

三重県酵母を用いた高品質清酒醸造の為に AB 直線の検討

小澤敦揮*, 丸山裕慎*, 山崎栄次*

Implementation of A-B Line-Based Fermentation Control with Sake Yeasts Developed by Mie Prefecture Industrial Research Institute

Atsuki OZAWA, Hironori MARUYAMA and Eiji YAMAZAKI

The purpose of this study was to establish a high-quality sake-brewing control with the sake yeasts MK-1 and MK-3. The linear relationship of alcohol content to Baumé degree in sake mash, called “A-B line”, is a representative reference in Sake-brewing, and was used as the reference in this study. In order to obtain the ideal A-B lines of the yeasts, small-scale sake brewing tests were carried out under concentrated (*noukoujikomi*), standard (*tuujoujikomi*) and dilute (*kihakujikomi*) conditions, which were expected to exhibit a high, medium and low maximum Baumé, respectively. In the tests, a candidate A-B line was obtained by drawing between the maximum Baumé point and the before-filtration alcohol content point: in each of the three conditions, the former is different, while the latter is identical. Mashing temperature was controlled and brewing water was added to sake mash so that alcohol content and Baumé degree of sake mash followed these lines. As a result, sake of high-quality were brewed with each of MK-1 and MK-3 using *tuujoujikomi*.

Keywords: Sake Yeast, A-B Line, Alcohol Content, Baumé Degree, Sake Mash, Small-Scale Sake Brewing Test

1. はじめに

日本における清酒の消費量は、1973（昭和 48）年の 180 万 kL をピークに年々減少し、現在はピーク時の 1/3 以下となっている^{1,2)}。消費者の嗜好が多様化し、清酒以外の酒類にシェアを奪われていることや、若年層の清酒離れなどが理由として考えられる^{2,3)}。その一方で、吟醸酒や純米酒をはじめとした特定名称酒の消費量はこの数年増加傾向にあり、加えて清酒の出荷金額の単価も増加していることから、品質の高い商品の需要が高まっていることがうかがえる²⁾。こうした近年の消費者の高品質志向と嗜好の多様化に対応するため、様々な特徴を持つ酵母が育種されている^{4,5)}。三重県工業研究所においても、特徴的な香気成分や有

機酸を生成する 5 種の三重県酵母 (MK-1, MK-3, MK-5, MK-7, MLA-12) が育種されている。これらは県内清酒製造企業に分譲され、県内清酒の多様化に貢献している。三重県酵母を用いた清酒の品質を向上させるためには、各酵母の醸造特性を詳しく調べるとともに⁶⁾、高品質な清酒を醸造するための管理指標を見出す必要があると考えられる。

清酒もろみ中では、麴の酵素による米澱粉の糖化と酵母によるアルコール発酵が同時に進行する並行複発酵が行われている。清酒の酒造管理においてはもろみの状態を知るために様々な成分を分析するが、中でもアルコール分ともろみの比重であるボーメの分析値から、糖化と発酵のバランスを把握できるとされる。清酒もろみのアルコール分を横軸に、ボーメを縦軸にとり、最高ボーメと

* 食と医薬品研究課

発酵終了点とを結んだ直線は AB 直線と呼ばれ、清酒の管理指標の一つである⁷⁾。高品質な清酒醸造におけるアルコール分及びボーメの経過には直線関係が見られるという報告もあり⁸⁾、これらの経過より、もろみの分析値の理想的な経過を示す AB 直線が作成できる。分析値がこの AB 直線に沿うようにもろみを管理することで、糖化と発酵のバランスが保たれ、高品質な清酒を安定して醸造できるとされる。例えばもろみの分析値が AB 直線の上に外れ、発酵より糖化が先行していた場合は、もろみの温度を上げるかもろみへ追い水を加える。一方で下に外れて糖化より発酵が先行していた場合は、もろみの温度を下げて追い水を控える。また高品質な清酒を得るための理想的な経過は酵母によって異なるため、酵母ごとに理想の AB 直線が存在する。本研究では三重県酵母の中で最も普及している MK-1 と MK-3 について、高品質な清酒が得られるような AB 直線を作成することを目指した。また、理想の AB 直線について検討したものは以前にもある⁹⁾が、分析値を AB 直線に沿わせるための管理や、分析値が AB 直線から外れた場合について検討したものはない。そこで本研究では、もろみ初期の可溶性糖分の高低が AB 直線に沿った管理に与える影響や、分析値が AB 直線から外れたときの清酒品質への影響についても検討した。

2. 実験方法

2. 1 供試菌株

供試菌株として、三重県酵母 2 株 (MK-1, MK-3) を用いた。

2. 2 原材料

仕込みは全て、60 % 精米の麴及び 60 % 精米の白米 (ともに三重県産山田錦, 福持酒造場) を用いて、表 1 に示した仕込み配合により行った。麴歩合が高く汲水歩合が低い仕込みを濃厚仕込み (表 1(a))、汲水歩合が中程度の仕込みを通常仕込み (表 1(b))、汲水歩合が高い仕込みを希薄仕込み (表 1(c)) とした。水は全て水道水を使用した。白米の吸水は 11 °C の水を使用し、酒母及び添仕込みは 25 分、仲仕込みは 23 分、留仕込みは 21 分浸漬し、水切りを行った後に 10 °C 恒温室内で一晩放置した。

2. 3 MK-1 及び MK-3 を用いた小仕込

み試験

仕込みは添仕込み、仲仕込み、留仕込みの三段により行い、添仕込みの後に踊りを 1 日とった。酒母は普通速醸酒母を用い、20 °C で仕込み、2 日目に 8 °C まで下げ、10 日目に 23 °C まで昇温させて 2 日間維持した。その後冷却し、添仕込みに供した。なお、もろみ日数は留仕込みの日を 1 日目として起算した。3 日目から 2 日ごとにもろみの一部を採取して遠心分離 (5,000 rpm, 10 °C, 10 分) を行い、得られた上清の成分を分析した。MK-1 では 4 日目及び 6 日目、MK-3 では 6 日目にも採取し、上清の成分を分析した。MK-1 では、3 つの仕込みにおいて、最高ボーメをとった時点のアルコール分及びボーメを始点とし、アルコール分が 16.5 %、ボーメが ±0 となる点を終点とする AB 直線を作成した。MK-3 では、濃厚仕込み、通常仕込み、希薄仕込みにおいて、アルコール分がそれぞれ 2.6 %、2.8 %、2.4 %、ボーメがそれぞれ 8.1、7.0、6.1 となる点を始点とし、アルコール分が 17.0 %、ボーメが ±0 となる点を終点と

表 1 三通りの仕込み配合

(a) 濃厚仕込み

| | 酒母 | 添 | 仲 | 留 | 合計 |
|--------------|---------------------|-----|-----|-----|------|
| 総米(g) | 70 | 160 | 304 | 466 | 1026 |
| 掛米(g) | 49 | 112 | 237 | 402 | 800 |
| 麴米(g) | 21 | 48 | 67 | 90 | 226 |
| 汲水(mL) | 77 | 152 | 395 | 607 | 1231 |
| 乳酸(mL) | 0.6 | | | | |
| 酵母添加量 (個/mL) | 1.0×10 ⁶ | | | | |

(b) 通常仕込み

| | 酒母 | 添 | 仲 | 留 | 合計 |
|--------------|---------------------|-----|-----|-----|------|
| 総米(g) | 70 | 160 | 304 | 466 | 1000 |
| 掛米(g) | 49 | 112 | 237 | 402 | 800 |
| 麴米(g) | 21 | 48 | 67 | 64 | 200 |
| 汲水(mL) | 77 | 144 | 395 | 684 | 1300 |
| 乳酸(mL) | 0.6 | | | | |
| 酵母添加量 (個/mL) | 1.0×10 ⁶ | | | | |

(c) 希薄仕込み

| | 酒母 | 添 | 仲 | 留 | 合計 |
|--------------|---------------------|-----|-----|-----|------|
| 総米(g) | 70 | 160 | 304 | 466 | 1000 |
| 掛米(g) | 49 | 112 | 237 | 402 | 800 |
| 麴米(g) | 21 | 48 | 67 | 64 | 200 |
| 汲水(mL) | 77 | 136 | 365 | 872 | 1450 |
| 乳酸(mL) | 0.6 | | | | |
| 酵母添加量 (個/mL) | 1.0×10 ⁶ | | | | |

する AB 直線を作成した。なお MK-3 では最高ボーメがこれらの値をとるように、5 日目に 30 % (w/w) グルコース水溶液を添加して調整した。各酵母において、3 つの仕込みのアルコール分及びボーメの分析値がこれらの AB 直線に沿うようにもろみの管理を行った。

MK-1 では、添仕込み、踊の温度は 12 °C、仲仕込み及び留仕込みはそれぞれ 8 °C 及び 7 °C で行い、0.7 °C/日で昇温させ、最高温度は 11~12 °C とした。アルコール分が 11 % を超えた時点で 0.3~0.6 °C/日で降温させ、最低温度は 7~8 °C とした。MK-3 では 1.0 °C/日で昇温させ、その他は MK-1 と同様に行った。

アルコール分が 15 % を超え、かつピルビン酸が 100 mg/L を下回った時点で、アルコール分が 17~18 % となるように 30 % (v/v) エタノールを加え、遠心分離 (5,000 rpm, 10 °C, 10 分) にて上槽した。ただし MK-1 の希薄仕込みでは、23 日目でアルコール分が 14.7 % であり、その後増加が見られなかったため、25 日目に 30 % エタノールを添加した後上槽した。上槽から 7 日後にメンブレンフィルター (塚本鑛吉商店, 孔径 0.9 µm) によるろ過を行い、各成分を分析した。これらの製成酒について、工業研究所の職員 3 名をパネルとして 5 点法 (1: 良い~5: 悪い) による官能評価を行った。

2. 4 成分分析

ボーメは密度・比重・濃度計 (DMA-35 及び DMA-1001, Anton Paar) により測定した。日本酒度はボーメに -10 を掛けて算出した。アルコール分 (% (v/v)) は高速液体クロマトグラフ (2695, Waters) 及び日本酒アルコール測定装置 (Alcolyzer Sake M, Anton Paar) を用いて測定した。高速液体クロマトグラフの測定条件として、カラムは Rezex ROA-Organic Acid H+(8 %) (Phenomenex), カラム温度は 60 °C, 移動相は硫酸水溶液 (0.005 N, 0.6 ml/分) とした。検出器は示差屈折率計 (2414, Waters) を使用し、検出温度は 40 °C とした。酸度 (mL), アミノ酸度 (mL) 及び香氣成分濃度 (mg/L) (酢酸イソアミル, 酢酸エチル, イソアミルアルコール, カプロン酸エチル) は国税庁所定分析法¹⁰⁾に基づき測定した。酸度, アミノ酸度の測定には自動滴定装置 (COM-1700, 平沼産業) を用いた。香氣成分の

測定はヘッドスペースクロマトグラフィーにより行った¹¹⁾。ガスクロマトグラフは GC-14A (島津製作所) を用いた。カラムは DB-WAX (Agilent Technologies, 内径 0.32 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm) を用い、カラム温度は 80 °C から 160 °C まで 10 °C/分で昇温した。キャリアガスはヘリウム及び窒素を用い、流速は 35 ml/分とした。検出器は GC-14A 付属の水素炎イオン化検出器 (FID) を使用し、検出器温度は 230 °C とした。有機酸濃度 (mg/L) (クエン酸, リンゴ酸, コハク酸, 乳酸, 酢酸) は高速液体クロマトグラフ (2695, Waters) を用いたポストカラム法により測定した。カラムは RSpak KC-811 (昭和電工) を用い、カラム温度は 60 °C とし、移動相は過塩素酸水溶液 (0.005 N, 1.0 ml/分) を用いた。カラムで分離した後、反応液 (0.2 mM ブロモチモールブルー: BTB, 15 mM Na₂HPO₄, 1.0 ml/分) と混合し、BTB で発色した有機酸の波長 445 nm での吸光度をフォトダイオードアレイ検出器 (996, Waters) により測定した。グルコース濃度 (% (w/v)) はグルコース CII テストワコー (和光純薬工業) により測定した。ピルビン酸濃度 (mg/L) はデタミナー PA (日立化成ダイアグノスティックス・システムズ) により測定した。

3. 結果と考察

3. 1 三つの仕込みの AB 直線

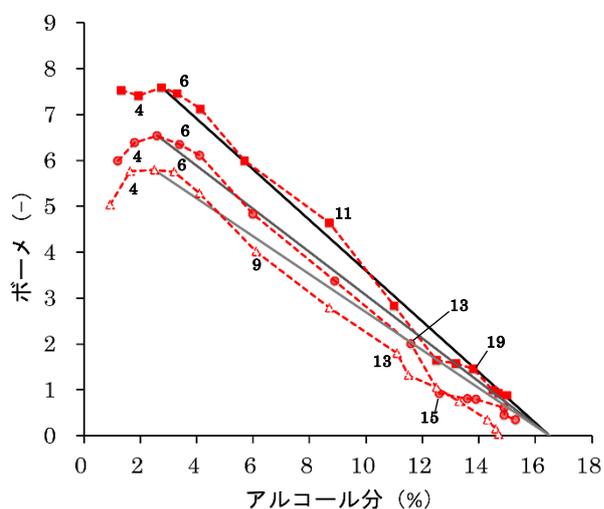
MK-1 及び MK-3 の濃厚仕込み, 通常仕込み, 希薄仕込みにおけるそれぞれの AB 直線及びもろみの分析値 (アルコール分, ボーメ) の推移をそれぞれ図 1 及び図 2 に示した。図中の数値は分析した日を表す。もろみ期間における品温の推移及び追い水の量をそれぞれ図 3 及び図 4 に示した。MK-3 では MK-1 に比べ、もろみ前半の昇温速度を高くし、AB 直線の終点のアルコール分を高く設定した。その結果、MK-1 では希薄仕込みにおいて上槽前のアルコール分が 15 % を超えなかったが、MK-3 では全ての仕込みで 15 % を超えるアルコール分を得ることができた。

MK-1 及び MK-3 の濃厚仕込みでは、もろみの分析値が AB 直線から大きく外れることがなく、発酵と糖化のバランスを保ったままもろみを管理することができた (図 1, 2)。

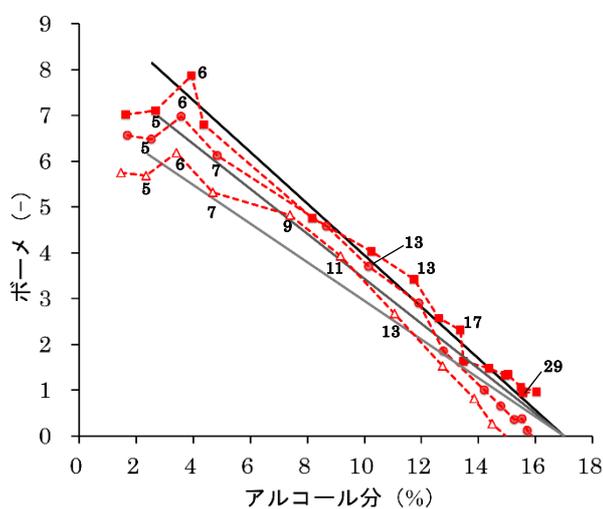
MK-1 の通常仕込みでは、15 日目に分析値が

AB 直線から下に大きく外れたが、もろみの温度を下げることで AB 直線に沿うように修正することができた (図 1, 3). 温度低下により、発酵が抑えられて発酵と糖化のバランスが修正されたことが伺える. MK-3 の通常仕込みでは、7 日目から 13 日目にかけて分析値が AB 直線の上に外れたが、追い水を加えることで AB 直線から大きく外れることなく経過させることができた (図 2, 4). しかし、その後 AB 直線の下に外れた際は、もろみの温度を下げて再び AB 直線に沿わせることはできなかった. もろみ前半の昇温速度が高かったことに加え、濃厚仕込みに比べて汲水歩合が高かったため、発酵と糖化のバランスが発酵に傾いたものと考えられる (図 4).

MK-1 の希薄仕込みでは、9 日目から分析値が AB 直線から下に外れ、もろみの温度を下げて AB 直線に沿うように修正できなかった (図 1, 3). 汲水歩合が高いために発酵と糖化のバランスが発酵側に傾いており¹²⁾、温度を低下させてもこのバランスを修正できなかったため、AB 直線に沿わせられなかったと考えられる. MK-3 の希薄仕込みでは、7 日目から 13 日目にかけて分析値が AB 直線の上に外れたが、13 日目以降は AB 直線の下に大きく外れた (図 2). 7 日目から 13 日目にかけては、汲水歩合が高いために発酵だけでなく糖化も促進され、加えてグルコースが添加されたことで、ボーメの減少が鈍ったと考えられる. 一方で 13 日目以降においては、13 日目までに加えた



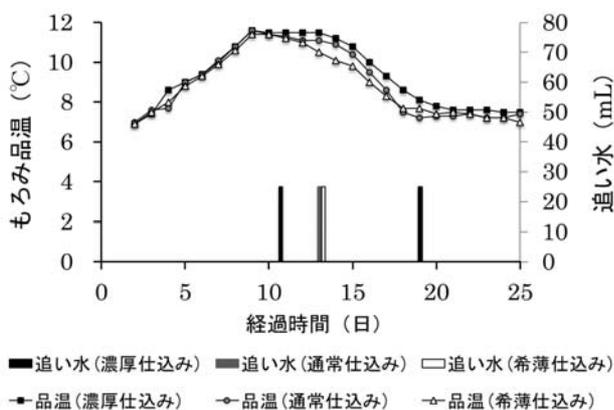
—AB直線(濃厚仕込み) ■もろみの分析値(濃厚仕込み)
 - -AB直線(通常仕込み) ●もろみの分析値(通常仕込み)
 . .AB直線(希薄仕込み) △もろみの分析値(希薄仕込み)



—AB直線(濃厚仕込み) ■もろみの分析値(濃厚仕込み)
 - -AB直線(通常仕込み) ●もろみの分析値(通常仕込み)
 . .AB直線(希薄仕込み) △もろみの分析値(希薄仕込み)

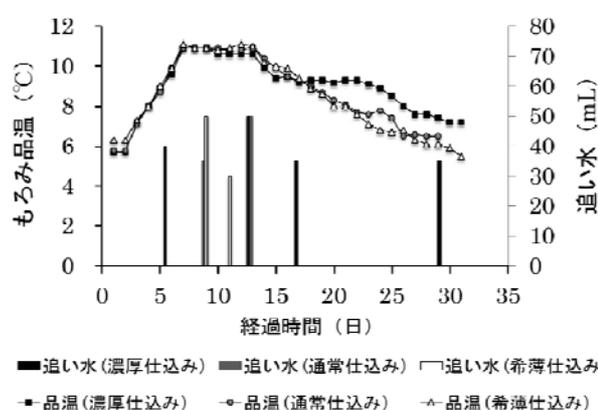
図 1 MK-1 を用いた 3 つの仕込みの AB 直線

図 2 MK-3 を用いた 3 つの仕込みの AB 直線



■追い水(濃厚仕込み) ●追い水(通常仕込み) □追い水(希薄仕込み)
 ■品温(濃厚仕込み) ○品温(通常仕込み) △品温(希薄仕込み)

図 3 MK-1 を用いた 3 つの仕込みの品温及び追い水量



■追い水(濃厚仕込み) ●追い水(通常仕込み) □追い水(希薄仕込み)
 ■品温(濃厚仕込み) ○品温(通常仕込み) △品温(希薄仕込み)

図 4 MK-3 を用いた 3 つの仕込みの品温及び追い水量

追い水により発酵が進み、ポーメが急激に減少したと考えられる。

今回の結果から、MK-1 及び MK-3 を用いた場合、もろみ初期の可溶性糖分の高い仕込みでは AB 直線に沿った管理が容易であることが分かった。一方でもろみ初期の可溶性糖分の低い仕込みでは、もろみの分析値が AB 直線の下に外れやすく、管理が困難であることが分かった。その原因として、可溶性糖分の低い仕込みでは発酵と糖化のバランスが発酵に傾きやすく、もろみの温度を下げてもバランスを修正できないためと考えられた。ただしこれらは一度の試験の結果であり、例えば糖化されやすい米を用いることで、可溶性糖分の低い仕込みでも分析値を AB 直線に沿わせる可能性がある¹³⁾。加えて MK-3 を用いた場合では、発酵と糖化のバランスが糖化に傾いている際にアミノ酸度が上昇しやすいことが示唆された。アミノ酸度の上昇を避けるには、追い水を適宜加えることでこのバランスを修正する必要があると考えられた。

3. 2 三つの仕込みによる製成酒の分析値、汲水歩合及びもろみ日数

MK-1 及び MK-3 の濃厚仕込み、通常仕込み、希薄仕込みによる製成酒の分析値、汲水歩合及びもろみ日数をそれぞれ表 2 及び表 3 に示した。これらの表には、平成 30 年度全国新酒鑑評会及び第 49 回三重県新酒品評会における上位入賞酒の平均値を参考とした目標の成分値を併記した。

MK-1 及び MK-3 の濃厚仕込みによる製成酒は、日本酒度が目標より低く、酸度、アミノ酸度及びグルコース濃度が目標より高かった (表 2, 3)。汲水歩合が低いためにこれらの濃度が高かったと考えられ、特にグルコース濃度が高かったことで酸度が高くなり、日本酒度が低かったものと考えられる¹⁴⁾。アミノ酸度が高かった原因としては、麹歩合が高く米の溶解が過度に進んだ可能性も考えられる¹⁵⁾。

MK-1 の通常仕込みによる製成酒は、アミノ酸度及びグルコース濃度が目標より高かった (表 2)。MK-3 の通常仕込みによる製成酒は、日本酒度及びカプロン酸エチル濃度が目標より低く、酸度及びアミノ酸度が目標より高かった (表 3)。

MK-1 の希薄仕込みによる製成酒は、日本酒度が目標値より高くなり、グルコース濃度が目標値より低かった (表 2)。汲水歩合が高く、発酵が進んだために、グルコースが消費されやすかったためと考えられる。MK-3 の希薄仕込みによる製成酒は、日本酒度及びアミノ酸度が目標より高く、グルコース濃度及びカプロン酸エチル濃度が目標より低かった (表 3)。MK-3 においては、アミノ酸度がいずれの仕込みにおいても目標より高かった (表 3)。その原因として、グルコース水溶液の添加により酵母が濃糖圧迫を受け、アミノ酸の取り込みが阻害されて、アミノ酸度が上昇したことが考えられる¹⁶⁾。

MK-1 及び MK-3 において、通常仕込みの製成

表 2 MK-1 を用いた製成酒の分析値、汲水歩合及びもろみ日数

| | アルコール分 (%) | アルコール分 (%) (上槽前) | 日本酒度 | 日本酒度 (上槽前) | 酸度 (mL) | アミノ酸度 (mL) | グルコース (%) | 酢酸イソアミル (mg/L) | 仕込み時 汲水歩合 (%) | 最終汲水歩合 (%) | もろみ日数 (日) |
|-------|------------|------------------|-------|------------|---------|------------|-----------|----------------|---------------|------------|-----------|
| 濃厚仕込み | 17.8 | 15.0 | -2.2 | -8.8 | 1.59 | 1.15 | 3.88 | 3.3 | 120.0 | 125.0 | 25 |
| 通常仕込み | 17.6 | 15.3 | +2.2 | -3.4 | 1.50 | 0.98 | 3.19 | 3.9 | 130.0 | 132.5 | 25 |
| 希薄仕込み | 18.3 | 14.7 | +9.3 | -0.3 | 1.40 | 0.87 | 2.38 | 3.7 | 145.0 | 147.5 | 25 |
| 目標 | 17~18 | | +1~+3 | | ≤1.5 | ≤0.9 | 2.5~3.0 | 3.0~4.0 | | | |

表 3 MK-3 を用いた製成酒の分析値、汲水歩合及びもろみ日数

| | アルコール分 (%) | アルコール分 (%) (上槽前) | 日本酒度 | 日本酒度 (上槽前) | 酸度 (mL) | アミノ酸度 (mL) | グルコース (%) | カプロン酸エチル (mg/L) | 仕込み時 汲水歩合 (%) | 最終汲水歩合 (%) | もろみ日数 (日) |
|-------|------------|------------------|-------|------------|---------|------------|-----------|-----------------|---------------|------------|-----------|
| 濃厚仕込み | 17.0 | 15.1 | -7.3 | -16.0 | 1.52 | 1.48 | 4.0 | 9.0 | 120.0 | 136.0 | 31 |
| 通常仕込み | 17.4 | 15.6 | -0.5 | -8.5 | 1.58 | 1.38 | 2.9 | 5.5 | 130.0 | 138.5 | 29 |
| 希薄仕込み | 17.4 | 15.6 | +5.9 | -1.5 | 1.44 | 1.35 | 2.1 | 7.7 | 145.0 | 148.0 | 31 |
| 目標 | 17~18 | | +1~+3 | | ≤1.5 | ≤0.9 | 2.5~3.0 | 8.5~9.5 | | | |

酒の分析値が最も目標に近かったため(表2)、通常仕込みにおけるAB直線が理想のAB直線に最も近いと考えられた。MK-1及びMK-3の通常仕込みによる製成酒は、工業研究所の職員3名による官能評価において、濃厚仕込み及び希薄仕込みによる製成酒に比べて高い評価を得た。

3.3 三つの仕込みのもろみ期間における各成分の分析結果

MK-1及びMK-3の濃厚仕込み、通常仕込み、希薄仕込みのそれぞれのもろみ期間における各成分の分析結果を図5及び図6に示した。

MK-1の濃厚仕込みでは、ボーメ、アミノ酸度、グルコース濃度及び酢酸濃度が通常仕込み及び希薄仕込みより高く推移した(図5(b), (d), (e), (n))。酢酸濃度は濃厚仕込み、通常仕込み、希薄仕込みの順に高く推移した(図5(n))。グルコース濃度が高い場合に、酢酸濃度は高くなると報告されており¹⁷⁾、本研究でも同様の結果となった(図5(e))。香氣成分のうち酢酸イソアミル、酢酸エチル及びイソアミルアルコール濃度については、濃厚仕込みは希薄仕込みに比べて高く推移した(図5(f), (g), (h))。一方で上槽後の酢酸イソアミル濃度は濃厚仕込みにおいて最も低かった(表2)。濃厚仕込みはもろみから得られる清酒の量が他の仕込みに比べて少なく、30%エタノールの添加による希釈の度合いが高かったため、香氣成分が薄まったことが原因と考えられる。MK-3の濃厚仕込みでは、ボーメ、グルコース濃度及び酢酸イソアミル濃度が通常仕込み及び希薄仕込みより高く推移した(図6(b), (e), (f))。またいずれの仕込みにおいても、9~11日目以降にもろみの分析値がAB直線の上に外れ始め(図2)、その時点からアミノ酸度の上昇が始まっており(図6(d))、発酵と糖化のバランスが糖化に傾いている際にアミノ酸度が上昇しやすくなることが示唆された。ゆえにアミノ酸度の上昇を避けるためには、分析値がAB直線の上に外れる度に適当な量の追い水を加える必要があると考えられる。またいずれの仕込みにおいてもクエン酸濃度が15日目から減少しており、ピルビン酸濃度と同様の挙動を示していた(図6(j), (o))。通常のもろみではピルビン酸濃度はもろみ中期をピークとしてその後減少するが、クエン酸はもろみ期間を通して増加する¹⁸⁾。今回用いたカラムではクエン酸とピルビン酸が同様の保持時

間で溶出されるため¹⁹⁾、ピルビン酸がクエン酸濃度の計算に影響を与えたと考えられる。

MK-1の通常仕込みでは酢酸エチル濃度が濃厚仕込み及び希薄仕込みより高く推移した(図5(g))。MK-3の通常仕込みでは、酢酸濃度が濃厚仕込み及び希薄仕込みより高く推移した(図6(n))。前述の通り、グルコース濃度が高い場合に酢酸濃度は高くなるとされているが¹⁷⁾、通常仕込みは濃厚仕込みに比べてグルコース濃度が低いにも関わらず、酢酸濃度が高かった。酢酸は酵母におけるピルビン酸の代謝経路において、ピルビン酸から生成したアセトアルデヒドがアルデヒドデヒドロゲナーゼ(ALD)によって酸化されることで生成する¹⁷⁾。通常仕込みではALDの活性が高かったため、ピルビン酸の減少が早く(図6(o))、酢酸濃度が高く推移したと推察された。またピルビン酸の減少が早かったことから、ピルビン酸がアセトアルデヒドに転換されて生じる木香様のオフフレーバーの発生も少ないと考えられた²⁰⁾。

MK-1及びMK-3の希薄仕込みでは、カプロン酸エチル濃度が濃厚仕込み及び通常仕込みより高く推移した(図5(i), 図6(i))。カプロン酸エチルはエタノール及びカプロン酸またはカプロイル-CoAを基質として生合成され、カプロン酸濃度に応じて増加するとされる²¹⁾。カプロン酸は脂肪酸合成経路によって合成される。この経路は細胞膜合成にとって重要であるため²²⁾、酵母の増殖期に活性化し、カプロン酸を蓄積すると考えられる。希薄仕込みは汲水歩合が高く酵母の増殖が盛んであるため、カプロン酸が蓄積してカプロン酸エチルが増加した可能性がある。MK-3の希薄仕込みでは、上槽後のカプロン酸エチル濃度が濃厚仕込みより低くなっており、ろ過及び30%アルコールの添加などの操作においてカプロン酸エチルが揮発した可能性がある(表3)。またMK-1の希薄仕込みでは、酢酸イソアミル、酢酸エチル及びイソアミルアルコール濃度が濃厚仕込み及び通常仕込みより低く推移した(図5(f), (g), (h))。酢酸イソアミル及び酢酸エチルは、アルコールアセチルトランスフェラーゼ(AATFase)によりイソアミルアルコール及びエタノールを基質として生合成され、これらの濃度は基質の濃度及びAATFaseの活性に影響を受ける²³⁾。今回の場合、希薄仕込みではイソアミルアルコール濃度が他の仕込みに比

べて低く、加えてグルコース濃度が低く発酵の停止が早かったため AATFase の活性が低かったと考えられ²⁴⁾、このため酢酸エチル及び酢酸イソアミル濃度が低かった可能性がある。イソアミルアルコール濃度はアミノ酸濃度が低い場合に増加するとされるが²⁵⁾、アミノ酸度の低い希薄仕込みにおいて最も低かった。この原因として、汲水歩合が高いためにイソアミルアルコール濃度が薄まっ

たことが考えられる。MK-3 の希薄仕込みでは、酢酸イソアミル及び酢酸エチル濃度が濃厚仕込み及び通常仕込みより低く推移した (図 6(f),(g))。イソアミルアルコール濃度については大きな差が見られなかったことから (図 6 (h))、グルコース濃度が低く AATFase の活性も低かったことが²⁴⁾、酢酸イソアミル及び酢酸エチル濃度が低い原因と推察される。

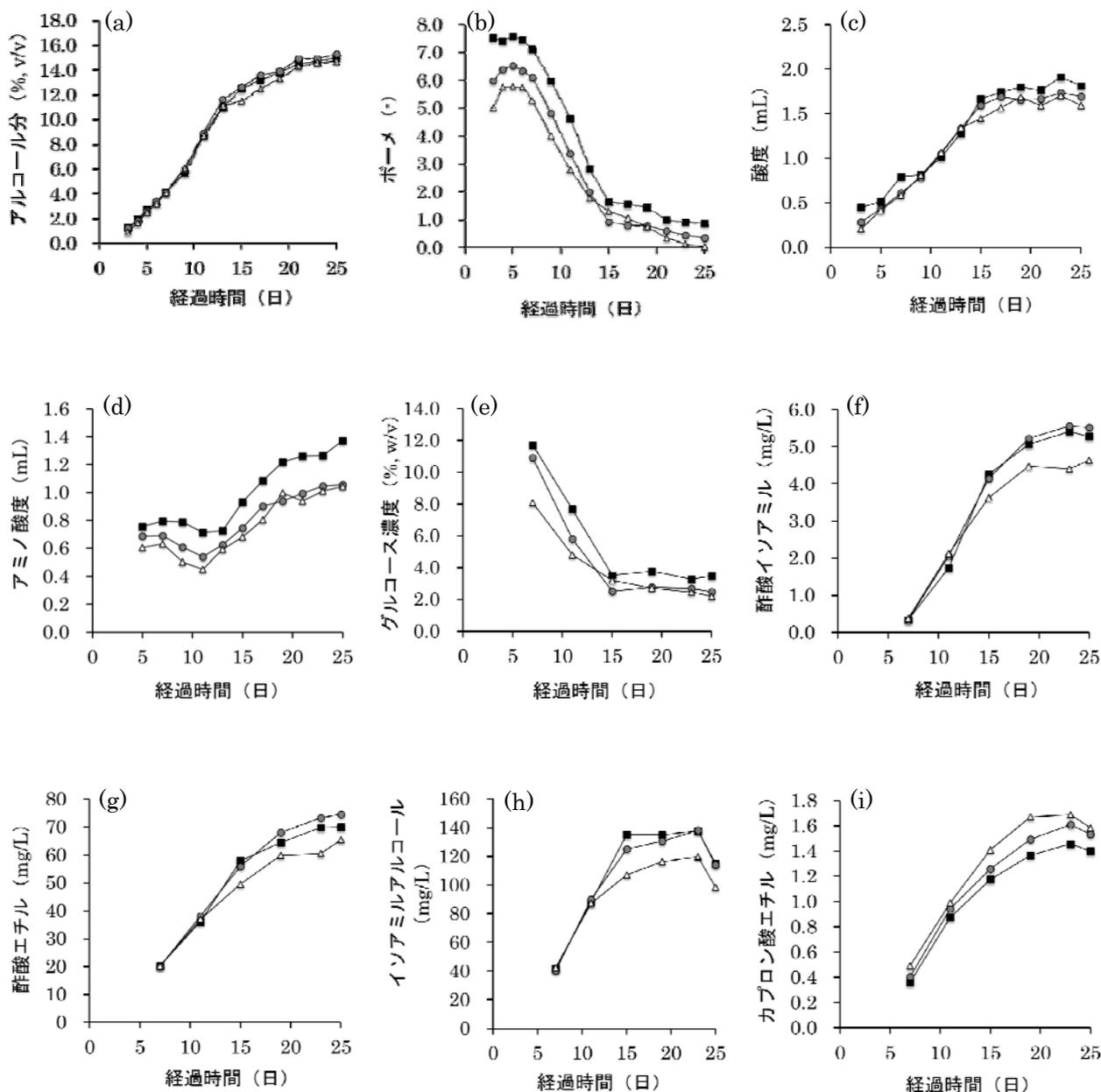


図 5 MK-1 を用いた 3 つの仕込みのもろみ期間における各成分の分析結果

■ : 濃厚仕込み ● : 通常仕込み △ : 希薄仕込み

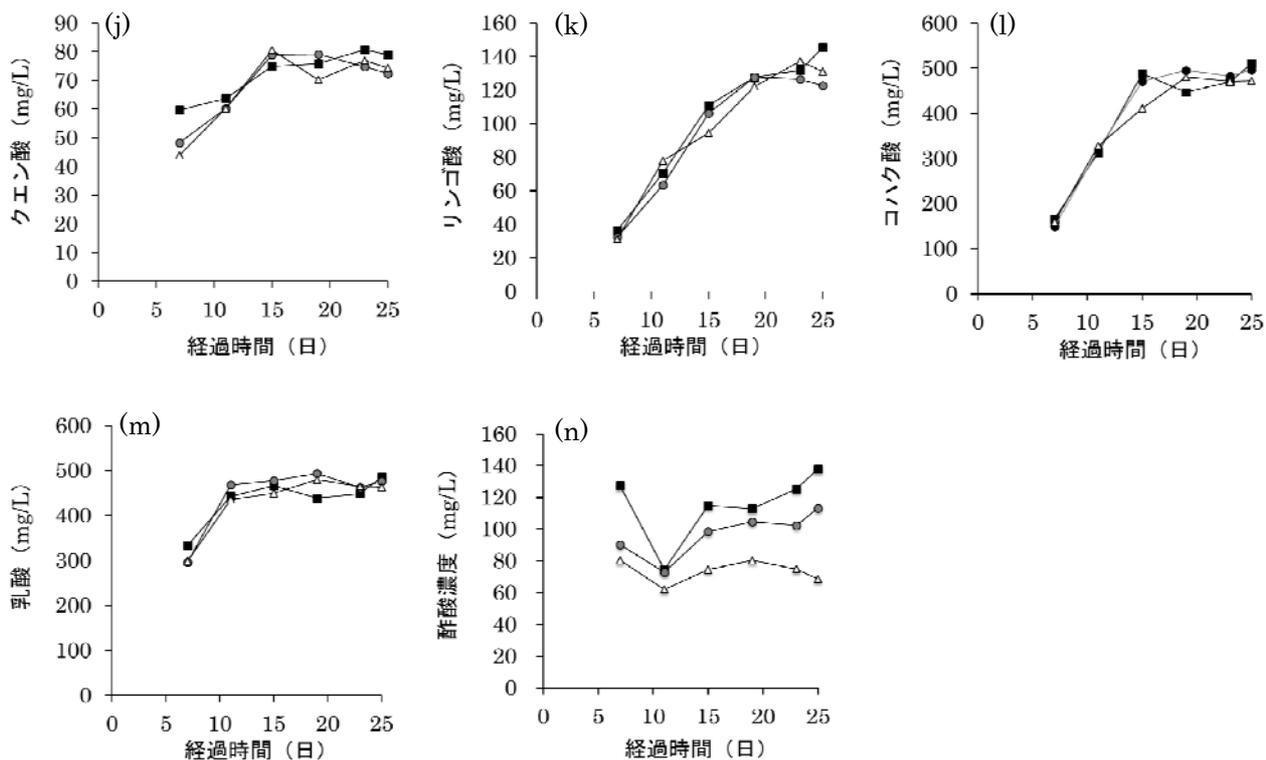


図5 MK-1を用いた3つの仕込みのもろみ期間における各成分の分析結果 (続き)
 ■ : 濃厚仕込み ● : 通常仕込み △ : 希薄仕込み

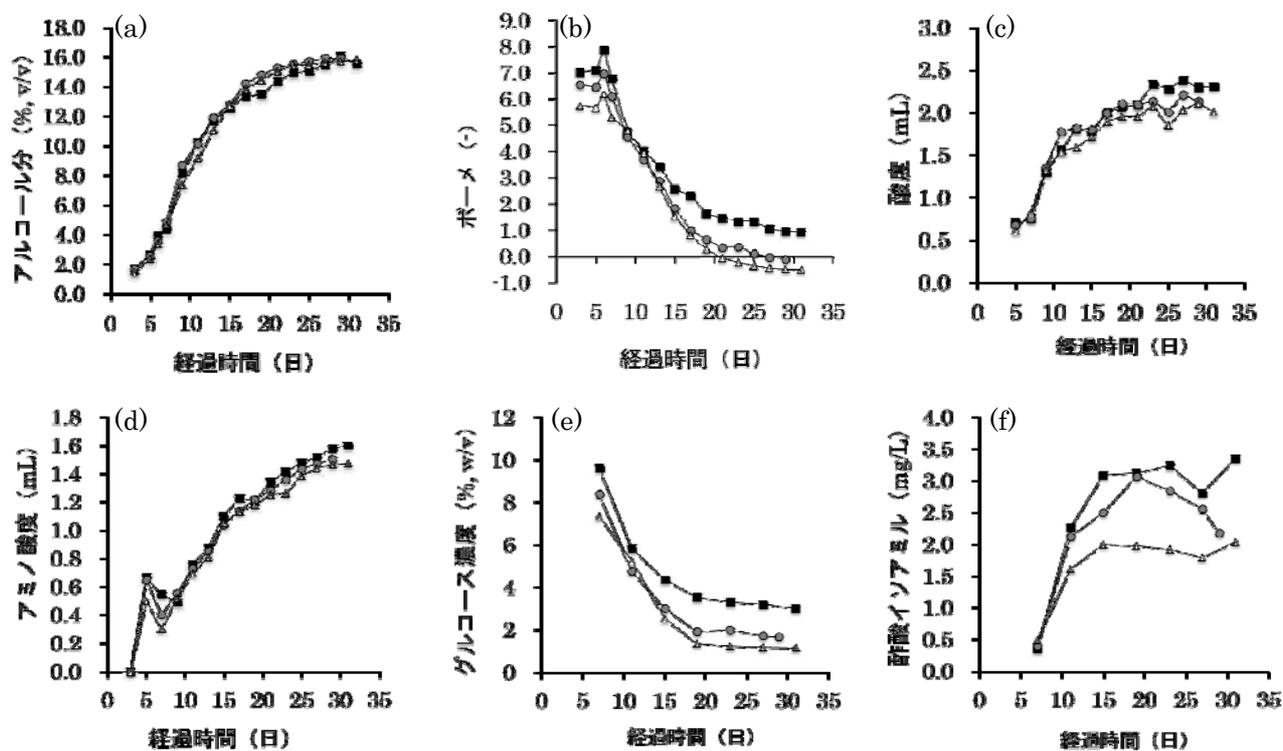


図6 MK-3を用いた3つの仕込みのもろみ期間における各成分の分析結果
 ■ : 濃厚仕込み ● : 通常仕込み △ : 希薄仕込み

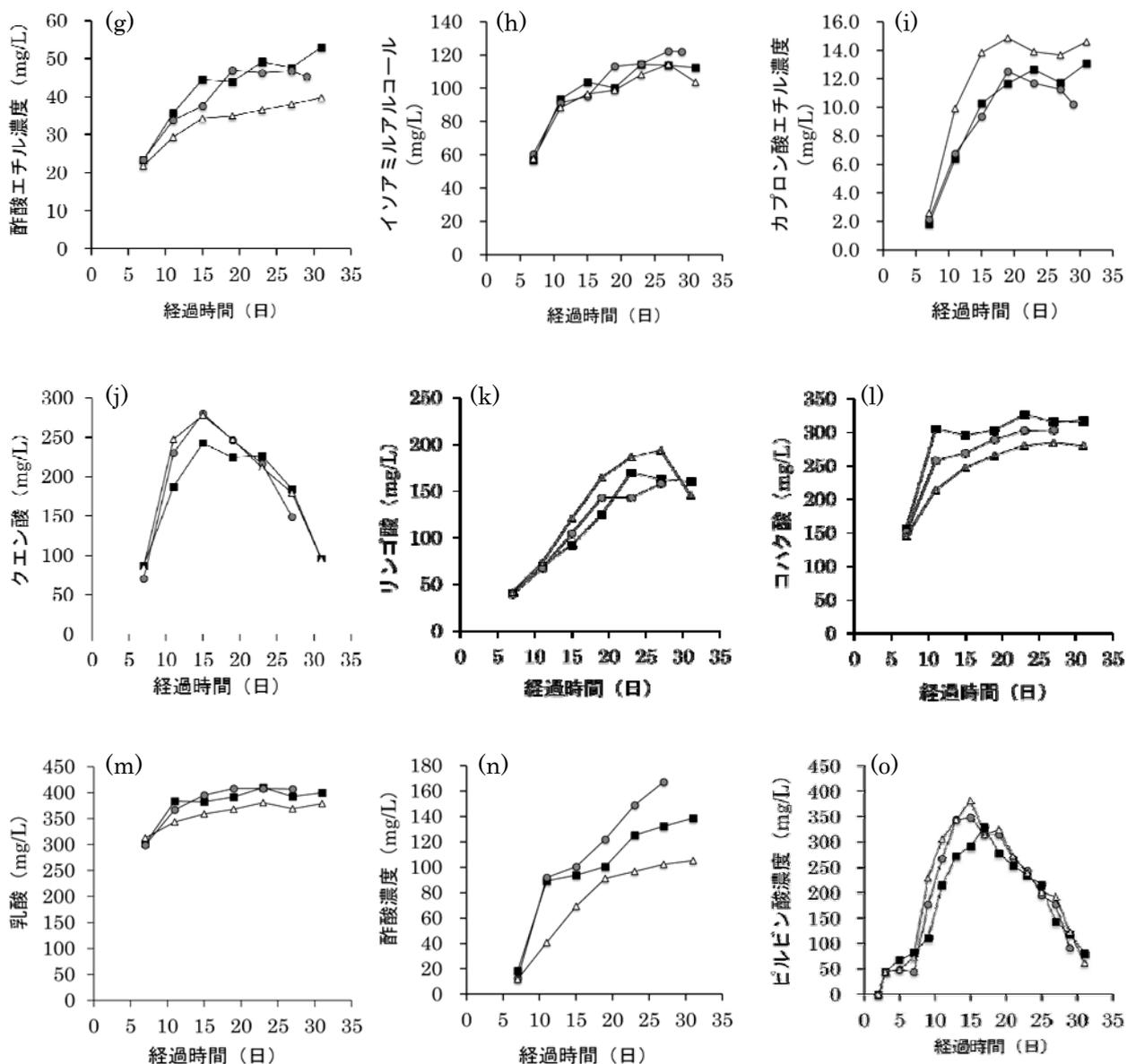


図6 MK-3を用いた3つの仕込みのもろみ期間における各成分の分析結果(続き)

■: 濃厚仕込み ●: 通常仕込み △: 希薄仕込み

4. まとめ

本研究では、三重県酵母 MK-1 及び MK-3 を用いて高品質な清酒を造るための酒造管理指標の確立を目指し、AB 直線をもとにもろみを管理する手法を用いて仕込み試験を行った。その結果、以下の成果を得た。

- 三重県酵母 MK-1 及び MK-3 においては、通常仕込みの AB 直線をもとにもろみを管理することで、目標の酒質に近い成分値を得られることが分かった。
- AB 直線を用いたもろみ管理について、以下の

ことが推察できた。

- ① もろみ初期の可溶性糖分が高い仕込みの方が、AB 直線に沿った管理が容易である。
- ② 発酵と糖化のバランスが糖化に傾くことで、アミノ酸度が上昇しやすくなる。

謝辞

本研究は、公益財団法人岡三加藤文化振興財団による令和元年度研究助成の下で行われました。付記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 穂坂賢：“お酒のはなし”. 日本食生活学会誌, 28(2), p65-67 (2017)
- 2) 国税庁課税部酒税課：“酒のしおり（平成 31 年 3 月）”. (2019)
- 3) 日本酒造組合中央会：“日本人の飲酒動向調査”. (2017)
- 4) 吉田清：“少酸性及び多酸性清酒酵母の育種”. 日本醸造協会誌, 90(10), p751-758 (1995)
- 5) 市川英治：“カプロン酸エチル高生産酵母”. 日本醸造協会誌, 88(2), p101-105 (1993)
- 6) 小澤敦揮ほか：“三重県酵母の醸造特性の調査”. 三重県工業研究所研究報告, 44 (2020)
- 7) 清水剛：“清酒もろみの管理に対する一考察”. 日本醸造協会雑誌, 57(11), p992-997 (1962)
- 8) 西田淑男ほか：“原料米の精米歩合による清酒発酵（清酒もろみ）の解析”. 日本家政学会誌, 66(10), p507-511 (2015)
- 9) 高橋亮ほか：“福島県オリジナル吟醸酒の高品質化（第 1 報）”. 平成 20 年度福島県ハイテクプラザ試験研究報告, p40-42 (2009)
- 10) 注解編集委員会編：“第四回改正国税庁所定分析法注解”. 公益財団法人日本醸造協会, p16-24, 273 (1993)
- 11) O. Kurita et al. :”Increase of acetate ester - hydrolysing esterase activity in mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia anomala*”. *Journal of applied microbiology*, 104(4), p1051-1058 (2008)
- 12) 若林三郎：“もろみ”. 日本醸造協会誌, 93(7), p498-503 (1998)
- 13) 川根秀平ほか：“清酒醸造における米デンプンの老化が原料利用率に及ぼす影響”. 日本醸造協会誌, 113(3), p179-190 (2018)
- 14) 広島県食品工業試験場：“清酒醸造における酵素剤の利用”. 日本醸造協会誌, 64(5), p413-418 (1969)
- 15) 原昌道ほか：“清酒醪の発酵管理に関する研究（第 14 報）”. 日本醸造協会雑誌, 63(5), p584-590 (1968)
- 16) 岩野君夫：“清酒酵母の増殖における選択的アミノ酸取込みに及ぼす醸造要因”. 日本醸造協会誌, 99(11), p801-808 (2004)
- 17) 後藤(山本)奈美：“酵母の酢酸代謝酵素遺伝子の破壊及び高発現がアルコール発酵中の酢酸生成に及ぼす影響”. 日本醸造協会誌, 101(12), p949-956 (2006)
- 18) 原昌道ほか：“酵素法による清酒及び醪中のクエン酸の定量”. 日本醸造協会雑誌, 74(10), p697-698 (1979)
- 19) 昭和電工：“日本酒中の有機酸（KC-811）”. <https://www.shodex.com/ja/dc/03/08/16.html>
- 20) 土肥和夫：“アルコール添加後の清酒もろみにおけるピルビン酸よりアセトアルデヒドへの変換”. 醱酵工学雑誌, 52(7), p416-422 (1974)
- 21) 市川英治：“カプロン酸エチル高生産酵母”. 日本醸造協会誌, 88(2), p101-105 (1993)
- 22) T. Oksana et al. : "Fatty acid synthesis and elongation in yeast." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771(3), p255-270 (2007)
- 23) 堤浩子：“清酒酵母の香気生成の研究”. 生物工学会誌, 89(12), p717-719 (2011)
- 24) 石川雄章ほか：“清酒酵母の Acetyl-CoA: alcohol acetyltransferase について”. 日本醸造協会雑誌, 79(1), p62-66 (1984)
- 25) 秋田修：“酵母による香気生成”. 日本醸造協会誌, 84(11), p739-745 (1989)