

# 優良清酒酵母の開発\*

高橋 亨\*\*、櫻井 廣\*\*

「協会 1001 号」および「協会 1601 号」に突然変異処理を行いアルコール耐性酵母の取得を試みた。「協会 1001 号」から 83 株、「協会 1601 号」から 47 株の変異酵母を得た。試験管培養により有望な株を絞り込み、更に総米 1kg の醸造試験を行い、親株よりアルコール生産性が高く酸度の低い 3 株を選抜、総米 7kg 醸造試験を行った。「協会 1601 号」の変異株「No. 21」は比較対照として仕込んだ「協会 1001 号」に比べアルコール、日本酒度、滴定酸度は対照並みであり、官能評価は良好であったが、アミノ酸度が高くなかった。「協会 1001 号」の変異株「M10」は、成分は対照並みであったが官能評価で劣った。同じく「協会 1001 号」の変異株である「S40」はアルコールが対照より高く滴定酸度が低く、官能評価も良好であったが、もろみ末期のキレが鈍かった。以上の結果から「No. 21」と「S40」が純米酒用酵母として有望であるが、実用化にあたってはそれぞれに課題があることが分かった。

キーワード：酵母、アルコール耐性、「協会 1001 号」、「協会 1601 号」、「No. 21」、「M10」、「S40」

## Selection of Good Sake Yeast

TAKAHASHI Tohru and SAKURAI Hiroshi

We tried to get the mutant yeast of alcohol tolerance from *Kyoukai No.1001* and *No.1601*. We obtained 83 mutations from *Kyoukai No.1001* and 47 mutations from *Kyoukai No.1601*. Three strains showing characteristics of high alcohol and low acidity were chosen for testing via tube culture and fermentation. The *No.21*, a mutant of *Kyoukai No.1601*, showed good result in sensory evaluation but for showed high amino acidity compared with the control *Kyoukai No.1001*. The *M10*, a mutant of *Kyoukai No.1001*, had no advantage over the control. The *S40*, a mutant of *Kyoukai No.1001*, showed low acidity compared to the control, high alcohol and sensory evaluation. However, the latter part of *moromi* fell into sluggish pace of fermentation. Therefore, mutant yeasts of the *No.21* and *M40* were suited for *junmai shu*, but each yeast had problems in practical use.

key words : sake yeast, alcohol tolerance, *Kyoukai No. 1001*, *Kyoukai No. 1061*, *No. 21*, *M10*, *S40*

### 1 緒 言

岩手県にはオリジナル酵母として「岩手吟醸 2 号」、「YK-45」、「YK-71」があり、「岩手吟醸 2 号」は吟醸酒用酵母として利用されている。しかし、近年の嗜好の変化や商品の多様化から、商品設計にあつた香気性あるいは酸味の多少等の特徴を有する種々の清酒酵母の開発が望まれている。今回は、アルコール耐性、発酵性に優れる酵母の開発を試みた。

### 2 実験方法

#### 2-1 供試酵母および培地

(財) 日本醸造協会の「協会 1001 号（以下「K1001」と省略）」および「協会 1601 号（以下「K1601」と省略）」を親株とした。酵母の培養にはYPD培地(1% yeast extract, 2% peptone, 2% glucose) を、窒素飢餓培地として胞子

形成培地 (McLary medium, Sharmans medium) を用いた。高濃度エタノール存在下で増殖可能な突然変異体の分離にはエタノールを 15 または 20% 含んだ YPD 培地(以下 15% または 20%YPD 培地と省略) を用いた。また、エタノール生産性測定には麹エキス培地を用いた。以上の培地は必要に応じて 2% 寒天を加えた平板培地とした。

#### 2-2 エタノール耐性酵母の取得

「K1001」および「K1601」を 10mℓ の YPD 液体培地に植菌し、30℃、1 昼夜培養し、滅菌水で 2 回洗浄した菌体に突然変異処理を施した。突然変異処理は、5%エチルメタンスルフォン酸 (EMS) を含むリン酸緩衝液 (pH7) で 30℃、1 時間処理を行った。6%チオ硫酸ナトリウム溶液で EMS を中和後、処理菌体を 2 回洗浄して YPD 液体培地にて 30℃、一昼夜培養した。次に、培養液を胞子形成培地に塗抹し、22℃、3 週間培養した。生育したコロニ

\* 基盤的・先導的技術研究開発事業

\*\* 酿造技術部

一を15%YPD平板培地にレプリカし、30°C、2日間培養後、さらに20%YPD平板培地にレプリカ、生育の良好な株を釣菌した。

### 2-3 培養および醸造試験

取得した変異株は、麹エキス培地(Brix.10°)で30°C、1晩前培養後、麹エキス培地(Brix.20°)で15°C、一週間静置培養した。培養液を遠心分離して酵母菌体を取り除いた上澄について成分分析を行った。

醸造試験は総米1kgと7kgで行った。1kgの試験は、初添を水麹とし、踊りを1日とり、留添に蒸米の2段仕込みとした。麹は徳島精工㈱製乾燥麹T-70を200g使用、掛米は「ぎんおとめ」(精米歩合60%)を800g用い、汲水歩合は130%とした。15°Cの恒温器内で発酵を行い、重量の減少が見られなくなった時点で遠心分離により上槽した。7kgの試験では麹米、掛米とも「ぎんおとめ」(精米歩合60%)を使用した。初添は麹米を1.5kg使用した水麹とし、踊りを1日とり、留添に蒸米(白米重量5.5kg)、汲水歩合130%で2段仕込みとした。初添の温度を16°C、留添温度を7°C、最高温度を13°Cとし、上槽は日本酒度が停滞した時点で遠心分離により行った。

### 2-4 成分分析

培養液、製成酒の成分は国税庁所定分析法<sup>1)</sup>に基づいて分析した。

## 3 実験結果および考察

### 3-1 アルコール耐性変異株の分離と試験管培養

「K1001」と「K1601」を親株として変異処理を行い、胞子形成培地で培養、15%YPD平板培地へレプリカ、20%YPD平板培地にレプリカし、それぞれ83株、47株の変異酵母を得た。

これらの酵母を麹エキス培地(Brix20°)で培養した培養液について酸度、アミノ酸度、アルコール濃度を測定し、アルコール濃度が親株より高く、酸度、アミノ酸度が低いものをそれぞれ9株、4株選抜し総米1kgの醸造試験に供した。

### 3-2 醸造試験

総米1kg醸造試験の製成酒を、アルコール濃度と酸度でプロットし図1に示した。「K1001」よりアルコールが高く酸度が低い「K1001」変異株「M10」、「S40」を、「K1601」よりもアルコールが高く酸度が低い「K1601」変異株「No.21」を総米7kgの醸造試験に供した。

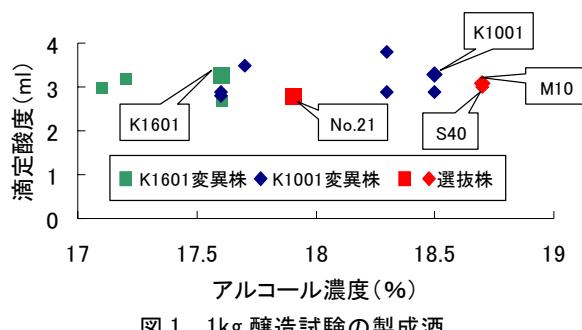


図1 1kg醸造試験の製成酒

総米7kgの醸造試験結果を表1に示した。「No.21」はもろみ日数、日本酒度、アルコール、滴定酸度とも対照の「K1001」並みであった。アミノ酸度が2.7mlとやや高めでありアルコール耐性の面で不安が残る。「M10」はもろみ日数、滴定酸度、日本酒度、アミノ酸度は対照並みであるがアルコールが18.1%と高く良好であった。「S40」はアルコールが18.4%と対照より高く滴定酸度は2.3mlと低くなり、「発酵力が良く酸が低い」という目的に一番合致していた。しかし、早めにアルコールが高くなつたことからキレが止まり、上槽時で日本酒度-14であった。官能評価で「M10」は酢酸エチル臭があり渋味が強く評点3.6と対照に劣ると評価された。「No.21」と「S40」はどちらも旨味があり評点も2.6と「K1001」より良好と評価された。

試験酒の成分、官能評価の結果から「No.21」と「S40」が新酵母として有望であると考えられた。ただし「No.21」はアルコール耐性面について、「S40」はもろみ末期のキレの鈍り方にやや問題があり、実用化のためにはこれら問題点を解決する必要がある。

表1 7kg醸造試験結果

	K1001	No.21	M10	S40
もろみ日数(日)	30	29	29	28
日本酒度	-11	-11.5	-10	-14
アルコール(%)	17.7	17.7	18.1	18.2
滴定酸度(ml)	2.9	3.0	3.0	2.3
アミノ酸度(ml)	2.4	2.7	2.5	2.5
官能評価(評点)	3.0	2.6	3.6	2.6

### 4 結 言

「K1001」および「K1601」に突然変異処理を行いアルコール耐性酵母の取得を試みた。「K1001」を親株として83株、「K1601」を親株として47株の変異酵母を得た。試験管培養により有望な株を絞り込み、更に総米1kgの醸造試験を行い、親株よりアルコール生産性が高く酸度の低い3株を選抜、総米7kg醸造試験を行った。総米7kgの醸造試験の結果、「K1601」の変異株「No.21」は比較対照として仕込んだ「K1001」に比べアルコール、日本酒度、滴定酸度は対照並みであり、官能評価は良好であった。しかし、アミノ酸度が高く、実用化に際してはアルコール耐性に不安が残った。「K1001」の変異株「M10」は、成分は対照並みであったが官能評価で劣り、実用化には向かないと思われた。同じく「K1001」の変異株である「S40」はアルコールが対照より高く滴定酸度が低く、官能評価も良好であったが、もろみ末期のキレが鈍く、実用化には不安が残った。

### 文 献

- 注解編集委員会編：第4回改正 国税庁所定分析法注解、日本醸造協会(1993)