

대규모의 주정발효 과정에서 생성된 불순물과 그 효율적 분리

류병호 · 김운식* · 남기두* · 이인기* · 하미숙

부산산업대학교 이공대학 식품공학과
*일산실업 주식회사 부산주정공장
(1986년 7월 19일 수리)

Impurities formed from ethanol fermentation process among different materials and it's effective separation in large scale

Beung Ho Ryu, Woon Sik Kim, Ki Du Nam, In Ki Lee and Mi Suck Ha

Department of Food Science and Technology, College of Science and Technology,
Busan San Ub University,* Il San Trading Co., Busan, Korea
(Received July 19, 1986)

This study to elucidate concentrations of impurities such as methanol and fusel oil formed during fermentation process among the different materials and has been applied technical separation for processing improvement by continuous distillation of super-allospas type. Methanol was formed high concentrations of cutting dried sweet potato and tapioca in order among the different materials during fermentation process. n-Propanol oil was formed high concentration of rice, cutting dried sweet potato, corn, naked barley and tapioca in order among the those materials. I-Butanol showed high concentration of tapioca, corn, rice, cutting dried sweet potato and naked barley in order and isoamyl-alcohol showed high concentration of tapioca, rice, cutting dried sweet potato, corn and naked barley in order. Using the continuous distillation of super-allospas type, the following are collection ratios of n-propanol, iso-butanol, n-butanol and iso-amylalcohol: 37.9%, 28.6%, 37.4%, and 56.1% when 78.25% (v/v), 68.54% (v/v), 50.0% (v/v), and 50.0% (v/v) alcohol are used, respectively. Fusel oil and bad alcohol put into the recovery column and then separated directly by side cut of fusel oil partially from plate of tower bottom after concentration again. Extra impurities separated by fusel oil separator when 20% (v/v) alcohol adjusted with water.

주정발효 공정에서 생성되는 불순물로서 methanol과 fusel oil(고급 alcohol)인 n-propanol, n-butanol, iso-butanol, iso-amyl alcohol, 그외 acetaldehyde와 di-acetyl 등은 주정의 품질에 영향을 주고 있다. Methanol은 발효액중의 pectin에서 국(koji) amylo 균이 분비하는 protopectinase, pectinesterase 및 polyglacturonase 등의 작용으로 생성된다. 그리고 고급 alcohol의 생성은 발효공정중 탄소원으로부터 생성되는 경로에 의해서 또는 아미노산의 분해에 의한 총질소중 아미노산의 조성 및 함량⁽¹⁾, 사용

균주⁽²⁾에 따라 다르다. 주정에 methanol 및 fusel oil 등 불순물이 많이 들어 있으면 주정을 주원료로 하여 만들어지는 회석식 소주에 이행되어 소주의 품질이 저하되기도 한다. 한편, 주정 발효시 생성되는 불순물의 양이 많으면 이를 부분적으로 분리 제거하기 위하여 주정증류 조작이 복잡해지므로 에너지가 많이 소요되는 것은 이미 잘 알려져 있다. Rous⁽³⁾는 포도주 효모를 ethyl methane sulfonate 로 처리하여 고급 alcohol 저생산성 변이주를 만들었던 바 고급 alcohol이 친주의 약 50% 정도 감소

하였다고 보고하였다. 이와같이 주정업계는 적절한 원료의 이용, 사용균주의 선택 및 증류방법의 개량 등 공정개선이 불순물의 생성을 극소화하는 방안이며 또한 당면과제의 하나이다. 저자들은 주정원료인 절간고구마, 타피오카, 쌀보리, 쌀 및 옥수수 등을 사용하여 주정발효시 생성되는 불순물의 양을 비교 검토하고 super-allospas 식 연속증류기에서 집적되는 탑의 봉 (plate) 부위를 확인하여 효율적인 분리를 하였으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

주정원료인 쌀보리, 절간고구마, 타피오카와 쌀은 일반미 상품을 구입하여 미분쇄하여 분쇄입도 177 micron을 80% 이상 통과하도록 분쇄하였고 옥수수는 가루를 구입하여 사용했다.

사용균주

전보⁽⁴⁾와 같다.

효모의 전배양

상법에 따라 제조한 koji juice (Brix 11°, ATAGO Hand Refractometer Model N-1)에 slant culture로부터 한 백금이 접종시킨 후 32±1°C의 incubator에서 24시간 배양하여 starter용으로 사용하였다.

액화 및 당화효소

본 실험에 사용한 액화 및 당화효소는 덴마크 Novo사의 Termamyl 120 L (EC 3, 2, 1, 1)과 태평양화학의 정제효소 (S. P. 25, 000 unit/g)를 구입하여

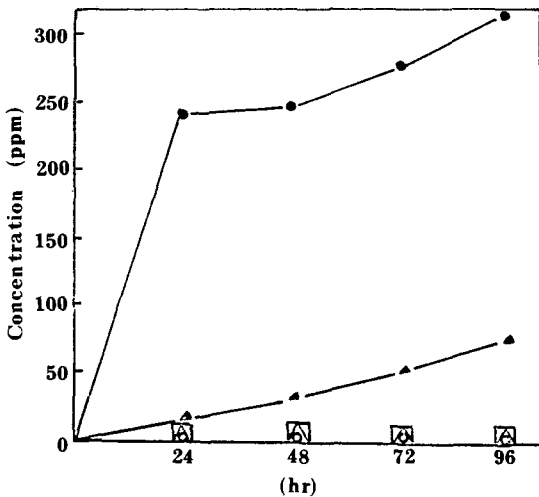


Fig. 1. Changes of methanol contents during the ethanol fermentation.

●-● : Sweet potato ○-○ : Naked barley
 ▲-▲ : Tapioca △-△ : Rice
 □-□ : Corn starch

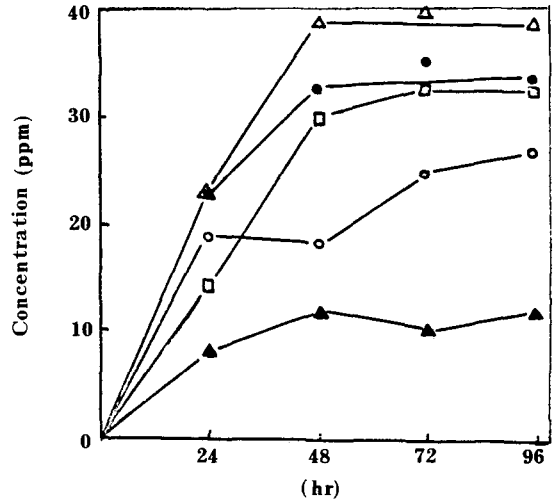


Fig. 2. Changes of n-propanol contents during the ethanol fermentation

●-● : Sweet potato ○-○ : Naked barley
 ▲-▲ : Tapioca △-△ : Rice
 □-□ : Corn starch □-□ : Corn starch

원료에 대해 각각 액화효소 0.01% (w/w), 당화효소 0.06% (w/w) 을 사용했다.

발효액 조제 및 발효조건

미분쇄 원료를 pilot plant에서 건조중량농도 (dry base) 20%로 전보⁽⁴⁾의 고온증자법에 따라서 처리하였고 효모의 전배양 발효조건도 전보⁽⁴⁾와 동일하게 하였다.

alcohol 및 발효 불순물 분석

Alcohol 발효중에 시료를 경시적으로 취해 4,000 rpm에서 5분간 원심분리한 상등액을 사용하였고 연속증류기의 시료는 정제 및 후류탑에서 취한 다음 Merk사 제품인 ethanol (99.5%)로써 희석한 후 gas chromatography에 0.5 μl 주입하여 SP 4200 computing integrator로 분석하였으며 분석조건은 전보⁽⁴⁾와 같다.

결과 및 고찰

발효 불순물의 분석

methanol의 생성; 재료를 종류별로 주정발효시 24, 48, 72시간 및 96시간 간격을 두고 경시적으로 발효액의 불순물인 methanol의 생성량을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. Methanol의 생성량은 재료별로 보면 절간고구마가 가장 많았고, 24시간 경과시에 240 ppm이었던 것이 48시간 경과시에는 248 ppm, 72시간 경과시에는 280 ppm, 그리고 96시간 경과

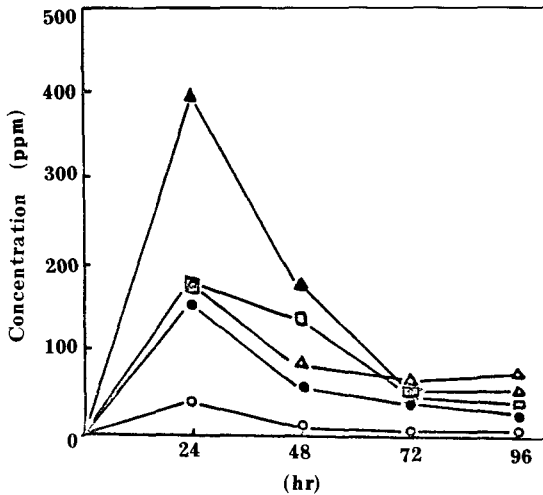


Fig. 3. Changes of n-butanol contents during the ethanol fermentation

●-●: Sweet potato ○-○: Naked barley
 ▲-▲: Tapioca △-△: Rice
 □-□: Corn starch

시에는 320 ppm으로 증가하였다. 타피오카의 경우에는 24시간 경과시에 서서히 증가하다가 96시간 경과시 81.5ppm이었다. 그 외 쌀은 6.1ppm 옥수수는 4.9 ppm 및 쌀보리는 3.4 ppm으로서 발효 96시간 경과시까지 큰 변화가 없었다. Methanol은 재료중 pectin이 protopectinase, pectinesterase 및 polygalacturonase 등에 의하여 생성한다⁽⁵⁾. 원료중 고구마의 경우가 methanol 함량이 다른 것에 비하여 높은 것은 고구마중의 pectin 함량이 월등히 많기 때문인 것으로 생각된다.

Fusel oil (고급 alcohol)의 생성; 주정발효시에 경시적으로 24, 48, 72시간 및 96시간 간격으로 n-propanol, n-butanol, iso-butanol 및 iso-amyl alcohol의 생성량을 분석하였다.

n-propanol의 경우 Fig. 2에서 보는 바와같이 전반적으로 발효 24시간 경과시부터 생성하기 시작하여 48시간 경과할 때까지 증가하다가 72시간 부터 96시간 경과시까지 거의 생성되지 않았다. 재료별로 48시간 경과했을 때의 n-propanol 생성량을 보면 쌀이 39.7 ppm으로 가장 높고, 그 다음이 절간고구마로 33.2 ppm, 옥수수 30.2 ppm, 쌀보리가 18.6 ppm 순이었고 타피오카가 12.6 ppm으로 가장 낮았다. n-propanol은 발효액 중의 아미노산이 transamidase에 의하여 생성된 keto산이 탈탄산화한 후 환원 효소에 의하여 생성된다^(6~9). Fig. 3에서 나타난 바와같이 n-butanol은 전반적으로 발효 24시간 경과시에 가장 많은 생성량을 나타내었다. 재료별 생성량

을 보면 24시간 경과시 타피오카가 410.8 ppm으로 가장 높았고 그 다음으로 옥수수 186.2 ppm 쌀 173 ppm, 절간고구마 160 ppm 및 쌀보리 37ppm의 순이었다. 발효 48시간 경과시부터는 급격히 감소하여 72시간을 거쳐 96시간 경과시에는 거의 일정한 생성량을 보여주고 있다.

Iso-butanol의 경시적 생성량은 Fig. 4에서 보는 바와같이 사용된 재료 모두 발효 24시간 경과시 가장 많이 생성하였다. 재료별 생성량은 24시간 경과시 타피오카 812.7 ppm으로 가장 높고 그 다음이 옥수수 653.1 ppm, 쌀 406 ppm, 절간고구마 278ppm 및 쌀보리 69ppm 순이었다. 48시간 경과시에는 급격히 생성량이 감소하다가 72시간과 96시간 경과후에는 큰 변화가 없었다. n-butanol과 iso-butanol의 경시적 생성량은 매우 비슷한 경향이였다. iso-butanol은 주정발효시 glucose의 분해 중간산물인 pyruvic acid에서 α -keto isovaleric acid를 거쳐 탈탄산효소에 의하여 iso-butanol이 생성된다^(6~9). n-butanol과 iso-butanol이 24시간 경과시에 생성량이 높았다가 급격히 감소하는 이유는 앞으로의 계속적 연구가 필요하다. Fig. 5에서와 같이 전반적인 경향을 보면 발효 24시간 경과시 iso-amyl alcohol의 생성량이 가장 많았으며 48시간 경과시에는 점차적으로 감소하다가 72시간, 96시간 경과시에는 생성량은 거의 변화가 없었다. 재료별 생성량을 보면 24시간 경과시 타피오카가 1,000 ppm으로 가장 많았고 쌀 858.2 ppm, 절간고구마 835.8 ppm 옥수수

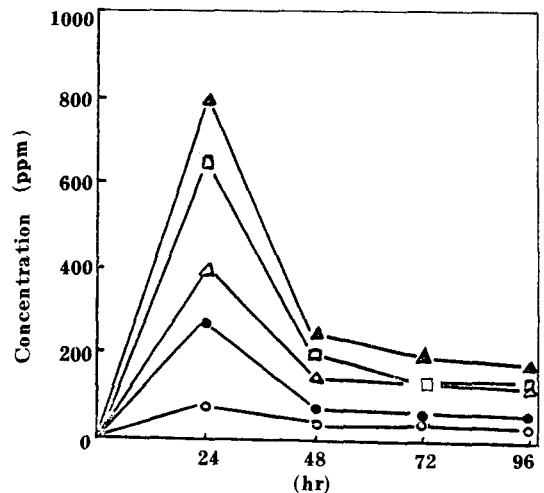


Fig. 4. Changes of iso-butanol contents during the ethanol fermentation

●-●: Sweet potato ○-○: Naked barley
 ▲-▲: Tapioca △-△: Rice
 □-□: Corn starch

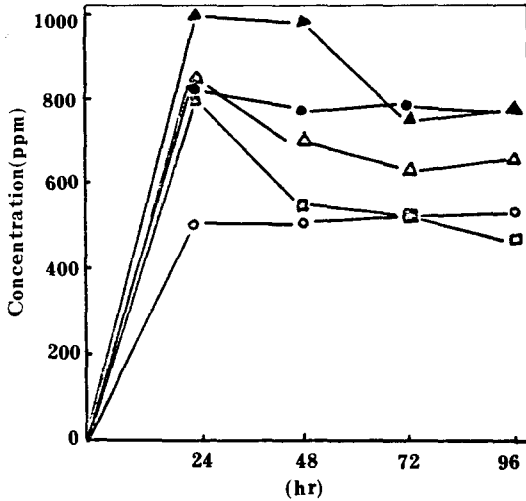


Fig. 5. Changes of iso-amylalcohol contents during the ethanol fermentation

●-● : Sweet potato ○-○ : Naked barley
 ▲-▲ : Tapioca △-△ : Rice
 □-□ : Corn starch

816.7 ppm 및 쌀보리 497.7 ppm 순이었다. iso-amyl alcohol은 발효과정중 leucine에서 iso-amyl alcohol이 생성되고 특히 호기적 조건하에서 iso-amyl alcohol이 합성능이 증대한다^(6,10).

acetaldehyde, di-acetyl의 생성 : 발효중 acetaldehyde의 경시적 변화는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 쌀과 옥수수 등의 경우 24시간 경과후부터 생성량이 계속 증가하다가 72시간 경과시 쌀은 132 ppm,

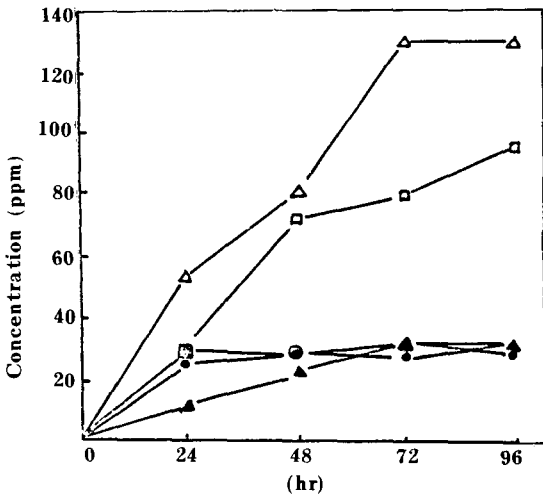


Fig. 6. Changes of aldehyde contents during the ethanol fermentation

●-● : Sweet potato ○-○ : Naked barley
 ▲-▲ : Tapioca △-△ : Rice
 □-□ : Corn starch

옥수수는 80.8 ppm으로 생성량이 많았으나 96시간 경과시 쌀의 경우에 더 생성되지 않았으며 옥수수는 약간 증가하였다. 그러나 쌀보리, 절간고구마 및 타피오카는 발효 24시간 경과후부터 96시간 경과할 때까지 acetaldehyde의 생성량은 큰 변화가 없었다. di-acetyl의 경우 Fig. 7에서와 같이 발효 24시간 경과시에 옥수수가 403.6 ppm, 타피오카가 402.3 ppm, 쌀이 379.3 ppm으로 높은 함량을 보였고 절간고구마가 203 ppm이었고 쌀보리가 115.8 ppm으로 가장 낮았다. 발효 48시간 경과시 급격히 감소하였다가 72시간, 96시간 경과시에는 극미량 잔존하였다. Inoue^(11~13)는 발효중 valine 합성의 중간체로서 pyruvic acid를 거쳐 생성되는 α -acetoacetic acid가 세포외로 누출하여 산화적 탈탄산에 의하여 di-acetyl로 변한다고 하였다. 또 橋本⁽¹⁴⁾은 di-acetyl이 발효초기에 많이 생성되었고, 발효후기에 급격히 떨어지면서 일정 농도를 유지한다고 하였던 바 본 실험결과와 비슷한 경향을 나타내고 있다.

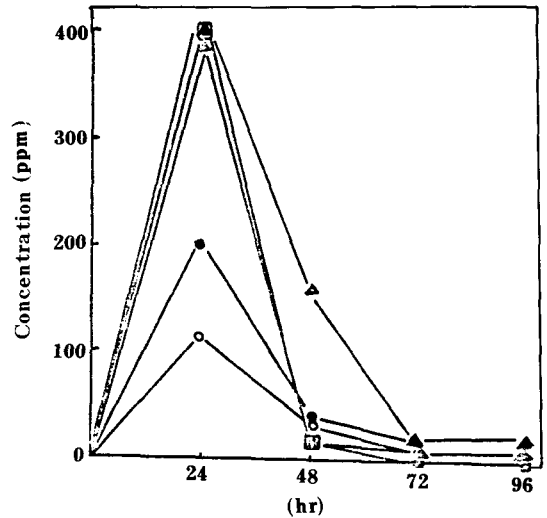


Fig. 7. Changes of di-acetyl contents during the ethanol fermentation.

●-● : Sweet potato ○-○ : Naked barley
 ▲-▲ : Tapioca △-△ : Rice
 □-□ : Corn starch

연속 증류기에 의한 불순물의 집적 및 분리

주정발효시 목적하는 ethanol외에 부산물로서 불순물이 공존하고 이러한 물질은 증류과정에서 불순물의 이화학적 성질과 연속증류기의 집적위치를 정확히 찾아야 분리할 수 있다. Fig. 8은 super-allospas식 연속증류기로 불순물을 집적 및 분리하는 공정을 나타낸 것이다.

fusel oil (고급 alcohol)은 n-propanol, iso-amyl

alcohol, n-butanol 및 iso-butanol의 혼합물로서 이를 분리하기 위하여는 ethanol의 농도에 따라 불순물을 고농도로 집적시켜 side cut 할 수 있다. ethanol의 농도에 따른 정제탑에서 fusel oil의 집적농도와 집적율은 Table 1과 같다. n-propanol은 ethanol과 물에 잘 녹기 때문에⁽¹⁵⁾ 분리가 용이하지 않다. 본 실험의 결과에서 n-propanol은 ethanol 78.25% (v/v)에서 21,680 ppm의 가장 높은 집적농도로 37.9%의 높은 집적율을 나타내었고, ethanol이 68.54% (v/v)에서 18,082ppm의 높은 집적농도로 31.6%의 집적율을 나타내었으며 그리고 ethanol이 54.6% (v/v)에서 11,197 ppm의 집적농도로 19.6%의 집적율을 나타내었다. iso-butanol의 경우에 있어서는 ethanol 68.54% (v/v)에서 13,626 ppm의 집적농도로 28.6%의 높은 집적율을 나타내었고 ethanol 54.6% (v/v)에서는 13,110 ppm의 집적농도로 27.5%의 집적율을 나타내고 있다. n-butanol의 분리에 있어서는 ethanol 50% (v/v)에서 1,272 ppm의 집적농도로 37.4%의 집적율을 ethanol 54.6% (v/v)에서 1,268 ppm의 집적농도로 37.3%의 집적율을 보였다. 그리고 iso-amylalcohol은 ethanol 50%(v/v)에서 16,180 ppm의 집적농도로 56.1%의 집적율을 보였고 ethanol 54.6% (v/v)에서는 8,099 ppm의 집적농도로 28.2%의 집적율을 보였다. 이와 같은 결과는 일반적으로 fusel oil은 alcohol 40~50% (v/v)에서 잘 집적된다는 이론^(16,17) 보다는 다소 높은 50~78% (v/v)의 alcohol 농도에서 잘 집적되었다. 이와같이 n-propanol은 78.24% (v/v), iso-butanol은 68.54% (v/v)에서 그리고 n-butanol은 50% (v/v)의 ethanol 농도에서 가장 높은 집적율을 보였으며 이와같은 조성을 갖는 bad alcohol (유분, fusel oil 함유 alcohol)을 side cut하여 후류탑으로 유입시킨 후 제차 농축하여 탑 저부의 붓 (plate)에서 fusel oil을 side cut하여 일부는 직접 분리하고 나머지는 다시 fusel oil 분리에 넣어 물로서 alcohol 함량이 20% (v/v)

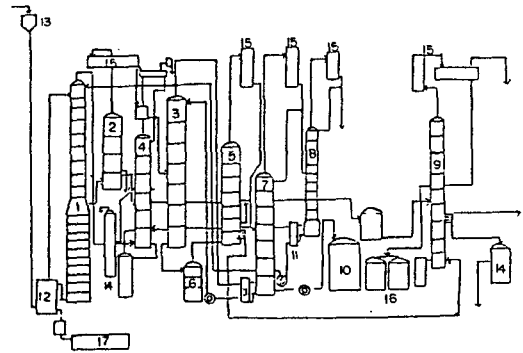


Fig. 8. Schematic diagram of super-allospas type for ethanol distillation

1. mash column
2. concentration column
3. 1st hydroselection column
4. 2nd hydroselection column
5. rectifying column
6. dehydration column
7. product column
8. ethanol column
9. heads concentration column
10. product storage tank
11. reboiler
12. heat exchanger
13. fermented mash storage tank
14. fusel oil separator
15. condenser
16. bad alcohol storage tank
17. waste treatment plant

정도 되도록 조절하여 분리하였다. 그리고 fusel oil 분리기에서 가수(加水)하기 전후의 bad alcohol 및 최종 분리된 fusel oil 조성을 Table 2에서 나타낸 바와같이 n-propanol은 0.7배, iso-putanol 2.6배, n-butanol 2.9배 그리고 iso-amyl alcohol은 7.3 배 농축되었다. 이것은 현장에서 탑의 운전조건, 원료 및 탑의 부하변동에 따라 다르다. 최근 외국에서는 주류용 ethanol의 품질 향상을 위하여 super-allospas식의 결합을 보완한 감압 증류에 의하여 n-pro-

Table 1. The concentration and collection ratio of fusel oil in rectifying column.

Alcohol (%)	N-Propanol		Iso-butanol		N-butanol		Iso-amylalcohol	
	C (ppm)	CR (%)	C (ppm)	CR (%)	C (ppm)	CR (%)	C (ppm)	CR (%)
50.0	3975	7.0	7972	16.7	1272	37.4	16108	56.1
54.6	11197	19.6	13110	27.5	1268	37.3	8099	28.2
68.54	18082	31.6	13626	28.6	378	11.1	4214	14.7
78.25	21680	37.9	8291	17.4	334	9.8	327	1.0
81.02	2250	3.9	4670	9.8	151	4.4	trace	

C: Concentration (ppm), Concentration of fusel oil

CR: Concentration ratio (%), the percent as the each fusel oil divided by sum of fusel oil

Table 2. Composition of final fusel oil before and after dilution as tap water of bad alcohol including various impurities by fusel oil separator

Sample name	N-propanol (%)	Iso-butanol (%)	N-butanol (%)	Iso-amyl alcohol (%)
Final fusel oil	24.6	17.94	1.53	53.69
Before dilution	34.6	6.85	0.52	7.3
After dilution	6.1	1.63	0.12	2.54

panol 을 효과적으로 분리하고 있다⁽¹⁸⁾.

본 실험 결과에는 n-propanol은 alcohol농도가 78.25 % (v/v)에서 잘 집적되므로 기존 연속 증류탑의 side cut 위치를 alcohol 농도의 구배에 따라 상단으로 조절함으로써 multi-pressure system의 정제탑 하부에서 fusel oil을 side cut 하고 탑 중부에서 n-propanol을 집적시켜 분리하는 것⁽¹⁹⁾과 같은 효과를 얻을 수가 있었다.

요 약

주정발효공정에서 생성되는 불순물의 분리를 위한 공정개선으로 주정원료별 불순물의 양을 알아보고 이를 super-allospas식 연속증류기에서 집적하여 효율적인 분리를 하였다. 주정발효공정중에 생성되는 불순물중 methanol은 절간고구마가 가장 많이 생성되었고 그 다음이 타피오카였다. fusel oil중 n-propanol은 쌀, 절간고구마, 옥수수, 쌀보리 및 타피오카의 순서이고 iso-butanol은 타피오카, 옥수수, 쌀, 절간고구마 및 쌀보리의 순서였다. 그리고 iso-amyl alcohol은 타피오카, 쌀, 절간고구마, 옥수수, 쌀보리의 순이었다. 한편 super-allospas식 연속증류기에 의한 fusel oil의 분리시 alcohol함량에 따른 집적율을 보면 n-propanol은 alcohol이 78.25 % (v/v)일 때 37.9%, iso-butanol은 alcohol이 68.54 % (v/v)일 때 28.6%, n-butanol은 alcohol 50 % (v/v)일 때 37.4% iso-amyl alcohol은 alcohol이 50 % (v/v)일 때 56.1%의 가장 높은 집적율을 나타내

었다. 이와같이 집적된 불순물은 side cut 하여 후류탑으로 유입시킨 후 재차 농축하여 탐저부의 붕(plate)에서 fusel oil을 side cut 하여 일부는 직접 분리하고 나머지는 다시 fusel oil 분리기에 넣어 alcohol이 20% (v/v) 되도록 가수하여 분리하였다.

참고문헌

1. Adams, H. R. and G. Flynn: Report of the tropical products Institute. G169 (1982)
2. Whiting, G. C. : *J. Inst. Brew* 82, 84 (1976)
3. Rous, C. V. and R. Snow: *J. Inst. Brew.*, 89, 274 (1983)
4. 류병호, 김운식, 김성두, 최명호, 남기두, 하미숙 : 산업미생물학회지, 14(3), 233 (1986)
5. 이계호 : 발효주정의 발전과 전망에 관한 세미나, 대한주정, 주류협회 p. 118 (1976)
6. Guymon, J. F., J. L. Ingraham and E. A. Crowell: *Am. J. Enol. Vitic.* 12, 60 (1961)
7. Yoshizawa, K., T. Furukawa, M. Tadenuma and M. Yamada: *Agric. Biol. chem.*, 25, 26 (1961)
8. 吉沢淑 : 醸協 61(6), 481(7), 585 (1966)
9. Thoukis, G. : *Am. J. Enol. Vitic.* 9, 161 (1958)
10. Crowell, E. A., J. E. Guymon: *Am. J. Enol. Vitic.* 14, 214 (1963)
11. Inoue, T., K. Masuyama, Y. Yamanoto, K. Olada and Y. Kuroiwa: *Amer. Soc. Brew. Chem. Proc.*, 158 (1968)
12. Inoue, T. and Y. Yamamoto: *Amer. Soc. Brew Chem. Proc.* 198 (1970)
13. Inoue, T. and Y. Yamamoto: *Rept. Res., Lab., Kirin, Brewery Co., Ltd.* 14, 55 (1971)
14. 橋本直樹 : 醸協 69(11), 720 (1974)
15. 岩波理化学辞典, 岩波書店 第3版 1192 (1974)
16. 尾留川孝, 山口一 : 発酵と工業 39(7), 641 (1981)
17. 정동효 : 醸酵와 微生物工学, 선진문화사 p. 309 (1974)
18. 官田章 : *J. Brew. Soc. Japan* 81(3), 169 (1986)
19. Tegtmeier, U. : *Biotechnology Letters*, 7(2), 129 (1985)