

カシャーサの揮発性成分組成の特性

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	福田, 央 韓, 錦順
発行元	日本醸造協会
巻/号	113巻2号
掲載ページ	p. 105-114
発行年月	2018年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カシャーサの揮発性成分組成の特性

福田央・韓錦順

(独立行政法人 酒類総合研究所)

平成 28 年 11 月 1 日受理

Characteristics of the volatile composition of Cachaça

Hisashi FUKUDA and Jinshun HAN

(National Research Institute of Brewing, 3-7-1 Kagamiyama Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0046)

To classify the compounds of rum and imported cachaça, we analyzed 78 volatile compounds by solid phase micro extraction (SPME) and 6 volatile compounds by direct head space analysis. There was a significant difference for 10 volatile compounds between cachaça and rum made in Caribbean and Indian Ocean regions. In a stepwise discriminant analysis procedure using 3 volatile compounds (β -phenethyl alcohol, diethyl succinate and S-methyl thioacetate), 31 of 33 samples were rightly classified. Estimating the accuracy of the discriminant analysis by cross validation, the ratios of appropriate classification were 90.9%. For cachaça and Japanese rum, there was a significant difference in 18 of 84 volatile compounds. All of 16 samples were rightly classified by 2 volatile compounds (citronellol and furfural). When estimating the accuracy of the discriminant analysis, the ratios of appropriate classification were 100%.

Key words : カシャーサ, ラム酒, 揮発性成分, 判別分析

諸言

カシャーサ (カシャッサ又はピンガ) は, サトウキビを原料としたブラジルで製造されている蒸留酒である。カシャーサは, サトウキビを原料としている点でラム酒と同様の商品であるが, サトウキビの搾汁を原料としている点¹⁾, ラム酒のアグリコールラムと類似している。

カシャーサの成分に関しては, カシャーサ製造時の蒸留機の違いによる成分比較²⁾, カシャーサ及びカシャーサ以外の蒸留酒の二次元ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析装置 (GC × GC-TOFMAS) による成分比較³⁾, カシャーサとラム酒の 3 種類の低沸点香氣成分, 3 種類の金属イオン及び 1 種類の有機酸による主成分分析⁴⁾, 16 種の芳香成分によるカシャーサと

ラム酒の比較解析⁵⁾などが報告されている。カシャーサとラム酒の主成分分析では, 18 サンプルのカシャーサと 21 サンプルのラム酒が分類され⁴⁾, 16 種の芳香成分によるカシャーサとラム酒の比較解析では, オイゲノールやフェニル酢酸エチルの含量の違いが報告されている⁵⁾。しかし, これらの報告では, カシャーサの対照として使用されたラム酒に関し, 例えばアグリコールラムやインダストリアルラムなどの内訳や成分含量の平均値と標準偏差等の点で明確でない点がある^{4,5)}。そこで, 日本で流通しているカシャーサについてラム酒と成分を比較し, 酒類の商品表示と成分との関係性を検討することとした。

本報告では, 日本に輸入されているカシャーサの内, その性状が直接反映しやすいホワイトスピリッツ (樽貯蔵等により着色していない製品) の成分を分析し,

既に分析したラム酒と比較した。その結果、カシヤーサの特徴的成分は既報⁴⁾とは異なり、カシヤーサとラム酒の類似性は、比較するラム酒のカテゴリーによっても異なっていた。そこで、さらに類似性の高いラム酒とカシヤーサとの判別分析を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料及び試薬

日本国内に輸入・流通しているカシヤーサ、AGUACANA, WEBER HAUS SILVER, WEBER HAUS PREMIUM SILVER, YPIOCA CRYSTAL, VELHO BARREIRO, TATUZINHO, CACHACA 51 の7点を用いた(2015年で国内流通しているカシヤーサのほとんどのブランドであり、ホワイトスピリッツ(樽貯蔵等により着色していない製品))である。また、これらの試料の分析データの他に、既報で購入したラム酒の分析データを用いた^{6,7)}。

アメリカ合衆国財務省酒類タバコ税貿易管理局は、カシヤーサをアルコール濃度が38~48%としている。試料の内、AGUACANAは37.5%で、米国でカシヤーサとして分類されているかは確認できていない。また、カシヤーサのLEBLONは、樽貯蔵されていることから試料の対象から外した。

分析した84成分の内訳及び分析条件をTable 1に示す。

2. 低沸点香氣成分(アセトアルデヒド, 酢酸エチル, n-プロピルアルコール, イソブチルアルコール, 酢酸イソアミル及びイソアミルアルコール)

(1) ガスクロマトグラフ装置及び分析条件

ガスクロマトグラフはAgilent Technologies 7890AにG1888ヘッドスペースサンプラーを設置したものを使用した。カラムはAgilent Technologies DB-WAX ϕ 0.32mm \times 30m, 0.25 μ m, カラム温度は85 $^{\circ}$ C, 注入口温度を200 $^{\circ}$ C, FID温度を250 $^{\circ}$ C, キャリアガスはHeで流量は2.2ml/分, スプリット比は50対1とした。

(2) 試料の調製及び分析

カシヤーサをアルコール分20% (v/v) に調製して用いた。検体1.0mlと内部標準溶液0.2mlを10ml容ガラスバイアルに入れ密栓し、50 $^{\circ}$ Cのアルミブロックバス中で30分間加熱した後、ヘッドスペースガス1mlを自動的にガスクロマトグラフに注入した。内部

標準溶液には、n-アミルアルコール(東京化成工業株, >98% (GC) アルコール及びアセトアルデヒド定量用) 0.1% (w/v) 及びカブロン酸メチル(東京化成工業株, >99.5% (GC) エステル定量用) 1% (w/v) の20% (v/v) エタノール水溶液を使用した。一般的なカシヤーサ及びラム酒のアルコール度数は40%であることから、特に言及しない限り定量値を40%に換算した。

3. 中高沸点香氣成分(上記以外の78成分)

(1) GC/MS装置及び分析条件

SPME抽出装置はAuto Injector (AOC-5000, 島津製作所)を用い、ガスクロマトグラフ質量分析計(GCMS-QP2010, 島津製作所製)を使用した。分析条件をTable 2に示す。

中沸点成分の2-メチル酪酸エチル, 吉草酸エチル, イソ吉草酸エチル, ジアセチル, イソブチルアルデヒド, 2-メチルブチルアルデヒド, イソバレールアルデヒド, イソ酪酸エチル, チオ酢酸S-メチル, 3-メチルチオプロピオン酸エチル, メチオナール, DMS, DMDS, DMTSは、65 μ m Polydimethylsiloxane / Divinylbenzene SPMEファイバーを用い、10mlのサンプル量を40 $^{\circ}$ Cで5分間Preincubation後、10分間ヘッドスペースから抽出を行った。

バニリンを除く高沸点香氣成分は、同ファイバーを用いPreincubation温度を60 $^{\circ}$ Cとし、5分間Preincubation後、30分間ヘッドスペースから抽出を行った。

バニリンは85 μ m Polyacrylate SPMEファイバーを用い、20mlのサンプル量を30 $^{\circ}$ Cで5分間Preincubation後、30分間ファイバーを試料中に直接浸漬し、液相から抽出を行った。

(2) 試料の調製及び分析

試料はアルコール濃度20% (v/v) に調製し、必要に応じて20% (v/v) エタノール水溶液で希釈した。絶対検量線法により定量し、一般的なカシヤーサ及びラム酒の規格であるアルコール度数40%に換算した。

4. 統計解析

統計解析には、SAS Institute Japan株式会社(JMP9.0)を使用した。当該ソフトを使用して、有意差検定(ノンパラメトリックなWilcoxon検定で5%以下)、判別分析(ステップワイズ法)及び判別精度を検討した。判別精度は10-fold cross validation (1/10の試料データを除いて新たに判別モデルを構築し、除

Table 1 Reagents used and compound analysis conditions in *cachaça*

Compound	Manufacturer	Compound analysis condition	Compound	Manufacturer	Compound analysis condition	
Acetaldehyde	W.P.C.	H.S.	Ethyl caprate	T.C.	SPME (P/D:60)	
Diacetyl	W.P.C.	SPME (P/D:40)	Propyl caprate	W.P.C.		
Isobutylaldehyde	T.C.		Isobutyl caprate	W.P.C.		
Isovaleraldehyde	T.C.		Isoamyl caprate	W.P.C.		
2-Methylbutylaldehyde	W.P.C.		Ethyl nonanoate	T.C.		
Nonanal	T.C.	SPME (P/D:60)	Ethyl undecanoate	A.A.		
2-Nonanone	T.C.		Ethyl pentadecanoate	T.C.		
Decanal	T.C.		Ethyl laurate	W.P.C.		
Benzaldehyde	N.T.		Ethyl myristate	W.P.C.		
Phenylacetaldehyde	W.P.C.		Ethyl palmitate	W.P.C.		
n-Propyl alcohol	T.C.		H.S.	Ethyl linoleate		W.P.C.
Isobutyl alcohol	T.C.			Ethyl oleate		N.T.
Isoamyl alcohol	T.C.			Ethyl stearate		W.P.C.
1-Hexanol	W.P.C.	β -Phenethyl acetate		W.P.C.		
1-Octanol	W.P.C.	SPME (P/D:60)	Ethyl phenylacetate	W.P.C.		
1-Octen-3-ol	W.P.C.		Ethyl cinnamate	W.P.C.		
1-Decanol	W.P.C.		Ethyl benzoate	W.P.C.		
Dodecanol	T.C.		Methyl salicylate	W.P.C.		
Tetradecanol	T.C.		Ethyl crotonate	T.C.		
β -Phenethyl alcohol	W.P.C.		Ethyl enanthate	W.P.C.		
Citronellol	W.P.C.		Ethyl lactate	W.P.C.		
Farnesol	K.C.		Diethyl succinate	W.P.C.		
Geraniol	W.P.C.		SPME (P/D:60)	Guaiacol	W.P.C.	
Linalool	W.P.C.			4-Vinylguaiacol	W.P.C.	
Nerol	T.C.			Eugenol	W.P.C.	
Nerolidol	T.C.			Rose oxides	W.P.C.	
α -Terpineol	W.P.C.	β -Ionone		W.P.C.		
Ethyl acetate	W.P.C.	H.S.		Damascenones	S.A.	
Isoamyl acetate	T.C.		Whisky lactone	S.A.		
Ethyl isobutyrate	W.P.C.	SPME (P/D:40)	Vanillin	W.P.C.		
Ethyl 2-methylbutyrate	A.A.		2-Pentylfuran	T.C.		
Ethyl valerate	W.P.C.		5-Methyl-2-furaldehyde	S.A.		
Ethyl isovalerate	T.C.		Furfural	T.C.		
2-Methylbutyl acetate	T.C.	SPME (P/D:60)	Methional	T.C.		
Hexyl acetate	W.P.C.		Ethyl 3-methylthiopropionate	A.A.		
Ethyl butyrate	W.P.C.		S-Methyl thioacetate	A.A.		
Ethyl caproate	T.C.		DMS	N.T.		
Isobutyl caproate	W.P.C.		DMDS	N.T.		
Isoamyl caproate	W.P.C.		DMTS	W.P.C.		
Ethyl caprylate	S.A.		SPME (P/D:60)	2,5-Dimethylpyrazine	T.C.	
Isobutyl caprylate	W.P.C.			2-Ethyl-5 (6) -methylpyrazine	S.A.	
Isoamyl caprylate	W.P.C.		α -Bisabolol	S.A.		

In this table the following abbreviations for manufacturers are used:

Alfa Aesar Co., Ltd. (A.A.) ; Kanto Chemical Co., Ltd. (K.C.) ; Nacalai Tesque Co., Ltd. (N.T.) ; Sigma-Aldrich Co., Ltd. (S.A.) ; Tokyo Chemical Industries Co., Ltd. (T.C.) ; and Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (W.P.C.) .

GC/head space method (H.S.) ; GCMS/Polydimethylsiloxane / Divinylbenzene SPME fiber/ Preincubate temperature 40°C . (SPME (P/D:40)) ;

GCMS/Polyacrylate SPME fiber/Preincubate temperature 30 °C . (SPME (P:30)) ; and GCMS/Polydimethylsiloxane / Divinylbenzene SPME fiber/Preincubate temperature 60°C . (SPME (P/D:60)) .

Table 2 GC-MS analysis conditions for high or middle boiling point volatile compounds.

Analysis equipment	SHIMADZU GCMS QP2010
Column	DB-5 30m × 0.25mm i.d., 1.00 μ m film
Carrier gas	Helium, 150 kPa
Oven	
High boiling point volatile compounds	50°C (2 min) to 200°C at 10°C /min to 250°C at 3°C /min (hold 2 min) to 320°C at 10°C /min
Middle boiling point volatile compounds and vanillin	40°C (2 min) to 200°C at 10°C /min to 250°C at 3°C /min (hold 2 min)
Injection	2min, splitless, 250°C
Ion source temperature	200°C
Detection	Total ion monitor
Scan range	m/z 35-200

いた試料について予測する操作を10回行い、全試料を予測することで判別精度を得る)により確認した。

結果及び考察

1. カシヤーサの揮発性成分

カシヤーサの揮発性成分を分析した。また、カシヤーサの揮発性成分の特徴を大まかに把握するため、既に報告したアグリコールラムとインダストリアルラムの成分含有量と比較検討した⁶⁾。その結果をTable 3に示す。なお、各成分についてカシヤーサの平均含量とサトウキビの搾汁を原料とする製品(アグリコールラム)の含量の平均値の差及びインダストリアルラムの含量の平均値の差を比較し、アグリコールラムとの差がインダストリアルラムとの差より小さい場合は、

Table3のType欄に「A」と表記し、逆の場合はType欄に「I」と表記した。なお、アグリコールラムとインダストリアルラムの平均含量が同じ場合は、表記しなかった。

その結果、カシヤーサは、80成分中51成分がアグリコールラムに、28成分がインダストリアルラムに近い含量であった。また、アグリコールラムとインダストリアルラムで含量の平均値が3倍以上異なる39成分でも、26成分がアグリコールラムに、13成分がインダストリアルラムに近い含量であった。このような成分の類似性は、カシヤーサとアグリコールラムは、廃糖蜜を原料としているインダストリアルラムとは異なり、いずれもサトウキビの搾汁を原料としている点での類似性が反映したものと推定され¹⁾、カシヤーサ

Table 3 The average and standard deviation of concentrations of volatile compounds of Cachaça, agricol rum, and industrial rum.

Compound (unit)	Cachaça		Agricol rum ^{Ref2}	Industrial rum ^{Ref2}	Compound (unit)	Cachaça		Agricol rum ^{Ref2}	Industrial rum ^{Ref2}
	Type	μg/l				Type	μg/l		
Acetaldehyde (mg/l)	60 ± 20	I	120.9 ± 90.8	63.2 ± 44.6	Ethyl caprate (mg/l)	4.27 ± 3.01	I	13.0 ± 11.3	2.8 ± 4.2
Diacetyl (μg/l)	4600 ± 4390	A	1940 ± 3660	533 ± 1190	Propyl caprate (μg/l)	15.9 ± 12.2	A	8.7 ± 9.0	3.7 ± 6.7
Isobutylaldehyde (μg/l)	158 ± 75	A	147 ± 164	230 ± 299	Isobutyl caprate (μg/l)	78.7 ± 88.8	A	50.0 ± 85.2	5.7 ± 7.4
Isovaleraldehyde (μg/l)	226 ± 106	A	219 ± 274	324 ± 341	Isoamyl caprate (μg/l)	778 ± 921	A	193 ± 188	40.1 ± 83.7
2-Methylbutylaldehyde (μg/l)	81 ± 38	A	114 ± 165	161 ± 209	Ethyl nonanoate (μg/l)	22.8 ± 11.5	I	40.6 ± 54.7	28.1 ± 123.7
Nonanal (μg/l)	21.7 ± 15.8	A	11.7 ± 11.8	2.5 ± 2.7	Ethyl undecanoate (μg/l)	30.3 ± 37.2	A	24.0 ± 44.4	3.2 ± 4.2
2-Nonanone (μg/l)	3.60 ± 2.16	A	3.8 ± 4.1	1.3 ± 1.6	Ethyl pentadecanoate (μg/l)	16.5 ± 20.9	I	61.8 ± 61.7	7.1 ± 12.6
Decanal (μg/l)	4.89 ± 2.83	A	3.5 ± 3.3	1.4 ± 2.7	Ethyl laurate (mg/l)	1.67 ± 1.13	I	4.97 ± 3.70	1.43 ± 2.68
Benzaldehyde (μg/l)	51 ± 24	A	38.3 ± 42.4	200 ± 789	Ethyl myristate (μg/l)	200 ± 181	I	599 ± 500	110 ± 194
Phenylacetaldehyde (μg/l)	2.1 ± 3.7	I	17.1 ± 59.5	11.6 ± 51.0	Ethyl palmitate (μg/l)	830 ± 664	I	2870 ± 3300	270 ± 462
n-Propanol (mg/l)	199 ± 46	I	225 ± 135	185 ± 189	Ethyl linoleate (μg/l)	394 ± 401	I	1450 ± 2390	161 ± 248
Isobutyl alcohol (mg/l)	190 ± 61	A	262 ± 145	92 ± 80	Ethyl oleate (μg/l)	104 ± 177	I	472 ± 803	89.0 ± 146.0
Isoamyl alcohol (mg/l)	617 ± 190	A	762 ± 325	258 ± 247	Ethyl stearate (μg/l)	33.9 ± 32.2	I	109 ± 202	121 ± 30.5
1-Hexanol (μg/l)	393 ± 405	I	867 ± 700	386 ± 461	β-Phenethyl acetate (μg/l)	161 ± 112	A	251 ± 544	9.7 ± 16.8
1-Octanol (μg/l)	98.6 ± 96.9	A	82.0 ± 77.6	39.3 ± 63.0	Ethyl phenylacetate (μg/l)	3.31 ± 2.70	I	7.84 ± 13.44	5.34 ± 7.39
1-Octen-3-ol (μg/l)	70.4 ± 74.1	A	63.5 ± 58.0	68.2 ± 150.2	Ethyl cinnamate (μg/l)	1.60 ± 1.64	A	1.58 ± 2.16	10.4 ± 54.8
1-Decanol (μg/l)	45.5 ± 46.9	A	26.4 ± 15.2	10.2 ± 13.5	Ethyl benzoate (μg/l)	16.2 ± 12.4	A	17.0 ± 15.0	18.2 ± 26.5
Dodecanol (μg/l)	28.6 ± 29.6	A	23.3 ± 19.0	5.1 ± 6.3	Methyl salicylate (μg/l)	34.1 ± 40.4	I	1640 ± 6730	536 ± 1920
Tetradecanol (μg/l)	54.9 ± 56.0	A	64.7 ± 68.7	12.6 ± 20.3	Ethyl crotonate (μg/l)	4.19 ± 6.20	A	2.99 ± 4.46	1.43 ± 2.68
β-Phenethyl alcohol (mg/l)	12.3 ± 8.4	A	10.2 ± 13.4	1.38 ± 5.00	Ethyl enanthate (μg/l)	9.98 ± 5.36	A	11.7 ± 8.2	13.6 ± 29.3
Citronellol (μg/l)	34.8 ± 12.1	A	16.9 ± 9.0	4.6 ± 7.4	Ethyl lactate (mg/l)	7.43 ± 12.33	A	6.72 ± 13.59	3.44 ± 9.18
Farnesol (μg/l)	740 ± 517	A	357 ± 341	38.0 ± 83.1	Diethyl succinate (μg/l)	423 ± 429	A	511 ± 1340	590 ± 1480
Geraniol (μg/l)	33.1 ± 16.0	A	14.6 ± 10.6	4.6 ± 8.3	Guaiacol (μg/l)	30.4 ± 18.9	-	136 ± 396	136 ± 415
Linalol (μg/l)	24.3 ± 15.9	A	20.4 ± 21.0	12.3 ± 22.3	4-Vinylguaiacol (μg/l)	36.2 ± 63.8	A	5.5 ± 11.0	1.9 ± 10.4
Nerol (μg/l)	3.75 ± 1.96	I	7.1 ± 8.7	4.4 ± 8.6	Eugenol (μg/l)	90.7 ± 55.1	I	32.7 ± 48.7	96.9 ± 270.4
Nerolidol (μg/l)	442 ± 434	A	326.3 ± 303.4	51.6 ± 88.4	Vanillin (mg/l)	0.07 ± 0.04	I	1.88 ± 3.75	1.12 ± 1.82
α-Terpineol (μg/l)	9.0 ± 8.4	I	21.0 ± 34.4	15.1 ± 36.8	2-Pentylfuran (μg/l)	0.85 ± 0.39	I	1.32 ± 1.44	0.71 ± 1.89
Ethyl acetate (mg/l)	116 ± 25	I	248 ± 175	143 ± 106	5-Methyl-2-furaldehyde (μg/l)	ND	A	145 ± 380	204 ± 374
Isoamyl acetate (mg/l)	2.75 ± 0.66	A	3.3 ± 2.4	1.8 ± 1.7	Furfural (mg/l)	0.06 ± 0.09	A	0.77 ± 1.05	0.81 ± 1.12
Ethyl isobutyrate (μg/l)	161 ± 204	I	435 ± 650	92 ± 126	Methional (μg/l)	ND	A	ND	3.9 ± 12.7
Ethyl 2-methylbutyrate (μg/l)	16.5 ± 15.4	I	63.4 ± 90.0	18.1 ± 22.4	Ethyl 3-methylthiopropionate (μg/l)	1.91 ± 2.05	A	2.84 ± 6.30	0.96 ± 2.71
Ethyl valerate (μg/l)	13.8 ± 6.7	I	19.5 ± 16.7	17.4 ± 25.0	S-Methyl thioacetate (μg/l)	71.4 ± 58.4	A	121 ± 12.5	0.9 ± 1.8
Ethyl isovalerate (μg/l)	24.3 ± 24.1	I	89.6 ± 129.2	26.1 ± 28.4	DMS (μg/l)	781 ± 706	A	966 ± 1410	64 ± 187
2-Methylbutyl acetate (μg/l)	69.1 ± 32.8	I	121 ± 88	68 ± 114	DMDS (μg/l)	7.72 ± 2.92	A	13.5 ± 18.2	14.7 ± 25.6
Hexyl acetate (μg/l)	1.77 ± 0.81	A	1.3 ± 2.7	4.7 ± 22.1	DMTS (μg/l)	0.38 ± 0.33	A	1.1 ± 3.1	2.3 ± 9.7
Ethyl butyrate (μg/l)	296 ± 172	A	393 ± 427	469 ± 798	2,5-Dimethylpyrazine (μg/l)	4.82 ± 12.77	A	4.8 ± 10.5	154 ± 283
Ethyl caproate (mg/l)	0.56 ± 0.52	I	0.94 ± 0.66	0.39 ± 0.55	2-Ethyl-5 (6)-methylpyrazine (μg/l)	0.84 ± 2.21	A	6.0 ± 19.7	13.6 ± 24.5
Isoamyl caproate (μg/l)	2.44 ± 3.93	A	3.53 ± 8.18	0.32 ± 0.84	α-Bisabolol (μg/l)	20.3 ± 298.8	A	18.3 ± 23.4	3.5 ± 7.6
Ethyl caprylate (μg/l)	7.52 ± 11.17	A	5.13 ± 5.67	1.93 ± 4.45					
Ethyl caprylate (mg/l)	2.72 ± 2.38	I	7.57 ± 6.06	1.70 ± 2.82					
Isobutyl caprylate (μg/l)	11.7 ± 14.5	A	8.1 ± 9.8	1.7 ± 2.8					
Isoamyl caprylate (μg/l)	248 ± 467	A	88.7 ± 130.3	15.5 ± 21.0					

The concentrations of volatile compounds are corrected depending on a 40% alcohol concentration.

Value means Average ± standard deviation

ND : not detected

Shaded areas mean average concentration of compounds is more than 3 times the difference between that of agricol rum and industrial rum.

Ref1: Type A means concentration of compounds in Japanese rum is closer to that of agricol rum than that of industrial rum.

Type I means concentration of compounds in Japanese rum is closer to that of industrial rum than that of Agricol rum.

Ref2: Reference (6) 福田 央, 韓 錦順: 醸協, 110, 261-275 (2015)

は全体として、アグリコールラムに近い性状を有していると考えられた。

なお、アグリコールラムとインダストリアルラムの平均含量の内、カシャーサが2倍以上高い成分は、ジアセチル、シトロネロール、ファルネソール、ゲラニオール、カプリル酸イソアミル、カブリン酸イソアミル、4-ビニルグアヤコール及びチオ酢酸-S-メチルであった。一方、低いカシャーサが半分以下の成分は、サリチル酸メチル、グアヤコール、5-メチル-2-フルアルデヒド、フルフラール、DMTS、2,5-ジメチルピラジン及び2-エチル-5(6)-メチルピラジンであった。

2. カシャーサとラム酒との成分比較

カシャーサ (n=7) とラム酒の生産地として認知度の高いフランスの海外県を含むカリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒 (n=26)、国産のラム酒 (n=9) ⁷⁾及び中南米、アジア、オーストラリア等の広範囲の地域のラム酒 (n=24) ⁶⁾の低沸点香氣成分及び中高沸点香氣成分の含量の平均値と標準偏差を Table 4 に示す。

カシャーサ (n=18) とラム酒 (n=21) の主成分分析の報告では ⁴⁾、ノルマルプロパノール、イソブチルアルコール及びイソアミルアルコールの平均値及び標準偏差 (文献4の Table2を参考に計算) は、カシャーサで各々 186 ± 73mg/L, 178 ± 74mg/L, 625 ± 113mg/L, ラム酒では各々 64 ± 64mg/L, 58 ± 55mg/L, 130 ± 117mg/L で、両者で平均値が3倍程度は異なり、統計解析でも有意差が確認された。しかし、今回の分析では、いずれの区分のラム酒の平均値もカシャーサと比べて顕著な差はなく、差がある場合でも1.5倍程度であり、統計解析でも有意差は確認されなかった。このような分析値の違いについて検討したところ、海外のインダストリアルラムで当該成分が低い傾向が認められたことから、広範囲の地域のラム酒 (n=24) の内、海外のインダストリアルラム (n=9) でノルマルプロパノール、イソブチルアルコール及びイソアミルアルコールの平均値及び標準偏差を求めたところ、各々 122 ± 118mg/L, 86 ± 85mg/L, 135 ± 98mg/L と低くなった。以上のことから、カシャーサ (n=18) とラム酒 (n=21) の主成分分析の報告で ⁴⁾、ノルマルプロパノール、イソブチルアルコール及びイソアミルアルコールに差が認められたのは、選択された試料にインダストリアルラムが多く含

Table 5 The average, standard deviation, median, minimum, and maximum of concentrations of volatile compounds for discriminant analysis.

Group	Number of samples	β-Phenethyl alcohol					S-Methyl thiocacetate						
		Number of detections	Average (ng/l)	Standard deviation (ng/l)	Median (ng/l)	Minimum (ng/l)	Maximum (ng/l)	Number of detections	Average (ng/l)	Standard deviation (ng/l)	Median (ng/l)	Minimum (ng/l)	Maximum (ng/l)
Cachaça	7	7	12.3	8.4	10.3	2.8	27	7	71.4	38.4	80.8	3.7	183.1
	26	25	3.4	3.7	2.3	ND	12.4	14	12.1	19.4	3.7	ND	64.5
Rum made in Caribbean and Indian Ocean regions	7	7	423	429	283	8	1160	7	423	429	283	8	1160
	26	26	103	123	56	3.4	490	26	103	123	56	3.4	490
Group	Number of samples	Number of detections	Average (ng/l)	Standard deviation (ng/l)	Median (ng/l)	Minimum (ng/l)	Maximum (ng/l)	Number of detections	Average (ng/l)	Standard deviation (ng/l)	Median (ng/l)	Minimum (ng/l)	Maximum (ng/l)
	Cachaça	7	7	34.8	12.1	32.5	21.4	56.5	5	58	86	27	251
Japanese rum	9	9	17.5	9.4	22.1	1.5	26.9	9	2000	1400	1470	460	4400

ND: not detected
The concentrations of volatile compounds are corrected depending on a 40% alcohol concentration.

Table 4 The average and standard deviation of concentrations of volatile compounds of Japanese rum and rum made in Caribbean countries and Indian Ocean countries, and the presence or absence of a significant difference in the average

Number of samples	Cachaça 7	White rum		
		Rum made in Caribbean and Indian Ocean regions 26	Japanese rum ^{Ref1} 9	White rum ^{Ref2} 24
Acetaldehyde (mg/l)	60 ± 20	48.2 ± 31.0	114 ± 59.7	75 ± 81
Diacetyl (μg/l)	4600 ± 4390	2310 ± 2120	12200 ± 14600	1710 ± 3470
Isobutylaldehyde (μg/l)	158 ± 75	173 ± 308	403 ± 241	230 ± 238
Isovaleraldehyde (μg/l)	226 ± 106	208 ± 326	502 ± 371	307 ± 321
2-Methylbutylaldehyde (μg/l)	81 ± 38	121 ± 204	230 ± 204	175 ± 196
Nonanal (μg/l)	21.7 ± 15.8	25.6 ± 21.7	7.12 ± 5.26	6.86 ± 10.42
2-Nonanone (μg/l)	3.60 ± 2.16	2.78 ± 2.00	1.95 ± 0.89	1.72 ± 1.66
Decanal (μg/l)	4.89 ± 2.83	4.43 ± 3.24	2.34 ± 2.24	2.11 ± 3.01
Benzaldehyde (μg/l)	51 ± 24	37.1 ± 23.0	113 ± 134	36.0 ± 84.8
Phenylacetaldehyde (μg/l)	2.1 ± 3.7	6.27 ± 14.7	107 ± 120	32.6 ± 109.5
n-Propyl alcohol (mg/l)	199 ± 46	169 ± 74	287 ± 293	233 ± 205
Isobutyl alcohol (mg/l)	190 ± 61	193 ± 96	239 ± 112	164 ± 127
Isoamyl alcohol (mg/l)	617 ± 190	539 ± 324	809 ± 273	421 ± 332
1-Hexanol (μg/l)	393 ± 405	396 ± 257	325 ± 412	497 ± 564
1-Octanol (μg/l)	98.6 ± 96.9	73.7 ± 68.3	87.8 ± 43.4	50.8 ± 79.4
1-Octen-3-ol (μg/l)	70.4 ± 74.1	69.7 ± 46.6	125 ± 193	70.0 ± 161.8
1-Decanol (μg/l)	45.5 ± 46.9	26.7 ± 19.0	27.0 ± 16.2	16.5 ± 17.6
Dodecanol (μg/l)	28.6 ± 29.6	27.0 ± 36.9	16.9 ± 9.7	11.0 ± 16.7
Tetradecanol (μg/l)	54.9 ± 56.0	24.9 ± 22.5	52.1 ± 25.3	26.8 ± 39.5
β-Phenethyl alcohol (mg/l)	12.3 ± 8.4	3.36 ± 3.69	18.3 ± 9.7	5.38 ± 10.9
Citronellol (μg/l)	34.8 ± 12.1	16.2 ± 11.6	17.5 ± 9.4	10.3 ± 10.6
Farnesol (μg/l)	740 ± 517	330 ± 362	320 ± 243	167 ± 282
Geraniol (μg/l)	33.1 ± 16.0	21.2 ± 20.4	12.4 ± 14.8	9.7 ± 12.5
Linalool (μg/l)	24.3 ± 15.9	31.2 ± 28.6	31.8 ± 58.7	15.7 ± 22.6
Nerol (μg/l)	3.75 ± 1.96	3.20 ± 4.14	0.70 ± 1.71	6.08 ± 9.45
Nerolidol (μg/l)	442 ± 434	648 ± 796	300 ± 141	127 ± 185
α-Terpineol (μg/l)	9.0 ± 8.4	16.0 ± 16.8	13.5 ± 28.0	15.5 ± 40.8
Ethyl acetate (mg/l)	116 ± 25	131 ± 57	223 ± 104	139 ± 121
Isoamyl acetate (mg/l)	2.75 ± 0.66	2.69 ± 1.05	4.87 ± 3.99	2.79 ± 2.53
Ethyl isobutyrate (μg/l)	161 ± 204	191 ± 400	342 ± 360	143 ± 157
Ethyl 2-methylbutyrate (μg/l)	16.5 ± 15.4	24.2 ± 62.0	78.8 ± 106.6	23.5 ± 26.6
Ethyl valerate (μg/l)	13.8 ± 6.7	12.0 ± 11.2	23.0 ± 33.3	18.0 ± 24.8
Ethyl isovalerate (μg/l)	24.3 ± 24.1	40.1 ± 104.7	85.8 ± 107.4	28.7 ± 30.7
2-Methylbutyl acetate (μg/l)	69.1 ± 32.8	61.0 ± 50.7	162 ± 185	82.8 ± 94.7
Hexyl acetate (μg/l)	1.77 ± 0.81	2.46 ± 2.15	1.48 ± 1.97	6.10 ± 24.7
Ethyl butyrate (μg/l)	296 ± 172	222 ± 124	1830 ± 3130	351 ± 577
Ethyl caproate (mg/l)	0.56 ± 0.52	0.49 ± 0.45	1.28 ± 0.97	0.57 ± 0.63
Isobutyl caproate (μg/l)	2.44 ± 3.93	0.78 ± 0.80	1.97 ± 3.16	0.59 ± 1.16
Isoamyl caproate (μg/l)	7.52 ± 11.17	4.63 ± 3.66	9.6 ± 13.4	2.58 ± 3.95
Ethyl caprylate (mg/l)	2.72 ± 2.38	3.62 ± 3.85	7.26 ± 5.95	3.25 ± 4.14
Isobutyl caprylate (μg/l)	11.7 ± 14.5	10.0 ± 7.8	17.6 ± 33.2	4.0 ± 7.4
Isoamyl caprylate (μg/l)	248 ± 467	143 ± 126	290 ± 445	47.2 ± 99.7

まれていたためと推定された。

そこで、改めてカシャーサとカリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒 (n=26)⁷⁾とで有意差のある成分を検討した。その結果、イソバレラルデヒド、β-フェネチルアルコール、シトロネロール、ファルネソール、クロトン酸エチル、グアヤコール、4-ビニルグアヤコール、オイゲノール、チオ酢酸S-メチル及びDMSの10成分で有意差が認められた。また、成分含量の平均値を比較すると、含量平均値が3倍以上異なる成分は、β-フェネチルアルコール、

ペンタデカン酸エチル、パルミチン酸エチル、リノール酸エチル、オレイン酸エチル、クロトン酸エチル、コハク酸ジエチル、4-ビニルグアヤコール、チオ酢酸S-メチル及び2-エチル-5(6)-メチルピラジンであり、特にカシャーサでは高級脂肪酸エチルエステルが低い傾向が認められた。

国産のラム酒との成分的な差異を検討するため、カシャーサと国産のラム酒 (n=9)とで有意差のある成分を検討した。その結果、2-ヘプテナール、ノナール、フェニルアセトアルデヒド、シトロネロール、ゲ

Compound (unit)	Cachaça	White rum		
		Rum made in Caribbean and Indian Ocean regions ^{Ref1}	Japanese rum ^{Ref1}	White rum ^{Ref2}
Number of samples	7	26	9	24
Ethyl caprate (mg/l)	4.27 ± 3.01	6.48 ± 5.67	13.5 ± 13.3	6.54 ± 10.1
Propyl caprate (μg/l)	15.9 ± 12.2	12.6 ± 8.6	30.9 ± 33.4	6.08 ± 9.26
Isobutyl caprate (μg/l)	78.7 ± 88.8	77.2 ± 68.0	144 ± 191	25.4 ± 61.5
Isoamyl caprate (μg/l)	778 ± 921	471 ± 440	1340 ± 1880	88.1 ± 135.9
Ethyl nonanoate (μg/l)	22.8 ± 11.5	18.0 ± 12.2	48.9 ± 97.9	20.6 ± 45.5
Ethyl undecanoate (μg/l)	30.3 ± 37.2	19.0 ± 17.1	42.8 ± 82.6	11.9 ± 36.0
Ethyl pentadecanoate (μg/l)	16.5 ± 20.9	50.1 ± 60.3	37.2 ± 30.6	29.4 ± 50.5
Ethyl laurate (mg/l)	1.67 ± 1.13	3.50 ± 3.74	9.60 ± 7.76	2.43 ± 3.40
Ethyl myristate (μg/l)	200 ± 181	547 ± 837	547 ± 344	347 ± 662
Ethyl palmitate (μg/l)	830 ± 664	3560 ± 5370	5530 ± 7170	1900 ± 4690
Ethyl linoleate (μg/l)	394 ± 401	1680 ± 1810	4300 ± 6880	1180 ± 3000
Ethyl oleate (μg/l)	104 ± 177	326 ± 366	1400 ± 2440	312 ± 1050
Ethyl stearate (μg/l)	33.9 ± 32.2	79.0 ± 155	346 ± 536	116 ± 442
β-Phenethyl acetate (μg/l)	161 ± 112	468 ± 1300	690 ± 1210	118 ± 415
Ethyl phenylacetate (μg/l)	3.31 ± 2.70	3.56 ± 2.43	11.5 ± 9.2	4.86 ± 9.90
Ethyl cinnamate (μg/l)	1.60 ± 1.64	1.53 ± 2.22	2.46 ± 2.81	0.74 ± 1.85
Ethyl benzoate (μg/l)	16.2 ± 12.4	15.7 ± 13.4	16.6 ± 20.7	13.8 ± 19.5
Methyl salicylate (μg/l)	34.1 ± 40.4	62.1 ± 99.5	655 ± 1500	1660 ± 6350
Ethyl crotonate (μg/l)	4.19 ± 6.20	0.75 ± 1.15	5.70 ± 9.43	1.48 ± 3.51
Ethyl enanthate (μg/l)	9.98 ± 5.36	6.00 ± 3.75	12.4 ± 14.5	6.93 ± 5.46
Ethyl lactate (mg/l)	7.43 ± 12.33	7.03 ± 15.8	6.23 ± 8.22	4.62 ± 13.0
Diethyl succinate (μg/l)	423 ± 429	103 ± 123	3100 ± 5090	294 ± 713
Guaiacol (μg/l)	30.4 ± 18.9	20.2 ± 29.2	367 ± 496	220 ± 560
4-Vinylguaiacol (μg/l)	36.2 ± 63.8	5.4 ± 15.5	96 ± 172	7.4 ± 20.6
Eugenol (μg/l)	90.7 ± 55.1	48.8 ± 96.7	481 ± 650	117 ± 297
Rose oxides (μg/l)	0.23 ± 0.31	0.21 ± 0.42	0.11 ± 0.16	-
β-Ionone (μg/l)	3.78 ± 3.96	3.47 ± 3.96	0.53 ± 1.04	-
Damascenones (μg/l)	18.7 ± 9.6	31.4 ± 72.8	11.0 ± 10.3	-
Whisky lactone (μg/l)	ND	5.11 ± 12.54	ND	-
Vanillin (mg/l)	0.07 ± 0.04	0.13 ± 0.11	0.31 ± 0.30	146 ± 129
2-Pentylfuran (μg/l)	0.85 ± 0.39	1.25 ± 0.98	1.54 ± 1.81	1.09 ± 2.33
5-Methyl-2-furaldehyde (μg/l)	ND	3.9 ± 15.8	386 ± 550	199 ± 499
Furfural (mg/l)	0.06 ± 0.09	0.1 ± 0.14	2.00 ± 1.40	0.57 ± 1.08
Methional (μg/l)	ND	ND	20.2 ± 37.4	3.8 ± 13.2
Ethyl 3-methylthiopropionate (μg/l)	1.91 ± 2.05	2.44 ± 3.54	8.43 ± 5.82	3.38 ± 6.35
S-Methyl thioacetate (μg/l)	71.4 ± 58.4	12.1 ± 19.4	9.3 ± 9.8	6.0 ± 10.2
DMS (μg/l)	781 ± 706	304 ± 337	320 ± 477	733 ± 1220
DMDS (μg/l)	7.72 ± 2.92	14.6 ± 12.9	31.9 ± 29.6	21.3 ± 23.6
DMTS (μg/l)	0.38 ± 0.33	0.33 ± 0.38	18.7 ± 33.3	3.33 ± 10.9
2,5-Dimethylpyrazine (μg/l)	4.82 ± 12.77	13.9 ± 35.7	334 ± 367	131 ± 307
2-Ethyl-5 (6) -methylpyrazine (μg/l)	0.84 ± 2.21	2.6 ± 8.2	50.8 ± 79.6	12.1 ± 28.1
α-Bisabolol (μg/l)	20.3 ± 298.8	28.8 ± 40.6	22.4 ± 20.1	7.1 ± 12.5

The concentrations of volatile compounds are corrected depending on a 40% alcohol concentration.

Value means Average ± standard deviation

ND: not detected

Ref 1: Reference (7) 福田 央, 韓 錦順: 醸造, 112, 423-431 (2017)

Ref 2: Reference (6) 福田 央, 韓 錦順: 醸造, 110, 261-275 (2015)

ラニオール, ネロール, 酢酸エチル, ラウリン酸エチル, ミリスチン酸エチル, β-イオン, 5-メチル-2-フルアルデヒド, フルフラール, 3-メチルチオプロピオン酸エチル, チオ酢酸S-メチル, DMDS, DMTS, 2,5-ジメチルピラジン及び2-エチル-5(6)-メチルピラジンの18成分であった。

なお, Table 4に示す既報⁶⁾のホワイトラム酒(n=24)との有意差が認められた成分を検討すると, ジアセチル, ノナナール, 2-ノナン, デカナール, ベンズアルデヒド, 1-オクタノール, 1-デカノール,

ドデカノール, β-フェネチルアルコール, シトロネロール, ファルネソール, グラニオール, リナロール, ネロリドール, カブロン酸イソブチル, カブロン酸イソアミル, カプリル酸イソブチル, カプリル酸イソアミル, カプリン酸プロピル, カプリン酸イソブチル, カプリン酸イソアミル, ウンデカン酸エチル, 酢酸βフェネチル, 桂皮酸エチル, クロトン酸エチル, 4-ピニルグアヤコール, チオ酢酸S-メチル, 2,5-ジメチルピラジン及び2-エチル-5(6)-メチルピラジンの29成分であった。

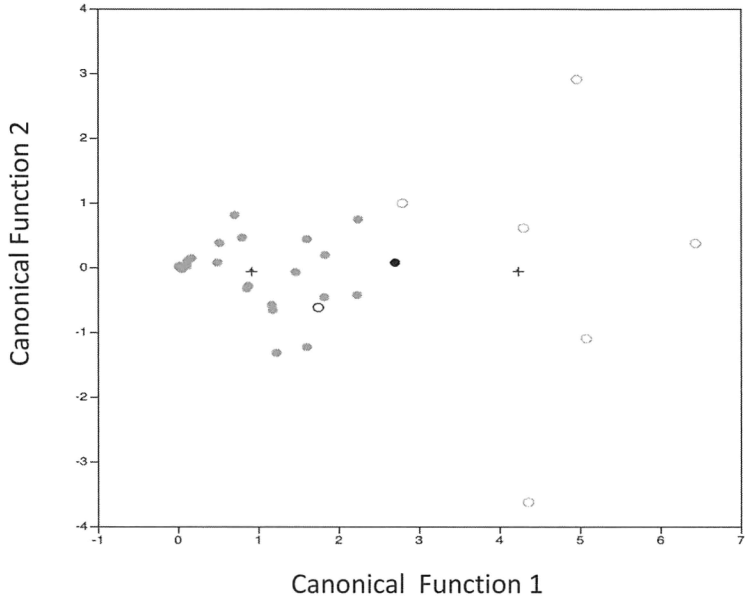


Fig. 1 Discrimination of cachaca and rum made in Caribbean and Indian Ocean regions by discriminant analysis with 4 limit variables.
 ○, cachaca; ●, rum made in Caribbean and Indian Ocean regions. The dark symbols represent misjudged samples. Cross-shapes show centroids of variety.

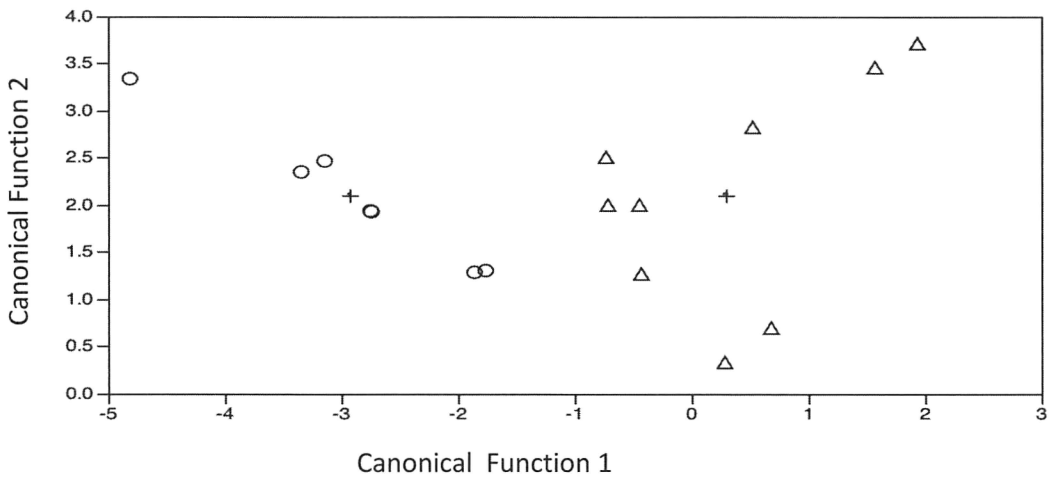


Fig. 2 Discrimination of cachaca and Japanese rum by discriminant analysis with 2 limit variables.
 ○, cachaca; △, Japanese rum. Cross-shapes show centroids of variety.

Table 6 Discriminant coefficients and standardized coefficients for discriminant analysis.

	Variable	Canonical Function 1		Canonical Function 2		F Value
		Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient	Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient	
Discriminant analysis between cachaça and rum made in Caribbean and Indian Ocean regions (Fig.1)	S-Methyl thioacetate	0.026	0.816	0.000	0.000	17.08
	Diethyl succinate	0.003	0.709	0.004	0.817	11.20
	β -Phenethyl alcohol	0.000	0.404	- 0.000	- 0.669	3.41
Discriminant analysis between cachaça and Japanese rum (Fig.2)	Furfural	0.001	0.950	0.001	0.558	16.08
	Citronellol	- 0.085	- 0.905	0.059	0.628	13.11

このように、有意差の認められる成分数は、既報⁶⁾のホワイトラム酒 (n=24) とでは 29 成分、国産のラム酒 (n=9) とでは 19 成分に対して、カリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒 (n=26)⁷⁾ とでは 10 成分と比較的少ないことから、カシャーサはカリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒に類似している点が多いと考えられた。また、3 つに分類したラム酒の平均含量の内、最も高い平均含量よりカシャーサで 2 倍以上高い成分は、ファルネソール及びチオ酢酸 S-メチルであり、最も低い平均含量よりカシャーサで半分以下の成分は、フェニルアセトアルデヒド、パルミチン酸エチル、リノール酸エチル、オレイン酸エチル、ステアリン酸エチル、5-メチル-2-フルアルデヒド、DMDS、2,5-ジメチルピラジン及び 2-エチル-5 (6)-メチルピラジンであった。

カリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒と有意差のある成分の内、ファルネソール及びチオ酢酸 S-メチルは、Table 4 に示すラム酒のいずれの区分と比較しても、アグリコールラムとインダストリアルラムの成分含有量と比較検討した Table 3 でもカシャーサで有意に多い成分であった。カシャーサでファルネソール及びチオ酢酸 S-メチルが多い理由は、十分には解明されていないが、ファルネソールについては、甘藷焼酎にも含まれる成分であるほか⁸⁾、カシャーサ製造に係る微生物相に *Pchia anomala* 等が確認され^{8,9,10)}、更に *P. anomala* が β -グルコシダーゼ活性を有し、モノテルペンアルコールやエステル生成への寄与が報告されていることから¹¹⁾、微生物の関与が推定された。

3. カシャーサとラム酒の判別分析

カシャーサと類似性が高いカリブ海諸国及びインド洋諸国のアグリコールラム酒とカシャーサとの判別分析を検討した。有意に差のある 10 成分からステップワイズ法で選択した β -フェネチルアルコール、シト

ロネロール及びチオ酢酸 S-メチルの 3 成分の判別分析では、その精度は 87.9% となったことから、有意差検定のレベルを 10% 以下の成分も含めて検討した。 β -フェネチルアルコール、コハク酸ジエチル (有意水準 6.4%) 及びチオ酢酸 S-メチルの 3 成分の平均値と標準偏差等を Table 5 に、判別分析の結果を Fig.1 及び Table 6 に示す。その結果、カシャーサ 7 点中 6 点、海外アグリコール 26 点中 25 点が適切に判別され、更に判別の精度を検討した結果、その精度は 90.9% となった。

次に、カシャーサと国産ラム酒との判別を検討した。有意差のある成分から、ステップワイズ法により選択したシトロネロールとフルフラールの 2 成分の平均値と標準偏差等を Table 5 に、判別分析の結果を Fig.2 及び Table 6 に示す。その結果、カシャーサと国産ラム酒は全点が適切に判別され、更に判別の精度を検討した結果、その精度は 100% となった。

要 約

輸入されているカシャーサとラム酒の低沸点香気成分及び中高沸点香気成分 84 成分を分析・比較した。カシャーサとカリブ海諸国及びインド洋諸国のラム酒では 34 成分に有意差が認められた。ステップワイズ法によりカシャーサ及びカリブ海諸国及びインド洋諸国のラム酒の判別分析を試みたところ、 β -フェネチルアルコール、コハク酸ジエチル及びチオ酢酸 S-メチルにより分類され、33 点中 31 点が適切に判別された。判別精度を検証したところ 90.9% の精度であった。また、カシャーサと日本産のラム酒では 19 成分に有意差が認められ、ステップワイズ法により判別分析を試みたところ、シトロネロール及びフルフラールにより適切に分類され、判別精度を検証したところ 100% の精度であった。

文 献

- 1) Distilled spirits P327-334 ISBN: 1-897676-39-5 Edited by Bryce J.H. and Stewart G.G. Nottingham University Press.
- 2) RECHE Roni V., NETO Alexandre F. L., SILVA Alexandre A. D., GALINARO Carlos A., OSTI Renata Z. D., FRANCO Douglas W.: *J Agric Food Chem* , **55**, 6603-6608 (2007)
- 3) CARDEAL Zenilda L., MARRIOTT Philip J.: *Food Chemistry*, **112**, 747-755 (2009)
- 4) CARDOSO Daniel R., ANDRADE-SOBRINHO Luiz G., LEITE-NETO Alexandre F., RECHE Roni V., ISIQUE William D., FERREIRA Marcia M.C., LIMA-NETO Benedito S., FRANCO Douglas W.: *J Agric Food Chem* , **52**, 3429-3433 (2004)
- 5) DE SOUZA Maria D. C. A., VASQUEZ Pablo, DEL MASTRO Nelida L., ACREE Terry E., LAVIN Edward H.: *J Agric Food Chem* , **54**, 485-488 (2006)
- 6) 福田 央, 韓 錦順: 醸協, **110**, 261-275 (2015)
- 7) 福田 央, 韓 錦順: 醸協, **112**, 423-431 (2017)
- 8) 醸造物の成分 P115-118 編集・発行 財団法人日本醸造協会
- 9) DA CONCEICAO L.E., SARAIVA M.A., DINIZ R.H., OLIVEIRA J., BARBOSA G.D., ALVAREZ F., CORREA L.F., MEZADRI H., COUTRIM M.X., AFONSO R.J., LUCAS C., CASTRO I.M., BRANDAO R.L. : *J Ind Microbiol Biotechnol.* **42**, 237-246 (2015)
- 10) ALVAREZ F., CORREA L.F., ARAUJO T.M., MOTA B.E., DA CONCEICAO L.E., CASTRO I.M., BRANDAO R.L. : *Int J Food Microbiol.* **190**, 97-104 (2014)
- 11) DUARTE W.F., AMORIM J.C., SCHWAN R.F.: *Antonie van Leeuwenhoek* **103**, 175-194 (2013)