

小スケール清酒製造試験を利用した清酒酵母の特性把握

加工技術グループ バイオチーム 廣岡 青央, 高阪 千尋, 山本 佳宏

要 旨

研究所保有酵母の特性管理を目的に、再現性の高い小仕込み試験法を考案した。その手法を用い、同一酵母について培養条件や植菌量を変化することにより、最終の生成酒の香気成分や有機酸組成が変化することが判明した。この結果、清酒製造時においても、植菌する酵母の培養条件等により酒質が変化する可能性が示唆された。

1. はじめに

研究所では、清酒製造用に分譲している1号、2号、2号泡なし、京の琴及び京の華酵母に加えて、香気生成や有機酸生成に種々の特性を有する酵母を200株以上保有し、保管している。現在分譲していない酵母については50%グリセロール溶液中で凍結保存しており、前述した分譲酵母についてはスラントによる継体培養により保管している。継体培養は、6か月に1回の頻度で行っており、培地の組成としては富栄養培地と貧栄養培地を交互に植え継ぐ手法により行っている。

酵母は保管中に特性が変化する危険性があり、特に有用な特性が変化すれば酒質に多大な影響があるため、酵母を分譲するうえで、酵母の特性管理は大変重要な作業である。研究所では、二次元電気泳動法を用いたタンパク質発現解析（プロテオーム解析）により、酵母の特性の把握を行う研究を進めてきた^{1,2,3,4)}。

一方で、 α 米と乾燥麹を使用した清酒の小仕込み試験を行い、香気生成、有機酸生成、炭酸ガス発生量等を指標に新規にスクリーニングした酵母の特性把握を行ってきた^{5,6,7)}。小仕込み試験により酵母の特性管理をするという観点からは、試験の再現性が重要であり、できる限り単純な系で試験を行う必要があると考えられた。そこで今回、実際の清酒製造現場での酵母の特性把握という観点ではなく、酵母の保管状態を確認するための小仕込み試験法を考案し、さらにはその手法を用いて研究所で分譲している酵母について、培養条件により香気生成能や有機酸生成能が異なるかを分析したので報告する。

2. 実験方法

2.1 酵母及びその培養法

今回の試験にはきょうかい6号酵母を使用した。前培養の方法としては、ボーメ度5に調整した麴汁培地（以

下、麴汁培地）又は研究所が分譲用に製造している培地（以下、分譲培地）を使用し、3日間、30℃にて行った。

2.2 小仕込み試験

乾燥麹20g、グルコアミラーゼ、 α アミラーゼ、汲水160ml及び乳酸0.05mlをよく混合した水麴に、2.1にて培養した酵母を所定量植菌した後、 α 米80gを加え仕込んだ。品温は15℃一定とし、試験中の培地の重量減少を炭酸ガス発生量として測定した。14日後、遠心分離により上澄みを回収し分析に供した。香気成分及び有機酸の測定手法は前報^{5,6,7)}に準じて行った。また、その再現性を確認するため、同様の試験を同一の酵母に対して行い、その変動について分析を行った。

3. 結果と考察

3.1 小仕込み試験の再現性

今回開発した、酵母の特性把握を行うための小仕込み試験に対して、どの程度再現性が確保できているかを確認するため、独立した4回の実験を行った結果のデータを表1にまとめた。成分値の変動として、CV値が15%を超えない範囲（低濃度の成分では20%を超えない範囲）では再現性は確保できていると考え、この結果から、

表1 小仕込試験の再現性

	1回目	2回目	3回目	4回目	CV値
炭酸ガス発生量(g)	32	30	30	30	2.5
酸度(ml)	3.0	3.0	3.2	3.0	2.3
酢酸エチル(mg/L)	179	198	156	148	11.6
酢酸イソアミル(mg/L)	6.9	7.0	6.6	6.6	2.7
カブロン酸エチル(mg/L)	0.8	1.2	1.2	1.3	16.4
イソアミルアルコール(mg/L)	122	128	131	122	3.0
イソブチルアルコール(mg/L)	91	88	93	80	5.7

成分値が大きく変動しないかどうかにより酵母の特性管理を行うことが可能であると考えた。

3.2 分譲培地で培養した酵母の特性

研究所では300ml清酒瓶に170mlの分譲培地を加え、殺菌した後酵母を植菌し、増殖した菌体を清酒製造用に分譲している。分譲時には、約 3×10^7 個/ml程度まで増殖した状態となっていることを確認している。分譲培地はボーメ5の麴汁培地を基本に、水やブドウ糖、塩類を添加している。

そこで今回開発した小仕込み試験法について、分譲培地で培養した酵母及び麴汁培地で培養した酵母に対して行い、培養法により酵母の特性の差が生じるかどうかについて分析することとした。また、植菌量による影響を考慮し、それぞれの培地で培養した菌体について、培地40ml相当分、20ml相当分及び5ml相当分の菌体について、それぞれ植菌して試験を行った。

炭酸ガス発生量については分譲培地で培養した酵母が麴汁培地で培養酵母を上回る傾向が確認された(図2)。

各条件での有機酸及び香気成分の生成について表2及び3にまとめた。乳酸の生成に関しては、分譲培地では酵母の接種量の増加とともに乳酸の生成量が減少した。麴汁培地では酵母の接種量の増加とともに乳酸の生成量は増加する傾向が認められた。分譲培地と麴汁培地の比較では、分譲培地で培養した酵母は乳酸の生成量が減少する傾向が認められた。

コハク酸に関しては、培地の種類に関わらず酵母の接種量の増加とともに生成量が増加した。両方の培地を比較すると、分譲培地で培養した酵母はコハク酸の生成量が増加する傾向にあった。

リンゴ酸に関しては、酵母の接種量とリンゴ酸生成量には明らかな関連性は認められなかった。両方の培地の

比較では、分譲培地で培養した酵母はリンゴ酸生成量が減少する傾向にあった。

酢酸エチルに関しては、両方の培地を比較したところ、分譲培地で培養した酵母は生成量が増加する傾向にあった。また、植菌量の増加とともに生成量が増加する傾向にあった。

酢酸イソアミルに関しては、酢酸エチルと同様の傾向を示し、分譲培地で培養した酵母の生成量が増加する傾向が確認できた。また同様に植菌量の増加とともに生成量が増加する傾向にあった。

イソアミルアルコールに関しては、今回の培養の条件の違いによる生成量の明らかな変化は確認できなかった。この結果から、分譲培地で酢酸イソアミルの生成量が増加したのは、前駆体であるイソアミルアルコールの生成量が増加したからではないと考えられた。

カブロン酸エチルに関しては、両方の培地を比較したところ、分譲培地で培養した酵母の生成量が増加する傾向が確認できた。

表2 各条件での有機酸の生成量

		乳酸	リンゴ酸	コハク酸
培地種類	酵母添加量	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
分譲培地	5mL	544	266	473
	20mL	482	216	522
	40mL	432	258	570
麴汁培地	5mL	572	302	422
	20mL	640	294	480
	40mL	626	312	518

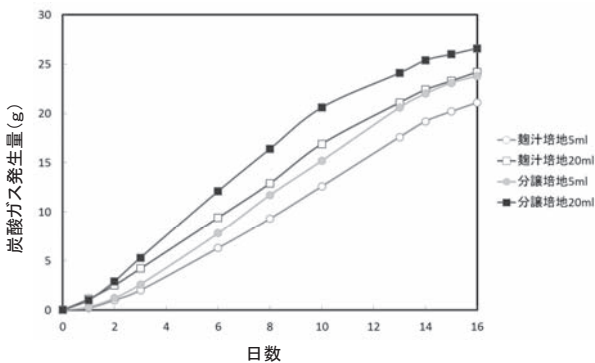


図2 前培養の条件を変化させた時の炭酸ガス発生量

表3 各条件での香気成分の生成量

		酢酸エチル	酢酸イソアミル	カブロン酸エチル	イソアミルアルコール
培地種類	添加量	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
分譲培地	5mL	119	6.6	0.9	102
	20mL	182	10.1	1.2	112
	40mL	177	9.1	0.8	114
麴汁培地	5mL	85	4.3	0.7	114
	20mL	115	6.1	0.9	107
	40mL	164	6.7	0.7	123

以上の結果をまとめると、麴汁培地と比較して、分譲培地で培養した酵母では炭酸ガス生成量が増加する傾向が確認でき、香気成分や有機酸の生成について、植菌量、前培養の影響がある成分があることが示唆された。このことから、添加する酵母の培養条件や量が清酒の品質に影響する可能性が示唆された。

4. まとめ

今回、酵母の特性管理を行うための試験製造法の検討を行い、再現性の高い小仕込み試験法を考案した。またその方法を用いた実験により、同じ酵母でも培養方法や植菌量を変化させることにより香気成分や有機酸の生成量の変動することが判明した。この結果から、清酒製造時に、植菌する酵母の培養条件等により酒質が変化する可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 廣岡青央, 山本佳宏, 筒井延男:京都市工業試験場研究報告, No.26, p.36 (1998).
- 2) 廣岡青央, 山本佳宏, 筒井延男:京都市工業試験場研究報告, No.28, p.34 (2000).
- 3) 廣岡青央, 山本佳宏, 筒井延男:京都市工業試験場研究報告, No.30, p.5 (2002).
- 4) 廣岡青央, 山本佳宏, 高阪千尋, 筒井延男:京都市産業技術研究所工業技術センター研究報告, No.32, p.85 (2004).
- 5) 廣岡青央, 高阪千尋, 山本佳宏, 筒井延男:京都市産業技術研究所工業技術センター研究報告, No.34, p.36 (2006).
- 6) 廣岡青央, 高阪千尋, 山本佳宏:京都市産業技術研究所工業技術センター研究報告, No.38, p.50 (2010).
- 7) 廣岡青央, 高阪千尋, 山本佳宏:京都市産業技術研究所研究報告, No.2, p.30 (2012).