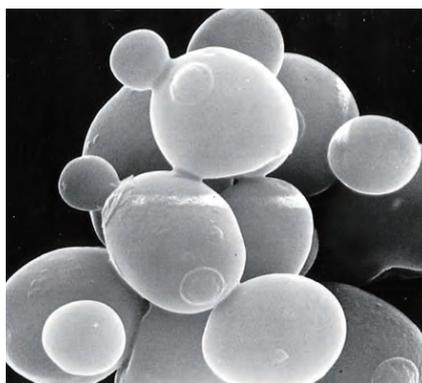


特集 清酒のおいしさを保つために ～^{ひねか}老香の発生を抑える～



清酒のおいしさを保つために ～老香の発生を抑える～

清酒は高温に長時間晒されると、「老香(ひねか)」という劣化臭が発生することがあります。老香は低温貯蔵により防ぐことができますが、輸送中など温度管理が難しい場合もあります。そこで私たちは、高温環境に晒されても老香の発生しにくい清酒を造ることができる酵母の開発を試みました。

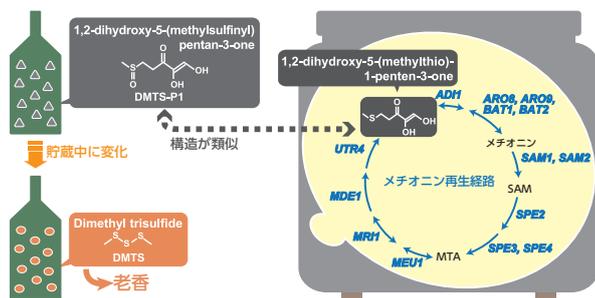
醸造技術研究部門
副部門長
磯谷 敦子
Isogai Atsuko

老香はどうして現れるのか

老香は複数の香気成分からなります。老香を指摘された清酒を分析するとジメチルトリスルフィド(DMTS)という化合物が多く含まれており、老香の主要成分となっていることが分かりました。

DMTSは新酒にはほとんど含まれていませんが、DMTSの元となる物質(前駆体)は含まれています。この前駆体が貯蔵中にDMTSへ変化するため、貯蔵後の清酒からは老香が感じられるようになるのです(図1)。しかし、DMTS前駆体がどのような成分であるかは分かっていませんでした。

そこで、DMTS前駆体を単離するために、清酒成分を性質ごとに分離してみました。各区分を加温貯蔵し、DMTSが生成した区分についてさらに分離を繰り返すことで、DMTS前駆体を単離することができました。単離した前駆体をDMTS-P1と名付け、その構造を調べてみると、1,2-dihydroxy-5-(methylsulfinyl)pentan-3-oneという新規化合物であり、酵母のメチオニン再生経路で生じる物質と似ていることが分かりました(図1)。また、DMTS-P1は清酒の発酵中に増加することから、酵母がアルコール発酵中に生成する物質であると考えられます。



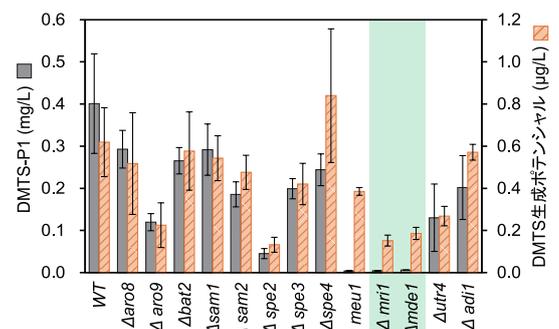
(図1) 発酵中に酵母が生成したDMTS-P1が、貯蔵中にDMTSへ変化する。メチオニン再生経路上の青太字はその反応で機能する遺伝子の略名。

酵母の遺伝子を変えて老香の発生を抑える

DMTS-P1含有量の多い清酒は貯蔵後のDMTS量も多い傾向があり、DMTS-P1を元の2倍量になるよう清酒に添加するとDMTS量も2倍になります。このことから、新酒中のDMTS-P1を減らすことができれば、DMTS生成量も少なく

なり、結果として老香の発生を抑えられると予測できます。

そこで、発酵中の酵母によるDMTS-P1生成を止めるため、その生成に寄与していると考えられるメチオニン再生経路の遺伝子を1つずつ破壊した、計13種の遺伝子破壊酵母株を使用して清酒醸造試験を行いました。その結果、*MR11* または *MDE1* が破壊された株は元の株と比べてDMTS-P1の生成量が少なく、製成酒のDMTS生成ポテンシャル(加温貯蔵後のDMTS生成量)も減少していました(図2)。つまり、老香の発生しにくい清酒を造ることに成功したのです。



(図2) メチオニン再生経路の遺伝子破壊株で醸造した清酒の分析結果。WTは遺伝子破壊前の株。「Δ」は欠損(破壊)の意。

1/100,000,000の探し物

メチオニン再生経路の遺伝子破壊株を使用することで、老香の発生しにくい清酒を造ることができました。しかし、遺伝子組換え酵母は実用化が難しいのが現状です。そこで、突然変異による*MR11* または *MDE1* 機能欠損株の獲得を目指して、清酒メーカー(日本盛株式会社)と共同で研究に取り組みました。

突然変異では、変異が起きる場所をコントロールできず、ある特定の遺伝子に変異する確率は理論的には1億分の1とも言われています。その途方もない数から目的の遺伝子に変異が導入された株を効率的に探すためには、その遺伝子に変異した時の目印になるものを見つけておく必要があります。

変異導入の目印

醸造用酵母は硫酸塩からメチオニンを合成する経路を持っています。通常の株は、この経路とメチオニン再生経路

本研究に関する
過去の記事はコチラ:



←エヌリブ17号
エヌリブ24号→

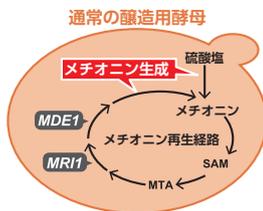


が両方とも機能し、自身の生育に必要なメチオニンを生成しています(図3A)。

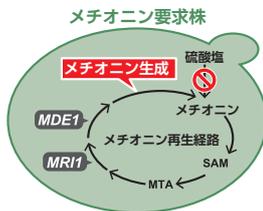
硫酸塩からメチオニンを合成する経路が機能しない株はメチオニン要求株といい、生育にはメチオニンの供給が必要ですが、MTA(5'-メチルチオアデノシン)の供給があれば自身でメチオニンを生成することもできます(図3B)。

一方で、メチオニン要求株で、かつMRI1やMDE1などが破壊されメチオニン再生経路が機能しない株の場合、自身でメチオニンを生成できないため、生育にはメチオニンの供給が必須です(図3C)。

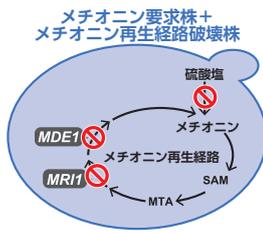
こういった性質を変異導入の目印にすることとしました。つまり、メチオニン要求株(図3B)に突然変異を誘発し、メチオニンの供給がないと生育できない株ができれば、その株は図3CのようにMRI1やMDE1に変異が入っている可能性があるとということです。



(図3A) 硫酸塩・MTAからメチオニン生成可能。



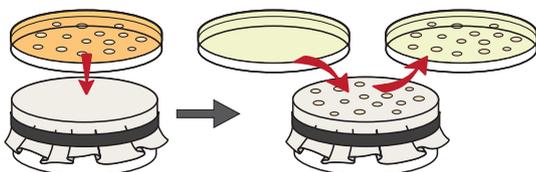
(図3B) MTAからメチオニン生成可能。



(図3C) 自身でメチオニン生成できない。

目的の変異株を探す

清酒醸造で一般的に用いられる酵母K701株の1倍体(詳細は次項)を親株とし、そのメチオニン要求株を薬剤で変異誘発処理しました。これを完全培地(生育に必要な栄養を十分に含む培地)に塗布して「23,669株」のコロニーを得ました。そのコロニーを、メチオニンまたはMTAを供給した培地にレプリカ法(図4)で接種しました。その結果、メチオニンを添加した培地でなければ生育できない株が9株ありました。これら9株の遺伝子配列を確認したところ、MDE1に変異をもつもの、MRI1に変異をもつものがそれぞれ1株ありました。このうち、MDE1変異株をLM1株と名付けました。



(図4) レプリカ法では、コロニー位置を変えずに別の培地へ移すため培地の違いによる生育の差を確認しやすい。

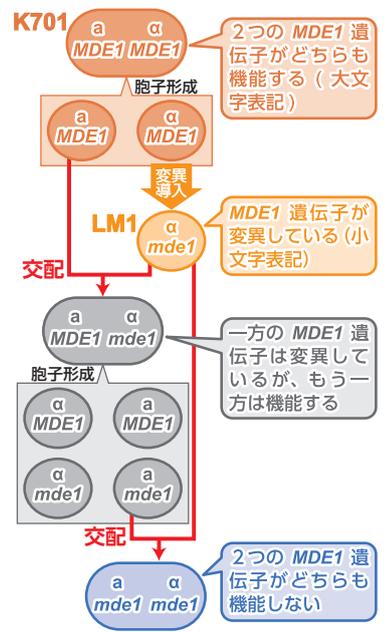
実用可能な株を目指して

清酒酵母は一般的に染色体を2セット持つ2倍体ですが、目的の遺伝子への変異導入を容易にするために染色体が

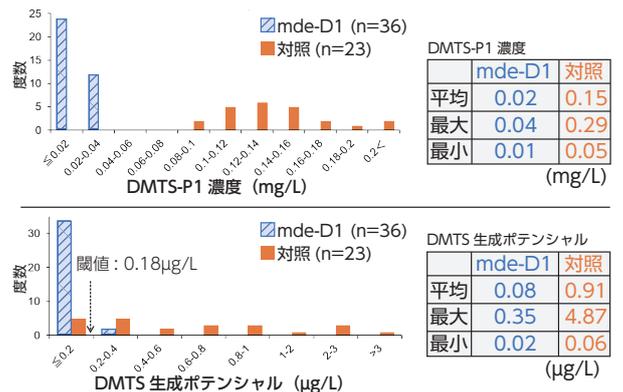
1セットである1倍体を親株にして変異処理を行いました。しかし、1倍体は2倍体と比べると発酵能が低いことが知られており、先ほど得られたLM1株もDMTS-P1生成量は少ないものの実用可能なほどの発酵能を示しませんでした。そこで、LM1株を交配し2倍体化することで発酵能の改善を試みました(図5)。

交配の結果、DMTS-P1生成量が少なく、発酵能の改善したMDE1変異株(mde-D1株)を得ることができました。ただし増殖速度が親株(K701株)と比較して若干遅く、染色体量を確認してみると、4倍体となっていることが分かりました。この株が実用可能かどうかを検討するため、実地試験を行うことにしました。

実地試験では、様々な製造条件下で検討するため複数の製造場にご協力いただき、実際の清酒醸造に使用してもらいました。製成酒についてDMTS-P1濃度、DMTS生成ポテンシャルを測定すると、どちらも対照(通常の酵母を使用して造った清酒)と比較して平均で約1/10ほどに減少していました(図6)。つまり、様々な製造条件下で清酒の老香の発生を抑える効果が認められたということです。増殖速度が若干遅い点については、酵母の使用量やもろみの温度調整などで対応できることも分かりました。



(図5) LM1株の交配(イメージ)。1セットの染色体にはaまたはαタイプという性別の様なものがあり、タイプが異なる1倍体同士が出会うと交配する。



(図6) 複数製造場で醸造された清酒の分析結果(ヒストグラム)。

さいごに

mde-D1株は老香前駆体低生産性酵母「きょうかい酵母® 清酒用 mde-D1」として2021年1月から公益財団法人日本醸造協会より販売が開始されました。従来の清酒酵母と比べて老香前駆体の生成量が抑えられるので、輸送期間の長い輸出用製品などの醸造に是非ご検討いただければ幸いです。

これが私の仕事です

このコーナーでは、特集ページでは紹介できていない
研究所の業務をお伝えします。第1回目は、
広報・産業技術支援部門の神本研究員にお話を聞きました。

スギダマン

酒類総合研究所の杉玉の中に住んでいる神様。お酒を造るときのおいが大好き。



ボクがインタビューだよ！
これからヨロシクね！

▶どんな仕事をしているの？

私の仕事は、EU等向け輸出ワインの証明業務です。当研究所は平成19年から、書類確認や分析結果を基に「EU規格のワイン」であることの証明を行っています。また、平成31年の日EU経済連携協定及び令和3年の日英包括的経済連携協定（これらを合わせて、以下「協定」といいます。）の発効を受けて、「協定で承認された日本ワイン」であることの証明や、自己証明製造者の承認も行っています。

▶自己証明ってなに？

研究所の承認を受けた日本ワイン製造者（自己証明製造者）が、自らEU等に輸出する日本ワインの証明書・分析報告書（日本ワイン輸出自己証明書）を発行することです。自己証明製造者として承認を受けるには、自己証明書の作成手順を定めた「文書管理規程」、分析を行う際の「分析標準作業書」の作成や分析精度の確認等が必要です。自己証明製造者は自身で証明書を発行できるため、日本ワインをEU等へ迅速に輸出できるようになります。



▶仕事のやりがいはどこどころ？

EU等の法律や協定の内容を業務に反映させるところです。

証明書が必要な条件や、証明可能なワインの基準は、EU等の法律や協定が基になります。これらを解釈するのは難しいですが、業務に反映させることができたときは達成感があり、やりがいを感じます。



▶今までで一番難しかったのは？

日EU経済連携協定の発効に伴い始まった日本ワイン輸出に関する証明業務、自己証明業務の立ち上げです。協定発効までの限られた期間の中で、利用者にとって分かりやすく、使いやすい仕組みにしていけることが難しかったです。



▶今後の抱負を教えてください。

これまでと同様、丁寧に正確に行うことをモットーとして、当研究所の仕事を通じて酒類業界に少しでも貢献していきたいと思っています。

◇EU等向け輸出ワインの分析・証明又は自己証明制度
について、詳しくはホームページをご確認ください。



私とお酒のちょこっとエピソード



研究所では、官能評価の機会がよくあります。微量の化学物質を添加したお酒などの官能評価をしていると、日常生活でもおいに敏感になりました。気になる香りがするときは、どんな化学物質だろうかといついつい考えてしまいます。

NRIB News

受賞しました

- 令和3年度日本醸造協会技術賞
受賞者：品質・評価研究部門 岸本研究員
- 第54回生物工学奨励賞（江田賞）
受賞者：醸造微生物研究部門 金井主任研究員

ワイン製造技術書邦訳版を頒布しています

ワイン製造に関する技術書2タイトルの邦訳版を作成しました。ワイン造りに携わる方々にご活用いただければ幸いです。頒布をご希望の方はHPをご確認ください。



酒類醸造講習を開催しました

全国各地ビール醸造者協議会との共催で、第115回酒類醸造講習（ビール短期コース）を、日本酒造組合中央会との共催で、第115回酒類醸造講習（本格焼酎・泡盛コース）を開催しました。当講習を修了された皆様のご活躍を期待しています。



ビール短期コース
（ホップを添加する様子）



本格焼酎・泡盛コース
（蒸留する様子）

発行 独立行政法人酒類総合研究所
National Research Institute of Brewing (NRIB)
〒739-0046 広島県東広島市鏡山3-7-1
TEL: 082-420-0800 (代表)

本誌に関する問合せは広報・産業技術支援部門までお願いします
(E-mail: info@nrib.go.jp)。



- ◆当研究所の冊子等はホームページからご覧いただけます。
<https://www.nrib.go.jp/sake/sakeinfo.html>
- ◆今後の誌面作成の参考とするため、アンケートを実施しています。
皆様のご意見、ご感想をお寄せください。
<https://www.nrib.go.jp/sake/nrib>

