

はりま酵母が生成する香気成分の特性解析

西村 友里

1 目的

清酒の香りはその味わいに影響を与える重要な要因であり、造りに用いる酵母に大きく依存する。そのため、平成 25 年に当センターが取得した初の県産酵母であるはりま酵母を用いて造った清酒は特有の香りがあり、一般的な酒造りに用いられるきょうかい酵母の場合もそれぞれ特徴的な香りを有する。令和 3 年度重点領域研究「はりま酵母が生成する香気成分の特性解析」にて、はりま酵母を用いて造った清酒がきょうかい酵母を用いた場合と比較してどのような香りの特徴を持っているのか把握を試み、はりま酵母ときょうかい酵母（K601、K701、K901）の香りの特徴が大きく異なることが主成分分析によりグラフ化された。また、はりま酵母の香りの特徴として燻製臭と酸臭が大きく関係することが示された。それらの結果を踏まえて、別の香りの特徴を持つ酵母を新たに加えて特性解析を改めて行うことではりま酵母の特徴を新たに得ることを本研究の目的としている。

今回、近年吟醸造りによく利用されているきょうかい酵母 K1801 およびはりま酵母の特徴に近いのではないかとされるワイン酵母を新たに加えて実験を行った。前回利用したきょうかい酵母 3 種類と K1801 は特徴が大きく異なること、はりま酵母に近いと予想される酵母を新たに加えることで前回とは異なる特性解析結果が得られることが期待される。

2 実験方法

2.1 小仕込み試験

使用菌株は、はりま酵母（NJ1）、清酒用きょうかい酵母 4 種類（K601、K701、K901、K1801）、ブドウ酒用きょうかい酵母 4 号（W4）の計 6 株を使用した。総米 150 g 規模の小仕込みを 900 ml 容量マヨネーズ瓶で行い、15°C、14 日間発酵させた。仕込配合は表 1 に示す。また、得られた製成酒に対して、一般成分分析、有機酸分析、清酒の所定分析法での香気成分分析を行った。

表 1 仕込配合

乾燥麹	α 化米	汲水	乳酸(90%)
28.8 g	109.2 g	261 ml	0.15 ml

2.2 網羅的な香気成分分析

小仕込み試験で得られた製成酒を用いて、DHS 法、SBSE 法、SA-SBSE 法の 3 種類の前処理方法で香気成分分析を行った。DHS 法では、サンプル 100 μ l を完全気化させる過程でカーボン系トラップおよび Tenax TA トラップを使用してサンプリングを行った。これらトラップ管を加熱脱着して GC/MS 分析を行った。SBSE 法では、塩化ナトリウム 1 g を加えたサンプル 5 ml 中で、ポリジメチルシロキサンでコーティングされたガラス製攪拌子（GESTEL 社製 Twister）を室温で 800 rpm、1 時間攪拌させて、香気成分を抽出した。その後、超純水で洗浄した Twister を加熱脱着して GC/MS 分析を行った。SA-SBSE 法では、ポリジメチルシロキサンでコーティングされたガラス製攪拌子（GESTEL 社製 FLEX-Twister）を 1:1 で混合したジクロロメタン/ジイソプロピルエーテル混合溶媒で膨潤させた後、塩化ナトリウム 1 g を加えたサンプル 5 ml 中で室温にて 800 rpm、1 時間攪拌させて、香気成分を抽出した。その後、超純水で洗浄した FLEX-Twister をアセトン 500 μ l 中で 800

rpm、30 分間攪拌させて逆抽出を行った。得られたアセトン抽出液 100 μ l をオートサンプラーで注入し GC/MS 分析を行った。GC/MS 分析条件を表 2 に示す。

表 2 GC/MS 分析条件

使用機器	Agilent 5977B GC/MSD システム、GESTEL MPS robotic pro
カラム	DB-WAX (30 m \times 0.25 mm i.d. 0.25 μ m film)
キャリアガス	ヘリウム、コンスタントフロー 1.0 ml/min
オープン温度	40 $^{\circ}$ C(3 min) \rightarrow 10 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 240 $^{\circ}$ C(7 min)
イオン源温度	230 $^{\circ}$ C
モード	スキャン (m/z 28.7-350)

2.3 統計解析

網羅的な香気成分分析で得られたデータは、Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェア及び Agilent MassHunter 定量分析ソフトウェアを用いてピーク検出、デコンボリューション、化合物同定を行った。得られた各ピークの面積値を内部標準物質である 3-オクタノールの面積値で割ることにより標準化を行った値を統計解析に使用した。Excel 統計を用いて ANOVA により菌株間で有意差のある化合物をフィルタリングした後、主成分分析を行った。

3 結果と考察

3.1 小仕込み試験

一般分析および有機酸分析、香気成分分析の結果を表 3、図 1～2 に示す。きょうかい酵母に比べて NJ1 の発酵経過が遅く、その影響でアルコール度数が低くなった。また、NJ1 および W4 の酸度が他の株に比べて高かった。有機酸分析の結果をみると、NJ1 および W4 の酢酸生成量が他の株に比べて高いので、その影響で酸度が高くなったと考えられる。

表 3 一般成分結果

	アルコール 度数(%)	日本酒度	酸度	アミノ 酸度		アルコール 度数(%)	日本酒度	酸度	アミノ 酸度
NJ1-1	14.08	-19.32	3.85	1.07	K901-1	16.62	2.29	3.2	1.14
NJ1-2	14.23	-20.75	4.08	1.18	K901-2	17.01	3.30	3.14	1.1
NJ1-3	13.95	-22.49	4.3	1.13	K901-3	16.75	2.73	3.16	1.12
K601-1	16.73	2.25	2.88	1.05	K1801-1	16.34	5.05	2.43	1.06
K601-2	16.89	3.34	3.13	1.13	K1801-2	16.82	6.43	2.55	1.13
K601-3	16.74	2.77	3.09	1.13	K1801-3	16.83	6.59	2.54	1.14
K701-1	16.24	-0.67	3.55	1.37	W4-1	16.07	-5.28	3.94	1.39
K701-2	16.58	0.29	3.68	1.4	W4-2	16.28	-3.72	4.11	1.36
K701-3	16.52	-0.36	3.68	1.36	W4-3	16.00	-5.05	4.26	1.37

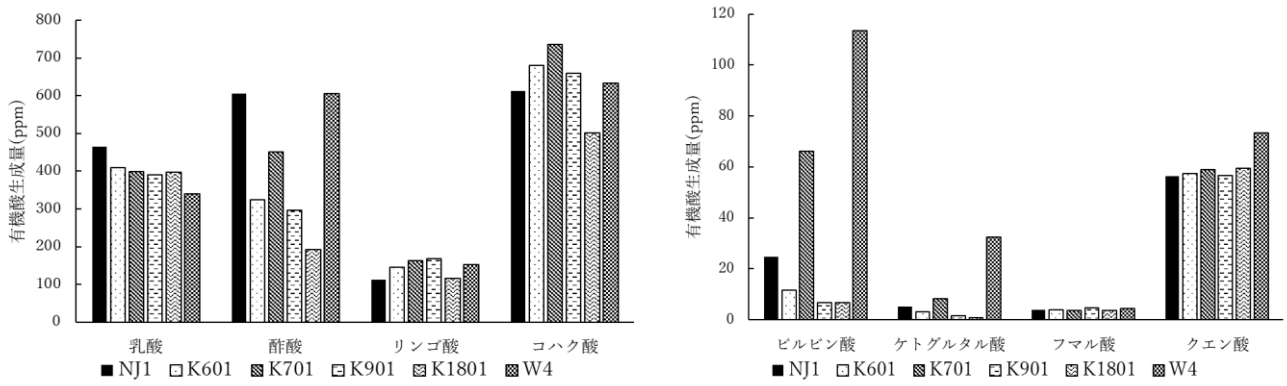


図1 有機酸分析結果

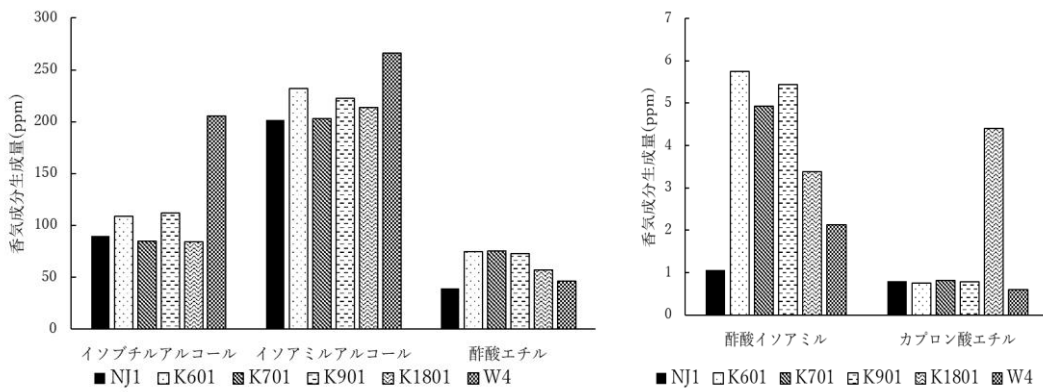


図2 清酒の所定分析法による香り成分分析結果

3.2 統計解析

主成分分析にて得られたスコアプロットおよびローディングプロットを図3～8に示す。

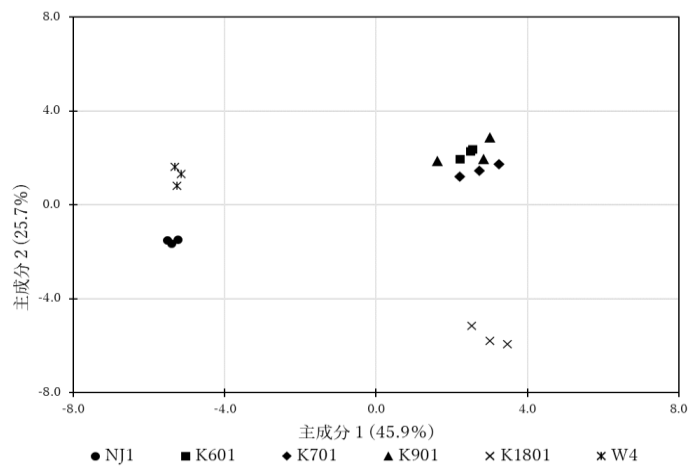


図3 DHS法での分析結果を用いて得られたスコアプロット

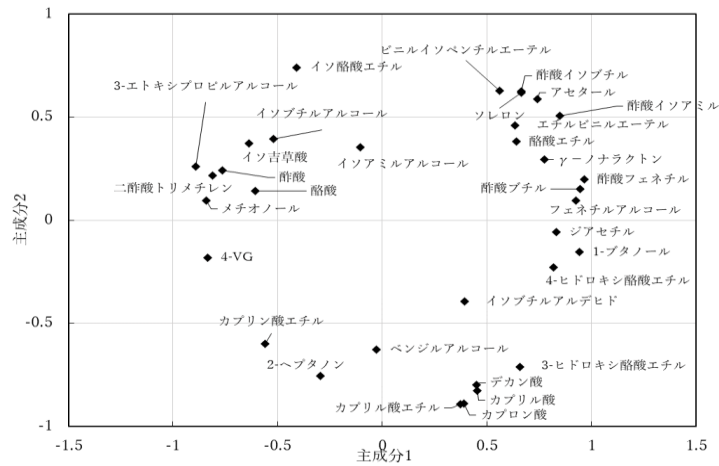


図4 DHS法での分析結果を用いて得られたローディングプロット

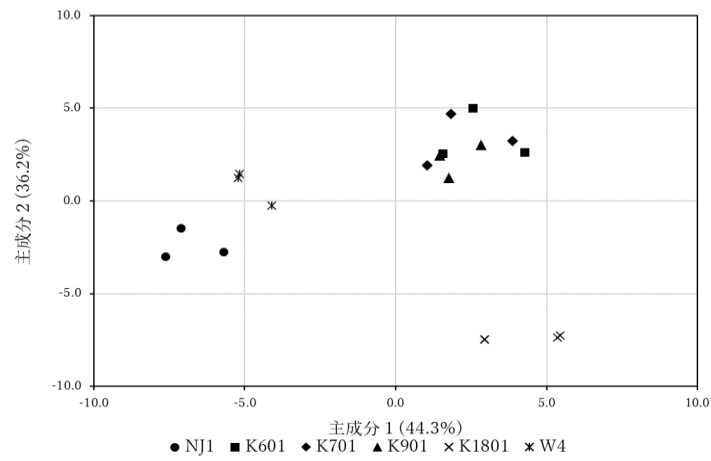


図5 SBSE法での分析結果を用いて得られたスコアプロット

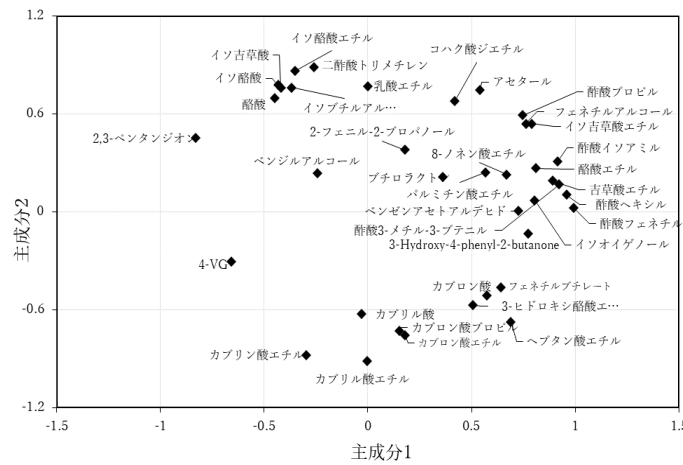


図6 SBSE法での分析結果を用いて得られたローディングプロット

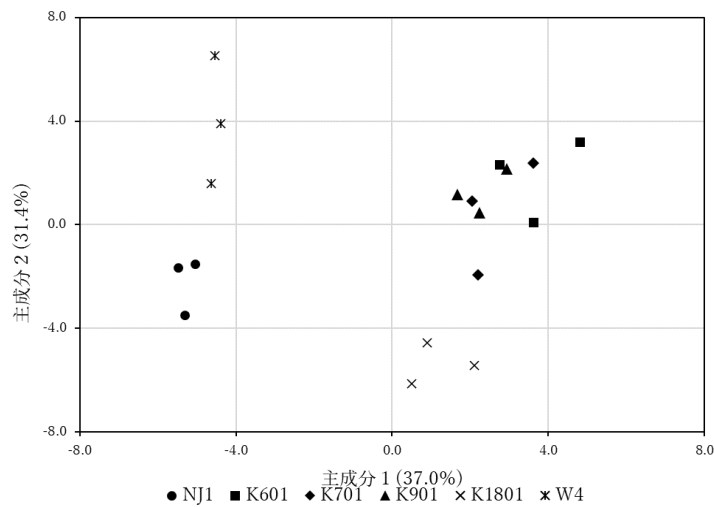


図 7 SA-SBSE 法での分析結果を用いて得られたスコアプロット

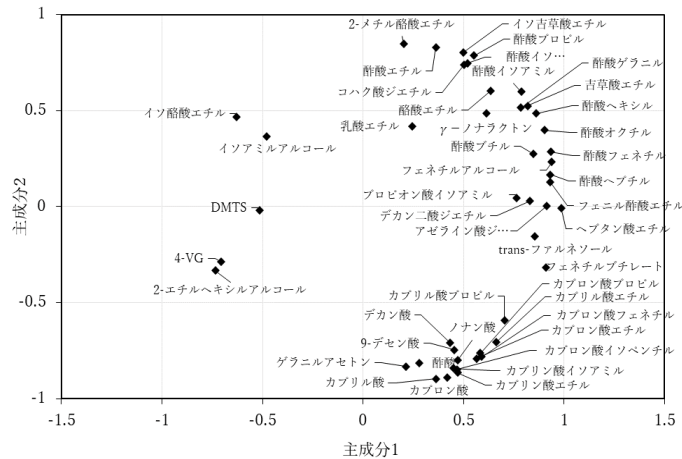


図 8 SA-SBSE 法での分析結果を用いて得られたローディングプロット

スコアプロットでは菌株間の違いを視覚化できるが 3 種類の前処理方法でおおよそ同じ結果が得られ、はりま酵母ときょうかい酵母が生成する香気成分の特徴は大きく異なることが示された (図 3、5、7)。ローディングプロットでは、スコアプロットで視覚化された差異の中身を確認することが出来るが、3 種類の前処理方法で抽出される成分が異なるためローディングプロットで表れる成分に違いがみられた。R3 年度と同様に有機酸の酸臭や 4-ビニルグアイアコール (4-VG) の燻製臭が引き続きはりま酵母の香気成分の特徴としてみられた。今年度新たに明らかとなったはりま酵母の香気成分の特徴として、酒らしいアルコール臭やジメチルトリスルフィド (DMTS) の漬物臭が挙げられた。清酒用きょうかい酵母が生成する香気成分の特徴としては、R3 年度と同様にエステルのフルーティーな香りが挙げられた。また、清酒用きょうかい酵母の中でも K1801 はカプロン酸エチルを高生産する株であることから、香気成分の特徴としてフルーティーだけでなく脂肪酸臭も挙げられた。(図 4、6、8) ブドウ酒用きょうかい酵母 4 号はスコアプロットにてはりま酵母の近くに位置しており、予想した通りはりま酵母とワイン酵母が生成する香気成分の特徴は似ていることが明らかとなった (図 3、5、7)。

4 結論

R3年度と同様に、はりま酵母ときょうかい酵母が生成する香気成分の特徴は大きく異なることが示された。はりま酵母が生成する香気成分の特徴としては、有機酸の酸臭および 4-VG の燻製臭、酒らしいアルコール臭、DMTS の漬物臭が挙げられた。一方で、清酒用きょうかい酵母が生成する香気成分の特徴は、エステル類のフルーティーな香りであった。清酒用きょうかい酵母の中でも、K1801 はカプロン酸エチル高生産株であるため、フルーティーだけでなく脂肪酸臭も特徴として挙げられた。また、予想された通りはりま酵母はきょうかい酵母と比較すると、清酒用よりブドウ酒用に近い特徴を持つことが示された。

(問合せ先 西村友里)