

発酵食品の品質に与える影響要因（原料）に関する研究（第2報）

武田文宣* 吉浦貴紀* 田畑 恵* 嘉成康弘**

1. はじめに

醤油、味噌、清酒などの発酵食品において、その品質に与える原料の影響が顕著に大きいことは言うまでもない。清酒を例にすれば、主原料である米、米麹が重要であるのは当然であるが、発酵過程を支える水、並びに麹菌や酵母も米以上に大切な品質要素といえる。

しかしながら、水については、醸造における役割は明確なものの、その成分組成や形態の違いによる酒質（味、香り）との関係は詳細には解明されていない。

また、麹菌については、突然変異株の取得による酵素力価の高い菌株の開発は行われているが、遺伝子レベルでの研究はあまりなされていない。

2. 目的

本研究では、①原料水の成分特性（含有無機イオン）と酒質（味、香り）の関係、②麹菌の酵素力価を支配する遺伝子部位について検討を行う。

3. 原料水と清酒品質との関係

3. 1 試験方法

無機塩（本年度は、Na 塩、Mg 塩を使用）を所定量添加した水を仕込水に用いて、発酵試験を行い、生成する有機酸、アミノ酸及び香気成分等を測定した。

試験は、昨年度検討した条件同様、2ℓ PP 製容器に水(1,300mL)、α化米(320g)、乾燥麹(80g)、酵母（協会9号酵母を液体培養したもの10mL）を加え、12℃の恒温器内で、21日間発酵させた。仕込水は、逆浸透膜処理水を基に、無機塩を添加して調製した。試験は1Lot.につき5系列繰り返し数N=5とし、仕込水以外の原料である米、麹、酵母は、同一なものを用いた。

また、現在酒造場用いられている原料水の成分を把握するために、県内26酒造場の原料水（仕込水）の成分調査を実施した。主な分析項目は、Na, K, Mg, Ca, Cl, NH₄, NO₂, NO₃, PO₄, SO₄等の無機イオンである。

3. 2 分析方法

陽イオン、陰イオンは、蒸留水で適宜希釈し、それぞれノンサプレッサ方式、サプレッサ方式イオンクロマトグラフ（島津製作所製）により定量した。有機酸は、蒸留水で5倍に希釈し、pH緩衝化ポストカラム電気伝導度検出法により定量した。アミノ酸は、クエン酸ナトリウム溶液(pH2.2)で5倍希釈し、ポストカラム蛍光検出法により定量した。また、香気成分は、ヘッドスペースガスクロマトグラフにより定量した。

3. 3 結果及び考察

Lot.1, 2共に発酵状態は、ほぼ良好であったが、塩濃度の極めて高い1-1, 2-1では、後半に発酵速度の低下が見られた。1-1においては、著しく酸度が高くなる試験酒が見られるなど、発酵不良が疑われた。

得られた試験酒の成分分析を行った結果を表1～3に示す。

Na 塩添加試験区(1-1～4)では、適当量のNaCl添加(1-2,3)により、無添加試験区(1-5)に比べ吟醸香の素になる酢酸イソアミル、カプロン酸エチルが30%程度高い値を示した。また、Na₂SO₄添加により、酸味の素になるリンゴ酸、コハク酸が30%程度高い値を示した、一方で旨味の素になるアミノ酸がアラニンを除く13種類で低い値を示した。

Mg 塩試験区(2-1～4)では、塩の添加により、無添加試験区(2-5)に比べ、香気成分や有機酸が同等若しくは低い値を、アミノ酸が測定全14種で高い値を示した。アミノ酸濃度については、MgClの添加量が増すに従って、アミノ酸量が増える傾向がみられた。

また、Na, MgのSO₄塩添加試験区(1-4,2-4)は、共に無添加試験区(1-1,2-1)に比べ、アミノ酸量が20～50%程度低い値を示した。

酒造用水の成分調査については、現在分析データの整理中である。

3. 4 今後の予定

その他の無機塩（Ca 塩、K 塩等）の検討、及びNa, Mg, SO₄塩を含めた混合塩添加による発酵試験、更に最適添加量や再現性についての検討を考えている。

また、県内26酒造場の原料水（仕込水）の成分調査結果を踏まえて、混合塩添加試験へ反映させていく。

4. 麹菌変異株取得時における酵素力価遺伝子の解明

4. 1 実験方法等

麹菌RIB40（酒類総合研究所）及び市販種麹「氷上」（株式会社秋田今野商店）を親株として孢子懸濁液を作成し、15W紫外線ランプを用いて20cmの距離から4～5分照射した。30分間光遮断した後、PDA培地に生育させて孢子懸濁液を作成した。高アミラーゼ生産株スクリーニング用デンプン培地に塗抹し、生育したコロニーをヨウ素液で染色してハローの形成状態を比較することにより、糖化酵素力を判定した。

4. 2 結果及び考察

いずれの親株についても、紫外線処理後0.1～1%の生存率で生育が確認された。PDA培地上でのコロニーの生育状態や孢子の色調などは、親株とほぼ同じであった。更に、高アミラーゼ生産株スクリーニング用デンプン培地上で培養した結果、デンプンが分解されてより大きなハローを形成するコロニー、即ち高アミラーゼ活性を有すると思われる菌株が数株得られた。

4. 3 今後の予定

得られた菌株の製麹試験を行い、酵素力価を測定するとともに、アミラーゼに関与している遺伝子の変異について研究を進めていく。

表1 仕込水塩添加量及び試験酒分析結果

試験 No.	試料名	添加 無機塩	添加量	酒精度	酸度	アミノ 酸度	グルコース	酢酸 イソアミル	イソアミル アルコール	カプロン酸 エチル
			mg/L	VOL%	mL	mL	wt%		mg/L	
Lot.1	1-1	NaCl	3400	10.3	2.7	1.1	0.3	3.03	147.4	1.20
	1-2		1700	11.4	1.5	1.0	0.2	5.03	157.0	1.48
	1-3		340	11.6	1.5	1.2	0.2	4.87	173.0	1.52
	1-4	Na ₂ SO ₄	413	11.8	1.6	1.0	0.2	3.66	162.8	1.21
	1-5	無	0	11.7	1.5	0.8	0.2	4.37	176.3	1.16
Lot.2	2-1	MgCl ₂	2500	10.4	1.6	0.7	0	2.66	115.0	0.64
	2-2		500	11.0	1.4	0.6	0	2.67	124.2	0.78
	2-3		100	10.9	1.6	0.6	0	3.18	117.8	0.77
	2-4	MgSO ₄	100	11.0	1.5	0.5	0	2.95	110.0	0.84
	2-5	無	0	10.9	1.6	0.6	0	3.33	114.2	0.87

表2 試験酒の有機酸分析結果

(単位:mg/L)							
試験No.	試料名	クエン酸	ピルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
Lot.1	1-1	40.1	74.0	177.6	359.5	503.5	65.9
	1-2	51.4	140.8	196.0	414.2	284.7	54.5
	1-3	51.0	138.8	186.4	451.0	247.2	70.7
	1-4	53.2	127.0	233.9	548.6	221.8	76.9
	1-5	43.4	132.0	177.4	421.9	217.0	91.8
Lot.2	2-1	83.5	176.5	157.8	274.5	170.3	118.0
	2-2	76.8	176.1	175.7	253.0	147.0	83.4
	2-3	71.2	162.5	196.1	260.9	168.4	62.8
	2-4	75.9	171.4	195.6	276.8	163.6	66.1
	2-5	72.3	177.2	194.7	292.0	147.0	68.5

表3 試験酒のアミノ酸分析結果

(単位:mg/L)															
試験No.	試料名	アスパラ ギン酸	スレ オニン	セリン	グルタミン 酸	グリシン	アラニン	バリン	イソ ロイシン	ロイシン	チロシン	フェニル アラニン	ヒス チジン	リジン	アル ギニン
Lot.1	1-1	14.8	18.7	19.5	104.5	80.1	199.1	22.8	12.7	29.5	28.6	14.8	26.5	8.9	143.1
	1-2	18.6	24.1	24.5	121.1	88.6	221.2	25.9	14.9	32.7	32.9	19.9	29.3	12.0	173.8
	1-3	20.5	27.2	28.6	116.3	86.0	198.1	27.5	16.7	35.7	35.6	22.4	29.4	23.1	191.4
	1-4	11.4	15.4	17.0	64.6	70.7	140.6	17.4	8.9	24.7	24.8	16.4	18.0	4.9	130.2
	1-5	26.3	34.6	35.2	131.7	90.1	184.4	32.7	19.3	44.2	42.4	25.2	28.7	34.5	214.6
Lot.2	2-1	20.5	28.7	26.0	106.1	77.3	131.5	22.2	10.6	30.1	23.9	19.0	40.9	19.2	193.2
	2-2	19.4	29.9	25.8	107.8	73.1	104.5	22.9	12.0	28.8	24.4	20.4	40.1	18.4	175.1
	2-3	16.7	25.3	22.0	92.4	66.6	94.6	20.2	10.4	24.2	21.1	14.8	37.6	17.3	171.8
	2-4	14.4	22.0	19.0	58.9	55.5	79.7	17.5	9.2	22.6	19.4	12.0	32.6	12.3	115.6
	2-5	17.4	26.7	23.0	89.9	63.9	90.3	20.4	10.8	24.9	21.7	16.2	36.8	18.3	160.6