

〔経常研究 A〕

新規酵母の開発

原田知左子

1 目的

酒造業界では、それぞれの地域の特産、ブランド化がトレンドとなっており、地元産の原材料を用いたその地域にしかない酒が求められている。地元産の原材料として、県独自の酒造用米、県独自の酒造用酵母どちらも共に求められている。兵庫県では県独自の酒造用米については山田錦をはじめ、兵庫北錦、兵庫夢錦、最近では Hyogo Sake 85 や兵庫錦など多くの非常に優秀な酒米が開発されているが、県独自の酵母は平成 25 年度に取得した野生酵母（はりま酵母）しかない。現在トレンドの酒質は香り華やかで淡麗、もしくは深みのある穏やかな味わいの酒であるが、はりま酵母はこの特徴に合わず、新しい酵母の開発が必須である。これまではりま酵母を改良して、こうした酒質に近づけるための研究を行ってきたが、本研究では、すでに良い酒を醸す実績のある「きょうかい酵母」を改良することにより、新たな香気成分を生産する酵母を兵庫県酵母として育種することを目的とした。

2 実験方法

2.1 供試菌株と使用培地

供試菌株には(公財)日本醸造協会頒布の酵母であるきょうかい 601 号、701 号、901 号を用いた。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）と YPD 寒天培地（同、2%寒天）を用いた。また、酵母の選抜試験には YM 培地（1%グルコース、0.5%ペプトン、0.3%酵母エキス、0.3%麦芽エキス）と YM 寒天培地（同、2%寒天）を用いた。

2.2 スクリーニング剤の選定

新たな香気成分を生産する酵母を選抜するためのスクリーニング剤の選定のために、目的とする香気成分の生合成経路の阻害剤について生育阻害性を調べた。所定の濃度になるよう阻害剤を添加した 5ml の YPD 培地に、酵母を接種後 30℃で静置培養し、デンストメーターにて濁度の経過を測定した。

2.3 酵母の選抜試験

新たな香気成分を生産する酵母の選抜はエチルメタンスルホン酸（EMS）を用いた変異処理により行った。YM 培地で前培養した培養液 1ml を集菌し、0.2M リン酸緩衝液にて洗浄後、同緩衝液 1ml に EMS60 μ l を添加した液に懸濁し、30℃で 30 分静置した。同緩衝液で洗浄後、所定の濃度になるよう阻害剤を添加した YM 寒天培地に塗布し、30℃で培養し、生育したコロニーを単離した。単離したコロニーについては、総米 25g の小仕込み試験（乾燥麹 4.8g、 α 化米 18.2g、水 43.5g、90%乳酸 25 μ L、15℃、15 日間）を行った。

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）にて分析した。

3 結果と考察

3.1 スクリーニング剤の選定

新たな香気成分の生合成経路の阻害剤を 6 種類選択し、それらの生育阻害性について調べた。6 種類の阻害剤（A～F）を 100ppm になるように添加した YPD 培地で供試酵母をそれぞれ培養したところ、図 1（濃度記載のない凡例は 100ppm 添加）のように 2 種類（C、E）の阻害剤で生育の遅れが見

られた。この 2 種類について、さらに 1000ppm になるように添加した YPD 培地で培養しようとしたが、C は高濃度では水に溶けなかったため、残りの E のみで培養したところ顕著な生育の遅れが見られた（図 1）。今後の選抜試験ではこの阻害剤を添加した培地を使用することとした。

3.2 酵母の選抜試験

供試酵母をそれぞれ EMS 処理し、阻害剤を含む YM 寒天培地に塗布し、30℃で培養し

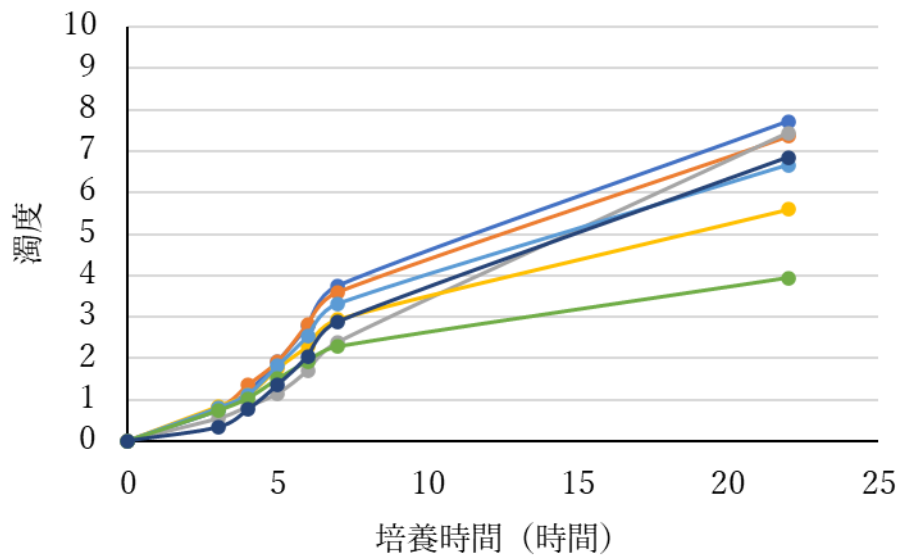
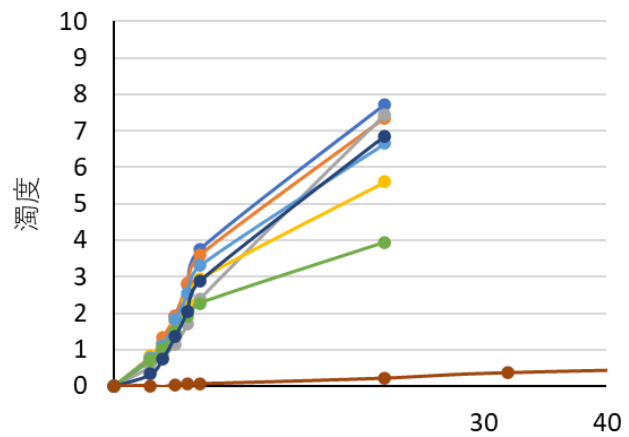


図 1 100ppm添加生育阻害試験結果 (701号)

—●— なし —●— A —●— B —●— C —●— D —●— E —●— F

罰)

果 (701号)

—●— A
—●— C
—●— E
—●— E (1000ppm)

3 日程度で生育す
りできる程度の香気

経路の阻害剤をス
酵母を取得するこ
方法を検討する。

±先 原田知左子)
関 福住 正文)