



Research Article

Quality characteristics of *makgeolli* under nutrient deficiency and high-temperature fermentation

영양원 결핍 및 고온 발효에 따른 막걸리 품질 특성

Ji-Youn Kim, Ji-Ho Choi, Chan-Woo Kim, Bora Lim*

김지윤 · 최지호 · 김찬우 · 임보라*

Fermented & Processed Food Research Division, National Institute of Crop and Food Science, RDA, Wanju 55365, Korea

농촌진흥청 국립식량과학원 발효가공식품과

Abstract The objective of this study was to evaluate the quality characteristics of *makgeolli* under conditions of nutrient deficiency and high-temperature fermentation. *Makgeolli* was prepared using rice, water, enzyme (glucoamylase), and yeast (La Parisienne, WB06). These ingredients were mixed and fermented for 6 days at 25°C, followed by 3 days each at 25°C, 35°C, and 45°C. The WB06 treatment resulted in lower alcohol content, with higher temperatures during the last 3 days of the 9-day fermentation process, further suppressing alcohol production. Conversely, the content of reducing sugar was highest when WB06 was fermented at 25°C. Although the lactic acid content of the alcoholic beverage made with WB06 was high, the elevated sugar content resulted in a suitable sugar-acid ratio. Yeast remained viable even when fermented at a high temperature of 45°C. This study demonstrated the feasibility of producing low-alcohol beverages with viable yeast cultures with nutrient deficiency and high-temperature fermentation.



OPEN ACCESS

Citation: Kim JY, Choi JH, Kim CW, Lim B. Quality characteristics of *makgeolli* under nutrient deficiency and high-temperature fermentation. Food Sci. Preserv., 32(2), 289-300 (2025)

Received: October 04, 2024

Revised: October 23, 2024

Accepted: October 26, 2024

***Corresponding author**

Bora Lim

Tel: +82-63-238-3627

E-mail: dlaqhk548@korea.kr

Copyright © 2025 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.

Keywords enzyme, high-temperature, yeast, *makgeolli*, low-alcohol

1. 서론

현대 사회 구성원들은 건강하고 오래 사는 삶이 하나의 문화로 자리 잡혔으며 건강한 삶을 위한 식생활에 대한 관심이 높아지고 있다(Chung, 2023). 그에 따라서 노화, 만성질환, 성인병 등을 예방할 수 있는 기능성 물질 첨가 웰빙 막걸리가 소개되고 있으며(Kim 등, 2021b), 주류 시장은 즐기는 술과 저도주가 트렌드화 되고 있다(Shim, 2019; aT, 2023). 식품의약품안전처(MFDS, 2017)에 따르면 비알코올(non-alcoholic)과 무알코올(alcohol free)만 표시 규정이 있으며 저알코올에 대한 명확한 규정은 없다. 다만 Park 등(2011)과 Kang 등(2012)은 막걸리 알코올 함량이 2-8%가 대중적이라고 보고하였으며, Yoon 등(2024)이 분석한 시판 막걸리 34종에 대한 알코올 함량 최저치가 5%였다는 점을 고려할 때, 알코올 함량이 5% 미만인 막걸리를 저알코올로 인식될 가능성이 있다고 보여졌다.

막걸리는 우리나라 고유의 전통주로 전분질 원료와 누룩으로 빻어 발효한 후 막거른 술이라는 데서 비롯되었으며, 맑지 않고 탁하기 때문에 탁주로 불리거나 한국에서 전통적으로 농부들이 식량 대용 또는 갈증 해소 용도로 마셔 농주로 불리기도 한다(Kim 등, 2022a; Park 등, 2011; Shin 등, 2016). 막걸리는 한국농수산식품유통공사(aT)가 발표한 것에 따르면 2018년 4,500억 원대, 2020년 4,700억 원대, 2022년 5,000억 원대로 출고금액이 지속적으로 성장하였다(Shin 등, 2023). 이 중 최근에는 프리미엄 막걸리에 대한 관심이 증가하고 있으며, 해당하는 막걸리가 다양하게 출시되고 있다.

프리미엄 막걸리에 대한 기준은 아직 명확하지 않으나 높은 가격, 화학 첨가물(아스파탐 등) 무첨가, 이양주 이상 텃담금(술을 더 깊고 풍부하게 만들기 위해 이미 발효된 술에 재료를 추가적으로 투입하는 방식), 플라스틱 이외의 용기를 사용하는 제품을 의미한다(Na와 Ban, 2024). 프리미엄 막걸리에 대한 소비자의 구매 의사 금액이 2018년 2,447원에서 2021년 3,055원, 2023년 4,593원으로 지속적으로 상승하는 것을 통해 가격이 높더라도 품질 좋은 막걸리를 소비하겠다는 수요가 점차 늘어나는 것을 확인할 수 있었다(aT, 2023).

하지만 Shin 등(2023)은 국내에서 유통되는 막걸리 20개 중 17개 제품에서 아스파탐이 검출되었다고 보고하여 국내 유통 막걸리 대부분이 아스파탐을 첨가하는 것으로 나타났다. 아스파탐은 L-aspartic acid와 L-phenylalanine이 결합된 dipeptide의 methyl ester로 식품에 단맛을 첨가하기 위한 화학 인공감미료로 설탕의 약 200배의 단맛을 가지고 있다. 포도당, 설탕 등 발효당은 유통 과정 중 효모에 의해 알코올로 전환될 수 있어 막걸리 제조 시 추가적인 발효가 일어나지 않도록 대체당으로 사용되어 왔다(Kim 등, 2022a; Shin 등, 2023). 최근 세계보건기구(WHO) 산하 국제 암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)와 국제연합식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations, UN FAO) 공동 산하기구인 식품 첨가물 전문가 위원회(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)는 아스파탐을 발암 가능 물질인 2B 등급 발암 가능 물질로 분류하였다(Shin 등, 2023). 아스파탐 같은 인공감미료를 첨가하는 이유는 막걸리 제조 시 알코올 함량을 낮추기 위해 물을 첨가하여 알코올 농도를 낮추고 동시에 막걸리 안에 있던 단맛이 줄어들어 이를 개선하고자 감미료를 첨가한다. 이러한 현황 속에 인공감미료를 첨가하지 않은 막걸리에 대한 소비자의 관심이 증가함에 따라 감미료 무첨가 생막걸리 제조 기술에 대한 연구가 요구되고 있다(Chung, 2023; Kim 등, 2022a).

전통적인 발효주 제조 과정에서 주원료인 전분질 원료와 함께 사용되는 재래누룩은 미생물과 효소를 포함하고 있어 알코올, 효소, 유기산 및 유리아미노산 등의 생성에 중요한 역할을 한다(Jeong 등, 2013; Lee 등, 1994). 누룩에 존재하는 탄수화물·단백질·지방 분해 효소는 발효 과정 중 대사물질을 생성하여 최종 제품에 직간접적으로 영향을 미치며, 미생물의 생장에 필요한 영양원을 제공하므로 알코올을 생성하는 효모의 생장과 발효 활동을 지속하기 위하여 탄소원, 질소원 등으로 필수적이다(Kim 등, 2008). 특히, 단백질 분해 효소에 의해 공급되는 질소원은 효모의 효소 활성에 중요한 역할을 하는데 질소원이 부족할 경우, 효모의 활동이 억제되어 알코올 생성에 영향을 미친다. 또한, 발효 온도는 미생물의 생육과 효소 활성에 중요한 영향을 미치는데, 고온에서 발효를 진행할 경우 효소의 합성 및 활성에 영향을 미쳐 막걸리의 최종 품질에 영향을 미친다는

연구 결과도 발표되었다(Kim 등, 2018; Kim 등, 2022a).

그러나 막걸리에 관한 대부분의 연구는 일반적으로 막걸리를 발효하는 25°C 내외에서 온도를 달리한 연구(Beak 등, 2013), 쌀에 추가적인 원료를 첨가하여 제조한 막걸리 품질 특성을 파악한 연구(Chung, 2023; Kim 등, 2021a; Kim 등, 2022b), 고온 발효가 막걸리에 미치는 영향에 대한 연구(Kim 등, 2022a)에 대해서만 진행되어 왔으며 영양원 결핍과 고온 발효를 동시에 진행하여 막걸리의 알코올 생성을 억제하고자 하는 연구는 진행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 질소원 부족과 고온 처리가 발효주의 품질 특성, 특히 알코올 생성과 당 함량에 미치는 영향을 파악하고 인공감미료 첨가 없이 단맛 특성을 가진 발효주 개발의 가능성을 탐색하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 막걸리 제조

고온 발효를 통한 가수 및 감미료 무첨가 저알코올 막걸리 제조 방법은 Fig. 1과 같다. 고온 발효를 통한 가수 및 감미료 무첨가 저알코올 막걸리 제조에 사용된 전분질 원료로는 쌀(*Samkwang*, Gyeongju, Korea)을 사용하였으며, 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*인 SafAle WB06(Fermentis, Rians, France)을 사용하였으며, 대조구로는 시중에 판매되는 *Saccharomyces cerevisiae*인 활성건조효모 La Parisienne(LP, S. I. Lesaffre Co., Marcqen- Baroeul, French)를 사용하였다. 효모를 생육하기 위해 YPD broth(BD Integrated Diagnostic Solutions, Sparks, MD, USA) 배지를 이용해 교반식 배양기(SI-600R, JEIOTech, Daejeon, Korea)에서 150 rpm에서 28°C를 유지하고 1.0×10^9 CFU/mL 이상 배양되면 실험에 사용하였다. 고온 발효를 통한 가수 및 감미료 무첨가 저알코올 막걸리 제조 방법은 다음과 같다. 쌀을 흐르는 물에 여러번 깨끗하게 씻은 뒤 2시간 동안 침지시킨 후 1시간 동안 물 빼기를 진행하였다. 그 이후 증자기(Electric steam-generator, Pyeonghwa Machinery Co., Ltd., Deagu, Korea)를 이용하여 50분간 쪄 뒤 10분간 뜸 들이기를 진행한 후, 냉각하여 막걸리 제조에 이용하였다. 발효통에 고두밥과 고두밥 대비 150% 가수를 하고 Nulookzyme R400(Glucoamylase, Bision Corporation, Seongnam, Korea)를 효소제로 사용해 고두밥 대비 0.1% 첨가한 뒤 효모를 총량 대비 1%를 투입하였다. 대조구 막걸리는 25°C에서 9일간 발효를 진행하였으며, 처리구 막걸리의 경우 발효 초기 25°C에서 6일 동안 진행 후 고온 처리 온도(35, 45°C)에서 3일 동안 발효하였다.

2.2. pH, 총산 및 아미노산 함량 측정

pH, 총산은 Kim 등(2022a)의 방법을 이용하여 측정하였다.

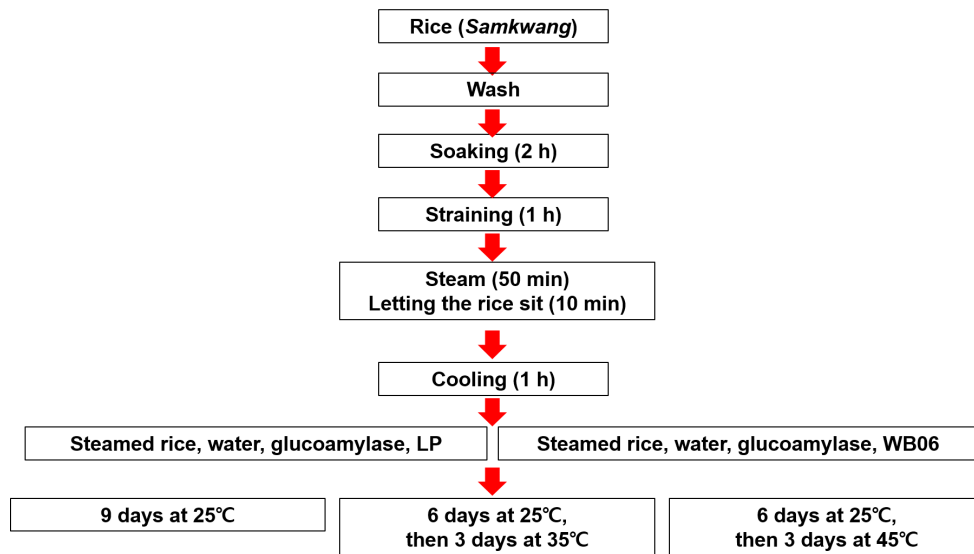


Fig. 1. A method for producing low-alcohol *makgeolli* through high-temperature fermentation.

pH는 pH meter(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA)를 이용하여 측정하였고, 총산은 시료 10 mL를 0.1 N NaOH(Sigma aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액으로 pH 7.0까지 중화시키는 데 소요되는 0.1 N NaOH의 소비된 양을 초산(acetic acid) 함량으로 환산하여 total acidity(% w/v)로 표시하였다. 아미노산 함량은 Kwon(2023)의 방법을 이용하여 측정하였다. 아미노산 함량은 시료 10 mL에 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.2까지 적정한 후 중성 formalin(Sigma Aldrich) 용액 5 mL를 가하고 유리된 산을 중화하는데 소비되는 0.1 N NaOH의 양을 glycine으로 환산하였다.

2.3. 당도 및 환원당 측정

당도 및 환원당 측정은 Kwon(2023)의 방법을 이용하여 측정하였다. 당도(°Brix)는 굴절용 당도계인 Digital refractometer (PR101, ATAGO®, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 환원당은 DNS(Dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 분석하였다. 시료를 증류수로 희석한 다음, 희석한 시료 용액 0.2 mL에 DNS 시약 0.6 mL를 넣어 끓는 수욕 상에서 5분 동안 끓인 다음, 실온에서 냉각 후 증류수 4.2 mL를 넣고 혼합한 후, 분광광도계 (Cary 3500 UV-Vis spectrophotometer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 환원당을 측정하였다. Glucose(Sigma Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA) 표준 검량선을 작성하여 환원당 함량(%)을 계산하였다.

2.4. 알코올 및 휘발산 함량 측정

알코올 및 휘발산 함량 측정은 Kim 등(2022a)의 방법을 이

용하여 측정하였다. 알코올 함량은 증류 플라스크에 막걸리 100 mL와 증류수 50 mL를 혼합 후 증류하여 100 mL 메스실린더에 90 mL까지 증류액을 받고 증류수로 100 mL로 정용하여 혼합 후 알코올 분석기(Digital Alcohol Meter DA-155, Kyoto Electronics Manufacturing Co., Ltd., Kyoto, Japan)를 이용해 측정하였다. 휘발산 함량은 알코올 함량 측정에 사용한 증류액 30 mL를 취해, phenolphthalein(Sigma Aldrich Co.) 용액 2-3방울 첨가한 후 0.01 N NaOH를 이용하여 자홍빛으로 변할 때까지 적정하는 데 소모된 양을 환산하여 mg/L(ppm) 단위로 나타내었다.

2.5. 효모, 일반세균 및 유산균 수 측정

효모 수 측정은 Kwon(2023)의 방법을 이용하여 측정하였다. 효모 수 측정에 Yeast cell counter(Luna-II YFTM, Logos biosystems Inc., Anyang, Korea)를 사용하였다. 분석 방법은 막걸리 시료를 cell dilution buffer II(Logos biosystems Inc.)과 적정 비율로 혼합한 다음, Acridine orange/Propidium iodide stain(AO/PI, Logos biosystems Inc.)을 첨가하여 10분 동안 상온에서 반응시킨다. 반응이 완료되면 측정용 셀에 10 µL를 분주하여 생균수를 측정하였다. 일반세균 수 측정과 유산균 측정은 시료를 멸균액으로 희석시킨 다음, 3M petrifilm에 희석된 시료 1 mL를 접종한 뒤 배양기(SLI-700, EYELA, Tokyo, Japan)에 넣고 2-3일간 배양한 뒤 3M Petrifilm plate reader advanced(3M, St. Paul, MN, USA)를 이용하여 colony를 측정하여 CFU/mL로 나타내었다. 일반세균 수는 3M petrifilm AC(Aerobic count plate), 유산균 수 측정에는 3M petrifilm LAB(Lactic acid bacteria count plate)을 사용하였다.

2.6. 유기산 분석

유기산 분석 방법은 Kwon(2023)의 방법을 이용하여 측정하였다. 유기산 분석은 post column 방법을 사용하여 HPLC (LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 분석하였다. 분석 조건은 Table 1에 표시하였다. Column은 TSKgel ODS-100V (5 μ m, 4.6 mm ID $\times$ 250 mm, Tosoh Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 이동상으로 8 mM perchloric acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, 반응용액으로 0.2 mM bromothymol blue(Sigma Chemical Co.)와 15 mM Na₂HPO₄(Sigma Chemical Co.)와 7 mM NaOH(Samchun Pure Chemical., Pyeongtaek, Korea)를 혼합한 용매에서 반응시킨 후 UV 440 nm에서 검출하였다. Flow rate는 이동상 1 mL/min, 반응용액 1 mL/min이며, column oven의 온도는 40°C, 반응 용액의 온도는 25°C, injection volume은 10 μ L로 하였다. 시료는 여과(0.2 μ m, Millipore, Burlington, VT, USA)한 후 사용하였다.

2.7. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성 결과는 SPSS 프로그램(Version 26.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 3회 측정값의 평균 $\pm$ 표준편차(Mean $\pm$ SD)로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성 검정은 분산분석(ANOVA) 후 유의차가 있는 항목에 대하여는 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 $p < 0.05$ 수준에서 시료 간의 유의차를 검정하여 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. pH, 총산 및 아미노산 함량

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 pH 측정 결과를 Fig.

Table 1. The operating condition of HPLC for organic acids of *makgeolli*

Parameters	Conditions
Instrument	Shimadzu LC-20A
Injection volume	10 μ L
Column	TSK gel ODS-100V (4.6 mm ID $\times$ 250 mm, 5 μ m)
Mobile phase	A: 8 mM perchloric acid (pH 2.10) B: 0.2 mM BTB + 15 mM Na ₂ HPO ₄ + 7 mM NaOH (pH 11.55)
Flow rate	1 mL/min
Detector	UV 440 nm
Oven	40°C

2A에 나타내었다. 막걸리는 발효가 진행될수록 pH가 점차 감소하였다. 막걸리를 담근 당일 pH는 LP 접종 막걸리의 경우 5.61이었으나, WB06 접종 막걸리는 5.60-5.99를 나타내어 WB06 접종 막걸리에서 더 높은 pH를 나타내었다. 모든 막걸리에서 발효 3일 차부터 pH가 급격히 감소하였지만, 막걸리 간의 유의적 차이가 나타나진 않았다. 발효 7일 차에는 LP 접종 막걸리에서 WB06 접종 막걸리보다 높은 pH를 나타내었다. 발효 종료일인 9일 차의 pH는 25°C에서 발효한 막걸리보다 고온 발효를 진행한 막걸리에서 pH가 더 높게 증가하는 것을 확인하였다. Kim 등(2022b)의 경우 pH는 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며 1-3일 차에서 급격한 pH 감소를 나타내었는데 본 실험에서도 1-3일 차에 급격하게 pH가 감소하는 것을 확인하여 비슷한 경향을 나타내는 것을 확인하였다. 또한, 막걸리 발효 시 고온 처리를 한 Kim 등(2022a)의 경우 25°C에서 발효한 3일 차까지 pH가 소폭 감소하고 이후에는 4.0-4.2를 유지하는 것으로 나타나 본 연구와 동일한 경향을 보였다. 일반적으로 막걸리의 pH 변화는 1-3일 차에 급격히 감소하다 점차 완만해지며 발효가 진행됨에 따라 미생물의 유기산으로 pH가 감소한다고 알려진 것과 고온 발효하였을 때도 유사한 것으로 나타났다(Kim 등, 2022b).

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 총산의 결과를 Fig. 2B에 나타내었다. 총산은 6일 차까지 증가하는 경향을 보였으나 고온 발효가 시작된 7일 차에 대부분의 처리구에서 일시적으로 총산이 감소하는 경향을 보였다. 발효 7-9일 사이에는 다른 경향을 보였다. W35, W45는 모두 급격하게 증가하였으나 C35, C45는 지속적으로 감소하는 것으로 나타나 고온 발효에 의해 균주별 총산 생성에 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. Kwak 등(2014)과 Seong 등(2021)에 따르면 발효가 진행됨에 따라 효모 및 유산균 등의 미생물에 의해 유기산이 생성되고, 이로 인해 발효 초기에 총산 함량은 증가하는 경향을 보인다. 반면, Kim 등(2022a)은 고온 발효 조건에서 총산이 감소하고, 온도가 높아질수록 총산이 빠르게 감소한다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구의 총산 변화 경향과 유사하였다.

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 아미노산 함량의 결과는 Fig. 2C에 나타내었다. 막걸리를 담근 직후에 아미노산 함량은 0.01-0.02%를 나타내었으나 고온 발효한 막걸리 중 W45를 제외한 막걸리는 발효 7일차부터 아미노산 함량이 증가하였지만 25°C에서 발효한 막걸리의 경우 변화가 없는 것을 확인하였다. 발효 종료일인 9일 차에는 고온 발효한 막걸리들은 아미노산 함량이 증가하는 것을 확인하였다. Kim과 Yi(2010), Park 등(2016), Lee 등(2021)은 발효기간이 진행될수록 아미노산 함량이 증가하였다고 보고하여 본 연구 결과와 상이한 결과로 나타났으며, 영양원 결핍 및 고온 발효에 의해 아미노산 함량 및 변화 경향이 차이가 나타나는 것

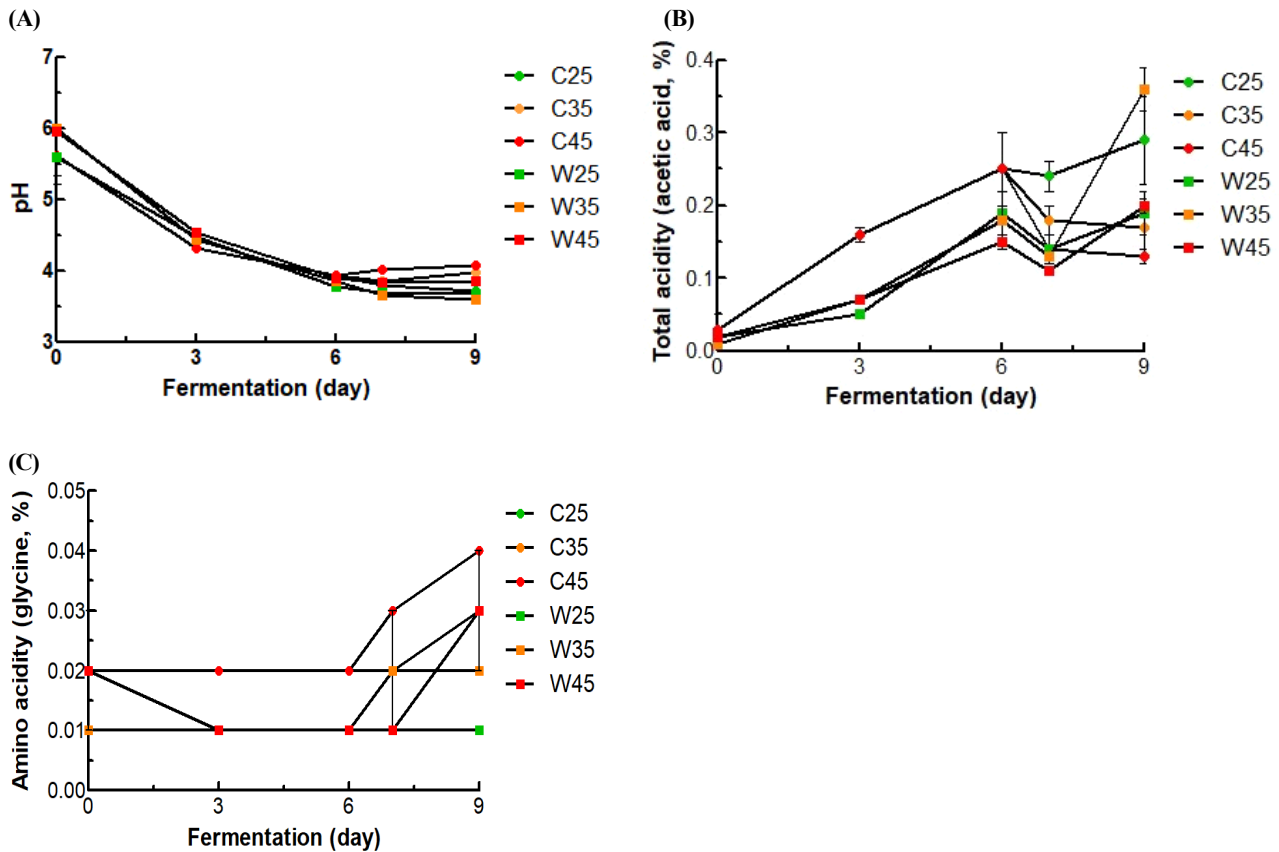


Fig. 2. pH (A), total acidity (B), and amino acidity (C) of high-temperature fermented *makgeolli*. C, yeast *La Parisienne* (LP); W, yeast WB06. 25, 9 days at 25°C; 35, 6 days at 25°C then 3 days at 35°C; 45, 6 days at 25°C then 3 days at 45°C. Values are mean $\pm$ SD (n=3).

으로 판단된다. 효모의 영양원으로 이용되는 아미노산은 fusel oil과 ester 등의 향기성분의 전구물질로 이용될 수 있어 중요한 성분이라고 알려져 있다(Kim과 Yi, 2010; Lee 등, 2021). 일반적으로 막걸리 제조에는 탄수화물 분해 효소뿐만 아니라 단백질 분해효소, 지방분해효소 등이 포함되어 있는 누룩을 사용하며 Jung 등(2018)은 누룩의 acidic protease 활성이 높을 경우, 아미노산 함량이 높게 나타난다고 보고하였다. 반면 본 실험에서는 질소 영양원을 제어하기 위해 누룩을 넣지 않고 탄수화물 분해효소만 첨가하여 단백질 분해가 원활히 이루어지지 않아, 아미노산 생성이 원활히 이루어지지 않은 결과로 낮은 아미노산 함량을 나타내는 것으로 사료된다.

3.2. 당도 및 환원당 함량

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 당도 변화 결과는 Fig. 3A에 나타내었다. 막걸리를 담근 직후 당도는 모든 처리구에서 5 °Brix 미만으로 낮게 나타났으나, 발효 3일차에는 모든 처리구에서 급격하게 상승하였다. 다만, 이 시점에서의 당도는 군주 간 큰 차이를 보이지 않아, 초기 당도 증가는 군주 영향보다는 첨가한 효소 작용으로 전분 분해되며 생

성된 당에 의한 것으로 판단된다. 발효 6일 차에도 모든 막걸리의 당도는 소폭 증가하는 경향을 나타내는 것을 확인하였다. 발효 7-9일 차에는 효모에 따라 당도 차이가 나는 것으로 확인되었다. Kwak 등(2014), Park 등(2016)과 Seong 등(2021)의 당함량은 모두 다른 경향을 나타내어 재료, 제조 방법 등 다양한 이유로 당도의 차이가 큰 것으로 생각된다. Park 등(2012)에 따르면 당이 18.43 °Brix까지 증가하였으며 소비자 기호도 평가에서 맛에 대해 7점 중 4.71점으로 높은 점수를 받았으며, Kim 등(2024)은 11.9 °Brix가 9점 척도 중 6.62점으로 높은 소비자 기호도 점수를 받아, 막걸리에서 높은 당도는 소비자 기호도에 좋은 영향을 주는 것으로 알려졌다. 선행 연구들을 통해 감미료를 첨가하지 않고 당이 높은 막걸리에 긍정적인 소비자 기호도가 있는 것으로 확인되어 본 연구의 막걸리도 비슷한 경향을 나타낼 것이라 사료된다.

영양원 결핍 및 고온발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 환원당 결과는 Fig. 3B에 나타내었다. 막걸리를 담근 당일의 경우 환원당 함량이 2% 미만이었으나 발효 3일 차부터 모든 처리구에서 환원당 함량이 급격하게 증가하였으며, 발효 6일 차에는 모든 처리구에서 환원당 함량이 소폭 증가하여 당도 증가 경향

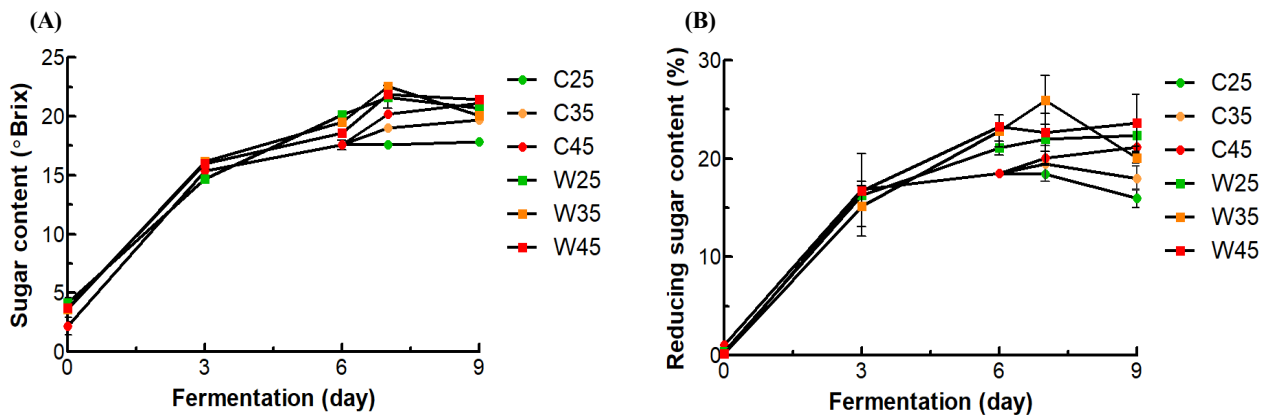


Fig. 3. Sugar content (A) and reducing sugar content (B) of high-temperature fermented *makgeolli*. C, yeast *La Parisienne* (LP); W, yeast WB06. 25, 9 days at 25°C; 35, 6 days at 25°C then 3 days at 35°C; 45, 6 days at 25°C then 3 days at 45°C. Values are mean $\pm$ SD (n=3).

과 유사하였다. 발효 7일 차의 환원당 함량은 W35가 가장 높았으며 C25가 가장 낮은 환원당 함량을 나타내었다. 발효 종료일인 9일 차의 경우 W45가 가장 높은 환원당 함량을 나타내었으며 C25가 가장 낮은 환원당 함량을 나타내었다. 환원당의 경우 LP 접종 막걸리의 경우 온도가 높아질수록 환원당이 높아지는 경향을 나타내었지만 WB 접종 막걸리의 경우 고온 발효 이후 환원당이 감소하는 경향을 나타내었다. 효모에 따라서 환원당에 유의적인 차이를 나타내고 온도별로는 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. Kim과 Yi(2010)은 발효 2일 차부터 급격하게 환원당이 감소하였으며, Park 등(2016)에서 발효 2일 차에 급격하게 증가한 뒤 4일 차부터 감소하는 경향을 나타내어, 대부분 발효가 진행되며 환원당 함량이 감소한다고 하여 본 연구와 차이를 보였다. 원료 중 전분은 당화 amylase 작용에 의해서 포도당으로 분해되어 알코올 발효의 기질로 이용되는 중요한 성분이라고 알려져 있다(Kim과 Yi, 2010). 효모는 일반적으로 탄소원과 질소원이 풍부하고 20-30°C의 발효 온도에서 생장이 원활

하나, 질소원 결핍과 고온 처리로 인해 효모의 에너지 대사가 정상적으로 진행되지 않아 발효성 당분이 크게 소모되지 않은 것으로 보인다(Bang 등, 2012; Kim 등, 2022a; Lee 등, 1990).

3.3. 알코올 및 휘발산 함량

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 알코올 함량 결과는 Fig. 4A에 나타내었다. 알코올은 당이 에탄올과 CO₂로 분해되며 생성되며, 막걸리의 품질을 결정하는 데 중요한 성분이다(Im 등, 2012; Park 등, 2016). 모든 막걸리는 알코올이 발효 3일 차 이전에 생성되었으며 6일 차까지 알코올 함량은 증가하였다. 발효 7일 차에는 모든 처리구에서 알코올이 전일 대비 증가하였으며, 35°C에서 발효한 막걸리에서 가장 높은 알코올 상승을 나타내었고 25°C, 45°C 순으로 알코올 함량이 증가 폭이 컸다. 발효 종료일인 9일 차에는 25°C에서 9일 동안 발효한 C25가 가장 높은 알코올 함량을 나타냈으며, 45°C에서 발효한 W45가 가장 낮은 알코올 함량을 나타냈다. Kim

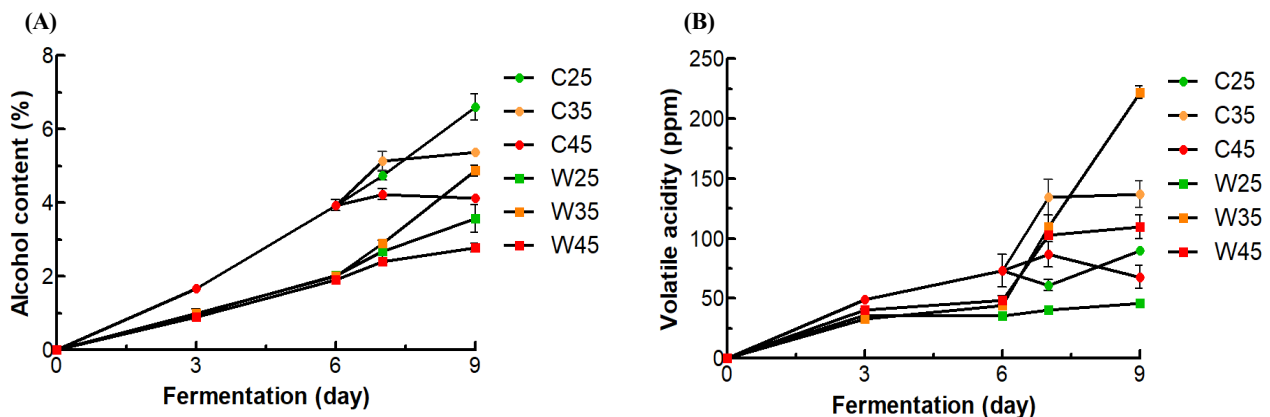


Fig. 4. Alcohol content (A) and volatile acidity (B) of high-temperature fermented *makgeolli*. Values are mean $\pm$ SD (n=3). C, yeast *La Parisienne* (LP); W, yeast WB06. 25, 9 days at 25°C; 35, 6 days at 25°C then 3 days at 35°C; 45, 6 days at 25°C then 3 days at 45°C.

등(2022a)의 경우 고온 발효를 진행하기 전까지는 알코올이 정상적으로 생성됨을 확인하였으나, 발효 온도가 증가할수록 알코올 생성력이 떨어지는 것을 확인하였으나 본 실험에서 WB06은 35°C에서 더 높은 알코올 함량을 나타내어 다른 경향을 나타내었다. 효모는 스트레스 환경에 노출될 때 생존을 위한 적응 메커니즘을 작동시킨다고 알려져 있으며, 질소원 부족 상황에서 효모는 생존에 필수적인 단백질과 효소 합성에 우선순위를 둔다(Hirasawa 등, 2007; Hu 등, 2005; Phanm과 Wright, 2008). 이로 인한 아미노산 함량 부족은 스트레스 반응 단백질의 합성을 제한하고, 결과적으로 알코올 탈수소효소와 같은 발효 관련 효소의 생산이 억제되어 에탄올 생성이 감소할 수 있다(Takagi, 2008). 고온 환경 역시 효모의 대사에 중요한 영향을 미친다. 효모는 열 충격 단백질(HSPs) 생산에 에너지를 우선적으로 분배하여 생존을 도모하지만, 이는 에탄올 생성에 사용될 수 있는 에너지를 감소시킨다(Piper, 1995). Park 등(1989)의 연구에 따르면, 효모의 최대 성장 온도 근처에서는 원형질막 불안정과 세포 활성 감소가 발생하며, 특히 36°C 이상에서 에탄올에 의한 저해 작용이 크게 증가한다. 그러나 Kim 등(2022)은 단기간의 고온 발효가 효모 사멸에 직접적인 영향을 크게 미치지 않는다고 보고하여, 고온의 영향이 복합적임을 시사했다. Gasch (2002)의 연구는 복합 스트레스 환경에서 효모의 유전자 발현 변화를 보고했는데, 생존 관련 유전자의 발현은 증가하지만 다른 대사과정 관련 유전자 발현은 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 선행 연구들을 종합해볼 때, 본 연구에서 적용한 질소원 결핍과 고온 처리의 복합적인 스트레스 환경은 효모로 하여금 생존에 필요한 에너지에 더욱 집중하게 만들어, 결과적으로 대사산물 생성을 더 크게 억제했을 것으로 사료된다.

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 휘발산 함량 결과는 Fig. 4B에 나타내었다. 발효주의 휘발산 함량은 주로 초산 등의 휘발성이 높은 산 종류로 휘발산 함량이 높으면 발효 중 휘발산을 생성하는 미생물에 오염되었음을 의미하는 것이라고 알려져 있다(Park 등, 2017). 발효 3일 차에 모든 막걸리에서 휘발산 함량이 증가하는 것을 확인하였다. 발효 6일 차에는 LP 접종 막걸리에서 WB06 접종 막걸리보다 휘발산 함량이 높았다. 발효 7일 차에 경우 25°C 막걸리에서 가장 낮은 휘발산 함량을 나타내었으며 35°C에서 가장 높은 휘발산 함량을 나타내는 것을 확인하였다. 발효 종료일인 9일 차에는 W35가 가장 높은 휘발산을 나타내었고 W25가 가장 낮은 휘발산을 나타내는 것을 확인하였다. Park 등(2017)은 원료에 따른 살균 막걸리의 휘발산 함량은 58.53-88.20 mg/L를 나타내어 가열처리 후 휘발산 함량이 줄어들어 본 실험과 반대되는 경향을 나타내었다.

3.4. 효모, 일반세균 및 유산균 수

영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 미

생물수 변화 결과를 Table 2에 나타내었다. 효모수의 경우 LP 접종 막걸리와 WB06 접종 막걸리에서 유의미한 차이는 없는 것으로 확인되었다. Kim 등(2022a)은 4일간 고온발효를 진행하였을 때 효모수의 유의적인 차이를 볼 수 없어 막걸리 발효 후반부의 높은 알코올 조건과 단기간의 고온 발효가 효모의 사멸에는 직접적인 영향을 크게 미치지 않는 것으로 보인다고 보고하였으며, 본 연구도 비슷한 경향을 나타내었다.

막걸리 담금 직후, 일반세균수는 WB06 접종 막걸리($1.30-1.88 \log_{10}$ CFU/mL)가 LP 접종 막걸리($2.67 \log_{10}$ CFU/mL)보다 낮게 나타났다. 발효 3일 차에는 모든 막걸리에서 일반세균수가 급격하게 증가하여 효모 종류와 상관없이 발효 6일 차에 10^7 CFU/mL 이상을 나타내는 것을 확인하였다. 발효 6일 차부터 일반세균수는 감소하는 경향을 나타내었으며 고온 발효를 진행할 경우 일반세균 수가 현저히 감소하는 경향을 나타내는 것을 확인하였다.

유산균의 경우 발효 3일 차에서 모든 막걸리에서 유산균 수가 급격하게 증가하였으며, LP 접종 막걸리에서 더 높게 나타났다. WB06 접종 막걸리의 경우 3-6일차에서만 유산균이 발견되었다. 발효 7-9일 차에는 C25를 제외한 모든 막걸리에서 유산균이 검출되지 않되지는 않는 것을 확인하였다. Kim 등(2022b)의 경우 발효가 진행됨에 따라 유산균 수가 증가하는 것($2.30-7.17 \log$ CFU/mL)으로 나타나 본 연구와는 다른 경향을 나타냈으며, Lee 등(2014)의 보고에 따르면 발효 5일 차까지는 유산균이 증가하지만 7일 차부터 유산균이 감소하여 본 연구와 비슷한 경향을 나타냈다. Lee 등(2014)은 pH 4.0 이하에서 유산균 수가 감소하였고 특히 pH 2.0에서는 1시간 배양할 경우 99% 사멸하여 산에 의해 유산균 생육이 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한, 에탄올 내성을 조사한 결과 유산균 종류에 따라 10% 에탄올 농도에서 유산균 수가 감소하는 경향이 있다고 보고하여 생육 환경별 유산균 생육에 차이가 있는 것으로 나타났다(Cheon 등, 2006; Lee 등, 2017).

3.5. 유기산 함량

막걸리에서 유기산은 신맛을 내며, 단맛과 조화를 이루는 중요한 성분으로, 발효 중 미생물에 의해 생성된다(Im 등, 2012). 영양원 결핍 및 고온 발효한 막걸리의 발효 기간에 따른 유기산 함량 변화 결과를 Table 3에 나타내었다. 본 연구에서는 malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid 및 succinic acid 5종의 유기산이 검출되었다. 효모와 온도에 따라 유기산 함량 차이가 크게 나타났다.

Lee와 Lee(2000)에서 언급된 주요 유기산과 유사하게 본 연구에서도 succinic acid가 높은 함량으로 나타났으나, 사용된 효모에 따라 큰 차이를 보였다. LP 접종 막걸리에서는 succinic acid 함량이 0.74-114.47 mg/100 mL로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 lactic acid(0-48.99 mg/100 mL), acetic acid(2.15-

Table 2. Changes of yeast, aerobic bacteria, and lactic acid bacteria counts of high-temperature fermented *makgeolli* ($\times \log_{10}$ CFU/mL)

Samples ¹⁾	Day	Yeast	A_Bacteria	LAB
C25	0	7.62 $\pm$ 0.17 ^{bc2)3)}	2.67 $\pm$ 0.58 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^d
	3	7.86 $\pm$ 0.06 ^a	8.08 $\pm$ 0.20 ^b	7.54 $\pm$ 0.47 ^c
	6	7.74 $\pm$ 0.08 ^{ab}	8.09 $\pm$ 0.21 ^b	8.14 $\pm$ 0.18 ^b
	7	7.74 $\pm$ 0.08 ^{ab}	8.32 $\pm$ 0.17 ^b	8.32 $\pm$ 0.33 ^b
	9	7.50 $\pm$ 0.07 ^c	8.89 $\pm$ 0.06 ^a	8.90 $\pm$ 0.07 ^a
C35	0	7.62 $\pm$ 0.17 ^{bc}	2.67 $\pm$ 0.58 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
	3	7.86 $\pm$ 0.06 ^a	8.08 $\pm$ 0.20 ^a	7.54 $\pm$ 0.47 ^b
	6	7.74 $\pm$ 0.08 ^{ab}	8.09 $\pm$ 0.21 ^a	8.14 $\pm$ 0.18 ^a
	7	7.23 $\pm$ 0.17 ^d	3.67 $\pm$ 3.21 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
	9	7.48 $\pm$ 0.08 ^c	5.16 $\pm$ 0.28 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
C45	0	7.62 $\pm$ 0.17 ^a	2.67 $\pm$ 0.58 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
	3	7.86 $\pm$ 0.06 ^a	8.08 $\pm$ 0.20 ^a	7.54 $\pm$ 0.47 ^b
	6	7.74 $\pm$ 0.08 ^a	8.09 $\pm$ 0.21 ^a	8.14 $\pm$ 0.18 ^a
	7	7.24 $\pm$ 0.07 ^b	1.67 $\pm$ 2.89 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
	9	7.27 $\pm$ 0.24 ^b	3.33 $\pm$ 2.89 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
W25	0	7.43 $\pm$ 0.06 ^c	1.30 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	3	7.83 $\pm$ 0.05 ^a	8.42 $\pm$ 0.43 ^a	3.00 $\pm$ 0.00 ^a
	6	7.68 $\pm$ 0.05 ^{ab}	7.64 $\pm$ 0.15 ^a	2.00 $\pm$ 1.73 ^a
	7	7.56 $\pm$ 0.21 ^{bc}	3.44 $\pm$ 0.40 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	9	7.70 $\pm$ 0.06 ^{ab}	5.05 $\pm$ 2.79 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
W35	0	7.55 $\pm$ 0.07 ^b	1.88 $\pm$ 0.09 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	3	7.82 $\pm$ 0.08 ^a	9.08 $\pm$ 0.23 ^a	2.50 $\pm$ 2.17 ^a
	6	7.29 $\pm$ 0.09 ^c	7.16 $\pm$ 0.15 ^b	4.23 $\pm$ 1.08 ^a
	7	7.50 $\pm$ 0.10 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	9	7.52 $\pm$ 0.20 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
W45	0	7.29 $\pm$ 0.13 ^{bc}	1.59 $\pm$ 0.11 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	3	7.44 $\pm$ 0.04 ^{ab}	7.71 $\pm$ 0.38 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	6	7.19 $\pm$ 0.04 ^c	7.26 $\pm$ 0.24 ^b	3.33 $\pm$ 2.89 ^a
	7	7.54 $\pm$ 0.06 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^b
	9	7.53 $\pm$ 0.12 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^b

¹⁾C, yeast La Parisienne (LP); W, yeast WB06. 25, 9 days at 25°C; 35, 6 days at 25°C then 3 days at 35°C; 45, 6 days at 25°C then 3 days at 45°C.²⁾Values are mean $\pm$ SD (n=3).³⁾Means with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test (a>b>c>d).

35.26 mg/100 mL), malic acid(2.17-35.17 mg/100 mL), citric acid(1.76-19.50 mg/100 mL) 순으로 높은 함량을 보였다. WB06 접종 막걸리의 경우는 malic acid 7.07-35.41 mg/100 mL, lactic acid 4.83-20.30 mg/100 mL, acetic acid 7.31-28.12

mg/100 mL, citric acid 8.40-15.89 mg/100 mL, succinic acid 5.46-66.66 mg/100 mL의 함량을 나타내었는데 더 높은 온도에서 발효할수록 유기산 함량이 높아지는 것을 확인하였다. Succinic acid는 TCA cycle을 통한 대사 중간체 축적 과정이

Table 3. Composition of organic acids in high-temperature fermented *makgeolli*

Samples ¹⁾	Day	Organic acid (mg/100 mL)				
		Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
C25	0	2.17±1.88 ^b	ND	2.15±1.33 ^d	1.76±1.92 ^b	0.74±1.29 ^c
	3	11.54±0.45 ^a	ND	6.18±0.80 ^c	6.20±0.77 ^a	33.81±2.90 ^d
	6	13.73±5.41 ^a	19.76±11.53 ^{c2)3)}	8.59±1.29 ^{bc}	4.41±0.68 ^a	79.80±5.41 ^c
	7	8.57±1.24 ^a	30.74±1.94 ^b	11.34±1.35 ^b	5.02±1.51 ^a	91.94±6.39 ^b
	9	12.21±3.30 ^a	48.99±4.94 ^a	17.00±3.42 ^a	4.46±1.63 ^a	114.47±6.92 ^a
C35	0	2.17±1.88 ^c	ND	2.15±1.33 ^d	1.76±1.92 ^d	0.74±1.29 ^d
	3	11.54±0.45 ^{bc}	ND	6.18±0.80 ^c	6.20±0.77 ^{cd}	33.81±2.90 ^c
	6	13.73±5.41 ^b	19.76±11.53 ^a	8.59±1.29 ^c	4.41±0.68 ^{bc}	79.80±5.41 ^b
	7	28.66±8.11 ^a	18.64±7.72 ^a	27.89±1.61 ^b	8.69±2.22 ^b	90.52±1.65 ^a
	9	32.73±7.42 ^a	20.16±8.43 ^a	35.26±3.89 ^a	18.05±1.27 ^a	94.80±0.91 ^a
C45	0	2.17±1.88 ^c	ND	2.15±1.33 ^d	1.76±1.92 ^d	0.74±1.29 ^c
	3	11.54±0.45 ^b	ND	6.18±0.80 ^c	6.20±0.77 ^{cd}	33.81±2.90 ^b
	6	13.73±5.41 ^b	19.76±11.53 ^a	8.59±1.29 ^c	4.41±0.68 ^{bc}	79.80±5.41 ^a
	7	30.65±4.71 ^a	10.72±2.84 ^a	16.46±3.01 ^b	9.14±1.37 ^b	81.39±1.40 ^a
	9	35.17±4.26 ^a	14.81±2.92 ^a	23.25±3.01 ^a	19.50±2.95 ^a	85.58±6.33 ^a
W25	0	7.07±0.18 ^a	4.83±4.83 ^b	7.31±0.66 ^a	10.68±1.53 ^a	5.46±0.12 ^a
	3	10.88±4.09 ^a	12.55±3.94 ^a	8.52±3.05 ^a	8.59±0.79 ^a	15.93±11.73 ^a
	6	8.17±2.12 ^a	8.88±1.90 ^{ab}	7.71±0.57 ^a	9.57±0.42 ^a	14.04±8.52 ^a
	7	10.98±5.45 ^a	12.00±5.00 ^{ab}	7.12±2.03 ^a	8.40±2.09 ^a	14.50±11.75 ^a
	9	9.77±2.23 ^a	11.86±0.69 ^{ab}	7.12±0.01 ^a	10.01±0.47 ^a	12.93±8.85 ^a
W35	0	21.42±6.57 ^a	17.90±4.00 ^a	13.64±0.78 ^{ab}	11.94±2.25 ^c	38.27±14.15 ^a
	3	12.72±3.20 ^a	8.52±1.85 ^a	13.31±0.69 ^{ab}	16.98±0.56 ^a	37.95±10.50 ^a
	6	23.29±0.36 ^a	20.30±2.66 ^a	15.57±2.23 ^a	14.72±2.62 ^{abc}	49.11±1.88 ^a
	7	25.78±0.98 ^a	17.04±2.33 ^a	12.41±1.19 ^b	13.03±1.55 ^{bc}	52.13±1.79 ^a
	9	21.14±2.86 ^a	19.65±1.46 ^a	13.70±1.57 ^{ab}	15.34±0.21 ^{ab}	51.66±2.47 ^a
W45	0	33.40±0.55 ^a	17.24±2.01 ^a	13.85±4.98 ^a	14.57±1.48 ^{ab}	65.36±4.31 ^a
	3	35.41±3.00 ^a	16.59±0.58 ^a	27.64±9.48 ^a	13.06±0.17 ^{ab}	66.66±7.22 ^a
	6	30.34±5.52 ^{ab}	12.06±0.36 ^b	28.12±10.03 ^a	15.89±2.29 ^a	64.32±13.57 ^a
	7	24.68±0.08 ^b	12.89±0.03 ^b	19.59±0.83 ^a	12.24±0.34 ^b	47.12±0.54 ^b
	9	29.85±3.36 ^{ab}	16.17±3.14 ^a	15.76±6.86 ^a	13.95±2.94 ^{ab}	59.43±9.47 ^{ab}

¹⁾C, yeast La Parisienne (LP); W, yeast WB06. 25, 9 days at 25°C; 35, 6 days at 25°C then 3 days at 35°C; 45, 6 days at 25°C then 3 days at 45°C.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Means with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test (a>b>c>d>e).

주로 효모에 의해 생성된다(Cho와 Joo, 2014; Hong과 Ko, 1991). Succinic acid는 효모별 차이를 보였는데 LP를 접종한 막걸리에서 succinic acid 함량은 25°C가 가장 높은 함량을 나

타내었지만 WB06 접종 막걸리에서는 고온 발효를 진행한 막걸리에서 높은 함량을 나타내었다. 그 외의 malic acid는 부드러운 신맛을 내는 유기산으로 알려져 있다(Bang 등, 2016).

Acetic acid는 향미에 좋지 않은 영향을 주는 것으로 알려져 있으며 막걸리의 주요 유기산 중 하나로 알려져 있다(Bang 등, 2016). Citric acid는 막걸리 발효에 적합한 pH를 제공하며 막걸리 향미에 좋은 물질로 보고되어 있다(Bang 등, 2016). Malic acid, acetic acid, citric acid는 효모에 의해 차이를 보이는 했지만, 발효가 진행됨에 따라 전반적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 이러한 경향은 고온처리를 해도 효모가 생존함에 따라 citric acid, malic acid, succinic acid는 소폭 증가하지만, Kim 등(2022c)에 따르면 유산균의 감소는 pH 저하에 따른 유산균의 내산성의 의한 영향이라고 보고하여 유산균이 사멸함에 따라 lactic acid 생성이 둔화되는 경향을 보인 것으로, 앞서 미생물수와도 상관성이 있는 결과로 사료된다.

4. 요약

전 세계적으로 무알코올, 저알코올 주류 시장규모가 증가하는 추세와 더불어 최근 WHO에서 아스파탐을 2B군(발암가능 물질)로 분류하며 감미료에 대한 위험성 인식이 확산되었다. 이러한 주류 트렌드에 맞춰 본 연구에서는 감미료를 첨가하지 않으면서 물로 희석하지 않고도 낮은 알코올 함량의 막걸리를 제조하고자 하였다. 누룩과 입국에서는 당화가 빠르게 진행되어 초반에 높은 가용성 고형분을 나타내고, 알코올 생성에 사용되어 발효 마지막 날에는 10 °Brix 내외로 나타났다. 또한, 누룩과 입국을 사용할 경우 알코올 생성이 빠르게 생성되어 발효 마지막 날에 10% 이상의 알코올 함량을 나타내는 것을 확인하였다. 즉, 누룩 및 입국을 사용할 경우, 영양원이 충분하여 효모 생육 및 알코올 생성이 원활하게 진행된 것으로 사료된다. 본 실험의 목적인 영양원 결핍에 적합하지 않다고 생각되어 glucoamylase를 이용하여 영양원을 제어하였다. 하지만 glucoamylase만을 이용하여 당화과정을 하게 되면 알코올 생성에 제한이 생기지만 발효를 7일 이상 진행할 경우 알코올이 생성되는 것을 확인하였다. 본 연구에서는 알코올 생산량이 낮은 효모를 이용하는 동시에 질소 영양원을 제어하여 효모의 생장을 어렵게 하고 당 소비를 적게하여 알코올 생성량을 줄이고자 하였다. 또한, 효모의 알코올 생성과 관련된 대사를 억제하기 위해 고온 처리를 하였다. 이에 대한 효과를 확인하기 위해 효모 대조구로 시판 효모인 La parisienne, 온도 대조구로 25°C에서도 발효를 진행하였다. 즉, 질소원을 제어하기 위해 단백질 분해 효소가 포함된 누룩 대신 탄수화물분해효소만을 첨가하여 당화가 되도록 하였다. 또한 효모의 알코올 생성이 저해되는 온도 조건을 찾기 위해 25°C에서 발효 후 6일 차부터 25°C, 35°C, 45°C에서 진행하며 품질 변화를 확인하였다. 그 결과, 25°C에서 진행한 6일 차까지 효모에 상관없이 막걸리의 pH가 감소하며 총산도는 증가하였으나, 아미노산 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 일반적으로 막걸리 제조 시 아미노산 함량이 증가하는 경향과 상

반된 결과로 단백질 분해 효소를 첨가하지 않았지만 원료인 쌀에 미량 존재하는 아미노산에 의해 균의 성장으로 일부 산은 생성되지만, 단백질 분해가 원활하지 않아 아미노산의 증가는 이뤄지지 않은 것으로 판단된다. 반면 당 함량과 알코올 생성은 효모에 의한 차이가 크게 나타났다. 알코올 생성력이 낮은 WB06의 경우, 발효 6일 차까지 알코올 함량이 낮아 그에 따라 당 함량이 LP 접종 막걸리보다 당 함량이 높게 나타났다. 반면 고온 발효가 시작되면서 효모의 알코올 생성이 억제되는 것을 확인할 수 있었으나 W35만 알코올 함량이 증가하는 것을 확인하였다. 초기 알코올 생성량이 더 낮았던 상태에서 고온 발효가 시작된 WB06 접종 막걸리의 최종 알코올 함량이 더 낮게 나타났다. 또한 고온 발효를 통해 효모의 알코올 생성은 억제되는 반면 효모의 생균수는 큰 변화가 없는 것으로 나타나 영양원 결핍과 고온 발효를 통해 효모가 살아 있는 저알코올 생막걸리 제조가 가능한 것으로 사료된다.

Funding

This work was carried out with the support of “Research Program for Agriculture Science and Technology Development (Project No. PJ01725602)” Rural Development Administration, Republic of Korea.

Acknowledgements

This study was supported by (2023) the RDA Fellowship Program of (National Institute of Crop and Food Science), Rural Development Administration, Republic of Korea.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Lim B. Methodology: Kim JY, Lim B. Formal analysis: Kim JY. Validation: Kim JY, Lim B. Writing - original draft: Kim JY. Writing - review & editing: Choi JH, Kim CW, Lim B.

Ethics approval

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

ORCID

Ji-Youn Kim (First author)

<https://orcid.org/0009-0002-8371-4457>

Ji-Ho Choi

<https://orcid.org/0000-0001-7305-004X>

Chan-Woo Kim

<https://orcid.org/0000-0002-7858-9885>

Bora Lim (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0003-1128-5921>

References

- Bang BH, Rhee MS, Kim KP, Lee KW, Yi DH. *Hongkuk* production and the characteristics of *Hongkuk* made from *Monascus anka*. Korean J Food Nutr, 25, 1055-1060 (2012)
- Bang CM, Moon JK, Kong HS. Characteristics of organic acid of *makgeolli* by yeast strains type. Korean J Food Cook Sci, 32, 44-49 (2016)
- Beak CH, Choi JH, Choi HS, Jeong ST, Kim JH, Jeong YJ, Yeo SH. Quality characteristics of brown rice *makgeolli* produced under differing conditions. Korean J Microbiol Biotechnol, 41, 168-175 (2013)
- Cheon HN, Yang JO, Ye HS, Kim JY, Park SO, Beak NS, Kim SK. *Lactobacillus fermentum* and dairy products and health-promoting food containing the same. Korea Patent 10, 0065753 (2006)
- Cho KM, Joo OS. Quality and antioxidant characteristics of *Elaeagnus multiflora* wine through the thermal processing of juice. Korean J Food Preserv, 21, 206-214 (2014)
- Chung SR. Quality characteristics of *makgeolli* with papaya. MS Thesis, Kyonggi University, Korea, p 1-2 (2023)
- Gasch AP. The environmental stress response: A common yeast response to diverse enironmental stresses. In: Yeast Stress Responses, Hohmann S, Mager WH (Editor), Springer, Berlin, Heidelberg, p 11-70 (2002)
- Hirasawa T, Yoshikawa K, Nakakura Y, Nagahisa K, Furusawa C, Katakura Y, Shimizu H, Shioya S. Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to *Saccharomyces cerevisiae* based on DNA microarray data analysis. J Biotechnol, 131, 34-44 (2007)
- Hong OS, Ko YT. Study on perparation of yogurt from milk and rice. Korean J Food Sci Technol, 23, 587-592 (1991)
- Hu CK, Bai FW, An LJ. Protein amino acid composition of plasma membranes affects membrane fluidity and thereby ethanol tolerance in a self-flocculating fusant of *Schizosaccaromyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae*. Chin J Biotechnol, 21, 809-813 (2005)
- Im CY, Jeong ST, Choi HS, Choi JH, Yeo SH, Kang WW. Characteristics of *Gammakgeolli* added with processed forms of persimmon. Korean J Food Preserv, 19, 159-166 (2012)
- Jung EH, Kim YS, Jeon JA, Yeo SW, Jung ST. Properties of *Yakju* and pellet Nuruk inoculated with *Aspergillus oryzae*. Korean J Food Preserv, 25, 722-729 (2018)
- Kang KE, Kim HK, Song KH, Lee HM. Consumption pattern and strategies to increase popularity of *makgeolli* according to age groups in men and women. Korean J Food Nutr, 25, 419-429 (2012)
- Kim CW, Jeong ST, Park YD, Kim JB, Lim BR, Kang HY. High temperature treatments to control sugar consumption by yeasts during *makgeolli* fermentation. Korean J Food Preserv, 29, 466-471 (2022a)
- Kim HS, Choi JS, Yu SH, Kim MK, Lim BR, Jeong ST. Changes in quality characteristics of '*makgeolli*' prepared by independent two-step fermentation during storage. Korean J Food Preserv, 27, 685-693 (2020)
- Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yu TS. Enzymological characteristics and identification of useful fungi isolated from traditional Korean nuruk. Kor J Appl Micorbial Biotechnol, 26, 456-464 (1998)
- Kim JY, Jeon EB, Song MG, Park SY. Quality properties and antioxidant activities of Korean traditional rice-based wine, *makgeolli* added with sweet pumpkin. J Food Hyg Saf, 36, 271-279 (2021a)
- Kim JY, Yi YH. pH, Acidity, color, amino acids, reducing sugars, total sugars, and alcohol in puffed millet powder containing millet takju during fermentation. Korean J Food Sci Technol, 42, 727-732 (2010)
- Kim KS, Son ES, Cheong C. Evaluation of the quality characteristics of *makgeolli* according to the amount of β -cyclodextrin input. JKAIS, 22, 103-110 (2021b)
- Kim MS, Kim YS, Lee SJ, Kwon TE. Quality of *makgeolli* added with sprouted garlic powder. Culi Sci Hos Res, 30, 30-42 (2024)
- Kim SH, Jeon EB, Song MG, Park SY. Quality characteristics and antioxidant activity of the traditional Korean rice wine *makgeolli* containing lotus leaf *Nelumbo nucifera* powder during fermentation. Korean J Fish Aquat Sci, 55, 769-776 (2022b)
- Kim SH, Lee CM, Jeong JH, Choi YR, Lee DH, Lee CY, Huh CK. Fermentation of onion extract by lactic acid bacteria enhances its physicochemical properties. Korean J Food Sci Technol, 54, 445-454 (2022c)
- Kim SH, Mun JY, Kim JY, Kim SY, Yeo SH. Quality characteristics of barley-*makgeolli* fermented from yeast Y204 with different fermented agents. Korean J Food Preserv, 26, 631-641 (2019)
- Kwak J, Lee JH, Kim HW, Lee JS, Chun A, Yoon MR, Oh SK, Chang J, Kim BK. Quality properties of *makgeolli* brewed with fiber-rich rice cultivars. Korean J Food Nutr, 27, 851-858 (2014)
- Kwon YS. Characteristics of domestic grown hops and brewing characteristics of beer by hops variet. MS Thesis, Dankook University, Korea, p 14-20 (2023)
- Lee AR, Kim HR, Kim JH, Ahn BH, Lee JE. Isolation of Lactic acid bacteria and its application for synbiotics

- makgeolli* fermentation. Curr Top Lactic Acid Bac Probio, 2, 27-33 (2014)
- Lee JE, Kim GW, Kang KO, Shim JY, Son JY. A study on the brewing characteristics and functionality of *makgeolli* using germinated rice. J FoodService Safety, 17, 39-54 (2021)
- Lee JS, Ahn YP, Hong SI. Study of the optimum pH and temperature in extraactive fermentation using ca-alginate entrapped *S. cerevisiae*. Korean J Chem Eng, 28, 676-683 (1990)
- Lee SJ, Yang YH, Jeon JM, Lee KW, Cho IJ, Lee SM, Ryu JY, Shin WS, Kim JS. Production of cheese containing alcohol metabolism using *Latobacillus* with fig enzyme. Korean J Food Sci Technol, 49, 141-145 (2017)
- Lee SM, Lee TS. Effect of roasted rice and defatted soybean on the quality characteristics of Takju during fermentation. J. Nat Sci, 12, 71-79 (2000)
- Lee TJ, Hwang DY, Lee CY, Son HJ. Changes in yeast cell number, total acid and organic acid during production and distribution processes of *makgeolli*, traditional alcohol of Korea. The Korean J Microbiol, 45, 391-396 (2009)
- Minstry of Food and Drug Safety (MDFS). Labeling Standards of Foods. Etc No.2017-99 (2017)
- Na KW, Ban JU. No need to envy wine of whiskey... The world of permium *makgeolli*. Available from: <https://www.mk.co.kr/economy>. Accessed Sep. 06, 2024.
- Park CW, Jang SY, Park EJ, Yeo SH, Kim OM, Jeong YJ. Comparison of the quality characteristics of commercial *makgeolli* type in South Korea. Korean J Food Preserv, 18, 884-890 (2011)
- Park JH, Yeo SH, Choi JH, Jeong ST, Choi HS. Production of *makgeolli* using rice treated with Gaeryang-Nuruk (for non-steaming process) extract. Korean J Food Preserv, 19, 144-152 (2012)
- Park JK, Peck SY, Yoo YJ. Temperature effects and optimization for ethanol fermentation. Kor J Appl Micobiol Bioeng, 17, 619-623 (1989)
- Park MJ, Kim HK, Choi KK, Koo BY, Lee SK. Fermentation Characteristics of *makgeolli* containing aronia (*Aronia melanocarpa*, black chokeberry). Korean J Food Sci Technol, 48, 27-35 (2016)
- Park YD, Bae EJ, Choi JS, Kim HS, Kim CW, Jeng ST, Choi HS. Quality characteristics of sterilized *makgeolli* brewed with different materials. J East Asian Soc Dit Life, 27, 685-667 (2017)
- Pham TK, Wright PC. The proteomic response of *Saccharomyces cerevisiae* in very high glucose conditons with amino acid supplementation. J Proteome Res, 7, 4766-4774 (2008)
- Piper PW. The heat shock and ethanol stress responses of yeast exhibit extensive similarity and functional overlap. FEMS Microbiology Letters, 134, 121-127 (1995)
- Seong GU, Kang JW, Cho SM, Lee SB, Cho JH, Park DS, Kwon YH, Lee SM, Lee JY. Comparison of quality characteristics of '*makgeolli*' made using brwon and white rice of '*Mirchal*'. Korean J Food Preserv, 28, 790-798 (2021)
- Shim SB. Effect of lifestyle on alcohol selection attributes and purchasing intention. MS Thesis, Shinhan University, Korea, p 1-2 (2019)
- Shin DS, Choi YJ, Jeong ST, Sim EY, Lee SK, Kim HJ, Woo KS, Kim SJ, Oh SK, Park HY. Quality Characteristics of mixed *makgeolli* with barley and wheat. Korean J Food Nutr, 29, 565-572 (2016)
- Shin HS, Kim MS, Kim YJ, Park NY, Kho YL. Investigation of artificial sweeteners in *makgeolli* distributed in South Korea using HPLC. J Environ Health Sci, 49, 289-294 (2023)
- Takagi H. Proline as a stress protectant in yeast: Physiological functions, metabolic regulations, and biotechnological applications. Appl Microbiol Biotechnol, 81, 211-223 (2008)
- Yoo JC, Lim SJ, Ko YT. Manufacture of yogurt from soy protein concentrate. Korean J Food Sci Technol, 16, 143-148 (1984)
- Yoon JA, Kwun SY, Cho SW, Park EH, Seo YH, Kim MD. Analysis of flavor characteristics of commercial *makgeolli*. microbiol. Biotechnol Lett, 52, 37-43 (2024)