報 文

[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol.63, No. 5, pp. 971~979, 1989]

粉碎白米を液化し掛米として使用した清酒醸造†

今安 聡, 秦 洋二, 大石 薫, 川戸章嗣, 杉並孝二

(月桂冠株式会社大倉酒造研究所)

昭和 63 年 10 月 11 日 受 理

Saké Brewing Using the Liquefied Product of Rice Slurry as Raw
Material (*Kakemai*)(Treatment of Rice in *Saké* Brewing. Part V)

Satoshi IMAYASU, Yoji HATA, Kaoru OISHI, Akitsugu KAWATO and Koji SUGINAMI

Gekkeikan Sake Co. Ltd., Research Laboratory, 24 Shimotobakoyanagicho,

Fushimi-ku, Kyoto 612

An efficient *saké* brewing method was developed using the liquefied product after digestion of powdered polished rice slurry with bacterial alpha-amylase. Almost all the starch was liquefied with bacterial alpha-amylase and converted into alcohol in the *moromi*, so that a larger amount of *saké* was produced than from polished rice grain or from powdered polished rice. As solid phase dissolution was not high and the liquid phase volume was stable during fermentation, glucose production rate (dG/dt) was expressed as a function of three parameters (initial glucoamylase activity (E), substrate concentration (S) and temperature (T)), namely,

$dG/dt = a \cdot k_0 \cdot E_0 \cdot \exp[k_t/T - k_d \cdot t \cdot \exp(k_{dt}/T)] \cdot (S) / [(S) + Km + (S)^2/Ki]$. With this equation, the glucose production rate was successfully estimated during fermentation.

(Received October 11, 1988)

緒 言

筆者ら⁽¹⁻⁴⁾は、製成酒の品質を損うことなく原料利用率を向上させる原料処理方法の開発を目的に、精白米を粉碎後、蒸餾して得られる粉碎状蒸米を用いる清酒醸造法について詳細な検討を行い、報告してきた。

本報では、酒質を損うことなく、さらに原料利用率を向上させること、ならびに醪をより一層流動化させ、精密な品温制御や醱酵プロセス制御システムの構築を行いやすくすることを目的として、粉碎白米の蒸餾に相当する加熱の前に耐熱性液化酵素を加えて液化し、それを掛米として用いる液化液仕込について検討したので報告する。

液化液の主として合成清酒への応用に関しては、猿

† 清酒醸造における原料米の処理に関する研究(第5報)

野ら⁽⁶⁾、小林ら⁽⁷⁾の報告があるが、いずれも蒸煮プロセスの機械化を目的としている。すなわち、粉碎白米を液化酵素により流動化し、その流動化した白米を蒸煮すれば、輸送その他を含め連続機械化できるのではないかと、いう観点からの研究であり、原料利用率や品質等に対する影響を考慮した条件に関する検討はなされていない。

また、筆者ら⁽⁵⁾も、以前、清酒醸造プロセスの連続化および合理化という観点から、醪を液体醱酵形式に近づけ、さらに反応系の解析を容易にすべく、糖化プロセスと醱酵プロセスを分離した醱酵方法(単行醱酵)について検討を行い、本方法により新しいアルコール飲料製造の可能性あることを報告した。しかし、この方法は蒸米を液化、糖化後濾過した液を掛米とし、醱酵に同調して順次添加する方法であり、並行複醱酵形式ではなく単行醱酵形式となるため、酸度の増加等を伴い、従来の品

質とは異なることを指摘した。

そこで本報では、これらの点を考慮し、あくまでも並行複醱酵を行い、清酒としての品質の劣化を伴うことなく、原料利用率を極限まで向上させるための仕込方法の確立を目的に、まず白米の液化条件について検討した。その結果、液化後の澱粉液化率と醱酵終了後の白米の原料利用率（酒化率）の間にはかなり強い相関があり、液化終了時に残存する未液化澱粉は醱酵中にもほとんど分解されず、清酒粕に移行することを見出し、原料利用率の向上を達成するためには液化時の澱粉液化率を高めることが肝要であることを明らかとした。

一方、将来の醱酵プロセスの自動制御システムの構築を考えた場合、従来の固液混合系である粒状蒸米および粒状麴を用いる仕込方式では、とくに醱初期において特異的な物性を呈するため、品質管理上、最も重要である品温制御や醱の状態変数の把握が困難であり、これが醱酵プロセスの自動制御システム化を遅らせている最大の原因であった。しかし、液化液仕込の場合には醱初期より流動化しているため、均一な品温制御および醱の状態把握が可能であると考えられた。そこでまず、液化液を掛米として使用する酵素剤仕込を行い、醱中のグルコース生成速度について検討した。

清酒醱における蒸米の溶解およびグルコース生成に関しては、三吉ら^(8,9)、永谷ら⁽¹⁰⁾、布川ら⁽¹¹⁾の報告があり、さらにモデル式を設定した計算機制御については、藤田ら⁽¹²⁾の報告がある。しかし、通常の蒸米-麴を用いた醱では、液相中のグルコース濃度を推定する場合、蒸米および麴の溶解や液相率の推定など、複数かつ時変系のパラメーターを扱う必要があり、また、醱初期の正確な状態変数の把握が不可能であることから、再現性よく正確な推定を行うことは困難であると思われる。ところが、澱粉液化率がほぼ 100% に達している液化液を掛米として用いた場合、澱粉の溶解や液相率の変化を考慮する必要がなく、また、醱初期においても均一な攪拌およびサンプリングが行えることから、状態変数の正確な把握が可能であると考えられた。そこで、液化液仕込におけるグルコースの生成速度式を設定し、シミュレーションを行い、良好な結果を得たので併せて報告する。

実 験 方 法

1. 白米の液化方法 精米歩合 73% の精白米を一昼夜浸漬後、80°C の温水を所定量加えて市販のミキサ

ーにより 10 分間粉碎し、白米粉砕液を調製した。これを耐熱性液化酵素（大和化成製クライスターゼ）の存在下で、湯煎または蒸気吹き込み型の熱交換器を用い、80～100°C に昇温して一定時間保温して液化を行った。酵素量は実用上の見地から、白米量の 1/2500 とした。

2. 澱粉液化率の算出 液化液および液化前のスラリー 100 g を遠心分離し、得られた残渣を 40% アルコールにて 3 回洗浄後、市販の澱粉測定用キット（ベリンガー・マンハイム製）を用いて残渣中の未液化澱粉量（B）、ならびに、液化前の試料中の澱粉量（A）を測定し、澱粉液化率を次式により定義した。

$$\text{澱粉液化率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

3. 未液化澱粉の糊化度の測定 前報⁽⁴⁾と同様、貝沼ら⁽¹³⁾の BAP 法にて測定した。

4. グルコースの定量 オリエンタル製のグルコースアナライザーにより、測定した。

5. 着色度 分光光度計を用い、10 mm セル、波長 420 nm で測定し、その吸光度で示した。

6. グルコアミラーゼ *A. oryzae* 起源の市販酵素剤より部分精製したものをを用いた。また、グルコアミラーゼ活性は岩野ら⁽¹⁴⁾の方法により測定した。

7. オリゴ糖の分離 島津製作所製高速液体クロマトグラフ LC-4 A を用い、東洋曹達製ゲル濾過カラム (TSK-G 3000 PW) により行った。

8. 醱残渣中の液相量の推定 照井ら⁽¹⁵⁾の NaCl 滴定法により算出した。

9. 醱酵試験 前報⁽³⁾で示した一段仕込にて、醱酵試験を行った。酒母としては協会 7 号の懸濁液を用い、醱酵温度は 15°C 一定とした。なお、酵素剤仕込の場合には布川ら⁽¹⁶⁾のビタミン混液を加えた。

結 果 と 考 察

1. 液化条件の検討

澱粉の酵素液化に関する研究は、既に詳細に報告されている^(17,18)が、これらはトウモロコシ澱粉や馬鈴薯澱粉を対象としており、米澱粉に関してはなされていない。また、清酒醸造への応用を考えた場合には、まず第一に酒質への影響を考慮した液化条件を検討する必要がある。すなわち、過激な条件による着色度の増加や焙焼香等の副生は避けなければならない。また、液化時に未液化澱粉が残存した場合、これが醱中でグルコースに分解され利用されるかどうかを明らかにすることが、液化

条件検討のポイントであると考えられる。

これらの観点から、まず、液化条件の異なる液化液を用いた仕込を行い、液化終了時の澱粉液化率が原料利用率(酒化率)に与える影響について検討した。仕込時の吸水歩合が150%になるように調製した白米粉砕液を90℃で液化し、液化時間を種々変えた場合の液化液の着色度、澱粉液化率等の経時変化を調べた(Table I)。また、これらを掛米として醗酵試験を行い、上槽酒成分を分析した(Table II)。両者の結果より、澱粉液化率と上槽酒の粕歩合、酒化率の間には相関が認められた。このことから、液化時に残存する未液化澱粉は糊化度が100%に達しているにもかかわらず、醗酵期間中に麴の酵素により分解されず清酒粕に移行していることが明らかとなり、原料利用率の向上を達成するためには、液化終了時の澱粉液化率を高める必要があることが示唆された。また、本条件下では澱粉液化率は98%程度が限界であった。一方、褐変反応は時間とともに進行し、着色度の増加およびこれに伴う焙焼香の副生という問題が生じ、90分以上の液化を行った場合には上槽酒もこの影響を被っており、清酒醸造への適用は無理であると思わ

れた。成分的には、得られた清酒中のアミノ酸度が液化時間を長くするに従い減少する傾向が認められ、蛋白質の熱変性に起因するものと考えられた。また、60分以上液化を行った場合には、醗の流動性がきわめて良好となり、醗酵期間中、ほとんど泡の形成が見られず、きわめて管理の行いやすい醗となった。

以上の結果より、液化終了時点での澱粉液化率および着色度が上槽後の原料利用率および酒質の指標となることが示唆された。そこで、この両者を指標として、酒質を損うことなく、さらに澱粉液化率を高めうる液化条件の確立を目的に、①液化時の吸水歩合、②液化温度の両者について検討を加えた。

① 液化時の吸水歩合の影響

仕込時の吸水歩合が75~150%になるように調製した粉碎白米スラリーを90℃で液化し、澱粉液化率の経

Fig.1. Effect of Water Ratio on Degree of Liquefying. Symbols: ○, water ratio (75%); □, (100%); △, (125%); ▲, (125%); ●, (150%).

Table I. Effect of Liquefying Time on Degree of Liquefaction

Time (min)	Degree of liquefaction (%) ^a	Degree of gelatinization (%) ^b	OD at 420 nm
0	0.0	0.0	0.001
10	72.7	98.3	0.015
30	87.4	100.0	0.051
60	95.6	100.0	0.068
90	98.2	100.0	0.095
120	98.4	100.0	0.152

^a Proportion of liquefied starch to total starch.

^b Degree of gelatinization of nonliquefied starch.

Table II. Analysis of Saké Brewed

Time (min) ^a	10	30	60	90	120
Saké meter	-5.0	-2.5	-1.5	-0.2	-1.0
Alcohol (%)	16.6	17.2	17.7	18.4	18.3
Acidity (ml)	2.68	2.80	2.75	2.62	2.65
Formol-N (ml)	1.88	1.72	1.65	1.60	1.35
OD (420 nm)	0.096	0.108	0.120	0.172	0.247
Saké cake (%)	24.6	16.5	13.0	11.3	11.0
Produced alcohol ^b	346.2	364.5	380.9	420.6	421.5

^a Liquefying time (min).

^b (liter/ton rice).

時変化を調べた (Fig. 1). その結果、吸水歩合が 120% 以下の場合、液化時にかなり高粘度となるため反応速度は低下し、液化時間 120 分での澱粉液化率も 90~95% 程度に留まった。これより、吸水歩合は 150% 程度が適当であると考えられ、以後の実験は吸水歩合 150% で行うことにした。

② 液化温度の影響

液化温度を 80, 90, 95, 100°C で液化を行った際の澱粉液化率および着色度の経時変化を Table III に示した。これより、液化温度 95 および 100°C の場合、約 10 分間の反応で、澱粉液化率がほぼ 100% に達することがわかった。また、液化液の着色度は 20 分以上では急激に増加したが、10 分程度では問題なかった。そこで、これらを掛米として醗酵テストを行った。Table IV に、各温度で液化した液化液を掛米として用い醗酵させた場合の上槽酒の分析結果を示した。100°C, 10 分の反応にて得られた液化液を用いた場合、酒化率は 430 (l/

ton rice) に達しており、対照の粒状仕込に比べ約 80 (l/ton rice), また、先に報告した粉碎白米の蒸米を用いた場合⁽¹⁾よりも約 50 (l/ton rice) 程度高い値を示した。一方、上槽酒の着色度は対照の粒状仕込とほぼ同程度であり、全く問題なかった。得られた清酒中のアミノ酸度は液化温度が高くなるほど減少し、対照の 6~7 割程度となった。このことから液化温度や液化時間を適宜変えることにより、清酒中のアミノ酸度を調節できる可能性が示唆された。

以上、酒質の劣化を伴うことなく、原料利用率を極限まで向上させることを目的に液化条件について検討した結果、95~100°C の高温で 10 分程度の短時間液化を行い、速やかに冷却したものを掛米として用いることにより、着色度の増加や焙焼香の付加などの酒質の劣化を伴うことなく、白米中の澱粉をほとんど 100% 利用することができる清酒醸造の可能性が示唆された。

なお、本方法の醗酵形式は、従来の醪におけるグルコアミラーゼによる蒸米澱粉からのグルコースの供給と酵母の醗酵によるグルコースの消費が同時に進行する、いわゆる、並行複醗酵形式の過程のなかで、蒸米澱粉の溶解プロセス、すなわち、澱粉からの主としてオリゴ糖類への分解をあらかじめ進めておいたものであり、その後の糖化プロセスと醗酵プロセスは同時に進行していることから、あくまでも並行複醗酵形式であると考えている。

2. 醪中のグルコース濃度の推定

1. で示した澱粉液化率がほぼ 100% に達している液化液を掛米として用いた場合、固相部分はほとんど蛋白凝固物であるため、固形部からの澱粉の溶解や液相率の変化を考慮する必要がない。また、醪初期から流動性が高いことから均一な攪拌やサンプリングが行え、その状

Table III. Effect of Liquefying Temperature and Time on Degree of Liquefying and OD at 420 nm

	Temp. (°C)	Liquefying time (min)				
		10	30	60	90	120
D. L. ^a (%)	80	40.2	52.5	79.4	89.0	91.5
	90	72.7	87.4	95.6	98.2	98.4
	95	99.1	99.8	99.7	99.8	99.8
	100	99.8	99.9	99.9	99.9	99.9
OD ^b	80	0.012	0.021	0.043	0.053	0.068
	90	0.024	0.041	0.075	0.105	0.161
	95	0.060	0.139	0.203	0.314	0.462
	100	0.075	0.198	0.264	0.384	0.592

^a Degree of liquefaction (%).

^b OD at 420 nm.

Table IV. Analysis of Saké Brewed

Temp. (°C) Time (min)	Control ^a	80 120	90 90	95 10	100 10
Saké meter	-2.0	-2.0	-0.2	0.0	-0.5
Alcohol (%)	18.6	17.8	18.4	18.5	18.7
Acidity (ml)	2.68	2.75	2.62	2.55	2.52
Formol-N (ml)	2.05	1.75	1.60	1.45	1.30
OD (420 nm)	0.128	0.110	0.172	0.099	0.108
Saké cake (%)	24.1	15.2	11.3	10.1	9.8
Produced alcohol ^b	354.0	372.5	420.6	425.7	430.8

^a Produced saké from polished rice grains.

^b (liter/ton rice).

Fig. 2. Gel Filtration of Liquefied Rice Starch with TSK-Gel G 3000 PW. (1) Sugar standard solution (G1~G6), 1% each. (2) Filtrated solution of liquefied rice starch. HPLC was done at a flow rate of 1(ml/min) with distilled water. An arrow indicates the position at void volume.

Table V. Distribution of Glucoamylase in *Moromi* Mash with Liquefaction Treatment

Activity			
Supernatant		Precipitate	
Total U	(U/ml)	Total U	(U/ml)
3070	(42.4)	336	(34.3)

態変数を正確に把握することができる。そこでまず、将来の醸酵プロセスの自動制御システムの構築を目的とし、液化液を掛米とした酵素剤仕込を行い、グルコース生成のシミュレーションを行った。

① 液化液中のオリゴ糖の組成

液化液の遠心上清中のオリゴ糖を高速液体クロマトグラフのゲル濾過を用いて分析した (Fig. 2)。用いる α -アミラーゼによりその分解パターンは若干異なったが、今回用いた酵素の場合、高分子デキストリンはほとんど存在せず、G4~G6 程度のオリゴ糖が主体であった。したがって、液化液がグルコアミラーゼの分解を受ける場合、これらのオリゴ糖が主たる基質となるものと考え

Fig. 3. Hydrolysis of Liquefied Rice Starch by Glucoamylase.

Fig. 4. Relationship between Glucose Production Rate and Glucoamylase Activity.

られた。

② 液化液醪中でのグルコアミラーゼの分布

醪を 100 g 遠心分離し、上清および沈澱中のグルコアミラーゼ活性を測定した (Table V)。その結果、グルコアミラーゼは上清と沈澱に分布していた。また、沈澱中の有効液相量から単位容積当りの活性に換算すると、両画分にはほとんど差が認められず、グルコアミラーゼは液化液醪中に均一に分布していることがわかった。

③ グルコアミラーゼによる液化液の分解作用

液化液にグルコアミラーゼを作用させ、グルコース生成速度に与える酵素活性の影響について調べた (Fig.

Fig. 5. Effect of Temperature on Glucose Production Rate. Symbols: ○, 10°C; ●, 15°C; △, 20°C; ▲, 30°C.

3). 液化液中の糖組成はほとんど G3~G6 のオリゴ糖であるため、グルコアミラーゼによって速やかに分解され、グルコース生成速度と初発グルコアミラーゼ活性は比例した (Fig. 4)。また、反応系に α -アミラーゼや酸性プロテアーゼを添加したところ、グルコース生成速度は変化せず、 α -アミラーゼによる溶解反応はグルコース生成に影響しなかった。 α -アミラーゼによる溶解を伴う従来の醗酵形式では醗中のグルコース生成を非醗酵系で再現することは困難であったのに対し、液化液の場合は非醗酵系でも容易にグルコース生成を再現できることがわかった。そこで、以下醗酵の有無によるグルコース生成に関する相違はないと仮定して、非醗酵系でのデータに基づきグルコース生成速度式の設定を進めることにした。

Fig. 5 に各温度における初発グルコアミラーゼ活性とグルコース生成速度との関係を示した。次に、これより

Fig. 6. Arrhenius Type Plot of Glucose Production Rate. Symbols: ○, 20 U; ●, 35 U; △, 50 U; ▲, 80 U.

得られたグルコース生成速度と温度とをアレニウスタイププロットしたところ (Fig. 6), いずれのグルコアミラーゼ活性においても直線関係が得られ、その傾きよりみかけの活性化エネルギーを 17.0 (kcal/mol) と定めた。

$$dG/dt = a \cdot k \cdot E_0 \cdot \exp(k_t/T) \quad (1)$$

また、蒸米および麴を用いる従来の清酒醪においては、醗酵中に蒸米からの澱粉の溶解が起こるため、液相内のグルコアミラーゼ濃度を推定する場合、澱粉の溶解速度や液相率の推定が不可避であった。ところが液化液醪ではこれらを考慮する必要がないため、グルコース生成はグルコアミラーゼの一次反応で行われることが明らかとなった。したがって、蒸米を用いた粒状仕込に見られる α -アミラーゼの無効吸着や酸性プロテアーゼの関与⁽¹⁰⁾についても全く考慮する必要がなかった。

④ 反応速度論的解析

Fig. 7. (S)-v Plot of Hydrolytic Reaction of Glucoamylase.

グルコアミラーゼの液化液に対する反応速度論的解析を行い、みかけの K_m を求めた (Fig.7). ここで、基質濃度 (S) は上清中の還元糖モル濃度からグルコースモル濃度を差し引いたもので、グルコース以外の還元末端の数とした。Lineweaver-Burk plot よりみかけの K_m を 1.2 mM とし、高濃度で若干の基質阻害が認められたので、基質阻害定数 K_i を 1180 mM とした。以上の結果より、基質 (S) に対する影響をも含めたグルコース生成速度式を (2) のように定めた。

$$dG/dt = a \cdot k' \cdot E_0 \cdot (S) / \{ (S) + K_m + (S)^2 / K_i \} \quad (2)$$

⑤ 醗酵期間中のみかけの K_m の変化

醗酵期間中に液化液醪の糖組成は、酵母によるグルコースの資化およびグルコアミラーゼによる分解により変化すると考えられる。そこで、醗酵の各期間におけるグルコアミラーゼに対するみかけの K_m , ならびに、 V_{max} を求め、Table VI に示した。醗酵前の液化液においては

Table VI. Kinetic Parameters of Glucoamylase toward Oligosaccharides and Liquefied Rice Starch

Substrate	K_m^a	V_{max}^b	Total sugar ^c
G 2	2.8	0.11	—
G 3	1.6	0.36	—
G 4	0.36	0.68	—
G 5	0.20	0.78	—
G 6	0.21	0.71	—
Soluble starch	—	1	—
L. R. S. (0 day)	1.2	0.78	36.8
(4 days)	1.8	0.71	24.8
(8 days)	3.6	0.51	16.3
(12 days)	5.6	0.11	8.2

^a mM, ^b V_{max} toward soluble starch as 1.0,

^c % (measured by phenol-sulfate method).

Fig.8. Time Course of Glucoamylase Activity in Moromi Mash.

Table VII. Values of Constants and Coefficients

Constant	Values
a	488 (g rice/liter)
k_0	8.05×10^9 (g/U/day)
k_t	-8,560 ($^{\circ}$ K)
k_d	5.72×10^{28} (liter/day)
k_{dt}	-20,100 ($^{\circ}$ K)
K_m	1.2 (mM)
K_i	1,180 (mM)

$G_3 \sim G_6$ 程度のオリゴ糖が中心であることから、 K_m , V_{max} とも、それらのオリゴ糖に近い値を示した。しかし、醗酵が進むにつれ、みかけの K_m が増加し、 V_{max} は低下した。これは醪中の残糖に占めるマルトースや難分解性の糖の割合が増加したためであると考えられた。

⑥ 醪中でのグルコアミラーゼの失活

15 $^{\circ}$ C 一定で醗酵させた醪の上清中のグルコアミラーゼ活性の経時的变化を調べ、Fig.8 に示した。グルコアミラーゼは醗酵期間中に徐々に失活し、上槽時には 40~60% の失活が認められた。酵素の失活を (3) 式、および (4) 式で表わすと、失活定数 $k_d = 0.021$, 半減期 33 日であった。失活定数に対する温度の影響はアレニウスタイププロットより、みかけの活性化エネルギーを 40 (kcal/mol) と定めた。以上、(1)~(4) 式より得られたグルコース生成速度式を (5) 式に、また、実験定数を Table VII に示した。

$$dG/dt = a \cdot k' \cdot E_0 \cdot \exp(-k_d' \cdot t) \quad (3)$$

$$k_d' = k_d \cdot \exp(-k_{dt}/T) \quad (4)$$

$$dG/dt = a \cdot k_0 \cdot E_0 \cdot \exp[k_t/T - k_d \cdot t \cdot \exp(k_{dt}/T)] \cdot (S) / [(S) + K_m + (S)^2 / K_i] \quad (5)$$

⑦ 酵素剤仕込における醗酵期間中のグルコース生成量の推定

Runge-Kutta 法により (4) 式を数値解析し、醗酵期間中のグルコース生成量をシミュレートした。生成グルコース量は、対糖収率 ($Y_{P/S}$) を実験的に求め (0.46), これを用いて生成アルコール量から換算して得られた消費グルコース量と、醪上清中に残存するグルコース量の和で示した。仕込温度 10~20 $^{\circ}$ C の範囲で計算値と実測値はほぼ一致した (Fig.9)。さらにグルコアミラーゼ活性を 20~75 U/ml の範囲で種々変えた場合の結果を Fig.10 に示した。グルコアミラーゼ活性が 20 U/ml と著しく低い場合のみ、実測値が計算値を上回った。これは、酵母によるマルトースの資化によるものではないか

Fig. 9. Simulation of Glucose Production in Moromi Mash with Liquefaction Treatment at Different Temperature.

Fig. 10. Simulation of Glucose Production in Moromi Mash with Liquefaction Treatment under Various Glucoamylase Activity.

と考えられた。しかし、通常の醸酵に用いられるグルコアミラーゼ活性の範囲 (40~75 U/ml) では満足する結果が得られた。なお、(4) 式においては、醸酵期間中の糖組成の変化による K_m , V_{max} の変化については考慮しなかったが、醸酵終了時までグルコース生成を推定することができた。

以上示したように、非醸酵系で設定したグルコースの生成速度式により、実際の醸酵系においても良好なシミュレーション結果を得ることができた。このように液化液仕込の場合状態把握が容易で、また、複雑な溶解反応系を考慮する必要がないため、単純なモデル式で精度よ

く表現することが可能であり、今後醸酵制御システムを構築するうえでも、きわめて有利なプロセスであると考えられる。清酒醸酵プロセスの制御を考えた場合、最低限必要な状態変数は品温、ボーメ、アルコール濃度およびグルコース濃度であろう。とくに、グルコース濃度は固定化酵素などを用い簡単に測定できるものが既に市販されており、最近では、Mizutani ら⁽²⁰⁾により、パン酵母培養におけるオンライン計測が報告されている。今後、麴を用いた系での解析を進めるとともに、アルコール濃度等の計測をも含めた醸酵制御システムの開発および精密な品温制御システムの開発などを行っていく予定である。

要 約

(1) 液化後に残存する未液化澱粉は、醪中でも分解されず原料利用率を極限まで向上させるためには、液化終了時点での澱粉液化率を高める必要があることが明らかとなった。

(2) 着色度の増加や焙焼香の付加等の酒質の劣化を伴うことなく、澱粉液化率をほぼ 100% まで向上させるためには、95~100°C の比較的高温で、短時間 (約 10 分間) 液化する方法が有効であることがわかった。

(3) 液化液仕込を行うことにより、さらに酒化率を向上させることが可能となった。また、液化条件を適宜変えることにより、清酒中のアミノ酸度を調節できる可能性が示唆された。

(4) 液化液を用いた酵素剤仕込においては、澱粉の溶解や液相率の変化を全く考慮する必要がなく、グルコース生成には、グルコアミラーゼのみが関与することがわかった。

(5) グルコース生成速度は初発グルコアミラーゼ活性に比例し、また、温度に対する影響はアレニウスタイププロットで示すことができた。

(6) 得られたモデル式により、醪中のグルコース生成量をシミュレートしたところ、計算値は実測値とほぼ一致した。

記号

dG/dt : glucose production rate, g/dl/day

a : conversion coefficient for enzyme activity, g rice/liter

k : constant in equation (1), g/U/day

E_0 : enzyme activity, U/g rice

k_t : constant in equation (1), °K
 (S) : substrate concentration, mM
 Km : saturation constant, mM
 Ki : substrate inhibition coefficient, mM
 k' : constant in equation (2), g/U/day
 k'' : constant in equation (3), g/U/day
 k_d : coefficient of enzyme deactivity, liter/day
 k_d' : constant in equation (3), liter/day
 k_{dt} : constant in equation (4), °K
 T : temperature, °K
 t : time, day
 k_0 : constant in equation (5), g/U/day
 $Y_{P/S}$: ethanol yield for substrate, g ethanol/g substrate

本研究の実施にあたり、終始ご指導いただきました京都大学食糧科学研究所所長森田雄平先生に深謝いたします。(本研究の一部は、日本農芸化学会昭和59年度大会および昭和61年度大会で発表した。)

- (1) 今安 聰, 川戸章嗣, 大石 薫, 杉並孝二: 農化, **60**, 207 (1986).
- (2) 今安 聰, 打越文雄, 斉藤義幸, 山下正朋, 杉並孝二: 農化, **60**, 213 (1986).
- (3) 今安 聰, 川戸章嗣, 大石 薫, 杉並孝二: 農化, **60**, 697 (1986).
- (4) 今安 聰, 川戸章嗣, 大石 薫, 杉並孝二: 農

- 化, **61**, 941 (1987).
- (5) 今安 聰: 清酒酵母の研究, 清酒酵母研究会, 1980, p. 319.
- (6) 猿野琳次郎, 阿野藤七, 野白芳明: 醸工, **31**, 321 (1953).
- (7) 小林信夫: 醸酵協会誌, **21**, 318 (1966).
- (8) 三吉和重, 照井堯造: 醸工, **49**, 935 (1971).
- (9) 三吉和重, 照井堯造: 醸工, **50**, 473 (1972).
- (10) 永谷正治, 水谷行夫, 難波康之祐: 醸工, **51**, 35 (1973).
- (11) 布川弥太郎, 佐藤 勝, 合瀬健一: 醸協, **71**, 383 (1976).
- (12) 藤田栄信, 杉本芳範, 田中伸哉, 吉田敏臣, 田口久治: 醸工, **61**, 331 (1983).
- (13) 貝沼圭二, 松永暁子, 板川正秀, 小林昭二: 澱粉科学, **28**, 235 (1981).
- (14) 岩野君夫, 風間敬夫, 布川弥太郎: 醸協, **71**, 383 (1976).
- (15) 三吉和重, 照井堯造, 加賀谷謙治, 小松信哉: 醸工, **45**, 962 (1967).
- (16) 布川弥太郎, 岩野君夫, 風間敬夫: 醸協, **71**, 650 (1976).
- (17) 小巻利章: 澱糖技報, **34**, 62 (1966).
- (18) G. B. Madsen, B. E. Norman and S. Slott: *Stärke*, **25**, 304 (1974).
- (19) 布川弥太郎: 醸工, **58**, 391 (1980).
- (20) S. Mizutani, S. Iijima, M. Morikawa, K. Shimizu, M. Matsubara, Y. Ogawa, R. Izumi, K. Matsumoto and T. Kobayashi: *J. Food Technol.*, **65**, 325 (1987).