

# スイートソルガム搾汁液からの有機酸飲料の開発

食品室 田村 博 三

## 緒言及び目的

スイートソルガム\*は、バイオマス資源として有望視されている。しかし、ただサイレージ化して飼料とするだけでは、作物としての価値は低い。しかしながら、スイートソルガムは、その茎内に10%以上の糖を含んでいる。そこで、スイートソルガムを圧搾することにより、サイレージ用のチップと共に、糖分を含んだ搾汁液を得ることが出来る。この液は、糖分として10%程度含有しているので、食品化及び発酵原料としての付加価値の高い用途が期待できるため、新作物として十分栽培価値があるものと考えられる。

今回は、糸状菌を用いて、スイートソルガム搾汁液からの、新しいタイプの有機酸飲料を開発するために、有望菌株の検索を行った。

## 方法及び内容

### 1. 材 料

#### (1) スイートソルガム搾汁液

昭和60年に、草地試験場及び農業研究センターで搾汁した搾汁液を、試料として用いた。搾汁液の搾汁月日と採取場所は、表1に示した。

#### (2) 使用菌株

食品総合研究所保存の *Rhizopus* 属 8 株 *Aspergillus* 属 5 株 *Monascus* 属 2 株を用いた。

### 2. 方 法

#### (1) 分析法

pHは、pHメーターM20E型(東亜電波工業社製)酸度は、pHタイトレーターHTM-10A型(東亜電波工業社製)を用い、試料10mlをN/10NaOHでpH7.0まで滴定し、その滴定数を酸度とした。

還元糖は、Somogyi-Nelson法<sup>1)</sup>で測定した。

全糖は、塩酸を用いて加水分解<sup>2)</sup>を行ったあとの分解液について、還元糖と同様の方法で測定した。

全窒素は、ケルダール法<sup>3)</sup>により全窒素分析装置KN-01型(三菱化成工業社製)を用いて測定した。

有機酸は、カルボン酸分析計<sup>4)</sup>S-700型(盛進製薬社製)で測定した。

#### (2) 菌体の接種方法及び菌体量の測定方法

##### 1) 接種方法

糸状菌のスラントに、0.1% Tween 80を含む滅菌水を5ml加えよく攪拌し、搾汁液100ml当り2滴を接種した。

\* スイートソルガムは、イネ科の1年草でありモロコシの一変種、ソルゴー型ソルガムである。

2) 菌体量の測定方法

培養液を、あらかじめ恒量を求めておいた東洋濾紙No.2で吸引ろ過し、100℃で6時間乾燥した。乾燥重量から濾紙の恒量を差し引いて、菌体量とした。

(3) 搾汁液の処理方法及び培養方法

1) 搾汁液の処理方法

搾汁液は、10分間煮沸し15分間8,000 rpmで遠心分離した。その上澄みを東洋ろ紙No.2でろ過し、ろ液を以後の実験に用いた。

2) 菌体生産のための培養方法

糸状菌の培養方法は、あらかじめ滅菌しておいた坂口フラスコ(500 ml容)に、100 mlの前処理したNo.2の搾汁液を入れ、15分間オートクレーブした後、糸状菌を接種し、30℃で所定の時間振とう培養した。また、前処理したNo.2の搾汁液に、栄養源としてN源・P源・Mg源を添加し、30℃で所定の時間振とう培養した。

3) 有機酸発酵のための培養方法

前処理し栄養源を添加したNo.2の搾汁液に、菌体生産のための培養方法と同様な操作で培養した。培養液を吸引ろ過し、かるく蒸留水で洗い、湿菌体を得た。前処理したNo.1の搾汁液50 mlを入れた坂口フラスコに、湿菌体1 gを加え、30℃で4時間振とう培養した。

結果及び考察

1. スイートソルガム搾汁液の分析

スイートソルガム搾汁液のpH・全窒素・全糖・還元糖を表1に示した。pHは、No.3で4.43であったが、その他は5.2前後であった。全窒素は、全体的に少なかった。全糖は、少ないもので約8%、最も多いもので13.4%含まれていた。全糖に対する還元糖の占める割合は、No.1は15% No.2は31%であるのに対し、No.3、No.4ではそれぞれ77%80%であり、搾汁液によりかなり異なっていた。搾汁液の食品化や発酵原料としては、糖が大変重要な要因であるので、糖の含有量から、No.1とNo.2の搾汁液を、以後の実験に供した。

表1 スイートソルガム搾汁液の一般成分

No.	Date	Place	Chemical composition			
			pH	Total sugar (g/100 ml)	Reducing sugar (g/100 ml)	Total N (g/100 ml)
1	10/18	草地試験場	5.12	13.44	2.07	0.006
2	10/18	農研センター	5.32	9.61	3.05	0.010
3	11/15	農研センター	4.43	12.96	10.08	0.027
4	11/20	農研センター	5.49	7.88	6.31	trace

2. 培養条件の検討

糸状菌の菌体で有機酸発酵をさせるために、まず、菌体を得るための培養条件を検討した。

表1の結果から、搾汁液には全窒素が少ないことがわかったので、搾汁液から菌体を得るために

は、窒素源を添加する必要があると考えられる。そこで、まず栄養源添加について検討した。

栄養源は、搾汁液中のグルコース 100 g 当りに換算し、窒素源として硫酸アンモニウム 9.44 g を用い、また、糸状菌の菌体生産に必要と考えられる P 源と Mg 源を添加した。P 源は、リン酸一カリウム 0.44 g, リン酸一ナトリウム 0.50 g を、Mg 源として硫酸マグネシウム 0.15 g を用いて搾汁液に添加した。以後、栄養源を添加した搾汁液を添加搾汁液とする。

無添加搾汁液と添加搾汁液に、*A. oryzae* IAM 2640, *R. oligosporus* 2710, *R. javanicus* 5442 の 3 菌株を接種して培養した。それぞれの菌体量と培養ろ液の pH の経時変化を、図 1 に示した。*A. oryzae* IAM 2640 の菌体量は、無添加搾汁液で約 7 g であったが、添加搾汁液では約 16 g であり、2 倍以上の菌体量を得ることができた。*R. oligosporus* 2710, *R. javanicus* 5442 の菌体量も、無添

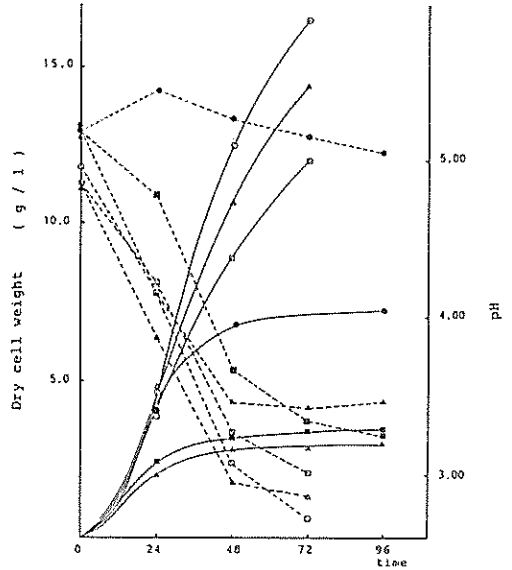


図 1 添加搾汁液及び無添加搾汁液での菌体量及び pH の経時変化

培養は、30℃所定の時間振とう培養した。  
菌体量は、100℃6時間の乾燥重量とした。

*A. oryzae* IAM 2640 R. oligosporus 2710  
○ addition △ addition  
● nonadditional ▲ nonadditional  
  
*R. javanicus* 5442  
□ addition ■ nonadditional  
—— dry cell weight  
----- pH

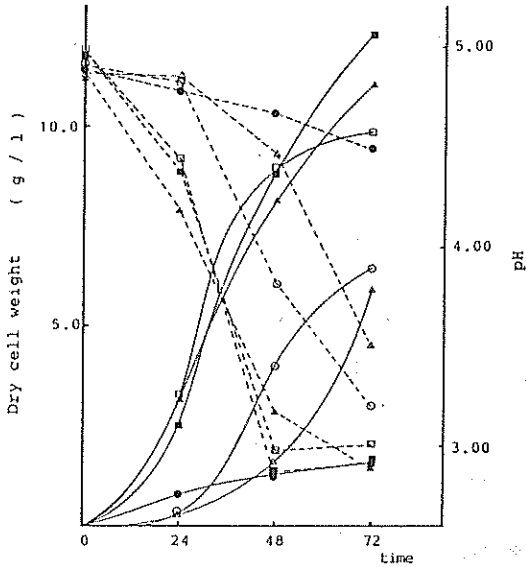


図 2 *Rhizopus* 属の菌体量及び pH の経時変化

培養は、30℃所定の時間振とう培養した。  
菌体量は、100℃6時間の乾燥重量とした。

○ *R. oryzae* 1029 ● *Rhizopus* sp. 8-D  
△ *Rhizopus* sp. 9-A ▲ *Rhizopus* sp. 73-A  
□ *Rhizopus* sp. 74-A ■ *Rhizopus* sp. 77-A  
—— dry cell weight  
----- pH

加搾汁液より添加搾汁液が、3 倍から 5 倍の菌体量を得ることができた。また、培養ろ液の pH は、*A. oryzae* IAM 2640 での無添加搾汁液では、pH の変化はあまりないが、添加搾汁液では、菌体の生育とともに pH が低下している。これは、添加搾汁液に含まれる窒素源として添加した硫酸アンモニウムが、菌体の増殖にともない分解消費され、硫酸根が残り、pH を低下させている原因であると推察される。*R. oligosporus* 2710 と *R. javanicus* 5442 の pH は、無添加搾汁液でも添加搾汁液でも菌体の増殖にともない低下した。無添加搾汁液でも低下することは、有機酸を生産していることを示唆している。その他の菌株については、添加搾汁液を用いて培養した。その菌体量と培養ろ液の pH の経時変化を図 2、図 3 に示した。どの菌株も、菌体の増殖

に伴いpHは低下した。

これらのことから、菌体の生産は、添加搾汁液を用いて培養し、pH・酸度・有機酸の分析は、無添加搾汁液で培養した培養ろ液を用いることとした。

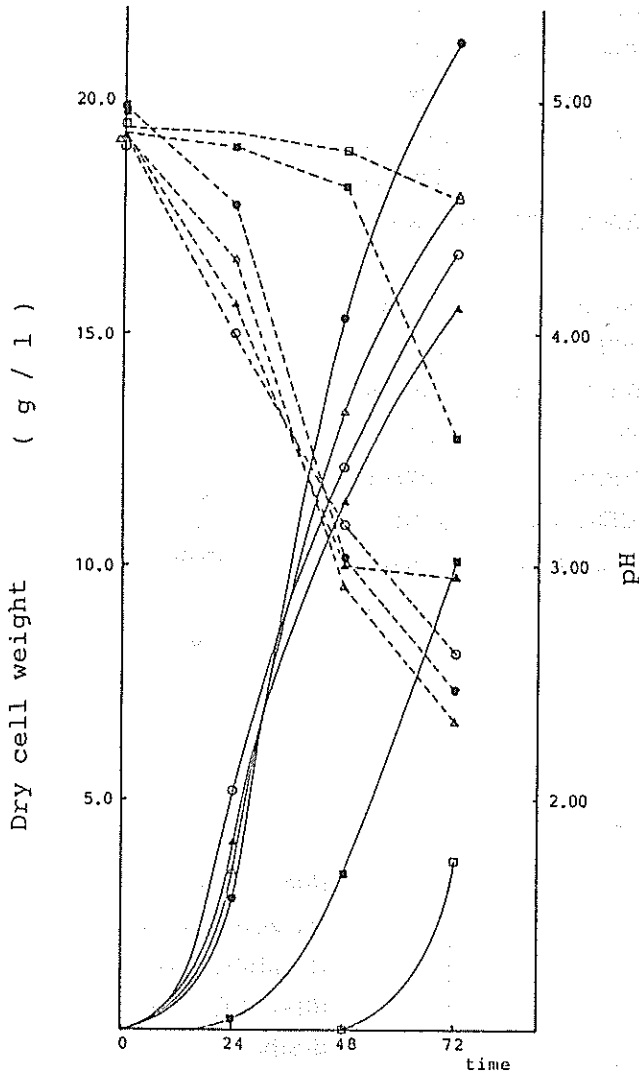


図3 Aspergillus属・Monascus属の菌体量及びpHの経時的变化

培養は、30℃所定の時間振とう培養した。  
菌体量は、100℃6時間の乾燥重量とした。

- A. niger 1020
- Aspergillus sp. B-1
- △ Aspergillus sp. W
- ▲ Aspergillus sp. WK
- M. anka IFO 4678
- M. anka IFO 6540
- dry cell weight
- - - pH

### 3. 菌体による有機酸発酵

図1, 図2, 図3より得られた生育曲線から、対数期の菌株を用いて有機酸発酵を行った。発酵ろ液のpH及び酸度を表2に示した。pHは、M. anka IFO 4678, M. anka IFO 6540が、それぞれ

3.76, 3.84と最も低く、ついで、*A. niger* 1020の4.40であった。その他の菌株は、pHが余り低下しなかった。また酸度も、*M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540が最も高く、それぞれ6.82, 5.56であった。その他の菌株の酸度は、3以下であった。そこで、pHが低下した7株を選び、発酵ろ液の有機酸分析を行った。その結果を表3に示した。また、スイートソルガム搾汁液・標準品・*M. anka* IFO 4678のクロマトグラムを図4-1から図4-3に示した。スイートソルガム搾汁液にはクエン酸が最も多く含まれ、ついで、リンゴ酸の含有量が高かった。このクエン酸とリンゴ酸の含有量の合計は、今回測定した14種の有機酸含量の合計の90%を占めていた。また、発酵した後の有機酸組成の変化は見られなかった。

表2 発酵ろ液のpH及び酸度

species	pH	Acidity
S. J.*	5.12	1.46 ml
<i>R. oryzae</i> 1029	4.59	2.63
<i>R. oligosporus</i> 2710	4.92	1.62
<i>R. javanicus</i> 5442	4.78	1.95
<i>Rhizopus</i> sp. 8-D	4.91	1.66
<i>Rhizopus</i> sp. 9-A	4.89	1.66
<i>Rhizopus</i> sp. 73-A	4.88	1.55
<i>Rhizopus</i> sp. 74-A	4.96	1.53
<i>Rhizopus</i> sp. 77-A	5.01	1.55
<i>A. oryzae</i> IAM 2640	5.04	1.32
<i>A. niger</i> 1020	4.40	2.87
<i>Aspergillus</i> sp. B-1	5.01	1.55
<i>Aspergillus</i> sp. W	4.98	1.46
<i>Aspergillus</i> sp. WK	4.98	1.52
<i>M. anka</i> IFO 4678	3.76	6.82
<i>M. anka</i> IFO 6540	3.84	5.56

\* S. J.は、スイートソルガム搾汁液

表3 発酵ろ液の有機酸組成

Carboxylic acid	S. J.*	R. oryzae 1029	R. oligosporus 2710	R. javanicus 5442	Rhizopus sp. 8-D	A. niger 1020	M. anka IFO 4678	M. anka IFO 6540
Glutamic acid	—	—	—	—	—	—	—	—
Pyroglutamic acid	8.3	12.3	10.6	10.8	9.6	8.8	12.8	12.9
Lactic acid	0.8	8.0	1.8	1.3	1.7	1.4	2.1	2.0
Acetic acid	0.4	2.0	1.3	0.5	0.9	1.1	1.3	1.0
Pyruvic acid	0.4	—	1.3	1.0	1.0	0.8	0.9	0.6
Formic acid	2.9	4.1	3.8	3.0	2.6	2.5	3.2	3.0
Malic acid	78.9	93.7	97.3	95.4	91.8	86.4	90.0	89.6
Propionic acid	—	—	—	—	—	—	—	—
Citric acid	112.8	132.4	130.0	127.4	129.4	124.9	131.3	129.8
Succinic acid	1.4	4.2	5.1	6.3	4.1	2.4	2.8	2.7
Malonic acid	0.9	1.7	2.0	1.4	1.3	1.0	1.4	1.2
Butyric acid	1.4	2.1	2.3	1.8	—	1.9	1.3	—
$\alpha$ -ketoglutaric acid	—	—	2.8	1.8	—	—	—	—
Isovaleric acid	—	—	—	—	—	—	—	—
Valeric acid	—	—	—	—	—	—	—	—

\* S. J. は、スイートソルガム搾汁液

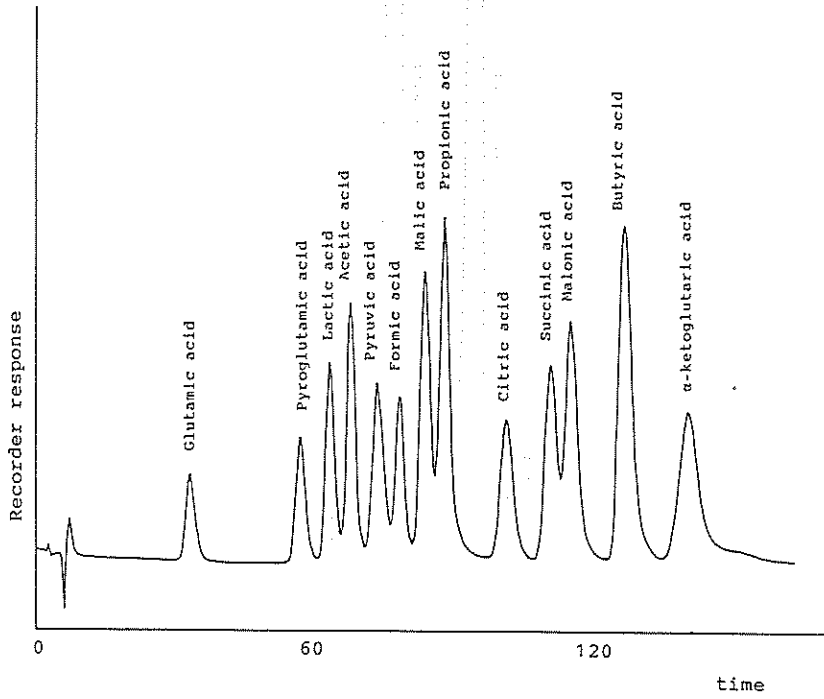


図 4-1 有機酸標品のクロマトグラム

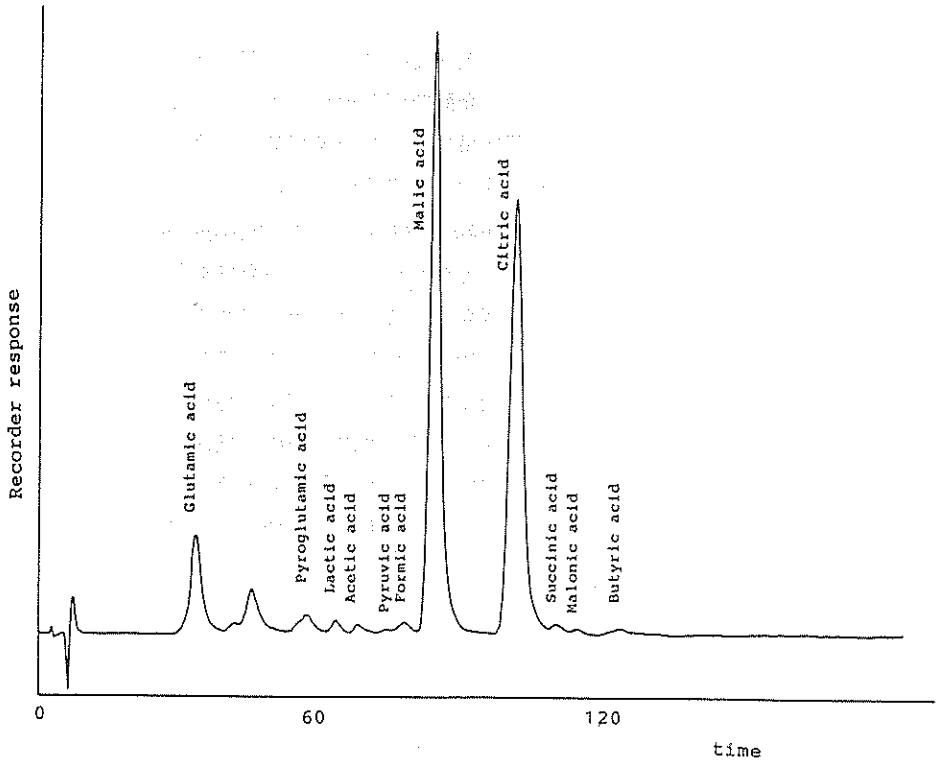


図 4-2 スイートソルガム搾汁液のクロマトグラム

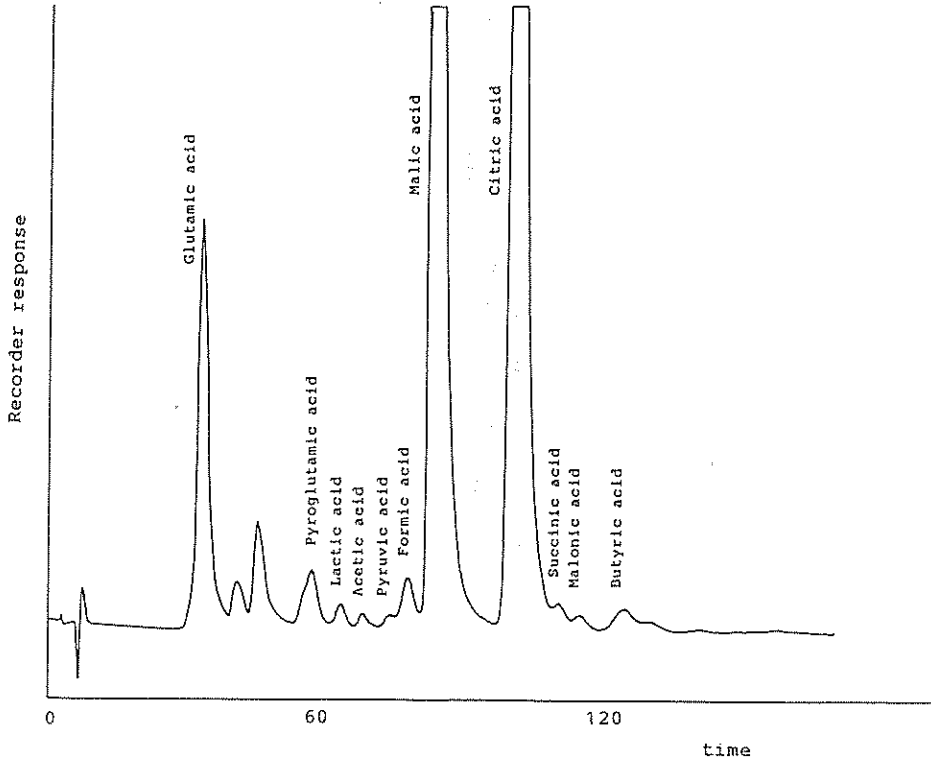


図4-3 M. anka IFO 4678を用いた発酵ろ液のクロマトグラム

*M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540, *A. niger* 1020 は、pHが低下したにもかかわらず、有機酸組成の変化が顕著に現れなかったのは、発酵時間が短かったことや、菌体量が少なかったことが原因として考えられる。今後個々の菌体量についての発酵条件を検討し、もっと有機酸を生産できる発酵条件についての試験を、引続き検討する必要がある。

以上の結果から、*M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540, *R. oligosporus* 2710, *R. javanicus* 5442, *A. niger* 1020 は、有機酸発酵をすることがわかった。この発酵を利用して、スイートソルガム搾汁液から新しいタイプの有機酸飲料を開発することは、可能であろう。また、糸状菌体は、水不溶で簡単にろ液と分離可能であるので、直接バイオリクターとしての連続発酵も可能であろう。

沖縄県では、スイートソルガムと同様な作物であるサトウキビが、毎年170万トンも生産されている。しかし、近年、砂糖の消費量の低下・異性化糖の進出・価格の低迷等で、かなりきびしい状況にある。現在サトウキビは、製糖用のみに用いられており、別の用途としては今のところ活用されていない。サトウキビは、沖縄県の基幹作物の一つであり、製糖以外の用途としての活用が望まれており、ここでの研究が、サトウキビの用途の拡大につながるものと期待する。

### まとめ

1. スイートソルガム搾汁液は、全窒素が少なくpHは5.2前後であった。また、全糖は、約8%から13%含まれていた。
2. スイートソルガム搾汁液に栄養源を添加すると、菌体量が2倍から5倍増加。栄養源を添加



して培養した培養ろ液のpHは、菌体の増加に伴って低下した。

3. 有機酸発酵した発酵ろ液のpHは、*M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540が低かった。酸度は、*M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540が高かった。

4. スイートソルガム搾汁液の有機酸は、クエン酸・リンゴ酸が多かった。菌体を用いて搾汁液を発酵させたのちでも、有機酸組成の変化は見られなかった。

5. *R. oligosporus* 2710, *R. javanicus* 5442, *M. anka* IFO 4678, *M. anka* IFO 6540, *A. niger* 1020は、有機酸発酵をすることがわかった。

### あとがき

当研究は昭和61年度中小企業大学校中小企業技術指導員養成過程6カ月コースの実施研修として農林省食品総合研究所において行ったものである。研究にあたっては、食品総合研究所応用微生物部微生物第一研究室 伊藤寛室長・新国佐幸氏・岡田憲幸氏に親切丁寧なご指導を賜りました。ここに感謝の意を表します。

### 資料・引用文献

- 1) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編：食品分析法、170、光琳（1982）
- 2) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編：食品分析法、186、光琳（1982）
- 3) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編：食品分析法、101、光琳（1982）
- 4) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編：食品分析法、522、光琳（1982）

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。