

## 廢糖을 이용한 醋酸醱酵法

김 현 오

장안실업전문대학 식품영양과

이 영 순

경희대학교 문리과대학 가정학부 식품영양학과

### Manufacturing Process of Acetic Acid Fermentation Using Deteriorated Candy

Hyun Oh Kim

*Dept. of Foods and Nutrition, Jang An Business Junior College*

Young Soon Lee

*Dept. of Home Economics, College of Liberal Arts and Science, Kyung Hee University*

#### = ABSTRACT =

The present dissertation intends to examine whether the use of deteriorated candies on the market causes the acetic acid fermentation, and upon scrutiny the result is as follows.

- 1) 0.5% yeast extract as the source of nitrogen is added to 25% candy solution; as a result, the condition of alcoholic fermentation of 8.3% alcohol is favorable.
- 2) 0.5% yeast extract is added to candy solution after alcoholic fermentation; as a result, 0.2% increase of acidity per hour shows an active acetic acid fermentation of final 6.93%.
- 3) Acetic acid fermentation by the use of deteriorated candy as sugariness material makes possible up to 90% fermentation ratio through submerged aeration process, and shows 0.092% increase of acidity per hour.

#### 緒 論

世界的인 資源과 Energy 難으로 特別 食糧의 不足은 크게는 國際的으로 저게는 우리의 生活週邊까지 좀더 效率的인 資源의 管理 및 利用을 要求하고 있다. 이에 筆者는 市中에서 變形되어 廢棄되는 사탕류를 效率

접수일자 : 1980년 4월 4일

的으로 利用하는 方案의 一環으로 廢棄 사탕류가 가져는 糖分으로부터 食醋를 製造하는 方法을 檢討하였다. 食醋는 酵母를 利用하여 糖으로부터 酒精醱酵을 行하고 이 酒精分을 好氣性菌인 醋酸菌을 利用하여 好氣的으로 Acetic Acid로 轉換시키는 二段階의 過程으로 이루어진다. 人間이 食醋를 利用한 記錄은 BC 5000年 頃의 Babylon時代로 推測되며 BC 3000年頃에는 商業的인 食醋의 生産이 있었다 하며 酸味料, 食品添加 및

保存料 또는 醫藥, 化粧品 등에 널리 使用되어 왔다<sup>1)</sup> 醱酵의 方法도 自然發生的인 表面培養으로부터 漸次發展되어 Frings에 의해 完成된 Generation 法の 食醋 釀造法이 알려졌고<sup>2)</sup> 특히 二次世界大戰 以後의 抗生物質에 뒤를이어서 醋酸醱酵도 深部通氣培養으로 急進展하게 되었다. 주요한 食醋의 研究로는 Hromatka<sup>3)-5)</sup> 등의 基礎的 研究와 Cohee와 Steffen<sup>7)</sup> 등 朝井<sup>8)</sup>, 中山<sup>9)10)</sup> White<sup>11)</sup> 등이 있고 Asai<sup>12)</sup>의 醋酸菌 分類 및 性質에 대한 報告가 알려졌다. 食醋釀造 原料로는 果汁을 醱酵시킨 美國의 Cider Vinegar, 프랑스의 Wine Vinegar 또 英國의 Malt Vinegar 및 蒸溜한 Distilled Malt Vinegar 등이 있으며, 日本의 酒粕酢도 알려졌다. 最近에는 酒精工業의 發達과 함께 酒精(95%)을 회석하여 醇化시킨 酒精酢(Sprit Vinegar)가 널리 만들어지고 있는 실정이다<sup>1)</sup>. 이에 筆者는 原料를 廢棄 사탕류로 대체하여 食醋를 製造하는 實驗에서 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

### 實驗材料 및 方法

1) 實驗材料: 市中에서 長期保存 및 流通過程 중 吸濕 등의 理由로 廢棄되는 사탕류로써 D製菓의 K드롭프스와 H製菓의 Y 사탕을 걸 포장지 및 異物質 등을 除去하여 實驗材料로 使用하였다.

2) 一般糖成分의 分析: 還元糖 및 轉化糖 總糖의 定量은 常法에 따라서 Somogyi 變法으로 하였다<sup>13)</sup>.

3) 酵母의 酒精醱酵 調査: 試料 사탕류를 蒸溜水로 20%(W/V) 溶液으로 만들고 각기 400 ml씩 取하여 yeast extract(DIFCO Lab. U. S. A.)를 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5% 첨가한 후에 酵母 培養液(市販 탁주에서 常法에 따라 分離하여 malt extract 10% 溶液에서 28°C, 24時間 培養한 것) 9 ml씩을 各各 加하여 28°C Incubator에서 培養하며 還元糖의 輕視的 變化와 酒精度를 測定하였다.

4) 糖濃도가 酵母의 酒精醱酵에 미치는 영향: 사탕의 濃도를 各各 10, 20, 25, 30, 35% 溶液(W/V)으로 400 ml로 하여 各各 0.5%의 yeast extract를 添加한 後에 前記 酵母 培養液을 5 ml씩을 加하여 28°C Incubator에서 培養하여 糖度の 輕視的 變化를 醱酵 당도계로서 測定하였다.

5) Yeast extract 濃도를 달리한 醋酸醱酵(表面培養): 前記 3)의 yeast extract 0.1%와 0.5%를 添加 alcohol 醱酵가 完了된 液을 濾過하여 200 ml를 取하

고 各各 Acetic acid 로서 初發酸도를 2%로 調整하고 醋酸菌 Acetobacter aceti((株)一和 保存菌)를 백금이로 接種하여 30°C Incubator에 培養하면서 酸度の 變化를 測定하였다.

6) 深部培養에 의한 醋酸醱酵: 19%(0.5% yeast extract 添加) 사탕용액에 酵母를 接種하여 알콜발효하여 6%의 酒精溶液을 얻었다. 이 液을 1주야 定置한 후 濾過하여 濾過液 15 l를 Acetic acid 로써 2% 初發酸도로 調整하고 Acetobacter aceti로 표면배양액 200 ml를 加한 후 Jar Fermenter(30 l用 T. E. Marubichi 日本)로서 Agitation 450 r. p. m, air量 1.5 l/min의 조건에서 培養하면서 酸度の 變化와 菌體增殖을 觀察하였다.

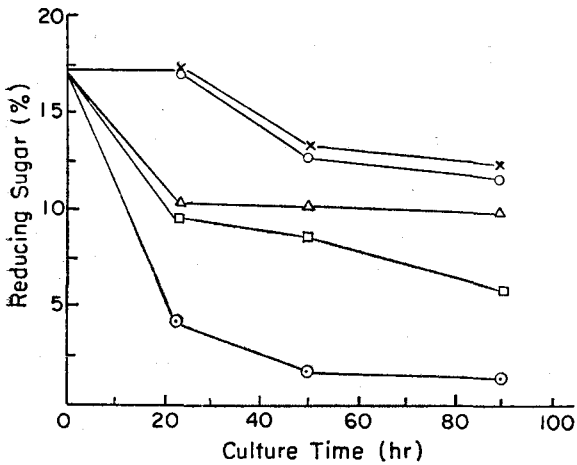
7) 酸度 및 吸光度의 測定: Acidity는 0.1N-NaOH 용액(F=1.00)으로 지시약 phenolphalein 2~3滴을 加하여 적정하였으며 吸光度는 Spectrophotometer (Spectronic-700 Baush & Lomb)로 660 μm에서 증류수를 대조로 하여 測定하였다.

### 實驗結果 및 考察

1) 糖料의 測定: 試料의 糖度測定 結果는 K드롭프스가 還元糖 20.86%, 轉化糖 85.39%, 總糖 93.4% 및 水分 5.46%였고 Y 사탕은 還元糖 82.3%, 轉化糖 18.25% 總糖 94.3% 및 水分 4.37%였다. 醋酸醱酵의 第一段階인 酒精醱酵은 酵母에 의한 糖分의 醱酵이므로 試料 중에 酵母가 直接 利用할 수 있는 糖分이 높을수록 바람직하다고 할 수 있는데 이 사탕류는 還元糖 및 轉化糖이 80%를 상회하므로 이를 利用할 價値가 있다고 생각된다.

2) 糖液 中の Yeast extract 添加에 따른 酵母의 酒精醱酵 영향: 사탕류는 설탕 및 물엿등을 主原料로 製造하여 糖源으로는 풍부하지만 菌體增殖 및 生育에 必要한 질소원은 결핍되기 쉬워서 질소원이 문제가 된다. 따라서 濃도를 달리하여 yeast extract를 질소원으로서 배지에 添加하고 酵母를 接種하여 溶液 中の 還元糖의 輕視的 變化를 測定한 結果는 Fig. 1과 같다.

Yeast extract 0.5% 첨가구는 25時間이 經過됨에 따라 還元糖量이 4.05%로, 0.1% 첨가구는 9.35%로 0.05% 첨가구는 10.44%로 되어 還元糖의 減少와 점차 活潑한 醱酵이 일어났다. 그러나 0.01% 첨가구와 Control은 처음의 還元糖量 17.47% 그대로였으며 醱酵의 기포가 인지되지 않았다. 또한 50時間이 경과하



**Fig. 1.** Influence of various yeast extract concentration on the alcoholic fermentation, (Change of reducing sugar in the media) media; 18% candy solution, culture temp. ;  $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$

—x—x— Control  
 —o—o— 0.01% yeast extract  
 —△—△— 0.05% yeast extract  
 —□—□— 0.1% yeast extract  
 —●—●— 0.5% yeast extract

자 0.5% 첨가구는 1.67%로 거의 醱酵가 끝나는 段階에 접어들었음에도 0.01% 첨가구는 90時間이 지나서 서서히 醱酵 중이었다. 이상의 사실은 yeast extract 添加濃도가 높을수록 酵母의 酒精醱酵 狀態가 순조롭게 진행됨을 보여준다. 그러므로 사탕류를 糖質로 하여 酒精醱酵를 할 때는 醱酵원이 必要하며 yeast ext-

ract는 良質이지만 高價이기 때문에 실제의 경우보다 低廉한 유기 또는 무기 醱酵원을 찾아야 한다고 생각된다.

3) 糖濃도에 따른 酵母의 酒精醱酵에 미치는 영향 : 酵母는 거의 28% 以上の 糖濃도에서는 酒精醱酵를 잘 진행하지 않는 것이 一般的이다. 실제의 경우 alcohol 醱酵를 行할 때 同一 용기에 高濃도의 糖을 添加하여 거의 비슷한 時間 內에 酒精醱酵가 完了되는 것이 바람직하며 알콜醱酵에 적정 糖濃도가 檢討되어야 할 것이다. 이는 酵母 菌株 自體의 特性 및 醱酵管理의 條件에도 관계되는 것으로서 본 實驗에서 사탕용액의 濃도를 10, 20, 25, 30, 35%(W/V)로 하여 酵母를 接種하고 醱酵당도의 輕視的 變化를 測定한 結果는 Table 1과 같다.

濃도 10%(초발 醱酵당도는 9%)에서는 73時間 以後 醱酵당도 3.6%, 주정도 2.3%였으며, 20%(초발 醱酵당도는 17.4%)에서는 接種 73時間 以後 醱酵당도 8.4%, 주정도 6.5%였다. 또한 농도 25%(초발 醱酵당도 22%)는 接種 후 73時間 以後 醱酵당도 11.2%, 주정도 8.3%였으며 농도 30%(초발 醱酵당도 26%)에서는 接種 90時間 後 醱酵당도 14.6%, 주정도 9%였다. 그러나 농도 35%(초발 醱酵당도 29.4%)에서는 接種 90時間 後에 醱酵당도 18.8%, 주정도 8.7%로서 주정도는 오히려 糖濃도 30%溶液보다 減少하였다. 이는 糖濃도가 지나치게 높으면 오히려 酵母의 糖利用性이 지연되는 듯하다. 以上の 結果는 사탕의 溶液濃도를 25% 정도로 하여 alcohol 醱酵를 行하고 이 生産된 液을 回收하여 醋酸醱酵用 배지로 使用하는 것이 좋다고 생각된다.

4) 표면배양에 의한 초산발효 : 균막을 接種하여 液體배지의 上面에 초산균막을 形成하여 醋酸醱酵하는 표면발효는 自然發生的인 古來로부터 現在까지 施行되는

**Table 1.** Influence of various sugar concentration on the time course of fermentation (Changes of sugar content in the media) unit: %

Concentration of candy (%)	Time(hr)									Alcohol (%)
	0	18	25	42	49	66	73	90	121	
10	9.0	6.8	5.0	4.2	4.1	4.0	3.6	3.6	3.6	2.3
20	17.4	14.6	13.2	11.2	10.2	9.1	8.4	8.4	8.4	6.5
25	22.0	19.2	17.4	15.1	14.0	12.4	11.2	11.1	11.1	8.3
30	26.0	22.1	20.8	19.0	16.4	16.0	15.6	14.6	14.6	9.0
35	29.4	26.4	25.0	23.2	22.2	20.2	19.4	18.8	18.8	8.7

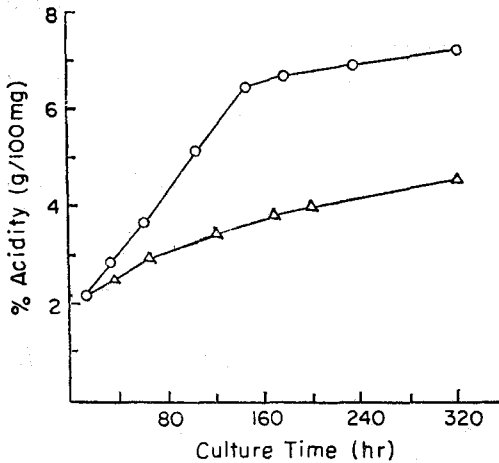


Fig. 2. Influence of yeast extract concentration in the media on the time course of acetic acid production (Surface culture)

Culture temp. ;  $30^{\circ} \pm 0.5^{\circ}C$

media; Filtered solution after alcoholic fermentation of 19% (W/V)

- Media with 0.5% yeast extract
- △—△— Media with 0.1% yeast extract

方法으로서 표면배양에서 질소원으로 yeast extract를 添加하는 경우는 0.5% 또는 0.1% 첨가구 다같이 log phase 는 25~26時間으로 비슷하지만 Fig. 2에서 보는 바와 같이 醱酵 進行은 0.5% 첨가구가 좋았다. 배양 318時間이 經過해도 0.1% yeast extract 첨가구는 酸도가 4.4%에 불과하나 0.5% yeast extract 첨가구는 6.9% 酸도에 이르는 成績을 보였다. 時間當 平均 醱酵率은 217時間 基準하여 0.5% 첨가구는 0.02%酸度/hr 였으며 0.1% 첨가구는 0.0095%酸度/hr 로 나타났다. 以上の 結果로 질소원의 成分이 醋酸醱酵에 큰 영향을 미친다고 생각된다.

5) 深部培養에 의한 醋酸醱酵 조사: 中山<sup>10)</sup>은 醋酸 深部培養의 條件을 檢討하고 初發 alcohol 濃度 6%, 初發 酸度 2%, Aeration Volume 은 배지의 0.1 v/v/nin이 적당하다고 하였다. Fig. 3은 前記의 條件하에 醋酸醱酵을 하였을 때 培養의 經過를 나타낸 것이다. log phase 는 62時間 정도였으며 最高酸度 7.2%까지 醱酵하였으며 log phase에서 醱酵率은 0.092%/hr 였

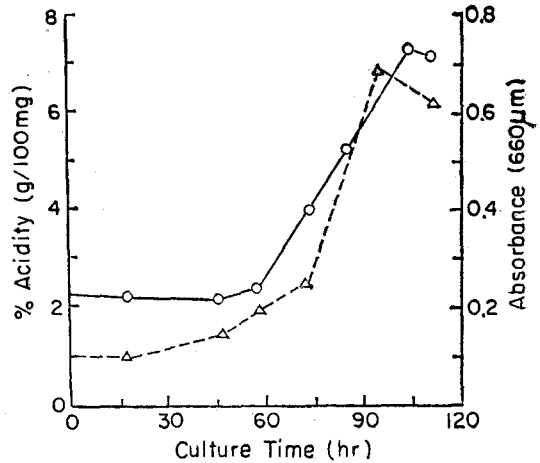


Fig. 3. The process of Acetic acid fermentation in the submerged culture.

Culture temp. ;  $30^{\circ} \pm 0.5^{\circ}C$

media; Filtered solution after alcoholic fermentation of 19% (W/V) candy and 0.5% yeast extract water solution.

- Acidity of media
- △—△— Absorbance of media

다. 또한 알콜농도 6%, 초발산도 2%였으므로  $7.23/8 \times 100 = 90.3\%$ 의 醱酵率을 보였다. 이 발효율이 약간 적게 나타난 것은 aeration volume의 부적당한 결과 초산 및 주정이 휘산되었기 때문이므로 醱酵條件의 改善으로 向上될 수 있을 것으로 사료된다. 菌體의 增殖을 吸光度로 測定한 結果 培養 70時間以後 急格히 增加되어 最高 吸光度는 培養後 97時間으로 0.66을 나타냈고 116時間以後는 0.61로 다소 減少하였다. 吸光度의 變化는 酸도의 增加와 거의 一致하여 醱酵管理에 利用하면 편리할 것으로 사료된다. 발효성적은 총 발효시간 118時間으로 발효율 90%로서 中山<sup>10)</sup>의 6~7일 경우 醱酵率 96%, 正井博文<sup>15)</sup> 등의 110時間 등과 比較하여 별 差異가 나타나지 않았고 따라서 廢棄 사탕을 原料로 하여 醋酸醱酵가 可能하다고 생각된다.

### 要 約

廢棄 사탕류를 利用 醋酸醱酵를 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

- 1) 사탕류의 酵母利用糖은 85% 以上으로 利用의 價

値가 있다.

2) 糖濃度는 25% 溶液으로 하여 8.3%의 酒精度를 얻어 희석하여 醋酸菌 배지로 使用하는 것과 질소원으로서 yeast extract 0.5%를 添加할 때 좋은 結果를 얻었다.

3) 醋酸醱酵는 深部培養으로서 醱酵率 90%로서 時間當 0.092% 酸度 增加率을 얻었으며 사탕을 糖質原料로 한 醋酸醱酵는 실제의 경우 타당한 것으로 나타났다.

### 參 考 文 獻

- 1) Hubert, A.C. & Rudolph, J.A.: *Vinegar; Its history and development, Advanced in Applied Microbiology*, 20: 81—131, 1976.
- 2) Frings H. Prescott S.C. & Dunn C.G.: *Industrial Microbiology*, 243, 1940.
- 3) Hromatka, O., Kastner, G., Gsur, H., Gruber T.: *Untersuchungen Über Die Essiggarung IX, Enzymologia*, 25: 52—64, 1962.
- 4) Hromatka, O., Kastner, G., Gsur, H., Gruber T.: *Untersuchungen Über Die Essiggarung X, Enzymologia*, 25: 65—72, 1972.
- 5) Hromatka, O., Ebner, H.: *Untersuchunge Ünber Die Essiggarung I, Enzymologia*, 13(6): 369—387, 1949.
- 6) Hromatka, O., Ebner, H.: *Untersuchungen Über Die Essiggarung IV, Enzymologia*, 15(2): 134—153, 1951.
- 7) Cohee, R.F., Steffen G.: *Makes vinegar continuously, Food Eng.*, 31(3): 58—59, 1959.
- 8) 朝井, 高井, 發工誌, 35: 223, 1957
- 9) 中山重德, 食醋에 관한 研究(제 1 보) 醱協誌, 31(2): 64—69, 1973.
- 10) 中山重德, 食醋에 관한 研究(제 2 보) 醱協誌, 31(3): 10E—111, 1973.
- 11) White, J.: *Vinegar manufacture, Process Biochem*, 1(3): 139—144, 1966.
- 12) Asai, T.: *Acetic acid Bacteria, Univ. Park Press, Bdltimore, Maryland*, 1968
- 13) 鄭東孝, 最新 食品分析法: pp. 119—135, 三中堂, 1976.
- 14) 劉太鍾, 鄭東孝, 食品微生物學 實驗書: pp. 92—93, 普成文化社, 1977.
- 15) 正井博之, 川林古也, 山田弘毅, 釀造醋의 新生産技術과 利用法의 開發, 農化誌, 52(8): 103—109, 1978.