

自然環境に由来する多数の酵母菌株の特性評価

醸造微生物研究部門 赤尾 健

1. はじめに

清酒醸造現場で用いられる酵母は、長らく協会系酵母（K6、K7、K9、K10 及びこれらの派生株）が圧倒的に主流です。これに対し近年では、品質の差別化、情動的価値（話題性、物語性）の付与などを目的として、地方公設試や大学において、自然環境から多くの酵母が分離され、特性の評価を経て、一部は実用化に至っています。一方、このような自然環境分離株の各種特性の評価については、ほぼ分離機関ごとに行われており、知見が共有されてこなかったのが実情です。したがって、自然界からはどのような素性の菌株が分離されてきているのか、その全体的な傾向は全くわかっていませんでした。

そこで本研究では、自然環境に由来する酵母の統一的な評価を行うことを目的とし、各機関の協力を得て貴重な菌株の提供を受けると共に、同一条件での清酒小仕込み試験による清酒醸造特性解析や、全ゲノム解読結果に基づくゲノム系統解析を実施しました。解析対象とした菌株は、いずれも *Saccharomyces cerevisiae* に分類される 81 菌株で、分離源の内訳は、花 47 株、果実等 12 株、樹木 6 株、植物（その他）4 株、落葉／土壌 9 株、水圏 1 株、昆虫 2 株です。また分譲元の内訳は、大学・地方公設試 70 株、公的菌株保存機関 11 株です。

2. 清酒醸造特性の解析

清酒小仕込み試験は、乾燥麹と α 化米を使用した総米 100g の酒母省略一段仕込みとし、81 菌株を数ロットに分け、ロットごとに对照菌株として K7 を加え、繰り返し数 2 として実施しました。また、もろみは 15℃ 一定 20 日間とし、炭酸ガス放出に伴う重量減少により発酵経過をモニタリングしました。製成酒の分析項目は、エタノール、日本酒度、ピルビン酸、酸度、アミノ酸度、有機酸、香気成分です。

その結果、自然環境分離株では、炭酸ガスの 1 日あたり減量において、発酵初期に K7 よりも減量の大きな（＝発酵の立ち上がりがよい）菌株が散見されましたが、K7 よりも総減量の大きな菌株はありませんでした。ただし、上槽日において K7 よりも 1 日あたり減量が大きく、発酵が継続している菌株も見られました。これらのことから、本仕込み条件では、自然環境分離株の発酵力（アルコール生成能）は K7 ほどには高くない、もしくは発酵速度が遅いことが示唆されました。表に自然環境分離株と K7 の製成酒分析結果の平均値を示しました。各分析値の分布も考慮しますと、自然環境分離株では K7 よりも製成酒のアルコール度数と日本酒度は低く、ピルビン酸含量が高い傾向にあり、上述の発酵経過と一致するものでした。また、K7 と比較して、製成酒の酸度は高く、アミノ酸度は低い傾向にありました。同様に、有機酸では酢酸と乳酸の含量が高く、香気成分（エステル類、E/A 比含む）の含量は低い傾向を示しました。更に、燻製／香辛料様のオフフレーバーとして認識される 4-ビニルグアヤコール（4-VG）については、ほとんどの自然環境分離株では検知閾値以上の濃度で検出されました（K7 では閾値以下）。

3. 菌株の系統関係及び 4-VG 生成能の分布

ゲノム系統解析では、全ゲノム情報を比較して対象菌株間の相互の違いの程度（＝遺伝距離）を総当たりで計算し、それにより菌株の系統関係（近縁関係）を系統樹という形で表すことができます。ここ

では、自然環境から分離した菌株に加えて、清酒・焼酎酵母、ワイン酵母、ビール酵母など様々な菌株を対象に系統解析を実施しました。図からは系統群（近縁な菌株のまとまった分岐群）として、清酒・焼酎酵母群、ビール酵母群、ワイン酵母群のほか、興味深いことに自然環境に由来する 61 菌株だけで構成された群が観察されました（残り 20 菌株の系統は様々）。この系統群の素性については、花由来の酵母を多く含むため花の環境に適した系統群である可能性、あるいは花由来の菌株以外の酵母も含むため日本産の野生酵母の系統群である可能性などが考えられます。

さて、先に述べたように K7 は 4-VG を生成しませんが、原因は 4VG 生成に関与する *FDC1* という遺伝子が突然変異 (*fdc1^{A160T}*) で機能を失っているためです。清酒・焼酎酵母は、いずれもこの突然変異を共有していますが、系統樹の上でこの変異の分布を見ると、ほぼ清酒・焼酎酵母に限定されることがわかります。自然環境分離株では、よくも悪くも、ほとんどの場合 4-VG 生成の可能性を考慮する必要があるといえます。

4. 自然環境に由来する酵母利用の将来

自然環境分離株は、総じて K7 とは異なる清酒醸造特性の傾向を示すと共に、ほとんどがゲノム系統上の属性も異なっていました。いわば従来の清酒酵母と全く別ものと考えられますが、そのままだでも消費者から一定の支持を得られるでしょう。ただ、造り手の菌株選択の動機が主に話題性などである場合、継続的な支持を得て定着するためには、次なる展開が重要と考えられます。例えば、菌株を供給する側にとっては、菌株を育種改良していく方向です。欠点の解消、あるいは、ある種の特性付与など製造現場や消費者のニーズへの対応が挙げられます。また、菌株を使う側においては、清酒酵母の場合とは別の最適な発酵管理法の模索や、菌株の特性を活かした新しいタイプの市場への提案などが挙げられます。将来的に、自然界の菌株を通じた挑戦的な取り組みが蓄積していくことで、清酒の製造技術、品質、価値基準の幅が広がり、清酒の世界がより豊かなものになっていくことを期待いたします。

5. 謝辞

貴重な菌株をご提供いただいた関係機関の皆様へ深く感謝申し上げます。

表 清酒小仕込み試験の製成酒成分

項目	自然環境分離株		K7
一般成分等	エタノール [%]	16.4	< 19.8
	日本酒度	-22.7	< 8.49
	ビルビン酸 [mg/L]	148	> 14
	酸度 [ml]	4.68	> 3.58
	アミノ酸度 [ml]	1.81	< 2.04
有機酸 [mg/L]	酢酸	595	> 263
	リンゴ酸	236	≒ 247
	コハク酸	729	< 819
	クエン酸	104	≒ 97
	乳酸	666	> 444
香気成分 [mg/L]	酢酸エチル	50.5	< 97.5
	酢酸イソアミル	1.50	< 5.74
	イソアミルアルコール	191	≒ 194
	カプロン酸エチル	0.96	< 1.88
	E/A比	0.76	< 2.95
4-ビニルグアヤコール (4-VG)		ほぼ検知閾値以上	不検出

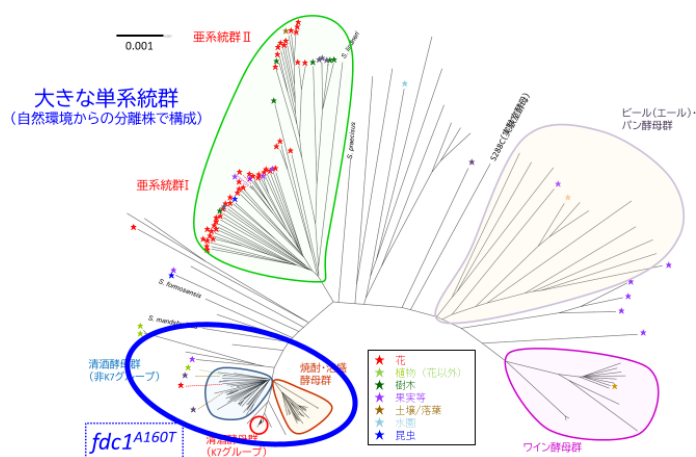


図 自然環境分離株を含む *S. cerevisiae* の系統樹