〔醱酵工学 第60巻 第4号 203-298. 1982〕

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56年度)

日本醱酵工学会支部

Annual Review of FermentationTechnology, Japan 1981

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

分類項目

- 1. 醸造製品
- 2. 有機酸
- 3. アミノ酸
- 4. 核酸および関連物質
- 5. 抗生物質
- 6. 生理活性物質
- 7. 酵素

- 8. 菌体生産
- 9. 廃水処理
- 10. 単位操作・動力学
- 11. 分類
- 12. 遺伝子操作
- 13. その他

1. 醸 造 製 品

Brewing and Foods

1-1 清 酒

1) 原料米および原料処理

へミセルラーゼ処理をした白米より得た蒸し米は吸水性が良くなり、酵素が米粒内部に入り易くなって消化性が良くなった。この結果により、蒸し米内部への酵素の浸透には米粒の胚乳細胞区分が障壁となっていると判明した.¹⁾ また、試験醸造において、白米のへミセルラーゼ処理により、もろみ初期の蒸し米の溶解が促進した.²⁾

アルコール脱水によるα化米製造において,蒸きょう,アルコール脱水から二度蒸しにいたる各工程の粗脂肪の変化を精米歩合85%と73%の白米について検討した結果,各工程で脂肪酸量の減少がみられ,飽和脂肪酸の割合が上昇した.³⁾ また,通常の蒸し米との比

較小仕込み試験を行った結果、もろみ経過、酒質に大差はなかった.4)

米タンパクのグルテリン区分に存在する古米臭のもととなる DMS 前駆物質を陰イオン系の界面活性剤とNaOH を併用して9割以上除去した. とくに SDS は除去率が良かった. 残留界面活性剤は試料をエタノールで還流加熱することにより除去できた.5)

米中の DMS 前駆物質生成の原因について検討した 結果、メチルブロマイドくん蒸処理によって多量に生 成することが明らかになった。新米にメチルブロマイ ド処理をした場合、清酒に多量の DMS 前駆物質が含 まれ、古米酒臭が検出された。また、フォスフィリン でくん蒸した場には、 DMS 前駆物質の増加はほと んど認められず、貯蔵温度、貯蔵湿度の影響もなかっ た。6,7)

米糠の中性脂質画分からワックス系脂質を分離して、その特性と構成成分を明らかにした。米糠中の炭化水素の主要成分はアルカンであり、スクアレンがこのうち16%を占めた。これらの炭素鎖長は奇数鎖からなり、アルカンは C_{29} と C_{31} 、アルケンは C_{29} 、 C_{31} 、 C_{33} が主要なものであった. 8

2) 麴菌および麴

パンを用いた固型培地上で麴菌を培養し、培養温度と培地の水分活性の影響を調べた。比増殖速度は35>30>25°Cの順に高く、水分活性は0.98~0.99が好適であったが、分生胞子着生数は培地水分活性を上昇させると著しく低下した.9)

白米成分の麴菌の増殖および酵素生産に及ばす影響を調べた。比増殖速度は窒素成分が多いほど増大し、発芽の誘導期間は、窒素成分および K^+ が多いほど短縮され、また最大菌体増殖量はリン酸および K^+ によって律速されていることが確認された。acid carboxypeptidase はリン酸および K^+ によって、また、acid protease はリン酸によって生産が増大したが、glucoamylase はリン酸によって単位菌体量あたりの活性が低下した. 10

清酒酵母の香気生成に麴菌の生産物が寄与することが麴菌との混合培養試験および米麴の抽出濃縮物, Aspergillus oryzae 培養液濃縮物の添加により確かめられた.また,麴菌の生産するメバロン酸がこの効果を高める一因子であり、単発酵よりも並行複発酵において香気生成は顕著であった.11)

麴汚染細菌と麴菌の混合培養を蒸し米上で行い,汚染細菌の増殖速度が単独培養に比べて著しく低下し,培養16時間以後はその増殖がみられなくなることが明らかになった。このことより,細菌による汚染時期が培養初期,特に麴菌接種以前であるほどその影響が大きいことが示された。また,汚染細菌としては Micrococcus varians, Bacillus subtilis が出現しやすいことがわかった.12)

3) 清酒酵母

Saccharomyces cerevisiae の主として Ehrlich 経路による高級アルコールの生成と窒素源の影響を調べた。この経路による高級アルコールの生産は、前駆アミノ酸および共存する窒素源の質と量によって強く影響され、菌株によって差が見られた・13)

S. cerevisiae を合成培地で培養すると、培養液中にβ-フェネチルアルコールおよび苦味物質であるチロソー

ル,トリプトフォールが生成されることを確認した。また、β-フェネチルアルコール、チロソールは酵母によりフェニルアラニン、チロシンから生成されることも示唆した. 14

協会 7 号清酒酵母のマンナンの構造は、 $\alpha(1\rightarrow 6)$ 結合の主鎖から $\alpha(1\rightarrow 2)$ 結合の側鎖が分岐したもので、主要部はパン酵母マンナンと同じであるが、最長側鎖がマンノース残基 4 個からなり、その非還元性末端の方に 2 個の $\alpha(1\rightarrow 3)$ 結合をしたマンノース残基がある点で、パン酵母のマンナンとは異なることを明らかにした. 15 また、清酒酵母 6 株、ぶどう酒酵母 5 株、ビール酵母 4 株、焼酎酵母 2 株、アルコール酵母 4 株のマンナンの最長側鎖に由来するオリゴ糖はペンタオースであるのに対して、パン酸母はテトラオースであった. 16

清酒酵母は構成的酸性ホスファターゼを持たないことから、ジアゾカップリング法によるホスファターゼ活性の呈色反応によって野生酵母を短時間に検出する方法が開発された.¹⁷⁾

4) 清酒成分

古米使用清酒の特異臭(DMS)の前駆物質を Sephadex G-15 により分画した. この前駆物質は 3 つの成分からなり、さらに Sephadex G-15, SP Sephadex C-25, Dowex 50×4 によって分離精製し、加水分解した結果、S-アデノシルメチオニンと同定された. 18

清酒中の中高沸点硫黄化合物を FPD-GC で検索した結果, 8個のピーク中からメチオノールを同定した.メチオノールは新酒に多く古酒になると検出されなかった. この物質の嗅覚による閾値は 1.65 ppm であり, 濃い場合にはメチオニン臭, 淡い場合には漬物臭を呈した.19)

素し米に純粋な a-アミラーゼ,グルコアミラーゼ,酸性プロテアーゼおよび酸性カルボキシペプチダーゼを組み合わせた酵素液を作用させ,生成する窒素化合物を分析した.アミノ酸の生成には酸性プロテアーゼは関与せず,酸性カルボキシペプチターゼによることが明らかとなった.生成アミノ酸ではアルギニンが最も多く,ついでリジン,ロイシン,グルタミン酸が多く,シスチン,グリシン,セリン,プロリンの生成は少なかった.20)さらに,酵母により発酵させた場合には,主として蒸し米から生成され酵母により消費されるもの,両者により生成されるが酵母により消費される場合があるグループ,の4つ

に大別された.21)

5) その他

清酒醸造に関連する主要酵素の白米粉その他の穀物粉への吸着性を調べた. 白米粉へは, α-アミラーゼや酸性プロテアーゼはよく吸着されたが, トランスグルコシダーゼは全く吸着せず, グルコアミラーゼと酸性カルボキシペプチダーゼはその中間であった. α-アミラーゼは白米粉, 白玉粉および小麦粉にはよく吸着されたが, そば粉にはあまり吸着されず, 脱タンパクした白米粉にはα-アミラーゼは吸着されず, 酸性プロテアーゼは約60%吸着されることから, この吸着作用には白米成分中のタンパク質, 特にオリゼニンが関与しているものと推測された. 22)

固定化タンニンによる重金属イオンの吸着特性および酸造用水の除鉄を検討した、鉄、銅、鉛イオンはよく吸着され、鉄イオンのうちでは第一鉄、第二鉄、キレートした鉄の各イオン、および有機酸存在下の鉄イオンはよく吸着されたが、フェリクリシンはあまり吸着されなかった。固定化タンニンの鉄イオン吸着容量は用いた鉄イオンの種類、濃度、pHによって変化した。固定化タンニンに吸着した鉄イオンは 0.5 N 塩酸によって溶出され、再生した固定化タンニンは安定に反復使用できた.²³⁾

回転翼型消泡機による清酒醪の消泡機の設計基準が示された. 6 mm の丸棒による消泡では、泡沫密度が0.2以上のときには回転数の増加によってトルクが増加し、高泡初期には消泡翼の長さが12.5 cm 以下では消泡が困難であり、消泡に必要な最小動力は高泡初日において最高値を示し、以後漸減した.²⁴⁾

1-2 その他の酒類

1) 果実酒

野生清酒キラー酵母と低温発酵性のワイン酵母の交配によって、 $13\sim15^{\circ}$ C の低温でも発酵力の強いキラーワイン酵母が得られた。この酵母を用いてワイン酒母を仕込んだ場合、Saccharomyces 属のみならず、Kloeckera、Torulopsis などの酵母も淘汰され、低温で純粋な発酵を行い得る.25)

Saccharomyces 属の酵母の産膜の原因となる細胞表面の疎水性構造は、細胞壁に含まれる脂肪酸によって生じ、とくに結合型の脂肪酸がその効果が高く、その大部分は phosphatidylethanolamine や phosphatidylserine であることを明らかにした。これらのリン脂質は、クロロホルムーメタノール系では抽出され難いが、

細胞壁を pronase 処理することによって細胞壁から容易に抽出できた. ²⁶⁾

市販白ワイン中の caffeoyl tartaric acid (CfT), p-coumaroyl tartaric acid (CmT), caffeic acid, p-coumaric acid を定量した結果, それぞれ, 55, 21, 2.5, 1.7 mg/l となった。CfT, CmT 水溶液は呈味に苦味, 収れん味を与え, その閾値は 50, 25 mg/l 以上であり, 酵素による酸化褐変皮を検討した。²⁷⁾ また, Aspergillus japonicus の数培養物中から, これらの物質を加水分解する酵素 (hydroxycinnamic acid ester hydrolase, HC-EH) が得られたので, このアセトン乾燥粉末をぶどう果汁に添加してワインを試醸したところ, CfT, CmT が消失し, 褐変が抑えられ, 苦味, 収れん味の少ないワインを得た.²⁸⁾

甲州および善光寺種ワインの揮発性成分を分画したところ、ジクロルメタン抽出物の中性画分は最もワインに近い芳香を有していた。また、この種のワインとして、2-メトキシ-5-ビニルフェノールが初めて見出された。29)

ワイン中の脂肪酸エステルを分析し、閾値および odour value を調べ、ワインの香気にとくに ethyl caproate, ethylcaprylate, iso-amyl acetate が寄与することがわかった. 80) また、ワイン中の揮発エステルの生成に、酵母株、補糖、嫌気的発酵、果醪の清澄が特に影響することを明らかにした. 81) また、熟成中における主要有機酸のエチルエステルの生成に対するエタノール濃度、pH,温度の影響を調べた.一塩基酸のエチルエステルは熟成1年でほば均衡値に達したが、二塩基酸のジエチルエステルは熟成するに従って著量に生成した. 82)

ワイン中の有機酸生成に対する各種ワイン酵母,清酒酵母,ビール酵母の発酵条件を調べた結果,コハク酸と酢酸は,温度,糖濃度,pH,酵母の菌株に影響されたが,乳酸,クエン酸は影響を受けなかった.⁸³⁾

各種乳酸菌の無細胞抽出液には、NAD、Mn²+、セミカルバジドの存在下で L-リンゴ酸から直接 L-乳酸を生成する malo-lactic enzyme 活性が認められ、赤ワインのマロラクチック発酵による L-乳酸の大部分は、この酵素の作用によってL-リンゴ酸から直接生成されることが明らかになった.34)

貴腐ワインの成分特性を明らかにするために、同一 ぶどう園で数年にわたって収穫された Riesling 種, Sémillon 種のぶどうによる貴腐ワインと通常のワイ ンの分析を行った.³⁵⁾ また、貴腐ワインの微量香気成 分を分析し、中高沸点微量成分として137化合物が固定され、通常ワインとの間に量的な差を認めた.36)

赤ワイン中のリンゴ酸の分解のために Schizosaccharomyces pombe, Leuconostoc mesenteroides を寒天またはア ルギン酸ソーダにより包括固定し, バッチまたは連続 処理を行った.⁸⁷⁾

亜硫酸耐性ワイン酵母が分離され、 Schizosaccharomyces pombe, Saccharomyces rouxii と同定された. 38)

ワイン中の成分としてダイアセチルが定量され、リンゴ酸量との間に高い相関を認めた。また、甘辛、品種による差異、官能審査との相関を調べた。39) カルボン酸の高感度比色定量法として、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochroride (EDC) を検出に利用した高速液体クロマトグラフィー法を設定した。40) また、ガスクロマトグラフィーによりソルビン酸、41) 糖類42) の定量法が設定された。

2) ビール

ビール醸造における S-メチルチオ酢酸 (MeSAc) の 生成が、酵母による MeSH のアセチル化によるもの であることが明らかになった. 43)

ビール中のポリフェノール類を吸着除去するため、 金属水酸化物が用いられた。 Zr, Ti, Fe の水酸化物は オルソジオール型ポリフェノールをよく吸着し、特に 水酸化ジルコニルが有効であり、これによって処理し たビールは混濁発生までの期間が長かった. 44)

3) ウィスキー

ウィスキーの樽貯蔵中の揮発成分の変化を検討し, 水分,エチルアルコール,アセトアルデヒド,アセター ル,酢酸,酢酸エチルなどの組成の変化を認めた.45)

ウィスキー麦汁の酵母高密度発酵によって高級アルコール類の生成量が増大した. 高温 (63°C) での糖化はアミノ態窒素の溶出も大きく、高密度発酵による高級アルコール類の生成量も増大した. 46)

4) しょうちゅう

泡盛麴および醪から酵母を分離し分類した.47) また、泡盛醸造場の醪から優良泡盛酵母が分離され、泡盛1号酵母と命名した.48) また、泡盛麴の酵素活性と各酵素活性間の相関を調べた.49)

しょうちゅう醸造場から酵母を分離し、その性質を 調べた.50)

1-3 調味料と食品

1) みそおよびしょう油

高濃度の食塩存在下では耐塩性細菌 Tetracoccus soyae

の細胞壁組成が変化することを明らかにした. 培地中の食塩濃度が高くなるにつれてグルコサミンは増加し、ヘキソース量は減少した. また、テイコ酸の構成成分はリン酸、グルコサミン、グルコース、アラニン、リビトールであり、食塩濃度が高くなるとグルコサミン量は増加し、アラニン量は減少した. また、菌体へのMg²+ の吸着量は食塩のない場合に比べて増加したが、反応液中の食塩濃度が高くなると減少した. 51)

しょう油火入れおりの物理化学的解析がなされた. 沈降しやすいおりの粒度分布は $0.79\sim1.26~\mu m$ の粒子の割合が少なく、 $2.0\sim5.04~\mu m$ の粒子が多くなった. その密度分布のピークは $1.26~g/cm^3$ であり、浮遊しているおりの密度は 1.245~b 1.19にピークがあった. また、火入れ工程中、おりの密度、粒子径は増大し沈降性が増した. <math>52)

ゲルクロマトグラフィーにより、しょう油中の高分子窒素化合物を調べた. この成分はエキス重量の $5.7\sim6.9\%$, 総窒素の $2.3\sim5.5\%$ を占め、Sephadex G-50により3つの区分に分かれ、このうち P_{13} 区分は非タンパク態窒素化合物が約50%を占め、アスパラギン酸、グルタミン酸の組成比が高かった. 53

アルコール (2~8% v/w) の添加による低塩たまりを試作し、その品質を調べた、食塩量4.5%以下では通常たまりとは品質が異なり、遊離アミノ酸量が増加した。また、酢酸エチル臭が強く香気が良くなかった、食塩量9%以上の低食塩たまりは、アルコール添加により香気が改良され、アルコール濃度の増加によって色調も濃くなった.54)

みそ醸造において、酵母と乳酸菌の添加割合を変えた場合の影響を調べた、熟成初期にアルコールを急激に生成すると乳酸菌の増殖はみられず、遊離アミノ酸は菌数の添加割合に関係がなかった。乳酸菌の添加割合が多いほど有機酸含量が多く冴えも良かった。55)

電熱によるみその直接加熱方法において、補助電極を用いて部分的にみその品温を上げることによって品温の均一化を図り、好結果が得られた.56)

2) 食酢

食酢を長期間貯蔵した場合,蒸気分圧および蒸気成分中の酢酸濃度が低下し,貯蔵期間の長いほど著しいことが認められた。また,食酢中の主要微量成分,エタノール,酢酸エチル,糖の影響を調べた.⁵⁷⁾

細菌,酵母,かびに対する合わせ酢の殺菌力を調べた. 殺菌力は細菌に対しては,ブドウ糖により弱められ,塩化ナトリウムにより強められたが,かびに対し

てはこの逆であった. 酵母に対しては両者により弱められた.⁵⁸⁾

3) その他

味りん煮切の生成機構を調べ、糯米のタンパク質に中性およびアルカリ性プロテアーゼが作用し、タンパク質分解物が生成し、醪日数が経過すると味りん中に溶解してくることが確かめられた.59)また、味りんの白ばけは、温度をあげるか、アミラーゼの添加、ボーメの低下などの操作によって清澄化した.60)

トランスグルコシダーゼを添加して、非発酵性のオリゴ糖が60%に及ぶ味りんを製造した. この味りんは 寒冷晶出のないものとなった.⁶¹⁾

清酒かす熟成中の成分変化を調べた。アミノ酸,直糖,総酸,エタノール,高級アルコールのうち,n-プロパノール, β -フェネチルアルコール,エステル類のうちとくにカプリル酸エチルとカプリン酸エチルは増加したが, α -アミラーゼ,グルコアミラーゼ,酸性プロテアーゼ活性は漸減した. 62)

奈良漬製造における清酒から白うりへの成分の移行を調べ、漬け込み期間は約2週間要することが明らかになった。⁶³⁾

Streptococcus thermophilus \succeq Saccharomyces cerevisiae の 併用によるチーズよう大豆タンパク質食品の製造法が 検討され、試料熟成中の酸度、pH の変化、酵母の消長、窒素成分の変化の分析と製品の官能検査が行われた. $^{64)}$ また、遊離脂肪酸および中性揮発性成分が分析 された. $^{65)}$

半発酵茶(鳥龍茶)の香気成分が GC-MS 法により分析された.テルペンアルコール,ベンジルアルコール,フェニルエタノールは上級茶に多く,これらは製造中に不揮発性の成分から酵素分解によって遊離してくると推定される.66)

調理時の肉の特性に対する清酒および発酵調味液の 添加効果を調べた.冷凍鯨肉の水分含有率,重量,水 分,乾物量,調味液の固形分について測定値と調味液 の成分との相関性を調べ,試料間の差についてモデル 系により検討した.^{67,68)}

文 献

- 1) 吉沢, 百瀬, 蓮尾:酸協, 76,280 (1981).
- 2) 吉沢, 百瀬, 蓮尾: 醸協, 76, 284 (1981).
- 3) 中井, 花本, 中沢, 草間, 清水, 三島, 竹村: **酸** 協, **76**, 263 (1981).
- 4) 中井, 花本, 中沢, 草間, 清水, 三島, 竹村: 醸協, **76**, 651 (1981).

- 5) 難波,大場,北本,土橋,小田:釀協, 76,63 (1981).
- 6) 北本, 大場, 難波: 醸協, 76,491 (1981).
- 7) 前川, 横山, 田端, 新家, 西羅: 醱酵工学, 59, 483 (1981).
- 8) 伊藤, 鈴木, 藤野: 農化, 55, 247 (1981).
- 9) 桜井, 塩田:酸協, 76, 129 (1981).
- 10) 岡崎, 深谷, 菅間, 田中: 醱酵工学, 59, 491 (1981).
- 11) 小泉, 鈴木, 佐藤, 角田, 野白: 醱酵工学, 59, 29, (1981).
- 12) 奈良原: 醱酵工学, 59, 207 (1981).
- 13) 大内, 高岸, 山本, 秋山: 醱酵工学, 59, 9 (1981).
- 14) 岡村,渡辺:醸協,76,629 (1981).
- 15) 熊谷, 布川, 秋山: 農化, 55, 209 (1981).
- 16) 熊谷, 布川, 秋山:農化, 55, 217 (1981).
- 17) 溝口,藤田:醱酵工学,59,185 (1981).
- 18) Kitamoto, K., Ohba, T., Namba, Y.: Agric. Biol. Chem., 45, 1713 (1981).
- 19) 大場, 高橋, 飯田, 北本, 佐藤, 難波: 醸協, **76**, 487 (1981).
- 20) 布川, 飯塚, 岩野, 斉藤: 醸協, 76, 267 (1981).
- 21) 岩野, 飯塚, 斉藤, 布川: 醸協, 76, 272 (1981).
- 22) 椎木, 五味, 恩田, 細野, 布川: 醱酵工学, **59**, 23 (1981).
- 23) 森, 渡辺, 土佐, 千畑, 岩野, 布川: 醸協, 76, 111 (1981).
- 24) 柴田, 徳村, 深谷: 醱酵工学, 59, 49 (1981).
- 25) Hara, S., Iimura, Y., Oyama, H., Kozeki, T., Kitano, K., Otsuka, K.: Agric. Biol. Chem., 45, 1327 (1981).
- Iimura, Y., Hara, S., Otsuka, K.: Agric. Biol. Chem., 45, 1113 (1981).
- Okamura, S., Watanabe, M.: Agric. Biol. Chem.,
 45, 2063 (1981).
- 28) 岡村,渡辺:農化,55,1099 (1981).
- Shimizu, J., Watanabe, M.: Agric. Biol. Chem.,
 45, 2797 (1981).
- Shinohara, T., Watanabe, M.: Agric. Biol. Chem.,
 45, 2903 (1981).
- 31) Shinohara, T., Watanabe, M.: Agric. Biol. Chym., 45, 2645 (1981).
- 32) 篠原, 清水:農化, 55, 679 (1981).
- 33) Shimizu, Y., Watanabe, M.: J. Ferment. Technol., 59, 27 (1981).
- 34) 原, 水野: 醱酵工学, 59, 17 (1981).
- 35) 湯目, 銭林, 達: 醱酵工学, 59, 169 (1981).
- 36) 湯目, 西村, 増田, 銭林, 大川: 醱酵工学, **59**, 177 (1981).
- 37) 戸塚, 原:酸酵工学, 59, 231 (1981).
- 38) 中野, 薄井, 杉本, 根元:酸協, 76,624 (1981).
- 39) 高沢:醱酵工学, 59, 225 (1981).
- 40) 島津,渡辺:醸協,76,418 (1981).
- 41) 松川, 長尾, 松本, 戸川:酸協, 76, 195 (1981).
- 42) 岩野, 佐藤, 水野, 高原, 佐野, 木崎, 辻, 梅田, 戸塚, 川島: 醸協, **76**, 778 (1981).
- 43) Matsui, S., Yabuuchi, S., Amaha, M.: Agric.