

## 생전분의 당화와 주정발효

한면수 · 정동호

중앙대학교 식품가공학과

# Saccharification and Ethanol Fermentation from Uncooked Starch using *Aspergillus niger* Koji

Myun-Soo Han and Dong-Hyo Chung

Department of Food Science and Technology, Chung-ang University, Seoul

### Abstract

The energy for cooking starch prior to saccharification could be saved by fermenting raw starch into ethanol using *Aspergillus niger* koji of wheat bran. Optimum cultivation time to produce glucoamylase was 4 days in wheat bran medium. The rate of saccharification from uncooked corn starch were optimum at pH 3.3 and 40-50°C. Corn and sweet potato starch were saccharified more efficiently by wheat bran koji than other tested starch sources. 5 days of fermentation were required for optimum yield of ethanol using a mixture of *Aspergillus niger* koji and dried yeast. Final ethanol yields from raw corn, sweet potato, and rice starch with agitation at the rate of 100 rpm were about 95% at 30°C.

### 서 론

에탄올이 대체에너지 자원으로써 새롭게 부각되어짐에 따라 에탄올의 대량생산 및 효율적인 생산에 대한 연구가 관심이 되고 있다. 종래의 전분을 이용한 에탄올 발효는 원료전분의 증자과정을 거치게 되므로 에탄올 생산 총에너지의 약30% 이상을 증자에너지가 차지하고 있다. 따라서 증자에너지를 절감시키기 위한 연구가 이루어지고 있으며 이들 연구는 대체로 원료전분을 화학적으로 호화 및 당화하는 방법<sup>1,2)</sup>과 전분을 증자없이 당화하는 효소제를 이용하는 방법으로 대별된다.

최근 여러 연구자들이 *Aspergillus*<sup>3,4)</sup>속 *Rhizopus*<sup>5)</sup>속 및 기타 세균<sup>6)</sup> 등이 생산하는 당화효소를 사용하여 전분을 증자없이 당화시켜 알코올 발효를 시도하고 있으며, 오늘날 공업적으로 사용되고 있는 증자전분의 발효조전내에서 알코올을 생산<sup>7)</sup>하고자 모색하고 있다.

원료를 증자하여 알코올을 생산하는 경우는 i) 전분의 액화 및 당화효율이 높고, ii) 유해 미생물의 완전한 살균과 더불어, iii) 발효도를 향상시킬 수 있다. 그러나 i) 고온, 고압의 비싼 설비가 요구되고, ii) 전분의 고농도 담금으로 발효액의 점도가 상승되는 단점을 가지고 있다. 한편 증자하지 않은 전분으로 알코올 발효를 하는 경우, i) 증자에너지와 냉각수가 절약되고 iii) 설비를 간소화시킬 수 있고, iv) 종래에는 곤란하였던 고농도 전

분의 담금이 가능하여 생산성을 높일 수 있다.

이러한 관점에서 본 연구자들은 부패한 전분원으로 부터 생전분을 당화하는 glucoamylase를 생산하는 *Aspergillus niger*를 이미 분리, 동정하였고 본 연구는 무증자에 의한 전분의 당화 및 에탄올 생산 가능성을 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주

전분의 당화효소 생산균주는 본 연구실에서 분리, 보관중인 *Aspergillus niger*를 사용하였다.

#### 재료

원료전분은 성원물산(주) 제조전분인 옥수수전분(0.83g total sugar/g, 10.5% moisture), 고구마전분(0.80g total sugar/g, 13.1% moisture), 감자전분(0.75g total sugar/g, 14.4% moisture)을 사용하였다. 기타 쌀, 고구마, 옥수수, 감자는 시장에서 구입하여 수세한 후 24시간 침지하여 물기를 빼다음 Homogenizer로 균질화하여 바로 사용하였다.

#### Koji (효소제)

본 연구실에서 분리한 *Aspergillus niger*를 malt

extract agar slant에 접종하여 4~6주마다 계대배양하면서 4℃에 보관하였다. koji생산은 250ml 삼각플라스크에 밀기울(밀기울:물=1:1w/w) 10g씩 넣고 121℃에서 20분간 가압살균하였다. 종균을 3백금이씩 접종하고 30℃에서 4일간 배양한 후 풍진한 것을 koji로 사용하였다.

### 생전분 당화력 측정

생전분의 당화력은 1g의 옥수수전분을 20ml의 0.1M sodium citrate-HCl buffer (pH3.3)에 현탁한 후 0.5g의 koji와 toluene을 2~3방울 가하여 30℃에서 반응시킨 후 여과하였다. (whatman No.1 filter paper) 여액 1ml를 취하여 생성된 glucose양을 micro-Bertrand<sup>11)</sup>법에 의하여 측정하였다.

### Glucosylase활성 측정

Koji중의 glucosylase활성은 Ueda의 방법<sup>10)</sup>을 준하여 5ml의 1% boiled soluble starch용액에 1ml의 0.2M sodium citrate-HCl buffer (pH3.3)를 넣고 30℃에서 5분간 예열하였다. 여기에 1ml의 효소액과 증류수 1ml를 가하여 총량을 8ml로 한 후 30℃에서 10분간 반응시켰다. 생성당은 micro-Bertrand법에 따라 측정하여 효소액 1ml가 생성하는 glucose의 mg수로 단위를 나타내었는데 사용된 koji는 g당 161단위였다.

### 효모의 전배양

효모는 시장에서 구입한 건조효모와 농어촌개발공사 종합식품연구원으로부터 분양받은 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36027, *Sacch. cerevisiae* IFO1661 *Sacch. cerevisiae* ATCC 42940, *Sacch. cerevisiae* ATCC 42507를 이용하였다. 이들 효모를 보존용 배지에 접종한 후 30℃에서 3일간 배양하여 4℃에 보관하였다. 효모액을 얻기위하여 동일한 조성의 액체배지 100ml를 250ml의 삼각플라스크에 취한 후 효모를 접종하고 30℃에서 24시간 진탕배양하였다.

### 생전분의 알코올 발효

생전분의 알코올 발효는 250ml 삼각플라스크에 옥수수전분 10g을 증류수 45ml에 현탁한 후 황산으로 pH를 3.3으로 조절하였다. 여기에 koji 5g, 효모액 5ml를 넣고 Meissel발효관을 부착한 후 왕복진탕 배양기에서 당화와 발효를 동시행하였다. 담금시 koji의 양은 1~10g 범위로 첨가량을 달리하여 반응시킨 결과 5g이 후에는 큰차이가 없어 본 실험에는 5g으로 하였다. 생성되는 CO<sub>2</sub>의 양은 발효장치의 전체무게를 매일 측정

하여 감소된 무게의 양으로 환산하였다.

### 증자전분의 알코올 발효

증자전분은 전분 10g에 4배의 물을 가해 90℃에서 20분간 처리한 후 증류수 45ml를 가하고 황산으로 pH 3.3으로 조절한 후 koji 5g과 효모액 5ml를 넣고 30℃에서 알코올 발효를 시켰다.

### 전당 및 에탄올 정량

전당은 원료전분을 산가수분해<sup>11)</sup>한 후 phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법<sup>12)</sup>으로 생성된 glucose양을 측정하였다. 발효액의 경우는 발효액 일부를 취하여 실시하였고, 기타 전분원은 일정량의 증류수를 넣고 균질화한 후 그중 일부를 취해 정량하였다.

에탄올은 발효액을 상법에 따라 증류한 후 density meter<sup>13)</sup> (DMA 602, DMA60, DT100-20, PARR Co.)를 사용하여 20℃에서 specific gravity를 측정하여 그 함량을 환산하였다.

## 결과 및 고찰

### Koji (효소제) 생산

밀기울배지에서 생산된 koji의 생전분 당화력을 측정한 결과는 3~4일간 배양한 것이 당화력이 우수하였다. (Fig. 1)

일반적으로 밀기울·쌀겨등을 이용한 koji의 생산은 3~7일이고, Ueda<sup>10)</sup>등의 경우는 3일간 배양한 koji를 사용하였으나 이상의 결과도 큰차이가 없었다.

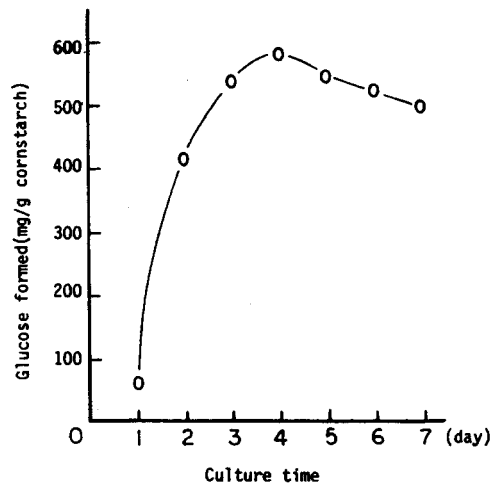


Fig. 1. Effect of culture time on the production of *Aspergillus niger* koji

**Koji의 생전분 당화**

가. pH.

Sodium citrate-HCl buffer (pH2.5~3.7)와 acetate buffer (pH 4.0~6.0)를 사용하여 당화력을 측정하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 pH3.3에서 생전분 당화력이 가장 높았다. 생전분의 당화 최적pH는 효소생산균주에 따라 각각 다르게 나타나고 있는데 Ueda<sup>14)</sup>는 malt amylase, yellow koji-amylase의 경우 pH4.0~4.5, black koji-amylase pH 3.3~3.5라고 하였다. *Aspergillus var. kawachi*<sup>15)</sup>는 pH3.6, *Aspergillus oryzae*,<sup>16)</sup> *Aspergillus awamori*<sup>17)</sup> pH5.3의 보고와 비교할 때 본 균주 생산효소의 최적당화조건은 생전분 발효시에 다른 미생물의 오염을 방지할 수 있는 조건인 pH4<sup>11)</sup> 이하의 영역을 지니고 있다고 본다.

나. 당화온도

생전분을 각온도에서 24시간 당화시킨 결과 40~50℃에서 당화력이 가장 높았다. (Fig. 2)

*Aspergillus oryzae*<sup>18)</sup>의 glucoamylase는 60℃, *Mucor rouxianus*<sup>19)</sup>는 50℃가 최적온도이라고 하며본 koji의 glucoamylase도 비슷한 결과를 가지고 있다고 본다. 그러나 당화와 발효를 동시할 경우 이 온도에서 당화효소는 최적조건을 지니게 되나 효모의 성장을 저해하게

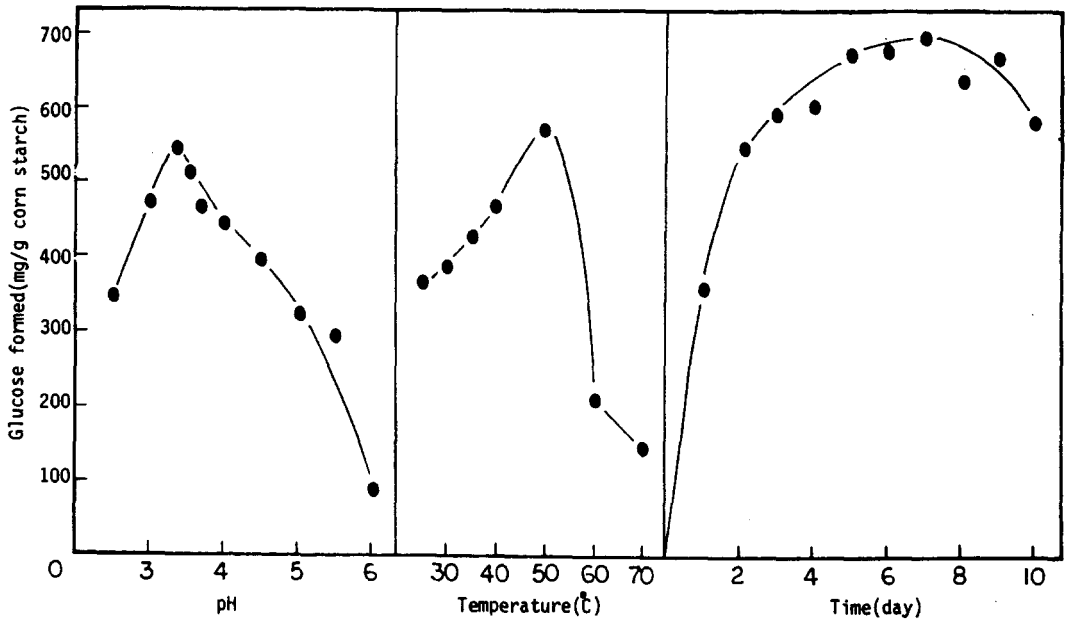
되므로 본 연구에서는 30℃에서 당화 및 알코올 발효를 실행하였다.

다. 당화시간

*Aspergillus niger*의 koji를 사용하여 1~10일 동안의 생전분 당화력을 살펴보았다. 그 결과 당화 5~7일에 이르러 높은 당화력을 보이고 그 이후에는 감소되는 경향이였다. (Fig. 2) 같은 당화율을 얻기위해 증가한 전분은 8시간, 생전분의 경우는 24시간 걸린다는 연구<sup>4)</sup>로 보아 시간적으로 생전분당화가 증자당화에 비해 불리하다고 본다. 일정한시간이 지나면 당화율이 감소하는 것은 생성된 당에 의해 효소반응이 저해를 받는다고 본다.

라. 전분의 종류

*Aspergillus niger*의 koji를 사용하여 옥수수전분, 고구마전분, 감자전분 그리고 가용성전분을 증가하지 않고 당화력을 측정하였다. 그 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 옥수수전분, 고구마전분이 당화가 용이하였다. 반면 감자전분 당화는 이들 전분에 훨씬 미치지 못했고, 특히 soluble starch는 거의 당화가 되지 않았다. 이는 전분의 구조에 의한 차이로 다른 여러연구들<sup>2,4,5,10)</sup>과 같은 결과를 보여 주고 있어 생전분의 당화는 원료 전분의 선택이 중요하다고 생각된다.



**Fig. 2. Saccharification of uncooked corn starch by *Aspergillus niger* koji**

pH : One g of corn starch was suspended in 20 ml of 0.1M sodium citrate-HCl buffer ( pH 2.5 ~ 3.7) and acetate buffer (pH4.0~6.0) and incubated at 30℃ for 48 hour.

Temperature : A mixture was incubated at various temperature for 24 hour.

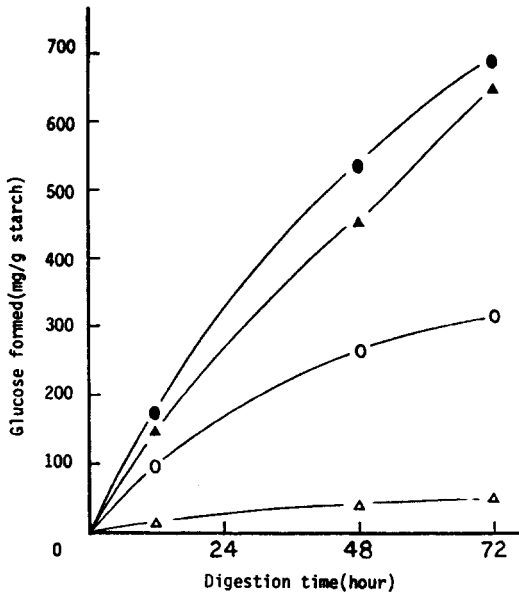


Fig. 3. Glucose produced from various uncooked starch by *Aspergillus niger* koji

- ● - corn starch      - ▲ - sweet potato starch  
 - ○ - potato starch    - △ - soluble starch

알코올 발효

가. 전분의 담금농도

동시당화 및 알코올 발효에서 최초 담금농도를 알아 보기 위해 옥수수전분의 농도를 2~40%로 하여 5일 동안 30°C, 100rpm 왕복진탕기에서 당화 및 발효를 시켰다. 매일 감소된 CO<sub>2</sub> 생성률을 조사한 결과 Fig. 4 와 같이 최초담금농도 20~30%에서 높은 생성물을 나타냈다. 이같은 고농도 담금은 에탄올 생성함량을 12~18%까지 증가시킬 수 있고 실제 그러한 예<sup>21)</sup>가 있어 현재 호화전분의 최종 알코올 농도 12~13%를 능가할 수 있다고 본다. 특히 에탄올 함량 20%이상에서도 증식할 수 있는 효모균이 개발되면 최초 담금농도를 더 올릴 수 있으리라 생각된다. 그러므로 이같은 요인을 감안할때 생전분 알코올 발효의 최초 담금농도는 현 발효수준에서도 약30%까지는 가능하다고 생각된다.

나. Koji의 첨가량

최초 전분의 담금농도를 20%인 10g으로 하여 koji의 첨가량을 1~10g씩 가하고 30°C에서 5일간 알코올 발효를 시켰다. 매일 CO<sub>2</sub> 발생량을 측정된 결과 (Fig. 5), 첨가량이 많은 시험구들이 초기 발효가 빨리 진행됨을 보였으나 첨가량 5g 이상에서는 최종발효일에 CO<sub>2</sub> 양이 비슷하게 발생해 Ueda<sup>4,22)</sup>, 배무<sup>4)</sup> 그리고 기타 연구<sup>22)</sup>와 유사함을 보였다. 그러나 본 연구만으로는 미흡하여 차후 자세한 연구를 하고자 한다.

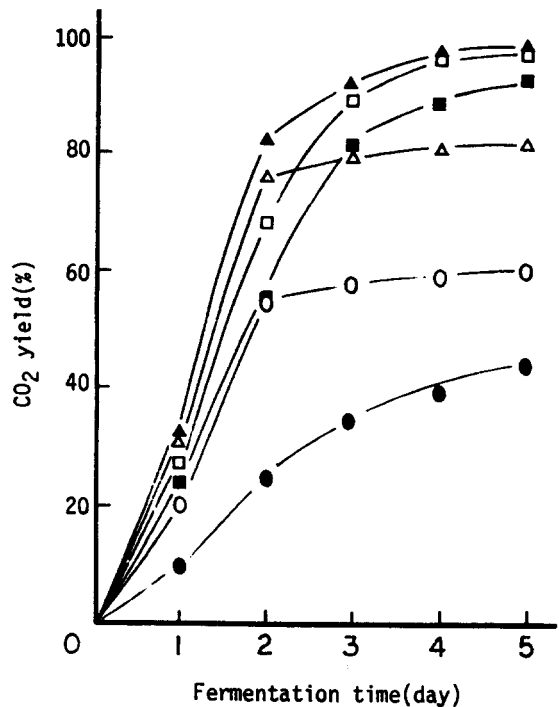


Fig. 4. Effect of the initial concentration of uncooked corn starch on the alcoholic fermentation CO<sub>2</sub> yield is expressed as a percentage of t of the theoretical value.

- ■ - 40% starch      - △ - 10% starch  
 - □ - 30% "          - ○ - 5% "  
 - ▲ - 20% "          - ● - 2% "

다. 효모의 첨가량

옥수수전분의 농도 20%(발효액50ml)에 koji 5g을 가하고 효모액 (2.0×10<sup>8</sup> cell/ml)를 1~5ml씩 첨가하여 동시 당화와 발효를 행하였다. 그 결과 효모양이 많은 경우에 전체 발효에서 CO<sub>2</sub> 양이 약간씩 증가하였다. (Fig. 6) Ueda<sup>4)</sup>는 효모수 6.6×10<sup>8</sup> cell 인 양에서 1.1×10<sup>8</sup> cell 인 경우보다 최종 알코올 수율이 증가함을 보였고 본연구도 유사한 결과이나 생성된 당의 알코올 전환속도와 효모성장률이 보조를 갖이하게끔 조절하면 무난하지 않나 생각된다.

라. 효모의 종류

생전분을 사용한 발효에서 효모액을 진조효모, *Sacch. cerevisiae* IFO 1661, *Sacch. cerevisiae* ATCC 36027, *Sacch. cerevisiae* ATCC 42507, *Sacch. cerevisiae* ATCC 42940의 24시간 배양액으로 하여 5일 발효시킨 결과 큰 차이는 없었고 단지 *Sacch. cerevisiae* ATCC 36027액의 첨가구에서 CO<sub>2</sub> 발생량이 약간 증가할 뿐 이었다. (Fig. 7) 생전분 알코올 발효시 사용

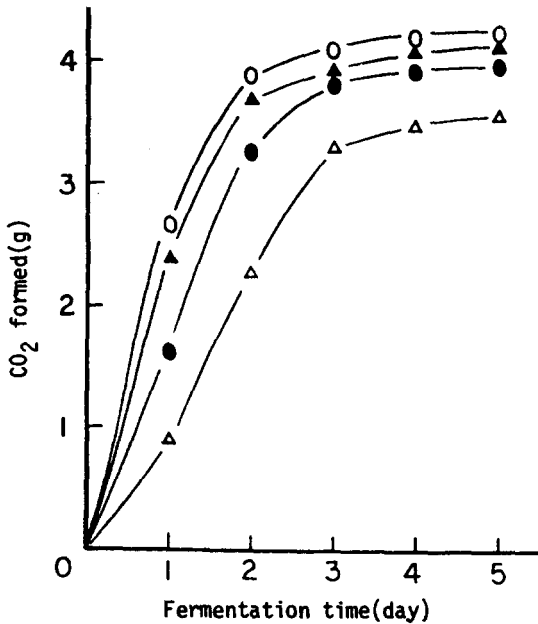


Fig. 5. Effect of *Aspergillus niger* koji concentration on the alcoholic fermentation

- ○ - 10g of koji-enzyme (1610 unit)
- ▲ - 5g " ( 805 " )
- ● - 2.5g " ( 402 " )
- △ - 1g " ( 161 " )

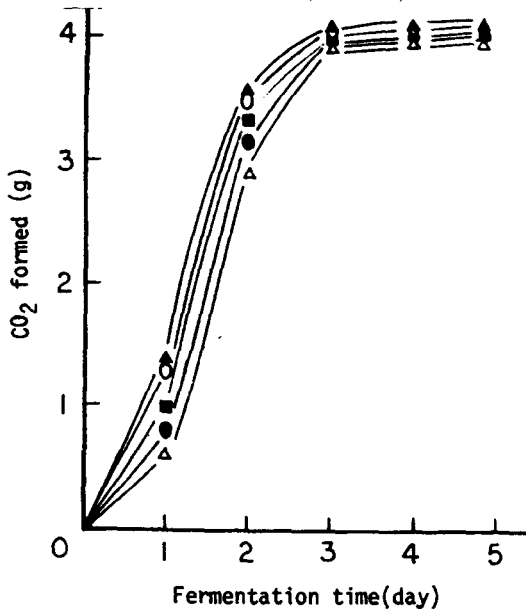


Fig. 6. Effect of the seed concentration on the alcoholic fermentation

- △ - 1ml dry yeast suspension ( $2.0 \times 10^8$  cell)
- ● - 2ml " ( $4.0 \times 10^8$  " )
- ■ - 3ml " ( $6.0 \times 10^8$  " )
- ○ - 4ml " ( $8.0 \times 10^8$  " )
- ▲ - 5ml " ( $1.0 \times 10^9$  " )

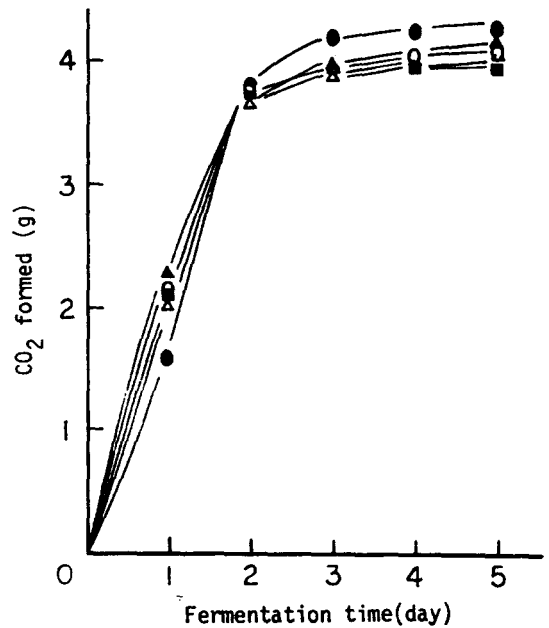


Fig. 7. Effect of the various yeast seed on the alcoholic fermentation

- ▲ - dry yeast ( $2.0 \times 10^8$  cell)
- △ - *Sacch. cerevisiae* IFO 1661 ( $2.2 \times 10^8$  cell)
- ● - *Sacch. cerevisiae* ATCC 3607 ( $2.2 \times 10^8$  cell)
- ○ - *Sacch. cerevisiae* ATCC442507 ( $2.9 \times 10^8$  cell)
- ■ - *Sacch. cerevisiae* ATCC 42940 ( $1.6 \times 10^8$  cell)

한 효모에 따라 최종 알코올 함량에서 1~3%<sup>20)</sup>의 차이를 보이고 있어 본 연구도 이와 비슷함을 의미한다. 그러므로 일반 주정생산효모를 본 생전분 알코올 발효에 이용하면 무난하다고 사료된다.

마. 발효경과

1~10일간 생전분을 동시 당화와 발효를 시키면서 CO<sub>2</sub> 및 에탄올 생성량, 당의양 그리고 pH의 변화를 검토한 결과 Fig. 8과 같이 당은 에탄올과 CO<sub>2</sub>가 생성되면서 감소되었고, 발효 5일이 지난 후에는 거의 변화가 없었다. 에탄올과 CO<sub>2</sub>의 양은 5~7일에서 최고치에 도달했고 그 이후에는 감소, 정지함을 보였다.

이 결과로 보아 본 *Aspergillus niger*의 koji와 효모를 사용하여 생전분을 당화와 발효를 동시행하는데 있어 최적 에탄올 생산기간은 5일로 사료된다. 다른 연구<sup>24, 25)</sup>에 있어서도 약 5일정도로 나타나 이와 비슷하나 증자전분의 경우 3일 이내에 발효가 완료되고 있다. 이에 반해 Lee<sup>26)</sup> 등은 전분을 산 침지할 후 효소당화하여 3일 이내에 같은 에탄올수율을 올린 결과도 있어 본 연구에서는 차후 발효기간을 단축하기 위한 조건을 검토하고자 한다.

바. 전분원료

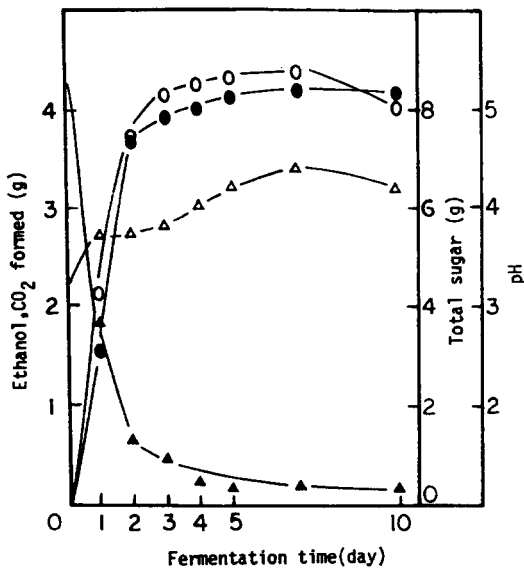


Fig. 8. The time course of alcoholic fermentation  
 -○- ethanol                      -▲- total sugar  
 -●- CO<sub>2</sub>                            -△- pH

전분원료인 옥수수, 고구마, 감자, 쌀에 일정량의 물을 가해 Homogenizer로 균질화하여, glucose 함량으로 10g씩 취한 후 정용하여 pH를 3.3으로 조절하였다. 여기에 koji 5g, 효모액 5ml를 넣고 5일간 발효시킨 결과 쌀, 옥수수, 고구마에서 전분제품들과 비슷한 에탄올수율을 보여주었다. (Table. 1)

*Rhizopus*<sup>1)</sup> 속 당화효소를 사용한 Ueda등은 고구마에서 89.2~96.0%, Rivera<sup>2)</sup>는 옥수수에서 *Aspergillus awamori*의 koji를 사용하여 에탄올 수율 90.0%을 얻어 본 연구의 결과와 비슷하였다. 그러나 박<sup>3)</sup>등은 옥수수 전분의 에탄올 최종수율이 69.9%로 떨어지고 있고 배<sup>4)</sup>등의 연구에서도 옥수수 전분의 당화가 어렵다는 서로 상반된 견해를 보이는데 이는 전분의 조건과 원료에 따른 차이로 예상하며 이들에 대한 체계적인 연구가 필요하다고 본다.

증자전분과 비교한 Table 2의 알코올 발효에서는 쌀은 별다른 차가 없었고 고구마, 옥수수전분의 경우는 초기발효율은 뒤떨어지나 발효 5일의 종료일에는 증자

Table 1. Comparison of the alcoholic fermentation between the refined starches and the raw materials of starch.

Kinds of starch	Total sugar (g)	CO <sub>2</sub> (g)	Ethanol (g)	Ethanol yield (%)
Corn starch	10.0	4.93	4.83	94.5
raw corn	10.0	4.00	4.35	85.1
Potato starch	10.0	2.89	3.11	60.8
Raw potato	10.0	1.80	1.87	36.6
Sweet potato starch	10.0	4.80	4.86	95.1
Raw sweet potato	10.0	4.71	4.48	87.6
Raw rice	10.0	5.09	4.90	95.8

\*Alcohol yield is expressed as a percentage of the theoretical value.

Table 2. Comparison of the alcoholic fermentation between uncooked and cooked starch

Kinds of starch		Total sugar (g)	CO <sub>2</sub> (g)	Ethanol (g)	Ethanol yield (%)
Corn starch	uncooked	10.0	4.97	4.83	94.5
	cooked	10.0	4.95	4.97	97.2
Potato starch	uncooked	10.0	2.88	3.11	60.8
	cooked	10.0	5.30	4.79	93.7
Sweet potato starch	uncooked	10.0	4.79	4.86	95.1
	cooked	10.0	4.75	4.70	91.9
Soluble starch	uncooked	10.0	0.12	0.07	1.3
	cooked	10.0	3.93	3.46	67.7
Rico powder	uncooked	10.0	5.06	4.90	95.8
	cooked	10.0	5.06	4.92	96.3

\*Alcohol yield is expressed as a percentage of the theoretical value

전분의 수율에 접근하였다. Akiyama<sup>11)</sup>는 쌀을 사용하여 증자없이 청주를 생산할 수 있음을 보고하며 박<sup>12)</sup>등도 쌀은 차이를 보이지 않고 고구마의 경우 최종 에탄올 함량에서 증자한 전분에 접근하였으며, Rivera<sup>5)</sup> 등은 옥수수에서 역시 발효 종료일에 이르러 비슷한 에탄올 수율을 보인다고 밝혀 본 연구와 유사하다. 그러나 감자전분은 대부분의 연구에서 당화도 발효도 어려움을 나타내고 있어 이는 감자전분의 구조적 차이에서 오는 요인으로, 대체로 전분입자가 작고 다각형 모양인 것이 효율적으로 무증자 당화와 발효된다고 한다. 그러므로 차후 이러한 요인들이 해결되면 발효조건이 개선되리라 사료된다.

## 요 약

부패전분원에서 분리, 동정한 *Aspergillus niger* 를 사용하여 koji를 조제하고 생전분 당화와 에탄올 발효의 조건을 검토한 결과는 다음과 같다. ① koji(효소제)는 4일간 배양한 경우에 가장 높은 활성을 가졌고 생전분 당화의 최적pH는 3.3, 최적온도는 40~50℃ 이었다. ② 전분별에 따른 당화는 옥수수전분, 고구마전분, 감자전분의 순위였다. ③ 알코올 발효시 전분의 최초 당 농도는 20~30%이었다. ④ 전분원료중 쌀, 고구마, 옥수수에서 무증자전분의 알코올 발효가 가능함을 보였으나, 증자한 전분들 보다 발효종료일은 약 1~2일 지체되었다. ⑤ 무증자에 의한 전분의 당화와 동시 알코올 발효에서 30℃, pH3.3, 100rpm 왕복진탕 발효시 최적발효일은 5일, 쌀, 고구마, 옥수수전분에서 최종 에탄올수율은 약95%이었다.

## 문 헌

- Maher, G. G. : *Starch*, 5, 226 (1983)
- 박관화, 오병하, 홍승서, 이계호 : 한국농화학회지, 27(3), 198 (1984)
- 이상열, 신용철, 이석희, 박성숙, 김형수, 변시명 : 한국식품과학회지, 16, 463 (1984)
- 배무, 이재문 : 산업미생물학회지, 11, 181 (1983)
- Park, Y. K. and Rivera, B. C. : *Biotech. Bioeng.*, 26, 495 (1982)
- Matsuoka, H., Koba, Y. and Ueda, S. : *J. Ferment. Technol.*, 61, 599 (1982)
- 溝上恭平, 小崎道雄 · 北原覚雄 : 日農化, 51, 299 (1977)
- Lee, S. Y., Shin, Y. C., Kim, H. S. and Byun, S. M. : *J. Ferment. Technol.*, 63, 51 (1985)
- Bertrand, M. G. : *Journ. de phch.*, 1, 301 (1844)
- Ueda, S., Zenin, C. Y., Monteiro, P. A., Park, Y. K. : *Biotech. Bioeng.*, 23, 291 (1981)
- Kartchner, R. J. and Theurer, B. : *J. Agric. Food Chem.*, 2, 8 (1981)
- Dubois, M., Gilles, K. A., Kamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. : *Ann. chem.*, 28, 350 (1956)
- Stewart, L. E. : *J. AOAC*, 66, 1400 (1983)
- Ueda, S. : *Proceedings of Intn. Symp. Enzyme Chem.* Tokyo and Kyoto, p 491 (1957)
- Hayashida, S. : *Agric. Biol. Chem.*, 3, 2093 (1975)
- Saha, B. C., Mitsue, T. M. and Ueda, S. : *Starch*, 31, 307 (1979)
- Yamasaki, Y., Suzuki, Y. and Ozawa, J. : *Agric. Biol. Chem.*, 41, 2149 (1977)
- Yamasaki, Y., Tsuboi, A. and Suzuki, Y. : *Agric. Biol. Chem.*, 41, 2139 (1977)
- Ueda, S. : *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 32, 64 (1958)
- 上田誠之助 · 古賀偉郎 : 醱酵協會誌, 23, 133 (1965)
- 熊谷知榮子 · 官八正法 · 黄正財 · 鈴木逸郎 · 田中利雄 秘山裕一 : 醱酵工學, 60, 77 (1982)
- Josie, W. Chua, N. Fukui, Y. Wakabayash, T. Yoshida, and H. Toguchi : *J. Ferment. Technol.*, 62, 123 (1984)
- Hayashida, S., Ohta, K., P. Q. Flor, N. Nanri and I. Miyahara : *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1947 (1982)

(1985년 5월 2일 접수)