

低発酵性ワイン酵母による低アルコール清酒の醸造

飯野修一・渡辺正平

Brewing of Low Alcohol Sake Using a Low Fermentation Wine Yeasts

Shuichi IINO and Masahira WATANABE

要 約

低発酵性と思われる12種類の酵母の発酵試験を行い、選択した酵母についてその性質や生成酒の品質を調べ、低アルコール清酒醸造用の酵母としての適性を検討した。

1. アルコール8～9% (V/V) の水溶液は香味がマイルドに調和しており、最も良好であった。従ってこの程度のアルコールを生成する低発酵性酵母を選択した。
2. *Saccharomyces Bailii* のK 428,009及びW-80の3菌株と*Sacch. rosei* S-89の計4菌株に低発酵性が認められた。
3. 上述の *Sacch. bailii* の3菌株は凝集性を有し、発酵力は緩慢であった。またブドウ果汁培地に比べて麴汁培地で発酵力が劣った。なおモロミ及び生成酒の香気は対照の常用酵母に比べて劣ったが、その程度は菌株により異なり、009株、K 428株及びW-80株の順に良好であった。一方、*sacch. rosei* S-89はSO₂耐性は弱いが、発酵性及び酒質において*Sacch. bailii*の3菌株よりも良好であった。
4. これらの低発酵性酵母はTTC染色及びキラー感受性でも常用の酵母とは異なった。また *Sacch. rosei* S-89は *Hansenula mrakii* LKB-169にも耐性があり、*Sacch. bailii* の3菌株と異なった。

1. 緒 言

現在、清酒はアルコール分15～16%で香味の調和が保たれ、その酒質が消費者に受け入れられているが、最近のビールや焼酎（チュウハイ）の消費拡大に見られるようにマイルドでさわやかな低アルコールの酒類が好まれてきており、清酒においてもこの分野の開発が急がれている。

低アルコール清酒（低濃度酒）は昭和32年に近畿地方で冷用低濃度酒研究会が発足して以来、43年には「パンチメイト」、52年に「セボンクール」、54年には「やわ口酒」、57年には「高酸味濁り酒（DOV）」などが市販された¹⁾。技術的には濃醇な酒（貴醸酒²⁾、逆浸透膜で濃縮した酒³⁾などの希釈による方法、汲み水の増加⁴⁾による方法、トランスグルコシダーゼを利用した方法⁵⁾、アデニン要求変異株^{6)・7)}及びハプロイド株⁸⁾などのアルコール生産能が比較的低い清酒酵母を利用する方法などが報告されている。さらにこれらは香味の

調整のためにCO₂⁹⁾、多量の麴四段⁴⁾、生酸性の高い麴¹⁰⁾などが使用されている。著者らはワイン酵母が清酒酵母と異なった香気特性と生酸性を有する¹¹⁾ことに注目し、これまで報告されている低発酵性ワイン酵母の利用について検討したので報告する。

2. 実験方法

2-1 供試酵母

使用した酵母22菌株（ワイン酵母16株、ビール酵母4株及び清酒酵母2株）を表1に示した。

2-2 発酵試験及び試験醸造

甲州種ブドウの圧搾果汁または麴汁に所定量の砂糖を添加し、これを200ml容の三角フラスコに95mlずつ分取し、120℃で15分間の加圧殺菌をした。この培地にあらかじめ前培養した酵母培養液5mlを添加し、所定の温度で発酵試験を行った。

発酵の程度はモロミの屈折計示度（brix）を測定し、目安とした。また加圧殺菌せずに65℃で15

表1 供試酵母

種名	菌株名	分譲元
<i>Saccharomyces bailii</i>	K-428,009, W-80	A
<i>Saccharomyces rosei</i>	S-89	A
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	O-81	A
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	WS-66, WS-71, WS-128, WS-168	C
<i>Sacch. cerevisiae</i>	IAM-4205, IAM 4252 OC-2, W-3, Geisenheim G-74 協会7号, 協会9号, 2HYT ⁽⁴⁾ , 3K13 ⁽¹⁰⁾	B
<i>Hansenula mrakii</i>	LKB-169	B
<i>Hansenula anomala</i>	1-2-1	A
<i>Pichia membranaefaciens</i>	K-16	A
<i>Candida parapsilosis var. intermedia</i>	0-69	B

※分譲元：山梨大学(A), 国税庁醸造試験所(B), サントネージュ(株)(C)

分間の加熱殺菌した同培地400mlを用いて試験醸造を行い、生成酒の官能審査を行った。

2-3 酵母のアルコール及びSO₂耐性試験

ブドウ果汁8.5mlに各種濃度のアルコール溶液またはSO₂水1mlを添加して0~10%アルコールまたは0~200mg/lの果汁培地を調整した。これにあらかじめ前培養した酵母培養液0.5mlを添加し、25℃で培養して発酵状態を観察した。

2-4 分析

- 1) アルコール (Alc) : 酸化法⁽⁵⁾によった。
- 2) 糖分 : 還元糖 (R. S) は Somogyi 法⁽⁶⁾で、またグルコースは Willstätter-Schudel 法の改良法⁽⁷⁾により測定した。なお還元糖量からグルコース量を差し引いて果糖量とした。
- 3) キラー感受性 : 大内らの方法⁽⁸⁾によりメチレンブルー培地上で造成キラーワイン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* 3K13⁽¹⁰⁾) に供試酵母を交叉培養し、染色の有無を調べた。
- 4) TTC染色 : 古川らの方法⁽⁹⁾によった。
- 5) 低沸点香氣成分 : 試料の留液を0.45μmのマイクロフィルターでろ過してから、この5μlをガスクロマトグラフに注入した。使用機種、カラム及び操作条件は清水らの方法⁽⁹⁾に準じて行なった。

3 実験結果及び考察

3-1 エタノール溶液濃度と官能結果

エタノール濃度5~15% (V/V) の各種エタノール溶液とこれらに砂糖 (3%, W/V) を加えた溶液を調製し、官能審査を行った結果を表2に示した。アルコール濃度が高くなるにつれてアルコール臭及びニガ味が強くなり、8及び9%

(V/V) のアルコール濃度で香味がマイルドに調和しており、最も飲みやすく良好であった。またアルコール濃度が高い場合、砂糖を添加すれば飲みやすくなるものの味が甘くどくなつた。小幡ら⁽²⁾や大場ら⁽³⁾はアルコール分7~9% (V/V) 程度で甘口の清酒が官能的に良好であることを報告しており、本結果と一致した。従ってこの程度のアルコールを生成する低発酵性酵母の選択を行った。

表2 エタノール溶液の濃度と官能結果

Alc%	エタノール溶液		蔗糖添加 ¹⁾ のエタノール溶液	
	香	味	香	味
5		ややニガ、味うす		単純
8		ややニガ、マイルド		マイルド
9		ニガ マイルド		マイルド
10	Alc臭	ニガ強い	Alc臭	ややニガ
13	同上	同上	同上	ニガ
15	同上	同上	同上	うまいがあるが、重い

1) 蔗糖3% (W/V) 添加

3-2 低発酵性酵母の選択

低発酵性と思われる *Sacch. cerevisiae* IAM-4205⁽²⁾、IAM4252⁽³⁾、*Saccharomycodes ludwigii* O-81⁽²⁾、*Sacch. bailii* K-428及び *Sacch. rosei* S-89及び凝集性のビール酵母などの発酵試験結果を図1と図2に示した。緩慢な発酵は0-81株、K-428株、S-89株及び *Hansenula mrakii* LKB-169に認められたが、LKB-169株は極端に発酵力は弱く、また0-81株は完全に発酵してしまつた。

従ってK-428株及びS-89株を低発酵性酵母として選択した。

3-3 低発酵性酵母の醸造特性

前述のように *Sacch. bailii* K-428に低発酵性が認められたので、この酵母の発酵に及ぼす温度、

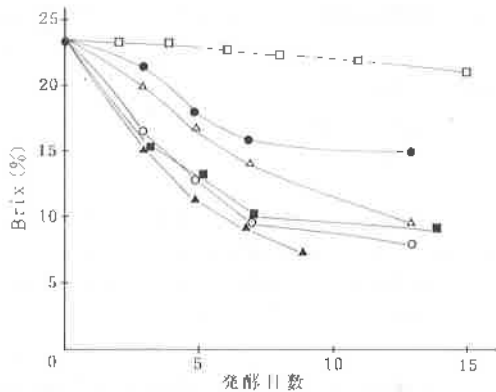


図1 低発酵性酵母の選択(1)

- Sacch. bayanus K-428, □□ Hansenula mrakii 1.K1169
 △△ Sacch. ludwigii O-80, ○○ Sacch. cerevisiae W-3
 ▲▲ Sacch. cerevisiae IAM 4205, IAM 4252
 ■■ Sacch. carlsbergensis WS-71, 66, 128, 168
- 2) 培地: 補糖した甲州種果汁、発酵温度: 25°C

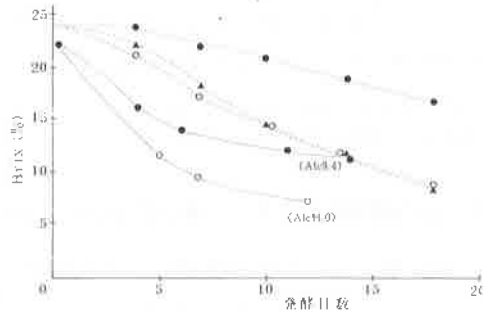


図2 低発酵性酵母の選択(2)

- Sacch. rosei S-89, ○○ Sacch. cerevisiae W-3
 ▲▲ Sacch. cerevisiae 協会9号
- 2) 培地: 補糖した米糖化液、発酵温度: — 25°C, ---- 15°C

糖濃度及び亜硫酸の影響を調べた。25°Cでは対照の *Sacch. cerevisiae* W-3 に比べて発酵は緩慢で、さらに15°Cではかなりの発酵の遅れが認められた。

なお35°Cでは対照のW-3株と同様に、高温と生成したアルコールの影響のためか、発酵は途中で停止した(図3)。30%(W/V)程度の糖濃度では発酵は順調で、しかも亜硫酸に対する耐性が認められた(図4、図5)。モロミの顕微鏡観察により発酵中に酵母数が少ない(図6)ことや酵母の凝集性が認められ、また生成酒でグルコースに対して果糖が少ない(表3)ことやエタノール8%での増殖が認められない(表4)など常用酵母との違いが認められるとともに、*bailii* 酵母の低発酵性が確認された。

次に実用面から同じ属の009株及びW-80株も

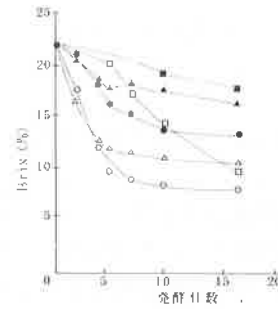


図3 低発酵性酵母の発酵に及ぼす温度の影響

- 1) 供試酵母: *Sacch. bayanus* K-428, ■ 15°C, ● 25°C, ▲ 35°C
Sacch. cerevisiae W-3, □ 15°C, ○ 25°C, △ 35°C
- 2) 培地: 補糖した甲州種果汁

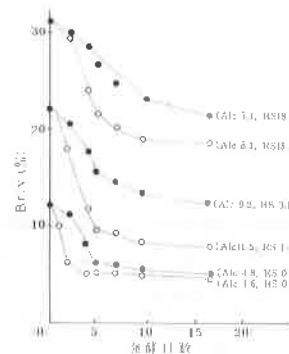


図4 低発酵性酵母の発酵に及ぼす糖濃度の影響

- Sacch. bayanus K-428, ○○ Sacch. cerevisiae W-3
- 2) 培地: 補糖した甲州種果汁、発酵温度 25°C

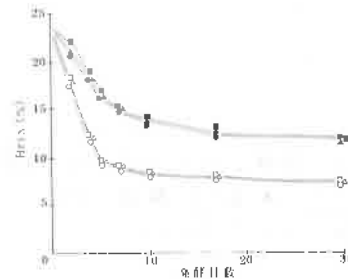


図5 低発酵性酵母の発酵に及ぼすSO₂の影響

- 1) *Sacch. bayanus* K-428: ● 無添加, ▲ 100mg/l 添加, ■ 200mg/l 添加
Sacch. cerevisiae W-3: ○ 同上, △ 同上, □ 同上
- 2) 培地: 発酵温度は図4参照

合わせて試験醸造を行い、発酵経過及び生成酒の官能結果を図7及び表5に示した。いずれの *bailii* 酵母も低発酵性であり、常用ワイン酵母のW-3株使用に比べて香気は劣った。しかし菌株による差も認められ、香気は009株、K-428及びW-80の順に良かった。なお *Sacch. rosei* S-89については現在、検討しているが、SO₂耐性は弱いが、発酵性及び生成酒の官能は *bailii* 酵母よりも良好である。

アルコールの生成量は *Sacch. bailii* K-428 及び *Sacch. rosei* S-89のいずれも9% (V/V) 程度で良好であった (図2、図4)。

これらの酵母はTTC染色で白またはピンクの野性形質を示し、さらにK₁タイプのキラー酵母に耐性があり、常用酵母とは異なった。さらに *Sacch. rosei* S-89はキラー作用が広範な *Hansenula mrakii* LKB-169にも耐性があり、*bailii* 酵母とは異なった (表6)。

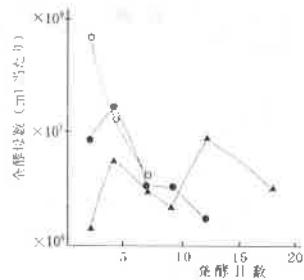


図6 各米糖化液モロミにおける酵母の増殖

- 1) ●●*Sacch. bailii* K-428 株種モロミ, ▲▲*Sacch. bailii* 009 株種モロミ
○ ○ *Sacch. cerevisiae* W-3 株種モロミ
2) 培地: 補糖した米糖化液, 発酵温度: 25°C

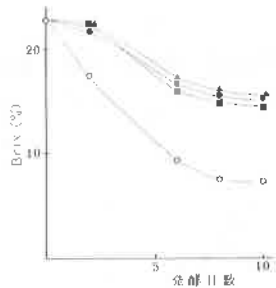


図7 各種 *Sacch. bailii* 株の発酵力

- 1) ●●K-428株, ▲▲009株, ■■W-80株
○ ○ 対照の *Sacch. cerevisiae* W-3
2) 培地: 補糖した甲州種果汁, 発酵温度25°C

表3 生成酒の糖組成

使用酵母	生成酒 ¹⁾		
	還元糖(RS) g/dl.	グルコース(G) g/dl.	果糖(FS-G) g/dl.
<i>Sacch. bailii</i> k-428	0.4	0.4	0.0
	3.1	2.6	0.5
	18.2	14.0	4.2
<i>Sacch. cerevisiae</i> W-3	0.4	0.4	0.0
	1.0	1.0	0.0
	15.4	5.0	10.4

1) 図4 参照

表4 低発酵性酵母におけるエタノール濃度と増殖

菌株	エタノール 0 2 4 6 8 10 濃度(%)						
	<i>Sacch. bailii</i> K-428	+ ₂	+ ₂	+ ₂	+ ₄	-	-
<i>Sacch. cerevisiae</i> {	W-3	+ ₁	+ ₁	+ ₁	+ ₁	+ ₂	-
	OC-2	-	+ ₁	+ ₁	+ ₁	+ ₁	+ ₂

* 発酵状況: -発酵せず, +普通, ++旺盛

** 表中の数字は発酵を始めるまでの日数

*** 甲州種果汁8mlに所定のエタノール溶液と酵母培養液をそれぞれ1ml添加

表5 各種 *Sacch. bailii* 酵母使用の生成酒の官能結果

菌株	香	味	総評	講評	
<i>Sacch. bailii</i>	K-428	3.4	3.4	3.4	甘い、香ややくせ
	009	2.8	3.4	3.1	同上
	W-80	3.8	3.6	3.7	やや甘、香くせ
<i>Sacch. cerevisiae</i>	W-3	2.3	3.3	2.8	辛口、芳香

* 専門パネル2名, 評価5点法 (1秀, 2優, 3良, 4可, 5不可)
補糖した甲州種果汁使用, 25°C発酵

表6 低発酵性酵母のキラー感受性及びTTC染色

菌株	キラー感受性			TTC染色
	211Y1	3K13	LK13-169	
<i>Sacch. bailii</i>	k-428*	-	+	white
	009*	-	+	white
	W-80.	-	+	pink
<i>Sacch. rosei</i>	s-89*	-	-	
<i>H. anomala</i>	1-2-1	-	+	pink
<i>P. membranefaciens</i>	K-16	-	-	red
<i>Candida</i>	0-69	-	+	light red
<i>Sacch. cerevisiae</i>	OC-2	+	+	red

* 低発酵性酵母

3-4 低アルコール清酒の試験醸造

各種常用酵母と選択した低発酵性酵母 (*Sacch. bailii* K-428及び同009株)の麹汁培地における発酵経過とモロミ及び生成酒の官能結果を図8と表7に示した。*Sacch. bailii* 株は低発酵性で、香気に難点があるのは前述のとおりであり、K-428株では香にくせが、また009株では香気の単純さが指摘された。

一方、常用酵母の生成酒は辛口でうま味が少なく、さらに清酒酵母使用のものでは清酒独特な後味が残り、評価は落ちた。なお常用のワイン酵母

表7 各種酵母による生成酒の官能結果(麴汁を使用)

モロミ日数	使用酵母	発酵温度	7日目		18日目			
			Brix 評点 (%)	評価	Brix 評点 (%)	評価		
A*	Sacch. baylii K-128(A)	25°C	18.8	3.6	甘い、香くせ	13.0	4.0	やや甘い、香不足、味平凡
		15°C	22.0	3.0	甘い、麴臭	16.0	3.0	やや甘い、ぶな臭
B*	Sacch. cerevisiae W-3(B)	25°C	22.0	4.0	マイルド、麴臭	17.0	2.5	甘い、香味単純
		15°C	22.8	3.0	甘い、麴臭	21.8	2.5	けうく
C	Sacch. cerevisiae Geisenheim G-74(F)	25°C	8.0	2.5	清酒香、後味残る	8.0	3.0	辛口、後味残る
		15°C	14.0	1.0	甘い、清酒香	6.6	2.5	吟醸香、後味残る
D	Sacch. cerevisiae W-3(B)	25°C	9.0	1.0	香味良好	9.0	3.5	辛口、ワイン様
		15°C	15.0	1.0	甘い、良好	8.0	3.5	同上、旨味なし
E	Sacch. baylii K-128(A)	25°C	8.8	3.0	無味	8.8	3.5	やや甘い、ワイン様
		15°C	14.5	1.0	甘い、良好	7.8	2.5	やや清酒様の山あり

- 1) 使用酵母: Sacch. baylii K-128(A), 同種009(B), 清酒酵母(協会7号, C), Sacch. cerevisiae W-3(B), Sacch. cerevisiae Geisenheim G-74(F)
 2) 評価: 専門パネル 2名, 5点法(表3の注を参照), * : 低発酵性酵母

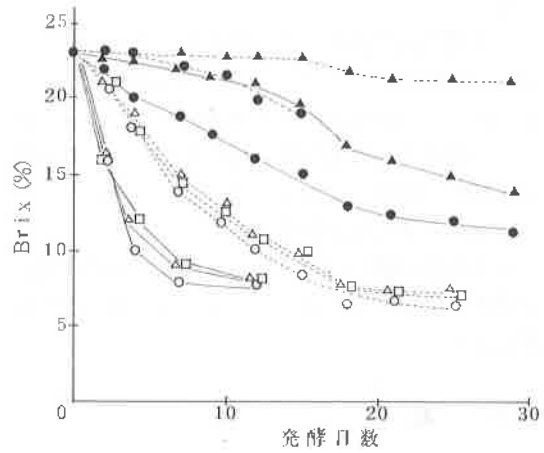


図8 米糖化液におけるSacch. baylii株の発酵力

- 1) ●● K-128株, ▲▲ 009株, ○○ 清酒酵母(協会7号), △△ Sacch. cerevisiae W-3, □□ Sacch. cerevisiae Geisenheim G-74
 2) 発酵温度: — 25°C, ---- 15°C
 3) 培地: 精製した米糖化液を加熱殺菌(65°C 15分)

表8 低アルコール酒の成分と官能結果

使用酵母	S. G	日本酒度	Alc. % (V/V)	Ex g/dl	Brix (%)	pH	T.A ml	アミノ酸度 ml	官能	
									評点	評価
Sacch. baylii 009	1.042	-58	5.4	13.1	16.0	3.59	6.9	2.2	3.0	ブナン
清酒酵母(協会7号)	1.036	-50	5.0	11.4	14.5	3.73	3.1	2.3	3.5	香味不調和、酸不足、味うす

- 1) 3口目モロミを加熱(65°C 15分)して発酵停止した生成酒
 * 補糖した米糖化液を使用して25°C発酵

のW-3株を使用した生成酒では清酒様の香気は感じられず、使用酵母の違いが明らかに認められた。そこで清酒酵母使用の3日目モロミを65°C、15分の加熱処理で発酵停止させた低アルコール清酒の成分を表8に示したが、酸不足であり、味の点では Sacch. baylii 009の方が良かった。

3-5 低発酵性酵母使用の生成酒の香気特性

上述の両酒、モロミ、糖化液及び市販の低アルコール酒(純米やわくち酒)などの低沸点香気成分を表9に示した。発酵の旺盛な3日目のモロミではやはりアセトアルデヒドが多かったが、市販の低アルコール清酒でも同様であった。市販の低アルコール酒では残存するピルビン酸の除去のための酵母の再添加によりアセトアルデヒドが増加したと思われる。一方、Sacch. baylii 009を使用した生成酒ではアセトアルデヒドは少なく、また一般的な清酒酵母の香気特性とは異なり、ノルマルプロパノールが少なく、イソブタノール

表9 低アルコール清酒の低沸点香気成分

香気成分 試料	AcH EA n-PrOH i-BuOH i-AmOH				
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
米糖化液	0	0	6	6	10
市販甘酒	80	0	5	11	23
市販低アルコール清酒 ¹⁾	202	28	80	50	147
清酒モロミ 3日目 ²⁾	253	7	35	36	85
同上を加熱処理 ³⁾	21	0	36	21	71
低発酵性酵母の使用 ⁴⁾	26	56	36	89	97
吟醸清酒	35	54	51	51	139

- 1) アセトアルデヒド (AcH), 酢酸エチル (EA), n-プロパノール (n-PrOH), イソブタノール (i-BuOH), イソアミルコール (i-AmOH)
 2) 純米やわくち酒, 3) 協会7号酵母使用, 4) 加熱(65°C 15分)により発酵停止, 5) Sacch. baylii 009使用
 * 分析条件
 機種: 島津 GC-9A (FID), カラム 20%PEG20 M (クロモゾルBW 60-80mesh)
 3φ×3100mm, カラム温度50°C→80°C, 4°C/min→80°C→110°C, 30°C/min→110°C 13分, 気化室及び検出器温度 300°C, キャリアーガス 窒素 40ml/min

が多かった。

なお低発酵性酵母の香気改善とともに発酵力が弱いので他の酵母やバクテリアなどの混入を防止するために純粋培養による発酵管理が不可欠であり、麴使用の併行複発酵は行わず、あらかじめ原料を糖化、殺菌してからの単発酵^{28,29)}させることが必要であると思われる。

最後に供試酵母の一部を提供された国税庁醸造試験所、山梨大学及びサントネージュ^株に深く感謝します。

文 献

- 1) 吉沢淑：醸協、80 (5)、298 (1985)
- 2) 大場俊輝・中村欽一・佐藤 信：同上、79 (12)、879 (1984)
- 3) 佐藤 信・中村欽一・大場俊輝・西野伊史：同上、78 (8)、641 (1983)
- 4) 日本酒造組合中央会東京支部銘酒研究委員会：同上、74 (1)、61 (1979)
- 5) 布川弥太郎・椎木 敏・斎藤和夫・矢野善嗣：同上、77 (1)、53 (1982)
- 6) 石川雄章・渋谷一郎・山本哲郎・長沢直・大内弘造・西谷尚道・佐藤 信：同上、79 (10)、691 (1984)
- 7) 中野成美・佐藤和幸・千田 茂・脇田征也・斎藤至正・須田安彦・長瀬真琴・大内弘造：同上、79 (10)、695 (1984)
- 8) 西谷尚道・壺岐正志・山下秀行・飯村 穰・石川雄章：同上、79 (12)、891 (1984)
- 9) 原 昌道・嶋崎孝行・北野一好・飯村 穰：同上、78 (5)、390 (1983)
- 10) 大塚謙一・戸塚 昭・伊藤政光：同上、68 (12)、938 (1973)
- 11) 佐藤 信・大場俊輝・吉田隆一：同上、77 (8)、557 (1982)
- 12) 吉沢淑：同上、68 (1)、59 (1973)
- 13) 清酒酵母研究会：清酒酵母の研究 (1972) P 144
- 14) S. HARA, Y. IIMURA and K. OTSUKA : Am. J. Enol. Vitic, 31 (1), 28 (1980)
- 15) 注解編集委員会編：国税庁所定分析法注解、日本醸造協会 (1974) P15
- 16) 日本薬学会編：衛生試験法注解 (1980) P170
- 17) 日本食品工業学会：食品分析法編集委員会編：食品分析法 (1982) P176
- 18) 大内弘造・川島 宏：醸協、69 (9)、629 (1974)
- 19) 飯野修一・渡辺正平：山梨食工指研報、16、1 (1984)
- 20) 注解編集委員会編：国税庁所定分析法注解、日本醸造協会 (1974) P305
- 21) 清水純一・渡辺正澄：園学雑、50、386 (1981)
- 22) 小幡孝之 他：醸協、78 (9)、721 (1983)
- 23) 大塚謙一・原 昌道・吉沢 淑：同上、67 (10)、871 (1972)
- 24) 乙黒親男・渡辺正平：同上、73 (12)、962 (1978)
- 25) M. A. AMERINE, H. W. BERG and W. V. CRUESS : The Technology of Wine Making, THE AVI PUBLISHING COMPANY, INC. (1972) P389
- 26) 後藤昭二：醸協、80 (7)、454 (1985)
- 27) 同上：食品工業、16 (18)、41 (1973)
- 28) 菅野信男・永谷正治・佐藤 信・大塚謙一：醸協、76 (1)、45 (1981)
- 29) 後藤昭二：同上、80 (6)、392 (1985)
- 30) 秋田修・大場俊輝・中村欽一：同上、81 (6)、396、402、(8)、537 (1986)
- 31) 秋田修・進尾哲夫・大場俊輝：同上、81 (9)、626 (1986)