サクランボ果実から分離した *Saccharomyces cerevisiae* 菌株 による紫黒米を原料とした清酒製造

松田義弘・和田弥寿子*・菅原哲也・小関敏彦・上木厚子, 上木勝司**

(山形県工業技術センター・*和田酒造合資会社・**山形大学農学部)

平成 18 年 6 月 13 日受理

Sake Brewed from Purple-black Rice Using *Saccharomyces cerevisiae* Strains from Cherry Fruits.

Yoshihiro MATSUTA, *Yasuko WADA, Tetsuya SUGAWARA, Toshihiko KOSEKI, Atsuko UEKI**, Katsuji UEKI**

(Yamagata Research Institute of Technology, 2-2-1 Syouei, Yamagata, 990-2473)

*(Wada Brewery Company 17 Kou, Yachi, Kahoku, Nishimurayama, Yamagata, 999-3500)

** (Faculty of Agriculture, Yamagata University 1-23 Wakaba-machi, Tsuruoka, Yamagata, 997-8555)

Wild yeast strains isolated from cherries were tested on their suitability for sake brewing from the purple-black rice (colored rice). After the brewing tests on a small scale, one strain was selected on the basis of results from components and analysis and sensory evaluation. The combination ratio of purple-black rice to polished rice was also determined by a small-scale brewing test. The production of an off-flavor originating from the purple-black rice was reduced by lipase processing of the rice. Then a suitable condition for sake brewing with purple-black rice was determined, and a pilot-scale brewing with purple-black rice at the scale of 100 kg total rice was carried out. The purple-black rice sake was reputed to be excellent by sensory evaluation.

Key words : 紫黒米, 野生酵母, *Saccharomyces cerevisiae*, 酵素剤, 清酒醸造

緒 言

酒類に対する消費者の嗜好が多様化に進んでいる状況に対応して新しい需要層を開拓するため, 様々な清酒の多様化の試みが行われてきた。清酒の多様化の方向としては, 嗅覚や味覚の面からの取り組みが多く, 特徴的な香りを持つ清酒の開発や, 酸味に特徴を持つ清酒の開発などの事例がある¹⁾。また一方で, 桃色濁り酒²⁾や紅麹を使用した清酒³⁾などの視覚に訴える方向での開発事例もある。

著者らは前報⁴⁾において, サクランボ果実より香気生産性を示す *Saccharomyces cerevisiae* 野生株を分離し, この分離株を用いた清酒の小仕込み試験を行い,

分離株の醸造用酵母としての利用の可能性について検討した。その結果, 日本醸造協会清酒酵母 7 号 (K 7 株) を用いた場合と比較して香気成分および有機酸成分組成では異なるが炭酸ガス減量やアルコール生成量ではほぼ同等の菌株や, 香気成分組成は K 7 株を用いた場合と類似しているがアルコール生成能力の低い菌株などが得られた。

これらの, 山形県の特産果実の代表であるサクランボから分離した酵母株は, 果樹と観光山形のイメージに合致しており, これらの酵母株を用いてサクランボの風味を想起させる清酒を製造できれば, 観光時季のお土産品などとしての商品化が期待できる。そこで著者らは, 有色米の一種である紫黒米⁵⁾を使用してサク

ランボに近い色合いを持たせた清酒の製造を着想した。その実現のため、第一に、紫黒米による清酒製造に適した酵母株の選抜を試みた。また、紫黒米の色素成分は玄米の表層に存在するので、この色素を利用するためには90%以上の高い精米歩合で仕込む必要があり、油臭のようなオフフレーバーが問題となる。そこで第二に、小仕込み試験を重ねて紫黒米の仕込み配合ならびに酵素剤の効果を検討し、風味良好な清酒の製品化を試みたので報告する。

実験方法

1. 使用菌株と使用培地

前報⁴⁾において、サクランボ果実より分離し *Saccharomyces cerevisiae* と同定され、官能評価で好結果を得た酵母 S1 株および S4 株を使用した。対照として、小仕込み試験には日本醸造協会で頒布する清酒酵母 7 号 (K 7 株) を使用し、パイロット仕込みには山形県工業技術センターで吟醸酒製造用に頒布する清酒酵母 KA 株を使用した。酵母の培養には麴糖化液を使用した。麴糖化液は、米麴を汲水歩合 200% で糖化して濾過した後、Be' 6.5 に調整し、120°C で加圧殺菌して使用した。

2. 小仕込み試験

使用する酵母株を麴糖化液 200 ml で 30°C, 2 日間静置培養して酒母とした。総米 1500 g の仕込み配合

は Table 1 のとおりとした。発酵は 15°C で 11 日間または 13 日間とした。発酵期間中は経時的に炭酸ガス減量を測定して発酵経過の指標とした⁶⁾。上槽は遠心分離機 CR 20 B 2 (日立工機) を用いて行った。

1) 紫黒米に適する酵母株の選択

紫黒米に適する酵母株を選択するため小仕込み試験を行った。比較のため白米を使用して小仕込み試験を行った。酵母株は K 7 株, S1 株および S4 株を使用した。紫黒米による仕込みは、麴米に出羽燦々 (精米歩合 50%) を使用し、掛米に紫黒米である朝紫 (精米歩合 99%) を使用した。白米による仕込みは、麴米と掛米ともに出羽燦々 (精米歩合 50%) を使用した。

2) 紫黒米の配合の検討

紫黒米の適切な配合を調べるため小仕込み試験を行った。酵母株は S4 株を使用した。紫黒米の配合は Table 1 の仕込み配合により、添・伸・留の掛米の組合せを変えて Table 2 のように 6 通り行った。No. 1 から No. 6 の順に紫黒米の使用比率を低く設定した。麴は精米歩合 70% の乾燥麴 (徳島精工) を使用し、使用手引きに従い添加量と汲水量を調整した。掛米には、紫黒米として朝紫 (精米歩合 99%) を使用し、白米として出羽の里 (精米歩合 50%) を使用した。

3) 酵素剤使用の検討

酵素剤使用による風味改善の効果を調べるため小仕

Table 1 Proportion of raw materials for small scale sake-brewing.

	First addition	Second addition	Third addition	Total
Total rice (g)	200	450	850	1500
Rice (g)	150	360	690	1200
Rice-koji (g)	50	90	160	300
Water (ml)	240	565	1220	2025
Lactic acid (ml)	1.35	0	0	1.35

Table 2 Combination of purple-black rice and polished rice for optimal proportion.

No.	First addition	Second addition	Third addition
1	Purple-black rice	Purple-black rice	Purple-black rice
2	Polished rice	Purple-black rice	Purple-black rice
3	Polished rice	Polished rice	Purple-black rice
4	Purple-black rice	Purple-black rice	Polished rice
5	Purple-black rice	Polished rice	Polished rice
6	Polished rice	Polished rice	Polished rice

Table 3 Enzyme addition of lipase and glucoamylase.

	Lipase	Glucoamylase
A	no-use	no-addition
B	use	no-addition
C	no-use	addition
D	use	addition

込み試験を行った。酵母株は S4 株を使用した。紫黒米の仕込みは留掛のみとした。麴は精米歩合 70% の乾燥麴（徳島精工）を使用し、使用手引きに従い添加量と汲水量を調整した。掛米は、紫黒米として朝紫（精米歩合 99%）を使用し、白米として出羽の里（精米歩合 50%）を使用した。酵素剤としてリパーゼ剤のリパーゼ酒アマノ（天野エンザイム）とグルコアミラーゼ剤のシミチーム SG（新日本化学工業）を使用した。酵素剤使用の組合せは Table 3 のとおりとし、使用方法と使用量は使用手引きに従った。

3. パイロット仕込み

パイロット仕込みの仕込み配合を Table 4 に示した。麴糖化液 1000 ml で前培養した酵母株を酒母に添加し、速醸酒母とした。酵母株は、白米による仕込みには KA 株を使用し、紫黒米による仕込みには S4 株を使用した。白米による仕込みには、麴米と掛米ともに出羽の里（精米歩合 50%）を使用した。紫黒米による仕込みには、麴米、酒母掛米、添掛米および仲掛米に出羽燦々（精米歩合 60%）を使用し、留掛米に紫黒米の朝紫（精米歩合 90%）を使用した。留仕込時の紫黒米の浸漬にはリパーゼ酒アマノ（天野エンザイム）を使用手引きに従って使用した。酒母および麴の仕込みには、60 L 容および 500 L 容のサーマルタンク（新洋技研工業）を使用した。原料用アルコールは添加せず、製法品質上の純米酒とした。上槽は醪圧搾機により行った。

4. 製成酒の分析と評価

小仕込み試験のアルコール度はアルコメイト AL-2（理研計器）により測定し、他の一般成分は国税庁所定分析法注解⁷⁾に従って測定した。酸度およびアミノ酸度は電気滴定法により測定した。清酒の黄色の度合いを示す着色度は、国税庁所定分析法注解に従い、光路長 10 mm セルで 430 nm の吸光度を測定した。同様に、紫黒米品種に特有の色素成分であるアントシアニンの指標として生成酒の 520 nm の吸光度を測定した⁸⁾。吸光度の測定には、分光光度計 Ubest 30（日本分光）を使用した。pH の測定には pH メーター F 22（堀場製作所）を使用した。香気成分は吉沢のヘッドスペース法⁹⁾に基づきガスクロマトグラフ GC 15 A（島津製作所）により分析した。有機酸は高速液体クロマトグラフ LC 9 A（島津製作所）により分析した¹⁰⁾。製成酒の酒質については、官能評価を行った。官能評価は、パネリスト 8 人により 5 点法（1: 優良, 2: 良, 3: 可, 4: やや難, 5: 難）で行い、平均値を求めた。

実験結果

1. 小仕込み試験

1) 紫黒米に適する酵母株の選択

各菌株を用いた発酵期間中の炭酸ガス減量を Fig. 1 に、一般成分の測定結果を Table 5-1 に示す。白米仕込みでは、S1 株と S4 株ともに K7 株を用いた場合に比べて発酵経過が遅れたが（Fig. 1-1）、生成酒のアルコール度は S1 株と K7 株が同じ 12% 台となった。紫黒米仕込みでは、K7 株に比べて S1 株は発酵経過が速く、S4 株は発酵経過がやや遅れた（Fig. 1-2）。紫黒米仕込みの生成酒のアルコール度は、K7 株と S1 株が 15% 台で、S4 株は 13% 台であった。この結果から、サクランボからの分離酵母株である S1 株と S4 株は白米仕込みでも十分なアルコール生成を

Table 4 Proportion of raw materials for pilot scale sake-brewing.

	Starter	First addition	Second addition	Third addition	Total
Total rice (kg)	6	17	30	47	100
Rice (kg)	4	13	24	39	80
Rice-koji (kg)	2	4	6	8	20
Water (l)	9	20	36	72	137
Lactic acid (ml)	60	0	0	0	60

Fig. 1-1 Amount of CO₂ evolved in small scale sake-brewing for yeast selection with polished rice.

Fig. 1-2 Amount of CO₂ evolved in small scale sake-brewing for yeast selection with purple-black rice.

示すが、特に紫黒米仕込みにおいて K 7 株と同等の炭酸ガス減量とアルコール生成を示すことがわかった。また S 4 株は、白米でも紫黒米でも、酸度が高い割に

アミノ酸度が低いという特徴を示した。このことから S 4 株の使用で酸味がありながら淡麗な酒質を醸し出せるものと推測された。

Table 5-1 General components of sake brewed on a small scale.

Rice	Polished rice			Purple-black rice		
Strain	K 7	S 1	S 4	K 7	S 1	S 4
Sake meter	-10	-20	-25	- 7	-12	-22
Alcohol(%)	12.6	12.1	11.4	15.5	15.6	13.7
Acidity(ml)	2.2	2.3	2.8	2.3	2.5	2.8
Amino acid(ml)	1.5	2.2	1.7	2.0	2.5	2.1
Amino acid/Acidity	0.7	1.0	0.6	0.9	1.0	0.8

Table 5-2 Absorption and pH of sake brewed on a small scale.

Rice	Polished rice			Purple-black rice		
Strain	K 7	S 1	S 4	K 7	S 1	S 4
520 nm	0.006	0.008	0.008	0.256	0.206	0.248
430 nm	0.054	0.062	0.064	0.319	0.245	0.270
520 nm/430 nm	0.11	0.13	0.13	0.80	0.84	0.92
pH	3.63	3.81	3.90	4.21	4.07	4.05

Table 5-3 Sensory evaluation of sake brewed on a small-scale.

Rice	Polished rice			Purple-black rice		
Strain	K 7	S 1	S 4	K 7	S 1	S 4
Evaluation	2.6	2.8	2.4	3.8	3.3	3.1

Evaluation was performed with a 5 point scale, 1 (very good) ; 5 (very bad).

Values are the average of 8 panelists.

Table 5-4 Flavor components produced in small-scale brewing (ppm).

Rice	Polished rice			Purple-black rice		
Strain	K 7	S 1	S 4	K 7	S 1	S 4
Isoamyl alcohol	92	145	113	210	227	253
Isoamyl acetate	3.2	1.4	3.9	2.9	2.1	4.2
Isobutyl alcohol	33	85	41	82	94	96
Isobutyl acetate	0.15	0.13	0.14	0.29	0.15	0.28
E/A Ratio	3.5	1.0	3.5	1.4	0.9	1.7
A/B Ratio	2.8	1.7	2.8	2.6	2.4	2.6

E/A Ratio : Isoamyl acetate/Isoamyl alcohol×100

A/B Ratio : Isoamyl alcohol/Isobutyl alcohol

生成酒の吸光度と pH を Table 5-2 に示す。白米仕込みでは、どの菌株を用いた場合にも吸光度に大きな差は見られなかった。紫黒米仕込みでは、紫黒米品種に特有のアントシアニン色素の指標である 520 nm の吸光度は K 7 株が高かったが、520 nm と 430 nm

の吸光度の比に着目すると S 4 株が高い値を示した。このことは、生成酒の着色度である黄色みが薄く、赤紫色が際立っていることを示しており、紫黒米の色の特長を強く出す結果となっている。また S 1 株と S 4 株を用いた場合は pH が 4 付近であり、アントシアニ

Table 5-5 Organic acids content (ppm) in sake brewed on a small scale.

Rice	Polished rice			Purple-black rice		
Strain	K 7	S 1	S 4	K 7	S 1	S 4
Citric acid	106	123	111	154	166	158
Pyruvic acid	510	362	174	132	112	165
Malic acid	278	262	245	362	241	362
Succinic acid	423	314	181	574	629	478
Lactic acid	526	642	569	576	1270	782
Acetic acid	189	242	144	15	23	68

Values of lactic acid include the amounts added.

ン色素が赤紫色を鮮やかに発色する pH となった¹¹⁾。

香気成分分析の結果を Table 5-4 に示す。白米仕込みでは、K 7 株と比較して S 1 株を用いた場合はイソアミルアルコールとイソブチルアルコールが高く A/B 比が低い特徴的な香気成分組成を示し、S 4 株を用いた場合は E/A 比や A/B 比が K 7 株と同じ値を示すなど前報⁴⁾と同様の傾向となった。紫黒米仕込みでは、A/B 比は 3 株ともほぼ同等であったが、E/A 比は S 4 株がやや高い結果となった。また紫黒米仕込みでは、S 4 株はイソアミルアルコール、酢酸イソアミル、イソブチルアルコールとも生成量が最も多い特徴を示した。

有機酸組成を Table 5-5 に示す。白米仕込みでは、K 7 株と比較して S 1 株と S 4 株はコハク酸が少なく乳酸が多い傾向にあり、リンゴ酸はやや少ない結果となった。一方、紫黒米仕込みでは、S 1 株はコハク酸がやや多く、さらに乳酸が突出して多く、リンゴ酸が少ない結果となった。それに対して S 4 株を用いた紫黒米仕込みでは、コハク酸は白米仕込みと同様に少ないが、乳酸と酢酸はやや多く、クエン酸やリンゴ酸は K 7 株とほぼ同じ生成量であった。クエン酸やリンゴ酸は爽やかな酸味を有するため¹²⁾、S 1 株では乳酸が多大なことに比すれば、S 4 株は酸度の高い特徴を出しつつ爽やかな酸味を醸し出すと予想された。

官能評価の結果は、白米仕込みでは K 7 株に比較して S 1 株がやや劣る評価であり、S 4 株はやや優れた評価であった。一方、紫黒米仕込みでは S 1 株と S 4 株の両菌株とも K 7 株より優れた評価であり、特に S 4 株が最も良い評価を得た (Table 5-3)。これらのことからサクランボ果実から分離した一連の *S.*

cerevisiae 菌株のうち紫黒米を原料とした清酒の製造に適している菌株として S 4 株を選択し、以後の試験に使用した。

2) 紫黒米の配合の検討

配合比率を変えた紫黒米仕込みの発酵期間中の炭酸ガス減量を Fig. 2 に、一般成分の測定結果を Table 6-1 に示す。発酵経過は紫黒米の比率が高いほど旺盛で前急な醪になる傾向であった。しかし No. 1 や No. 2 のような短期醪になるとアルコール度は低く、生成する酒量が少なく実用的ではなかった。香気成分の分析では、紫黒米の比率が低いほど酢酸イソアミル生成量が多く、E/A 比が高くなり、A/B 比は低くなる傾向であった (Table 6-4)。米粒表層に多く含まれる不飽和脂肪酸は酵母のエステル生成を阻害する¹³⁾。紫黒米の比率が低いほど醪に持ち込まれる不飽和脂肪酸が少なくなるため酢酸イソアミル生成量が上がると推測される。また A/B 比については、K 7 株の場合は窒素含量が低くなると A/B 比が高くなる傾向は報告されている¹⁴⁾。紫黒米の比率が低いほど窒素含量が低くなると予想されるので、S 4 株は K 7 株とは逆の傾向を示したことになる。6 通りの配合中では No. 3 だけが他と比べて酢酸イソアミル生成量がやや多く、E/A 比もやや高い値を示した。有機酸の分析では、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸は紫黒米の比率の高いほど生成量が多かった (Table 6-5)。官能評価の結果は、白米のみの No. 6 が最も評価が高かったが、留掛のみを紫黒米とした No. 3 が次いで良かった (Table 6-3)。但し、紫黒米を仕込んだ生成酒には複数のパネリストから糠様臭や油様臭などオフフレーバーの指摘があった。No. 3 は目視による赤紫色の色合

Fig. 2 Amount of CO₂ evolved in small scale sake-brewing. No. 1 to 6 refers to Table 2.

いも良く、520 nm と 430 nm の吸光度の比も他の配合よりも僅かながら高かった (Table 6-2)。紫黒米の仕込みを留掛のみにすることは、仕込み作業の利便性からみても都合が良い。これらのことから No. 3 の留掛のみを紫黒米とする配合を選択した。

3) 酵素剤使用の検討

当初の官能評価では紫黒米を仕込んだ場合にオフフレーバーの指摘が多かった。これは紫黒米の精米歩合が高く玄米に近いことから米粒表層の脂質に由来するオフフレーバーがあるためと思われる。そこで紫黒米を仕込んだ場合の風味の改善を図るため、油脂成分を加水分解させるリパーゼ剤¹⁵⁾と糖化を促進させるグルコアミラーゼ剤¹⁶⁾の使用試験を行った。醪の発酵経過では、リパーゼ剤を使用した区分 B の醪は無使用区 A の醪とほとんど同じ発酵経過をとったが、グルコアミラーゼ剤を添加した区分 C と D の醪は原料の糖化が進んだことで発酵が旺盛になった (Fig. 3)。この発酵経過から推測されるように、グルコアミラーゼ剤を添加した区分 C と D では清酒の生成量が多く、アルコール度も高かった (Table 7-1)。有機酸分析の結果、グルコアミラーゼ剤を添加した区分 C と D でピルビン酸と乳酸が低かったが、他の有機酸につい

ては傾向に大きな差は見られなかった。香気成分分析では、区分 A と B が区分 C と D に比較してイソアミルアルコール、酢酸イソアミル、イソブチルアルコールとも生成量が僅かに多いだけであった (data not shown)。官能評価においては、リパーゼ剤のみを使用した区分 B の生成酒がオフフレーバーの指摘が少なく、最も高い評価を得た (Table 7-3)。それに対して、グルコアミラーゼ剤を添加した区分 C と D は官能評価が低く、糖化促進による発酵の改善は見られたが、風味改善の効果は見られなかった。このことからリパーゼ剤使用が、紫黒米仕込みの清酒の風味を改善する上で有効であると結論した。またアントシアニン色素の指標である 520 nm の吸光度は無使用区 A が最も高く酵素剤使用区で低くなる結果となったが、520 nm と 430 nm の吸光度の比に着目すると区分 B が無使用区 A とほぼ同等の値を示した (Table 7-2)。以上のようにリパーゼ剤使用が紫黒米を仕込んだ清酒の風味改善に有効であることから、パイロット仕込みではリパーゼ剤を使用することとした。

2. パイロット仕込み

小仕込み試験 1), 2), 3) の結果を受けて、紫黒米による仕込みには酵母 S 4 株を使用し、留掛のみ紫黒

Table 6-1 General components of sake brewed on a small scale.

No.	1	2	3	4	5	6
Sake meter	+9	+7	+8	+10	+13	-10
Alcohol(%)	11.3	11.3	14.1	16.2	17.2	17.8
Production(ml)	1600	1800	2030	2250	2220	2190
Acidity(ml)	3.3	3.2	3.0	3.2	3.2	2.7
Amino acid(ml)	0.3	0.2	0.3	0.5	0.9	1.9

Table 6-2 Absorption and pH of sake brewed on a small scale.

No.	1	2	3	4	5	6
520 nm	0.707	0.624	0.488	0.352	0.152	0.021
430 nm	0.701	0.627	0.467	0.348	0.150	0.060
520 nm/430 nm	1.01	1.00	1.04	1.01	1.01	0.35
pH	4.68	4.62	4.44	4.26	4.12	4.37

Table 6-3 Sensory evaluation of sake brewed on a small scale.

No.	1	2	3	4	5	6
Evaluation	4.1	2.9	2.7	2.8	3.4	2.2

Evaluation was performed with a 5 point scale : 1 (very good), 5(very bad).

Values are the average of 8 panelists.

Table 6-4 Flavor components produced in small-scale brewing (ppm).

No.	1	2	3	4	5	6
Isoamyl alcohol	192	201	247	215	251	175
Isoamyl acetate	1.3	1.2	4.3	2.8	3.4	5.0
Isobutyl alcohol	55	68	109	100	137	91
Isobutyl acetate	0.05	0.06	0.20	0.17	0.17	0.19
E/A Ratio	0.7	0.6	1.7	1.3	1.4	2.9
A/B Ratio	3.5	3.0	2.3	2.2	1.8	1.9

E/A Ratio : Isoamyl acetate/Isoamyl alcohol $\times$ 100

A/B Ratio : Isoamyl alcohol/Isobutyl alcohol

Table 6-5 Organic acids content (ppm) in sake brewed on a small scale.

No.	1	2	3	4	5	6
Citric acid	132	118	82	69	51	47
Pyruvic acid	83	73	39	42	21	83
Malic acid	310	245	163	161	140	163
Succinic acid	419	415	284	340	297	142
Lactic acid	639	790	689	679	577	338
Acetic acid	74	60	37	31	39	61

Values of lactic acid include the amounts added.

Fig. 3 Amount of CO₂ evolved in small scale sake-brewing for enzyme use. A, B, C, D refers to Table 3.

Table 7-1 General components of sake brewed on a small scale.

	A	B	C	D
Sake meter	-13	-14	+20	+20
Alcohol(%)	14.5	14.5	19.8	19.8
Production(ml)	2400	2420	2750	2760
Acidity(ml)	3.1	3.3	3.3	2.9
Amino acid(ml)	0.8	0.8	2.0	2.0

Table 7-2 Absorption and pH of sake brewed on a small scale.

	A	B	C	D
520 nm	0.234	0.197	0.166	0.160
430 nm	0.253	0.219	0.216	0.219
520 nm/430 nm	0.92	0.90	0.77	0.73
pH	4.35	4.36	4.96	4.97

米を使用し、紫黒米の浸漬にリパーゼ剤を添加し、総米 100 kg のパイロット仕込みを行った。生成酒の一般成分測定結果から、サクランボから分離した酵母 S 4 株はパイロット仕込みでも順調に発酵して清酒として十分なアルコール度に達した (Table 8-1)。ま

Table 7-3 Sensory evaluation of sake brewed on a small scale.

	A	B	C	D
Evaluation	2.5	2.0	3.5	2.8

Evaluation was performed with a 5 point scale : 1 (very good), 5 (very bad).
Values are the average of 8 panelists.

た酸度に比してアミノ酸度が低いため淡麗な酒質が予想された。520 nm と 430 nm の吸光度の比も高く (Table 8-2)、目視による赤紫色の色合いも鮮やかであった。香気分析を行った結果では、白米と清酒酵母を使用した生成酒と比較して大きく異なり、特徴ある香気成分の組成を示した。(Table 8-4)。同じく有機酸組成では、クエン酸が多い特徴があり、乳酸と酢酸も多かった (Table 8-5)。官能評価ではオフフレーバーの指摘はほぼ無くなり、白米による清酒と同等の評価となり (Table 8-3)、設定した仕込み条件の有効性を確認するとともに製品化への見込みが得られた。

考 察

紫黒米を使用した清酒製造に適した酵母株の選抜を

Table 8-1 General components of sake brewed on a pilot scale.

Rice Strain	Polished rice KA	Purple-black rice S 4
Sake meter	+5	-20
Alcohol (%)	17.3	14.1
Production (l)	208	120
Acidity (ml)	2.0	3.1
Amino acid (ml)	0.8	0.5

Table 8-2 Absorption and pH of sake brewed on a pilot scale.

Rice Strain	Polished rice KA	Purple-black rice S 4
520 nm	0.010	0.184
430 nm	0.053	0.179
520 nm/430 nm	0.19	1.03
pH	4.12	3.88

Table 8-3 Sensory evaluation of sake brewed on a pilot scale.

Rice Strain	Polished rice KA	Purple-black rice S 4
Evaluation	2.3	2.4

Evaluation was performed with a 5 point scale : 1 (very good), 5 (very bad).

Values are the average of 8 panelists.

Table 8-4 Flavor components produced in pilot-scale brewing (ppm).

Rice Strain	Polished rice KA	Purple-black rice S 4
Isoamyl alcohol	87	233
Isoamyl acetate	1.7	2.7
Isobutyl alcohol	31	90
Isobutyl acetate	0.20	0.15
E/A Ratio	2.0	1.2
A/B Ratio	2.8	2.6

E/A Ratio : Isoamyl acetate/Isoamyl alcohol $\times 100$

A/B Ratio : Isoamyl alcohol/Isobutyl alcohol

試みたところ、白米仕込みでは K 7 株を用いた場合と比べて S 1 株と S 4 株は特段の長所を示さなかったが、紫黒米仕込みでは K 7 株と比較して成分では遜

色なく、官能評価では大きく上回った。白米仕込みでは、S 1 株と S 4 株ともに K 7 株に比べて発酵が遅いが、この性質が逆に玄米に近い紫黒米での仕込みにお

Table 8-5 Organic acids content (ppm) in sake brewed on a pilot scale.

Rice Strain	Polished rice KA	Purple-black rice S 4
Citric acid	78	112
Pyruvic acid	41	86
Malic acid	371	271
Succinic acid	467	435
Lactic acid	417	643
Acetic acid	11	59

Values of lactic acid include the amounts added.

いて発酵が急進しない利点となっていると推測される。また、S 1 株と S 4 株はともに自然環境中から分離した野生酵母であり、K 7 株と比較して生成酒の酸度が高く pH が低くなるため紫黒米由来の色素の赤紫色が鮮やかになる利点がある。

当初、紫黒米を使用した生成酒には糠様臭や油様臭などオフフレーバーの指摘があり大きな問題点であった。紫黒米を仕込む場合にリパーゼ処理を試みたところ、生成酒の風味が改善された。米粒表層には多くの不飽和脂肪酸が含まれおり、不飽和脂肪酸の酸化物は不快な臭いを有する¹⁷⁾。原料米をリパーゼ処理することにより不飽和脂肪酸が減少する¹⁵⁾ことから、リパーゼ処理がオフフレーバーの抑制に効果があり風味改善がなされたと推測される。

今後の製品化へ向けては二つの課題が挙げられる。一つ目の課題は、小仕込み試験において 520 nm の吸光度に大きな変動が見られるように、紫黒米の色素に由来する色合いを安定して得ることにある。そのためには、特に洗米、浸漬、蒸きょうなど原料処理の工程を工夫する余地があると思われる。二つ目の課題は、パイロット仕込みでの清酒の生成量が極めて少なかったことから、製品では十分な清酒の生成量を得ることにある。そのためには、仕込み方法や上槽方法を更に改善していく必要がある。

要 約

1. サクランボ果実上から分離した *Saccharomyces cerevisiae* 株より、有色米である紫黒米を原料とした清酒製造に適した酵母株の選抜を試み、成分分析と官能評価から S 4 株を選択した。

2. 紫黒米の仕込み配合を検討したところ、成分分析と官能評価及び仕込み作業の利便性から留掛のみを紫黒米仕込みとする配合を選択した。

3. 紫黒米に由来するオフフレーバーを抑制するため酵素剤使用を試みたところ、リパーゼ剤による処理が風味の改善に効果があった。

4. 小仕込み試験を重ねて得られた条件を用いて総米 100 kg のパイロット仕込みを行ったところ、官能評価でも良好な生成酒を得ることができた。

文 献

- 1) 土屋義信, 大土井律之: 最新日本の酒米と酒造り, p. 221-228, 養賢堂, (2000)
- 2) 大内弘造: 清酒酵母の研究—80 年代の研究一, p. 94-101, 清酒酵母研究会, (1992)
- 3) 嶋 悌司: 醸協, **73**, 332-336, (1978)
- 4) 松田義弘, 工藤晋平, 小関敏彦, 上木勝司, 上木厚子: 醸協, **100**, 199-288, (2005)
- 5) 猪谷富雄: 赤米・紫黒米・香り米—古代米の品種・栽培・加工・利用一, 農文協, (2000)
- 6) 難波康之祐, 小幡孝之, 萱島 進, 山崎与四良, 村上光彦, 下田高久: 醸協, **73**, 29-5300, (1978)
- 7) 注解編集委員会編: 第四回改正国税庁所定分析法注解, 日本醸造協会, (1993)
- 8) 高橋康次郎, 杉本多起哉, 三浦孝志, 鷺巢幸夫, 吉沢淑: 醸協, **84**, 807-812, (1989)
- 9) 吉沢 淑: 醸協, **68**, 59-61, (1973)
- 10) 小関敏彦, 森岡裕人, 飛塚幸喜, 須貝 智, 小島弥之祐, 鈴木弥兵衛, 佐藤昭仁, 和田多聞, 布宮雅昭: 醸協, **92**, 607-613, (1997)
- 11) 高橋 仁, 渡邊誠衛, 佐渡高智: 秋田県総合食

- 品研究所報告，**1**, 8-13, (1999)
- 12) 近藤洋大：醸造物の成分，p. 50-62，日本醸造協会，(1999)
- 13) 吉沢 淑：農化，**50**, 115-119, (1976)
- 14) 吉沢 淑：改訂清酒酵母の研究，p. 162-167，清酒酵母研究会，(1980)
- 15) 吉沢 淑，池見元宏，石川雄章：醸協，**71**, 975-978, (1975)
- 16) 高橋 仁，渡邊誠衛，佐渡高智：秋田県総合食品研究所報告，**1**, 813, (1999)
- 17) 佐無田隆：醸造物の成分，p. 85-90，日本醸造協会，(1999)
-