

# 滋賀県オリジナル酵母に関する研究 —自然界からの清酒醸造用酵母の分離と製品への応用— (第3報)

松尾 啓史\*  
MATSUO Yoshifumi

岡田 俊樹\*  
OKADA Toshiki

川島 典子\*  
KAWASHIMA Noriko

**要旨** 本研究は、センターが保有する酵母ライブラリーの充実を目的として、県内の環境資源であるシャクナゲやヒマワリなどから酵母候補株の分離を行った。これまでに145株の取得に成功し、総米50gおよび200gスケールで清酒醸造試験を実施した結果、清酒醸造への利用が期待できる酵母株を選抜した。本報では、総米1kgおよび15kgスケールで清酒醸造試験を行った。その結果、現場での取扱いやすさの観点から発酵力が強く、穏やかな吟醸香を呈する3株を優良株として選抜し、これらの菌株の性質が安定していることを確認した。

## 1 緒言

近年、消費者の嗜好は多様化が進んでおり、香りの高い吟醸酒や米の味を活かした純米酒など高付加価値な特定名称酒の割合が増加している。加えて、微発泡性の清酒や低アルコール酒、生酛・山廃造りの復刻など多様化に合わせて幅広い商品展開が行われている。滋賀県では令和4年度に国税庁より、地理的表示保護制度であるGI「滋賀」(清酒)の認証を受け、より滋賀に特化した製品や海外輸出・インバウンド向け製品など、多様化する市場のニーズに対応し、いっそう滋賀県の特徴やオリジナル性を持つ清酒の開発が課題となっている。

清酒の品質には、原料米の品種や精米歩合、用いる麹菌や酵母(株)の種類、発酵経過の管理条件等様々な要因が寄与している。なかでもアルコール発酵を担っている酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)は香気に影響するエステル類や味に影響する有機酸やアミノ酸の生成を行っており、どの菌株を用いるかは製品を特徴づける大きな要因である。そのため、全国の自治体や大学などで特徴的な酵母菌株の分離・開発が行われている<sup>1,2)</sup>。当センターでも、高品質な特定名称酒の醸造に向けた高香氣生成酵母であるIRCS-SC9、IRCS-YS003F5の2株を開発し<sup>3,4)</sup>、県内清酒醸造所に向けて菌株の分譲を行っている。

一方で当センターでは滋賀県の自然環境からの酵母の分離は行われてこなかった。滋賀県は豊かな自然を有しており酵母の分離源となる環境資源が潤沢であるとともに、中心には大きな琵琶湖が位置していることから多様な酵母が生息している可能性がある。

このような背景から、前報<sup>5)</sup>までに県内の環境資源から酵母分離を行い、145株の候補株を獲得、小仕込み試験の結果既存株と同等の発酵力を示す株を確認している。本報では、即戦力型の酵母の探索を目的として、発酵力が強く、穏やかな吟醸香を呈する菌株を選抜し、菌株の性質の安定性について確認した。

## 2 実験方法

### 2.1 供試菌株

前報<sup>5)</sup>にて実施した総米200gスケールの試験の結果から選抜した10株を供試菌株とした。

### 2.2 キラー性・TTC染色性試験

YPD培地(1%酵母エキス、2%ペプトン、2%デキストロス)にメチレンブルーを0.003%添加した寒天培地に、きょうかい酵母(901号、1401号)をそれぞれ塗抹した後、選抜株10株を植菌し、25℃で培養した。24時間後に選抜株周辺のハローの有無を確認した。

TTC染色は、選抜株をTTC下層培地に塗抹し、30℃で2日間培養した。培養後、TTC上層培地を重層し、30℃で約2時間保温してコロニーの呈色を観察した。

### 2.3 小仕込醸造試験(総米1kg)

選抜株10株について、総米1 kgスケールの3段小仕込醸造試験を行った。供試菌株をYPD液体培地で前培養を行い、表1に示す仕込み配合で試験を実施した。酒母の製造は、経過分析等を考慮し表1に示した数値の6倍量で製造し、初添時に使用量を調整した。掛米は、山田錦(精米歩合60%)を使用し、洗米後吸水率130%を目指し、蒸器で50分間蒸きょうした。酒母の製造は、2L 容量のガラス製容器を用い、製法は中温速醸酒母にて実施した。本仕込は、市販の4リットル容量のガラス製容器を用いた。仕込温度は、品温で初添 13℃、仲添11℃、留添10℃とし、留添の翌日から1日1℃ずつ昇温して、品温13℃に達してから11日目まで保持し、上槽の18～20 日目までに 6℃まで降温した。上槽は、遠心分離(3000rpm.、20min.)を行い濾紙(No.2)でろ過後製成酒とした。製成酒の分析は、酒類総合研究所標準分析法注解<sup>6)</sup>に従い香氣成分と一般成分の分析を実施した。

\* 食品・プロダクトデザイン係

2.4 小仕込醸造試験2(総米15kg)

総米1kg で選抜した菌株を用いて、酒母を製造してから3段仕込の小仕込醸造試験を行った。酒母の製造には8L容量のステンレス製容器を使用した。経過分析を行うため、表2に示した仕込配合の3倍量で酒母を製造し、初添時に使用量を調整した。掛米は山田錦(精米歩合60%)を使用し、洗米後、吸水率130%を目標として吸水させ、蒸煮装置により 50分間蒸し、冷却後に使用した。本仕込は66L容量のステンレス製サーマルタンクを用いて実施した。掛米と麴米は酒母と同様の山田錦を用いた。仕込温度は、初添 10℃、仲添 9℃、留添 8℃とし、留添翌日から1日1℃ずつ昇温して、品温が 12℃に達してから保持し、後半は9℃まで降温した。上槽は、2℃の環境で搾り袋に入れ、緩やかに搾り器を加圧して試験原酒を得た。製成酒は、1 kgスケールの試験同様に成分分析を実施した。

表1 総米1kgスケール試験仕込み配合

|          | 酒母  | 添   | 仲   | 留   | 計    |
|----------|-----|-----|-----|-----|------|
| 総米(g)    | 70  | 150 | 290 | 490 | 1000 |
| 蒸米(g)    | 48  | 107 | 230 | 400 | 785  |
| 麴米(g)    | 22  | 43  | 60  | 90  | 215  |
| 汲水(mL)   | 85  | 170 | 360 | 700 | 1315 |
| 乳酸(ml)   | 0.6 |     |     |     |      |
| 培養酵母(ml) | 0.8 |     |     |     |      |

表2 総米15kgスケール試験仕込み配合

|          | 酒母   | 添    | 仲    | 留     |      | 計     |
|----------|------|------|------|-------|------|-------|
| 総米(kg)   | 1.05 | 2.25 | 4.35 | 7.35  |      | 15.00 |
| 蒸米(kg)   | 0.72 | 1.61 | 3.45 | 6.00  |      | 11.78 |
| 麴米(kg)   | 0.33 | 0.65 | 0.90 | 1.35  |      | 3.23  |
| 汲水(L)    | 1.24 | 2.18 | 5.18 | 10.50 | 1.50 | 20.59 |
| 乳酸(ml)   | 8.4  |      |      |       |      |       |
| 培養酵母(ml) | 12   |      |      |       |      |       |

3 結果と考察

3.1 諸性質の確認

酒造現場で一般的に使用されるきょうかい酵母への影響を確認するため、分離酵母のキラー性の有無を確認した。その結果、選抜株10株全てできょうかい酵母に対するキラー性がないことを確認し、酒造現場での使用が可能であると考えられる。また、TTC染色の結果、5株はきょうかい酵母に近い赤色を呈し、残りの5株は桃色を呈し、きょうかい酵母とは異なる呈色を示した。

表3 キラー性試験・TTC試験

| 株名     | キラー性 | TTC |
|--------|------|-----|
| F4-a   | 無    | 桃   |
| F12-c  | 無    | 赤   |
| F13-a  | 無    | 赤   |
| F38-a  | 無    | 桃   |
| F94-f  | 無    | 赤   |
| F94-g  | 無    | 桃   |
| F94-k  | 無    | 赤   |
| F115-e | 無    | 赤   |
| F122-c | 無    | 桃   |
| F124-a | 無    | 桃   |
| K901   | 無    | 赤   |
| K1401  | 無    | 赤   |

3.2 小仕込醸造試験1(総米約1kg)

総米1 kgスケールで実施した試験のアルコール濃度測定結果を図1に示す。既存酵母は16%程度のアルコール発酵を示した。一方、分離株では15～18%の範囲で発酵が進行し、既存株と同等あるいはそれ以上のアルコール濃度を示す株も確認された。この結果は、前報<sup>5)</sup>で得られた小スケール試験の傾向をよく反映しており、分離酵母(株)の多くが清酒醸造に十分な発酵力を有していることが示された。TTC染色性との関連を検討したところ、比較的低いアルコール濃度(約15%)しか示さなかった2株はいずれもTTC染色で桃色を呈する株であった。一方、同様に TTC染色で桃色を呈した株の中にも、最大で17%までアルコール発酵が進行したものも確認できた。

製成酒のアミノ酸度を横軸、酸度を縦軸にプロットしたものを図2に示す。選抜株の多くは、きょうかい酵母の近傍にプロットされた。これらの株はアルコール発酵能も強く酒造現場で既存酵母と同様に扱うことができる「即戦力型」酵母株であることが期待される。一方、酸度が比較的高く、図2の右側にプロットされた F38-a 株および F94-g株は、アルコール濃度がやや低い傾向を示した株であった。これらの株は TTC染色性、アルコール発酵能、酸生成特性のいずれにおいてもきょうかい酵母とは異なる性質を示し、独自の発酵特性を持つ可能性が示唆された。

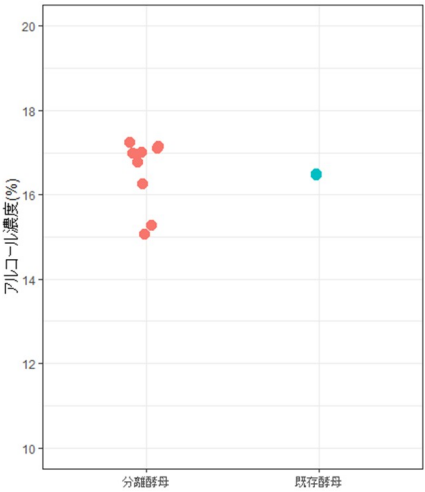


図1 1 kgスケール試験 アルコール濃度

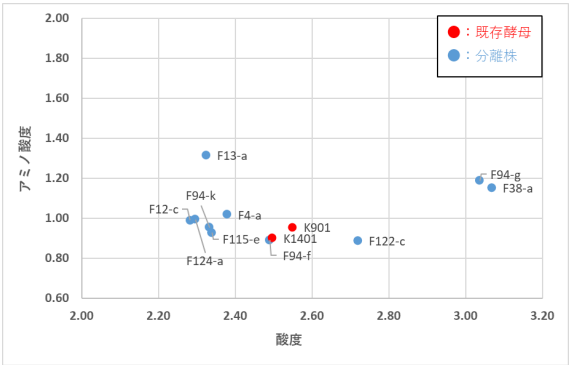


図2 1kgスケール試験 アミノ酸度・酸度分布

表4 1kgスケール試験 香気成分

(ppm)

| 化合物名\株名     | F4-a  | F12-c | F13-a | F38-a | F94-f | F94-g | F94-k | F115-e | F122-c | F124-a |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 酢酸エチル       | 81.0  | 84.8  | 68.6  | 123.0 | 78.9  | 62.1  | 80.2  | 96.3   | 77.1   | 72.2   |
| n-プロピルアルコール | 110.9 | 125.5 | 86.0  | 208.2 | 142.0 | 84.1  | 133.6 | 130.5  | 156.5  | 121.8  |
| イソブチルアルコール  | 80.5  | 56.9  | 95.3  | 98.2  | 73.3  | 67.5  | 56.2  | 57.1   | 67.8   | 55.8   |
| イソアミルアルコール  | 136.7 | 117.5 | 125.4 | 142.9 | 130.1 | 123.6 | 115.8 | 116.4  | 125.9  | 112.4  |
| 酢酸イソアミル     | 3.1   | 3.3   | 4.9   | 1.9   | 3.8   | 2.2   | 3.2   | 3.8    | 3.1    | 2.9    |
| カブロン酸エチル    | 1.0   | 1.5   | 1.3   | 0.8   | 1.3   | 1.0   | 1.5   | 1.7    | 0.4    | 1.4    |

香気成分の分析結果を表4に示した。選抜酵母株は酢酸イソアミルを生産し、官能評価(表5)では穏やかな吟醸香を呈する傾向にあった。特にF13-a株は酢酸イソアミルの生成量が高く、官能評価も果実様の香りが強いという評価が多く、目立った欠点の指摘はなかった。続いて評価が高かった、F94-k株とF115-e株は同様にフルーティーな香りが評価されている一方で、後味に苦みが残るという指摘があった。F38-a株、F94-g株は他の株とは異なり、熟した果実様の香りと酸味に対するコメントがされており、他の株とは異なる傾向を示した。

まずは、即戦力型の酵母の選抜を目的として、発酵力が高く現場での取扱いが比較的容易であると期待されること、穏やかな吟醸香を呈することに着目し、F13-a株(分離源:金糸梅)、F94-k株(分離源:シャクナゲ)、F115-e株(分離源:ひまわり)を選抜した。

表5 1kgスケール試験官能評価

| 株名     | 香りコメント                        | 味コメント                                  | 総合評価 |
|--------|-------------------------------|----------------------------------------|------|
| F13-a  | 果実、酸のある、良、さわやかで日本酒っぽい、甘め、青りんご | 甘い、しっかりした味、ワインに近い感じ                    | 1.9  |
| F38-a  | 熟した果実様、ほのかなエステル臭、あまりなし、青りんご   | 好みが分かれそう、旨味強い、酸っぱさが目立つ、酸味強、飲みやすい、甘酸っぱい | 2.4  |
| F94-g  | 熟した果実様、やや甘い、青りんご              | 甘ー強い酸味、酸味強、かすかな酸味、甘酸っぱい                | 2.4  |
| F94-k  | 甘いが若い果実、良、ほとんどなし、お酒           | 淡泊、苦みあり、濃い、甘酸っぱい、                      | 2.4  |
| F115-e | 甘苦い果実、上品な香り、やや甘い、青りんご         | 濃い、後に残る、甘く苦い、フルーツ感から甘い日本酒へ変わる          | 2.3  |
| F124-a | 接着剤?、悪、かすかな青りんご               | 甘みあり、全体的に薄いような、良い、日本酒の味                | 2.6  |

### 3.3 小仕込醸造試験2(総米15 kg)

1 kgスケールの試験にて選抜した3株について、15 kgスケールの試験を実施した。F94-k株とF115-e株は醪日数16日程度で日本酒度が0に近い値となり既存株と遜色のない発酵スピードを示した。F13-a株は上記2株と比較して、発酵スピードが遅く仕込み後20日に日本酒度-6で上槽した。上槽時の死滅率はF13-a株は25%、F-94k株とF115-e株は3%程度であった。

各種成分の分析結果を表5に示す。これまでの試験と同様、F13-a株アルコールが16.6%とほか2株よりもややア

ルコールが低く、アミノ酸は1.9と比較的高い傾向を維持した。F13-a株は上槽時の菌の死滅率が他2株よりも高いことから、これに付随してアミノ酸度が高いと考えられる。また、F94-k株とF115-e株は似た特性を示しており、1kgスケールと同様に、約17%程度のアルコール濃度を示し、酸度およびアミノ酸度も大きな変化はなかった。3株に共通して、酢酸イソアミルが3~4ppm生成されており、穏やかな吟醸香を呈する特性についても、これまでの試験の結果を反映していた。このことから各菌株の発酵特性は安定していることが示唆され、県内醸造所での現場スケールでも株の特性が反映されると期待される。

表6 15kgスケール 成分分析結果

|      | 株名     | アルコール (%) | 日本酒度 | 酸度 (ml) | アミノ酸度 (ml) | グルコース (%) | カブロン酸エチル (ppm) | 酢酸イソアミル (ppm) |
|------|--------|-----------|------|---------|------------|-----------|----------------|---------------|
| 15kg | F13-a  | 16.6      | -6   | 2.6     | 1.9        | 1.5       | 0.8            | 4.6           |
|      | F94-k  | 17.4      | 1    | 2.4     | 1.5        | 0.4       | 1.1            | 4.6           |
|      | F115-e | 18.0      | 4    | 2.3     | 1.7        | 0.4       | 1.0            | 3.6           |
| 1kg  | F13-a  | 16.3      | -7.6 | 2.3     | 1.3        | 0.7       | 1.3            | 4.9           |
|      | F94-k  | 17.0      | -1.7 | 2.3     | 1.0        | 0.3       | 1.5            | 3.2           |
|      | F115-e | 17.0      | -2.2 | 2.3     | 0.9        | 0.3       | 1.7            | 3.8           |

## 4 まとめ

一連の研究報告では、滋賀県内の環境資源(金糸梅、シャクナゲ、ヒマワリなど)を分離源として酵母株の分離・選抜を行い、これまでに145株の酵母候補株を獲得した。小仕込み醸造試験の結果、分離酵母によって醸造した清酒は、きょうかい酵母に近い特性持つグループと、酸度が高く香気成分がやや低い独自のグループに大別された。

本報では、総米1kgの小仕込み醸造試験を実施し、発酵力があり現場で取り扱いがしやすく、穏やかな吟醸香を呈することを重視した「即戦力型」酵母として、F13-a株(分離源:金糸梅)、F94-k株(分離源:シャクナゲ)、F115-e株(分離源:ヒマワリ)の3株を選抜した。総米15kgスケールの試験においても、各株の発酵力や香気特性は、1kgスケールの結果と同様に反映されており、選抜株が、県内酒造所において大規模な醸造に適用しても、安定した酒質を示す可能性を示している。また、本研究で分離した株の中には、酸を高生成する株や呈する香りが異なる株が存在しており、発酵が緩慢である課題を解決することで、独自性の高い、製品の開発に活用できる可能性が示唆された。

### 参考文献

- 1.) 都築正男、大橋正孝、清水浩美：奈良県産業振興総合センター研究報告. No. 41, 5-11, (2015)
- 2.) 小野奈津子、安田庄子 他：あいち産業科学技術総合センター 研究報告 6, 70-73, (2017)
- 3.) 岡田俊樹、川島典子：滋賀県工業技術総合センター研究報告, p94-100, (2021)
- 4.) 岡田俊樹：滋賀県工業技術総合センター研究報告, p116-118, (2018)
- 5.) 松尾啓史、岡田俊樹、川島典子：滋賀県工業技術総合センター研究報告, (2025)
- 6.) 公益財団法人日本醸造協会：酒類総合研究所標準分析法注解, (2017)