

麹菌菌種の違いが芋焼酎の香味形成に及ぼす影響 (第1報) 酵素活性と芋焼酎醪の差異

白石洋平¹・竹浦 滯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・高峰和則^{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 1) Differences in enzyme activity of *koji* and *imo-shochu moromi*

Yohei SHIRAIISHI¹, Mio TAKEURA¹, 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)

To clarify the effects of the *koji* variety on the flavor of *imo-shochu*, we prepared *imo-shochu* with yellow, white, or black *koji* and investigated *koji* enzyme activities and chemical composition in *moromi*-mash.

Yellow *koji* showed a higher α -amylase and acid carboxypeptidase activity, but lower *koji* acidity, β -glucosidase, cellulase, acid protease and lipase activities compared with white or black-*koji*. Acid-resistant α -amylase activity, which is involved in liquification of the *moromi*-mash under acidic conditions, was 10 times higher in black or white-*koji* than in yellow *koji*. Although the enzyme activities of white *koji* were similar to that of black *koji*, white *koji* had higher β -glucosidase and cellulase activities than black *koji*.

Imo-shochu moromi prepared with white *koji* or black *koji* contained higher citric acid compared with yellow *koji*, and the pH of *moromi* was consistent with citric acid concentration. In addition, the viscosity of *moromi* was different among the *koji* types; the mash prepared with yellow *koji* was stickier than mash prepared with white or black-*koji*. This was likely caused by higher acid protease and cellulase activities of black or white-*koji*. Although amino acid compositions in *moromi* prepared with white and black *koji* showed similar tendencies, that with yellow *koji* had a different amino acid balance. Similarly, the organic acid composition in *moromi* differed among *koji* types.

Key words : 芋焼酎 (*Imo-shochu*), 黄麹 (*Yellow koji*), 白麹 (*White koji*), 黒麹 (*Black koji*), 醪 (*moromi*) —

緒言

明治時代までの芋焼酎造りには黄麹菌が使用されていた。しかし、温暖な鹿児島では醪の低温管理が困難であり、腐造も少なくなかった。明治時代末期に沖縄から泡盛製造技術が導入された時に、黒麹の友麹が持ち込まれ、大正時代の中期から後期ごろには黒麹菌を用いた芋焼酎製造が鹿児島県下全域に普及した¹⁾。黒麹菌が生産する有機酸は主にクエン酸であり、これが醪のpHを下げるため雑菌の増殖が抑えられ、耐酸性に優れた酵母が優先的に増殖することができる。また、黒麹菌の使用により安全な醸造が可能となり、アルコールの収得量が2～3割の増収につながった。芋焼酎の酒質は、黄麹製は「多少は癖があっても複雑な味を持っていて如何にも美味しく感じられた」ものであったが、黒麹製は「風味高く、癖がなく、甘み少なく辛くて、幾分単調な味」となり“ハイカラ焼酎”と呼ばれた²³⁾。更に大正後期には河内源一郎によって黒麹菌から白色変異株である白麹菌が分離され、戦後以降はほとんどのメーカーが白麹菌を用いるようになった。その後、黒麹製の芋焼酎はいったん姿を消すものの、個性的な芋焼酎への需要の高まりから昭和後期に鹿児島県内の酒造メーカーで復活した。近年では殆どのメーカーで黒麹製の芋焼酎の出荷量が半分を占めるようになり、一部のメーカーでは黄麹製の芋焼酎も製品化されるようになった。その香味の特徴として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一般的に言われている。しかしながら、この評価は市販酒を対象にしたものであり、麹以外の条件が統一されて製造した焼酎を比較したものではないため、麹菌の種類による酒質の差異を評価しているかは不明である。

これまでに黄麹、白麹、黒麹の香气成分の差異に関する研究⁴⁾、全麹仕込みによる麹菌の生成する香气成分の報告⁵⁾がなされている。また、市販酒⁶⁻⁸⁾や鑑評会出品酒⁹⁾を用いた網羅的な解析の中で麹菌の違いに着目した芋焼酎の香气成分について報告されているが、麹や麹菌以外を同一条件で行った報告はない。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、本報では3種類の麹の酵素活性と芋焼酎醪の差異について明らかにした。

実験材料と方法

1-1. 供試菌株

使用菌株はいずれも株式会社ビオック社製の市販種麹である焼酎用黄麹菌、白麹菌の焼酎K型菌および泡盛黒麹菌を用いた。

1-2. 製麹

製麹は1,000 gスケールで実施し、原料米は酒造メーカーが一般的に使用している精米歩合90%の国産加工用米を用いた。製麹は恒温恒湿器にて行い、品温経過および製麹操作は本格焼酎製造技術¹⁰⁾に従いTable 1に示す温度および湿度で制御し、いずれの麹とも42時間で出麹とした。製麹も含めて以後すべての試験を3連で実施した。

1-3. 麹の分析方法

麹からの酵素抽出、麹酸度、 α -アミラーゼ（以下、AA）、グルコアミラーゼ（以下、GA）、酸性プロテアーゼ（以下、AP）および酸性カルボキシペプチダーゼ（以下、ACP）の活性測定は第四回改正国税庁

Table 1 Koji making method

	Yellow koji			White koji and Black koji		
	Temperature (Humidity)			Temperature (Humidity)		
	Cultivation time (Koji making time) (hour)	Koji	Incubator	Cultivation time (Koji making time) (hour)	Koji	Incubator
Tane-tsube	0	30~31℃	30℃ (95%)	0	35~36℃	35℃ (95%)
Mori	20±1	33~34℃	30℃ (95%)	20±1	39~41℃	35℃ (95%)
Naka-shigoto	27±1	36~37℃	33℃ (95%)	24±1	40~41℃	33℃ (95%)
Shimai-shigoto	32±1	40~41℃	37℃ (90%)	28±1	40~42℃	32℃ (90%)
De-koji	42	41~42℃	37℃ (90%)	42	34~36℃	32℃ (90%)

所定分析法注解（以下、所定分析法注解）¹¹⁾に従い、 β -グルコシダーゼ（以下、BG）活性は太田ら¹²⁾の方法に、リパーゼ（以下、LIP）活性は、山田ら¹³⁾の方法に従った。

耐酸性 α -アミラーゼ（以下、AsAA）活性は岩野ら¹⁴⁾の方法および所定分析法注解¹¹⁾の方法を改変して行った。すなわち、酵素液1 mLにpH2.5の100 mM マッキルベイン緩衝液を1 mL 加え、混合液をpH2.5とし30℃で1時間放置した。その後、50 mM 酢酸緩衝液（pH5.0）で酸処理した酵素溶液をpH5.0にし、所定分析法注解のAsAA活性の測定方法に従い酵素活性を算出した。

セルラーゼ（以下、CEL）活性は柏木¹⁵⁾の方法を改変して行った。すなわち、0.5% カルボキシメチルセルロース（CMC）溶液1 mLに、40℃で5分間予熱した酵素液1 mLを混合し、40℃にて30分間反応させた。反応終了後、反応液0.5 mLに銅試薬0.5 mLを加え、沸騰浴中にて10分間煮沸した。冷却後、Nelson 試薬を0.5 mL 加え室温にて15分静置した後、蒸留水3.5 mLを加えて更に15分置き、波長500 nmで吸光度を測定した。Blankは、0.5% CMC 溶液0.25 mLと銅試薬0.5 mLを混ぜ合わせたのち、酵素液0.25 mLを加えて10分間煮沸させた。冷却後、同様に操作し吸光度を測定した。CEL 活性は、1分間にグルコース1 μ gに相当する還元糖を遊離する酵素活性を1 Uとした。

キシラナーゼ（以下、XY）活性はしょうゆ試験法¹⁶⁾の方法を改変して行った。すなわち、1% Xylan 溶液と透析済み酵素液をそれぞれ0.5 mLずつ混合し、40℃で60分反応させ、セルラーゼ活性測定と同様にSomogy-Nelson法にて還元糖の測定を行った。Blankは、1% Xylan 溶液0.25 mLと銅試薬0.5 mLを混ぜ合わせたのち、酵素液0.25 mLを加えて10分間煮沸させた。冷却後、同様に操作し吸光度を測定した。1分間にキシロース1 μ gに相当する還元糖を遊離する酵素活性を1 Uとした。

なお、麹酸度および各種酵素活性は各麹の水分の値から換算して、乾燥麹当たりの値として示す。

1-4. 芋焼酎の小仕込み試験

一次仕込みは麴米140 g相当量の米麴に汲み水168 g（内、酵母培養液2 mL）を加えた。二次仕込みで

は一次醗に汲み水392 gと蒸煮・粉碎したサツマイモ700 gを加えた。30℃の温浴槽で一次醗は4日間、二次醗は9日間発酵させた。なお、サツマイモは500 g前後の大きさのコガネセンガンを用い、酵母は焼酎用酵母である鹿児島5号酵母（H5）を用いた。

1-5. 蒸留

蒸留は醗900 gを2 L容のガラス製蒸留器にて、蒸気直接吹き込みによる常圧蒸留で行った。蒸留の終点は末垂れのアルコール度数が約10%に到達した時点とした。終点のアルコール度数の測定は携帯型密度計（アントンパール社、DMA-35）を用いた。焼酎のアルコール度数の測定は、酒類用振動式密度計（DA-155 京都電子工業株式会社、Kyoto, Japan）を用いた。原酒をアルコール度数25%になるように脱塩水で割水し1日後、孔径5 μ mのメンブレンフィルターにてろ過をして得られたろ液を芋焼酎とした。

1-6. 醗および焼酎の分析

醗アルコール、純アルコール、原酒量、原酒アルコール、収得量、蒸留歩合、pH（醗、焼酎）、酸度（醗、試留液）、全糖、直糖は所定分析法注解¹¹⁾に従い行った。

醗のアミノ酸および有機酸は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（SHIMADZU-LC 株式会社島津製作所、Kyoto, Japan）を用いて、著者らの方法¹⁷⁾に従い定量した。

1-7 統計処理

各実験の結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。各麹および各麹を使用した醗の結果は、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。

結果および考察

2-1. 各種種麹を用いた製麹

黄麹、白麹および黒麹の出麹酸度と酵素活性を測定した結果をTable 2に示す。出麹酸度は黄麹では0.2とほぼ生酸性は認められず、白麹および黒麹ではそれぞれ8.3と7.4と大きく異なった。

AA活性は、黄麹が白麹および黒麹と比べて15倍以上高かった。一方、酸性条件下（pH3.0付近）にお

Table 2 Acidity and enzyme activities of *koji*

	Acidity	Enzyme activities(U/g dry koji)								
		AA ^{※1}	AsAA ^{※2}	GA ^{※3}	BG ^{※4}	CEL ^{※5}	XY ^{※6}	AP ^{※7}	ACP ^{※8}	LIP ^{※9}
Yellow <i>koji</i>	0.2 ± 0.0 ^a	2531 ± 277 ^a	14 ± 3 ^a	262 ± 33 ^a	34 ± 5 ^a	85 ± 1 ^a	76 ± 2 ^a	5,761 ± 220 ^a	11,230 ± 769 ^a	0.8 ± 0.3 ^a
White <i>koji</i>	8.3 ± 0.1 ^b	159 ± 6 ^b	144 ± 12 ^b	225 ± 7 ^{ab}	433 ± 23 ^b	247 ± 18 ^b	102 ± 3 ^b	23,659 ± 1,395 ^b	5,212 ± 293 ^b	9.0 ± 0.4 ^b
Black <i>koji</i>	7.4 ± 0.4 ^c	120 ± 13 ^c	110 ± 4 ^c	196 ± 11 ^c	436 ± 29 ^b	250 ± 3 ^b	70 ± 4 ^a	17,988 ± 1,421 ^c	3,736 ± 96 ^c	3.4 ± 0.4 ^c

Mean ± SD (n=3)

※1: α -Amylase, ※2: Acid-resistant α -Amylase, ※3: Glucoamylase, ※4: β -Glucosidase, ※5: Cellulase, ※6: Xylanase

※7: Acid Protease, ※8: Acid Carboxypeptidase, ※9: Lipase

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

いても安定である AsAA 活性は、白麹および黒麹が黄麹と比べて10倍程度高かった。AA 活性と AsAA 活性を比較すると、白麹および黒麹の2種では大差は認められなかったが、黄麹では AsAA 活性は1%以下に低下した。黄麹を用いて一次醗を作製する際に、白麹や黒麹を用いた一次醗と同じ pH3 付近にまで補酸すると、黄麹の AA 活性はほとんど失活してしまう¹⁸⁾ことから、補酸時の醗の pH 管理は非常に重要である。GA 活性は黄麹が最も高かった。岩野ら¹⁵⁾は黄麹の GA 活性は、AA 活性の至適 pH とは異なり pH3~4 においても高い相対活性を有していると報告しており、GA 活性においては仮に補酸を行い、低 pH 条件になっても十分な活性を有していることが考えられる。BG 活性は、白麹および黒麹が黄麹の約10倍以上の活性を有していた。太田ら¹²⁾が報告した黄麹および黒麹での BG 活性の比率に類似していたが、白麹の BG 活性は本研究に用いた麹では黒麹と同等の活性を示し、有意差は認められなかった。この結果は、太田らの黒麹が白麹と比べて約2倍生産するとの報告と異なった。これは本研究で得られた黒麹の BG 活性がこれまでの報告と比べて低い活性では無いことや、製麹温度がほぼ同じ経過であったことから、本研究で用いた白麹菌の特徴として BG 活性が高い菌株である可能性が考えられる。CEL 活性も BG 活性と類似した傾向を示し、白麹および黒麹が黄麹の約3倍高かった。XY 活性は、白麹が黄麹および黒麹と比べ1.3~1.5倍程度高かった。この酵素はキシロース生成に関与し、蒸留中にキシロース、クエン酸およびアミノ酸との相互作用により、焼酎の香味の特徴のひとつであるフルフラール生成に寄与する¹⁹⁾と考えられる。

タンパク質分解系の酵素である AP 活性および ACP 活性の中で、AP 活性は白麹および黒麹が黄麹と比べ3~4倍高く、ACP 活性は黄麹が白麹や黒麹よりも2~3倍高い結果となり、有意差が認められた。

所定分析法注解¹¹⁾に記載してある麹の平均酵素活性では、AP 活性は清酒こうじ（黄麹）が2,285 U、しょうちゅう米こうじ（白麹）が29,101 U、泡盛こうじ（黒麹）が17,529 Uと、本研究の黄麹、白麹、黒麹の活性は類似した傾向を示した。ACP 活性は清酒こうじ（黄麹）が7,750 U、しょうちゅう米こうじ（白麹）が9,224 U、泡盛こうじ（黒麹）が4,447 Uとなっており、本研究の白麹の活性よりも黄麹の活性の方が高い結果とは異なっていた。これらの傾向や値の違いは、本研究では同じ原料米および精米歩合の米を用いていることや種麹、菌株特性などが影響している可能性が考えられる。LIP 活性は、黄麹が最も低く、白麹および黒麹の4~10分の1の活性であった。白麹は黒麹と比べて2.6倍の活性を有していた。米麹を使わずに酵素剤で作製した焼酎よりも米麹を用いた焼酎では、中鎖脂肪酸のエチルエステル (C6-C12) が多く含まれていることが認められており⁵⁾、米麹中のリパーゼが長鎖脂肪酸からのエチルエステル生成に関与している²⁰⁾ことが考えられる。

白麹と黒麹を比較すると、全体的に類似した傾向を示すものの白麹が黒麹と比べて出麹酸度および酵素活性共に高い値であった。特に、AA 活性、AsAA 活性等の液化に関与する酵素、XY 活性、LIP 活性、AP 活性および ACP 活性等の醗中のアミノ酸濃度や焼酎の香気成分生成に関わってくる可能性のある酵素が1.3~2.5倍と差異の大きい結果となり、有意差が認められた。白麹の種麹として使用される *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* は黒麹の種麹菌株の *A. luchuensis* の白色変異株である²¹⁾。一方で黒麹の市販種麹は白麹のように生酸性と酵素活性が両方とも高い菌株を単菌で使わず、生酸性が低い酵素活性が高いタイプの *A. luchuensis* var. *awamori* と生酸性は高いが酵素活性がやや低いタイプの *A. luchuensis* var. *saitoi* を混ぜた複菌となっていることがほとんどであ

る。酵素活性や麹酸度の違いに関しては、単菌および複菌の違いや黒麹の菌株の配合比でもバランスは異なってくる事が示唆される。

2-2. 各種麹を用いた小仕込み試験と蒸留

各種麹を用いて製麹した黄麹、白麹、黒麹を用いて芋焼酎の小仕込み試験を行った。なお、黄麹を用いる仕込みでは補酸を行う場合があるが、黄麹のAA活性が失活してしまうこと¹⁰⁾、乳酸を用いて補酸した焼酎は乳酸エチルが多く含まれる傾向がある⁴⁾ことなどから、今回の仕込みでは補酸はせずに行った。

一次醪および二次醪の発酵経過は黄麹醪の二次醪初期の発酵がやや緩慢になった。しかしながら、最終的な炭酸ガス発生による重量減少積算値では白麹および黒麹醪に比べて黄麹醪は若干少ないものの、順調な発酵が行われた。二次仕込み直前の一次醪および二次醪発酵終了時の醪の分析結果をそれぞれ Table 3 および Table 4 に示す。

醪が生酸菌により汚染されると乳酸や酢酸が醪中に増加する。一次醪および二次醪のpHは、黄麹醪が白麹および黒麹醪と比べて中性側の値であった。また、麹酸度が低い値であったことから、黄麹製でも生酸菌などにより汚染されることなく発酵できたといえる。また、このことは酢酸を主成分とする揮発酸度には大差がないことから裏付けられる。アミノ酸度は、一

次醪では黄麹醪が最も高い値であったが、二次醪では白麹および黒麹醪が高い値であった。醪のアルコール濃度も同様に一次醪では黄麹醪が最も高く、二次醪では白麹および黒麹醪が若干高かった。二次醪初期の流動性は、黄麹醪は白麹および黒麹醪と比べて低かった。プロテアーゼ剤を添加して芋焼酎を仕込むと醪の流動性が向上し、それに伴ってアルコール収得量が増加する¹⁷⁾ことが報告されている。また、中村ら²²⁾は麦焼酎製造で発生する蒸留粕を仕込み水に利用した返し仕込み法において、醪の粘度を低下する方法としてセルラーゼの効果について報告している。白麹および黒麹醪は黄麹醪と比べ、AP活性とCEL活性が高いため、醪初期の流動性が高くなり、発酵終了時のアルコール濃度の差異に繋がったと推察される。発酵終了時の糖濃度は、直糖に大差はなかったが、全糖は白麹および黒麹醪と比べて黄麹醪が高かった。芋焼酎はサツマイモに多くの食物繊維が含まれている。この食物繊維が全糖の値の大部分を占める。白麹および黒麹醪はCEL活性が黄麹と比べて高いため、食物繊維の一部が加水分解され、酵母に資化されたため、全糖の値が低くなり、醪のアルコール濃度が高くなったと考えられる。

酵母の総菌数および生菌数はすべての醪で大差はなかった。また、生菌率は白麹および黒麹醪が黄麹醪と比べて、一次醪および二次醪共に低かった。これは、

Table 3 Analysis of 1st ferment *moromi* (4th day *moromi*)

	pH	Acidity	Amino acidity	Moromi alcohol (%)	Volatile acidity	Density of yeast		
						Total ($\times 10^8$ cells/g)	Viable ($\times 10^8$ cells/g)	Rate (%)
Yellow <i>koji</i>	4.7 $\pm$ 0.0 ^a	3.5 $\pm$ 0.1 ^a	9.5 $\pm$ 0.3 ^a	18.0 $\pm$ 0.2 ^a	3.6 $\pm$ 0.1 ^a	1.9 $\pm$ 0.1 ^a	1.3 $\pm$ 0.1 ^a	71.5 $\pm$ 3.2 ^a
White <i>koji</i>	3.1 $\pm$ 0.1 ^b	32.8 $\pm$ 0.7 ^b	5.2 $\pm$ 0.2 ^b	16.5 $\pm$ 0.0 ^b	3.8 $\pm$ 0.2 ^a	1.9 $\pm$ 0.1 ^a	1.1 $\pm$ 0.2 ^a	58.7 $\pm$ 3.8 ^a
Black <i>koji</i>	3.1 $\pm$ 0.1 ^b	29.7 $\pm$ 0.6 ^c	5.9 $\pm$ 0.1 ^c	17.2 $\pm$ 0.3 ^a	3.7 $\pm$ 0.2 ^a	1.8 $\pm$ 0.2 ^a	1.2 $\pm$ 0.1 ^a	68.3 $\pm$ 0.5 ^a

Mean $\pm$ SD (n=3)

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

Table 4 Analysis of 2nd ferment *moromi* (13th day *moromi*)

	pH	Acidity	Amino acidity	Moromi alcohol (%)	Volatile acidity	Sugar		Density of yeast		
						Total (%)	Reducing (%)	Total ($\times 10^8$ cells/g)	Viable ($\times 10^8$ cells/g)	Rate (%)
Yellow <i>koji</i>	5.2 $\pm$ 0.1 ^a	2.8 $\pm$ 0.1 ^a	2.6 $\pm$ 0.1 ^a	14.7 $\pm$ 0.3 ^a	1.2 $\pm$ 0.1 ^a	2.3 $\pm$ 0.2 ^a	0.2 $\pm$ 0.1 ^a	1.7 $\pm$ 0.2 ^a	0.9 $\pm$ 0.2 ^a	50.5 $\pm$ 2.4 ^a
White <i>koji</i>	4.2 $\pm$ 0.1 ^b	8.9 $\pm$ 0.3 ^b	3.0 $\pm$ 0.1 ^b	15.3 $\pm$ 0.3 ^a	1.5 $\pm$ 0.1 ^a	1.8 $\pm$ 0.2 ^b	0.3 $\pm$ 0.1 ^a	1.9 $\pm$ 0.1 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^b	20.5 $\pm$ 5.5 ^b
Black <i>koji</i>	4.3 $\pm$ 0.2 ^b	8.2 $\pm$ 0.3 ^b	3.0 $\pm$ 0.1 ^b	15.3 $\pm$ 0.3 ^a	1.5 $\pm$ 0.1 ^a	1.8 $\pm$ 0.2 ^b	0.3 $\pm$ 0.1 ^a	1.9 $\pm$ 0.1 ^a	0.3 $\pm$ 0.1 ^b	16.3 $\pm$ 3.0 ^b

Mean $\pm$ SD (n=3)

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

Table 5 Analysis of alcohol levels and *shochu*

	Absolute alcohol (mL)	Unrefined <i>shochu</i> (mL)	Unrefined <i>shochu</i> Alc. content (%)	Distillation percentage (%)
Yellow <i>kōji</i>	127.0 ± 1.2 ^a	337 ± 3 ^a	37.7 ± 0.3 ^a	95.3 ± 1.6 ^a
White <i>kōji</i>	131.5 ± 4.6 ^{ab}	345 ± 11 ^a	38.1 ± 0.2 ^{ab}	95.3 ± 2.0 ^a
Black <i>kōji</i>	132.4 ± 2.1 ^{bc}	342 ± 3 ^a	38.7 ± 0.4 ^{bc}	95.6 ± 2.6 ^a

Mean ± SD (n=3)

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

焼酎酵母は耐酸性であるが、低 pH 環境は酵母の生育にはストレスを受けるためと考えられた。また、酵母が温度や濃糖、pH のストレスを受けたときにも揮発酸度が上昇する²³⁾。揮発酸度は、各麹を用いた醗で差は少なかった。黄麹醗は、白麹および黒麹醗と比較して pH のストレスは強く受けていないと考えられるが、一次醗末期のアルコール濃度が黄麹醗では白麹および黒麹醗よりも高いことから、揮発酸度が上昇したと考えられる。

純アルコール量、原酒量および原酒アルコール量を Table 5 に示す。蒸留歩合は各麹共に 95% 以上となり問題の無い蒸留が行われた。また、純アルコール量、原酒量、原酒アルコール濃度では、白麹および黒麹製のもので高い結果が得られ、醗のアルコール濃度、発酵経過と同様の傾向が得られた。

2-3. 一次醗および二次醗のアミノ酸分析

アミノ酸の一部は発酵過程で酵母の代謝によって高級アルコールに変換²⁴⁻²⁶⁾される。また、メイラード反応やストレッカー分解といった加熱反応によってアルデヒドに変換²⁷⁾され、芋焼酎においてもアルデヒド類の増加が認められている¹⁷⁾。一次醗および二次醗のアミノ酸組成を分析した結果をそれぞれ Fig.1 および Fig.2 に示す。一次醗では黄麹醗、二次醗では白麹および黒麹醗の総アミノ酸濃度が高くなり、黄麹醗と白麹および黒麹醗で有意差が認められた。この結果は、一次醗および二次醗のアミノ酸度の値と傾向が類似している。一次醗と二次醗の総アミノ酸濃度が逆転した要因として、サツマイモを投入した二次醗初期に黄麹醗の流動性は低下したが、白麹および黒麹醗は AP 活性および CEL 活性が高いため、醗の流動性が高くなりタンパク質や食物繊維の分解が進んだことが考えられる。

ヒスチジンとアルギニン以外のアミノ酸は、一次醗では黄麹醗が白麹および黒麹醗と比べて高い濃度であった。一次醗では高級アルコール生成に関与するスレオニン、バリンおよびロイシンの濃度は、黄麹醗が白麹および黒麹醗と比べて高かったが、二次醗ではそれらの濃度が逆転した。黄麹醗のアルギニン濃度は一次醗および二次醗ともに、白麹および黒麹醗と比べて低かった。岩野ら^{28,29)}は、酵母は取り込みやすいアミノ酸から順次利用し、発酵により減少したアミノ酸としてアルギニンが最も減少率が大いと言っている。筆者ら¹⁹⁾は酵素添加条件では麹のみの条件の醗よりも初発のアミノ酸濃度は増加をしたが、醗末期になるとアルギニン濃度は酵素剤添加条件で低くなると報告している。また、秋田ら³⁰⁾はアルギニンの消費量が減少するカナバリン耐性株では高級アルコール生成に関係するバリン、ロイシンの消費量が増加することを報告している。黄麹醗では一次醗はアルギニンを多く消費しアルギニン濃度が減少したものの、二次醗ではアルギニンの残存量が少なかったこともあり、高級アルコール生成に関わるアミノ酸やその他のアミノ酸を酵母が積極的に取り込んだ可能性が考えられる。黄麹醗では二次醗で高級アルコール生成に関わるアミノ酸濃度が大きく減少していることから、黄麹製の焼酎の高級アルコール類の濃度が白麹および黒麹製のものと比較して高くなる可能性が考えられる。

2-4. 一次醗および二次醗の有機酸分析

クエン酸を高濃度含む白麹および黒麹を用いた醗は、pH が低下するため高温多湿の条件下でも安全な醸造が行える¹⁰⁾。しかし、黄麹はクエン酸生成能が低いいため、清酒では生醗造りや山麴造りなど乳酸菌を活用した仕込みや乳酸を含む水で仕込みを行う速醸仕込みで醗の腐造を防ぐ方法もある³¹⁾。醗中の酸組成は、

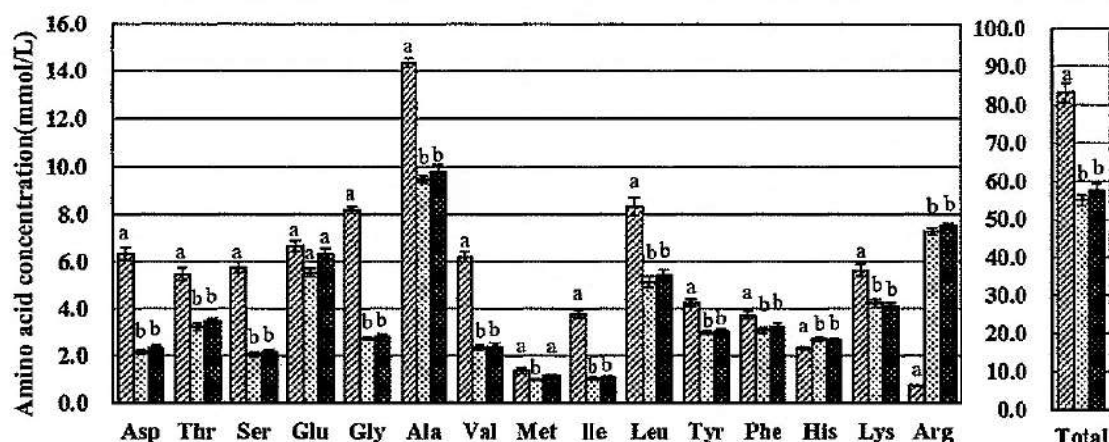


Fig.1 Amino acid composition and concentration of *imo-shochu* 1st *moromi* (4th day *moromi*) by different *koji*.
Symbol: ▨, Yellow *koji* 1st; ▤, White *koji* 1st; ■, Black *koji* 1st;
The different letters (a,b,c) show significant differences (p -value < 0.05).

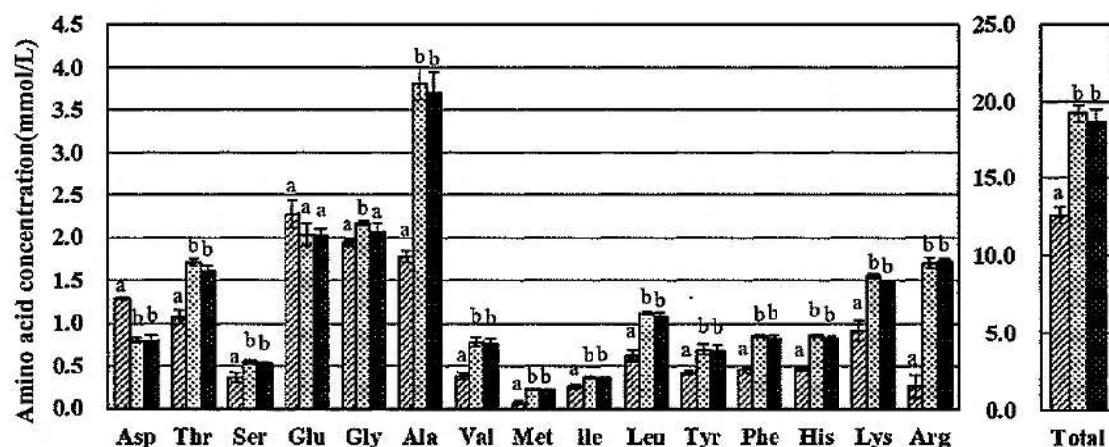


Fig.2 Amino acid composition and concentration of *imo-shochu* 2nd *moromi* (13th day *moromi*) by different *koji*.
Symbol: ▨, Yellow *koji* 2nd; ▤, White *koji* 2nd; ■, Black *koji* 2nd;
The different letters (a,b,c) show significant differences (p -value < 0.05).

香気生成に影響を与える可能性もあることから、焼酎醪中の有機酸組成および濃度を測定した結果を Fig.3 および Fig.4 に示す。

黄麹、白麹および黒麹醪の一次醪および二次醪の総有機酸濃度は酢酸度とそれぞれ正の相関が得られた。白麹および黒麹醪では一次醪の総有機酸濃度が二次醪と比べて約 2.3 倍高かったが、黄麹醪では大差がなかった。二次醪の仕込みの際に原料のサツマイモが入ることから、麹や一次醪から持ち越される有機酸の濃度

はサツマイモからの持ち込みも多少はあるものの一次醪よりも薄まる。しかし、黄麹醪では二次醪末期は一次醪末期の時点で総有機酸濃度が大きく変わらなかった。白麹および黒麹醪と比べて、黄麹醪において酵母は積極的に有機酸を生成したためと考えられる。

焼酎醪中の有機酸の消長は、白麹および黒麹醪では出麹時にはクエン酸の濃度が高く、発酵が進むにつれてそれぞれの有機酸の消長が認められる。本研究では、黄麹、白麹および黒麹を用いているが、クエン酸につ

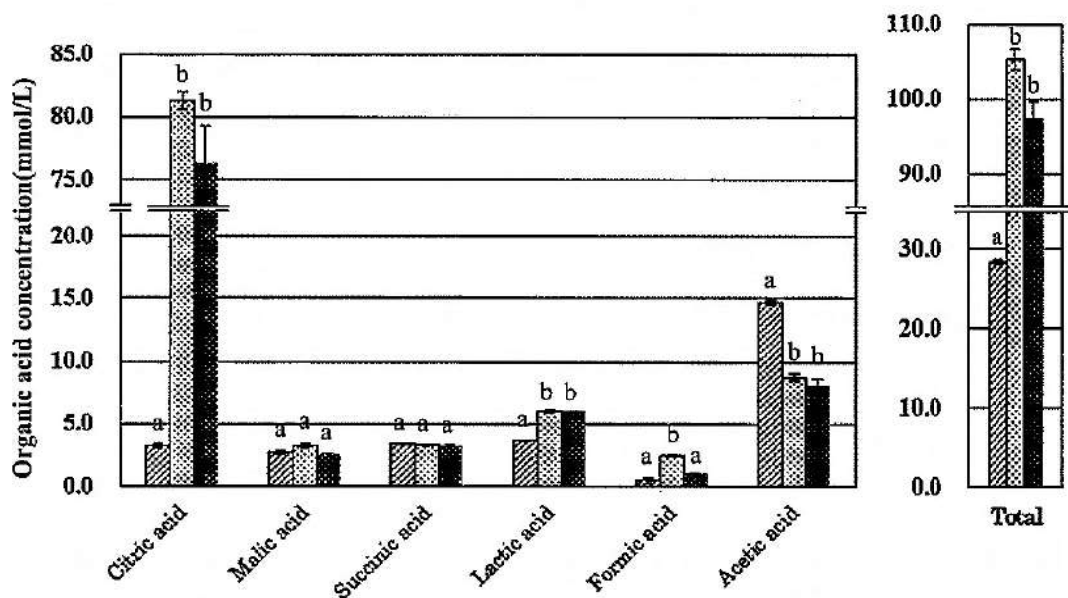


Fig.3 Organic acid composition and concentration of *imo-shochu* 1st *moromi* (4th day *moromi*) by different *koji*

Symbol: Yellow *koji* 1st ; White *koji* 1st ; Black *koji* 1st ;
The different letters (a,b,c) show significant differences (p -value < 0.05).

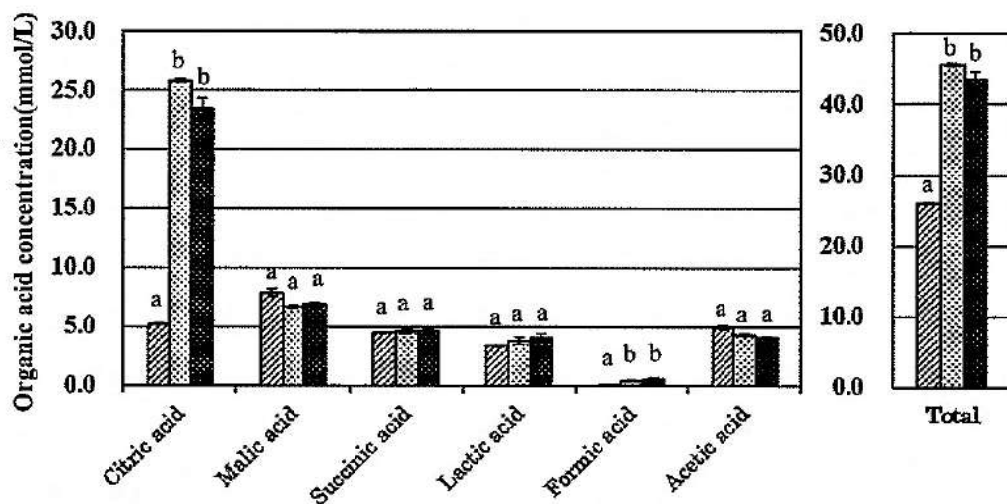


Fig.4 Organic acid composition and concentration of *imo-shochu* 2nd *moromi* (13th day *moromi*) by different *koji*

Symbol: Yellow *koji* 2nd ; White *koji* 2nd ; Black *koji* 2nd ;
The different letters (a,b,c) show significant differences (p -value < 0.05).

いては白麹および黒麹醗では同様の傾向を示した。清酒酵母ではリンゴ酸、コハク酸、乳酸の生成が明らかとなっており^{32,33)}、各麹共に大きな差異が認められな

いのは酵母由来の有機酸と考えられる。しかし、有機酸の中でリンゴ酸は、一次醗と比べて二次醗で増加していることと、瀬戸口ら³⁴⁾の報告によると二次醗即

下の有機酸はリンゴ酸のみが増加していることから、原料および酵母由来の両方の可能性が考えられる。また、瀬戸口らの報告³⁴⁾では一次醪末期および二次醪末期共に乳酸濃度よりもコハク酸濃度が3倍程度多かったが、本研究では、一次醪末期では乳酸濃度はわずかに多く、二次醪末期ではコハク酸濃度がわずかに高い値となり、乳酸およびコハク酸濃度の差異は少なかった。この二つの試験では使用している酵母が異なることから、リンゴ酸、コハク酸、乳酸の濃度については使用した焼酎酵母による可能性が示唆される。乙酸濃度は各麹醪共に一次醪末期の方が高く、二次醪末期の濃度が低かった。また、黄麹醪よりも白麹および黒麹醪の方が高く、違いは麹由来であると考えられる。酢酸濃度は、他の有機酸とは異なり黄麹醪で最も高く、一次醪末期では白麹および黒麹醪の約1.7倍と有意差が認められ、二次醪末期では約1.2倍となり有意差は認められなかった。酵母が温度や濃糖、pHのストレスを受けたときにも揮発酸度が上昇する²⁹⁾。黄麹では一次醪末期のアルコール濃度が白麹および黒麹醪に比べやや高くなっていることから、醪環境が酵母にストレスを与え、酢酸を生成した可能性が考えられる。しかし、揮発酸度は一次醪末期および二次醪末期で各麹醪共に顕著な差異は認められないため、酢酸以外の関与も考えられる。

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差異を検討した。

市販種麹を用いて作製した麹は、麹酸度は白麹および黒麹で高く、黄麹は非常に低い値であった。酵素活性ではAA活性は黄麹が白麹および黒麹と比較して非常に高い活性であったが、酸性条件下での液化に関与するAsAA活性は白麹および黒麹で黄麹の10倍の活性となった。白麹および黒麹ではBG活性、CEL活性、AP活性、LIP活性が黄麹よりも高い。白麹と黒麹の比較では、BG活性およびCEL活性以外の酵素活性は白麹が高い傾向を示した。

得られた麹を用いて小仕込みを行ったところ、各麹共に問題なく発酵が行われた。クエン酸生成能が高い白麹および黒麹醪のpHおよび酢酸度は黄麹醪と比べ、一次および二次醪共にpHは低く、酸度は高かった。

黄麹醪では二次醪の初期に白麹および黒麹醪とは異なり、醪の流動性が低下した。黄麹は白麹および黒麹よりもAP活性およびCEL活性が低いことから、流動性に差異が生じ、醪のアルコール濃度も白麹および黒麹醪が高かった。また、AP活性の高い白麹および黒麹ではアミノ酸濃度は黄麹よりも高かった。一次醪末期の総アミノ酸濃度は黄麹醪が高く、二次醪末期では白麹および黒麹醪が高くなった。黄麹醪では一次醪から二次醪にかけて高級アルコール生成に関わるアミノ酸の減少が大きかった。醪中の有機酸は白麹および黒麹醪では麹由来のクエン酸濃度が高くなった。

参考文献

- 1) 蟹江松雄：化学と生物，10，525-531（1972）
- 2) 河内源一郎：黒麹，醸造雑誌（1919）
- 3) 神戸健輔：日本醸造協会誌，37，671-679（1942）
- 4) Yoshizaki, Y., Yamato, H., Takamine, K., Tamaki, T., Ito, K., and Sameshima, Y.: *J. Inst. Brew.*, 116, 49-55（2010）
- 5) 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）
- 6) 瀬戸口智子，神渡巧：日本醸造協会誌，109，49-59（2014）
- 7) 瀬戸口智子，神渡巧：日本醸造協会誌，109，801-807（2014）
- 8) 瀬戸口智子，神渡巧：日本醸造協会誌，111，345-353（2016）
- 9) 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）
- 10) 西谷尚道編，本格焼酎製造技術（財団法人日本醸造協会，東京）（1991）
- 11) 注解編集委員会編，第四回改正国税庁所定分析法注解（財団法人日本醸造協会，東京）（1993）
- 12) 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）
- 13) 山田浩一，太田安英，町田晴夫：日本農芸化学会誌，36，10（1962）
- 14) 岩野君夫，福田清治，三上重明，椎名敏：日本醸造協会誌，84，179-182（1989）
- 15) 柏木豊：発酵糸状菌の酵素 微生物遺伝子資源利用マニュアル，（16）（2004）
- 16) 日本醤油研究所 編：しょうゆ試験法（財団法人

- 日本醤油研究所，東京）（1985）
- 17) 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），517-523（2017）
 - 18) 岩野君夫，三上重明，福田清治，椎名敏，島田豊明：日本醸造協会誌，81，490-494（1986）
 - 19) 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）
 - 20) 工藤哲三，水谷政美，本部恭平，太田一良：宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告，46，159-164（2001）
 - 21) 北原覺雄，吉田満智子：醱酵工学，27，162-166（1949）
 - 22) 中村希世，柿元智，森村茂，木田健次，真野直也：日本生物工学会九州支部大会講演要旨集，10（1998）
 - 23) 瀬戸口眞治，亀澤浩幸，高峯和則，安藤義則，間世田春作：鹿児島県工業技術センター平成12年度研究発表会予稿集（2000）
 - 24) K. OUCHI, Y. YAMAMOTO, M. TAKAGISHI, and H. AKIYAMA : *J. Ferment. Technol.*, 58, 301（1980）
 - 25) 大内弘造，高岸正邦，山本泰彦，秋山裕一：醱酵工学，59（1），9-16（1981）
 - 26) 秋田修，蓮尾徹夫，大場俊輝：日本醸造協会誌，81，626-632（1986）
 - 27) 奥村烝司：日本醸造協会誌，88（3），178-187（1993）
 - 28) 岩野君夫，飯塚尚彦，斎藤和夫，布川弥太郎：日本醸造協会誌，76，272-275（1981）
 - 29) 岩野君夫，幡宮顕仁，中村拓郎，渡辺誠衛，伊藤俊彦，中沢伸重：日本醸造協会誌，99，735-742（2004）
 - 30) 秋田修，蓮尾徹夫，原昌道，吉沢淑：醱酵工学会誌，67，7-14（1989）
 - 31) 日本醸造協会 編：清酒製造技術（財団法人日本醸造協会，東京）（1979）
 - 32) 林田正典，上田隆蔵，寺本四郎：*J. Ferment. Technol.*, 46, 85-91（1968）
 - 33) 原昌道，戸塚昭，水野昭博，讀岐仁史：日本醸造協会誌，74，838-841（1979）
 - 34) 瀬戸口眞治，山口巖，浜崎幸男：鹿児島県工業試験場年報，33，33-35（1987）