

# 高アミノ酸含有玄米酒の製造法の開発

田中 健<sup>\*1)</sup>、西崎文裕<sup>\*2)</sup>、大西甚吾<sup>\*2)</sup>、松澤一幸<sup>\*1)</sup>

## A new manufacturing method of high amino acid content brown rice sake

TANAKA Takeshi<sup>\*1)</sup>, NISHIZAKI Yasuhiro<sup>\*2)</sup>, OHNISHI Jingo<sup>\*2)</sup> and MATSUZAWA Kazuyuki<sup>\*1)</sup>

In this paper, a new manufacturing method is proposed for the brown rice sake containing high amino acid. The reinforcement effect of various enzymes for the increase in the amount of the amino acid content of the brown rice sake was experimentally examined by using various enzymes. It is cleared that the content of nitrogen in the brown rice sake is greatly influenced by the amount of the protein of the raw material, and the brown rice sake containing high amino acid has been manufactured, as the high protein raw materials is promptly resolved with the enzyme. Also, it turned out that the effect of the enzyme was small for the brown rice sake without containing the high protein material. The amount of nitrogen increase with time when the fermentation period is lengthened, even if the enzyme is not added, and the fermentation period greatly influence for the increase in the amount of amino acid content of the brown rice sake. It was clarified that the content of nitrogen of the brown rice sake containing the high protein raw material with the addition of the enzyme was approximately 1.5 times higher than that without the addition of the enzyme after tomezoe three weeks.

### 1. 緒言

酢をアルコール発酵と酢酸発酵を別々に行う二段階発酵法で製造する場合、アルコール発酵で得られた原料酒と種酢、水を混合して酢酸発酵する。従って、酢の窒素含量は原料酒中の窒素含量でほぼ決定される。そこで、窒素含量の多い食酢を製造するには原料酒の窒素含量をできるだけ多くする必要がある。今回、玄米から高窒素含有黒酢原料酒を製造するために酵素の効果を検討した。

### 2. 調査方法

#### 2.1 試薬

蛋白質分解酵素として天野エンザイム株式会社製プロテアーゼのニューラーゼ F3G、プロテアーゼ M「アマノ」G、ペプチダーゼ R、セルロース分解酵素セルラーゼのセルラーゼ T「アマノ」4、デンプン糖化酵素グルコアミラーゼのグルクザイム AF6、グルタミン酸増強酵素グルタミナーゼダイワ C100S を使用した。

#### 2.2 試料

実プラントの玄米酒製造時の留添を試料に用いた。実プラントでの玄米酒の製造は 1 日目の初添に蒸米 100kg、麴 200kg、酵母菌 600g、乳酸 2kg、水 500L を混合し、3 日目の仲添に蒸米 500kg、麴 100kg、玄米精米時の糠 15kg、TUNO-RBP20kg、水 840L、水麴（麴と水を 1：1 で混合し

たもの）200kg、4 日目の留添に蒸米 600kg、麴 300kg、水 1100L、水麴 200kg を混合し、15～20 に保温して製造する。この留添にかいを入れて混合したものを試料とした。

#### 2.3 原料酒の製造

留添には (A)：上記の留添、(B)：留添には酵母の働きを助けるために TUNO-RBP を用いるが、これを添加しなかった留添の 2 種類のものを用いた。留添 1L をビーカーに取り、それぞれ酵素を加えた。酵素の添加量と種類は Table1 の通りである。留添 1L に酵素 0.214g の添加量は、実プラントでの総米 2000kg に対して 1kg の添加量に相当する。なお、添加した酵素量を Table1 に示した。仕込み時の留添は発泡するので、攪拌後、1L と 500ml のビーカーに分けて取り、20 の恒温室に静置した。かいは 1 日 1 回以上おこなった。2 日目から、1L のビーカーに混合した。

#### 2.4 分析

原料酒の窒素分の溶出状態と酒の出来具合を調べるために、pH、アミノ酸度、Brix、アルコール濃度、ケルダール窒素を適宜測定した。pH は醪のまま測定し、その他の項目は醪 50ml を遠心分離器で 3000rpm、15 分間遠心分離後、上澄水を 5A ろ紙でろ過後、測定した。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 pH、Brix、アルコールの変化

\*1) 食品・毛皮革技術チーム \*2) ミヅホ株式会社

pH：TUNO-RBP 添加した (A) の pH は 4.1 から、徐々に上昇したが、26 日目以後は、ほぼ横ばいであり、40 日後で 4.4~4.8、平均 4.5 であった。TUNO-RBP 無添加では 3.7 から 12 日後に、4.3~4.4、平均 4.4 となった。その後、徐々に低下し、40 日後に 4.1~4.3、平均 4.2 となった。(A) (B) とともに初期の pH より 0.5 程度上昇したものの、(B) は (A) と比較して、初期の pH が低かったのか 40 日後も低い pH となった。

Brix：(A) 8.7、(B) 8.2 からともに上昇したが、4 週目で (A) で 10、(B) で 9.5、以後ほとんど変化はなかった。アルコール濃度：アルコール濃度は、一週目で (A)、(B) とともに 14% 程度と、それ以上昇せず、早期にアルコールの生産が停止した。これは、品温が高く酵母の働きが過剰であったため、麹による糖の生成と消費のバランスが崩れたことによって酵母の活動が停止したためと考えられる。品温の急激な上昇を抑え、ほぼ一定温に保つ必要があった。製品量がアルコール濃度に比例することからアルコール濃度が低いと高アミノ酸含有食酢は造れるが、生産量は少なくなる。従って、生産効率の面からもアルコール濃度は高く維持することが必要であった。

**Table 1** Added volumes of enzyme in each sample of brawn rice-moromi (tomezoe) 1000ml

	A (g)	B (g)	C (g)	D (g)	E (g)	F (g)
No.1	0	0	0	0	0	0
No.2	0.214	0	0	0	0	0
No.3	0	0.214	0	0	0	0
No.4	0	0	0.214	0	0	0
No.5	0.214	0.214	0.214	0	0	0
No.6	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214	0.214
No.7	0	0	0	0	0	0
No.8	0.428	0	0	0	0	0
No.9	0	0.428	0	0	0	0
No.10	0	0	0.428	0	0	0
No.11	0.428	0.428	0.428	0	0	0
No.12	0.428	0.428	0.428	0.214	0.214	0.214
No.13	0	0	0	0.214	0	0
No.14	0	0	0	0	0.214	0
No.15	0	0	0	0	0	0.214

Enzyme

- A: Newlase F (Lipase 40%, protease 40%)
- B: Protease M "Amano" (protease 85%)
- C: Peptidase R (peptidase 50%)
- D: Cellulase T "Amano" (cellulase 16%)
- E: Glucozyme AF6 (glucoamylase 50%)
- F: Glutaminase Daiwa C100S (glutaminase 5%)

### 3.2 アミノ酸度

アミノ酸度は清酒のアミノ酸含有量の指標として良く用いられる。そこで、アミノ酸度を指標として窒素含有量を

測定した。(A) のアミノ酸度は Fig.1 に示したように留添の仕込み時から時間の経過とともに上昇した。40 日後にはすべてで、アミノ酸度が 15 を超えた。しかし、26 日目までは酵素を添加したものが高値であった。19 日目では酵素を添加したものはいずれも無添加よりも高く、1.1~1.9 倍高かった。また、酵素の量を 2 倍にしても、添加量の割に効果は少なかった。その中でも 3 種類の酵素を混合した No.5、6、11、12 は単独で用いた場合の 3 倍の酵素量となることから当然高値であった。単独では No.8 ニューラーゼが比較的效果があった。一方、TUNO-RBP 無添加の (B) では時間の経過と共に上昇するが、No.12 の酵素添加量の最も多いものでも、酵素無添加よりもわずかに高い程度で、(A) ほどの効果はなかった。また、No.13~15 は酵素なしとほぼ同様であった。

### 3.3 ケルダール窒素

酢の窒素含有量の表示はケルダール窒素含有量で表示される。従って、窒素含有量を評価する場合にはケルダール窒素が最も重要となる。しかし、ケルダール窒素濃度は、ある濃度範囲では、アミノ酸度と良い相関があることが知られている。結果を Fig.2 に示したが、アミノ酸度の上昇と同様な傾向を示し、仕込み時から時間の経過とともに上昇した。(A) では 40 日後には、酵素無添加も含めケルダール窒素はすべて 0.35g/100ml 以上となった。しかし、26 日目までは酵素を添加したものが高値であった。19 日目には酵素を添加したもので 0.23~0.31g/100ml、添加なしで 0.20g/100ml と 1.2~1.6 倍高かった。26 日目には酵素を添加したもので 0.35~0.43g/100ml、添加なしで 0.35g/100ml と 1.0~1.2 倍高かった。また、No.2~6 と 2 倍量の酵素を使用した No.8~12 をそれぞれ比較すると、ほとんど差はなく、さらに少量でも十分効果を示す可能性が示唆された。

実プラントでは留添から約 3 週間て酒を絞るので酵素の添加は有効である。しかし、3 週間以後の 26 日目までケルダール窒素は増加していること、酢酸発酵させるために玄米酒のアルコール濃度を低くする必要があり、玄米酒のアルコール濃度を 20% とすると、仕込み水で約 2.5 倍程度は希釈されることから、製造した酢が黒酢の基準である 0.12g/100ml 以上の窒素分を含むには玄米酒の窒素分が 0.30g/100ml 以上である必要がある。従って、酵素の添加のみでなく玄米酒の仕込み期間も留添から 26 日以上とすることが有効と考えられる。

一方、TUNO-RBP 無添加の B では酵素の効果は小さく、酵素を添加したものは添加なしより窒素分は幾分か高いものの、むしろ、仕込み期間の影響が大きかった。いずれも 40 日後には 0.3g/100ml 以上であった。

### 3.4 実プラントでの玄米酒の製造

実プラントでは総米 2000kg に対して (C) 酵素 A1000g、B200g、C200g、D200g を加えたものと、(D) TUNO-RBP を加えないものに同量の酵素を加えたものを比較した。

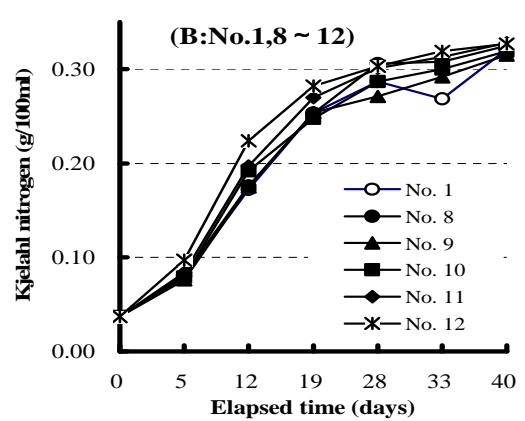
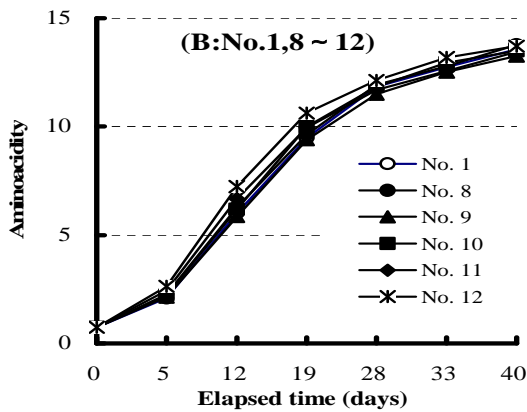
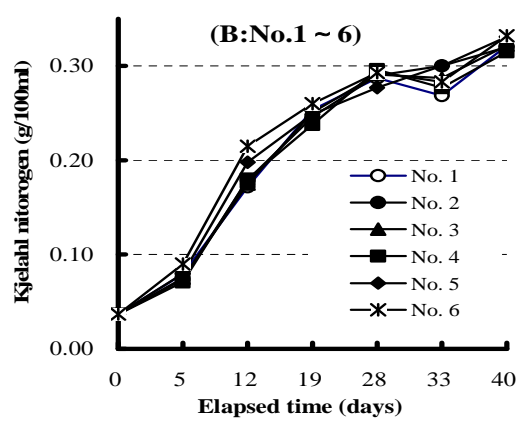
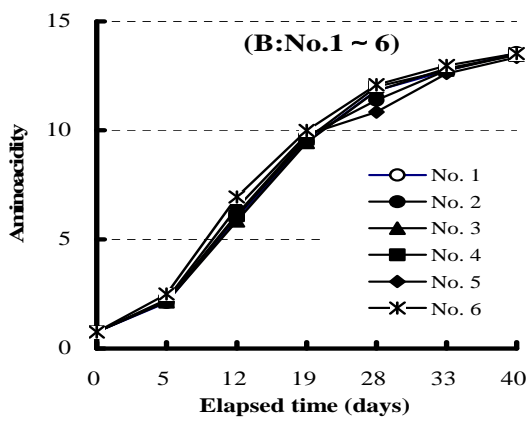
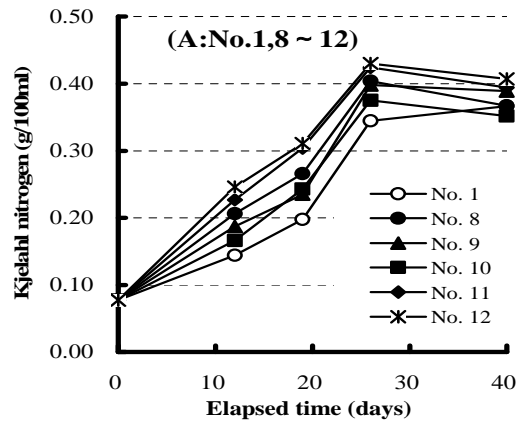
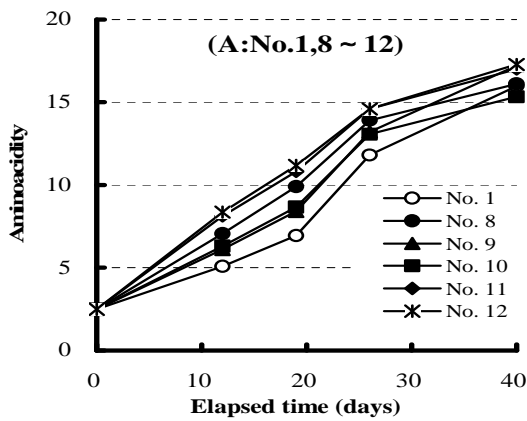
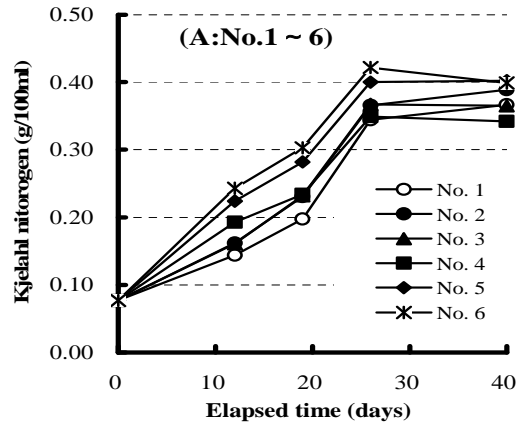
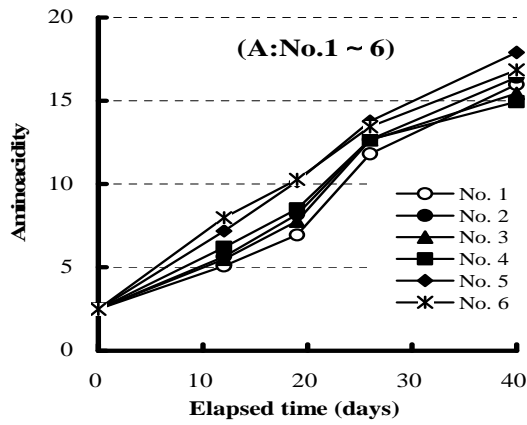


Fig.1 Changes of aminoacidity in production of sake from unpolished rice

Fig.2 Changes of kjelahl nitrogen in production of sake from unpolished rice

### 3.4.1 pH、Brix、アルコールの変化

pH：TUNO-RBP 添加した (C) の pH は 4.1 から、徐々に上昇し、35 日後に 4.8 となった。(D) の TUNO-RBP 無添加では 4.0 から、徐々に上昇し、35 日後に 4.6 となった。

Brix：(C) は 7.9 から 7 日後に 12.3 と急激に上昇し、以後徐々に上昇し 35 日後に 13.5 となった。(D) の TUNO-RBP 無添加でも同様に 8.8 から 7 日後に 11.8、以後徐々に上昇し、35 日後に 13.0 となった。

アルコール濃度：(C) は 9.9% から 7 日後で 18.8% となり、14 日後、最高濃度の 19.2% となり、35 日後 18.4% となった。

(D) では 8.5% から 7 日後 18.1%、その後徐々に上昇し 35 日後で 19.0% となった。従って、留添 14 日後で (C)、(D) 共に、ほぼアルコール発酵は終わっているが、(D) では長期間にわたって徐々に濃度上昇が認められた。気温のうまいか、留添の初期アルコール濃度などが影響しているのかもしれない。

### 3.4.2 アミノ酸度

結果を Fig.3 に示したが、(C) は留添初日の 2.3 から時間と共に増加し、35 日目で 12.5 となった。(D) も 0.9 から 8.7 まで上昇したが、その差は時間とともに大きくなった。

また、ケルダール窒素でもアミノ酸度と同様に留添初日、(C) で 0.09g/100ml から、35 日目で 0.37g/100ml、(D) は 0.05g/100ml から 0.29g/100ml と増加したが、差はなくなかった。この結果から、留添後、酒を絞るまでの期間が長いほど窒素含有量の多い玄米酒を製造することが可能である。しかし、ある程度の濃度になると頭打ちとなる。また、酢の製造では酒造りで 1ヶ月以上、もろみのままで置いておくことは少ない、従って、比較的短時間で、高窒素含有玄米酒を製造するには、TUNO-RBP と酵素の使用は有効である。もっとも、原料自体の窒素含有量も大きく左右すると考えられる。

### 3.5 今後の課題と問題点

玄米酒を製造後、酢酸発酵させる二段階製造法で高濃度の窒素含有酢を製造するには、酢酸発酵の原料である玄米酒の窒素含量を高める必要がある。今回の結果から、長期間醪のまま保存すれば醪固形分の窒素を効果的に溶出することがわかった。また、酵素と TUNO-RBP の併用も有効であることがわかった。しかし、原料の窒素を効率的に利用しても、酢として基準値である 0.12g/100ml 以下となる場合の対策として、酒を絞った後にできる醪固形分に水を約 10 倍加え、かき混ぜて、絞って得られた溶解性成分を含むエキスを酢酸発酵時に加える水に一部代用する。発酵でできるアルコール濃度は現在、約 20% であるが、アルコール生成量を数% 抑える。仕込み時の水の量を減らすなどが考えられる。しかし、のように原料玄米に対するアルコール生成量を抑える場合、総米に対する酢製品量が少なくなりコスト高となる。従って、原料酒の窒素分を高濃度とすることは勿論であるが、の醪固形分のエキス利用は、原料の利用効率を高めるだけでなく、食品廃棄物対策としても有用であり、もっとも効果的であると考えられる。今後も、さらに効率の良い原料由来窒素の高度化利用法を検討することも有用と考える。

## 4. 結言

黒酢原料の玄米酒の窒素分は、酵素とアルコール発酵期間の影響を大きく受けることがわかった。酵素の窒素分増加効果は高タンパク含有 TUNO-RBP を使用する場合に顕著であった。

タンパク分解酵素と高タンパク含有 TUNO-RBP を使用すると、留め添えから 28 日目で窒素分 0.40g/100ml を超える割合が多く、酵素の使用と発酵期間の調節によって、高濃度の窒素分を含む玄米酒の製造が可能となった。

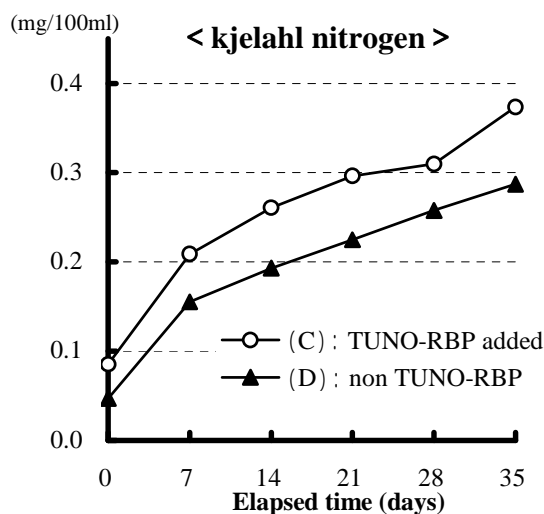
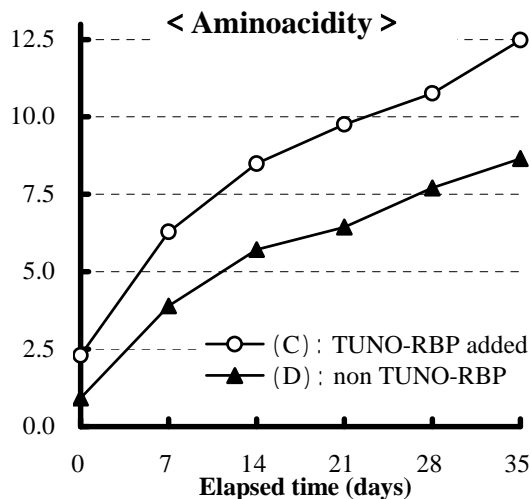


Fig.3 Changes of aminoacidity and kjelahl nitrogen in production of sake from unpolished rice

本研究は、奈良県産業廃棄物排出抑制等事業の一環として行った。

#### 参考文献

- 1)田中健、西崎文裕、大西甚吾、松澤一幸：奈良県工業技術センター研究報告,(32),30-31,2006