技術論文

清酒製造工程の副生米ヌカを原料とする効率的乳酸生産

尾形 (斎藤) 美貴*, 木村英生, 飯村 穰

山梨県工業技術センター

Effective Lactic Acid Production from the Rice Bran Byproduct of Sake Brewing

Miki Ogata-Saito*, Hideo Kimura and Yuzuru Iimura

Yamanashi Industrial Technology Center, 2094, Ohtsu-machi, Kofu, Yamanashi 400-0055

Reuse of the rice bran byproduct of sake brewing was proposed. Koji was prepared using red rice bran. Seed koji was added to steamed red rice bran at a rate of 0.5 %, and incubated at 30°C and 90 % humidity for 1-3 days. Next, we obtained a red rice bran koji that exhibited high saccharification ability. The starch in white rice bran was effectively saccharified by the red rice bran koji. When preliminary saccharification for 90 minutes was carried out to secure fluidity of the culture medium, simultaneous saccharification and lactic acid fermentation using *Lactobacillus rhamnosus* was possible. Consequently, a lactic acid concentration > 12 g/100 ml (99.3 % L-lactic acid) was obtained after 72-hour cultivation.

(Received Jan. 17, 2014; Accepted Apr. 15, 2014)

Keywords : red rice bran, white rice bran, red rice bran koji, simultaneous saccharification and lactic acid fermentation

キーワード : 赤ヌカ, 白ヌカ, 赤ヌカ麹, 乳酸発酵, 並行複発酵

清酒の生産量は昭和48年をピークに低迷が続いているが、その中において近年吟醸酒や純米吟醸酒の消費量は堅調を維持している。吟醸酒や純米吟醸酒の製造では原料米の脂質やタンパク質を低減するため、玄米重量の50%近くに相当する外層が精米処理によって除去されており、その結果生じる米ヌカの総量は国税庁鑑定企画官の報告¹⁾から算出すると年間約22500tで、清酒全体では約79000tに及ぶ。酒造米の米ヌカは精米処理によるデンプン粒への損傷度が高く、水と練り合わせると糊状になるため²⁾、食品用途への利用は限られ、その一部が糠漬けや家畜用飼料として使用されている程度である。米ヌカは産業廃棄物としての取扱いについて法的な規制がなく、常温貯蔵も可能であることから、有効な活用法が望まれるところであり、食品外の新たな活用法を開発することにより、利用が進むと考えられる。

ところで、生分解性を有するポリ乳酸はバイオマスを原料とする代表的なバイオプラスチックで、カーボンニュートラルであることから、環境意識の高まりと相まって注目を集めているが、高価格であるため普及が進んでいない。高価格の原因は乳酸製造にあたって、原料が食糧やバイオ燃料と競合している上、乳酸発酵に用いる乳酸菌は栄養要求性が高いため、炭素源の他に酵母エキスなどの窒素源が副原料として必要となり、培地のコストがかさむことが考

えられる。加えて、乳酸には光学異性体のL体とD体が存在し、高い品質のポリ乳酸を合成するためには、L体またはD体のどちらかの純度が高い乳酸を生産する必要がある。したがって乳酸発酵においては、乳酸を高収率で生産するだけでなく、光学的に純度が高い乳酸を生産することも求められる。乳酸の光学活性は乳酸発酵に用いる菌種だけでなく、培養条件に影響されるため、培地の選択と培養条件の設定は非常に重要な課題である。

ポリ乳酸原料としての米ヌカの利用は、Taniguchi³⁾らやTanaka³⁾らによって検討され、廃棄物である脱脂米ヌカを使用し、アミラーゼとセルラーゼによる脱脂米ヌカの酵素糖化と乳酸発酵を同時に進行させる並行複発酵を行っている。しかし、培地には窒素源として、肉エキスや酵母エキス、ペプトン等を加えているため、コストが高くなり、実用には至っていない。

以上を踏まえ、我々は精米歩合が60%の酒造米を精米する際に生成するヌカを乳酸製造の原料に利用することとし、製造方法を検討した⁴⁾。我々はこれまでに、米ヌカを清酒用酵素剤によって糖化した糖化液を培地に用いて乳酸発酵を行い、一般的な乳酸菌培養培地であるMRS培地⁵⁾の構成無機成分を添加するだけで、良好な乳酸発酵が進行し、高価な窒素源を添加する必要がないことを見いだした。このことは、玄米を精米した際、比較的表層部分に相当する

ヌカ（以下赤ヌカと呼ぶ）の部分はタンパク質に富んでいるため、清酒用酵素剤に含有されるプロテアーゼの働きにより窒素源も供給されることを示している。すなわち、酒造米の米ヌカはそれを酵素分解することにより乳酸菌生育に必要な炭素源のみならず、窒素源も供給できることがわかった。

以上を背景に、本研究では実用化を見据え、清酒製造の際に生ずる米ヌカを培地に使用して、回分培養で12%以上の乳酸を高光学純度（L-乳酸が99%以上）で生産することを目標に乳酸発酵を検討した。その際、本研究では酒造米の米ヌカを赤ヌカと赤ヌカより下層に相当する部分のヌカ（以下白ヌカと呼ぶ）とに分別して利用した。タンパク質に富む赤ヌカを原料にして麴の調製を試み、この赤ヌカ麴によって清酒用酵素剤を用いずに、乳酸発酵培地への窒素源の供給と白ヌカの糖化による炭素源の供給を行った。さらに糖化と乳酸発酵とを同時に進行させる並行複発酵での乳酸生産を行ない、高収率の乳酸生産と作業工程の簡易化も目指した。なお、赤ヌカ麴の製造は桜井⁶⁾らにより、調味料製造を目的として報告されているが、製麴方法について具体的な記述が乏しいため、独自に種麴の選択および製麴条件の検討も行った結果を報告する。

実 験 方 法

1. 赤ヌカ麴の調製

(1) 供試試料

山梨県内の清酒製造場から排出された赤ヌカと白ヌカを使用した。

赤ヌカの成分は100gあたり、タンパク質14.5g、脂質12.6g、炭水化物55.3g、水分10.1g、灰分7.5g（ナトリウム2mg、カリウム1200mg、カルシウム25mg、リン470mg、鉄5mg、マグネシウム8mg、マンガン14mg、亜鉛6mg、銅1mg、その他）であった。

白ヌカの成分は100gあたり、タンパク質8.7g、脂質0.6g、炭水化物79.1g、水分11.1g、灰分0.5g（ナトリウム0.6mg、カリウム97.1mg、カルシウム5mg、リン49mg、鉄0.5mg、マグネシウム48mg、マンガン1mg、亜鉛2mg、銅0.4mg、その他）であった。

(2) 種麴

株式会社ビオックから購入した清酒用「醪用」および焼酎用「麦用専用菌」を用いた。なお、対照として、酒造に用いられる乾燥麴「1-70A」（徳島製麴株式会社）を使用した。

(3) 製麴

ステンレス製のボウル（外径356×深さ125mm）に赤ヌカ1000gを入れ、これに水道水を300ml加え、手袋を装着して攪拌した。アルミ箔でボウルの上面を覆い、蒸きようと滅菌を目的として100℃で5分間オートクレーブ処理した。これを40℃以下になるまで冷まし、種麴を赤ヌカ重

図 1 製麴時の様子

量の0.5%の割合（この場合5g）で加え、まんべんなく攪拌した。これをステンレス製バット（482×338×80mm）に移し、種麴を混ぜ込んだ赤ヌカをバットの片面に盛り上げ、崩れないように濡らしたタオルで固定して、バット上面をラップで2重に覆った（図1）。温度30℃、湿度90%に設定した恒温恒湿機（FH-80LS、平山製作所社製）内に入れ培養した。1日おきに攪拌し、品温を測定した。目視で麴菌の菌糸がヌカ表面を被った状態（以下破精と呼ぶ）が70~80%になったところで、堆積した山を崩し、さらに24時間恒温恒湿機内においた。その後、風通しの良い場所に2~3日置き、乾燥させ（水分含量16%程度）、使用まで15℃で保存した。

(4) 赤ヌカ麴を使用した白ヌカの糖化

白ヌカと赤ヌカ麴を4:1の重量比で混合し、これに白ヌカと赤ヌカ麴の合計量の3倍量の水を加えた。具体例としては、白ヌカ16gに60mlの水道水を加え、よく混ぜて30分間放置し、100℃で5分間オートクレーブして蒸きょうした。品温が50℃程度になったら、赤ヌカ麴を4g加え、50rpmで攪拌しながら、55℃で20時間糖化させた。生成した糖化液のグルコース濃度の測定にあたっては、遠心分離（4500g、10分間）し得られた上清をグルコースCⅡテストワコー（和光純薬工業社製）で測定した。

また、白ヌカを国税庁所定分析法202-12⁷⁾に従って、酸加水分解し、得られたグルコース量を100として、赤ヌカ麴による糖化率を算出した。

2. 並行複発酵による乳酸生産

(1) 供試菌株

乳酸発酵には独立行政法人製品評価技術基盤機構生物遺伝資源部門（NBRC）から分譲された *Lactobacillus rhamnosus* NBRC 3425 を使用した。

(2) 使用培地

乳酸菌の前々培養および前培養には乳酸菌用半合成培地であるMRS培地を使用した。乳酸生産のための本培養では並行複発酵を行うため、培地は白ヌカを蒸きょう後、乳酸菌の植菌直前に、赤ヌカ麴を加えて調製した。白ヌカに対する赤ヌカの添加量並びに加水量は実験方法1. (4)と同様とした。すなわち、白ヌカ300g、硫酸マグネシウム七水和物（ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）150mg、硫酸マンガン（Ⅱ）五水

和物 ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 75 mg に, 1 125 ml の水道水を加え, 良く攪拌した. 80°C で 5 分間オートクレーブし, 本培養開始まで, オートクレーブ装置の保温機能を使い, 50°C で保温した. 培地温度が 50°C 以下になったら, 赤ヌカ麴 75 g を加え, 室温 ($20^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$) で 90 分間予備糖化し, 培地とした.

(3) 培養方法

前々培養は 5 ml の MRS 培地に乳酸菌保存用高層培地から白金耳で接種し, 37°C で 24 時間静置培養した. 分光光度計 (U1500, 日立製作所社製) を用いて, 波長 660 nm の光学密度 (以下 OD_{660} と略す) を測定し, この培養液を前培養培地 50 ml に OD_{660} が 0.01 となるように植え継ぎ, 37°C で 16 時間静置培養して, 得られた培養液を本培養培地に全量接種した. 本培養はジャーファーマンター 3L 培養装置 (CLN-3000, MBS 社製) を使用した. 温度は 37°C に設定し, 50 rpm で巡回した. 本培養 6 時間後から 28 % アンモニア水を用いて pH を 5.5 に制御し, 72 時間培養した.

(4) 生育測定

乳酸菌生育の指標として培養液中のグルコース消費量と乳酸生産量を測定した. 各測定にあたっては培養液を遠心分離 (4000 g, 5 分間) し, 得られた上清を $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルタで濾過し, グルコースはグルコース C II テストワコー (和光純薬工業社製) を用いて, 測定した.

乳酸はポストカラム pH 緩衝法⁸⁾ により, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) で全乳酸量を測定した. L-乳酸のみ別途, 光学異性体分離カラム CHRAKPAK MA (+), (ダイセル化学工業社製) を使用して, HPLC で定量した. HPLC の移動相は 2 mM 硫酸銅/アセトニトリル = 95/5 を使用し, 流速は 0.5 ml/min, カラム温度は 35°C に設定し, 検出は UV236 nm で行なった.

実 験 結 果

1. 赤ヌカ麴の調製

(1) 種麴の選択

製麴にあたっては市販種麴「醪用」, 「麦用専用菌」および「1-70A」を, それぞれ蒸きょうした赤ヌカに植え付けて, 温度 30°C , 湿度 90 % で培養した. 麴菌の増殖に伴う赤ヌカの温度の変化を図 2 に示した. 「醪用」および「麦用専用菌」を使用した場合, 1 日後には品温が 40°C 以上まで上昇し, 2 日後まで温度が維持された. 破精が 70 ~ 80 % となったため, バットの片面に盛り上げていた赤ヌカを広げて品温の上昇を抑えた. 対照の酒造用種麴「1-70A」を使用した場合は培養 3 日後も破精は認められなかった. なお, 製麴温度を 35°C に上げると赤ヌカが吸湿し, どの種麴を使用しても破精は全く認められなかった.

(2) 赤ヌカ麴による白ヌカの糖化

赤ヌカ麴の糖化力を調べる目的で, それぞれの種麴を赤

図 2 異なる種麴を使用した場合の製麴中の品温変化

■, 醪用; ●, 麦用専用菌; ▲, 1-70A, (実験反復回数 2 回の平均値の推移)

ヌカ重量の 0.5 % 接種し, 製麴 1 ~ 3 日後の赤ヌカ麴を採取して白ヌカの糖化を行い, 生成したグルコース量を測定, 比較した. 糖化実験の際, 使用した白ヌカと赤ヌカ麴比は清酒製造時の仕込み配合 (総米に対して 20 ~ 23 % 量の麴米を添加する) を参考にし⁹⁾, 4 : 1 とした. 加える水道水量については, 白ヌカと赤ヌカ麴の合計量の 2 倍量, 3 倍量および 5 倍量で検討した結果, 糖化液の流動性と糖化によって生じるグルコース濃度から判断し, 3 倍量に設定した. 対照の白ヌカ 16 g 中に含まれるデンプンを酸加水分解したときに得られるグルコースは 11.7 g であり, このグルコース量を 100 として, 各麴による糖化率を算出した結果を表 1 に示した.

製麴に際して順調な品温の上昇と破精が認められた「麦用専用菌」を種麴に使用した赤ヌカ麴が最も糖化率が高く, 製麴時間が 1 日から 3 日の間の麴は約 90 % の糖化率が維持された. 「醪用」で調製した赤ヌカ麴は目視による状態は良好であったが, 糖化力は「麦用専用菌」と比べるとやや弱く, 最も高い糖化率を示した 3 日目でも 60 % 台であった. 「1-70A」は製麴時間に伴って, 糖化率は上昇したが, 最高でも 15 % に届かなかった. 以上の結果から, 以後の実験では種麴に「麦用専用菌」を赤ヌカ重量の 0.5 % 用いることとした. なお, 種麴の接種量については 0.2 % でも検討したが, 破精の生長に再現性がとれなかった.

2. 並行複発酵による乳酸生産

赤ヌカ麴による白ヌカの糖化とそれによって生成したグルコースを炭素源として乳酸菌によって乳酸発酵を同時に進める並行複発酵を試みた.

赤ヌカ麴としては「麦用専用菌」を用いた. 製麴時間 2 日目の赤ヌカ麴を使用し, 実験方法で述べた培地および培養方法によって並行複発酵を試みた. その際の培地のグルコース濃度と乳酸濃度の経時変化を図 3 に示した.

予備糖化を 90 分間実施しているため, 培養開始時のグルコース濃度の平均は 4.2 g/100 ml であった. その後, 赤

表 1 異なる種麹を使用して製麹した赤ヌカ麹による白ヌカの糖化

種 麹	醗 用			麦用専用菌			1-70A		
	1 日	2 日	3 日	1 日	2 日	3 日	1 日	2 日	3 日
製麹期間									
白ヌカ 16 g からの 生成グルコース ¹ (g)	6.5	6.4	7.3	10.2	10.6	10.3	0.4	1.0	1.7
糖化率 ² (%)	56.3	55.1	62.9	88.3	91.4	88.3	3.7	8.5	14.5

1) 実験反復回数 2 回の平均値

2) 各麹で白ヌカ 16 g を糖化し、生成したグルコース量 (g) の値を、白ヌカ 16 g を酸加水分解して得られたグルコース量 11.7 g で除し 100 を乗じた値

図 3 並行複醗酵による乳酸発酵液のグルコース濃度および乳酸濃度の経時変化

●, グルコース; ○, 乳酸.

(実験反復回数 2 回の平均値の推移)

表 2 乳酸発酵液中に占める L-乳酸の割合

全乳酸	L-乳酸	L-乳酸割合
(g/100 ml)		(%)
12.7	12.6	99.3

実験反復回数 2 回の平均値

ヌカ麹により白ヌカの糖化が進み、グルコース濃度が上昇するが、培養 24 時間以降糖濃度は減少した。それに伴い乳酸濃度は上昇し、72 時間では平均で 12.7 g/100 ml に達し、乳酸生産は培養時間に伴い順調に推移した。この時の L-乳酸濃度は 12.6 g/100 ml で、全乳酸量の 99.3% を占めていた (表 2)。

考 察

本研究の主要な目的は清酒製造工程から副生される米ヌカを原料に用いてポリ乳酸製造のための乳酸を低コストで生産する方法を開発することにある。

まず、白ヌカの糖化にあたって市販糖化酵素の代わりに赤ヌカ麹を用いることとした。ここでは、赤ヌカ麹の糖化力を指標にして、その製造方法を検討した。

一般に糖化力の強い良質の米麹を製造する際の条件とし

ては、原料米の適度な蒸きょう、適切な品温管理と水分の調整が重要とされ¹⁰⁾、一般的な米麹造りでは、蒸した米の水分が 30~35% のときに種麹をつけるのが良いとされる。しかし、赤ヌカ麹の製麹については、蒸きょう方法や温度および水分の管理方法が確立されていない。そこで本研究では、赤ヌカの前処理方法、使用種麹の種類および製麹温度等を検討し、以下の条件で赤ヌカ麹が製造できることを示すことができた。即ち、赤ヌカ重量に対して 30% の水道水を加え、オートクレーブによって、100℃で 5 分間蒸きょうした。製麹において種麹の選択は重要であり、本研究では白ヌカに対する糖化力に焦点を絞り、種麹の種類を検討した。種麹としては食物繊維が多い素材で用いられる「醗用」と「麦用専用菌」を選択し、赤ヌカへの各種麹の添加量は 0.5% とした。製麹中の品温および湿度を制御するため、恒温恒湿機を用い、装置内温度は 30℃、湿度は 90% とした。「醗用」と「麦用専用菌」を加えた赤ヌカは 1 日後には品温の上昇があり、破精が認められた。製麹期間中、吸湿もなく、適度な乾燥状態が保たれた。「醗用」と「麦用専用菌」で調製した赤ヌカ麹で白ヌカの糖化を行ったところ、「麦用専用菌」の糖化率の方が高かったため、並行複発酵で使用する赤ヌカ麹は「麦用専用菌」で製麹したものを使用した。本研究の中では、最も糖化率が高かった製麹期間が 2 日の麹を用いて試験を行ったが、糖化率は製麹 3 日間の間で大きな違いはないので、製麹期間は 1 日でも必要な糖化力が得られるものと思われる。本研究で確立した製麹方法を図 4 に示した。なお、データは示さないが「麦用専用菌」で調製した赤ヌカ麹は 15℃ 保存で、1 年後も変わらぬ糖化力を示し、赤ヌカ麹の備蓄が可能であることを確認しており、原料の白ヌカ生産量の季節変動にも対応できると思われる。また、糖化を酵素製剤から赤ヌカ麹に変えることによる糖化液中の不用物の増加量は約 3% で、わずかであった。

乳酸発酵において、培地 pH の制御は必須である。本研究では、ポリ乳酸原料となる乳酸生産を目的としているため、培地中和剤として比較的安価なアンモニア水を用いた。乳酸の中和剤としては生石灰も用いられるが、乳酸単離に多量の副産物が生じ、その処理が困難となる。一方、アンモニア水で中和した場合は、アンモニアが再利用できるこ

図 4 赤ヌカ麹の製麹方法

とや、副産物がないこと、さらに得られる乳酸の純度が高いなどの特徴がある¹¹⁾。培地 pH の制御は、ジャーファーマンター装置で攪拌しながら、アンモニア水を自動投入して行うが、オートクレーブ直後の白ヌカは糊化してしまうため、流動性がなく、ジャーファーマンター装置付属の回転翼では攪拌できなかった。そこで、乳酸菌接種前に赤ヌカ麹を加えて予備糖化を行い、その後に乳酸菌を接種した。これらの操作によって培地の流動性が得られ、アンモニアによる pH 調整が可能となった。

次に、乳酸発酵にあたっては対糖当りの乳酸収率を向上するため糖化と発酵を同時に進行させる並行複発酵を検討した。並行複発酵については既に Taniguchi ら²⁾、Tanaka ら³⁾によって実施されているが、これらはいずれも糖化に市販の酵素を用いており、また乳酸菌の生育に必要な栄養として酵母エキス等を補っているため、高コストとなっている。本研究では、この問題を解決するため先に述べた赤ヌカ麹を用いた白ヌカの糖化による並行複発酵を検討した。

図 3 に示したように、糖の消費に伴って乳酸の生産量が増加し、最終的に培養液中の乳酸濃度は平均で 12.7 g/100 ml となった。次にこの結果を基に対糖収率を試算した。培養液中に含まれるグルコースは白ヌカから主として供給され、赤ヌカ麹からも若干供給されと考えられるので、多く見積もっても、

$$375 \text{ g}^{\text{a)}} \times (11.7/16.0^{\text{b)}} \div 274.2 \text{ g} \text{ である。}$$

従って、赤ヌカ麹による糖化で生じるグルコースの総量は、

$$274.2 \times 0.91^{\text{c)}} = 249.5 \text{ g} \text{ となる。}$$

培養 72 時間の間に培養液の中和のために添加された 28% アンモニア水量の平均は 172 ml であったので、培養液総量は 1722 ml となり、生産された乳酸重量は、

$$12.7 \text{ g} \times (1722^{\text{d)}}/100) \div 218.7 \text{ g} \text{ であった。}$$

従って、対糖収率は、

$$(218.7/249.5) \times 100 \div 87.7\% \text{ となり、90\% に近い対糖収率で乳酸を得ることが出来た。}$$

(a: 培地中の白ヌカ量と赤ヌカ量の合計, b: 白ヌカ中に含まれる酸加水分解によって得られるグルコースの割合 (実験結果 1 (2) 参照), c: 麦用専用菌を種麹に使用した赤ヌカ麹の糖化率のうちで最も高い値 (表 1 参照), d: 培養 72 時間の間に培地の中の中和のために添加された 28% アンモニア水量と前培養液 (50 ml) を加えた培養液の総量 (ml))

また、図 3 に示したように培養 24 時間から 48 時間の間にグルコースは約 50 g 減少しているが、乳酸はこの間約 90 g 増加した。ホモ型乳酸発酵では、グルコース 1 分子から乳酸 2 分子が生成し、糖から乳酸への変換は理論値でも 100% であることから、白ヌカの糖化と乳酸発酵が並行して起こっていると推察される。この並行複発酵の場合、培地の初発糖濃度を低く抑えられるため、乳酸菌の濃糖ストレスが緩和され、12% を超える効率的乳酸生産となったことも考えられるが、この効果については更に検証する必要がある。糖化と乳酸発酵を別々に進めた場合、一般に糖化には 8 時間以上を要するが、本研究の並行複発酵ではこの工程を予備糖化の 90 分間に短縮することができた。また、白ヌカのオートクレーブでの蒸きょう (80℃, 5 分間) 以降は加熱や加圧処理をすると赤ヌカ麹に含まれる酵素が失活してしまうため、赤ヌカ麹は殺菌せず用いたが、目的とする乳酸発酵は良好に行われ、殺菌工程も短縮、省略できることがわかった。なお、乳酸発酵に用いた培地の無機成分については、乳酸の生育に必須である 2 価のマンガン ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) とマグネシウム ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)¹²⁾ を加えるだけで、順調に発酵が進行した。他に必要な無機成分 (カリウム, リン, カルシウムなど) は白ヌカと赤ヌカ麹から供給されたと考えられる。

本研究の特徴の一つは、酒造米の米ヌカの利用にあたって、比較的脂質とタンパク質等の含量の高い赤ヌカと低い白ヌカとを分別して使用したことである。前者は麹ならびに乳酸発酵の窒素源として利用し、アミノ酸等の窒素源が必要な赤ヌカ麹の製造が順調に進んだものと考えられる。後者は主として乳酸発酵の炭素源に利用した。このような赤ヌカと白ヌカの使い分けが高収率の乳酸生産につながり、低コスト化にも寄与すると思われる。

乳酸には光学異性体の L 体と D 体が存在し、ポリ乳酸を製造する場合、L 体または D 体のどちらか一方が高い光学純度が求められ、例えば車体材料としてポリ乳酸を使用する場合、L-乳酸が 99% 以上という純度が必要とされる¹³⁾。本研究では L-乳酸生成率が高いと報告されているホモ型乳酸発酵菌の *Lactobacillus rhamnosus* NBRC 3425¹⁴⁾を使用した。L-乳酸が生成される割合は、培地組成や培養

条件によって左右されるが、今回の結果では、L-乳酸の占める割合は99%以上であり、光学純度の高い乳酸が得られた。

廃棄物である酒造米の米ヌカを使用した並行複発酵により、培地原料の低コスト化、作業工程の削減、乳酸の効率的生産が実現できた。今後は実用化のため、培養をスケールアップした状態でも、今回と同等の高い対糖収率で、短時間にポリ乳酸の原料として、高品質の乳酸の生産が行える培養システムを構築する必要がある。また、培養残渣の処理方法についても、低コスト化を図り、その再利用も含めて検討する必要がある。赤ヌカ麹は米ヌカを良好に糖化できたことから、他のバイオマス原料デンプンの糖化に利用できると考えられる。

要 約

(1) 清酒製造工程で副生される赤ヌカで麹を調製する方法を検討した。蒸煮した赤ヌカに種麹として「麦用専用菌」を0.5%の割合で加え、温度30℃、湿度90%の条件で1日から3日おくことにより、高い糖化力をもつ麹が調製できた。

(2) 乳酸生産の効率化を目的に赤ヌカ麹を用いた白ヌカの糖化と *Lactobacillus rhamnosus* による乳酸発酵を同時に行う並行複発酵での乳酸生産を検討した。90分間の予備糖化をおこない、培地の流動性が確保できれば、並行複発酵は可能であった。培養72時間後には高光学純度(99%以上)の乳酸が12g/100mlを越える濃度で得られた。

文 献

- 1) 伊藤 茂, 舩田奈里, 山本厚子, 吉村幸江, 鬼頭勇夫, 酒米とう精時に発生する米ぬかの理化学的特性とその利用, 愛知農総試研報, **33**, 71-76 (2001).
- 2) Taniguchi, M., Hoshina, M., Tanabe, S., Higuchi, Y., Sakai, K., Ohtsubo, H., Hoshino, K. and Tanaka, T., Production of L-

Lactic acid by simultaneous saccharification and fermentation using Unsterilized Defatted rice bran as a carbon source and nutrient component. *Food Sci. Technol. Res.*, **11**, 400-406 (2005).

- 3) Tanaka, T., Hoshina, M., Tanabe, S., Sakai, K., Ohtsubo, S. and Taniguchi, M., Production D-lactic acid from defatted rice bran by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresource Technology*, **97**, 211-217 (2006).
- 4) 斎藤美貴, 長沼孝多, 小嶋匡人, 橋本卓也, 木村英生, 上野良平, 森 智和, 醱酵食品残渣を使用した乳酸醱酵, 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, **7**, 21-26 (2012).
- 5) Ronald, M., Atlas, Handbook of Microbiological Media, 3rd ed (CRC PRESS, Boca Raton), p.892 (2004).
- 6) 桜井 広, 村井一男, 赤麹による酒粕の糖化試験, 岩手県醸造食品試験場報告, **16**, 101-102 (1982).
- 7) 西谷尚道監修, 注解編集委員会編, 第四回改正国税庁所定分析法注解, (日本醸造協会, 東京), pp.154-157 (1993).
- 8) 山部恵子, 増田潤一編, 島津高速液体クロマトグラフ 食品分析応用データ集, (島津製作所 分析機器事業部, 京都), pp.14-15 (1996).
- 9) 増補改訂 清酒製造技術, (財団法人日本醸造協会, 東京), pp.235-240 (2001).
- 10) 仲尾玲子, 中川裕子, つくってみよう加工食品, 第3版 (学文社, 東京), pp.24-26 (2000).
- 11) 高分子学会編, 高分子先端材料 One Point5「天然素材プラスチック」, (共立出版, 東京), pp.17-53 (2006).
- 12) 乳酸菌研究集談会編, 乳酸菌の科学と技術, (学会出版センター, 東京), p.121 (1996).
- 13) Tuji, H., Autocatalytic hydrolysis of amorphous-made polylactides : effect of L-lactide content, tacticity, and enantiomeric polymer blending. *Polymer*, **43**, 1789-1796 (2002).
- 14) Fukushima, K., Sogo, K., Miura, S. and Kimura, Y., Production of D-lactic acid by bacterial fermentation of rice starch. *Macromol. Biosci.*, **4**, 1021-1027 (2004).

引用 URL

- i) <http://www.nta.go.jp/shiraberu/senmonjoho/sake/shiori-gaikyo/seizojokyo/07.htm> (2014.1.16). 平成23酒造年度における清酒の製造状況等について, 国税庁鑑定企画官 (平成26年1月17日受付, 平成26年4月15日受理)