

酵母培地用 糖蜜의 淸澄法에 關하여

林 億 圭

(味元株式會社)

Molasses clarifying method used by lime-phosphate for yeast culture

LIM, Uck Kyu

(Miwon company Ltd., Seoul Korea)

ABSTRACT

The constituents of molasses and effect of pH precipitate formation in molasses solution, vary according to its producing districts. The formation of precipitation is not so changeable in the range of buffering zone of molasses solution(pH4.3-6.3) in philippine molasses according to the change of pH value.

On lower or higher than the range of buffering zone, the precipitation is increased from pH 4.3 to 2.8 and from 6.3 to 8.1, it is decreased when pH value is lower or higher than the pH value range.

For molasses clarifying, it had better adjust the pH of molasses solution to neutral or weak alkali range out of the alkali side of the buffering zone, with lime solution. And then, add the calcium super phosphate solution to pH value of alkali side in buffering zone, as much as the pH of clarified molasses solution can reach to middle value in buffering zone.

For the equilibrium of pH value on clarifying molasses, it takes plenty of time more than 6 hours.

緒 論

糖蜜을 微生物工業의 原料로 利用할 때 그 前 處理 또는 淸澄工程이 중요한 意義를 갖는다. 특히 제빵酵母의 生産에 있어서는 糖蜜中에 좋지 않은 영향을 미치는 不純物中 특히, 灰발성有機酸, caramel, 蛋白質 膠質物 및 환원성 물질 등이 있어서 酵母菌體의 着色 原因이 되는 有色物質이 沈澱混入되거나 靜電氣의 吸着이 일어나기도 하며 低分子 有色物質이 細胞內로 침투되고 金屬硫化物이 沈着되는 등이 문제되고 있다(White, 1954). 糖蜜의 有色物質은 製糖工程의 處理過程에서 生成되고 糖蜜에 含有된 有

機鹽 또는 無機鹽은 微生物工業에 있어서 pH의 安定과 調整에 關係되는 緩衝能이 있다(Morano, 1976). 糖蜜(cane molasses, black strap molasses)의 不純物 除去方法은 superjector(魚谷, 1959; 佐藤, 1959) 또는 molasses clarifier를 利用하는 機械的 方法과 淸澄劑를 利用하는 化學的 方法이 있다. 化學的 方法으로는 糖液(CaO 含量 0.71%) 1700kg, 물 6800kg 重過石液(P₂O₅ 含量 3%) 220l의 混合液을 85°C로 加熱하여 4 時間 沈澱시키는 方法, 糖蜜을 4배의 물로 희석시킨 뒤에 硫酸, 過磷酸 또는 磷酸을 加하여 끓이고 NaOH 또는 NH₄OH로 pH 8로 조절하여 100°C에서 중화시키는 方法(George, 1967), 糖蜜을 희석하여 硫酸處理할 때 Al-鹽과 消石灰

를 加하여 加熱沈澱시키는 方法 및 희석된 糖蜜液에 消石灰를 加하여 pH 6.0~6.5가 되도록 磷酸 또는 可溶性 磷酸鹽을 첨가하여 磷酸石灰를 沈澱시키는 方法 등이 알려져 있다(酵母利用工業, 1957).

Kim(1975)은 酵母培養을 위한 糖蜜淸澄에 關한 研究에서 石灰水, NaOH, 重過石 및 磷酸 등을 단독으로 使用하는 대신에 혼용함으로써 效果가 良好하였고 糖蜜液을 酸性으로 流離하는 경우보다 弱 alkali性으로 하는 경우가 淸澄效果가 良好하였으며 특히, 희석糖蜜(泰國產, canemolasses)에 石灰水를 첨가하여 pH 7.2로 調整하고 重過石 또는 磷酸으로 pH 6.3으로 調整함으로써 優秀한 效果를 얻은 바 있다. 筆者(1970 未發表)도 製糖酵母生産用 糖蜜淸澄에 石灰, NaOH, Al-鹽, 過石, 重過石, 磷酸 및 硫酸 등을 단독 또는 組合하는 方法을 檢討하여 石灰-磷酸法(lime-phosphate method)이 가장 效果的이었음을 確認한 바 있다. 그러나 糖蜜의 性狀에 따라 그 處理基準의 變動을 要하고 糖蜜淸澄의 程度를 判定하는 基準 設定이 模糊함을 알게 되어 이 實驗을 실시하도록 설계하였으며 일부 結果를 얻었기에 이에 發表하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料

1) 糖蜜: 수입된 Philippine產 糖蜜을 使用하였으며 그 成分含量 및 性狀은 Table 1과 같다.

2) 藥品: CaO 含量 $48 \pm 3\%$ 의 京畿道 坡州産 生石灰와 日本 多木社製의 P_2O_5 含量 $22 \pm 1\%$ 의 溶性 重過石을 使用하였다. 그밖에 試藥은 一般 試藥을 使用하였다.

2. 方法

1) 石灰水와 重過石溶液: 生石灰는 10倍量의 水道水를 加하여 溶解시킨 뒤에 砂質粒子를 除去하여 使用하였으며 重過石은 10倍量의 熱水를 加하여 3時間 以上 浸出한 뒤에 上澄液을 使用하였다.

2) 糖蜜液의 處理: 糖蜜에 水道水를 加하여 一定濃度로 調整하고 加熱할 때 condenser를 使用하여 沸騰을 防止하였고 magnetic stirrer로 攪拌을 하였다.

3) 沈澱物의 測定: 미리 incubation시킨 同알 직경의 100ml mass cylinder에 試料를 옮기고 주어진 條件下에서 靜置하면서 沈澱된 量을 測定하여 이를 全體量에 對한 容量比로 換算하였다.

4) 糖蜜分析: 總糖은 Somogi 變法으로, 總窒素은 micro kjeldhal法으로, 灰分은 直接灰化法으로, P_2O_5 는 比色法으로 各各 定量하였다. 이밖에 粘度는 olima-rheo meter로, 比重은 重量法으로 室溫에서 測定하였으며 遠沈은 Kokusan H-600 遠心分離機로 測定하였다.

5) 酵母培養試驗: 淸澄糖蜜液을 總糖含量 10%가 되도록 水道水로 희석하여 尿素 5%, 第二磷酸암모늄 3%를 첨가하고 滅균병각 후 500ml 진탕 flask에 50ml씩 分注하여 寒天斜面培地에서 48時間 培養한 *Saccharomyces cerevisiae* M株(Lim et al., 1978)를 $30^\circ C$ 에서 48時間 진탕 배양하였다. 이때 培養液의 pH를 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5로 區分한 培養試驗을 實施하였다. 各各의 試驗液에서 培養된 菌體를 遠沈하여 3回 水洗後 濾紙에 발라서 건조시키면서 菌體의 色을 比較하였다.

結 果

1. 糖蜜의 性狀과 成分含量

本 實驗에서 주로 使用된 Philippine產 糖蜜은 總窒素 및 ammonia態 窒素를 比較의 많이 含有하고 P_2O_5 , Cl, Mn, Fe가 많으며 K_2O 가 比較的 적었다. Indonesia產은 總窒素은 적지만 Ca, Cl, SO_4 , Fe가 많았고 Cu가 比較的 많았다. Australia產은 總窒素, 灰分, P_2O_5 가 많으며 Thailand產은 總窒素가 많았고 灰분이 적으며 P_2O_5 와 Mn이 많았다.

韓國의 精糖工程의 부산물인 refine molasses 成分을 보면 總窒素, 灰分, P_2O_5 , Ca 및 K_2O 와 같은 無機成分이 극히 적음을 알 수 있다. 本 實驗에서 使用한 糖蜜外에도 여러 國家로부터 1970年代에 수입한 糖蜜의 成分과 그 性狀을 Table 1에 綜合한다.

2. 粘度

Philippine產 糖蜜을 重量 基準으로 50%, 30%, 25% 및 20%로 희석하고 溫度 變化에 따른

Table 1. Comparison of representative analysis of cane molasses

Nations	Total invert sugar %	Specific gravity	pH	Solid by drying %	Total nitrogen %	Ammonia type nitrogen %	Total ashes %	Ca %	K ₂ O %	P ₂ O ₅ %	Mg %	Cl %	SO ₄ %	Mn ppm	Cu ppm	Fe ppm
Philippine	54.62	1.410	5.3	69.2	0.735	0.110	6.56	0.529	2.54	0.262	0.464	0.665	0.968	56.5	4.99	160
Indonesia	52.54	1.429	5.2	73.88	0.450	0.054	8.66	0.870	2.05	0.210	0.210	0.625	2.120	27.5	9.00	220
Australia	41.05	1.440	5.5	60.77	0.980	0.850	11.45	0.620	3.17	0.270	0.210	0.470	0.760	20.0	5.01	73
Thailand	53.50	1.410	5.4	70.89	0.765	0.070	7.23	0.465	0.24	0.948	0.965	0.470	1.460	32.5	6.03	133
Guatemala	53.57	1.420	5.1	76.13	0.310	0.071	3.78	0.554	3.504	0.129	0.167	0.728	0.930	16.9	1.02	75
Piji	54.45	1.388	5.2	77.53	0.787	0.190	6.423	0.927	1.697	0.058	0.286	0.987	1.835	17.4	1.85	77
Pakistan	52.1	1.460	5.5	73.13	0.793	0.040	13.200	0.722	5.130	0.068	0.210	0.570	2.500	2.0	1.10	110
U.S.A.	51.8	1.411	5.6	79.79	1.870	0.120	9.220	0.310	5.260	0.303	0.150	0.560	0.620	2.0	1.30	156
Africa	68.83	1.433	5.7	84.40	0.180	0.080	2.900	0.300	0.550	0.100	0.090	0.360	0.260	0.6	0.70	0.01
Panama	55.2	1.411	5.7	79.20	0.510	0.060	7.500	0.750	3.800	0.070	0.270	0.440	0.380	3.3	15.00	162
Refine molasses (Korea)	55.5	1.343	5.5	71.8	0.230	0.060	4.700	0.400	0.710	0.055	0.280	0.440	0.520	3.3	0.60	45

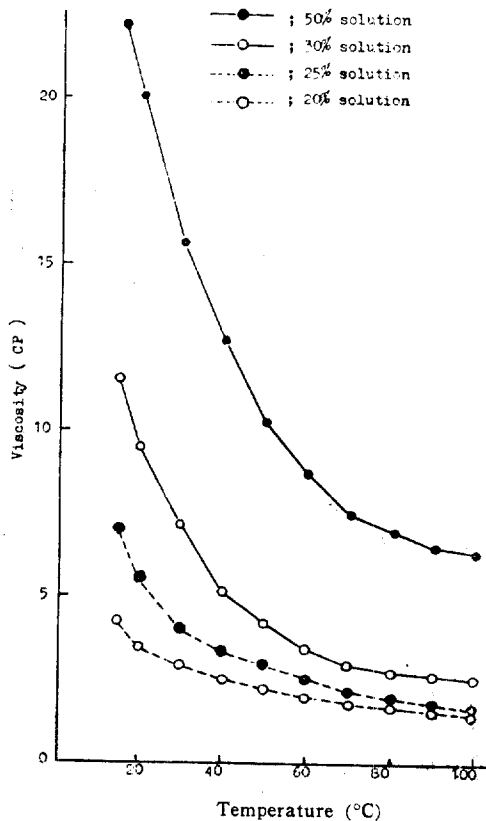


Fig. 1. Temperature effect on viscosity of molasses. Original molasses; 303 cp at 70°C and 270 cp at 80°C

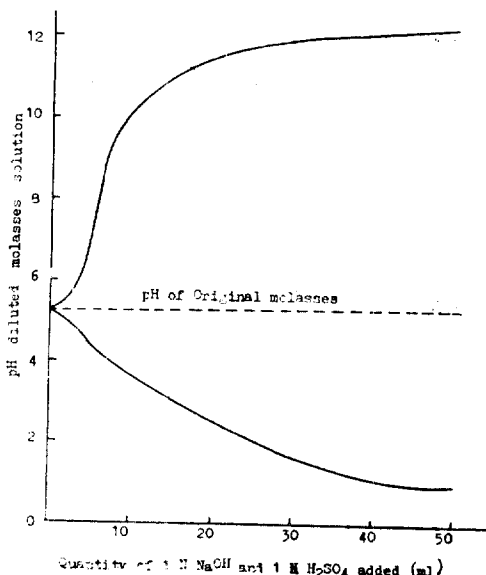


Fig. 2. Change of pH in 25% molasses sol. by acid or alkali addition

粘度를 測定한 結果는 Fig. 1과 같다. 희석하지 않은 糖蜜의 粘度는 70°C에서 303cp, 80°C에서 270cp이었다.

3. pH의 變化

25%로 희석한 糖蜜液에 N-NaOH와 N-HCl을 加하면서 pH의 變化를 測定한 結果를 Fig. 2에 圖示한다. pH를 調整하기 前의 25%의 糖蜜液의 pH는 5.3이었다.

4. 沈澱生成

糖蜜液을 重過石 溶液과 石灰水로 pH를 調整하고 90°C에서 5分間 加熱한 뒤 일정한 時間씩 室溫에 靜置하면서 沈澱量을 測定한 結果는 Fig. 3에 圖示한 바와 같다. pH 4.6~6.1 범위는 pH 變化에 따른 沈澱量의 變化가 없었지만 pH가 4.3에서 2.9로 낮아짐에 따라 沈澱量이 점점 증

加하였고 pH 2.5 이하에서는 다시 감소의 경향을 보였다. alkali側에서는 pH 6.3으로부터 沈澱量이 점차 增加하여 pH 7.3 이상에서 增加가 둔화하였다. 靜置時間에 따른 沈澱量은 酸性側에서는 현저한 變化가 없었지만 alkali側에서는 靜置時間에 따라 沈澱量이 增加하였다. 產地가 다른 糖蜜(Philippine產, Indonesia產, Australia產, refine molasses)의 pH 變化에 따른 沈澱量을 測定한 結果는 Fig. 4와 같다. 이 그림은 糖蜜液에 石灰水를 加하면서 주어진 pH에서의 沈澱量을 體積率로 表示한 것이다. Indonesia產을 제외한 나머지 糖蜜液은 pH 6~8의 범위에서 沈澱量이 增加하였지만 pH 8 이상에서는 減少 傾向을 보였다. 그런데 Indonesia產 糖蜜液만은 pH 7.5 이상에서 減少하였다.

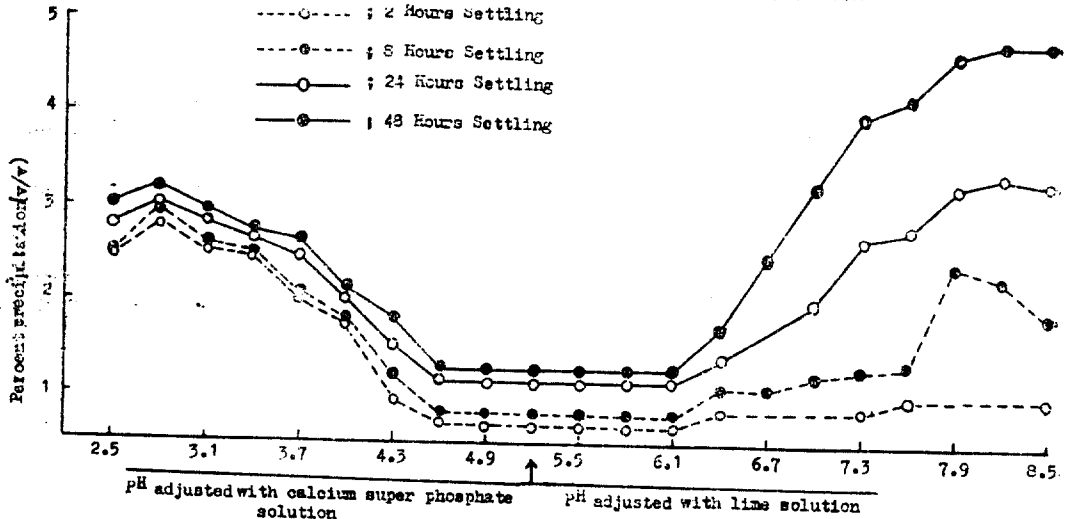


Fig. 3. Effects of pH on precipitation of Philippine molasses (dilute 25%)

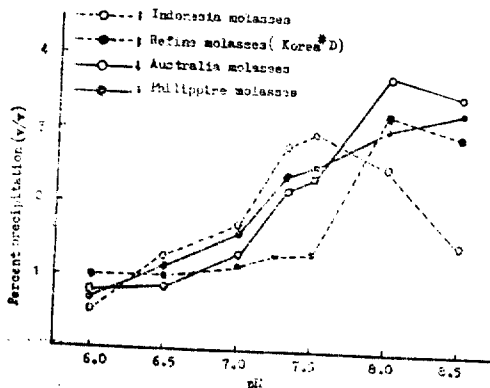


Fig. 4. Effect of pH on pricipitate of several molasses solution (25%)

5. 淸澄實驗

糖蜜에 水道水를 加하여 總糖含量 20%가 되도록 희석하고 90°C로 加熱한 後 石灰水로 pH를 調整하고 30分間 靜置한 다음 重過石溶液을 加하여 pH를 낮추고 無變溫條件에 靜置하면서 pH, 沈澱量, 糖損失 및 淸澄效果 등을 調査하였다. 淸澄操作은 다음과 같이 3가지 다른 pH 條件에서 進行하였다. 實驗 (1): 石灰水로 pH 6.8로 調整한 後 重過石溶液으로 pH 5.8로 再調整, 實驗 (2): 石灰水로 pH 7.2로, 重過石溶液으로 pH 6.2로 調整, 實驗 (3): 石灰水로 pH 7.8로 重過石溶液으로 pH 6.8로 各各 調整하였다.

實驗 (2)의 澄清操作에서 pH 變化를 圖示한 것이 Fig. 5와 Fig. 6이며 이 結果를 綜合한 것이 Table 2이다. 澄清效果가 酵母菌體의 色에 미치는 影響을 比較하여 보았다. pH 4.0, 4.5, 7.0, 7.5의 培養區에서는 酵母菌體의 色에 差別가 甚하기 어려운 狀態로 褐色을 보였으며 pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5區는 色의 差別을 알 수 있었다.

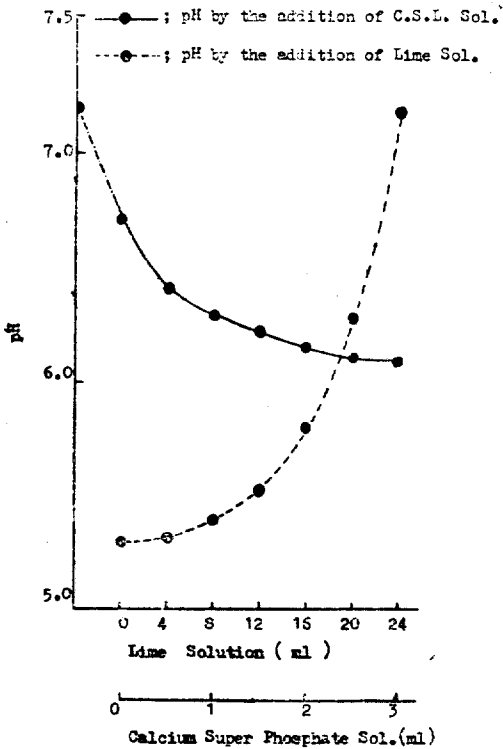


Fig 5. Change of pH in molasses solution (Case 1)

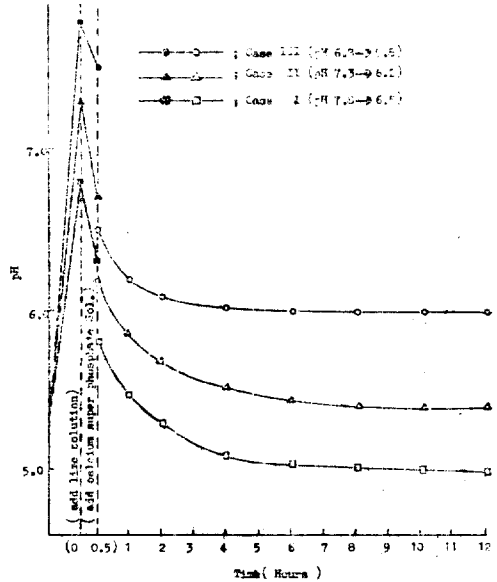


Fig. 6. Change of pH during clarification of molasses (20% total sugar)

Table 2. Results of molasses clarification test

Case of test	I	II	III
Diluted molasses solution;			
Total sugar contents (%)	20.5	20.50	20.50
precipitation in molasses solution (%)	0.15	0.15	0.15
Viscosity of molasses solution (cp)	8.50	8.50	8.50
pH of molasses solution	5.3	5.3	5.3
Treatments;			
pH after adding Lime solution	7.0	7.3	7.8
pH after adding Calcium super phosphate solution	5.8	6.2	6.5
Results;			
precipitation clarified molasses (%)	0.04	0.03	0.02
precipitation during molasses clarifying (%)	14.3	9.3	15.5
Moisture contents in precipitant (%)	89.0	84.4	87.0
Sugar loss during molasses clarifying (%)	6.4	5.0	5.6
Color of yeast cultured in clarified molasses	yellow brown	yellow	light brown

考 察

糖蜜의 性狀과 成分이 産地의 土壤 成分, 氣候條件, 蔗糖수수의 品種 등에 依한 蔗糖수수 自體의 特性과 製糖工程에 따라 相異하다는 것은 많이 알려져 왔다(Binkley, 1950; Kowkabany *et al.*, 1953; Keele, 1967; 松原, 1960; 山中等, 1965). 이 事實은 本 實驗에서도 糖蜜이 産地에 따라 成分과 性狀이 다르고(Table 1) 糖蜜 澄清操作時의 pH 變化에 따른 沈澱量(Fig. 4)이 다른 것으로 뒷받침되고 있다. 液相에서 沈澱速度는 粘度의 영향을 크게 받는 바 糖蜜의 경우(Fig. 1) 溫度의 上昇에 따른 粘度 降下가 현저함을 알 수 있으며 이로 미루어 볼 때 糖蜜澄清時 糖蜜濃度 30%(糖濃度 約 20%) 內外, 加熱溫度 70~90°C 범위가 무난할 것으로 보인다. 溫度의 경우 殺菌과 膠質性 物質의 熱凝固를 고려할 때 90°C로 加熱하는 것이 效果的이라고 생각된다. White(1954)에 依하면 caramel은 alkali 側(pH 6.75~7.26) 또는 酸性側(pH 2.6~3.1)에 等電點을 갖는 두 가지의 樣態로 區分되는데 보통 糖蜜中에는 等電點이 一定치 않은 色素 物質이 있고 이들 膠質性 色素物質은 液의 pH에 따라 荷電狀態가 다르므로 等電點보다 높은 pH에서 負荷電을, 낮은 pH에서 陽荷電을 띠고 酵母의 色에 다른 영향을 끼친다고 한다. 本 實驗에서 使用한 糖蜜은 緩衝範圍가 pH 5.3을 中心으로 pH 4.3~6.3 사이에 있는 것을 알 수 있고(Fig. 2, Fig. 3) pH 6.3 이상에서는 NaOH 첨가에 따른 pH 變化가 민감할 뿐 아니라 石灰水 첨가에 따른 沈澱量도 많았다. 그러나 pH 4.3 이하에서는 HCl 첨가에 따른 pH 變化가 완만하고 重過石溶液 첨가에 따른 沈澱 生成率이 적은은 糖蜜에 無機鹽類가 많음에 起因되는 것으로 생각된다. pH 6.3 이상에서 NaOH에 依하여 沈澱量이 많은 것은 alkali 側에 等電點을 갖는 膠質物과 caramel이 많은 것으로 생각된다. 本 實驗에서 使用한 糖蜜은 緩衝範圍內에서 pH 變化에 따른 沈澱量이 一定하고 石灰水와 重過石溶液 첨가의 경우(Fig. 5)의 pH 6.3 이하에서 pH 變化가 극히 완만한 점이 糖蜜의 緩衝範圍와 관련시켜 볼 때 흥미로운 일이다. 糖蜜澄清을 할

때 石灰水로 pH를 調整한 30分 後에는 實驗(1), (2) 및 (3)에서 各各 pH 7.0→6.3, pH 7.3→6.7, pH 7.8→7.5로 낮아졌고 重過石溶液으로 pH를 調整한 6~8時間 後에 一定 pH로 安定되었는데(Fig. 6) 이것은 糖蜜의 緩衝能, 石灰와 磷酸과의 反應, 糖蜜속의 各種 成分과의 反應에 依한 結果라고 생각된다. Table 2에서 糖損失이 實驗 (1), (2), (3)에서 各各 始初의 糖量에 對하여 6.4%, 5.0%, 5.6%이고 沈澱物의 生成率이 14.3%, 9.3%, 15.5%이며 酵母菌體의 色은 實驗 (2)의 경우가 菌體의 原來 色인 黃白色을 띠었고 實驗 (3)의 경우는 가장 심하게 褐色으로 着色이 되어 있었다. 이것으로 미루어 볼 때 糖蜜澄清時에 많은 沈澱量이 생기는 것만으로써 澄清效果를 높인다고 볼 수 없는 것이다. 石灰水로 pH 7.2로 調整한 後 重過石溶液으로 pH 6.2로 再調整한 경우(實驗 (2))의 糖蜜澄清이 가장 效果가 있었는데 이것은 주어진 培養條件(pH 5.0, 5.5, 6.0)下에서 酵母菌에 色素物質이 沈着 吸收되거나 菌體의 遠沈時 色素物質의 沈澱이 없었던 것으로 생각된다. 이는 糖蜜의 緩衝範圍에서 酵母를 培養하였고 이에 알맞도록 澄清條件이 이루어졌기 때문이라고 본다. 培養中 培養液의 심한 pH 變動은 良好한 培養條件이 아니다. 糖蜜澄清液中에 過多한 石灰成分이 있으며 pH가 上昇되고 酵母의 色을 褐色으로 變化시킨다. 糖蜜液에 石灰水를 첨가할 때 그의 緩衝範圍보다 높은 pH 즉, 中性 또는 弱 alkali 性으로 調整한 後 重過石溶液 또는 磷酸溶液을 첨가하여 沈澱이 完了된 安定 pH가 糖蜜의 緩衝範圍의 中間值가 되도록 하기 위하여 糖蜜 緩衝範圍의 alkali值 限界(本 實驗의 경우 pH 6.3) pH로 調整하는 것이 效果的이다. 그리고 糖蜜液에 첨가한 石灰와 磷酸이 反應하여 인산 칼슘의 沈澱物이 形成되어 이것이 糖蜜中の 膠質性 有色物質 또는 微粒의 浮遊性 不純物을 捕集(凝集)하여 동시에 沈澱되고 澄清糖液의 殘存 Ca⁺⁺로 말미암아 酸酵中에 pH가 上昇하지 않도록 하는 것이 效果的일 것이다.

結 論

1. 糖蜜은 産地에 따라 成分 및 性狀에 差가

있으며 pH 調整에 따른 糖蜜液中的 沈澱物 生成 등의 樣狀이 다르게 나타났다.

2. 糖蜜의 緩衝範圍(Philippine產 糖蜜의 경우 pH 4.3~6.3)內에서는 pH 變動에 따른 沈澱物 生成의 差가 거의 없었으나 이보다 酸性 또는 alkali性으로 밑에 따라 沈澱物 生成量이 增加하였으며 alkali側에서 현저히 增加하였다.

3. 石灰水와 重過石溶液을 이용한(lime-phosphate法) 糖蜜清澄의 경우 糖蜜의 緩衝範圍는 清澄效果를 높임에 重要な 意味를 가지며 이에 따라 石灰水 및 過石溶液으로 調整해야 할 糖蜜液의 pH值를 決定함이 좋았다.

4. lime-phosphate法 糖蜜清澄에 있어서 沈澱物의 量의 多少로써 清澄效果와 直接 關係지을 수 없었다.

引用 文 獻

1. Binkley, W.W., and M.L. Wolfron, 1950. Chromatographic fraction of Cane Blackstrap molasses and its fermentation. *J. Am. Chem. Soci.* **72**, 4778
2. George, I.D., 1967. The yeast. kirk-orthmer encyclopedia of chemical technology. 2nd. ed. Vol. **22** pp. 508~547
4. Kowkabany, G. N,W.W. Binkley, and M. L. Wolfron, 1953. Amino acids in Cane juice and Cane final molasses. *Am. Agr. Food. Chem.* **1**, 84
5. Kim, S.J., 1975. A study on molasses clarification for yeast fermentation (a thesis for a master of Yonsei Univ.)
6. Lim, U.K., Y.H. Chung, and J.H. Kim. 1978. Study on environmental tolerance of yeast. *Kor. J. Microbiol.* **16**(3), 93~102
7. Morano, J., 1967. Functional properties of molasses, *The Bakers Yeast* **36**, 36~38
8. White, J., 1954. *Yeast technology*. Chapman and Hall, London. 186
9. 松原功, 1960. 糖蜜成分에 對하여, *Yeast 工業會技報(日)*, **20**, 18~26
10. 魚谷治, 1959. Superjector의 作業標準에 對하여, *Yeast 工業會技報(日)*, **17**(1), 1~6
11. 佐藤英司, 伊東祐, 中野誠治, 1959. Superjector에 依한 糖蜜의 清澄에 關하여. *Yeast 工業會技報(日)*, **17**(7), 7~13
12. 山中正, 松尾次雄, 1965. Alcohol 製造에 있어서 原料廢糖蜜의 產地別 特性에 對하여. *日 酵協誌*. **23**(2), 78~79
13. Method of analysis of the association of official analytical *Chemists*, 30th ed. 1980.
14. 酵母利用工業. 友田里孝, 坂口 一郎 山田正一, 朝井勇宣, 共立出版社, 1957.