

液体クロマトグラフィーを用いた簡便な醸造工程管理法の開発と導入

背景

近年、酵母の開発が活発化し、変異株のスクリーニングに伴った優良酵母が多数、報告されている。しかしながら、新規酵母はポジティブ/ネガティブな面を併せ持ち、それを補う醸造に関する知見も少ないことから、最適な醸造条件や温度制御は手探りであり、それらの決定には長期間を要する。

そこで、司牡丹酒造では、高知大学の小崎大輔講師との共同研究の下、溶液中の成分分析のための液体クロマトグラフィーを利用し、醸造工程における重要な反応 [1] である糖化（麹菌）、解糖系（酵母菌）、アルコール発酵（酵母菌）、クエン酸回路（酵母菌）において生じる成分を同時分析可能な装置の開発を行った。

実験

本論文で共同開発した装置の詳細な構成を図 1(A)に、外観を図 2(B)に示す。本装置は、1: 溶離液ボトル（20 mM フタル酸）、2: 溶離液送液用ポンプ（島津製作所製 LC-10ADvp）、3: 試料注入機（島津製作所製 SIL-10Ai）、4: 分離カラム用オーブン（島津製作所製 CTO-10ACvp）、5: 分離カラム①（昭和電工製 SH1011 (8.0 mm I.D. x 300 mm)）、6-7: 分離カラム②（東ソー製 Super IC A/C (4.6 mm x 150 mm)）、8: 電気伝導度検出器（島津製作所製 CDD-6A）、9: 視差屈折率検出器（日本分光製 RI-930）で構成された。

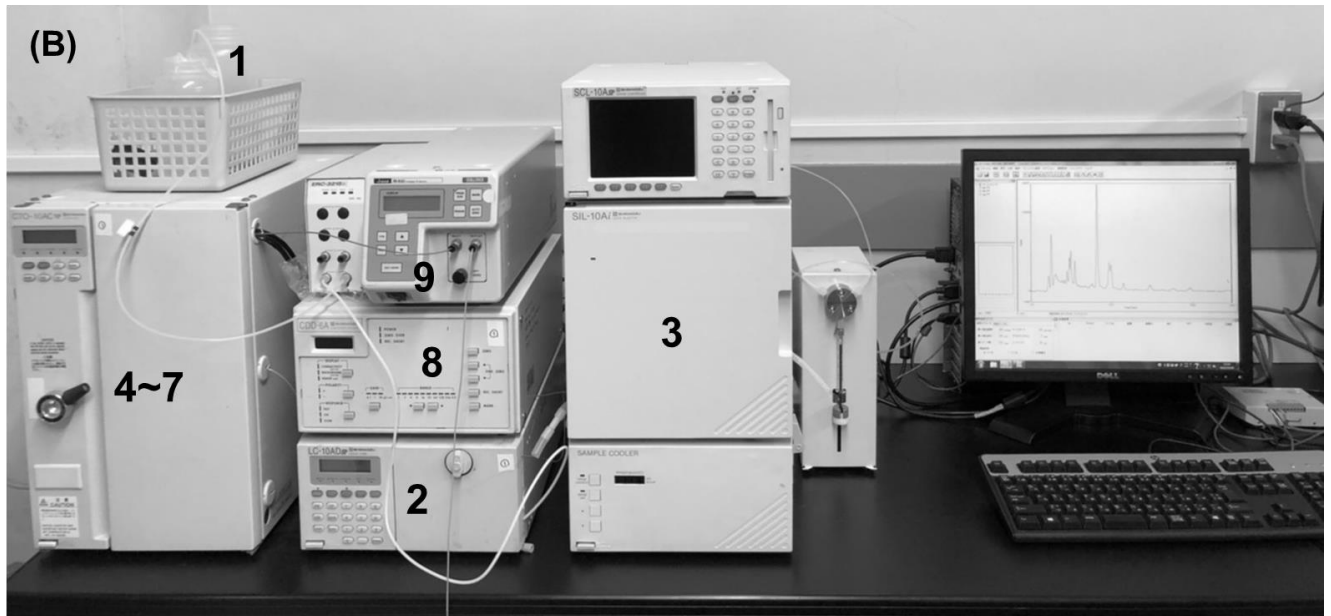
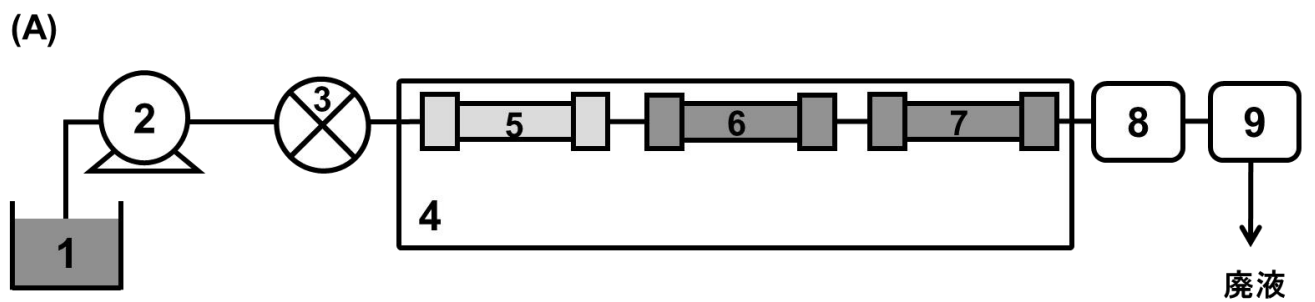


図1 装置の(A)機構の概略図及び(B)外観

実際に得られる標準物質の分析結果を図2に示す。本装置は、低分子量サイズ排除作用により糖化で生じたグルコースを、イオン排除作用により解糖系及びクエン酸回路で生じた有機酸類（ピルビン酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸など）を、疎水性相互作用によりアルコール発酵で生じたエタノールの分離を同時に達成している。

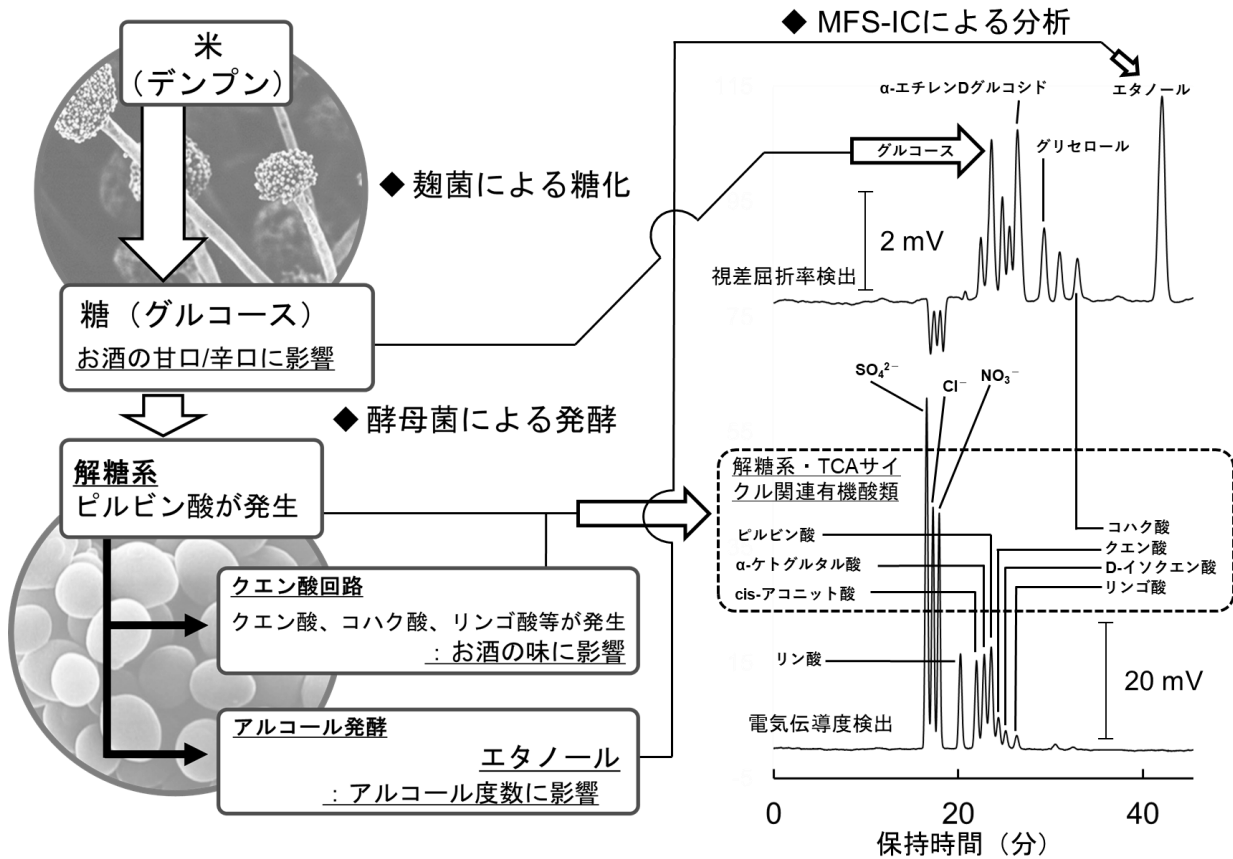


図2 並行複発酵反応の概略図と各成分の分析結果

結果及び考察

本装置を、醸造工程管理におけ
法として応用した結果、図 3(A)に
うに、醸造日数に基づき、グルコ
減少し、酵母菌によるアルコール
よって生じたエタノールの増大が
モニタリング可能であった。また、
降、エタノール濃度の増大により、
活性が低下したことも、グルコー
エタノールの増減の傾きの変化が
可能であった。また、図 3(B)に示
に、酵母菌の活性の低下に伴い、
イオンの濃度の増大も緩やかにな
が見られた。

一方、醸造日数に伴い、酸味に
る L-リンゴ酸、コハク酸濃度の増大が見られ、ツワリ香の原因となるピルビン
酸の増減も明瞭に観察されたことから醸造から上槽への移行における判断基準
としても十分に利用可能であると考えられる。研究的な詳細は小崎講師により、
司牡丹酒造醸造部(浅野 徹、吉中太一、平野健太郎)との連名で2021年に Springer
Nature の発刊している Food Analytical Methods 誌に掲載されている[2]。

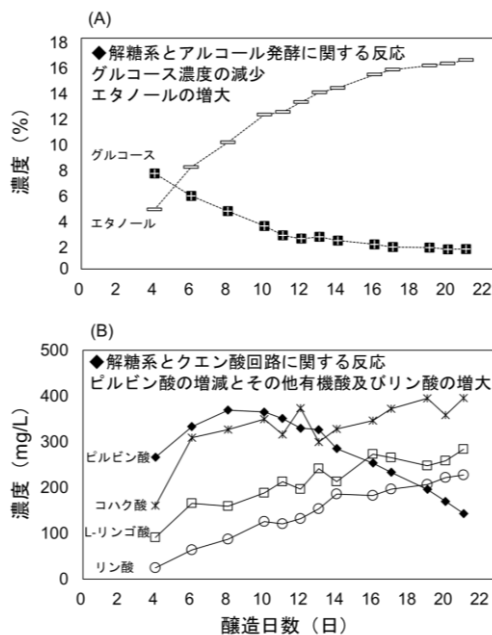


図3 醸造日数に伴う各種成分 影響す

る分析
示すよ
ースが
発酵に
明瞭に
10日以
酵母の
ス及び
ら把握
すよう
リン酸
る傾向

現在は分析を高知大学へ依頼しているものの、小崎講師により、司牡丹酒造へ、同様の装置の導入が進んでいる。本装置の一部は中古品を利用しており、比較的安価で導入可能であり、今後、醸造、分析、データの反映による醸造条件の柔軟な変更と新規な優良酵母を用いた際の自在な醸造制御が可能になると確信している。

参考文献

- [1] J. McMurry, T. Begley, (翻訳: 長野哲雄, 井上英史, 浦野泰照, 小島宏建, 鈴木紀行, 平野智也), マクマリー・生化学反応機構 -ケミカルバイオロジーによる理解 (第2版) -
- [2] Daisuke Kozaki, Atsushi Yamamoto, Souma Tanihata, Naoki Yamato, Masanobu Mori, Akira Nose, Tohru Asano, Taichi Yoshinaka & Kentarou Hirano, Development of a Size-Exclusion/Ion-Exclusion/Reversed-Phase Separation Method for the Simultaneous Determination of Inorganic and Organic Acids, Sugars, and Ethanol During Multiple Parallel Fermentation of Rice Wine, *Food Anal. Methods*, **14**, 290-299 (2021).