



Research Article

Quality characteristics of beer made using yeasts isolated from *makgeolli* or *nuruk*

막걸리와 누룩에서 분리한 효모를 이용한 맥주 발효

Jeong Sil Choi, Ye Seul Kwon, Heui Yun Kang, Ji Eun Kang*

최정실 · 권예슬 · 강희운 · 강지은*

Fermented Food Science Division, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과

Abstract The purpose of this study was to find brewing yeast suitable for beer from the native. This study was conducted to investigate the brewing properties of beer made using different yeasts isolated from *makgeolli* or *nuruk*. Five strains (*Saccharomyces cerevisiae* N9, N4, YM55, YM53, and YM22) were selected based on the ability to produce alcohol in maltose-containing media. These were then fermented in wort (11 °Brix) at different temperatures (15, 20, and 25°C) for approximately 7 days and then subjected to comparative analysis. The contents of alcohol and soluble solids were within 3.2-4.6 v/v% and 6.5-7.2 °Brix, respectively. *S. cerevisiae* YM22 produced more alcohol (4.0%) at 15°C while N4 produced more alcohol (4.6%) at 25°C. The pH was the lowest with N4 at 25°C (pH 3.74). Glycerol content was the highest with N9 at 25°C. Among organic acids, citric acid content was the highest in all treatments. In conclusion, yeast strains isolated from *makgeolli* or *nuruk* showed potential for beer making and optimal fermentation temperature varied depending on the yeast used.

Keywords yeasts, beer, temperature, quality, characteristics



Citation: Choi JS, Kwon YS, Kang HY, Kang JE. Quality characteristics of beer made using yeasts isolated from *makgeolli* or *nuruk*. Korean J Food Preserv, 29(7), 1164-1173 (2022)

Received: September 27, 2022
Revised: October 18, 2022
Accepted: October 27, 2022

***Corresponding author**

Ji Eun Kang
 Tel: +82-63-238-3622
 E-mail: kje0516@korea.kr

Copyright © 2022 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

한국의 3대 주류 중 하나인 맥주는 소비가 점차 증가하는 경향을 보인다. 최근에는 수입이 늘어 세계 여러 나라의 맥주를 맛볼 수 있게 되었을 뿐더러 수제 맥주 시장도 활성화되고 있는 추세이다. 또한, 2000년대에 들어서는 소비자의 요구가 다양해지면서 다양한 제품들이 나오고 있다(Park 등, 2019). 맥주는 곡류의 발아 과정에서, 즉 보리를 발아시켜 맥아를 만들 때 생성되는 효소에 의해 전분이 분해되어 당분이 되고, 효모의 알코올 발효에 의해 알코올과 탄산가스가 생성되는 과정을 거치면서 만들어진다(Kim, 2020; Park과 Kang, 2020). 맥주는 효모에 따라 고온 발효 맥주인 에일형 상면 발효 맥주와 저온 발효 맥주인 라거형 하면 발효 맥주로 나눈다(Sung과 Lee, 2017). 지금까지는 라거형의 저온 발효 맥주의 대량 생산으로 인해 라거 맥주가 시장에서 주를 이루고 있었는데, 에일형의 고온 발효 맥주를 소규모 맥주업체에서 제조하게 되면서 소비자가 더 다양한 맥주를 접할 수 있게 되고, 맥주에 대한 관심도 증가되고 있는 실정이다.

이에 맥주에 대한 연구도 활발하게 진행되어 왔다(Jung과 Chung, 2017; Park 등, 2019). 그중에 쌀을 이용한(Lee 등, 2017; Lee 등, 2019), 전통누룩을 이용한 맥주의 제조 연구(Jung과 Chung, 2017)가 진행되었었다. 맥주의 품질은 발효 온도, 홉핑, 효모 종류와 같은 발효조건뿐 아니라, 맥즙, 첨가하는 부산물 등에 따라서도 달라진다(Lee 등, 2019; Remedios 등, 2022). 특히, 효모는 알코올 발효 시 알코올류 뿐 아니라 카보닐 화합물류, 고급 알코올류, 에스테르류, 유기산류, 황화합물 등을 생성하므로 맥주의 향과 품질에 영향을 준다(Lee 등, 2019; Massimo 등, 2021). 그러므로, 알코올 생성력과 맥주의 품질 개선을 위해 효모를 개량 또는 새로운 효모를 분리 동정하는 연구가 시도되고 있다(Jeong 등, 2019; Lee 등, 2019). 한편, 지금까지 맥주 제조에 사용한 양조용 효모는 대부분이 수입 효모이므로, 맥주 발효에 적합한 효모를 찾기 위하여 우리의 막걸리 또는 누룩에서 유래된 효모가 맥주 발효에 적합한지 양조적성을 파악하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

본 연구에 사용된 균주는 국립농업과학원 발효자원실에서 막걸리와 재래누룩으로부터 분리·동정한 효모 중 glucose 배지와 maltose 배지에서 알코올 생성능이 3% 이상 되는 5종의 균주(*Saccharomyces cerevisiae* N9, N4, YM55, YM53 및 YM22)를 사용하였다(Choi 등, 2017; Jeon 등, 2021; Jeong 등, 2017). 균주를 달리한 처리구를 각각 N9, N4, YM55, YM53 및 YM22로 명명하였다. 전배양용 배지로는 YPD 액체배지(Becton, Dickinson & Company, Sparks, MD, USA)를 사용하였고, 각각의 효모를 1백금이 접종하고 진탕배양기(SI 600R, Lab companion Com, Daejeon, Korea) 25°C, 150 rpm에서 2일 동안 배양하여 사용하였다. 맥즙 제조에 필스너 맥아(Pilsner, Weyermann, Bamberg, Germany)를 사용하였다. 실험에 사용한 시약은 모두 Sigma-Aldrich Chemical Co., Ltd.(St. Louis, MO, USA)의 특급시약을 사용하였다.

2.2. 맥즙 제조

맥아 4 kg를 분쇄하여 당화조에 넣고 물 12 L를 첨가하

여 50°C에서 15분, 62°C에서 1시간, 72°C에서 15분, 78°C에서 15분 동안 온도를 올리면서 당화를 진행하였다. 당화 종료 후 여과시키면서 78°C의 물 12 L를 천천히 부어주어 남아 있는 잔당을 회수하였다. 여과한 맥즙(wort)은 11 °Brix로 조정된 후 자비조에 넣고 100°C에서 끓기 시작하면 1시간 동안 뚜껑을 닫지 않고 끓여주었다. 자비조를 얼음물에 넣어 빠르게 30°C로 냉각시킨 후 소독된 발효조로 옮겨 맥주 발효에 사용하였다.

2.3. 맥주 제조

각 효모는 전 배양액으로부터 효모수를 측정하여 처리구 간에 동일한 1×10^7 CFU/mL 양을 11 °Brix로 맞춘 맥아즙에 접종하여 15, 20 및 25°C에서 7일간 발효하였다. 발효가 끝나면 4°C에서 9,000 rpm(15,300 ×g force)으로 15분간 원심분리(Hitachi CR22G III, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan)하여 상층액을 맥주로 사용하였다.

2.4. 품질 특성 측정

2.4.1. 이화학적 품질 분석

국세청 주류 분석 규정집 맥주 편에 따라 다음과 같이 분석하였다(National Tax Service Liquors License Support Center, 2014). pH, 총산 함량 및 아미노산도는 pH meter(Orion 3 Star, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 측정하였다. 즉, 총산은 시료 10 mL를 중화시키는 데 소비되는 0.1 N 수산화나트륨용액(Yakuri Pure Chemicals Co., Ltd., Kyoto, Japan)의 소비량을 구해 구연산(%)으로 환산하였다. 아미노산도는 10 mL에 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.2까지 적정한 다음 포르말린(Yakuri Pure Chemicals Co., Ltd.) 용액 5 mL를 가해 중화시키고, 소비되는 0.1 N NaOH의 양을 mL로 표시하였다. 가용성 고형분 함량(°Brix)은 굴절 당도계(PR101, ATAGO®, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS)법으로 분석하였는데, 즉, 희석한 시료 용액 0.2 mL에 DNS 시약 0.6 mL를 넣어 끓는 수욕 중에서 5분 동안 끓여준 다음 실온에서 냉각하고, 냉각 후 증류수 4.2 mL를 넣고 잘 혼합한 후, 분광광도계(JP/U-2000 spectrophotometer, Hitachi,

Ltd., Tokyo, Japan)로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 환원당을 측정하였다. 포도당(Junsei Chemical Co., Ltd.) 표준 검량선을 이용하여 환원당 함량(%)을 계산하였다. 알코올 함량은 각 시료 100 mL에 증류수 100 mL를 혼합하여 증류한 후, 증류액 약 80 mL를 받고 증류수로 100 mL까지 정용한 다음 증류액을 15°C로 조정하여 간이 알코올 분석기(AL-3, RIKEN KEIKI, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 휘발산 함량은 알코올 농도 측정을 위해 받은 증류액을 30 mL 취한 후, 페놀프탈레인 용액(Showa Chemicals Inc., Tokyo, Japan) 2-3방울을 가해 0.01 N NaOH를 이용하여 자홍빛으로 변할 때(pH 8.2-8.3)까지 적정하고, ppm 단위로 나타냈다. 맥주의 색도는 색차계 사용과 European Brewery Convention(EBC)값 측정, 두 가지 방법으로 측정하였다. 먼저, 색차계(Ultra Scan PRO, Hunter Lab Inc., Reston, VA, USA)를 사용하여 명도를 나타내는 L(lightness), 적색을 나타내는 a(redness), 황색을 나타내는 b(yellowness) 및 색차(dE)값을 측정하였다. 이때 표준 L, a, b 값은 각각 96.85, -0.12, -0.30이었고, ΔE 는 다음과 같은 식으로 계산되었다($dE = \sqrt{(dL)^2 + (da)^2 + (db)^2}$). EBC값은 EBC에서 정한 standard analytical-EBC color 측정 방법으로 UV-visible spectrophotometer(JP/U-2000 spectrophotometer, Hitachi Co., Ltd.)를 이용하여 430 nm에서 측정된 흡광도값에 25를 곱해준 값으로 나타내었다.

2.4.2. 맥즙과 맥주의 유리당 측정

유리당 분석은 HPLC(e-2695, Waters Co., Milford, MA, USA)를 이용하였으며 post column 방법으로 분석하였다. 유리당 분석용 column은 Supelco sil LC-NH₂(25 cm×4.6 mm, Bellefonte, PA, USA)로 분석하였다. 이동상은 75% acetonitrile(Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, USA)를 사용하였고, flow rate 1.0 mL/min, column oven 35°C, injection volume은 10 μ L로 설정하여 RI detector (2414, Waters Co., Milford, MA, USA)로 검출하였다. 시료는 4°C에서 12,000 $\times g$, 10분간 원심분리(CR 22G, Hitachi Koki Co., Tokyo, Japan)하여 상등액을 회수한 다음 여과(0.2 μ m, Millipore Co.,

Burlington, MA, USA) 후에 사용하였다.

2.4.3. 맥즙과 맥주의 유기산 측정

유기산은 dual pump로 구성된 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였으며, post column 방법으로 분석하였다. 유기산 분석용 column은 Shodex RSpack KC-G(6.0 mm×50.0 mm) guard column에 RSpack KC-811(8.0 mm×300 mm, Showa Denko Co., Tokyo, Japan) 2개를 연결하여 사용하였다. Pump A의 이동상은 3 mM perchloric acid를 사용하였으며, flow rate는 0.8 mL/min, column oven의 온도는 63°C로 하였다. Column을 통과해 나온 분리물은 pump B의 이동상[0.2 mM bromothymol blue(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)], 15 mM Na₂HPO₄(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 2 mM NaOH와 반응한 후 UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 pump B의 flow rate는 1.0 mL/min, 반응온도는 30°C로 하였다. 시료는 여과(0.2 μ m, Merck Millipore Ltd., Carrigtwohill, Cork, Ireland) 후 사용하였다.

2.5. 통계 분석

3회 반복 측정된 실험에서 얻은 모든 데이터는 평균±표준편차로 표시하였다. 통계 분석은 SPSS 프로그램 버전 26.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 품질 특성에 대하여 처리구간 즉, 발효온도별, 효모별 유의적인 차이를 알아보기 위하여 유의수준을 $\alpha=0.05$ 로 설정하여 two-way ANOVA test에 의해 평가하였다. 처리평균간 유의성 검정은 Duncan의 다중범위 검정을 실시하였다. 또한, 발효온도별로 효모를 달리한 맥주의 이화학적 특성과 시료 간의 관계를 시각적으로 도표화하기 위해 주성분 분석(PCA)을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 효모별 맥주의 품질 특성

효모별 맥주의 품질 특성은 Table 1에 나타내었다. 모든 품질 특성에서 발효온도별, 효모별 시료 간의 유의적인 차이를 보였다($p<0.05$). 효모는 맥즙의 당을 이용하여 이산화

Table 1. Physicochemical properties of beers fermented with different yeasts at different fermentation temperatures

Temp. (°C)	Yeast	pH	Alcohol (% v/v)	Soluble solid (°Brix)	Total acid (%)	Amino acidity (mL/10 mL)	Reducing sugar (%)	Volatile acid (ppm)
15	YM55	4.45±0.10 ^{1)B2)}	3.60±0.00 ^{Bb)}	7.00±0.12 ^{Ba)}	0.18±0.01 ^{Da)}	0.45±0.05 ^{AB)}	0.63±0.06 ^{b)}	46.73±0.95 ^{Ca)}
	YM53	4.45±0.08 ^{Ba3)}	3.60±0.00 ^{Bb)}	6.77±0.06 ^{CDa)}	0.19±0.00 ^{Ca)}	0.50±0.03 ^{Aa)}	0.55±0.04 ^{b)}	49.13±0.50 ^{Ca)}
	YM22	4.37±0.08 ^{Ba)}	4.00±0.00 ^{Aa)}	7.23±0.06 ^{Aa)}	0.20±0.01 ^{C)}	0.47±0.03 ^{ABa)}	0.51±0.08 ^{b)}	69.20±2.60 ^{Ba)}
	N9	4.35±0.03 ^{Ba)}	3.20±0.00 ^{Cc)}	6.67±0.06 ^{Dc)}	0.24±0.01 ^{Aa)}	0.39±0.02 ^{Cb)}	0.59±0.07 ^{b)}	71.87±0.23 ^{Ba)}
	N4	4.59±0.04 ^{Aa)}	3.90±0.00 ^{Ab)}	6.90±0.02 ^{BCb)}	0.21±0.00 ^{Bb)}	0.42±0.02 ^{BCc)}	0.55±0.03 ^{c)}	118.73±1.80 ^{Aa)}
20	YM55	4.40±0.05 ^{A)}	4.00±0.00 ^{Aa)}	7.13±0.06 ^{Ba)}	0.15±0.01 ^{Cb)}	0.39±0.06 ^{B)}	1.02±0.04 ^{Ba)}	32.33±0.64 ^{Dc)}
	YM53	4.28±0.05 ^{Bb)}	4.00±0.00 ^{Aa)}	6.63±0.06 ^{Ca)}	0.17±0.01 ^{Cb)}	0.43±0.01 ^{Bb)}	0.69±0.03 ^{Ca)}	30.73±1.27 ^{Dc)}
	YM22	4.28±0.03 ^{Bab)}	3.60±0.00 ^{Bb)}	6.50±0.10 ^{Cc)}	0.19±0.00 ^{B)}	0.38±0.03 ^{Bb)}	0.23±0.02 ^{Db)}	43.00±1.31 ^{Cb)}
	N9	4.22±0.02 ^{BCb)}	4.00±0.00 ^{Aa)}	7.30±0.01 ^{Aa)}	0.19±0.01 ^{Bb)}	0.42±0.03 ^{Bb)}	1.42±0.06 ^{Aa)}	48.20±0.69 ^{Bb)}
	N4	4.16±0.08 ^{Cb)}	4.00±0.00 ^{Ab)}	7.30±0.10 ^{Aa)}	0.21±0.01 ^{Ab)}	0.58±0.03 ^{Ab)}	1.35±0.09 ^{Aa)}	80.40±1.44 ^{Ac)}
25	YM55	4.40±0.03 ^{A)}	3.70±0.00 ^{Ba)}	6.67±0.15 ^{Bb)}	0.16±0.01 ^{Db)}	0.45±0.06 ^{C)}	0.89±0.12 ^{BCa)}	42.20±0.72 ^{Bb)}
	YM53	4.35±0.05 ^{Aab)}	3.50±0.00 ^{Cb)}	6.40±0.10 ^{Cb)}	0.17±0.02 ^{CDb)}	0.45±0.04 ^{Cab)}	0.60±0.31 ^{Cb)}	36.13±0.83 ^{Cb)}
	YM22	4.22±0.03 ^{Bb)}	3.50±0.00 ^{Cb)}	6.90±0.10 ^{Ab)}	0.19±0.01 ^{B)}	0.46±0.04 ^{Ca)}	1.08±0.31 ^{ABa)}	42.67±1.33 ^{Bb)}
	N9	4.27±0.03 ^{Bb)}	3.70±0.00 ^{Bb)}	7.00±0.10 ^{Ab)}	0.18±0.01 ^{BCb)}	0.58±0.01 ^{Ba)}	1.25±0.21 ^{Aa)}	43.60±2.43 ^{Bc)}
	N4	3.74±0.04 ^{Cc)}	4.60±0.00 ^{Aa)}	6.78±0.01 ^{ABb)}	0.25±0.00 ^{Aa)}	0.69±0.02 ^{Aa)}	0.99±0.05 ^{ABb)}	111.00±1.40 ^{Ab)}

¹⁾All values are mean±SD (n=3).

²⁾Values with different superscript (^{A-D}) within the same column differ significantly by strain at the same fermentation temperature (p<0.05).

³⁾Values with different superscript (^{a-c}) within the same column differ significantly by fermentation temperature at the same strain (p<0.05).

탄소와 알코올을 만들어 내는 중요한 역할을 한다. 효모의 종류에 따라 생성되는 발효 부산물의 종류와 양이 달라지므로 맥주의 품질에 많은 영향을 미친다(Jeong 등, 2015a; Viana 등, 2021). 일반적으로 발효온도가 높으면 생산하는 알코올 양이 더 많을 수 있지만, 효모에 따라 적합한 온도가 있기에 발효온도에 따라 서로 영향을 받게 된다. 발효온도 15°C에서는 YM22 효모가 4.0%의 알코올을 생성하였고, 반면 20°C에서는 YM22 효모가 3.6%로 가장 낮은 알코올을 생성하였다. 발효온도 25°C에서는 N4 효모가 4.6%의 알코올을 생성하였다. 알코올 생성력으로 보면, YM22 효모는 15°C와 같이 저온 발효에 적합한 효모라 사료되고, N4 효모는 모든 발효온도에서 높은 알코올을 생성하지만 특히 25°C와 같이 고온 발효에 적합한 효모라 판단된다. 발효 전 맥즙의 가용성 고형분 함량을 11 °Brix로 조정하였는데 발효가 끝난 후 가용성 고형분 함량은 발효온도와 효모의 종류에 따라 약 7 °Brix 정도 되었다. 이는 맥즙 내 존재하는 당을 이용하여 알코올을 생성하였다고 볼 수 있다. 환원당

함량은 0.23-1.42%로 15°C에서 균주별로 유의적인 차이가 없었으나, 나머지 발효온도에서는 균주별로 유의적인 차이를 보였다. 발효온도에 따른 효모별 맥주의 품질 특성 중 YM55 효모는 모든 발효온도에서 pH와 아미노산도가 유의적인 차이가 없었다. 맥주에서의 pH는 맥주의 향과 물리·미생물학적 안정성에 영향을 주는 것으로 인식되어 왔다(Kaneda 등, 1997). 발효 맥주의 경우, pH는 4.2-4.4이었다(Jung과 Chung, 2017). 이 연구결과와 비교해 보았을 때 효모 균주에 따라 약간의 차이는 있었으나 그 범위에 있었다. 시판 맥주를 가지고 품질 특성을 본 연구에서도 시료에 따라 다르긴 했어도 고온에서 발효한 상면 발효 맥주에서도 저온에서 발효한 하면 발효 맥주에서도 pH가 대부분 그 범위 안에 있었다(Choi 등, 2022). 그렇지만 25°C에서 발효한 N4 효모 사용 맥주는 pH가 3.74로 가장 낮은 pH를 나타내었다. 이는 다른 처리구에 비해 총산 함량과 휘발산 함량이 월등히 높은 것에서 비롯된 것으로 높은 발효온도에 의한 것으로 사료된다(Jeong 등, 2015a). 라거 맥주의 경

우, pH가 4.3 이하면 신맛이 나므로 이것보다 떨어지지 않도록 품질 관리를 하는 것이 중요하다고 하였는데(Jeong 등, 2015a), 15°C에서 발효한 효모별 맥주 중 pH가 4.3 이하는 없었다. 효모별 발효온도를 달리했을 때는 YM22 효모에서 발효온도에 따라 총산 함량이 유의적인 차이가 없었다. 맥주의 휘발산은 주로 아세트산이며, 포도당 분해 시 생성된다. 아세트산은 발효 시 과잉의 효모 첨가 또는 고온에서 발효 및 맥즙에 다량의 산소 공급으로 인해 더 많이 생성되기도 하고, 또한 효모의 종류에 따라서도 휘발산의 생성량이 달라진다(Jeong 등, 2015a). 포도주의 경우, 휘발산 함량이 많다는 것은 이상 발효의 지표로 품질에 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있어 400-500 ppm을 초과하지 않아야 한다고 규정하고 있다(Jeong 등, 2015b). 맥주에서의 휘발산 함량은 N4 효모 사용 맥주가 모든 발효온도에서 높은 수치인 80-118 ppm으로 나타내었지만 그 보다는 낮은 수치라고 사료된다. 모든 품질 특성을 볼 때, 전반적으로 N4 효모 맥주가 모든 발효온도에서 알코올 생성이 많았고 또한, 휘발산 함량, 아미노산도, 총산 함량도 높

았다. 추가로 관능적인 분석을 실시하여 특성과 비교하는 것이 좋을 거라 판단된다.

3.2. 효모별 맥주의 색

맥주의 색은 외관특성과 관계된 항목으로 양조용수, 맥즙의 제조과정, 맥주의 발효과정, 숙성과정에서 페놀화합물 및 메일러드 반응 등에 의해 영향을 받아 변화한다고 보고되었다(Sung과 Lee, 2017). Table 2는 효모별 색 특성을 살펴본 결과이다. 발효온도별 15°C와 25°C에서 그리고 효모별 N4의 EBC값을 제외하고 유의적인 차이를 보였다 ($p < 0.05$). 명도를 나타내는 L값은 15개의 시료에서 55.79-88.77 수준으로 나타났고 발효온도 20°C의 YM55, YM53 효모가 88.77로 가장 높은 값을 나타냈다. 적색도인 a값과 황색도를 나타내는 b값은 25°C의 N4 효모가 각각 3.59와 20.42로 가장 높은 값을 나타냈다. 색차(dE)의 경우, 17.64-46.14 수준으로 나타났고, 가장 낮은 L값과 가장 높은 a값과 b값을 보인 발효온도 25°C의 N4 효모가 가장 높은 값을 보였다. 발효온도 15°C와 25°C에서 균주별로 색차(dE)는

Table 2. Color parameters of beers fermented with different yeasts at different fermentation temperatures

Temp. (°C)	Yeast	L*	a*	b*	Color (dE)	Color (EBC)
15	YM55	87.60±0.03 ^{1)A2)c}	-1.45±0.01 ^{Cc}	14.07±0.02 ^{Dc}	17.14±0.02 ^{Dc}	4.18±0.85
	YM53	88.17±0.01 ^{Ab3)}	-1.11±0.02 ^{Ac}	16.01±0.02 ^{Aa}	18.51±0.02 ^{Bcb}	4.47±0.89
	YM22	87.97±0.02 ^{Aa}	-1.48±0.01 ^{Dc}	15.19±0.02 ^{Ba}	17.91±0.02 ^{Cc}	5.05±0.37
	N9	80.90±1.36 ^{Cb}	-1.61±0.02 ^{Ec}	13.91±0.21 ^{Dc}	21.43±0.87 ^{Ab}	5.12±1.49
	N4	85.43±0.04 ^{Ba}	-1.36±0.02 ^{Bc}	14.93±0.01 ^{Cc}	19.08±0.02 ^{Bc}	5.52±0.88 ^b
20	YM55	88.77±0.01 ^{Aa}	-0.90±0.01 ^{Bb}	15.37±0.02 ^{Cb}	17.64±0.02 ^{Db}	5.28±1.35 ^B
	YM53	88.77±0.01 ^{Aa}	-0.90±0.01 ^{Bb}	15.38±0.04 ^{Cb}	17.65±0.04 ^{Dc}	5.03±1.00 ^B
	YM22	60.34±0.11 ^{Dc}	0.09±0.04 ^{Aa}	12.30±0.06 ^{Dc}	38.62±0.08 ^{Aa}	7.74±2.49 ^B
	N9	87.13±0.03 ^{Ba}	-1.17±0.02 ^{Cb}	16.41±0.00 ^{Ba}	19.37±0.03 ^{Cc}	6.28±1.83 ^B
	N4	78.00±0.12 ^{Cb}	0.13±0.03 ^{Ab}	16.67±0.01 ^{Ab}	25.36±0.09 ^{Bb}	12.29±1.35 ^{Aa}
25	YM55	87.87±0.01 ^{Ab}	-0.87±0.01 ^{Da}	15.74±0.00 ^{Ca}	18.39±0.01 ^{Ea}	6.17±2.03
	YM53	80.84±0.00 ^{Bc}	-0.40±0.01 ^{Ba}	16.04±0.02 ^{Ba}	22.88±0.01 ^{Ba}	4.79±1.20
	YM22	80.83±0.01 ^{Bb}	-0.69±0.00 ^{Cb}	14.61±0.02 ^{Eb}	21.89±0.02 ^{Db}	7.34±4.64
	N9	80.26±0.02 ^{Cb}	-0.67±0.02 ^{Ca}	14.89±0.01 ^{Db}	22.50±0.01 ^{Ca}	8.94±3.78
	N4	55.79±0.07 ^{Dc}	3.59±0.03 ^{Aa}	20.42±0.03 ^{Aa}	46.14±0.05 ^{Aa}	4.98±0.42 ^b

¹⁾All values are mean±SD (n=3).

²⁾Values with different superscript (A-E) within the same column differ significantly by strain at the same fermentation temperature ($p < 0.05$).

³⁾Values with different superscript (a-c) within the same column differ significantly by fermentation temperature at the same strain ($p < 0.05$).

유의적인 차이를 나타냈지만 EBC값은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그렇지만 N4 효모 사용 맥주는 20℃에서 12.29로 유의적으로 높은 EBC값을 나타냈고, 다른 효모에서는 발효온도별로도 유의적인 차이를 보이지 않았다. EBC값으로 5.3-7.5는 담색 맥주라 하는데(Jeong 등, 2015a), 발효온도와 상관없이 거의 모든 맥주가 담색 맥주이었으며, N4 효모 사용 맥주는 발효온도에 따른 비교에서 20℃로 발효한 맥주가 EBC값 12 이상으로 담색보다는 좀 더 짙은 색을 띠는 것으로 나타났다. 시판 맥주와 EBC값으로 색을 비교해 보아도, 상면 발효 맥주는 4.78-93.98 범위에 있었고, 하면 발효 맥주는 5.48-11.79 범위 안에 있는 것으로 시판 맥주보다는 모든 시료에서 담색을 보였다는 것을 알 수 있었다(Choi 등, 2022).

3.3. 효모별 맥주의 유리당 함량

Table 3에서 보는 바와 같이 맥주의 주요 유리당은 maltose(5.50 ± 0.03 mg%), glucose(1.02 ± 0.01 mg%),

sucrose(0.30 ± 0.02 mg%), fructose(0.20 ± 0.00 mg%)이다. Maltose와 glucose는 전분으로부터 그리고 fructose는 맥아에서 유래된다. 발효 중 맥주의 maltose와 glucose, fructose를 소비하여 glycerol을 생성한다(Viana 등, 2021). 맥주에 존재하는 fructose, glucose, sucrose, maltose 중 fructose를 제외한 나머지 당들은 검출되지 않았다. 대신 맥주에서 검출되지 않았던 glycerol이 발효에 의해 생성되었고, fructose도 맥주에서 0.2% 검출되었지만, 오히려 발효 후 fructose 함량이 증가하여 잔당으로 남아 있음을 알 수 있었다. 이것은 맥주의 바디감과 단맛에 영향을 줄 것으로 사료된다(Postigo 등, 2021; Viana 등, 2021). 특히, 발효온도 20℃와 25℃에서 N9 효모가 glycerol을 다른 효모에 비해 많이 생성함을 알 수 있었다.

3.4. 효모별 맥주의 유기산 함량

효모는 맥주에 존재하는 당분을 사용하여 에너지를 얻고 알코올, 이산화탄소, 유기산, 글리세롤, 에스테르 등과 같은

Table 3. Free sugar contents of wort and beers fermented with different yeasts at different fermentation temperatures

Temp.(℃)	Yeast	Free sugar content (mg/%)				
		Glycerol	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
Wort		ND	0.20±0.00	1.02±0.01	0.30±0.02	5.50±0.03
15	YM55	122.22±18.51 ^{1)A/B2)}	51.12±5.19 ^A	ND	ND	ND
	YM53	123.92±7.66 ^{AB}	55.91±3.19 ^{Aa}	ND	ND	ND
	YM22	150.54±8.71 ^A	54.02±3.43 ^A	ND	ND	ND
	N9	100.55±9.81 ^{Bb3)}	32.37±2.49 ^{Bb}	ND	ND	ND
	N4	153.62±12.00 ^A	62.50±5.28 ^{Aa}	ND	ND	ND
20	YM55	135.32±0.38 ^B	48.64±2.58 ^B	ND	ND	ND
	YM53	139.77±3.84 ^B	58.78±1.44 ^{Aa}	ND	ND	ND
	YM22	159.68±11.00 ^B	46.85±0.93 ^B	ND	ND	ND
	N9	200.89±16.39 ^{Aa}	51.04±2.08 ^{Ba}	ND	ND	ND
	N4	144.25±21.18 ^B	50.65±0.15 ^{Bb}	ND	ND	ND
25	YM55	144.87±13.39 ^{BC}	45.85±7.31 ^A	ND	ND	ND
	YM53	119.68±12.74 ^{CD}	46.82±0.78 ^{Ab}	ND	ND	ND
	YM22	163.15±7.09 ^B	46.07±1.02 ^A	ND	ND	ND
	N9	202.72±11.13 ^{Aa}	40.64±0.06 ^{Aa}	ND	ND	ND
	N4	106.76±6.45 ^D	38.52±0.07 ^{Bc}	ND	ND	ND

¹⁾All values are mean±SD (n=3). ND means not detected.

²⁾Values with different superscript (A-D) within the same column differ significantly by strain at the same fermentation temperature (p<0.05).

³⁾Values with different superscript (a-c) within the same column differ significantly by fermentation temperature at the same strain (p<0.05).

부산물을 생산한다(Viana 등, 2021). 특히, 맥주에서의 유기산은 맥주의 향미 특성에 영향을 줄 뿐더러, 효모로부터 비롯된 것이므로 발효 능력의 척도라 할 수 있다(Belke와 Irwin, 1992; Rodrigues 등, 2010). 맥주의 주요 유기산은 malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid이다(Table 4). 그중 malic acid, citric acid, lactic acid는 효모의 발효과정 중에 단백질 합성을 위해 아미노기(-NH₂)가 아미노산의 탈 아미노 반응으로 제거되면서 생성된다. 유기산 발효는 효모와 같은 미생물을 이용한 것으로 미생물로 인해 성분이 분해되고 합성되면서 효모의 종류, 발효조건에 따른 영향으로 인해 맥주의 독특한 맛과 향을 부여한다(Jeong 등, 2015a). 단, lactic acid와 citric acid는 발효 조건에 영향을 받지 않고 효모에 의해 영향을 받는 특성이 있으며, lactic acid는 발효와 숙성과정 중에 에스테르화를 통해 에틸 에스테르가 다량 생성되면서 맥주의 맛에 영향을 미친다(Jeong 등, 2015). 맥주에

서 신선한 맛을 주는(Jung과 Chung, 2017) citric acid는 주로 15°C에서 발효한 맥주에서 높은 함량을 보였다(32.82-46.01 mg%). 쓴 맛에 영향을 주는 succinic acid는(Rezaei 등, 2015) 25°C에서 발효한 N9 효모 맥주(34.57 mg%), N4 효모 맥주(35.38 mg%)에서 유의적으로 높은 양이 검출되었다.

3.5. 다변량 분석을 통한 발효온도에 따른 효모별 맥주의 품질 특성

발효온도에 따른 효모별 맥주의 품질 특성 결과를 다변량 분석법인 주성분 분석을 이용하여 각각의 시료들을 분리하였고, 분리된 패턴 결과는 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1은 발효온도를 달리한 맥주의 품질 특성을 시각적으로 도표화하기 위해 실시한 주성분 분석 결과이다. 발효온도 15°C에서 주성분 1(PC 1)의 설명력은 34.41%이었고, 주성분 2(PC 2)의 설명력은 23.76%로 전체 데이터의 설명력은 58.17%였

Table 4. Organic acid contents of wort and beers fermented with different yeasts at different fermentation temperatures

Temp. (°C)	Yeast	Organic acid content (mg%)				
		Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
Wort		23.04±1.16	27.11±2.74	20.76±1.48	47.90±3.83	ND
15	YM55	13.88±0.35 ^{1)B2)}	10.52±0.46 ^{Cc}	7.97±0.35 ^{Eb}	42.00±3.68 ^a	13.55±0.28 ^{Bc}
	YM53	12.83±0.57 ^B	13.29±0.40 ^{Bc}	9.82±0.12 ^{Da}	39.00±3.36 ^a	12.58±0.18 ^{Bb}
	YM22	21.47±1.78 ^A	12.64±0.53 ^{Bc}	16.40±0.14 ^{Ba}	43.31±1.67 ^a	20.99±2.24 ^{Ab}
	N9	22.28±0.46 ^{Ab3)}	10.95±0.41 ^{Cc}	19.11±0.34 ^{Aa}	46.01±3.12 ^a	22.43±0.40 ^{Ac}
	N4	12.67±0.21 ^{Ba}	14.10±0.38 ^{Ac}	11.52±0.24 ^{Cc}	44.06±2.16 ^a	21.31±1.01 ^{Ab}
20	YM55	11.58±0.53 ^B	13.32±0.51 ^{Db}	6.38±1.13 ^{Cb}	32.82±0.87 ^{Cb}	16.36±0.89 ^{Cb}
	YM53	12.57±1.61 ^B	19.78±0.90 ^{Bb}	6.36±1.26 ^{Cb}	38.13±1.10 ^{Aa}	17.19±2.28 ^{Ca}
	YM22	23.94±1.53 ^A	17.26±1.64 ^{Cb}	9.93±0.89 ^{Bb}	34.55±1.81 ^{BCb}	23.09±2.06 ^{Bb}
	N9	24.80±3.09 ^{Ab}	15.46±1.15 ^{Cb}	9.88±0.18 ^{Bc}	35.70±0.78 ^{ABb}	28.53±1.98 ^{Ab}
	N4	13.64±4.95 ^{Ba}	63.51±1.00 ^{Ab}	18.33±0.49 ^{Ab}	33.68±1.76 ^{BCb}	26.19±1.15 ^{ABab}
25	YM55	12.62±1.97 ^B	18.66±1.97 ^{Da}	10.27±1.19 ^{Ca}	36.16±1.39 ^{Bb}	18.86±1.07 ^{Ba}
	YM53	12.71±0.76 ^B	23.73±1.08 ^{BCa}	7.94±1.28 ^{Dab}	32.82±1.51 ^{Bb}	17.94±1.51 ^{Ba}
	YM22	26.50±2.53 ^A	21.29±2.40 ^{CDa}	9.64±0.86 ^{CDb}	34.50±1.88 ^{Bb}	29.05±1.59 ^{Aa}
	N9	30.20±3.86 ^{Aa}	24.96±0.84 ^{Ba}	13.57±0.58 ^{Bb}	41.68±3.52 ^{Aa}	34.57±1.60 ^{Aa}
	N4	ND	162.07±2.00 ^{Aa}	28.05±1.56 ^{Aa}	ND	35.38±8.06 ^{Aa}

¹⁾All values are mean±SD (n=3). ND means not detected.

²⁾Values with different superscript (^{A-E}) within the same column differ significantly by strain at the same fermentation temperature (p<0.05).

³⁾Values with different superscript (^{a-c}) within the same column differ significantly by fermentation temperature at the same strain (p<0.05).

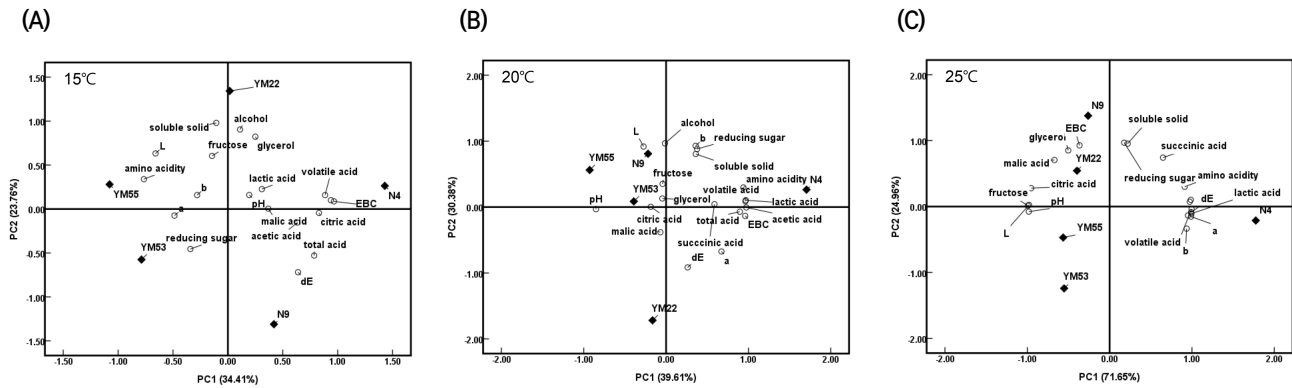


Fig. 1. Principal component analysis of the quality characteristics of beer fermented with different yeasts at different fermentation temperatures (A: 15°C, B: 20°C, C: 25°C).

다. 주성분 1의 음의 방향에는 soluble solid, fructose, amino acidity, L, a, b, reducing sugar가 분포되어 있고, 나머지 품질 특성 모두는 주성분 1의 양의 방향에 분포되었다. 시료는 YM22, N9, N4 효모 맥주가 주성분 1의 양의 방향에 분포되어 있고 음의 방향에는 YM55와 YM53 효모 맥주가 분포되어 있다. 그렇지만, 발효온도 20°C와 25°C에서는 총설명력이 각각 69.99%와 97.61%로 발효온도 15°C보다는 높은 설명력을 나타냈고, 패턴도 발효온도 15°C와는 다른 양상을 보였다. 주성분 1의 양의 방향으로 시료 N4만 분포되어 있었고, 나머지 4종의 시료는 주성분 1의 음의 방향으로 분포되어 있었다. 주성분 1의 양의 방향에 있는 soluble solid, amino acidity, L, a, b, reducing sugar, volatile acid, lactic acid, acetic acid, a, dE, succinic acid 특성에 의해 N4 시료와 다른 시료들이 차이를 보인 것으로 사료된다.

4. 요약

본 연구는 막걸리와 누룩에서 분리한 효모를 이용해서 맥주를 제조하여 맥주 양조에 적합한지를 알아보고자 하였다. 막걸리 또는 누룩에서 분리한 효모 중 말토오스 함유 배지에서의 알코올 생성능이 좋은 5종의 효모 즉, *S. N9*, *N4*, *YM55*, *YM53* 및 *YM22*를 선발하였다. 선발된 효모를 이용해서 온도를 달리하여(15, 20, 및 25°C) 맥주 발효를 한 후, 맥주의 품질 특성을 알아보기 위해 pH, 총산, 아미노산도, 가용성 고형분, 환원당, 알코올, 휘발산 함량 및 색도를 분석하였다. 그 결과, 알코올 함량과 가용성 고형분

함량은 각각 3.2-4.6 v/v와 6.5-7.5 °Brix이었다. 발효온도 15°C에서는 YM22 효모 맥주의 알코올 함량이 4.0%로 높았고, 25°C에서는 N4 효모가 4.6%의 높은 알코올을 생성하였다. 25°C에서 발효한 N4 효모 사용 맥주는 pH가 3.74로 가장 낮은 pH를 나타내었다. 색차는 17.64-46.14로 25°C 발효 N4 효모가 가장 높은 값을 보여 다른 처리구에 비해 색이 진하다는 것을 알 수 있었다. 유리당은 glycerol과 fructose가 검출되었으며, glycerol은 25°C 발효 N9 효모가 가장 높은 수치를 보였고, fructose는 15°C 발효 N4가 높은 수치를 나타냈다. 유기산으로는 사과산이 모든 처리구에서 높게 검출되었다. 반면, 맥즙에서 나타나지 않았던 숙신산은 발효에 의해 모든 처리구에서 검출되었다. 주성분 분석을 통해 발효온도가 높아짐에 따라 N4 효모가 다른 4종의 효모와는 다른 특성을 띠는 것을 알 수 있었다. 결론적으로, 알코올 생성력으로 보면, YM22 효모는 15°C와 같이 저온 발효에 적합한 효모라 사료되고, N4 효모는 모든 발효온도에서 높은 알코올을 생성하지만 특히 25°C와 같이 고온 발효에 적합한 효모라 판단된다. 유리당과 유기산 함량으로 볼 때, 25°C 발효 N9 효모와 15°C 발효 N4 효모가 적합할 것으로 판단된다. 이상으로 막걸리와 누룩에서 분리한 효모가 맥주 제조에 적합한 것으로 판단되며 특히, 효모에 따라 알코올 생성에 적합한 발효온도가 있다는 것을 알 수 있었다.

Acknowledgment

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구 개발 사업(과제번호: PJ01495501)의 지원에 의해 이루어진 것이며,

연구비 지원에 감사드립니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Choi JS, Kang HY. Methodology: Choi JS, Kwon YS. Formal analysis: Choi JS, Kwon YS. Validation: Kang JE. Writing - original draft: Choi JS. Writing - review & editing: Choi JS, Kang JE.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Jeong Sil Choi (First author)

<https://orcid.org/0000-0002-9036-0047>

Ye Seul Kwon

<https://orcid.org/0000-0002-2608-5108>

Heui Yun Kang

<https://orcid.org/0000-0001-5479-7973>

Ji Eun Kang (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0001-8194-7455>

References

- Belke CJ, Irwin AJ. Determination of organic acids in beer after extraction with an anion-exchange resin. *J Am Soc Brew Chem*, 50, 26-29 (1992)
- Choi HS, Kang JE, Jeong ST, Kim CW, Baek SY, Yeo SH. *Soju* brewing characteristics of yeast strains N4 and N9 isolated from Korean traditional *Nuruk*. *Korean J Food Preserv*, 24, 714-724 (2017)
- Choi JS, Kwon YS, Jeong ST, Kang HY, Kang JE. Comparison of quality characteristics of commercially available ale-type and lager-type beers. *Korean J Food Preserve*, 29, 292-300 (2022)
- Jeon SH, Park HJ, Kim SY, Yeo SH, Gwon HM. Production of high-acidity peach vinegar by improving the manufacturing process of "*Dochobang*". *Korean J Food Preserv*, 28, 117-128 (2021)
- Jeong C, Park CS, Yeo SW, Jo HC, No BS. *Brewing Science*. Gwangmungak, Paju, Korea. p 223, 240, 241, 255, 328, 404 (2015a)
- Jeong SH, Chang EH, Hur YY, Jeong SM, Nam JC, Koh SW, Choi IM. Phenolic compounds of must and wine supplement with Muscat Bailey A grape fruit stem. *Korean J Food Preserv*, 22, 91-99 (2015b)
- Jeong SJ, Yeo SH, Mun JY, Choi HS, Baek SY. Characteristics of wild yeast isolated from non-sterilized *Makgeolli* in Korea. *Korean J Food Preserv*, 24, 1043-1051 (2017)
- Jeong UJ, Kim KS, Park JY, Chung C. A study on the fermentation characteristics of yeast for rice beer separated from traditional *Nuruk*. *J Korea Acad Industri Coop Soc*, 20, 376-385 (2019)
- Jung SJ, Chung CH. Production and properties of ale beer with *Nuruk*, a Korean fermentation starter. *Korean J Food Sci Technol*, 49, 132-140 (2017)
- Kaneda H, Takashio M, Tamaki T. Influence of pH on flavour staling during beer storage. *J Inst Brew*, 103, 21-23 (1997)
- Kim GD. History of Korean brewing industry. *Food Sci Ind*, 53, 225-234 (2020)
- Kim KH, Park SJ, Kim JE, Dong HM, Park IS, Lee JH, Hyun SY, Noh BS. Assessment of physicochemical characteristics among different types of pale ale beer. *Korean J Food Sci Technol*, 45, 142-147 (2013)
- Koren D, Vecseri BH, Kun-Farkas G, Urbin A, Nyitrai A, Sipos L. How to objectively determine the color of beer? *J Food Sci Technol*, 57, 1183-1189 (2020)
- Lee SK, Park JY, Park HY, Choi HS, Cho D, Oh SK, Kim HJ. Evaluation of quality characteristics of beer by addition of rice rate. *Korean J Food*

- Preserv, 24, 758-763 (2017)
- Lee YB, Ko DJ, Cheong C. A study on the quality characteristics of rice beer using brewing yeast isolated from *Nuruk*. J Korea Acad Industri Coop Soc, 20, 340-347 (2019)
- Massimo J, Francesca C, Francesco L, Bruno T, Elena S. Role of yeasts in the brewing process: Tradition and innovation. Processes, 9, 1-16 (2021)
- National Tax Service Liquors License Support Center. Analysis Regulations of Alcoholic Beverages, NTS Liquors License Support Center. Seoul, Korea, p 39-43 (2014)
- Park JS, Kang ST. Quality characteristics of beer with pine bark extract. Food Eng Prog, 24, 38-44 (2020)
- Park JY, Lee SK, Choi I, Choi HS, Kim N, Shin DS, Jeong KH, Park CH, Oh SK. Quality characteristics of rice wort and rice beer by rice processing. Food Eng Prog, 23, 290-296 (2019)
- Postigo V, Garcia M, Cabellos JM, Arroyo T. Wine *Saccharomyces* yeasts for beer fermentation. Fermentation, 290, 1-21 (2021)
- Remedios C, Ana BD, Enrique DG, Cristina L. Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and yeast strain. J Food Compost Anal 106, 1-8 (2022)
- Rezaei MN, Aslankoochi E, Verstrepen KJ, Courtin CM. Contribution of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and the glyoxylate shunt in *Saccharomyces cerevisiae* to succinic acid production during dough fermentation. Int J Food Microbiol, 204, 24-32 (2015)
- Rodrigues JEA, Erny GL, Barros AS, Esteves VI, Brandao T, Ferreira AA, Cabrita E, Gil AM. Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods. Anal Chim Acta, 674, 166-175 (2010)
- Sung SA, Lee SJ. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers. Korean J Food Sci Technol, 49, 35-43 (2017)
- Viana AC, Pimentel TC, do Vale RB, Clementino LS, Ferreira ETJ, Magnani M, Lima MDS. American pale ale craft beer: Influence of brewer's yeast strains on the chemical composition and antioxidant capacity. LWT-Food Sci Technol, 152, 1-8 (2021)