



Title	製麹時間差麹を用いた泡盛の製造に関する研究 : (第 2 報) 醸造工程における脂肪酸の変化について(生物資源科学科)
Author(s)	石原, 昌信; 熱田, 和史; 当山, 清善
Citation	琉球大学農学部学術報告 = The Science Bulletin of the Faculty of Agriculture. University of the Ryukyus(43): 99-105
Issue Date	1996-12-01
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3733
Rights	

製麴時間差麴を用いた泡盛の製造に関する研究 (第2報) 醸造工程における脂肪酸の変化について

石原 昌信*・熱田 和史*・当山 清善*

Masanobu ISHIHARA, Kazusi ATTA, and Seizen TOYAMA :Studies on awamori brewing using a mixture of koji made for different time(II) Changes in fatty acid in process of awamori brewing

SUMMARY

The quality of awamori beverage is greatly affected by the quality of rice-koji prepared by cultivating black-koji mold on steamed-broken rice. Fatty acids in lipid of rice-koji are very important components for ester formation by brewer's yeast in alcohol fermentation.

In this study, changes in fatty acid concentration in process of awamori brewing were investigated by use of normal-koji, only 42 hr-making koji, and mixture-koji which were combined 20hr-making koji with 42 hr-making koji as a substrate and the following results were obtained.

Five kinds of fatty acid were detected in the lipid of rice-koji prepared with *Asp. awamori* G-122, of which main compounds were linoleic and palmitic acids.

Total-fatty acid of rice-koji increased in course of koji making time up to 40 hr and gradually decreased in the later stages. On the contrary, free-fatty acid of rice-koji reduced about 24% of initial amount during koji making. For the quantity of fatty acid in *moromi*-mash, total-fatty acid trended to increase in early stages of fermentation and reached a plateau in the range from 1100 to 1160 mg per 100 g of dried-koji. Only linoleic acid of free-fatty acid significantly decreased in 4 days of fermentation and retained nearly constant values in later stages. There was no significant difference between normal-koji and mixture-koji in the level of total- and free-fatty acid concentrations during fermentation.

緒 論

泡盛は蒸煮米に黒麴菌を生やした米麴を醸酵原料とする蒸留酒であり、酒税法上は焼酎乙類に分類されるが、他県で製造されている本格焼酎と製造法が異なっており、製成酒の香味にも違いがみられる¹⁾。カメ貯蔵によって3年以上熟成させた泡盛はまろやかで古酒香と呼ばれる独特の芳香を呈し、そ

*琉球大学農学部生物資源科学科

の酒質は各階層の消費者から高い評価を受けている。一方、貯蔵期間の短い一般酒は飲み易いが香りに違和感を抱く消費者があり、評価にバラツキがある。最近、焼酎消費者層の拡大に伴い消費者嗜好に変化がみられ、淡麗でライトな酒質の泡盛が求められている。この様な背景から、品質の向上を計るとともに現代消費者ニーズに合致する泡盛酒質の開発が急務となっている。泡盛の製造工程は製麴、発酵、蒸留および貯蔵の4工程から成り、各工程とも酒質に多大な影響を及ぼすものと考えられるが、とりわけ麴品質は酒質のみならずアルコール取得量にも影響を及ぼすため、製麴法を改変することにより原料米の高度利用化と酒質の多様化を計るための技術開発が推進されている^(9,10)。

著者ら^(7,8)は泡盛酒質の多様化技術を確立することを主目的として、製麴時間の異なる2種類の麴を混合した米麴、即ち製麴時間差麴を用いた泡盛製造を設定し、発酵過程における諸成分の変化について調べ、従来法に比べてアルコール取得量の増大が認められたこと等を先に報告した。本研究では、同醸酵法により調製された泡盛の酒質を明らかにする目的で、製麴および発酵工程における脂肪酸の変動について調べたので報告する。

実験方法

(1) 供試黒麴菌：本実験に用いた黒麴菌は、泡盛工場の米麴から単離された本研究室保存の *Aspergillus awamori* G-122 菌株である。

(2) 製麴方法：米麴は既報⁽⁹⁾に準じて調製した。即ち、原料米1Kgを3Lの水道水で4-5回洗米し、25℃で20分間浸漬した後、ガーゼを用いて30分間水切りを行った。この浸漬米を120℃で10分間の蒸煮処理を行った後、室温にて冷却した。次に、蒸煮米に同麴菌で調製された種麴5gを加え、均一に混合した後麴蓋に盛り、30℃の恒温器中で製麴した。製麴24時間目に手入れを行い、上昇した室温を30℃に調整した後、再び同恒温器中で42時間保った。製麴時間が20時間目および42時間目の麴をそれぞれ20時間麴および42時間麴と称し、両麴を混合した麴のことを製麴時間差麴と称した。20時間麴および42時間麴の水含量はそれぞれ29.2%と23.4%であり、澱粉価はそれぞれ52%と58%であった。20時間麴の酸度が2.08、pHは3.81であったのに対し、42時間麴の酸度は5.07、pHは3.69であった。また、42時間麴の澱粉分解酵素の活性は20時間麴の約3倍高い値であった。

(3) アルコール発酵：アルコール発酵は2通りの方法で行った。即ち、モロミ中の全脂肪酸を分析する場合には、300ml容三角フラスコに米麴の50gを採り、これに水道水75mlと酒母1mlを加えた後、30℃で2週間静置して発酵を行った。他方、モロミ中の遊離脂肪酸を分析する場合には綿栓を付した試験管(30×18cm)に米麴10gを採り、これに酵母懸濁液15mlを添加した後、30℃で2週間発酵を行った。

(4) 分析方法：一般成分、米麴からの酵素の抽出および酵素活性の測定は前報⁽⁹⁾に準じた。米麴からの全脂肪酸および遊離脂肪酸の抽出並びに測定は、西谷ら⁽²⁾の方法を若干改変して行った。即ち、全脂肪酸の抽出においては、破砕試料約1gを採取し、これに2N HClを40ml加えた後、100℃で10分間加温処理を行った。冷却後、東洋濾紙no.5を用いて濾過して得られた残渣にエーテル・メタノール(4:1)液20mlを加え、3回抽出した。次に、エバポレーターを用いて40℃にて溶媒を除去したあと、これに内部標準物質として10ppmのn-ヘプタデカン酸0.2mlと1N NaOH溶液2mlを順次加え、室温にて3時間加水分解を行った。次に、2N HCl溶液2mlを加えて酸性とし、NaCl飽和液10mlを混合したのち、分液ロートを用いて10mlのエーテルによる抽出を3回行った。抽出液20mlを蒸留水で洗浄し、Na₂SO₄ 5gを加えて脱水した。次にエバポレーターを用いて30℃にて溶媒を除去したのち、全量を2mlに定容し、その5μlをガスクロマトグラフィー(島津ガスクロマトグラフ GC-4CPTF, ガラスカラム 3mmx1M, ガスポートA 80-100メッシュ DEGS+H₃PO₄ (5+1%)、N₂ 60ml/min, 200℃FID)に供した。一方、遊離脂肪酸の抽出は事前に破砕した試料1gを50ml容三角フラスコに採り、これに85%メタノールを100ml加えた後、85℃で3時間保持して行った。同操作を3度繰り返して得られた抽出液はエバポレーターを

用いて40℃にて溶媒を除去したのち、エーテル・メタノール（3：1）液を加え、ガラスフィルター（Whatman GFF）で濾過した。次に濾液はエバポレーターにより溶媒を除去したのち、内部標準物質を10ppmになるように混合し、2 mlに定容した。試料5 μ l について前述のガスクロマトグラフィーの条件で分析を行った。

実験結果

(1) 原料米中の全脂肪酸量

泡盛醸造に用いられるタイ碎米とうるち米の全脂肪酸量を調べるために、方法の欄で述べた手順でそれぞれ全脂肪酸画分を調製し、ガスクロマトグラフィーによる分析に供した。表1に示したように、両試料の全脂肪酸成分で最も含量が高かったのはリノール酸であり、全体の約50%を占めた。次いでパルミチン酸が高い値を示し、全体の約20%に相当した。タイ碎米中にはステアリン酸が認められたが、市販米には検出されなかった。タイ碎米および市販米中の全脂肪酸量は乾物100g当たり、それぞれ677.7 mgと740.2mgであった。

Table 1. The quantity of total-fatty acid in the lipid of broken-rice from Thailand and glutinous rice

Fatty acid	Broken-rice	Glutinous-rice
Linoleic acid	362.7(49)	386.3(57)
Palmitic acid	143.9(19.4)	139.4(20.5)
Stearic acid	86.8(11.7)	ND(-)
Oleic acid	75.3(10.2)	90.9(13.4)
Myristic acid	71.5(9.7)	61.6(9.1)
Total	740.2(100)	677.7(100)

Fatty acid; mg/100g, dry matter

Rice-koji were prepared as described in previous paper⁽⁹⁾. *Asp. awamori* G-122, which was isolated from *tane*-koji made in awamori distillery, was used in this experiments. Extraction and separation of total-fatty acid from rice-koji were done as follows; One g of the ground sample (or moromi-mash) was hydrolyzed with 40ml of 5% HCl at 100℃ for 10 min in 500 ml-Erlenmyer flask and filtrated with Whatman filter paper no.5. To solid fraction 30ml of solvent (ether: methanol=4:1) was added to extract fatty acid. The extraction procedure were carried out three times. The extracts obtained was concentrated at 40℃ in vacuo until solid and was added 0.2 ml of internal standard solution containing 104ppm of n-hepta decanoic acid in ethanol and 2 ml of 1N KOH in 95% ethanol, and followed hydrolysis at room temperature for 3 hr. After the addition of 2 ml of 2 N HCl and 10 ml of NaCl-saturated water, the fatty acid in the solution was extracted three times with 10 ml each of diethyl ether. The extract obtained was washed with 20 ml of distilled water and removed water by adding 5g of Na₂SO₄. After concentration at 30℃ in vacuo to suitable volume, the samples were filled up to 2 ml with diethyl ether. On the other hand, extraction and separation of free-fatty acid from rice-koji were done as follows; The Erlenmyer flask containing one g of ground-rice koji and 10 ml of methanol was boiled at 85℃ for 3 hr in water bath three times. The extracts obtained were concentrated at 40℃ in vacuo until solid and added 120

ml of solvent (ether:methanol=3:1). After filtration with Whatman glass filter, the solutions were concentrated at 40°C in vacuo to suitable volume. The samples were added 0.2 ml of internal standard solution containing 104 ppm of n-heptadecanoic acid and filled up to 2.0 ml. The quantity of fatty acid were analyzed by gas chromatography

(2) 米麴中の全脂肪酸量及び遊離脂肪酸量

製麴期間中の全脂肪酸量の変動について調べた結果を図1に示した。全脂肪酸量は製麴初期には時間の経過に伴ない増大し、製麴40時間目で最大値(900ppm)となり、以後減少する傾向にあった。40時間麴の全脂肪酸量は初発量に比べて約36%増加しており、主な組成はリノール酸とパルミチン酸であった。また、製麴過程における遊離脂肪酸量について調べた結果を図2に示した。遊離脂肪酸の主成分はリノール酸とパルミチン酸であり、両成分で全体の約83%を占めた。他にオレイン酸およびステアリン酸が検出されたが、これらの含量は低い値であった。リノール酸は製麴時間の経過に伴って徐々に低下し、製麴70時間目には約24%程度減少した。一方、パルミチン酸量は製麴期間を通してほぼ一定の値を推移した。

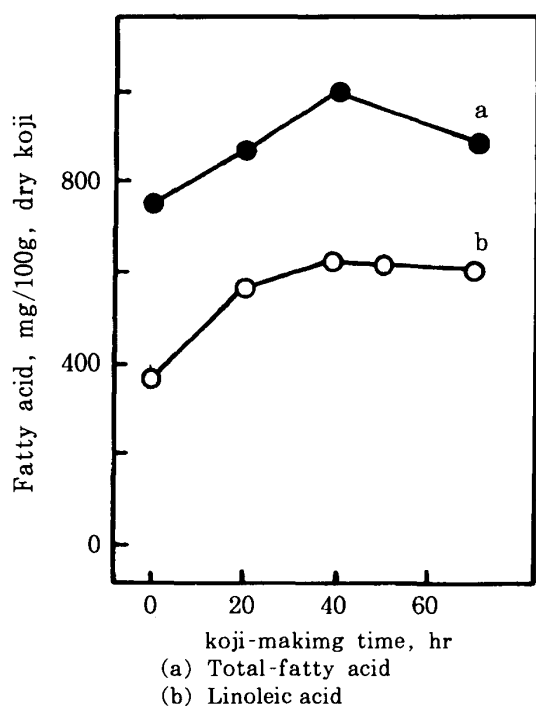


Fig.1. Changes in total-fatty acid in the lipid of rice-koji during koji making time

Rice-koji making was carried out at 30°C for 70 hr in incubator according to the method of previous paper⁹⁾.

Other conditions are stated in the legend to Table 1.

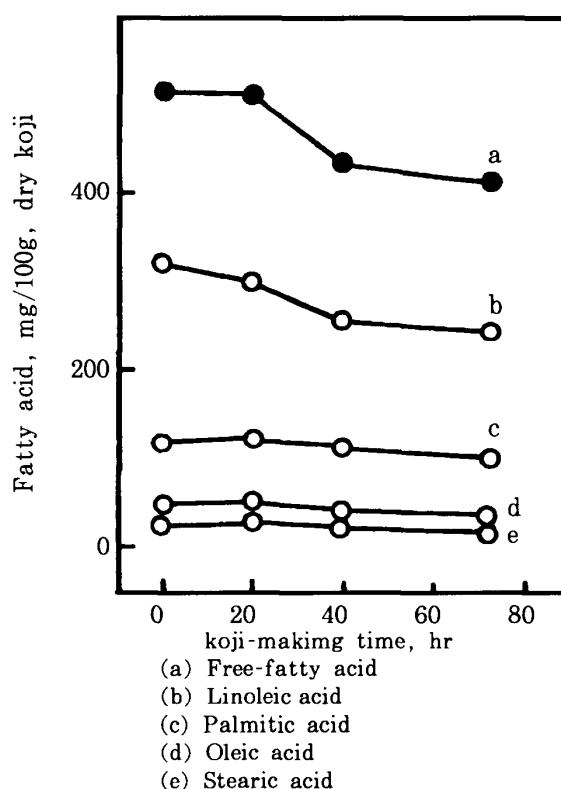


Fig.2. Changes in free-fatty acid in the lipid of rice-koji during koji making time

(3) 発酵過程における全脂肪酸の変動

米麴に酵母を加えて常法通りアルコール発酵を行い、発酵過程におけるモロミ中の全脂肪酸量の変動について調べた。発酵には42時間麴(通常麴)と20時間麴を同量混合した製麴時間差麴、および通常麴を用い、麴組成の違いが脂肪酸量に影響を及ぼすかどうかについて比較した(図3)。モロミ中の全脂肪酸量は何れの麴を用いた場合でも発酵4日目までは増加する傾向がみられ、発酵5日目以降はほぼ一定値を推移した。また、通常麴を用いた発酵では製麴時間差麴を用いた時に比べてやや高い値を示したが、

全脂肪酸量およびその組成に殆ど差異は認められなかった。全脂肪酸画分のリノール酸およびパルミチン酸量は両麹を用いた発酵系で高い値を示し、発酵2-4日目に最大値を示した。オレイン酸、ステアリン酸およびパルミチン酸量は発酵開始時には若干の変動がみられたものの著しい増大は認められなかった。

(4) 発酵過程における遊離脂肪酸の変動

前述の発酵条件下でのモロミ中の遊離脂肪酸量の変化について調べ、結果を図4に示した。モロミ中の遊離脂肪酸量は通常麹および製麹時間差麹の何れを発酵に供した場合でも発酵時間の経過とともに徐々に減少する傾向がみられた。遊離脂肪酸の中でリノール酸量は特に変動が大きく、発酵4日目までは急激な減少を示し、以後一定の値を推移した。これに対して、パルミチン酸、ステアリン酸およびオレイン酸の量的変動は小さく、発酵時間を通してほぼ一定値を示した。また、脂肪酸組成および同成分量は発酵に用いた米麹の違いで差異は殆ど認められなかった。

考 察

本格焼酎の醸造工程における脂肪酸の動向については西谷^(3,4)らによって明らかにされているが、泡盛醸造に関しては玉城ら^(5,6)の熟成過程における変動についての報告があるだけで発酵工程全般についての知見は少ない。本研究では、泡盛工場の米麹から単離された黒麹菌 (*Asp. awamori* G-122) を用い、従来法と製麹時間差麹仕込み法における全脂肪酸および遊離脂肪酸の組成および含量等について比較・検討した。*Asp. awamori* G-122の米麹中の全脂肪酸

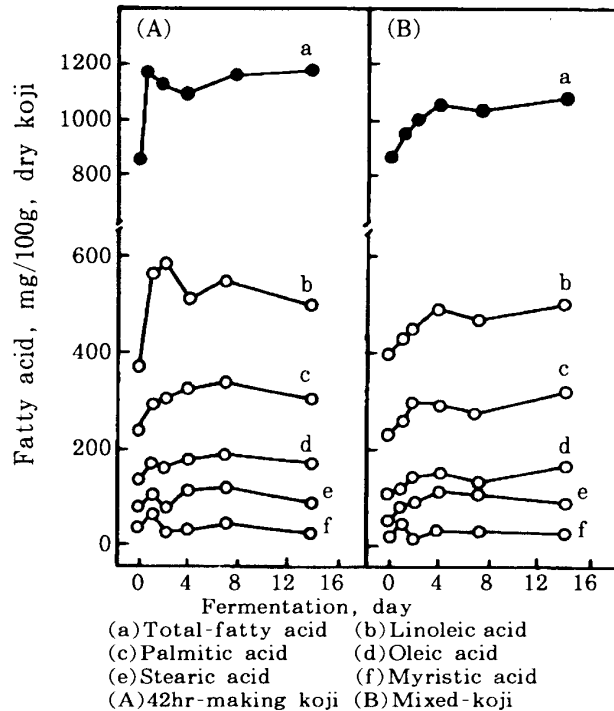


Fig.3. Changes in total-fatty acid in the awamori mash during alcohol fermentation

The 42 hr-making koji (normal rice-koji) and 20 hr-making koji were mixed so that the amount of each koji was equal before fermentation. Fifty grams of each 42 hr-making koji and mixture-koji were added 75 ml of tap water and 1.0ml of yeast starter of *Saccharomyces cerevisiae* SH-4 2069, and then fermented at 30°C for 14 days in a 300ml of Erlenmeyer flask with frequent stirring. Other conditions are stated in the legend to Table 1.

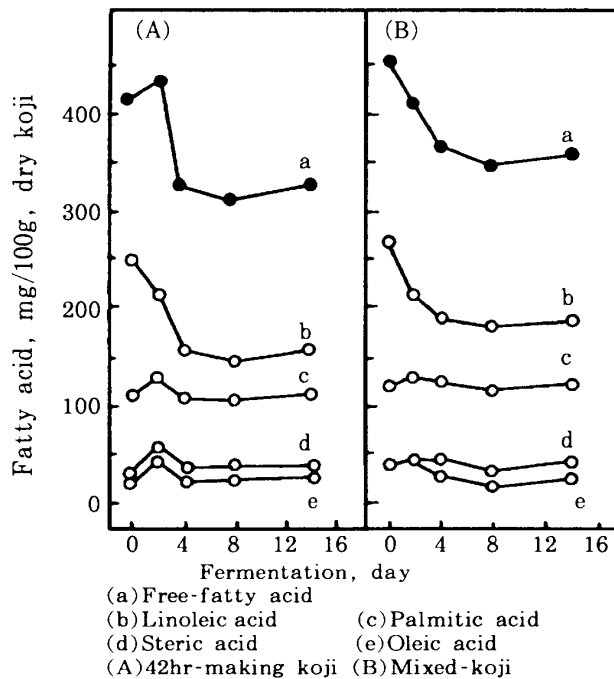


Fig.4. Changes in free-fatty acid in the awamori mash during alcohol fermentation

Ten grams of each 42 hr-making koji and mixture-koji were fermented with 15ml of yeast starter at 30°C for 14 days in glass tube (3 x 18cm) equipped with cotton plug.

Other conditions are stated in the legend to Table 1.

の主成分はリノール酸とパルミチン酸であり、両成分で全体の約70%を占めた。他にステアリン酸、リノレン酸およびミリスチン酸が僅かに検出された。製麴過程における全脂肪酸量は製麴40時間までは増大し、それ以後減少の傾向にあった。西谷ら⁽³⁾によると製麴工程における全脂肪酸量の原料当たり20%の増になるが、それは脂質構成型脂肪酸の増加によるとされている。他方、遊離脂肪酸量は製麴時間の経過に伴って減少する傾向がみられ、同脂肪酸の中で特にリノール酸に顕著な変動がみられた。また、パルミチン酸、オレイン酸およびステアリン酸は原料米中の濃度とほぼ同じであった。これらのことから、製麴時間差麴の全脂肪酸量は通常麴よりも低く、遊離粗暴酸量は僅かに高い値になることがわかった。発酵過程における全脂肪酸量は発酵時間の経過に伴って増加し、発酵4日-8日目にかけて最大値に達した。また、通常麴と製麴時間差麴とでは発酵液中の濃度に僅かな差異が認められたが、ほぼ同様なパターンで推移した。発酵初期の全脂肪酸の増加は主にリノール酸およびパルミチン酸に依存しており、他の脂肪酸の変動は小さい。後述のように、遊離脂肪酸画分のリノール酸は発酵開始とともに減少することから、発酵初期において増加した全脂肪酸画分のリノール酸は脂質構成型脂肪酸に由来するものと推測され、発酵過程で酵母によって生成されたものと考えられる。モロミ中の遊離脂肪酸は通常麴および製麴時間差麴を用いた両発酵系ではほぼ類似した変動を示し、発酵時間の経過に伴ない徐々に減少する傾向にあった。同脂肪酸画分中のリノール酸は発酵4日間で著しく減少し、その後やや増加する傾向にあった。一方、パルミチン酸やその他の脂肪酸は発酵期間を通してほぼ一定であった。焼酎醸造の発酵初期においては、遊離脂肪酸画分のパルミチン酸量はリノール酸量よりも高いと報告⁽⁴⁾されているが、本実験では発酵期間を通してリノール酸が高い値を示した。これは脂肪酸画分の調製法の違いによると思われる。以上の結果から、モロミ中の全脂肪酸量および遊離脂肪酸量は原料米中の両成分含量に依存しており、製麴時間差麴と通常麴間で著しい差異はないということがわかった。このことから、モロミ中の脂肪酸エステル量についても両発酵系で顕著な差異はないものと推察される。

要 約

泡盛酒質は米麴の品質によって著しく影響される。米麴脂質成分の脂肪酸は酒精発酵における酵母のエステル生成に関わる重要な成分である。本研究では、泡盛醸造工程における脂肪酸の変動を通常麴と製麴時間差麴を用いた発酵において調べ、次の様な結果を得た。

黒麹菌 (*Asp. awamori* G-122) を用いて調製された米麴の脂質画分には5種類の脂肪酸が検出され、リノール酸とパルミチン酸が主成分であった。米麴中の全脂肪酸は製麴時間が40時間までは増大したが、その後徐々に減少した。一方、遊離脂肪酸は製麴工程で初発含量の約24%が減少した。発酵液中の全脂肪酸は発酵初期に増加し、後期には一定値を示した(1100-1160mg/100g, 乾燥掬麴)。遊離脂肪酸の中でリノール酸は発酵4日目まで著しく減少し、その後一定値を推移した。通常麴と製麴時間差麴を用いた発酵における全脂肪酸および遊離脂肪酸量には著しい差異は認められなかった。

実験に当り、米麴の試料を提供して下さったヘリオス酒造(株)並びに瑞穂酒造(株)に感謝致します。

引用文献

1. 中田久保、穂坂 賢、佐藤 弘、広瀬 賢、坂井 勲 1987 1980-1981年に分離した泡盛酵母の泡盛もろみ中における香り特性 醸工 65(2):121-126
2. 西谷尚道、佐藤哲郎、菅間誠之助 1978 原料米中の脂肪酸分析法の検討 醸協 73(4):321-325
3. 西谷尚道、佐藤哲郎、菅間誠之助 1978 本格焼酎醸造工程における脂肪酸の動向(1)原料処理および製麴中の変化 醸協 73(6):484-488

4. 西谷尚道、佐藤哲郎、菅間誠之助 1978 本格焼酎醸造工程における脂肪酸の動向(2)もろみおよび蒸留中の変化ならびに総括 73(6):489-493
5. Tamaki, T., Takamiya, Y., Nagamine, J., Takaesu, C. and Nishiya, T. 1986 Changes in free fatty acids of awamori during aging. J. Ferment. Technol. 64(1):11-16
6. 玉城 武、高宮義治、下地睦子 1986 泡盛の成分特性と熟成度合との関係 醸工 64(1):9-15
7. 照屋隆司、石原昌信、当山清善 1991 製麴時間差麴を用いた泡盛製造について 日本農芸化学会西日本支部大会講演要旨集 p43
8. 当山清善、宮里興信、安田正昭、中唐英之 1974 泡盛麴菌による麴の製造とその酵素力および酸度について 琉大農学報 21:109-122
9. 当山清善、石原昌信 1991 時間差麴を用いた泡盛の製造に関する研究 琉大農学報 38:235-242
10. 安田正昭、佐藤充宏、坂口真樹、石原昌信、当山清善 1991 優良泡盛麴菌の検索と製麴条件の検討 琉大農学報 38:255-262
11. 吉沢 淑 1976 酵母のエステル生成に及ぼす高級脂肪酸の影響 農化 50(3):115-119