

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700804

研究課題名(和文) 焼酎をモデルとした麹由来特徴香氣成分の同定とその生成メカニズムの解明

研究課題名(英文) Key volatile compounds from rice koji in shochu as a model of fermented foods and the formation mechanism

研究代表者

吉崎 由美子 (Yoshizaki, Yumiko)

鹿児島大学・農学部・助教

研究者番号：80452936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：麹由来の香氣成分を同定するために麹のみで作製された全麹仕込み焼酎と麹の代わりに蒸煮米と酵素剤、クエン酸を用いて作製した酵素仕込み焼酎について比較した。GC-MSの結果、酵素仕込み焼酎にはジメチルトリスルフィドやヘキサナールという欠点臭の成分が多く含まれており、一方全麹仕込み焼酎では、エステル化合物など芳香性の化合物が多く含まれていることが分かった。またGC-MS/Oより全麹仕込み焼酎には匂い強度は低いものの特徴的な匂いをもつピークが検出された。このことから麹を用いることで欠点臭の成分が低減され、芳香化合物の増加および特徴香氣成分の生成が確認された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the odor compounds of rice koji in shochu. Shochu is a traditional distilled liquor in Japan. Rice koji represents a solid state culture of *Aspergillus* sp. on steamed rice. We tried to assess the compounds from rice koji by comparing two types of shochu. One was exclusively made from rice koji with yeast (rice koji made shochu), whereas the other was made from steamed rice and enzymes instead of rice koji (enzymemade shochu). Analysis of volatile compounds by GCMS and GCMS/olfactometry (GCMS/O) was conducted, which showed that enzyme made shochu contained a larger amount of dimethyl trisulfide, whereas rice koji made shochu contained a higher amount of esteric compounds. Furthermore, some odor peaks representing characteristic odors such as tea like, herb, fried potato, and soda were specifically detected in rice koji made shochu. In this study, we show that rice koji has less of the off flavours and a higher level of aromatic compounds.

研究分野：発酵工学

キーワード：麹 焼酎 香り GC-MS GC-MS/O

1. 研究開始当初の背景

(1) 麹菌(カビ類)を発酵食品に用いることはアジア特有の文化

焼酎, 清酒, 味噌, 醤油等の発酵食品は, 日本人にとって食欲をそそる香りをもっている。これら発酵食品の共通点は, 麹を原料に用いていることにある。麹は, 米などの穀類原料に麹菌を生育させたものを指し, 日本をはじめとする東アジア圏において発酵食品製造に用いられる。世界的にみると食品製造にカビ類を利用したものは, 一部のチーズ以外にはほとんどない。また食品の品質の中でも特に香りは味や印象を左右する重要な要因であり, 麹も香り形成に貢献していることが示唆される。

(2) 酒類における麹の役割

酒類製造では, 古くから「一麹二酏三造り」と言われ, 麹が製品の質に貢献していることが経験的に認識されていた。科学的には, 麹が生産するプロテアーゼやリパーゼによって原料のタンパク質や脂質がアミノ酸や脂肪酸に分解され, これらがさらに酵母によって代謝され, 高級アルコールや脂肪酸エステル等の香り・旨味成分へと変換されるメカニズムが明らかにされている。このことから麹の役割は主に酵素供給と考えられてきた。

(3) 発酵食品の香り形成に麹が貢献する可能性

しかしながら, 麹の代替として酵素剤を用いて製造した焼酎では「すっきり」や「淡麗」な香りが強くなり, 麹を用いた焼酎とは異なる香りとなることが明らかにされている。これは, 焼酎の香りにおいて麹が酵素の生産以外の役割を有していることを示している。したがって, 焼酎を始めとした発酵食品の香りに麹そのものが深く関与していることが示唆される。しかしながら, これまでに発酵食品における麹由来の香り成分についてはほとんど調べられていない。

2. 研究の目的

本研究では, 発酵食品の香りに影響を与えている新規麹由来特徴香り成分の同定, さらにその香り成分の生成メカニズムを明らかにすることを目的とした。具体的には, 麹を用いることで生成される香り成分の同定を行うために, 麹(米麹)を用いて作製した焼酎(全麹仕込み焼酎)と麹の代わりに米と酵素剤を用いて作製した焼酎(酵素仕込み焼酎)をガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)にて比較することで麹に由来する香り成分を探索することを目的とした。さらにエタノール溶液に重要香り成分を加えて作製したモデル焼酎を作製し, 香り特性(印象)に与える効果を確認する。また重要香り成分の焼酎製造工程における生成機構を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は, 焼酎をモデルとして発酵食品に含まれる麹由来の香り成分を明らかにすることを目的としており研究代表者と大学院生1名により行われた。研究代表者は, GC-MSを用いて麹に由来する重要香り成分の同定を試みると共に研究の統括を行った。大学院生は, 研究用焼酎の製造およびGC-MS/Olfactometry(匂い嗅ぎ分析)による匂い強度の決定を試みた。

(1) 酵素仕込み焼酎と全麹仕込み焼酎の作製

麹の代わりに蒸した米と酵素剤(α -amylase, glucoamylase および protease)およびクエン酸を用いて酵素仕込み焼酎を作製した。また通常の製法に従い麹(米麹)を用いて作製した全麹仕込み焼酎を作製した。麹は白麹菌を用いて作製し, 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, 以後の分析に用いた。

(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12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自由にコメントを求め, コメントの中で特に意見の多いものをまとめた。

(3) ヘッドスペースガス GC-MS および GC-MS-Olfactometry

全麹仕込み焼酎および酵素仕込み焼酎のヘッドスペースガス成分は, ヘッドスペース自動濃縮装置 Entech 7100A (Entech Instruments inc.) により捕集および濃縮した。全麹仕込み焼酎または酵素仕込み焼酎 10 ml と内部標準物質である 10 mg/L 1-ペンタノール 1 ml を専用の 250 ml 容ボトルに入れた。GC-MS/O 分析では全麹仕込み焼酎または酵素仕込み焼酎 10 ml と内部標準物質である 10 mg/L 1-ペンタノール 1 ml を専用の 450 ml 容ボトルに入れた。試料が入ったボトルを自動濃縮装置に連結し, 30°C の恒温水槽内で 30 分間保温した後, ヘッドスペースガスの捕集を行った。濃縮した揮発成分について GC-MS (GC; Agilent 6890, MS; Agilent 5979B; アジレント・テクノロジー(株)) により分析した。成分の一時同定は 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って行った。

(4) Aroma extract dilution analysis (AEDA)

エタノール溶液(25%)を用いて各焼酎の濃度を3倍, 9倍, 27倍に希釈した。希釈サンプルを希釈率の低い順(濃度の高い順)にGC-MS/O分析に供する。ある成分の匂いが認められなくなった時点で, 匂いが感じられた

最大の希釈率を元に匂い強度 (FD 値: dilution factor) を算出した。

4. 研究成果

(1) 酵素仕込み焼酎と全麹仕込み焼酎の官能評価

通常焼酎製造では、サツマイモやコメ、またはオオムギなどの二次原料(主原料)を加える。しかしながら、この方法により製造すると焼酎中には主原料に由来する香気成分が多量かつ多数含まれることとなる。そこで、麹由来の香気成分の探索を簡便に行うために、麹だけを原料として作製した全麹仕込み焼酎を作製し、対照として麹原料であるコメに発酵に必要な酵素類 (α -amylase や glucoamylase, protease) およびクエン酸を加えた酵素仕込み焼酎を作製した。両焼酎を比較することで、原料であるコメに由来する香気成分に関して出来る限り候補より除くことができる考えた。

作製した両焼酎に関して、12名のパネルによる官能評価を行った。その結果、酵素仕込み焼酎が「蒸した米を連想させる香り」や、「漬物臭」、「米ぬか臭」という評価が認められた。一方、全麹仕込み焼酎では「まるやかさ」と「コク」の評価が多く挙げられ、「アルコール度数を低く感じる」というコメントも得られた。このように作製した焼酎は、それぞれ特徴的な酒質を有していることが確認されたことから、GC-MS による分析を行うこととした。

(2) GC-MS 分析による香気成分の比較

GC-MS の結果より、酵素仕込み焼酎において dimethyl trisulfide (漬け物臭) や hexanal (草様臭) が多く含まれていることが分かった。一方、全麹仕込み焼酎にはエステル化合物の含有量が高いことが確認された。また同定された成分について検量線を作成し、濃度を求めた。得られた濃度と文献により明らかにされている各成分の匂い閾値の濃度を比較した結果、ほぼすべての成分において匂い閾値を超える濃度 (OAV>1) であることが分かった。

(3) GC-MS/O 分析による比較

匂いに貢献度の高い化合物について解析を行うために GC-MS/O 解析をおこなった。その結果、酵素仕込み焼酎には 21 個の、全麹仕込み焼酎には 29 個の匂いピークが検出された。酵素仕込み焼酎と全麹仕込み焼酎において共通している匂いピークは 20 個であり、そのうち 13 個について成分を同定することができた。13 個のうち 7 個の匂いピークはエステル化合物であった。

(4) AEDA による各焼酎に含まれる化合物の匂い強度の比較

焼酎を 25%エタノール溶液を用いて、3 の

倍数 (3 倍希釈や 9 倍希釈など) となるように希釈したサンプルについて、濃度の高い順に GC-MS/O を行うことで AEDA を行った。その結果、GC-MS/O にて検出したエステル化合物については匂い強度に大きな違いがないことが分かった。このことは焼酎中の主なエステル類は量的には差が認められたものの、その差は大きくないことが分かった。また全麹仕込み焼酎にのみ検出された匂いピークは 9 個、酵素仕込み焼酎にのみ検出された匂いピークは 1 個が検出された。しかしながら、これらの成分の多くはマススペクトルによる一時同定も不可能であった。これらの匂いピークの強度はいずれも高くはないことものの、シソや紅茶、フライドポテトの香りなど、非常に特徴的な香りを有しているものが多かった。このことから匂い強度として低いこれらの複雑な香りを有する成分が、麹より生成された化合物である可能性が高く、焼酎の香気特性に影響を与えていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

吉崎由美子, 金顯民, 奥津果優, 池永誠, 玉置尚徳, 高峯和則, 韓国伝統的麹「ヌルク」を用いた焼酎製造の可能性, 日本醸造協会誌, 査読有, 110 巻, 2015, 170-178

Yumiko Yoshizaki, Chihiro Kawasaki, Kai-Chun Cheng, Miharuru Ushikai, Haruka Amitani, Akihiro Asakawa, Kayu Okutsu, Yoshihiro Sameshima, Kazunori Takamine, Akio Inui, Rice koji reduced body weight gain, fat accumulation, and blood glucose level in high-fat diet-induced obese mice, PeerJ, 査読有, PeerJ 2, 2014, peerj.540
DOI:10.7717/peerj.540

[学会発表](計12件)

松本典子, Han-Seok CHOI, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 玉置尚徳, 高峯和則, 韓国伝統麹「ヌルク」から単離した酵母の発酵特性, 第21回日本生物工学会九州支部熊本大会, 2014年12月6日, 熊本大学(熊本, 熊本市)

Kayu Okutsu, Mai Kojima, Kazuya Yoshitake, Yumiko Yoshizaki, Hisanori Tamaki, Yoshihiro Sameshima, Kazunori Takamine, Effects of harvest and storage times of sweet potatoes on flavor of sweet potato shochu, 平成26年農機機構シンポジウム(第6回「日中韓サツマイモワークショップ」), 2014年11月29日, かごしま県民交流センター(鹿児島, 鹿児島市)

Yumiko Yoshizaki, Kousuke Matsuyama, Akihiro Oba, Shu Sonoda, Kayu Okutsu, Hisanori Tamaki, Kazunori Takamine, 平成 26

年農県機構シンポジウム(第6回「日中韓サツマイモワークショップ」), 2014年11月29日, かごしま県民交流センター(鹿児島, 鹿児島市)

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, 分裂酵母 *Schizosaccharomyces japonicus* による焼酎醗酵試験, 第32回イーストワークショップ, 2014年11月14日, ビューポートくれ(広島, 呉市)

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, 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32回イーストワークショップ, 2014年11月14日, ビューポートくれ(広島, 呉市)

Yumiko Yoshizaki, Shochu-Japanese traditional distilled liquor-, 2014 Beijing International Distilled Liquor Technical Forum, 2014年10月15日(北京, 中国)

小島舞, 高峯和則, 吉竹一哉, 吉崎由美子, 奥津果優, 玉置尚徳, 鮫島吉廣, サツマイモ収穫時期および貯蔵期間が芋焼酎の酒質に及ぼす影響, 平成26年度日本醸造学会, 2014年10月8日, 北とぴあ(東京, 北区)

Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Toshifumi Ono, Hiroaki Yamato, Yoshihiro Sameshima, Kazunori Takamine, Odour compounds of rice koji in shochu, Worldwide distilled spirit conference2014, 2014年9月9日~11日(グラスゴー, イギリス)

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66回日本生物工学会大会, 2014年9月9日, 札幌コンベンションセンター(北海道, 札幌市)

Yen Yen Sally Rahayu, Yumiko Yoshizaki, Kayu Okutsu, Kazunori Takamine, key volatile compounds in red koji shochu, 第66回日本生物工学会大会, 2014年9月9日, 札幌コンベンションセンター(北海道, 札幌市)

玉置尚徳, 高峯和則, 吉崎由美子, 奥津果優, 二神泰基, 中山玲子, 熊谷英彦, 分裂酵母 *plg7* の機能解析, 第47回酵母遺伝学フォーラム, 2014年9月1日, 東京弥生講堂(東京, 文京区)

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, 2倍体焼酎酵母における繰り返し利用可能な遺伝子破壊システムの構築, 第47回酵母遺伝学フォーラム, 2014年9月1日, 東京弥生講堂(東京, 文京区)

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉崎 由美子 (YOSHIZAKI, Yumiko)

鹿児島大学・農学部・助教

研究者番号: 80452936