

## 초음파를 이용한 무증자 분쇄 백미의 알코올 발효

이유진 · 강성태\*

서울과학기술대학교 식품공학과

### Alcohol Fermentation of Uncooked Ground Rice with Ultrasonication Process

You Jin Lee and Sung Tae Kang\*

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

**Abstract** This study was performed to evaluate the effects on saccharification and alcohol fermentation, according to the size of the ground rice (12, 20, 35 mesh) and ultra sonication process (15, 30, 60, 120 min). After saccharification of the ground rice samples for 3 h at 60°C, sugar content was observed to be high in the order of cooked ground rice (CGR) > ultrasonicated ground rice (UGR) > ground rice (GR), in all sizes of ground rice. Further, higher sugar content was obtained by increasing the time of ultrasonication process. Almost 90% saccharification of CGR (11.5°Bx) could be reached up to 10.2°Bx by ultrasonication 35 mesh ground rice for 120 min. After alcohol fermentation on the 35 mesh saccharified-UGR for 4 days at 25°C, 16.7% alcohol concentration could be obtained, as high as of CGR (17.2%). After 4 days of alcohol fermentation, UGR showed a lower pH and a higher acidity (pH 4.06-4.17, 0.99-1.1%) than CGR (pH 4.27, 0.75%).

**Keywords:** ground rice, cooked rice, saccharification, alcohol fermentation, ultrasonication

## 서 론

전분을 발효시켜 에탄올을 생산하는 공정은 전분의 증자, 액화, 당화 및 발효 등으로 구분된다. 증자공정은 전분을 열에 의하여 호화시켜 액화 및 당화효소의 작용을 용이하게 하는 공정으로 막대한 에너지가 필요하며 알코올 생산에 드는 총 에너지의 30%를 차지한다(1). 이러한 문제점을 해결하기 위해 증자를 하지 않은 전분원료를 기질로 한 전분의 무증자 당화 및 알코올 생산은 에너지절약형 공정으로서 그 중요성이 크다. 그러나 무증자 당화에 의한 알코올 발효는 생전분의 당화속도 및 당화율이 낮아 이에 대한 보완이 요구되고 있다(2,3).

지금까지의 무증자 알코올 생산 공정에 관한 연구로서 알칼리 호화(1), 분쇄마찰매체의 사용(4), 원료백미의 분쇄(5), 초음파 처리(6) 등의 호화 및 당화 속도개선에 대한 연구가 이루어져 왔다. Park 등(1)은 쌀, 보리, 감자, 고구마 등의 전분을 알칼리로 호화시킨 후 당화효소를 생전분에 직접 처리하여 에탄올을 생산함으로써 증자과정을 생략하는 공정을 연구하였으며, 그 결과 알칼리 호화전분이 가열호화 전분과 비교했을 때 최종 에탄올 함량이 거의 같음을 규명하였다. Jo와 Lee(4)는 유리구(glass bead)로 만들어진 분쇄마찰매체를 이용하여 생전분의 효소당화가 촉진되는 mechanism을 규명함으로써 무증자 당화법의 개발을 연구하였으며, Lee와 Park(5)은 탁주 주질 개선의 일환으로 원료백미의 분쇄정도를 달리하여 무증자 당화 방법에 의해 알코올 발효를 수행한 후 발효 중의 성분변화를 연구한 바 있다. 또한 Kim 등(6)은 증자과정을 거치지 않은 감자와 고구마를 얇게 slice하여 초음파로 1차 처리 후 알코올 발효를 실시하고 증자공정과 비교했을 때 비교적 높은 당과 알코올 함량을 나타내었다고 보고한 바 있다. 초음파는 식품산업에서 물질의 추출(7), 저온에서의 미생물 사멸(8) 및 상승작용(9), 식품기구의 세척(10) 등에 이용되어 왔으나 초음파 처리공정을 이용한 무증자 알코올 발효에 이용하

는 많지 않다. 한편 전분의 알코올 발효를 위한 액화 및 당화에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으며 전분누룩은 내산성 당화력이 약하고 조효소제는 당화력은 뛰어나지만 발효시간, 온도 등의 조건에 의해 실제효율 면에서 차이가 큰 것으로 보고되었고(11), 누룩과 조효소제는 자체에 일부의 전분질을 함유하고 있어 최종 당의 생성량이 많고, 정제효소와 glucoamylase는 빠른 시간 내에 당화가 완료되어 당화가 진행되지 않으므로 Jeong 등(12)은 각각의 효소제의 당화력을 비교하고 단기간의 대량처리 및 당화시간의 단축과 당화력을 높이기 위해서는 단일 효소제의 사용보다는 초기 당화력이 높은 정제효소 또는 glucoamylase를 조효소 등과 혼합시킨 복합효소제를 사용하여 당화시키는 것이 효율적이라고 보고한 바 있다. Kim 등(6)도 단일 효소제의 사용보다는 조효소제와 glucoamylase를 혼합한 복합효소제를 사용하여 액화 및 당화 하였을 때 가장 높은 당화력을 나타내었다고 보고한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 백미의 분쇄정도와 초음파 처리시간을 달리하여 무증자 알코올 발효를 수행하면서 당화력, 알코올 생성능 및 알코올 발효 중 이화학적 특성변화를 살펴보았다.

\*Corresponding author: Sung Tae Kang, Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 139-743, Korea  
Tel: 82-2-970-6736  
Fax: 82-2-970-6460  
E-mail: kst@seoultech.ac.kr  
Received September 26, 2011; revised December 5, 2011; accepted December 9, 2011

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 원료백미는 2010년에 전북 남원에서 생산된 쌀을 구입하여 사용하였으며, 효소제로는 양조용으로 시판되고 있는 조효소제(1,800 sp/g, Hyosowon Co., Ltd., Seoul, Korea) 및 glucoamylase(400 AG/g, Spirizyme plus FG, Novozyme, Bagsvaerd, Denmark)를 각각 원료 백미에 대한 백분율(w/w)로 사용하였다. Spirizyme plus FG는 *Aspergillus niger* 종에서 유래한 1,4-alpha-D-glucan-glucohydrolase의 glucoamylase이다. 이 효소는 1,4 및 1,6-alpha 결합을 가수분해하고, 발효를 위해 분쇄된 곡류의 당화에 사용되는 효소이다. 최적 활성조건은 pH 4.2-4.6, 60-63°C이며, 사용량은 원료에 대하여 0.03-0.13% (w/w)이다. 효모는 양조용 건조효모(송천효모개발연구소, Cheongyang, Korea)를 사용하였다.

### 초음파를 이용한 무증자 당화시료 및 증자 당화시료의 제조

백미를 깨끗이 세미하여 3시간 침지 후 1시간가량 물 빼기를 한 다음 표준체를 사용하여 undersize를 기준으로 12 mesh(1,400 μm), 20 mesh(850 μm), 35 mesh(500 μm)가 되도록 분쇄하였다. 12 mesh체를 통과하고 20 mesh를 통과하지 않는 분쇄미를 12 mesh, 20 mesh를 통과하고 35 mesh를 통과하지 않는 분쇄미를 20 mesh, 35 mesh를 통과한 분쇄미를 모아 35 mesh의 분획으로 무증자 분쇄미(ground rice, GR)시료들을 제조 하였다(5). 각 분획에 대해서 초음파장치(Master-M, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 40 kHz에서 15, 30, 60, 120분간 초음파 처리하여 무증자 초음파처리 시료(ultrasonicated ground rice, UGR)를 제조하였다. 또한 무증자 초음파처리 시료군(UGR)과의 비교연구를 위하여 각 mesh별로 제조된 무증자 분쇄미(GR) 500 g을 2 L 비커에 넣고 121°C에서 15분간 가압증자 처리하고 무증자 시료와 같은 방법으로 가압증자 시료(cooked ground rice, CGR)를 제조하였다.

### 시료의 당화 및 알코올 발효

각 mesh 별 무증자 분쇄미(GR), 무증자 초음파처리 시료군(UGR), 가압증자 시료(CGR) 500 g을 150% 가수 후 혼합효소제(조효소제 38.1 g과 glucoamylase 0.3 g)를 첨가한 후 60°C에서 6 시간 동안 당화시키면서 굴절당도계(Master-M, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 당함량을 측정하였다. 각각의 당화액에 양조용 건조효모 5 g 씩 넣은 후 25°C에서 4일 동안 알코올 발효 시켰다(Fig. 1). 분쇄미의 초음파 처리시간에 따른 알코올 발효중의 pH, 산도, 환원당 함량, 아미노태 질소의 측정을 위해서는 35 mesh의 분쇄미를 사용하여 같은 방법으로 수행하였다.

### 알코올 발효중의 알코올 함량, pH, 산도, 아미노태 질소, 환원당 함량측정

원심분리기를 이용하여 각 시료의 알코올 발효액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 맑은 상등액을 증류하여 발효액의 알코올 함량, pH, 산도, 아미노태 질소, 환원당 함량측정 분석에 사용하였다.

알코올 함량은 증류액을 alcohol hydrometer로 측정하여 Gay-Lussac의 주정환산표에서 15°C로 보정하여 환산하였고(13), pH는 pH meter(Thermo Orion, 420A, Beverly, MA, USA)로 측정하였다. 산도는 pH 측정에서 얻은 동일한 상층액 10 mL에 phenolphthalein 지시약 수 방울을 가한 후 0.1 N NaOH 용액으로 미홍색이 되기 직전까지 적정하고, 적정에 소비한 0.1 N NaOH 용액의 양(mL)을 lactic acid(%)로 환산하였다(14). 아미노태 질소(%)

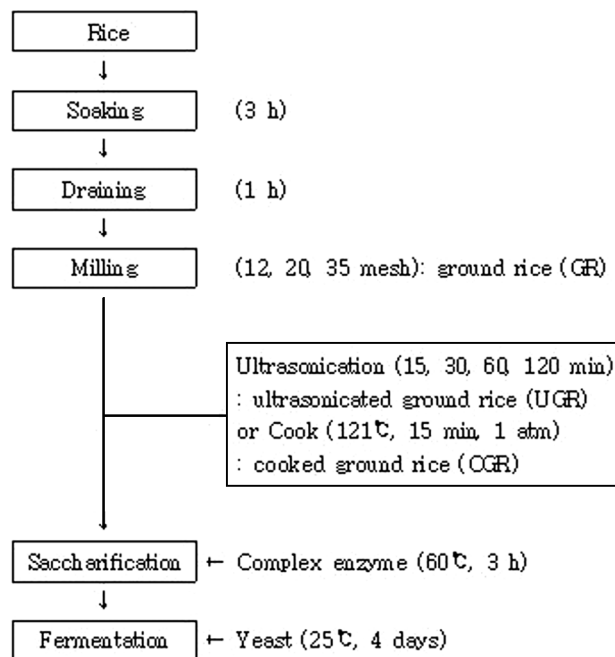


Fig. 1 Schematic diagram of the brewing process of ground rice (GR), cooked ground rice (CGR), and ultrasonicated ground rice (UGR).

는 Formal 법으로 측정하였다(15). 환원당 함량 측정을 위하여 시료를 증류수로 10배 희석하고 DNS방법에 의하여 측정하였다. 표준당으로 포도당을 사용하여 환원당으로 그 함량을 표시하였다(16).

### 통계처리

측정된 결과는 통계프로그램인 SPSS(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA) 후 Tukey의 다중비교분석법을 이용하여  $p < 0.05$  유의수준에서 유의성 검정을 하였다.

## 결과 및 고찰

### 분쇄미의 초음파처리가 당화에 미치는 영향

무증자 분쇄미(GR)와 무증자 초음파처리 시료군(UGR), 그리고 가압증자 시료(CGR)에 대하여 산업적으로 양조용 효소제로 널리 이용되고 있는 조효소제와 glucoamylase를 혼합하여 60°C에서 6 시간 동안 당화하면서 당 함량의 변화를 조사하였다(Table 1).

12 mesh(1,400 μm)로 분쇄한 백미를 6시간 동안 당화시킨 결과 가압증자 시료(CGR)가 가장 높은 당도(8.9°Bx)를 보여주었으며 무증자 분쇄미(GR)는 가장 낮은 당도(3.0°Bx)를 나타내었다. 또한 무증자 분쇄미(GR)에 비하여 초음파처리 시료군(UGR)이 높은 당도를 나타내었고 초음파 처리시간이 길수록 당도가 증가하여 15분과 120분 처리의 경우 각각 3.2, 6.0°Bx를 나타내었다. 이러한 현상은 초음파 처리로 인하여 분쇄미의 입자가 분쇄되어 당화력에 영향을 미친 것으로 판단되며, Kim(17)은 전분에 초음파를 가한 경우 전분 입자가 뭉치는 현상이 없어지고 전분 입자의 평균 지름이 감소함을 확인한 바 있다. 20 mesh(850 μm)와 35 mesh(500 μm)로 분쇄한 백미의 경우도 12 mesh의 분쇄미와 마찬가지로 초음파 처리시간이 길수록 생성된 최종 당함량이 증가하는 경향을 보여주었다.

무증자 분쇄미(GR)는 12, 20, 35 mesh로 입자가 작아질수록 각각 3.0, 5.0, 5.2°Bx로 당도가 증가하였으나 당화가 충분히 이루어

**Table 1. Comparison of sugar contents between CGR and UGR during saccharification\***

Size of ground rice	Ultrasonication time (min)	Sugar (°Bx)						
		Saccharification time (h)						
		0	1	2	3	4	5	6
12 mesh	0 <sup>1)</sup>	1.9	2.0	2.1	2.3	2.6	2.9	3.0
	15 <sup>2)</sup>	1.9	2.0	2.2	2.4	2.6	3.0	3.2
	30 <sup>3)</sup>	2.0	2.1	2.3	2.6	2.8	3.1	3.4
	60 <sup>4)</sup>	2.3	2.6	3.0	4.1	4.4	4.7	5.2
	120 <sup>5)</sup>	2.6	2.9	3.4	4.3	4.8	5.2	6.0
	Cooked <sup>6)</sup>	2.0	3.0	4.9	5.9	7.2	8.1	8.9
20 mesh	0	2.0	2.0	2.2	3.2	4.0	4.5	5.0
	15	2.0	2.0	2.3	3.7	4.8	5.2	5.5
	30	2.0	2.0	2.3	4.1	5.2	5.5	5.8
	60	3.8	4.2	4.8	6.2	6.7	7.0	7.4
	120	4.2	4.9	5.8	7.4	7.8	8.3	8.6
	Cooked	2.8	4.2	5.6	8.0	8.9	9.1	9.5
35 mesh	0	2.0	2.3	2.8	4.0	4.5	4.8	5.2
	15	2.0	2.4	3.1	5.0	5.4	5.7	6.0
	30	2.5	3.0	4.0	6.5	7.0	7.3	7.5
	60	3.0	3.6	4.5	7.5	8.5	9.0	9.5
	120	4.3	5.0	6.7	8.9	9.8	10.0	10.2
	Cooked	3.0	5.2	7.0	10.1	11.0	11.2	11.5

\*Saccharification was carried out with complex enzyme for 3 h at 60°C

<sup>1)</sup>ground rice

<sup>2)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>3)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>4)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>6)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

어지지 않았다. 초음파처리 시료(UGR)의 경우 초음파 처리로 당도는 더욱 증가하였고 120분 동안 초음파를 처리한 12, 20, 35 mesh 시료의 경우 각각 6.0, 8.6, 10.2°Bx의 함량을 나타내어 무증자 분쇄미(GR)와 비교하여 200, 172, 196%의 당도가 증가하였다. 특히 20 mesh 및 35 mesh의 분쇄미를 120분 동안 초음파 처리함으로써 가압증자 시료(CGR)의 당도 9.5°Bx, 11.5°Bx의 약 90%에 근접한 높은 당도가 가능하였다.

#### 분쇄미의 초음파처리가 알코올 발효에 미치는 영향

각 mesh 별 무증자 분쇄미(GR), 무증자 초음파처리 시료군(UGR), 가압증자 시료(CGR) 각각에 대하여 조효소제와 glucoamylase를 혼합한 혼합효소제를 첨가하고 60°C에서 3시간 동안 당화시킨 후 효모를 접종하여 25°C에서 4일 동안 당화 및 알코올 동시발효(SSF)를 수행하고 알코올 함량을 조사하였다(Table 2).

12 mesh(1,400 μm)로 분쇄한 백미의 경우 알코올 발효 4일 후의 가압증자 시료(CGR)는 가장 높은 알코올 함량(14.7%)을 나타냈으며, 무증자 분쇄미(GR)은 가장 낮은 8.5%를 나타내었다. 또한 무증자 분쇄미(GR)에 비하여 무증자 초음파처리 시료군(UGR)이 높은 알코올 함량을 나타내었고 초음파 처리시간을 증가시킬수록 알코올 함량이 증가하여 15분과 120분 처리의 경우 각각 10.2%와 13.8%를 나타내었다. 20 mesh와 35 mesh로 분쇄한 시료의 경우도 같은 경향을 보여주었으며, 35 mesh의 분쇄미 시료의 경우 초음파 처리시간을 15분에서 120분으로 증가시킨 결과 발효 4일 후 15.3%에서 16.7%로 알코올 함량이 증가하였다.

**Table 2. Comparison of alcohol production\* between CGR and UGR**

Size of ground rice	Ultrasonication time (min)	Alcohol (% v/v)				
		Fermentation time (days)				
		0	1	2	3	4
12 mesh	0 <sup>1)</sup>	0	3.3	7.0	8.0	8.5
	15 <sup>2)</sup>	0	3.4	7.3	9.0	10.2
	30 <sup>3)</sup>	0	3.6	8.8	10.5	13.0
	60 <sup>4)</sup>	0	4.3	9.6	12.9	13.4
	120 <sup>5)</sup>	0	5.2	10.5	13.5	13.8
	Cooked <sup>6)</sup>	0	6.8	11.9	13.8	14.7
20 mesh	0	0	3.3	7.0	8.9	10.2
	15	0	3.5	7.6	10.2	11.0
	30	0	3.8	8.8	11.7	13.4
	60	0	5.2	12.1	13.3	14.3
	120	0	6.5	13.1	14.2	15.7
	Cooked	0	7.6	14.2	15.7	16.1
35 mesh	0	0	3.8	7.2	12.8	14.7
	15	0	4.1	11.8	14.2	15.3
	30	0	5.5	13.2	14.9	16.3
	60	0	5.9	13.7	15.2	16.5
	120	0	7.2	13.9	15.3	16.7
	Cooked	0	8.3	13.9	16.2	17.2

\*Alcohol fermentation was carried out for 4 days at 25°C

<sup>1)</sup>ground rice

<sup>2)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>3)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>4)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>6)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

한편 초음파 처리에 관계없이 12 mesh에서 35 mesh로 분쇄미의 크기가 작아질수록 최종 알코올 함량이 증가하였다. Lee와 Park(5)은 초음파 처리를 하지 않은 무증자 원료백미를 사용한 알코올 발효를 수행하고 12, 20, 35 mesh의 시료에 대하여 각각 13.35, 14.8, 14.0% (v/v)의 알코올을 생산하여 분쇄시료의 크기가 알코올 생성에 미치는 영향을 평가하기 어려웠으나 본 연구의 경우, 무증자 원료분쇄미의 크기가 작아질수록 8.5, 10.2, 14.7%로 알코올 함량이 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 초음파 처리를 통하여 각각 13.8, 15.7, 16.7%를 생산하여 13.4, 14.8, 14.1%를 생산한 Lee와 Park(5)의 경우보다 더 높은 함량으로 알코올을 생산할 수 있었다. 이것은 시료 제조시 초음파 처리를 통하여 쌀의 생전분과 호화전분의 크기감소와 균질화, 높은 비표면적, 용해도 및 팽윤력 상승, 겔보기 점도 감소를 보였다는 Han과 Kim(18)의 결과를 반영한 것으로 사료된다.

#### 알코올 발효 중 초음파 처리시간에 따른 pH, 총산, 아미노태 질소, 환원당 함량의 변화

35 mesh의 분쇄미를 사용하여 초음파 처리시간을 달리하여 시료를 제조하고 4일 동안 알코올 발효를 수행하면서 pH, 총산, 아미노태 질소, 환원당 함량의 변화를 관찰하였다.

35 mesh 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 알코올 발효 중 pH의 변화는 Table 3과 같다. 모든 시료에서 발효 0일째 pH 5.5-5.9에서 발효 1일째 pH 3.9-4.1까지 급격히 감소한 후 최종 pH 4.06-4.27까지 조금씩 증가하였다( $p < 0.05$ ). 이 결과는 묵은쌀을 사용한 탁주의 발효에서 알코올 발효 12시간째에 pH 5.06-5.14에서

**Table 3. Changes in pH during alcohol fermentation\* by ultrasonication<sup>1)2)</sup>**

Fermentation time (days)	pH					
	Ultrasonication time (min)					Cooked <sup>8)</sup>
	0 <sup>3)</sup>	15 <sup>4)</sup>	30 <sup>5)</sup>	60 <sup>6)</sup>	120 <sup>7)</sup>	
0	5.82 <sup>Aa</sup>	5.80 <sup>Aa</sup>	5.76 <sup>ABa</sup>	5.49 <sup>Ca</sup>	5.65 <sup>Ba</sup>	5.85 <sup>Aa</sup>
1	4.07 <sup>bc</sup>	3.98 <sup>cd</sup>	3.95 <sup>bc</sup>	3.93 <sup>c</sup>	3.96 <sup>c</sup>	3.93 <sup>d</sup>
2	3.95 <sup>ABc</sup>	3.92 <sup>Bd</sup>	3.94 <sup>ABc</sup>	3.95 <sup>ABc</sup>	3.94 <sup>ABc</sup>	4.06 <sup>Ac</sup>
3	4.04 <sup>Bbc</sup>	4.01 <sup>Bc</sup>	3.98 <sup>Bbc</sup>	4.04 <sup>Bbc</sup>	4.06 <sup>Bbc</sup>	4.16 <sup>Ac</sup>
4	4.10 <sup>CDb</sup>	4.08 <sup>CDb</sup>	4.06 <sup>Db</sup>	4.14 <sup>BCb</sup>	4.17 <sup>Bb</sup>	4.27 <sup>Ab</sup>

\*Alcohol fermentation was carried out for 4 days at 25°C

<sup>1)ABCD</sup>Different letters in the same row indicate that the values are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>2)abcd</sup>Different letters in the same column indicate that the values are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>3)</sup>ground rice

<sup>4)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>6)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>7)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>8)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

**Table 4. Changes in total acidity during alcohol fermentation\* by ultrasonication<sup>1)2)</sup>**

Fermentation time (days)	Acidity (%)					
	Ultrasonication time (min)					Cooked <sup>8)</sup>
	0 <sup>3)</sup>	15 <sup>4)</sup>	30 <sup>5)</sup>	60 <sup>6)</sup>	120 <sup>7)</sup>	
0	0.14 <sup>Cc</sup>	0.14 <sup>Cd</sup>	0.16 <sup>BCd</sup>	0.18 <sup>Be</sup>	0.16 <sup>BCc</sup>	0.23 <sup>Ac</sup>
1	0.56 <sup>Cd</sup>	0.68 <sup>Bc</sup>	0.77 <sup>Ac</sup>	0.53 <sup>Dd</sup>	0.37 <sup>Fd</sup>	0.49 <sup>Ed</sup>
2	1.00 <sup>Bc</sup>	1.05 <sup>Ab</sup>	1.06 <sup>Ab</sup>	1.02 <sup>Bc</sup>	0.92 <sup>Cc</sup>	0.65 <sup>Dc</sup>
3	1.05 <sup>Bb</sup>	1.11 <sup>Aa</sup>	1.12 <sup>Aa</sup>	1.07 <sup>Bb</sup>	0.96 <sup>Cb</sup>	0.72 <sup>Db</sup>
4	1.10 <sup>Aa</sup>	1.12 <sup>Aa</sup>	1.11 <sup>Aa</sup>	1.10 <sup>Aa</sup>	0.99 <sup>Ba</sup>	0.75 <sup>Ca</sup>

\*Alcohol fermentation was carried out for 4 days at 25°C

<sup>1)ABCDEF</sup>Different letters in the same row indicate that the values are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>2)abcde</sup>Different letters in the same column indicate that the values are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>3)</sup>ground rice

<sup>4)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>6)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>7)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>8)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

발효 1일 경과 후 pH 3.82-3.95까지 떨어진 후 완만히 증가하였다는 Park 등(19)의 연구결과와 일치하는 경향을 보였다. 이러한 현상은 알코올 발효과정 중 젖산균이 증식하면서 계속적으로 생성하여 누적된 젖산과 효모가 증식하면서 다른 유기산의 생성량이 증가되어 pH가 저하된 것으로 판단된다(20).

또한 최종 발효 4일째의 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 pH는 4.08-4.17로서 가압증자 시료(CGR)의 pH(pH 4.27)보다 낮은 값을 보여주어 산생성이 빠르게 진행된 것을 확인할 수 있었다. 한편 15분과 30분의 초음파 처리를 통해 만들어진 시료는 알코올 발효 중 무증자 분쇄미(GR)와 매우 유사한 pH 변화(pH 4.10)를 보여주어 산생성에 큰 영향을 주지는 않았다( $p<0.05$ ).

35 mesh 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 무증자 알코올 발효 중 총산의 변화는 Table 4와 같다. 일반적으로 탁주의 경우 유기산은 진균, 젖산균 및 초산균 등이 작용하여 유기산이 생산되면서 산도가 높아지는 것으로 알려져 있다(21).

모든 시료에서 발효 0일째 총산의 함량은 0.1-0.2%에서 발효 2일째 0.6-1.1%까지 지속적으로 증가한 후 완만하게 증가하는 경향을 보였다. 총산 함량이 2일간 지속적으로 증가함에도 불구하고 발효 1일째 pH가 급격히 감소한 이후 pH가 더 이상 급격히 낮아지지 않은 것은 단백질의 분해로 아미노산과 펩타이드가 증

가하여 완충력을 높여주었기 때문이라고 판단된다(22).

가압증자 시료(CGR)의 산생성은 다른 시료들에 비하여 느리게 진행되었으며 발효 4일후의 가압증자 시료의 산도는 0.75%로 다른 시료에 비하여 매우 낮은 값을 보여주었다. 이와 같이 증자 시료에 비해 무증자 시료의 pH가 더 낮고, 총산 함량이 더 높게 나온 본 실험의 결과는 증자 및 무증자 탁주의 발효특성을 연구한 Kim 등(23)의 결과와 일치하였다. 한편 무증자 분쇄미(GR)의 산도(1.1%)는 120분 동안 초음파 처리한 시료(산도 0.99%)를 제외한 무증자 초음파처리 시료(UGR)의 산도와 유의적인 차이( $p=0.05$ )가 없게 나타나서 무증자 분쇄미에 대한 초음파 처리가 산생성을 촉진하지는 않는 것으로 확인되었다.

35 mesh 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 무증자 알코올 발효 중 아미노태 질소의 변화는 Table 5와 같다. 일반적으로 탁주의 경우 저장 중 아미노태 질소 함량이 증가하는 것은 탁주의 원료인 곡류에 함유되어 있는 단백질이 누룩중의 미생물이 생산하는 acid protease나 peptidase 등의 단백질 분해효소작용 때문인 것으로 알려져 있다(24). 모든 시료에서 발효 0일과 1일째에 아미노태 질소 함량이 0.01-0.02%에서 시간이 경과함에 따라 발효 4일째에 0.03-0.06%로 증가하였다. 본 실험의 결과는 알코올 발효과정 중 아미노태 질소함량이 증가하였다는 Lee 등(20), Han 등

**Table 5. Changes in amino nitrogen contents during alcohol fermentation\* by ultrasonication<sup>1)2)</sup>**

Fermentation time (days)	Amino nitrogen (%)					
	Ultrasonication time (min)					Cooked <sup>8)</sup>
	0 <sup>3)</sup>	15 <sup>4)</sup>	30 <sup>5)</sup>	60 <sup>6)</sup>	120 <sup>7)</sup>	
0	0.023 <sup>Ad</sup>	0.017 <sup>Ce</sup>	0.018 <sup>BCd</sup>	0.019 <sup>BCd</sup>	0.020 <sup>Bd</sup>	0.024 <sup>Ab</sup>
1	0.018 <sup>BCe</sup>	0.022 <sup>Ad</sup>	0.014 <sup>De</sup>	0.016 <sup>CDe</sup>	0.020 <sup>ABd</sup>	0.009 <sup>Ed</sup>
2	0.034 <sup>Bc</sup>	0.038 <sup>Ac</sup>	0.029 <sup>Cc</sup>	0.030 <sup>Cc</sup>	0.034 <sup>Bc</sup>	0.017 <sup>Dc</sup>
3	0.046 <sup>Ab</sup>	0.044 <sup>Ab</sup>	0.032 <sup>Cb</sup>	0.034 <sup>Cb</sup>	0.039 <sup>Bb</sup>	0.025 <sup>Db</sup>
4	0.059 <sup>Aa</sup>	0.053 <sup>Ca</sup>	0.053 <sup>Ca</sup>	0.054 <sup>BCa</sup>	0.056 <sup>Ba</sup>	0.033 <sup>Da</sup>

\*Alcohol fermentation was carried out for 4 days at 25°C

<sup>1)ABCDE</sup>Different letters in the same row indicate that the values are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>2)abcde</sup>Different letters in the same column indicate that the values are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>3)</sup>ground rice

<sup>4)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>6)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>7)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>8)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

**Table 6. Changes in reducing sugar contents during alcohol fermentation\* by ultrasonication<sup>1)2)</sup>**

Fermentation time (days)	Reducing sugar (mg/mL)					
	Ultrasonication time (min)					Cooked <sup>8)</sup>
	0 <sup>3)</sup>	15 <sup>4)</sup>	30 <sup>5)</sup>	60 <sup>6)</sup>	120 <sup>7)</sup>	
0	6.38 <sup>Fa</sup>	6.67 <sup>Ea</sup>	6.91 <sup>Da</sup>	7.24 <sup>Ca</sup>	9.14 <sup>Ba</sup>	27.37 <sup>Aa</sup>
1	2.78 <sup>Fb</sup>	3.15 <sup>Eb</sup>	3.98 <sup>Db</sup>	4.64 <sup>Cb</sup>	5.21 <sup>Bb</sup>	18.79 <sup>Ab</sup>
2	1.92 <sup>Fc</sup>	2.11 <sup>Ec</sup>	2.40 <sup>Dc</sup>	3.29 <sup>Cc</sup>	3.88 <sup>Bc</sup>	9.37 <sup>Ac</sup>
3	1.79 <sup>Cd</sup>	1.79 <sup>Cd</sup>	1.80 <sup>Cd</sup>	1.84 <sup>Bd</sup>	1.86 <sup>Bd</sup>	2.51 <sup>Ad</sup>
4	1.77 <sup>Ed</sup>	1.78 <sup>DEd</sup>	1.80 <sup>CDd</sup>	1.82 <sup>BCd</sup>	1.84 <sup>Bd</sup>	1.98 <sup>Ae</sup>

\*Alcohol fermentation was carried out for 4 days at 25°C

<sup>1)ABCDEF</sup>Different letters in the same row indicate that the values are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>2)abcde</sup>Different letters in the same column indicate that the values are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>3)</sup>ground rice

<sup>4)</sup>ultrasonication for 15 minutes

<sup>5)</sup>ultrasonication for 30 minutes

<sup>6)</sup>ultrasonication for 60 minutes

<sup>7)</sup>ultrasonication for 120 minutes

<sup>8)</sup>cooking condition: 121°C, 1 atm, 15 min

(25)의 보고와 일치하였다.

35 mesh 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 무증자 알코올 발효 중 환원당 함량의 변화는 Table 6과 같다. 알코올 발효를 위한 가압증자 시료(CGR)의 초기 환원당 함량이 27.37 mg/mL로 가장 높았고 15분에서 120분으로 초음파 처리시간을 증가시키에 따라 6.67 mg/mL에서 9.14 mg/mL로 초기 환원당 함량이 증가하였다. 한편 무증자 분쇄미(GR)가 6.38 mg/mL로 가장 낮은 함량을 보여주었으며 이러한 현상은 초음파 처리를 함으로써 쌀 전분의 분해도가 높아져 환원당의 함량이 높아진 것으로 추정된다. Han 등(18)은 생전분을 초음파로 균질화 시켰을 경우 전분의 평균크기가 1.589  $\mu\text{m}$ 에서 0.441  $\mu\text{m}$ 로 줄어들고, 비표면적이 15.2배 증가하였으며 비표면적의 증가는 효소와의 접촉면 증가를 가져온다고 보고한 바 있다. 모든 시료들은 발효시간이 경과함에 따라 미생물의 영양원으로 이용되어 환원당 함량이 점차 감소하여 발효 4일째에는 모든 시료들이 1.8-2 mg/mL 수준으로 감소하였다 ( $p < 0.05$ ).

이상의 결과로부터 분쇄도를 달리한 무증자 백미를 초음파 적용시간을 달리하여 처리하고 당화 및 알코올 발효를 수행하여 가압증자 발효에 근접한 최대 16.7%의 알코올생산이 가능하였다. 초음파 처리 공정을 통한 알코올 발효는 증자공정 중의 복잡한

과정을 줄이고, 시간단축, 에너지 절감 및 경비 절감에 많은 도움이 될 것으로 기대된다. 한편 다양한 작물을 이용한 효율적 알코올 발효연구 및 이들에 대한 초음파 처리 등 전처리 공정의 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

무증자 백미를 이용한 당화 및 알코올 발효를 최적화하기 위해 다양한 크기(12, 20, 35 mesh)로 분쇄된 백미를 초음파 처리시간(15, 30, 60, 120분)을 달리하여 시료들을 제조하고 당화와 알코올 발효를 수행하였다. 각 크기별로 분쇄된 백미시료를 60°C에서 3시간 당화시킨 결과 모든 시료에서 가압증자 시료(CGR) > 초음파처리 시료(UGR) > 무증자 분쇄미(GR)의 순으로 높은 당도를 보여주었다. 분쇄백미의 크기에 무관하게 가압증자 시료(CGR)가 가장 높은 당도를 보여주었으며 무증자 분쇄미(GR)는 가장 낮은 당도를 나타내었다. 또한 무증자 분쇄미(GR)에 비하여 초음파처리 시료(UGR)가 높은 당도를 나타내었고 초음파 처리시간이 길수록 당도가 증가하였다. 35 mesh의 분쇄미를 120분 동안 초음파 처리함으로써 가압증자 시료(CGR, 11.5%Bx)의 약 90%에 해당하는 10.2%Bx로 당화가 가능하였다. 또한 당화된 35 mesh의

초음파처리 시료(UGR)를 사용하여 25°C에서 4일 동안 알코올 발효를 수행함으로써 가압증자 시료(CGR)의 알코올 함량 17.2%에 근접한 16.7%의 알코올 생산이 가능하였다. 알코올 발효 4일후의 무증자 초음파처리 시료군(UGR)의 pH는 가압증자 시료(CGR)와 비교하여 낮은 pH를 나타내었다. 또한 초음파처리 시료의 산도는 0.99-1.1%로서 가압증자 시료(CGR)의 산도 0.75%에 비하여 높은 산도를 보여주었다.

## 문 헌

- Park KH, Oh BH, Hong SS, Lee KH. Production of alcohol from starch without cooking. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 27: 52-54 (1984)
- Ueda S, Zenin CT, Monteiro DA, Park YK. Ethanol production from raw cassava starch. *Biotechnol. Bioeng.* 23: 291-299 (1981)
- Matsumoto N, Fukushi O, Miyanaga M, Kakihara K, Nakajima E, Yoshizumi H. Industrialization of a noncooking system for alcoholic fermentation from grain. *Agr. Biol. Chem. Tokyo* 46: 1549-1558 (1982)
- Jo KH, Lee YH. Enhancing mechanism of the saccharification of uncooked starch in an agitated bead reaction system. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 14: 407-413 (1986)
- Lee SA, Park HD. Effect of ground rice particle size on the brewing of uncooked rice *takju*. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol. Agri. Products* 2: 269-276 (1995)
- Kim CH, Han JG, Jin L, Jung HS, Oh SH, Jeong MH, Jung KH, Choi GP, Park UY, Lee HY. Comparison of alcohol fermentation of low quality potatoes and sweet potatoes with ultrasonification process. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 17: 121-124 (2009)
- Kim SM, Zayas JF. Effects of ultrasound treatment on the properties of chymosin. *J. Food Sci.* 56: 926-930 (1991)
- Sams AR, Feria R. Microbial effects of ultrasonification of broiler drumstick skin. *J. Food Sci.* 56: 247-248 (1991)
- Sierra G, Boucher RM. Ultrasonic synergistic effects in liquid-phase chemical sterilization. *Appl. Microbiol.* 22: 160-164 (1971)
- Armerding GD. Evaporation methods as applied to the food industry. *Adv. Food Res.* 15: 303-358 (1966)
- Lee MK, Lee SW, Yoon TH. Quality assessment of *yakju* brewed with conventional Nuruk. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23: 78-89 (1994)
- Jeong YJ, Seo JH, Yoon SR, Lee JM, Lee GD, Kim OM, Bang KW. Liquefaction and saccharification condition of potatoes for alcohol fermentation using potatoes. *Korean J. Postharv. Sci. Technol.* 7: 94-98 (2000)
- Strehaiano P, Mota M, Goma G. Effect of inoculum on kinetics of alcoholic fermentation. *Biotechnol. Lett.* 5:135-149 (1983)
- Kang MY, Park YS, Mok CK, Chang HG. Improvement of shelf-life of *yakju* by membrane filtration. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1134-1139 (1998)
- Park SO, Han EH, Kim SY. Quality characteristics and flavor compounds of market *takju*. *J. Nat. Sci. Inst.* 10: 44-50 (1998)
- Jwa MK, Lim SB, Song DJ, Kim BO. Quality changes of commercial *yakju* and *takju* during storage. *Cheju J. Life Sci.* 3: 3-9 (2000)
- Kim JY. Alcoholic hydrolysis and ultrasonication for granular size reduction of waxy rice starch. MS thesis, Korea University, Seoul, Korea (2004)
- Han MR, Kim MH. Physicochemical properties of physically modified rice starch by homogenizer. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 700-706 (2005)
- 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)
- Lee HS, Lee TS, Noh BS. Change of physicochemical properties of *Takju* prepared using rice nuruks. *J. Natural Sci.* 16: 63-73 (2004)
- Lee MO, Youn JB. Investigation on the quality characteristics of sansung *takju* compared with commercial *takju*. *Rep. Busan Inst. Health Environ.* 12: 48-62 (2002)
- So MH, Lee JW. *Takju* brewing by combined use of *Rhizopus japonicus-nuruk* and *Aspergillus oryzae-nuruk*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 157-162 (1996)
- Kim MJ, Kim BH, Han JK, Lee SY, Kim KS. Analysis of quality properties and fermentation microbial profiles of *takju* and *yakju* brewed with or without steaming process. *J. Food Hyg. Safety* 26: 64-69 (2011)
- Jeong JW, Park KJ, Kim MH, Kim DS. Changes in quality of spray-dried and freeze-dried *takju* powder during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 513-520 (2006)
- Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different nuruk during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 555-562 (1997)
- Song JC, Park HJ. *Takju* brewing using the uncooked germed brown rice at second stage mash. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 847-854 (2003)