

# 無蒸煮 澱粉의 糖化에 関한 研究

(Saccharification of Uncooked Starch)

본 연구는 알코올 제조시 전분질 원료 증자에 소요되는 연료비의 절감을 위하여 전분질 원료를 증자하지 않고 직접 효소제에 의해서 효율적으로 당화시킴을 목적으로 쌀, 고구마 및 타피오카칩의 당화과정을 연구한 보고서임.

-편 집 자-

연구 위 축 : 사단법인 대한주류공업협회

연구책임자 : 김 형 수  
(연세대학교 가정대학 식생활학과 교수)

공동연구자 : 변 시 명  
(한국과학기술원생물공학과 교수)

## ● 목 차 ●

- I. 연구목적
- II. 연구의 내용 및 방법
- III. 연구결과
- IV. 요 약
- V. 앞으로의 전망

## I. 연구의 목적

현재 이용하고 있는 주정제조 목적의 알코올 발효과정은 원료 전분질을 증자한 후에 고지를 첨가하여 당화시킨 다음 효모에 의한 알코올 발효를 행하고 이를 증류하는 과정으로 대별할 수 있다.

당화과정은 고-지의 당화효소(아밀라제 및 글루카밀라제 기타 당화효소의 복합)가 복합적으로 작용하여 원료 전분을 글루코즈로 분해하고, 알코올 발효과정은 효모가 분해된 글루코즈를 발효하여 알코올을 생산하는 화학반응으로 생각할 수 있다.

이때 효율적인 당화를 시키기 위해서 현재는 원료전분을 증자하여 호화시킨 후 고-지 효소를 작용시켜 당화를 수행하고 있는 실정인바, 이 경우 원료전분질의 증자과정에 막대한 연료가 소모 되므로써 알코올 제조 과정중 원료전분의 증자에 의한 경비가 상당한 부분을 차지하고 있는 실정이다.

원료전분질의 당화효율<sup>(3)</sup>은 원료전분질의 구조, 원료의 종류, 당화조건, 고-지속에 함유된 당화효소의 종류 및 효소역가등에 크게 좌우되는 바, 그래서 원료전분질을 증자하지 않고 직접 당화효소제를 사용하여 생전분의 당

화를 효율적으로 성취시킴으로써 알코올 발효 과정에서 증자과정을 제거시킴으로써 연료비를 절감시키고자<sup>(6)</sup> 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다. 이를 간단히 종합하면 생전분을 증자과정없이 효율적으로 당화시키고자<sup>(7)</sup> 효소역가가 높은 고-지 균주의 개발과,<sup>(8)</sup> 상품으로 이용 가능한 당화효소제를 직접 사용하여 생전분을 당화시키는 방법의<sup>(9)</sup> 개선이 두 가지 방향으로 진행되고 있다. 이들의 현재 결과는 생전분의 당화 결과가<sup>(10)</sup> 상당히 성과를 거두고 있으나 원료전분에 따라 알코올의 생성수율이 각각 다르고(당화효율의 차이에 기인함), 12~18% 알코올 생성을 목적으로 할 경우 총 발효기간이 8~15일이 소요되므로써 현재 발효에 소요되는 평균기간 3~4일을 초과하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 알코올 제조시 원료전분질 증자에 소요되는 연료비의 절감을 위하여 원료전분질을 증자하지 않고 직접 효소제에 의해서 효율적으로 당화시킴을 목적으로 쌀(현미), 고구마, 타피오카칩의 당화과정을 연구하였다.

이 보고서에는 전분질을 증자하지 않고 효율적으로 당화시키기 위하여 각 과정에서 사용한 방법 즉, 산침지와 macerating-enzyme,  $\alpha$ -amylase, glucoamylase 처리들의 작용 최적 조건규명과 이들 최적 조건에서의 무증자에 의한 전분의 당화율에 대한 결과를 전분질 종류(tapioca 칩, 고구마, 쌀)에 따라서 보고하고자 한다.

## II. 연구의 내용 및 방법

### 1. 원료

가. 전분질 : 타피오카 칩(Tailand), 고구마, 쌀 등을 분쇄하여 사용하였다.

### 나. 효 소 :

- ① Pectin depolymerase: Ueda chem. Co. (Japan)에서 구입한 것으로 상품명은 Cellulosin이고 역가는 10,000units/g-enzyme이다.
- ②  $\alpha$ -amylase: NOVO Co. (4467units/g-enzyme), Genencor-Corning (3867units/g-enzyme), 한국효소공업(2133.3units/g-enzyme)으로부터 구입한 효소를 사용하였다.
- ③ Glucoamylase: 한국효소공업(Sp-2000 : 1750units/g-enzyme)에서 구입하여 사용하였다.

## 2. 방법

### 가. 전당측정

원료전분의 전당은 생전분질 1g을 완전히 산가수분해 시켜서 얻어지는 환원당을 측정하였다. 즉, 생전분 0.1g에 5ml의 1N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하여 6시간동안 100°C로 가열하므로써 얻어지는 환원당을 Somogyi-Nelson 방법에<sup>(11)</sup> 의하여 측정하였다.

### 나. 효소역가측정

- ① Amylase : 1% 가용성 전분기질 0.5ml에 0.5ml의 enzyme을 첨가하여 pH6.9, 25°C에서 3분 반응시킨후 생성된 환원당을 Bertrand방법으로 측정하였다. Enzyme 1 unit는 위와 같은 조건에서 1분동안에 1 $\mu$ mole의 maltose를 생성하는 enzyme 양으로 정의하였다.
- ② PD(Pectin Depolymerase) : 1% citrus pectin 기질 10ml에 효소 0.5ml을 pH3.5, 40°C에서 작용시켜 감소된 점도를 Brookfield점도계를 사용하여 효소역가를<sup>(12)</sup> 나타내었다. Enzyme 1unit는 위와같은 조

전에서 10분동안에 1% citrus pectin 10 ml의 viscosity가 반으로 떨어지는 효소의 양으로 정의하였다.

### 3. 당화 최적조건 규명

#### 가. 원료의 전처리

- ① 마쇄 : 정미소에서 원료를 마쇄하여 mesh 를 사용해서 입자의 크기를 분류하고 입자의 크기가 당화에 미치는 영향을 조사하였다.
- ② 산처리 :  $H_2SO_4$ 를 사용하여 당화에 필요한 최적 산처리농도 및 시간을 결정하였다.

#### 나. 효소처리

- ① Pectin depolymerase 처리 : Ueda Chem Co.에서 구입한 cellulose를 사용하여 당화에 필요한 최적온도, pH 및 효소의 농도를 결정하였다.
- ②  $\alpha$ -amylase 처리 :  $\alpha$ -amylase 선택 실험을 통하여 효소역가가 높은 termamyl을 선택하고 이것의 최적pH, 온도를 결정하였고 효소의 양은 현재 주정공장에서 사용하는 것을 그대로 사용하기로 하였다.
- ③ Glucoamylase : 한국효소공업으로부터 구입한 Sp-2000을 사용하여 무증자 전분질의 당화에 필요한 최적온도, pH 및 효소의 양을 결정하였다.

효소의 처리방법 : 실험을 통하여 결정된 효소의 최적 조건에서 3가지 효소를 반응단계별로 처리하는 경우와 산침지후 3가지 효소를 동시에 처리한 후 반응에 따른 조건을 변화시켰을 경우 당화에 미치는 효과를 비교하였다.

#### 다. 전분질 종류에 따른 당화효율의 비교

쌀전분, 고구마전분, tapioca 전분을 앞에서 결정한 당화 최적조건으로 당화시켜 당화율을 서로 비교하였다.

## Ⅲ. 연구결과

본 연구에서는 전분으로부터 알코올을 생산하는 과정에 있어서 전분질의 증자과정에 소요되는 막대한 energy를 절감시키고자 하는 목적으로 실험을 진행하였다. 따라서 생전분질을 증자과정없이 효율적으로 당화 시키고자 산처리 및 macerating enzyme,  $\alpha$ -amylase, glucoamylase를 처리하였다. 이러한 방법으로 실험한 결과는 다음과 같다.

### 1. 완전가수분해

실험에서 사용한 쌀, 고구마, tapioca 칩 등 전분질의 전당함량을 측정하였다. 이것은 전분 1g에 1N- $H_2SO_4$  10ml을 가하여 100°C에서 6시간 가열함으로써 얻어지는 환원당을 측정하는 것으로서 그 결과는 table 1과 같다.

Table 1. The contents of total reducing sugar in various starch sources.

Starch sources	Reducing sugar (m mole/gm-starch sources)
Tapioca	3.92
Rice	4.53
Sweet potato	4.26

Table 1에서 볼때 실험에서 사용한 전분중 전당함량은 쌀전분질이 가장 높았고 그 다음이 고구마, tapioca의 순서이었으나 가격을 고려해 볼때 tapioca 전분질을 이용하는 것이 효율적일 것으로 생각된다.

### 2. 증자전분질의 당화

전분으로부터 알코올을 생산하는 과정 중에

증자에 소요되는 에너지를 줄이고도 증자에 의한 전분의 당화와 같은 수준의 당화율을 얻기 위한 실험을 하였으므로, 이때 비교하기 위해서 증자에 의한 당화실험을 다음과 같이 행하였다. 이것은 현재 공장에서 사용하고 있는 방법을 기준으로 하였다. 즉, 5g 전분질 (tapioca)에 물 20ml를 첨가한 다음 80°C로 올려서 termamyl을 넣어 반응시키고 다음에 autoclave하여 호화시켰고 이것에 glucoamylase (Sp-2000: 한국 효소공업)를 처리하였다. 생성된 환원당을 Somogyi-Nelson 방법으로 정량하였고 그 결과는 table 2와 같다.

**Table 2. Hydrolysis (%) of cooked starch**

완전가수분해 (%)	100
증자전분당화 (%)	80

위의 방법으로 당화했을때 전당의 80%가 생성됨을 알 수 있었다.

### 3. 전분질 입자의 크기에 의한 효과

무증자전분의 당화에 있어서 전분질 입자의 크기가 당화율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 전분질 입자의 크기에 따라서 당화실험을 행하였다. 이때 전분질 입자의 크기는 mortar로 분쇄한 것과 정미소에서 분쇄한 것을 mesh size에 따라 분류하여 실험하였다. 이때 사용한 실험방법은 다음과 같다. 5g starch에 5% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10ml을 첨가하여 12hr 침지시킨후 pH를 4.5로 조정하고 pectin depolymerase (15mg) α-amylase (1.5μl), glucoamylase (50mg) 첨가하고 40°C에서 pectin depolymerase 반응은 2hr 시켰고, 다음에 1N-NaOH로 pH를 7.0으로 조정한 후 50°C에서 α-amylase 반응을 1hr 시켰고, 다시 1N-HCl로 pH 4.0으로 조절하고 glucoamylase 반응을 1시간 시켰다. 이 반응액의 부피를 250ml

로 조정한 후 Whatman filter paper를 사용하여 여과한 상등액의 환원당을 측정하였으며 그 결과는 table 3과 같다.

**Table 3. The effect of the particle size of the raw starch sources on total reducing sugar conversion.**

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

Table 3에서 볼 수 있듯이 입자의 크기가 작을수록 당화가 잘 되므로 본 실험에서는 100 mesh를 통과한 입자의 전분을 사용하였다.

### 4. 산침지효과

원료전분의 당화시에 생전분을 enzyme으로 처리하기 전에 산 침지가 당화율에 미치는 영향을 실험하였다. 산 침지는 60°C에서 12hr하였고 그후의 효소반응은 전분질 입자 크기 결정 실험에서처럼 pectin depolymerase, α-amylase, glucoamylase를 모두 첨가하고 반응조건을 pH 4.5, 40°C에서 먼저 2hr 반응시키고, 다음에는 pH 7.0, 50°C에서 1hr 반응시켰고 다시 pH 4.0 50°C에서 1시간 반응시켰다. 그 결과는 table 4와 같다.

**Table 4. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> steeping effect.**

	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on conventional hydrolysis with cooking
Acid steeping only* <sup>1</sup>	6.8	8.5
Enzyme treatment only	23.0	28.8
Enzyme treatment with acid steeping	71.0	88.8

\* 1 : 5% (v/v) - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> steeping for 12hrs at 60°C

Table 4에서 보듯이 산 침지를 하지 않고 효소반응만 시켰을때 당화율이 전당기준 시의 23%로 낮게 나타났고 또한 60°C의 산침지만으로는 전분의 가수분해가 거의 일어나지 않고 있음을 알 수 있었다. 그러나, 산 침지후에 효소를 처리하여 반응시켰을 때는 전당기준시의 71%가 가수분해되었다. 이러한 결과로부터 무증자 전분질의 당화에서 원료의 전처리로 산 침지를 시키는 것이 매우 효과적인 방법으로 생각되며, 이것은 산 침지를 시켰을때 원료전분이 효소가 작용하기 매우 용이한 형태로 변형된 것으로 추측된다.

이와같은 산침지를 할 때 황산의 농도가 무증자 전분질의 당화에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 다음과 같은 실험을 하였다. 황산 처리는 원료전분 5g 에 각 농도별 황산 10ml 씩을 첨가하고 12hr 동안 침지하였으며 그후의 과정은 앞에서 실시한 과정과 동일하게 하였으며 그 결과는 fig. 1과 같았다. Fig. 1에서

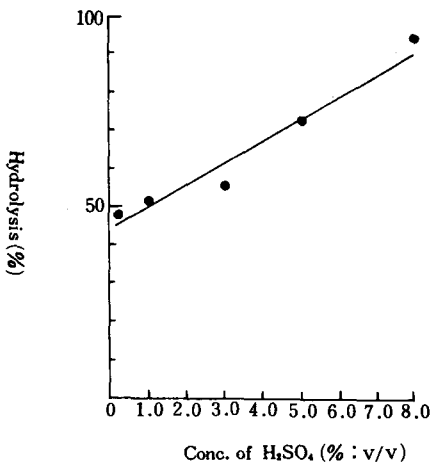


Fig. 1. The effect of the sulfuric acid concentration on total reducing sugar conversion.

볼 때 황산 농도가 8% (v/v)가 되면 거의 100% 당화가 일어났는데 황산 농도를 낮추고

당화율을 높이는 것이 효과적이므로 황산 농도는 5% (v/v)으로 정하였다. 5% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 농도에서 무증자 당화의 최종 당화율은 73.5%로 나타났다.

황산의 침지온도가 무증자전분의 당화에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 황산침지온도를 달리하여 생성되는 환원당을 측정 한 결과는 table 5와 같다. 이때 5% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 를 사용하여 12hr 침지하였고 나머지 반응은 앞에서 실시한 과정과 동일하게 실험하였다.

Table 5. The effect of the steeping temperature in 5% (V/V) sulfuric acid on total reducing sugar conversion.

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

Table 5에서 볼때, 황산 침지온도는 높일수록 환원당의 생성은 증가되지만, 실제 공장에서 특별히 가열할 필요없이 폐수로서 공급할 수 있는 온도가 60°C까지 가능하기 때문에 침지온도는 60°C로 정하여 실험하였다.

## 5. 효소처리조건의 최적화실험

앞의 실험에서 황산농도를 5% (v/v)로 12 hr 동안 침지한 후 효소를 처리하였을 때 당화율은 전당을 기준으로 하여 약 73% 정도까지 얻을 수 있었다. 그런데 이때까지는 효소의 작용조건을 문헌에 있는 것으로 사용하였으나, 효소의 작용 능력은 enzyme source와 작용해야 하는 기질의 성질에 따라 변화될 수 있는 것이므로 본 실험에서 사용하는 효소들의 무증자 전분에 작용하는 최적조건을 찾아내는 실험을 실시하였다.

### 가. Pectin depolymerase

본 실험에서 macerating enzyme인 pectin depolymerase로 사용한 효소는 cellulolin 으로서 일본의 Ueda Chem. Co.로부터 구입한 것이다. 이것은 g-enzyme당 9,750unit를 가지고 있으며 glucoamylase가 환원당을 생성하기 전에, 생전분의 구조를 파괴시키므로써 amylase의 환원당생성 작용을 도울 수 있도록 작용하는 효소이다. 이 효소의 최적조건 실험에서는 전분의 다른 처리는 모두 앞의 방법과 같이하고 pectin depolymerase가 작용할 때의 조건만 변화시키면서 최종적으로 얻어지는 환원당의 양을 측정하여 조사하였다. 이때 pectin depolymerase의 농도, 최적pH, 그리고 최적 temperature를 결정한 실험은 fig. 2~4 와 같다.

Fig. 2~4에서 볼때, pectin depolymerase를 무증자 전분질에 작용시킬때의 최적농도는 0.3%(w/w)으로 정하고 실험하는 것이 경제적인 면에서 좋을 것으로 추정하였으며, 작용 최적온도는 45°C이었고 pH는 4.5이었으며 작

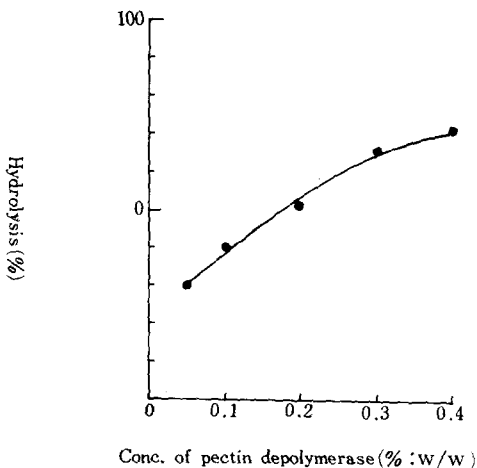


Fig. 2. The effect of the concentrations of pectin depolymerase on total sugar conversion.

용시간은 2 hr가 좋았다. 따라서 본 실험에서는 이 조건을 기준으로 하여 실험을 실시하였다.

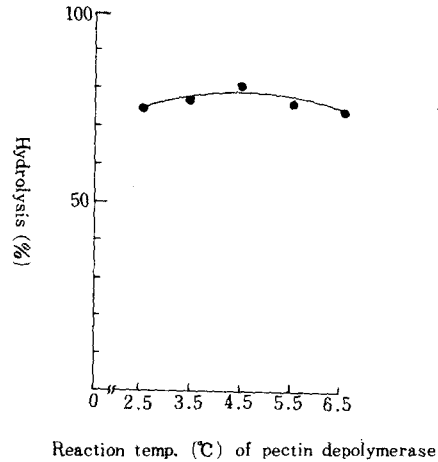


Fig. 3. The effect of reaction, temp. of pectin depolymerase on total sugar conversion.

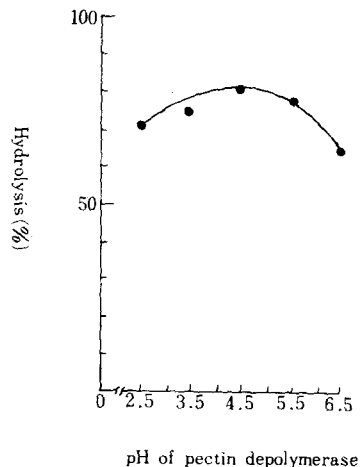


Fig. 4. The effect of pH of pectin depolymerase on total sugar conversion.

나.  $\alpha$ -amylase

Macerating enzyme이 작용한 후 전분의 조 직이 거의 풀리면 당화효소가 작용하게 되는 데, 이때 먼저  $\alpha$ -amylase를 처리하여, 작용시켜 전분을 무작위로 끊어 최종적으로 glucoamylase가 환원당을 생성하기에 좋도록 한다. 이 액화효소의 역가는 다음과 같이 나타내었다. 즉, 1 unit는 pH6.0, temp. 38°C에서 1분동안에 1  $\mu$ mole maltose를 생성시키는 enzyme의 양으로 정의하였다. 본 실험에서 사용한 액화효소는 KOR-LA(한국효소공업), H-39XC(Genencor-corning), Termamyl(NOVO. Co.)의 3종류로서 그것들의 효소활성은 table6와 같다.

Table 6. The activity of the commercial liquefying enzymes.

Enzymes	Enzyme activity
KOR-LA	2133.3 (units/gm·enzyme)
H-39XC	3867 (units/gm·enzyme)
Termamyl	4467. (units/gm·enzyme)

위 결과로 볼때, termamyl(NOVO Co.)의 역가가 단위무게당 제일 높았기 때문에 본 실험에서는 액화효소로서 termamyl을 선택하여 사용하였다. 이 효소역가도 앞의 pectin depolymerase와 마찬가지로 작용하는 기질의 성질에 따라서 달라질 것이므로, 무증자 전분질에 작용할때의 최적조건을 찾는 실험을 수행하여 fig. 5~6와 같은 결과를 얻었다.

이 실험에서도 무증자전분질의 당화과정중에서 다른 조건은 모두 앞에서와 같이 한 후 액화효소인 termamyl의 작용 pH, 온도만을 변화시키면서 생성되는 환원당의 양을 측정하였다.

fig. 5에서 보듯이 이 효소의 최적 온도는 약 75°C이었으나 공장폐수의 이용이라는 점에서 60°C에서 작용시켰고, 최적 pH는 6.0이었

으며 작용시간은 1hr동안으로 결정하였다.

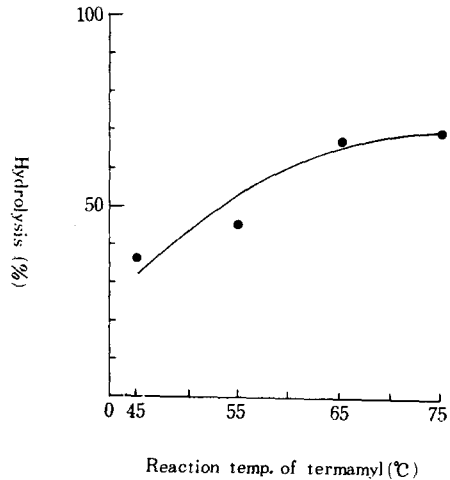


Fig. 5. The effect of the reaction temperature of liquefying enzyme on total sugar conversion.

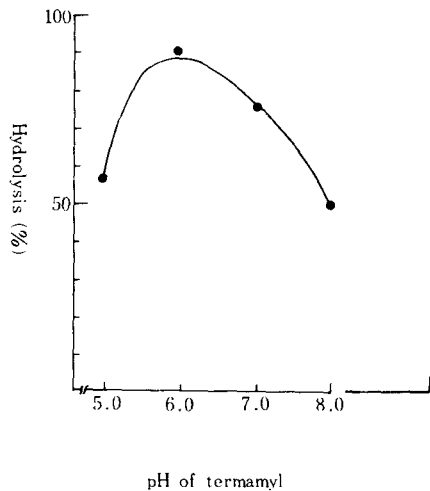


Fig. 6. The effect of pH of termamyl on total conversion.

#### 다. Glucoamylase

전분의 당화과정중 제일 마지막단계에서 환원당을 생성시키는 glucoamylase는 한국 효소공업으로부터 구입한 Sp-2000 효소로서 g-enzyme당 1,750units의 활성을 가진 것이다. 이 효소의 역가는 1% 가용성전분기질 0.5ml에 0.5ml의 효소를 첨가하여 pH6.9, 25°C에서 3분동안 반응시킨후 생성된 환원당을 Bertrand 법으로 측정하였으며, 1 unit는 위 조건에서 1분동안에 1  $\mu$ mole의 glucose를 생성시키는 효소의 양으로 정의하였다.

이 효소를 무증자전분당화에 이용할때의 최적조건을 찾아내기 위하여 앞의 두가지 효소의 최적화 실험과 마찬가지로 실험을 하였다. 즉, 모든 다른 조건을 앞의 방법과 같이 고정시켜놓고, 오직 glucoamylase의 농도, 온도, pH만을 각각 변화시키면서 생성되는 환원당을 측정하므로써 최적조건을 규명한 결과 fig. 7~9와 같은 결과를 얻었다.

Fig. 7에서 볼때, glucoamylase의 농도가 높아질수록 환원당은 계속 직선적인 증가를 나

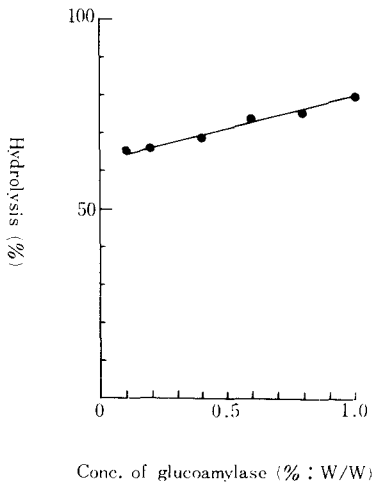


Fig. 7. The effect of glucoamylase concentration on total sugar conversion.

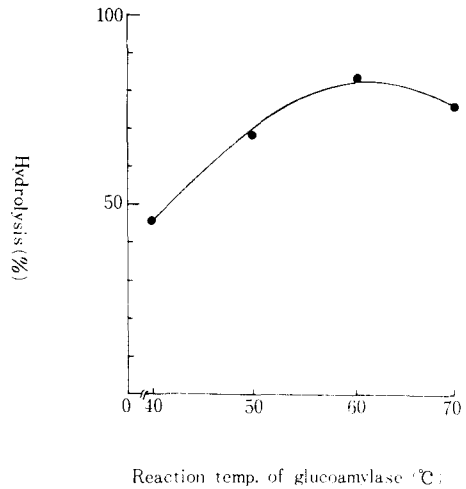


Fig. 8. The effect of reaction temperature of glucoamylase on total sugar conversion.

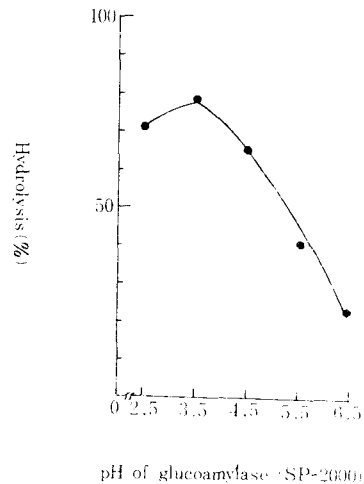


Fig. 9. The effect of pH of glucoamylase on total sugar conversion.



타내었으나 산업적인 이용이라는 점을 고려해 볼때에 1% (w/w)로 정하였는데 이 농도는 Ueda 등의 논문에서도 같은 양을 사용하여 일치하는 현상을 볼 수 있었다. 또한 fig. 8로부터 glucoamylase의 최적온도는 60°C 이었으며 fig. 9에서 작용최적 pH는 3.5임을 알았다. 그러므로 무증자 전분 당화에서 glucoamylase는 이들 조건에서 실험하였다.

**라. 효소처리방법에 의한 효과**

실험으로 얻은 최적화된 조건으로 전분을 당화시킬때 효소를 처리하는 방법을 달리하여 실험함으로써 당화율을 측정하여 보았다. 무증자 전분의 산 침지후에 pectin depolymerase, α-amylase, glucoamylase 3가지 효소를 처리할 때 이 효소들을 모두 한꺼번에 동시에 넣고 반응시간에 따라 조건을 바꾸어주므로써 각각의 효소가 작용하도록 하는 효소의 동시처리와, 이와는 달리 산 침지후에 3가지 효소를 하나씩 넣고 반응조건을 바꾸는 효소의 단계별 처리중 어느 것이 효과적인가를 측정하여 보았다. 이러한 실험으로부터 table 7과 같은 결과를 얻었다.

**Table 7. The effect of the sequence of enzymes addition on total reducing sugar conversion.**

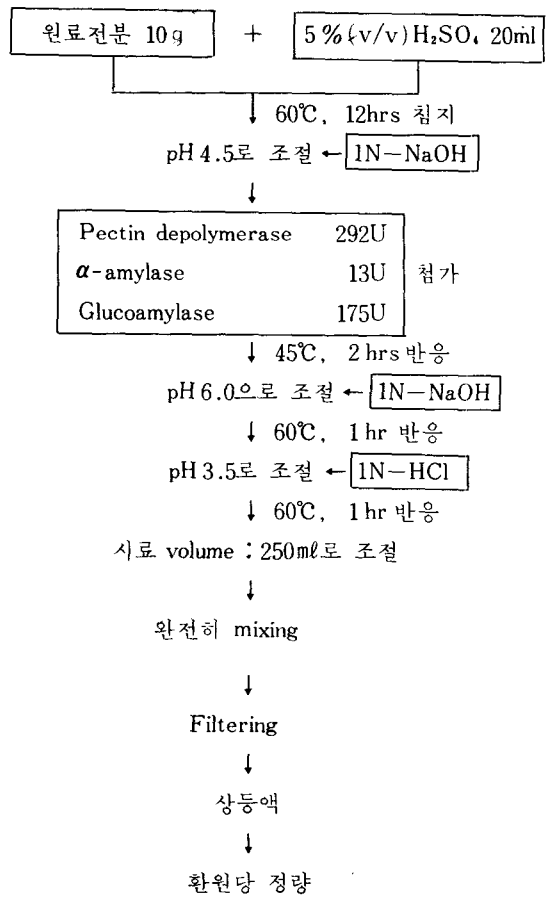
Sequence of enzyme addition	Hydrolysis (%)	
	Based on total hydrolysis	Based on conventional hydrolysis with cooking
Simultaneous	82.0	102.5
Stepwise	73.7	92.1

이 결과로 볼때 효소의 동시처리가 단계별 처리에 비하여 훨씬 효율이 좋은 것을 알 수 있었는데 이것은 3가지 효소가 동시에 존재하여 서로의 작용을 촉진시킬 수도 있고, 반응에 따라 변화시키는 조건이 완만해서 효소의 활성을 크게 떨어뜨리지 않으므로 효소작용시간이 더 길어질 수 있는 것 때문으로 추측되

며, 또한 실제 이용면에서도 더 실용적인 결과임을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 pectin depolymerase, α-amylase, glucoamylase 3가지 효소를 무증자 전분질의 당화에 이용할 때 작용최적조건들을 규명하였으며, 앞에서 결정한 산 처리 조건과 함께 모든 최적화된 조건을 도시하면 fig. 10과 같다. 앞으로의 실험은 fig. 10에 의한 방법으로 실시하였다.

**Fig. 10. 전분의 무증자 당화공정도**



## 6. 전분질의 종류에 따른 당화율 비교

지금까지 실험으로부터 얻은 fig. 10의 최적 조건에 의하여 실험에서 사용한 전분 종류에 따라 당화율을 측정하여보았다. 즉 쌀, 고구마, tapioca 3가지 전분질을 위 조건에 의하여 무증자당화를 시켜 table 8과 같은 결과를 얻었다.

**Table 8. The comparison of the hydrolysis (%) at the optimized conditions for the various starch sources.**

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

Table 8의 결과에서 전분당화의 정도는 쌀, 고구마, tapioca 전분질의 순서로 효율이 좋았으며, 세가지 전분질 모두 증자 전분질의 당화율보다 높은 당화율을 보임으로써 이 무증자에 의한 당화방법이 매우 효율적인 알코올 발효과정에 이용될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

## 7. Fermenter에의 적용

지금까지의 data는 모두 삼각플라스크에서 shaking하면서 실험하여 얻은 결과이다. 이것을 실제 Bio FLO Model C30 Jar fermenter에서 실험하므로써 fermentation에의 적용 실험을 하였다. 이때 사용한 Jar의 부피는 1ℓ 용량의 것이고, agitation은 200rpm으로 하였고 pH는 pH-stat를 이용하여 automatic control을 하였다. 또한 이때 사용한 조건은 fig.

10에 나온 것과 같이하였으며 그 결과는 다음과 같았다. 즉, tapioca 전분질을 가지고 실험을 하였을때 삼각플라스크에서 한 것은 전당의 82%인데 비하여 fermenter에서 행하였을 때는 전당의 87%로 나타났다. 이 결과로 볼 때 fermenter에서 더 좋은 효율을 얻은 것은 agitation을 효율적으로 잘 할 수 있었고, pH 조절도 자동적으로 되어 정확한 시간과 조건으로 실험을 진행할 수 있었기 때문인 것으로 생각된다. 또한 이것은 지금까지의 결과를 산업적인 면에 적용하여 무증자 당화를 할때 충분히 효율적으로 할 수 있다는 가능성을 보이는 결과로 생각된다.

## IV. 요약

본 실험은 전분을 증자하지 않고 직접 효소제를 작용시키므로써 효율적인 당화를 시키고자 하였다. 이러한 목적을 달성하기 위하여 본 실험에서는 원료전분의 산 침지와 macerating enzyme,  $\alpha$ -amylase, glucoamylase를 처리하여 증자전분의 당화율보다 높은 당화율을 얻을 수 있었다. 당화의 최적조건은 다음과 같다.

1. 실험에 사용한 전분질의 전당은 쌀 전분이 4.53, 고구마 전분이 4.26, tapioca 전분이 3.92(mmole/g-starch)이었다.
2. 전분질입자의 크기에 따른 당화율은 100 mesh의 것이 가장 효율이 좋았다.
3. 산처리 농도와 온도 및 처리시간은 5% (v/v)  $H_2SO_4$ , 60°C, 12hr.으로 나타났다.
4. 전분질의 무증자 당화에 사용하는 효소들의 최적조건은 다음과 같다.

Pectin depolymerase : pH=4.5, Temp. = 45°C, 작용시간 = 2hr,

$\alpha$ -amylase : pH=6.0, Temp. = 60°C, 작용시간 = 1hr.

Glucoamylase : pH=3.5, Temp. =60°C,  
작용시간 = 1 hr.

5. 효소의 처리방법은 동시처리가 단계별 처리보다 효율이 좋았다.

6. 이상의 최적조건으로 무증자 전분질을 당화시키면 증자전분질로부터 얻은 당화율은 100으로 볼때 쌀 전분은 113.2%, 고구마 전분은 106 %, tapioca 전분은 102.5%로 나타났다.

7. Jar fermenter를 사용하여 실험한 결과가 삼각 플라스크에서 행한 당화율보다 좋아 실제 공장에서의 이용에 바람직한 결과를 얻었다.

## V. 앞으로의 전망

본 보고서에서 보고한 바와 같이 무증자에 의한 전분당화는 현재까지 사용해오고 있는 증자에 의한 알코홀 생산과정에 있어서 증자에 소요되는 막대한 연료비를 줄일 수 있기 때문

에 앞으로 산업적인 면에서의 응용에 커다란 의미를 가질수 있다고 생각된다. 현재 본 실험에서는 무증자전분의 당화과정까지만 실험을 한 결과를 보고하였으나 앞으로는 이 단계를 지나서 최종 목적물인 알코홀로 발효시키는 연구를 더 진행시켜야 한다고 생각한다.

이러한 연구를 계속하여 무증자에 의한 알코홀발효가 행하여진다면 경제적으로 전분으로부터 알코홀을 생산할 수 있을 것이며 이것은 주정으로서의 이용뿐만 아니라 미래 석유 에너지의 대체효과등 매우 중요한 의미를 갖을 수 있기 때문에 이에 대한 전망은 매우 밝다고 사료되며 앞으로 이에 대하여 좀 더 많은 연구와 노력이 있어야 할 것으로 생각된다.

—이 연구는 대한주류공업협회의 연구지원금에 의해서 이루어져 지원당국에 감사하는 바이며, 이 연구 내용에 대해서는 관련학회지에 발표할 예정이다.—

### 〈참고문헌〉

- (1) Azhar, A., Hamdy, H. K. :Biotechnol. Bioeng. 23, 879 (1981)
- (2) Adam, S., Mieczoro, B., Tadeusz, P. : Starch Staerke, 31(4), 129 (1979)
- (3) Ueda, S. :Proc. Inter. Symp. Enzyme Chem., Tokyo-Kyoto, P. 491 (1957)
- (4) Ueda, S., Koba, Y. :J. Ferment. Technol., 58, 238 (1980)
- (5) Ueda, S., Zenin, C. T., Monteiro, D. A., Park, Y. K. :Biotechnol. Bioeng., 23, 291 (1981)
- (6) N. Kosaric, D. C. M. Ng, I. Russel, and G. S. Stewart :Ethanol Production by Fermentation An Alternative Liquid Fuel in Advances in Applied Microbiology,

- Vol. 26, 147 (1980)
- (7) Tsujisaka, Y., Fukumoto, J. and Yamamoto, T. :Nature, 181, 770 (1958)
- (8) Nishi, K. :Processings of the Symposium on Amylase, P. 33 (1969)
- (9) Svendsby, O., Yamamoto, T. et al. :J. Ferment. Technol., 59, 485 (1981)
- (10) Fuwa, H. :J. Jap. Soc. Starch Sci., 29(2), 99 (1982)
- (11) Somogyi, M. :J. Biol. Chem., 195, 19 (1952)
- (12) Yamamoto, T., Matsumura, Y., Katutani, K. and Uenakai, K. :J. Jap. Soc. Starch. Soci., 29(2), 119 (1982).