

# 酵素剤利用による麦焼酎の試醸(第2報)

(無蒸煮仕込における酵素剤の利用)

化学部 醸酵食品科 樋田 宣英  
長 森 義知  
古 江 国昭  
江井ヶ嶋酒造大分工場 時 枝 拓男

## 1. はじめに

麦焼酎の製造工程では、デンプンの $\alpha$ 化を図る目的で通常1 kg/cm<sup>2</sup>の圧力で1時間程度の蒸煮処理を行っているが、最近工程の省力化と特徴のある酒質を得る目的で、掛原料を粉碎後無蒸煮又は低温蒸煮で、生デンプン分解力のあるグルコアミラーゼを主成分とした酵素剤添加による試醸が試みられてきた<sup>1)2)</sup>。

本報では、無蒸煮仕込における酵素剤の添加効果をグルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼについて検討し、あわせて工場規模での試醸を行ったので報告する。

## 2. 実験方法

### (1) 原料

掛麦：大麦（デンプン価70）を、粉碎機で平均粒子径0.5 mmに調整した。

麴：既法<sup>3)</sup>どおり処理した蒸煮麦に Asp. Kawachii を種菌として、自動製麴装置で40時間製麴した。分析値は既報<sup>3)</sup>参照。

酵素剤：グルコアミラーゼは上田化学工業(株)製グルターゼS（グルコアミラーゼ活性6000 u/g）、酸性プロテアーゼは同社製オリエンターゼ5A（酸性プロテアーゼ活性50000 u/g）を使用した。

酵母：鹿児島協会1号酵母をYM培地で10<sup>8</sup>/mlのオーダに培養した。

### (2) 糖化試験

300 ml 坂口フラスコに粉碎麦40 gと水80 mlを加え、防腐剤としてトルエン1 mlを添加し、20%クエン酸で所定のpHに調整した。次にグルコアミラーゼを原料1 gあたり5~20U添加し合計9試験

区を設定した。

糖化は、27°Cの振盪培養器で連続的に反応させ、経時的に生成したグルコース量の全糖に対する百分率を糖化率とした。

### (3) 無蒸煮複式発酵による試醸

表-1の配合により麴歩合0~50%の区分に対してグルコアミラーゼは掛麦1 gに5~20Uの4段階合計15試験区とした。酸性プロテアーゼはグルコアミラーゼ10u/g添加区に5, 10u/gの2試験区とした。

発酵経過は上記の配合でメイセル管(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>トラップ)を付した1 l三角フラスコに仕込み、25°Cインキュベーター中で経時的にCO<sub>2</sub>発生量を重量法で計測し、グルコース、エチルアルコールも同時に分析した。(表-1)

同様に各pHにおける発酵経過を把握するため麴歩合50%の試験区においてpH 3.0, 3.5, 4.0, に調整後グルコアミラーゼを5, 10u/gそれぞれ添加し試醸した。さらに、添加酵母数が発酵経過に及ぼす影響を検討するため、もろみの酵母濃度10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>/mlのオーダで試醸した。

### (4) 工場規模での試醸

無蒸煮仕込の工場規模への応用を検討するため、総原料1150 kg、麴歩合44%で図-1のフローで仕込み、経時的にグルコース、エチルアルコールを分析した(図-1)

熟成もろみは成分々析後、減圧蒸留(アルコール度数7度でカット)した。次に25度に割水し通常のイオン交換処理を経て官能試験に供した。

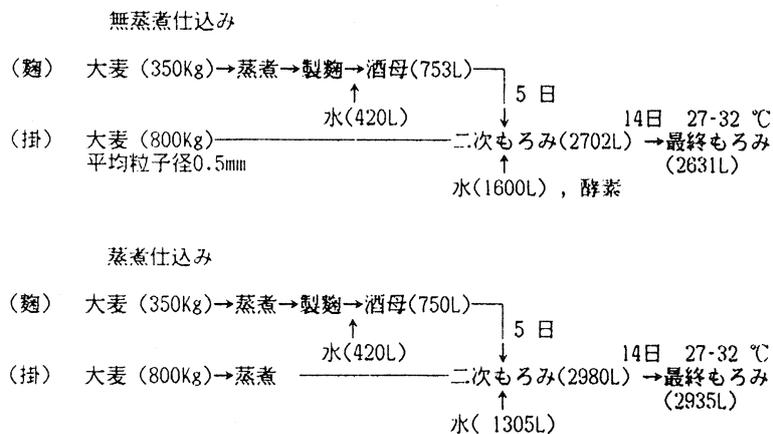
### (5) 分析法

酵素活性：既法<sup>3)</sup>に従いグルコアミラーゼは2%

表一 1 仕込配合と最終アルコール濃度

試験区	麴歩合	仕込PH	Glucoamylase	Acid Protease	最終アルコール濃度
1.2.3.	0%	4.0	5.10.20.(U/g)	0 (U/g)	10.3 12.8 13.8%
4.5.6.7	12.5	4.0	0.5.10.20.	0	11.8 14.9 15.2 15.
8.9.10.11	25.0	4.0	0.5.10.20.	0	13.4 15.6 15.8 16.
12.13.14.15	50.0	3.9	0.5.10.20.	0	14.8 16.4 16.6 16.
16.17.	50.0	3.0	5.20.	0	8.9 9.2
18.19.	50.0	3.5	5.20.	0	14.5 14.9
20.21.	50.0	4.0	10.	0	11.5 15.0
22.23.24	50.0	4.0	10.	40.80.180.	16.8 16.6 16.9

\*酵母濃度  $2 \times 10^5$ /ml \*\*酵母濃度  $2 \times 10^6$ /ml



図一 1 工場規模での仕込フロー

可溶性デンプンを基質に40°C, 30分反応させた時の還元糖をグルコースとして定量し, 10mg生じた時の酵素力を1単位(1U)とした。酸性プロテアーゼは0.5%カゼインを基質に30°C, 10~60分反応させFolin法により1分間に1μgのチロシン相当量を1単位(1U)とした。

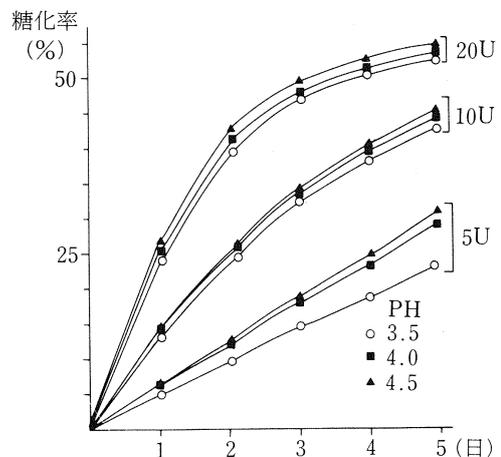
糖・エチルアルコール: HPLC (カラム Shodex S-801, 溶媒水, 検出器 RI) により分析した。

### 3. 結果と考察

#### (1) 糖化試験

基質が無蒸煮にもかかわらず図-2のように20U添加区では, 5日間反応後の糖化率は60%程度でpH3.5~4.5においても充分糖化反応が進行した。10U添加区では約40%の糖化率を示し, 5U添加区では22~30%で20U区の1/2程度の糖化率にとどまった。以上のことから無蒸煮仕込における低pH, 低麴

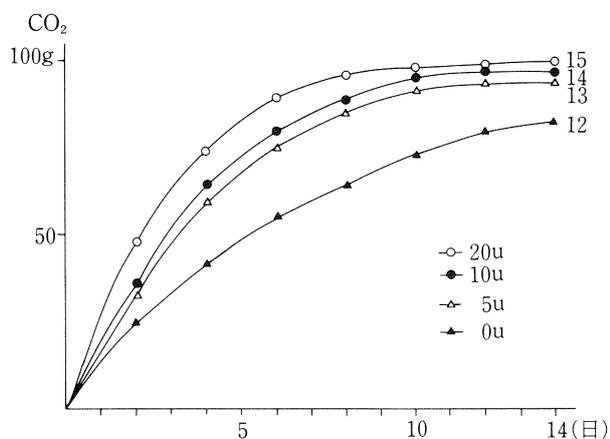
歩合の条件下でも, 生デンプンの糖化によるグルコースの供給が可能なが推定された。(図-2)



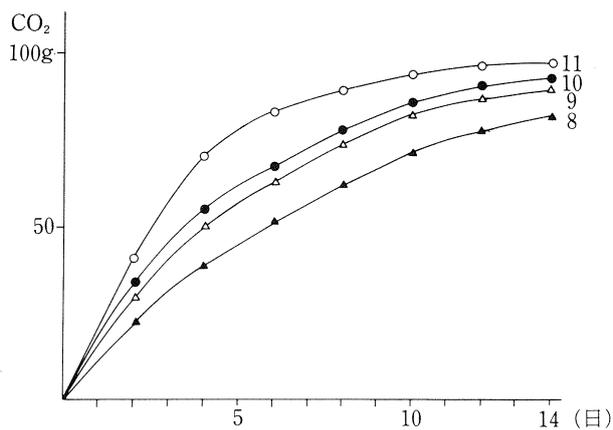
図一 2 糖化試験 (pH 3.5~4.5 Glucoamylase 5~20U/g)

(2) 無蒸煮仕込における酵素剤添加

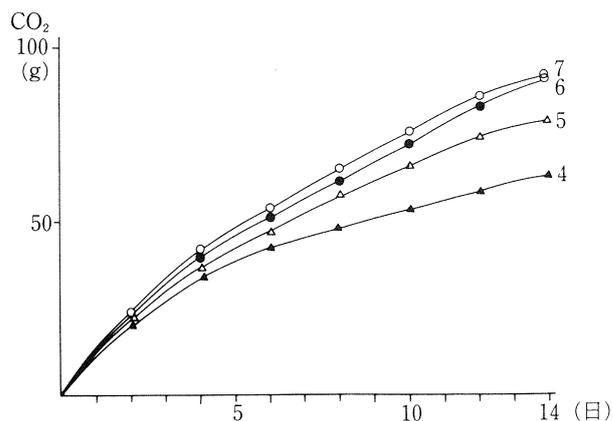
麴歩合 0～50%におけるグルコアミラーゼ剤添加による発酵経過を図3～6に示す。麴歩合50%の酵素添加区では、発酵前期でCO<sub>2</sub>発生量の差が10～15gあったものの10日経過後CO<sub>2</sub>の発生は停止し発酵終了時のアルコール濃度は16.4～16.9%を示し近似した。しかし無添加区では、発酵も緩慢で終了時のアルコール濃度は14.8%しか生成せず、麴単独での無蒸煮複式発酵は不充分であることが判った。(図3-6)



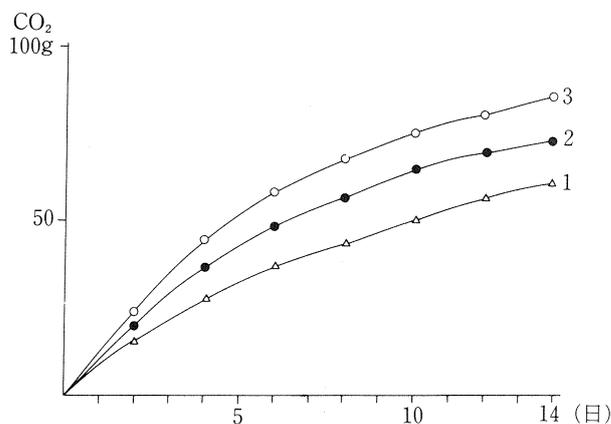
図一 3 麴歩合50%におけるグルコアミラーゼ添加試験 (PH4.0 GA 0～20U/g)



図一 4 麴歩合25%におけるグルコアミラーゼ添加試験 (PH4.0 GA 0～20U/g)



図一 5 麴歩合12.5%におけるグルコアミラーゼ添加試験 (PH4.0 GA 0～20U/g)



図一 6 麴歩合0%におけるグルコアミラーゼ添加試験 (PH4.0 GA 0～20U/g)

麴歩合が低減するにつれ、この傾向は顕著となり麴歩合25%では最終アルコール濃度が13.4%～16.6%、麴歩合12.5%で11.8～15.4%、麴歩合0%で10.3～13.0%の値を示した。各試験区とも20Uまでは酵素の添加量に応じCO<sub>2</sub>発生量も漸増した。

酸性プロテアーゼの添加は試験区22～24とも、対照区の発酵経過と一致したことから、アルコール生成に及ぼす効果は蒸煮仕込みの場合と同様確められなかった。

(3) 無蒸煮仕込における仕込 pH, 添加酵母数の影響

麴歩合50%, 仕込 pH3.0, 3.5で試醸の結果図-7に示すとおりアルコール濃度はそれぞれ9.0%, 14.9%となり対照区に比べ2～7%低値であった。(図-7)

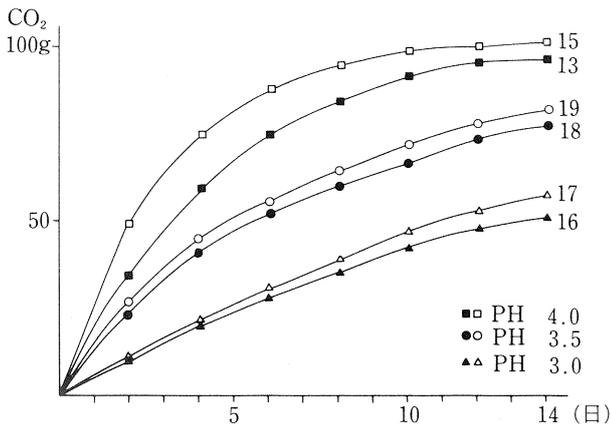


図-7 PH3.0~4.0におけるグルコアミラーゼ添加試験 (麴歩合50% GA10, 20U/g)

グルコースの消長は対照区 (pH4.0) では1%以内で移行したが、低 pH 域においては発酵前期5~7%の蓄積が確められ発酵中期は漸減し1%以内で推移したものの、発酵終了時3~4%の値を示した。

低 pH 域における無蒸煮仕込では、糖化は円滑に進行するものの発酵は抑制される傾向にあるため仕込 pH は4.0付近が望ましい。(図-8)

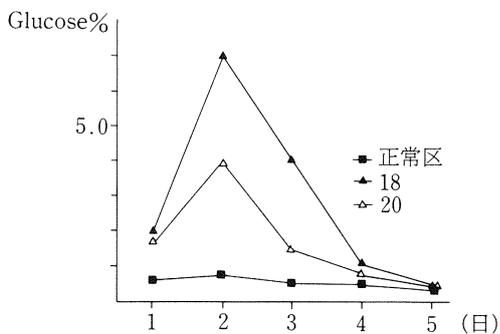


図8 発酵初期における糖の消長

添加酵母数は通常のもろみ濃度 ( $10^7$ /ml オード) を保持すれば発酵は順調に進行するが、 $10^5$ オードでは発酵初期に4%程度の糖が蓄積し最終アルコール濃度も11.5%にとどまった。

(4) 工場規模での試醸

以上の結果より工場規模での試醸は、仕込み pH 4.0, 麴歩合40%, くみ水歩合150%, グルコアミラーゼ10u/g (掛原料) に設定した。

発酵経過は図-9に示すように糖化, 発酵のバランスがうまくとれグルコース濃度1%以下で推移し, 生成アルコール濃度は無蒸煮法の立ちあがり若干

遅れたものの7日目で16.0%となり, 14日経過後, 無蒸煮法で16.9%, 蒸煮法で16.4%の値を示した。最終もろみの成分組成を表-2に示す。(図-9, 表-2)

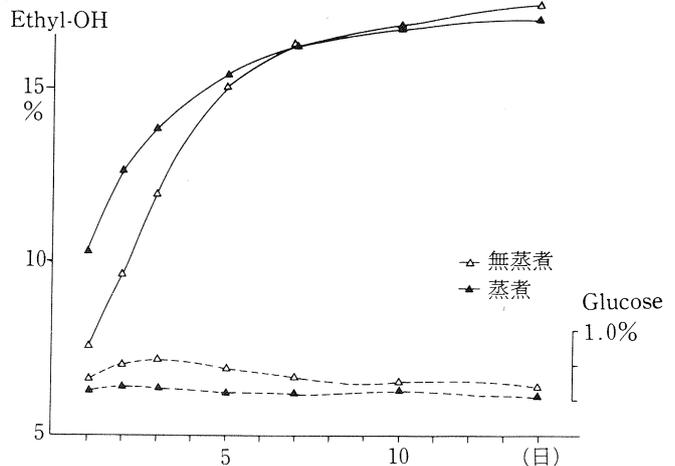


図-9 工場規模でのアルコール、グルコースの消長

表-2 最終もろみ成分組成

	蒸煮仕込み	無蒸煮仕込み
PH(20°C)	4.01	4.10
酸 度	9.5	10.5
アミノ酸度	9.2	12.8
Glucose	0.2%	0.1%
Glyceline	1.0%	1.0%
Et-OH	16.4%	16.9%
Acete Ald	7 ppm	12 ppm
Ethyl Acet	60 ppm	64 ppm
Propyl-OH	81 ppm	58 ppm
i-ButhylOH	100 ppm	130 ppm
i-Amyl OH	280 ppm	330 ppm

減圧蒸留後25度に割水し, 通常のイオン交換処理した製品の官能評価は, 蒸煮法, 無蒸煮法ともに良好であった。

4. まとめ

生デンプン糖化力を有するグルコアミラーゼを使用し無蒸煮法による焼酎試醸試験を行い次の結果を得た。

(1)糖化は無蒸煮処理でも pH3.5~4.5で充分進行したが, 発酵は低 pH 域では抑制された。

(2)グルコアミラーゼの添加は麴の糖化作用を補充

し、掛原料が無蒸煮にもかかわらず一定の条件下では麴歩合を低減しても充分発酵が可能で醗酵歩合も90%以上の値が得られた。

(3)スケールアップした場合でも通常法と同等の発酵経過を示し、イオン交換処理した製品の官能評価は良好であった。

#### 参考文献

- (1) 松元他 日本農芸化学会誌 Vol. 59, No. 3, p. 265~, 1985
- (2) 久保田他 アミラーゼシンポジウム p. 169 (1984)
- (3) 樋田他 大分県工業試験場年報 p. 147 (昭和60年度)