

## 乾燥泡盛酵母を用いた泡盛製造法の開発

照屋 亮、福地 香、比嘉賢一、世嘉良洋人<sup>1</sup>

清酒製造にける乾燥酵母を用いた酵母仕込では、従来法と比較して酵母の保存性に優れ、常に同じ活性の酵母を使用できることから、製造工程の安定化、省力化が可能となっている。泡盛の製造においても101号酵母を乾燥化させた乾燥泡盛酵母を用いて仕込を行うことにより、種もろみを省略した製造工程の省力化、並びに品質の安定化が期待できる。本研究では、乾燥泡盛酵母の保存性を検討すると共に、製造規模での試験醸造を行い、乾燥酵母の各種添加法における添加量の検討を行った。

### 1 はじめに

沖縄県内の多くの泡盛製造場は、新里<sup>2)</sup>らが泡盛1号酵母から分離した泡なし変異株の泡盛101号酵母を使用している。101号酵母はもろみ初期における品温上昇およびアルコール生成が速いなどの特徴がある。このことから現在、沖縄県酒造協同組合では、泡盛101号酵母を麹汁で純粋培養した酵母（以下、液状酵母）を販売しており、多くの泡盛製造場ではこの液状酵母を使用して泡盛製造を行っている。液状酵母を用いた仕込では、種もろみと呼ばれる前培養の工程が必要であり、3日間の培養期間中、製造者は種もろみの品質管理に多くの労力を要する。一方、清酒製造ではすでに清酒用乾燥酵母を用いた、酒母を用いない酵母仕込が一部で実用化されている。乾燥酵母を用いた酵母仕込では、従来法と比較して酵母の保存性に優れ、常に同じ活性の酵母を使用できることから、製造工程の安定化、省力化が可能となっている。このことから、泡盛の製造においても乾燥泡盛酵母を用いて仕込を行うことにより、種もろみを省略した製造工程の省力化、並びに品質の安定化が期待できる。

これまでの研究で、小仕込み試験で乾燥泡盛酵母の実用性を確認すると共に、発酵条件ならびに保存条件を決定した。平成14年度は、乾燥泡盛酵母の保存性を継続して検討すると共に、製造規模での試験醸造を行い、乾燥酵母の使用法及び各種添加法における添加量を検討した。

### 2 実験方法

#### 2-1 供試乾燥泡盛酵母

使用する乾燥泡盛酵母は、日本甜菜製糖（株）で乾燥化した<sup>2)</sup>泡盛101号酵母を用いた。

#### 2-2 乾燥泡盛酵母の保存条件の検討

スチール缶に密閉された乾燥泡盛酵母を各温度（-40、5、15、22及び35℃）で保存し、復水温度30℃、復水時間1時間における生菌率を確認した。また、生菌率の算出は次に示す式を用いた。

$$\text{生菌率 (\%)} = \text{生菌数} / \text{全酵母数} \times 100$$

生菌数：復水した酵母液を YPD 平面培地に塗布し  
24～48時間培養後の生育コロニー数

全酵母数：復水した酵母液をトーマ氏血球計で計測した酵母数

#### 2-3 試験醸造

##### 2-3-1 20 kg仕込み試験醸造

麹は種麹に泡盛黒麹（榊ビオック）、製麹機に河内式自動製麹機（50 kg型）で製麹を行った。汲水歩合は160%、発酵温度25℃で14日間発酵試験を行った。乾燥泡盛酵母の添加は、復水温度30℃、復水1時間後、もろみへ添加する方法（以下、復水法）及び直接もろみへ添加する方法（以下、ダイレクトスターター法）で行った。液状酵母は、種もろみの工程を考慮し、あらかじめ麹汁培地で30℃で2日間培養した酵母を、もろみ1 mlあたり $2.0 \times 10^5$  cellsの割合になるように添加した。

熟成もろみは、実験室用小型蒸留機（60 L容量）を用いて常圧蒸留を行った。初めの留出まで30分かけて間接加熱を行い、後留画分がアルコール度数約15度になるまで蒸留を行った。

### 2-3-2 製造規模での試験醸造

A社及びB社で、乾燥酵母の試験醸造を行った。

A社では総米 750 kg 仕込みで、約 40 時間製麹した麴を使用し、汲水歩合は 170 %、仕込水温 23.5 °C で約 2 週間の発酵を行った。B社では総米 2 t 仕込みで、汲水歩合 170 %、仕込水温 20.5 °C で約 2 週間の発酵を行った。

乾燥酵母は 20 kg 仕込み試験と同様にダイレクトスターター法および復水法によって添加した。従来法の種もろみは、麴 2 kg に約 3.5 L の水を加え、60 °C で 1 時間の糖化を行い、室温まで冷却した糖化液に液状酵母を加え、室温で約 48 時間培養したものを用いた。

### 2-3-3 もろみ及び泡盛の分析法

もろみを 3,000 rpm で 15 分間遠心分離後、上清についてアルコール度数、pH、日本酒度及び還元糖量を国税庁所定分析法<sup>3)</sup>に準じ、全糖量はグルコースを標準物質としてフェノール硫酸法<sup>4)</sup>で測定した。有機酸類は 44% に調整した泡盛を 0.45 μm のメンブレンフィルターで濾過し、ダイオネクス社製イオンクロマトグラフィー DX-120 を使用し、使用カラム Ion Pack ICE-AS1、溶離液 2mmol/L オクタンスルホン酸、流速 0.5ml の条件で測定した。

試験泡盛の分析では、TBA化、紫外外部吸収、製品酸度について、国税庁所定分析法<sup>5)</sup>に準じて測定した。

### 2-3-4 発酵過程における微生物群の測定

酵母の生菌数は、 $10^2 \sim 10^6$  倍に希釈したもろみ 0.1 ml を YPD 平板培地に塗布し、30 °C、24~48 時間培養して、形成したコロニーをカウントした。各々の好気性細菌群と嫌気性細菌群は、 $10^0 \sim 10^2$  倍に希釈したもろみ 0.1 ml を抗微生物天培地「ダイゴ」に塗布し、37 °C、24 時間後、形成したコロニーをカウントした。好気性生酸菌群と嫌気性生酸菌群用培地は、抗微生物天培地「ダイゴ」上に、炭酸カルシウム約 1 % を分散させた同培地を薄く重層し作成した。次に  $10^0 \sim 10^2$  倍に希釈したもろみ 0.1 ml を塗布して 37 °C、24 時間培養し、形成したコロニーの周辺に透明なハローを作るものを、生酸菌群としてカウントした。尚、嫌気性細菌群及び嫌気性生酸菌群は、簡易ガスパックジャーを使用して培養を行った。

### 2-4 官能評価

乾燥酵母及び従来法で醸造を行った泡盛の酒質の差異を調べるために、当センター 12 名のパネラーによる 3 点識別法での評価を行った。

## 3 実験結果及び考察

### 3-1 乾燥酵母の保存条件の検討

乾燥泡盛酵母は -40 °C、5 °C、15 °C、22 °C、35 °C の条件下で 16 ヶ月保存し、生菌数を測定した。4 ヶ月経過した時点での生菌率は、-40 °C、5 °C、15 °C、22 °C 保存において生菌率は 30 % 以上であり、良好な保存性を示した。しかし、35 °C の保存条件では生菌率が 0.08 % であり、ほとんどの酵母が死滅していることがわかった。16 ヶ月経過した時点では 5 °C 保存において最も生菌率が高く、良好な保存性を示した。しかし、15 °C 以上の保存条件下では生菌率は極端に低くなり、特に 22 °C 以上では、ほとんどの酵母が死滅した (図 1)。

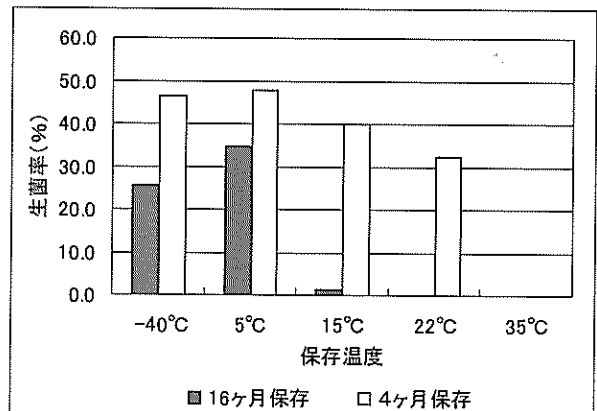


図 1 各温度で保存後の生菌率

### 3-2 試験醸造

#### 3-2-1 20 kg 麴レベルでの発酵試験

乾燥泡盛酵母と従来法とのもろみ中における生菌数の比較検討は、20 kg 仕込み試験で行った (図 2)。乾燥酵母の添加量は 30 °C、1 時間で分散した乾燥酵母を、血球計算板で測定し、算出した値を基に決定した。対照の種もろみは、101 号酵母を YPD 斜面寒天培地に培養し、形成したコロニーを 100 ml の麴汁培地に接種し、30 °C、48 時間培養した後、培養液を検鏡して初発の生菌数が  $1.0 \times 10^5$  cells/ml になるように添加した。

生菌数の経時変化では、種もろみ法において初発の生菌数が高いが、その後の経過は添加法による大きな差は認められなかった。小仕込み試験では、ダイレクトスターター法と復水法において、同じ添加量の場合には復水法で発酵が早まる傾向が認められた。しかし、今回の 20 kg 仕込み試験では、両添加法の生菌数の経時変化に差は認められなかった。

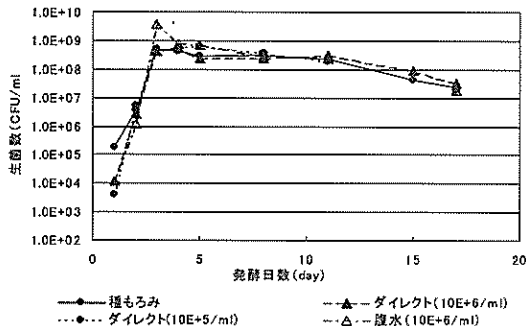


図2 20kg仕込み試験における生菌数の推移

20 kg 仕込み試験のアルコール濃度の経時変化を図3に示した。各添加法におけるアルコール濃度の明確な差はなく、発酵日数15日目にアルコール濃度はおよそ18%前後に達した。

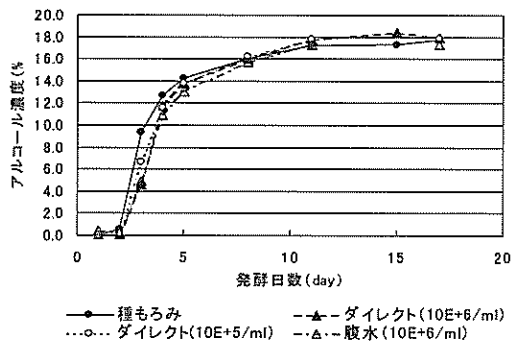


図3 20 kg仕込み試験におけるアルコール濃度の推移

20 kg 試験醸造における熟成もろみの日本酒度、酸度、pH、還元糖では、全ての添加法において明確な差は認められなかった(表1)。また全糖は各添加法で0.4%前後と、高い値を示した。アルコール濃度は各添加法において18%前後であった。本試験で用いた麹は、もろみ中において溶けが遅い傾向を示し、各添加法における日本酒度の切れも悪く、全糖も全体的に高いという結果になったが、液状酵母及び乾燥酵母の醸造特性の比較においては、各測定値における顕著な差は認められなかった。

表1 20 kg仕込み試験における熟成もろみの分析結果

	pH	酸度	日本酒度	グルコース濃度(%)	全糖(%)	アルコール濃度(%)
種もろみ	3.63	18.2	7	0.041	0.68	17.77
ダイレクト(10E+6/ml)	3.61	19.2	7	0.045	0.69	18.01
ダイレクト(10E+5/ml)	3.57	17.9	8	0.030	0.35	17.84
復水(10E+6/ml)	3.59	17.7	8	0.030	0.32	17.30

また、熟成もろみを実験室用小型蒸留機(60 L容量)を用いて常圧蒸留を行い、得られた泡盛について分析した結果を表2に示した。TBA値、紫外外部吸収では、種もろみ法と比較してダイレクトスターター法、復水法が低い値となった。以上の結果からパイロット規模試験醸造において、乾燥酵母の直接添加による泡盛製造法は、実用化に耐える方法であることが示唆された。

表2 20 kg仕込み試験における試験泡盛の分析結果

	TBA値	紫外外部吸収	製品酸度
種もろみ	695.6	7.02	0.88
ダイレクト(10E+6/ml)	508.3	6.29	1.02
ダイレクト(10E+5/ml)	428.7	6.11	1.00
復水(10E+6/ml)	475.8	6.04	0.94

### 3-2-2 A社における試験醸造

ダイレクトスターター法は、添加量を原料米トンあたり25gから200gで試験を行い、種もろみ法との比較を行った(図4)。全ての添加法の中で、種もろみ法における初発生菌数が最も多く、立ち上がりも早かった。ダイレクトスターター法は、乾燥酵母添加量の増加に伴い初発生菌数が多かったが、3日目以降における生菌数は、種もろみ及びダイレクトスターター法にほぼ同生菌数となった。

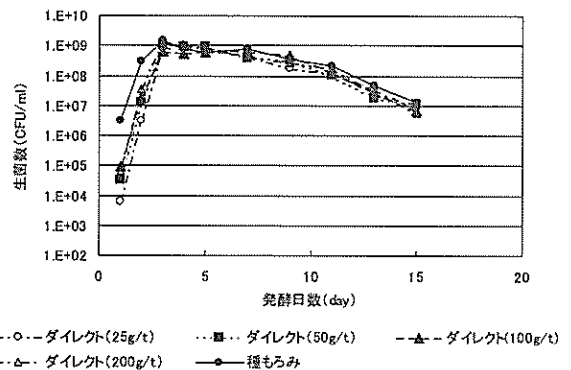


図4 ダイレクトスターター法における添加量と生菌数の推移

アルコール濃度の推移は、全ての添加法で生菌数の立ち上がりが早いものほど、アルコール濃度の立ち上がりが早いということが明らかとなった。また、発酵日数15日目のアルコール濃度は、各添加法でおよそ18%前後となり、製造レベルでの用途拡大の可能性が示唆された(図5)。

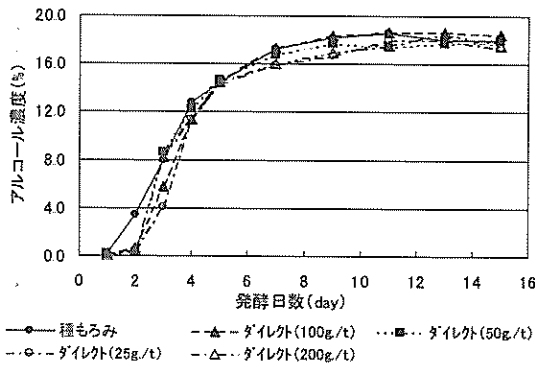


図5 ダイレクトスターター法におけるアルコール濃度の推移

また同じ添加量の場合、ダイレクトスターター法と復水法では、初発生菌数とその後の生菌数はほとんど同じ値を示した(図6)。ここではデータには示していないが、アルコール濃度に差は認められなかった。

清酒用乾燥酵母においては、復水法がより酵母を活性化するため、現場の仕込みは復水法で行われる<sup>5,6)</sup>。乾燥泡盛酵母の場合には、復水法とダイレクトスターター法での発酵において、生菌数及びアルコール濃度の推移における明確な差は認められなかった。その要因には、乾燥泡盛酵母の最適復水温度が25℃～35℃の範囲であること<sup>7)</sup>、泡盛の仕込みが、清酒の仕込み温度に比べてやや高め、25℃で行われるためであると考えられた。つまり、ダイレクトスターター法は、もろみに添加された酵母が最適な条件下で活性化され、復水法に近い条件で発酵が開始すると推測される。

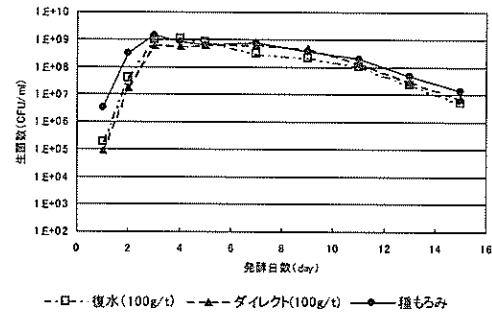


図6 ダイレクトスターター法と復水法における生菌数の推移

各添加法において、嫌気性細菌数は発酵日数2～3日目において最大となり、その後急速に減少し、5日目にはほとんど検出されなくなった(表3)。好気性細菌数においても嫌気性細菌数と同じように変動し、発酵日数7日以降はほとんど検出されなくなった(表4)。また、各添加法中最も細菌数が高くなったのは、ダイレクトスターター法の25g/t添加法であり、嫌気性細菌数は $1.0 \times 10^5$ 、好気性細菌数は $5.7 \times 10^3$  cells/mlに達した。また、全体的に菌数の変動が激しく、もろみ中における細菌群はフロックのような状態で存在していることが推測された。

乾燥泡盛酵母を実用化するには、従来法と比較してアルコール取得量や製品の品質が変わらないこと、安全に発酵が行えることが重要となる。泡盛もろみ中において、細菌等の雑菌が泡盛の品質に与える影響はまだ完全に明らかになっていないが、嫌気性生酸菌から発生する乳酸等は泡盛に留出し、酒質に影響を与える可能性が高い。このことから乾燥泡盛酵母の添加量は原料米トンあたり100g程度が望ましいと考えられた。

表3 もろみ中の嫌気性細菌群数

単位 CFU/ml

Day	種もろみ	ダイレクト 25 g/t	ダイレクト 50 g/t	ダイレクト 100 g/t	ダイレクト 200 g/t	復水法 100 g/t
1	3.0E+02	2.3E+02	3.9E+02	2.1E+02	1.0E+02	3.0E+01
2	2.8E+02	2.1E+04	1.0E+02	2.6E+02	3.3E+03	4.0E+01
3	1.3E+02	5.7E+04	3.0E+01	4.0E+01	3.0E+01	9.0E+01
4	N.D	1.0E+01	N.D	N.D	N.D	N.D
5	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
7	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
9	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
11	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
13	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

表4 もろみ中の好気性細菌群数

単位 CFU/ml

Day	種もろみ	ダイレクト 25 g/t	ダイレクト 50 g/t	ダイレクト 100 g/t	ダイレクト 200 g/t	復水法100 g/t
1	4.0E+02	2.4E+02	4.9E+02	6.0E+02	1.0E+02	4.5E+02
2	2.9E+02	1.6E+05	8.9E+02	9.0E+03	6.0E+03	2.4E+03
3	1.0E+02	1.0E+05	7.0E+01	9.0E+01	3.2E+03	8.0E+01
4	2.8E+03	2.4E+04	4.0E+01	1.1E+02	4.2E+03	N.D
5	1.0E+04	1.0E+02	1.8E+03	1.8E+03	1.5E+02	1.0E+01
7	7.2E+03	0.0E+00	1.8E+02	1.9E+03	0.0E+00	8.0E+01
9	4.8E+03	3.0E+01	N.D	N.D	1.6E+02	N.D
11	N.D	N.D	2.0E+01	2.0E+01	N.D	N.D
13	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

製造規模での試験醸造において、各添加法での発酵日数15日目の熟成もろみを分析した(表5)。各添加法の熟成もろみにおいて、日本酒度は12、アルコール濃度は18%前後、全糖は0.2%前後であり、各成分に明確

な差は認められず、全体的に切れの良いもろみとなった。また、乾燥酵母を用いた試験醸造における、最終的なアルコール収得量はトンあたり約440Lとなり、従来法とほぼ同じ値となった。

表5 熟成もろみの分析結果

	日本酒度	酸度	pH	グルコース 濃度 (%)	全糖 (%)	アルコール 濃度 (%)
種もろみ	12	13.8	3.47	0.046	0.29	18.01
ダイレクトスターター 25 g/t	12	15.6	3.37	0.050	0.26	18.51
ダイレクトスターター 50 g/t	12	15.3	3.43	0.047	0.26	17.89
ダイレクトスターター 100 g/t	12	15.0	3.39	0.051	0.26	17.37
ダイレクトスターター 200 g/t	12	14.9	3.39	0.050	0.28	17.58
復水法 100 g/t	12	15.0	3.37	0.049	0.27	18.60

### 3-2-3 B社における試験醸造

各添加法での生菌数の経時変化を図7に示した。ダイレクトスターター法における生菌数の増殖は、種もろみ法と比べて遅いことが確認された。種もろみ法では、3日目において $10^8$  cells/ml以上となるのに対し、ダイレクトスターター法は約2日程の遅れが認められた。この傾向はアルコール濃度の経時変化においても同様となり、種もろみ法と比較して、ダイレクトスターター法でのアルコール濃度の伸びが緩やかであった(図8)。しかし、発酵の経過と共にアルコール濃度は増加し、最終濃度はダイレクトスターター法で19%以上となった。また、種もろみ法では、アルコール濃度は発酵後半からほとんど増加せず、最終的なアルコール濃度は17%台を維持した。

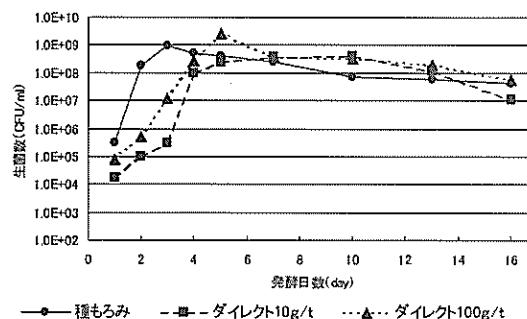


図7 ダイレクトスターター法における添加量と酵母数の推移

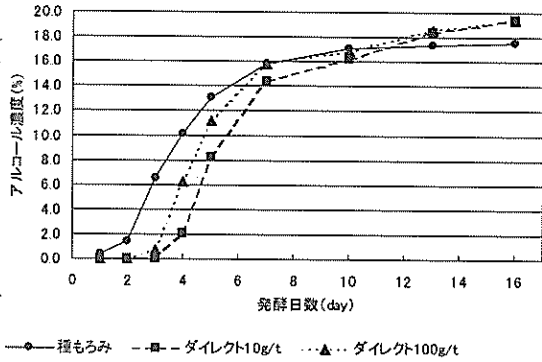


図8 ダイレクトスターター法における添加量とアルコール濃度の推移

また、ダイレクトスターター法での発酵の遅れは仕込水温にある異が予想される。試験開始日が1月中旬ということもあり、当日の仕込水温は20.5℃と低く、乾燥酵母の最適復水温度である25℃～35℃を下回っていたため、酵母の活性化が遅くなり、発酵に遅れを来したものと思われる。このことから、仕込水温が低くなる冬場の仕込では、乾燥酵母を30℃前後の水に1時間程度戻して添加することが望ましいものと思われる。

ダイレクトスターター法と種もろみ法との比較において、種もろみ法におけるグルコース濃度が高く、日本酒度も種もろみ法で低い値を示した(表6)。

表6 熟成もろみの分析結果

	pH	酸度	日本酒度	全糖(%)	グルコース濃度(%)	アルコール濃度(%)
種もろみ	3.66	13.1	8	0.52	1.03	17.58
ダイレクト10g/t	3.67	13.9	14	0.36	0.05	19.42
ダイレクト100g/t	3.64	14.0	13	0.30	0.05	19.47

もろみ中の各々の好気性生酸菌群及び嫌気性生酸菌群の測定結果を表7と8に示した。好気性生酸菌及び嫌気性生酸菌共に、ダイレクトスターター法の100g/t添加において最大となった。初発の生酸菌数に差があるため、各添加法との直接的な比較はできないが、発酵日数1日目から2日目にかけての細菌数は、10g/tで増殖が速かった。従って、望ましい乾燥酵母の添加量は100g/t程度であることが示された。また、ここではデータを示さないが、好気性及び嫌気性細菌群についても同様に測定したところ、好気性及び嫌気性生酸菌群とほとんど同じ値となり、もろみ中におけるほとんどの細菌が生酸菌であるということが示唆された。

表7 もろみ中の好気性生酸菌群数 単位 cfu/ml

	種もろみ	ダイレクト10g/t	ダイレクト100g/t
1day	9.0E+01	1.0E+01	1.7E+03
2day	2.4E+02	2.0E+03	4.8E+04
3day	9.0E+01	2.2E+03	2.8E+04
4day	3.0E+01	3.0E+01	4.4E+03
5day	N.D	1.0E+04	2.8E+02
7day	N.D	N.D	N.D
10day	N.D	N.D	N.D
13day	N.D	N.D	N.D
16day	N.D	N.D	N.D

表8 もろみ中の嫌気性生酸菌群数 単位 cfu/ml

	種もろみ	ダイレクト10g/t	ダイレクト100g/t
1day	1.1.E+02	1.0.E+01	1.6.E+03
2day	3.6.E+02	2.0.E+03	5.5.E+04
3day	8.0.E+01	3.0.E+03	2.2.E+04
4day	2.0.E+01	7.0.E+01	5.5.E+03
5day	N.D	1.4.E+04	3.5.E+02
7day	N.D	N.D	N.D
10day	N.D	N.D	N.D
13day	N.D	N.D	N.D
16day	N.D	N.D	N.D

次に、熟成もろみの有機酸結果を表9に示した。もろみが生酸菌に汚染された場合、酢酸や乳酸が多くなるが、分析結果からは、種もろみ法とダイレクトスターター法との明確な差は認められなかった。

表9 熟成もろみの有機酸分析結果

	クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	ギ酸	酢酸	プロピオン酸
種もろみ	698.1	52.3	107.4	34	4.2	12.9	11.4
ダイレクト10g/t	743.3	59.2	101.5	43.4	4	13	12.7
ダイレクト100g/t	773.6	51.1	108.8	45.6	4.5	12.2	23.8

### 3-3 三点識別法による官能評価

20kg仕込み試験で得た熟成もろみを蒸留し、44度に調整した泡盛について、三点識別法を用いて官能評価を行った。官能評価の結果、従来法と乾燥泡盛酵母を用いて得た泡盛における品質における差は認められなかった。

また、製造規模での試験醸造では、各現場の担当者から、乾燥酵母で試験した泡盛について、従来と変わらない酒質であるとの評価を頂いた。

## 4 まとめ

泡盛の製造において、乾燥泡盛酵母は製造レベルにおいても十分に発酵が進み、酒質も従来と変わらず、製造

工程を省略する有効な手段となり得ることが明らかとなった。また現場の方々からも使い勝手が良い等の評価を頂いた。本研究で明らかとなった点を以下に示す。

7) 福地 香、照屋 亮、比嘉賢一、沖縄県工業技術センター研究報告 4 pp37-41

- 1) 乾燥泡盛酵母を各温度 (-40℃、5、15、22 及び 35℃) で保存して1年4ヶ月後の生菌率を測定し、4ヶ月後の生菌率との比較を行ったところ、全体的に生菌率は減少していたが-40℃及び5℃保存では良好な保存性を示した。
- 2) 20 kg仕込み試験による乾燥泡盛酵母のアルコール生成能を検討したところ、従来の液状酵母と同等のアルコール生成能を示した。また熟成もろみの一般成分も同等な値を示した。
- 3) 製造規模試験において乾燥酵母と従来法との比較を行ったところ、発酵初期に生菌数及びアルコール濃度の立ち上がりが遅れるものの、最終的な値は同等となった。
- 4) 製造規模試験において、仕込水温が低い場合、ダイレクトスターター法では発酵が遅れることが確認された。
- 5) 20 kg 仕込み試験で得た泡盛について、三点識別法を用いて官能評価を行ったところ、従来法と乾燥泡盛酵母を用いて得た泡盛における品質的な差は認められなかった。

#### 謝辞

本研究を行うにあたり、試験醸造に協力していただいた、(株) 忠孝酒造及び(有) 新里酒造の皆さまに紙面を借りて心より感謝の意を表します。

本研究は沖縄県酒造協同組合からの平成14年度受託研究として行いました。

#### 参考文献

- 1) 新里修一、宮城剛、高江洲朝清 醸協 84 pp.121-123 (1989)
- 2) 田村雅彦、前川幹治 特開 2001-275648
- 3) 注解編集委員会編 国税庁所定分析法注解 (1993)
- 4) 福井作蔵 還元糖の定量法 学会出版センター (1978)
- 5) (財) 日本醸造協会 きょうかい酵母清酒用乾燥酵母 701号、901号使用の手引き
- 6) 浅野行蔵、富永一哉、吉川修司、田村吉史、柿本雅史、北村秀文、森本良久、津村弥 醸協 94 pp.338-345 (1999)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。