

타피오카와 겉보리 혼합원료의 당화 및 알코올 발효의 특성 연구

김선혜¹ · 오종수¹ · 강성태^{1,*}

¹서울과학기술대학교 식품공학과

Saccharification and alcohol fermentation characteristics of a mixture of tapioca and hulled barley

Sun Hye Kim¹, Jong Soo Oh¹, and Sung Tae Kang^{1,*}

¹Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology

Abstract An enzymatically saccharified tapioca and hulled barley (TB) raw mixed solution was used to examine alcohol fermentation characteristics. The TB mixture was liquefied with 0.04% α -amylase “Spezyme-Fred” and saccharified using an enzyme mixture (GPB), which consisted of glucoamylase (G), protease (P), and β -glucanase (B). After the TB mixture (7:3, w/w) saccharified for 150 min at 50°C, its glucose content was 12.9% and viscosity was 26 cp. The use of GPB for the saccharification of TB was appropriate because the addition of β -glucanase increases the glucose yield and decreases the viscosity of the saccharification liquid. The TB ratio was optimized to 7:3 (w/w) on the basis of the lower viscosity and the higher glucose content after saccharification. After TB mixture with 300% (w/w) water content was better condition than others for alcohol fermentation when it was carried out at 30°C. The alcohol and glucose contents of the TB mixture fermented for 72 h were 9.0 and 0.02%, respectively, and the pH and total acidity were 4.3 and 0.3%, respectively.

Keywords: tapioca, hulled barley, alcohol fermentation, saccharification

서 론

주정의 원료는 크게 탄수화물 원료, 녹말질 원료, 섬유질 원료로 나누어진다. 탄수화물 원료로는 사탕무, 사탕수수, 당밀 등이 있다. 1983년부터 공해문제로 주정원료로 당밀을 사용하지 않고, 타피오카(tapioca)를 태국 등 동남아에서 수입하여 발효용 원료로 사용하고 있다(Park 등, 2005). 녹말질 원료로는 녹말을 다량 함유하는 고구마, 감자 등의 서류와 쌀, 보리, 밀, 옥수수, 수수 등의 곡류가 있고, 섬유질 원료는 목재 및 농산 폐기물 등의 섬유소를 이용한다. 그러나 섬유질 원료는 저렴하고 풍부하나 강산, 고압 하에 당화가 필요하고 섬유소를 쉽게 분해하는 효소(cellulase)의 개발이 요구되어 상업적으로 사용되기 어렵다(Chang과 Holtzapfel, 2000).

타피오카(*Monihot esculenta*)는 주로 열대지방에서 자라는 작물로 남미지역이 최대 원산지이며, cassava, mandioca, manioca 또는 yuca 등의 이름으로 통용되고 있다. 타피오카는 주로 뿌리를 사용하고 건조 시 건물의 약 75%가 전분으로 구성되어 주정 원료로 널리 사용되고 있다(Rhee 등, 1976; Chee, 1986). 경제적이고 공급량이 안정적인 이점으로 주정 원료 소비량이 증가하여

2000년 이후로 주정 원료 소비량의 약 80% 정도를 차지하고 있다(Jeong 등, 2002). 국내에서는 국산원료인 쌀보리, 겉보리, 절간, 생고구마와 수입산 타피오카를 이용하여 생산한 발효주정과 수입 조주정으로 생산하는 정제주정으로 구분하며 국내 농가보호를 위하여 정부가 국산원료 사용량을 업계와 협의하여 필수적으로 사용하고 있는 실정이다(Kim과 Park, 1995).

보리는 국내 농가보호 원료 중 하나로서 주정산업에 이용되고 있고 성숙 후 껍질의 종실 밀착 여부에 따라 껍질이 잘 떨어지지 않는 겉보리와 껍질이 씨알에서 잘 떨어지는 쌀보리로 나누어 사용되고 있다(Kim과 Park, 1995; Chee, 1986). 쌀보리는 껍질이 잘 분리되어 주로 식용으로 사용되고 겉보리는 가공특성상 식용보다는 녹말질을 얻기 위한 원료로 사용되고 있는 실정이다(Ahn 등, 2015). 한편 Song과 Kang(2016)의 보리의 건강기능성에 대한 연구와 Park 등(2015)의 보리 도정률에 따른 막걸리의 연구에서는 겉보리가 타피오카와 쌀보리와 달리 난분해 비발효성의 베타글루칸의 함량이 높아 증자 mash의 고점성 원인이 되고 기본적인 당화효소만으로는 당분 생산이 어려워 알코올 생산에도 어려움을 준다고 보고하였다. 또한 Lee 등(2014)과 Jeong 등(2002), Chin 등(2012)은 보리 원료 특성상 단백질과 지방질이 많아서 발효에 나쁜 영향을 미친다고 보고하였으며 당화효율을 높이기 위한 더 많은 연구가 요구되지만 현재 주정원료로서 겉보리를 사용한 당화 및 알코올 발효에 대한 연구가 활발히 진행되지 않고 있다.

본 연구에서는 타피오카와 겉보리를 혼합한 녹말질 원료에 대하여 글루코아밀레이스(G), 단백질 가수분해효소(P), 베타글루칸 가수분해효소(B) 등 복합효소를 사용한 당화를 시도하고 온도와 시간 등 당화조건을 확립하는 한편 타피오카와 겉보리 혼합원료의

*Corresponding author: Sung Tae Kang, Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Korea

Tel: +82-2-970-6736

Fax: +82-2-970-6460

E-mail: kst@seoultech.ac.kr

Received July 24, 2018; revised September 20, 2018;

accepted September 27, 2018

당화를 위한 복합효소의 영향, 타피오카와 걸보리 비율의 영향을 조사하였다. 또한 알코올 발효를 수행하기 위한 효소농도 및 당화액에 대한 가수량의 영향, 제조된 효소 당화액의 알코올 수율 향상에 미치는 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

원료

본 실험에 사용된 타피오카는 (주)화이트진로(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용되었고, 걸보리는 인터넷에서 구매(Minganetonghulledbarley, Daegu, Korea) 후 방앗간에서 분쇄하여 사용하였다. 녹말함량은 DNS법(Kim 등, 2016)을 사용하여 측정되었고 녹말함량은 타피오카 74.6%, 걸보리 55.8%로 측정되었다. 수분함량은 적외선수분측정기(FD-720, Korea Kett Co., Seoul, Korea)를 사용하여 시료 5 g을 넣어 수분을 측정하였고, 타피오카 12.9%, 걸보리 11.9%로 측정되었다.

사용균주

본 실험에서 사용된 알코올 발효 균주는 *Saccharomyces cerevisiae* 기원의 건조 효모 제품인 Ethanol Red (Batch. 61197/1, Fermentis, Marcq-en-Baroeul, France)를 발효배지의 0.03% (w/v)로 동일하게 사용하였다.

효소제

본 실험에서 사용된 액화효소제는 내열성 알파아밀레이스인 Spezyme Fred (A, from *Bacillus licheniformis*, Genencor, Rochester, NY, USA)를 사용하였고, 당화효소제는 글루코아밀레이스 (G, from *Aspergillus niger*, Sinobios, Shanghai, China), 단백질가수분해효소(P, Prozyme NP, from *Bacillus licheniformis*, Bision Co., Seoul, Korea), 베타글루칸 가수분해효소(B, Brewmax L, Bision Co., Seoul, Korea), 헤미셀룰로스 가수분해효소(H, Brewmax Super, Bision Co., Seoul, Korea)를 사용하였다.

베타글루칸 정량

베타글루칸은 β -glucan 측정 kit (K-BGLU, Megazyme, Chicago, IL, USA)으로 효소 분해 후 UV/Vis 분광광도계(U-1900, HITACHI, Tokyo, Japan)로 510 nm에서 흡광도를 측정하여 kit 분석법으로 계산하여 산출하였다. 즉 건조분말 약 100 mg에 50% 에탄올 0.2 mL와 20 mM 인산완충용액(pH 6.5) 4.0 mL을 순차적으로 가하여 5분간 교반하고 끓는 물에서 3분간 방치한 후 리체네이스(lichenase, Megazyme, Bray, Ireland) 0.2 mL (10 U)을 가하여 50°C에서 1시간 동안 처리 하였다. 효소처리액에 200 mM 아세트산 완충용액(pH 4.0) 5.0 mL을 가하여 반응을 종료시킨 후 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취하였다. 상층액 0.1 mL을 3개의 시험관에 각각 넣은 후 하나의 시험관에는 50 mM 아세트산 완충액(pH 6.0) 0.1 mL을 가하고, 나머지 시험관에는 베타글루코시데이스(β -glucosidase, Megazyme, Bray, Ireland) 0.1 mL (10 U)을 가하여 50°C에서 10분간 방치하였다. 효소가수분해액에 GOPOD (glucose oxidase/oxidase, Megazyme) 3.0 mL을 가하고 50°C에서 20분간 방치한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 β -glucan의 함량을 계산하였다(Lee 등, 2012).

타피오카와 걸보리 혼합원료의 당화액 제조

분쇄한 타피오카 70 g과 걸보리 30 g을 mashing machine (BGT-

8AH, Beijing DZT Brew Technology, Hangzhou, China)의 스테인리스강 비커에 넣고 360% (w/w)로 가수한 후 액화효소제(A)를 혼합원료 100 g 대비 50 mg (0.05%)을 첨가하여 90°C에서 30 분 동안 액화하였다. 액화시킨 혼합원료에 G 0.24%, P 0.04%, 그리고 B 0.01%로 구성된 당화효소제(GPB)를 0.30% 첨가하고 온도와 시간을 달리하여 당화하였다.

포도당 정량 및 점성 측정

당화액 및 알코올 발효액의 포도당 정량은 포도당 측정 kit (K-GLUC, Megazyme)를 사용하였으며 UV/Vis 분광광도계(U-1900, HITACHI)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 타피오카와 걸보리 단독 및 혼합원료의 당화액의 점성은 Shin 등(2016)의 방법을 따라 spindle 61이 장착된 회전점성계(LVDV-E, Brookfield, Toronto, Canada)를 사용하여 100 rpm에서 측정하였다.

복합효소제 선정

타피오카와 걸보리 혼합원료의 당화효소제의 영향을 조사하기 위하여 G, P, B, 그리고 H를 혼합원료 100 g에 대하여 각각 240 mg (0.24%), 40 mg (0.04%), 10 mg (0.01%), 그리고 10 mg (0.01%)를 사용하는 G, GP, GPB, 그리고 GPBH 네 가지로 조합하여 첨가한 후 50°C에서 150분 동안 당화시켰다. 타피오카와 걸보리의 사용비율에 따른 영향을 조사하기 위하여 타피오카와 걸보리를 1:9, 3:7, 5:5, 7:3, 그리고 9:1 (w/w)의 비율로 혼합한 후 0.05%의 액화효소제(A)를 첨가하여 액화시키고 0.3%의 GPB를 첨가하여 50°C에서 150분 동안 반응시켰다. 당화가 끝난 당화액의 점성과 포도당 함량의 변화를 조사하였다.

알코올 발효

타피오카와 걸보리의 당화액을 30°C로 냉각시키고 건조효모를 발효 배지의 0.03% (w/v)로 접종한 후 30°C의 진탕항온배양기에서 60시간 동안 알코올 발효시켰다. 발효액을 거름종이(MN614, 1/4, ϕ 320 mm, Macherey-Nagel, Duren, Germany)로 여과하고 여과액을 사용하여 알코올, 포도당, pH, 그리고 총산도를 분석하였다. 원료 사용량 대비 가수량에 따른 영향은 가수량을 150%에서 500% (w/w)로 조절하여 첨가하고 액화 및 당화, 그리고 알코올 발효시킨 후 전체 가수량을 500%로 조정하여 여과 후 분석하였다. GPB의 사용량이 알코올발효에 미치는 영향은 타피오카와 걸보리를 액화한 후 당화효소제인 G 0.24%, P 0.04% 그리고 B 0.01%로 구성된 GPB를 혼합원료의 무게 대비 0.1%에서 0.8% (w/w)까지 첨가한 후 당화하고 알코올 발효 후 분석하였다.

pH 및 총산도 분석

알코올 발효액의 pH는 pH meter (725p, Istek, Guro, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 총산도는 0.1 N 수산화소듐 용액으로 중화 적정하여 아세트산(%)으로 환산하였다(Jeong 등, 2002).

알코올 함량 측정

알코올 함량은 발효액 100 mL에 증류수 100 mL을 혼합하고 가열하여 증류장치를 통해 90 mL를 증류 후 증류수를 가하여 100 mL으로 조정하고 주정계로 온도 및 알코올(%) 측정 후 주정도를 통해 온도 보정하여 알코올(%)을 산출하였다(Seo와 Ryu, 2002).

결과 분석

실험결과는 3회 반복측정한 후 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

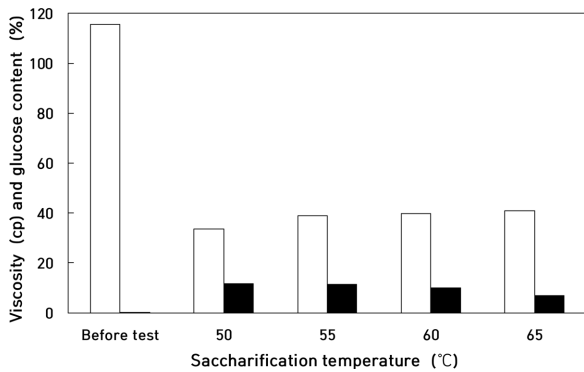


Fig. 1. Effect of temperature on viscosity and glucose content after saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) for 180 min by adding 0.3% saccharogenic enzyme (GPB). □: Viscosity, ■: Glucose content

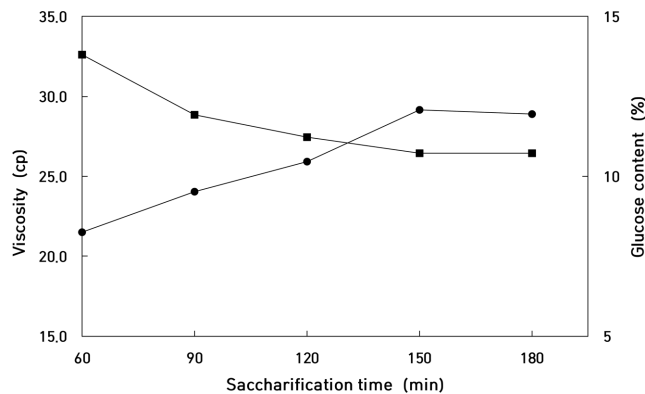


Fig. 2. Effect of time on viscosity and glucose content after saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) at 50°C by adding 0.3% saccharogenic enzyme (GPB). □: Viscosity, ●: Glucose content

결과 및 고찰

온도변화에 따른 당화특성

A로 액화된 타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)에 GPB를 0.3% 첨가하여 당화 온도가 당화액의 점성과 포도당 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 포도당 함량은 당화 전 액화액은 0.1%였으며 50, 55, 60, 그리고 65°C에서 당화했을 때 11.6, 11.4, 9.9, 그리고 6.9%로 50°C에서 가장 높게 나타났으며, 55°C 이상으로 온도가 증가할수록 포도당 함량이 낮게 나타났다. Kim과 Park (1995)은 당화효소제(glucoamylase)를 사용한 타피오카의 액화 연구에서 온도가 올라갈수록 포도당 함량이 감소하는 경향이 있었다는 결과와 일치하였다. 한편 점성은 당화 전에 115 cp이었으나 50°C에서 당화했을 때 32.1 cp로 급격히 감소하였고, 55, 60, 그리고 65°C에서는 각각 37, 39.7 cp, 그리고 41.3 cp로 나타났으며, 50°C에서의 당화액 보다 온도가 올라갈수록 약간씩 증가하는 경향을 나타냈다. 분해물의 점성이 낮으면 더 많은 포도당이 생산되며 에탄올 생산도 많아지기 때문에 낮은 점성의 당화액이 바람직하다(Harun 등, 2014). 또한 분해물의 점성이 높아지면 효소 당화, 발효 및 증류 공정에서 여러 가지 문제가 발생할 수 있고, 특히 증류 공정 중 mash column에서 열교환 효율이 떨어지고 증류탑에 편류현상이 발생하는 등 에너지 소비가 증가하게 된다(Kang 등, 2015). 따라서 타피오카와 겉보리의 당화는 낮은 점성

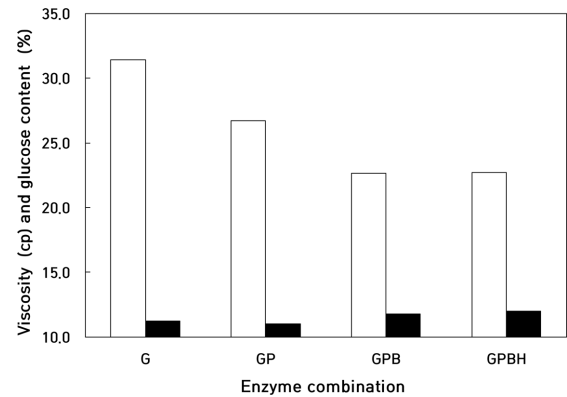


Fig. 3. Effect of enzyme (glucoamylase: G, protease: P, β -glucanase: B, hemicellulase: H) combination on viscosity and glucose content after saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) at 50°C for 150 min. □: Viscosity, ■: Glucose content

Table 1. β -Glucan content of raw material

Raw material	β -glucan (%)
Tapioca	0.04±0.01 ¹⁾
Hulled barley	4.39±0.02

¹⁾Means±SD (n=3)

과 높은 포도당 함량을 나타낸 50°C에서의 당화가 가장 효과적인 것으로 나타났다.

시간에 따른 당화특성

A로 액화된 타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)에 GPB를 0.3% 첨가하여 50°C에서 당화시키고 시간 경과에 따른 당화액의 포도당 및 점성을 분석하였다(Fig. 2). 당화가 진행되면서 포도당 함량이 증가하였고 점성은 감소하였다. 포도당 함량은 당화시간이 60분에서 150분으로 증가함에 따라 8.2%에서 11.9%로 증가하였고, 180분에서는 11.7%로 150분의 포도당 함량과 비슷하였다. 한편 점성은 60분에서 150분으로 증가함에 따라 31.6 cp,에서 26.9 cp로 감소하였고, 180분에서는 26 cp로 150분의 점도와 비슷하였다. 따라서 타피오카와 겉보리의 당화는 50°C에서 150분이 가장 효과적인 것으로 나타났다.

효소제에 따른 당화특성

A로 액화된 타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)의 당화공정에서 효소제 혼합이 당화에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 3). 타피오카와 겉보리의 β -glucan의 함량을 분석한 결과, 타피오카와 겉보리의 β -glucan 함량은 각각 0.04%와 4.4%로 나타났다(Table 1). Kim 등(2016)은 겉보리의 β -glucan 함량이 4.1%에서 7.4%의 범위라고 보고하여 겉보리를 당화하기 위해서는 B의 첨가가 필요하다고 판단되었다. 포도당 함량은 G, GP, GPB, 그리고 GPBH를 사용하였을 때, 각각 10.9, 11.0, 11.4와 11.6%로 나타나서 B의 첨가가 포도당 수율의 증가에 도움을 주었다. GPBH가 11.6%로 가장 높게 나타났으나 11.4%로 나타난 GPB와 크게 차이가 나타나지는 않아 H의 사용이 당화에 크게 효과적이지는 않았다. 한편 점성은 G, GP, GPB, 그리고 GPBH에서 각각 31.4, 26.8, 23.7과 23.7 cp이었다. G 만을 사용하였을 때 31.4 cp로 가장 높았고, B의 첨가가 점도의 감소에 도움을 주었으며, GPB와 GPBH에서 모두 23.7 cp로 낮은 점성을 나타내었다. GPBH와 GPB는

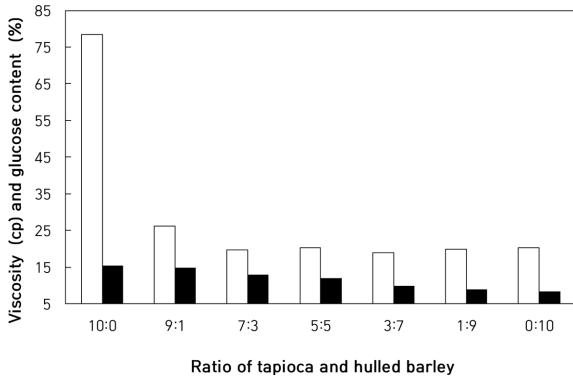


Fig. 4. Effect of raw material composition of tapioca and hulled barley mixture on viscosity and glucose content after saccharification at 50°C for 150 min by adding 0.3% saccharogenic enzyme (GPB). □: Viscosity, ■: Glucose content

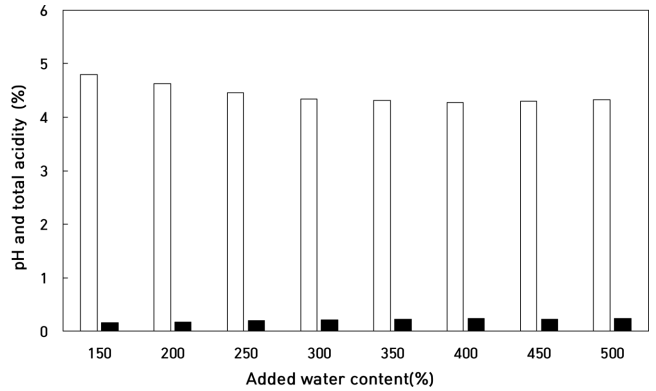


Fig. 6. Effect of added water content on total acidity and pH content after alcohol fermentation of saccharified liquid at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding 0.3% saccharogenic enzyme (GPB). □: pH, ■: total acidity

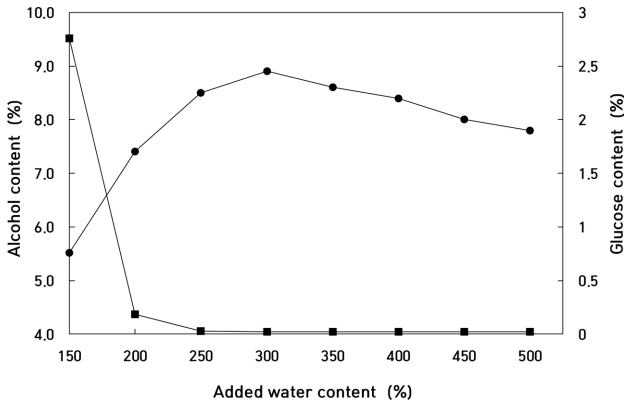


Fig. 5. Effect of added water content on alcohol content and glucose content after alcohol fermentation of saccharified liquid at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding 0.3% saccharogenic enzyme (GPB). ■: Glucose content, ●: Alcohol

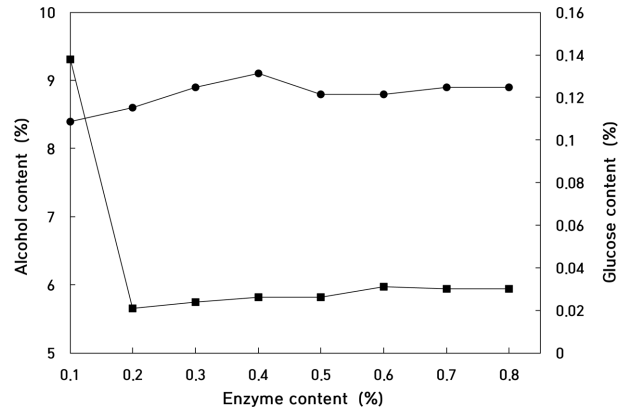


Fig. 7. Effect of saccharogenic enzyme concentration on alcohol content and glucose content after alcohol fermentation of saccharified liquid at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding saccharogenic enzyme (GPB) of different concentration. ■: Glucose content, ●: Alcohol

포도당 함량과 점성이 비슷하였으므로 타피오카와 겉보리 혼합 원료의 당화에 적합한 효소제는 GPB로 확인되었다.

당화를 위한 타피오카와 겉보리 원료의 사용비율

타피오카와 겉보리 혼합원료의 당화에 가장 적절한 사용비율을 조사하였다(Fig. 4). 타피오카 100% 사용 시 포도당 함량이 15.4%로 가장 높았다. 포도당 함량은 겉보리가 10% 혼합되었을 때 14.7%였으며 겉보리가 30, 50, 70, 90과 100%일 때 각각 12.9, 11.9, 9.9, 8.8과 8.4%로 나타나서 겉보리 함량이 증가할수록 포도당 함량이 감소하였다. 한편 점성은 타피오카 100% 사용 시 78.5 cp로 나타났고 겉보리 함량이 10% 혼합되었을 때 26.2 cp로 나타났다. 겉보리 함량이 30, 50, 70, 90과 100%로 증가할 경우 점성은 각각 18.9, 19.7, 20.2, 19.9와 20.5 cp로 나타나 겉보리 함량이 30% 이상인 혼합원료의 점성과 비슷한 수치를 보였다. 겉보리 10% 혼합원료의 포도당 함량은 14.7%로 높았으나 점성이 26.2 cp로 높게 나타났으며, 겉보리의 사용비율을 높이고자 한다면 포도당 함량은 12.9%로 약간 낮으며 18.9 cp로 낮은 점성을 나타낸 겉보리 30% 혼합원료의 사용이 바람직하다고 판단되었다.

원료 사용량 대비 가수량이 알코올 발효에 미치는 영향

타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)를 사용하였을 때 GPB를 이용한 알코올 발효 과정에서 가수량에 따른 영향을 조사하였다. 액화 시 혼합원료 무게 대비 가수량을 150%에서 500% (w/w)으로 조절하여 액화하고 GPB를 첨가하여 50°C에서 당화시킨 후 60시간 동안 30°C에서 알코올 발효를 수행하여 알코올 발효액의 알코올 농도와 포도당 농도를 Fig. 5에 나타내었고, 알코올 발효액의 pH와 총산도를 Fig. 6에 나타내었다. 알코올 함량은 가수량 150%의 5.5%에서 가수량 300%의 8.8%까지 가수량이 증가함에 따라 증가하였고, 가수량 350% 이상에서 500%까지는 가수량이 증가할수록 알코올 함량이 점차 낮아졌다. 150%에서 300%까지 가수량이 증가함에 따라 알코올 함량이 증가하는 것은 탁주를 제조 시 용수를 적게 사용하고 발효한 후에 가수를 하는 것보다 초기에 용수를 대량으로 사용하는 것이 더 많은 알코올을 생산할 수 있다는 Son 등(2011)의 결과와 일치하였다. 따라서 타피오카와 겉보리 혼합원료를 이용한 알코올 발효에 적합한 가수량은 300% (w/w)으로 확인되었다. 한편 포도당 함량은 가수량

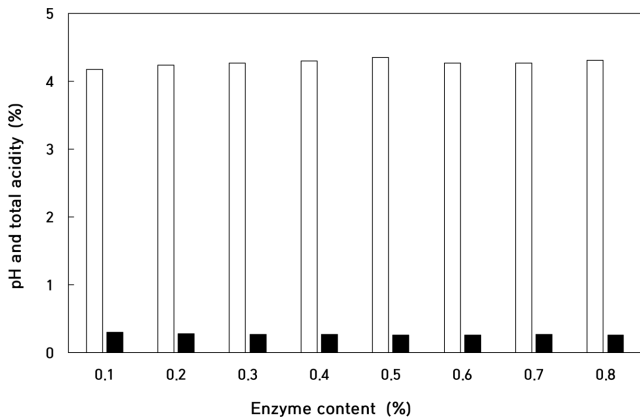


Fig. 8. Effect of saccharogenic enzyme concentration on pH and total acidity after alcohol fermentation of saccharified liquid at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding saccharogenic enzyme (GPB) of different concentration. □: pH, ■: total acidity

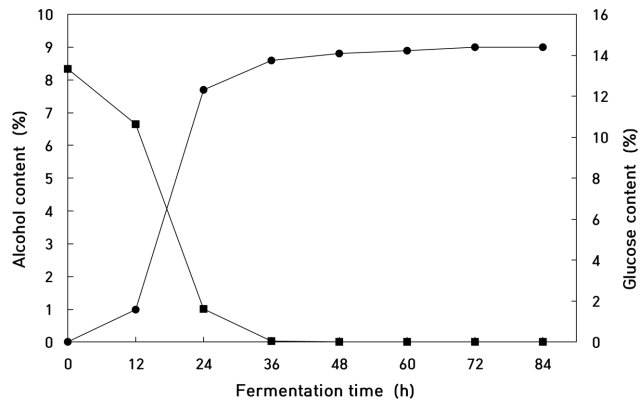


Fig. 9. Time course of alcohol fermentation of saccharified liquid at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding saccharogenic enzyme (GPB) of different concentration. ■: Glucose content, ●: Alcohol

150%에서 2.73%로 가장 높았고 가수량을 200%로 증가시킴에 따라 0.19%로 급격히 감소하였으며 이후 350%까지 0.02%의 낮은 포도당 함량을 나타내었다(Fig. 5). 또한 pH는 가수량이 150%에서 300%로 증가하면서 pH 4.7에서 pH 4.3으로 점차 감소한 후 가수량 350% 이상에서는 pH 4.3으로 유지되어 큰 변화가 없었다(Fig. 6). 총산도는 가수량이 150%에서 300%로 증가하면서 0.16%에서 0.22%로 증가하였고, 가수량 350% 이상에서는 0.23%로 유지되어 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

당화효소제의 사용량이 알코올발효에 미치는 영향

타피오카와 겉보리 혼합원료에 가수량을 300% (w/w)로 조절하여 액화하고 GPB의 사용량을 0.1-0.8% (100-800 mg, w/w)로 가하여 50°C에서 150분 동안 당화한 후 알코올 발효를 60시간 동안 30°C에서 수행하였다. 알코올 발효액의 알코올 농도와 포도당 농도를 Fig. 7에, pH와 총산도를 Fig. 8에 나타내었다. 알코올 함량은 GPB 농도가 0.1%에서 0.4%까지 증가하면서 8.5%에서 9.1%로 증가하였으며, 0.5% 이상의 효소농도에서는 더 이상 증가하지 아니하였다(Fig. 7). 한편 GPB의 사용량을 0.1% 사용하였을

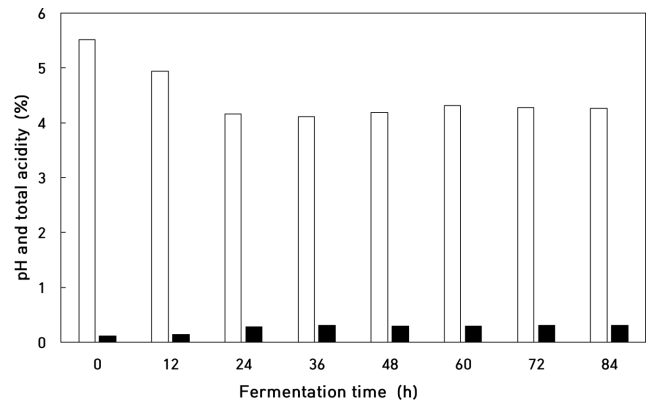


Fig. 10. Changes in pH and total acidity during alcohol fermentation at 30°C for 60 h. Saccharification of tapioca and hulled barley mixture (7:3, w/w) was carried out for 150 min at 50°C by adding saccharogenic enzyme (GPB) of different concentration. □: pH, ■: Total acidity

때, 포도당 함량은 0.14%로 가장 많이 잔류하였고, 0.2%에서는 급격히 감소하여 0.02%를 나타내었으며, 그 이상의 효소농도에서도 0.02%에서 0.03%의 농도로 잔류하였다(Fig. 7). pH는 GPB 농도 0.1%에서 0.8%로 증가시켰을 때, pH 4.2에서 pH 4.3의 범위로 나타나서 효소 사용량이 발효액의 pH에 미치는 영향은 없었다(Fig. 8). 또한 총산도 역시 효소 농도 0.1%에서 0.8%로 증가시켰을 때 각각 0.3%와 0.26%로 나타나 효소 사용량이 발효액의 총산도에 미치는 영향은 크지 않았다(Fig. 8). 따라서 타피오카와 겉보리 혼합원료를 사용한 알코올발효에서 가장 높은 농도의 알코올 생산을 위한 GPB의 농도는 0.4% (w/w)로 확인되었다.

선정조건에서 당화액의 알코올 발효특성

타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)의 GPB를 이용한 알코올 발효를 위해 원료 대비 300% (w/w)의 가수량에 GPB를 0.4% (w/w) 가하고, 발효배지 대비 건조 효모 0.03% (w/w)를 접종하여 발효시간에 따른 알코올 함량 및 포도당의 변화(Fig. 9)와 pH 및 총산도의 변화(Fig. 10)를 조사하였다. 알코올 함량은 발효 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72와 84시간에 각각 0, 0.9, 7.7, 8.6, 8.8, 8.9, 9.0과 9.0%로, 발효 24시간에 7.7%로 급격히 증가하고 발효 72시간에 9.0%로 최고치에 도달하였으며 이후부터는 더 이상 증가하지는 아니하였다(Fig. 9). 포도당 함량은 발효 직후 13.35%에서 발효 24시간 및 36시간에 각각 1.63, 0.04%로서 발효 36시간까지 급격히 감소하였으나 36시간 이후부터는 0.02% 수준으로 큰 변화를 나타내지 않아 포도당이 알코올로 잘 전환된 것으로 판단되었다(Fig. 9). 한편 알코올 발효 과정 중 pH는 발효 초기의 pH 5.5에서 발효 24시간의 pH 4.3까지 급격한 감소를 보였으며, 이후 큰 변화를 나타내지 아니하였다(Fig. 10). 총산도는 발효 초기에서 발효 24시간까지는 0.11%에서 0.28%로 완만히 증가하였고 이후 0.30% 수준으로 알코올 발효 중에 큰 변화를 나타내지 않았다(Fig. 10). 본 결과는 *Aspergillus niger*를 이용한 생전분의 당화와 주정발효에서 *A. niger*가 생성하는 녹말 및 단백질가수분해효소에 의해서 총산도 함량은 증가하고 pH가 낮아지지 않는 Han과 Chung(1985)의 결과와 유사하였다. 한편 Park 등(2004)과 So 등(1999)은 총산도 함량은 증가하고 있으나 pH가 낮아지지 않는 이유를 단백질가수분해효소에 의해 단백질의 분해로 아미노산이 증가하여 술덧의 완충능력을 높여주었기 때문이라고 설명하였다.

요 약

알코올 발효에 이용되는 타피오카와 겉보리 혼합원료의 효소 당화액을 제조하여 알코올 발효 특성을 조사하였다. 타피오카와 겉보리 혼합원료를 내열성 액화효소인 Spezyme Fred를 0.04% 사용하여 액화하고 글루코아밀레이스(G), 단백질가수분해효소(P), 베타글루칸 가수분해효소(B)를 혼합한 당화효소제(GPB)를 사용하여 당화하였다. 타피오카와 겉보리 혼합원료(7:3, w/w)를 50°C에서 150분간 당화하였을 때 당화액의 포도당 함량은 11.9%였고 점도는 26 cp로 나타났다. 베타글루칸 가수분해효소(B)의 첨가는 당화액의 포도당 수율의 증가와 점성의 저하에 도움을 주었다. 타피오카와 겉보리의 혼합비율을 7:3(w/w)으로 하였을 때 다른 비율의 당화액에 비하여 점도가 낮으며 포도당 함량이 높게 나타났다. 타피오카와 겉보리 혼합원료에 300%의 가수량으로 확립된 조건에서 당화하고 30°C에서 72시간 알코올 발효를 수행한 결과 타피오카와 겉보리 혼합원료를 이용한 알코올 발효에 적합한 발효액의 알코올 및 포도당 함량은 각각 9.0과 0.02%였고, pH와 산도는 각각 pH 4.3과 0.3%이었다.

References

- Ahn HJ, Kim KH, Jo ES, Kim KS, Kim YH, Song TH, Park JH, Kang HK, Jang SS, Oh YK, Cheon DW, Seol KH. Effect of microbial flora and inoculation of probiotics on fermenting characteristics of naked barley grain (*Hordeum Vulgare L.*). Korean J. Soc. Grassland Forage Sci. 35: 321-326 (2015)
- Chang VS, Holtzapple MT. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. Appl. Biochem. Biotech. 84: 5-37 (2000)
- Chee KM. Nutritive values of tapioca. Korean J. Anim. Nutr. Feed-stuffs 10: 17-18 (1986)
- Chin YW, Kim JW, Park YC, Seo JH. Comparison of ethanol fermentation properties between laboratorial and industrial yeast strains using cassava hydrolysate. Korean J. Microbiol. Biotech. 40: 220-225 (2012)
- Han MS, Chung DH. Saccharification and ethanol fermentation from uncooked starch using *Aspergillus niger* koji. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 258-264 (1985)
- Harun R, Danquah MK, Thiruvankadam S. Particulate size of microalgal biomass affects hydrolysate properties and bioethanol concentration. Biomed. Res. Int. 235631 (2014)
- Jeong YJ, Baek CH, Woo KJ, Woo SM, Lee OS, Ha YD. Alcohol fermentation characteristics of tapioca using raw starch enzyme. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 405-410 (2002)
- Kang YR, Hwang JS, Bae KH, Cho HH, Lee EJ, Cho YS, Nam KD. Pretreatment and enzymatic saccharification of wasted MDF for bio-ethanol production. J. Korean Soc. Biotech. Bioeng. 30: 332-338 (2015)
- Kim HY, Kim YK, Kim SL, Choi ID, Suh WD, Kang HJ, Lee MJ. Diastatic power and chemical composition in malted barley prepared with Korean covered barley. Food Eng. Prog. 20: 8-14 (2016)
- Kim KH, Park SH. Liquefaction and saccharification of tapioca starch for fuel ethanol production. Korean J Biotech Bioeng. 10: 304-316 (1995)
- Lee SH, Jang GY, Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Kim KJ, Lee MJ, Kim TJ, Lee JS, Jeong HS. Physicochemical properties of barley β -glucan with different heating temperatures. Korean J. Soc. Food Sci. Nutr. 41: 1764-1770 (2012)
- Lee DH, Jung JW, Lee YS, Seo JS, Park IT. Fermentation characteristics for preparation of distilled liquor made of mixed grains. Korean J. Food Sci. Technol. 46: 446-455 (2014)
- Park JH, Bae SM, Yook C, Kim JS. Fermentation characteristics of Takju prepared with old rice. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 609-615 (2004)
- Park HY, Choi ID, Oh SK, Woo KS, Yoon SD, Kim HJ, Sim EY, Jeong ST. Effects of different cultivars and milling degrees on quality characteristics of barley *Makgeolli*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 1839-1846 (2015)
- Park CH, Kim KH, Hajrial A, Fred R. Recent state and prospects of world production and trade in cassava. J. Korean Soc. Int. Agr. (2005)
- Rhee YC, Hong BJ, Rhee HJ. The nutritive value of tapioca root meal for broiler chick. Korean J. Ani. Sci. 18: 31-36 (1976)
- Seo MJ, Ryu SR. Screening and characteristics of ethanol tolerant strain *Saccharomyces cerevisiae SE211*. Korean J. Microbiol. Biotech. 30: 216-222 (2002)
- Shin DS, Choi YJ, Jeong ST, Sim EY, Lee SK, Kim HJ, Woo KS, Kim SJ, Oh SK, Park HY. Quality characteristics of mixed *Makgeolli* with barley and wheat. Korean J. Food Nutr. 29: 565-572 (2016)
- So MH, Lee YS, Noh WS. Changes in microorganisms and main components during *Takju* brewing by a modified nuruk. Korean J. Food Nutr. 12: 226-232 (1999)
- Son HS, Park BD, Ko BK, Lee CH. Quality characteristics of *Takju* produced by adding different amounts of water. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 453-457 (2011)
- Song SH, Kang SM. Major components and health functionalities of brown rice, germinated brown rice, barley, and buckwheat. Korean J. Food Eng. Prog. 20: 175-182 (2016)