

清酒製造における白桃酵母の香味特性とアルコール耐性の強化 Flavor Property and Development of Alcohol Tolerance of Hakuto Yeast on Sake Brewing

三宅剛史・尾崎陽子・常定 健・伊藤一成
Tsuyoshi MIYAKE, Yoko OZAKI, Takeshi TSUNESADA and Kazunari ITO

キーワード 白桃酵母 / 清酒製造 / 香味特性 / アルコール耐性
KEY WORDS Hakuto yeast / Sake brewing / Flavor property / Alcohol Tolerance

1 はじめに

近年、清酒の多様化に伴い全国各地で自然界からの清酒酵母の分離育種が盛んに行われている。岡山県でも清水白桃の果皮から清酒製造に適した酵母の分離に成功している¹⁾。この白桃酵母を用いた試験醸造では、高泡は生じず、もろみでの切れも良く、酸の生成が少ないきれいな酒質となり、調和のとれた吟醸香が高生成された¹⁾。このように吟醸酒向けの製造に有用な特性を示した白桃酵母は、すでに県内の多くの酒造場において純米酒や純米吟醸酒を中心とする製造に使用され好評を得ている。しかしながら、近年、白桃酵母を使用した製成酒に、苦味の指摘が散見されることがあった。

清酒製造では、一般に 16-20%程度のアルコールが生成される。このとき使用酵母のアルコール耐性が低ければ、特にもろみ後半で細胞の死滅溶解による内容物の漏出が起こり、酒質に悪い影響を与える。すなわち、清酒酵母には優れたアルコール生成能と同時にアルコール耐性能が求められる。製成酒に苦味が生じる要因は多々あるが、ここでは白桃酵母のアルコール耐性がその一因として寄与しているのかどうかについて確認することにした。

本研究では、白桃酵母を用いた小仕込み試験を行い、製成酒の成分について分析を行うことで、白桃酵母の香味特性を把握するとともに、アルコール耐性の強化により苦味生成の改善を試みたので報告する。

2 方法

各酵母は YPD 液体培地 (ベクトン・ディッキンソン、Difco) で 30°C、1 晩静置培養したものを用いた。精米歩合 60%の α 米 (徳島製麴、AA-60) と乾燥麴 (徳島製麴、T-60) を用い、表 1 に示す配合で総米 200g の小仕込みを行った。添仕込みと踊りは 15°C、仲仕込みは 8°C、留仕込みは 6°C で行い、以後 1 日 0.5°C ずつ 11°C まで昇温させ 3 日保持した後、5°C まで 1 日 0.5°C ずつ下げて 5°C を保持し 28 日目まで遠心 (4500xg、15 分) により上槽した。

日本酒度は密度から算出した。エタノールとグルコースおよびマルトースは、Shodex KS801 カラム (昭和電工) と示差屈折計を用いて分析した。有機酸の分析は、Shim-pack SCR-102H カラム (島津製作所) を用い、プロモチモールブルーポストカラム法により行った。アミノ酸の分析は、JLC500/V アミノ酸分析計 (日本電子) を用いて行い、遊離アミノ酸濃度で示した。酸度とアミノ酸度は、全有機酸量と全アミノ酸量をそれぞれコハク

酸とグリシン相当量として算出した。香氣成分は、supelcowax-10 カラム (スペルコ) とヘッドスペースガスクロマトグラフィー質量分析計 (Turbo Matrix40 Clarus500, パーキンエルマー) を用いて分析した。芳香族アルコールは、Xbridge C18 カラム (ウォーターズ) を用いた逆相分離により分析を行った。

なおアルコール耐性の強化は、20%エタノール含有 YPD 培地での訓養により行い、それぞれの死滅率はメチレンブルー染色法により算出した。

表 1 仕込み配合

	添	仲	留	計
総米	35g	57g	108g	200g
α 米	24g	45g	86g	155g
乾燥麴	11g	12g	22g	45g
水	53ml	70ml	137ml	260ml
α 米水	7.2ml	13.5ml	25.8ml	46.5ml
乳酸	0.15ml			0.15ml
酵母培養液	4ml			4ml

3 結果と考察

3.1 アミノ酸と有機酸の生成

白桃酵母 (HN) および K701 と K901 を用いて小仕込み試験を行い、上槽時の一般成分および生成されたアミノ酸と有機酸について分析を行った。表 2 に一般成分の結果を示す。今回の小仕込み試験では、いずれも日本酒度が低くエタノールの生成量も少ない状態での上槽となったが、HN を用いた場合は、K701 や K901 と比べて日本酒度が低くグルコースが多く、酸度とアミノ酸度がやや高くなっていた。従って、白桃酵母を使用した製成酒は、やや甘口で味が多くなる傾向にあると考えられる。

アミノ酸の組成に大きな違いは見られなかったが、HN では K701 や K901 と比べると、アラニンがやや少なく、グルタミン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、アルギニンがやや多い傾向を示した (表 3)。バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、トリプトファン、アルギニンは苦味、スレオニン、セリン、グルタミン、グリシン、アラニン、リジン、プロリンは甘味、アスパラギン酸、グルタミン酸は酸味に寄与する²⁾。すなわち HN では、甘味に対して苦味のアミノ酸が多くなっていることが分かった。

一方有機酸は、HN のリンゴ酸が K901 の約 2 倍で、酢酸が K901 と比べて約半分となっていた (表 4)。リンゴ酸は、さわやかな酸味を呈することから、白桃酵母を

表 2 上槽時の死滅率と一般成分

	死滅率(%)	日本酒度	エタノール(%)	グルコース(%)	マルトース(%)	酸度	アミノ酸度
K701	1.33	-14	14.16	2.85	1.91	3.27	1.55
K901	1.12	-12	13.59	2.26	1.37	3.90	1.54
HN	3.22	-20	13.35	3.20	2.17	3.99	1.68
HN2	1.24	-21	13.19	3.12	2.05	3.94	1.61

表 3 アミノ酸

mM	K701	K901	HN	HN2
バリン	0.88	0.90	0.89	0.88
メチオニン	0.05	0.03	ND	ND
イソロイシン	0.42	0.41	0.49	0.43
ロイシン	0.96	0.93	1.17	1.10
チロシン	0.72	0.67	0.88	0.66
フェニルアラニン	0.49	0.48	0.64	0.63
ヒスチジン	0.34	0.30	0.32	0.26
トリプトファン	0.02	0.02	0.03	0.02
アルギニン	1.78	1.50	1.97	1.99
スレオニン	0.20	0.18	0.21	0.21
セリン	0.39	0.36	0.45	0.44
グルタミン	0.90	0.84	1.24	1.25
グリシン	1.42	1.36	1.30	1.30
アラニン	3.22	3.28	3.00	2.97
リジン	0.36	0.32	0.41	0.39
プロリン	1.11	1.38	1.26	1.26
アスパラギン酸	0.34	0.33	0.41	0.40
グルタミン酸	1.43	1.36	1.44	1.45
アスパラギン	0.43	0.44	0.42	0.42
システイン	0.06	0.28	0.30	ND
苦味	5.66	5.24	6.39	5.97
甘味	7.60	7.72	7.87	7.82
酸味	1.77	1.69	1.85	1.85
甘味/苦味	1.34	1.47	1.23	1.31

表 4 有機酸

mM	K701	K901	HN	HN2
リン酸	2.08	1.84	2.54	2.54
クエン酸	0.37	0.37	0.49	0.45
ピルビン酸	0.51	0.42	0.47	0.46
リンゴ酸	2.00	1.94	3.76	3.75
コハク酸	4.10	4.81	4.25	4.37
乳酸	4.73	5.14	5.37	5.40
フマル酸	0.03	0.04	0.03	ND
酢酸	2.41	4.82	2.90	2.60
ピログルタミン酸	0.09	0.12	0.09	0.08
プロピオン酸	0.03	0.03	0.01	0.01

使用すると、さわやかな酸味を特徴とする製成酒になることが期待できる。

3.2 香気成分と芳香族アルコールの生成

香気成分の生成は清酒酵母の特性を大きく特徴付ける。試験醸造において白桃酵母は、清酒の主要な吟醸香であるカブロン酸エチルと酢酸イソアミルをバランスよく生成する¹⁾。HNの小仕込み試験における香気成分の生成について確認を行ったところ、HNでは、

K701とK901に比べて、酢酸イソアミルが同程度、カブロン酸エチルが2倍以上生成されており、プロパノールが少なくなっていることが把握できた(表5)。プロパノールを含む高級アルコールは、清酒の「きれいさ、かるさ」に関係しているといわれていることから、この低プロパノール性も白桃酵母の香味特性に寄与していると考えている。

また、芳香族アルコールのチロソールは苦味・渋味・雑味、フェニルアルコールはバラ様香のほか渋味・雑味、トリプトファンは酸味・苦味・渋味を呈する³⁾。HNではこれらの芳香族アルコールがやや少ない傾向にあった(表6)。

表 5 香気成分

ppm	K701	K901	HN	HN2
アセトアルデヒド	19.7	29.7	21.4	17.9
酢酸エチル	40.2	39.0	42.3	42.7
プロパノール	96.3	97.7	69.9	67.0
イソブチルアルコール	86.5	98.2	106.3	100.0
イソアミルアルコール	179.1	177.4	186.2	182.4
酢酸イソアミル	3.4	2.7	2.2	2.0
カブロン酸エチル	0.7	0.6	1.5	1.5
カプリル酸エチル	0.2	0.1	0.2	0.2

表 6 芳香族アルコール

ppm	K701	K901	HN	HN2
チロソール	81.9	84.7	77.2	77.4
フェニルアルコール	84.8	78.9	71.0	71.2
トリプトファン	5.9	5.0	4.0	4.1

3.3 アルコール耐性とその強化

白桃酵母の香味特性から、苦味アミノ酸が多くなることが、製成酒における苦味指摘の要因になっている可能性が考えられた。

各酵母を20%のエタノールを含むYPD培地で15℃、1週間保持した後、死滅率を計測した。その結果、HNはK701やK901と比べて、半分以下のアルコール耐性しか有していないことが判った(表7)。そこで、HNを20%のエタノールを含むYPD培地で培養を繰り返し生育の良い株を数株選抜した。このうちHN2はK701やK901と同程度のアルコール耐性を有していることが明らかになった(表7)。

次に、アルコール耐性が向上したHN2を用いて、他の酵母同様に小仕込み試験を行ったところ、上槽時の死滅率は、表7のアルコール耐性を反映していた(表2)。そして、一般成分、有機酸、香気成分、芳香族アルコールにHNとの違いは見られず、苦味アミノ酸が少し減少していることが分かった(表2, 3, 4, 5, 6)。

これらのことから、HN のアルコール耐性の低さが、苦味アミノ酸が多くなる一因になっており、アルコール耐性が向上した HN2 の使用により、苦味アミノ酸量の軽減が期待できるのではないかと考えている。

表 7 アルコール耐性

	K701	K901	HN	HN2
死滅率(%)	14.80	29.76	69.37	18.86

4 まとめ

小仕込み試験を行った結果、白桃酵母を使用した製成酒は、やや甘口で、苦味アミノ酸がやや多くなる傾向を示した。そして有機酸では、リンゴ酸が多く酢酸が少ないこと、香気成分では、カプロン酸エチルが多くプロパノールが少ない傾向を示した。これらが複合的

に白桃酵母の香味特性を形成していると思われる。そして、アルコール耐性の強化により、苦味アミノ酸量の軽減が期待できることが分かった。今後は、様々な発酵条件が白桃酵母の香味特性に及ぼす影響について把握していく必要があると考えている。

参考文献

- 1) 産本弘之, 三宅剛史: 岡山県工業技術センター報告, **28**, 51-52 (2002)
- 2) 岩野君夫, 伊藤俊彦, 中沢伸重: 日本醸造協会誌, **99**, 526-533 (2004)
- 3) 伊藤俊彦, 小松幸恵, 高堂斐, 高橋仁, 田母神繁, 小泉武夫, 中沢伸重, 岩野君夫: 日本醸造協会誌, **103**, 562-569 (2008)