

무증자알콜발효의 개발현황과 향후전망

■ 목 차 ■

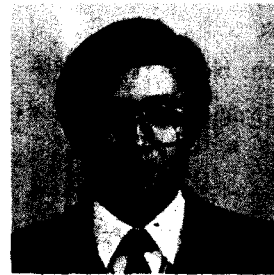
- I. 서 론
- II. 무증자알콜발효의 개발현황
- III. 전 망
- IV. 결 론
- V. 참고문헌

I. 서 론

무증자 알콜발효는 전분질원료를 이용하는 알콜발효에서 증자공정없이 직접 당화하여 발효하는 방법이다. 현재 주정발효에서는 전분질원료인 곡물이나 타피오카, 감자, 고구마 등을 주로 사용하고 있는데 이러한 전분질원료를 발효가능한 당으로 가수분해시키기 위해서는 전분질원료를 증자하여 호화시킨후 액화, 당화하는 방법을 사용하고 있다. 이러한 기존의 증자공정에 소요되는 에너지는 표1에서 보는 바와 같이 알콜발효에 소모되는 전체 에너지의 37-42%를 차지하고 있는 실정이다." 따라서, 전분질원료로부터 알콜을 생산하는 경우 전분질원료의 호화에 소요되는 막대한 에너지를 절감하는 것은 주정발효에 있어 매우 경제적인 알콜발효공정이 될 것이다. 이러한 에너지 절약형 알콜발



변 시 명
(한국과학기술원)
생물공학과



신 용 철
(경상대자연과학대학)
미생물학과

효는 석유에너지를 대체할 수 있는 새로운 에너지자원의 개발이라는 점에서도 큰 의미가 있다. 기존의 알콜발효공정에서는 표1에서 보는 바와 같이 1리터 알콜을 생산하는데 약 19 MJ이 소요되는데 반해 1리터 알콜로부터 얻을 수 있는 에너지가 약 21 MJ로서 에너지면에서 효율성이 매우 낮다. 따라서, 무증자 전분의 알콜발효방법을 이용함으로써 에너지면에서 효율적인 대체에너지 생산이 가능하게 될 것이다. 에탄올은 현재 주정원료로써 뿐만 아니라 합성수지, 제약등 산업용 용매로써 또는, 합성중간물질로써 많이 사용되고 있다." 현재로서는 경제적인면을 고려하여 석유에서 만든 ethylene으로부터 합성한 에탄올을 주로 이용하고 있는 실정이다. 브라질등 열대지역에서는 연료용이나 공업용도에 발효알콜의 사용이 점차적으로 늘어가고 있다. 광합성을 통해서 고갈없이 계속 공급

Table 1. Energy (MJ/1 of pure ethanol) required to produce absolute alcohol

Process Stage	Substrate		
	Beets	Cane	Starchy raw materials
Digestion / hydrolysis, batch	4-5	-	7-8
continuous	-	-	2
Cane mill	-	1.1-1.5	-
Extraction	0.8-1	2-3	-
Fermentation, batch	0.06	0.06	0.06
continuous	0.1	0.1	0.1
Distillation, single-stage	10-13	10-13	10-13
optimized	5-7	5-7	5-7
Process, conventional	16	13	19
optimized	7	7	8

되는 전분질원료를 이용한 에너지 절약형 알콜 발효공정의 개발은 주정공업, 화학공업, 대체에너지 개발에 중요하게 기여할 것으로 보이며 이러한 면에서 전분질원료를 증자공정없이 액화, 당화하여 발효하는 무증자전분의 알콜발효방법은 에너지효율면이나 경제적인면에서 매우 유리한 방법이 될 것이다.

본고에서는 무증자 전분의 알콜발효에 대한 세계각국의 기술개발현황을 고찰해보고 끝으로 앞으로의 전망을 해보고자 한다.

II. 무증자 알콜발효의 개발현황

전분질원료의 증자는 전분입자를 파괴하여

입자속에 단단하게 결합되어 있는 amylose나 amylopectin을 수용액중으로 노출시킴으로써 액화, 당화효소에 의해서 쉽게 가수분해가 일어나도록 하기 위한 것이 가장 큰 목적이라고 할 수 있다. 따라서, 무증자 전분을 효과적으로 발효시키기 위해서는 무엇보다도 전분질원료를 당화하는 방법의 개발이 기술의 핵심이 된다. 현재까지 무증자 전분의 당화방법에는 무증자 전분 분해에 특이성을 갖는 효소를 이용한 효소적 당화방법과 물리, 화학적 전처리방법의 개발 및 이들 방법을 혼용한 당화방법등이 개발중에 있다. 이러한 무증자 전분의 당화 및 발효방법들의 개발현황을 살펴보면 다음과 같다.

1. 무증자 전분의 효소적당화와 발효

이 방법은 수용액중에 분산되어 있는 무증자 전분에 특이적으로 공격하여 효과적으로 가수분해하는 효소 및 무증자전분의 당화를 도와주는 효소를 이용하여 당화하는 방법이다. 증자 과정 없이 생전분을 당화하기 위한 연구는 주로 생전분 당화 효소제의 개발에 집중되어 왔는데 이러한 이유는 증자전분을 가수분해할 수 있는 많은 glucoamylase가 모두 다 생전분을 효과적으로 당화할 수 없기 때문이다. 이 분야에 대한 연구는 일본 큐우슈우대학의 Ueda등이 많은 연구를 하였다. *Aspergillus oryzae*로 부터 얻은 glucoamylase는 모두 3가지 형태가 발견되는데 이들 중 glucoamylase I만이 생전분 흡착성과 분해력이 뛰어나다고 보고하였다.³⁾ 1982년에 이들은 흑국균 *Aspergillus glucoamylase*의 무증자전분입자에 대한 흡착성과 분리성에 관하여 연구하여 효소의 전분입자에 대한 흡착부위와 효소활성부위는 서로 다르며 전분의 수산기가 효소의 흡착에 관여한다고 보고하였다.⁴⁾ 1983년에는 *Rhizopus niveus*에서 5개의 glucoamylase를 분리하였으며 이들 모두 높은 debranching activity, 높은 생전분 흡착성 및 분해력을 가지고 있는 것으로 나타났다.⁵⁾ 이러한 곰팡이 유래의 glucoamylase

외에도 이들은 효모의 glucoamylase를 연구하였는데 *Saccharomycopsis fibuligera* 유래의 glucoamylase 도 역시 대단히 높은 debranching activity와 생전분 흡착성 및 분해력이 있는 것으로 나타나 *Rhizopus niveus* 생전분 분해성 glucoamylase와 공통된 성질을 보였다.⁶⁾ Ueda 등⁷⁾은 이 효소를 이용하여 고구마 생전분의 당화와 알콜발효에 이용하여 약 95%의 알콜수율을 얻었다. 효소의 다량 첨가가 알콜수율을 높이는 데 중요하였으며 무증자 전분의 분해력에 있어 *Rhizopus* sp.(Amano Co.)와 *Saccharomycopsis fibuligera*의 glucoamylase는 비슷한 당화율을 나타내었으며, 기존의 증자전분에 사용하던 *Asp. niger* 유래의 glucoamylase인 일본 Amano사의 glucozyme GNL-2000의 경우 위 두 미생물이 분비하는 효소당화율의 46%, 덴마크 Novo사의 AMG는 약 80%의 당화율을 보였다. 한국의 배 등⁸⁾은 *Asp. shirousami*의 glucoamylase를 이용하여 무증자전분을 당화시켰을때 증자전분의 당화에 비해서 10배 정도의 효소가 더 소요되었으며 이때 60%의 당화율을 얻을 수 있었다. 전분질원료를 마쇄(Maceration)함으로써

당화효소의 작용을 증진시킬수 있어 Ueda 등⁹⁾은 *Asp. awamori*와 *Asp. niger*의 Koji 효소를 사용하였는데 이 경우 시판 *Asp. niger* glucoamylase 보다 단단계 발효(one-stop fermentation)에 있어 발효액의 점도를 더욱 효과적으로 줄일 수 있어 당화속도와 발효속도를 증 rk시킬 수 있었다. 이것은 Koji 효소에 내포된 xylanase 등에 의해서 pentosan들이 분해된 것으로 보여진다. Svendsby등¹⁰⁾은 *Asp. niger*에서 얻은 pectin depolymerase를 첨가함으로써 생전분 분해를 크게 증가시킬 수 있었다. 현재 일본의 Suntory 사에서는 그림 1에서와 같은 공정을 이용하여 무증자 알콜발효 특허를 신청하였다. 이 방법은 *Rhizopus* sp. 유래의 glucoamylase를 사용하는 방법인데 이 방법을 기존의 방법 및 Ueda 등의 방법과 비교하면 표2와 같다.

효소를 이용하여 무증자 전분입자를 마쇄하거나 당화하는 방법은 기존의 증자공정과 비교해서 효소사용량이 10배 정도 많이 들며 당화속도가 느림으로써 최종적으로 알콜발효 기간이 길어지는 등의 문제가 남아있다. 그러나, 경작지에서 직접 수확한 생전분원료(본고에서는 건조

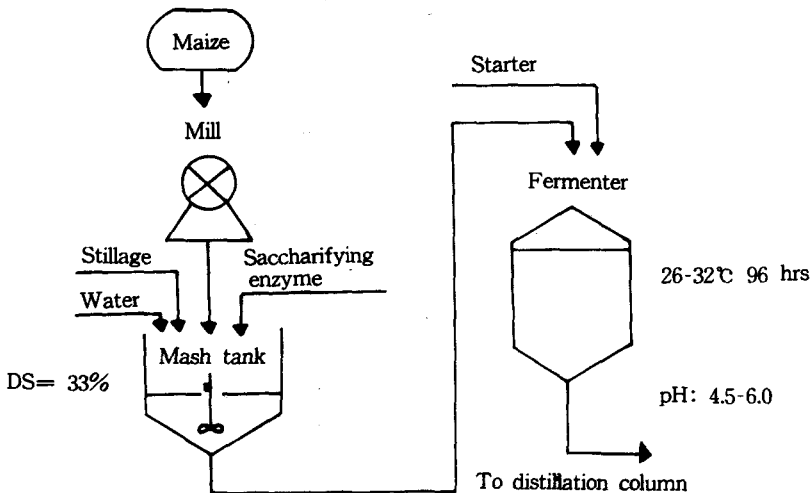


Fig. 1. Flow Diagram of the Noncooking Fermentation System for Use on an Industrial Scale. Capacities: mill, 6 ton / hour, mash tank, 5kl; fermenter, 140kl.

된 무증자 전분과 구별하기 위해서 생전분이라고 표시하였다.)를 이용할 경우 전분이 불과 많은 수소결합을 하고 있기 때문에 비교적 효소 당화가 용이해 전분질원료를 재배하는 경작지에서 직접 당화하는 방법이 가능할 것으로 기대된

다.

2. 물리적 전처리방법을 이용한 무증자 전분의 당화와 발효

물리적인 충격으로 구조적 변형을 유도하여 액화, 당화효소의 공격을 용이하게 함으로써

Table 2. Comparison of Non-cooking Processes

	I* (1963)	II* (1980)	SUNTRY (1980)
Particle size	More than 90% of < 100 μm	—	More than 30% of < 849 μm
Row material	Rice, maize, Sweetpotato, Cassava	Rice	maize, milo
ph of mash	3.6	3.5–4.5	not adjusted (normally initial: 5.5–6.0 final: 4.5–5.0)
Sacch. enzyme	Asp.	Enzyme for SAKE	Rhizopus
Anhydrous Sulfite	none	none	not necessary sometimes required (80-320 ppm as SO_3)
Fermentation temp.	24-30 $^{\circ}\text{C}$	maximum 15 $^{\circ}\text{C}$	28-32 $^{\circ}\text{C}$
Fermentation period(day)	7-10	> 10–15	4–5

* I. Yamasaki, S. Ueda, & H. Shimada: J. Ferm. Ass. Jpn. Vol. 21, 83 (1963)

** C. Kumagai *et al.* Abstracts of papers, Annual Meeting of the Society of Fermentation Technology of Japan Fukuoka, April, 1980, p. 4.

증자공정없이 발효하고자 하는 방법이다. 단단하게 결합된 입자들의 구조적 변형을 유도할 수 있는 물리적인 충격방법으로는 ball milling¹¹⁾, wet milling^{12,13)}, high energy irradiation¹⁴⁾, pressure treatment¹⁵⁾ 등이 있다. 이 방법중 high energy irradiation, pressure treatment 방법은 효소작용을 효과적으로 증진시키지 못하였으며 또한, cost도 높아 실용적인 방법이 되지 못하였다. Ball milling의 경우는 전분입자의 크기를 줄일 수 있고 입자 내부의 결합구조를 파괴하며 긴사슬의 경우 화학결합을 일부 절단할 수 있어 효소반응을 크게 증가시킬 수 있으나 에너지가 많이 소모되는 문제가 있다. Wet milling 방법은 cellulose의 경우는 효소가수분해에 거의 영향을 줄 수 없는 것으로 보고되고 있다. 그러나, 최근에 cellulose의 경우에도 Wet-milling 방법과 효소처리를 동시에 행함으로써 효소반응을 크게 증진시킬 수 있다고 보고하였으며 특히, 원료입자를 용매로 전처리하는 경우 효소반응 system에 대단히 경이한 milling을 처리하는 것 만으로도 당화율을 크게 높일 수 있다고 보고하였다. 이와 같이 기계적 충격과 효소적 가수분해가 동시에 일어나는 것을 "mechano-enzymatic

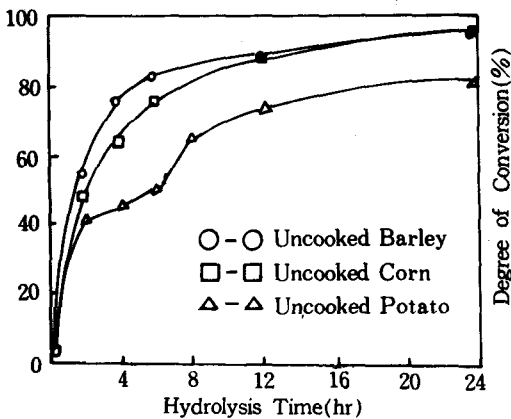


Fig. 2. Comparison of the progress of saccharification of uncooked barley, corn, and potato in an attrition-coupled reaction system.

hydrolysis"라 한다. 이러한 연구는 주로 cellulose를 대상으로 연구되어 왔다.^{16,17)}

전분질원료의 당화를 목적으로 분쇄마찰매체를 이용한 wet-milling 방법은 이등^{18,19,20)}에 의하여 많이 연구되었다. 이 등은 13g의 전분에 직경 3mm의 유리구 25g을 첨가하고 여기에 액화효소 (Termamyl, Novo) 100ul와 당화효소 (Diazyme L-300, Miles) 120ul를 첨가한 후 50℃에서 250 rpm으로 교반하여 전분질원료의 분해와 당화를 동시에 수행하였다. 여러가지 전분질원료에 대하여 반응시간에 따른 당화율은 그림 2와 같으며 쌀보리 전분을 이용하여 위와 같은 조건에서 완전 또는, 부분 당화시킨 당화액을 발효조건인 30℃에서 낮은 교반속도하에서 발효한 결과는 그림 3과 같다. 이러한 결과로부터 무중자 쌀보리 전분의 경우 4시간 분쇄마찰반응기내에서 부분 당화시킨후 알콜발효를 하는 경우 증자전분의 경우와 유사한 약 8%(w/v)의 알콜을 생산하는 것으로 보고하였다. 분쇄마찰반응기를 이용한 동시 당화발효를 하는 경우에는 발효속도 및 수율이 저조하였다. 분쇄마찰반응기를 이용한 무중자 전분을 당화하는 경우 전분질원료에 있어서 쌀보리, 옥수수 전분이 비교적 용이하게 분해되었으나 감자, 타피오카 전분의 경우는 당화속도 및 당화율이 떨어지는 것으로 나타

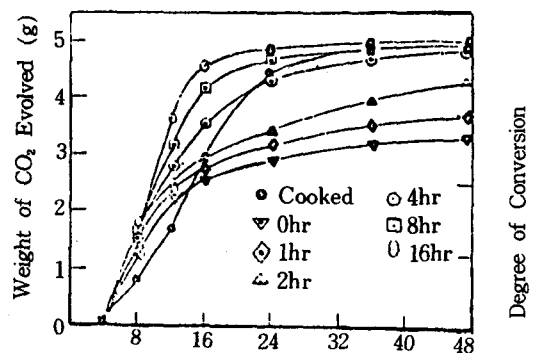


Fig. 3. Fermentability of completely or partially saccharified uncoked barley in an attrition-coupled system for various times.

났다. 실제 우리나라의 경우 주정용알콜의 대부분이 타피오카 전분인 점을 감안할때 문제가 될 것으로 보인다. 유리구를 첨가한 분쇄마찰반응기를 이용할 경우 무증자 전분을 당화시키기 위해서 높은 교반속도로 12-16시간 유지해야 함으로 비교적 높은 교반에너지가 소요될 것으로 예상된다. 이 등²⁰⁾은 agitated bead type bioattritor 를 이용하여 1리터 당화액에 대하여 220 g의 옥수수전분과 300 g의 유리구를 첨가하고 50℃에서 200 rpm으로 교반하여 12시간 가수분해 결과 90%의 당화율을 얻었다. 최적조건하에서 소요 에너지는 1.53 w/l 를 나타냈다. 현재로서는 증자공정과 정확히 비교하기에는 어려우나 일반적으로 옥수수전분으로부터 증자공정을 이용한 알콜발효에서는 당화공정에 4,000-8,000 KJ/ 1 pure ethanol의 에너지가 소모되는 것과 비교하면(1,22) 매우 적은 에너지가 소모되는 것으로 보인다. 위와 같은 분쇄마찰반응기를 이용하는 경우 당화에 필요하는 시간을 12시간으로 하고 최종적으로 8%(w/v)의 알콜을 얻을 수 있고 에너지가 1.53 w/l 소모된다고 가정할때 약 700 KJ/ 1pure ethanol이라는 에너지가 당화공정에 소요되므로 앞의 증자방법에 비해서 약 9-18%의 에너지가 소모되는 것으로 계산된다. 옥수수전분의 당화에 사용되는 에너지를 고려할때 좋은 방법으로 생각되나 감자, 타피오카전분의 경우에는 당화속도나 당화율이 낮은 점이 있고 또한, 정제된 전분을 사용하지 않고 기존의 공정대로 전분질원료를 마쇄한후 약 1mm의 입자를 사용하는 경우 위와 같은 에너지만으로 당화가 어려울 것으로 보인다.

3. 화학적 전처리방법을 이용한 무증자 전분의 당화와 발효

전분입자를 증자에 의한 구조변화와 유사한 구조로 변형시키기 위해서 화학적인 접근방법이 연구되고 있는데 용매처리 방법과 swelling

agent 처리방법이 있다. 최근의 연구 경향을 보면 ethylene diamine과 cadmium oxide를 포함하는 알카리용액(Cadoxen)을 이용하여 cellulose의 구조변화에 이용되었고 bagasse, corn등에 처리되었을때 5시간만에 약 80-90%의 당화율을 보였다^{23,24)}. 특히 최근에 Shambe와 Kennedy²⁵⁾에 따르면 밀집을 1M HCl에 포화된 LiCl₂용액으로 27℃에서 24시간 전처리한후 *Trichoderma viride* cellulase로 가수분해하였다. 이 경우 입자의 크기가 대단히 중요한데 150-250 mesh인 경우 20-23%를, 입자크기가 250-355 mesh인 경우 82-95.4%의 단당류를 얻을 수 있었다. Lignocellose 물질로 이루어진 밀집을 분해하는 연구로는 Gould와 Freer²⁶⁾등은 lignocellose 물질을 1% H₂O₂로 처리하고 NaOH로 pH를 11.5로 하여 알카리 조건하에서 전처리하여 hemicellulose 와 Lignin 성분을 대부분 가용화시켰으며 insoluble 성분으로는 대부분 cellulose 성분이 남아 있음을 보고하였다. Insoluble cellulose 도 결정성 구조가 많이 변하여 *Trichoderma reesei* cellulase를 처리하고 *Saccharomyces cerevisiae*로 발효함으로써 5일만에 이론치의 90% 이상되는 알콜수율을 얻을 수 있었다. 약알카리조건에서 다당류의 swelling을 유발하는 이 방법은 전분질 원료의 구조변화에도 효과적으로 응용될 수 있을 것으로 기대된다. 저자들^{27,28)}은 낮은 온도에서 산으로 전처리함으로써 효과적인 당화와 발효방법을 개발하였다. 무증자 전분을 낮은 온도에서 산으로 전처리하는 경우에는 전분의 효소당화를 크게 증가시키지 못하였으나 산처리 온도를 60℃로 증가시킴으로써 당화율을 크게 증가시킬 수 있었다. 산처리시 침지에 필요한 60℃ 정도의 온도는 특별히 가열할 필요없이 공장 폐수를 이용하면 가능할 것으로 보인다. 무증자전분을 산으로 전처리하는 경우 전분의 당화율과 알콜발효성은 그림 4, 그림 5와 같다. 산으로 전처리하는 경우 전분입

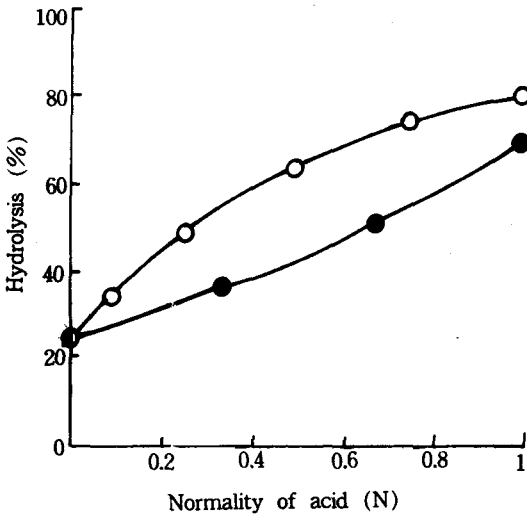


Fig. 4. Effects of acid steeping on the saccharification of uncooked cassava starch. After steeping in acid solution, samples were saccharified as described in the text. Hydrolysis was expressed as % total sugar converted.
○ : HCl and ● : H₂SO₄

자를 마쇄 (Maceration) 하는 효과가 뛰어나 pectin depolymerase를 사용할 필요가 없었고 입자의 크기도 매우 줄어드는 결과를 보였다. 또한, 효소로써 당화시킨 결과 당화속도와 당화율을 크게 향상시킬 수 있어 전분입자의 내부적인 구조변화가 일어난 것으로 사료되었다. 이러한 결과는 전자현미경 관찰(그림 6)과 전분입자의 침강 실험으로 확인할 수 있었다. 산으로 전처리하는 경우 hydroxymethylfulfural(HMF)의 생성으로 효모의 알콜 발효성을 억제하는 효과를 주는데 본 연구에서는 무중자 전분을 60°C에서 0.5N 염산으로 12시간 침지함으로써 HMF 생성량을 줄여 증자전분과 유사한 알콜발효율을 얻을 수 있었다. 그러나, 이와같이 비교적 온화한 조건에서 전분질 원료를 침지하는 경우 증자전분보다 전분구조의 소화정도가 떨어져 당화속도와 알콜발효 속도가 다소 떨어지는 경향을 보였다. 또한, 저자²⁰⁾들은 무중자 전분의

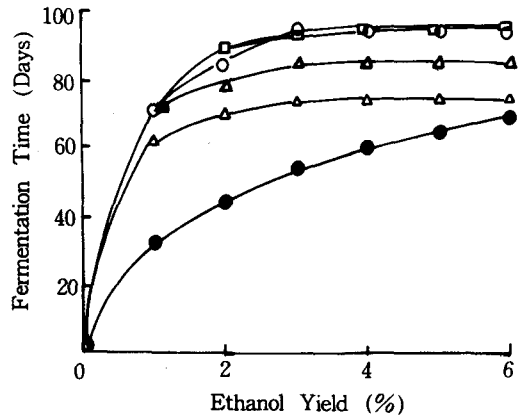


Fig. 5. Time course of alcoholic fermentation of various saccharified broths. Ethanol yield is expressed as a percentage of the theoretical value. The procedure for alcoholic fermentation is detailed in the text. ● : steeped in 0.25 N HCl solution or not acid-steeped, ○ : steeped in 0.5 N HCl solution, ▲ : steeped in 1 N HCl solution, △ : steeped in the 2 N HCl solution, and ■ : starch cooked under the conditions used in industry. Acid steeping was carried out at 60°C for 12 h.

sweling agent로써 NaOH를 사용하여 타피오카 전분의 당화와 발효에 관한 연구를 수행하였다. 알카리로 전처리하는 경우 최적조건이 무중자 타피오카 전분을 0.2 NaOH 용액으로 60°C에서 12시간 침지하는 경우 그림 7에서 보는 바와 같이 당화율과 알콜수율에 있어 증자전분과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 알카리로 전처리하는 경우는 산으로 전처리하는 경우와는 달리 전분입자의 마쇄효과가 없었으며 알카리 농도를 높이면 급격히 호화되어(그림 8) 점도의 증가가 나타나 교반이나 전처리원료의 수송이 문제가 될 것으로 보인다. 그러나, 생전분을 직접 이용할 수 있는 열대지역과는 달리 우리나라와 같이 전분질 원료를 외국에서 수입하는 경우 원료가 건조 상태로 수송되기 때문에 효소

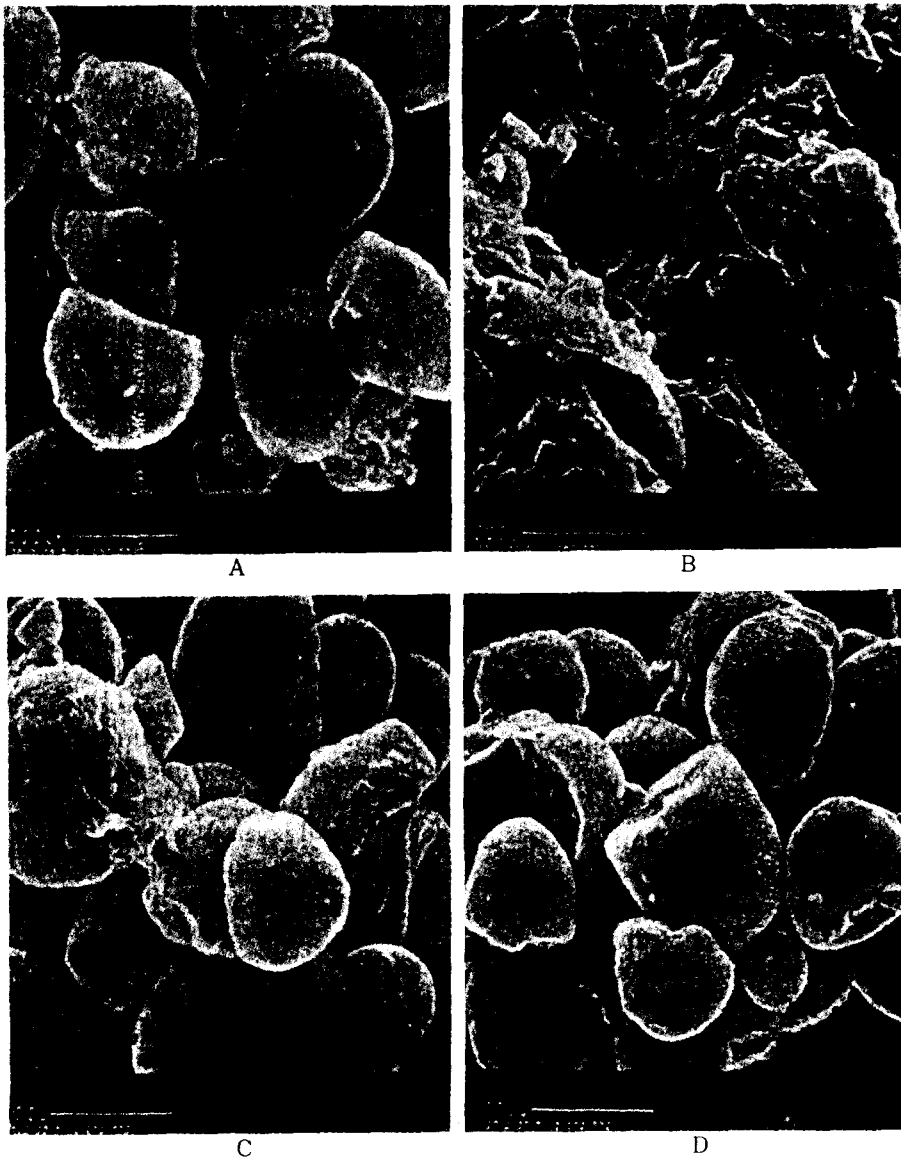


Fig. 6. Scanning electron microscopic photographs of cassava starch treated with various methods (2000-fold magnification).

A: raw cassava starch, B: cassava starch cooked at 100°C for 30 min, C: cassava starch treated with pectin depolymerase (3 mg/g starch) at pH 4.5, 2 h, 45°C, and D: cassava starch treated with 0.5 N HCl solution at 60°C for 12 h. Bars indicate 10 μ m.

류만으로 가수분해 하기는 어렵고 전분입자를 전처리하여 구조적으로 팽윤시킨후 효소로써

당화하는 방법이 사용되어져야 할 것으로 보인다. 이 경우 비교적 온화한 조건에서 산이나

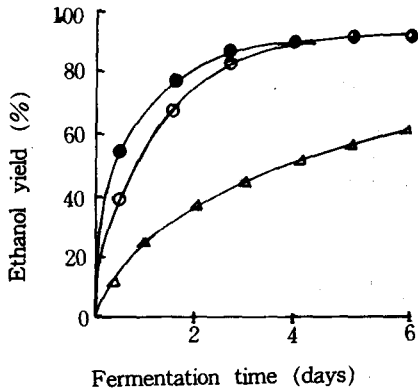


Fig. 7. Time course of ethanol fermentation of various saccharified broths. Ethanol yield is expressed as a percentage of the theoretical value. The procedure for ethanol fermentation is detailed in the text. Alkali steeping was carried out at 50°C for 12 h. △: steeped in 0.1N solution or not alkali steeped; ○: steeped in 0.2N NaOH solution; ●: steeped in 0.3N NaOH solution.

알카리로 전처리하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

일반적으로 화학적으로 전분질 원료를 전처리하는 경우는 전처리 용매비용이 많이드는 문제점이 있기 때문에 전처리 용매를 회수하여 재사용하는 방법을 개발하게되면 좀 더 경제적인 전분질 원료의 전처리 방법이 될 것으로 사료된다. 또한, swelling agent를 사용하는 경우에는 전분 입자내의 수소결합을 파괴하여 점도의 증가가 유발되는데 이것은 다음에 계속되는 작업을 어렵게 하기 때문에 점도증가를 최소화한 상태에 효과적으로 당화할 수 있는 방법이 개발되어야 할 것이다.

4. 여러가지 방법을 병용한 무중자 전분의 당화와 알콜발효

앞에서 언급한 바와 같이 무중자 전분을 알카리로 전처리하는 경우 점도의 증가가 큰 문제가

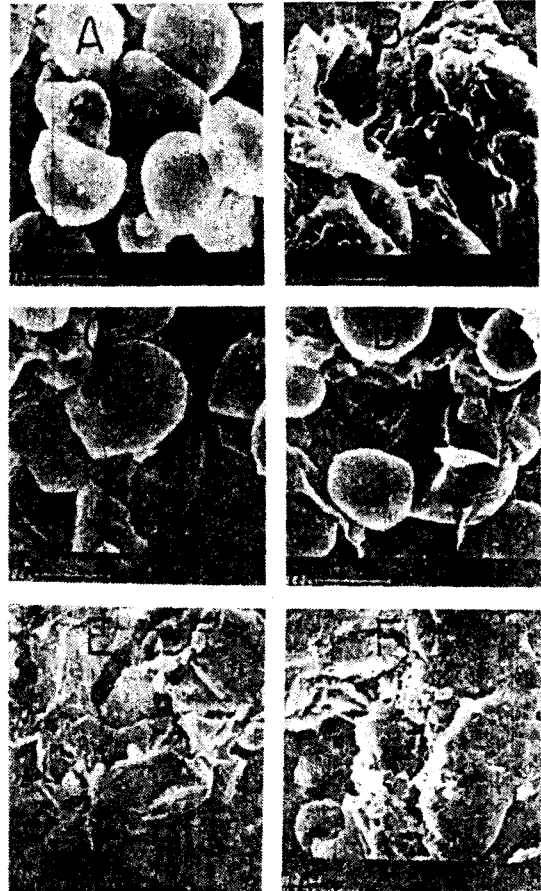


Fig. 8. Scanning electron microscopic photographs of cassava starch treated with various methods (2000-fold magnification). (A) Raw cassava starch. (B) Cassava starch cooked at 100°C for 30 min. (C) Cassava starch treated with 0.1 N NaOH solution at 50°C for 12 h. (D) Cassava starch treated with 0.2N NaOH solution at 25°C for 12 h. (E) Cassava starch treated with 0.2N NaOH solution at 50°C for 12 h. (F) Cassava starch treated with 0.3N NaOH solution at 25°C for 30 min.

되며 분쇄마찰 반응기를 사용하는 경우 감자, 타피오카 전분의 당화속도가 낮고 또한, 높은

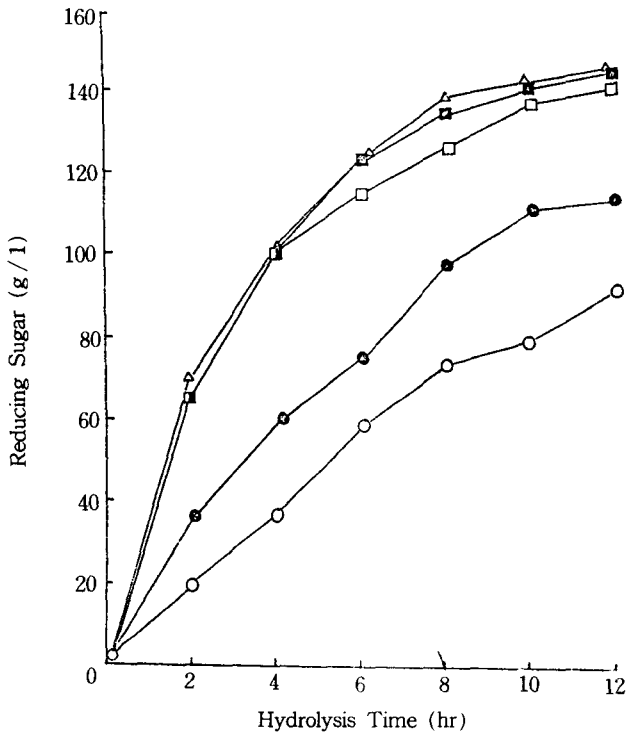


Fig. 9. Effect of steeping time on the hydrolysis of uncooked tapioca starch with bead-milling ○ : without steeping, ● : steeped in distilled water at 50°C for 12hr, □ : steeped in 0.15 N NaOH at 50°C for 1 hr, ■ : steeped in 0.15 N NaOH at 50°C for 4 hr.

교반속도를 유지해야 하므로 비교적 높은 에너지가 소요되는 문제가 있다. 저자들은 낮은 알칼리 농도에서 전분질 원료를 전처리하여 점도의 증가없이 타피오카 전분의 구조적 변화를 유도한 후 당화율을 높이기 위해 분쇄마찰 반응기를 이용하여 당화하는 실험을 수행하였다. 타피오카 전분 20g을 0.15N NaOH 용액 100ml에 넣고 50°C에서 침지한 후 pH를 4.5로 조절하고 Termamyl 60ul, San-super 240(Novo Ind) 40ul, 직경 3 mm의 유리구 40g을 넣고 50°C에서 250 rpm으로 교반하면서 당화한 결과는 그림 9와 같다. 타피오카 전분을 분쇄마찰반응기만으로 당화시키는 경우 10시간 반응후에 약 50%의 당화율을 나타내었으나 0.15N NaOH 용액으

로 50°C에서 2시간 침지하는 경우 당화속도가 현저히 증가되었으며 당화율도 크게 증가되어 약 93% 당화율(140g/l 환원당)을 보였다. 그림 9에서와 같이 0.15N NaOH를 처리하는 경우 점도의 증가없이 당화속도가 현저히 증가된 것으로 보아 전분입자 내부의 상당한 팽윤이 일어난 것으로 보여진다. 이러한 당화방법을 사용하는 경우 전분농도를 40%까지 효과적으로 당화할 수 있어 고농도 전분당화에 이용할 수 있을 것으로 사료된다. 낮은 농도의 알칼리로 침지한 후 분쇄마찰반응기를 이용하여 당화하는 경우 알칼리 침지만으로 구조변화를 유발하는 경우나 분쇄마찰반응기만으로 당화하는 경우의 문제점을 보완할 수 있는 것으로 기대된다. 앞으

로 계속적인 연구를 통하여 침지알카리 농도를 더욱 줄일 수 있을 것으로 예상되며 또한, 전분 당화와 알콜발효를 동시에 수행함으로써 당화시간을 더욱 절약할 수 있을 것으로 보인다. 저자들은 알카리로 전처리할때 Gould와 Freer²⁰의 방법에서와 같이 1% H₂O₂를 처리함으로써 알카리 농도를 pH 11.5로 낮출 수 있을 것으로 보고 이에 대한 연구를 진행중이다. 특히 위와같이 pH 11.5의 알카리 농도에서 전분의 구조적 변화가 유발되는 것과 동시에 액화시키기 위해서 pH 11.5에서 활성을 갖는 α -amylase를 탐색하여 *B.licheniformis* 로 추정되는 세균으로부터 최적온도가 50°C이며, 최적 pH가 9-12인 α -amylase를 토양으로부터 분리하였다. 이 효소는 pH 12까지 효소의 안정성과 활성이 높으며 특히 최적온도인 50°C에서 2시간까지 90%의 효소 활성을 유지하였다. 이 효소를 무중자 전분의 알카리 침지와 함께 처리함으로써 구조변화를 유발함과 동시에 액화함으로써 효율적인 무중자 전분의 당화방법이 될 것으로 기대된다. 저자들은 타피오카 전분을 낮은 농도로 전처리한후 분쇄마찰반응기를 이용한 당화방법과 알카리전처리와 동시에 액화시킬 수 있는 효소를 이용한 당화방법을 개발중에 있으며 최종적으로 최적화하여 에너지면이나 경제성면에서 검토되어질 것으로 보인다.

저자들은 새로운 전분의 액화, 당화 방법으로 Twin-screw extruder를 사용하는 방법을 개발중에 있다. 그림 10에서 나타난 바와 같이 Extruder를 사용하여 완전 호화시킨 시료를 당화하는 경우 증자전분에 비해서 100%의 당화율을 나타내었다. Extruder를 사용하여 완전 호화하는 경우 본 연구의 system에서 시간당 40 Kg의 전분을 처리할 수 있었고 specific energy는 185 Kwh/ton이었다. 에너지를 줄이기 위하여 specific energy가 100 Kwh/ton인 조건으로 바꾸어 전분을 호화시켰을 때 완전

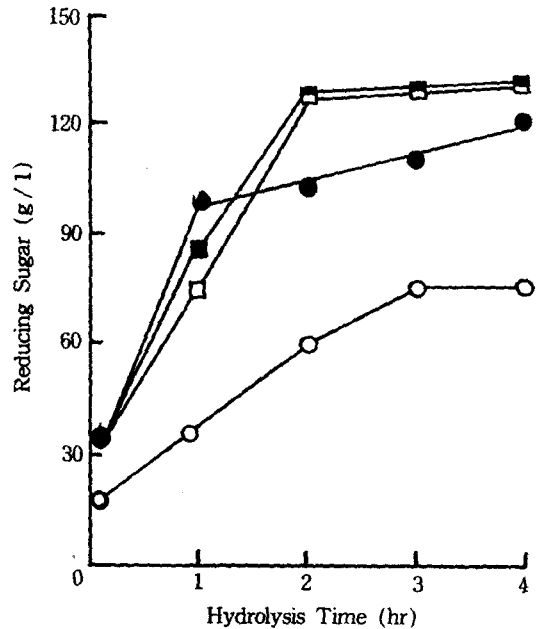


Fig. 10. Hydrolysis of tapioca pellet extruded with twin-screw extruder(Buchler, DNDL-44, Switzerland)
 ○ : Tapioca pellet, ● : cooked tapioca pellet, □ : extrudate of tapioca pellet at specific energy, 100 Kwh / ton, ■ : extrudate of tapioca pellet at specific energy, 185 Kwh / ton.

호화시킨 시료와 거의 동일한 당화속도가 당화율을 보였다. 이런 부분 호화조건에서 barrel의 온도분포가 121°C-130°C가 되는데 이때 내열성 α -amylase인 Termamyl을 0.6%(v/v) barrel 내부로 feeding한 결과 총환원당의 약 15%의 환원당이 측정되어 Extrusion 동시에 상당한 효소반응이 일어나는 것으로 보이며 또한, 사출구를 빠져나온 후에도 α -amylase 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 보아 Twin-screw extruder을 이용한 전분의 동시 호화와 액화가 가능할 것으로 기대된다. 전분의 Extrusion에 의한 호화 및 액화를 전분공업, 알콜발효 공업에 설치비용, 증자비용 등을 절감할 수 있어 경제적인 당화 방법이 될 것으로

사료된다.

III. 전 망

지금까지 무증자 전분의 당화와 알콜발효에 관하여 고찰하여 보았다. 미국 등에서 주로 전분의 산분해방법이 연구되고 있는데 Azhar³⁰⁾ 등에 따르면 0.034N HCl로 154℃에서 24분 가수분해하여 61%의 당화율을 얻을 수 있었으나 3.43%(w/v)의 HMF생성으로 알콜발효가 수제되었다. 전분의 고온 단시간 산처리 방법은 에너지를 줄일 수 있는 방법으로 생각되나 가열공정이 필요하며 본고에서는 포함시키지 않았다. 무증자 전분의 알콜발효방법은 무증자 전분에 특이적으로 반응성이 큰 효소의 개발과 무증자 전분의 물리적, 화학적 전처리방법 및 이들을 병용하는 방법이 주로 개발되고 있는 실정이다. 무증자 전분에 반응성이 큰 효소류나 내알카리성, 내산성 효소류의 개발이 계속되어야 할 것으로 보이며 이러한 효소들을 유전공학 기술을 이용하여 대량생산함으로써 무증자 전분의 당화와 알콜발효의 실용화를 앞당길 수 있을 것으로 기대된다. 이러한 효소류의 개발은 특히 전분질 원료를 직접 생산하는 브라질을 비롯한 열대지방에서 효과적인 방법으로 사료되는데 그 이유는 식물에서 저장된 전분은 많은 부분이 물과 수소결합을 이루고 있어 효소에 의해서 더욱 용이하게 분해될 수 있기 때문이다. 우리나라처럼 전분질 원료를 외국에서 대부분 수입해서 사용하는 경우는 전분질 원료가 건조상태로 수송되기 때문에 전분입자를 팽화시키기 위해서는 전처리방법이 필요하다. 이런 점에서 효소류의 개발과 함께 물리, 화학적 전처리방법의 개발이 중요하다. 또한, 물리, 화학적 전처리방법을 포함하는 무증자 전분의 알콜발효기술의 개발은 전분 이외에도 많은 biomass를 차지하고 있는 cellulose, hemicellulose, xylan, Lignin 등에 응용할

수 있어 이들 기질을 이용한 알콜발효연구나 가축사료로서 소화율을 높이는 연구등 농산폐기물 이용기술개발에 크게 기여할 수 있을 것으로 전망된다.

IV. 결 론

무증자 전분의 알콜발효는 기존의 증자공정을 제거하여 전체 소모에너지의 30-40%를 절약하는 새로운 전분의 당화, 발효방법을 개발하기 위한 연구로써 효소류의 개발, 물리, 화학적 전처리기술의 개발 및 이들을 병용한 방법의 개발이 진행되고 있다. 현재까지 증자수준과 유사한 결과들을 얻고 있으나 효소사용량의 과다, 전처리 비용, 낮은 당화속도 및 발효속도, 기타 작업공정상의 문제점들이 남아 있으며 앞으로 계속적인 연구를 통하여 에너지면에서나 경제적인 면에서 보다 유리한 무증자 전분의 당화 및 발효방법이 개발될 것으로 기대된다.

V. 참고문헌

1. Misselhorn, K., Ethanol production under energy-efficient conditions in stand der Technik, PP. 47-55(1979).
2. Staff, Chem. Eng. News, Eng. News, 58 (20,21)(1980).
3. Miah, M.N.N. and Ueda, S., Starke, 29, 235(1977).
4. Medda, S., Saha, B.C., and Ueda, S., J. Ferment. Technol., 60, 261(1982).
5. Saha, B.C. and Ueda, S., J., Ferment. Technol., 61, 67(1983).
6. Ueda, S. and Saha, B. C., Enzyme Microb. Technol., 5, 196(1983).
7. Saha, B.C. and Ueda, S. Biotechnol. Bioeng., 25, 1181(1983).

8. Bae, M. and Lee, J. M., Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng. 11(3), 181(1983).
9. Ueda, S., Zenin, C.T., Monteiro, D.A., and Park, Y.K., Biotechnol. Bioeng., 23, 291(1981)
10. Svendsby, O., kakutani, K., Matsumura, Y., Iizuka, M., and Yamamoto, T., J. Ferment. Technol. 68(6), 485(1981)
11. Cowling, E.B. and Kirk, T.K., Biotechnol. Bioeng. Symp., 6, 95(1976).
12. Chou, T., Ph. D. Dissertation, Purdue University, May 1980.
13. Chang, M. and Tsao, G.T., colloque Cellulolyse Microbienne, P 27 CNRS Marseilles, France(1980).
14. Seaman, T.E., Millett, M.A., and Lawton, E.J., Ind. Eng. Chem., 44, 2848(1952)
15. Sarkov, V.I., and Levanova, V.P., Gidroliz. Lesoknim. Prom., 31(1), 5(1960).
16. Kelsey, R.G. and Shafizaden, F., Biotechnol. Bioeng., 22, 1025(1980).
17. Nielsen, B.H. and Rosendahl, P., Proc. Int. Symp. Alcohol Fuels Technol., Sao Paulo, Brazil, October(1980).
18. Lee, Y.H. and Jo, K.H., Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng., 14(1), 29(1986).
19. Jo, K.H. and Lee, Y. H., Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng., 14(5), 407(1986).
20. Jo, K.H., Lee, S.H., and Lee, Y.H., Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng., 15(3), 196(1987).
21. Lee, Y.H. and Park, J.S., Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng., 17(4), 349(1989).
22. Scheller, W.A. and Mohr, B.J., Am. Chem. Soc. Div. Fuel Chem. Prepr., 21(2), 28(1976).
23. Ladisch, M.R., Ladisch, C.M. and Tsao, G.T., Science, 201, 743(1978).
24. Tsao, G.T., Process Biochem., 13(10), 12(1978).
25. Shambe, T. and Kennedy, F., Enzyme Microb. Technol, 6, 169(1984).
26. Gould, J.M. and Freer, S.N., Biotechnol. Bioeng., 26, 628(1984).
27. Lee, S.Y., Shin, Y.C., Lee, S.H., Kim, H.S., Park, S.S. and Byun, S.M., Korean J. Food Sci. Technol., 16(4), 463(1984).
28. Lee, S.Y., Shin, Y.C., Kim, H.S. and Byun, S.M., J. Ferment. Technol., 63(1) 51(1985).
29. Shin, Y.C., Lee, S.Y., Choe, Y.K., Kim, H.S., and Byun, S.M., Biotechnol. Bioeng. 28, 627(1986).
30. Azhar, A. and Hamdy, M.K., Biotechnol. Bioeng. 23, 879(1981).