

旧式焼酎（米麴生白糠仕込）醸造における酒母・醪中の乳酸菌について

田邊幾之助・二石真智子・迫間敬子・有川順子

（応用微生物学研究室）

昭和57年8月10日 受理

Occurrence of Lactic Acid-Bacteria in Shubo and Moromi of the Shôchû (Rice-Koji-Raw Shironuka-Shikomi)-Brewing*

Ikunosuke TANABE, Machiko FUTAIISHI, Keiko SAKOMA
and Junko ARIKAWA

(Laboratory of Applied Microbiology)

緒 言

旧式焼酎醸造は白麴菌による麴1部に1.5部の汲水を加え酒母をつくり、酒母6日、澱粉価で約2部相当の主原料を加えて醸造を行い、普通醪10日前後で蒸溜する。とくに、南九州の甘藷焼酎の醸造は甘藷の収穫期間の関係と、その保存性が低いため、9月から翌年1月中半までの4カ月余りしか行えないので、1月から主に梅雨期まで、あるいは9月までの期間は米、麦あるいは生白糠を主原料として多く熟成焼酎の醸造を行っている。このうちとくに、生白糠、また時として米を主原料とする醪が醸造中異常にその酸度を高める現象がおこり、正体不明のまま酸敗といって工場によってはそのまま廃棄することもあったという。われわれはこの現象を高酸度醪と呼び、主として乳酸菌がひきおこす現象と推定して研究を進めて来た^{3,4,5)}。今回は米麴生白糠仕込焼酎の酒母・醪について高酸度醪の発生要因およびその対策を検討するために、三の微生物生態学的研究を行ったので報告する。

材 料 と 方 法

1. 試 料

酒母・醪の試料については小正醸造有限会社日置工場でその都度滅菌した500mlポリビンにサンプリングして研究室に持ち帰り、直ちに実験に供した。

2. 分離、同定・検索、酒母・醪の分析、および耐性スペクトル

全て前報と同じ方法によった^{4,5)}。

結果および考察

1. 酒母・醪の分析

米麴生白糠仕込焼酎醸造は普通、足掛、麴3日、酒母6日、二次醪3日、三次醪8日から10日の日程で行われる³⁾。この間の微生物生態学的に重要と思われる要因、すなわち白麴菌の生産するクエン酸および乳酸菌の生産する乳酸を定量することによって、乳酸菌の酒母・醪中での動態をある程度把握することが出来るものと思われた。

まず、Table 1 は比較的酸度の高い米麴生白糠仕込と米仕込の醪を選んで分析した値であるが、たまたまこの米麴米仕込の場合は乳酸も低くはないがクエン酸量が主として高酸度に関係していると思われる。アルコールも正常値であった。ところが、米麴生白糠仕込の場合では分析値から酸度の原因が乳酸と酢酸によるものであろうと推定できる。したがって酸度が高く出る場合でも、あながち変敗ときめつけるまでもない場合も多いことを示しているが、米麴生白糠仕込の例で示された乳酸、酢酸型の高酸度醪はアルコール収量が3-4%下落するところから問題とすべきであろう。しかも生成乳酸量からそれが乳酸菌汚染によるものと推測された。

つぎに、米麴生白糠仕込または米仕込の醪のクエン酸、時には乳酸の正常値といったものがあるかどうか検討した。Table 2 は、米麴生白糠仕込の場合の分析値でクエン酸量は酒母で8-9g/l、二次醪で2g/l、さらに、三次醪で1.5g/lであった。この値は前々報⁵⁾の米麴甘藷仕込の場合とほぼ同様であり、このクエン酸量に基づく滴定酸度は酒母20~23ml、醪7~8mlが標準的であるが表中とくに三次醪5日目(3-5)およ

* この研究は日農化関西支部・西日本支部合同大会（岡山大学教養部、岡山市、昭和53年10月14日）で講演した。講演要旨集 p. 25.

Table 1. Analyses of Shôchû-Moromi

Shôchû-moromi sample no.	Alcohol %	Acidity ml	Citric acid g/l	Lactic acid g/l		Acetic acid g/l
				L	D	
Rice-koji-raw Shironuka-Shikomi B 3-8	13.2	14.30	0.610	2.580	2.760	1.524
Rice-koji- Rice-Shikomi K 3-7	17.3	12.38	1.197	0.224	0.413	0.252
J 3-10	16.5	13.14	2.135	0.504	1.071	0.334

Table 2. Changes in the acidity, and the citric acid and the lactic acid concentrations in Shubo and Moromi in Shôchû brewing process

Process	Shubo				2nd Moromi	
	1-2	1-3	1-4	1-5	2-1	2-2
Acidity (0.1 N NaOH, ml)	18.10	20.45	21.25	22.70	4.95	7.03
Citric acid g/l	8.72	6.73	8.40	9.08	2.06	1.83
L-lactic acid g/l	0.091	0.168	0.152	0.096	0.021	0.091

Process	3rd Moromi				3-6		3-7	
	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-6	3-7
Activity (0.1 N NaOH, ml)	9.50	9.90	10.75	12.00	13.25	10.02		
Citric acid g/l	1.50	1.38	0.73	1.55	1.64	1.08		
L-lactic acid g/l	0.099	0.267	0.752	0.945	4.191	0.904		

Table 3. Acid concentrations and occurrence of microorganisms in Shôchû-Moromi

Sample no. Shikomi	Acidity ml	Citric acid g/l	Lactic acid g/l			yeasts $\times 10^3$ / ml	Lactic acid bacteria $\times 10$ /ml		
			L	D	total		<i>L. sake</i>	<i>L. brevis</i>	others
Raw									
Shironuka-shikomi									
F 3-4	13.40	1.92	1.24	0.84	2.08	2150	255		
E 3-5	12.75	1.57	0.78	0.99	1.77	740	5	130	
D 3-6	11.80	1.62	0.74	0.79	1.53	2100	60		
C 3-7	9.50	1.98	1.62	0.88	2.50	455	20		
B 3-8	14.30	0.61	2.58	2.76	5.34	1.5	8	112	
A 3-9	12.60	1.31	0.81	1.44	2.25	1150	70		
Rice-Shikomi									
I 2-2	5.10	1.90	0.48	0.18	0.66	1550	5	5	85
H 3-1	5.06	1.57	0.58	0.58	1.16	2850	120		
G 3-3	7.05	1.13	0.43	0.74	1.17	1350	20	180	

び6日目(3-6)では滴定酸度が、それぞれ 12.00ml, 13.25 ml であった。さらに三次醪6日目の醪の L-乳酸量が異常に高いが、これは高酸度に対応するものと

思われる。このように高酸度は三次醪後半で現れるのが普通と考えられたので、米麴生白糠仕込、または米仕込の三次醪を中心に採取し、滴定酸度、クエン酸量、

L- および D- 乳酸量, 酵母数および乳酸菌数を分析した。結果は Tables 2 および 3 に示したとおりであった。試料は三次醪 4 日目~9 日目 (3-4~3-9) は米麴生白糠仕込であるが, 二次 2 日目 (2-2), 三次 1 日目と 3 日目 (3-1, 3-3) は米麴米仕込であった。これによると三次醪の後半で異常な高酸度が認められる。ところが, クエン酸, 乳酸量はそれに対応する場合もある。必ずしも関連があるとはいえないものもある。ただ三次 8 日目 (3-8, B) の場合高酸度であるに

もかわらず, クエン酸量は非常に低く, L- および D- 乳酸量は非常に高い。微生物数を見ても酵母数が非常に落ち込んでいるのが目立っている。ただ乳酸菌の生菌数は低くこの点で多少の疑念は残るが, 高酸度醪の多くは乳酸量も確かに多く乳酸菌との関連を示しているように思われる。

2. 分離乳酸菌の同定

分析の際に分離した米麴生白糠仕込または米仕込の乳酸菌を常法により分類検索した。結果は Table 4

Table 4. Characterization of the lactic acid bacteria isolated from the Shôchû-moromi (Rice-koji-
rice/Shironuka-Shikomi)

Strains	Gram	Morphology	Fermentation	Optical activity of lactic acid	Sugar fermentation													Milkreaction	Growth temperature °C				Identification		
					raffinose	xylose	lactose	L-arabinose	rhamnose	galactose	maltose	mannitol	mannose	salicin	sorbitol	saccharose	trehalose		α-methyl-glucoside	starch	30	37		45	50
C-2-1	+	rod	L	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	##	##	##	-	L. sake-group	
D-a-2	+	rod	Ho	L	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	##	##	##	-		
F-a-1	+	rod	L	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	##	##	##	-		
H-3a-1	+	rod	L	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	##	##	##	-		
B-2a-2	+	rod	DL	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	##	##	-	-	L. brevis	
B-3a-1	+	rod	He	DL	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	##	##	-	-		
E-a-1	+	rod	DL	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	##	##	-	-		
G-3a-1	+	rod	DL	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	##	##	-	-		
I-3a-1	+	rod	Ho	DL	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	##	##	##	-	L. acidophilus
I-3a-3	+	rod	Ho	L	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	##	##	-	-	(L. plantarum)

* Ho: homo-fermentation. He: hetero-fermentation.

Table 5. Determination of the fermentation patterns of the Shôchû-lactic acid-bacteria, and the isomers of lactic acid produced by them, using the enzyme-kits

Strains	Remaining glucose g/l	Isomers of lactic acid g/l		Consumed sugar g/l	Lactic acid production %	Fermentation
		L	D			
A-2-2	5.238	9.600	1.633	21.086	53.2	Ho
C-2-1	3.182	13.600	1.698	23.142	66.5	"
D-a-2	3.962	11.754	1.306	22.362	56.7	"
F-a-1	1.057	19.216	1.012	26.268	77.0	"
G-3b-1	0.000	18.578	3.004	26.324	82.0	"
H-3a-1	2.553	10.938	2.873	23.771	58.1	"
I-3a-1	6.251	6.073	7.510	20.066	67.7	"
I-3a-3	3.610	11.656	1.437	22.714	57.6	"
I-3e-1	0.604	7.71	6.073	25.720	53.8	"
A-2-3	0.572	3.330	5.975	25.752	36.1	He
B-2a-2	2.157	3.314	5.355	24.167	32.4	"
B-3a-1	0.000	5.854	6.563	26.324	47.1	"
E-a-1	2.113	2.841	5.551	24.211	42.5	"
G-3a-1	0.044	2.384	7.020	26.280	35.8	"
G-3e-2	0.704	2.024	6.563	25.620	40.9	"
Blank	26.324	1.894	0.000	0.000	0.0	-

Table 6. Citric acid and lactic acid-acidities-resistance of the lactic acid-bacteria

Strains	Growth response (%)*											
	0 reading in Klett	Tj-medium**, including at a conc. (g/l) of,					0 reading in Klett	Medium for hetero fermenter***, including at a conc. (g/l) of,				
		citric acid			lactic acid			citric acid			lactic acid	
	5.03	6.86	9.14	2.98	5.10	5.03	6.86	9.14	2.98	5.10		
A-2-2	93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
D-a-2	158	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
F-a-1	152	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
G-3b-1	104	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
H-3a-1	174	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
I-3a-1	137	50	48	38	24	—	—	—	—	—	—	
I-3a-3	160	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
C-2-1	151	15	—	—	—	—	345	27	—	—	—	
I-3e-1	68	67	—	—	124	—	307	38	10	21	35 23	
A-2-3	61	37	—	—	55	—	358	32	13	20	42 —	
B-2a-2	48	61	—	—	46	—	343	33	17	—	36 —	
B-3a-1	55	86	—	—	78	—	82	100	87	99	100 48	
E-a-1	47	100	—	—	70	—	281	24	29	15	34 —	
G-3e-1	66	70	—	—	34	—	496	22	22	—	19 —	
G-3e-2	107	52	—	—	29	—	502	34	15	10	28 —	
Starting pH	6.40	3.80	3.57	3.31	4.00	3.70	6.16	4.20	3.97	3.87	4.40 4.04	

* Percentage of reading in Klett.

** Medium for isolation of lactic acid-bacteria.

*** Medium for cultivation and physiological tests of lactic acid bacteria.

のとうり、甘藷焼酎醪（米麴甘藷仕込）では *Lactobacillus casei* や *L. acidophilus*, *L. sake*, *L. brevis* が多かったが、米麴生白糠仕込または米仕込からの乳酸菌では *L. sake* か *L. brevis* にほとんど限られるようである。とくに分離乳酸菌 *L. sake* は本来の *L. sake* と比較して五炭糖の発酵性がなく、しかも 40°C でかなりよく生育する点で異っている。この点、分離乳酸菌は北原^{1,2)} が新種としながらも命名するまでに至らなかった種に生成乳酸が L(+) である以外ほぼ合致すると判断される。前報⁴⁾ ではこれも含めて *L. sake* 群として取扱って来たのでここでもこれに従う。

分離乳酸菌の *L. brevis* も 45°C で生育がない点を強調して *L. brevis* と判断したが、*L-arabinose* 利用性がない点は *L. fermentum* と同じである。しかし前報の甘藷焼酎醪から分離した *L. brevis* とその他の点で非常によく似ていることから *L. brevis* と判断した。ただこの場合 Table 5 に示したように生成乳酸がかなり D(-) にかたよった DL であるところから将来とも検討を要する。

3. 分離乳酸菌の生態学的特性

前報⁴⁾ と同様の方法で行った。すなわちクエン酸は

5.03, 6.86, および 9.14 g/l, 乳酸は 2.98, および 5.10 g/l の各濃度での生育を検討した。Table 6 に示したように、今回のものはホモ型菌とヘテロ型菌とはかなりくっきりと差が認められ一般にヘテロ型菌は醪のクエン酸濃度では充分生育できることを示している。しかし、ホモ型およびヘテロ型いずれの乳酸菌も酒母のクエン酸濃度 8~9 g/l での生育はまずないと考えてよいことがわかった。

要 約

旧式焼酎（米麴生白糠仕込）醸造で醪の滴定酸度が異常に高くなるという高酸度醪の発生要因およびその対策を検討するため醪の分析と乳酸菌の分離を行った。正常醪のクエン酸量は酒母で 8~9 g/l, 二次醪で 2 g/l, 三次醪で 1.5 g/l であった。通常このクエン酸量に基づく滴定酸度は酒母 20-23 ml であった。高酸度醪にはクエン酸量が平均より高いだけの正常醪の場合のほか多量の乳酸と酢酸による高滴定酸度の場合があった。問題は後者でアルコール収量が 3-4% 下落し、時としてクエン酸量が低下し、とくに乳酸量が高いので乳酸菌の汚染を推測させた。醪から乳酸菌を分離した

が、これらは *Lactobacillus sake* 群乳酸菌と *L. brevis* であった。とくに高酸度醪と思われる醪からは両者とも分離できた。これらはいずれも酒母のクエン酸濃度 8-9 g/l での生育はないが、醪のクエン酸濃度 1.5~2 g/l では生育できるので、高酸度醪の原因となることが推定できた。

文 献

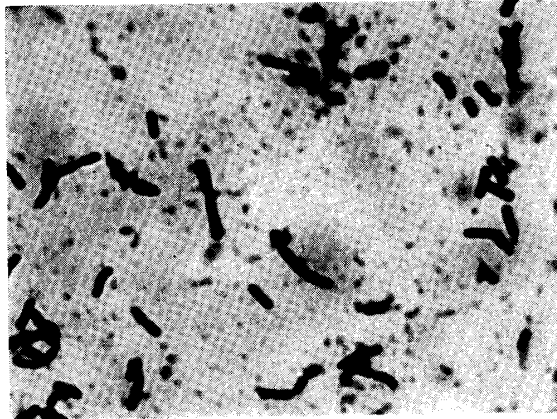
- 1) 北原覚雄：乳酸菌と乳酸発酵灘酒研究会例会講演 1-16 (1948)
- 2) 北原覚雄：乳酸菌の研究。東京大学出版社、東京 (1966)
- 3) 玉岡 寿・田邊幾之助・小林武一・大林 晃・松村悦男：旧式焼酎醸造の微生物学的研究 (第二報) 米麴生白糠仕込過程の微生物相の変遷。醸協, **66**, 816-818 (1971)
- 4) 田邊幾之助・音地龍夫・二石真智子・迫間敬子・志々目義紀：甘藷焼酎醸造における酒母、醪中の乳酸菌について。鹿大農学術報告, **No. 32**, 69-77 (1982)
- 5) 田邊幾之助・坂田太吉・迫間敬子：旧式焼酎醸造過程におけるジアセチルの生成について。鹿大農学術報告, **No. 31**, 47-52 (1981)

Summary

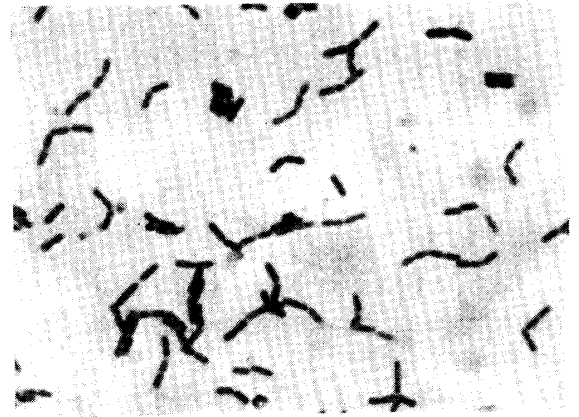
Both in order to ascertain the cause for occurrence of a high acidity-Moromi and to prepare a counter-measure against high acidity in Moromi, analyses of Moromi and isolation of lactic acid bacteria were carried out.

A normal amount of citric acid in Moromi was fixed to be 8 to 9 g/l for Shubo, 2 g/l for the second Moromi, and 1.5 g/l for the third Moromi. A titration corresponding to the concentration of citric acid in Moromi was 20 to 23 ml of N/10 NaOH solution for Shubo, and 7 to 8 ml for Moromi.

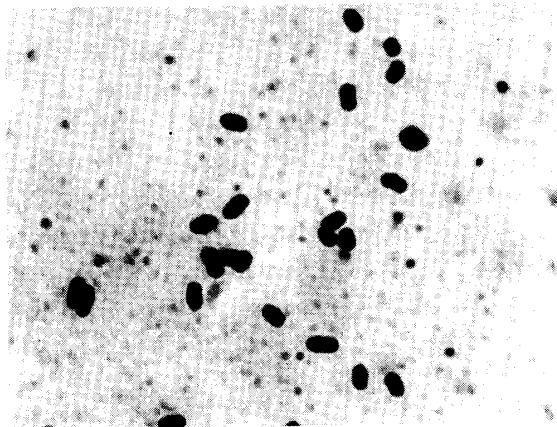
Two cases were differentiated in terms of high acidity Moromi:— One is a kind of normal Moromi, in which a larger amount of citric acid was included than that in average and the other is Moromi of high acidity, caused by large amounts of lactic acid and acetic acid. The latter is a problem: an yield of alcohol from Moromi decreased by 2 to 4%, and at the same time, concentrations of citric acid in Moromi were reduced, and then that of lactic acid would show considerable increase. It may be estimated from the fact that Moromi was contaminated with lactic acid bacteria. Many strains of lactic acid bacteria were isolated from Shôchû-Moromi. These isolated consisted mainly of *Lactobacillus sake*-group and *L. brevis*. Both of the species were isolated from high acidity-Moromi. They cannot multiply in the culture medium, including citric acid at a concentration of 8 to 9 g/l, corresponding to that in Shubo, while they can multiply at a concentration of 1.5 to 2 g/l, corresponding to that in Moromi, hence, an assumption of their causing high acidity in Moromi.



1 a



1 b



1 c



1 d

Photo 1. Gram-stained cells: 1a, *Lactobacillus sake* group F-a-1; 1b, *L. sake* group H-3a-1; 1c, *L. brevis*; 1d, (*L. plantarum*) I-3a-3.