吟醸もろみの高級アルコール類および エステル類の経日変化

池見元宏・斎藤久一・小泉武夫*・野白喜久雄*

(秋田県醸造試験場, *東京農業大学)

昭和 58 年 2 月 23 日受理

Changes of Higher Alcohols and Esters During Fermentation of Saké Moromi Mash

Changes of Aroma Components in Saké Moromi Mash (Part 1)

Motohiro IKEMI, Kyuichi SAITO, Takeo KOIZUMI, and Kikuo NOJIRO

(Akita Prefectural Institute of Brewing, 47 Yabase-inugawara Akita-shi, 010)

緒 言

清酒の香気は他の酒類に見られない独特の芳香を持ち、それを構成する成分群の量比は製成酒の良否を直接左右する重要な要因となっている。最近清酒の需要開発の一環として、その多様化が行なわれ、各酒造メーカーでは多くのタイプの清酒を市場に出荷して需要の拡大に努めているが、中でも香気の高い清酒は市場での評価が高いため、各酒造場では清酒の香気をいかにして高めるかということに努力している。また、冷用酒にその例を見るように、最近では清酒を冷やして飲む場合も多く、この点からも香りの高い清酒が要求されている。

かかる背景において、清酒の香気向上を品質を高める一手段としてとらえ、これまでも数多くの人が試験醸造を行ってきた。これらの経験的知識の蓄積は原料米の精米歩合の低下、突破精型麴の製造、もろみの低温長期型操作、さらに、種麴菌や酵母の育種、選択などに集約される。

いずれにせよ香気成分はもろみの発酵中に大部分蓄積されるが、吉沢¹⁾はすでに高級アルコール、エステルなど 6 成分のもろみ中の変化について報告している。われわれは吟醸もろみの発酵中の香気成分の動向を詳しく把握することが製成酒の香気成分を高めるための重要な基礎資料を得ることになるものと考え、本研究を行い、種々の香気成分生成について興味ある結果を得たので報告する。

清酒もろみにおける香気成分の動向 (第 1 報)

実 験 方 法

1. 供試もろみ 秋田県内の一酒造場の吟醸もろみを経日的に採取した。もろみの白米量は 750 kg 仕込で、麴米と酒母米は山田錦、掛米は美山錦で精米歩合は 40 % である。酒母は普通速醸配で、酵母は協会 9 号を自家培養した。また、麴は突破精型に仕上げたものを用い、仕込配合は Table 1 に示したとおりである。

試料の採取はもろみの搾入れ後一般成分のものは 7℃ で自然沕過を行い分析に供したが、香気成分の方は 500 ml 容のポリ広口びんに 500 g を取り、直ちに -40℃ のフリーザーの中に入れて保存した後分析に供した。

2. 一般成分の分析 国税庁所定分析法に準じて行った。

3. 香気成分の定量 -40℃ に保存した試料 500 g を 5℃ の室温で解氷後、蒸留水 500 ml を加えて稀釈し、よく攪拌して東洋沕紙 No. 2 を用いて沕過を行い、沕液が出なくなったことを確認した後、沕液を攪拌して 200 ml を 1000 ml 分液沕斗に取り、それに一定量の内部標準物質 (低沸点物質の分析用には *n*-アミルアルコール

Table 1. Preparation of Saké mash

	Total rice (kg)	Steamed rice (kg)	Rice- koji (kg)	Water (l)
Moto-mash	55.0	37.5	17.5	60.0
Moromi-mash				
1 st addition	117.5	82.5	35.0	130.0
2 nd addition	247.0	197.0	50.0	320.0
3 rd addition	330.5	270.5	60.0	525.0
Total amount	750.0	587.5	162.5	1035.0

Table 2. Operating conditions for gas chromatographic analysis

	Packing and Support	Length of column (m)	Temperature of oven (°C)	Flow rate of carrier gas (N ₂ ml/min.)
Lower boiling point (1)	10% Dinonyl phthalate on Diasilid-M	2	60~83	38
Lower boiling point (2)	8% Triethanol amine on C-22	3	72	40
Middle boiling point	10% Diethylene glycol succinate on Neosorb-NC	1	90~105	40
Higher boiling point	10% Diethylene glycol succinate on Neosorb-NC	1	150	40

The instrument used was Hitachi GC-163 gas chromatograph equipped with hydrogen flame ionization detector.

Table 3. Changes with time in the mash components during refined saké (ginjyo-shu) moromi mash fermentation

Days	Temp. of mash (°C)	Sake meter	Alcohol (%)	Total acid (ml)	Amino acid (ml)	Reducing sugar (g/100 ml)
Hatsu-zoe	13.5					
Odori	14.4	-70.0	8.0	2.55	0.45	6.88
Naka-zoe	9.0					
Tome-zoe	6.0					
2	6.5	-64.0		0.50	0.30	5.42
3	7.4	-68.0		0.60	0.35	6.34
4	8.3	-68.0	3.8	0.70	0.35	6.70
5	8.6	-66.0	4.4	0.80	0.30	6.40
6	9.0	-63.0	6.0	0.95	0.30	6.00
7	9.4	-59.5	6.8	1.05	0.25	6.15
8	9.8	-55.5	7.5	1.10	0.35	5.82
9	9.8	-51.0	8.4	1.25	0.30	5.34
10	9.8	-44.5	9.2	1.30	0.35	4.97
11	10.0	-41.0	9.8	1.35	0.40	4.63
12	10.0	-36.0	10.6	1.40	0.40	3.95
13	10.0	-31.0	11.6	1.40	0.50	3.63
14	9.9	-26.0	12.1	1.45	0.50	3.28
15	9.8	-23.0	13.3	1.45	0.55	2.75
16	9.8	-19.0	13.8	1.50	0.60	2.63
17	9.8	-16.0	14.2	1.55	0.60	2.45
18	9.8	-13.0	14.5	1.60	0.65	2.10
19	9.8	-10.0	15.2	1.60	0.70	1.99
20	10.0	- 8.5	15.4	1.60	0.75	1.85
21	9.8	- 6.5	16.0	1.60	0.75	1.77
22	9.5	- 4.5	16.4	1.60	0.75	1.64
23	9.2	- 3.0	16.5	1.60	0.75	1.49
24	8.2	- 1.6	16.6	1.60	0.70	1.47
25	8.0	+ 4.0	17.9	1.45	0.60	1.31

ル、中沸点にはカプリル酸メチルとカプリン酸メチル、高沸点物質の定量には安息香酸メチルとこはく酸ジメチルを用いた)を各々 100 ppm 添加して、再精留エーテル 2 に対して *n*-ペンタン 1 の混合溶剤 350 ml を加えて 60 分間振とう抽出し、分別後 2 回繰返して抽出を行い、得られた抽出液を 2.5% Na₂CO₃ と 1% HCl をそれぞれ用いて、順次振とう洗浄し、酸性化合物と塩基性化合物を除いた。得られた中性区分はウイットマーカラムを用い上端 34°C 以下でゆるやかに溶剤を留去した後、ガスクロマトグラフィーを用いて分別、定量した。なお、この方法のほか、低沸点区分ではヘッドスペース法、また、低、中、高沸点区分で抽出しない試料も直接注入して定量し、抽出法による定量値を常にチェックしながら行った。

用いたガスクロマトグラムは日立 GC-164 (FID) で、

使用カラムおよび分析条件は Table 2 に示すとおりである。各成分の同定と定量は、既法²⁾ のとおり標準物質との相対保持時間の一致性および各成分のピーク面積を半値幅法で測定することにより行った。なお、各沸点物質の区分についてはすべて既報²⁾ のとおりである。

実験結果および考察

1. もろみの一般成分の経日変化と香りの官能変化

吟醸もろみの発酵中における一般成分の経日変化は Table 3 に示すとおりで、品温経過は 11 日目に 10°C の最高をとり、もろみの末期に近づくにつれて品温を下げ、25 日目にアルコールを添加して上槽した。

発酵中のもろみの香気は官能的に高泡に近づくにつれて高級アルコールの香りが強く感じられ、それは高泡から落泡にかけて最大となったが、同時に吟醸もろみ特有

Fig. 1. Changes with time in the alcohols during refined saké (ginjyo-shu) moromi mash fermentation.

の果物様の芳香も非常に強く感じられた。さらに落泡後玉泡から坊主面になってもろみが中期から末期に近づくにつれて、吟醸独特の非常に落ち着いたエステルの香りが強く感じられた。したがって、この供試吟醸もろみはよい経過のものとしてすることができる。

また、成分的に見ても日本酒度の切れが順調で、アルコールの生成もよく、酸度は平均なのに対してアミノ酸の出方も少なく、本もろみの経過は順調なものであった。

2. もろみにおける香気成分の経日変化

高級アルコール類およびその酢酸エステル類の変化を Fig. 1, 2 に、また、脂肪酸およびオキシ酸のエチルエステル類の変化を Fig. 3, 4 に示した。

高級アルコールはそれぞれ特有の香りを有し、清酒の香気構成に重要な役割を果たす化合物群であるが、もろみ中では *i*-アミルアルコールの生成が最も多く、次いで *i*-ブチルアルコール、*n*-プロピルアルコール、 β -フェニルエチルアルコールの順でもろみ期間中経過し、*n*-ブチルアルコールはもろみ中ではほとんど生成されなかった。

i-アミルアルコールと *i*-ブチルアルコールはもろみ仕込の直後から生成されて 12 日目頃まで直線的に増加し、その後もろみ末期まで微増する曲線を示した。また、*n*-プロピルアルコールは 6 日目頃まで急激な増加を示すが、以後は微かに増加する程度であり、 β -フェニルエチルアルコールは 8 日目頃まで増加するが、その後もろみ中期で生成が止り、末期で再び生成する経過を示し注目される。

次に、これらのアルコール類の酢酸エステルは Fig. 1 に示すとおり留添後 8~10 日目まで急激に増加したが、以後やや漸減の傾向を示し、高級アルコールの生成と異なるパターンを示した。特に吟醸香の中心的な香気成分である *i*-アミルアセテートではこの傾向が明らかで、こ

Fig. 2. Changes with time in the acetic acid esters of higher alcohols during refined saké moromi mash fermentation.

れらのエステル類の基質となるアルコール類が増加している期間中でもエステルが減少することは、たとえ基質となるアルコールが存在していても、これに相当する酢酸エステルは必ずしも増加するものでないことが明らかになった。

NORDSTRÖM³⁻⁶⁾ は、酵母による高級アルコールのエステル生成は基質のアルコール類が存在しても単にアルコールと酢酸とを直接結合させるエステラーゼのような作用によるものではなく、細胞内のエネルギー生産反応に伴ない生成されるものであることを指摘しており、この吟醸もろみ中でも 16 日を経過してアルコール濃度が 13~14% になって、酸度の増加が停止する頃に同様の現象が起ることが観察され、非常に興味深いところである。

脂肪酸とエチルアルコールとのエステルでは (Fig.

Fig. 3. Changes with time in the ethyl ester of fatty acids during refined saké moromi mash fermentation.

Fig. 4. Changes with time in the ethyl leucinate, ethyl lactate and diethyl succinate during refined saké moromi mash fermentation.

3), 大半が留添後8日目位までに生成され, その後やや減少するが, もろみの末期で再び増加するパターンを示した。この傾向は特にカブロン酸エチルで顕著であったが, これらのエステルも高級アルコールの酢酸エステルと同じように, 清酒の香気を高くする極めて重要な成分群であり, もろみ末期におけるこれらのエステル類の増加は興味深い経過である。このようにもろみ末期で一部のエステルが増加する理由は明らかではないが, アルコール濃度の上昇や栄養源の減少する中で, 酵母の棲息環境が酵母のエステル生成系に何らかの影響を及ぼしているためとも推察され, 今後検討する考えである。

Fig. 4 に示したロイシン酸エチルは清酒中に 1~2 ppm 存在するだけで, 清酒の香りを高める重要な成分であることを山本⁷⁾が認め, その後, 鈴木ら⁸⁾もこの化合物の清酒における香気付与性を確認している。このエステルはもろみ初期から漸増を続け, 同じオキシン酸のエステルである乳酸エチルとほぼ同じ消長を示した。

このロイシン酸エチルは, 麹菌が白米中のロイシンに作用してロイシン酸を産生し, これがもろみ中で酵母によりエステル化されるものであるが, 清酒酵母が他の醸造用酵母に比べてこのエステルの生成が顕著である⁹⁾ことは興味深い。次にジカルボン酸のエステルとして代表的なコハク酸ジエチルエステルは, 他のエチルエステルと異り, もろみ末期にかけて漸減する傾向を示した。この現象については飛散や分解などの要因が考えられるが, 今後検討すべき課題と考えている。

なお, 普通清酒もろみにおける香気成分の動向は, すでに吉沢が内地米を外米を用いた仕込みでエチルアルコール, エチルアセテート, *i*-アミルアセテート, *i*-ブチルアセテート, エチルブチレート, の6成分について比較を行い, 内地米と外米の香気成分の違いを指摘している。ただ, 各種香気成分の生成パターンは, よく類似している成分と多少違った傾向の成分とがあることは, 仕

Fig. 5. Patterns of changes in aroma components during saké moromi mash fermentation.

込の大きさとか, 品温経過の相違によっても当然異なるものと判断されるので, 今後普通仕込みのものについても検討する考えである。次に以上の結果をまとめて, 吟醸もろみにおける香気成分の経日変化のパターンを Fig. 5 に示したが, 脂肪族一価のアルコールはいずれももろみの経過につれて上昇のパターンを示し, 一方その酢酸エステル類は増加してから生成が鈍るか漸減するパターンを, また脂肪酸のエチルエステルはもろみの前半に増加した後, 中期にやや減少し, もろみ末期には再び増加するパターンを示した。ほかにロイシン酸エチルはもろみの全期間に亘って微かづつ増加した。

以上の結果は吟醸もろみの香気成分の変化の一例ではあるが, もろみの高泡時の官能的香気ともろみ末期の香気が官能的に相違することは, 上述の香気成分のパターンが異なる事実からも納得されることである。なお, 弧田^{10,11)}らはもろみから飛散する高泡時と落泡以後の香気を捕集して相異を認めているが, その結果ともよく一致している。

要 約

1. 吟醸もろみの発酵中における香気成分の動向を検討するために, 総米 750 kg の吟醸仕込みのもろみについて, 仕込直後からアルコール添加までの 25 日間経日的に試料を採取し, 香気成分をガスクロマトグラフを用いて分析した。

2. 高級アルコール類は一部の成分を除きもろみ前期で急増し, 後期で漸増する傾向を示し, 全期を通じて生成が続いている。一方その酢酸エステル類は高泡から落泡の時期にかけて最大となり, 以後そのまま含量を保つものと微かに減少するものが認められた。

脂肪酸のエチルエステル類はもろみの発酵の最盛期に

最大となり、その後漸減するがもろみの末期に再び微増することが認められた。また、ロイシン酸エチル、乳酸エチルはもろみがある程度経過してから増加し、全期間漸増するパターンを示した。一方、こはく酸ジエチルはもろみ前期で急増し、末期になるにつれて減少している。

終りにあたり、本研究にご協力下さった西牟田茂太氏および秋田県内の酒造場に深謝するとともに、ご教導とご校閲を賜った吉澤淑博士（国税庁醸造試験所）に深く御礼申し上げます。

文 献

1) 吉澤 淑：醸協 61 (7) 629 (1966)

- 2) 小泉武夫：醸協 63 (4) 446 (1968)
- 3) NORDSTRÖM, K : *J. Inst. Brewing* 67 173 (1961)
- 4) NORDSTRÖM, K : *J. Inst. Brewing* 68 188 (1962)
- 5) NORDSTRÖM, K : *J. Inst. Brewing* 69 142 (1963)
- 6) NORDSTRÖM, K : *J. Inst. Brewing* 70 42 (1964)
- 7) 山本 淳：農化 35 619 (1961)
- 8) 鈴木昌治, 米山 平, 小泉武夫：醸工 58 171 (1980)
- 9) 鈴木昌治, 米山 平, 小泉武夫：醸工 60 19 (1982)
- 10) 菰田 快, 真野史義, 山田正一：農化 40 127 (1966)
- 11) 菰田 快, 山田正一：農化 40 173 (1966)