報 文

[Nippon Nôgeikagaku Kaishi Vol.60, No. 12, pp. 997~1001, 1986]

泡盛の異常ならびに正常発酵過程における
成分組成の動向

玉城 武, 佐無田 隆, 西谷尚道*

(沖縄国税事務所, *国税庁醸造試験所)

昭和 60 年 9 月 30 日 受 理

Component Changes during Putrefactive and Normal
Fermentation of Awamori Moromi Mash

Takeshi TAMAKI, Takashi SAMUTA and Takamichi NISHIYA*

Okinawa Taxation Office, Asahimachi 9, Naha 900

* National Research Institute of Brewing, Takinogawa,

2-6-30, Tokyo 114

The components and microorganism growth differed during putrefactive fermentation and normal fermentation. In putrefactive fermentation yeast reached a maximum of 8×10^8 cells per ml of Moromi Mash in two days of fermentation. Lactic acid bacteria increased to 1×10^8 cells per ml of Moromi Mash after 6 days of fermentation, and thereafter decreased rapidly. Under normal fermentation yeast increased to 2.7×10^8 cells per ml of Moromi Mash after 4 days fermentation and then decreased. No lactic acid bacteria was observed.

In normal fermentation less acetaldehyde was formed than in putrefactive fermentation (about half). However in the latter, higher alcohols ($C_3 \sim C_5$) and ethyl acetate were formed (about 1.5- to 2-fold). Isoamyl acetate, a fragrant component found in normal fermentation, was not formed under putrefactive fermentation.

When the Moromi Mash was putrefied, the total lactic acid and acetic acid was about 90% of the total organic acids, and the content of citric acid was 4%. Lactic acid and acetic acid increased gradually with fermentation time. On the other hand, in normal fermentation citric acid was the main acidic component, and it accounted for 59.2% of all organic acids, with malic acid the next most common acid (17.8%). In putrefactive fermentation the amount of malic acid was considerably lower than under normal fermentation but the amount of formic acid was greater than in normal fermentation.

(Received September 30, 1985)

緒 言

前報⁽¹⁾で腐造頻度の高い泡盛製造場より採取した種
膠には、種々の乳酸菌が混在していることを明らかにし、
種膠中の *Lactobacillus casei* や *L. xylosum* を中心とし
たホモ型乳酸菌が泡盛膠の腐造を引き起こしていること
を報告した。このような種膠を連醸した結果、引き起こ
される異常発酵現象は、発酵過程でどのような成分の動
向を示すだろうか。清酒の異常発酵過程における成分の
動向については、主に有機酸を中心に調べられており⁽²⁾,

lactic acid および acetic acid が増加することが、明ら
かになっている。

泡盛 1 号酵母の導入により、泡盛醸造における異常発
酵現象の発現を抑制することが可能となった。しから
ば、泡盛 1 号酵母による正常発酵過程において、成分は
どのような動向を示し、上記の異常発酵現象とは、どの
ような違いがみられるだろうか。

本報では、両発酵過程における一般成分、微生物の挙
動、低沸点香気成分および有機酸組成の変化について調
べたので、その結果について報告する。

実験方法

1. 異常および正常醪の製造法 泡盛の一般的仕込み法により, 異常醪は泡盛麹 800 kg に水 1440 l と前報⁽¹⁾の異常種醪 8.4 l を加えて製造した. 一方正常醪は泡盛麹 800 kg に水 1440 l とすでに述べた方法⁽²⁾で製造した純粋種醪 8.4 l を加えて製造した.

2. 一般成分の変化 発酵過程における一般成分の変化を, 国税庁所定分析法⁽⁴⁾により調べた.

3. 生菌数の変化 発酵過程における生菌数の変化を, 次の方法で調べた.

(1) 生酵母数: 試料 20 g を殺菌水で適量に希釈し, ナトリウムアザイド 0.003% を含む TTC 下層培地⁽⁵⁾で平面培養し, 30°C, 48 hr 後の出現コロニー数から試料 1 g 当りの生菌数を求めた.

(2) 生酸菌数: (1) 項と同様に希釈した試料を, ユーロサイジン-炭酸カルシウム含有ダイゴ培地で, 38°C, 72 hr 平面培養し, 出現コロニー数から試料 1 g 当りの生菌数を求めた.

4. 低沸点香気成分の変化 香気成分の捕集法および GLC 条件は, 前報⁽¹⁾の方法によった.

5. 有機酸組成の変化 発酵過程において, 各有機酸がどのように蓄積されるかを調べた.

(1) 試料の前処理: 試料に 20% HClO_4 を 1:1 の割合で加えて, 15 分間軽く振る. 3000 rpm で 10 分間遠沈して, 上澄みを 0.45 μm メンブランフィルターで濾過する.

(2) 液クロ分析条件: Eluent: 0.003 M HClO_4 , Flow rate: 1.0 ml/min, Reagent: 0.0002 M BTB, 0.015 M Na_2HPO_4 , 0.002 M NaOH, Column: Shodex Ionpak C-811 $\times$ 2, Column temp.: 60°C, Wave length: 445 nm.

実験結果および考察

1. 一般成分の変化

Fig. 1 に異常ならびに正常発酵過程の一般成分の変化を示した. 異常発酵過程では, 日数の経過とともに酸度が増加し, 10 日目以降では初期の約 2 倍の値を示した. 一方, pH はほとんど変動がみられなかった. それば,

Fig. 1. Changes of General Components during Putrefactive and Normal Fermentation of Awamori Moromi Mash. A, Putrefactive fermentation; B, normal fermentation; ○, nihonshudo; ●, reducing sugar; □, alcohol; △, total acid; ▲, pH.

乳酸菌によって、異常に酸が生成されるため滴定酸度は増加するが、lactic acid の電離度が小さいことやアミノ酸類の緩衝作用により、pH はほぼ一定に保たれるためと考えられる。

モロミの比重の変化も非常にゆるやかで、モロミ後半でも日本酒度はプラスの値を示さず、直接還元糖は増加傾向を示し、アルコール生成量はモロミ後半でも7%を越えなかった。それは、乳酸菌が繁殖して酵母による発酵作用が、抑制されたことによるものと考えられる。

清酒の異常発酵過程においても経日的に酸度は増加し20日目の酸度は約10 mlに達している⁽⁶⁾。しかしその値は上記の泡盛の値に比べるとはるかに小さく、この違いは乳酸菌の性質の違いによるものと考えられる。

一方、正常発酵過程では、酸度は全期間を通してほぼ一定しており、また pH は徐々に上昇し、初期に3.3を示していたものが蒸留前には3.8に達した。アルコールの生成も順調に行われ、比重が小さくなるため日本酒度は値が大きくなり、直接還元糖は減少し蒸留前におけるその値は0.18 g/100 mlと僅少であった。上記の異常発酵過程における一般成分の変化とは、明らかに異なったパターンを示した。それは、異常発酵においては、乳酸菌が混在するため酵母による発酵作用がその影響を受け、また乳酸菌自体も lactic acid を生成するのに対し、正常発酵の場合は酵母による発酵作用のみが行われるためと考えられる。

発酵中の醪の香気は、異常発酵醪が全醪期間を通して酸臭があって、味も酸味が強いのにに対し、正常発酵醪では初期のころ芳香が強く、末期に近づくにつれ熟成香に変化した。

2. 生菌数の変化

泡盛の異常ならびに正常発酵過程における生酵母数と乳酸菌数の変動は Fig. 2 に示すとおりで、異常発酵過程における生酵母数は2日目が高で、その数は醪1 ml 当り 8×10^6 個に達し、それ以降は急激に減少した。一方、乳酸菌数は6日目までは増加して、その数は醪1 ml 当り 1×10^8 個に達し、それ以降は急激に減少した。このことは酵母は乳酸菌の増殖により、その増殖が抑制され醪1 ml 当りの酵母数も 10^6 個台でとまり、2日目以降は減少の一途をたどり、乳酸菌は順調に増殖して6日目には醪1 ml 当り 10^8 個に達し、それ以降は自らが生成した酸と、いくつかのアルコールにより死滅していくことによると考えられる。

Fig. 2. Growth Curves of Yeast and Lactic Acid Bacteria during Fermentation of Awamori Moromi Mash. ●, Putrefactive fermentation; ○, normal fermentation.

外池ら⁽⁶⁾の報告によると清酒の異常発酵過程において乳酸菌は10日目ころまで増加し以後同じレベルを保ち続ける。一方酵母は6日目ころから減り始め、10日目まで急激に減少し以後やや減少傾向はあるが、ほぼ同じレベルを保ち続ける。泡盛の異常発酵過程における乳酸菌および酵母の挙動に違いがみられるのは、醪の成分の違いや品温の差が微生物の動向に影響を与えているものと考えられる。

泡盛1号酵母による正常発酵過程では、酵母数は4日目ころまで増加し、最高 2.7×10^8 個/mlに達し以後減少して、11日目には 0.5×10^8 個/mlまで減少した。それは、酵母が自ら生成したアルコールにより死滅するためと考えられる。一方、発酵過程を通して、乳酸菌の存在は認められなかった。

3. 低沸点香気成分の変化

異常ならびに正常発酵過程における低沸点香気成分の変化を Table I に示した。異常発酵におけるこれらの成分のうち、比較的含有量が高いのはフーゼルアルコール類 ($C_3 \sim C_5$) で、その構成アルコール含量は、acetaldehyde や ethyl acetate の4.5~9.7倍であった。また、発酵期

Table I. Changes in Low-Boiling Carbonyl Compounds and Fusel Alcohols during Fermentation of *Awamori* Moromi Mash

Comp.	Day	Putrefactive fermentation			Normal fermentation		
		5	7	10	5	7	10
Acetaldehyde		20.8	22.4	21.6	8.1	11.0	7.6
Ethyl acetate		17.3	16.6	18.0	30.1	43.8	51.2
Ethyl alc.		6.2	6.3	6.3	12.0	15.0	17.5
<i>n</i> -Propyl alc.		108.5	100.6	101.3	134.6	178.0	137.5
Isobutyl alc.		152.7	161.0	150.1	212.7	216.6	232.2
Isoamyl acetate		0	0	0	3.9	4.3	4.1
Isoamyl alc.		144.8	146.2	144.4	217.1	244.5	269.9

Unit: Ethyl alc. %, other components ppm

Table II. Changes in Organic Acid Constituents during Fermentation of *Awamori* Moromi Mash (unit ppm)

Acid	Day	Putrefactive fermentation				Normal fermentation			
		4	6	8	11	4	6	8	11
Lactic		8,675	8,759	10,895	11,976	885	1,030	1,130	1,120
Citric		643	654	678	628	5,050	4,500	4,540	4,330
Succinic		247	250	250	225	364	403	444	456
Malic		87	93	92	93	1,680	1,320	1,330	1,300
Acetic		3,410	4,627	5,725	7,867	88	78	90	100
Formic		11	13	25	24	8	8	7	7
Pyroglutamic		226	262	297	321	113	142	166	195
Total amount of org. acid		13,299	14,658	17,962	21,134	8,188	7,481	7,707	7,508

間を通して急激に増加あるいは減少する成分はなく、芳香性の高い isoamyl acetate は生成されなかった。

正常発酵過程における低沸点香気成分のうち最も多い成分は、フーゼルアルコール類で isoamyl alcohol, isobutyl alcohol, *n*-propyl alcohol の順に含量が多く、これらの低沸点香気成分は、経過の進行とともに緩やかな増加傾向を示した。

正常発酵では、acetaldehyde の生成量が小さく、異常発酵の約 1/2 であった。ところが、それ以外の成分については、むしろ正常発酵における生成量が 1.5~2 倍程度多かった。このことは、異常発酵に比べ正常発酵過程における酵母による発酵作用が活発なことを物語るものである。

4. 有機酸組成の変化

異常ならびに正常発酵過程における有機酸の消長を、Table II に示した。個々の有機酸のうち、前者では lactic acid と acetic acid が圧倒的に多く、全体の約 90% を占め経過の進行とともに増加した。泡盛醪の主要な酸である、citric acid は、全体の約 4% と値が小さく、malic acid は全期間を通じて痕跡程度であった。ま

た、succinic acid は経日的に大きな変化はみられず、formic acid の生成もはっきりと確認された。島津ら⁽⁷⁾は、乳酸菌による citric acid の分解について報告しており、異常発酵醪における citric acid が少ないことは、乳酸菌による分解も考えられる。

それから、lactic acid および acetic acid が増加することについては、清酒醸造における百瀬ら⁽²⁾の報告と一致した。

一方、泡盛 1 号酵母による正常発酵過程では、citric acid が最も多く、その含量は 4000~5000 ppm もあり。総有機酸の約 60~75% を占めていた。泡盛黒麹菌の生産する有機酸の組成は citric acid が圧倒的に多く、全有機酸の 98% を占め、それ以外に succinic acid が 0.13%, malic acid 0.93% とわずかで、酵母による citric acid の生成量はわずかであって、大部分は麴由来のものである。麴の溶解による溶液の増加のため経過の進行とともに、その値はいくらか減少した。citric acid に次いで多い成分は、malic acid で全体の約 12~17% を占め、その次に lactic acid、そして succinic acid と続き、formic acid は痕跡程度で、また acetic

acid は 80~100 ppm と全体の約 1% にすぎなかった。

経過が進行しても、総有機酸量はほとんど変動せず一定しており、醗初期の段階でかなりの有機酸が生成されることがうかがわれた。

また、その組成と上記の異常発酵過程における組成との間には、大きな相違がみられた。すなわち、乳酸菌が関与した異常発酵醗では、正常発酵醗に比べ citric acid, malic acid および succinic acid が少なく、逆に lactic acid, formic acid および acetic acid が多かった。この傾向は清酒における百瀬ら⁽²⁾の報告と一致するものであったが、異常発酵醗で、formic acid が増加することは初めて明らかになった。

正常発酵醗の有機酸組成は、citric acid が最も多く 59.2% で、malic acid 17.8%, lactic acid 15.3%, succinic acid 6.2%, acetic acid 1.5% の順であった。一方、林田ら⁽⁹⁾の分析によると、清酒正常醗の有機酸組成は succinic acid が最も多く全有機酸の 36.7% を占め、次いで lactic acid 33.9%, malic acid 14.7%, acetic acid 7.4%, citric acid 7.3% の順で、泡盛の醗とはその有機酸組成に大きな違いがみられた。

上田⁽⁹⁾は清酒醸造における有機酸は、醗段階でその 7 割が酵母により生成されることを報告しており、泡盛醸造においても麴に由来する citric acid を除くその他の有機酸は、その大部分が泡盛 1 号酵母によるものと考えられる。

要 約

泡盛の異常ならびに正常発酵過程における一般成分（酸度、pH、日本酒度、直糖分およびアルコール分）の動向には明らかな差が認められ、微生物の挙動にも差が認められた。前者における生酵母数は、醗 2 日目が高めで醗 1 ml 当り 8×10^6 個に達し、乳酸菌は醗 6 日目までは増加して 1×10^8 個/ml に達しそれ以降は急減した。一方、後者において酵母数は醗 4 日ところまで増加し、最高 2.7×10^8 個/ml に達し以後減少した。また、乳酸菌の存在は認められなかった。

さらに、低沸点成分のうち正常発酵では、acetaldehyde は異常発酵の約 1/2 で、それ以外の成分についてはむしろ、正常発酵における生成量が 1.5~2 倍程度多かった。一方、芳香性の isoamyl acetate は異常発酵過程では生成されず、正常発酵過程では生成された。

また、異常発酵における有機酸組成は lactic acid と acetic acid が全体の約 90% を占め、発酵経過とともに増加傾向を示した。citric acid は約 4%, malic acid は痕跡程度で、formic acid の生成も認められた。一方、succinic acid は顕著な経日的変化は認められなかった。

ところが、正常発酵の場合 citric acid が 59.2%, malic acid 17.8%, lactic acid 15.3%, succinic acid 6.2%, acetic acid 1.5% で、citric acid を除きその大部分が醗初期に酵母により生成された。

このように、泡盛 1 号酵母による正常発酵過程における成分の動向は、異常発酵過程における成分の動向とは明らかな違いが認められた。

終りに、本研究にあたりご指導くださいました、東京農工大学農学部、一島英治教授に衷心より感謝の意を表します。

- (1) 玉城 武, 高宮義治, 高江州朝清, 下地睦子: 醸協, **81**, 130 (1986).
- (2) 百瀬洋夫, 土井清太郎, 外池良三: 醸協, **62**, 405 (1967).
- (3) 玉城 武, 忍頂寺晃嗣, 今村利久, 原田哲夫: 特許第 1236530 号.
- (4) 村上英也監修: 「国税庁所定分析法注解」, 第 3 改版.
- (5) 古川敏郎, 秋山裕一: 農化, **37**, 398 (1963).
- (6) 外池良三, 百瀬洋夫, 飯田俊彦: 醸協, **56**, 802 (1961).
- (7) 島津善美, 上原喜夫, 渡辺正澄: 醸協, **77**, 117 (1981).
- (8) 林田正典, 上田隆蔵, 寺本四郎: 醸工, **46**, 77 (1968).
- (9) 上田隆蔵: 「清酒酵母の研究」, 清酒酵母研究会, 1972, p.151.