

研究論文

五万石ふじ酵母と復刻米「萬歳」を利用した 岡崎ブランド清酒の開発

伊藤彰敏^{*1}、小野尚之^{*2}、小野奈津子^{*1}、三井 俊^{*1}、山本晃司^{*1}

Development of Local Brand Sake Using Yeast Isolated from *Gomangoku* Wisteria and Reproduce Rice *Banzai*

Akitoshi ITO^{*1}, Naoyuki ONO^{*2}, Natsuko ONO^{*1}, Shun MITSUI^{*1}
and Kouji YAMAMOTO^{*1},

Food Research Center^{*1} Maruishi Jyozo Co., Ltd^{*2}

愛知県の地域産業資源である「岡崎公園の五万石ふじ」から、アルコール生成能が高く、キラー性を示さない有用酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を分離した。復刻米「萬歳」は食用米品種であるが、心白を有し、千粒重が大きく、たんぱく質含量が低いことを特徴とする酒米特性を有していた。五万石ふじ酵母と復刻米「萬歳」を組み合わせた清酒は淡麗タイプで、香味バランスの優れた酒質を呈した。

1. はじめに

近年、清酒業界においても地域振興の観点から、地域に根差した新規な酒米や酵母の育種開発に関するニーズが高まっている。食品工業技術センターでは、地域産業資源である花卉から有用酵母を分離し、自治体、商工会及び地元の酒造メーカーと連携して、地域ブランド清酒の開発を行ってきた^{1)~3)}。

平成 25 年に、本県の地域産業資源である「六ッ美悠紀斎田」（岡崎市）において、大正天皇大嘗祭の献納米であった「萬歳」が復刻栽培された。徳川家康生誕の地として有名な岡崎市は、平成 28 年に市制 100 周年を迎えた。こうした背景を踏まえ、本研究では地域振興及び観光商材の創出を目的として、岡崎市花である「岡崎公園の五万石ふじ」から分離した有用酵母と復刻米「萬歳」とを組み合わせた岡崎ブランド清酒の開発を試みた。

2. 実験方法

2.1 五万石ふじ酵母の分離

2.1.1 分離源

平成 27 年 5 月に岡崎公園の五万石ふじより採取した花卉を使用した。

2.1.2 酵母の分離

既報¹⁾に従い、所定アルコール濃度に調整した麹エキスを培地及びラフィノース培地による 3 次の集積培養を行い、アルコール耐性微生物を TTC 培地により分離した。

2.1.3 遺伝子解析によるアルコール耐性微生物の同定

既報²⁾に従い、26S rDNA D1/D2 領域の遺伝子を解析し、塩基配列を BLAST プログラムによりホモロジー検索し、アルコール耐性微生物を同定した。

2.1.4 分離酵母の生理学的性質

既報¹⁾に従い、TTC 染色性、キラー性及び糖の資化性を調べた。

2.1.5 清酒小仕込試験

α 化米及び乾燥麹（徳島製麹(株) 精米歩合 60%）を使用し、総米 100g（麹歩合 20%、汲水歩合 170%）で、初添、踊り、留添による 2 段仕込を行い³⁾、12℃で 20 日間発酵を行った。もろみの重量を測定し、炭酸ガス減量を求めた。

2.1.6 製成酒の成分分析

もろみ日数 20 日目に上槽を行った。5000rpm、20 分（10℃）の条件で遠心分離し、得られた上澄液について成分分析を行った。既報¹⁾に従い、日本酒度、アルコール分、酸度、アミノ酸度、グルコース、全糖、香気成分及び有機酸を測定した。

2.2 「萬歳」の醸造特性評価

2.2.1 原材料

平成 27 年産「萬歳」48%白米（岡崎市、1 等）を使用した。対照として、酒造好適米品種「雄町」48%白米（岡山市、1 等）及び食用米品種「大地の風」48%白米（豊田市、1 等）を使用した。

^{*1} 食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 ^{*2} 丸石醸造株式会社

2.2.2 酒米分析

水分、千粒重、たんぱく質、吸水性及び消化性について、全国酒米統一分析法⁴⁾に準拠して分析した。

2.2.3 製麹試験

試料米 50 g を 10℃ の水道水に所定時間浸漬させ（吸水率 30% を目標）、脱水後蒸きょうした。蒸米を 30℃ まで冷却後、広口フラスコ（500mL）に入れ、吟醸用種麹（(株)ビオック製）の胞子を 50mg（試料白米の 0.1%）接種し、恒温恒湿器中（35℃、90%RH）で 45 時間培養した。出麹試料について、5 倍量の 0.5%NaCl を含む 10mM 酢酸緩衝液（pH5.0）で粗酵素を抽出した。 α -アミラーゼ活性、グルコアミラーゼ活性及び酸性カルボキシペプチダーゼ活性は、醸造分析キット（キッコーマン(株)）を用いて測定した。酸性プロテアーゼ活性は、国税庁所定分析法⁵⁾に準拠して測定した。

2.2.4 清酒小仕込試験

総米 100g で、麹歩合を 20% とし、汲水歩合 150% で初添、踊り、留添による 2 段仕込を行い、12℃ で 25 日間発酵を行った。

2.2.5 製成酒の成分分析

もろみ日数 25 日目に上槽を行った。5000rpm、20 分（10℃）の条件で遠心分離し、得られた上澄液について成分分析を行った。既報¹⁾に従い、日本酒度、アルコール分、酸度、アミノ酸度、グルコース、全糖、香気成分、有機酸及び着色度を測定した。

3. 実験結果及び考察

3.1 五万石ふじ酵母の分離と醸造特性評価

3.1.1 酵母の分離

白濁の認められた 3 次培養液から、3 株のアルコール耐性微生物を分離した。

3.1.2 遺伝子解析によるアルコール耐性微生物の種の同定

分離した 3 株のアルコール耐性微生物の 26S rDNA D1/D2 領域の遺伝子相同性を解析した結果、3 株ともに *Saccharomyces cerevisiae*（以下 *S. cerevisiae*）と同定された。これらの酵母を五万石ふじ酵母（GF 酵母：GF1、GF2、GF3）とした。

3.1.3 分離酵母の生理学的性質

対照酵母である協会 701 号及び協会 1801 号のコロニーは、TTC により赤色に染色された。GF 酵母については、GF2 は濃ピンクに、GF1 及び GF3 は薄ピンクに染色され、一般に酒造に使用される酵母とは TTC 染色性が異なった。

協会 701 号及び協会 1801 号の植菌線と GF 酵母の植菌線の交差部位にハロー（抗菌活性）は認められなかつ

た。GF 酵母の協会酵母に対するキラー性が陰性であることから、酒造現場で安全に使用できることが確認された。

GF 酵母、協会 701 号及び協会 1801 号の糖資化性の結果を表 1 に示す。GF 酵母は、ガラクトース、ショ糖、ラフィノース、D-マルトース、 α -メチル-D-グルコシド、パラチノース及びブドウ糖を資化した。GF 酵母は、協会酵母で資化性の認められなかった D-マルトースに対し、高い資化性を有した。一方、協会酵母で資化性の認められた乳酸は資化しなかった。

表 1 糖の資化性

	K701	K1801	GF1	GF2	GF3
ガラクトース	+	+	+	+	+
ショ糖	+	+	+	+	+
乳酸	+	+	-	-	-
ラフィノース	+	+	+	+	+
D-マルトース	-	-	+	+	+
α -メチル- α -D-グルコシド	+	+	+	+	+
パラチノース	+	+	+	+	+
ブドウ糖	+	+	+	+	+

＋：糖資化性あり、－：糖資化性なし

3.1.4 五万石ふじ酵母を用いた清酒小仕込試験

発酵経過の指標となる炭酸ガス減量の推移を図 1 に示す。GF 酵母は協会酵母と比較し、もろみ初期の発酵速度はほぼ同等であるが、後期において停滞する傾向を示した。なお、GF 酵母の発酵もろみは、泡の形成が低く、協会酵母と同様の状態を示した。

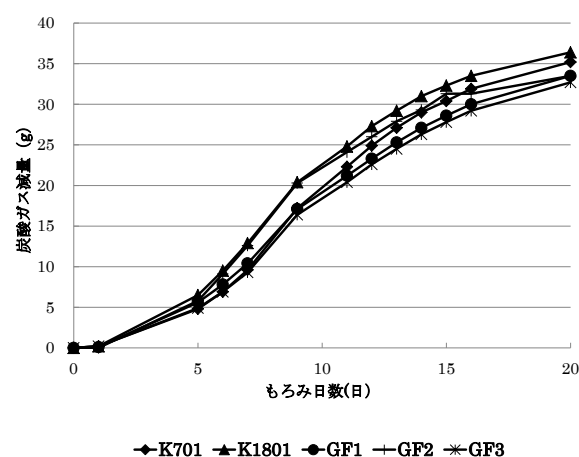


図 1 炭酸ガス減量の推移

製成酒の成分比較を表 2 に示す。GF 酵母酒のアルコールは協会酵母酒よりやや低い値であった。生成アルコールが低いため、発酵基質である糖分が多く残存し、日本酒度がマイナス側に傾いた。GF 酵母酒の酸度は、協会酵母酒より高い傾向を示した。アミノ酸度は協会酵母

酒と同等レベルであった。

GF 酵母酒は日本酒度がマイナス側に傾いていることから、協会酵母酒と比較し、全糖及びグルコース濃度が高かった。GF 酵母は協会酵母と比較し、酢酸生成能が高いことが特徴的であった。酢酸は清酒のオフフレーバーであるジアセチルや酢酸エチルの反応基質であるため、発酵管理には十分な注意を要する。GF 酵母酒は協会酵母酒と比較し、イソアミルアルコール濃度が高い傾向を示した。GF 酵母酒は、バナナ様香である酢酸イソアミルがエステル香気の主体であった。なお、GF1 酒は酢酸イソアミルの他に、リンゴ様香であるカプロン酸エチルを含有していた。五万石ふじ酵母酒について、官能審査を実施したところ、GF1 酒は酢酸由来のオフフレーバーを感じることはなく、香味バランスが優れていた。以上の結果より、GF1 を有望株として選抜した。

表2 製成酒の成分比較

	K701	K1801	GF1	GF2	GF3
日本酒度	2.8	7.8	-0.8	-9.6	-3.9
アルコール %v/v	17.9	19.2	17.3	16.8	17.4
酸度 ml	2.8	2.2	3.2	2.8	3.4
アミノ酸度 ml	1.7	1.8	1.8	2.2	1.9
グルコース mg/ml	5.0	4.1	8.0	18.9	10.4
全糖 mg/ml	26.0	22.5	30.5	40.6	34.1
クエン酸	14.0	16.1	15.7	15.2	15.7
ピルビン酸	12.9	4.4	27.9	2.1	26.8
リンゴ酸	24.0	20.6	21.9	9.9	18.5
コハク酸	63.8	39.0	41.3	34.5	41.3
乳酸	29.6	26.2	25.0	19.7	24.2
酢酸	27.5	12.9	47.2	78.2	62.5
iAmOH	148.6	179.2	210.4	173.7	225.4
iAmOAc	5.3	3.7	3.6	0.9	2.2
EtOCap	1.1	3.1	1.0	0.0	0.0

iAmOH: イソアミルアルコール、iAmOAc: 酢酸イソアミル、EtOCap: カプロン酸エチル

3.2 復刻米「萬歳」の米質及び醸造特性評価

3.2.1 萬歳の粒特性

48%白米の外観を図2に、性状比較を表3に示す。萬歳は食用米であるが、酒造好適米品種である雄町と同様に心白構造を有していた。萬歳は大粒で、千粒重の値が最も高かった。萬歳のたんぱく質含量は、雄町より低い値を示し、食用米である大地の風より0.5%高い値を示した。

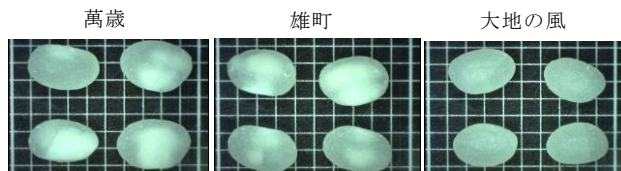


図2 48%白米の外観（目盛1mm）

表3 48%白米の性状比較

	萬歳	雄町	大地の風
千粒重 g	15.1	14.6	13.2
たんぱく質 %DRY	4.4	4.6	3.9

千粒重は水分12%換算、たんぱく質は乾物換算

3.2.2 醸造特性の評価

萬歳の適正吸水時間を把握するため、吸水試験を行った。吸水率の変化を図3に示す。酒造現場では、吸水率30%を目標として限定吸水を行っている。萬歳は、初期吸水が緩やかで、吸水60分で最大吸水量である30%に到達した。雄町は吸水20分で吸水率30%にほぼ到達しており、吸水速度が速かった。大地の風は、萬歳に類似した吸水性を示した。

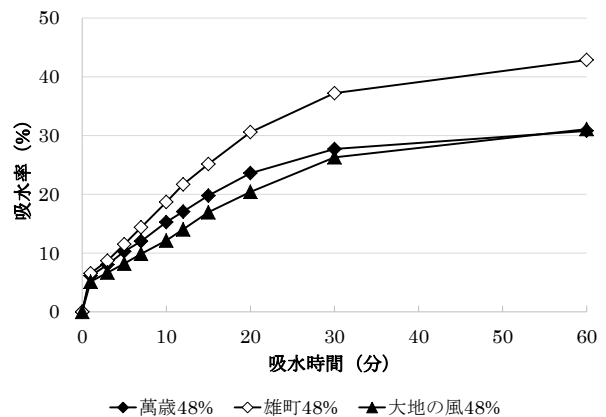


図3 吸水率の変化

消化性試験におけるBrixは、もろみ中における蒸米デンプンの溶解性の指標となる。蒸米を10℃で3時間及び6時間放置した後、酵素消化を行った。蒸米酵素消化液のBrixの比較を図4に示す。萬歳のBrixは最も低い値を示し、蒸米デンプンの溶解性が低いことが確認された。3時間及び6時間蒸米放置後の蒸米酵素消化液のBrixの差を比較することにより、蒸米デンプンの老化性を評価することができる。萬歳及び大地の風は、雄町と比較してBrixの差が大きく、老化しやすいことが確認された。萬歳はもろみ中で溶解しにくく、老化しやすいことから、食用米に近い消化性を示すことが確認された。

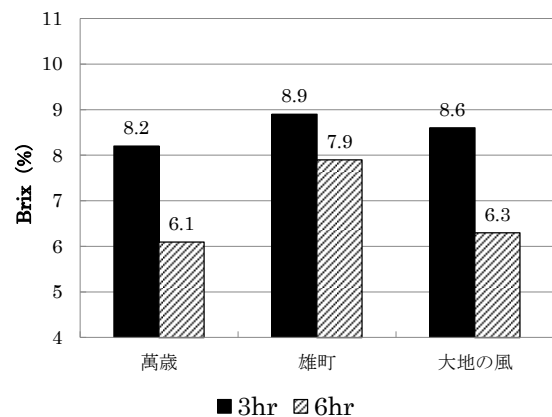


図4 蒸米酵素消化液のBrixの比較

萬歳は心白構造、大粒及び低たんぱく質含量の性質を有することから、酒造好適米の品種特性を示したが、吸水性及び消化性は食用米の特性を示した。萬歳を用いた純米系の清酒醸造を行う場合、アルコール濃度の保障、良質な香味付与の観点から、最高ボーメをしっかりとる必要があると考えられた。

3.2.3 製麹特性

麹の酵素活性値を表4に示した。萬歳麹の α -アミラーゼ (A) 及びグルコアミラーゼ (G) は、雄町麹と同等の値であった。良質麹の指標となる G/A 比は、萬歳麹の値が最も高かった。デンプン分解酵素の活性値及び酵素バランスの観点から、萬歳麹はもろみ中へのグルコース供給能が優れていることが示唆された。

萬歳麹の酸性プロテアーゼ及び酸性カルボキシペプチダーゼは、大地の風麹と雄町麹の中間値であった。

表4 各種白米麹の酵素活性値の比較

	萬歳	雄町	大地の風
α -アミラーゼ (A)	725	705	983
グルコアミラーゼ (G)	155	150	177
G/A比	0.21	0.21	0.18
酸性プロテアーゼ	1136	1097	1292
酸性カルボキシペプチダーゼ	1952	1920	2258

(U/g麹)

3.2.4 清酒小仕込試験による製成酒評価

GF1 を使用した製成酒の成分比較を表5に示す。萬歳酒の成分値は、雄町酒及び大地の風酒と顕著な相違は認められなかった。萬歳酒は酸度及びアミノ酸度が若干高く、吟醸香氣成分である酢酸イソアミル（バナナ様香）濃度が低かった。また、製成酒の着色度 (OD430) がやや高い値を示した。萬歳酒はスッキリとした飲み口で、上品な含み香を有し、食中酒に適した酒質であった。

4. 結び

- (1) 岡崎市の花である「岡崎公園の五万石ふじ」から *Saccharomyces cerevisiae* を3株分離し、醸造特性の観点から GF1 を選抜した。
- (2) ハツ美悠紀斎田の復刻米「萬歳」は、心白構造を有し、大粒、低たんぱく質含量で、食用米でありながら酒米の粒特性を示した。一方、吸水性及び消化性は食用米の特性を示した。

表5 製成酒の成分比較

		萬歳	雄町	大地の風
アルコール	%v/v	16.8	16.4	16.9
日本酒度		8.2	8.0	9.1
酸度	mL	2.4	2.3	2.3
アミノ酸度	mL	1.8	1.8	1.7
グルコース (G)	mg/mL	10.0	12.9	8.5
全糖 (TS)	mg/mL	17.6	19.5	16.0
G/TS		0.57	0.66	0.53
ビルビン酸		10.0	9.8	9.7
リンゴ酸	mg/100mL	15.8	14.3	13.6
コハク酸		60.5	63.8	62.2
乳酸		18.0	17.3	17.3
iAmOH		124.0	139.1	132.2
iAmOAc	ppm	2.1	3.5	2.8
EtOCap		0.8	1.0	0.7
着色度 (OD430)		0.039	0.036	0.032

iAmOH: イソアミルアルコール、iAmOAc: 酢酸イソアミル、

EtOCap: カブロン酸エチル

付記

本研究は「岡崎市ものづくり支援補助金」の資金支援を受け、丸石醸造株式会社の受託研究として実施した。

本試験結果を参考にして、丸石醸造 (株) で五万石ふじ酵母及び復刻米「萬歳」を利用した実醸造が行われた。平成28年1月に岡崎市制100周年記念酒として純米大吟醸酒「岡崎城五万石ふじ」が製品化された⁶⁾。

文献

- 1) 三井俊, 伊藤彰敏, 山本晃司, 秋山和範, 加藤雅士: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **2**, 84 (2013)
- 2) 三井俊, 小野奈津子, 安田庄子, 伊藤彰敏, 山本晃司: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **3**, 68 (2014)
- 3) 伊藤彰敏, 小野奈津子, 安達真人, 内藤俊, 沖塚翔太, 三井俊, 倉田久実, 臼井瑠美, 續順子: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **4**, 96 (2015)
- 4) 酒米研究会編: 全国酒米統一分析方法, <http://www.sakamai.jp/pdf/bunseki.pdf> (2016)
- 5) 国税庁編: 国税庁所定分析法, www.nta.go.jp/shiraberu/zeihokaishaku/tsutatsu/kobetsu/sonota/kaisei070622/01.pdf (2016)
- 6) 伊藤彰敏, 小野奈津子, 三井俊, 山本晃司: 日本家政学会第68回大会研究発表要旨集, P107 (2016)