

# ササユリからの酒造用酵母の分離とその醸造特性

都築 正男<sup>\*1)</sup>, 大橋 正孝<sup>\*1)</sup>, 清水 浩美<sup>\*1)</sup>

## Isolation and Sake Brewing-Characterization of Brewer's Yeast Strain from *Lilium japonicum*

TSUDUKI Masao<sup>\*1)</sup>, OHASHI Masataka<sup>\*1)</sup>, SHIMIZU Hiromi<sup>\*1)</sup>

近年、消費者の求める清酒の嗜好は多様化しており、このようなニーズから独自の酵母を新たに探索する試みが各地域でなされている。奈良県においても、独自の酵母を探索し、これまでに奈良県花であるナラノヤエザクラの花弁より低アルコール酒向けの酵母を獲得している。本研究では、清酒用酵母の獲得を目指して、奈良県桜井市大神神社境内の植物・土壌・水を単離源として酵母を探索し、醸造特性等を調査した。その結果、ササユリから日本醸造協会のきょうかい酵母とほぼ同等のアルコールを生成する酵母を獲得することができた。

### 1. 緒言

近年、消費者の嗜好の多様化が進み、同一ジャンルの商品であっても嗜好に合わせた様々な商品展開がされるようになってきている。清酒においても、1980~2000年代の端麗辛口の清酒が尊ばれた時期には画一化が進んだが、海外を中心に日本食が評価されるようになると吟醸酒や濃醇な清酒など特徴ある清酒が顧みられるようになった。現在では、さらに商品の多様性が進み発泡性の清酒や低アルコールの日本酒などが販売されている。このような状況の中、各地の酒造会社等から清酒酵母に関しても特徴のある菌株が求められており、全国の自治体や大学などが中心となって、様々な酵母の開発が行われている。この2~3年に限っても、愛知県の花菱、モッコウバラなどから単離された花酵母<sup>1)</sup>や栃木県小山市の思川桜花酵母<sup>2)</sup>などが新たに分離・育種されている。奈良県においても独自の酵母の分離が行われており、2009年に奈良女子大学との共同研究により「奈良八重桜酵母」<sup>3)</sup>が分離され、低アルコール酒用酵母として使用されている。

奈良県内の酒造会社では、本格的な清酒用のオリジナル酵母が望まれており、奈良県産業振興総合センターと奈良県酒造組合とで、日本清酒発祥の地である奈良において天然の清酒用酵母を歴史的遺産から分離することによって、奈良県産の個性的な「うま酒」を造りだすプロジェクトに着手することになった。酵母の分離源の採取地として、奈良県桜井市の大神神社が酒造の神様として多くの信仰を集めており、奈良らしく話題性があるとのことから選定された。大神神社、奈良県酒造組合の協力の下、境内にて御神花のササユリをはじめ、様々な植物、土壌、水などの試料の採取を行い、得られた試料から清酒の醸造に適した酵母

の分離と分離した酵母の醸造特性を明らかにした。

### 2. 実験方法

#### 2.1 酵母の分離

##### 2.1.1 使用培地

集積培地は麴汁培地 (Brix 10.7, pH3.5) を使用した。1次選抜培地は 100 ppm のクロラムフェニコールを加えた麴汁培地 (Brix 10.7, pH3.8)、2次選抜培地は 100 ppm のクロラムフェニコールを加えた麴汁培地 (Brix 20.6, pH3.8)、3次選抜培地は 5%のエタノールを加えた麴汁培地 (Brix 20.6, pH3.8)、4次選抜培地は 10%のエタノールを加えた麴汁培地 (Brix 10.6, pH3.8) を使用した。また、それぞれの試験管にはダーラム管を入れ、増殖に伴うガスの発生も観察した。

コロニーの分離には TTC 下層培地 (日本醸造協会製) を使用した。

##### 2.1.2 分離源

大神神社境内の 8カ所から 113の試料を採取し、これらを酵母の分離源とした。採取した試料は、植物・土壌・水である。植物はササユリ・キシヨウブ・スギの花、アオキ・スギの葉、マツ・スギの樹皮、ヘビイチゴ・オオイヌノフグリなどの雑草である。土壌は枯葉や枯枝を含む土であり、水は境内の水路および池から採取した。

##### 2.1.2 集積培養および選抜

採取した試料を無菌的に 50 mL のチューブに各々入れ、集積培地を加え、30℃で培養した。

白濁した集積培養液 100 μL を 1次選抜培地 10mL に添加し、30℃で培養した。同様に 2次選抜および 3次選抜は 30℃で培養し、4次選抜は 15℃で培養した。

4次選抜で白濁および発泡した培養液を TTC 下層培地に

\*1) バイオ・食品グループ

塗抹し、30°Cで培養した単一コロニーを得た。

## 2.2 分離酵母の種の同定

### 2.2.1 同定キットによる種の同定

酵母様真菌同定キット ID32C API (シスメックス・ビオメリユー(株)製) を用いて同定を行った。酵母菌体をサスペンションメディアウム 2 mL に懸濁し、ID32C API C メディアウムに 250  $\mu$ L 添加した。この懸濁液を IP32C API プレートに接種し、30°C、48 時間培養後プレート上の 31 種類の炭素源の資化性パターンから apiweb<sup>TM</sup> (<https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>) により種を推定した。

### 2.2.2 遺伝子解析による種の同定

真菌の種の推定に用いられる 28S rDNA の D1/D2 領域の塩基配列を用いた。PCR の鋳型は、50  $\mu$ L の 0.25% SDS 溶液に寒天培地からかき取ったコロニーを加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、-80°C で 10 分間凍結し、70°C で融解したものを 14000 rpm で 1 分間遠心分離し、その上清を用いた。プライマーは NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') および NL4 (5'-GGTCCGTGTTCAAGACGG-3')<sup>4)</sup> を用い、PCR を行った。PCR の反応液は、Ex Taq<sup>TM</sup> (タカラバイオ(株)製) を 0.5  $\mu$ L、10 $\times$  Ex Taq buffer を 2.5  $\mu$ L、dNTP Mixture (2.5 mM each) を 2.5  $\mu$ L、プライマー (10  $\mu$ M) を 2.5  $\mu$ L、Triton X100 を 2.5  $\mu$ L、鋳型 DNA を 1  $\mu$ L 加え、滅菌水で 20  $\mu$ L に調製した。Veriti Thermal Cycler (ライフテクノロジーズ・ジャパン(株)製) を用いて、94°C、3 分間で DNA の変性を行った後、94°C で 30 秒 (変性)、52°C で 30 秒 (アニーリング)、72°C で 1 分 (伸長) を 25 サイクル行った。ExoSAP-IT (アフィメトリックス・ジャパン(株)製) で 1 本鎖 DNA の消化と余分な dNTPs を不活性化した後、これを鋳型に BigDye Terminator v.3.1 (ライフテクノロジーズ・ジャパン(株)製) を用いてシーケンシング試料を調整し、ABI3130/3130xl Genetic Analyzer (ライフテクノロジーズ・ジャパン(株)製) で塩基配列を解析した。得られた塩基配列は Blast ([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch)) により相同性検索を行い、酵母の種の同定を行った。

### 2.2.3 PCR 法による菌株の識別<sup>5)</sup>

YPD 培地 (酵母エキス 1%、ペプトン 2%、グルコース 2%) で培養した菌体から Gen とるくん<sup>TM</sup> (酵母用) High Recovery (タカラバイオ(株)製) で調製した染色体 DNA を鋳型として使用した。PCR 反応液は、Ex Taq<sup>TM</sup> (タカラバイオ(株)製) を 0.125  $\mu$ L、10 $\times$  Ex Taq buffer を 2.5  $\mu$ L、dNTP Mixture (2.5 mM each) を 2  $\mu$ L、プライマー (10  $\mu$ M) を 2.5  $\mu$ L に鋳型 DNA を <0.5  $\mu$ g を加え、滅菌水で 25  $\mu$ L に調製した。増幅した領域は長鎖末端反復配列 (LTR) の一つ YLRW delta20 および AWA1 遺伝子である。YLRW delta20 のプライマーは 5'-TCACGTCAGAATAGTTTTTGCATCTA

TG-3' 及び 5'-AAATGGATGGATAATTTGATAATTGCTGGG-3' を用いた。AWA1 遺伝子のプライマーは 5'-ATGTTCAA TCGCTTTAATAAACTTACCGCC-3' 及び 5'-TTAGTTAAAG AAAGCAAGAACGAAAATACC-3' を用いた。反応は 94°C で 1 分 (変性)、60°C で 1 分 (アニーリング)、72°C で 5 分 (伸長) を 30 サイクル行い、1% アガロースゲルを用いて電気泳動で増幅した DNA 断片の大きさを確認した。

### 2.2.4 $\beta$ -アラニン培地での生育

分離した酵母がきょうかい 7 号系の酵母であるか否かを確認するために  $\beta$ -アラニン培地での生育の確認を行った。分離した酵母を生理食塩水に懸濁し、適宜希釈したものを  $\beta$ -アラニン培地 (日水製薬(株)製) に塗抹して、35°C で 2 日間培養し、コロニーを計数し、次いで 20°C で 2 日間培養し、後から生じるコロニーを計数した。

## 2.3 分離酵母の生理学的性質

### 2.3.1 TTC 染色

分離した酵母を生理食塩水に懸濁し、適宜希釈したものを TTC 下層培地に塗抹して、30°C で 2 日間培養した。コロニーが生じたプレートに TTC 上層培地を重層し、30°C で約 2 時間保温してコロニーの呈色を観察した。

### 2.3.2 キラー性<sup>6)</sup>

YEPD 培地 (酵母エキス 1%、ポリペプトン 2%、グルコース 2%、寒天 1.5%、pH4.7) にメチレンブルー 0.003% 添加した寒天平板にきょうかい酵母を 10<sup>6</sup> CFU/g 塗抹し、分離酵母を植菌した後、25°C で培養した。24 時間後に微小コロニーが培地一面に生じた時に現れるクリアゾーンを観察した。

### 2.3.3 糖資化性

酵母様真菌同定キット ID32C API (シスメックス・ビオメリユー(株)製) に接種した菌体が資化する 31 種類の炭素源 (ガラクトース、シクロヘキシミド、スクロース、N-アセチルグルコサミン、乳酸、L-アラビノース、D-セロピオース、ラフィノース、D-マルトース、トレハロース、2-ケトグルコン酸カルシウム、 $\alpha$ -メチル- $\alpha$ -D-グルコシド、マンニトール、ラクトース、イノシトール、D-ソルビトール、D-キシロース、D-リボース、グリセリン、L-ラムノース、パラチノース、エリスリトール、D-メリビオース、グルクロン酸ナトリウム、D-メレチトース、グルコン酸カリウム、レブリン酸、グルコース、L-ソルボース、D-グルコサミン塩酸塩、エスクリン) について調べた。

### 2.3.4 アルコール耐性

ダーラム管を入れた Brix10 の麴汁培地にエタノールを 0 ~ 20% になるように添加し、予め前培養した酵母の培養液を 100  $\mu$ L 加え、30°C で培養し、培養液の白濁およびガスの発生を観察した。

## 2.4 清酒の仕込み試験

### 2.4.1 総米 200 g での仕込み試験

表 1 に示す仕込み配合により, 一段仕込みで総米 200 g の小仕込み試験を行った. 品温は, 仕込み開始から 1 日間は 25°C, 以降 20°C で管理し, 8 日間醸造を行った.

表 1. 仕込み配合

総米 (g)	200.0
α 化米 (歩留 97%) (g)	149.4
乾燥麴米 (歩留 86%) (g)	39.6
汲水 (mL)	312.2
酵母培養液 (mL)	10.0
乳酸 (75%) (mL)	0.12

### 2.4.2 総米 7 kg での仕込み試験

表 2 に示す仕込み配合により, 三段仕込みで総米 7 kg の仕込み試験を行った. 品温は仕込み開始から留添まで 20°C, 以降は 15°C になるように管理し, 11 日間醸造を行った. また初添と仲添の間に 2 日間の踊をとり, この間に 360 mL の追い水を行った.

表 2. 仕込み配合

	初添	仲添	留添	計
総米 (kg)	1.22	2.45	3.33	7.00
α 化米 <sup>a)</sup> (kg)	0.85	1.83	2.55	5.23
乾燥麴米 <sup>b)</sup> (kg)	0.29	0.48	0.60	1.37
汲水 (L)	1.79	4.09	6.16	12.03
酵母培養液 (mL)	30			30
乳酸 (90%) (mL)	4.00			4.00

a) 歩留 97%, b) 歩留 86%

### 2.4.3 総米 700 kg での仕込み試験

奈良県内の酒造会社の協力の下, 表 3 に示す仕込み配合により, 三段仕込みで総米 700 kg の仕込み試験を行った. 品温は初添から留添まで 16°C を目標とし, それ以降 12~15°C で留添後 19 日間醸造した. また初添と仲添の間に 2 日間の踊をとった. さらに上槽前日に 50 L の水を追い水した.

表 3. 仕込み配合

	酒母	初添	仲添	留添	計
総米 (kg)	20	100	235	345	700
蒸米 (kg)		70	195	295	560
麴米 (kg)	20	30	40	50	140
汲水 (L)	80	105	260	425	870

### 2.4.4 汲水歩合の検討

表 4 に示す仕込み配合により, 一段仕込みで総米 200 g の小仕込みを行い, 汲水歩合の検討を行った. 汲水は 200~300 mL として汲水歩合が 100~150% になるよう調製した. 品温は, 20°C で管理し, 13 日間醸造を行った.

表 4. 仕込み配合

総米 (g)	200.0
蒸米 (g)	154.0
乾燥麴米 (歩留 86%) (g)	39.6
汲水 (mL)	200~300
酵母培養液 (mL)	10.0
乳酸 (75%) (mL)	0.12

### 2.4.5 成分分析

試醸した清酒は, 各種成分の分析を行った. アルコール分はアルコメイト AL-2 型 (理研機器(株)製) を用いて測定した. 酸度, アミノ酸度は国税庁所定分析法<sup>7)</sup> に準じて分析した. 日本酒度はあまからメイト DA-120 (京都電子工業(株)製) を用いて測定した.

有機酸は 20 倍希釈し, フィルターろ過したものを試料として用いた. キャピラリー電気泳動装置 G1602A (アジレントテクノロジー(株)製) を使用して分析した. 泳動条件は次のとおりに行った. カラム: アジレントテクノロジー(株)製 fused-silica (75 μm ID, 75cm), 泳動バッファー: アジレントテクノロジー(株)製 Organic Acid Buffer for CE pH 5.6, 印加電圧: -25 kv, 温度: 20°C, 波長: 350 nm, ref 200 nm, 注入量: 2 sec./50 mmBar, キャピラリー温度: 20°C.

香気成分はガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-QP2010Ultra (島津製作所(株)製) で分析した. 分析条件は次に示すとおりである. カラム: アジレントテクノロジー(株)製 HP-INNOWAX (Length 60 m, 0.250 mm ID, Film 0.25 μm), カラムオープン: 0-5 min.: 40°C, 5-10 min.: 40-60°C, 10-20 min.: 60-70°C, 20-33 min.: 70-120°C, 33-38 min.: 120°C, キャリアガス: ヘリウム, スプリット比: 5.0, サンプリング: ヘッドスペース.

## 3. 結果及び考察

### 3.1 酵母の分離と同定

採取した 113 の試料から 4 次選択までで, 13 の試料で選抜培地の白濁と発泡が認められた. 13 の試料から得られた酵母の TTC 染色性はいずれも赤色を示し, アルコール発酵能を持つことが示唆された. この 13 種類の酵母について ID32C アビを用いて種の同定を試みたところ, *Candida pelliculosa* (*Pichia anomala*) が 7 菌株, *Saccharomyces cerevisiae* が 6 菌株であることが推定された. そこで *S. cerevisiae* と推定されたものについて 28S rDNA D1/D2 配列

を PCR で増幅し、その塩基配列を用いて公開されている既知の配列との相同性を比較したところ、6 菌株はすべて *S. cerevisiae* と決定された。得られた *S. cerevisiae* は、大神神社境内の大美和の杜の土壌（試料 No.43）および植物（No.54）、ササユリ園のササユリの花（No.79, 80, 81, 82）から採取された試料から得られたものである。

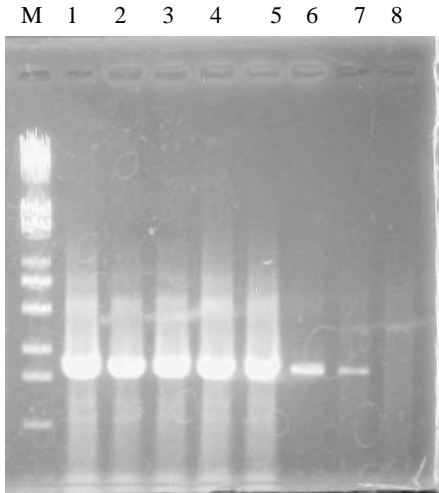


図 1 YLRW delta20 の PCR 産物の電気泳動

LaneM;  $\lambda$  EcoT14I digest Maker, Lane1; No.43, Lane2; No.54, Lane3; No.79, Lane4; No.80, Lane5; No.81, Lane82, Lane7; K701, Lane8; K901.

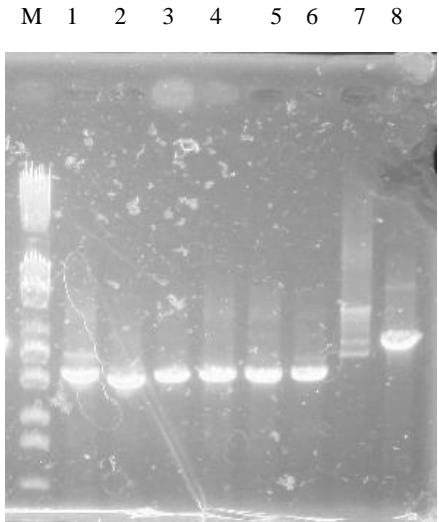


図 2 AWA1 遺伝子の PCR 産物の電気泳動

LaneM;  $\lambda$  EcoT14I digest Maker, Lane1; No.43, Lane2; No.54, Lane3; No.79, Lane4; No.80, Lane5; No.81, Lane82, Lane7; K701, Lane8; K901.

6 菌株が既知の酵母とは異なることを調べるために PCR で AWA1 遺伝子および YLRW delta20 を増幅して、2 種の清酒用酵母（K701 と K901）のものと断片長を比較した。その結果、YLRW delta20 では 6 菌株全てが約 1.6 kb であっ

たのに対し、K701 は約 1.6 kb、K901 は約 7 kb の大きさであった（図 1）。AWA1 遺伝子では No.43, 79, 80, 81, 82 が約 2.7 kb、No.54 が約 2.6kb の大きさであったのに対し、K701 は約 6 kb、K901 は約 4 kb の大きさであった（図 2）。

また、 $\beta$ -アラニン培地での生育は No.54 がきょうかい 7 号系統と同様、20°C でコロニーを形成し、35°C でコロニーを形成しなかった。それ以外の 5 菌株はきょうかい 7 号系統とは異なり、35°C でコロニーを形成し、20°C でコロニーを形成しなかった（表 5）。

以上から、今回単離した *S. cerevisiae* は全て既存の菌株とは異なる独自の菌株であることが示された。

表 5.  $\beta$ -アラニン培地での生育

試料 No.	35°C	20°C
43	○	×
54	×	○
79	○	×
80	○	×
81	○	×
82	○	×

### 3.2 酒造に適した酵母の選定

大神神社境内から単離した 6 菌株の酵母のうち最も清酒醸造に適した菌株を選ぶために小仕込み試験を行った。

6 菌株のうち、ササユリ由来以外の 2 菌株（No.43, 54）とササユリ由来の 2 菌株（No.79, 82）を用い、総米 200 g で小仕込みを行い、遠心分離により粕と分離した清酒試料を分析した。対照として K701 号を用いて仕込んだ。その結果、表 6 に示す通り、生成したアルコール濃度は K701 が 15.0% であるのに対し、いずれも約 12% 程度であり、きょうかい酵母よりもアルコール生成能が低い傾向が見られた。一方、酸度は K701 が 3.8 であるのに対して 4.8~5.8 であり、酸を多く生成する傾向が見られた。また、No.43 と No.54 は糠臭があり、ササユリ由来の No.79 または No.82 が清酒の醸造に適していると考えられた。

表 6. 総米 200 g での小仕込み試験結果

	K701	No.43	No.54	No.79	No.82
アルコール(%)	15.0	11.6	11.8	12.4	12.4
日本酒度	-36.6	-70.4	-75.2	-60.9	-54.5
酸度	3.8	5.8	4.9	5.2	4.8
アミノ酸度	2.0	1.9	2.0	1.6	1.6
その他		糠臭	糠臭		

さらに No.79 および No.82 を用いて、総米 7 kg の小仕込み試験を行い、より清酒醸造に適した酵母を絞り込んだ。

仕込んだ清酒は酒袋につるしてしぼり, その成分の比較を行った (表 7). アルコールの生成量は No.79 の方が多く, 17.4%であり, 酸度は No.82 の方が幾分高かった. この結果からより多くのアルコールを生成する No.79 を清酒用酵母として選抜した. また No.79 の酵母は大神神社の鈴木宮司から「山乃かみ酵母」と命名して頂いた.

表 7. 総米 7 k g での小仕込み試験結果

	No.79	No.82
アルコール(%)	17.4	16.5
日本酒度	10.2	5.6
酸度	3.0	4.3
アミノ酸度	2.1	1.8

### 3.3 「山乃かみ酵母」の生理学的性質

#### 3.3.1 TTC 染色性

TTC 染色性はアルコール発酵能の指標のひとつであり, きょうかい酵母などの清酒用酵母のようにアルコール発酵能が高いと, TTC が還元されてコロニーが赤色に染まる. 「山乃かみ酵母」の TTC 染色性は, きょうかい酵母よりも薄い赤色もしくは濃桃色を示した.

#### 3.3.2 キラー性

*S. cerevisiae* には様々な菌株が知られているが, その中には他の酵母を死滅させるキラー因子と呼ばれるタンパク質を分泌するキラー酵母といわれる菌株がある. 清酒製造現場でキラー酵母が持ち込まれると, 従来から使用されているきょうかい酵母などの酒造用酵母に悪影響を及ぼすことが考えられるためキラー性の有無の確認は非常に重要である. K701 に対する「山乃かみ酵母」のキラー性の確認結果を図 3 に示す. K701 を塗抹した上に画線した「山乃かみ酵母」との境界にハロが認められなかったことから, きょうかい酵母に対するキラー性がない事が確認でき, 酒造現場で他の酵母に影響を与えないで使用することができると考えられる.



図 3 「山乃かみ酵母」のキラー性試験  
(山乃かみ酵母/K701)

#### 3.3.3 糖資化性

「山乃かみ酵母」の糖資化性を表 8 に示す. ガラクトース, スクロース, ラフィノース,  $\alpha$ -メチル- $\alpha$ -D-グルコシド, パラチノース, グルコースを資化した. K701, K901 と比較すると, D-マルトースはこれらで資化性が認められたのに対し, 「山乃かみ酵母」では認められなかった.

表 8. 「山乃かみ酵母」の糖の資化性

	山乃かみ 酵母	K701	K901
ガラクトース	+	+	+
スクロース	+	+	+
ラフィノース	+	+	+
D-マルトース	-	+	+
$\alpha$ -メチル- $\alpha$ -D-グルコシド	+	+	+
パラチノース	+	+	+
グルコース	+	+	+

+ : 資化性有, - : 資化性無

全ての菌株で資化されなかった炭素源 24 種類は表記略

#### 3.3.4 アルコール耐性

K701 を対照としてエタノールを含む培地での生育状況を観察した. 「山乃かみ酵母」はエタノール濃度が 0%, 5% の培地では培養開始 2 日目で増殖が確認され, 10% の培地では 9 日目で増殖が確認された. 一方, K701 はエタノール濃度が 0%, 5% の培地では 培養開始 1 日目で増殖が確認され, 10% の培地では 4 日目で増殖が確認された. またエタノールを 20% 含む培地では, いずれも増殖が確認できなかった. K701 と比較してアルコールに対する耐性はほぼ同等であるが, 増殖速度は劣るものと考えられる.

### 3.4 「山乃かみ酵母」を用いた仕込み試験

200g の小仕込みで試験した 4 菌株の酵母で高泡の発生が見られず, 「山乃かみ酵母」は泡なし酵母であると考えられた. また, 仕込みを行う汲水歩合は K701 と比較したところ, K701 では 120~130% の汲水歩合で最も多くのアルコールが生成したのに対し, 「山乃かみ酵母」では 130~150% で最も多くアルコールが生成した (図 4). このため, K701 よりも多めの水で仕込む方が好ましいと考えられた. また仕込み 3 日目では, K701 は 10% 以上のアルコールを生成しているのに対して「山乃かみ酵母」は数%に留まり, 初期の増殖が遅れる傾向が示唆された.

奈良県内の酒造会社の協力して頂き, 総米 700 kg, 三段仕込みで仕込み試験を行った. 試験酒の成分は, アルコールが 16.35%, 日本酒度-14.6, 酸度 2.9, アミノ酸度 1.8 であり, アルコールが少なめとなる結果であった. キャピラリー電気泳動で 8 種類の有機酸について定量し, その組成は表 9 に示した. リンゴ酸, コハク酸, 乳酸が多く含まれ

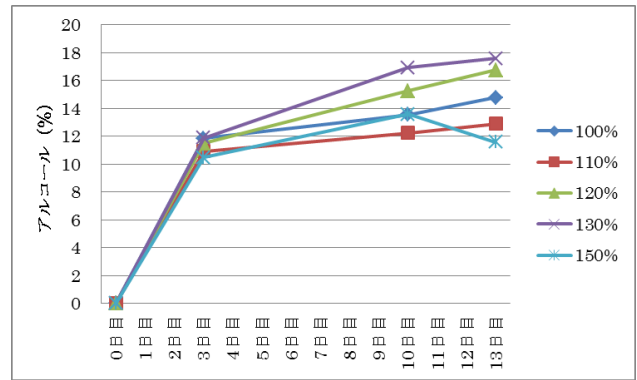
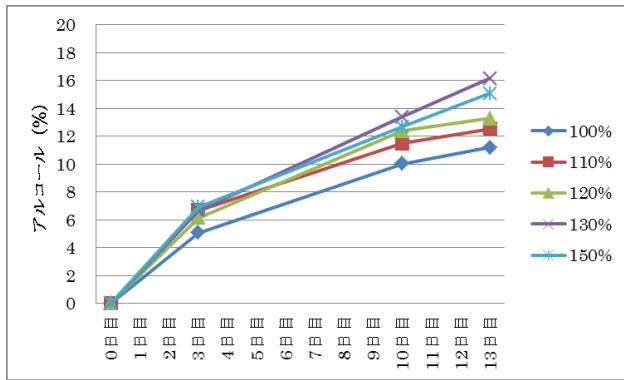


図 4 汲水歩合の検討 左:山乃かみ酵母, 右 K701

表 9. 試験酒の有機酸組成 (mg/L)

リンゴ酸	クエン酸	コハク酸	ビルビン酸
430	103	394	36
酢酸	乳酸	リン酸	ピログルタミン酸
39	582	274	76

表 10. 試験酒の香り成分 (ppm)

化合物名	山乃かみ酵母	7号系市販酒
酢酸エチル	146	80
酢酸イソブチル	0.95	0.32
酪酸エチル	0.91	1.11
プロパノール	114	88
イソブチルアルコール	283	52
酢酸イソアミル	4.6	6.8
イソアミルアルコール	385	157
カプロン酸エチル	0.23	1.61
カプリル酸エチル	0	1

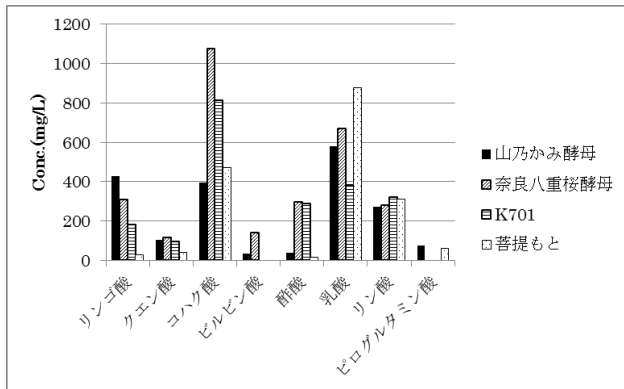


図 5 含有有機酸の比較

ており、また、他の酵母を用いて醸造した清酒と比較すると、リンゴ酸が多く含まれていることが分かった (図 5)。

また香り成分は GCMS で 9 種類を定量した (表 10)。きょうかい 7 号系の酵母で醸造した清酒と比較するとイソアミルアルコールやイソブチルアルコールが多く、特にイソブチルアルコールは約 5.4 倍生成することがわかった。

#### 4. 結言

奈良県独自の酵母で「うま酒」をつくることを目指して、大神神社のササユリから酵母「山乃かみ酵母」を分離し、*S. cerevisiae* と同定された。きょうかい酵母とは異なる菌株であり、キラー性を示さず清酒醸造に使用可能であると判断された。生育の初期増殖が弱い傾向が見られることやアルコール生成能がきょうかい酵母より若干劣るものの、17%以上のアルコールが生成するため清酒向けに使用できる酵母であった。またリンゴ酸を多く含み、香り成分としてイソアミルアルコール、イソブチルアルコールを含んでおり、酸度が高めであるが、すっきりとした日本酒らしい

味わいの清酒を醸造することができる酵母であった。今後、初期増殖の改善やきょうかい酵母など清酒用酵母での従来の清酒仕込みと異なった管理を行う部分があることから仕込み方法のマニュアル化などについても考慮する必要がある。

#### 謝辞

本研究を進めるにあたり、鈴木宮司、高井権禰宜、南権禰宜をはじめ大神神社の関係者の方々には、試料の採取や酵母の命名において多大な配慮とご協力いただきました。また、奈良県酒造組合および県内 19 社の酒造会社の方々には、試料の採取、仕込み試験、商品化に向けた取り組みにおいて多大なご協力をしていただき、深謝いたします。

遺伝子解析による酵母の同定にあたり、奈良県農業研究開発センター、浅尾浩史氏に多大なご協力を頂いたので、深謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 小野奈津子, 安田 (吉野) 庄子, 三井俊, 船越五郎, 加藤雅士, 北本則行; 日本農芸化学会 2014 年度大会 講演番号 3A08a15
- 2) 荻野目あづさ, 三川隆, 上田誠; 日本農芸化学会 2014 年度大会 講演番号 3A08a16
- 3) 大橋正孝, 都築正男, 清水浩美, 松澤一幸, 藤野千代,

鈴木孝仁, 岩口伸一; 奈良県工業技術センター研究報告,  
(35), 35-38, 2009

4) Kurtzman, C. P., and Robnett, C. J. ; J. of Clin. Microbiol.,  
(35), 1216-1223, 1997

5) 都築正男, 大橋正孝, 清水浩美; 奈良県産業振興総合セ  
ンター研究報告, (40), 26-27, 2014

6) 河野勇人, 東江昭夫, 産本弘之, 姫野国夫; 日本醸造協  
会誌, (83), 5, 343-347, 1988

7) 西谷尚道監修; 第四回訂正国税庁所定分析法注解, 20-24,  
日本醸造協会, 2000