

무증자 전분의 당화에 관한 연구

이상열 · 신용철 · 이석희 · 박성숙* · 김형수** · 변시명[†]

한국과학기술원 생물공학과 · *건국대학교 생물학과 ·

**연세대학교 식생활과

Saccharification of Uncooked Starch

Lee, S.Y., Shin, Y.C., Lee, S.H., Park, S.S.,* Kim, H.S.** and Byun, S.M.[†]

*Department of Biological Science and Engineering, Korea Advanced
Institute of Science and Technology, Seoul*

** Department of Biology, Kun-Kuk University*

*** Department of Food Science and Nutrition, Yonsei University*

Abstract

For the eventual alcohol production from uncooked starch, an efficient saccharification process was examined by using the combined action of steeping, pectin depolymerase, α -amylase and glucoamylase. The total sugar content of rice, sweet potato and tapioka used were 4.53, 4.26, and 3.92 mmole/g sample. 70 \pm 10% of the total sugar was hydrolyzed when cooked starch was saccharified under the condition which is currently used in industry. The smaller starch particle was used, the more saccharification was obtained. Efficient saccharification was obtained by treatment with 5% H₂SO₄ (sample: working volume = 1:2) at 60°C for 12 hr. Optimization was carried out for the saccharification of uncooked starch by the combined action of pectin depolymerase, α -amylase and glucoamylase. The conditions are: pectin depolymerase; pH 4.5, 45°C, 2 hr, α -amylase; pH 6.0, 60°C, 1 hr, and glucoamylase; pH 3.5, 60°C, 1 hr. Simultaneous treatment of the combined action of macerating, liquifying and saccharifying enzymes yielded better result than stepwise treatment of 3 enzymes. Degrees of saccharification of uncooked tapioka, rice and sweet potato were 82, 90.5, and 84.5%, respectively on the basis of total sugar, under the optimized conditions.

序 論

근래 대체 에너지로서 알코올의 이용 가능성이 높아 지므로서 무증자 전분의 알코올 발효가 큰 관심을 불러 일으키고 있다. 종래의 알코올 발효에서는 원료 전분을 120°C에서 약 2시간 증자함으로써 알코올 생산에 필요한 총 에너지의 40% 정도가 원료 전분의 증자에 소요되고 있는 실정이었다.

원료전분의 당화는 전분의 구조, 전분의 종류, 액화-당화조건, 고지의 액화-당화효소의 종류 및 역가에 크게 좌우되는바⁽¹⁾, 원료 전분을 증자하지 않고 직접 효소를 사용하여 생전분의 당화를 성취시킴으로서 알코올 발효과정중 증자과정을 제거시키고자 노력하고 있다. 이를 효율적으로 수행하기 위하여 효소역가가 높은 고지균주의 개발과⁽²⁾, 상품으로 이용 가능한 효소제의 사용⁽³⁾ 또는 산/알카리에 의한 처리방법⁽⁴⁾ 등이 연구되었다. 현재로서 상당한 성과를 거두고 있으나 원료 전분에 따라 알코올 생성 수율이 각각 다르고 총 발효 기간이 아직도 5일 이상으로 약간 길고, 또한 처리온도가 75°C 이상으로 역시 높은 실정에 있다.

[†]To whom all correspondence should be addressed.

본 연구의 결과는 연구보고서로 주류공업, 4(1), 19 (1984)에 실렸음을 밝힘.

본 연구에서는 현재 공업적으로 사용되고 있는 과정으로서 총 발효 기간이 3일 이내에 완료되고, 처리 온도가 최고 60°C 이하인 조건으로, 알코올 수율이 94% 이상이며 원료와 발효용적 비율이 1:4를 넘지 않는 조건에서 원료 전분을 증자하지 않고 알코올 발효를 수행할 수 있는 방법을 모색하고자 하는 과정에서 우선 무증자 전분의 당화에 관한 몇가지 기초 자료를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

전분 원료로서 타피오카칩, 고구마, 쌀을 대한주정협회에서 공급 받았다. 각 원료는 분쇄기를 사용하여 여러가지 입자 크기로 분말화 하였다. Pectin depolymerase는 일본 Ueda Chem. Co.의 상품명 Cellulysin (1×10^4 units/g)을 사용하였고 α -amylase는 덴마크Novo사 제품의 상품명 Termamyl (4.5×10^3 units/ml)을 사용하였으며 glucoamylase는 한국미생물공업 제품의 상품명 SP-2000 (1.75×10^3 units/g)을 사용하였다. 기타 화학시약은 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

당 측정

전당의 측정은 생 전분질 0.1 g에 1N-H₂SO₄ 5ml을 가하여 100°C 끓는 물에서 4시간 완전 가수분해시킨 후 얻어지는 환원당을 dinitrosalicylic acid (DNS) 방법⁽¹⁾으로 측정하였다. 시료의 당 함량은 Whatman 여과지로 여과하고 투명한 상등액의 환원당을 정량 하였다.

증자전분의 당화

현재 주정공업에서 사용하고 있는 조건을 기준으로 하여 5g의 원료 전분에 물 20ml (원료전분 : 발효용적 = 1:4)를 첨가하고, 여기에 Termamyl 제품 2.5 μ l (11.25 units)를 가하여 120°C에서 90분간 autoclave 시켰다. 이 용액에 SP-2000의 glucoamylase 50mg을 가하고 60°C에서 1시간 반응시킨 후 생성된 환원당을 DNS 방법으로 측정하였다.

당화조건 규명

산의 전처리 : 효소 당화를 시작하기전 처리로서 원료 전분을 H₂SO₄로 침지한 효과를 측정하였다. 최적 산처리 농도 및 시간을 결정하기 위해 일정량의 시료를 산의 농도 및 처리시간을 변경하여 행하였다.

Pectin depolymerase 처리 : 효소의 최적 처리조건을 알기 위해 pH, 최적온도 및 효소 농도를 변화시키면서 전처리 및 다른 효소와의 병용조건으로 행하였다. 효소

역가 측정은 0.1M sodium-citrate buffer, pH 3.5에 녹인 1.0% citrus pectin 용액 10ml를 사용하여 40°C에서 10분 동안에 점도를 1/2로 떨어뜨리는 효소양을 1 unit로 정의하였다.

α -Amylase : 효소의 최적조건을 알기 위해 pectin depolymerase와 동일한 방법으로 행하였다. 효소역가는 0.02M sodium phosphate buffer, pH 6.0, 38°C에서 1% 전분 용액으로부터 1분 동안에 유리되는 maltose 1 μ mole을 생성하는 효소양으로 정하였다.

Glucoamylase : pectin depolymerase 및 α -amylase와 동일한 방법으로 행하였다. 효소역가는 0.016M sodium acetate buffer, pH 4.8, 25°C에서 1% 전분 용액으로부터 1분당 glucose 1 μ mole을 생성하는 효소양으로 정하였다.

발효조를 이용한 당화

최적화 시킨 당화조건으로, Bio FLO Model C30 발효조를 사용하여 당화효율을 검토하였다. 100g의 원료 전분을 사용하여 최적화 시킨 조건으로 400ml의 시료를 1 l jar에서 200 rpm으로 진탕 시키면서 당화시켰고 온도 및 pH는 자동조절 장치를 이용하여 최적 조건으로 조절하였다.

결 과

증자전분의 당화

본 실험에서 사용한 타피오카칩, 쌀 및 고구마의 전당 함량을 정량한 결과는 시료 g 당 타피오카칩 3.92 mmole, 쌀 4.53 mmole 및 고구마 4.26 mmole 이었다. 현재 주정 공장에서 알콜 발효 공정에 사용하고 있는 당화조건을 기준으로 하여 실험방법 "증자전분의 당화"에서 기술한 조건으로 증자 전분을 당화시킨 결과 전당의 70±10%가 환원당으로 생성 되었다. 따라서 본 실험에서는 가능한 높은 당화방법을 강구기 위하여 증자 전분의 당화율의 최고치인 80%를 기준으로 하여 무증자 전분을 각종 처리에 의한 당화를 백분비로 표시하였다.

시료 입자의 크기에 의한 당화 효과

무증자 전분의 당화에 있어서 전분질 입자의 크기가 당화율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 전분질 입자의 크기에 따라서 당화실험을 행하였다. 이때 전분질 입자의 크기는 mill로 분쇄하여 mesh size에 따라 분류하여 실험하였다. 이때 사용한 실험방법은 5g을 타피오카칩 시료에 5% H₂SO₄ 10ml을 첨가하여 12시간 침지시킨

Table 1. The effect of the particle size of raw starch on sugar conversion

Particle size (mesh)	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on the conventional hydrolysis with cooking
30	46.7	58.4
60	59.9	74.9
100	70.8	88.5

후 1N-NaOH를 사용하여 pH를 4.5로 조정하고 pectin depolymerase (15mg), α -amylase (1.5 μ l), glucoamylase (50mg)를 첨가하고 40°C에서 pectin depolymerase 반응을 2시간시켰고, 다음에 1N-NaOH로 pH를 7.0으로 조정한 후 50°C에서 α -amylase 반응을 1시간시켰고, 다시 1N-HCl로 pH 4.0으로 조절하고 glucoamylase 반응을 1시간 시켰다. 이때 최종 용적은 20ml이었다. 이 반응액의 부피를 250ml로 조정한 후 Whatman 여과지를 사용하여 여액 환원당을 측정하였으며 그 결과는 Table 1에 표시하였다. 실제로 증자 전분의 당화에는 시료의 입자 크기가 별 상관없이 없었으나 Table 1에서 보듯이 무증자 전분의 당화는 입자 크기에 따라 상당한 당화율의 차이가 있었다. 이것은 무증자 전분은 증자전분과 달리 전분 입자가 자연의 결정형으로 존재하기 때문에 사용하는 효소와의 접촉이 물리적으로 영향을 받기 때문으로 생각된다. 따라서 이후에는 100 mesh 입자의 전분 시료를 사용하였다.

산 침지 효과

원료 전분의 당화시 생전분을 효소로 처리하기전 산 침지가 당화율에 미치는 영향을 실험하였다. 산 침지는 60°C에서 12시간 하였고 그후의 효소 반응은 전분질 입자 크기 결정 실험에서 처럼 pectin depolymerase,

Table 2. Steeping effect with H₂SO₄

Treatment	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on the conventional hydrolysis with cooking
Acid steeping only*	6.8	8.5
Enzyme treatment only	23.0	28.8
Enzyme treatment with acid steeping	71.0	88.8

* 5% - H₂SO₄ steeping for 12 hr at 60°C

α -amylase, glucoamylase를 모두 첨가하고 반응 조건을 pH 4.5, 40°C에서 먼저 2시간 반응시키고, 다음에는 pH 7.0, 50°C에서 1시간 반응시켰고 다시 pH 4.0, 50°C에서 1시간 반응시킨 결과는 Table 2와 같다. Table 2에서 보듯이 산 침지를 하지 않고 효소반응만 시켰을 때 당화율이 전당 기준시의 23%로 낮게 나타났다. 또한 60°C의 산 침지만으로는 전분의 가수분해가 전당을 기준으로 6.8% 정도 밖에 일어나지 않고 있음을 알 수 있었다. 그러나, 산 침지후에 효소를 처리하여 반응 시켰을 때는 전당 기준시의 71%가 가수분해 되었다. 이러한 결과로부터 무증자 전분질의 당화에서 원료의 전처리로 산 침지를 시키는 것이 매우 효과적인 방법으로 생각된다. 이것은 산 침지를 시켰을때 원료 전분이 효소가 작용하기 매우 용이한 형태로 변형된 것으로 추측된다. 이와같은 산 침지를 할때 황산의 농도가 무증자 전분질의 당화에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 원료 전분 5g에 각 농도별 황산 10ml씩을 첨가하고 12시간 동안 침지 하였으며, 그후의 과정은 앞에서 실시한 과정과 동일하게 하였다. Fig. 1에서 볼 때 8% 황산을 사용하면 거의 100% 당화가 일어났는데 낮은 농도의 황산을 사용하고 당화율을 높이는 것이 효과적이므로 황산농도는 5% 용액을 사용하였다. 5% H₂SO₄ 황산용액에서 무증자 전분의 최종 당화율은 73.5%이었다.

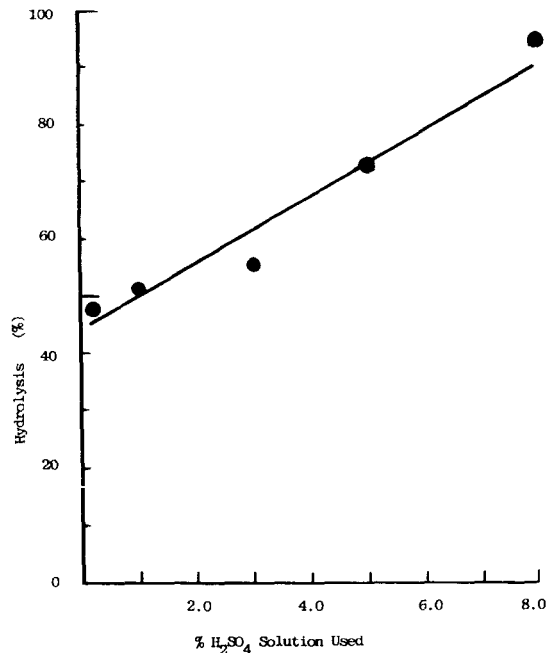


Fig. 1. The effect of concentration of sulfuric acid used on sugar conversion

Table 3. The effect of the steeping temperature with 5% sulfuric acid on sugar conversion

Steeping temperature (°C)	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on the conventional hydrolysis with cooking
40	22.0	27.5
50	43.0	53.8
60	71.2	89.0

황산의 침지 온도가 무증자 전분의 당화에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 황산 침지온도를 달리하여 생성되는 환원당을 측정된 결과는 Table 3 과 같다. 이때 5% H₂SO₄를 사용하여 12시간 침지하였고 나머지 반응은 앞에서 실시한 과정과 동일하게 실험하였다. Table 3 에서 볼때, 황산 침지온도를 높일수록 환원당의 생성이 증가되지만, 실제 공장에서 특별히 가열할 필요없이 폐수로서 공급할수 있는 온도가 60°C 까지 가능하기 때문에 침지 온도는 60°C로 정하여 실험하였다.

효소처리 조건의 최적화

앞의 실험에서 시료와 산의 용적비율 1 : 2로 하여 5% 황산으로 12시간 동안 침지한 후 효소를 처리하였을때 당화율은 전당을 기준으로 하여 약 71% 정도까지 얻을 수 있었다. 그런데 지금까지는 효소의 작용 조건을

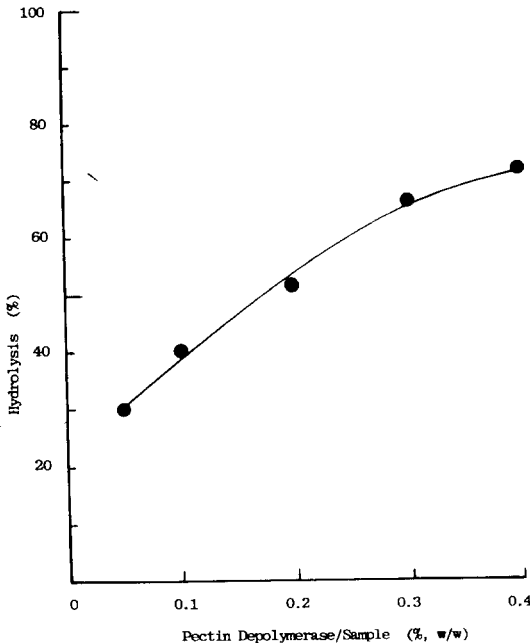


Fig. 2. The effect of amount of pectin depolymerase on sugar conversion

문헌에 있는 것으로 사용하였으나, 효소의 작용 능력은 효소원과 기질의 성질에 따라 달라지므로 본 실험에서 사용하는 효소들의 무증자 전분에 작용하는 최적조건을 찾아내는 실험을 실시하였다.

Pectin depolymerase : 본 실험에서 macerating enzyme인 pectin depolymerase는 glucoamyase가 환원당을 생성하기 전에, 생전분의 물리적 구조를 파괴시키므로써 amylase의 환원당 생성 작용을 도울 수 있도록 작용하는 효소이다. 최적조건 실험에서는 전분의 다른 처리는 모두 앞의 방법과 같이하고 pectin depolymerase의 조건만 변화시키면서 생성된 환원당을 측정하였다. 이때 pectin depolymerase의 농도, 최적 pH, 그리고 최적 온도를 결정한 실험은 Fig. 2 - 4 와 같았다. Fig. 2 - 4 에서 볼 때 pectin depolymerase를 무증자 전분에 작용시킬때의 농도는 0.3% (w/w) 로 정하고 실험하는 것이 경제적인 면에서 좋을 것으로 추정 하였으며, 작용 최적온도는 45°C 이었고 pH는 4.5 이었으며 작용 시간은 2시간이 좋았다. 따라서 본 실험에서는 이 조건을 기준으로 하여 실시하였다.

α - Amylase : Macerating enzyme 이 작용한 후 전분의 조직이 느슨해지면 액화/ 당화 효소가 작용하는데 이때 먼저 α - amylase 를 작용시켜 전분을 무작위로

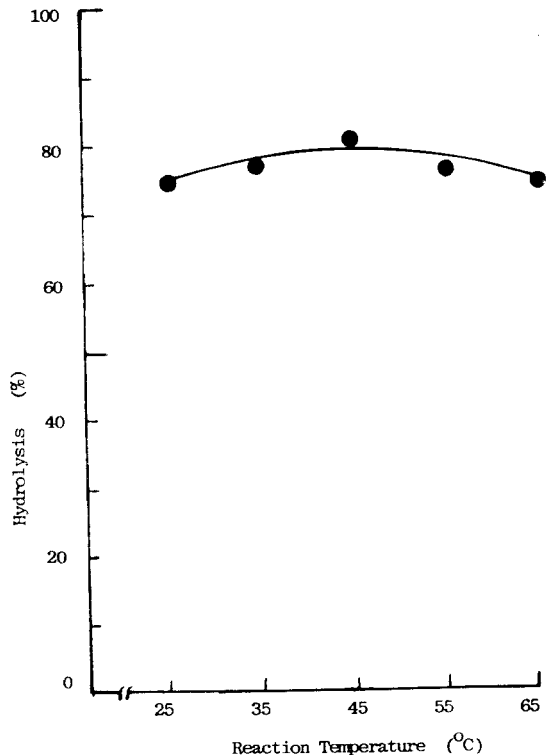


Fig. 3. The effect of reaction temperature of pectin depolymerase on sugar conversion

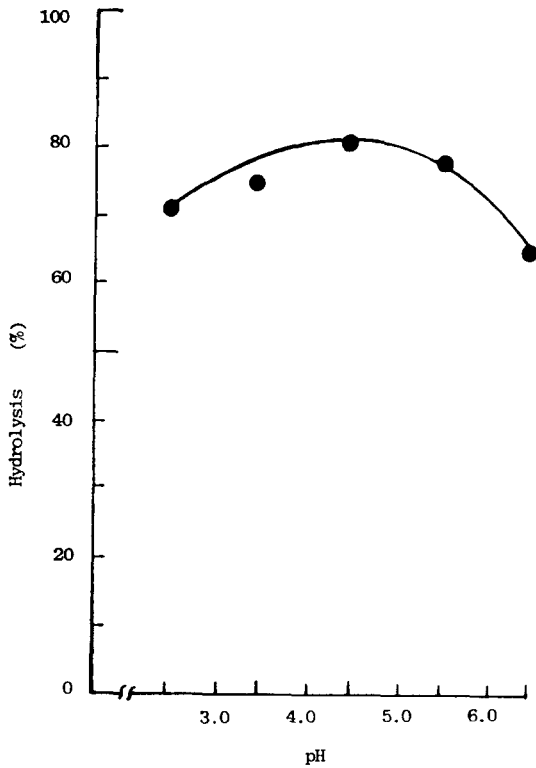


Fig. 4. The effect of reaction pH of pectin depolymerase on sugar conversion

꿈어 최종적으로 glucoamylase 가 환원당을 생성하기에
충도록 하였다. Termamyl로 앞의 pectin depolymerase
와 마찬가지로 무증자 전분질에 작용할 때의 최적 조건을

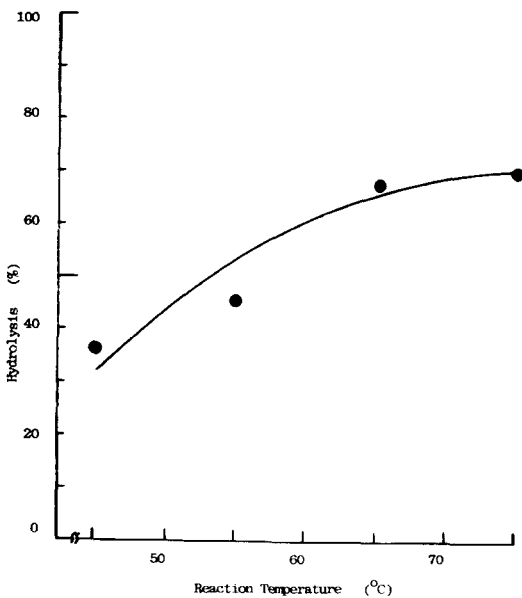


Fig. 5. The effect of reaction temperature of Termamyl on sugar conversion

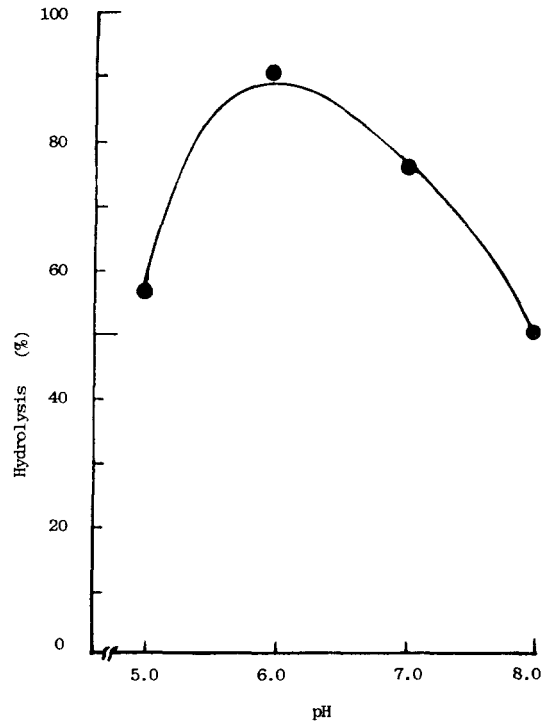


Fig. 6. The effect of reaction pH of Termamyl on sugar conversion

찾는 실험을 행하여 Fig. 5 - 6 와 같은 결과를 얻었다.
무증자 전분질의 당화과정중에서 다른 조건은 모두 앞
서와 같이 한 후 액화효소인 Termamyl의 작용 pH, 온
도만을 변화시키면서 생성되는 환원당을 측정하였다.
Fig. 5에서 보듯이 최적온도는 약 75°C 이었으나 공장
수의 이용이라는 점에서 60°C 에서 작용시켰고, 최적 pH
는 6.0 이었으며 작용시간은 1시간으로 결정하였다.

Glucosylase : 전분의 당화과정중 마지막 단계에서
환원당을 생성시키는 glucosylase 는 한국미생물공업
로부터 구입한 SP- 2000을 사용하였다. 무증자 전분
당화에 이용할때의 최적 조건을 찾아 내기 위하여 앞
의 두가지 효소의 최적화 실험과 마찬가지로 행하였다.
모든 다른 조건을 앞의 방법과 같이 고정시켜 놓고, glu-
coamylase 의 양, 작용온도, pH만을 각각 변화시키면
서 생성되는 환원당을 측정하므로써 최적조건을 규명한
결과 Fig. 7 - 9 와 같은 결과를 얻었다. Fig. 7에서
볼 때, glucosylase 의 양이 높아질수록 환원당은 계속
직선적인 증가를 나타내었으나 산업적인 이용이라는 점
을 고려할때 1% (w/w)로 정하였으며, 이 농도는
Ueda 등⁽⁴⁾의 결과에서도 같은 양을 사용하여 일치하는
현상을 볼 수 있었다. 또한 Fig. 8로 부터 glucosyl-
ase 의 최적온도는 60°C 이었으며 Fig. 9에서 최적 pH
는 3.5임을 알았다. 그러므로 무증자 전분 당화에서

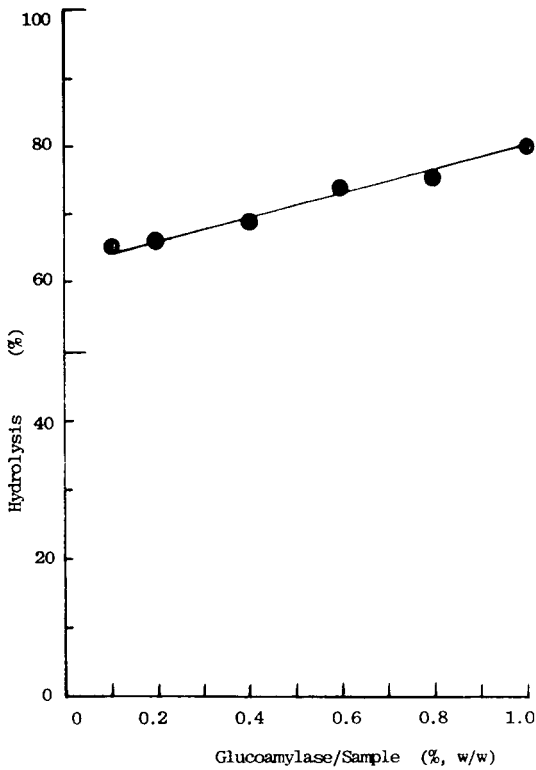


Fig. 7. The effect of amount of glucoamylase on sugar conversion

glucoamylase 는 이들 조건에서 실험하였다.

효소 처리방법에 의한 효과 : 실험으로 얻은 최적화된 조건으로 전분을 당화시킬 때 효소를 처리하는 방

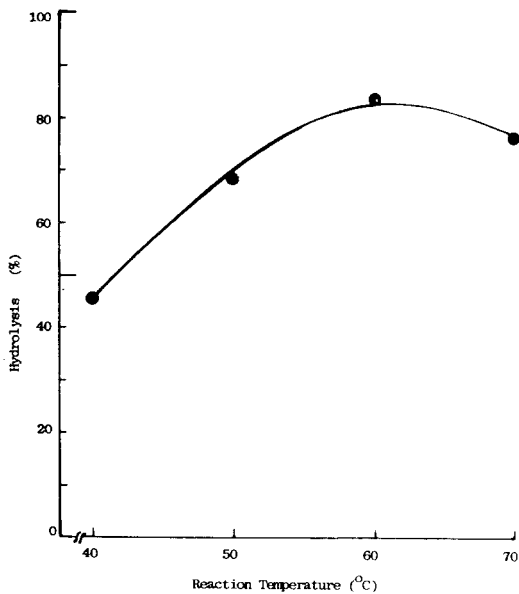


Fig. 8. The effect of reaction temperature of glucoamylase on sugar conversion

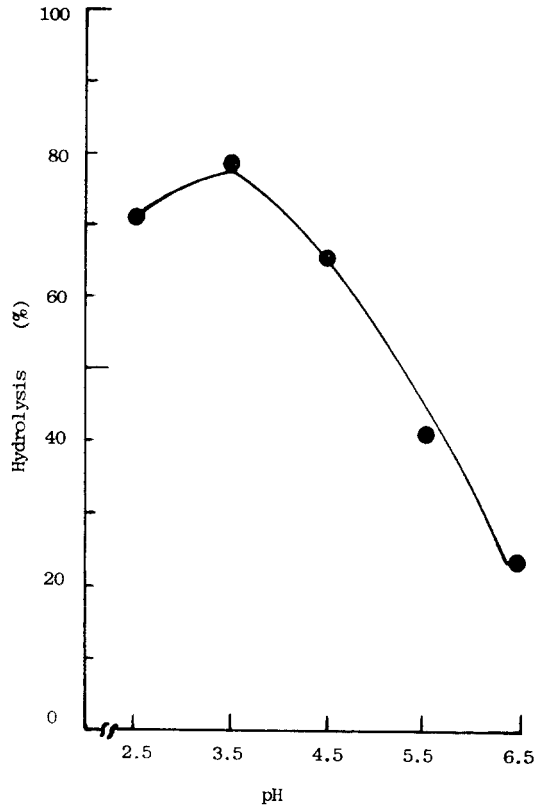


Fig. 9. The effect of reaction pH of glucoamylase on sugar conversion

법을 달리하여 당화율을 측정하여 보았다. 무증자 전분을 산 침지후에 pectin depolymerase, α -amylase, glucoamylase의 3 가지 효소로 처리할때 이 효소들을 모두 한꺼번에 동시에 넣고 반응시간에 따라 조건을 바꾸어 주므로써 각각의 효소가 작용하도록 하는 효소의 동시처리와, 이와는 달리 산 침지후에 3 가지 효소를 하나씩 넣고 반응조건을 바꾸는 효소의 단계별 처리중 어느 것이 효과적인가를 측정하여 Table 4와 같은 결과를 얻었다. 이 결과로 볼 때 효소의 동시 처리가 단계별 처리에 비하여 훨씬 효율이 좋은 것을 알 수 있었는데, 이것은 3 가지 효소가 동시에 존재하여 서로의 작용을 촉진시킬 수도 있고, 반응에 따라 변화시키

Table 4. The effect of enzyme addition on sugar conversion

Sequence of enzyme addition	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on the conventional hydrolysis with cooking
Simultaneous	82.0	102.5
Stepwise	73.7	92.1

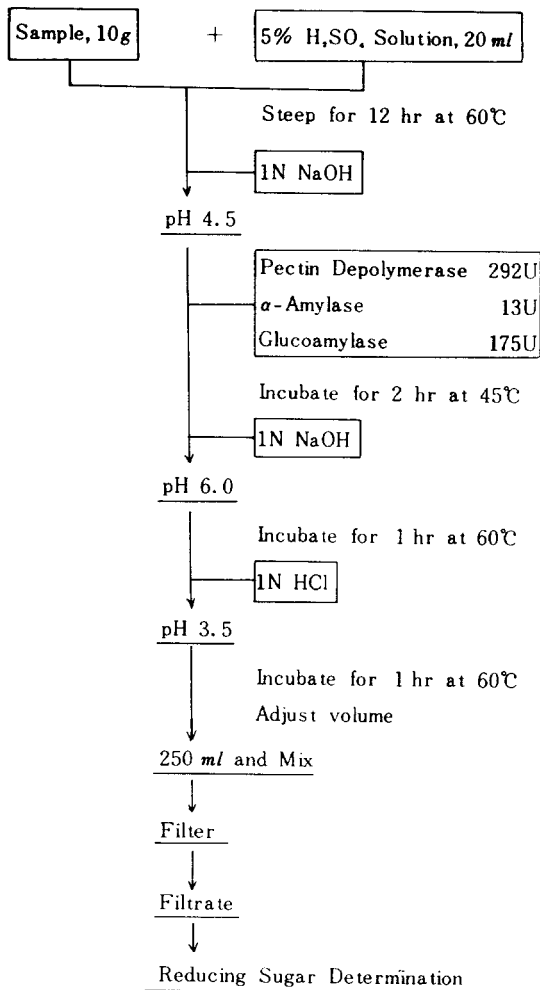


Fig. 10. Flow sheet of saccharification of uncooked starch and sugar determination

는 조건이 완만해서 효소의 활성을 크게 떨어뜨리지 않으므로 효소 작용 시간이 더 길어질 수 있는 것 때문으로 추측되며, 또한 실제 이용면에서도 더 실용적인 결과임을 알 수 있었다. 이상의 결과로부터 pectin depolymerase, α -amylase, glucoamylase 3 가지 효소를 무중자 전분의 당화에 이용할 때 최적 조건들을 규명 하였으며, 앞에서 결정된 산 처리 조건과 함께 모든 최적화된 조건을 도시하면 Fig. 10과 같다. 앞의 실험은 Fig. 10에 의한 방법으로 실시하였다.

발효조에서의 적용

지금까지의 data 는 모두 삼각 플라스크에서 진탕하면서 실험하여 얻은 결과이다. 이것을 실제 Bio FLO Model C30 발효조에서 실험함으로써 발효에의 적용 실험을 하였다. 이때 사용한 jar 의 부피는 1 l 용량의

Table 5. The comparison of hydrolysis of the various starch sources at the optimized conditions

Starch sources	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on the conventional hydrolysis with cooking
Tapioca	82.0	102.5
Rice	90.5	113.2
Sweet potato	84.5	106.0

것이고, 진탕은 200 rpm 으로 하였고, pH 는 pH-stat 를 이용하여 자동조절 하였다. 이때 사용한 조건은 Fig. 10에서 나타낸 조건으로 타피오카를 가지고 실험을 하였을 때 삼각 플라스크에서 한 것은 전당의 82%인데 비하여 발효조에서 행하였을 때는 전당의 87%로 나타났다. 이 결과로 볼 때 발효조에서 더 좋은 효과를 얻은 것은 진탕을 효율적으로 할 수 있었고, pH 조절도 자동적으로 되어 정확한 시간과 조건으로 실험을 진행할 수 있었기 때문인 것으로 생각된다. 이것은 지금까지의 결과를 산업적인 면에 적용하여 무중자 당화를 할 때 충분히 효율적으로 할 수 있다는 가능성을 보이는 결과로 생각된다.

전분질의 종류에 따른 당화율 비교

지금까지 실험으로 부터 얻은 Fig. 10의 최적 조건으로 전분 종류에 따라 당화율을 측정하여 보았다. 쌀, 고구마, 타피오카 3 가지를 위 조건에 의하여 무중자 화를 시켜 Table 5와 같은 결과를 얻었다. Table 5의 결과에서 전분당화는 쌀, 고구마, 타피오카의 순서였으며, 세 가지 모두 증자 전분의 당화율 보다 높은 값을 보임으로써 무중자에 의한 당화 방법이 매우 효과적으로 알코올 발효조에 이용될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

고찰

근래 gashol (알코올과 gasoline의 혼합물)이 자동차 연료로 이용됨에 따라 대체 에너지로서 알코올이 큰 관심이 되고 있다. 그러나 알코올 발효에 있어서 재래의 방법은 120°C에서 2 시간 정도 가열하여 원료를 증자하기 때문에 이 과정에서 알코올 발효 총 에너지의 약 40% 정도가 소비되고 있다. 따라서 증자 과정을 거치지 않고 무중자 전분을 직접 당화시켜 알코올 발효를 행하는 연구가 활발히 진행되어 왔다²⁻¹⁰⁾. 본 연구는 무중자 전분의 궁극적인 알코올 발효를 목적으로 우선 무중자 전분의 당화과정에서 산에 의한 전처리와 ma-

cerating enzyme으로서 pectin depolymerase 의처리 및 α -amylase 와 glucoamylase의처리효과를 알기 위해 당화과정까지의 기초자료 조사를 행하였다. 따라서 알코올 발효는 수행치 않았다.

더욱이 본 연구는 현재 주정공업에서 수행하고 있는 증자 전분의 알코올 발효 과정에서 증자 과정만을 대체 하는 방법을 강구하고자 시도 하였다. 지금까지의 무증자 연구결과를 보면 상당한 발효 효과를 얻고 있기는 하지만^(*) 최종 알코올 수율이 떨어지거나^(*), 총 발효 기간이 너무 길거나^(*), 처리온도가 아직도 높은^(*) 단점들이 남아있는 실정이기 때문이었다. 본 실험에서 현재의 알코올 발효 조건을 가능한 한 유지시키는 조건으로 총 발효 기간이 3일 이내에 완료 되어야 하며 공장폐수를 이용한다는 가정 아래 작업 온도는 60°C 이상을 넘지 않고, 알코올 효율이 94% 이상이며 시료와 발효 용적이 1:4 이하의 조건인 가능한 방법을 강구하고자 목적하였다. 증자전분의 당화를 현재 조건으로서 행한 결과 당화가 전당의 70±10%이었기 때문에 무증자 전분의 당화를 전당의 80% 까지 올리기 위한 방법을 강구하였다. 증자 전분의 경우는 시료의 입자 크기가 별 상관없이 없었으나 Table 1에서 볼수 있듯이 무증자 전분의 당화는 시료의 입자 크기에 따라 상당히 당화율이 차이가 있었다. 이것은 무증자 전분은 자연의 결정형으로 존재하기 때문에 효소 접촉이 물리적으로 영향을 받기 때문으로 생각되었다. 100 mesh 로 시료를 만들기에는 대량의 시료를 취급하는 공업적인 단계에서의 문제점으로 생각한다. 현재 시료를 30 mesh 의 입자 크기로 사용하고 있으므로 앞으로 이에 대한 강구책이 모색되어야 한다고 생각된다.

Table 2 의 산침지 효과는 상당히 양호하였다. 산의 처리는 전분입자에 작용하여 표면의 물리적 구조를 변형시켜 효소작용을 용이하게 하는것으로 판단된다. 실제 산처리를 행하지 않았을 경우에는 당화율이 현격히 낮아지는 결과를 보였다. 시료: 발효용적 = 1:2인 경우 60°C에서 5% H₂SO₄ 용액을 처리시 최종 용적으로 환산하면 황산의 농도는 2.5%가 된다. 2.5%의 황산처리는 실제로 공장에서는 비용과 중화분제에서 다른 문제점을 만드는 것으로 간주된다. 따라서 산의 농도를 훨씬 줄여야 하는 것으로 해석된다. 본 실험의 결과 71% 당화율은 상당히 높은 값으로 이것은 증자 당화시 최고값인 80% 선을 목표로 행하였기 때문에 낮은 당화율을 목적으로 하면 그 개선책이 있다고 판단된다. 실제 Ueda 등^(*)의 경우에 있어서는 당화과정 만으로서는 40%내외밖에 당화가 되지 않았어도 다음 단계에서 알코올발효의 수율을 높일수 있었던 시

실과 또 본 연구실의 연구 결과 증자 전분의 경우에 있어서 60% 까지만 당화가 이루어져도 알코올 수율이 양호 하였음을 볼때 이의 개선책은 쉽게 해결되리라 추측된다. 현재 본 연구실에서의 진행결과를 보면 산의 농도를 충분히 낮출수 있는 방법을 이미 강구하였다. 다른 한가지 문제점으로서 황산을 사용할 경우 알코올 발효시 효모의 생장 및 발효를억제하는 hydroxymethyl furfural 이 생성되는 문제가 대두되나^(*) 이 문제도 본 연구실에서는 산의 농도를 조절함으로써 해결할수 있었다.

다른방법으로서 박^(*) 등은 0.4-0.6M NaOH 로 전처리하여 무증자 전분의 알코올 발효를수행한바있으나 최종 알코올 농도가 6.6-8.2%로서너무 희석된 결과를 얻었고 NaOH 처리시의 문제점은 지적치 않았다. 실제로 본 연구실에서 행한 연구에의하면 0.3N-NaOH 농도가 되면 시료: 발효용적= 1:4 인 경우 viscosity가 너무 높아 실질상으로 다음 작업을 행할수 없는 실정이었다. 실제로 1:6 이상으로 희석해야만 작업이 가능하며 이 경우 최종 알코올 농도가 너무 희석되는 결과를 초래하게 된다.

효소에 의한 최적화는 현재 시판되는 효소들을 사용하였기 때문에 현실성이 많은 결과로 판단된다. 보다 역가가 높은 효소를 사용하면 더 좋은 결과를 기대할수 있을 것으로 본다. 산의 효과적인 전처리는 경우에 따라 macerating enzyme 의 처리를 생략하여도 무방하다고 본다. 본 논문을 작성하는 동안 Chua 등^(*)도 본 연구와 비슷한 연구결과를 발표하였으나 전처리를 행하지 않았고 처리 온도는 75-85°C로서 아직도 높은 온도에서 사용하였던 결과이었다.

Table 4 및 발효조에 의한 결과에서 최적화된 조건으로 실제 scale-up 할 경우 당화율이 양호한 것을 감안하면 산업적인 면에 적용시 충분히 효율적으로 수행할수 있다는 가능성을 보여주고 있다. 전분의 종류에 따른 당화율은 큰 차이는 없었으므로 별 문제점이 발생하리라고는 판단치 않는다.

따라서 앞으로는 본 연구의 최적화 조건을 이용하여 알코올 발효를 직접 수행하여야 하며 현재 본 연구실에서는 이를 수행한바 있다.

요 약

본 연구는 전분을 증자하지 않고 직접 효소제를 작용시켜 효율적인 당화를 시키고자 하였다. 원료 전분의 산침지와 macerating enzyme, α -amylase, glucoamylase 를 처리하여 증자 전분의 당화율보다 더 높은 당화

율을 얻었다. 실험에 사용한 전분질의 전당은 시료 g 당 쌀 4.53, 고구마 4.26, 타피오카 3.92 mmole 이었다. 현재 주정공업에서 사용하는 알코올 발효 조건을 기준으로 하여 당화시킨 결과는 전당의 70±10%가 당화되었다. 무증자 전분의 당화시 전분질 입자의 크기에 따른 당화율은 입자가 적을수록 효율적이었다. 산 전처리에 있어서 산의 농도와 온도 및 처리 시간은 시료 : 처리 용적 = 1 : 2 일때 5% H₂SO₄, 60℃, 12시간에 서 좋은 결과를 나타내었다. 전분질의 무증자 당화에 사용하는 효소의 최적 조건은 pectin depolymerase는 pH 4.5, 45℃, 2시간이 우수 하였으며, α-amylase는 pH 6.0, 60℃, 1시간, 그리고 glucoamylase는 pH 3.5, 60℃, 1시간의 조건이 유리하였다. 효소의 처리방법은 동시 처리가 단계별 처리보다 효과가 좋았고 jar fermenter를 사용하여 행한 것이 삼각 후라스크에서 행한 것보다 효과가 좋았다. 각 처리 결과에서 얻은 최적 조건으로 무증자 전분을 당화시킨 결과 전당을 기준으로 타피오카는 82%, 쌀은 90.5%, 그리고 고구마는 84.5%가 당화 되었다.

감사의 말씀

본 연구는 대한 주류공업협회의 연구지원금에 의해서 행하였다. 지원 당국에 감사를 드리는 바이다.

문 헌

1. Fuwa, H. : *J. Jap. Soc. Starch Sci.*, 29(2), 99 (1982)

2. Nishi, K. : *Processing of the Symposium on Amyglase*, p. 33 (1969)
3. Ueda, S. and Koba, Y. : *J. Ferment. Technol.*, 58, 237 (1980)
4. 배무·이재문 : 한국산업미생물학회지, 11(3), 181 (1983)
5. Ueda, S., Zenin, C. T., Monteiro, D. A. and Park, Y. K. : *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 291 (1981)
6. Matsuoka, H., Koba, Y., and Ueda, S. : *J. Ferment. Technol.*, 60, 599 (1982)
7. Svensby, O., Kakutani, K., Matsumura, Y., Iizuka, M., and Yamamoto, T. : *J. Ferment. Technol.*, 59, 485 (1981)
8. Park, Y. K. and Rivera, B. G. : *Biotechnol. Bioeng.* 24, 495 (1982)
9. Azhar, A. and Hamdy, M. K. : *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 879 (1981)
10. 박관화, 오병하, 이제호 : 한국농화학회지, 27, 52 (1984)
11. Miller, G. L. : *Anal. Chem.*, 31(3), 426 (1959)
12. Wilson, D. C. and Brown, H. D. : *Food Technol.*, 7, 250 (1953)
13. Chua, J. W., Fukui, N., Wakabayashi, Y., Yoshida, T., and Taguchi, H. : *J. Ferment. Technol.*, 62, 123 (1984)

(1984년 10월 11일 접수)