

緒 言

日本の伝統食品である発酵食品は、その多くが麹を使用してつくられており、麹は製品の品質に大きな影響を与えている。焼酎醸造においてもその影響は大きく、使用麹菌、麹の働きにより製品の風味、アルコール収量等に大きな影響を与える。また、焼酎醸造は高温高湿下で開放発酵が行われるため、常に腐造の危険が伴う。これを防止し、かつ順調な発酵が行われるため、出麹酸度は製造管理上重要な指標の一つとされている¹⁾。筆者らは、焼酎の品質の多様化に対応するために、新規焼酎麹菌の開発を試み高生酸性麹菌の造成を検討した。本報では紫外線照射による高生酸性麹菌の造成及び変異株の性質について報告する。

実 験 方 法

1. 供試菌株

当社保存の黒麹菌のうち、*Aspergillus saitoi* 34 株を使用した。

2. 培養方法

62 年度産米(精米歩合 90%)の 化米、及びキッコーマン社製 化大麦²⁾を使用し、岡崎らの方法³⁾により培養を行った。なお水分添加量は蒸米(麦)吸収率として、35%、培養温度は 35 とした。出麹時間は酸素吸収量が 15mg-O₂/g 初発乾物重量となった時点、及び培養 40 時間目とした。

3. 増殖測定装置及び増殖特性値³⁾の算出

麹菌自動増残測定装置は岡崎⁴⁾のものと同様の装置を使用した。培養は 化米(化大麦)を培養装置に採り、乾熱殺菌後規定量の孢子を接種し、水分含量を 化米では蒸米吸収率として 35%、 化大麦では蒸麦吸収率として 40%となるように殺菌水にて調節した。これを装置にセットし、培養温度 35 、相対湿度 95% (6.5%水酸化ナトリウム溶液にて調整)で培養を行った。経時的に記録される酸素吸収量より比増殖速度(μ)、菌体増殖量の指標となる最大酸素吸収速度(O_2max)、誘導期の長さの指標となる初発乾物 1g 当たり酸素吸収量が 1.5mg になった時間 ($T_{1.5}$)を算出した。

4. 高生酸性変異株の造成

孢子懸濁($1 \sim 2 \times 10^6$ ce11s/ml)し、15W の UV ランプを用いて 30cm の距離から紫外線を 4.5 分照射した。この時の生存率は 0.1%であった。なお、変異株選択の際、焼酎への利用を考え color mutant(cinamon、buff、smoke、grey、white、umger など、以下これらの色をした変異株を総称して、白色変異株とした。)のみを釣菌した。

5. 麹の分析

glucoamylase(GAase)、acid carboxypeptidase(ACPase)は、岩野ら^{5、6)}の方法により、 α -amylase(AAase)、acid protease(APase)及び麹の酸度測定は国税庁所定分析法⁷⁾により測定を行った。有機酸分析は高速液体クロマトグラフィー(島津社製 LC-6A)を使用した。

6. 菌学的性質の検討

村上ら⁸⁾の方法にしたがった。

7. 孢子着生能の測定

常法により調整した蒸米(98%精白 61 年度産日本晴)1g 当たり 2×10^5 ce11s/g-白米の胞

子を接種した。シャーレ法⁹⁾(培養温度 35 相対湿度 95%)にて 6 日間培養後、40 にて乾燥を行った。乾燥後、種麴 1g を 0.1%Tween80 溶液 100ml に懸濁し、ヘマチドメーターにて孢子数を計測した。

8. 変異株による焼酎醸造試験

変異株 P-11-54 株を使用して実際規模の焼酎醸造試験を実施した。試験方法は全量麦仕込み(使用麦重量 6750kg)、麴歩合 42%、汲水歩合 150%、3 段仕込み、醪日数 19 日とした。

実験結果及び考察

1. 高生酸変異株の造成

現在泡盛などに利用されている黒麹菌には *Aspergillus saitoi*、*Aspergillus awamori*¹⁾ が主に使用されているが、今回は生酸性が高い傾向にあるとされる¹⁰⁾*Aspergillus saitoi* group を供試菌とした。当社保存の *Aspergillus saitoi* 34 株の蒸米上での増殖測定値を Table 1 に示した。以後の変異処理を考慮し、34 株中最も生育の良い P-11 株を優良菌株として選択、変異処理の親株とし、前述の方法で紫外線照射により変異処理を行った。今回は焼酎への利用を目的とし、孢子の色が白色変異している菌株 198 株を得た。それら 198 株を使用して米麴、麦麴を製造し、培養 40 時間目の酸度を測定した。その結果を Fig.1 に示した。この結果より、米麴、麦麴の両方において生酸性の良い P-11-54 株を目的の菌株として選択した。

2. 変異株 P-11-54 株の生酸性

Table 2 に変異株 P-11-54 株と親株の米麴、麦麴における培養 40 時間目及び酸素吸収量が 15mg-O₂/g 初発乾物重量となった時点での生酸性を示した。参考として現在焼酎用に使用されている *Aspergillus kawachi* (KBN-1043 以下 *A. kawachi*) を使用し同様な試験を行った。培養 40 時間の生酸性は、親株に比べ米麴において約 1.5 倍、麦麴において約 2 倍と高くなっていった。さらに *A. kawachi* と比べても米麴麦麴ともに約 1.4 倍生酸性を示した。酸素吸収量が 15mg-O₂/g-初発乾物重量となった時点(菌体量を等しくした場合⁴⁾)での生酸性は、米麴では P-11-54 株、親株、*A. kawachi* の間で生酸性の違いは認められなかった。培養 40 時間目の結果では P-11-54 株の方が親株、*A. kawachi* に比べ生酸性が高かったことから、P-11-54 株は菌体生成量が増加したためにその結果として生酸性が向上したものと考えられた。麦麴においては菌体量を等しくした場合 P-11-54 株は親株の 1.4 倍の生酸性を示しており米麴の場合と異なり、菌体量当たりの生酸性が上昇していた。麦麴における生酸性の上昇は菌体量の増加と共に菌体量当たりの生酸性の増加によるものと考えられた。

3. 変異株 P-11-54 株の蒸米、蒸麦上における増殖と酵素生産及び有機酸組成について

(1) 蒸米、蒸麦上における増殖

Table 3 に変異株 P-11-54 株の蒸米、蒸麦上における増殖特性値を示した。P-11-54 株は親株に比べ増殖が良くなっていた。*A. kawachi* と比較した場合、比増殖速度、最大酸素吸収速度について差は認められなかったが誘導期の指標である T_{1.5} が蒸米上で 2.9 時間、蒸麦上で 2.5 時間早くなっており、焼酎醸造現場での雑菌汚染防止に有利であると考えられた。

(2) 蒸米、蒸麦上における酵素生産

Tab1e 4 に変異株 P-11-54 株と親株の米麴、麦麴における培養 40 時間目、及び酸素吸収量が 15mg-O₂/g-初発乾物重量となった時点での酵素活性を測定した結果を示した。同一菌体量で比較すると P-11-54 株は GAase APase 活性が親株に比べ約 30%減少しており、ACPase 活性は約 60%増加していた。培養時間を 40 時間の一定とした場合、酸素吸収量は親株に比べ多くなっていたが GAase APase 活性は菌体量当たりの生成量が低下しているため、結果的に低い活性を示した。ACPase 活性は菌体量当たりの生成量が増加していることもあり、約 130%活性が増加していた。*A. kawachi* と比較すると P-11-54 株は ACPase を除き今回測定したその他の酵素活性において低い値を示しており、原料利用率への影響があることが考えられた。

(3) 変異株による焼酎醸造試験

変異株 P-11-54 株を使用して実際規模の焼酎醸造試験を実施した。実際の製麴では P-11-54 株は従来使用されている *A. kawachi* に比べ増殖が早く、*A. kawachi* を使用した場合よりやや水分の低い出麴となった。アルコール収得歩合は、P-11-54 株が 444 l、*A. kawachi* が 445 l とほぼ同じ値となり酵素活性の低下の影響は見られなかった。なお、岩野ら¹¹⁾によると現在焼酎製造用に使用されている麴の酵素活性は必要量に対し、十分に存在していると報告されている。

(4) 蒸米、蒸麦上における有機酸組成

Tab1e 5 に蒸米、蒸麦上における変異株 P-11-54 株の有機酸組成を示した。P-11-54 株は親株に比べクエン酸、リンゴ酸、コハク酸の生成量の顕著な増加が認められた。

4. 変異株 P-11-54 株の菌学的性質及び安定性

(1) 変異株 P-11-54 株の菌学的性質

Tab1e 6 に P-11-54 株の菌学的性質を示した。P-11-54 株は孢子着生量が親株に比べ僅かに減少しており、分生子柄の長さが短くなっていた。*A. kawachi* に比較すると、孢子着生量が約 35%多く分生子柄が短いことから、製麴時での細菌汚染防止及び機械製麴において有利¹²⁾であると考えられた。

(2) 変異株 P-11-54 株の安定性

変異株 P-11-54 株を Czapeck Dox 培地で 10 回平板分離を繰返した後の有機酸組成及び生酸性について Tab1e 7 に示した。1 代目、10 代目を比較して、有機酸組成及び生酸性共に変化は無く、今回得られた P-11-54 株は今回目的とした生酸性について安定であると考えられた。

要 約

新規焼酎麴菌の開発を目的として、まず高生産性麴菌の造成を検討した。当社保存菌株 *Aspergillus saitoi* 34 株より蒸米上での生育の良い P-11 株を選択し、さらに紫外線照射により変異処理を行った。得られた白色変異株 198 株より、米麴麦麴の両方で生酸性の良い P-11-54 株を選択した。この株は 40 時間培養において、*A. kawachi* に比べ米麴で 1.5 培、麦麴で約 2 倍の生酸性を示した。蒸米、蒸麦を基質とした場合 P-11-54 株は親株に比べ増殖

性が良く、酵素活性の中で ACPase が増加し、GAase、Apase は低下していた。しかし、実際の仕込みにおいてアルコール所得量に影響は認められなかった。変異株は親株に比べ分生子柄の長さが短くなっており、機械製麹には有利と考えられた。以上の結果より、今回得られた P-11-54 株は焼酎醸造に十分使用できる菌株であると考えられた。

本研究に当たり、焼酎醸造試験に協力いただいた小正醸造有限会社に深謝致します。

本研究は昭和 62 年度日本発酵工学会年次大会において口演したものに一部訂正、加筆を加えたものである。

文 献

- 1) しょうちゅう醸造技術：日本醸造協会(1983)
- 2) 加藤 威、西沢嘉、赤尾 剛：味噌の科学と技術 **33**、272(1985)
- 3) N.OKAZAKI、S.SUGAMA、T.TANAKA：J.Ferment.Technol.、**58**、471(1980)
- 4) N.OKAZAKI、S.SUGAMA：J.Ferment.Technol.、**57**、413(1979)
- 5) 岩野君夫、風間敬男、布川弥太郎：醸協、**71**、(5)383(1976)
- 6) 岩野君夫、布川弥太郎：醸協、**71**、(5)792(1976)
- 7) 第 3 回改正国税庁所定分析法注解：日本醸造協会 (1974)
- 8) 村上英也、鈴木 与、長繫真琴、大脇京子：国税庁醸造試験所報告、第 137 号
- 9) 岡崎直人、引中吉雄、嶋崎順一、菅間誠之助：醸協、**73**、(5)402(1978)
- 10) 菅間誠之助、西谷尚道、大場俊輝、河内邦英、照尾比呂子、原 昌道、村上英也：醸協、**70**、(8)595(1975)
- 11) 岩野君夫、三上重明、福田清治、椎木 敏、島田豊明、醸協、**81**、(8)554(1986)
- 12) 原 昌道、菅間誠之助、本郷和男、大場俊輝、長谷川佳弘、村上英也：醸工、**52**、306(1974)