

清酒酵母性能評価システムの開発 (第3報) —吟醸酒用酵母の開発—

バイオ系チーム 廣岡 青央, 清野 珠美

要 旨

清酒の味に影響を与える成分である有機酸のうち、リンゴ酸は爽やかな酸味を呈すると言われている。果実様の香気成分を特徴とする大吟醸酒の場合、冷酒にて飲用することが想定されるが、その場合総酸に占めるリンゴ酸の比率の高い清酒が飲用に適すると考えられる。今回、冷酒向け大吟醸用酵母の開発を目指し、果実様香気成分であるカプロン酸エチルの生成に優れ、かつリンゴ酸比率の高い酵母の選抜を試みた結果、いくつかの株を得ることができた。

1. はじめに

研究所では清酒製造用に1号及び2号酵母を単離し、1960年代から清酒製造業社に分譲してきた。最近では、カプロン酸エチルや酢酸イソアミル等の果実様香気成分(吟醸香)を高生産する特定名称酒製造用酵母の開発を進め、実用化してきた。

また平成26年度から平成29年度の4年間で、研究所が保有する分譲酵母の管理技術及び新規酵母の開発(課題名:清酒酵母性能評価システムの開発)を進めた。本研究開発では特に清酒の「呑み方の提案」という観点から、清酒の味に着目して新規酵母の開発を実施した。

清酒の味に影響を与える成分である有機酸のうち、コハク酸は清酒のうまみやコクに影響を与えるとされ、「清酒らしさ」として大変重要な成分である。一方、リンゴ酸は爽やかな酸味を呈すると言われている。これらの有機酸は清酒酵母が発酵の過程で生成すると言われており、総酸におけるリンゴ酸比率の高い、冷酒に向く酵母を「京の咲」として¹⁾、総酸におけるコハク酸の比率の高い、燗酒に向く酵母を「京の珀」としてそれぞれ既に実用化した。

本研究は冷酒に向く大吟醸酒製造のための清酒酵母開発として、総酸に占めるリンゴ酸の比率が高く、かつ吟醸香(カプロン酸エチル)生成に優れた清酒酵母を選択することを目的に行った。

2. 実験方法

2.1 セルレニン耐性株の取得方法

清酒酵母を培養した麴汁培地8 mLを10 cmシャーレに移し、UV照射を行った。UV照射は、シャーレから50 mmの高さから20秒照射した。

UV照射後の培養液100 μ Lを、25 μ Mの濃度のセルレニンを含むYPD寒天プレートに播種し、30°Cで数日培養後、現れたシングルコロニーをYPD寒天プレートに釣菌し、セルレニン耐性株とした。

2.2 セルレニン耐性株の香気生成能試験

2.1で取得したセルレニン耐性株をYPD培地1 mlに植菌し、30°Cで3日間前培養した。25 mlガラスバイアルに入れた、グルコース濃度を5%に設定したYPD培地10 mlに、前培養液100 μ Lを植菌し、15°Cで7日間培養した。培養後、香気成分を分析した。

2.3 セルレニン耐性株の一段仕込み試験

2.2の香気生成能試験により選抜したセルレニン耐性株を、麴汁培地に植菌し、30°Cで前培養した。仕込みは、水麴として、300 ml トールビーカーに乾燥麴(精米歩合60%)20 g、10%乳酸0.5 ml、汲み水160 mlと、前培養液40 ml分の清酒酵母を加え、15°Cで一晩発酵させた。次の日(留1日目)に、*a*米(精米歩合60%)80 gを加え、引き続き15°Cで14日間発酵させた。発酵終了後、醪を6,000 rpm、20分遠心し、上清を回収し、分析に供した。

2.4 セルレニン耐性株の三段仕込み試験

2.3の一段仕込み試験により選抜したセルレニン耐性株を、前培養として麴汁培地に植菌し、30°Cで培養した。仕込み配合は表1の通りとした(総米314 g、汲水歩合143、米は精米50%山田錦を使用)。仕込み配合の蒸米重量は蒸し上がり水分135%で算出し、麴は研究所で作製したものを使用した(出麴歩合105として計算)。重

量減少量が約 100 g になったところで醪を回収し、6,000 rpm, 20 分遠心し、上清を回収し分析に供した。

表 1. 三段仕込みの仕込み配合

	麴	蒸米	水
	(g)	(g)	(mL)
水麴	15	0	80
添	0	55	0
仲	25	115	150
留	25	170	220

2.5 アルコール分、酸度及びアミノ酸度の測定

国税庁所定分析法により分析を行った。

2.6 香気成分分析及び有機酸分析

香気成分及び有機酸の測定手法は前報^{2, 3, 4)}に準じて行った。

3. 結果と考察

3.1 セルレニン耐性を指標とした清酒酵母の選択

既に実用株として利用されている「京の咲」酵母は総酸の内リンゴ酸の比率が高い清酒酵母で、「京の咲」を利用することにより爽やかな酸味が特徴の清酒を製造することが可能である。このように「京の咲」は酸味に特徴を有しているが、吟醸香の生成という点では従来の清酒酵母と比較して大きな違いはない。吟醸酒の製造という点からはもう少し吟醸香が欲しいという要望もあり、「京の咲」から吟醸香であるカブロン酸エチルを高生産する清酒酵母を選択することを考えた。そこでセルレニン耐性を指標として「京の咲」からカブロン酸エチル高生産株の取得を試みたが、結果として「京の咲」よりもカブロン酸エチルを高生産する株を取得することはできなかった。

次に、カブロン酸エチル高生産株である「京の琴」から総酸の内リンゴ酸比率の高い株を選択することを試みた。「京の琴」から選択圧は特につけずにシングルコロニーを取得し、「京の琴」よりもリンゴ酸比率の高い株を選択することができた (1-16 株)。しかしながら 1-16 株はカブロン酸エチルの生成という点ではやや「京の琴」よりも劣るという結果になった。そこでセルレニン耐性を指標に 1-16 株から「京の琴」と同等以上のカブロン

酸エチルを生成する株の選択を試みた。1-16 株からセルレニン耐性株を 80 株選択し、香気生成能試験を行った。その結果から、カブロン酸エチル生成能の優れていた 10 株を選択した。選択した 10 株について、清酒一段仕込み試験を行い、1-16 株から「京の琴」と同等のカブロン酸エチル生成能を持つ酵母を選択することができた (1-16-17 株, 1-16-45 株)。これらの株の内一段仕込み生成酒の有機酸分析の結果、1-16 株と同様にリンゴ酸比率の高い株は 1-16-17 株であったことから 1-16-17 株を有望株として選択することとした。

3.2 吟醸仕込み配合の検討と炭酸ガス発生量

選抜した 1-16-17 株は吟醸酒用の清酒酵母としての利用を想定したものであることから、現場の吟醸仕込みの配合及び経過を踏襲した形で表 1 の仕込み配合、表 2 の温度経過にて試験製造を行った。「京の琴」、1-16 株及び 1-16-17 株の三段仕込み試験の醪の重量減少を図 1 に示す。重量減少 (炭酸ガス発生量) は「京の琴」、1-16 株ではほぼ同じ経過をたどったが、1-16-17 株は炭酸ガス発生が他の株よりも遅れることが分かった。このことは 1-16-17 株の発酵の速度が他の株よりも劣っている可能性を示唆するものであった。

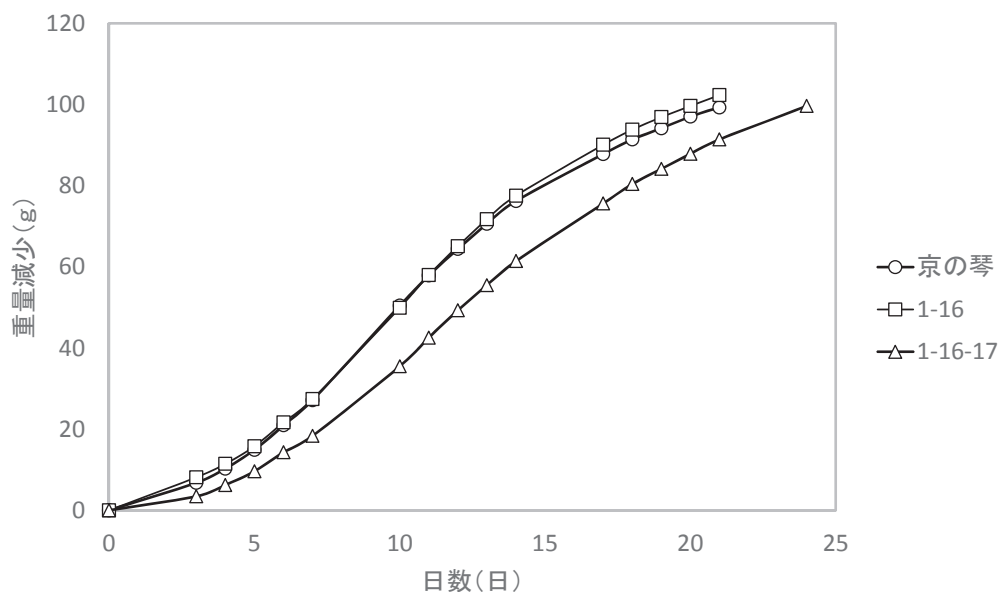


図1 清酒醪の重量減少

表2 もろみの温度管理プログラム

日数	設定温度(°C)
水麴	15
初添	10
踊	10
仲添	8
留添	6.5
2	7
3	7.5
4	8
5	8.5
6	9
7	9.5
8	10.5
9	10.5
10	10.5
11	10.5
12	10.5
13	10.5
14	10.5
15	10.5
16	10
17	9.5
18	9.5
19	9.5
20	9.5
21	9.5
22	9.5
23	9.5
24	9.5
25	9.5
26	9.5
27	9.5
28	9.5
29	9.5

3.3 三段仕込み試験の生成酒の分析結果

「京の琴」、1-16株及び1-16-17株を用いた三段仕込み試験の生成酒について、清酒規格分析、香気成分分析、有機酸分析を行った(表3)。1-16-17株は前項で考察した通り、発酵が遅れ気味の傾向が見られたが、生成酒のアルコール分等の一般成分については1-16株とほぼ同様の値を示した。

香気成分については1-16株のカブロン酸エチル生成量は他の2株よりも劣っていた。一方で酢酸イソアミルの生成量は京の琴が最も劣っていた。1-16-17株はカブロン酸エチルのみならず、酢酸イソアミルの生成も高い酵母であることが分かった。

有機酸生成については、乳酸、コハク酸、クエン酸については3株でほとんど変化がなかったが、リンゴ酸については1-16-17株、1-16株、京の琴という順番で減少した。当初の目的であるリンゴ酸生成能の向上したカブロン酸エチル高生産株を選択するという点では1-16-17株は有望株であった。

表3. 小仕込み試験の清酒分析結果 (1)

菌株	アルコール分 (%)	日本酒度	酸度	アミノ酸度	グルコース (%)
京の琴	14.8	7.4	1.6	0.7	0.8
1-16	15.0	6.4	1.7	0.7	0.8
1-16-17	14.0	4.7	1.8	0.7	1.0

表3. 小仕込み試験の清酒分析結果 (2)

菌株	酢酸エチル (mg/L)	酢酸イソアミル (mg/L)	イソアミルアルコール (mg/L)	カプロン酸エチル (mg/L)
京の琴	21.3	1.1	105	5.1
1-16	24.5	2.2	138	4.1
1-16-17	21.1	2.0	116	5.6

表3. 小仕込み試験の清酒分析結果 (3)

菌株	乳酸 (mg/L)	コハク酸 (mg/L)	リンゴ酸 (mg/L)	クエン酸 (mg/L)
京の琴	442	261	116	23
1-16	440	256	150	21
1-16-17	479	260	207	21

4. まとめ

冷酒に向く大吟醸用酵母として、リンゴ酸の比率が高くカプロン酸エチル生成能のすぐれた酵母の選抜を試みた。結果、カプロン酸エチル生成の優れた「京の琴」からリンゴ酸生成比率の高い1-16株を取得することができた。しかし1-16は親株の「京の琴」よりもカプロン酸エチル生成能がやや低かったため、1-16株からより香氣生成能の向上している株の選抜を試みた。その結果、発酵のスピードは遅れ気味ではあったが、香氣生成能は親株と同等でリンゴ酸比率の高い1-16-17株を選抜することができた。今後それぞれの株の実用化を目指していく。

文 献

- 1) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所研究報告, No.5, p.26 (2015).
- 2) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所工業技術センター研究報告, No.34, p.36 (2006).
- 3) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所工業技術センター研究報告, No.38, p.50 (2010).
- 4) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所研究報告, No.2, p.30 (2012).