

市販 精製酵素劑를 利用한 濁酒製造에 關한 研究 (第一報)

乳酸菌의 添加效果

姜 孝 源 · 權 泰 鍾 · 李 一 根
建國大學校 工大 微生物工學科

Studies on Brewing Conditions of Takjoo with Commercial
Enzyme. (part 1)

Influence of Lactobacilli in Takjoo Brewing.

H. W. Kang, T. J. Kwon, I. K. Lee

Department of Microbiological Engineering Kon-Kuk University.

(Received January 10, 1975)

Abstract

Influence of *L. bulgaricus* on the brewing of Takjoo by the use of commercial amylase and yeast was investigated.

1. The acidities of the mash in which *L. bulgaricus* was cultured at 45°C for 8 hours and 16 hours before the addition of yeast into mash were 11.6 and 13.9 (titration volumn ml with N/10-NaOH) respectively, which were slightly in excess of the nomal takjoo mash.
2. The best brewing product could be attained when *L. bulgaricus* was inoculated and fermented simultaneously with the yeast at 30°C.
3. When the commercial amylase and Lactobacillus were used in the brewing of Takjoo, the best condition of saccharification could be attained on the treatment of the amylase for six hours before the inoculation of Lactobacillus and yeast.

緒 論

從來 濁酒의 製造에서는 麴子⁽¹⁾, 粒麴⁽²⁾, 粉麴⁽³⁾을 專用 또는 混用하는 方法이 採擇되어 왔으며 現在에도 大部分의 工場에서 實施되고 있다. 最近 麴의 抽出液을 鹽析하여 만든 澱粉糖化酵素劑(國稅廳에서는 精製酵素劑라함)가 濁酒의 製造에 대하여 許用되었으나 從來의 方法에서 混用되고 있는 實情이다.

筆者等은 精製酵素劑를 濁酒의 製造에 利用하는 一連의 研究에서 精製酵素劑만을 使用하여 만든

濁酒의 酸味不足을 補充하기 위하여 濁酒를 仕込할때 乳酸菌 添加에 依한 酸生成과 酒精生成에 대한 效果를 檢討하였기에 그 結果를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1) 材料

(1) 使用原料

市販 밀가루(澱粉價: 72.1)

(2) 酵素劑 및 그 特性

天野製藥株式會社 製品의 *Rhizopus*系 glucamyl

ase로서 力價는 15,000 sp⁰이다.

作用 最適溫度는 55~58°C이며 pH는 4.5~5.0 이고 安定 pH는 4~7이다.

(3) 使用乳酸菌

Lactobacillus bulgaricus (10° Ballg 의 麥芽汁 培地에서 45°C에 24時間 培養한것)로서 inoculum size는 5%이다.

(4) 使用酵母

本 研究室에서 麴子를 使用한 濁酒膠로부터 分離한 酵母로서 顯微鏡의 觀察에 의하여 細胞의 形態는 球形, 卵形이며 多極出芽에 의하여 增殖되었다. 또 1~4個의 球形 또는 卵圓形의 子囊孢子를 形成하며 硝酸鹽은 資化 못하고 糖醱酵性이 강한 것 등으로 보아 Saccharomyces屬으로 認定되는 MY-1 을 使用하였으며 其他 菌株의 特性은 다음에 調查 報告하기로 한다.

本 實驗에 使用할 菌을 10° Ballg 麥芽汁에 30°C에서 24時間 培養한 것을 inoculum size 5%로 接種 하였다.

2) 實驗方法

(1) 原料處理

Fig. 1에서와 같이 常法⁽⁶⁾에 따라 하였다.

(2) 酵素劑 添加量

澱粉 糖化酵素劑를 利用한 alcohol 製造에 關한 原田⁽⁶⁾의 實驗에 準하였다. 卽 原田은 그의 報告에서 仕込濃度가 20% 程度일때 Rhizopus 系의 酵素劑는 10 g의 澱粉을 糖化하기 위한 添加酵素의 sp로는 200이던 定常狀態에 이르게 된다고 하였다. 使用한 밀가루의 澱粉價가 72.1이므로 100g의 밀가루 中에는 澱粉이 72.1g를 含有하고 있으므로 이를 糖化하는데 必要한 Rhizopus 系 酵素의 力價는 sp로서 1,442이다. 여기에 使用한 Rhizopus

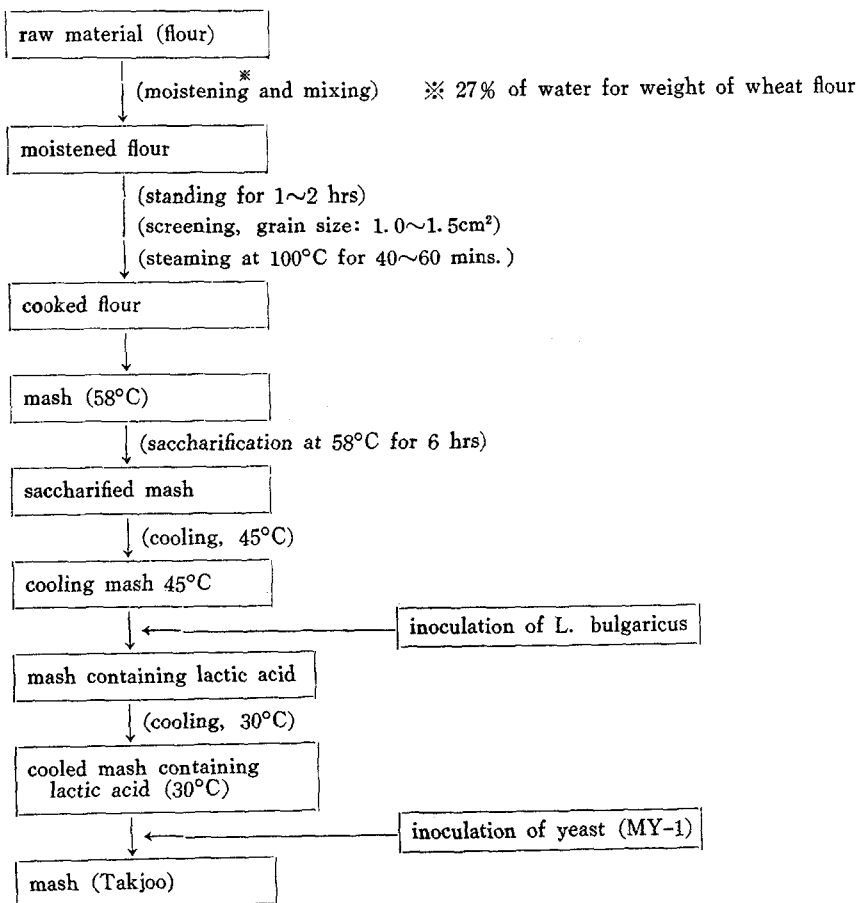


Fig. 1 Production process of Takjoo with commercial glucamylase, Lactobacillus and yeast.

系 酵素의 力價는 15,000 sp¹¹/g이므로 酵素의 添加量은 0.096g이던 된다. 實際 使用量은 0.1g로서 밀가루에 대하여 0.1%에 해당한다.

(3) 汲水比率⁷⁾

原料 100部に 대하여 汲水 180部로 하였다.

(4) 濁酒醪의 製造方法

本 實驗에서 濁酒醪의 製造方法은 上記 Fig.1과 같이 하였다.

分析方法

sp測定法⁴⁾: 三角 flask에 2%-可溶性澱粉溶液 50 ml를 加하여 50°C water bath에서 20分間 豫熱시켜 液이 正確히 50°C가 되었을 때 適當히 稀釋한 酵素液(糖化率이 15가 되게 稀釋) 10ml를 加하여 1時間 酵素作用시킨후 N/2 NaOH 溶液 10ml를 加하여 酵素作用을 停止시킨 後 生成된 還元糖을 Bertrand method에 의하여 定量한다.

還元糖 定量法: Bertrand法⁶⁾에 準하였다.

pH測定方法: Beckman G-Type의 pH meter를 使用하였다.

酸度測定法⁹⁾: Sample 10ml에 phenolphthalein을 指示藥으로 하여 中和하는데 要하는 N/10-NaOH 溶液의 消費 ml數

酒精度測定¹⁰⁾: 증류법에 의하여 얻은 유출액을 주정계의 눈금과 液溫을 測定하여 Gay-Lussac氏表에 의하여 酒精 容量%를 算出하였다.

結果 및 考察

1) 乳酸菌의 添加에 의한 pH, 滴定酸度 및 糖度の 經時的 變化

Fig. 1에서와 같이 蒸강한 밀가루에 汲水하여 58°C가 되도록 混合하여 酵素劑를 添加한 醪를 55~58°C에서 한時間 維持시킨 後 乳酸菌의 發育 適溫인 45°C까지 冷却하여 L. bulgaricus의 前培養液을 添加한 醪를 45°C에서 36時間 培養하였을 때 pH, 滴定酸度 및 糖도에 關한 經時的變化는 Fig. 2와 같다.

上記 Fig.2와 같이 酸도는 接種時에 約 0.2에서 繼續적으로 上昇하며 28時間부터는 生酸速度가 若干 내려 가는 것 같으나 如前히 上昇하여 36時間 後에는 8.2에 到達하였다. 反面 pH는 乳酸菌을 接種 할 때의 6.0으로 부터 차차 내려와서 36時間 後에는 3.0에 이르렀다. 한편 糖도는 乳酸菌의 接種時에 이미 還元糖으로 15%를 나타내고 있다. 糖化前 醪의 全糖은 23.7%이므로 接種前 58°C에서 6時間 糖化하여 63% 以上の 糖化率을 나타내

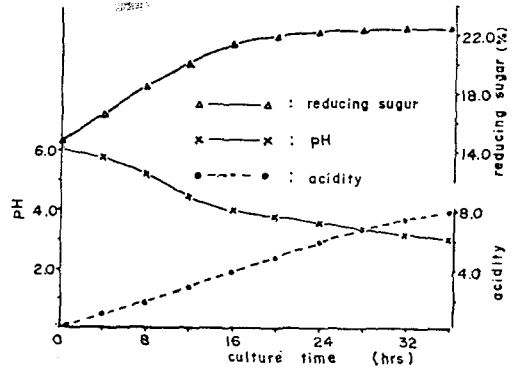


Fig. 2 Variation of acidity and sugar in mash by the additions of L. bulgaricus and glucamylase.

Acidity: titration volumn (ml) of N/10 NaOH to 10ml of mash

고 있다. 乳酸菌 接種後 16時間까지의 糖化速度는 若干 完만하기는 하나 比較의 빠른 편이며 이때 約 90%의 糖化率에 해당하며 그 後 36時間까지는 더욱 서서히 糖이 增加되며 이때의 糖도는 22.6%로서 그 糖化率은 約 90%이며 糖化作用이 거의 定常狀態에 到達한 것 같다. 濁酒醪의 醱酵에 2~4日이라는 짧은 期間을 要하는 것이 實例인 從來의 製造方法¹¹⁾을 參考로 하고 다음에 接種할 酵母에 의하여 酒精生産을 包含한 併行複醱酵 期間中에도 糖化가 續行될것을 고려한다면 酵母의 接種 없이 乳酸菌만을 接種하여 長時間을 要하는 高度의 糖化率은 時間의 浪費나 나아가 醱酵槽의 利用 效率만 低下시킨다. 糖化만을 生覺한다면 18.4의 糖度로서 約 80%의 糖化率에 相當하는 乳酸菌 接種後 8時間에 酵母를 接種하더라도 無妨할 것 같다.

한편 pH 및 酸도에 있어서 從來의 酵素劑를 利用한 濁酒醪를 보면 一段酒醪¹²⁾의 pH는 3.2~3.6, 酸度 15~25이며 二段酒醪¹³⁾의 것은 pH 3.8~4.4, 酸度 4~8이다.

Fig. 2에서 乳酸菌 添加後 32時間의 pH 및 酸도는 3.0과 8.2였으므로 上述한 二段酒醪의 것에 비하면 오히려 酸의 生成이 많은 것 같다. 一般의 으로 酒精醱酵過程에서 酒精의 生成에 따라 pH가 低下되며 酸도가 增加한다는 事實과 또 酵母의 添加後에도 乳酸의 生成이 續行된다는 點을 考慮할

때 酵母의 接種은 乳酸菌 接種後 比較的 早期에 添加하여야 할 것 같다. 그러나 雜菌의 汚染을 防止하고 醱力이 旺盛한 酵母⁽¹⁴⁾의 育成을 위한 酒母의 生産을 目的으로 할 때는 乳酸菌 接種時로부터 酵母接種까지 要하는 時間을 濁酒醪를 만들 때 보다 比較的 길게 하는 것이 좋을 것 같다.

2) 乳酸菌 接種에서 부터 酵母接種까지의 時間이 濁酒醪의 生産에 미치는 影響.

上記 1)에서 指摘한 바와 같이 乳酸菌과 酵母의 接種時間의 間隔을 8時間 및 16時間으로 하였을 때의 各 成分의 成分을 檢討한 結果는 table 1과 같다.

Table 1 Effect of the period of lactic acid fermentation prior to yeast addition on Takjoo brewing.

period of lactic acid fermentation (hrs)	before inoculation of yeast			on 72 hrs after inoculation of yeast		
	pH	acidity	reducing sugar	pH	acidity	alcohol
8	5.0	2.3	18.4	2.9	11.6	12.9
16	3.8	4.2	21.4	2.9	13.9	12.3

Table. 1에서 보는 바와같이 乳酸菌接種後 8時間 및 16時間이 經過된 酵母接種直前의 醪의 pH, 酸度 및 糖度は 각각 5.0, 2.3, 18.5% 및 3.8, 4.2, 21.0%이다. 그리고 酵母接種後 72時間醱酵한 濁酒醪의 pH, 酸도 및 酒精度は 각각 2.9, 11.6, 12.9도 및 2.9, 13.9, 12.3도이다. 酵母接種時의 還元糖이 乳酸菌接種後 16時間의 것이 8時間의 것보다 많은데도 不拘하고 72時間의 酒精醱酵後 酒精도가 若干떨어지는 理由로서 酵母接種時 이미 너무 많은 乳酸이 生成되었고, 또 乳酸菌도 必要以上으로 增殖되어 酵母의 接種後에도 繼續하여 乳酸의 生成이 進行되었다고 본다. 이點에 關하여는 程度의 差가 있기는 하나 兩者 다같이 酵母의 接種時期가

늦어진 것으로 生覺된다.

3) 乳酸菌 및 酵母의 同時接種에 의한 濁酒醪製造
上記 2)에서 指摘한 바와같이 乳酸菌의 過剩增殖과 이에따라 過剩生成된 乳酸으로 因하여 熟成濁酒醪의 高度의 酸生成을 抑制하기 위하여 Fig. 1에서 乳酸菌을 接種하기 前의 醪를 30°C까지 冷却하고, 이에 乳酸菌과 酵母를 同時에 接種하여 醱酵시킨 結果는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 보는 바와같이 72時間 醱酵經過後의 酒精度は 11.8로서 2)에서의 結果보다 낮으나 84時間後에는 乳酸菌 接種 8時間後에 酵母를 接種한 것과 匹敵하며 16時間 後 接種한 것 보다는 酒精도가 높았다.

即 58°C에서 6時間糖化한 後 45°C까지 冷却하여, 乳酸菌의 發育最適溫度에서 乳酸菌을 增殖시키고 乳酸을 生成시킨 操作은 結果적으로 큰 意味가 없으며, 醱酵時間의 若干의 延長으로서 같은 效果를 갖어 올수 있다. 또 酸도는 72時間後에 8.1, 84時間後에 8.8로서 從來의 酵素劑에 의한 方法으로 만든 것과 비슷하다.

이 理由로서는 乳酸菌의 發育最適溫도와 酒精醱酵溫度와의 사이에 큰 差가 있어서 乳酸의 生成이 徐徐히 일어났는 點과 生育速度가 빠른 乳酸菌이 먼저 增殖하여 乳酸을 生成시키고, 다음에 增殖된 酵母에 의해서 生成된 酒精때문에, 乳酸菌이 陶汰되어 急激한 乳酸의 生成이 抑制된 것으로 生覺된다. 한편 製成된 濁酒는 貯藏中에도 酒精分의 增加와 酸도의 增加等 成分의 變化가 일어나는 實例⁽¹⁵⁾로 보아 72時間後에 製成하여도 無妨할 것으로 生覺된다.

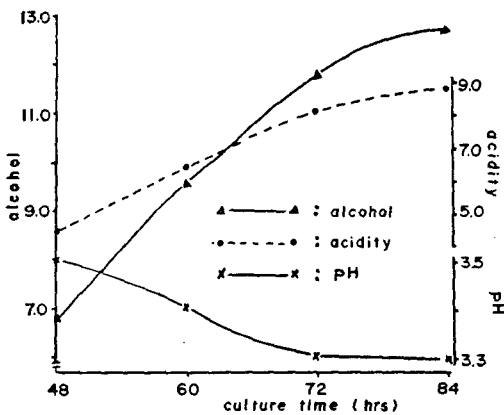


Fig. 3 Variation of alcohol content and acidity in Takjoo brewing by simultaneous inoculation of yeast (MY-1) and Lactobacillus acidity: titration volumn (ml) of N/10 NaOH to 10 ml of mash

要 約

市販 精製 amylase 酵素劑를 利用하여 濁酒釀造 中에 濁酒의 特徵인 酸味를 賦與하기 爲하여 乳酸 菌 *Lactobacillus bulgaricus*를 添加하여 檢討한 結果

1) *L. bulgaricus*의 生育 適溫인 45°C에서 8 時間과 16時間 乳酸醱酵시킨 後에 酵母를 添加하여 만든 濁酒醪의 酸度는 11.6과 13.9로서 너무 過量의 酸이 生成되므로 濁酒醪로서는 不適當하였다.

2) 濁酒醪의 製造에서 乳酸菌을 酵母와 함께 30°C에서 接種하여 醱酵시킴으로서 酸度 8, 酒精 度 12 vol%의 適當한 濁酒醪를 얻을 수 있었다.

3) 精製酵素劑와 乳酸菌을 利用하여 濁酒를 製 造할때는 乳酸菌과 酵母의 同時接種에 앞서 糖化 酵素의 作用最適溫度에서 6 時間程度 糖化시킴이 합리적이다.

參考文獻

- 1) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 45 (1971)
- 2) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 47 (1971)
- 3) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 66 (1971)
- 4) 日本釀造協會註解編集委員會: 國稅廳所定分析 法註解 (1967增訂版), 187 (1967)
- 5) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 39 (1971)
- 6) 原田昭夫: 醱酵協會誌, 21, 3, 1 (1963)
- 7) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 74 (1971)
- 8) 醱酵協會: アルコールハンドブック, 86 (1950)
- 9) 醱酵協會: アルコールハンドブック, 95 (1950)
- 10) 山田正一: 釀造分析法, 101 (1967)
- 11) 林秉鍾: 새로운 酒造技術, 26 (1971)
- 12) " : " , 106 (1971)
- 13) " : " , 106 (1971)
- 14) " : " , 69 (1971)
- 15) " : " , 107 (1971)