

# 発酵力の強い群馬G1酵母の泡無し化と高品質清酒の製造

渡部貴志・近藤雄一郎\*・吉野 功\*\*

Breeding of non-foaming Gunma G1 yeasts to produce high-quality sake  
WATANABE Takashi, KONDOU Yuichirou, and YOSHINO Isao

群馬G1酵母（G1）は、発酵力が強く普通酒や本醸造酒向けの群馬県独自の酵母である。しかしながら、G1はもろみ発酵中の炭酸ガスの泡に吸着し、高泡を形成する性質をもつ泡有り酵母であり、酒造りの際に泡消しの作業が必要であった。このため、今から約30年前にはG1の頒布を中止していた。一方、近年の地酒ブームに伴い、独自性が示しやすい群馬県独自の発酵力の高い酵母の開発が酒造業界から求められてきた。そこで本研究では、G1から優れた醸造特性を維持した泡無し株を取得し、実用化を行ったので報告する。

キーワード：清酒、群馬清酒酵母、発酵、泡無し株

Gunma G1 yeast whose fermentation ability is strong enough for *Standard-sake* and *Honjyozo-sake* making, is a Gunma original sake yeast. However, G1 attaches CO<sub>2</sub> gas and produces layer foam that covers the surface of *moromi*. Thus, when G1 is used, the brewery workers need to clean foam off their tank walls. Therefore, distribution of G1 for sake-maker stopped about thirty years ago. On the other hand, because recent local sake trend, an original sake yeasts whose fermentation ability was strong, was required from sake factory of Gunma prefecture. In this study, we attempt to obtain a non-foaming G1 stain.

Keywords: Japanese sake, Gunma sake yeast, fermentation, non-foaming strain

## 1 はじめに

近年の地酒ブームに伴い、各酒造会社は独自性が高い清酒の開発に取り組んでいる。例えば、酒母造りで食品添加物の乳酸を入れる速醸もとではなく、昔ながらの蔵付きの乳酸菌を利用した生もと、山廃もとにしていることや、醸造アルコールを添加しない純米酒などがある。また、清酒の消費が落ち込む夏季は、のどごしが良いビールが好まれることに着目し、低アルコールで発泡性のあるスパークリング清酒も開発されている。

清酒の酒質の要となるものが清酒酵母であり、普通酒や本醸造酒向けの発酵力の強

い酵母、リンゴ酸などの有機酸を高生産する純米酒向けの酵母、バナナ様の香り成分である酢酸イソアミルを高生産する吟醸酒向け酵母、リンゴ様の香り成分であるカプロン酸エチルを高生産する吟醸酒向け酵母など様々なものがある。これまで各酒造会社は、（公財）日本醸造協会が頒布している優良清酒酵母を利用してきた。一方で、静岡県では静岡酵母と呼ばれる県独自酵母を持ち、静岡県内酒造会社はほぼ全量静岡酵母で酒造りをしており、地域性に特化している。また、酒造りの先進地域である東北では、各県ともに県独自酵母の開発が盛んであり、全国新酒鑑評会に出品する清酒も県独自酵母で造られている。

群馬県の独自酵母には、カプロン酸エチルを高生産する群馬KAZE酵母<sup>1)</sup>と、酢酸イソアミルを高生産する群馬G2酵母<sup>2)</sup>が開

食品化学開発係

\*近藤酒造株式会社

\*\*環境・エネルギー係

発されているが、利益率の高い普通酒や本醸造酒向けの発酵力の強い酵母が頒布されていない。今から約30年前までは、発酵力が強い群馬G1酵母が頒布されていたが、もろみ発酵中に高泡を形成する性質をもつ泡有り酵母であったため、日本醸造協会が泡無し酵母を頒布するようになると、県内酒造会社で使われなくなった。泡無し酵母を用いるメリットは、泡消しの操作が必要なくなるだけでなく、泡の噴きこぼれ防止のために必要であった空間容積を利用することで一度に造れる酒の量が多くなることである。

そこで本研究では、発酵力が強い群馬G1酵母に着目し、優れた醸造特性を維持した泡無し化と開発株の実用化に取り組むことにより、群馬県内地酒の高付加価値化による競争力強化を目的とした。また、近藤酒造株式会社で実地醸造試験を行い、得られた製成酒について、各成分解析、官能評価を行い、最終的に令和4年度に群馬県内酒造会社の共通財産として実用化されたので報告する。

## 2 実験材料と方法

### 2.1 供試酵母

平成5年に群馬産業技術センターで冷凍保存していたG1を親株として用いた。G1の泡無し候補株は、親株を用いて後述するFroth Flotation法<sup>3)</sup>により育種したものをを用いた。

### 2.2 Froth flotation法による泡無し候補株の育種

300 mL容三角フラスコに泡無し化用培地（濃縮麴エキス500 mL/L、酵母エキス10 g/L、グルコース 20 g/L）を200 mL加え、親株を一白金耳接種し、30℃、100 rpmで24時間回転振盪培養を行った。培養液を全量200 mL用メスシリンダーに入れ、エアーストーンにより通気を行い、泡に付着する泡有り酵母を培養液から取り除く作業を行った。残りの培養液が20～40 mLになった時点で通気を止め、残った培養液1 mLを新たな泡無し化用培地に植え継ぐことによって一連の作業の反復を行った。泡無し株が培養液中に優占化し、通

気後の培養液の濁りが濃くなってきた8反復後、残った培養液を滅菌蒸留水で10<sup>7</sup>倍希釈し、クロラムフェニコール入りのYM寒天培地に100 μL塗布した。寒天培地上に生えてきたコロニー（候補株）をランダムに釣菌した。

### 2.3 水-ベンゼン混濁による簡易泡無し判定試験

15 mL容ファルコンチューブに濃縮麴エキスを5 mL加え、候補株を一白金耳接種し、30℃で24時間静置培養を行った。培養液を遠心分離（3000 rpm×1 min）し、得られた菌体ペレットを5 mLの蒸留水で再懸濁した。ネジ付き試験管に懸濁液1 mLとベンゼン1 mLを加え、蓋を閉めた後にvortexで10秒間激しく混合した後、水相に菌体が残っているものを泡無し株として判定した<sup>4)</sup>。

### 2.4 α化米を用いた小仕込み試験

G1と泡無し候補株13株の合計14株について、α化米と乾燥麴を用いて表1に示す条件で総米200 gの小仕込み試験を行った。麴エキス（Brix 5°）2.5 mLに酵母を一白金耳接種し、23℃で4日間静置培養を行った。この培養液1 mLに滅菌酒母用汲み水 mLを加えたものを酒母の代わりとして用いた。また、汲み水は水道水を用い、4、7、10日目に10 mLずつ追水を行った。仕込み温度15℃、19日後に上槽を遠心分離（7000×g, 15 min）で行った。なお、発酵経過途中の瓶の泡立ちの様子を目視し、泡無し株かどうかの最終判定も行った。

表1 α化米を用いた仕込み配合

	酒母	1段	2段	追水	計
		目	目		
総米(g)			200		200
麴米(g)		40			40
掛米(g)			160		160
汲水(mL)	12	68	252	30	362

### 2.5 分析方法

酸度、アミノ酸度、日本酒度、エタノールは国税庁所定分析法に従い、分析を行った。グルコース、マルトースは、高速液体クロマトグラフ、示差屈折率検出器を用い、分析を行った。香気成分（酢酸エチル、イ

表2 総米1 kgの仕込み配合

	酒母	一段	二段	三段	追水	計
総米(g)		100	400	500		1000
掛米(g)			400	400		800
麴米(g)		100		100		200
汲水(mL)	61	69	560	660	200	1550
温度(℃)	-	20	15		-	-

ソアミルアルコール、酢酸イソアミル、カブロン酸エチル、イソブチルアルコール)は、ヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した。

## 2. 6 総米1 kgの小仕込み試験による再選抜試験

2. 4の $\alpha$ 化米を用いた小仕込み試験で選抜した2株と親株G1に対し、仕込み配合が表2に示す平成30年産群馬県独自酒米舞風50%精米を用いた総米1 kgの小仕込み試験を行った。麴エキス(Brix 5°) 2.5 mLに酵母を一白金耳接種し、23℃で4日間静置培養を行った。この培養液1 mLに滅菌酒母用汲み水60 mLを加えたものを酒母の代わりとして用いた。麴米は、ハイG(樋口松之助商店)を種麴として製麴したものをを用いた。掛米は、洗米後に35%吸水率となるように浸水し、蒸籠で蒸したものをを用いた。汲水は水道水を用い、7、10、13、16日目に50 mLずつ追い水を行った。仕込み温度は8~20℃で経日的に変化させた。

## 2. 7 パイロットプラント試験醸造

2. 6で選抜したG1-227および親株G1に対し、令和元年産群馬県産舞風(60%精米)を用い、表3に示す配合で総米60 kgの試験醸造を行った。酵母の拡大培養は、麴エキス(Brix 5°) 15 mLで23℃、4日間静置培養により行った。麴米は、ハイG(樋口松之助商店)を種麴として製麴した

ものを用いた。掛米の吸水率は酒母が32%、添が33%、仲留が32%になるよう調整した。

なお、酒母の汲水は水道水を加工し(リン酸二水素カリウム1.0 g/L、硫酸マグネシウム・七水和物0.2 g/L、塩化ナトリウム3.0 g/L)、乳酸24 mL加えて5日間の中温速醸を行った。また、もろみの汲水は水道水を用いた。

## 2. 8 官能検査

2. 7でパイロットプラント試験醸造を行った製成酒について、群馬産業技術センター職員2名で官能検査を行った。品温は20℃に保ち、利き猪口を用いて5点法の総合評価と短評を評価した。

## 2. 9 実地醸造試験

2. 7のパイロットプラント試験醸造で用いた候補株(G1-227)を用い、令和2年度新潟県産五百万石、長野県産美山錦を用いた総米1800 kgの実地醸造試験を行った。群馬産業技術センターで酵母の拡大培養を行い、冷蔵の宅配便で近藤酒造株式会社に輸送した。酒母は、速醸もと造り、もろみは三段仕込みの通常の市販酒を造る方法で行った。

## 3 結果と考察

### 3. 1 群馬G1酵母の泡無し化

清酒酵母が高泡を形成するのは、発酵による二酸化炭素ガスの泡に吸着するタンパ

表3 パイロットプラントでの仕込み配合と試験条件

	酒母	初添	仲添	留添	追水	計
総米(kg)	3.0	10.0	19.0	28.0		60.0
掛米(kg)	2.0	7.0	15.0	24.0		48.0
麴米(kg)	1.0	3.0	4.0	4.0		12.0
汲水(L)	4.0	11.0	24.0	42.0	15.0	96.0
温度(℃)	18	12	8	6~12		

ク質Awalを菌体表面に産出させるためであることが知られている。このため、純粋培養が可能な液体培養で増殖させた泡有り酵母をエアレーションによる泡に付着させて除去し、残った培養液中に泡無し株を蓄積させる手法が、Froth flotation法である（図1）。反復の操作が6回目には、目視で濁りが観察されてきたので、泡無し株の確実な優占化を促すためにさらに2回反復（8反復目）し、塗布した寒天培地の中から240コロニーの単離を行った。

得られたコロニーの中で泡無し株かどうかを判別するため、Awalタンパク質が疎水性を持つことを利用した手法が水-ベンゼン混濁による簡易識別法である（図2）。泡有り株はベンゼン相に移行するために水相が透明になるのに対し、泡無し株は水相が白濁している。この方法により、240コロニーの中から13コロニーを泡無し候補株として選抜した。

Froth Flotation法で得られた240株の中には、わずか13株しか泡無し株が含まれていなかったが、これは群馬G1酵母の発酵力が高く、泡有り株の排除が難しかったためと考えられる。



図1 Froth flotation法の様子



図2 水-ベンゼン混濁を用いた簡易識別

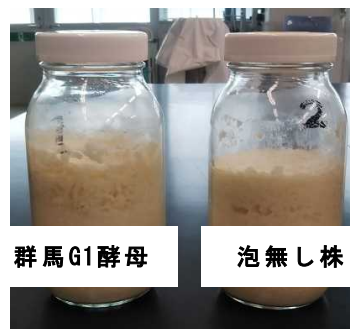


図3 小仕込み試験での泡形成の様子

### 3. 2 $\alpha$ 化米の小仕込み試験による一次選抜

先に行った水-ベンゼンの混濁による簡易的手法では、酵母の遺伝子発現状態によってはAwalを産出していないことがあるので、誤判定をしている可能性が残ってしまう。このため、泡無し株の確認と醸造特性を粗く確認するために $\alpha$ 化米を用いた小仕込み試験を行うことにした。

供試した13株の候補株は、いずれも泡無し株であることが確認できた（図3）。また、既往の報告にあるとおり、小仕込み試験では泡無し候補株は親株よりも発酵力が高く、重量減少量が多くなる傾向を示した（表4）。一方で、株間の香气成分の変動が大きく、泡無し化過程の継代培養で醸造特性が変わりやすいことも確認された。親株G1と同様の醸造特性を示すG1-79、G1-227を選抜した。

### 3. 3 群馬県独自酒米舞風を用いた小仕込み試験による二次選抜

先に選抜した2株と親株G1を用いて舞風を用いた小仕込み試験を行った。これまでセンターでは、総米1 kgの小仕込み試験の実施例がないため、5 Lと8 L容のガラス瓶を用いて実験方法を検討した。なお、一段目の仕込みでは、酒母と添え前の水麴を意識し、300 mL容のガラス容器で行い、二段目に当該ガラス容器へ移して実施した。

試験の結果、容量が小さい方が香气成分は高かった。醸造特性（表5）や官能評価から、選抜株G1-227の方が、親株G1に近い性質を維持できていると判断した。

### 3. 4 パイロットスケールでの試験醸造酒の評価

G1のもろみについて、留後6日目にはpHが低下しており、舞風が溶けにくいこ



