생성되는 질소 화합물이다. 이러한 화학 작용이 잘 일어날 수 있는 환경인 단백질 함유 식품에서 미생물이나 생화학적 활성에 의해 발생할 수 있다. 대표적인 BAs로는 푸트레신(putrescine), 히스타민(histamine), 티라민(tyramine), 스페르미딘(spermidine), 세로토닌(serotonin) 등이 있다. 브로모크레솔 퍼플(Bromocresol purple)을 이용한 흡광도 방법으로 바이오제닉 아민 생성을 관별한 결과, 4종의 히스타민, 푸트레신, 카다베린, 티라민과 같은 바이오제닉 아민은 생성되지 않았다.

표 8

[0097]

바이오제닉 아민 생성능

균주번호	히스타민	티라민	카다베린	푸트레신
SRCM102595	0.00	0.00	0.00	0.00

[0098]

4) 균주의 동정

[0099] Sequence alignment 분석 결과 SRCM102595는 *S. cerevisiae* strain YW2(KX377685)와 100%의 상동성을 나타내었다(도 1). 최종적으로 사카로마이세스 세레비지에(*S. cerevisiae*) SRCM102595로 명명하였으며 한국미생물보존센터(KCCM, Korean Culture Center of Microorganisms)에 2019년 4월 29일자로 기탁하였다(기탁번호: KCCM12504P).

[0100] 실시예 3. 친환경 쌀 막걸리 성분분석

[0101] 1) 친환경 쌀 막걸리 생균수 측정

[0102] 균주 종류에 따른 친환경 쌀 막걸리의 생균수 측정 결과는 표 9와 같으며, 모든 시료에서 48시간에 생균수가 가장 높게 증가하였으며, 특히 SRCM102595에서  $8.53 \pm 0.10 \log_{10}$  CFU/mL로 가장 높게 나타났다. 발효가 진행됨에 따라 모든 시료에서 생균수는 유지하다가 조금 감소하는 경향을 보였다.

표 9

[0103] 친환경 쌀 막걸리의 생균수(log CFU/mL)

시료	발효 시간					
	0시간	24시간	48시간	72시간	96시간	120시간
SRCM102594	$7.18 \pm 0.11$	$8.00 \pm 0.12$	$8.38 \pm 0.10$	$8.20 \pm 0.11$	$8.00 \pm 0.10$	$7.36 \pm 0.10$
SRCM102595	$6.78 \pm 0.10$	$8.15 \pm 0.11$	$8.53 \pm 0.10$	$8.58 \pm 0.10$	$8.34 \pm 0.11$	$7.82 \pm 0.10$
SRCM102596	$6.81 \pm 0.10$	$7.90 \pm 0.10$	$8.32 \pm 0.11$	$8.36 \pm 0.11$	$8.15 \pm 0.10$	$7.77 \pm 0.11$
SRCM102597	$6.83 \pm 0.09$	$8.00 \pm 0.11$	$8.36 \pm 0.12$	$8.38 \pm 0.12$	$8.40 \pm 0.10$	$7.83 \pm 0.10$
SRCM102598	$6.69 \pm 0.11$	$7.78 \pm 0.10$	$8.36 \pm 0.12$	$8.63 \pm 0.11$	$8.28 \pm 0.09$	$7.85 \pm 0.10$

[0104] 2) 친환경 쌀 막걸리의 pH, 산도 측정

[0105] 친환경 쌀 막걸리의 pH, 총산도는 표 10과 같다. 막걸리의 pH는 막걸리의 발효과정에서 생성되는 다양한 유기산의 종류와 농도 등에 영향을 받으므로, 발효진행 상황을 예측할 수 있는 중요한 지표이다. 보통 막걸리의 pH는 4.0~4.6으로, 친환경 쌀 막걸리의 pH가  $3.67 \pm 0.01 \sim 4.28 \pm 0.02$ 로 비슷한 범위를 나타냈다. 막걸리를 포함한 주류의 산도는 술의 풍미와 보존성에 영향을 주며, 주류의 품질에 큰 영향을 미친다. 막걸리의 산도는 SRCM102596에서  $0.59 \pm 0.02\%$ 로 가장 낮게 나타났으며, SRCM102598에서  $1.15 \pm 0.02\%$ 로 가장 높게 나타났다. 총산도는 pH와 유사하게 나타났으며, pH가 낮을수록 산도는 높아지는 경향을 보였다.

표 10

[0106] 친환경 쌀 막걸리의 pH, 산도

시료		발효시간(h)						
		0	24	48	72	96	120	
SRCM102594	pH	$7.85 \pm 0.01$	$5.91 \pm 0.01$	$4.63 \pm 0.01$	$4.81 \pm 0.01$	$4.05 \pm 0.02$	$3.96 \pm 0.01$	
		SRCM102595	$7.45 \pm 0.02$	$5.60 \pm 0.01$	$4.47 \pm 0.02$	$4.38 \pm 0.01$	$4.30 \pm 0.01$	$3.80 \pm 0.01$
		SRCM102596	$7.23 \pm 0.02$	$5.93 \pm 0.02$	$4.40 \pm 0.01$	$4.28 \pm 0.01$	$4.30 \pm 0.01$	$4.28 \pm 0.02$
		SRCM102597	$7.38 \pm 0.01$	$6.24 \pm 0.01$	$4.58 \pm 0.01$	$4.21 \pm 0.01$	$4.19 \pm 0.01$	$4.11 \pm 0.01$
		SRCM102598	$7.30 \pm 0.01$	$6.36 \pm 0.02$	$4.49 \pm 0.01$	$4.22 \pm 0.01$	$3.83 \pm 0.01$	$3.67 \pm 0.01$
SRCM102594	산도 (%)	$0.05 \pm 0.01$	$0.18 \pm 0.02$	$0.37 \pm 0.01$	$0.43 \pm 0.02$	$0.68 \pm 0.01$	$0.85 \pm 0.02$	
		SRCM102595	$0.06 \pm 0.02$	$0.23 \pm 0.01$	$0.43 \pm 0.01$	$0.47 \pm 0.01$	$0.58 \pm 0.01$	$0.96 \pm 0.01$
		SRCM102596	$0.56 \pm 0.01$	$0.16 \pm 0.01$	$0.44 \pm 0.02$	$0.51 \pm 0.01$	$0.58 \pm 0.01$	$0.59 \pm 0.02$
		SRCM102597	$0.50 \pm 0.01$	$0.15 \pm 0.01$	$0.38 \pm 0.01$	$0.53 \pm 0.01$	$0.60 \pm 0.01$	$0.69 \pm 0.01$
		SRCM102598	$0.57 \pm 0.01$	$0.14 \pm 0.01$	$0.42 \pm 0.02$	$0.56 \pm 0.01$	$0.92 \pm 0.02$	$1.15 \pm 0.02$

[0107] 3) 친환경 쌀 막걸리의 알코올 함량

[0108] 친환경 쌀 막걸리의 알코올 함량은 표 11과 같으며, 발효기간이 길어질수록 알코올 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 균주별로는 SRCM102595 균주를 이용한 막걸리가 가장 높은 알코올 함량을 나타내었다.

표 11

[0109] 친환경 쌀 막걸리의 알코올 함량(%)

시료	발효 시간					
	0시간	24시간	48시간	72시간	96시간	120시간
SRCM102594	0.40±0.01	5.20±0.01	6.14±0.01	6.20±0.01	6.38±0.02	6.40±0.02
SRCM102595	0.35±0.02	5.41±0.01	7.25±0.01	7.40±0.02	7.90±0.01	8.00±0.03
SRCM102596	0.31±0.01	5.34±0.02	6.14±0.01	6.22±0.01	6.26±0.01	6.30±0.03
SRCM102597	0.33±0.01	5.40±0.00	6.19±0.00	6.24±0.00	6.44±0.00	6.50±0.02
SRCM102598	0.42±0.00	5.41±0.01	6.00±0.01	6.11±0.01	6.16±0.01	6.20±0.03

[0110] 4) 친환경 쌀 막걸리의 당도

[0111] 친환경 쌀 막걸리의 당도는 표 12와 같으며 발효가 진행됨에 따라 모든 시료에서 높아지는 경향을 보였다. 0시간에서 0.70±0.00~1.00±0.01 ° Brix로 나타났으며, 120시간 발효 시 7.80±0.02~9.20±0.03 ° Brix로 높아졌다.

표 12

[0112] 친환경 쌀 막걸리 당도 측정(° Brix)

시료	발효시간(h)					
	0	24	48	72	96	120
SRCM102594	0.70±0.00	6.00±0.00	6.60±0.01	6.40±0.01	6.70±0.01	8.30±0.02
SRCM102595	0.80±0.00	7.70±0.01	8.40±0.02	8.50±0.01	8.90±0.02	9.00±0.02
SRCM102596	1.00±0.01	6.30±0.00	7.00±0.01	7.00±0.01	7.50±0.01	7.80±0.02
SRCM102597	1.00±0.00	5.80±0.01	6.20±0.01	6.20±0.01	6.70±0.01	8.00±0.02
SRCM102598	0.90±0.01	7.60±0.01	9.20±0.02	8.70±0.02	9.10±0.03	9.20±0.03

[0113] 5) 관능평가

[0114] 친환경 쌀 막걸리의 관능평가 결과는 표 13과 같다. 균주별 친환경 쌀 막걸리의 색, 향, 맛, 목넘김, 전반적인 기호도 모두 SRCM102595가 가장 높았으며, 전반적인 기호도는 SRCM102595에서 4.86으로 가장 높게 나타났으며, SRCM102594, SRCM102596에서 각각 4.43, 4.29로 높게 나타났다. 따라서 친환경 쌀 막걸리의 균주선택은 전반적으로 당도, 알코올 함량이 높고 탄산이 풍부하여 관능평가에서 높게 나타난 SRCM102595로 선택하였다.

표 13

[0115] 친환경 쌀 막걸리의 관능평가

시료	색	향	맛	목넘김	전반적기호도
SRCM102594	3.86	4.00	4.57	3.57	4.43
SRCM102595	4.29	4.57	5.00	4.57	4.86
SRCM102596	3.29	4.14	4.29	3.57	4.29
SRCM102597	3.43	3.57	3.71	3.43	4.00
SRCM102598	3.86	4.00	3.43	3.00	4.00

[0116] 실시예 4. SRCM102595 균주를 이용한 친환경 쌀 막걸리 성분분석

[0117] 1) 친환경 쌀 막걸리의 유리당 함량

[0118] 친환경 쌀 막걸리의 유리당 함량은 표 14와 같다. 막걸리의 함유된 유리당 중 말토스(maltose), 글루코스(glucose), 프락토스(fructose)가 검출되었다. 막걸리 중의 유리당은 알코올 발효기질로 이용되고 주류의 향기 생성과 감미도에 영향을 주는 성분이다. 따라서 본 실험 결과 발효가 진행됨에 따라 말토스는 27479.23±15.22 mg/L~188.55 mg/L로 낮아졌으며, 글루코스는 16205.66±12.24 mg/L~201.42±3.05 mg/L로 낮아졌고, 프락토스 또한 처음에는 1037.80±9.87 mg/L의 함량을 나타내다가 120시간 발효에서는 검출되지 않아 검출된 유리당의 함량이 낮아지는 경향을 보였다. 막걸리의 감미는 주로 전분 분해에 의해 생성된 글루코스에서 기인하며, 막걸리의 발효 과정 중 유리당 함량의 변화는 담금 방법이나 전분질 원료와 누룩의 배합비에 따라 차이를 나타낸다.

따라서 본 실험 결과, 막걸리가 발효됨에 따라 유리당 함량에 큰 영향을 미쳤다.

표 14

[0119] 친환경 쌀 막걸리의 유리당 함량(mg/L)

시료		발효시간					
		0시간	24시간	48시간	72시간	96시간	120시간
친환경 쌀 막걸리	말토스	27479.23 ±15.22	2927.90 ±6.10	485.73±2.11	233.63±2.33	140.11 ±1.23	188.55 ±2.38
	글루코스	16205.66 ±12.24	7064.35 ±5.70	1911.83 ±3.11	629.68±3.14	311.14 ±2.15	201.42 ±3.05
	프락토스	1037.80±9.87	594.33±2.38	427.95±1.29	215.45±1.10	141.85 ±2.40	-

[0120] 2) 친환경 쌀 막걸리의 유기산 함량

[0121] 친환경 쌀 막걸리의 유기산 함량은 표 15와 같다. 막걸리에 함유된 유기산 중 옥살산(oxalic acid), 구연산(citric acid), 말산(malic acid), 숙신산(succinic acid), 아세트산(acetic acid)이 검출되었으며, 발효가 진행됨에 따라 옥살산, 구연산 및 말산은 감소하였다. 이는 막걸리 발효 중 말산을 분해시켜 젖산을 생성시키는 락토바실러스 및 류코노스톡 등과 같은 특정 유산균에 의한 것으로 생각된다. 숙신산(succinic acid)은 671.09 ±5.28 mg/L에서 1238.65±12.25 mg/L로 함량이 높아졌으며, 막걸리 발효 중 숙신산이 주요 유기산이라고 많은 연구에서 증명된 결과와 유사한 결과를 나타내었다. 또한, 아세트산 함량도 231.79±2.85 mg/L에서 525.80±1.52 mg/L로 높아졌으며, 이는 막걸리의 발효가 진행됨에 따라 산미가 조금 높아져 나타난 결과라 생각된다.

표 15

[0122] 친환경 쌀 막걸리의 유기산 함량(mg/L)

시료		발효 시간					
		0시간	24시간	48시간	72시간	96시간	120시간
친환경 쌀 막걸리	Oxalic acid	68.13±1.20	46.01±2.30	44.01±1.59	42.73±1.09	41.79±3.12	43.05±2.34
	Citric acid	407.48 ±4.22	328.78±3.24	298.46 ±2.11	256.03 ±2.42	239.30 ±1.61	347.90 ±2.06
	Malic acid	221.05 ±3.12	314.14±3.07	243.10 ±3.30	224.63 ±2.77	162.27 ±2.85	-
	Succinic acid	671.09 ±5.28	1124.06 ±10.01	1112.68 ±10.02	1269.30 ±12.22	1267.53 ±10.95	1238.65 ±12.25
	Acetic acid	231.79 ±2.85	263.13±1.83	402.35 ±2.31	399.86 ±2.88	481.26 ±1.76	525.80 ±1.52

[0123] 3) 친환경 쌀 막걸리의 유리 아미노산 함량

[0124] 친환경 쌀 막걸리의 유리 아미노산 함량은 표 16과 같다. 총 23종의 유리 아미노산이 검출되었으며, 발효가 진행됨에 따라 유리 아미노산의 함량은 차이를 나타냈다. 근육대사, 조직재생, 인체의 질소평형 유지 등의 효과가 있는 아미노산인 발린(valine)은 발효가 진행됨에 따라 134.43±1.77 mg/L로 높아졌으며, 막걸리의 발효의 주요 아미노산으로 검출되었다. 발효 5일차에 알라닌, 글리신 또한 각각 115.43±2.20 mg/L, 112.17±1.62 mg/L로 높은 함량을 나타내었으며, 감칠맛을 내는 글루탐산(glutamic acid)과 쓴맛을 내는 아르기닌(arginine)은 각각 80.29±1.02 mg/L, 98.60±0.97 mg/L로 나타났다. 유리 아미노산은 막걸리의 발효기간에 따라 함량의 차이를 보였으며 본 실험 결과 막걸리에 신맛, 감칠맛, 단맛 및 쓴맛을 나타내는 유리 아미노산들이 균형 있게 함유되어 있다고 생각된다.

표 16

[0125] 친환경 쌀 막걸리의 유리 아미노산 함량(mg/L)

유리 아미노산	발효시간					
	0시간	24시간	48시간	72시간	96시간	120시간

Asp	13.26±0.34	6.81±0.06	8.16±0.04	6.62±0.23	7.78±0.19	10.06 ±0.60
Thr	-	5.70±0.18	7.98±0.41	6.43±0.10	4.20±0.05	6.02±0.31
Ser	3.83±0.12	6.06±0.12	8.00±0.20	5.54±0.21	6.07±0.12	10.13 ±0.53
Glu	96.19±0.28	109.04±1.57	145.30±1.01	129.20±0.89	66.08±0.58	80.29 ±1.02
Gly	-	-	-	142.87±1.15	101.90±0.74	112.17 ±1.64
Ala	8.00±0.04	-	69.10±0.62	-	108.77±1.18	115.43 ±2.20
Cit	54.12±1.08	128.94±1.21	188.27±0.39	280.17±1.13	-	-
Val	-	27.89±0.08	98.52±1.12	101.21±1.21	103.73±1.08	134.43 ±1.77
Cys	177.38±3.29	49.44±0.55	-	-	-	-
Met	-	0.54±0.02	2.11±0.36	1.62±0.31	0.82±0.76	5.12±0.20
Cysthi	5.93±0.97	-	5.55±0.60	7.34±0.20	5.20±0.17	-
Ile	2.79±0.11	-	1.81±0.55	1.75±0.55	2.08±0.18	5.53±0.51
Leu	18.39±0.99	-	6.89±0.24	5.92±0.13	14.23±0.10	34.22 ±0.74
Try	6.09±1.01	-	-	-	9.03±0.26	27.27 ±0.41
Phe	-	-	-	-	20.92±0.45	36.48 ±0.71
b-AiBA	-	-	6.92±0.70	7.81±0.14	6.63±0.07	5.71±0.25
g-ABA	-	-	5.28±0.88	4.91±0.09	2.76±0.23	5.20±0.39
NH3	75.94±3.72	76.04±0.28	76.74±1.10	80.94±1.09	83.01±1.53	88.94 ±1.02
Hyls	44.03±2.19	26.99±0.79	33.25±0.78	28.66±0.24	23.67±0.33	30.51 ±0.60
Orn	3.62±0.77	18.24±0.53	40.67±0.12	49.58±0.17	25.81±0.10	19.83 ±0.12
His	-	-	7.80±0.16	-	-	-
Car	198.27±3.05	73.66±1.04	118.97±2.05	85.83±2.04	83.59±1.38	99.55 ±1.20
Arg	-	-	78.50±0.94	92.37±1.06	55.41±0.27	98.60 ±0.97
합계	707.84±7.25	529.35±3.67	909.82±8.18	1038.76 ±11.82	731.69±3.22	925.50 ±10.55

수탁번호

[0126]

기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

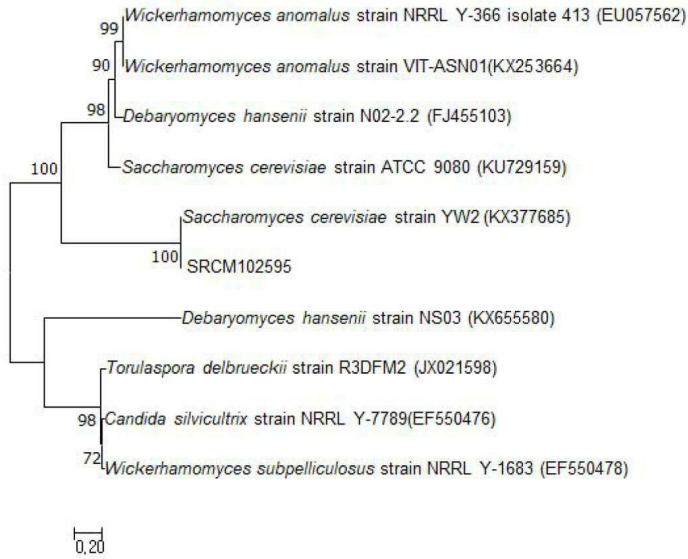
수탁번호 : KCCM12504P

수탁일자 : 20190429



도면

도면1



서열 목록

- <110> Microbial Institute for Fermentation Industry
- <120> Method for producing Makgeolli using *Saccharomyces cerevisiae* SRCM102595 strain
- <130> PN20056
- <160> 4
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 24
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer
- <400> 1
- gcatatcaat aagcggagga aaag
- <210> 2
- <211> 19
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer

24

<400> 2

ggtccgtggt tcaagacgg 19

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 3

tccgtaggtg aacctgcgg 19

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 4

tcctccgctt attgatatgc 20