

# 優良清酒酵母の選抜

中林 徹<sup>\*</sup>, 栗田 修<sup>\*</sup>

## Selection of Sake Yeast for High-Quality Sake Making

Toru NAKABAYASHI and Osamu KURITA

### 1. はじめに

現在、三重県の清酒用分譲酵母は3種類あり、県内酒造メーカー約20社で使用されている。分譲酵母に関しては、平成17年度に香気成分に富む清酒製造に利用可能なMK-3を分譲して以来、新しい酵母の開発は行っていない。一方、清酒業界においては、純米酒が消費低迷の中でも好調で、最近では味に特徴ある純米酒を消費者に提供しようとする動きが著しい。その一つの例として、山廃もとの純米酒製造が伸びていることがある。このような状況から、味の良い、旨味を呈する酒質の製造に適した純米酒用酵母の開発に取り組むこととした。

### 2. 実験方法

#### 2.1 YNB 培地による選抜

当研究所保存の清酒酵母43株をYNB(イーストナイトロジェンベース W/O)最少培地(10%グルコース(W/V)を含む)に移植し、振とう温度勾配培養装置で30℃、4日間培養した。培養液の酸度、アミノ酸度、協会酵母K-701との増殖比を測定し、候補株を選抜した。対照として、協会酵母K-701を使用した。

#### 2.2 麹エキス培地による発酵試験

上記2.1により選抜した株をボーム約15度の麹エキス培地で15℃、20日間発酵試験を行い、酸度、アミノ酸度を分析し、有望株の絞り込みを行った。

#### 2.3 清酒小仕込み試験による選抜

上記2.2により絞り込まれた酵母による総米

500gの小仕込み試験を行い、さらに絞り込みを行った。その仕込配合を表1に示す。仕込みは、化米(60%五百万石)、乾燥麹(TG-60)を使用し、温度15℃一定で、留め後20日目に遠心分離により上槽し、清酒を製造した。

### 2.4 分析

発酵液の酸度、アミノ酸度及び製成酒の一般成分は国税庁所定分析法に基づいて測定し<sup>1)</sup>、香気成分の分析は、ヘッドスペースガスクロマトグラフィにより行った<sup>2)</sup>。アミノ酸の分析は、高速液体クロマトグラフによりShim-pack Amino-Naカラムを用いて、ポストカラム誘導体化-蛍光検出法により測定した<sup>3)</sup>。

表1 仕込配合

	添	仲	留	計
総米 (g)	75	155	270	500
蒸米 (g)	55	120	215	390
麹米 (g)	20	35	55	110
汲水 (ml)	195	250	330	775
乳酸 (ml)	0.5			0.5
酵母 (ml)	20			20

### 3. 結果と考察

#### 3.1 YNB 培地による選抜結果

清酒酵母43株を用いて、30℃、4日間培養したYNB液体培養液の酸度、アミノ酸度、増殖比を測定し、協会701号と比較して、酸度が高く且つアミノ酸度の高い株、または酸度は低いがアミノ酸度の高い株、さらには酸度のみが高い株など一

<sup>\*</sup> 食と医薬品研究課

次スクリーニングとして7株を選抜した。

### 3. 2 麹エキス培地による選抜

YNB培地で選抜した7株の麹エキス培地での発酵試験液のボーメ、酸度、アミノ酸度の測定結果を表2に示す。

表2 発酵試験液の分析結果

	ボーメ	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)
培地	15.6	2.69	3.75
K-701	4.8	4.70	3.06
1	4.6	4.54	3.08
2	6.0	4.46	3.12
3	4.7	4.90	3.13
4	4.0	5.01	3.08
5	5.1	4.98	3.14
6	8.0	4.41	3.13
7	5.6	4.50	3.10

株2, 6, 7はボーメが高く発酵能が少し弱かったことから選抜から除外した。酸度では株3, 4, 5が高かった。またアミノ酸度はK-701よりも選抜した7株全てにおいて高い傾向にあった。このことから麹エキスの発酵試験によるスクリーニングでは特に酸生成能に着目して、株3, 4, 5の3株に絞り込むこととした。

### 3. 3 清酒の小仕込試験

製成酒の一般成分分析結果を表3に示した。選抜した株は全て麹エキスの発酵試験ではK-701よりも酸度が高かったが清酒の小仕込試験では酸度は低かった。この原因は、麹エキスでは単発酵であるのに対して、小仕込試験では並行複発酵であることがその要因と考えられる。清酒の呈味に影響を与えるアミノ酸度は、3株全てK-701よりも高い値を示した。

表3 製成酒一般成分

	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)
K-701	-7	17.5	3.9	1.77
3	-4	19.1	3.13	1.84
4	-3.5	19.0	3.01	1.88
5	-13	17.2	2.96	2.04

なお、職員3名で官能検査を実施したところ、対照(K-701)と比べ、株3が濃醇で旨味のある

酒質であった。

表4 製成酒のアミノ酸含量

	K-701	3	4	5
Asp	1.25	1.66	1.28	1.21
Thr	1.58	1.83	1.66	1.64
Ser	1.12	1.40	1.15	1.13
Glu	2.55	3.06	2.70	2.63
Pro	1.88	2.00	1.84	1.86
Gly	2.49	2.52	2.34	2.57
Ala	4.28	5.78	4.99	4.90
Val	1.62	1.84	1.55	1.53
Met	0.58	1.43	1.41	0.70
Ile	0.93	1.07	0.88	0.87
Leu	2.35	2.52	2.19	2.16
Tyr	1.40	1.40	1.27	1.29
Phe	1.45	1.55	1.41	1.41
His	1.56	1.64	1.53	1.53
Lys	0.98	1.14	1.06	1.02
Arg	1.63	1.80	1.71	1.80
Total ( $\mu$ mol/mL)	27.65	32.64	28.97	28.25

表4に示したように、株3の清酒中には旨味成分と考えられているアミノ酸のアラニン(Ala)が対照のK-701と比べて1.35倍ほど多く含まれていた。このことが、官能評価においても、最も良好であったと推定される。なお、他のアミノ酸の含量には大きな差は認められなかった。

表5に、製造された清酒の製成歩合を示す。株3と4は、対照に比べてアルコール収得量が多く、今後実規模の仕込を想定した場合、発酵に問題はないと考える。

表5 製成歩合

	粕歩合 (%)	液量(ml)	アルコール 収得量(ml)
K-701	74.1	730	128
3	66.3	785	150
4	66.9	780	148
5	72.1	750	129

香気成分に関しては、表6に示すように対照と比べて大きな差は認められなかった。香気成分のカプロン酸エチル含量が5ppmを超えるような株ではないことから、これら選抜酵母は吟醸酵母というよりもむしろ純米酒酵母と言える。

表 6 香気成分の分析結果

	酢酸イソアミ ル(ppm)	イソアミ ル アルコール ル(ppm)	E/A 比	カプロ ン酸エ チル (ppm)
K-701	4.41	172.3	2.56	1.97
3	3.31	168.4	1.97	1.80
4	3.47	170.7	2.03	1.83
5	3.54	154.7	2.29	1.83

以上の結果から，K-701 より酸度は低いが，アミノ酸度，アルコール分，アルコール収得量が高く粕歩合が低い株 3 を最終的に選抜した。

#### 4. まとめ

工業研究所保存菌株 43 から合成培地及び麹汁の発酵試験より，7 株まで絞り込んだ。その後，清酒の小仕込試験を行い，アミノ酸度が高く，アミノ酸の生成，特に旨味成分とされるアミノ酸の一つと考えられているアラニンも多く生産する清酒酵母を選抜した。分離した株 3 は当初の目的である純米酒酵母の候補として適当と考

えられることから，今後，実用規模の清酒製造実験を行い，新規分譲酵母としての必要な酒造適正を調査する予定である。

#### 参考文献

- 1) 第四回改正国税庁所定分析法注解，注解編集委員会編，日本醸造協会（1993）
- 2) O.Kurita: “Increase of acetate ester-hydrolyzing esterase activity in mixed cultures of *Sacchalomyces cerevisiae* and *Pichia anomala*”. *J. Appl. Microbiol.*, 104, 1051-1058 (2008)
- 3) M. H. Joseph and P. Davies: “Electrochemical activity of o-phthalaldehyde - mercapto ethanol derivatives of amino acids: Application to high-performance liquid chromatographic determination of amino acids in plasma and other biological materials”. *J. Chr. B: Biomed. Sci. Appl.*, 125-136 (1983)