

酸味に特徴のある新規埼玉酵母による清酒製造試験

樋口誠一* 齋藤健太* 和田健太郎* 横堀正敏*

Sake Brewing Trial Using New Saitama Yeasts with Characteristic Sourness

HIGUCHI Seiichi*, SAITO Kenta*, WADA Kentaro*, YOKOBORI Masatoshi*

抄録

清酒において多様化する消費者ニーズに対応するため、多様な県オリジナル清酒酵母を開発し、県内企業に提供することは重要な課題である。本研究では、酸味に特徴のあるリンゴ酸高生産性の酵母の開発を目指した。既存埼玉酵母からシクロヘキシミド耐性株を得て、リンゴ酸を親株の2倍程度生成する株を選抜し、これを用いた小仕込み試験を行った。その結果、爽やかな酸味を持つ製成酒が得られた。

キーワード：清酒，酵母，酸味，リンゴ酸

1 はじめに

近年、清酒を取り巻く環境は大きく変化しており、多様化する消費者の嗜好や消費行動に対応する商品設計が重要となっている。清酒の特徴を決定する上で大きな役割を担っているのは清酒酵母である。当所においても、オリジナルの「埼玉酵母」を頒布しているが、上述の状況に対応していくにはさらなるラインアップが求められる。

本研究では、酸味に特徴のあるリンゴ酸高生産性の埼玉酵母の開発を目指した。これまでコハク酸ジメチル耐性株¹⁾やシクロヘキシミド耐性株²⁾が育種され、リンゴ酸含量が多く、酸味に特徴のある清酒が造られている。通常の清酒に多いコハク酸や乳酸などに比べてリンゴ酸は酸味が強く、ワインのような爽やかな酸味を持たせることができ、冷酒や洋食などに合う清酒などの商品開発が期待される。これまで埼玉酵母にはその種の株がなかった。そこで既存埼玉酵母からシクロヘキシミド耐性株を得て、リンゴ酸高生産株を選抜し、

小仕込み試験を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 変異株の取得及びスクリーニング

埼玉酵母6株(A01、C、D01、E、F及びG)をYM培地(グルコース2%、ポリペプトン0.5%、イーストエキス0.3%、モルトエキス0.3%)にて培養後、吉田らの方法²⁾に従い、シクロヘキシミド1 µg/mL含有YM寒天培地に塗布し、28°C、1週間の培養にて生育してきた株を再び同寒天培地に塗布し、耐性株を得た。その後一次スクリーニングとして、YM10培地(上記YM培地のグルコース濃度を10%としたもの)にて20°C、7日間培養し、液体クロマトグラフによる有機酸分析³⁾を行った。さらに二次スクリーニングとして小仕込み試験(総米11 g~1 kg)を行った。また、選抜株を用いた同条件での小仕込み試験を繰り返し、安定性を確認した。 α 化米はAA-60、乾燥麹は1-60(ともに徳島製麹(株)製)を使用し、仕込み配合は既報⁴⁾に準じて行った。酵母は麹汁培地にて28°C、1日静置培養したものを用いた。炭酸ガス生成による醪の減少重量を測定することによって発酵経過を把握した。

* 北部研究所 食品・バイオ技術担当

上槽は遠心分離 (3,000×g、10分) により行った。製成酒のアルコール分及び日本酒度は、それぞれアルコメイト (理研計器 (株) 製AL-2型) 及びそれと糖度計 ((株) アタゴ製PR-101) で測定したBrix値から簡易的に算出したもの⁵⁾を用いるか、アルコライザーSAKE (アントンパール社製) により分析した。その他の一般成分や香气成分は国税庁所定分析法⁶⁾に準じて分析した。官能評価 (きき酒) は担当職員によって実施した。

2.2 清酒製造試験

表1に示した仕込み配合で総米 60 kg の清酒製造試験を行った。原料米は彩のさずな (令和 6年、埼玉県産、精米歩合 70%)、種麴は Roots 36 ((株) 秋田今野商店製) を用いた。アンプル仕込み、醪の最高温度は 12~13°Cとし、発酵経過に応じて品温の調整を行った。醪の成分分析に関しては、ピルビン酸は 3-D-G 法⁷⁾、グルコースは国税庁所定分析法、その他は前項と同様に行った。

表1 仕込み配合

| | 酒母 | 初添 | 仲添 | 留添 | 合計 |
|----|-----|-----|----|------|----|
| 総米 | 1.5 | 9 | 18 | 31.5 | 60 |
| 掛米 | — | 7.5 | 14 | 25.5 | 47 |
| 麴米 | 1.5 | 1.5 | 4 | 6 | 13 |
| 汲水 | 6 | 11 | 18 | 46 | 81 |
| 乳酸 | 36 | 24 | — | — | 60 |

単位: kg (ただし汲水はL、乳酸はmL)

また、県内酒造会社においても総米 30 kg の試験製造が行われた。原料米はさけ武蔵 (令和 6年、埼玉県産、精米歩合 60%)、種麴はグルコ S ((株) 秋田今野商店製)、酒母は中温速醸にて実施された (仕込み配合は省略)。

3 結果及び考察

3.1 変異株の取得及びスクリーニング

シクロヘキシミド 1 µg/mL 含有 YM 寒天培地に生育した大きめのコロニーを各親株につき 80 株程度釣菌した。その後、一次スクリーニングにより、親株に比べてリンゴ酸含量あるいはリンゴ酸/コハク酸比率が高いもの計 86 株を選択した。二次スクリーニングにより、発酵が良く、リンゴ酸含量あるいはリンゴ酸/コハク酸比率が高いもの計 25 株に絞り込んだ。さらにスケールアップし小仕込み試験 (総米 110 g) を行った。リンゴ酸含量は高いもので親株の 2 倍程度生成し、リンゴ酸/コハク酸比率は 3~5 倍程度となっていた (データは省略)。一方で発酵は全体的に親株より弱く、アミノ酸度もやや高い傾向が認められた。

これらのうち、発酵が良く、かつ酸度、リンゴ酸含量及びリンゴ酸/コハク酸比率がいずれも高いものを中心に 5 株を選抜し、さらにスケールアップして小仕込み試験 (総米 1 kg) を行った。

表2 小仕込み試験 (総米1 kg) の結果

| 株名 | 日数 | Alc | Ns | TA | AA | 香气成分 | | 有機酸 | | | | | 計 | M/S |
|-----|----|------|------|-----|-----|-------|-------|-------|------|------|-----|----|-----|------|
| | | | | | | iAmAc | EtCap | クエン酸* | リンゴ酸 | コハク酸 | 乳酸 | 酢酸 | | |
| C | 23 | 18.1 | 10.0 | 1.7 | 1.6 | 2.6 | 3.9 | 20 | 86 | 215 | 326 | 21 | 669 | 0.40 |
| F | 27 | 18.1 | 8.5 | 2.1 | 1.7 | 2.3 | 8.6 | 12 | 173 | 229 | 330 | 11 | 755 | 0.76 |
| G | 30 | 17.3 | -1.2 | 2.1 | 2.4 | 1.2 | 13.2 | 9 | 180 | 176 | 336 | 48 | 748 | 1.03 |
| C7 | 23 | 18.0 | 7.6 | 2.2 | 1.6 | 3.7 | 2.1 | 31 | 159 | 188 | 359 | 0 | 737 | 0.84 |
| F3 | 33 | 17.3 | -1.6 | 2.5 | 2.1 | 2.1 | 6.1 | 16 | 319 | 139 | 315 | 31 | 820 | 2.29 |
| F21 | 33 | 17.7 | 2.1 | 2.4 | 2.2 | 5.0 | 6.0 | 10 | 196 | 159 | 325 | 26 | 717 | 1.23 |
| F63 | 27 | 17.0 | 0.5 | 2.9 | 2.0 | 1.9 | 6.4 | 24 | 331 | 187 | 332 | 25 | 899 | 1.77 |
| G25 | 30 | 17.4 | 1.7 | 2.8 | 2.1 | 1.3 | 12.9 | 23 | 320 | 168 | 334 | 82 | 927 | 1.90 |

Alc: アルコール分 (%), Ns: 日本酒度, TA: 酸度, AA: アミノ酸度, iAmAc: 酢酸イソアミル (mg/L), EtCap: カプロン酸エチル (mg/L)、各種有機酸類 (mg/L)、M/S: リンゴ酸/コハク酸比

*: 酒石酸も含む

表3 再取得株の小仕込み試験の結果

| 株名 | 日数 | Alc | Ns | TA | AA | 香氣成分 | | 有機酸 | | | | | 計 | M/S |
|------|----|------|-----|------|------|-------|-------|-------|------|------|-----|-----|------|------|
| | | | | | | iAmAc | EtCap | クエン酸* | リンゴ酸 | コハク酸 | 乳酸 | 酢酸 | | |
| F | 14 | 16.5 | -8 | 2.40 | 1.45 | 4.72 | 8.17 | 43 | 188 | 336 | 371 | 88 | 1025 | 0.56 |
| F63a | 14 | 14.9 | -22 | 3.10 | 1.53 | 4.63 | 5.01 | 47 | 309 | 251 | 445 | 226 | 1278 | 1.23 |
| F63b | 14 | 14.7 | -24 | 2.70 | 1.60 | 2.71 | 9.96 | 31 | 264 | 251 | 433 | 159 | 1138 | 1.05 |
| F63c | 14 | 15.4 | -18 | 2.90 | 1.53 | 3.09 | 9.59 | 48 | 278 | 202 | 412 | 189 | 1129 | 1.37 |

Alc：アルコール分（%）、Ns：日本酒度、TA：酸度、AA：アミノ酸度、iAmAc：酢酸イソアミル（mg/L）、EtCap：カプロン酸エチル（mg/L）、各種有機酸類（mg/L）、M/S：リンゴ酸/コハク酸比
*：酒石酸も含む

結果は表2に示すとおり、F3、F63及びG25株はリンゴ酸を親株(アルファベットが親株に相当)の2倍近く生成し、リンゴ酸/コハク酸比率も親株の2倍前後となり、官能評価でリンゴ酸らしさも感じられた。特にF63株は酸度も高く、リンゴ酸らしさの評価が高かった。また、F、G株の系統は親株の性質を引き継いでカプロン酸エチルの含量が高かったが、G25株は、官能評価の結果、香りが高すぎ、味とのバランスがやや欠けるという評価となった。発酵が親株より劣る傾向はここで

もC株系統以外で見られた。以上より、F63株を選抜することとした。

さらに安定性確認のため繰り返した小仕込み試験の醪より、再取得した株 F63a（元株とほぼ同様）、F63b及びF63c（香りが高いもの、有機酸組成が少し異なるもの）を分離し（表3）、以降の試験に供した。

3.2 清酒製造試験

先に示した株を用いて総米 60 kg の試験製造を

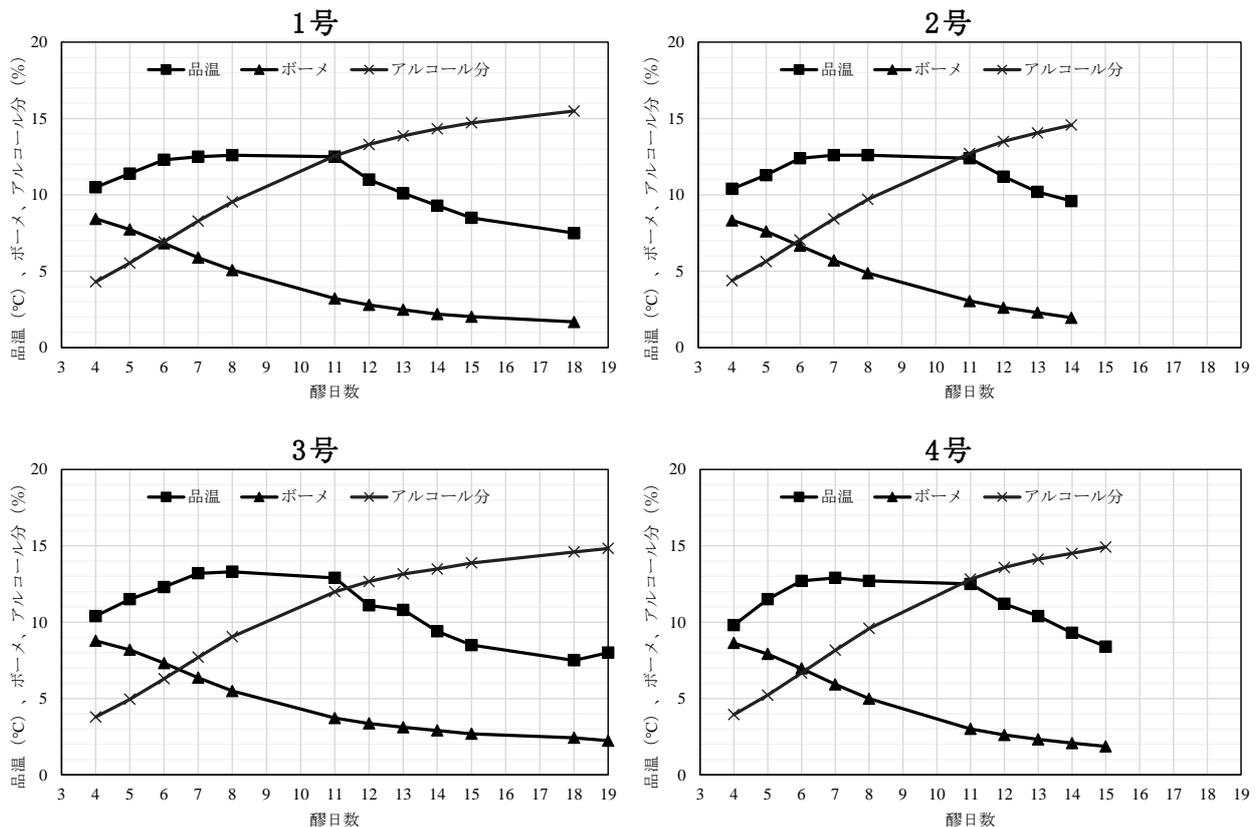


図1 清酒製造試験の醪経過

表4 清酒製造試験 (総米60 kg) の結果

| No. | 株名 | 日数 | Alc | Ns | TA | AA | Glc | 香氣成分 | | 有機酸 | | | | | M/S | |
|-----|------|----|------|-------|-----|-----|-----|-------|-------|-------|------|------|----|-----|-----|------|
| | | | | | | | | iAmAc | EtCap | クエン酸* | リンゴ酸 | コハク酸 | 乳酸 | 酢酸 | | 計 |
| 1 | F | 18 | 15.5 | -16.6 | 2.2 | 1.5 | 3.9 | 1.5 | 3.6 | 145 | 286 | 465 | 17 | 145 | 913 | 0.51 |
| 2 | F63a | 14 | 14 | -19.7 | 2.1 | 1.3 | 4.2 | 0.9 | 1.7 | 130 | 244 | 410 | 62 | 130 | 846 | 0.53 |
| 3 | F63b | 19 | 14.8 | -22.9 | 2.2 | 1.5 | 4.8 | 0.8 | 5.4 | 122 | 267 | 450 | 79 | 122 | 918 | 0.46 |
| 4 | F63c | 15 | 14.9 | -19.1 | 2.2 | 1.4 | 4.3 | 1.0 | 5.5 | 140 | 218 | 427 | 88 | 140 | 873 | 0.64 |

Alc : アルコール分 (%)、Ns : 日本酒度、TA : 酸度、AA : アミノ酸度、Glc : グルコース (%)、iAmAc : 酢酸イソアミル (mg/L)、EtCap : カプロン酸エチル (mg/L)、各種有機酸類 (mg/L)、M/S : リンゴ酸/コハク酸比
* : 酒石酸も含む

行った。その醗経過を図 1、製成酒の成分等の結果を表 4 に示す。

酸味とのバランスをとるため、目標アルコール度数を 14~15%、日本酒度を -20 前後としたが、概ね目標どおりにコントロールすることができ、爽やかな酸味を有するソフトタイプの清酒となった。ピルビン酸濃度は上槽直前の 13 日目において、64~91 ppm といずれも高くはなく、上槽可能であった (データ省略)。これらの酵母により低アルコール清酒が製造しやすいという一面も示す結果となった。また、このときの酵母数は、いずれも約 3×10^8 /mL であり、死滅率も 2% 程度で問題はなかった (データ省略) が、先のスクリーニングの項でアルコール生成が進むに従いアミノ酸度は高くなりやすかったため、アルコール分を高くしすぎない方が良いと思われる。

一方でリンゴ酸含量やリンゴ酸/コハク酸比率、酸度を比較すると、試験酒は親株を用いたコントロールとの差があまり見られず、スクリーニング時の結果と異なるものとなった。この原因は不明であるが、酵母の取り扱いの過程において、

何らかの変化が起こったためと考えられる。

3.3 酒造会社における試験製造結果

酒造会社にて実施した F63a 株を用いた試験製造の醗経過を図 2、製成酒の成分等の結果を表 5 に示す。その結果、リンゴ酸含量やリンゴ酸/コハク酸比率は、親株から作られた清酒と比べて高い数値となっていることが確認された。

4 まとめ

酸味に特徴のあるリンゴ酸高生産性の酵母の開

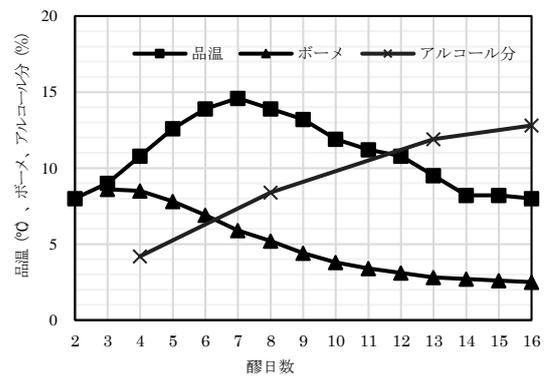


図2 酒造会社における試験製造の醗経過

表5 酒造会社における試験製造の結果

| 株名 | 日数 | Alc | Ns | TA | AA | 香氣成分 | | 有機酸 | | | | | M/S | |
|------|----|------|-----|-----|-----|-------|-------|-------|------|------|-----|----|------|------|
| | | | | | | iAmAc | EtCap | クエン酸* | リンゴ酸 | コハク酸 | 乳酸 | 酢酸 | | 計 |
| F63a | 16 | 12.8 | -24 | 2.6 | 1.6 | 0.7 | 0.9 | 29 | 502 | 298 | 378 | 50 | 1257 | 1.68 |

Alc : アルコール分 (%)、Ns : 日本酒度、TA : 酸度、AA : アミノ酸度、iAmAc : 酢酸イソアミル (mg/L)、EtCap : カプロン酸エチル (mg/L)、各種有機酸類 (mg/L)、M/S : リンゴ酸/コハク酸比

* : 酒石酸も含む

発を目指し、既存埼玉酵母からシクロヘキシミド耐性株を得て、リンゴ酸を親株の2倍程度生成する株を選抜した。これを用いた小仕込み試験の結果、爽やかな酸味を持つ製成酒が得られた。

酒造会社での実地製造を含め、様々な条件で製造された際にどのような酒質となるか不明な点もあるので、今後継続的にデータを得ていく予定である。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、御助言をいただき、試験製造にも御協力いただきました寒梅酒造(株)の鈴木隆広様に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 相川元庸, 水津哲義, 市川英治, 川戸章嗣, 安部康久, 今安聰, "りんご酸生成能の高い清酒酵母の育種", 醗酵工学会誌, 70, 4733, 477 (1992)
- 2) 吉田清, 稲橋正明, 中村欽一, 野白喜久雄, "Cycloheximide 耐性株から得られたリンゴ酸高生産性酵母", 日本醸造協会誌, 88, 645 (1993)
- 3) Shodex テクニカルレポート, <https://www.shodex.com/ja/dc/03/08/16.html>, 2025.10.15
- 4) 横堀正敏, 鶴菌大, 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, 107 (2007)
- 5) 横堀正敏, 南澤賢, 鈴木康修, 増田こずえ, "高温醪対応清酒酵母の開発", 埼玉県産業技術総合センター研究報告, 10, 44 (2012)
- 6) 国税庁所定分析法, 昭和 36 年国税庁訓令第 1 号, <https://www.nta.go.jp/law/tsutatsu/kobetsu/sonota/070622/01.htm>, 2025.10.15
- 7) 西田淑男, 久野敦史, 幅靖志, 深谷伊和男, "吟醸酒および吟醸酒醪中のピルビン酸濃度の簡易定量方法", 日本醸造協会誌 94 (5), 416 (1999)