

# コーンスターチ製造工業における副産物 「コーンスティープリカー」の 高度利用に関する研究

第1報 コーンスティープリカー培地における乳酸資化性酵母の検索

滝 昭夫\*・三輪 泰造\*・久松 眞・山田 哲也

(三重大学農学部, 農芸化学科, \*日本食品化工(株)中央研究所)

Studies on Value-Added Utilization of Corn Steep Liquor,  
a Byproduct of the Corn Starch Plant

Part 1. Selection of Yeast Well-grown in Corn Steep Liquor

Akio TAKI\*, Taizo MIWA\*, Makoto HISAMATSU and Tetsuya YAMADA

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,  
Mie University, Tsu, 514 Japan

\*Nippon Shokuhin-Kako Co., Fuji, 417 Japan

## I 緒 言

コーンスターチ製造工業でコーンスターチを生産する際、コーンスティープリカーが副産物として生成する。即ち、その製造過程で、とうもろこし粒を0.1~0.3%の亜硫酸液に45~50°C、約40~48時間乳酸発酵させながら浸漬する工程があり、浸漬を終った液は、浸漬槽から抜液され真空蒸発装置によって固形分50%前後まで濃縮される。この濃縮された浸漬液が「コーンスティープリカー」である。

このコーンスティープリカーは、とうもろこし粒から溶出された可溶性蛋白質、ペプチド、アミノ酸、糖類、ビタミン類が含まれるほか、浸漬中に乳酸発酵が行なわれるため、この発酵の過程で生成される独特な成分をも含む極めて栄養価の高いものである。現在、主な利用分野は微生物工業であり、特に抗生物質、ビタミン、アミノ酸、及び酵素生産における重要な培地成分として広く利用されている。またコーングルテンフィードに混合し乾燥して配合飼料原料としても有効に利用されている。し

かし、コーンスティープリカーは多量の乳酸、アミノ酸、及びペプチドを含む極めて粘稠な液体で、特に液体である乳酸が存在することにより、通常の方法では乾燥できないので配合飼料に用いる時、取扱いが困難である。従って、現在はコーンファイバーに吸着させ炭酸カルシウムで中和、乾燥しグルテンフィードとして製造販売されている。この方法はファイバーの飼料価値を高める点では優れているが、付加価値の高い栄養バランスのよいコーンスティープリカー独自の固型飼料原料の開発が強く望まれている。

さて、種々の澱粉産業に関連のある廃資源や余剰的な資源の餌飼料化を目的とする酵母菌体生産に関するバイオマス研究は多く見られ、例えば甘藷澱粉廃液に酵母を培養する研究<sup>1,2)</sup>、馬鈴薯澱粉廃液についての微生物処理に関する研究<sup>3)</sup>の報告があるが、コーンスティープリカーから酵母を生産する研究はConrady<sup>4)</sup>、赤木<sup>5)</sup>らの報告があるのみである。著者らは、コーンスティープリカーが微生物培地として優れている点に着目し、その濃縮前の状態である浸漬液そのものを培地として、酵母を培養させることでコーンスティープリカーの栄養価を増進させて、付加価値の高い餌飼料を生産することを目的

としている。本報では、コーンステープリカー中の乳酸を炭素源として資化する乳酸資化性酵母について検討を行ない、若干の知見を得たので報告する。

## II 実験方法

### 1. 供試菌

*Saccharomyces* 属, *Hansenula* 属, *Candida* 属, *Rhodotorula* 属, *Pichia* 属, *Cryptococcus* 属, *Debaryomyces* 属, *Torulopsis* 属, *Kloeckera* 属, の酵母を供試菌とし、麴エキス斜面培地に 30°C, 48時間培養したものを前培養として用いた。

### 2. スクリーニング基本培地とコーンステープリカー培地組成

#### (1) 乳酸合成培地組成

乳 酸	2.5%
ペプトン	0.2%
酵母エキス	0.3%
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.04%
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.02%

#### (2) コーンステープリカー培地

本報に用いたコーンステープリカーは日本食品化工(株)製の濃縮前の浸漬液を培地として用いた。

コーンステープリカーは原料とうもろこしの品種, 産地, 浸漬条件などによって成分比にかなり差異があるが, Table 1 に示したものが標準である。

Table 1. Composition of corn steep liquor.  
(before condensation)

total solid	6.0~7.0%
lactic acid	1.6~2.0%
reducing sugar	0.4~0.5%
total nitrogen	0.4~0.6%
ash	1.1~1.3%
pH	3.6~3.8

### 3. 培養試験法

#### (1) 培地の調整

各々の培地を試験管または 500 ml 振盪フラスコにそれぞれ 10 ml, 100 ml 分注し 121°C, 15分殺菌した。

#### (2) 1次スクリーニング法

乳酸合成培地の寒天平面法によってコロニーを形成させ, 次に乳酸合成培地及びコーンステープリカー培地

を用いて, 30°C, 24時間試験管振盪培養によって, 増殖を比較した。

#### (3) 2次スクリーニング法

乳酸合成培地及びコーンステープリカー培地で, 30°C, 24時間試験管振盪で前培養し, その 5 ml を培地 100 ml を分注した振盪フラスコに接種し, 30°C, 24時間, 振盪回数 120 r.p.m, 振幅 7 cm で培養した。培養液の残存乳酸量を分析して乳酸資化能を調べた。

#### 4. 菌体重量及び菌数の測定

菌体重量は培養液を遠心分離 (3000 r.p.m) し洗浄後, 105°C, 2時間乾燥し, 菌体量として示した。菌数の測定<sup>6)</sup>は, Thoma の血球計を用いた。

#### 5. 乳酸の定量

乳酸の定量は Barker-Summerson 法の改良法<sup>7)</sup>に準じた。

#### 6. 還元糖の定量

還元糖の定量は Somogyi 変法<sup>8,9)</sup>を用いた。

## III 実験結果及び考察

### 1. 乳酸資化性酵母の1次スクリーニング

日本食品化工(株)研究所保存菌株13種, 静岡大学農学部, 京都大学農学部より分譲された菌株15種について, 乳酸合成培地の寒天平面培養によってコロニーを形成させ分離した後, 30°C, 24時間試験管振盪培養によって増殖を比較検討した。

Table 2 に酵母菌株の培養結果を示した。その結果, 1次スクリーニングにおいて, 乳酸合成培地及びコーンステープリカー培地に, 生育良好な菌株は下記の10種であった。

(1) *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* IAM 4125

(2) *Pichia pseudomolymorpha* PF-18

(3) *Debaryomyces cantarellii* DF-1

(4) *Saccharomyces microellipsoides* AS-2

(5) *Candida catenulata* C-19

(6) *Candida utilis* C-31

(7) *Candida lipolytica* C-40

(8) *Cryptococcus laurentii* HC-1

(9) *Rhodotorula mucilaginosa* HR-14

(10) *Kloeckera* SP 2201

### 2. 乳酸資化性酵母の2次スクリーニング

1次スクリーニングによって乳酸をよく資化する酵母

Table 2. Growth of yeast on lactic acid medium and corn steep liquor by shaking culture in test tube.

Yeast		Lactic acid medium	Corn steep liquor
<i>C. catenulata</i>	C-19	+++	+++
<i>C. lipolytica</i>	C-40	++	++
<i>C. parapsilosis</i>	IFO 1022	±	-
<i>C. tropicalis</i>	IFO 0618	-	±
<i>C. utilis</i>	IFO 1086	+	+
<i>C. utilis</i>	C-31	+++	+++
<i>Cryptococcus laurentii</i>	HC1	++	++
<i>D. cantarellii</i>	DF1	++	++
<i>H. anomala</i>	IAM 4213	±	+
<i>H. anomala</i>	IAM 4713	±	-
<i>H. capsulata</i>	IFO 0974	±	-
<i>H. dimennae</i>	H57	±	-
<i>Kloeckera</i> sp.	2201	+++	+++
<i>P. fermentans</i>	PF1	-	-
<i>P. pseudomolymorpha</i>	PF18	++	++
<i>P. pinus</i>	IFO 1342	±	-
<i>P. trehalephile</i>	1282	-	-
<i>Rh. mucilaginoso</i>	HR14	++	++
<i>S. carlsbergensis</i>	IFO 2005	±	+
<i>S. cerevisiae</i> Hansen	IFO 0850	+	+
<i>S. carlsbergensis</i> Hansen	IFO 1167	±	+
<i>S. cerevisiae</i> Hansen	IFO 0306	+	+
<i>S. cerevisiae</i> Hansen	IFO 0308	+	+
<i>S. cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i>	IAM 4125	+++	+++
<i>S. fermentati</i>	AS20	-	-
<i>S. kirin</i>	IFO 2017	±	±
<i>S. microellipsodes</i>	AS2	+++	+++
<i>T. xylinus</i>	IFO 054	±	±

+++ Very good growth  
 ++ Good growth  
 ± Poor growth  
 - Non growth

菌株, 10種を選択したが, 更に乳酸合成培地及びコーンステープリカー培地によるフラスコ振盪培養 (30°C, 24時間) を行ない乳酸資化能の高い酵母菌株の2次スクリーニングを実施した結果を Table 3 に示した。

乳酸合成培地において, 生育した菌体量及び培地中に残存している乳酸量を比較してみると, 最も増殖が良好な菌株は *Candida utilis* C-31 で, 次いで *S. cerevisiae* IAM 4125, *Kloeckera* SP 2201, *S. microellipsodes* AS-2, *Candida catenulata* C-19 が良好な生育を示した。次にコーンステープリカー培地中の乳酸をよく資化する菌株を比較すると, 乳酸合成培地と, ほぼ同様の傾向を示

し最も乳酸資化能が高い菌株は, *S. cerevisiae* IAM 4125 で, 次いで *Candida utilis* C-31, *S. microellipsodes* AS-2, *Kloeckera* SP 2201 となる。乳酸合成培地とコーンステープリカー培地には多少, 増殖に差異が生じた。また, 乳酸資化能の高い酵母菌株の培養特性としては, 培地の初期 pH 3.6~3.7 が, 培養終了時には pH 値7.0 付近まで上昇する傾向が, 両培地において見受けられる。この現象は培地中の乳酸が酵母によってほぼ完全に資化されていることを示唆している。

以上の結果からコーンステープリカー培地中の乳酸をよく資化する有望な酵母としては *S. cerevisiae* IAM

Table 3. Growth of yeasts on lactic acid medium and corn steep liquor by shaking culture in 500 ml Sakaguchi flask.

strain		*Lactic acid medium			**CLS medium	
		pH	mycellium dry matter (g/l)	residual lactic acid (%)	pH	residual lactic acid (%)
<i>C. catenulata</i>	C-19	7.25	5.52	0.81	3.85	1.70
		6.70	5.20	0.92	3.55	1.62
<i>C. lipolytica</i>	C-40	5.42	4.79	1.48	4.10	1.54
		4.40	4.96	1.32	4.33	1.12
<i>C. utilis</i>	C-31	7.90	5.36	0.62	7.01	0.14
		7.70	6.62	0.42	6.02	0.36
<i>Cryptococcus laurentii</i>	HC-1	3.70	0.97	2.44	3.90	1.64
		3.90	1.20	2.10	4.05	1.61
<i>D. cantarellii</i>	DF1	3.75	0.57	2.42	4.65	1.38
		3.70	0.73	2.44	4.30	1.30
<i>Kloeckera</i> sp.	2201	7.32	5.62	0.67	5.58	0.74
		7.20	5.37	0.73	4.98	0.62
<i>P. pseudomolymorpha</i>	PF-18	3.68	0.21	2.09	3.75	1.73
		3.60	0.21	2.44	3.55	1.83
<i>Rh. mucilaginosa</i>	HR-14	3.72	0.78	2.40	3.86	1.60
		3.80	1.17	2.07	3.60	1.33
<i>S. cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i>	IAM 4125	7.00	4.35	0.75	6.68	0.10
		7.30	5.00	0.45	6.68	0.14
<i>S. microellipsodes</i>	AS-2	6.55	4.61	0.80	4.98	0.56
		6.90	4.86	0.70	5.20	0.44

\* lactic acid content in lactic acid medium 2.5%

\*\* lactic acid content in CSL medium 2.0%

4125 を代表的菌株として選択し今後の培養試験に供した。

### 3. コーンステープリカー培地の pH 調整と酵母増殖の影響について

代表的な酵母菌株 *S. cerevisiae* IAM 4125, *C. utilis*

C-31 を用いてコーンステープリカー培地の pH と増殖の関係を Table 4 に示した。両菌株とも pH 無調整 (pH 3.6) のコーンステープリカーに十分に生育し pH 調整はむしろ、増殖に不利な結果となる。例えば、NaOH で pH 調整すると培地中の乳酸が Na 塩になり、

Table 4. Effect of CSL medium pH on the yeast growth

Yeast	Initial pH	Cultural broth (24 h)		
		pH	residual lactic acid	Odour of broth
<i>S. cerevisiae</i> IAM 4125	3.8 (non adjustment)	6.8	0.26	fragrant, with weakly alcoholic
	4.8 (with NaOH)	7.2	0.54	weakly alcoholic
	4.8 (with NH <sub>4</sub> OH)	7.3	0.40	fragrant, with weakly alcoholic
<i>C. utilis</i> C-31	3.8 (non adjustment)	6.1	0.29	bad smell
	4.8 (with NaOH)	7.5	0.53	very bad smell
	4.8 (with NH <sub>4</sub> OH)	7.4	0.44	bad smell

乳酸資化後残存  $\text{Na}^+$  による pH の上昇のため、乳酸資化能が低下することが推察される。飼料化には栄養面だけでなく嗜好面も大きな問題となるので、両菌株による培養後の匂いを観察したところ、*C. utilis* C-31 培養後の匂いが悪く、特に NaOH で pH 調整した場合は著しい悪臭がした。この点 *S. cerevisiae* IAM 4125 は醸造酵母であることから期待された様に、培養液は、弱いアルコール発酵臭を伴う芳香が得られ餌飼料用としても好ましい菌株といえる。

### 要 約

乳酸合成培地とコーンスティープリカー培地を用いて乳酸資化能の高い酵母の検索を検討した。

(1) コーンスティープリカー培地における乳酸資化能の最も高い酵母菌株は *S. cerevisiae* IAM 4125 である。

(2) 乳酸資化能の高い酵母を培養すると、培養終了時に pH 7.0 付近まで上昇する。

(3) コーンスティープリカー培地の pH と酵母増殖の関係を調べると pH 無調整 (pH 3.6 付近) のコーンスティープリカーに十分に生育し pH 調整はむしろ増殖に不利な結果となる。

(4) NaOH で培地の pH を調整すると、培地中の乳酸が Na 塩になるため酵母の乳酸資化能が低下する。

(5) *C. utilis* C-31 培養後の培養液の匂いが悪く、一方 *S. cerevisiae* IAM 4125 の培養液は弱いアルコール発酵臭を伴う芳香臭が得られ、餌飼料用としても好ましい菌株である。

### 文 献

- 1) 高桑正義・白戸美登里：澱粉工誌, 10, 168 (1963).
- 2) 杉本勝之・志賀一三・後藤富士雄：澱粉工誌, 14, 120 (1967).
- 3) 寺井悌三・山田康郎・吉町晃一・篠田 清：醸工, 43, 387 (1965).
- 4) CONRADY, E.: Stärke, 14, 13 (1962).
- 5) 赤木盛郎・吉田弘一：三重大農学報, 43, 97 (1972); 44, 331 (1972); 45, 127 (1973).
- 6) 東京大学農学部農芸化学教室：実験農芸化学, 上巻, 朝倉書店, 東京, 1952, p. 181.
- 7) BARKER, S. B. and W. H. SUMMERSON: J. Biol. Chem., 138, 535 (1941).
- 8) SOMOGYI, M. J.: J. Biol. Chem., 160, 61 (1945).
- 9) 東京大学農学部農芸化学教室：実験農芸化学, 下巻, 朝倉書店, 東京, 1952, p. 587.

### Summary

Although corn steep liquor (CSL) is well-known as an essential component of a microbial medium for the production of antibiotic, CSL is mainly used a feed for animals. CSL is, however, troublesome to handle in processing it as feed for animals because of its viscous liquid state attributable to the lactic acid contained in CSL.

The removal of lactic acid from CSL was tested by using a yeast capable of growing in a medium containing lactic acid or CSL as a sole source of carbon. Ten strains of yeast were selected from the 28 collected in the first screening. Two strains, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4125 and *Candida utilis* 31C, were selected with the second screening, and the former was finally adopted for the project as a result of an excellent smell of the culture broth. As the latter had a bad smell, it was inadequate as fodder for animals.

The removal of lactic acid in CSL with *S. cerevisiae* IAM 4125 was almost perfect and led to the solidification of CSL after drying. As initial pH value (3.6) of the CSL medium rose to pH 7.0 during the final stage of the culture, and adjustment of the initial pH value for CSL with sodium hydroxide was not satisfactory for the yeast culture.