

ナラノヤエザクラ酵母から分離した酢酸イソアミル高生産株の清酒醸造特性

栞原 智也^{*1)}, 都築 正男^{*1)}

Sake Brewing Characteristics of the Strain with Isoamyl Acetate High

Production Isolated from “Naranoyaezakura” Yeast

KUWAHARA Tomoya^{*1)}, TSUDUKI Masao^{*1)}

ナラノヤエザクラ酵母から分離した酢酸イソアミル高生産株（B17-L02 株）は、ナラノヤエザクラ酵母がセゾンスタイルビール醸造に頻用される *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* (*S. diastaticus*) と再同定されたことから、フルーティな香りが特徴のセゾンスタイルビールを醸造するために開発した酵母である。酢酸イソアミルは、清酒醸造においても吟醸香として評価の高い香気成分であることから、今回、B17-L02 株を用いて清酒醸造特性評価を行った。その結果、B17-L02 株を使用して醸造された清酒には、ナラノヤエザクラ酵母で醸造された清酒と比較して酢酸イソアミルが約 2.9 倍、イソアミルアルコールが約 2.5 倍多く含有されていた。

1. 緒言

奈良県では、清酒醸造業界で広く使用されているきょうかい酵母との差別化を図るため、県内の地域資源から清酒醸造に適した野生酵母を単離し、それらを使用した奈良県オリジナルな清酒の開発を進めてきた¹⁾²⁾³⁾。ナラノヤエザクラ酵母は、2008 年に国立大学法人奈良国立大学機構奈良女子大学と共同で奈良公園のナラノヤエザクラの花から単離した酵母であり、2009 年には特許出願⁴⁾するとともに本酵母を使用した清酒が県内清酒製造会社より商品化され⁵⁾、現在も製造・販売されている。

これまでに我々は、ナラノヤエザクラ酵母がセゾンスタイルビール醸造に頻用される *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* (*S. diastaticus*) であることを見出すとともに、セゾンスタイルビールらしい香り高いビールの醸造を可能にするため、ナラノヤエザクラ酵母を親株として酢酸イソアミル高生産株（B17-L02 株）の開発を行った⁶⁾⁷⁾。酢酸イソアミルは、清酒においても吟醸香としてポジティブな評価となる香気成分であるが、これまで B17-L02 株を用いて醸造された清酒の特性は評価されていない。

そこで本研究では、B17-L02 株を用いた清酒小仕込み試験により、清酒醸造特性評価を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 使用材料

酵母は、ナラノヤエザクラ酵母および B17-L02 株を使用した。酵母の培養に使用した麹汁液体培地は、既報⁸⁾の方

法で調製した。仕込み試験に使用した原料米は、精米歩合 70 % の α 化米、麹は精米歩合 70 % の乾燥麹米を使用した。乳酸は、食品添加物用（富士フィルム和光純薬株式会社、90 %）を使用した。

2.2 総米 1 kg での仕込み試験

表 1 に示す仕込み配合により、三段仕込みで総米 1 kg の仕込み試験を行った。酵母は、麹汁液体培地 5 mL で一晚培養（30℃, 180 rpm）したものを使用した。醸造期間中の品温は、仕込み開始から醸造終了まで 15℃とし、21 日間醸造を行った。定期的にもろみのアルコールをアルコメイト AL-2（理研計器株式会社製）により分析し、もろみ管理を行った。上槽は、遠心分離（10000 rpm, 15 分間）により行った。

上槽した試験酒は、酸度、アミノ酸度、アルコール、日本酒度を分析した。酸度およびアミノ酸度は国税庁所定分析法⁹⁾に準じて分析した。アルコールおよび日本酒度はアルコールライザー酒 ME システム（株式会社アントンパール・

表 1 仕込み配合

	初添え	仲添	留添	計
総米 (kg)	0.18	0.35	0.47	1.00
α 化米 ^{a)} (kg)	0.12	0.26	0.36	0.74
乾燥麹米 ^{b)} (kg)	0.04	0.07	0.09	0.20
汲み水 (kg)	0.25	0.58	0.88	1.71
酵母培養液 (mL)	4.30	-	-	-
90 % 乳酸 (mL)	0.57	-	-	-

a) 歩留 97 % b) 歩留 86 %

^{*1)} メディカル技術支援科

ジャパン)を用いて測定した。

2.3 香気成分の測定

清酒中の香気成分として、高級アルコール類のプロパノール、イソブタノール、イソアミルアルコール、エステル類の酢酸エチル、酢酸イソブチル、酪酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、カプリル酸エチルは、ガスクロマトグラフ質量分析装置 GCMS-QP2010Ultra (株式会社島津製作所製)を用いて定量した。

20 mL バイアル瓶にサンプル 1.8 mL, 内部標準 0.2 mL (2000 mg/L n-アミルアルコールおよび 50 mg/L カプロン酸メチルの混合溶液)を添加して密閉後、70℃で30分間加熱し、ヘッドスペース中の香気成分 2 mL をカラムにスプリット比 1:5 で注入した。分離カラムに HP-INNOWAX (60 m × 0.25 mm, 膜厚 0.25 mm, アジレント・テクノロジー株式会社製)を使用し、オープン温度を 40℃ (5 min) → 4℃/min → 60℃ (0 min) → 1℃/min → 70℃ (0 min) → 10℃/min → 120℃ (5 min) → 15℃/min → 240℃ (5 min) で昇温させた。インターフェース温度を 250℃, イオン源温度を 200℃, イオン化電圧を 70 eV (EI) とした。

2.4 キャピラリー電気泳動装置による解析

清酒中の有機酸として、ピルビン酸、リンゴ酸、乳酸、酢酸、クエン酸、コハク酸は、キャピラリー電気泳動装置 Agilent 7100 (アジレント・テクノロジー株式会社製)を使用して分析した。キャピラリー管は fused-silica (内径 75 μm, 有効長 75 cm, アジレント・テクノロジー株式会社製), 泳動バッファーは Organic Acid Buffer for CE pH 5.6 (アジレント・テクノロジー株式会社製)を使用した。清酒を Elix 水で 20 倍希釈し、フィルターろ過した試料を 50 mbar で 2 秒間加圧注入し、-25 kV, 20℃で 10 分間泳動させて分離した。検出は、検出波長 350 nm, リファレンス波長 200 nm として間接吸光度法で行った。

3. 結果および考察

3.1 もろみ中のアルコール濃度推移

留添え後のもろみ中のアルコール濃度推移を図 1 に示す。ナラノヤエザクラ酵母, B17-L02 株ともに発酵初期から上槽までほぼ同様のアルコール濃度推移であった。

3.2 試験醸造酒の成分分析結果

試験醸造酒の一般成分分析結果を表 2 に、有機酸分析結果を表 3 に、香気成分分析結果を表 4 に示す。一般成分および有機酸は、ナラノヤエザクラ酵母と B17-L02 株の間で大きな差は見られなかった。香気成分は、酢酸イソアミルおよびその前駆体であるイソアミルアルコールがナラノヤエザクラ酵母に比べ、B17-L02 株の方がそれぞれ 2.9 倍お

よび 2.5 倍高く、清酒醸造においても酢酸イソアミルを高生産することが明らかとなった。一方で、それ以外の香気成分は、両株間で大きな差は見られなかった。

ナラノヤエザクラ酵母を使用した清酒は、低アルコールで甘みはあるものの、リンゴ酸やコハク酸の含有量が高く、しっかりとした酸味のある味わいが特徴である¹⁾。成分分析結果から、B17-L02 株で醸造された清酒は、親株と同様の特徴である低アルコールでしっかりした酸味があることに加え、吟醸香である酢酸イソアミル含有量が高いことが示された。そのため、B17-L02 株を使用することでよりフルーティな清酒が醸造可能であることが示された。

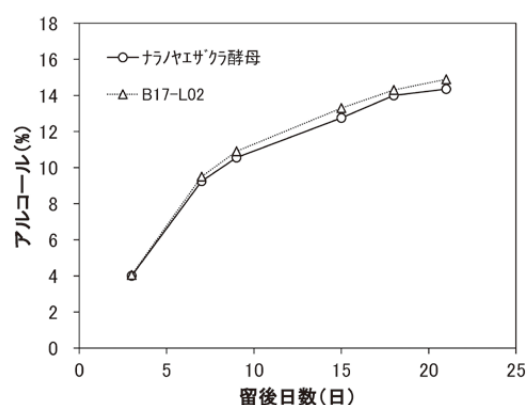


図 1 もろみ中のアルコール濃度推移

表 2 一般成分分析結果

		ナラノヤエザクラ酵母	B17-L02
アルコール	%	15.0	15.6
酸度	-	6.0	5.8
アミノ酸度	-	2.2	2.2
日本酒度	-	-29.9	-27.7

表 3 有機酸分析結果

		ナラノヤエザクラ酵母	B17-L02
ピルビン酸	mg/L	170	190
リンゴ酸	mg/L	620	630
乳酸	mg/L	740	800
酢酸	mg/L	220	170
クエン酸	mg/L	110	140
コハク酸	mg/L	940	920

表 4 香気成分分析結果

		ナラノヤエザクラ酵母	B17-L02
プロパノール	mg/L	119	113
イソブタノール	mg/L	61.6	40.2
イソアミルアルコール	mg/L	192	483
酢酸エチル	mg/L	31.1	31.5
酢酸イソブチル	mg/L	0.09	0.06
酪酸エチル	mg/L	0.29	0.29
酢酸イソアミル	mg/L	1.06	3.08
カプロン酸エチル	mg/L	0.90	0.90
カプリル酸エチル	mg/L	0.39	0.43

4. 結言

本研究では、セゾンスタイルビール醸造用に開発した B17-L02 株について、清酒醸造特性を評価した。主な結果は以下のとおりである。

- (1) もろみ経過は、ナラノヤエザクラ酵母と B17-L02 株の間に大きな差が無かった。
- (2) B17-L02 株は、親株と比較して吟醸香成分の酢酸イソアミルを約 2.9 倍、前駆体のイソアミルアルコールを約 2.5 倍含有する清酒を醸造可能であることが示された。
- (3) 一般成分、有機酸および酢酸イソアミル・イソアミルアルコール以外の香気成分はナラノヤエザクラ酵母と B17-L02 株の間に大きな差が無かった。

以上の結果より、B17-L02 株は親株で醸造した清酒の特徴である低アルコールで爽やかな酸味があるという特徴に加えて、吟醸香成分である酢酸イソアミルを高含有する清酒が醸造可能であることが明らかとなり、よりフルーティな清酒を醸造可能であることが示された。

謝辞

本研究で使用したキャピラリー電気泳動装置は、公益財団法人 JKA の「機械振興補助事業」により導入、設置したものである。ここに厚く御礼申し上げます。



参考文献

- 1) 大橋正孝, 都築正男, 清水浩美, 松澤一幸, 藤野千代, 鈴木孝仁, 岩口伸一, “ナラノヤエザクラの花からの有用な酵母の分離およびそれを使った清酒の開発”, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.35, 35–38, 2009
- 2) 都築正男, 大橋正孝, 清水浩美, “ササユリからの酒造用酵母の分離とその醸造特性”, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.41, 5–11, 2015
- 3) 藤野布久代, 西尾実紗, 都築正男, 特許第 7002077 号, “クズの花から分離した酵母の取得方法, クズの花から分離した酵母, この酵母を用いた清酒の製造方法およびその他の飲食物の製造方法”, 株式会社井上天極堂, 奈良県
- 4) 松澤一幸, 清水浩美, 大橋正孝, 都築正男, 岩口伸一, 鈴木孝仁, 特許第 4601015 号, “ナラノヤエザクラの花から分離した酵母, この酵母を用いた清酒の製造方法およびその他の飲食物の製造方法”, 奈良県, 国立大学法人奈良女子大学
- 5) 岩口伸一, “奈良八重桜から分離した花酵母でつくった爽やかな旨味の清酒”, 生物工学, 87, 7, 356–357, 2009
- 6) 栞原智也, “STA1 遺伝子の塩基配列解析によるナラノヤエザクラ酵母の再同定”, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.50, 48–51, 2024
- 7) 栞原智也, 大橋正孝, “ナラノヤエザクラ酵母のセゾンスタイルビール醸造への応用および酢酸イソアミル高生産酵母の分離”, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.50, 17–22, 2024
- 8) 大橋正孝, 首藤明子, 都築正男, 岡本雄二, 清水浩美, “蜂蜜酒の開発”, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.41, 33–36, 2015
- 9) 日本醸造協会, 酒類総合研究所標準分析法注解 (標準分析法注解編集委員会 編), 24–29, 2017