醸造物と硫黄化合物

佐藤 信*・高橋康次郎*

Sulphur Compounds in Brewing Products

Shin SATO* and Kojiro TAKAHASHI*

In this paper, the behavior of sulphur compounds in brewing of sake, beer and soy sauce was described.

The main sources of sulphur compounds in brewing are thought to be the chemical degradation of sulphur-containing amino acids, and the metabolism of microorganisms.

As sulphur compounds in sake-making process, dimethyl sulphide (DMS), methyl mercaptan (MeSH), hydrogen sulphide (H_2S) and dimethyl disulphide (DMDS) were detected.

DMDS was not found in fresh sake, but found in aged sake.

S-Adenosylmethionine (AMe) eluted from yeast cell was increased from the stage of 16% alcoholic formation in main mash, and gradually decomposed to 5'-methylthioadenosine (MTA) and homoserine for storage of sake.

AMe and MTA were the components characteristic of sake.

DMS was the main sulphur compounds through processing of beer, and the remaining DMS in finished beer was considered to contribute to beer flavor, especially to the flavor of Continental lager.

DMS in soy sauce was caused by hydrolysis of soybeans, therefore it was not found in soy sauce "kiage" which brewed with traditional method.

The sulphur compounds present in these fermented foodstuffs and beverages, although present in trace amounts, were thought to contribute to the flavor of them, but also they played unfavorable role causing the off-flavor of them.

はじめに

食品中の硫黄化合物は極微量成分であるが、極めて低い刺激閾の、特徴ある香気を有し、かつ非常に反応性に富み、他の成分との二次生成物を作りやすい等の点から食品の品質に大きな影響を及ぼしている場合が多い。

醸造物における硫黄化合物の意義には、益害両面が考えられ、しょう油等のようにその製品の香味の構成上欠くことのできない成分である場合と、ビール等のように品質上あっては好ましくない成分である場合とがある。

醸造物の硫黄化合物の由来には主に、①原料および処

理工程、②微生物（麹菌、酵母および汚染菌）の代謝産物、③火入れおよび貯蔵中の変化の3つが考えられるが、これらの工程で生成した硫黄化合物すべてが醸造物中に残るとは限らず、途中で揮散したり、他に変化したりするものも多い。

ここでは醸造物の中で、硫黄化合物について比較的研究が進んでいる清酒、ビールおよびしょう油について醸造工程中の硫黄化合物の挙動について述べる。

1. 清 酒

清酒の醸造工程を図1に示したが、その工程を4つに分けて硫黄化合物の変化をとりあげてみる。

1.1. 原料および処理工程中の変化

1.1.1. 白米貯蔵時の変化¹⁾ 原料米中の硫黄化合物としては、蛋白質を構成する含硫アミノ酸および含硫ビ

* 国税庁醸造試験所 ()

* National Research Institute of Brewing, Tax Administration Agency ()

Fig. 1 Flow diagram of sake-brewing process.

Fig. 2 Changes of the volatile sulphur compounds in stored white rice.

- 75% polished rice
- △— 70% polished rice
- ×— 60% polished rice
- 50% polished rice

タミンであるチアミンが主成分であり、これらが硫黄の供給源となり、原料米の貯蔵時や処理工程中に種々の揮

発性硫黄化合物を生ずる。

原料米は通常 70~75% 精白米が使用されるが、その白米貯蔵中(新米, 40°C)のヘッドスペースガスの FPD 付ガスクロマトグラフによる分析結果を 図 2 に示す。

ジメチルスルフィド (DMS), メチルメルカプタン (MeSH) およびごく微量のジメチルジスルフィド (DMDS) が検出され、その中で DMS は貯蔵日数と共に顕著な増加を示す。しかし 70% 以上の高精白米になるとその増加は鈍くなり、また 75% 精白米でも古米 (白米貯蔵) になると DMS の増加はほとんどみられなくなる。さらに、玄米と 75% 精白米およびその糠(同一新米)を組合せ DMS 生成量を比較すると、図 3 のように玄米 > 糠 > 白米の順に多い値を示す。

これから DMS の生成には酵素系が関与し、その酵素は米の表層に多く分布していること。古米になると酵素が失活するかまたは基質が変化するもの

Fig. 3 Distribution of DMS precursor in rice and rice bran.

white rice : 75% polished
storage : 40°C, 7 days

と考えられる。

このことは Niefind ら²⁾が提案している「ペクチンのメチル基が酵素作用によりメチオニン (Met) に転移して S-メチルメチオニンとなり、さらに酵素により DMS とホモセリンに分解される」という機構が、米の DMS 生成にも充分あてはまるものと考えられる。

一方、基質となる含硫アミノ酸の 70% 精白米中の含量は、Met が蛋白質 (白米の 6.5%) 中の約 1.8% を占める以外痕跡程度である³⁾。

またチアミンは精米や処理工程での減少が激しく、玄米の含量 (4530 ng/g 米)⁴⁾ から 70% 精白米で 40 以下になり⁵⁾、蒸米でほとんど消失する⁶⁾。

なお白米の約 1.3 倍使用する醸造用水中にも約 25ppm の SO₂ が含まれ、Ca, Na, Mg 等と塩を形成しているが、醸造工程中どのような挙動をとるかは検討されていない。

1.1.2. 蒸きょう時の変化 清酒醸造において白米を浸漬、水切り後約 30~60 分蒸気を通して蒸きょうを行なう。この操作をモデル的に小型のガラス製蒸し器を用いて揮散する蒸気中の硫黄化合物を捕集し、ヘッドスペース法での分析結果を図 4 に示す。この結果 H₂S が圧倒的に多く、その他 MeSH, DMS, SO₂ および DMDS が検出され、これらの最大量を示す時間にはずれがみられる。古くから、蒸し時間が 40 分を過ぎると蒸米の香り変るといわれているが、蒸きょう時間によってこれらの化合物の組成が異なるために官能的な差が生じると推定される。

なお H₂S は米飯の匂いの必須成分の 1 つであり、システイン (CySH)、シスチン (CyS) に由来し⁷⁾、MeSH, DMS⁸⁾ および DMDS は Met の加熱分解に由来する⁹⁾。

Fig. 4 Changes of the volatile sulphur compounds at steaming of white rice.

—○— H₂S
—●— MeSH
—△— DMS (+SO₂)

¹⁰⁾。

1.2. 製麴時の変化¹⁾ 蒸きょうによって生成した揮発性硫黄化合物は、蒸米の放冷中にほとんど揮散し、DMS, SO₂, H₂S, MeSH がわずかに残存する程度である。また製麴中の変化はごく微量である。

含硫アミノ酸は製麴中ほとんど変化はなく³⁾、一方チアミンは蒸米中 0 であったものが、製麴により 160 ng/g 麴程度にまで増加する¹¹⁾。

し, Met の利用効率を高める作用がある。また生成したコリンが抗脂肪肝作用がある¹⁶⁾ため, 肝臓疾患の治療薬としても期待されている。AMe は分解して MAT とホモセリンを生じるが, MTA はビタミン L₂ として動物の泌乳促進作用があり, 医薬, 飼料添加物としての用途がある。

清酒醪中での AMe および MTA の消長を図 6 に示した¹⁷⁾が, AMe はアルコールが 16% になった頃から増加を始め最終的に 120 μ M 程度まで増加する。一方 MTA はアルコール添加時から急に増加を始める。

酵母菌体からの AMe の溶出は, pH3~5 ではほぼ一定でそれ以上では低下する。またアルコール濃度が 15% 以上, 温度 30°C 以上で急激な増加を示す。

この AMe や MTA は同じ醸造物のしょう油, 味噌, ビールおよびワイン中にはほとんど検出されず, 清酒に特有な成分であり, この理由としては, AMe の溶出がアルコール 15% 以上で初めてみられるためと考えられる。

1.4. 製品および貯蔵中の変化 醪を江戸布でろ過したものが清酒であり, 醪中の成分がほとんどそのまま移行する。

製品および各工程での硫黄化合物の消長を表 1 に示したが, 新酒では MeSH が, 古酒では MeSH と DMDS が検出される。MeSH は火入れ (60°C) によっても顕著に増加し, それが貯蔵中に DMDS に変化するものと推定される。

MeSH は Met のみからは生成されず, Met と清酒のグルコース以外の中性成分と混合しただけで生成するが CySH の場合は, 中性成分と混合し貯蔵して初めて MeSH の生成がみられる⁹⁾。

一方, 酵母菌体から溶出した AMe は図 7 に示した¹⁷⁾ように, 火入れ貯蔵によって急激に減少し, MTA が増加を示す。このことから, AMe および MTA を定

Fig. 7 Changes of AMe and MTA contents at pasteurization and storage of sake.

量すればその清酒の貯蔵履歴が推定できる^{18,19)}。なお 16 種の原酒 (生) の AMe および MTA の平均含量はそれぞれ 45 μ M, 27.7 μ M である¹⁹⁾。

MTA はまたカフェインと同等の苦味を有している (刺激閾: MTA; 7.3×10^{-4} M, カフェイン; 7×10^{-4} M) が含量が少なく閾値に達しないことから, 清酒中では苦味としてではなく味の「巾」や「濃さ」に寄与しているものと考えられる¹⁹⁾。

その他チアミンの分解^{20,21)} または CySH, CyS とカルボニル化合物との反応²²⁾によるチアゾール類やチオフェン類の生成も考えられるが, 酵母から由来したチアミンはろ過時にほとんど粕の方に移行してしまう²³⁾ため, また CySH や CyS 含量も微量であるためまだ確認されていない。

2. ビール

ビール中で検出された揮発性硫黄化合物²⁴⁾およびその閾値を^{25,26)}一覧表にして表 2 に示す。

硫黄化合物の由来として, ①含硫アミノ酸の加熱分解

Table 1 The Sulphur Compounds Produced at Sake-brewing Process.

Sample	H ₂ S	MeSH (ppb)	DMS	SO ₂	DMDS (ppb)	Met (ppm)	V.B ₁ (ng/g)	AMe (μ M)	MTA (μ M)
White rice	—	+	卅	—	+	0.1 ²⁾	40	—	—
Steamed rice	卅	+	+	+	—	—	—	—	—
Rice-koji	+	+	+	+	—	0.1 ²⁾	160	—	—
Main mash (moromi)	卅	+	—	—	—	50	+	120	30
Fresh sake	—	6.2	t ¹⁾	—	—	54	—	120	40
Aged sake	—	6.1	t ¹⁾	—	6.6	25	—	20	130

1) trace

2) shown as%

Table 2 The Volatile Sulphur Compounds Produced During the Commercial Processing of Beer.

Compound	Concentrations in beer(ppb) ²⁴⁾	Flavor threshold (ppb)	
		Anderson <i>et. al.</i> , ²⁵⁾	Bärwald <i>et.al.</i> , ²⁶⁾
SO ₂	trace-3.5		
H ₂ S	0-5	30 in ale 10 in lager	10
MeSH	0-1.7	3	2
EtSH	0-20	2.5	5
<i>t</i> -BuSH	2-6	0.5	
3-Me-2-butene-1-thiol	30 as SH		
DMS	6-114	33	35
MES	0.2 as SH		
DES	0-5	3	30
DMDS	0-10	7.5	50
DEDS	0-10	30 in ale 20 in lager	
Thioformaldehyde	0.1 as SH		
Dithioformaldehyde	0.1 as SH		
Thioacetone	0.02 as SH		
Methional		40	
Methionol			
3-Methylthiopropyl acetate			

による H₂S, MeSH, DMS, 2-チオアセトアルデヒド等の生成および他成分との二次反応, ②酵母の含硫アミノ酸代謝によるメチオナル, メチオノール, H₂S, エチルメルカプタン (EtSH) 等の生成, ③汚染菌による H₂S, DMS, EtSH 等の生成が考えられている¹⁰⁾。

ビール醸造工程および製品中の主な揮発性硫黄化合物は DMS, ジエチルスルフィド (DES), H₂S, DMDS, *t*-ブチルメルカプタン (*t*-BuSH) 等であるが, その中でも DMS は全工程を通して圧倒的に多い²⁵⁾。

DMS の工程中の挙動^{25, 27, 28)} および前駆物質²⁹⁻³¹⁾ に

Table 3 The Volatile Sulphur Compounds at the Lager Brewery.²⁸⁾

Sample	H ₂ S	MeSH	DMS	DES	DMDS
Malt	0-50	nd	75	0-50	0-50
Hop blend	0-50	nd	0-5	0-50	0-50
Unboiled wort	trace	nd	121	2.1	trace
Boiled wort	nd	nd	18	1.0	0.5
Wort immediately after pitching	nd	nd	1	1.1	0.6
Fermenting wort (24)	nd	nd	nd	1.3	trace
Fermenting wort (48)	nd	nd	nd	1.8	nd
Fermenting wort (72)	nd	nd	nd	1.2	nd
Fermenting wort (96)	nd	nd	nd	1.2	nd
Fermenting wort (120)	nd	nd	nd	1.5	nd
Conditioning beer (312)	nd	nd	10	nd	nd
Filtered beer	nd	nd	12	nd	nd

() : time from pitching (hr.)
nd : none detected.

についての報告は多く, その中でラガービール (Continental lager) の例を 表 3 に示した²⁸⁾。あわせて他の揮発性硫黄化合物の挙動も併記した。

DMS は生麦芽中には存在せず, 焙燥によって生成し, 前駆物質と共に麦汁中にもち込まれる。麦汁の煮沸により減少し, 発酵中は酵母や汚染菌による DMS の生成もみられるが, CO₂ 等の発酵ガスと共に揮散し, 最終的にさらに減少する。しかし 20~50 ppb 程度は製品中に残存し, 正常な香気として特にラガービールの香気に寄与している^{25, 27, 28)}。この点エールタイプのビール (British beer) は焙燥条件が異なり前駆物質量が少なく, 最終製品では 1 ppb 程度でラガービール (12 ppb) との香気の差が生じる²⁸⁾。

DMS の前駆物質としては, S-メチルメチオニン^{2, 29)} またはジメチル-β-プロピオセチンのスルフォニウム塩²⁹⁾ および未知のニンヒドリン陽性物質³¹⁾ が考えられている。

その他の揮発性硫黄化合物としては, 麦芽中に微量の H₂S, DES および DMDS が, またホップ中には H₂S, MeSH, DES, メチオノール, DMDS が検出されているが, これらの大部分は煮沸工程で除去される²⁵⁾。

酵母によっても DMS や微量の DMDS が生成されるが, その他に *Obesumbacterium proteus*, *Enterobacter aerogenes* 等の汚染菌による DMS, MeSH および DMDS の生成がみられることもある。

また *t*-BuSH が発酵初期に検出 (約 2 ppb) されることがあるが, これは *Citrobacter* 属や *Hafnia* 属の汚染菌による生成²⁵⁾ または H₂S とホップからの 2-メチル-1-プロペニルラジカルとの反応³²⁾ による。

ビール中の硫黄の形態は, 全硫黄の 90% が SO₄ および不揮発性 S-S 化合物の状態, 残り 10% が SO₂ および不揮発性 SH 化合物として存在する³³⁾。一方 H₂S は全硫黄の 0.02% 程度であり, 初期発酵時に生成しても徐々に減少して痕跡程度になる³³⁾。

H₂S が最終製品に残ると若臭や腐敗臭を与えるので, 後発酵中に CO₂ や発酵ガスとの揮散操作が実際行なわれている。

一方ビールを日光に曝した場合, 日光臭が付き品質の低下を招くか, その日光臭はホップ由来のイソフロンから生成した *r*, *r*-ジメチルアリルラジカルと H₂S との反応で生成した 3-メチル-2-ブテン-1-チオールである³⁴⁾ ことが明らかにされている。

3. しょう油

しょう油は製造法によって, ①大豆および小麦を麹菌

(*Asp. oryzae*) 酵素で分解し発酵させたもの(本醸造), ②大豆の塩酸分解液を発酵させたもの(新式醸造), ③これらに大豆の酸分解液を混合したもの(アミノ酸混合)の3つに大別される³⁵⁾。

本醸造の製造工程を略記すると, 蒸した大豆と炒って砕いた小麦を混合し, 麹菌を散布して麴を作り, これに食塩水を加えて醪を作る。この工程で原料成分の分解および *S. rouxii* や *Torulopsis* 系の酵母による発酵が行なわれ, 熟成後圧搾により固液を分離する。この生しゅう油を 70~80°C に加熱放置して製品とする。

しゅう油中に検出された揮発性硫黄化合物を表 4 に示した³⁵⁾が, その多くは原料特に大豆中の含硫アミノ酸

Table 4 The Sulphur Compounds Isolated from Soy Sauce³⁵⁾.

Compound	Reference
H ₂ S	36), 38)
MeSH	48), 36), 39)
EtSH	49)
DMS	51), 38), 39)
Mercaptal	49)
Methional	43)
Methionol	42)
Allylmercaptan	50)

の分解または微生物の代謝に由来する。特に大豆の塩酸加水分解による揮発性硫黄化合物の生成が著しいため, これらを用いたしゅう油(新式およびアミノ酸液)と本醸造しゅう油とでは表 5 に示したように, 硫黄化合物の含量にかなりの差がみられ, 各しゅう油の香味の特徴をなしている。これらの中で代表的成分は DMS であるが^{37~39)}, 本醸造しゅう油ではほとんど生成しないとされている³⁶⁾。

Table 5 Comparison of the Volatile Sulphur Compounds in Soy Sauces Produced at Different Methods³⁶⁾. (ppm)

Sample	H ₂ S	MeSH	DMS
Shinshiki soy souce	3.3	4.4	19.9
Aminosan-eki	5.3	4.7	44.6
Kiage	3.4	1.2	0.22

しゅう油における DMS の由来は, 大豆多糖類のメトキシ基からメタノールが生成し, これがメチルクロライドになり, Met と反応してメチオニンメチルスルホニウム塩ができ, これが分解して DMS を生成する^{39, 40)}といわれている。その他アミノ酸液中には, 加熱により容易に H₂S を生成する含硫アミノ酸以外の物質も認められている⁴¹⁾。

しゅう油らしい香気を付与する物質として, γ -メチルメルカプトプロピルアルコール(メチオノール)が確認⁴²⁾されメチオノールの存在が推定されている⁴³⁾。メチオノールは酵母により Met から生成し⁴⁴⁾, メチオノールは Met と糖との加熱反応で生じると^{45~47)}考えられる。

その他の硫黄化合物として, しゅう油粕の低沸点留分から MeSH⁴⁸⁾, EtSH⁴⁹⁾, アリルメルカプタン⁵⁰⁾およびメルカプタール⁴⁹⁾が同定されている。

なお火入れ時に密閉して蒸発成分の揮散を防止し過ぎると, H₂S や他の揮発性硫黄化合物の過多をきたして品質が逆に劣化することがある⁵¹⁾。

ま と め

醸造物中の硫黄化合物は, 主に含硫アミノ酸の化学変化および含硫アミノ酸を基質にしての微生物の代謝産物に由来すると考えられる。

生成した大部分の揮発性硫黄化合物は醸造工程中, 煮沸や蒸きょうにより, または発酵ガスと共に揮散し, 製品中にはごく微量残存するにすぎない。

しかし最終的に残った硫黄化合物はその醸造物の香味の形成上欠かせない成分であると共に, 品質劣化の引金にもなるラジカルな成分でもある。

(昭和 52 年 1 月 17 日受理)

文 献

- 1) 佐藤信, 夢沼誠, 大場俊輝, 高橋康次郎, 小池勝徳, 醸協, **71**, 387 (1976)
- 2) H.J. Niefind, G. Späth, *Proc. Europ. Brew. Conv.*, **12**, 297 (1969)
- 3) 小崎道雄, 醸協 **16**, 247 (1958)
- 4) 福井三郎, 谷喜雄, 岸部忠信, 醸工, **33**, 238 (1955)
- 5) 藤田信, ビタミン研究, **8**, 156 (1944)
- 6) 桜井芳人, ビタミン研究 **6**, 93 (1943)
- 7) 嘉納成三, 農化, **35**, 1304 (1961)
- 8) Y. Obata, H. Tanaka, *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 483 (1966)
- 9) 佐藤信, 夢沼誠, 高橋康次郎, 小池勝徳, 醸協, **70**, 588 (1975)
- 10) T. Wainwright, *The Brewers Digest*, **47**, 78 (1972)
- 11) 福井三郎, 谷喜雄, 岸部忠信, 醸工, **33**, 59 (1955)
- 12) 黒野勘六, 辰井正夫, 鷲田健二, 醸試報, **1**, 119 (1935)
- 13) 小平了二, 伊藤雄太郎, 植村定治郎, 農化, **32**, 49 (1958)
- 14) H. Kuraishi, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **12**, 103 (1966)
- 15) T. Tokuyama, H. Kuraishi, K. Aida, T. Ue-

- mura, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **19**, 439 (1973)
- 16) C.H. Best, J.M. Hershey, M.E. Hunstman, *J. Physiol.*, **75**, 56 405 (1932)
- 17) 蓼沼誠, 高橋康次郎, 林積徳, 佐藤信, 醸協, **70**, 588 (1975)
- 18) 佐藤信, 蓼沼誠, 高橋康次郎, 仲田富士男, 醸協, **67**, 246 (1972)
- 19) 蓼沼誠, 高橋康次郎, 佐藤信, 醸協, **70**, 581 (1975)
- 20) R.G. Arnold, L.M. Libbey, R.C. Lindsay, *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 300 (1968)
- 21) B.K. Dwivedi, R.G. Arnold, *J. Food Sci.*, **37**, 689 (1972)
- 22) S. Kato, T. Kurata, M. Fujimaki, *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 539 (1973)
- 23) 谷喜雄, 醗工, **34**, 428 (1956)
- 24) 熊田順一, 醸協, **71**, 819 (1976)
- 25) R.J. Anderson, G.A. Howard, *J. Inst. Brew.*, **80**, 357 (1974)
- 26) G. Bärwald, H.J. Niefind, *Tageszeitung für Brauerei*, **67**, 504 (1970)
- 27) R.J. Anderson, J.F. Clapperton, D. Crabb, J.R. Hudson, *J. Inst. Brew.*, **81**, 208 (1975)
- 28) T.E. Kavanagh, S.R. Steward, R.P. Hildebrand, B.J. Clarke, F.J. Meeker, *J. Inst. Brew.*, **81**, 322 (1975)
- 29) R.A. McRorie, G.L. Sutherland, M.S. Lewis, A.D. Barton, M.R. Glazener, W. Shive, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 115 (1954)
- 30) D.D. Bills, T.W. Keenan, *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 643 (1968)
- 31) F.H. White, T. Wainright, *J. Inst. Brew.*, **82**, 292 (1976)
- 32) R.P. Hildebrand, *Proc. Inst. Brewing Austral. Sect. Conv.*, **1962**, 157
- 33) N. Hashimoto, K. Aramaki, Y. Kuroiwa, *Rept. Res. Lab. Kirin Brewery Co., Ltd.*, **11**, 43 (1968)
- 34) Y. Kuroiwa, N. Hashimoto, *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 257 (1961)
- 35) 横塚保, 香料, **112**, 57 (1975)
- 36) 上野喬宏, 野田醤油研究報告, 第5輯 (1963)
- 37) 小幡弥太郎, 山西貞, 農化, **24**, 226 (1950)
- 38) 上野喬宏, 延原昭男, 農化, **34**, 566, 569 (1960)
- 39) Y. Obata, J. Mizutani, *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 36 (1961)
- 40) 日野哲雄, 君塚明光, 伊東克己, 小笠原武, 農化, **36**, 413 (1962)
- 41) 小幡弥太郎, 石川芳典, 水谷純也, 農化, **34**, 336 (1960)
- 42) 赤堀四郎, 金子武夫, 日化, **57**, 832 (1936)
- 43) 赤堀四郎, 金子武夫, 日化, **58**, 236 (1937)
- 44) 林部正也, 河東田茂義, 大和田拓, 吉田弘, 片寄篤子, 寺島豊明, 醗工, **48**, 22 (1970)
- 45) 赤堀四郎, 日化, **52**, 606 (1931)
- 46) A. Schonberg, R. Moubacher, *Chem. Rev.*, **50**, 201 (1952)
- 47) M. Shemer, E.G. Perkins, *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 201 (1975)
- 48) 横塚保, 農化, **24**, 355 (1950)
- 49) 横塚保, 農化, **27**, 359 (1953)
- 50) 石津日出子, 調理科学, **2**, 156 (1969)