

研究論文

純米酒メタボローム解析による酒米特性評価

伊藤彰敏*1、三井俊*1、船越吾郎*2

Evaluation of Characteristics of *Sake* Brewing Rice by Metabolome Analysis of *Junmai-shu*

Akitoshi ITO*1, Shun MITSUI*1, Goro FUNAKOSHI*2

Food Research Center*1 Research Support Department*2

酒米 6 品種について、精米歩合別の純米酒を製成し、GC/MS 網羅成分分析をもとにメタボローム解析を行った。主成分分析の結果、高い累積寄与率で精米歩合別及び酒米品種別の酒質差を視覚化することができた。また、階層クラスター分析の結果、製成酒成分から酒米品種の遺伝的系譜を推察できる可能性を見出した。

1. はじめに

近年、清酒業界では「純米酒」の需要が国内外で高まっている。地域の気候風土の中で醸される純米酒は、農商工連携を担う地域創成において重要な製品となっている。清酒業界では純米酒の地域ブランド化や海外展開を図るため、原産地呼称や地理的表示の確立に積極的に取り組んでいる。また、世界ブランドであるワインにおいて原料ブドウ品種の酒質特性が確立しているように、純米酒においても原料酒米と酒質の間の明確な指標が切望されている。近年、メタボローム解析により県産酒の特性を評価する研究が行われている¹⁾²⁾。そこで、原料酒米の特質を活かした地域ブランド純米酒の新規開発を目的として、従来型の酒米分析による醸造特性評価に加え、酒米の主要構成成分であるでんぷんやたんぱく質に由来する製成酒成分(不揮発性成分)をメタボローム解析し、酒質から酒米の特性を評価することを試みた。

2. 実験方法

2.1 従来型分析による酒米評価

2.1.1 試料

愛知県産酒米「若水」、「夢山水」、「夢吟香」及び日本 3 大酒米「山田錦」(兵庫県産)、「五百万石」(富山県産)、「美山錦」(長野県産)の 6 品種を選抜し、小型精米機により精白した、平成 28 年度産の 70%白米、60%白米及び 50%白米を使用した。

2.1.2 酒米分析

酒造用原料米全国統一分析法³⁾に準拠し、試料米のたんぱく質含量の測定及び消化性試験を行った。

2.1.3 純米酒小仕込試験

試料米及び乾燥麹(徳島製麹(株)、60%白米)を使用し、麹歩合 20%、汲水歩合 130%(70%白米)、140%(60%白米)及び 150%(50%白米)で総米 50g の小仕込試験(1 段仕込み)を行った。酵母は K901 及び K1801 を使用し、発酵温度は、70%白米仕込、60%白米仕込及び 50%白米仕込でそれぞれ、15°C、13°C及び 10°Cに設定した。

2.1.4 製成酒の成分分析

もろみ日数 20 日目(70%白米)、25 日目(60%白米)及び 30 日目(50%白米)に上槽を行った。5000rpm、20 分(10°C)の条件で遠心分離し、得られた上澄液について、日本酒度、酸度及びアミノ酸度を測定⁴⁾した。アルコール分の測定には、アルコメイト(AL3、(株)ウッドソン)を用いた。

2.2 純米酒メタボローム解析による酒米評価

2.2.1 GC/MS による網羅分析

製成酒にリピトール(内部標準)を添加して凍結乾燥後、誘導体化した試料を GC/MS(TQ8040、(株)島津製作所)により網羅分析した。分析条件を表 1 に示す。

表 1 GC/MS 分析条件

GC	分離カラム: DB-5 長さ30m 膜厚1.00µm 内径0.25mmID カラムオープン温度: 昇温法 100°C(4min)-10°C/min-320°C(11min) 気化室温度: 280°C 注入モード: スプリット (スプリット比20) 制御モード: 線速度 カラム流量: 1.1mL/min
MS	イオン源温度: 200°C インタフェース温度: 280°C 測定モード: MRM

った。

2.2.2 統計解析

*1 食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 *2 共同研究支援部 計測分析室

GC/MS による網羅分析により得られた分析値について、多変量統計解析ソフト MetaboAnalyst3.0 を使用し、主成分分析 (PCA) 及び階層クラスター分析を行った。

3. 実験結果及び考察

3.1 従来型分析による酒米評価

3.1.1 各種酒米のたんぱく質含量の比較

各種酒米のたんぱく質含量を **図 1** に示す。愛知県産酒米品種は、全国で最も栽培量の多い山田錦と比較して、たんぱく質含量が高い傾向を示した。

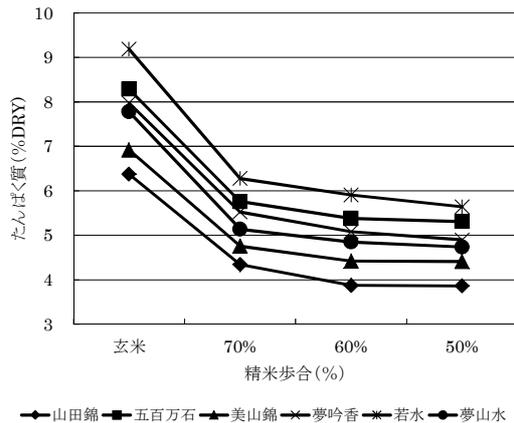


図 1 各種酒米のたんぱく質含量の比較

3.1.2 各種酒米の消化性 Brix 値の比較

各種酒米の消化性 Brix 値について、山田錦の Brix を 1 としたときの相対値を **図 2** に示す。消化性 Brix 値は、米(でんぷん)の溶解性を示す指標である。五百万石は山田錦と比較して、溶けにくい性質を示した。愛知県産酒米において、若水及び夢吟香は 70% 白米では山田錦より Brix 値が高いが、50% 白米では低かった。精白度が高くなることで、米が老化し易い傾向を示した。なお、夢山水は山田錦と同等の消化性を示した。

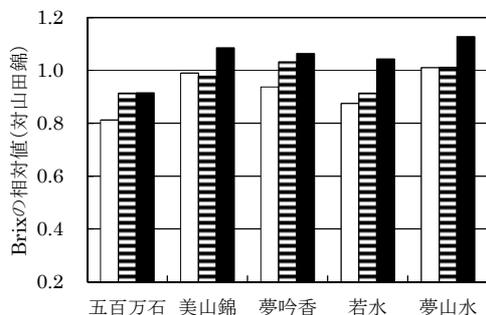


図 2 各種酒米の消化性 Brix 値の比較
□ 50% (10°C) ■ 60% (13°C) ■ 70% (15°C)
カッコの中は消化温度

以上、従来型分析である酒米分析は、白米のたんぱく質含量や清酒製造過程におけるでんぷんの溶解性を評価

することはできるが、酒質特性はわからない。よって、純米酒小仕込試験を行い、酒質評価を行うこととした。

3.1.3 各種純米酒の成分比較

各種純米酒の成分比較を **図 3** に示す。アルコール分、酸度及びアミノ酸度については、精白度が高くなるにつれて、数値が低くなる傾向が認められた。これは、①精米による米中のたんぱく質や脂質などの栄養成分の減少、②発酵温度の低温下に伴う酵母の発酵及び代謝抑制、③汲水歩合の増加に伴い成分が希釈されたためと推察される。しかし、品種間に顕著な相違は認められなかった。日本酒度において、五百万石の特異性が認められたが、その他の品種間に顕著な相違は認められなかった。並行複発酵や呈味性を指標とする従来型の簡易分析値では、酒米の特性を明確に表すことは困難であった。なお、酵母の違いによりアルコール発酵や糖代謝、アミノ酸の資化が異なるため、製成酒のアルコール分、酸度及びアミノ酸度の数値に相違を認めた。以上の結果を踏まえ、製成酒成分について GC/MS を用いた網羅分析を酵母別に行い、酒米の特性評価を行うこととした。

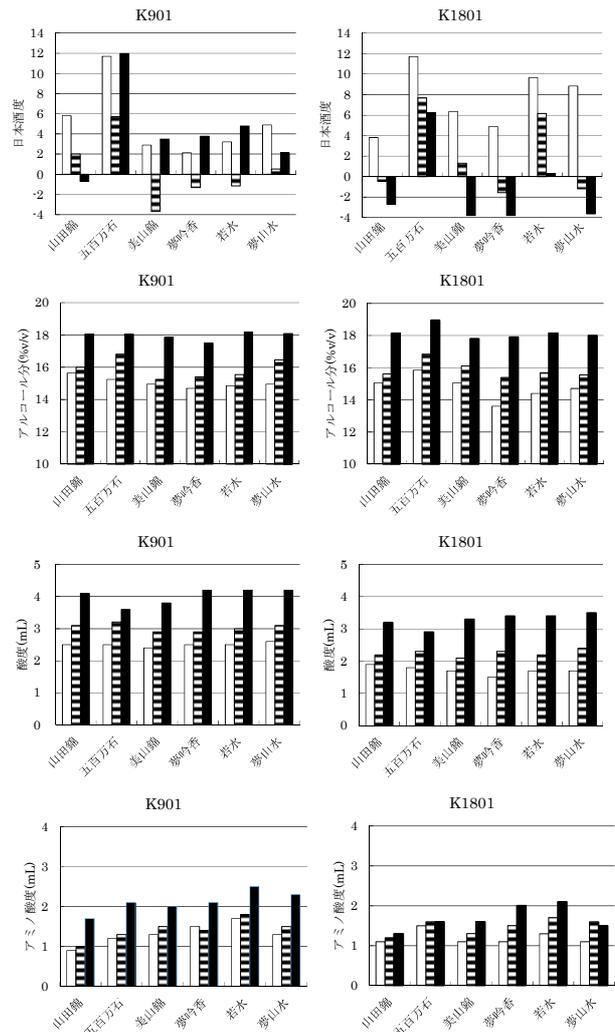


図 3 各種純米酒の成分比較
□ 50% ■ 60% ■ 70%

3.2 純米酒メタボローム解析による酒米評価

3.2.1 精米歩合による純米酒の酒質差の評価

K901 は酢酸イソamil(バナナ様香)、K1801 はカブロン酸エチル(リンゴ様香)を主要香気成分として生成する酵母である。両者による製成酒は官能審査により明確に区別することができる。製成酒の網羅分析を行った結果、K901 酒では 198 成分、K1801 では 200 成分を検出することができた。酵母別に各種精米歩合の純米酒について PCA を行った結果を図 4 に示す。K901 酒(寄与率：第 1 主成分 46.5%、第 2 主成分 24.2%)、K1801 酒(寄与率：第 1 主成分 60.8%、第 2 主成分 28%)ともに高い累積寄与率で構成され、精米歩合別の酒質差を視覚的にプロットすることができた。Loading Plot(上位 50 成分)の結果、第 1 主成分はアラニンやロイシンなどのアミノ酸類の寄与率が高く、第 2 主成分はマルトース、イソマルトース、マンノース、アロースなどの糖類の寄与率が高い結果が得られた(結果は図示せず)。これらの事象から、第 1 主成分を濃淡、第 2 主成分を甘辛と

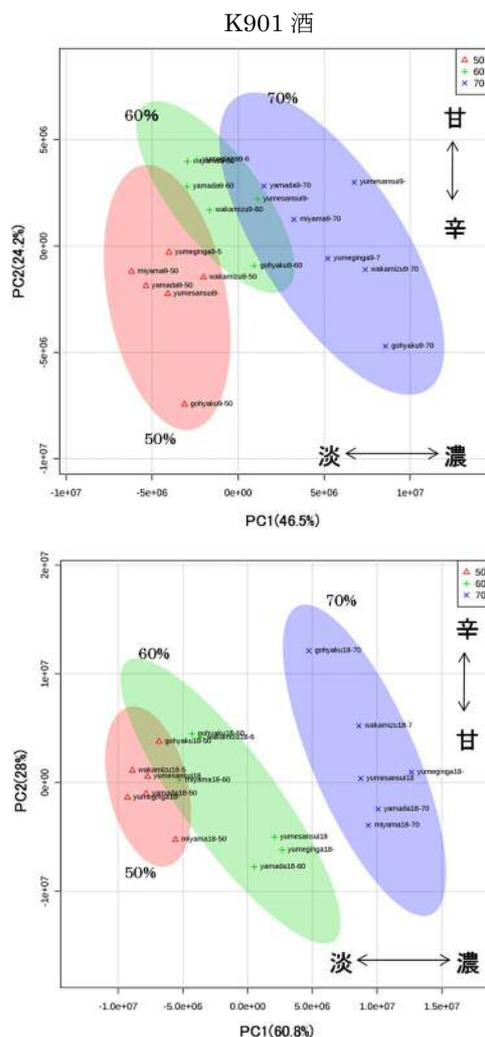


図 4 純米酒 PCA による Score Plot

総括した。K901 及び K1801 酒はいずれにおいても精米歩合が高くなると第 1 主成分の得点が増加した。精米歩合が高くなると、タンパク質が多くなり、酒中のアミノ酸が増加するという事象に合致した結果が得られた。

3.2.2 酒米品種による純米酒の酒質差の評価

50%白米の純米酒について、酒米品種による酒質差の評価を行うため、PCA 及び階層クラスター分析を行った。PCA の Score Plot をそれぞれ図 5 に、階層クラスター分析の結果を図 6 に示す。

K901 50%酒(寄与率：第 1 主成分 59.7%、第 2 主成分 25.4%)、K1801 50%酒(寄与率：第 1 主成分 59%、第 2 主成分 31%)ともに高い累積寄与率で構成され、酒米品種別の酒質差を視覚的にプロットすることができた。Loading Plot(上位 50 化合物)の結果、K901 酒及び K1801 酒共通の化合物として、第 1 主成分ではアラニン、第 2 主成分ではマルトース、マンノース、アロースの主成分負荷量が高かった。また、K901 酒では第 1 主成分にバリン、K1801 酒では第 2 主成分にイソマルトースの主成分負荷量が特異的に高かった(結果は図示せず)。第 1 主成分を旨味、第 2 主成分を甘味と位置付けることで、酵母別の製成酒において、酒米の酒質差を視覚化することができた。

階層クラスター分析では、愛知県産酒米である若水、夢山水及び夢吟香酒の位置づけについて、K901 酒では、夢吟香とその親系統である若水は酒質的にも近縁で、五百万石より山田錦に近い酒質を示した。夢山水は、親品種である山田錦に近い酒質を示した。K1801 酒では、夢山水及び夢吟香は親品種である山田錦に近い酒質を示し、若水も親品種である五百万石に近い酒質を示した。

酒米の系譜(図 7)と本結果との比較から、製成酒に含まれる原料酒米及び酵母の代謝由来の成分を階層クラスター解析することにより、①酒質の類似性を明確にすることができ、②酒米品種の遺伝的系譜を推察できる可能性を見出した。

4. 結び

- (1) 酒米分析により、愛知県産酒米はたんぱく質含量が高く、老化性は夢山水-夢吟香-若水の順に高い傾向を示した。
- (2) 純米酒小仕込試験を行った結果、精米歩合別の製成酒に顕著な成分差は認められなかった。一方、酵母別の製成酒間には成分差が認められた。
- (3) GC/MS による純米酒成分の網羅分析を行い、酵母別で PCA を行った結果、いずれも第 2 主成分までの累積寄与率が 70%以上を示し、精米歩合及び酒米品種の酒質差を視覚化することができた。また、製成

酒の階層クラスター解析により酒米品種の遺伝的系譜を推察できる可能性を見出した。

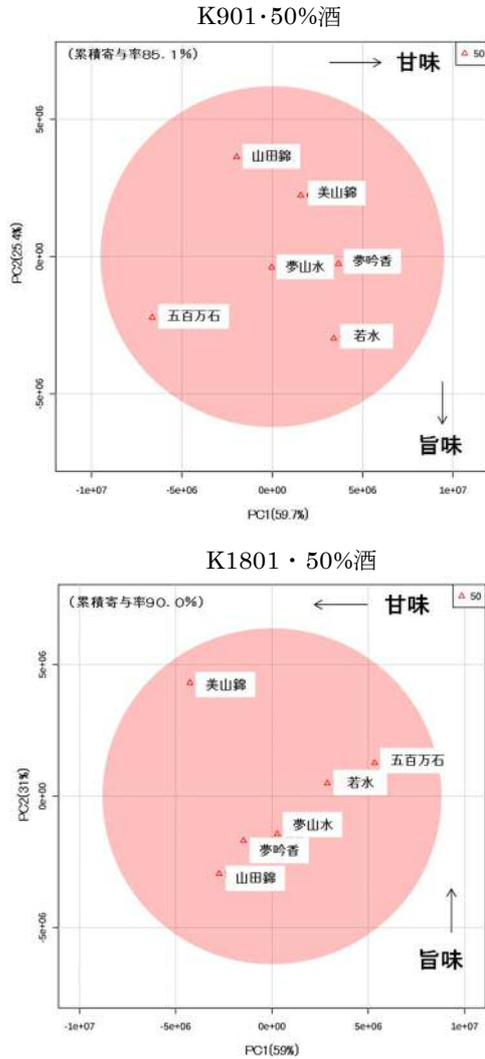


図5 酒米品種による純米酒 PCA による Score Plot

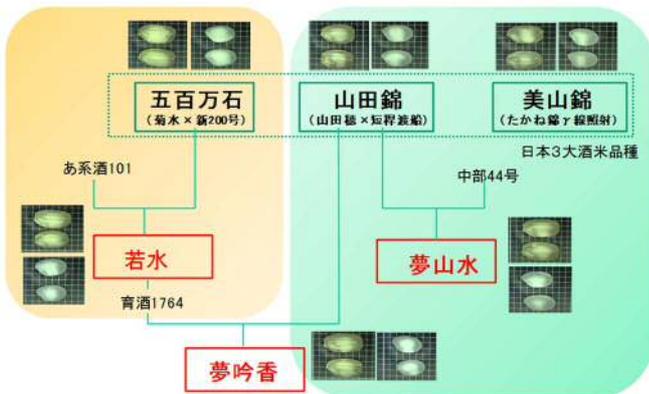


図7 酒米の系譜

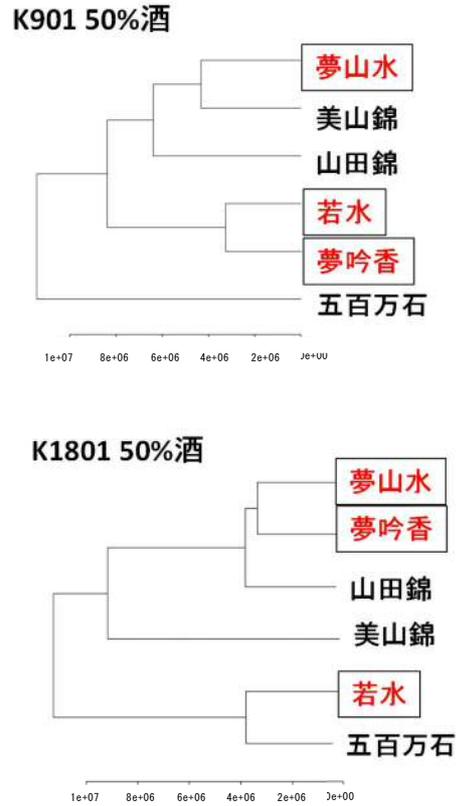


図6 50%白米純米酒の階層クラスター

付記

試料米について、半田酒造協同組合、神杉酒造(株)、山崎(資)、東春酒造(株)及び中島醸造(株)から供試を受けた。

文献

- 1) 樋口誠一,横堀正敏,仲島日出男: 埼玉県産業技術総合センター研究報告,14, 68(2016)
- 2) 澤田和敬: 平成 28 年度佐賀県工業技術総合センター研究報告書,55,7(2017)
- 3) 酒米研究会編: 全国酒米統一分析方法(平成 8 年 10 月 25 日)
- 4) 独立行政法人酒類総合研究所編: 酒類総合研究所標準分析法(平成 29 年 4 月 6 日)