マロラクティック発酵による新タイプ純米酒の開発

誌名	山形県工業技術センター報告
ISSN	0286813X
著者名	石垣,浩佳 工藤,晋平 村岡,義之 後藤,猛仁 小関,敏彦
発行元	山形県工業技術センター
巻/号	47号
巻号補足	
掲載ページ	p. 57-61
発行年月	2016年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

マロラクティック発酵による新タイプ純米酒の開発

石垣浩佳　工藤晋平　村岡義之　後藤猛仁　小関敏彦

Development of new type *Junmai*-shu by Malo-Lactic Fermentation

Hiroyoshi ISHIGAKI　Shinpei KUDO　Yoshiyuki MURAOKA
Takehito GOTO　Toshihiko KOSEKI

1 緒　言

2013年に「和食」が世界無形文化遺産に登録され，世界中に日本食ブームが広まる中，日本酒の海外輸出は年々増加を続けている。海外から日本酒が評価されることで，国内における日本酒の評価も向上し，特定名称酒（吟醸酒等の上級酒）を中心に徐々に需要も増加しており，若い世代や女性達をターゲットとする新商品開発も盛んに行われている。

マロラクティック発酵（MLF）とは，ワイン醸造に用いられる乳酸発酵の技術である。リンゴ酸が乳酸に代謝されることで味がまろやかになり，同時に生成する代謝副産物が複雑な香味をプラスする。本研究では，洋食やチーズ料理に合う酒質を目標とし，県産材料とMLFを組み合わせた新たな醸造方法により，日本酒のジャンルを広げる新タイプ純米酒を開発したので報告する。

2 実験方法

2.1 実験材料

小仕込発酵試験（総米1kg）及び試験醸造（総米120kg）には，山形酵母（YK2408，TY24，及びYK0107）と県産酒造好適米の出羽の里（精米歩合60%）を使用した。仕込水は，RO水またはろ過水道水を利用し，麹菌は，先の研究[1]で開発したオリーゼ山形（秋田今野商店）を用いた。また，MLF菌には，ワインMLF用スターターカルチャーMBR31及びPN4（LALLEMAND社）を使用した。

2.2 発酵条件及び成分分析

小仕込試験及び試験醸造の仕込配合を，**表1,2**に示す。

総米1kgの小仕込試験では，仕込量が少なすぎるため酒母省略の酵母仕込とした。また，総米120kgの試験醸造では，酵母添加後8日間で育成する速醸酒母を用いた。

MLF菌は，仕込時（留添または初添）に添加した。予備試験の結果より，MLF菌はアルコール分10 %以上から増殖が阻害されることが確認されていた。そのため，菌の生育を早める目的で，留添後1℃／日ずつ上昇させる品温操作を行い，アルコール分が低い，もろみ前半に菌の増殖を図った。

発酵期間中は適時サンプリングを行い，遠心分離後の上澄液を成分分析に使用した。一般成分は国税庁所定分析法注解[2]により分析し，有機酸はHPLC（島津製作所 LC-9A System），アミノ酸はGC （Agilent Technolojies 7890A GC System）により測定した。また，MLF菌数は，BCP加プレートカウントアガール（ニッスイ）により簡易的に計測した。

表1 小仕込試験の仕込配合

	初添	仲添	留添	合計
総米(g)	200	320	480	1000
掛米(g)	140	250	380	770
麹米(g)	60	70	100	230
汲水(ml)	230	420	750	1400

*酒母省略

表2 試験醸造の仕込配合

	酒母	初添	仲添	留添	合計
総米(kg)	9	19	36	56	120
掛米(kg)	6	13	28	45	92
麹米(kg)	3	6	8	11	28
汲水(l)	10	18	43	85	156

実験結果および考察

3.1　小仕込試験

小仕込試験は，酵母及び MLF 菌の最適な組合せと，MLF が確実に実施される添加方法の検討を目的とした。酵母は，リンゴ酸高生産性酵母 YK2408 を基本とし，コク成分を高生産するチロソール高生産性酵母 TY24 または，リンゴ酸と酢酸イソアミルを高生産する山形清々酵母 YK0107 とのブレンドを検討した。MLF 菌は，増殖力の強い MBR31 を対象とし，香気成分の改善が期待できる PN4 の効果を確認した。主な小仕込試験の内容を**表 3** に示す。

酵母は，麹汁培地（ボーメ 6.5）で培養したものを酒母の代用として使用した。リンゴ酸高生産性酵母 YK2408 に対し，各酵母を 1：1 の比率でブレンドし，初添時に添加した。MLF 菌は，乳酸菌用 MRS bloth を含む麹汁培地で培養した後，滅菌水で 2 回洗浄・集菌し，仕込水に溶解した後に添加した。小仕込もろみの品温管理はウォーターバスで行い，留温度は 6℃，1℃／日上げる品温操作で最高品温は 12℃とした。

小仕込試験の設定温度と 1 日あたりの CO_2 減量を**図 1** に示す。

小仕込試験の目的により，もろみ後半の品温設定を変更している。前半の最高品温までの操作は同じだが，後半は，試験区 1～3 は CO_2 減量をみて緩やかに品温を降下し，試験区 4～6 は規則的な温度降下を実施した。その影響があり，10 日目以降の CO_2 減量は試験区 4～6 が少ない値となっている。小仕込試験の有機酸生成の変化を**図 2** に示す。

日本酒に含まれる主要な有機酸は，リンゴ酸，コハク酸，及び乳酸である。試験区 4 のように，通常，発酵経過とともにリンゴ酸とコハク酸は増加するが，乳酸は初期の含有量からほとんど変化しない（**図 2-a**）。これに対し，試験区 6 のように MLF が実施されると，5 日目以降からリンゴ酸が代謝されて乳酸となり，アルコールの影響が出始める 15 日程度まで増加を続ける（**図 2-b**）。試験区 4 と同様に MLF 菌を添加しない試験区 1 では，グラフ a)と同様の傾向を示し，添加する試験区 2,3.5 ではグラフ b)と

表 3　小仕込試験の内容

試験区	ブレンド酵母*	MLF菌	MLF菌添加時期	MLF菌添加%**
1	TY24	-	-	0.0
2	TY24	MBR_{31}	留添	1.0
3	TY24	PN4	留添	1.0
4	YK0107	-	-	0.0
5	YK0107	PN4	留添	1.0
6	YK0107	PN4	初添	0.2

*YK2408をベースに，ブレンド酵母を1:1の割合で添加
**もろみ留即時の総量に対する比率

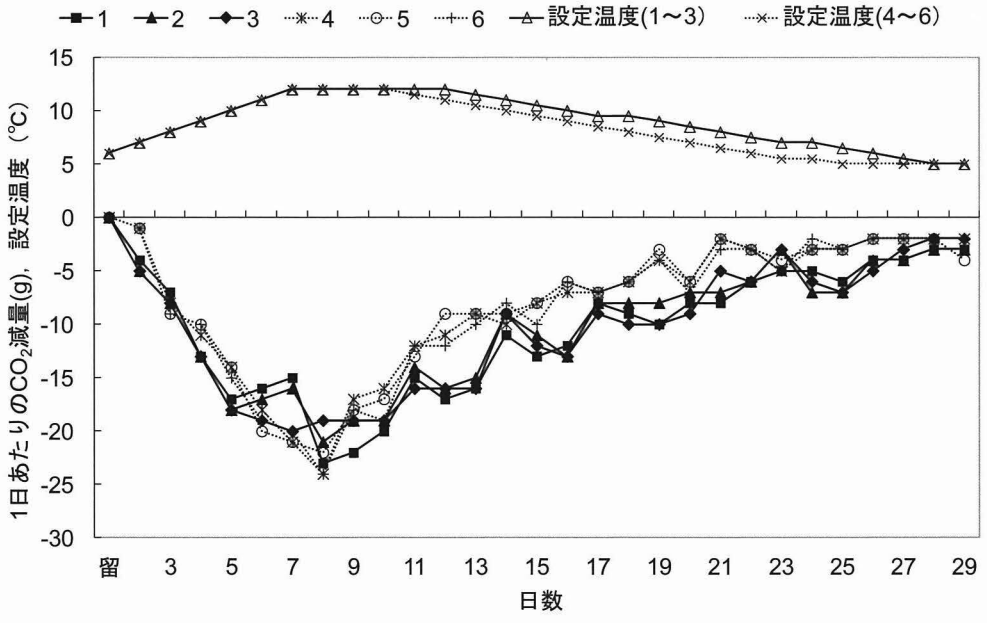

図 1　小仕込試験の設定温度と 1 日あたりの CO_2 減量

同様の傾向を示した。なお，消費されるリンゴ酸以上に乳酸が生成されるのは，もろみ中に含まれる糖の資化による乳酸生成が行われるためと推察した。小仕込試験酒の一般成分と官能評価結果を**表 4** に示す。

試験区 1 は，試験区 2,3 の対象区であるが，使用した TY24 酵母による酸味とコク（チロソール）のバランスがとれ高い評価となっている。試験区 2,3 は酸味のみが目立ったせいか試験区 1 に比べ評価が低い。しかし，MLF の効果は残っており，特徴的な酒質が確認できた。

一方，試験区 4 は試験区 5,6 の対象区である。緩やかな発酵経過としたせいか甘さが残る酒質となったが，高い酸味とのバランスは良く，MLF の特徴に合う味わいになっているとの評価であった。

小仕込試験の結果より，酵母は YK2408 と YK0107 を 1 : 1 でブレンド，MLF 菌は PN4 を使用する方法を適当とした。

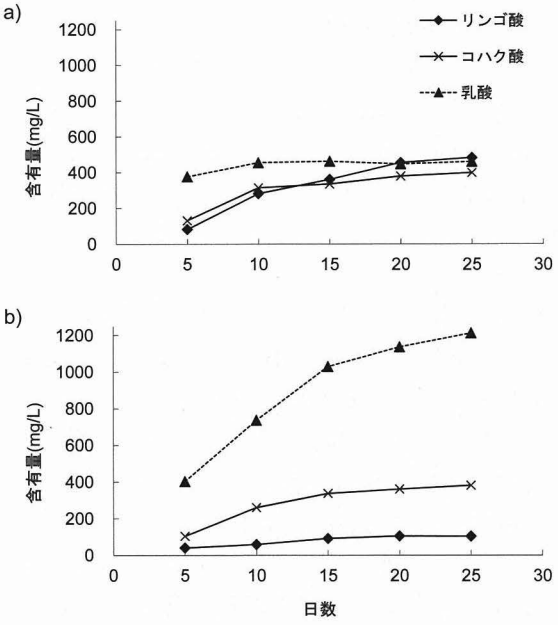

図 2　小仕込もろみの有機酸生成の変化
a) : 試験区 4，b) : 試験区 6

表 4　小仕込試験酒の一般成分と官能評価結果

試験区	ｱﾙｺｰﾙ分%	日本酒度	総酸	アミノ酸	a	b	c	d	ave.
1	14.6	-13.0	2.2	1.5	2.0	2.5	2.0	2.5	2.3
2	15.3	-10.1	3.1	1.7	4.0	2.5	2.0	3.5	3.0
3	15.7	-6.8	2.9	1.7	3.0	3.0	2.0	2.5	2.6
4	14.9	-39.9	2.3	1.5	2.0	3.0	2.0	4.0	2.8
5	15.6	-26.3	3.8	1.4	2.5	2.0	2.5	4.0	2.8
6	13.9	-19.4	2.7	1.3	3.0	1.0	1.0	3.0	2.0

※a～dの値は，官能評価経験者による評価点，5点法（1が優良，3が普通，5が難あり）

3.2　試験醸造

試験醸造では，小仕込試験の再現と，生産現場での生産性（作業効率，低コスト等）を考慮する検討を行った。これまでの研究から，十分な MLF が実施されるには，もろみ総量の 1.0% 以上の MLF 菌添加が必要であった。しかし，その使用量は酒母時に添加する液体酵母の 5 倍量にもなり，原材料費コストを抑えるためにも添加量の改善が必要であった。小仕込試験の結果，仕込温度が高い初添時の添加であれば，もろみ総量の 0.2%でも十分な MLF 効果が認められたため，試験醸造での再現と酒質評価を実施した。

まず，三段仕込の留添時に，もろみ総量（留即）の 1.0%の MLF 菌を添加する試験醸造を実施した。留温度は 8℃と高めだったので，3 日間で 2℃上げるような品温操作を実施した。7 日目に最高品温の 12℃をとり，13 日目でアルコール分が 12%を越えたところから徐々に品温降下を促した。最終的に 4.5℃まで品温を下げ，26 日目に上槽とした。試醸酒の一般成分は，アルコール分 15.6%，日本酒度-23，酸度 2.1，アミノ酸度 1.3 となった。

もろみ期間中は，留添時に感じられた MLF 菌独特の香り（ヨーグルト様）は徐々に消失し，もろみが高泡になる 10 日目頃は通常感じられる香気に僅かに特徴香が隠れる程度となった。後半は，しっかりした酸味と甘味が残る状態で経過した。

次に，三段仕込の初添時に，もろみ総量（留

即）の 0.2%の MLF 菌を添加する試験醸造を実施した。留温度は 7℃，9 日目に最高品温の 12℃をとり，13 日目でアルコール分が 12%近くなった時点から徐々に品温降下を促した。もろみ後半は 6℃前後で経過し，29 日目に上槽とした。試醸酒の一般成分は，アルコール分 15.9%，日本酒度-23，酸度 2.0，アミノ酸度 1.4 となった。

もろみ期間中の印象は，11 日目の高泡時に，これまで試験醸造した MLF 純米酒の特徴である完熟した果実様香が感じられた。また，発酵が鈍り始める 20 日目頃には，柑橘系とは異なる軽快でスッキリした香気も感じられた。もろみ終盤は，酸味と旨味に少し苦味（コク）を感じる内容で経過した。もろみ期間中の乳酸菌（MLF 菌）数の簡易計測結果を**図 3** に示す。

初添時に添加した MLF 菌数は，翌日の踊（品温 14℃）で 1.9×10^{7}cfu/ml となり，最高品温に達した 13 日目には 1.7×10^{8}cfu/ml まで増殖した。その後は，アルコール生成の影響もあり減少し，上槽時 29 日目には 4.1×10^{7}cfu/ml となった。次に，試験醸造もろみ中の主な有機酸生成を**図 4** に示す。

グラフは，初添時に MLF 菌を 0.2%添加した試験醸造の結果である。意図的に品温上昇を抑えた 8 日目までは乳酸値の上昇が緩やかであったが，最高品温に達した 9 日目以降は急激に生成量が増加し，最終的に小仕込試験結果と同程度の有機酸組成となった。なお，留添時に MLF 菌を 1.0%添加した試験醸造では，乳酸の増加とリンゴ酸の減少は小仕込試験ほど顕著で無かったが，MLF による有機酸成の変化は起こっており，官能的にも良好な酒質となった。

日本酒のアミノ酸では，特に甘味に関与するアラニンとグリシンは生成酒の風味に与える影響が大きい。小仕込試験の結果からは，MLF によりアミノ酸組成に大きな変化はないものの，甘味に関与するアラニン及びグリシンが 10～20%程度増加することが確認された。試験醸造の結果でも，MLF 効果によりアラニン及びグリシンが同程度増加することが認められた（図 5）。しかしながら，アラニンの増加は雑味としても捉えられるという報告もあるため，更に詳細な確認が必要と考えている。

試験醸造酒は，甘い果実香と適度なボディ感があるため，アルコール分を 12～13%に下げても美味しく飲用できるタイプに仕上がった。

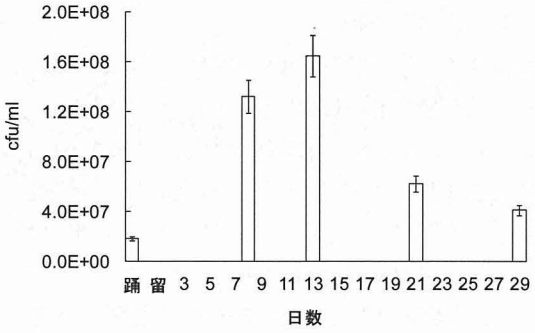

図 3　もろみ中の乳酸菌（MLF 菌）数の推移

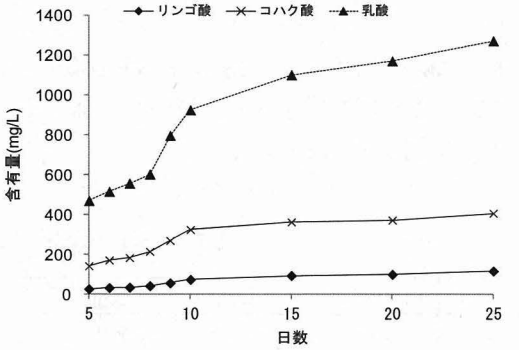

図 4　試験醸造もろみ中の主な有機酸生成

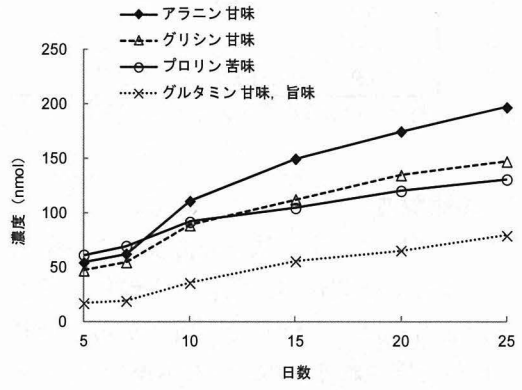

図 5　試験醸造もろみ中の主なアミノ酸生成

4　結　　言

本研究により以下のことがわかった。

1）山形酵母は YK2408 と YK0107 を 1：1 でブレンドし，MLF 菌は PN4 を組み合わせると，MLF の特徴があり，かつ香味バランスの良い MLF 純米酒が製造できた。

2) MLF 菌は，留添時にもろみ総量の数%添加することで効果が得られること，さらに，初添時であれば，添加量を抑えても同様の MLF 効果が得られることがわかった。

文　献

1) 小関敏彦，松田義弘，石垣浩佳ほか：山形県工業技術センター報告，No.32 (2000) 32.
2) 西谷尚道監修：第四回改正　国税庁所定分析法注解，日本醸造協会，(1993).