

ノート

「北海道・乾燥きょうかい 901 号酵母」の商品化
— 乾燥酵母による清酒醸造 第 2 報 —

発酵食品部 発酵食品科

浅野行蔵, 富永一哉, 吉川修司, 田村吉史, 柿本雅史

Development of a Commercially Practical Dry Yeast of the Kyokai 901 Strain

Kozo ASANO, Kazuya TOMINAGA, Shuji YOSHIKAWA, Yoshifumi TAMURA
and Masashi KAKIMOTO

Notable characteristics of brewing yeast strain Kyokai 901 are its ability to ferment well at low temperatures and produce a noble flavor. It is therefore used in the premium sake Ginjo. In this study, the Kyokai 901 yeast strain was successfully preserved in a practical dry yeast form. The dry yeast provided a cell survival rate higher than 80% and was readily usable in sake mash. Using the dry yeast with a 2-ton mash, a high-quality product was brewed. Repeated test brewings confirmed the fermentation stability of this dry yeast.

すでに我々は、日本醸造協会 701 号酵母を乾燥化した菌体が、酒造用酵母として実用性があることをすでに報告した^{1,2)}。商品名を「北海道乾燥きょうかい 701 号酵母」と名付け、北海道内では販売実績を積み重ね、平成 9 年からは全国も始めた。

協会 9 号酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は、1953 年頃に日本醸造協会に認定された酵母で、熊本県酒造研究所が、酒蔵から分離した清酒用酵母である。低温でもよく発酵し、上品でかい上立ち香を特徴としており、吟醸酒をはじめ高級酒に多く用いられている。毎年開かれる全国品評会へ出品される各蔵選りすぐりの吟醸酒は、ほとんどが協会 9 号酵母もしくはこれを親株とした酵母である。協会 901 号酵母は、協会 9 号を親株として泡なしの自然変異株として分離された株である。泡なし酵母は、発酵の際にタンクの上部に盛り上がる泡がない³⁾。このため、通常はタンク容量の 7 割位しかモロミを仕込めないが、泡なし株を使用するとタンク容量いっぱい仕込むことができるので、タンクを有効に使用でき、コスト低減につながる。さらに、泡消し機が不要なほか、泡によるタンク内面の汚れが少なく洗浄の手間も減少するので、これらの点からもコスト低減につながる。

協会 9 号系の酵母は、協会 7 号系の酵母について多く

使用されている株である。清酒醸造に使用される酵母は、協会 701 号やそのほかの変異株などを含むいわゆる協会 7 号系と呼ばれる酵母が、もっとも多く使用されている。これに協会 9 号系の酵母を加えると、両グループで清酒醸造に使用される酵母のすべてであると言っても過言でない。既に我々は、協会 701 号酵母を乾燥酵母として商品化しており、さらに協会 901 号を乾燥酵母として商品化することで、現在全国の清酒企業で用いられている酵母の 2 つの主要な系統の酵母を商品化できたことになる。また、協会 901 号は、元株の供給に当たっては、日本醸造協会と契約を結び優良な株の供給を受けた。また、全国販売においては同協会が、販売元となっていた。

実験方法

1. 酵母の培養と乾燥

酵母の培養の全行程を好氣的を行った。斜面培地から糖蜜を主成分とした液体培地に移植して、振とう培養した。フラスコ培養から数段のジャー培養を経て 120 KL タンクで本培養を行った。本培養では、炭素源である糖蜜を連続的に供給して、酵母からのアルコールの生成量を少なくさせ、かつ菌体の生成量を増加させた (図 1)。

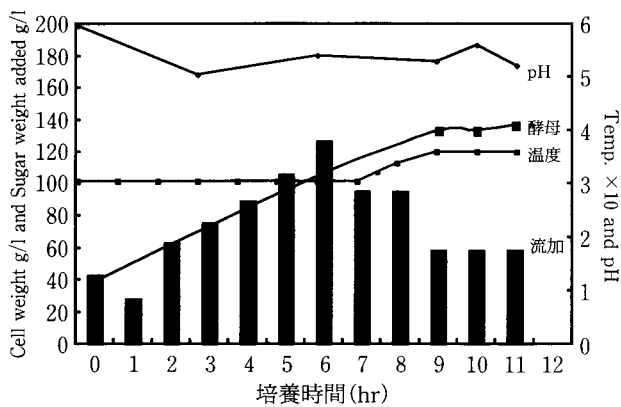


図1 酵母の流加培養法

乾燥酵母にするための酵母は、糖蜜を糖源とした流加培養によって増殖させた。酵母の増殖に伴い糖の添加量を増加させた。添加は、連続的に行い図では時間あたりの添加量を棒グラフで表示した。

また、培養後半においては、それまでの培養温度の30°Cから35°Cに上昇させるとともに、供給する糖源の量も変化させ乾燥耐性の向上を図った。

培養の終了した酵母は、遠心分離器で集菌するとともに水で洗浄して糖蜜の色を除いた。乾燥は、集菌した酵母を圧縮脱水によって水分を70%以下に減少させ、次に低温温風乾燥と造粒を行い、水分含量10%以下に乾燥した。

2. 酵母の復水と生菌数の測定

生菌数の測定方法には、メチレンブルー染色法を用いた⁴⁾。水(約50 ml)を一定温度で保温し、乾燥酵母(約0.5 g)を入れ、さらに30分保温した。この1 mlをメチレンブルー染色液に入れ、穏やかに攪拌し5分以内に顕微鏡で観察し、写真撮影して写真上で酵母の染色率をカウントして生菌率を求めた。メチレンブルー染色液の調製は、メチレンブルー溶液(0.02%, 4.5 ml)とリン酸緩衝液(0.2 M, 4.5 ml)混合した。

3. 仕込み方法

清酒の仕込みにおいては、乾燥酵母を40°Cの湯に投入して復水し、使用した。小仕込み試験は総米200 gで、3段仕込みでおこなった(表1)⁵⁾。スケールアップ試験は

表1 小仕込み方法 (単位 g)

	添	仲	留	計	歩合(%)
α米	26	45	82	153	77.5
麴米	10	12	21	43	22.5
汲み水	56	87	158	302	
10%乳酸	0.8				

品温 15°C 10°C 7°C
留以後1°C/日、15°Cまで品温を上げた。

総米2tで行った。仕込み配合および温度経過は常法によった。使用した米は、精白度70%を用い、麴も掛け米も同様の精白度の米を使用した。

4. モロミ成分の分析

モロミおよび精製酒の分析は、国税庁所定分析法に従った。香気成分は、ヘッドスペースGC(column TC-WAX 0.32×30 m)を用い、有機酸は、OAPack-Aを用いたHPLCで定量した。

5. 乾燥酵母の仕込み方法

乾燥酵母の使用においては、水戻しの温度が大切である。即ち40°Cの湯を用意して、そこへ乾燥酵母を投入して、一気に水戻しし、よく攪拌した。水戻しした乾燥酵母は、麴と湯を入れ約30°C保温した水麴に速やかに投入した。

実験結果

1. 乾燥酵母の品質

乾燥酵母になっても原株の生理的特徴を維持しているか、また、火落ち菌などの有害な微生物のコンタミがないか調べた。乾燥酵母の生菌率は、製品の目標にしている75%を越えていた。さらに、プレートを用いた生菌数からも、乾燥酵母1gには、約800億個の生きた酵母が含まれていることが確認できた(表2)。また、β-アラニン培地での生育も協会901号の特徴を表していた。比較のために協会701号の結果も示したが、生育の様子は、協会7号系の特徴を示していた。一方、細菌は、酵母100万個に対して1個存在するが、火落ち菌は検出されず、優良な乾燥酵母であることがわかった。さらに、乾燥酵母の際には存在していた酵母以外の細菌は、モロミが発酵して、アルコールが生成されるとともに死滅した。

2. 「北海道・乾燥きょうかい 901 号酵母」の水戻し試験

乾燥酵母の使用方法は、最初が大切である。「北海道・乾燥きょうかい 701 号酵母」では、40°Cの湯で乾燥酵母

表2 乾燥酵母の性質

	北海道・乾燥 きょうかい 901 号	北海道・乾燥 きょうかい 701 号
生菌数 (YPD 培地, 個/g)	8.1×10 ¹⁰	8.8×10 ¹⁰
生菌率 (CFU/細胞数)	84%	82%
生菌率 (メチレンブルー)	77%	78%
水分含量	9%	9%
β-アラニン培地での生育	20°C	++
	35°C	++
火落ち菌	検出されず	検出されず

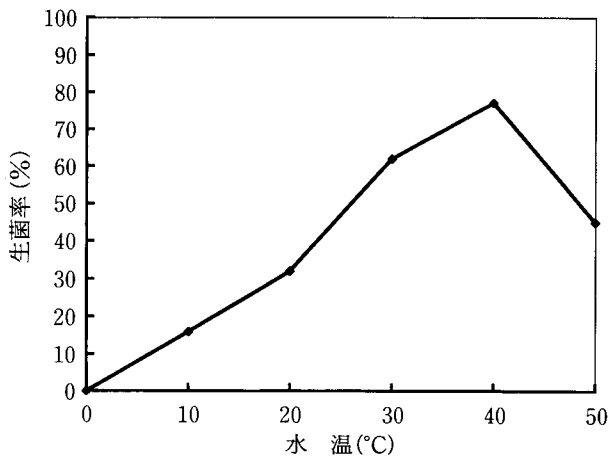


図2 乾燥酵母の水戻しの温度による生菌率の相違

生菌率の測定は、メチレンブルー染色法を用いた。水を一定温度で保温し、乾燥酵母を入れ、さらに10分保温した。この1mlをメチレンブルー染色液(0.01%メチレンブルー、0.1Mリン酸緩衝液)に入れ、穏やかに攪拌し5分以内に顕微鏡で写真撮影して生菌率を求めた。

を水戻しすることが最大のポイントであった。協会901号でも同様の性質があるのか調べた。冷たい水に乾燥酵母を投入すると酵母は死滅した(図2)。酵母の生菌率は、水戻しの際の温度によって変化した。901号の乾燥酵母も「北海道・乾燥きょうかい701号酵母」と同様、40°Cの湯での水戻しが最大生菌数を得る温度であることがわかった。

3. 乾燥酵母の使用量の清酒醸造に与える影響

使用する米の重量に対して、乾燥酵母をどれほど使用すると適当なのかを小仕込み調べた。総米トン当たり、乾燥酵母を250gから400gまで変化させて醸造試験を行った。乾燥酵母の使用量は、白米1トンあたり300g以上が適当と考えている。もっと少量でも発酵は可能だが、酒が腐る腐造のリスクが上がることになる。

総米1tあたり25gという少量の乾燥酵母でも、発酵は進行し優良な原酒ができた(図3)。しかし、モロミ前半の融けは悪く、掛け米が長い間固まっていた。アルコール濃度の変化を見てみると、酵母の使用量の多い区では、当然のことながらアルコール濃度が高い。特に発酵初期における差が大きかった。留後11日目でその差は減少し、留後15日ではすべての実験区のアルコール濃度は一致した。この結果からは、酵母の使用量がどの様な量であっても、十分なアルコールが生成されて、発酵が終了したことになる。しかし、モロミ初期の発酵が不十分であると、腐造につながる。実験室での発酵と現場での発酵は異なる。実用レベルの仕込みにおいては、タンク内

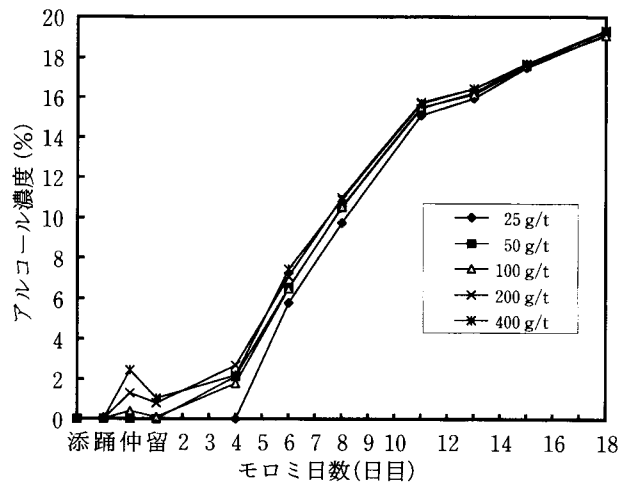


図3 仕込みに使用する乾燥酵母量とアルコール生成量との関係

乾燥酵母協会901号の使用量を変化させて発酵させた。酵母は、仕込み時に直接添えに投入した。酵母使用量は、白米トンあたりの使用量で示した。

の温度ムラなどを考えると乾燥酵母の使用量を抑えるとリスクも高まると予想された。腐造のリスクを回避するには、モロミの早い時期からアルコール濃度が上昇して、腐敗細菌の生育を抑制できる方が、確実な清酒醸造となりうる。

また、小仕込み実験では酵母の投入方法は、添え仕込みに直接モロミに投入した。乾燥酵母は、水戻しするとすぐに活発な発酵を開始する。水戻しを暖めた麴エキスや糖分の入った溶液で行うと、10分もすれば二酸化炭素の泡を確認できる。小仕込みの結果からは、添えでの直接仕込みは十分可能といえる。

4. 発酵にともなう酵母の数の変化

種々の酵母使用量で醸造した場合の発酵にともなう酵母の数の変化を調べた。酵母数は、発酵とともに急速に増加して、留後12日目あたりになると1mlあたり8乗個のレベルでほぼ一定となった(図4)。アルコール濃度に比べて、各実験区での違いは観察されなかった。これは、酵母の仕込量が多くアルコール生成の早い実験区は、米の溶けが良く、液体部分の割合が増えて、一方、仕込み酵母量の少ない実験区は、米の溶けが遅いので液体部分の量が少ない。このため単位液体量あたりの酵母数の相違が少ないかったのだと推定している。

5. モロミ中の残グルコース濃度

酵母の使用量が多いと、より早くアルコールが生成する。清酒のモロミにおいては、デンプンから麴の酵素によってグルコースが生成して、それを酵母が利用してアルコールに変換する。グルコースの生成量に比べて酵母

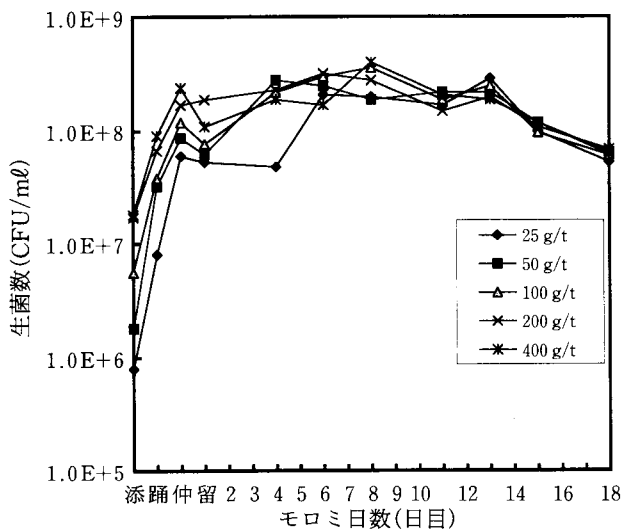


図4 仕込みに使用する乾燥酵母量とモロミ中での酵母濃度との関係

乾燥酵母協会 901 号の使用量を変化させて発酵させた。酵母は、添仕込み時に直接投入した。酵母濃度は、モロミを希釈して寒天培地に生育した集落数から求めた。酵母使用量は、白米トンあたりの使用量で示した。

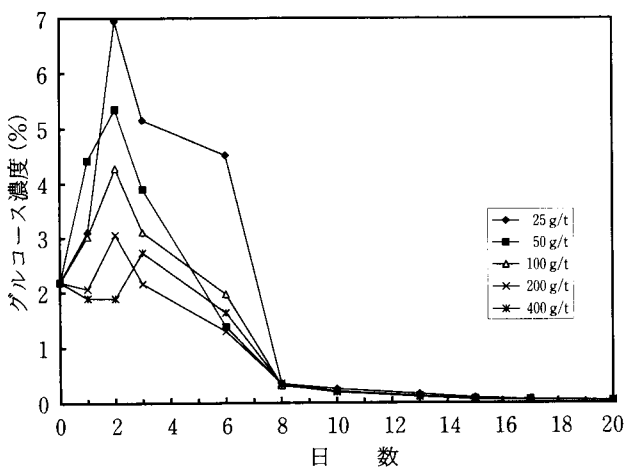


図5 仕込みに使用する乾燥酵母量とモロミ中での残グルコース濃度との関係

乾燥酵母協会 901 号の使用量を変化させて発酵させた。酵母は、添仕込み時に直接投入した。残グルコース濃度は、モロミを遠心分離した上清をグルコース和光を用いて求めた。酵母使用量は、白米トンあたりの使用量で示した。

が資化するグルコース量が多いとデンプンの分解が追いつかないことになる。その状況を調べるためにモロミの残グルコース量を調べた。仕込み酵母量の少ない実験区ほど、残グルコース濃度は高かった(図5)。発酵が進むにつれて残グルコース量の相違は少なくなり、留後5日でどの実験区も同様に残グルコース濃度は、急激に少なくなった。

6. モロミの成分

仕込み酵母量を変化させたモロミにおける発酵状況を述べてきたが、できあがった酒の香り成分および有機酸組成を比較して、仕込み酵母量の影響を見た。最低量の総米1トンあたり25gの乾燥酵母を使用した場合は、クエン酸濃度がやや低く、かつコハク酸濃度が顕著に高かった(表2)。この実験区を除けば、他は同じ組成の酒が出来ていた。このことは、官能的にも確認できた。

仕込み酵母量の多少は、コンタミネーションや温度ムラなどの腐造の危険性の少ない醸造環境では、仕込み酵母量の多少は、生成酒の酒質には大きな影響を与えないことがわかった。しかし、現場レベルでの清酒製造では、確実に発酵して目的の日取りで、目的の酒質の酒を造ることが求められる。著者としては、総米1トンあたり300g以上の乾燥酵母を使用することを推奨したい。

7. 「北海道・乾燥きょうかい 901 号酵母」の現場試験

乾燥酵母の商品化に当たっては、実際の酒造現場での実績が重要である。北海道醸造研究会のメンバーの蔵で現場試験を多数のバッチで実施した。清酒メーカーの要望によれば、乾燥酵母の満足すべき醸造特性は、「発酵の後半でも良く切れる」、「後半でもアミノ酸度が低い」、「有機酸生成が少ない」こと等である。これらの点に注目して比較した。いずれのバッチにおいても発酵は順調で、切れも良く、すがすがしい香りの清酒を得、十分実用性があることを実証した。

留め後5日目からアルコールは、急速に生成され、それとともにポーメは減少した(図6)。モロミの後半になってもアルコール生成とポーメの減少は順調であり、すなわち「切れの良い」発酵経過となった。ピルビン酸濃度は、留め後7~10日目を最大値として、発酵に従って穏やかに減少した。酸度が高くなりすぎると酒質を落とすが、発酵の前半に2mlを超えた後は、それ以上の増

表3 仕込み酵母量とモロミの揮発成分・有機酸濃度の関係 (単位: ppm)

酵母量(g/t)	25	50	100	200	400
イソブタノール	134	142	136	135	126
酢酸イソアミルc	44	35	31	39	40
イソアミルアルコール	283	298	291	289	274
カプロン酸エチル	9	9	7	9	9
クエン酸	178	194	254	240	288
リンゴ酸	20	27	8	6	35
ピログルタミン酸	123	140	200	152	149
乳酸	563	573	601	510	513
コハク酸	462	48	57	34	68
酢酸	453	480	459	449	392

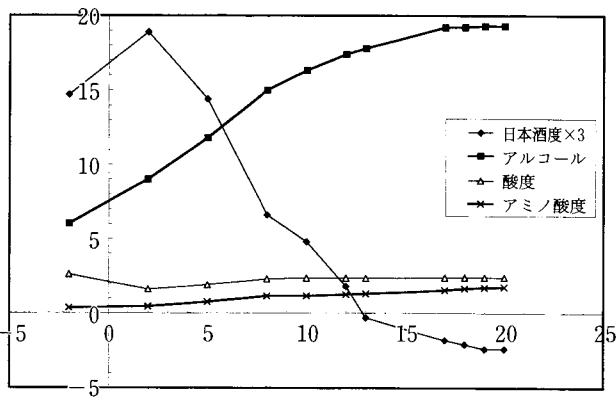


図6 現場醸造試験の経時変化

協会901号乾燥酵母を使用した現場醸造試験。Y軸の単位は、ボーメ：単位なし、アルコール：%(v/v)、酸度とアミノ酸度：ml、ピルビン酸：Y軸の値を100倍した値がmg/L、とそれぞれ表した。分析法は、アルコール、日本酒度、温度は、国税庁所定分析法に従い、ピルビン酸濃度は、酵素キット（ペーリンガーマンハイム）で測定した。

加は少なく、良好なレベルであった。モロミの状況も良好で、発酵後半の泡の様子は穏やかな「ちりめん」状となった。

考 察

家庭でパンを焼くときには、乾燥酵母を使用するのが一般的である。また、ワインの製造においても、乾燥酵母は一般的に使用されている。ブドウは、収穫時期が集中しており、一度にたくさんのタンクで発酵を始める必要がある。また、秋の変わりやすい気候のもとでは、雨が長く収穫は延期されたりして、酒母を予め準備することが難しい。こんな条件のワイン醸造においては、乾燥酵母は便利に使用されている。

一方、清酒においては、乾燥酵母の使用は希である。清酒用乾燥酵母としては、K社が協会7号を乾燥化して特定ユーザーむけに販売しているのみである。清酒において乾燥酵母が一般的でないのはなぜだろうか。米が原料なので製造計画は細かに立てられる。ワインの仕込み時期のように集中した忙しさをないため酒母の育成も計画的にできるためであろうか。

清酒では、酵母に高いアルコール耐性が要求される。アルコール耐性が低いとモロミ後半において発酵は緩慢となり、酵母は自己消化し、アミノ酸度の高い雑味の多い酒になってしまう。そのため、酒母についても多くの試みがなされてきた。いままで、乾燥酵母については、切れが悪かったり、酸度が高くなるなどの不安が持たれていた。われわれは、この点に注意をはらって切れの良

い乾燥酵母の開発をめざした。

乾燥酵母を用いて酒造を行う利点はいくつもある。乾燥酵母を使えば、仕込みのすべてのロットで同じ活性の酵母を使用できるため発酵を安定化できる。保存性が高いため、長期間にわたって同一ロットの乾燥酵母を使用することが可能だ。

パン酵母と清酒酵母、両者の培養方法は、極めて対照的である。パン酵母は、菌体収量を最大にするために、アルコール発酵をできるだけ抑えた培養を行っている。すなわち、高通気・高攪拌の好氣的培養法、糖は低濃度を保ち、連続的に添加する流加法、培養温度も約30°Cと高い。そのため、わずか12時間で培養は終了する。1週間以上かけて育成する清酒の酒母とは対照的である。

酒母の目的の一つは、酵母をアルコール濃度に慣れさせるとも言われている。パン酵母の培養方法で生育させた酵母は、清酒のアルコール濃度に耐えられるかが気にかかった。しかし、結論から言うと乾燥酵母は、高いアルコール順応性を持っていた。

要 旨

協会901号酵母を乾燥酵母として製造し、その実用性を試験した。この酵母は、親株を協会9号とする泡なしの突然変異株であり、香りが、すっきりとしてかつ高貴なゆえに吟醸酒など高級酒の醸造に用いられる。現場試験で実用性を証明するとともに、仕込み酵母量を変化させ、酒造特性を調べた。仕込み酵母量が少なくても清酒として醸造できるが、現場での安全性を考えると十分な酵母量を使用することが好ましい。

乾燥酵母の品揃えの一つとして協会901号乾燥酵母を開発することは、すでに販売している協会701号と本酵母をあわせると高いシェアを占めることになり、酒造分野で重量な位置を占めることとなる。

謝 辞

男山、北の誉酒造、金滴酒造、合同酒精、小林酒造、日本清酒で乾燥酵母を用いた試醸を、日本甜菜製糖では乾燥酵母の製造をして頂きました。札幌鑑定官室からはさまざまなご援助と指導を頂きました。関係者に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 浅野行蔵, 富永一哉, 吉川修司 食加研報告 1996年.
- 2) 浅野行蔵, 富永一哉, 吉川修司 日本醸造協会 平

- 成 8 年大会 要旨集.
- 3) 大内弘造：アワなし酵母「清酒酵母の研究」清酒酵母研究会（編），（清酒酵母研究会）p.199(1972).
 - 4) 微生物管理「酒国税庁所定分析法注解」第三回改訂，注解編集委員会（編），（日本醸造協会）p. 313 (1974).
 - 5) 飯村穰：酒母管理の要点「清酒製造技術」難波康之祐ら（編），（日本醸造協会）p.162 (1978).
 - 6) 清酒，合成清「酒国税庁所定分析法注解」第三回改訂，注解編集委員会（編），（日本醸造協会）p.6 (1974).