

高温もろみ対応清酒酵母の開発

横堀正敏*¹ 南澤 賢*¹ 鈴木康修*¹ 増田こずえ*²

Development of Sake Yeast Corresponding High Temperature of Mash

YOKOBORI Masatoshi*¹, MINAMISAWA Ken*¹, SUZUKI Yasunori*¹, MASUDA Kozue*²

抄録

埼玉酵母8種（A01、BK2、C、D、E、F、YY、MR）より、高温時にアルコール耐性を示す株の取得を試みた。28℃においてアルコール15%以上の麴エキス培地では増殖が認められなかったが、10%ではBK2、D、YYが増殖した。そこから分離した株より、15%アルコールで28℃1日処理後の死滅率の小さい株を選抜し、28℃や22℃の高温での小仕込み試験を実施した。高温でも死滅率やアミノ酸度が抑えられるなど、可能性のある株が得られた。高温では雑味や異臭なども強く認められた。雑菌による汚染や並行複発酵のアンバランスなどに対応するため、仕込み方法等にも工夫が必要と考えられた。

キーワード：清酒酵母，アルコール耐性

1 はじめに

従来、清酒は、杜氏率いる蔵人集団により、冬季に集中して製造されてきた。しかし高齢化等によりその後継者は減少し、経営者や地元社員による製造を行う酒造会社が増えてきた。

通年雇用の地元社員による製造を行う場合、冬季に集中した製造では年間で作業量に極端な差が生じ、非効率的である。そこで温暖な時期にも製造するようになってきたが、従来の寒冷な時期での製造とは発酵の様子などが異なり、製造管理等に苦慮している酒造業者もある。

寒冷時の仕込では、もろみ末期の品温を下げ、ゆっくり熟成させることができる。しかし温暖時にはもろみの品温を下げるのが困難で、高温時に高濃度のアルコールにさらされた酵母の死滅により酒質が劣化したり、熟成を待たずに若過ぎるもろみを上槽したりすることになる。高温時にア

ルコール耐性の強い酵母であれば、温暖時でももろみを熟成させることが可能で、より高品質の清酒を製造することが期待できる。

本研究では、高温時にアルコール耐性を示す株を選抜し、清酒製造に利用することを目的とする。

2 実験方法

2.1 供試酵母

埼玉酵母 8 種（A01、BK2、C、D、E、F、YY、MR）を使用した。

2.2 アルコール含有培地

麴エキス培地¹⁾90 容に対しエタノール 10 容を加えたものを 10%アルコール含有培地、同じく 85 容と 15 容で 15%アルコール含有培地、80 容と 20 容で 20%アルコール含有培地とした。

2.3 振とう培養試験

アルコール含有培地に酵母を接種し、バイオフォトレコーダーTN-2612（アドバンテック）で 28℃、20rpm で振とう培養し、1 時間毎に吸光度を測定した。

*¹ 北部研究所 食品・バイオ技術担当

*² 事業化支援室 製品開発支援担当

2.4 静置培養試験

アルコール含有培地に酵母を接種後、28℃で静置培養し、目視で増殖を確認した。

2.5 高温アルコール耐性株の選抜

麴エキスでの酵母培養液に、アルコール含有培地と同様の比率でエタノールを加え、28℃で1日あるいは1週間静置後、上澄みを捨て、メチレンブルー染色法²⁾により死滅率を測定した。

2.6 小仕込み試験

総米 55g の小仕込み試験を既報³⁾と同様に実施した。品温は通常 15℃だが、高温もろみとしては 28℃あるいは 22℃に設定した。発酵期間は通常 2週間だが、高温もろみでは 1週間とした試験も行った。

総米 1kg の小仕込み試験は、酒母に乾燥麴 22g 汲水 105mL 乳酸 0.6mL、初添に蒸米 160g 乾燥麴 56g 汲水 340mL 乳酸 0.4mL、初添に蒸米 610g 乾燥麴 120g 汲水 935mL という二段のアンプル仕込みを行った。最高品温は通常 15℃だが、高温もろみとしては 22℃に設定した。もろみの日本酒度が+に転じたところで、酒袋によるろ過で上槽とした。

アルコール分は簡易アルコール分析器アルコメイト（理研計器）により、あるいは常法⁴⁾に準じて測定した。日本酒度は常法⁴⁾に準じて測定、あるいはデジタル糖度計 PR-101（アタゴ）により測定した Brix とアルコール分よりあまからキット（ウッドソン）で算出した。酸度、アミノ酸度、酵母密度は常法⁴⁾に準じて測定した。

3 結果及び考察

3.1 アルコール含有培地での培養試験

3.1.1 振とう培養試験

28℃において 10%アルコール含有培地で振とう培養試験を行った。結果の例を図 1 に示す。株により増殖性に差が見られた。

試験終了後、麴エキス平板培地上に単独コロニーを形成させて生菌数を測定し、アルコール耐性が期待できる株を取得した（表 1）。

取得した株について、28℃において 20%アル

コール含有培地で振とう培養試験を行ったが、どれも増殖は認められなかった。

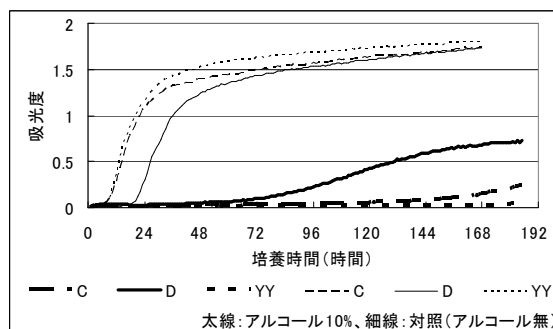


図 1 10%アルコール含有培地での増殖性の例 (埼玉 C 酵母、埼玉 D 酵母、埼玉 YY 酵母)

表 1 10%アルコール含有培地での増殖後酵母数

親株	培養終了時酵母密度(／mL)	取得株
A01	2.0×10^0	1
BK2	1.0×10^4	12
C	5.9×10^5	12
D	5.7×10^6	12
E	4.0×10^0	2
F	1.5×10^2	11
YY	7.5×10^4	11
MR	9.1×10^4	11

3.1.2 静置培養試験

表 1 の株について、15%および 20%アルコール含有培地で 28℃において静置培養試験を行ったが、増殖は認められなかった。

3.1.3 繰り返し振とう培養試験

3.1.1 の 10%アルコール含有培地での培養液を植継ぎ、10%アルコール含有培地での振とう培養試験を繰り返した。埼玉 D 酵母についての結果を図 2 に示す。最終的に BK2、D、YY の 3 種のみ増殖し、高温時アルコール耐性株が得られた。それぞれを BA、DA、YA とする。

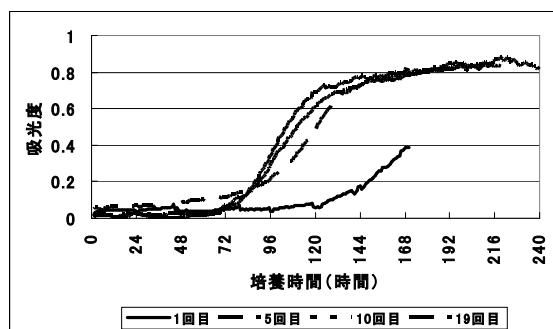


図 2 10%アルコール含有培地での増殖試験例 (埼玉 D 酵母)

3.2 高温時アルコール耐性株の選抜

3.2.1 選抜方法の検討

BA、DA、YA とその親株 BK2、D、YY について、高温時アルコール耐性を判定するため、処理アルコール濃度と処理時間について検討した (図3)。処理アルコール濃度は、10%や20%では差が小さいため、15%が適当であり、処理時間は、1週間では死滅率が大きく差が小さいので、1日が適当であると考えられた。

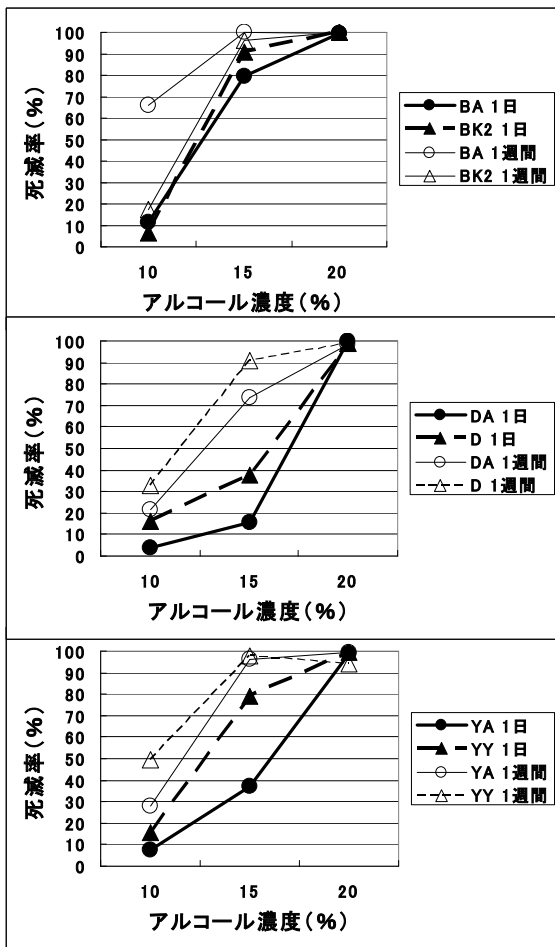


図3 高温時アルコール耐性株選抜方法の検討

3.2.2 高温時アルコール耐性株の選抜

BA、DA、YA より麹エキス平板培地上に単独コロニーを形成させ、それぞれ12株を取得し、15%アルコールで28℃において1日処理し、死滅率を測定した (図4)。ほとんどがDの変異株となったが、死滅率がおよそ20%以下の12株を選抜した。

3.3 小仕込み試験

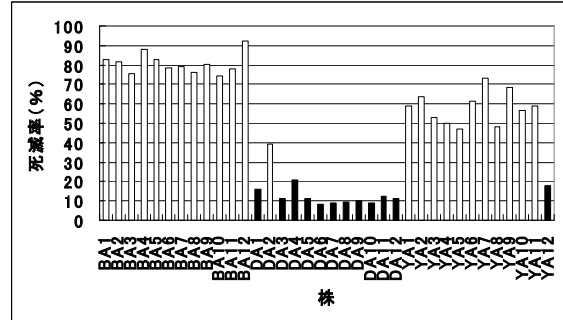


図4 高温時アルコール耐性株の選抜

選抜した12株について、15℃および28℃において総米55gの小仕込み試験を行った。炭酸ガス減量の経過の一例を図5に示す。炭酸ガス減量は株により大差なく、28℃では1週間で15℃2週間の値を超えていたので、以後高温もろみでは発酵期間を1週間とした。

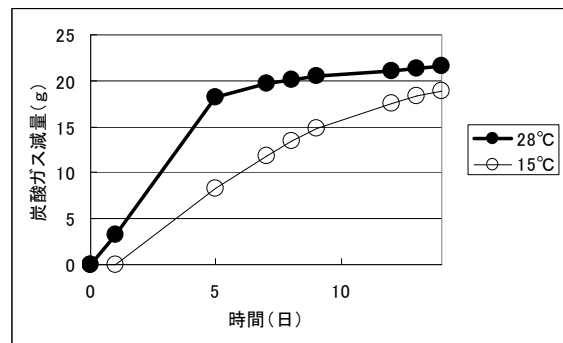


図5 55g小仕込み試験の炭酸ガス減量経過例 (DA5株)

28℃1週間の総米55g小仕込み試験の結果、アルコール分や日本酒度が大きく、酸度、アミノ酸度、粕歩合、死滅率の小さな3株を選抜した (表2)。

表2 55g小仕込み試験結果で選抜した3株

株	DA5	DA10	YA12
アルコール分	17.1	16.75	16.5
日本酒度	+10.5	+10.5	+9
酸度	4.0	4.1	3.7
アミノ酸度	2.8	3.1	3.6
粕歩合 (%)	96.8	96.2	97.5
死滅率 (%)	63.1	66.2	45.2

表2の3株を55gの小仕込み試験で親株と比較した (表3、対照：埼玉E酵母)。28℃では官能的に酒質が非常に悪かったので、高温時の品温は22℃とした。若干の差異はあるが、酒質も含め、

親株との顕著な差は見られなかった。

表3 55g小仕込み試験結果
(1) 品温 22°C

株	D	DA5	DA10	YY	YA12	E
アルコール分	17.2	16.9	17.1	17.3	17.1	17.7
日本酒度	-1.8	-0.5	-2.2	-2.2	-2.5	-0.7
酸度	3.3	3.6	3.5	2.8	3.8	3.0
アミノ酸度	1.6	1.6	1.5	1.7	1.7	1.9
粕歩合(%)	118.3	120.0	117.8	114.5	119.3	112.7

(2) 品温 15°C

株	D	DA5	DA10	YY	YA12	E
アルコール分	17.9	17.4	18.1	18.2	18.0	17.8
日本酒度	-2	+1.5	-2.5	+0.5	-2.5	-0.7
酸度	2.4	3.5	3.1	3.1	3.2	2.3
アミノ酸度	1.5	1.3	1.2	1.7	1.5	2.1
粕歩合(%)	96.4	115.2	99.7	102.8	100.4	110.7

同じ D からの 2 株は同様の傾向であるので、比較的切れの悪かった DA10 を外し、残りの 5 株で総米 1kg の小仕込み試験を同様に行った。もろみ経過を図 6 に示す。これは二段仕込みなので、第 0 日は踊りにあたる。高温でのアルコール分、日本酒度、酵母密度は、DA5 は親株と大差なく、YA12 は親株より向上した。酸度や死滅率はばらつきが大きく、はっきりした傾向は見られなかった。

製成酒の成分等を表 4 に示す。DA5 は特にアルコールの生成が悪かったが、YA12 は対照に近く、酸度も低く抑えられた。

表4 1kg小仕込み試験結果
(1) 品温 22°C

株	D	DA5	YY	YA12	E
アルコール分	14.3	11.6	13.7	14.3	14.6
日本酒度	+7.5	+10	+8.5	+15.5	+16
酸度	3.0	2.9	3.5	2.8	3.5
アミノ酸度	1.5	1.3	1.7	1.7	1.7
粕歩合(%)	142.8	145.3	118.5	130.2	106.5
もろみ日数(日)	8	8	10	8	8

(2) 品温 15°C

株	D	DA5	YY	YA12	E
アルコール分	13.9	13.8	14.2	14.65	15.95
日本酒度	+3.5	+1	+1	+7.5	+5.5
酸度	4.1	4.2	3.7	3.3	2.5
アミノ酸度	1.3	1.3	1.6	1.4	1.1
粕歩合(%)	98.8	97.4	106.9	94.4	105.4
もろみ日数(日)	16	16	14	13	10

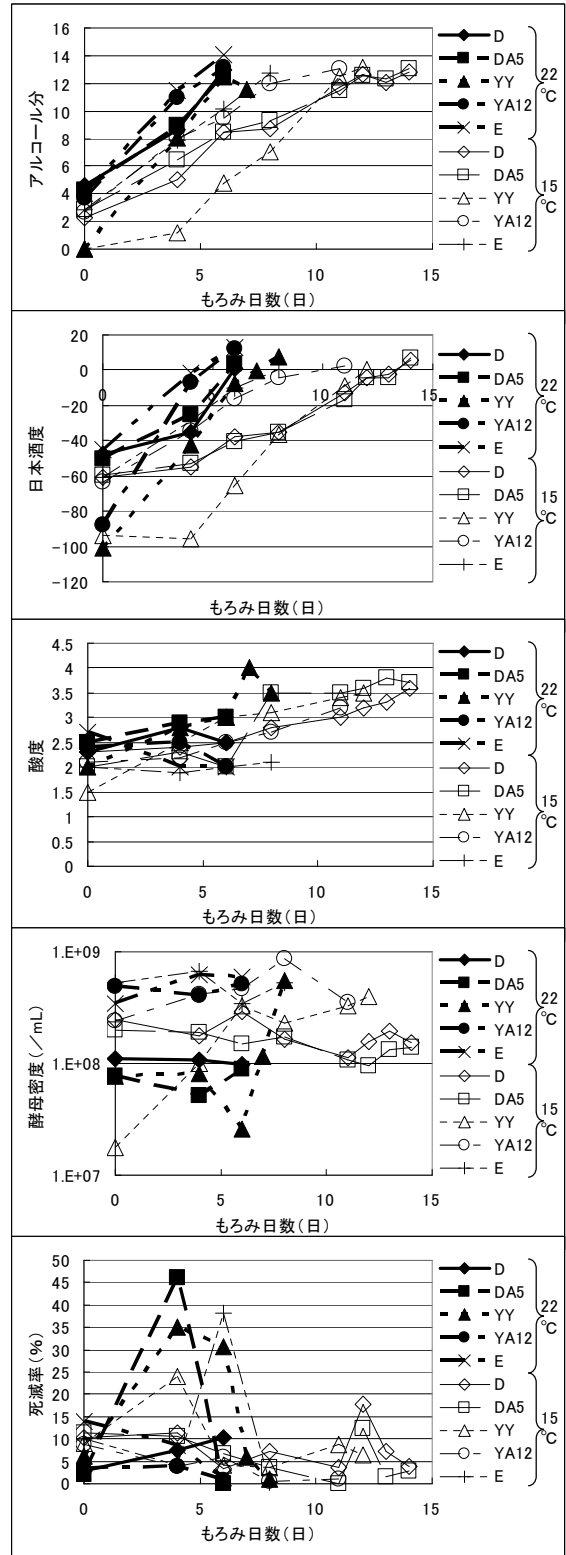


図6 1kg小仕込み試験のもろみ経過

今回の試験では、D が泡有り酵母でもあり、特に発酵が旺盛で、高温で高泡時にもろみが増えたものもあった。また全体として、高温もろみの製成酒は酒質に難があり、異臭や雑味が強く感じられた。通常の小仕込みでも酸が多いなどの特徴が

現れるが、高温ではそれが顕著になった。高温では雑菌による汚染などの危険性も増し、また酵母の増殖や発酵が速すぎて並行複発酵のバランスが崩れやすいと思われるので、仕込み方法等にも何らかの対策が必要と考えられる。

4 まとめ

埼玉酵母 8 種 (A01、BK2、C、D、E、F、YY、MR) より、28℃において 10%アルコール含有培地で増殖する株を得、15%アルコール 28℃1 日処理後の死滅率により高温時アルコール耐性株を選抜し、28℃や 22℃の高温での小仕込み試験を実施した。死滅率や成分的には可能性のある株もあった。高温では雑菌による汚染や、急速な酵母の増殖による並行複発酵バランスの崩れなどに対して、仕込み方法等に何らかの対応を講じる必要があると考えられた。

参考文献

- 1) 横堀正敏, 高橋友哉, 増田こずえ, 阿部知子 : 清酒酵母の開発, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **8**, (2010)45
- 2) 増補改訂 清酒製造技術, 財団法人 日本醸造協会, (2009)308
- 3) 横堀正敏, 鶴藺大, 渡辺泰成, 増田こずえ : 微生物利用技術に関する研究—新規酵母の分離と食品への応用—, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **5**, (2007)107
- 4) 国税庁所定分析法 (訓令) , <http://www.nta.go.jp/shiraberu/zeiho-kaishaku/tsutatsu/kobetsu/sonota/070622/01.htm>, 2012.3.21