

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16190

研究課題名(和文) 紅麹および紅麹発酵物の特徴味・香気成分の同定と生成機構:呈味向上への基礎研究

研究課題名(英文) Identification and formation mechanisms of characteristic flavor compounds in red-koji and red-koji fermented foods

研究代表者

吉崎 由美子 (YOSHIZAKI, Yumiko)

鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・准教授

研究者番号：80452936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：紅麹菌(Monascus sp.)を使って製造される紅麹は、高い食品機能性が期待される一方、生成する刺激臭によって、食品利用が進んでいない。本研究は、紅麹菌の食品への幅広い利用を可能にすることを目的とした。本研究では、紅麹菌を用いた食品の呈味向上を目的に、紅麹および紅麹発酵物の特徴的な味・香りに寄与する成分をGC-MSおよびLC-MS/MS、官能評価を用いて包括的に同定し、その生成機構を明らかにした。また紅麹焼酎の製造の実用化を目指して酵素製剤を用いた製造方法の改善を行うことに成功した。

研究成果の概要(英文)：Red-koji and red-koji fermented products prepared from Monascus sp. was expected the health benefit for human, while its use for foods is not popular because of the acrid flavor. This research is aimed to extend the possibility of red-koji for foods. First, the characteristic flavor compounds of red-koji and red-koji fermented foods were identified by GC-MS, LC-MS/MS, and sensory evaluation. The formation mechanism was investigated. Furthermore, we improved the process of red-koji shochu making for application in industry.

研究分野：食品工学

キーワード：紅麹 発酵食品 風味 香気成分 生成メカニズム 酵素製剤 紅麹焼酎 実用化

1. 研究開始当初の背景

(1) 高機能性二次代謝産物の生成微生物“紅麹菌”とその食品利用

紅麹菌 (*Monascus* sp.) は、医学分野では、コレステロール合成阻害物質モナコリン K や 血圧降下作用をもつ γ -アミノ酪酸 (GABA) 等の高機能性二次代謝産物を生産する微生物として非常によく研究されている。しかしながら食品へ利用は、日本では沖縄の豆腐ようが最も一般的な使用例であり、その他の食品にはほとんど使われない。紅麹菌は、生活習慣病に関係の強い肥満や高血圧の抑制効果を有することから食品利用への期待は高く、パンや味噌、醤油への試験的な利用が実施されている。

(2) 紅麹菌 (紅麹) を用いた発酵食品と食品利用における問題点

麹とは、穀類原料に麹菌を生育させたものを指し、発酵食品製造に用いられる。日本で麹菌は専ら *Aspergillus* 属菌が用いられる。世界的に見ても紅麹が食品へ利用される例は少ない。紅麹が広く利用されない理由として、1) 紅麹菌の生育速度の遅さや 2) 酵素の生産力の低さ、そして 3) 特徴的な味と香りが挙げられる。これら問題点の中で味・香りに関しては、これまでほとんど研究されてこなかった。紅麹自体は、イチゴ様やミルクィな香りを持ち、好ましい芳香であるにもかかわらず、食すると強い収斂味 (苦味およびえぐ味) を示す。また紅麹を発酵させると芳香が減衰し、一方蒸れたチーズや刺激的な好ましくない香りが増強してしまう。つまり嗜好性が低いことが、一般に普及されない主たる原因となっている。しかしながら、紅麹菌は本来発酵食品に利用される微生物であるにもかかわらず、食品分野における微生物・生化学的基礎研究は、ほとんど皆無である。

2. 研究の目的

本研究において紅麹菌に特有の呈味成分および香氣成分生成のメカニズムを解明し、紅麹特有の呈味物質または香氣成分の増減を可能にするための知見を得る。具体的には、紅麹および紅麹発酵物の味と香りに貢献する成分を同定し、発現および生成メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 紅麹焼酎と白麹焼酎の作製

紅麹または白麹を用いた全麹仕込みによる焼酎を作製した。酵母は鹿児島 5 号酵母を用いた。蒸留は、ガラス製単式蒸留器を用いて行った。蒸留後の焼酎はアルコール度数が 25% となるように調製し、分析に用いた。

(2) 官能評価

研究室で焼酎の味および香りにおける官能評価の訓練をした 14 名のパネルにサンプル名を伏せた状態のブラインドテストを行った。味および香りについて予め選定していた 11

個の味・香りについて強弱を 5 段階 (0=感じない, 1=かすかに感じる, 2=感じる, 3=やや強く感じる, 5=強く感じる) で評価し、評点を平均して算出した。

(3) ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS)

GC-MS に供する前のサンプル前処理システムは、大容量ヘッドスペースガス濃縮システムまたは、固相吸着により行った。成分の一時同定には Agilent ChemStation ソフトウェアと NISH05a マススペクトルライブラリーおよび当研究室にて作成したマススペクトルライブラリーを用いた。また標準物質の保持時間およびマススペクトルパターンとの比較により成分を同定した。

(4) 酵素製剤を用いた紅麹焼酎小仕込試験

麹米 500 g 相当の麹に汲み水歩合 180% となるよう予め酵母培養液 10 ml を含む 900 ml の脱塩水を加えた。各仕込み水に予め 0.5 g の酵素製剤を溶解させておいた。対照となるもろみには酵素製剤を加えなかった。発酵は、30°C の恒温水浴中でもろみの重量減少量が 2 g 程度となるまで (10~14 日間) 行った。発酵後のもろみを常圧蒸留にて蒸留した。孔径 5 μm のメンブレンフィルターにてろ過したろ液を 1 カ月以上冷暗所にて保存した後、脱塩水にてアルコール度数 25% に調整した。

4. 研究成果

(1) 紅麹焼酎特徴香氣成分の同定

紅麹から製造した新しい焼酎として紅麹焼酎を作製し、紅麹焼酎の香りプロファイルに貢献する揮発成分の同定を試みた。対照として白麹焼酎を作製し、官能評価およびガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) にて比較した。官能評価では紅麹焼酎は、チーズ、ミルクィ、オイリー、そしてフルーティーといった特徴を示した。両焼酎より合計 50 成分が GC-MS と HPLC により、同定 および定量された。鍵香氣成分の選抜は、白麹焼酎との比較と匂い活性値 (OAV) に基づいた。OAV とは化合物の濃度を匂い閾値で除した値であり、OAV>1 はその化合物が香氣に貢献することを意味する。これらの分析より、4 つの高級アルコールと 8 つのエステル、4 つのケトン、2 つの短鎖酸を含む 18 の鍵香氣成分が決定された。

(2) 紅麹焼酎特徴香氣成分の形成メカニズムの解明

紅麹焼酎のもろみの発酵期間にサンプリングを行い、経時的に鍵香氣成分の消長を分析した。その結果、高級アルコールおよびエステル化合物は発酵に伴い生成されていること、ケトン類および単鎖酸は発酵中において大きな増減がないことが分かった。高級アルコールおよびエステル化合物は酵母がアミノ酸代謝に関連して生成する香氣成分としてよく知られている。したがって、紅麹焼酎においてこれら化合物の含有量が高くなった理由として、紅麹のプロテアーゼ活性およびリパーゼ

活性が影響していることが考えられた。両活性を白麹のそれと比較した結果、白麹よりも紅麹の方がプロテアーゼおよびリパーゼ活性が高く、もろみ中の遊離アミノ酸量および長鎖脂肪酸が高いことが明らかになった。また紅麹に多く含有されるエステル化合物は単鎖酸とエタノールまたは高級アルコールのエステルであることから、もろみ中の高い単鎖酸および高級アルコール濃度がこれらエステル化合物の生成に寄与したことを示すことができた。ケトン類および単鎖酸は、紅麹に由来する成分であることを明らかにすることができた。このような特徴は白麹に見られないものであり、紅麹の作製に用いられる *Monascus* 属菌の特徴であることが示唆された。紅麹焼酎の特徴香氣成分とそれに寄与する紅麹および *Monascus* 属菌の役割を明らかにすることができた。

(3)紅麹焼酎製造法の改良

紅麹焼酎製造時にもろみの発酵速度が遅いこと、もろみに含まれる麹粒が硬いことが原因で発酵歩合および蒸留歩合が低く、焼酎製造に応用することが困難であることが判明した。そこで紅麹焼酎の製造を可能とするために、酵素製剤を用いた製造方法の確立を試みた。α-アミラーゼ酵素製剤 1 種、グルコアミラーゼ酵素製剤 1 種、プロテアーゼ酵素製剤 12 種、細胞壁分解酵素製剤 30 種を用いて紅麹焼酎もろみに各酵素製剤の添加試験を行った。酵素製剤を添加したもろみのほぼすべてにおいて、もろみ中の麹粒が柔らかくなり、アルコール発酵の促進が認められた。プロテアーゼ酵素製剤よりニューラーゼ F3G、細胞壁分解酵素製剤よりスミチーム TG がアルコール発酵と麹粒の溶解性において共に高い能力を示したことから、これら 2 つの選抜酵素製剤と α-アミラーゼ酵素製剤であるスミチーム AS、グルコアミラーゼ酵素製剤であるスミチーム焼酎を用いて紅麹焼酎の小仕込み試験を行った。その結果、酵素製剤を添加したすべてのもろみにおいてもろみアルコール度数が上昇し、蒸留歩合が高くなった。また官能評価よりスミチーム TG を用いた焼酎において対照である酵素製剤無添加の紅麹焼酎と最も類似していることが明らかになった。これらの結果より、紅麹焼酎もろみへ酵素製剤を添加することで、酒質に大きな影響を与えることなく、もろみ中の麹粒の溶解やアルコール発酵を促進でき、さらに蒸留歩合を改善することでアルコール収得量を増加させることができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- (1) Takahiro Koji, Chihiro Kadooka, Mari Komohara, Saori Onitsuka, Miya Tanimura, Yuki Muroi, Shugo Kurazono, Yohei Shiraiishi,

K Oda, K Iwashita, M Onoue, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Taiki Futagami, K Mori, Hisanori Tamaki, The Journal of General and Applied Microbiology, 査読有, 63, 2018, 339-346

- (2) Taiki Futagami, Chihiro Kadooka, Yoshinori Ando, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Sinji Setoguchi, Kazunori Takamine, M Kawai, Hisanori Tamaki, Multi-gene phylogenetic analysis reveals that shochu-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* strains form a distinct sub-clade of the Japanese sake cluster, *Yeast*, 査読有, 34, 2017, 407-415
- (3) 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, 芋焼酎の香氣形成に及ぼすアミノ酸の影響, 日本醸造協会誌, 査読有, 112, 2017, 563-568
- (4) 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, 芋焼酎醪へのプロテアーゼ剤添加による揮発成分と官能評価への影響, 日本醸造協会誌, 査読有, 112, 2017, 517-523
- (5) Yen Yen Sally Rahayu, Yumiko Yoshizaki, Keiko Yamaguchi, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Yoshihiro Sameshima, and Kazunori Takamine, Key volatile compounds in red koji-shochu, a *Monascus*-fermented product, and their formation steps during fermentation, *Food Chemistry*, 査読有, 224, 2017, 398-406
- (6) Yohei Shiraiishi, Yumiko Yoshizaki, Toshifumi Ono, Hiroaki Yamato, Kayu Okutsu, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami, Sameshima Yoshihiro, and Kazunori Takamine, Characteristic odour compounds in shochu derived from rice koji, *Journal of the Institute of brewing*, 査読有, 122, 2016, 381-387
- (7) Megumi Kido, Akihiro Asakawa, Ken-Ichiro Koyama, Toshio Takaoka, Aya Tajima, Shigeru Takaoka, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Kazunori Takamine, Yoshihiro Sameshima and Akio Inui, Acute effects of traditional Japanese alcohol beverages on blood glucose and polysomnography levels in healthy subjects, *PeerJ*, 査読有, e1853, 2016, 1-17, DOI 10.7717/peerj.1853
- (8) Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Mai Kojima, Kazuya Yoshitake, Hisanori Tamaki Kazunori Takamine, Effects of the cultivation period of sweet potato on the sensory quality of imo-shochu, a Japanese traditional spirit, *Journal of the Institute of Brewing*, 査読有, 122, 2016, 168-174
- (9) Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Natsumi Ikeda, Tatsuro Kusano, Fumio Hashimoto, Kazunori Takamine, Antioxidants in heat-processed koji and production mechanisms, *Food Chemistry*, 査読有, 187, 2015, 364-369
- (10) 吉崎由美子, 松山晃祐, 大庭暁紘, 園田舟,

奥津果優,玉置尚徳,高峯和則,サツマイモの加熱方法が芋焼酎香気に与える影響,日本醸造協会誌,査読有,110巻,2015,349-356

[学会発表] (計 34 件)

- (1) 曾伝濤, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 紅麴の製麴中における水浸漬の効果, 第 24 回日本生物工学会九州支部沖縄大会, 2017
- (2) 王甜甜, 吉崎由美子, 花城勲, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 製麴段階におけるデンプン構造の変化, 第 24 回日本生物工学会九州支部沖縄大会, 2017
- (3) 小菌蘭, 吉崎由美子, 小平万瑠美, 中山新奈, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, サツマイモに含まれる β -ダマセノンの前駆体同定とその植物体での分布, 第 24 回日本生物工学会九州支部沖縄大会, 2017
- (4) 矢野真也, 白石洋平, 原口愛美, 奥津果優, 二神泰基, 吉崎由美子, 玉置尚徳, 高峯和則, プロテアーゼ高生産黒麴菌を用いた芋焼酎の製造, 第 24 回日本生物工学会九州支部沖縄大会, 2017
- (5) Xuan Yin, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine, The significance of solid-state saccharification process in Xiaoqu-Mijiu production, 第 9 回日本醸造学会若手シンポジウム, 2017
- (6) 印璇, 竹内春佳, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 中国で市販されている小曲米酒の風味の特徴, 平成 29 年度日本醸造学会大会, 2017
- (7) Xuan Yin, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine, The significance of solid-state saccharification process in Xiaoqu-Mijiu production, 第 69 回日本生物工学会大会, 2017
- (8) Xuan Yin, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Taiki Futagami, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine, New significance of the solid-state saccharification process in xiaoqu-mijiu production, 日本応用糖質科学会平成 29 年度大会 (第 66 回), 2017
- (9) 川内智裕, 山野優花, 吉崎由美子, 池永誠, 境雅夫, 土壌の生物性評価手法としての微生物起源揮発性有機化合物の網羅的解析法の検討, 第 2 回環境微生物系学会合同大会 2017, 2017
- (10) 奥津果優, 門岡千尋, 小城章裕, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 中国及び韓国の市場品「神麴」における菌叢と含有成分の実態調査, 第 34 回和漢医薬学会学術大会, 2017
- (11) 大城沙織, 神戸悠輝, 奥津果優, 吉崎由美子, 高峯和則, 宮田篤郎, パルミチン酸誘導性炎症に対する白麴抽出物の抗炎症効果, 第 90 回日本薬理学会年会, 2017
- (12) 吉崎由美子, 生活習慣病を防ぐ~焼酎の意外な健康機能性~, 第 6 回食と健康に関するシンポジウム, 2016
- (13) Hisanori Tamaki, Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Taiki Futagami, Development of molecular breeding of shochu yeast, The 2nd Joint Seminar. Core to Core Program A., 2016
- (14) 直みゆき, 奥津果優, 吉崎由美子, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 製糖条件の違いが黒糖焼酎の酒質に及ぼす影響, 平成 28 年度日本醸造学会, 2016
- (15) 彭徳春, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 中国の伝統的な麴を用いた新しい乳酒製造の可能性, 平成 28 年度日本醸造学会, 2016
- (16) Yumiko Yoshizaki, The production of shochu -The wonders of Japanese traditional spirits-, Asian wine & spirit the silk route-1st conference and competition, 2016
- (17) 島田麻里奈, 落合佑香, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 黒糖焼酎の香気に及ぼす蒸留法の影響, 第 68 回日本生物工学会大会, 2016
- (18) 大城沙織, 神戸悠輝, 奥津果優, 吉崎由美子, 宮田篤郎, 高峯和則, パルミチン酸誘導性炎症に対する白麴抽出物の抗炎症効果, 第 68 回日本生物工学会大会, 2016
- (19) 武藤亜依, 吉崎由美子, 奥津果優, 高峯和則, 二神泰基, 玉置尚徳, 焼酎酵母鹿児島二号の機能解析, 酵母遺伝学フォーラム第 49 回研究報告回, 2016
- (20) 吉崎由美子, ゴマがお酒に?! 焼酎の不思議と魅力に迫る, 第 31 回日本ゴマ科学会大会, 2016
- (21) Yen Yen Sally Rahayu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Kayu Okutsu, Key volatile compounds in red koji shochu, The 6th International Conference on Food Factors, 2015
- (22) Yumiko Yoshizaki, Chihiro Kawasaki, Kai-Chun Cheng, Miharu Ushikai, Haruka Amitani, Akihiro Asakawa, Kayu Okutsu, Kazunori Takamine, Yoshihiro Sameshima, Akio Inui, Effects of rice koji on body weight gain, fat accumulation, and glucose metabolism in high-fat diet-induced obese mice, The 6th International Conference on Food Factors, 2015
- (23) Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Natsumi Ikeda, Tatsuro Kusano, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami, Fumio Hashimoro, Kazunori Takamine, Antioxidants in heat-processed koji and evaluation of antioxidant production mechanisms, The 6th International Conference on Food Factors, 2015
- (24) Kayu Okutsu, Yumiko Yoshizaki, Hisanori Tamaki, Taiki Futagami, Kazunori Takamine, Determination of ferulic acid and

- lysophosphatidic acid in “Shinkiku”, a fermented herbal medicine, The 6th International Conference on Food Factors, 2015
- (25) 小島舞, 吉崎由美子, 奥津果優, 玉置尚徳, 高峯和則, 芋焼酎の酒質に及ぼすもろみ pH の影響, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (26) Yen Yen Sally Rahayu, Yumiko Yoshizaki, Kazunori Takamine, Kayu Okutsu, The ethyl esters of medium-chain fatty acid and ethyl esters of long-chain fatty acid in red koji shochu, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (27) 島田麻里奈, 落合佑香 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 蒸留時もろみ固形部の存在が黒糖焼酎香氣に及ぼす影響, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (28) 日高美哉, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, サツマイモの蒸煮条件が芋焼酎の酒質に与える影響, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (29) 迎麻菜美, 吉崎由美子, 奥津果優, 高峯和則, 二神泰基, 玉置尚徳, LOH を利用した 2 倍体焼酎酵母遺伝子破壊システムの構築, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (30) 山下夏希, 吉崎由美子, 奥津果優, 高峯和則, 二神泰基, 玉置尚徳, リゾリン脂質アシル転移酵素 Lpt1 の ER 膜における配向性, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (31) 武藤亜依, 吉崎由美子, 奥津果優, 高峯和則, 二神泰基, 玉置尚徳, 一倍体焼酎酵母の単離と解析, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (32) 白石洋平, 二神泰基, 奥津果優, 吉崎由美子, 和久豊, 玉置尚徳, 高峯和則, 麹菌菌種が芋焼酎の香味形成に及ぼす影響, 第 67 回日本生物工学会大会, 2015
- (33) 白石洋平, 安藤有加, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, いも焼酎もろみへのプロテアーゼ添加による酒質の多様化, 平成 27 年度日本醸造学会, 2015
- (34) 白石洋平, 吉崎由美子, 小野敏史, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 米麴が及ぼす焼酎香氣への影響, 平成 27 年度日本醸造学会, 2015

〔図書〕 (計 1 件)

- (1) 乾明夫, 鮫島奈々美, 叶内宏明, 吉崎由美子, 奥津果優, 侯徳興, 中野隆之, 橋本文雄, 藤井信, 加治屋勝子, 上原美穂, 木村郁夫, 袁春紅, 寺田竜太, 塩崎一弘, 佐野雅昭, 小松正治, 紙谷喜則, 鹿児島県の食環境と健康食材, 南方新社, 2016

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: プロテアーゼを用いた焼酎の製造方法
発明者: 高峯和則, 吉崎由美子
権利者: 鹿児島大学
種類: 特許
番号: 特願 2016-033746
出願年月日: 2016 年 2 月 25 日
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉崎由美子 (YOSHIZAKI, Yumiko)
鹿児島大学・農水獣医学域農学系・准教授
研究者番号: 80452936