

佐賀県オリジナル醸造微生物の育種及び佐賀県産酒類の品質向上に関する研究 —佐賀酵母F4泡なし酵母の育種開発—

食品工業部
澤田和敬

平成 25 醸造年度 (H25BY) に県内に頒布開始した佐賀酵母F4泡なし株 (SAWA1 株) の発酵能改善のため、低温培養条件下による選抜、水-ヘキササン系による高泡形成能の判別及び選抜株の小仕込試験を行った。その結果、小仕込試験から SAWA1 株以上の発酵能を示し、有機酸及び香気成分の組成がほぼ同じであった有用株を選抜し、この菌株を用いた実地醸造試験を県内の酒造メーカーで行った。実地醸造試験では、酒母工程、醪工程を通じ、試験対照区の協会 901 号に比べ、バナナ様の香りをよく感じられ、『すっきりとした味で、香気成分に特長ある酵母』という蔵元からの評価を受けた。

1. はじめに

現在、清酒・焼酎の消費量は飲酒人口の減少や酒類の多様化により、低下する傾向にあり、また大量生産・大量消費の時代から多ロット・多品目・高付加価値化の時代に移行しつつある。

佐賀県では、「原産地呼称管理制度」により県産酒を審査、認定する制度を実施しており、消費者に佐賀県内の蔵元で造られた高品質の酒類を提供する取り組みを行っている。

工業技術センターでは、県内の蔵元に対し、佐賀酵母F4株及びF7株の2種類の酵母を提供してきた。

F4株は穏やかな香味を示すとともに発酵力が強いという特性を持ち、純米酒や純米吟醸酒に単独、或いは協会 1801 号などのカブロン酸高生産酵母と混合して用いられている。

しかし、F4株は仕込初期時に高泡を形成する『泡あり酵母』であることから、製造工程の合理化や作業効率の向上を求める蔵元からF4株の泡なしタイプの開発が求められていた。

そこで、前報ではF4株の泡なし株の取得、小仕込試験による醸造特性の把握及び実用化・普及に向けた実地醸造試験について報告した¹⁾が、蔵元から「より発酵力のある酵母」且つ「低温でのボーメのキレがよい酵母」が望ましいという意見があった。

そこで、本研究ではこれらのニーズに応える酵母の育種開発に取り組んだ。

2. 試験方法

2.1 使用培地

本研究に用いた麴エキス培地は、当センターで製麴した麴 1kg に対し、3～5Lの水を加え、55℃まで加

温し、8～16時間糖化後、ろ過した。沸騰水中でろ液を加熱し、氷で急冷後、静置し、上澄をBrix10°に調整した。

YPD培地は、1% yeast extract (BD Bacto™)、2% polypeptone (日本製薬株)、2% glucose (和光純薬株) を用い調製し、寒天培地には更に2% agar (和光純薬株) を用いた。

2.2 新規酵母の育種方法

前述の平成 25 年度に分離取得した F4 泡なし酵母 (SAWA 1 株) を YPD 寒天培地に適宜希釈塗布し、12℃ で 5 日間培養した。

生育したコロニーから、外観状スムーズで生育の良いコロニー 25 株を釣菌した。

2.3 高泡形成能の判別

2.2 で釣菌した株を大内ら²⁾の方法に従って、泡なしの判別を行った。すなわち、25株それぞれYPD培地に30℃、一昼夜振とう培養を行った。培養液を遠心分離器で集菌し、滅菌水で洗浄した後、リン酸緩衝液に懸濁し、静止菌体を調製した。静止菌体液にヘキササンを等量加え、激しく攪拌した後、静置し、ヘキササン相と水相の濁度で、泡あり・泡なしの判別を行った。

2.4 小仕込試験

2.2の方法により取得した分離株を難波ら³⁾の方法に従い、総米200gの小仕込試験を実施した。

仕込は一般的な三段仕込とし、麴歩合20%、汲水歩合140%となるよう設定した(表1)。

1日ごとに発酵容器の重量測定を行い、重量減少量を指標に醪の発酵経過を観察した。また、発酵試験は3連で行い、発酵温度は12℃で行った。

2.5 実地醸造試験

対照区に協会901号を、試験区に小仕込試験で選抜したF4泡なし酵母を用い、原料米及び同一仕込配合の

実地醸造試験を県内の蔵元で行った。比較対照区及び試験区の仕込み配合を表 2 に示した。

2.6 小仕込及び実地醸造試験の製成酒の分析

2.3及び2.4の試験により取得した製成酒のアルコール分、酸度の分析は国税庁所定分析法⁴⁾に準じた。

アルコール分の分析には、酒類分析システム（京都電子工業株式会社製、DA-645）を用いた。

製成酒の有機酸組成分析は高速液体クロマトグラフィー（株式会社島津製作所製、有機酸分析システム Prominence）を用いた、pH緩衝化ポストカラム電気伝導度法により測定した。

製成酒の香り成分組成分析は、藤井らの方法⁵⁾に準じ、ガスクロマトグラフ直結型質量分析計（株式会社島津製作所製、GCMS-QP2010）を用いて測定した。

3. 結果及び考察

3.1 泡なし酵母の分離及び高泡形成能の判別

図 1 に協会 901 号、F4 株及び分離試験株に対する高泡形成能の判別の画像を示した。膜組成の違いにより、高泡形成能を有する酵母はヘキサン相に凝集し、高泡形成能をもたない泡なし酵母は水相に凝集する。協会 901 号、F4 株で水相、ヘキサン相の濁度の違いが目視で確認することができ、本試験においても分離試験株による判別が可能であることが示された。

今回取得した 25 株中 12 株がヘキサン相に濁りが認めず、泡なし株であることが推測された。

3.2 小仕込試験結果

小仕込試験の発酵経過を図 2 に、有機酸組成の分析結果を表 3 に、発酵経過及び有機酸組成の結果から有望であった 5 株について行った香り成分分析の結果を表 4 に示した。

対照区として用いた協会 901 号、F4 株（親株）、SAWA 1 株と比較し、3.1 で取得した泡なし候補株 12 株は同等或いは同等以上の発酵能を示した。また、3.1 で示したヘキサン相の濁り方が異なる株を用いて、小仕込試験を行ったところ、ヘキサン相に濁りが認められた株はプラスレベルで高泡を形成し、一方ヘキサン相に濁りが認められなかった株は高泡を全く形成しなかった。

泡なし分離候補株 12 株の有機酸分析を行ったところ、SAWA1-1 株、SAWA1-3 株及び SAWA1-13 株の 3 つの菌株の製成酒の酢酸生成量が親株の約 10%以下に低減

されており、発酵パターンが親株と異なっていることが推測された。

12 株から発酵経過及び有機酸組成が有望と思われる株を選抜し、香り成分を測定した。その結果、SAWA 1-19 株が発酵力、有機酸及び香り成分組成について F4 株とほぼ同等であったことから、実地醸造試験に供する F401 株として選抜した。

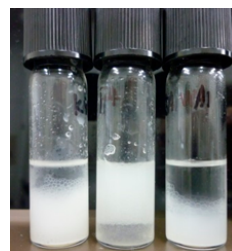


図 1 水-ヘキサンによる判別
(左より、協会 901 号、F4 株（泡有）、SAWA 1 株）

表 1 小仕込試験の仕込配合

	水麴	添	仲	留	計
総米 [g]	15	25	60	100	200
麴米 [g]	15		10	15	40
掛米 [g]		25	50	85	160
汲水 [mL]	50		70	150	270
酵母 [mL]	10				10
乳酸 [mL]	0.25				0.25

表 2 実地醸造試験の仕込配合

	酒母	添	仲	留	計
総米 [kg]	87	198	414	729	1428
麴米 [kg]	29	58	86	185	358
掛米 [kg]	58	140	328	544	1070
汲水 [L]	86	168	495	963	1712

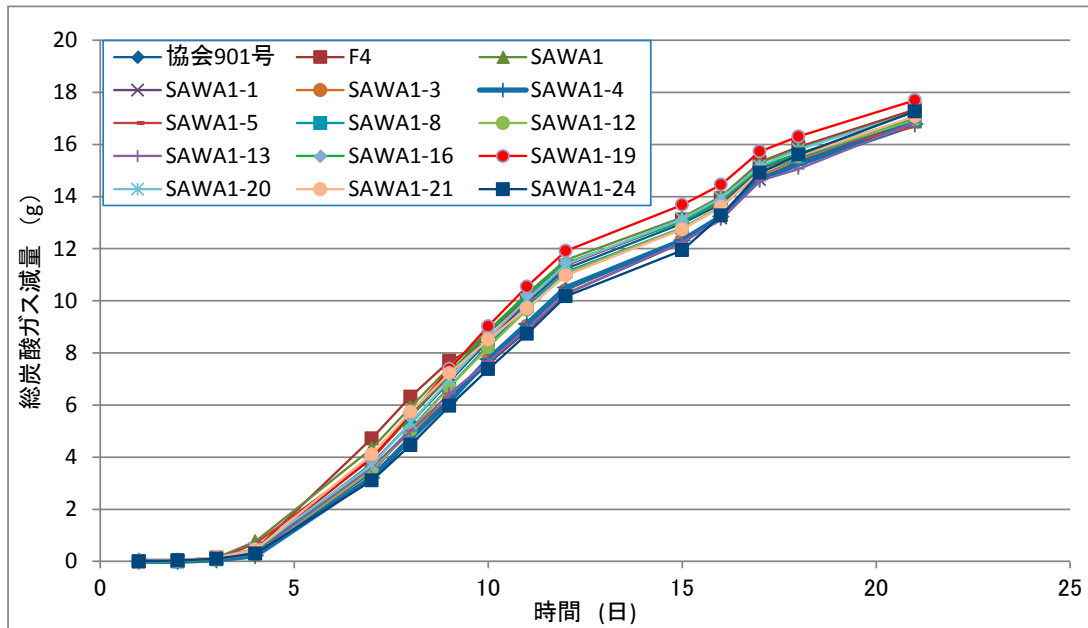


図 2 小仕込試験の発酵経過

表 3 小仕込試験製成酒の有機酸組成

単位：[mg/L]

サンプル名	リン酸	クエン酸	ピルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
協会 901 号	219	87	126	136	339	675	158
F4	252	89	161	163	409	625	269
SAWA1 株	235	87	134	123	345	646	279
SAWA1-1 株	247	81	169	163	240	640	25
SAWA1-3 株	255	86	172	156	206	654	19
SAWA1-5 株	214	85	128	129	319	660	183
SAWA1-8 株	223	85	134	126	322	659	175
SAWA1-12 株	235	89	142	140	381	689	125
SAWA1-13 株	252	91	162	179	225	684	17
SAWA1-16 株	226	92	109	139	334	677	152
SAWA1-18 株	243	90	168	134	371	700	241
SAWA1-19 株	253	94	147	135	401	713	267
SAWA1-20 株	238	89	154	126	401	697	280
SAWA1-23 株	246	87	206	158	302	650	331
SAWA1-24 株	266	90	161	178	226	661	62

表 4 小仕込試験製成酒の香気成分 単位：[ppm]

	酢酸 エチル	<i>n</i> - プロパノール	酢酸 イソアミル	イソアミル アルコール	カブロン酸 エチル
協会 901 号	45.1	107.0	4.6	180.5	1.3
F4 株	53.4	100.1	4.1	171.4	1.0
SAWA1-8 株	42.3	106.4	4.1	157.4	0.5
SAWA1-13 株	37.3	76.1	2.6	139.5	2.1
SAWA1-16 株	36.9	91.3	3.1	165.1	0.6
SAWA1-19 株	44.3	117.6	4.1	168.0	0.8
SAWA1-20 株	42.2	124.9	3.4	161.8	0.4

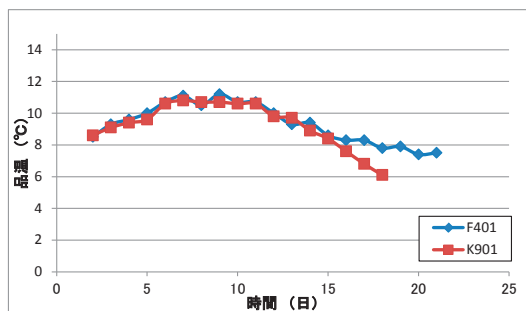


図 3 温度経過 (実地醸造試験)

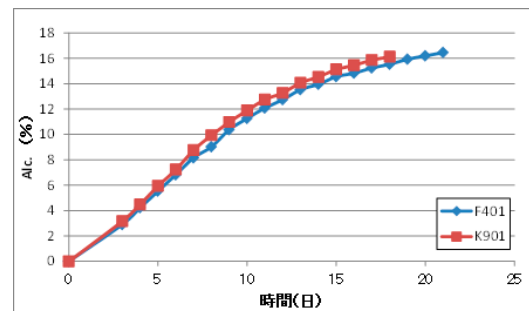


図 4 アルコール発酵経過 (実地醸造試験)

3.3 実地醸造試験

県内酒造メーカーで行った実地醸造試験の温度経過を図 3 に、図 4 にアルコール発酵経過を示した。

発酵の全期間を通じ、F4 株で見られた高泡は確認されなかった。また、F401 株の醪はバナナ様の香りを強く感じた。

協会 901 号に比べ、F401 株は醪 15 日以降の品温を 8℃以下にしたところ、アルコール生成速度がわずかに低下した。そのため、8℃を維持するように調整し、協会 901 号とほぼ同じアルコール生成速度を維持することができた。

このことから、今回分離した F401 株は醪末期の低温環境下では協会 901 号及び親株である F4 株よりも発酵能力は低めであることが示唆された。

今回、実地醸造試験で得た製成酒は発酵中の酸度、アミノ酸度に違いは見られなかった。

4. おわりに

本研究では、SAWA1 株の発酵能の改善を目的とし、低温環境下で生育の良かった菌株を釣菌し、小仕込試験及び実地醸造試験を行い、以下の知見を得た。

- 1) 小仕込試験では発酵能の改善が見られ、有機酸及び香気成分に特長ある酵母が得られた。
- 2) 実地醸造試験では、今回分離取得した酵母は協会 901 号に比べ、醪末期の発酵能が僅かに劣っているが、酸度、アミノ酸度に違いは認められなかった。

また、今回分離取得した酵母を実製造に使用した酒造メーカーに改善点の聞き取り調査を行ったところ、『高泡が形成されず、香りよく味もすっきりしているのでよい』や『協会 1801 号と醪末期の温度が一緒なので扱いやすくなった』という内容であった。

今後は引き続き発酵力の改善に取り組むとともに、香味に特長ある酵母の育種を行う必要がある。

最後に、本研究を行うにあたりご協力、ご助言をいただきました県内酒造メーカーの皆様に深謝いたします。

なお、本研究を実施するにあたり使用した酒類分析システム及びガスクロマトグラフ直結型質量分析計は電源立地地域対策交付金により導入した装置である。

参考文献

- 1) 澤田和敬, 佐賀県産オリジナル醸造微生物の育種及び佐賀県産酒類の品質向上に関する研究—佐賀酵母 F 4 泡なし酵母の育種開発—, 平成 25 年度佐賀県工業技術センター研究報告書, No. 22, p. 968-971
- 2) 大内弘造, 布川弥太郎, 醱酵工學雑誌 51(2), 1973, 85-95
- 3) 難波康之祐, 小幡孝之, 萱島進, 山崎与四良, 村上光彦, 下田高久, 醸協 73(1978), p. 295-300
- 4) 日本醸造協会, 国税庁所定分析法注解(第四回改正) (1990)
- 5) 藤井力, 磯谷敦子, 伊豆英恵, 神田涼子, 松丸克己, 木崎康造, 酒類総合研究所報告 第186号 (2014), p. 1-16