

学 位 論 文 題 名

モルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分の
検索・同定とその生成メカニズムに関する研究

学位論文内容の要旨

モルトウイスキーはアルコール発酵、蒸留、樽貯蔵の工程からなりその過程で様々な香気成分が生成される。呈味もさることながらその香気成分が酒質を決定づける重要な要因である。多くの香気成分が検討されてきているものの、そのほとんどは含有量の多い成分に関してのものである。また、官能評価に関しても系統だった分類がなされているものの、対応する成分と官能評価との関係は明らかにされているとは言い難い。

また、モルトウイスキーの発酵においてはウイスキー酵母に加えビール醸造の余剰酵母であるビール酵母が使用されている。現象面ではアルコール収率の上昇につながるとされるが、それにより生成される成分等に関する報告はなされておらず、その使用目的は十分に明らかにされているとは言えない。一方乳酸菌もまたモルトウイスキーの発酵に関与しているとされる。乳酸菌はウイスキーの発酵に品質上プラスにもマイナスにも関与するとされているものの、特にプラス面に寄与する成分に関してはほとんど報告されていない。

本研究の目的は、第一に酒質を特徴づける甘くファッティな香気成分の同定とその生成メカニズムを明らかにすることである。そして、第二にモルトウイスキーに対するビール酵母と乳酸菌の役割を明らかにすることである。

1. モルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分の同定

モルトウイスキー中で甘さやファッティ感を与える香気成分として、臭いかぎガス・クロマトグラフィーおよびガス・クロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) を使用し、 β -methyl- γ -octalactone、 γ -nonalactone、 γ -decalactone および γ -dodecalactone を同定した。モルトウイスキー中のラクトン類としては β -methyl- γ -octalactone (オークラクトン) が古くから研究されてきたが、オークラクトンは櫛樽から抽出されるのに対し、このほかのラクトン類はオーク樽貯蔵しない未貯蔵のモルトウイスキー中にも存在した。甘さとファッティ感の官能スコアとこれら成分の含有量との相関性について調べたところ、 β -methyl- γ -octalactone および γ -nonalactone に関しては含有量との間に相関性が見られなかったが、 γ -decalactone および γ -dodecalactone の含有量と官能評価との間に高い正の相関性が観察された。以上の結果より γ -decalactone および γ -dodecalactone はモルトウイスキー中で甘くファッティな特徴に寄与することが示された。

2. γ -decalactone および γ -dodecalactone の生成メカニズム

乳酸菌に oleic acid ないし palmitoleic acid は与えると、10 位がヒドロキシル化された飽和脂肪酸

(10-hydroxystearic acid (10-HSA) および 10-hydroxypalmitic acid) が生成された。この現象は多くの乳酸菌においてこの現象は観察された。これらヒドロキシ酸をウイスキー酵母に与えるとそれぞれ γ -decalactone および γ -dodecalactone の生成が観察された。このことから、これら両ラクトンは、乳酸菌により不飽和脂肪酸からヒドロキシ酸が生成され、このヒドロキシ酸が酵母により β -酸化され生成されるものと推察された。また、*Lactobacillus* に属する 5170 株を用い発酵試験を行うと、乳酸菌の添加によりヒドロキシ酸の増加が観察され、さらにビール酵母によりその生成量が増加しその含有量はビール酵母の死滅に伴って増加した。このことから、ビール酵母がラクトンの出発物質である不飽和脂肪酸を供給し、乳酸菌がこれを利用しラクトンの前駆体を生成していると推察された。

3. モルトウイスキー中の γ -decalactone および γ -dodecalactone の光学異性体比

γ -decalactone および γ -dodecalactone は分子内に一個の不斉炭素を有し光学異性体が存在する。そこで詳細な生成メカニズムを明らかにすることを目的とし、マルチディメンショナル GC/MS を用いその存在比を測定したところ、-10〜30% といった光学純度で存在していた。一方、基質であると推察されたヒドロキシ酸も光学異性体が存在するから、10-HSA およびそのメチルエステルを HPLC により光学分割し、これをウイスキー酵母に与えた。その結果、生成される γ -dodecalactone の光学純度は 10-HSA の光学純度に支配されることが明らかとなった。すなわち、ウイスキー酵母がラクトン化反応に関与しているとすれば、モルトウイスキー中のラクトンと同様の -10〜30% といった光学純度の 10-HSA が乳酸菌により生成されていることを意味する。

4. 乳酸菌により生成される 10-HSA の光学純度

そこで乳酸菌がどのような光学純度の 10-HSA を生成するかを明らかにすればより詳細なメカニズムの解明となると考え、次に乳酸菌が産生するヒドロキシ酸の光学純度に関し検討した。ほとんどの株は (R)-10-HSA を産生したが、スコットランド蒸留所より単離された *Lactobacillus hirgardii* に属する唯一 1 株だけが低い光学純度の 10-HSA を産生した。この株を詳細に調べたところ、oleic acid から 10-HSA の他に著量の 10-ketostearic acid (10-KSA) の生成が観察された。そこで 10-KSA から生成されるラクトンの光学純度に関し検討したところ、ほぼモルトウイスキー中の光学純度に等しい光学純度のラクトンの生成が観察された。以上の結果より、モルトウイスキー中での γ -decalactone および γ -dodecalactone の生成には二通りの経路が考えられた。すなわち、ひとつはビール酵母の死滅により菌体から漏洩してきた不飽和脂肪酸が、乳酸菌により 10-KSA へと変換された後ウイスキー酵母によりラクトン化する経路である。もうひとつは、ビール酵母の菌体脂質を利用されこれより (R)-10-HSA が生成され、ウイスキー酵母以外の微生物によりラクトン化反応が完遂されるものである。

本研究によりモルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分が明らかとなっただけでなく、その生成には、今まで不明であった乳酸菌やビール酵母の関与が明確化された。本知見を利用することにより工業的にも新規な酒類を開発、製造することが可能となる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 富 田 房 男

副 査 教 授 横 田 篤

副 査 教 授 松 井 博 和

副 査 助 教 授 浅 野 行 蔵

学 位 論 文 題 名

モルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分の 検索・同定とその生成メカニズムに関する研究

本論文は、4章からなり図32、表19、文献149を含む総頁数89の日本語論文である。別に参考論文5編が付されている。

モルトウイスキーはアルコール発酵、蒸留、樽貯蔵の工程より成り各工程で様々な香気成分が生成される。呈味性の他香気成分も酒質を決める要因である。今まで含有量の多い成分のみが注目されてきた。また、その官能評価は対応する成分は十分に関連づけられていない。モルトウイスキーの発酵においてウイスキー酵母共に余剰ビール酵母が併用されているが、付与される香気成分やその使用目的は十分に明らかにされていない。一方乳酸菌もまたモルトウイスキーの発酵にプラスにもマイナスにも関与しているとされるものの、成分に関してはほとんど報告されていない。

本研究の目的は、第一に酒質を特徴づける甘くファッティな香気成分の同定とその生成メカニズムを明らかにすることである。そして、第二にモルトウイスキー製造におけるビール酵母と乳酸菌の役割を明らかにすることである。

1. モルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分の同定

モルトウイスキー中で甘くファッティ感を与える香気成分として、臭いかぎ GC および GC/MS により、 γ -decalactone (γ -C10) および γ -dodecalactone (γ -C12) を同定した。また、その含有量と甘さとファッティ感の官能評価との間に高い正の相関性が観察された。このことより γ -C10 および γ -C12 はモルトウイスキー中で甘くファッティな特徴に寄与することが明かとなった。

2. γ -C10 および γ -C12 の生成メカニズム

乳酸菌に oleic acid ないし palmitoleic acid は与えると、10-hydroxystearic acid (10-HSA) および 10-hydroxypalmitic acid といったヒドロキシ酸が生成された。この現象は多くの乳酸菌において観察された。これらヒドロキシ酸をウイスキー酵母に与えるとそれぞれ γ -C10 および γ -C12 の生成が観察された。このことから、これら両ラクトンは、乳酸菌により不飽和脂肪酸からヒドロキシ酸が生成さ

れ、このヒドロキシ酸が酵母により β -酸化され生成されるものと推察された。また、*Lactobacillus* に属する 5170 株を用い発酵試験を行うと、乳酸菌の添加によりヒドロキシ酸の生成が観察され、さらにビール酵母によりその生成量が増加し、その生成量はビール酵母の死滅に伴って増加した。このことから、ビール酵母はラクトンの出発物質である不飽和脂肪酸を供給し、乳酸菌がこれを利用しラクトンの前駆体を生成していると推察された。

3. モルトウイスキー中の γ -C10 および γ -C12 の光学異性体比

γ -C10 および γ -C12 は光学異性体を有する。そこでマルチディメンショナル GC/MS を用いその存在比を測定したところ、-10〜30%といった光学純度で存在していた。一方、光学分割した 10-HSA およびそのメチルエステルをウイスキー酵母に与えたところ、生成される γ -C12 の光学純度は 10-HSA の光学純度に支配されることが明らかとなった。すなわち、ウイスキー酵母がラクトン化反応に関与しているとすれば、モルトウイスキー中のラクトンと同様の光学純度の 10-HSA が乳酸菌により生成されていることを意味する。

4. 乳酸菌により生成される 10-HSA の光学純度

そこで乳酸菌がどのような光学純度の 10-HSA を生成するか検討した。ほとんどの株は (R)-10-HSA を主に産生したが、*Lactobacillus hircardiil* に属する 1 株だけが低い光学純度の 10-HSA を産生した。この株は oleic acid から 10-HSA の他に著量の 10-ketostearic acid (10-KSA) を生成した。そこで 10-KSA から生成されるラクトンの光学純度に関し検討したところ、モルトウイスキー中の光学純度に等しい光学純度のラクトンの生成が観察された。以上の結果より、モルトウイスキー中での γ -C10 および γ -C12 の生成には二通りの生成経路が考えられた。ひとつはビール酵母の死滅により菌体から漏洩してきた不飽和脂肪酸が、乳酸菌により 10-KSA へと変換された後ウイスキー酵母によりラクトン化する経路である。もうひとつは、ビール酵母の菌体脂質が利用され (R)-10-HSA が生成され、ウイスキー酵母以外の微生物によりラクトン化反応が完遂されるものである。

今回の申請者の研究による、モルトウイスキー中の甘くファッティな香気成分、その生成メカニズムの解明は新規な発見であり、特に乳酸菌の脂質代謝の解明に大きく貢献するものと考ええる。また、本知見を利用することにより工業的にも新規な酒類ならびに飲料を開発、製造することが可能となる。さらに、合成法によらない光学的に純粋な各種ラクトンを得ることができ香料をはじめ様々な分野に貢献するものと期待できる。

よって審査員一同は鰐川 彰が博士（農学）の学位を受けるのに十分が資格を有するものと認めた。