

繰り返し回分式清酒醸造における酵母菌体内S- アデノシルメチオニン

誌名	東京農業大学農学集報
ISSN	03759202
著者名	進藤, 斉 高橋, 康次郎 佐藤, 和夫
発行元	東京農業大学
巻/号	56巻3号
掲載ページ	p. 242-247
発行年月	2011年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



繰り返し回分式清酒醸造における 酵母菌体内 S-アデノシルメチオニン

進藤 齊*・高橋康次郎*・佐藤和夫*

(平成 23 年 5 月 19 日受付/平成 23 年 9 月 13 日受理)

要約：一段仕込みの醪及び固液共存培地の両方を用い、酵母の増殖プロセスと発酵プロセスを区別して SAM 動向を検討した。酵母を過剰接種して増殖を廃すると、低温下における酵母菌体内 SAM 高蓄積などの含硫物の特徴的な動向の差は縮小傾向となった。これにより低温下での酵母菌体内への SAM の高蓄積には、低温で増殖することの影響が大きいことが明らかとなった。また、酵母の過剰添加は醪の発酵にも大きく影響し、特に醪初期のポーメの低下とアルコール生成が早期化し、結果的に発酵期間は数日短縮された。

また、この醪から酵母菌体を遠心分離により回収し、次醸造へ再利用する回分醸造を試みた。回分醸造でも増殖プロセスを廃して順次スケールダウンして進めると、3 回目または 4 回目以降では発酵に支障はないものの、アミノ酸度と製成酒中の S-アデノシルメチオニン (SAM) の増加が顕著であり、酒質も明らかに異なり、味のくどさや苦味が感じられた。その一方、回収菌体を繰り返し利用しても、酵母菌体内に SAM が高蓄積され続けることはなく、1 回目の醸造以降に極端な増加が認められることはなかった。

さらに、固液共存培地を用いて比較したところ、糖などは徐々に供給され並行複発酵しているが、醪初期のように米粒溶解に起因する固形物の減少や流動性の向上などの変化がないためか、発酵経過と SAM 蓄積は回分醪ほどの差にはならなかった。このことから、醪初期の溶解に伴う流動性の向上及びポーメ低下がもたらす影響が重要であることが明らかとなった。

キーワード：清酒醸造, yeast, 含硫化合物, S-adenosylmethionine, 回分醸造

緒 言

著者らは、これまでに低温醪での含硫物動向については遊離メチオニンの構成比が低く¹⁾、酵母菌体内の S-アデノシルメチオニン (SAM) の蓄積量が多いことを報告した²⁾。また、本現象は単発酵では認められず¹⁾、これを再現可能なモデル培地として固液共存培地を考案した^{2,3)}。さらにこれらの特徴的な含硫物動向は、吟醸酒醪で顕著であることを報告した⁴⁾。

一方、清酒醪は段仕込みによる酵母密度の希釈⁵⁾のため、初期に増殖を必然的に伴う。しかし従来の醪のアミノ酸及び含硫物動向⁶⁾は、増殖と発酵の各プロセスを区別しておらず、このため含硫アミノ酸の増殖による資化とその後の酵母の消費とを厳密に区別することは困難であり、また、固液共存培地でも検討対象外であった。

そこで固液共存培地及び小仕込みで過剰量の酵母添加により増殖プロセスを廃した条件で、含硫物動向を検討した。

また、前培養にメチオニンを過剰に含む培地を用いて SAM 高含有酵母を調製し、これを用いた仕込みを同様にを行い、菌体内及び醪濾液中の SAM 動向を検討した。

さらに SAM 等の蓄積が予想される発酵終了菌体を回収し、次仕込に過剰量接種し、増殖を廃した条件での SAM

動向及び、通常仕込みにおける醪末期での SAM 蓄積以上の高蓄積が認められるかについて検討した。また、この回収酵母菌体による半連続的な回分式清酒醸造への酵母の利用を試み、酒質への影響について検討した。

実 験 方 法

(1) 小仕込方法

1) 供試酵母及び前培養

清酒酵母きょうかい 7 号 (K-7) を使用した。前培養は、グルコース 2%、酵母エキス 0.5%、ポリペプトン 0.5% の GYP 培地を用いた。

2) 高 SAM 蓄積酵母の調製

GYP 培地にメチオニンを 0.1% 添加した培地を用い、30 °C で 48 hr 培養して高 SAM 含有酵母を調製した。

尚、各培養菌体は、3000 rpm、15 min の遠心分離にて回収後、原量の 1/5 量となるよう懸濁して酵母数を測定後、各仕込条件の接種量に合わせて適宜仕込水に懸濁して用いた。

3) 小仕込み

酵母を 10^6 cells/g・mash 以上接種することで安全醸造が確立できている一段仕込法を採用した。基本仕込み配合は総米 400 g とし、麴米 92 g、蒸米 308 g とした。汲水には 0.05% 乳酸水を 600 ml 用い段仕込を廃した。これは一般

* 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科

の三段仕込分の配合を一度に仕込むこととしたもので、乳酸添加量も酒母または添の汲水に用いられる量を参考にし、濃度を下げて使用した。

また仕込み初発において、前培養菌体を 10^6 cells/g·mash または 10^8 cells/g·mash 接種した。

4) 酵母菌体回収及び菌体再利用による回分醸造

醪を 3000 rpm, 15 min 遠心分離し、液部を分析試料または製成酒として分離した。続いて沈殿表面のペースト層と酵母層を共にスパーテルにて回収し、適宜懸濁して、検鏡下で Thoma 氏血球計にて酵母数を測定した。2 回目以降の回分醸造ではこれを 3×10^6 cells/g·mash または 3×10^8 cells/g·mash となるよう接種し、段仕込を廃し、品温は 10, 15°C 一定温で行った。また 3×10^8 cells/g·mash 接種条件では、この過剰接種条件を維持するために上記の仕込み配合のまま適宜スケールダウンして、この回分を最大 5 回まで行い、発酵経過及び SAM 動向を検討した。

但し回分醸造の 1 回目は、前培養菌体を 10^6 cells/g·mash または 10^7 cells/g·mash 接種した。

(2) 固液共存培地

1) 固液共存培地の調製法

培地調製は、前報³⁾ 同様に行った。また本研究における使用培地は、全て前報⁷⁾ と同様、固体部を平板状に成型した PF 培地を用いた。

2) 培養方法

初発酵母は、小仕込み同様に前培養して回収した菌体を、小仕込みと同様に液部に対し 10^6 または 10^8 cells/ml 接種し、培養温度は 15°C とした。

3) 酵母菌体回収及び菌体再利用による発酵試験

培養終了後、十分に攪拌して液部を回収し、小仕込みと同条件で遠心分離し用いた。

(3) 分析方法

1) 分析試料調製及び一般分析

前報^{3,4)} と同様⁸⁾ に行った。

2) アミノ酸組成分析及び SAM 測定

前報^{3,4)} と同様に行った⁹⁻¹²⁾。

また、SAM については、菌体内蓄積量と酵母密度との積、及び液部と液量から総量を求め、酵母菌体内の保持率を算出した。

実験結果及び考察

1) 一段仕込みの発酵経過とアミノ酸組成及び SAM の動向

一段小仕込みにおける酵母の増殖データは割愛したが、10°C, 15°C いずれの条件でも 10^8 cells/g·mash 接種では、菌体増殖を伴わないことが明らかとなった。これは後述の固液共存培地にも共通であった。

この時の醪中のボーメ及びアルコール濃度の経時変化を図 1 に示した。ボーメの切れ及びアルコール生成は、温度差に従った速度差はあるものの順調であり、10°C でも初発酵母 10^8 cells/g·mash 接種では 15°C の 10^6 cells/g·mash

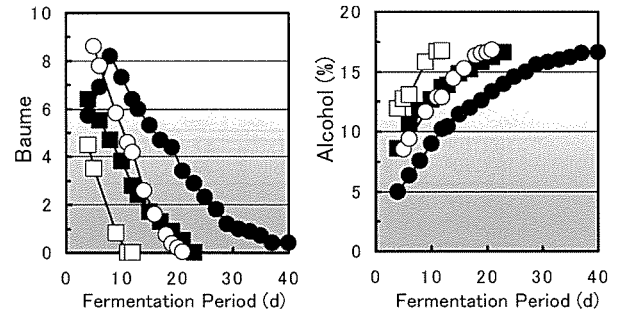


図 1 初発酵母密度と発酵温度を変えた醪のボーメ及びアルコールの経時変化
Symbols; ■; 10°C 10^8 , ●; 10°C 10^6
□; 15°C 10^8 , ○; 15°C 10^6

表 1 初発酵母密度と発酵温度を変えた製成酒アミノ酸組成

	10°C 10^8	10°C 10^6	15°C 10^8	15°C 10^6
Lys	4.3	2.9	5.5	4.8
Ser	4.6	3.4	5.1	4.2
Thr	10.6	7.6	11.7	9.6
Met	1.8	1.1	2.5	1.4
His	3.1	1.9	2.5	1.7
Leu	9.0	7.7	8.5	6.6
Cys	0.0	0.0	0.0	0.0
Asp	4.8	3.0	4.6	3.0
Ile	3.9	3.5	3.4	2.8
Glu	12.5	9.6	12.5	11.3
Phe	7.2	6.2	6.0	4.6
Arg	1.7	14.5	3.3	12.7
Val	5.8	6.0	6.5	5.1
Tyr	6.4	6.7	5.1	5.1
Ala	9.2	11.5	10.1	13.7
Gly	7.1	6.6	6.2	6.1
Pro	8.0	7.9	6.4	7.3
TOTAL (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
TOTAL (mg/l)	1550	2310	1991	2774

接種と差がなかった。

また、初発酵母 10^8 cells/g·mash 接種では 10^6 cells/g·mash 接種に比べ初期発酵が著しく速く、留翌日の米粒溶解及び醪の流動化が顕著に異なった。このことはボーメの急激な低下と低推移からも明らかであり、酵母増殖に掛かるタイムラグ無しに発酵が進み、溶解と発酵の両方が急速に進んでいることが示された。この傾向は醪期間中も継続され、結果的に醪期間は 7 日から 10 日程度も短縮した。

次に製成酒中の遊離アミノ酸組成を表 1 に示した。

いずれの初発酵母密度でも発酵温度 10°C では、15°C に比べメチオニン構成比が低く再現性が得られたが、増殖を伴う 10^6 cells/g·mash 接種の方がより顕著であった。増殖を廃した条件では、アルギニン構成比が低く、特徴的であり、取り込みとの関与が考えられたが、詳細検討には至らなかった。

次に醪上槽時の酵母菌体内の SAM 濃度を表 2 に示した。

菌体内 SAM 濃度は、発酵温度 10°C, 10^6 cells/g·mash 接種では $33.0 \text{ mg}/10^{10} \text{ cells}$, 10^8 では同 16.9 mg であった。

表 2 醪の発酵温度と初発酵母密度が菌体内 SAM 濃度に与える影響

	Intracellular (mg/10 ¹⁰ cells)	Sake (mg/l)	Total SAM in 100g of mash (mg)
10°C10 ⁶	33.0	7.7	47.6
10°C10 ⁸	16.9	8.1	30.1
15°C10 ⁶	10.2	13.4	18.8
15°C10 ⁸	3.7	16.2	12.2

表 3 固液共存培地の発酵温度と初発酵母密度が菌体内及び液部 SAM 濃度に与える影響

	Intracellular (mg/10 ¹⁰ cells)	Medium (mg/l)	Total SAM in medium (mg)
PF10°C10 ⁶	48.0	16.9	33.3
PF10°C10 ⁸	12.4	12.7	14.8
PF15°C10 ⁶	9.7	13.2	9.9
PF15°C10 ⁸	1.9	10.4	3.5

15°C では 10⁶ cells/g・mash 接種での 10.2 mg に対し、10⁸ では 3.7 mg であった。10⁶ 条件では、増殖へのメチオン消費が推定されるにも関わらず、いずれも SAM 蓄積が高く、増殖によるメチオンの消費相当分に由来する SAM が上乗せ高蓄積されることはなかった。このことから、本条件における SAM 蓄積は、単にメチオン供給量のみ依存するのではないことが明らかとなった。このことから並行複発酵状態、すなわち糖やアミノ酸他が徐々に供給される系で増殖することが重要であると考えられた。

2) 固液共存培地における SAM の動向

固液共存培地での培養終了時の菌体内の SAM 濃度を表 3 に示した。

低温かつ増殖を伴う 10°C、10⁶ cells/ml 接種で菌体内 SAM 濃度が 48 mg/10¹⁰ cells と最大であり、10°C、10⁸ の同 12 mg、15°C 両条件では 10 mg 以下で、特に 10⁸ 条件では約 2 mg と低かった。これらは醪と同傾向で、増殖プロセスと SAM 蓄積との関連性が考えられた。

3) SAM 高蓄積酵母を用いた醪における菌体内 SAM の動向

SAM 高蓄積酵母を用いた醪の菌体内及び液部の SAM 動向を図 2 に示した。

前培養酵母の菌体内 SAM 含量は、メチオン添加培地由来では 55 mg/10¹⁰ cells と高蓄積であり、メチオン無添加の通常の GYP 培地由来の酵母では菌体内 SAM は認められなかった。

10⁶ cells/g・mash 接種では、仕込み後の増殖に伴って菌体内 SAM 濃度は、前培養培地の条件にかかわらず、数日の間に約 2 mg/10¹⁰ cells まで低下した。その後、単位菌体当たりの SAM 濃度は増加したが、初発酵母菌体内の SAM 濃度は、醪中の酵母菌体内 SAM 蓄積量そのものに大きく影響を与えないことが明らかとなった。

10⁸ cells/g・mash 接種では、増殖が見られなかったため、SAM 高蓄積酵母を用いた条件では、仕込み直後から菌体内 SAM 濃度の低下と共に液部の SAM 濃度が上昇

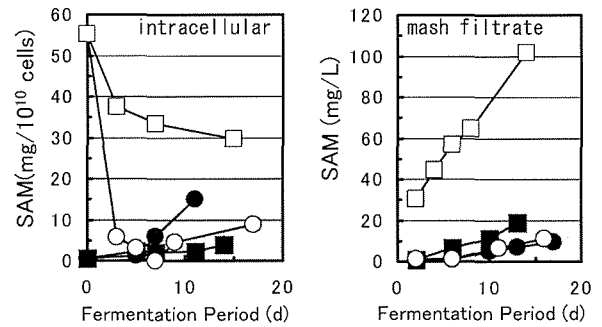


図 2 SAM 高蓄積酵母を用いた醪の菌体内と醪液部の SAM 濃度の経時変化
Symbols ; ■ ; 15°C 10⁸対照, ● ; 15°C 10⁶対照, □ ; 15°C 10⁸高 SAM, ○ ; 15°C 10⁶高 SAM

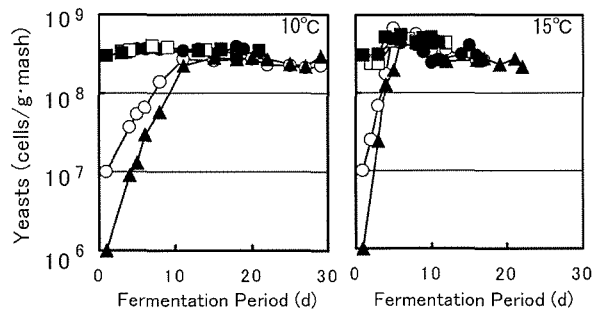


図 3 初発酵母密度を変えた繰り返し回分醸造における酵母の増殖
Symbols ▲ ; 10⁶.1st
○ ; 10⁷.1st
● ; 10⁸.2nd
□ ; 10⁸.3rd
■ ; 10⁸.4th

し、他と異なった傾向を示した。しかし、醪中盤以降でも SAM の高蓄積を開始する傾向^{2,13,14)} は認められず低下の一途で、初発濃度以上になることはなかった。このことは並行複発酵条件では、必ずしもメチオン供給量が多ければ、SAM を高蓄積するわけではないというこれまでの結果²⁾とも合致した。

以上の結果より、並行複発酵条件下で増殖することが、更なる SAM 高蓄積の一要因であることが明らかとなった。また、固形物が相対的に多い、すなわち低温・低廻歩合などで溶けの悪い条件下でも高蓄積傾向を示す既報²⁾と合致した。また、従来、固液共存培地では暫定的に 10⁶ 接種条件でのみ検討を進めてきたが、この設定が妥当であったことが新たに確認された。

4) 醪における回収酵母菌体による回分醸造と SAM 蓄積

醪における酵母の増殖を図 3 に示した。本設定でも 10⁸ cells/g・mash 接種では、菌体増殖を伴わないことが明らかとなった。醪からの酵母の回収率は 40% 程度であったため、本設定での過剰設定回分醪では、次の仕込みを約 1/3 に規模縮小した。

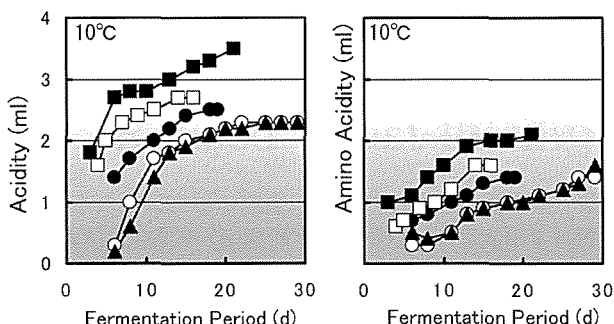


図 4 初発酵母密度を変えた繰り返し回分醸造醪の酸度及びアミノ酸度の経時変化 (シンボルは、図3と同様)

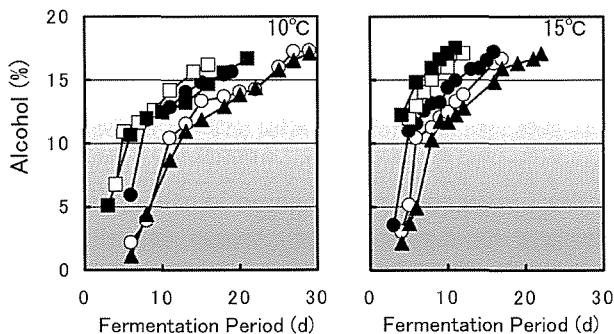


図 5 初発酵母密度を変えた繰り返し回分醸造醪のアルコール濃度の経時変化 (シンボルは、図3と同様)

酸度、アミノ酸度の経時変化の代表データとして 10°C の結果を図 4 に、アルコール濃度の経時変化は 10°C、15°C の両方を図 5 に示した。醪での過剰量接種では 10°C で 3 回、15°C で 4 回目回分までは、醪初期の流動性の向上と米粒の溶けの良さが認められた。これはポーメでも同日比較で 2 程度低く推移し、アルコール生成も向上し、結果的に発酵期間は数日短縮された。また 10⁸ 条件での回分により、製成酒の酸度は 2 ml 台から 3 ml 台への上昇が見られたが、検鏡下で酵母以外の微生物の混入などの異常がないことを確認した。尚、10⁶ cells/g・mash 接種での回分醸造では、上記のような発酵の早期化や酸度及びアミノ酸度などの変化は認められなかったためデータは示さなかった。

次に各回分醸造醪の上槽時の菌体内 SAM 濃度について、表 4 に示した。SAM はいずれも低温で菌体内に高蓄積され、バッチ当たり生成も同傾向で再現性が得られた。また、10⁶ cells/g・mash 接種では回分進行に伴い、発酵終了時の菌体内 SAM 蓄積に増加傾向が若干見られたが、過剰量接種では継続的かつ顕著な増加はなく、逆に菌体内保持率が低下傾向であった。特に過剰量接種の発酵温度 10°C における 3 回目回分以降、及び 15°C での 4 回目回分以降では、アルコール生成経過に支障はないものの、アミノ酸度と製成酒中の SAM 増加が顕著で味のくどさや苦味を感じ酒質も明らかに異なった。

表 4 初発酵母密度が繰り返し回分醸造醪の菌体内及び製成酒中 SAM 濃度に与える影響

発酵温度 10°C					
酵母接種量 (cells/g mash)	回分回数	Intracellular (mg/10 ¹⁰ cells)	Sake (mg/l)	Total in 100g mash (mg)	Cell/Total (%)
10 ⁶	1st	8.0	6.8	24.4	97.2
	2nd	8.0	4.8	17.9	97.3
	3rd	11.8	7.1	31.2	97.7
	4th	11.7	14.2	23.7	94.0
	5th	10.3	4.4	23.5	98.1
10 ⁷	1st	11.2	9.2	26.0	96.4
	10 ⁸ 2nd	23.5	36.3	88.9	95.9
	10 ⁸ 3rd	12.1	32.7	46.4	92.9
	10 ⁸ 4th	16.0	50.6	60.1	91.6
	10 ⁸ 5th	14.6	79.7	74.0	89.2

発酵温度 15°C					
酵母接種量 (cells/g mash)	回分回数	Intracellular (mg/10 ¹⁰ cells)	Sake (mg/l)	Total in 100g mash (mg)	Cell/Total (%)
10 ⁶	1st	3.6	27.3	10.4	73.8
	10 ⁶ 2nd	6.9	11.4	21.6	94.7
	10 ⁶ 3rd	7.6	11.6	20.8	94.4
	10 ⁶ 4th	12.6	12.2	32.8	96.3
	10 ⁶ 5th	---	10.6	---	---
10 ⁷	1st	5.7	20.7	16.9	87.8
	10 ⁸ 2nd	7.2	27.1	28.3	90.4
	10 ⁸ 3rd	4.9	22.5	23.3	90.3
	10 ⁸ 4th	14.5	19.7	66.8	97.0
	10 ⁸ 5th	---	14.4	---	---

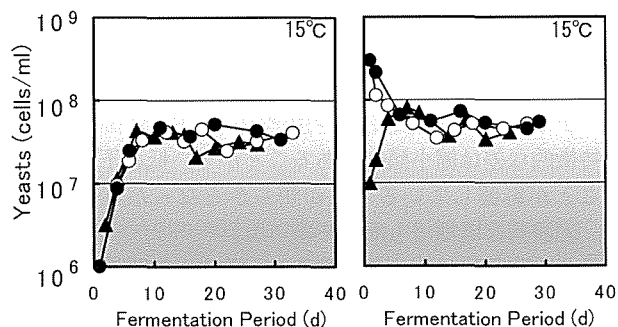


図 6 固液共存培地での繰り返し回分発酵における初発酵母密度が酵母増殖に与える影響

Symbols ▲; 10⁶.1st ▲; 10⁷.1st
○; 10⁶.2nd ○; 10⁸.2nd
●; 10⁶.3rd ●; 10⁸.3rd

5) 固液共存培地における回収酵母菌体による回分醸造と SAM 蓄積

固液共存培地での酵母の増殖を図 6 に示した。本設定でも醪と同様に 10⁸ cells/ml 接種では、菌体増殖を伴わないことが明らかとなった。また本培地では、液体培地同様 10⁸ cells/ml を大きく超えることはないため、過剰量接種では、発酵途中の酵母数は低下した。また本培地では、発酵終了後の酵母はほぼ全量回収可能であったので、次培養はほぼ同スケールで行った。

一方、アルコール生成の経時変化の詳細データは割愛したが、いずれの条件でも 10 日目頃にアルコールが 10% 程度となり、28~30 日ではほぼ発酵が終了した。固液共存培地では、清酒醪のように過剰量接種での初期アルコール生成向上は全くなかった。一因として醪では、米粒溶解と炭酸

表 5 初発酵母密度が繰り返し回分醸造における固液共存培地の菌体内及び液部 SAM 濃度に与える影響

酵母 接種量 (cells/ml)	回数	Intracellular (mg/10 ⁶ cells)	Medium (mg/l)	Total in medium(mg)	Intracellular /Total (%)
10 ⁶	1st	16.4	36.8	10.6	65.1
10 ⁶	2nd	16.0	48.3	11.8	59.3
10 ⁶	3rd	23.4	68.2	20.6	67.0
10 ⁷	1st	17.5	37.1	9.3	60.2
10 ⁸	2nd	17.5	68.6	14.1	51.1
10 ⁸	3rd	18.4	42.3	15.2	72.4

ガス発生による流動性の急激な変化、これに伴うポーメの低推移など、物理的な関与が示唆されるのに対し、固液共存培地ではこれらが変化しないことなどが考えられた。

また、各回分の培養終了時の SAM 濃度を表 5 に示したが、これも同様の理由から、回分による顕著な変化はなかった。しかし 10⁸ 条件で回分しても SAM が高蓄積されることはなく醪と同様の傾向が示された。

総 括

清酒醪のアミノ酸及び SAM 動向について、増殖と発酵の各プロセスを区別し、酵母を過剰接種して増殖を廃した系を設定することにより区別して検討した。

清酒醪において一段仕込法でかつ酵母を 10⁸ cells/g・mash 接種して酵母の初期増殖を廃すると、低温下での液部メチオニンの構成比低下や菌体内への SAM 高蓄積などの特徴的な差は縮小傾向にあることから、低温下で増殖することが影響していることが明らかとなった。この傾向は、固液共存培地でも同様であった。

また回収菌体による回分醸造を行うと、酵母過剰接種では増殖プロセスが廃されることから、発酵が顕著に速まった。しかし増殖を廃しても SAM は高蓄積されなかったことから、低温でかつ固形物存在下で増殖を伴うことが、菌体内 SAM 高蓄積に関与することを明らかにした。これは、清酒醪の特徴である固形物を含み、酵母菌体とその米粒表面や内部にも存在し^{15,16)}、さらにその状況下で溶けにより液量が増加しつつ並行複発酵するという事実と非常に良く合致した。

さらに、回分醸造と酒質に関しては、10⁸ 条件でのみ 4 回目以降で製成酒の酸度及びアミノ酸度が高くなり、さらに SAM も増加し、味にくどさや苦味が感じられることから、発酵期間短縮のメリットはあるものの酒質としては不適であった。

固液共存培地との比較では、本培地は醪のように米粒の溶解に伴う液量の増加がなく、初期から流動性に変化はないことから、過剰接種による顕著な影響は認められなかった。このことから、上述の醪での発酵期間の短期化には、酵母接種量が多いために増殖のタイムラグが生じないことによって引き起こされる発酵の早期化が初期流動性の

向上に影響し、これらが相まって関与していることが推察された。このように固液共存培地は、初期溶解、並行複発酵など、醪の種々の要因解析を個別に行う上で有効であることが考えられた。

謝辞：本研究を行うにあたり、実験に尽力頂いた本学発酵生産科学研究室（旧酒類生産学研究室）卒業生、信木真一、三浦弘文の両氏に感謝致します。合わせて終始御懇篤なる御指導を受け賜りました角田潔和、小泉武夫両先生に心より深謝致します。

参考文献

- 1) 進藤 斉, 角田潔和, 吉沢 淑, 小泉武夫, (1994), 清酒醪の発酵温度とアミノ酸動向, 日本醸造学会誌, 第 89 巻, 1 号, p. 65-71
- 2) 進藤 斉, 土井弥市, 麻布暁史, 坂野和章, 角田潔和, 吉沢淑, 小泉武夫, (1998), 清酒醪の発酵温度と酵母菌体への含硫物蓄積, 日本醸造学会誌, 第 93 巻, 5 号, p. 389-395
- 3) 進藤 斉, 矢部修平, 角田潔和, 小泉武夫, (2006), 低温醪の及び並行複発酵培地における清酒酵母の含硫物蓄積とメチオニンアデノシルトランスフェラーゼ活性, 日本醸造学会誌, 第 101 巻, 1 号, p. 61-68
- 4) 進藤 斉, 角田潔和, 小泉武夫, (2006), 清酒醪における発酵温度と精米歩合が各種酵母の含硫物動向に与える影響, 日本醸造学会誌, 第 101 巻, 10 号, p. 776-778
- 5) 清酒製造技術 日本醸造協会, 198-201 (1987)
- 6) 醸造物の成分, 日本醸造協会 (1999)
- 7) 進藤 斉, 高橋康次郎, 佐藤和夫, (2011), 清酒醪と固液共存培地における酵母菌体内の S-アデノシルメチオニンの動向, 東京農業大学農学集報, 第 56 巻, 3 号, p. 236-241
- 8) 第四回改訂国税庁所定分析法注解, 日本醸造協会 (1993)
- 9) 秋田 修, 大場俊輝, 中村欽一, (1986), 糖化後発酵法における発酵条件の検討 (1), 日本醸造協会誌, 第 81 巻, 6 号, p. 402-408
- 10) 岩野君夫, 飯塚尚彦, 齊藤和夫, 布川弥太郎, (1981), 清酒醸造におけるアミノ酸の生成 (2), 発酵によるアミノ酸の増減, 日本醸造協会誌, 第 76 巻, 4 号, p. 272-275
- 11) 吉沢 淑, 高橋康次郎, 北本勝ひこ, 永井英雄, (1985), 清酒醸造における無機塩の影響 (2), 清酒のアミノ酸量に及ぼす酵母の前培養の影響, 日本醸造協会誌, 第 80 巻, 9 号, p. 649-653
- 12) 後藤邦康, 土肥和夫, (1992), 清酒醪中の S-アデノシルメチオニンの定量と変化, 日本醸造協会誌, 第 87 巻, 3 号, p. 230-234
- 13) 蓼沼 誠, 高橋康次郎, 佐藤 信, (1975), 清酒の熟成による香味の変化に関する研究 (3), S-アデノシルメチオニン, 日本醸造協会誌, 第 70 巻, 8 号, p. 581-584
- 14) 蓼沼 誠, 高橋康次郎, 林 積徳, 佐藤 信, (1975), 清酒の熟成による香味の変化に関する研究 (4), S-アデノシルメチオニンと 5-メチルチオアデノシン, 日本醸造協会誌, 第 70 巻, 8 号, p. 585-587
- 15) 吉井美華, 神田涼子, 岩田 博, 荒巻 功, (2000), 醪中における米粒の観察, 平成 12 年度日本醸造学会大会講演要旨集, p. 8, No. 15
- 16) 吉井美華, (2000), 電子顕微鏡で見えてくるもの「酒造工程のミクロな世界」, 第 24 回酒米懇談会講演要旨集, 酒米研究会, p. 1-7

Accumulation of S-Adenosyl-Methionine in Reused Yeast during *sake* Mash Fermentation

By

Hitoshi SHINDO*, Kojiro TAKAHASHI* and Kazuo SATO*

(Received May 19, 2011/Accepted September 13, 2011)

Summary : The growth of yeast cells and the fermentation process were studied for the concentration of SAM in *sake* mash using *sake* mash and a model media, where the inoculum size was increased to suppress the growth.

The result showed that the intracellular SAM concentration was highly accumulated at low temperature in *sake* mash and the model medium.

Harvested yeast cells were collected by centrifuging of the mash and reused for the next mashing repeatedly. The fermentation was repeated safely for 3 or 4 times. The concentrations of amino acids and SAM in produced *sake* increased, and the results of sensory tests of the produced *sake* showed that the quality of produced *sake* was more thick and bitter according to the number of times the yeast cells were reused. On the other hand, intracellular SAM did not accumulate highly when the yeast cells were reused. The concentration of alcohol and SAM was compared during the repeated fermentation using the model medium. As a result, the difference of intracellular SAM in the model medium was smaller than that in *sake* mash. It was suggested that this result was caused by the existence of solid materials and the dissolution particularly in the early mashing period.

This model medium was considered to be effective for the analysis of parallel fermentation in the early *sake* mashing process.

Key words : *sake* Mash fermentation, yeast, sulfur compounds, S-Adenosyl- methionine, reuse of yeast in *sake* mash fermentation

* Department of Fermentation Science, Faculty of Applied bioscience, Tokyo University of Agriculture