J. Brew. Soc. Japan,
Vol. 78, No. 10, p. 756~757 (1983)

リゾプス属菌の種麴の製造

大場俊輝・遠藤久夫・中村欽一・佐藤 信
(国税庁醸造試験所)

昭和 58 年 2 月 16 日受理

Preparation of Tanē-koji Cultured Rhizopus

Toshiteru OHBA, Hisao ENDO,
Kin-ichi NAKAMURA, and Makoto SATO
(National Research Institute of Brewing,
2-6-30 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo)

前報¹⁾において、著者らは無蒸煮白米に *Rhizopus* を培養した麴を用いた高酸味濁り酒の製造について報告した。*Rhizopus* で製麴する場合、*Rhizopus* をまず、シャーレに培養し菌蓋をはぎとり、無蒸煮白米に吸水させる水に懸濁しブレンダーで破碎して種付けを行った。しかし、将来高酸味濁り酒を製造するメーカーが多くなった場合、種麴の供給をどのようにするかが問題になるものと思われる。

清酒用の種麴は、蒸米に木灰を混和し、*Aspergillus oryzae* の孢子を接種し、培養後着生した孢子を乾燥することによって製造されている。しかし、*Rhizopus* は蒸煮白米上では著しく増殖低下する^{2,3)}ので *A. oryzae* のような方法によって *Rhizopus* の種麴を製造することは困難である。無蒸煮白米上では *Rhizopus* は増殖し孢子を着生したが、菌糸が米粒にくい込み孢子の回収が良くなり、さらに、無蒸煮であるので原料由来の *Bacillus subtilis* などが増殖し汚染をまねがれえなかった。そこで、本報では、*Rhizopus* を寒天培養基ならびに液体培養基に培養し、培養後菌体を加熱乾燥ないしは凍結乾燥することにより種麴を製造することを検討した。

実験方法

使用菌株 *Rhizopus javanicus* IFO 5442 を用いた。

培養および乾燥方法 (1) CM-寒天 (3%) 培地に斜面培養から 1 白耳接種し、30°C、4 日間培養後菌蓋を培地からはぎとり回収し、50°C、60°C、70°C ならびに 105°C の乾燥器中で約 5 時間通風乾燥した。また、同様に培養した菌蓋を凍結乾燥した。(2) CM 液体培地に 30°C、4 日間振とう培養後菌体を回収し水洗脱水し、60

°C、5 時間通風乾燥を行った。

製麴 ブレンダーで少量の水と一諸に乾燥菌体を破碎後、無蒸煮白米に吸水させる水に懸濁した。使用した白米の精米歩合は 75%、吸水歩合は 25% である。無蒸煮白米が均一に吸水後、30°C の恒温室にて 48 時間製麴した。なお、無蒸煮白米 1 kg 当り、直径 9 cm のシャーレに培養し乾燥した菌体をシャーレ 1 枚分使用した。また、液体培養菌体の場合は、白米 100 g 当り乾燥後菌体 0.15 g を使用した。

酵素活性 岩野⁴⁾の方法により α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼを測定した。活性単位は U/g 麴で表示した。

生酸性 麴 10 g を 50 ml の水で 3 時間抽出し、抽出液 10 ml をとり、0.1 N NaOH で滴定し酸度を測定した。

結果と考察

1. 加熱乾燥前後の菌蓋・菌体重量

シャーレ寒天培養における菌蓋重量を第 1 表に示した。直径 9 cm のシャーレに培養後の乾燥前菌蓋は水分約 79%、重量約 1.4 g であり、乾燥後重量は約 0.28 g であった。また、液体培養における乾燥後菌体重量は 0.6 g/100 ml 培養液であった。

2. 麴の酵素力価ならびに酸度

乾燥後の菌蓋ならびに菌体を種麴とし製麴した麴の酵

第 1 表 加熱乾燥前後の菌体重量

乾燥温度	乾燥前菌蓋重量 (g)	乾燥後菌蓋重量 (g)	水分 (%)	固型分 (%)	
50℃	1	1.0370	0.2335	77.48	22.52
	2	1.1966	0.2597	78.29	21.71
	$\bar{x}$	1.1168	0.2466	77.92	22.08
	1	1.5127	0.2805	81.46	18.54
60℃	2	1.6967	0.3294	80.58	19.42
	3	1.3480	0.2747	79.62	20.35
	4	1.5075	0.3181	78.89	21.10
	$\bar{x}$	1.5162	0.3007	80.16	19.16
70℃	1	1.6722	0.3203	80.84	19.16
	2	1.6214	0.3134	80.67	19.33
	3	1.0643	0.2216	79.18	20.82
	4	1.2735	0.2798	70.03	21.97
105℃	$\bar{x}$	1.4078	0.2838	79.84	20.16
	1	1.2200	0.2955	75.78	24.22
$\bar{x} (n=11)$		1.3773	0.2842	79.17	20.83

(注) シャーレ (直径 9 cm) 寒天培養

第 2 表 酵素力価 (U/g こうじ) 並びに酸度

	乾燥温度	酸 度	α -アミ ラーゼ	グルコア ミラーゼ	酸性プロ テアーゼ
寒天シ ャーレ 培養	対 照	1.5	2.0	6.7	1,312
	50℃	1.4	1.3	5.9	932
	60℃	1.3	1.3	2.6	1,183
	70℃	1.4	1.7	2.6	1,215
	105℃	1.9	1.2	22.0	1,899
	凍結乾燥	1.3	2.0	7.7	1,110
液体培養	60℃	2.0	1.2	18.0	2,210

(注) 対照は、加熱乾燥を行わない菌蓋を使用し、製麴したこうじ。

素力価ならびに酸度を第2表に示した。

A. oryzae の麴に比較して *Rhizopus* の麴の糖化系の酵素力価は極めて低い。乾燥後の菌蓋、菌体を種麴とした麴の酸度は、対照の酸度と比較して殆んど差はなかった。このことは、105°C で胞子を加熱乾燥、また、液体培養から回収した菌糸を 60°C で熱処理しても、胞子ならびに菌糸は死滅せず、耐熱性が強いことを意味する。*A. oryzae* の胞子は、60°C、3時間の処理で 10% 死滅し⁵⁾、種麴を熱乾燥した場合 70~73°C、2時間処理で生存胞子は検出されなく⁶⁾、また、菌糸は 50°C、3分で死滅する⁷⁾と報告されている。*Rhizopus* の胞子、菌糸の耐熱性の強い理由として、*Rhizopus* の胞子、菌糸の細胞構造が *A. oryzae* と異なるものと推定されるが、この点については興味深いので今後検討したい。

なお、K社種麴メーカーにおいて種麴を試作した。シャーレ培養後菌蓋のみを回収し、50°C 前後で 1晩通風乾燥後粉碎し、この粉碎菌体 20 g に α -デンプン 50 g

を混ぜ種麴を製造した。この種麴を無蒸煮白米 5 kg 当たり 2 g 使用し製麴した。出麴の酸度は 1.2, α -アミラーゼ力価は 8.3, グルコアミラーゼは 20, 酸性プロテアーゼ 1,916 であり、良好な結果を得た。

文 献

- 1) 佐藤 信, 大場俊輝, 吉田隆一: 醸協 77 (8) 557 (1982)
- 2) 田中利雄, 岡崎直人: 醸工 60, 11 (1982)
- 3) 田中利雄, 岡崎直人, 木谷光伸: 醸協 77 (11) 831 (1982)
- 4) 岩野君夫: 日本醸造協会主催第 65 回酒類講習技術科テキスト p.71 (1979)
- 5) 菅間誠之助, 本郷和男, 村上英也: 醸工 52, 657 (1974)
- 6) 渋川鑛蔵: 醸協 4 (4) 37 (1909)
- 7) 菅間誠之助: 醸酵工学会大会要旨集 p.11 (1972)
日本醸造協会編清酒製造技術 p.96 (1979)