

を示すが、速醸醗においては酒母末期に再び増加している。高温糖化醗においては高温糖化後の糖化液中に多量の Amino-N,  $\text{NH}_3\text{-N}$  が存在するが、酒母の末期には著しく減少しており、殊に  $\text{NH}_3\text{-N}$  は殆んど存在しない。これらの減少は清酒酵母菌の増殖、醗酵による Amino-N,  $\text{NH}_3\text{-N}$  の消費に基づくものと考えられる。

(3). 生醗の膨れ前、高温糖化醗の糖化液中には  $\text{NH}_3$  の集積量が多く、速醸醗には極めて少ないが、この原因即ち  $\text{NH}_3$  の成因を知るために模型酒母を作りその成因を考察した。

(4). 酒母経過中のアミン類の消長を Paper chromatography による消滅限界法により比較追究した結果、生醗、速醸醗共に各種類のアミンが膨れ時期即ち酒母経過の前半までに酒母中に集積される量の大部分が生成集積され、それ以後においては余り著しい増減は認められない。殊に生醗においてはその仕込初期(仕込12日目)にすでに酒母中に集積されるアミン量の大半が存在している。

(5). 一般に酒母及び醗経過中に集積量の多いアミンは Cadaverine, Choline, Agmatine, Histamine 及び Spot b である。

(6) 一般に醗経過の進むにつれて増量を示すアミン類が多いが上槽後においては一般に減少している。

終りに臨み終始、御懇篤なる御指導を賜わった阪大寺本教授並びに照井教授に深く感謝いたします。

(本報告の要旨は第29回日本農芸化学会大会に於いて発表した)。

#### 文 献

- 1) 梅津：本誌，**39**，233 (1961). 2) 東大農化教室：実験農芸化学上，108 (1952)，朝倉書店。  
 3) 佐藤，原田：醸協誌，**48**，272 (1953). 4) 梅津：鳥大研究報告，**5**，34 (1954). 5) 秋山：農化，**31**，913 (1957)；**32**，355，526 (1958)；**33**，1 (1959)；醸協誌，**54**，88 (1959). 6) 蔭山，杉田，国定：本誌，**33**，433 (1955)；**34**，1，138 (1956). 7) 照井，森本：本誌，**35**，312 (1957).

(昭和 35，11，4 受付)

## 清酒醸造中におけるアミノ酸類及びアミン類の 消 長 に つ い て (第6報)

酒造米及び米麴のアミン類について

梅 津 雅 裕 (鳥取大学学芸学部)

On the Quantitative Changes of Amino Acids and  
Amines in the Process of Saké-brewing (VI)

On the Amines Contained in Rice and Rice-Kōji.

Masahiro UMEZU (Facult. Liberal Arts and Education, Tottori Univ.)

The author studied on the amines contained in rice and rice-kōji. The results obtained were as follows:

1) Ammonia, cadaverine, ethanolamine, choline and a kind of amine like substance were detected in whole grain of rice, but they were not detected in polished rice, presumably because they were lost in polishing process.

2) In rice-kōji, 7 kinds of amines, including ammonia, were detected. These were ammonia, cadaverine, ethanolamines,  $\beta$ -phenyl-ethylamine, agmatine, choline and volatile amine-like substance b, and these amine were produced in rice-kōji making.

3) In rice, the following 3 amino acids were detected: tyrosine, histidine and arginine. These free amino acids were contained in polished rice in larger amounts than in whole grain of rice.

4) Amine contents in whole rice were as follows: Cadaverine-2HCl, 0.1 mg%; ethanolamine-HCl; choline-Cl, 14mg%. Those contents in rice-kōji were as follows: cadaverine-HCl, 0.7~1.4mg%; ethanolamine-HCl, 0.46~0.8mg%;  $\beta$ -phenylethylamine-HCl, 0.1mg%; Agmatine-2HCl, 0.5~0.1mg%; and choline-HCl 7~14mg%.

緒 言

酒造米及び米麴のアミン類に関する報文は今までに殆んど見当たらないが、飯田<sup>1)</sup>は米麴の成分を調べて揮発性有機塩基性物質の存在を推定しており、照井等<sup>2)</sup>は米麴の代謝経過中の  $\text{NH}_2\text{-N}$  の量を測定している。又、山田等<sup>3)</sup>は蒸餾大豆に麹菌を繁殖させて多量の  $\text{NH}_3$  と Putrescine, Cadaverine を検出している。

著者は清酒醸造過程におけるアミン類の消長に関する研究の一環として此問題を取上げ、酒造玄米、精白米及び米麴中のアンモニア及びアミン類の検出並びに3者間のそれらの含量の比較を行ない新しい知見を得たのでここに報告することとした。

実験の部

I. 酒造米及び米麴の一般成分

供試酒造米は山陰50号の玄米と同品種の2割減精白米を使用した。供試米麴は酒造好適米品種の旭1号の3割減精白米を使用して製麴した酒母麴と醪掛麴を使用した。それらの一般成分を示すと Table 1 の通りである。

II. アミン類の分離、濃縮

Table 1. 酒造米及び米麴の一般成分

|            | Water (%) | Total-N (%) |
|------------|-----------|-------------|
| 酒造米(玄米)    | 15.07     | 1.076       |
| 酒造米(2割精白米) | 15.77     | 0.830       |
| 酒母麴        | 24.28     | 0.616       |
| 醪掛麴        | 28.24     | 0.574       |

酒造米及び米麴よりアミン類を分離、濃縮する方法の概略を示すと Fig. 1 の通りである。即ち酒造米、米麴の各100gを HCl 酸性70% Alcohol 100 ccで抽出後、抽出残滓を乳鉢で充分搗碎し、これに70% Alcohol を加えて数回抽出した。HCl 酸性70% Alcohol は無水 Alcohol 7容、蒸留水1容、N/10 HCl 2容を混合して調製した。Alcohol 抽出液を合し、これを Fig. 2 に示す装置により40°C以下で減圧濃縮、この際の減圧蒸溜液をN/10 HCl 30cc及び20ccを入れた受器に捕集した。この減圧濃縮液(pH1.9)のN成分を示すと Table 2 の通りである。この減圧濃縮液を炭酸塩型にした弱塩基性イオン交換樹脂 Amberlite 1R-4B 柱に通し脱酸する。即ち Amberlite 1R-4B を内径1 cm、長さ15

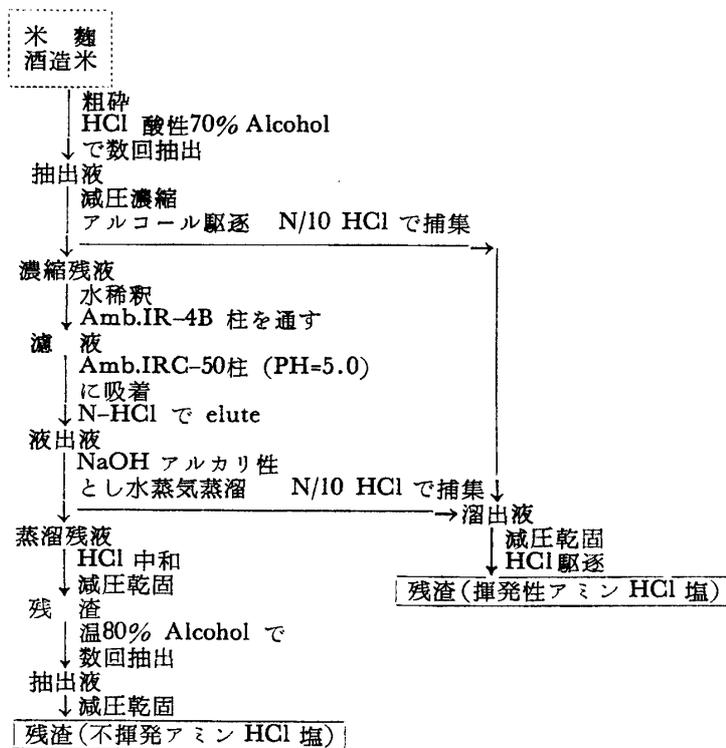


Fig.1. アミン類の分離濃縮法

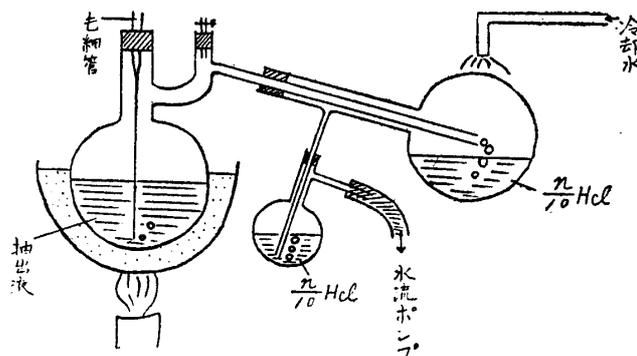


Fig. 2. 減圧濃縮装置

Table 2. 酒造米及び米麴の抽出液のN成分

|           | Soluble-N (%) | Amino-N (%) |
|-----------|---------------|-------------|
| 酒造米玄米抽出液  | 0.015         | 0.006       |
| 酒造米精白米抽出液 | 0.028         | 0.002       |
| 酒母麴抽出液    | 0.060         | 0.024       |
| 麴掛麴抽出液    | 0.066         | 0.024       |

cmの吸着柱となし、N-HCl 50cc→蒸溜水 50cc→2 N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 50cc→蒸溜水80ccの順で洗い活性化し、のち減圧濃縮液を2~3 cc/minの流速で通し脱酸する。この濾液について前報<sup>4)</sup>に報告した要領に準じてアミン類の分離を行なった。即ちこの濾液(pH6.0)を直ちに引続いて Amberlite IRC-50柱(pH5.0)に通してアミン類を吸着せしめ N-HCl で溶出し、この溶出液を NaOH アルカリ性となし水蒸気蒸溜を行ない溜出液は N/10 HCl に捕集し、前に捕集した減圧蒸溜液と合して減圧乾固し、HCl を充分駆逐して灰白色の粉末を得た(揮発性アミン区分)。

また水蒸気蒸溜残液は濾過後、HCl で中和したのち減圧乾固し、乾固物を80% Alcohol で数回温浸し、抽出液を減圧乾固して赤褐色の乾固物を得た(不揮発性アミン区分)。

III. Paper Chromatography によるアミン類の検出及び含量の比較

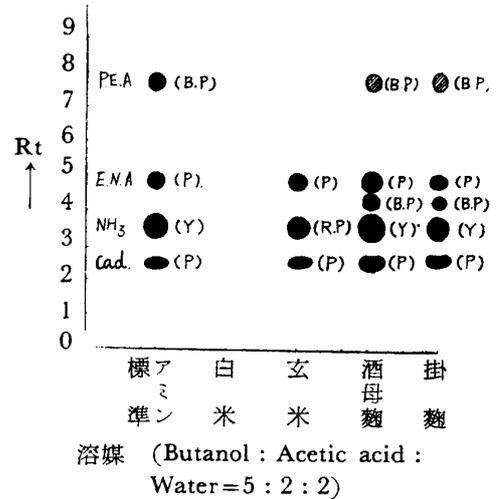
1. 試料の調製

酒造米及び米麴の揮発性アミン区分の乾固物、不揮発性アミン区分の乾固物をそれぞれ10% Isopropanol 溶液にとかし2 ccとした。

2. アミン類の検出及び含量の比較

Paper chromatography によるアミン類の検出方法及び消滅限界法によるアミン含量の比較の要領は前報<sup>4)</sup>に準じて行なつた。即ち試料を東洋濾紙 No. 50 (40×40cm)の一端より2.5cm 間隔で2.5μl 宛塗布し、各種展開溶媒を用いて1次元展開を行ない、溶媒を風乾後、それぞれのアミン発色法に従い検出した。即ち揮発性アミン類の検出には Ninhydrine 試薬、Choline の検出には Dragendorff 試薬、Histamine, Tyramine の検出には Diazo 試薬、Agmatine の検出には坂口試薬を用いた。揮発性アミン類の Paper chromatogram の1例を示すと Fig. 3 の通りである。又、Paper chromatography による消滅限界法を行なつた結果を示すと Table 3 の通りである。Fig. 3 を見れば判る如く玄米の Paper chromatogram において NH<sub>3</sub> の Rf と同じ位置に Ninhydrine 反応陽性の Red purple の Spot が検出されたが、この Spot は Butanol : Acetic acid : Water = 4 : 1 : 5 の展開溶媒では Rf 0.20~0.23 の位置に表われるもので既知の標準アミンのいづれとも Rf が一致しなかつたのでこれを Spot e とした。

Table 3 より玄米中には Cadaverine, Ethanolamine, NH<sub>3</sub>, Choline, 及び未知 Spot e が認められるが、精白米ではこれらのアミン類が検出されないことより玄米中のアミン類は精白により除去される部分即ち主として糠の部分に存在しているものと考えられる。



註. P.E.A.—β-Phenylethylamine  
E.N.A.—Ethanolamine  
Cad.—Cadaverine  
(B.P)—Blue Purple  
(P)—Purple  
(R.P)—Red Purple  
(Y)—Yellow

Fig. 3. 米及び麴の揮発性アミンの Paper chromatogram.

Table 3. 検出されたアミンの含量の比較

|        | Cadaverine | Ethanolamine | β-Phenylethylamine | Spot b | Spot c | NH <sub>3</sub> | Histamine | Tyramine | Agmatine | Choline |
|--------|------------|--------------|--------------------|--------|--------|-----------------|-----------|----------|----------|---------|
| 酒造米玄米  | -1         | -1           | —                  | —      | -2     | -2              | —         | —        | —        | 0       |
| 酒造米精白米 | —          | —            | —                  | —      | —      | —               | —         | —        | —        | —       |
| 酒母麴    | 3          | 2            | -4                 | 2      | —      | -1              | —         | —        | -3       | 0       |
| 麴掛麴    | 2          | 1            | -4                 | 2      | —      | -1              | —         | —        | -2       | -1      |

## (250) (梅津) 清酒醸造中におけるアミノ酸類及びアミン類の消長について (第6報)

酒母麴, 醪掛麴とも Cadaverine, Ethanolamine,  $\beta$ -phenylethylamine,  $\text{NH}_3$ , Agmatine, Choline 及び Spot b が認められるが, これらのアミン類は製麴に際し生成されたものと考えられる。

不揮発性アミン区分の試料について消滅限界法を行なった際にアミンと共にアミノ酸が検出されたがその結果を示すと Table 4 の通りである。

Table 4 によれば酒造米中に Tyrosine, Histidine, Arginine が検出されているが, 殊にこれらのアミノ酸量は玄米より精白米中に多い結果を示している。

## 3. アミン含量の算定

さきに著者が消滅限界法により測定した各種標準アミン類の限界検出濃度<sup>5)</sup>を示すと Table 5 の通りであるが, これより試料中のアミン濃度を算定すれば Table 6 に示す結果が得られる。

Table 5. アミン類の限界検出濃度<sup>5)</sup>

|        | Cadaverine-2HCl $\mu\text{M}^{-2}$ | Ethanolamine-HCl (//) | $\beta$ -Phenylethylamine-HCl (//) | Agmatine-2HCl | Choline-Cl (//) |
|--------|------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|---------------|-----------------|
| 限界検出濃度 | 0.125                              | 0.25                  | 1.25                               | 2.5           | 12.5            |

Table 6. 酒造米及び米麴のアミン含量

|        | Cadaverine-2HCl (mg%) <sup>*</sup> | Ethanolamine-HCl (mg%) | $\beta$ -Phenylethylamine-HCl (mg%) | Agmatine-2HCl (mg%) | Choline (mg%) |
|--------|------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------|
| 酒造米玄米  | 0.1                                | 0.1                    | —                                   | —                   | 14.0          |
| 酒造米精白米 | —                                  | —                      | —                                   | —                   | —             |
| 酒母麴    | 1.4                                | 0.8                    | 0.1                                 | 0.5                 | 14.0          |
| 醪掛麴    | 0.7                                | 0.4                    | 0.1                                 | 1.0                 | 7.0           |

## 要 約

酒造米及び米麴に含有されているアンモニア及びアミン類について研究した。その結果は次の通りである。

1). 酒造米玄米中に  $\text{NH}_3$ , Cadaverine, Ethanolamine, Choline 及び揮発性有機塩基と推定される物質 1 種を検出したが, 精白米中には認められなかつた。このことより酒造米中のアンモニア及びアミン類は精白により除去される部分即ち主として糠の部分に存在しており, 精白により除去されるものと考えられる。

2). 米麴中に  $\text{NH}_3$ , Cadaverine, Ethanolamine,  $\beta$ -Phenylethylamine, Agmatine, Choline 及び揮発性有機塩基と推定される物質 (Spot b<sup>4)</sup>) 1 種を検出したが, これらのアミン類は製麴に際して生成されるものと考えられる。Spot b は清酒中にもその存在が認められている。

3). 酒造米中に Tyrosine, Histidine, Arginine が検出されたが, これらの遊離アミノ酸量は玄米より精白米中に多い結果を得た。

4). 玄米中アミン含量は塩酸塩として Cadaverine 0.1mg%, Ethanolamine 0.1mg%, Choline 14mg% であつた。又, 米麴中のアミン含量は塩酸塩として Cadaverine 0.7~1.4mg%, Ethanolamine 0.4~0.8mg%,  $\beta$ -Phenylethylamine 0.1mg%, Agmatine 0.5~1.0mg%, Choline 7~14mg% であつた。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導を賜つた阪大教授寺本四郎先生, 阪大教授照井堯造先生に深く感謝致します。

(本報告の要旨は第10回大阪醸造学会講演会に於いて発表した)。

## 文 献

- 1) 飯田, 山下: 醸界の展望, 112 (1950), 明文堂. 2) 照井, 森本: 本誌, 35, 312 (1957). 3) 山田, 石田: 農化, 2, 635 (1926); 醸試報, 95, 168 (1927). 4) 梅津: 本誌, 39, 233 (1961). 5) 梅津: 鳥取大学学芸学部研究報告, 11, 41 (1960). (昭和 35, 11, 24 受付)