

생전분 분해효소를 이용한 현미 알콜발효조건의 모니터링

신진숙 · 이오석* · 김경은** · 정용진†

계명대학교 식품가공학과
*계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화센터
**(주) 계명푸드텍스

Monitoring of Alcohol Fermentation Condition of Brown Rice Using Raw Starch Digesting Enzyme

Jin Suk Shin, Oh-Seuk Lee*, Kyungeun Kim** and Yong-Jin Jeong†

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

*Dept. of TMR Center, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

**Keimyung Foodex Co. Ltd., Daegu 704-701, Korea

Abstract

The study was carried out to set up alcohol fermentation condition for uncooked brown rice. Response surface methodology (RSM) was applied to optimize and monitor of the alcohol fermentation condition with uncooked brown rice. The primary variables were conducted the reaction surface regression analysis for the particle size of brown rice (20, 40, 60 mesh), the enzyme content (0.1, 0.3, 0.5%) and the agitating rate (0, 100, 200 rpm). Their optimization was 35~42 mesh for the size of particle and 0.32~0.43% for enzyme content by SAS (Statistical Analysis System). The coefficient of determination (R^2) in ingredients was admitted at the significant level of 5~10% in all ingredients except for a reducing sugar. Predicted values at optimum alcohol fermentation condition agreed with experimental values. During the fermentation, pH was decreased from 6.25 to 4.34, and total acidity was increased from 0.15 to 0.2. The amino acidity was decreased from 1.88 to 0.92, reducing sugar and total sugar contents were decreased 213 mg% and 1,077 mg%, respectively. Alcohol content was increased to 10% after 48 hr fermentation.

Key words: digesting enzyme, brown rice, alcohol fermentation, RSM

서 론

술이란 탄수화물이 미생물의 분해작용을 받아 알콜을 비롯한 여러 가지 성분을 함유하는 발효음료이며, 발효원으로서 전분질을 주성분으로 하는 곡류와 감자류 그리고 당분을 주성분으로 하는 과일과 당밀 등이 이용된다(1). 우리나라의 전통적인 주류제조방법은 멥쌀이나 찰쌀을 원료로 증자 후 국(麴)과 누룩을 발효제로 알콜발효가 이루어지고 있다. 알콜생산을 위한 전분질 원료의 액화 및 당화를 용이하게 하기 위한 전처리 방법에는 전분을 호화 후 당화하는 방법과 원료전분을 화학적으로 호화 및 당화하는 방법과 전분을 증자하지 않고 당화 효소제를 이용하는 방법으로 구분할 수 있다(2). 또한 알콜제조공정에는 α -amylase, glucoamylase 등의 효소제를 이용하는 방법이 주로 행해지고 있으며, 원료전분의 당화는 전분의 구조, 종류, 액화·당화조건, 당화효소의 종류 등에 영향을 받는다(3). 생전분 분해효소의 사용은 증자과정없이 알콜발효를 함으로써 제조공정의 단순화, 알

콜수율의 증가 및 증자에 따른 에너지의 절감 효과를 얻을 수 있으며, 이러한 산업적 실용화에 장점을 가지고 있을 뿐 아니라 쌀에 존재하는 열에 불안정한 효소, 단백질 및 비타민류 등의 변성 및 파괴를 최소화할 수 있어 주질면에서 상당한 개선효과가 있을 것으로 기대된다. 최근에 무증자효소의 개발(4), 당화촉진 mechanism을 관찰한 바 있으며(5), 생전분의 효소당화 촉진방법에 관한 연구가 보고된 바 있다(6). 그러나 이러한 연구는 현재 상당한 성과를 얻고 있으나, 산업적으로는 실용화되지 못하고 있는 실정이다. 현미의 겨층에는 단백질, 지질, 인, 철, 식이섬유 및 비타민 등의 영양성분 함량이 매우 높으며, 현미의 γ -aminobutyric acid(GABA)는 뇌세포의 대사기능향진, 혈압강하 및 통증완화 등에도 효과가 있다(7,8). 또한 쌀의 미강유에 존재하는 γ -oryzanol은 콜레스테롤 저하효과와 혈당조절 기능(9), 혈압상승억제(10), 돌연변이 억제효과가 있다(11). 그러나 현미의 영양성분은 도정도가 높아짐에 따라 양적 감소뿐만 아니라 영양성분 및 생리활성물질의 감소도 많은데 이 성분들이 주로 겨층에 많이

†Corresponding author. E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5557. Fax: 82-53-580-6477

분포되어 있기 때문이다(12).

따라서 본 연구에서는 생전분 분해효소를 이용한 비열처리 주류 및 식초를 생산하기 위한 전단계로 현미분쇄정도, 효소제 농도 및 교반속도에 대한 알콜발효 조건을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 현미(일품벼)는 2001년도 경북 상주지방에서 재배한 일반계 현미를 사용하였다.

효소제 및 주모

본 실험에 사용된 생전분 분해 효소제는 starch saccharifying enzyme(Daiwa kasei Co., Japan, Lot P8AB665)으로 효소역가는 30,000 unit/g이었다. 주모는 현미분말 100 g에 수돗물 200 mL와 효소제 0.34%(w/w)를 첨가한 후 50°C에서 24시간 진탕하여 당화한 후 여과액을 121°C 15분간 살균하고 *Saccharomyces kluyveri* DJ97(KCTC 8842P)을 접종하여 30°C에서 50 rpm으로 24시간 배양하여 5% (v/v)를 사용하였다.

실험계획

현미 100 g을 500 mL 삼각플라스크에 넣고 Table 1과 같이 설정된 각각의 조건에 따라 *S. kluyveri* DJ97 배양액을 주모로 5%(v/v) 접종하여 30°C에서 60시간 동안 발효하였다. Jeong 등(13)의 방법에 준하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 사용하였으며, 중심합성계획(central composite design)에 의한 요인(독립)변수(X_i)의 실험계획은 무증자 알콜발효조건에 중요한 독립변수로 고려되는 인자인 현미의 분쇄정도에 따른 입자크기(X_1), 효소제 첨가량(X_2), 교반속도(X_3)를 -1, 0, 1의 3단계로 부호화하고 중심합성계

Table 1. Central composite design for the optimization of alcohol fermentation brown rice

Experiment number ¹⁾	Particle size (mesh)	Enzyme content (%)	Agitation rate (rpm)
1	20(-1)	0.1(-1)	100(0)
2	20(-1)	0.3(0)	0(-1)
3	20(-1)	0.3(0)	200(1)
4	20(-1)	0.5(1)	100(0)
5	40(0)	0.1(-1)	0(-1)
6	40(0)	0.1(-1)	200(1)
7	40(0)	0.3(0)	0(-1)
8	40(0)	0.3(0)	200(1)
9	60(1)	0.5(1)	100(0)
10	60(1)	0.3(0)	0(-1)
11	60(1)	0.3(0)	200(1)
12	60(1)	0.5(1)	0(-1)
13	40(0)	0.3(0)	100(0)
14	40(0)	0.3(0)	100(0)
15	40(0)	0.3(0)	100(0)

¹⁾The number of experimental conditions by fractional factorial design.

획에 따라 15구간으로 설정하여 무증자 알콜발효실험을 실시하였다. 그리고 반응변수(Y_n)로는 pH(Y_1), 총산(Y_2), 아미노산도(Y_3), 환원당(Y_4), 총당(Y_5), 알콜함량(Y_6)의 회귀분석을 실시하였다. 회귀분석에 의한 예측은 SAS(statistical analysis system) program을 이용하였고(14), 회귀분석 결과 임계점(critical point)이 최대점(maximum)이거나 최소점(minimum)이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최대점을 구하였다.

일반성분 분석

pH는 pH meter(Metrohm 691, Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 총산은 0.1 N NaOH용액으로 중화 적정하여 초산함량으로 환산하였다. 아미노산도는 포르몰 적정법(15)으로 구하였다. 알콜함량측정은 배양액을 원심분리한 후 상등액을 상압 증류하여 alcohol hydrometer로 측정된 값을 Gay-Lussac 표를 사용하여 15°C로 보정하였다(16). 환원당은 시료 5 mL을 취해 증류수 500 mL로 정용한 후 이중 10 mL를 취해 DNS법(17)으로 측정하였으며, 표준물질 glucose를 50 ~ 150 µg/mL의 농도로 조제하여 작성한 검량곡선으로부터 환산하였으며, 총당은 시료 5 mL에 25% HCl 20 mL를 가해 100°C 수욕상에서 3시간 동안 가수분해시킨 후 단백질을 제거하고 10% NaOH로 중화하여 500 mL로 정용한 다음 환원당과 동일한 방법으로 정량하였다.

알콜발효조건 예측값 분석

최적 알콜발효조건 예측은 일반성분에 대한 contour map을 superimposing하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 조건을 설정하여 회귀식에 대입한 후, 그 예측된 최적값에 대하여 실증실험을 실시하였다.

알콜발효 중 성분변화

생전분 분해효소를 이용한 현미알콜발효는 중심합성계획법에 따라 최적화된 조건 40 mesh, 현미분말 1 kg에 생전분 분해효소 34 g, 수돗물 3,500 mL를 가하고 주모 5% (w/v)를 접종하여 30°C에서 50 rpm으로 배양하였으며, 분석용 시료는 12시간 간격으로 8,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 상등액을 사용하였다.

결과 및 고찰

일반성분 변화 모니터링

Fractional factorial design에 의한 15구간의 알콜발효조건에 따라 알콜발효를 실시하였하고, 이때 얻어진 여액의 pH, 총산 및 아미노산도, 환원당, 총당 및 알콜함량은 Table 2에 나타내었다. pH, 총산 및 아미노산도의 contour map은 Fig. 1~2에 나타내었고 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{pH} = 3.888541 + 0.008579X_1 + 0.319905X_2 + 0.003249X_3 -$$

Table 2. Experimental data on pH, total acidity, amino acidity, reducing sugar, total sugar and alcohol content in alcohol fermentation under different conditions based on central composition design for response surface analysis

Exp. No. ¹⁾	pH	Total acidity	Amino acidity	Reducing sugar (mg%)	Total sugar (mg%)	Alcohol content (%)
1	4.32±0.00	0.20±0.00	0.37±0.03 ²⁾	106.33±7.33 ²⁾	3244.33±3.35	7.36±0.20
2	4.07±0.00	0.37±0.00	0.50±0.04	57.96±0.46	807.83±0.72	11.96±0.05
3	4.35±0.00	0.20±0.00	0.28±0.00	59.13±0.62	843.16±0.32	10.03±0.47
4	4.32±0.00	0.25±0.00	0.56±0.04	58.23±0.20	719.50±0.27	10.46±0.40
5	4.17±0.00	0.38±0.00	0.46±0.00	64.56±0.24	2298.16±9.44	8.46±0.40
6	4.35±0.00	0.30±0.00	0.32±0.00	63.06±1.04	1899.16±6.76	8.66±0.40
7	4.20±0.00	0.37±0.00	0.76±0.07	56.36±0.39	927.0±0.61	10.16±0.25
8	4.53±0.00	0.26±0.00	0.44±0.01	90.23±4.09	978.33±0.69	9.30±0.20
9	4.53±0.00	0.32±0.00	0.72±0.05	93.10±0.73	898.50±0.13	9.30±0.10
10	4.27±0.00	0.36±0.00	0.81±0.08	71.66±0.57	718.66±1.32	9.80±0.34
11	4.60±0.00	0.27±0.00	0.60±0.11	84.36±0.02	947.16±0.50	9.03±0.05
12	4.38±0.00	0.37±0.00	0.95±0.09	73.93±0.49	563.83±2.08	9.20±0.50
13	4.40±0.00	0.27±0.00	0.35±0.02	60.26±0.35	644.50±0.88	9.86±0.11
14	4.48±0.00	0.26±0.00	0.41±0.03	70.56±1.95	719.16±0.98	9.66±0.05
15	4.49±0.00	0.24±0.00	0.04±0.07	69.73±2.01	839.50±1.03	9.73±0.11

¹⁾The number of experimental conditions by fractional factorial design.

²⁾Values are mean ± SD (n=3).

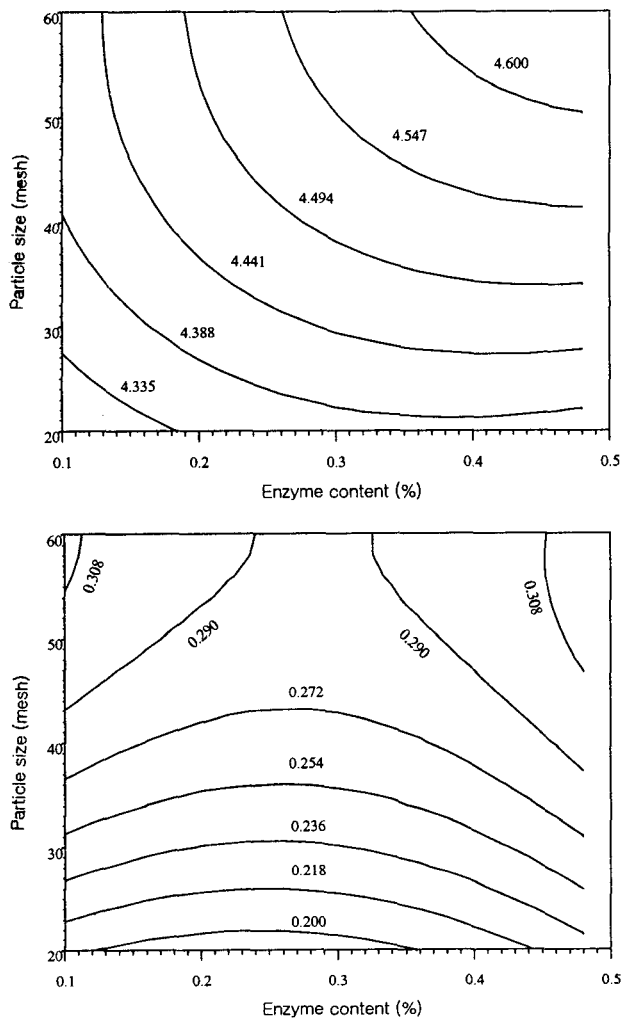


Fig. 1. Contour map for the effects on pH (top) and total acidity (bottom) of particle size and enzyme content on the alcohol fermentation of brown rice.

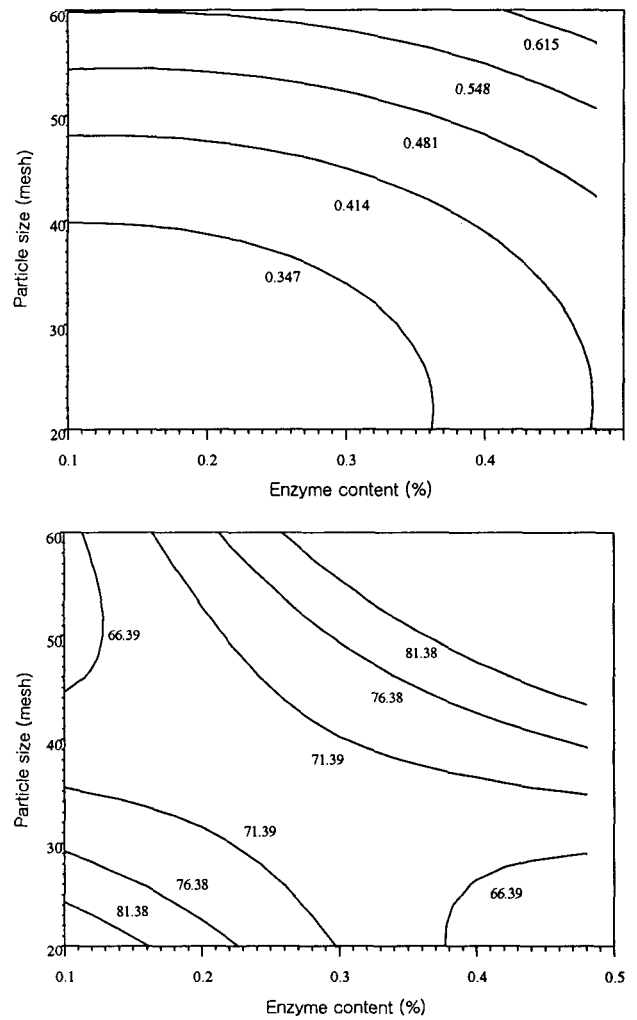


Fig. 2. Contour map for the effects on amino acidity (top) and reducing sugar (bottom) of particle size and enzyme content on the alcohol fermentation of brown rice.

$$\begin{aligned}
 &0.000083980X_1^2 + 0.010253X_2X_1 - 1.057997X_2^2 + \\
 &0.000000502X_3X_1 + 0.001417X_3X_2 - 0.000011404X_3^2 \\
 Y_{\text{Total acidity}} = &0.292693 + 0.005288X_1 - 0.238242X_2 - \\
 &0.002230X_3 - 0.000061969X_1^2 - 0.001449X_2X_1 + \\
 &0.662685X_2^2 + 0.000012495X_3X_1 - 0.000252X_3X_2 + \\
 &0.000006278X_3^2 \\
 Y_{\text{Amino acidity}} = &0.504774 - 0.007315X_1 + 0.286079X_2 - \\
 &0.002356X_3 + 0.000169X_1^2 - 0.002231X_2X_1 + \\
 &0.891280X_2^2 + 0.000003938X_3X_1 - 0.002021X_3X_2 + \\
 &0.000007964X_3^2
 \end{aligned}$$

능선분석 결과 Table 3과 같이 현미 알콜발효액의 pH, 총산 및 아미노산도 회귀식의 R²는 0.9656, 0.9433, 0.9162이고 5%이내 수준에서 유의성이 인정되었다. pH와 총산의 예측된 정상점은 최대점과 안장점이었고 아미노산도는 최소점으로 나타났으며, 이때 예측된 발효조건은 Table 4에 나타내었다. 알콜발효에 미치는 pH의 영향과 알콜발효과정에서 산패의 기준이 되는 총산의 변화, 술의 담백한 맛을 부여하는 아미노산도는 현미의 입자크기에 의해서 주로 영향을 받고 있었으며, pH는 4.3~4.6으로 현미분쇄 정도가 클수록 다소 높았다(Fig. 1). Shon 등(18)의 *Rhizopus* sp.의 amylase를 이용한 쌀 탁주제조시 pH는 4.5로 보고된 바 있고, Kim 등(19)의 흑미를 이용한 무증자 유색주 제조시 흑미첨가량이 많을수록 3.65~4.49로 다소 증가하였다는 보고가 있었으며, O 등(20)의 쌀보리의 무증자 알콜발효에서 효모의 이용률이 pH 4.3에서 양호하였다는 보고와 유사하였다. 또한 본 실험의 현미술덧의 아미노산도는 0.34~0.61 범위로 나타났으며, 이(21)의 올방개를 이용한 전통약주제조에서 0.10~1.20 범위의 아미노산도는 술맛을 상승시켰다는 보고와 유사하였다.

환원당, 총당, 알콜함량의 변화에 따른 contour map은 Fig. 2~3에 나타내었고, 회귀식은 다음과 같다.

$$\begin{aligned}
 Y_{\text{Reducing sugar}} = &157.471784 - 2.728333X_1 - 268.979658X_2 + \\
 &0.030874X_3 + 0.018354X_1^2 + 4.522382X_2X_1 + \\
 &49.619686X_2^2 + 0.001369X_3X_1 + 0.411885X_3X_2 - \\
 &0.000658X_3^2 \\
 Y_{\text{Total sugar}} = &6248.335174 - 60.016343X_1 - 21514X_2 - \\
 &5.905042X_3 + 0.347781X_1^2 + 82.656666X_2X_1 +
 \end{aligned}$$

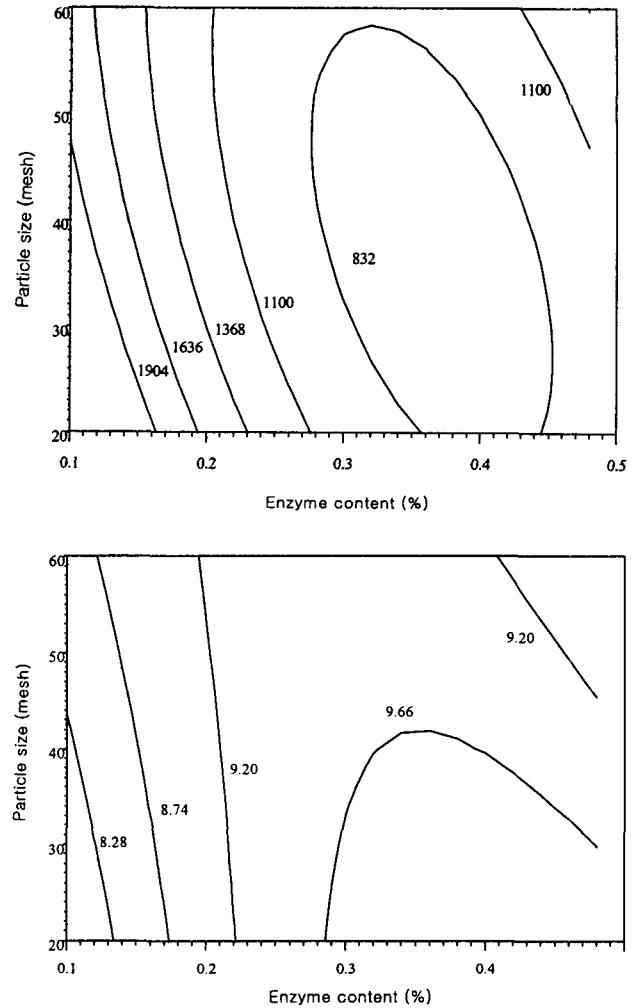


Fig. 3. Contour map for the effects on total sugar (top) and alcohol content (bottom) of particle size and enzyme content on the alcohol fermentation of brown rice.

$$\begin{aligned}
 &19611X_2^2 + 0.019661X_3X_1 + 20.649491X_3X_2 - \\
 &0.003427X_3^2 \\
 Y_{\text{Alcohol content}} = &6.835684 - 0.003969X_1 + 24.847739X_2 - \\
 &0.014336X_3 - 0.000040006X_1^2 - 0.126356X_2X_1 - \\
 &22.113016X_2^2 + 0.000190X_3X_1 - 0.019730X_3X_2 + \\
 &0.000039620X_3^2
 \end{aligned}$$

Table 3. Predicted levels of alcohol fermentation conditions for the maximum responses of pH, total acidity, amino acidity, reducing sugar, total sugar and alcohol content by the ridge analysis

Responses	R ²	Pro>F	X ₁ ¹⁾	X ₂ ²⁾	X ₃ ³⁾	Maximum	Morphology
pH	0.9656	0.0038	97.56	0.75	191.32	4.73	maxium
Total acidity	0.9433	0.0124	39.76	0.33	1.24	0.37	saddle point
Amino acidity	0.9162	0.0306	50.12	0.39	27.81	0.69	minimum
Reducing sugar	0.7273	0.3468	56.31	0.39	130.86	88.50	saddle point
Total sugar	0.9677	0.0032	36.23	0.10	86.10	25.09	saddle point
Alcohol content	0.8689	0.0825	29.53	0.38	24.83	11.13	saddle point

¹⁾X₁: particle size (mesh).
²⁾X₂: enzyme content (%).
³⁾X₃: agitation rate (rpm).

알콜발효액의 환원당, 총당 및 알콜함량에 대한 회귀식의 R^2 는 각각 0.7273, 0.9677 및 0.8689이고 환원당을 제외한 총당과 알콜함량의 유의성은 각각 5%와 10%이내의 수준에서 인정되었다. 알콜함량에 대한 발효조건의 영향은 주로 현미 입자크기에 영향을 받고 있었으며, 효소제함량에 대한 영향은 크게 나타나지 않았다. 예측된 정상점은 모두 안장점이고 이때 환원당 64.78 mg%, 총당 567.08 mg%, 알콜함량 10.21%로 예측되었으며, 이 예측된 알콜함량을 얻을 수 있는 발효조건들(요인변수)은 효소제 첨가량 0.38%이상, 현미의 입자크기는 29.53 mesh이었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 알콜함량

의 contour map을 분석한 결과, 효소제 첨가량은 0.38% 이상과 현미의 입자크기는 30.0~42.5 mesh 범위에서 알콜함량이 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 Lee 등(22)의 무증자 전분의 당화에 이용한 glucoamylsae의 농도가 높을수록 당화력이 증가한다는 보고와 유사하였으나, 본 실험에서는 최적농도가 Lee 등이 제시한 1%보다 훨씬 낮은 0.38%에서 당화력이 가장 우수하여 무증자 알콜발효에 필요한 환원당 생성이 가능하였다. 이(23)의 백미 분쇄정도에 따른 무증자타주 제조에서 알콜함량이 14.8%로 본 실험 결과보다 높게 나타났다. 이러한 차이점은 이(23)의 연구에서는 무증자 효소제와 정제효소를 혼합하여 사용하였으며, 본 실험에서는 단일 효소제만을 사용하여 효소제의 역가 또는 발효조건이 달랐기 때문으로 생각된다.

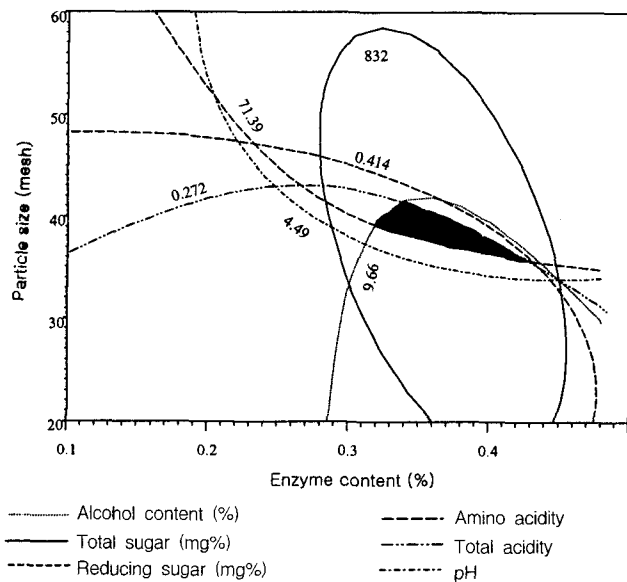


Fig. 4. Superimposed contour map of optimized conditions for pH, total acidity, amino acidity, reducing sugar, total sugar and alcohol content for alcohol fermentation of brown rice.

Table 4. Comparison of predicted value and observed value on alcohol fermentation of non-steamed brown rice

Responses	Fermentation time (hrs)	
	Predicted value	Observed value
pH	4.38	4.33 ± 0.01 ¹⁾
Total acidity	0.28	0.20 ± 0.00
Amino acidity	0.53	0.51 ± 0.00
Reducing sugar (mg%)	64.78	200.50 ± 0.04
Total sugar (mg%)	567.08	1039.00 ± 0.74
Alcohol content (%)	10.21	10.15 ± 0.21

¹⁾Values are mean ± SD (n=3).

알콜발효조건 설정

현미 알콜발효 조건을 설정하기 위하여 조건별 pH, 총산, 아미노산도, 환원당함량, 총당함량 그리고 알콜함량에 대한 contour maps을 superimposing(Fig. 4)하여 최적 알콜발효 조건 범위를 예측하였다. 발효조건에 따른 일반성분의 변화(Table 2)는 대부분 현미의 입자크기에 영향을 받았다. 그리고 알콜발효에 가장 영향을 적게 미치는 교반속도를 고정하여 반응변수들의 일반성분에 대한 반응표면분석을 하였다. 그 결과 Fig. 4와 같이 pH, 총산, 아미노산도, 환원당, 총당 및 알콜 함량이 일치하는 범위는 효소제 함량 0.32~0.43%, 현미의 입자크기는 35~42 mesh로 나타났다. 따라서 이와 같은 예측결과에 대한 모델식의 신뢰성을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위내에서 임의의 조건 즉, 시료에 대한 효소제 함량 0.34%, 현미의 입자크기 40 mesh, 교반속도 50 rpm을 대입하여 일반성분을 예측해 본 결과, pH 4.38, 총산 0.28, 아미노산도 0.53, 환원당 64.78 mg%, 총당 567.08 mg% 및 알콜 함량 10.21% 등으로 예측되었다. 현미 알콜발효액의 품질에 관련된 성분들의 예측치와 동일조건에서 실제 실험하여 얻은 실험치와의 알콜함량을 확인하여 회귀식의 신뢰성을 검증하였다. 이때 임의의 조건은 효소제 함량 0.34%, 현미의 입자크기 40 mesh, 교반속도 50 rpm 및 수돗물 350%를 가수하여 현미 알콜발효실험을 행한 결과 발효액의 pH, 총산, 아미노산도, 환원당, 총당, 알콜함량 등 품질특성을 RSM기법에 의해 예측된 값과 비교한 결과 유사한 경향으로 나타나 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다(Table 4).

Table 5. Changes in the components of alcohol fermentation by non-steamed brown rice

Responses	Fermentation time (hrs)					
	0	12	24	36	48	60
pH	6.26 ± 0.00 ¹⁾	4.96 ± 1.87	4.82 ± 0.02	4.38 ± 0.00	4.33 ± 0.01	4.34 ± 0.00
Total acidity	0.15 ± 0.04	0.16 ± 0.05	0.16 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.00	0.20 ± 0.00
Amino acidity	1.88 ± 0.01	2.06 ± 0.19	0.55 ± 0.02	0.55 ± 0.04	0.51 ± 0.00	0.92 ± 0.02
Reducing sugar (mg%)	2,020.20 ± 0.00	3,291.75 ± 3.35	279.8 ± 0.01	259.10 ± 0.47	200.50 ± 0.04	213.30 ± 0.89
Total sugar (mg%)	21,481.25 ± 3.18	32,979.00 ± 4.56	1,419.25 ± 1.85	1,090.50 ± 0.70	1,039.00 ± 0.74	1,077.75 ± 0.95
Alcohol content (%)	0	0	3.90 ± 0.14	7.20 ± 0.00	10.15 ± 0.21	9.90 ± 0.42

¹⁾Values are mean ± SD (n=3).

알콜발효 중 성분변화

생전분분해효소를 이용한 현미 알콜발효 중 성분변화는 Table 5와 같다. 알콜발효 중 pH는 초기에 6.26였으나, 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 발효종료시 4.34였다. 총산은 발효초기 0.15에서 발효종료시 0.20으로 큰 변화를 나타내지 않았으며, 아미노산도는 발효초기 1.88이었으나 발효가 진행됨에 따라 다소 감소하여 발효종료시 0.92로 나타났다. 환원당과 총당은 발효초기 각각 2,020, 21,481 mg%이었으나 발효 12시간에 각각 3,291, 32,979 mg%로 증가 후 발효가 진행될수록 감소하는 경향이였다. 알콜함량은 발효 24시간에 3.9%로 증가하기 시작하여 발효가 진행될수록 증가하여 발효 48시간에 10.15%로 최대치를 나타낸 후 감소하였다.

요 약

현미를 이용하여 증자하지 않고 생전분 분해효소를 이용한 알콜발효조건을 모니터링 하였다. 알콜발효에 가장 영향을 미치는 요인변수인 현미분쇄 정도에 따른 입자크기(20, 40, 60 mesh), 효소제 함량(0.1, 0.3, 0.5%), 교반속도(0, 100, 200 rpm)에 대하여 반응표면회귀분석한 결과, 현미분쇄 정도는 35~42 mesh, 효소제함량 0.32~0.43%(w/w) 범위로 나타났다으며, 이때 알콜발효의 품질인자인 알콜함량, 총당, 환원당, 아미노산도, 총산 및 pH의 R²는 환원당을 제외한 모든 성분에서 5~10%이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 또한 최적조건범위에서 실증실험 결과 pH 4.33, 총산 1.10, 아미노산도 0.51, 환원당 200.50 mg%, 총당 1,039.0 mg%, 알콜함량 10.15%로 RSM기법에 의해 예측된 값과 유사한 값을 나타내어 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다. 또한 최적조건의 알콜발효 중 성분분석 결과 pH는 6.26에서 발효가 진행됨에 따라 점점 감소하여 발효 종료시 4.34이었으며, 총산은 발효초기 0.15였으며 발효가 진행됨에 따라 다소 증가하였으나 발효종료시 0.20으로 총산의 변화는 크지 않았다. 아미노산도는 발효초기 1.88에서 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향이였으며 발효종료시 0.92였다. 환원당과 총당은 발효가 진행됨에 따라 감소하여 각각 213, 1,077 mg%로 나타났다. 알콜함량은 발효 24시간부터 증가하여 발효 48시간에 10.15%로 최대치를 나타낸 후 감소하였다. 이상의 결과로 생전분분해효소를 이용한 현미 알콜발효조건을 설정할 수 있었으며, 초산발효에 필요한 알콜함량을 얻을 수 있어 생전분을 이용한 현미식초 제조가 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터(RRC)의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. 이서래. 1986. 한국의 발효식품. 이화여대출판부, 서울. p 205.
2. Park KH, Oh BH, Hong SS, Lee KH. 1984. Production of alcohol from starch without cooking. *J Korean Agric Chem Soc* 27: 198-204.
3. Lee SY, Shin YC, Lee SH, Park SS, Kim HS, Byun SM. 1984. Saccharification of uncooked starch. *Korean J Food Sci Technol* 16: 463-471.
4. Chung MJ, Hou WN, Jeong JH, Hajime T. 1990. Studies on the development and the characteristics of the powerful raw starch digesting enzyme. *Kor J Appl Microbiol Biotech* 18: 251-259.
5. Park DC, Lee YH. 1990. Mechanism of enzymatic hydrolysis of raw corn starch by purified glucoamylase or α -amylase in an agitated bead reaction system. *Kor J Appl Microbiol Biotech* 18: 260-267.
6. Choi SH, Kim CJ, Lee SK. 1989. Attrition effect of beads on enzymatic saccharification of raw starch. *J Korean Agric Chem Soc* 32: 374-377.
7. Nakagawa K, Onota A. 1996. Accumulation of γ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ. *Food Processing* 31: 43-46.
8. Krosgaard-Larsen P. 1989. GABA receptors. In *Receptor Pharmacology and Function*. Williams M, Glennon RA, Timmermans PMWM, eds. Marcel Dekker, Inc, New York. p 349-383.
9. 하태영, 김혜영. 1994. 쌀의 영양학적 특성에 관한 연구. 한국식품개발연구원.
10. 류미라, 남영중. 1994. 곡류 부산물의 혈압상승 억제물질 탐색과 기능성 식품. 한국식품개발연구원.
11. Chun HS, Kim IH, Kim YJ, Kim KH. 1994. Inhibitory effect of rice extract on the chemically induced mutagenesis. *Korean J Food Sci Technol* 26: 188-192.
12. 이창호. 1998. 현미의 기능성. *식품기술* 11: 3-6.
13. Jeong YJ, Seo JH, Jung SH, Shin SR, Kim KS. 1998. The quality comparison of uncleaned rice vinegar by two stages fermentation with commercial uncleaned rice vinegar. *Korean J Postharvest Sci Technol* 5: 374-379.
14. SAS. SAS/STAT: User's Guide Version 6. 4th ed. SAS institute Inc, Cary, NC. Vol 2, p 1457-1487.
15. 한국식품공업협회. 2001. 식품공전. 한국식품공업협회. p 553-555.
16. 국세청. 1999. 국세청기술연구소 주류분석규정. 국세청. p 37-38.
17. Luchsinger WW, Cornesky RA. 1962. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method. *Anal Biochem* 4: 346-347.
18. Shon SK, Rho YH, Kim HJ, Bae AM. 1990. Takju brewing of uncooked rice starch using *Rhizopus koji*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 18: 506-510.
19. Kim SD, Kim MH, Ham SS. 2000. Preparation and quality of uncooked-colored wine using black rice. *Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 224-230.
20. O PS, Cha DJ, Suh HW. 1986. Alcohol fermentation of naked barley without cooking. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 14: 415-420.
21. 이인숙. 2001. 울방개를 이용한 전통약주의 품질특성에 관한 연구. 석사학위, 건국대학교.
22. Lee SY, Shin YC, Lee SH, Park SS, Kim HS, Byun SM. 1984. Saccharification of uncooked starch. *Korean J Food Sci Technol* 16: 463-471.
23. 이순애. 1995. 원료 백미의 분쇄정도에 따른 무증자당화 탁주의 발효특성. 석사학위, 경북대학교.

(2003년 1월 29일 접수; 2003년 4월 3일 채택)