

はりま酵母の香気成分改良の検討

原田知左子

1 目的

平成 25 年度に取得した県産酵母（はりま酵母）の活用のために、これまで尿素を生産しない酵母や低酸性酵母の育種の検討を行ってきた。今回は、清酒の香気成分のうち、バラ様の香りであるフェネチルアルコールとそのエステルである酢酸フェネチルを高生産する酵母の育種を目的とした。

2 実験方法

2.1 供試菌株と使用培地

平成 25 年度取得のはりま酵母（NJ1）とその尿素非生産性株（NJ3）を親株として用いた。

酵母の培養には、YPD 培地（2%グルコース、2%ペプトン、1%酵母エキス）を、フェネチルアルコール高生産性株の分離には寒天分離培地（2%グルコース、0.67%イーストニトロゲンベース、200ppm *p*-フルオロフェニルアラニン、2%寒天）を用いた。

2.2 フェネチルアルコール高生産性株の分離

既報¹⁾の方法に準じてフェネチルアルコール高生産性株の取得を試みた。即ち、供試菌株を 5ml YPD 培地を用いて 30°Cで培養し、その 0.1ml を寒天分離培地へ塗布し、30°Cで培養した。生育したコロニーを再び寒天分離培地へ塗布し、30°Cで培養した。この生育したコロニーを寒天分離培地へ塗布する操作を 5 回繰り返す、最終的に生育したコロニーを取得した。取得したコロニーについて、総米 25g の小仕込み試験（乾燥麴 4.8g、 α 化米 18.2g、水 43.5g、90%乳酸 25 μ L）を行い、15°C、15 日間でアルコール生成量が 14%以上だったものについて香気成分を分析し、フェネチルアルコール生成量が多い株を選択した。

2.3 フェネチルアルコール高生産性株の再現性の確認

2.2 でフェネチルアルコール生成量が多かった株について、総米 150g の小仕込み試験（乾燥麴 28.8g、 α 化米 109.2g、水 261g、90%乳酸 150 μ L）を行い、15°C、15 日間でフェネチルアルコール生成量が多かった株を再現性が確認されたとみなし、選抜した。

2.4 香気成分の分析

小仕込み試験製成酒の香気成分は、ヘッドスペースガスクロマトグラフ（島津製作所 GC-2010plus）により分析した。

3 結果と考察

3.1 フェネチルアルコール高生産株の分離

2.2 の方法で分離を試みた結果、はりま酵母（NJ1）からは 31 株、はりま酵母の尿素非生産性株（NJ3）からは 63 株の変異株が生育した。これら 94 株について、総米 25g の小仕込み試験を行ったところ、アルコール生成量が 14%以上だったものは、NJ1 由来では 16 株、NJ3 由来では 50 株あった。これら 66 株のうち渋味の多かったものを除いた 59 株について香気成分を測定したところ、フェネチルアルコール生成量が 150ppm 以上あったものは NJ1 由来で 1 株、NJ3 由来では 10 株あった。そのうち酢酸フェネチル生成量も高かったものは NJ3 由来の 5 株のみであった。図 1 に製成酒のアルコール度が 15%以上だった株、図 2 に 14%台だった株のフェネチルアルコール生成量の結果を示した。また、図 3 にフェネチルアルコール生成量が 150ppm 以上だった株の酢酸フェネチル生成量を示した。

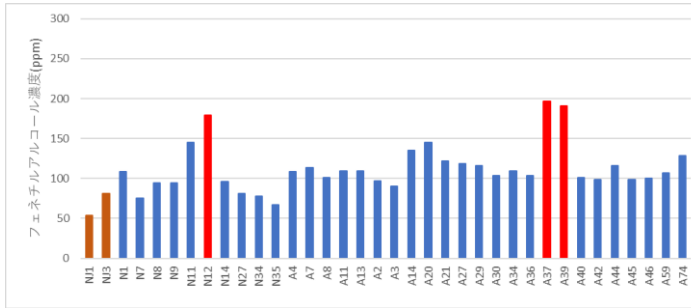


図1 アルコール生成量 15%以上の株のフェネチルアルコール生成量
N：NJ1 由来、A：NJ3 由来

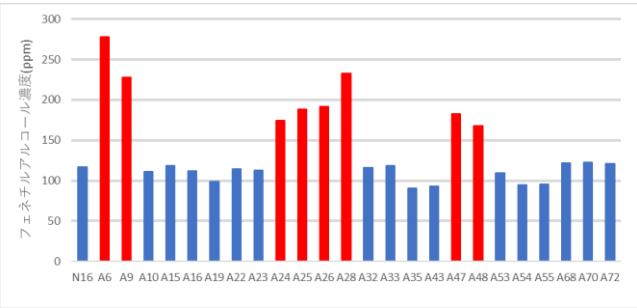


図2 アルコール生成量 14%台の株のフェネチルアルコール生成量
N：NJ1 由来、A：NJ3 由来

3.2 フェネチルアルコール高生産性株の再現性の確認

3.1でフェネチルアルコール生成量が 150ppm 以上だった株のうちの 10 株について、総米 150g の小仕込み試験を行った結果を図4～6に示した。3.1でフェネチルアルコール、酢酸フェネチルともに生成量の高かった株のうち NJ3 由来の 3 株で再現性が見られた。この 3 株の製成酒で官能評価を行ったところ、親株の製成酒に比べて、香味の違う特性が感じられることが確認された。このうち、官能評価の良かった A6、A37 をフェネチルアルコール高生産性株として選抜することとした。

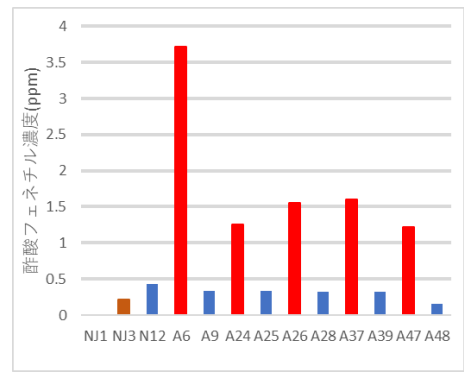


図3 フェネチルアルコール生成量が150ppm以上の株の酢酸フェネチル生成量

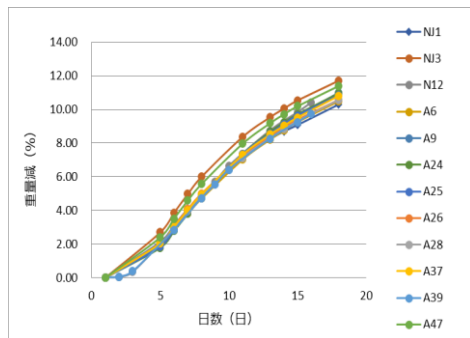


図4 総米 150g 小仕込み試験の醗酵経過

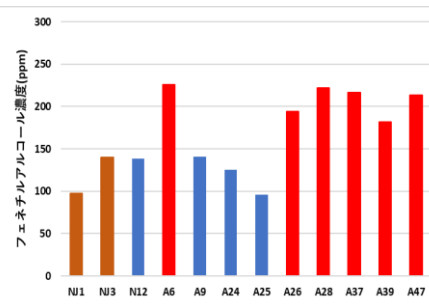


図5 総米 150g 小仕込み試験製成酒のフェネチルアルコール生成量

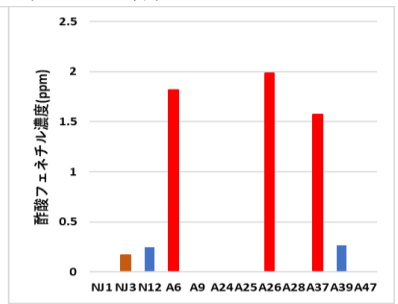


図6 総米 150g 小仕込み試験製成酒の酢酸フェネチル生成量

4 結論

はりま酵母 (NJ1) とその尿素非生産性株 (NJ3) を親株としてフェネチルアルコール高生産性株の取得を試みたところ、NJ3 を親株とした 2 株 (A6、A37) をフェネチルアルコール高生産性株として取得することができた。

参考文献

1) 小金丸和義, 墨利久, 神田康三, 加藤富民雄, 田代康介, 久原哲, 醸協, 98,201(2003)

(問合せ先 原田知左子)