

## 醸造用水に含まれる微量元素の発酵経過に与える影響

田中淳也\*

Influence of Trace Elements contained in Brewing Water on the Fermentation Process  
Junya Tanaka

## 1. 緒言

醸造に使用される仕込水や原料米には様々な微量元素(マグネシウムやカルシウム, カリウムなど)が含まれており, これらは酵母の増殖や発酵の促進に寄与するといわれている. 山口県内の酒造会社においても, 同一の原料米や米麴を使用しても仕込水の違いにより酒質が異なる現象や, 硬度の高い仕込水を使用することにより醗後半まで酵母の活性を高く維持できる現象がみられる. 1950年代から60年代にかけて, 微量元素と酵母の増殖について研究が行われてきたが, それ以降の醸造用水に関する報告は少なく, 米麴の酵素活性や酒質への影響に関する情報は乏しい. 微量元素が及ぼす酵母や米麴, 酒質への影響が明らかになれば, 無機塩類を用いた仕込水の加工により, 高品質な清酒製造が期待できる.

本研究では, 清酒製造における健全なもろみ発酵と酒質向上に資する技術的知見を得ることを目的とし, 酒税法により添加が認められているマグネシウム, カルシウム, カリウムの醸造用水への添加が酵母や米麴に与える影響について調査を行ったので報告する.

## 2. 試験方法

## 2・1 酵母の増殖に対する影響

酵母は日本醸造協会が販売するきょうかい7号酵母を使用した. また, 酵母の増殖試験用培地には, グルコース5%を含むYNB培地(日本ベクトン・ディッキンソン製)にマグネシウムまたはカルシウム濃度がそれぞれ10ppm, 20ppm, 50ppmになるように, 硫酸マグネシウム, 塩化マグネシウム, 硫酸カルシウム, 塩化カルシウムを添加した. また, 上記無機塩類を添加しないものを対照区とした. これらの培地を96穴マイクロプレートに270 $\mu$ l分注した後, 酵母濃度が $1.0 \times 10^5$ 個/30 $\mu$ lになるよう調製した酵母懸濁液30 $\mu$ lを添加し, 28 $^{\circ}$ Cで培養した. 酵母の増殖の確認は, プレートリーダー(TECAN Austria製 Infinite M200Pro)を用いて660nmにおける吸光度を濁度とし, 24時間ごとに測定した.

## 2・2 米麴からの酵素溶出に対する影響

米麴からの酵素抽出溶媒は, マグネシウムを20ppmおよび50ppm含む塩化マグネシウム水溶液および硫酸マグネシウム水溶液, カルシウムを20ppmおよび50ppm含む塩化カルシウム水溶液および硫酸カルシウム水溶液, カリウムを20ppmおよび50ppm含むリン酸カリウム水溶液を使用した.

酵素力価の測定には, 米麴(徳島製麴製)10gに各酵素抽

出溶媒を50ml添加し, 室温で3時間振盪した後ろ過して得られたろ液を供し, 糖化力測定キットおよび $\alpha$ アミラーゼ測定キット(キッコマン製)を用いて測定した.

糖化試験は調製した酵素抽出溶媒26mlと米麴4g,  $\alpha$ 化米(徳島製麴)16gを混合して行った. 15 $^{\circ}$ Cで3日間安置し, 遠心分離により得られた液相中のグルコースおよびマルトース濃度を高速液体クロマトグラフ(島津製作所製 LC-20A)により測定した.

## 2・3 発酵試験

$\alpha$ 化米80g, 米麴20g, 前述の米麴からの酵素抽出溶媒として調製した水溶液130mlを混合し, 20日間発酵させた. もろみは10 $^{\circ}$ Cで仕込み, 1 $^{\circ}$ C/1日ずつ昇温させ, 6日目以降は15 $^{\circ}$ Cを維持した.

製成酒のアルコール, 酸度およびアミノ酸度は国税庁所定分析法により測定した. 有機酸は, 高速液体クロマトグラフを用いて測定した. 香気成分については, ガスクロマトグラフ(アジレント・テクノロジー製 7890B GC system)を用いて測定した.

## 3. 結果および考察

## 3・1 酵母の増殖に対する影響

YNB培地に硫酸マグネシウムを添加した試験区では, 対照区に比べて増殖が速く, 最終的な濁度も高かったが, マグネシウム濃度の違いによる差はみられなかった(図1). また, 塩化マグネシウムを10ppmになるよう添加した試験区においても対照区に比べて増殖が速く, 最終的な濁度も高かったが, 20ppmおよび50ppm試験区では対照区と同程度であった(図2). 一方, 硫酸カルシウムおよび塩化カルシウムを添加した試験区では, いずれの濃度においても対照区と同程度かそれよりも低い増殖を示した(図3, 図4). これらの結果は, 既報<sup>1)2)</sup>にあるように酵母の増殖にはマ

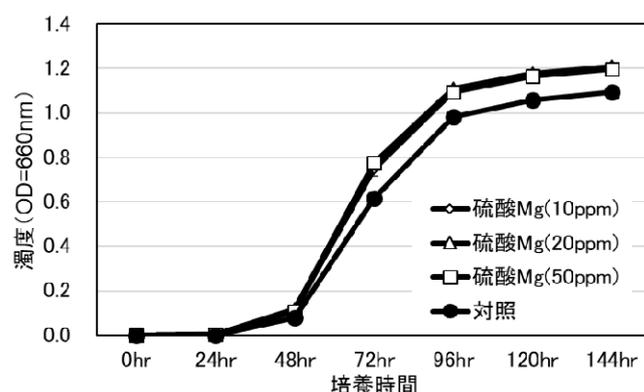


図1 硫酸マグネシウム添加区の増殖曲線

\* 企業支援部食品技術グループ

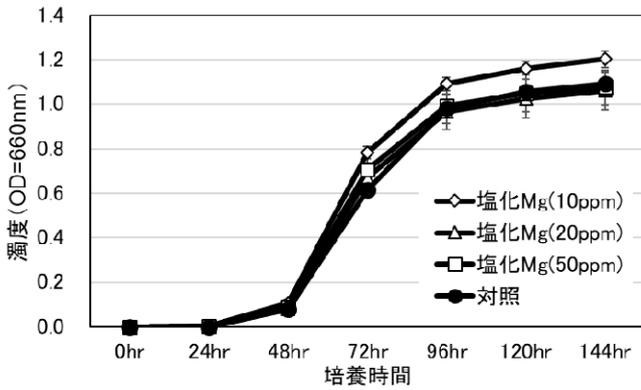


図2 塩化マグネシウム添加区の増殖曲線

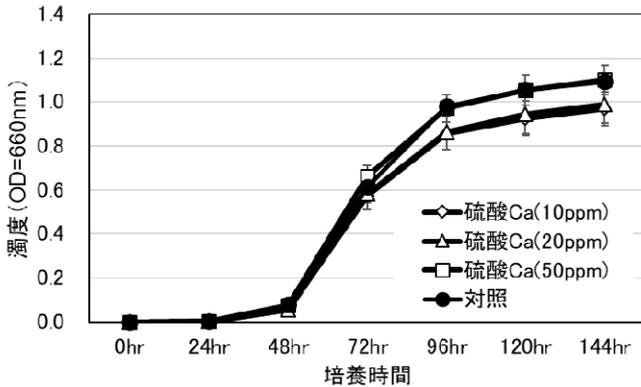


図3 硫酸カルシウム添加区の増殖曲線

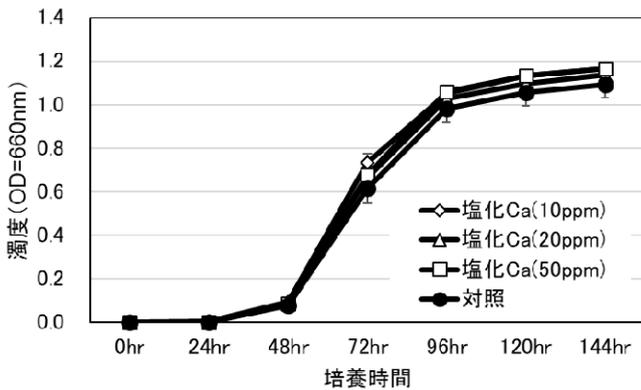


図4 塩化カルシウム添加区の増殖曲線

グネシウムが必須であり、カルシウムの影響は小さいことを裏付けるものであった。

### 3・2 米麴からの酵素溶出に対する影響

各無機塩類を添加した水溶液により得られた米麴抽出液のグルコアミラーゼ活性は、いずれの試験区も超純水のみで抽出した対照区と同程度であった(図5)。一方、 $\alpha$ アミラーゼ活性については、硫酸カルシウム 50ppm 区および硫酸マグネシウム 50ppm 区で高い値を示した(図6)。塩化カルシウム 50ppm 区の $\alpha$ アミラーゼ活性は 101U/g-wet であったのに対し、硫酸カルシウム 50ppm 区では 220U/g-wet と約 2 倍の値であった。同様に、塩化マグネシウム 50ppm 区では 144U/g-wet であったのに対し、硫酸マグネシウム 50ppm 区では 421U/g-wet と 3 倍以上高い値であった。硫酸イオン濃度と $\alpha$ アミラーゼ活性の関係について解析したと

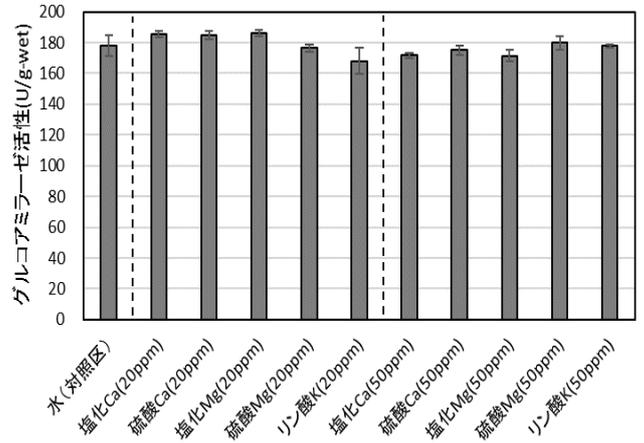


図5 無機塩類添加によるグルコアミラーゼ活性への影響

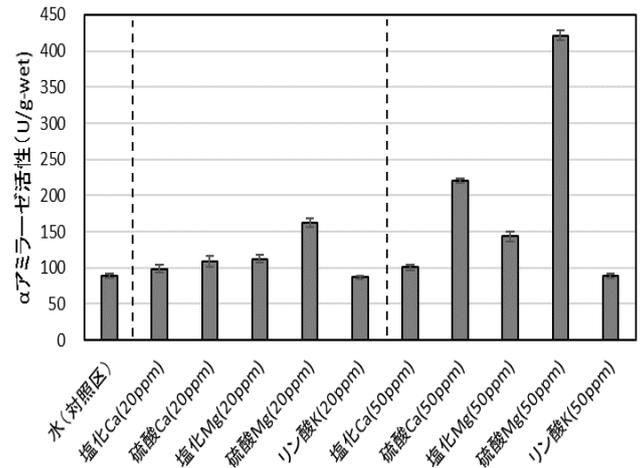


図6 無機塩類添加による $\alpha$ アミラーゼ活性への影響

ころ、両者間で高い相関が確認された(図7)。精製された $\alpha$ アミラーゼと各無機塩類の水溶液を混合して酵素力価を測定したところ、いずれの試験区も同程度の値を示したことから、硫酸イオンは $\alpha$ アミラーゼの活性を向上させるのではなく、米麴からの溶出を促進させる効果があると示唆された。

次に、各無機塩類を添加した水溶液と米麴、 $\alpha$ 化米を混合して糖化試験を行ったところ、得られた液相中のグルコース濃度はいずれの試験区も対照区と同程度であった(図8)。前述のとおり、グルコアミラーゼ活性に対する各無機塩類の影響は小さいため、生成物であるグルコース濃度についても差がみられなかったものと考えられる。一方、マルトースについては、硫酸塩添加区では同量の元素濃度の塩化物塩添加区に比べて濃度が高くなる傾向が確認された(図9)。硫酸塩添加区においては $\alpha$ アミラーゼの溶出が高まることから、デンプン鎖の分解が促進され、二糖類であるマルトースが増加したものと推察される。

以上の結果から、米麴からのグルコアミラーゼ溶出には無機塩類の影響は小さいが、 $\alpha$ アミラーゼ溶出には硫酸イオンが強く影響を及ぼすことが推察された。

### 3・3 発酵試験

マグネシウム塩を添加した仕込水を用いて発酵試験を実施した結果、マグネシウム塩の添加により醸成酒のアルコ

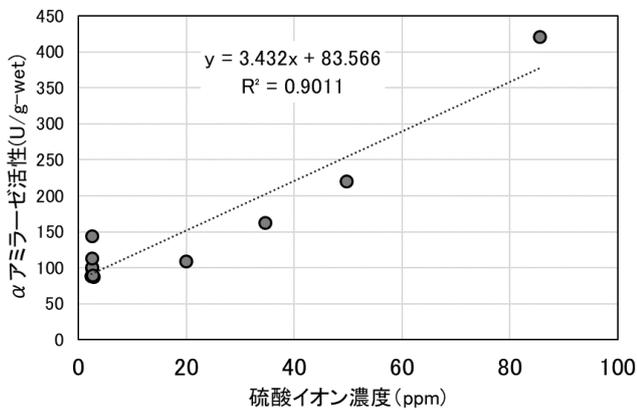


図7 硫酸イオン濃度とαアミラーゼ活性の関係

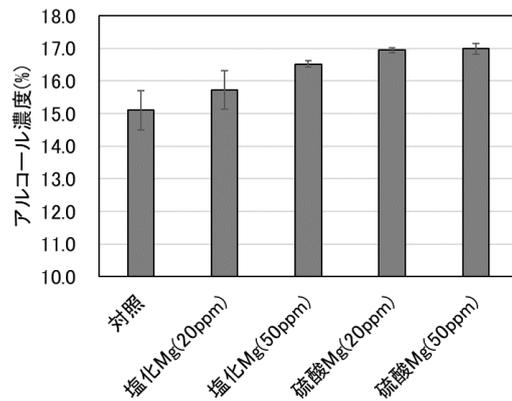


図10 マグネシウム塩によるアルコール濃度への影響

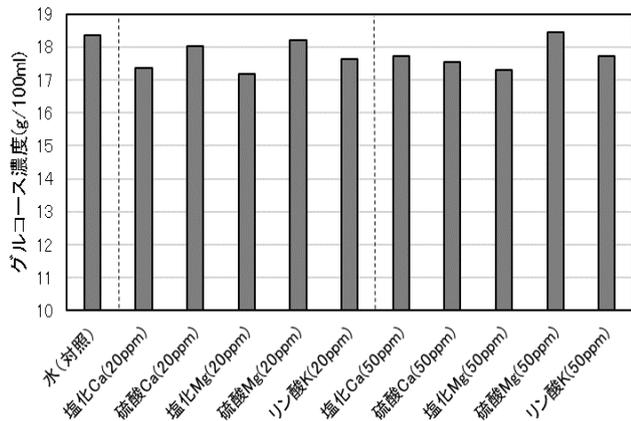


図8 無機塩類添加によるグルコース濃度への影響

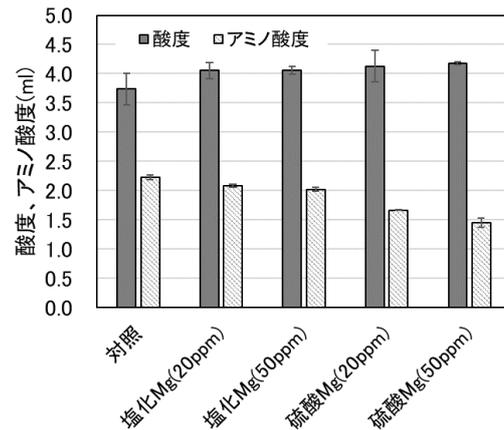


図11 マグネシウム塩による酸度・アミノ酸度への影響

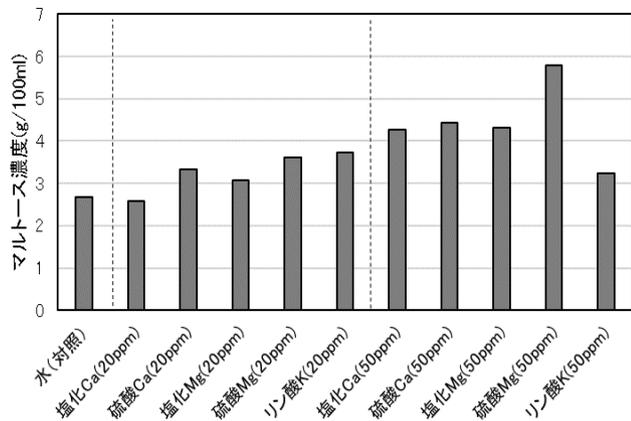


図9 無機塩類添加によるマルトース濃度への影響

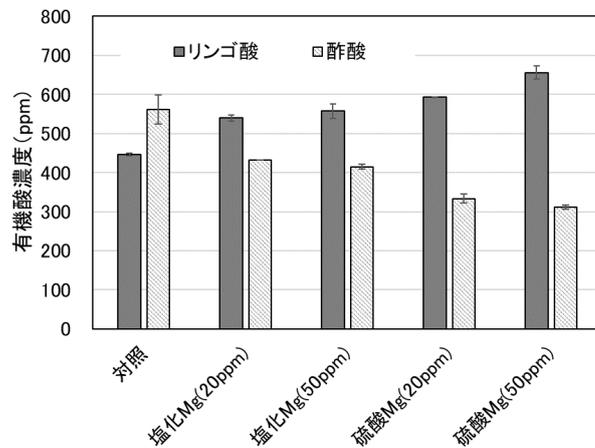


図12 マグネシウム塩による有機酸組成への影響

ール濃度が増加することが確認された(図10)．前項で示したとおり，マグネシウム塩の添加が酵母の増殖を促進させることから，アルコールの生成量が増加したものと推察される．

また，製成酒の酸度については，マグネシウム塩の添加によりやや高くなる傾向がみられたが顕著な差はなかった．一方，アミノ酸度については，マグネシウム塩の添加により低くなる傾向がみられ，硫酸マグネシウムではその差が大きかった(図11)．日下はもろみへの硫酸塩の添加により酵母のアミノ酸代謝が影響を受け，菌体内への取り込みが活性化されることで製成酒のアミノ酸度が減少することを

報告しており<sup>3)</sup>，本試験においても同様の現象が見られたと推察される．

次に，製成酒の有機酸組成を測定したところ，マグネシウム塩の添加によりリンゴ酸濃度が増加し，酢酸濃度が減少する傾向がみられた(図12)．さらに，製成酒の香気成分を測定したところ，マグネシウム塩の添加により，吟醸香のひとつである酢酸イソアミル濃度が増加することが確認された(図13)．しかし，マグネシウム濃度や塩化物塩，硫酸塩の違いによる差はみられなかった．久武による無機塩類を多く含む海洋深層水を使用した醸造試験では，酢酸イソアミルやカプロン酸エチルの濃度が増加する傾向があると報告されていることから<sup>4)</sup>，マグネシウム塩の添加によ

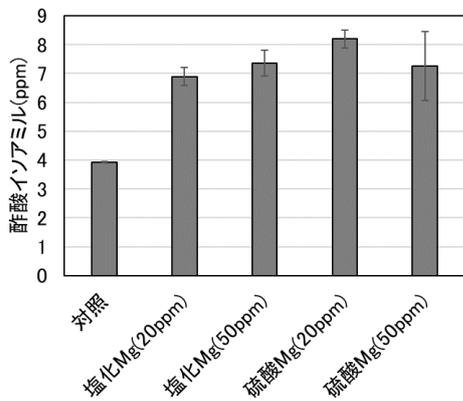


図 13 マグネシウム塩添加による香气成分への影響

る酵母の代謝の変化に伴い、香气成分の濃度にも影響したと推察される。また、酢酸イソアミルは、酢酸とイソアミルアルコールの縮合エステルであるため、酢酸イソアミル濃度の増加が酢酸の低減に関係していることが示唆された。

#### 4. 結 言

無機塩類が酵母や米麴に与える影響について検証を行った結果、マグネシウム塩の添加が酵母の増殖を促進することを確認した。また、硫酸イオンが米麴からの $\alpha$ アミラー

ゼ溶出を促進することが明らかとなった。さらに硫酸イオンが酵母のアミノ酸代謝を変化させた結果、製成酒のアミノ酸度や有機酸組成に影響することを確認した。これまで、発酵に影響する元素としてマグネシウムやカリウムなどの陽イオンについて着目されていたが、本研究により陰イオン、とりわけ硫酸イオンが酵母のアミノ酸代謝や米麴からの酵素溶出に影響を及ぼしていることが明らかとなった。今後、これらの機序が解明されれば、無機塩類を用いた醸造水の加工が酒質の向上につながると期待される。一方で、無機塩類の種類や濃度によっては、米の過剰な溶解や香味の不調和をもたらす懸念もあり、その使用には十分な注意が必要である。本研究により得られた知見を酒類製造に関する技術支援に活用し、県産酒類の品質向上につなげたい。

#### 参考文献

- 1) 吉沢淑：日本醸造協会誌，**51**，p. 51-54(1956)。
- 2) 市川邦介：日本発酵工学会誌，**41**，p. 530-537(1963)。
- 3) 日下一尊：第46回独立行政法人酒類総合研究所講演会要旨，(2009)。
- 4) 久武陸夫：日本醸造協会誌，**95**，p. 478-484(2000)。