

高磁場下での日本酒醸造における日本酒成分への影響に関する研究

清水 和弥

2010年2月24日

電子情報工学科

目次

第1章	序章	1
1.1	はじめに	1
1.2	酒造方法	1
1.3	麹菌の動き	3
1.4	酵母の働き	5
1.5	磁場が及ぼす影響	6
1.5.1	磁場配向	10
1.5.2	磁気力	10
1.5.3	MHD 効果	11
1.5.4	磁気対流	11
1.6	磁場印加による微生物への影響	12
1.7	冷凍機冷却型超伝導マグネット	14
1.8	磁場印加による酵母・麹への影響について今までの研究成果	14
1.9	本研究の目的	16
第2章	実験	18
2.1	実験装置及び器具	18
2.2	実験手順	19
2.2.1	事前準備	20
2.2.2	当日手順	21
2.3	磁場を印加しない環境における実験	22
2.4	積算炭酸ガス減量	23
2.5	化学定量分析	23
2.5.1	有機酸	23
2.5.2	香気成分	24

第3章	結果と検討	26
3.1	磁場無印加実験	26
3.1.1	磁場無印加実験結果	26
3.2	磁場を印加した環境での実験による測定	29
3.2.1	10 T、15°Cにおける実験の結果	30
3.2.2	10 T、10°Cにおける実験の結果	34
3.2.3	10 T、25°Cにおける実験の結果	38
3.3	考察	43
3.3.1	日本酒醪への磁場印加による影響に対する温度依存性	43
3.3.2	日本酒成分への磁場の影響への考察	45
第4章	まとめと今後の課題	47
4.1	まとめ	47
4.1.1	発酵過程における磁場印加による影響	47
4.1.2	日本酒成分における磁場印加による影響	47
4.2	今後の課題	48
参考文献		50

表目次

3.1	0 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性	27
3.2	10 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性	30
3.3	10 T、15°Cにおける各試料の有機酸	32
3.4	10 T、15°Cにおける各試料の香気成分	33
3.5	10 T、10°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性	34
3.6	10 T、10°Cにおける各試料の有機酸	36
3.7	10 T、10°Cにおける各試料の香気成分	37
3.8	10 T、25°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性	38
3.9	10 T、25°Cにおける各試料の有機酸	40
3.10	10 T、25°Cにおける各試料の香気成分	41

図目次

1.1	日本酒の発酵過程	3
1.2	酵素の働き	4
1.3	酵母の顕微鏡写真	5
1.4	酵母の代謝ルート	6
1.5	ビオ・サバールの法則	7
1.6	微小円柱に対する電流要素	8
1.7	高磁場下での大腸菌生菌数推移	12
1.8	超伝導マグネットの磁場勾配とシャーレの位置	13
1.9	酵母の沈殿分布 (a) シャーレ底の吸光度 (b) 沈殿パターンの様子	13
1.10	冷凍機冷却型超伝導マグネット	14
1.11	25°C 7 T 時における磁場印加試料と対照試料の酵母数比較	15
1.12	40°C 3 T 時における磁場印加試料と対照試料とのグルコース濃度比較	16
2.1	冷凍機型超伝導マグネットの簡略図	18
2.2	冷凍機冷却型 10 T 超伝導マグネットの磁場イメージ	19
2.3	ピペットマン	19
2.4	試料作成の流れ	20
3.1	0 T、15°C における積算炭酸ガス減量の時間依存性	28
3.2	0 T、15°C における試料の積算炭酸ガス減量の平均の時間依存性	28
3.3	10 T、15°C における積算炭酸ガス減量の時間依存性	31
3.4	10 T 15°C における各試料の有機酸のデータチャート	32
3.5	10 T 15°C における各試料の香気成分のデータチャート	33
3.6	10 T、10°C における積算炭酸ガス減量の時間依存性	35
3.7	10 T 10°C における各試料の有機酸のデータチャート	36
3.8	10 T 10°C における各試料の香気成分のデータチャート	37

3.9	10 T、25°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性	39
3.10	10 T 25°Cにおける各試料の有機酸のデータチャート	40
3.11	10 T 25°Cにおける各試料の有機酸のデータチャート	41
3.12	10 Tにおける各試料の温度毎の積算炭酸ガス減量の時間依 存性	43

第 1 章 序章

1.1 はじめに

日本酒は、「日本の伝統技術の粋」とすら称されるアルコール飲料である。その記述は平安時代にまでさかのぼり、当時からすでに現在とほぼ変わらない手法を用いて造られていたとされている。その工程は非常に複雑で多く、技術の進んだ今でさえも、時には手順は50を超えるほどである。四季のはっきりとしたこの国では、豊かな自然の風物に恵まれ、人々はお酒を飲みながらそれらを楽しんできた。また、近年では諸外国でも人気を誇り、「sake」の名で様々な人々に親しまれている。

そして、日本酒において最も重要な要素なのが「麴」と「酵母」である。これらはそれぞれデンプンを糖へと分解し、糖をアルコールへと分解する。これら二つが並行して行われることで、日本酒は世界でも類を見ない高アルコール濃度の醸造酒として知られている。日本酒を決めるのはこの2つであるといっても過言ではなく「一麴、二もと（酵母のこと）、三造り」とすら言われる。ではこの日本酒の工程について次で述べる。

1.2 酒造方法

酒の原料は基本としては米・水・麴・酵母の4つである。これらをもちいて多くの工程と手間を掛けることで日本酒は誕生するのである。また、温度によって酒質が変化しやすい日本酒は大体1月または2月に造られることが多い。気候すらも日本酒造りにとって重要な要素なのである。

ではその酒造りだが、まず米の精米から始まる。米は酒造好適米と呼ばれる日本酒造りに適した、大粒で心白と呼ばれる白色の不透明な領域が中心部にあるものが使用される。精米された米は洗米され、水に漬けて吸水を行う浸漬と呼ばれる工程に入る。白米重量の3割ほど吸水したところで

浸漬が終わり、蒸きょうと呼ばれる工程で蒸す事により蒸米を造りだす。このとき米は外硬内軟がよいとされている。そして放冷の工程で蒸米を冷やし「米」は完成である。この米を後に説明する麴や酒母、掛け米に用いる。

次は麴造りに入る。これは製麴とも呼ばれる。蒸米に麴菌と呼ばれるカビの一種を掛けて温度・湿度を一定に保った「麴室」と呼ばれるところで繁殖させる。麴菌は蒸して分解しやすくなったデンプン組織を食べ増殖し2日間程で完成する。一麴（いちきく）とすらいわれるほどなので、麴造りは最も重要な工程である。

次に「酒母」というものを造る。酒母は「もと」とも呼ばれ、文字通り日本酒の素となるものである。これは蒸米と造った麴、水に酵母を混ぜ、酵母を培養する。酒母では酵母が培養されると同時に空気中の乳酸菌から乳酸を発生させ、この乳酸が他の雑菌を殺菌していく。酵母自体は酸性なのでその結果、酒母の中で酵母が大量に純粋培養されていくのである。酒母には自然に乳酸を生成させてゆっくりと酵母を培養していく生もと系と、乳酸を外から加えることで通常よりはやく酒母を完成させる速醸系の2つがある。

そして、仕込みの工程に入る。これは造りとも呼ばれ上の「3造り」はこの工程を指す。ここでは酒母に米・水・麴を複数回に分けて入れて発酵させる。殆どの日本酒はここでは3回に分けて仕込む「三段仕込」と呼ばれる方法を取る。このようにするのは、一度に大量の米・麴・水を仕込むと酸の濃度が薄くなり雑菌が繁殖しやすくなってしまうためと、酵母が急激な変化に耐えられず活動が鈍ってしまうのを防ぐためである。このようにして仕込まれたものを醪（もろみ）という。醪の中では麴がデンプンを糖へと分解すると同時に酵母が糖をアルコールへと分解していく。これらを並行複発酵といい、このため日本酒は醸造酒でも特に高いアルコール濃度を実現できるのである。

20～30日程度で発酵は落ち着き、それを搾りろ過、火入れなどの工程を経ることで日本酒が完成するのである。これらの工程のほんの少しの違いで日本酒の味は大きく変わってしまう。逆に言えば、ほんの少しの変化で新たな日本酒を生み出すことができる可能性をも秘めていることになる。これらの工程をまとめたものを図1.1にまとめる。

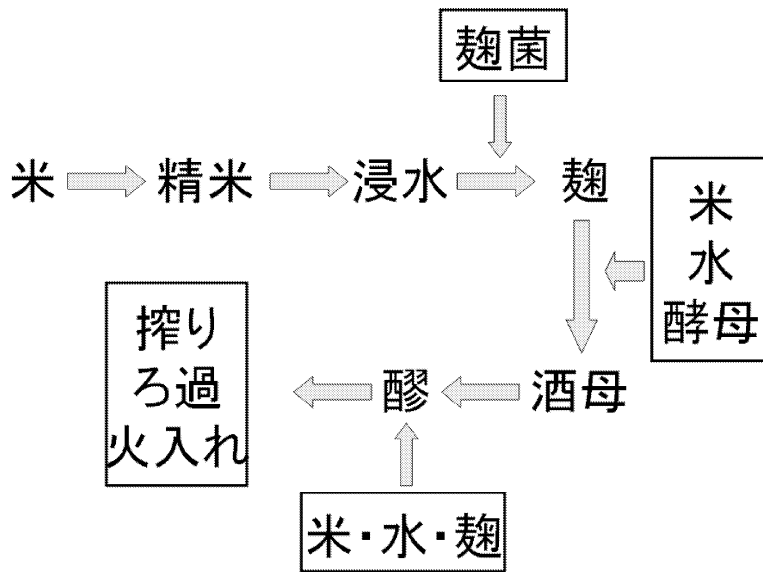


図 1.1 日本酒の発酵過程

1.3 麹菌の動き

麹菌は「酵素の宝庫」と呼ばれており、麹菌を調べれば、現在知られている酵素は必ず見つかるといわれている。麹菌は非常に多種の酵素を生産しているが、麹菌の大きな特徴はその量にある。麹菌はアミラーゼやプロテアーゼなど、醸造に必要な酵素を自分が必要とする量の何百倍と作り、細胞の外に分泌するのである。麹菌が醸造過程において担う働きの一つが原料の分解であり、米や大豆などの穀物は麹菌が生産する酵素の働きによって、デンプンはグルコースに、タンパク質はアミノ酸に分解される。デンプンが分解されてできるグルコースは乳酸菌や酵母の増殖のためのエネルギー源として、アミノ酸は酵母や乳酸菌の菌体の材料として使用される。このグルコースやアミノ酸はそれ自体に味があるので、原料分解の強弱は直接味に影響を与える。特に、うまみが重要視される味噌や醤油などは、うまみのもととなるアミノ酸の量が品質に大きな影響を与えるため、麹菌の選択においては、タンパク質の分解力の強い麹菌が選択される。酵母はグルコースを利用してアルコール発酵を行うため、十分なグルコースがないと多量のアルコールを作ることはできない。そのため、酒造の際にはデンプンをグルコースに分解するデンプン分解力の高い麹菌を選択する必要がある。

麹菌の二つ目の働きは、ビタミンや有機酸などの代謝産物の、乳酸菌や酵母への供給である。麹菌は糖とアミノ酸、少量の無機塩類があれば、その他の栄養成分がなくても生育できる性質を持っている。麹菌が合成したこれらのビタミンや有機酸などが、乳酸菌や酵母が生育するのに必須の栄養素となっている。酒造においては、麹菌の作るプロテオリピッドという物質が重要視されている。これは、タンパク質とリン脂質が結合した物質で、これが酵母と結合することにより、高濃度のアルコールを生成することができると言われている。清酒発酵ではアルコール濃度が18～22%に達するが、これはビール発酵の2～10%、ワイン発酵の8～14%に比べ、非常に高い濃度となっている。このような高濃度のアルコール発酵を可能にしているのが、麹菌が作るプロテオリピッドである。麹菌を日本酒醸造で使う目的は、米のデンプンを分解してグルコースに変えることが大きな目的である。デンプンを分解するためには、グルコアミラーゼ（糖化酵素）と α -アミラーゼ（液化酵素）の2種類が必要である。デンプンとはグルコースが多数つながったものであり、それを大まかに分解する酵素が α -アミラーゼ、端から一つずつ切り離していく酵素がグルコアミラーゼである。各々の酵素がうまく働かないと、酵母が必要とするグルコースを作り出すことができず、発酵が緩慢になったり、酒質がうすく粕が多くなったりする。タンパク質分解酵素も同様に、アミノ酸が数個つながった状態（ペプチド）に分解する酸性プロテアーゼと個々のアミノ酸に分解する酸性カルボキシペプチダーゼの二つの酵素が関与している。このアミノ酸やペプチドは清酒特有の旨味成分として存在するだけでなく、清酒には欠かせないものとなっている。これまでの酵素の発酵の過程を図1.2に示す。

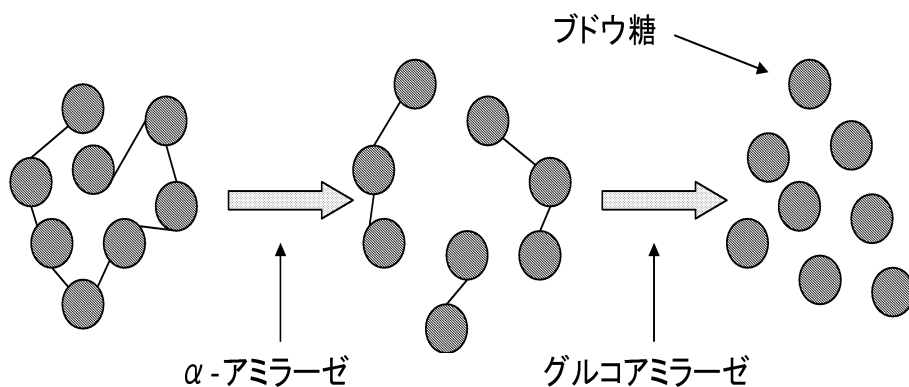


図 1.2 酵素の働き

1.4 酵母の働き

酵母は菌類に属する単細胞の微生物で、細胞の一部から芽を出して無生殖で増殖する。培養条件により異なるが、25～30℃位でよく成長し、100～200分間に一度の割合で細胞分裂をする。大きさは直径が約4～5 μm で、おおよそ球形をしている。細胞の外側は細胞壁でおおわれ、外層は主としてマンナン-タンパクからできており、その内側にはグルカンの層がある。このグルカンの層が、細胞壁の強さを保持するのに役立っていると考えられている。細胞壁には以上のマンナン、タンパク質、グルカンの他に脂質やキチンその他の物質もふくまれている。細胞分裂後に残る出芽痕にはキチンが多く含まれており、キチン合成が出芽痕形成、及び細胞分裂に関与している事が分かる。細胞の1回の分裂が終わってから次の分裂が終わるまでの間を細胞周期と呼ぶが、真核細胞である酵母は、この周期を正確に一定の順序で進行する。ここで、酵母の細胞構造を図1.3に示す。

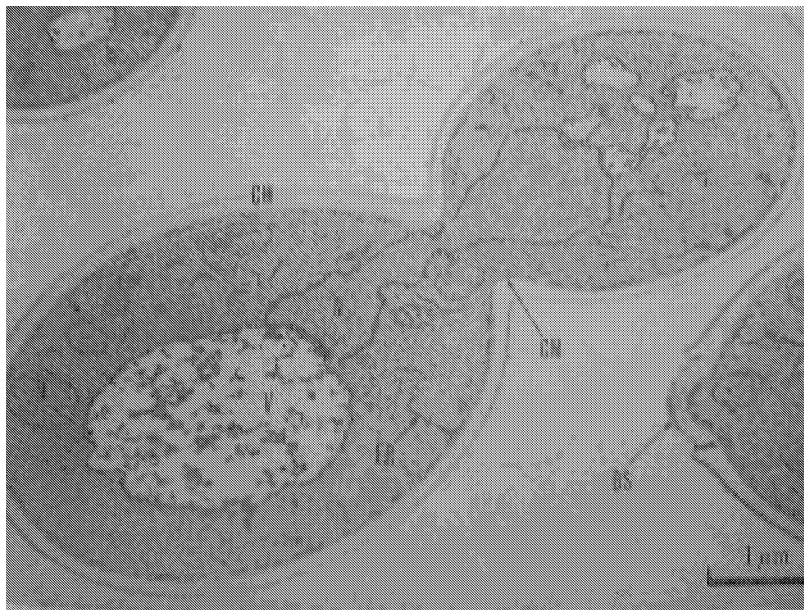


図 1.3 酵母の顕微鏡写真

酵母のアルコール生成の過程までを説明する。酵母は生命維持のために、様々な酵素を使って糖分であるグルコースをピルビン酸まで分解する。これは、人間から微生物までがもっている生命維持のための代表的な代謝ルートである。その後、ピルビン酸から2方向へルートが分かれる。まず、酸素が十分にある場合、ピルビン酸は完全に炭酸ガスと水へと分解される。

一方、酸素欠乏状態のときにピルビン酸はアセトアルデヒドを経て、エタノールへと変えられる。つまり、アルコール発酵をする。ここで酵母の代謝ルートを図 1.4に示す。

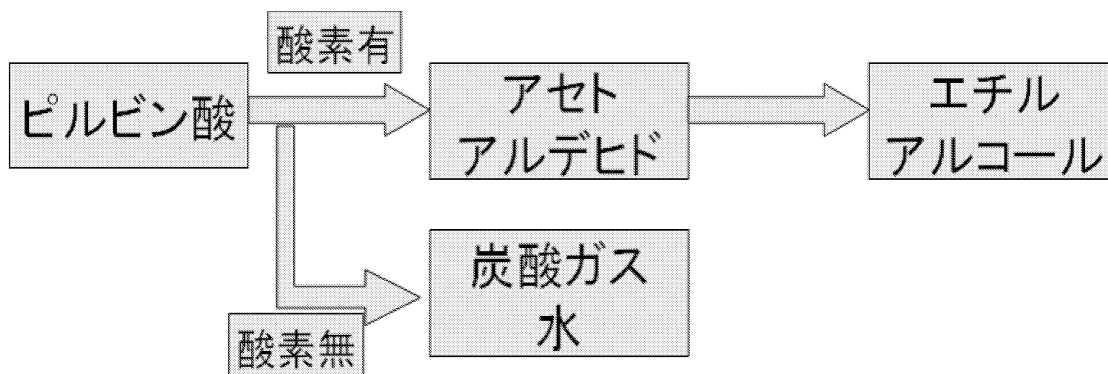


図 1.4 酵母の代謝ルート

酵母の性質の一つとして、酸素が有っても無くても生育できる点が挙げられるが、このように酵母に発酵作業を活発にさせる為には、容器上部に泡ができる事で下部が酸素欠乏状態になる事が条件といえる。実際の酒蔵において、発酵中の醪では炭酸ガスが発生して酸素欠乏状態となり、これに転落して死亡する事故も昔は珍しくなかった。このような事から酒蔵には必ず一人、酸素欠乏・硫化水素危険作業主任者の資格を持った人がいなければならない。

1.5 磁場が及ぼす影響

最近の科学技術の進歩につれて、我々が強い磁場に曝露される機会はしだいに増加している。職業人が曝露されていた加速器、核融合炉、エネルギー貯蔵マグネット等の他、核磁気共鳴イメージング、磁気浮上超高速列車といった、いまでは一般市民や傷病者までが曝磁される時代となっている。しかし、磁場の生体に対する影響、特に人体影響については解明されてはいない。我々人類は、X線などの放射線が広く実用化されるにつれて、次第にその犠牲者が増加してしまった歴史があり、物理的エネルギーを人体影響が解明されないまま長時間利用すると、場合によっては大変なことになる一つの例と言える。そこで、磁場を印加する事により生じる諸現象

をまず理解する事により、磁場が及ぼす影響の究明を行う事が必要だといえる。では、まず磁場について次に述べる。電荷のまわりに電界ができるように、電流が流れている導線のまわりには磁気的な磁場が生じる。定常電流からは時間的に一定な静磁場ができる。磁場はベクトルであり、その強さを表すものとして磁束密度 B を定義する。 B の単位はテスラ (T) であり、 $N/(A \cdot m)$ の次元をもつ。ここで図 1.5 のように、回路 C の微小部分を流れる電流 (電流要素 $I ds$) がまわりの点 P につくる磁束密度は、ビオ・サバールの法則により

$$dB = \frac{\mu_0 I ds \times \vec{r}}{4 r^2} \quad (1.1)$$

と表せる。ただし、 r は $I ds$ から点 P に至る距離、 \vec{r} はその方向の単位ベクトル、 μ_0 は真空の透磁率である

$$\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} N/A^2 \quad (1.2)$$

とする。

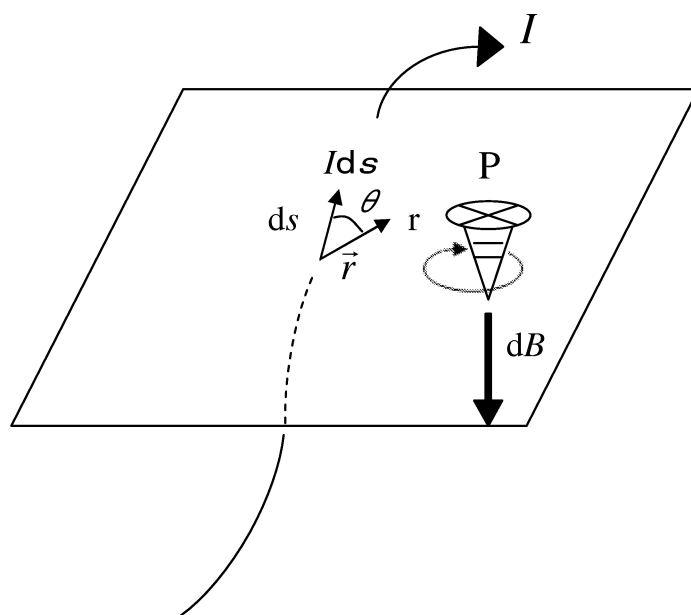


図 1.5 ビオ・サバールの法則

式 (1.1) より、アンペールの右ねじの法則に従って、 dB の方向は $I ds$ と \vec{r} でつくる平面に垂直であり、向きは $I ds$ から \vec{r} の向きに右ねじを回すときのねじの進行方向となる。 dB の大きさは $I ds$ と \vec{r} のなす角を θ とすれば

$$dB = \frac{\mu_0 I ds}{4\pi^2} \sin \theta \quad (1.3)$$

となる。回路 C の全体を流れる電流が点 P につくる磁束密度は、電流要素 $I ds$ からの寄与を回路全体にわたって線積分すれば求まり

$$B = \frac{\mu_0}{4} \int_C \frac{I ds \times \vec{r}}{r^2} \quad (1.4)$$

となる。ビオ・サバールの法則は、広がりのある空間 V を電流が流れている場合に一般化できる。図 1.6 のように電流の流れる方向に長さ ds 、断面積 dS の微小円柱 (体積 $dV = ds dS$) をとれば、この円柱に対する電流要素は電流密度 i を用いて

$$I ds = (i ds) ds = i dV \quad (1.5)$$

となる。

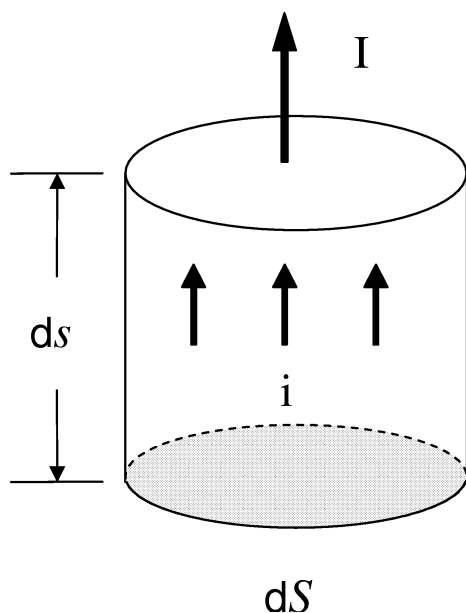


図 1.6 微小円柱に対する電流要素

したがって、微小領域 dV を流れる電流要素 $i dV$ が r だけ離れた点 P につくる磁束密度は、 dV から点 P に向かう方向の単位ベクトルを \vec{r} とすれば、式(1.1)より

$$dB = \frac{\mu_0}{4} \frac{i dV \times \vec{r}}{r^2} \quad (1.6)$$

となり、空間 V 全体にわたって体積分すれば

$$B = \frac{\mu_0}{4} \int_V \frac{i \times \vec{r}}{r^2} dV \quad (1.7)$$

が求まる。この磁束密度 B と磁場の強さ H との比をその物質の透磁率といい、式 (1.2) の真空の透磁率を用いれば、次のような関係が成り立つ。磁化を M とすれば、

$$H = \frac{B}{\mu_0} - M \quad (1.8)$$

と表される。 H 、 M の単位は [A/m] となり、磁場の強さは単に磁場あるいは磁界ともいう。

1.5.1 磁場配向

この磁場が引き起こす種々の現象を述べる。まず、分子や微結晶などに磁氣的な異方性がある場合には、これらの粒子には磁場方向に配向しようとするトルクが働く。強磁性体のように永久双極子を持つ場合には、外部磁場方向に自らの内部磁場を向けることで安定に配向する。粒子の磁氣的異方性については、分子の構造の異方性に基づくものと、粒子の形状の異方性に基づくものとに分類できる。磁石以外で磁場ともっともよく相互作用するものはコイルである。コイルに磁石を近づけると反対方向の磁化をしようとして誘導電流が流れる。有機化合物の中でもっとも理想的なコイルとして働く構造はベンゼン環であるが、それは自由に動けるパイ電子が平面上の構造をとっている為、コイルのように振る舞うからである。しかし、分子内に誘導電流が流れているような状態は熱力学的に不安定なので、ベンゼン環に磁場を作用させると誘導電流が流れず、ベンゼン環の分子平面が磁場と平行になる向きに磁場配向する。タンパク質の場合には、ペプチド結合がコイルの働きをし、ペプチド平面が磁場と平行になる向きに磁場配向しようとする。その為、ペプチド平面がその軸方向に平行に配列しているアルファ・ヘリックス構造は磁場方向に配向しようとし、ペプチド平面が多く平行に配列しているベータ・シート構造も同様の磁場配向作用を示す。また、芳香性アミノ酸の芳香環も同様である。これより、これら3つの構造が分子内部で特定の方向に配列しているほど、磁氣的な異方性が強いことになる。故に、膜タンパク質などがもっとも磁氣的異方性が強いタンパク質である。また、分子自体が磁氣的異方性を示さない場合でも、粒子の形状が異方的な場合には磁場配向する。例として、磁氣的に等方的な分子でも、その結晶の形が針状や板状など異方的ならば、結晶自体の帯磁率が方向によって異なるため、磁場配向する。

1.5.2 磁気力

磁場が一様でなく、位置 z により磁場の強さ H が違うような磁場勾配が存在する下では磁気力が発生する。物質の統計を M 、モル濃度の磁気の感受性を χ_M とすれば、

$$F = M\chi_M H \frac{\partial H}{\partial z} \quad (1.9)$$

で表される。磁場勾配を上ってゆく方向に磁気力が働く物質は帯磁率が正の強磁性体および常磁性体で、逆に磁場勾配を下ってゆく物質が反磁性体である。タンパク質や水をはじめほとんどの有機物は反磁性体であるが、タンパク質結晶を結晶化容器の器壁に接触させることなく成長させることができれば、結晶中へのひずみの導入などを防ぐ事ができる為、有力な結晶化方法であると考えられている。

1.5.3 MHD 効果

電荷 Q を持つ荷電粒子が速度 B の磁場の中を運動しているとき、磁場より受ける力は、

$$F = Q(\nu \times B) \quad (1.10)$$

となり、この力をローレンツ力という。磁場中で電解質溶液に電流を流した場合、磁場と直角方向に電流が流れるとこのローレンツ力が働くため、溶液には大きな流れが生じる。これを MHD (Magneto hydrodynamic) 効果と呼ぶ。ローレンツ力は大きな力なので、多くの磁場効果の中でも早くに見つかった効果である。この効果の例として、タンパク質の結晶化溶液に磁場下で電流を流すような場合には、十分大きな影響を及ぼすと考えられている。また、溶液に電流を流さずとも、溶液中のイオンなどの電荷を持った化学種が一定の方向に運動することでも、これらの化学種にローレンツ力が働く。溶液中に引加された電流ではなく、特定化学種のイオン個々にローレンツ力が働くため、上述の MHD 効果とは区別され、マイクロ MHD 効果と呼ばれている。例として、結晶が成長している場合には、沖合の溶液から結晶表面へ溶質分子の流れができる。そのため、溶質分子が電荷を持っている場合には個々の溶質分子にローレンツ力が働き、分子の拡散運動はローレンツ力の方向に曲げられる。

1.5.4 磁気対流

1.5.2 で説明した磁気力の他に、系内の帯磁率に不均一がある場合、及び系内の帯磁率が均一でも磁場に不均一がある場合には、これらに基づき磁気力が働く。そのため、磁気力に基づいた磁気対流が発生することになる。この効果をうまく応用する事ができれば、系内の対流を抑制できたり、望みの向きに磁気対流を流し、系内を攪拌させたりすることができる。以上

述べてきたような磁場下での種々の影響がこれまで分かってきたが、生物に与える影響のように、未だに解明されていない部分もある。

1.6 磁場印加による微生物への影響

実際に微生物分野での研究として、図 1.7に示すように、大腸菌を 43°C の 5.2 ~ 6.1 T の磁場下で 1.5 g/L のグルタミン酸を加えた 25% の LB 培地中で好氣的培養した時、安定期の細胞数が地磁場に比べて 10 万倍多かったという Horiuchi らの磁場の印加による大腸菌死滅の抑制効果の研究や、

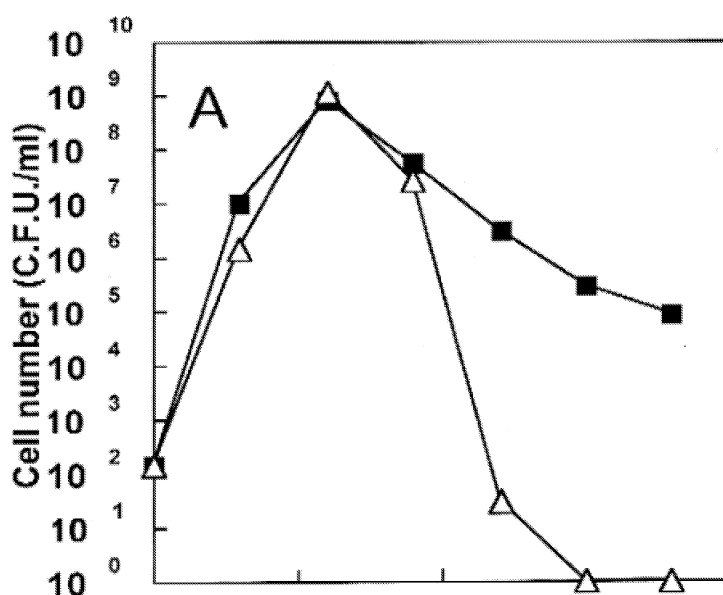


図 1.7 高磁場下での大腸菌生菌数推移

Ikehata らによる、出芽酵母に 5 T の磁場を 2 時間かけた時、図 1.8 に示す超伝導マグネット内の位置により図 1.9 で表すような沈殿パターンに違いが見られたといった報告がされている。

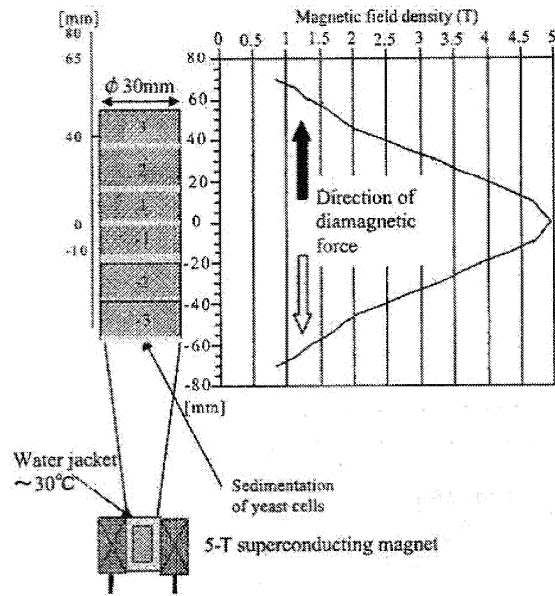


図 1.8 超伝導マグネットの磁場勾配とシャーレの位置

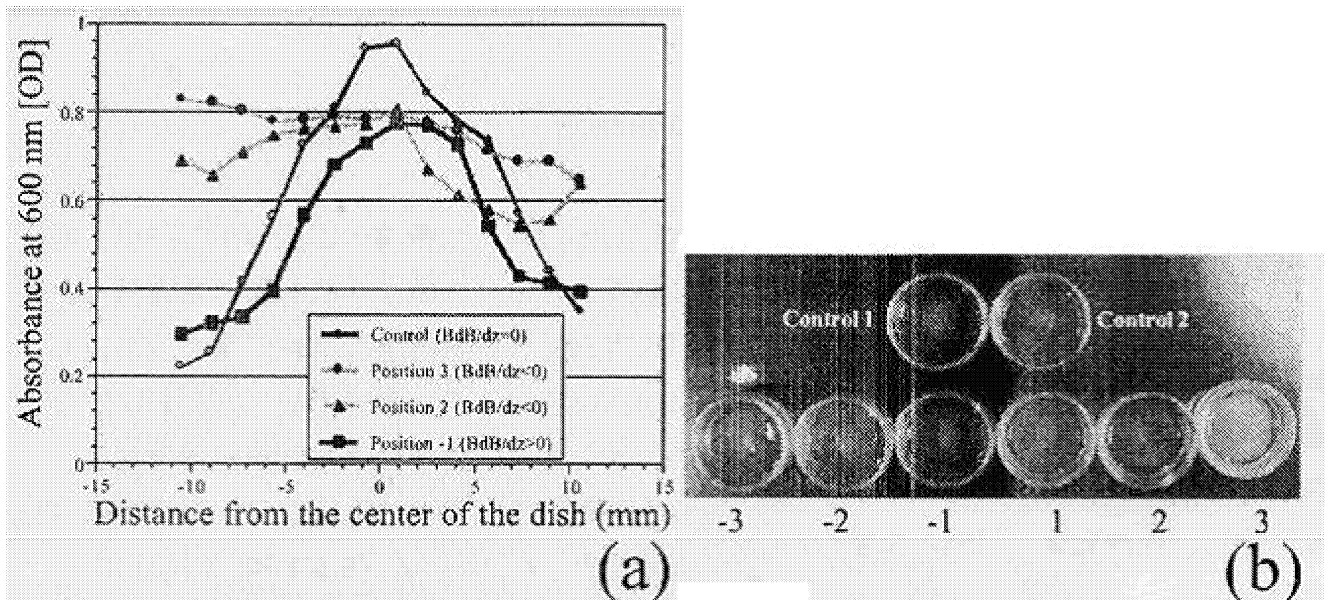


図 1.9 酵母の沈殿分布 (a) シャーレ底の吸光度 (b) 沈殿パターンの様子

1.7 冷凍機冷却型超伝導マグネット

近年の超伝導分野の発展により、冷凍機冷却型超伝導マグネットを用いて、10 Tの高磁場が長時間安定して印加できるようになった為、高磁場中での生物活動を調べる事ができるようになった。従来の超伝導マグネットでは通常、液体ヘリウムで冷却されてきたが、本実験で用いるような冷凍機冷却型のマグネットでは、エポキシ樹脂などで含浸して安定性を強化したものであり、液体ヘリウムによる浸漬冷却は必要としない。この為、このような冷凍機などによる伝導冷却法は、安定性が増すと共に運転コストが大幅に削減される。これにより高磁場下での研究が容易になった。ここで図 1.10にこの装置を示す。



図 1.10 冷凍機冷却型超伝導マグネット

1.8 磁場印加による酵母・麴への影響について今までの研究成果

昨年度までの研究により、酵母、もしくは麴に磁場を印加した際の影響について、研究成果が報告されている。

酵母に磁場を印加した際の影響について、酵母の増殖が抑えられるという結果が得られている。図 1.11にその結果を示す。

縦軸が酵母数、横軸が経過時間を表している。また、黒プロットと実線が磁場印加試料の酵母数、白プロットと破線が対照試料の酵母数の時間経

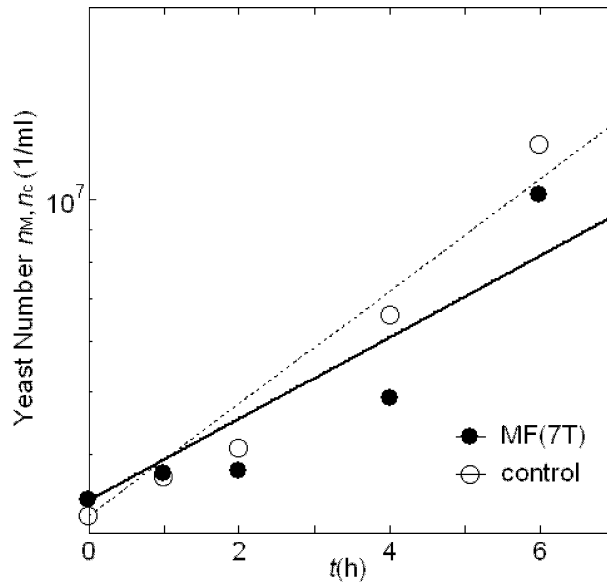


図 1.11 25°C 7 T 時における磁場印加試料と対照試料の酵母数比較

過を表している。図 1.11 より時間の経過と共に磁場印加試料と対照試料とで酵母の数に差ができてきており、磁場印加試料の酵母の数が抑えられていることが分かる。

また、麴に磁場を印加した際の影響についても、麴の糖化能力が抑えられるという結果が得られている。図 1.12 にその結果を示す。

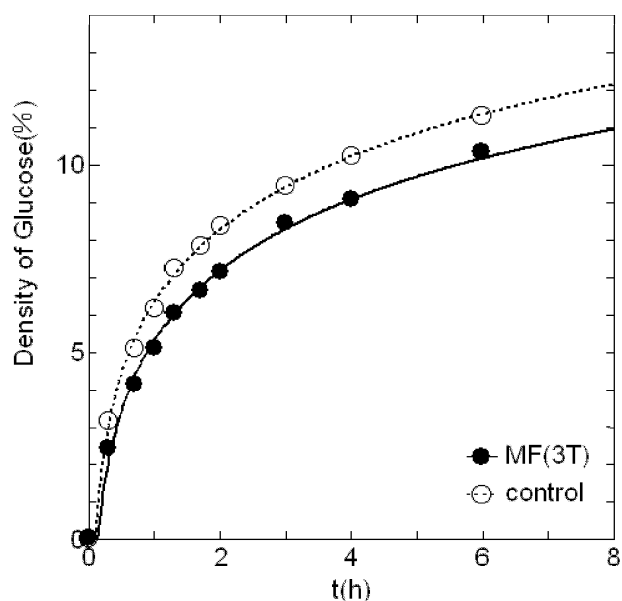


図 1.12 40°C 3 T 時における磁場印加試料と対照試料とのグルコース濃度比較

縦軸がグルコース濃度、横軸が経過時間を表している。また、黒プロットと実線が磁場印加試料のグルコース濃度、白プロットと破線が対照試料のグルコース濃度の時間経過を表している。図 1.12 よりグルコース濃度が磁場を印加している方が全体的に低く、磁場を印加することでグルコース濃度を抑えられていることが分かる。

1.9 本研究の目的

現在、生物学、遺伝子工学、微生物生態学など生物に関する学問は非常に多い。その研究材料として微生物はよく利用されている。微生物は増殖や死滅といったサイクルが一定して行われており、外部からの影響の効果を確認し易い。今回用いる麹菌・酵母に関しても同様のことがいえる。そして、日本酒はその製法・条件・材料の少しの違いでその味が大きく変わることもあり、故に全国各地で様々な日本酒が楽しめるのである。つまり、高磁場を印加することでこれらの微生物に変化が起こり、その結果成分に大きな影響を与えることがあれば、すなわちそれは新たな品質の日本酒を生み出すこととなり、それらの技術により今までの日本酒にも更なる付加価値をつけることができるようになると考えられる。日本酒の消費が減ってきている今、様々な品質の日本酒を生み出せる可能性のあるこの研究は非常に興味深いものであるといえる。今研究では、現在までに行われてき

た研究をもとに、日本酒を造る過程において磁場を印加して麴・酵母の両方に磁場を印加して、またこれにより生まれた日本酒の品質の違いについて調べていくことを目的とする。

第 2 章 実験

2.1 実験装置及び器具

実験を行うにあたって使用した主な実験装置及び器具について記述する。磁場を印加するにあたり、福岡大学にあるジャパンマグネットテクノロジー社製の冷凍機冷却型 10 T 超伝導マグネットを用いて磁場を印加した。このマグネットは円柱形をしており、中央部に円筒形の温度調節機器を設置することができる。温度調節機器には試料を入れる穴が開いており、また、機器内に水を通して循環させることができる。この水を装置により温度を保ったまま、循環させることで、温度を一定に保つようになっている。この装置を簡略化した図を図 2.1 に示す。

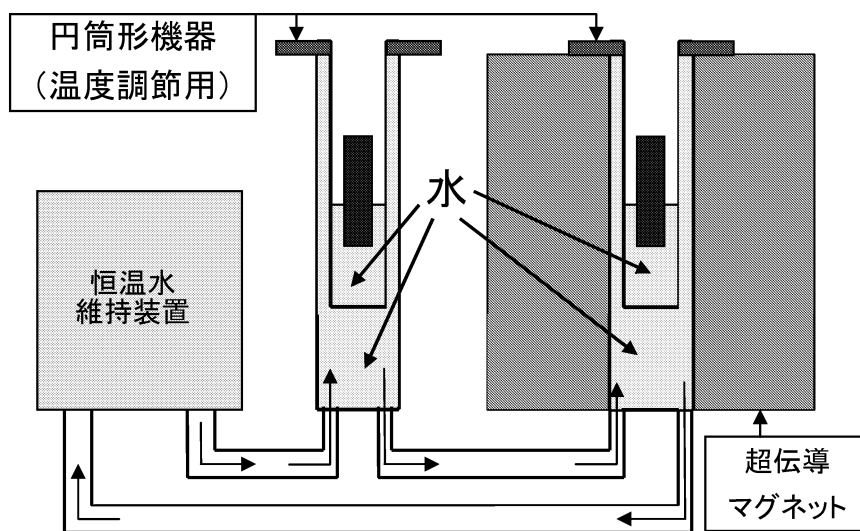


図 2.1 冷凍機型超伝導マグネットの簡略図

また、この装置の磁場の状態を表したものを図 2.2 に示す。

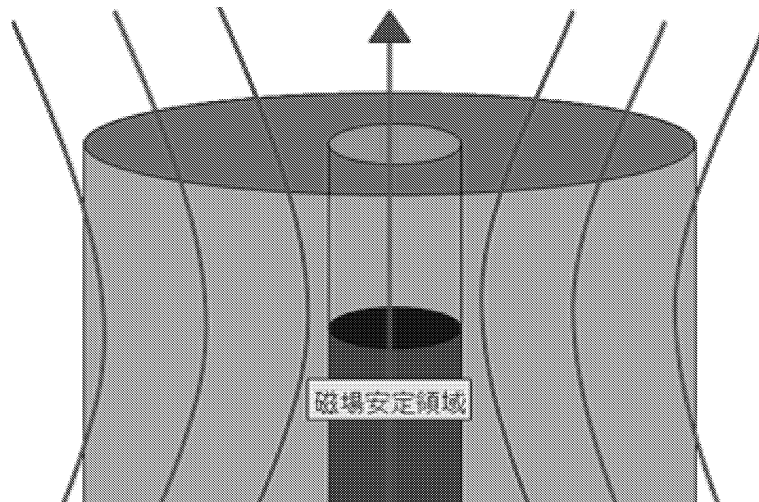


図 2.2 冷凍機冷却型 10 T 超伝導マグネットの磁場イメージ

この装置により約 10 T までの磁場を試料に印加することが可能である。図 2.1、図 2.2 より磁場を印加していただける領域は大きいものではなく、そのため、試料を入れるためのビンについては、あらかじめ大きさを合わせたビンを用意しており、それを用いている。

また、今実験では 1/1000 mL まで測量する必要があるため、ピペットマンと呼ばれる実験器具を用いている。この器具は少量の液体を測量するために用いる器具であり、機械式のピストンで空気を出し入れして、チップと呼ばれる管に液体を吸い取って測量する。ピペットマンの図を図 2.3 に示す。

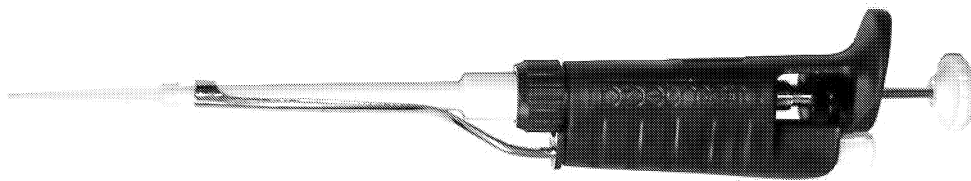


図 2.3 ピペットマン

2.2 実験手順

今実験では 1.9 節でも記述したように、日本酒醸造の発酵における最終段階ともいえる「醪」に磁場を印加し、その影響を調査することが目的で

ある。そしてこの目的を達成するためには、本来の日本酒醸造において造られる「醪」に近い試料に磁場を印加できることが望ましい。そのため、以下に記述する手順をとり、実際の醪に近い試料を作成し、実験に用いる。図 2.4 に試料作成の流れを簡略に示す。

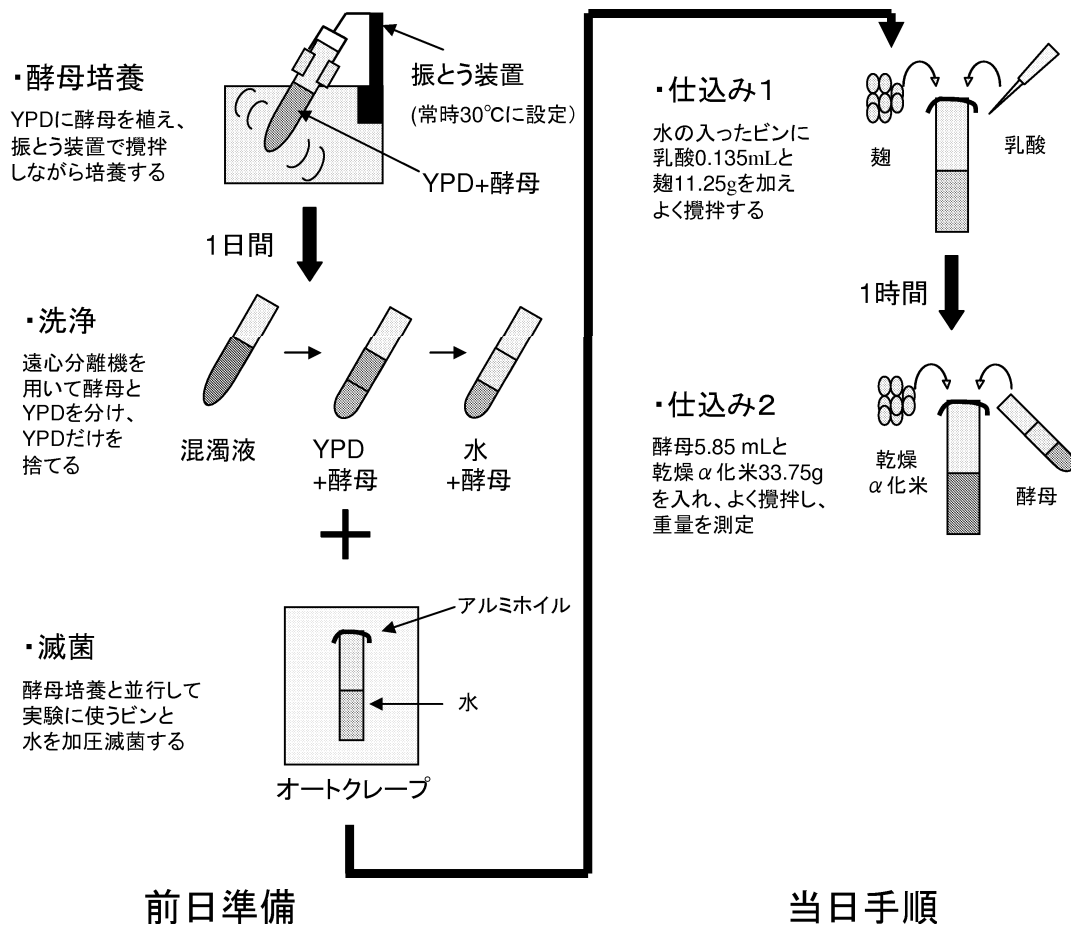


図 2.4 試料作成の流れ

2.2.1 事前準備

今回試料を作成するにあたって、酵母は協会酵母と呼ばれる各地の酒造場から優秀な酵母を分離し純粋に培養した酵母を使用している。協会酵母にも様々な種類が有るが、今回の研究では呼吸機能が比較的弱く、発酵機能が強く、10～15°Cの低温でもよく発酵する協会酵母7号(K-7)と呼ばれる酵母を使用した。この協会7号を使うに当たり、酵母を培養したものを集菌して寒天を敷いた試験管の中に保存したものを、福岡県工業技術センター生物食品研究所に用意してもらい、実験を行う際はそこから一部を

取り出し、改めて培養して使用した。これはスラントと呼ばれるもので、実験では全て、頂いたスラントの酵母を培養して用いている。培養は、九州工業大学情報工学部生命情報工学科仁川研究室にてさせていただいた。今回使うこの酵母は、通常 2.0×10^8 1/mL で飽和するのだが、これを富栄養培地である YPD(Yeast extract Peptone Dextrose) 合成培地を用いて培養した。これはイーストエキス、ポリペプトン、グルコースの栄養素をそれぞれ 1:2:2 の割合で調合したものである。酵母を YPD 培地に植え、それを振とう装置に掛けて培養を行う。振とう装置は水槽と一体になっており、水槽内の温度は常時 30°C に保たれている。この装置に試料は設置することで、試料は常時攪拌され、一日を通して好氣的に培養できる。この装置で1日間酵母を培養し、その後遠心分離機を用いて酵母を集菌し、YPD 培地を捨て、水を入れて混ぜ再び遠心分離機にかける。これを数回繰り返し YPD 培地を洗い流した酵母と水の混濁液を、初回実験時は 23.4 mL、2 回目以降は 11.7 mL 用意した。

また、麴については、同じく福岡県工業技術センター生物食品研究所からいただいた乾燥米麴を使用した。米についても、同じく福岡県工業技術センター生物食品研究所からいただいた乾燥 α 化米を使用した。これは精米して一度蒸した米を急速に乾燥させたものであり、実験の際は掛け米としてそのまま使用することができる。

同時に実験に使用するビンに水をそれぞれ 66.15 mL 入れて、アルミホイルで蓋をし、仁川研究室にてオートクレーブにかけて、120°C で1時間加圧滅菌しておく。ビンは上述したように超伝導マグネットで使える大きさが決まっているのでそれに合わせたものを用意した。水は、仁川研究室にある実験用の純粋な H₂O を用いている。なお、これら酵母、実験に使用するビンは直接液体に触れることの無いように実験当日まで冷蔵庫などの冷暗所に保管した。

2.2.2 当日手順

当日は、このビンに乳酸 0.135 mL をピペットマンを用いて入れ、麴を 11.25 g 入れてよく攪拌させ室温で1時間放置する。この乳酸は雑菌の殺菌のために入れている。実際の日本酒酒造においては1.2節で説明した「酵母(もしくはもと)」の工程において乳酸が生成され、雑菌はほぼ殺菌されるのだが今回はその様な手順をとっていないため、直接乳酸をいれることで代わりとした。その後、酵母 5.85 mL を測量して入れ、乾燥 α 化米を

33.75 g入れてよく攪拌する。このように作成した試料の重量を24時間ごとに測定した。作成した試料は、磁場を印加した実験では、磁場を印加しているものをA1、印加していない試料をB1と呼び、区別してある。

この作業は1.2節で説明したところの「仕込み」と呼ばれる工程にあたり、今回のこの手順は「一段仕込」と呼ばれるものである。本来この仕込みの作業は「三段仕込」と呼ばれる手法を用いて、米・麴・水を3回に分けて間をおいてそれぞれ一定の量を入れていくことが多いのだが、それでは実験にいたるまでに時間と手間が非常にかかってしまうので、今実験では時間と手間を短縮できる一段仕込みを用いた。

2.3 磁場を印加しない環境における実験

今回実験を行うにあたり、始めに磁場を印加しない場合の測定を行った。以降この実験を磁場無印加実験と呼ぶ。またこの実験のみ、試料を2.2節で説明した2つの試料の他に手順・材料を変更した試料を2つ加えた、計4つの試料で実験を行っている。以下に加えた試料の変更点を示す。

- 実験に用いるビンはオートクレープにかけず、当日アルコール殺菌のみ行っている。
- 実験試料に使う水は、市販されているミネラルウォーター「evian」を用いた。使用した水の量は同じである。

なお、上記の手順以外は2.2節で説明したものと同じである。試料は2.2節で説明した試料（すなわち水、容器を加圧滅菌してある試料）をA1、A2と呼び、今節で説明している試料（すなわちミネラルウォーターを用いて当日殺菌のみで作成した試料）をB1、B2と呼び区別する。A1、A2と分けているが、それぞれに関して特に違いは無く、呼称が違うのみである。これはB1、B2に関しても同様である。試料の作成手順が違うのは、実際の日本酒醸造を意識して、より近い手順・環境での試料の測定を行おうと考えたためである。3.2節で説明しているが、今節で説明した試料では、測定値のばらつきが大きかったため、以降の磁場を印加する実験においては全て2.2節の手順で作成した試料を用いている。

2.4 積算炭酸ガス減量

次に今実験において醪の発酵度合いを推し量る基準として、積算炭酸ガス減量について述べる。今実験では日本酒醸造における「醪」を発酵させる過程で磁場を掛けてその変化を調べているのだが、視認のみで醪の発酵度合いを推し量ることは非常に難しい。そのため、発酵の際に酵母が出す炭酸ガスの総量を量ることで発酵の度合いを調べる。この炭酸ガスの総減量を積算炭酸ガス減量と呼ぶ。酵母は発酵が進むにつれて生成されたアルコールによって失活していくため、積算炭酸ガス減量は段々と一定になっていく。これが変化しなくなったときが発酵の終わった目安となる。

2.5 化学定量分析

酵母、麹菌が発酵の過程で生み出す成分は様々であり、その数は700種類以上にも及ぶ。香りの成分だけでも約300種類あり、有機酸に関しても約40種類の成分が含まれている。これらが日本酒の味、香りをより深いものにしており、これらの成分について調べることは、日本酒への磁場の影響を調べることに於いて有益であると考えられる。そしてこれら成分の、量、または割合を決定することを目的とした分析を定量分析と呼ぶ。今回、磁場を印加する実験で用いた試料を、福岡県工業技術センター生物食品研究所にて、日本酒の味・香りに関わる主な成分について定量分析をしていただいた。これらの成分を各試料同士で比較することで、磁場による影響について、更に様々なことを考察できると考える。

2.5.1 有機酸

ここで、定量分析をした有機酸について記述する。

リン酸

酵母がブドウ糖を分解する時に生成されるミネラル。麹や酵母の増殖を助ける。

クエン酸

同じく酵母がブドウ糖を分解したときに生成される有機酸。ミカンやレモンなどに代表される爽やかな酸味を与える。

ピルビン酸

同じく酵母がブドウ糖を分解したときに生成される有機酸。多すぎるとつわり臭や木香様臭などと呼ばれる劣化臭を生む原因にもなる。

リンゴ酸

酵母が生み出す有機酸のひとつ。すっきりとした酸味、爽やかな香りの生む日本酒を代表する成分の一つ。

コハク酸

酵母が生み出す有機酸のひとつ。リンゴ酸の爽快さに対して、濃厚な旨味、味の濃さに大きく関わる、貝類等に含まれる成分。

乳酸

酵母がブドウ糖を分解したときにできるピルビン酸が分解されてできる有機酸。酵母増殖時に雑菌を殺菌する役目のほか、日本酒の酸味にも大きく関わる成分。

酢酸

アルコール生成の延長でアルコールが分解されてできる有機酸。これも日本酒の酸味に影響を与える。

ピログルタミン酸

酵母が生成するグルタミン酸が変化した有機酸。旨味成分として有名なグルタミン酸と違い、旨味成分は一切無い。

この中でも、リンゴ酸、コハク酸、乳酸は大半が発酵期間中に生成される。この3つの有機酸は全体に占める割合も大きく、影響の大きい有機酸であるといえる。

2.5.2 香気成分

ここで、定量分析をした香気成分について記述する。

酢酸エチル

清酒の香気成分の一つ。セメダイン臭などと表現されることもある香りを持ち、それゆえに否定的な見方をされることもある。

n- プロパノール

酒に複雑で深い味わいを与えるとされる香気成分。これが多い場合、濃厚な味と捉えられたりする。

イソブチルアルコール

清酒の香気成分の一つ。苦味を感じさせる香りを与える。

酢酸イソアミル

日本酒の香気成分の一つであり、吟醸香とも呼ばれる。バナナや洋ナシを感じさせる香りを与える。

イソアミルアルコール

清酒の香気成分の一つ。独特のアルコール臭を持つ。

カプロン酸エチル

日本酒の香気成分の一つであり、吟醸香とも呼ばれる。柑橘類、リンゴなどを感じさせる香りを与える。

また、この中で特に、酢酸イソアミルとイソアミルアルコールの比をE/A比と呼び、これもまた、日本酒の香りの性質を知る指標となっている。

第 3 章 結果と検討

3.1 磁場無印加実験

磁場無印加実験の詳細を以下に記す。実験期間は 2009 年 8 月 3 日の 18 時 04 分から測定を開始して 8 月 18 日の 18 時 04 分までの 15 日間行った。実験は、磁場を印加せず、常時 15℃ の空間に試料を置き、一日おきに重量を測定した。試料は 2.2 節で説明した試料をそれぞれ A1、A2、2.3 節で説明した試料を B1、B2 とした。

3.1.1 磁場無印加実験結果

各試料の積算炭酸ガス減量を測定した結果を表 3.1 に示す。

表 3.1 において 5 日目と 6 日目が空白となっているが、これは当日の不手際により測定できなかつたためである。またそれらの時間依存性のグラフを図 3.1 に示す。

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロットと実線が A1、A2 を、白プロットと破線が B1、B2 を表している。更にここで、A1、A2 の平均と B1、B2 の平均をとったものの時間依存性のグラフを図 3.2 に示す。

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロットと実線が A1、A2 を、白プロットと破線が B1、B2 を表している。

表 3.1 0 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

日数 [日]	A1[g]	A2[g]	B1[g]	B2[g]
0	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.99	0.93	0.87	1.04
2	2.13	2.08	2.23	2.75
3	3.55	3.53	3.86	4.56
4	5.25	5.29	5.52	6.21
5				
6				
7	9.91	9.91	9.47	10.06
8	11.05	11.07	10.52	11.06
9	12.02	12.06	11.47	11.93
10	12.87	12.91	12.30	12.67
11	13.63	13.64	13.01	13.30
12	14.30	14.28	13.61	13.84
13	14.83	14.76	14.09	14.29
14	15.20	15.12	14.49	14.71
15	15.46	15.33	14.76	14.98

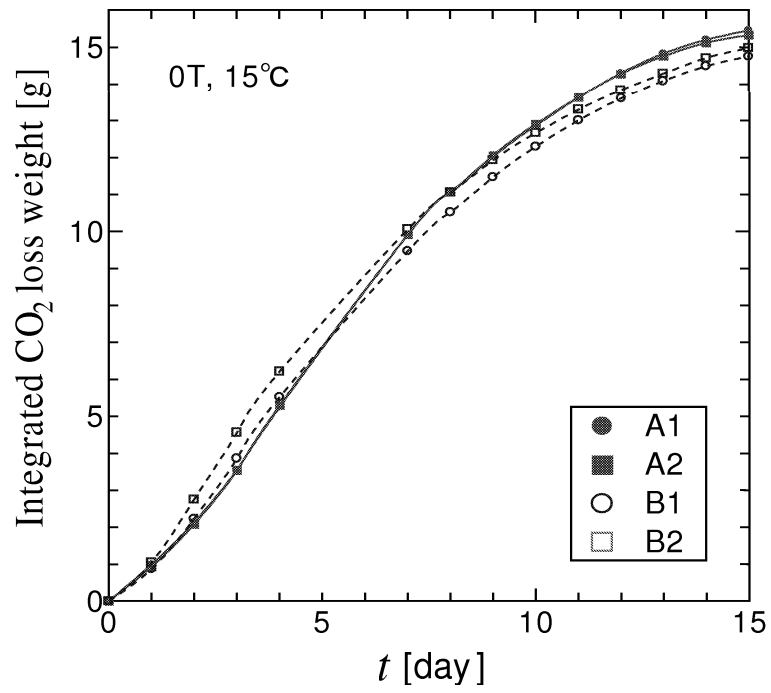


図 3.1 0 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

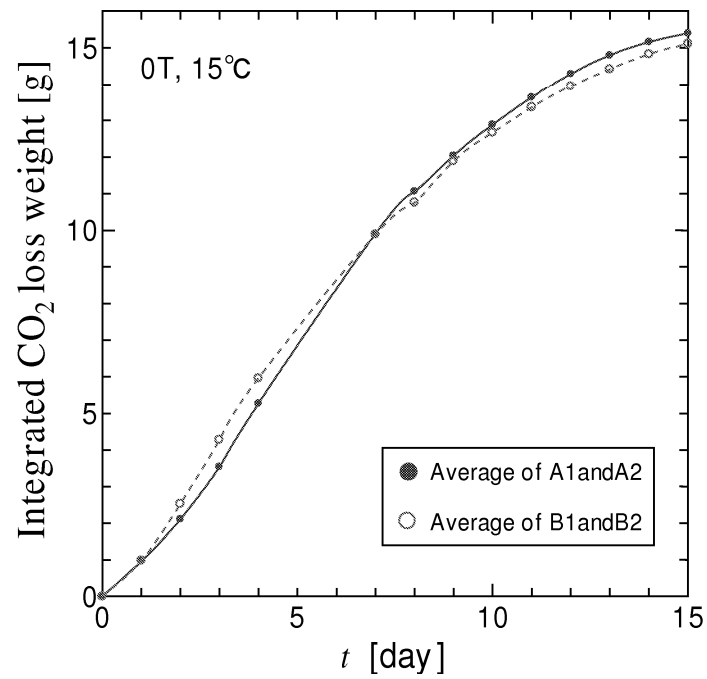


図 3.2 0 T、15°Cにおける試料の積算炭酸ガス減量の平均の時間依存性

図 3.2より、積算炭酸ガス減量は、日数が経過していくにつれて段々と変化しなくなっているのが分かる。これは、試料内の酵母が自身の生み出したアルコールによって失活していき、その結果炭酸ガスの放出がなくなることが原因である。したがって酵母がほぼ活動を停止するころ、すなわち積算炭酸ガス減量に変化しなくなったときが発酵が完了したとき、ということである。15日目までしか測定していないが、この後はほぼ一定の値を保ったまま変化しなくなることが推測される。また、図 3.2では A1、A2 に比べて B1、B2 の炭酸ガスの減量が、1日目から7日目までは多いのに対してその後は少なくなっている。このような反応の差が出たのは、Bの方ではミネラルウォーターを用いたため、試料内に A に比べて多くのミネラルを含むことになり、ミネラルには酵母や麹菌の活動を助ける効果があるため、7日目まで分解速度に差が出たのだと考えられる。その後は、分解するためのデンプン、糖が無くなり、アルコールによる失活もあり活動が A に比べて早く止まってしまい、図 3.2のような結果になってしまったのだと考えられる。なお、図 3.1より A1、A2 に比べて B1、B2 は計測した値にばらつきがあるが、これは B1、B2 を準備する際に、硬水を用いて、ビンの殺菌にアルコール殺菌しか行っていないため、A1、A2 に比べてより多くの雑菌が入ったため、反応にいくらか差が出てしまったのではないかと考えられる。

今回の磁場無印加実験により、試料の積算炭酸ガス減量の時間変化について全試料でおおよそ同じ反応をみることができ、実験方法については妥当であると考えられた。また、実験を行うに関して、B1、B2のようにミネラルウォーターを用いたり、ビンの殺菌をアルコール殺菌だけで実験を行うと測定する値にばらつきが多くでてしまうことが懸念されるため、以降の実験では A1、A2 のように、事前にビン、水をオートクレープを用いて加圧・滅菌したものを使用する。

3.2 磁場を印加した環境での実験による測定

次に磁場を印加した環境における測定を行った。実験は全て、磁場を印加した試料を A1、磁場を掛けていないものを B1 とした。また今回から、測定した試料は、福岡県工業技術センター生物食品研究所にお願いして、化学定量分析をしていただいた。

3.2.1 10 T、15°Cにおける実験の結果

実験の詳細を記す。実験は、磁場を10 T、温度を15°Cに設定し、2009年9月14日から10月5日までの22日間行った。各試料の積算炭酸ガス減量を測定した結果を表3.2に示す。

表 3.2 10 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

日数 [日]	A1[g]	B1[g]	日数 [日]	A1[g]	B1[g]
0	0.0	0.0	12	11.8	11.9
1	0.2	0.4	13	12.4	12.5
2	0.6	1.5	14	13.0	13.1
3	2.4	3.0	15	13.4	13.5
4	4.0	4.6	16	13.7	14.0
5	5.7	6.0	17	14.0	14.3
6	7.1	7.2	18	14.2	14.5
7	8.4	8.3	19	14.8	14.8
8	9.3	9.3	20	14.6	14.8
9	10.2	10.3	21	15.0	14.9
10	11.0	11.1	22	15.6	15.1

また、それらの時間依存性のグラフを図3.3に示す。

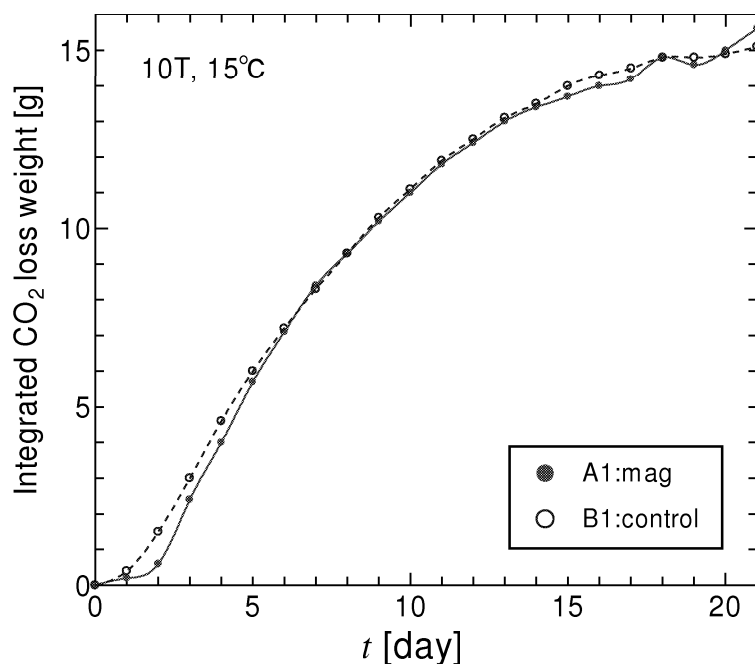


図 3.3 10 T、15°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロット、実線が A1 を、白プロット、破線が B1 を表している。図 3.3 より、1 日目から 6 日目までの間に、磁場を印加したものとそうでないもので炭酸ガス減量に変化が見られる。これは磁場を印加することで、酵母の増殖速度と、麹菌の糖化能力が抑えられるため、最初の数日は発酵が、磁場を印加していないものに比べて進まなかったことが原因ではないかと考える。ある一定の数にまで増えた後、発酵が進むと結局、磁場を印加しているものもしていないものもアルコールにより失活していき、栄養状態は 2 つともほぼ変わらないので、最終的にはほぼ同じ値で積算炭酸ガス減量に変化しなくなった、すなわち発酵が止まったのではないかと考える。

次に、22 日間測定をした両試料を化学定量分析していただいた結果を表 3.3 と表 3.4 に示す。表の下にあるのは、B1 の成分を 1 とした A1、B1 の各成分のデータチャートである。なお香気成分において、ppm とは parts per million の略であり 100 万分の 1 の意味である。

表 3.3 10 T、15°Cにおける各試料の有機酸

有機酸名	A1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]	B1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
リン酸	510	464
クエン酸	90	90
ピルビン酸	38	44
リンゴ酸	282	317
コハク酸	743	711
乳酸	930	1060
酢酸	300	195
ピログルタミン酸	110	105

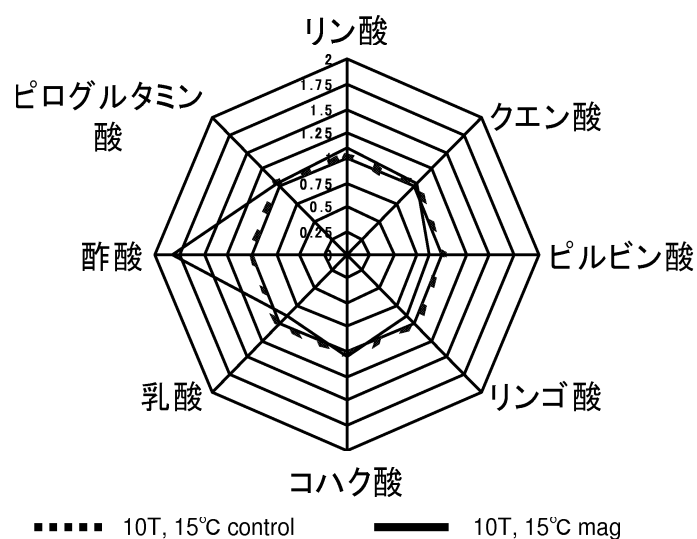


図 3.4 10 T 15°Cにおける各試料の有機酸のデータチャート

表 3.4 10 T、15°Cにおける各試料の香気成分

香気成分名	A1[ppm]	B1[ppm]
酢酸エチル	33.4	43.5
<i>n</i> -プロパノール	170.2	190.6
イソブチルアルコール	75.8	74.8
酢酸イソアミル	1.2	1.6
イソアミルアルコール	563.9	588.8
カプロン酸エチル	1.0	1.0
E/A 比	0.2	0.3

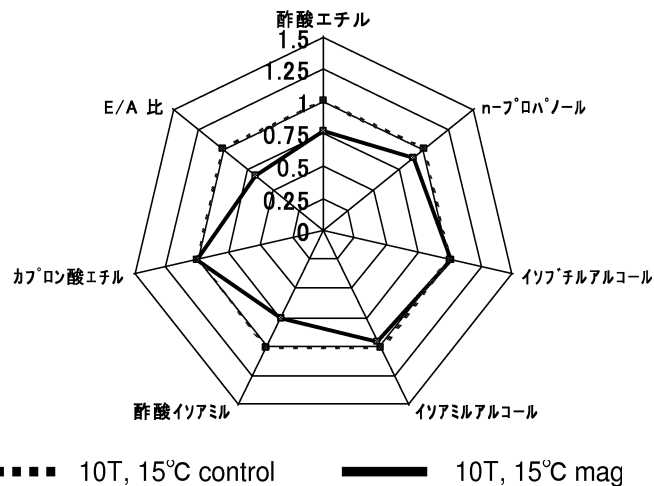


図 3.5 10 T 15°Cにおける各試料の香気成分のデータチャート

表 3.3について、リン酸、コハク酸、酢酸については磁場を印加した試料のほうが対照試料に比べて多く、ピルビン酸、リンゴ酸、乳酸については磁場を印加した試料のほうが少なくなっており、日本酒の味を決める主な成分に磁場による影響を見ることができた。また、表 3.4についても、酢酸エチルは磁場を印加した試料のほうが対照試料より少なく、*n*-プロパノールは磁場を印加した試料のほうが多い。

3.2.2 10 T、10°Cにおける実験の結果

実験の詳細を記す。実験は、磁場を10 T、温度を10°Cに設定し、2009年11月30日から12月11日までの11日間行った。各試料の積算炭酸ガス減量を測定した結果を表3.5に示す。

表 3.5 10 T、10°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

日数 [日]	A1[g]	B1[g]
0	0.0	0.0
1	-0.3	-0.1
2	0.1	0.2
3	0.9	1.0
4	1.6	1.7
5	2.4	2.5
6	3.4	3.5
7	4.1	4.1
8	4.9	5.0
9	5.8	5.8
10	6.3	6.3
11	6.9	6.8

また、それらの時間変化したグラフを図3.6に示す。

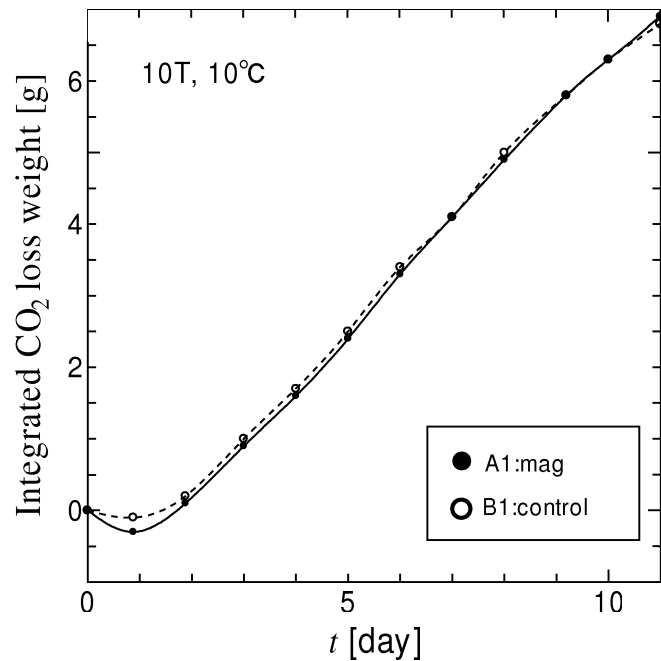


図 3.6 10 T、10°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロット、実線が A1 を、白プロット、破線が B1 を表している。1 日目に重量が増えているが、これは測定時のこちらの測定方法による誤差であり、積算炭酸ガス減量を見るにあたっては特に影響はないと考えられる。図 3.6 より、低温時の磁場の影響、特に 1 日目から 7 日目までの変化は前回 3.2.1 節程の変化はなく、ほぼ同様の発酵速度であった。これは、10°C という低温環境だけで酵母、麹菌の活動が十分抑えられたため、磁場による発酵度合への影響があまり見られなかったのではないかと考えられる。また測定期間の短さも原因の一つであると考えられる。本来、10°C ほどの低温での発酵は 1 ヶ月近い発酵期間を取ることが多いので、12 日間では磁場の影響を十分に観察できなかったのではないかと考える。

次に、12 日間測定をした両試料を化学定量分析していただいた結果を表 3.6 と表 3.7 に示す。表の下にあるのは、B1 の成分を 1 とした A1、B1 の各成分のデータチャートである。

表 3.6 10 T、10°Cにおける各試料の有機酸

有機酸名	A1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]	B1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
リン酸	28.6	35.2
クエン酸	74.7	80.3
<u>ピルビン酸</u>	474.2	429.6
<u>リンゴ酸</u>	165.5	149.4
<u>コハク酸</u>	627.7	692.8
乳酸	3153.5	4063.4
<u>酢酸</u>	108.2	144.5
ピログルタミン酸	17.1	17.6

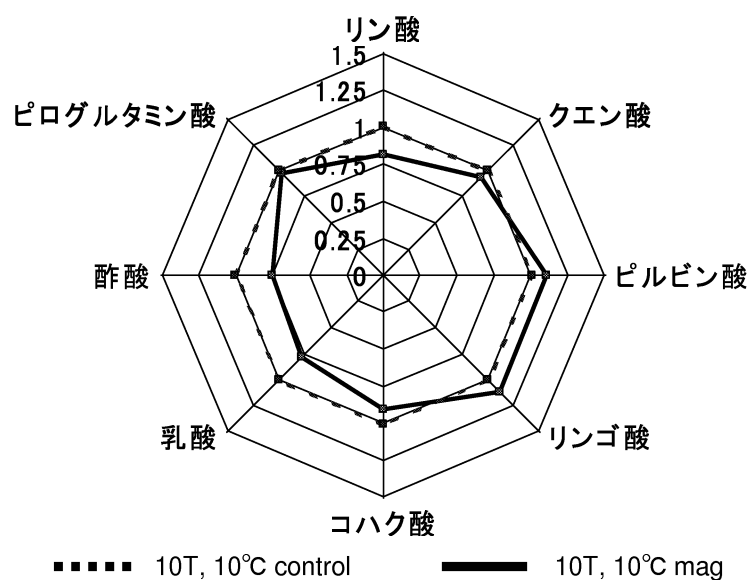


図 3.7 10 T 10°Cにおける各試料の有機酸のデータチャート

表 3.7 10 T、10°Cにおける各試料の香気成分

香気成分名	A1[ppm]	B1[ppm]
酢酸エチル	25.3	32.2
<i>n</i> -プロパノール	30.1	34.1
イソブチルアルコール	32.0	36.2
酢酸イソアミル	1.4	1.7
イソアミルアルコール	94.1	102.9
カプロン酸エチル	0.8	0.9
E/A 比	1.5	1.6

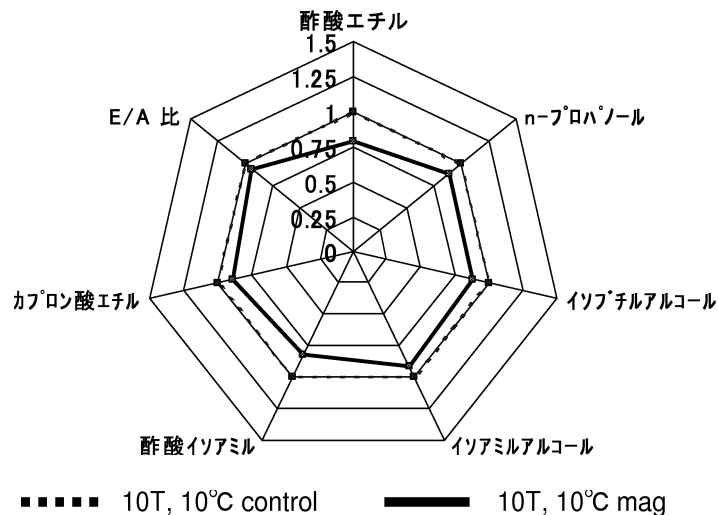


図 3.8 10 T 10°Cにおける各試料の香気成分のデータチャート

表 3.6、表 3.7より、成分にいくらか変化があることが分かる。有機酸について、今回はリン酸、クエン酸、コハク酸、乳酸、ピログルタミン酸は磁場を印加したもののほうが少なく、その他は磁場を印加したもののほうが多い。ここで、15°Cの時の有機酸への磁場の影響と比較すると、乳酸以外において、成分への影響は逆になっている。これは、今回の実験期間が前回よりも短く、発酵途中で定量分析したためであると考えられる。それを示す点として、ピルビン酸は発酵の途中までは、酵母が糖から分解して生成するために全体的に多く残っているが、磁場を掛けたものでは酵母の増殖の抑制による分解効率の差と、麴の糖化能力の抑制による糖の量の差に

より磁場を印加していないものよりも少なくなっていると考えられる。また主に酵母によって発酵の段階で大半が生成されるコハク酸に関しても、同様の傾向が見られる。香気成分に関しても同様のことが言える。

3.2.3 10 T、25°Cにおける実験の結果

実験の詳細を記す。実験は磁場を10 T、温度を25°Cに設定し、2010年2月1日から2月8日までの7日間行った。各試料の積算炭酸ガス減量を測定した結果を表3.8に示す。

表 3.8 10 T、25°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

日数 [日]	A1[g]	B1[g]
0	0.0	0.0
1	2.3	2.5
2	5.7	6.4
3	8.4	9.1
4	10.4	11.6
5	12.0	13.6
6	13.4	15.1
7	14.4	16.3

また、それらの時間依存性のグラフを図3.9に示す。

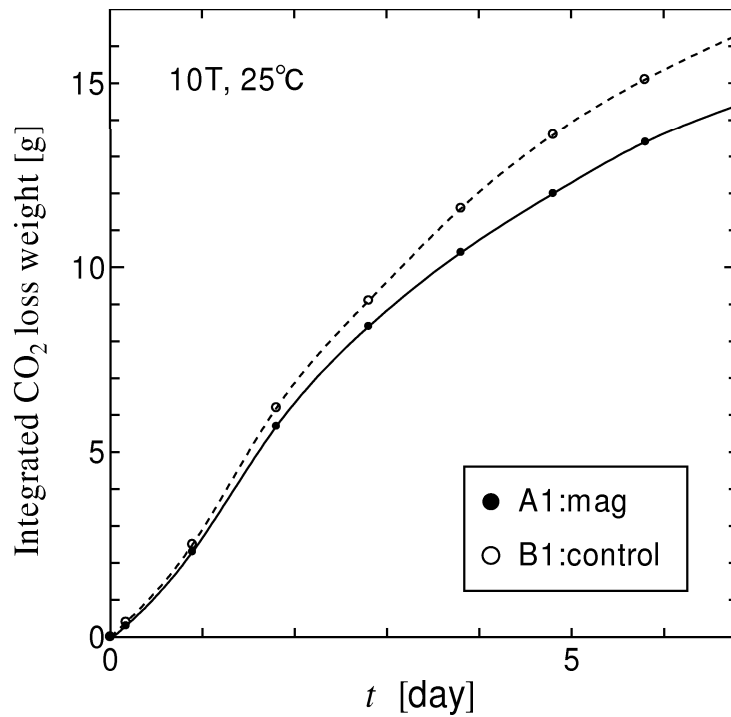


図 3.9 10 T、25°Cにおける積算炭酸ガス減量の時間依存性

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロット、実線が A1 を、白プロット、破線が B1 を表している。図 3.9 より、前の 2 回の実験結果と比べると、磁場の影響は測定開始から終了するまで全体を通して見ることができた。これは、25 度まで温度が上がり、酵母、麹菌がより活発に働いたため、それだけ磁場の影響が大きくなったのだと考えられる。

次に、7 日間測定をした両試料を化学定量分析していただいた結果を表 3.9 と表 3.10 に示す。表の下にあるのは、B1 の成分を 1 とした A1、B1 の各成分のデータチャートである。

表 3.9 10 T、25℃における各試料の有機酸

有機酸名	A1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]	B1[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
リン酸	210.1	269.1
クエン酸	82.8	77.6
ピルビン酸	198.3	183.6
リンゴ酸	378.3	397.7
コハク酸	861.7	819.5
乳酸	1822.7	1698.8
酢酸	88.3	81.1
ピログルタミン酸	94.5	77.2

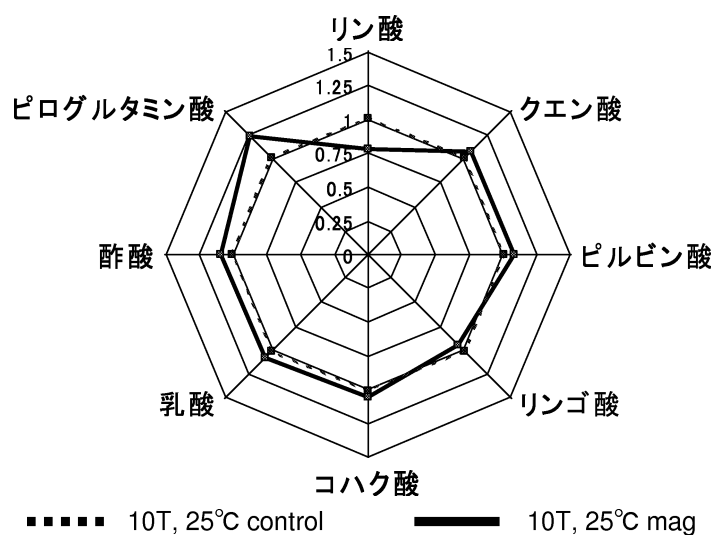


図 3.10 10 T 25℃における各試料の有機酸のデータチャート

表 3.10 10 T、25°Cにおける各試料の香気成分

香気成分名	A1[ppm]	B1[ppm]
酢酸エチル	43.7	41.5
<i>n</i> -プロパノール	134.5	105.7
イソブチルアルコール	106.4	92.3
酢酸イソアミル	2.7	2.4
イソアミルアルコール	182.3	178.2
カプロン酸エチル	0.5	0.5
E/A 比	1.5	1.4

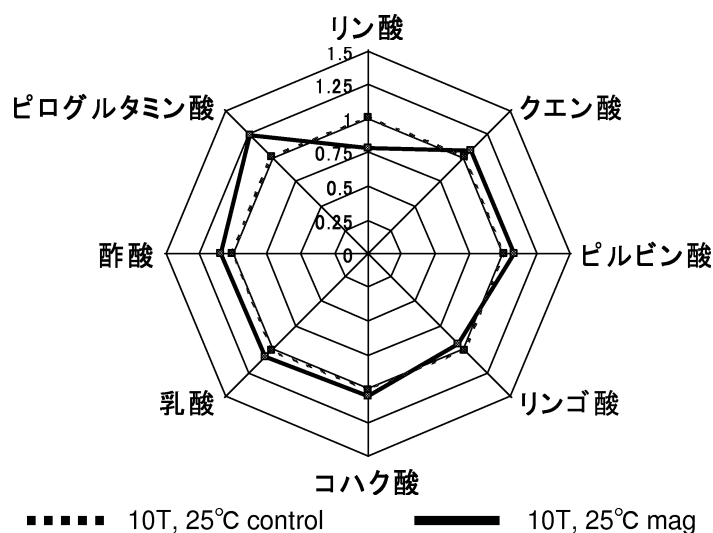


図 3.11 10 T 25°Cにおける各試料の有機酸のデータチャート

表 3.9、表 3.9より、磁場を印加したものと対照試料とで成分にいくらか違いがあることが分かる。有機酸について、コハク酸、乳酸、酢酸、ピログルタミン酸は磁場を印加した試料の方が多く、その他は磁場を印加していないものの方が多い。また、測定期間は10°Cの時よりも更に短い間しか行っていないが、磁場を印加した時の試料の成分への影響が10°Cのときといくつか異なる。異なる点を以下に記す。

- クエン酸が、10°Cの時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25°Cの時は多い。

- コハク酸が、10℃の時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25℃の時は多い。
- 乳酸が、10℃の時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25℃の時は多い。
- 酢酸が、10℃の時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25℃の時は多い。
- ピログルタミン酸が、10℃の時は磁場が印加されている試料の方が多いのだが、25℃の時は少ない。

これらの値の違いは、温度が上がったことによって麹菌、酵母の働きがより活発になったことと、発酵期間の違いからくるものであると考えられる。

また、15℃の時と比較すると、

- リン酸が、15℃の時は磁場が印加されている試料の方が多いのだが、25℃の時は少ない。
- クエン酸が、15℃の時は磁場が印加されている試料の方は変化は無いが、25℃の時は多い。
- ピルビン酸が、15℃の時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25℃の時は多い。
- 乳酸が、15℃の時は磁場が印加されている試料の方が少ないのだが、25℃の時は多い。

これらもいくつか違う点があるが、10℃の時と比べると、磁場の影響が15℃の時に似てきている。特に、リンゴ酸、コハク酸は25℃の時と磁場の影響が一致している。このことから、ある程度磁場を掛けた時点でリンゴ酸、コハク酸への磁場の影響は十分に見られると考えられる。また、他の成分の磁場の影響の違いについても、発酵期間の長さ、設定温度の違いによるものと考えられる。例えば、乳酸は25℃の時は磁場を印加した試料の成分の方が多いが、乳酸は発酵が進むにつれてアルコールにより失活していくため、この後、減少していくことが推測される。このことは香り成分についても同様のことが言えると考えられる。

3.3 考察

今実験で測定・分析を行い得られた結果と、以前までの研究成果をもとに考察を行う。

3.3.1 日本酒醪への磁場印加による影響に対する温度依存性

磁場を印加した実験の、それぞれの温度における磁場印加試料と対照試料の積算炭酸ガス減量をまとめたものを図 3.12 に示す。

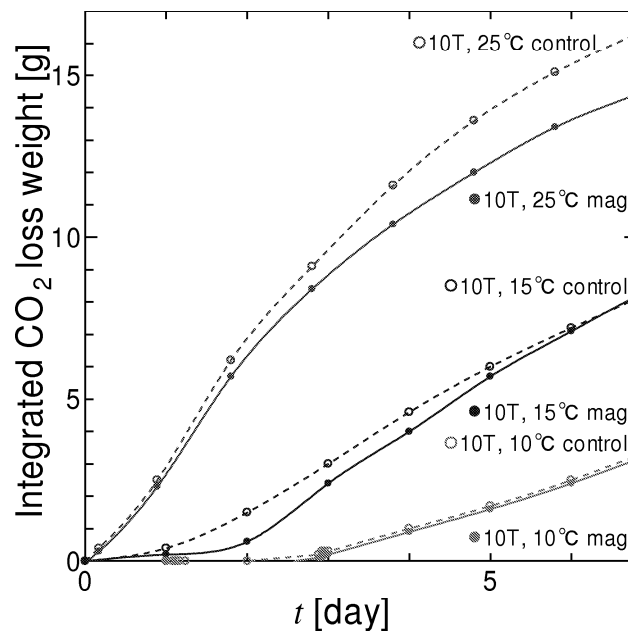


図 3.12 10 T における各試料の温度毎の積算炭酸ガス減量の時間依存性

縦軸が積算炭酸ガス減量、横軸が経過日数を表している。黒プロット、実線が磁場印加試料を、白プロット、破線が対照試料を表している。図 3.12 から全体的に見て、磁場を印加することで発酵速度への影響は、温度が高くなるほど大きくなっている。このことについて 3.2.3 節でも述べているが、麹菌、酵母は温度が高くなるほど活発に働くようになる。このため、温度が高くなるほど磁場による影響も大きくなっていったのだと考えられる。また、各温度によって磁場による発酵速度への影響はいくらか異なっている。以下に各温度毎の、発酵への磁場の影響について述べる。

- 15°C の場合

発酵への磁場の影響に関して、酵母の磁場による影響は低温でみるこ

とが望ましいとされている¹⁾。酵母の温度依存性が磁場依存性よりも強く、温度が上がるにつれて磁場による影響が見難くなることが理由である。また、麹に関しては低温では磁場の影響が見難くなる²⁾。これは、麹菌が温度が高くなるにつれて活発になり、磁場の影響も大きくなるのだが、低温ではその活動が弱まり、磁場による影響も見難くなってしまうためである。以上のことにより、15°Cの時の磁場印加実験において、磁場による醪の発酵速度への影響は、酵母によるものが大きいと考えられる。発酵を開始した当初は、糖化能力にはそれほど変化は無いため、糖化はほぼ同じに進む。しかし、磁場を印加した試料はいくらか酵母の増殖が抑えられ、発酵が遅れる。しかし、数日すると酵母が試料内で飽和する数にまで増殖して、その結果、発酵が磁場を印加していない試料に追いついたのだと考えられる¹⁾。

- 10°Cの場合

発酵への磁場の影響に関して、酵母の磁場による影響は上述しているように、確認しやすくするため低温で行うことが望ましいとされる。また、麹菌に関しても、上述しているように麹菌の温度依存性により、低温では磁場の影響が見難くなる。麹菌、酵母の活動への磁場の影響の与え方から見ると、15°Cの時の実験と似てはいるが、今実験では更に10°Cという低温状態もあり、それぞれの活動が更に抑えられると考えられる。特に麹菌に関しては元々の糖化能力が十分に抑えられると考えられる。そのため発酵期間全体を通して、磁場による影響がほぼ確認できなかったのだと考えられる。

- 25°Cの場合

前述しているが、酵母の磁場の影響は温度を上げるごとに確認しづらくなっていく。酵母の温度依存性が磁場依存性よりも強く、温度が上がるにつれて磁場による影響が見難くなることが理由である。一方、麹菌に関しては、温度が高くなるにつれて磁場の影響が強く表れていくことが分かっている。これは磁場により麹菌の糖化酵素の活性部位が変形するため糖化能力が抑えられるとともに、温度が高くなるほど麹菌の働きが活発になるため、磁場を印加しているものとそうでないものとの反応の差が大きくなるためである。以上のことより、25°Cの時の磁場印加実験において、磁場による醪の発酵速度への影響は、麹

菌の方が大きく関わっていると考えられる。そのため、磁場を印加した試料はしていないものに比べて、糖化の遅れが目立つようになる。酵母の増殖にほとんど差がないと考えられるため、糖化の遅延はそのまま発酵速度の差につながる。すなわち、測定初日から終了日まで全体的に発酵が、酵母の発酵速度に差がない分、麹菌の糖化能力の差がそのまま、発酵速度の差に影響したものだと考えられる。

3.3.2 日本酒成分への磁場の影響への考察

日本酒成分として、有機酸について磁場の影響を考察する。今回、磁場を印加する実験において、すべての温度において有機酸にいくらかの変化を与えることができた。リン酸は、発酵初期においては酵母の増殖を抑制され、磁場を印加した試料の方が少なかったが、発酵後期になると逆に磁場を印加した試料の方が多くなっている。クエン酸については、発酵初期においては、磁場を印加した試料の方が少なかったが、発酵後期においては差は無くなった。このことから、クエン酸に対しては初期にしか磁場の効果は無いと考えられる。ピルビン酸については、発酵初期においては磁場を印加した試料の方が多かったが、発酵後期にはわずかながら磁場を掛けた試料の方が少なくなっている。ピルビン酸は多く残ってしまえば、木香様臭、つわり香などと呼ばれる劣化臭を出すため、これが発酵後期において少ないことは望ましいといえる。リンゴ酸については、発酵初期においては磁場を印加した試料の方が多いが、発酵後期においては磁場を印加していない試料の方が多い。コハク酸については、発酵初期においては磁場を印加した試料の方が少ないが、発酵後期においては磁場を印加した試料の方が多い。この2つの有機酸の変化から、磁場を印加することで、リンゴ酸の爽やかな味、香りは幾らか損なわれるが、コハク酸の濃厚な味、旨味が増すということが考えられる。乳酸については、発酵初期から後期にかけて、全体的に磁場を印加していない試料よりも少ないことが分かる。これは磁場を印加することで酵母の抑制効果を受け、その結果、乳酸の生成が抑えられたのだと考える。酢酸については、発酵初期においては磁場を印加した試料の方が少ないが、発酵後期においては磁場を印加した試料の方が多くなっている。ピログルタミン酸については、磁場を印加した試料の方が少なかったが、発酵後期になると逆に磁場を印加した試料の方がわずかに多くなっている。

以上のことから、全体的に磁場による成分の変化が見られたが、その中でも主にリン酸、リンゴ酸、コハク酸、酢酸について磁場による成分への影響が見られた。特に発酵の過程においてその大半が生成され、全体に占める割合の多い⁴⁾、リンゴ酸、コハク酸についてみると、リンゴ酸の量が減り、コハク酸の量が増え、旨味成分、味の濃厚さが増すようになると考えられる。

25℃の時の試料の成分についても、発酵初期と比較すると、温度が上がるにつれて、主にリン酸、クエン酸、ピルビン酸、コハク酸、乳酸、酢酸に磁場の影響が見られる。具体的には、リン酸の減少、ピルビン酸、クエン酸、コハク酸、乳酸、酢酸の増加である。これらは前述している磁場の影響にある程度一致している。更に、リンゴ酸、コハク酸に関して、これらの有機酸の磁場の影響は、発酵後期の磁場の影響と一致しており、且つその値は25℃の時を上回っている。このことから、ある程度の期間、磁場を印加することで、リンゴ酸の減少、コハク酸の増加という磁場の効果が表れると考えられる。また、その効果はコハク酸の場合、より強く表れると考えられる。具体的には、15℃の時の磁場を印加した試料と磁場を印加していない試料との成分の差は4.5程度のものであったが、25℃の時の成分の差は5.2と増加している。これにより、温度が上がるにつれ、更に味の濃厚さ、旨味が増すようになると考えられる。なお、異なる点もあるが、これは発酵期間の短さと設定温度の高さによるものだと考えられる。例えば、乳酸は25℃の時は磁場を印加した試料の成分の方が多いが、乳酸は発酵が進むにつれてアルコールにより失活していくため、この後、減少していくことが推測される。

第4章 まとめと今後の課題

4.1 まとめ

本研究では、日本酒を左右するといえる、麹菌、酵母の両方に日本酒醸造の最終過程ともいえる発酵の段階において長期間磁場を印加し、発酵過程への影響について調査した。また、日本酒成分への影響についても調査した。

4.1.1 発酵過程における磁場印加による影響

今実験において、15℃及び25℃の時の発酵過程において磁場を印加することによって、発酵の初期段階に影響がみられた。15℃の磁場印加実験においては、磁場を印加した試料において実験開始から7日目までの間、積算炭酸ガス減量が抑えられた。また、25℃の磁場印加実験においては、実験開始から終了までの間、継続して発酵が抑えられた。

温度によって磁場の影響が異なっている点について、磁場の影響と温度の影響をより大きく受ける条件が、麹菌、酵母でそれぞれ違うことが、発酵の磁場による影響の違いにつながったのだと考えられる。麹は温度が高いほうが活発になり、磁場の影響を受けやすい。一方、酵母は温度依存が強く、温度を上げた環境では磁場の効果を確認しにくい。そのため、酵母は麹とは逆で、低温の環境で実験を行い、磁場の効果を確認しやすくなることが望ましい。

4.1.2 日本酒成分における磁場印加による影響

今実験において、発酵終了後に化学定量分析を行い、試料に含まれる有機酸、香气成分を調べた。その結果、主に磁場によって、リン酸、コハク酸、酢酸の増加、ピルビン酸、リンゴ酸の減少が確認できた。特に、リンゴ

酸、コハク酸に関しては、リンゴ酸の減少、コハク酸の増加により、リンゴ酸の爽やかな酸味、味は多少損なわれるものの、コハク酸の濃厚な味、旨味が強くなると考えられる。

4.2 今後の課題

本研究により、日本酒醸造における発酵の最終段階といえる「醪」に磁場を印加することにより、その発酵を遅らせることができる、ということを確認した。また、主要な日本酒成分に関しても、磁場の影響によって、変化を与えることができた。このことから、低温における日本酒醸造の際に磁場を印加することによって、新たな酒質の日本酒醸造の可能性や、日本酒造りに本来向かない温暖な気候の地域での新たな日本酒醸造の可能性が期待できる。

ただ、今実験では磁場を 10 T で固定し、温度を変えて行ったが、各温度毎での発酵期間が全て異なり、特に 10°C、25°C の発酵期間が短いため、このまま発酵が進んだ場合の測定などが行えなかった。また、発酵期間の違いから、日本酒成分の磁場による影響の温度依存性等について、正確に得ることはできなかった。本研究の目的が日本酒成分への影響を調べることにある以上、この損失は大きいものであると考える。したがって、日本酒成分への磁場の影響をみるに当たっては、まず実験期間の統一をはかる必要がある。また、今研究では醪の発酵度合いを推し量る手段として、積算炭酸ガス減量を用いたが、成分のみに測定対象を絞り、一日おきに醪の一部を採取し、成分を分析していくことでより詳しい磁場の影響を調べることもできると考える。

更に、今回の実験では 10 T という非常に強い磁場を掛けている。このため、麹菌や酵母は非常に強いストレスを受ける環境下であり、これが突然変異を引き起こす可能性は十分にありえる。今実験では、麹菌、酵母の突然変異株については何も調べていないが、このことについて調べることは今後の研究にとって有意義であると考えられる。また、10 T という磁場を実際の酒造の際に掛けることは非常に困難である。磁場によっては、もっと低磁場で、より大きな変化をもたらす可能性もあるため、今後は温度依存だけでなく、磁場依存についても細かく分けて様々な条件下での実験を行う必要があると考える。

謝辞

本研究を行なうにあたり、多大なる御指導、助言を各方面の専門家の方々に頂き、そのおかげで、研究を無事に行うことができました。多大な御指導、助言をして下さった九州工業大学の松下照男先生、木内勝先生。本研究に導いて頂き、多大な御指導、助言をして下さった小田部荘司先生。様々な器具の扱い方から、生物学の知識に至るまで、丁寧に御教授いただいた仁川純一先生。急な御願いにも関わらず、超伝導マグネットを最後まで使わせていただき、実験方法などに多大な御指導、助言をして下さった福岡大学の松本泰國先生。何度も化学定量分析をして頂いた福岡県工業技術センターの大場孝宏先生。現在までの研究成果や問題点を事細かに記していただいた、田中悠介先輩、川上宏幸先輩、黒木章太郎先輩。本研究以外でも様々な助言、手助けをして頂いた松下・小田部・木内研の皆様。実験の応援をしてくれた家族。皆々様に感謝の気持ちと共に深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 黒木章太郎：高磁場中における日本酒酵母の活動に関する研究 [九州工業大学学部論文 平成 19 年] p.12-40
- 2) 田中悠介：強磁場中における麹菌の糖化能力抑制効果に関する研究 [九州工業大学学部論文 平成 21 年] p.41
- 3) 川上宏幸: 強磁場中における日本酒微生物の活動に関する研究 [九州工業大学学部論文 平成 20 年] p.47
- 4) Tadao Asano: Seibutsu-kogaku 85 (2007) p63-68.
- 5) 秋山裕一著: 『日本酒』 岩波文庫 (1994) p.42
- 6) 微生物生態研究会 編: 『場の管理をめぐって』 (微生物の生態 4) 学会出版センター (1977) p5-12
- 7) 河合聡他著: 定量分析化学改訂 2 版 丸善 (1986) p37
- 8) 日本醸造協会 編: 日本酒醸造協会誌第 104 巻 第 9 号 (2009) p.687-696