

福島県オリジナル酵母の保存性に関する研究

A survey on storage stability of Fukushima yeast

会津若松技術支援センター 県産品加工支援センター 齋藤嵩典

会津若松技術支援センターで頒布している清酒製造に適した福島県オリジナル酵母について、培養終了後に各温度で一定期間保存し、酵母の生菌率や各種成分変化について調査した。これにより、-5~5[°C]の保存で3週間程度であれば酵母の品質を維持できることが明らかとなった。

Key words: 酵母、生菌率、保存温度

1. 緒言

会津若松技術支援センターでは、清酒製造に適した福島県オリジナルの酵母として、うつくしま夢酵母¹⁾、うつくしま煌酵母²⁾を開発し、県内酒造メーカーに対して頒布を行っている。頒布酵母は、使用時まで低温で保存し、1~2週間程度で使い切ることを推奨している。しかし、酒造メーカー毎に設備環境が異なっており、酵母は様々な温度条件で保存されていると考えられる。また、製造計画に合わせて、数日分の酵母をまとめて注文する場合もあり、酵母の活性がどの程度の期間保持されているのかといった問い合わせも多い。そこで本研究では、培養した県オリジナル酵母を各温度で保存し、酵母の生菌率や成分変化を測定した。

2. 実験

2. 1. 酵母の培養

当所で頒布している酵母の約30[%]が「うつくしま夢酵母」である。このことから、本研究では頒布数の最も多いうつくしま夢酵母を対象に試験を行った。酵母の培養は、自作した麴汁培地を使用し、通常の頒布方法と同様の方法で実施した(表1、表2)。

表1 麴汁培地の組成

糖化液		
麴	4.5	[kg]
蒸留水	20	[L]
リン酸二水素カリウム	10	[g]
グルコチーム	75	[g]
55[°C]、8時間保温し、糖化液を作製した。		
麴汁培地 (Brix 11)		
糖化液	20	[L]
蒸留水	30	[L]
リン酸二水素カリウム	30	[g]
硫酸マグネシウム	15	[g]
グルコース	3000	[g]

表2 酵母の培養方法

- ① -80[°C]に保存してある凍結ストックから、寒天を加えた麴汁培地に画線培養する。
- ② 生育したシングルコロニーを麴汁培地10[mL]に接種し、静置培養する(30[°C]、72時間)。
- ③ ②で培養した酵母培養液1[mL]を麴汁培地200[mL]に接種し、静置培養する(30[°C]、72時間)。

2. 2. 保存試験

2. 2. 1. 保存条件

培養が終了した酵母は、滅菌した試験管に10[mL]ずつ分注し、シリコ栓をして保存試験に供した(図1)。保存温度は、-20、-5、5、10[°C]の4試験区とした。保存試験の開始日から0、7、14、21、28、60、90日後に各温度で保存した試験管1本を取り出して試験に使用した。

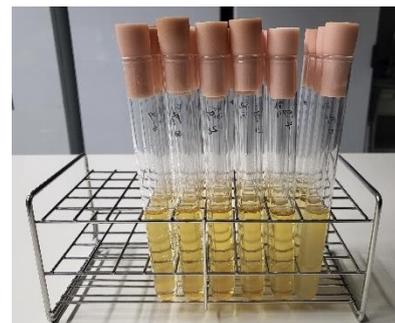


図1 保存試験時の酵母

2. 2. 2. 生菌率の測定

酵母の生菌率の測定は、所らの方法³⁾を参考にして、アルカリメチレンブルー染色を実施した。各温度で保存した酵母培養液を生理食塩水で20倍希釈し、表3に示す染色液を等量加えた(40倍希釈)。この希釈液を超音波処理(40[kHz]、120秒)し、細胞計数盤((株)バイオメディカルサイエンス)を使用して酵母数を計測した。アルカリメチレンブルー染色を行うことで、

死滅した酵母のみが青色に染色される(図2)。青色に染色されない無色の酵母の数を「生菌数」とし、青色と無色の酵母を合わせて計数した「総酵母数」に対する生菌数の割合を「生菌率」として算出した。

表3 0.01[%]アルカリメチレンブルー染色液の組成

0.1[M]グリシン・	90	[mL]
水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 10.6)		
0.1[%]メチレンブルー水溶液	10	[mL]

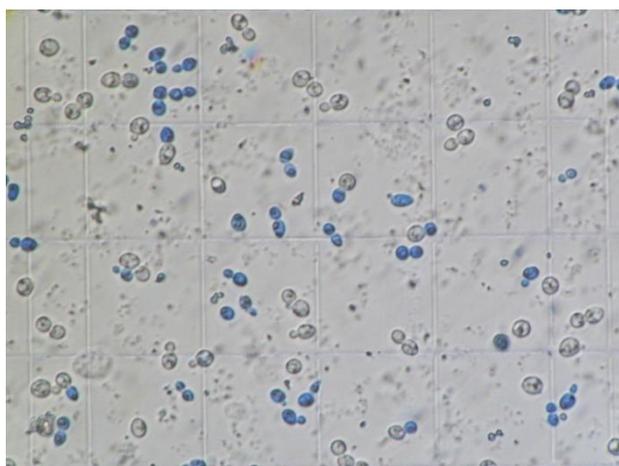


図2 染色後の酵母
(青色：死滅した酵母、無色：生菌)

2. 2. 3. 酵母培養上清の分析

各温度で保存した酵母培養液を遠心分離することで、酵母の培養上清を得た。これを検体として、アルコール、糖度、pHの3項目を分析した。アルコールはアルコメイト((株)ウッドソン)、糖度はポケット糖度計((株)アタゴ)、pHはポケットpHメーター((株)アタゴ)を使用してそれぞれ測定した。

3. 結果と考察

3. 1. 酵母の生菌率

各温度で所定の期間保存したうつくしま夢酵母に対してアルカリメチレンブルー染色を行い、生菌率と生菌数を測定した(図3、図4)。

-20[°C]でうつくしま夢酵母を保存するとすべての酵母が青色に染色され、完全に死滅することがわかった。富樫らは「凍結殺菌処理」として酵母を-20[°C]前後で保存することで酵母の生菌数が減少したと報告している⁴⁾。これは凍結時に酵母の細胞内に生じる氷晶の影響であるとされており⁵⁾、うつくしま夢酵母は氷晶の影響を受けやすい性質であると考えられた。-5[°C]の保存では、保存開始から緩やかに生菌率が低下し、90日後に大幅に低下した。生菌数は21日後

まで維持していたが、28日後から減少した。5[°C]の保存では、生菌率、生菌数ともに60日後に大きく低下した。10[°C]の保存では、生菌率は28日後まで維持しており一見すると酵母の品質が保たれているように思われる。しかし、生菌数をみると、培養開始7日後に生菌数が増加している。これは10[°C]の保存条件では、酵母の活動が停止せず新たに増殖した酵母が多かったものの、酵母の死滅も進んだことから、見かけの生菌率が変化しなかったものと考えられる。このことから、10[°C]の保存では生菌数が増減し、酵母の品質を一定に保つことが困難であることが分かった。

以上の結果から、-5~5[°C]の保存で3週間程度であれば酵母の品質を維持することができるといえる。今後、「うつくしま煌酵母」等、他の福島県オリジナル酵母の保存試験を行い、保存温度と使用期限の妥当性を検証する予定である。また、一定期間保存した酵母を使用して清酒小仕込み試験を行い、品質が低下した酵母を使用した時の具体的なデメリットを明らかにしたい。

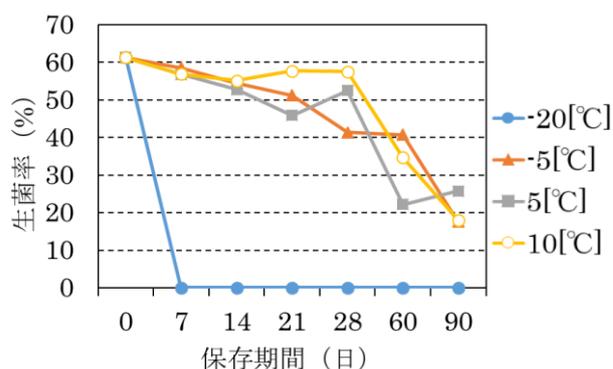


図3 生菌率の経時変化

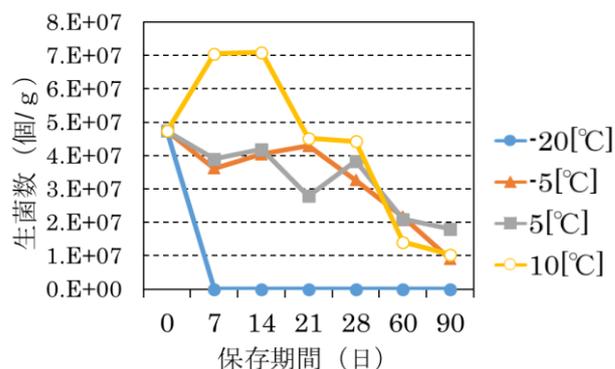


図4 生菌数の経時変化

3. 2. 酵母培養上清成分の変化

各温度で酵母を所定の期間保存することで、酵母の培養液成分がどのように変化するか、アルコール、糖度、pHの3項目を測定した(図5、図6、図7)。ア

アルコールは酵母がアルコール発酵をするのか、糖度は酵母が餌となる糖を消費するのか、pHは酵母が有機酸を生成しpHに変化があるか調査した。

アルコールについては、-5[°C]以下の条件ではほぼ一定であることから、保存中にアルコール発酵は行われず、酵母の生育が停止すると考えられた。また、5[°C]以上の条件では緩やかにアルコールが増加した。

糖度について、-5[°C]以下では糖度はほとんど減少しなかった。また、5、10[°C]と保存温度が上昇するにつれ、糖度の減少量も大きくなった。これは酵母が餌となる糖を消費しているということを示しており、温度が高いほど、微生物の増殖速度が早くなるという経験則を裏付ける結果となった。

pHについては、どの条件で保存してもほとんど変化せず、保存中に有機酸を生成しないということがわかった。酵母接種前の麹汁培地のpHは5.0前後であるが、酵母の培養が完了するとpH4.0以下まで低下する。清酒用の酵母は様々な有機酸を生成することが報告されており⁶⁾、酸性物質である有機酸によって培地のpHが低下する。培養が終了した酵母は、保存中に有機酸を生成しないという可能性が示唆された。

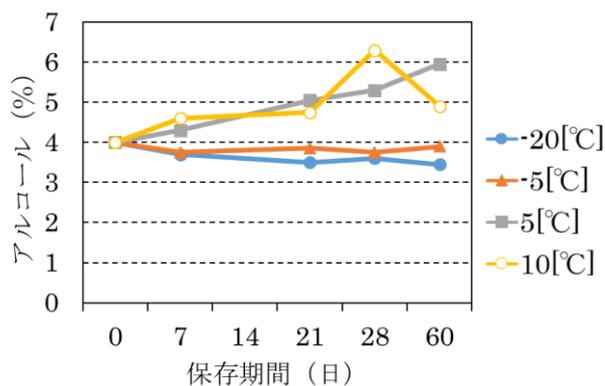


図5 アルコールの経時変化

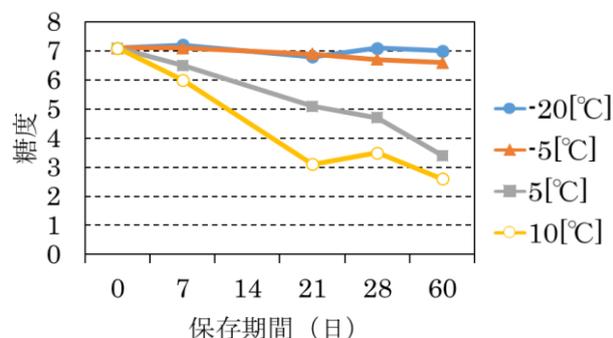


図6 糖度の経時変化

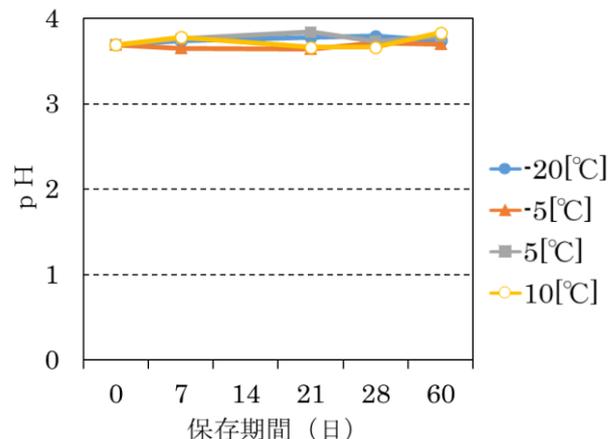


図7 pHの経時変化

4. 結言

会津若松技術支援センターで頒布している清酒酵母の最適な保存温度や使用期限を設定するため、うつくしま夢酵母を対象に研究を行った。その結果、-5~5[°C]の保存で3週間程度であれば、酵母の品質が保持されているということが分かった。ただし、酵母が凍結する温度以下では、酵母が急激に死滅する恐れがあり、温度の下げ過ぎに注意が必要である。

参考文献

- 1) 高橋幹雄, 川井良伸, 桑田彰, 鈴木賢二, 佐藤正. 吟醸酒の試験醸造 (その7). 平成4年度 福島県ハイテクプラザ試験研究報告. 1993, p89-99.
- 2) 大野正博, 渡邊真, 池田信也, 鈴木賢二, 鈴木英二, 高橋亮, 櫛田長子, 佐藤正. 福島県産ブランド清酒の開発—吟醸酒用優良酵母の育種—. 平成16年度 福島県ハイテクプラザ試験研究報告. 2005, p78-79.
- 3) 所悠, 河嶋優美, 松本啓嗣, 赤崎哲也. 様々な乾燥酵母の生菌率と活性の程度の調査. 関税中央分析所報. 2012, vol. 52, p5-11.
- 4) 富樫巖, 福田拓己. -20°C凍結下で日本酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の生存に及ぼす乳酸, 糖類, pHの影響. 日本菌学会会報. 2015, vol. 56, no. 1, p10-14.
- 5) 白樫了, 糖類(トレハロース)の細胞内凍結抑制?. 生産研究. 2003, vol. 55, p150-152
- 6) 財団法人日本醸造協会. 醸造物の成分. 1999, p50