

サツマイモ固体糖化後仕込みによる芋焼酎製造の可能性

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	劉,根僑 吉崎,由美子 奥津,果優 二神,泰基 玉置,尚徳 高峰,和則
発行元	日本醸造協会
巻/号	117巻10号
巻号補足	
掲載ページ	p. 712-723
発行年月	2022年10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



サツマイモ固体糖化後仕込みによる芋焼酎製造の可能性

劉 根僑¹・吉崎由美子^{1,2}・奥津果優²・二神泰基^{1,2}・玉置尚徳^{1,2}・高峯和則^{1,2*}(¹ 鹿児島大学大学院連合農学研究科, 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3年10月14日受理

The possibility of producing Imo-shochu when applying solid-state saccharification of sweet potato

Genqiao Liu¹, Yumiko YOSHIZAKI^{1,2}, Kayu OKUTSU², Taiki FUTAGAMI^{1,2}, Hisanori TAMAKI^{1,2} and
Kazunori TAKAMINE^{1,2*}¹The United Graduate School of Agricultural Sciences, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan,²Education and Research Center for Fermentation Studies, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan)

Shochu is produced by fermenting rice *koji* followed by mixing the main raw material. This method is often referred to as the second *shikomi* method. On the other hand, Chinese distilled liquor called “Rice flavor Baijiu” is made by a unique method called solid-state saccharification (SSS). In this study, we applied the SSS method to Imo-shochu making and produced imo-shochu using a saccharified sweet potato with rice *koji*. The optimum temperature for SSS was 60 °C, and the glucose content reached its maximum at 24 hours when 10 % of rice *koji* was mixed with sweet potato. The saccharification rate reached 70 % by the addition of protease. Subsequently, we investigated the fermentation quality and sensory characteristics of Imo-shochu prepared by SSS. The fermentation quality of shochu by SSS was not inferior to those with the conventional method. The flavor was evaluated as baked sweet potato-like and flower-like, and the taste was rich and sharp compared to the conventional shochu. In addition, most of the 42 identified volatile components containing Imo-shochu prepared by SSS were in a slightly higher concentration than conventional shochu. Therefore, it is possible to prepare Imo-shochu by the SSS of sweet potato using rice *koji*.

Key words : 芋焼酎 (Imo-shochu), 固体糖化 (Solid-state saccharification), 二次仕込み法 (Second *shikomi* method), サツマイモ (Sweet potato)

緒 言

焼酎の仕込み法は麴と主原料を別々に仕込む二次仕込み法で行われている。この仕込み法は1906年(明治36年)に芋焼酎に導入された¹⁾。それ以前は、米麴と主原料、水を一度に仕込むどんぶり仕込み法と呼ばれる清酒の酒母を蒸留したものに相当する仕込みで

あった。この仕込み法では、焼酎の主産地である鹿児島や宮崎など温暖な地域においては醗温度が30℃近くになるため腐造しやすかった。そのため、米麴と主原料、水を2回に分けて仕込む二段仕込み法(清酒醸造の酒母と初添えに相当)が開発された。この方法は米焼酎では腐造せずに発酵させることができた。しかし、芋焼酎では主原料のサツマイモのデンプン価が米

*責任者 高峯和則: k6943994@kadai.jp

の半分以下のため、米の2倍以上加える必要があることと、サツマイモの食物繊維は保水力が高いこと、そして蒸すとデンプンの約3分の1がマルトースに加水分解されることなどから、仕込み直後の醪は糖濃度と粘度が高く流動性がなく攪拌も困難であり、腐造の危険性が高かった。これらの問題を改善できる二次仕込み法が芋焼酎に導入され、1912年（大正元年）頃には定着し¹⁾、現在もなおこの仕込み法で製造されている。

一方、中華人民共和国（中国）で製造される蒸留酒である白酒には、米酒の発酵技術と蒸留工程を融合した米香型白酒がある²⁾。この製造方法は、小曲（日本の麴に相当）と水分60%程度に蒸煮した米を混ぜ合わせて、35℃付近で24時間固体糖化させた後に加水しアルコール発酵させる。この固体糖化工程において小曲に含まれる *Rhizopus* 属の増殖によりデンプン分解酵素などの酵素類と乳酸が生産されることで米デンプンの約70%が糖化され、加水した後速やかな発酵と乳酸による醪の腐造防止が可能となっている³⁾。

そこで本研究では、日本と中国の蒸留酒の仕込み法を融合した新たな製造法の可能性について、サツマイモを白麴で固体糖化後に発酵させる新たな芋焼酎製造方法の開発と酒質に与える影響について検討した。

実験方法

1. 使用菌株および供試材料

白麴菌 (*Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*) の種麴は、(株)河内源一郎商店より購入した。酵母は鹿児島県工業技術センターから分譲された鹿児島5号(H5)を用いた。一般成分分析に使用した試薬類は、特に明記しない限り市販の特級試薬を使用した。米は本坊商店(株)より購入した焼酎用原料を使用した。サツマイモは焼酎造りに最適な品種であるコカネセンガンを用いた。 α -アミラーゼはスミチームL（新日本化学工業(株)社製）、プロテアーゼはニューラーゼF3G（天野エンザイム(株)社製）を使用した。

2. サツマイモの固体糖化

サツマイモを1時間蒸煮した後、5～10 mm サイズに粉碎し、その20 gを50 mL容プラスチックチューブに入れて水浴中にて一定温度で10分間放置した後、米麴2 gを加え水浴中で良く混合し、密栓して固

体糖化を行った。固体糖化中は攪拌は行わなかった。

3. 固体糖化物の酸度の測定

固体糖化して得られた糖化物5.0 gに脱塩水10 mL添加しガラス棒で良く混合し、遠心分離（7,000 × g, 15分間）した。沈殿物に脱塩水10 mLを加え混合し遠心分離し、この操作を再度行い得られた上清液を脱塩水で50 mLに定容した。この10 mLを用いて0.01M NaOHにて中和滴定し、中和に要した滴定量を酸度とした。

4. 可溶性糖の分析

サツマイモ、米麴および固体糖化して得られた糖化物をそれぞれ5.0 gに80%エタノール20 mLを加えてガラス棒で良く混合し、遠心分離（7,000 × g, 15分間）した。沈殿物に80%エタノール20 mLを加え混合し遠心分離し、この操作を再度行い得られた上清液を80%エタノールで100 mLに定容し抽出液とした。抽出液はC18 Spin Columns (Havard Apparatus 社製) および0.45 μ mのメンブレンフィルターでろ過し、可溶性糖分析用試料とした。この試料は、分析に使用するまで-20℃に保存した。可溶性糖の分析は、高速液体クロマトグラフィー（(株)島津製作所社製）を用いて行った。カラムはLiChrospher100 NH₂（粒径5 μ m）（Merck Millipore 社製）を用い、移動相はアセニトリルと水（3：1）の混合液によるアイソクラティック溶出で、オープン温度は40℃、流速1.0 mL/minで測定した。検出器は示差屈折率検出器RID-10A（(株)島津製作所社製）を用いて定量した。

5. 酵素活性の測定

米麴および糖化物に含まれる粗酵素の抽出は国税庁所定分析法⁴⁾に従った。 α -アミラーゼ、グルコアミラーゼおよび酸性カルボキシペプチダーゼ活性は、それぞれの測定キット（キッコーマンバイオケミファ(株)社製）を用いて測定した。インペルターゼ活性はFRANKENBERGER and JOHANSON⁵⁾の方法を一部改変して行った。すなわち、0.1 M クエン酸緩衝液（pH 4.2）を用いて調製した10%スクロース溶液0.9 mLに粗酵素液0.1 mLを添加し、一定温度で反応させた後1 M NaOH 0.5 mLを添加し室温に15分間静置し反応を停止させた。この溶液に1 M HCl 0.5 mL

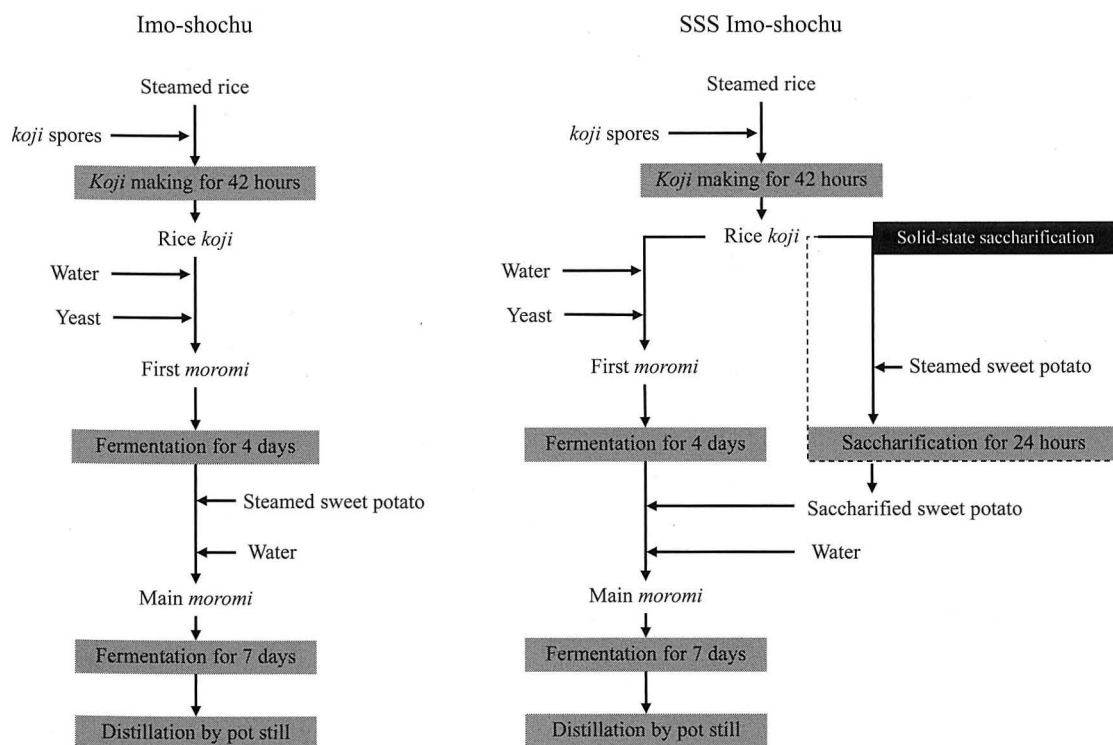


Fig. 1 Diagram of the Imo-shochu and solid-state saccharification (SSS) Imo-shochu production processes.

を添加して中和し、可溶性糖の分析を行った。

6. 小仕込み試験

従来の仕込み法（以後、従来法）と固体糖化後仕込み法（以後、固体糖化法）について Fig. 1 に示す。従来法は、麴米 140 g 相当の米麴に酵母培養液 2 mL を含む脱塩水 168 g を加えて一次仕込みを行い、30℃の恒温水槽中で 4 日間発酵させた。この一次醪全量に脱塩水 394 g と粉碎した蒸煮サツマイモ 700 g を加えて、30℃で 7 日間恒温水槽中にて発酵させた。一方、固体糖化法は、麴米 70 g 相当の米麴に粉碎した蒸煮サツマイモ 700 g を加え良く攪拌し、60℃で 24 時間固体糖化させた。この糖化物全量と脱塩水 479 g を、あらかじめ麴米 70 g 相当の米麴と酵母培養液 1 mL を含む脱塩水 84 g で一次仕込みを行い 30℃で 4 日間発酵させた一次醪に加え、二次仕込みを行い 30℃で 7 日間発酵させた。発酵経過は、醪の重量を毎日測定し重量減少量から追跡した。蒸留は醪 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 DMA-35（株式会社アントンパール・ジャパン社製）を用いた。原酒をアルコール濃度が 25% になるよう脱塩水にて割水して孔径 5 μm の親水性 PTFE メンブレンフィルターでろ過し、暗所にて約 2 ヶ月間室温で保存した。なお、保存期間中は、数日おきに攪拌して硫黄やアルデヒド由来のガス成分を除去し、ガスが抜けたことを香りから確認した後、焼酎の分析と官能評価に使用した。

7. 二次醪および焼酎の分析

醪酸度とアルコール濃度は所定分析法に従って測定した⁶⁾。アルコール濃度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製）を用いた。酵母数は、ガーゼろ過した醪 0.5 mL、脱塩水 2 mL およびメチレンブルー溶液 2.5 mL を試験管に加え、ボルテックスミキサーで混合し 15 分間静置した。測定前に再度懸濁させた後、ヘマトメーターを用いて顕微鏡観察下

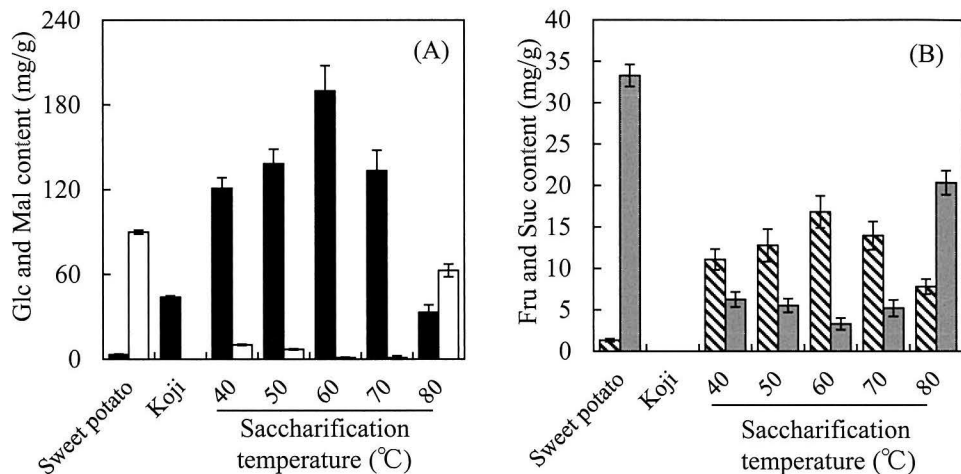


Fig. 2 Effect of temperature on soluble sugar content production in solid-state saccharification for 24 hours.

The difference in the content of glucose (■), maltose (□), fructose (▨) and sucrose (■) after 24 hours of solid-state saccharification at 40°C–80°C.

Sweet potato and *koji* were used as raw materials to be analyzed before solid-state saccharification. Sweet potato was used after being steamed for 1 hour.

で計測した。醗の全糖と直接還元糖は高峯ら⁷⁾の方法に従った。

8. 官能評価

糖化物の官能評価は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名およびきき酒の訓練を受けた学生11名をパネルとして、焼き芋香の強度試験(0:なし, 1:なんとなく感じる, 2:感じるが弱い, 3:楽に感じる, 4:強く感じる, 5:強烈に感じる)と香りのコメントを求めた。焼酎の官能評価は鹿児島県工業技術センター食品・化学部職員5名および同教育研究センター教員3名の計8名が、ブラインドテストで実施した。香り6項目(アルコール, 果実様, 蒸し芋様, 焼き芋様, 油様, 花様)と、味6項目(酸味, 甘味, 刺激味, 苦味, 濃厚, キレ)の香味の有無について官能評価を行い、有りと評価した人数を評点とした。

9. 芋焼酎の揮発成分分析

芋焼酎の揮発成分はTDS (Thermal desorption system, GERSTEL K. K. Japan 社製)を用いてGC-MS分析し、マススペクトルのライブラリー検索とリテン

ションインデックスから揮発成分を同定した⁸⁾。同定した成分については定量を行いt検定による統計解析を行った。

実験結果および考察

1. 固体糖化条件の検討

1.1. 固体糖化温度の影響

固体糖化に使用した米麴の水分, 酸度, α -アミラーゼ活性およびグルコアミラーゼ活性はそれぞれ27.5%, 7.0, 222 U/g-乾燥麴および201 U/g-乾燥麴であった。この値は一般的な麴と同等の値であった⁹⁾。蒸煮サツマイモの可溶性糖は, Fig. 2に示すようにフルクトース, グルコース, スクロースおよびマルトースがそれぞれ1.3 mg/g, 3.2 mg/g, 33.4 mg/gおよび89.9 mg/gであった。また, 米麴にはグルコースのみが検出され, その濃度は43.9 mg/gであった。このサツマイモと米麴を用いて, 40°C~80°Cで24時間固体糖化を行った。その結果, Fig. 2 (A)に示すように40°C~70°Cでは糖化が進みグルコース濃度は60°Cで最大の193 mg/gであったが, 80°Cでは33.4 mg/gとほとんど糖化しなかった。これは, 白麹菌の生成する α -アミラーゼとグルコアミラーゼの至適温度は70°C

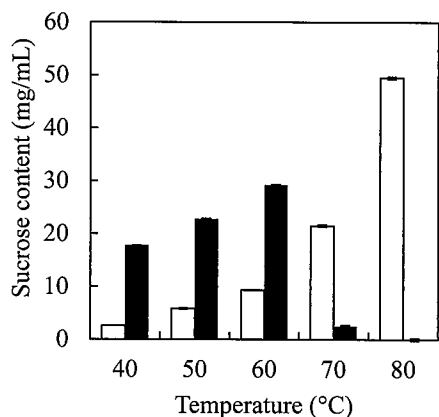


Fig. 3 Effect of temperature on the thermal decomposition and invertase decomposition of sucrose for 24 hours.

The open bar graph (□) indicates the difference between the initial sucrose content with distilled water and the sucrose content after 24 hours of culture with inactivated crude enzyme or the thermal decomposition amount of sucrose.

The closed bar graph (■) indicates the difference between the sucrose content after 24 hours of incubation with deactivation and not deactivated crude enzymes or the amount of invertase decomposition

であり、80℃では最大活性のそれぞれ20%程度および10%であることと、60℃以下では酵素の熱安定性が高く、90%以上の活性が残存するためと考えられる¹⁰⁾。マルトースは60℃～70℃ではほとんど検出されなかった。これはINOKUCHI et al.¹¹⁾によると *Aspergillus saitoi* から精製したグルコアミラーゼは、マルトースを加水分解し pH 2.5～7.5 で安定であり、50℃まで熱安定性が高く、70℃を超えると活性を失うと報告していることから、グルコアミラーゼによってマルトースは加水分解されたものと考えられる。

Fig. 2 (B) に示すように、サツマイモに含まれるスクロースとフルクトースはそれぞれ33.4 mg/gと1.3 mg/gであり、米麴にはいずれも検出されていないことから、固体糖化0時間における糖化物中のスクロースとフルクトースはそれぞれ30.4 mg/gと1.18 mg/gと算出される。一方、糖化温度60℃における糖

化物中のスクロースとフルクトースはそれぞれ3.3 mg/gと16.8 mg/gであったことから、糖化物1 g当たりスクロースは0.079 mmol 減少し、フルクトースが0.087 mmol 増加したことになり、そのモル比は1対1.1であった。糸状菌や酵母、細菌にはインペルターゼの存在が報告されている^{12),13)}。また、瀬戸口と間世田¹⁴⁾は米麴にはインペルターゼが含まれると報告している。更に、氏原ら¹⁵⁾はサトウキビ絞り汁のpHが4.5以下においてスクロースは加熱により加水分解を受けると報告している。そこで、インペルターゼ活性の測定法を用い10%スクロース溶液に麴粗酵素液または沸騰浴中で10分間失活させた粗酵素液を添加し24時間反応後のスクロース濃度を測定した。なお、サツマイモ20 gに米麴2 gを添加した糖化物のpHは4.2であったことから、pH 4.2のクエン酸緩衝液でスクロース溶液を調製した。Fig. 3の白色棒は、反応0時間のスクロース濃度から失活させた粗酵素液を添加した反応液中のスクロース濃度を差し引いた値、すなわち加熱によって加水分解されたスクロース濃度として、また、黒色棒は失活させた粗酵素液添加液中のスクロース濃度から粗酵素液添加溶液中のスクロース濃度を差し引いた値、すなわち酵素分解を受けたスクロース濃度として示している。スクロースは反応温度が高くなるほど加熱による加水分解を受けやすく、また、酵素分解では60℃が最も分解活性が高かった。これらのことから、サツマイモの固体糖化によるスクロースの減少は、40℃～70℃では加熱分解および米麴に含まれるインペルターゼと推定される酵素により加水分解されたものであり、80℃では加熱によるものと考えられる。

糖化物の酸度は40℃、50℃、60℃、70℃および80℃それぞれ、5.6、5.4、6.1、5.6および5.8と大差無かった。糖化物の官能評価の結果、焼き芋香の強度はそれぞれ、1.5、1.3、3.9、3.8および3.3と60℃が最も強度が高かった。70℃と80℃では若干焼き菓子様の香りとコメントがあった。一方、40℃と50℃では味噌様や酸臭とのコメントがあったことから、50℃以下では酢酸を生産する微生物汚染が考えられる。以上の結果から、固体糖化の至適温度は60℃であることがわかった。

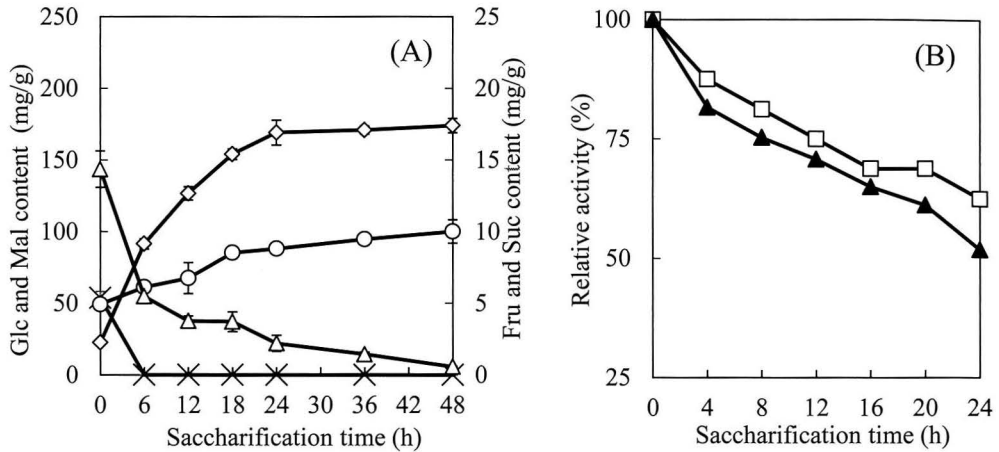


Fig. 4 Time-dependent changes in soluble sugar content and enzyme relative activity during solid-state saccharification.
Glucose (◇), maltose (×), fructose (○) and sucrose (▲) contents change during solid-state saccharification at 60°C for 48 hours.
α-Amylase (□) and glucoamylase (▲) changes during the 24 hours solid-state saccharification process at 60°C.
Vertical bars indicate the standard deviations of three independent experiments.

1.2. 固体糖化時間の影響

至適温度 60°C で固体糖化時間の影響について検討した。その結果, Fig. 4 (A) に示すように, 糖化開始から 24 時間まではグルコースの増加が認められた。マルトースは糖化 6 時間後には消失し, スクロース濃度は糖化前が 14.3 mg/g であったが, 糖化 6 時間までは急激にその後は緩やかに減少し 48 時間後には 0.57 mg/g であった。フルクトースはスクロースの分解に伴い増加した。

糖化物に含まれる α-アミラーゼ活性およびグルコアミラーゼ活性は Fig. 4 (B) に示すように, 糖化前の活性を 100% とすると経時的に相対活性は低下し, 24 時間後に残存する相対活性はそれぞれ 62.5% および 51.8% であった。芋焼酎製造における麴歩合は 20% が標準であるが麴歩合を 10% に低下しても発酵は遜色なく進む¹⁶⁾ことから, 24 時間後の相対活性は 50% 以上残存しているため, 二次醗における発酵への影響はないと考えられる。

1.3. 麴歩合の影響

蒸煮芋 20 g に対して麴歩合が 1% ~ 20% になるように米麴を添加し, 60°C で 24 時間固体糖化を行った。

なお, 麴歩合とはサツマイモに対する重量 % である。その結果, Fig. 5 に示すように麴歩合が 10% まではグルコース濃度および糖化率は増加し, 麴歩合が

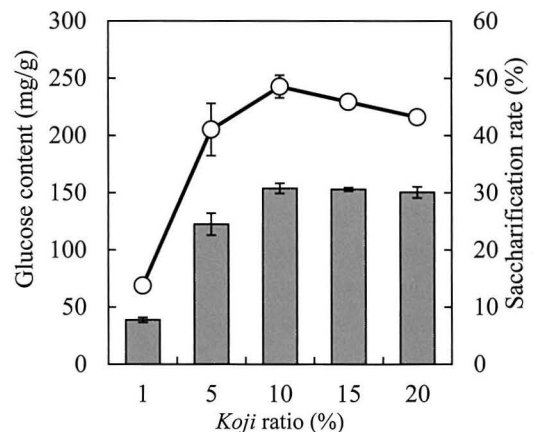


Fig. 5 Effect of the rate of rice *koji* on the degree of solid-state saccharification. Glucose content (■) and saccharification ratio (●) were solid-state saccharified at 60°C for 24 hours. Vertical bars indicate the standard deviations of three independent experiments.

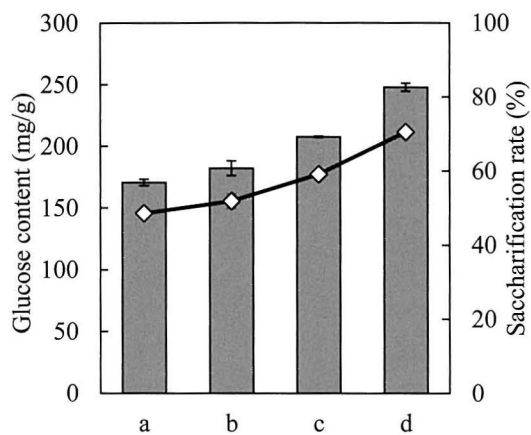


Fig. 6 Effect of the rice *koji* or enzyme content on the degree of solid-state saccharified saccharification.

Glucose content (■) and saccharification rate (◆) were solid-state saccharified at 60°C for 24 hours. Vertical bars indicate the standard deviations of three independent experiments.

a : Rice *koji* (1.0 g) was added to sweet potato (10 g).

b : Rice *koji* (1.0 g) and α -Amylase (30 mg) were added to sweet potato (10 g).

c : Rice *koji* (1.0 g) and Newlase (10 mg) were added to sweet potato (10 g).

d : Rice *koji* (1.0 g) and Newlase (100 mg) were added to sweet potato (10 g).

10%の時、それぞれ 158 mg/g および 48.5% であった。しかし、麴歩合 15% と 20% ではグルコース濃度の増加は認められず、麴歩合 20% における糖化率は 43% と麴歩合 10% と比べて低かった。これは、米麴の割合が増えるほどデンプン濃度が高くなることと、 α -アミラーゼの蒸し米への無効吸着の影響があるものと考えられる。 α -アミラーゼはデンプンそのものではなく蒸し米を基質とするときに吸着現象が起こり、また、 α -アミラーゼの吸着は pH 4 台において最も大きく、pH 5.1 では吸着しなくなることが明らかとなっている¹⁷⁾。そこで、麴歩合が 1%、5%、10%、15% および 20% の 24 時間糖化後の糖化物の pH を測定した結果、それぞれ pH 5.1、4.6、4.3、4.1 および 3.9 と麴歩合が高くなるほど pH が低くなった。このことか

ら、麴歩合が高くなるほど無効吸着が起きやすい環境になっていると考えられる。

また、蒸し米の溶解性を高めるために α -アミラーゼを添加しても溶解性に影響はほとんど示さず、むしろ酸性プロテアーゼの影響が大きいことが明らかにされている¹⁷⁾。そこで、米麴中の α -アミラーゼ活性と同量のスミチーム L とニューラーゼ F3G を添加して固体糖化を行った結果、Fig. 6 に示すように、 α -アミラーゼを添加しても対照の酵素無添加と比べグルコース濃度と糖化率に大差なかった。一方、ニューラーゼ添加の場合、濃度依存的に向上し 100 mg 添加において、グルコースおよび糖化率がそれぞれ、248 mg/g および 70% と対照と比べ 1.4 倍に増加した。Yin et al.³⁾ は米香型白酒製造において、固体糖化は最大で 70% 程度であると報告している。これらのことから、麴歩合が高くなっても糖化率が向上しない要因として、 α -アミラーゼの蒸し米への無効吸着が影響していると考えられる。

以上の結果および、固体糖化法では Fig. 1 に示すとおり固体糖化前に予め一次醪を仕込む必要がありこれにも米麴が必要であること、そして本格焼酎と呼称するためには酵素添加量は主原料の 1000 分の 1 以下でなければならない¹⁸⁾ ことから、麴歩合は 10% が妥当であると考えられる。

2. 固体糖化後仕込み法による芋焼酎の仕込み試験

サツマイモ 700 g、麴歩合 10%、固体糖化温度 60°C および糖化時間 24 時間の条件で固体糖化を行い芋焼酎の小仕込み試験を行った。Fig. 7 示すとおり発酵経過は、固体糖化法の一次醪は使用した米麴が従来法の半分量のため、醪重量減少量も半分程度であった。二次醪では、発酵初期は固体糖化法が若干ではあるが発酵が速かった。固体糖化法では固体糖化によりグルコース量が増加することで二次仕込み即下の糖濃度が従来法と比べて高くなるため、酵母が発酵阻害を受ける懸念があったが、その影響は認められなかった。二次醪 3 日目以降は両仕込み法とも同様の発酵経過であり、固体糖化による発酵阻害は認められなかった。発酵終了後の醪の分析結果を Table 1 に示す。醪アルコールはいずれも 14.6%、全糖および還元糖にも大差がなかったことから、固体糖化法による発酵への影響は認められないことが分かった。また、醪酸度と揮発酸度に

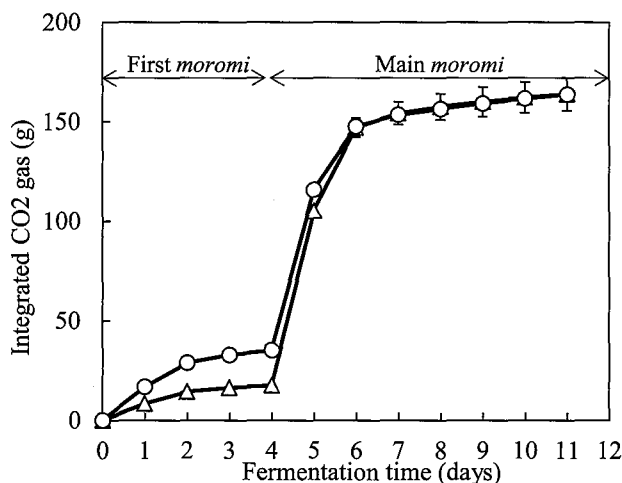


Fig. 7 Time course of alcohol fermentation.

Alcohol fermentation of Imo-shochu (—○—) or SSS Imo-shochu (—△—).

Alcohol fermentation was monitored by determining the amount of carbon dioxide gas generated, which was calculated by measuring the reduction in weight of the fermented sample every day. The integration curve for the weight reduction was plotted on a graph. Vertical bars indicate the standard deviations of three independent experiments.

Table 1 Analysis of fermented 2nd stage mash

	Imo-shochu		SSS ^{※1} Imo-shochu	
	Mean	SD	Mean	SD
Alcohol content (%)	14.6 ± 0.1		14.6 ± 0.4	
Volatile acidity	0.9 ± 0.0		1.0 ± 0.2	
Moromi acidity	6.9 ± 0.1		6.6 ± 0.2	
Total sugar (%)	1.1 ± 0.2		1.3 ± 0.1	
Direct sugar (%)	0.2 ± 0.0		0.3 ± 0.1	
Total yeast count ($\times 10^8$ cells/mL)	4.0 ± 0.1		4.2 ± 0.6	
Viable yeast count ($\times 10^8$ cells/mL)	1.1 ± 0.1		1.0 ± 0.4	
Viable yeast ratio (%)	26 ± 3.0		23 ± 5.0	

※ 1 : Solid-state saccharification.

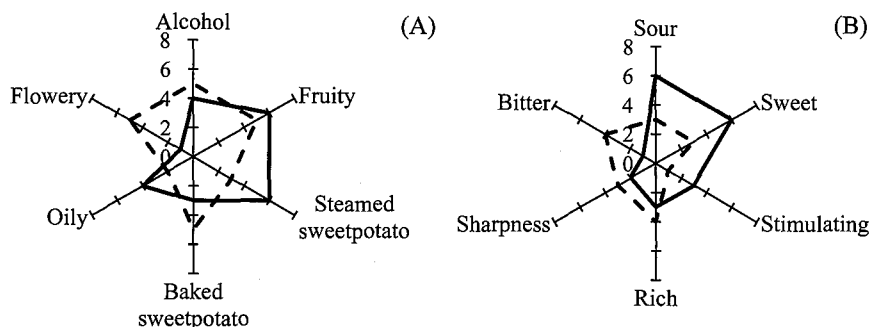


Fig. 8 Spider plot for sensory evaluation of odours (A) and tastes (B)

Imo-shochu (—) and solid-state saccharification (SSS) Imo-shochu (---) are indicated by the solid line and dotted line, respectively.

は大差がないことから、固体糖化法による生酸菌への汚染の可能性は認められないといえる。

3. 焼酎の官能評価

官能評価の結果 Fig. 8 に示すとおり、固体糖化法で得られた焼酎（以後、固体糖化焼酎）の香りは従来法で得られた焼酎（以後、従来焼酎）と比べて花様と焼き芋様の評点が高く、蒸し芋様の評点が低かった。花様の評点が高かった理由については、焼酎の香気成分の項目で考察する。蒸し芋様の評点が低かった理由は、サツマイモを固体糖化する工程で焼き芋様の香りが形成されたため、蒸し芋の香りがマスクされたのではないかと推察される。一方、従来焼酎は蒸し芋様と油様の評点が高かった。蒸し芋の香りが強すぎると経験的にガス臭として指摘されるが、適度であれば原料由来の特徴香として評価される。官能評価に使用した焼酎は、蒸留後保存期間中に数日おきに攪拌してガス抜きを積極的に行い、ガスが抜けたことを香りから確認した後に官能評価に供している。このことから、従来焼酎における蒸し芋様の評価は、原料由来の特徴香としてとらえて良いと考えられる。油様とは、焼酎に含まれる油性成分であるパルミチン酸エチルやリノール酸エチルなどに由来する甘さや柔らかなさをイメージするものである。このことから、従来焼酎は一般的にいわれている芋焼酎と同様に原料由来の香りと甘く柔らかな香りが特徴といえる。

味は、固体糖化焼酎は従来焼酎と比べて苦味の評点が高かった。本研究では、味の強度試験は実施しなかったが、適度な苦味はビールやコーヒー、渋茶などで親しまれている味覚でもある^{19), 20)}ことから、苦味は固体糖化焼酎の特徴的な味ととらえて良いと考えられる。また、固体糖化焼酎は従来焼酎と比べてキレと濃厚さの評点が高かった。芋焼酎の特徴味である甘味が従来焼酎では評点が6点と高く、また、酸味と刺激味も高かった。焼酎は若干酸味を感じた方が甘味や丸味を感じやすくなることが経験的に知られている。Table 1 に示すとおり揮発酸度には大差がないことから、酢酸に起因する酸味ではなく感覚としての酸味を感じたものと考えられる。

以上の結果から、固体糖化法は従来法と大きく異なる香味を特徴する芋焼酎を製造できることが分かった。

4. 焼酎の香気成分

焼酎の香気成分を GC-MS で分析した結果を Table 2 に示す。同定された 42 成分のほとんどが、固体糖化焼酎が従来焼酎と比べて僅かではあるが高濃度に含まれ、その内 17 成分が両焼酎間の濃度に有意差があることが分かった。特に、花様や果実様の香りに寄与する成分を多く含むエステル類では、同定された 26 成分のうち 10 成分で両焼酎間の濃度に有意差があることが分かった。

OAV (odor activity value) とは成分濃度を成分閾値で除した値であり、この値が 1 を超えると閾値以上に含まれる成分であることから、試料の特徴香に寄与する成分といえる。同定された 42 成分中 OAV が 1 を超える成分が 14 成分あった。バラの香りの主成分である β -フェネチルアルコールと酢酸 β -フェネチルは固体糖化焼酎において OAV がそれぞれ 7.9 と 2.2 と高く、また、花様の香りに寄与するエステル類が固体糖化焼酎が従来焼酎と比べて僅かではあるが高濃度に含まれていた。このことが、官能評価において固体糖化焼酎が花様の評点が高かった要因と考えられる。一方、酢酸イソアミルやカブロン酸エチルはリンゴやパイナップルなどの特徴香気成分であり固体糖化焼酎の OAV がそれぞれ 23 と 54 と、従来焼酎と比べて高いにも関わらず、官能評価において果実様は従来焼酎の評点が高かった。これは、花様の評点が固体糖化焼酎は 5 点と従来法の 1 点と比べ高かったことから、果実様というよりも花様と評価したパネリストが多かったためと推察される。

モノテルペンアルコール²¹⁾や β -ダマセノン、 β -イオノン²²⁾は芋焼酎の特徴香気成分として知られており、サツマイモ中には前駆体として存在し発酵中および蒸留の酸熱反応により生成することが報告されている²³⁾。本研究において、リナロール以外の成分は両焼酎間の濃度に有意差が認められ、固体糖化焼酎が従来焼酎と比べて僅かではあるが高濃度であった。焼き芋の特徴香に 2-ペンチルフラン、2-アセチルピロール、グラニオールおよび β -イオノンが重要香気成分として同定されている²⁴⁾。その中で検出された 2-ペンチルフランと β -イオノンは固体糖化焼酎が従来焼酎と比べて、それぞれ 1.1 倍と 2.7 倍の含有量であった。官能評価において固体糖化焼酎は焼き芋様の評点が高かったが、その理由として β -イオノンが OAV が 1 を

Table 2 Volatile compounds identified in Imo-shochu and SSS Imo-shochu

Name	Odor description	RI	m/z	Concentration (μ/L)				Odor threshold (μg/L)	OVA ^{※2}		Ref
				Imo-shochu		SSS ^{※1} Imo-shochu			Imo-shochu	SSS ^{※1}	
				Mean	SD	Mean	SD				
Alcohol (4)											
Isobutyl alcohol	Sweet, Fruity	1079	43	105,436 ±	24,127	122,312 ±	22,574	40,000	2.6	3.1	(25)
n-Butyl alcohol	Alcohol, Pungent	1133	56	3,750 ±	579	5,098 ±	1,121	5,000	< 1	< 1	(26)
Isoamyl alcohol	Banana, Alcohol	1192	55	181,119 ±	27,589	195,155 ±	22,244	30,000	6	67	(25)
β-Phenethyl alcohol	Roses, Floral	1866	91	61,817 ±	9,937	79,280 ±	5,070 *	10,000	6	8	(25)
Ester (26)											
Ethyl acetate	Fruity, Sweet	866	43	71,195 ±	26,963	82,599 ±	25,719	12,000	6	7	(27)
Isobutyl acetate	Fruity, Floral	989	56	75 ±	11	87 ±	11 *	1,825	< 1	< 1	(28)
Ethyl butyrate	Apple, Pineapple	1011	71	588 ±	167	473 ±	152	220	2.7	2.2	(29)
Isoamyl acetate	Banana	1114	70	5,697 ±	636	7,011 ±	652 **	300	19	23	(30)
Ethyl caproate	Sweet, Pineapple	1218	88	238 ±	38	268 ±	33 **	5	48	54	(30)
Hexyl acetate	Apple, Cherry	1252	56	2.1 ±	0.26	2.9 ±	0.31 *	115	< 1	< 1	(31)
Ethyl heptanoate	Fruity, Brandy	1313	88	2.1 ±	0.47	2.9 ±	0.47 **	220	< 1	< 1	(27)
Isobutyl hexanoate	Sweet, Fruity	1333	99	1.3 ±	0.10	1.4 ±	0.04	-	-	-	
Ethyl caprylate	Fruity, Winey	1429	88	2,864 ±	427	3,239 ±	177	2	1432	1619	(30)
Isopentyl hexanoate	Cheese	1443	70	5.2 ±	0.85	5.6 ±	0.41	900	< 1	< 1	(32)
Octyl acetate	Orange, Floral	1455	43	24 ±	6.0	33 ±	6.0	50,000	< 1	< 1	
Ethyl nonanoate	Rose, Fruity	1515	88	5.3 ±	1.4	8.1 ±	0.6 **	3,150	< 1	< 1	(32)
Isobutyl octanoate	Fruity, Green	1533	127	3.2 ±	0.54	3.9 ±	0.44	800	< 1	< 1	
Ethyl caprate	Sweet, Apple	1636	88	3,546 ±	1,660	5,710 ±	1,014	200	18	29	(30)
Isopentyl octanoate	Sweet, Fruity	1646	70	10 ±	2.0	12 ±	2.0	125	< 1	< 1	
Ethyl undecanoate	Floral, Waxy	1719	88	0.22 ±	0.01	0.22 ±	0.00	1,000	< 1	< 1	
Geranyl acetate	Floral, Rose	1730	69	7.1 ±	1.24	7.47 ±	0.35	-	-	-	
Methyl salicylate	Mint	1736	120	50 ±	6.4	56 ±	5.4	-	-	-	
β-Phenethyl acetate	Floral, Rose	1781	104	3,045 ±	405	3,978 ±	301 **	1800	1.69	2.21	(33)
Ethyl laurate	Sweet, Floral	1826	88	47 ±	15	61 ±	7.0	500	< 1	< 1	(27)
Isoamyl decanoate	Waxy, Banana	1841	70	3.5 ±	0.57	4.1 ±	0.61	-	-	-	
Ethyl myristate	Sweet, Waxy	2024	88	54 ±	19	66 ±	9.1	500	< 1	< 1	(27)
Ethyl cinnamate	Sweet, Fatty	2084	131	30 ±	4.7	65 ±	5.2 **	1	27	59	(34)
Ethyl palmitate	Fruity, Creamy	2231	88	307 ±	92	448 ±	140 *	14,000	< 1	< 1	(27)
Ethyl oleate	Fatty, Oily	2451	55	26 ±	6.8	47 ±	13 *	870	< 1	< 1	(26)
Ethyl linoleate	Fatty, Fruity	2498	95	1,181 ±	342	1,321 ±	213	450	2.6	2.9	(26)
Acids (4)											
Octanoic acid	Fatty, Waxy	2013	60	1,000 ±	72	1,026 ±	75	-	-	-	
Decanoic acid	Rancid, sour	2224	60	684 ±	96	733 ±	129	-	-	-	
Lauric acid	Fatty, Coconut	2435	73	301 ±	35	331 ±	53	7,200	< 1	< 1	(26)
Myristic acid	Waxy, Fatty	2643	73	396 ±	88	410 ±	125	-	-	-	
Others (8)											
2-Pentylfuran	Beany, Vegetable	1211	81	1.0 ±	0.08	1.1 ±	0.10 **	5	< 1	< 1	(28)
Rose oxide	Rose, Spicy	1330	139	0.8 ±	0.04	0.9 ±	0.03 **	4.8	< 1	< 1	(29)
Nerol oxide	Herbal, Green	1448	68	18 ±	3.4	25 ±	1.9 *	80	< 1	< 1	(30)
Linalool	Citrus, Floral	1520	71	16 ±	2.3	16 ±	2.0	50	< 1	< 1	(36)
Nerol	Sweet, Neroli	1767	69	14 ±	1.8	19 ±	0.9 *	5500	< 1	< 1	(29)
β-Damascenone	Apple, Rose	1790	121	2.2 ±	0.32	3.1 ±	0.22 **	0.29	7.6	10.6	(29)
Geraniol	Floral, citrus	1806	69	18 ±	5.7	24	1.4	640	< 1	< 1	(29)
β-Ionone	Floral, Woody	1902	177	0.41 ±	0.09	1.1 ±	0.07 **	1	< 1	1.1	(36)

※1 : Solid-state saccharification. ※2 : Odor activity value.

The concentration of volatile compounds are corrected depending on a 25% alcohol concentration. Asterisks show a significant difference (** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$) between Imo-shochu and SSS Imo-shochu according to Student's t test. MS, identification by comparison with the NIST05a mass spectral database. Mean $\pm$ SD (n = 4). Odor threshold obtained from references : (25) H. Guth et al., 1997. (26) P. Salo et al., 1972. (27) L. Zea et al., 2001. (28) Y. Fu et al., 2021. (29) Y. Osafune et al., 2020. (30) M. Crandles et al., 2015. (31) G. Takeoka, et al., 1996. (32) P.-P. Wang et al., 2015. (33) B. Zhang, et al., 2020. (34) R. López et al., 2002. (35) H. S. Lam et al., 2003. (36) T. KAMIWATARI et al., 2009.

超えていることが要因の一つと考えられる。

要 約

米麴と主原料を別々に仕込む二次仕込み法と呼ばれる焼酎特有の仕込み法に、中国の蒸留酒である米香型白酒の仕込み法である固体糖化を融合した新規な仕込み法による芋焼酎の製造の可能性について検討した。その結果、最適な糖化条件は、糖化温度は60℃、糖化時間は24時間、麴歩合は10%であり、この時の糖化率は48.5%であった。サツマイモに含まれるスクロースが米麴由来の酵素により分解されることが分かった。麴歩合を上げても、糖化率は向上しなかった。これは、 α -アミラーゼの蒸し米への無効吸着が原因であることが分かった。ニューラーゼF3G（プロテアーゼ）を添加すると糖化率は70%に向上した。最適な糖化条件で芋焼酎を製造すると、従来の仕込み法と比べ発酵は遜色なかった。得られた焼酎は、従来法の焼酎と比べ、香りは焼芋様や花様が強く、味は苦味の評点が高くまた、キレと濃厚さがあった。また、香気成分は同定された42成分のほとんどが、固体糖化焼酎が従来焼酎と比べて僅かではあるが高濃度に含まれ、その内17成分が両焼酎間の濃度に有意差があった。これらのことから、焼酎製造における二次仕込み法に中国の米香型白酒の固体糖化工程を融合する新規な芋焼酎製造が可能であるとともに、酒質の多様化が期待できることが分かった。

謝 辞

本研究は、日本酒造組合中央会の「単式蒸留焼酎に係る委託調査研究」の支援と、鹿児島県工業技術センター職員による官能評価の協力によるものであり、深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 鮫島吉廣：醸協 99, 495-500 (2004)
- 2) X. W. Zheng and B. Z. Han : *J. Ethn. Foods.*, **3**, 19-25 (2016)
- 3) X. Yin, Y. Yoshizaki, M. Ikenaga, X. L. Han, K. Okutsu, T. Futagami, H. Tamaki and K. Takamine : *J. Biosci. Bioeng.*, **129**, 315-321 (2020)
- 4) 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），214

- (1996)
- 5) W. T. Frankeberger and J. B. Johanson : *Plant Soil.*, **74**, 301-311 (1983)
- 6) 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），230 (1996)
- 7) 高峯和則，小島舞，奥津果優，二神泰基，玉置尚徳，吉崎由美子：醸協 **113**, 375-382 (2018)
- 8) 藏菌秀伍，吉崎由美子，Y. Xuan，奥津果優，高峯和則：醸協 **116**, 182-194 (2021)
- 9) 白石洋平，竹浦滯，奥津果優，吉崎由美子，二神泰基，玉置尚徳，和久豊，高峯和則：醸協 **116**, 39-48 (2021)
- 10) 岩野君夫，三上重明，福田清治，椎木敏，島田豊明：醸協 **81**, 490-494 (1986)
- 11) N. Inokuchi, T. Takahashi and M. Irie : *J. Biochem.*, **90**, 1055-1067 (1981)
- 12) S. Talekar, V. Ghodake, A. Kate, N. Samant, C. Kumar and S. Gadagkar : *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, **4**, 4760-4765 (2010)
- 13) H. Manoochehri, N. F. Hosseini, M. Saidijam, M. Taheri, H. Rezaee and F. Nouri : *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, **25**, 101599 (2020)
- 14) 瀬戸口眞治，間世田春作：醸協 **95**, 690 (2000)
- 15) 氏原邦博，黒岩賢治，日高福男，杉本明：日作九支報，**67**, 50-51 (2001).
- 16) 高峯和則：醸協 **115**, 623-630 (2020)
- 17) 椎木敏：醸協 **76**, 788-792 (1981)
- 18) 酒税法及び酒類行政関係法令等解釈通達第86条の5，2 (1) ホ <https://www.nta.go.jp/law/tsutatsu/kihon/sake/8-08.htm> (国税庁 HP：2021年10月13日現在)
- 19) M. Aliani and N. A. M. Eskin : Bitterness (John Wiley & Sons, Ltd), 83-103 (2017) .
- 20) O. Oladokun, S. James, T. Cowley, F. Dehmann, K. Smart, J. Hort and D. Cook : *Food Chem.*, **230**, 215-224 (2017).
- 21) T. Ohta, T. Omori, H. Shimojo, K. Hashimoto, T. Samuta and T. Ohba : *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1811-1816 (1991).
- 22) 神渡巧，瀬戸口眞治，上田次郎，瀬戸口智子，緒方新一郎：醸協，**101**, 437-445 (2006).
- 23) Y. Yoshizaki, K. Takamine, S. Shimada, K. Uchihori, K. Okutsu, H. Tamaki, K. Ito and Y. Sameshima : *J. Inst. Brew.*, **117**, 217-223 (2011).

- 24) Y. Wang and S. J. Kays : *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **125**, 638-643 (2000).
 - 25) H. Guth : *J. Agric Food Chem.*, **45**, 3027-3032 (1997).
 - 26) P. Salo, L. Nykänen and H. Suomalainen : *J. Food Sci.*, **37**, 394-398 (1972).
 - 27) L. Zea, L. Moyano, J. Moreno, B. Cortes and M. Medina : *Food Chem.*, **75**, 79-84 (2001).
 - 28) Y. Fu, T. Chen, S. H. Y. Chen, B. Liu, P. Sun, H. Sun and F. Chen : *Trends Food Sci. Technol.*, **112**, 188-200 (2021).
 - 29) Y. Osafune, K. Toshida, J. Han, A. Isogai and N. Mukai : *J. Inst. Brew.*, **126**, 131-135 (2020).
 - 30) M. Crandles, A. G. Reynolds, R. Khairallah and A. Bowen : *LWT - Food Sci. Technol.*, **64**, 243-258 (2015).
 - 31) G. Takeoka, R. G. Buttery and L. Ling : *LWT - Food Sci. Technol.*, **29**, 677-680 (1996).
 - 32) P.-P. Wang, Z. Li, T.-T. Qi, X.-J. Li and S.-Y. Pan : *Food Chem.*, **169**, 230-240 (2015).
 - 33) B. Zhang, D. Xu, C. Duan and G. Yan : *Process Biochem.*, **90**, 44-49 (2020).
 - 34) R. López, M. Aznar, J. Cacho and V. Ferreira : *J. Chromatogr A.*, **966**, 167-177 (2002).
 - 35) H. S. Lam and A. Proctor : *J. Food Sci.*, **68**, 2676-2681 (2003).
 - 36) 神渡巧, 瀬戸口智子, 上田次郎, 吉永優, 緒方新一郎, 瀬戸口眞治, 高峯和則, 鮫島吉廣 : 醸協, **104**, 49-56 (2009)
-