菩提配を用いた濁酒製造過程における成分の経時変化 と微生物の消長

松澤一幸^{1),2)}・山中信介¹⁾・坂井拓夫²⁾・寺下隆夫²⁾

(奈良県工業技術センター¹⁾・近畿大学農学部食品栄養学科食品微生物工学研究室²⁾)

平成 14 年 6 月 10 日受理

Changes in compositions and microorganisms in Dakusyu-sake brewing using the Bodaimoto method

Kazuyuki MATSUZAWA, Shinsuke YAMANAKA, Takuo SAKAI, Takao TERASHITA

(Nara Prefectural Institute of Industrial Technology, 129-1 Kashiwagi-cho, Nara-shi, 630-8031, Japan¹⁾,
Laboratory of Food Microbiological Engineering, Department of Food and Nutrition, Faculty of Agriculture,
Kinki University, 3327-204, Naka-machi, Nara-shi, 631-8505, Japan)

Bodaimoto, the oldest starter of Refined Sake, has been used for hundreds of years all over Japan. However, we noted that Bodaimoto disappeared after the development of a more useful starter, "Sokujiyomoto", in the Taisho-Era. Recently, we discovered that Bodaimoto has been brewed to make Dakusyu-sake (a kind of Doburoku-sake) for Shinto shrines in the Nara area since the early Showa-Era. We therefore researched the production process of Dakusyu-sake and obtained information.

The special feature of the Bodaimoto method is to make acidic water called Soyashimizu. Lactic acid bacteria help to make Soyashimizu while raw rice is soaking in water at a mild temperature. In the Soyashi process, lactic acid bacteria grow rapidly in the Soyashimizu water. The pH of the solution fell below four rapidly and the number of undesirable bacteria was consequently reduced. The number of yeasts in Soyashimizu increased after five days of fermentation and those yeasts were confirmed to be fermentable by TTC staining. Fermentation of Bodaimoto (seed mash) continued for six days. It contained 8.9 v/v% of alcohol, 3,500 ppm of lactic acid and 1,300 ppm of acetic acid. Fermentation of Dakusyu (main moromi mash) continued for 17 days. At the beginning of brewing fermentation of the mash was so active that the temperature of the mash rose to 35°C and the concentration of alcohol increased immediately. Then fermentation proceeded slowly. At the end of fermentation a considerable amount of water was added to the mash to lower the alcohol concentration. Contents of the Dakusyu-sake were as follows : Alcohol ; 11.2 v/v%, Sake-meter ; -25, Acidity ; 3.2, Amino acidity ; 3.6.

In a sensory test, the Dakusyu-sake proved delicious in spite of the low alcohol concentration, suggesting a new type of sake with a lower alcohol content.

Key Words : 酒母, 菩提配, 乳酸菌

緒 言

菩提配は、約 600 年前に奈良市の郊外にある菩提山正暦寺において創製された酒母で、現在普及している速醸配や生配系酒母の原型である¹⁻³⁾と考えられてい

る。この酒母は、気温の高い時期や温暖な地域において比較的安全に酒造りが可能な酒母の製造法として、広く普及していたとされており、菩提泉、水配、漬け配、箆籠配 (いかきもと)、菊配、被配 (かぶりもと) など色々な名称で呼ばれていた²⁾。しかし、明治にな

って乳酸を使用する技術が考案され、酒母の製造操作が容易、且つ安全、しかも短期間に製造できる速酛酛が開発され、この酒母が全国に普及したことにより菩提酛は大正時代に姿を消した⁴⁾とされていた。そのため、近年には菩提酛に関する研究については数が少なく、秋山他の水酛に関する生態学的研究⁴⁾、河合の日本のパン種（酒種）に関しての研究⁵⁾を認めるにすぎない。これらの研究は何れも研究室の環境下で、総米1 kg 程度の規模で実験が行われている。秋山他は菩提酛造りの自然集積する微生物を利用する仕込みでは、混入する微生物によって酒質が大きく変動することが欠点であり、菩提酛が衰滅した原因であると指摘している⁴⁾。

最近になって筆者らは、この幻の酒母が、奈良県内の或る酒造場で昭和の初期から連続と、御神酒用濁酒（総米1 トン）の製造に育成され利用されていることを知り実態調査を行った。その結果、酒造場の環境下で育成される菩提酛と、その酒母を使い製造される濁酒の製造過程における成分の経時変化および微生物の消長に関し若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 濁酒の製造方法

濁酒は、「そやし」、「酒母」、「醪」の3つ工程に区

別され製造される。その工程の概略を Fig. 1 に、仕込み配合を Table 1 に示した。これらの工程のうち「そやし」から「酒母」の製造までが「菩提酛」と云われる。まず「そやし」工程では、生米60.5 kg（精白歩合82%）を洗米し、木製半切りに入れ、水90 Lを加えて生米を浸し、そこに、飯（白米4.5 kg 分）を酒袋に入れて揉み出し糊状にして加え（Fig. 2）、水温17～25℃で6日間管理し酸性（酸度3.2）の仕込み水（以下「そやし水」と表記）を製造する。酒母工程では、浸漬した生米を取り出し、蒸して酒母の掛米として利用し、麴（白米換算30 kg）を分離したそやし水に加え水麴を調製し、掛米を加え、品温21～24℃で6日間、酒母を育成した。醪工程は踊りをとらずに添、仲、留の三段仕込みを行い、品温24～35℃で発酵を進め、留後16日目に加水してアルコール11%に調製、醪を瓶に詰めた後、火入れを行い濁酒を製造した。

この濁酒は、奈良県神社庁の委託を受け、毎年10月中旬の比較的温暖な時期に、清酒醸造に先駆け総米1 トンの規模で製造されており、その際に菩提酛が酒母として利用されていた。酒母育成に際しては、酒蔵に住み着いていた野生化した酵母と乳酸菌を利用する古典的な手法が使われており、「御酒之日記」や「童蒙酒造記」に記載されている菩提酛製造法の原形をよ

<Soyashi process>

そやし工程 Raw rice (60.5 kg), Boiled rice (4.5 kg), Water (90 L)

Lactic acid fermentation

fermentation continued at 18～25℃ for 6 days

Increase of yearsts

Soyashimizu (acidity : 3.2 ml)

<Seed mash process>

酒母工程

Raw rice was separated by filtration from Soyashimizu and then put back again after steaming

Koji (30 kg) was added

Alcohol fermentation

fermentation continued at 21～24℃ for 6 days

Bodaimoto (acidity : 7.4 ml, alcohol : 8.9%)

<Main mash process>

もろみ工程

1st addition 初添

2nd addition 仲添

3rd addition 留添

Alcohol fermentation

4th addition (water) 加水

fermentation continued at 24～35℃ for 17 days

Dakusyu-sake (acidity : 3.2 ml, alcohol : 11.2%)

Fig. 1 The production process of Dakusyu-sake

Table 1 Proportions of raw materials used in the Dakusyu-sake brewing

	Seed mash		1st	2nd	3rd	4th	Total
	Soyashi	Mash	addition	addition	addition	addition	
Total rice (kg)	(65)	95	140	280	540		1055
Rice for boiling (kg)	(4.5)	4.5					4.5
Raw rice (kg)	(60.5)						
Rice for steaming (kg)		60.5	95	215	430	800.5	
Rice for koji production (kg)		30	45	65	110		250
Water	90		115	295	515	1030	2045

All the weights of rice are shown as raw rice weight.

The polishing rates of rice were as follows: 82% both for the boiled rice and for the steamed rice, 75% for the rice used in koji production.

Fig. 2 Making the soyashimizu

く保っていることが確認された。

2. 分析試料

そやし工程では、物料（浸漬した生米）を攪拌後、液部を採取し成分分析および微生物試験に供した。酒母および醪工程では、櫓を入れ均一化後に試料を採取した。成分分析では試料を遠心分離（2400×g, 10 min）して得た液部を使用し、微生物試験では試料に滅菌生理食塩水を加え 10 倍希釈した後、ストマッカー（オルガノ 400-T）を用いて均一化した液を使用した。

3. 成分分析

ボーメは振動式密度比重計（京都電子工業(株)）

DA-300）、アルコールは簡易アルコール分析器（理研計器(株)）AL-2）を使用した。酸度・アミノ酸度は国税庁所定分析法に従った。糖組成の分析には高速液体クロマトグラフ（カラム：Asahipak NH 2 P, 溶離液：70%アセトニトリル, 検出器：示差屈折計）、酸組成の分析には高速液体クロマトグラフ有機酸分析システム（(株)島津製作所）を使用した。

4. 微生物試験

試料は滅菌生理食塩水を用いて適宜希釈調製して使用し、塗抹平板法によって微生物検査を行った。使用した培地は、一般細菌数の測定では普通寒天培地（日本製薬(株)）を、グラム陰性細菌の測定では CVT 寒天培地（同）を使用した。乳酸菌数の測定では BCP 加プレートカウントアガール（同）にアジ化ナトリウムとシクロヘキシミドを各 10 ppm 添加して調製した培地を使用し、コロニー周辺が黄変したコロニー数を計数した。酵母数の測定では TTC 下層培地⁶⁾にクロラムフェニコール 100 ppm とプロピオン酸ナトリウム 0.2% を添加し調製した培地を使用した。さらに、出現したコロニーについて TTC 染色を行い酵母の性質、純度を調べた。

また乳酸菌についてはコロニーを単離し、常法⁷⁾に従いグラム染色、形態観察、カタラーゼ試験、乳酸生産量の測定および消費されたグルコース量を測定し発

酵形式を決定した。

実験結果および考察

1. そやし水成分の経時変化

そやし工程は、23°Cの品温でスタートしたが、蔵内の温度が低かったため、品温がしだいに低下し3日目に18°Cとなった。そこで容器を加温した結果、品温が上昇し20~25°Cで推移した。Fig. 3にそやし水の品温と成分の経時変化を示した。pHは6.8から次第に低下し4日目には4以下となり、酸度は2日目から増加が認められ6日目には3.2となった。有機酸組成については、乳酸と酢酸が主要な酸であり6日目にそれぞれ2100 ppm, 450 ppmとなった。Fig. 4にそやし水中の糖類の経時変化を示した。グルコースは酸度と同様に増加し6日目で2.7 g/100 mlとなった。一方、マルトースの増加は少なくグルコースの10分の1以下であった。そやし水における糖類の生成には、生米由来の酵素が関与しているものと推察され⁸⁾菩提醃のメカニズムを解明する上で重要な意味を持つものと考えられた。

つぎに微生物の経時変化をFig. 5に示した。仕込み直後の乳酸菌数は 10^3 CFU/ml以下であったが、2日目には 10^7 CFU/mlまで急増し、3日目には 10^8 CFU/mlに達し、その後この菌数を維持した。そや

Fig. 3 Time course of pH, acidity, temperature in the soyashi process

Raw rice 60.5 kg was soaked in 90 L of water. Other raw rice 4.5 kg was boiled and then added to the water. This boiled rice was mashed well in the water. Fermentation continued at 18~25°C for six days.

Symbols : △, temperature ; □, pH ; ○, acidity

し水工程の初期と後期について菌叢を形成している主たる乳酸菌について形態的性質と生理的性質を調べた結果、初期にはホモ発酵の球菌が、後期にはヘテロ発酵の球菌がホモ発酵の球菌とともに認められた。一方、普通寒天培地で計数される一般細菌数と CVT 寒天培地で計数されるグラム陰性細菌数は同様の経時変化を示した。すなわち、細菌数は仕込み直後に 6×10^3 CFU/mlであったが、2日目には 10^8 CFU/mlまで急激に増加し4日目まで 10^8 CFU/mlを維持し、その後菌数が低下して6日目に 3×10^3 CFU/mlとなった。4日目以降の菌数の減少は、乳酸菌が生産した乳酸などにより、そやし水のpHが低下(pH 4以下)した結果であると推察された。酵母数に関しては5日目になって増加が始まり、6日目に 2×10^6 CFU/mlまで急激に増加した。これらの酵母をTTC染色した結果、60%が赤く染まり発酵性の酵母が集積してきたことが確認された。

状態、香りの変化は、2日目に攪拌により細かい泡が発生し酸臭が感じられるようになった。3日目には表面が細かい粘性の泡で覆われ始め、甘酸っぱい香りが強くなり小泡が多量に発生し、糊様になっていた飯は溶解した。6日目には表面の粘性のある細胞は消え、時より底から大泡が発生するようになった。

2. 酒母成分の経時変化

Fig 6に酒母成分と酵母、乳酸菌数の経時変化を示した。pHは3.8と酒母工程を通じて一定していた。酸度は仕込み初期に増加し、6日目に7.4となった。

Fig. 4 Time course of glucose and maltose concentration in the soyashi process

Procedures are the same as described in Fig. 3.

Symbols : ○, glucose ; ●, maltose

Fig. 5 Time course of viable cells in the soyashi process

Procedures are the same as described in Fig. 3.

Symbols : ○, lactic acid bacterium ; □, yeast ; △, bacterium

その有機酸組成をみると乳酸と酢酸が多く、それぞれ 3500 ppm, 1300 ppm で、次いでピルビン酸 530 ppm, コハク酸 350 ppm, リンゴ酸 52 ppm であった。そやし水の有機酸組成と比較すると、乳酸は 1400 ppm, 酢酸は 850 ppm の増加が認められたことからヘテロタイプの乳酸菌の活動が推察された。通常、普通速醸酒母の有機酸組成は乳酸 3300 ppm, 酢酸 550 ppm, コハク酸 800 ppm, リンゴ酸 250 ppm, ピルビン酸 50 ppm 程度である⁹⁾。今回調査した菩提配では速醸配に比較すると、乳酸量は同程度であったが、酢酸、ピルビン酸が多く、コハク酸、リンゴ酸が少ない特徴が認められた。

ポーメは 3 日目の 14.9 から、6 日目には 9.4 に減少し、アルコールは 3 日目の 1.5 から 6 日目には 8.9 に増加した。

酵母数は 2 日目に 10^7 CFU/g, 4 日目に 10^8 CFU/g まで増加しその後 10^8 CFU/g を保った。乳酸菌は 2 日目から 4 日目にかけて 3×10^8 CFU/g であったが、5 日目に減少が認められ 5×10^7 CFU/g となった。一般細菌数は 2 日目以降 10^3 CFU/g 以下であった。

状態は仕込み 3 日目に黄色味を帯びた泡が表面を 5 cm 覆い、4 日目には高泡 (30 cm) となりフルーティな香りが強く感じられるようになった。5 日目には落泡となり、6 日目にアルコール 9% で酒母工程を終了した。

この酒母では、乳酸菌数が多い特徴が認められたが、

Fig. 6 Time course of viable cells, alcohol and acidity in the seed mash process using soyashimizu

The soyashimizu obtained from the soyashi process was used in the water for making Bodaimoto (seed mash). Koji 30 kg (shown as the rice weight used in koji production) and 65 kg of steamed rice (shown as the raw rice weight which were separated from the Soyashi process) were added to the soyashimizu. Fermentation continued at 21~24°C for six days.

Symbols : ○, lactic acid bacterium ; □, yeast ; △, alcohol ; *, acidity

酒母日数が 6 日と短かったこと、最終アルコール濃度が低かったことにより乳酸菌数の低下が遅れたものと推察された。花岡は、菩提配の欠点の一つとして早湧きを指摘している¹⁾が、今回の調査では、早湧きは認められなかった。その理由は、そやし水製造工程で酵母集積に長時間を要した結果、仕込み水として使用したそやし水の酵母数が 2×10^6 CFU/ml と少なかったためであると推察した。(そやし水製造試験を何度も行い、酵母はそやし水中に 2×10^7 CFU/ml 以上集積することを確認した。)

3. 濁酒醪成分の経時変化

三段仕込みは Table 1 に示した配合により行われた。醪経過は、仕込み時期が 11 月始めで気温が高く、また、6 日目の若い酒母を枯らさずに使用したこともあり、前急後緩型の経過をたどった。Fig. 7 に濁酒醪の品温と成分の経時変化を示した。仕込みは 23°C で行われ、翌日に品温が急激に上昇し 33°C となり、醪の冷却が行われた。3 日目に 35°C まで上昇後、酵母の活性低下により品温が下がりその後は 25°C 程度で推移した。醪の成分変化は以下の様であった。ポーメは

1日目の8.7を最高に2日目に4.4まで低下後、徐々に減少した。アルコールは、1日目の4.9%から3日目には14.3%と急激に増加し、その後は1日に0.2%ずつ増加する経過をたどり15日目に16.7%に達した。酸度は1日目の3.0から15日目に4.1まで増加した。有機酸組成の経時変化をFig. 8に示した。ピルビン酸は1日目に780 ppmと醪に高濃度に蓄積されたが、その後減少した。酵母の活動により生産されるコハク酸、リンゴ酸が増加し、さらに乳酸、酢酸、リン酸についても増加を認め、通常の清酒醪とは異なる有機酸の消長が確認された。アミノ酸度は期間中徐々に増加し、15日目に5.1となり通常の清酒醪と比較し高濃度となった。これは精米歩合の低い原料（精米歩合82%）を使用した結果と考えられた。

酵母数は醪期間を通じ 10^8 CFU/g以上で推移した。TTC染色により酵母純度を検査した結果、初期は97%、後期には100%と純度の高い醪であることが確認された。さらに、 β -アラニン培地により増殖性を確認した結果、集積した酵母はきょうかい酵母の7号系ではなかった。乳酸菌は酒母中の乳酸菌数の影響で、留め1日目の菌数は 6×10^6 CFU/gと多数検出された。

Fig. 7 Time course of Be', alcohol, amino acid and temperature in the moromi-mash process

The moromi-mash was prepared as follows: Steamed rice 740 kg (shown as the raw rice weight), koji 220 kg (shown as the rice weight used in koji production) and water 925 L were added to the seed mash step by step. Fermentation continued at 24~35°C for 17 days.

Symbols: ○, Be'; △, alcohol; □, amino acidity; *, temperature

2日目にアルコールが急激に増加し12%以上となったが、菌数減少は緩やかで、9日目アルコール15.6%の環境下でも 5×10^4 CFU/g存在し、醪の腐造が心配されたが15日目によりやく 10^2 CFU/gまで減少した。一般細菌数は、醪期間を通じて 10^3 CFU/g以下であった。

発酵は16日目で終了し、アルコール濃度を11%に調製するために加水され、醪のまま瓶詰め後、火入れが行なわれ濁酒が製造された。

完成した濁酒の成分をTable 2に示した。糖質が多く、低アルコールで、酸、アミノ酸が多く、普段口にする清酒とは成分値ではハッキリとした違いが認められた。官能試験の結果は、ボディがあるが、スッキリとして口当たりが良く、また、溶解・軟化した米粒が口中で新鮮な感じを与えることも相まって、美味しいと評価された。現在、低アルコール清酒の開発が清酒業界の活性化の糸口になると考え、盛んに研究が行われている。濁酒は神社のお神酒として神事に際して飲用されるものではあるが、菩提配を利用して造られたこの酒の酒質が低アルコール清酒開発の参考になるものと考えている。

発酵性酵母は、まずそやし水に集積し、それが酒母工程で育成され、醪の発酵を担ったものと考えられる。そやし工程で酵母が集積したことから、今回の菩提配製造に際しては、麹由来の酵母がアルコール発酵に関

Fig. 8 Time course of organic acids in the moromi-mash process

Procedures are the same as described in Fig. 7.

Symbols: ○, lactic acid; △, acetic acid; □, succinic acid; ●, pyruvic acid; ▲, phosphoric acid; ■, malic acid

Table 2 Compositions of Dakusyu-sake

Sake-meter	Alcohol (%)	Acidity (ml)	Amino acidity (ml)	pH
-25	11.2	3.2	3.6	4.5

与したものではなかった。また、仕込み水に関しても微生物検査を実施したが、発酵性酵母の存在は確認されなかった。以上のことから、仕込みに使用した木桶、樽などの道具類から、あるいは空中落下してそやし水に混入した酵母が集積したものであると推察した。

乳酸菌に関しては、秋山他が報告⁴⁾しているように、濁酒製造過程においても多様な乳酸菌の存在を認めた。そして、そやし、酒母、醪の各工程では、それらの成分変化に対応した結果、乳酸菌のマイクロフローラが遷移しているものと推察した。このマイクロフローラの遷移原因については、現在、究明中であり次報で報告したい。

要 約

1) 大正時代に姿を消したとされていた菩提醪が、奈良県下の或る酒造場において実用規模で育成され利用されていることを知り実態調査を行なった。酒母育成に際しては、酒蔵に住み着いている野生化した酵母と乳酸菌を利用する古典的な手法が利用されており、菩提醪製造法の原形をよく保っていることが確認された。

2) そやし水では、乳酸菌が速やかに増殖して乳酸を生産し pH 4 以下となり、一般細菌数が減少した。酵母は 5 日目に増加が認められ、TTC 染色の結果、発酵性の酵母が集積したことが確認された。

3) そやし水におけるグルコースの生成には、生米由来の酵素が関与しているものと推察され、菩提醪のメカニズムを解明する上で重要な意味を持つものと考えられた。

4) 菩提醪(酒母)は 6 日間で製造され、アルコールは 8.9%で、乳酸菌数が多かった。有機酸組成は、速醸醪と比較して乳酸量は同程度であったが、酢酸、ピルビン酸が多く、コハク酸、リンゴ酸が少ない特徴が認められた。

5) 醪は、気温が高く、また、若い酒母を枯らさずに使用したこともあり、品温が 35°C まで急上昇し前急後緩型の経過をたどり、その酵母数は醪期間を通じ 10⁸ CFU/g 以上で推移し、その酵母純度は非常に高かった。

6) 濁酒は、ボディがあるが、スツクリとして口当たりが良く、溶解・軟化した米粒が口中で新鮮な感じを与えることも相まって、美味しいと評価された。

謝 辞

今回の濁酒製造過程の調査研究に際し、多大のご協力をいただきました株式会社大倉本家大倉勝彦社長、井谷恒雄杜氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 花岡正庸：実験清酒醸造法講義，丸亀税務監督局 (1917)
- 2) 加藤百一：酒は諸白，p 189-192 (平凡社，東京) (1989)
- 3) 梅田紀彦：最新酒造講本，p 84 (日本醸造協会，東京) (1989)
- 4) 秋山裕一，若井博子，大内弘造，熊谷智栄子，大塚譲一：醸協，**75**，314-319 (1980)
- 5) 河合：醸協，**91**，311-317 (1996)
- 6) 村上英也監修：第三回改正国税庁所定分析法注解，p. 306 (日本醸造協会，東京) (1974)
- 7) 内村 泰・岡田早苗 著，小崎道雄監修：乳酸菌実験マニュアル，p. 29-64 (朝倉書店，東京) (1992)
- 8) 岩田 博，長野哲也，塩川和広，鈴木昭紀：醸協，**93**，139-147 (1998)
- 9) 新版・醸造成分一覽，p 38 (日本醸造協会，東京) (1977)