

# 琉球大学学術リポジトリ

時間差麹を用いた泡盛の製造に関する研究(生物資源科学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 当山, 清善, 石原, 昌信, Toyama, Seizen, Ishihara, Masanobu メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3842">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3842</a>

## 時間差麹を用いた泡盛の製造に関する研究

当山清善\*・石原昌信\*

Seizen TOYAMA and Masanobu ISHIHARA : Studies on  
*Awamori* brewing using a mixture of Koji made for different  
time

### Summary

Effects of the combination of 20-hours-making Koji and 42-hours-making Koji of *Aspergillus awamori* 3142 on the production of ethanol in *Awamori* brewing were investigated.

The alcohol fermentation was carried out at 30°C for 8 days in a 500-ml-Erlenmeyer flask containing mixed-koji, tap water and yeast of *Saccharomyces cerevisiae* SH-4. High yield of ethanol production was achieved with a combination of 20-hours-making Koji and 42-hours-making Koji with the same amounts before fermentation. Ethanol fermentation was performed smoothly even 20-hours-making Koji were added to the mash of 42-hours-making Koji after 3 days of fermentation. The most favorable water-to-Koji ratio and temperature for fermentation were 1.5-1.6 and 20-30°C, respectively.

About 93.5% of the total volume of CO<sub>2</sub> which was another major end product evolved in 4 days of fermentation, and gas evolution per day was maximum at 2 days.

### 緒 言

泡盛醸造の特徴は、黒麹菌を生やした米麹を発酵原料とするとともに酵素源として用い、これに水と酵母を加えて全麹仕込みを行なう点にある。本醸造においては他焼酎製造のように発酵途中で蒸米や他原料を添加しないため、麹の出来・不出来が酒質に及ぼす影響は大であると考えられる。従来の泡盛製造では約42時間製麹の麹が一度に仕込まれており、醸造所間で酒質の差異はほとんどなく、ほぼ画一的な酒質の製品が製造されている。最近、消費者嗜好の変化に伴ない泡盛酒質の多様化が要望されるようになり、蒸留法、貯蔵法および出荷時の濾過法等を検討することにより、酒質の多様化が図られつつある。

泡盛醸造過程における各種成分の変化<sup>5,11)</sup>及び製成酒の成分<sup>9)</sup>と酒質についてはこれまでに明らかになっているが、酒質の多様化に関しては文献に乏しいため化学的分析結果に裏づけられた技術確立がな

---

\*琉球大学農学部生物資源科学科

\*琉球大学農学部学術報告 38:235~242 (1991)

されていない。本研究では、泡盛酒質の多様化と原料米の高度利用化という観点から、従来法で製麹した麹に製麹途中の若麹を適量配合した麹を用いて小規模仕込みによるアルコール発酵を行ない、発酵過程におけるアルコール生成量や各種成分の変化について調べた。

## 実験方法

- (1) 原料米：本研究に供した市販米の水分含量及び澱粉価はそれぞれ15.2%と74.2%であった。
- (2) 供試菌株：米麹の調製には研究室保存の *Aspergillus awamori* 3142 を用い、発酵試験には *Saccharomyces cerevisiae* SH-4 2069 を用いた。
- (3) 製麹方法：原料米1.0 kg を 3 ℓ の水道水で数回洗米し、25℃で20分間浸漬後、ガーゼを用いて30分間の水切りを行なった。浸漬米を120℃で10分間蒸煮処理した後室温にて冷却した。次に、蒸煮米に種麹 7 g を接種混合したのち麹蓋に盛り、30℃の恒温器に保持した。麹は24時間後に手入れを行ない、品温を30℃に調節した後上記と同様な条件で42時間保った。製麹期間が20時間及び42時間の麹をそれぞれ20時間麹（若麹）および42時間麹と称し、両麹を適度に混合した麹を時間差麹と称した。
- (4) アルコール発酵試験：発酵は500ml容三角フラスコに麹100 g を採り、麹重量当たり1.5倍量の水と酵母の前培養液2.0mlを添加し、30℃で時々攪拌して行なった。発酵歩合は酵母によって生成されたアルコール量を麹の澱粉量から理論的に換算されるアルコール量で除して%で表示した。
- (5) 分析方法

一般成分：澱粉価及び酸度は国税庁所定分析法<sup>4)</sup>に基づいて測定し、水分量は赤外水分計を用いて測定した。発酵液を遠心分離して得られた上澄液について還元糖量をソモギー・ネルソン法、全糖量をフェノール硫酸法でそれぞれ定量した。発酵液中のアルコール量はガスクロマトグラフィー（島津ガスクロマトグラフGC-4CPTFカラム：ガスクロパック54 60/80mesh、3φ×2mステンレス、温度：200℃、キャリアーガス：He40ml/min、検出器：FID）を用いて測定した。アルコール量は上記ガスクロマトグラフの条件下で求めた標準アルコール標品の分析値から比例的に算出し、%（w/v）で表示した。

酵素活性： $\alpha$ -アミラーゼ及びグルコアミラーゼ活性は椎木らの方法<sup>7)</sup>に準じて測定した。

## 実験結果

### 1. 麹の一般的成分

時間差麹を調製するに当たり、20時間麹と42時間麹について一般的成分を分析した。結果を表1に示した。20時間麹及び42時間麹の水分含量は32.5%と31.0%であり、両麹間で著しい差異はみられない。澱粉価は製麹期間が長い方が約4%程高く、酸度は20時間麹が1.0であったのに対し、42時間麹は6.2を示した。麹に2.5倍量の脱イオン水を加えて調製した麹抽出液のpHは20時間麹で4.2であり、42時間麹で3.54であった。 $\alpha$ -アミラーゼ活性は製麹時間の経過に伴ない増加し、約2倍の活性の違いがあった。またグルコアミラーゼ活性については約7倍の差異が認められた。

Table. 1 General components in rice-Koji of *Asp. awamori* 3142

Analysis	20-hr-making Koji	42-hr-making Koji
Water content (%)	32.5	31.0
Starch content	51.0	54.9
Acidity	1.0	6.2
pH	4.2	3.54
$\alpha$ -amylase (Wohlgemuth value/g.Koji)	7.3	16.4
Glucoamylase (units/g.Koji)	12.4	87.0

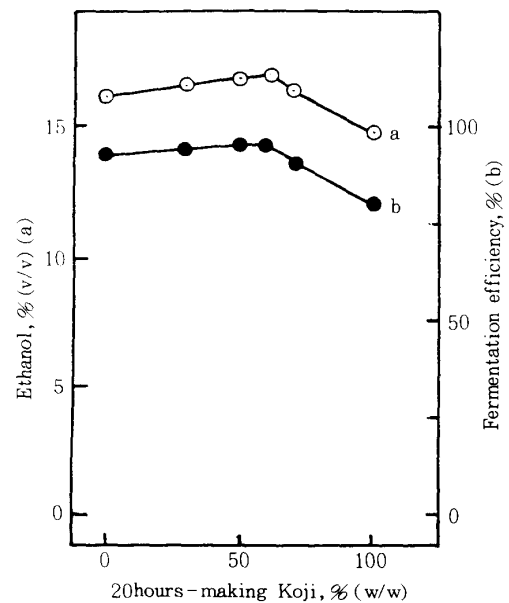
One kg of rice grain was washed with tap water several times and steeped in water for 20 min. After filtration with cotton cloth for 30 min, the polished rice grain was treated at 120°C for 10 min by an autoclave. The steamed rice was inoculated with 7g of Tane - Koji of *Asp. awamori* 3142, and cultured at 30°C for 24 hours in incubator. The temperature of Koji was adjusted to 30°C, and then the cultivation was continued for 18 hours under the above conditions. The 20-hours-making Koji and 42-hours-making Koji were used in this study. To 20g of each Koji added 50ml of 0.01M acetate buffer of pH 5.0 containing 0.5% sodium chloride to extract enzyme. The extraction of enzyme from Koji was carried out at 20°C for 3 hours with an interval shaking. The crude enzyme was prepared from Koji-extracts by centrifugation and dialyzed overnight against the same buffer solution in a cold. For  $\alpha$ -amylase activity, 1.0 ml of enzyme solution was incubated with 10 ml of 1.0% soluble starch containing 0.02M acetate buffer, pH 5.0, at 40°C. At suitable time, 0.1 ml of the reaction mixture was taken out and added with 10 ml of 0.01N iodine. The change in color was observed, and the transmission of iodine color was measured at 670nm.  $\alpha$ -Amylase activity of the enzyme was shown as Wohlgemuth value ( $D_{30}^{40}$ ) per g of Koji. Glucoamylase activity of the enzyme was determined as follows; A reaction mixture containing 1.0 ml of 2.0% soluble starch in deionized water, 0.2 ml of 0.1M acetate buffer of pH5.0, and enzyme solution in a final volume of 1.3 ml was incubated at 40°C for 2 hours with 0.1 ml of 1N NaOH solution. The reaction mixture was added 0.1 ml of 1N HCl solution to neutralize. The glucose formed was determined by the Glucostat method using Diacolor GC. One unit of glucoamylase activity is defined as the amount of enzyme which forms 1mg of glucose from soluble starch at 40°C for 60min. Glucoamylase activity of the enzyme was shown as the unit per g of Koji. Acidity was defined as the amount of 0.1N NaOH solution needed to neutralize 10 ml of Koji-extracts which was prepared by adding deionized water in the stead of above buffer solution

2. アルコール生成量に及ぼす42時間麹と20時間麹の配合割合の影響

42時間麹と20時間麹の最適配合割合を調べる目的で、500ml容三角フラスコに配合割合が異なる麹100gをそれぞれ採り、これに麹重量に対して1.5倍の水及び酵母2.0mlを加えた後、30°Cで8日間アルコール発酵を行った。図1に各発酵系における発酵歩合を示した。結果より、42時間麹を単独に発酵に供した場合よりも42時間麹と20時間麹を1：1あるいは1：1.5の割合で混合した系で発酵歩合が高い

Fig. 1 Effect of a ratio of 20-hours-making Koji to 42-hours-making Koji on the production of ethanol

The 20-hours-making Koji and 42-hours-making Koji were mixed in various proportions before fermentation. Hundred grams of the mixed-Koji was added to 150 ml of tap water 2 ml of yeast of *Saccharomyces cerevisiae* SH-4 2069 and fermented at 30°C for 8 days in a 500 ml of Erlenmeyer flask with frequent stirring. Ethanol concentration was determined using a gas chromatograph.



ことがわかった。他方、1 : 2.3以上の割合で両麹を混合した時にはアルコール生成量は減少する傾向が認められた。42時間麹と20時間麹の最適配合割合は雑菌混入の危険性を考慮すると1 : 1であると判断された。そこで、両麹を1 : 1の割合で混合した時間差麹を用いた発酵における各種成分の変化を両麹の単独使用の時と比較した。結果を図2に示した。42時間麹および時間差麹を原料とした発酵では発酵時間の経過に伴ないアルコール生成量が増大し、発酵8日目のモロミ中のアルコール濃度は16.3-17.5%に達した。一方、20時間麹のみを原料とした発酵においては発酵の進行とともにアルコール生成量が増大したが、発酵速度が比較的遅いことがわかった。発酵液中の還元糖量は発酵1日目に極大値が認められ、発酵2日目以降は急激に減少し、良好にアルコールへ変換されたことがわかった。また全糖量は、42時間麹および時間差麹を用いた発酵では発酵1日目に極大値をとり、発酵経過に伴ない減少した。これに対して20時間麹を単独で用いた場合には、全糖量の極大値は発酵2日目と6日目に存在し、著しく高い値を示した。42時間麹を用いた時の発酵液の酸度は発酵開始時には3.0付近であったが、発酵時間の経過に伴ない著しく上昇し、発酵3日目以降には10付近を示した。また、20時間麹単独の時には発酵4日目以降一定値を示し、発酵終了時の酸度は5.0付近であった。

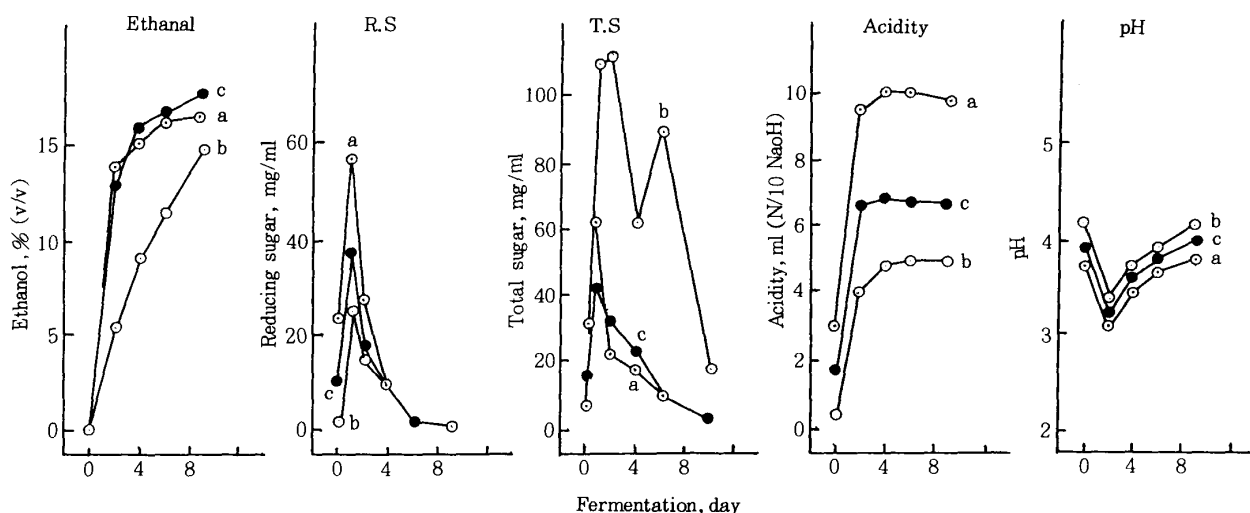


Fig. 2 Changes in reducing sugar, total sugar, acidity, pH and ethanol during fermentation

The Koji was fermented with 150 ml of tap water and 2 ml of yeast at 30°C for 8 days. Total sugar was determined by Phenol-Sulfuric acid method. Other conditions are stated in the legend to Fig.1.

- (a) 42-hours-making Koji (b) 20-hours-making Koji  
(c) Mixed-Koji (a : b = 1 : 1)

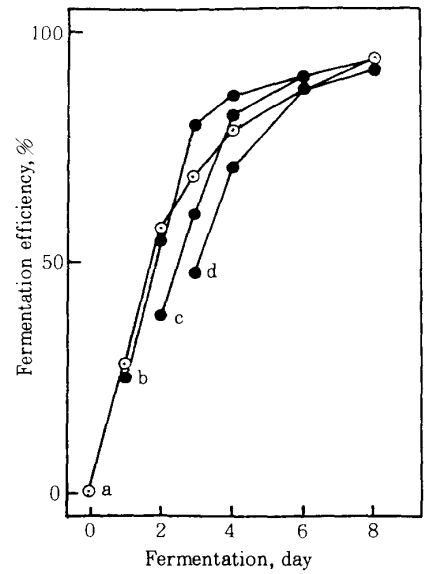
### 3. アルコール生成量に及ぼす20時間麹の添加時期の影響

次に、42時間麹50gに所定量の水及び酵母培養液を加え、30°Cで常法通りアルコール発酵を行ない、発酵1日目、2日目および3日目に20時間麹をそれぞれ追加して発酵を継続した系と発酵開始時に20時間麹を加えて発酵を行なった場合のアルコール生成量を比較してみた。その結果を図3に示した。発酵1日目に20時間麹を添加すると発酵開始時に加えた系よりもアルコール生成速度が高められる傾向がみられ、良好な発酵経過が認められた。発酵1日目に20時間麹を添加した場合には発酵開始時に添加したときの約1.2倍高い値を示した。以下の実験では、時間差麹(42時間麹:20時間麹=1:1)を用いて諸発酵条件について調べた。

Fig. 3 Effect of the time of adding 20-hours-making Koji to the mash of 42-hours-making Koji on the production of ethanol

Fifty grams of 42-hours-making Koji was fermented with 150ml of tap water and 2ml of yeast at 30°C. At 24-hours intervals, 50g of 20-hours-making Koji was added to the mash during fermentation. Other conditions are stated in the legend to Fig.1.

- (a) Simultaneously (b) after 24 hours
- (c) after 48 hours (d) after 72 hours



4. 時間差麹を用いた発酵におけるアルコール生成量に及ぼす汲水割合の影響

図4は、時間差麹に対する汲水割合がアルコール生成量に及ぼす影響について調べた結果である。発酵は、時間差麹100gに麹重量の1.1~2.0倍に相当する水を加え、30°Cで8日間保って行なった。供試時差間麹の水分含量および澱粉価はそれぞれ33.65%と51.6であった。加水量が1.5~1.6倍の時に、発酵液中のアルコール量は最高値を示し、汲水量が少ない系及び1.7倍以上の時には発酵液のアルコール濃度は低くなった。一方、発酵歩合は汲水量が1.6倍以上の時に高い値が得られた。しかし汲水量が麹重量の1.3倍以下では、発酵歩合は著しく低下した。発酵液の酸度は、汲水量が1.1倍の時には6.0付近、1.3~1.5倍の時には4.0であり、これ以上加水した系では直線的に増大し、2.0倍の時には10.5付近に達した。また、発酵液のpHは加水量が多い程低い値を示し、4.6~4.1の範囲内にとどまった。

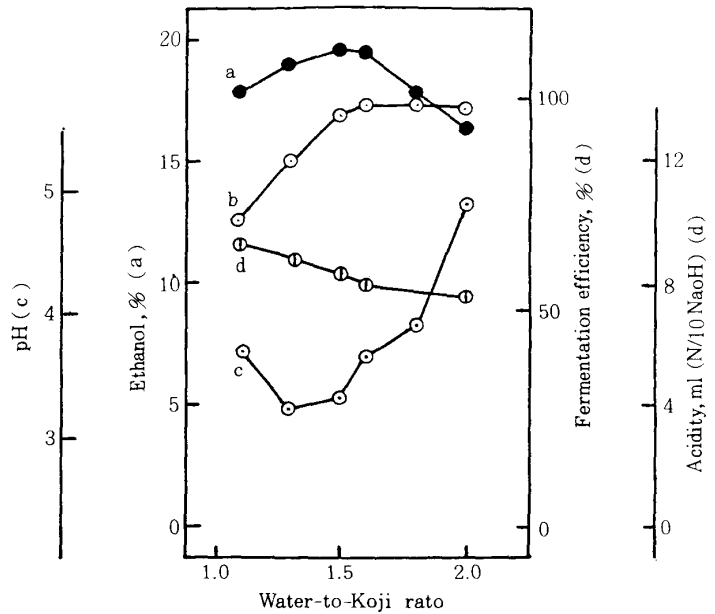


Fig. 4 Effect of water-to-Koji ratio on the production of ethanol

The 42-hours-making Koji and 20-hours-making Koji were mixed so that the amount of each Koji was the same. The mixed-Koji was fermented with various volume of tap water and 2ml of yeast at 30°C for 8 days. Other conditions are stated in the legend to Fig.1.

### 5. 時間差麹を用いた発酵におけるアルコール生成量に及ぼす発酵温度の影響

時間差麹100gに水150mlおよび酵母2.0mlを混合したのち、各温度で8日間発酵を行ない、発酵液中のアルコール量、還元糖量、全糖量、酸度およびpHについて調べた。結果を図5に示した。発酵温度が20℃および30℃の時には良好な発酵がみられ、発酵歩合が高かった。しかし、37℃以上の発酵温度ではアルコール生成量は低く、発酵歩合は著しく低下した。発酵液中の還元糖量及び全糖量は発酵温度が20℃または30℃のときにはほとんど検出されないが、37℃以上では未変換の糖が多量に残存した。発酵液の酸度およびpHは各発酵において著しい変動は認められない。

### 6. 時間差麹を用いた発酵における二酸化炭素発生量

時間差麹を用いた発酵における二酸化炭素発生量から換算した発酵歩合を調べる目的で、時間差麹100gに150ml加水して酵母によるアルコール発酵を行ない、発酵過程で発生した二酸化炭素量を測定した。結果を図6に示した。ガス発生量は発酵時間の経過に伴ない直線的に増大し、発酵6日目以降ほぼ一定値を推移した。また、1日当たりのガス発生量は発酵2日目以最も高く、以後発酵の経過とともに急激に減少した。ガス発生量から算出した発酵歩合は最終的に94.5%に達し、アルコール生成量から求めた値と近似していた。発酵開始時のモロミ容量は232mlであったが、最終モロミ容量は225mlであった。また、最終モロミ量の94%が発酵液量に相当した。

## 考 察

近年、焼酎の消費拡大に伴ない酒質の多様化が要望されるようになり、現代消費者嗜好に合致した淡麗な酒質の焼酎を製造するための方法が検討されている<sup>1,2,3)</sup>。泡盛酒質についても蒸留法や濾過法等による酒質の多様化が図られつつあるが、製麹工程の改良に着目した方法は検討されていない。本研究では、泡盛酒質の多様化とともに原料米の高度利用化を図る目的で、

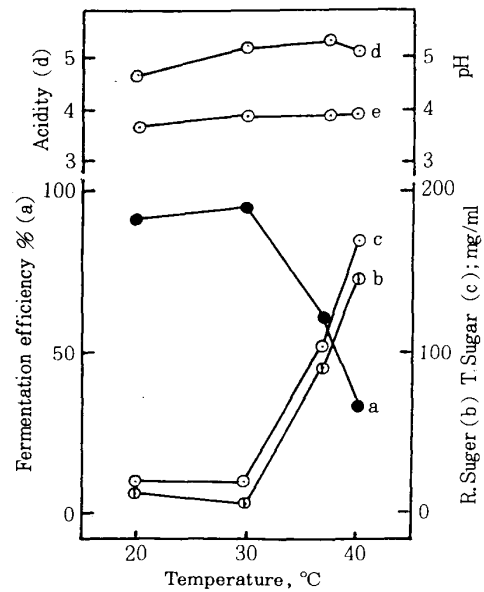


Fig. 5 Effect of fermentation temperature on the production of ethanol

The mixed-Koji was fermented with 150ml of tap water and 2 ml of yeast at an indicated temperature for 8 days.

Other conditions are stated in the legend to Fig.4.

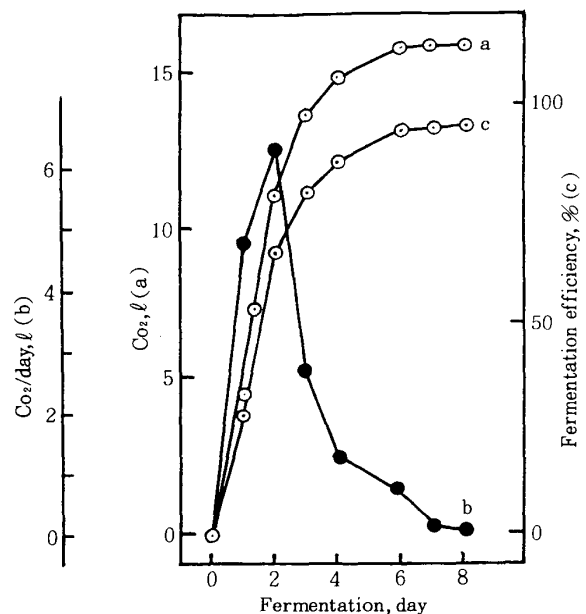


Fig. 6 Time courses of CO<sub>2</sub> evolution during ethanol fermentation

The mixed-Koji was fermented with 150ml of tap water and 2 ml of yeast at 30℃ for 8 days. The volum of CO<sub>2</sub> evolved during fermentation was measured. Other conditions are stated in the legend to Fig.4.

製麹期間が異なる麹を適度に配合した麹を用いて全麹仕込み法によるアルコール発酵について調べた。

42時間麹に製麹途中の20時間麹を混合した麹即ち時間差麹を原料とした泡盛醸造における両麹の最適配合割合は、両麹を等量混合した系であった。20時間麹単独の発酵においても発酵時間の経過に伴ってアルコール生成量が増大したが、発酵速度が遅いため発酵モロミへの雑菌混入の危険性が高い。時間差麹の $\alpha$ -アミラーゼ<sup>10)</sup>及びグルコアミラーゼ活性は42時間麹の約半分の値であったが、麹中の澱粉は容易に糖化され、順調にアルコールへ変換された。この結果から、従来の泡盛醸造で用いられている麹の約半分の酵素力価をもつ麹を用いても順調なアルコール収量が得られることがわかった。また、発酵液の酸度についても42時間麹の半分の値であったが、発酵には支障は認められなかった。20時間麹を発酵3日後に42時間麹モロミに添加しても発酵開始時に添加した系と同様に良好な発酵がみられた。他方、発酵1日後に20時間麹を加えた場合にはアルコール生成速度が若干促進される傾向がみられた。20時間麹の添加時期が酒質に影響があるかどうかについては今後検討する予定である。汲水量が麹重量の1.6倍以上の時に良好な発酵歩合が得られた。一方、発酵液中のアルコール濃度は汲水量が1.5~1.6倍の時に最大値を示した。これらの結果は、泡盛工場における醸造条件とほぼ一致しており、アルコール収得量が高い条件で泡盛醸造が行われていることがわかった。次に、発酵温度の影響について調べた結果、20℃あるいは30℃で発酵を行った場合には良好にアルコールが生成されたが、37℃以上ではアルコール生成量は低く、発酵液中には末変換の糖が蓄積された。一般に泡盛香味成分の生成量及び酒質の面からみた場合、低温発酵が良いとされている<sup>6)</sup>。発酵における二酸化炭素発生量は発酵3日目まではほぼ直線的に増大し、発酵6日目以後一定値を推移した。発酵4日間で全二酸化炭素量の93.5%に相当するガスが発生した。1日当たりのガス発生量は発酵2日目で最も多く、発酵3日目以降急激に減少することがわかった。中規模仕込みによる泡盛醸造試験においても1日当たりのガス発生量のピークは発酵2日目にあり、発酵4日間で全ガス発生量の約94%に相当するガス発生が認められたという報告がある<sup>8)</sup>。発酵開始時のモロミ容量は232mlであったが、発酵終了時には225mlに減少した。これは、発酵中に揮発性成分が揮発したためだと考えられる。発酵液量は麹の水分量、加水量及び澱粉から生成される理論アルコール量を総和した値と一致した。

## 要 約

42時間麹に製糖麹中の20時間麹を混合して発酵原料に供する方式で泡盛の醸造試験を行ない、各種成分の変化について調べた。42時間麹と20時間麹を等量混合すると、それぞれ単独の場合よりもアルコール生成量が高かった。発酵3日目に20時間麹をモロミへ加えても発酵開始時に添加した系とほぼ同量のアルコール生成量がみられ、順調な発酵が観察された。時間差麹を用いた発酵における最適な汲水割合及び発酵温度はそれぞれ1.5~1.6及び20~30℃の範囲であった。発酵4日間で全二酸化炭素量の93.5%に相当するガスが発生し、1日当たりのガス発生量は発酵2日目で最大値を示した。

最後に、本研究の一部は平成2年度沖縄県産業振興基金によったもので謝意を表します。

## 引用文献

1. 秋田 修、蓮尾徹夫、大場俊輝 1986 糖化後発酵法における麹使用量の影響 醸協 81:626-632
2. 安藤真吾、土居茂太、寺園勝夫、高山卓美、花井四郎 1987 製造法の異なる米製焼酎の香気成分 日食工学 34:48-53
3. 岩野君夫、能勢 晶、三上重明、椎木 敏 1989 焼酎製造における原料特性について 醸協 84



: 55-57

4. 国税庁所定分析法注解 注解編集委員会編
5. 中田久保、穂坂 賢、佐藤 弘、広瀬 賢、坂井 劭 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気特性 醸工 65:121-126
6. 中田久保、手口宏子、識名顕司、穂坂 賢 1991 泡盛の高級アルコール組成に及ぼす酵母の種類及び発酵温度の影響 醸協 86:133-136
7. 椎木 敏 1982 米こうじ中の酸素の分析法 醸協 77:884-888
8. 新里修一、宮城 剛、高江洲朝清、丸山新次 1989 泡盛1号酵母から分離した泡なし酵母の性質について 醸協 84:121-123
9. 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 64:9-15
10. Toyama, S., Miyazato, K. 1967 Studies on *Aspergillus awamori* II On some properties of Amylase and protease of *A. awamori* isolated from awamori breweries Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus 13:118-126
11. 当山清善、宮里興信、安田正昭、仲唐英之 1974 泡盛麹菌による麹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