

## 研究論文

## イチョウ花酵母を利用した地域ブランド純米酒の開発

伊藤彰敏\*<sup>1</sup>、小野奈津子\*<sup>1</sup>、安達真人\*<sup>2</sup>、内藤俊\*<sup>2</sup>、沖塚翔太\*<sup>1</sup>、三井俊\*<sup>1</sup>、  
倉田久美\*<sup>3</sup>、臼井瑠美\*<sup>3</sup>、續順子\*<sup>3</sup>

## Development of Local Brand Junmai-shu Using Yeast Isolated from a Female Flower of Ginkgo

Akitoshi ITO\*<sup>1</sup>, Natsuko ONO\*<sup>1</sup>, Makoto ADACHI\*<sup>2</sup>, Shun NAITO\*<sup>2</sup>,  
Shota OKITSUKA\*<sup>1</sup>, Shun MITSUI\*<sup>1</sup>, Kumi KURATA\*<sup>3</sup>, Rumi USUI\*<sup>3</sup>  
and Junko TSUDZUKI\*<sup>3</sup>

Food Research Center\*<sup>1</sup> Naito Jyozo Co., Ltd\*<sup>2</sup>

Faculty of Human Life Science, Sugiyama Jogakuen University\*<sup>3</sup>

愛知県の地域産業資源である「祖父江ぎんなん」を結実させるイチョウの雌花から有用酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を分離した。麴歩合 20%、汲水歩合 180% の 2 段仕込により、甘酸バランスの優れた低アルコール酒が製成された。また、焼酎麴を配合することにより、イチョウ花酵母の有機酸組成が改変され、オフフレーバーである酢酸濃度の低減化が可能となった。

## 1. はじめに

近年、新たな清酒酵母を分離・開発することにより、清酒品質の個性化・差別化を図る検討が全国各地の研究機関で行われている。また、清酒業界においても地域に根ざした地産地消型の製品開発を模索しており、天然酵母の可能性への期待は大きい。

愛知県の北西部に位置する祖父江町は銀杏の産地で、全国一位の生産を誇る。本研究では、本県の地域産業資源「祖父江ぎんなん」を結実させるイチョウの雌花から天然酵母を分離し、地域ブランド純米酒を開発することを目的とした。

## 2. 実験方法

## 2.1 試料

祖父江町で栽培されているイチョウの雌花を使用した。

## 2.1 酵母の分離

既報<sup>1)</sup>に従い、所定アルコール濃度に調整した麴エキス培地及びラフィノース培地による 3 次の集積培養を行い、アルコール耐性微生物を TTC 培地により分離した。

## 2.2 遺伝子解析によるアルコール耐性微生物の同定

既報<sup>2)</sup>に従い、28S rDNA D1/D2 領域の遺伝子を解析し、塩基配列を BLAST プログラムによりホモロジー検索し、アルコール耐性微生物を同定した。

## 2.3 分離酵母の生理学的性質

既報<sup>1)</sup>に従い、TTC 染色性、キラー性及び糖の資化性を調べた。また、麴エキス培地 (Brix10%) に酵母を 1 白金耳植菌し、30℃ で 2 日間培養した後、アルコメイト AL-2 型 (理研計器 (株) 製) を使用してアルコール生成を確認した。

## 2.4 清酒小仕込試験

$\alpha$  化米 (徳島製麴 (株) 60% 白米) 及び乾燥麴 (清酒用は 60% 白米、焼酎用は 70% 白米) を使用し、清酒小仕込試験を行った。初添、踊り、留添による 2 段仕込を行い、15℃ で発酵させ、炭酸ガス減量により発酵経過の比較を行った。

## 2.5 製成酒の成分分析

もろみ日数 15 日目に上槽を行った。5000rpm、20 分 (10℃) の条件で遠心分離し、得られた上澄液について成分分析を行った。既報<sup>1)2)</sup>に従い、日本酒度、アルコール分、酸度、アミノ酸度、香气成分、着色度及び有機酸を測定した。

## 3. 実験結果及び考察

## 3.1 酵母の分離

培養液に白濁の認められた 3 次培養液 (アルコール濃度 10%) から、7 株のアルコール耐性微生物を分離した。

## 3.2 遺伝子解析によるアルコール耐性微生物の種の同定

分離した 7 株のアルコール耐性微生物の 28S rDNA

\*1 食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 \*2 内藤醸造株式会社 \*3 椋山女学園大学 生活科学部

D1/D2 領域の遺伝子相同性を解析した結果、7 株ともに *Saccharomyces cerevisiae* (以下 *S. cerevisiae*) と同定された。これらの酵母をイチョウ花酵母 (A、B、C、D、E、F、G) とした。

### 3.3 分離酵母の生理学的性質

対照酵母である協会 701 号及び協会 1801 号のコロニーは、TTC により赤色に染色された。イチョウ花酵母については、B、C、E、F、G 株は濃ピンクに、A、D 株は薄ピンクに染色され、一般に酒造に使用される酵母とは TTC 染色性が異なることが示された。

イチョウ花酵母及び協会 701 号のアルコール生成能を図 1 に示す。イチョウ花酵母のアルコール生成能は、協会 701 号より低く、F、G 株は協会 701 号の約 60% のアルコール生成にとどまった。

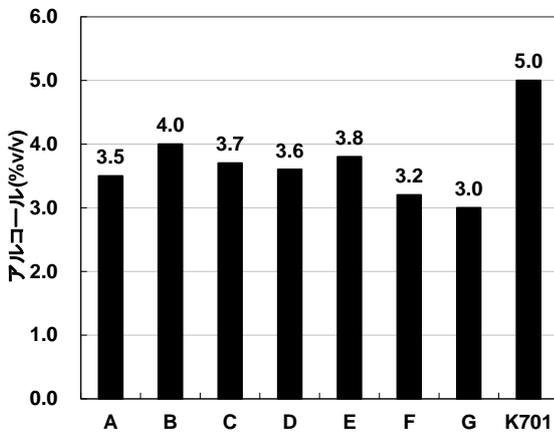


図 1 アルコール生成能の比較

協会 701 号及び協会 1801 号の植菌線とイチョウ花酵母の植菌線の交差部位にハロー (抗菌活性) は認められず、イチョウ花酵母に協会酵母に対するキラー性は認められなかった。

イチョウ花酵母、協会 701 号及び協会 1801 号の糖資化性試験の結果を表 1 に示す。イチョウ花酵母は、協会酵母で資化性の認められなかったガラクトース及びマルトースに対し、高い資化性を有した。なお、イチョウの花から *S. cerevisiae* を分離する際、集積培養においてラフィノース資化性を指標とした選択培地を使用した。

表 1 糖の資化性

	K701	K1801	A	B	C	D	E
グルコース	+	+	+	+	+	+	+
グリセロール	-	-	±	±	±	±	±
ガラクトース	-	-	+	+	+	+	+
α-メチル-D-グルコシド	-	-	-	±	±	-	±
マルトース	±	±	+	+	+	+	+
スクロース	+	+	+	+	+	+	+
D-ラフィノース	+	-	+	+	+	+	+

+ : 糖資化性あり、- : 糖資化性なし

### 3.4 イチョウ花酵母を用いた清酒小仕込試験

麴歩合 20%、汲水歩合 150% で清酒小仕込試験を行った<sup>3)</sup>。発酵経過の指標となる炭酸ガス減量を図 2 に示す。

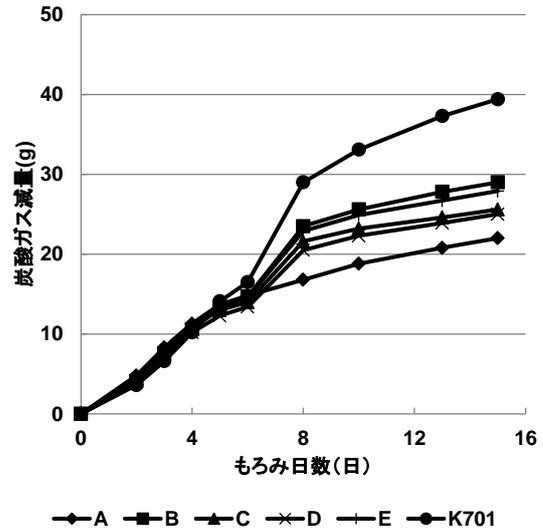


図 2 炭酸ガス減量

もろみ初期から 7 日目までは、協会 701 号とイチョウ花酵母もろみの炭酸ガス減量の増加率は同等であったが、7 日目以降、協会 701 号の増加率が上昇し、上槽時には顕著な相違が認められた。イチョウ花酵母の炭酸ガス減量の増加率は、後半まで緩やかであった。なお、イチョウ花酵母の発酵もろみの状態は泡の形成が低く、泡なし酵母である協会 701 号と同様の状態を示した。

製成酒の成分比較を表 2 に示す。

表 2 製成酒の成分比較

酵母種		A	B	C	D	E	K701
日本酒度		-50	-58	-62	-66	-62	-8
アルコール分	%v/v	12.6	12.1	11.3	11.1	11.8	18.0
酸度	mL	3.6	4.1	3.5	3.8	3.9	2.9
アミノ酸度	mL	2.2	2.4	2.4	2.6	2.5	1.9
クエン酸		9.3	9.1	9.2	9.4	9.3	7.4
ピルビン酸		7.8	8.0	8.2	7.7	8.3	7.5
リンゴ酸		22.7	12.3	19.2	23.9	14.7	28.3
コハク酸	mg/100mL	71.2	56.8	60.0	67.8	55.0	72.8
乳酸		20.6	20.2	13.6	13.6	20.3	18.1
酢酸		61.5	124.0	76.0	91.5	74.3	25.5
iAmOH <sup>*1</sup>	ppm	142.5	138.5	144.8	127.0	141.2	179.5
iAmOAc <sup>*2</sup>	ppm	0.9	0.9	0.8	0.7	1.2	2.5
E/A <sup>*3</sup>		0.7	0.8	1.0	0.8	0.8	0.9
CapOEt <sup>*4</sup>	ppm	0.7	0.7	0.6	0.6	0.9	1.4
着色度	OD430	0.065	0.059	0.054	0.061	0.057	0.063

\*1 イソアミルアルコール \*2 酢酸イソアミル \*3 iAmOH × 100/iAmOAc \*4 カプロン酸エチル

イチョウ花酵母酒のアルコール分は 11-12% 台の数値を示し、協会 701 号酒 (18.0%) より低い値を示した。生成アルコールが低いため、発酵基質である糖分が多く残存する結果となり、日本酒度がマイナス側に大きく傾いた、超甘口酒となった。イチョウ花酵母酒の酸度及びアミノ酸度は、協会 701 号酒より高い値を示した。

イチョウ花酵母は協会 701 号と比較し、清酒のオフフレーバーであるジアセチルや酢酸エチルの反応基質である酢酸生成能が極めて高かった。

イチョウ花酵母酒の香气成分値は、協会 701 号酒より低かった。イチョウ花酵母は、吟醸香として評価の高いカプロン酸エチルの生成能を、わずかであるが有していた。製成酒の着色度を測定した結果、イチョウ花酵母酒は、新酒段階では協会 701 号酒と同等レベルであった。しかし、イチョウ花酵母酒は残糖分が多く、アミノ酸度が高いため、アミノカルボニル反応が進みやすいことが予想される。

内藤醸造株式会社（稲沢市祖父江町）の製造技術者 2 名により官能審査を実施したところ、C 株を用いた清酒の評価が高かった。酢酸由来のオフフレーバーを感じることはなく、甘酸バランスに優れているとの評価であった。この結果を踏まえ、以下の仕込試験では C 株を用いることとした。

### 3.5 仕込配合の検討

イチョウ花酵母 C 株について、アルコール発酵及び呈味の改良を目的として、汲水歩合試験及び焼酎麹利用試験を実施した。

#### 3.5.1 汲水歩合試験

通常清酒製造の汲水歩合（白米使用量に対する汲水の使用割合）は 130% であるが、イチョウ花酵母はアルコール耐性が低いため、この汲水歩合では酵母が濃糖圧迫を受け、並行複発酵の不順が懸念される。そこで、通常仕込より汲水使用量を増加させた仕込配合における C 株のアルコール発酵を炭酸ガス減量により精査した。各種汲水歩合における炭酸ガス減量の結果を図 3 に示す。

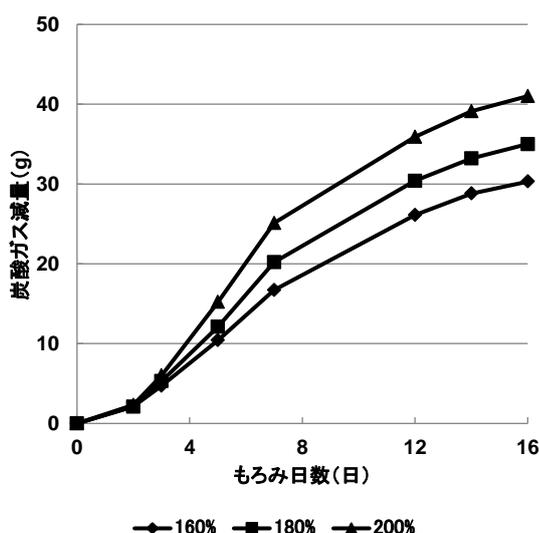


図 3 炭酸ガス減量（汲水歩合試験）

炭酸ガス減量の結果から、汲水歩合を増加させることにより、発酵が順調に行われることが示唆された。

製成酒の成分値を表 3 に示す。汲水歩合 200% では、アルコール発酵が停滞した結果が得られた。汲水歩合 180% の条件においてアルコール生成量が最も高く、残糖分、酸度及びアミノ酸度のバランスが取れていた。

表 3 製成酒の成分比較（汲水歩合試験）

汲水歩合	160%	180%	200%	
日本酒度	-62	-55	-60	
アルコール	%v/v	11.5	12.2	11.8
酸度	mL	3.6	3.7	4.2
アミノ酸度	mL	2.5	2.0	2.2

#### 3.5.2 焼酎麹利用試験

イチョウ花酵母が生成する主要酸は酢酸及びコハク酸である。オフフレーバーである酢酸の低減化と酸組成を改変することを目的として、クエン酸を含有する焼酎麹を利用することとした<sup>4)</sup>。

炭酸ガス減量の結果を図 4 に示す。焼酎麹を配合したもろみは、清酒麹のみのもろみと比較し、初期発酵が順調にすすむ傾向が認められた。後半は、麹種、焼酎麹割合に関係なく発酵が推移し、ほぼ同等の炭酸ガス減量値を示した。

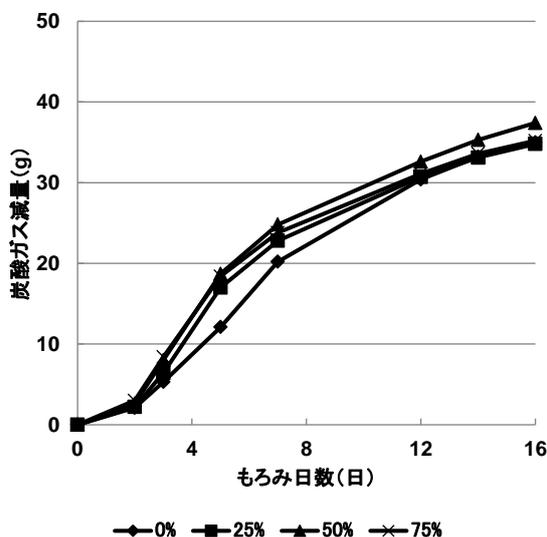


図 4 炭酸ガス減量（焼酎麹利用試験）

製成酒の成分値を表 4、有機酸組成を図 5 に示す。製成酒について、焼酎麹割合が増加するにつれ、日本酒度がマイナス（甘）に傾き、アルコール濃度が低下した。酸度は焼酎麹割合に比例して増加したが、アミノ酸度は逆に低下した。

有機酸組成では、焼酎麹割合が増加することにより、

クエン酸濃度が上昇した。一方、イチョウ花酵母の主要生成酸である酢酸濃度は、焼酎麴割合の増加とともに減少傾向を示し、酵母の有機酸生成が改変されることが示唆された。

焼酎麴割合が増加することにより、イソアミルアルコール及び着色度が、増加する傾向が認められた。

官能審査を行った結果、焼酎麴 50%利用酒は、酸味と甘味のバランスがとれた良質酒で、クエン酸の爽やかさを感じる低アルコール酒であった。

表 4 製成酒の成分比較 (焼酎麴利用試験)

焼酎麴配合割合		0%	25%	50%	75%
日本酒度		-55	-62	-64	-66
アルコール	%v/v	12.2	12.3	12.1	11.7
酸度	mL	3.7	4.0	4.2	4.5
アミノ酸度	mL	2.0	1.9	1.7	1.5
iAmOH* <sup>1</sup>	ppm	140.0	149.6	176.1	177.9
iAmOAc* <sup>2</sup>	ppm	1.0	1.1	1.3	1.0
E/A* <sup>3</sup>		0.7	0.8	1.0	0.6
CapOEt* <sup>4</sup>	ppm	0.7	0.8	0.7	0.6
着色度	OD430	0.062	0.074	0.076	0.078

\*1 イソアミルアルコール \*2 酢酸イソアミル \*3 iAmOH × 100/iAmOAc  
\*4 カブロン酸エチル

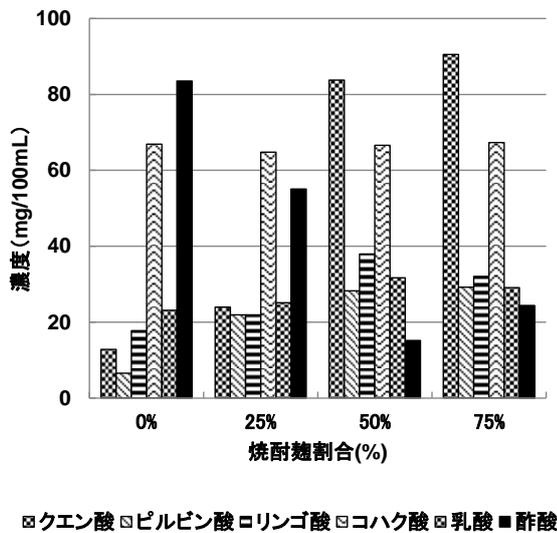


図 5 有機酸組成の比較 (焼酎麴利用試験)

#### 4. 結び

本研究により分離されたイチョウ花酵母はアルコール生成能を有し、キラー性が陰性であった。官能審査によ

り選抜された C 株を用いて各種清酒仕込試験を行った結果、これまでの花酵母を利用した清酒にはない酸味と甘味を兼ね備えた清酒醸造法を確立することができた。

本試験結果を参考にして、2014 年 10 月に内藤醸造株式会社において、総米 300kg レベルの実醸造が行われ、純米酒「Princess Ginkgo (プリンセス・ギンコ)」として製品化された (図 6)。祖父江町の地域観光商材として期待されている。



図 6 純米酒「Princess Ginkgo」の外観

#### 付記

本研究は、平成 25 年度小規模事業者地域力活用新事業、全国展開支援事業 (本体事業 1 年目) 「銀杏の多様な活用方を実証する花酵母清酒や酒粕商品等開発事業」において、祖父江町商工会の受託研究として実施した。

#### 文献

- 1) 三井俊, 伊藤彰敏, 山本晃司, 秋山和範, 加藤雅士: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **2**, 84(2013)
- 2) 三井俊, 小野奈津子, 安田庄子, 伊藤彰敏, 山本晃司: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **3**, 68(2014)
- 3) 伊藤彰敏, 三井俊, 安達真人: 日本家政学会中部支部第 59 回大会要旨集, P36(2014)
- 4) 伊藤彰敏, 三井俊, 沖塚翔太, 安達真人, 倉田久実, 臼井瑠美, 續順子: 平成 26 年度日本食品科学工学会中部支部要旨集, P12(2014)