協会 9 号酵母と協会 10 号酵母の生成する 香気成分の比較について

岩田 博・中 嶋 則 行・水野昭博・泉 健
池田 英・熊谷知栄子・梅田紀彦・田中利雄
(関東信越国税局鑑定官室)

昭和 62 年 7 月 13 日受理

Comparision of the Aromatic Compounds in Sake Making using Kyokai No.9 and No.10 Yeasts

Hiroshi IWATA, Noriyuki NAKAJIMA, Akihiro MIZUNO, Takeshi IZUMI,
Ei IKEDA, Chieko KUMAGAI, Norihiko UMEDA and Toshio TANAKA
(Office of Technical officers, Kantou Sinetu Regional Taxation Bureau,
Kudan minami Chiyoda-ku Tokyo 102)

To compare the components in the sake fermented by Kyokai No.9(K-9) with that by No.10(K-10), we analyzed tie sake presented to the sake contest. It was found that the content of *n*-propyl alcohol and the ratio of A/B (*i*-amyl alcohol/*i*-butyl alcohol) and P/B (*n*-propyl alcohol/*i*-butyl alcohol) in the sake fermented by K-10 were greater than that of K-9. With the principal component analysis, five principal components (1st component means *n*-propyl alcohol) were extracted. We also found that the ratios of higher alcohols were clearly different from K-9's and K-10's in two small scale fermentation tests. Through this analysis, we can divide sake by K-9's and K-10's.

Key words : 協会 9 号・協会 10 号酵母・高級アルコール

緒 言

吟醸酒造りにおいて、使用酵母の選択は重要なポイントの一つである。昭和 59 酒造年度全国新酒鑑評会¹⁾の全出品酒について、使用された酵母の内訳を見ると、協会 9 号系(泡なしを含む、以下 K-9 と呼ぶ) 600 点、協会 10 号(以下 K-10 と呼ぶ) 163 点、その他 41 点と前二者が全体の約 95% を占めている。地域別に見ると K-9 は、西日本を中心に全国で、K-10 は東日本を中心に使用されており、特に関東信越国税局管内での使用割合が高い。

K-9 及び K-10 による吟醸酒造りについては、それぞれ萱島²⁾及び小川³⁾の各総説がある。しかし両者における性質の差については、製成酒の酸度が K-10 の方が低いことが知られている以外に、報告された例は少ない。

今回、著者らはこの 2 種類の酵母の、特に香気成分生成能の差を調べるため、昭和 61 年 3 月に行われた第 42

回関東信越国税局酒類鑑評会出品酒(以下単に鑑評会出品酒と呼ぶ)について、一般分析及び香気成分の分析を行い、これらの値を用いて主成分分析を実施した。その結果、*n*-プロパノールを主体とする高級アルコールが第 1 主成分として得られ、これが K-9 と K-10 の大きな違いであると示唆された。更に、K-9 と K-10 をそれぞれ使った 2 種類の小仕込試験の結果からも、*n*-プロパノールを主とした高級アルコールの含量及びその比について、両者の間に有意な差を認めたので報告する。

実 験 方 法

1. 鑑評会出品酒の分析及びその主成分分析

当局鑑評会出品酒 37 点(K-9, 13 点, K-10, 24 点)について、一般分析及び香気成分の分析を行った。一般分析は国税庁所定分析法⁴⁾に準じて行った。香気成分の分析は、吉沢⁵⁾の Head-space-GLC 法を一部改変し、カラムを PEG-20 M とし、内部標準に 4-メチル-2-ペンタ

第1図 香気成分の分析条件と、その

ガス chromatogram

機種 日立163型 FID GC, カラム PEG 20 M 1m×3mm, カラム温度 70℃ キャリアガス流量 N₂ 30 ml/分
Injection, Detector 温度 200℃

No.	Rt/内部標準
1. <i>n</i> -プロパノール	0.45
2. <i>i</i> -ブタノール	0.63
3. 酢酸イソアミル	0.82
4. 4-メチル-2-ペンタノール	1.00 (内部標準)
5. <i>i</i> -アミルアルコール	1.31
6. カプロン酸エチル	1.62

ノール⁶⁾を用いて行った。分析例を第1図に示した。この方法による香気成分の分析について、繰返し試験($n=10$)を行った。

また、一般分析及び香気成分の分析で得られた値と、それらの比からなる13変数を用いて主成分分析⁷⁾を行った。

2. 小仕込試験1及び2

難波⁸⁾らの方法に準じた。酵母は、昭和59酒造年度に(財)日本醸造協会から発売されたK-9及びK-10で、ポーメ8の麹汁で30℃、3日間培養したものを用いた。初期酵母密度は 5×10^6 個/mlとした。

試験1として、仕込温度を15℃一定、麴に70%精白一般米凍結保存麴(普通酒麴)、掛米に70% α 米を使用し、酵母を各々K-9、K-10とした2種類の仕込みを行った。試験2として、仕込温度を10℃一定、50%精白の山田錦(試験2-A)、美山錦(試験2-B)の2種類の凍結保存麴(吟醸酒麴)を用い、掛米に50%精白の山田錦、酵母を各々K-9、K-10とした4種類の仕込みを行った。仕込みは1段とした。試験1は、普通酒仕込みに対応し、小仕込試験の変動を見るためK-9及びK-10各々8本ずつ計16本を行った。試験2は、吟醸仕込みに対応

第1表 仕込配合と試験仕込の内容

1. 仕込配合

	試験 1	試験 2
総原料 (g)	60	60
掛米 (g)	50 (α 米)	50
麴米 (g)	10	10
汲水 (ml)	95	85

- 10倍希釈乳酸 0.5 ml 使用
- 仕込水は、蒸留水をNaCl (100 ppm) とKH₂PO₄ (40 ppm) で加工した。

2. 試験仕込の内容

	もろみ品温	掛米	麴米	酵母	仕込本数
試験1	15℃一定	70% α 米	70% 白米	K-9	8
				K-10	8
試験2	10℃一定	50% 山田錦	50% 山田錦 (試験 2-A)	K-9	3
				K-10	3
		50% 山田錦	50% 美山錦 (試験 2-B)	K-9	3
				K-10	3

し、酵母による差に麴による差を加え、1種類の仕込みについて3本ずつ、計12本行った。以上の小仕込試験の仕込配合及び試験区分について第1表に示した。なお、発酵経過は炭酸ガスの減量により示し、上槽時期は試験1が減量20g前後、試験2が減量16g前後とした。上槽方法は、遠心分離法(10,000 rpm, 10分)によった。上槽酒は、凍結保存して以後の分析に供した。一般分析は国税庁所定分析法に準じ、香気成分の分析はHead-space-GLC法によった。アルコール分の測定は、島津アルコール分析システム-AB-1Bによった。

結 果

1. 鑑評会出品酒の分析及びその主成分分析

第2表に、Head-space-GLC法による香気成分のくり返し試験の結果を示した。カプロン酸エチルの変動率が7%台とやや高いが、その他の分析値及び比の変動率は5%以下と小さく安定した値が得られた。

つぎに、鑑評会出品酒の分析値をK-9及びK-10に分けて第3表に示した。各項目について平均値の差の検定を行ったところ、従来から知られているようにK-10で酸度が低く、1%の危険率で有意差があった。また、*n*-プロパノール、A/B及びP/Bの値がK-10>K-9となりその差は1%の危険率で有意であった。更に、*i*-ブタノール、酢酸イソアミル、*i*-アミルアルコール、A/Pに5%の危険率で有意差があった。

これら13の変数を用いて主成分分析を行った結果、固有値が1.0以上の主成分を抽出すると、第4表に示すように5個の主成分が得られ、この5成分で累積寄与率は82.9%となった。各々の因子負荷量から、第1主成

第2表 香気成分のくり返し試験の結果

(n=10)

	<i>n</i> -PrOH	<i>i</i> -BuOH	<i>i</i> -AmoAc	<i>i</i> -AmOH	Cap-oEt	E/A	A/B	A/P	P/B
平均値	90.4	59.9	2.98	120.4	0.830	2.48	2.01	1.33	1.51
標準偏差	3.87	1.01	0.132	2.017	0.0622	0.116	0.0429	0.0654	0.0515
変動率	4.27	1.69	4.43	1.68	7.49	4.68	2.13	4.92	3.41

E/A : *i*-AmoAc/*i*-AmOH×100 A/B : *i*-AmOH/*i*-BuOH×100 A/P : *i*-AmOH/*n*-PrOH×100 P/B : *n*-PrOH/*i*-BuOH×100
(以下 同様)

第3表 鑑評会出品酒の分析値

分析項目	K-9		K-10	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
1. アルコール分(%)	17.4	0.379	17.4	0.313
2. 日本酒度	+6.2	1.53	+6.4	1.02
3. 酸度**	1.36	0.939	1.20	0.169
4. アミノ酸度	1.04	0.185	0.99	0.208
5. <i>n</i> -プロパノール**	92.2	20.3	116.2	22.7
6. <i>i</i> -ブタノール*	64.4	6.10	58.1	8.54
7. 酢酸イソアミル*	4.76	1.34	5.78	1.50
8. <i>i</i> -アミルアルコール*	128.1	12.4	139.9	14.5
9. カプロン酸エチル	1.76	0.595	1.68	0.690
10. E/A	3.74	1.03	4.15	1.02
11. A/B**	1.99	0.0737	2.44	0.304
12. A/P*	1.44	0.272	1.24	0.243
13. P/B**	1.43	0.284	2.05	0.564

**：平均値の差の検定で1%の危険率で有意差のあったもの

*： " 5% "

第4表 各主成分の因子負荷量, 固有値

	第1主成分	第2主成分	第3主成分	第4主成分	第5主成分
1. 酸度	-0.2024	0.0857	-0.0380	-0.5820	-0.0989
2. アミノ酸度	0.1738	0.2247	-0.3883	-0.3562	0.0495
3. <i>n</i> -プロパノール	0.4137	-0.1846	-0.2118	0.0951	0.1532
4. <i>i</i> -ブタノール	-0.2843	0.1638	-0.3825	0.2987	0.3751
5. 酢酸イソアミル	0.2633	0.4869	0.1440	0.1702	-0.0073
6. <i>i</i> -アミルアルコール	0.1242	0.1466	-0.5728	0.3757	-0.1184
7. カプロン酸エチル	0.2060	0.4171	0.1061	-0.0136	0.3681
8. E/A	0.2160	0.4510	0.4047	0.0202	0.0303
9. P/B	0.4430	-0.2088	-0.0302	-0.0909	-0.0730
10. A/B	0.3810	-0.0460	-0.1127	-0.050271	-0.4442
11. A/P	-0.3890	0.2672	-0.0759	0.0486	-0.2271
12. アルコール分	0.1014	-0.1567	-0.0912	-0.3178	0.6198
13. 日本酒度	-0.0041	-0.3218	0.3243	0.3912	0.1863
固有値	4.4375	2.1091	1.7966	1.2582	1.1715
累積寄与率	0.3413	0.5036	0.6418	0.7386	0.8287

2. 小仕込試験における各成分の違い

第3図に、試験1及び2における発酵経過(各々の平均値)を示した。両試験とも K-9 の方が K-10 より発酵が進み気味であった。試験2においては、麴に美山錦を用いた仕込みの方が山田錦を用いた仕込みより発酵日数が2日短くなった。

小仕込試験により得られた試験酒の一般分析値を第5表に示した。試験1では、K-9、K-10 各々8本ずつの分析値の変動率を検討したが、日本酒度を除いてほぼ安定した値を得た。また、平均値の差の検定を行ったところ、アルコール分と酸度に有意差を得た。

第6表には小仕込試験酒の香気成分の分析値を示した。試験1では、K-9、K-10 各々8本ずつの仕込みの分析値の変動を見た。エステル類、特にカプロン酸エチルの変動率が10%を越えバラツキが大きかったが、高級アルコール及びその比については、その変動率がいずれも5%以下と小さく安定した値が得られた。K-9 と K-10 で平均値の差が1%の危険率で有意であったのは、*n*-プロパノール、酢酸イソアミル、E/A、A/B、P/B(以上 K-10>K-9)、*i*-ブタノール、A/P(K-10<K-9)であった。

試験2は、50%精白の山田錦を掛りに麴を山田錦と美山錦の2種類で仕込みを行い、*n*-プロパノール、*i*-ブタノール、A/B、A/P、P/Bについて両者ともに1%の危険率で有意差が認められた。試験1と同様に、*n*-プロ

第2図 第1-2主成分の散布図

分は *n*-プロパノール、第2主成分はエステル、第3主成分は *i*-アミルアルコール、第4主成分は酸度、第5主成分はアルコール分をそれぞれ主とする成分と意味づけられた。第1主成分を横軸に、第2主成分を縦軸に各々の出品酒の主成分得点をプロットしたのが第2図である。K-9 は、第1主成分の負の側に位置し、K-10 と一部重なるものの分布に差が見られた。第1主成分は、*n*-プロパノールを主とする成分であるので、更に、小仕込試験を行って K-9 と K-10 とで高級アルコールの含量等に差があるかどうかを中心に検討した。

パノール、A/B、P/B は K-10>K-9 であり、*i*-ブタノール、A/P は K-10<K-9 であった。更に、試験 2-A と試験 2-B とを同一の酵母で比較すると、その高級アルコールの含量は異なったが、各々の比である A/B、A/P、P/B はほぼ一定の値となることがわかった。これは、精米歩合の高い仕込の試験 1 でも、同様の傾向となった。以上、試験 1、2 の結果より、鑑評会出品酒の分析によ

り得られた、K-9 と K-10 の香気成分生成能の差を確認することができた。更に、鑑評会出品酒の分析値（平均値）と試験 1、2 の結果より、K-9 と K-10 の高級アルコールの比が一定の範囲にあり、両者は互いに重複しないことがわかった。

エステル類については、その変動率が大きく安定した値は得にくかったが、酢酸イソアミルは、K-10>K-9 という傾向が強く、カプロン酸エチルは両者に差はなかった。

考 察

酒類中の高級アルコールは、エタノールに次いで多くの含量を占め、酒類の基調香ともなっている。その酵母における生成経路については、アミノ酸の脱アミノ反応によって生成したケト酸が脱炭酸、還元されて生成する Ehrlich 経路（系 1）と、炭水化物の代謝経路により生成されたケト酸から生成する生合成系路（系 2）が知られている。この系 1 と系 2 との変換点について、吉沢⁹⁾は、協会 7 号酵母を用い、カザミノ酸を N 源とした場合、カザミノ酸 5 g/l で系 1 に、同じく 2 g/l で系 2 に

第 5 表 小仕込試験酒の一般分析値

			アルコール分 (%)	日本酒度	酸 度 (mL)	アミノ度 (mL)
試 験 1	K-9 (n=8)	平均 値	18.8*	+2.1	3.7*	2.2
		標準 偏差	0.160	0.835	0.125	0.0884
		変動率(%)	0.851	39.2	3.35	4.06
	K-10 (n=8)	平均 値	18.6*	+1.5	3.1*	2.1
		標準 偏差	0.128	0.964	0.089	0.0886
		変動率(%)	0.688	64.3	2.89	4.16
試 験 2	A	K-9	15.3	-2.3	2.8*	1.2
		K-10	15.4	-4.7	2.5*	1.1
	B	K-9	16.6	-2.7*	2.6	1.1
		K-10	15.8	-6.7*	2.4	1.1

**：平均値の差の検定で 1% の危険率で有意差のあったもの

*： " 5% " "

第 3 図 発 酵 経 過

第 6 表 小仕込試験酒の香気成分の分析値

			<i>n</i> -PrOH (ppm)	<i>i</i> -BuOH (ppm)	<i>i</i> -AmoAc (ppm)	<i>i</i> -AmOH (ppm)	Cap-oEt (ppm)	E/A	A/B	A/P	P/B
試 験 1	K-9 (n=8)	平均 値	253.0**	190.6**	16.3**	352.2*	1.11	4.62**	1.85**	1.39**	1.33**
		標準 偏差	6.60	3.49	0.76	8.60	0.179	0.232	0.0249	0.0388	0.0320
		変動率(%)	2.61	1.83	4.66	2.44	16.1	5.02	1.35	2.79	2.41
	K-10 (n=8)	平均 値	312.6**	151.2**	21.2**	362.5*	1.15	5.85**	2.40**	1.16**	2.07**
		標準 偏差	14.16	3.73	1.73	10.11	0.166	0.390	0.0149	0.0400	0.0755
		変動率(%)	4.53	2.47	8.16	2.79	14.4	6.67	0.621	3.45	3.65
試 験 2	A	K-9	121.4**	87.3**	7.00	182.0	1.25	3.84	2.09**	1.50**	1.39**
		K-10	175.0**	64.8**	7.92	193.4	1.37	4.10	2.98**	1.11**	2.71**
	B	K-9	134.4**	98.3**	11.60	194.6	1.32	5.96	1.98**	1.45**	1.37**
		K-10	189.5**	68.2**	9.40	200.1	1.63	4.71	2.93**	1.06**	2.77**

**：平均値の差の検定で 1% の危険率で有意差のあったもの

*： " 5% " "

沿った生成が行われると述べている。また、系2により生成される *i*-アミルアルコールは、*i*-ブタノールよりはるかに多いので、結果として A/B は培地のアミノ酸含量の低下に従って増加すると述べている。今回の著者等の小仕込試験1及び2は、仕込原料が前者は普通酒麴と α 米（各々70% 精米歩合）であり、後者は吟醸酒麴と山田錦（各々50% 精米歩合）であるので、アミノ酸含量は前者がかなり高いと推定される。A/B の値は、K-9では、試験1で1.85、試験2-Aで2.09、試験2-Bで1.98、またK-10では、試験1で2.40、試験2-Aで2.98、試験2-Bで2.93といずれも試験2の値が高く吉沢の結果と一致した。

更に吉沢は、A/B に影響を及ぼす因子として、発酵温度、pH、酸素濃度及び酵母の種類等を検討している。このうち酵母の種類として、ビール酵母、ワイン酵母等を調べ A/B に差があったと報告しているが、清酒酵母についてはふれていない。今回、著者等の得た結果では、精米歩合を低くすると A/B の値がやや大きくなるが、それ以上に K-9 と K-10 の酵母間の差が強く表われた。これは、新たに付け加えた A/P、P/B でも顕著であったし、麴を変えても同様であった。更に、これらの値は Head-space-GLC 法のくり返し試験や、試験1の高級アルコール及びその比の変動率が、5% 以下と安定していることから信頼性も高い。従って、使用酵母が K-9 か K-10 に限定されている場合は、製成酒中の高級アルコールの比率を見るという比較的簡便な方法によって、両者の区別が可能となる。

この両酵母の香気成分生成能の差については、高級アルコールの生成機能の差に基づくものと推定されるが、今後検討したい。また、鑑評会出品酒については、平均値では傾向が同じであったが、例外もあり、小仕込試験のように明確に K-9 と K-10 の差が出なかった。この原因は、各出品酒の製造条件の違い、あるいは異種酵母酒のブレンド等があったことによるものと考えられる。なお、使用酵母が K-9 か K-10 と明確で、ブレンド等がされていない吟醸酒数点を分析した結果は、両者を区別することができた。今後は、製造経緯のはっきりした多数の試料について、この傾向を確認していきたい。

吟醸酒において最も重要な成分であるエステル類については、今回の分析では変動率が高くやや信頼性に欠ける結果となった。ただ、酢酸イソアミルについては、おおむね K-10 が K-9 より含量が高いという結果を得た。これは、原¹⁰⁾が述べているように K-10 は吟醸香が著しく高い（特にもろみ初期において）こと、また酢酸イソアミルを生成する酵素のアルコールアセチルトランスフェラーゼ活性が、K-9 より K-10 がやや高いというこ

と¹¹⁾からも説明される。カブロン酸エチルに関しては、両酵母の間ではほとんど差がなかった。これは、その生成に関する酵素のエステラーゼ、アルコールアシルトランスフェラーゼ活性が、両者であり変わらないという報告¹²⁾があり、それが反映されたものと思われる。

要 約

1. 協会9号酵母（K-9）と協会10号酵母（K-10）の香気成分生成能に関する性質を比較するため、これらの酵母を用いて製造された鑑評会出品酒の一般分析及び香気成分の分析を行った。その結果、酸度、*n*-プロパノール、*i*-ブタノール、酢酸イソアミル、*i*-アミルアルコール、A/B、A/P、P/B 等に有意差があった。また、これらの値を用いて主成分分析を行ったところ、第1主成分に *n*-プロパノール、第2主成分にエステル、第3主成分に *i*-アミルアルコール、第4主成分に酸度、第5主成分にアルコール分をそれぞれ主とする成分が抽出された。

2. 1の結果を、2種類の小仕込試験（70% 精白の凍結保存麴と α 米を用いた試験1と、50% 精白の凍結保存麴と山田錦を用いた試験2）により確認した。特に、高級アルコールの比については K-9 と K-10 との間に大きな差があり、しかもそれぞれが一定の範囲にあることから、この差を利用すれば K-9 と K-10 の区別が可能である。

最後に、実験について種々の御指導頂きました国税庁醸造試験所岡崎直人主任研究員と、麴と米を提供して頂きました清酒製造場の皆様に深く感謝します。

文 献

- 1) 島田豊明、岩野君夫、三上重明、中村欽一：醸造試験所報告、157 1 (1985)
- 2) 萱島昭二：醸協、63, (9) 907 (1968)
- 3) 小川知可良：醸協、72, (9) 627 (1977)
- 4) 国税庁所定分析法注：(財)日本醸造協会 (1974)
- 5) 吉沢 淑：醸協、68, (1) 59 (1973)
- 6) 橋爪克己：未発表データ
- 7) 田中 豊、垂水共之、脇本和昌編：パソコン統計解析ハンドブックⅡ、p.160 (1984)
- 8) 難波康之祐、岩野君夫、磯見昭夫：醸協、71, (1) 61 (1976)
- 9) K. YOSHIKAWA : *Agric., Biol., Chem.*, 30 634 (1966)
- 10) 原 昌道：醸造論文集、38, 1 (1983)
- 11) 栗山一秀、芦田晋三、斉藤義幸、杉並孝二、今安聰：醸酵工学、64, 169 (1986)
- 12) 栗山一秀、芦田晋三、斉藤義幸、秦 洋二、杉並孝二、今安 聰：醸酵工学、64, 175 (1986)