- Ann. inst. Pasteur*, 90, 229 (1956). (10) M. Raynaud, M. Macheboeuf : *Compt. rend.*, 222, 694 (1946).
- (7) T. E. Friedemann : *J. Biol. Chem.*, 123, 161 (1938). (11) A. R. Prévot : *Manuel de Classification et de Détermination des Bactéries Anaérobies*. Masson, édit., Paris, 1948 2^e édition.
- (8) R. Mamelak, J. H. Quastel : *Biochim. Biophys. Acta*, 12, 103 (1953). (12) 土井新次, 菅間誠之助, 清水宗年: 本誌, 32, 554 (1958).
- (9) J. Guillaume, H. Beerens, H. Osteux : *Ann. inst. Pasteur*, 91, 721 (1956).

液体麴に関する研究 (第4報)*

エアーリフト式培養槽(ビルトイン型)について

富金原 孝, 小林次郎, 江口 通 (科学研究所)

石田 彰, 三好靖彦, 戸部貞次郎 (野田醤油株式会社)

昭和 32 年 12 月 26 日 受 理

第3報⁽¹⁾においてエアーリフト通気型式を用いて液体麴の培養試験を行い, そのアミラーゼ力価と他の通気攪拌型式によるアミラーゼ力価とを比較検討した. その結果エアーリフト通気型式による液体麴の培養は 2, 3 の工業上の利点を有していることを認めた.

第3報の培養槽は, エアーリフト装置が槽外に設けられているが⁽²⁾, このようにすると培養槽自体の構造も少々複雑になり, またエアーリフトパイプ(上昇管)が長いために, 特に冬期においては培養中に温度降下も相当あると考えられるので, これらの欠点を改善するため, 大型の培養槽にエアーリフト型式を取り入れるために, エアーリフト装置全部を培養槽内に設けた“ビルトイン型式”(Built-in type)を考案した⁽³⁾.

予備試験により設計に必要な基準を求めて, こはに基いて, 容量 3,600 l のビルトイン型式のエアーリフト培養槽を設計した.

この培養槽を用いて液体麴を培養し, アミラーゼ生成状態を調べ, これらの液体麴を用いて 300 石のアミロ折衷法仕込の工業試験を行った. これらの試験およびその結果について報告する.

1. 設計の基準および培養槽の概要

a) 設計の基準について 液体麴の培養において菌株, 培地, 培養温度, pH 等を一定にした場合にアミラーゼ生成に関係する大きな因子には, 酸素の移動および消費量と菌体がうける物理的エネルギーとがあると考えられる.

酸素の移動量は K_a の測定⁽⁴⁾により, 培養槽が小型の場合は解決されるが, 大型の培養槽においては K_a の実測は少々困難になる. エアーリフト式培養槽においては上昇管の空気流速 (U_0) の差異により, アミラーゼの生成量やアミラーゼ組成比に差異を生じるので⁽¹⁾, この関係を検討して, スケール・アップの基準を求めることにした.

第1表 上昇管内空気流速 (U_0) とアミラーゼ比との関係

試験番号	上昇管 通気量 (l/min)	底部 通気量 (l/min)	上昇 管数 (本)	空気流速 (U_0) (m/sec)	アミラーゼ比 (R. D. V. / α -A. A.)
No. 1		1100	0		1.3
No. 2	1100		2	2.04	0.5
No. 3	1100		3	1.36	0.8
No. 4	1100		6	0.68	0.9
No. 5	1100		8	0.51	1.2
No. 6	1028	104	4	1.28	1.0
No. 7	1083	97	8	0.58	1.5

通気量の測定: メインフィルターと最終フィルターとの間にオリフィースを入れて測定した.

試験方法: 1,200 ϕ ×3,200 mm の培養槽に 2.5 ϕ ×3000 mm の上昇管を入れて, そのパイプの本数を変えて液体麴を培養し, アミラーゼの生成状態を調べた.

使用菌株は *Asp. awamori* var. *fumeus* (AF-1) で, 仕込量は 3,240 l で, とうもろこし粉 56 kg, 米糠 22.5 kg, 麴 78.5 kg, NaNO₃ 1 kg, 塩酸 2.3 l である. α -amylase 力価⁽⁵⁾と R. D. V.⁽⁶⁾とを経時的に

* Studies on Submerged Mold Amylase. Part IV. On Air Lift Fermentor (Built-in Type).

By Takashi FUKINBARA, Jirō KOBAYASHI and Tōru EGUCHI (The Scientific Research Institute, Ltd.), Akira ISHIDA, Yasuhiko MIYOSHI and Sadajirō TOBE (Noda Shōyu Co. Ltd.).

測定して、 $R.D.V. \div \alpha\text{-amylase}$ 力価をアミラーゼ比として表した。

結果：試験結果は第1表の通りである。試験に用いた毎分の通気量は対醗 1/3 vol で行った。

No. 1 はエアーリフト通気は行わないで培養槽の底部より通常の通気を行ったもの、No. 2, 3, 4 および 5 はそれぞれ上昇管を 2, 3, 6 および 8 本を使用してエアーリフト通気を行ったもの、No. 6 および 7 は上昇管通気と底部通気とを併用したもので、No. 6 は上昇管 4 本、No. 7 は上昇管 8 本を使用したものである。

底部通気の場合、アミラーゼ比は $R.D.V.$ rich になり、上昇管通気の場合 U_0 を早めると $\alpha\text{-amylase}$ rich となり、 U_0 をおそくすると底部通気のように $R.D.V.$ rich になる傾向がある。

エアーリフト型式の特徴は $\alpha\text{-amylase}$ 力価を高め得ることにあるが、余り U_0 を早めると培養 pH が上昇して $\alpha\text{-amylase}$ 力価は高くなるが、 $R.D.V.$ は逆に低くなる。上昇管の空気の流速が 1.0~1.5 m/sec 程度のときにアミラーゼ比も適当な割合になっているので、この範囲を設計の基準にした。

第1図 ビルトイン型エアーリフト培養槽

- 1: 排気口 2: シャワー
3: エアーリフトパイプ
4: 底部通気管
5: エアーリフトノズル

第2表 エアーフィルターの空気の線速度および空間速度

	通気量 (vol/min)	線速度 (m/sec)	空間速度 (l/sec)
メインフィルター	1/2	0.27	0.11
メインフィルター	1/3	0.18	0.07
最終フィルター	1/2	0.18	0.26
最終フィルター	1/3	0.11	0.16

b) ビルトイン型培養槽 ビルトイン型培養槽の構造は第1図に示す通りのものである。培養槽の大きさは $960\phi \times 4,200$ mm で、上昇管は $3\phi \times 4,000$ mm のものを2本入れ、菌体および固形培養源の沈降を防ぎ、また攪拌効果を増すために底部に2ヶの普通の通気ノズルを設けた。培養槽の底部はジャケットにして培養中の温度調節が出来るようにした。

培養量を 2,700 l にして毎分対醗 1/2 あるいは 1/3 vol の通気を行うと、 U_0 はそれぞれ 1.46 m/sec, 0.91 m/sec になる。なお槽内培地の1循環に要する時間は実測しなかったが、計算すると毎分対醗 1/2 vol の通気で 5.7', 1/3 vol の通気で 6.3' 程度となる。

2. 液体麹の培養試験

上記の培養槽を用いて液体麹の培養試験を行い、アミラーゼの生成状態を調べた。なおこの培養に使用した通気関係の設備その他は以下の通りである。

コンプレッサーは 25 HP の横型1基で、空気貯槽の容量は $700\phi \times 1,800$ mm 1槽で、メインエアーフィルターは $560\phi \times 800$ mm 3本を直列に用い、最終エアーフィルターは $400\phi \times 700$ mm 1本を使用した(充填材はグラスウール)。なおメインフィルターと最終フィルターとの間に空気量を測定するためにロタメーターをつけた。

参考のために、エアーフィルターの空気の線速度および空間速度を示すと第2表の通りである。

a) 培地および培養条件 培地には麴 64 kg, 切干粉 27 kg, 米糠 13.5 kg, NaNO_3 3.7 kg, HCl 3.0 l を用い、これに加水して蒸煮後の容量が 2,700 l になるようにした。培地をヘンツェ型の蒸煮器に入れ、 100° で1時間の常圧蒸煮に引き続いて 143° で1時間

の加圧蒸煮を行った後、これを培養槽に送り込み、 30° まで冷却した。*Asp. awamori* var. *fumeus* (AF-1) の 11 フラスコ馬鈴しょ培地種 1 本を無菌的にこれに接種した。

培養温度は $30 \pm 1^\circ$ で、通気量は毎分 900~1,800 l (対醗 1/3~2/3 vol) の範囲で行い、通気方法は上昇管あるいは底部通気のもの、あるいは両者を併用したものの各種を用いて、試験期間中に 74 回の培養を行った。なお通気時間は 64 時間に規正した。

b) 分析 蒸煮醗については常法により pH, 酸, 全糖および直糖を測定し、培養醗については経時的に上記の項目の外 Wohlgemth 変法⁽⁵⁾により $\alpha\text{-amylase}$ 力価を、また $R.D.V.$ の測定により⁽⁶⁾糖化力価を求めた。

c) 結果 74回の培養試験中代表的な仕込例についてその結果を示すと第3表の通りである。No. 1~No. 6 は上昇管通気を毎分 900 l 行い、これと同時に底部通気を毎分 450 l 行ったものであるが、アミラーゼ比は平均 1.0 で $\alpha\text{-amylase}$ 力価の強い液体が得られている。

No. 7~No. 10 は上昇管通気は上記と同様であるが、底部通気を毎分 900 l にして強めたもので、アミラーゼ

第3表 培養試験結果

仕込 番号	通気量 l/min	初発 pH	全糖 %	最終 pH	残直糖 %	α -アミラーゼ D ¹⁰⁰ ₅₇₉	R. D. V. G-mg	アミラーゼ比 R. D. V./ α -アミラーゼ
1	1,350	4.5	1.84	4.7	0.33	40	35.7	0.9
2	1,350	4.6	1.83	4.7	0.26	33	35.6	1.0
3	1,350	4.7	1.99	5.3	0.16	40	36.9	0.9
4	1,350	4.6	1.99	4.6	0.55	33	36.9	1.1
5	1,350	4.6	1.63	4.8	0.42	40	35.8	0.9
6	1,350	4.7	1.71	5.0	0.40	40	42.8	1.0
7	1,800	4.5	1.71	4.2	0.53	29	39.3	1.3
8	1,800	4.5	1.86	4.5	0.41	33	41.7	1.3
9	1,800	4.7	—	4.5	0.54	25	41.0	1.6
10	1,800	4.5	1.65	4.5	0.86	33	38.0	1.2
11	1,350	4.5	1.76	4.4	0.84	20	34.9	1.7
12	1,350	4.6	1.89	4.5	0.42	22	35.8	1.6
13	1,350	4.5	1.91	4.3	0.72	20	38.4	1.9
14	1,350	4.4	1.78	4.4	0.77	20	38.6	1.9

仕込番号 1~6: エアーリフト通気量 900 l/min, 底部ノズル通気量 450 l/min.

仕込番号 7~10: エアーリフト通気量 900 l/min, 底部ノズル通気量 900 l/min.

仕込番号 11~14: 底部ノズル通気のみ.

比は平均 1.4 で, α -amylase 力価は上記の試験より弱い, R. D. V. が強くなっている.

No. 11~No. 14 は上昇管通

気を全然行わないで底部通気の

みで培養を行った試験である.

この場合は第3報⁽¹⁾における試験と同様の傾向を有して α -

amylase の生産は落ちて, アミ

ラーゼ比は平均 1.8 となり, 比

較的に糖化力の強い液体麹が得

られる.

培養槽の形体が通常の培養槽

と異なり, 長さが長くなってい

るので, 空気の利用率は高くな

っている. そのために底部通気のみでも, 比較的にアミラーゼ力価の高い液体麹が得られている.

3. 酒精醱酵試験

a) 仕込 仕込法はアミロ酒母 60 石, 液体麹 7.5 石, 掛麴 240 石を原則とする液体麹アミロ酒母法によった.

アミロ酒母: とうもろこし 360 貫および切干 360 貫, または生甘しょ 2,280 貫, 米糠 60 貫を加えて, 両者とも 120 石の仕込である. アミロ菌は発研-3, 酵母は小林酵母を使用した.

液体麹: 前記の培養を終了したものを使用した.

掛麴: 生甘しょ, あるいは切干を使用し, 生甘しょの蒸煮条件は 30 lb/30' の加圧蒸煮後, 40 lb に達圧させた. 切干の場合は 2 kg/30', 後 3 kg/30' の加圧蒸煮を行った.

糖化条件: 掛麴の品温が 55° になったときに液体麹の所要量を添加して醱酵温度まで連続冷却したのち, 300 石の醱酵槽に送った.

b) 分析 使用原料のでん粉価を測定して, その使用量から理論酒精量を算出し, 生成酒精量から酒精収量を求めた. 熟成醱については酒精, 酸, 糖の分析を常法により行った.

c) 試験結果 液体麹アミロ酒母仕込を試験期間中 154 回行った. その集計結果を示すと第4表の通りである.

第4表 酒精製造試験集計結果

仕込 年月	アルコ ール %	酸 度 N/10 NaOH cc	残直糖 %	残でん粉 %	醱酵率 %	備 考
31.1	6.22	1.9	0.27	0.65	88.62	46仕込の平均値
31.2	6.40	1.8	0.19	0.64	89.38	54仕込の平均値
31.3	5.90	1.8	0.20	0.57	88.84	54仕込の平均値

154 仕込のアルコール, 酸度,

残直糖, 残でん粉および醱酵率

についてその平均値をそれぞれ

示すとアルコールは 6.2%, 酸

度は 1.8cc, 残直糖は 0.22%,

残でん粉は 0.62%, 醱酵率は 89% で大体順調に酒精醱酵が行われていることを示している.

d) 経済的考察 酒精収量 90% 前後を目標にして麴麹を使用する場合は, 600 石仕込で 180 貫 (405 kg) を要し, 液体麹では 15 石 (2,700 l) を要する.

この両者の糖化剤の酵素力価および製造原価を示すと第5表の通りになる.

今麴麹の α -amylase 力価および R. D. V. の総力価を 100 とすれば, 液体麹のそれぞれは 124 および 135 になる.麴麹 405 kg と等価の液体麹の量は α -amylase 力

第5表 麴麹と液体麹との比較

液体麹 2,700 l 麴麹 405 kg

糖化力価 (R. D. V.)	5.4 × 10 ⁷ U (135)	4.0 × 10 ⁷ U (100)
α -アミラーゼ 力 価	8.1 × 10 ⁷ U (124)	6.5 × 10 ⁷ U (100)
原 料 費	2,980円 ^(a) 39%	6,979円 ^(a') 65%
光 熱 費	4,250円 ^(b) 55%	1,350円 ^(b') 12%
人 件 費	500円 6%	2,500円 23%
製 造 原 価	7,730円 (71)	10,829円 (100)
製 造 原 価*	6,233円 (58)	10,829円 (100)

(a): 麴 17 貫, 切干 7.2 貫, 米糠 3.6 貫, NaNO₃ 3.7 kg, HCl 3.0 l

(a'): 麴 60 貫, モミガラ 40 貫, 麹 0.2 貫

(b): 電氣量 (250 kw) + 石炭 (0.5 ton)

(b'): 電氣量 (30 kw) + 石炭 (0.2 ton)

* 麴麹の力価と等価の液体麹の製造原価.

価を基準にすれば, 2,1771 になる. 麴麴の原料のうち酵素給源になるのは麴だけで, 麴麴 405 kg のうち麴は 225 kg である.

液体麴 2,1771 のうち酵素給源になる固形分は 147 kg で, これらの量からすると液体麴の方が 1.5 倍の酵素力価が得られていることになる.

次に製造原価については麴麴 405 kg の製造原価を 100 とすると, 液体麴 2,7001 のそれは 71 になり, 麴麴の酵素力価と等価の液体麴の製造原価は大体 60 位になり安価に出来ることが分かる.

液体麴の酵素力価は更に研究により上昇されると思われるから, 近い将来には麴麴の製造原価の半分位になる可能性がある.

要 約

(1) エアーリフト装置を槽内に入れた培養槽を考案し, 3,6001 の本型式の培養槽について液体麴の培養試験を行い, 更にその液体麴を用いて 300 石の液体麴アミロ酒母法仕込を行った. その結果本型式によりアミラーゼ力価の比較的高い液体麴が得られ, 第 3 報⁽¹⁾によるエアーリフト型式の欠点を改良し, 大量培養に適する培養槽を得ることが出来た.

(2) 本型式による液体麴と麴麴の酵素力価および製造原価を比較し, 液体麴の方が単位原料当り (固形分) 得られる酵素量が麴麴に比して多いことが認められ, また製造原価においては麴麴の 2/3 以下で出来ることを明らかにした.

終りに御指導を頂いた東京大学坂口謹一郎教授並びに朝井勇宜教授に厚く感謝の意を表し, また設計の基準を得るために東海醸酵工業株式会社の培養槽を使用した, これを許可して下さい同社社長佐藤与兵衛氏に感謝の意を表すると共に, 培養試験に御協力を得た同社技術員金子忠作, 原田俊夫両氏に感謝する次第である. また本発表を許可して頂いた野田醤油株式会社社長中野栄三郎氏に謝意を表する次第である.

(本研究の要旨は昭和 31 年 4 月, 農芸化学大会で発表した.)

(1) 富金原孝, 小林次郎等, 石田 彰, 三好靖彦
等: 本誌, 31, 406, 411 (1957).

(2) 富金原孝, 小林次郎等: 日本特許, 209728
(1954).

(3) 富金原孝, 小林次郎等: 日本特許, 228396

(1957).

(5) G. M. Cooper et al.: *Ind. Eng. Chem.*,
36, 504 (1944).

(5) 富金原孝: 醸協, 13, 50 (1955).

(6) 富金原孝, 井出聰彦: 本誌, 29, 62 (1955).

稲熱病に関する生化学的研究 (第 11 報)*

稲から稲熱病菌胞子発芽促進物質の抽出分離に就いて

玉利勤治郎, 加治 順, 小笠原長宏, 菅 正倫 (新潟大学農学部)

昭和 32 年 12 月 23 日 受 理

緒 論

稲の揮発性成分中に稲熱病菌胞子の発芽並びに附着器の形成に著しく影響する物質の存在する事, 然かも罹病性品種には特に強く促進作用を有する物質が存在し⁽¹⁾, 又抵抗性品種には逆に阻害的に作用する物質の存在する事⁽²⁾が植物病理の分野に於て推定されて居た. 小野⁽³⁾は此の物質が稲の葉の露の中に存在して稲熱病罹病と重要な関係があるものと考察して居る.

我々は稲熱病に比較的弱い品種農林 21 号を材料として, その揮発性成分中に稲熱病菌胞子の発芽に顕著な促進作用を有する物質を見出し, これを結晶に分離して Oryzarol と命名した. 農林 21 号稲の揮発性成分中には Oryzarol 以外にも稲熱病菌胞子の発芽生育に影響を及ぼす物質が存在するが, 量的に僅少であり未だ結晶を得

* Biochemical Studies on the Blast Disease of Rice Plant. Part XI. On the Isolation of a Crystalline Volatile Substance "Oryzarol" from Rice Plant, possessing a Stimulating Effect on the Germination of Blast Mould Spore.

By Kinjiro TAMARI, Jun KAJI, Nagahiro OGASAWARA and Masamichi SUGA (Faculty of Agriculture, Niigata University)