

## 並行複発酵及び製成酒成分に及ぼす原料米のタンパク質組成の影響

岩野君夫・中沢伸重・伊藤俊彦・高橋 仁\*・上原泰樹\*\*・松永隆司  
(秋田県立大学, \*秋田県総合食品研究所, \*\*独立行政法人農業技術研究機構)

平成 13 年 11 月 24 日受理

Effects of the protein compositions of raw material rice on parallel fermentation and brewed sake components.

Kimio IWANO, Nobushige NAKAZAWA, Toshihiko ITO,  
Hitoshi TAKAHASHI\*, Yasuki UEHARA\*\*, Ryuji MATSUNAGA  
(Akita Prefectural University, Nakano Shimo-shinjo, Akita 010-0195,)

The effects of protein components in the raw material rice on parallel fermentation, concentration and the form of nitrogen compounds, amino acid composition, general components, and aroma components of the brewed sake were investigated. Both the concentration and from of a nitrogen compound in sake were greatly influenced by the protein compositions in the raw material rice. Total amounts of the nitrogen compounds of the sake, which was made by using 'Shunyou' (Former line name was Hokuriku 183) show low levels (50% of other kinds of rice). The amino acid compositions in sake were affected by protein compositions in the raw material rice. The sake made from 'Shunyou' has low amounts of amino acid formation (60% of other kinds of rices) and amino acids related to the urea base cycle. Hydrogen sulfide smell generating was observed in the early days of the fermentation when 'Shunyou' was used. This may be caused by a defect in the amino acids required for the growth of yeast.

**Key words** : タンパク質組成, 並行複発酵, 窒素化合物

### 緒 言

筆者等は前報<sup>1)</sup>において原料米のタンパク質組成が製麹中の酵素生産に及ぼす影響について検討し、原料米のプロラミン、グルテリン、グロブリンの構成比が $\alpha$ -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ生産に影響することを報告した。

今回は、前回と同じ4種類の原料米(山田錦, 美郷錦, 春陽(旧系統名は北陸183号), 美山錦)を掛米として使用し、麴の代わりに酵素剤を用いた小仕込試験を行い、タンパク質組成の並行複発酵及び製成酒成分への影響について調べた。すでに高橋等<sup>2)</sup>は春陽の酒造適性評価を行い、酒化率は劣るが酒質は良好であることを報告している。

筆者等は蒸米からアミノ酸の生成に及ぼす諸酵素の

影響<sup>3)</sup>、発酵におけるアミノ酸の増減<sup>4)</sup>について報告している。また酸性カルボキシペプチダーゼには基質特異性の異なる4種類が存在し<sup>5)</sup>、清酒醸造におけるアミノ酸の生成機構は複雑であることを報告している。

今回は、原料米のタンパク質組成の違いが醪における米デンプンの溶解・糖化および酵母の発酵に及ぼす影響、製成酒の窒素化合物の量と形態に及ぼす影響、アミノ酸組成に及ぼす影響、一般成分および香気成分に及ぼす影響について検討した結果を報告する。

### 実験方法

#### 1. 原料米の品種

原料米は、平成12年産の山田錦(兵庫県産)、美山錦(秋田県産)、美郷錦(秋田県産)および春陽(旧系統名-北陸183号、大潟村試験栽培)の4品種を用

**Table 1** The protein composition of the 70% polished raw material rice.

Varieties of rice	Total protein content (g/100 g-rice)	Well digestible protein				poorly digestible protein		
		76 kD- precursor (%)	57 kD precursor (%)	37-39 kD glutelin a (%)	26 kD globulin (%)	22-23 kD glutelin b (%)	16 kD prolamins (%)	13 kD prolamins (%)
<i>Yamadanishiki</i>	4.8	5.2	5.4	27.6	8.4	23.3	10.6	19.5
<i>Misatonishiki</i>	4.0	7.4	5.3	29.8	10.0	24.3	10.3	12.7
<i>Shunyou</i>	4.9	6.2	3.7	12.7	15.2	10.4	12.7	39.2
<i>Miyamanishiki</i>	4.5	9.8	6.1	29.9	5.4	23.3	8.2	17.4

いた。白米の調製は、佐竹のテストミルを用いて70%まで精米した。70%白米のタンパク質組成については既に前報<sup>1)</sup>で報告したが、4品種の粗タンパク質含量とタンパク質組成の構成比(%)をTable.1にまとめて示した。

### 2. 酵素活性の測定

$\alpha$ -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼは国税庁所定分析法<sup>6)</sup>により、酸性ホスファターゼは既報<sup>7)</sup>に従い活性を測定した。

### 3. 小仕込試験

総米100gの三段仕込み(添20g, 仲30g, 留50g)を酵素剤仕込みで行った。酵素剤はグルク吟(天野エンザイム(株))をベースとし、 $\alpha$ -アミラーゼ剤(ピオザイム, 天野エンザイム(株))及びプロテアーゼ剤(プロザイム, 天野エンザイム(株))で、白米1g当たりの仕込活性が $\alpha$ -アミラーゼ200単位、グルコアミラーゼ50単位、酸性プロテアーゼ720単位、酸性カルボキシペプチダーゼ650単位となるよう配合し、三段仕込みの重量割合にしたがって使用した。酵母は協会K-901を麴エキス培地で前培養し、添仕込みを1g当たり $2 \times 10^7$ となるように使用した。添仕込みは15°Cで二日間の踊りを取った。仲仕込み、留仕込みを12°Cとし、以後この温度で発酵を行った。炭酸ガス減量が30gに達した時点(醪日数21日)に5000 rpm, 20 minの遠心分離を行い製成酒を得た。

### 4. 一般成分の分析

一般成分は国税庁所定分析法<sup>6)</sup>により分析した。醪の並行複発酵の解析は、アルコール分と日本酒度を用いて既報<sup>8)</sup>の方法により求めた。

### 5. アミノ酸組成の定量

清酒を0.02N塩酸で20倍希釈したものを試料と

し、日立8800型アミノ酸アナライザーに20 $\mu$ lを注入して分析した。分析は生体分析法で行った。

### 6. 窒素化合物の分画定量

清酒中の窒素化合物は、全窒素、ペプチド態窒素、アミノ態窒素の3区分に分画して求めた。全窒素の定量は清酒を20倍希釈した1mlを試料としてKjeldahl-Nessler 改変法<sup>9)</sup>で行った。TCA可溶性窒素は、清酒2mlに5%トリクロル酢酸(TCA)溶液2mlを加えて攪拌し10分放置後東洋ろ紙No.5Aでろ過してTCA可溶性区分とし、この10倍希釈液1mlを試料としてKjeldahl-Nessler 改変法で測定した。アミノ態窒素はアミノ酸アナライザーによって求めた全アミノ酸含量に変換係数0.168を掛けて求めた。ペプチド態窒素はTCA可溶性窒素からアミノ態窒素を引いて求めた。

### 7. 香気成分

製成酒の香気成分はHewlett Packard社HP 6890型ガスクロマトグラフィー(以下GC分析と記す)を使用し、ヘッドスペース分析法で行った。カラム及び分析条件は前報<sup>11)</sup>と同様とした。

## 実験結果および考察

### 1. 発酵経過

原料米のタンパク質組成が並行複発酵及び製成酒の成分に与える影響を調べるため、タンパク質組成の異なる原料米を掛米とした小仕込試験を行った。麴の酵素バランスや麴の代謝産物の影響を除去するため酵素剤を用いた。醪期間中の発酵経過はFig.1に示した炭酸ガス減量から明らかのように4品種の間にほとんど差異は認められなかった。春陽の醪は3日~7日の発酵期間中、硫化水素臭が感知された。春陽はプロラミンが多くシステイン含量が高いこと<sup>10)</sup>に起因して

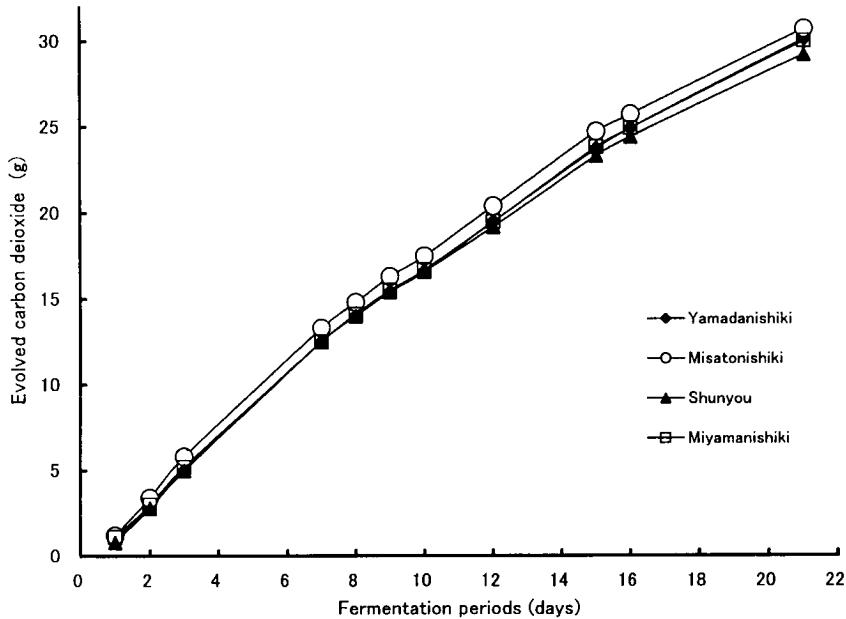


Fig. 1 Time course of fermentation

Table 2 Effects of different raw material rice on the componets of brewed japanese sake

	<i>Yamadanishiki</i>	<i>Misatonishiki</i>	<i>Shunyou</i>	<i>Miyamanishiki</i>
Sake meter	2.7	6.3	-0.4	1.0
Alcohol(%)	18.1	18.9	17.8	18.3
Acid	2.9	2.7	2.8	2.8
Amino acid	1.0	0.8	0.6	0.9
Glucose(%)	2.4	2.3	2.8	2.7

Table 3 Effects of different raw material rice on the parallel fermentation.

	<i>Yamadanishiki</i>	<i>Misatonishiki</i>	<i>Shunyou</i>	<i>Miyamanishiki</i>
Liquification rate(%)	73.1	75.3	73.1	74.9
Saccharification rate(%)	91.0	92.2	90.8	91.0
Fermentation rate(%)	92.1	92.7	90.8	91.3
Estimated alcohol uptake(l/t)	326.3	342.8	320.9	331.6
Estimated sake cake yield(%)	34.8	29.3	34.7	30.2

いと推論される。

## 2. 並行複発酵の解析

製成酒の一般成分を Table. 2 に示した。日本酒度とアルコール分の数値を用いて並行複発酵を解析した結果を Table. 3 に示した。溶解率は山田錦と春陽が

約73%、美郷錦と美山錦が約75%と同じであり、大きな差異は認められなかった。この結果は原料米のタンパク質組成が異なっても蒸米デンプンの溶解は影響されないことを示すものと思われる。糖化率は4品種とも大きな差異は認められなかったが、発酵率は春陽

がやや低く純アルコール取得量が4品種の中で一番悪かった。この原因は春陽は難溶解性タンパク質が多いためアミノ酸の生成が悪く酵母の増殖に影響したためと推論される。

### 3. 原料米タンパク質の溶解

製成酒中の窒素化合物をタンパク態窒素、ペプチド態窒素、アミノ態窒素の3形態に分けて調べた結果をFig. 2に示した。Table. 1から明かなように4品種の原料白米の粗タンパク質含量はほぼ同じであるが、製成酒中の窒素化合物量と形態には大きな違いが生じた。難溶解性タンパク質の多い春陽は全窒素量が最も少なく他の原料米の約半分であり、タンパク態窒素が少くないという特徴が見られた。山田錦と美山錦を比べて見ると全窒素量はほぼ同一であるが、山田錦はタンパク態窒素が少なくペプチド態窒素が多く、美山錦は逆にタンパク態窒素が多くペプチド態窒素が少くないという特徴が見られた。美郷錦は4品種の中で最もタンパク態窒素が多かった。美山錦と美郷錦がタンパク態窒素が多い原因は57kD以上の高分子タンパク質が山田錦よりも多いことに起因するものと推論される(Table. 1)。

以上の結果は原料米のタンパク質組成の違いが醗でのタンパク質分解酵素による加水分解に極めて大きく影響することを示すものと考えられる。清酒の窒素化合物の形態は官能的な品質に関わっているものと推論

されことから、酒造米の評価においては原料米のタンパク質は含量以上にその組成が重要であることが明らかとなった。

### 4. アミノ酸組成

製成酒のアミノ酸組成は、前述のように原料米タンパク質の分解、麹菌の製麴中における生産、酵母の取り込みと放出など多くの要因があるが、今回は酵素剤仕込みを行い麴からの持込みを排除した条件で原料米のタンパク質組成の違いが製成酒のアミノ酸組成にどのような影響を与えるか調べた。Table. 4にアミノ酸組成を示したが、難溶解性タンパク質の多い春陽はタンパク質の溶解が悪いため全アミノ酸量も少ない。これらのアミノ酸の中で刺激閾を超えているアミノ酸はグルタミン酸(酸味)とアルギニン(弱甘味)のみであるが、春陽は刺激閾値以下であった。Table. 5はアミノ酸を酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、中性アミノ酸、疎水性アミノ酸、アミノ酸関連化合物に分類し百分率で比べたものであるが、山田錦と美山錦はほぼ同じであるが、春陽は塩基性アミノ酸が少なくアミノ酸関連化合物が多いという特徴が見られた。尿素サイクル関連のアミノ酸に注目してみると、春陽は尿素とシトルリンが不検出であり、オルニチンとアルギニンも少なかった。これは春陽がタンパク質の溶解が悪いことが酵母の窒素代謝に影響した結果と考えられる。難溶解性タンパク質の多い原料米を使用すると、尿素関

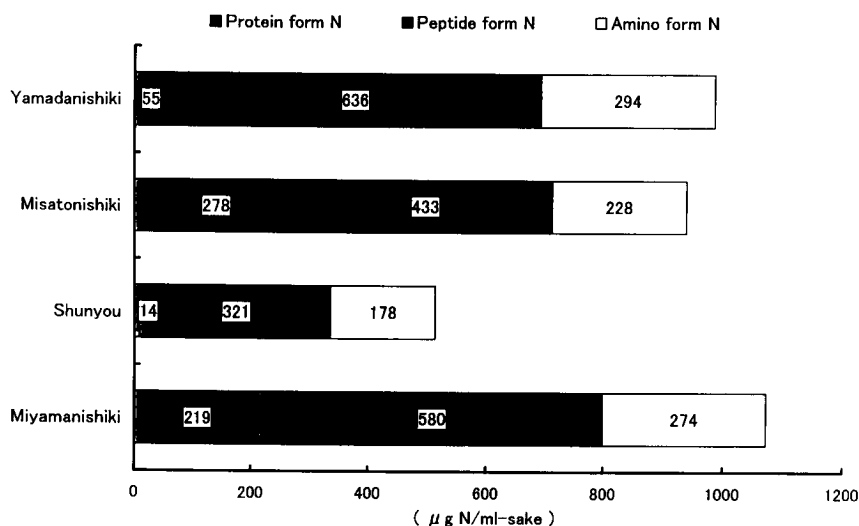


Fig. 2 Various forms of the nitrogen compound in the brewed Japanese sake

**Table 4** Amino acid composition of the brewed Japanese sake.

	<i>Yamadanishiki</i>	<i>Misatonishiki</i>	<i>Shunyou</i>	<i>Miyamanishiki</i>
Phosphoserine	0.67	0.64	0.71	0.67
Taurine	5.72	5.61	5.80	5.41
Urea	4.10	2.66	0.00	3.50
Aspartic acid	3.20	2.70	1.86	2.98
Threonine	1.64	1.29	0.82	1.40
Serine	3.05	2.38	1.43	2.70
Asparagine	4.88	4.22	2.18	4.42
Glutamic acid	12.80	11.95	7.90	13.05
Glutamine	11.61	9.00	5.70	10.10
Sarcosine	0.91	0.78	0.00	1.04
$\alpha$ -amino adipic acid	1.00	0.58	0.25	0.95
Glycine	8.42	7.47	5.32	8.76
Alanine	20.37	19.45	10.45	21.91
Citruline	0.26	0.00	0.00	0.29
$\alpha$ -amino-n-butyric acid	0.00	0.00	0.00	0.00
Valine	8.05	5.92	2.99	7.53
Cystine	0.25	0.27	4.09	0.00
Methionine	0.00	0.00	0.00	0.00
Cystathionine	2.34	2.22	2.46	1.03
Isoleucine	4.29	3.01	1.97	3.79
Leucine	10.03	6.72	4.87	9.27
Tyrosine	6.36	4.68	3.61	5.91
Phenylalanine	3.77	2.44	1.91	3.34
$\beta$ -Amino iso butyric acid	0.91	0.31	0.28	0.31
$\gamma$ -Amino-n-butyric acid	0.63	0.56	0.23	0.42
Tryptophan	0.00	0.00	0.00	0.00
Ethanol amine	1.83	1.61	1.70	1.63
Ammonia	0.89	0.13	0.08	0.50
Hydroxylysine	1.38	1.08	2.51	1.23
Ornithine	3.76	3.18	2.47	2.78
Lysine	6.43	4.48	2.93	5.26
Histidine	1.07	0.92	0.69	0.88
3-Methylhistidine	0.22	0.00	0.00	0.29
Anserine	0.00	0.00	0.00	0.00
Carnosine	0.68	0.62	0.51	0.58
Arginine	32.48	22.59	15.69	31.40
Proline	11.15	5.28	14.64	9.86
Total	175.2	135.5	106.1	163.2

(mg/100 ml-sake)

**Table 5** Classification of the amino acid composition of the brewed Japanese sake.

Classification	<i>Yamadanishiki</i>	<i>Misatonishiki</i>	<i>Shunyou</i>	<i>Miyamanishiki</i>
Acidic amino acids	9.1	10.8	9.2	9.8
Basic amino acids	22.8	20.7	18.2	23.0
Neutral amino acids	20.7	21.8	21.8	20.4
Hydrophobic amino acids	32.9	32.0	34.7	34.1
Related compounds	14.4	14.7	16.0	12.6
Total(%)	100.0	100.0	100.0	100.0

**Table 6** Volatile components of the brewed Japanese sake.

	<i>Yamadanishiki</i>	<i>Misatonishiki</i>	<i>Shunyou</i>	<i>Miyamanishiki</i>
Acetaldehyde	15.9	15.1	16.4	16.4
Ethyl acetate	83.7	96.6	76.2	78.4
Ethyl butylate	1.5	1.4	1.1	1.3
n Propanol	71.5	74.8	44.8	77.6
i Butanol	104.1	98.5	98.5	107.3
i-Amyl acetate	3.2	4.0	2.9	2.8
i-Amyl alcohol	146.5	148.1	149.1	142.9
Ethyl n-caproate	0.6	0.4	0.6	0.2
Ethyl n-caprylate	0.5	0.0	0.0	0.0

(ppm)

連アミノ酸の生成が少なくカルバミン酸エチルの生成抑制には効果的と思われる。

### 5. 製成酒の香気成分

製成酒の香気成分を Table. 6 に示した。官能的に影響の大きいイソアミルアルコール、酢酸イソアミル、カプロン酸エチルなどは 4 品種の間に大きな違いは認められなかった。春陽はタンパク質の溶解が悪く、アミノ酸の生成も少ないが、製成酒の香気成分に大きな違いがないという結果は、原料米のタンパク質組成が製成酒の香気成分の生成にほとんど影響しないことを示すものと推論される。

### 要 約

1. 並行複発酵は 4 品種の間に大きな違いは見られなかった。
2. 製成酒中の窒素化合物の量と形態は 4 品種の間に大きな違いが認められ、原料米のタンパク質組成の違いが大きく影響したものと推論された。
3. 難溶解性タンパク質の多い春陽を使用した製成酒の全窒素量は他の品種の約 50% と少なく、タンパク態窒素も少なかった。また、山田錦は美山錦と比べる

と溶解した全窒素量はほぼ同じであるが、ペプチド態窒素が多くタンパク態窒素が少なかった。

4. 製成酒中のアミノ酸組成は 4 品種の間に大きな違いが認められ、原料米のタンパク質組成の影響が推察された。すなわち、春陽は全アミノ酸生成量が他品種の約 60% と少なく、尿素サイクルに関連するアミノ酸が少ないという特徴が見られた。

5. 一般成分及び香気成分では、原料米のタンパク質組成の影響は見られなかった。

終わりに、春陽の玄米を提供していただいた増永寛氏（ジーンバンク事業による実証圃担当農家）に厚く御礼を申し上げます。

### 文 献

- 1) 岩野君夫, 中沢伸重, 伊藤俊彦, 高橋仁, 上原泰樹, 松永隆司; 醸協, **96**(12), 857-862 (2001)
- 2) 高橋亨, 櫻井廣; 岩手県工業技術センター研究報告第 7 号, 99-101 (2000)
- 3) 布川弥太郎, 飯塚尚彦, 岩野君夫, 斎藤和夫; 醸協, **76**(4), 267-271 (1981)

- 4) 岩野君夫, 飯塚尚彦, 斎藤和夫, 布川弥太郎; 醸協, **76**(4), 272-275 (1981)
  - 5) 三上重明, 三浦治, 渡辺高年, 渡辺健一, 岩野君夫, 椎木敏, 島田豊明; 醸工, **65**(1), 37-43 (1987)
  - 6) 注解編集委員会; 第4回改正国税庁所定分析法注解, (財)日本醸造協会 (1993)
  - 7) 岡部正人, 桜田博克, 清水弘人, 中谷俊多美, 三上重明, 岩野君夫; 醸協, **91**(3), 203-208 (1996)
  - 8) 清水弘人, 中谷俊多美, 岡部正人, 三上重明, 岩野君夫; 醸協, **91**(5), 362-366 (1996)
  - 9) 大橋勝, 山田和男; 醸協, **65**(12), 1129-1130 (1970)
  - 10) 増村威宏, 田中國介; 醸協, **88**(6), 414-420 (1993)
  - 11) 岩野君夫, 天野仁; 醸協, **96**(11), 789-795 (2001)
-