

## 鳥取ブランド純米酒の開発

Development of Tottori Original Sake, Junmai-Shu

### 麹菌の開発

Development of Koji-Strain for Sake Brewing

茂 一孝・西尾 昭

Kazutaka Shigeru and Akira Nishio

独自の麹菌の開発を行い、清酒の差別化を図る目的で、自然界より胞子が緑色を呈する麹菌を2株分離し、特性を評価した。

その結果、分離株を用いた米麹は両方とも十分な液化力、糖化力を示し、小仕込試験において、分離株を用いた製成酒は比較的濃厚な酒質を示した。清酒用の米麹以外に、焼耐用の米麹として利用できると考えられた。

## 1. はじめに

清酒業界は全国的に消費量の減少傾向が続く厳しい状況の中、各県において独自の酒造好適米、酵母の開発などを行い商品の差別化・高品質化が図られている。

鳥取県においても鳥姫（鳥系酒87号）が、鳥取県農業試験場において育種されており、前報<sup>1)</sup>でその酒造適性について報告を行った。

一方、清酒の原料である米麹は発酵における酵素の供給源として重要であり、清酒の品質に大きな影響を及ぼしている。その酵素類は麹菌によって生産されており、様々な種類の種麹が使用されているものの、各県独自の麹菌を使用し、差別化を図っている例は非常に少ない。

そこで本研究では、広く自然界より麹菌を検索し、独自の麹菌の開発について検討を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 供試素材

#### 2.1.1 供試菌株

*Aspergillus oryzae* RIB40, *Aspergillus flavus* NBRC30107 及び白峯（株）樋口松之助商店社製 粒状種麹）を使用した。

### 2.2 試験方法

#### 2.2.1 自然界からの分離方法

分離源試料を100 ml 胞子懸濁液 (0.1% tween80, 0.9%

NaCl) に懸濁し、ガラスフィルター (25G-1) で濾過後、上澄み液を得た。4,500 rpm で15分遠心し、沈殿物を適度に希釈した後に、AFPA 培地 (酵母エキス 2%, ペプトン 1%, クエン酸鉄アンモニウム (緑色) 0.05%, グリセロール 17%, ジクロラン 2ppm, クロラムフェニコール 100ppm (pH 6.3)) に塗布し、分離を行った。

#### 2.2.2 分離株の同定

カビの分離・培養と同定<sup>2)</sup> 及び Identification of common *Aspergillus* species<sup>3)</sup> に従い同定を行った。

また、ITS-5.8S rDNA 解析については、(株) テクノスルガ・ラボに委託した。

#### 2.2.3 各種酵素活性の測定

製麹はシャーレ製麹法<sup>4)</sup> に従い行った。シャーレ (直径9 cm) に $\alpha$ 米 15 g を入れ、95 °C で2時間乾熱殺菌を行った。次いで、胞子懸濁製麹水 ( $2 \times 10^5$  胞子/ml) 6 ml を $\alpha$ 米に加え、攪拌後、シャーレをステンレスバットに入れ、バットに6.5% (w/w) 水酸化ナトリウム溶液を注いだ。

35°C で36時間培養後、得られた米麹について酵素力価の測定を行った。尚、酵素力価測定 ( $\alpha$ -アミラーゼ、糖化力及び酸性カルボキシペプチダーゼ) にはキッコーマン社製の測定キットを用いた。

#### 2.2.4 小仕込み試験と製成酒の評価

分離した菌株及び市販種麹を用い、総米 150 g の仕

込試験を行った。原料米は平成21年度産の鳥姫（精米歩合70%）を用い、酵母はKU61を使用した。発酵は15°C一定で行い、炭酸ガス減量を測定することで発酵経過を観察した。遠心分離により得られた製成酒の分析は、国税庁所定分析法注解<sup>5)</sup>に従い行った。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 分離菌株の同定

AFPA 培地を用いて自然界より胞子が緑色を呈する糸状菌を3株分離した。それら菌株の形態観察、培養試験の結果を表1に示す。ITS-5.8S rDNA 解析結果（データ非掲載）も合わせ、3菌株のうち分離株1、2を *Aspergillus oryzae*、分離株3を *Aspergillus flavus* と同定した。よって、以降の試験には分離株1、2を用いることとした。

表1 分離株の形態観察結果

	RIB40	分離株1	分離株2	分離株3	<i>A.flavus</i>	
菌落の直径(mm)	CYA25 MEA25	54 73	66 76	60-62 76	70 78	63-67 77
菌落の色調(表面)	CYA25	灰黄色	オリーブ黄色	オリーブ黄色	灰緑色	黄緑色
分生子頭の様態		放射状	放射状	放射状	放射状	放射状
隔壁	あり	あり	あり	あり	あり	あり
アスペルジラ分生子柄	2列(CYA)	主に2列(CYA)	主に2列(CYA)	2列(CYA)	2列(CYA)	2列(CYA)
頂蓋(μm)		粗面	粗面	粗面	粗面	粗面
トレ(μm)		33-60	41-55	41-64	21-33	31-41
フィアライド(μm)		10-14	12	7-10	5-7	7-10
分生子(μm)		10-14	5-10	7-10	7-10	7-10
分生子(μm)		3.8-4.3	3.1-5.5	3.3-5.1	2.8-4.2	3.3-4.9

#### 3.2 分離株の酵素活性

シャーレ製麹法による分離株の酵素力価測定結果を表2に示す。

市販種麹と比較したところ、分離株1、2ともに高いα-アミラーゼ活性、糖化力を示し、酸性カルボキシペプチダーゼ活性は逆に低い値を示した。

液化力、糖化力ともに十分に高い活性を示したことにより、種麹として使用可能であると考えられた。

また、カビ毒として知られるアフラトキシンについて米麹中の分析を行ったところ、分離株1、2及び3ともに非産生であることを確認した（データ非掲載）。

表2 酵素力価測定結果

種麹	水分 (%)	αアミラーゼ (U/g dry)	糖化力 (U/g dry)	糖化力/αアミラーゼ	酸性カルボキシペプチダーゼ (U/g dry)
分離株1	25.5	1307	478	0.37	6036
分離株2	26.4	1320	478	0.36	5916
白峯	27.7	985	369	0.37	9708

#### 3.3 小仕込み試験

発酵経過及び得られた製成酒の分析結果を図1、表3に示す。いずれの種麹においても、順調な発酵経過を示した。

成分分析の結果、市販種麹と比較して、分離株1、2の両者とも、酸度、アミノ酸度、エキス分が高く、比較的濃厚な酒質を示した。同時に、アルコール収量も高くなっていることより、液化力、糖化力が高いため原料米がモロミ中でより溶解されたと思われる。

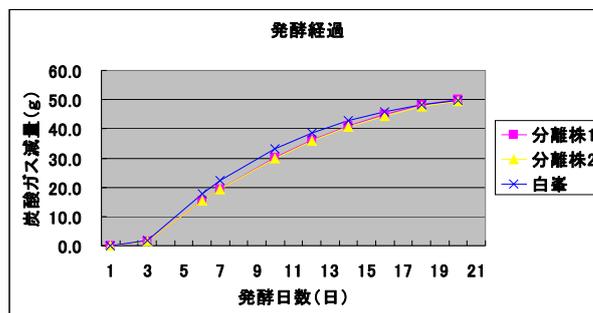


図1 炭酸ガス減量測定による発酵経過

表3 製成酒の成分値

菌株	アルコール分 (%)	日本酒度	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	直接還元糖 (%)	エキス分 (%)	原エキス分 (%)	アルコール収量 (L/1000g・米)	糖歩合 (%)	黒粕
分離株1	19.2	4.4	3.0	2.7	2.6	5.4	35.9	342	58	有
分離株2	19.2	4.0	3.2	2.6	2.6	5.5	36.0	340	59	有
白峯	19.1	8.4	2.7	2.4	1.8	4.7	35.0	322	67	無

### 4. おわりに

自然界より新しい麹菌を2株分離し、特性を評価した。分離株を用いて米麹を作成し酵素力価を測定したところ、十分な液化力、糖化力を示した。

また、米麹においてカビ毒であるアフラトキシン非産生性を示したことで安全性も確認された。

小仕込試験において、分離株を用いた製成酒は比較的濃厚な酒質を示し、高い液化力、糖化力により蒸米がモロミ中でより溶解されたためと考えられた。従って、清酒用の米麹以外に、焼酎用の米麹として利用できると考えられる。

今後、欠点として黒粕の発生が認められたため、褐変性を示さない菌株育種が必要と思われる。

## 謝 辞

原料米を提供していただいた鳥取県農業試験場に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 茂一孝, 西尾昭; 鳥取県産業技術センター研究報告, (11), p58-60(2008)
- 2) 宇田川ら; カビの分離・培養と同定 (1983)
- 3) Maren A. Klich; Identification of common *Aspergillus* species(2002)
- 4) 岡崎直人; 日本醸造協会誌, 74(11), p.738-739(1979)
- 5) 第4回改正国税庁所定分析法注解(1993)