長期間の差しもとを伴う従来法および返し仕込み法による 芋焼酎製造技術の実証試験

宮川博士^{1,2}・河野邦晃¹・藤原誉司¹・岩井謙一¹・奥野博紀¹・森村 茂²・
木田建次²・高瀬良和^{1*}

(¹ 霧島酒造株式会社・² 熊本大学大学院自然科学研究科)

平成 23 年 1 月 17 日受理

Demonstration tests of sweet potato-*shochu* making technology with the long-term repetition of
sashimoto and reuse of stillage for fermentation

Hiroshi MIYAGAWA^{1,2}, Kuniaki KAWANO¹, Takashi FUJIWARA¹, Kenichi IWAI¹, Hironori OKUNO¹, Shigeru MORIMURA²,
Kenji KIDA², Yoshikazu TAKASE¹

(¹ Kirishima Shuzo Co., Ltd 4-28-1 Shimokawahigashi, Miyakonojo 885-8588,

² Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, 2-39-1 Kurokami, Kumamoto City, Kumamoto 860-8555)

We previously reported that the activity of yeast cells was maintained at high levels by aeration and agitation after *sashimoto* in *shochu* making during the long-term repetition of *sashimoto*. In order to apply this technology to *shochu* making with sweet potatoes, a pilot-scale test was carried out to demonstrate the technique developed in laboratory- and bench-scale studies. The reuse of stillage was studied in addition to reducing the discharge of stillage. By activating the yeast cells by aeration and agitation (0.1 vvm, 200 rpm) from 3 h to 9 h after *sashimoto*, the concentration of trehalose in cells maintained at a high level during the entire test period and the concentration of ethanol in the second-stage fermented mash was 13.1-13.8% (v/v). Reuse of the stillage was conducted using the stillage discharged from the atmospheric distillation, and the concentration of ethanol in the distillates obtained by atmospheric- or vacuum-distillation were 34.5% (v/v) and 34.8% (v/v), respectively. The flavor compounds were compared among *shochu* samples produced by the conventional method with and without the repetition of *sashimoto* as well as the reuse of stillage. Higher fatty acid ethylester tended to increase with the repetition of *sashimoto*. Higher fatty acid ethylester and higher alcohol in *shochu* produced by the reuse of stillage was slightly elevated. This *shochu* had a good body and stronger sweet potato flavor than any other *shochu*. The yeast strain seemed to be stable during the long-term repetition of *sashimoto* and the reuse of stillage according to the analysis of nucleotide sequences of NTS regions.

Key words : 差しもと, 酵母の活性化, スケールアップ, ミニプラント

緒言

昨今の焼酎ブームを受け、南九州における焼酎の課

税移出数量(25度換算)は、熊本国税局の統計によると、平成19酒造年度402,763 kl¹⁾、平成20酒造年度399,355 kl²⁾であり、この10年で約2倍に増加した。

* 連絡先 (Corresponding author), takase@kirishima.co.jp

これに伴い焼酎蒸留廃液（以後、焼酎粕と呼ぶ）の排出量も増加し、平成 19 および 20 酒造年度の排出量はそれぞれ 767,088 k l ¹⁾、765,895 k l ²⁾であった。焼酎粕は BOD が 35,000 ～ 80,000 ppm もある高濃度有機性廃水であるので、非常に処理しにくい産業廃棄物とされている³⁾。以前は約 5 割もの焼酎粕を海洋投棄し、残りは焼却処分といった処理が一般的で、一部が飼料・肥料化などに利活用されている程度であった。しかし近年、ロンドン条約により海洋投棄が禁止、また環境保全の観点から農地還元も禁止され、処理が難しくなっている。企業努力の結果、南九州における平成 20 酒造年度の焼酎粕処理状況は、海洋投棄は約 3% に減少し、その代わりに約 45% もの焼酎粕がメタン発酵により処理されるようになった²⁾。しかし、メタン発酵処理は初期投資が高くつくので、現時点においても安価に削減あるいは処理できる技術が望まれている。

われわれは、これまでに設備投資することなく製造工程（減圧蒸留）から排出される焼酎粕を半減する返し仕込みによる米焼酎製造技術の開発を主として行ってきた⁴⁻⁸⁾。返し仕込みを行う上で、使用する焼酎粕が雑菌により汚染されていないことが重要であることを見出し、その対策として酵母の活性を高く維持する方法を確立した。その結果、長期間にわたって差しもとを繰り返しても安定して焼酎を製造できるだけでなく、焼酎粕を用いた返し仕込みによる焼酎製造も安定してできることを小仕込み試験およびベンチプラントを用いた仕込み試験で明らかにした。また、研究過程で酵母の菌体活性は、菌体内トレハロース含量と正の相関を示すことを明らかにした⁹⁾。長期間の差しもとを伴う従来法および返し仕込み法による焼酎製造技術を普及させていくために、本研究ではこれらの技術による芋焼酎製造に関して検討した。芋焼酎は一般に常圧蒸留により製造されているので、長期間の差しもとだけでなく常圧蒸留工程から排出される焼酎粕による返し仕込みが可能であるか検討することが重要な課題となった。芋焼酎粕の有効利用法の一つとして、これまでに工藤ら¹⁰⁾による芋焼酎粕の液部を利用した焼酎製造試験がある。本研究は、焼酎粕をデカンターで遠心分離後、中空糸膜を利用して無菌的なろ液を得た後、このろ液で返し仕込みを行うものである。したがって、われわれが開発しようとする長期間の差しもとを伴う従来法およびそこから排出される焼酎粕をその

まま利用して返し仕込みを行おうとする研究とは異なるものである。

そこで本研究では、主として米焼酎製造で検討してきた従来法および返し仕込み法が芋焼酎製造にも応用できるか確認するために、試作したミニプラント（原料芋 100 kg）を用いて長期間の差しもとを伴う従来法による芋焼酎製造技術の実証試験を行った。また、常圧蒸留で排出した焼酎粕でも返し仕込みが安定してできるかを検討した。さらに、製品中の香気成分の分析や官能試験、および酵母の安定性についても検討したので報告する。

実験方法

1. 使用菌株

酵母は鹿児島県酒造組合連合会から分譲された鹿児島 5 号酵母を使用した。

2. 使用麹および原料芋

白麹は、蒸したタイ米に河内源一郎商店から購入した麹菌 *Aspergillus kawachii* を散布し、開始温度 40℃、終了温度 29℃の温度条件下で 42 時間製麹を行うことにより調製した。また原料芋は、芋焼酎製造時に使用するコガネセンガン（南九州産）を用いた。

3. 使用培地

酵母の保存には 2% YPD 斜面培地（グルコース、20 g/l；ポリペプトン、20 g/l；酵母エキス、10 g/l；寒天、20 g/l）を用いた。また麹汁培地は、米麹 200 g を水道水 700 ml に加え、60℃の恒温水槽で 12 ～ 16 時間インキュベートした後、No.1 濾紙（ADVANTEC）で濾過した麹汁を水道水で Brix10% に調整して使用した。

4. ミニプラントの概要

ミニプラントは、Fig.1 に示したように蒸し器、粉碎機、一次仕込み槽、二次仕込み槽、返し仕込み槽および蒸留装置から構成されている。

蒸し器（実容積 100 l、東亜エンジニアリング、宮崎）は蒸気吹き込みタイプで、蒸し器下部より蒸気を吹き込むことで原料芋 100 kg を一気に蒸煮できるようにした。原料芋の粉碎には、12 枚の粉碎ブレードを 2 つ有する二軸式粉碎機（東亜エンジニアリング）を使用した。一次仕込み槽および二次仕込み槽（東亜エンジニアリング）の総容積は、それぞれ 80 l および 287 l であり、仕込み温度を一定に保持するために、

Fig. 1 Flow diagram of the pilot-scale process of traditional *shochu* making with the repetition of *sashimoto*.

各槽の外部ジャケットにチラー（空冷式チラーユニット RCUP375A2, 日立アプライアンス株式会社）の冷却水を通水できるようにした。返し仕込みで使用する仕込み槽は、従来法の二次仕込み槽を兼用した。

5. 従来法および長期間の差しもとによる芋焼酎製造試験

仕込みは一次汲水歩合 120%, 総汲水歩合 67% で行った。酒母立ては、滅菌した麹汁培地 100 ml を含む 300 ml 三角フラスコに、斜面培地から菌株を一白金耳植菌し、25℃で2日間静置培養することにより行った。一次仕込みは、酒母を一次仕込み全量の 1000 分の 1（約 48 ml）採取し、米麹 24 kg が入った仕込み槽に汲水 24 l と一緒に流し込むことにより添加し、28℃で5日間静置培養することにより行った。二次仕込みは、一次最終醪（6日目）を二次仕込み槽に移し、蒸し芋（原料芋 100 kg を蒸したもの）全量と汲水 56.4 l を加え 30℃で8日間静置培養することにより行った。なお、仕込み期間中は1日に1回大型杓文字を使用して醪を攪拌した。二次最終醪（約 175 l）をミニプラント用に製造したステンレス製の単式蒸留装置（株式会社ケミカルプラント、大阪）に入れ、常圧蒸留を行い、メートルボックス内の焼酎のアルコール % が 10% になった時点で終了した。

差しもととは、一次仕込み3日目の醪を次の仕込みの種菌として使用することにより行った。一次醪を約 480 ml 採取し、これを米麹 24 kg が入った一次仕込み槽に、汲水 24 l で流し込み、差しもと後3時間目から6時間、200 rpm の条件下で 0.1 vvm 通気することにより行った。二次仕込み以後の操作は従来法と同様の手順で行った。

6. 芋焼酎粕を使用した返し仕込み法による芋焼酎製造試験

返し仕込みは以下のようにして行った。二次最終醪を常圧蒸留して得られた芋焼酎粕 120.7 l に、種菌として別の仕込みの二次醪（2～3日目）を醪全量に対して 1%（約 2 l）となるように加えた。このとき醪粘度を低下させるために、セルラーゼ酵素剤であるスミチーム C（新日本化学工業）64.6 g を同時に添加し、その他の糖化酵素剤は一切添加しなかった。蒸し芋 50 kg は1日目と3日目に段掛けし、仕込み10日目で終了した。従来法で得られた発酵醪と同じ条件で常圧蒸留、もしくは減圧蒸留（42～47℃, 減圧度 680 mmHg）を行い、メートルボックス内の焼酎のアルコール % が 15% になった時点で終了した。

以上、ミニプラントを用いた運転は、差しもとを 20 回行い、差しもと 4 回に一度は二次仕込みと返し

仕込みを行った。

7. 官能試験

従来法、差しもとを12回行った焼酎、返し仕込みの常圧および減圧蒸留で製造した焼酎を研究開発部12名のパネラーにより3点法（1、良；2、普通；3、難あり）で評価した。

8. 分析方法

分析用サンプルの調製や総菌数、生菌数、醪酸度およびトレハロース含量の測定は前報^{49,11)}の方法にしたがい行った。また、生酸菌反応および揮発酸度は国税庁所定分析法¹²⁾にしたがい、ボーメや日本酒度、生成エタノール濃度は浮ひょう法¹²⁾により測定した。また、NTS領域の塩基配列の比較¹³⁾により使用酵母の安定性を調査した。

焼酎は原酒のエタノール濃度が25% (v/v) になるように割り水したもので、焼酎の低沸点および中高沸点香気成分は以下のようにして分析した。低沸点香気成分は、キャピラリーカラム DB-WAX (length, 30 m; I.D., 0.32 mm; df, 0.25 μ m.) を装着したFIDガスクロマトグラフィー (GC-2010, Shimazu) を用いて測定した。温度プログラムは50℃で5分間保持した後、50℃から170℃まで昇温速度5℃/min、170℃から225℃まで昇温速度20℃/minとし、225℃で15分間保持するものとした。注入口温度は230℃、FID温度は250℃、スプリット比は1/25とした。中高沸点香気成分は、焼酎をヘキサンで1回抽出した後、ガス

クロマトグラフィーにより分析した。すなわち、50 ml 共栓試験管に焼酎20 ml、ヘキサン1 ml、食塩4 gを加え30～40秒間振盪し、1分間静置することにより抽出した後、カラム DB-5 (length, 30 m; I.D.; 0.32 mm; df, 0.25 μ m.) を装着したガスクロマトグラフィー (GC-14A, Shimazu) を用いてスプリットレス法により測定した。温度プログラムは70℃で1分間保持した後、70℃から270℃まで昇温速度5℃/min、270℃で2分間保持するものとした。注入口温度は200℃、FID温度は280℃とした。

実験結果および考察

1. ミニプラントでの従来法および長期間の差しもとによる芋焼酎製造試験

酵母の活性化は、小仕込み試験⁹⁾やベンチプラント¹⁴⁾の結果に基づき、ミニプラントにおいても差しもと後3時間目から6時間、200 rpmの攪拌条件で0.1 vvm通気することにより行った。また、差しもと4回目ごとに二次仕込みおよび返し仕込みを行った。なお、前報⁹⁾において菌体活性と菌体内トレハロース含量は正の相関を示すことを明らかにしたので、本実証試験では菌体内トレハロース含量値から菌体活性値を算出した。

一次仕込みでの菌体内トレハロース含量の分析は、前報⁹⁾にしたがい含量が一番高い5日目の醪を用いて行い、差しもとごとのトレハロース含量をFig. 2に

Fig. 2 Effects of repeated numbers of *sashimoto* on the concentration of intracellular trehalose during the first-stage fermentation. C.M., Conventional method without *sashimoto*.

示した。図から明らかなように、通気・攪拌を行うことでトレハロース含量は従来法と比較して約 1.7 倍と高くなり、常に高い値を維持した。140–145 $\mu\text{g}/\text{mg}$ -乾燥菌体という値は、われわれの報告値⁹⁾から算出すると菌体活性値は約 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ となり既報値と遜色なく、やはり差しもと後に通気・攪拌を行うことにより酵母を活性化できることがわかった。

Table 1 は、一次仕込み最終醪の酵母の生存率、生成エタノール濃度および生酸菌反応等を示している。

エタノール濃度は差しもと 1 回目を除いて 16.0–17.5% と安定しており、醪酸度と揮発酸度の結果からも醪の酸敗は認められず、生酸菌反応からも安定した仕込みができていたことがわかった。

Table 2 は二次仕込み最終醪の結果を示しており、エタノール濃度は 13.1–13.8% と安定していた。しかし、差しもと 4 回目の仕込みにおいて揮発酸度が 6.6 ml とやや高い値となり、生酸菌反応においても++の陽性反応を示した。この原因として、この仕込みの

Table 1 Parameters of the first-stage fermented mash in the pilot-scale fermentation with long-term *sashimoto*

<i>Sashimoto</i>	Viability (%)	Ethanol concentration (%v/v)	Acidity (ml)	Acidification test	Baume (-)	Volatile Acidity (ml)
Conventional method	58.9	16.2	26.6	—	N.M.	N.M.
1st	78.7	13.0	28.1	—	N.M.	N.M.
2nd	61.8	16.4	27.1	—	3.3	3.7
3rd	43.7	17.5	24.9	—	2.6	3.5
4th	48.3	17.2	25.2	—	2.6	3.7
5th	76.7	16.8	26.2	—	2.0	3.7
6th	66.5	16.7	26.2	—	2.6	3.6
7th	79.3	16.4	27.3	—	3.1	4.4
8th	75.2	16.2	26.6	—	3.2	3.8
9th	85.5	16.0	27.1	—	2.9	4.0
10th	79.4	16.5	26.8	—	3.1	3.0
11th	75.8	16.5	26.7	—	2.8	3.4
12th	87.1	17.0	27.5	—	4.0	2.6
13th	86.8	16.6	27.3	—	2.4	3.4
14th	84.1	17.1	28.8	—	2.1	3.5
15th	86.1	16.6	29.4	—	3.0	4.7
16th	91.5	16.2	26.4	—	2.2	3.9
17th	85.6	16.6	26.9	—	2.0	3.9
18th	83.5	16.7	27.6	—	2.1	4.2
19th	84.0	16.5	27.6	—	2.1	3.9
20th	90.4	16.5	23.1	—	1.8	3.2

Analysis was carried out on the last day of the first-stage fermentation.

N.M., not measured; —, negative.

Table 2 Parameters of the second-stage fermented mash in the pilot-scale fermentation with long-term *sashimoto*

<i>Sashimoto</i>	Viability (%)	Ethanol concentration (%v/v)	Acidity (ml)	Acidification test	Sake meter (-)	Volatile Acidity (ml)
Conventional method	33.3	13.7	7.3	—	4.0	1.9
4th	31.3	13.3	7.8	++	6.0	6.6
8th	98.9	13.8	7.9	—	— 5.0	2.6
12th	97.5	13.4	7.3	±	5.0	1.3
16th	98.8	13.5	6.9	—	5.0	2.3
20th	91.7	13.1	7.0	±	3.0	3.2

Analysis was carried out on the last day of the second-stage fermentation.

—, negative; +, positive.

時だけ、現場で砕いた芋を用いたことが考えられた。そこで、次の仕込みからはミニプラントで蒸しから破砕まで行った芋を用いた。差しもと 8 回目において日本酒度が -5.0 という値を示したが、生産菌反応や醪酸度、揮発酸度から安定した仕込みができたと判断した。

2. 芋焼酎粕を使用した返し仕込み試験

Table 3 は、返し仕込み最終醪の分析結果を示している。1 回目から 3 回目の返し仕込みにおいては、醪酸度や揮発酸度が高く、また生酸菌反応も陽性を示し、酸敗が確認された。この原因として、返し仕込みに用いた焼酎粕の水分量に問題があり、従来の二次仕込みと比較して低かったため醪粘度が高くなり、それに伴い雑菌が繁殖したと考えられた。そこで、従来法と同じ汲水歩合となるように水分量を調整して仕込みを行ったところ、返し仕込み 4、5 回目に関しては醪酸度、揮発酸度ともに従来の二次仕込みと同等の値となり、生酸菌反応も陰性となった。最終エタノール濃度は、11.9–12.1% と従来法の 13% に比べるとやや低い値と

なった。しかし、常圧蒸留した焼酎粕にセルラーゼ以外の糖化酵素剤を添加しなくても返し仕込みで芋焼酎を製造できることが明らかとなった。

3. 香気成分の比較と官能試験

Table 4 および 5 は、従来法、長期間の差しもとおよび返し仕込みで製造した焼酎の香気成分を示している。なお、従来法および長期間の差しもとは常圧蒸留を行い、返し仕込みにおいては特徴ある酒質の焼酎を得るために、常圧および減圧蒸留で製造した。

長期間の差しもとで得られた焼酎は、従来法と比較して低沸点香気成分の濃度に大差なかったが、中高沸点香気成分の濃度は若干高くなる傾向を示した。カブリン酸エチルやラウリル酸エチル濃度が高くなっていることからブドウ酒様や花香様が強くなり、また高級脂肪酸エチルエステルであるバルミチン酸エチルやリノール酸エチル、ステアリン酸エチル濃度が高くなっていることから焼酎の味にコクが付与されていた。

返し仕込みについては、上述したように 1 回目から 3 回目までは酸敗したために醪の分析は行わず評価の

Table 3 Parameters of the fermented mash of the stillage reuse process in the pilot-scale fermentation

Stillage reuse process	Viability (%)	Ethanol concentration (%v/v)	Acidity (mL)	Acidification test	Sake meter (-)	Volatile Acidity (mL)
1st	68.5	13.5	12.1	++	-7.0	14.8
2nd	82.1	12.6	13.3	++	-22.0	20
3rd	73.9	10.9	7.9	++	-4.5	14.8
4th	82.6	12.1	7.7	±	-4.0	2.1
5th	89.9	11.9	6.9	±	-4.0	2.9

Analysis was carried out on the last day of the stillage reuse process.

+, positive. Stillage reuse process

Table 4 Concentration of low-boiling point flavor compounds in *shochu* obtained from the second-stage fermentation with long-term repetition of *sashimoto* and the stillage reuse process (units, ppm)

Flavor compound	Conventional production	Sashimoto					Stillage reuse process	
		4th-sashimoto	8th-sashimoto	12th-sashimoto	16th-sashimoto	20th-sashimoto	4th-round reuse	5th-round reuse
Acetaldehyde	55.6	85.5	73.5	90.7	94.9	84.9	56.3	113.9
Ethyl acetate	90.6	102.9	109.6	118.2	101.3	112.0	86.1	113.1
Methanol	317.0	312.4	305.7	304.0	318.0	326.6	372.6	388.2
n-Propyl alcohol	90.6	93.7	93.6	106.6	105.5	109.1	85.9	83.2
Isobutyl alcohol	190.4	143.5	188.2	209.3	204.9	229.1	240.5	260.6
n-Butyl alcohol	5.3	5.8	6.0	6.9	6.5	7.2	4.3	4.2
Isoamyl alcohol	354.6	262.7	345.6	388.3	390.8	401.9	420.3	451.5

The second-stage fermented mash with and without sashimoto were distilled under atmospheric conditions. The 4th-round and the 5th-round fermented mash of the stillage reuse process were distilled under atmospheric- and vacuum conditions, respectively. The distillate was adjusted with water to an ethanol concentration of 25% and used for the analysis.

対象外とした。4 回目の醪を常圧蒸留した焼酎は、従来法と比較して低沸点香氣成分に大差なかったが、中高沸点香氣成分に関して差しもとで得られた焼酎と同様に高級脂肪酸エチルエステルが多く、従来法で製造した焼酎と比較して味にコクがあり、芋らしいとの評価を得た。5 回目の醪を減圧蒸留して得られた焼酎は、高級脂肪酸エチルエステルの生成は抑えられ、常圧蒸留の焼酎と比較すると綺麗ですっきりしており、飲みやすいとの評価を得た。

Table 6 は、官能試験についての結果を示している。従来法と差しもとにより製造した焼酎はどちらも甘味

があり、特に差しもとによる焼酎はすっきりした綺麗な味と評価された。返し仕込みの常圧焼酎は、多くのパネラーから甘味があり、従来法よりもコクがあつて芋らしいとの評価を得た。また、減圧焼酎は綺麗ですっきりしており飲みやすいと評価された。3 点評価による平均点は、従来法で 2.04、差しもとで 1.96、返し仕込み減圧で 2.00 とほとんど遜色なかったが、返し仕込み常圧で 1.87 と最も評価が高く、品質において優れた製品であることがわかった。

Table 5 Concentration of middle- and high-boiling point flavor compounds in *shochu* obtained from the second-stage fermentation with long-term repetition of *sashimoto* and the stillage reuse process (units, ppm)

Flavor compound	Conventional production	Sashimoto					Stillage reuse process	
		4th- <i>sashimoto</i>	8th- <i>sashimoto</i>	12th- <i>sashimoto</i>	16th- <i>sashimoto</i>	20th- <i>sashimoto</i>	4th-round reuse	5th-round reuse
Isoamyl acetate	1.42	0.67	1.21	1.82	2.00	2.23	1.36	1.88
Caproic acid	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ethyl capronate	0.21	0.14	0.17	0.22	0.23	0.28	0.28	0.28
β -Phenethyl alcohol	0.63	0.38	0.45	0.59	0.65	0.71	0.94	0.66
Caprylic acid	0.31	0.53	0.09	0.23	0.25	0.27	0.53	0.10
Ethyl caprylate	0.91	0.77	0.69	1.36	1.48	2.06	1.88	1.40
Ethyl phenylacetate	1.68	0.64	1.02	1.56	1.65	1.92	1.97	2.08
Capric acid	0.63	0.45	0.54	0.63	0.68	0.48	0.94	0.24
Ethyl caprate	0.63	0.70	0.63	1.70	2.06	3.82	2.23	1.01
Ethyl laurate	0.09	0.14	0.22	0.55	0.63	1.13	0.82	0.37
Ethyl myristate	0.09	0.13	0.34	0.40	0.48	0.60	0.64	0.34
Ethyl palmitate	4.88	6.50	14.5	16.2	16.8	18.6	14.5	7.76
Ethyl linoleate	1.90	2.09	2.60	3.57	9.95	14.3	15.7	7.38
Ethyl stearate	0.96	0.88	2.40	3.05	2.92	3.78	2.40	1.27

The *shochu* samples for the analysis were prepared in the same manner as described in the Table 4.
N.D., not detected.

Table 6 Sensory test of *shochu* obtained from conventional methods with and without *sashimoto* and the stillage reuse process

Average points		Sensory characteristics
Conventional method Atmospheric distillation	2.04	Sweet 6. Sweet potato flavor 2. Caramel 1. Estery1. <i>Umami</i> 1. Round 1. Smooth 1. Clean1. Sharp 1.Astringent 4. Bitter 4. Metallic 3. Heat 3. <i>Tuwarika</i> 2. Rubbery 1. Papery 1.
12th- <i>sashimoto</i> Atmospheric distillation	1.96	Sweet 6. Clean 3. Caramel 2. Refreshing 2. Heavy 2. Estery 1. Heat 3. Astringent 3. Bitter 3. Light 3. Weak flavored 2. Papery 2. <i>Zatumi</i> 1. Acid 1. <i>Tuwarika</i> 1.
4th-round reuse Atmospheric distillation	1.88	Sweet 7. Sweet potato flavor 7. Heavy 3. Full bodied 3. Clean 2. Caramel 1. <i>Umami</i> 1. Round 1. <i>Tuwarika</i> 4. Sour 3. Astringent 3. Heat 2. Bitter 2. Acid 2. Burnt 1. Light 1.
5th-round reuse Vacuum distillation	2.00	Sweet 4. Estery 4. Refreshing 4. Clean 3. Caramel 2. Sharp 1. Refreshing 1. Smooth 1. Light 5. Heat 3. Acid 2. Astringent 2. Weak flavored 1. Sour 1.

Figures after the comments show number of responses.

4. 長期間にわたり差しもとを繰り返した醪における酵母の安定性

差しもと後に一次醪を通気・攪拌することにより、長期間の差しもととの繰り返しを可能とする芋焼酎製造技術を開発することができた。しかし、差しもとを繰り返していくと酵母の塩基配列に変異が生じたり、蔵付き酵母に入れ替わる可能性が懸念された。そこで前報⁹⁾にしたがい、醪から酵母菌体を回収した後、DNAを抽出し遺伝子のNTS領域の塩基配列を解析することで、使用した酵母が安定して存在しているかを調べた。調査した菌株は、従来法の仕込みに使用した焼酎用酵母鹿児島5号酵母¹³⁾と差しもと20回目の二次醪から単離した1株、返し仕込み5回目の最終醪から単離した1株の計3株を用いた。1株につきランダムに2つのコロニーを選択しDNAを抽出した後、それぞれのコロニーから4クローンの塩基配列を読み比較した。Table 7に示したように、7箇所の塩基は全て一致したことから長期間の差しもとを行っても、

また返し仕込みを行っても使用した酵母は安定していると考えられた。

要約

長期間にわたる差しもとと試験および焼酎粕を使用した返し仕込みによる芋焼酎製造試験をミニプラントで実証した。得られた結果を以下に要約する。

- (1) 差しもと後3時間目から6時間、通気・攪拌(0.1vvm, 200rpm)することにより酵母のトレハロース含量を高く維持でき、結果として酵母の活性を高く維持できることがわかった。
- (2) 長期間の差しもとを伴う二次仕込みでの最終醪のエタノール濃度は13.1–13.8%であった。常圧蒸留して得られた焼酎の低沸点香氣成分は従来法のものと大差なかったが、中高沸点香氣成分は高級脂肪酸エチルエステルがやや多くコクのある焼酎であった。
- (3) 常圧蒸留した焼酎粕を用いて返し仕込みを行った結果、最終エタノール濃度は11.9–12.1%に達した。

Table 7 Comparison of nucleotide sequences of NTS regions of the yeast cells from 20th-sashimoto and 5th-round of the reuse of stillage with strain Kagoshima No.5

Strain	446*	598	1499	1690	2070	2224	3046
Kagoshima No.5	T	A/G	G	C	G	G	A/G
Conventional method : colony No.1-C1	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.1-C2	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.1-C3	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.1-C4	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.2-C1	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.2-C2	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.2-C3	T	A	G	C	G	G	A
Conventional method : colony No.2-C4	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.1-C1	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.1-C2	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.1-C3	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.1-C4	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.2-C1	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.2-C2	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.2-C3	T	A	G	C	G	G	A
20 th-Sashimoto : colony No.2-C4	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.1-C1	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.1-C2	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.1-C3	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.1-C4	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.2-C1	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.2-C2	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.2-C3	T	A	G	C	G	G	A
5th-round reuse process : colony No.2-C4	T	A	G	C	G	G	A

*Numbers show the nucleotide number from the forward primer, JV51ET.

この値は従来法の値と比較して若干低かったが、醗酸度や揮発酸度、生酸菌反応の結果から問題はないことがわかった。返し仕込みの最終醗を常圧蒸留して得られた焼酎は、従来法と比較して高級脂肪酸エチルエステルが多く味にコクが付与されたものであった。一方、減圧蒸留で得られた焼酎は、高級脂肪酸エチルエステルの生成は抑えられており、すっきりした味わいの焼酎であった。

(4) 12 名のパネラーによる官能試験を行った結果、最も評価が高かった焼酎は、返し仕込みの常圧蒸留酒でスコアは 1.87 であった。甘味があり従来法と比べてコクがあり芋らしいという評価を得、品質的にも優れた製品であることがわかった。

(5) 使用した酵母は、差しもとを長期間にわたり繰り返し、またその焼酎粕を用いて返し仕込みを行っても、NTS 領域の 7 箇所の塩基配列が完全に一致したことから、変異が生じたり、蔵付き酵母に置き換わった可能性は少ないと考えられた。

長期間の差しもとを伴う従来法および返し仕込み法により安定して芋焼酎を製造することが可能となった。返し仕込みによる焼酎は、従来と比較して若干味が濃く、よい意味で個性があるので、今後、新しいタイプの商品開発を目指したい。

文 献

- 1) 熊本国税局編, 平成 19 酒造年度しょうちゅう調査書, 7, 19 (2005)
- 2) 熊本国税局編, 平成 20 酒造年度しょうちゅう調査書, 7, 19 (2006)
- 3) 木田建次, 森村茂: 醸協, **90**, (4), 255-261 (1995)
- 4) 中川優, 森村茂, 木田建次: 醸協, **92**, (9), 651-659 (1997)
- 5) 木田建次, 中川優, 西迫博行, 森村茂: 醸協, **92**, (10), 759-768 (1997)
- 6) 木田建次, 中川優, 張文学, 森村茂: 醸協, **93**, (12), 976-981 (1998)
- 7) K. Kida, M. Nakagawa, H. Nishisako, S. Morimura: *J. Inst. Brew.*, 104, 265-272 (1998)
- 8) 張文学, 森村茂, 木田建次: 醸協, **94**, (12), 989-997 (1999)
- 9) 宮川博士, 湯岳琴, 森村茂, 和佐野成亮, 太田広人, 奥野博紀, 高瀬良和, 木田建次: 醸協, **105**, (5), 319-328 (2010)
- 10) 工藤哲三, 横山朝明, 小玉誠, 水谷政美, 今野次雄: 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, 45, 159-163 (2000)
- 11) 高峯和則, 木田建次, 園田頼和, 生田六也, 塚田定清: 醸協, **85**, (11), 825-830 (1990)
- 12) 第 4 回改正国税庁所定分析法注解, (財) 日本醸造協会, 14-16, 222, 224, 229 (1993)
- 13) 湯岳琴, 宮川博士, 尾崎綾子, 森村茂, 木田建次: 醸協, **102**, (9), 679-684 (2007)
- 14) H. Miyagawa, Y. Q. Tang, S. Morimura, N. Wasano, H. Ohta, H. Okuno, Y. Takase, K. Kida: *J. Inst. Brew.*, in press (2011)