

自然界からの醸造用酵母の分離

誌名	長野県食品工業試験場研究報告 = [Research] report of the Nagano State Laboratory of Food Technology
ISSN	0286102X
著者	蟻川, 幸彦 下坂, 誠 岡崎, 光雄 ほか1名,
巻/号	30号
掲載ページ	p. 53-54
発行年月	2002年9月

自然界からの醸造用酵母の分離

諏訪湖から分離した酵母による清酒醸造

蟻川幸彦・下坂 誠*・岡崎光雄*・小原忠彦

緒 言

現在清酒醸造に用いられる酵母の親株には、優良な醸造製品を生み出す蔵から分離された蔵付き酵母が多い。近年まで、清酒醸造では、原料または蔵に付着していた酵母が発酵に関与してきた。しかし発酵の主体が酵母であることがわかり、安定した品質を確保するための酵母純粋培養および添加という技術が普及するにつれ、清酒醸造に適した株の選択が試みられ、上記のような蔵付き酵母が選択されてきた。その後、これらの株は育種技術の進歩により様々な改良が加わり、現在に至っている。我々も信州清酒の需要拡大のため、変異、細胞融合、遺伝子組換え等の様々な技術を駆使して清酒用酵母の育種を行ってきた¹⁾⁻⁵⁾。変異処理の場合、思いもかけない変異が起こり、性質を極度に変化させることもあるが、偶発的要素が強く、労力がかかる。労力を抑えて目的に合わせた酵母を育種する場合には、適切なスクリーニング培地の開発が必要になってくる。一方、遺伝子組換えは目的に合わせた育種が理論上可能である点で、育種技術としては非常に優れており、偶発性も排除できるので安全性も高い。しかし消費者の理解が得られない現状では、育種し

酵母の普及は事実上不可能に近い。そのため遺伝子組換えで目的に合致した株を探し、得られた情報を元に、変異処理で最終的な株を分離するという、かけなくても良い労力をかけざるをえない場合もある。

ところで上記述べてきた育種技術の対局に位置するのが、自然界からの分離という手法である。蔵付き酵母の分離も自然界からの分離に大枠では含まれるが、純粋培養酵母の添加が普及している現状では、新規の酵母菌株を分離するのは極めて困難であると思われる。最近、海から分離された海洋酵母や花から分離された酵母がワインや清酒醸造に用いられ、話題をさらっている。特に花から分離された酵母の中には吟醸香成分を多量に生産して、実用上有用な株となっているものもある⁶⁾。自然界からの分離は、手法として極めて偶然性が高いものであり、労力時間を多量に要する場合もある。しかし全く新規の優れた特性を醸造用酵母に導入する可能性も高い。そこで我々も、遺伝子資源の発掘という観点から、自然界からの酵母の分離に取りかかることとした。ま

ず信州を代表する湖水である諏訪湖から酵母を分離し、醸造試験を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 分離法

信州大学山地水環境教育研究センターの協力の元、諏訪湖より湖水を採取した。その内20lを連続遠心機(3000rpm)で分離し、沈殿物を適量の滅菌水に溶かした後、表1の各種組成の培地に接種し、20℃で培養した。増殖のあった培養液を同じ組成の固体培地(寒天2%)に接種し、生じたコロニーより分離した。

表1 培地組成

番号	培地組成
1	YPD10
2	YPD10, エタノール10%
3	YPD10, クロラムフェニコール180ppm
4	YPD10, クロラムフェニコール180ppm, 乳酸0.3%
5	YPD10, クロラムフェニコール180ppm, エタノール10%
6	YPD10, アンピ ⁺ シリン100ppm
7	YPD10, アンピ ⁺ シリン100ppm, 乳酸0.3%
8	YPD10, アンピ ⁺ シリン100ppm, エタノール10%
9	YPD10, 乳酸0.3%
10	YPD10, エタノール10%, 乳酸0.3%

2. 仕込み条件および測定

小仕込み試験は、総米200gで15℃一定で行った。有機酸濃度の測定はHPLC(有機酸分析システム:島津製作所)で測定した。香気成分はヘッドスペースガスクロマトグラフィで行い、検出はFIDまたはMSで行った。エタノールはガスクロマトグラフィ(OV1カラム)で、一般分析は国税庁所定分析法に従って行った。

実験結果および考察

1. 諏訪湖酵母の分離

表1の培地番号, 1, 3, 4, 6, 7, 9で微生物の増殖が認められたが、酵母が分離されたのは3, 6, 7だけであった。さらに3, 6から分離された酵母は赤色に発色し、カロチノイド酵母と推測され、発酵力もほとんどなかつ

*信州大学繊維学部

たため除外した。よってYPD10培地に抗生物質としてアンピシリンを加え、乳酸でpHを下げた7の培地から分離した1株をSUWA1とした。

2. 仕込み試験

分離中に行った培養で発酵が認められた事、また分離した株が1株しかなかった事から、協会901号を対照に小仕込み試験を実施した。発酵経過を図1に示す。炭酸ガス減量では協会901号と遜色なかった。しかし得られた生成酒ではエタノール生産性が若干劣っていた(表2)。表2の生成酒分析結果をみると、SUWA1で仕込んだ酒は協会901号に比べ、プロピルアルコール、イソブチルアルコールおよびイソアミルアルコールの高級アルコール濃度が高かった。

またアミノ酸度が高く、リンゴ酸濃度が低い特徴もあった。生成酒の官能検査では、表3のようなコメントが得られた。ブランデーとかウイスキー様のコメントは、

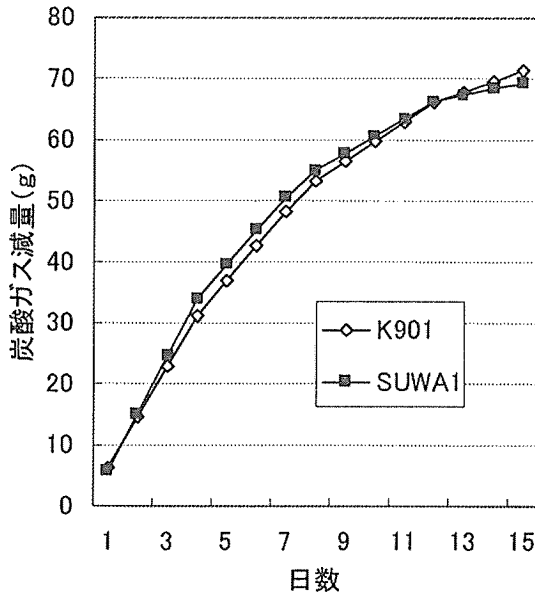


図1 発酵経過

表2 生成酒の分析結果

	K901	SUWA1
日本酒度	+8	-4
総酸度	2.23	2.22
アミノ酸	2.02	3.19
エタノール	w/v%	15.61
pH	4.41	4.65
酢酸エチル	mg/L	134
プロピルアルコール	mg/L	100
イソブチルアルコール	mg/L	99
酢酸イソアミル	mg/L	6.78
イソアミルアルコール	mg/L	158
カブロン酸エチル	mg/L	0.6
ピルビン酸	mg/L	0
リンゴ酸	mg/L	444
コハク酸	mg/L	700
乳酸	mg/L	575
酢酸	mg/L	0

生成酒中の高級アルコール成分に依るのではないかと考えられた。しかし香りは非常に微量な成分でも人間の感性に寄与する場合もあるのでGC-MASでも分析を行った(表4)。特に協会901号に比べ多い成分について記載した(標準はとっていないので面積比)が、この中のイソバレルアルデヒドは生老香の主要成分であり、一般には好ましくない成分であるが、協会901号の3.7倍あり香りに複雑さを与えていると考えられる。いずれにしる香味的に非常に特徴があり、SUWA1は清酒の多様化に寄与することができるのではないかと考えられた。

表3 分離酵母の官能コメント

SUWA1	コメント
	味軽い、老酒様の香り、多様化清酒に生かせれば面白い
	ブランデーの香り、変わっていてよい
	香り独特、味あり
	木香のような香り、ウイスキー的
	香りあり、味の幅あり、特有の香り

表4 微量香気成分

成分	Score %	K901 area	SUWA1 area	ratio SUWA1/K901
イソバレルアルデヒド	94	2499630	9177455	3.7
酢酸イソブチル		22398075	54500793	2.4
3-エトキシプロパノール	83	0	18037391	
ベンズアルデヒド	95	0	1435827	
ヘキサデカノイック酸エチル	99	948567	85264057	89.9

要 約

諏訪湖より湖水を採取し、その中より1株発酵性のある酵母を分離した。この酵母で醸造した酒は、成分的には高級アルコール含量が多く、官能的には蒸留酒様の風味を呈した。分離株は清酒の多様化に有用と考えられる。

文 献

- 1) 蟻川幸彦, 馬場 茂, 近藤君夫, 桑原秀明, 宮崎忠雄: 醸協誌, **83**, 605-609 (1988).
- 2) 蟻川幸彦, 馬場 茂, 近藤君夫, 桑原秀明, 吉川茂利, 小栗 勇: 醸協誌, **86**, 616-618 (1993).
- 3) 蟻川幸彦, 藤田 篤, 馬場 茂, 小栗 勇: 生物工学会誌, **72**, 95-100 (1994).
- 4) Arikawa, Y., M. Kobayashi, Kodaira, R., M., Shimosaka, M., Muratsubaki, H., Enomoto and Okazaki, M.: J. Biosci. Bioeng., **87**, 333-339 (1999).
- 5) Arikawa, Y., M. Yamada, M. Shimosaka, M. Okazaki, M. Fukuzawa: J. Biosci. Bioeng., **90**, 675-677 (2000).
- 6) 穂坂 賢, 角本琢磨, 大竹 聡, 中田久保, 坂井召力: 醸協, **94**, 998(1999).