

技術解説「市販ピルビン酸分析キットの清酒製造工程への適用」

1. はじめに

清酒製造工程における醪(もろみ)の上槽(醪を搾り、澄んだ酒と酒粕に分ける作業)のタイミングは、醪のアルコール分や日本酒度等を指標として総合的に判断されます。指標となる成分の一つにピルビン酸があります。酵母は醪中のブドウ糖からピルビン酸を経由してアルコールを生成します。ピルビン酸は発酵経過とともに一旦増加するものの、醪後期には減少していきます^{1,2)}。しかし、上槽時にピルビン酸が多く残存(100mg/Lが目安)していると、貯蔵中にアセトアルデヒドやジアセチル等のオフフレーバー生成の可能性が高まり、酒質が低下する恐れがあります³⁾。このため、清酒醪中のピルビン酸濃度を正確に測定し、把握することが品質管理上重要となります。そこで、一般食品用の市販ピルビン酸分析キット(日本バイオコン(株)販売⁴⁾)を用いて、清酒醪及び清酒中のピルビン酸を定量した例について紹介します。

2. キット法によるピルビン酸の分析

従来、多くの清酒メーカーでは、醪のピルビン酸濃度の判定に試験紙タイプの測定スティックを用いていました⁵⁾。このスティックは試験紙の発色の程度によりピルビン酸濃度を推定できたため、長らく製造現場で重宝されてきましたが、現在は販売されていません。このスティック同様に、反応液の色の比較からピルビン酸濃度を推定することができる簡易測定キットが販売されています⁶⁾。これは3-DG(3-デオキシグルコソシ)法⁷⁾に基づく発色を利用したもので、25℃~35℃の環境下、約1時間でおおよそのピルビン酸濃度を推定することができます。

一方、乳酸脱水素酵素を用いた食品用ピルビン酸分析キットも市販されています⁴⁾。NADHの存在下、D-乳酸デヒドロゲナーゼは、ピルビン酸をD-乳酸に還元するのに伴い、NADHをNAD⁺に変換します。生成するNAD⁺量はピルビン酸量と化学量論的に同じであるので、NADHの減少量から340nmにおける吸光度減少から求めることにより、ピルビン酸濃度を定量することができます。分析手順については省略しますが(参考資料参照)、分光光度計が必要となるものの、厳密な温度管理も必要なく、数分以内に分析できます。しかし、清酒醪への適用については検討されていなかったため、今回、測定可能な濃度範囲や繰り返し

精度等を検証しました。その結果、試料を希釈することなく、5~450mg/Lの範囲でピルビン酸を定量できることがわかりました。また、100mg/Lのピルビン酸を添加した清酒試料を用いて、繰り返し5回定量した結果、変動係数は2.0%と良好でした。さらに、本キット法の検出下限濃度は1.8mg/Lでした。

3. 分析事例

(1) 清酒醪中のピルビン酸濃度

当センター試験醸造の醪(アルコール分2~15.5%)に今回のキット法及びHPLC法を適用し、ピルビン酸の定量値を比較しました(図1)。合わせて醪経過の指標となるBMD(醪日数にボーメ度を乗じた値)とピルビン酸濃度の関係も示します(図2)。

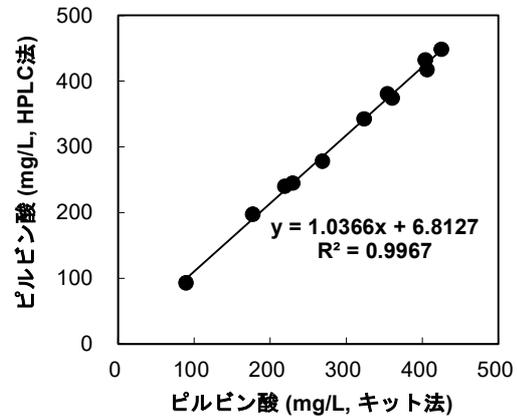


図1 キット法とHPLC法の定量値(清酒醪)

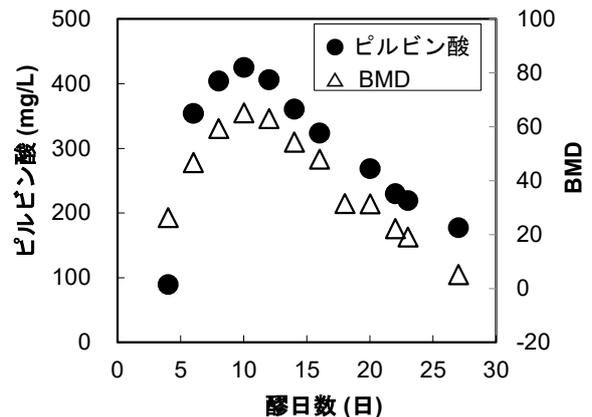


図2 ピルビン酸とBMDの関係

図1より、キット法とHPLC法のピルビン酸の定量値は良く一致していました。このことより、キット法はアルコール分等の醪中の成分に影響されず、醪中のピルビン酸を精度よく定量できることが確認できました。また、伊藤らは、清酒醪中のピルビン酸とBMDは相似した経過を辿ると報告し

ていますが²⁾、今回分析した醪でも同様の傾向が見られました。

(2) 清酒中のピルビン酸濃度

令和2年愛知県清酒きき酒研究会出品酒27点(アルコール分16~18.5%)及び市販酒2点(アルコール分7~8%)にキット法及びHPLC法を適用し、ピルビン酸定量値を比較しました(図3)。その結果、キット法とHPLC法のピルビン酸定量値は良く一致していました。これより、キット法は清酒中のピルビン酸の定量にも問題なく使用できることが確認できました。

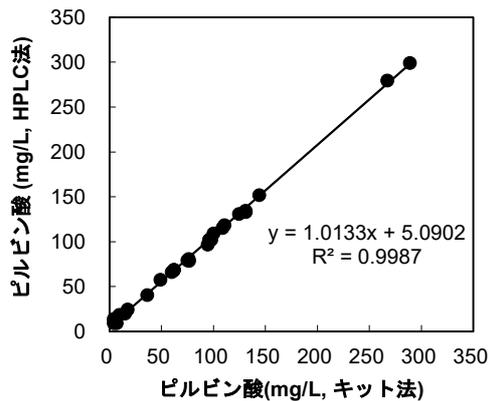


図3 キット法とHPLC法の定量値(清酒)

4. おわりに

今回検証したキット法は、分光光度計が

必要となるものの、簡便・迅速且つ高精度な分析法で、清酒製造管理に非常に有効と考えられます。

当センターでは、今回紹介したピルビン酸を含めた清酒の有機酸成分、香氣成分、アミノ酸の分析等、酒類全般に関する依頼試験や技術相談を行っています。お気軽にご相談下さい。

参考資料

- 1) 吉沢ら:日本醸造協会誌, **80**, 569(1985)
- 2) 伊藤ら:日本醸造協会誌, **102**, 309(2007)
- 3) 土肥ら:醗酵工学, **52**, 416(1974)
- 4) 日本バイオコン株式会社:ピルビン酸(塩)分析法, [http://www.biocon.co.jp/products/pdf/K-PYRUV%20\(1020\)%20.pdf](http://www.biocon.co.jp/products/pdf/K-PYRUV%20(1020)%20.pdf), (2021/6/1)
- 5) 月桂冠株式会社:ピルビン測定スティック, <https://www.gekkeikan.co.jp/RD/sake/sake06/>, (2021/6/1)
- 6) 新洋技研工業株式会社:ピルビン酸簡易測定キット, <https://www.shinyo.co.jp/product/chemical>, (2021/6/1)
- 7) 西田ら:日本醸造協会誌, **94**, 416(1999)

発酵バイオ技術室:三井俊

研究テーマ:清酒酵母の育種、清酒品質安定化技術の開発

担当分野:酒類製造技術

編集・発行

あいち産業科学技術総合センター食品工業技術センター 令和3年6月21日発行

住所 〒451-0083 名古屋市西区新福寺町2-1-1

TEL(直通) 総務課 052-325-8091 発酵バイオ技術室 052-325-8092

分析加工技術室 052-325-8093 保蔵包装技術室 052-325-8094

FAX 052-532-5791

URL: <http://www.aichi-inst.jp/shokuhin/> E-mail: shokuhin@aichi-inst.jp

フルカラーのWeb版センターニュースはこちらから

