

種麹の製造と麹の応用



企業レポート

三木翔平*

Production of *tane-koji* and application of *koji*

Key Words : *koji*, *tane-koji*, *Aspergillus*

はじめに

麹は清酒、本格焼酎、味噌、醤油、など日本の醸造食品に必要不可欠であり、長年使用されてきた。麹菌は、2006年に日本醸造学会によって国菌として認定されており¹⁾、黄麹菌と称される *Aspergillus* (*A.*) *oryzae*、黄麹菌に分類される *A. sojae* と黄麹菌の白色変異株、黒麹菌に分類される *A. luchuensis* 及びその白色変異株である白麹菌 *A. luchuensis* *mut. kawachii* のことを指す。なお本菌株は大阪高等工業学校醸造科(現・大阪大学応用自然科学科バイオテクノロジーコース)のOBである河内源一郎氏によって発見されたものである。昨今話題となった紅麹 *Monascus* 属は、麹菌とは別種である。種麹とは、醸造食品の製造に使われている麹菌の分生子のことであり、麹製造用のスターターである。

本稿では種麹の製造方法や、麹の特徴とその応用について紹介する。

麹菌の特性と安全性

2005年に *A. oryzae*²⁾、2011年に *A. sojae*³⁾、2016年に *A. luchuensis* の全ゲノム配列の解析が完了している⁴⁾。麹菌は様々な種類の酵素遺伝子を保有していることが知られており、固体培養において多種多様の酵素を菌体外に大量に分泌する^{5,6)}。醸造において重要な酵素としては、グルコアミラーゼ⁵⁻⁸⁾、

α -アミラーゼ^{9,10)}、グルコシダーゼなどのでんぷん分解酵素や、プロテアーゼやペプチダーゼ²⁾などのタンパク分解酵素がある。これら以外にも味噌や醤油で重要なグルタミンをグルタミン酸に変換するグルタミナーゼや¹¹⁻¹³⁾、黒粕の主な原因である酸化酵素のチロシナーゼなども生産する¹⁴⁾。麹菌は醸造食品によって使用される菌種が異なり、清酒と味噌では主に *A. oryzae*^{1,15)}、醤油では *A. oryzae* と *A. sojae*¹⁶⁾、本格焼酎では *A. luchuensis* が使用されている¹⁷⁾。またそれぞれの用途によって求められる麹の特徴も異なる(表1)。清酒ではもろみ中のグルコース濃度が1%以上あることで、酵母による香気成分の生産量が増加することが知られている^{18,19)}。そのためには、グルコアミラーゼ活性が高いことに加え、 α -アミラーゼに対するグルコアミラーゼ比活性が高い麹が適している²⁰⁻²²⁾。一方で、清酒中の雑味成分と評価されるアミノ酸量を低くするため、ペプチダーゼ活性の低い麹が求められる²³⁾。しかし、調味料である醤油醸造においては、タンパク質の窒素利用率向上に寄与するプロテアーゼ活性が高い麹が望まれるが¹⁶⁾、火入れオリの原因の1つである α -アミラーゼ活性が低い麹が適しており、*A. sojae* が使用される理由となっている²⁴⁾。30°Cを超える高温環境下で作られる本格焼酎では、常に細菌汚染のリスクがあることから、pHを低く保つことができるクエン酸生産能の高い菌株が使用されている¹⁷⁾。

糸状菌が生産する二次代謝産物であるマイコトキシンの中でも特に毒性が強いとされるアフラトキシンは、*A. flavus* と *A. parasiticus* の一部が生産することが知られている。しかし、*A. flavus* の近縁種である *A. oryzae* や、*A. parasiticus* の近縁種である *A. sojae* は遺伝子解析の結果から生産しないことが証明されている²⁵⁻³⁰⁾。また、一部の *A. niger* が生産するオクラトキシンAやフモニシンB2については、黒い分



* Shouhei MIKI

1994年12月生まれ
近畿大学 農学部 環境管理学科
(2017年)

現在、株式会社樋口松之助商店 研究室
大阪大学 大学院工学研究科 生物工学
専攻後期課程 在学中 学士
専門/環境管理

TEL : 06-6621-8781

FAX : 06-6621-2550

E-mail : s.miki@higuchi-m.co.jp

表1 発酵食品の製造で望まれる菌株の特性

発酵食品		清酒	本格焼酎	みりん	醤油	味噌	酢	甘酒	漬物	
菌株		<i>A. oryzae</i> <i>A. luchuensis</i>	<i>A. oryzae</i> <i>A. luchuensis</i>	<i>A. oryzae</i>	<i>A. oryzae</i> <i>A. sojae</i>	<i>A. oryzae</i>	<i>A. oryzae</i> <i>A. luchuensis</i>	<i>A. oryzae</i>	<i>A. oryzae</i>	
酵素の種類	アミラーゼ	グルコアミラーゼ	高	高	高	並	高・低	高	高	
		α-アミラーゼ	並	高	高	並	高・低	高	高	
		G/α	高	—	—	—	—	—	—	—
		α-グルコシダーゼ	高	—	—	—	—	—	—	—
	プロテアーゼ	(pH3)	低	高	高	—	—	高	—	—
		(pH6)	—	—	—	高	高	—	高	高
		ACP	低	高	高	高	高	高	高	高
		ACP/AP	低	—	—	—	—	—	—	—
	セルラーゼ	LAP	—	—	—	高	—	—	—	—
		CMC液化力	—	—	—	高	—	—	—	—
		End-PG	—	—	—	高	—	—	—	—
		キシラナーゼ	—	高	—	低	高・低	—	—	—
	その他	β-グルコシダーゼ	—	高・低	—	—	—	—	—	—
		リパーゼ	—	—	—	高	高	—	—	—
フィターゼ		—	—	—	高	—	—	—	—	
グルタミナーゼ		—	—	—	高	高	—	—	—	
菌糸の長さ		—	—	—	短	長	—	長	—	
増殖速度		早・遅	早	早	早	早	早	早	早	

生子を形成するなど外観が似ている *A. luchuensis* に関しても危惧されたが、遺伝子解析の結果から生産しないことが分かっている³¹⁻³⁴⁾。

種麴の製造

種麴は原料（米あるいは大麦）を浸漬し水切り後煮沸して放冷したものに、原菌を接種し約20時間培養後、容器に小分けし延べ100時間培養して造られる。その後45-48時間乾燥する。乾燥後のものを全てを包装したものを粒状品と呼び、そこから篩い分けた分生子をでんぷんで量目調整したものを粉状品と呼ぶ。

以前は湿度100%に近い環境下で木製の麴蓋を使用し、品温制御はすべて手作業で行っていた。現在はより純粋な種麴の製造を目指し、金属容器を用いてクリーンルーム内で空調管理を行い、人が触れる作業を減らし、殺菌した作業着や手袋を着用して製造している。

品質管理

種麴の品質管理における重要な項目は、一般細菌数、種麴の水分と発芽率、製麴試験における性状と酵素力価である。種麴は麴製造用のスターターであるため、麴中の細菌数を減らすためには純度の高い製品を提供することが我々種麴メーカーの使命であると考えている。麴菌の分生子は、殺菌処理ができないことから、製造工程中の細菌汚染の抑制には細心の注意を払っている。麴を製麴する際の種麴の使用量は千から数千分の一であることから、細菌数を

1×10^3 CFU/g以下にすることによって、計算上麴原料1g中に細菌が1個以下となる。種麴の水分を10%以下とすることは、長期間安定した発芽率を保持するために最も重要である。またそれによって担保される高い発芽率によって、再現性の高い麴造りを行うことができる。麴菌の分生子は発芽によって増殖を開始し、菌糸を伸ばして成長する。発芽率が低い場合麴の立ち上がりが悪くなり、麴の出来も悪くなる。製麴試験による麴の性状の観察や酵素力価の測定は、継代培養を経ても親株の特徴が維持されていることを確認するために行う。

麴の応用

麴の発酵食品開発の事例を2つ紹介する。1つ目は弊社も参加し、日本獣医生命科学大学を中心とした7つの機関で立ち上げた産学連携コンソーシアムで開発された麴チーズである。糸状菌を用いたチーズはブルーチーズやカマンベールが有名であり、日本においても過去に麴菌を使ったチーズの製造が行われたが、その製法は麴中に含まれる酵素を利用するものであった³⁵⁻⁴³⁾。そこで本コンソーシアムでは、成形したチーズカードに麴菌分生子を直接接種し培養する表面熟成タイプの製造に挑戦した。選定した麴菌はプロテアーゼ活性が高くリパーゼ活性が低い菌株であり、麴チーズ中のグルタミン酸量は、市販のカマンベールの5倍以上高くなり、また風味は揮発性短鎖脂肪酸が低い日本人の好みに合ったものとなった⁴⁴⁾。さらに、麴チーズにはチーズカードに酒粕が配合され、乳酸菌の増殖を促進すると

ともに、独特の風味が付与されており、日本の独自性と地域性も訴求できる。麴チーズはすでに現在販売され好評を得ている。

2つ目はキューピー株式会社と共同開発した卵麴と、それをを用いた熟成卵黄である。卵は豊富な栄養を含んでいるが、調理方法を変え醤油や塩などの調味料で味付けするなど素材のまま摂取することが多い。麴菌の酵素による卵の分解に関しては、卵を醤油麴で分解する、あるいは卵と小麦粉を混合したものを麴にして調味料を作る研究が報告されている^{45, 46)}。一方で、卵本来のおいしさを生み出すためには卵のみを麴にする必要があると考えられた。しかしその性状ゆえに卵のみを麴にすることは難しいと考えられたことから初めに、麴に適した卵素材と菌株の選定を行った。その結果、卵麴は穀物麴とは異なり、アミラーゼ活性が極端に低くプロテアーゼ活性が特異的に高い、特徴的な酵素バランスとなった⁴⁷⁾。卵麴と卵黄を配合し熟成した熟成卵黄は、卵黄のみの場合と比較して麴の酵素反応により総アミノ酸量が約5倍と増加しており、中でもコク、うま味、甘味に関与する呈味性アミノ酸が増加していた。また、香気成分も90倍以上増加しており、チーズのような香りや味噌や醤油などの熟成素材と同じ、香ばしい香り、カラメルや蜂蜜のような甘い香りといった新たな香りも生じていた⁴⁸⁾。現在、キューピー株式会社のいくつかの商品に熟成卵黄が使用され販売されている。

おわりに

麴菌は古くから日本人の食生活を支えており、近年その安全性は遺伝子レベルで証明されている。麴菌を使った新しい商品も上市されており、さらなる利用が期待される。私は今後も麴菌の秘めた可能性を発揮させようと考えている。

参考文献

- 1) Yamashita H.: *Koji starter and koji world in Japan. Fungi*, 7, 569 (2021)
- 2) Macida M. et al.: Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature*, 438, 1157-1161 (2005)
- 3) Sato A. et al.: Draft Genome Sequencing and Comparative Analysis of *Aspergillus sojae* NBRC4239. *DNA Res.*, 18, 165-176 (2011)
- 4) Yamada O. et al.: Genome sequence of *Aspergillus luchuensis* NBRC 4314. *DNA Res.*, 23, 507-515 (2016)
- 5) Hata Y. et al.: Nucleotide sequence of an alternative glucoamylase-encoding gene (*glaB*) expressed in solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *Gene*, 207, 127-134 (1998)
- 6) 秦洋二, 石田博樹: 清酒麴菌の固体培養(麴造り)で大量に発現するグルコアミラーゼ遺伝子について, 日本醸造協会誌, 93, 922-931 (1998)
- 7) Hata Y. et al.: Nucleotide sequence and expression of the glucoamylase-encoding gene (*glaA*) from *Aspergillus oryzae*. *Gene*, 108, 145-150 (1991)
- 8) Hata Y. et al.: The glucoamylase cDNA from *Aspergillus oryzae*: its cloning, nucleotide sequence, and expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 941-949 (1991)
- 9) Tsukagoshi N. et al.: Isolation of a cDNA encoding *Aspergillus oryzae* Taka-amylase A: evidence for multiple related genes. *Gene*, 84, 319-327 (1989)
- 10) Wirsal S. et al.: Three alpha-amylase genes of *Aspergillus oryzae* exhibit identical intron-exon organization. *Mol. Microbiol.*, 3, 3-14 (1989)
- 11) Yano T. et al.: Purification and properties of glutaminase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Fermentation Technology*, 66, 137-143 (1988)
- 12) Koibuchi K. et al.: Molecular cloning and characterization of a gene encoding glutaminase from *Aspergillus oryzae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54, 59-68 (2000)
- 13) Ito K. et al.: Identification of the glutaminase genes of *Aspergillus sojae* involved in glutamate production during soy sauce fermentation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77, 1832-1840 (2013)
- 14) Obata H. et al.: Cloning of a novel tyrosinase-encoding gene (*melB*) from *Aspergillus oryzae* and its overexpression in solid-state culture (rice koji). *J. Biosci. Bioeng.*, 97, 400-405 (2004)
- 15) Kusumoto K. et al.: Japanese traditional miso

- and koji making. *Fungi*, 7, 579 (2021)
- 16) Ito K. et al.: Koji molds for Japanese soy sauce brewing: characteristics and key enzyme. *Fungi*, 7, 658 (2021)
 - 17) Hayashi K. et al.: Making traditional Japanese distilled liquor, shochu and awamori, and the contribution of white and black koji fungi. *Fungi*, 7, 517 (2021)
 - 18) 石川雄章 他: 清酒酵母の Acetyl-CoA: alcohol acetyltransferase について, 日本醸造協会雑誌, 79, 62-66 (1984)
 - 19) 栗山一秀 他: 清酒に関する酵母の研究 (第7報), 醸酵工学会誌, 64, 253-259 (1986)
 - 20) 布川弥太郎, 合瀬健一: 清酒もろみの並行複発酵に関する研究 (第6報), 日本醸造協会雑誌, 72, 455-458 (1977)
 - 21) 布川弥太郎, 角谷貞夫: 清酒もろみの並行複発酵に関する研究 (第10報), 日本醸造協会雑誌, 73, 567-571 (1978)
 - 22) 布川弥太郎, 角谷貞夫: 清酒もろみの並行複発酵に関する研究 (第11報), 日本醸造協会雑誌, 73, 785-788 (1978)
 - 23) Hashizume K. et al.: Bitter-tasting sake peptides derived from the N-terminus of the rice glutelin acidic subunit. *Food Sci. Technol. Res.*, 13, 270-274 (2007)
 - 24) 茂田井宏 他: 醤油火入れおりの沈降に及ぼす麹菌由来の各種酵素タンパク質の寄与, 日本農芸化学会誌, 57, 27-36 (1983)
 - 25) Lee Y. et al.: *Aspergillus oryzae* strains with a large deletion of the aflatoxin biosynthetic homologous gene cluster differentiated by chromosomal breakage. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72, 339-345 (2006)
 - 26) Tominaga M. et al.: Molecular analysis of an inactive aflatoxin biosynthesis gene cluster in *Aspergillus oryzae* RIB strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 484-490 (2006)
 - 27) 山田修: 麹菌 *Aspergillus oryzae* のアフラトキシン生合成遺伝子ホモログクラスタの解析, 日本醸造協会誌, 103, 665-669 (2008)
 - 28) Watson A. J. et al.: Homologs of aflatoxin biosynthesis genes and sequence of *aflR* in *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 307-310 (1999)
 - 29) Matsushima K. et al.: Absence of aflatoxin biosynthesis in koji mold (*Aspergillus sojae*). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55, 771-776 (2001)
 - 30) Chang P. et al.: Understanding nonaflatoxigenicity of *Aspergillus sojae*: a windfall of aflatoxin biosynthesis research. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 76, 977-984 (2007)
 - 31) Yamada O. et al.: Molecular biological researches of Kuro-Koji molds, their classification and safety. *J. Biosci. Bioeng.*, 112, 233-237 (2011)
 - 32) Hong S. et al.: *Aspergillus luchuensis*, an industrially important black *Aspergillus* in East Asia. *PLoS. One.*, 8, e63769 (2013)
 - 33) Susca A. et al.: Variation in the fumonisin biosynthetic gene cluster in fumonisin-producing and nonproducing black aspergilli. *Fungal, Genet. Biol.*, 73, 39-52 (2014)
 - 34) 山田修: 黒麹菌ゲノム情報公開, 日本醸造協会誌, 112, 530-533 (2017)
 - 35) 中西武雄, 鴫田文三郎: チーズの熟成に関する研究IV, 日本畜産学会報, 30, 47-50 (1959)
 - 36) 中西武雄, 鴫田文三郎: チーズの熟成に関する研究V, 日本畜産学会報, 30, 283-286 (1959)
 - 37) 中西武雄, 鴫田文三郎: チーズの熟成に関する研究VI, 日本畜産学会報, 31, 79-83 (1960)
 - 38) 中西武雄, 鴫田文三郎: チーズの熟成に関する研究VII, 日本畜産学会報, 31, 84-87 (1960)
 - 39) 中西武雄, 鴫田文三郎: チーズの熟成に関する研究X, 日本畜産学会報, 33, 152-155 (1962)
 - 40) 中西武雄, 中沢勇二: チーズの風味成分に関する研究III, 日本畜産学会報, 35, 98-106 (1964)
 - 41) 中西武雄, 中沢勇二: チーズの風味成分に関する研究IV, 日本畜産学会報, 36, 60-67 (1965)
 - 42) 中西武雄, 中沢勇二: チーズの風味成分に関する研究VI, 日本畜産学会報, 37, 146-152 (1966)
 - 43) 中西武雄, 中沢勇二: チーズの風味成分に関する研究IX, 日本畜産学会報, 37, 328-335 (1966)
 - 44) Suzuki S. et al.: Lipase and protease activities in Koji cheeses surface-ripened with *Aspergillus* strains. *Food Science and Technology Research*, 27,

- 543-549 (2021)
- 45) 莊咲子 他: たまご醤油の調製に関する研究, 京都女子大学食物学会誌, 64, 35-41 (2009), <http://hdl.handle.net/11173/1753> (参照 2024-6-30)
- 46) 莊咲子 他: 卵白スポンジケーキを用いた麹菌の高密度培養と卵白発酵調味料 (たまご醤油) の開発, 日本食品科学工学会誌, 61, 77-84 (2014)
- 47) Nakagawa T. et al.: Preparation of egg-*koji* for developing a novel food. *J. Biosci. Bioeng.*, 135, 447-450 (2023)
- 48) Nakagawa T. et al.: Egg-*koji* enhances the richness and umami taste of whole egg. *Food Science and Technology Research*, 30, 343-352 (2024)



オオワシ (知床)