

고구마의 低温蒸煮 및 高温蒸煮에 의한 工業的 規模의 酒精醱酵

柳炳昊 · 金运祚* · 金成斗* · 崔明鎬* · 南基斗* · 河美淑

부산산업대학교 이공대학 식품공학과
*일산실업주식회사 부산주정공장
(1986년 4월 1일 수리)

Large Scale of Ethanol Fermentation from Sweet Potato Cooked at Low and High Temperature

Ryu Beung Ho, Kim Woon Sik*, Kim Sung Du*, Choi meung Ho*,
Nam Ki Du* and Ha mi Suck

Department of Food Science and Technology, College of Science
and Technology, Busan San Ub University

*Il San Trading Co., Busan, Korea

(Received April 1, 1986)

Possibility of large scale ethanol fermentation from sweet potato were compared with low temperature and high temperature cooking. Productivity of sweet potato mash cooked at 90°C for 120 minutes was higher than that mash cooked at 124°C for 60 minutes and also fermentation yield at low temperature cooking was better than high temperature cooking. Low temperature cooking was successfully carried out on a large scale. In conclusion, low temperature cooking on large scale should be reduce energy consumption by approximate 30% compared with high temperature cooking.

澱粉의 酒精醱酵은 高温蒸煮法이 工業的으로 행하여지고 있으나, 酒精醱酵의 全工程중 高温蒸煮工程에서 약 30%의 많은 양의 燃料을 消費하고 있는 實情이다⁽¹⁾. 酒精業界는 高温蒸煮로 인한 燃料의 多消費型, 生産工程에서 脱皮하기 위하여 燃料을 절약할 수 있는 酒精醱酵의 技術開發을 서두르고 있다. 燃料절약의 酒精醱酵法으로 酸醱酵法⁽²⁾, 醱酵素의 固定化法⁽³⁾ 低温蒸煮法^(4,5,6,7) 및 無蒸煮糖化法^(8,7,9,10) 등 많은 研究報告는 있으나 産業的으로 利用하기에는 아직 미흡하다. 著者들은 燃料절약형 酒精醱酵을 開發하여 産業에 応用할 方案의 하나로 고구마를 原料로 하여 低温蒸煮法을 導入하여 酒精醱酵을 행한 結果를 高温蒸煮法과 比較檢討하였다.

材料 및 方法

材料 및 使用醱酵素

材料는 현재 많이 사용하고 있는 절간 고구마(경남 남해산)를 酒精工場에서 사용하는 方法과 같이 20 메쉬 정도로 분쇄하여 사용하였다. 液化工程에 사용된 액화醱酵素는 Termamyl 120 L (E.C. 3. 2. 1. 1, NoVo社, Denmark)와 당화醱酵素는 조효소인 Gu 210 (배한산업 Saccharification power (s. p), 2,100 unit/g 및 정제효소 태평양화학, s. p 25,000 unit/g) 을 구입하여 사용하였으며 窒素源으로서는 尿素를 사용하였다.

低温蒸煮에 의한 에탄올의 醱酵

Table 1의 A, B, C 群중 고구마를 분쇄하여 A 群은 20 메쉬체로 완전히 통과한 것을 B, C 群은 20 메쉬체로 80%만 통과한 것을 Fig. 1의 醱酵槽에 넣고 實驗을 하였다. 즉 醱酵槽에 일정량의 물을

Table 1. Conditions of low temperature cooking and high temperature cooking using sweet potato

| Group | Size (mesh) | Raw material (Kg) | Termamyl 120L (g) | Crude enzyme (Kg) | Refined enzyme (g) | Cooking temperature (°C) | Cooking time (min) | Remarks |
|-------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|-------------------|
| A | 100% ¹⁾ | 300 | 46.6 | 2.07 | 130 | 90 | 120 | LTC ³⁾ |
| B | 80% ²⁾ | 300 | 46.6 | 2.07 | 130 | 90 | 120 | LTC |
| C | 80% ²⁾ | 300 | 23.3 | 2.07 | 130 | 90 | 120 | LTC |
| D | 80% ²⁾ | 300 | 23.3 | 2.07 | 130 | 124 | 60 | HTC ⁴⁾ |

¹⁾ Raw materials granula passed on 20 mesh sieve completely
²⁾ Raw materials granula passed a 80% on 20 mesh sieve
³⁾ LTC: Low temperature cooking ⁴⁾ HTC: High temperature cooking

넣고 60°C가 되도록 加温한 후 原料를 투입한 다음 90°C로 昇温시켜 温度를 유지하면서 Termamyl 120 L을 넣고 60분간 液化시켰다. 이 온도에서 120분간 温度를 유지한 다음 58~60°C로 冷却시키고 粗酵素와 精製酵素를 각각 넣어 糖化시켰다. 別途로 酵母菌株을 알콜 발효용 糖化液의 9.0%를 接種시켜 醱酵槽의 温度를 32°C로 계속 유지시키면서 96시간 동안 醱酵를 행하였다.

高温蒸煮에 의한 에탄올의 醱酵

Table 1의 D群을 高温蒸煮法으로 실험하였으며 蒸煮條件인 「124°C에서 60분간」만이 다르고 다른

工程은 低温蒸煮法과 같다.

糖, 에탄올 및 黴菌유 의 분석

糖은 Bertrand法⁽¹¹⁾으로 定量하였다. 에탄올 및 黴菌유의 定量은 醱酵液을 일정량 취하여 一次蒸溜한 액을 gas chromatography⁽¹²⁾로 分析하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다.

結果 및 考察

酒母의 調製

Saccharomyces cerevisiae IFO-1-84를 YPD 培地 (yeast Ex. 30 g, potato 200 g, Dextrose anhydrous 15 g, saccharose 15 g, agar 15 g을 증류수 1 l로 녹이고 pH 5.0으로 조절함)에 前培養하고 별도로 醱酵槽에서 一定量의 醱酵液을 採取하여 全糖으로서 약 10 w/v% 되도록 조절한 다음 60°C에서 45분간 糖化 후 121°C에서 60분간 殺菌하고, 30°C까지 冷却하였다. 여기에 前培養한 酵母菌株을 接種하고 32°C에서 24시간 培養한 것을 酒母 (starter)로 사용하였다. 酒母의 接種前後의 分析結果는 Table 3

Table 2. Condition of gas chromatography for ethanol and fusel oil analysis

| | |
|-------------|---|
| G. C | Spectra-Physics Model 7100 |
| Detector | F. I. D |
| Packing | 5% Carbowax 20M on 80/100, Carbowax B-AW 2m x 1/4" glass column |
| Attenuator | 8 |
| Temperature | Initial temp. 77°C, Final temp. 140°C |
| Chart speed | 1 cm/min |
| Carrier gas | N ₂ 20ml/min |
| Intergrator | Spectra-Physics-4200 Computing intergrator |

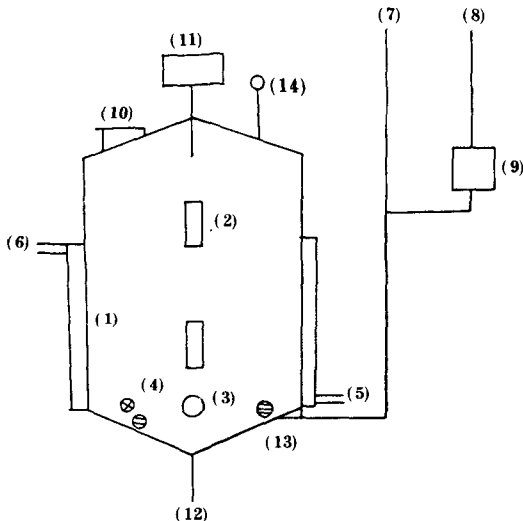


Fig. 1. Flow diagram for cooking saccharification and fermentation

- (1) Self-Fermentor
- (2) Eye glass
- (3) Thermometer
- (4) Sample port
- (5) Cooling water in
- (6) Cooling water out
- (7) Steam line
- (8) Air line
- (9) Air filter
- (10) Man hole
- (11) VSC Agitator
- (12) Main outlet valve
- (13) Diffuser
- (14) Inoculation

Table 3. Analytical data for the starter

| | Before inoculation | After inoculation |
|-------------------------------|--------------------|------------------------|
| pH | 4.6 | 4.5 |
| Total acidity ^{a)} | 1.8 | 3.3 |
| Total sugars (% as glucose) | 11.0 | 6.0 |
| Yeast viable count (cells/ml) | | 1.40 × 10 ⁷ |
| Bacterial count (cells/ml) | 0 | 0 |

^{a)}Total acidity was expressed as milliliters of N/10 NaOH required for neutralizing 10ml of the filtered solution

에서와 같이 接種前後의 pH는 거의 變化가 없으나 總酸과 總糖은 多少含量的 差異가 있었고, 酒母前, 終後 대수 증식기를 지난 20시간 경과 후의 菌체농도로서 生菌數⁽¹³⁾는 1.40 × 10⁸이었고 잡균의 오염현상은 나타나지 않았다. 이러한 結果는 松元 등⁽⁵⁾의 報告와 비슷한 傾向을 나타내고 있다.

에탄올과 還元糖의 變化

Fig. 2는 20 메쉬체를 100% 통과한 A群과 80%만 통과한 B群에 Termamyl 120 L을 각각 46.6g 첨가하여 90℃에서 120분간 低温蒸煮하여 酒精醱酵을 행한 結果로서 에탄올의 生成량은 A, B群 모두 비슷한 傾向을 나타내었으며, 醱酵 60시간 경과

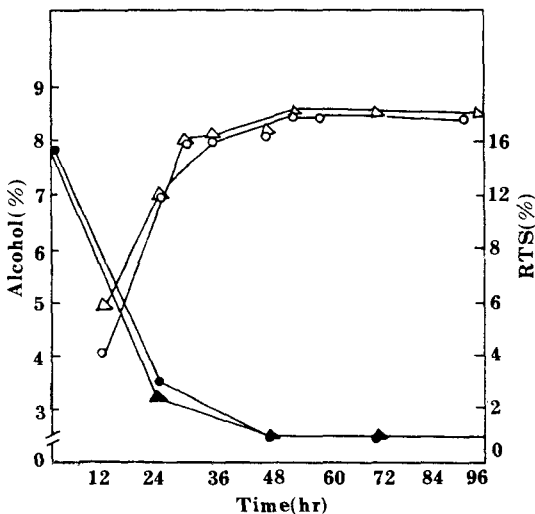


Fig. 2. Comparison of changes of alcohol and residual reducing sugar contents in the fermenter during fermentation between A and B group of L. T. C, △-△, alcohol content in A group with L. T. C*, ○-○, alcohol content in B group with L. T. C.; ▲-▲, residual reducing sugar content in A group, ●-●, residual reducing sugar content in B group. *low temperature cooking, 90℃, 120 minutes

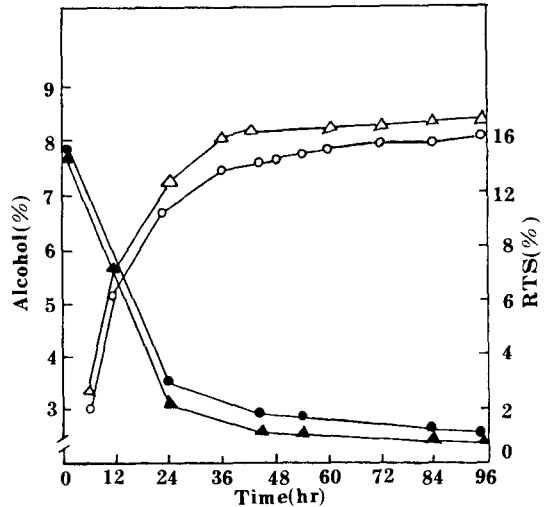


Fig. 3. Comparison of changes of alcohol and residual reducing sugar contents in the fermenter during fermentation between L. T. C* in C group and H. T. C in B group, △-△, alcohol content in C group with L. T. C. *; ○-○, alcohol content in D group with H. T. C. **; ▲-▲, residual reducing sugar content in C group.; ●-●, residual reducing sugar content in D group. *Low temperature cooking, 90℃, 120 minutes, ** High temperature cooking, 124℃, 60 minutes.

후에는 에탄올은 더 이상 生成되지 않았다. 그리고 非醱酵性糖도 A, B群 모두 비슷한 數值였다. Fig. 3의 C群은 90℃에서 120분간 低温蒸煮하였고 D群은 124℃에서 60분간 高温蒸煮法에 의한 酒精醱酵을 한 結果로서 低温蒸煮의 경우 高温蒸煮보다 醱酵開始後 12시간 後부터 醱酵이 끝나는 96시간까지 계속 에탄올의 生成량이 높았다. 그리고 非醱酵性糖은 高温보다 低温蒸煮法이 多少 낮았다. 本 結果는 松元^(4,5) 등의 研究와는 相反되는 結果를 나타내지만 이는 高温蒸煮時 124℃에서 60분간 높은 온도에서 蒸煮할때 高温에 의한 糖化液의 褐變現象으로 糖이 損失되었기 때문이라고 사료된다.

에탄올의 醱酵成積

低温蒸煮와 高温蒸煮法에 의한 蒸煮工程을 거쳐 酒精醱酵을 끝낸 醱酵醪의 分析結果는 Table 4와 같다. pH는 低温蒸煮와 高温蒸煮한 것 모두 큰 差異가 없었으나 남아있는 糖은 低温蒸煮보다 高温蒸煮가 약간 높았다. 경과 96시간 경과후의 生菌數는 低温蒸煮의 A群, 14.0 × 10⁷ cells/ml, B群 14.0 × 10⁷ cells/ml 그리고 C群은 13.6 × 10⁷ cells/ml 보다 高温蒸煮인 D群은 12.6 × 10⁷ cells/ml로 약간 낮았다. 그리고 에탄올의 生成량은 低温蒸煮의 A群이 66.0g/l, B群이 67.5g/l, C群이 68.1g/l로서 高温蒸煮인 D群의 64.3g/l보다 2~4% 높았다. 醱酵

Table 4. Comparison of analytical data of the mash after fermentation for 96 hours between LTC and HTC

| Group | LTC | | | HTC |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | A | B | C | D |
| Total sugar (gr/l) | 157 | 156.6 | 157.1 | 153.5 |
| pH | 5.2 | 5.0 | 5.0 | 5.1 |
| Residual total sugar (% as glucose) | 9.3 | 8.5 | 9.0 | 11.9 |
| Viable yeast cell | 14.0×10 ⁷ | 14.0×10 ⁷ | 13.0×10 ⁷ | 12.6×10 ⁷ |
| Ethanol (gr/l) | 66.0 | 67.5 | 68.1 | 64.3 |
| Fermentation yield (%) | 82.25 | 84.35 | 84.80 | 82.0 |
| Productivity (ge ⁻¹ , h ⁻¹) | 0.73 | 1.24 | 1.26 | 0.67 |

收率は低温蒸餾인 A群이 82.25%, B群이 84.35% 및 C群이 84.8%였고, 高温蒸餾인 D의 82.2% 보다 0.25%~2.8% 정도 높았다. 따라서 A群과 같이 미분쇄(100%가 20 mesh를 통과하도록 분쇄)를 하거나 또는 A, B群의 액화효소 사용량을 고온증자 때 보다 2 배로 사용하였을 때에도 발효수율 등의 현저한 차이는 없었으므로 대조구의 분쇄정도 및 효소사용량이 적절하다고 사료된다. Fig. 4 는 고온증자와 저온증자의 액화공정상 가열에 필요한 온도와 경과시간을 나타낸 것으로, 고온증자는 20℃의 사입수를 30분간 가온하여 60℃가 될때 원료를 투입하고, 가열하여 90℃에서 60분간 유지하면서 액화시키고 다시 124℃까지 30분간 가온하여 60분간 유지하면서 고온증자를 행하였다. 반면에 저온증자는 20℃의 사입수를 30분간 가온하여 60℃가 될때 원료를 투입한 후 60분간 가온하여 90℃에서 120분간 액화시켰다. 따라서 120℃의 고온증자와 90℃의 저온증자를 비교해보면 증자에 필요한 열량이 30%

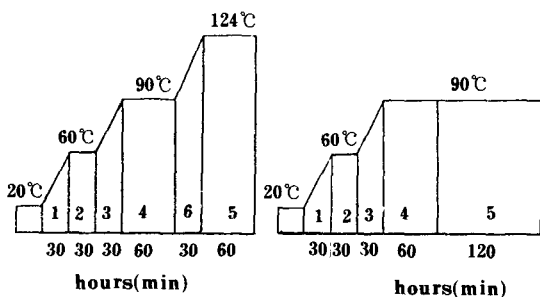


Fig. 4. Relationship required energy and cooking times between high temperature cooking and low temperature cooking.

1;preheating until 60℃, for 30min, 2;putting raw material, 3;preheating for loquefaction, 4;liquefaction, 5;cooking and 6;preheating until 124℃

Table 5. Comparison of methanol and fusel oil of fermented mash after progressed 60 hours

| | Aldehyde (ppm) | Methanol (ppm) | N-propyl alcohol (ppm) | Isobutyl alcohol (ppm) | Isoamyl alcohol (ppm) | diacetyl (ppm) |
|-----|----------------|----------------|------------------------|------------------------|-----------------------|----------------|
| HTC | 53.7 | 192.4 | 53.7 | 89.2 | 177.3 | 0 |
| LTC | 19.7 | 128.5 | 63.2 | 139.0 | 351.9 | 1.0 |

LTC: low temperature cooking
HTC: high temperature cooking

정도 절감됨을 알 수 있다.

酒精醱酵後の 메탄올과 휴젤유의 함량 醱酵가 끝난 60時間경과 후의 메탄올과 휴젤유의 생성량을 Table 5 에 나타내었다. 메탄올의 경우 低温蒸餾는 128.5 ppm 보다 高温蒸餾는 192.4 ppm 으로서 低温蒸餾가 다소 낮았고, 휴젤유 중 isoamyl alcohol 의 경우 低温蒸餾일 때 351.9 ppm, 高温蒸餾일 때 177.3 ppm 으로 많은 含量差異를 보이는 것을 고온증자에서 amino 화합물과 당이 strecker-Abbau 반응 등을 일으켜 유리아미노산이 저온증자에 비해 적은데서 기인된 것으로 사료된다⁽¹⁴⁾.

要 約

低温蒸餾法에 의한 고구마의 에탄올 醱酵를 高温蒸餾法과 比較하여 그 可能性을 檢討하였다. 고구마를 분쇄하여 20메쉬체를 80% 통과시킨 분쇄물도 低温蒸餾에 의한 에탄올의 생성량은 66.0g/l~68.1g/l 로 고온증자(124℃, 60분간)의 64.3g/l 보다 높았으며 醱酵收率도 低温蒸餾가 82.25%~84.8% 로 高温蒸餾의 82.2% 보다 좋은 결과를 얻었다.

참고문헌

1. Lee S. Y., Y. C. Shin, H. S. Kim and S. M. Byun : *J. Ferment. Technol.* **63**(1) 51 (1985)
2. de Menezes, T. L. J. B: *Process Biochem.* **13**(9) 24 (1978)
3. Azhar, A., M. K. Hamdy: *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 1297 (1981)
4. 松元信也, 福土収, 吉栖肇; *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **59**(3), 265 (1985)
5. 松元信也, 福土収, 福田修, 井上繁, 吉栖肇; *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **59**(3), 271 (1985)
6. 松元信也, 吉栖肇, 宮田進, 井上繁: *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **59**(3), 291 (1985)
7. 小林次郎, 小林千尋, 富金原孝; 醇協, **15**, 502
8. 裴武, 李在汶; *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*

- 12(4), 261 (1984)
10. 朴官和, 吳秉夏, 洪承緒, 李啓瑚: 韓農化誌 27 (3), 19 (1984)
 11. Bertrand. G. *Bull. Soc. Chem. paris*, 35, 1285 (1906)
 12. Supelco, Inc., Bellefonte, PA 16823, (1976)
 13. Lee, S.S., F. M. Robinson, H. Y. Wang: *Biotechnol. Bioeng. sym.* 11, p641 (1981)
 14. Ronkainen. P; *J. Inst Brew*, Vol. 79, p200 (1973)