

〔醸酵工学 第56巻 第4号 323-396. 1978〕

総 説

国内における発酵工業関連分野の研究・ 開発の動向（昭和52年度）

日 本 醸 酵 工 学 会 支 部

Annual Review of Fermentation Technology, Japan 1977

The Society of Fermentation Technology, Japan
Local Committee in Tokyo Area

分類項目

- | | |
|--------------|--------------|
| 1. 醸造製品 | 7. 酵素 |
| 2. 有機酸 | 8. 菌体生産 |
| 3. アミノ酸 | 9. 廃水处理 |
| 4. 核酸および関連物質 | 10. 単位操作・動力学 |
| 5. 抗生物質 | 11. その他 |
| 6. 生理活性物質 | |

1. 醸 造 製 品

Brewing and Foods

報文数は調査範囲で93であった。その中から単位操作および現場操作に関連する報告15を抜き出し、他は取り扱っている対象に応じて区分した。紙面の制約で多数の文献を省略したので、精査されたい方は日本醸造協会誌、Vol. 73, No. 4 および5の総覧を参照されたい。同一著者で関連報文数の多いものはそのうち1, 2を掲げ、文の終わりに（他2報）のように記した。また微生物の分類、化学分析の詳細、あるいは調査資料は省略したので了解されたい。

1-1 清 酒

山城ら¹⁾は、れいほう、日本晴、つくしばれの3種の原料米を用い、同一条件で清酒醸造を行った。品種による差異は10日目の醗成分に顕著に現れ、かつそれが製品品質や各種歩合に影響するところが大きいので、重要な指標であると述べている（他1報）。花本と竹村²⁾は、4年間にわたり、酒造用米の品種および産地

別に分析値の変動を調査している。年度が違っても品種間の差はかなり明りょうで、分析値に変動の少ない品種は五百万石、ふくのはな、八反、逆に変動し易い品種として兵系酒28号、中生新千本、金南風を挙げている。吉沢ら³⁾も同じ手法で原料白米を調査し、年度により変動しやすい分析項目として胚芽残存率、粗脂肪、カリウム、吸水率、胴割れを挙げ、50年産米では大粒米の消化性が不良で小粒米に近づいていたと述べている。熊谷ら⁴⁾は、白米水分と浸漬時の吸水率の相関が大きいことをすでに報告しているが、今回同じ米を人為的に加湿および乾燥させて吸水率を変えて醗を仕込み、実用性を検討している。小泉ら⁵⁾は白糠を利用して清酒を製造し、糠臭の化学成分を特に低沸点カルボニル化合物について追跡した。

清酒醗中の酵素作用を解析して、岩野と布川⁶⁾は精製酵素を用いた試験醗をつくり、 α -amylase および glucamylase が必要量存在するときは、アルコール発

酵速度が acid protease 力価に大きく依存することを示し、その重要性を強調している。同じく岩野ら⁷⁾は、醪中での transglucosidase 作用を調べ、それは米の溶解や発酵速度には関与せず、オリゴ糖や ethyl-glucoside を生成することを確認した(他3報)。布川と合瀬⁸⁾は、清酒醪を 20°C に仕込み、6~8 日後に 15°C に下げる温度経過によって原料米の利用率を向上させ、ランニングコストも低く、かつ品質の劣らない清酒を得た(他3報)。竹田ら⁹⁾は、精米歩合90%の米で麴歩合5%と酵素剤併用、および精米歩合70%で麴歩合20%の醪を仕込み、製成酒の成分等を比較した。香味に大差はなかった。

佐藤ら¹⁰⁾は、清酒熟成中の成分変化の研究の一環として acetaldehyde の消長を調べ、その増加は主に CrSH, alanine, aspartic acid, glutamic acid, serine, threonine, lysine 等のアミノ酸の分解に由来し、他に ethanol の酸化も関与し、減少は物理的な揮散の他に tryptophan, methionine, proline, phenylalanine, tyrosine 等のアミノ酸との反応によると推定した(他1報)。同じく貯蔵清酒について佐藤ら¹¹⁾は、pyruvate についてその生成は CrSH, cystine その他のアミノ酸の分解によること、減少はアミノ酸の他に tryptophan, Tyrosol, *i*-amyl alcohol 等との反応によると推定し、反応生成物の清酒における色や香味に対する役割にも言及している(他1報)。佐藤ら¹²⁾は、defferriferrichrome 非生産麴菌と通常の麴菌とを用いた清酒の貯蔵中の変化を比較している。大部分の成分含量や変化のパターンには変わりはなく、色、熟度、香味にも大差なかった。前者では Fe を加えても着色しないが、Fe 添加により日光臭が発生しやすいのは後者と同じであり、Fe の混入は好ましくない等の結果を得た。小泉ら¹³⁾は、清酒を飲んだ後の吐息の臭気成分の発生原因を調べる目的で、清酒の揮発分とエキス分とを別個に飲ませた人の吐息を分析し、前者ではカルボニル化合物が、後者ではアミン類が多かった。エキス分の方に臭気前駆物質があると推定している。

難波ら¹⁴⁾は、醪中における各種金属を分析し、原料米から溶出しやすい Na, Ca, Mn, 溶出しても酵母に利用される K, Mg, 溶出され難い Fe, Zn, Cu 等に分け、米の中での結合状態を推定し、また醪全体の収支を論じている(他1報)。

小嶋ら¹⁵⁾は、酵母に対する α -phenethyl alcohol など9種の芳香族アルコールの生理作用を研究している。日本醸造協会7号酵母を用いた実験で、これらアルコ

ールの存在により増殖末期の呼吸能の誘導が遅れ、かつ弱くなること、cytochrome 系で c は生ずるが a, b は欠ける等の現象を見出している。原と小幡¹⁶⁾は、清酒醪の末期にアミノ酸が増加するのは、死滅酵母細胞内の carboxy peptidase が活性化され、その働きによるものと述べ、その現象を耐アルコール性が強くて死滅し難い酵母を用いた醪を用いて説明している(他1報)。大内ら¹⁷⁾は、液体合成培地に糖を逐次添加しながら酵母による発酵を行い、アルコールが18%に達するまでの期間について、酵母菌体成分では glycogen, DNA, RNA 含量は不変、全脂質は初期に増加して後は不変、trehalose は初期に増加し、後に減少するなどのパターンを認めた(他1報)。中田ら¹⁸⁾は、killer 因子を有する酵母を通常の酵母に混和し、醪中で野生 killer 酵母による汚染が生じないための初期の汚染レベルを検討した。速醸酒母では killer 酵母を1/10以下、醪では1/100 ないし1/150 以下にしておけば安全であるとの結果を得た。killer 因子はアルコール10%以上で生産が抑制され、pH 3.4 以下では作用を示さなかった。

奈良原¹⁹⁾は、*Aspergillus* 属の10種類のかびを用いて、増殖および胞子形成と培地の水分活性との関係を調べている。最適水分活性は0.98~0.99程度、胞子形成には空気湿度99~99.5%が最適など、ほとんど飽和に近い状態であることを示した。浜地ら²⁰⁾は、酒造場の麴について defferriferrichricin 量を測定して、かなりの差があることを認めた。製麴温度および米の品種がその要因であることを明らかにした。

梅津ら²¹⁾は、酒母に出現する細菌群についてアミノ酸の脱炭酸能を測定し、生成アミンを薄層クロマトグラフィーで確認した。アミン生成の最適温度は35~45°C, pH は4.5~6.0の範囲であった。大塚ら²²⁾は、大麦中に清酒火落菌の生育促進物質が存在することを認め、それが mevalonic acid その他2, 3の成分であることを示した(他1報)。

河合ら²³⁾は、清酒の品質多様化の1試案としてワインよう清酒を試作した。すなわち、麴菌を従来の *Aspergillus oryzae* から *A. niger* 系の焼酎用麴(くえん酸生産菌)に変え、多酸で清涼感のある製品を得た。佐藤ら²⁴⁾は、市販酒の成分調査資料に基づき、成分値に地域性があることを示した。また、ワインその他多種類の醸造酒の成分分布図を作成し、清酒が占める領域を図上に示し、品質多様化の方向を示唆している。

1-2 ワイン

山川ら²⁵⁾は、ワインに関与する *Cladosporium clado-sporioides* を用いて酢酸と *i*-amyl alcohol とから香氣成分 *i*-amyl acetate の生成を無細胞抽出液およびたんぱく区分（粗酵素）を用いて行わせた。反応最適条件、co-factor 等を検討し、さらに acetyl CoA と *i*-amyl alcohol とから *i*-amyl acetate が生産されるという反応系路を示した（他2報）。Yokotsuka ら²⁶⁾は、ぶどう果汁、もろみおよび生成ワイン中のたんぱくをぶどう品種ごとに定量し、さらにそれらのアミノ酸組成を求めた。ワイン製造工程中にたんぱくは質量ともに変化した。Goto と Yokotsuka²⁷⁾は、山梨県産甲州種およびマスカットベリールA種の新鮮碎果について野生酵母の分布を調べたところ、品種、圃場、時期、年度によって変動するが、およそ40~72%が apiculate yeast, 0~18%が *Saccharomyces*, 13~19%が *Torulopsis*, 3~22%が産膜酵母, 1~4%が *Rhodotorula* およびその他の酵母で、分類上10属22種に達した。天野と加賀美²⁸⁾は、輸入濃縮ぶどう果汁を用いてのワイン製造に関して、その希釈液の発酵が生果汁に比べて遅いこと、後発酵期まで酵母が死滅し難いことなどの特徴があることを述べ、発酵促進のための添加物には thiamine および酵母エキスが有効であったと報告している。宇井ら²⁹⁾は、ワイン29点について acetoin および butanediol の含量を調べた。酵母の種類を変えてぶどう果汁を発酵させた実験結果から、acetoin を還元して butanediol を生成する能力は酵母の種類により差があると述べている。渡辺ら³⁰⁾は、各種ぶどう種子をモデルワインに浸漬して polyphenol を浸出させ、浸出条件を検討した。品種による差は大きく、高温、長期間ほどよく浸出した。

1-3 調味料および食品

小野と青山³¹⁾は、醤油のエキス成分が油脂と安定な粘稠液をつくる現象を解析し、モデルとしてしょ糖とポリペプトンの水溶液を用いて含油率84%に達する粘稠液を得、粘度、屈折率を測定し、pH、温度による安定性を検討している（他1報）。今井と松本³²⁾は、食塩含量0~12%範囲の低塩味噌を試作している。仕込み時に10g/gの *Saccharomyces rouxii* を添加した。食塩4%以上では、香味ともに正常な味噌と判定された。低塩では着色、たんぱく分解が進み、遊離アミノ酸も多いという傾向が認められた。本間と石原³³⁾は、味噌の香氣成分のうち揮発性ポリカルボニル化合物を検索し、

glyoxal をはじめ9種の物質の存在を確認あるいは推定した。揮発性カルボニル全体では、90%は脂肪族モノカルボニルで、acetaldehyde が多かった。岩淵ら³⁴⁾は、仙台味噌の揮発性カルボニル化合物をイオン交換樹脂で分画し、それらを加熱して香氣の形成を検査した。樹脂吸着区分は加熱により肉汁よう香氣、非吸着の1分画からは maltol ようの香氣が生成するなど、味噌の香氣に関与することが推定された。木内ら³⁵⁾は、高速液体クロマトグラフィーにより味噌の脂質を分析した。全脂質に対する遊離脂肪酸の比 (DLH) を指標として品質との関係を求めたところ、官能検査で最高評点を得た淡色系味噌は DLH と酸度が低いなどの結果が得られた。松本と今井³⁶⁾は、味噌の仕込み時に添加する酵母につき、*Saccharomyces rouxii* 単独よりも *Torulopsis versatilis* を混合接種した方がアルコール生成、香氣が強く、品質の良い赤辛味噌となったと報告している。馬場ら³⁷⁾は、醤油もろみ中の *Saccharomyces* と *Torulopsis* とを分画計数する培地を検討し、Li⁺ と Zn²⁺ とを添加して前者の生育を抑える方法を見出した。

柳田ら³⁸⁾は、酢酸発酵において acetoin 生成に関する要因を検索し、アルコールと乳酸またはピルビン酸との共存で多く生成されること、他にもピルビン酸に転移できる炭素源が acetoin の生成に関与することを確かめた。南場と竹内³⁹⁾は、酢酸発酵に対する清酒粕中の発酵促進物質を調べ、主要成分はグリセリンおよびそのアセチル化合物であると述べている（他1報）。

1-4 単位操作その他

Kitabatake と Amaha⁴⁰⁾は、ビールの「噴き」の原因として単離された物質、*Nigrospora* sp. の生産するたんぱくにつきその性質を調べた。疎水性アミノ酸残基に富み、8個の disulfide 結合を有し、tryptophan, histidine, methionine, tyrosine 残基を持たないこと、disulfide 結合の解裂、phenylglyoxal による guanidino 基の修飾、水溶性 carbodiimide とアミノ酸エステルによる carboxyl 基の修飾によって噴きを誘起する活性が大幅に低下した。

佐藤ら⁴¹⁾は、清酒のたんぱく混濁除去に限外ろ過法の適用を試みている。分画分子量10,000~50,000までの10種類の膜を用い、ろ過速度10~30 l/m²/hr で処理し、たんぱく混濁の原因物質である酵素が除去でき、混濁の再発生もなく、風味にも異常はなかったと述べている。今井ら⁴²⁾も同じく限外ろ過による清酒の混

濁除去を試みた。アクリロニトリル共重合ポリマーの中空糸膜、有効ろ過面積 3.4 m^2 のモジュールを用いて逆洗再生、耐久性等を含む運転条件を中心に、実用性を検討している。

佐藤ら⁴³⁾は、泡盛の白濁成分である油性物質の除去に、セルロース粉末を助剤とするろ過の効果を調べている。10 g/l の助剤を加え、0.05~0.07 cm/sec の線速度で3回循環してろ過すると、石綿を用いたのに劣らない透明度が得られた。西谷ら⁴⁴⁾は、本格焼酎の濁り除去に石綿ろ過の条件を求め、処理液のアルコール濃度および温度に対する残留油脂分の関係を求めた。

布川ら⁴⁵⁾は、5倍子タンニンをも hexamethylenediamide を介してセルロースに固定させたものを清酒に接触させることにより、たんぱく混濁物質を吸着除去する方法を検討し効果を認めた。佐藤ら⁴⁶⁾は、活性炭ろ過によって清酒から除去されやすい物質および除去され難い物質を調べ、それらが色や味の変化に及ぼす影響を論じている。

永谷ら⁴⁷⁾は、堆積培養麹に連続通風した場合に生ずる厚さ方向の温度分布を、熱および物質移動の見地から説明し、実験値と比較した。宇佐見と福富⁴⁸⁾は、バガスを担体とし、パイナップル加工残渣の搾汁を用いた半固体培養でくえん酸発酵を試み、対糖収率50~60%の成績を得た。発酵条件について検討している。

鈴木ら⁴⁹⁾は、東京の1地区で1年間に販売された清酒の級別比の資料に基づき、ハーニターの理論を適用して市場の内部構造を解析している。特級、1級、2級酒についてそれぞれ固定客層が4.7、28.4、4.7%、非固定層は特級と1級とについて7.9%、1級と2級および特級と2級について21.7%、特級、1級、2級のどれにも固定しない層が10.9%という結果が得られた(他1報)。

文 献

- 山城, 鈴木, 岩永, 藤田, 佐々木, 北本: 醸協, 72, 155 (1977).
- 花本, 竹村: 醸協, 72, 671, (1977).
- 吉沢, 池見, 石川: 醸協, 72, 143 (1977).
- 熊谷, 中野, 大内: 醸協, 72, 62 (1977).
- 小泉, 宮原, 竹田: 醸協, 72, 818 (1977).
- 岩野, 布川: 醸協, 72, 78 (1977).
- 岩野, 柴田, 布川: 醸協, 72, 521 (1977).
- 布川, 合瀬: 醸協, 72, 593 (1977).
- 竹田, 平尾, 中里, 塚原: 醸協, 72, 890 (1977).
- 佐藤, 大場, 高橋, 蓼沼, 倉沢: 醸協, 72, 662 (1977).
- 佐藤, 大場, 高橋: 醸協, 72, 869 (1977).
- 佐藤, 大場, 高橋: 醸協, 72, 810 (1977).
- 小泉, 古谷, 佐久間, 伊藤, 鈴木: 醸協, 72, 58 (1977).
- 難波, 戸塚, 小坂: 醸協, 72, 901 (1977).
- 小嶋, 波多江, 栗原, 加藤木: 醸酵工学, 55, 262 (1977).
- 原, 小幡: 醸協, 72, 530 (1977).
- 大内, 植田, 川瀬, 佐藤, 高岸, 秋山: 醸協, 72, 735 (1977).
- 中田, 石橋, 香坂, 坂井: 醸協, 72, 885 (1977).
- 奈良原: 醸酵工学, 55, 254 (1977).
- 浜地, 布宮, 渡辺, 来間, 本馬: 醸協, 72, 880 (1977).
- 梅津, 柴田, 前田: 醸酵工学, 55, 68 (1977).
- 大塚, 伊藤, 山本: 醸協, 72, 53 (1977).
- 河合, 高橋, 玉木: 醸協, 72, 680 (1977).
- 佐藤, 大場, 高橋, 国分, 小林, 小林: 醸協, 72, 801 (1977).
- 山川, 原川, 後藤, 横塚: 農化, 51, 183 (1977).
- Yokotsuka, K., Yoshii, M., Aihara, T., Kushida, T.: *J. Ferment. Technol.*, 55, 510 (1977).
- Goto, S., Yokotsuka, I.: *J. Ferment. Technol.*, 55, 417 (1977).
- 天野, 加賀美: 醸酵工学, 55, 330 (1977).
- 宇井, 増田, 村木: 醸協, 72, 449 (1977).
- 渡辺, 飯野, 加々美, 風間: 醸協, 72, 797 (1977).
- 小野, 青山: 食工誌, 24, 459 (1977).
- 今井, 松本: 醸協, 72, 897 (1977).
- 本間, 石原: 醸酵工学, 55, 36 (1977).
- 岩淵, 佐藤, 柴崎: 食工誌, 24, 65 (1977).
- 木内, 太田, 石間, 高林, 海老根: 食工誌, 24, 295 (1977).
- 松本, 今井: 醸協, 72, 74 (1977).
- 馬場, 泉, 茂田, 花岡: 農化, 51, 261 (1977).
- 柳田, 小泉, 荒木, 秋山, 石塚, 横森: 醸協, 72, 213 (1977).
- 南場, 竹内: 食工誌, 24, 576 (1977).
- Kitabatake, K., Amaha, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 41, 1011 (1977).
- 佐藤, 大場, 高橋, 梅原: 醸酵工学, 55, 84 (1977).
- 今井, 遠藤, 川端, 藤井, 今野: 醸協, 72, 65

- (1977).
 43) 佐藤, 大場, 高橋: 醸協, 72, 314 (1977).
 44) 西谷, 久保井, 菅間: 醸協, 72, 310 (1977).
 45) 布川, 三上, 土佐, 千畑: 醸酵工学, 55, 343 (1977).
 46) 佐藤, 蓼沼, 大場, 高橋: 醸協, 72, 231 (1977).
 47) 永谷, 服部, 布川: 醸酵工学, 55, 175 (1977).
 48) 宇佐見, 福富: 醸酵工学, 55, 44 (1977).
 49) 鈴木, 宮野, 梅田, 池田, 斉藤, 佐野, 佐藤, 新里, 大塚: 醸協, 72, 388 (1977).
 (醸試 永谷正治)

2. 有機酸

Organic Acids

2-1 L-りんご酸

グルコース含有培地に *Rhizopus arrhizus* NRRL1526 と, フマラーゼ活性の高い *Proteus vulgaris* AHU 1144 を混合培養すると, 最終産物として著量の L-りんご酸が蓄積する.¹⁾ フマル酸からりんご酸への発酵転換には, 対数増殖期の細胞よりも定常期の細胞を接種した方が好適であり, 混合培養 3~4 日で初めの糖に対し 70~75% の収率でりんご酸がえられた. *Paecilomyces varioti* AHU 8007, 9254, 9417 が酢酸カルシウム(酢酸として 3%) 添加培地の振とう培養によりそれぞれ 27.5%, 37.7%, 48.0% の収率で L-りんご酸を生産する事が見出された. これらの菌株は, プロピオン酸, エタノール等を炭素源とした場合にも 30~37% の収率でりんご酸を蓄積する.²⁾ *Candida brumptii* IFO-0731 株は n-パラフィンより L-りんご酸を生産する. 窒素源として尿素 (2g/l) が適し, 最適条件下で 4% (v/v) n-パラフィンから 25.4g/l, 収率約 80% で得られる.³⁾ この生産は増殖非連動型で, 酸生産期においてグリオキシル酸回路関与のイソクエン酸リアーゼとりんご酸合成酵素活性が著しく高くなることが明らかにされ, さらに L-りんご酸は菌体内から能動的に排出されることを示唆する結果が得られた.⁴⁾

2-2 くえん酸

n-パラフィンから高収率でくえん酸を生産する酵母 2 株が分離され, *Candida citrica* n. sp. と命名された. この菌株の人工変異株 (MT-1001) は最高収率 150% (w/w) でくえん酸を生産し, くえん酸と (+) イソクエン酸の生成比は 92.6 : 7.4 であった.⁵⁾

2-3 イタコン酸

鋸屑をイタコン酸発酵原料として利用するプロセスについて提案がなされた.⁶⁾ すなわち, 鋸屑を濃硫酸

により糖化し, 糖化後の廃硫酸を湿式りん鉱分解に利用してりん酸を遊離させ, 得られたりん酸を含む糖化液から沈殿分離, 電気透析などによりりん酸と糖液を分離し, 糖液をイオン交換処理により精製後, *Aspergillus terreus* K 26 によるイタコン酸発酵に供する. 一方, りん酸は最終的に肥料として付加価値の高い $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ として分離する.

2-4 遊離型スピクリスポール酸

土壌から分離された *Penicillium spiculisporum* Lehman に属する 1 菌株が, グルコース培地の振とう培養で培地中に多量の針状結晶性物質を生産することが見出され, スピクリスポール酸(S 酸)の遊離型(O 酸)と同定された. 両酸の平衡反応はみかけ 1 次可逆反応で, S 酸/O 酸の比は 80° および 100°C でそれぞれ 5.3, 7.0 であること, 両酸ともに室温では水にほとんど不溶であるが, 温度による溶解度差が著しいことなども明らかにされた.⁷⁾ 本菌の生育および生酸の至適温度はそれぞれ 36°C, 30°C, 至適 pH は 2 以下である. グルコースを培養中間けつ的に添加すると酸生成量は高められ, 10 日間の振とう培養で 110g/l に達し, 収率は消費グルコースに対し約 40% であった.⁸⁾

2-5 その他

Mycobacterium に属するイソプロパノール資化性菌 (N-79, S-1) が α -ケトグルタル酸とこはく酸を蓄積する. α -ケトグルタル酸の蓄積には培地の pH を 4 付近に維持するのが重要で, N-79 菌のジャーフェメンターによる pH 制御培養 (pH 3.5) で酸生成速度 0.015 g/l/hr の結果がえられた.⁹⁾

Brevibacterium ammoniagenes ATCC 6872 から誘導したウロカナーゼ欠失株 KY 10550 は, L-ヒスチジン 10mg/ml から 7.2mg/ml のウロカニン酸を蓄積する.