

# 人蔘粕 添加가 알콜醱酵用麴의 酵素生成에 미치는 影響

金相達, 都在浩, 李鍾喆

韓國人蔘煙草研究所

(1982년 7월 7일 접수)

## Effect of Red Ginseng Residue on Various Enzyme Production of Alcohol Fermentation Koji

Sang-Dal Kim, Jae-Ho Do, and Jong-Chul Lee

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute Seoul, Korea

(Received July 7, 1982)

### Abstract

The effect of red ginseng residue on the several enzyme activities of the koji and alcohol fermentation were investigated.

The koji showed maximum values of amylase and cellulase activity when it was prepared by 30% red ginseng residue and 70% wheat bran, and of protease activity when it was prepared by 40% red ginseng residue and 60% wheat bran.  $\alpha$ -amylase activity of the koji during its fermentation was increased rapidly until 4 days and there after it was increased slowly, but  $\beta$ -amylase was rapidly increased after 3 days fermentation. During the preparation of the koji, the acidic, neutral protease and cellulase activities showed the maximum value after 3 days fermentation and the alkaline protease showed the maximum value within 4-6 days fermentation.

On the otherhand, fermented broth, containing 6%(v/v) alcohol, could be obtained when the substrate was saccharified by the koji, based on 25% red ginseng residue and 75% wheat bran, prior to alcohol fermentation.

### I. 緒 論

人蔘의 効能에 對한 科學的인 研究는 細胞壽命延長效果<sup>1)</sup>, 血清, 肝臟 cholesterol 合成促進<sup>2,3)</sup>, 核 RNA 合成促進效果<sup>4)</sup>, 血清蛋白의 合成促進<sup>5,6)</sup>, antilipolytic substance<sup>7,8)</sup> 등이 報告되고 있으나 人蔘粕의 活用に 對한 研究는 거의 없으며 단지 産卵鷄에 對한 營養學的 效果<sup>9)</sup>, 乳牛에 對한 牛乳生産 및 牛乳品質에 미치는 影響<sup>10)</sup>, 酵母의 增殖 및 Alcohol醱酵에 미치는 影響等 數種의 報告에 不過하다.

人蔘을 물 또는 alcohol로 抽出하여 蔘精을 얻고 남은 副産物인 人蔘粕은 거의 活用되지 않고 廢棄되고 있기 때문에 그 活用方案이 시급히 講究되어야 한다고 본다. 그 活用方案의 一環으로 人蔘粕을 利用해서 Alcohol醱酵用 麴을 製造하였는데 우리나라의 在來式 釀造用 麴(Koji)의 原料는 小麥을 主로 使用하여 왔으나 지금까지 생밀기울<sup>11)</sup>, 통밀<sup>12)</sup>, 밀가루와 밀기울<sup>13,14)</sup>, 밀기울과 타피오카混合物<sup>15)</sup> 등의 대체원료들이 개발되어 있다.

그래서 著者等은 人蔘粕을 밀기울과 混合하여 Alcohol醱酵用 麴을 製造하면서 各種 酵素生成能과 Alcohol 醱酵能을 調査한 結果를 報告한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 人蔘粕

紅尾蔘을 75% ethyl alcohol로 65°C에서 8시간씩 3회抽出하고 남은 人蔘粕을 風乾하여 Wiley mill(1mm sieve)로 粉碎한 後 50mesh 以上の 粒子를 使用하였다.

### 2. 粉麴 및 酵母

製麴試驗의 麴菌源으로는 國稅廳技術研究所에서 分讓받은 市販粉麴(S醱酵企業社製品)을 使用하였으며 Alcohol 醱酵에 使用한 酵母는 *Saccharomyces* 屬의 酵母(P酒精工業社製品)였다.

### 3. 人蔘粕의 一般成分分析

人蔘粕의 水分, 粗蛋白, 粗脂肪 및 灰分은 常法에 依하여 分析하였으며 全糖은 鹽酸으로 分解시킨 後 中和하여 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid) 發色法<sup>19)</sup>에 依해 分析하였다.

### 4. 麴(Koji)의 製造

人蔘粕과 밀기울을 比率를 달리하여 混合한 後 同量의 물을 加해서 121°C에서 30分間 加壓殺菌하고 粉麴을 一定量씩 添加한 後 30°C에서 5日間 麴培養시켰다.

### 5. 粗酵素의 調製

培養된 麴을 5倍의 1/100M-acetate buffer (pH5.0)로 浸出하여 濾過한 後 遠心分離(3,300 ×g, 30min)하여 그 上澄液을 粗酵素로 使用하였다.

### 6. 酒精醱酵 및 Alcohol定量

100°C에서 1時間 蒸煮시킨 高구마를 原料로하여 미리 製造된 麴을 原料의 10%가 되게 添加하여 50°C에서 8時間 糖化시킨 後 酵母培養液을 加하여 30°C에서 4日間 醱酵시켰다. 이때 生成된 alcohol 量은 蒸溜後 重量法<sup>20)</sup>으로 定量하였다.

### 7. 麴製造中 酵素活性度 測定

밀기울과 人蔘粕을 7 : 3의 比率로 混合하여 殺菌한 後 市販粉麴을 接種하여 30°C에서 7日間 培養시키면서 經時的으로 酵素生成能을 測定하였다.  $\alpha$ -amylase 및  $\beta$ -amylase는 pH5.0에서 1% Soluble Starch를 基質로 하여 40°C에서 10分間 反應시킨 後  $\alpha$ -amylase는 iodine發色法,  $\beta$ -amylase는 DNS發色法<sup>19)</sup>으로 測定하였으며 protease 中 酸性Protease는 pH3.0에서, 中性Protease는 pH7.0, Alkali性 protease는 pH10.0에서 0.6% casein溶液을 基質로 하여 37°C에서 30分間 反應시킨 後 Folin發色法으로 測定하였다. cellulase는 1% CMC-Na(carboxyl methyl cellulose sodium salt)를 基質로하여 40°C에서 30分間 反應시킨 後 DNS 發色法<sup>19)</sup>으로 測定하였다.

## III. 結 果

### 1. 人蔘粕의 一般成分

人蔘粕의 一般成分을 調査한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. General compositions of red ginseng residue.

(Unit: %)				
Moisture	Crude protein	Crude fat	Total sugar	Ash
11.5	7.5	0.8	46.7	3.2

2. 人蔘粕 添加比率에 따른 Amylase 生成力

人蔘粕을 밀기울에 70%까지 混合添加하여 製造한 人蔘粕麴의 Amylase 生成力을 調査한 結果는 Fig. 1 과 같이 人蔘粕을 30%添加時 amylase 生成力이 가장 컸는데 이 경우 約 9% 程度의 amylase 生成力을 증가시켰으며 人蔘粕 添加比率이 커질수록 그 生成力이 오히려 減少하는 傾向이었다.

한편 麴제조과정 중 amylase활성변화를 살펴본 結果는 다음과 같다. 즉, 밀기울에 人蔘粕을 30% 添加하여 殺菌한 後, 市販粉麴을 原料의 1/10씩 接種하여 30°C에서 7日間 麴培養시키면 서 經時的으로  $\alpha$ -amylase와  $\beta$ -amylase生成能을 調査한 結果는 Fig. 2 와 같다.

麴製造에 있어서 가장 큰 指標가 되는 amylase 中  $\alpha$ -amylase 活性은 培養 4日까지 급격히 增加하다가 그 後 부터는 서서히 增加하였으며  $\beta$ -amylase는 3日까지는 서서히 增加하다가 培養 3日 以後부터는 급격히 增加하였다.

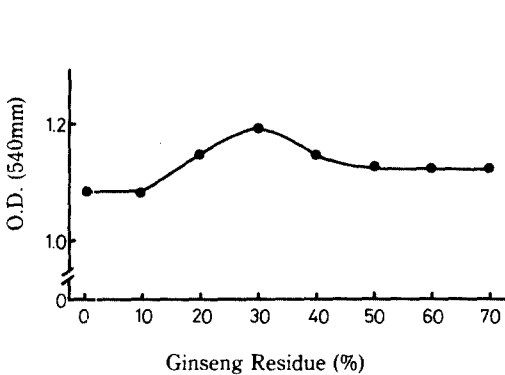


Fig. 1. Amylase productivity of koji based on wheat bran and red ginseng residue.

The enzyme reaction was carried out at pH 5.0(M/100 acetate buffer), 40°C for 10min. and the enzyme activity was measured by DNS method (540nm). The koji was cultivated at 30°C for 7 days.

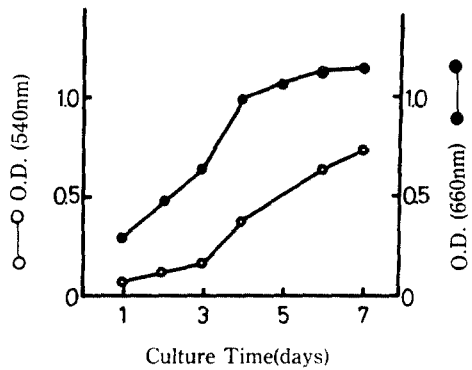
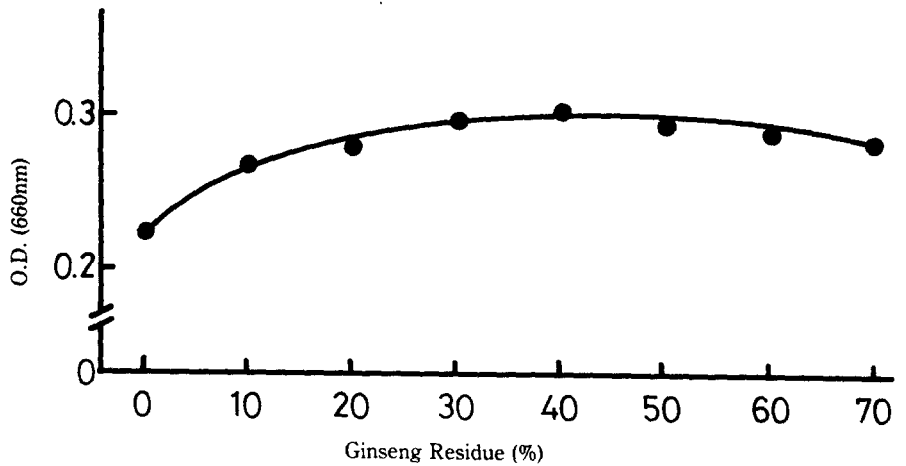


Fig. 2. Changes of amylase activities during koji fermentation.

The enzyme reaction was carried out at pH 5.0(M/100 acetate buffer), 40°C for 10min.  $\alpha$ -amylase activity (●—●) was measured by iodine method(660nm)  $\beta$ -amylase activity (○—○) was measured by DNS method(540nm).

3. 人蔘粕 添加比率에 따른 Protease 生成力

麴 製造時 人蔘粕의 添加가 Protease 生成力에 미치는 影響을 調査하기 위해서 人蔘粕을 70% 까지 添加하여 본 結果 Fig. 3 과 같이 人蔘粕을 40% 添加時 Protease 生成力이 가장 컸다.



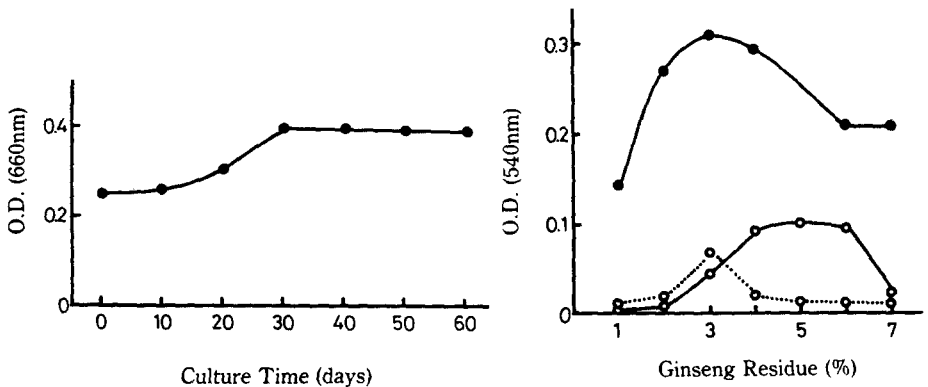
**Fig. 3.** Protease productivity of koji based on wheat bran and red ginseng residue

The enzyme reaction was carried out at pH 5.0(M/100 acetate buffer), 40°C for 30min. and the enzyme activity was measured by folin method (660nm) The KOJI was cultivated at 30°C for 7 days.

製麴中の protease 活性를 經時的으로 調査한 結果는 Fig. 4 와 같이 酸性 protease의 生成이 가장 높았다. 酸性 protease와 中性 protease의 活性은 3日 麴培養 함으로서 最大值에 到達했으며 그 以後에는 차차 減少하였다. 그러나 alkali性 protease의 活性은 4~6日 사이에 最大值를 나타내었다.

**4. 人蔘粕 添加比率에 따른 Cellulase 生成力**

人蔘粕을 밀기울에 60%까지 混合添加하여 人蔘粕麴의 cellulase生成力에 미치는 影響을 調査한 結果는 Fig. 5 와 같이 30% 添加區에서 가장 큰 cellulase 生成力을 나타냈으며 그 以上 添



**Fig. 4.** Changes of protease activities during koji fermentation.

The reaction of acidic, neutral, alkaline protease were carried out at pH 3.0(acetate buffer), 7.0(McIlvaine buffer), 10.0(Clark & Lubs buffer) respectively and measured by folin method  
 acid protease: ●—●, neutral protease: ○-----○, alkaline protease: ○—○

**Fig. 5.** Cellulase productivity of koji based on wheat bran and ginseng residue.

The enzyme reaction was carried out at pH 5.0(M/100 acetate buffer), 40°C for 30min. and the enzyme activity was measured by DNS method (540nm). The koji was cultivated at 30°C for 7 days.

加했을 때에는 큰 變化가 없었다.

製麴中の cellulase 活性을 經時的으로 調査한 結果 麴培養 1日부터 급격하게 그 活性이 增加하다가 2日부터는 서서히 增加하였다. (Fig. 6)

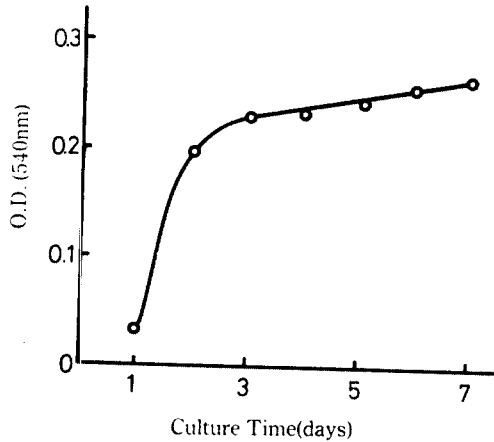


Fig. 6. Changes of cellulase activities during koji fermentation.

The enzyme reaction was carried out at pH 5.0(M/100 acetate buffer), 40°C for 30min. and the enzyme activity was measured by DNS method (540nm).

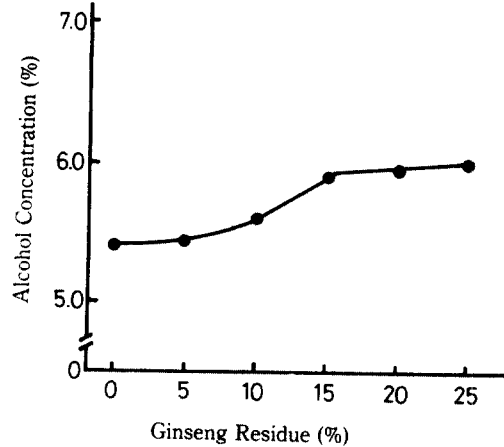


Fig. 7. Alcohol fermentation ability of koji based on red ginseng residue and wheat bran.

### 5. 人蔘粕 添加比率에 따른 Alcohol 醱酵力

人蔘粕 添加比率에 따라 製造한 人蔘粕麴을 使用하여 高구마 澱粉을 糖化시킨 後 alcohol 醱酵力을 調査한 結果는 Fig. 7 과 같다. 人蔘粕을 25% 添加한 麴을 使用하여 醱酵시킴으로서 無添加區의 alcohol 含量이 5.4% (w/v) 였음에 비해 6.0% (w/v) 로써 그 alcohol 醱酵力을 約 11% 增加시킬 수 있었다.

## IV. 考 察

밀기울에 人蔘粕의 比率을 달리하여 麴을 製造하여 본 結果 amylase 및 cellulase는 人蔘粕을 30%, protease는 40% 混合하여 麴을 製造하였을 때가 그 活性이 가장 높았으며 alcohol 醱酵力은 人蔘粕을 25% 添加했을 때 無添加區에 比해서 約 11%를 增加시킬 수 있었다. 이는 朱<sup>1)</sup> 등의 人蔘粕糖化液 添加로 alcohol 醱酵力을 增加시켰다는 報告와 類似하게 人蔘粕의 添加比率이 커질수록 alcohol 醱酵力도 增加하였다. 한편 alcohol 醱酵力의 增加率이 酵素生成力보다 2% 程度 더 增加한 것은 人蔘粕이 酵母生育을 促進한다는 報告<sup>2)</sup>를 감안해 볼 때 人蔘粕 添加로 製麴 過程中 酵素生成力 增加뿐만 아니라 alcohol 醱酵過程中 酵母生育이 促進되어 附加的으로 增加原因이 된 것으로 推測된다. 製麴過程中 amylase 生成은 山本等<sup>3)</sup>의 白醬油製麴中  $\alpha$ - $\beta$ -amylase 生成이 48時間에 最大에 到達한다는 報告와는 相異하나 廣井等<sup>4)</sup>의 紅麴製造過程中에  $\beta$ -amylase 가 계속 增加한다는 報告와는 類似하다. 한편, 尹等<sup>5)</sup>은 *Aspergillus usami shirousamii* U<sub>2</sub> 菌

을 밀가루와 밀기울을 利用하여 製麴試驗한 結果, 밀가루培地에서는 3日째, 밀기울培地에서는 4日째 amylase 活性이 最高值에 到達했다고 報告했다. 이와같이 酵素量의 最大生成時間이 變하는 現象은 製麴時 麴原料<sup>23)</sup>, 菌의 種類<sup>24)</sup>, 菌體의 年齡<sup>25)</sup>, 核酸系物質<sup>26)</sup>, amino酸<sup>27)</sup> 및 溫度<sup>28)</sup>에 따라 變한다는 報告等에서도 찾아 볼 수 있다.

麴中の protease는 amylase와 함께 重要한 酵素中の 하나이다. 製麴過程中 protease의 生成은 pH, 溫度, 水素ion 濃度<sup>29)</sup>, 炭素源과 窒素源의 含量<sup>30)</sup> 등에 따라서 酵素의 活性과 生成能이 變化하지만 一般의으로 酸性, 中性, alkali性 protease의 活性이 보통 培養 50~60時間에 最大值에 到達했으나 人蔘粕麴을 使用한 本 實驗에서는 酸性, 中性 protease는 72時間, Alkali性 protease는 4~6日 사이에 그 活性이 最大值에 達했다.

釀造食品의 製造에는 지금까지 protease, amylase의 活性이 強力한 麴菌이 利用되었지만 最近에는 纖維質高含量 原料의 利用面에서 植物細胞壁의 分解에 關여하는 cellulase, hemicellulase, pectinase 生成力等에 對해서도 생각을 아니할 수 없다.

麴菌인 *Aspergillus niger*가 生産하는 Hemicellulase<sup>31~33)</sup>, 麴 mold類의 xylanase<sup>34)</sup>, 大豆細胞壁多糖類의 分解<sup>35)</sup>等 麴菌의 cellulase群에 對한 報告들이 있으나 아직까지 不明確한 點이 많다. 本 實驗에서는 培養 3日째 cellulase 活性이 거의 最大에 達해서 7日까지 서서히 增加했다. 이 結果는 山本<sup>36)</sup> 등의 xylanase 活用に 對한 報告와 비슷하며 山本等은 xylanase와 protease, saccharifying power,  $\alpha$ -amylase와의 相關關係,  $\alpha$ -amylase와 protease와의 相關關係, saccharifying power와 protease와의 相關關係中 xylanase 活性과 中性, alkali性 protease 活性間에 高度의 相關關係가 있다고 報告했다. 그러므로 人蔘粕麴의 培養은 約 3日程度로도 充分하다고 생각된다. 本人等도 麴中の 酵素와의 關係, 人蔘粕內的 70% alcohol 不溶性物質中の 酵素生成能에 關여하는 物質의 存在 可能性에 對해서 계속 研究되어야 하겠다.

## V. 要 約

人蔘製品 製造過程中的 副産物인 人蔘粕을 添加한 alcohol 醱酵用 麴을 製造하면서 酵素生成力, alcohol 醱酵力等을 調査하였다. 밀기울에 人蔘粕을 30% 添加함으로써 amylase, cellulase 活性이 最大가 되었으나 protease는 40% 添加함으로써 그 活性이 最大가 되었다. alcohol 醱酵力은 人蔘粕을 25% 添加했을 때 無添加區의 5.2% (w/v)에서 6.0% (w/v) 까지 增加시킬 수 있었다. 한편 製麴中の  $\alpha$ -amylase는 培養 4日까지는 급격히 增加하다가 그 以後에는 서서히 增加했으나  $\beta$ -amylase는 3日까지는 서서히 增加하다가 3日 以後부터는 빠른 速度로 增加했다. protease 活性은 酸性, 中性 protease가 3日째, alkali性 protease는 4~6日 사이에 最大活性을 보였으며 cellulase는 3日째 거의 最大活性을 나타냈다.

## 參 考 文 獻

1. 庄司順三: 化學の領域, 35, 414 (1981)
2. Sakakibara, J., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J.: *Chem. Pharm. Bull.* 23, 1009 (1975)
3. Gommori, K., Miyamoto, F., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J.:

- Chem. Pharm. Bull.* , 24, 2985(1976)
4. Ikehara, M., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.* , 26, 2844(1978)
  5. Iijima, M., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.* , 24, 2400(1976)
  6. Iijima, M., Higashi, T. : *Chem. Pharm. Bull.* , 27, 2130(1979)
  7. Shibata, Y., Nozaki, T., Higashi, T., Sanada, S., Shoji, J. : *Chem. Pharm. Bull.* , 24, 2818(1976)
  8. Shibata, Y., Natsuno, Y., Higashi, T. : *Chem. Pharm. Bull.* , 26, 3822(1978)
  9. Okuda, H. : *Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium*, 75, Korea Ginseng Research Institute, Korea(1978)
  10. Okuda, H., Yoshida, R. : *Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium*, 53, Korea Ginseng Research Institute, Korea(1980)
  11. 주현구, 이강욱, 최병규, 박면용, 홍성표 : 韓國食品科學會誌, 7, 11(1975)
  12. 한석현, 주현규 : 高麗人蔘學會誌, 3, 54(1979)
  13. 朱茲圭, 權宇鍵 : 韓國産業微生物學會誌, 7, 191(1979)
  14. 이성범, 최경환, 임동순, 김덕치 : 韓國微生物學會誌, 7, 159(1969)
  15. 李斗永 : 韓國微生物學會誌, 7, 41(1969)
  16. 鄭鎬權 : 韓國食品科學會誌, 2, 88(1970)
  17. 정순태 : 固體麴의 製造法, 韓國特許 231號(1971)
  18. 장두성 : 타피오카 酒精粕을 利用한 麴의 製造方法, 특허공보, 293(1976)
  19. Colowick, S. P., Kaplan, N. O. : *Methods in Enzymology* I, Academic Press Inc., 149, New York(1955)
  20. 國稅廳技術研究所 : 관계법규집, 35(1973)
  21. 山本 泰, 柳田藤治, 作江金之 : 日本食品工業學會誌, 19, 30(1972)
  22. 尹福鉉, 朴允伸, 李錫健 : 韓國食品科學會誌, 7, 238(1975)
  23. 外村健三, 田辺 脩 : 日本農藝化學會誌, 28, 227(1954)
  24. 朱鉉圭, 姜周勳, 車源燮 : 韓國産業微生物學會誌, 6, 9(1978)
  25. 外村健三, 田辺 脩 : 日本農藝化學會誌, 30, 596(1956)
  26. 外村健三, 田辺 脩 : 日本農藝化學會誌, 30, 598(1956)
  27. 外村健三, 鈴木英雄, 西納啓吾, 田辺 脩 : 日本農藝化學會誌, 32, 591(1958)
  28. 松島欽一 : 日本農藝化學會誌, 29, 87(1954)
  29. 元永和生, 三浦勇吉 : 日本農藝化學會誌, 32, 422(1957)
  30. 福本壽一郎, 辻阪好夫, 竹西繁行 : 日本農藝化學會誌, 44, 447(1970)
  31. 辻阪好夫, 松山圭一郎, 竹西繁行, 福本壽一郎 : 日本農藝化學會誌, 45, 253(1971)
  32. 辻阪好夫, 松山圭一郎, 竹西繁行, 福本壽一郎 : 日本農藝化學會誌, 46, 155(1972)
  33. 山本 泰, 東 和男, 好井久雄 : 日本食品工業學會誌, 28, 9(1981)
  34. 菊地忠昭, 石井茂孝, 福島男兒, 横塚保 : 日本農藝化學會誌, 45, 228(1971)
  35. 菊地忠昭 : 日本農藝化學會誌, 50, 273(1976)
  36. 廣井忠夫, 高橋 剛, 嶋 梯司, 鈴木恒夫, 月剛 本, 小笠原長宏 : 日本農藝化學會誌, 55, 1(1981)