

4 発 酵 工 業 部

4. 1 業 務 概 要

発酵工業部は酒類、調味食品、食品保蔵、菓子類、清涼飲料水、有機酸、飼料その他一般農産加工品製造技術向上のために試験研究、技術指導、技術相談、技術講習会、現地指導、鑑評審査会などを行ない、また商工振興課と協力して焼酎関係の工場診断を行ない、製造設備近代化並びに製造技術改善について勧告、促進を行なった。

一般試験研究関係では乙類しょうちゅうの製造法の合理化、コストダウンを目的とする甘しょ製しょうちゅうの酵素仕込みについてそれぞれ分担して研究を行なった。即ち酵素仕込みの場合の仕込条件、蒸溜条件、蒸溜後の製品の貯

蔵条件、製品貯蔵中の成分変化等について試験研究を行なった。

このほか昨年度に引き続いて観光資源開発を目的としてパッション濃厚ジュース、かつおみそについて試作試験を行ない、また酢みそ、生揚げしょうゆの保蔵についても試験研究を行なった。また山いもの真空凍結乾燥を行ない、粉末山いものによって特産かるかんの年間製造可能の見通しを得た。

でん粉廃水処理関係では廃水のクエン酸発酵への利用に関して、引きつづき工場試験を行なったが効果的に利用できることが判った。

4. 2 試 験 研 究

4. 2. 1 糖化酵素剤利用による甘しょしょうちゅう製造に関する研究 (しょうちゅう第25報)

松久保好太郎、長谷場 彰、有水とみ子

〔まえがき〕

近年こうじの代替物として糖化酵素剤を利用する清酒醸造¹⁾やアルコール製造²⁾が広く行なわれるようになったが、本格しょうちゅうでは報告が少なく、さきに筆者らの行なった米しょうちゅうの報告³⁾のほかには見当らない。

本報では、給源微生物の種類異なる糖化酵素剤を利用し、併行複発酵形式、すなわち 30°C の恒温器内で酵素糖化を進めながら発酵を行わしめる方法により、主に CO₂、アルコール蓄積量により、甘しょしょうちゅう製造への利用を検討した。

〔実験方法〕

1 酵素剤とこうじ

Rhizopus (天野製菓製、グルクSB)、
Endomycopsis (松谷化学製、マツラーゼM)
Asp. niger (天野製菓製、グルクザイムN)
Asp. oryze (三共製菓製、タカジアスターゼ)
の4種類の糖化酵素剤と比較のため実験室で製造した Asp. Kawachii による米こうじを使用

したが、それぞれの酵素力価は、表1に示したとおりである。

表1 糖化酵素剤と米こうじの酵素力価

種 類	糖 化 力	α -アミラーゼ (D _{40°} 30')
Rhizopus	17,000	185,000
Endomycopsis	26,600	246,000
Asp. niger	12,400	25,000
Asp. oryze	11,900	293,000
Asp. Kawachii (米こうじ)	15.7	—

力価測定は国税庁法⁴⁾による。いずれも1g当り

2 甘しょと処理方法

原則として農林2号の生甘しょを約1cm立方の角切りにして、その200gを500ml容、三角プラスチックにとり、水道水 140mlを加えて、常圧で40分間蒸煮した。

3 酵 母

業界に分譲している鹿工試しようちゅう酵母をこうじ寒天に、3～5日培養したものを殺菌水中に懸濁し、1培養あたり $1\sim 2\times 10^8$ Cell接種した。

4 発酵方法

酒母を立てることなく、原料甘しょを、蒸煮後、室温まで冷却し、酵素剤水溶液および酵母懸濁液をあわせて10mlを添加、パラフィン紙で蓋をしたあと輪ゴムで止めて、30°Cの恒温器内で発酵を行なった。蓋についての予備試験結果では、硫酸管を付けた場合⁵⁾と大差を認めなかったなのでこの方法を採用した。

5 分析方法

i) CO₂発生量

重量の減量分をもってCO₂発生量とした。

ii) アルコール

もろみ200gを秤取し、国税庁法⁴⁾にならって蒸溜、測定し、もろみ重量中のアルコール容量をもって、濃度および生成量を表わした。

iii) 糖定量

ソモギー変法⁶⁾による。

iv) 酵母数測定法

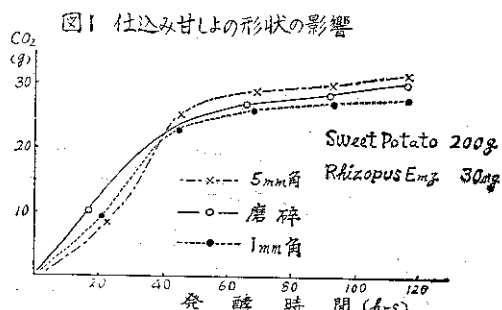
もろみ5gを0.1N カセイソーダ液50mlで懸濁し、300メッシュ標準フルイ通過部分と洗じょう水および水とで100mlとし、トーマの血球計数器を用いて計測した。

〔実験結果と考察〕

1 仕込甘しょの形状

仕込甘しょの大きさは、糖化のみならず、もろみの粘度にも関係するので、種々の大きさに調整して発酵試験を行なった。

その減量をCO₂と見なし、図1に示した。



培養初期は、形状の小さい程発酵が活発であるが、後期においては、ほとんどその差は認められない。

2 仕込濃度

汲水の量を変えて仕込んだ結果を表2および図2に示した。

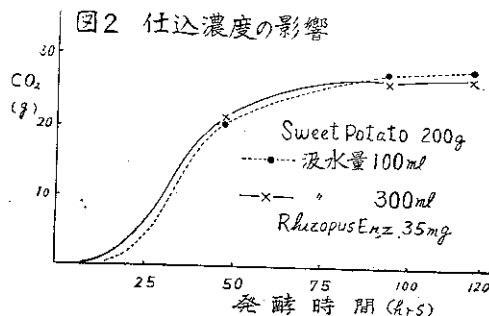


表2 仕込濃度の影響

汲水量 ml		100	150	200	300
固型分 %		23.6	20.0	17.5	14.0
培養 136 時間 後	CO ₂ g	29	28	29	28
	アルコール { % g	11.48	9.69	7.98	6.26
		30.88	30.33	28.81	28.73
	残全糖 { % g	1.93	2.47	2.08	1.62
		5.02	7.74	7.50	7.44
	酵母 { もろみ1g中 全培養中 ×10 ⁸ ×10 ¹¹	4.76	4.10	4.34	3.22
		1.24	1.28	1.57	1.48

甘しょ ; 200 g

酵素 ; Rhizopus Enz. 35mg

汲水量を甘しょの50%以下にすると蒸煮が不十分となるのみでなく、粘度が高くなり、かく拌も困難となる。従って、甘しょだけを使用する場合の糖濃度は20%が限度と思われる。

この試験の範囲では、汲水量が少なく濃度の高い方が、収率はいくらか良いが、著しい差は認められない。

3 pHの影響

普通のいもしょうちゅうのこうじは、クエン酸生産性の強い黒カビ系統の菌種であるから、もろみの酸度はかなり低いことが特徴であり、酒母で、pH3.2～3.4、二次もろみは約 pH 4.0である。

一方市販の糖化酵素剤の最適 pH は、給源の微生物の種類によって多少の差はあるが一般にしょうちゅうもろみより高く、pH 4.2～5.0で

ある。

本報では、クエン酸を添加して培地の pH を変え、その結果を図 3 および図 4 に示した。

図 3 PH の影響 (その 1)

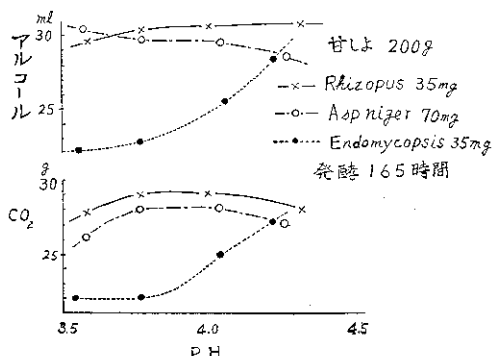
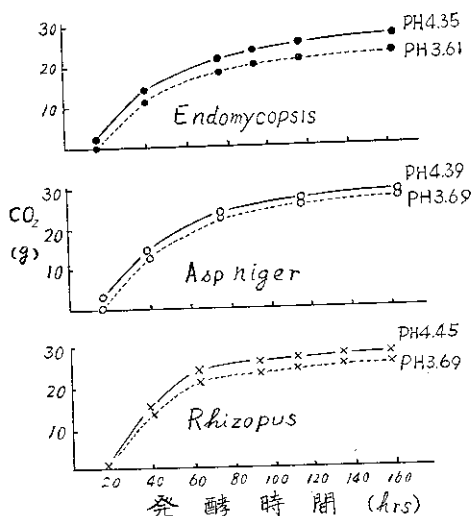


図 4 PH の影響 (その 2)



Endomycopsis の酵素は pH 4.5 前後に最適値があり、pH が低下するとその影響が他の菌種にくらべて大きい。

Rhizopus は pH 4.2 位が適値のようであり、或る程度 pH が低くなっても影響は少ない。

Asp. niger の酵素の適値は供試酵素中で最も酸性側にあり、pH の変動による影響も最も少ない。

これらのことから pH の点だけを考えれば、こうじと併用して酵素剤を使用する場合、pH の低い一次においては、Asp. niger か Rhizopus の酵素を使用するのが合理的であるが、二次の場合は、pH の低下は少ないので、どの酵素を

用いても影響はほとんどないと思われる。

図 5 PH による糖化力の変化

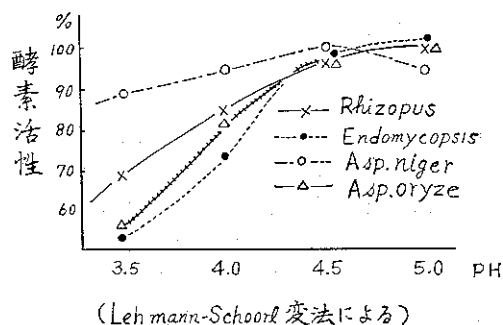


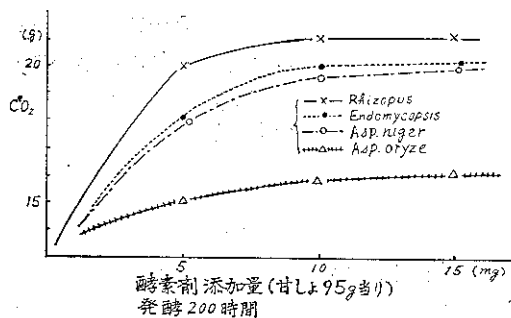
図 5 に pH を変えて測定した糖化力を示したが、これは図 3 と同じ傾向を示しており、pH 4.5~5.0 の範囲では pH による力価の影響はほとんどないが低 pH では酵素による差が大きいすなわち Asp. niger が酸性に強いのに対し、Endomycopsis が最も低 pH の影響を受け、Rhizopus はその中間にあり更に、Asp. oryze は、Endomycopsis と Rhizopus の中間にある。

国税庁法⁴⁾ その他の糖化力測定法^{7) 8)} では pH 5.0 で測定することが条件になっているものが多いが、しょうちゅうもろみのように pH が低い場合、測定もそれに準じた pH の下で行なうべきであり、しょうちゅうの場合一次(酒母)用には pH 3.5、二次用には pH 4.0 と二つの条件で測定することを提案したい。

4 酵素剤の使用量

酵素剤の使用適量をしらべるために、300ml 容三角フラスコに生甘しょ 95g 宛秤取し、酵素量を変えて添加して経時的に重量を測定し、図 6 に減量を CO₂ として示した。

図 6 酵素剤の使用量



Rhizopus が最もすぐれており、原料デンプン 1 g 当り 500mg の使用量で最高値に達し、それ以上添加量を増加しても効果はない。Endomycopsis がこれに次ぐが、添加量を増加しても Rhizopus には及ばない。この実験に使用した Asp. niger の酵素剤は希釈されており糖化力が弱い、添加量をふやせば Endomycopsis と同程度の効果は得られる。Asp. oryze の場合、Asp. niger と同程度の糖化力価であるがこの実験では、その作用はかなり弱く、このような用途に単独使用することは、適していないように思われる。

Rhizopus 酵素のすぐれている理由については、その含有する酵素組成、微量栄養分などが考えられるが、更に検討を加えたい。

大部分の酵素剤はデンプン、デキストリン、ケイソウ土などで希釈されて、適当な糖化力に調節されているので、その重量で使用量を決めることは適当でなく、原料デンプン当りの糖化力価で決めるのが正しいと考える。

この実験に用いた Rhizopus 酵素の場合、デンプン重量の $\frac{1}{2000}$ 使用すれば、単独使用で糖化力は十分と思われ、その時の使用糖化力価はデンプン 1 g 当り 6.5 単位（国税庁法）と算出される。

5 他種酵素併用の効果

糖化酵素のほかに甘しょ分解に関係する酵素として考えられるものに、 α -アミラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼなどがあり、これらを添加した影響をしらべた。用いた酵素の種類と作用条件は、表 3 のとおりである。

表 3 各種酵素剤と作用条件

種 類	メーカーおよび 商 品 名	使 用 量 (むしいも 200g 当り)	作用条件
糖化酵素	天野；グルク SB	30mg	55°C 3 時間
液化酵素	阪急； リクフィアーズ	30mg	90°C 40 分
繊維素 分解酵素	上田化学； セルロイシン APC	20mg	55°C 3 時間
ペクチン 分解酵素	三共；スクラーゼ	10mg	55°C 3 時間

これらの酵素を組み合わせ、作用させた後常温になってから酵母を接種した。

酵素の組み合わせと発酵の結果を表 4 に示す。

表 4 各種酵素の添加効果

種 類	No.	A	B	C	D	E
糖 化 酵 素		+	+	+	+	+
液 化 酵 素		-	+	+	+	-
繊維素分解酵素		-	-	+	+	-
ペクチン分解酵素		-	-	-	+	+
CO ₂ (g)		32	32	31	32	31
アルコール (ml)		31.42	31.91	29.70	31.07	31.22
消 費 糖 (g)		56.28	57.05	57.09	56.86	56.67

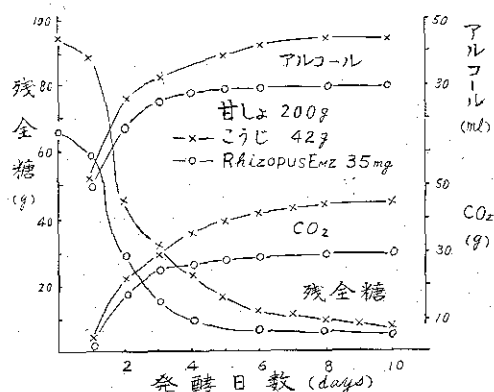
発酵；160 時間

表で明らかなように、糖化酵素以外の酵素を添加してもほとんど効果を認めない。これは糖化酵素剤が糖化酵素以外に他の酵素をも含有していることと、発酵液中では生産された糖が消費されるので、加水分解が進み易い条件下にあることなどによるものと考えられる。

6 発酵経過

糖化酵素剤 (Rhizopus) だけを用いた場合とこうじを用いた場合との発酵経過を、図 7 に示した。

図 7 発酵経過



糖化酵素使用区の発酵は 6 日目にはほとんど最高に達するが、こうじ使用区は 2 日目位おけている。これはこうじに含まれるデンプンの消費に時間を必要とするためと考えられる。酵母数は図示しなかったが両試験区とも 3 日目で最高に達し、絶対数はもろみ 1 g 当り 3×10^8 で両方ほとんどが同じである。pH は当然、こうじ

使用区のものが高く、始発はそれぞれpH3.9, 4.9 であり、こうじ使用のものがあまり変動しないのに対し、酵素使用区は2日目pH4.4, 3日目4.3に下がり、それ以後は横ばいとなる。このことは、こうじの緩衝力の強いことを示している。

表5 酵 素, こ う じ 併 用 試 験

酵 素 剤	種 類	—	Rhizopus			Asp. niger		Endomycopsis		Asp. oryze	
	使用量 (mg)	—	35	17.5	8.75	35.0	17.5	17.5	8.75	35	17.5
こ う じ (g)		40	0	20	30	20	30	20	30	20	30
pH		4.23	4.59	4.52	4.46	—	4.42	—	4.43	—	4.45
CO ₂ (g)		41	30	35	39	37	39	35	39	36	38
ア ル コ ー ル	もろみ中濃度 (%)	12.95	9.60	11.54	12.43	11.57	12.33	11.40	12.42	11.07	12.15
	培養当り収量 (ml)	45.20	30.01	37.51	41.39	37.60	40.94	37.16	41.36	36.00	40.33
	対使用糖当り収率 (%)	53.56	52.34	52.85	53.29	52.98	52.70	52.37	53.24	50.69	51.93

甘しゅ 200g (全糖57.58g)

こうじ (全糖66.99%)

発 酵 160時間

Asp.oryze の収率が僅かに低いほか、酵素剤の違いによるアルコール収率には、ほとんど差が認められない。この場合極端な pH の低下がなく、糖化作用がすべての酵素剤について適当なpH4.4附近で行なわれ、かつ酵素量も必要量以上であったことによると考えられる。

このように、糖化酵素剤は給源微生物の種類は異なっても、その効果にはほとんど差が認められず、こうじの代替物として 100%使用しても使用全糖当りのアルコール収量には大差がない。しかしこうじの役割りとして、一般にいわれている¹⁰⁾ ①糖化作用、②香味付与、③雑菌防止、④酵母栄養源補給のほかに、⑤もろみ糖濃度を高くする役割りをも果しており、発酵効率を考えると重要な問題である。

甘しゅしょうちゅうの場合、糖化酵素だけを使用すれば、もろみ中のアルコール濃度を10%以上になるように仕込むことは極めて困難であるが、米こうじでは、高濃度に仕込んで米粒がカビの菌糸に保護されているために、もろみの粘度はさほど上がらない。

7 こうじとの併用試験

実際のしょうちゅう工場に適用する場合は、こうじとの併用が考えられるので、表5に各酵素剤とこうじとを併用した場合の実験結果を示した。

〔まとめ〕

Rhizopus, Endomycopsis, Asp. niger, Asp.oryze を給源とする糖化酵素剤をそれぞれ、甘しゅを原料にした併行複発酵形式で使用し、しょうちゅう製造への利用を検討した。

各酵素剤は、それぞれ糖化力、液化力が異なり、最適 pH にも多少の差があるが、その適量を単独、又はこうじと併用して使用した場合、Asp.oryzeの単独使用の場合を除いて給源微生物の種類による差はほとんど認められなかった。

酵素剤は適当に希釈されて糖化力を低くしてあるが、例えば本実験に用いた Rhizopus 系酵素剤の場合、原料デンプンに対して1/2000 (デンプン1g当り約 6.5単位) 使用すれば、糖化力に関する限り単独使用で十分である。

しかし、こうじの使用量が少なくなると、もろみの糖濃度の低下はさけられず、効率が落ちるので、糖濃度を高める方法を講ずる必要がある。

糖消費、アルコール、CO₂の関係、香味などについては更に検討を加えたい。

酵素剤は天野製薬株式会社、松谷化学株式会社、上田化学株式会社、阪急共栄物産株式会社の各社の提供によるものである。

〔文 献〕

- 1) 伊藤ほか；醸協60, 72 (1965)
飯田ほか，醸協64, 163 (1969)
- 2) 出水アルコール工場；発協26, 164(1968)
- 3) 松久保ほか；昭和39年度本報告書 P41
- 4) 国税庁所定分析法注解

- 5) 東大農化実験書 上 P 256
- 6) 東大農化実験書 下 P639
- 7) J I S K7001
- 8) 発酵協会；アルコールハンドブック P118
- 9) シュガーハンドブック P692
- 10) 熊本国税局；醸協64, 141 (1969)

4. 2. 2 乙類しょうちゅうの蒸溜管理に関する 諸問題について（しょうちゅう第26報）

西野 勇実, 山口 巖

〔まえがき〕

前年度業務報告（しょうちゅう第23報）において、9種類の蒸溜機型式について、いも製しょうちゅうもろみの蒸溜試験を行ない、蒸溜機の型式によってその製品が成分的にも、また特に官能的な酒質において顕著な影響を受けることを確認し、更にこの9種類の中では直接加熱を行なう単式蒸溜型式がもっともよかった事実を指摘した。

今回は直接加熱方式の中で更に蒸発缶の外側を直接電熱で加熱する型式と蒸発缶の中にニクロム線を投入し電熱加熱する型式とを比較検討するとともにその他の諸問題について蒸溜試験を行なった。

〔実 験〕

(イ) 直接加熱方式の中の3型式について

試験番号	加 熱 型 式	評 点	酒 質
1	フラスコヒーターによる電熱直接加熱	A	白濁多く風味濃厚
2	オイルバスによる直接加熱 オイル温度130°C~150°C	B	風味濃厚だが油臭を感ず
3	電熱投入ヒーターによる直接加熱	A	きれいで風味も十分

(註) 供試もろみは米製しょうちゅうもろみでアルコール分17.0%，蒸発缶には1ℓ入りガラス製丸底フラスコ使用，もろみ量400ml，溜出量は160ml。溜出製品はアルコール分約40%であり製品の成分については最後に一括して表記する。

この試験では、固形物を含む状態ではオイルバス式の外側加熱型式は余りよくない結果が出た。

(ロ) 再蒸溜の場合における直接加熱方式3型式の検討

試験番号	加 熱 型 式	評 点	酒 質
4	フラスコヒーターによる電熱加熱	A	白濁多く風味濃厚できれい
5	試験4と同条件	A	同 上
6	試験4の後溜区分	C	く さい
7	電熱投入ヒーターによる直接加熱	A	大変きれいだ がうすい感じ
8	同 上	A	同 上
9	試験7の後溜区分	C	く さい
10	オイルバスによる直接加熱 オイル温度130°C~150°C	B	香りにやや焦臭に似たものがある
11	同 上	A	試験7にやや劣るが大体よい
12	同 上	B	香りに多少の難点がある
13	実験10の後溜区分	E	相当に垂重臭が強い

乙類しょうちゅうの蒸溜に当り、直接加熱方式の中で上記3つの型式を使って再蒸溜の場合の影響を検討した所フラスコヒーターによる単純な直接加熱方式が最もよく、オイルバス式の加熱法ではその製品も、また後に残る後溜区分もともに悪く、従ってオイルバス式では初溜，中溜，後溜全区分にわたって何らかの悪影響を受けているように思われた。

オイルバスの場合出来るだけ低温蒸溜が行なわれるよう電力を調整したため蒸溜に比較的長時間を要し、その間もろみの沸騰回転不良等に由来するようにも思われた。尚、この実験に用いた試料はアルコール分19.9%の米製もろみで蒸気直接吹込み蒸溜を行なったものである。またこの溜出成分については後で一括して表記す