

富山県の自然界からの酒造用酵母分離とそれを利用した清酒の開発

誌名	富山県農林水産総合技術センター食品研究所研究報告 = Bulletin of the Food Research Institute, Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center
ISSN	21852367
著者	中川, 秀幸
巻/号	1号
掲載ページ	p. 23-30
発行年月	2010年3月

富山県の自然界からの酒造用酵母分離と それを利用した清酒の開発

中川 秀幸

(2010年1月20日受理)

富山の酒は、特に淡麗辛口の酒として知られ、吟醸酒、本醸造酒などの特定名称清酒の構成割合が高いなどの特徴があるといわれている。清酒の消費量は年々減少する傾向にあるが、味や香りなどに新しい特徴を持った製品の売り上げの伸びは期待されている。そこで、富山県や地域のイメージにマッチした清酒の開発を目的として、酒造に適した酵母を県内各地から採取し、その酵母を使って香味に優れた清酒の製品化を図ったので報告する。

試料および実験方法

1. 酵母の分離源

県内の様々な花および海洋深層水から酵母を採取した。分離源は表1に示す、①中部山岳国立公園弥陀ヶ原の高山植物52検体、②砺波市のチューリップ公園等のチューリップ137検体、③南砺市の井口椿公園の椿110検体、④富山湾の海洋深層水200Lとした。なお、サ

表1 自然界からの酵母分離の概要

分離源	採取時期	場 所	試料数
高山植物	平成15年 8月	中部山岳国立公園 弥陀ヶ原高原	52検体
チューリップ	平成16年 5月	砺波市チューリップ公園 および園場	133種 137検体
椿	平成17年 4月	南砺市井口椿公園	52種 110検体
海洋深層水	平成17年 2月	滑川市海洋深層水分水施設 アクアポケット	200L

ンプリングした花は、現地で無菌的に採取し、滅菌水に入れて、冷蔵して実験室に持ち帰った。また、高山植物の場合は、森林管理署の許可を得た上で、花を直接採取せずに滅菌した綿棒での拭き取り法により、微生物を採取

した。海洋深層水は、70%アルコールで殺菌し、更に滅菌水で洗浄した20L容のポリタンクに無ろ過の原水を採取した。

2. 酵母の分離・選抜と醸造特性評価

(1) 濃縮および集積培養

集積培養は、麴糖化液を用いて行った。麴糖化液は、麴の重量に対し、4倍量の水を加えて60℃で一晩糖化、ろ過の後にボーメ5、pH5.5に調整して用いた。この25mlの麴糖化液の集積培養培地に採取した花および滅菌水を加えて25℃で約1週間静置培養した。海洋深層水は、約20Lずつを滅菌した直径5cmの0.45~2.0 μ mのメンブレンフィルターによるろ過を行い、菌体の濃縮を行った。ろ過終了後、メンブレンフィルターを取り出し、集積培養培地にそのまま添加した。なお、メンブレンフィルター、ガラスろ過器および培地は、121℃で15分間加圧加熱殺菌してから用いた。

(2) 酵母の分離

約1週間の静置培養後の培養液のアルコール分を測定し、概ね1%以上のアルコール生成のあった集積培養液を適宜希釈し、ポテトデキストロース寒天（以下、PDA）平板培地に塗抹し、25℃で2~3日培養した。生育した単一コロニーを釣菌し、更にPDA平板培地に画線塗抹した。これを繰り返し純粋化したものをPDA斜面培地に接種し、25℃で培養後、5℃で冷蔵保存した。

(3) アルコール生成試験による選抜

121℃で15分間加圧加熱殺菌したボーメ5、pH5.5の麴糖化液の培地に分離保存した酵母を1白金耳接種し、15℃で一晩培養

後に乾燥麴（精米歩合70%，日本晴）を培地に対し重量比約20%加え、更に2週間培養した後、もろみを遠心分離した上清をアルコール分析に供した。その結果において、概ね5%以上のアルコール生成のあった菌株を以下の小仕込み試験に供した。

(4) 小仕込み試験

仕込み配合を表2に示した。なお、麴に

表2 仕込み配合

	酒母	初添	留添	計
総米 (g)	60	270	670	1000
掛米 (g)	0	180	520	700
麴 (g)	60	90	150	300
汲水 (ml)	100	500	1100	1700

掛米：60% α 米 麴：60% 乾燥麴 発酵温度：15°C

は乾燥麴吟醸用（精米歩合60%，山田錦）、掛米には α 化米（精米歩合60%，日本晴）を用いた。仕込方法は酵母仕込-前日水麴法、2段仕込とし、発酵温度を15°C（一定）とした。発酵経過は、容器ごともろみの重量を量り、炭酸ガス減量を求めた。

(5) 試験醸造酒の分析と評価

アルコール分、酸度、アミノ酸度は国税庁所定分析法¹⁾に準じて行った。アルコール分はガスクロマトグラフ法により測定した。有機酸は島津製作所の有機酸分析システムにより分析した。試験醸造酒の酒質については官能評価を行った。官能評価は、金沢国税局鑑定官および県酒造組合員の協力を得て行った。

(6) キラー性の有無の確認

選定した酵母の協会清酒7、9、14号酵母を対象に対するキラー性の有無を大内ら²⁾の方法を用いて調べた。すなわち、グルコース2%、酵母エキス1%、ポリペプトン1%のYEPD培地90mlにpH4.5の1Mクエン酸-リン酸緩衝液10mlを混合し、0.03%のメチレンブルーと2.5%の寒天を添加した平板培地に協会酵母を画線接種し、それと交叉するように供試菌株を画線接種して培養して生育の阻害、死滅をメチレン

ブルー染色により確認する方法によった。

実験結果及び考察

1. 酵母の分離選抜

高山植物より、集積培養した場合のアルコール生成の結果を図1に示した。これらの中で概ね5%以上のアルコール生成のあった菌株から、さらに分離した酵母を用いたアルコール生成試験の結果を図2に示した。また、チューリップより集積培養した場合のアルコール生成の結果を図3に示した。これらの中で概ね5%以上のアルコール生成のあった菌株から、さらに分離した酵母を用いたアルコール生成試験の結果を図4に示した。次いで、椿より集積培養した場合のアルコール生成の結果を図5に示した。これらの中で概ね0.5%以上のアルコール生成のあった菌株から、さらに分離した酵母を用いたアルコール生成試験の結果を図6に示した。また、海洋深層水よりメンブレンフィルターに捕集し、集積培養した場合のアルコール生成の結果を図7に示した。これらの中で概ね0.3%以上のアルコール生成のあった菌株から、さらに分離した酵母を用いたアルコール生成試験の結果を図8に示した。この様にアルコール生成を指標に選抜し、これを繰り返した結果、通常の清酒のアルコール濃度の15%程度に達する株を分離することが可能であった。また、これら

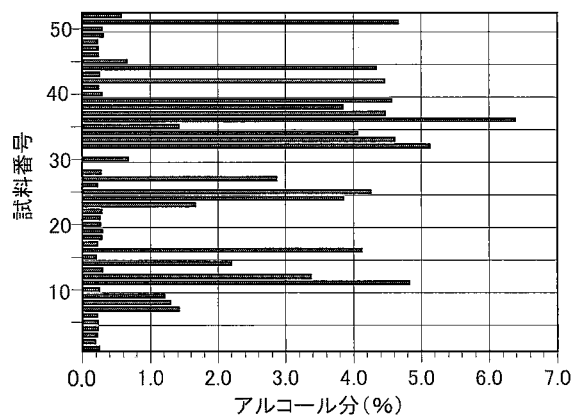


図1 集積培養におけるアルコール生成 (高山植物)

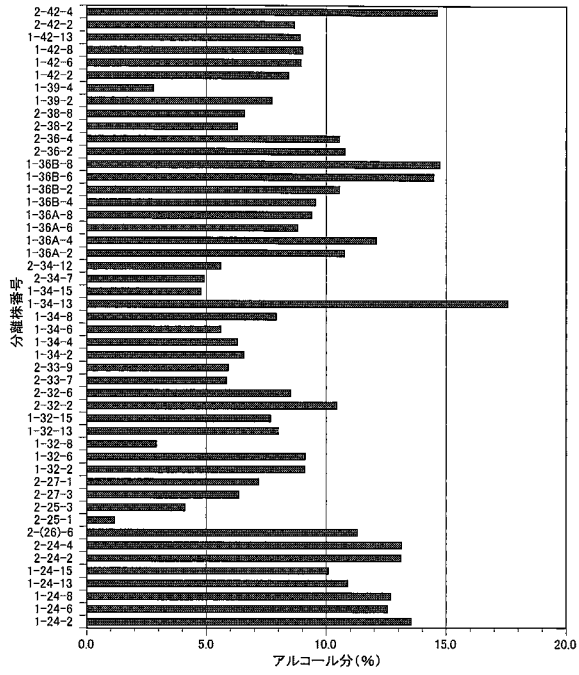


図2 分離株のアルコール生成 (高山植物)

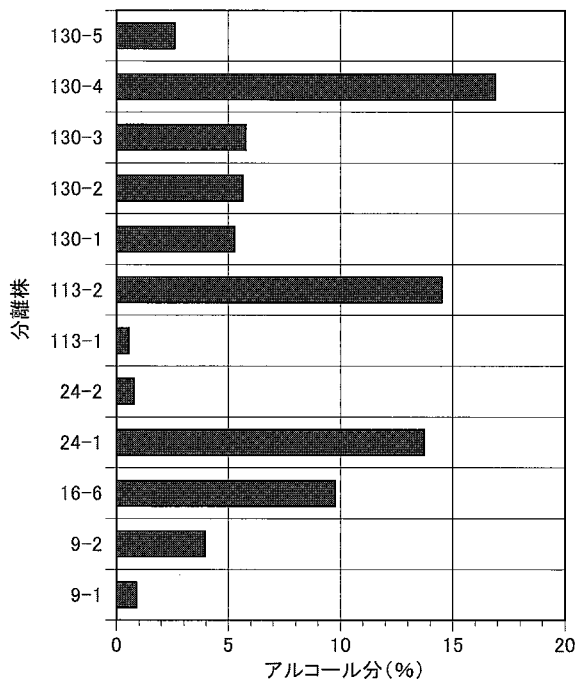


図4 分離株のアルコール生成 (チューリップ)

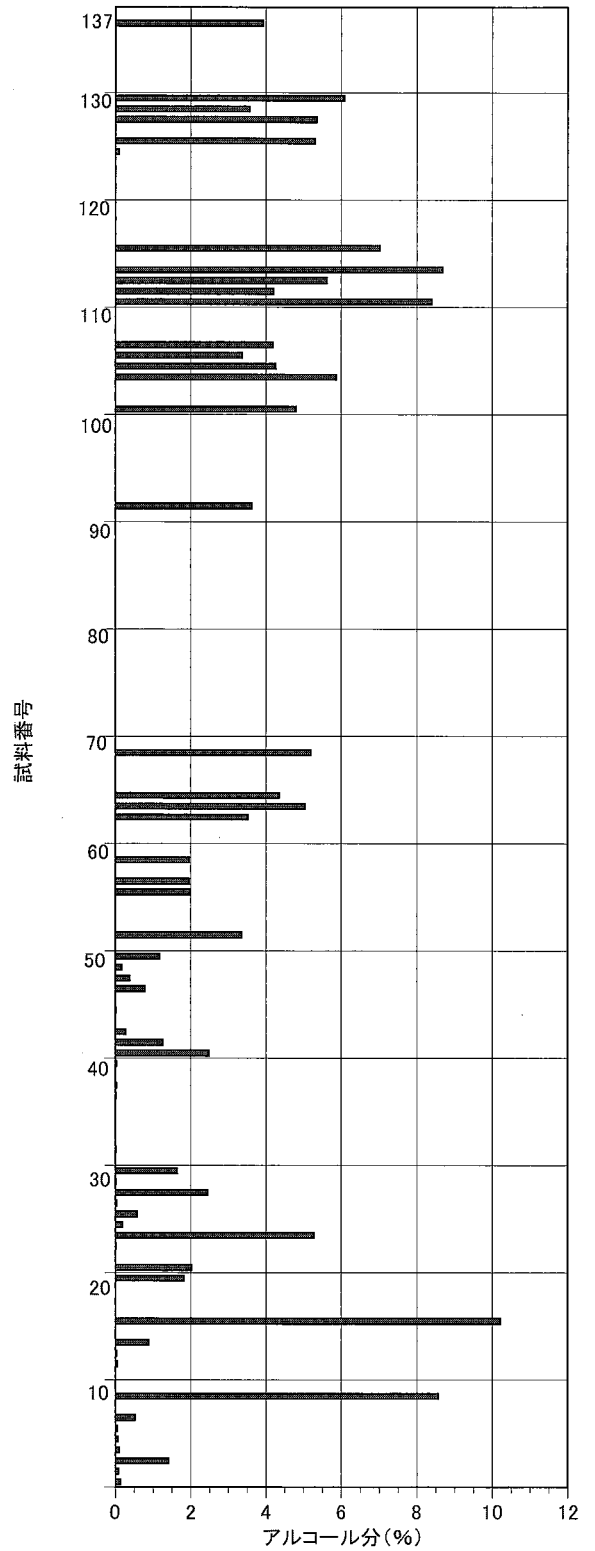


図3 集積培養におけるアルコール生成 (チューリップ)

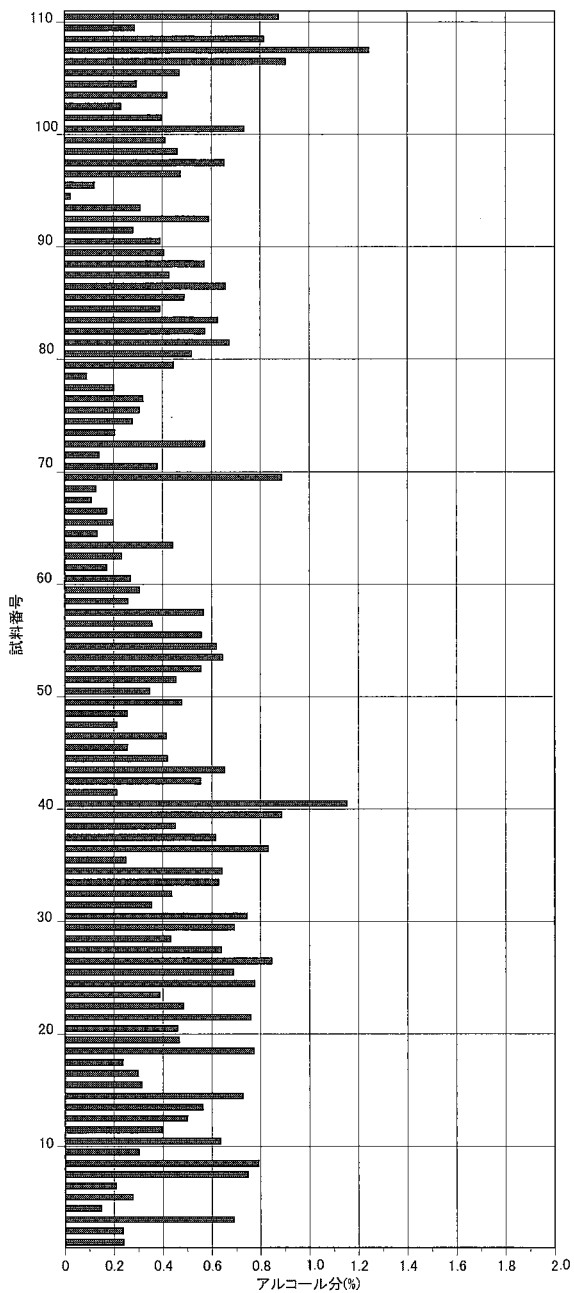


図5 集積培養におけるアルコール生成(棒)

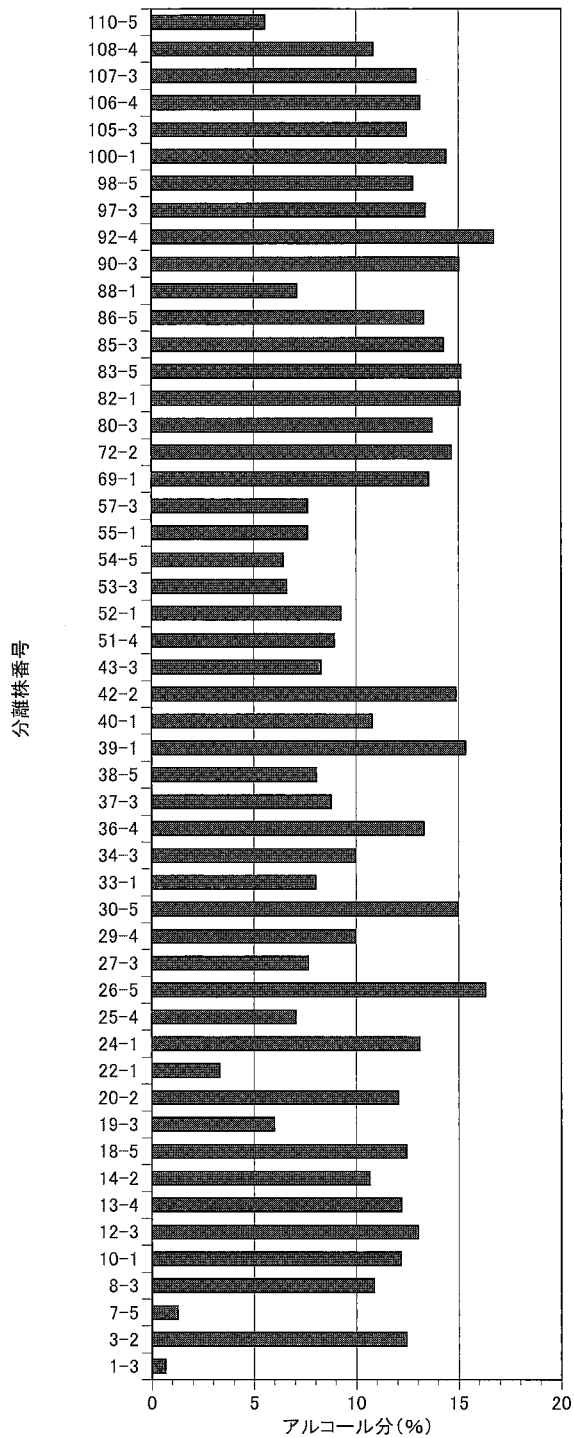


図6 分離株のアルコール生成(棒)

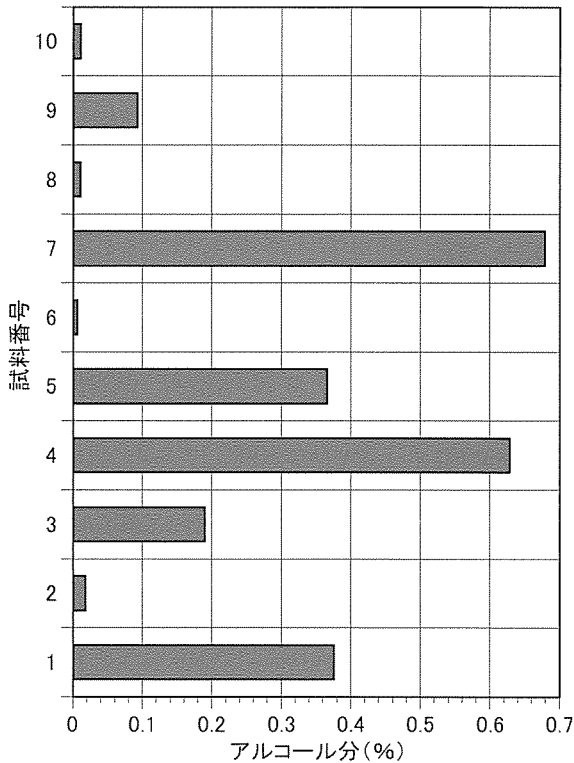


図7 集積培養におけるアルコール生成 (海洋深層水)

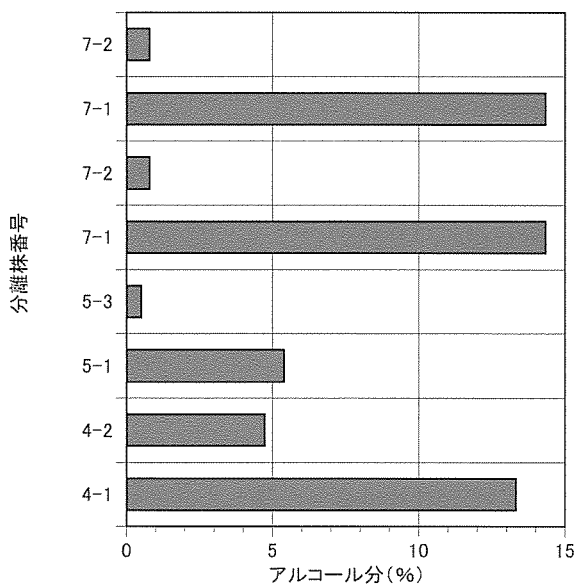


図8 分離株におけるアルコール生成 (海洋深層水)

の分離酵母を、エタノール生成能が高いことに加え、(1)酢酸エチル臭などの異臭が認められない、(2)産膜しないなどを基準に選抜し、これを繰り返し試験した。

2. 試験醸造と品質評価

分離・選抜した酵母を使って小仕込み試験

を実施し、官能評価による品質評価により酵母を選定した。官能評価は、香味に優れ、かつ香味が分離源および分離した地域のイメージにマッチしていることを主な基準とした。その結果、高山植物52試料から220株の酵母を分離し、「タテヤマウツボグサ」を分離源とする1株を最終的に現地実用化試験用酵母に選定した(以下、高山植物酵母)。チューリップ133種137検体からは、332株の酵母を分離し、品種「キャンドルライト」を分離源とする1株を選定した(以下、チューリップ酵母)。また、椿の花52種110検体から226株を分離し、「旭光」を分離源とする1株を選定した(以下、椿酵母)。また、海洋深層水200Lからは、4株を分離し、1株を選定した(以下、海洋深層水酵母)。

なお、これらの選定した酵母は、協会清酒7、9、1401号酵母の他の主要な醸造用酵母に対するキラー性がないことを確認した。

選定したこれらの酵母による小仕込み試験の醸造結果について、発酵経過を図9および試験醸造酒のアルコール分、酸度、アミノ酸度を表3に示した。また、試験醸造酒の有機酸組成を表4および図10に示した。

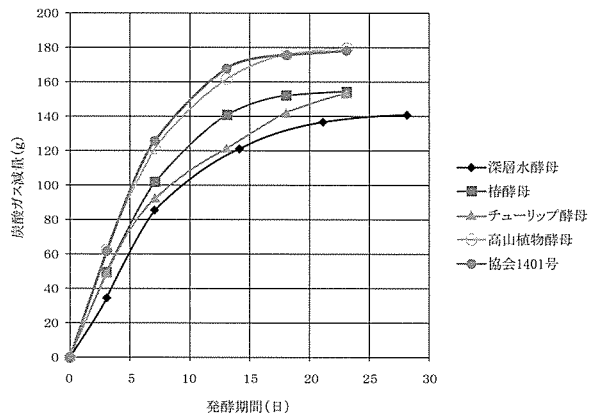


図9 小仕込み試験における各酵母の発酵経過

表3 分離酵母を用いた試験醸造酒の一般成分

酵母の種類	アルコール分 (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)
高山植物酵母	19.2	6.2	2.1
チューリップ酵母	16.2	5.1	2.2
椿酵母	17.1	4.1	2.8
海洋深層水酵母	14.8	3.8	2.7
協会1401号(対照)	20.1	3.5	3.3

表4 分離酵母を用いた試験醸造酒の有機酸組成

成分 酵母	有機酸 (mg/100ml)						計
	クエン酸	ピルビン酸	コハク酸	リンゴ酸	酢酸	乳酸	
高山植物	12.4	0	53.7	39.3	19.4	98.7	223.5
チューリップ	13.2	12.4	50.2	58.4	26.2	37.2	197.6
椿	12.7	4.9	41.7	35.4	7.6	46.7	149.0
海洋深層水	18.1	0	103.5	22.8	21.9	32.6	198.9
協会1401号(対照)	9.5	10.7	33.7	22.8	0	34.6	111.3

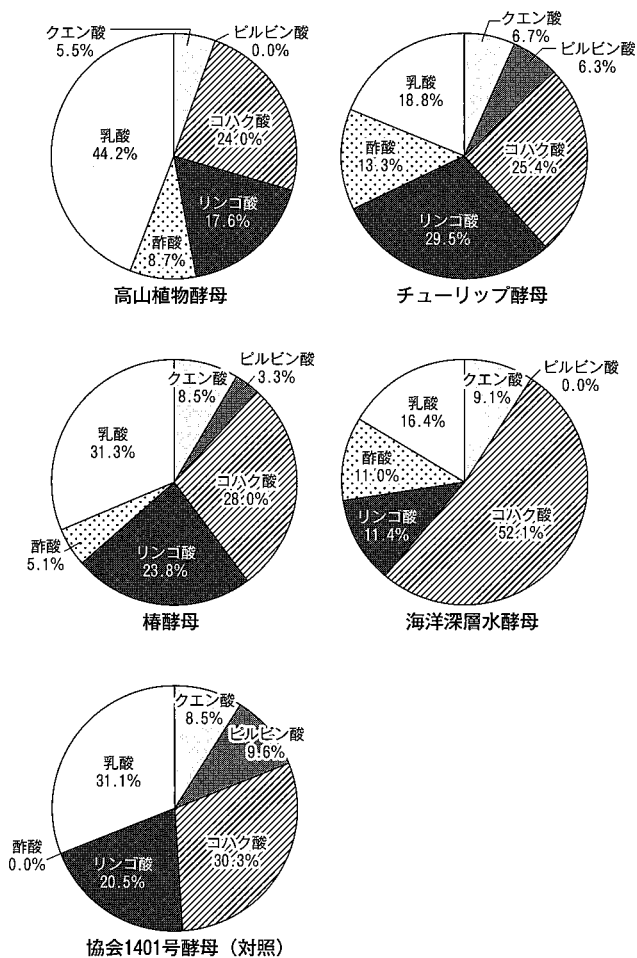


図10 分離酵母を用いた試験醸造酒の有機酸組成比


高山植物酵母では、発酵の立ち上がりも速く、対照の協会酵母に匹敵する20%前後のアルコール濃度に到達することが可能であった。椿およびチューリップ酵母では、ともに16~17%のアルコール濃度に達したが、発酵の立ち上がりは椿酵母の方が比較的速かった。海洋深層水酵母では、他の酵母に比べてアルコール発酵が緩慢で、到達したアルコール濃度は15%前後にとどまった。製成酒の酸度は、

対照の協会1401号酵母の3.5mlに対して海洋深層水酵母が3.8ml、椿酵母で4.1mlであったが、チューリップ酵母5.1ml、高山植物酵母6.2mlと比較的多酸であった。有機酸組成は、高山植物酵母では、総有機酸量が223.5mg/100mlと4酵母の中で最も多かった。その組成は、乳酸が主体で全体の44.2%を占めたが、次いでコハク酸が24.0%と多かった。チューリップ酵母の総有機酸量は197.6mg/100mlで海洋深層水酵母とほぼ等しい値であったが、リンゴ酸の割合が29.5%と最も高いのが特徴的で、コハク酸25.4%、乳酸18.8%の順であった。椿酵母では、総有機酸量は149.0mg/100mlと4酵母の中で最も低かった。その組成は、乳酸31.3%、コハク酸28.0%、リンゴ酸23.8%と続き、対照の協会1401号と近い比率であった。また、チューリップ酵母とは、逆の組成比順であった。海洋深層水酵母では、総有機酸量198.9mg/100mlであったが、コハク酸主体で52.1%と特に割合が非常に高かった。残りは、乳酸16.4%、リンゴ酸と酢酸は、約11%とほぼ等量含まれていた。クエン酸は、どの酵母も約5から10%程度であった。クエン酸量としては、海洋深層水酵母で18.1mg/100mlと最大であった。

3. 分離酵母を用いた製品の開発


県内酒造メーカーで、これらの酵母を用いた実用化仕込みを行った。その結果、(1)高山植物酵母では、高原をイメージした淡麗な味わいで軽快な吟醸香に優れた吟醸酒が、(2)チューリップ酵母では、花の香りを持ち、日本酒のやわらかさと果実酒の爽やかな酸味を融合した純米吟醸酒が、(3)椿酵母は椿の花様の甘い香りを有する吟醸酒が、(4)海洋深層水酵母では、すっきりと辛口ながらも、ふわりとした独特の吟醸香で、これまでの花酵母にはみられない独特の香味を備えた純米吟醸酒が、それぞれ得られ、これらは図11に示すとおり、商品化された。

製品の概要 (高山植物)
 商品名 「北アルプス弥陀ヶ原高原の「うつぼ草」の花酵母で造ったお酒」




吟醸酒
 アルコール分 15度～16度
 日本酒度 +12
 原料米 雄町 (特別栽培米)
 原料米の精米歩合 50%
 香味の特徴
 淡麗な味わいで軽快な吟醸香に優れた吟醸酒

製品の概要 (チューリップ)
 商品名 「咲いた咲いた」



純米吟醸酒
 アルコール分 14度～15度
 日本酒度 -11
 原料米 雄山錦
 原料米の精米歩合 55%
 香味の特徴
 花の様な香りで、日本酒のやわらかさと程よい甘み、果実酒の爽やかな酸味が特徴の新感覚の清酒

製品の概要 (椿)
 商品名 「萌 (めぐみ)」



純米吟醸酒
 アルコール分 14度～15度
 日本酒度 -11
 原料米 富山県産山田錦
 原料米の精米歩合 50%
 香味の特徴
 椿の花のような甘い香りと、米の旨みが生きている純米吟醸酒

製品の概要 (海洋深層水)
 商品名 「海の恵み」



純米吟醸酒
 アルコール分 15度～16度
 日本酒度 +7
 原料米 雄山錦
 原料米の精米歩合 55%
 香味の特徴
 すっきりと辛口ながらも、ふわりとした独特の吟醸香が特徴

図11 実用化された各製品の概要

要 約

- (1) 高山植物、県花チューリップ、地域の花椿、海洋深層水など、県内の豊かな自然から酵母を採取した。
- (2) これらの中から、アルコール生成が高く、香味が良好などの清酒醸造に適した酵母を分離・選抜し、さらに官能評価等により、それぞれ1株ずつを実用化酵母として選定した。県内の酒造メーカーと協力し、これらの酵母を用いた香味が分離源およびその地域等のイメージにマッチした個性豊かな清酒を開発し、商品化した。
- (3) 高山植物では、52試料から220株の酵母を分

- 離し、これらの中から「タテヤマウツボグサ」を分離源とする1株を選定した。この酵母を用いて、高原をイメージした淡麗な味わいで軽快な吟醸香に優れた吟醸酒が製品化された。
- (4) チューリップ133種137検体からは、332株の酵母を分離し、品種「キャンドルライト」を分離源とする1株を選定した。この酵母を用いて、花の香りを持ち、日本酒のやわらかさと果実酒の爽やかな酸味を融合した純米吟醸酒が製品化された。
- (5) 椿の花51種110検体から226株を分離し、「旭光」を分離源とする1株を選定した。この酵母を用いて、椿の花様の甘い香りを有する吟醸酒が製品化された。
- (6) 海洋深層水200Lからは、4株を分離し、1

株を選定した。この酵母を用いて、すっきりと辛口ながらも、ふわりとした独特の吟醸香で、これまでの花酵母にはみられない独特の香味を備えた純米吟醸酒が製品化された。

文 献

- 1) 注解編集委員会編：第四回改正国税庁所定分析法注解，日本醸造協会（1993）.
- 2) 大内弘造、川島 宏：醸協，69（9），629-630（1974）.