

泡盛の酸敗もろみに関する研究（第1報）

— 泡盛酸敗もろみの性状とそれより分離した微生物の生成する揮発酸について —

化学室 照屋比呂子
宮城勝治

1. 緒言

醸造飲食品の多くは開放状態で製造されているため、その発酵工程中には主要微生物の他にさまざまな雑菌の存在が知られている。しかし、これら雑菌がすべて製品の品質劣化に関与するものではないこともまた周知のことで、腐造に関与しない細菌、或はむしろ香味の改善に役立つ細菌の存在も論ぜられており、中村¹⁾はしょう油についてこのことにふれている。

泡盛の場合は古く（1938）、中沢ら²⁾が、主要菌の黒麹菌と酵母菌のみの純粋培養で泡盛を製造したところ、その風味は沖縄の泡盛にくらべ劣っていたとして、主要菌以外の風味に関与する微生物を検索し、*Mycoderma* 属の一株が、特に風味に良好な効果を与える菌株であったと報告している。

しかし、転じて酒類もろみ中に腐造生酸菌が異常に増殖し、いわゆる酸敗（腐造）もろみになると、製品も酸敗酒となり、酒質の非常な劣化を見ることがになるが、泡盛もろみにおける酸敗現象については、これまで十分明らかにされていない。

泡盛もろみは、元来、黒麹菌麴に由来するクエン酸により、かなり高い酸度を有しているが、製麹条件により高低があり、一時点のもろみ酸度の強弱をみるだけでは、酸敗現象は捉え難い。今回たまたま入手した3点の酸敗もろみと2点の正常もろみについて、蒸留後の酸度の測定を行ったところ正常もろみのそれとくらべ15～50倍の酸度を有し、明らかに酸敗と認められたので、その性状を検討し、増殖している微生物の分離を行った。次いで6タイプの分離菌株について生成する揮発酸の定量を行い、各菌株の揮発酸生成能を検討して酸敗に関与する生酸菌を推定した。また、酸敗泡盛についても揮発酸の定量を試みたいので、これらの結果について報告する。

2. 実験方法

2・1 試料

(1) 酸敗もろみ

昭和56年7月及び57年10月に技術相談のため泡盛酒造場より、酸敗もろみとして持参されたもろみ(ア)及び(イ)、また昭和57年8月に工場巡回のとき遭遇したいわゆるヤケ麴（原因：温度センサー設置忘れ）によるもろみ(ウ)の3試料を酸敗もろみとして直接検鏡による観察、性状及び関与微生物の分離など諸試験に供した。

また、対照として正常もろみ①及び②についても、性状を検討し、酸敗もろみと比較した。

(2) 酸敗泡盛

昭和57年BY製の泡盛で製品酸度の高い泡盛2点及び対照として正常泡盛1点を供試した。

2・2 菌株の分離

酸取もろみを蒸留水で適宜希釈してCaCO₃を加えたYAS培地または麴汁 (Bx 5、pH 6.8 : 以下本試験の麴汁はすべてこの条件によった) 平面培地に塗抹して30℃で培養、2～5日後に出現したコロニーから、可能な限り多様な菌種を分離する目的で、CaCO₃の消失の有無にかかわらず釣菌し麴汁に接種した。この培養液を再び滅菌蒸留水に希釈して平面培養をくり返し、コロニーの状態の観察及び検鏡の上、十分純粋と思われたものをTYG (Tryptone-Yeast extract Glucose agar) 培地に斜面培養し、供試菌とした。

2・3 分離菌株の類別

各分離菌株について、麴汁平面培地による巨大コロニーとTYG培地による斜面培養の両特徴を観察し、両特徴の傾向が類似しているものを同一タイプとして類別した。

2・4 分離微生物の培養

外池ら³⁾の生酸性の測定のための培養法に準じた。すなわち、麴汁150 mlに各分離菌株の一株の白金耳を接種して30℃で72時間培養を行い、次の試験に供した。

(1) 培養3液10 mlについてpHおよび生酸性を測定した。

(2) 培養液100 mlをアルコール試留装置で蒸留し、留液70 mlを採取して、揮発酸およびエチルアルコールの測定に供した。

2・5 分析方法

(1) もろみのpHはガラス電極pHメーターにより、また、もろみ酸度及び泡盛製品の酸度は国税庁所定分析法によった。

(2) 分離菌株の生酸性

2・4(1)項による培養ろ液10 mlをN/10 NaOHで滴定したml数。

(3) 揮発酸の定量

もろみ試料はその試留液を、泡盛製品はそのまま、及び分離菌の生成する揮発酸は、2.4(2)項の試料についてガスクロマトグラフィーによる定量を行った。装置は島津GC-6A、検出器F10、キャリアガスHe40 ml/min、注入部温度210℃、カラム温度190℃、カラムはガラスカラム2 m×3 mm、充てん剤は液相PEG 20 M (15%)、担体Shimalate F (20～60 mesh)を用いた。この条件により30%エチルアルコール溶液で調整した酢酸以降iso-カプロン酸までの標準揮発酸の各々は表1に示すようにそれぞれの保持時間(RT)でよく分離した。

揮発酸の定性は、もろみ試留液、分離菌培養液、泡盛製品について予備分析を行ったところ、標準酢酸、プロピオン酸の保持時間とよく一致したピークが認められたので、これら両揮発酸の定量を行うこととした。なお、本試験では、それほど精密を要しないと思われたので、絶対検量線によった。標準酢酸、プロピオン酸のガスクロマトグラムを図1に検量線を図2に示した。ガスクロ

表1 揮発性有機酸の保持時間
(1/100分)

有機酸	保持時間
(エチルアルコール)	(50)
酢酸	304
プロピオン酸	425
iso-酪酸	455
n-酪酸	562
iso-吉草酸	654
n-吉草酸	821
iso-カプロン酸	1,032

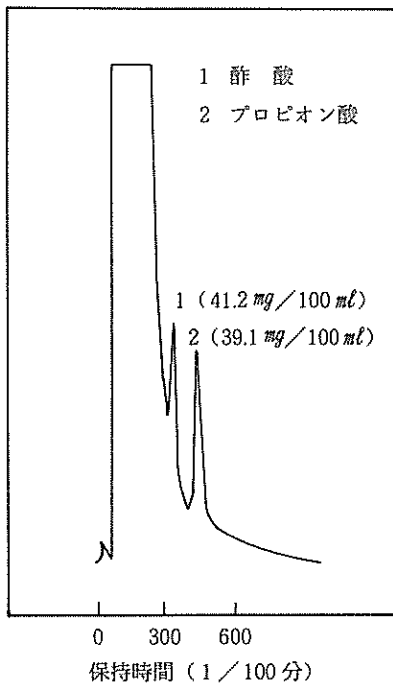


図1 標準揮発酸のガスクロマトグラム

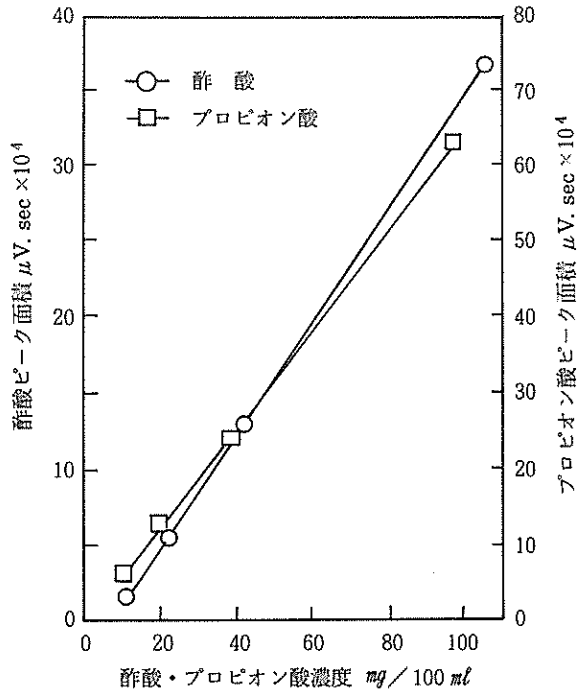


図2 酢酸・プロピオン酸の検量線

マトグラムのデータ処理はクロマトパックEIAによった。

(4) エチルアルコールの定量

分離菌の生成するアルコールについては、2・4(2)項の試料についてガスクロマトグラフィーにより定量を行った。測定条件は、注入温度 125 °C、カラム温度 75 °C、カラムはガラスカラム 2 m × 3 mm、充てん剤は液相 Reoplex 400 (10%)、担体 Chrosorb WAW DMCS (80~100 mesh) を用いた。

3. 結果と考察

3・1 泡盛酸敗もろみの性状

泡盛の酸敗もろみ 3 点及び正常もろみ 2 点の分析結果を表 2 に、両もろみの揮発酸のガスクロマトグラムの例を図 3 に示した。

表 2 泡盛酸敗もろみ及び正常もろみの分析結果

試料	もろみ数	もろみ		同 試 留 液				
		pH	酸度*	アルコール分	pH	酸度**	酢酸	プロピオン酸
			ml	%		ml	mg/100ml	mg/100ml
酸敗もろみ	(ア)	7	17.0	6.4	3.01	51.5	265	60
	(イ)	7	6.9	17.3	3.42	15.5	79	39
	(ウ)	8	12.8	15.0	3.43	14.6	78	24
正常もろみ	①	8	11.9	17.4	3.98	1.1	—	5
	②	16	11.4	18.3	4.05	0.8	—	4

* N/10 NaOH ml

** N/100 NaOH ml

結果に見られるように酸敗もろみのもろみ酸度は、正常もろみの酸度よりかなり高い酸敗もろみ(ア)、著しく酸度の低い酸敗もろみ(イ)正常もろみの酸度とほとんど変わらない酸敗もろみ(ウ)などさまざまである。しかし、これら両もろみ試留した蒸留液について測定した結果(試留液の酸度は製品酸度との関連からN/100 NaOHで適定した)を見ると酸敗もろみと正常もろみの酸度の差は非常に大きく、酸敗もろみは正常もろみの約15~50倍の酸度を示した。

さらにこの試留液についてガスクロマトグラフィーにより揮発酸を定量した結果は同じく表2に示したように、酸敗もろみの酢酸およびプロピオン酸の含有量が、正常もろみとくらべて非常に多く、正常もろみの酢酸がいずれも測定限度以下であるのに対し、酸敗もろみは78~265 mg/100 ml、プロピオン酸では正常もろみ4~5 mg/100 mlに対し、酸敗もろみは24~60 mg/100 mlであった。

次に酸敗もろみの直接検鏡による観察では写真1に示したように酸敗もろみ(ア)及び(イ)に同様な線状の菌が異常に増殖しているのが見られた。また、酸敗もろみ(ウ)についてはこの線状の菌は少く、一視野に2~3個程度観察されたにすぎない。

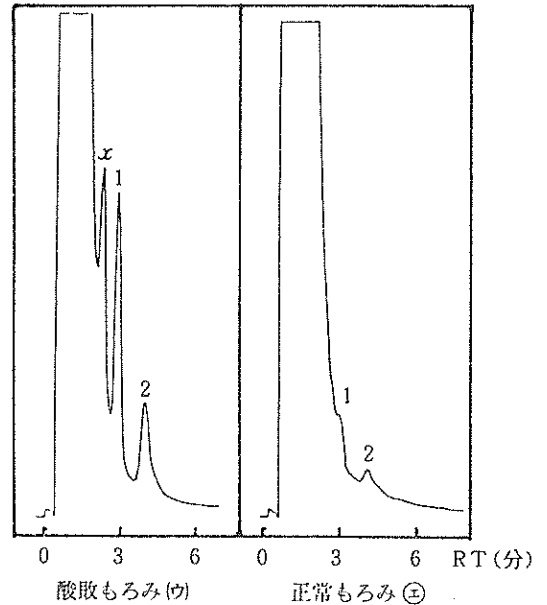
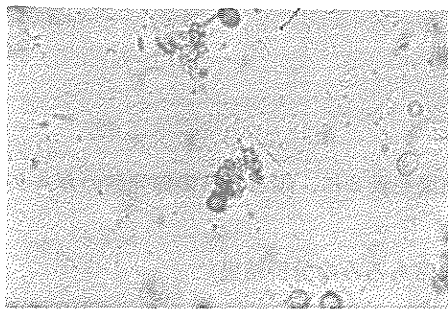
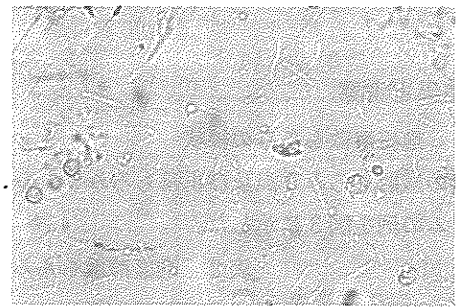


図3 酸敗もろみと正常もろみのガスクロマトグラム
x 未知ピーク 1 酢酸 2 プロピオン酸



酸敗もろみ(ア)



酸敗もろみ(イ)

写真1 酸敗もろみ中に増殖した微生物(10×40)

以上のように3点の酸敗もろみは明確な腐造が確認されたので、次に関与微生物の分離を行った。

3・2 菌株の分離、類別および代表株の選択

酸敗もろみ3点より24株の微生物を分離し、巨大コロニーおよび斜面培養の特徴により6タイプに類別した(表3)。また各菌株の生酸性を予備測定したところ各タイプの生酸性の強弱が明らか

表3 酸敗もろみから分離した菌株のタイプ

	菌 株	巨 大 コロニー	斜面培養	生酸性*	酒 造 場		
分 離 菌 株 の タ イ プ	I	• B _I -1	F ₂	c	11.81	(ア)	巨大コロニーの特徴 A ₁ : 微赤褐色大 A ₂ : 微赤褐色小 B ₁ : 白色大 B ₂ : 白色大 B ₃ : 微青白色 E : 白色微小 F ₁ : 微小や、透明 F ₂ : 生育しない
		B _I -2	F ₂	c	8.48	(ア)	
		B _I -3	F ₁	c	8.58	(ア)	
		B _I -4	F ₁	c	8.94	(ア)	
		B _I -5	F ₁	c	8.34	(ウ)	
		B _I -6	F ₁	c	5.61	(ウ)	
	II	• B _{II} -7	F ₁	d ₂	4.42	(ウ)	
		B _{II} -8	F ₂	d ₂	2.48	(イ)	
		B _{II} -9	F ₂	d ₁	4.24	(ウ)	
		B _{II} -10	F ₂	d ₁	3.37	(ウ)	
		B _{II} -11	F ₂	d ₂	2.19	(イ)	
		B _{II} -12	F ₁	d ₁	2.52	(ウ)	
		B _{II} -13	F ₁	d ₂	1.13	(イ)	
	III	• B _{III} -17	B ₂	b ₃	1.45	(イ)	斜面培養の特徴 a : 微青色全面生育 b ₁ : 白色全面生育 b ₂ : 同上、上面しわ b ₃ : 同上 扁平 b ₄ : 同上や、透明
	IV	• B _{IV} -18	B ₁	a	0.88	(ア)	c : 白色半透明
		B _{IV} -19	B ₁	a	0.75	(ア)	d ₁ : 透明扁平 d ₂ : 透明微小
	V	B _{IV} -20	B ₃	a	0.45	(ア)	
		• B _V -21	E	a	0.82	(ア)	
	VI	B _V -22	A ₁	b ₁	0.30	(ア)	
		B _V -23	A ₁	b ₁	0.34	(ア)	
		B _V -24	A ₁	b ₂	0.35	(ア)	
B _V -25		A ₁	b ₂	0.44	(ア)		
B _V -26		A ₂	b ₁	0.30	(イ)		
• B _V -27		A ₂	b ₁	0.35	(イ)		
	Blank			0.30			

* 培養液 (麴汁Bx5、pH 6.8 : 30℃、72 hr) 10 ml を中和するに要したN/10 NaOH ml。

かとなった。各タイプの代表株は、最も高い生酸性を示した菌株を代表株 (表3・印) とした。

3・3 分離微生物の生成する揮発酸、その他

分離微生物の代表株6株について生酸性および生成する揮発後、エチルアルコールを測定した結果を表4に示す。結果に見られるように生酸性は菌株B_I-1、B_{II}-7、B_V-21の順に高く、

表4 分離菌株の生酸性ならびに揮発酸、エチルアルコールの生成

菌 株	CaCO ₃ 溶 解	培 養 液		同 蒸 留 液			pH	酸 度 *
		pH	生酸性*	酢 酸 <i>mg/100 ml</i>	プ ロ ピ オン 酸 <i>mg/100 ml</i>	エ チ ル ア ル コ ール v/v %		
B _I -1	+	3.38	8.90	19.7	-	-	3.63	2.80
B _{II} -7	+	3.72	5.20	34.0	-	0.34	3.55	6.30
B _{III} -17	-	5.92	0.50	5.0	12.5	-	7.24	-
B _{IV} -18	-	5.94	0.45	3.0	13.0	-	7.20	-
B _V -21	+	4.95	1.25	6.5	-	-	4.53	0.95
B _{VI} -27	-	6.43	0.30	-	10.1	-	8.75	-
Blank		6.32	0.30	-	-	-	9.05	-

* 10 mlを中和するに要する1/10 N NaOH ml数。

B_{III}-17、B_{IV}-18は非常に低く、B_{VI}-27は菌株無添加のBlankと同じ値を示した。また、同培養液の蒸留液についてその酸度を見ると、B_I-1株は、蒸留前とくらべ著しく低くなっており、このことから、この菌株については、不揮発酸の生成も考えられる。

次に、揮発酸の生成については、酢酸のみを生成する菌株はB_I-1、B_{II}-7及びB_V-21株で、酢酸、プロピオン酸ともに生成する菌株はB_{III}-17、B_{IV}-18株、またプロピオン酸のみを生成する菌株はB_{VI}-27株であった。そして、これら揮発酸の生成量については、酢酸の生成が最も

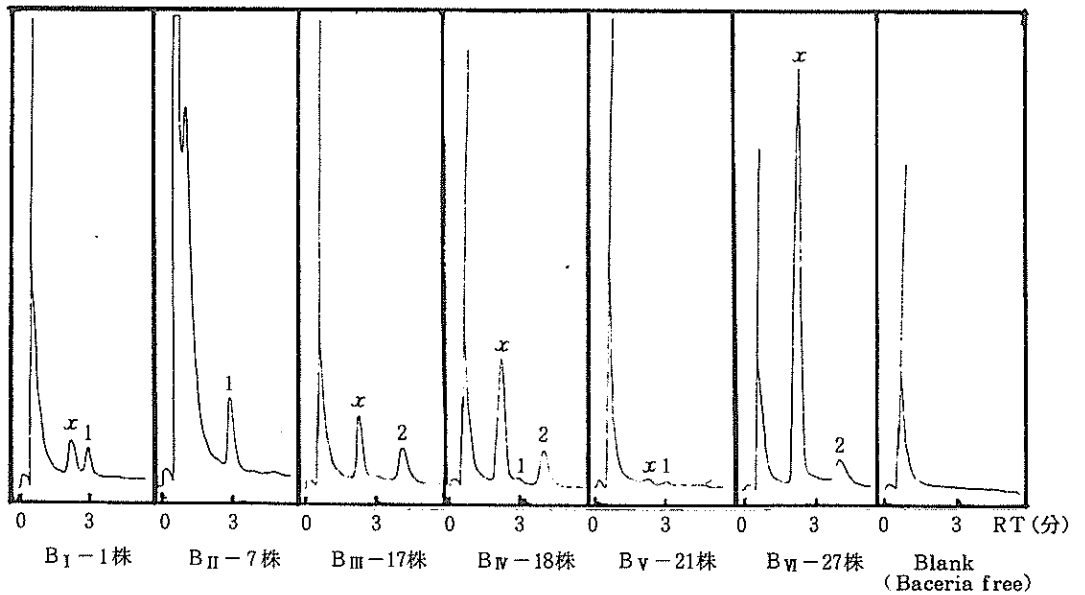


図4 分離菌株の生成する揮発酸のガスクロマトグラム

x 未知ピーク 1 酢酸 2 プロピオン酸

多い菌株はB_{II}-7株で34.0 mg/100 ml、次いでB_I-1株(19.7 mg/100 ml)、B_V-21株(6.5 mg/100 ml)となっており、プロピオン酸を生成するB_{III}-17、B_{IV}-18株は、両株とも酢酸生成量は小さかった。プロピオン酸の生成については、B_{IV}-18、B_{III}-17、B_{VI}-21株のそれぞれが13.0、12.5、10.1 mg/100 mlとなっており、菌株間で生成量に大きな差は見られなかった。

以上のように分離菌株の揮発酸生成能には特異性があり、このことと、酸敗もろみの揮発酸含有量及び分離菌相からみて、泡盛の酸敗には揮発酸生成能の異なる菌株B_{II}-17、B_{IV}-18、B_{VI}-27株等の複種の菌種の生酸菌が関与しているものと推定される。

各菌株の生成する揮発酸のガスクロマトグラムを図4に示す。菌株B_{II}-7株にのみエチルアル

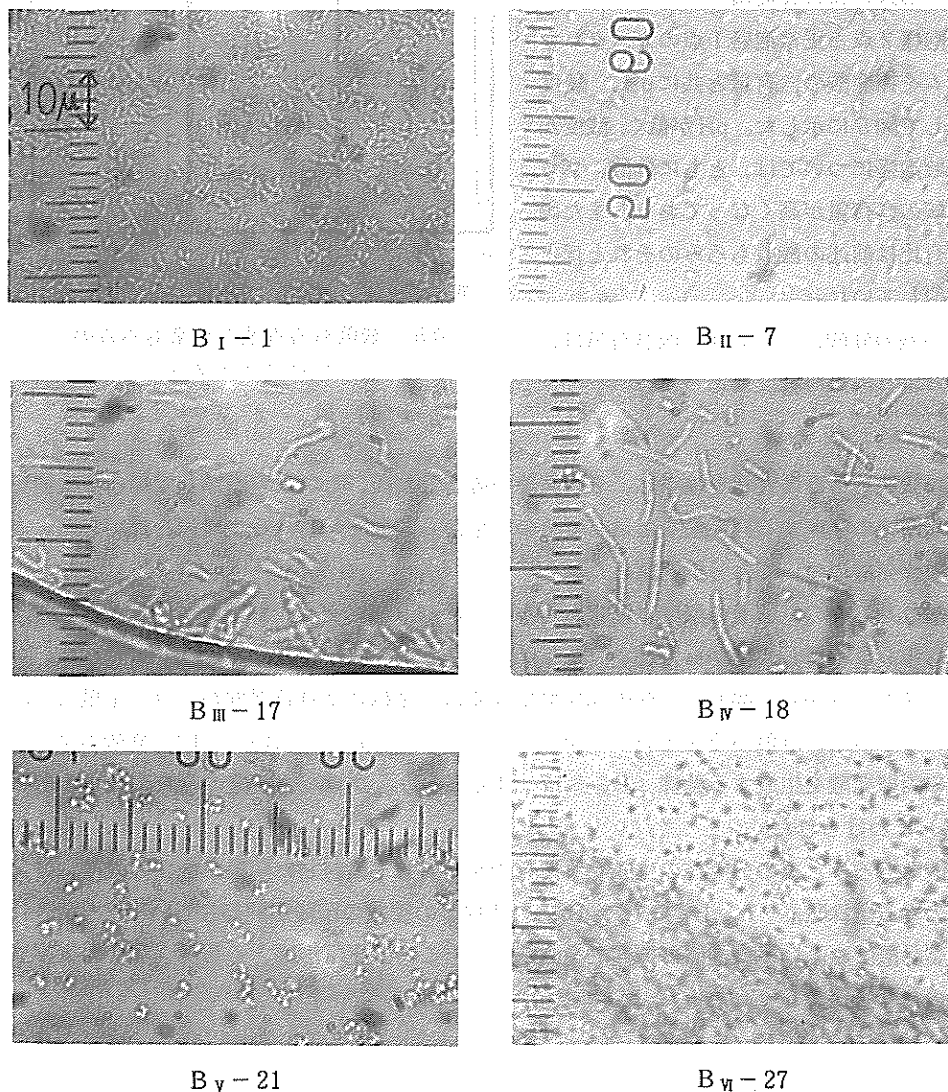


写真2 分離菌株の形態 (15×40)

コールのかなり大きなピークが認められたので別法(2・5(4))で測定したところ、その含有量は0.34 v/v%であった。

また、未知ピークについてはB_{II}-7株をのぞく全菌株に存在し、これは酸敗もろみにおいても(ア)及び(イ)の2試料について認められたので酸敗に関係ある成分として、今後の検討で解決したい。

なお、各分離菌株の形態的観察結果は写真2のとおりである。

3・4 酸敗泡盛の揮発酸

酸敗泡盛2点と正常泡盛1点のガスクロマトグラムを揮発酸の含有量と共にpH、酸度も記入して図5に示した。pHが低く、酸度が高い酸敗泡盛については、ともに酢酸、プロピオン酸の含有量が高くなっており、また両酸の含有比は前述の酸敗もろみのそれとほとんど類似していた。

正常泡盛の酢酸、プロピオン酸含有量は、図で見るように痕跡程度であった。

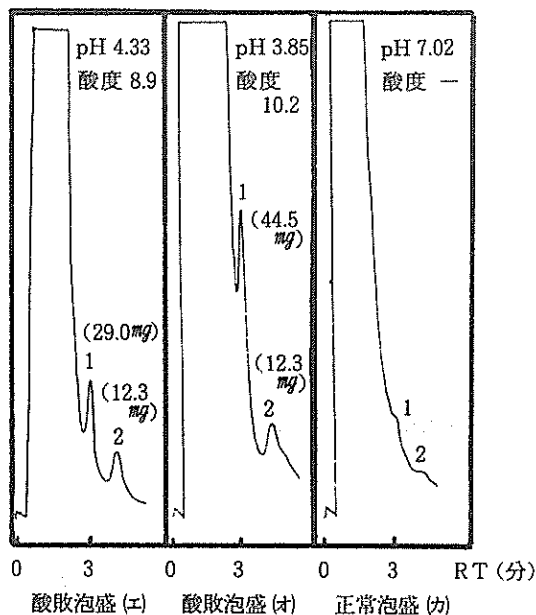


図5 酸敗もろみ及び正常もろみのガスクロマトグラム

1 酢酸 2 プロピオン酸

4. 要 約

泡盛の酸敗もろみの性状を検討し、その腐造を確認した後、これより増殖している微生物を分離し、分離菌株の生成する揮発酸を定量してその結果から酸敗を起させる生酸菌を推定した。また酸敗泡盛の揮発酸についても分析を試みた。

(1) 酸敗もろみの試留液の酸度は正常もろみの15~50倍を有し、酢酸、プロピオン酸の含有量も正常もろみより著しく多かった。

(2) 多酸もろみから分離した菌株の揮発酸生成能は、菌株により特異性があり、定量した両揮発酸についてみると、酢酸のみを生成する菌株(B_I-1、B_{II}-7、B_V-21)、酢酸およびプロピオン酸の両揮発酸を生成する菌株(B_{III}-17、B_{IV}-18)、プロピオン酸のみを生成する菌株(B_{VI}-27)にわけられた。

(3) 酸敗もろみとその分離株の生成する揮発酸を定量して検討した結果、泡盛の酸敗には揮発酸生成能の異なる菌株B_{II}-7、B_{IV}-18、B_{VI}-27株等の複数の菌種が関与していると推定された。

(4) 製品酸度の高い多酸泡盛の揮発酸を測定したところ、正常泡盛とくらべ、酢酸およびプロピオン酸の含有量が著しく高かった。

文 献

- 1) 中村清：醸協 66 226 (1971)
- 2) 中沢亮治、霜三雄：農化 14 573 (1938)
- 3) 外地良三・百瀬洋夫：醸協 56 632 (1961)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。