

乳酸無添加速醸酒母への種麴「長野白麴ミックス」の活用*

豊田敦至*¹ 福田敏之*² 黒柳智子*¹ 村松裕也*³

Utilization of *Koji Spores* “Nagano Shiro-koji Mix” for Lactic Acid-Free *Sokujo* Starter Culture

Atsushi TOYODA, Toshiyuki FUKUDA, Tomoko KUROYANAGI and Yuya MURAMATSU

日本酒を輸出していくにあたり，“無添加”な製法が求められている。きもと系酒母という方法があるが、時間と手間がかかるため実施できる製造場は限られている。そこで、焼酎製造に使用される白麴菌 *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* と清酒製造に用いられる黄麴菌 *Aspergillus oryzae* との混合種麴である種麴「長野白麴ミックス」を用い、通常黄麴菌の場合と同様な製造工程で製麴試験を行ったところ、適当なクエン酸生産と酵素バランスを持った麴を製造することができた。さらにこれらを用いて乳酸無添加酒母の製造試験を行ったところ、乳酸に匹敵する初期酸度には及ばなかったものの、乳酸無添加酒母として活用できる可能性が見出された。

キーワード：乳酸無添加速醸酒母，クエン酸，白麴菌，長野白麴ミックス

1 緒言

長野県内の清酒出荷量はここ30年以上にわたって右肩下がりになり低下しており、昭和48年の最盛期と比較すると約1/4に減っている。全国的にも近年はこの減少傾向が緩やかに続きながらも、特定名称酒(吟醸酒、純米酒等)の出荷量は堅調に推移しており、量から質へと消費者の志向が向かってきている。また、人口減少による国内消費量の低下や平成25年12月に「和食；日本人の伝統的な食文化」がユネスコ無形文化遺産に登録されたこと等により海外で和食に注目が集まっていることなどから、日本酒の海外への輸出は増えてきており、今後も増加していくことが予想される。

海外においては、無添加が好まれる傾向にあり、醸造用アルコールを添加しない純米酒や製造工程において乳酸を添加しないきもと・山麴酒母(合わせて「きもと系酒母」という)の清酒が求められるケースが多々あると聞いている。

多くの清酒の製造に用いられている速醸酒母は、酒母仕込みの最初に多量の乳酸を添加することで優良清酒酵母が優占的に生育しやすい条件を整え、約2週間で使用

できる。一方、きもと系酒母は原料や環境中に存在する微生物群をうまくコントロールし、最終的に乳酸菌が生産する乳酸によって、優良清酒酵母が優占的に生育しやすい条件を整えることが重要であり、使用までに約1カ月の期間が必要となる。きもと系酒母を製造するためには、製造のための環境を整える必要もあるため、すべての清酒製造場で採用することは難しい。

そこで、速醸酒母における乳酸添加の代替として、焼酎製造の一次もろみで同様の役割をしているクエン酸に注目し、焼酎麴が生産するクエン酸を活用することを考えた。

焼酎製造において活用されている白麴菌 *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* は一般的に黄麴菌 *Aspergillus oryzae* に比べて増殖が遅く、製麴の初期では、高水分高温度の条件で麴菌の発芽と増殖を促したのちにクエン酸の生産温度帯である35℃付近でクエン酸の産生を図る品温経過をとる(図1¹⁾)。α-アミラーゼ(AAase)活性は弱く、グルコアミラーゼ(GAase)活性、酸性プロテアーゼ

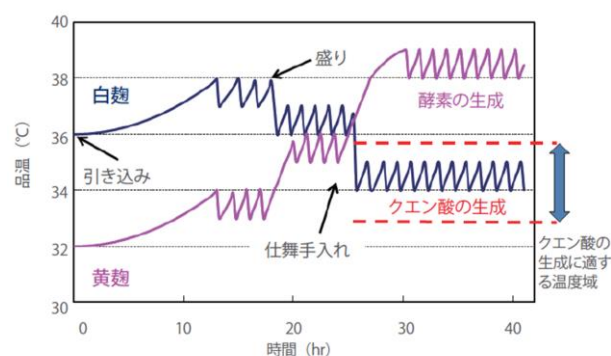


図1 製麴時における白麴と黄麴の品温経過

* 研究開発型企業育成事業 健康長寿＝(には)発酵食品研究会 次世代産業創出共同研究(平成26年度), 戦略的「NAGANOの食」新商品開発事業(平成27, 28年度)

*¹ 食品パイオ部

*² 食品パイオ部(現 長野県環境保全研究所)

*³ (株)角口酒造店

表1 甘酒作製麴の酵素活性

	AAase	GAase	ACPase
	(U/g - 麴)		
乾燥黄麴	1,366	233	2,744
白麴	25	588	5,917

表2 乾燥黄麴及び白麴により作製した甘酒の成分

	Brix	pH	クエン酸	リンゴ酸
			mg/L	
乾燥黄麴	31.6	5.18	340	190
白麴	24.8	3.42	5,910	0

表3 乾燥黄麴と白麴の混合甘酒の Brix 値及び pH

混合比率	Brix	pH
①黄麴のみ	34.0	5.10
②白麴のみ	25.4	3.45
③黄麴：白麴 = 1：1	27.2	3.90
④黄麴：白麴 = 2：1	28.2	4.10

(APase)活性が高いことが特徴である。また、増殖速度の違いから通常の清掃等を行っている環境においては、残存する白麴菌による黄麴菌へのコンタミの影響の可能性は少ないため、清酒製造場においても比較的容易に活用することができる。

一方、通常日本酒製造に用いられている黄麴菌は、増殖が速いため、製麴初期は30℃を切らない程度の温度で発芽を促し、その後品温を高めて酵素類の生産を促す品温経過をとる(図1)。クエン酸はほとんど生産せず、AAase活性が高く、APase活性が低いのが特徴である。

酒母中のクエン酸含有量を高めるためには、白麴菌を用いて製麴を行い、それを麴の一部又は全量使用する方法が一般的であるが、通常黄麴菌を用いた製麴の他に、白麴菌を用いて黄麴とは違った手順で製麴を行う必要があるため製麴回数を増やす必要が生じる。また、前述の通り、麴菌が生産する酵素にも違いがあるため、使用割合によっては、液化が進まず、原料利用率が低下してしまうため、AAase活性も考慮する必要がある。

そこで、種麴菌の段階で黄麴菌と白麴菌とをブレンドした種麴を種麴メーカーの協力を得て作製し、通常黄麴と同様の温度経過での製麴をすることで、目的の酵素力価組成とクエン酸生産とを両立可能かどうか試験を行った。その結果、黄麴菌と白麴菌のブレンドにより目的の酵素力価組成とクエン酸高生産を両立させることができたので報告する。

また、黄麴菌と白麴菌をブレンドした種麴「長野白麴ミックス」を用いた酒母の試作結果についても報告する。

2 各種麴菌を用いた甘酒作製試験

白麴菌と黄麴菌の特徴を確認し、その混合により、原料の溶解性や酸度あるいはpHの変化の状況を確認するため、始めに白麴と黄麴を用いた甘酒作製試験を行った。

2.1 試験方法

2.1.1 製麴方法

白麴菌を用い、常法に従って製麴を行った。すなわち、白米2kgを洗米・浸漬後、40分蒸し、放冷後37℃で種付け(0.7g/2kg)し、37℃、12時間、30℃、18時間の製麴を行い、出麴とした。

AAase活性、糖化力及び酸性カルボキシペプチダーゼ(ACPase)活性は、常法に従って麴酵素の抽出を行い、醸造分析キット(キッコーマンバイオケミファ(株))を用いて測定した。

黄麴菌を用いた麴は、市販の乾燥黄麴(徳島製麴(株)製)を用いた。

2.1.2 甘酒の作製

市販乾燥黄麴と作製した白麴を任意の比率で混合して用い、麴とお湯(60℃)の混合比を1:2とし、55℃の恒温槽で1晩又は18時間糖化して甘酒を作製した。

甘酒を遠心分離した上清を用いてBrix, pH, 有機酸組成を調べた。

有機酸組成は、有機酸分析システム((株)島津製作所製)を用いて測定した。

2.2 結果及び考察

2.2.1 作製した麴の酵素力価

酵素力価を表1に、Brix, pH, 有機酸組成を表2に示した。白麴においては、AAase活性が小さく、GAase活性が大きいという特徴を確認できた。

2.2.2 作製した甘酒の成分

乾燥黄麴及び白麴をそれぞれ単独で甘酒を作製した(55℃糖化1晩)ところ、表2に示したBrix, pH, 有機酸組成となった。AAase活性を反映して、乾燥黄麴のBrixが高く、有機酸生成量を反映して白麴のpHが低い結果となった。

乾燥黄麴及び白麴を任意の割合で混合し、甘酒を作製(55℃糖化18時間)したところ、表3のようなBrixとpHとなり、黄麴と白麴の混合割合に応じて甘味と酸味を任意に変化させることが可能であることが確認できた。

表 4 長野白麴ミックスを用いた麴酵素力価及び麴酸度

No.	白麴菌と黄麴菌の割合	製麴温度経過	AAase	糖化力	ACP ase	クエン酸含有量
				(U/g - 麴)		(mg/g - 麴)
①	白麴菌 A : 黄麴菌 D = 99 : 1	白麴経過	51	629	7,388	73
		黄麴経過	73	826	6,788	49
②	白麴菌 A : 黄麴菌 D = 98 : 2	白麴経過	69	708	9,462	82
		黄麴経過	97	773	6,201	41
③	白麴菌 B : 黄麴菌 D = 97 : 3	白麴経過	369	513	6,381	32
		黄麴経過	248	721	4,975	32
④	白麴菌 B : 黄麴菌 D = 96 : 4	白麴経過	326	590	7,197	32
		黄麴経過	331	668	4,944	28
⑤	白麴菌 C 単独	白麴経過	143	796	7,796	30
		黄麴経過	337	1362	7,119	13

3 長野白麴ミックスによる製麴試験

3. 1 試験方法

3. 1. 1 ブレンド種麴の作製

(株)樋口松之助商店の協力を得て、白麴菌や黄麴菌の種類や配合を変えた5種類の長野白麴ミックスを作製して提供いただいた。

3. 1. 2 プラスチック容器による簡易製麴

プラスチック製容器(10cm×10cm×6cm)を用いた100g規模の製麴を行った。精米歩合70%の白米を用い、種付量は 1×10^7 cells/g白米とした。白麴経過として35℃一定の条件、黄麴経過として30℃、20時間で手入を行い、その後38℃、25時間で出麴とした。

作製した麴の酵素力価は、常法に従って麴酵素の抽出を行い、酵素測定キット(キッコーマンバイオケミファ(株))を用い、AAase活性、糖化力及びACPase活性を測定した。

麴1g当たりのクエン酸含有量(mg/g-麴)は、麴25gに対し70gの水を加えて室温で1時間抽出した後、常法に従って滴定酸度を測定し、滴定値からクエン酸換算した。

3. 2 結果及び考察

簡易製麴した麴の力価及び有機酸含有量は表4の通り。

全体的には、白麴経過ではACP活性と酸生成量が増加している。これは、ACPaseやクエン酸が生産される温度帯が35℃付近にあることに起因すると考えられる。

黄麴菌割合が1%(No.①)と2%(No.②)の場合では、AAase活性が低い、糖化力が高い、クエン酸量が多いなど白麴の傾向が強くて出た。

黄麴菌の割合が3%(No.③)と4%(No.④)の場合では、黄麴経過において、黄麴菌単独の場合の1/3~1/2程度ではあるもののAAase活性が高まっていた。クエン酸量も白

麴経過の場合よりは低いものの、多量のクエン酸の生成が見られた。

AAase活性の強い白麴菌単独(No.⑤)を用いた場合、白麴経過では適当量のクエン酸が生産されたものの、黄麴経過ではクエン酸生産量が低下した。

以上のことから、AAaseなどの酵素剤の使用を前提にクエン酸をより多く生産したい場合にはNo.①を、酵素剤を使用せず製麴のみで酵素バランスとクエン酸生産を行いたい場合はNo.③を使用することとした。

4 クエン酸添加速醸酒母の作製

乳酸の代替としてクエン酸が活用できるかを検討するため、乳酸の代わりに相当量のクエン酸を添加した酒母製造試験を行った。

4. 1 試験方法

総米300g(α化米200g, 乾燥黄麴100g, 汲水360mL)とし、乳酸①は乳酸を1.2mL(汲水100L当たり350mL)、乳酸②は乳酸を2.3mL(汲水100L当たり700mL)、クエン酸①はクエン酸を0.86g(乳酸①と同程度の酸度)、クエン酸②はクエン酸を1.7g(乳酸②と同程度の酸度)を添加した。乳酸②の汲水酸度は6.9、クエン酸②の汲水酸度は6.4で同程度であった。

酵母は協会1801号を用い、仕込み温度は21~24℃で、その後15℃の恒温室内で製造を行った。

適宜サンプリングを行い、同容量の水で酒母2倍に希釈して遠心分離及びNo.2ろ紙ろ過により得られた上清を分析し、酒母当りに換算した。アルコール度はAlcolyzer SAKE(Anton-Paar社製)、日本酒度の測定はDMA-4100M(Anton-Paar社製)を用いて測定した。

表5 乳酸添加速醸酒母とクエン酸添加速醸酒母の成分変化

	酵母日数	アルコール(%)	日本酒度	酸度	クエン酸	乳酸	酵母密度
					(mg/L)	(mg/L)	(10 ⁸ /mL)
乳酸①	4		-144	4.0	215	1,573	0.9
	7	10.0	-84	5.1	258	1,904	1.5
	9	13.0	-62	5.2	332	1,954	1.6
乳酸②	4		-140	5.5	207	3,019	0.8
	7	9.5	-83	6.6	232	3,507	1.7
	9	12.6	-57	7.0	291	3,635	1.4
クエン酸①	4		-142	3.4	1,283	49	1.0
	7	9.7	-86	4.6	1,399	258	1.8
	9	13.0	-61	5.2	1,502	306	1.8
クエン酸②	4		-131	4.2	2,185	42	0.9
	7	9.9	-77	5.4	2,350	255	2.4
	9	13.2	-53	5.8	2,548	311	1.8

4. 2 結果及び考察

酒母製造における成分変化は表5の通り。クエン酸②の4日目のポーメが他の3区分と比べ1程度低くなっていたが、アルコールの生成、ポーメの減少、酸度の変化、酵母の増殖はどの区分もほぼ同等であった。酸度の急激な上昇などが生じなかったことから、乳酸の代わりに相当量のクエン酸を添加することで代替することが可能だと推測される。

5 長野白麴ミックス③を使用した酒母作製試験

長野白麴ミックス③を用い、通常の乳酸添加酒母と比較試験を行った。

5. 1 試験方法

5. 1. 1 製麴方法

長野白麴ミックスNo.③を用い、白米に精米歩合55%の美山錦を使用し、3. 1. 2項に記載の黄麴経過にて製麴を行った。対照としてヒグチモヤシのハイ・Gを用いた。

5. 1. 2 酒母仕込配合

総米270g、汲水300mLとし、3割麴と5割麴の2区分を実施し、掛米にはα化米を用いた。ハイ・Gを使用した試験区には、汲水100L当り700mLの割合で乳酸を添加した。

酵母は協会1801号を用い、仕込み温度は21~24℃で、その後15℃の恒温室内で製造を行った。

5. 2 結果及び考察

用いた麴の酵素活性は表6、酒母製造における成分変化は表7の通りであった。

乳酸を添加区分では3日目の酸度が4.5~4.7であったのに対し、長野白麴ミックス③を用いた区分では、麴に含まれる有機酸含量から想定される酸度ではあったが、3日目の酸度が1.9~2.6とやや低い値となった。また、麴力価が弱いこととα化米を用いたことを反映してか初期ポーメが10.6~11.6と低くなった。しかし、アルコールの生成、ポーメのキレ、酸度の上昇は、ハイ・Gを用いた場合と遜色のない経過となった。

初期酸度の低さが影響したのか、酵母の増殖が長野白麴ミックス③を用いた場合の方がハイ・Gを用いた場合に比べて旺盛であり、終盤の酵母密度も10⁸レベルに達していた。

3割麴と5割麴を比較すると、当然酒母中の酸度は5割麴の方が高い値となったが、初期ポーメは5割麴の方が低くなった。この原因は不明である。

以上のように、若干解明すべき点は残っているものの、長野白麴ミックス③を用い、乳酸無添加速醸酒母を作製することができたと考えている。

今回試作した酒母では、酸度の急激な上昇や異味異臭は感じられず、正常に酒母を製造できた。現状では、初期酸度を高く保ちきれないため、清潔な製造環境での製造が不可欠と考えられる。

今後、長野白麴ミックスを安定的に活用するためには、酒母中で十分な酸度を確保するための製麴方法や酒化率をさらに上げるための安定的な酵素生産の方法をさらに検討していく必要がある。

表 6 麴製造に用いた麴の酵素力価及び有機酸含有量

	AAase	GA ase	ACP ase	クエン酸 含有量
	(U/g - 麴)			(mg/g - 麴)
長野白麴ミックス No. ③	251	390	9,012	3.57
ハイ・G	482	119	5,606	0.31

表 7 長野白麴ミックス③を使用した酒母の経過

麴歩合	種類	酒母 日数	アルコー ル(%)	日本酒度	酸度	クエン酸	乳酸	酵母密度
						(mg/L)		(10 ⁸ /mL)
3割	長野白麴 ミックス No. ③	3		-112	1.9	792	30	
		4		-104	2.6	828	77	0.7
		6	7.0	-78	3.7	925	177	1.0
		8	9.5	-57	3.9	941	222	0.9
		10	12.3	-39	4.3	1,017	264	1.1
	ハイ・G	3	1.2	-116	4.5	108	2,555	
		4		-104	4.6	110	2,606	0.4
		6		-70	5.4	150	2,805	0.7
		8	9.1	-50	5.7	178	2,939	0.7
		10	11.6	-28	6.1	231	2,901	0.7
5割	長野白麴 ミックス No. ③	3		-107	2.6	1,347	33	
		4		-96	3.8	1,303	79	0.8
		6		-62	4.6	1,426	188	1.0
		8	9.9	-47	4.9	1,505	235	1.0
		10	12.1	-33	5.2	1,604	273	1.0
	ハイ・G	3		-106	4.7	178	2,727	
		4		-100	5.6	183	3,017	0.5
		6	7.1	-57	6.0	218	3,178	0.8
		8	9.3	-36	6.3	253	3,277	0.8
		10	12.1	-16	6.7	334	3,505	0.7

6 結 論

乳酸無添加速醸酒母の製造方法として、焼酎製造に使用される白麹菌*Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*と清酒製造に用いられる黄麹菌*Aspergillus oryzae*との混合種麹である種麹「長野白麹ミックス」から麹を作製し、その麹を用いた酒母の製造試験を行った。

- (1) 白麹と黄麹を単独又は混合で用いた甘酒製造試験において、その混合比に従って、甘さと酸味を調整できることを確認した。
- (2) 白麹菌と黄麹菌との混合種麹である種麹「長野白麹ミックス」を用いた簡易製麹試験において、適当なクエン酸生成と酵素生成バランスを持つ長野白麹ミックス①及び③を選択した。
- (3) 長野白麹ミックス①は、黄麹製麹条件においても白麹の特徴を比較的強く有し、酵素剤と併用することで酒母の製造に活用可能と期待される。
- (4) 長野白麹ミックス③は、黄麹製麹条件において、適当なクエン酸生成と酵素バランスを有し、酒母やもろ

みにおいて活用可能と期待される。

- (5) クエン酸添加速醸酒母試験において、乳酸添加の場合とほぼ同等の酒母が製造できた。
- (6) 長野白麹ミックス③を使用した酒母製造試験において、乳酸添加酒母よりも酸度は低かったものの、酵母の増殖が良く、他の成分も良好に推移したことから、本麹を用いて乳酸無添加の酒母を作製することが可能であると結論付けた。

謝 辞

長野白麹ミックスを作製するにあたり、多大なるご指導とご助言をいただいた株式会社樋口松之助商店の山下秀行様に感謝いたします。

参考文献

- 1) 瀬戸口眞治 きた産業株式会社Tips for BFD 第35回 http://www.kitasangyo.com/pdf/e-academy/tips-for-bfd/BFD_35.pdf, (参照日 2018-06-26)