

# 大分酵母第1号, 第2号の使用米(酒米, 食用米)がもたらす酒質の相違

藤原秀彦<sup>1)</sup> 池見俊亮<sup>1)</sup> 藤居 崇<sup>2)</sup>  
麻生益直<sup>2)</sup> 山尾 麗<sup>3)</sup> 岡本啓湖<sup>3)</sup>

## 【要 旨】

大分酵母第1号, 2号の特性を明らかにする目的で, 70%精米五百万石及び, ひのひかりから三段仕込み法により試醸清酒を製造し, これらのグルコース濃度(G), 酸度(A), アミノ酸度(AM) 定量, 有機酸組成解析, 香气成分解析, 官能検査を行った。その結果, 五百万石では官能評価が大分酵母第2号はきょうかい9号より劣る結果となり, ひのひかりでは大分酵母第1号はきょうかい9号と僅差となった。このことから, 大分酵母第2号では五百万石を用い対象を酸味が好きな消費者とし, 大分酵母第1号ではひのひかりを用いて醸造を行うことを提案した。

## 【キーワード】

大分酵母第1号 大分酵母第2号 きょうかい9号 酒米 食用米

## 1. 緒言

平成24年に大分県酒造組合と別府大学食物栄養科学部発酵食品学科が清酒酵母開発委員会を設立し大分酵母の探索が開始された。4酒類の酒粕から70菌株が獲得され<sup>1)</sup>, 更にこれらは一段小仕込み醪モデル試験に供され, 香りを基準にした選抜によりDC非染色性 *S. cerevisiae* が6菌株選抜された。更に平成25年には生酏系酒粕より純粋分離された<sup>2)</sup>DC染色性 *S. cerevisiae* 10菌株が加えられ, 16菌株が大分酵母の候補として挙げられた。平成26年にはこれら16菌株が大分酵母選抜の第2回スクリーニングに供され, DC染色分離菌株4菌株, DC非染色分離菌株3菌株が選抜された。清酒酵母開発委員会での再審議結果, 商品化に向けての試醸清酒に用いる菌株は1種類のDC染色分離菌株と2種類のDC非染色分離菌株となった<sup>3)</sup>。更に, 選抜された株ときょうかい9号を用いた試醸清酒の成分測定結果より, DC染色分離菌株が大分酵母第1号(以前はハ-4と報告), DC非染色分離菌株が大分酵母第2号(以前はKET002と報告)と認定された。

本研究では, これら大分酵母第1号, 第2号の使用米(酒米, 食用米)がもたらす酒質の相違について, 清酒小仕込み試験を行いきょうかい9号と比較し検討した。

<sup>1)</sup>別府大学食物栄養科学部発酵食品学科, <sup>2)</sup>大分県酒造協同組合, <sup>3)</sup>福岡女子短期大学

## 2. 実験方法

### 2-1 清酒小仕込み試験（藤居酒造(株)製造：発酵温度15℃）

表1に示す条件により大分酵母第1号（以下1号），第2号（以下2号），及びきょうかい9号（以下K-9）を用いて藤居酒造(株)にて清酒小仕込み試験により試醸した。表1, 2には五百万石（以下酒米）を用いた仕込み配合，原料処理を，表3, 4にはひのひかり（以下食用米）を用いた仕込み配合，原料処理法をまとめた。

表1 酒米（五百万石）を用いた清酒小仕込み試験の仕込み配合

項目	添え	仲	留	合計
総蒸米(kg)	2.62	3.75	6.13	12.5
掛米(kg)	1.87	3	5.13	10
麴米(kg)	0.75	0.75	1	2.5
汲水(L)	3.25	4.75	9.5 追水0.25	17.75
乳酸(L)	12ml			

表2 酒米（五百万石）を用いた清酒小仕込み試験の原料処理（掛米）

項目	酒母	添え	仲	留
	五百万石	五百万石	五百万石	五百万石
品種				
精米歩合(%)	70	70	70	70
浸漬時間(min)	12	15	15.2	15.2
吸水率(%)	28.4	29.5	30.1	30.5
蒸米吸収率(%)	38.4	39.3	38.5	42.1
仕込み時吸水率(%)	—	—	—	—
水温(℃)	15	15	15	15

表3 食用米（ひのひかり）を用いた清酒小仕込み試験の仕込み配合

項目	酒母	添え	仲	留	合計
総蒸米(kg)	0.35	1.75	3	4.9	10
掛米(kg)	0.25	1.25	2.4	4.1	8
麴米(kg)	0.1	0.5	0.6	0.8	2
汲水(L)	0.6	2	3.8	7.6 追水0.2	14.2
乳酸(L)	9.6ml	12ml			

表4 食用米（ひのひかり）を用いた清酒小仕込み試験の原料処理（掛米）

項目	酒母	添え	仲	留
	ひのひかり	ひのひかり	ひのひかり	ひのひかり
品種				
精米歩合(%)	70	70	70	70
浸漬時間(min)	15	15	15	15
蒸煮時間(min)	60	60	60	60
水温(℃)	15	15	15	15

また、以下に各米を用いた仕込み法を記載する。

### 【酒米】

(添仕込み)

- ① 麴米0.75kg, 水3.25L, 乳酸12mLを混合した(水麴)。
- ② ①に酒母を加え、よく攪拌した後、蒸米1.87kgを加え再度攪拌し15℃で15~20時間静置した後、均一攪拌(荒糺)し、そのまま1日置いた(踊り)。

(仲仕込み)

- ③ ②に麴米0.75kg, 水4.75Lを添加し、放冷した蒸米3kgを加え均一に攪拌した後、18時間静置し、再度均一に攪拌した。

(留仕込)

- ④ ③に麴米1kg, 水9.75Lを添加し、放冷した蒸米5.13kgを加え、均一に攪拌した後、20日間発酵させた。

### 【食用米】

(酒母)

- ① 麴米0.1kg, 水0.6L, 乳酸9.6mLを混和し、蒸米0.25kgを加え、2日間静置した。

(添仕込み)

- ② 麴米0.5kg, 水2L, 乳酸12mLを混合した。
- ③ ②に酒母を加え、よく攪拌した後、放冷した蒸米1.25kgを加え再度攪拌し、15℃で15~20時間静置した後、均一に攪拌し、そのまま一日置いた。

(仲仕込み)

- ④ ③に麴米0.6kg, 水3.8Lを添加し、放冷した蒸米2.4kgを加え均一に攪拌した後、18時間静置し、再度均一に攪拌した。

(留仕込)

- ⑤ ④に麴米0.8kg, 水7.8Lを添加し、放冷した蒸米4.1kgを加え、均一に攪拌した後、20日間発酵させた。

## 2-2 試醸清酒の各種分析

### 2-2-1 グルコース濃度測定

グルコース CII・テストワコー(和光純薬工業株式会社)により製造者の推奨する方法により測定した。

### 2-2-2 酸度, アミノ酸度測定

国税庁所定分析法に基づき測定した<sup>4)</sup>。

### 2-2-3 有機酸成分及び濃度測定

HPLC システム (SHIMADZU) により, カラム (ROA-Organic Acid H+), 検出機 (SPD-20A), 移動相 (0.005N 硫酸) を用い分析した。分析条件はカラム温度: 40℃, 検出波長: 210 nm, 流速: 0.45mL/min., 試料添加量: 20µL とした。有機酸はγ-アミノ-n-酪酸(以後アミノ酪酸), クエン酸, 酒石酸, リンゴ酸, マロン酸, コハク酸, 乳酸, 酢酸, ピログルタミン酸量を測定した。

### 2-2-4 香気成分及び濃度測定

ヘッドスペースガスクロマトグラフ法による清酒成分分析方法(酒類総合研究所報告第183号1-15変法)より測定した。なお, 装置及び分析条件, 試料調製法は以下に示す。

A. ガスクロマトグラフ装置及び分析条件

ガスクロマトグラフ装置 (CTC-2014 (SHIMADZU)) により, カラム (DB-WAX  $\phi$ 0.2mm x30m, 0.25 $\mu$ m), 検出器 (FID), 移動相 (窒素) を用い分析した。分析条件はカラム温度: 75 $^{\circ}$ C, 注入口温度: 200 $^{\circ}$ C, FID 温度: 250 $^{\circ}$ C, 流速: 1.0mL/min. (分析時間10分), スプリット比: 10: 1, ヘッドスペースガス量: 2 mL, 信号アッテネーション: x1とした。

B. 試料の調製法

冷凍した新鮮な標準液及び内部標準は水中で解凍し, オートサンプラー用バイアル瓶に標準液及び試料を各々0.9mL量り取り, 更に内部標準0.1mLを添加し, オートサンプラーに設置した。アルコール類は n-イソアミルアルコールを内部標準とし, エステル類はカプロン酸メチルを内部標準として各々測定した。なお, バイアル瓶, 試料, 標準液はすべて予め氷冷し, 操作は氷上で行った。

2-3 試醸清酒の試飲会による官能検査

官能評価は, 酒米を用いた試醸清酒には, 発酵食品学科の学生及び教職員の21名, 食用米を用いた試醸清酒には, 大分県酒造協同組合蔵元の19名により評価を行った。総合評価による得点を評価とし, 5点満点評価法 (5点: 大変よい 4点: 良い 3点: 普通 2点: 悪い 1点: 大変悪い) により評価した。

3. 結果及び考察

3-1 各試醸清酒のグルコース濃度, 酸度, アミノ酸度

3-1-1 各試醸清酒の成分パターン

酒米試醸清酒, 及び食用米試醸清酒のグルコース濃度 (G), 酸度 (A), アミノ酸度 (AM) を測定した結果を図1, 2に示す。

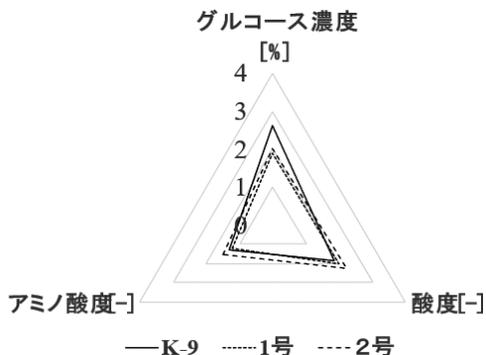


図1 大分酵母とK-9による酒米 (五百万) 使用試醸清酒の成分比較

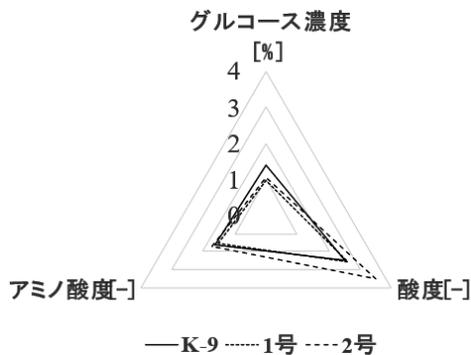


図2 大分酵母とK-9による食用米 (ひのひかり) 米使用試醸清酒の成分比較

酒米と食用米で比較をすると, すべての酵母においてグルコース濃度が低下し, 酸度, アミノ酸度が増加していることから, 酒米と食用米の相違が酒質に影響を及ぼすことが明らかとなった。

3-1-2 酒米と食用米を用いた K-9 での試醸清酒の成分比較

3-1-1 の K-9 での試醸清酒の各成分 (グルコース濃度, 酸度, アミノ酸度) を酒米と食用米で相対的に比較した結果を図3に示す。酒米での各成分値を1としたとき, グルコース濃

度は0.53, 酸度は1.34, アミノ酸度は1.60と  
なった。酒造好適米(酒米)に求められるの  
は食用米とは異なり, 心白の大きさ, 精米時  
の砕けにくさ, 「捌け」の良さ, 破精込みの  
しやすさ, 吸水のしやすさ, タンパク質含有  
率の低さなどの醸造適性である<sup>5)</sup>。食用米の  
使用で, K-9による試醸清酒の成分は, グ  
ルコース濃度が減少し, 酸度, アミノ酸度が  
増加した酒質になることが明らかとなった。

### 3-1-3 各米を用いたK-9と1号, 2号 による試醸清酒の成分比較

K-9による試醸清酒の成分(グルコース  
濃度, 酸度, アミノ酸度)評価で, 酒米を使用  
した値を1としたときの1号, 2号の相対  
値を図4に, 食用米を使用したときの相対値  
を図5に示す。

酒米を用いたとき, 1号ではグルコース濃  
度が0.72, 酸度が1.06, アミノ酸度が0.93で  
あった。2号ではグルコース濃度が0.77, 酸  
度が1.20, アミノ酸度が1.15であった。一方,  
食用米を用いたとき, 1号ではグルコース濃  
度が0.70, 酸度が1.04, アミノ酸度が0.96で  
あり, 2号ではグルコース濃度が0.74, 酸度  
が1.40, アミノ酸度が1.08であった。

これらの結果から, 酒米を使用した際,  
K-9と比較して1号, 2号共にグルコース  
濃度が減少し酸度が増加した酒質となること  
が明らかとなった。また, 1号では酒米と食  
用米のどちらを用いても同じような酒質にな  
ることが明らかとなった。一方, 2号では食  
用米を用いることで, 酸度は増加するが, グ  
ルコース濃度, アミノ酸度は減少した酒質とな  
ることが明らかとなった。

### 3-2 有機酸成分及び濃度比較

各酵母の使用米の相違による試醸清酒の有機酸濃度を測定した結果, 全ての試醸清酒において  
アミノ酪酸, コハク酸, マロン酸, リンゴ酸, クエン酸, 酢酸・酒石酸の降順であった(データ  
非公表)。ここでは特に濃度が高かった各酵母の試醸清酒のアミノ酪酸(図6)とコハク酸(図  
7)に着目し比較した。

その結果, 食用米使用のアミノ酪酸濃度は酒米仕様と比較してK-9で1.08倍, 1号で2.11  
倍, 2号で1.70倍に増加し, 1号, 2号の増加率が高いことが判明した。また, 食用米使用のコ  
ハク酸濃度は, K-9で3.64倍, 1号は3.72倍, 2号は4.8倍に増加した。これらの結果から, 食  
用米使用によりコハク酸が大幅に増加した酒質になることが明らかとなった。

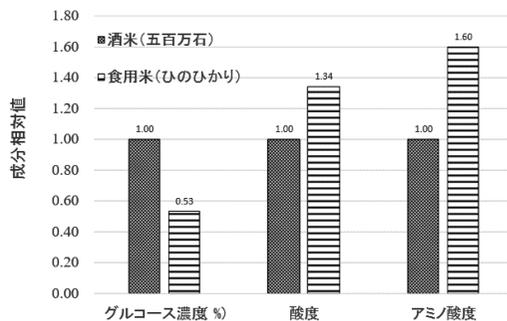


図3 K-9の使用米の相違による試醸清酒の成分比較

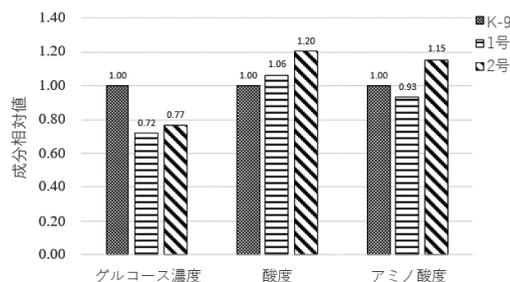


図4 大分酵母とK-9による五百万使用試醸清酒の成分比較

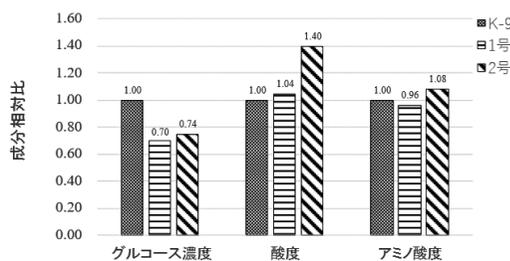


図5 大分酵母とK-9によるひのひかり使用試醸清酒での成分比較

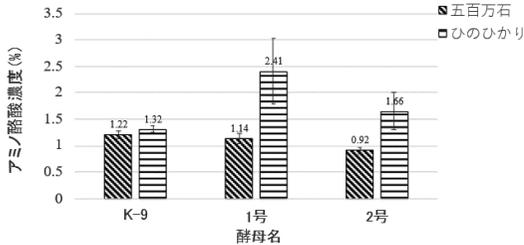


図6 各酵母の使用米の相違による試醸清酒のアミノ酸濃度比較

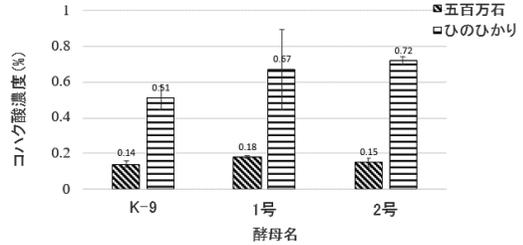


図7 各酵母の使用米の相違による試醸清酒のコハク酸濃度比較

### 3-3 試醸清酒の気成分

#### 3-3-1 酒米を用いた各試醸清酒の香気成分比較

酒米使用試醸清酒の高濃度香気成分分析結果を図8、低濃度香気成分分析を図9に示す。全試醸清酒で最も高濃度であった香気成分はイソアミルアルコール<sup>6)</sup>であり、K-9ではイソブチルアルコール、n-プロパノール、酢酸エチルの順で、同様に1号では、n-プロパノール、イソブチルアルコール、酢酸エチルの順であり、すべての試醸清酒においてアルコール系香気成分が高濃度を占め、エステル系の香気成分が続く特徴となった。酢酸エチルではきょうかい9号との比較で、1号は1.23倍、2号は1.08倍と高くなることが判明した(図8)。酢酸エチルはフルーティーな果実臭を<sup>7)</sup>有することから、1号、2号を用いた試醸清酒はK-9のものよりもこれらの香気性が強いと考えられる。

一方で低濃度香気成分は、K-9と1号は酢酸イソアミル、次いでカブロン酸エチルであったが、2号はカブロン酸エチル、酢酸イソアミルの順であった。酢酸イソアミル濃度はK-9と比較して、1号は82%、2号は53%であったが、カブロン酸エチルでは1号は1.14倍、2号も1.15倍であった。これらの結果から、K-9を用いた試醸清酒はパイナップル様の香り(カブロン酸エチル<sup>9)</sup>)が、1号、2号を用いた試醸清酒はバナナ様の香り(酢酸イソアミル<sup>8)</sup>)とパイナップル様の香りが強いことが示唆された。

#### 3-3-2 K-9を使用した酒米と食用米を用いた試醸清酒の香気成分比較

K-9の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分結果を図10、低濃度香気成分を図11に示す。食用米を用いるとn-プロパノールで1.77倍に増加したが、エステル系の酢酸エチルで2.20倍、酢酸イソアミル、カブロン酸エチルで2.72倍に増加した。

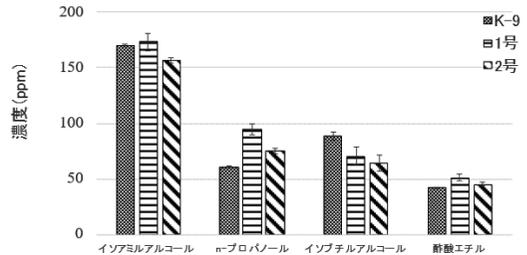


図8 各酵母の500,000石使用での試醸清酒の高濃度香気成分比較

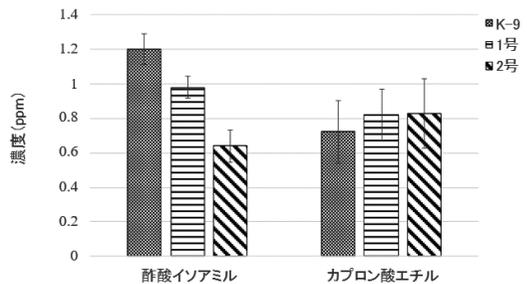


図9 各酵母の500,000石使用での試醸清酒の低濃度香気成分比較

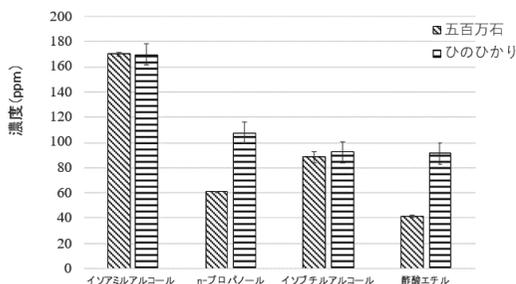


図10 K-9の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分比較

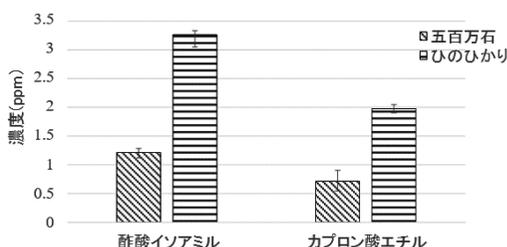


図11 K-9の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分比較

### 3-3-3 1号を使用した酒米と食用米を用いた試醸清酒の香気成分比較

1号の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分結果を図12, 低濃度香気成分を図13に示す。食用米を用いると, n-プロパノールは1.37倍に増加したが, イソアミルアルコールは84%, イソブチルアルコールは77%に減少した。一方, エステル系の酢酸エチルは1.47倍, 酢酸イソアミルは1.80倍, カブロン酸エチルで1.88倍に増加した。

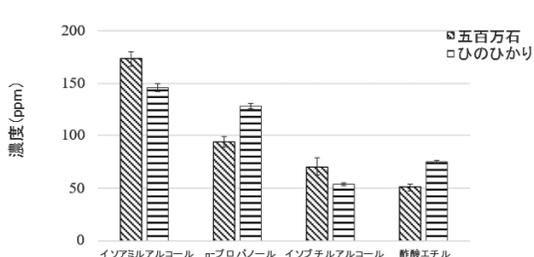


図12 1号の使用米の相違による試醸清酒の低濃度香気成分比較

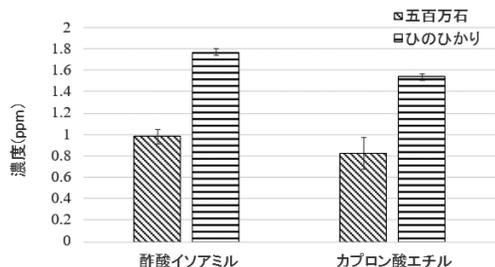


図13 1号使用米の相違による試醸清酒の低濃度香気成分比較

### 3-3-4 2号を使用した酒米と食用米を用いた試醸清酒の香気成分比較

2号の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分結果を図14, 低濃度香気成分を図15に示す。食用米を用いると, 1号と同様にn-プロパノールは1.73倍に増加したが, イソアミルアルコールは88%, イソブチルアルコールは85%に減少した。一方エステル系の酢酸エチルは1.70倍, 酢酸イソアミルは2.59倍, カブロン酸エチルは2.11倍に増加した。

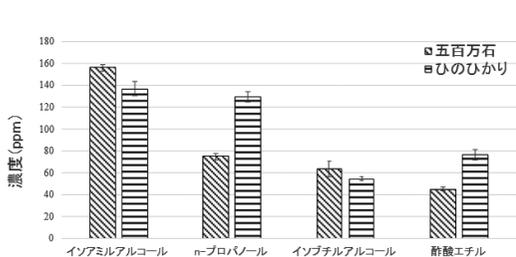


図14 2号の使用米の相違による試醸清酒の高濃度香気成分比較

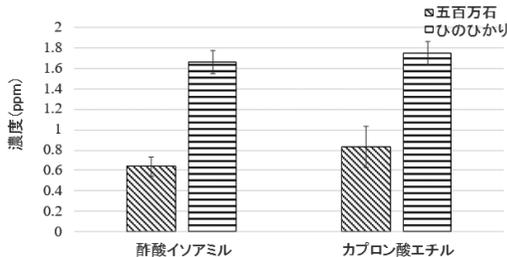


図15 2号の使用米の相違による試醸清酒の低濃度香気成分比較

これらの結果より, 食用米を使用すると酒米と比較し全ての酵母で, n-プロパノール, エステル系香気成分が増加することが明らかとなった。また, イソアミルアルコール及びイソブ

チルアルコールは1号, 2号で減少することが明らかとなり, 使用米の違いで産生される香気成分が異なることが明らかとなった。

### 3-4 試飲会による官能検査

酒米を使用した試醸清酒の官能検査結果を表5に示した。その結果, 酒米を使用した際は総合評価2位であった2号で醸造を行うと評価の高い清酒ができることが期待された。成分解析の結果, その酒質は酸味が強いことが明らかとなったため, 酸味を好む消費者を対象に展開するとよいということが期待される。

一方, 食用米を使用した試醸清酒の官能検査結果を表6に示した。その結果, 1号で醸造を行うとK-9での結果と僅差となった。このことから1号は食用米で醸造を行うと評価の高い清酒ができることが期待された。

表5 酒米仕様試醸清酒に対する官能評価 (21名)

順位	総合評価点	酵母名
1	91	きょうかい酵母9号
2	80	大分酵母第2号
3	73	大分酵母第1号

表6 食用米仕様試醸清酒に対する官能評価 (19名)

順位	総合評価点	酵母名
1	75	きょうかい酵母9号
2	74	大分酵母第1号
3	51	大分酵母第2号

## 4. まとめ

平成24年に(公社)日本生物工学会で「発酵王国」と称される大分県の全清酒蔵元を抱える大分県酒造組合と別府大学食物栄養科学部発酵食品学科が, 清酒酵母開発委員会を設立し大分酵母の探索が開始された。香りを基準にした選抜により DC 非染色性 *S. cerevisiae* が6菌株が選抜され, 更に平成25年には生胚系酒粕より DC 染色性 *S. cerevisiae* 10菌株を加えた16菌株が選抜され, 大分酵母選抜のスクリーニングに供された結果, 大分酵母第1号として DC 染色性ハ-4が, 大分酵母第2号として DC 非染色性 KET002が選抜された。

本研究では, 清酒小仕込み試験を行い, これら大分酵母第1号(以下1号), 第2号(以下2号)が酒米(五百万石), 食用米(ひのひかり)の相違にもたらず酒質について, きょうかい9号(以下K-9)との比較で検討した。藤居酒造(株)により各酵母菌株で三段仕込み法により試醸清酒を製造し, グルコース濃度, 酸度, アミノ酸定量及び有機酸組成解析, 香気成分解析を行い, 官能検査をおこなった。

まず, 酒米を用い1号, 2号で発酵した試醸清酒のグルコース濃度(G), 酸度(A), アミノ酸度(AM)を測定し, K-9と比較した。その結果, 1号, 2号の試醸清酒の各成分構成は, K-9のものとは大きく異なっていた。しかし, 食用米を用いるとすべての酵母での試醸清酒の各成分構成は類似していた。これらの結果から, 使用米の性質により, 各酵母の発酵特性が変化し, 酒質も変化するということが強く示唆された。例えば, K-9による食用米と酒米での試醸清酒の成分を比較すると, グルコース濃度は53%減少し, 酸度は34%増加, アミノ酸度は60%増加したことから, 酒米から食用米に変えると, 辛く, 濃い味で旨味とコクが強くなる酒質が得られることが期待された。

一方使用米を統一し, 各酵母による発酵特性を比較すると, 酒米を使用した場合K-9と比較して1号のグルコース濃度は0.72, 酸度は1.06, アミノ酸度は0.93となり, 2号のグルコース濃度は0.77, 酸度は1.20, アミノ酸度は1.15となった。このことから, 酒米を使用した際, K-9と比較して1号は辛く, 旨味とコクが減少した酒質となり, 2号は辛く, 濃い味で, 旨味とコク

が増した酒質になることが期待された。

次に、食用米を使用した場合、K-9と比較して、1号のグルコース濃度は0.70、酸度は1.04、アミノ酸度は0.96となり、2号のグルコース濃度は0.74、酸度は1.40、アミノ酸度は1.08となった。

また、各酵母での試醸清酒中の有機酸を測定した結果、食用米を使用すると酒米を使用したときと比較してアミノ酪酸濃度がK-9で1.08、1号で2.11、2号で1.70となり、コハク酸濃度がK-9で3.64、1号で3.72、2号で4.80となった。コハク酸は旨味成分であり、酒質にコクを与えることから、食用米を使用すると、コクが増した酒質となることが期待された。

酒米を使用した試醸清酒の香気成分は、すべての酵母においてイソアミルアルコールが最大であり、アルコール系成分、エステル系成分と続いた。1号では酢酸エチル濃度が高いため、フルーティーな果実臭が期待され、2号ではカプロン酸エチル濃度が高いためパイナップル様の香りが期待される。使用米を食用米に変えると、すべての酵母において、エステル系香気成分の増加が見られた。特に、K-9は酢酸エチルでは2.20倍、酢酸イソアミル及びカプロン酸エチルでは2.72倍増加し、より華やかな香りの酒質が期待された。

最後に、試醸清酒を官能検査した結果より、酒米-K9、食用-K9の組合せが最も評価点が高かった。しかしながら、大分県産酵母を用いた醸造を行った場合、1号は食用米、2号は酒米の組合せが適し、特に2号は酸味を好む消費者を対象にすれば、評価が高い清酒の醸造が可能であることが期待された。

今後、各成分分析と官能検査による各評価の相関を調べ、大分県産酵母に適した使用米についてさらなる研究が望まれる。

## 5. 謝辞

本研究を遂行してくれた別府大学発酵食品学科発酵食品製造学研究室の卒業生諸氏に深甚たる謝意を表します。

## 6. 参考文献

- 1) 中村俊雅著 2012年度 別府大学 卒業論文「酒粕からの酒造用酵母の分離に関する研究」2012年1月
- 2) 永松一馬著 2013年度 別府大学 卒業論文「酒粕からのDC染色性酒造用酵母の分離に関する研究」2013年1月
- 3) 岡本啓湖, 掛橋凌, 木村奨, 張愚皓, 仁平拓哉, 常富愛香里, 藤原秀彦, 麻生益直, 「酒粕由来 *Saccharomyces cerevisiae* の特性に基づく新規清酒用酵母の開発」, 福岡女子大学紀要, 第85, 59-77 (2019)
- 4) 国税庁 平19国税庁訓令第6号 国税庁所定分析法 8-9
- 5) “酒米だけで100種類超！食べるお米との違いを徹底解説”  
<https://www.kikunotsukasa.jp/column/archives/721> 2022. 1. 17
- 6) “清酒のにおいとその由来について”, 独立行政法人酒類総合研究所,  
<https://www.nrib.go.jp/data/pdf/seikoumisan.pdf> (参照2019-11-11)
- 7) “香料の化学”, 日本香料工業会, <http://www.jffma-jp.org/about/science.html> (参照2019-11-11)
- 8) “清酒のにおいとその由来について”, 独立行政法人酒類総合研究所,  
<https://www.nrib.go.jp/data/pdf/seikoumisan.pdf> (参照2019-11-11)
- 9) 注解編集委員会編 第四回改正国税庁所定分析法注解 16-17 (2000)