新規梅酒の製造技術に関する研究

高 辻 渉・池本重明・阪口奉平*・南 広 己

(和歌山県工業技術センター, *木の国酒造(株))

平成3年10月21日受理

Development of a New Type "Umeshu" using Immobilized Growing Yeast Cells

Wataru TAKATSUJI, Shigeaki IKEMOTO, Hohei SAKAGUCHI*
and Hiromi MINAMI

(Industrial Technology Center of Wakayama Prefecture, 60, Ogura,
Wakayama-shi, Wakayama 649-62, *Kinokuni Syuzo Co., Ltd., 560,
Kokai, Nakaheji-cho, Nishimuro-gun, Wakayama 646-14)

"Umeshu" (a liqueur made from Japanese apricot fruit, *shochu* and sugar) was fermented in a reactor containing immobilized growing yeast cells in order to remove excess sugar and to produce a new type liquor with wine-like flavor. A yeast strain (P-1) isolated from Japanese apricot juice was used to make a reactor containing cells immobilized in calcium alginate gel. "Umeshu" diluted 1.5 or 2 times with water was circulated through the reactor at 25°C and a space velocity 0.044 hr⁻¹ or 0.13 hr⁻¹. A fermented "Umeshu" with good flavor could be stably produced by this process for 30 days from 2-fold diluted "Umeshu". But alcohol productivity was reduced from 1.5-fold diluted "Umeshu" after 25 days.

Key words : 梅酒・固定化酵母・バイオリアクター

緒 言

梅は昔から保存健康食品として親しまれており、その代表的な加工品に梅干と共に梅酒がある。梅酒は、梅の成分を糖とアルコール（焼酎等）で抽出したもので¹⁻³⁾、一般家庭でも簡単に造れるリキュールである。

この梅酒は、梅の持つヘルシーさとフルーティーさを兼ね備え、甘く、主に食前酒として飲まれてきた。

しかし、近年の梅ブームにより梅の生産量が増加し、今後は梅の供給過剰の状態になると思われるため、梅酒にもその市場拡大が必要となってきた。

一般に梅酒は香味と甘味が強すぎるため、食中酒としてはあまり飲まれていない。そこで市場の拡大の方法として梅酒をワイン的な酒質に改良することが考えられる。

立花ら⁴⁾は、蜂蜜で抽出した梅果汁を発酵させ、永井ら⁵⁾は、固定化酵母を利用してブドウ濃縮果汁で抽出した梅果汁からブラムワインを生産したと報告している。

しかし、原料となる梅果汁は野生酵母により汚染され

る危険性があり、加熱処理を行うと梅のもつフルーティーさが減少する。

そこで我々は、固定化酵母を充填したバイオリアクターを使って、従来の梅酒を適当な濃度に希釈して発酵を行うことにより、糖分の減少とアルコール生成による相乗の辛口化をはかり、発酵風味を付与した梅酒の開発を行ったので報告する。

実 験 方 法

(1) 酵 母

本センターが糖抽出梅果汁より分離した酵母⁶⁾ (P-1)、清酒酵母協会7号 (K-7)、ワイン酵母 (OC-2) の3種類を用いた。

(2) 固定化酵母の調整

酵母1白金耳を麹汁（ボーリング 10）50 ml に加え、48 時間、25°C、振とう培養を行った。この前培養液 1 ml を 2% アルギン酸溶液 100 ml に懸濁し、この懸濁液を 0.05 M 塩化カルシウム溶液 1,000 ml 中に滴下して、直径 2 mm の固定化酵母粒子を作製した。さらに粒子を完

全にゲル化させるため、この塩化カルシウム溶液と4時間接触させた。その後ゲル粒子 20 mg を 150 ml の麹汁（ボーリング 10, 0.018 M 塩化カルシウムを含む）に入れ、48 時間、25℃、振とうし、本培養を行ったものを使用した。

(3) 醸造方法

1) バッチ法

三角フラスコに入れた梅酒の希釈液に上記の酵母または固定化酵母を加え、1日に2回程度手で振る以外は恒温器中に入れて静置した。

2) 連続法

Fig. 1 に示したような1段が 300 ml の3段式ソロバン型カラム(東京理化製)に固定化酵母を1段当たり 150 ml の割合で詰め、梅酒の希釈液 (2 g/l-塩化カルシウムを含む) を下部流入方式でカラムに送入了。

(4) 分析方法

アルコール：酸化法⁷⁾で行った。

直接還元糖：フェーリング・レーマン・ショール法⁸⁾で行った。

グルコース：YSI 製モデル 27 シュガーアナライザーにより測定した。

酸度：果実酒類の分析方法⁹⁾で行った。

Brix：アタゴ手持屈折計により測定した。

有機酸：島津製作所製有機酸システム(電気伝導度法)により測定した。

アミノ酸：島津製作所製アミノ酸システム (OPA 法) により測定した。

香気成分：島津製作所製ガスクロマトグラフ (ヘッドスペース方式) により測定した。

生菌数：平板培養法で測定した。ただし、固定化酵母は pH 6.9 のリン酸緩衝液に入れ溶解し測定した。

結果および考察

(1) 基質濃度 (梅酒の希釈率) と酵母の発酵力

Table 1 に示した市販梅酒を希釈倍数 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 倍に調整したもの 500 ml に、各酵母を1白金耳加えて 20℃、バッチ法で発酵させた。その結果を Fig. 2 に示した。

梅酒原液では、アルコール、糖、酸が高すぎるためにいずれの酵母も発酵することができなかった。3倍希釈液では、梅本来のフルーティーさが薄まり、発酵が進むにつれて水っぽさが強調された。発酵梅酒生産の基質としては、梅酒の 1.5~2 倍希釈液が適当であると思われる。

酵母の発酵力を比較すると、P-1 と OC-2 がほぼ同程度の発酵力を示したが K-7 は他の2株に比べやや劣っ

Fig. 1 Schematic Diagram of Immobilized Cell Reactor.

Table 1 Analysis of Umeshu.

Alcohol (ml/100 ml)	14.8
Direct Reducing Sugar (g/100 ml)	18.1
Glucose (g/100 ml)	9.4
Brix (%)	23.8
Acidity (ml/10 ml)	13.0
pH	2.75

Fig. 2 Comparison of Fermentation Ability of Yeasts in Each Diluted Umeshu.

() : Ratio of dilution
T = 20°C

た。

(2) 発酵温度の検討

3種類の酵母液 10 ml および2種類の固定化酵母 10 g をそれぞれ2倍希釈の梅酒 600 ml に入れバッチ法で発酵試験を行った。その結果を Fig. 3 に示した。

また発酵試験終了後、発酵液をミリポアデプスフィルターでろ過し、本センター研究員4名により官能試験を行った結果を Table 2 に示した。

Fig.3 Effect of Fermentation Temperature.

3種類の遊離酵母では、いずれの温度においても香味の優れた発酵梅酒を得ることができた。P-1, OC-2は、K-7より発酵力が優れており、固定化酵母の菌体としてこの2種類についてさらに検討した。OC-2の固定化酵母では、15, 20°Cで発酵させたものは、酵母臭、ムレ香が発生した。P-1の固定化酵母では、香味に対する温度の影響は見られず、いずれの温度においても良好な発酵梅酒が得られた。以上の結果から、バイオリアクターによる発酵梅酒の生産は、固定化酵母菌体としてP-1を用い、温度25°Cで迅速に発酵させることにした。

(3) バイオリアクターによる生産

3段式シロバン型バイオリアクターに固定化酵母(P-1)を充填し、基質として1.5および2倍希釈の梅酒を用い、連続的に発酵させた結果をFig.4に示した。

運転方法としては、最初に基質をリアクター内に注入した後その供給を1日止め、リアクター中の酵母を基質と馴染ませると同時に目的とするアルコール濃度付近まで発酵させた。

基質が2倍希釈の場合、初期保持時間1日でアルコール濃度が10%にまで達し、その後平均体積流量120 ml/hr (空間速度 $S_v=0.13 \text{ hr}^{-1}$) で運転することにより、運転開始4日目から30日間アルコール濃度11%の発酵梅酒A (Fermented *Umeshu* A) を連続的にしかも安定に生産することができた。1.5倍希釈の場合、運転開始後2日目より平均体積流量を40 ml/hr (空間速度 $S_v=0.044 \text{ hr}^{-1}$) として運転することにより7日目よりアルコール13%の発酵梅酒B (Fermented *Umeshu* B) を連続的に生産することができた。しかし25日目頃からアルコール生産性が低下した。

Table 2 Sensory Test of Fermented *Umeshu*.

Yeasts	Fermentation Temperature (°C)		
	15	20	25
P-1 (Free Cell)	A	A	B
OC-2 (Free Cell)	B	A	B
K-7 (Free Cell)	A	B	B
P-1 (Immo. Cell)	B	B	B
OC-2 (Immo. Cell)	C	C	A

A : good, B : ordinary, C : bad

Fig.4 Continuous Production of Fermented *Umeshu* using Immobilized Cell Reactor.

Fermented *Umeshu* A (Fermentation of *Umeshu* diluted 2-times)

Fermented *Umeshu* B (Fermentation of *Umeshu* diluted 1.5-times)

Table 3 Change of Living Cells in Stages on the Reactor.

Cells in Beads ($\times 10^9$ cells/ml)						
day	Fermented <i>Umeshu</i> A			Fermented <i>Umeshu</i> B		
	1st Stage	2nd Stage	3rd Stage	1st Stage	2nd Stage	3rd Stage
0	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
30	1.6	4.8	2.4	0.6	0.1	0.04

Cells in Solution ($\times 10^5$ cells/ml)						
day	Fermented <i>Umeshu</i> A			Fermented <i>Umeshu</i> B		
	1st Stage	2nd Stage	3rd Stage	1st Stage	2nd Stage	3rd Stage
9				4.3	4.8	6.6
18	7.1	11.0	7.2			
19				2.5	6.2	2.5
30	3.7	9.5	10.0	3.3	4.8	5.2

(4) リアクター内の生菌数の変化

リアクター内の酵母の生菌数の増減は、アルコール生産性に大きな影響を与えるものと考えられる。そこでリアクター運転中における生菌数の変化を調べた。Table 3には各Stage毎の生菌数の変化をFig.5にはリアクターから排出される酵母の生菌数を示した。

Fig. 5 Living Cells released from the Reactor during Continuous Production of Fermented *Umesu*.

発酵梅酒Aの生産の場合、運転中の各 Stage の菌濃度は安定しており固定化粒子内には 10^9 cells/ml、液中には固定化粒子から漏出した酵母が 10^6 cells/ml 存在した。

発酵梅酒Bの生産の場合、液中の菌濃度は 10^5 cells/ml と安定していたが、固定化粒子内においては運転開始時に 10^9 cells/ml であったのが、運転 30 日目には 1st, 2nd-Stage では 10^8 cells/ml, 3rd-Stage では 10^7 cells/ml まで生菌数が減少していた。これは原料の梅酒が高酸度であり、アルコール濃度が 10% もあるために酵母がダメージを受けたものと考えられる。

また、固定化粒子内における酵母の生菌数の減少は、Fig. 4 で示した発酵梅酒Bの生産における 25 日目以後のアルコール生産能力の低下となっていた。

リアクターから出てくる発酵梅酒中の菌濃度は、その後の経過行程の効率に大きな影響を与える。発酵梅酒Aでは 10^6 cells/ml、発酵梅酒Bでは 10^5 cells/ml と運転中一定であった。

(5) 梅酒と発酵梅酒の成分の比較

Table 1 に示した市販の梅酒は、アルコール分に対する糖分の割合が高くジュース的な風味を持つリキュールであるが、Table 4 に示した発酵梅酒は、成分的にもアルコール、糖、酸のバランスの取れたワイン的な発酵酒となっている。発酵梅酒Aは酸味の利いた辛口タイプ、発酵梅酒Bは糖分が少し残った甘口タイプとなり、糖と酸のバランスが味への大きな要因となった。特に、発酵梅酒Aの場合、糖分が 3% 未満になると酸味がかなり強調された。Table 5 には有機酸の定量結果を示した。梅酒中にはクエン酸が 80% と大半を占め、次いでリンゴ酸、リン酸等が多く含まれていたが、発酵梅酒にはこれらの有機酸の他に幾種類かの有機酸の存在が確認された。発酵によりクエン酸、リンゴ酸は変化しないが、酢酸、コハク酸、乳酸が生成し、逆にリン酸が減少した。

Table 4 Analysis of Fermented *Umesu*.

	Fermented <i>Umesu</i> A	Fermented <i>Umesu</i> B
Alcohol (ml/100 ml)	11.1	13.0
Direct Reducing Sugar (g/100 ml)	3.3	5.5
Brix (%)	8.2	11.6
Acidity (ml/10 ml)	7.2	9.5
pH	3.0	2.8

Table 5 Acid Composition of *Umesu* and Fermented *Umesu*.

Acids	<i>Umesu</i>	Fermented <i>Umesu</i> A	Fermented <i>Umesu</i> B
Phosphate	448	145	178
α -KG	nd	8	trace
Citric	5,600	2,410	3,600
Pyruvic	trace	52	39
Malic	818	587	505
Succinic	nd	234	200
Lactic	nd	54	111
Formic	70	50	43
Acetic	41	370	437
Pyroglutamic	nd	nd	nd

(ppm)

Table 6 Head Space Analysis of *Umesu* and Fermented *Umesu* Flavor.

	<i>Umesu</i>	Fermented <i>Umesu</i> A	Fermented <i>Umesu</i> B
Acetaldehyde	17.6	39.8	32.9
Ethyl acetate	12.4	25.3	20.0
Benzaldehyde	9.1	trace	trace
<i>i</i> -Butyl acetate	nd	8.6	15.2
<i>i</i> -Amyl alcohol	trace	44.6	51.1

(ppm)

Table 6 に香気成分の測定結果を示した。梅酒にはアセトアルデヒド、酢酸エチル、ベンズアルデヒド等が含まれているが、発酵梅酒には新たに酢酸イソブチル、イソアミルアルコールが生成しており、酢酸エチルなども増加した。逆に過剰に存在すると梅の核臭の原因となるベンズアルデヒドが減少した。このように発酵により有機酸組成、香気成分組成とも複雑になり、エステル類も生成され、発酵梅酒は梅の香りに発酵風味が付与された酒となった。

Table 7 にはアミノ酸の分析結果を示した。梅酒の遊離アミノ酸は、垣内ら¹⁰⁾が報告している梅果実中の遊離アミノ酸と同様にアスパラギンが大半を占め、次いでアラニン、アスパラギン酸などを多く含んでいたが、発酵により遊離アミノ酸がかなり減少した。これは酵母の増殖、アルコールの生成等によりアミノ酸が消費されたためと考えられる。

Table 7 Amino acid Composition of *Umeshu* and Fermented *Umeshu*.

Amino acids	<i>Umeshu</i>	Fermented <i>Umeshu</i> A	Fermented <i>Umeshu</i> B
Asp	40.8	0.9	10.3
Asn	288.7	trace	101.0
Glu	2.8	1.0	18.1
Pro	7.5	1.5	10.9
Gly	3.8	0.2	8.9
Ala	30.1	0.4	20.4
Cys	0.5	0.1	0.2
Val	10.1	0.2	1.2
Met	0.7	0.7	0.4
Ile	6.6	0.2	0.1
Leu	10.9	nd	0.2
Tyr	4.2	0.4	1.5
Phe	5.6	0.1	0.2
His	10.9	4.4	6.1
Lys	3.8	0.2	0.1
Arg	3.1	0.2	2.9

(ppm)

要 約

市販梅酒を原料にして、固定化酵母を 30% 充填した 3 段式ソロバン型バイオリアクターを使い発酵梅酒を生産した。使用酵母は本センターが糖抽出梅果汁から分離した酵母 P-1 を用いた。

1. 基質としては、市販梅酒を 1.5, 2 倍に希釈したものを用いた。

2. 梅酒の香味は、温度による影響が小さいため、発酵温度 25°C で香味の優れた発酵梅酒を効率よく生産することができた。

3. 基質が 2 倍希釈の場合、空間速度 0.13 hr⁻¹ でア

ルコール 11% の発酵梅酒を 30 日間安定に生産することができた。基質が 1.5 倍希釈の場合、アルコール 13% の発酵梅酒を生産するために空間速度 0.044 hr⁻¹ で運転したところ、25 日目頃からアルコール生産性が低下した。これは、基質が高酸度、高アルコールのために酵母がダメージを受け、固定化酵母内の生菌数が減少したためと考察された。

4. 生成した発酵梅酒中には、クエン酸、リンゴ酸、酢酸、コハク酸、乳酸等の有機酸および酢酸イソブチル、イソアミルアルコール、酢酸エチル等の香気成分が存在し、従来の市販梅酒に比べ酒質のまろやかなワイン的な梅酒を造ることができた。

文 献

- 1) 大塚謙一, 鈴木明治, 原 昌道: 醸協, 59, (1) 92 (1964)
- 2) 横塚 勇, 後藤昭二: 醸協, 59, (7) 633, 636 (1964)
- 3) 矢野忠徳, 山本公平, 斉藤 宏, 高山卓美: 醸協, 62, (12)1427 (1967)
- 4) 立花忠則, 田口隆信: 秋田県醸造試験場報告, 16, 26 (1984)
- 5) 永井英雄, 中沢英五郎, 三島秀夫, 竹村成三, 高橋康次郎, 吉沢 淑: 醸協, 83, (3)195 (1988)
- 6) 池本重明, 南 広己: 和歌山県工業試験場報告, p. 49, 昭和 63 年度
- 7) 注解編集委員編: 第 3 回改正国税庁所定分析法注解, p. 15 (1973)
- 8) 財団法人日本醤油研究所: しょうゆ試験法, p. 12 (1984)
- 9) 注解編集委員編: 第 3 回改正国税庁所定分析法注解, p. 59 (1973)
- 10) 垣内典夫, 森口早苗: 日食工誌, 32, 677 (1985)