

# 清酒酵母性能評価システムの開発（第2報） －試験製造法の確立－

バイオ系チーム 廣岡 青央, 清野 珠美

## 要 旨

清酒の香味に影響を与える成分である多くのエステル、高級アルコールや有機酸については清酒酵母が発酵中に生成する。そのため、清酒製造に使用する清酒酵母は製造される清酒の香味に多大な影響を与える。清酒酵母は様々な特性を有するものが存在しており、新規に開発した清酒酵母が実製造でどのような香味成分を生成するかを把握することは、開発した清酒酵母の実用化には必須である。

そのため製造現場に還元することが可能となる実製造に近い試験製造法を検討した結果、新たな試験製造法により清酒酵母の特性を把握することが可能となった。

## 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。

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）を進めている。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実施している。

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」にとっ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おり、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、これらの有機酸の生成に特徴を有する清酒酵母の開発については既に報告した<sup>1)</sup>。

本研究では新規清酒酵母開発と並び、開発した清酒酵母の特性を解析し、製造現場に還元できる試験製造法の確立を目的としている。そこで、清酒酵母の性能評価のできる清酒試験製造法について検討を行ったので報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 原料米水分量の測定

ケットの米麦水分計（PB-1K）により測定した。

### 2.2 麴の酵素活性測定

$\alpha$ -アミラーゼ測定キット、糖化力分別定量キット及び酸性カルボキシペプチダーゼ測定キット（キッコーマンバイオケミファ株式会社）を用いて測定した。

### 2.3 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。

### 2.4 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>2,3,4)</sup>に準じて行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 原料処理法の検討

清酒製造に使用される原料米は一般的には精米歩合が70%以下のものが多く、吟醸酒となると60%以下の原料米が使用されている。高精白米は精米時に発生する熱により水分量が減少しており、それが原因で洗米時に急激に水分を吸収し、時間の経過とともに必要以上に水分を吸収してしまう。そのため、高精白米を使用した清酒製造では浸漬の時間を限定して原料米に適切な水分を吸収させる手法が用いられている。これは高精白米を利用した清酒製造では大変重要な技術であるが、経験と勘に依存している部分が多く、研究所で再現することは難しいと判断した。

そこで、研究所では水分量の減少した精白米に空気中の水分を吸収させる調湿法により原料米の水分量を調整し、原料処理をすることとした。高精白米の水分

は概ね10%程度まで減少しており、この水分量を16%程度まで増加させることを目的とした。

手法としては、恒温恒湿器（ヤマト科学株式会社 IW223）を使用し、湿度と温度のプログラムを種々検討した。急激に湿度が高い環境に原料米を投入すると、米の割れが確認された。そこで十分に時間をかけて湿度を上昇させるプログラムを考案した（図1）。また、原料米はステンレス製の網カゴにできる限り薄く広げた状態で恒温恒湿器に投入した結果、ほぼ米の割れを発生させず、調湿させることに成功した（精米歩合50%の山田錦の調湿後の重量は初期重量の約8%増）。

調湿した原料米を洗濯用ネットに入れ、ボールに水を流しながら5分ほど揉み洗いし、そのままボールに水を溜め、ネットごと1時間浸漬した後、野菜水切り器で水切りし、浸漬後重量を測定した。この洗米の操作により精米歩合50%の山田錦では、再現性良く調湿前の重量の約127%増になった。このように、調湿した原料米は長時間の浸漬でも過剰な水分を吸収することなく、ほぼ安定した吸水率で原料米を処理することが可能となった。

### 3.2 蒸きょう法の検討

原料米を蒸す目的はデンプンの $\alpha$ 化が目的であるが、理想的には内部まで十分に蒸気が入り込み、原料米の外側には過剰な水分が付着していないことが求められる（いわゆる外硬内柔の状態）。当初は家庭用や業務用の蒸し器等を活用して原料米を蒸していたが、蒸気の強さに限界があり、うまく原料米が蒸し上がらない（中心まで十分に蒸気が到達しない）という問題があった。そこで、原料米の中心まで十分蒸気を到達させるため、家庭用の圧力式電気鍋（アルファックス・

コイズミ株式会社 APC-T19）を活用することを検討した。一度に蒸せる量は限られるものの、加圧条件下で20分保持することで原料米の中心まで蒸気が到達し、再現性よく原料米を蒸すことが可能になった（調湿前の重量の約40%増）。

### 3.3 製麴法の検討

製麴は清酒製造の工程のなかでも、特に清酒品質に大きな影響を及ぼす工程である。適切に処理された原料米に最適な量の種麴を接種し、適切に増殖させるという経験と勘を必要とする工程である。麴の増殖は温度と湿度により影響を受けることから、再現性よく製麴を行うため今回、恒温恒湿器（ヤマト科学株式会社 IW223）を活用して製麴法の検討を行った。

調湿した原料米400gを蒸きょう後、揉みこみながら放冷し、温度32℃、初期重量の約130%程度まで減少した時点で、ゴアテックス布に蒸米を薄く広げ、種麴0.1gをガーゼで3重包みにしたものを、蒸米表面に均等に接触させて胞子を蒸米に接触させた。その後、品温が30℃以下にならないようにすばやく蒸米を揉みこみ、ゴアテックス布で包み、さらに水で濡らし適度に絞った麻布でゴアテックス布の外側を包み、2Lポリビーカーに入れ湿った麻布をビーカーの上に被せた状態で、すでにプログラムを作動させておいた恒温恒湿機に入れた。

製麴用の温度湿度のプログラムについては、麴の増殖を大きく2段階に単純化し検討した（図2）。増殖前半では湿度を90%以上に維持し、20時間後に盛りの操作を行った。盛りは、ゴアテックス布の上でしっかりほぐし、タッパーに取り出した蒸米に、ゴアテックス布と網かごを上からかぶせ、ひっくり返し、そのまま恒温恒湿機に戻した。

原料米調湿プログラム

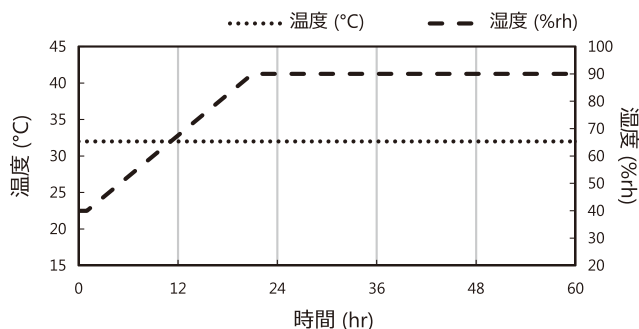


図1 原料米調湿用の温度湿度プログラム

製麴プログラム

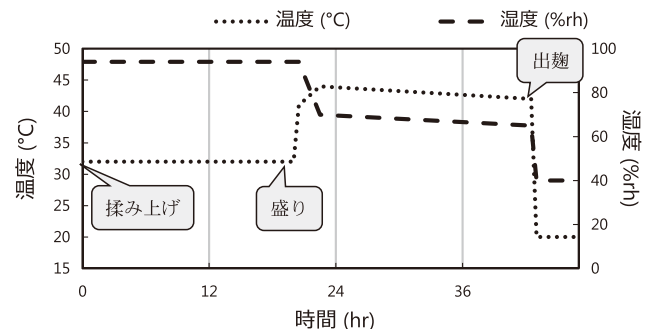


図2 製麴の温度湿度プログラム

盛り後は湿度が高い状態で一気に温度を41℃まで上昇させ、気化熱による温度の低下を防ぎ、温度が上がった状態からさらに44℃まで温度をあげる一方、湿度を70%まで下げた。この過程で気化熱が奪われることにより麴の温度は下がってしまうが、室温を44℃まで上げることにより、40℃以下になることを防ぐこととした。その後徐々に湿度を下げ、麴表面の水分を揮発させるとともに、気化熱により温度を低下させないために、室温は42℃まで少しずつ低下させた。これらは、一度に製造できる麴の量が最大400g程度であることから、麴の発酵熱による温度上昇が見込めず、さらに麴のはぜこみを促進するために湿度を下げ、米から気化熱が奪われてしまうことを鑑みて、後半で温度を40℃以上で維持できる条件を検討した結果から得られたプログラムである。

仲仕事、仕舞仕事については、決まった時間に作業はせず、1～2時間おきに品温を計測し、時々、手入れ、あるいは網かごとタッパーを振って、均一化させる作業を行った。

出麴のタイミングで温度と湿度を一気に下げ、麴を乾燥させ、乾燥工程が終わったら、恒温恒湿機から取り出し、出麴重量を測定した。この手法にて製造した麴の酵素活性を表1に示す。

表1 麴の酵素活性(一例)

グルコアミラーゼ(U/g)	262
α-アミラーゼ(U/g)	615
酸性カルボキシペプチダーゼ(U/g)	2232

国税庁所定分析法の値に換算し表記した。

### 3.4 仕込み配合の検討

清酒酵母性能評価システムの開発では、既にリンゴ酸生成に特徴を有する清酒酵母「京の咲」を開発している。この酵母は生成する有機酸のうち、リンゴ酸の生成量が多く冷酒製造に向けた清酒酵母として開発したものである。この酵母の性能を評価するため、今回表2の仕込み配合、表3の温度経過にて試験製造を行った。もろみ日数20日で重量減少(炭酸ガス発生量)は約110gであった。

### 3.5 製造した清酒の分析結果

もろみを遠心分離により固液分離し、上清につい

表2 仕込み配合

	麴(g)	蒸し米(g)	水(mL)
水麴	20	0	90
初添	0	60	0
仲添	30	120	140
留添	30	180	230

表3 もろみの温度管理プログラム

日	数	設定温度(℃)
水	麴	15
初	添	15
	踊	15
仲	添	9
留	添	7
	2	8
	3	9
	4	10
	5	11
	6	12
	7	13
	8	14
	9	14
	10	14
	11	13
	12	12
	13	11
	14	10
	15	9
	16	8.8
	17	8.6
	18	8.4
	19	8.2
	20	8

て、清酒規格分析、香気成分分析、有機酸分析を行った。これらの結果を表4にまとめた。このデータと京の咲を利用して製造された清酒のデータ(実製造データ)と比較すると、香味に影響があるエステルや高級アルコール、有機酸のうち、数値の異なる項目(カブロン酸エチルや乳酸等)もあるものの、概ね同じような数値となっており、さらには京の咲の特徴であるリンゴ酸の生成という観点では、どちらの結果もリンゴ酸とコハク酸の比率がほぼ同じとなっていることから、今回確立した手法により実製造での清酒酵母の特性を評価することができることがわかった。

表4 「京の咲」を使用した清酒の分析結果

	実製造	試験製造
アルコール分(%)	17.5	17.5
日本酒度	+5.5	+1.3
酸度(mL)	1.9	2.2
アミノ酸度(mL)	0.8	1.3
酢酸エチル(mg/L)	60	52
酢酸イソアミル(mg/L)	2.7	3.7
イソアミルアルコール(mg/L)	140	139
カプロン酸エチル(mg/L)	1.4	0.5
乳酸(mg/L)	448	718
コハク酸(mg/L)	320	370
リンゴ酸(mg/L)	316	380
クエン酸(mg/L)	67	64

#### 4. まとめ

清酒の香味に影響を与える成分のエステル、高級アルコールや有機酸については清酒酵母が発酵中に生成するため、新たに開発した清酒酵母の特性を評価することは実用化には必須である。

今回、清酒酵母の特性を把握するための清酒試験製造法の検討を行った結果、試験製造の結果が現場での製造のデータとほぼ同じ傾向を示す試験製造条件を確立することができた。今後これらの試験製造のデータを製造現場にフィードバックすることにより清酒酵母の実用化をすすめることができると考えている。

#### 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).