

新たな香味を有する芋焼酎製造技術の開発

大谷武人*, 富吉彩加*, 亀澤浩幸*, 安藤義則**

Development of Sweetpotato Shochu Production Technology with a New Flavor

Taketo OTANI, Ayaka TOMIYOSHI, Hiroyuki KAMESAWA and Yoshinori ANDO

現在焼酎業界では、香り系焼酎と呼ばれる香味豊かなジャンルの焼酎が人気を博している。一方、芋焼酎に今までにない香味として、日本酒で多くみられるリンゴ様の香り「カブロン酸エチル」を付与する試みについては、積極的に行われてこなかった。そこで本研究では、芋焼酎でカブロン酸エチルを高い濃度で生産する醸造条件を検討するとともに、工業技術センター保有の酵母を変異させることにより鹿児島県オリジナルのカブロン酸エチル酵母を育種できないか試みた。その結果、25℃以下の低温ならびに麴歩合を大きくすることでカブロン酸エチルの濃度を高めることに成功し、工業技術センター保有の酵母の変異によりカブロン酸エチル生成酵母を育種できた。

Keyword: カブロン酸エチル, 変異酵母, セルレニン耐性

1. 緒言

現在焼酎業界では香りに特徴を持たせた「香り系焼酎」が注目されている。これまで、芋焼酎香味多様化の手段として芋の品種、麴菌や酵母の育種などが検討されてきた。当センターも、吟醸香の一つであるバナナ様の香り成分「酢酸イソamil」を高生産する酵母を育種し、その酵母を利用した芋焼酎が多数商品化されている。一方、日本酒等で注目されるもう一つの吟醸香であるリンゴ様の香り成分「カブロン酸エチル」については、焼酎用として、きょうかい焼酎用4号酵母が育種され、日本醸造協会より市販されている。しかし、米焼酎や麦焼酎と比べると、芋焼酎のモロミではカブロン酸エチルの生産性が低く、できあがった焼酎でも、カブロン酸エチルを感じにくいと報告されている¹⁾。

芋焼酎にカブロン酸エチルのフルーティな香味を付与することができれば、普段焼酎に接する機会の少ない関東以北の日本酒圏への焼酎PRの一助になるのではないかと考えた。また、芋焼酎に普段使用されている酵母をベースに変異導入を行うことで、芋焼酎でもカブロン酸エチルを生成する酵母の育種が期待できる。

そこで本研究では、芋焼酎でカブロン酸エチルを高生産するための醸造条件を検討するとともに、鹿児島県オリジナルのカブロン酸エチル生産酵母を選抜・育種することを目的とする。

2. 実験方法

2.1 芋焼酎に適したカブロン酸エチル濃度の設定

芋焼酎において、官能的にバランスがよいと考えられる

* 食品・化学部

**食品・化学部 (現 企画支援部)

カブロン酸エチル濃度を設定するため、BC0J 官能評価法²⁾を参考にしたカブロン酸エチルの添加試験を実施した。試験には鹿児島県内のメーカーが製造した通常の芋焼酎製品(常圧・減圧)を用意し、これらの焼酎に試菓のn-カブロン酸エチル(東京化成工業(株)製)をカブロン酸エチル終濃度が5~50ppmになるように添加したものを並べ、7人のパネラーに添加濃度を知らせず、芋焼酎として最もバランスの良いと感じる濃度を2点、次点の濃度を1点として評価を依頼した。なお、次点を決めることが困難な場合には、2点のみの記入も可とした。

2.2 カブロン酸エチル濃度を高める醸造条件の検討

現在日本酒造組合より市販されている「きょうかい焼酎用4号酵母」を用いて、芋焼酎のカブロン酸エチル濃度を高める醸造条件を検討した。

2.2.1 一次モロミ温度の違いによるカブロン酸エチル濃度の比較

白麹および黄麹を用いて発酵温度を変更して小仕込みし、一次仕込み終了時のモロミ中のカブロン酸エチル濃度をGC/MS分析によって比較した。

麴米は焼酎麴用米だからまさりを使用し、種麹は(株)河内源一郎商店製の焼酎用河内菌(白麹)および焼酎用黄麹菌を用いた。製麴は2kg用製麴装置((株)河内源一郎商店製)を用い、白麹では36℃で引き込み、38℃で17時間、その後36~37℃で8時間管理し、仕舞手入れ後34~35℃で16時間管理し出麴とする常法の温度経過により製麴した。なお黄麹は、35℃一定で40時間管理し、製麴した。

一次仕込みは、麴米200gに対して、水240gを加え、酵母を添加した。酵母は、YG培地で前培養後に前培養液を麴の1%量添加し、5日間発酵させた。

一次仕込み終了時点のモロミサンプルを、遠心分離して上清を回収した。この上清のエタノール濃度を高速液体クロマトグラフ（日本分光(株)製、カラム：Shodex KS801, 移動相：水、流速 0.7mL/min、温度 50℃）で定量した。各サンプルのエタノール濃度が 15%となるように水もしくは 99.5%エタノール（和光富士フィルム（株）試薬特級）を用いて調整し、GC/MS 分析のサンプルとした。

バイアル中に上記調整サンプルを 2 mL 投入し、内部標準であるペンタノール（1,012ppm 調整済）を 100 μ L 添加した。これを 50℃の水浴中に 30 分間静置し、その後 30 分間 SPME ファイバー（75 μ m CAR/PDMS, FusedSillica, 24Ga）にヘッドスペースガスを吸着させ、GC/MS に直接挿入することで分析を行った。GC/MS 分析は、ガスクロマトグラフ質量分析計（Agilent5973MSD；Agilent Technology 社製）を使用し、カラムはキャピラリーカラム DB-WAX（60m \times 0.25mm \times 0.25mm；J&W Scientific 社製）を用いた。注入口温度 250℃、カラム温度 40℃で 3 分間保持後 3℃/min で 230℃まで昇温し、10 分間保持した。スプリットレスとし、キャリアガスはヘリウムガスで流速は 1.0mL/min とした。

2. 2. 2 麴の種類および二次原料の違いによるカプロン酸エチル濃度の比較

芋焼酎は表 1、米焼酎は表 2 に示すとおり仕込み配合で、モロミ温度は一次、二次ともに 25℃一定とした。発酵終了後のモロミはガラス製蒸留機にモロミ 1 L を張り込み、直接蒸気を吹き込む常圧蒸留法で行った。また蒸留後の製品について、GC/MS による分析を行った。

2. 2. 3 麴歩合の検討

米と芋の使用比率を 1 : 1 ~ 1 : 7 まで変更した芋焼酎の小仕込みを行い、製品中のカプロン酸エチル濃度を GC/MS 分析によって比較した。

麴米は焼酎麴用米たからまさを使用し、種麴は(株)河内源一郎商店製の焼酎用河内菌（白麴）を用いた。製麴は 2 kg 用製麴装置（(株)河内源一郎商店製）を用い、麴は 2.2.1 で示した常法により製麴し、表 3 に示す配合で仕込みを行った。なお酵母は、YG 培地で前培養したものを麴の

表 1 芋焼酎の仕込み配合（単位：g）

	一次	二次	計
麴米	200	—	200
芋	—	1,000	1,000
水	209	540	749

表 2 米焼酎の仕込み配合（単位：g）

	一次	二次	計
麴米	200	—	200
米	—	400	400
水	240	600	900

1%量添加し、発酵日数は一次 5 日間、二次 9 日間とした。また、モロミ温度は一次、二次ともに 25℃一定とした。発酵終了後のモロミはガラス製蒸留機に 1 L を張り込み、直接蒸気を吹き込む常圧蒸留法で蒸留した。また GC/MS を使用して蒸留後の製品を分析した。

GC/MS 分析は、前述の条件と同条件で実施した。サンプルはバイアル中に製品 1 mL を投入し、内部標準にカプロン酸メチル（1,012ppm 調整済）を 100 μ L 添加し調整した。

表 3 米：芋比率変更試験の仕込み配合（単位：g）

	比率	1 : 1	1 : 3	1 : 5	1 : 7
	米:芋	411:411	269:807	200:1,000	159:1,113
一 次	米麴	493	323	240	191
	水	492	323	240	191
二 次	芋	411	807	1,000	1,113
	水	624	567	540	525
計		2,020			

2. 2. 4 精米歩合の検討

原料米は焼酎向けの高アミロース品種である「たからまさり」を用いた。精米はサタケ製のテストミル（TM05）

（図 1）を使用し、見かけ精米歩合が 60, 70, 90%の異なる精米歩合の麴米を得た。麴は前項と同条件で製造し、仕込み配合は表 1 の米と芋の使用比率 1 : 5 のものと同様の配合とした。また、モロミ温度は一次、二次ともに 25℃一定とした。発酵終了後のモロミはガラス製蒸留機にモロミ 1 L を張り込み、直接蒸気を吹き込む常圧蒸留法で蒸留した。また蒸留後の製品について、GC/MS により分析した。

2. 2. 5 芋品種によるカプロン酸エチル濃度の比較

鹿児島県内でよく使用されるコガネセンガンに加え、コガネマサリ、高系 14 号、紅はるか、タマアカネ、エイムラサキの計 6 品種を使用して仕込みを行った。仕込み配合は表 1 の 1 : 5 と同様の配合とした。一次発酵を 5 日間、二次発酵を 9 日間とする仕込みを行い、発酵終了後のモロミはガラス製蒸留機にモロミ 1 L を張り込み、直接蒸気を吹き込む常圧蒸留した。また蒸留後の製品について、官能試験ならびに GC/MS 分析を行った。官能試験



図 1 精米用テストミル

では、パネラー4人がカプロン酸エチルの感じ方が強い順に、5～1の点数をつけて評価した。

2. 2. 6 原料段仕込み法の検討

通常の芋焼酎の仕込み配合のうち、二次仕込みに使用する芋を2回に分けて投入して小仕込みを行い、製品中のカプロン酸エチル濃度をGC/MS分析によって比較した。

麴米は焼酎麴用米たからまさりを使用し、種麴は(株)河内源一郎商店製の焼酎用河内菌(白麴)を用いた。製麴は2.2.1で示したの温度経過により製麴した。

表4に示す配合で仕込みを行った。なお酵母は、YG培地で前培養したものを麴の1%量添加し、発酵日数は一次5日間、二次9日間とした。また、モロミ温度は一次、二次ともに25℃一定とした。発酵終了後のモロミはガラス製蒸留機に1Lを張り込み、直接蒸気を吹き込む常圧蒸留法で蒸留した。またGC/MSを使用して蒸留後の製品を分析した。

表4 原料段仕込みの仕込み配合(単位:g)

	一次	二次	三次	計
米麴	200	—	—	200
芋	—	500	500	1,000
水	240	270	270	780

2. 2. 7 現場仕込みの検討

大海酒造(株)の協力を得て、きょうかい4号焼酎用酵母による仕込み試験を実施した。原料にシロユタカ、麴は白麴を使用し、米と芋の使用比率を1:4とした。またモロミ温度は一次、二次ともに25℃一定とした。発酵終了後のモロミはステンレス製蒸留器により減圧蒸留法で蒸留した。また蒸留後の製品について、GC/MSにより分析した。

2. 3 鹿児島オリジナルの芋焼酎用カプロン酸エチル高生産酵母の育種

2. 3. 1 供試試料と処理条件

試験には鹿児島県で主に使用されている酵母K2, C4, H5, A6を使用した。

各酵母を2日間前培養し、菌体を集菌後、1%酢酸カリウム液体培地に菌体を懸濁した。この培地中では、焼酎酵母は二倍体を形成できなくなり、一倍体の状態で増加する。この一倍体酵母の入った試験管を紫外線ランプ(253.7nm, 東芝ライテック(株)製)から5cmの距離にセットした。酵母に紫外光を4分間曝すことで、ランダム変異を誘発させた。紫外線照射後の酵母菌体を適宜希釈し、セルレニン(富士フィルム和光純薬(株))を終濃度12.5 μ Mとなるように添加したYPD培地に塗布し、28℃、4日間培養を行った。4日後の培地上のコロニーの大きさと生じたコロニー数をカウントした。4日培養後のセルレニン培地上のコロニーを釣菌して、24 μ M, 48 μ Mのセルレニン培地に順次植菌し、よりセルレニン耐性の強い菌株の選定を

行った。

2. 3. 2 小仕込み試験による菌株の選定

前項で取得したセルレニン耐性株のカプロン酸エチル生産能力を検討するため、乾燥麴を用いた発酵試験を実施した。白麴を40℃で一晩乾燥させた乾燥麴を粉末化し、50mLのプラスチックチューブに10gを量りとり、さらに水を15g添加して、25℃で5日間モロミを発酵させた。5日間の小仕込み試験後、官能試験で親株と異なる香気を有したサンプルの上清を回収した。回収したモロミ上清のエタノール濃度を15%に調整し、そのヘッドスペースガスをSPMEファイバーに吸着させ、GC/MS分析を行った。

GC/MS分析でカプロン酸エチルを有していた菌株について、同条件で発酵させた際にカプロン酸エチルを多く生産できる菌株の選定を行った。

2. 3. 3 現場仕込みの検討

大海酒造(株)の協力を得て、選抜酵母による仕込み試験を実施した。原料にシロユタカ、麴は白麴を使用し、米と芋の使用比率を1:4とした。またモロミ温度は一次、二次ともに25℃一定とした。発酵終了後のモロミはステンレス製蒸留器により減圧蒸留法で蒸留した。また蒸留後の製品について、GC/MSにより分析した。

3. 結果および考察

3. 1 芋焼酎に適したカプロン酸エチル濃度の設定

7名のパネラーに添加したカプロン酸エチル濃度は伝えず、芋焼酎の中でカプロン酸エチルを好ましく感じたサンプル番号の選択する試験の結果を図2(常圧蒸留)、図3(減圧蒸留)に示す。常圧蒸留焼酎にカプロン酸エチルを添加した試験区では、5ppmの時カプロン酸エチルと焼酎の調和通いという意見が多かったが、これ以上の濃度でも好ましいとする意見もあった。一方、減圧蒸留では5~10ppmが最も好ましいと感じられていた。そこで本研究におけるカプロン酸エチルの目標濃度を5~10ppmに設定した。

3. 2 カプロン酸エチル濃度を高める醸造条件の検討

3. 2. 1 麴と発酵温度の検討

麴種と発酵温度の違いによる、カプロン酸エチル濃度の比較を一次モロミで行った。試験区は白麴(20℃, 25℃, 30℃, 35℃)、黄麴(20℃, 25℃, 30℃, 35℃)とした。芋焼酎製造においては、モロミ温度が上昇しやすいため、最大温度を35℃に設定した。

白麴仕込み試験におけるカプロン酸エチル濃度のGC/MS分析結果を図4に、黄麴での結果を図5に示す。両者のデータから、麴の種類に関係なく25℃以下の温度でカプロン酸エチルが多く生成することが分かった。また30℃以上の試験区では、発酵日数が進んでもカプロン酸エチル

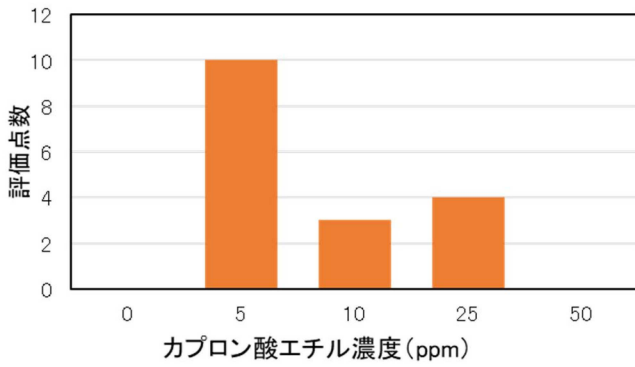


図2 常圧蒸留焼酎におけるカプロン酸濃度検討結果

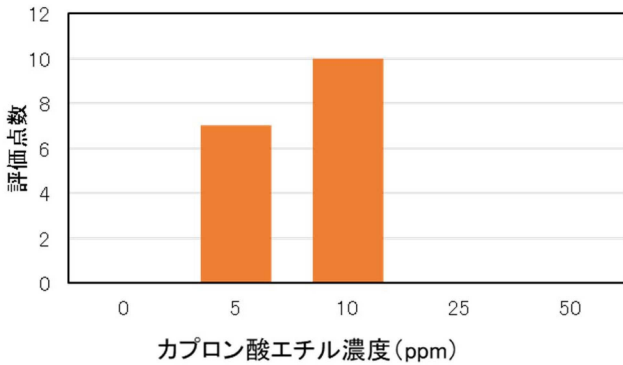


図3 減圧蒸留焼酎におけるカプロン酸濃度検討結果

の増加は見られなかった。以上のことから一次モロミの発酵温度は 25℃程度に抑えることが必要であることが分かった。

3. 2. 2 麴の種類および二次原料の違いによるカプロン酸エチル濃度の比較

試験区は白麴（芋，米），黄麴（芋，米）の4試験区を用意し，それぞれ仕込み温度は 25℃で統一し仕込み配合は米：芋=1：5，米：米=1：2とした。なお対照として，白麴，二次原料芋，発酵温度 30℃の試験も行った。

一次モロミの発酵経過を図6に，一次モロミ（5日間）のエタノール濃度とカプロン酸エチル濃度の結果を表5に示す。アルコール発酵経過は順調であり，カプロン酸エチル濃度はこの時点で黄麴仕込みの方が濃度が高かった。

次に二次原料を加えた後の発酵経過を図7に，蒸留前二次モロミのエタノール濃度および GC/MS 分析の結果を表6に示す。米焼酎モロミは芋焼酎モロミに比べ初期発酵は遅れたが，全般に発酵は順調であった。また蒸留前二次モロミのエタノール濃度を 15%に調整した時のヘッドスペースガスを SPME ファイバーに吸着させて分析した際のカプロン酸エチル濃度は 1.3~2.3ppmであった。ヘッドスペースガスの SPME 分析では，米原料の方がカプロン酸エチル濃度が高い傾向にあり，製品における同様の分析でも同じ傾向がみられた。またこれらの官能試験を行ったところ，芋焼酎では芋・白麴>芋・白麴（30℃）>芋・黄麴の順でカプロン酸エチルを感じ，GC/MS の分析結果とほぼ

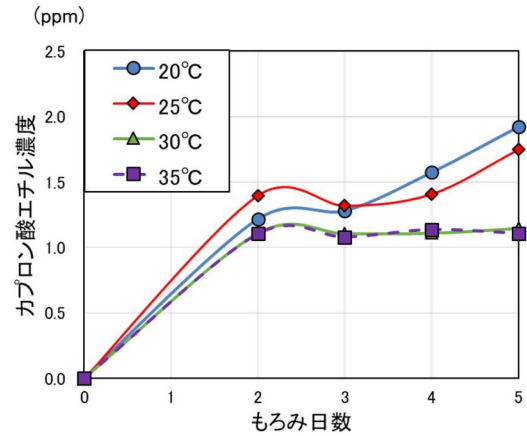


図4 白麴一次モロミでのカプロン酸エチル濃度の推移

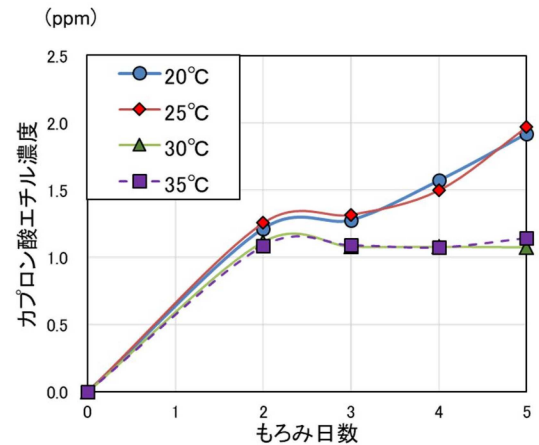


図5 黄麴一次モロミでのカプロン酸エチル濃度の推移

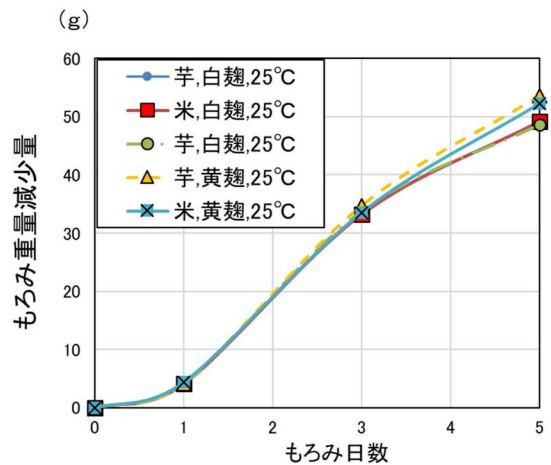


図6 一次モロミの発酵経過

表5 一次モロミのアルコールとカプロン酸エチル濃度

一次モロミ (5日目)	アルコール (%)	カプロン酸エチル (ppm)
白麴・芋	18.3	1.6
白麴・米	18.7	1.6
白麴・芋	18.3	1.6
黄麴・芋	19.7	2.1
黄麴・米	19.9	1.9

同じ傾向を示した。白麴で仕込んだ焼酎はスッキリとした香味を有していることから、カブロン酸エチルの香りを感じやすかったと考えられる。また芋、白麴の製品は芋焼酎本来の甘い香りに、カブロン酸エチルの香りが加わることで、より良い香味となっていた。これに対し、黄麴で仕込んだ焼酎は白麴で仕込んだものと比較して複雑な香味を有しており、カブロン酸エチルを感じにくかったと推察される。

一方、米焼酎では米・白麴、米・黄麴ともにカブロン酸エチルを感じにくかった。これは常圧蒸留の米焼酎が複雑な香味を有しており、カブロン酸エチルを感じにくかったためだと考えられる。

以上のことから、芋焼酎では白麴を使用して、25℃の発酵温度で仕込むことによりカブロン酸エチルの香味をいかした香味の良い焼酎を製造することができる可能性が示された。麴菌の違いでカブロン酸エチルの感じ方に違いが出た理由は不明であるが、モロミ温度の影響としては、低い温度で発酵が通常より遅く進行することで糖のアルコールへの変換が遅くなり、カブロン酸合成の代謝経路に糖が入ることで、カブロン酸エチル合成量が増加したためと考えられる。

3. 2. 3 米と芋の使用比率の検討

原料デンプン量を一定にして、米の割合を変更した仕込み試験を実施した。発酵経過の結果を図8に示す。一次仕込み時点では、モロミ中の麴量が増えるに従い、炭酸ガス減少重量も大きくなった。また二次仕込みでは、8日目時点で重量減少の差は小さくなった。これはモロミ量がおおむね同一となったためと考えられ、いずれの試験区でも最終的には順調に発酵が進んだと判断した。この試験で得られた製品のカブロン酸エチル濃度を図9に示す。米の使用比率の増加とともに、カブロン酸エチル濃度が上昇する傾向が見られた。この結果から、米の使用比率を高めたつくりを行うことにより、カブロン酸エチル濃度を高めることができることが分かった。

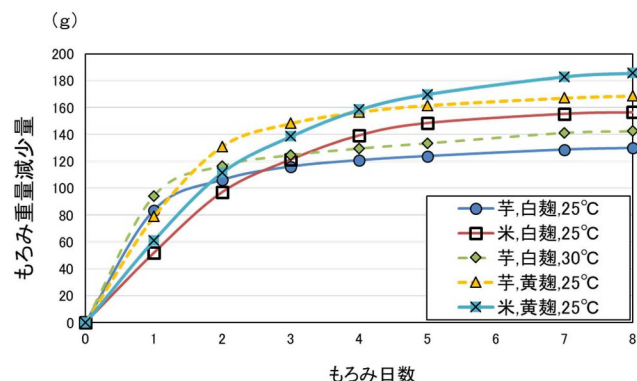


図7 各仕込みの発酵経過

3. 2. 2の結果から、芋焼酎と米焼酎を比較すると、同条件下において米焼酎のほうがカブロン酸エチル生成量が多いことが分かった。このことから米原料を多くすることで、カブロン酸エチル濃度が高くなることが考えられ、今回の試験結果はその予測どおりであった。一方、今回の試験結果で原料のデンプン量を統一し、米麴の使用比率が高い方がカブロン酸エチルの生成量が大きくなった。このことからデンプン量以外で米由来の何

表6 各仕込みもろみアルコールと焼酎(25度)のカブロン酸エチル濃度

麴	二次原料	二次モロミアルコール (%)	カブロン酸エチル濃度 (ppm) (焼酎中)
白麴	芋	14.2	5.8
	米	20.2	7.1
	芋(30°C)	14.9	4.6
黄麴	芋	15.8	5.1
	米	20.7	8.8

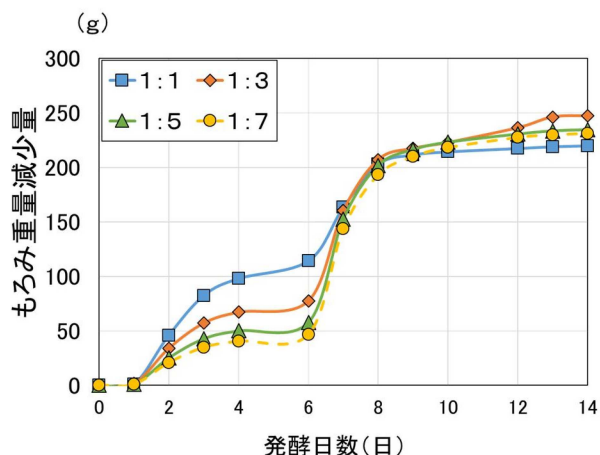


図8 米：芋比率変更仕込み試験の発酵経過

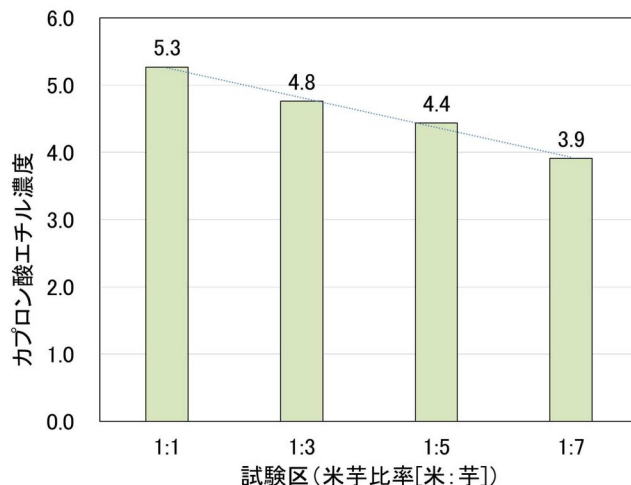


図9 米：芋比率変更サンプルのカブロン酸エチル濃度

らかの要素がカブロン酸エチルの生成量に関与しているのではないかと考えられる。

3. 2. 4 精米歩合の検討

前項の試験より、デンプン量以外の要因がカブロン酸エチルの生成量に影響していると考えられた。原料である米と芋を比較した際、異なる点の一つとしては米の糠部に含まれる成分である。清酒の仕込みにおいても、吟醸香を高めるために高度精白米を用いる取組が行われていることから、精米歩合を調整した米麴を使用して芋焼酎を仕込み、製品のカブロン酸エチル濃度の比較を行った。その結果を図 10 に示す。精米歩合 90, 70, 60%の麴米で仕込んだ芋焼酎のカブロン酸エチルの濃度は、精米歩合によらずほぼ変化がなかった。これは、芋焼酎においては、精米歩合つまり米の糠部の成分や精米によって除去された部分がカブロン酸エチルの生成量に大きく影響していないということを示唆している。

3. 2. 5 原料芋の品種を変更したカブロン酸エチル濃度の比較

カブロン酸エチルが強調される芋焼酎を製造するために、カブロン酸エチルと相性の良い香味を生成する芋の品種について検討した。6 品種の芋で仕込んだ焼酎のカブロン酸エチル濃度の比較を図 11 に示す。カブロン酸エチルを最も生成していたのは白系品種のコガネセンガンやコガネマサリであった。次に官能評価の結果を表 7 に、コガネセンガンを用いた H5 酵母で仕込んだ焼酎（通常コガネ）と、6 品種の芋をきょうかい 4 号酵母で仕込んだ焼酎の一般香気成分およびテルペン類の GC/MS 分析結果を図 12 および図 13 に示す。官能評価では、いずれの製品もカブロン酸エチルの香気は感じられたが、コガネセンガンやコガネマサリなど白系の芋で特に強く感じた。図 12 に示すように醸造香の一つである酢酸イソアミルは、ほとんど検出されなかった。また図 13 に示すようにタマアカネの焼酎は、タマアカネの焼酎に特有のリナロールやテルピネオール

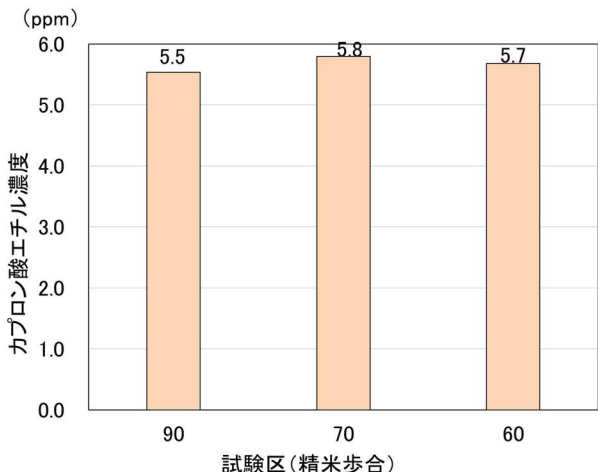


図 10 麴の精米歩合と焼酎中のカブロン酸エチル濃度

の濃度が高く、カブロン酸エチルがマスクされたため、カブロン酸エチルを捉えづらかったと考えられる。またエイムラサキでも同様に特徴香であるジアセチルが感じられ、カブロン酸エチルをマスクしていると考えられる。白系の芋の製品でカブロン酸エチルを強く感じたのは、他の有色芋と比較するとカブロン酸エチルをマスクするような香気成分が少ないからであると考えられる。

3. 2. 6 原料段仕込み法の検討

原料デンプン量を一定にして、原料の麴および芋を段階的に添加した際の発酵経過は各仕込み時点で、モロミ中の麴、芋の量が増えるに従い、炭酸ガス減少重量も大きくなり、発酵は順調に進んだ。この試験で得られた製品のカブロン酸エチル濃度を図 14 に示す。清酒の場合、モロミ中のグルコース濃度を 2% ほどに維持しながら発酵を進めることで、カブロン酸エチル濃度を高めることができると言われている³⁾。そのため麴、芋の段階投入により、モロミ内の糖濃度を一定に保持して発酵を進め、カブロン酸エチルの生合成を促進できると考えたが、今回の方法においては大きな濃度差は確認できなかった。

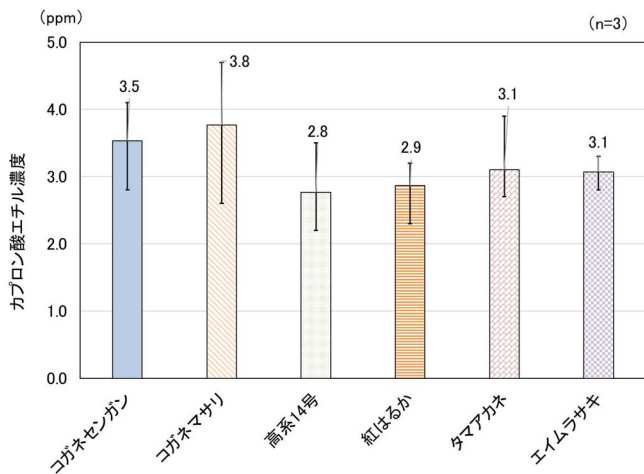


図 11 各種芋でのカブロン酸エチル濃度の違い

表 7 各種芋での焼酎のカブロン酸エチル強度評価

品種	カブロン酸エチル強度
コガネセンガン	8
コガネマサリ	9
高系 14 号	10
紅はるか	11
タマアカネ	17
エイムラサキ	20

※カブロン酸エチル強度はパネラー4名の点数の合計値(数字が小さいほうが強度が強い)

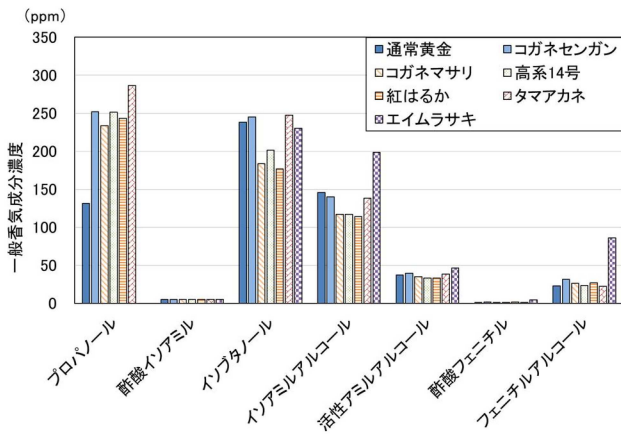


図 12 各種芋焼酎の一般香気成分

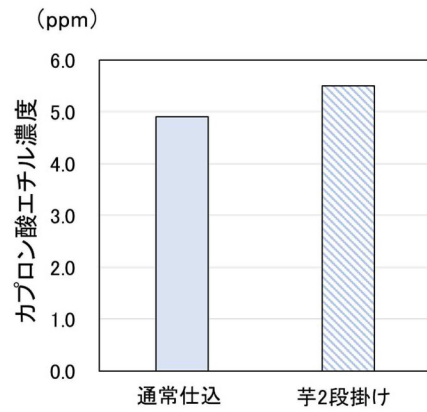


図 14 原料投入法によるカプロン酸エチル濃度比較

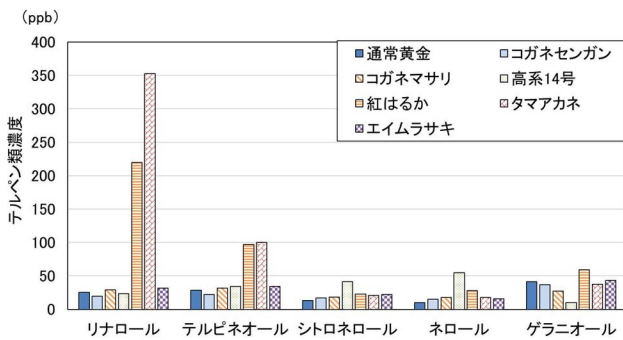


図 13 各種芋焼酎のテルペン類濃度比較

芋焼酎と米焼酎を比較すると、主原料を投入してからアルコールに変換するまでの速度つまり糖の消費に違いがある。芋の場合、芋を蒸した際にβアミラーゼによりデンプンが糖化されているため糖の消費が早く、発酵が一気に進む。一方、米の場合は蒸して糊化したデンプンを麴のα-アミラーゼとグルコアミラーゼで糖化し、アルコールを酵母がつくる並行複発酵が行われるため、モロミ中に糖がゆっくりと供給される。この違いから、芋原料では段仕込みの効果が出にくいのではないかと考えられる。今回データは掲載していないが、麴：芋＝1：4の試験区でカプロン酸エチル濃度が僅かに高まった。これは通常の原料配合と比べて麴比率が高くなったことで、グルコース供給速度の違いが出たからではないかと推察される。

3. 2. 7 現場仕込みの検討

前項までの試験結果において、僅かではあるが段仕込みを行うことでカプロン酸エチル濃度が高まったため、大海酒造株式会社にて実規模試験を実施した。表8に示す条件で仕込みを行い、減圧蒸留器で38度の原酒を得た。

原酒のガス抜き後加水し、アルコール度数25度の製品とした。この製品中のカプロン酸エチル濃度を測定したところ6.2 ppm含まれていることが分かった。またこの製品を官能評価したところ、表9のような結果となった。香りについてのコメントとして「強度は弱いカプロン酸エチルを感じた」や「通常の芋焼酎の香気を軟らかくしたイメージ」という好感コメントが見られた。一方、味のコ

表 8 現場仕込み条件

芋品種：シロユタカ	モロミ温度 24～25℃維持
麴：白麴	蒸留方法 減圧蒸留
麴：芋＝1：4	

表 9 現場仕込み焼酎の官能評価

(1～5で低い方が良い評価)

評価者	A	B	C	D
点数	2	3	2	2

メントとして「芋焼酎としては辛口のイメージ」というコメントも挙がっており、香気のイメージと味のバランスにも課題があると考えられる。

3. 3 鹿児島オリジナルの芋焼酎用カプロン酸エチル高生産酵母の育種

3. 3. 1 供試試料と処理条件

芋焼酎製造に適したカプロン酸エチル高生産酵母を育種するため、鹿児島県で主に使用されているK2, C4, H5およびA6について紫外線照射による変異処理とセルレニン培地によるアナログ耐性株の取得を試みた。まず変異処理前の酵母にセルレニン耐性がないか、きょうかい焼酎用4号酵母と比較した試験結果を図15に示す。

図15に示すとおり、変異導入前の菌株はセルレニン耐性を持っておらず、セルレニン培地ではコロニーが確認できないことが分かる。またコロニー数に関しては、セルレニンの有無にかかわらず、大きな減少は見られず、紫外光による菌の死滅は無かった。

3. 3. 2 小仕込み試験による菌株の選定

最終的に得たセルレニン耐性酵母82株ならびにその親株および対照にきょうかい4号酵母を用いて乾燥麴を使用した小仕込み試験を実施した。そのうち、親株と異なる香りを有する試験区について、カプロン酸エチル濃度を測定した。その結果を、図16に示す。きょうかい4号酵母のカプロン酸エチル濃度を1としたとき、6号の変異株6-

4 がきょうかい4号の小仕込みモロミと同程度のカブロン酸エチル生成能を有していることが確認できた。

また6-4酵母での焼酎製造を行ったところ、カブロン酸エチル濃度が3.8ppmであることが分かった。さらに発酵経過の観察より、きょうかい焼酎用4号酵母と発酵能に大きな差はないことが分かった。そこで、6-4株を用いて現場試醸することとした。

3. 3. 3 変異株を用いた現場試醸の検討

前項で選抜した6-4株を用いて大海酒造株式会社で、試験醸造した。仕込み配合は表8と同様の条件で実施した。仕込み温度は25℃一定とし、仕込みから15日目に減圧蒸留を行うことで製品を得た。この焼酎のガスを抜き、アルコール度を25度にした後にGC/MS分析を行った結果、カブロン酸エチルの濃度は4.2ppmであった。試験結果と同様にきょうかい酵母4号で製造したものと比較すると濃度は低いながらも製品中でカブロン酸エチル濃度を生成する酵母が育種できた。今後、さらなる変異酵母の探索を行い、よりカブロン酸エチルをより生成できる酵母を育種したいと考えている。

4. 結 言

本研究は、芋焼酎ではあまり見られない香气成分であるカブロン酸エチルを、芋焼酎で高生産する製造条件を見つけるとともに、鹿児島オリジナルのカブロン酸エチル高生産酵母を育種することを目的としたものである。

芋焼酎でカブロン酸エチルを生産するための製造方法として、以下の3つの方法が有効であることが分かった。

- ① 仕込み温度を25℃以下にする。
- ② 米麴の使用比率を高め設定する。
- ③ 原料の段階投入を行う。

特に25℃以下でのモロミ管理は必須であり、芋焼酎のモロミ温度としては低い温度で発酵が通常より遅く進行することで糖のアルコールへの変換が遅くなり、カブロン酸合成の代謝経路に糖が入ることで、カブロン酸エチル合成量が増加するものと考えられる。これらの方法を取り入れることで、検出限界付近だったカブロン酸エチルの濃度は現場試醸で6.2ppmまで高めることができた。

一方、鹿児島オリジナルのカブロン酸エチル生産酵母を育種する取組では、既存の酵母に対して紫外線照射による変異誘導を行い、82株のセルレニン耐性株を得た。その中で、カブロン酸エチルをより多く生産した酵母6-4株を選出し、現場試験を行った。その結果、きょうかい4号酵母より生成能は低くなるが4.2ppmのカブロン酸エチルを含

む焼酎を製造できた。

本研究を通して、芋焼酎製造においてもカブロン酸エチルの香りを付与することが可能であることがわかり、変異導入酵母を用いることで、鹿児島オリジナルのカブロン酸エチル酵母を育種する道筋がたった。

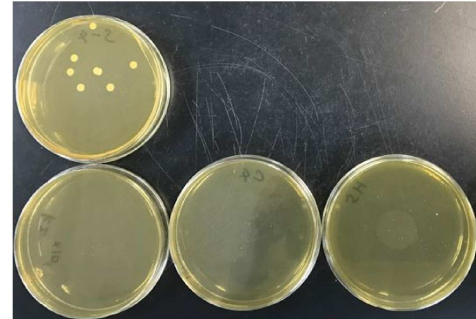


図15 変異処理前の菌株のセルレニン耐性試験
(上段:きょうかい焼酎用4号, 下段:左からK2, C4, H5)

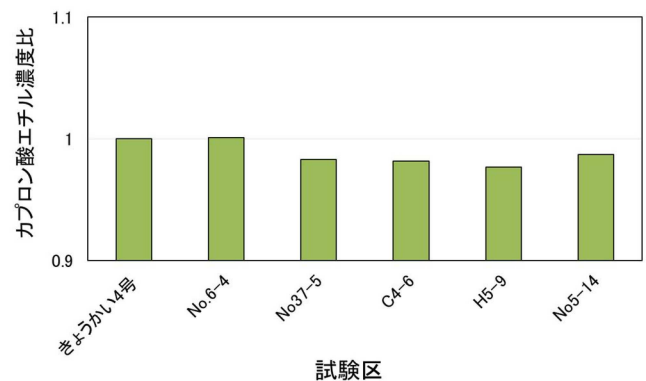


図16 変異酵母ときょうかい4号酵母のカブロン酸エチル生成比

謝 辞

本研究を進めるにあたり、現場試醸に協力いただきました大海酒造株式会社に感謝の意を表します。また麴用米の精米歩合検討にあたり、設備使用および指導くださいました、福岡県工業技術センターの大場孝宏様に感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) 武藤, 稲橋, 万膳: 日本醸造協会誌(111) (2016)
- 2) (公財) 日本酒造協会編 (2018): BCOJ 官能評価法 改訂第2版 (2018), 85-95
- 3) (公財) 日本醸造協会 (2012) 第1回きょうかい酵母・市販清酒勉強会 1801 酵母 Q&A 資料