[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 59, No. 3, pp. 271~277, 1985]

工業的規模における低温蒸煮法の発酵成績について†

松元信也, 富士 収, 福田 修,
井上 繁, 吉栖 肇
(サントリー株式会社)

昭和 59 年 10 月 30 日 受 理

Industrial Scale Alcoholic Fermentation of Maize Heated at Low Temperature

Nobuya MATSUMOTO, Osamu FUKUSHI, Osamu FUKUDA,
Shigeru INOUE and Hajime YOSHIKUMI
Suntory Limited, Shimamoto-cho, Mishima-gun, Osaka 618

Industrial scale alcoholic fermentation was induced in maize (yellow dent) by low temperature heating (80°C). The mash volume was approximately 120 kl per mashing unit. The results were compared with a conventional high temperature cooking system (140°C). The fermentation efficiency of the low temperature cooking system was equal to that of the high temperature cooking system. The low temperature cooking system reduced heavy fuel oil consumption by about 40%.

(Received October 30, 1984)

緒 言

著者らはトウモロコシなどの穀類粉砕物を原料とするアルコール発酵において、醪のレオロジー的性質に関する基礎的研究、ならびにフラスコおよびパイロット・スケールにおける仕込・発酵試験を実施した結果、蒸煮温度を 75~85°C に設定すると、醪粘度の急上昇を避けながら仕込むことが可能で、しかも生酸菌による汚染もなく、従来の 120°C 以上の高温蒸煮の場合と同等の良好な発酵成績の得られることを報告した^(1,2)。本報では、これらの基礎的研究結果に基づいて、仕込単位 120 kl の工業的規模で蒸煮温度を 80°C とする低温蒸煮仕込を実施した結果について述べる。

実験材料と方法

1. 原料 工業的規模の仕込においては黄色馬齒種トウモロコシ（米国産）を用いた。Table I はその分析結果を示したもので、澱粉含有量は 62.3~66.4% の範囲で変動したが、平均 64.3% であった。

2. 酵素剤 液化酵素剤としては麦芽を用い、糖化酵素剤は麦芽と *Rhizopus* 起源の酵素剤を併用した。

Table II は麦芽の分析値を示したもので、水分は平均 4.4%、液化力は平均 408 単位/g、ジアスターゼ力は平均 254°WK であった。Table III には *Rhizopus* 起源の酵素剤の酵素組成を示したが、本酵素剤は糖化力として標品 1 g 当り 2502 単位を含む以外に液化力などの酵素活性を含有していた。

3. 仕込水 工業的規模の仕込においては、醪の緩衝能の増大、醪粘度の低減⁽¹⁾、蒸煮および副産物回収工程におけるエネルギー節減などのために、仕込水の 20~30% は蒸留残液を用いた。蒸留残液の典型的な分析値を Table IV に示したが、固形分は 4% 程度であった。

4. 分析方法 全糖、直接還元糖、pH、総酸、灰分、粗蛋白質、粗繊維、粗脂肪、酵母数、細菌数、*Rhizopus* 起源の糖化酵素剤中の各種酵素活性および麦芽の分析、ならびに発酵歩合の計算は既報^(1,3)の方法に従った。

† 低温蒸煮法による穀類のアルコール発酵に関する研究（第 3 報）

実 験 結 果

1. 微生物汚染に関する予備的検討

工業的規模においては、実験室の場合に比べて原料穀類の貯蔵・粉碎工程の微生物相を厳密に管理することはきわめて困難である。したがって、高温蒸煮法の場合に比べて雑菌汚染による成績低下の危険性が大きい低温蒸

Table I. Analysis of Maize Grain Used

	Range (%)	Average (%)
Moisture	12.5~15.2	13.9
Starch	62.3~66.4	64.3
Crude protein	8.1~9.8	8.8
Crude fiber	1.7~2.1	2.0
Crude fat	3.5~4.4	3.8
Ash	1.0~1.3	1.1

Table II. Analysis of Barley Malt Used

	Range	Average
Moisture (%)	3.9~4.8	4.4
Extract fine (%)	76.5~80.1	78.1
Extract coarse (%)	74.8~78.8	76.3
pH of wort	5.7~6.0	5.9
Diastatic power (°WK)	239~293	254
Kolbach index (%)	39.9~44.8	42.5
Liquefying power (unit)	382~430	408

Liquefying power was analyzed by the method of JIS K 7001. The others were analyzed by the method of ANALYTICA-EBC.

Table III. Enzyme Activities in the Saccharifying Enzyme Preparation Used

	Activity (units/g)
Liquefying power	115
Dextrinizing power	400
Saccharifying power	2502
Protease Acid	985
Neutral	273
Alkaline	trace
Cellulase	11
Pectinase	67

Enzyme preparation (1 g) was added to distilled water (1000 ml) and then occasionally stirred for 1 hr at 30°C. The supernatant obtained by centrifugation (3000 rpm, 10 min) was used as the enzyme solution. Various enzyme activities were determined as described in MATERIALS AND METHODS.

煮仕込の工業化を達成するためには、原料懸濁液の微生物汚染度を把握しておく必要がある。Table V には Fig. 1 に示したスラリー・タンクから採取した懸濁液を所定の温度に 3 分間保持した後の生細菌数を調べた結果を示した。このように実験に供した工業的規模で調製された原料懸濁液中には 1.1×10^5 cells/ml の細菌が存在しており、しかもこの懸濁液を 80°C に 3 分間保持しても 2.2×10^2 cells/ml の細菌が生存していた。前報⁽²⁾のパイロット・スケールでの実験においては、原料懸濁液中の細菌数は 10^3 で、80~78°C、3 分間保持で 8 cells/ml に減少したことを考えると、パイロット・スケールの蒸煮条件をそのまま工業的規模での仕込に適用すると、雑菌汚染を招き、発酵成績が著しく低下する可能性がある。したがって、低温蒸煮法を工業的規模で実施するに際しては、原料懸濁液を直接 80°C に昇温せず、70°C で 10 分間程度保持することによって生細菌数を減少せしめた後、80°C に昇温し、保持時間も 5 分間とする仕込操作条件を採用することにした。

2. 仕 込

a. 仕込工程の概略 工業的規模における低温蒸煮

Table IV. Analysis of the Stillage Used

	Content (%)
Moisture	95.7
Crude protein	1.2
Crude fiber	0.2
Crude fat	1.4
Ash	0.3

Whole stillage obtained from the base of a beer still was centrifuged to remove the coarse grain solids and the thin stillage was analyzed.

Table V. Relationship between Heating Temperature and Survival Bacterial Number

Heating temperature (°C)	Bacterial number (cells/ml)
Control	1.1×10^5
55	2.1×10^4
60	4.6×10^3
65	1.2×10^3
70	5.1×10^2
80	2.2×10^2

The sample of slurry prepared in the slurry tank was heated for 3 min at various temperatures. Survival bacterial number was counted as described in MATERIALS AND METHODS.

Fig.1. Flow Diagram of the Low Temperature Cooking System for Use on an Industrial Scale. Capacities: mill (1), 6 tons/hr; mill (2), 6 tons/hr; slurry tank, 5 kl; pre-cooker, 10 kl; fermenter, 140 kl. T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , T_5 : thermometer; S_1 , S_2 : sampling cock.

仕込のフロー・ダイアグラムを Fig.1 に示した。トウモロコシ、麦芽および仕込水を重量で 100:6.8:264 の割合になるようにスラリー・タンクに投入し、攪拌しながらヒーター No.1 に流速 0.6 m/sec で送し、70°C (T_1) に昇温、予備蒸煮器にて約 10 分間保持した後、ヒーター No.2 を通して蒸煮管に送した。ヒーター No.2 における温度は 80°C (T_2) に設定した。80°C (T_2) から 78°C (T_3) に 5 分間保持した後、2 重管式冷却管にて最終的に約 30°C (T_5) に冷却し、酒母をあらかじめ投入した発酵タンクに張り込み、26~32°C にて 96 時間発酵せしめた。なお、醗の冷却過程の約 63°C (T_4) の時点で糖化用麦芽をトウモロコシ 100 kg 当り 18.3 kg 添加し、発酵温度にまで冷却した。糖化酵素剤として併用した *Rhizopus* 起源の酵素剤は、糖化力としてトウモロコシ 1 kg 当り 500 単位となるように発酵タンクに投入した。従来の高温蒸煮仕込の場合は、冷却過程における醗粘度の急上昇を緩和するために、醗が 70~75°C に冷却された時点で液化用麦芽の再添加が必須であったが、本仕込では液化剤の再添加は不要であった。Table VI は仕込時の醗中の細菌数を調べた結果である。スラリー・タンク内の原料懸濁液には 2.3×10^5 cells/ml の細菌を認めたが、予備蒸煮器では 1.3×10^3 cells/ml に減少し、これを 80~78°C に 5 分間保持した醗中には 5 cells/ml の菌数であった。発酵タンク入口醗の細菌数が $3.8 \times$

10^2 cells/ml と多いのは約 63°C で添加された糖化用麦芽に由来するものである。このように、原料懸濁液を予備蒸煮器にて 70°C で保持した後、80°C に昇温するという 2 段階昇温方式は工業的規模で低温蒸煮仕込を採用するに際し、原料に混在する細菌の減少を図るという点で有効なことが確かめられた。

b. 原料の粉砕 全粒トウモロコシは乾式粉砕機で粗粉砕後、湿式粉砕機にて微粉砕した。湿式粉砕後の典型的な粒度分布を Table VII に示した。粉砕度は既報^(1,2)の結果から、840 μ m より大きいものが約 10% になるように設定したが、実測値は 7% で設定よりやや細かく粉砕された。麦芽は乾式粉砕機にて粉砕後、水に懸濁して使用した。Table VIII には麦芽の粒度分布を示

Table VI. Bacterial Number in the Mash on an Industrial Scale

Sampling place ^a	Bacterial number (cells/ml)
Slurry tank	2.3×10^5
Pre-cooker	1.3×10^3
S_1 (cooling tube before addition of malt)	5
S_2 (inlet of fermenter)	3.8×10^2

^a See Fig. 1.

Bacterial number was counted as described in MATERIALS AND METHODS.

したが、149 μm より小さいものが約 50% を占めるものであった。

c. 酵母 工業的規模の低温蒸煮仕込に用いた酵母は次のような条件で培養した。すなわち、前述の仕込方法に従って調製した醪の一部を採取し、水を加えて全糖分として約 10 w/v% とし、60°C で 45 分間糖化後、135°C で 60 分間殺菌し、30°C に冷却した。この醪に前培

Table VII. Size Distribution of the Ground Maize

Diameter (μm)	Distribution (%)
>840	7.0
840~500	15.3
500~297	13.8
297~210	20.5
210~149	6.3
<149	37.1

The size of granules was measured by using sieves for testing purposes of JIS Z 8801.

Table VIII. Size Distribution of the Ground Malt

Diameter (μm)	Distribution (%)
>840	1.0
840~500	10.0
500~297	19.4
297~210	15.6
210~149	5.0
<149	49.0

The size of granules was measured by using sieves for testing purposes of JIS Z 8801.

Table IX. Analytical Data for the Starter

	Before inoculation	After inoculation
pH	4.72	4.13
Total acidity (ml) ^a	1.7	3.3
Total sugars(% as glucose)	9.18	5.63
Direct reducing sugars (w/v%, as glucose)	5.93	3.07
Viable yeast (cells/ml)	—	1.23×10^8
Dead yeast (cells/ml)	—	1.8×10^6
Bacterial number (cells/ml)	0	0

In the cases of total acidity and direct reducing sugars, the mash filtrate was used for the analyses, the others were analyzed using the whole mash.

^a Total acidity was expressed as milliliters of N/10 NaOH required for neutralizing 10 ml of the filtrate.

養した既報⁽³⁾の酵母菌株を接種し、通気下で 30°C にて 24 時間培養したものを酒母として使用した。酒母の使用量は仕上り醪容量の約 7% であった。Table IX は酵母培養前後の酒母醪の分析結果を示したものであるが、培養後の生酵母数は 1.23×10^8 cells/ml で、細菌は検出されず健全な酒母であった。

2. 発酵経過

a. アルコールおよび直接還元糖濃度の変化 Fig. 2 には低温蒸煮仕込の発酵醪中のアルコール濃度と直接還元糖濃度の経時変化を高温蒸煮仕込(蒸煮温度 140°C)のものと比較して示した。アルコール生成経過をみると、低温蒸煮法の場合、高温蒸煮法に比べて発酵開始後 48 時間までは生成アルコール濃度は若干低い傾向にあったが、72 時間を経過した時点で高温蒸煮法の場合と同等の 10.4 v/v% のアルコールが生成した。直接還元糖濃度は低温蒸煮法の場合、仕込終了時点で 2.8 w/v% と高温蒸煮法の 3.5 w/v% に比べて若干低い値を示し

Fig. 2. Comparison of Changes of Alcohol Content and Residual Direct Reducing Sugar Content in the Fermenter during Fermentation between H. T. C. and L. T. C. on an Industrial Scale. ○—○, alcohol content in the whole mash with H. T. C. *; ●—●, alcohol content in the whole mash with L. T. C. **; ○···○, R. D. S. content*** in the filtrate with H. T. C.; ●···●, R. D. S. content in the filtrate with L. T. C.; [↔], the time required to fill up the fermenter with mash.

* High temperature cooking, cooking temp., 140°C; ** Low temperature cooking, cooking temp., 80°C; *** Residual direct reducing sugar content.

Fig. 3. Comparison of Changes of pH and Total Acidity in the Fermenter during Mashing and Fermentation between H. T. C. and L. T. C. on an Industrial Scale. ○—○, pH of the whole mash with H. T. C.*; ●—●, pH of the whole mash with L. T. C.*; ○—○, total acidity with H. T. C.; ●—●, total acidity with L. T. C.; |←→|, the time required to fill up the fermenter with mash. Total acidity, see Table IX. * See Fig. 2.

たが、その後は両者に大差はなく、いずれも発酵の進行とともに急激に減少し、48 時間以降は約 0.2 w/v% の低い濃度で推移した。

b. pH と総酸の変化 発酵醪の pH と総酸の経時変化を Fig. 3 に示したが、低温蒸煮法の場合、醪の pH

Fig. 4. Comparison of Changes of Viable Yeast Population and Bacterial Number in the Fermenter during Fermentation between H. T. C. and L. T. C. on an Industrial Scale. ○—○, viable yeast population in the whole mash with H. T. C.*; ●—●, viable yeast population in the whole mash with L. T. C.*; ○—○, viable bacterial number in the whole mash with H. T. C.; ●—●, viable bacterial number in the whole mash with L. T. C.; |←→|, the time required to fill up the fermenter with mash. * See Fig. 2.

は仕込終了時点の 4.85 が発酵の進行とともに低下し、発酵開始後 24 時間で 4.6 を示した。しかし、その後上昇し 72 時間後には 4.8 となったが、再び低下して発酵

Fig. 5. Fermentation Result of Long-Run Test with the Low Temperature Cooking System on an Industrial Scale. ■—■, alcohol content in the whole mash fermented; ○—○, pH of the whole mash fermented; ●—●, fermentation efficiency.

終了時点では 4.7 であった。これに対して、高温蒸煮法の場合は、発酵開始後 48 時間から pH の再低下現象が認められたが、これは両仕込法の発酵速度の差によるものと考えられる。総酸は蒸煮法の種類による顕著な差異は認められず、仕込終了時点から発酵終了時点まで徐々に上昇していき、96 時間後 3 ml 程度であった。

c. 生酵母数と生細菌数の変化 Fig. 4 は生酵母数と生細菌数の経時変化を示したものである。生酵母数はいずれの蒸煮法の場合も仕込終了時点で 1×10^8 cells/ml とほぼ最高の酵母数に達したが、発酵の進行に伴う生酵母数の変化は蒸煮法の種類によって若干異なった。すなわち、低温蒸煮法の場合は 72 時間から 96 時間にかけてやや減少したのに対して、高温蒸煮法では 48 時間後から減少し始めた。これは高温蒸煮法の場合、低温蒸煮法に比べて発酵の進行が速く糖源が潤渇したため酵母の死滅が促進された結果であると考えられる。生細菌数はいずれの蒸煮法の場合も発酵が進むにつれて増加の傾向を示したが、発酵後期における生細菌数は発酵が速く進行した高温蒸煮のほうがやや多かった。なお、これらの細菌は 63°C で蒸煮醪に添加された糖化用麦芽に由来するものがほとんどであると考えられる。

3. 発 酵 成 績

Table X には工業的規模における低温蒸煮法による発酵終了醪の分析値を従来の高温蒸煮法のものと比較して示した。低温蒸煮法の醪の pH は 4.7、総酸は 3.0 ml、生細菌数は 2.5×10^7 cells/ml で、いずれも高温蒸煮法の場合よりやや良好な値であり、蒸煮温度を 80°C とした低温蒸煮法を工業的規模で実施しても有害細菌による顕著な汚染は生じなかったことを示している。発酵歩合は 87.2% で、高温蒸煮法の 87.4% とほとんど差異はなかった。Fig. 5 には仕込単位 120 kl の工業的規模において、低温蒸煮仕込を長期間 (30 日間) 実施した際の発酵終了醪の pH、生成アルコール濃度および発酵歩合の変動を示した。pH は 4.5~4.7、生成アルコール濃度は 10.4~10.7 v/v%, 発酵歩合は 87~88% の変動であり、30 日間にも及ぶ長期間の運転でも安定した良好な成績の得られることが確認された。

4. 所要エネルギー

蒸煮温度を 80°C とする低温蒸煮仕込を工業的規模で長期間運転した結果、蒸煮に要するエネルギーは従来の高温蒸煮の場合の約 40% に低減されることが判明した。すなわち、蒸煮温度 140°C の高温蒸煮ではアルコ-

Table X. Comparison of Analytical Data of the Mash after Fermentation between H. T. C. and L. T. C. on an Industrial Scale

	H. T. C. ^a	L. T. C. ^b
Volume (kl)	114.3	113.8
pH	4.6	4.7
Total acidity (ml) ^c	3.3	3.0
Alcohol (v/v%)	10.5	10.6
Residual total sugars (% as glucose)	1.06	1.01
Residual direct reducing sugars (w/v% as glucose)	0.23	0.20
Viable yeast cells (cells/ml)	5.3×10^7	7.1×10^7
Bacterial number (cells/ml)	4.3×10^7	2.5×10^7
Fermentation efficiency (%)	87.4	87.2

Air agitation was conducted for 20 min before sampling.

In the case of total acidity and residual direct reducing sugars, the mash filtrate was used for the analyses, the others were analyzed using the whole mash.

^a High temperature cooking, cooking temp., 140°C.

^b Low temperature cooking, cooking temp., 80°C.

^c See Table IX.

ル 1 kl 当り重油 128 l を消費するのに対して、低温蒸煮法の場合は 52 l となった。また、低温蒸煮法の場合は蒸煮醪の冷却に要する水が従来法の約半分でよいことも明らかとなった。

考 察

穀類を原料とするアルコール発酵における蒸煮の意義は、澱粉を植物組織から溶出・糊化させて、酵素による分解を容易にし、同時に原料に付着している有害な微生物を完全に死滅させることである。そのため、工業的規模においては、当初、回分式蒸煮機で 140°C 前後の高温で 15~30 分間醪を蒸煮することが採用されていた⁽⁴⁾。しかし、回分式の場合、生産性が低いことやエネルギー効率が悪いといった欠点があるために、その後、Unger ら⁽⁵⁾によって開発された 180°C 前後で 1~3 分間蒸煮する連続蒸煮法が採用されていった。しかしながら、1973 年に世界を襲った石油危機に端を発するエネルギー価格の高騰のために、製造コストが圧迫されるにいたり、省エネルギー化を図ることが緊急の課題としてクローズ・アップされてきた。前述のように、醪を 140~180°C に加熱する蒸煮工程では大量のエネルギーが消費されてお

り、蒸煮温度の低温化が省エネルギー化の一方策として注目されるようになった。それ以前にも、Unger ら⁽⁵⁾は前述の連続蒸煮法の開発研究のなかで、蒸煮温度を約 100°C とした仕込・発酵試験を実施しているが、アルコール収量が低く実用的でなかったと報告している。この結果は著者らの実験データと相違しているが、発酵終了醪の pH が 3.7~3.8 と極端に低かったことから、何らかの原因で生酸菌による汚染が発生したためであると考えられる。

著者らは、これまでトウモロコシ粉碎物を原料とした醪の粘度変化特性と発酵成績に及ぼす仕込・発酵条件の影響に関する基礎的研究結果から、蒸煮温度を醪が糊化して最高粘度を示す温度より低い温度、すなわち 80°C 前後に設定すれば醪粘度の急上昇を避けながら仕込むことができ、発酵成績も従来の高温蒸煮仕込の場合と同等の良好な成績の得られることをパイロット・スケールの連続蒸煮装置を用いた仕込・発酵試験で確認した⁽²⁾。次いで、著者らは工業的規模における低温蒸煮仕込を実施するため、有害細菌の汚染を防止する方法として、原料懸濁液をあらかじめ 70°C で保持した後、蒸煮温度である 80°C に昇温せしめるという 2 段昇温方式を試みた。この方式の採用によって、殺菌効率が向上し、蒸煮温度を 80°C とする低温蒸煮仕込を工業的規模で長期間実施しても、顕著な雑菌汚染もなく、良好な成績を得ることができた。低温蒸煮法では、蒸留工程から排出される温水や高温の蒸留残液を仕込水として利用することが可能

で、新規の投入エネルギーを大幅に節減することができ、本方法は今後、穀類を原料とする発酵法によるアルコールの製造コストの低減に大きく寄与していくものと考えられる。

要 約

トウモロコシの全粒粉碎物を原料とするアルコール発酵において、蒸煮温度を 80°C とする低温蒸煮仕込を工業的規模で検討した。

(1) 仕込単位 120 kl の工業的規模で長期間、低温蒸煮仕込を実施した結果、従来の蒸煮温度 140°C の高温蒸煮法と同等の発酵成績が得られた。

(2) 低温蒸煮法の場合、蒸煮に要するエネルギーは従来の高温蒸煮法の約 40% に低減された。

- (1) 松元信也, 富士 収, 吉栖 肇: 農化, **59**, 259 (1985).
- (2) 松元信也, 富士 収, 吉栖 肇: 農化, **59**, 265 (1985).
- (3) N. Matsumoto, O. Fuhushi, M. Miyanaga, K. Kakiyama, E. Nakajima and H. Yoshizumi: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1549 (1982).
- (4) W. H. Stark: "Industrial Fermentation," Vol. 1, ed. by L. A. Underkoffler and R. J. Hickey, Chemical Publishing Co., Inc., New York, 1954, p. 17.
- (5) E. D. Unger, H. F. Willkie and H. C. Blankmeyer: *Trans. Am. Inst. Chem. Eng.*, **40**, 421 (1944).