

麹菌菌種の違いが芋焼酎の香味形成に及ぼす影響 (第2報) 香気成分と官能評価での差異

白石洋平¹・奥津果優²・吉崎由美子²・二神泰基²・玉置尚徳²・和久 豊¹・高峯和則^{2*}

(¹株式会社ビオック, ²鹿児島大学農学部附属焼酎・発酵学教育研究センター)

令和2年1月27日受理

Effect of the *koji* variety of *Aspergillus* species on the flavor formation of *imo-shochu*
(Part 2) Difference in volatile compounds and sensory evaluations of *imo-shochu*

Yohei SHIRAIKI¹, Kayu OKUTSU², Yumiko YOSHIZAKI², Taiki FUTAGAMI², Hisanori TAMAKI², Yutaka WAGU¹ and Kazunori TAKAMINE^{2*}

(¹Bio'c Co., LTD, 111-1, Murocho-Uchida, Toyohashi, Aichi, 441-8087, ²Education and Research Center for Fermentation Studies, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 1-21-24, Korimoto, Kagoshima, 890-0065)

In order to clarify the effects of differences in *koji* type on the variety of the aroma and taste of *imo-shochu*, we prepared *imo-shochu* with yellow, black, and white *koji* and investigated their aroma components and sensory characteristics.

GC-MS analyses revealed that the concentrations of higher alcohols, acetic acid ethyl esters, and sulfur compounds were higher in *imo-shochu* prepared with yellow *koji* than those with black or white *koji*. The aldehyde and terpene contents in *imo-shochu* prepared with white or black *koji* were higher than that with yellow *koji*. Meanwhile, *imo-shochu* prepared with white *koji* contained more DL-2-methylbutyrate, and *imo-shochu* prepared with black *koji* contained more methyl salicylate and 1-octen-3-ol compared to the other *shochu*.

Results of sensory evaluations, showed that *imo-shochu* prepared with yellow *koji* had stronger *koji*-like, baked confectionery-like, and herb-like flavors. *Imo-shochu* prepared with white *koji* was evaluated as roasted and sharp, and that with black *koji* evaluated as roasted, oily, and mild. Furthermore, it was first demonstrated that the *shochu* prepared with different types of *koji* could be distinguished by their sensory characteristics in blind tests. From the above results, the empirical fact that differences in the flavor of *imo-shochu* by the variety of *koji* was confirmed at the chemical level.

Key words : 芋焼酎 (*Imo-shochu*), 麹菌 (*koji* strain), 香味形成 (flavor formation)

緒言

芋焼酎に使用される麹菌は明治時代までは黄麹菌,

大正時代は黒麹菌、そして白麹菌は昭和20年代から使用されるようになった。現在は白麹製と黒麹製の芋焼酎が販売され、一部のメーカーでは黄麹製の芋焼酎

本論文については、※印の著者宛に連絡ください。

Table 1 GC/MS analysis conditions of the samples (Entech)

Thermodesorption system	Entech 7100A
Injection volume	100 mL
GC	Agilent 6890N
Column	DB-WAX (60 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film)
Carrier	Helium, 1 mL/min., constant flow mode
Oven	40°C, 5 min. hold → 3°C/min. to 240°C → 240°C, 5 min. hold
Analysis time	57.2 min.
Injector temperature	220°C
Transfer line	250°C
Quadrupole ion trap temperature	150°C
Ion source temperature	250°C
MS	Agilent 5975B
Mode	SCAN

Table 2 GC/MS analysis conditions of the samples (TDS)

Gas chromatography mass spectrometry	
GC	Agilent 6890N
Column	DB-WAX (60 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film)
Carrier	Helium, 2 mL/min., constant flow mode
Oven	50°C to 240°C at 3°C/min. (8 min. hold)
Injection	Solvent vent
MS	Agilent 5975B
Quadrupole ion trap temperature	150°C
Ion source temperature	230°C
Ionization method	EI
Thermal desorption system	
TDS temperature	20°C (1 min. hold) → 260°C (600/min.) → 260°C (1 min. hold)
TDS transfer temperature	280°C
CIS temperature	-150°C (1 min. hold) → 270°C (12°C/min.) → 270°C (2 min. hold)

も商品化されている。これらの麹で造った芋焼酎の香味の特徴は、黒麹製は濃醇な香味、白麹製はマイルドで軽快な香味、黄麹製は豊かな味わいを持つといわれているが、科学的には証明されていない。そこで、芋焼酎製造で使用される市販種麹の黄麹、白麹、黒麹の3種類を用いて、同一条件で仕込みを行うことで、酒質に与える麹菌の影響を明らかにすることを目的に、前報において、3種類の麹の酵素活性と芋焼酎の差異について報告¹⁾した。本報では、前報で得られた芋焼酎の香気成分解析および官能評価を行い、使用する麹菌が異なることで生じる成分や風味の違いについて明らかにした。

方法

1-1. 供試サンプル

前報で作製した黄麹、白麹、黒麹を用いた芋焼酎サ

ンプルを用いた。

以後の香気成分分析、官能評価共に3連で実施した。

1-2. 烧酎香気成分のGC-MS分析

ヘッドスペースの香気成分は、焼酎サンプル10 mLと内部標準物質である1-pentanol (10 mg/L) 1 mLを200 mL容の専用ボトルに入れ、密閉し30°Cの恒温水槽内で30分以上保温した。Entech Instrument Inc. の自動濃縮装置を使用してボトル内のヘッドスペースガスを100 mL吸引し、GC-MSに自動注入した。

一方、モノテルペンアルコール類と炭素数8以上の脂肪酸およびそのエステルについてはSBSE法で揮発成分をGC-MSに自動注入した。すなわち、専用バイヤルに焼酎サンプル10 mLとpolydimethylsiloxane (PDMS) 相でコーティングしたTwister (GERSTEL社製) および内部標準液であるトリデカン酸メチル

(100 mg/L) を 100 μL 入れ、マグネットスターラー上で 1,200 rpm、1 時間室温にて攪拌し、揮発成分を吸着させた。Twister を専用バイヤルから取り出し、脱塩水で洗浄、キムワイプで表面の余分な水分を拭き取り、専用のガラス管に入れ、Thermal Desorption System (TDS) (GERSTEL 社製) で加熱脱着し、GC-MS に供試した。焼酎の揮発成分の同定および定量分析はアジレント・テクノロジー株式会社の GC-MS (GC, Agilent 6890; MS, Agilent 5979B) により行った。成分の一次同定は、Agilent ChemStation ソフトウェアと NIST05a マススペクトルライブラリーにより行った。ヘッドスペースによる GC-MS 分析条件は Table 1 に、TDS を用いた GC-MS 分析条件は Table 2 に示す。分析は 3 連で行い、ヘッドスペースによる GC-MS 分析値は平均値で示した。TDS は 3 連で行ったピーク面積の平均値を黄麹製焼酎を 1.00 としてピーク面積比で示した。

1-3. 烧酎の官能評価

芋焼酎の官能評価は、パネル 8 名によるブラインドテストで行った。方法は 3 行の乱数字をそれぞれの焼酎に割り当て、味および香りの評価を行った。また、3 種類の麹を用いて作製した芋焼酎を 1 セットとし、利き酒を 3 セット実施し、どの麹で造られた芋焼酎であるか麹の種類についても回答をしてもらった。なお、パネルの内訳は鹿児島県工業技術センター食品・化学部職員 5 名（内、女性 1 名）、鹿児島大学農学部附属焼酎・発酵学教育研究センター教員 3 名（内、女性 2 名）であった。

1-4. 統計処理

ヘッドスペースによる GC-MS の結果は、平均値 ± 標準偏差で示した。各麹を使用した芋焼酎の結果は、Tukey 法を用い、有意差検定を行った。いずれも有意水準は 5% 未満 ($p < 0.05$) とした。

結果及び考察

2-1. 各麹を用いた芋焼酎の GC-MS 分析

GC-MS により香気成分の測定を行い、検出された成分を Agilent ChemStation ソフトウェアと NIST05a マススペクトルライブラリーにより解析した結果、65 成分を同定した。その中から、各麹を用いた焼酎間の検出成分のピーク面積を比較し、麹菌株間でピーク面積に差のあった 34 成分について標準物質を

用いて検量線の作成を行い、香気成分の濃度の算出を行った。その結果を Table 3 に示す。

2-1-1. アルコール類

菌株間で最も特徴的な差異のあった化合物は 1-オクテン-3-オールであった。黒麹製はその濃度が、白麹製と比較して 3 倍以上高く、有意差が認められた。1-オクテン-3-オールは、リノール酸から麹由来の酵素および自動酸化によって生成される²⁾。また、清酒麹の製麴において、出麹にかけて急激に生成され、出麹時の指標となる香り成分である^{3,4)}。Yoshizaki ら⁵⁾は、各麹の香気成分を測定し、白麹製が黄麹製および黒麹製と比較すると明らかに 1-オクテン-3-オールが低いこと、蒸米からは検出されることを報告している。また、福田ら⁶⁾は白麹の全麹仕込みの焼酎よりも黒麹の全麹仕込みの焼酎の方が 1-オクテン-3-オールの含有量が多くなることを報告し、著者ら⁷⁾は、黒麹の種類によっても 1-オクテン-3-オールの含有量が変化することを報告している。香りの特徴としては「キノコ臭」といわれ、その閾値⁸⁾は 14 μg/L である。本研究において、黄麹製および黒麹製は閾値を超えており、官能評価のコメントに「キノコ」のコメントはなかった。調味液では 1-オクテン-3-オールの香りが「コク」の形成や増強に寄与している⁹⁾との報告もある。焼酎においても 1-オクテン-3-オールの香りが「コク」や「濃醇さ」を付与している可能性が考えられる。

高級アルコールのうち、イソブチルアルコールとイソアミルアルコールは黄麹製の芋焼酎が白麹製と黒麹製よりも高濃度であった。高級アルコールは酵母の代謝によってアミノ酸から変換¹⁰⁻¹²⁾される。また、資化されやすいアルギニンが高濃度に含まれる環境では、高級アルコール生成に関与するアミノ酸の資化が減少し、高級アルコール生成量も減少することが報告されている¹³⁾。前報において、一次醸、二次醸とも黄麹の醸中のアルギニン濃度は白麹醸と黒麹醸の 6 ~ 9 分の 1 程度であり、黄麹製の芋焼酎に高級アルコール類が高濃度含まれた要因ともいえる。

2-1-2. エステル類

黄麹製はイソ酪酸エチル、酢酸イソブチル、酢酸ブチル、酢酸イソアミル、酪酸イソアミル、酢酸ヘキシルおよび酢酸ルーオクチルが白麹および黒麹製と比較して 1.6 ~ 3.4 倍の濃度となり、イソ酪酸エチル、酢

Table 3 The average and standard deviation of concentrations of volatile compounds of *imo-shochu*

Compound	(unit)	Peak-RI	Volatile compounds concentration		
			Yellow <i>koji</i>	White <i>koji</i>	Black <i>koji</i>
Alcohol (4)					
<i>n</i> -Propyl alcohol	(mg/L)	1038	169 ± 54 ^a	175 ± 48 ^a	277 ± 29 ^a
Isobutyl alcohol	(mg/L)	1098	659 ± 106 ^a	418 ± 51 ^a	517 ± 89 ^a
Isoamyl alcohol	(mg/L)	1216	525 ± 35 ^a	376 ± 57 ^b	439 ± 73 ^b
1-octen-3-ol	(μg/L)	1448	16.9 ± 1.1 ^a	6.9 ± 0.1 ^b	27.1 ± 4.2 ^c
Ester (18)					
Ethyl acetate	(mg/L)	885	136 ± 15 ^a	245 ± 14 ^b	174 ± 11 ^a
Ethyl propionate	(μg/L)	952	34.8 ± 1.4 ^a	65.4 ± 7.4 ^b	58.5 ± 4.6 ^b
Ethyl isobutyrate	(μg/L)	960	70.7 ± 27.1 ^a	44.0 ± 2.3 ^a	29.0 ± 3.3 ^b
Ethyl DL-2-methylbutyrate	(μg/L)	1049	4.97 ± 0.91 ^a	10.70 ± 0.55 ^b	5.71 ± 0.22 ^a
Ethyl caproate	(mg/L)	1233	1.88 ± 0.26 ^a	3.08 ± 0.09 ^b	2.51 ± 0.13 ^a
Ethyl caprylate	(mg/L)	1437	1.97 ± 0.33 ^a	2.87 ± 0.10 ^a	2.40 ± 0.26 ^a
Ethyl nonanate	(μg/L)	1535	4.43 ± 0.74 ^a	6.52 ± 0.53 ^b	6.32 ± 0.96 ^b
Ethyl caprate	(mg/L)	1642	0.95 ± 0.25 ^a	1.53 ± 0.10 ^a	1.21 ± 0.38 ^a
Ethyl laurate	(μg/L)	1838	25.5 ± 20.8 ^a	44.7 ± 13.7 ^a	60.6 ± 6.6 ^a
Methyl acetate	(mg/L)	816	145 ± 0.34 ^a	0.83 ± 0.16 ^a	1.00 ± 0.08 ^a
Methyl salicylate	(μg/L)	1780	14.6 ± 1.7 ^a	20.1 ± 2.5 ^a	32.1 ± 1.7 ^b
Isobutyl acetate	(mg/L)	1010	2.74 ± 1.07 ^a	1.47 ± 0.11 ^a	1.20 ± 0.05 ^a
Butyl acetate	(μg/L)	1070	6.70 ± 0.34 ^a	3.69 ± 0.39 ^b	3.14 ± 0.17 ^b
Isoamyl acetate	(mg/L)	1128	15.5 ± 0.6 ^a	9.4 ± 0.6 ^b	8.8 ± 0.1 ^b
Isoamyl butyrate	(μg/L)	1262	2.78 ± 0.45 ^a	2.12 ± 0.08 ^a	2.16 ± 0.05 ^a
Isoamyl hexanoate	(μg/L)	1458	2.87 ± 0.35 ^a	4.06 ± 0.18 ^b	3.24 ± 0.36 ^a
Hexyl acetate	(μg/L)	1269	1.26 ± 0.03 ^a	0.95 ± 0.10 ^b	0.88 ± 0.02 ^b
<i>n</i> -Octyl acetate	(μg/L)	1473	3.15 ± 0.79 ^a	0.97 ± 0.11 ^b	1.04 ± 0.20 ^b
Aldehyde (6)					
Acetaldehyde	(mg/L)	745	7.43 ± 1.12 ^a	2.62 ± 0.24 ^b	3.17 ± 0.02 ^b
Isobutyraldehyde	(μg/L)	907	706 ± 108 ^a	1,274 ± 131 ^b	1,014 ± 95 ^b
2-Methylbutyraldehyde	(μg/L)	909	227 ± 37 ^a	351 ± 34 ^b	328 ± 49 ^b
Isovaleraldehyde	(μg/L)	910	137 ± 16 ^a	206 ± 23 ^b	185 ± 18 ^b
Furfural	(μg/L)	1459	257 ± 40 ^a	1,108 ± 204 ^b	1,013 ± 117 ^b
Benzaldehyde	(μg/L)	1519	13.1 ± 2.0 ^a	11.7 ± 1.3 ^a	10.0 ± 1.1 ^a
Sulfur compounds (2)					
Dimethyl disulfide (DMDS) (μg/L)		1067	259 ± 0.48 ^a	1.44 ± 0.07 ^b	1.02 ± 0.20 ^b
Dimethyl trisulfide (DMTS) (μg/L)		1378	1.06 ± 0.39 ^a	0.64 ± 0.16 ^a	0.42 ± 0.20 ^a
Fran (1)					
2,5-Dimethylfuran	(μg/L)	945	2.08 ± 0.21 ^a	4.83 ± 2.28 ^a	3.81 ± 0.96 ^a
Terpene (2)					
<i>p</i> -Cymene	(μg/L)	1266	0.23 ± 0.03 ^a	1.76 ± 0.02 ^b	1.16 ± 0.22 ^c
Linalool	(μg/L)	1545	9.65 ± 0.00 ^a	13.55 ± 2.16 ^b	14.02 ± 2.58 ^b
Other (1)					
Acetaldehyde diethyl acetal (mg/L)		889	93.8 ± 1.4 ^a	43.9 ± 4.7 ^b	44.7 ± 3.1 ^b
Mean ± SD (n = 3)					

The different letters (a,b,c) show significant differences (*p*-value < 0.05).

Table 4 Relative areas of volatile compounds of *imo-shochu* for TDS

Compound	Peak-RI	Relative area volatile compounds (Yellow koji area : 1.00)		
		Yellow koji	White koji	Black koji
<u>Ester (6)</u>				
Ethyl phenylacetate	1746	1.00	0.18	0.16
Ethyl laurate	1821	1.00	1.13	1.06
Ethyl myristate	2025	1.00	0.72	0.69
Ethyl cinnamate	2078	1.00	4.09	2.84
Ethyl palmitate	2231	1.00	0.50	0.40
Ethyl linoleate	2492	1.00	0.88	0.80
<u>Terpene (13)</u>				
Rose oxide	1366	1.00	1.22	1.14
Nerol oxide	1459	1.00	1.81	1.99
Citronellyl acetate	1640	1.00	1.05	1.06
Geranyl acetate	1684	1.00	0.75	0.88
Nerol acetate	1698	1.00	1.22	2.04
Linalool	1517	1.00	2.87	2.56
Terpineol	1660	1.00	3.10	2.60
Citronellol	1732	1.00	0.60	0.84
Geraniol	1808	1.00	1.22	1.11
Nerolidol	2006	1.00	1.06	1.01
<i>p</i> -cymene	1290	1.00	3.50	4.67
Damascenones	1785	1.00	6.03	5.05
Farnesol	2269	1.00	0.51	0.59
<u>Fatty acid (6)</u>				
Caprylic acid (C8)	2011	1.00	1.13	1.05
Capric acid (C10)	2222	1.00	1.42	1.23
Lauric acid (C12)	2431	1.00	1.41	1.22
Tridecylic acid (C13)	2531	1.00	1.22	1.19
Myristic acid (C14)	2627	1.00	1.22	1.12
Palmitic acid (C16)	2809	1.00	1.58	1.47

(n=3)

酸ブチル、酢酸イソアミル、酢酸ヘキシルおよび酢酸*n*-オクチルで有意差が認められた。これらのエステル類は酵母によって生成される。の中でも酢酸イソアミルは、黄麹製はイソアミルアルコールが高かったことから、イソアミルアルコール生成の増加に伴って増加したと考えられる。黄麹製のエステル類は酢酸エステル類濃度が高い傾向にあった。酵母によって生成される酢酸エステルや高級アルコールは酒類においては「上立ち香」として主要な成分である¹⁴⁾。また、それらは酵母によってアセチルCoAとアルコールから生成されていることが知られている¹⁵⁾。石川ら¹⁶⁾は、清酒酵母の協会7号酵母のアルコールアセチルトランスフェラーゼ（以下、AATFase）について検討し、協会7号酵母のAATFaseの最適反応温度およびpHは

30 °C、pH6.6と報告している。酵母によってそれぞれのAATFaseの至適pHおよび安定性は異なると考えられるが、黄麹醪では発酵工程を通してpH5前後であるのに対し、白麹および黒麹醪ではpH3.1～4.3であったことから、小仕込み試験に用いた鹿児島5号酵母のAATFase活性に影響を与えた可能性が考えられる。

一方、白麹および黒麹製では脂肪酸エチルエ斯特ルである酢酸エチル、プロピオン酸エチル、DL-2-メチル酪酸エチル、カプロン酸エチル、カブリル酸エチル、ヘキサン酸イソアミル、ノナン酸エチル、カブリン酸エチル、ラウリン酸エチルおよびサリチル酸メチルが黄麹製の約1.2～2.2倍多いことがわかった。脂肪酸エチルエ斯特ルは、原料に含まれる脂質の分解によっ

て生じた脂肪酸を酵母によってエチルエステル化して生じるとされている。また、著者ら¹⁷⁾は、麹由来の酵素が中鎖脂肪酸エチルエステル生成に影響を与えていることを報告している。前報¹⁾において、白麹および黒麹のリバーゼは黄麹と比べてそれぞれ11倍と4倍高い活性を有していたことから、原料由来の脂質を分解して遊離の脂肪酸が醪中に増加し、酵母によってエチル化されたことによって増加したと考えられる。炭素数10以下の脂肪酸エチルは芳香が強く、炭素数12～16の脂肪酸エチルは弱い香氣を有している¹⁸⁾。Table 4のSBSE法を用いたGC-MSによる測定の結果、黄麹製に比べて白麹および黒麹製の炭素数12以上のラウリン酸、トリデカン酸、ミリスチン酸、リノール酸のピーク面積は約12～15倍あり、長鎖脂肪酸エチルエステルにも関わってくる可能性が示唆された。脂肪酸エチルエステルは焼酎の「甘味」や「濃さ」に影響していると考えられる^{19,20)}。長鎖脂肪酸エチルエステルのピーク面積は、特徴的な傾向は認められなかった。これは、濾過工程が焼酎中の長鎖脂肪酸エチル濃度に影響している可能性を考えられる。これまで、脂肪酸エチルエステルの生成は酵母が注目されてきたが、本研究の麹のリバーゼ活性と得られた焼酎の脂肪酸の結果から、麹菌も影響を与えることが推察される。また、SBSE法によるGC-MSの結果から、黄麹製ではフェニル酢酸エチルが白麹および黒麹製よりも5～6倍のピーク面積となった。一方、白麹および黒麹製では桂皮酸エチルのピーク面積が、黄麹製の2.8～4.1倍となり特徴的であった。桂皮酸エチルは他の焼酎と比較して、芋焼酎中に多く含まれる香気成分として知られている⁶⁾。麹菌の種類では白麹および黒麹製に多い香気成分であった。

白麹と黒麹製のエチル類の濃度は非常に類似した傾向を示したが、DL-2-メチル酢酸エチルとサリチル酸メチルでは顕著な差異が認められた。DL-2-メチル酢酸エチルは白麹製の芋焼酎が黒麹製と比べて1.9倍多く、有意差が認められた。DL-2-メチル酢酸エチルは酒類中ではビール、ワイン、ブランデーなどでその存在が知られており、「デリシャスリング」と称される香氣特徴を有し、甘く且つフルーティな香氣を有している²¹⁾。著者ら¹⁷⁾は米麹を用いた焼酎と酵素剤を用いた焼酎の香気成分比較で、DL-2-メチル酢酸エチルは米麹焼酎の特徴と報告している。また、清酒およ

び焼酎の香気改良剤として、本格焼酎においてDL-2-メチル酢酸エチル含量を30 µg/Lに増加させると、フルーティ、やや甘い香りと描写される好ましい印象の特性が付与されることが報告されている²²⁾。本研究において、DL-2-メチル酢酸エチルは白麹製に多く含有されており、焼酎の特徴となる香氣のひとつと考えられる。また、サリチル酸メチルは白麹製と比べて、黒麹製では1.6倍多く、有意差が認められた。サリチル酸メチルは湿布などの「メントール」の香氣の特徴を有し、ウインターフリーン精油の主成分である。サリチル酸メチルは多くの植物樹皮に含まれており、芋焼酎では原料由来の香気成分²³⁾と考えられている。また、他の焼酎と比較したものでも芋焼酎の値は大きく高い値となっている²³⁾。しかし、本研究では黒麹製で黄麹および白麹製より高くなっている。同一原料で小仕込み試験を行っていることから、黒麹製のひとつの特徴である可能性が考えられた。大きく香りに寄与するものではなくても、間接的に香氣形成に寄与する可能性が考えられる。

2-1-3. アルデヒド類

アルデヒド類は全体的に黄麹製と比べて白麹および黒麹製で高い濃度となった。アルデヒドは、発酵中に酵母の代謝によってアミノ酸から生成²⁴⁾される他に、アセトアルデヒド、イソブチルアルデヒド、2-メチルブチルアルデヒドおよびイソバレルアルデヒドは、それぞれアラニン、バリン、イソロイシンおよびロイシンからストレッカーフィクターにより生成する²⁵⁾ことが知られている。著者らはプロテアーゼ剤を用いて焼酎醸造中のアミノ酸を増加させると、酵母の代謝および蒸留時のストレッカーフィクターにより焼酎中のアルデヒド類が増加することを報告している²⁶⁾。アミノ酸由來のアルデヒド類では、アセトアルデヒドは黄麹製が最も高い濃度となり、有意差が認められている。この要因は一次醪末期と二次醪末期でのアラニン濃度が大きく減少しており、酵母によって生成されたものと考えられる。その他のイソブチルアルデヒド、2-メチルブチルアルデヒドおよびイソバレルアルデヒドは、黄麹製と比較して白麹および黒麹製が1.4～1.8倍の濃度となり有意差が認められた。これらのアルデヒド類に関しては、白麹および黒麹の酸性プロテアーゼ活性が高く、二次醪中のアミノ酸濃度が増加したことと、二次醪末期の濃度も

黄麹醪よりも高いことから、蒸留時の熱によってストレッカーフ分解で生成されたと考えられる。フルフラールは白麹および黒麹製で黄麹製の約4倍の濃度となつた。フルフラールは、麦焼酎製造中に遊離したキシロースから、クエン酸に起因する醪の低pH条件下で、蒸留時の加熱によって生成することが報告されている²²⁾。また、低pH条件下において糖とアミノ酸の相乗効果によって増加することも明らかとなっている¹³⁾。白麹および黒麹製のフルフラール濃度が高い要因としては、ひとつは白麹および黒麹製が生産するクエン酸によって醪が低pH条件になっていること、蒸留時の醪の総アミノ酸濃度が白麹および黒麹醪が高かったためと考えられる。黄麹製は本研究では補酸は行わずに小仕込み試験を行っていることから、黄麹製でフルフラール濃度が低い原因としてはpHによる影響が考えられる。そこで、同一の黄麹醪を用いて蒸留時のpHを調整しないもの(pH5.2)と、白麹および黒麹醪と同様のpH4.2にクエン酸を用いて調整して蒸留を行つた。その結果、官能評価ではpH4.2に調整したもので香ばしさが付与され、フルフラール濃度は 356 ± 40 µg/Lと調整前(pH5.2)に比べ、約1.4倍の濃度となつた。その他のアルデヒド類に大きな変化はなかったため、焼酎中のフルフラール濃度は、麦焼酎と同様に芋焼酎においても醪中のpHに起因していることがわかつた。ベンズアルデヒド濃度には明らかな傾向は認められなかつた。

2-1-4. 硫黄化合物

硫黄化合物のジメチルジスルフィド(以下、DMDS)およびジメチルトリスルフィド(以下、DMTS)は、黄麹製が白麹および黒麹製の約2倍の濃度であった。これらの香気成分は「タマネギ」「漬物様」および「野菜様」の香気成分として知られ、閾値も非常に低い。消酒においては「老香」の原因としても知られ、その生成要因についても解っている^{23,24)}。近年では酵母が死滅する際に酵母の内容物が溶出し、それによって清酒のDMTS濃度が高まる²⁵⁾とされている。一方で、市販芋焼酎の解析において、DMDSおよびDMTSは酒質に影響を与え、酒質の多様さを形成する上で重要な成分のひとつ²⁶⁾とされている。前報¹¹⁾で白麹および黒麹醪は、一次醪末期および二次醪末期における酵母死滅率が黄麹醪よりも高かつた。しかし、DMDSおよびDMTS濃度は、白麹および黒麹製が黄

麹製よりも低く、酵母の死滅率が高いとDMTS濃度が高くなるという清酒での報告とは異なる結果となつてゐる。また、本研究ではシステインの測定は出来なかつたが、同じ含硫アミノ酸であるメチオニンの濃度が、一次醪から二次醪末期にかけて黄麹醪で白麹および黒麹醪よりも大きく減少している結果が得られてゐる。清酒醪と焼酎醪では麹菌の違い、一次醪および二次醪のpHや蒸留工程など含めて異なる部分も多くある。これらのことから消酒での生成機構に加えて、他の反応等の可能性も考えられる。

2-1-5. テルペン類

テルペン類は芋焼酎香気成分の特徴香のひとつとされ、麹の酵素ではβ-グルコシダーゼの関与が知られている²⁷⁾。特に柑橘系の香気成分であるリナロールでは、白麹および黒麹製で黄麹製と比較して、約2.6～2.9倍となり有意差が認められた。白麹および黒麹製のβ-グルコシダーゼ活性は黄麹製の10倍以上の活性を有していることから、麹の酵素活性による差異が焼酎の香気成分に影響したものと考えられた。テルペン類はヘッドスペースガスクロマトグラフィーでは検出されにくいため、SBSE法にてGC-MS解析を実施した結果をTable 4に示す。テルペン類のローズオキサイド、ネロールオキサイド、酢酸ネリル、リナロール、テルピネオール、ゲラニオール、p-シメンおよびダマセノンは黄麹製と比べて、白麹および黒麹製のピーク面積が、1.1～6.0倍大きかつた。麹のβ-グルコシダーゼによって、ゲラニオールやネロールが生成され、酵母によってシトロネロール、蒸留時の酸と熱でリナロールやα-テルピネオールが生成され、テルペン類が増加する²⁸⁾。白麹および黒麹製でピーク面積の大きかつたテルペン類は最終的に蒸留時の酸および熱によって生成される成分が多かつた。

2-1-6. 脂肪酸

SBSE法を用いたGC-MS解析の結果では、脂肪酸や脂肪酸エステル類が検出された。脂肪酸は黄麹製に比べ、白麹および黒麹製のピーク面積が大きい結果が得られた。黄麹では製麴中に脂肪酸が増加することが知られている³⁾。また、焼酎では黒麹を用いた時の脂肪酸の原料処理から製麴中の脂肪酸の動向³¹⁾、醪から蒸留中の変化³²⁾が報告されている。黄麹での報告はないが、焼酎では製麴および醪で増加し、原料処理および蒸留で減少することが明らかになつてゐる

Table 5 Sensory evaluation comments on aroma for *shochu* with different *koji*

		Aroma	
		Common	White <i>koji</i> and Black <i>koji</i> common
		Respective characteristic	
		Fresh	
		Powdery	
		Rich	
		Baked confectionery	
Yellow <i>koji</i>		Koji incense	
		Fungi	
		Earthy	
		Chemical	
		Herbal	
		Vegetables	
White <i>koji</i>		Citrus	Ester
		Dried fruit	Powdery
		Aldehyde	
		Smooth	
		Light	Rich
Black <i>koji</i>		Sharp	Creamy
		Roast	Oily
		Nutty	
		Steamed sweet potato	

Table 6 Sensory evaluation comments on tasting for *shochu* with different *koji*

		Taste	
		Common	White <i>koji</i> and Black <i>koji</i> common
		Respective characteristic	
		Rich	
		Thin	
		Mild	
Yellow <i>koji</i>		Reverberation	
		Grassy	
		Herbal	
		Fungi	
White <i>koji</i>	Sweet	Grain	Mild
	Bitter	Powdery	Light
	Astringency	Sweet potato	Balance
	Dry	Smooth	
Black <i>koji</i>		Pungent	Rich
		Roast	Full-bodied
		Sharp	Oily

ことから、菌株が異なっても同様の傾向を示すことが示唆される。黄麹製と白麹および黒麹製の差は麹による差異と考えられ、リバーゼ活性が白麹および黒麹で高かったことが要因と推察された。しかし、焼酎中の脂肪酸および脂肪酸エステル類に関しては濾過の影響を受けると考えられ、無濾過の焼酎を解析する必要が考えられた。

2-2. 各麹を用いた芋焼酎の官能評価

各麹を用いて作製した芋焼酎の官能評価の香りの結果をTable 5に、味の結果をTable 6に示す。香りは全体のコメントとして、華やか、甘さ、果実様、穀物、草などのコメントが共通して表現されていた。その中でも、黄麹製では華やか、草のコメントが白麹および黒麹製と共に表現する中でもより多く表現され、その他では麹の香り、焼菓子、ハーブ様などの表現が多かった。

Table 7 Identification results of *shochu*.

Sample	Answer	The number of panel (n = 8)		
		Yellow koji	White koji	Black koji
Yellow koji		7.33	0.00	0.67
White koji		0.00	6.33	1.67
Black koji		0.67	1.67	5.67

一方、白麹および黒麹製では甘さ、果実様のコメントが黄麹製よりも多く表現され、その他では蒸したサツマイモ、ロースト、ナッツ様などの共通のコメントが多く、基本的に類似したコメントであった。その中で、白麹製は軽快のコメントがあり、黒麹製はオイリー、芳醇、クリーム等のコメントが特徴的であった。味のコメントも香りと同様に類似した傾向であったが、白麹製ではドライ、バランスが良いといったコメントがみられるのに対し、黒麹製では芳醇、重厚やオイリーといったコメントであった。白麹製と黒麹製は、香り・味とともに基本的に類似しているが、味と香りの濃淡に差異があることがわかった。

使用した麹の種類に関する回答結果をTable 7に示す。黄麹製では8人中7.33人が黄麹を用いた焼酎と判断し、白麹製と黒麹製ではそれぞれ、6.33人と5.67人といずれの焼酎とも高い確率で用いた麹の種類をきき分けることが出来た。

本研究で作製した芋焼酎は麹以外の原料はすべて同一条件で小仕込みを実施していることから、官能評価の結果は麹の差異によるものであると考えられる。これまで、芋焼酎の酒質に与える麹の種類の影響については、経験的な知見に基づいて述べられてきた部分が多い。また、焼酎は製法、製造工程や使用した器具類の材質によっても香り、味などは大きな影響を受ける。本研究により、芋焼酎香味の麹の違いによる表現として黄麹製では華やか、麹の香り、草やハーブ様、白麹製と黒麹製では柑橘、果実、ロースト、ナッツ様の共通点の特徴の中で、白麹製は軽快、バランス、黒麹製はオイリー、芳醇、クリームなどの焼酎の香味の特徴的な表現を初めて明らかにすることができた。

要 約

芋焼酎の製造に用いられている、黄麹、白麹、黒麹を用いて、麹以外はすべて同一条件で行い、芋焼酎における麹が違うことで生じる香気成分及び官能評価の

差異を検討した。

GC-MSによる香気成分は、黄麹製では一般的な芋焼酎香気成分を基本として、高級アルコールおよび酢酸エチルエステル、含硫化物含量が高かった。白麹および黒麹製は類似した傾向を示している中で、黄麹製よりもアルデヒド類、テルペン類多かった。白麹製と黒麹製の比較では、全体的に白麹製のエステル類の香気成分濃度が高かった。その中で、DL-2-メチル酪酸エチルが黒麹製と比較して大きな差異のある成分であった。黒麹製は低級脂肪酸エチルエステル類の濃度が白麹製よりも低く、中鎖脂肪酸エチルエステルでは同等であり、サリチル酸メチルの濃度が白麹製と大きく異なっていた。また、黒麹製では白麹製と比較して、1-オクテン-3-オールが高い結果となった。1-オクテン-3-オール濃度の麹での差異⁸⁾および全麹仕込みによる白麹および黒麹製の差異⁹⁾から、黒麹由来のひとつの特徴であると考えられた。芋焼酎における白麹製と黒麹製の香気成分はこれらの濃淡、重厚さに関与する成分によって違いが生み出されていることが明らかとなつた。

官能評価では、黄麹製の香りは華やか、麹の香り、焼菓子、草やハーブ様と指摘された。白麹および黒麹製は、共通して果実様、ロースト、ナッツ様といったコメントが多かった。白麹製は軽快、シャープのコメントがあり、黒麹製はオイリー、まろやか、クリーム等のコメントが特徴的であった。味のコメントは香りと類似した傾向を示し、白麹製ではドライ、バランスといったコメントがみられるのに対し、黒麹製では芳醇、重厚といったコメントが得られた。どの焼酎がどの麹を用いたものであるかのブラインドテストにおいても概ね利き分けが出来ていることが認められた。これまで、酒質に与える麹の影響については経験的に述べられてきたが、本研究により、麹の違いによる芋焼酎の香味の特徴的な表現が明らかとなつた。

参考文献

- 1) 白石洋平, 竹浦満, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則：投稿中
- 2) 高橋美絵, 磯谷敦子, 宇都宮仁, 中野成美, 小泉武夫, 戸塚昭：日本醸造協会誌, 102, 403-411 (2007)
- 3) Ito, K., Yoshida, K., Ishikawa, T., and Kobayashi, S.: *J. Ferment. Bioeng.*, 70, 169-172 (1989)
- 4) 高橋美絵, 磯谷敦子, 宇都宮仁, 中野成美, 小泉武夫, 戸塚昭：日本醸造協会誌, 101, 957-963 (2006)
- 5) Yoshizaki, Y., Yamato, H., Takamine, K., Tamaki, T., Ito, K., and Sameshima, Y.: *J. Inst. Brew.*, 116, 49-55 (2010)
- 6) 福田央, 韓錦順：日本醸造協会誌, 111, 750-757 (2016)
- 7) 白石洋平, 原口愛美, 村田梨恵, 久遠馬, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則：日本醸造協会誌, 113, 757-765 (2018)
- 8) GEORGE A. B.: *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*, -fifth edition, CRC Press, BocaRaton (2004)
- 9) 早瀬文孝, 高萩康, 渡辺寛人：日本食品化学工学会誌, 60, 59-71 (2013)
- 10) K. OUCHI, Y. YAMAMOTO, M. TAKAGI-SHI, and H. AKIYAMA : *J. Ferment. Technol.*, 58, 301 (1980)
- 11) 大内弘造, 高岸正邦, 山本泰彦, 秋山裕一：醸酢工学, 59 (1), 9-16 (1981)
- 12) 秋田修, 蓮尾徹夫, 大場俊輝：日本醸造協会誌, 81, 626-632 (1986)
- 13) 白石洋平, 安藤有加, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則：日本醸造協会誌, 112 (8), 563-568 (2017)
- 14) 吉澤淑：日本醸造協会誌, 61, 481 (1966)
- 15) Howard, D., and Anderson, R., G.: *J. Inst. Brew.*, 82, 70-71 (1976)
- 16) 石川雄章, 百瀬洋夫, 吉澤淑：日本醸造協会誌, 79, 62-66 (1984)
- 17) Shiraishi, Y., Yoshizaki, Y., Ono, T., Yamato, H., Okutsu, K., Tamaki, H., Futagami, T., Sameshima, Y., and Takamine, T.: *J. Inst. Brew.*, 122, 381-387 (2016)
- 18) 日本醸造協会 編：醸造物の成分, 119-123 (財団法人日本醸造協会, 東京) (1999)
- 19) 高峯和則, 木田建次, 園田頼和, 生田六也, 塚田定清：日本醸造協会, 84, 560-567 (1989)
- 20) 高峯和則, 木田建次, 園田頼和, 生田六也, 塚田定清：日本醸造協会, 85, 825-830 (1990)
- 21) 山野善正編：おいしさの科学（朝倉書店, 東京) (2003)
- 22) 栗山謙一, 長友正弘：特開 2005-210952
- 23) 福田央, 韓錦順, 水谷治, 金井宗良, 山田修：日本醸造協会誌, 111, 545-555 (2016)
- 24) Arcó, Y.: *Biotechnol. Adv.*, 24, 238-242 (2006)
- 25) 奥村蒸司：日本醸造協会誌, 88 (3), 178-187 (1993)
- 26) 白石洋平, 安藤有加, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 和久豊, 高峯和則：日本醸造協会誌, 112 (7), 527-523 (2017)
- 27) 大石雅志, 田野上佳枝, 梶原康博, 高下秀春, 岡崎直人：日本醸造協会誌, 103, 730-734 (2008)
- 28) Isogi, A., Kanda, R., Hiraga, Y., Nishimura, T., Iwata, H., and Goto-Yamamoto, N.: *J. Agric. Food Chem.*, 57, 189-195 (2009)
- 29) Isogi, A., Kanda, R., Hiraga, Y., Nishimura, T., Iwata, H., and Sudo, S.: *J. Agric. Food Chem.*, 58, 7756-7761 (2010)
- 30) Nishibori, N., Sasaki, K., Okimori, Y., Kanai, M., Isogai, A., Yamada, O., Fujii, T., and Goto-Yamamoto, N.: *J. Biosci. Bioeng.*, 118, 526-528 (2014)
- 31) 瀬戸口智子, 神渡巧：日本醸造協会誌, 111, 345-353 (2016)
- 32) 太田剛雄, 下條寛和, 橋本憲治, 近藤洋大, 佐無田隆, 大場俊輝：日本醸造協会誌, 86, 536-539 (1991)
- 33) 太田剛雄：日本醸造協会誌, 86, 250-254 (1991)
- 34) 西谷尚道, 佐藤哲郎, 菅間誠之助：日本醸造協会誌, 73, 484-488 (1978)
- 35) 西谷尚道, 佐藤哲郎, 菅間誠之助：日本醸造協会誌, 73, 489-493 (1978)