

(334)

液體麴に関する研究 (第4報)

土井新次・草野昭久 (合同酒精株式会社)

緒 言

第1～3報^{1)~3)}に於て菌株の選擇並びに培地の検討等について、また中間工業試験の結果を報告したが、本報に於ては切干甘藷を主原料として液體麴を製造することについて試験し、田邊氏等⁴⁾が玉蜀黍、生甘藷及び切干甘藷について報告した如く、切干甘藷に若干の無機窒素を添加するのみで優秀な液體麴が得られることを認めたのでその結果について報告する。

實 験 の 部

實 験 方 法

振盪培養並びに分析の方法については特に記載する場合を除いて前報¹⁾と同様である。尙實驗に於て使用した菌株は主として科學研究所坂口研究室より分與せられたS. R. L. AF-1即ち *Aspergillus awamori* var. *fumeus*⁵⁾である。實驗に際し本菌を麴寒天斜面に移植し4～7日培養のものを接種し、約48時間振盪培養を行つた後分析した。

(1) 切干甘藷の濃度の影響

多くの研究に於て切干甘藷を用いて液體麴を製造する場合に麴、米糠等を相當多量に添加しているが^{6) 7) 8)}著者等は之を切干甘藷の濃度を高めることによつて所要の營養源の一部を補い得るとの推定の下に、普通に用いられる^{5) 6)} NaNO₃ を0.1%添加して切干甘藷の濃度を3～10%に變えた場合及び NaNO₃ を切干甘藷に對し1%添加した場合に於て生成される Amylase の強さを測定した。その結果を示せば Table 1 の如くである。尙培地の蒸着は2kg/cm², 60分で行つた。以下同様である。

Table 1. Effect of Concentrations of Sweet Potato Powders on Amylase Production

Exp. no.	Sweet potato powder (%)	NaNO ₃ (%)	Saccharifying activity (%)		Dextrinizing activity (D _{80°})	
			2 hours	24 hours	2 hours	24 hours
1	10	0.1	5.87	65.51	10	80
2	8	0.1	6.43	71.16	10	80
3	5	0.1	10.90	56.89	40	80
4	3	0.1	10.73	50.05	40	80
5	10	0	3.93	21.37	0	10
6	8	0.08	2.87	37.39	0	40
7	5	0.05	1.69	27.06	0	40
8	3	0.03	0.00	16.84	0	40
9	3	NaNO ₃ 0.1 Rice bran 1.5 Wheat bran 1.0	23.72	48.79	80	160

即ちこの表にみる如く切干甘藷の濃度を高くし概ね8%にすることによつて酵素力、特に所謂伸び⁹⁾が増加することが期待出来る。實驗番號6～8の如くC源とN源の比を100:1に保つたものは双方の濃度の減少に伴つて酵素力は急激に低下することが認められる。酵素反應の初期の強さは實驗番號9の如き培地⁹⁾の方がすぐれて居る。

(2) NaNO₃ の濃度の影響

切干甘藷を8%としてNaNO₃の濃度を種々に變更して試験した結果はTable 2に示す如く、NaNO₃は0.3%以上加えても酵素力に於てそれ以上期待し難く、またこの切干甘藷8% NaNO₃ 0.3%の培地は實驗番號6の如き有機窒素を多く含む培地⁹⁾にも劣らないことが認められる。

表中α-及びβ-Amylaseの強さは北原氏等¹⁰⁾の方法によつて測定した。

Table 2. Effect of Concentrations of NaNO_3 on Amylase Production

Exp. no.	Sweet potato powder (%)	NaNO_3 (%)	Saccharifying activity (%)		Dextrinizing activity (D^{80°)		α -Amylase (%)	β -Amylase (%)
			2 hours	24 hours	2 hours	24 hours	24 hours	24 hours
1	8	0	2.28	14.02	10	160	11.99	12.94
2	8	0.1	15.13	55.12	40	160	52.91	55.12
3	8	0.3	33.83	58.84	80	160	65.05	61.46
4	8	0.4	33.03	63.21	80	160	57.26	51.62
5	8	0.5	36.77	62.08	80	160	62.09	58.59
6	0.3	NaNO_3 0.1 Rice bran 1.5 Wheat bran 1.0	33.42	62.19	80	160	56.17	64.35

これらのC源及びN源の濃度が酵素力に及ぼす影響について更に繰返し実験を行い、その関係を圖に示したのがFig. 1である。

これによれば相互の濃度が増加することによつて酵素力の増強が行われることが認められる。尙圖中に示した酸度は培養後の酸度を表わしたものであるが NaNO_3 の濃度に比例して酸度が低くなつて居り、微による切干甘藷からの有機酸の生成と NaNO_3 の生理的鹽基性との関係がうかがわれる。

(3) 各種窒素源の比較

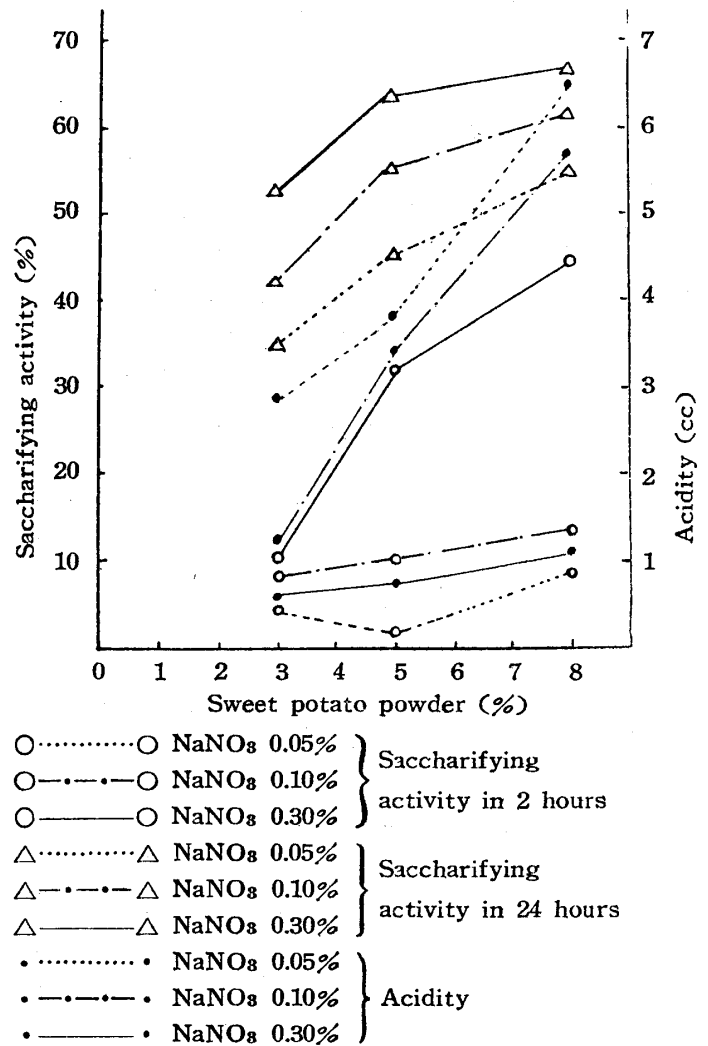
NaNO_3 の他に工業的に多量に生産される、硫安、硝安及び尿素について各種濃度に於て比較試験したがその結果は Table 3 に示す如くである。尙基本培地は切干甘藷 8% のものである。

即ち略々同一量(表中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.08%, NH_4NO_3 0.05% Urea 0.04% は NaNO_3 0.1% と大略同じ窒素量である)の窒素を含む化合物でもその種類によつてかなりの差が認められ、硫安の如きは培養後の酸度はそれ程高くないにも拘らず酵素力、殊に初期糖化型の酵素は少い。一般にすべての窒素源に於て窒素の型態に関係なく NaNO_3 の場合程著しくはないが窒素の添加量が多いときは少い場合よりも酸度が低い。従つて酵素力には酸の他に窒素の型態が影響を及ぼすことが認められる。

(4) 黒麹菌と黄麹菌の比較

茲に一標準の培地として設定された切干甘藷 8%, NaNO_3 0.3% の培地を用い、前報¹⁾⁻³⁾で用いられた菌の中最も優れていた黄麹菌 No. 15 (0-10-1) との比較検討を試みた。その結果 Table 4 に示す如く、①糖化力の所謂「伸び」は黒麹菌に於てすぐれて居る。このことは實驗番號 7 及び 8 の如き培地に於ても然りである。②黄麹

Fig. 1. Effect of Medium Composition on Amylase Production



(336)

(土井, 草野) 液 體 麹 に 関 す る 研 究 (第4報)

Table 3. Effect of Concentrations of Various Inorganic Nitrogen Sources on Amylase Production

Exp. no.		N-Source	Added (%)	Saccharifying activity (%)		Dextrinizing activity (D ^{30°})		Final acidity (cc)
				2 hours	24 hours	2 hours	24 hours	
I	1	NaNO ₃	0.05	13.95	56.43	20	160	7.4
	2	"	0.10	15.91	76.78	40	160	6.6
	3	"	0.20	38.37	79.34	160	> 320	4.2
	4	"	0.30	49.17	83.26	320	>1280	0.8
II	5	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.04	6.87	24.24	0	40	6.8
	6	"	0.08	8.56	36.15	10	80	4.2
	7	"	0.16	11.01	76.55	10	80	3.0
	8	"	0.24	16.88	78.27	20	80	3.4
	9	NH ₄ NO ₃	0.05	18.85	66.88	10	160	6.8
	10	"	0.10	36.31	71.25	40	320	4.8
	11	"	0.15	40.67	69.56	40	640	2.4
	12	NaNO ₃	0.30	48.96	85.81	160	1280	0.6
III	13	Urea	0.04	36.54	58.97	40	160	3.0
	14	"	0.08	34.00	66.41	80	160	2.4
	15	"	0.12	40.85	71.12	80	160	1.6
	16	NaNO ₃	0.30	40.20	85.41	160	640	0.4

菌は NaNO₃ の量により糖化力及び pH の蒙る影響は少い。③黄麹菌は酸を生ずることが少い等の差異が示される。糖化力の "伸び" のよいことが酸酵によい影響をもたらすことは朝井氏等⁸⁾ その他によつて認められている所であり、この點からも黒麹菌がすぐれて居ると云い得る。

Table 4. Amylolytic Activities of Mold Culture Liquors, used "Kuro-Koji" Mold, AF-1 and "Ki-Koji" Mold 0-10-1

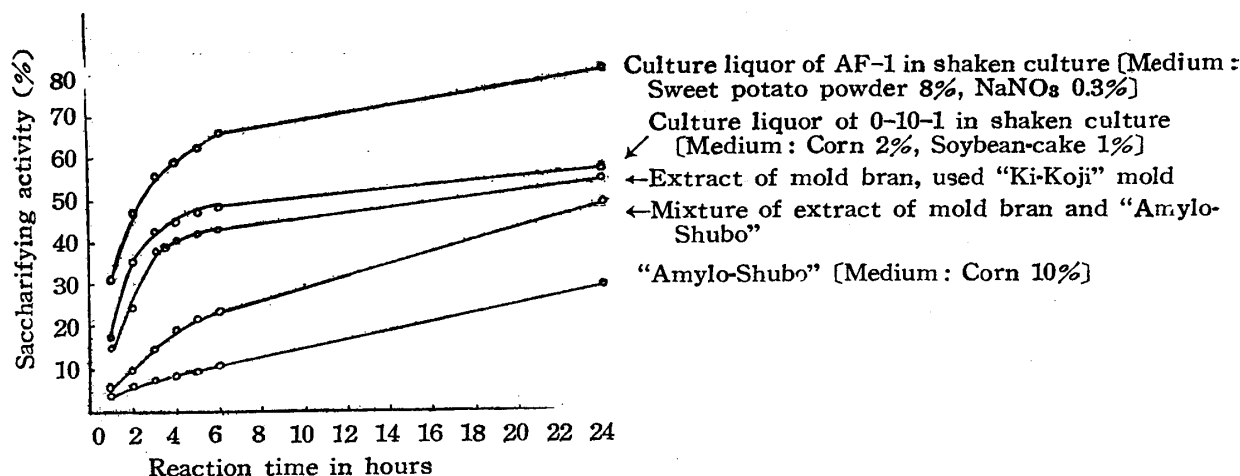
Exp. no.	Mold	Medium composition		Saccharifying activity (%)		Dextrinizing activity (D ₈₀)		Final pH
		potato powder (%)	NaNO ₃ (%)	2 hours	24 hours	2 hours	24 hours	
1	AF-1	8	0.1	5.65	67.12	10	80	3.4
2	"	"	0.3	29.64	64.97	80	160	4.1
3	"	"	0.5	30.65	78.57	40	160	4.7
4	0-10-1	8	0.1	30.85	51.51	40	160	5.1
5	"	"	0.3	28.65	50.53	80	160	5.2
6	"	"	0.5	29.63	47.08	80	80	5.8
7	AF-1	3	NaNO ₃ 0.1 Rice bran 1.5 Wheat bran 1.0	35.65	79.56	10	80	3.6
8	0-10-1	3	"	31.66	54.75	40	80	6.6

(5) 切干甘藷-NaNO₃ 培地に於ける黒麹菌のアミラーゼの二、三の性質について

次に以上の如くして得られた液體麹についてその性質としてもつとも一般的な糖化曲線を作圖して他の糖化劑、即ち麩麹、アミロ酒母或は玉蜀黍一大豆粕による液體麹¹⁾⁻³⁾と比較した。その結果はFig. 2の如くである。即ち圖示する如くこの液體麹は初期に於ける糖化力が高く、且つその "伸び" もすぐれて居ることが認められる。

又、この液體麹がどの程度に耐熱性及び耐酸性を有するかについて試験した。即ち Walpole の緩衝液により pH を 3.8, 4.6 及び 5.1 に調節し、又温度は 30°C 及び 55°C (24 時間 55°C の場合は 2 時間後は 30°C で作用させた) に

Fig. 2. Sacharifying Activity of Various Saccharifying Agents



於て比較した。尙この場合使用した酵素液は中間工業試験のタンク培養(後報)によつて得たものであり、切干甘藷 8% NaNO_3 0.3%の培地に63時間培養したもので使用時の還元糖4.30%, 糊精化力は640(2時間)及び5120(24時間)である。その結果は Table 5 に示す如く、pH4.6~5.1では酵素力に大差はなく pH 3.8では初期の糖化は劣るが、 γ 伸びは變らず、また温度に對する影響は pH の場合よりも少いことが認められた。

(6) 液體麹酒母に於ける酵母の添加時期と添加後に於ける培養條件について

實驗室的に振盪培養の1日目及び2日目に酵母(當社で使用している合同Aを麹汁に24時間培養したもの)を添加してその後振盪又は靜置して糖化力の出方を比較した結果はFig. 3に示す如くで、之を要約すれば酵母は微の培養初期、即ちアミラーゼの未だ十分出ない時に加えた場合は引き続き振盪しなければアミラーゼはあまり増加せず、又培養の後期、即ち糖化力が十分出てから添加すると振盪を續けても又中止しても大差は認められないようである。このことは工業的に所謂「液體麹酒母」の製造する場合に酵母を早期に入れてもあまり意味がないことを示すものである。

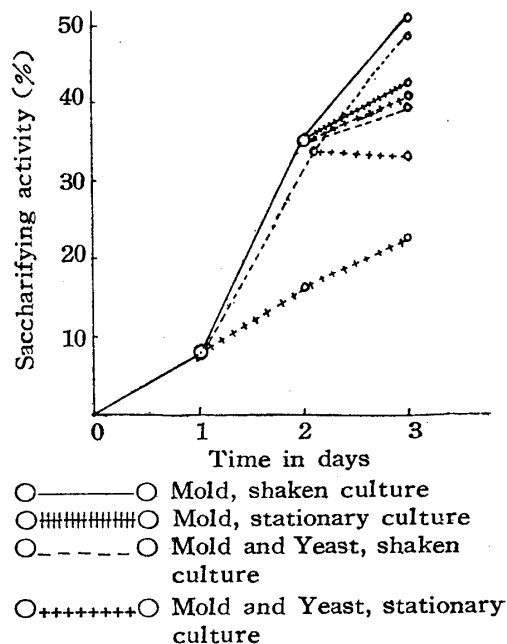
(7) 醱 酵 試 験

次にこれらの液體麹を用いてアルコール醱酵試験を行つた。こゝで用いた醪はすべて當工場に實際に蒸煮罐で蒸煮したもの的一部であつて、甘藷澱粉粕及び馬鈴薯澱粉粕の混合仕込を行つた醪である。その結果は Table 6 及び7の如くであつて Table 6は液體麹—アミロ酒母又は液體麹酒母を加えた醪が醱酵を始める時の糖化力を通常の麴麹—アミロ酒母折衷法の場合と比較したもので液體麹酒母を25%用うれば通常の折衷法と初期糖化力は同様であるが、一方沃度反應より見ると20%でもすでに醪をかなり糊精化して居ることが認められる。

Table 5. Effect of pH and Temperature on Saccharifying Activity of Mold Culture Liquor

pH	Saccharifying activity (%)					
	1 hour		2 hours		24 hours	
	30°C	55°C	30°C	55°C	30°C	55°C
3.8	18.69	41.38	25.81	58.94	58.94	78.85
4.6	23.38	47.56	30.58	57.45	62.30	77.63
5.1	21.00	50.02	29.39	59.95	64.91	65.75

Fig. 3. Effect of Age of Mold Culture when Yeast Inoculum was added and Type of Culture thereafter on Amylase Production.



(338)

(土井, 草野) 液體麴に関する研究 (第4報)

Table 7は液體麴酒母を用いて酸酵を行つた成績を示したもので、液體麴酒母單獨でも麴に對し20%以上加えれば比較とした折衷法に比し劣らないことを認めた。

Table 6. Amylolytic Activities of Mashies used Mold Culture Liquor + "Amylo-Shubo" and Others

Exp. no.	Fermentation process	Saccharification temp. of mash (for 1 hour)	Saccharifying activity in 24 hours (%)	Iodine reaction of mash after 3 hours' saccharification
1(Control)	{Mold bran "Amylo-Shubo" 0.3% 25.0%	55°C	48.84	Red-Orange
2	{Mold culture liquor "Amylo-Shubo" 10.0% 15.0%	55°C	33.75	Red
3	{Mold culture liquor "Amylo-Shubo" 10.0% 15.0%	30°C	28.75	Violet-Red
4	"Ekitai-Koji-Shubo" 15.0%	—	31.35	Red
5	" 20.0%	—	38.59	Red-Orange
6	" 25.0%	—	47.69	Colourless

Table 7. Data of Alcoholic Fermentation used Mold Bran "Amylo-Shubo" and "Ekitai-Koji-Shubo" (Fermentation Period: 72 hours)

Exp. no.	Fermentation process	Acidity (cc)	Red.sug. (%)	Total sug. (%)	Sacch. activity in 24 hours (%)	Alcohol (Vol.%)	Sugar consumed (%)	Fermentation efficiency (%)
1(Control)	{Mold bran "Amylo-Shubo" 0.3% 25.0%	3.2	0.302	1.266	2.67	4.23	85.06	80.94
2	"Ekitai-Koji-Shubo" 10.0%	3.0	0.551	2.504	2.41	3.85	70.37	70.77
3	" 15.0%	2.8	0.442	1.757	6.09	4.15	78.91	77.43
4	" 20.0%	2.8	0.381	1.671	4.91	4.28	80.15	80.81
5	" 25.0%	2.9	0.355	1.240	5.31	4.28	84.75	81.74

總 括

切干甘藷を主原料とする液體麴について研究し次の如き結果を得た。

1. 切干甘藷と NaNO_3 のみでもその組成を適當にすることによつて優秀な液體麴をつくることが出来る。この場合に切干甘藷8%, NaNO_3 0.3%を最適とする。
2. NaNO_3 と他の無機窒素源即ち $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 及び尿素と比較したが NaNO_3 にまさるものは認められなかつた。特に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ は効果が少いことを認めた。
3. 以上の培地に於ては黒麴菌 (AF-1) は黄麴菌 (0-10-1) よりもすぐれた酵素作用を示す。
4. AF-1 菌による液體麴の酵素液について、その耐酸性及び耐熱性について試験し、また麴麴、アミロ酒母及び玉蜀黍一大豆粕培地による液體麴等の糖化剤と糖化曲線について比較検討し、その優秀性を認めた。
5. 液體麴酒母を作る場合に、液體麴に酵母を添加する時期とその後の培養條件について試験した。
6. 液體麴及び液體麴酒母を用いて酸酵試験を行い、麴麴—アミロ酒母折衷法と比較し液體麴酒母を蒸煮麴に對し20%以上使用すれば折衷法に劣らない成績が得られることを認めた。

終りに臨み本研究に當り終始御懇篤な御指導を與へられた東京大學教授坂口謹一郎博士に對し謹んで感謝の意を表す。尙絶えず鞭撻激勵せられ且つ本研究の發表を許可された堀會長、野口社長始め役員諸氏に對し、並に實驗に當り助力を得た高橋喜一、太田明兩君に對し深謝する。

附記：本研究の概要は1953年8月、日本農藝化學會臨時大會に於て發表した。

文 献

- 1) 土井, 佐藤, 入江: 本誌, 29, 63 (1951).
- 2) 土井, 佐藤, 入江: 本誌, 29, 154 (1951).
- 3) 土井, 佐藤, 入江: 本誌, 29, 273 (1951).
- 4) 田邊, 相良, 小野, 島田: 醸協, 10, 291 (1952).
- 5) 富金原: 醸協, 10, 375 (1952).
- 6) 篠原, 神藏: 醸協, 10, 16 (1952).
- 7) 岡崎: 日農化, 24, 201 (1951).
- 8) 朝井, 藤田, 養田, 小坂: 日農化, 26, 173 (1952).
- 9) 北原, 宇留島: 本誌, 27, 6 (1949).

(昭和29, 6, 7受理)