

泡なし酵母の歴史

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	大内,弘造
発行元	日本醸造協会
巻/号	105巻4号
掲載ページ	p. 184-187
発行年月	2010年4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



泡なし酵母の歴史

大内 弘 造

泡なし清酒酵母（以下泡なし酵母と略）が発見されてから既に94年が過ぎ、もうすぐ100年目を迎えようとしている。今では国内外の清酒醸造がほとんど泡なし酵母によって行われるまでになったが、一方、泡なし酵母の歴史について事実と異なる記述を目にするようにもなった。これは誤った情報が流布するままに放置した者の責任でもあるので、ここで泡なし酵母の歴史をふり返るとともに、事実と異なる点を指摘しておきたい。

1. 泡なし酵母の発見

泡なし酵母が発見されたのは1916年（大正5年）のことである。発見者は二人おり、一人は広島税務監督局に勤務していた高橋¹⁾（敬称略、以下同じ）、もう一人は大蔵省醸造試験所技師の善田²⁾である。

高橋は広島県の一酒造場で「その泡淡く、且つ低き一種特異の醗酵状態を呈するもの偶々一仕込みに発生することあり」、その醗から高泡をつくらぬ酵母を分離した。また、善田は広島県産の新酒及び埼玉県の一酒造場で十年来「スズメ湧き」と称する発酵現象を継続していることを知り、その醗から泡なし酵母を分離した。醗が高泡になるか否かは酵母の性質によって決まることを最初に実証した両氏の功績は、極めて大きいといえよう。さらに、高橋は泡なし酵母を利用すれば泡消しの労力を省略できることを、また、善田は同一容器をもって大量の仕込みが可能であるとして、そのメリットを指摘しており、彼らの先見の明にも敬意を表したい。

しかし、醸造試験により品質中等ないしそれ以上の清酒ができることを示したにもかかわらず、これらの泡なし酵母は実用化されることはなかった。その理由の第一は、当時の生産体制では泡なし酵母に対するニーズがなかったことであろう。泡なし酵母のメリット

は発酵容器が大型になるほど大きくなるが、当時の清酒醸造は木桶を容器とする少量仕込みであり、また泡の湧きこぼれを防ぐための泡笠の着脱や洗浄に要する労働力にも不足せず、環境問題もなかった。理由の第二は、泡なし現象は醗が腐るなどの、異常が起こる前兆として恐れられていたことであろう。当時は醸造業者の微生物に関する知識も乏しい時代であった。泡なし現象については、1931年発行の新潟県醸造試験所報告の中に、「1号酵母が泡なしとなり、夜も眠れないほど心配した」旨の記録も残されている。いずれにしても、両氏によって発見されたこれらの歴史的な泡なし酵母は、菌株として保存されることなく失われてしまったのは残念である。

2. 泡なし酵母の再発見

1963年になって、国税庁醸造試験所研究室長の秋山は、島根県の一酒造場で泡なし現象が連続して発生していることを知り、その醗から泡なし酵母（泡なし酵母A-63）を分離した³⁾。その頃は清酒の消費量が急速に伸びていた時期であり、酒造工場の新築や増改築、機械化、発酵容器の大型化等により増産が進められていた。また、省力化による生産効率の向上や環境問題にも配慮する必要性が生じていた。もはや泡なし現象を腐造の前兆として恐れる時代ではなく、泡なし酵母のメリットを素直に理解できるようになっていた。

泡なし酵母A-63による試験醸造が全国各地で行われた。また、高松国税局の菅野が四国地方で収集した多数の酵母の中からも泡なし酵母が見つかり、その試験醸造も行われた。その結果が1969年に発表⁴⁾されたが、それによればこれらの泡なし酵母は発酵が後半に緩慢であり、製成酒の香気が低い、酸が多いなど、協会7号等の既存優良酵母に比べて劣っており、その

ため実用化は果されなかった。しかし、泡なし酵母 A-63 に関する研究は、泡あり酵母と泡なし酵母の性質の違いを明らかにし、後述のように協会 7 号等の泡なし変異株の開発につながった。泡なし酵母 A-63 が果たしたこの役割の大きさは強調しておかなければならない。

1959 年に、ハワイのホノルル酒造製氷会社に勤務していた二瓶⁵⁾は、現地で低泡酵母を分離していた。これがハワイの泡なし酵母と称されるものであるが、この酵母は、実は完全な泡なし酵母ではなかったかも知れない。二瓶自身は「殆ど泡の上がらないもろみ」となる「低泡酵母」と述べている。そのことは、この酵母を用いた国内での試験醸造の結果も裏付けている。即ち、国税庁醸造試験所の岩田⁶⁾はこの酵母を用いて総米 500kg の仕込みを行い、30cm 程の軽い泡が立ったこと、また他の酒造場での仕込みでも約 1m の軽い泡が立ったという情報を得ていると報告し、「泡の高さが 1m というのは、実際の酒造場では仕込みの大きさが試験所の 3 倍以上になっているという点からうなづけると思う。これなどは泡立ちの面で丁度泡なし酵母と協会 7 号の中間に位置する酵母ではないかと考えている」と述べている。

この岩田の報告から、醸造試験所以外の一部の酒造場でもこの酵母による試験醸造が行われたことがうかがえるが、その後継続して使用された形跡はない。従って、ハワイの「無泡酵母は、後に日本全国で使用されるに至った」という記述⁷⁾があるが、そのような実績はない。

また、二瓶の分離した酵母は「協会 6 号の泡なし株」であるという記述⁸⁾がごく最近でも見られるが、それが協会 6 号の泡なし変異株であるという証拠は何もない。当時ハワイでは協会 6 号を用いて清酒醸造を行っていたので、そのことからの単なる類推かと思われる。現在日本醸造協会にハワイ酵母として保存されているものは、DNA 解析の結果、協会 7 号の泡なし変異株 701 号とまったく同じであった。⁹⁾

3. 泡なし酵母の開発の 2 つの方向

秋山ら¹⁰⁾はその後、優良な泡なし酵母を求めて大規模な探索を行い、当時保存されていた清酒酵母 931 株を含め、焼酎酵母、ワイン酵母、パン酵母の合計 1000 余株を対象として調査した。その結果、清酒酵

母以外の大部分は泡なし性であったが、清酒酵母の保存株の中にも 3.5% の頻度で泡なし酵母が見出された。しかし、そこで見出された泡なし酵母の中にも実用的に優良なものはなかった。

さて、泡なし酵母の開発には 2 つの方向がある。その 1 は、清酒醪等から採取した酵母群の中から泡なしの性質を持つものを探索する方向である。その 2 は、それとは方向が 180 度異なるもので、協会 7 号のような、既にある優良酵母を親株とし、その細胞集団の中にごく低比率で発生する泡なし性の変異株を選別する方向である。先述の高橋、善田、秋山、二瓶の開発はその 1 の方向であり、後述の筆者らによる協会 7 号等からの泡なし変異株の選択的分離はその 2 の方向である。

その 1 の方向は、泡なし酵母の探索にかぎらず、醸造微生物等の優良株を得るための伝統的な手法であり、協会 6 号や 7 号もこの方向により取得された。その 2 の方向は、抗生物質やアミノ酸の製造のような微生物工業では、薬剤耐性や栄養要求性を持つ変異株の分離が菌株改良の手段として行われていたものの、醸造や発酵食品の分野では、まだ特定の親株から意図的に変異株を分離し、実用化に成功した例は知られていなかった。

4. 泡なし変異株の分離

1968 年に、筆者ら¹¹⁾は細胞凝集法 (Cell agglutination 法) 及び泡立て法 (Froth flotation 法) の 2 種類の選択的分離法を考案して協会 7 号から泡なし変異株を分離し、その結果を 1971 年に発表した。両選択的分離法の設定に当たっては、泡なし酵母 A-63 の研究によって明らかにされた、以下のような泡あり酵母と泡なし酵母の性質の違いがヒントになった。

当時、国税庁醸造試験所の百瀬ら¹²⁾は、清酒酵母と乳酸菌の凝集現象について研究し、次のような興味深い結果を報告していた。即ち、乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* を pH3 の低イオン強度水溶液中で清酒酵母と混合すると両細胞同士が凝集するが、パン酵母やビール酵母と混合しても凝集せず、清酒酵母でも泡なし酵母 A-63 とは凝集しないことを発見した。その凝集性の差異は細胞表層の荷電状態の違いによるもので、細胞表層が清酒酵母では正に荷電し、上記の乳酸菌では負に荷電するので互いに静電的に引き合っ

て凝集するが、パン酵母等では負に荷電し、泡なし酵母 A - 63 では荷電がほぼゼロとなるので、乳酸菌とは凝集しないとして、そのメカニズム¹³⁾を明らかにした。

その頃、筆者は東京大学応用微生物研究所遺伝学教室(池田庸之助教授)への国内留学中であり、遺伝子の変異等について学んでいたが、この百瀬らの研究を知り、醸造試験所に戻ってからの研究テーマとして酵母の細胞表面変異株の分離を構想した。酵母の細胞表面の性質は、泡なし性にきざらず醸造上大きな影響を及ぼすことが考えられたからである。例えば、ビール醸造では主発酵終期に酵母の細胞同士が凝集・沈降することが重要な性質として求められるが、その性質が細胞表面の構造に左右されることが以前から知られていた。

筆者は百瀬らの研究をヒントにし、細胞表面構造が変化した酵母の変異株を選択するための戦略を立てた。即ち、清酒酵母と乳酸菌の細胞集団を pH3 の水溶液中で混合すれば凝集・沈降が起こるが、変異により荷電がゼロ又は負に変わった変異株の細胞は凝集せずに、しばらく上層液部に浮遊するであろう。変異の発生率は低いので、一度の凝集操作で変異株を得ることは無理としても、上層液部の一部を採って培養し、その細胞集団に対して同様に凝集操作を行い、また上層液部の培養を行うという、凝集操作と上層液部の培養をセットにして何度か繰り返すうちに、凝集性を失った変異株細胞が大部分を占めるまで集殖されるはずである。このように考えて設定したのが細胞凝集法である。

その後、国税庁醸造試験所の熊谷は、普通の清酒酵母の細胞は気泡に吸着・集積する性質を持つものに対して、泡なし酵母 A - 63 の細胞は吸着しないことを発見¹⁴⁾した。この発見を留学中に知った筆者は、この気泡吸着性の違いを利用して、同様に細胞表面変異株が選別できるであろうと考えた。即ち、泡立てにより吸着性を持つ親株細胞を除去した後、残った細胞集団の一部を培養するという、泡立て操作と培養のセットを繰り返すもので、これを泡立て法と名づけた。

変異株の分離に取り掛かる本番前に、両方法の選択効率を推定するため、協会7号の細胞集団の中に泡なし酵母 A - 63 の細胞を低比率で混合したモデル系をつくり実験を行った。その結果、それぞれ1セットの操作ごとに約10倍の効率で泡なし酵母 A - 63 が濃

縮されてくることを確かめたが、その予備実験の際に、細胞凝集法による最終濃縮段階の細胞集団の中から、早くも協会7号の凝集性欠損変異株が分離された。この変異株は、同時に泡なし性を示すことが確認された。実験開始約1週間後のことである。ここで分離された変異株が協会7号の変異株に間違いのないことは、親株と同じ遺伝的マーカーを持っていたことから確認された。協会7号は、 β -アラニン培地において25℃では増殖できるが、35℃ではできないという、温度感受性の珍しい目印を持つことが知られており、筆者が変異株の親株として最初に協会7号を選んだ理由もそこにあった。こうして最初に分離された泡なし変異株 AS7 - 1 が現在の協会701号である。

その後、本番では泡立て法によっても協会7号の泡なし変異株が分離された。筆者ら¹⁵⁾は、さらに細胞凝集法として新たにセライト凝集法とシュガーエステル凝集法を考案し、前者によっては協会6号と8号から、後者によっては協会9号から泡なし変異株を分離した。このようにして、筆者らの選択的分離法を用いれば、どのような清酒酵母からでも泡なし変異株が分離できる可能性を示すことができた。

なお、これらの選択的分離法のなかで泡立て法が一般的には多用されているようであるが、セライト凝集法が最も便利であることを参考までに記しておきたい。

筆者らは、その後協会7号の泡なし変異株について細胞表面構造がどのように変化したものか、種々の角度から検討を行った。しかしながら、細胞表面に存在する疎水性蛋白質の存在様式に変化を来したのであるという推察はできたものの、その程度に留まり、それがいかなる蛋白かなど、分子レベルでの解明には至らなかった。

後年、酒類総合研究所の下飯ら¹⁶⁾は、その後目覚しく進歩した分子遺伝学の手法を用いて、この問題を見事に解決した。即ち、協会7号から高泡形成を支配する遺伝子 AWA1 をクローニングし、協会7号では AWA1 遺伝子により生産される AWA1 蛋白が細胞表面に固定され、細胞の外側に存在して疎水性を示すが、701号では AWA1 遺伝子の変化により AWA1 蛋白が固定されずに抜け落ちることを明らかにし、また AWA1 遺伝子が701号ではいかなる機構でどのように変異したかなどを DNA 解析により解明した。

5. 泡なし酵母の国内での実用化

筆者らは、分離した泡なし変異株が泡ありに戻る
ことがないかなど、安定性の確認を綿密に行った後、
昭和44及び45酒造年度の2ヵ年わたり、全国各地の
酒造場において協会7号泡なし変異株の実地醸造試験
^{17,18)}を実施した。その結果は、醪が急ぐなど、発酵経
過には差があるものの、生成酒の品質は親株と同等に
良好であり、その実用性が確かめられた。

その後、他のグループにより協会10号等や各県の
酵母、多くの自社酵母等からも泡なし変異株が筆者ら
の方法を用いて分離され、広く利用されるに至った。

おわりに

泡なし変異株が協会7号を親株として初めて分離
されてから40年になり、今や国内外の清酒醸造がほ
とんど泡なし酵母によって行われるまでに至ったこと
は大変喜ばしい。ただ、冒頭でも述べたように、一部
に事実と異なる記述がみられるようになった点は気掛
かりであった。今後は誤った情報が流布しないよう切
に念願している。

以上、泡なし酵母の歴史について考察等も含めて述
べたが、もしも記述の中に不適當な箇所があればご叱
正を賜りたい。

最後に、ハワイ酵母として日本醸造協会に保存され
ている菌株を提供して下さった元同協会の吉田清氏、
またその酵母のDNA解析の結果をお知らせくださっ

た酒類総合研究所の下飯仁氏に深謝する。

参考文献

- 1) 高橋源次郎：醸協，11，15 (1916)
- 2) 善田猶蔵：醸試報，65，1 (1916)
- 3) 秋山裕一，岩田知栄子，長縄真琴：醸工，43，
629 (1965)
- 4) 秋山裕一，菅野信男，熊谷知栄子，斉藤和夫，
清水徳和：醸協，64，243 (1969)
- 5) 二瓶孝夫：醸協，73，446 (1978)
- 6) 岩田知栄子：醸協，61，1067 (1966)
- 7) 国際酒会主催・海外最大の日本酒イベント 第
8回・2008年度全米日本酒飲評会 開催のご案内：
醸協，103，5号末尾部広告文中 (2008)
- 8) 喜多常夫：醸協，104，592 (2009)
- 9) 酒類総合研究所下飯仁氏よりの私信
- 10) 秋山裕一，熊谷知栄子，田中良彦，大内弘造：
醸協，66，516 (1971)
- 11) Kozo Ouchi, Hiroichi Akiyama: *Agr. Biol. Chem.*, 35, 1024 (1971)
- 12) 百瀬洋夫，土井清太郎，外池良三：醸協，63，
686 (1968)
- 13) Hiroo Momose, Kimio Iwano, Ryozo Tonoike: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 15, 19 (1969)
- 14) この発見は「秋山裕一：醸協，63，27 (1968)」
の中で紹介されている。
- 15) 大内弘造，布川弥太郎：醸協，67，54 (1972)
- 16) 下飯仁：醸協，97，474 (2002)
- 17) 布川弥太郎，大内弘造：醸協，66，512 (1971)
- 18) 布川弥太郎，大内弘造：醸協，67，242 (1972)