

〔醸酵工学 第60巻 第2号 77-86, 1982〕

## 無蒸煮米による酒類の製造

熊谷知栄子・宮入 正法・黄 正財・鈴木 逸郎  
田中 利雄・秋山 裕一

国税庁醸造試験所

*Saké* making with use of uncooked rice. CHIEKO KUMAGAI, MASANORI MIYAIRI, C. T. HUANG, ITSURO SUZUKI, TOSHIO TANAKA, and HIROICHI AKIYAMA (*National Research Institute of Brewing, Japan, 2-6 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114, Japan*) *Hakkokogaku* 60: 77-86, 1982.

Conventional *saké* making requires a large amount of heat for steaming of rice grains in order to change the structure of rice starch to the  $\alpha$ -form. We attempted to make *saké* from unsteamed white rice (75% polishing yield) with the aim of energy conservation.

We made *saké* according to the conventional *saké* brewing method, except for the steaming of raw materials and saccharification with rice *koji*. For the saccharification of raw rice grains, commercial enzymes obtained from *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus* sp. or *Bacillus subtilis* were used. Activity of the glucoamylase used for the production was 5 to 10 fold that of the conventional *moromi* mash.

The resulting *saké* contained more than 18% of alcohol after 12-15 days fermentation, and was of excellent quality and rich in variety.

Differences between the *moromi* of raw rice grains and that of steamed rice were as follows:

- (1) Material of the *moromi* of raw rice grains precipitated, while that of the traditional *moromi* formed a suspension; the upper layer of the *moromi* of raw rice grains was a suspension of yeast and the lower layer mainly consisted of raw rice grains.
- (2) At the early stage of *moromi* fermentation, reducing sugars were scarcely accumulated. Therefore, the density of the *moromi* filtrate was low.
- (3) Amino acid contents in the resulting *saké* differed widely depending on the activity of acid carboxypeptidase in the enzyme preparation used.
- (4) After cessation of the alcoholic fermentation, reducing sugars and amino acids in the *moromi* increased linearly.
- (5) Separation of solids was easier in the *moromi* of raw rice grains than in the traditional *moromi* and the properties of the resulting *saké* cake differed from those of the traditional one.

デンプンを主体とする穀類から酒類を製造するには、主として蒸煮によってデンプンを糊化し、これを糖化発酵させるのが普通である。米を原料とする清酒醸造においても、米を蒸して使うことは不可欠の工程とされてきた。しかし最近の石油資源の枯渇問題、石油価格の高騰などから、代替エネルギーの開発、省エネルギー化の要請がなされ、産業あるいは研究分野においても、この問題に真剣に取り組まねばならない現状である。

清酒醸造には、玄米で年間60万t近くの米を使用しており、米を蒸すために要するエネルギー量は年間25億円と試算されている。その上蒸し米を所定の温度まで冷却するのに強制通風方式がとられており、さらにエネルギーを要している。よって蒸し工程の省略によっては、省エネルギーに加えて、一連の装置や労力も不用となるので製造コストの低減に役立つことが予想される。

生デンプン、生芋類の糖化・アルコール発酵の例と

して、上田らが黒麹菌 (*A. awamori*) の生産するアミラーゼ, *Pseudomonas* の生産するイソアミラーゼを用い、キャッサバ、甘藷などで行ったものがある。<sup>1-3)</sup> また、古く山崎ら<sup>4)</sup>による黒麹菌の麴抽出液を用いる無蒸煮米粉のアルコール発酵の結果では、最高アルコール濃度15.4%程度であり、香味の点で酒類としては不適当であったと報告されている。

著者らは、酒造原料米の酒造適性および消化性の研究過程で、*Aspergillus oryzae*, *Rhizopus* sp., あるいは *Bacillus subtilis* などを起源とする市販醸造用酵素剤によって、無蒸煮米の米粒が糖化されるのを知り、省エネルギーの見地から無蒸煮米による酒類の製造を試みた。

方法は、生米を粒のまま市販醸造酵素剤で糖化しつつ発酵させる方式をとったが、アルコール濃度も21%以上に達した場合もあり、特色ある品質の酒類あるいは調味用酒の製造が可能であるという知見を得たので報告する。

### 実験方法

**使用米** 精米歩合75%の日本晴を用い、総米 200 g の小仕込み、30 kg, 100 kg の試験仕込みを行った。

**仕込み配合** 清酒醸造法に準じ、Table 1 に示し

た配合で3段仕込み法で行った。

**使用酵母および酒母** 総米 200 g のものは酵母仕込みで初添に加工水 2 ml (75%乳酸 18 ml,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.9 g, NaCl 0.75 g を溶かして 300 ml の水溶液にしたもの) を加えて酸性にした後、協会7号酵母を汲水 1 ml 当たり  $2 \times 10^7$  添加した。総米30 kg と 100 kg のものは簡易速醸法を使用し、常温で仕込み、4日目で使用した。

**酵素剤** 清酒醸造の麴代替用に通常使用されているグルク100 (天野製菓株式会社)、4段用に使用されているユニアーゼK (近畿ヤクルト製造株式会社) およびコクゲン (大和化成株式会社)、清酒清澄剤として使用されているクラリンS (日本醸造協会) の4種の市販醸造用酵素剤を単独あるいは混合し、総米当たり 0.05~2.5%を3段に分け汲水に溶解して用いた。

**仕込み温度および品温経過** 添 15°C, 踊り 15°C, 仲 10°C, 留 8°C で仕込み、留後1日1°C ずつ昇温させ、最高温度 15°C で上槽まで持続した。

**もろみおよび製成酒の分析** 国税庁所定分析法に準じて一般分析を、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法<sup>5)</sup>により香気成分および835型日立アミノ酸高速分析計によりアミノ酸組成の分析を行った。

Table 1. Proportions of raw materials in *moromi*.

#### (1) Small scale fermentation (200 g)

|              | Moromi temperature (°C) | White rice (g) | Water (ml) |
|--------------|-------------------------|----------------|------------|
| 1st Addition | 15                      | 35             | 52         |
| 2nd Addition | 10                      | 65             | 78         |
| 3rd Addition | 8                       | 100            | 130        |
| Total        |                         | 200            | 260        |

#### (2) Pilot plant scale fermentation (30 or 100 kg)

|              | Moromi temperature (°C) | White rice (kg)        | Water (l) |
|--------------|-------------------------|------------------------|-----------|
| Moto mash    | room temp.              | 3 (rice- <i>kaji</i> ) | 8         |
| 1st Addition | 15                      | 15                     | 15        |
| 2nd Addition | 10                      | 28                     | 33        |
| 3rd Addition | 8                       | 54                     | 74        |
| Total        |                         | 100                    | 130       |

Rice of 75% polishing yield was used. After the first addition, a one day interval was allowed for propagation of the *saké* yeast. The temperature of the *moromi* increased 1°C per day until it reached a maximum of 15°C, which was maintained until the end of the fermentation.

## 実験結果

**無蒸煮米と蒸し米の比較** グルク100, 2.5%を用い総米 200 g で, 比較小仕込み試験を行った. 無蒸煮米に対し, 水に1時間浸漬後, 30分間蒸した蒸し米とオートクレーブで 120°C, 30分間加熱したものを対照とした. またパイブレーティング・サンプルミルで100メッシュ程度に粉碎した生米粉も同一条件で仕込み比較した. さらに無蒸煮米については酵素使用量を0.5および0.25%とした場合についても行った. その発酵経過を炭酸ガス減量で Fig. 1 および 2 に, 上槽後

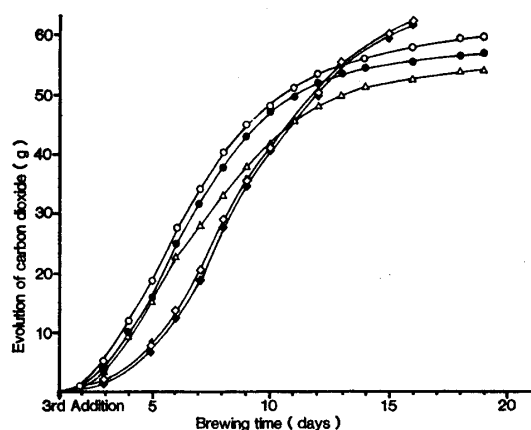


Fig. 1. Time course of saké fermentation with raw and cooked rice grains.

Amount of material (polished rice) was 200 g. Symbols: ○, raw rice grains (Gluc-100, 2.5%); ●, raw rice grains (Gluc-100, 0.5%); △, raw rice grains (Gluc-100, 0.25%); ◆, steamed rice for 30 min (Gluc-100, 2.5%); ◇, cooked rice at 120°C for 30 min (Gluc-100, 2.5%).

(5,000 rpm, 15分間遠心分離) の一般成分を Table 2 に示した.

無蒸煮米は蒸し米に比較し, すみやかに発酵を開始した. 蒸し米の場合はもろみ初期の発酵に誘導期があり, 無蒸煮米より遅れて発酵を開始するが, 中期に発酵速度が早くなり, 末期までに旺盛な発酵が持続し, 無蒸煮米より早目に発酵が終了した. しかし無蒸煮米の場合でも, 蒸し米より発酵が1~3日遅れる程度で発酵終了時には蒸し米と同じレベルになり, 酒類製造の可能性が示唆された.

無蒸煮米を粉碎したものでは, もろみ初期に蒸し米と同じような誘導期が認められ, 粒のままより発酵の遅れが認められた. 粉状で仕込んだ場合は, もろみのサバケが悪く, ドロドロの状態になり, 仕込みにおけ

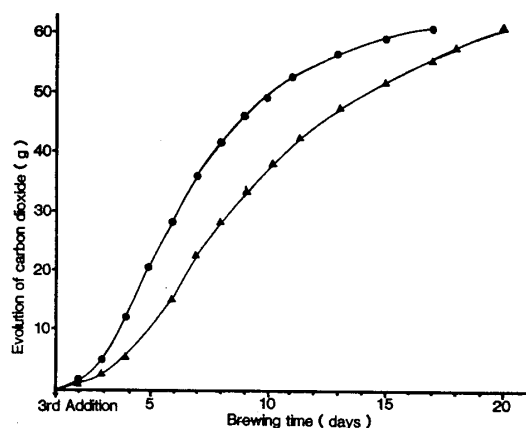


Fig. 2. Time course of saké fermentation with raw rice grains and raw rice flour.

Amount of material was 200 g. Amount of Gluc-100 used was 2.5% with respect to raw material. Symbols: ●, raw rice grains; ▲, raw rice flour.

Table 2. Properties of saké made of raw and cooked rice.

| Amount of Gluc-100*<br>used (%) | Raw rice grains |       |       |       | Raw rice<br>flour | Cooked rice at<br>120°C for 30 min | Steamed rice<br>for 30 min |
|---------------------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------------------|------------------------------------|----------------------------|
|                                 | 2.5             | 2.5   | 0.5   | 0.25  | 2.5               | 2.5                                | 2.5                        |
| Saké meter                      | -20.5           | -35.0 | -36.0 | -23.0 | -46.0             | -26.0                              | -50.0                      |
| Alcohol (vol%)                  | 20.0            | 21.1  | 18.5  | 18.4  | 16.9              | 18.5                               | 16.9                       |
| Acidity (ml)                    | 4.25            | 4.30  | 3.20  | 3.20  | 5.75              | 4.70                               | 5.00                       |
| Formol-N (ml)                   | 8.00            | 8.00  | 7.20  | 5.60  | 8.75              | 4.05                               | 4.45                       |
| Reducing sugars (%)             | 7.0             | 7.6   | 7.8   | 5.4   | 11.3              | 4.1                                | 10.5                       |
| Original extract**              | 41.9            | 46.6  | 42.0  | 39.4  | 40.9              | 40.1                               | 41.7                       |

Saké was assayed by the standard method established by the National Tax Administration Agency.

\*A glucoamylase preparation. \*\*Original extract was calculated from the density (saké meter) and concentration of alcohol according to calculation table A-7<sup>6)</sup> established by the National Tax Administration Agency.

る混合などの点で取り扱いが面倒であった。

製成酒成分として、無蒸煮のものは18%以上のアルコールが製成し、高濃度アルコール発酵がなされたことを示し、原エキス量も高く原料利用率が高い結果となっている。酒質の特長としては、無蒸煮米（粉碎試料も含めて）ではアミノ酸が多く、調味用酒としては好適といえるが、清酒タイプの酒類の製造としては問題があると思われる。しかし酵素使用量が少ない場合、すなわちタンパク分解系酵素の力価を低くした場合には、Table 2 に認められるように、順次アミノ酸量が低くなることから、タンパク分解系酵素の組成あるいは使用力価を変えることにより、アミノ酸生成を制御することが可能といえる。

また、無蒸煮米は発酵経過の観点からは粉碎する必要性が認められず、取り扱い、省エネルギーおよび省力化の観点からもむしろ粒のまま使用した方が良いと考えられた。

**無蒸煮米による仕込み試験** 総米 100 kg の無蒸煮米に対し、酵素剤としてグルク100を0.5%用いて仕込み試験を行った。その仕込み経過を Fig. 3 に示したが、18日目にアルコール濃度が19%に達し、発酵は停止した。もろみの状態は Fig. 5 で示すが、米粒は沈下し、酵母懸濁液が上層を覆うサバケの良い状態であり、発酵が進むにつれて米粒間に炭酸ガス泡が入るため樽が簡単に入り、米粒をこわさずかくはんすることができた。また、5日目から泡が立ち始め、蒸し米の

清酒もろみより軽いのが、7日目には30 cm ほどの高泡を形成した。

アルコール発酵が停止してからも15°Cでもろみを長期放置し、成分変化を検討した。酸度は仕込み後10日目頃に最高になり、以後増減は認められなかった。しかし、比重は発酵が停止した時点で日本酒度は+10と最低になり、以後直線的に高くなり、発酵が停止してからも生米の溶解糖化が進行していることが示された。アミノ酸は留後ふえ続け、発酵が停止した時には5 ml と普通清酒もろみより多く、それ以後も米の糖化溶解と同様に直線的に増加し、42日目に上槽した時には8 ml に達した。もろみ42日目上槽時の粕歩合は7%と低く、粕の状貌は酵母と米の胚乳細胞壁に由来すると思われるパルプ状のものが絡んだ状態で、通常の酒粕とは異なる感触であった。

なお総米5kgで、グルク100を0.05%（総米の1/2000）使用で仕込み試験を行った結果、もろみ25日目でアルコールが18%に達した。酵素使用量を少なくすれば、発酵速度が遅くなり日数がかかるが、最終的には、酵素使用量が多い時と同程度に高濃度のアルコールを生成した。しかし日本酒度で+21と比重が低く、15°C、35日目でも+15で、Fig. 3 に見られるような生米の溶解は起こらないか、あるいは非常に弱く米の利用率が低下することが示された。

もろみ途中での香気成分を分析した結果、Table 3 に示したように蒸し米の清酒もろみより高い値を示し、

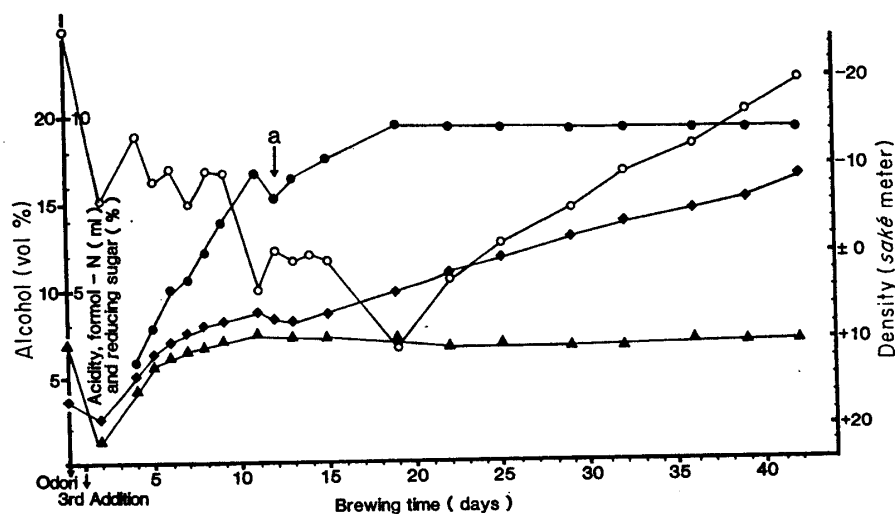


Fig. 3. Time course of saké fermentation with raw rice grains on a pilot scale. Amount of material was 100 kg. Gluc-100 was used at 0.5% with respect to raw rice grains. At point a, 20 l of water was added. Symbols; ●, alcohol; ○, saké meter; ▲, acidity; ◆, formol-N.

Table 3. Aroma components of *saké* made of raw rice grains.

| Fermentation time<br>(day)                       | Acet-<br>aldehyde | Ethyl<br>acetate | <i>n</i> -Propyl<br>alcohol | <i>i</i> -Butyl<br>alcohol | <i>i</i> -Amyl<br>alcohol | <i>i</i> -Amyl<br>acetate | <i>E/A</i> * |
|--------------------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------|
| 11                                               | 10.1              | 91               | 202                         | 258                        | 247                       | 12.7                      | 4.9          |
| 15                                               | 12.9              | 89               | 168                         | 255                        | 245                       | 13.5                      | 5.3          |
| 25                                               | 11.0              | 100              | 225                         | 266                        | 242                       | 2.5                       | 0.9          |
| Conventional <i>saké</i><br>made of steamed rice | 20~<br>40         | 150~<br>200      | 100~<br>150                 | 100~<br>150                | 100~<br>200               | 0~8                       |              |

Concentration expressed as ppm. \**E/A* was calculated by the following equation,  
 $E/A = i\text{-Amyl acetate} \times 100 / i\text{-Amyl alcohol}$ .

Table 4. Amino acid composition of *saké* made of raw rice grains.

|                             | Fermentation time (day) |       |       |       |
|-----------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|
|                             | 11                      | 15    | 25    | 42    |
| Aspartic acid               | 2.37%                   | 2.16% | 2.79% | 4.58% |
| Threonine                   | 6.46                    | 7.03  | 7.00  | 6.04  |
| Serine                      | 2.68                    | 2.78  | 3.07  | 5.14  |
| Glutamic acid               | 9.21                    | 9.26  | 9.42  | 8.89  |
| Glycine                     | 3.41                    | 3.45  | 3.53  | 4.19  |
| Alanine                     | 8.64                    | 8.77  | 9.23  | 9.34  |
| Cystine                     | 2.41                    | 2.37  | 2.70  | 3.52  |
| Valine                      | 4.46                    | 4.53  | 4.85  | 6.18  |
| Methionine                  | 1.94                    | 1.96  | 2.09  | 2.70  |
| Isoleucine                  | 2.30                    | 2.46  | 3.16  | 4.70  |
| Leucine                     | 9.74                    | 9.57  | 9.65  | 9.35  |
| Tyrosine                    | 6.56                    | 6.58  | 6.25  | 7.03  |
| Phenylalanine               | 10.14                   | 9.84  | 9.18  | 5.22  |
| Ornithine                   | 0.36                    | 0.35  | 0.69  | 0.57  |
| Lysine                      | 2.91                    | 3.05  | 4.01  | 4.49  |
| Histidine                   | 1.16                    | 1.28  | 1.55  | 1.89  |
| Tryptophan                  | -                       | 0.69  | 0.09  | 0.67  |
| Arginine                    | 16.67                   | 18.10 | 16.03 | 10.99 |
| Proline                     | 5.59                    | 5.75  | 4.73  | 4.80  |
| Total weight<br>(mg/100 ml) | 0.72                    | 0.68  | 0.94  | 1.29  |

高級アルコール、酢酸イソアミルも高く、良好な発酵香が感じられた。一方、清酒に比較しアミノ酸量が多いことから、その組成を分析した結果、25日目までの組成は清酒のアミノ酸組成と特別な差異は認められなかった (Table 4)。長期放置後、42日目で上槽した場合は、バリン、イソロイシン、リジンの増加とアスパラギン酸、セリン、フェニルアラニン、アルギニンの減少が認められた。

42日目に上槽した製成酒はアミノ酸が多いことから、調味用酒への利用も可能であるが、火入れ後常温6か月間で熟成が早く、色は濃い黄金色 ( $OD_{410}^{1\%} = 0.585$ )、香りは紹興酒様となり、官能的に好ましいとする人も多いことから、清酒とは異なる酒類の1つのタイプとなり得ることが示唆された。また発酵が持続している間は直糖、アミノ酸が低く、発酵が停止してから直糖、アミノ酸が徐々に増加することから、上槽時期を選ぶ

ことによって多様なタイプの酒の製造が可能と思われた。

**酵素組成を異にした仕込み試験** 無蒸煮米による製成酒では、清酒に比較してアミノ酸が多い特長が明らかとなった。そこでタンパク分解酵素の組成比を変え、総米 200 g による小仕込み試験を行い、アミノ酸生成に差異があるかどうかを検討した。使用した酵素

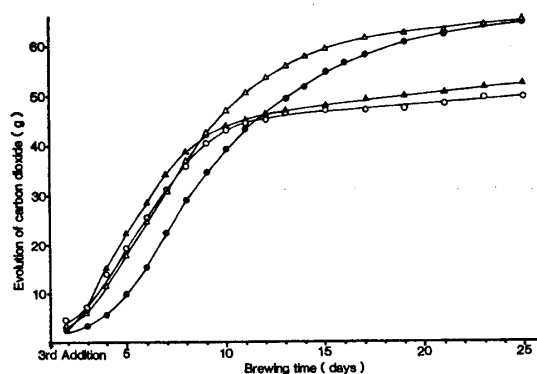


Fig. 4. Time course of *saké* fermentation with raw rice grains incubated with various enzymes. The scale of *moromi* was 200 g rice grains. Symbols: ○, Gluc-100; △, Uniase-K; ●, mixture of Kokugen and Uniase-K; ▲, Clarine-S.

剤の組み合わせ、使用量および酵素力価は Table 5 に示した。

発酵経過を Fig. 4 に、また炭酸ガス減量が 60 g に達した時点、あるいは発酵が停止した時点で半量を、また残りを 15°C で 42 日目まで放置した後上槽し、成分分析を行った結果を Table 6 に示した。発酵経過は、糖化酵素力価が同一であっても差異が認められることから、酵素の組成あるいは起源等の影響が考えられた。これらについては今後検討したい。

製成酒のアミノ酸は、アルコールが 18% で 1.35 ml のものから、8.50 ml と多いものまで幅が見られた。酸性カルボキシペプチダーゼ力価が低い方がアミノ酸が少ないことから、製成酒のアミノ酸量は酸性カルボキシペプチダーゼの使用力価を低くすることによって制御することが可能と考えられた。長期放置後上槽した場合は、いずれの場合にも比重、直糖およびアミノ酸が増加し、米の溶解が持続していることが明らかである。

Fig. 5 には、16 日目のもろみの写真を示したが、清酒もろみに準じた仕込み配合でも、蒸し米のように米粒が膨潤して半流動体とならず、先に述べたように米が沈下して形成された下層と、酵母が浮遊する上層の

Table 5. Activity of enzyme used for *saké* making with raw rice grains.

| Enzyme preparation              | Amount (g/rice 100 g)         | $\alpha$ -Amylase | Glucoamylase | Acid protease | Acid carboxy-peptidase |
|---------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------------|---------------|------------------------|
| Uniase-K                        | 1.0                           | 450               | 990          | 3720          | 1920                   |
| Gluc-100                        | 0.5                           | 1890              | 387          | 2820          | 5040                   |
| Mixture of Kokugen and Uniase-K | Kokugen: 1.0<br>Uniase-K: 0.3 | 1531              | 300          | 1111          | 585                    |
| Clarine-S                       | 1.0                           | 1730              | 380          | 19275         | 26650                  |

Enzyme activities are expressed as units/g-rice. Enzymes were assayed by the procedures described in the references.<sup>7-10)</sup>

Table 6. Analysis of *saké* made from raw rice grains with various enzymes.

| Enzyme preparation                          | Fermentation time (day) | <i>Saké</i> meter | Alcohol (vol%) | Acidity (ml) | Formol-N (ml) | Reducing sugars (%) | Original extract |
|---------------------------------------------|-------------------------|-------------------|----------------|--------------|---------------|---------------------|------------------|
| Uniase-K 1%                                 | 14                      | -4                | 18.0           | 3.50         | 1.35          | 4.08                | 35.2             |
|                                             | 42                      | -32               | 18.0           | 3.50         | 4.40          | 8.04                | 40.4             |
| Gluc-100 0.5%                               | 16                      | -25               | 14.2           | 2.75         | 5.26          | 5.88                | 32.0             |
|                                             | 42                      | -64               | 15.0           | 3.05         | 8.55          | 11.76               | 40.8             |
| Mixture of Kokugen (1%) and Uniase-K (0.3%) | 16                      | +4                | 18.0           | 2.70         | 2.05          | 2.88                | 33.8             |
|                                             | 42                      | -19               | 18.6           | 2.95         | 4.65          | 6.48                | 39.0             |
| Clarine-S                                   | 16                      | -23               | 15.2           | 3.45         | 8.50          | 5.00                | 33.5             |
|                                             | 42                      | -52               | 15.2           | 3.50         | 9.50          | 9.56                | 38.9             |

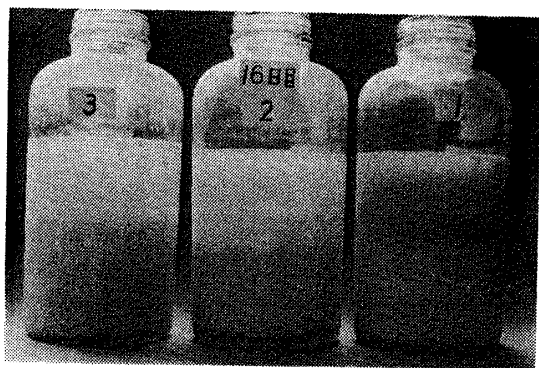


Fig. 5. Appearance of small scale *moromi*-mash after sixteen days fermentation from the final addition.

1, Clarine-S; 2, Gluc-100; 3, Uniase-K.

液層部とに分かれて発酵した。ユニアーゼ K を使用した場合は、米粒がそのままの形で糖化溶解し、クラ

リン S では米の組織が崩壊して溶解するのが認められたが、その原因についても今後検討したい。

**アミノ酸生成を制御した仕込み試験** 前項の結果を基にして、アミノ酸生成を制御する目的で総米 30 kg の無蒸煮米に対し、ユニアーゼ K を 1%, 0.5%, および 0.1% 使用して仕込み試験を行った。Fig. 6 および 7 に仕込み経過、Table 7 に製成酒成分を示した。

酵素 1% および 0.5% を用いた場合 (Fig. 6) はすみやかに発酵し、アルコールは 16 日目で 20%, 23 日目では 21% に達した。しかし比重は Fig. 3 の 100 kg 仕込みと同様に低く、清酒もろみの初期のような直糖の集積は認められなかった。予想されるように、酵素使用量の多い方がもろみ中に溶存する直糖濃度も高かった。酵素剤としてグルク 100 を用いた Fig. 3 と比較して、酸性カルボキシペプチダーゼ力価の組成比が低いユニ

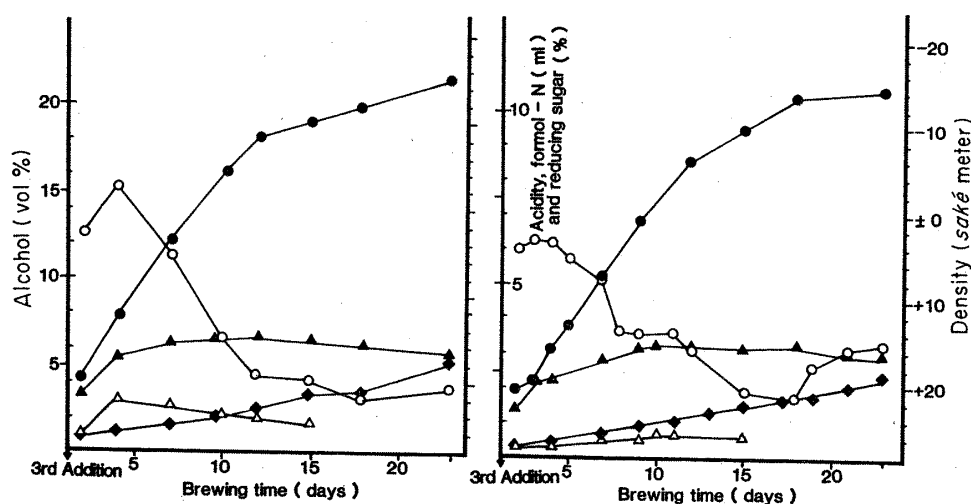


Fig. 6. Time course of *saké* fermentation made with raw rice grains incubated with Uniase-K. The scale of *moromi* was 30 kg of rice grains. (1), Uniase-K 1%; (2), Uniase-K 0.5%. Symbols: ●, alcohol; ○, *saké* meter; ▲, acidity; ◆, formol-N; △, reducing sugars.

Table 7. Analysis of *saké* made from raw rice grains with Uniase-K.

| Fermentation time (day)      | Uniase-K 1% |       | Uniase-K 0.5% |       |
|------------------------------|-------------|-------|---------------|-------|
|                              | 16          | 25    | 16            | 25    |
| <i>Saké</i> meter            | +23.5       | +20.4 | +23.0         | +15.5 |
| Alcohol (vol%)               | 21.0        | 21.6  | 19.2          | 21.2  |
| Acidity (ml)                 | 3.05        | 2.80  | 3.10          | 2.90  |
| Formol-N (ml)                | 1.70        | 2.60  | 1.50          | 2.40  |
| Reducing sugars (%)          | 0.44        | 0.76  | 0.47          | 1.71  |
| Original extract             | 36.0        | 37.5  | 32.8          | 37.6  |
| Rate of <i>saké</i> cake (%) | -           | 9.6   | -             | 11.8  |

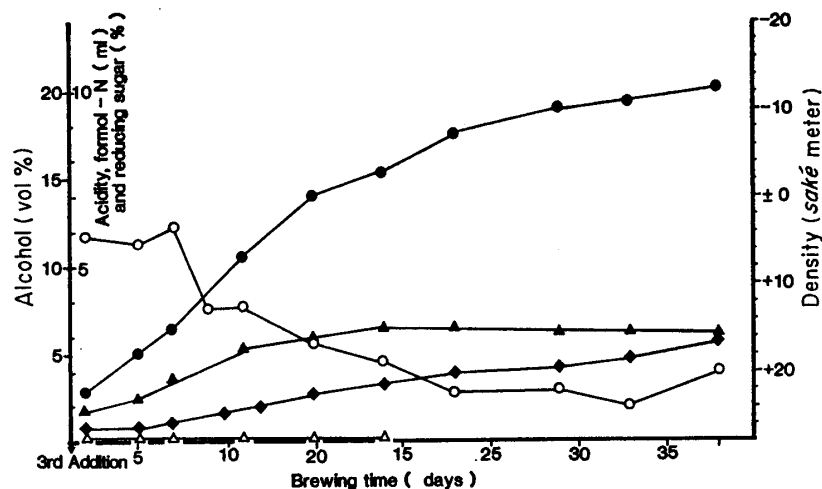


Fig. 7. Time course of saké fermentation made with raw rice grains incubated with 0.1% Uniase-K.

The scale of *moromi* and symbols are the same as in Fig. 6.

アーゼ K を用いた場合には、アミノ酸生成は低レベルで直線的に増加した。酵素 0.1% 仕込みでは、発酵速度は緩慢で遅いが順調に発酵し、35 日目 (Fig. 7) アルコールが 20% に達した。他の成分では、アミノ酸生成が酵素使用量に比しやや多いこと、比重はもろみ初期から日本酒度がプラスでありマイナスにもどることとはなく、直糖は 0.1% 以下で終始した。

酵素 1% と 0.5% 仕込みについては 16 日目に一部上槽し、25 日目に全部を上槽したが、25 日目に上槽後の粕歩合はそれぞれ 9.6% と 11.8% と少なかった。製成酒成分は 16 日目ではアミノ酸、糖分 (日本酒度 +23.5) とともに少なく、しかも酸が多い超辛口の酒であった。25 日目に上槽した製成酒は、米の糖化溶解が進み直糖がやや増加し比重が戻るものの、やはり超辛口タイプの酒質になった。香りは清酒とは少し異なるエステル様香が感じられたが、それらについては今後検討しなければならない。

## 考 察

昭和 48 年の石油危機以来、研究分野でもエネルギー問題に真剣に取り組む姿勢が芽生え、これらの範疇に入る研究が幅広く活発になされている現状である。著者らも米を原料とする清酒醸造において、省エネルギー化を計るため、無蒸煮米による酒類の製造を試み、粒のままの生米でも糖化溶解、アルコール発酵が効率よく達成され、酒類製造への応用が可能であるという知見を得た。以下、蒸し米による従来の清酒醸造と対比しながら、その特長および問題点を考察して見る。

上田<sup>11)</sup>によると生デンプンの分解には、ことに黒麹菌 (*Aspergillus awamori*) のアミラーゼが黄麹菌などのアミラーゼに比べ優れているとして、生芋類のアルコール発酵に黒麹菌のふすま麹を用いている。この点本報における米の生デンプン糖化に用いた糖化酵素は特殊なものではなく、*A. oryzae*, *Rhizopus* sp. あるいは *B. subtilis* を起源とし、実際に清酒醸造における四段用あるいは麹代替用として市販されている醸造用酵素剤である。麹歩合 20% の清酒もろみでは、布川ら<sup>12)</sup>によると白米 1 g 当たりの平均酵素力価は  $\alpha$ -アミラーゼ: 245, グルコアミラーゼ: 40, 酸性プロテアーゼ: 735, 酸性カルボキシペプチダーゼ: 1000 である。以上の酵素力価からすると、本報で総米 30 kg および 100 kg 仕込みに用いた酵素力価は、白米 1 g 当たり  $\alpha$ -アミラーゼについては 0.2~8 倍、グルコアミラーゼについては 2.5~25 倍、酸性プロテアーゼについては 0.5~5 倍、酸性カルボキシペプチダーゼについては 0.2~5 倍の範囲であり、この程度の酵素力価でも充分、無蒸煮米粒内部の生デンプンが糖化溶解するのは興味深い。今回はグルコアミラーゼ 5~10 倍を中心とした実験を行ったが、今後他の酵素との組成比を考慮して生米デンプンの糖化溶解を律速する酵素力価、酵素組成を詳細に検討したい。

本報での仕込み方法は、仕込み配合、三段仕込み法など、ほぼ清酒醸造法に準じて行った。生デンプン糖化の研究は植物組織から分離精製したデンプンか、粉碎あるいは摩砕して植物組織をこわした状態で行われているのが普通であるが、著者らの実験では Fig. 2 に

も認められるように、粉碎した場合より、米粒をそのまま用いた方が、並行複発酵がスムーズに行われ、しかも取り扱い易さおよび粉碎に用する設備、労力、エネルギーを必要としない点を考慮するなら、米粒をそのまま用いる方が有利であろうと考えられた。

蒸し米による清酒もろみに比較し異なる点を順次述べると、

(1) 生米粒は吸水に浸漬しても膨潤せず、蒸し米におけるもろみのように半流動体とはならない。しかも同等の吸水歩合であっても、米粒が沈下して下層に堆積し、酵母の懸濁した液層が上部を覆う状態となり、蒸し米とは物性が全く異なる。なお高泡形成能のある清酒酵母では泡は低く軽い、もろみ中期に発生する。

(2) もろみ初期からろ液の比重が低く、留直後から日本酒度計で測定しなければならない。すなわち、もろみ初期における直糖の集積がなく、糖化酵素レベルが低いほど、糖化即アルコール発酵という傾向が認められた。

(3) 発酵が停止した後も、米の溶解糖化が進行し、直糖およびアミノ酸の増加が顕著であった。

(4) 製成酒のアミノ酸組成は、清酒とそれほど差異がないが、タンパク分解系酵素の力価を変えて仕込むことにより、アミノ酸量に大きな幅を持たせることが可能である。

(5) 無蒸煮米によるもろみは固液分離が容易であり、上槽法においては、現在の装置を改良するか、新装置あるいは方法を開発することによって、上槽工程の簡略化が考えられる。以上の点が、無蒸煮米仕込みの特徴といえる。一方、酒質の方は上槽時期を適当に変えること、タンパク分解系酵素と糖化酵素の組成比を変えること、酵素剤の種類を変えることによって、幅のある多様なものを期待することができる。また、無蒸煮米の溶解程度により、粕の状態が異なってくることが推測されるので、粕利用も含めた種々の問題を今後検討しなければならない。

無蒸煮米による酒類の製造を実用化するに際しては、酵素剤使用上での酒税法の規定、消費者に与えるイメージ、酒質をどのような形に仕ぼるか、強力な糖化力をもつ麹菌および酵素剤の開発、安全醸造、などに十分な対応策を講ずる必要がある。

従来の清酒醸造における蒸煮の第一目的は、米デンプンを糊化することであるが、その他にも加熱による米粒の殺菌に重要な意義があるとされている。したがって、米粒を無蒸煮で仕込むことは、殺菌工程が省略

されるので、その安全性が疑問視されている。著者らも、小仕込み試験において、初添に添加した酵母の生菌が少なく、踊りを5日間ほどとらねばならない例に遭遇した。このような仕込み25本のうち、細菌による汚染は1本も認められなかったものの、3本に *Rhizopus* の汚染があった。しかし、その後のアルコール発酵の開始と同時に *Rhizopus* の増殖は停止し、他の仕込みと同様順調に発酵し、製成酒の香味も非汚染のものと何ら変わらず良好なものであった。以上の点と著者らが行った水酏の研究<sup>13)</sup>から推測して、原料として精米歩合75%以下の白米を使用すること、仕込みを乳酸酸性下で行うことの2条件が揃えば汚染の危険性は低いと考えられるが、今後さらに検討の必要があろう。

## 要 約

清酒醸造における省エネルギー化を計るため、無蒸煮米による酒類の製造を試み、市販醸造用酵素剤で、粒のままの生米でも糖化溶解、アルコール発酵が効率よく達成され、酒類製造が可能であることを明らかにした。

仕込みに用いた酵素は、従来の清酒もろみに比較して、グルコアミラーゼ力価が5～10倍レベルを中心にして行ったが、12～15日目でアルコール18%以上の多様性に富む酒類を製造することができた。

蒸し米を用いる清酒もろみと無蒸煮米によるもろみの異なる点は、(1) 米粒が蒸し米のように膨潤しないので均一な半流動性は示さず、米層と酵母が浮遊する液部の二層に分かれて発酵すること、(2) もろみ初期に直糖の集積が見られないこと、(3) 製成酒のアミノ酸が、酸性カルボキシペプチダーゼの力価を加減することにより著しく変動すること、(4) 発酵が停止すると直糖とアミノ酸が直線的に増加すること、(5) もろみの固液分離が良く、粕の性状は通常の清酒粕と異なること、などに認められた。

## 文 献

- 1) Ueda, S., Koba, Y.: *J. Ferment. Technol.*, **58**, 237 (1980).
- 2) 上田：発酵と工業, **38**, 1028 (1980).
- 3) Ueda, S., Jenin, C. J., Monterio, D. A., Park, Y. K.: *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 291 (1981).
- 4) 山崎, 上田, 島田：醸協, **21**, 83 (1963).
- 5) 吉沢：醸協, **68**, 59 (1973).
- 6) (財)日本醸造協会編：第3回改正, 国税庁所定分

- 析法注解, p. 388, 日本醸造協会 (1974).
- 7) 照井, 藤原: 醸工, **26**, 147 (1948).
- 8) 岩野, 風間, 布川: 醸協, **71**, 383 (1976).
- 9) Rick, W.: *Method of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U.), 800, Academic Press, New York (1963).
- 10) 岩野, 布川: 醸協, **71**, 792 (1976).
- 11) 上田, 澱粉科学, **25**, 124 (1978).
- 12) 注解編集委員会編: 清酒製造技術, p. 99 (1979).
- 13) 秋山, 若井, 大内, 熊谷, 大塚: 醸協, **75**, 314 (1980).
- (昭和56. 8. 24受付)