J. Brew. Soc. Japan.
Vol. 87, No. 4, p.312~314 (1992)

各種醸造用酵母のマルトオリゴ糖に 対する発酵特性

稲橋正明・吉田 清・中村欽一

(〈財〉日本醸造協会)

平成3年4月11日受理

Fermentability of Various Brewing Yeasts on Malto-oligosaccharides

Masaaki INAHASHI, Kiyoshi YOSHIDA
and Kin-ichi NAKAMURA

(Nippon Jozokiyokai (Brewing Society of Japan)
2-6, Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114)

Fermentation of malto-oligosaccharides by various brewing yeasts, mainly belonging to Kyokai yeasts was examined. It was observed that each yeast showed a remarkable difference in the fermentation ability among maltose, maltotriose, isomaltose, isomaltotriose etc.

Key words : 醸造用酵母・マルトオリゴ糖・発酵特性—

緒 言

清酒中にはグルコース (G_1), マルトース (G_2), 及びいわゆる非発酵性オリゴ糖としてのイソマルトース (iG_2), イソマルトトリオース (iG_3), パノース (P), コウジビオース (K), ニゲロース (N) が清酒に存在することが知られている¹⁾。

市販清酒の糖組成の中でオリゴ糖の全糖に占める割合が12~25%程度, 特に iG_2 は清酒中0.5%程度含まれているが, これらオリゴ糖, 特に G_3 以上の α -1,4 結合及び G_2 以上の α -1,6 結合を含むオリゴ糖, また α -1,2, 1,3 結合のオリゴ糖は通常の酵母では発酵し難いか, 全く発酵されないといわれている^{2,3)}。

iG_2 の6号, 7号清酒酵母による資化性, 発酵性は麻生ら⁴⁾により, また G_1 と G_2 の混合糖類のNP酵母による資化性は馬場ら⁵⁾によりすでに報告されているが, われわれは醸造酵母の菌株によるオリゴ糖発酵性の差異を比較検討するとともに, オリゴ糖含量の高い清酒製造⁶⁾にオリゴ糖非発酵性酵母の利用の可能性を探るための基礎的実験を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 供試酵母

すべて当協会試験室の保存菌株を用いた。

1) 協会酵母

清酒用: 6号, 7号, 9号, 10号, 11号, 12号, 13号, 601号, 701号, 901号, 1001号, ワイン用: W-1, W-2, W-3. 焼酎用: S-2.

2) 他の代表的な醸造用酵母

焼酎酵母: NJK. 6404, 6409, 6410, 6413. ビール酵母: 上面酵母: NJK. 6208, 下面酵母: NJK. 6209.

2. 粉末水あめ

東洋醸造社製粉末水あめ TGP Lot No.2 を用いた。

粉末水あめを培地に使用した理由はこれが α -1,4 結合のマルトオリゴ糖を主成分としているためである。なお, 粉末水あめの糖組成は, G_1 10.0%, G_2 11.0%, G_3 8.0%, G_4 6.0%, G_5 5.0%, G_6 6.0%, G_7 以上 54% である。

3. 粉末水あめ中のマルトオリゴに対する発酵能

各種マルトオリゴ糖を含んでいる上記粉末水あめを使用し, YEPD 培地 (ポリペプトン 2.0%, 酵母エキス 1.0%, グルコース (G_1) 2.0% で 30°C, 3日間前培養した供試酵母を下記に示す粉末水あめ培地に1白金耳接種し, G_1 が消費されるのに2日間を要するため, 25°C, 10日間発酵させた後, 各マルトオリゴ糖含量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって測定した。なお, 発酵能は各オリゴ糖を含む被験培地を酵母により25°C, 10日間発酵させた時の糖の減少率と定義した。

粉末水あめ培地組成: ポリペプトン 1.0%, 酵母エキス 0.6%, 粉末水あめ 10%。

4. iG_2 及び iG_3 に対する発酵能

iG_2 及び iG_3 は粉末水あめ中には含まれていないので次に示す培地によって試験した。

iG_2 及び iG_3 培地組成: G_1 1.0%, 東京化成製 (1級) iG_2 及び iG_3 各 1.0% (HPLC によりシグマ製の iG_2 , iG_3 と同じであることを確認した), ポリペプトン 1.0%, 酵母エキス 0.6%。

5. 酵母による各オリゴ糖の消費順序

酵母による各オリゴ糖の消費される順序を調べるためには次に示す培地を調製し試験した。

培地組成: G_1 , G_2 , G_3 , iG_2 , iG_3 , 及び P 各 1.0%, ポリペプトン 1.0%, 酵母エキス 0.6%。

6. HPLC による各種マルトオリゴ糖の分別定量

各種マルトオリゴ糖は HPLC により分別定量した。なお, HPLC の条件は下記の通りである。

Table 1 Fermentation characteristics of various brewing yeasts for malto-oligosaccharides contained in powdered starch hydrolyzate.

strain	sugar	Maltose	Maltotriose	Maltotetraose
Sake yeast	6	0	45	100
	7	0	99	100
	9	0	14	100
	10	65	100	100
	11	93	100	100
	12	0	14	100
	13	50	100	100
	601	0	58	100
	701	0	19	100
	901	0	14	100
	1001	98	100	100
Wine yeast	W-1	0	0	100
	W-2	0	59	100
	W-3	0	82	100
Shochu yeast	S-2	0	100	100
	6404	0	98	100
	6409	0	94	100
	6410	12	100	100
	6413	0	67	100
Brewers yeast	6208	0	0	78
	6209	0	0	84

※ Each value shows the residual ratio (%) of sugar after incubation at 25°C for 10 days, at that time glucose was completely consumed, but any G₅ and G₆ were not (Both Residual ratios were 100%).

Instrument.....Shimadzu LC-5 A, Sample.....1.0 μ l
 Column.....Zurbax NH₂ 0.15 m $\times$ 4.6 ϕ ,
 Mobile phase.....Acetonitrile/Water 65/35 or 75/25
 Column temp.....40°C, Flow rate.....1.00 ml/min,
 Detector.....RI ERC-7520.

Fig. 1 HPLC chromatogram of sugars in test medium.

Table 2 Fermentation characteristics of various brewing yeasts for isomaltose and isomaltotriose.

strain	sugar	Isomaltose	Isomaltotriose
Sake yeast	6	0	43
	7	32	84
	9	0	18
	10	25	92
	11	28	96
	12	0	15
	13	19	38
	601	0	58
	701	0	15
	901	0	18
	1001	21	96
Wine yeast	W-1	73	100
	W-2	0	60
	W-3	0	24
Shochu yeast	S-2	89	100
	6404	90	100
	6409	88	100
	6410	92	100
	6413	0	20
Brewers yeast	6208	10	15
	6209	0	10

※ Each value shows the residual ratio (%) of sugar after incubation at 25°C for 10 days, at that time glucose was completely consumed.

Range (Sensitivity).....8, Chart speed.....5 mm/min.

結果及び考察

1. マルトオリゴに対する発酵能

Table 1 に供試酵母による粉末水あめ中のマルトオリゴ糖発酵能を示し、Fig. 1 に試験培地の糖組成クロマトグラムを示した。

2. iG₂ 及び iG₃ に対する発酵能

Table 2 に供試酵母による iG₂ 及び iG₃ 発酵能を示した。

以上各菌株の G₂, G₃, iG₂, iG₃ に対する発酵能を分類すると以下ようになる。

- ① いずれのオリゴ糖をも良く発酵する株.....6号, 9号, 12号, 601号, 701号, 901号, NJK 6208, 6209, W-2, 及び NJK 6413。
- ② G₂, G₃ のみを良く発酵する株.....W-1。
- ③ G₂, iG₃ のみを良く発酵する株.....7号, 10号。
- ④ G₂ のみを良く発酵する株.....S-2, NJK 6404, 6409, 及び 6410。

Fig. 2 Time course of consumption of each oligosaccharide by Kyokai No.9 sake yeasts.

—○—Glucose —△—Maltose —□—Maltotriose
—●—Panose —▲—Isomaltose —■—Isomaltotriose

- ⑤ iG_2 を良く発酵するが, G_2 , G_3 , iG_3 の発酵能が非常に弱いか全く発酵しない株……11号, 1001号。
⑥ G_2 , iG_2 , iG_3 を良く発酵するが, G_3 の発酵能の非常に弱い株……13号, W-3。

このタイプは G_3 発酵能が弱いのに iG_3 を良く発酵する酵母であり, その原因については不明である。

このようにある酵母によっては, いわゆる非発酵性糖といわれるものでも良く発酵した。しかしながら発酵性の弱い酵母は, G_1 が存在しなくても発酵能は弱かった。

また親株と泡なし株において, 7号と701号の G_3 発酵能, 10号と1001号の G_2 発酵能に違いが認められたが, 7号と701号では, ある種の糖の発酵性(701号は α -メチル-D-グルコシドを良く発酵するが, 7号は発酵しない)が異なることが分かっており⁷⁾, G_3 の発酵性の違いもこれらに関連しているかどうか現在検討中である。また, 10号と1001号の G_2 発酵能の違いについては, 6号と601号の G_3 発酵能(発酵能に大差ない)を含めて将来検討したい。

3. 酵母による各オリゴ糖の消費順序

数種類のオリゴ糖を発酵する菌株のうち, 現在よく使われている9号について各オリゴ糖の消費される順序を

調べた結果を Fig. 2 に示した。 G_1 が1%の培地において, G_1 が約80%消費されると次に G_2 , iG_2 がこの順で徐々に消費された。また G_2 , iG_2 が約50%消費されると G_3 が徐々に消費され, さらに P , iG_3 の順に消費されることが明らかになった。

以上, 酵母の粉末水あめ中のマルトオリゴ糖の発酵性やイソマルトース, イソマルトトリオースの発酵性を比較することにより醸造用酵母の各オリゴ糖に対する発酵特性をとらえることができた。オリゴ糖発酵性の違う酵母を使用してはたして清酒中のオリゴ糖含量の異なる清酒ができるかどうかについては現在検討中である。

要 約

協会酵母を主体とした各種醸造用酵母のマルトオリゴ糖の発酵特性を調べた。それぞれの酵母による G_2 , G_3 , iG_2 , iG_3 などの発酵性には顕著な特徴が見られ, それらを G_2 , G_3 の発酵能が強く, iG_2 , iG_3 の発酵能が弱い酵母, G_2 の発酵能が弱く, iG_2 の発酵能が強い酵母など6つのタイプに分けることができた。また, 供試菌の中で特にオリゴ糖の発酵能が強い協会9号酵母の各オリゴ糖に対する消費順序を明らかにすることができた。

終わりに臨み, 本研究に終始ご指導を賜りました当協会会長村上英也博士及び副会長野白喜久雄博士に深く感謝致します。

文 献

- 1) 日本醸造協会：醸造成分一覧, p.8 (1977)
- 2) 麻生 清, 柴崎一雄, 山内文男：醸工, 32, 47 (1954)
- 3) 小林昭一, 貝沼圭二：醸協, 77, (9) 581 (1982)
- 4) 麻生 清, 柴崎一雄, 卜部 紫朗：醸工, 31, 81 (1954)
- 5) 布川弥太郎：澱粉科学, 28, (2) 109 (1981)
- 6) 馬場 茂, 小栗 勇, 福沢幹夫, 森山敬子, 飯田俊彦, 小林 巖, 今井謹也：醸協, 69, (7) 453 (1974)
- 7) 吉田 清, 野呂二三, 稲橋正明, 村上英也：醸協, 77, (6) 413 (1982)