農化學會誌 第八號 (1967)

酵素劑利用에 依한 酒精醱酵에 對하여*

成 洛 癸

晋州農科大學 農化學科

(1967年 3月 2日 受理)

On the alcoholic fermentation by using the starch saccharified enzyme system

Nack Kie Sung

Chinju Agricultural College

Summary

Starch was liquefied by the bacteriological α-amylase and saccharified separately by four strains of mold as saccharogenic enzymes, then thise was fermented for research the fermentation rates, the usefulness of application of four strains of mold and the S.P to need in proportion increasing of concentration of mixed-starches for brewing in this experiment.

The obtained results were as follows:

1) In the ability of saccharificatien, fermentation and acid resistance, Aspergillus usamii mut shirousamii, which were used to produce the koji, were excellent, however, Rhizopus delemar had heavy pollution in a lot of production of koji, were-as its qualities as enzyme was good.

2) The necessary S.P in proportion to the concentration of mixed-starch for brewing was found in this experiment in which was fermented in the various concentration of the adding S.P and the mixed-starches for brewing.

3) In the experiment of almost manufacture scale, the S.P needed essentially in the saccharogenic formentation was found and the usefulness of the necessary S.P was observed, and in fact in the manufacture scale it was safer to add the S.P more than 1.2% because it must be considered that the ability of enzymes is reduced by heat or acid.

4) The period of fermentation was shorten because the conditions for yeast propagation were excellent as a results of starches being liquefied by bacteriological amylase, and saccharified by molds as saccharogenic enzymes.

Ⅰ. 緖 論

澱粉質을 原料로한 酒精製造에 있어서 現在 우리나라에서 實施되고 있는 方法은 各企業體의 事情에 따라 固體麴法 液體麴法 amylo法 amylo麴折衷法 等으로 列擧할 수 있는데 醱酵率 收得率은 工場規模와 施設에 따라 差異가 많다. 그러나 몇個의 企業體에서는 거이 合理化되었다고 보겠다.

澱粉質原料를 利用하는 酒精醱酵에서 가장 重要한 問題로서는 澱粉의 糖化인데 이것은 基本的인것으로 醱酵化學的으로 많이 取扱되여 왔었다. 著者는 小規模의 設備를 갖인 工場을 對象으로 糖化醱酵를 빠르게하고 醱酵率을 上昇시켜 製造過程의 合理化를 試圖해보자는 것이다.

本實驗은 細菌性 α-amylase로서 먼저 液化시킨다음[1] 糖化系酵素劑를 利用하여 糖化시키고 酵母로서 醱酵實驗을 하였다. 澱粉을 加水分解하여 葡萄糖을 生成하는 곰팡이 amylase인 amyloglucosidase에 對하여는 많은 硏究(2~4)가 있었는데 本報에서는 곰팡이 4株를 擇하여 製麴함에 있어서의 培地種類에 따른 糖化力의 試驗과 耐酸性을 調査하고 담금(仕込)濃度에 따른 經時的醱酵率과 酵素劑使用量에 따른 醱酵率과의 關係를 實驗하여 그 結果를 報告하려고 한다.

---

* 要旨는 1966. 10.8 韓國農化學會 學術發表會때 表發하였음.

Ⅱ. 實驗方法 및 材料

1. 製麴用供試菌株

本實驗에 使用한 菌株는 Aspergillus usamii mut shirousamii, Aspergillus awamori, Aspergillus usamii, Rhizopus delemar 等인데 本人이 分離한것과 硏究室에서 蒐集한 것이다.

2. 酵素力價試驗

a. 液化力 : Wohlgemuth 變法[5]으로서 測定하였는데 W.V로 表示하였다.

b. 糖化力 : 小野田中[6]方法으로 測定하여 S.P로 表示하였다.

3. 原料 및 前處理

切甘은 風乾後 夾雜物을 除去하고 粉碎機로서 粉末(20 mesh)로 하여 使用하였고 生甘은 水洗하여 泥土를 除去한 다음 磨碎하여 使用하였다. 棉栓乾熱한 1*l* 平底후라스코에 所定量의 原料와 물을 秤量하여 市販用 細菌性 液化酵素(LSV 3000 unit)를 原料中澱粉量에 對하여 0.2%를 加하여 徐徐히 加熱하여 70~80°C에서 約 30分間 液化시킨 다음 1 kg/cm²로 30分間 加壓蒸煮하였다. 蒸煮時 水分蒸發量은 麴添加時補充하였다.

4. 술덧(醪)의 糖化

후라스코에서 담금(仕込)할때는 蒸煮술덧이 60°C가 되였을 때 所定量의 糖化酵素를 添加하여 55~60°C의 恒溫水槽에서 60分間 糖化하였다. 大量 담금할때는 蒸煮機에서 蒸煮한後 糖化機에 옮겨 所定量의 糖化酵素를 添加하여 55~60°C에서 攪拌하면서 2時間 糖化하였다.

5. 酵母液의 添加

醱酵實驗〔1〕은 술덧의 10%에 該當하는 量의 Brix ×8의 麥芽計에다 1白金耳量의 酵母(醱研1號)를 接種하여 12時間 培養한것을 使用하였다. 醱酵實驗〔2〕는 試驗管에 接種하여 12時間 培養하고 三角후라스코(500 cc)에 옮겨 12時間 2*l* 후라스코에서 12時間 培養한 것을 使用하였으며 使用量은 392*l* 술밑(酒母)에 對하여 1*l* 使用하였다.

6. 醱酵條件

酵母液 및 술밑을 添加한後 30~34°C에서 醱酵하였다.

7. 醱酵술덧分析

酒精% 술덧全糖 總酸은 常法[7]에 依하여 分析하였고 醱酵率은 Gay-Lussac의 化學方程式에 依하여 計算하였다. 殘全糖은 醱酵後 술덧 20 cc를 取하여 常法에 따라 分解한後 中和 定容하여 술덧容量比率에 補正하여 殘全糖分을 W%로 表示하였다.

Ⅲ. 實驗結果

1. 糖化力比較

前記 4菌株를 各各 培地組成을 다르게 培養하여 糖化力 및 液化力을 測定하였다.

表1와 같이 所定原料와 물(12—14水)을 混合하여 約2時間 放置後 1 kg/cm²로 30分間加壓殺菌하여 菌種은 殺菌水에 1白金耳식 接種하여 12時間 恒溫器(30°C)에 두었든 것을 接種하였다. 培養은 4日間하고 低溫乾燥器에서 乾燥한後 試驗하였으며 그 結果는 다음 表1와 같다.

表1 原料培地에 따른 液糖化力 比較

配合比率	菌株	糖化力	液化力
밀기울 : 왕겨 6 : 4	Asp. usamii mut shirousamii	378 (SP)	1,500(WV)
	Asp. awamori	295	1,500
	Asp. usamii	298	750
	Rhi. delemar	372	1,500
밀기울 : 왕겨 : 玉粉 7 : 2 : 1	Asp. usamii mut shirousamii	460	1,500
	Asp. awamori	325	1,500
	Asp. usamii	320	750
	Rhi. delemar	465	1,500
밀기울單用	Asp. usamii mut shirousamii	510	1,500
	Asp. awamori	335	1,500
	Asp. usamii	340	750
	Rhi. delemar	420	1,500

mold의 澱粉分解에 關與하는 酵素類의 組成은 mold의 種類에 따라 差異가 있다는 것은 오래前에 斷片的으로 提唱되었고[8] 培地의 組成을 달리하여 固體麴의 酵素를 增加시키려는 硏究도 많이 報告[9,10]되었다. 本實驗結果로서는 菌株에 따른 糖化力은 Asp. usamii mut shirousamii와 Rhi delemar가 높았고 液化力은 Asp. usamii가 가장 낮았다. 原料培地에 따라서는 Rhi delemar를 除外하고는 밀기울單用인때가 比較的 좋은 成績을 나타내는데 이것은 澱粉價와 關係가 있다고 보며 Rhi delemar는 밀기울單用 때보다 왕겨를 若干 混合한것이 糖化力이 높았다. 製麴上의 特徵에 있어서는 후라스코 培養時에는 雜菌의 侵入이 적기 때문에 安全하고 酵素力도 높으나 在來式方法으로서는 Rhi delemar는 Bacillus subtilis 系의 侵入으로 좋은 成績을 얻지 못하였다.

2. 糖化酵素의 耐酸性

醱酵液을 酸處理하여 處理하지 않았을 때와의 糖化力을 比較測定하였다.

酵素液의 酸處理는 今野法[11]에 依하였다. 即 5% 酵素液 50 cc를 0.1 N-HCl 5~7 cc로 pH 2.5로하고 이것을 40°C에서 30分間 維持한後 0.1 N-NaOH 7~8 cc를 加하여 pH 5로 補正한다음 여기에 蒸溜水를 加하여 100 cc로 채워서 얻어지는 2.5% 酵素液에 對하여 糖化力을 測定하였으며 그 結果는 다음 表 2에 表示하였다.

表 2 各種糖化酵素의 耐酸性

菌株	糖化力	酸處理後糖化力
	(sp)	(sp)
Asp. usamii mut shiro usamii	460	420
Asp. awamori	325	114
Asp. usamii	320	274
Rhi. delemar	465	419

以上表에서 보는바와 같이 Asp. usamii mut shirousamii,는 耐酸性 糖化力 amylase가 91%이고 Asp awamori는 約 35%가 耐酸性이고 Asp usamii는 約 85%가 耐酸性이고 Rhi. delemar는 約 90%가 耐酸性을 나타내고 있다.[11]

3. 酒精醱酵實驗

實驗〔1〕

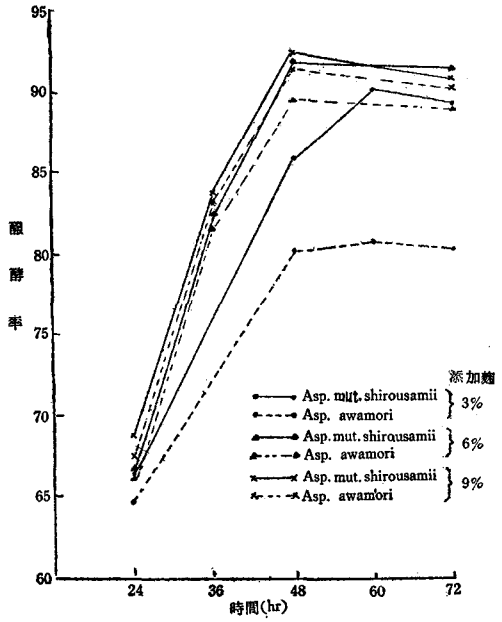

그림 1. 添加麴量에 따른 醱酵曲線

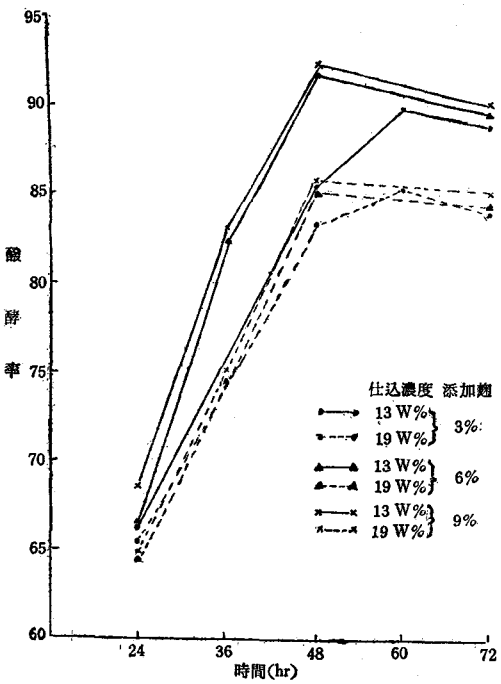

그림 2. 담금濃度와 添加 SP에 따른 醱酵曲線

以上 表 3~5에서는 담금濃度와 麴種類 麴使用量에 따라 經時的으로 醱酵成績을 調査하였다. 製麴곰팡이 種類에따라 添加 SP와 經時的 醱酵曲線은 다음 그림 1과 같고 담금濃度의 差異에 따른 醱酵曲線은 다음 그림 2와 같다.

表 3 담금濃度 13 W%澱粉(糖 14.44 W%)에 對한 使用 SP와 醱酵經時表

麴使用量	菌株 / 成分 / 時間	Asp. mut shirousamii			Asp awamari			Rhi delemae		
		주 정	醱 酵 率	使用 SP	주정量	醱酵率	使用 SP	酒精量	醱酵率	使用 SP
		(%)		(SP)	(%)		(SP)	(%)		(SP)
(%) 3	24	6.19	66.21	136	6.02	64.27	117	6.16	65.92	128
	48	8.03	85.93	〃	7.50	80.21	〃	7.80	83.41	〃
	60	8.42	90.12	〃	7.70	82.32	〃	8.37	89.58	〃
	72	8.33	89.13	〃	7.53	80.58	〃	8.28	88.62	〃
6	24	6.20	66.36	273	6.19	66.21	234	6.30	67.48	527
	36	7.73	82.75	〃	7.56	80.95	〃	7.84	83.87	〃
	48	8.61	92.16	〃	8.40	89.87	〃	8.58	91.83	〃
	72	8.55	91.54	〃	8.31	88.93	〃	8.50	90.91	〃
9	24	6.40	68.51	409	6.31	67.48	351	6.39	68.37	386
	36	7.81	83.62	〃	7.76	83.05	〃	7.92	84.73	〃
	48	8.65	92.53	〃	8.59	91.87	〃	8.59	91.93	〃
	72	8.47	90.67	〃	8.41	90.01	〃	8.44	90.28	〃

表 4 담금濃度 16 W%澱粉(17.77 W%)에 對한 使用 SP와 醱酵經時表

麴使用量	菌株 / 조사 / 成分 / 時間	Asp. mut shirousamii			Asp. awamori			Rhi. delemar		
		酒 精 量	醱 酵 率	使用 SP	酒精量	醱酵率	使用 SP	酒精量	醱酵率	使用 SP
		(%)		(SP)	(%)		(SP)	(%)		(SP)
(%) 3	24	7.61	66.13	168	7.49	65.13	144	7.49	65.13	158
	48	9.76	84.82	〃	8.78	76.34	〃	9.56	83.12	〃
	60	10.23	88.93	〃	9.31	80.96	〃	10.25	89.14	〃
	72	10.07	87.56	〃	9.16	79.67	〃	10.13	88.12	〃
6	24	7.14	62.13	336	7.06	61.36	288	7.26	63.12	316
	36	8.78	76.32	〃	8.88	77.24	〃	8.85	76.92	〃
	48	10.25	89.12	〃	10.15	88.21	〃	10.22	88.87	〃
	72	10.12	88.02	〃	10.02	87.13	〃	10.13	88.12	〃
9	24	7.19	62.48	504	7.05	61.36	432	7.27	63.25	475
	36	8.91	77.52	〃	8.89	77.31	〃	8.95	77.86	〃
	48	10.27	89.36	〃	10.21	88.84	〃	10.25	89.15	〃
	72	10.18	88.52	〃	10.08	87.67	〃	10.15	88.26	〃

表 5 담금濃度 19 W%澱粉(21.99 W%)에 對한 使用 SP와 醱酵經時表

麴使用量	菌株 / 成分 / 時間	Asp. mut Shirousamii			Asp. awamori			Rhi. delemar		
		酒 精 量	醱 酵 率	使用 SP	酒精量	醱酵率	使用 SP	酒精量	醱酵率	使用 SP
		(%)		(SP)	(%)		(%)	(%)		(SP)
(%) 3	24	8.91	65.21	199	8.79	64.34	171	9.04	66.16	188
	48	11.43	83.72	〃	9.99	73.16	〃	10.97	80.32	〃
	60	11.70	85.63	〃	10.46	76.57	〃	11.71	85.71	〃
	72	11.47	84.12	〃	10.26	75.13	〃	11.48	84.02	〃

6	24	8.73	64.21	399	8.10	59.31	342	8.38	61.34	376
	36	10.20	74.68	〃	10.06	73.69	〃	10.01	73.28	〃
	48	11.73	85.92	〃	11.77	86.21	〃	11.74	85.96	〃
	72	11.57	84.86	〃	11.66	85.34	〃	11.76	85.12	〃
9	24	8.82	64.71	598	8.51	68.34	513	8.35	61.12	564
	36	10.29	75.37	〃	10.22	74.83	〃	10.24	74.96	〃
	48	11.81	86.48	〃	11.76	86.12	〃	11.80	86.37	〃
	72	11.64	85.24	〃	11.63	85.15	〃	11.64	85.21	〃

實驗〔2〕

生고구마를 原料로 하여 表6과 같이 담금하여 그 結果를 第7表에 表示하였다.

表6 酒精술덧담금

品目 \ 麴使用率 數量		4.28%(對澱粉)			3.02%(對澱粉)		
		술밑	술덧	計	술밑	술덧	計
生고구마	(kg)	200	2000	2200	200	2000	2200
麴	(kg)	2	20	22	2	13.5	15.5
물	(*l*)	200	1400	1500	200	1406	1606
計	(*l*)	392	3318	3710	393	3319	3712

表7 酒精醱酵結果

麴使用率	4.28%(對澱粉)	3.02%(對澱粉)
술덧全糖(%)	13.84	13.84
全糖分(kg)	513.33	513.33
麴添加量(kg)	22	15.5
麴의糖化力SP	300×22,000=6,600,000	300×15,500=4,650,000
必要(SP)	513.3×11=5,646,360	5,646,630
熟成술덧數量(*l*)	36.44	36.47
酒精(Vl%)	8	7.5
醱酵率	88.18	82.66
總酸(10/*N* NaOH)	3.0	3.2
殘全糖(W%)	0.85	1.02

Ⅳ. 考 察

醱酵實驗을 通해서보면 담금濃度가 높을수록 醱酵率이 낮았고 主醱酵가 끝나는 時間이 길어졌는데 이것은 原田[12]이 報告한 바와같이 酵母의 數에 基因된다고 보겠다. 麴使用量을 一定하게 하고 담금濃度를 다르게 하여 醱酵率을 調査한 結果 澱粉 13 W%(14.44 W%) 때가 가장 좋았고 19 W%(21.99 W%) 때는이보다 醱酵率이 6%나 低下되였는데 이것은 糖濃度가 너무 높으면 醱酵率이 低下되고 全糖 13~17% 일때가 가장 좋은 結果를 나타낸다고 小野[13]等이 報告한바와 같다.

麴使用量을 澱粉에 對하여 3%, 6%, 9%로하여 經時的 醱酵成績을 調査한 結果 3%使用時는 60 時間에 거이 醱酵가 끝나고 6%, 9% 使用時는 48時間에 거이 醱酵가 끝났었다. 即 添加 SP가 클수록 醱酵時間이 短縮되였는데 이것은 小野[38]氏의 報告와 一致하였다.

製麴用곰팡이의 菌株에 따라 醱酵率에 差異가 있는데 Asp. usamii mut shirousamii를 使用한것이 가장 좋았다. 이것은 糖化酵素의 諸性質에 關係된다고 보며 酵素劑의 良否를 決定하는 한方法이 되겠다. 麴法의 醱酵率에 對해서 곰팡이 種類에 따른

糖化酵素의 性質[15]과 糖化에 必要한 量的關係에 對해서는 今野[11]等에 依하여 밝혀졌고 現在 小規模工場에서도 醱酵率이 相當히 上昇되여 施設이 完備된 工場에 比해서 크게 遜色이 없는 工場도 있다. 麴使用量 對澱粉 3%일때 醱酵率이 不良한 것은 添加된 SP가 必要 SP보다 적어서 糖化率이 나쁘기 때문이다.

Ⅴ. 摘 要

細菌性 α-amylase로 澱粉을 液化시키고 곰팡이 4菌株의 糖化酵素劑로서 糖化시켜 醱酵率을 比較하여 그 利用性을 調査하고 담금濃度에 따라 必要한 SP를 實驗하였다.

1) 製麴用곰팡이 Aspergillus 3株와 Rhizopus 1株에 對하여 糖化力 耐酸性 醱酵成績을 比較實驗한 結果 Asp. usamii mut shirousamii가 良好하였다. Rhi delemar는 酵素로서의 諸性質은 良好하나 大量製麴時 汚染度가 컸다.

2) 담금濃度와 麴使用量을 各各 다르게하여 醱酵實驗을 한結果 담금濃度에 따른 必要한 SP가 밝혀졌다.

3) 工場規模에 가까운 實驗을 通하여 糖化醱酵에 必要한 SP를 밝히고 그 利用性을 調査하였는데 實際 必要한 SP보다 1.2% 以上 添加하는 것이 安全하였다. 그 理由로서는 熱 酸에 依한 酵素의 破壞率을 生覺해야 하기 때문이다.

4) 細菌性 α-amylase로 澱粉을 液化시킨다음 糖化하였음으로 酵母의 增殖條件이 알맞아 醱酵時間이 단축되었다.

本實驗을 指導하여주신 金昌湜敎授님과 施設을 利用하여 주신 永進酒類會社에 深甚한 感謝를 들입니다.

引 用 文 獻

1. 小巻等：澱工誌, **6**,91(1959)
2. 北原久留： 〃 , **30**,72(1952)
3. 岡崎浩：日農化誌, **24**, 88(1950)
4. 金浩植等：韓農化誌, **3**,9(1962)
5. 東京農工大食糧化學敎室：食品學實驗法 154 (1962)
6. 友田宜孝等：微生物工學講座 4卷, 43(1964)
7. 山田正一：醸造分析法. 99, 60, 108(1958)
8. 德岡：醱工誌. **25**, 71(1947)
9. 井上等： 〃 **30** 44(1952)
10. 吉原等：醱工誌 **37**, 10(1959)
11. 今野憲二等：醱協誌, **21**, 56, 60(1963)
12. 原田昭夫： 〃 **21**, 173(1963)
13. 小野英勇等： 〃 **8**, 49(1953)
14. 小野英勇等： 〃 **14**, 98(1956)
15. 飯塚廣等：日農化誌 **28**, 972(1954)