

[生物工学会誌 第73巻 第6号 473-480. 1995]

大麦焼酎もろみで焼酎酵母のグリセリン生成に及ぼす 高級脂肪酸の影響

大森 俊郎*・小川 清・幸 賢二・下田 雅彦

三和酒類㈱研究所
〒879-04 大分県宇佐市山本2231-1

(平成7年3月27日受付 平成7年7月13日受理)

Influences of Higher Fatty Acids on Glycerol Production by *Shochu* Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in Barley *Shochu* Mash

TOSHIRO OMORI,* Kiyoshi OGAWA, Kenji YUKI, and Masahiko Shimoda (Research Laboratory, Sanwa Shurui Co., Ltd., 2231-1 Yamamoto, Usa-shi, Oita 879-04) Seibutsu-kogaku 73: 473-480, 1995.

The influences of higher fatty acids on glycerol production by *shochu* yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were investigated to clarify the factors necessary for higher glycerol production by yeast (GPY) in all-*kōji shochu* mash. Glycerol production by *shochu* yeast strains increased in oleic- or linoleic acid-supplemented media, but decreased in the medium supplemented with palmitic acid. The influences of unsaturated fatty acids on glycerol production in this experiment were the same for beer and whisky yeasts. There was a high correlation between the amount of intracellular triglyceride in *shochu* yeast (TGY) and the amount of GPY. Glycerophosphatase activity in *shochu* yeast was the highest in the medium containing linoleic acid. The amount of *kōji* influenced the linoleic acid concentration in *shochu* mash and the linoleic acid composition of intracellular higher fatty acids. When linoleic acid was added to mash with a *kōji* ratio of 33%, the amount of GPY increased from 5.1 to 5.6 g/l. These results suggest that linoleic acid might be a stimulating factor for glycerol production by *shochu* yeast in all-*kōji* mash.

[Key words: barley *shochu*, glycerol production, higher fatty acid, triglyceride in yeast]

グリセリンは高沸点成分であり、焼酎の蒸留工程では留出しない。しかし、もろみ中でのその濃度が酢酸β-フェネチル、β-フェネチルアルコールなどの香気成分の気液平衡比を変化させ、間接的に焼酎の香味に影響する。^{1,2)}このことから、われわれは、もろみ中のグリセリン濃度が焼酎の香味を左右する重要なファクターと考え、大麦焼酎製造工程におけるグリセリンについて研究を行っている。

これまでにわれわれは、大麦焼酎もろみ中のグリセリンはその多くが酵母によって生成されること、³⁾麹歩合が高いほど酵母のグリセリン生成は増加すること、³⁾焼酎もろみ中のクエン酸濃度が酵母のグリセリ

ン生成に影響すること⁴⁾を報告している。しかし、クエン酸濃度の違いだけで全麹もろみでの焼酎酵母のグリセリン高生成を説明できず、クエン酸以外の要因も影響しているものと考えられた。

ところで、培地中の高級脂肪酸は菌体内に取り込まれ、酵母に与える影響は大きい。⁵⁻¹⁴⁾特に、酒類製造において、酵母のエステル生成に影響し、醸造工程での高級脂肪酸の動向は重要である。われわれは、培地中の高級脂肪酸が triglyceride の diacyl 基として代謝されることから、これが酵母のグリセリン生成に影響するのではないかと考えた。しかしながら、酵母のグリセリン生成に高級脂肪酸が影響するとの報告はなかった。

本報は、クエン酸以外の全麹もろみ中での焼酎酵母

* 連絡先, Corresponding author.

のグリセリン高生成要因を明らかにすることを目的に、高級脂肪酸に着目して実験を行った。その結果、リノール酸が全麹もろみ中での焼酎酵母のグリセリン生成を促進していると推定されたので報告する。

実験方法

供試酵母 大麦焼酎酵母 BAW-6, 宮崎焼酎酵母 (MK), 鹿児島焼酎酵母 (Ko), 協会焼酎酵母 (SH-4), 協会7号清酒酵母 (K-7), 協会9号清酒酵母 (K-9), ワイン酵母 W-3, ビール酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IFO1167 およびウイスキー酵母 *S. cerevisiae* IFO2373 を用いた。

供試大麦 二条大麦 (65%精麦) を用いた。

脂肪酸添加培地中での酵母のグリセリン生成 0.5 mM のパルミチン酸, オレイン酸, またはリノール酸を含む 100 ml の GCT 培地 (10% グルコース, 1.17% Yeast Carbon Base, 0.5% 脱脂トリプトンおよび分散剤として 0.1% 脱脂アルブミン¹⁵⁾) を用い, 前培養した酵母 (1×10^8 /ml) を 100 μ l 接種し, 30°C で 4 日間発酵させて各酵母のグリセリン生成を調べた。アルブミン, トリプトンは, エチルエーテルで 24 時間脱脂して使用した。

グリセリンの定量は HPLC を用いて既報³⁾に従って行った。

培養液中および焼酎もろみ中から分離した酵母の菌体内 triglyceride (TG) の定量 1 mM の高級脂肪酸を含む GCT 培地において焼酎酵母を 30°C で 4 日間発酵させた後, その発酵液をガーゼろ過後, 3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行って集菌し, 得られた菌体を凍結乾燥した。また, 焼酎もろみ中の酵母の TG 含量は, 発酵終了後の大麦焼酎もろみから遠心分離により酵母 BAW-6 を分離し, 検鏡的に純粋になるまで洗浄を反復した後, 集菌し, 凍結乾燥した。

凍結乾燥酵母 100 mg を Bligh and Dyer 法¹⁶⁾に従い脂質を抽出した後, 窒素ガスでクロロホルムを除去し, 乾固させた。これにクロロホルム:メタノール (10:1) を 300 μ l 加えて脂質を再溶解し, そのうち 20 μ l を TLC に供した。TLC はシリカゲル 60 (関東化学) を用い, 石油エーテル:エーテル:酢酸 (85:15:1) で展開後, 50% 硫酸を噴霧し, 105°C で 30 分間放置して発色させた。発色したプレートはデンシトメータ CS-9300PC (島津製作所) を用いて 400 nm での吸光度を測定した。TG 量は毎回サンプルと同時に triolein (和光純薬) を展開して求めた検量線を用い, triolein として表した。

原料中の遊離高級脂肪酸 白麹菌 (*Aspergillus kawachi*) を用い, 常法により製麹した大麦麹をエチルエーテルで 24 時間抽出し, 抽出した粗脂肪にヘプタデカン酸をサンプル 100 g あたり 20 mg 加えた粗脂肪抽出液を減圧濃縮した後, ガスクロマトグラフ (GC) で遊離高級脂肪酸を分析した。GC 分析は, FID 付きの Perkin Elmer 8700 型キャピラリーガスクロマトグラフで行った。キャピラリーカラムは Nukol (ϕ 0.53 mm $\times$ 15 m, 膜厚 0.5 μ m, Supelco) を使用した。カラム温度は 110°C から毎分 8°C で 210°C まで昇温させた後, 17 分間保持した。注入口, 検出器温度はともに 250°C とした。キャリアーガスはヘリウムを用い, 流速 1.6 ml/min, スプリット比 10:1, サンプル注入量 0.2 μ l とした。

もろみ中の高級脂肪酸 前報³⁾に従って製造した大麦焼酎もろみ 100 g あたりヘプタデカン酸 10 mg を加え, エチルエーテルで振とう抽出した。抽出液は窒素ガスで濃縮後, GC で遊離脂肪酸を分析した。GC 分析は原料中の遊離脂肪酸測定と同一条件で行った。

酵母の菌体内脂肪酸の定量 集菌した酵母を 0.85% 塩化ナトリウムで 2 回洗浄後, 石油エーテル:エチルエーテル (2:1) で洗浄し, 付着する脂肪酸を除去した。凍結乾燥後, 酵母 5 mg を 5% 塩化水素メタノール溶液 0.5 ml を用い, 減圧下で 110°C で 3 時間反応させてメチル化した後, ヘプタデカン酸メチル (1.0 g/l) 100 μ l と水 1 ml を加え, 石油エーテル 3 ml で脂肪酸メチルエステルを抽出した。メチルエステル抽出液は減圧下で乾固させた後, ヘキササン 50 μ l に溶解し, GC に供した。GC 分析は FID 付きの日立 263-80 型ガスクロマトグラフを用いた。カラムは G-525 (ϕ 1.2 mm $\times$ 40 m, 膜厚 2 μ m, 化学品検査協会) を使用した。カラム温度は 150°C で 5 分間保持した後, 毎分 5°C で 200°C まで昇温させ, そのまま 15 分保持した。注入口, 検出器温度はともに 250°C とした。キャリアーガスはヘリウム (流速 40 ml/min) とし, サンプル注入量は 1 μ l とした。

大麦焼酎もろみ仕込み試験 仕込み試験は, BAW-6 株を用い既報³⁾に従った。リノール酸およびクエン酸は, 2 次仕込み時に全麹もろみと同濃度になるように添加した。

酵母菌体内酵素の調製と Glycerophosphatase (GPase) 活性の測定 酵母菌体内酵素の調製および GPase 活性の測定は, 前報⁴⁾に従った。GPase 活性は, たんばく質 1 mg あたりのグリセリン生成量で示し

た。

酵母菌体内たんぱく質は、プロテインアッセイキットⅡ（バイオラッド）を用いて測定した。

実験結果

供試酵母のグリセリン生成に及ぼす影響 Table 1 に9菌株の醸造用酵母のグリセリン生成に及ぼす培地中の高級脂肪酸の影響を示す。オレイン酸は、酵母のグリセリン生成を促進させ、特に焼酎酵母 (BAW-6, Ko, SH-4), ビール酵母 (IFO1167) で顕著であった。これに対し、パルミチン酸は、グリセリン生成を抑制させる傾向にあり、特に焼酎酵母 (BAW-6, MK, Ko) で顕著であった。一方、リノール酸は、焼酎酵母、ビール酵母 (IFO1167), ウイスキー酵母 (IFO2373) のグリセリン生成を促進させたが、ワイン酵母 (W-3) については抑制させた。また、菌株別では清酒酵母 (K-7, K-9) は高級脂肪酸の影響を比較的受けなかったのに

対し、焼酎酵母は他の醸造用酵母と比べその影響を強く受けた。

菌体内 TG 含量とグリセリン生成 2菌株の焼酎酵母 BAW-6, Ko を、1 mM の高級脂肪酸を含む GCT 培地で 30°C, 4 日間発酵させた。そのときの菌体内 TG 含量とグリセリン生成との関係を Fig. 1A に示す。菌体内 TG 含量は 10^8 cell あたり 18~49 μ g で両株ともパルミチン酸添加区でもっとも少なかった。同一株では、グリセリン生成量と菌体内 TG 含量とに直線関係が見られたが、菌株が異なるとグリセリン生成量に違いがあり、同一直線上にはなかった。そこで、両株とも対照区を100として再プロットした結果、菌株にかかわらず菌体内 TG 含量とグリセリン生成とは高い相関関係が認められた (Fig. 1B)。

大麦焼酎では、麴歩合によってグリセリン生成に違いが見られることから、常法により製造した麴歩合 33% と全麴のもろみ中から焼酎酵母 BAW-6 を分離

Table 1. Glycerol production by *Saccharomyces cerevisiae* strains in higher fatty acid-supplemented media.

Strain	Glycerol (g/l)				Note
	Ratio (%)				
	Control	C ₁₆	C _{18:1}	C _{18:2}	
Barley <i>shochu</i> yeast BAW-6	1.78	1.65	1.95	1.93	<i>Shochu</i>
	100	92.2	109.6	108.4	
<i>Miyazaki shochu</i> -yeast	1.97	1.76	2.05	2.12	<i>Shochu</i>
	100	89.3	104.1	107.6	
<i>Kagoshima shochu</i> -yeast	2.64	2.41	2.82	3.09	<i>Shochu</i>
	100	91.3	106.8	117.0	
<i>Kyokai shochu</i> -yeast SH-4	2.38	2.30	2.54	2.48	<i>Shochu</i>
	100	96.6	106.7	104.2	
<i>Kyokai sake</i> -yeast K-7	2.81	2.74	2.87	2.70	Sake
	100	97.5	102.1	96.1	
<i>Kyokai sake</i> -yeast K-9	2.48	2.36	2.56	2.37	Sake
	100	95.2	103.2	95.6	
Wine yeast W-3	3.54	3.50	3.66	3.28	Wine
	100	98.9	103.4	92.7	
Beer yeast IFO1167	1.51	1.47	1.67	1.62	Beer
	100	97.4	110.6	107.3	
Whisky yeast IFO2373	2.09	2.06	2.20	2.28	Whisky
	100	98.6	105.3	109.1	

Medium: 10% glucose, 1.17% yeast carbon base, 0.1% defatted albumin, 0.5% defatted tryptone and 0.5 mM palmitic acid (C_{16:0}), oleic acid (C_{18:1}) or linoleic acid (C_{18:2}). The fermentation temperature was maintained at 30°C.

The values represent mean values of the results obtained from five different fermentation tests.

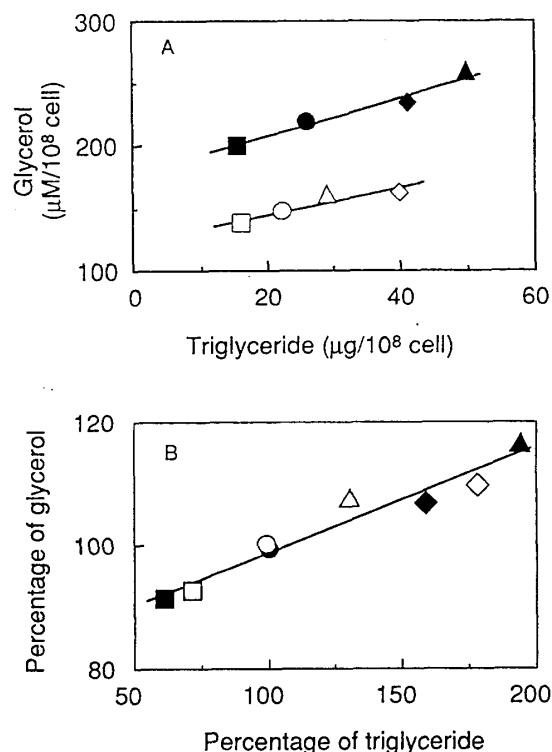


Fig. 1. Relationship between intracellular triglyceride and glycerol production of *shochu* yeast BAW-6 (open symbols) and Kagoshima (closed symbols) in media supplemented with fatty acids. The values represent the means of the results obtained from triple tests. Symbols: $\circ$, $\bullet$, control; $\square$, $\blacksquare$, palmitic acid; $\triangle$, $\blacktriangle$, oleic acid; $\diamond$, $\blacklozenge$, linoleic acid.

し、菌体内 TG 含量を測定した。その結果を Table 2 に示す。菌体内 TG 含量は全麹もろみから分離した酵母の方が多く、グリセリン生成量も全麹もろみから分離した酵母の方が多かった。このように、焼酎もろみにおいてもグリセリン生成が多い全麹仕込み区で酵母の TG 含量は多かった。

GPase 活性に及ぼす添加脂肪酸の影響 1 mM の高級脂肪酸を含む GCT 培地で培養したときの焼酎酵母 BAW-6 菌体内の GPase 活性を Fig. 2 に示す。GPase 活性は、すべての試験区で培養後 2 日目で最大活性を示した。特に、リノール酸添加区での GPase 活性は、対照区およびその他の脂肪酸添加区と比べて 2.5 倍以上であった。同培地でのグリセリン生成量、乾燥菌体重量およびグリセリン生産性を Table 3 に示す。リノール酸添加区でのグリセリン生成量は、1.89 g/l でオレイン酸添加区に次いで多かった。しかし、乾燥菌体重量はもっとも少なく、そのため、乾燥菌体あたりのグリセリン生産性は試験区の中でもっと

Table 2. Amount of triglyceride in yeast cells and glycerol production in *shochu* mash.

Condition ^a	TGY ($\mu\text{g}/10^8 \text{ cell}$)	GPY ^b in mash (g/l)
33% (Standard)	10.5	5.1
100% (All <i>koji</i>)	14.6	6.3

Abbreviations: TGY, triglyceride in yeast; GPY, glycerol production by yeast.

^a *Koji* ratio: indicates *koji* weight to the total material weight as %.

^b GPY amount estimated between the glycerol concentration in the mash and that in the *koji*.

The values represent mean values of the results obtained from five different fermentation tests.

も高かった。一方、オレイン酸添加区でのグリセリン生成量は 1.93 g/l で、試験区の中でもっとも高かったが、グリセリン生産性は対照区と同程度であった。

大麦焼酎製造工程中の遊離高級脂肪酸の動向

1) 大麦麹中の遊離高級脂肪酸 大麦麹中の遊離脂肪酸を測定し、その結果を Table 4 に示す。リノール酸は大麦麹中の遊離脂肪酸の約 60% を占め、次いで、オレイン酸、パルミチン酸の順番であった。また、大麦麹中のリノール酸は乾燥大麦麹 100 g あたり 229 mg で、大麦と比べ 200 mg 以上多かった。一般的な麹歩合 33% 仕込みでは主原料に大麦を使用し、全麹仕込みでは主原料に大麦麹を使用する。このことから、麹歩合の違いは特にもろみ中のリノール酸濃度に大きな違いをもたらすものと考えられた。

2) もろみ中の遊離高級脂肪酸 大麦焼酎もろみ中のパルミチン酸、オレイン酸およびリノール酸の経

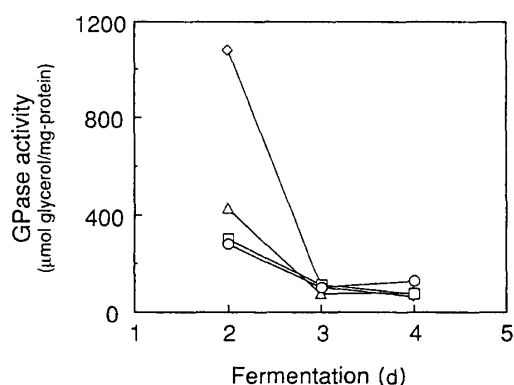


Fig. 2. Effects of higher fatty acids on GPase activity in *shochu* yeast BAW-6. The values represent the means of the results obtained from triple tests. Symbols: $\circ$, $\square$, palmitic acid; $\triangle$, oleic acid; $\diamond$, linoleic acid.

Table 3. Glycerol production by *shochu* yeast BAW-6 in higher fatty acid-supplemented media.

Higher fatty acid supplemented	Glycerol (g/l)	Dry cell weight (mg)	Glycerol productivity (g/g-DCW)
Control (without higher fatty acids)	1.77	254	0.70
Palmitic acid	1.64	242	0.68
Oleic acid	1.93	268	0.72
Lenoleic acid	1.89	208	0.91

時変化を Fig. 3 に示す。仕込み1日目の全麹もろみ中のリノール酸濃度は麹歩合33%もろみのおよそ1.7倍であった。これは、主原料中の高級脂肪酸濃度の違いに起因するものと考えられた。パルミチン酸およびオレイン酸についても全麹もろみの方が多い傾向にあったが、有意差はなかった。

3) もろみから分離した酵母の菌体内高級脂肪酸 Table 5 に発酵終了後のもろみから分離した焼酎酵母 BAW-6 菌体中の高級脂肪酸組成を示す。菌体内脂肪酸組成は麹歩合にかかわらず、リノール酸が50%以上を占めてもっとも多く、次いでパルミチン酸であった。全麹もろみ中の酵母は、麹歩合33%よりもリノール酸組成が3.7%高く、不飽和度も高かった。

以上のように、麹歩合は、仕込み初期のもろみ中のリノール酸濃度に影響し、さらに酵母菌体内のリノール酸組成に影響していることが明らかになった。

全麹もろみでのグリセリン高生成要因 われわれは、前報⁴⁾でもろみ中のクエン酸濃度の違いが全麹もろみでの焼酎酵母 BAW-6 のグリセリン高生成の要因になっていることを報告した。そこで、麹歩合33%もろみにリノール酸を添加して仕込みを行った。リノール

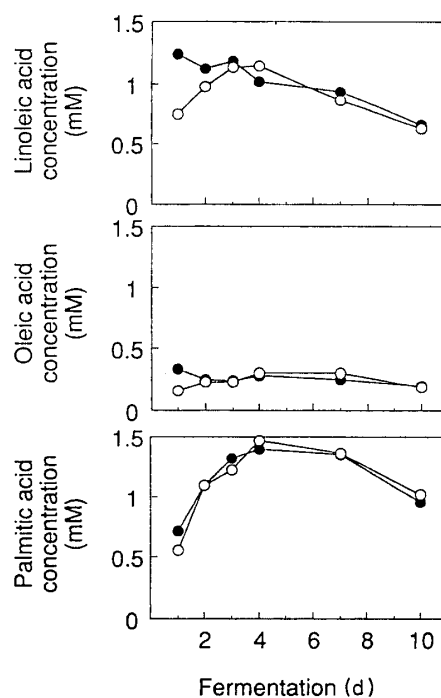


Fig. 3. Changes of higher fatty acid concentrations in barley *shochu* mash. The values represent the means of the results obtained from triple tests. Symbols: ○, koji ratio 33%; ●, all-koji.

ル酸の添加量は Fig. 3 より算出し、1仕込みあたり 250 mg で行った。その結果を Table 6 に示す。全麹もろみ中での BAW-6 株のグリセリン生成量は 6.3 g/l で、麹歩合33%もろみと比べ 1.2 g/l 増加した。リノール酸を全麹もろみと同じ濃度に調整したもろみにおける BAW-6 株のグリセリン生成量は 5.6 g/l となり、リノール酸の添加によって 0.5 g/l 増加した。一方、クエン酸濃度を調整したもろみでの BAW-6 株のグリセリン生成は 5.8 g/l であった。これらのことから、リノール酸は、大麦焼酎もろみにおいてクエン酸に比

Table 4. Amounts (mg) and composition (%) of fatty acids of barley and barley-*koji*.

Materials	Amount of fatty acids (mg/100 g-dried sample)								UFA/SFA ^a
	Composition of fatty acids (%)								
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	Total	
Barley	0.15	15.16	ND ^b	1.62	3.38	25.94	Trace	46.24	1.73
	0.3	32.8	—	3.5	7.3	56.1	—	100	
Barley- <i>koji</i>	0.59	59.95	ND	5.34	72.59	228.68	20.97	388.12	4.88
	0.2	15.4	—	1.4	18.7	58.9	5.4	100	

Abbreviations: C_{14:0}, myristic acid; C_{16:0}, palmitic acid; C_{16:1}, palmitoleic acid; C_{18:0}, stearic acid; C_{18:1}, oleic acid; C_{18:2}, linoleic acid; C_{18:3}, linolenic acid.

^a UFA=(C_{16:1}+C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3}), SFA=(C_{14:0}+C_{16:0}+C_{18:0}).

^b Not detected.

Table 5. Intracellular fatty acids of yeast cells collected from *shochu* mash at the last stage of fermentation.

Condition	Composition of fatty acids (%)							UFA/SFA ^a
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
33% (Standard)	0.4	27.8	0.5	4.1	7.4	53.6	6.3	2.12
100% (All <i>koji</i>)	0.4	25.5	0.7	3.9	7.3	57.3	5.1	2.33

^a Abbreviations are as in Table 4.

The values represent mean values of the results obtained from five different fermentation tests.

べると小さいものの、BAW-6 株のグリセリン生成に影響すると考えられた。もろみ中のクエン酸およびリノール酸の濃度を調整した結果、BAW-6 株のグリセリン生成量は 6.2 g/l まで増加し、これは全麹もろみ中で BAW-6 株が生成したグリセリン量に匹敵した。

以上のように、クエン酸以外の全麹もろみ中での焼酎酵母のグリセリン高生成要因を明らかにすることを目的に高級脂肪酸に着目して実験を行った結果、リノール酸が全麹もろみ中での焼酎酵母 BAW-6 のグリセリン生成を促進していると推定された。

考 察

培地中の高級脂肪酸が triglyceride の diacyl 基として代謝されることから、これが酵母のグリセリン生成に影響するのではないかと考え、実験を行った。その結果、清酒酵母のグリセリン生成は高級脂肪酸の影響を比較的受けなかったのに対し、焼酎酵母のグリセリン生成は他の醸造用酵母と比べその影響を強く受け、高級脂肪酸の影響は菌株によって異なった (Table 1)。また、すべての菌株に共通して、オレイン酸はグ

リセリン生成を促進させ、パルミチン酸は抑制させる傾向にあり、脂肪酸の種類によってグリセリン生成に対する作用が異なることがわかった。吉沢は、清酒酵母のエステル生成が不飽和脂肪酸によって抑制され、飽和脂肪酸によって促進され、両者が共存した場合、不飽和脂肪酸のエステル生成抑制作用が優勢であることを報告している。⁸⁾ 現在、焼酎酵母のグリセリン生成について共存した場合の影響などを詳しく検討中である。

リノール酸は、焼酎酵母、ビール酵母、ウイスキー酵母のグリセリン生成を促進させ、清酒酵母およびワイン酵母のグリセリン生成を抑制させた (Table 1)。リノール酸は耐熱性を低下させ、¹⁴⁾ 膜透過性を向上させること、^{12,14,17)} など、酵母の生理に大きく影響する。比較的リノール酸が豊富と推察される焼酎、ビール、ウイスキー醸造で使用されている酵母だけが、リノール酸によってグリセリン生成が促進されることは興味深い。

菌体内 TG 含量とグリセリン生成との関連を検じた結果、グリセリン生成が多いほど焼酎酵母 cell あ

Table 6. Glycerol production by *shochu* yeast BAW-6 in barley *shochu* mash supplemented with citric acid and/or linoleic acid.

Exp.	Condition	Glycerol			Note
		In mash A (g/l)	From <i>koji</i> B (g/l)	Yeast formed A-B (g/l)	
1	Barley <i>koji</i> + Barley	6.2	1.1	5.1	<i>Koji</i> ratio 33% (standard type)
2	1 + linoleic acid (250 mg)	6.7	1.1	5.6	
3	1 + citric acid (4 g)	6.9	1.1	5.8	
4	1 + citric acid (4 g) + linoleic acid (250 mg)	7.3	1.1	6.2	
5	Barley <i>koji</i>	10.1	3.8	6.3	(All <i>koji</i>)

The fermentation temperature was maintained at 25°C. Linoleic acid and citric acid were added to the second mash. The values represent mean values of the results obtained from five different fermentation tests.

たりの TG 含量が多く (Fig. 1), さらに焼酎もろみにおいても, グリセリン生成が多い全麹もろみ中の菌株で TG 含量が多かった (Table 2). 酵母菌体内の TG に占める添加脂肪酸の比率は著しく高いことから,¹⁸⁾ パルミチン酸培地の TG (TG-C₁₆) をすべて tripalmitin (分子量807), オレイン酸培地の TG (TG-C_{18:1}) を triolein (分子量885) と仮定して diacyl 基の脂肪酸の分子量が TG 含量に与える影響, すなわち (TG-C₁₆/807) と (TG-C_{18:1}/885) とを比較した. その結果, Fig. 2 で得られた TG 含量の違いは diacyl 基の脂肪酸分子量の差以上に大きく, TG 含量の増加はモル濃度の増加によるものと考えられた. また, 酵母の GPase 活性はリノール酸添加区でもっとも高く (Fig. 2), これは, 酵母の TG 含量がリノール酸添加区で増加したことと符合する. 以上の結果は, 脂肪酸の取り込みおよびその代謝が, グリセリン生成に影響していることを示唆するものと考えられるが, なぜ脂肪酸の種類によって TG 含量が異なるのか, などさらに詳しく検討する必要がある.

大麦麹中の遊離高級脂肪酸は, 大麦と比べリノール酸が顕著に多く (Table 4), 大麦麹を主原料とする全麹もろみと大麦を主原料とする麹歩合33%もろみとでは, 仕込み初期のリノール酸濃度に顕著な違いが見られた (Fig. 3). また, もろみ中のリノール酸濃度の違いは焼酎酵母の菌体内脂肪酸にも影響していた (Table 5). 麹歩合は, もろみ中のクエン酸濃度にも影響し, 全麹もろみ中での BAW-6 株のグリセリン高生成要因のひとつであることを前報⁴⁾で報告している. そこで, 麹歩合33%もろみにリノール酸を全麹もろみと同じ濃度に調整して仕込み試験を行った. その結果, リノール酸の添加によって 0.5 g/l, およそ10%増加した. これは, クエン酸濃度の違いで生じたグリセリン生成の増加 (0.7 g/l, およそ14%) に比べると小さいものの, リノール酸が大麦焼酎もろみ中でグリセリン生成に影響することが明らかになった (Table 6).

もろみ中のグリセリン濃度は焼酎の香味に影響し,^{1,2)} 特に 6~14 g/l では焼酎中の低沸点のエステル類の濃度に影響する.¹⁹⁾ これまでに明らかになったように, クエン酸やリノール酸は酵母のグリセリン生成に影響するが, 一方でクエン酸は酵母の増殖を抑制し,⁴⁾ 不飽和脂肪酸は酵母のエステル生成を抑制する.^{9,10,13)} そのため, クエン酸や不飽和脂肪酸に起因するグリセリン濃度の増加が, 大麦焼酎の酒質を必ずしも向上させるものではないと考えられた.

近年, 焼酎品質の多様化の流れの中で, 焼酎酵母においても香氣生成能が高い焼酎酵母の研究が行われるようになってきた.^{20,21)} これに加えて, もろみ中のグリセリン濃度が焼酎の香味に影響する重要なファクターであることから, われわれは酵母のグリセリン生成能も重要な要件と考えている. 今回, 同じ焼酎酵母でもグリセリン生成能に顕著な違いがあることが明らかになり (Table 1, Fig. 1), グリセリン生成能に着目した焼酎酵母の選択・育種も重要と考えられる.^{19,22)}

以上のように, クエン酸以外の全麹大麦焼酎もろみでの酵母のグリセリン高生成要因を明らかにするために, 高級脂肪酸に着目して研究を行った. その結果, 麹に由来するリノール酸が, 全麹もろみ中での焼酎酵母のグリセリン生成を促進していると示唆するものであった.

要 約

全麹大麦焼酎もろみでの焼酎酵母のグリセリン高生成を明らかにするために, 高級脂肪酸に着目して実験を行った. 焼酎酵母のグリセリン生成はオレイン酸, リノール酸添加培地で増加し, パルミチン酸培地で減少した. ビール酵母, ウイスキー酵母も不飽和脂肪酸の添加によってグリセリン生成は増加した. 焼酎酵母の場合, 菌体の TG 含量とグリセリン生成量とは高い相関が見られた. 焼酎酵母中の Glycerophosphatase 活性は, リノール酸添加区でもっとも高かった. 麹歩合の違いは, もろみ中のリノール酸濃度, 酵母菌体内脂肪酸中のリノール酸組成にも影響していた. 大麦焼酎もろみにリノール酸を添加した結果, 焼酎酵母のグリセリン生成量は 5.1 g/l から 5.6 g/l に増大した. 以上の結果は, 麹に由来するリノール酸が全麹もろみ中で焼酎酵母のグリセリン生成を促進する要因のひとつであることを示唆するものであった.

本研究に際し, 終始ご助言賜りました九州大学農学部石崎文彬教授に感謝いたします.

文 献

- 1) 大森俊郎, 岩田太輔, 梅本泰史, 辻本祥子, 下田雅彦, 幡手泰雄: 醸協, 89, 726-731 (1994).
- 2) 大森俊郎, 小川 清, 竹嶋直樹, 下田雅彦: 平成4年度日本醸造学会大会講演要旨集, p. 13 (1992).
- 3) 大森俊郎, 小川 清, 竹嶋直樹, 下田雅彦: 醸協, 89, 780-786 (1994).
- 4) 大森俊郎, 小川 清, 下田雅彦: 生物工学, 73, 89-95 (1995).

- 5) Andreassen, A. A. and Stier, T. J. B.: *J. Cellular Comp. Physiol.*, **43**, 271-281 (1954).
- 6) Kamiryo, I. and Numa, S.: *FEBS Letters*, **38**, 29-32 (1973).
- 7) Meyer, K. H. and Schweizer, E.: *Eur. J. Biochem.*, **65**, 317-324 (1976).
- 8) 吉沢 淑: 農化, **40**, 115-119 (1976).
- 9) 石川雄章, 吉沢 淑: 醸酵工学, **56**, 24-30 (1978).
- 10) Ishikawa, T. and Yoshizawa, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 45-53 (1979).
- 11) 石川雄章, 百瀬洋夫, 吉沢 淑: 醸協, **79**, 62-66 (1984).
- 12) 吉沢 淑, 石川雄章: 醸酵工学, **63**, 161-173 (1985).
- 13) 三枝維彦, 原田倫夫, 岡村成通, 篠原 隆: 生物工学, **71**, 383-388 (1993).
- 14) 溝口晴彦, 池田 朋, 原 昌道: 生物工学, **72**, 355-361 (1994).
- 15) Chen, R. F.: *J. Biol. Chem.*, **242**, 173-181 (1967).
- 16) Bligh, E. G. and Dyer, W. J.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-919 (1959).
- 17) Suomalainen, H. and Nurminen, T.: *J. Inst. Brew.*, **82**, 218-225 (1976).
- 18) 溝口晴彦, 原 昌道: 生物工学, **72**, 167-173 (1994).
- 19) 大森俊郎, 岩田太輔, 梅本泰史, 下田雅彦: 生物工学, **73**, 481-487 (1995).
- 20) 土谷紀美, 木田建次, 中川 優, 西村賢了, 園田頼和: 醸協, **88**, 701-707 (1993).
- 21) 小川喜八郎, 幸 賢二, 梅津慶太, レキ ウィチャクソノ アシャディ, パラニー タヤーナムバツ, 日高輝夫: 醸協, **87**, 821-828 (1992).
- 22) Omori, T., Ogawa, K., and Shimoda, M.: *J. Ferment. Bioeng.*, **79**, 560-565 (1995).