

資 料

低酸性清酒酵母の選抜

上野 祐美*・大渡 康夫*

1. 目 的

近年の消費者の嗜好の多様化を反映し、清酒においても製品群が拡大している。そのような状況の中で、島根県内の酒造会社より「島根県オリジナル酵母を育種してほしい」との要望を受け、その中でも特に要望の高かった低酸性に着目し、島根県オリジナル低酸性清酒酵母の選抜を行った。

2. 方 法

2.1 酵母の取得

当センター保有の清酒酵母「61K-101」を基準株として使用した。酵母は糖化液（0.3% 乳酸（富士フィルム和光純薬株式会社製，食品添加物グレード）含有）に植菌し、30℃で2日間培養した。培養後の生菌数をカウントして1プレートあたり100コロニー程度になるように標準寒天培地に塗抹し30℃で3日間培養した。出現したコロニーをWallerstein Nutrient (WLN) 平板培地とTTC 平板培地にレプリカし低酸性清酒酵母を取得した¹⁾。

2.2 酵母の選抜

取得した酵母を糖化液に植菌し20℃で4日間培養した。培養後の濁度を測定し、菌体添加量が一定になるように糖化液30mLに継代し20℃で1週間培養した。培養容器は50mL容ガラス製三角フラスコを用いた。培養後は遠心分離して上清を回収し、酒類総合研究所標準分析法注解²⁾に準じてアルコール濃度、酸度、Brix、香气成分を測定した。アルコール濃度と香气成分はGC-2030（株式会社島津製作所製）、酸度は電位差自動滴定装置AT-710（京都電子工業株式会社製）、Brixはポケット塩糖度計PAL-BX[SALT+5]（株式会社アタゴ製）を用いて測定した。

2.3 小仕込試験1（総米150g）

総米150gでの一段仕込とした。仕込容器は500mL容ガラス製ねじ口試薬瓶を用いた。原料米としてアルファ化米（尾西食品株式会社）、乾燥麴（徳島製麴株式会社、1-70A）を用いた。麴歩合20%、汲水歩合200%とし、乳酸を0.05mL添加した。選抜株を糖化液（0.3% 乳酸含有）で30℃、3日間培養したのち生菌数をカウントし、一定量になるように添加した。発酵温度は15℃とし、発酵期間

中は重量を記録して重量減少が少なくなった15日目を発酵終了とした。遠心分離し得られた上清を分析用試料とし、アルコール濃度、酸度、香气成分を測定した。E/A比は「酢酸イソアミル濃度／イソアミルアルコール濃度×100」として算出した。また当センター職員3名で酒質の特徴を評価した。味、香り、総合評価の3項目について、「すばらしい」(1)、「良好」(2)、「やや難点あり」(3)、「難点あり」(4)として4段階で評価した。

2.4 小仕込試験2（総米1kg）

総米1kgでの三段仕込とした³⁾。仕込配合を表1に示す。仕込容器は6L容ステンレス製寸胴鍋を用いた。掛米はアルファ化米AA-60（精米歩合60%、徳島製麴株式会社）、麴は乾燥麴G-50（山田錦、精米歩合50%、徳島製麴株式会社）を使用した。酵母は小仕込試験1で選抜した各菌株を糖化液（0.3% 乳酸含有）で30℃、48時間培養したものをを用いた。仕込温度は初添15℃、仲添10℃、留添8℃とした。留添の翌日から0.5℃/日で昇温し12℃に達してから4日間保持し、その後上槽日まで11℃に保持した。発酵期間中は重量減少を記録して発酵経過を観察し、26～27日目で上槽した。発酵終了後、遠心分離し得られた上清を分析用試料とし、酒類総合研究所標準分析法注解²⁾に準じてアルコール濃度、酸度、アミノ酸度、日本酒度、グルコース濃度、固形分率、香气成分を測定した。固形分率は「粕重量／留仕込直後もろみ重量×100」として算出した。アルコール濃度と日本酒度は酒類用振動式密度計DA-155（京都電子工業株式会社製）を用いて測定した。グルコース濃度はグルコースCII-テストワコー（富士フィルム和光純薬株式会社製）を用いた。

表1 総米1kg小仕込試験仕込配合

	初添	仲添	留添	合計
総米 (g)	175	350	475	1,000
掛米 (g)	100	300	375	775
麴米 (g)	75	50	100	225
汲水 (mL)	275	370	700	1,345
乳酸 (mL)	1	—	—	1
酵母 (mL)	10	—	—	10

* 食品技術科

表2 糖化液発酵試験のアルコール、酸度、Brix、香気成分

	アルコール (%)	酸度 (mL)	Brix	酢酸イソアミル (ppm)	カブロン酸エチル (ppm)	イソアミルアルコール (ppm)	酢酸エチル (ppm)	E/A 比
基準株	5.10	1.5	7.2	1.19	0.98	61.53	13.04	1.93
No. 1	4.66	1.6	8.0	1.09	0.94	47.71	14.12	2.28
No. 2	4.92	5.1	7.4	0.70	0.73	54.55	11.44	1.28
No. 3	4.89	4.7	7.4	1.03	0.72	64.10	11.68	1.61
No. 4	4.77	4.9	7.7	0.69	0.72	49.36	11.25	1.40
No. 5	3.88	5.2	8.6	0.71	0.72	45.52	11.54	1.56
No. 6	5.04	4.9	7.4	0.72	0.70	55.52	11.60	1.30
No. 7	4.75	1.7	7.9	0.98	0.92	48.38	13.35	2.03
No. 8	4.49	5.1	8.1	0.88	0.71	51.88	11.88	1.70
No. 9	5.24	1.5	7.2	1.69	0.97	68.42	14.35	2.47
No. 10	4.79	1.3	7.8	1.48	1.00	62.30	14.20	2.38
No. 11	4.68	1.4	7.9	1.40	0.94	62.41	12.72	2.24
No. 12	4.82	1.2	7.6	1.11	0.93	57.67	12.80	1.92
No. 13	4.92	1.8	7.6	1.55	0.97	58.85	17.00	2.63
No. 14	5.30	5.0	7.3	0.82	0.77	57.92	11.62	1.42
No. 15	5.07	5.2	7.5	0.85	0.78	52.87	11.58	1.61
No. 16	4.91	1.4	7.5	1.53	0.82	66.46	12.76	2.30
No. 17	4.95	1.4	7.5	1.07	0.91	58.27	12.34	1.84
No. 18	4.51	1.4	8.0	1.40	0.95	60.80	12.86	2.30
No. 19	5.01	1.3	7.3	1.23	0.98	57.49	13.19	2.14
No. 20	4.77	1.2	7.6	1.10	0.83	54.56	12.74	2.02

表3 総米 150g 小仕込試験製成酒のアルコール、酸度、Brix、香気成分

	アルコール (%)	酸度 (mL)	Brix	酢酸イソアミル (ppm)	カブロン酸エチル (ppm)	イソアミルアルコール (ppm)	酢酸エチル (ppm)	E/A 比
基準株	18.49	2.9	7.36	0.63	211.89	56.35	3.47	1.93
No.9	18.13	2.9	13.50	0.79	230.16	69.21	5.86	2.28
No.10	17.98	3.3	13.48	0.85	228.69	70.35	5.90	1.28
No.11	18.45	2.9	14.92	0.82	228.68	78.62	6.52	1.61
No.12	18.49	3.1	10.48	0.88	202.00	69.14	5.19	1.40
No.16	18.17	3.3	12.89	0.82	231.99	73.05	5.56	1.56
No.17	18.20	3.8	10.51	0.95	201.21	68.15	5.22	1.30
No.18	18.27	3.0	13.62	0.79	226.34	73.26	6.02	2.03
No.19	18.06	3.4	10.78	0.88	206.73	70.73	5.21	1.70
No.20	17.96	2.9	10.70	0.89	209.29	74.22	5.11	2.02

3. 結 果

3.1 酵母の取得

WLN 培地は酸性になると緑色から黄色に変色するため、

色の変化が少ない株を低酸性株として選抜できる。100 コロニー程度のプレート 18 枚から、WLN 培地の色の変化が少ない低酸性株 20 株が得られた。この 20 株はいずれも TTC 培地で深紅色を呈し清酒酵母に適することを確認した。

3.2 酵母の選抜

取得株 20 株と基準株 61K-101 を糖化液で培養した分析結果を表 2 に示す。今回の試験では薬剤や UV などの突然変異誘発処理をしていないため、顕著な性質の変化をもつ株は現れなかったと考えられる。基準株の酸度 1.5 を基準として、No.9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20 を有望株として選抜した。

3.3 小仕込試験1 (総米150g)

有望株 9 株による総米 150g での小仕込試験を行った。アルコール濃度、酸度、香気成分の測定結果を表 3、酒質の官能評価結果を表 4 に示す。酸度は No.9, 11, 20 の 3 株が基準株と同等であった。酢酸イソアミルおよびカブロン酸エチルの濃度は全ての株で基準株より高い濃度を示した。官能評価では総合評価において No.10, 11 が基準株と同等となった。No.20 は酸度が低いものの、酢酸イソアミル濃度が他の株よりも低く官能評価も悪かった。以上の結果から、酢酸イソアミル濃度が比較的高く官能評価も良好だった No.18 を加えて、No.9, 10, 11, 18 の 4 株を有望株として選抜した。

3.4 小仕込試験2 (総米1kg)

有望株 4 株による総米 1kg での小仕込試験を行った。アルコール濃度、日本酒度、酸度、アミノ酸度、グルコース濃度、固形分率、香気成分の測定結果を表 5 に示す。今回はアルコール濃度が 14% 前後での上槽となり、日本酒度が -60.2 ~ -46.6 と甘めの仕上がりととなった。今回の仕込配合は汲水量が少なく濃糖圧迫により発酵が緩慢になりやすい上、もろみ体積に対して容積の大きい仕込容器を使用したため、全体として酸度が高くなりがちな条件であったが⁴⁾、No.9, 11, 18 の 3 株は基準株よりも酸度が低下した。また No.11 はアルコール濃度と日本酒度が基準株より高く、発酵力が高いことが示された。

表 4 総米 150g 小仕込試験製成酒の官能評価

	香り	味	総合評価
基準株	4	3	5
No.9	4	8	6
No.10	5	6	5
No.11	5	6	5
No.12	7	9	9
No.16	5	6	8
No.17	7	10	7
No.18	7	8	6
No.19	5	4	8
No.20	6	9	10

※値は評価者 3 名の合計点数を示す。

今回の試験では、基準株よりも酸度を低減でき発酵も良好な有望株を選抜することができた。今後は県内酒造会社との実地醸造試験を行い島根県オリジナル酵母の選抜を進め、酵母の独自性を生かした個性豊かな清酒の開発に取り組む予定である。

文 献

- 1) 米倉裕一, 中山繁喜, 平野高広, 優良清酒酵母の選抜. 岩手県工業技術センター研究報告. 2008, no.15, p.89-91.
- 2) 標準分析法注解編集委員会. 酒類総合研究所標準分析法注解. 公益財団法人日本醸造協会. 2017.
- 3) 岡田俊樹, 川島典子. 滋賀県オリジナル清酒醸造酵母の選抜. 滋賀県工業技術総合センター業務報告. 2021, no.35, p.101-105.
- 4) 松田章, 有手友嗣, 中村静夫, 辻奈緒子, 澤野礼奈, 矢野俊博. 清酒の小仕込み試験における酒質, 特に有機酸生成に及ぼす影響因子. 日本醸造協会誌. 2013, vol.108, no.7, p.527-538.

表 5 総米 1kg 小仕込試験製成酒の成分

	アルコール (%)	日本酒度	酸度 (mL)	アミノ酸度 (mL)	グルコース (%)	固形分率 (%)	酢酸イソアミル (ppm)	カブロン酸エチル (ppm)	イソアミルアルコール (ppm)	酢酸エチル (ppm)	E/A 比
基準株	14.32	-56.0	4.1	2.8	7.8	56.0	3.59	1.90	99.25	45.23	3.62
No.9	13.65	-52.0	4.0	2.7	7.3	52.4	3.76	1.83	98.16	40.49	3.83
No.10	13.17	-60.2	4.4	3.1	8.1	53.7	3.53	1.82	93.79	36.00	3.76
No.11	14.72	-46.6	3.8	2.5	6.7	50.9	3.88	1.88	109.37	43.33	3.55
No.18	13.91	-55.0	3.7	2.6	7.7	52.5	3.82	1.87	101.67	42.14	3.76