

わが国の醗酵・醸造工業の進展を顧みて

熊本工業大学 上田誠之助

戦後 40 年発酵工業の歩みを振り返ると、いくつかの山が次から次に現れ、そのつど、農芸化学の領域が拡大してきたと思う。ペニシリンに端を発した抗生物質生産、次いで代謝制御発酵ともいえるアミノ酸発酵、核酸関連物質発酵、さらにステロイド転換発酵、酵素生産、炭化水素発酵、環境浄化、そして今日の遺伝子操作、細胞融合などを柱とするバイオインダストリーへとその発展はとどまるところを知らない。

まず、既存の山、アルコール工業の生産プロセスを振り返ってみよう。戦前、澱粉質原料では、麴麴法からアミロ法、さらにアミロ麴麴折衷法へと改善され、戦後はペニシリン発酵で開発された深部培養法で *Asp. awamori* などから作られた液体麴が糖化剤に使用され、短時間に 90% と高い収率でアルコールが得られるようになった。当時はかびのアミラーゼが液化酵素と糖化酵素からなっていることがやっと判明したところで、アミラーゼ生産に尽力された田辺、富金原、アミラーゼ本体を追究されていた北原、岡崎、養田の諸先生方との討論が懐しく思い出される。本江先生の細菌アミラーゼによる高濃度澱粉液化の研究は松沢氏らの高濃度アルコール発酵の工業化へ (1961)、私どもの生澱粉糖化酵素の発見 (1949) は松元氏らの玉蜀黍の無蒸煮アルコール発酵の工業化 (1981) に進展した。

一方、廃糖蜜のアルコール発酵は戦後、各国から輸入される廃糖蜜の化学組成が多様で、その対応に技術者が苦勞されていたのが思い出される。現在、アルコール各社は固定化酵母を用いる廃糖蜜の連続アルコール発酵の中間工業試験に成功し、その工業化が待たれる。

将来は遺伝子操作、細胞融合などにより造成されたアミラーゼ分泌性とアルコール発酵性を兼備した酵母、細菌、かびなどの増殖固定化菌体による澱粉質原料の連続アルコール発酵も夢ではないと思う。

日本での抗生物質生産はペニシリン生産で始まった

が、戦争末期、官民一体となり碧素という名でペニシリンの生産が細々と行われていた。戦後、1946 年、深部培養可能な、強力なペニシリン生産菌 *P. chrysogenum* Q-176 をテキサス大学 Foster 教授が持って来日し、ペニシリンの大量生産が開始された。当時、諸事窮乏の中、ペニシリン生産研究は藪田、坂口、朝井、住木の諸先生方が直接担当され、米国のすぐれた菌株と巨大な深部培養設備導入のため、日本ペニシリン協会、日本ペニシリン学術協議会が設立され、産学官一体となり、苦勞の末、パイロットプラントの設計、除菌フィルターの改善などにより、わが国にもペニシリン工業が生れたが、昨日のような気がする。さらに黄色色素非分泌性ペニシリン生産株の獲得 (有馬ら, 1949)、ペニシリン生産株の単孢子分離法の改良 (小松, 1949) などがペニシリン生産の改良、増産に大いに貢献した。

次いで、ストレプトマイシン (1944)、クロラムフェニコール (1947) などが米国で続々と発見され、わが国でもフラジオマイシン (梅沢ら, 1948) をはじめとして次々と抗生物質が発見された。なかでも、当時わが国における死亡率一位の結核症に対する抗生物質の検索に努め、ジヒドロデオキシストレプトマイシン (池田ら, 1956)、直接生産菌によるジヒドロストレプトマイシン (中沢ら, 1956)、カナマイシン (梅沢ら, 1957) などが見出された。

しかし、抗生物質の濫用はそれらの耐性菌を誘発し、ことにペニシリン耐性菌が世界的に問題になったが、ペニシリンアミダーゼの発見 (坂口, 村尾, 1950) は細菌スペクトラムの広い今日の合成 β -ラクタム抗生物質開発の起点となった。 β -ラクタム抗生物質の 1 つセファロスポリンは不完全菌により生産されるが、放線菌から単環性 β -ラクタムのノカルディン (青木ら, 1976)、細菌からスルファゼシン (今田ら, 1981) が発見され、これを契機にさらに新しい β -ラクタム抗生物質が現れる

だらう。

また、グラム陰性菌のカナマイシン耐性に関し、細胞質因子(R-因子)が発見され(落合ら 1959, 秋葉ら, 1960), 次いで薬剤耐性がカナマイシンの活性部位を修飾する酵素に起因することが解明され, それらを基に多剤耐性菌に有効な半合成誘導体ディベカサン(梅沢ら, 1971), アミカサン(川口ら, 1972)が開発されたが, これらの開発には分子遺伝学, 微生物生化学と合成化学の協力が必須であることを痛感した。

わが国の抗生物質生産の特徴は制癌剤と農業用抗生物質の開発ではなからうか。ザルコマイシン(梅沢ら, 1953)をはじめとして, 米国にも匹敵する数多くの制癌剤が臨床に供されているが, さらなる理想的制癌剤の出現が待たれる。農業用抗生物質も, 稲のイモチ病に有効なブラストサイジンS(米原ら, 1958), カスガマイシン(梅沢ら, 1965), 紋枯病によく利くポリオキシン(鈴木ら, 1966), バリタマイシン(柴田ら, 1970), ウドン粉病に著効のミルディオマイシン(岩佐ら, 1978), の発見は世界をリードするものであろう。家畜の場合, 抗豚赤痢剤としてのセディカマイシン(東出ら, 1971), 抗コックシジウム剤としてサリノマイシン(大岳ら, 1973)のほか数多くの生長促進剤が見出され, 年間 500 トンもの抗生物質が成長促進剤として飼料に添加されている。

このような多数のすぐれた抗生物質の工業生産は研究者たちの並々ならぬ努力の賜であるが, そのほとんどが経験と勘による菌分離, 変異, 培地改良であった。これからは癌発生と生体防御, 抗生物質耐性などの機構の生化学, 免疫学, 分子遺伝学的解明を通しての抗生物質の開発, さらに遺伝子操作, 細胞融合などのバイオテクノロジーを駆使した抗生物質の開発により理想的抗生物質が出現することを期待する。

抗生物質生産に次いでアミノ酸発酵が新生した。1955年発酵法によるグルタミン酸生産が世界にさきがけ木下氏らにより行われた。1957年日本で初めて開かれた国際酵素化学シンポジウムでの同氏のグルタミン酸発酵の講演はアミノ酸発酵の輝かしい展開を予測していた。この発明を機に, 燎火のごとく各種アミノ酸発酵が研究され, 今では天然蛋白質を構成するほとんどすべてのアミノ酸が発酵法または酵素法で工業生産されている。本来, 菌体蛋白質に合成されるべきアミノ酸を, その合成経路を離脱して菌体外に排出させる新しい技術の展開がアミノ酸発酵であって, 栄養要求変異株を用いての物質の代謝誘導によるという意味で代謝制御発酵ともいえる新分野が開かれた。わが国の応用微生物学の高いレベルを世界に示した。しかも, 組換え DNA 技術を駆使した

スレオニンの大量生産(佐野ら, 1983)は酵素法によるリジン生産(福村ら, 1976)とともに将来のアミノ酸発酵の一方をを示すものである。

こんぶのうまみの主成分であるグルタミン酸の発酵生産に触発されてか, かつお節のうまみの主成分イノシン酸(IMP), グアニル酸(GMP)が1957年呈味成分として再確認され, 國中氏らは1960年, *Penicillium citrinum* の 5'-nucleotide forming nuclease で酵母 RNA から IMP, GMP を量産した。しかも, これらヌクレオチドの呈味度がグルタミン酸により相乗的に増加するという興味ある現象も見出した。次いで, 放線菌にも同様の酵素が発見され, 工業的に使用されている(大村ら, 1961)。1つの可能性が見出されると, 多数の研究者による熾烈な競争が展開され, ヌクレオチドの直接発酵生産, ヌクレオチドの中間体を発酵で作る, それを有機合成の手法で目的のヌクレオチドにするなど, あらゆる可能性が研究され, それぞれ工業化している。最初は呈味成分の開発を目途とした核酸関連物質生産は医薬部門にも進出し, アミノ酸発酵と並ぶ日本特有の発酵といえよう。

酵素工業としては戦前から織物工業における糊拔剤としての細菌 α -アミラーゼ, 果汁工業における清澄剤としてかびのペクチナーゼなどが生産されていたが, 戦後は重要な食糧源であった甘藷が食糧事情の好転に伴い, 1955年ごろより滞貨し始め, 莫大な量の甘藷澱粉が政府の倉庫に眠り, 政府はその処分に困惑していた。福本, 辻阪両氏はかびのグルコアミラーゼによる澱粉から高収率でのグルコースの工業生産に成功, 澱粉の滞貨は一挙に解消した。当時(1959), 米国留学中の私は福本先生から成功のお手紙をいただき, Corn Products Co. の重役に伝え, 彼らも目を輝かしてその成果を聞いたのが懐しく思い出される。次いで, 植物の β -アミラーゼと微生物の澱粉枝切り酵素によるマルトースの工業生産に林原(株)が世界で初めて成功したが(1968), 枝切り酵素に原田教授のものと私どものものが使用された。次いで, 細菌(津村ら, 1961), 放線菌(高崎ら, 1969)のグルコースイソメラーゼによるグルコースからのフラクトース生産は世界的規模へと発展した。マルクトールに端を発した虫歯になりにくい低カロリー糖; カップリングシュガー, ネオシュガー, パラチトースなどが糖転移酵素により開発された。蛋白分解酵素関係では, 世界的需要が逼迫している仔ウシレンネットに代る微生物レンネットが有馬教授ら(1969)により, また消炎剤として著効のあるセラチオペプチダーゼが友田氏ら(1968)により, *Achromobacter* のプロテアーゼを用いるブタイ

ンジュリンのヒトインシュリンへの修飾法が森原氏ら(1980)によりそれぞれ見出されたのが印象深い。

これからは、極端な環境下で生育できる微生物による酵素生産、さらにそれに遺伝子操作も加味しつつ新しい酵素の発見、工業化へ進むべきであろう。千畑氏らのアミノアンラーゼに端を発した固定化酵素も固定化微生物とともにバイオリアクター、バイオセンサーなど応用の道を拡大すべきである。

1963年微生物を用いる原油の脱パラフィンとそれに伴う菌体飼料生産がフランスで開発されるや、わが国でも、山田(浩)、飯塚、福井の諸先生方により石油系炭化水素を炭素源とした発酵が精力的に研究され、菌体蛋白、アミノ酸、クエン酸、ビタミン類などが効率よく生産されることが明らかにされ、世界をリードされたのを目をみはった。緒方教授らはメタノール資化性酵母を見出し、その菌体生産が注目を集めた。わが国で開発された炭化水素からの酵母生産技術は諸外国に輸出されたが、1973年の原油価格の急騰その他の理由でジカルボン酸を例外として石油系原料による発酵はわが国では工業化できなかった。昨今の石油価格の下落をうけて、石油発酵の研究は再燃するのではなからうか。

戦後、朝鮮事変を経て高度成長期に入るとともに、人口の都市集中化、各工場の拡大に伴う工場廃水、廃ガスにより環境汚染が急速に進行し、環境改善の一手段として微生物による環境浄化が要望された。有馬教授が中心となられ、全国の応用微生物学者を結集され、おそらく日本農芸化学会をはじめ以来の膨大な組織ができ、1974~1977年文部省科研費の特別研究として、活性汚泥法、メタン発酵法などの研究で輝かしい成果が挙げられた。なかでも、今井教授らの鉱山廃水の合理的処理法、外村教授らの有機水銀処理法とその機構解明、高橋(甫)教授らのプロナーゼ処理による汚泥フロックの崩壊がとくに印象に残った。それらの成果は *Microbiology for Environmental Cleaning* という著書となり諸外国の注目を集めた。発酵廃液の閉鎖系処理は瀬戸内に面した工場として理にかなった方法である(鈴木ら、1977)。

有機酸では乳酸、酢酸、クエン酸、フマル酸の発酵については戦前から先駆的研究が行われ、戦後は炭水化物からのクエン酸発酵(尾崎ら、1955)、イタコン酸発酵(小林ら、1957)、さらに炭化水素からのクエン酸発酵(中尾ら、1971)の工業化への努力がとくに印象深い。異種微生物の転換発酵によるコハク酸やリンゴ酸などの効率よい取得(高尾ら、1978)もこれからの新しい発酵形式の一つではなからうか。しかしながら、わが国の有

機酸発酵は二、三を除き、工業化されていないのが残念である。

戦後、アセトン・ブタノール発酵ではブタノール・リッチ菌の発見とその工業的使用が注目された(本江、1959)。一方、緩慢の異常発酵は“眠り病”といわれ、その原因がバクテリオファージであることが解明された(木下ら、1952)。ファージ汚染の基礎的研究と工業的防除対策が確立された(本江、村田、1966)。しかし、石油化学の台頭により発酵法による生産はかげをひそめたが、石油価格の上昇とともに再び脚光を浴びる日が来るであろう。

一方、伝統の醸造工業は戦後目まぐるしく変化した。

清酒工業では戦後の食糧事情の窮迫していたころは貴重品の米をいかに有効に使うに多量の清酒を作るかに腐心し、戦争末期に開発されたアルコール添加法による清酒増量法に加えて、さらに政府の方針によって3倍増醸法が登場し、少ない米で従来の3倍の清酒が作られた。神武景気を経て高度成長期に入るとともに清酒も増産へと向い、生産規模の拡大、生産性向上などのため、蒸米放冷機、大型仕込タンク、自動製麹機、連続蒸煮機、連続もろみ圧搾機などが開発され、とくに強制通風製麹装置の出現は麹の酵素力価を高めると同時に在来の四日麹から三日麹へと製麹時間の短縮に大きな貢献をした。

このような清酒醸造の近代化には清酒醸造に関する微生物化学の進歩が寄与している。戦後ほどなく、田村(学)氏による真性火落菌の生育因子、火落酸(メバロン酸)の発見があった。私の恩師山崎何恵先生の学位論文が火落菌に関する研究で、火落菌の生育因子を推論されていて、火落酸の発見をわがことのように喜ばれていた。清酒醸造に関する微生物の研究はほとんど大蔵省の醸造試験所に依存し、全国酒造場より分離されたそれぞれ特色をもった優良酵母は日本醸造協会を通じ、酒造家に配布され、清酒の酒質向上に役立っている。鉄分の多い醸造用水を使用すると清酒の色が濃くなるが、その原因物質が麹菌の生産するデフェリフェリクローム(DF)であることが明白にされ(蓼沼、佐藤、1967)、さらに上述の火落酸とDFの両者の生産性を欠く麹菌も造成された(原、菅間、1975)。その間、たいへんスリルに満ちた事件が発生した。非常に発癌性の強いアフラトキシン生産菌 *Asp. flavus* が清酒などの醸造に使用される麹菌と近縁なため、諸外国で麹菌によるアフラトキシン生産の可能性が指摘された。坂口先生は予研、食研、醸試、キョーマン醬油中研の研究者を集められ(1965)、全国の種麹菌のアフラトキシン生産性の有無を調査され、種麹菌にはアフラトキシン生産性がまったくないことを

確認され、私どもも安堵の胸をなでおろしたことがあった。その後、黄麹菌がアフラトキシン生産性 *Asp. flavus* と分類学的にもまったく異なるものであることが示された(村上, 1973)。

また、TTC (2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride) を含む寒天培地での培養酵母と野生酵母の判別法(秋山ら, 1963)、 β -アラニン培地による協会7号酵母と他の酵母の判別法(菅間ら, 1965)の開発は清酒もろみにおける野生酵母の汚染率を急速に低下させるための強力な手段となったし、タンク容量の最大限の利用のための泡なし酵母が育成され(秋山ら, 1965)、一方、キラー性の協会7号酵母も育成され(大内ら, 1981)、感受性野生酵母の汚染防止を可能にした。一方、本江教授らは清酒の高濃度アルコールの成因として麴や蒸米などの固形分、米の蛋白質、麹菌のプロテオリビドなどの存在ともろみの適切な酸化還元電位の必要性を示している(林田, 1971)。また、白米のリパーゼ浸漬により芳香性の清酒が生成され、その機構も解明された(吉沢ら, 1979)。

そのほか、クエン酸高含有清酒、モナスクス麴やアデニン要求性酵母による赤い酒など新しいタイプの清酒の開発研究が懸命に行われているのに、清酒生産が1975年をピークに下降気味にあるのは残念である。連続醸造、酵素仕込、無蒸煮仕込、麹菌の酵素系を組入れた酵母による単独仕込などの開発努力とともに他方では呈味の多様化、すなわち純米酒、吟醸酒のような伝統的芳醇な清酒と若者むきの洋風化したソフトな清酒で消費をのばしたい。

ビール工業における戦後の進歩ではアサヒビール(株)により開発された屋外発酵タンクおよび貯酒タンクが印象深い(原田, 1968)。高柳氏がこのタンクの啓蒙に世界各地で熱弁を振られたのが今日このごろのようである。その後、世界のビール会社がその大型化に努め、戦前20~40klの屋内発酵タンクは今では自動洗浄設備を持った500klにも及ぶ巨大な屋外タンク群となり、コンピューター制御の装置産業に変貌している。マンモスタンクの加圧下での酵母の生理は従来の小型タンク内でのそれとずいぶん異なると考えられるのに、ほとんど同じ品質のビールが醸造される技術の高さに畏敬の念さえ感じる。製麦時にアマラーゼをはじめ諸酵素の生産が内生ジベレリンが引き金となって開始されることが明らかにされ(四方, 1960)、ジベレリンを製麦時に添加する端緒が開かれたが、日本でも許可される日が待たれる。ビールのホップ成分、さらに日光臭や酸化臭に関して黒岩氏や橋本氏のすぐれた研究があるが、なかでも日光臭の本体の究明はその防止法の確立へと進展した(黒岩,

1965)。ビール中のダイアセチルが α -アセト乳酸由来で生成され、後発酵時の浮遊酵母数を増し、発酵温度を上げることでダイアセチルが無臭の2,3-ブタンジオールに還元されることが明らかにされ(井上ら, 1970)、各社で実用化されている。ビールの噴き現象の原因はいろいろあるようであるが、かび汚染の麦芽によるビールの噴きの本体が環状ペプチドであること(天羽ら, 1973)、さらにビール香气成分の1つ酢酸エステル生成酵素が酵母細胞膜に存在すること(吉岡, 1981)が明示されるなどビール研究者の努力が実りつつある。

ビール工場のエネルギー消費の最大部門は製麦工程だといわれ、しかも、大麦炭水化物の5~10%が製麦時に消費されるやに聞く。麦芽に依存せず、酵素剤だけで大麦からビールはできないものだろうか。さらに遺伝子操作などで造成された酵素群の分泌能を持つ酵母を固定化し、バイオリクターで大麦を連続的にビールにするのは夢であろうか。

単式蒸留で作られる焼酎乙類、いわゆる本格焼酎のうち、沖縄の泡盛、南九州のイモ焼酎は黒麹菌、米焼酎や麦焼酎は黄麹菌を使用していたが、泡盛以外は1955年ごろから河内(商)の黒麹菌の白色変異株(北原教授により *Asp. kawachii* と命名)が広く使用され、そのすぐれたクエン酸生成能でもろみの細菌汚染が防止されて、良質の焼酎ができた。本格焼酎は1979年ごろから特有の風味を愛する人により人気が出、減圧蒸留でまろやかな風味をつけ消費をのばした。ソバ、ニンジンなど数十種の原料名の焼酎が市販されているが、従来の豊醇な風味をもつイモ、米、麦焼酎がこれからも賞味されるだろう。一方、連続蒸留による焼酎甲類、いわゆるホワイトリカー、新式焼酎は1980年ごろから若者の“酎ハイ”ブームで消費が一時急激に増した。大麦などの原料の風味を残すようなパテントスチル風な蒸留法による製品の混和など、品質の改良が行われ、本格焼酎の品質に近づいてきている。

食酢は食生活の洋風化と健康食品嗜好の波に乗り順調に伸びてきたが、その内容も終戦直後は大半が合成酢であったが、今日ではほとんど発酵酢へ衣がえした。その製造法も、伝統的表面発酵法も残しつつ、一方では深部発酵法を採用している。後者は10~20倍速い生酸速度で安定した発酵が可能で、消費者の高級品嗜好や自然食品嗜好に即した従来法では考えられない20%にも及ぶ高酸度醸造酢ができるようになった技術の進歩は素晴らしい。

醤油工業の進歩は主として原料、とくに大豆の窒素利用率の向上にあったといっても過言ではない。とくに終

戦直後、G. H. Q. (連合軍総司令部) により窒素利用率が 50~60% と低い醸造醤油と 80% と利用率の高いアミノ酸醤油が対比され、醸造醤油の製造が累卵の危機に陥ったが、1948 年キッコーマン醤油(株)の案出した新式二号醤油醸造法(大豆ミールの稀酸分解とコブラミール麴)で窒素利用率を 80% に上げることができ、醸造醤油が生き残れたのではなかろうか。さらに 1956 年同社の N. K. 式原料蛋白処理法により従来の醸造法でも窒素利用率は 80% に達した。さらに、醤油麹菌の各種変異処理による強力なプロテアーゼ生産株の獲得(井口, 1955)、低温経過による麹菌の著量のプロテアーゼ生産(山本, 1958)、高温、瞬間蒸煮法(福島ら, 1970)で利用率はさらに 7~8% 向上し、現在では 90% 前後の利用率で醤油は醸造されている。醤油の香味には醤油酵母のほか乳酸菌(*Pediococcus halophilus*)が重要であることが指摘され(坂口, 1958)(飯塚ら, 1959)、これらの菌は醤油もろみに積極的に加えられるようになった。さらに麹菌のグルタミンナーゼ活性と醤油中のグルタミン酸含量の間に正の関係があることが明示されたこと(加藤ら, 1976)は興味深い。

味噌は戦後、米蛋白の栄養を補うからよいといわれたり、その高塩分が高血圧症の原因だとか、そうでないとか、いや味噌汁摂取は癌になりにくいとか、その評価に一喜一憂しながら、強化味噌、低塩味噌などの開発に努

力しつつ、ほぼ横ばいの生産を続け現在に至っている。

味噌醸造の特徴は戦後、加温速醸プロセスへの転換で、しかも、天然醸造味噌の風格を持たせるため、種類によっては乳酸菌、酵母、酵素剤が添加されている。

また、戦後、淡色味噌が流行し、味噌の色の研究が盛んで、当時、著効のあった塩化アルミニウムの使用は禁止され、現在は連続蒸煮にて味噌の淡色化、着色防止をはかっている。

味噌は醤油と違って、まだ地方色が強く残っている。しかも、味噌が半固体のため製造プロセスも機械化しにくい点もあり、規模の巨大化が困難な醸造工業だと思う。

以上、発酵・醸造の戦後の輝かしい発展の跡を懐しく回顧してきたが、今後は一方では分子遺伝学を足場にして遺伝子操作、細胞融合などバイオテクノロジーを用いて従来の微生物のみならず、動植物遺伝子を組入れた微生物、微生物遺伝子を組入れた動植物細胞を造成し、他方では培養工学を足場に、固定化酵素、固定化微生物を用いた合理的なバイオリアクターを考案し、発酵・醸造が効率よい有用物質生産の場に発展することを期待する。

九州の小さな窓からの横観で戦後の素晴らしい発酵・醸造の発展の一部をかいま見たにすぎないのではないかと恐れつつ筆をおく。