

## 생전분의 고농도 무증자당화법을 도입한 새로운 High Fructose Corn Syrup 제조공정

박동찬 · 이용현\*

경북대학교 자연과학대학 유전공학과

### An Innovative Process for High Fructose Corn Syrup Production Coupled with Direct Saccharification of Raw Corn Starch in a Bioatritor

Park, Dong-Chan and Yong-Hyun Lee\*

Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences  
Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

**Abstract** — An innovative process for high fructose corn syrup (HFCS) production coupled with direct saccharification of raw corn starch in the agitated bead enzyme reactor (bioatritor) was investigated. The required high concentration/purity of glucose solution suitable for isomerization was produced directly in a bioatritor, without condensation of hydrolyzate, 398 g glucose/l and 98% glucose content from 400 g/l (w/v) of raw corn starch after 24 hours. The unsaccharified residual starch could be separated easily upon centrifugation, and resaccharified. The obtained solution also possessed other desirable requirements as substrate for isomerization, such as, low concentrations of denatured protein and calcium ions, thereby, simplified the purification step. The obtained glucose solution was isomerized in an enzyme reactor packed with immobilized glucose isomerase to evaluate the suitability as a substrate. The proposed new HFCS process seems to have many advantages over the conventional process via liquefaction-saccharification steps. The follow-up investigations of the proposed process need to be conducted to evaluate the feasibility of industrial application.

현재 식품 및 음료산업에서 설탕 대체감미료로 다량 사용되고 있는 high fructose corn syrup(HFCS)의 제조에는, 옥수수전분을 고온 내열성  $\alpha$ -amylase로 액화하고, 이를 다시 glucoamylase로 95% 이상의 고순도 포도당으로 당화한 후, 변성단백질 및 이온들을 분리 제거하고, 생성된 당액을 다시 40~45% (w/v)의 고농도로 농축한 후, 이를 고정화 이성화효소가 충전된 효소반응기에서 42% 전후의 과당이 함유된 HFCS로 이성화시키는, 증자공정이 주로 활용되고 있다(1-4).

위와 같은 증자공정은 전분의 액화에 필요한 증자

에, 당화시 고점도 전분액화액의 교반에, 그리고 생성된 포도당의 농도가 이성화반응에 적합한 농도보다 낮아 이를 고농도로 농축하는 등에 많은 에너지가 필요한 에너지 소모형 공정이다. 또한 고온액화시 다량의 각종 이온을 효소안정제로 첨가하여야 하고, 고온에서 첨가 효소가 변성되어 변성단백질을 형성하며, 또한 고온에서 당과 효소 사이의 갈색반응으로 착색물질이 생성되므로, 이들을 제거하기 위한 복잡한 분리·정제공정이 요구된다.

본 연구실에서는 분쇄마찰매체함유 불균일상 효소반응계를 활용하여 생전분을 직접 고효율로 무증자당화시키는 일련의 연구를 수행해 오고 있다(5-9). 특히 분쇄마찰매체함유 불균일상 효소반응계를 활용한 무증자당화법은 기존의 증자당화법에 비하여 생전분으로부터 직접 포도당을 고농도, 고순도로 얻을

**Key words:** High fructose corn syrup, manufacturing process, direct saccharification of raw corn starch, bioatritor

\*Corresponding author

수 있는 효과적인 전분당화법임을 보고한 바 있다.

여기서는 위와 같은 특징을 가지고 있는 생전분 고농도 무증자당화법을 HFCS 제조공정에 도입할 수 있는 가능성을 검토코저 연구하였다. 이를 위하여 분쇄마찰매체 효소반응계에서의 생전분의 고농도 고농도 당화, 당화액의 정제, 미반응전분의 재당화, 그리고 생성 무증자당액을 이용한 이성화 반응 등 HFCS 제조공정 도출에 필요한 연구를 수행하였으며, 이를 기초로 새로운 HFCS 제조공정을 도출하였다.

## 재료 및 방법

### 효소 및 사용전분

전분 액화 및 당화에는 현재 HFCS 제조에 산업적으로 사용되고 있는 액화효소 Termamyl 120L (Novo), 당화효소 AMG 300L(Novo)를 사용하였고, 사용효소의 액화 및 당화에 대한 specific activity는 각각 2,203, 3,235 IU/mg protein였다(10). 한편 포도당 이성화효소는 *Bacillus coagulans* 유래의 상업용 고정화효소인 Sweetzyme Type Q(Novo)로서 활성은 200~250 IGIC/g enzyme였다(10). 생전분 기질은 옥수수전분으로 수분함량은 12%였다.

### 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에서의 생전분의 직접당화

400 g/l(w/v)의 옥수수생전분을 20 mM Na-Citrate buffer(pH 4.5)에 현탁하고, 2 g/g starch의 유리구(직경 3 mm)를 첨가하고, 액화효소 및 당화효소를 각각 410, 3,120 IU/g starch되게 첨가한 후, 50°C에서 200 rpm으로 교반하면서 효소당화를 진행하였으며, 경우에 따라서 전분첨가량과 효소첨가량을 변화시켰다.

유가식 기질 첨가에 의한 생전분의 고농도 당화는 반응초기에 생전분 200 g/l(w/v)에 액화효소와 당화효소를 각각 410과 3,120 IU/g starch이 되도록 첨가하여 당화시킨 후, 다시 6, 12시간 후에 생전분 100 g/l(w/v)과 상당량의 액화 및 당화효소를 추가로 첨가하여 48시간 당화시켰다.

### 전분의 증자 당화

300 g/l(w/v)의 옥수수전분 유액에 40 mg/l의  $Ca^{2+}$ 와 70 IU/g starch의 액화효소를 첨가하고, pH 6.0으로 조절한 후 100°C에서 20분간 가열하여 DE 10이 되도록 액화하였다. 전분액화액을 50°C로 냉각하고 pH

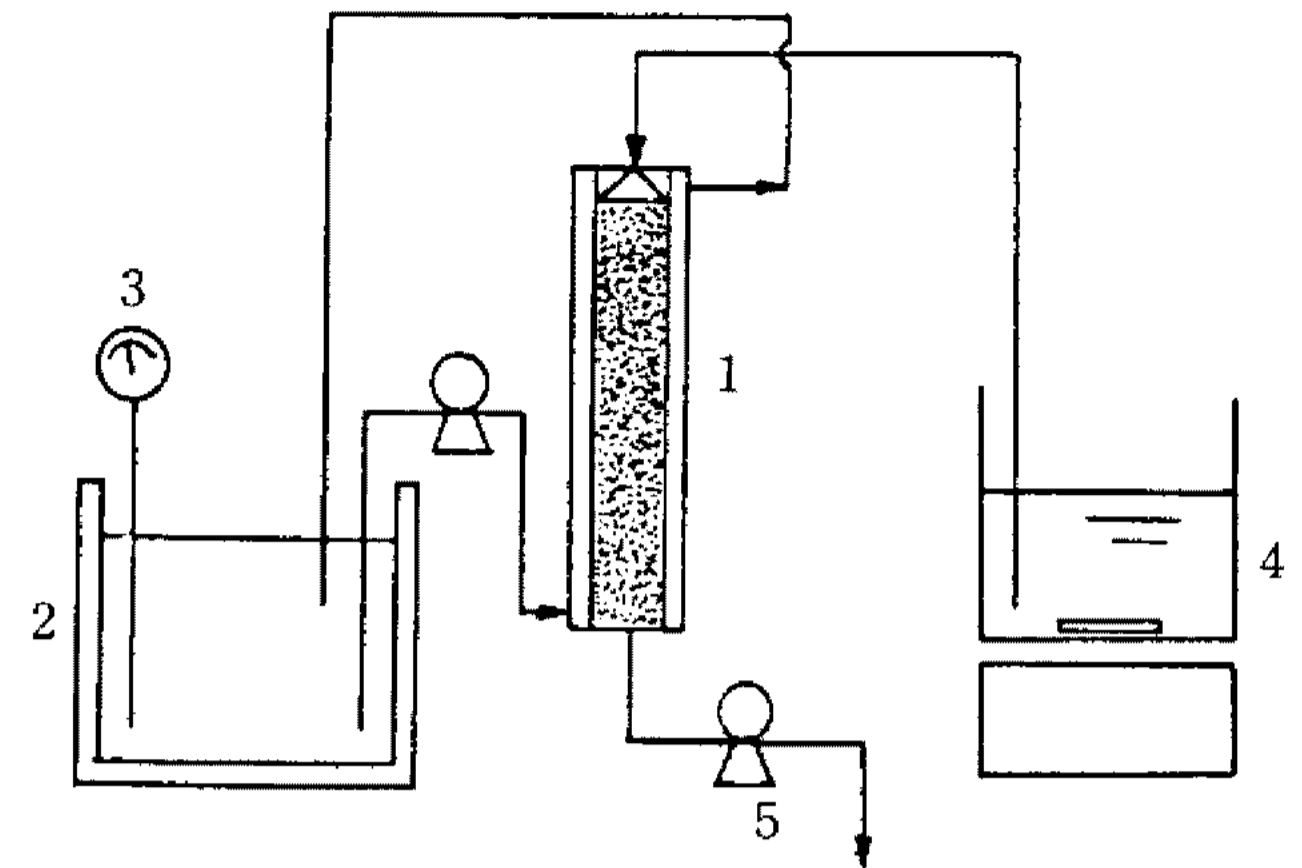


Fig. 1. Schematic diagram of immobilized glucose isomerase reactor used for continuous production of high fructose corn syrup.

1. immobilized glucose isomerase reactor, 2. water bath, 3. thermostat, 4. glucose solution reservoir, 5. peristaltic pump

4.5로 조절한 후 520 IU/g starch의 당화효소를 첨가하여 200 rpm으로 교반하면서 효소당화하였다.

### 당화액중의 불순물 제거

당화액중의 미반응 잔유전분 및 불용성 성분을 8,000×g에서 10분간 원심분리하여 제거하고, 상등액을 활성탄을 충전한 column(3×30 cm)에 유속 1 ml/min으로 유입하여 처리하였다. 미제거 불순물은 다시 ion-exchange resin(Amberite IRC 50)을 충전한 column(3×35 cm)을 통과시켜 제거하였다.

### 이성화효소 반응

포도당 용액의 이성화반응은 Fig. 1과 같은 water jacket이 부착된 column(2×30 cm)에 고정화된 이성화효소(Sweetzyme Type Q) 25g이 충전된 고정화 효소반응기를 이용하였다. 반응액을 retention time이 각각 15, 30, 45분과 1, 그리고 2시간이 되도록 유출하면서 60°C에서 반응시켰다. 이때 반응촉진제인  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.15 g/l을 당화액에 첨가하였고,  $Na_2CO_3$ 를 이용하여 pH 7.5로 조절하였다.

### 분석방법

생성환원당은 DNS법(11), 총생성당량은 Brix meter(Hand Refractometer, Atago)로, 그리고 과당의 양은 sulfuric acid-cystein hydrochloride-tryptophan 법(12)으로 측정하였다. 생성당조성은 HPLC로 carbohydrate analysis column(Waters, PN84038)을 이

용하여 분석하였으며, acetonitrile/water(65/35), flow rate 1 ml/min, 그리고 RI detector로 검출하였다.

## 결과 및 고찰

### 고순도·고농도 당화를 위한 증자당화법과 무증자 직접당화법의 비교

포도당 용액의 이성화 반응에는 보통 400~450 g/l의 고농도 포도당 용액이 이용되므로, 증자당화법과 무증자당화법의 고농도당화에 대한 효율성을 비교, 분석할 필요가 있다. Table 1은 전분을 저농도인 150 g/l에서부터 최대 농도인 500 g/l까지 첨가하여, 증자법으로 액화·당화시킨 반응액과 분쇄마찰매체함유 효소반응계에서 무증자당화시킨 24시간 반응액 중의 환원당농도, 환원당 중의 포도당 함량, 생성된 포도당 농도, 사용전분에 대한 포도당 수율, 그리고 첨가 전분의 반이 포도당으로 당화되는데 소요되는 시간을 비교한 결과이다.

증자당화법의 경우 전분농도가 300 g/l까지는 비교적 효소당화가 원활하게 진행되어, 생성된 포도당 농도는 303 g/l로서 증자법으로 얻을 수 있는 최고 농도가 얻어졌으며, 사용전분에 대한 포도당 수율은 0.91이었다. 그러나 이보다 높은 전분농도에서는 포

도당 농도는 오히려 감소하였고, 특히 포도당 수율은 급속히 감소하여 당화효율이 떨어졌다. 이는 전분을 일정수준 이상 첨가할 경우, 전분입자의 증자시 일어나는 구조적 팽윤으로 효소반응액의 유동성수분이 전분입자에 흡입되어 점도가 현저히 증가함으로써 전분현탁액의 균일한 교반이 어려워 효소반응이 원활히 진행되지 못하기 때문이다.

반면 생전분 무증자당화의 경우는 증자법의 경우보다 고농도 당화가 가능하며, 전분농도 400 g/l에서 최고 포도당 농도인 390 g/l가 얻어졌으며, 전분에 대한 포도당수율은 0.88이었다. 이는 무증자당화의 경우는 전분을 증자하지 않으므로 입자의 팽윤현상이 일어나지 않아 전분을 고농도로 첨가할 수 있기 때문이다. 그러나 무증자의 경우도 그보다 높은 전분농도에서는 대부분의 유동성 수분이 전분입자 중으로 흡수되어 paste상으로 전환되므로 효소당화가 저해 받았다.

한편 증자당화법과 무증자당화법의 전분당화속도를 첨가전분의 반이 당화되는데 소요된 시간으로 비교하였으며, 전분농도 300 g/l일 경우 증자법은 3.7시간, 분쇄마찰매체 효소반응계에서의 무증자법의 경우는 3.9시간으로 거의 유사하였으며, 또한 전분농도가 400 g/l일 때에는 6.3시간으로 증자당화법의 7.4시간에

Table 1. Effect of raw corn starch concentrations on glucose production in cooked and uncooked saccharifications

Starch conc. (g/l)	Reducing sugar conc. (g/l)	Glucose content (%)	Glucose conc. (g/l)	Glucose yield	Half saccharification time (h)
Cooked saccharification					
150	164	0.96	158	0.96	1.5
225	247	0.95	235	0.95	2.6
300	318	0.95	303	0.91	3.7
350	320	0.94	301	0.78	5.8
400	318	0.94	298	0.68	7.4
450	281	0.93	261	0.53	19.5
500	—	—	—	—	—
Uncooked saccharification					
150	164	0.98	160	0.97	3.1
225	243	0.98	238	0.96	3.5
300	314	0.98	308	0.92	3.9
350	354	0.98	347	0.90	4.8
400	398	0.98	390	0.88	6.3
450	399	0.97	387	0.78	7.2
500	371	0.96	356	0.65	10.8

비하여 오히려 빨라 우수한 당화법임을 알 수 있었다.

위에서와 같이 증자법으로 얻을 수 있는 최대의 당농도는 300 g/l 전후로서 이성화반응에 적합한 400~450 g/l 수준의 고농도 당액을 직접 얻을 수 없어 얻어진 당액을 농축하는 과정이 필요함을 알 수 있었다. 또한 300 g/l 수준으로 전분을 첨가하여 효소 당화시킬 때의 첨가전분에 대한 포도당 수율은 0.91로서 낮은 단점이 있음을 알았다. 반면 분쇄마찰매체 함유 효소반응계를 활용한 무증자당화의 경우 얻을 수 있는 최대 당농도는 390 g/l로서 농축과정을 거치지 않고도 직접 이성화반응에 적합한 수준의 고농도 포도당 용액을 얻을 수 있었다. 반면 첨가전분에 대한 포도당 수율은 0.88로서 미반응첨가전분의 재활용 및 당농도를 보다 증가시키기 위한 보완이 필요함을 알 수 있었다.

**생전분의 유가식 첨가에 의한 무증자당화**

Fig. 2는 포도당 농도 및 수율을 보다 향상시키기 위하여 최대 전분첨가량인 400 g/l(w/v)을 유가식으로 분할 첨가한 군과 회분식으로 초기에 일시 첨가한 군의 전분당화 양상의 변화를 경시적으로 관찰, 비교한 결과이다.

회분식 첨가의 경우, 24, 48시간 반응 후 생성당 농도는 각각 390, 412 g/l였고, 당수율은 각각 0.88, 0.94로서 대부분의 당화는 24시간 이내에 진행되었다.

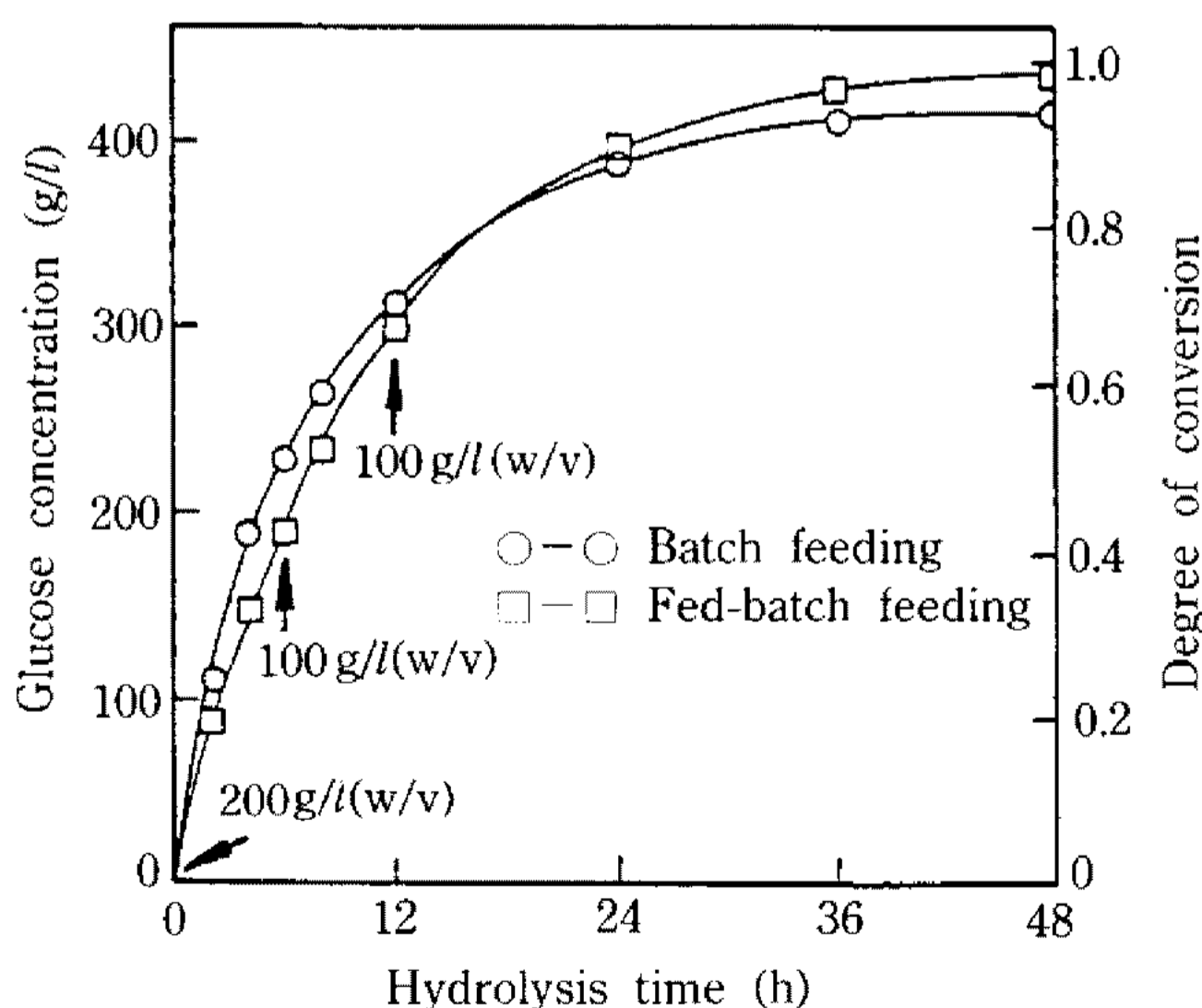


Fig. 2. Comparison of batch and fed-batch wise feedings on the progress of saccharification of raw corn starch in a bioattritor.

400 g/l(w/v) of corn starch, 2 g of glass bead/g starch, Termamyl 410 IU/g starch, AMG 3,120 IU/g starch, 50 °C, pH 4.5, and 200 rpm.

한편 전분을 반응초기에 200 g/l(w/v)를 첨가한 후 나머지 전분을 6, 12시간 후에 분할하여 유가식으로 첨가할 경우의 24, 48시간 반응액 중의 포도당 농도는 각각 398, 422 g/l이었고, 또한 당수율은 각각 0.91, 0.96으로 당농도와 수율이 증가하였다. 이는 유가식 전분첨가의 경우는 반응조 중의 전분농도가 일시적으로 첨가하는 회분식에 비하여 낮게 유지되므로, 단위 전분에 대한 매체의 분쇄마찰효과가 증가되어 당화효율이 향상되기 때문이다.

**미반응 잔유전분의 재당화성 검토**

무증자당화법은 증자당화법에 비하여 수율이 약간 낮아 이를 보완하기 위하여 무증자당화 후 남은 미반응 전분을 분리하여 재당화코져 연구하였다. 미반응 전분은 증자하지 않은 원래의 생전분 상태로 현탁되어 있어 원심분리와 같은 간단한 방법으로 쉽게 반응액에서 분리할 수 있었으며, 24시간 당화액을 원심력 8,000×g에서 10분간 원심분리 처리하여 최대회수 가능성이론치의 98%에 이르는 대부분의 미당화 잔유전분인 46 g/l를 분리할 수 있었다.

Fig. 3은 분리한 미반응 잔유전분의 당화성을 검토하기 위하여 분리된 전분을 400 g/l(w/v)로 현탁한 후 재당화시킬 때 생성된 당농도와 당수율의 변화를 원래의 생전분을 이용한 경우와 경시적으로 비교한 결과이다. 미반응 잔유전분의 경우 24시간 당화 후

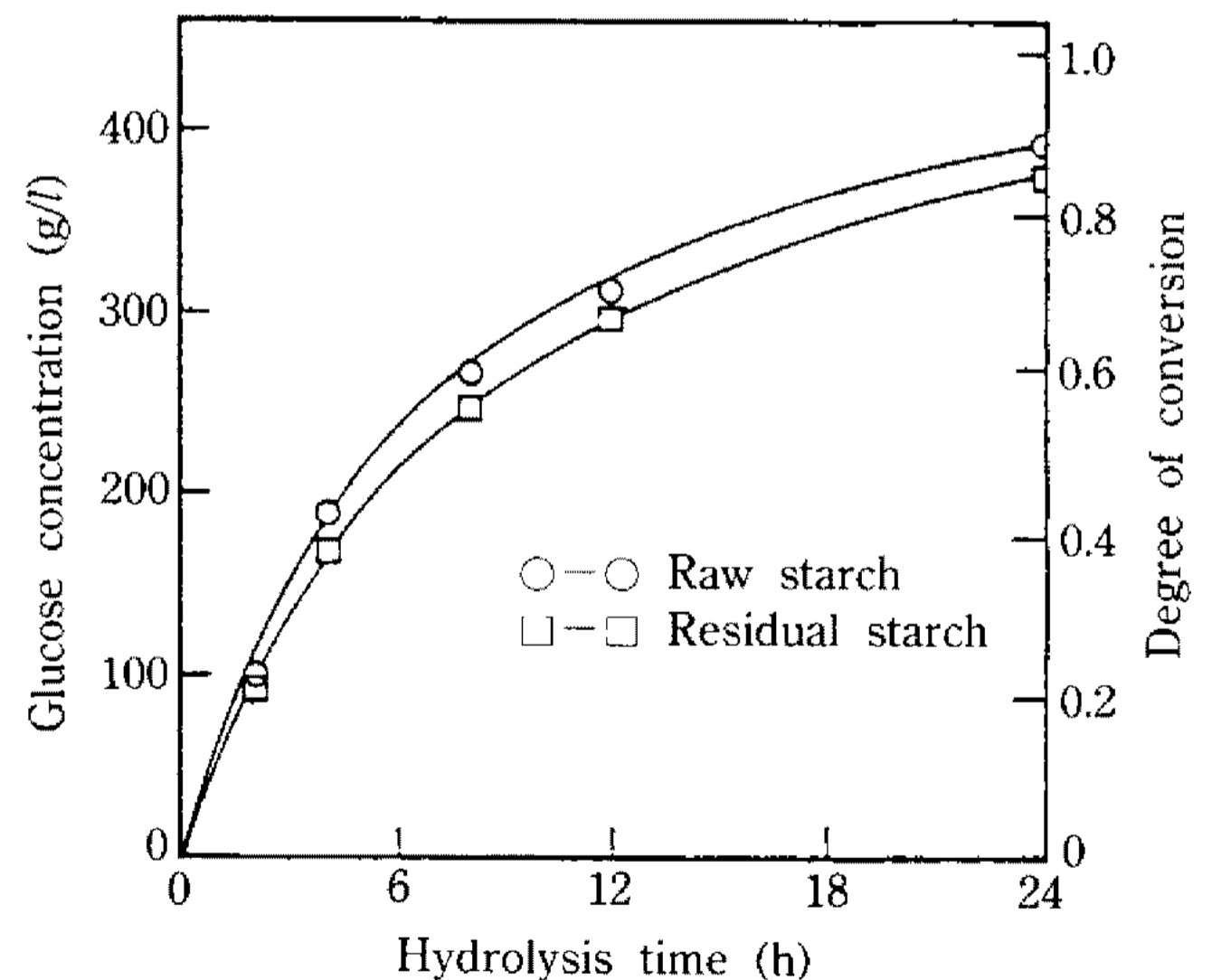


Fig. 3. Comparison of the progress of hydrolysis of raw corn starch and separated residual starch by centrifugation.

400 g/l(w/v) of starch, 2 g of glass bead/g starch, Termamyl 410 IU/g starch, AMG 3,120/g starch, 50 °C, pH 4.5, and 200 rpm.

생성당 농도 및 수율은 각각 375 g/l, 0.85으로서 생 전분을 사용할 경우의 390 g/l, 0.88과 거의 유사한 수준의 당화속도 및 당화율을 나타내었다.

이와같이 미반응 잔유전분을 분리 재당화함으로써 증자법의 경우보다 오히려 사용전분에 대한 포도당 수율을 증가시킬 수 있음을 알았으며, 이는 무증자 당화법을 도입한 새로운 HFCS 제조공정의 경제성 제고에 기여할 것이다.

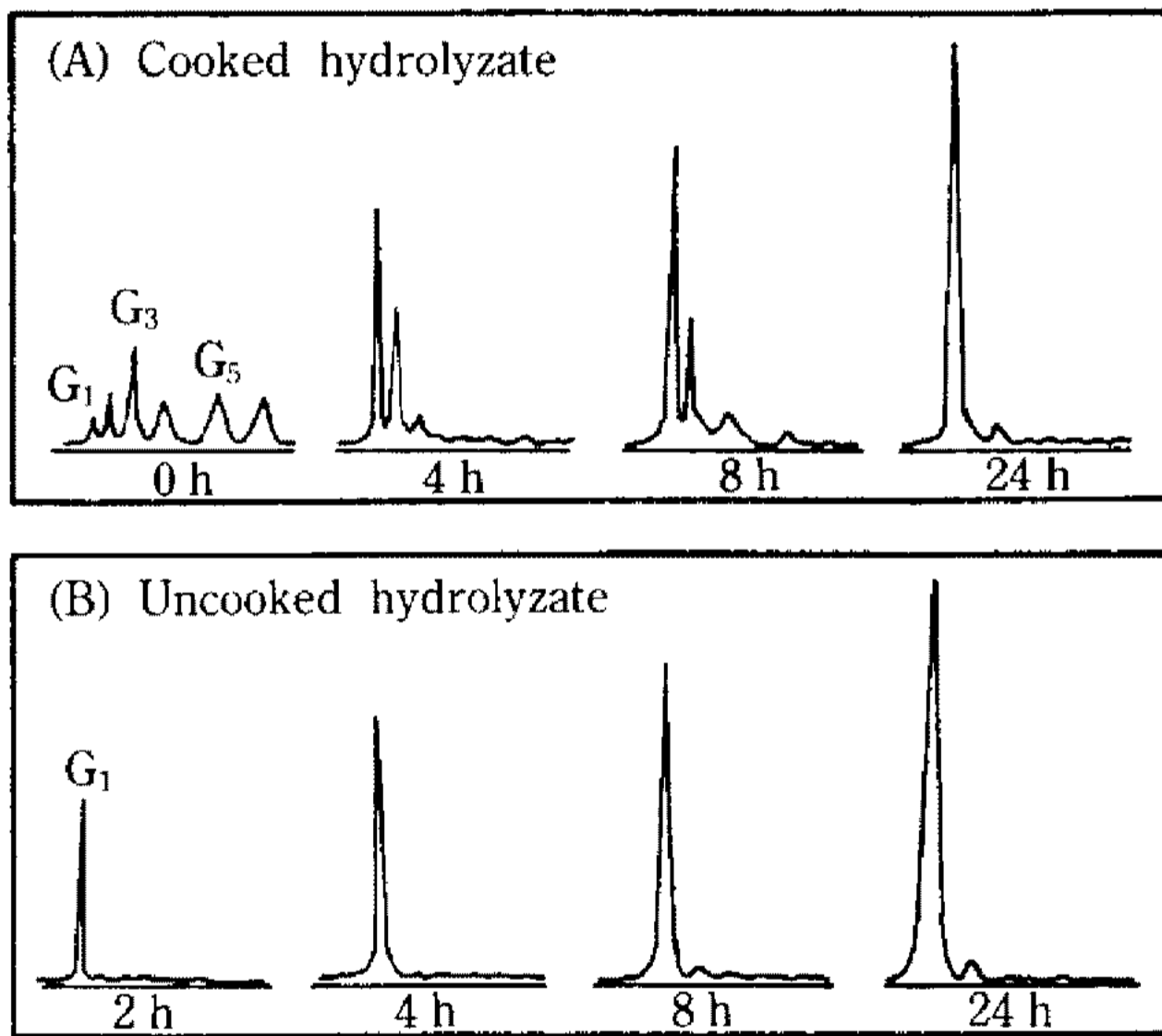
**증자 및 무증자당화액의 당조성의 비교**

맥아당과 각종 maltooligo 당류들은 이성화 반응시 maltulose와 같은 불필요한 부산물을 형성할 뿐만 아니라(13), 포도당의 과당으로의 전환율을 감소시키므로, HFCS 제조에는 고농도 뿐만 아니라 95% 이상의 고순도의 포도당 용액이 요구된다. Fig. 4는 전분을 증자당화시켰을 경우와 분쇄마찰매체효과반응계에서 무증자당화시켰을 경우의 반응액 중의 각종

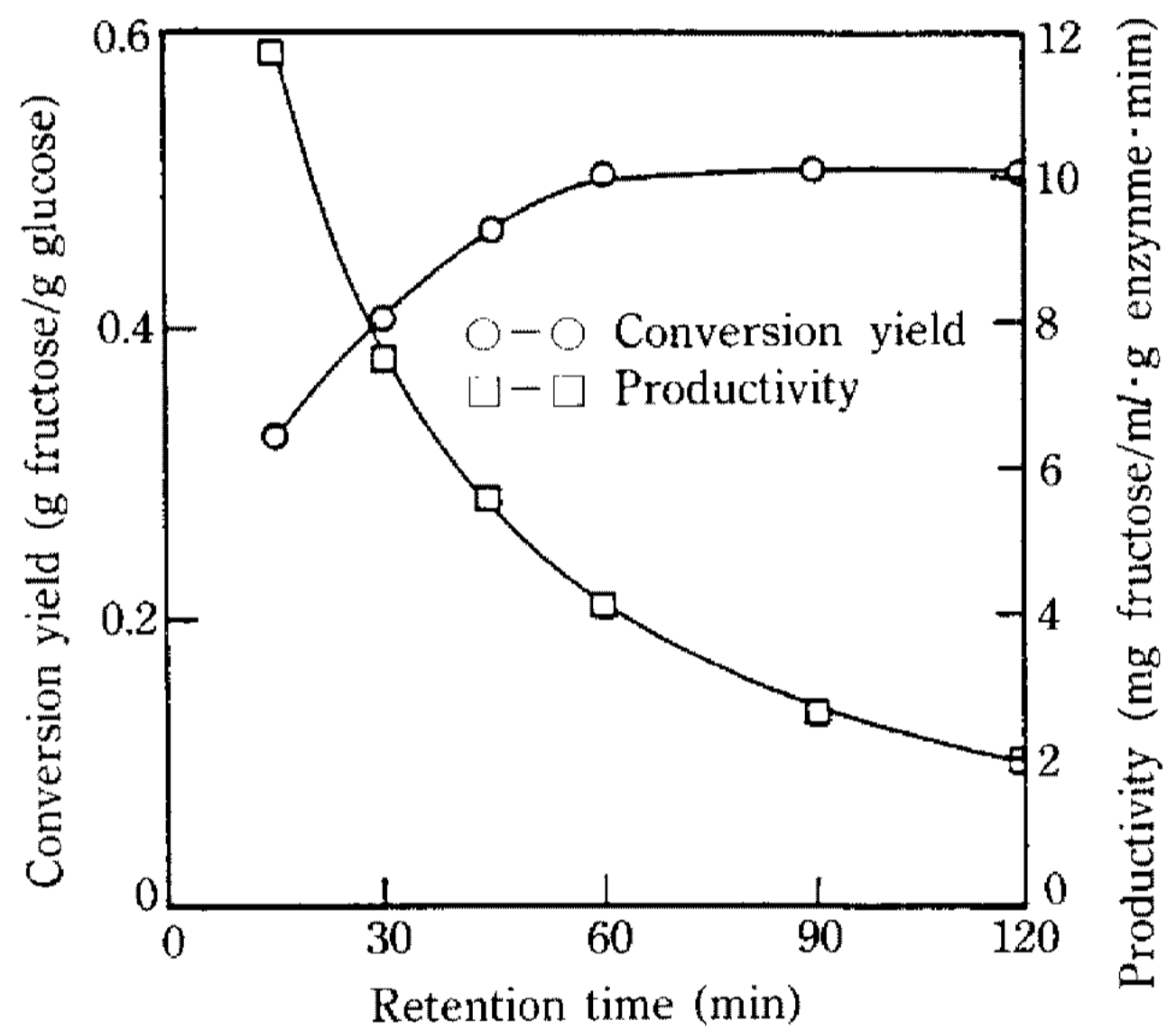
당의 분포변화를 경시적으로 관찰한 결과이다.

증자당화군의 경우, Fig. 4(A)와 같이 반응초기의 전분액화액은 각종 maltooligo당으로 구성되어 있었고, 점차 포도당과 맥아당이 생성되기 시작하였으나 8시간 후에도 다량의 맥아당이 관찰되었으며, 24시간 경과 후에야 비로소 95% 이상 순도의 포도당 용액이 얻어졌다.

반면 분쇄마찰매체함유 효소반응계에서를 활용한 고농도 생전분당화액의 경우는(Fig. 4(B)) 반응초기에서부터 maltooligo당은 거의 생성되지 않고 포도당만이 주로 생성되었으며, 24시간 당화액의 포도당 함량은 98%로 단지 2%의 맥아당이 검출되어, 이성화반응에 적합한 고순도의 포도당 용액이 얻어져, 전보(7)에서 낮은 전분농도에서 관찰한 것과 유사한 양상을 보였다.



**Fig. 4. Comparison of HPLC chromatogram of starch hydrolyzates saccharified by cooked (A) and uncooked in a bioatritor (B).**



**Fig. 5. Effect of retention time on the fructose conversion yield of uncooked starch hydrolyzate and the productivity of immobilized glucose isomerase bioreactor. Glucose concentration of 398 g/l(w/v), 25 g of immobilized glucose isomerase (Sweetzyme Type Q), 0.15 g/l MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, pH 7.5, and 60°C.**

**Table 2. Removal efficiency of denatured protein and calcium ion in each purification step**

Purification step	Cooked saccharification		Uncooked saccharification	
	Soluble protein (mg/ml)	Calcium ion (mg/l)	Soluble protein (mg/ml)	Calcium ion (mg/l)
Centrifugation	1.700	31.000	1.435	1.000
Activated carbon treatment	0.095	26.500	0.095	—
Ion exchange chromatography	0.050	5.200	0.050	—

\*Ca<sup>2+</sup> was measured by titrimetric method in AOAC Official Methods of Analysis (1984).

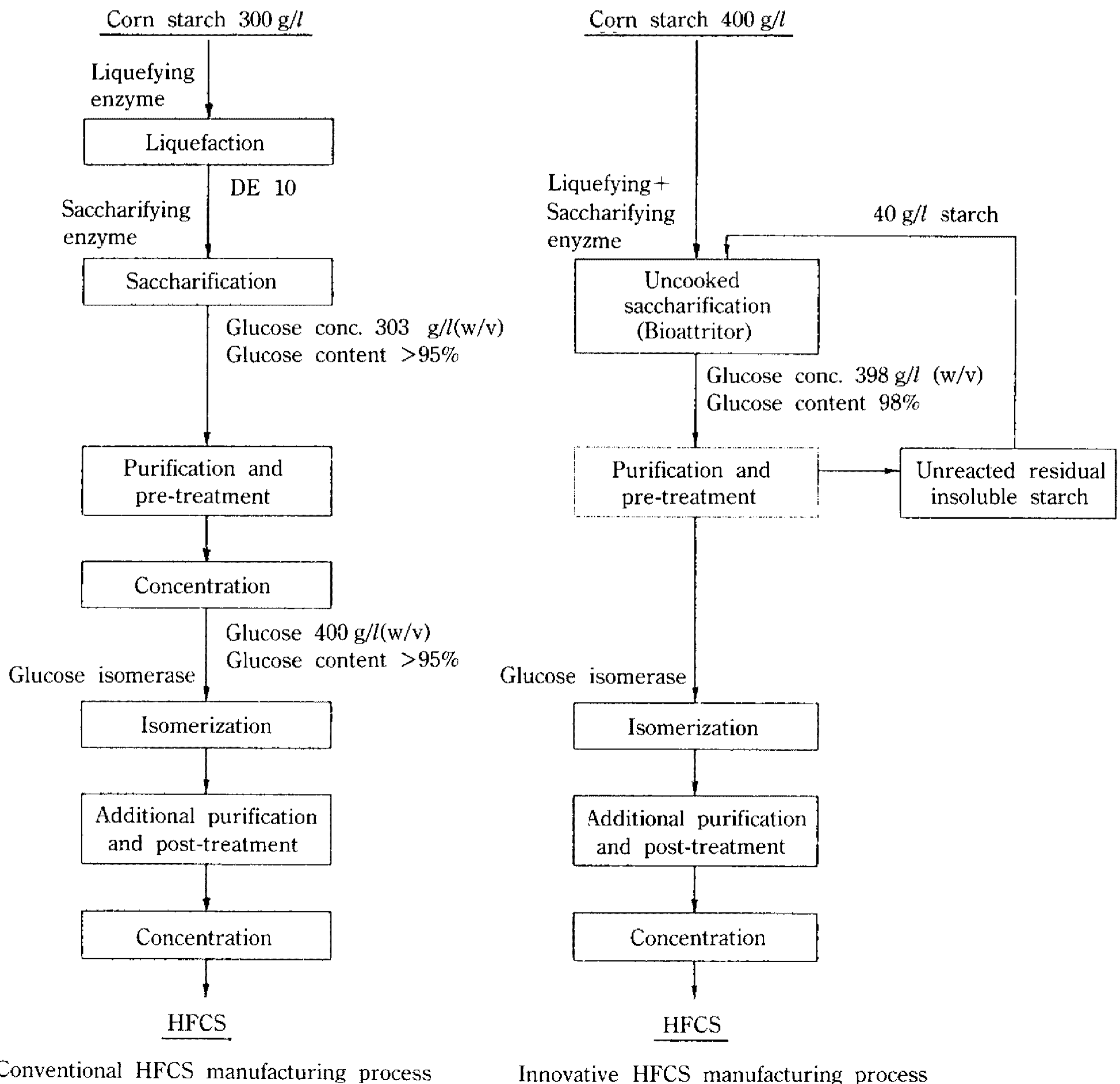
**당화액 중의 단백질성 변성물 및 첨가이온의 제거 효율 비교**

증자법의 경우는 고온액화시(95~105°C) 효소의 안정성 유지를 위하여 다량의 calcium ion이 첨가되며, 고온에서 수용성 단백질 및 효소가 변성되고, 또한 미반응 oligo 당류 등 각종 불순물이 잔유하며, 이들의 제거가 포도당 이성화효소의 활성과 안정성을 유지하는데 필요하다(2,3).

Table 2은 증자당화액과 무증자당화액을 원심분리, 활성탄, 그리고 ion exchange 처리 과정을 거쳐 분리정제한 후 각 단계에서의 단백질 변성물의 농도와

Ca<sup>2+</sup> 양의 변화를 비교한 결과이다.

증자당화액의 경우는 단백질변성물은 활성탄 처리 과정에서 대부분 제거되었다. 그러나 Ca<sup>2+</sup>은 이 과정에서 거의 분리되지 않았고, ion exchange chromatography가 필수적임을 알았다. 반면 무증자당화액의 경우 효소반응 중 Ca<sup>2+</sup>를 첨가하지 않아 이를 제거하기 위한 다른 분리과정이 필요하지 않았으며, 단백질 변성물도 활성탄처리과정에서 대부분이 분리되어 ion exchange chromatography 과정을 생략할 수 있었다. 따라서 무증자당화액을 HFCS 제조에 응용할 경우 분리정제공정을 크게 간소화할 수 있음을 알 수



**Fig. 6. Comparison of the conventional and an innovative high fructose corn syrup manufacturing processes and of the material balance in each step.**

있었다.

### 고순도·고농도 무증자당화액을 이용한 이성화반응

Fig. 5는 고정화 효소반응기의 온도를 60°C, pH를 7.5로 유지하고 기질을 retention time이 각각 15, 45, 30분, 1, 그리고 2시간이 되도록 무증자당화액을 유입하면서, 과당으로의 전환수율과 효소반응기의 생산성(mg fructose/ml·g enzyme·min)의 변화를 도시한 결과이다.

Retention time이 15분일 경우 포도당과 과당의 비율은 0.72 : 0.28였고, 시간에 따라 과당 전환수율은 비례하여 증가하였으나, 1시간 이상에서는 증가하지 않고 일정한 수준인 0.49 : 0.51를 유지하여 이성화반응이 평형상태에 도달하여, 기존의 증자 HFCS 제조공정에서 얻어지는 것과 유사한 전환수율을 보였다(4). 또한 고정화 효소반응기의 생산성은 4.05 mg fructose/ml·g enzyme·min으로 산업적 생산의 경우와 유사한 수준을 보였다(10).

### 분쇄마찰매체 효소반응계를 이용한 무증자생전분 직접당화법으로 도입한 새로운 HFCS 제조공정의 평가

Fig. 6은 기존의 증자 HFCS 제조공정과 무증자생전분 직접당화법을 도입한 새로운 HFCS 제조공정의 각 단계에서 물질수지를 비교한 결과이다.

기존의 증자 HFCS 제조공정은 액화, 당화, 분리정제, 그리고 농축의 과정을 거쳐 이성화반응에 적합한 당화액을 얻는 반면, 무증자당화법을 도입한 HFCS 제조공정은 이성화반응에 적합한 98% 고순도의 398 g/l 고농도 포도당 용액을 당화과정만으로 직접 얻을 수 있었다. 뿐만 아니라 당화액 중에 함유된 단백질성 변성물, 이온 등 불순물이 기존 액화/당화법에 비하여 매우 적어, 분리정제과정이 용이하여 제조공정이 크게 단순화되었다. 반면 원료전분에 대한 수율은 0.91으로 약간 낮았으나, 미이용전분을 원심분리 후 재당화함으로서 원료전분의 손실을 방지하고 포도당 수율을 증가시킬 수 있었다. 또한 얻어진 무증자당화액은 이성화반응의 기질로서 적합한 특성을 갖고 있어, 기존 HFCS 제조공정에서 얻을 수 있는 과당 수율 및 생산성을 얻을 수 있었다.

위에서와 같이 무증자당화법을 도입한 HFCS 제조공정은 많은 특징이 있어 산업적으로 활용될 수 있으리라 기대된다. 그러나 이를 위해서는 분쇄마찰

매체 효소반응기의 교반에 소요되는 동력소모, pilot-plant 및 당화법의 scale-up 가능성 등 여러 의문점에 대한 규명이 필요하며, 이를 토대로한 기술적·경제적 평가가 요망된다.

## 요 약

분쇄마찰매체 함유 불균일상 효소반응계를 활용한 생전분의 무증자당화법은 고농도, 고순도의 포도당을 고효율로 직접 얻을 수 있는 새로운 당화법으로 이를 high fructose corn syrup(HFCS) 제조공정에 응용코져 연구하였다. 400 g/l 생전분을 24시간 무증자당화시켜 이성화반응에 적합한 고농도인 398 g/l와 고순도인 98% 포도당 용액을 농축과정을 거치지 않고 직접 얻을 수 있었다. 전분에 대한 포도당수율은 0.90으로, 미반응 잔유전분은 쉽게 원심분리되었으며, 재당화도 용이하였다. 또한 무증자당화액은 단백질성 변성물, 이온 등 불순물의 함량이 매우 적어, 이성화반응 전단계인 분리 정제과정을 단순화할 수 있었다. 생성된 당용액의 고정화 포도당 이성화효소 기질로서의 적합성을 검토하여 우수한 결과를 얻었다. 생전분 직접당화법을 도입한 새로운 HFCS 제조공정은 액화/당화공정을 경유하는 기존의 공정에 비하여 여러가지 장점이 있어 산업적 활용이 기대되며, 이를 위한 후속연구가 요망된다.

## 감사의 말

본 연구는 1991년도 한국과학재단 목적기초연구비로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Franta, R. 1986. Sweeteners-consumption trends. *Food Technol.* **40**: 112-113.
2. Bujake, J.E. 1986. High-fructose syrups, pp. 277-293. In L.O. Nabors and R.C. Gelardi (eds.), *Alternative Sweeteners*. Marcel Dekker, New York.
3. Lloyd, N.E. and W.J. Nelson. 1984. Glucose- and fructose-containing sweeteners from starch, pp. 611-660. In R.L. Whistler, J.N. Bemiller, and E.F. Paschall (eds.), *Starch*, 2nd ed. Academic Press, New York.
4. van Tilburg, R. 1985. Enzymic isomerization of corn starch-based glucose syrups, pp. 175-236. In G.M.A. van Beynum and J.A. Roels (eds.), *Starch*

- Conversion Technology*. Marcel Dekker, New York.
5. 이용현, 조구형. 1986. 마찰반응계에서 전분질의 무증자당화에 관한 연구. *산업미생물학회지* **14**: 29-36.
  6. 박동찬, 이용현. 1990. Glucoamylase 및  $\alpha$ -amylase의 분쇄마찰매체 효소반응계에서의 생전분 효소 분해 mechanism. *산업미생물학회지* **18**: 260-267.
  7. 이용현, 박동찬. 1990. 분쇄마찰 효소반응계에서 생전분 효소당화를 위한 glucoamylase와  $\alpha$ -amylase의 보완작용. *산업미생물학회지* **18**: 352-359.
  8. 이용현, 박진서. 1989. 무증자 전분당화용 분쇄마찰매체합유 효소반응기의 조작조건과 동력소모의 검토. *산업미생물학회지* **17**: 349-357.
  9. 이용현. 1989. 무증자당화법 도입에 의한 주정생산공정의 개선과 산업화. *주류공업* **9**: 47-62.
  10. Novo Industry. 1987. Termamyl, AMG, and Sweetzyme. *In Novo Enzyme Catalog*, Novo, Denmark.
  11. Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**: 426-428.
  12. Park, S.H., S.B. Lee, and D.D.Y. Ryu. 1981. Optimization of operating temperature for continuous glucose isomerase reactor system. *Biotechnol. Bioeng.* **23**: 1237-1254.
  13. Osaki, S. and Z. Yoshino. 1982. Analytical method of maltulose in high-fructose syrup. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* **29**: 210-215.

(Received April 10, 1992)