

博士學位論文

中国多収米の清酒醸造への利用性と
新規料理酒の開発に関する研究

2021年5月21日

松本 保博

中国多収米の清酒醸造への利用性と新規料理酒の 開発に関する研究

目次

	頁
緒言	4 ~ 6
第1章 中国多収米の栽培試験と玄米収穫量	7~13
第1節 緒言	
第2節 材料と方法	
第3節 結果と考察	
第2章 中国多収米の酒米適性について	14~21
第1節 緒言	
第2節 材料と方法	
第3節 結果と考察	
第3章 中国多収米の胚乳タンパク質分析と小規模醸造 における清酒の特性	22~30
第1項 中国多収米の胚乳タンパク質分析	22~24
第1節 緒言	

第 2 節	材料と方法	
第 3 節	結果と考察	
第 2 項	中国多収米の小規模醸造における清酒の特性	24~29
第 1 節	緒言	
第 2 節	材料と方法	
第 3 節	結果と考察	
第 3 項	第 3 章の研究結果の総括	29~30
第 4 章	純米料理酒の開発・実用化	31~44
第 1 節	緒言	
第 2 節	材料と方法	
第 3 節	結果と考察	
第 5 章	液化仕込み糶のアミノ酸組成に及ぼす食用きのこ 子実体由来のプロテアーゼの影響	45~63
第 1 項	きのこ由来プロテアーゼを用いた米タンパク質 分解と生成する遊離アミノ酸組成の特徴	45~54
第 1 節	緒言	
第 2 節	材料と方法	
第 3 節	結果と考察	

第2項	液化仕込み醪のアミノ酸組成に及ぼす食用きのこ 子実体由来のプロテアーゼの影響	54~62
第1節	緒言	
第2節	材料と方法	
第3節	結果と考察	
第3項	第5章の研究結果の総括	62~63
	総合考察	64~67
	和文要旨	68~70
	英文要旨	71~74
	謝辞	75~76
	業績目録	77~78
	参考文献	78~86

緒言

清酒醸造用に約 20 万トンの米が使用される。その内、酒造適性の高い酒造好適米（酒米）は生産量や価格の面から利用が制約されており、原料米の大半（使用量の 70 数%）は一般食用品種で占められている。穀類を原料とする多様なアルコール飲料の中でも清酒の原料コストは際立って高い。良質な酒造原料米を安定的に、かつ、安価に確保するために酒造適性をもった多収性品種の開発・利用についての研究が必要である。

多収性品種の酒造適性に関する研究は昭和 56 年から始まった農林水産省の研究プロジェクト「超多収作物の開発と栽培技術の確立」、平成元年からの「スーパーライス計画」¹⁾に関連して多くの報告がある^{2,3,4,5,6,7,8)}。1983~1985 年の 3 カ年にわたって国税庁の主導で行われた試験では、「水源 258 号」、「北陸 123 号」、「しなのさきがけ」、「奥羽 315 号」、「アケノホシ」、「北陸 125 号」の 6 品種・系統について酒造適性が調査された。いずれの品種・系統も育成段階の生産力検定試験あるいは栽培試験で $600\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ~ $800\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ の収量が示されている。原料米の特性調査によると、「しなのさきがけ」を除いて玄米千粒重が小さく、「北陸 125 号」（後のアキチカラ）を除いて白米の蛋白質含量が高い傾向を示すこと、製成酒の諸特性では、日印交雑品種の「水源 258 号」、「しなのさきがけ」、「アケノホシ」において香りや味に問題が残ること、「奥羽 315 号」は対照品種の「日本晴」とは大差なく、「北陸 125 号」の場合、総合評価は「日本晴」を上回ることを報告している。従来、多収性品種の中に酒造適性を見出すことは極めて困難とされていたが、一連の研究によって多収性品種の中にも「北陸 125 号」のようにある程度の酒造適性をもった品種が存在することを明らかにした意義は大きい。

1990 年代に入ると育成の途中段階から酒造適性の検定が行われるようになり、育種が効率的に進められるようになった⁹⁾。酒造適性を判断するためのより簡易な検定指標についても研究が行われた^{10,11,12)}。それらの研究は「雪化粧」、「ふくひびき」、「吟おうみ」、「土佐錦」、「めぐりあい」など新品種育成（掛米専用品種）に大きく寄与している¹³⁾。しかし、これらの品種は農業試験場の試験栽培において $800\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ を越える収量が報告されているが、生産者向けの栽培指針では目標収量は $600\sim 700\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ 程度に抑えられており、一般食用米に比べて低価格を達成できるまでには至っていない。

多収性品種の酒造適性に関する研究はこれまでもっぱら既往の品種や育成系統の酒造適性を検定することを主要なテーマとして行われてきた。しかし、どのような収量生産過程のもとで多収とともに酒造適性が獲得されるかについてまだほとんど研究がなされていないのが現状である。イネが多収穫をあげる能力（多収性）は窒素によく反応し、施肥量の増加に応じて増収する特性、すなわち、耐肥性にその基盤をおいている¹⁴⁾。世界各地の多収性品種の多くは強い耐肥性をもっているが、多収に必要な窒素多施は玄米タンパク質含量も同時に増大させる傾向がある^{15,16)}。玄米タンパク質含量と千粒重とは負の相関が、また、

千粒重と心白発現率は正の相関がそれぞれ認められている¹⁷⁾。玄米タンパク質含量, 千粒重, 心白発現率はいずれも酒造適性を示す重要な項目であり, 多収性品種に酒造適性を求めることの困難さの一端を示している。

本研究は, 中国雲南省の多収米について, 現地で栽培試験を実施し, その収穫量を評価した。評価には, 日本の国産酒造好適米として知られる「山田錦」や「祝」, 主に掛け米として利用される国産一般食用米の「日本晴」を対照米にして栽培・評価した。また, 収穫したこれらの米の玄米粗タンパク質含有量を求め, 酒米としての利用性について考察した(第1章)。

次いで, 多収米の酒米特性について検討し, その物理学的・化学的な多数の分析項目について測定後, 適性を評価した(第2章)。

さらに, 収穫した多収米の胚乳タンパク質成分について, 酒米適性の観点から, これまであまり明確にされていなかった, プロテイン顆粒(プロテインボデー, PB)の性質を SDS-PAGE 分析(SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動)によって, 分子量的に分離し, PBI および PBII 成分に分類し, それらの成分比率から酒米としての好適性を考察した。さらに, 小規模ではあるが京都市伏見区の酒造会社の施設(黄桜酒造株式会社)を利用して醸造試験を行い, 試醸した清酒の化学成分の分析, 酒米適性などを明らかにし, それら多収米の特徴を明確にした(第3章)。

得られた酒米適性から, これら中国産多収米の酒米としての利用の可能性について考察した。その結果, 多収性が著しかった「Chi-Jing 9号」(楚梗9号)では, 我が国の一般食用米である「日本晴」より優れた酒米適性値を得ることが出来た。「日本晴」は現在, 掛け米として使用されている。第2章および第3章での検討で, 中国多収米の楚梗9号は, タンパク質含有量が比較的 low、酒米適性を期待させたが, PB II/PB I の比率が極めて高く, 酒米として掛け米で使用すると, 清酒醸造中の醪内でタンパク質分解酵素によって容易に分解され, 遊離アミノ酸含有量の高い清酒に仕上がることが懸念される結果を得た。

このような清酒は, 一般的に, 雑味の多い余りよくない清酒として評価されることになってしまう。従って, 本研究では, 逆にこの米の特徴に着目し, 遊離アミノ酸を豊富に含むこれまでほとんどなかった純米醸造料理酒の開発に転換した。勿論, 多様化を好む現在の風潮から, 特徴あるおいしく甘い清酒としての利用も含んだ開発である。仕込みにおいては, 特徴ある米の使用に加え, 精米比率や酵母の添加量, 醸造期間, 醸造時の温度管理などを考慮して実施した。これらの検討については第4章に記述させていただいた。

その結果, 遊離アミノ酸含有量が通常の純米酒で, 比較のために使用した商品名:「桃の滴」(松本酒造株式会社)の6~10倍量を含む料理酒が完成した。この料理酒は, 商品として実用化するに至り, 商品名「厨酒」として市場で販売されている。市販後, 約10年が経過したが, 今なお消費者の強い支持があり, 毎年2万リットル規模で生産を続けている。これらの過程は, 第4章で純米料理酒の開発・実用化として詳細に記述した。

また, 第5章では, 清酒の旨味の増強や味の変化, 健康機能性の付与などを目的に, プロテアーゼ活性が比較的高く, 健康食品としてのイメージの強い食用きのこ類の子実体に着目し, プロテアーゼ活性の比較的高い食用のきのこ類の

粉末を清酒醪に添加した。そして、清酒醪の醸成中に、プロテアーゼによって分解される遊離アミノ酸の生成量およびアミノ酸組成への影響を検討した結果について第 5 章に記述したので報告する。家業の酒造りに励みながら、本報告の完成には、ほぼ 25 年を費やしたことになる。

第1章 中国多収米の栽培試験と玄米収穫量

第1節 緒言

雲南省における水稻の多収性については、例えば、1983年雲南省大理市において10a当たり1535kg（粳収量）¹⁸⁾、1993年同じく大理市において1537kg¹⁹⁾などがある。玄米に換算すると約1200kgである。かつての「米作日本一」の収量が1056kg²⁰⁾であるので驚異的な収量である。しかし、いずれの場合も収量構成要素、乾物生産特性、窒素吸収などの調査を欠いており、多収の成立過程についてはほとんど明らかにされていない。また、玄米や白米のタンパク質含量についても見るべき情報はない。

本章では雲南省において多収を実証するとともにそれらの玄米の粗タンパク質含量を測定し、どのような収量生産過程のもとで多収とともにタンパク質含量の低い玄米が生産されるかについて検討する。

雲南省で報告されている水稻の多収性を実証するとともに多収米の玄米粗タンパク質含量を明らかにする。

第2節 材料と方法

多収性で知られる榆雑29号（F₁品種）（Yu-Za29）、楚粳9号（Chi-Jing9）、合系24号（He-Xi24）の3品種を供試した。榆雑29号は雲南農業大学が開発したF₁品種で、従来のインディカのF₁品種に比べて食味に優れており、栽培面積の拡大が期待されている。楚粳9号は賓川県で奨励されている固定品種である。合系24号は日中共同研究によって開発された多収性品種のひとつである。3品種は同じ年度に同一の調査田に栽培するのではなく、品種ごとに栽培適地と思われる調査田を選定した。

榆雑29号（F₁品種）、楚粳9号の2品種については、雲南農業大学の協力を得て1994年に雲南省白族自治州賓川県（北緯25°50′、東経100°30′、海拔1,640m）の農家水田を1筆（70m×16.9m）借り上げ、調査田とした。

合系24号については、1995年に雲南省農業科学院の協力のもとに玉溪市（北緯25°20′、東経102°20′）農業局の試験圃場2カ所（鄭井圃場：海拔1,638m、高蒼郷圃場：海拔1,635m）で栽培した。

比較のために、上記の3品種のうち楚粳9号、合系24号および日本の3品種（日本晴、山田錦、祝）を1995年、1996年に京都府立大学農学部附属農場（京都市）で栽培した。榆雑29号は種子が入手できなかったため除いた。日本晴は清酒醸造においてしばしば掛米に利用される多収性の一般米であり、山田錦、祝は

いずれも代表的な酒造好適米である。

各調査田の栽培法の概要を表 1-1 に示した。いずれも密植・窒素多肥を多収技術の要とし、多農薬、健苗移植、有機質肥料の多投入などで組み立てられた。楚粳 9 号、榆雜 29 号を栽培した賓川県では多収技術としての密植の効果について調査するために、調査田を分割し、栽植密度に関して密植区（約 80 株 m^{-2} ）と疎植区（約 40 株 m^{-2} ）を設けた。中国において多収記録が公認されるためには 1 ムー（667 m^2 ）以上の刈り取り面積を必要とする。その条件を満たすために、最も多収が期待される榆雜 29 号の密植区に対して全面積の約 80%、970 m^2 （57.4m×16.9m）を当てた。その内、771 m^2 （45.6m×16.9m）を大面積刈り取り専用の区画とし、199 m^2 （11.8m×16.9m）を小面積、乾物重、収量構成要素などの調査区画とした。残り、約 20%の 213 m^2 （12.6m×16.9m）を他の 3 区に等分（1 区 5.6m×12.6m）した。

収量調査は以下のように行った。成熟期に調査田の数カ所（1カ所 1~2 m^2 ）を刈り取り天日乾燥した。現地で脱穀後、精糲重を求めた。玄米重は粒厚 1.8mm 以上、水分含量 13%の玄米重で示した。賓川県では雲南農業大学の協力者と日本側共同研究者で、玉溪市鄭井では雲南省農業科学院の協力者と日本側共同研究者で調査に当たった。玉溪市高蒼郷の調査は雲南省農業科学院の担当者によって行われた。それら調査田の玄米は各品種とも約 1kg を日本に持ち帰り、粗タンパク質含量その他の調査に当てた。粗タンパク質含量はセミマイクロケルダール法により全窒素を定量し、タンパク質への換算係数 5.95 を乗じて算出した。

収量および玄米粗蛋白含量とも栽植密度や場所、年度など異なる栽培条件のもとで得られた 2 種類のデータを反復と見なして分散分析し、品種間差異を検討した。



図 1-1 共同研究先の雲南農業大学



図 1-2 中国雲南省での中国多収米「楚硬 9 号」の稲穂の付き具合



図 1-3 中国雲南省での米の収穫作業（雲南農業大学附属農場、海拔 1,800m 付近）

表 1-1 調査水田の栽培概要

調査田・年度	品種・栽植密度	肥培管理
雲南省 賓川県 (1994)	榆雜 29 号 密植: 78.5 株 m ⁻² , 2 個体/株 疎植: 42.7 株 m ⁻² , 3 個体/株 楚粳 9 号 密植: 78.5 株 m ⁻² , 2 個体/株 疎植: 42.7 株 m ⁻² , 3 個体/株	品種・栽植密度共通 播種期: 3 月 19 日. 苗代様式: ビニール被覆水苗代. 移植期: 4 月 29 日 本田施肥: <u>基肥:</u> 豚糞主体の厩肥 2,300g ^{m⁻²} (4 月 27 日)および N, P, K を化学肥料(尿素, 燐酸カルシウム, 複合肥料)でそれぞれ 5.8g ^{m⁻²} , 10.4g ^{m⁻²} , 2.3g ^{m⁻²} 施用した(4 月 28 日). <u>分けつ肥:</u> 炭酸アンモニウムで N を 7.7g ^{m⁻²} 施用(5 月 5 日). <u>穂肥:</u> 硫酸カリウムで K を 7.5g ^{m⁻²} 施用(6 月 10 日). 化学肥料施用量合計: N, P, K それぞれ 13.5, 10.4, 9.8g ^{m⁻²} . 本田防除: 除草剤 1 回, 手取り除草 2 回, 殺虫・殺菌剤 7 回. 病虫害ほとんどなし. 作付体型: 小麦-イネ 1 年 2 毛作 水管理: 減水分を逐次補給し水深を 3~6cm に維持する 土性: 褐色森林土, 埴壤土
雲南省 玉溪市鄭井 (1995)	合系 24 号 51 株 m ⁻² , 2 個体/株	播種期: 3 月 22 日. 苗代様式: ビニール被覆水苗代. 移植期: 4 月 29 日 本田施肥: <u>基肥:</u> N, K を尿素および炭酸カリウムでそれぞれ 3.8g ^{m⁻²} , 0.9g ^{m⁻²} 施用した(4 月 29 日). <u>分けつ肥:</u> 炭酸アンモニウムで N を 11.8g ^{m⁻²} 施用(5 月 4 日). <u>穂肥:</u> 複合肥料で N, P, K をそれぞれ 4.4g ^{m⁻²} , 3.0g ^{m⁻²} , 0.6g ^{m⁻²} 施用(6 月 13 日)した. 化学肥料施用量合計: N, P, K それぞれ 20.0, 3.0, 1.5g ^{m⁻²} . 本田防除: 除草剤 1 回, 手取り除草 2 回, 殺虫・殺菌剤 2 回. 穂イモチ散見. 作付体型: ナタネ-イネ 1 年 2 毛作 水管理: 減水分を逐次補給し水深を 3~6cm に維持する 土性: 紅色壤土
雲南省 玉溪市高倉郷 (1995)	合系 24 号 51 株 m ⁻² , 2 個体/株	播種期: 3 月 22 日. 苗代様式: ビニール被覆水苗代. 移植期: 4 月 27 日 本田施肥: <u>基肥:</u> N, K を尿素および炭酸カリウムでそれぞれ 3.8g ^{m⁻²} , 0.9g ^{m⁻²} 施用した(4 月 29 日). <u>分けつ肥:</u> 炭酸アンモニウムで N を 11.8g ^{m⁻²} 施用(5 月 2 日). <u>穂肥:</u> 複合肥料で N, P, K をそれぞれ 3.3g ^{m⁻²} , 2.3g ^{m⁻²} , 0.5g ^{m⁻²} 施用(6 月 12 日)した. 化学肥料施用量合計: N, P, K それぞれ 18.9, 2.3, 1.4g ^{m⁻²} . 本田防除: 除草剤 1 回, 手取り除草 2 回, 殺虫・殺菌剤 2 回 作付体型: ナタネ-イネ 1 年 2 毛作 水管理: 減水分を逐次補給し水深を 3~6cm に維持する 土性: 紅色壤土
京都市 京都府立大学 農学部附属農場 (1995, 1996)	楚粳 9 号, 合系 24 号 35 株 m ⁻² , 1 個体/株 日本晴, 山田錦, 祝 16.7 株 m ⁻² , 3 個体/株	播種期: 4 月下旬 苗代様式: みのる式畑苗代 移植期: 5 月下旬 本田施肥: <u>基肥:</u> 有機肥料としてヘアリーベッチ(草丈 20~30cm)を 4 月下旬に, さらに 5 月中旬に稲わら完熟堆肥 2,000g ^{m⁻²} を鋤込んだ. 化学肥料は耕起前に N, P, K(緩校性肥料)をそれぞれ 2.7g ^{m⁻²} 施用した. 楚粳 9 号, 合系 24 号については N(硫安)を 7.3g ^{m⁻²} 追加施用した. <u>追肥:</u> 各品種とも出穂前 40 日から 10 日の間に N および K(NK 化成)を各 1g ^{m⁻²} ずつ計 3 回施用した. 化学肥料施用量合計は中国品種: N, P, K それぞれ 13.0, 2.7, 5.7g ^{m⁻²} . 日本品種: N, P, K それぞれ 5.7, 2.7, 5.7g ^{m⁻²} . 本田防除: 除草剤 1 回, 手取り除草 1 回, 殺虫・殺菌剤 2 回. 病虫害ほとんどなし. 作付体型: ヘアリーベッチ-イネ 1 年 2 毛作 水管理: 減水分を逐次補給し水深を 3~6cm に維持する 土性: 沖積土, 埴壤土

第3節 結果と考察

1. 玄米収量

雲南省における3品種の玄米収量（以下、収量と略記）を表1-2に示した。いずれも 970gm^{-2} 以上の多収であった。品種間差異が認められ、賓川県の榆雑29号が最高で、次いで、楚粳9号、合系24号の順であった。とくに、榆雑29号、楚粳9号は日本の多収記録を越える著しい多収であった。榆雑29号の密植における 1498gm^{-2} （粳収量： 1664gm^{-2} ）は、中国の公認記録として認定された^{21, 22)}。従来の公認記録を粳収量で 127gm^{-2} 越えたことになる。水稻の多収穫に関する生理・生態学的な研究^{23, 24, 25)}は多いが、実際に 1000gm^{-2} を越える収量を扱った賓川県における多収事例は 1200gm^{-2} 以上の収量の成立過程を実測値に基づいて解析できる点で貴重な事例と言えるだろう。

楚粳9号では栽植密度間に有意差は認められなかったが、榆雑29号では疎植区が密植区より有意に多収であった。中国において密植はF₁品種とともに多収技術の両輪であるが、多収に結びつかない場合もあり、課題を今後に残していると思われる。調査田の周囲の農家水田では、病害では、イモチ病、モンガレ病、シラハガレ病、イネコウジ病など、虫害では、ウンカ類、イナゴなどによる被害が目立った。調査田の農薬使用回数は日本並みの移植後5~6回にのぼっており、多収穫が農薬に強く依存していることを伺わせるものである。また、多くの農家水田で倒伏が目立つ。倒伏や病害虫の多発には多収技術としての密植が関係していると推察される²⁶⁾。

2. 玄米粗蛋白質含量

雲南省における3品種の玄米の粗蛋白質含量（以下、玄米蛋白含量と略記）を表1-3に示した。玄米蛋白含量は楚粳9号が最低で7.2%、次いで、榆雑29号の7.51%、合系24号の8.59%の順であった。楚粳9号は、統計的に有意ではないが、日本晴、山田錦、祝よりも低く、榆雑29号も山田錦、祝よりは高いが日本晴と比較して低い傾向を示した。合系24号は日本晴よりも高く（有意ではない）、山田錦、祝と比較して有意に高かった。京都楚粳9号は日本晴よりも明らかに低く、有意ではないが山田錦、祝よりも低下した。京都合系24号は日本品種との間に有意差が認められなかった。

表 1-2 中国多収米の玄米収量の比較

品種・生産地	玄米収穫量 (kg/300 坪、1 反)
中国多収米 (雲南省)	
Yu-Za 29	1,278 - 1,498
Chi-Jing 9	1,121 - 1,150
He-Xi 24	993 - 997
日本産酒米 (京都府)	
山田錦	425 - 501
祝	465 - 514
日本産食用米 (京都府)	
日本晴	608 - 625

栽培は 1994 年から 1996 年にかけて行った。栽培地は、雲南省雲南農業大学附属農場実験田および京都府立大学、京都大学高槻農場である。

平ら¹⁶⁾は全国から集めた多収穫栽培米 (510~959kgm⁻²) について玄米タンパク質含量とそれぞれの窒素施肥法を調査し、玄米蛋白含量と窒素施肥量との間に正の相関が成立することを報告している。

しかし、楚粳 9 号では大量の窒素 (雲南省では、化学肥料として 13.5gNm⁻², 有機肥料として豚ふん主体の厩肥が 2300g^m-², 京都では化学肥料として 13.0gNm⁻²) が施用されていて玄米タンパク質含量は、日本晴はもとより酒米品種の山田錦や祝よりも低い傾向を示している。

このことは、酒米として極めて好適な多収性品種によるタンパク質含量の低い原料米生産の可能性を示唆している。次節以降において両品種の収量生産過程を検討し、玄米蛋白含量について考察する。

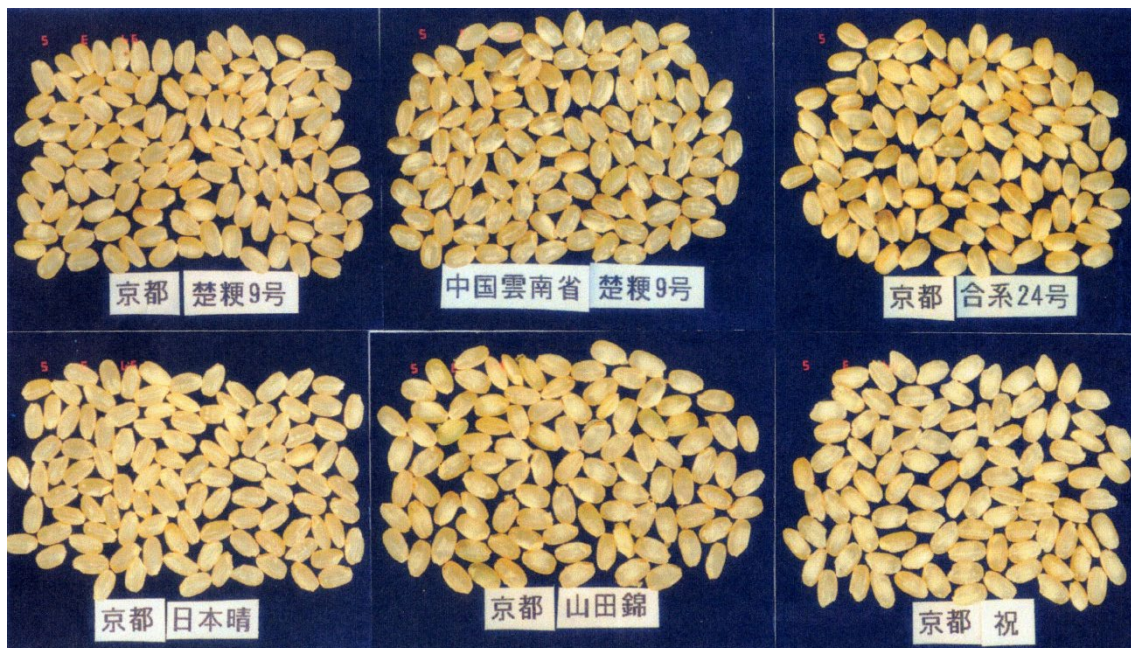


図 1-4 中国多収性品種および日本産酒米（「山田錦」、「祝」並びに日本産一般食用米「日本晴」の玄米写真（相対的ではあるが、玄米の大きさの比較）

（写真の下に京都とあるのは、京都府立大学および京都大学附属農場で収穫した米で、中国雲南省とあるのは雲南農業大学附属実験田で収穫した米）

表 1-3 中国産多収性品種の玄米粗蛋白質含量

品種		I	II	平均
		---- % ----		
雲南省	榆雜 29 号	7.39	7.62	7.51
	楚粳 9 号	7.25	7.14	7.2
	合系 24 号	8.11	9.06	8.59
京都	楚粳 9 号	6.75	6.16	6.46
	合系 24 号	7.8	7.06	7.43
	比較 日本晴	7.77	8.2	7.99
	比較 山田錦	7.2	7.6	7.4
	比較 祝	7	7.8	7.4
分散分析				*
LSD(0.05)				0.97

雲南省榆雜 29 号・楚粳 9 号 I: 賓川縣疎植区(1994), II: 賓川縣密植区(1994),
 雲南省合系 24 号 I: 玉溪市鄭井(1995), I::玉溪市高倉(1995)
 京都の各品種 I: 京都府立大学農場(1995), II: 京都府立大学農場(1996)

第2章 中国多収米の酒米特性

第1節 緒言

多収性品種の多くは強い耐肥性を有しており、多収とともに玄米タンパク質含量も増大する傾向にある。しかし、楡雑29号、楚粳9号による多収実証試験では玄米収量が 1000gm^{-2} を越えて、しかも、玄米タンパク質含量が比較的低いことが明らかとなった。玄米タンパク質含量は原料米の酒造適性を判定する上で重要な項目であるが、多収米の中に酒造適性が見出せるかどうか、さらに詳細な検討を要する。本章では、両品種の原料米特性および製成酒特性を検討する。

清酒醸造に使用される原料米は毎年全国統一手法により14項目が分析、集計されている。これらは原料米特性を説明する33の分析項目のなかから因子分析によって集約されたもので²⁷⁾、当該年度の酒造工程管理などに利用されている。一方、筆者の所属する伏見醸友会では、これとは別に、伏見において使用されている原料米を独自の立場から検討し、7項目（玄米千粒重、白米の20分吸水率、120分吸水率、蒸米吸水率、直接還元糖、フォルモール窒素および粗タンパク含量）の分析値から酒米適正值²⁸⁾を算出する方法を提示し、各酒造メーカーに提供している。本節では酒米適正值算出のための7項目を含む17項目の原料米特性および酒米適正值について検討し、楡雑29号、楚粳9号、合系24号の原料米特性を考察する。

第2節 材料と方法

前章で示した賓川県(1994)の楡雑29号と楚粳9号、玉溪市鄭井県(1995)と玉溪市高倉郷(1995)の合系24号、京都(1995, 1996)の楚粳9号、合系24号、日本晴、山田錦、祝について調査を行った^{35, 37)}。これらの試料のうち、京都(1996)の楚粳9号、山田錦、祝については、別に、品種ごとに心白粒と非心白粒（腹白を除く）を約100gずつ分別収集し、それぞれを7項目の原料米特性の分析に供した³¹⁾。試料の調製、玄米形質の調査、酒米適性値算出のための7項目、その他の項目の分析はいずれも国税庁所定の方法³²⁾に準じた。すなわち、粒厚1.8mm以上に調整した玄米約100gから100粒をランダムに取り、粒の中心部に白色不透明の部分をもつ心白粒、腹部に白色不透明の部分をもつ腹白粒をそれぞれ目

視により数え、心白粒率、腹白粒率を求めた。次に、全ての検体を水分含有率 13.5%に調湿した。検体水分が 13.5%より多い場合はデシケーター中に入れ、シリカゲルで乾燥させ、少ない場合はデシケーター中に 60℃の湯を入れ吸湿させた。調湿後の検体 500 粒をランダムに取り、その重量を 2 倍して千粒重とした。調湿した玄米検体 60 g を小型精米機チヨダテストミル HS4 型 (60 番ロール、回転数 1300rpm) にかき、5 分後、8 分後の精米歩合および精米歩合 70% (42g) に達すまでの所要時間を測定した。精米歩合 70%の白米を以下の分析に供した。

20 分吸水率 (吸水速度) および 120 分吸水率 (最大吸水量) は、調湿済みの検体 10.0g (10.0±0.1) を秤量し、金網の中に入れて 15℃の水中に浸漬し、20 分後と 120 分後の重量 (1500rpm 以上で遠心分離) から下記計算式により求めた。

$$\text{吸水率 (\%)} = [(\text{遠心分離後の検体の重量} - \text{採取検体の重量}) / \text{採取検体の重量}] \times 100$$

消化性の諸項目は次の方法によった。蒸米吸水率の測定は、白米検体 10g をガーゼに包み軽く打ち付けて除糠しておく。次に茶漉しに入れ 15℃の水で 15～20 時間浸漬した後、約 1 時間室温で水切りを行い、蒸気の上まっている蒸し器に入れ、50 分蒸した。蒸し米を取り出し、室温で 30 分間放冷した後秤量し、浸漬後の重量との差から蒸米吸水率を求めた。

放冷後の蒸し米 (白米換算 10g 相当) を 50ml の酵素緩衝液 (酵素剤は天野製 菓ペプチダーゼ[®] R を用いた) に投入し、防腐剤として、0.5ml トルエンを加え、30℃、24 時間で糖化後濾過し、この濾液について還元糖 (DRS)、Brix、ボーメ、紫外部吸収量 (UV260、UV280 いずれも 10mm セルを使用) およびフォルモール窒素 (アミノ酸度) の生成量を測定した。

粗蛋白はセミマイクロケルダール法によって全窒素を定量し、蛋白質への換算係数 5.95 を乗じて算出した。

カリウムは粉碎白米を塩酸抽出し、原子吸光法により分析した。

酒米適正值の計算式は昭和 53～62 年までの 10 年間に、伏見で使用している代表的な 20 品種、199 点のサンプルについて諸形質を主成分分析したものであり、次式によって示される²⁸⁾。

$$\text{酒米適正值} = 0.133 * (A) + 0.146 * (B) - 0.033 * (C) + 0.02 * (D) + 0.882 * (E) - 1.492 * (F) - 0.489 * (G) - 8.349$$

ここで、A: 玄米千粒重 (g)、B: 白米の 20 分吸水率 (%), C: 120 分吸水率 (%), D: 蒸米吸水率 (%), E: 直接還元糖 (%), F: フォルモール窒素 (%), G: 粗蛋白 (%)。

酒米適正值算出のための 7 項目および心白粒率、腹白粒率は年度、栽植密度など栽培条件の異なる 2 種類のサンプルを調査し、それらの平均値を示した。また、2 種類のサンプルを反復と見なし分散分析した。

第3節 結果と考察

1. 酒米適性値

原料米の諸特性ならびに酒米適性値を表 2-1 に示した。以下、中国の 3 品種（雲南省の榆雜 29 号, 楚粳 9 号, 合系 24 号および京都の楚粳 9 号, 合系 24 号）の特性を日本の 3 品種（日本晴, 山田錦, 祝）を対照に項目ごとに比較検討する。

（1）玄米形質

心白粒率, 玄米千粒重とはいずれも遺伝的に支配される率が高い形質である²。
2) 本調査においても両形質に有意な品種間差が認められた。中国の 3 品種の玄米千粒重はいずれも山田錦, 祝に比べて小さく, 日本晴とは有意差は認められなかった。

中国の 3 品種に 10%程度の心白粒が認められた。山田錦, 祝は約 40%であった。日本晴には心白が認められなかった。

腹白粒率には品種間に有意差は認められなかった。中国の 3 品種は雲南省よりも京都で増加の傾向を示した。

（2）精米速度

5 分後精米歩合は品種間にほとんど差は認められなかったが, 8 分後では榆雜 29 号, 合系 24 号においてやや低下する傾向が見られた。精米歩合 70%に要する時間は, 楚粳 9 号では祝と大差なかったが, 榆雜 29 号, 合系 24 号は祝の 60~70%程度で, 組織がもろく碎米率が高まる傾向が観察された。

（3）吸水性

20 分吸水率, 120 分吸水率のいずれにも有意な品種間差が認められた。20 分吸水率については, 中国の 3 品種は雲南省ではいずれも日本の 3 品種よりも明らかに低かった。京都では山田錦に比べると低いが, 祝および日本晴とは有意差は認められなかった。

120 分吸水率は, 榆雜 29 号が最低で日本の 3 品種よりも明らかに低いが, 楚粳 9 号, 合系 24 号と日本晴, 祝との間には有意差は認められなかった。

表 2-1 中国産多収性品種の原料米特性および酒米適性値

原料米特性	雲南省			京都		京都			分散分析		
	楡雑 29 号	楚粳 9 号	合系 24 号	楚粳 9 号	合系 24 号	日本晴	山田錦	京都祝	有意性	LSD(0.05)	
玄米形質	玄米千粒重(g) A	24.1	24.4	22.3	22.8	23	22.2	28.2	25.3	**	2.22
	心白粒率(%)	7.4	9.1	0.1	8.6	9.6	0	39.4	41.4	**	11.75
	腹白粒率(%)	13.7	6.5	4.5	29.5	37.8	0	16	23.4	ns	-
吸水性	20分吸水率(%) B	24	24.4	24.4	27.3	27.5	26.7	29.4	28	**	1.47
	120分吸水率(%) C	26.2	27.5	29.9	28.5	28.8	28.9	30.5	28.9	*	2.05
消化性	蒸米吸水率(%) D	37.7	38.7	39.6	40.9	39.9	40.7	44.3	45.2	ns	-
	直糖(%) E	9.1	9.2	9.1	9.6	9.6	8.8	9	9.4	*	0.26
	フォルモールN(%) F	2	1.6	2.3	1.7	2	2.2	1.2	2.1	**	0.26
	Be	8	8.1	8.3	8.6	8.4	8.4		8.6		
	Brix	14.1	14.5	15	14.9	14.8	14.6		15		
	UV260	7.27	6.67	8.34	6.19	7.26	8.38		6.71		
	UV280	8.4	7.75	9.41	7.19	8.23	9.51		7.72		
	粗蛋白(%) G	5.56	5.07	5.99	4.48	5.51	5.57	4.45	4.68	*	0.98
	酒米適性値 †	0.152	1.045	-0.735	1.366	0.857	-0.308	3.052	1.414	**	0.802
	カリウム含量(%)	709	666	477	476	601	530	458	423	**	147
精米速度	5分後精米歩合	84.9	85.3	83.2	84	81.4	83.7		84.1		
	8分後精米歩合	77.7	79.7	77.7	78.9	74.9	79.5		80.1		
	70%精米所要時間(分)	12.3	18.5	14	16.2	11.2	23		19.5		

ゴチックは酒米適正値および酒米適正値算出のための原料米特性を示す。

† : 酒米適性値 = 0.113A + 0.146B - 0.033C + 0.02D + 0.882E - 1.492F - 0.489G - 8.349

日本、中国雲南省とも栽培地または栽培年度を異にする2種類の試料を収集しそれらの平均値を示した。

(4) 消化性

蒸米吸水率は、統計的には有意ではないが、中国の3品種は雲南省では日本晴よりも低かった。京都では2品種とも日本晴並で、山田錦、祝に比べると低い傾向であった。

直接還元糖は、雲南省では中国の3品種が日本晴よりも有意に高く、山田錦との間に有意差は認められなかった。京都では中国品種が日本晴、山田錦よりも有意に高かった。

フォルモール窒素は、雲南省では楡雑29号、合系24号は日本晴、祝と有意差はなく、楚粳9号は日本晴、祝よりも低かった。京都でも合系24号は両品種と有意差はなく、楚粳9号は両品種よりも低かった。山田錦と比べると、雲南省でも京都でも、中国品種がいずれも有意に高かった。

Brixは楡雑29号が日本晴、祝に比べて低く、楚粳9号、合系24号は雲南省でも京都でも、日本晴、祝とほぼ同等であった。

ボーメは、雲南省では中国の3品種が日本晴よりもやや低いが、京都では楚粳9号は祝と合系24号は日本晴と同等であった。紫外部吸収量は、中国の3品種は雲南省においても京都においても日本晴に比べて低かった。楚粳9号は祝

とほぼ同等であった。

(5) 粗蛋白含量

品種間に有意差が認められた。雲南省では楚粳 9 号が最低で 5.07%, 次いで、榆雜 29 号の 5.56%, 合系 24 号の 5.99% の順であった。京都でも楚粳 9 号は合系 24 号よりも低かった。品種間の序列は玄米の場合（前章）と一致した。楚粳 9 号は雲南省でも京都でも山田錦、祝と有意差は認められなかった。榆雜 29 号と合系 24 号は山田錦よりも高いが、日本晴とは有意差はなかった。

(6) カリウム含量

品種間に有意差が認められた。カリウムはその含量が高いほど発酵が良好であるとされている³³⁾。中国品種はいずれも日本の 3 品種と同等かそれ以上の値を示した。

(7) 酒米適性値

品種間に有意差が認められた。雲南省では楚粳 9 号が最も高く、次いで榆雜 29 号、合系 24 号であった。京都でも楚粳 9 号が合系 24 号よりも高かった。雲南省の楚粳 9 号は山田錦よりも低い、祝とは有意差はなく、日本晴と比べると明らかに高かった。榆雜 29 号は日本晴と有意差はなく、合系 24 号は日本晴以下であった。京都の楚粳 9 号、合系 24 号はいずれも日本晴よりも高く、祝並であった。

以上、酒米適性値算出のための原料米特性 7 項目のうち 6 項目と酒米適性値について品種間に有意差が認められた。それらのうち、玄米千粒重および吸水性（20 分吸水率、120 分吸水率、）については、中国の 3 品種は、山田錦、祝に比べて低く、雲南省の 20 分吸水率は日本晴との比較でも有意に低かった。一方、消化性の項目および粗蛋白含量では、楚粳 9 号の場合、山田錦、祝と同等かそれらに優る場合もあった。酒米適性値は 3 品種のうち楚粳 9 号が最も高かった。楚粳 9 号の酒米適性値は山田錦には及ばなかったが、日本晴よりは高く、祝に匹敵する値を示した。楚粳 9 号、合系 24 号とも原料米特性はほとんどの項目で雲南省よりも京都において適性値を上げる方向に変化し、両品種とも祝に匹敵する酒米適性値を示した。

斎藤¹²⁾は全国酒米研究会のデータベースを解析し、千粒重、20 分吸水率、蒸米吸水率、直接還元糖、粗蛋白の 5 項目の基準値による酒造適性の評価方法を提示している。その方法によって楚粳 9 号、榆雜 29 号および合系 24 号の 3 品種を評価すると、雲南省における楚粳 9 号は千粒重および粗蛋白の 2 項目について基準値を満たし、20 分吸水率、蒸米吸水率、直接還元糖は基準値を満たしていない。したがって、酒造適性スコアは 7 となる。合系 24 号は蒸米吸水率のみ、榆雜 29 号は粗タンパク質のみ基準値を満たしているが、他の 4 項目は満たしていない。したがって、両品種の酒造適性スコアはいずれも 9 となる。京都の楚粳 9 号および合系 24 号は千粒重以外の 4 項目で基準値を満たしている。したがって、両品種の酒造適性スコアはいずれも 6 となる。酒造適性スコアは、6 にはたかね錦など、7 には五百万石などの酒造好適米が含まれ、日本晴などの多くの

食用米は酒造適性スコア 9 である。基準値による評価は酒米適性値による比較品種との相対評価に比べて評価がやや甘くなっているところもあるが、楚粳 9 号の酒造適性が比較的高いことを示している点で一致している。

2. 心白粒と酒米適性値との関係

酒造適性の高い「酒造好適米」は「心白米」とも呼ばれており、心白は原料米特性の中でも重要項目のひとつである^{34,35)}。中国の3品種には雲南省の合系24号を除いて10%程度ではあるが、心白が認められる。本項では、心白粒の原料米諸特性を明らかにし、中国品種の原料米諸特性と酒米適性値に心白がどのように関わっているかについて検討する。

前項のデータに基づいてすべての品種、反復を込みにして原料米特性7項目および酒米適正値と心白粒率との相関係数(n=16)を計算し、表2-2に示した。玄米千粒重とは5%レベルの危険率で有意な相関が、20分吸水率および粗蛋白とは有意ではないが比較的高い相関関係が認められた。その他の項目とは相関関係は認められなかった。酒米適正値とは5%レベルの危険率で有意であった。すなわち、心白が多い品種ほど玄米千粒重が重く、吸水速度が速く、粗タンパク質含量が低く、酒米適性値も高くなる傾向を示した。

表 2-2 心白粒率と原料米特性との相関関係(n=16)

玄米千粒重	0.567*
20分吸水率	0.438
120分吸水率	0.082
蒸米吸水率	0.391
直糖	0.035
フォルモールN	-0.229
粗蛋白	-0.416
酒米適正値	0.603*

表 2-3 に同一品種から分別した心白粒と非心白粒について原料米特性 7 項目と酒米適性値を示した。項目ごとに心白粒と非心白粒を比較すると、玄米千粒重、20 分吸水率は、全ての品種において心白粒が非心白粒に比べて増加した。

表 2-3 心白粒と無心白粒の原料米特性

品種	粒別	原料米特性							酒米適正値 ±
		玄米千粒重 (g) A	20 分 吸水率(%) B	120 分 吸水率(%) C	蒸米 吸水率(%) D	Brix E	フォルモール N (%) (F)	粗蛋白 (%) (G)	
中国楚粳 9 号	心白粒	24.4	28.5	31.4	38.1	9.5	1.21	5.13	2.004
	無心白粒	23.8	26.3	30.6	39.5	8.3	1.07	4.75	1.66
	平均	24.1	27.4	31	38.8	8.9	1.14	4.94	1.852
京都楚粳 9 号	心白粒	23.9	38.6	30.8	38.5	9.5	1.45	5.25	2.1
	無心白粒	23.4	27.3	31.4	42	8.5	1.11	4.84	1.848
	平均	23.6	28	31.1	40.2	9	1.28	5.04	1.974
京都山田錦	心白粒	26.1	29.7	30.4	43.9	9.2	1.11	5	2.825
	無心白粒	24.2	29	31.5	44	9.3	1.06	4.79	2.739
	平均	25.1	29.4	30.9	43.9	9.1	1.09	4.9	2.782
京都祝	心白粒	26.2	31.2	33.1	43.5	9.4	1.21	5.44	2.770
	無心白粒	25.1	30.5	33.6	42	9.3	1.11	5.17	2.690
	平均	25.7	30.9	32.4	43.8	9.6	1.16	5.3	2.730
心白粒平均		25.1	30.5	31.4	41.5	9.4	1.24	5.2	2.611
無心白粒平均		24.1	29.3	31.3	41.9	8.9	1.09	4.9	2.316
分散分析	品種平均値間	**	*	*	*	ns	*	ns	**
	LSD(0.05)	0.54	1.33	1.4	4.38	-	0.165	-	0.976
	粒別平均値間	**	**	ns	ns	*	**	ns	ns

±: 酒米適性値=0.113A+0.146B-0.033C+0.02D+0.882E-1.492F-0.489G-8.349

蒸米吸水率, 120 分吸水率, Brix は, 心白粒が非心白粒に比べて増加する品種と減少する品種が見られた。フォルモール窒素, 粗蛋白含量は, 全ての品種で心白粒が非心白粒に比べて増加した。酒米適性値も, 有意ではないが全ての品種で心白が非心白粒よりも高い傾向を示した。

このように心白粒は非心白粒に比べて玄米千粒重が大きく, 吸水速度が早いなど酒米適性値を向上させる特性を有する一方, フォルモール窒素が高く, 粗蛋白含量が高いなど酒米適性値を低下させる特性も認められた。心白粒のこれらの特性によって表 2-2 の相関関係を説明できるのは玄米千粒重と 20 分吸水率である。相関分析では心白粒率と粗蛋白含量に負の相関関係が, 酒米適性値と正の相関

関係が認められるが、これらの相関関係は品種特性によるものであり、心白粒率が直接影響しているとは考えにくい。心白は原料米諸特性のなかでも重要な特性ではあるが、心白粒率が直接関係しているのは7項目の原料米特性のうち玄米千粒重と20分吸水率2項目であると考えられる。品種ごとに心白粒と無白粒に分別して原料米特性を調査した柳内ら³⁵⁾の研究では、7項目の原料米特性のうち粗蛋白では有意差が認められなかったが、他の6項目の原料米特性の全てにおいて心白粒が無白粒に比べて数値が有意に増大した。この結果は、本実験とはやや傾向を異にする。しかし、統計的には有意差が認められても品種によっては心白粒の数値が減少するものも含まれている。全品種(7品種, 10点)で心白粒の数値が増大するのは玄米千粒重と20分吸水率のみであった。

前項において中国の3品種は心白粒率がいずれも10%以下であり、玄米千粒重、20分吸水率が、山田錦、祝に比べて劣ることを指摘した。雲南省では3品種の20分吸水率は日本晴よりも低い。白米の吸水性は製麴行程、もろみの溶解に影響する重要な特性である。楚粳9号を実際に酒造原料米として利用した場合、とくに吸水工程においてより高度な技術が必要となるであろう。吸水性の異なるさまざまな原料米に対応できる洗米・吸水・蒸し・冷却工程の高精度機械処理システムの開発が必要である。

第3章 中国多収米の胚乳タンパク質分析と 小規模清酒醸造での清酒の特性

第1項 胚乳タンパク質顆粒の分析

第1節 緒言

白米のタンパク質は主にタンパク質顆粒（プロテインボディ：以下、PB）に存在する。PBにはPBIとPB IIの2種類があり、麴酵素による消化性が異なることから^{36, 37, 38)}、酒造適性の判定に当たって近年PBの調査の重要性が増している^{39, 40, 41, 42, 43)}。本研究では楚粳9号の原料米特性を白米のPBについて検討した⁴⁴⁾。

第2節 材料と方法

中国多収品種として楚粳9号、楚粳優1号、楚粳17号、日本品種として日本晴、山田錦（酒造好適米）、露葉風（酒造好適米）、合わせて6品種（いずれも2002年産）を供試した。楚粳9号、日本晴、山田錦は京都大学農学研究科附属農場（高槻市）で栽培した。楚粳優1号、楚粳17号は中国雲南省の多収性品種で、同省楚雄市産の玄米を収集した。露葉風は奈良県産を収集した。供試米は試験用小型精米器を用いて70%に精米（見かけの精米歩合）後、粗蛋白および、PBIおよびPBIIを定量した。粗タンパク質はセミマイクロゲルダール法によった。PBは木崎ら³⁷⁾の方法にしたがい、sodium dodecyl-sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)によりPBIおよびPBIIを分離定量した。すなわち、粉碎白米20mgにSDS、2-メルカプトエタノールを含む緩衝液を0.5ml加え、60°C、2時間処理して蛋白質画分を抽出し、遠心分離した上澄み液を試料とした。その10m μ lについて10~20%のリニアグラジエントゲル（第一化学薬品製）を用い電気泳動を行った（図3-1）。プロラミンバンド（10~16KDa）をPB I、グルテリンの酸性サブユニットバンド（37~39KDa）およびグルテリンの塩基性サブユニットバンド（22~23KDa）をPB IIとした。PB IおよびPB IIの定量はデンストメータ（島津製作所製）を用い、標準タンパク質（シグマ社製）との面積比により求めた。この結果は表3-1に示した。

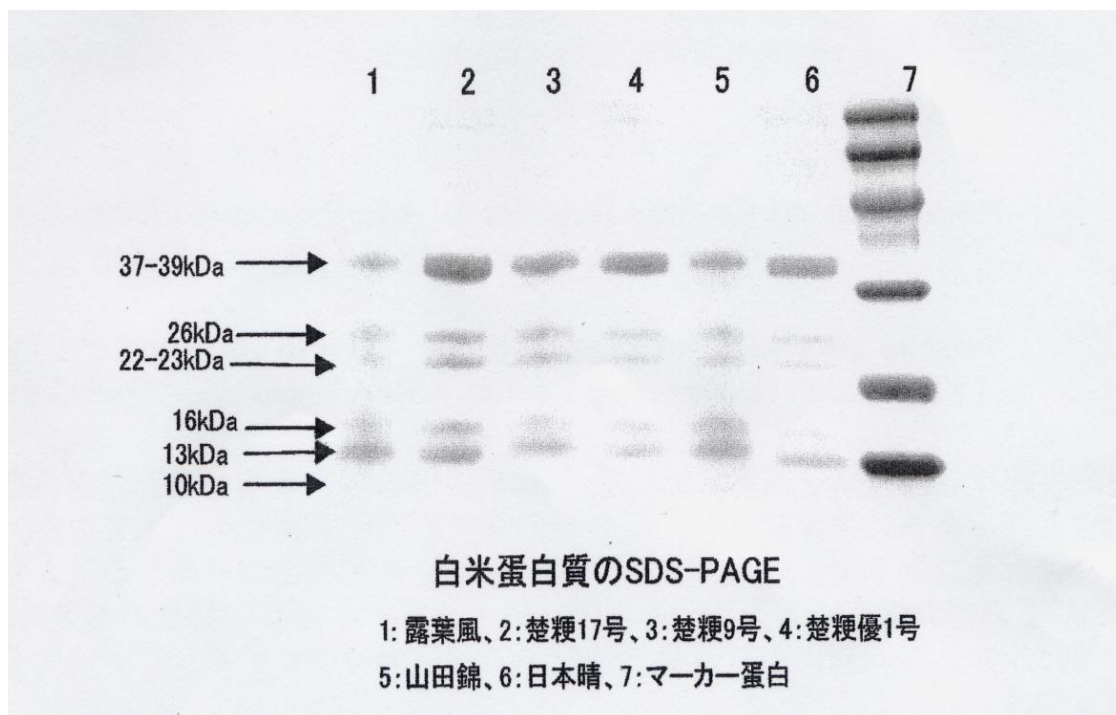


図 3-1 白米タンパク質の SDS-PAGE

第 3 節 結果および考察

タンパク質含有量ならびに組成比率を表 3-1 に示した。楚粳 9 号の粗タンパク質は中国の 3 品種の中では最低で、山田錦、露葉風並であった。中国の他の 2 品種は日本晴よりもさらに高い値を示した。PB I は供試品種の中で楚粳 9 号が最低で、中国の他の 2 品種は日本晴よりも高かった。PB II は、中国の 3 品種の中では楚粳 9 号が最低であったが、日本品種よりも高かった。PB II/PB I 比は、供試品種の中で楚粳 9 号がもっとも高く、中国の他の 2 品種も日本品種よりも高かった。

粗タンパク質に占める PB I および PB II の割合をみると、PB I では、楚粳 9 号、楚粳優 1 号は日本品種よりも低かった。楚粳 17 号は山田錦、露葉風よりも低く、日本晴よりも高かった。PB II では、楚粳 9 号が最も高い値を示した。中国の他の 2 品種も日本品種よりも高かった。

以上のように、粗タンパク質有量に関して、楚粳 9 号は山田錦、露葉風並であるが、タンパク質組成が明らかに異なる。日本品種に比べて PB I は低く、PB II が高い。PB II/PB I 比は供試品種の中で最も高い。また、粗タンパク質に占める割合についても、日本品種に比べて PB I が低く、PB II が高い。各項目について、木崎ら³⁸⁾が日本の酒米 32 品種について求めた平均値±標準偏差と比較すると、粗タンパク質、PB I および PB II はいずれも低く、PB II/PB I 比が高かつ

たが、いずれも標準偏差の範囲内であった。しかし、粗タンパク質に占める PB I および PB II の割合は両者とも標準偏差の範囲を超えており、PB I は低く、PB II は高かった。これは楚粳 9 号の原料米特性における顕著な特性と考えられる。PB II は麴酵素によって分解されやすい易消化性タンパク質であり、精製酒のアミノ酸度を高め精製酒に雑味を与えることが考えられる^{36, 37, 38, 45)}。

表 3-1 白米(70%精米)の蛋白質組成(2004)

品種	粗蛋白	プロテインボディ	プロテインボディ	PB II/PB I	粗蛋白に占める PB I および PB II の比率	
		I (PB I)	I (PB II)		PB I	PB II
		mg/g 白米			-----%	
楚粳 9 号 ¹⁾	39.1	7.8	25.4	3.26	19.94	64.96
楚粳優 1 号 ²⁾	51.3	10	32.2	3.22	19.49	62.77
楚粳 17 号 ²⁾	49.3	10.9	30.9	2.83	22.11	62.68
日本晴 ¹⁾	42.7	8.9	24.2	2.72	20.84	56.68
山田錦 ¹⁾	39.6	9	23.5	2.61	22.72	59.34
露葉風 ³⁾	38.9	10.2	22	2.16	26.22	56.55
酒米 32 品種の * 平均値±標準偏差	47.29±13.20	10.42±2.65	26.36±8.14	2.49	22.31±1.91	55.64±3.62

1) 京大高槻農場、2) 雲南省、3) 奈良県の各々 2002 年産米。山田錦、露葉風：酒造好適米

*木崎ら(1991)による

第 2 項 中国多収米の小規模醸造清酒の特性

第 1 節 緒言

多収米を原料米（掛米）として小仕込み試験を実施し、製成酒特性について検討を行った。

第 2 節 材料と方法

2000 年に京都大学農学研究科附属農場（高槻市）で栽培した 5 品種（楚粳 9 号、合系 24 号、日本晴、山田錦、祝）を掛米とし、総米 170g の小仕込み試験を実施した。麴米には福井県産五百万石を用い、麴歩合 20% になるようにした。各品

種とも試験用小型精米器を用いて掛米は70%，麴米は65%に精米し（見かけの精米歩合），白米水分は11.5%に調整した．蒸米の調整は白米を15～20時間（15℃）浸漬，1時間（15℃）水切りした後．甑で30分間蒸きょう（100℃），30分間放冷（室温）した．初添，仲添，留添時に蒸米吸水率を測定した．仕込み配合を表3-2に示した．仕込みは，KZ06酵母（黄桜酒造開発）による三段仕込みで，10℃～15℃に温度管理した（図3-1）．

表 3-2 仕込配合

	初添	仲添	留添	計
麴 (g)	8	9	17	34
蒸米 (g)	22	47	67	136
汲水 (ml)	45	66	98	209

総米 170g, 3 段仕込

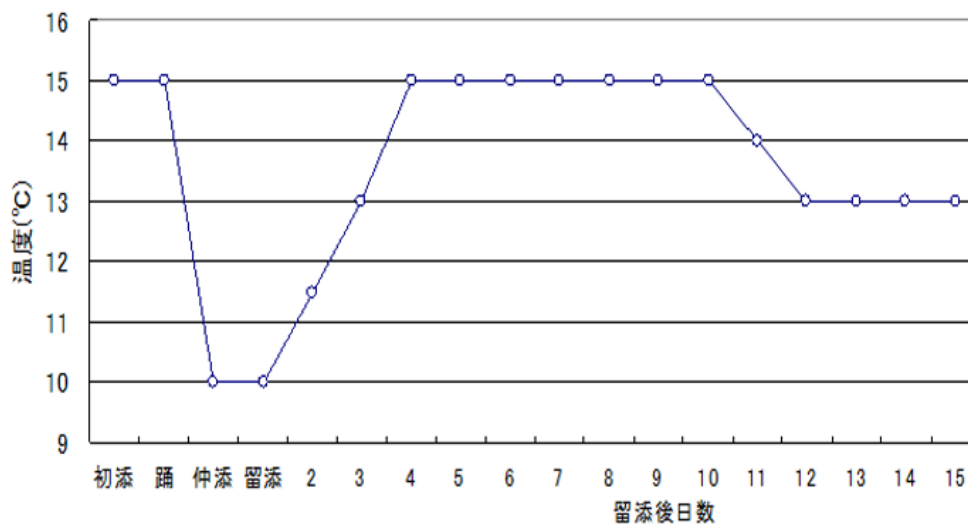


図 3-2 KZ06酵母による三段仕込みでの温度管理

留添後 4 日目から 1~3 日間隔で仕込みビンの重量を測定し、炭酸ガス放出による減量を求めた。15 日目に遠心分離により清酒と酒粕に分離した。日本酒度、アルコール度、酸度、アミノ酸度および紫外外部吸収量の分析は国税庁所定分析法³²⁾、グルコースはグルコースメータ（京都第一科学（株）製）、低沸点香気成分は Headspace GC 法⁴⁶⁾ によった。

第 3 節 結果および考察

小仕込み試験における蒸米吸水率を表 3-3 に、発酵経過を図 3-3 に示した。蒸米吸水率では、楚粳 9 号は、初添、仲添、留添時の各時期において山田錦、祝に比べて低かった。日本晴との比較では、仲添時にやや低いが、初添、留添時には高く、平均値は日本晴を上回った。合系 24 号は各時期において最低であった。

発酵経過は、初期、後期とも楚粳 9 号は山田錦と同程度であった。合系 24 号は前期には山田錦、祝よりも発酵がよく進んだが、後期には他の品種に比べてゆるやかとなった。合系 24 号の前期における発酵促進は原料米のカリウム含量が高いこと（京都の合系 24 号）の影響が考えられる。

表 3-3 蒸米吸水率

品種	蒸米吸水率			
	初添	仲添	留添	平均
楚硬 9 号	48.8	45.2	45.1	46.4
合系 24 号	41.1	41.9	42.0	41.7
日本晴	43.1	46.6	44.7	44.8
山田錦	50.3	47.6	48.9	48.9
祝	57.0	49.3	49.5	51.9

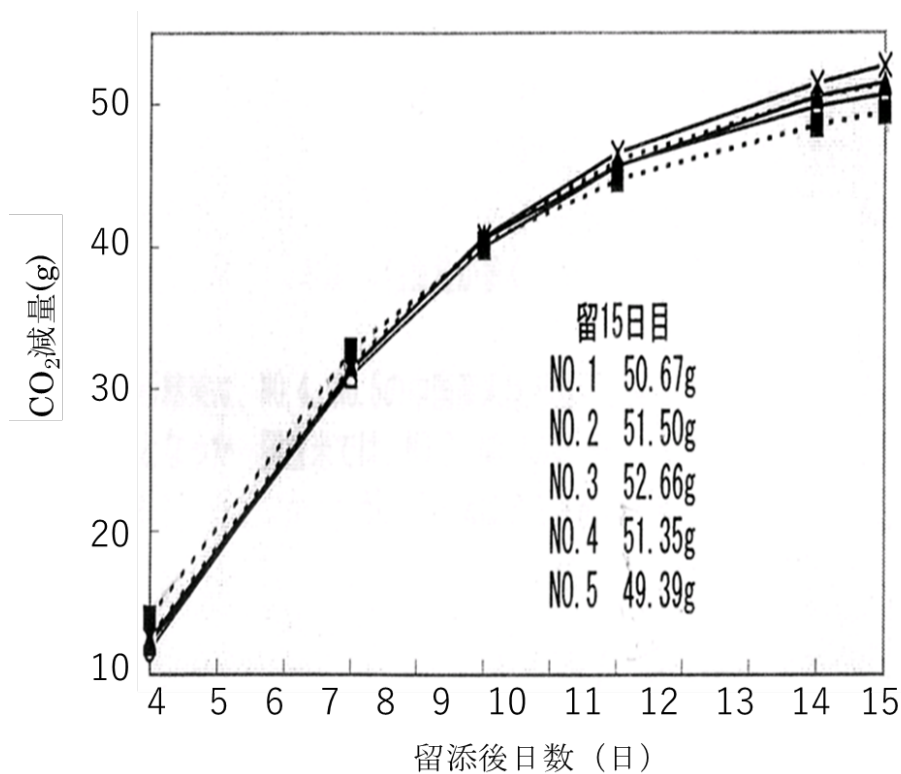


図 3-3 CO₂の減量経過

- - ▲ - - 楚粳9号, - - ■ - - 合系24号,
 ---○---日本晴, ---△---山田錦, ---×---祝

製成酒成分を表 3-4 および表 3-5 に示した。中国の 2 品種の数値を項目ごとに日本の 3 品種と比較する。楚粳 9 号は液量が山田錦並、粕重は山田錦よりもやや少なかった。祝との比較では、液量が少なく、粕重が多かった。合系 24 号は山田錦、祝に比べて液量が少なく、粕重量が多かった。日本晴との比較では、楚粳 9 号、合系 24 号とも液量が多く、粕重が少なかった。日本酒度は、楚粳 9 号、合系 24 号とも山田錦、祝よりも高く(数値が低い)、日本晴よりも低かった(数値が高い)。アルコール濃度には品種間差はほとんど認められなかった。酸度は楚粳 9 号、合系 24 号とも日本品種よりも低かった。アミノ酸度は楚粳 9 号、合系 24 号とも、山田錦、祝よりも高かった。最低の山田錦を 100 とすると楚粳 9 号で 30% 増、合系 24 号で 48% 増であった。楚粳 9 号は日本晴よりも低い、合系 24 号はそれよりも高かった。

紫外部吸収量は、楚粳 9 号、合系 24 号とも日本晴よりも低く、山田錦、祝よりも高かった。低沸点香气成分について、楚粳 9 号は山田錦、祝に比べて酢酸エチル、イソブチルアルコール、酢酸イソアミル(E)、イソアミルアルコール(A)が高く、カプロンサンエチルが低かった。日本晴との比較では、いずれも近似した値を示した。合系 24 号は酢酸エチル、イソブチルアルコール、イソアミルアルコールが日本の 3 品種よりも高く、カプロンサンエチルは低かった。E/A は合系 24

号が最も高く、次いで楚粳9号、日本晴、祝、山田錦の順であった。

表3-4 製成酒一般成分(1999)

品種*	液量 (ml)	粕重量 (g)	日本酒度	アルコール濃 度(%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	グルコース (%)
楚粳9号	276	108.7	+2.5	19.9	2.92	1.83	1.83
合系24号	256	116	+3.5	19.8	2.94	2.08	2.08
日本晴	252	123.2	+2	19.5	3.19	2.01	2.01
山田錦	274	112.3	+4.5	19.8	3.23	1.41	1.41
祝	292	102	+4	19.5	3.28	1.51	1.51

* 1998年京都大学高槻農場産米

表3-5 製成酒の紫外部吸収量および低沸点香気成分

品種	紫外部吸収量		低沸点香気成分 (ppm)					E/A
	260nm	280nm	酢酸エチル	イソブチル アルコール	酢酸イソアミル (E)	イソアミル アルコール (A)	カブロン酸 エチル	
楚粳9号	10.86	10.25	108	138	8.9	249	0.7	3.57
合系24号	11.73	11.33	120	155	9.9	270	0.48	3.67
日本晴	12.26	11.5	107	140	8.9	260	0.65	3.42
山田錦	9.54	8.97	96	117	7.1	224	0.8	3.17
祝	9.74	9.41	95	108	7.3	226	0.79	3.23

官能評価結果は表3-6に示した。楚粳9号は香、味、総合とも祝並の評価が与えられた。合系24号はいずれの項目においても最低の評価であった。本実験では、日本晴に対して、一般的な評価とは異なり、山田錦並の高い評価が与えられているが、その理由については不明である。

表3-6 製成酒の官能評価(きき酒)*

品種	香り	味	総合
楚粳9号	2.1	2.7	2.4
合系24号	2.3	2.9	2.6
日本晴	2.1	2.4	2.3
山田錦	2.1	2.4	2.3
祝	2.1	2.7	2.4

* 値が低い程評価が高い。

以上のように、楚粳9号は液量と粕重量の比較から原料米の利用率は祝よりも低いものの山田錦よりも高く、日本酒度、酸度、グルコース濃度の比較から山田錦、祝よりもやや「甘口」になることが推察される。アルコール濃度はほとんど変わらない。アミノ酸度が山田錦、祝よりも高い。アミノ酸度の上昇は前節のPB IおよびPB IIに関する楚粳9号の原料米特性と密接に関係していると考えられる。官能的に不快臭とされるイソアミルアルコール（酢酸イソアミルの前駆体）の生成は白米のアミノ酸が少ないほど促進されるとする報告⁴¹⁾もあるが、本実験における楚粳9号のイソアミルアルコールの増加を原料米特性と関連して説明することは困難であった。官能評価では、楚粳9号は香り、味、総合評価において祝並、合系24号はそれら3項目の全てで最悪であった。E/A比は官能評価と正の相関関係を示すとされているE/A比は、本実験における日本晴の評価には対応しないが、楚粳9号の総合評価が祝並であること（山田錦に及ばない）、合系24号の総合評価が低いこととはよく符合している。

第3項 第3章の研究結果総括

多収性が確認された楚粳9号、楡雑29号、合系24号の酒米適性値とその関連7項目について日本品種の日本晴（多収性の食用品種）および山田錦、祝（いずれも酒造好適米を比較品種として検討した。中国の3品種の全てが日本の酒造好適米品種に比べて明らかに劣っているのは玄米千粒重、20分吸水率の2項目である。粗蛋白質含量、消化性の項目では酒造好適米と同等かそれに優る場合もあった。酒米適正值は3品種のうち楚粳9号が最高であった。楚粳9号の酒米適正值は、山田錦よりも低い、祝とは有意差は認められなかった。日本晴よ

りも有意に高かった。中国品種を京都で栽培すると酒米適正值算出のための7項目の原料米特性はほとんどの項目において適性値を上げる方向に変化し、酒米適性値は、楚粳9号が祝並、合系24号は日本晴を上回った。

心白粒は非心白粒に比べて玄米千粒重が大きく、吸水速度が早いなど酒米適性値を向上させる特性を有する一方、フォルモール窒素や粗タンパク質含量が高いなど、酒米適性値を低下させる特性も認められた。酒米適性値は、有意ではないが心白粒が非心白粒よりも高い傾向を示した中国の3品種の心白粒率は多い場合でも10%以内であった。心白は原料米特性のなかでも重要な特性ではあるが、心白粒率が直接関係しているのは7項目の原料米特性のうち玄米千粒重と20分吸水率の2項目であると考えられた。

楚粳9号の粗タンパク質含量は、日本晴よりも明らかに低く、山田錦、露葉風並であった。プロテインボディ(PB)については、楚粳9号は日本品種に比べてPB Iが低く、PB IIおよびPB II/PB I比が高かった。また、粗タンパク質に占める割合でも、PB Iは楚粳9号が日本品種に比べて低く、PB IIでは高かった。楚粳9号の値を木崎らが日本の酒米32品種について求めた平均値±標準偏差と比較すると、粗タンパク質、PB IおよびPB IIは低く、PB II/PB I比が高かったが、いずれも標準偏差の範囲内であった。一方、粗蛋白に占める割合は、PB Iは低く、PB IIは高かった。これらの値はいずれも標準偏差の範囲を超えており、楚粳9号の顕著な特性と考えられた。

製成酒特性では、楚粳9号は、原料米の利用率が山田錦並、日本酒度が山田錦、祝よりもやや高くなる(数値が低くなる)傾向を示した。酸度、アルコール濃度には品種差がほとんどなかった。アミノ酸度は、山田錦、祝より上昇した。楚粳9号の官能評価は山田錦より低く、祝と同等であった。

第4章 純米料理酒の開発・実用化

第1節 緒言

楚粳9号の酒米特性の検討において原料米の酒米適性値, 製成酒の官能評価が比較的高い一方で易消化性タンパク質 (PB II) が多く, アミノ酸度の高まりやすい特性を有していることを明らかにした. こうした酒米特性への対応としてアミノ酸度を高めた料理用純米酒への適用を試みた. 清酒は料理にコクと旨みを与えることから調味料としても古くから利用されてきたが, 近年は塩分が添加されるなど, 清酒の範疇を逸脱しているものも少なくない. 本章では, 弊社で開発し商品化できた「厨酒」について, アミノ酸組成とともに, 香気成分, 有機酸など調味料としての効用と関係の深い製成酒成分について検討する.

これらの検討には, 飲用純米吟醸酒「桃の滴」を対照の標準純米清酒として使用した.

第2節 材料と方法

2006年の「厨酒」の実施醸造では, 原料米品種として, 麴米に五百万石, 掛米には楚硬9号に比較的類似した成分構成の「ひとめぼれ」を用いた(楚粳9号は, 米の輸入に関する法的な規制から, 必要量を継続的に確保できる見込みが立たなかったため, 利用できる状況ではなかった). アミノ酸度を高めるためにいくつかの方策を講じた. すなわち, ①原料米(掛米)の精米歩合を高める, ②酵母添加量を増す, ③醪温度管理の変更, ④醪日数の延長などである. 精米歩合は, 麴米を70%, 掛米を78%にとどめた. 乾燥酵母(9号酵母)を使用することとし, 速醸酒母の2~3倍量が添加された. 醪品温を数度高めに設定し(図4-1), 醪熟成期間は60日としたが, 図では40日までの測定に留めている.

比較として, 弊社の純米吟醸酒「桃の滴」を用いた. 「桃の滴」は麴米, 掛米共に五百万石(酒造好適米)を使用し, 精米歩合を58%とした. 酒母には, 速醸酒母を使用した.

仕込みは, 「厨酒」が総米3100kgの四段仕込み, 「桃の滴」が総米2600kgの三段仕込みである. それぞれの仕込み配合を表4-1に示した.

成分としてアミノ酸度, アルコール度, 日本酒度, 酸度, 遊離アミノ酸, 芳香族アルコール, エステル類等の香気成分, 有機酸を測定した. アミノ酸度, アルコール度, 日本酒度, 酸度の測定はいずれも国税庁所定³²⁾の方法によった.

遊離アミノ酸の分析は近畿大学農学部食品栄養学科食品微生物学研究室(寺下隆夫教授)で行った. すなわち, 濃縮液を蒸留水に溶解し, イオン交換カラム

クロマトグラフィーによってアミノ酸分画を回収した。再度、ロータリーエバポレーターで濃縮・乾固し、0.02N-HCl に溶解して、アミノ酸オートアナライザー（日立 L-8500 型）にかけた。分析値に各アミノ酸の分子量を乗じ、100ml 中の含量(mg)を算出した。

芳香族アルコール類（βフェニルエタノール、チソロール、トリプトフォール）、その他の香気成分（アルコール類、エステル類、カルボニル化合物）、有機酸の分析は秋田県立大学岩野君夫教授のもとで行われた。芳香族アルコール類の分析は逆相クロマトグラフィーによった。その他の香気成分はガスクロマトグラフィー、有機酸は有機酸分析計によった。同教授のご好意によりデータを提供していただいた。

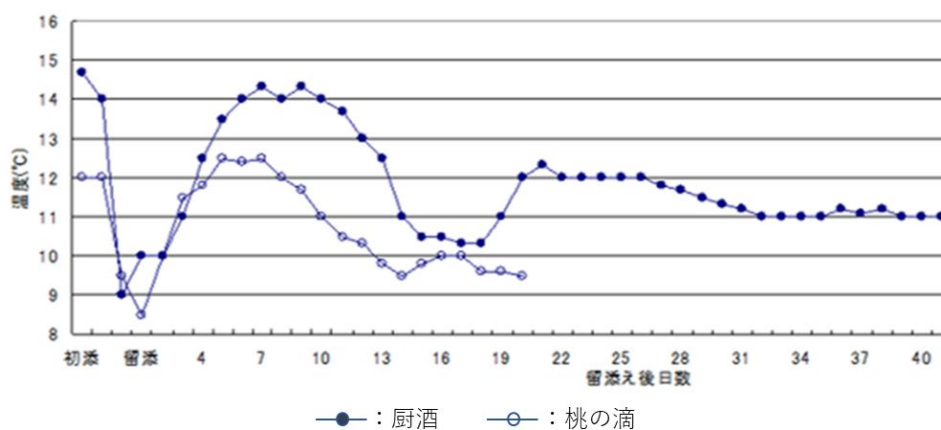


図 4-1 仕込み中の品温経過

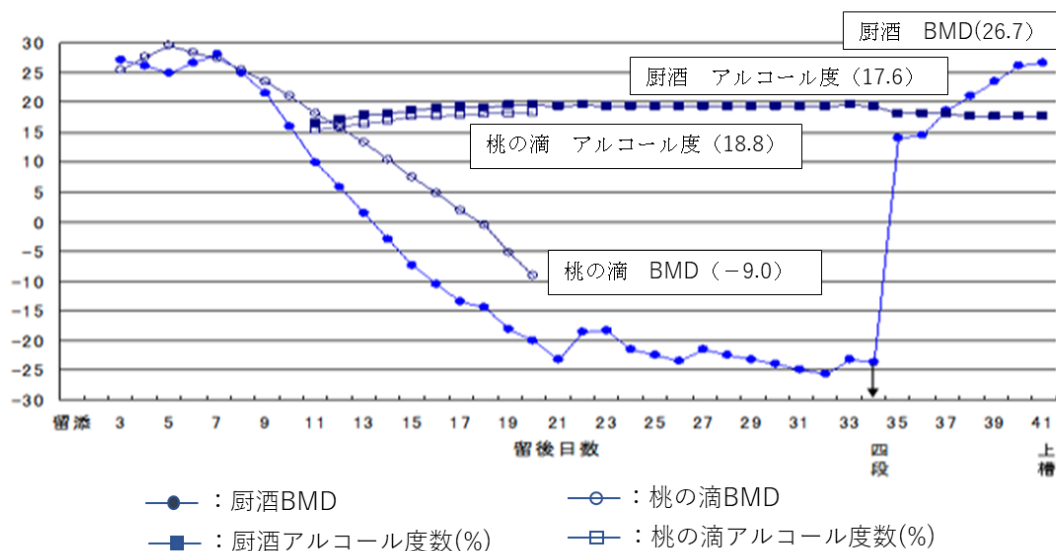
表 4-1 仕込み配合

		酒母	初添	仲添	留添	四段	追い水	計
料理用純米酒「厨酒」 (総米 3100kg, 四段仕込)	麴 (kg)	-	130	210	250	0		590
	蒸米 (kg)	-	320	690	1300	200		2510
	汲水 (l)	-	750	1200	1800	360	300	4410
飲用純米酒「桃の滴」 (総米 2600kg 三段仕込)	麴 (kg)	50	100	170	230	-	-	550
	蒸米 (kg)	110	280	590	1070	-	-	2050
	汲水 (l)	180	370	940	1850	-	260	3340

第3節 結果と考察

「厨酒」および「桃の滴」の醪期間中のBMD値, アルコール度, 清酒および粕取得量を図4-2に, 酸度, アミノ酸度は図4-3にそれぞれ示した。

BMD値は, 両者とも留添え後9日目以降低下し始め, 急速な低下が20日目まで持続した。「桃の滴」よりも「厨酒」の低下が大きかった。「厨酒」は21日目以降も徐々に低下を続け, 四段目の仕込みで急激に上昇した。上槽時の値は「桃の滴」の-9.0に対して「厨酒」は+26.7となった。アルコール度は, 「厨酒」が「桃の滴」よりもやや高く経過し, 留添え後17日目に約20度に達した。四段目の仕込みで若干低下し, 上槽時には16.8であった。酸度は, 初期には「厨酒」は「桃の滴」よりも上昇が大きかったが, 上槽時の値はそれぞれ1.7, 1.4でありあまり変わらなかった。「厨酒」のアミノ酸度は, 18日目以降上昇を続け, 上槽時の値は「桃の滴」の1.5に対して「厨酒」は4.2にまで上昇した。各成分とも, ほぼ, 目標値に近い値が得られた。「厨酒」は「桃の滴」に比べて清酒取得量が増加し, 粕重は「桃の滴」の約1/2にまで低下した。



() の数字は上槽時の値

厨酒：清酒取得量224.5リットル/白米トン、粕重13.5kg/白米トン

桃の滴：清酒取得量206.5リットル/白米トン、粕重27.7kg/白米トン

図4-2 「厨酒」および「桃の滴」の醪のBMD曲線とアルコール度

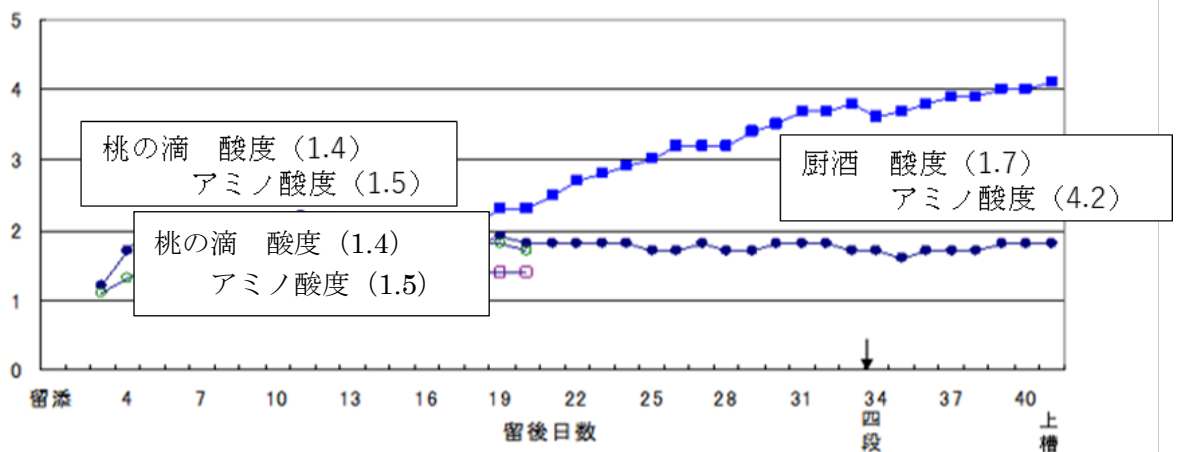


図4-3 「厨酒」「桃の滴」醪の酸度およびアミノ酸度

検出されたアミノ酸およびアミノ酸関連物質を岩野らの報告⁴⁷⁾にしたがって酸味系アミノ酸, 甘味系アミノ酸, 苦味系アミノ酸およびその他アミノ酸に分類し, それぞれの含有量を表4-2に示した。

「厨酒」のアミノ酸は, 検出されたすべてにおいて「桃の滴」の2倍以上に増加し, アミノ酸総量は6.3倍であった。増加率を系ごとにみると酸味系, 甘味系, 苦味系がそれぞれ9.5倍, 7.4倍, 7.8倍で, 各系のアミノ酸がほぼ等しい割合で増加していた。

清酒におけるアミノ酸の呈味について, 岩野⁴⁸⁾によると, アラニンは甘味・旨みを呈し, その存在は評価を高める。グルタミン酸とアスパラギン酸は酸味・渋味を呈し, 渋味が長く残るアミノ酸である。アルギニンは苦味を呈し, 後味が長く残るアミノ酸である。それらの存在は評価を悪くするとしている。また, グルタミン酸とアラニンは広い濃度範囲でバランスがとれていて, それらの濃度が味の濃さに関係しているとしている。これら4種類の呈味性アミノ酸の増加率は, グルタミン酸, アスパラギン酸が約10倍およびアラニンが約7倍で, アラニンの増加率がやや低いもののそれぞれがバランスよく増加していた。アルギニンは「厨酒」でも「桃の滴」でもほとんど検出されなかった (trace)。 「厨酒」においてグルタミン酸がアラニンとともにバランスよく増加し, しかも, アルギニンが検出されないことは「味の濃さ」, 「旨み」を与えることにおいて清

酒添加の効用をいっそう高めることが考えられる。

その他のアミノ酸・アミノ酸関連物質では γ アミノ酪酸(GABA)の増加が大きかった。GABAは血圧降下や精神安定作用などが知られている²⁾。機能性成分付加の効用は、従来あまり強調されなかった効用であり、近年では、清酒添加の効用をいっそう高める要素のひとつである。

表4-2 「厨酒」および「桃の滴」のアミノ酸組成(2005)

アミノ酸名	厨酒(A)	桃の滴(B)	A/B
酸味系アミノ酸(mg/100ml)			
グルタミン酸(Glu)	87.6	7.2	12.2
アスパラギン酸(Asp)	96.8	9.5	10.2
アスパラギン(AsNH ₂)	28	5.7	4.9
小計	212.4	22.4	9.5
甘み系アミノ酸(mg/100ml)			
アラニン(Ala)	153.2	23.5	6.5
スレオニン(Thr)	33.4	2.7	12.4
セリン(Ser)	62.8	7.2	8.7
グルタミン(GuNH ₂)	27.6	0.5	55.2
プロリン(Pro)	9	Trace	
グリシン(Gly)	97.2	17.6	5.5
小計	383.2	51.5	7.4
苦味系アミノ酸(mg/100ml)			
アルギニン(Arg)	Trace	Trace	-
リジン(Lys)	0.4	Trace	-
バリン(Val)	31.6	5	6.3
メチオニン(Met)	1.4	Trace	-
ロイシン(Leu)	9.4	0.8	11.8
イソロイシン(I leu)	8.2	0.5	16.4
フェニルアラニン(Phe)	0.4	Trace	-
チロシン(Tyr)	3.2	0.7	4.6
ヒスチジン(His)	trace	Trace	-
小計	54.6	7	7.8
その他アミノ酸・アミノ酸関連物質(mg/100ml)			
β アラニン(β -Ala)	0.2	Trace	-
シスチン(Cys)	4.6	Trace	-
γ アミノ酪酸(γ -ABA)	6.8	1.4	4.9
オルニチン(Orn)	1.4	0.5	2.8
エタノールアミン(EOHNH ₂)	17.2	3.2	5.4
その他	64.2	32.5	2
小計	94.4	37.6	2.5
合計	744.6	118.5	6.3

料理に対する清酒添加の効用として、香味を付加し不快臭を和らげる効果が認められている^{49,50)}。そうした効用に関与するアルコール類等の香気成分および有機酸含量を表4-3に示した。

アルコール類等の香気成分および有機酸含量とも増加するものと減少するものが見られた。アルコール類はチソロールを除いて「厨酒」が「桃の滴」に比べて1.2~2.0倍増加し、エステル類、カルボニル化合物（アセトアルデヒド）では同等ないしは減少の傾向を示した。「桃の滴」に比べて減少したチソロール、アセトアルデヒドはいずれも清酒において渋味ないしは不快臭となるものである⁵¹⁾。一方、「桃の滴」に比べて増加したn-プロパノール、i-ブタノール、i-アミルアルコール、 β フェニルエタノールなども渋味ないしは不快臭を呈するが一般の飲用純米酒に認められる範囲内であり⁵¹⁾、料理酒としての効用に大きな影響はないものと思われる。有機酸総量は1.4倍増加した。リンゴ酸、クエン酸、ピルビン酸、ピログルタミン酸など著しく減少した成分もあるが、コハク酸、乳酸など飲用純米酒にも多量に含有する成分が増加したためである。悪臭の原因となる酢酸も、増加した成分のひとつであるが、一般の飲用純米酒に認められる範囲内であり⁵¹⁾、料理酒としての効用に大きな影響はないものと思われる。高倉⁵⁰⁾はコハク酸の化学的消臭効果（不快臭の揮発性塩基類と結合し、不揮発化する）に着目し、コハク酸高生成酵母を使用した料理酒によって魚臭（トリメチルアミン）の消臭率が向上することを報告している。コハク酸は貝汁の香味成分としても知られている。したがって、「厨酒」におけるコハク酸の増加は香味や消臭効果の面からも清酒添加の効用をいっそう高めることが考えられる。

なお、アミノ酸の分析で明らかとなったアルギニンに関する知見（「厨酒」でも「桃の滴」でもほとんど検出されなかった）は注目に値する。アルギニンは純米酒では、通常、アラニン、グルタミン酸に次いで高濃度に含有しており（20銘柄の平均値14.2mg/100ml）⁴⁷⁾、その存在は評価を悪くするアミノ酸である。アルギニンが検出されないことが「厨酒」、「桃の滴」の「造り」のどこに由来しているのか、解明すべき重要課題であると考えられる。

表4-3 「厨酒」および「桃の滴」の香気成分および有機酸含量.

アミノ酸名	厨酒(2005) A	桃の滴(2005) B	A/B
アルコール(ppm)			
n-プロパノール	131	103	1.3
i-ブタノール	76	56	1.4
n-ブタノール	2	1	2.0
i-アミルアルコール	207	158	1.3
β -フェニルエタノール	112	92	1.2
チソロール	96	114	0.8
トリプトフォール	9	5	1.8
エステル(ppm)			
酢酸エチル	54	62	0.9
酪酸エチル	3	3	1.0
酢酸イソアミル	2	3	0.7
n-カプロンサンエチル	2	2	1.0
カルボニル化合物(ppm)			
アセトアルデヒド	3	7	0.4
有機酸(ppm)			
酢酸	108	16	6.8
コハク酸	365	277	1.3
乳酸	1136	405	2.8
リンゴ酸	19	289	0.1
クエン酸	1	71	0.01
ピルビン酸	5	8	0.6
ピログルタミン酸	6	86	0.1
計	1640	1152	1.4

料理に対する清酒添加のさまざまな効用のうち、味の濃さや旨みの効果、機能性成分の付加、香味や消臭効果が「厨酒」によって増強されることが示唆された。料理に実際に使用した場合の評価については、複数の調理師に依頼し意見を求めているところであるが、現在までに飲用清酒に比べて旨み増強効果が大きく、

他の料理用純米酒に比べて「くどさがない」ことではほぼ一致した評価を得ている。本節では、「厨酒」を含む市販の料理用純米酒 3 銘柄を比較検討し、料理酒としての「厨酒」の特性を明らかにする。

「厨酒」を含めて市販の料理用純米酒 3 種類を収集し、それらについて製成酒の一般成分（アミノ酸度, アルコール度, 日本酒度, 酸度）を測定した。測定は、いずれも国税庁所定の方法³²⁾によった。

遊離アミノ酸は、「厨酒」については前節のデータを用いた。収集した 2 種類の料理酒については、公開されているデータを引用した。

試飲による官能評価は 7 人のパネラーで行った。総合評価は 1 位を 1 点, 2 位を 2 点, 3 位を 3 点とし, 7 名のパネラーの合計点で示した。

「厨酒」と他銘柄との違いを試飲（官能評価）によって比較した。その結果を表 4-4 に示す。他の 2 銘柄に対する「厨酒」の評価の内容はそれぞれ次のようであった。

- ①焼臭に対して上品,
- ②苦味, 老香に対して端麗, うすい,
- ③濃味, 雑味に対して淡味,
- ④甘くどいに対して甘みよりも旨み,
- ⑤薄めても甘く元の味が残るのに対して薄めても変わらない,
- ⑥犯すに対して隠し味,
- ⑦内容多過ぎに対して味上品,
- ⑧料理に添加した場合素材の味を壊しそうに対して+ α の相乗効果が期待できる,

などである。これらのうち、④甘くどいに対して甘みよりも旨み, ⑤薄めても甘く元の味が残るのに対して薄めても変わらない, ⑦内容多過ぎに対して味上品, ⑧料理に添加した場合素材の味を壊しそうに対して+ α の相乗効果が期待できる, などの評価は、料理に実際に使用した場合に他の料理用純米酒に比べて「くどさがない」の評価に通ずるものがある。

総合評価についてはパネラーの全員が「厨酒」を 1 位と評価した。1 位の評価について、最も優れていると読み取るよりも、他の 2 銘柄と成分を著しく異にしていると理解しておくほうが妥当かも知れない。

3 種類の料理酒のアミノ酸度, アルコール度, 日本酒度, 酸度を表 4-5 に示した。いずれも日本品種を原料米としたもので、アミノ酸を高濃度に含有する純米酒である。「厨酒」と他銘柄との間には、アミノ酸度, アルコール度および酸度には大差なく、日本酒度に明らかな差が見られた。「厨酒」の日本酒度-8.0 に対して他銘柄はいずれも-20 以上でマイナス値が著しく高かった。

表4-4 市販料理酒の官能評価

銘柄	内容								総合評価*
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	
厨酒	上品	端麗・うすい	淡味	甘みより深い旨み	薄めても変わらず	隠し味 プラスα味	味上品	薄めてもしっかり変化少ない。素材味のプラスαの相乗効果期待	7
A	カラメル (焼臭) 四段臭	苦み	濃味	甘くどい	薄めても甘く素材の味	犯す	内容多過ぎ	薄めるとごつ味(過溶解)が目立って残る。他の素材の味を殺しそう。	17
B	カラメル (焼臭) 四段臭	老臭・苦味	老香・雑味	甘くどい	薄めても甘く素材の味	犯す	内容多過ぎ	薄めるとごつ味(過溶解)が目立って残る。他の素材の味を殺しそう。	18

* パネラー7名による評価。1位を1点,2位を2点,3位を3点とし,7名のパネラーの合計点を示す(パネラー全員がA社を1位と評価した)。

表4-5 市販料理酒の成分

	アミノ酸度	アルコール度数 (%)	日本酒度	酸度
厨酒	4.2	16.8	-8.0	1.7
A	4.5	16~16.9	-20.0	2.0
B	5.2	17.3	-20.0	2.0

20 種類のアミノ酸の含有量を前節に準じて甘味系, 酸味系, 苦み系, その他アミノ酸に仕訳し, 図 4-4 に示した. また, 総量に対する各系アミノ酸の割合を図 4-5 に示した. アミノ酸総量は各銘柄とも飲用純米酒 20 銘柄の平均値⁴⁷⁾ の数倍であった. 総量は「厨酒」が最も高く, 次いで B, A の順であった. 「厨酒」は他の 2 銘柄は比べて甘味系, 酸味系アミノ酸が多く, 苦味系が少なかった. 総量に対する各系アミノ酸の割合は, 「厨酒」が他の 2 銘柄に比べて甘味系の割合が高く, 苦み系の割合が低かった. 酸味系は, A 銘柄よりも多く, B 銘柄にほぼ等しかった. 「厨酒」では甘味系アミノ酸が約 5 割を占めた.

清酒における 4 種類の呈味性アミノ酸⁴⁸⁾ の総量および含有比率を図 4-6 および図 4-7 に示した. 4 種類の呈味性アミノ酸の総量は「厨酒」が最も多く, 次いで, B, A の順であった. それらのアミノ酸組成は, 「厨酒」が他の 2 銘柄に比べてアラニン (甘味・旨み) およびアスパラギン酸 (酸味・渋味) の割合が高く, グルタミン酸 (酸味・渋味) の割合が低かった. アルギニン (苦み) は, 前節で示したごとく「厨酒」ではほとんど検出されないのに対し, 他の 2 銘柄では 41~53mg/100ml (飲用純米酒の 2.9~3.7 倍) ものアルギニンが認められた.

以上のように, 3 銘柄はいずれもアミノ酸度が高く, アルコール度数が 17%前後, 酸度が 1.7~2.0 でほぼ等しく, 個々のアミノ酸でもアルギニンを除いて飲用純米酒の数倍を含有する点で類似しているが, 日本酒度, 呈味性アミノ酸の組成において, 「厨酒」は他の 2 銘柄と明らかに異なる. 日本酒度のマイナス値が小さいことはエキス分, 主として糖分が少ないことを意味する. 糖分がすくなく, 呈味性アミノ酸総量に占める甘味・旨みアミノ酸の割合が相対的に高く (含有量も多い), 酸味・渋味アミノ酸, 苦みアミノ酸の割合が低い (含有量も少ない) ことに特徴を見出すことができる. 「厨酒」を料理に実際に使用した場合の「くどさがない」の評価はこの特性と密接に関係していることが推察される.

「厨酒」の日本酒度やアミノ酸度は, あらかじめ目標値を設定し, 「造り」の過程で近似させていったものであるが, アミノ酸組成は計画的につくられたものではない. すでに前節でも指摘したが, 「厨酒」のアミノ酸組成の由来について解明が必要であると考えられる.

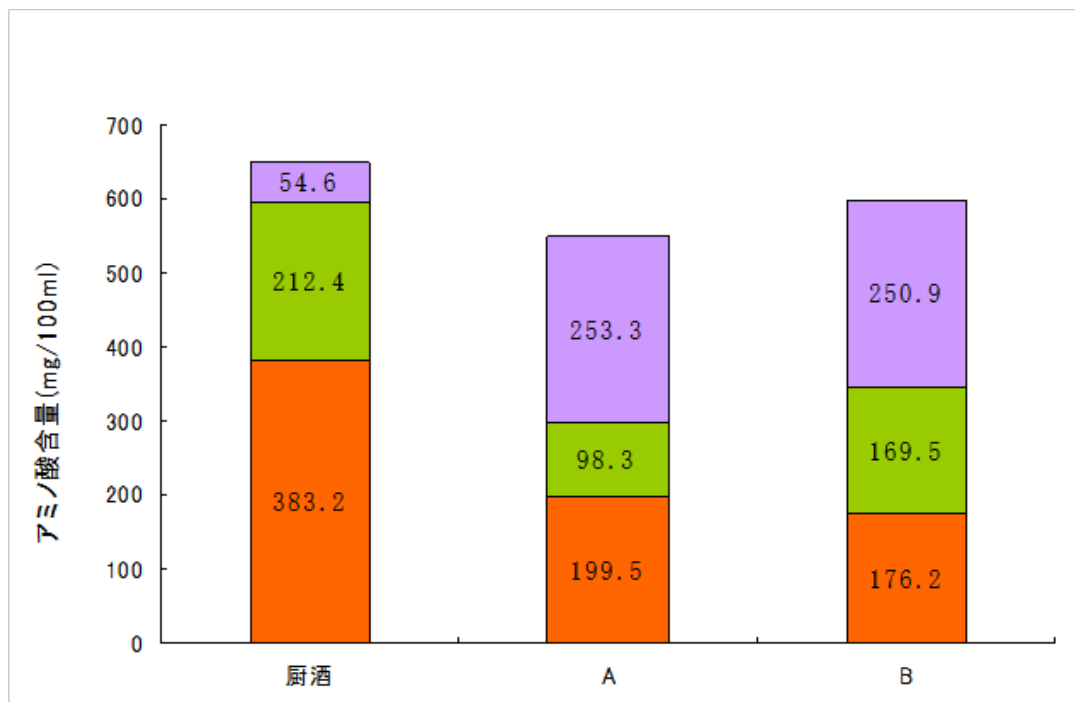


図 4-4 市販料理酒のアミノ酸含有量

説明：紫色：苦味系 緑色：酸味系 オレンジ色：甘味系

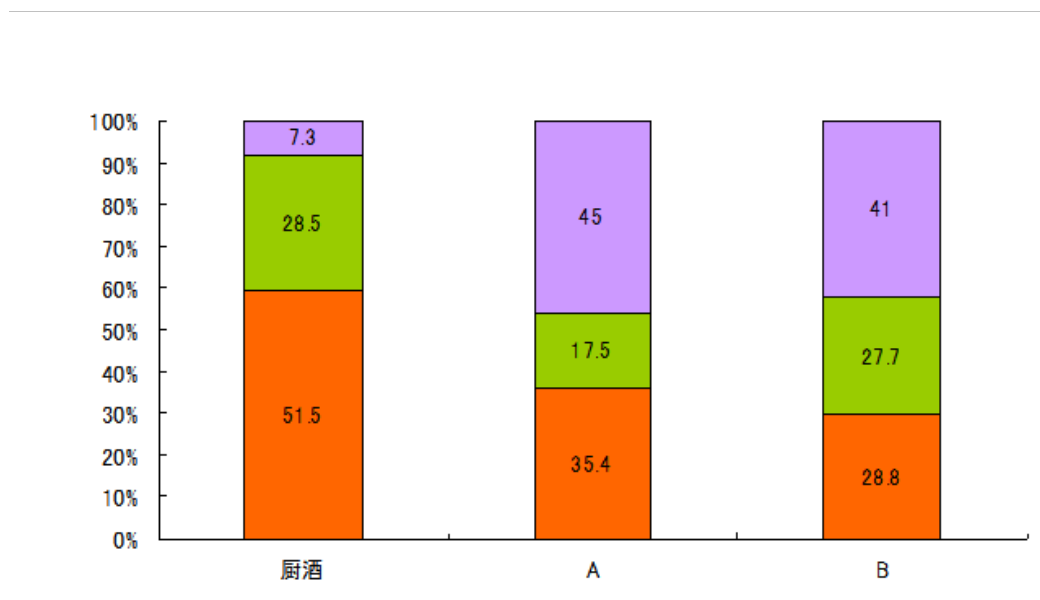


図 4-5 市販料理酒のアミノ酸含有量

説明：紫色：苦味系 緑色：酸味系 オレンジ色：甘味系

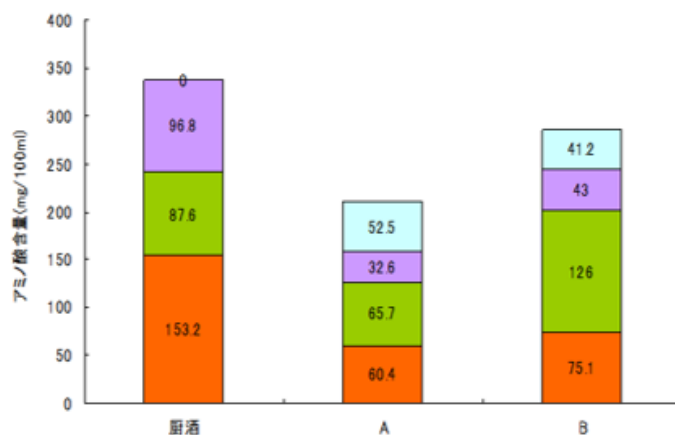


図 4-6 市販料理酒の4種の呈味性アミノ酸含有量

青色：アルギニン（苦味） 紫色：アスパラギン酸（酸味・渋み）
 緑色：グルタミン酸（酸味・渋み） オレンジ色：アラニン（甘味・旨味）

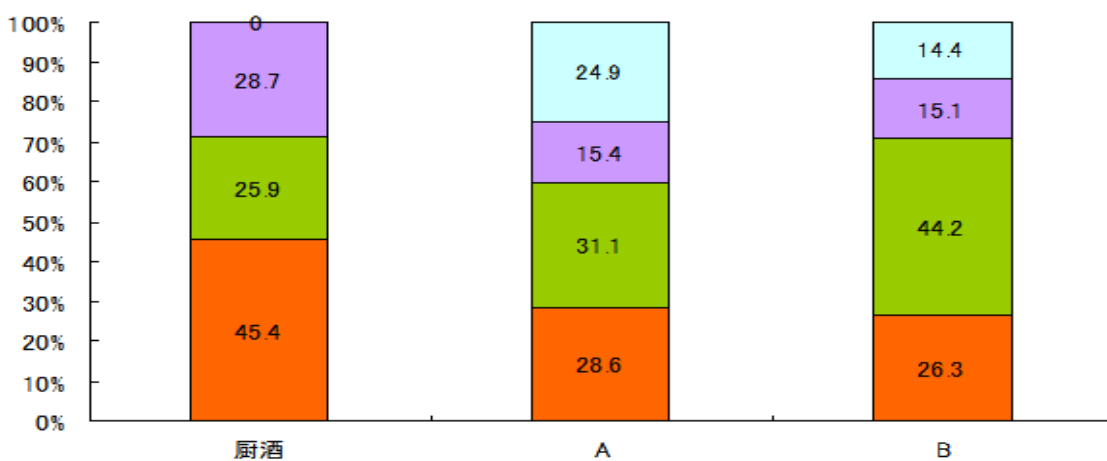


図 4-7 市販料理酒の4種呈味性アミノ酸組成

青色：アルギニン（苦味） 紫色：アスパラギン酸（酸味・渋み）
 緑色：グルタミン酸（酸味・渋み） オレンジ色：アラニン（甘味・旨味）

第4節 総合考察

易消化性タンパク質 (PB II) が多く, アミノ酸度の高まりやすい酒米特性への対応として料理用純米酒「厨酒」を開発し, 味の濃さや旨み, 香味の増強, 消臭効果など料理酒としての効用について検討した。

検出されたすべてのアミノ酸・アミノ酸関連物質で「厨酒」が飲用純米酒「桃の滴」の2倍以上増加し, 総量は6.3倍であった。清酒における4種類の呈味性アミノ酸の増加率は, グルタミン酸, アスパラギン酸が約10倍およびアラニンが約7倍で, アラニンの増加率がやや低いもののそれぞれがバランスよく増加していた。アルギニンは「厨酒」でも「桃の滴」でもほとんど検出されなかった (trace)。アルギニンを除く呈味性アミノ酸のバランスの良い増加は, 味の濃さや旨みに関して, 清酒添加の効用をいっそう高めるものと考えられる。機能性成分 γ -アミノ酪酸 (GABA) の増加 (4.9倍) が認められた。機能性成分付加の効用は, 従来あまり強調されなかった効用であり, 清酒添加の効用をいっそう高める要素のひとつである。

アルコール類等の香気成分は「桃の滴」に比べて増加するものと減少するものがみられた。清酒において渋味ないしは不快臭を呈する成分のうちチソロール, アセトアルデヒドが「桃の滴」に比べて減少した。n-プロパノール, i-ブタノール, i-アミルアルコール, β フェニルエタノールは「桃の滴」よりも増加したが, 一般の飲用純米酒に認められる範囲内であり, 清酒添加の効用に悪影響を及ぼすことはほとんどないと推察される。

有機酸は, クエン酸, ピルビン酸, リンゴ酸, ピログルタミン酸など著しく減少した成分もあるが, コハク酸, 乳酸, 酢酸など飲用純米酒にも多量に含有する成分が増加し, 総量は1.4倍増加した。コハク酸の増加は香味や消臭効果の面から清酒添加の効用をいっそう高めることが考えられる。

料理に実際に使用した場合の評価については, 現在までに飲用清酒に比べて旨み増強効果が大きく, 他の料理用純米酒に比べて「くどさがない」ことではほぼ一致した評価を得ている。「厨酒」を含めて3銘柄は, いずれもアミノ酸度が高く, アルコール度数, 酸度がほぼ等しく, 個々のアミノ酸でもアルギニンを除いて飲用純米酒の数倍を含有する点で類似していたが, 試飲による官能評価, 日本酒度, 呈味性アミノ酸の組成において「厨酒」は他の2銘柄と明らかに異なっていた。すなわち, 「厨酒」は他の2銘柄に比べて, 糖分がすくなく, 呈味性アミノ酸総量に占める甘味・旨みアミノ酸の割合が相対的に高く (含有量も多い), 酸味・渋味アミノ酸, 苦みアミノ酸の割合が低い (含有量も少ない) ことが明らかとなった。「厨酒」の「くどさがない」の評価はこれらの特性によるものと考えられる。

「厨酒」の日本酒度やアミノ酸度は, あらかじめ目標値を設定し, 「造り」の過程で近似させていったものであるが, アミノ酸組成は計画的につくられたも

のではない。「厨酒」のアミノ酸組成の由来の解明など今後検討すべき重要課題がまだ多く残る。

第5章 液化仕込み醪のアミノ酸組成に及ぼすきのこ子実体由来プロテアーゼの影響

第1項 きのこ由来プロテアーゼを用いた米タンパク質分解と生成する遊離アミノ酸組成の特徴

第1節 緒言

日本の伝統的な発酵食品には糸状菌を用いて発酵させているものが多く存在している。例えば、清酒・味噌・醤油・味醂等などはそのよい例であり、黄麹菌 *Aspergillus oryzae* が利用されている⁵²⁾。また、カビによる熟成工程が必要であるチーズには *Penicillium* 属菌が、インドネシアのテンペには *Rhizopus* 属菌などが利用されている。これらの糸状菌に共通する特徴は高いプロテアーゼ生産性を有している点であり、発酵中に原料中のタンパク質を分解することにより特徴的な呈味成分を生成している。このような発酵による呈味成分生成の機序が解明されたことにより、現在では安価なアミノ酸系の調味料は様々なタンパク質源を麹菌由来のプロテアーゼで処理することによって調製されており、広く市場に供給されるようになってきている⁵³⁾。一方で、「塩麹」「甘酒」などのように麹を使った昔ながらの製法による調味料や食品の加工も見直されてきている。

一方、きのこ類もプロテアーゼを生産することが知られており、きのこ類の発酵能を発酵食品製造に応用する研究も数多く報告されている^{52, 53, 54, 55, 56, 57, 58)}。しかし、きのこ類は麹菌などと比べると生育速度が遅く、水分含量が高いため、従来のような発酵工程では食品を加工することが出来ず、実際の発酵食品製造にはほとんど利用されてこなかった。また一方で、きのこ類を用いた発酵食品製造の報告では抗腫瘍活性、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、抗酸化活性といった機能性を呈する成分に着目する場合はほとんどであり、そういった機能性を従来が発酵食品、すなわち味噌、醤油、酒類などに付与するといった視点からの検討が多くを占めているのが現状である。しかし、きのこ類にはグルタミン酸やアラニンといった呈味性のアミノ酸と、核酸系のうまみ成分であるグアニル酸 (GMP) を同時に含むことから、昆布とカツオの合せ出汁に相当する強い旨味を呈することが知られており、きのこを発酵のためのツールとして用いることにより、きのこ由来のプロテアーゼによるタンパク質分解によって、きのこが本来持つ旨味と併せ持った特徴的な調味料の開発が可能であると予想される。きのこ類の酸性プロテアーゼは基質特異性の高いものが多く、

この点で、特異的アミノ酸の生成による味の改善と新たな健康機能性の付与が期待される^{59, 60, 61, 62, 63)}。

清酒とは、「米、米麴、水を原料として発酵させて、濾したもので、アルコール分が 22 度未満のもの」と定義されており、清酒の製造に用いられる麴菌、清酒酵母、米は、それぞれが酒の味や香りを決めるために重要な役割を担うと考えられている。この中でも麴菌は原料米のデンプンを糖化するとともにタンパク質を遊離アミノ酸 (FAN) に分解する役割を担っており、清酒製造における中核的な役割を担っている。清酒酵母は麴菌が生成した FAN を栄養分として生育し、その際デンプンから生成する糖をアルコールへ変換すると共に、香り成分の生成にも寄与するとされている。一般的に、清酒の味としては、長らく端麗辛口、すなわちアルコール度が高く、味成分が少ないものが好まれる傾向が強かったため、清酒用の麴にはタンパク質分解活性の比較的低い菌株が用いられてきた。しかし近年は、アミノ酸含量が高く旨味成分が豊富なものも、料理酒や特徴のある製品として一定の需要が見込まれるようになってきている。こういった呈味特性を有する清酒を製造するためには、原料としてプロテアーゼ活性が強く、アミノ酸生成能力の高い麴菌株を使用するなど、従来とは異なる方法論で醸造をデザインできる可能性がある。すなわち、特徴的なアミノ酸を豊富に含む清酒を醸造するケースにおいては、発酵麴中のタンパク質分解酵素の供給源としてきのこを利用できる可能性が考えられる。

そこで本研究では、アミノ酸を主体とする旨味成分含量が高い清酒の醸造法を検討するための予備的な知見を得るため、米のタンパク質を種々のタンパク質分解酵素 (酵素剤および食用きのこプロテアーゼ) を用いて分解し、生成するアミノ酸組成の違いについて検討を行った。

第 2 節 材料と方法

1) 実験材料

2018 年～2019 年に奈良市内のスーパーマーケットで購入した市販のシイタケ (*Lentinula edodes*、奈良県産)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*、長野県産)、マイタケ (*Grifora frondosa*、新潟県産) を材料として使用した。いずれのきのこも水分含量は 92～93%であった。仕込み用の米は、食用として通常精米 (搗精度 90%) したヒノヒカリ (平成 30 年京都府産) を用いた。米麴は松本酒造において搗精度 50%の山田錦 (兵庫県産) で調製した米麴を用いた。 α -アマラーゼ酵素剤として Fungamy 1800L (Novazyme Japan, 千葉)、プロテアーゼ酵素剤として Flavourzyme 1,000L (Novozyme Japan) を用いた。また、実験に用いた試薬は特級もしくは分析グレードの試薬を用いた。

(1) きのか破碎液の調製

破碎が容易なように菌傘と菌柄を含め 5mm 角に裁断したきの子実体は小分けにして -20°C で使用するまでの間凍結保存した。凍結子実体 5g に対して 4°C の冷水 25mL とともに、氷で冷却した状態でホモジナイザー (Ace ホモジナイザー：日本精機製) を用いて十分に破碎を行って (3,000 回転、2 分 x 2 回) きのか破碎液とした。

(2) 酵素活性の測定

各きのかの酵素活性の測定には、上記のきのか破碎液を遠心分離 (4°C 、15,000 x g、30 分) し、得られた上清に 20mM となるようにリン酸緩衝液 (pH6.0) を加え酵素液とした。米麴の活性測定は、麴 5g を 25mL のリン酸緩衝液 (4°C 、20mM、pH6.0) に懸濁した後、ブレンダーにて冷却下でホモジナイズしたものを遠心分離 (4°C 、15,000 x g、30 分) し、得られた上清を用いた。

アミラーゼ活性は、1.5%デンプン溶液 (20mM となるようにリン酸緩衝液で調製；pH6.0) 250 μL と酵素液 50 μL を混合して 37°C で 30 分反応後、生成した還元糖量を DNS 法にて測定し、1 分間に 1 μmol の還元糖を生成する酵素量を 1 ユニット (U) と定義した。

プロテアーゼ活性は、100mM リン酸緩衝液 (pH6.0) を用いて調製した 1.33% ハマルステインシ氏カゼイン溶液 1.5mL、酵素液 0.5mL を混合し、 37°C で 30 分間反応した後、0.44M トリクロロ酢酸溶液 2mL を加え、反応を停止させた。生じた沈殿を 37°C 、20 分間静置した後、濾別し、得られた濾別 1.0mL に 0.44M Na_2CO_3 溶液 5.0mL と蒸留水で 2 倍希釈したフェノール試薬 (和光純薬) 1.0mL を加えて攪拌し、 37°C 、20 分間反応させた後、660nm の吸光度を測定した。測定値より有利のチロシン量を算出し、1 分間に 1 μg のチロシンを遊離する酵素量を 1 U と定義した。

(3) 仕込み

仕込みに用いる蒸米の調製は以下の工程で行った。ボウルに米を入れ、米重量の 2 倍量の水 (15°C) を加えて 20 秒かき混ぜる。その後水を捨て、米をザルにあげる。この操作を 5 回繰り返した後、米重量の 3 倍の水 (15°C) に 3 時間浸漬した。水切りした米はフードスチーマー (Twinbird 製) を用いて 50 分間スチーム調理し、蒸米とした。出来上がった蒸米は 30°C まで冷却した後、仕込みを行った。各仕込みにおいて醪は 50mL 容の密閉できるプラスチック製のボトルで調製した。仕込みの配合は麴仕込み (蒸米 10g に対して米麴 5g、蒸留水 25mL) を基準とし、きのかを用いた仕込みの際は、米麴 5g、蒸留水 25mL の代わりにきのか破碎液 30g を用いて醪を調製した。時折、攪拌しながら 30°C で 48 時間保温した後、目視による状態の確認を行うとともに、醪中の遊離アミノ酸量およびアミノ酸組成の分析に供した。

4) アミノ酸の分析

醪に 250mL の蒸留水を加えてホモジナイザーで十分に均質化した試料を遠心分離 (3,000 x g、5 分) して得られた上清を分析用の試料とした。遊離アミノ酸量はニンヒドリン法⁶⁴⁾によって測定した。試料中の遊離アミノ酸組成は、EZ-Faast アミノ酸 GC/FID 分析キット (Phenomenex) を用いて定量分析を行った。

(4) 機器分析

紫外-可視吸収 (UV-VIS) スペクトルは島津 UV1600 で測定した。

第 3 節 結果および考察

1) 各仕込み液中の酵素活性

表 5-1 に本研究で用いた試料の酵素活性を示した。基準となる麴による仕込みに用いた麴破砕液のアミラーゼ活性、プロテアーゼ活性はそれぞれ 5.80U/mL、1.88U/mL であったことにより、麴仕込みの場合、仕込んだ醪中にアミラーゼ活性が約 150U、プロテアーゼ活性が約 50U 存在することになる。

表 5-1 麴ときのこのアミラーゼとプロテアーゼ活性*

	酵素活性 (U/ml)**	
	アミラーゼ	プロテアーゼ
米麴 (山田錦 50%)	5.799	1.88
マイタケ (<i>G. frondosa</i>)	trace***	13.80
シイタケ (<i>L. edodes</i>)	trace	5.70
エノキタケ (<i>F. velutipes</i>)	trace	1.15

*各酵素活性は実験材料と方法の部分に示した方法で測定した。

**酵素活性の数値は有意差 5%以内で示した。

***trace activity

きのこ類においては、いずれのきのこ破砕液においても、ほとんどアミラーゼ活性は認められなかった。プロテアーゼ活性はきのこの種類によって大きな違いが見られ、エノキタケで 1.15U/mL と麴破砕液よりも低い結果となったが、マイタケの活性は 13.80U/mL と麴の約 7.3 倍、シイタケの活性は 5.70U/mL と麴の

約3倍であった。

これらの結果より、きのこ破碎液を用いて仕込んだ醪中には、それぞれマイタケで400U、シイタケで170U、エノキタケで35U程度のプロテアーゼ活性が存在することになり、きのこのプロテアーゼ活性を用いた遊離アミノ酸生成が可能であると予想される。

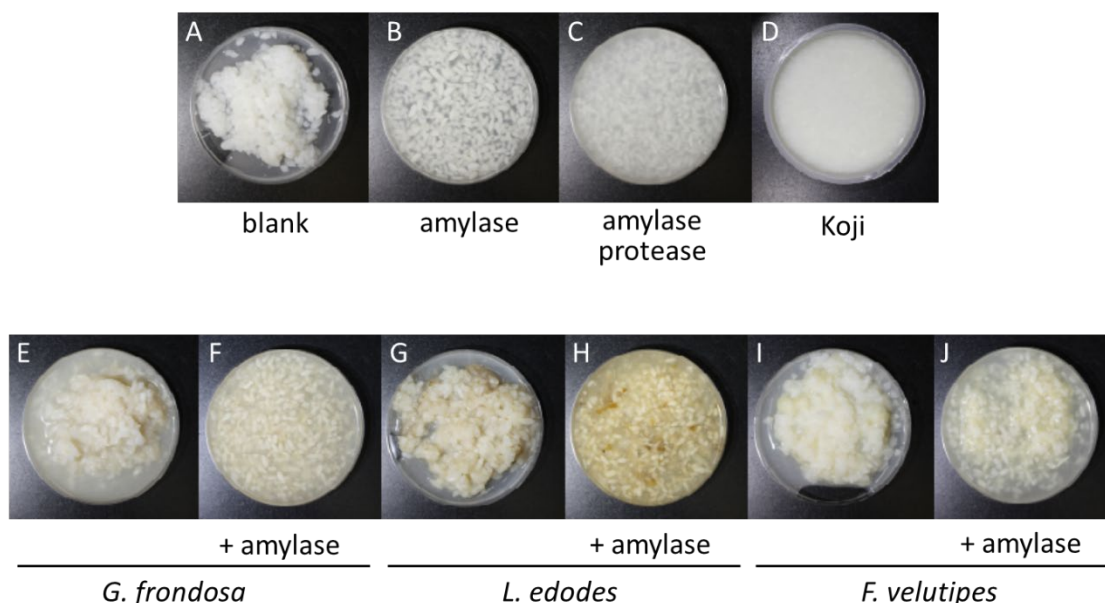


図5-1 醪の状態

全ての醪は蒸米5gと蒸留水の25mlを含んでいる。他の成分は下記の通りである。A:無添加区、B:Fangmyl 800L 150U、C:Fangmyl 800L 150UとFlavoenzyme 50U、D:5gの麴、E:5gのマイタケ粉末、F:5gのマイタケ粉末とFangmyl 800L 150U、G:5gのシイタケ粉末、H:5gのシイタケ粉末とFangmyl 800L 150U、I:5gのエノキタケ粉末、J:5gのエノキタケ粉末とFangmyl 800L 150U、すべての添加物は容器で混合し、シールをしたのち、30℃、48時間処理した。

2) 醪の液化に対する酵素活性の影響

図5-1にそれぞれの醪を30℃、48時間処理した結果を示した。麴を用いた仕込みにおいては、48時間で醪はほぼ完全に液化され、蒸米の粒はほとんど確認できなくなっていた(図5-1D)が、酵素処理したものについては、液化は確認されたものの麴仕込みに比べて蒸米の粒が目立つ結果となったが(図5-1B,C)、アミラーゼ(150U/仕込)とプロテアーゼ(50U/仕込)を共に用いた醪(図5-1C)

よりも蒸米の粒がはっきりと観察された。蒸米中の胚乳組織の構造は、蒸きようにより再組織化することが知られており、胚乳細胞は貯蔵タンパク顆粒、いわゆるプロテインボデー (PB) によってパッキングされている状態にある⁶⁵⁾。そのため、プロテアーゼを併用することにより胚乳細胞の分解が進み、醪の液化がより進んだと予想される。しかし、プロテアーゼ・アミラーゼ仕込み (図 5-1C) には麴仕込みとほぼ同等量のアミラーゼが添加されているにもかかわらず、麴仕込みと比較して蒸米の粒が多く認められた。蒸米中の胚乳細胞の細胞壁には上述の PB 以外に、アラビノキシランやキシログルカンなどのヘミセルロースやペクチンが含まれており⁶⁶⁾、麴にはこれらを分解するための多種多様な酵素が含まれていると考えられるため、そういった酵素の有無が蒸米の溶解の差として観察されたと考えられる⁶⁷⁾。

一方、きのこ破碎液を用いた仕込みでは蒸米と水のみで仕込んだ醪 (図 5-1A) に比べてマイタケ (図 5-1E) でわずかに液分が多いことが確認できたものの、醪の液化は、ほとんどできていなかった (図 5-1E, 5-1G, 5-1I)。このような結果は、きのこ破碎液にアミラーゼ活性がほとんどないことと一致する。きのこ破碎液を用いた処理の際に、酏 (酒母) を液化するためにアミラーゼ酵素剤を醪に添加したところ、アミラーゼを添加しない仕込みに比べ明らかな醪の液化が確認できた (図 5-1F, 5-1H, 5-1J)。液化の程度は、アミラーゼによる酵素処理を行った醪 (図 5-1-B) よりも進んでおり、アミラーゼ・プロテアーゼを併用した醪 (図 5-1C) と同等であった。この結果は、きのこのプロテアーゼが、アミラーゼ酵素剤と相乗的に作用したことにより、蒸米の液化を促進したことを示唆している。

3) 醪中の遊離アミノ酸量とアミノ酸組成

水と蒸米のみを混ぜた醪 (ブランク) の場合、48 時間後でも蒸米はほとんど液化されておらず (図 5-1A), 遊離アミノ酸もボトル当り 6.9 mg とほとんど検出されなかった (表 5-2)。図 5-1B に示されるようにアミラーゼにより醪を処理することにより醪の液化は認められたが、遊離アミノ酸は 12.7 mg とブランクと比較してほとんど増加しなかった。一般に、食品加工用に用いられる酵素剤には主活性 (今回アミラーゼ酵素剤として用いた Fungamy1800L の場合はエンド型アミラーゼ) 以外に他の酵素活性が混在していることが多いが、今回用いたアミラーゼ酵素剤 Fungamy1 800L にはプロテアーゼ活性がほとんど混入していないことが予備的な検討から明らかになっている (仕込当り 1U 未満)。よって、今回の仕込みでは Fungamy1 800L 由来のプロテアーゼ活性混入の影響は非常に小さいと考えられる、そのため、 α -アミラーゼの作用により醪の液化は進むものの米タンパク質の分解はほとんど進まず、アミノ酸はほとんど遊離しなかったと考えられる。一方、アミラーゼとプロテアーゼを併用することにより遊離アミノ酸も 117.9 mg と大幅に増加していた (表 5-2)。これらの結果により、蒸米タンパク質からのプロテアーゼによるアミノ酸遊離に対して、アミラーゼによる醪の液化は相乗的に働くことが確認された。また、同程度の酵素活性を

示す麴を用いた醪の遊離アミノ酸量は224 mgであり、アミラーゼ+プロテアーゼの約2倍と高い値を示しているが、これは米麴にもタンパク質の分解により生成した

表5-2 醪中の遊離アミノ酸含有量

実験区	遊離アミノ酸 (mg/容器)
対照区	6.9
アミラーゼ*	12.7
アミラーゼ+プロテアーゼ**	117.9
麴	224.1
マイタケ	40.7
マイタケ+米	100.2
マイタケ+米+アミラーゼ*	121.1
シイタケ	66.9
シイタケ+米	86.5
シイタケ+米+アミラーゼ*	116.8
エノキタケ	72.0
エノキタケ+米	87.1
エノキタケ+米+アミラーゼ*	116.8

各値は実験3回の平均値で、標準偏差8%以内である。

*アミラーゼには、Fangamyl 800 を添加した。

**プロテアーゼとして、Flavourzyme 1000L を添加した。

遊離アミノ酸が含まれており、これが加算されたことを示唆している。

一方、きのこ破砕液を用いた仕込みにおいては、きのこ破砕液と蒸米から成る醪（酵素剤なし）では、図5-1E, 5-1G, 5-1I に示したようにいずれのきのこでもわずかに醪が液化する傾向がみられたが、そのなかでシイタケ、エノキタケに比べ液化の程度が強かったマイタケでボトルあたりの遊離アミノ酸量が40.7 mgから100.2 mg (59.5 mg増) に、シイタケで66.9 mgから86.5 mg (19.6 mg増) に、エノキタケで72.0 mgから87.1 mg (15.1 mg増) へと増加が認められた。これらの結果により、きのこ由来のプロテアーゼが作用して遊離アミノ酸が生成していることが示唆され、その生成量は醪中のプロテアーゼ活性と関連していることが示唆された。きのこ破砕液のプロテアーゼ活性は表5-1 に示されているように、最も低いエノキタケにおいても麴処理の6割程度の活性はあった

ため、これらの活性によりアミノ酸が生成したものと考えられる。特にマイタケにおいては、きのこ破砕液のみで蒸米を処理した条件でのアミノ酸量の増加が顕著であり、このことは、マイタケのプロテアーゼ活性が麴仕込みの約 7.3 倍と高いためであると考えられた。

一方、アミラーゼによる醪の液化がプロテアーゼによる遊離アミノ酸生成を促進する可能性が示唆されているため、きのこ破砕液を用いた処理の際にアミラーゼ酵素剤を併用し、醪を液化させることによる影響を検討した。その結果、アミラーゼ酵素剤の添加によって、すべての醪で遊離アミノ酸量の増加が認められた。以上の結果より、ある程度プロテアーゼ活性が処理の間に醪中に存在すれば、蒸米から遊離アミノ酸を生成できることが明らかとなり、プロテアーゼの供給源としてきのこ子実体の酵素が利用できる可能性が示唆された。

今回の仕込みでは一つの仕込み（醪）に蒸米 10 g を用いているため、仕込みあたり 250 mg 程度のタンパク質が蒸米由来のタンパク質として含まれている。また、酵素源として米麴を用いた場合は、米麴由来のタンパク質とあわせて 500 mg 程度が醪中に含まれていることになる。しかし、いずれの醪でも、アミラーゼとプロテアーゼを共に用いた場合で 120 mg 程度、米麴を用いた場合で 220 mg 程度の遊離アミノ酸しか検出されていない（表 5-2）。きのこ破砕液を用いた仕込みでも同様に、食品成分表に記載の数値から算出されるタンパク質量から予想される遊離アミノ酸量よりも低い値にとどまっている。これらの差は、成分表のタンパク質含量は全窒素の定量値から粗タンパク質として換算した量であり、ニンヒドリン法を用いてロイシン換算で算出した本研究の結果と単純に比較することはできない。また、速醸醗においては、米タンパク質は米麴の酸性プロテアーゼによって分子量 300~600 のペプチドには分解されるものの、遊離アミノ酸はほとんど生成していないと報告されている⁶⁸⁾。よって、今回の結果において麴および *Aspergillus oryzae* 由来のプロテアーゼ酵素剤である Flavourzyme 1000L⁶⁹⁾ で処理した醪で、遊離アミノ酸量が予想よりも少なかったのは、麴のタンパク質分解特性によるところが原因であると示唆された。

きのこ破砕液を用いて仕込んだ醪についても、原料となるタンパク質が 400 mg 程度（米由来約 250 mg、きのこ由来約 150 mg）存在するにもかかわらず、最終的にマイタケで 121 mg、シイタケ、エノキタケで 117 mg と低い遊離アミノ酸量となった。

きのこのプロテアーゼに関しては、きのこの栄養摂取や子実体形成との関連からいくつかの酵素で精製されているが、多くがエンド型のプロテアーゼであり^{70, 71, 72)}、エンド型のプロテアーゼでは前述の麴由来のプロテアーゼと同様に、タンパク質を遊離アミノ酸までは分解できない。

さらに、麴には活性はさほど強くないものの複数のエキソ型ペプチダーゼの存在が明らかにされているが⁶⁹⁾、きのこ子実体にエキソ型ペプチダーゼ活性についての報告はほとんどなく、きのこ破砕液はペプチドを分解する活性は低いことが予想される。

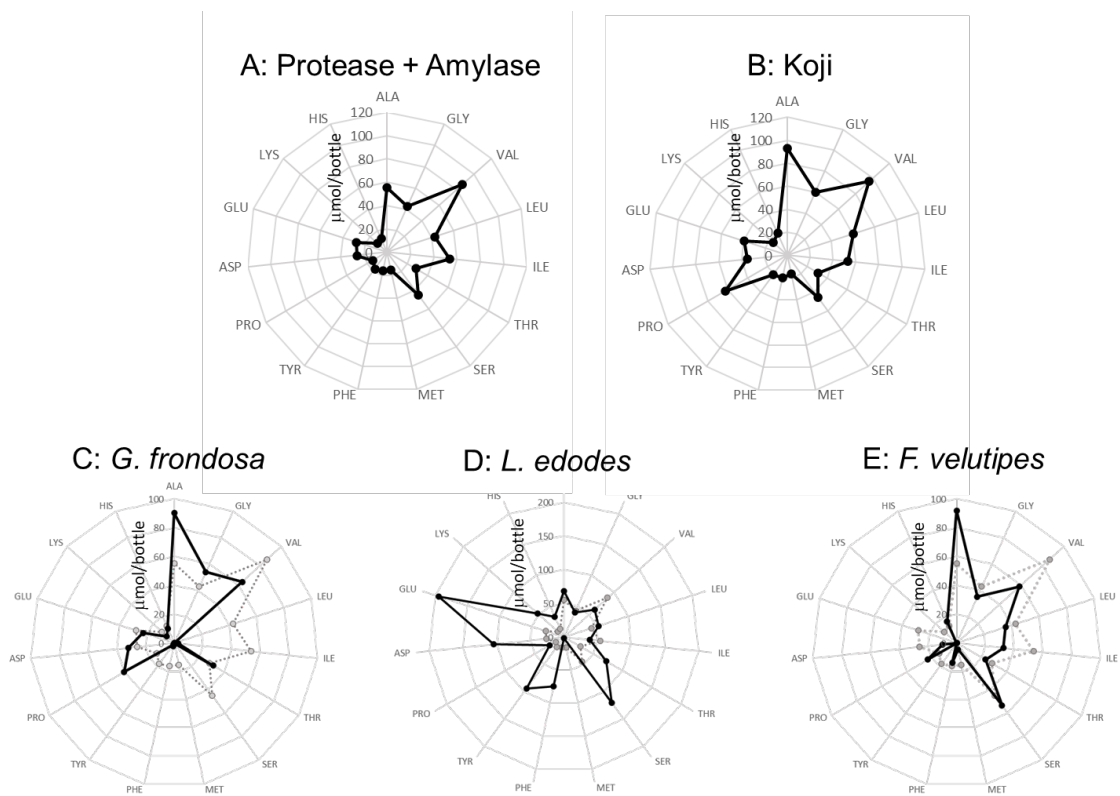


図 5-2 麹のアミノ酸組成

全ての麹は下記のように処理した。A: Fangmyl 800L 150U, B: 5g の麴, C: 5g のマイタケ粉末と Fangmyl 800L 150U, D: 5g のシイタケ粉末と Fangmyl 800L 150U, E: 5g のエノキタケ粉末と Fangmyl 800L 150U、全ての麹試料は、30℃で 48 時間処理した。

図 5-2 に各仕込みでのアミノ酸組成のパターンを示した。麴および酵素剤処理に関しては、共に *Aspergillus oryzae* 由来の酵素による処理であるため、レーダーチャートの形は似ているが、遊離アミノ酸量、特にアラニン、プロリンが麴仕込みで多いことがわかる。このことは麴に Flavourzyme 1000L には含まれない種類のエクソ型ペプチダーゼが含まれていることを示唆している。同様に、きのこ破砕液を用いた仕込みについては、いずれのきのこ破砕液で仕込んだ麹においてもプロテアーゼ・アミラーゼ仕込みに比較して、かなり異なる組成となっていることが明らかとなった。これらの組成は 37℃、48 時間処理後のきのこ破砕液中の遊離アミノ酸組成とも異なっており、きのこの酵素による米タンパク質の分解によって遊離アミノ酸が増加したことを示唆している。特に、シイタケで仕込んだ麹では、表 5-1 の遊離アミノ酸量の増加から予想されるよりも多くの遊離アミノ酸が検出され、特にグルタミン酸、セリンといった旨味に関与するといわれているアミノ酸の顕著な増加が認められた。シイタケ破砕

液のみを 48 時間処理したものと比べても、シイタケ破碎液を用いた醪中のグルタミン酸含量は顕著に増加しているため、蒸米とシイタケ破碎液の組み合わせで特徴的な反応がおこっていると考えられる。シイタケの特徴的な香気であるレンチオニンの生成に関与する γ -グルタミルトランスフェラーゼ(γ -GGT)は γ -グルタミルペプチドからグルタミン酸を切り出す酵素であるが、他の食用きのこと比較してシイタケで特に強いことが報告されている⁷³⁾。米タンパク質の加熱処理によりタンパク質の構造にどのような変化が引き起こされるかは不明であるが、米タンパク質の加熱変性とシイタケプロテアーゼによる変性タンパク質の低分子化の過程で γ -グルタミルペプチドが生じ、生じた γ -グルタミルペプチドに γ -GGT が作用してグルタミン酸の含量が顕著に増加した可能性も考えられる。いずれにしろこれらの結果により、呈味性のアミノ酸を強化する目的にはシイタケ子実体を用いて醪を仕込むことが有効であることが示唆された。今後は、本研究の実験スケールを大きくして同様の結果が得られるか検証するとともに、シイタケ子実体酵素による米タンパク質からのグルタミン酸生成機構についても明らかにする必要がある。

第 2 項 液化仕込み醪のアミノ酸組成に及ぼすきのこ子実体由来プロテアーゼの影響

第 1 節 緒言

清酒の醸造工程においては、蒸米に仕込み水と麴を加えて調製した醪に対して 3 回に分けて蒸米、麴、仕込み水を加える「三段仕込み」が一般的であるが、それぞれの仕込みを行った直後は醪の流動性が悪いことが知られており、このことが製造工程において品質管理を難しくしている要因の一つであるとされている。この点を改良するために発案された「液化仕込法」は、掛米に用いる白米を食品加工用の酵素を用いて仕込み前に液化処理を施してから仕込みを行う方法で、醪の流動性を仕込み直後から良い状態に保つことが出来、発酵管理が容易になるとともに仕込みに用いる麴の使用量も削減できるなどのメリットもあるなどの理由から近年広がりを見せている。

液化仕込みに利用される食品加工用酵素としては、 α -アミラーゼと酸性プロテアーゼを用いることが多い。ここで用いる α -アミラーゼ酵素剤は、麴菌由来の酵素と異なり至適温度が 80°C を超える耐熱性の酵素が用いられ、主に米デンプンを低分子化し、醪を液化する役割を担っている。掛米の液化処理は十分に

吸水させた掛米に仕込み水と酵素を添加し、醪を高温（70℃以上）で処理することにより可能である⁷⁴⁾。この工程においてプロテアーゼの役割は米のデンプンとマトリックスを形成しているタンパク質を分解することであるとされており、米でんぷんの分解効率を上げるためには必要とされている。一方で高温での液化処理時において添加したプロテアーゼは比較的早い時期に失活してしまい、液化後の醪中ではタンパク質分解には関与しないと考えられる。

前報において、我々は料理酒や特徴のある製品として近年需要が見込まれるようになってきているアミノ酸含量が高く旨味成分が豊富な清酒を製造するための手法を検討する中で、食用きのこ子実体が有するタンパク質分解酵素活性を利用して醪を仕込むことにより、特徴的なアミノ酸組成を示す発酵液を調製できる可能性を示した⁷⁵⁾。きのこ子実体を用いた仕込みにおいてはそれぞれの食用きのこの遊離アミノ酸に加え、各きのこ子実体中に存在する酵素活性により醪中に存在するタンパク質が分解されて遊離アミノ酸が生成しており、仕込みに用いたきのこ毎に特徴的なアミノ酸組成を示すことが明らかとなった。しかし一方で、きのこ子実体を水とともに破碎し、蒸米とともに仕込むという工程は、小規模な仕込みや酀の調製は可能であるが、大規模な仕込みを行うとなると、きのこを破碎する工程などが問題となってくることが予想され、スケールアップのためには仕込み工程の改良が必要であると考えられた。

本報では、前報に続き旨味成分である遊離アミノ酸含量が高い清酒の醸造法を確立するための検討において、スケールアップを行う際の改良点についての予備的な知見を得るため、醪の仕込みを液化仕込みにて行い、用いるプロテアーゼ酵素剤として凍結乾燥子実体を粉末化して添加することのできのこの酵素を使用して液化仕込みが可能であるかについて検討を行った。

第2節 材料と方法

1. 実験材料

2020年に奈良市内のスーパーマーケットで購入した市販のシイタケ (*Lentinula edodes*, 奈良県産)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*, 長野県産)、マイタケ (*Grifora frondosa*, 新潟県産)を材料として使用した。仕込み用の米は、令和1年福岡産ユメハルカを78%搗精したものをを用いた。α-アミラーゼ酵素剤として Kleistase T10S (2160 U/g, 天野エンザイム, 愛知)、プロテアーゼ酵素剤として ProteAX (1590 U/g, 天野エンザイム) をを用いた。また、実験に用いた試薬は特級もしくは分析グレードの試薬を用いた。

2. きんこ凍結乾燥粉末の調製

購入したきのこは菌傘と菌柄を含めシイタケは5 mm 角のブロック状に、マイ

タケとエノキタケは長さ 1 cm 程度となるように切断し、-20℃で凍結したのち凍結乾燥を行った。凍結乾燥子実体はミキサーで粉末にし、密閉できる食品用の保存容器に入れ-20℃で使用するまで保存した。

3. 仕込み

液化仕込みに用いる米は、2 倍量の水に 4 時間浸漬させ十分に吸水させた後に水を切り実験に用いた。醪は 50 mL 容の密閉できるプラスチック製のボトルで調製した。米(吸水後) 10 g に対して蒸留水 13 mL と液化用のアミラーゼ(Kleistase T10S) を 30 μ l (60 U 相当) 添加し、密閉の後 80℃, 30 分処理することで液化処理を施した。液化処理を施した醪を室温まで冷却した後、各種の条件で 20 時間処理した醪の状態を目視により確認するとともに、醪中の遊離アミノ酸量およびアミノ酸組成の分析に供した。

4. アミノ酸の分析

ホモジナイザーで十分に均質化した試料の醪を遠心分離 (3,000 \times g, 5 分) して得られた上清を分析用の試料とした。遊離アミノ酸量はニンヒドリン法⁷⁶⁾によって測定しロイシン等量として算出した。試料中の遊離アミノ酸組成は、EZ-Faast アミノ酸 GC/FID 分析キット (島津 GLC, 京都) を用いて分析を行った。

5. 機器分析

紫外-可視吸収 (UV-VIS) スペクトルは島津製作所 (京都) 製 UV1700 で測定した。アミノ酸組成分析は Shimadzu GC-18A (島津製作所) で行い、データ解析はランタイムインスツルメンツ社 (東京) のクロマトデータ取得・解析ソフト ChromatoPro を用いて行った。

第 3 節 結果および考察

1. 各種きのこで処理した醪中の遊離アミノ酸量

図 5-3 に 80℃, 30 分処理を行った直後および各条件で 50℃, 20 時間で処理した後の醪の状態を示した。液化直後の醪では、いずれの条件でも醪は液化されてはいるものの米の粒がはっきりと確認できており、特にきのこ粉末を加え

た醪の流動性はかなり低下することが確認された。一方、50℃、20時間処理後の醪では、プロテアーゼ酵素を入れずに処理した醪の状態は処理前とほぼ同じだったが、プロテアーゼ酵素およびきのこ粉末で処理した醪の流動性はいずれの条件においても処理前に比べてかなり完全したことが確認された。

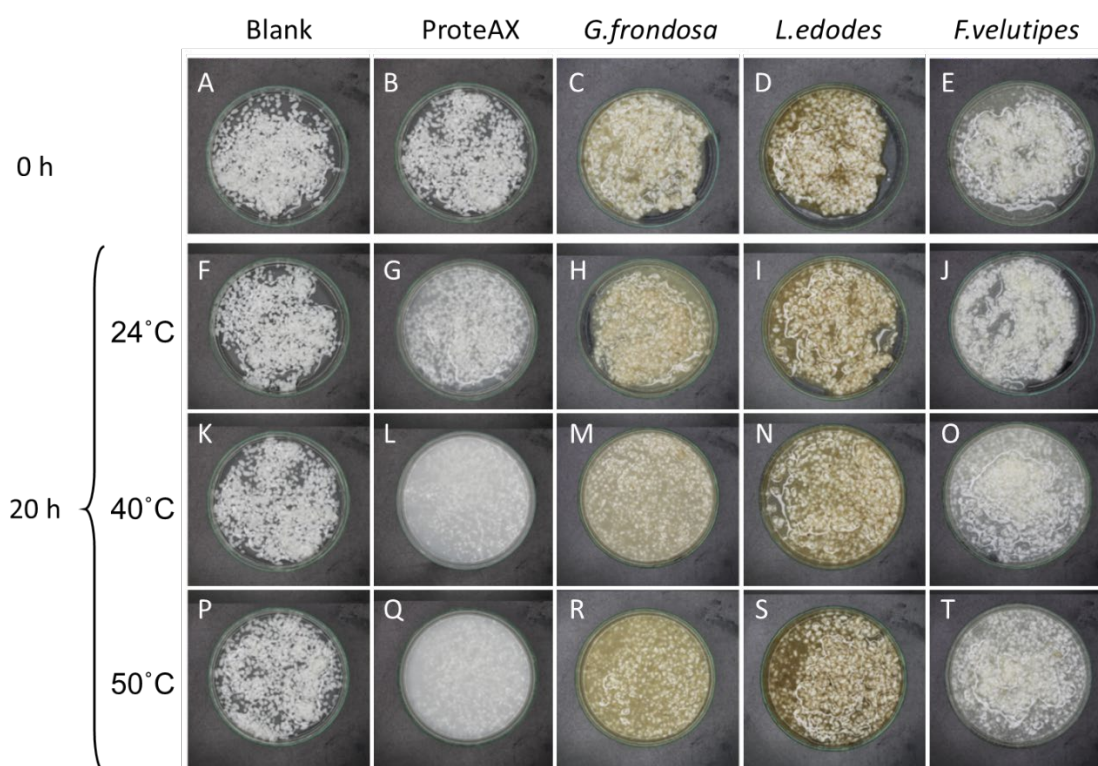


図 5-3 醪の状態

全ての醪試料には、浸漬した 10 g の米と 13ml の蒸留水を入れてある。全ての醪は、Kleistase T10S (60U)で、80℃、30 分間、液状で処理した。醪への他の化合物の添加は以下の通りである。Blank: 無添加、ProteAX: 30U ProteAX、*G. frondosa* :0.5 g のマイタケ粉末、*L.edodes* :0.5 g のシイタケ粉末、*F. velutipes* :0.5 g のエノキタケ粉末。全ての添加物は容器で混合し、密閉し示された温度で指定の時間処理した。

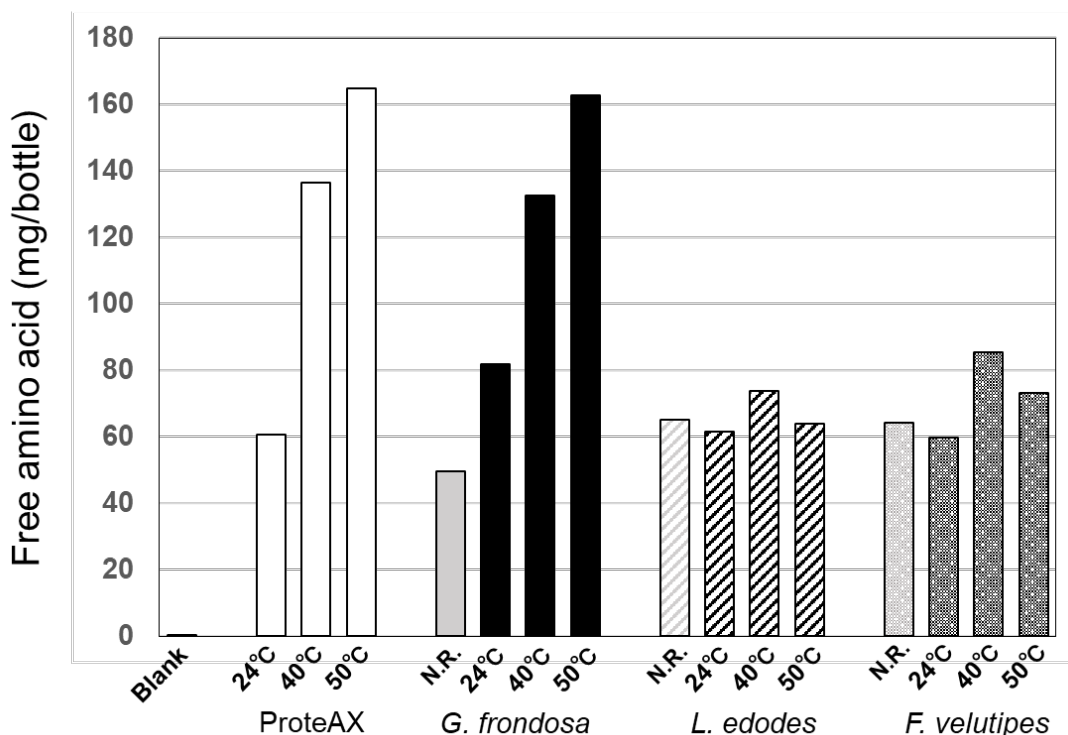


図 5-4 酵素ときのこの粉末の添加で遊離されるアミノ酸に及ぼす処理温度の影響

各々の醪は以下に示すような処理条件で処理された。Blank: 酵素もきのこの粉末もなし、PorteAX: PorteAX 30U, *G. frondosa*: マイタケ粉末 0.5 g, *L. edodes*: シイタケ粉末 0.5 g、*F. velutipes*: えのきたけ粉末 0.5 g、処理温度は図に示した通りである。

図 5-4 に各種きのこを用い 25°C, 40°C, 50°C で処理した醪中の遊離アミノ酸量を示した。blank として測定した液化後プロテアーゼを添加せずに処理したものは遊離アミノ酸はほとんど検出されず、ポジティブコントロールとして検討したプロテアーゼ酵素剤 (20 mg/仕込み) 添加での結果は、処理温度が上昇するにしたがって遊離アミノ酸量の増加が認められた。きのこを用いた処理においてはシイタケ、エノキタケでは 40°C で他の温度よりも高いアミノ酸含量を示したものの、きのこのみのアミノ酸含量と比べていずれの温度でも顕著な変化は認められず、きのこのプロテアーゼの作用によると考えられるアミノ酸の増加はほとんど認められなかった。一方、マイタケではプロテアーゼ酵素剤と同様に温度の上昇に伴うアミノ酸の増加が認められた。

前報⁷⁵⁾において、同じきのこの破碎液を用いて仕込みを行った際には、醪中には、それぞれマイタケで 400 U, シイタケで 170 U, エノキタケで 35 U 程度のプロテアーゼ活性が存在しており、エノキタケ仕込みの約 10 倍のプロテアーゼ活性が存在したにもかかわらず、48 時間後の遊離アミノ酸量に大きな差は認め

られなかった。本研究においても 25°Cで処理した場合の醪あたりの遊離アミノ酸量はマイタケで 82mg, シイタケで 62 mg, エノキタケで 60 mg と大きな差は認められなかった。この結果は処理に用いた醪あたりのきのこ凍結乾燥粉末の量 0.5 g は前報の新鮮子実体 5 g とほぼ同程度の量であることから整合性があり、25°Cの処理ではマイタケ酵素の優位性はほとんどないことが確認された。

マイタケ由来のタンパク質分解酵素が高い温度でも安定であることは、マイタケを用いた食品加工の例⁷⁷⁾や、マイタケからタンパク質分解酵素を単離精製した報告⁷⁸⁾より明らかになっている。なかでも熱安定性が高いことが報告されているのはアミノペプチダーゼであることから、マイタケの結果が 50°Cで最も遊離アミノ酸量が高くなったことと一致する。一方、シイタケ⁷⁹⁾、エノキタケ⁸⁰⁾においては子実体が持つプロテアーゼ活性がマイタケよりも低いためシイタケ、エノキタケによる処理では醪中の遊離アミノ酸量は顕著には増加しないという結果になった。

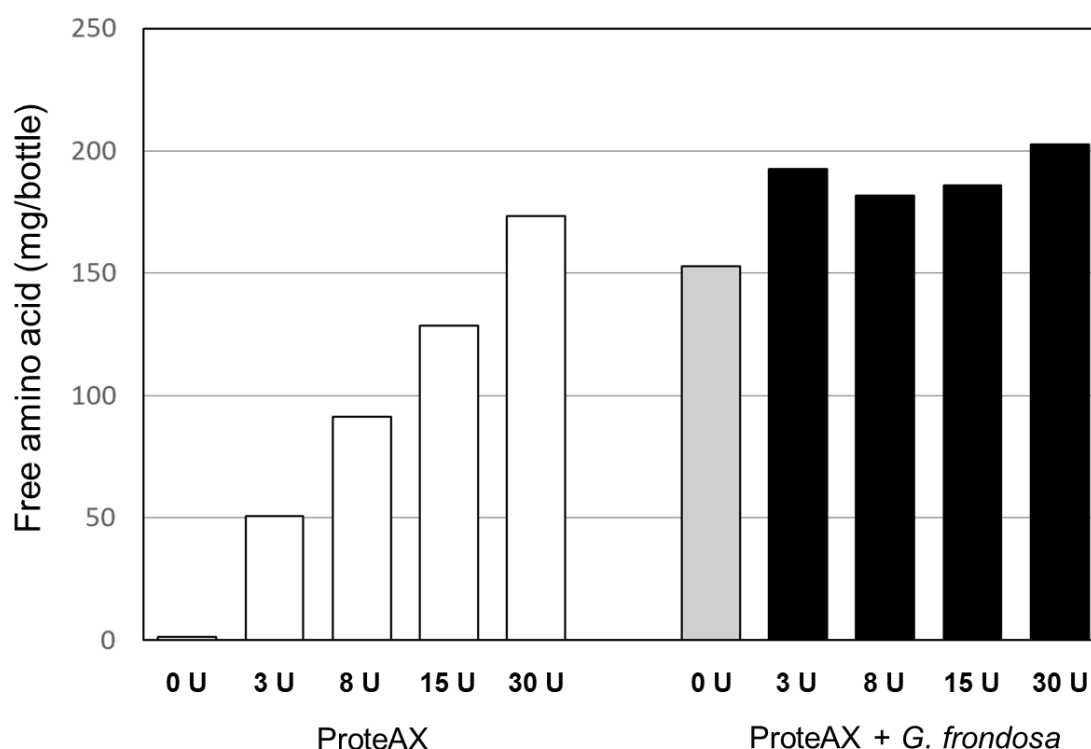


図 5-5 醪の遊離アミノ酸含有量に及ぼす ProteAX の影響

各々の醪は以下に示すような処理条件で処理された。Blank: 酵素もきのこの粉末もなし、PorteAX: PorteAX 30U, *G. frondosa*: マイタケ粉末 0.5 g, *L. edodes*: シイタケ粉末 0.5 g, *F. velutipes*: えのきたけ粉末 0.5 g、処理温度は図に示した通りである。

本研究において米の液化処理に続くきのこ処理において、いずれのきのこで処理した場合でも醪の流動性は改善されていることが確認されており、その効果はプロテアーゼ活性の高いマイタケだけでなく、プロテアーゼ活性がマイタケよりもかなり低いシイタケ、エノキタケでも同様に確認されたことは、醪の液化にはプロテアーゼだけではなく、きのこ子実体に含まれる β -グルカナーゼなどのきのこの細胞壁を分解する酵素なども相乗的に作用している可能性も考えられる。

2. マイタケ酵素とプロテアーゼ酵素剤の併用による効果

前項においてマイタケ子実体の酵素により米のタンパク質を分解できることが明らかとなったが、一般に精白米穀粒は全窒素量から換算して6~7%のタンパク質を含有する（文献：食品成分表）ことから、今回の仕込みでは一つの仕込みに500 mg程度のタンパク質が米由来のタンパク質として含まれている。しかし、処理後の醪においてニンヒドリン法で測定される遊離アミノ酸量はプロテアーゼ酵素剤処理、マイタケ処理ともに約160 mg程度であり、醪中にはアミノ酸まで分解されず低分子のペプチドとして残っている可能性が示唆された。このことは、実際に速醸醗において麹菌の酸性プロテアーゼで米タンパク質を完全にアミノ酸まで分解することはできず、分子量300~600（アミノ酸2個~5個程度）のペプチドが醪中に残存するという報告⁸¹⁾とも一致する。

そこで、恐らく異なる基質分解特性を示すプロテアーゼ酵素剤とマイタケ子実体粉末を併用することによってより分解を促進できる可能性について検討した。図3にそれぞれの条件で処理した醪の結果を示した。プロテアーゼ酵素剤のみで処理した醪では、添加する酵素量が増加するに伴って遊離アミノ酸量の増加が認められた。一方、マイタケ粉末とプロテアーゼ酵素剤を併用した醪においてはプロテアーゼ酵素剤を使用しない醪に比べ遊離アミノ酸量が1~2割程度増加することが認められた。しかし、プロテアーゼ酵素剤の添加量を増加させても顕著なアミノ酸量の増加は認められなかった。これらの結果より、プロテアーゼ酵素剤とマイタケ子実体酵素ではタンパク質、ペプチドの分解位置が異なることが示唆された。

3. 醪中の遊離アミノ酸組成

図5-5の結果において、プロテアーゼ酵素剤ときのこ子実体酵素の併用によっても醪中のアミノ酸量の大幅な増加は認められなかった。そのため、各醪中の主要なアミノ酸組成に違いがあるかを検討した。

プロテアーゼのみにて処理を行った醪（図5-6-I, II）ではプロテアーゼ酵素剤の添加量増加に伴い各アミノ酸の量が増加し、レーダーチャートの形状は似通ったまま大きさが大きくなることが確認され、アミノ酸のパターンに大きな

違いは認められなかった。一方、米を液化処理後マイタケのみで処理した醪では、マイタケ子実体粉末のみ（米なし，図 5-6-III）に比べてレーダーチャート全体が大きくなっており，大幅なアミノ酸量の増加が認められた(図 5-6-IV)。ここで，醪のアミノ酸パターンはプロテアーゼ酵素剤で処理したもの(図 5-6-I, II)とマイタケ子実体粉末で処理したもの(図 5-6-IV, V, VI)では大きく異なっており，プロテアーゼ酵素剤処理では検出されているロイシン，イソロイシン，チロシンなどがマイタケ子実体粉末処理を行った醪ではほとんど検出されなかった。

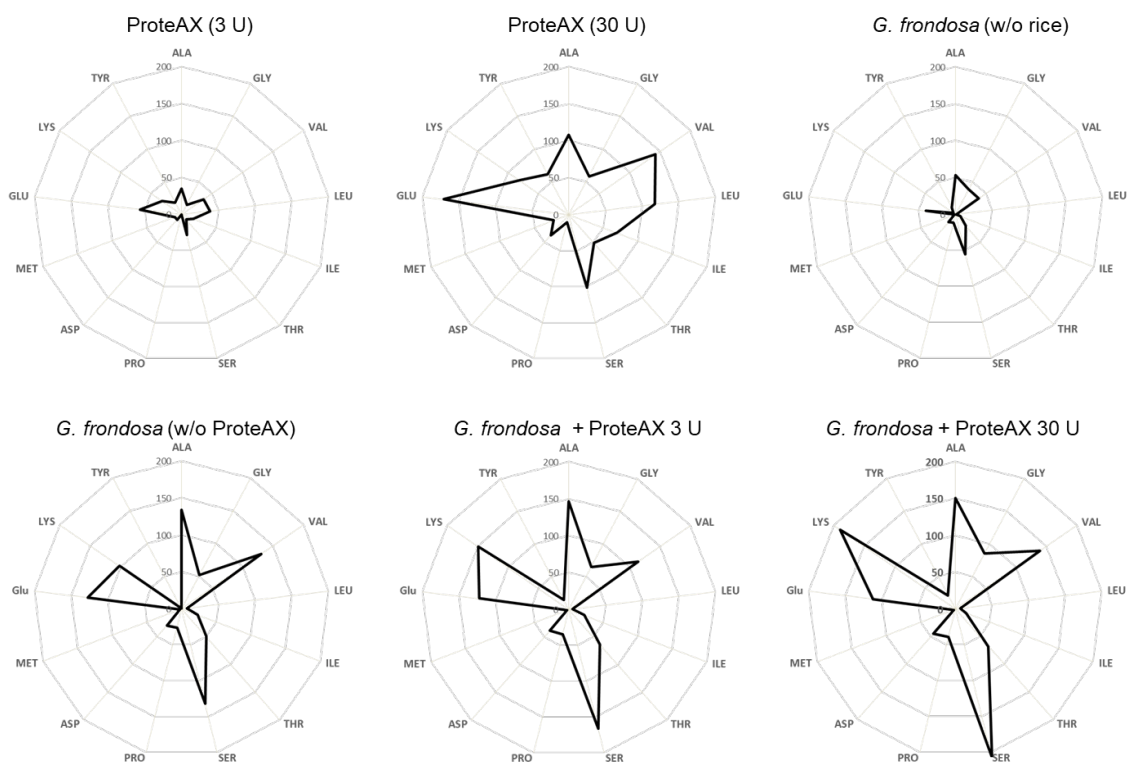


図 5-6 醪のアミノ酸組成

各々の醪試料は、以下のものである。 I:ProteAX 3U, II: ProteAX 30U, III: 0.5 g の米無しのマイタケ粉末、IV: マイタケ粉末 0.5 g、V: マイタケ粉末 0.5 g と 3U の proteAX、VI: マイタケ粉末 0.5 g と 30U の ProteAX、全ての醪試料は 50℃で 20 時間処理した。

一方、マイタケ子実体粉末で処理した醪では，プロテアーゼ酵素剤と併用した際にプロテアーゼ酵素剤の添加量の増加に伴いリジン，セリンの含量が顕著に増加していた(図 5-6-IV, V, VI)。本研究で使用したプロテアーゼ酵素剤(ProteAX)は *Aspergillus oryzae* 由来のペプチダーゼ酵素剤で，小麦粉などのタンパク質を分解してアミノ酸系調味料を調製する用途で利用されている酵素であるが，前報で用いた Novozyme 社の Flavourzyme よりもエンド型のプロテアーゼ活性が高い

ことで知られている。一方、マイタケは食用きのこの中でも飛びぬけてプロテアーゼ活性が高いきのこであり、この強いプロテアーゼ活性を食品加工利用するための検討も数多くおこなわれている⁷⁷⁾。マイタケ子実体に存在する酵素についてはすべての性質が明らかになっているわけではないが、リジン残基を認識して切断するアミノペプチダーゼ⁸²⁾や、ペプチドの苦味除去に利用できる末端のロイシン、フェニルアラニン、バリンなどを除去できるアミノペプチダーゼが存在することが報告されている⁸³⁾。今回の結果において、マイタケ子実体粉末とプロテアーゼ酵素剤を併用した醪において、プロテアーゼ酵素剤の添加量が増加するに伴って総アミノ酸の量は増加しないにもかかわらずリジンとセリンの特異的な増加が認められたのは、マイタケ由来の酵素によりリジン残基が末端にあるペプチドが生成されたものの、マイタケの酵素のみでは末端のリジンを切り出すことが出来ないが、プロテアーゼ酵素剤 (ProteAX) に含まれるペプチダーゼにより末端のリジンが切り出されるというような機序が考えられる。セリンに関しても同様の機序が存在する可能性も考えられ、今後マイタケ由来のプロテアーゼに関し、切断位置の特異性についてより詳細な情報を明らかにすることにより、機序が明らかになると考えられる。

タンパク質中のグルタミン酸残基やリジン残基は加熱等の食品加工の工程において γ -グルタミル架橋やリジノアラニン架橋などの架橋を形成することによって栄養素としての吸収が低下する。特にリジンは制限アミノ酸であり、リジノアラニン架橋形成による実効量の低下は米の栄養価の低下につながる。本研究にてマイタケ子実体酵素を用いることによりプロテアーゼ酵素剤よりもより効率的にリジンを遊離させることが出来ただけでなく、プロテアーゼ酵素剤を併用させることによりさらに効率的にできることが明らかとなった。

前報ではきのこ子実体破碎液を用いて醪を仕込むことにより特徴的なアミノ酸組成の発酵液を調製できる可能性を明らかにした。しかし、実際に醪を仕込むとなると大量の子実体を破碎して仕込むことになるため、小さなスケールでは仕込みが可能であるが、スケールアップは困難であると考えられた。今回検討した液化仕込みの際にマイタケ子実体粉末をプロテアーゼ酵素剤として利用する方法であれば、液化酵素による米の液化後にきのこ子実体の凍結乾燥粉末を添加して行うためスケールアップが可能である点、また処理を高温糖化と同等の50℃付近で行うため微生物汚染も抑制できるメリットがある。マイタケ子実体粉末を用いた仕込みにより、制限アミノ酸であるリジンだけでなく、甘味に関与するアラニン、セリンもプロテアーゼ酵素剤のみを用いた醪よりも多く、味わいの異なる特講的な発酵液を調製できる可能性が示された。

第3項 第5章の研究結果の総括

第1項では、旨味成分の含量が高い清酒の醸造法を検討するための予備的な知見を得るため、米のタンパク質を種々の食用きのこプロテアーゼを用いて分解し、生成するアミノ酸の組成の違いについて検討を行った。きのこ子実体の破碎液を酵素源として用いた仕込みの際では、醪の液化には市販の酵素剤を併用する必要があった。30℃、48時間処理後の醪のアミノ酸組成は、きのこ子実体とも麴による処理のものとも異なる特徴的なものとなった。特にシイタケ子実体を酵素源として用いた仕込みにおいてグルタミン酸などの呈味性アミノ酸の顕著な増加が見られた。

第2項の液化仕込みにて清酒の醪を調製する際に、きのこ子実体粉末を用いて50℃、20時間処理したところ、マイタケを用いることで旨味成分である遊離アミノ酸含量の高い発酵液を調製できた。マイタケ凍結乾燥粉末を用いて醪を処理することによってプロテアーゼ酵素剤で処理した醪とは異なるアミノ酸組成となった。またマイタケ凍結乾燥粉末とプロテアーゼ酵素剤を併用することで醪のリジンとセリンの含量が顕著に増加した。

総合考察

本研究では、多収でありながら玄米蛋白質含量の低い事が知られる中国多収穫米を対象に、現地（中国雲南省）および日本（京都）での米の試験栽培を実施し、玄米収量の確認と生産過程の究明を試みた。また、これら多収米の清酒醸造米への利用の可能性について、玄米および精白米での物理学的・化学的な性質と酒米適性の検討を行った。さらに、これらの米を用いて試験醸造した清酒の特性について調べた。さらに、中国多収米のタンパク質、とくに、酒米適性の観点から、胚乳タンパク質のタンパク顆粒（プロテインボデー、PB）の分析を行った。その結果、多収で低たんぱく含量であった中国多収穫米のうち、酒米として最も可能性の高い性質を示した「楚梗9号」が酒米としては不向きなPBIIの比率が極めて高いことが明らかになった。PBIIのタンパク顆粒は、醸造中に遊離アミノ酸分解される性質が強く、雑味のある酒質になることが知られている。そこで、研究の矛先を、アミノ酸を豊富に含んだこれまでにない純米醸造料理酒の試験・実用化へと進めた。加えて、清酒の味覚の改変と改善を目的に、食用きのこ子実体のプロテアーゼの利用について検討した。この検討で、食用きのこ起源のプロテアーゼによると思われる著しいアミノ酸組成の変化が観察された。この事実は、起源の異なるプロテアーゼによって、アミノ酸組成を大きく変えることの可能性が示唆された。

筆者は、永年清酒醸造業に従事している中で抱き続けてきた課題の背景には次のようなことがあった。

酒造用原料米は一般食用米に比べて収量が低い。酒造好適米の多くは、長稈であるなど多収を阻む生態的特性があり、栽培が困難であることは否めないが、窒素吸収量の増大にともなう原料米の酒造適性の低下を避けるため、目標収量を品種の収量生産力よりもかなり低い水準に置いているためである。酒造家の中には、多収米の中に酒造適性を見出すこと自体、そもそも無理だとする雰囲気もあり、多収米に対するある種の拒否反応によって収量の抑制を余儀なくされている生産地域もある。しかし、筆者の経験では、玄米収量 600gm^{-2} を越える酒造好適米、五百万石を原料米としても、同じ品種で 400gm^{-2} 以下の低収量米を原料米とした場合よりもむしろ高品質の清酒ができることは事実であり、収量と原料米の酒造適性にみられる負の相関関係について未だ疑問を拭ききれていない。

本研究では、従来、酒造家には関心がやや乏しかったイネの栽培分野に踏み込み、楡雑29号、楚梗9号による著しい多収事例を解析することによって多収でしかも低蛋白米ができる過程を究明しようとした。

多収米の酒米への適用については、まず、第1章で取り上げた楡雑29号、楚梗9号の酒米特性を明らかにし（第2章）、次いで、その特性に対応する「造り」について検討した。本検討では、これまで、あまり明らかにされていない米の胚乳タンパク質の分析を楚梗9号を中心に行い、SDS-PAGE分析の結果から、中国多収穫米のタンパク質が、低タンパク質含量であったにもかかわらず、プロテインボデー（PB）IIの比率が高く、その点で酒米としては相応しくない一面が露呈した（第3章）。ただ、その他収穫である楚梗9号を用いて造った清酒は、

国産米の日本晴れより優れた酒米適性を示した。これらの、総括は第3章で行った。その結果がアミノ酸度の高い料理酒「厨酒」の開発であった(第4章)。

中国の多収穫米について、中国雲南省の白族自治州賓川県, 玉溪市鄭井および玉溪市高倉郷の3地点でイネの収穫実証試験を行った。そのうち、賓川県の楡雑29号, 楚粳9号の玄米収量(それぞれ $1,278\sim 1,498\text{gm}^{-2}$, $1,121\sim 1,150\text{gm}^{-2}$)は日本の多収記録(1056gm^{-2})を越える著しい多収であった。楚粳9号は京都においても 700gm^{-2} 以上で日本晴れよりも多収であった。多収米の酒造適性を検討するに当たって十分すぎる収量であるが、記録的な収量という点で作物学的な視点からも大きな意味があると考えられる。楡雑29号, 楚粳9号の玄米粗蛋白質含量はそれぞれ7.51%, 7.2%で、玄米収量が約 600gm^{-2} の日本晴れよりも低く、約 500gm^{-2} の山田錦, 祝と大差なかった。いずれも酒造に適するとされる範囲内である。

多収米(楡雑29号, 楚粳9号, 合系24号)の酒米特性を日本晴, 山田錦, 祝を比較品種として検討したところ, 玄米千粒重, 20分吸水率の2項目については中国の3品種の全てが日本の酒造好適米品種に比べて明らかに劣っているが, 白米粗蛋白質含量, 消化性の項目では酒造好適米と同等かそれに優る場合もあった。酒米適正值は中国の3品種のうち楚粳9号が最良であった。楚粳9号の酒米適正值は, 山田錦よりも低い, 祝とは有意差は認められなかった。日本晴れよりも有意に高かった。それらの品種を京都で栽培すると窒素吸収量の低下にともなって酒米適正值算出のための7項目の原料米特性はほとんどの項目において適性値を上げる方向に変化し, 酒米適性値は, 楚粳9号が祝並, 合系24号は日本晴を上回った。

先述のプロテインボディ(PB)については, 楚粳9号は日本品種に比べてPB Iが低く, PB IIおよびPB II/PB I比が高かった。また, 粗蛋白質に占める割合でも, PB Iは楚粳9号が日本品種に比べて低く, PB IIでは高かった。楚粳9号の値を日本の酒米32品種について求めた平均値±標準偏差と比較すると, 粗蛋白質, PB IおよびPB IIは低く, PB II/PB I比が高かったが, いずれも標準偏差の範囲内であった。一方, 粗蛋白質に占める割合は, PB Iは低く, PB I Iは高かった。これらの値はいずれも標準偏差の範囲を超えており, 楚粳9号の顕著な特性と考えられた。

第3章で検討した製成酒特性では, 楚粳9号は, 原料米の利用率が山田錦並, 日本酒度が山田錦, 祝よりもやや高くなる(数値が低くなる)傾向を示した。酸度, アルコール濃度には品種差がほとんどなかった。アミノ酸度は, 山田錦, 祝より上昇した。楚粳9号の官能評価は山田錦より低く, 祝と同等であった。

山田錦に代表される酒造好適米であっても産地や生産年度など生産環境によって原料米特性が変化することはよく知られている。そのため, 多数の酒造原料米について当該年度の特性値の一次(早期)分析結果が酒造現場に配布される仕組みがすでに確立しており, 筆者も自身の酒造技術のレベルアップにつなげるべくそうした情報に対応するように努めている。それと同様に, 上述の多収米の酒米特性への対応として, むしろ, これまでにない醸造純米料理酒への積極的な応用について検討した。それは, これまで商品化されている醸造料理酒は, 安価でアルコール度数の低い, アミノ酸含有量も市販の清酒と殆ど大差のない

ものであったからである。そこで、今回の楚梗 9 号を中心とした、酒米適性の検討で獲得した多くの知見をアミノ酸度を積極的に高めた純米料理酒への適用に向けた次第である。

第 4 章では、遊離アミノ酸が豊富に得られるための方策さまざまな方策を適用し、仕込みでは、酒母は使用せず、代わりに協会酵母の乾燥酵母を大量に加え、醱熟成期間を通常の 20 日から 60 日へと 3 倍に延長し、掛け米を 4 度にわたって添加する四段仕込みで醸造した。このようにして出来上がったのが、商品名「厨酒」である。

この「厨酒」について、味の濃さや旨み、香味の増強、消臭効果など料理酒としての効用を検討した。「厨酒」は飲用純米酒の「桃の滴」に比べて、検出されたすべてのアミノ酸・アミノ酸関連物質で 2 倍以上、総量は 6.3 倍であった。清酒における 4 種類の呈味性アミノ酸の増加率は、グルタミン酸（酸味・渋味）、アスパラギン酸（酸味・渋味）が約 10 倍およびアラニン（甘味・旨み）が約 7 倍であった。アラニンの増加率がやや低いもののそれぞれがバランスよく増加していた。アルギニン（苦み）は「厨酒」でも「桃の滴」でもほとんど検出されなかった（trace）。アルギニンを除く呈味性アミノ酸のバランスの良い増加は、味の濃さや旨みに関して、清酒添加の効用をいっそう高めるものと考えられる。機能性成分 γ -アミノ酪酸(GABA)の増加（4.9 倍）が認められた。機能性成分付加の効用は、従来あまり強調されなかった効用であり、清酒添加の効用をいっそう高める要素のひとつである。アルコール類等の香気成分は「桃の滴」に比べて増加するものと減少するものがみられた。清酒において渋味ないしは不快臭を呈する成分のうちチソロール、アセトアルデヒドが「桃の滴」に比べて減少した。n-プロパノール、i-ブタノール、i-アミルアルコール、 β フェニルエタノールは「桃の滴」よりも増加したが、一般の飲用純米酒に認められる範囲内であり、清酒添加の効用に悪影響を及ぼすことはほとんどないと推察される。

有機酸は、クエン酸、ピルビン酸、リンゴ酸、ピログルタミン酸など著しく減少した成分もあるが、コハク酸、乳酸、酢酸など飲用純米酒にも多量に含有する成分が増加し、総量は 1.4 倍に増加した。コハク酸の増加は香味や消臭効果の面から清酒添加の効用をいっそう高めることが考えられる。

料理に実際に使用した場合の評価については、現在までに飲用清酒に比べて旨み増強効果が大きく、他の料理用純米酒に比べて「くどさがない」ことではほぼ一致した評価を得ている。「厨酒」を含めて 3 銘柄は、いずれもアミノ酸度が高く、アルコール度数、酸度がほぼ等しく、個々のアミノ酸でもアルギニンを除いて飲用純米酒の数倍を含有する点で類似していたが、試飲による官能評価、日本酒度、呈味性アミノ酸の組成において「厨酒」は他の 2 銘柄と明らかに異なっていた。すなわち、「厨酒」は他の 2 銘柄に比べて、糖分がすくなく、呈味性アミノ酸総量に占める甘味・旨みアミノ酸の割合が相対的に高く（含有量も多い）、酸味・渋味アミノ酸、苦みアミノ酸の割合が低い（含有量も少ない）ことが明らかとなった。「厨酒」の「くどさがない」の評価はこれらの特性によるものと考えられる。

「厨酒」の日本酒度やアミノ酸度は、あらかじめ目標値を設定し、「造り」の過程で近似させていったものであるが、アミノ酸組成は計画的につくられたも

のではない。「厨酒」のアミノ酸組成の由来の解明など今後検討すべき重要課題が摘出されたことは本研究の成果のひとつに挙げられるであろう。ただ、「厨酒」は、弊社の伏見の工場で筆者が約 10 年ほど前に開発した料理酒であるが、今日まで年産 2 万リットルの生産レベルを維持しており、消費者から好評を得てきた商品の一つであることに変わりはない。

今ひとつ、研究成果のひとつとして見落とせないのは、「厨酒」と「桃の滴」のアミノ酸分析で、アルギニンがいずれにもほとんど検出されなかったことである。アルギニンは、通常、純米酒ではアラニン、グルタミン酸に次いで高濃度に含有し、その存在は評価を悪くするアミノ酸である。これが「厨酒」と「桃の滴」の「造り」のどこに由来しているのか、解明すべき重要課題であり、今後、検討を進めていく予定である。

また、最後の第 5 章では、液化仕込み醪を調製し、この際一般に利用されている食品加工用酵素剤のアミラーゼとプロテアーゼに加え、食用きのこ子実体に存在するプロテアーゼの応用について検討を試みた。これは、第 4 章で実用化できた「厨酒」の品質の改善を含め、特徴的な味覚を示し健康機能性を持った清酒の味覚向上を目的としたものである。すなわち、食用きのこが有するタンパク質分解酵素を利用して醪を仕込むことにより、特徴的なアミノ酸組成を示す発酵液を調製できる可能性を探ってみた。

その結果、マイタケ子実体から調製したプロテアーゼの添加で、わずかではあるが、アミノ酸の生成量が約 1.2 倍に増加した。シイタケやエノキタケ由来のプロテアーゼではこのような効果は観察されなかった。興味あることに、市販のプロテアーゼ単独使用（ProteAX,天野エンザイム）では認められないマイタケ酵素の添加効果が僅かな添加量で顕著に観察されたことである。食用きのこマイタケ粗酵素の添加は、機能性で知られるリジンと甘味アミノ酸のアラニン、さらにセリンなどの含有量と含有比率が大きく増加する効果が認められた。

本結果は、起源の異なるプロテアーゼの使用で、アミノ酸の溶出パターンを変えることができ、今後への応用が期待される点で興味深いところである。

和 文 要 旨

緒言

清酒は米を原料に並行複発酵法（酒造りの方法、一つのタンク内で、澱粉の糖化とアルコール発酵が同時並行的に行われる）によって醸造される日本の伝統的な酒である。日本の酒造りでは、製麴に米の 20%（麴カビを繁殖させた蒸米）を、残りの 80%を掛け米（蒸米）として（アルコール発酵の基質として利用される米）利用され、両者を合わせて酒米と呼んでいる（清酒醸造米）。清酒醸造において、米は極めて高価で、清酒原料価格の 70%、或いはそれ以上を占め、清酒価格が高価で販売・消費量拡大の制約因子になっている。そこで、世界で生産されているワインやウイスキー等との国際競争化に備え、清酒醸造におけるコスト削減を目的に、中国雲南省で多収米として栽培され、酒米としては好適なタンパク質含有量の低いこれらの米の清酒醸造米への適応性を検討した。また、これらの検討から、多収米では、胚乳タンパク質含量は低いが、その性質が遊離アミノ酸に分解され易いプロテインボデー(PB) II の比率の高いことが明らかになった。そこで、これらの点に着目し、これまで殆ど生産されていないアミノ酸濃度の高い新規醸造料理酒の開発を試みた。その結果、「厨酒」の市場名で醸造料理酒の実用化に至った。また、特異的な食用きのこ類の粉末を液化仕込み醪に添加し、酒の味覚改善を目的とした醪のタンパク質分解への影響を検討し、興味ある結果を得た。

1. 中国多収米の栽培試験と玄米収穫量

中国雲南省で多収米として知られ、胚乳のタンパク質含有量が比較的低い 3 品種の米について、酒米としての利用性を検討した。中国現地での 1994 年および 1995 年の米栽培試験における玄米生産量は、超多収米の「Yu-Za 29」（楡雑 29 号）が 1,278~1,498 gm^{-2} と最良で、次に、「Chi-Jing 9」（楚梗 9 号）が 1,121~1,150 gm^{-2} （1994 年）を、「He-Xi 24」（合系 24 号）が 993~997 gm^{-2} の収量を示した。一方、1995 年および 1996 年に京都大学附属高槻農場で栽培・収穫した日本産品種玄米の生産量は、それぞれ、「山田錦」が 425~501 gm^{-2} 、「祝」が 465~514 gm^{-2} 、「日本晴」が 608~625 gm^{-2} と、中国多収米で 2~3 倍の収量を示した。また、中国多収米「楚梗 9 号」では、玄米粗タンパク質含量が、「日本晴」の 7.99%、我が国の代表的な酒造好適米の「山田錦」、「祝」の 7.4% よりも更に低い 6.46~7.2% を示し、酒米適性を期待させる数値をえた。また、これらの米は比較的大粒であった。

2. 中国多収米の酒米適性について

多収米の玄米および精白米の物理・化学的な性質を調べ、清酒醸造米としての好適性を検討した。その結果、酒造好適米として知られる「山田錦」の酒造好適値が最高値を示したのは当然であったが、中国多収米の「楚梗9号」, 「Yu-Za 29」(F1 ハイブリッドライス) および日本産の酒米として知られる「祝」が次に続く値であった。そして、日本産一般食用米の「日本晴」および「He-Xi 24」(日中合作品種) が最も低い値であった。とくに、中国産「楚梗9号」は1,000粒重も重く、酒米適性値も、「日本晴」よりワンランク高い値を示した。ただ、他の中国産品種二種の「Yu-Za 29」, 「He-Xi 24」は、酒米適性値や酒米指標値においては良い評価は得られなかった。

3. 中国多収米の胚乳タンパク質分析と小規模醸造における清酒の特性

、中国多収米の酒米適性を確かめるため、「楚梗9号」を中心に、胚乳タンパク質の性質を調べた。まず、タンパク質を抽出し、SDS-PAGE 分析を行った、得られた泳動パターンから、プロテインボディー (PB) I および II に分類し、酒米評価に大切な PB II/PBI の比率を算出した。その結果、「楚梗9号」で、最も高い比率を示し、この米が遊離アミノ酸に分解されやすい性質で酒米としては好ましくない一面も見られた。ただ、小規模醸造し求めた「楚梗9号」の酒米適正値は、「山田錦」や「祝」よりは劣るが、「日本晴」よりも優れたもので、香りと味に関する官能検査結果でも良い結果を得た。

4. 純米料理酒の開発・実用化

清酒は昔から「酒塩」として、食材の味わいを引出し、食材の崩れ防止や料理の色と鮮やかさを増すために調味料として使われてきた。ただ、現在販売されている料理用清酒は、低アルコール、低価格、遊離アミノ酸含量も普通酒と同等程度で、とくに見るべき点は少ない。そこで、「楚梗9号」が、PB II の比率が高かった事実から、むしろ、遊離アミノ酸が豊富で、しかも呈味性に優れた純米料理酒の開発・実用化について検討した。料理酒では、精米率78%、乾燥酵母を用い、醪日数を延長、醪の温度も高く設定し、アミノ酸の遊離量増加を目指した。その結果、アミノ酸リッチな商品名「厨酒」として市場に出すことに成功した。「厨酒」は純米醸造酒の「桃の滴」の6~10倍の遊離アミノ酸含有量とグルタミン酸等の旨味、アラニンのさわやかな甘味性が際立ち、乳酸を1,000ppm以上含む料理酒として、年産2万リットルの生産量を現在まで10年間維持している。

5. 液化仕込み醪のアミノ酸組成に及ぼす食用きのこ子実体由来のプロテアーゼの影響

さらなる清酒の味覚の改変・向上を目的に、食用きのこ子実体粉末を液化仕込み醪に添加し、きのこ由来のプロテアーゼによる遊離アミノ酸生成への影響を検討した。その結果、マイタケ起源の粗酵素の添加で、アミノ酸の生成量が約1.2~1.3倍に増加した。シイタケやエノキタケではこのような効果は観察されなかった。さらに、市販のプロテアーゼ単独使用（ProteAX,天野エンザイム, 麹菌起源）では認められないマイタケ酵素の添加効果が僅かな添加量で顕著に観察され、リジンとセリンの生成量が顕著に増加する効果が認められた。本結果は、起源の違うプロテアーゼの使用で、アミノ酸の溶出パターンを変えることができ、今後への応用が期待されることである。

Synopsis

The suitability for the sake making of Chinese rice variety with high yielding rice and development study of new brew Japanese rice wine for dishes

Yasuhiro MATSUMOTO

Introduction

Sake is the Japanese traditional alcoholic beverage brewed by the *Method of Heikou Fuku Hakkou* (a sake making mood, starch saccharification and alcohol fermentation are performed in one tank at the same time) from rice. In the total amount of rice for Japanese sake production, 20 % in rice for making the *koji* (rice on which a mold grows, which then starts the fermentation) and the other 80 % is for *kakemai* (rice which is used as the substrate for fermentation). Both are called *sakamai* (rice for brewing sake). For brewing sake, the rice is extremely expensive, accounting for 70 % or more of the initial material cost. So we succeeded to find the kind of high yield in China, consider and get the kind of rice which meets the purpose for a cost reduction of sake. As a result, Yu-Jing9 which is one kind Chinese high yielding rice indicated the brewer's rice aptitude value more excellent than Nihonbare of the rice made in Japan. But, it was revealed that this rice has high protein ratio of the nature which tends to be resolved into an amino acid unsuitable for new sake making rice for dishes.

So it was considered for development and practical use of new brew Japanese rice wine which contains an amino acid richly based on these knowledge. I succeeded in practical use of sake making rice for dishes of a brand name as "Kuriazake" as a result of the energetic study. On the other hand, a mushroom fruit-body powder with protease was added to unrefined moromi of liquefaction trained and influence to amino acid generation amount from the unrefined moromi important to the taste of the sake (improvement effect of sake) was checked.

1. Cultivation experiment of the kind of Chinese high yielding rice and the brown rice yield .

The brown rice for Chinese high-yielding varieties were 1,278 to 1,498 gm⁻² for Yu-Za 29, 1,121 to 1,150 gm⁻² for Chi-Jing 9 in 1,994 and 993 to 997 gm⁻² for He-Xi 24 in 1995 at Yunnan Province, China. The brown rice yields of the Japanese varieties harvested in Kyoto in 1995 and 1996 were 608 to 625 gm⁻² for Nipponbare, 425 to 501 gm⁻² for Yamadanishiki, and 465 to 514 gm⁻² for Iwai.

The thing with the low protein content of the rice is the important point to brew good quality sake. The kind of Chinese high yielding rice, Chi-Jing 9 indicated the low crude protein content compared with the rice kind made in Japan. The crude protein content of Chi-Jing 9 indicated 6.46~7.20%, and its value indicated the value lower than Japanese general edible rice, Nihonbare, the Yamadanishiki and Iwai which is Japanese brewer`s rice.

2. The suitability for the sake making of Chinese high yielding rice

The physical and chemical properties of the brown rice and the polish rice which are Chinese high yielding rice varieties was studied. A grain of rice was big for high yielding rice, Chi-Jing 9 made in China also its weight was also heavy relatively with 22.4g (the weight of 1,000 drops of grain of rice). Yamadanishiki rice was 28.2g/1,000grain, and Nihonbare with a kind of edible rice. The suitable value of the rice which made sake brewing of Chi-Jing 9 was the excellent value following Yamadanishiki (6 point) by 8 point. Japanese edible rice, Nihonbare and rice made in other China were worst 9 point.

3. Protein analysis of Chinese high yielding rice and the special quality of the sake which was small in scale with the rice was brewed

A protein analysis of Chinese high yielding rice was analyzed by SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The protein band obtained from SDS-PAGE analysis was classified into two components (Protein Body I and Protein Body II) by the molecular weight. The PB II/PB I ratio is very important to good sake brew. But, the ratio in protein body component was highest in Chi-Jing 9. As a result, it was revealed that this rice has high protein ratio of the nature which tends to be resolved into an amino acid unsuitable for new sake making rice for dishes.

The special quality of the sake which was small in scale with these rice was brewed. On the amino acid component levels and the ultraviolet absorption of sake, Chi-Jing 9 was lower than Nipponbare although higher than Yamadanishiki and Iwai. The values on the sake meter for He-Xi 24 and Chi-Jing 9 were higher than the value for Nipponbare but lower than those for Yamadanishiki and Iwai. The acidity of the sake brewed using the Chinese rice varieties was lower than that brewed using the Japanese rice varieties. It was clear that sake brewed from Chi-Jing 9 contained a larger amount of iso-butyl and iso-amyl alcohol than sake brewed from Yamadanishiki and Iwai. From these result, it was concluded that Chi-Jing 9 was brewer's rice more excellent than the Japanese kind of Nihonbare.

4. Development and practical use of the Japanese rice wine used for a dish

Sake has been used in a dish from the old days to make the taste of the ingredients and the fragrance good. From the result of PBII/PBI ratio of Chinese high yielding rice, it was revealed that this rice has high protein ratio of the nature which tends to be resolved into an amino acid unsuitable for new sake making rice for dishes. So, it was considered for development and practical use of new brew Japanese rice wine which contains an amino acid richly based on these knowledge. I succeeded in practical use of sake making rice for dishes of a brand name as "Kuriazake" as a result of the energetic study. The amino acid content of "Kuriazake" included an about 7 times of amino acid of usual sake (Momonoshizuku, Matsumoto brewing Co.Ltd). The feature of this sake included an alanine with the refreshing sweetness much, and lactic acid (more than 1,000ppm) included much in particular by organic acid. We are producing these 10 years and about 20,000 liters of annual production.

5. Effect of adding mushroom protease into the rice protein and sake moromi on the amino acid production

To obtain preliminary data for establishing a sake brewing method with high *umami* components, rice proteins were degraded by edible mushroom proteases to produce amino acids, and the amino acid profiles were examined. The amino acid content was increased in about 1.2~1.3 times. These effect was not shown in case of shiitake and enokitake mushroom. A *mitake* enzyme also had a big influence on produced amino acid constitution.

It was addition of protease of mushroom origin and increased in the containing ratio of serine, the lysine and the alanine remarkably. When, these fact uses protease different in an origin, we show that it becomes possible to change the eluted pattern of the amino acid.

謝辞

1990年代初頭に京都学士山岳会（AACK）の予備調査団の一員として中国雲南省を訪問した。その際に目にした山岳地帯に分布する水田の景観は印象深かった。日本の兵庫県や福井県の酒米栽培地帯の景観と実によく似ている。酒米が良く育つかも知れない。清酒醸造業を営む筆者の目にはそのように写った。さらに、この地域の稲作事情について見聞を進めるうちに省内各地で $1000\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ を越える水稻の多収事例が数多く存在するとの情報を得た。こうした体験が中国雲南省における多収米とその酒造適性に関心を寄せる大きな動機となった。この調査団に参加していなかったら本研究はなかったかも知れない。本研究への契機を与えていただくとともにその後の現地調査、サンプルの収集等に献身的な協力をいただいた吉田興和氏、張俊氏（雲南省体育運動委员会主任）に対して謝意を表す。

研究目的が固まって行くにつれてイネの栽培学、醸造学、食品工学、機械製造などの分野で多くの専門家のご指導を仰いだ。イネの栽培については、当時、雲南省においてイネ多収穫実証試験を実施されていた天野高久先生（現京都大学名誉教授）および高村奉樹先生（京都大学名誉教授）の研究グループの一員に加えていただいた。第1章はその成果の一部である。第2章の多収米の酒米特性の分析に関して若井芳則博士（黄桜酒造株式会社専務取締役）から、第4章のアミノ酸組成ならびに第3章第1節の貯蔵蛋白質組成の分析に関して寺下隆夫先生（近畿大学名誉教授）から懇篤なご指導を受けた。第4章のアルコール等の香气成分、有機酸について岩野君夫先生（秋田県立大学教授）からの資料提供とともに貴重なコメントを多数いただいた。以上、ご指導ご鞭撻を賜った多くの先生方に対して心より謝意を表します。

なお、共同研究として実験にご協力を賜った近畿大学学生柴崎直人君、松内涼さん、研究員の加納明子氏、博士論文作成にあたってファイル整理をお手伝いいただいた百木雅美氏に感謝申し上げます。

本論文は、近畿大学審査学位論文として取りまとめたものである。取りまとめに当たって、ご指導とご鞭撻をいただいた天野高久先生、寺下隆夫先生、また、研究指導および主査をお引き受けいただいた白坂憲章 近畿大学農学部教授、副主査 上垣浩一教授、副主査 財満信宏教授、副査 福田泰久准教授には深く謝意を表します。

なお、記念として、本研究の成果として実用化に至った「厨酒」の商品写真と永年家業と研究開発に務めた弊社の京都伏見工場の酒蔵風景の掲載をお許し願いたい。

「厨酒」実用化市販商品



業績目録

松本保博

主論文

1. **Yasuhiro MATSUMOTO, Toshiki MIYAKE, Takao TERASHITA and Takahisa AMANO**: The physical and chemical properties of the grains of some Chinese rice varieties with a recorded brown rice yield of around 1,000 gm⁻² in Yunnan province, China: on the suitability for sake brewing, *Trop. Agr. Develop* **61(1)**, 1-7, 2017.
2. 松本保博・柴崎直人・加納明子・福田泰久・寺下隆夫・白坂憲章：きのこ由来プロテアーゼを用いた米タンパク質分解と生成する遊離アミノ酸組成の特徴、日本きのこ学会誌 **28(4)**、157-162、2020.
3. 松本保博・松内 涼・加納明子・福田泰久・寺下隆夫・白坂憲章：液化仕込み醪のアミノ酸組成に及ぼすきのこ子実体由来プロテアーゼの影響、日本きのこ学会誌 **29(2)**、54 - 58、2021.

関連論文

1. 天野高久・師常俊・泰徳林・津田 誠・松本保博：中国雲南省における多収穫の実証的実験、第1報 ジャポニカハイブリッドライス楡雑 29号の多収性、作物学会紀事 **65**、16-21 1996.
2. 天野高久・師常俊・泰徳林・津田 誠・松本保博：中国雲南省における水稻多収穫の実証的研究 第2報 ジャポニカハイブリッドライス楡雑 29号の籾数生産、日本作物学会紀事 **65**、22-28、1996.
3. **Takahisa AMANO, Chang-Jun Shi., De-Lin Qin., Makoto. TSUDA and Yasuhiro MATSUMOTO**, The highest record yields of japonica rice obtained in Yunnan Province, China, *The Bulletin of Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural. University* **17**, 1-6, 1996.

その他（総説）

1. 松本保博：高度精白米の原料処理システムの開発、日本醸造協会誌 **94**巻 **33**号、174-180, 1999.
2. 松本保博：高度精白米の原料処理システムの改良 —洗米および浸漬—、日本醸造協会誌、**106**巻 **9**号、564-571, 2011.

- 3 松本保博・河野 敢：高度精白米の原料処理システムの改良(2) 蒸米および冷却、日本醸造協会誌、第 108 巻 4 号、215-220, 2013.

以上

参考文献

1. 農林水産省農林水産技術会議研究開発課. スーパーライス計画と今後の展開. 醸協 88(7):494-498. 1988.
2. 茅原紘・杉浦友美. 近年の GABA 生理機能研究—脳機能改善作用,高血圧作用を中心に—,食品と開発:36(6):4-6. 2001.
3. 榛葉芳夫・伊藤輝雄・福沢幹雄・大池昶威・宮崎忠雄・西沢直子・佐藤篤・藤沢昭三・馬場茂・飯田俊彦. 多収米を用いた清酒の試験醸造多収穫米による清酒の試験醸造. 長野県食品工業試験場報告. 13:4-9, 1985.
4. 榛葉芳夫・伊藤輝雄・福沢幹雄・米山正・大池昶威・西沢直子・藤沢昭三・佐藤篤・馬場茂・飯田俊彦. 多収穫米による清酒の試験醸造(第3報). 長野県食品工業試験場報告. 14:3-12, 1986.
5. 大森勝雄・大沢純也・桜井広・中山茂喜・本田昭太郎・飯野久栄. 多収穫米による清酒の試験醸造(第III報). 水原258号、北陸123号の理化学的諸性質について,岩手県醸造食品試験場報告. 20:7-32. 1986.
6. 大森勝雄・大沢純也・桜井広・中山茂喜・本田昭太郎・飯野久栄. 2. 多収穫米による清酒の試験醸造(第IV報). 水原258号、北陸123号の醸造について. 岩手県醸造食品試験場報告. 20:33-55, 1986.
7. 末成和夫・土屋義信・五反田晃・手島義春. 多収穫米アケノホシによる清酒の製造試験. 醸協 82(3):195~199. 1987.
8. 末成和夫・土屋義信・五反田晃・手島義春. 多収穫米北陸125号による清酒の製造試験. 醸協 82(11):825~830. 1987.
9. 畠山俊彦. 秋田県における酒米育種の新展開. 醸協 89(1):6-12. 1994.
10. 斎藤博之・谷口肇. 新品種酒造米の実用的評価方法の開発とその応用. 醸協 90(5):387-393. 1995.
11. 斎藤博之・西沢直行. 新品種酒造米の酒造適性を推定する方法. 醸協 91(10):737-744.1966.

12. 斎藤博之. 酒造好適米の判別ならびに酒造米育種における酒造適性推定について. 醸協 93(5) : 327-333. 1998.
13. 前重道夫・小林信也 編著 最新日本の酒米と酒造り. 養賢堂,東京. 2000.
14. 吉田昌一 著 村山登 監訳 稲作科学の基礎. 博友社. 東京. 1986.
15. 平 宏和. 穀粒の品質. 北条良夫・星川清親共編 作物—その形態と機能—下巻. 128-146. 1975.
16. 平 宏和. 多収穫栽培米のタンパク質含量に与える施肥の影響. 日作紀 39 : 200- 203. 1970.
17. 山根国男, 西田清数. 酒米と酒(5)農業及び園芸 54(9):1105-1110. 1979.
18. 雲南省農業科学院. 雲南省農業科学院資料. 謄写印刷. 1994.
19. 韓如龍. 雲南日報 10月23日 朝刊. 1993.
20. 本谷耕一. 多収穫稲作の解明. 博友社, 東京. 1993.
21. Amano 天野高久・師 常俊・秦 徳林・津田 誠・松本保博. 中国雲南省における水稻多収穫の実証的研究 第1報 ジャポニカハイブリッドライス楡雑 29号の多収性. 日本作物学会紀事 65:16-21. 1996.
22. Amano, T., Chang-Jun SHI, De-Lin QIN, Makoto TSUDA and Yasuhiro MATSUMOTO. The Highest Record Yields of Japonica Rice Obtained in Yunnan Province, China. The Bulletin of the Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University : 1-6, 1996.
23. 蔣才忠・平沢正・石原邦. 水稻多収性品種の生理生態的特徴について—アケノホシと日本晴お比較—. 第1報 収量および乾物生産. 日作紀 57 : 132-138. 1988.
24. 宋祥甫・県和一・川満芳信. 中国産ハイブリッドライスの物質生産特性. 第1報 乾物生産特性. 日作紀 59 : 19-28. 1990.
25. 宋祥甫・県和一・川満芳信. 中国産ハイブリッドライスの物質生産特性. 第2報 収量生産特性. 日作紀 59 : 29-33. 1990.

26. Amano, T., Q.Zhu, Y.Wang, N.Inoue and H.Tanka. Case studies on high yields of paddy rice in Jiangsu Province, China. II. Analysis of characters related to lodging. Jpn. J. Crop Sci. 62:275-281.
27. 荒巻 功. 酒米全国統一分析結果の解析.
28. 伏見醸友会酒米研究委員会. 伏見酒の原料米解析. 伏見醸友会誌別冊 1-29. 1988.
29. 松本保博・天野高久・賀慶瑞. 中国産多収性品種の酒米特性. 日本作物学会紀事 66(別号 1):270~271. 1997.
30. 松本保博・天野高久. 中国産多収性品種の酒米特性に及ぼす窒素施肥の影響. 日本作物学会紀事 69 (別号 1) : 138~139. 2002.
31. 松本保博・天野高久・賀慶瑞・稲村達也. 心白粒の酒米特性. 日本作物学会紀事 67 (別号 1) :28~29. 1998.
32. 注解編集委員会編: 第四回改正国税庁所定分析法注解. (財)日本醸造協会. 1993.
33. 若井芳則. 清酒醸造における原料米の酒造適性. 醸協 92(1) : 7-14. 1997.
34. 若井芳則. 酒造米としての品質条件. ジャパンフードサイエンス 9 : 49-54. 1994.
35. 柳内敏靖・山本拡大美・宮崎紀子・長野知子・若井芳則. 酒米特性に及ぼす酒造好適米の心白の影響. 生物工学 74(2):97-103. 1996.
36. 古川幸子・水間智哉・柳内敏晴・清川良文・若井芳則. 清酒醪における原料米蛋白質の溶解. 醸協 95(4):295-303.2000.
37. 木崎康造・井上康祐・岡崎直人・小林信也 1991. 酒造原料米中のプロテインボディーの分離・定量. 醸協 86(4):293-298
38. 木崎康造・小原 昭・逸見彰則・荒巻 功・小林信也・岡崎直人 1993. 酒造原料米のプロテインボディーの品種間差異. 醸協 88(4):326-331

- 39.長谷 篤・山下伸雄・永井英雄・池上 勝・世古晴美・中島有紀・山本俊
大江田憲治・近藤恭一. 新山田穂 1 号の品種特性. 醸協 91(9):633-639.
1996.
- 40.水間智哉・宮崎紀子・小林宏美・柳内敏靖・若井芳則. 酒米新系統「滋系酒
56 号」の品種特性. 醸協 94(3) : 237-243. 1999.
- 41.水間智哉・古川幸子・清川良文・若井芳則・山本佳宏・筒井延男・松下景・
前田英郎・飯田修一・根本博. 酒造用低グルテリン米の酒造適性. 生物工学
80(11):503-511. 2002.
42. 大土井律之・松本英之・橋本俊之・土屋義信・末成和夫・手島義春・土屋隆
夫・勝場善之助. 酒造好適米新品種「千本錦」の醸造特性. 醸協 95 (6) : 465-471.
43. 上東治彦・中村幸生・森山洋憲・溝渕正晃・菅野信男・永田信治・味園春雄.
酒造好適米「吟の夢」の品種特性. 醸協 94(10) : 840-848. 1999.2000.
- 44.松本保博・天野高久. 中国産多収性品種の酒米特性—清酒成分ならびに白米
のプロテインボディについて—. 日本作物学会紀事 74 (別号 1) : 64~65.
2005.
- 45.北本勝ひこ・三宅 優・渡辺誠衛・中村欽一. 胚芽添加仕込によるアミノ酸
の少ない清酒の製造. 醸協 80(1):53-58.1985.
- 46.吉沢 叔. Head space 法による清酒香气成分の迅速定量法. 醸協 68(1) :
9-61. 1995.
- 47.岩野君夫・伊藤敏彦・中沢伸重. 吟醸酒,純米酒,本醸造酒及び普通種のアミ
酸組成の特性. 醸協 98(7):526-533.2004.
- 48.岩野君夫・高橋和弘・伊藤敏彦・中沢伸重. 清酒の呈味性に影響を及ぼすア
ミノ酸の探索. 醸協 99(9) : 659-664.2004.
- 49.河辺達也. 酒類調味料の調理効果について. 醸協 102(6):422-431.2007.
- 50.高倉裕. 高付加価値酒類調味料の開発. 食品工業 4(9):54-59. 2002.
- 51.財団法人日本醸造協会編. 醸造物の成分 清酒編. 財団法人日本醸造協会,

- 東京. 46-108. 1999.
52. 今原広次：醤油麹菌のアミラーゼ及びプロテイナーゼについて耐塩性及び無機イオンの影響、京都府立大学学術報告、農学、12、134-138 (1960)
53. 石田賢吾：タンパク質分解酵素と調味料製造：食品工業と酵素（一島英治編）、朝倉書店、東京、pp90-110 (1983)
54. Homma, H, Tokuda, H, Nagashima, R, Nakamura, K and Nakanishi, K: Soy sauce production using mushroom strains that produce salt tolerant protease, *Mushroom Sci Biotechnol*, 23,15-30(2015)
55. 本間裕人・徳田宏晴・安井 文・間宮千尋津・中村和夫・中西載慶：アルコール耐性アミラーゼを生産するきのこの類の検索および当該菌を用いた味醂の製造、日本きのこ学会誌、23、65-74 (2015)
56. 松井徳光・大杉匡弘：きのこを用いた味噌の醸造、日本醸造協会誌、101、833-838 (2006)
57. 松井徳光：きのこの発酵能による機能性発酵食品の開発、日本きのこ学会誌、24、169-175 (2015)
58. 鮫島由香・鈴木扶沙子・田畑麻里子・松井徳光：スエヒロタケの発酵能により調製した後発酵茶の特徴、日本きのこ学会誌、25、66-69 (2017)
59. Okamura, T, Ogata, T, Minamimoto, N, Takeno, T, Noda, H, Fukuda, S And Ohsugi, M: Characteristics of wine produced by mushroom fermentation, *Biosci Biotechnol Biochem*, 65, 1596-1600(2001)
60. Okumura, T, Ogata, T, Toyoda, M, Tanaka, M, Minamimoto, N, Takeno, T, Noda, H, Fukuda, S and Ohsugi, M: Production of sake by mushroom fermentation, *Mushroom Sci Biotechnol*, 8,109-114(2000)
61. Okumura, T, Ogata, T, Minamimoto, N, Takeno, T, Noda, H, Fukuda, S and Ohsugi, M: Characteristics of beer-like drink produced by mushroom fermentation, *Food Sci Technol Res*, 7, 88-90(2001)
62. Okumura-Matsui, T, Izuta, H, Tomoda, T, Noda, H, Fukuda, S and

- Ohsugi, M: Fermented soybean with thrombosis preventing activity using mushroom *Sclerotium* as microbial source, *Food Sci Technol Res*, 9, 227-230(2003)
63. 田畑麻里子・福田祥子・大杉匡弘・佐藤美次・山川友宏・波多野健二・野池利彰・松井徳光：スエヒロタケ (*Shizophyllum commune*) の発酵による豆乳の成分および機能性の変化について、*日本きのこ学会誌*、16、159-163 (2008)
64. 香西修治・星名次雄：茶のアミノ酸簡易定量法の改良、*茶業研究報告*、52、36-41 (1980)
65. 吉井美華・荒巻 功：走査電子顕微鏡による麴の観察、*日本醸造協会誌*、96 806-813 (2001)
66. 渋谷直人：米のはい乳細胞壁、*日本醸造協会雑誌*、72、14-17 (1977)
67. Ichishima, E: Development of enzyme technology for *Aspergillus oryzae*, *A. Sojiae*, and *A. luchuensis*, the national microorganisms of Japan, *Biosci Biotechnol Biochem*, 80, 1681-1692 (2016)
68. Iemura, Y, Yamada, T, Takahashi, T, Furukawa, K and Hara, S: Properties of the Peptides Liberated from Rice Protein in Sokujo-moto, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 88, 276-280 (1999)
69. Merz, M, Eisele, T, Berends, P, Appel, D, Rabe, S, Blank, I, Stressler, T and Fischer, L: Flavaurzyme, and Enzyme Preparation with Industrial Relevance; Automated Nine-Step Purification and Partial Characterization of Elight Enzymes, *J Agric Food Chem*, 63(2015)
70. 寺下隆夫・縄間 誠・吉川賢太郎・獅山慈孝：エノキタケ子実体のプロテイナーゼ、*日本食品化学工学会誌*、42、907-912 (1995)
71. Nishiwaki, T, Asano, S and Ohyama, T: Properties and substrate specificities of proteolytic enzymes from the edible basidiomycete *Grifola frondosa* *Journal of Bioscience and Bioengineering* 107, 605-609 (2009)
72. Terashita, T, Oda, K, Kono, M and Nurao, S: Purification and Some

- Properties of Carboxyl Proteinase in Mycelium of *Lentinula edodes*, Agric Biol Chem, 45, 1929-1935 (1981)
73. 岩見公和・安本教伝・満田久輝：食用きのこの γ -グルタミルトランスペプチダーゼとフレーバー増強への応用、栄養と食糧、27、341-345 (1974)
- 74 .深谷伊和男：清酒の液化仕込みについて、日本醸造協会誌 83, 218-222 (1988)
75. 松本保博・柴崎直人・加納明子・福田泰久・寺下隆夫・白坂憲章：きのこ由来プロテアーゼを用いた米タンパク質分解と生成する遊離アミノ酸組成の特徴、日本きのこ学会誌, 28, 159-164 (2021)
76. 池ヶ谷賢次郎・増田道則：茶の全遊離アミノ酸類の新簡易定量法、茶業研究報告 63, 35-36 (1986)
- 77.西脇俊和：マイタケ由来タンパク質分解酵素の食品加工利用、日本醸造協会誌 108, 575-582 (2013)
78. Nishiwaki, T, Asano, S and Ohyama, T: Properties and substrate specificities of proteolytic enzymes from the edible basidiomycete *Grifola frondosa* J Biosci Bioeng, 107, 605-609 (2009)
79. Terashita, T, Oda, K, Kono, M and Murao, S: Purification and some properties of carboxyl proteinase in mycelium of *Lentinula edodes*, Agric Biol Chem, 45, 1929-1935 (1981)
80. 寺下隆夫・縄間誠・吉川賢太郎・獅山慈孝：エノキタケ子実体のプロティナーゼ 日本食品科学工学会誌 42, 907-912 (1995)
81. Iemura, Y, Yamada, T, Takahashi, T, Furukawa, K and Hara, S: Properties of the peptides liberated from rice Protein in sokujo-moto, J Biosci Bioeng, 88, 276-280 (1999)
82. Nonaka, T, Ishikawa, H, Tsumuraya, Y, Hoshimoto, Y, Dohmae, N and Takio, K: Characterization of a thermostable lysine-specific metalloendopeptidase from the fruiting bodies of a Basidiomycete, *Grifola frondosa*, J Biochem, 118, 1014-1020 (1995)

83. Nishikawa, T, Yoshimizu, S, Furuta, M and Hayashi, K: Debittering of enzymatic hydrolysates using an aminopeptidase from the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*, J Biosci Bioeng, 93, 60-63 (2002)