低アルコール清酒の醸造試験

佐藤圭吾・渡辺健一・金桶光起

青木俊夫・鍋倉義仁・月岡 本

(新潟県醸造試験場)

平成14年8月7日受理

Low alcohol sake brewing tests

Keigo SATO, Ken-ichi WATANABE, Mituoki KANEOKI, Toshio AOKI, Yoshihito NABEKURA
and Mototsugu TSUKIOKA

(Niigata Prefectural Institute of Brewing, 133, Suidocho-2, Niigata, Niigata, 951-8121, JAPAN)

We developed a novel method of brewing low alcohol sake. The process was based on a combination of a restricted supply of glucose in moromi mash and yeast deficient in ability to ferment maltoorigosaccharide. Fermentation of moromi mash by a small koji ratio was carried out with *kyokai 1001* yeast. The product had a 9.6% ethanol concentration. Based on these results semi-industrial-scale (total 135 kg of rice) brewing was carried out. The fermentation progressed smoothly and ethanol was produced at a concentration of 12.3%. The sake from this moromi mash contained considerably high amounts of maltoorigosaccharide. No diacetyl odor was found in this product even after storage for 6 months at 5°C.

Key words : 低アルコール清酒, α -アミラーゼ, 糖発酵性

緒 言

近年の酒類消費は、低価格、低アルコール化が顕著であり、また海外の多彩な食文化の浸透により、多種多様な酒類が市場に流通している。一方清酒に関する現状は、消費者ニーズの多様化、あるいは清酒消費者の高齢化、社会概念および食生活の欧米化による清酒離れなどの要因からその消費量は年々減少している¹⁾。

特に現状の清酒のアルコール分については、日本人の体質²⁾ から高いという意見もあり、清酒の低アルコール化が要望され、また清酒の個性化に対応する必要性からこれまでに多くの低アルコール清酒が開発されている^{3~13)}。

しかしながら、これまでに開発された低アルコール清酒では、製造方法の煩雑さ⁴⁾、特殊な発酵管理の必要性⁹⁾、およびダイアセチル臭発生等製造後の香気成分の劣化¹³⁾ など検討すべき点もあり高品質かつ簡便な低アルコール清酒製造方法の開発が望まれていた。さらに、最近の市販低アルコール清酒は、アルコール分の低下による香味のアンバランスを改善するために、過度の甘味の強調や酸度の非常に高い製品が多くみられ、味が重いか甘酸っぱいという製品が主流を占めていた²⁰⁾。このような清酒はライト感覚とはいいがたく味の軽いアルコール飲料が主流の市場の現状から見て、新規のライト感覚の低アルコール清酒を開発する必要があった。

そこで我々は、低アルコールによる香味のアンバランスを酸味や甘味の強調で補完することなく解決し、しかももろみの発酵を途中で止めることなく完全発酵させてなおかつ低アルコール分とする製造方法を検討した結果、もろみの仕込に液化型アミラーゼを使用し、麴歩合を小さくすることでもろみ中に生成されるグルコースを制限しマルトオリゴ糖を高め、このもろみをマルトオリゴ糖発酵能の弱い酵母を用いて発酵させる方法を考案したので報告する。

実験方法

1. 使用酵母，米，麴および酵素剤

マルトオリゴ糖発酵能の弱い株としてきょうかい1001号¹⁹⁾を、対照にはきょうかい9号を使用した。麴は常法により製造した。仕込試験には精米歩合60%の新潟県産ゆきの精を使用した。酵素剤は α -アミラーゼ（バイオザイムA，天野エンザイム）を使用した。

2. 糖化試験方法

α 米16g，麴1g， α -アミラーゼ 17mg，および水32mlを100ml容ビーカーに取り，ここに汲み水1l当り0.39mlとなるよう乳酸を添加し，よく攪拌後30°Cで静置反応させた。経時的に反応溶液を回収し10000rpm，10分間遠心分離し液中の全糖量および分解生成物を分析した。なお，汲み水量には脱水に

より損失している米水分（蒸米水分として α 米重量の30%および白米水分として α 米重量の17.5%）を含んでいる。また，この試験における麴歩合は約5%に相当する。

3. 小仕込み試験方法

Table 1に示した仕込み配合により行った。留仕込みまでの操作は難波ほかの方法¹⁴⁾に従い，留仕込み後1日1°Cの割合で品温を上昇させ最高温度を13°Cとした。もろみ日数25日目に5000rpm，15分間の遠心分離により上槽した。

4. 中間工業規模試験醸造方法

中間工業規模の試験醸造をTable 2に示した仕込み配合により行った。なお酵母は高温糖化酵母とした。

5. 分析方法

マルトオリゴ糖の定性は薄層クロマトグラフィー¹⁶⁾を用い，スポットの検出はアルカリ性硝酸銀試薬¹⁷⁾を使用した。定量は高速液体クロマトグラフィーにより行った。分析条件は次の通りである。カラムTSKgel-Amide 80（東ソー），検出器 視差屈折計（東ソー），移動相 アセトニトリル：水=60：40，流速1.0ml/min，カラム温度60°C 一般分析は国税庁所定分析法¹⁵⁾，全糖の定量はフェノール硫酸法¹⁸⁾，グルコースの定量は東洋紡ダイアグルカ，ビルビン酸の定量は「F-Kit」（ロシュ）によった。もろみ中の酵母菌数はTTC下層培地平板培養により計測した。製成酒の官能評価はパネラー6名により5点法（1：優

Table 1 Proportion of raw materials for small-scale moromi mash.

	Soe	Naka	Tome	Total
Total rice (g)	300	600	800	1700
Steamed rice (g)	250	550	800	1600
Koji rice (g)	50	50	0	100
Water (ml)	550	750	1000	2600
Enzyme (g)	0	0.4	1.3	1.7

Table 2 Proportion of raw materials for semi-industrial-scale moromi mash.

	Moto	Soe	Naka	Tome	Total
Total rice (kg)	10	29	42	54	135
Steamed rice (kg)	6	22	42	54	124
Koji rice (kg)	4	7	0	0	11
Water (l)	16	32	56	84	188
Enzyme (g)	0	5	48	55	108

Fig. 1 Time course of the degradation of 5% koji rate mash.

～5：不可)で行った。

実験結果

1. 麴歩合の差による米でんぷん分解の様相

麴歩合を約5%とし、 α -アミラーゼを併用した糖化試験により、もろみの米でんぷん分解の様相について検討したところ生成される全糖は、約24時間で平衡に達した (Fig. 1)。また分解物の定性結果 (Fig. 2 A) より、もろみ中には多種のマルトオリゴ糖の存在が確認された。一方麴歩合20%とし酵素剤を使用しない場合では、反応初期にはマルトオリゴ糖の生成が見られたが、最終的な分解生成物はグルコースが主体であった (Fig. 2 B)。これらから、麴歩合を5%程度に設定し、 α -アミラーゼを併用することにより、もろみ中に多種類のマルトオリゴ糖を生成させることができることがわかった。

2. 小仕込み試験

麴歩合の低い仕込み配合として、 α -アミラーゼを

併用した場合の発酵特性について、総米1.7kgの発酵試験を行った。使用酵母は、マルトオリゴ糖の発酵能が低いとされる¹⁹⁾きょうかい1001号とした。発酵による重量の減少をFig. 3に製成酒の一般成分をTable 3に示した。発酵経過は途中で停滞することなく推移し、製成酒のアルコール分は9.6%と低かった。製成酒の糖組成を分析したところ、グルコースの他に、マルトース等のマルトオリゴ糖画分が糖質全体の75.5%を占めていた。清酒中の糖質分析例²²⁾によれば主要糖はグルコースであり、これと比較すると本法の製成酒は糖組成が異なっていた。もろみ中の酵母数およびピルビン酸濃度の変化をFig. 4に示した。仕込み初期では酵母の増殖がやや緩慢なもの、もろみ末期では一般の清酒もろみと大差ない生菌数となっていた。また、ピルビン酸濃度も、醸造期間中50mg/lを超えることがなかった。このように本仕込配合ときょうかい1001号酵母を組み合わせることにより、低アルコール清酒の製造が可能であった。

Fig. 2 Production of rice hydrolysis in moromi mash by 5% koji rate (A) and 20% koji rate (B).

TLC was carried out as follows: 1 μ l of the samples was applied on Silica gel 60 plate (Kodak) and developed with 2-propanol:1-butanol:water (12:3:4).

The development was repeated three times.

Maltoorigosaccharides were visualized by the alkaline silver nitrate reagent method.

Reaction Time: Lane A, 2 h; Lane B, 6 h; Lane C, 12 h; Lane D, 24 h; Lane E, 50 h

Symbols: G, glucose; M, maltose; ISO-M, isomaltose

3. 中間工業規模仕込み試験

小仕込み試験の結果を基に中間工業規模の仕込み試験を行った。その発酵経過を Table 4 に示した。仕込み規模を拡大しても、発酵は順調に推移しもろみ中のピルビン酸濃度も低く抑えられた。

一方同一条件でマルトオリゴ糖発酵能のある、きょうかい 9 号酵母を用いて試験醸造を行ったところ、もろみ中のピルビン酸濃度が 100 mg/l を下回ることがなく、製成酒の品質劣化の恐れからきょうかい 9 号酵母は本法には適当でないと判断した (Table 5)。なお、対照もろみは低アルコール清酒製造不可能と判断し、発酵を継続し 35 日目に普通もろみとして上槽した。

4. 製造された清酒の特性について

中間工業規模の試験醸造によって醸造された製成酒の一般分析値、糖組成、および平均官能評価点を Table 6 に示した。製成酒中の主要な糖質はマルトオリゴ糖であった。また酒中の糖全体の約 75% をマルトースおよびマルトオリゴ糖が占めており、小仕込試験と同等の数値だった。官能評価では「日本酒度の割に甘さを感じない」、「味のバランスが良くしつこくない」、「口あたりがやわらかい」など高い評価を得た。また、製成酒中のピルビン酸濃度は 60 mg/l と低く香気成分劣化の目安²¹⁾とされている 100 mg/l を下回った。なお、この製成酒を 65°C でビン火入れ後、5°C にて約 6 ヶ月貯蔵しても官能的にダイアセチル臭を認めることはなかった。

考 察

これまでに開発された低アルコール清酒の製造方法では、もろみの糖化と酵母の糖発酵能の両者を組み合わせる方法はみられなかった。酵素剤を使用する方法は、布川らのトランスグルコシダーゼ (α -グルコシダーゼ) を用いた製造方法¹²⁾ がすでに検討されているがいくつか改良の余地があると報告されている。

我々の考案した方法は、もろみ中の糖化反応生成物がマルトオリゴ糖主体であること、使用酵母の糖発酵性により、グルコース以外のマルトオリゴ糖は発酵せずに酒中に残存すること、グルコース供給が制限されるため、低アルコールで発酵が終了しもろみおよび製成酒中のピルビン酸濃度が低いことなど、これまでにない特徴を持つ。

清酒製造に多用されるきょうかい酵母のオリゴ糖発酵能の差異は稲橋らの報告¹⁹⁾ により明らかにされている。きょうかい 9 号のように発酵可能な糖質の種類が多い酵母ではグルコースの他マルトオリゴ糖もエタノールに変換されてしまい低アルコール化という目的に合わない。そこでマルトオリゴ糖発酵能力が非常に弱いとされるきょうかい 1001 号酵母を用いたところ良好な結果が得られた。他方きょうかい 9 号酵母の仕込ではもろみ中のピルビン酸量が末期でも高く不都合が確認された。これは、きょうかい 9 号では生成したマルトオリゴ糖が発酵されるため、ピルビン酸の生成

Fig. 3 Fermentation profiles of small-scale moromi mash.

Symbols: ●, weight; —, temperature

Table 3 Analysis of small-scale moromi for making low alcohol sake.

Sake-meter	−34
Alcohol (%)	9.6
Total acid (ml)	2.0
Amino acid (ml)	0.6
Extract	9.9
Pyruvic acid (mg/l)	24.6
Glucose (g/l)	8.8
Maltose (g/l)	5.1
Isomaltose (g/l)	13.6
Isomaltotriose (g/l)	20.4
Panose (g/l)	5.8

が持続するためと推察している。以上のように本法では使用酵母の選択が重要である。

前報²⁰⁾で我々は既存の低アルコール清酒での酸度と日本酒度との相関を指摘した。これによれば日本酒度-42に対応する酸度は約3.7である。一方本製成酒の酸度は1.5であり既存の製品の相関から大きくはずれていた。しかしながら官能評価では欠点の指摘はなく、調和の取れた酒質とされた。またもろみ中のピルビン酸濃度は明らかに低く、ダイアセチル臭などの香気劣化の危険性が低いと考えられた。なお、小仕込試験と比較して製成酒中の糖組成比率に若干違いが見られるがこれは、麴のロット間の差異、および仕込の大きさによる物理的な影響によるものと考えている。

本法は、従来の一般的な仕込み操作とほとんど同様に既存設備で製造が可能であり、高度な発酵管理技術も必要ないこと等実用面での利点が多い。

なお、ここで報告した清酒の製造方法は特許出願²³⁾中である。

要 約

1. 発酵中に生成されるグルコース量を低下させアル

コールの生成を抑えるため、麴歩合を通常の1/4と小さくし、 α -アミラーゼ酵素剤を併用するという仕込み方法を考案した。この方法における糖化分解物について検討したところマルトオリゴ糖の生成が多くな

Fig. 4 Time course of changing viable yeasts and pyruvic acid concentration.

Symbols: ●, viable yeasts; ○, pyruvic acid concentration.

Table 4 Fermentation profiles of semi-industrial-scale moromi mash with kyokai No.1001.

Time (days)	1	4	5	6	7	11	12	13	14	15	18
Temp. (°C)	8.0	10.5	11.5	12.0	13.0	13.5	13.0	11.0	10.5	10.0	7.0
Be'	9.4	8.2	8.2	8.0	7.6	6.4	5.9	5.2	5.2	5.0	4.2
Alcohol (%)						9.0	9.5	10.4	11.0	11.4	12.3
Glucose (mg/dl)		440	1193	150		220					111
Maltose (g/l)	27.8	50.4	57.4		52.1	33.9		17.9	10.7	6.9	5.5
Pyruvic acid (mg/l)				26.1		35.5	40.4	41.0		51.3	60.0
Viable yeasts ($\times 10^6$ cells/l g-moromi)	0.4			1.4		2.3				1.6	2.0

Table 5 Fermentation profiles of semi-industrial-scale moromi mash with kyokai No.9

Time (days)	1	4	5	6	7	11	12	13	14	15	18	35
Temp. (°C)	8.0	10.5	11.5	12.0	13.0	13.5	13.0	11.0	10.5	10.0	7.0	6.0
Be'	8.4	7.2	7.0	6.8	6.6	6.0	5.6	5.2	4.6	4.4	3.3	0.65
Alcohol (%)					9.2		9.5	10.4	11.2	12.0	13.0	16.6
Glucose (mg/dl)	6435		1417		377	274		192	177		196	180
Maltose (g/l)	29.4		49.0		52.7	28.0		7.2	7.3		5.2	
Pyruvic acid (mg/l)			215		212		219	218	189	206		
Viable yeasts ($\times 10^6$ cells/l g-moromi)	0.7			1.1	1.5				2.2		2.2	

Table 6 Analysis of semi-industrial-scale moromi mash with kyokai No.1001 for making low alcohol sake.

Sake-meter	-42
Alcohol (%)	12.3
Total acid (ml)	1.5
Amino acid (ml)	0.9
Extract	12.3
Pyruvic acid (mg/l)	60.0
Glucose (g/l)	9.1
Maltose (g/l)	1.7
Isomaltose (g/l)	6.8
Isomaltotriose (g/l)	18.9
Panose (g/l)	0.7
Sensory evaluation score*	2.3

* The scores from 6 panels. (1, very good
2, good 3, normal 4, bad 5, worst)

った。

2. 1の仕込み配合とマルトオリゴ糖発酵能力の弱いとされるきょうかい1001号酵母の組み合わせで小仕込み発酵試験を行ったところ順調な発酵経過を示した。製成酒はアルコール分9.8%でありマルトオリゴ糖を多く含んでいた。

3. 総米135kgの中間工業規模試験醸造を行ったところ、小仕込試験と同様にマルトオリゴ糖を多く含む低アルコールの製成酒ができた。製成酒は日本酒度の割に甘さを感じさせず香味のバランスが整っていた。製成酒を5℃で6ヵ月貯蔵しても官能的にダイアセチル臭は認められなかった。

参考文献

- 酒のしおり：国税庁課税部酒税課（平成13年）
- 原田勝二：醸協，**96**, 210 (2001)
- 吉沢 淑：醸協，**80**, 298 (1985)
- 日本酒造組合中央会東京支部銘酒研究委員会：醸協，**74**, 61 (1979)
- 原 昌道，嶋崎孝行，北野一好，飯村 稔：醸協，**78**, 390 (1983)
- 佐藤 信，中村欽一，大場俊輝，吉田隆一：醸協，**78**, 641 (1983)
- 大場俊輝，中村欽一，佐藤 信：醸協，**79**, 879 (1984)
- 西谷尚道，壺岐正志，山下秀行，飯村 稔，石川雄章：醸協，**79**, 891 (1984)
- 後藤邦康，武藤彰宣，坂本裕子：醸協，**90**, 479 (1995)
- 小関敏彦：醸協，**90**, 578 (1995)
- 栗田 修，中林 徹，坪内一夫：醸協，**93**, 825 (1998)
- 布川弥太郎，椎木 敏，斉藤和夫，矢野善嗣：醸協，**77**, 53 (1982)
- 第82回清酒技術セミナー「差別化清酒の製造出荷管理」テキスト，日本醸造協会（平成8年）
- 難波康之祐，小幡孝之，萱島 進，山崎与四良，村上光彦，下田高久：醸協，**73**, 295 (1978)
- 注解編集委員会編：第四回改正国税庁所定分析法注解，日本醸造協会（1980）
- K. KANAYA, S. CHIBA, T. SHIMOMURA：Agric. Biol. Chem, **42**, 1947 (1978)
- 生物工学会編：生物工学実験書，p171 培風館（1992）
- 福井作蔵著：還元糖の定量法 第2版，p50 学会出版センター（1998）
- 稲橋正明，吉田 清：醸協，**87**, 858 (1992)
- 佐藤圭吾，鍋倉義仁，青木俊夫，金桶光起，渡辺健一，月岡 本：醸協，**97**, 377 (2002)
- 関東信越国税局：平成13酒造年度酒造講話会資料，p10
- 日本醸造協会編：醸造物の成分，p16，表1 (1999)
- 特開2001-037463：新潟県