

各種三重県酵母を用いて醸造した清酒の成分比較

小澤敦揮*, 丸山裕慎*, 山崎栄次*

Comparison of the Sake Characters Brewed with the Sake Yeasts Developed by Mie Prefecture Industrial Research Institute and Typical Sake Yeasts

Atsuki OZAWA, Hironori MARUYAMA and Eiji YAMAZAKI

1. はじめに

三重県工業研究所では 5 種の三重県酵母 (MK-1, MK-3, MK-5, MK-7, MLA-12) を育種し, 県内清酒製造企業に分譲している。これらの酵母はそれぞれ特徴的な有機酸や香り成分を生産し (表 1), 県内清酒の多様化に貢献している^{1,2)}。三重県酵母の個々の醸造特性は既に判明しているが, 代表的な清酒酵母であるきょうかい酵母と比較した際の醸造特性については, 完全には判明していない。実際に県内企業からは, きょうかい酵母と三重県酵母の間における醸造特性の違いについて, 多くの相談が寄せられている。そこで本研究では, 三重県酵母ときょうかい酵母を用いて小仕込み試験を行い, それぞれの製成酒の成分を比較した。

2. 実験方法

2. 1 供試菌株

供試菌株として, 三重県酵母 5 株 (MK-1, MK-3, MK-5, MK-7, MLA-12) 及びきょうかい酵母 3 株 (きょうかい 701 号, きょうかい 901 号, きょうかい 1801 号, 日本醸造協会) を用いた。

2. 2 原材料

原材料として, 60%精米の麴 (三重県産山田錦, (株) 福持酒造場), 60%精米の α 化米 (AA-60, 徳島製麴 (株)) を用いた。

2. 3 清酒酵母の小仕込み試験

仕込みは総米 100 g の一段仕込みとした。麴歩合 20%, 汲水歩合 162%にて行い, 乳酸を 0.05

mL 添加した。各酵母は半合成培地 (酵母エキス: 0.5% (w/v), ポリペプトン: 0.5% (w/v), グルコース: 5.0% (w/v)) で 30°C, 48 時間静置培養し, もろみの初発菌体濃度が約 2.5×10^6 cells/mL となるように汲水で調整して仕込んだ。発酵温度は 12.5°C で一定とした。仕込み開始日を 1 日目とし, 25 日目に遠心分離 (5,000 rpm, 10°C, 10 分) にて上槽し, 得られた上清を製成酒とした。

2. 4 成分分析

日本酒度, 酸度, アミノ酸度及び香り成分は国税庁所定分析法³⁾に基づき測定した。酸度, アミノ酸度の測定には自動滴定装置 (COM-1700, 平沼産業 (株)) を用いた。香り成分の測定はヘッドスペースクロマトグラフィーにより行った⁴⁾。ガスクロマトグラフは GC-14A ((株) 島津製作所) を用いた。カラムは DB-WAX (Agilent Technologies, 内径 0.32 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μ m) を用い, カラム温度は 80°C から 160°C まで 10°C/min で昇温した。キャリアーガスはヘリウム及び窒素を用い, 流速は 35 mL/min とした。検出器は GC-14A 付属の水素炎イオン化検出器 (FID) を使用し, 検出器温度は 230°C とした。アルコール分 (% (v/v)) は高速液体クロマトグラフ (2695, Waters) を用いて測定した。カラムは Rezex ROA-Organic Acid H+(8%) (Phenomenex) を使用し, カラム温度は 60°C, 移動相は硫酸水溶液 (0.005 N, 0.6 mL/min) を用いた。検出器は示差屈折率計 (2414, Waters) を使用し, 検出温度は 40°C とした。有機酸濃度 (mg/L) (クエン酸, リンゴ酸, コハク酸, 乳酸, 酢酸) は高速液体クロマトグラフ (2695, Waters)

* 食と医薬品研究課

を用いたポストカラム法により測定した。カラムは RSpak KC-811 (昭和電工 (株)) を用い、カラム温度は 60 °C とし、移動相は過塩素酸水溶液 (0.005 N, 1.0 mL/min) を用いた。カラムで分離した後、反応液 (0.2 mM プロモチモールブルー (BTB), 15 mM Na₂HPO₄, 1.0 mL/min) と混合し、BTB で発色した有機酸の波長 445 nm での吸光度を フォトダイオードアレイ検出器 (996, Waters) により測定した。グルコース濃度 (% , w/v) はグルコース CII テストワコー (和光純薬工業 (株)) により測定した。

3. 結果と考察

3. 1 清酒酵母の醸造特性比較

清酒酵母 8 株を用いた小仕込み試験における製成酒の成分分析結果を表 2 に示す。これらは全て

一度の試験の結果であり、各分析値において検定による有意差の検出は行っていない。

いずれの酵母による製成酒でも、酢酸濃度が非常に高かった。これはもろみの温度を下げず追い水も加えなかったため、糖化が進んで酵母が濃糖圧迫を受け、酢酸を多量に生産したためと思われる⁵⁾。

MK-1 を用いた製成酒は、きょうかい酵母を用いたものに比べて酢酸イソアミル濃度が高く、グルコース濃度及び酢酸濃度が低かった。また酸度については、酸生成が少ないとされるきょうかい 1801 号と同程度だった。以上の結果は、MK-1 は酸生成が少なく酢酸イソアミルを主体とした香気成分を生産するという既知の情報 (表 1) と一致していた。

MK-3 を用いた製成酒は、きょうかい酵母を用

表 1 三重県酵母の醸造特性

| 品名 | 参考情報 |
|--------|---|
| MK-1 | 純米酒向きで、酸生成が低く、香気成分は酢酸イソアミルを主体とする。 |
| MK-3 | 吟醸酒向きで、カプロン酸エチルを主体とした香気成分の生成が高い。 |
| MK-5 | 普通酒向きで、コハク酸生成が高く、濃醇なタイプの清酒製造に適する。 |
| MK-7 | 純米吟醸酒向きで、コハク酸生成が高く、香気成分はカプロン酸エチルを主体とする。 |
| MLA-12 | 低アルコール清酒向きで、リンゴ酸、乳酸生成が高い。 |

表 2 清酒酵母 8 株による製成酒の成分分析結果

| | アルコール分 (%) | 日本酒度 | 酸度 (mL) | アミノ酸度 (mL) | グルコース (%) | 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) |
|------------|------------|------|---------|------------|-----------|--------------|----------------|-------------------|-----------------|
| MK-1 | 14.4 | -46 | 3.51 | 2.61 | 6.78 | 54.6 | 1.7 | 104.7 | 0.1 |
| MK-3 | 15.7 | -36 | 3.45 | 2.48 | 6.48 | 50.4 | 1.5 | 108.4 | 2.5 |
| MK-5 | 11.9 | -65 | 4.65 | 3.25 | 9.69 | 39.7 | 0.5 | 75.6 | 0.0 |
| MK-7 | 12.3 | -55 | 4.04 | 2.83 | 10.32 | 51.6 | 0.6 | 99.5 | 1.0 |
| MLA-12 | 14.8 | -44 | 4.07 | 2.24 | 8.95 | 49.2 | 9.8 | 503.6 | 0.9 |
| きょうかい701号 | 14.1 | -42 | 3.99 | 2.58 | 7.85 | 55.2 | 1.4 | 115.5 | 0.2 |
| きょうかい901号 | 14.1 | -48 | 3.98 | 2.73 | 8.49 | 46.7 | 1.3 | 102.8 | 0.1 |
| きょうかい1801号 | 15 | -43 | 3.51 | 2.65 | 7.80 | 50.6 | 1.2 | 115.4 | 1.5 |

| | クエン酸 (mg/L) | リンゴ酸 (mg/L) | コハク酸 (mg/L) | 乳酸 (mg/L) | 酢酸 (mg/L) |
|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----------|
| MK-1 | 192 | 76 | 913 | 973 | 1356 |
| MK-3 | 190 | 110 | 755 | 981 | 1150 |
| MK-5 | 210 | 51 | 987 | 948 | 2633 |
| MK-7 | 168 | 74 | 1085 | 1076 | 1670 |
| MLA-12 | 226 | 1332 | 792 | 1026 | 826 |
| きょうかい701号 | 181 | 71 | 924 | 1046 | 1817 |
| きょうかい901号 | 181 | 96 | 788 | 945 | 1819 |
| きょうかい1801号 | 230 | 78 | 667 | 902 | 1428 |

いたものに比べてアルコール分、日本酒度及びカプロン酸エチル濃度が高く、グルコース濃度及び酢酸濃度が低かった。酸度についてはきょうかい1801号と同程度だった。以上の結果は、MK-3はカプロン酸エチル濃度を主体とした香气成分を生産するという既知の情報(表1)と一致していた。加えて、MK-3はきょうかい酵母に比べて酸生成が少なく、また発酵力が高いことが示唆された。

MK-5を用いた製成酒は、きょうかい酵母を用いたものに比べて酸度、アミノ酸度、グルコース濃度、コハク酸濃度及び酢酸濃度が高く、アルコール分及び日本酒度が低かった。一方で香气成分はいずれもきょうかい酵母より低かった。また酢酸濃度が高かったことから、MK-5はきょうかい酵母に比べて濃糖による影響を受けやすいと思われた⁵⁾。以上の結果は、MK-5はコハク酸生成が多く濃醇な清酒に向くという既知の情報(表1)と一致していた。加えて、MK-5はきょうかい酵母に比べて発酵力が弱いことが示唆された。

MK-7を用いた製成酒は、きょうかい酵母を用いたものに比べてアミノ酸度、グルコース濃度及びコハク酸濃度が高く、アルコール分、日本酒度、酢酸イソアミル濃度及びイソアミルアルコール濃度が低かった。また香气成分はカプロン酸エチル濃度がきょうかい酵母701号及び901号より高かった。以上の結果は、MK-7はコハク酸生成が多くカプロン酸エチル濃度を主体とした香气成分を生産するという既知の情報(表1)と一致していた。加えて、MK-7はきょうかい酵母に比べて発酵力が弱いことが示唆された。またアミノ酸度が高かったことから、MK-7はアミノ酸生成が多いか、死滅によりアミノ酸を放出しやすいことが示唆された。

MLA-12を用いた製成酒は、きょうかい酵母を用いたものに比べて酢酸イソアミル濃度、イソアミルアルコール濃度及びリンゴ酸濃度が顕著に高かった。またグルコース濃度が高く、アミノ酸度及び酢酸濃度が低かった。以上の結果は、MLA-12はリンゴ酸生成が多いという既知の情報(表1)と一致していた。加えて、MLA-12はきょうかい酵母に比べて酸生成及び酢酸イソアミル、イソアミルアルコールの生成が多く、また酢酸生成が少ないことが示唆された。リンゴ酸高生産酵母にお

いては酢酸生成が少ない場合があるとされており、MLA-12においても同様の傾向が確認できた⁶⁾。

4. まとめ

三重県酵母及びきょうかい酵母を用いて小仕込み試験を行い、きょうかい酵母と比較した際の三重県酵母の醸造特性を調べた。その結果、それぞれの三重県酵母について、発酵力や有機酸、香气成分の生成等においてきょうかい酵母とは異なる特性が見られた。今後は同様の小仕込み試験により、本試験の結果の再現性を確認する必要がある。いずれ各酵母の特性を生かした仕込み方法についても検討し、県内清酒醸造企業の望む酒質に対応した酵母を提案していきたい。

参考文献

- 1) 中林 徹ほか：“優良清酒酵母の選抜”。三重県工業研究所研究報告, 36, p78-80 (2012)
- 2) 栗田 修ほか：“非乳酸資化性リンゴ酸デヒドロゲナーゼ低生産性酵母による低アルコール清酒実地醸造試験”。日本醸造協会誌, 93(10), p825-832 (1998)
- 3) 注解編集委員会編：“第四回改正国税庁所定分析法注解”。公益財団法人日本醸造協会, p16-24, 273 (1993)
- 4) O. Kurita et al.：“Increase of acetate ester - hydrolysing esterase activity in mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia anomala*”。*J. Appl. Microbiol.*, 104(4), p1051-1058 (2008)
- 5) T. Hirokazu et al.：“Analysis of the pyruvate permease gene (JEN1) in glucose derepression yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from a 2-deoxyglucose-tolerant mutant, and its application to sake making”。*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67(4), p765-771 (2003)
- 6) 中山俊一ほか：“清酒酵母の有機酸生成機構：レドックスバランスの制御という新しい観点”。日本醸造協会誌, 108(12), p856-862 (2013)