

# 清酒酵母性能評価システムの開発 (第1報) —有機酸生成に特徴のある清酒酵母開発—

バイオ系チーム 廣岡 青央, 清野 珠美, 高阪 千尋

## 要 旨

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、リンゴ酸は爽やかな酸味を呈すると言われている。清酒中のコハク酸とリンゴ酸は酵母が発酵中に生成することから、清酒酵母の有機酸生成の特徴を把握することは製造する清酒の特徴を把握するために重要である。

そこで、研究所保有酵母の有機酸生成能の分析を行い、有機酸生成に特徴を有する2株を選択した。それらの株から泡なし株を取得し、さらにそれらの泡なし株から親株と同様の酸生成の特徴を有する株を選択した。リンゴ酸に対してコハク酸の生成量が少ない酵母を冷酒向け酵母、逆にコハク酸生成量の多い酵母を燗酒用酵母として位置づけ、それらのうち相対的にコハク酸の生成量が少ない酵母を実際の製造に使用し良好な結果を得た。今後、冷酒向け酵母「京の咲」という名称で分譲を開始する予定である。また、相対的にコハク酸の生成量の多いものは燗酒用の酵母として今後実用化を目指していく予定である。

## 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。さらには泡なし酵母の解析により得られた情報から、2号泡なし株を分離するとともに、吟醸香を高生産する特定名称酒製造用酵母の開発を行ってきた。

平成26年度からは、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)をすすめている。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進めている。

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。清酒中のコハク酸とリンゴ酸は酵母が発酵中に生成するものがほとんどであることから、清酒酵母の有機酸生成の特徴を把握することは製造する清酒の特徴を把握するために重要である。また、最近ではリンゴ酸を多量に生成する酵母を育種して酸味に特徴を有する清酒が製造される等、酵母育種による清酒品質の多様化がすすんでいる<sup>1)</sup>。

そこで今回、研究所で保存している清酒酵母について有機酸生成の特徴を把握し、特徴的な有機酸組成の酵母を選択し、さらにはその結果から新規に開発した

酵母について報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 酵母の有機酸生成能試験

グルコース濃度を5%に調製したYPD培地5mlに酵母を一定量植菌し、4日後に遠心分離により上清を得、有機酸分析に供した。

### 2.2 泡なし株の取得法

フローズフローテーション法<sup>2)</sup>に準じて泡なし株を取得した。具体的には30mlの麹汁培地(ボーメ度5)に酵母を培養し、培養後に遠心分離により集菌し、菌体に滅菌水を30ml加え、十分にかくはんし、生じた泡に集積している酵母を除去する操作を繰り返し、泡に付着しなかった酵母を集菌・培養し、再度同様の操作を繰り返すことにより泡なし株を取得した。

### 2.3 小仕込み試験

前報<sup>3)</sup>の方法に従った。具体的には乾燥麴20g、グルコアミラーゼ、 $\alpha$ アミラーゼ、汲水160ml及び乳酸0.05mlをよく混合した水麴に、培養酵母を所定量植菌した後、 $\alpha$ 米80gを加え仕込んだ。品温は15°C一定とし、試験中の培地の重量減少を炭酸ガス発生量として測定した。14日後、遠心分離により上澄みを回収し香气成分及び有機酸分析に供した。また、酸度の分析は国税

庁所定分析法に従った。

## 2.4 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<sup>4,5,6)</sup>に準じて行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 研究所保存株の有機酸生成

研究所が保存している酵母は過去に清酒もろみ等から取得したものが多数あるが、取得された当時では分析技術が不十分であったため、香気生成や有機酸生成の特徴に関するデータはほとんど蓄積されていない。

そこで、研究所で保存されている酵母について、簡便に有機酸生成能を調べるため5%のグルコース濃度に調製したYPD培地を用いて分析を行った。それらの結果の一部を表1に示す。

きょうかい酵母を基準株として保存株の特性を比較した。特に清酒の味に影響があると考えられるコハク酸とリンゴ酸の比でみると、きょうかい601号,701号ともほぼ同じ比であり、保存株のほとんどがきょうかい酵母と同様の比になっていたが、リンゴ酸に対して相対的にコハク酸の少ないもの（保存株A）や多いもの（保存株B）があり、それぞれ味に特徴を有する清酒製造に適する酵母である可能性が示唆された。

表1 研究所保存株の有機酸生成能

	きょうかい 601号	きょうかい 701号	保存株A	保存株B	保存株C	保存株D
乳酸(mg/L)	174	158	193	173	170	160
コハク酸(mg/L)	138	132	137	181	131	143
リンゴ酸(mg/L)	44	47	84	36	44	42
クエン酸(mg/L)	35	41	51	32	31	32
コハク酸/リンゴ酸	3.1	2.8	1.6	5.0	3.0	3.4

表2 保存株Aから取得した泡なし株の有機酸生成能

	保存株A	泡なし株 1	泡なし株 2	泡なし株 3	泡なし株 4	泡なし株 5
コハク酸(mg/L)	137	148	150	150	106	105
リンゴ酸(mg/L)	84	49	51	52	76	72
クエン酸(mg/L)	51	28	33	32	45	45
コハク酸/リンゴ酸	1.6	3.0	2.9	2.9	1.4	1.5

表3 保存株Bから取得した泡なし株の有機酸生成能

	保存株B	泡なし株 1	泡なし株 2	泡なし株 3	泡なし株 4	泡なし株 5
コハク酸(mg/L)	181	261	263	260	144	260
リンゴ酸(mg/L)	36	89	86	82	43	82
クエン酸(mg/L)	32	84	68	70	34	69
コハク酸/リンゴ酸	5.0	2.9	3.1	3.2	3.3	3.2

### 3.2 泡なし株の取得と特性把握

特徴的な有機酸生成能を有していた保存株A及びBは、両株ともろみで高泡を生成する酵母であったことから、これらの酵母から泡なし酵母を取得することを試み、それぞれの株から30株以上の泡なし株を取得した。

取得した泡なし株が親株と同様の特性を有していることを確認する必要があるため、5%のグルコース濃度に調製したYPD培地を用いて有機酸生成能に関する分析を行った。

保存株Aから取得した泡なし株について分析を行った結果の一部を表2に示す。得られた泡なし株の中でも親株の保存株Aと同様にリンゴ酸に対して相対的にコハク酸の少ないものが得られ、以降の実験では表2の泡なし株4（以降「A泡なし株」という。）を使用した。

保存株Bから取得した泡なし株について分析を行った結果の一部を表3に示す。得られた泡なし株の中では、親株の保存株Bほどではないが、リンゴ酸に対して相対的にコハク酸の多い株が得られ、以降の実験では表3の泡なし株4（以下「B泡なし株」という。）を使用した。

### 3.3 小仕込試験

泡なし株として取得した有機酸生成能に特徴を有する酵母（A泡なし株及びB泡なし株）を $\alpha$ 化米と乾燥麴を使用した小仕込試験により特性を評価した。試験中の炭酸ガス発生量からすると、両泡なし株はそれぞれの親株と同等の発酵能を示した。

小仕込試験により得られた生成酒の有機酸の特徴を表4にまとめた。結果、A泡なし株の酸度は親株よりもやや低く、親株と同様にコハク酸の比率が相対的に

低い酵母であった。一方、B泡なし株はコハク酸の比率が相対的に高い酵母であった。これらの結果は簡便なスクリーニングに使用したYPD培地を用いた有機酸生成能試験の結果と一致しており、得られたそれぞれの株は清酒製造における有機酸生成でもYPD培地を用いた有機酸生成能試験の結果と同様の特性を有していると考えられた。

コハク酸の比率が相対的に低くなるとリンゴ酸の特徴が味に出やすくなり、爽快な酸味を感じる冷酒に向けた清酒に仕上がると考える。一方、コハク酸の比率が相対的に高くなると味にコクが付与されて、燗酒に向く清酒になると考える。今回得られたA泡なし株は冷酒向けの酵母として、一方B泡なし株は燗酒用の酵母としての特性を有していると考えられた。

### 3.4 A泡なし株を使用した清酒製造

得られた泡なし株のうち、A泡なし株については新規の冷酒に向けた酵母として実際の製造現場で使用し、その特性を評価した。

A泡なし株の実製造については、田んぼと酒蔵のあるまちづくり推進事業組合（構成：京都中央農業協同組合、伏見酒造組合、京都市洛南土地改良区／事務局：京都市産業観光局東部農業振興センター）が中心となり、伏見の農家が育てた酒造好適米の祝を、伏見の蔵元（株式会社山本本家）が使用し清酒を製造するという事業で行った。

実際に製造された清酒の分析結果を表5に示す。コハク酸とリンゴ酸の比率については、ほぼ1:1となっており、きき酒の結果も爽やかな酸味を感じられる清酒となっていた。これらの結果から、今回新たに取得したA泡なし株については実製造においても相対的にコハク酸の生成量が低くなっており、冷酒の製造に適

表4 小仕込試験の清酒分析結果

	きょうかい 701号	保存株A	保存株B	A泡なし株	B泡なし株
酸度(mL)	3.5	3.2	3.0	2.8	3.6
コハク酸(mg/L)	666	772	778	601	840
リンゴ酸(mg/L)	310	290	192	364	236
コハク酸/リンゴ酸	2.1	2.7	4.1	1.7	3.6

した酵母であることが判った。今後、この株については「京の咲(さく)」という名称で研究所から分譲していく予定にしている。

表5 A泡なし株を使用した清酒の分析結果

アルコール分	17.5
日本酒度	+5.5
酸度(mL)	1.9
アミノ酸度(mL)	0.8
酢酸エチル(mg/L)	60
酢酸イソアミル(mg/L)	2.7
イソアミルアルコール(mg/L)	140
カプロン酸エチル(mg/L)	1.4
乳酸(mg/L)	448
コハク酸(mg/L)	320
リンゴ酸(mg/L)	316
クエン酸	67

No.4, p.97(2014).

- 4) 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).
- 5) 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).
- 6) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所研究報告, No.2, p.30(2012).

#### 4. まとめ

今回、清酒の味に影響を与える有機酸の生成に特徴を有する酵母の選択を行った。その結果、特徴的な酵母を選び出し、それらの泡なし株を取得することができた。それらのうち相対的にコハク酸の生成量が少ない酵母は冷酒向け酵母として実際の製造に使用し、今後は「京の咲」という名称で分譲を開始する予定である。また、相対的にコハク酸の生成量の多いものは燗酒用の酵母として今後実用化を目指していく予定である。

#### 謝辞

「京の咲」を使用した清酒製造にご協力いただきました株式会社山本本家及び京都市産業観光局東部農業振興センターの皆様に対し、ここに謝意を表します。

#### 文献

- 1) 松田章他:日本醸造協会誌, 105, 39(2010).
- 2) K. Ouchi and H. Akiyama: Agric. Bio. Chem.35, 1024(1971).
- 3) 廣岡青央他:京都市産業技術研究所研究報告,