

県内資源からの清酒酵母の探索・育種と醸造技術の開発(第3報)

吉村明浩、澤井美伯、正木和夫*、周延*、五島徹也*、赤尾健*

Development of highly ethyl caproate-producing sake yeast strain G (III)

Akihiro YOSHIMURA, Yoshimori SAWAI, Kazuo MASAKI*, Zhou YAN*, Tetsuya GOSHIMA* and Takeshi AKAO*

岐阜県の清酒製成数量のうち70%は特定名称酒であり、特に純米吟醸酒の製成数量は年々増加している。吟醸酒の魅力の一つは吟醸香と呼ばれる果実様の香りであり、最近吟醸香の中でも「カプロン酸エチル」に由来するリンゴ様の華やかな香りが好まれている。カプロン酸エチルは発酵中に酵母により生成される。そこで、県保有の清酒酵母、G酵母(NF-G)を元に、カプロン酸エチル高生産性酵母の開発を行った。

本年度は集積した変異株から、(1) 香氣成分、(2) 発酵力および(3) 既存酵母使用酒との違いを指標に3つの変異株を再評価した。始めに発酵試験に供し、カプロン酸エチルをNF-Gの2.4倍生産し、NF-Gと同等の発酵力を備えた変異株、Ce18を選出した。小仕込み試験において、Ce18はカプロン酸エチル濃度がNF-G (2.0 ppm) と既存酵母 (8.0 ppm) の中間 (7.0 ppm) に位置し、日本酒度は-12.7とNF-Gの-10.0に近い値を示し、酵母特性の違いが確認できた。試験醸造においても、Ce18はNF-Gと発酵力が同等であることが再現され、カプロン酸エチル生成量も3.6倍 (3.6 ppm) を示した。官能評価においても、香氣成分の華やかさが評価され、実用酵母として有用と判断した。

酒造場での試験醸造においても酵母特性が確認できたことから、県内酒造場への頒布を開始し、平成30酒造年度に15酒造場にて実用化された。

1. はじめに

岐阜県では、特定名称酒の製成数量が全清酒製成数量の70%を超えており、特に純米吟醸酒は25.5%を占め、その割合も年々増加している¹⁾。吟醸酒は果実様の香りが魅力であり、国内外で人気が高い。吟醸酒特有の果実様の香り(吟醸香)は、華やかなリンゴ様の香りと、穏やかなバナナ様の香りに大きく分けられるが、最近の消費者にはリンゴ様の香りが好まれている。

清酒酵母は、呈味成分であるアルコールや有機酸の他、香氣成分のエステル類を生成し、清酒の香味形成に寄与する。岐阜県では平成9年にオリジナル清酒酵母「G酵母」を開発し、さらにG酵母を元に平成22年には泡なし酵母(NF-G)を育種した。NF-Gは酢酸イソアミルを主な香氣成分として生成する酵母²⁾で、発酵力の強さと少酸性を活かして純米酒の醸造を中心に利用されている。これまで本県には、リンゴ様の香氣成分「カプロン酸エチル」を多く生成する酵母はなく、県内酒造場では市販の酵母を利用していた。しかし、最近地産の原材料を使用することに価値が見いだされるようになり、県内酒造場から新酵母の開発が求められた。そこで、NF-Gを元にカプロン酸エチル高生産酵母の開発を行った。

これまでにNF-Gへの変異処理により、複数のカプロン酸エチル高生産変異株を取得した³⁾。本研究ではこれらの変異株から、発酵力に注目した選抜を行い、NF-Gと同等の発酵力を備えたCe18株を選出した。Ce18を用いて試験醸造を実施し、酒造場での実規模試験醸造を経て、実用

化に至ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 発酵試験

発酵力に注目した選抜は、総米100gの発酵試験により行った。仕込み配合は三井らの方法⁴⁾を参考に、乾燥麹20g(精米歩合60%、徳島製麹(株))、掛米80g(精米歩合60%、 α 化米、徳島製麹(株))、汲水180ml、乳酸0.6ml、酵母0.1 OD₆₆₀/ml-汲水とする一段仕込み、15℃一定で発酵させ、対照株のNF-Gの炭酸ガス減量が30gに達したところで上槽した。上槽は12,000 xg、10分間の遠心分離により行い、上清を製成酒として得た。醪の重量減少をアルコール生成に伴う、炭酸ガス減量として発酵経過を記録した。

2.2 小仕込み試験

供試株はCe18株、対照株にNF-G、きょうかいK1801を用いて、表1の仕込み配合で、酵母は 1.0×10^8 cells/ml-汲水となるよう添加し、総米600gの試験醸造を行った。

白米は60%精白のひだほまれを使用し、米麹は一括して製造し冷蔵保存したものを使用した。仕込みは初添15℃、仲添10℃、留添8℃とし、留添翌日から1日に1℃ずつ昇温し、環境温度12℃に達してから発酵終了まで保持した。発酵経過は経日的に醪重量を記録して追跡した。上槽は留添後20~21日目に遠心分離機を用いて行い、上清を製成酒として得た。

*独立行政法人 酒類総合研究所

2.3 試験醸造

Ce18株と対照株NF-G株を用いて、表2に示した仕込配合で、総米10 kgの純米吟醸酒の試験醸造を行った。

麴米および掛米は60%精白のひだほまれを使用した。酒母は中温速醸法を用いて育成し、仕込みは初添14℃、仲添10℃、留添7℃を目標とした三段仕込みで行った。製成酒の成分は、アルコール17.0%以上、日本酒度+3以上を目標値とした。発酵管理は、日本酒度、アルコール、酸度、アミノ酸度の分析結果を参考にしながら温度調整、追水等を行った。上槽は遠心分離機を用いて行い、製成酒と粕をそれぞれ回収した。

製成酒は岐阜県市販酒研究会に出品し、パネル11名により、使用酵母は隠してプロファイル法で評価した。

表2 総米10 kg試験醸造 仕込配合

	酒母	初添	仲添	留添	合計
総米 (kg)	0.6	1.65	3.09	4.66	10
蒸米 (kg)	0.4	1.1	2.4	3.9	7.8
麴米 (kg)	0.2	0.55	0.69	0.76	2.2
汲水 (L)	0.72	2.33	4.4	6.4	13.85
乳酸 (mL)	5.2	-	-	-	5.2
酵母 (mL)	14	-	-	-	14

2.4 その他

製成酒の分析は国税庁所定分析法に従って行い⁵⁾、香气成分はヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した⁶⁾。

3. 結果と考察

3.1 発酵試験

酵母の選抜方針は、(1) カプロン酸エチルを高生産すること、(2) 発酵力が強いこと、(3) 既存酵母とは異なる酒質が得られること、の3点を重視した。ここで、高濃度のカプロン酸エチル (8.0 ppm以上) を含む清酒醸造には、きょうかいK1801等の優れた市販酵母がある。酒質の異なる製品を得るため、NF-Gと市販酵母との中間のカプロン酸エチル濃度 (4.0ppm以上) を目標とした。また、従来のNF-Gは、もろみ後期の低温下でも発酵力が鈍らないという特性が酒造場から評価されていることから、この特性を維持するものを目標とした。

供試した3つの変異株 (Ce9、Ce18およびCe41) のうち、Ce18とCe41はNF-Gに近い発酵経過を示した (図1)。製成酒のアルコール度、日本酒度、カプロン酸エチル濃度は、Ce9はそれぞれ15.9%、-13.4、4.4 ppm、Ce18は16.3%、-9.4、4.5 ppm、Ce41は16.1%、-12.3、10.8 ppmであった。NF-G製成酒では、それぞれ16.3%、-9.2、1.9 ppmであった。発酵経過、アルコール度および日本酒度から、Ce18はNF-Gに近い発酵力を有すると推測された。またカプロン酸エチル生成量もNF-Gの2.4倍であることから、Ce18を候補株として、以下の試験に供した。

表1 総米600 g試験醸造 仕込配合

	初添	仲添	留添	合計
総米 (g)	105	195	300	600
蒸米 (g)	60	165	240	155
麴米 (g)	45	30	60	45
汲水 (mL)	165	225	438	276
乳酸 (mL)	0.6	-	-	0.6
酵母 (mL)	6.0	-	-	6.0

3.2 小仕込み試験

総米600 gの小仕込み試験で得られた製成酒の成分値を表3に示した。対照株としてNF-GおよびK1801を用いた。Ce18製成酒のカプロン酸エチル濃度は7.0 ppmで、NF-G (2.0 ppm) の3.5倍となった。一方、カプロン酸エチルを高生産するきょうかい酵母、K1801 (8.5 ppm) と比べてわずかに低い値を示した。

炭酸ガス減量の推移から発酵力を比較したところ、Ce18はNF-Gとほぼ一致した経過を示し、同等の発酵力を有すると考えられた (図2)。Ce18製成酒のアルコール度と日本酒度は、それぞれ18.4%と-12.7で、NF-G製成酒の18.8%と-10とも、ほぼ一致していた。発酵試験との再現性も得られ、Ce18が親株のNF-Gと同等の発酵力を有することが確認できた。

Ce18製成酒とK1801製成酒の日本酒度および酸度を比較すると、Ce18はK1801と比べて辛口かつ少酸となった (表3)。Ce18の使用により、既存の酵母とは異なる酒質の清酒を醸造できることが示唆された。

3.3 試験醸造

発酵試験および小仕込み試験の結果において、Ce18は目標とする酵母特性を有することが示唆された。実醸造においても酵母特性を発揮できるかを確認するため、また製成酒の酒質を調べるために、総米10 kgの試験醸造を行った。Ce18では留添時の品温10.7℃で発酵を開始し、4日目に最高ボーメが7.0に達し、アルコール度は4.6%となった。13日目の品温11.4℃を最高温度として、15日目から徐々に品温を下げ、24日目に上槽した。醪の経過は図3Aに示した。NF-Gもほぼ同様に推移した (図3B)。醪管理はアルコール17.0%、日本酒度+3を目標値としてA-B直線を参考に、適宜追水と品温調整を行った。

いずれの酵母も最高品温は11℃と低く設定したが、醪期間は24日間と短期間で目標のアルコール度に達した。発酵後期の低温下でもボーメのキレが鈍ることなく、発酵は順調に進んだ。発酵試験および小仕込み試験において、Ce18の発酵力はNF-Gと同等であることが示唆されていたが、実際の醸造においても発揮されることが確認できた。

Ce18製成酒の一般成分は、NF-Gとほぼ一致していたが、カプロン酸エチル濃度は3.6倍となった (表4)。また、Ce18製成酒とNF-G製成酒のカプロン酸エチルと酢酸イソ

アミルとの比 (E.C./I.A.) は、それぞれ1.1と0.2となり、香氣成分に明らかな違いが現れた。

パネル11名による官能評価では、総合評価と味の評価に差は見られなかったが、香りの評価では酵母間に明確な特徴の違いが示された (表5)。

本試験醸造の結果、Ce18が選抜方針とした3つの条件を満たすことが確認できた。

3.4 実規模醸造

試験醸造の結果を受けて、県内酒造場3場の実規模での醸造を依頼した。酵母以外の、清酒の製法品質、原料米の種類や精米歩合などは各酒造場に一任した。純米大吟醸酒1点と純米酒2点が醸造された。

A社では最高温度15℃としたところ、発酵が非常に旺盛となり、短期醪に仕上がった。B社では最高温度12℃で経過させ、日本酒度+18.3まで切ることができた。C社は最高温度11℃で仕込みを行った。カプロン酸エチル生成量は3.6-8.7とまちまちであったが、全て試験醸造結果と同等以上であった。各社からの共通コメントとして、製成酒はカプロン酸エチルをはっきりと感じられるが、適度な強度である。醸造においてはNF-Gと同等に発酵力が強く、低温でも安心して使用できるとのことであった (表5)。

これらの結果を受けて、Ce18は実用酵母として使用可能と判断した。

4. まとめ

岐阜県オリジナルG酵母を元にカプロン酸エチル高生産株を育種し、カプロン酸エチル生成量、発酵力、既存酵母との違いを指標に選抜を行い、Ce18を得た。Ce18は発酵試験、小仕込み試験、試験醸造により、特性を調べ、所望の性質を有することが明らかとなった。実醸造においても再現性が得られたことから、県内酒造場に頒布を開始した。本株は岐阜県G酵母に続く、「G2酵母」との名称で平成30酒造年度には15酒造場にて実用化された (図5)。

【謝 辞】

本研究の実施にあたり、岐阜県酒造組合連合会ならびに岐阜県酒造技術者会の皆様には、試験醸造の実施や製成酒の評価に多大なる支援をいただきました。深く感謝申し上げます。

【参考文献】

- 1) 清酒製造状況アンケート調査, 岐阜県産業技術センター
- 2) 澤井美伯ら, 岐阜県産業技術センター研究報告, 5, pp.46-48, 2011.
- 3) 澤井美伯ら, 岐阜県産業技術センター研究報告, 8, pp.48-50, 2014.
- 4) 三井俊ら, あいち産業科学技術総合センター研究報告, pp.84-87, 2016.
- 5) 日本醸造協会, 国税庁所定分析法注解.
- 6) 吉沢淑, 醸協, 68(1), pp.59-61, 1973.

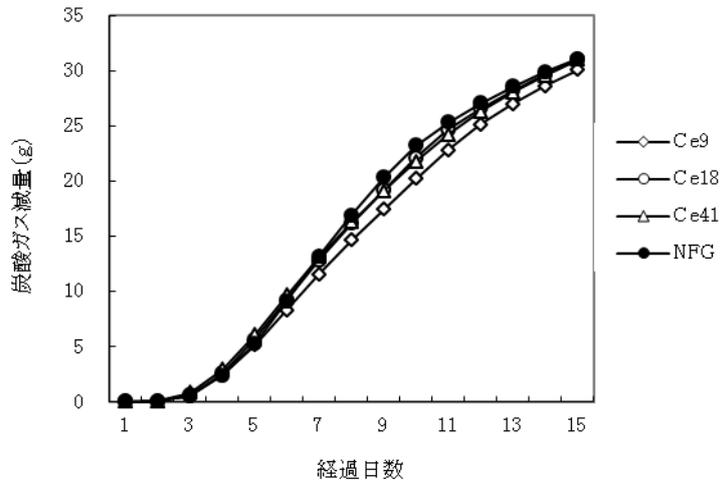


図1. 発酵試験における炭酸ガス減少量の推移

表3. 総米600 g小仕込み試験製成酒の成分

		Ce18	NFG	K1801
一般成分	アルコール (%)	18.4	18.8	17.9
	日本酒度	-12.7	-10	-19
	酸度	1.9	2.1	2.4
	アミノ酸度	1.9	1.9	1.7
香気成分 (ppm)	酢酸エチル	127.3	184.3	116.3
	酢酸イソアミル	7.7	13.3	7.4
	イソアミルアルコール	139.0	159.0	150.4
	カブロン酸エチル	7.0	2.0	8.5
	E.C./I.A.	1.0	0.1	1.1

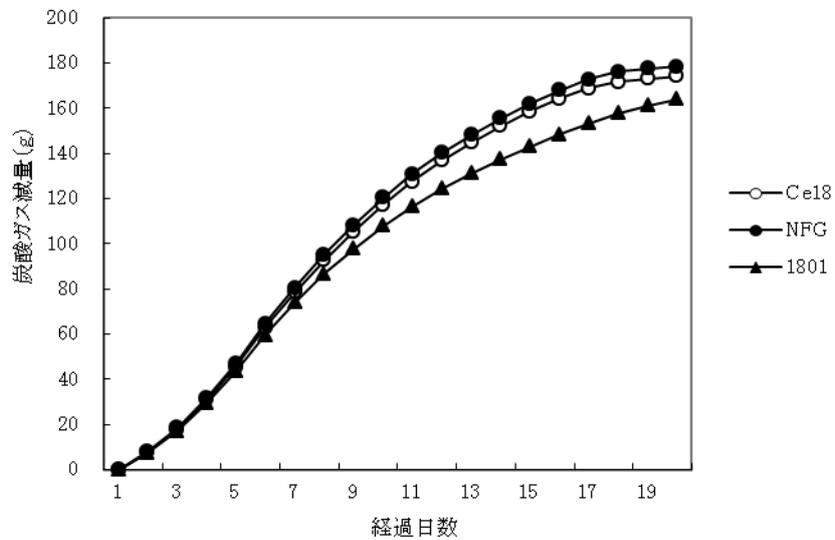
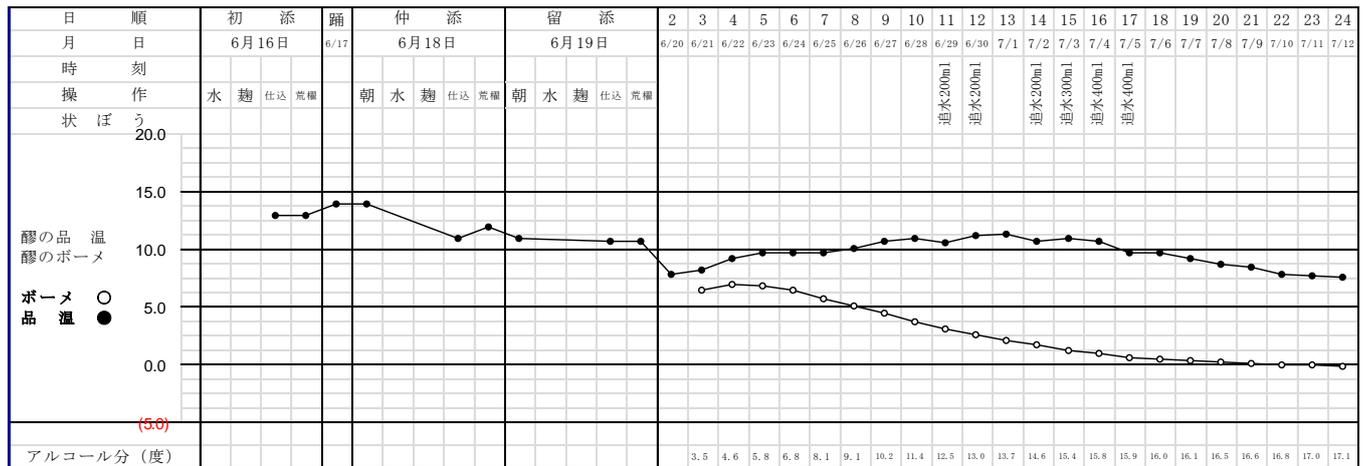


図2. 総米600 g小仕込み試験における炭酸ガス減少量の推移

A



B

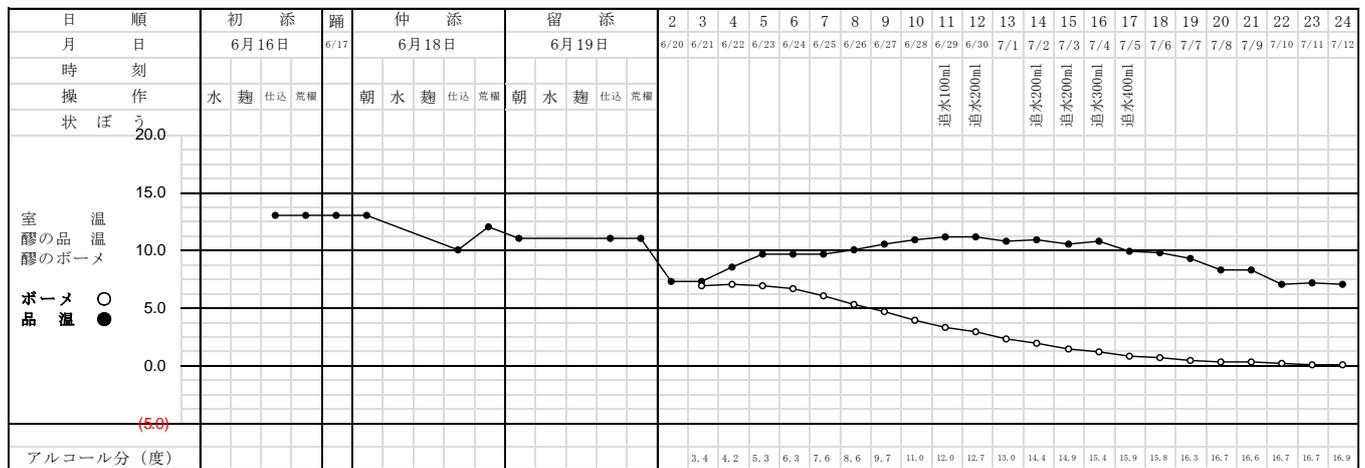


図3. 総米10 kg試験醸造における品温とボーマの推移. パネルA: Ce18、パネルB: NF-G

表4. 総米10 kg試験醸造酒の成分

		Ce18	NF-G
一般成分	アルコール (%)	17.3	17.2
	日本酒度	+0.7	+0.2
	酸度	1.8	1.9
	アミノ酸度	1.1	0.9
香気成分 (ppm)	酢酸エチル	93.5	130.1
	酢酸イソアミル	3.4	5.4
	イソアミルアルコール	100.3	117.0
	カプロン酸エチル	3.6	1.0
	E.C./I.A.	1.1	0.2
官能評価*	総合評価	2.6	2.6
	味 甘辛	1.4	1.7
	味 濃淡	1.5	1.6

*: 総合評価は1を優、5を不良とする5点法で評価した。甘辛は1を甘、3を辛とし、濃淡は1を濃、3を淡とする3点法で評価した。

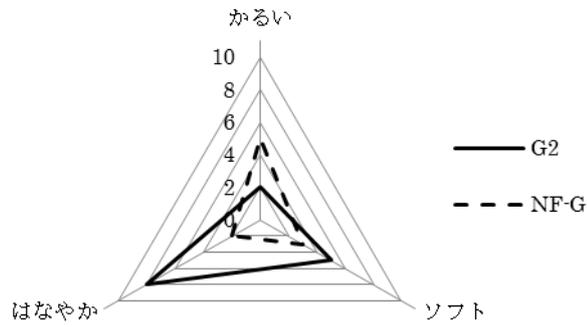


図4. 総米10 kg試験醸造酒の香り官能評価

表5. 実規模試験醸造酒の成分

		A (純米酒)	B (純米酒)	C (純米大吟醸酒)
一般成分	アルコール (%)	17.6	17.1	17.5
	日本酒度	-1.0	+18.3	+4.0
	酸度	1.5	1.2	1.7
	アミノ酸度	1.5	1.0	1.1
香り成分 (ppm)	酢酸エチル	77.1	59.0	64.4
	酢酸イソアミル	1.8	1.4	2.1
	イソアミルアルコール	114.3	98.5	116.6
	カブロン酸エチル	5.3	8.7	3.6



図5. 県内15酒造場によるG2酵母使用清酒