

## 最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	印 瓜			
	主査 鹿児島 大学 教授 高峯 和則			
	副査 鹿児島 大学 准教授 吉崎由美子			
審査委員	副査 佐賀 大学 教授 北垣 浩志			
	副査 鹿児島 大学 教授 玉置 尚徳			
	副査 琉球 大学 教授 外山 博英			
審査協力者				
実施年月日	令和2年 1月 24日			
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	<input type="checkbox"/> 口答 <input checked="" type="checkbox"/> 筆答			

主査及び副査は、令和2年1月24日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏 名	印 琥
【質問 1】真菌数と細菌数の CFU はグラム当たりのことだが、コロニー数が少ない様だがこの程度の数なのか。	
【回答 1】小曲の添加量が米に対して 1%程度と非常に少ないので、糖化前後の数としてはこの程度となる。	
【質問 2】固体糖化させる最適温度を 35℃としているが、真菌数は 30℃が多い。また、糖化温度 40℃では真菌数は非常に少ないが、糖化力はある。これをどのように説明するか。	
【回答 2】35℃がベストであると判断した理由は糖化力の活性は 25℃～35℃までほとんど変わらないが、酵素反応は高い温度の方が良いと判断した。また 40℃では非常に菌数は少ないが、増殖はしており、それによって糖化力に係わる酵素生産が行われていると考えている。	
【質問 3】小曲に含まれる <i>Rhizopus</i> が乳酸の生産力が高いとのことだが、標準的な <i>Rhizopus</i> と比較した結果なのか。	
【回答 3】比較はしていない。また、文献もない。	
【質問 4】小曲製造に <i>Rhizopus</i> を添加しているのか。	
【回答 4】小曲製造にはスターとして、小曲を使っている。	
【質問 5】乳酸生成能の高い <i>Rhizopus</i> を分離して、それが使われる様になってきたのか。	
【回答 5】固体糖化において乳酸生成に注目した研究はこれまでにないため、 <i>Rhizopus</i> の分離を乳酸生成能に注目して研究した例もこれまで無い。	
【質問 6】固体糖化後に水と酵母を添加することだが、添加後も糖化は続いているのか。	
【回答 6】デンプンの糖化率は 70%程度であり、発酵中にも糖化は継続している。	
【質問 7】泡盛と小曲米酒の製造法が似ているとのことだが、泡盛の製麹時の糖化率と固体糖化時の糖化率に差があるのか。	
【回答 7】製麹するとデンプンの約 10%が糖化している。一方固体糖化では 70%程度である。	
【質問 8】小曲と大曲の違いを紹介してほしい。	
【回答 8】大曲は原料が麦や豆などを破碎して成形後、微生物を添加するメーカーと、そうでないメーカーがある。約 1 ヶ月培養させる。小曲は米粉を使い、培養時間は 1 週間で製造する。使用するときは、両方とも破碎した後、使用する。	
【質問 9】小曲から分離した <i>Rhizopus</i> は属種までか、菌株まで同定したのか。	
【回答 9】単離した菌株は N1～N4 までのプライマーを用いて同定したところ、 <i>Rhizopus oryzae</i> と 99%一致したが、確定まで至らなかったため、今回は <i>Rhizopus</i>	

sp.までとした。

【質問 10】 *Rhizopus* の標準株と乳酸生成能を比較しても良いのではないか。

【回答 10】 検討したいと思う。

【質問 11】 香気成分の結果は何連で実施したのか。複数の平均値であるのであれば、統計的には SD を付けるべきである。

【回答 11】 15 サンプルの平均値である。SD を付けた表記にする。

【質問 12】 固体糖化と液体糖化を比較すると固体糖化では、微生物がそれぞれ独立した環境で増殖できるので、香気成分が複雑になるのではないか。

【回答 12】 固体糖化の細菌叢の変化があり、それが香気成分に影響があるのか、後輩が研究を進めている。

【質問 13】 小曲米酒の品質は、使用する小曲の品質によると考えられる。白酒の特徴香である乳酸エチルは固体糖化時に乳酸を多量に生産し、それを基質に発酵中に乳酸エチルが生成しているということは *Rhizopus* が香気成分に大きく寄与しているといえる。その他の香気成分は様々な微生物から生成していると考えて良いのか。また、小曲の代わりに純粋培養した *Rhizopus* を使用した白酒は軽快で深味のない酒になるかも知れないが、白酒の品質は向上すると思うがどう考えるか。

【回答 13】 今回の研究は市販米酒に注目したため、純粋培養した単離株の実験まではいたらなかった。ご指摘のとおり、単離株で製造すると淡泊な酒になることが想像できる、一方で、品質は安定化することも考えられる。

【質問 14】 *Staphylococcus* は、人の表皮に多い微生物で、脂質の分解活性が強いので、この菌を除くと香気成分や味わいに寄与している脂肪酸の生成が少なくなるのではないかと考えられるので、注意した方が良い。

【回答 14】 承知しました。

【質問 15】 大曲を使った白酒は蒸留粕を再利用するが小曲米酒は再利用しないとのことだが、その理由を知りたい。

【回答 15】 小曲米酒では残存するデンプンがほとんどないが、白酒はデンプンの利用率が低いので、再利用することになる。

【質問 16】 粕はどの程度再利用しているのか。

【回答 16】 醤香型は 8 回ほど再利用する。濃香型は粕の 2/3 を再利用する。タイプにより回数や、利用割合が異なる。

【質問 17】 小曲米酒製造に関する研究がほとんどされておらず、技術的指導ができないとのことだったが、本博士論文の成果はどのように生かせるか。

【回答 17】 まずは、市販米酒の品質や成分、泡盛と比較して香気成分の特徴を明らかにしたその特徴成分を用いて品質管理が可能となると考えている。また、純粋な *Rhizopus* を使って品質が安定化するのか確認したい。