甜菜糖製造工程中の微生物に関する研究

(第3報) Diffuser 内における蔗糖損失について

鴨 居 郁 三*・菊 池 修 平*・谷村和八郎*

Studies on the Microbes in the Process of Producing Beet Sugar Part III. Sugar loss in the diffuser

IKUZO KAMOI, SYUHEI KIKUCHI and WAHACHIRO TANIMURA

The amount of lost sugar in unknown way during the processing of beet sugar is estimated 0.29-0.38% of the weight of beet.

In this experiment, the amount of lost sugar was calculated by measuring the amount of lactic acid possibly produced by microbes in the diffuser. Lactic acid in cossettes and diffusion juice was separated by ion exchange resins for the determination by colorimetry. The average amount of lactic acid in cossettes and diffusion juice was 34 mg/kg and 376 mg/kg, respectively, indicating that a fairly large amount of lactic acid was produced in the diffuser.

The ratio of the amount of consumed sugar to the amount of lactic acid produced in the diffuser was 1:3.32.

Sugar loss in the diffuser was about 0.13% of beet, indicating that about 35-45% of the unknown loss was produced by microbes in the diffuser. (Received Mar. 30, 1972)

甜菜から砂糖を製造するまでの蔗糖分の損失は、甜菜の貯蔵中における凍結や腐敗、さらに甜菜自体の呼吸作用などによって起るものと、工場内で製糖工程中に起るものとに大別できる。工場内に受入れた甜菜から砂糖製品になるまでの歩留は、次のように算出されている。

製品歩留＝甜菜細片 (cossettes) 中糖度－全糖損失
(total loss)－0.03*

製糖上問題となるのはこの全糖損失で、これはさらに次のごとく5種に分類して考えることができる。

- i) 滲出時の損失 (diffusion loss): cossettes を滲出したのち、バルブ中に残る蔗糖分
- ii) 滲過時残渣中の損失 (cake loss): 石灰清浄法を行なったのち、滲過した残渣中に残る蔗糖分
- iii) ステフエン工程での損失: ステフエン工程を持つ工場での、ステフエン廃液への損失
- iv) 廃糖蜜への損失: ラフィノースが蓄積し、ステフエン法による蔗糖の回収が不可能になり、工程外に排

出される廃糖蜜中の蔗糖分

v) 不明損失 (unknown loss): 工程中における物理的、化学的条件による蔗糖の転化、工程中での排水などへの見えざる漏れ、旋光性非糖分の存在による定量上の誤差、微生物による損失など種々の原因が考えられるが、これらの原因不明の蔗糖損失を一括して unknown loss としており、大体甜菜に対して 0.29～0.38% といわれている。

われわれは前報¹⁾²⁾において製糖工程中における微生物活動の場が滲出系であり、滲出汁中には数10万/mlの高濃菌が存在していることを知り、さらに従来 unknown loss に一括されていた微生物による蔗糖損失を、diffuser (滲出装置) 中の菌数およびその蔗糖分解能から推定することを試みたが、滲出汁は流動しており、また分離菌の蔗糖分解能にも差異があるため、蔗糖損失の推定は困難であったので、本報では滲出汁中に生成される乳酸量から蔗糖損失を推定することを試みた。

* 東京農業大学農芸化学科 (東京都世田谷区桜丘1丁目1番1号)

Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture. Setagaya-ku, Tokyo.

** -0.03 は製品糖度を 99.90 とし、30 kg 袋の入目を 80 g としたときの数値

実験方法

Diffuser 内の滲出温度は約 65°C であり、このような条件下でも増殖する高温菌としては、*Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus coagulans* などが著名であり、これらは糖を分解して乳酸を生成すると報告³⁻⁷⁾されている。そこでわれわれはまず滲出汁中に生成されている酸の定性を行なった。滲出汁を水蒸気蒸溜にかけ、溜出部の酸度を調べたが、0.1 N NaOH 滴定で全く酸度を示さず、残留部についてのペーパークロマトによる定性でも、ほとんど乳酸のみと見られるスポットを認めたので、この結果から滲出汁中の酸は乳酸であり、さらにこれは蔗糖から生成されたと仮定して、以下の試験を行なった。

1. 乳酸の定量法

Barker and Summerson の比色定量法⁸⁾に準じて行なった。試料 2 ml に濃硫酸 6 ml を氷冷しながら徐々に加えたのち、5% 硫酸銅溶液 (約 0.08 ml) および 1.5% phenyl phenol 溶液 (約 0.08 ml) を加え、析出する phenyl phenol を均一に分散させ、30°C で 30 分発色させる。発色後 90 秒煮沸して過剰の phenyl phenol を溶解し、水冷して室温とし 560 nm で比色定量した。検量線は 0.5~10.0 µg/ml の乳酸量で直線となる、しかし加熱条件などにより発色に多少の差が出るので、測定ごとに乳酸標準液を発色させ、検量線を補正した。

2. 試料の調製

試料は北海道道南地区にある、甜菜糖製造工場の工程中から採取し、以下の実験に供した。cossettes および滲出汁中には、蛋白質、アミノ酸、糖など各種の物質が含まれており、発色に影響を与えるので、乳酸を分離することが必要である。そこで従来⁹⁾¹⁰⁾の硫酸銅と水酸化カルシウムを添加して、糖その他の妨害物を除去する方法を試みたが、比色法による定量では硫酸との加熱時に淡赤色に発色する物質が残し、定量値に誤差を生ずるので、イオン交換樹脂による乳酸の分離¹¹⁾¹²⁾を試みた。

Cossettes は糖度を測定する場合のブレンダー法¹³⁾に準じ、その 500 g に約 70°C の蒸溜水 500 ml を加え、ホモジナイザーにかけたのち滲過して滲液*を試料とし、滲出汁 (ベルギーの Raffinerie Tirlemontoise 社製の R. T. 型連続滲出装置により滲出) はそのまま試料とした。すなわち、各試料 150 ml を 200 ml のメスフラスコに採り、塩基性酢酸鉛溶液 (約 50%) 5 ml を加えて

蛋白質を沈澱させたのち、200 ml にメスアップして滲過する。滲液に第一磷酸アンモニウムを加えて脱鉛したのち、次の方法により滲液から乳酸を分離して、比色定量を行なった。

滲液をカチオン交換樹脂 (IR-120, R-H 型) カラムに通液してアミノ酸などを除去し、次でアニオン交換樹脂 (IRA-402, R₂-CO₃ 型) カラムに通液して乳酸を吸着させ、水洗して糖その他の非極性物質を溶出除去する。次に 0.25 N の炭酸アンモニウム溶液で乳酸を溶出して、これを比色定量した。

実験結果および考察

1. イオン交換樹脂処理時の乳酸回収率

イオン交換樹脂による乳酸の回収率を確認しておく必要があるため、次の試験を行なった。乳酸溶液 20 ml (4.3 mg/ml, Total 86,000 µg) をイオン交換樹脂カラム (径 10 mm のカラムに各樹脂 15 ml を充填) で処理したのち、0.25 N の炭酸アンモニウム溶液で溶出し、各フラクションを分取して定量した。結果は第1表に示したとおりである。乳酸の回収率は溶出液 150 ml で、82,992 µg (96.5%) であり、溶出液 260 ml で、83,876 µg (97.5%) でほとんど完全に回収することができたので、この精製、定量法により cossettes および滲出汁中の乳酸量を測定した。

第1表 イオン交換樹脂処理時の乳酸回収率

溶出液 (ml)	乳酸量 (µg)	溶出液 (ml)	乳酸量 (µg)	溶出液 (ml)	乳酸量 (µg)
5	—	20	2,400	10	132
5	80	20	1,320	20	176
10	5,800	10	192	20	112
40	60,800	10	185	20	56
40	12,400	10	175	20	48

第2表 滲出汁の培養による蔗糖量および乳酸量の変化

培養時間	採取 月日	pH	蔗糖量 (mg/ml)	乳酸量*	
				(µg)	(µg/ml)
開 始 時	1.30	6.20	125.60	11,100	370
	2.1	6.05	124.90	12,800	427
	2.2	6.00	125.10	11,190	373
24 時 間 (65±2°C)	1.30	5.15	121.20	50,600	1,687
	2.1	5.10	120.50	52,600	1,753
	2.2	5.00	120.35	54,390	1,813

* cossettes からの Juice Factor は 0.94 とした。
Juice Factor = (cossettes g + 添加水量 ml) × 0.94

* Diffusion Juice 30 ml を採り定量

第3表 滲出汁培養時の乳酸生成量に対する蔗糖消費量

採取月日	蔗糖消費量 (A) (μg/ml)	乳酸生成量 (B) (μg/ml)	重量比 A : B
1.30	4,400	1,317	3.34 : 1
2.1	4,400	1,326	3.32 : 1
2.2	4,750	1,440	3.30 : 1
平均	4,517	1,361	3.32 : 1

2. 乳酸生成量に対する消費蔗糖量の算出

diffuser 内では各種の微生物により、蔗溶から乳酸が生成されており、これらをすべて正確に把握することは困難なので、次のようにして diffuser 内での各種微生物による、生成乳酸量に対する消費蔗糖量の比率を求めた。

まず滲出汁中の蔗糖量および乳酸量をそれぞれ定量しておき、この滲出汁を滅菌した三角フラスコに入れ、これを diffuser 内と同じ温度 (65°C±2°C) に 24 時間培養したのち、再び蔗糖量と乳酸量を定量する。この前後の分析値から生成乳酸量に対する消費蔗糖量を算出し、これを diffuser 内において微生物によって生成された、乳酸量に対する消費蔗糖量の Factor (重量比) とした。なおこの場合、培養中における物理的、化学的条件による変化も考えられるが、滲出汁は蛋白質その他を含むために緩衝力が強く、24 時間培養後でも pH は 5.0 以上であり、この条件では蔗糖より乳酸が生成される可能性はほとんどないと考えられたので、一応すべてを微生物によるものとした。第2表に滲出汁中およびこれを培養したのちの蔗糖量および乳酸量の測定値を示した。また第3表に乳酸生成量に対する消費蔗糖量の比率を示した。

乳酸生成量に対する蔗糖消費量の重量比は、1 : 3.32 であり、乳酸 1 g を生成するために蔗糖 3.32 g が消費されている。

3. Cossettes および滲出汁中の乳酸量

Cossettes および滲出汁を前記の試料調製法により処理し、比色法により乳酸を定量した。結果は第4表、第5表に示したとおりである。cossettes 中の乳酸量は平均 34 g/t であったのに比較し、滲出汁中の乳酸量は平均 376 g/t であり、diffuser 内で約 330 g の乳酸が生成されていた。

4. Diffuser 内における蔗糖損失

上記試験で得られた各数値を用いて、1 日の甜菜処理能力を 1,500 t と仮定した製糖工場における diffuser 内での蔗糖損失の推定を試み、次のごとき結果を得た。

第4表 Cossettes 中の乳酸量

採取月日	pH	試料 (ml)	試料中* 乳酸量 (μg)	Cossettes 中乳酸量 (μg/g) 平均(μg/g)
1.24	6.60	60	1,088	34.1
1.26	6.60	60	976	30.6
1.30	6.62	75	1,480	37.1
2.1	6.60	75	1,370	34.4

* Cossettes からの Juice Factor は 0.94 とした。

第5表 滲出汁中の乳酸量

採取月日	Bx	pH	試料 (ml)	滲出汁中乳酸量 (μg) (μg/ml) 平均 (μg/g)*
1.24	15.2	5.60	30	12,420 414
1.26	15.1	5.60	30	12,240 408
1.30	15.4	6.20	30	11,100 370
2.1	14.9	6.05	30	12,800 426
2.2	15.1	6.00	30	11,190 373

* Bx より比重を算出し、滲出汁 g 当りの乳酸量とした。

1 日に処理する甜菜量	1,500 t
1 日の滲出汁量*	1,650 t
cossettes 中の乳酸量	34 g/t
滲出汁中の乳酸量	376 g/t
乳酸生成量に対する消費蔗糖量	3.32

1) 1 日に処理される甜菜中の乳酸量

$$34 \text{ g} \times 1,500 = 51,000 \text{ g}$$

2) 1 日に処理される滲出汁中の乳酸量

$$376 \text{ g} \times 1,650 = 620,400 \text{ g}$$

3) 1 日に diffuser 内で生成された乳酸量

$$620.4 \text{ kg} - 52.5 \text{ kg} = 567.9 \text{ kg}$$

4) 1 日の蔗糖損失量

diffuser 内で生成された乳酸量に、消費蔗糖量の Factor (3.32) を乗じて算出

$$567.9 \text{ kg} \times 3.32 = 1,885.4 \text{ kg}$$

1 日に 1,500 t の甜菜を処理した場合、上記のごとく diffuser 内で微生物により消費される蔗糖量は、1,885.4 kg になる。

これを甜菜および甜菜中の蔗糖量に対する%として算出すると、次のごとくなる。

$$\text{* Draft} = \frac{\text{滲出汁の重量}}{\text{甜菜重量}} \times 100 = 110 \text{ として算出}$$

蔗糖損失 (on Beet) = 0.126%

" (on Sugar)* = 0.838%

甜菜糖製造工程中の unknown loss は、前述したごとく 0.29~0.38% (on Beet) といわれているが、この中の 1/3 以上の蔗糖損失は微生物により diffuser 内で起っていることを知った。製糖日数を 100 日とし、1 日に約 2t の蔗糖損失が起っていると考えて試算すると、この規模の甜菜糖製造工場では、製糖期間中で約 200t の蔗糖損失となり、年間数千万円の損失が起っていると考えられる。

要 約

甜菜糖製造工程中の unknown loss は甜菜に対して 0.29~0.38% といわれている。われわれはこの中微生物によって起る蔗糖損失を明らかにすべく、その活動の場である diffuser 内で生成される乳酸量から、これを推定することを試み、次のごとく結果を得た。

(1) cossettes および 滲出汁中の乳酸を、イオン交換樹脂処理により分離し、比色法により定量した。cossettes 中および滲出汁中の平均乳酸量は 34 mg/kg および 376 mg/kg で、diffuser 内で相当量の乳酸が生成されていた。

(2) diffuser 内での生成乳酸量に対する消費蔗糖量の比率は 1:3.32 で、乳酸 1g を生成するために、蔗糖が 3.32g 消費されていると推定した。

* 甜菜中の蔗糖含有量を 15% として計算。

(3) diffuser 内における蔗糖損失は、甜菜に対して約 0.13% であり、unknown loss の 35~45% は、diffuser 内で微生物により起っていることを知った。

終りに臨み、本報文の御校閲を賜った、東京農業大学小原哲二郎教授ならびに試料の採取に御配慮を戴いた、関係会社の各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 宮島 徹・鴨居郁三: 精糖技研誌, 9, 87 (1959),
- 2) 宮島 徹・鴨居郁三: 精糖技研誌, 10, 109 (1960).
- 3) REED, J.M., BOHRER, C.W. and CAMERON, E.J.: *Food Research*, 16, 383 (1951).
- 4) HICHNER H.D.: *Appl. Microbiol.*, 1, 215 (1953).
- 5) BOHRER C.W.: *Sugar, Ind. Absts.*, 19, 100 (1957).
- 6) STARK, J.B. GOODBAN A.E. and OWENS H.S.: *J. Agr. Food Chem.*, 1, 564 (1953).
- 7) BREVEGLEIERI, V.: *Inter. Sugar J.*, 59, 347 (1954).
- 8) BARKER, S.B.: SUMMERSON, W.H.: *J. Biol. Chem.*, 138, 538 (1941).
- 9) 山中 啓: 化学の領域, 33, 105 (1951).
- 10) 東京大学農学部編: 実験農芸化学 (下巻) 510 (1969).
- 11) NORMAN, L.W. and RORABANGH, G.O.: *Proceedings, the American Society of Sugar Beet Technologists*, 8, 242 (1954).
- 12) ROUNDS, H.G.: *Proceedings, the American Society of Sugar Beet Technologist*, 8, 232 (1954).
- 13) 精糖技術研究会編: 製糖便覧, 221, (1962)
(1972年3月30日受理)