

新規オリジナル麹菌の 特性の検討

平成30-令和元年度 技術シーズ創生研究事業 育成ステージ

担当者：醸造技術部 ○佐藤稔英、米倉裕一

令和3年7月16日 岩手県工業技術センター 成果発表会

1. 背景（酒造好適米の稲麴粒）

事の起こり

- 2017年に共同研究（IoT栽培）のため、県内酒造好適米の栽培調査を行っていたところ、一部の稲穂に黒い塊があるのを発見。
- 栽培者の許可を得て塊を採取し確認したところ、稲麴であることが判明。



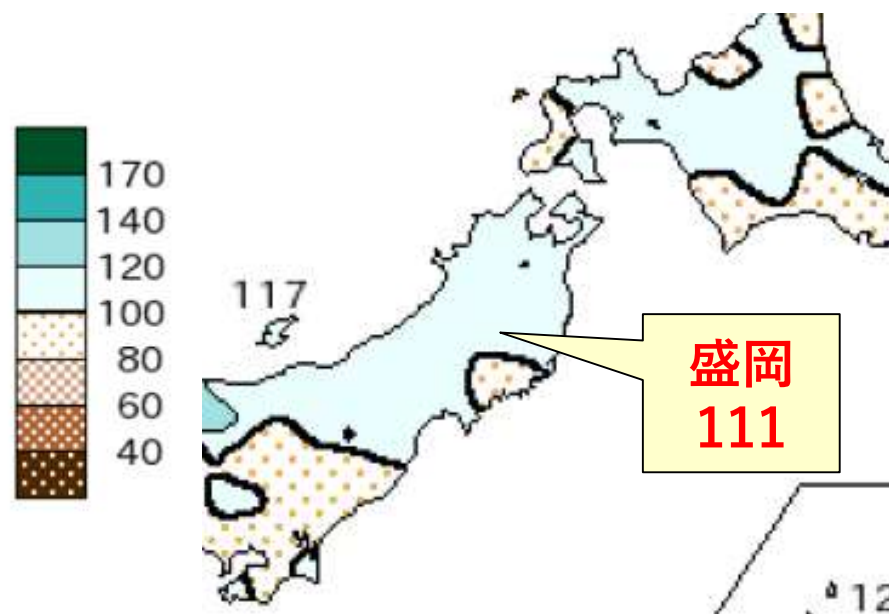
1. 背景（稲麴とは）

稲麴は天候不順で発生する

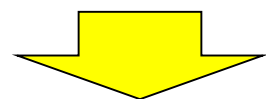
稲こうじ病 *Claviceps virens*



降水量平年比 (%) 2017年 (気象庁)



イネ稲こうじ病は、穂の籾に暗緑色の小塊(病粒)が生じる病害で、規格外米の発生させ、問題になっています。 **(農研機構,イネ稲こうじ病の薬剤防除マニュアル(2018年版))**

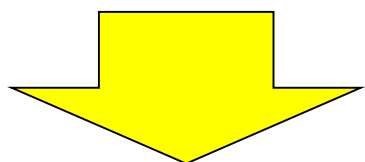


一般に低温、日照不足、多雨条件下で発生しやすい。

1. 背景（清酒で使用する麴）

清酒で使用する麴菌の定義

稲こうじ病の原因はバツカクキン科のカビ（マイコトキシン生産性有）であり、米麴などを作るコウジカビとは全く関係がない。



麴菌とは、わが国で醸造及び食品等に汎用されている次の菌をいう。

（1）和名を黄麴菌と称する ***Aspergillus oryzae***。

日本醸造学会『麴菌をわが国の「国菌」に認定する-宣言-』
<http://www.jozo.or.jp/koujikin.htm>（参照 2021-06-28）

1. 背景（稲麴と『麴菌』の関係）

稲麴から『麴菌』を採取したとの調査報告

山間避地等にて製麴に種麴なき時は稲穂に寄生する一種の黴菌稲麴を使用することありと云ふ

ては特に種麴製造家なるものは何れより來れるやは明をらずと雖ども本邦にありて専ら此黴菌孢子の製造に従事し數百年來

生ずる一種の黴菌稲麴を使用することありと云ふ又麴黴菌の菌絲を營養液中

山間避地等にて製麴に種麴なき時は稲穂に寄生する一種の黴菌稲麴を使用することありと云ふ

素種製法には稻贅花を必要とす此の稻贅花は毎年八九月の頃稲穂の上に生ずる青黒色そして少しく黄色を帯びたる凡そ大豆程の大きななる花のごときもの

素種 素種製法にハ稻贅花を必要とす此の稻贅花ハ毎年八九月の頃
稻穂の上ニ生ズル青黒色ヨシテ少シク黄色を帯ビたる凡そ大豆程の
大なる花の如きものにして其之を生ずるハ
度なる不因るものもらんか爾して年々各
ハ蓋し粉作肥料の過
物を生ぜざること

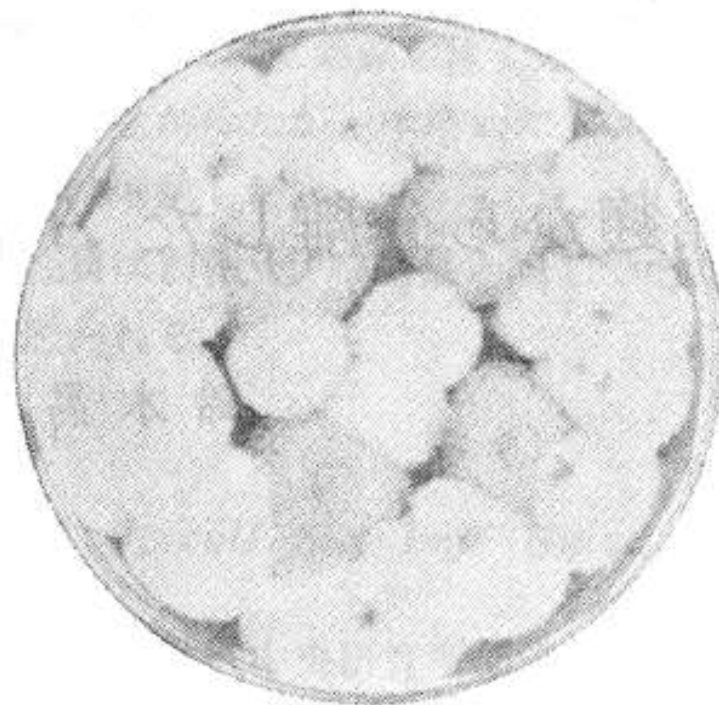


写真 2 稲麴から純粹分離した状態
外側の多数の白いコロニーが *U. virens* で、中央付近に *A. oryzae* の4個のコロニーが見られる。

(矢木ら (1901) 醸造学.
丸善株式会社)

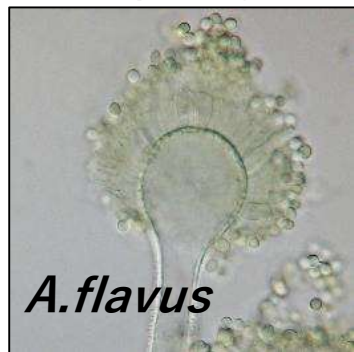
(海老原 (1885)
通俗製麴方要訣,高橋修助)

(鈴木ら (1984)
醸協,79(6) ,439-432)

1. 背景（『麹菌』はどこから？）

麹菌の由来についての学説（当時）

① *Aspergillus flavus* を家畜化して **麹菌** になった

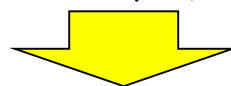


A. flavus と 麹菌 の差は **Aflatoxin** を作るか作らないか
⇒ 麹菌 を使用するのに適したものを
選んでいくうちに毒性が無くなった



② 自然界にいる **麹菌** を家畜化した

- a. 商業利用され始めてから約600年、学術的に単菌分離されたのが1876年
- b. 多核細胞で表現型が安定しない菌
- c. 有性世代が見当たらず、交配育種ができない



自然界にそもそも存在するのでは？



1. 背景（本試験の目標）

岩手由来の完全オリジナル麴菌の育種

岩手県にはオリジナル麴菌として『黎明平泉』があるものの、大元の菌株は(株)秋田今野商店や（独）酒類総合研究所からの供与を受けている



麴菌の分離元も含めた**完全自県産清酒**は全国的にもほとんど例が無く、ストーリー展開も含め強いアピールポイントになる



**昔ながらの方法（通俗製麴方要訣）で
稲麴から麴菌が採取できないか？**

2. 育種方法（『麴菌』の単離方法）

麴菌の単離と特性の検討



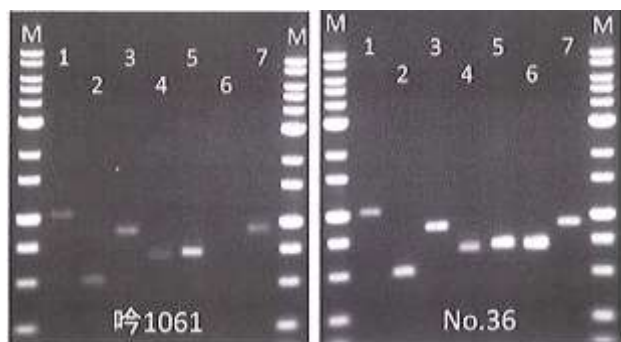
灰を蒸米にまぶす



菌糸の見た米粒をより分ける



単菌分離×20回



Aflatoxin生産能の検討



簡易製麴試験



簡易Aflatoxin
生産性試験

3. 結果（簡易製麴試験）

単離菌株の酵素生産性

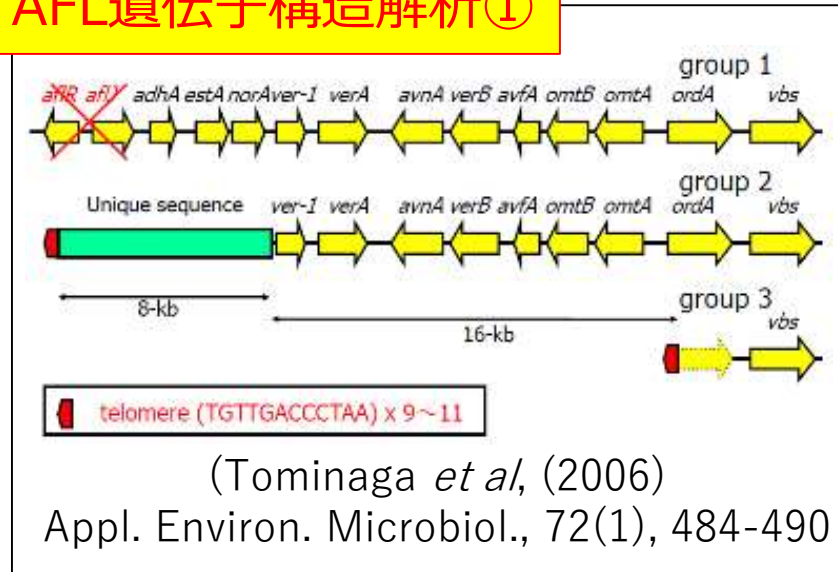
試験No.	菌株名	α -アミラーゼ (U/g・麴)	グルコアミラーゼ (U/g・麴)	G/ α	酸性カルボキシ ペプチダーゼ (U/g・麴)	フィナーゼ (U/mL)
Ref_1	市販品A	1558	622	0.399	5605	0.082
Ref_2	市販品B	1251	244	0.195	4542	0.017
Ref_3	市販品C	1514	617	0.408	4550	0.085
Ref_4	市販品E	1770	233	0.132	3931	0.011
Ref_5	黎明平泉	1400	161	0.115	4927	0.007
9	No.36	1349	719	0.533	2568	0.039
32	吟_1061	2456	406	0.165	4132	0.021

- 選抜優先度：
- ① α -アミラーゼ 活性、グルコアミラーゼ 活性、G/ α が比較的高い
 - ② 市販品と比較して特徴的な酵素バランスを有する
(ward法_クラスター解析)
 - ③ フィナーゼ 活性が比較的低い
 - ④ 孢子生産性が高い

3. 結果 (Aflatoxin生産能の検討)

菌の遺伝子解析と米麴の分析

AFL遺伝子構造解析①



AFL遺伝子構造解析②

表3 アフラトキシン遺伝子クラスターにおける5遺伝子の増幅パターンとアフラトキシン産生性の相関 (Changらの方法)¹⁾

バンド パターン	各遺伝子領域のPCR産物長と増幅の有無 ²⁾					アフラトキシン 産生能 ²⁾
	omtA	C1	C2	C3	norB-cypA	
1	594 bp	—	—	—	—	—
2	594 bp	—	677 bp	—	322 bp	—
3	594 bp	619 bp	677 bp	642 bp	902 bp	+ or —

¹⁾ 一増幅なし、norB-cypAの増幅産物が322 bpの場合はType I、902 bpはType IIの欠片を示す。
²⁾ +アフラトキシン産生能あり、—アフラトキシン産生能なし。

(大段ら,(2015)
日本食品微生物学会雑誌,32(3), 167-174

Aflatoxin検出試験

分析試験結果

分析試験項目	結果
総アフラトキシン	検出せず
アフラトキシンB ₁	検出せず
アフラトキシンB ₂	検出せず
アフラトキシンG ₁	検出せず
アフラトキシンG ₂	検出せず

※日本食品分析センター調べ
(分析番号：19051206003-0101)

- ① Aflatoxin遺伝子クラスターの一部に欠損が確認された
- ② 簡易製麴した米麴からAflatoxinは検出されなかった



育種した2株は『麴菌』

4. 特性確認方法（メーカーでの試験）

清酒製造メーカーでの試験製麹



麹菌のスラント化



種麹の製造

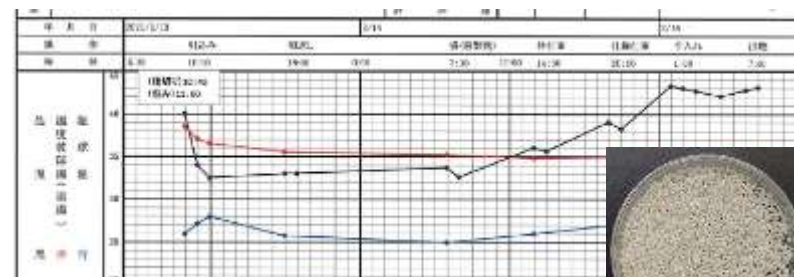


希望メーカーでの試験製麹



項目	吟1061株	No.36株
使用場数	10	15
酒種		
大吟醸・純米大吟醸	3	12
吟醸・純米	6	4
その他	7	1
総使用回数	25	56

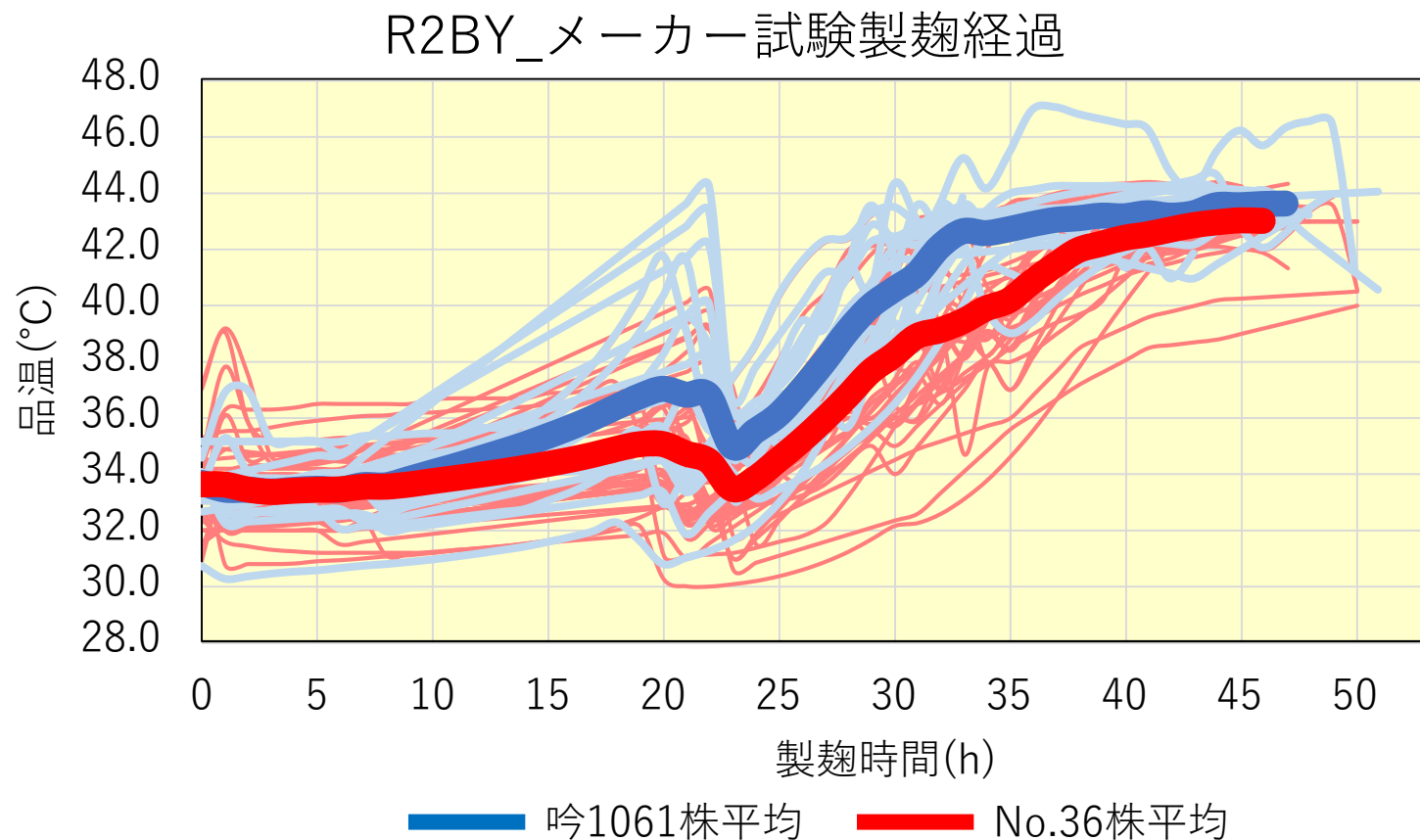
※仕込の一部使用を含む



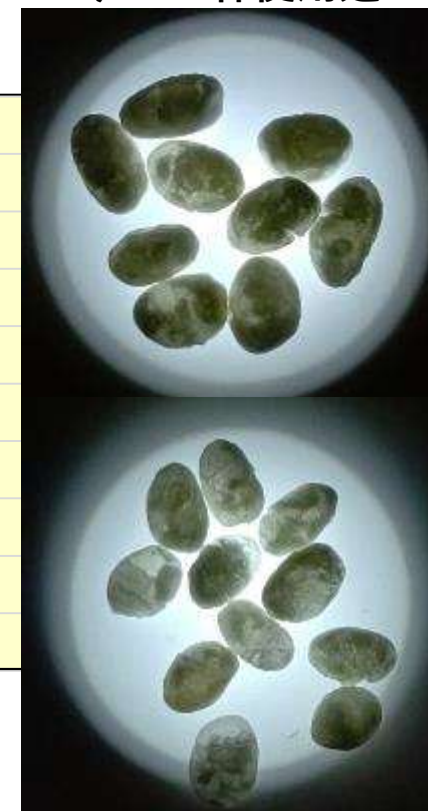
試験製麹結果の分析・解析

4. 試験製麴結果（メーカーでの試験）

清酒製造メーカーでの製麴経過



吟1061株使用麴



No.36株使用麴

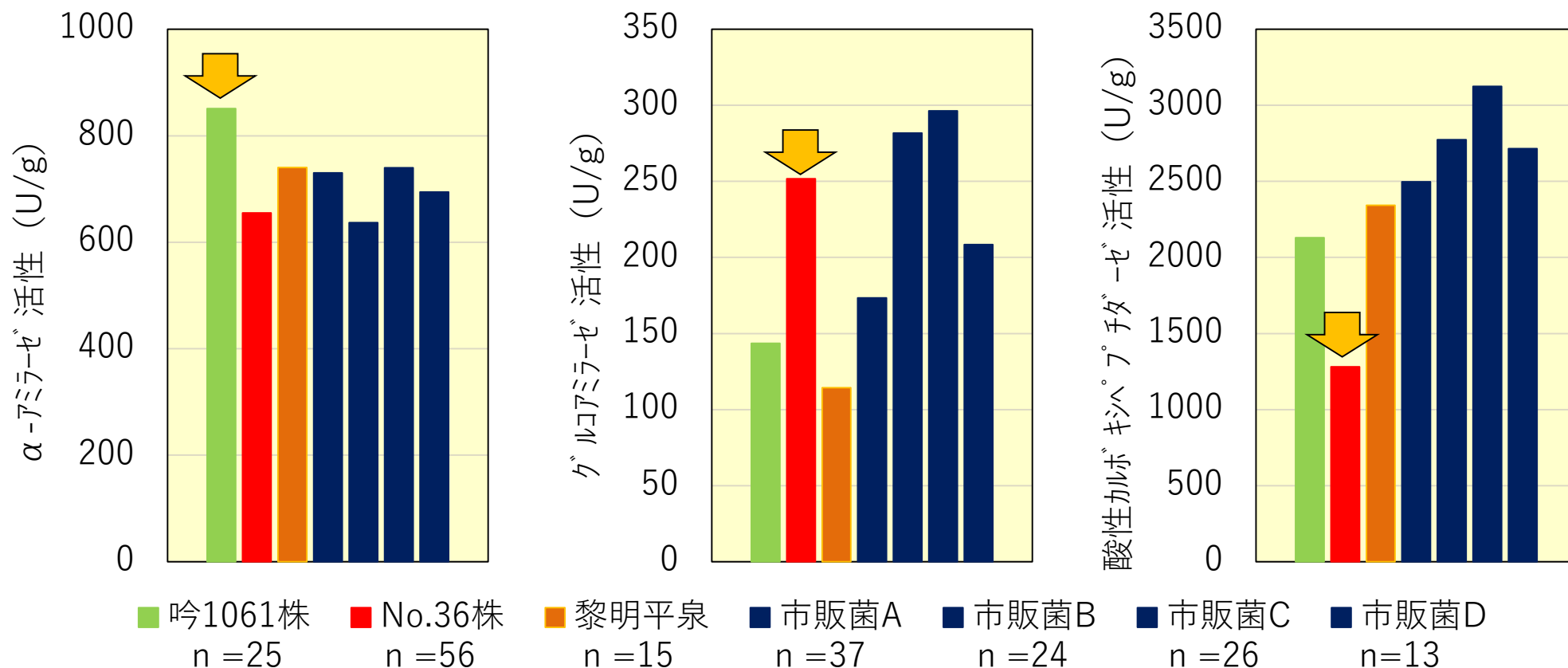
	平均種量 (g/100kg)		最高品温 (°C)	最高品温時間 (h)	製麴時間 (h)	40°C到達時間 (h)
吟1061株平均	50.8	(60g以下)	43.9	39.4	46.4 (46~48)	29.3
No.36株平均	26.8	(30g以下)	43.3	41.3	45.9 (44~46)	34.2

※括弧内は標準製麴基準値

4. 試験製麹結果（メーカーでの試験）

試験製麹の酵素生産量分析結果

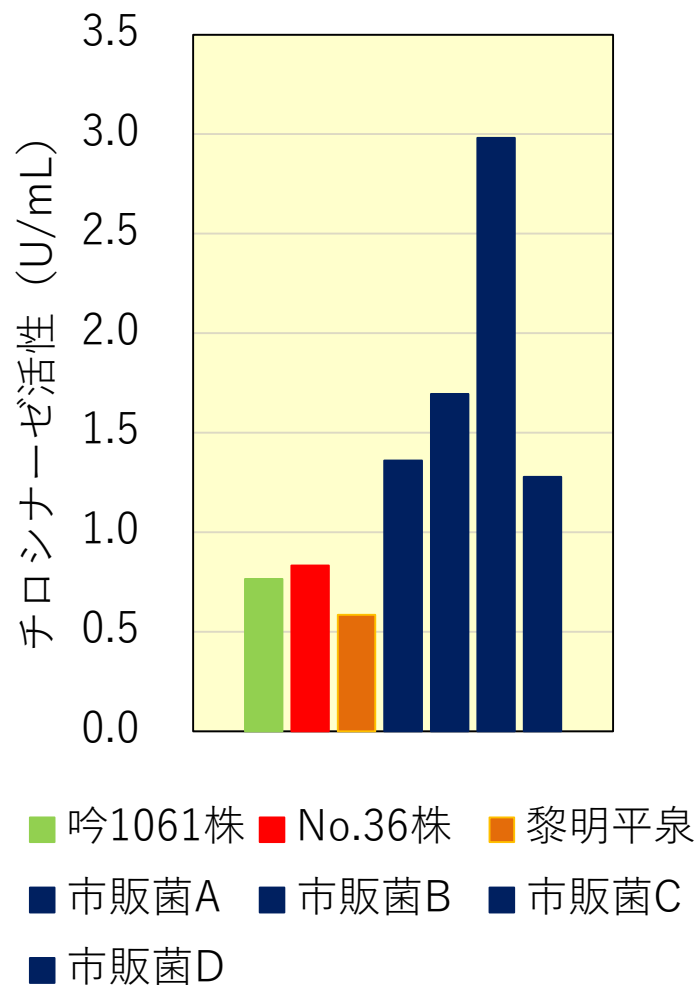
県内18製造場で製造された米麹の酵素活性値（平均値）



他の市販菌株と比べて 吟1061株は α-アミラーゼが高い
No.36株は グルコアミラーゼが高く、ACPが低い
α-アミラーゼが高い=原料利用率が高い、グルコアミラーゼが高い=甘く華やかな酒になる
⇒吟1061株は普通酒～純米酒、No.36株は吟醸酒～大吟醸酒用としての利用が期待できる

4. 試験製麹結果（メーカーでの試験）

試験麹菌使用酒粕の貯蔵変化（5℃/5か月）



育種した2株ともに市販菌と比較してチロシナーゼ活性が低く、酒粕の着色変化リスクが少ない

4. 試験製麹結果（メーカーでの試験）

試験菌使用製成酒評価結果

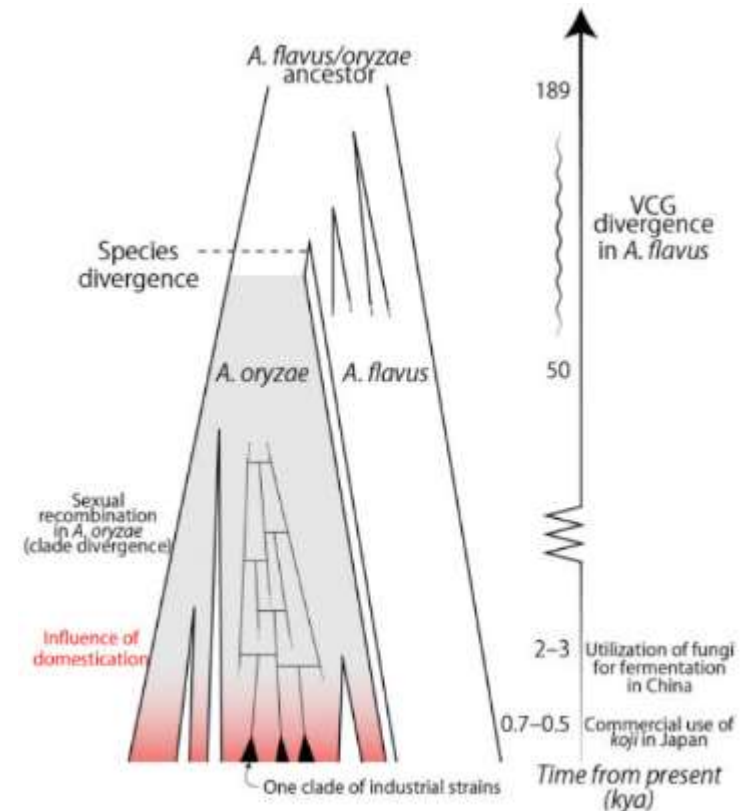
	県新酒鑑評会		全国新酒鑑評会	
出品数	73		19	
内新規麹菌使用	31.5%	(23)	47.4%	(9)
金賞数	13.7%	(10)	21.1%	(4)
内新規麹菌使用	13.0%	(3)	22.2%	(2)
入賞数	21.9%	(16)	52.6%	(10)
内新規麹菌使用	30.4%	(7)	44.4%	(4)

※新規麹菌の%の母数は新規麹菌使用数

- 県鑑評会での指摘として他の麹菌使用酒と比較して『華やか』『すっきり』の指摘が多かった
- 全国新酒鑑評会の結果も入賞数に大きな差のない結果となっている
- この他、南部杜氏自醸清酒鑑評会でも3社が上位入賞
⇒使用に慣れていないものの、同等の成績と言える

5. まとめ

- 県内酒造好適米の圃場から採取された稲麴から『麴菌』の分離を試み、2株の選抜に成功した
- 吟1061株は普通酒～純米酒、No.36株は吟醸酒～大吟醸酒用としての利用が期待できる
- 現在、商標登録申請
吟1061株 = 『麴菌紅椿』
No.36株 = 『麴菌白椿』
と市販化へ向けて準備中



(Watarai *et al.*: (2019)
DNA Research, 26(6), 465-472

本研究を行っている最中に麴菌の大規模な比較ゲノム解析が行われ、*Aspergillus flavus*を家畜化して麴菌になった、との説は否定されました。