

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 F4 泡なし酵母の取得—

食品工業部
澤田和敬

現在、県内に頒布している佐賀酵母 F4 株から Froth Flotation 法及び乳酸菌との共培養法により取得した F4 泡なし候補株を取得し、その醸造特性を小仕込試験及び県内の蔵元数社において実地醸造試験を行った。その結果、小仕込試験では F4 親株と同等の発酵能を示し、発酵醪の間、高泡は形成されなかった。実地醸造試験では、酒母工程で僅かに高泡が形成されたが、醪工程では高泡が確認されなかった。小仕込試験、実地醸造試験で得られた製成酒の香り成分は F4 親株とほぼ同等、有機酸は F4 親株に比べ、酢酸が低い値を示した。

1. はじめに

現在、国酒である清酒・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、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 号などのカプ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る。

そこで、本研究では、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する。

2. 実験方法

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℃で 8~16 時間糖化後、ろ過した。ろ液を沸騰水中で加熱、氷で急冷後、静置し、上澄を Brix10 に調整した。YPD 寒天培地は、1% yeast extract (BD Bacto™)、2% polypeptone (日本製薬株)、2% glucose (和光純薬株)、2% agar (和光純薬株) に調製した。

2.2 Froth Flotation 法及び Cell Agglutination 法による泡なし酵母の分離

泡なし変異株の取得には酵母の気泡吸着性を利用する布川らの Froth flotation 法¹⁾ 及び大内らの Cell Agglutination 法²⁾ より行った。培養液に、無菌ろ過した空気を送り込み、バブリングによるオーバーフローによって気泡吸着性をもつ泡あり酵母を取り除いた。この培養液の一部を回収して、新しい培地に接種して 25℃で一昼夜培養し再度バブリングした。この操作を計 10 回行った。

その後、麴エキス培地に培養した *Lactobacillus sakei* 株と共培養し、凝集沈殿させた後、上部液を YPD 寒天培地に塗布し、single colony を釣菌し、F4 泡なし株を分離した。

2.3 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 のスケールで実施した。

仕込み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。仕込配合を表 1 に示した。

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、発酵温度は水麴、添・踊では 15℃、仲仕込では 10℃、留では 8℃とし、醪 2 日目から 1℃ずつ升温し、最高気温は 15℃に設定した。最高気温に達した翌日からは、1℃ずつ降温し、8℃に達した後、8℃を維持した。発酵試験は 3 連で行った。

2.4 実地醸造試験

対象区に F4 親株を、試験区に今回分離取得した、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。比較対象区及び試験区の仕込み配合を表 2 に示した。

2.5 小仕込及び実地醸造試験の製成酒の分析

(1) 一般成分分析

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。

(2) 有機酸組成分析

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を用い、ポストカラムpH緩衝法により行った。

(3) 香気成分組成分析

製成酒の香気成分組成分析は、試料0.9mLに内部標準0.1mL加え、50℃で10分間加熱した後、ヘッドスペースガス1mLを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）に注入し、行った。

3. 結果及び考察

3.1 泡なし酵母の分離

図1に親株であるF4株、図2にFlowth flotation法を10回繰り返し、乳酸菌によるCell Agglutination法によって分離したF4泡なし株の気泡吸着性を検鏡観察した結果を示した。

親株のF4株は気泡に対し吸着性を示すが、F4泡なし株は気泡に対し吸着性を示さなかった。

3.2 小仕込試験結果

小仕込試験の発酵経過を図3に、有機酸組成の分析結果を表3、香気成分分析の結果を表4に示した。

n=3のt検定の結果、発酵初期、中期及び後期のいずれの期間でも炭酸ガス減量は親株のF4株とF4泡なし株に差異はなく、ほぼ同等の発酵経過を示した。

F4泡なし株の小仕込試験により得られた製成酒の有機酸組成及び香気成分は親株であるF4株とほぼ同等の組成を示した。

これらのことより、F4泡なし株は実製造に供しても

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	水 四段	計
総米 [kg]	210	410	820	1360		2800
麴米 [kg]	140	290	660	1150		2240
掛米 [kg]	70	120	160	210		560
汲水 [L]	230	370	980	1900	356	3836

問題ないと考えられた。

3.3 実地醸造試験結果

蔵元において、同一の原料米、仕込配合で醸造試験を行った。品温経過を図3、ポーメ経過を図4及びB曲線を図5に示した。

踊及び、留後3日目ではF4株とF4泡なし株に品温の差が生じてしまったが、留後4日目以降は品温にほとんど差がないように醪操作を行うことができた。

次にF4株及びF4泡なし株ともにポーメ管理を同様に行うことができ、B曲線の経過をほぼ同じように推移させることができた。

しかし、F4株はF4泡なし株よりも1.2倍量の追水操作を行っていることから、親株であるF4株は今回分離取得したF4泡なし株よりも発酵力が強いことが示唆された。

表5に実地醸造試験で得た製成酒の有機酸を、表6に香気成分組成を示した。

F4泡なし株の製成酒は、F4株に比べ、乳酸、酢酸、コハク酸及びピルビン酸の生成量が少なく、リンゴ酸の生成量が多かった。

また、香気成分の生成量は親株とほぼ同等であった。



図1 F4株

図2 F4泡なし株

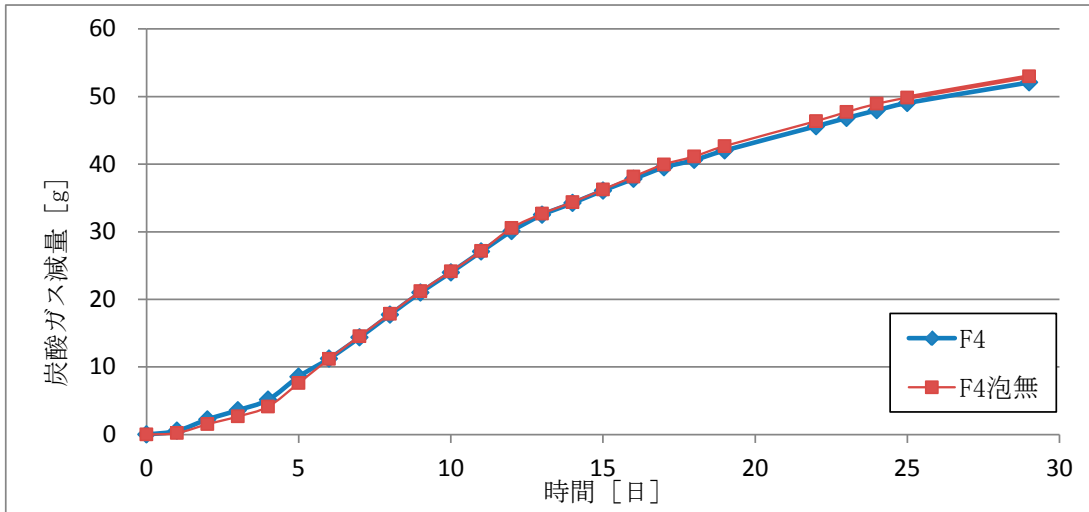


図 3 小仕込試験の発酵経過

表 3 小仕込み試験製成酒の有機酸組成 単位：[mg/L]

	リン酸	クエン酸	ヒールビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
F4株	233	110	434	189	389	863	522
F4-泡なし株	235	100	437	208	337	886	471

表 4 小仕込み試験製成酒の香り成分 単位：[ppm]

	酢酸エチル	n-ブロパノール	イソブタノール	酢酸イソアミル	イソアミルアルコール	カプロン酸エチル
F4株	84.0	140.2	66.7	3.3	222.9	0.9
F4-泡なし株	76.7	161.0	63.0	4.2	224.3	2.3

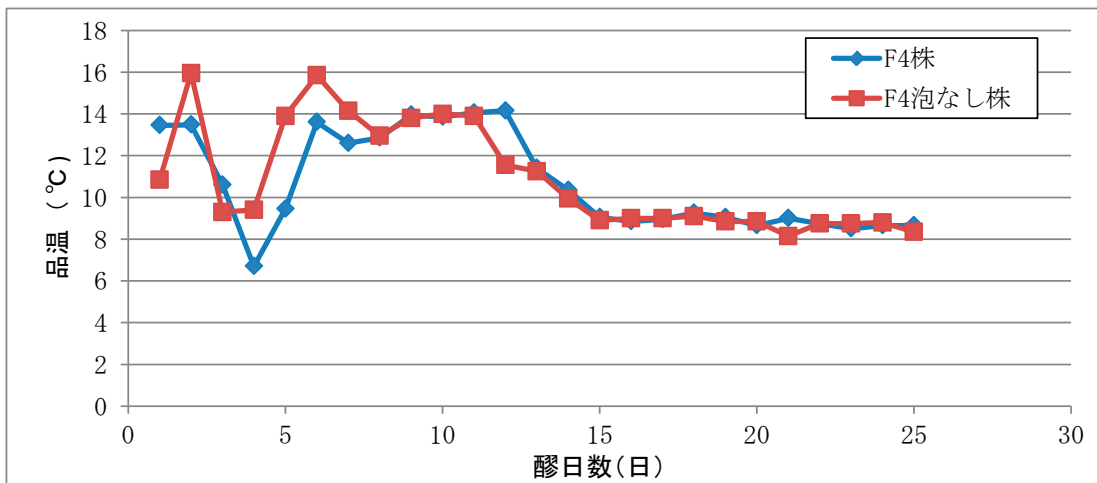


図 4 品温経過（実地醸造試験）

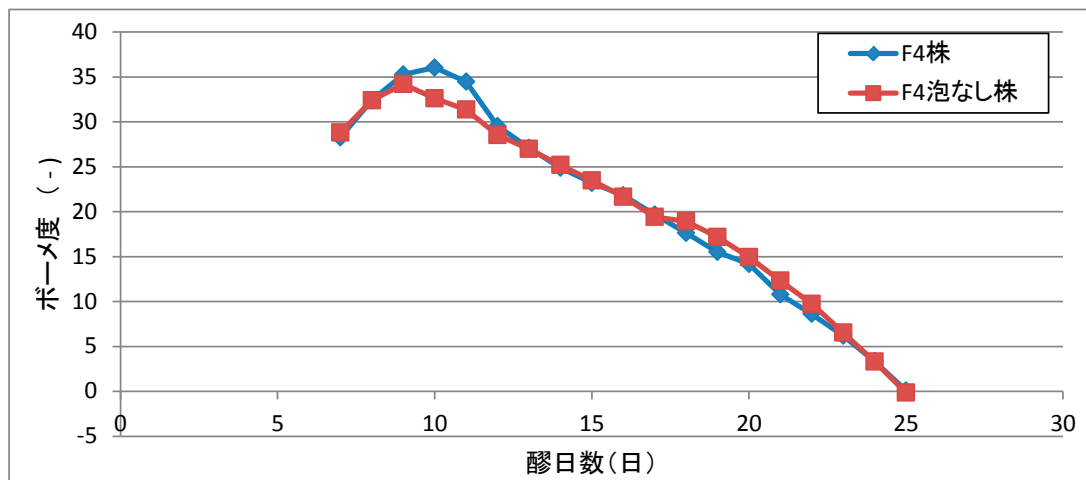


図 5 ポーメ経過 (実地醸造試験)

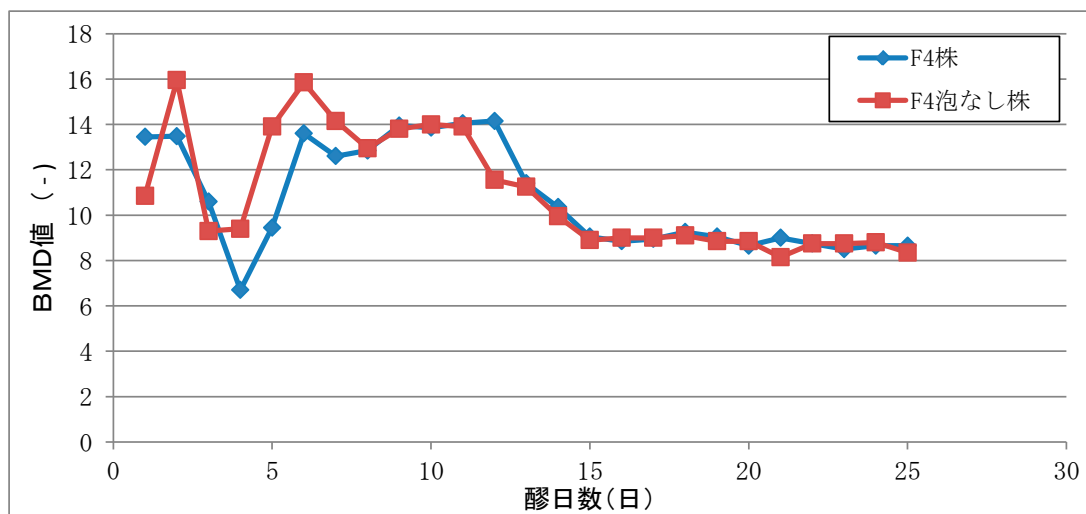


図 6 B 曲線 (実地醸造試験)

表 5 有機酸組成分析 (実地醸造試験)

単位 : (mg/L)

	リン酸	クエン酸	ピルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
F4 株	284.0	72.0	48.4	207.9	394.6	436.2	79.1
F4 泡なし株	345.8	80.7	0.0	361.1	328.8	383.8	16.4

表 6 香気成分分析 (実地醸造試験)

単位 : (ppm)

	酢酸エチル	n-プロパノール	イソブタノール	酢酸イソamil	イソamilアルコール	カプロン酸エチル
F4 株	105.0	152.7	51.6	3.5	183.9	2.3
F4 泡なし株	94.9	140.2	60.2	3.6	198.0	3.4

4. おわりに

本研究では、清酒製造工程の合理化、作業効率の向上を目的とし、Flowth flotation 法及び乳酸菌による Cell Agglutination 法により、F4 泡なし候補株を分離し、小仕込試験及び実地醸造試験を行い以下のことが明らかになった。

1) 小仕込試験では、発酵能に大きな差は認められず、有機酸組成、香気成分も F4 親株と大差はなかった。

2) 実地醸造試験では F4 親株に比べ、有機酸及び香気成分は親株と同等の値を示すが、発酵能がわずかに低下していることが示唆された。

3) 取得した F4 泡なし株の製成酒はピルビン酸、酢酸エチルが低く、カプロン酸エチルが僅かに高い値を、リンゴ酸が高い値を示し、F4 親株に比べ軽快な酒質であることが推測される。

今後、本菌株から、高泡形成能を有せず、発酵能

が高い菌株、有機酸組成或いは香気成分に特長を有する菌株の分離取得を行う必要がある。

最後に、本研究を行うにあたり試験醸造に協力いただきました蔵元に深謝いたします。

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。

参考文献

- 1) 布川弥太郎, 堀越直樹, 大内弘造: 日本醸造協会誌 67(1972), p. 968-971
- 2) Kozo OUCHI and Hiroichi AKIYAMA: Agr. Biol. Chem., Vol. 35 (1971), p. 1024-1032
- 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: 日本醸造協会誌 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)