固体発酵法による無蒸煮コーングリッツからの蒸留酒の製造

佐無田 隆・中島 美幸*・太田 剛雄・佐伯 宏

佐藤 和夫・大場 俊輝・吉沢 淑**

(国税庁醸造試験所)

平成元年 10 月 26 日受理

Production of Spirits from Uncooked Corn Grits by Solid-state Ethanol Fermentation System

Takashi SAMUTA, Yoshiyuki NAKASHIMA, Takeo OHTA, Hiroshi SAIKI, Kazuo SATO,
Toshiteru OHBA and Kiyoshi YOSHIZAWA

(National Research Institute of Brewing, 2-6-30 Takinogawa, Kitavku, Tokyo 114)

Production of Spirits from Uncooked Corn Grits by Solid-State Ethanol Fermentation System.

Production of spirits from uncooked corn grits by a pilot-scale solid-state ethanol fermentation system (SSEF) was investigated. When the ethanol fermentation is done by SSEF, the recovery of ethanol by circulating CO₂ is more effective at high temperature than at lower temperature. Because the corn grits are not heated by the steam, there are high possibilities of contamination by bacteria and molds (fungi) in fermentation. To protect the mash against the contamination, fermentation tests were done by the use of some lactate buffer or lactic acid solutions. Among these liquids, pH 3.5, 0.2 M lactate buffer was the optimum for fermentation and protection against the contamination. Lactate buffer solution (pH 3.5, 0.2 M) containing saccharifying enzyme and moderately thermophilic yeast (*Saccharomyces cerevisiae* 1031 R) was added to the uncooked corn grits in the fermentor and the fermentor was kept at 40°C. The fermentation was continued for 9 days, and ethanol produced was 399 g/kg-IDM (initial dry mass). The content of acetaldehyde in the product was about 8 times as high as that in conventional type spirit "shochu".

Key words: 固体発酵・無蒸煮発酵・コーングリッツ

緒 論

中国をはじめアジア各地における伝統的な蒸留酒の製造方法の1つである固体発酵法はアルコールによる発酵阻害のため生産性は低い¹⁾が、蒸留残渣が固体で得られるため、蒸留残渣の再利用または処理において利点があると考えられる。共同研究者の佐藤ら²⁻⁴⁾は水分の少ない固体状態のでんぷん質原料に酵母を培養し、不活性なガスを循環して高濃度のエタノールを含む留液を回収すると共に、水分の少ない発酵残渣を得る、不活性ガス循環式固体発酵システム (Solid-state ethanol fermentation system, SSEF) を開発した。一方、省エネルギー的な観点から無蒸煮原料による発酵法が着目され多くの報告⁵⁻⁹⁾がある。しかし、いずれも汲水歩合を多くした液状醪形式の発酵であり、無蒸煮で固体発酵を行った例は

報告されていない。固体醪においてアルコールのストリップングを効率的に行うためには温度は高い方が有利であるが、原料は無蒸煮であるため殺菌されておらず、雑菌が増殖する可能性が高い。またガスによりアルコールをストリップングするため醪に含まれるアルコール濃度が低くアルコールによる殺菌効果も低い。したがって、無蒸煮固体発酵における最大の問題点は安全かつ短期間に発酵を行う点にある。高温での発酵に適した酵母としてはタイ国より採取された酵母から 40°C で生育、発酵ともに良好な酵母として高橋ら¹⁰⁾がスクリーニングした *Saccharomyces cerevisiae* 1031 R がある。また、無蒸煮コーングリッツの糖化に適した酵素として、永井ら¹¹⁾は 14 点の酵素剤について比較検討して報告している。本報では佐藤ら²⁻⁴⁾、高橋ら¹⁰⁾及び永井ら¹¹⁾の研究結果を踏まえ、高温性酵母 1031 R を用い、40°C において固体状態の無蒸煮コーングリッツを酵素剤を用いて糖化し、安全にアルコール発酵させるための条件について検討し

*) 現在 雲海酒造(株)

**) 現在 東京農業大学

Table 1 Particle size distribution of corn grits.

Particle size	Corn grits GB	Corn grits GE
(mm)	(wt%)	(wt%)
0.84~0.30	50.5	17.4
0.30~0.15	47.0	77.1
0.15~0.07	2.5	5.5

た結果について報告する。

実験方法

1. 原料

糖化条件の検討にはコーングリッツ GB (日本製粉(株)製でんぶん価 64.1, 水分 12.6% (w/w)) を粉碎しふるい分けして用いた。仕込試験にはコーングリッツ GE (でんぶん価 75.8, 水分 12.2% (w/w)) をそのまま用いた。コーングリッツ GB 及び GE の粒度分布は Table 1 のとおりであった。

2. 酵素剤

Aspergillus niger 起源の液状粗酵素剤 (SUMYZYME AN, 新日本化学工業(株)製) を使用した。これは永井ら¹¹⁾が粉碎生とうもろこしの糖化について検討した酵素剤の中でグルコース生成量が多く、無蒸煮発酵に適していると推定された酵素剤である。

3. 酵母

タイ国より採取された酵母から高橋ら¹⁰⁾が高温発酵性酵母としてスクリーニングした *S. cerevisiae* 1031 R を用いた。

4. 小仕込固体発酵

発酵栓をつけた 500 ml 容の三角フラスコに乾物換算で 100 g のコーングリッツ並びに所定量の酵素剤及び酵母を混和した乳酸緩衝液を加え、その三角フラスコを 40°C の恒温水槽に浸し、24 hr ごとに重量を測定して発酵による減少量を求めた。固体醪中の生酸菌の検出は文献¹¹⁾記載の方法によった。

5. パイロットプラントによる無蒸煮固体発酵

パイロットプラントは佐藤らが開発した装置を用いた。同装置の詳細は文献⁹⁾の通りである。原料はコーングリッツ GE を使用し、1 仕込み 10 kg (乾物重量 8.87 kg) または 5 kg とした。酵母は 1031 R (YM 培地 1 l で 48 hr 培養した後集菌したもの)、酵素剤は 1.0 g/kg-IDM (initial dry mass), 吸水率は 0.8 kg/kg-IDM であった。仕込み後発酵槽内は 40°C に保ち、24 hr 経過後プラント内のガスを N₂ で置換し流速 25 l/min で循環した。循環ガスは発酵槽に入る前に 45°C の温水と接触させ加湿した。アルコール蒸気を含んだ循環ガスは 0~2°C の冷水を循環した冷却器で約 5°C に冷却しアル

Table 2 Uncooked corn grits for saccharifying test.

No.	Particle size (mm)	Average diameter (mm)	moisture (wt%)
1	0.84~0.30	0.57	12.6
2	0.30~0.15	0.22	12.6
3	0.15~0.11	0.13	12.3
4	0.11~0.07	0.09	12.3

コールを回収した。アルコールの回収には醪の撹拌が効果的と考えられたので 1 部の実験では装置内のガス循環開始と同時に 1~2 rpm で撹拌器を回転した。

6. 分析方法

グルコースは GOD-4 AA 法 (和光純薬工業(株)グルコース B テストワーク), 酸度及びアルコール分は国税庁所定分析法¹²⁾によった。留液の低沸点成分は 2 m のガラスカラムに 10% PEG 600 を充填し、カラム温度 60°C としてガスクロマトグラフィーによった。

実験結果及び考察

1. 発酵条件の設定

(1) 無蒸煮コーングリッツの糖化に及ぼす酵素剤量及び水分の影響

Fig. 1 Effects of enzyme amount and moisture on saccharification of uncooked corn grits.

The particle size of the corn grits was 0.15~0.30 mm in diameter (No. 2 in Table 2). Lactate buffer (pH 4.3, 0.1M) containing enzyme was added to the corn grits, and it was kept at 40°C for 24 hr. The vertical axis is defined by Eq. (1).

Symbols	Amount of Enzyme
●	5.0 g/kg-IDM
◆	1.0
▲	0.5
○	0.1

コーングリッツ GB を粉砕し Table 2 のようにふるい分けして糖化試験の試料とした。粒径 0.15~0.30 mm の粉末乾物 1 kg 当たり酵素剤を 0.1~5.0 g 及び pH 4.3, 0.1 M 乳酸緩衝液 0.6~1.0 kg を加え 40°C で 24 hr 反応させ、生成したグルコースの量を測定した。結果を Fig. 1 に示した。Fig. 1 において横軸は乾物 1 kg 当たりの吸水量 (kg/kg-DM), 縦軸はグルコースまで分解されたでんぶんの、原料中のでんぶんに占める割合 R であり Eq. (1) であらわされる。

$$R = 0.90 G / CS \quad (1)$$

Eq. (1) において C は試料の重量 (g), S は試料の でんぶん 価/100, G は糖化後の反応物中の グルコース (g) である。酵素剤の添加量が 0.1 g/kg-DM と少ない場合を除き酵素剤添加量が多いほど、また吸水率が高いほど反応率は高かった。吸水率 1.0 kg/kg-DM (dry-mass) ではベタベタした状態となり固体発酵醪としては 0.8~0.9 kg/kg-DM が適当と考えられたので以後の実験においては吸水率 0.8 kg/kg-DM を標準とした。吸水率 0.8 kg/kg-DM において、酵素剤の添加量が多いほど有利であるが、添加量 1 g/kg-DM と 5 g/kg-DM を比較すると糖化 24 hr 後の後者の反応率は前者の 1.3 倍にすぎないことから以後の実験においては酵素剤の添

Fig. 2 Time course of starch hydrolysis in corn grits.

Lactate buffer (pH 4.3, 0.1M) containing enzyme (1.0 g/kg-DM) was added to the corn grits. The liquid-ratio to corn grits was 0.8 kg/kg-DM. The reaction of hydrolysis was done at 40°C.

Symbols	Average particle diameter
●	0.09 mm
◆	0.13
▲	0.22
○	0.57

Fig. 3 Relationship between the hydrolysis rate of starch and the specific surface area of corn grits.

Specific surface area and hydrolysis rate of starch were calculated from the data of Fig. 2.

Symbols	Saccharifying time.
●	0~3 hr
◆	3~6 hr
▲	6~15 hr

加量は 1 g/kg-DM を標準とした。

(2) 無蒸煮コーングリッツの糖化に及ぼす粒径の影響

椎木ら⁹⁾は 1 次醪に米麴, 2 次醪に無蒸煮の大麦を用いた焼酎の仕込試験において、粉砕した大麦では発酵が促進されたと報告している。一方、水溶液中にでんぶん質原料を懸濁して糖化反応を行う場合、アミラーゼの でんぶんへの吸着量と原料の表面積とは必ずしも比例しないが、生でんぶん分解の容易さとアミラーゼの でんぶんへの吸着量は比例すると報告¹³⁾されている。pH 4.3, 0.1 M 乳酸緩衝液を用いて吸水率 0.8 kg/kg-DM, 酵素剤 1.0 g/kg-DM とし、反応温度 40°C で生成したグルコースを経時的に測定した結果を Fig. 2 に示した。Fig. 2 の横軸は反応時間(day), 縦軸ではでんぶんの反応率 R である。粒径の小さなものが初期の糖化速度は大きく、120 hr 経過後の反応率も高かった。Fig. 3 に糖化速度と表面積の関係を示した。Fig. 3 の横軸はコーングリッツ粒の比表面積 (cm^2/g), 縦軸はでんぶんの糖化速度 ($\text{g-でんぶん}/(\text{kg-でんぶん}\cdot\text{hr})$) である。糖化反応初期 (0~3 hr の平均値) には両者の関係はほぼ直線となり糖化反応初期には糖化速度はコーングリッツ粒の表面積に比例することを示している。固体無蒸煮コーングリッツの場合、コーングリッツに酵素剤を含む水溶液を加えるが、水は全部吸収されるので流動する水はない状態であるため、酵素剤はコーングリッツの表面に吸着さ

れ、反応速度は原料粒の表面積に比例するものと推察される。したがって、コーングリッツの粒径は糖化反応からは小さい方が有利であるがこの装置では通風性も必要なのでパイロットプラントではコーングリッツ GE を使用することとした。

(3) 無蒸煮コーングリッツの糖化に及ぼす pH 及び緩衝液濃度の影響

粉碎した試料 No.2 (Table 2) を用いて、pH 3.0～4.5、緩衝液濃度 0.1～0.5 M とし、40°C、24 hr 反応させて *R* を測定したところ、実験の範囲で *R* は 0.15～0.16 であって、この条件では pH 及び緩衝濃度の糖化反応への影響は小さいと推察された。

(4) 酵母 1031 R の増殖に及ぼす pH 及び緩衝液濃度の影響

無蒸煮発酵では加熱工程を経ないため乳酸菌・枯草菌等の細菌類のほか糸状菌等の原料中の微生物（以下雑菌という）が発酵に影響する可能性が高い。清酒醸造において酒母及び醪が開放発酵により安全に醸造できる理由の1つとして乳酸の抗菌性の巧みな利用¹⁵⁾があげられる。固体発酵においても乳酸酸性下で発酵を行う方法は有力な方法と考えられる。しかし、清酒酵母は乳酸 1.5% を含む合成培地での静置培養では生育は著しく抑制¹⁵⁾されると報告されていることなどから雑菌の増殖を防ぐことのみを目的として pH を著しく低くすることはできない。一方清酒の酒母、醪及び焼酎醪は滴定酸度により管理され実効が上がっている。pH は一定にして緩衝液の濃度を変えると滴定酸度を変えることができるから、乳酸緩衝液の pH 及び濃度の組合せを変えることにより雑菌の増殖を抑制することを試みた。なお、エタノールが存在する乳酸酸性下で生存する雑菌類としては乳酸菌が主であると考えられたので、以下の実験においては生酸菌を検出し、雑菌汚染のメルクマールとした。濃度 0.1～0.4 M の乳酸緩衝液を用いて pH 3.0～

Fig. 4 Effects of pH and the concentration of lactate buffer on growth of *S. cerevisiae* 1031 R.

YM-medium containing 0.1～0.4 M lactate buffers were used for cultivation of *S. cerevisiae* 1031 R. Cultivation was done at 40°C for 7 days. Cell concentration was measured by a spectrophotometer at OD₆₆₀.

Symbols	Concentration of lactate buffer
●	0.1 M
◆	0.2 M
▲	0.3 M
○	0.4 M

4.5 の YM 培地 (酵母エキス 0.3 g, 麦芽エキス 0.3 g, ポリペプトン 1.0 g, グルコース 5.0 g, 緩衝液 100 ml) を調整し、その 10 ml に高温性酵母 1 白金耳を接種した後、40°C で 7 日間静置培養し酵母数を測定した結果を Fig. 4 に示した。酵母数は吸光度 (OD₆₆₀) により測定した。乳酸緩衝液 0.1 M の場合、実験の範囲で酵母の増殖量は pH の影響をほとんど受けなかった。緩衝液の濃度が高くなると増殖量は減少する傾向があり、また、緩衝液が同一濃度の場合、pH 3.5 のとき増殖量は最大となった。

2. 小仕込試験による発酵条件の検討

パイロットプラントでの発酵試験に先立ち、500 ml/容

Table 3 Properties of solution added to uncooked corn grits, and the effects of those solution on CO₂ evolution and cell concentration of acid-producing bacteria in solid state mash.

Added solutions to uncooked corn grits			CO ₂ evolution (g/100 g-IDM)	Acid-producing bacteria (cells/g-mash)
pH	concentration	acidity (ml-0.1N-NaOH)		
3.0	0.1 M-lactate buff.	5.4	6.3	10
3.5	0.1 M-lactate buff.	3.7	4.9	1.5×10 ⁶
4.0	0.1 M-lactate buff.	2.0	6.1	2.5×10 ⁶
3.5	0.2 M-lactate buff.	7.5	6.3	0
3.8	0.2 M-lactate buff.	5.7	6.0	2.0×10 ⁴
4.0	0.2 M-lactate buff.	4.3	6.1	6.0×10 ⁴
3.8	0.3 M-lactate buff.	8.3	7.0	80
4.0	0.3 M-lactate buff.	6.5	5.3	130
2.5	0.7% lactic acid	5.5	6.1	750
2.4	1.0% lactic acid	7.8	6.3	50

Table 4 Conditions of solid-state fermentation by use of uncooked corn grits.

Materials Run	Uncooked					Cooked ^{a)}
	1	2	3	4	5	
Temperature (°C)	40	40	40	40	40	40
Strain of yeast	1031R	1031R	1031R	1031R	1031R	1031R
Saccharifying enzyme ^{b)}	S-AN	S-AN	S-AN	S-AN	S-AN	G-100
Running time (day)	10	10	11	17	9	17
Material (kg)	10	10	10	10	5	10
Added solution ^{c)}	buffer	acid	buffer	buffer	buffer	buffer
concentration	0.1 M	1.0 vol%	0.1 M	0.1 M	0.2 M	0.1 M
pH	4.0	2.4	3.0	3.0	3.5	4.0
Agitation (rpm)	1~2	1~2	1~2	3/day ^{d)}		1~2

a) Date of cooked corn grits was obtained using the same solid-state fermentation system by SATO et al⁹⁾.

b) Saccharifying enzyme, S-AN: SUMYZYME AN, G-100: Gluc-100.

c) Added solution, buffer: lactate buffer, acid: lactic acid.

d) Mash was agitated for 1 minute at 9 a. m., 12 a. m. and 5 p. m.

の三角フラスコを仕込容器として回分小仕込試験により発酵条件の検討を行った。コーングリッツ GE を原料とし、吸水率は 0.8 kg/kg-IDM, 酵母は 1031 R, 酵素剤添加量は 1.0 g/kg-IDM とし、pH 3.0~4.0, 濃度 0.1~0.3 M の乳酸緩衝液及び 0.7% (v/v) (pH 2.5)~1.0% (v/v) (pH 2.4) の乳酸水溶液を汲み水の代わりに使用した。発酵終了時の各仕込み容器の炭酸ガス減量 (g/kg-IDM) 及び生酸菌数を Table 3 に示した。同じ濃度であれば pH が低い方が生酸菌数は少なく、同じ pH であれば濃度が高い方が生酸菌の数は少なかった。Fig. 4 及び Table 3 の結果は、pH を著しく低くしなくても酵素剤の最適 pH において緩衝液の濃度を高くすると生酸菌の増殖を抑制することができるが、緩衝液の濃度により酵母の増殖も影響を受けることを示している。生酸菌数及び炭酸ガス減量から次の 3 種類の液体が仕込み水として使用の可能性があると考えられた。

- ① 1.0% (v/v) 乳酸
- ② pH 3.0, 0.1 M 乳酸緩衝液
- ③ pH 3.5, 0.2 M 乳酸緩衝液

3. パイロットプラントによる固体発酵

前項に記載した①②③のほか佐藤ら³⁾が蒸煮したコーングリッツについて行った条件に近い pH 4.0, 0.1 M 乳酸緩衝液の 4 種類の液体を使用してパイロットプラントによる無蒸煮固体発酵を行った。発酵試験は 5 回行ったが、その実験条件は Table 4 にまとめて示した。

(1) pH 4.0, 0.1 M 乳酸緩衝液 (撹拌 1~2 rpm・Run 1) 発酵経過を Fig. 5 に示した。アルコール回収開始直後に腐造状態となり酸臭が強く、2 日目からは留液の酸度が 2 以上となった。アルコール取得量も 9 日間で 84 g/kg-IDM と低かった。

(2) 1.0% (v/v) 乳酸 (pH 2.4, 撹拌 1~2 rpm・Run 2) 発酵経過を Fig. 5 に合わせて示した。腐造と

はならなかったが安定した発酵を持続することはできなかった。

(3) pH 3.0, 0.1 M 乳酸緩衝液 (撹拌 1~2 rpm・Run 3) 発酵経過を Fig. 5 に合わせて示した。腐造とはならなかったが、4 日目以後は留液のアルコール分は

Fig. 5 Time course of the solid state fermentation of uncooked corn grits.

The solid state fermentations using pilot scale fermentor were done at 40°C. Lactate buffer or lactic acid solution containing the saccharifying enzyme and *S. cerevisiae* 1031R were added to the uncooked corn grits. The liquid-ratio to the corn grits was 0.8 kg/kg-IDM.

Symbols	Liquid		Run
	pH	Concentration	
△	4.0	0.1 M lactate buffer	1
▼	2.4	1.0 vol. % lactic acid	2
○	3.0	0.1 M lactate buffer	3
◆	3.0	0.1 M lactate buffer	4
●	3.5	0.2 M lactate buffer	5

Table 5 Results of solid-state fermentation by use of uncooked corn grits.

Materials		Uncooked					Cooked ^{a)}
Run		1	2	3	4	5	
Wet mass (kg)	initial	15.9	15.8	15.8	15.8	7.9	19.5
	final	—	13.1	9.7	7.9	2.4	6.9
Dry mass (kg)	initial	8.8	8.8	8.8	8.8	4.4	8.4
	final	—	6.3	5.7	4.6	1.1	2.0
Moisture content (%)							
	initial	44	44	44	44	44	57
	final	—	52	41	41	53	71
Total ethanol production (g/kg-IDM)		68	92	137	225	399	467
Fermentation efficiency (%)		14	19	28	46	81.5	87
Condensate							
	Volume yield (l/kg-IDM)	0.9	0.6	1.6	1.8	2.7	1.9
	Av. ethanol conc. (g/l)	73	154	85	129	143	223

a) Data of cooked corn grits was obtained using same solid-state fermentation system by SATO et al³⁾.

10% (v/v) 以下となった。実験終了時 Run 1~3 は基質を支える発酵槽下部の金網の目詰まりが著しく、攪拌の影響と考えられた。

(4) pH 3.0, 0.1 M 乳酸緩衝液 (攪拌 1~2 rpm で 1 分間, 1 日 3 回・Run 4) Run 3 と同じ条件で攪拌は朝、昼及び夕刻に 1~2 rpm で 1 分間だけ攪拌した。発酵経過を Fig. 5 に合わせて示した。16 日間発酵を続けたが腐造とはならなかった。Run 2 及び 3 に比べ順調に発酵し、7 日目までは留液量は 1 l/day 以上であったが、8 日目より徐々に留液量及びアルコール取得量は減少した。実験終了時発酵槽下部の基質を支える金網の目詰まりが著しかった。液状醪と異なり、固体状醪の場合は流動性がないため攪拌により醪容器の底部に過大な力がかかり、醪を支えている金網の目詰まりが起こると推察された。

(5) pH 3.5, 0.2 M 乳酸緩衝液 (攪拌なし・Run 5) Run 1~4 の結果、乳酸緩衝液は pH 3.0, 0.1 M であれば安全に発酵できるが、pH が低すぎるためか発酵がやや緩慢であること、また、攪拌はしないほうがよいということがわかった。そこで、各種の緩衝液 (Fig. 4) において酵母の増殖性がよく、小仕込の固体醪 (Table 3) において生菌数菌数の少なかった pH 3.5, 0.2 M 乳酸緩衝液を用いて発酵試験を行った。発酵経過は Fig. 5 に合わせて示した。Run 1~4 に比べ安定した発酵状態となった。1 日当たりのアルコールの取得量 (g/kg-IDM) 及び留液中のアルコール分はストリップ開始 1 日目それぞれ 87.7 g/kg-IDM, 27.7% (w/w) と最も高く以後徐々に低下した。8 日目にアルコール取得量の累計は 391 g/kg-IDM となり、留液中のアルコール分は 6.6% (w/w) と低下したので発酵終了とした。発酵終了時の醪の水分は 53.4% (w/w) であった。この醪を発酵槽に充填したまま加湿せずに内部のガスを 24 hr 循環したところ醪の水分は 29.2% (w/w) まで低下した。この

乾燥操作によりアルコール分 3.5% (w/w) の留液 865 ml とサラサラした粉状の蒸留残渣 1.55 kg が得られた。なお、乾燥後の蒸留残渣からはアルコール分は検出されなかった。また、加湿器中の液体はアルコール分 0.2% (v/v), 4825 ml であった。

Run 1~5 の実験結果を Table 5 に示した。同表には参考のため佐藤ら³⁾が蒸煮したコーングリッツについて行った結果を合わせて示した。実験した無蒸煮固体発酵の内、Run 5 は発酵日数 9 日間で留液として 397 g/kg-IDM (乾燥中の留出液を含む) のアルコールを取得することができ Run 1~4 に比べ格段に優れていた。原料 1 t 当たりの留液中の純アルコール取得量として算出すると 439 l/t で、コーングリッツを原料とした本格焼酎のアルコール取得率 420~440 l/t⁶⁾と水準であり固体醪は正常に発酵したものと推察された。対でんぷんのアルコール収率は理論値の 81.5% であって、佐藤ら³⁾が行った蒸煮固体発酵 (発酵日数 15 日間) のアルコール収量 467 g/kg-IDM (アルコール収率 87%) に比較するとやや低かったが、短期間に安全に発酵させるという目的は達せられたと判断した。

4. 無蒸煮コーングリッツを原料とした固体発酵法による蒸留酒の特徴

発酵が順調であった Run 5 について、発酵期間中の留液の酸度、pH 及び低沸点成分含量を分析した結果を Table 6 に示した。参考として従来の方法で造られた市販とうもろこし焼酎 (減圧及び常圧蒸留) について行った分析値及び佐藤らの蒸煮固体発酵法による蒸留酒の分析値⁴⁾を合わせて示した。Table 5 の低沸点成分の分析値はアルコール分 25% (v/v) 当たりに換算した値である。本実験の留液の酸度は、ガス循環 1 日目が 0.7 であったのに対し発酵期間中徐々に増加し、発酵終了時の 8 日目は 2.8、留液全部を混和した後の酸度は 1.6 であった。これは蒸留酒としては酸度は高いレベルであると考えら

Table 6 Results of analysis of the SSEF products (Run 5).

Fermentation method	SSEF (Run 5)					SSEF*	Shochu A**	Shochu B**
Material	uncooked					cooked	cooked	cooked
Fermentation time (days)	1	3	5	7	mixture			
Acidity (ml)	0.7	1.1	1.5	2.1	1.6	—	0.4	0.3
Volatile components (ppm)								
Acetaldehyde	90	72	110	160	84	—	10	10
EtOAc	67	62	51	59	61	163	65	58
<i>n</i> -PrOH	204	139	152	166	162	47	130	90
<i>i</i> -BuOH	196	240	257	345	255	200	219	210
<i>i</i> -AMOH	821	497	600	639	613	429	747	455
Total higher alcohols	1221	876	1009	1150	1030	743	1096	755
Ratio of higher alcohols								
B/P	0.96	1.73	1.69	2.08	1.58	4.29	1.68	2.33
A/P	4.02	5.57	3.95	3.85	3.78	9.22	5.74	5.05
A/B	4.18	2.07	2.33	1.85	2.40	2.15	3.41	2.17

* Data of cooked corn grits was obtained using the same solid-state fermentation system by SATO et al⁹.

** Shochu A and B are conventional type in the commercial spirits which were distilled at the atmospheric and the reduced pressure, respectively.

れるが、高橋ら¹⁰⁾が同酵母 1031 R を用いて行った焼酎の小仕込試験の場合も対照酵母 SH-4 の酸度 0.89 に対し酸度 1.38 と酸度が高い傾向が報告されており、この酵母の性質ではないかと考えられる。低沸点成分では acetaldehyde が従来法による焼酎に比べ 8 倍も多かった。また acetaldehyde は酸度と同様に発酵期間中徐々に増加した。菅間ら¹⁷⁾も甘藷を原料として製造した固体発酵による蒸留酒においても acetaldehyde が著しく多かったと報告しているがその原因についてはさらに検討したい。酢酸エチル及び高級アルコール (*n*-PrOH, *i*-BuOH, *i*-AmOH) については従来法と大きな差は見られなかったが、佐藤ら⁴⁾が行った蒸煮固体発酵法による製品と比較すると酢酸エチルが少なく、上記 3 種類の高級アルコールの含量が高かった。

5 人の審査員により官能審査を行った結果、香りに関しては、アルデヒド臭、原料（とうもろこし）臭、粉臭等の指摘があり、発酵期間後期になるにつれて評点が悪くなる傾向があった。味については、苦い、うすい等の指摘があった。総合的に従来法による焼酎と比較すると、原料由来の香り及び acetaldehyde に起因する香りが強い反面、味は軽くやや物足りなさが感じられるという特徴があった。

要 約

1. 無蒸煮のコーングリッツを原料とし炭酸ガスによりストリップングを行う固体発酵は温度が高い方がアルコールの回収には有利であるが腐造しやすいため、安全にかつ短期間に発酵を行う条件について検討した。

その結果 pH 3.5, 0.2 M 乳酸緩衝液は無蒸煮コーングリッツの糖化及び高温性酵母 1031 R の増殖への影響

が少なく、生酸菌の増殖を抑制するのに最適であることがわかった。

2. pH 3.5, 0.2 M 乳酸緩衝液を汲み水の代わりに使用し固体発酵を行った結果 9 日間でコーングリッツ 1 kg 当たりアルコール 432 ml を収得することができた。

3. 成分的に従来法による焼酎と比較すると acetaldehyde が著しく多く、官能審査の結果では原料由来の香り及び acetaldehyde に起因すると考えられる香りが強かった。

最後に臨み、酵素剤及び高温発酵性酵母について貴重な御助言を賜りました当所第 4 研究室長高橋康次郎博士（現札幌国税局鑑定官室長）に深謝いたします。

文 献

- 1) 大谷惣助：醸協，68，(6) 423 (1973)
- 2) K. SATO, K. NAKAMURA, S. SATO : *Biotechnol., Bioengi.*, 27, 1313 (1985)
- 3) KAZUO SATO, SHIN-ITI MIMAZAKI, NOBUYA MATSUMOTO, KIYOSHI YOSHIKAWA KIN-ITI NAKAMURA : *J. Ferment. Technol.*, 66, 173 (1988)
- 4) 佐藤和夫，宮崎伸一，吉沢 淑：醸協，83，(8) 559 (1988)
- 5) 山崎何恵，上田誠之助，島田豊明：醸協，21，83 (1963)
- 6) 熊谷知栄子，宮入正法，黄正財，鈴木逸郎，田中利雄，秋山裕一：醸酵工学，60，77 (1982)
- 7) 椎木 敏，岩野君雄，三上重明，福田清治：醸協，82，(1) 60 (1986)
- 8) 能勢 晶，岩野君雄，椎木 敏，平井光雄，吉沢 淑：醸酵工学，66，469 (1988)
- 9) 椎木 敏，岩野君雄，三上重明，清水慎一郎：醸協，82，(9) 651 (1987)
- 10) 高橋康次郎，緒方新一郎，吉沢 淑，中村欽一，

- PRADIT KARUWANNA, JAROON KUMNUUANA:
醸協, 81, (2) 124 (1986)
- 11) 永井英雄, 高橋康次郎, 吉沢 淑: 醸協, 81, (4) 268 (1986)
- 12) 村上英也監修: 国税庁所定分析法, 日本醸造協会, (1974)
- 13) 上田誠之助: 澱粉科学, 21, 210 (1974)
- 14) 岩野君夫, 三上重明, 大石篤志, 椎木 敏: 醸協, 82, (12) 913 (1987)
- 15) 福井三郎, 谷 喜雄: 清酒酵母の研究, p. 89, 清酒酵母研究会 (1980)
- 16) 角田太一郎, 西谷尚道: 焼酎醸造技術, p. 6, 日本醸造協会 (1985)
- 17) 菅間誠之助, 西谷尚道, 山口 征夫: 醸協, 74, (10) 692 (1979)
-