

## 쌀보리의 無蒸煮 Alcohol 醱酵에 관한 研究

吳平洙 · 車斗鍾 · 徐恒源

太平洋化学(株) 技術研究所 醱酵研究室  
(1986년 9월 9일 수리)

## Alcohol Fermentation of Naked Barley without Cooking

Pyong-Su O, Du-Jong Cha and Hang-Won Suh

Fermentation Laboratory, R & D Center, Pacific Chemical Ind. Co., Ltd., Suweon, Korea

(Received September 9, 1986)

Alcohol fermentation of uncooked naked barley was carried out by the combined action of the maceration enzyme from black *Aspergillus niger* and the glucoamylase from *Rhizopus* sp. The combined enzyme preparation was found to be effective in maceration and saccharification of the raw naked barley starch. The hydrolysis rate measured by the amount of glucose liberated reached more than 70% at pH 4.5 and 30°C after 76 hrs. For alcohol fermentation without cooking, the naked barley mash of 18% initial total sugar was pretreated with concentrated sulfuric acid (0.15 weight % of the mash volume) at 55°C for 2hr, and used for alcohol fermentation. A simultaneous saccharification and fermentation was carried out at pH 4.8 and 30°C for 96 hrs. Under this fermentation condition, 3.5% increase in alcohol yield together with 2.0% increase in alcohol concentration were obtained when compared with the conventional cooking fermentation.

現在 酒精工業에 適用되고 있는 alcohol 醱酵法은 熱에 의한 澱粉의 糊化와 효소의 作用에 의한 糖化가 先行되어야 하는데 蒸煮에 소요되는 에너지가 alcohol 生産에 필요한 總에너지의 20% 이상을 차지하고 있다. 또한 高濃度仕込이 어렵고 蒸煮時 發生되는 과도한 熱로 非醱酵性糖이 生成되므로<sup>(1)</sup>酒精 醱酵의 生産性 向上에 障礙요인이 되어 왔다. 따라서 原料를 蒸煮하지 않고 糖化와 醱酵을 동시에 행하는 無蒸煮 alcohol 醱酵에 관한 研究<sup>(2-6)</sup>가 활발히 進行되고 있으며 옥수수 澱粉을 原料로 한 無蒸煮 alcohol 醱酵의 産業化에 성공하였다는 보고<sup>(6)</sup>도 있다.

国内 酒精生産에 利用되고 있는 澱粉質 原料는 tapioca, 쌀보리 및 절간 등으로서 이 중 쌀보리가 약 50% 정도를 차지하고 있으며 酒精原料의 自給化 및 농가소득 증대시책으로 매년 그 利用率이 증

가하고 있는 추세이다<sup>(7)</sup>. 그러나 이 쌀보리는 酒精 收率이 낮고 無蒸煮 alcohol 醱酵에 적합한 酵素劑에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 本 研究에서는 酒精 醱酵의 生産性を 증대시키기 위하여 우선 쌀보리의 生澱粉에 대한 分解 및 糖化作用이 강한 maceration enzyme 및 glucoamylase를 검토하고 이 酵素들을 利用한 無蒸煮 alcohol 醱酵의 實用化 가능성에 대하여 연구하였다.

### 材料 및 方法

#### 쌀보리原料

国内(전북 고창)에서 생산된 쌀보리를 粉碎機로 粉碎하여 20 mesh 통과분을 使用하였다.

#### 使用酵素

本 연구실에서 分離, 保存중인 *Rhizopus* sp. 및

*Aspergillus* sp. 菌株에서 生産된 glucoamylase 와 *Aspergillus niger* M-5 에서 生産된 maceration enzyme 을 使用하였다.

#### 酵素活性的 測定

Glucoamylase 의 活性은 Lane-Eynone法<sup>(8)</sup>을 변형하여 測定하였다. 可溶性澱粉 (Hayashi Co. Ltd., Japan) 을 糊化, 溶解하여 2% 용액으로 만든 후 50ml 를 취해 여기에 0.1 N acetate buffer (pH 5.0) 30ml 와 효소희석액 10ml 를 가하고 55°C에서 60분 동안 반응시켰을 때 glucose 1mg 을 生成하는 酵素의 量을 1 unit로 정의하였다. *Rhizopus* sp. 의 glucoamylase는 23,000 units/g, *Aspergillus* sp. 의 glucoamylase는 25,000 units/g 의 活性을 나타내었다.

Maceration enzyme의 活性은 polygalacturonase 의 活性測定法인 Jansen-Macdonell法<sup>(9)</sup>에 준하여 1% pectic acid (pH 4.5, pectic acid; Fluka AG, Sweden) 에 효소희석액 1ml 를 가하여 40°C에서 2시간 동안 반응시켰을 때 galacturonic acid 1 $\mu$  mole 을 生成하는 酵素의 量을 1 unit로 하였다. 실험에 사용된 maceration enzyme 은 6,600 units/g의 活性을 나타내었다.

#### 生澱粉의 酵素糖化

粉碎된 쌀보리 10g 에 30ml 의 0.05M acetate buffer (pH 4.5) 를 가하고 glucoamylase, maceration enzyme 을 일정량 넣고 잘 혼합한 후 toluene 3~4 방울을 가해 30°C에서 반응시켰다. 경과시간 별로 5ml 씩 취해 여과지 (whatman No. 2) 로 여과한 후 그 여액의還元糖을 측정하여 酵素의 生澱粉 糖化力을 比較하였다.

#### 糖의 分析

酵素作用으로 生成된 糖은 thin layer chromatography法<sup>(10)</sup>으로 定性分析하였고還元糖은 Felhing-Lehmann-Schoorl法으로 定量하였다.

#### 酒母

*Saccharomyces cerevisiae* (醱研 1号) 를 malt extract broth (Brix 농도, 5°) 300ml 에 접종하여 30°C에서 20시간 동안 振盪培養 (120 strokes/min) 하였는데 이 때의 菌數는 8.0 × 10<sup>8</sup> cells/ml 이었다.

#### 無蒸餾澱粉의 alcohol 醱酵

1l 용량의 발효병에 粉碎된 쌀보리 100g 및 증류수 250ml 를 가하고 95% (w/v) 황산을 0.15% (w/v) 되도록 가한 후 55°C 항온조에서 2시간 동안 침지하였다. 침지 후 30°C 정도로 냉각하여 20% (w/v) NaOH 용액으로 pH 4.5~5.0 이 되게 조정한다 다음 K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 를 醱液의 0.02% (w/v) 가 되도록 가한 후 *Rhizopus* sp. 의 glucoamylase (40 units/g 원

료), maceration enzyme (3.5 units/g 원료) 및 酒母 40ml 를 가하고 Meicelle 발효관을 부착하고 30°C에서 96시간 동안 靜置醱酵시켰다.

#### 蒸餾澱粉의 alcohol 醱酵

現在 国内 酒精工場에서 適用되고 있는 方法에 준하였다. 原料 100g 과 증류수 350ml 를 넣고 液化 酵素인 Termamyl 120L (Novo Industri, Denmark) 를 原料에 대하여 0.02% (v/w) 가하고 90°C에서 30분 동안 液化시킨 후 121°C로 60분 동안 蒸餾하였다. 60°C로 냉각시킨 후 95% (w/v) 황산으로 pH 4.5~5.0 이 되도록 하고 *Aspergillus* sp. 의 glucoamylase (24 units/g 원료) 를 가하여 55°C에서 2시간 동안 糖化시켰다. 이를 30~32°C로 냉각하여 酒母를 50ml 가하고 無蒸餾澱粉의 경우와 동일한 方法으로 醱酵시켰다.

#### 總殘糖

醱酵가 完了된 醪 100ml 에 25% (w/v) HCl 용액 10ml 를 가해 끓는 물에 3시간 동안 중탕하여 酸分解시킨 후 급냉하였다. 25% (w/v) NaOH 용액으로 中和시키고 生成된還元糖을 Bertrand法<sup>(11)</sup>으로 定量하였다.

#### Alcohol 含量 및 總酸

醱酵中 24시간 마다 발효병의 무게를 달아 감소된 CO<sub>2</sub> 무게 (g) 로부터 Gay-Lussac 방정식을 이용하여 alcohol 무게 (g) 및 含量 (% , v/v) 을 산출하였고 醱酵完了 후 蒸溜하여 주정계로 alcohol 含量 (% , v/v) 을 測定하였다.

總酸은 醪 10ml 를 中和시키는데 필요한 0.1 N NaOH 용액의 ml 수로 나타내었다.

#### 醱酵效率

다음과 같이 Matsumoto 등의 方法<sup>(6)</sup>으로 산출하였다.

醱酵效率 (%) =

$$\frac{\text{최종醪量 (ml)} \times \text{alcohol \% (v/v)}}{\text{원료의 무게 (g)} \times \text{總糖 \%} \times 0.6439} \times 100$$

## 結果 및 考察

### *Rhizopus* sp. 및 *Aspergillus* sp. glucoamylase 의 生澱粉 糖化力 比較

原料 1g 에 각각의 活性이 40 units 가 되도록 *Rhizopus* sp. 및 *Aspergillus* sp. 의 glucoamylase 들을 처리한 후 76시간 동안 반응시켜 pH 및 온도가 生澱粉糖化力에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 1 에 나타난 바와 같다. 각 酵素들의 最適作用 pH는 4.5, 온도는 45°C로서 거의 유사하였으

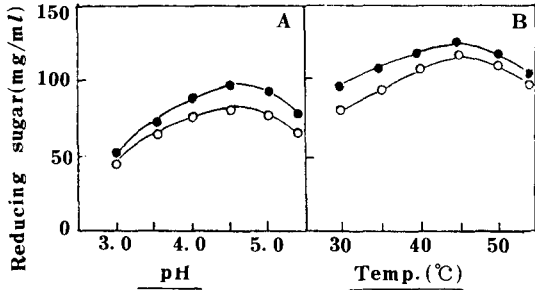


Fig. 1. Saccharification of the raw naked barley by *Rhizopus* sp. and *Aspergillus* sp. glucoamylases depending on pH and temperature.

A: Reaction temperature, 30°C.

B: Reaction pH, 4.5

●: Glucoamylase from *Rhizopus* sp.

○: Glucoamylase from *Aspergillus* sp.

나 生澱粉의 糖化와 醱酵을 동시에 행할 수 있는 조건인 pH 4.5, 온도 30°C 에서는 生成된 還元糖이 *Rhizopus* sp. 의 glucoamylase 경우가 96 mg/ml 로서 동일한 효소단위에서 *Aspergillus* sp. 의 glucoamylase 에 비해 20% 정도의 증가를 나타내었다.

pH 및 온도가 maceration enzyme 의 활성에 미치는 영향

本 실험에 使用된 maceration enzyme 은 Fig. 2 에 나타난 바와 같이 pH 4.0, 온도 50°C 에서 最高活性을 나타내었으며 pH 3.5~4.5, 온도 40~60°C 에서도 비교적 높은 活性을 나타내었다.

**β-Glucan 및 Xylan 분해력**

보리의 澱粉粒자를 둘러싸고 있는 細胞壁의 구성 성분인 β-glucan과 xylan에 대한 上記 酵素들의 分解力을 조사한 결과는 Table 1, Fig. 3 에서 보는

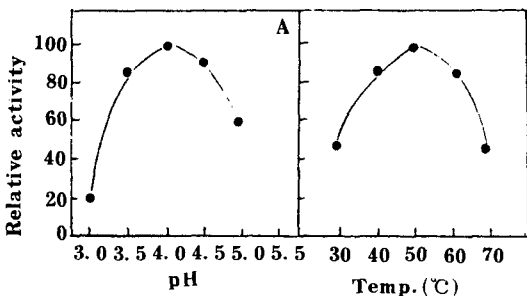


Fig. 2. Effect of pH and temperature on the activity of polygalacturonase as a maceration enzyme.

The substrate was 1% pectic acid (Pectic acid, Fluka AG, Sweden) which was suspended in 0.05 M citric acid-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer solution.

A: Reaction temperature, 40°C.

B: Reaction pH, 4.0

바와 같이 *Rhizopus* sp. 의 glucoamylase가 가장 높은 glucose 生成力을 나타내었다. 보리의 경우, β-glucan과 xylan은 total weight의 6~8%를 차지하므로<sup>(12)</sup> 本 실험의 *Rhizopus* sp. 의 glucoamylase가 쌀보리生澱粉의 糖化에 매우 效率的인 것으로 판단

Table 1. Comparison of relative glucose producing activities of the glucoamylase and maceration enzyme preparations using β-glucan and xylan as their substrates. \*

Enzyme	Substrate	
	β-Glucan	Xylan
Glucoamylase ( <i>Aspergillus</i> sp.)	63	50
Glucoamylase ( <i>Rhizopus</i> sp.)	100	100
Maceration enzyme ( <i>Aspergillus</i> sp.)	98	80

\*Substrate: 1% solution (pH 4.5) of β-glucan from barley (Sigma Chemical Co., Ltd. U. S. A) or xylan from larchwood (Toyo Chemical Co., Ltd. Japan). Enzyme concentration and reaction: Glucoamylase, 40 units per ml substrate solution; maceration enzyme, 3:5 units; 40°C, 60 min. Quantitative analysis of glucose; According to V-Glucose Method (Nissui Pharm. Co., Ltd. Japan)

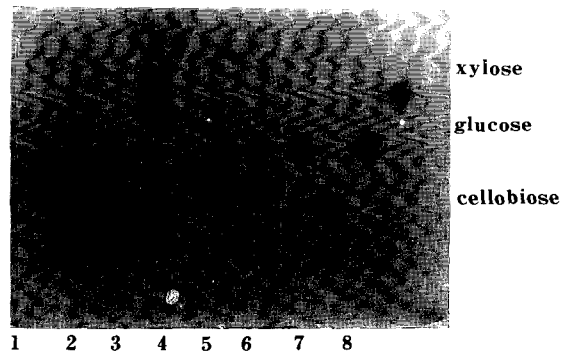


Fig. 3. Thin layer chromatography of hydrolysis products formed by the action of the glucoamylase and the maceration enzyme on β-glucan and xylan.

Lane 1, 1% xylan; Lane 2, 3 and 4, 1% xylan treated with *Aspergillus* sp. glucoamylase (40 units/ml), *Rhizopus* sp. glucoamylase (40 units/ml) and maceration enzyme (3.5 units/ml) respectively; Lane 5, 1% β-glucan; Lane 6, 7 and 8, 1% β-glucan treated with the same enzymes as in Lane 2, 3 and 4 respectively.

되었다.

生澱粉의 酵素糖化

生澱粉 糖化力에 미치는 *Rhizopus* sp. Glucoamylase濃度의 영향

Fig. 4에 나타난 바와 같이 40 units까지는 生成된 還元糖이 비례적으로 증가하였으나 그 이상에서는 뚜렷한 차이가 없었다. 이러한 결과는 生成된 glucose에 의해 *Rhizopus* sp. glucoamylase의 酵素作用이 저해되기 때문인 것으로 생각된다.

Maceration Enzyme의 첨가효과

*Rhizopus* sp. 및 *Aspergillus* sp.의 glucoamylase를 生澱粉糖化에 最適單位인 40 units로 처리한 시험구에 각각 原料 g당 3.5 units의 maceration enzyme를 첨가하여 生澱粉 糖化力을 조사한 결과는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. *Aspergillus* sp. glucoamylase의 경우는 還元糖이 뚜렷하게 증가하지 않았으나 *Rhizopus* sp. glucoamylase에서는 약 10% 정도가 증가하였다. 또한 Fig. 6은 쌀보리原料로부터 酵素作用으로 生成된 糖을 thin layer chromatography로 확인한 사진인데 *Rhizopus* sp.의 glucoamylase에 maceration enzyme를 첨가한 경우, xylose 및 arabinose가 생성됨을 알 수 있었다. 이러한 현상은 maceration enzyme이 쌀보리의 細胞間物質인 pentosan을 分解하여 澱粉粒子的 溶出을 용이하게 하므로 *Rhizopus* sp. glucoamylase의 生澱粉 糖化作用에 상승효과를 나타낸 것으로 판단되며 이는 山本 등<sup>(13)</sup>의 고구마生澱粉 糖化實驗에서 *Rhizopus*

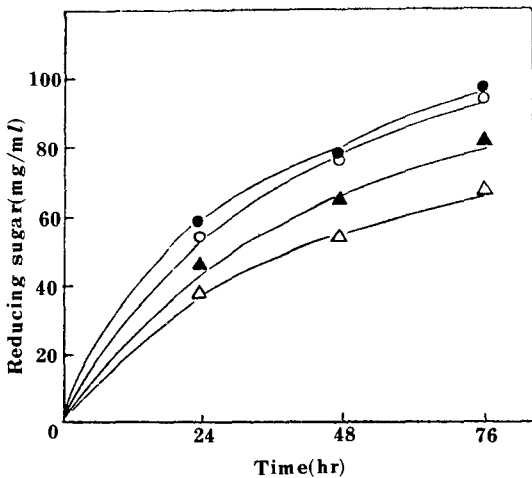


Fig. 4. Effect of *Rhizopus* sp. glucoamylase concentration on saccharification of the raw naked barley.

The enzyme was added to the naked barley at the level of 30 (△), 35 (▲), 40 (○), and 45 (●) units per gram naked barley respectively.

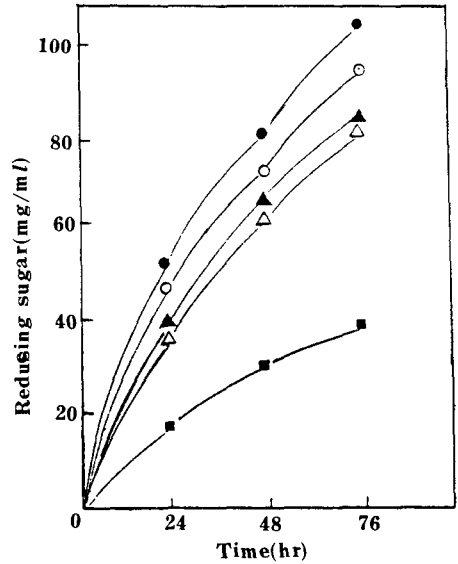


Fig. 5. Effect of maceration enzyme on the raw naked barley saccharifying power of *Rhizopus* sp. and *Aspergillus* sp. glucoamylase preparations.

The maceration enzyme and the glucoamylases were added at the level of 3.5 units and 40 units per gram raw naked barley respectively.

●: *Rhizopus* sp. glucoamylase+maceration enzyme, ○: *Rhizopus* sp. glucoamylase, ▲: *Aspergillus* sp. glucoamylase+maceration enzyme, △: *Aspergillus* sp. glucoamylase, ■: maceration enzyme.

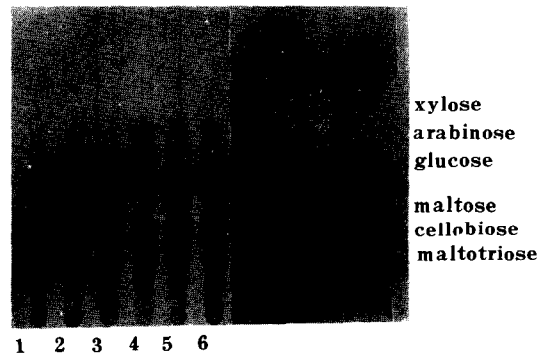


Fig. 6. Thin layer chromatography of hydrolysis products from the action of the glucoamylase and the maceration on the raw naked barley.

The treating concentrations of the glucoamylase and the maceration enzyme were 40 units and 3.5 units per gram raw naked barley respectively. Lane 1, No enzyme treatment; Lane 2, *Aspergillus* sp. glucoamylase; Lane 3, *Rhizopus* sp. glucoamylase; Lane 4, maceration enzyme; Lane 5, *Aspergillus* sp. glucoamylase+maceration enzyme; Lane 6, *Rhizopus* sp. glucoamylase+maceration enzyme.

sp. glucoamylase 에 *Aspergillus niger* 의 maceration enzyme 을 첨가하였을 경우 약 5.5%의 糖化率 증가를 보인 결과와도 일치하는 경향이었다.

原料의 前處理勸果

酵素糖化에 앞서 澱粉粒자의 膨潤力을 증가시키 酵素作用이 용이하도록 하며 alcohol 醱酵에 유해한 細菌의 數를 줄이기 위한 목적으로 前處理를 행하였다. Fig. 7 에서 보는 바와 같이 95% (w/v) 황산을 최종농도가 0.15% (w/v) 되도록 가하고 55°C 에서 2시간 동안 침지한 후 *Rhizopus* sp. glucoamylase (40 units/g 원료) 및 maceration enzyme (3.5 units/g 원료) 을 가하여 76시간 동안 糖化시킨 결과, 生成된 還元糖이 115mg/ml 로 全糖의 약 70% 정도가 分解되었다. 침지온도가 높아질 수록 膨潤力도 증가하였으나 55°C 이상에서는 醱粘度가 상승하므로 실제 대규모 仕込에는 적용하기가 어려울 것으로 판단되었다. 또한 오염억제를 위한 酸處理는 Lee 등<sup>(14)</sup>의 보고와도 같이 糖化率을 다소 증가시키는 효과가 있었다.

Alcohol 醱酵

醱酵效率에 미치는 醱濃度의 영향

無蒸煮澱粉의 alcohol 醱酵時, 最適醱濃度를 조사하기 위하여 醱濃度 別로 alcohol 醱酵를 행한 결과는 Table 2 에 나타난 바와 같이 20~25% 의 醱濃度에서는 醱酵效率이 90% 이상으로 거의 유사하였으나 그 이상의 濃度에서는 감소하였다. 無

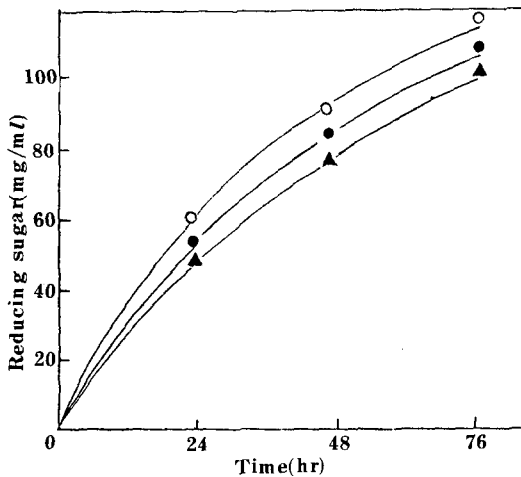


Fig. 7. Effect of heat and acid treatments as steeping conditions on the saccharification of raw naked barley by *Rhizopus* sp. glucoamylase and maceration enzyme preparation.

- : 55°C, 0.15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- : 55°C
- ▲ : 30°C

蒸煮澱粉의 alcohol 醱酵에 있어서 高濃度仕込은 生産性 向上 및 부산물 처리공정에 유리하고 初期의 alcohol 生成量이 많아지므로 細菌의 오염억제 효과도 있다고 알려져 있다<sup>(15)</sup>. 따라서 醱酵效率 및 醱量을 고려할 때 醱濃度는 25%가 적합할 것으로 생각된다.

醱酵經過

蒸煮, 無蒸煮澱粉의 alcohol 醱酵時, 酵母의 生存菌數, 直接還元糖 및 alcohol 生成量의 變化를 Fig. 8 에 나타내었다. 酵母의 生存菌數는 蒸煮의 경우, 24시간 경과 후에 1.4 × 10<sup>8</sup> cells/ml 로 최고 수준을 나타내었으나 48시간 이후부터는 사멸된 菌數가 증가하였고 菌體의 生育狀態도 불량 하였다. 한편 無蒸煮의 경우는 24시간 경과 후에 2.9 × 10<sup>8</sup> cells/ml 로서 蒸煮에 比하여 약 2倍 정도 많은 것으로 나타났으며 醱酵終了까지 이 수준을 유지하였다. 直接還元糖은 蒸煮의 경우, 初期의 7.2%에서 76시간이 경과되어야 0.2%로 감소된 반면 無蒸煮의 경우는 초기의 2.2%가 24시간 경과 후 0.18% 이었고 그 이후에도 거의 같은 수준이었다.

Table 2. Effect of mash concentration on the uncooking alcohol fermentation.

Mash conc. (%)	Mash volume (ml)	Alcohol (%)	Total residual sugar (%)	Fermentation efficiency (%)
30	305	11.7	2.5	82.1
25	355	11.0	1.7	90.0
22	405	9.8	1.7	91.0
20	460	8.6	1.5	91.0

\*Each fermentation was carried out at 30°C for 96 hrs.

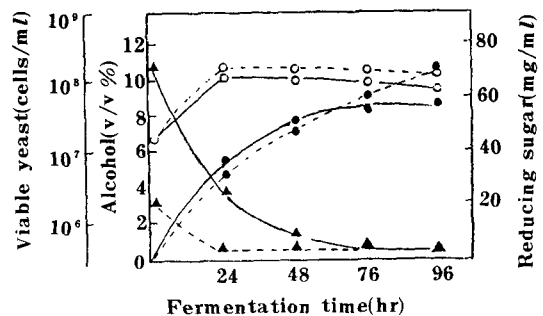


Fig. 8. Time course of cooking and uncooking alcohol fermentations.

- : Uncooking, — : Cooking
- : Viable yeast (cells/ml), ● : Alcohol (v/v %)
- ▲ : Reducing sugar (mg/ml).

따라서 無蒸煮의 경우, 生澱粉에 酵素作用으로 糖이 생성되는 즉시 alcohol 醱酵에 利用되어짐을 알 수 있었다. Alcohol 生成量은 蒸煮의 경우, 76시간이 경과되면 醱酵이 거의 完了되어 生成된 alcohol도 그 이상 증가하지 않았으나 無蒸煮의 경우, 初期에는 蒸煮에 비해 醱酵速度가 늦었으나 지속적으로 alcohol 醱酵이 진행되어 76시간 이후에는 alcohol 生成량이 더 높게 나타났다.

#### 醱酵成績의 比較

Table 3에 蒸煮 및 無蒸煮澱粉의 alcohol 醱酵成績을 나타내었다. 無蒸煮의 경우, 醱의 pH가 4.3 總酸이 5.5로 醱酵이 양호하게 진행되었으며 황산을 醱에 대하여 0.15% (w/v)가 되도록 가하고 55℃에서 2시간 동안 침지한 前處理가 細菌增殖의 억제에 매우 효과적인 것으로 나타났다. 最終 alcohol 濃도가 10.8%, 醱酵效率이 89.5%로서 蒸煮에 비해 高濃度 alcohol이 얻어졌고 약 3.5% 정도의 效率增加를 나타내었다. 이러한 결과는 無蒸煮 alcohol 醱酵의 경우, 酵素作用으로 生成된 糖이 酵母에 의해 신속히 利用되므로 醱中の 糖濃도가 매우 낮은 상태에서 醱酵이 지속적으로 진행되고 澱粉, 단백질 및 기타 성분들의 熱에 의한 變性이 없어 酵母의 增殖性 및 alcohol 醱酵能에 더 유리하기 때문인 것으로 사료된다.

#### 要 約

酒精醱酵의 澱粉質 原料인 쌀보리 (Naked barley)에 對한 分解, 糖化作用이 강한 maceration enzyme

**Table 3. Analysis of each mash after 96 hr fermentations with the conventional cooking and the uncooking systems.\***

	Cooking	Uncooking
Volume (ml)	425	360
pH	4.3	4.2
Total acidity	4.5	5.5
Alcohol (v/v %)	8.8	10.8
Residual total sugars (%)	1.2	1.8
Residual direct reducing sugars (%)	0.24	0.22
Viable yeast (cells/ml)	$1.0 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$
Fermentation efficiency (%)	86	89.5

\*100 g of naked barley was used for each fermentation.

및 glucoamylase를 검토하고 이 酵素들을 利用한 無蒸煮 alcohol 醱酵에 대하여 研究하였다. 이 酵素들은 곰팡이 起源의 粗酵素劑로서 쌀보리粒子の maceration 作用이 강하였고 生澱粉分解力은 pH 4.5, 온도 30℃, 76시간에서 70% 이상되었다. 또한 황산을 醱에 대하여 0.15% (w/v) 되도록 가하고 55℃에서 2시간 동안 침지한 후 이 酵素들을 處理하여 無蒸煮 alcohol 醱酵을 행한 경우, 30℃, 96시간 醱酵에서 alcohol 濃도가 10.8%, 醱酵 效率이 89.5%로서 蒸煮 alcohol 醱酵에 비해 高濃度의 alcohol이 生成되었고 약 3.5% 정도의 效率增加를 나타내었다.

#### 참고문헌

- Lorenz, K. and J.A. Johnson: *Cereal Chem.*, **49**, 616 (1972)
- Ueda, S. and Y. Koba: *J. Ferment. Technol.*, **58**, 237 (1980)
- Hayashida, S. and P.Q. Flor: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1639 (1982)
- Chua, J.W., N. Fukui, Y. Wakabayashi, T. Yoshida and H. Taguchi: *J. Ferment. Technol.*, **62**, 123 (1984)
- Kubota, K., Y. Matsumura and T. Yamamoto: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **32**, 169 (1985)
- Matsumoto, N., O. Fukushi, M. Miyanaga, K. Kakiyama, E. Nakajima and H. Yoshizumi: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1549 (1982).
- 한국농촌경제연구소: 보리의 생산 및 소비정책 방향, 56~88 (1984).
- 小原哲二郎: 食品分析ハンドブック: 215, 建帛社 (1978).
- Jansen, E.F. and L.R. Macdonnell: *Arch. Biochem.*, **8**, 97 (1945)
- Miyake, T.: U.S. Patent, 4219571 (1980)
- Bertrand, G.: *Bull. Soc. Chim.*, Paris **35**, 1285
- Palmer, G.H.: *Amer. Soc. Brew. Chem. Proc.*, 174-180 (1975)
- Yamamoto, T., Y. Matsumura, K. Kakutani and K. Uenakai: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **29**, 117 (1982)
- Lee, S.Y., Y.C. Shin, S.H. Lee, S.S. Park, H.S. Kim and S.M. Byun: *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 463 (1984)
- Kunisaki, S.I. and N. Matsumoto: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **32**, 152 (1985)