

## 焼酎酵母の分離に関する研究

食品工業部 高峯和則, 瀬戸口真治, 亀澤浩幸,  
神渡巧\*, 緒方新一郎\*, 尾ノ上国昭\*\*, 濱崎幸男\*\*

### Study on Screening of Shochu Yeast

Kazunori TAKAMINE, Shinji SETOGUCHI, Hiroyuki KAMESAWA

Takumi KAMIWATARI\*, Shin'ichiro OGATA\*, Kuniaki ONOUE\*\* and Yukio HAMASAKI\*\*

県内焼酎工場の甘藷焼酎もろみより分離した酵母のうち6株について小仕込み試験を行い特徴のある2株を分離し甘藷焼酎の実施仕込み試験を行った。その結果, C4酵母は香りが軽く華やかで, 味香りがソフトであり, H5酵母はアルコール取得量が鹿児島酵母と比べ約3%高く, 味が濃く甘く味香りに特徴をもった甘藷焼酎が得られた。

### 1. 緒言

著者らは前報<sup>1)</sup>において当センター保有の鹿児島工試酵母(以下, Koとする)についての分類学的研究について報告した。現在, 鹿児島県酒造組合連合会より分譲されている鹿児島酵母はKoより再分離された酵母K2-2酵母であり, この酵母は南九州の焼酎工場において最も広く使用されており, 甘藷焼酎用としては約8割の工場に分譲されている。最近, 宮崎県, 熊本県等において独自の酵母の開発に成功しており, 本県においても鹿児島酵母と異なる特徴を有する酵母の育種開発が望まれている。そこで今回は, 県内焼酎工場の甘藷焼酎もろみから分離した酵母のうち6株について発酵試験を行い特徴のある2つの酵母を選択してきたので報告する。

### 2. 実験方法

#### 2.1 使用菌酵母

H1, H2, H5, H6, C4およびC6酵母と, 対照として現在南九州の多くの焼酎工場に分譲されているK2-2酵母を使用した。

#### 2.2 前培養

前培養は酵母エキス1%, ポリペプトン2%およびグルコース2%からなるYPD液体培地に斜面培地より一白金耳植菌し30℃, 48時間静置培養した。

#### 2.3 スクリーニング

米麴125gおよび汲み水145gを500ml容三角フラスコに加えあらかじめ前培養した酵母液5gを添加し図1に示すように濃硫酸の入った発酵栓を施した。発酵温度は焼酎

工場において1次もろみの最高温度が, 温度制御装置を備えている工場では30℃前後であるのに対し, 温度制御が困難な工場では35℃以上にまで達する。そこで2通りの発酵温度経過により発酵試験を行った。すなわち, 図2および図3に示すように, 30℃一定および仕込み温度を30℃とし24時間後に35℃に温度を上昇させ24時間保持した後24時間毎に2℃ずつ低下させた温度経過で行った。発酵経過は発生した炭酸ガス量より追跡した。熟成もろみの香気成分は熟成もろみに内部標準物質としてカプリン酸メチル200mg/l添加し, 試留を行い得られた溶液についてガスクロマトグラフによる分析を行った。スクリーニングは発酵経過および香気成分より行った。

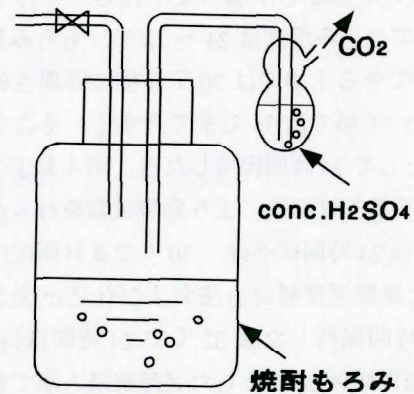


図1 発酵装置

#### 2.4 小仕込み試験

米麴200gおよび汲み水235gを3l容サンプル瓶に加えあらかじめ, 前培養した酵母液5gを添加し1次仕込みを行い, 30℃5日間発酵させた。これに蒸煮した甘藷1000

\*大口酒造協業組合

\*\*鹿児島県酒造組合連合会

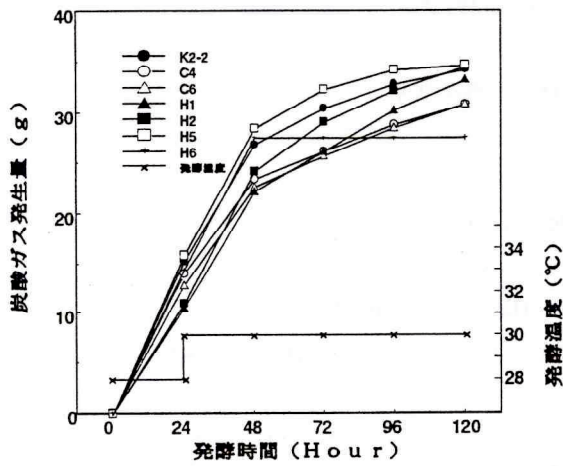


図2 発酵温度30°Cにおける発酵試験

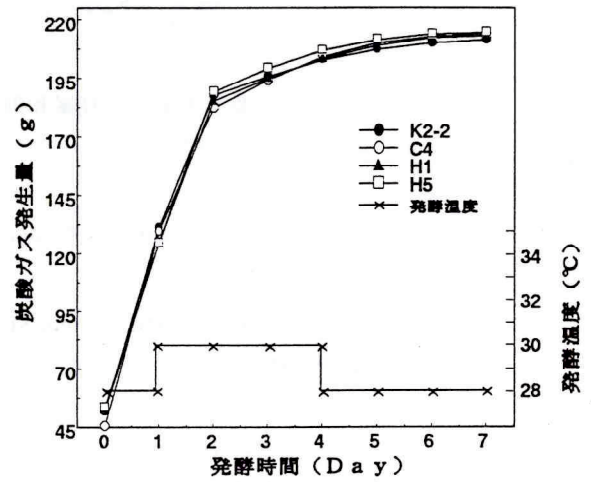


図4 最高発酵温度30°Cにおける小仕込み試験

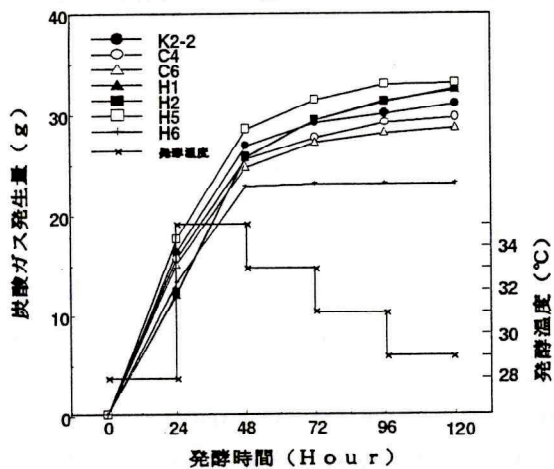


図3 最高温度35°Cにおける発酵試験

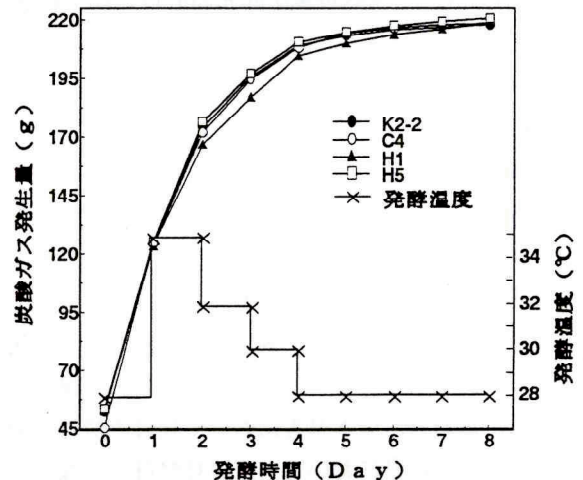


図5 最高発酵温度35°Cにおける小仕込み試験

gおよび汲み水 560g を添加し 2 次仕込みを行った。焼酎工場において仕込み温度は 24 ~ 28 °C、もろみ最高温度は温度管理ができる工場では 30 °C 前後に管理され、温度管理ができない工場では 35 °C まで達する。そこで仕込み温度を 28 °C として 24 時間保持した後、図 4 および図 5 に示す 2 通りの発酵温度経過により発酵試験を行った。すなわち、仕込み後 24 時間経過後、30 °C で 3 日間保持した後 28 °C にした発酵温度経過方法および仕込み後 24 時間後、35 °C で 24 時間保持した後 32 °C で 24 時間保持し更に 30 °C で 24 時間保持後 28 °C とした発酵経過方法で行った。なお、各条件でそれぞれの酵母について繰り返し 2 回の発酵試験を行った。

2.5 蒸留

蒸留は熟成もろみ 1.5 l をガラス製の蒸留器を用いて水蒸気蒸留法により行った。

2.6 もろみのアルコール濃度および試留酸度

熟成もろみをガーゼを用いて濾過し得られた濾液 200 ml を用いて国税庁所定分析法<sup>2)</sup>に従い行った。

2.7 もろみの全糖

熟成もろみの全糖の分析はもろみの適量を乳鉢に採り固まりを緩やかにすり潰した後、20g を国税庁所定分析法<sup>2)</sup>に従い行った。

2.8 酵母の死滅率

熟成もろみ中の酵母の死滅率は、酵母の総菌数および生菌数を求め次式より算出した。なお、総菌数はヘマトメータを用いて顕微鏡下で測定し、生菌数は YPD 寒天培地上に生育してきた菌体数を測定した。

$$\text{死滅率(\%)} = \frac{\text{総菌数 (cells/ml)} - \text{生菌数 (cells/ml)}}{\text{総菌数 (cells/ml)}} \times 100$$

2.9 香気成分の分析

もろみの試留液および蒸留して得られた焼酎の香気成分の分析はガスクロマトグラフを用いて行った。用いたガスクロマトグラフおよびカラムは HP5890 型およびキャピラリーカラム ULTRA2 を用いた。分析条件は 40 °C で 5 分間保持した後 250 °C まで 10 °C/min で昇温し 250 °C で 10 分間保持した。注入口温度 250 °C、検出器温度 300 °C、キャリアガスは He ガスで流速は 2.0 ml/min で行った。

2. 1 0 実施仕込み試験

スクリーニングの結果得られた酵母と対照として K2-2 酵母を用いて、大口酒造協業組合において米 1000kg および甘藷 5000kg の実施仕込み試験を行った。なお、発酵試験はそれぞれの酵母について 12 回ずつ行った。

2. 1 1 純アルコール収得量

純アルコール収得量は熟成もろみのアルコール濃度およびもろみ量と、使用原料の総重量より次式より求めた。

$$\text{純アルコール収得量}(\text{ℓ}/1000\text{kg}) = \frac{a \times b \times 0.01}{c \times 0.001}$$

a : 熟成もろみ量(ℓ)

b : 発酵終了後のアルコール濃度 (%)

c : 米および甘藷使用総量 (kg)

2. 1 2 官能試験

小仕込み試験および実施仕込み試験で得られた焼酎の官能試験は、蒸留して得られたアルコール濃度約 35% の焼酎を蒸留水でアルコール濃度 25% に調整し、ADVANTE C 社製のセルロースアセテート (開口径 3.0 μm) を用いて常圧下で濾過したものについて味香りについて評価した。

3. 結果および考察

3. 1 スクリーニング

発酵温度 30℃一定および最高温度 35℃を経過させたもろみの炭酸ガスの発生量より求めた発酵経過を、それぞれ図 2 および図 3 に示している。H5 酵母はいずれの発酵温度経過においても最も発酵が速やかに行われ、H1 酵母および H2 酵母は 24 時間後における炭酸ガス発生量が他の 4 つの酵母と比べ少ないが、120 時間後 (6 日目) には炭酸ガス発生は K2-2 酵母および H5 酵母とほぼ同等であった。H6 酵母は炭酸ガス発生量が途中で終了したことからアルコール耐性の弱い酵母と考えられる。C4 酵母および C6 酵母は炭酸ガス発生量が他の酵母と比べ低い値であった。

熟成もろみのアルコール濃度を国税庁所定分析法で測定した結果について表 1 に示す。なお、温度 30℃一定における H6 酵母のアルコール濃度は発酵が途中で終了し発酵栓中の硫酸がもろみに流入してしまい測定不可能であった。温度 30℃一定の場合、H2 酵母、H5 酵母および K2-2 酵母のアルコール濃度はそれぞれ 18.9、18.8 および 18.7% と高い値を示した。C4 酵母と C6 酵母はそれぞれ 17.0 および 16.7% と低い値であった。最高温度 35℃を経過させた場合 H1 酵母、H2 酵母および H5 酵母のアルコール濃度は、温度 30℃一定のアルコール濃度の 96.7、92.1 および 94.1% であったのに対し、K2-2 酵母、C4 酵母および C6 酵母は 30℃一定のアルコール濃度の 84.5、88.8 および 88.6% と温度の影響を受けやすいことが認められた。

表 1 熟成もろみのアルコール濃度 (%)

	K2-2	H1	H2	H5	H6	C4	C6
A	18.7	18.0	18.9	18.8	----	17.0	16.7
B	15.8	17.4	17.4	17.7	11.5	15.1	14.8
B	× 100	84.5	96.7	92.1	94.1	----	88.8
A							

A : 発酵温度 30℃一定, B : 最高温度 35℃

発酵温度 30℃一定における熟成もろみの試留液の香气成分の分析結果を表 2 に示す。

C4 酵母および C6 酵母は高級アルコール類のなかで n-プロピルアルコールが、それぞれ 112mg/ℓ および 114 mg/ℓ と他の酵母と比べ約 1.3 倍高い値であったが逆にイソブチルアルコールがそれぞれ 127mg/ℓ と他の酵母の約 80~90% であった。微量香气成分である酢酸イソアミルは他の酵母と比べ約 2 倍高い値を示した。もろみの香りは他の酵母と比べ軽く、華やかなものであった。H1 酵母はアミルアルコール (イソアミルアルコールおよび活性アミルアルコール) および β-フェネチルアルコールが他の酵母と比べ低い値を示した。H2 酵母および H5 酵母は同一の香气成分の生成パターンを示した。H 系酵母を用いたもろみの香りは芳醇だが少し重たいものであった。発酵経過、アルコール濃度および高級アルコール類の生成能の結果より C4 酵母および C6 酵母はほぼ同一の酵母と考えられ、H 系酵母はそれぞれ異なる酵母と考えられた。以上のことより、H 系酵母については最高温度 35℃を経過させた発酵試験において最もアルコール生成能に優れている H5 酵母と、温度の影響を最も受けていない H1 酵母を小仕込み試験に供し、C 系酵母は C4 酵母と C6 酵母はほぼ同一の酵母と考えられたことより C4 酵母を小仕込み試験に供した。

表 2 30℃一定もろみの試留液のガスクロ分析 (mg/ℓ)

	K2-2	H1	H2	H5	C4	C6
n-プロピルアルコール	89	85	86	87	112	114
イソブチルアルコール	147	163	140	162	127	127
アミルアルコール	247	184	216	235	267	256
β-フェネチルアルコール	86	66	87	82	88	86
酢酸エチル	37	40	37	35	52	53
酢酸イソアミル	2.0	0.9	2.1	1.9	3.9	3.9
酢酸β-フェネチル	0.7	0.4	0.7	0.7	1.1	1.1

アミルアルコール = イソアミルアルコール + 活性アミルアルコール

3. 2 小仕込み試験

スクリーニングの結果より得られた H1 酵母、H5 酵母、C4 酵母と対照として K2-2 酵母を用いて 2 ℓ 規模の甘藷焼酎の小仕込み試験を行った。2 次もろみの発酵温度は、最高温度 30℃ および 35℃ の 2 通りで行い、それぞれの発



表5 小仕込み試験における官能評価

	K2-2酵母	H1酵母	H5酵母	C4酵母
最高温度30℃	酸臭, 薄い, 口当たり良, さわやか	甘い, 濃厚 香り強い	甘い, 濃厚 特徴のある香り	軽快, 華やか
最高温度35℃	強酸臭 薄い, さわやか	弱酸臭 甘い, 香り強い	弱酸臭, 甘い 特徴のある香り	弱酸臭 華やか

く、濃厚な味で香りに特徴のある焼酎であった。C4酵母は軽快で華やかさのある焼酎であった。

H1酵母とH5酵母はガスクロ分析結果および官能試験の結果から大きく異なる酵母ではないと考えられたために、発酵経過およびアルコール収得量からH5酵母を、また軽快な香りの焼酎を造るC4酵母を実施仕込み試験に供した。

3. 3 実施仕込み試験

C4酵母, H5酵母と対照としてK2-2酵母を用いて大口酒造協業組合において米1000kgおよび甘藷5000kgの実施仕込み試験を行った。なお、それぞれの酵母について12回の仕込み試験を行った。1次もろみの分析値の一例を表6に示す。

表6 実施仕込み試験における一次もろみの分析

	K2-2酵母	H5酵母	C4酵母
アルコール濃度(%)	15.7	15.9	13.5
試留酸度(mℓ)	3.33	1.02	1.06
もろみ残糖(%)	4.19	5.87	8.62
酵母数(×10 <sup>8</sup> )	3.08	2.75	2.74
死滅率(%)	51.5	40.2	21.7

もろみのアルコール濃度はH5酵母が15.9%と最も高く、K2-2酵母は15.7%、C4酵母は13.5%であった。試留酸度は小仕込み試験同様、K2-2酵母が最も高く3.33でC4酵母およびH5酵母の約3倍の値であった。もろみ中の残全糖濃度は、アルコール濃度の低いC4酵母が最も高く8.62%であった。総菌数はK2-2酵母が、H5酵母およびC4酵母と比べ約10%高く3.08×10<sup>8</sup>(cells/mℓ)であったが、酵母の死滅率も最も高く51.5%であった。C4酵母の死滅率が21.7%と最も低かった。これは図2および3に示している1次もろみの発酵試験および表6より、C4酵母は発酵速度が他の酵母と比べて遅くまた、生成したアルコール濃度が低いために死滅率が低かったものと考えられる。

もろみ温度を23℃前後に調整しながら2次仕込みを行い、その後、20時間後におけるもろみ温度は、K2-2酵母が22.8℃とC4酵母およびH5酵母のそれぞれ30.2℃および30.0℃と比べ低く、更に約12時間経過した後もろみ温度30℃前後に達した。

熟成もろみを蒸留して得られた焼酎のアルコール収得量

および試留酸度のそれぞれ12回の平均値および標準偏差を表7に示している。K2-2酵母, C4酵母およびH5酵母のアルコール収得量はH5酵母が190.5(ℓ/1000kg)とK2-2酵母およびC4酵母のそれぞれ184.8(ℓ/1000kg)および184.3(ℓ/1000kg)と比べ約3%高かった。C4酵母は標準偏差が3.17と他の酵母と比べ大きい値であった。このことはC4酵母はもろみ間によるアルコール収得量にばらつきが大きいことを示すと考えられる。通常アルコール収得量は195~205(ℓ/1000kg)であるが、今回は1月中旬以降に行った仕込み試験で原料甘藷の澱粉含量が低かったために、アルコール収得量が低い値になったと考えられる。試留酸度はK2-2酵母が1.58でH5酵母およびC4酵母のそれぞれ1.33, 1.01と比べ高い値であった。

表7 実施仕込み試験におけるアルコール収得量および試留酸度

	K2-2酵母	H5酵母	C4酵母
アルコール収得量(ℓ/1000kg)			
平均値	184.8	190.5	184.3
標準偏差	1.41	1.45	3.17
試留酸度(mℓ)			
平均値	1.58	1.33	1.01
標準偏差	0.37	0.18	0.12

熟成もろみを蒸留して得られた焼酎のアルコール濃度を蒸留水で25%に調整し、ADVANTEC社製のセルロースアセテート(開口径3.0μm)を用いて常圧下で濾過した焼酎のガスクロマトグラフによる分析結果および官能試験の結果についてそれぞれ表8および表9に示す。

小仕込み試験のガスクロ分析結果と同様、C4酵母の生成する高級アルコール類、β-フェネチルアルコールおよび微量香気成分の酢酸イソアミルと酢酸β-フェネチルは他の酵母と比べ高い値を示した。このことが官能試験において他の酵母と比べ華やかで軽くソフトな焼酎であると評価されたものと考えられる。K2-2酵母の評価はさわやか、ふなん、うすい、口当たり良、渋いと評価された。渋いとの評価の理由として酢酸が主要成分である試留酸度が表7に示す通りC4酵母およびH5酵母と比べ約1.3~1.6倍高いことが影響していると考えられる。H5酵母の評価は味

に甘味, こくがあり, 味香りに特徴あり, 従来の焼酎と比べ少し異なる香りの焼酎であった。

表8 焼酎のガスクロ分析(mg/l)

	K2-2酵母	H5酵母	C4酵母
n-プロピルアルコール	111.9	93.9	166.4
酢酸エチル	8.4	7.7	8.7
イソブチルアルコール	140.7	180.2	162.5
イソamilアルコール	232.6	217.4	300.4
活性アミアルコール	85.3	95.6	112.8
乳酸エチル	4.1	7.1	6.9
フルフェール	1.7	3.0	2.6
酢酸イソamil	0.1	0.1	0.5
$\beta$ -フェニルアルコール	61.2	82.6	117.1
酢酸 $\beta$ -フェニル	1.2	1.8	2.1
リノール酸エチル	0.1	0.1	0.1

表9 焼酎の官能評価

K2-2酵母	H5酵母	C4酵母
さわやか, ふなん	甘い, こくあり	華やか, 軽い
うすい, 口当たり良	味香りに特徴あり	味香りソフト
渋い, 酸臭	少し異なる香り	香り薄い

#### 4. 結 言

県内焼酎工場の甘藷焼酎もろみより分離した酵母のうち6酵母についてスクリーニングおよび小仕込み試験を行い, C4酵母およびH5酵母を選択し, 鹿児島酵母のK2-2酵母を対照として大口酒造協業組合で実施仕込み模試験を行い, 以下の特徴を有する酵母であることが認められた。

##### 1) C4酵母

- ① 小仕込み試験の結果, 1次もろみでは立ち上がりが遅れるが, 2次もろみではK2-2酵母と遜色ない発酵経過を示した。
- ② 実施仕込み試験の結果, 1次もろみは小仕込み試験同様に立ち上がりが遅いものの酵母の死滅率が低いため, 2次もろみの立ち上がりがK2-2酵母より良好であった。
- ③ 官能評価は味香りとともにソフトで, 軽く, 華やかな焼酎であった。

##### 2) H5酵母

- ① 小仕込み試験の結果, 1次, 2次もろみともに立ち上がりおよび発酵経過が良好であった。
- ② 小仕込み試験において最高温度35℃のアルコール収量は最高温度30℃と比べ高い値であった。
- ③ 実施仕込み試験の結果, アルコール収量がK2-2酵母と比べ約3%高い値を示した。
- ④ 官能評価は甘く, こくがあり, 味香りに特徴のある焼酎であった。

#### 参 考 文 献

- 1) 高峯和則: 鹿児島県工業技術センター研究報告, 5,5-11 (1991)
- 2) 注解編集委員会編: "第四回改訂国税庁所定分析法", 日本醸造協会 (1993), p.39, p.40, p.231