

平成 25 年度  
清酒酵母・麴研究会  
講演要旨集

日時 平成 25 年 10 月 15 日 (火)

場所 北とぴあ 第 2 研修室

東京都北区王子 1 丁目 11 番 1 号

清酒酵母・麴研究会



## プログラム

- 13:00～13:20 清酒酵母・麴研究会総会
- 13:20～13:50 「広島県における清酒酵母の開発」  
広島県立総合技術研究所 食品工業技術センター 大土井 律之
- 13:50～14:20 「焼酎麴菌のペクチンメチルエステラーゼに関する研究」  
(独)酒類総合研究所 水谷 治
- 14:20～14:50 「乾燥酵母による酒造り」  
日本甜菜製糖(株) 田村 雅彦
- 14:50～15:10 休憩
- 15:10～15:40 「バイオテクノロジーの父、高峰譲吉博士」  
新日本化学工業(株) 山本 綽
- 15:40～16:45 特別講演 「酵母を育てる酒母—育て酏」  
菊正宗酒造(株) 溝口 晴彦
- 17:00～ 懇親会 (於 北とぴあ9階902会議室)

# 広島県における清酒酵母の開発

広島県立総合技術研究所 食品工業技術センター  
大土井律之

## 1 開発等の概況

広島県産酒は普通酒割合が高く、かつ県内消費される割合も高いのが特徴である。しかし、近年では、焼酎・リキュールなど他の酒類との競合、消費者志向の変化及び人口の減少等に対応するため、戦略的な商品開発と販路確保が喫緊の課題となっている。

清酒の国内市場では、普通酒の縮小が顕著な反面、純米酒等の特定名称酒について堅調な需要が見込まれるため、大消費地である首都圏等に付加価値の高い特定名称酒を展開していくことが肝要である。しかしながら、他産地でも同様の商品開発が行われていることから、本県独自の商品開発や販売戦略も持ち合わせておく必要がある。

本県は、1999年、「山田錦」と、掛米としての適性が高い「中生新千本」とを交配し、酒造好適米「千本錦」を開発した。そして、この県産米と新酵母により、個性に富んだ製品の開発を行ってきた。また、現在も、『経済性』と「米の旨味」が感じられる『高品質』を両立した商品の製造を可能にする酒造好適米及び新酵母の開発を継続中である。

## 2 広島吟醸1号酵母（旧：広島吟醸酵母13BY<sup>1)</sup>）について

### ○経緯

広島県酒造組合と共同で、吟醸酒や純米酒等の特定名称酒に華やかな香りを付与することによって、商品の高付加価値化を図ることを目的に、吟醸酒の華やかな香りの主要成分であるカプロン酸エチルを高生成する酵母の開発を試みた。

○特性：カプロン酸エチルを製成酒で10ppm以上生成

○用途：純米大吟醸酒、大吟醸酒等の特定名称酒製造用

○親株：県内酒造会社の醪中から分離した酵母

### ○変異処理

メタンスルホン酸エチルによる変異処理を行った上で、脂肪酸合成酵素阻害剤セルレニンの耐性酵母を分離し、実用規模（総米数百kgから千数百kg）で仕込試験を行い、10ppm以上のカプロン酸エチルを生成する酵母を開発した。なお、この分離については、月桂冠株式会社が所有する特許発明<sup>2)</sup>の実施に関する契約を締結した。

○開発時期：2000～2001年

### ○分譲時期・機関

2001年に広島県内酒造会社での実用規模醸造試験を経て、2002年から広島県酒造組合〔広島市中区鉄砲町9-17 TEL (082) 221-9338〕が、広島県内に限らず、県外の清酒メーカーや地ビールメーカーにも分譲を行っている。

### 3 広島吟醸 2 号酵母（仮称）の開発について

広島県独自の特定名称酒用新規酵母を、交雑法により開発することを目的に 2008 年から研究を実施してきた。開発目標は次の 3 つとした。

- ①広島吟醸 1 号酵母（以下、1 号酵母）の半分程度のカプロン酸エチル生成能（製成酒 8ppm 程度）を有する。
- ②大吟醸酒等を製造する場合の低温での製造日数が 30 日程度となる高い発酵能を有する。
- ③苦味等のオフフレーバ生成が少ない。

突然変異法による育種は、望ましい変異以外にも多くの変異が生じる恐れがあり、多数の遺伝子が関与する発酵能や味のバランスを崩す可能性が高いのに対し、交雑法は 1 倍体取得に使用する親酵母の良い性質を受け継ぐ新規酵母を開発できる可能性が高い。取得した 1 倍体の発酵能、香气成分生成能について評価し、導入したい形質に近い株を選抜し交雑に使用、また、多数の組合せで交雑を実施することで、目標に近い交雑株の出現可能性を高めた。

まず、清酒酵母からの効率的な 1 倍体取得方法を検討した上で、1 号酵母、きょうかい 901 号、広島 21 号（以下、H-21）、KA-1-25、きょうかい 1001 号から 1 倍体を取得し、381 株について醸造適性等を評価し、40 株を選抜した。その後、選抜 1 倍体の交雑による交雑株を取得し、727 株について、段階的（麴汁培地発酵試験⇒総米 200g 小仕込試験⇒総米 1kg 小仕込試験）に選抜を行い、3 株について総米 100kg 醸造試験で評価し、1 号酵母と H-21 の交雑株 H16-2 株を有望株とした。H16-2 株は、2011 年に広島県内酒造会社で実用規模醸造試験を実施し、その結果、複数の酒造会社から酸度増加の要望があったため、有機酸生成能を高める改良を実施した。その結果、上記の開発目標を達成する酵母を開発し、2014 年 1 月に広島吟醸 2 号酵母（仮称）によって製造した清酒が正式に発売開始される予定である。

### 4 参考文献

- 1) 大土井律之，松本英之，藤井一嘉，谷本昌太，末成和夫：広島県立食品工業技術センター研究報告，23，15-18（2004）
- 2) 市川 英治，秦 洋二，今安 聡，杉並 孝二，変異酵母，特許第 2632654 号

## 焼酎麹菌のペクチンメチルエステラーゼに関する研究

独立行政法人酒類総合研究所 水谷 治

焼酎製造では、官能的に必須な香気成分ばかりでなく、メタノールのような望まない成分も微量であるが生成することがある。特に原料に芋を用いて焼酎を製造した場合に、メタノールが含まれてしまうことが経験上知られている。焼酎のメタノール濃度において、わが国の食品衛生法では製品あたり  $1 \text{ mg/cm}^3$  未満とされており、問題となっていないが、台湾の輸入基準では 100% エタノールあたり  $1,000 \text{ mg/L}$  以下と設定されており、芋焼酎においては輸出ができない場合も想定され、解決しなければならない問題となっている。メタノールは、エタノールと近い性質から蒸留等の工程による除去は難しく、現状では醸造工程で生産させないことが最善の方策と考えられる。現在のところ、メタノールは原料である芋に含まれるペクチンを基質として焼酎麹菌が産生するペクチンメチルエステラーゼ (Pme) の関与によって生成する見方が有力である (1)。

近年、当研究所も参加した黒麹菌 (*Aspergillus luchuensis*) のゲノム解析や相同組換え効率が上昇した株の造成 (2) 等、黒麹菌の研究プラットフォームが整いつつある。そこで本研究では、メタノール低減化法の開発を目指して、黒麹菌 *pme* 遺伝子の機能解析を行った。

### 【焼酎米麹における Pme の発現について】

黒麹菌 (*A. luchuensis*) ゲノムデータベースを利用して、3 つの *pme* 遺伝子がコードされている事を見出し、それらを *pmeA, B, C* と命名した。今後、メタノール低生産株を造成するにあたり、実際に製麹中でどの遺伝子が発現しているかを把握する事は重要である。そこで *A. luchuensis* の製麹を行い、RNA を抽出し、PME 候補遺伝子の発現解析を RT-PCR 等を用いて行った。その結果、*pmeB* 遺伝子の発現が他の *pme* 遺伝子と比べて高い事が明らかとなった。また、製麹中の各時間でサンプリングを行い、*pme* 遺伝子発現を調べた所、どのサンプリング時間においても *pmeB* 遺伝子の発現強度は他の *pme* 遺伝子のそれよりも高いことが明らかとなった。

### 【Pme 酵素の諸性質の検討】

*A. luchuensis* ゲノム中に存在する *pmeA*, *pmeB*, *pmeC* 遺伝子が本当に活性を有する酵素をコードしているかは不明である。そこで、これらの遺伝子を *A. oryzae* を宿主として発現させ、その活性が確認できるかを試みた。PmeA, PmeB, PmeC において過剰発現株の造成を行い、各株の培養上清におけるメタノール生成活性調べた。その結果、PmeC に関してはタンパク質の発現が見られるものの活性は有していなかった。一方、PmeA, PmeB はその活性有していたので、陽イオン交換、疎水性相互作用カラムを用いて SDS-PAGE 的に単一バンドになるまで精製した。更に精製した PmeA, PmeB の酵素学的諸性質のいくつかを明らかにした。その結果、PmeA は PmeB と比較して約 18 倍も比活性が高い事、PmeB は、N 末端配列が二つ存在する事等が明らかになった。

### 【*pmeA*, *pmeB* 遺伝子破壊株の造成と Pme 活性】

PmeA, B が芋焼酎製造中におけるメタノール生成にどの程度影響を及ぼしているかを調べるために、*pmeA*, *pmeB* 各遺伝子の単独破壊株の造成を試みた。破壊用プラスミドの作成は、4 fragment を用いた In-Fusion 法にて行い、これらを用いて、*A. luchuensis* *AligD* の形質転換をアグロバクテリウム法にて行った。得られた形質転換体を、コロニー PCR、サザン解析により調べた所、それぞれ 2 株ずつ目的の位置のみで相同組換えが行われた株 ( $\Delta pmeA$ ,  $\Delta pmeB$ ) が得られた。

*pmeA*, *pmeB* 遺伝子を破壊した事により、実際にメタノール生成能が失われるかを調べるために、破壊株の製麴を行い、メタノール生成活性調べた。その結果、 $\Delta pmeA$  株では 80%、 $\Delta pmeB$  株では 20%、親株と比較してメタノール生成活性が減少していた。米麴中では *pmeA* 遺伝子発現量は低いにも関わらず、 $\Delta pmeA$  株において顕著にメタノール生成活性が減少していた。これは、PmeA 酵素の比活性が非常に高いことから、少ない発現量でも大きな影響を及ぼせるのではないかと考察している。

### 引用文献

- (1) 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告 (2007) No. 52 p. 85-88
- (2) Takahashi et al., J. Biosci. Bioeng., (2011) Dec;112(6):529-534

# 乾燥酵母による酒造り

日本甜菜製糖株式会社 田村雅彦

弊社は1949年（昭和24年）より現在の所在地（帯広近郊の十勝清水町）においてパン酵母の製造および乾燥酵母の製造を行っている。

清酒乾燥酵母は1995年（平成7年）から協会701号、1997年（平成9年）から協会901号の事業化を行い、北海道酒造組合より道内酒造メーカーを対象に頒布を開始した。その後、本州での頒布が開始され現在に至っている。

泡盛・焼酎酵母の乾燥化については2000年に検討を開始した熊本県工業技術センターとの球磨焼酎用CAN1酵母の乾燥化および2001年度から開始された沖縄・南九州4県での「乾燥蒸留酒用酵母の利用に関する研究」が発端となっている。

## 【乾燥清酒酵母の活用】

乾燥清酒酵母は純粋酵母が大量かつ簡便な操作で活性化できるため、従来のアンプル酵母には無い製造法が可能である。清酒乾燥酵母の試行段階においては製造の合理化や作業者の高齢化に対応すべく、酒母造りの労力を軽減させる目的で普及が開始された。その際、北海道食品加工研究センターの依頼に基づき日本清酒（株）（千歳鶴）の故津村弥氏（野積杜氏の出身）が中心となって乾燥酵母仕込みの条件を検討し、道内での普及に貢献していただいた。

当方では道外での使用形態は分からないので、北海道内での使用実態について述べる。乾燥酵母を用いた仕込みは、2週間程度期間を要する酒母工程を省略できるので、本州方面から杜氏が来る前に、年末に需要が多い“活性酒”や“絞りたて”の出荷に間に合わせるために使用されている。また、正月明けの仕込み再開時には重宝されている様である。

乾燥酵母の使用量は総米トンあたり200g～300gを40℃の温水で復水・再賦活化して使用するが、復水に加温した水麴を使う場合もある。復水後は直ぐに添えを行う場合もあるが、水麴のまま1日置いて活性を高める場合もある。

乾燥酵母を使用した場合の酒質は、綺麗になるとの評価もあるが、各メーカー毎の特徴が十分に反映されており、決して画一的な香味となっていない。

しかし、清酒乾燥酵母はその簡便さ故に高価格帯の商品には活用されていないと推察される。また、乾燥酵母の使用を公表するメーカーも無い。これは清酒造りが伝統的な手法により行われることが一つの構成要素とされていることが理由と思われる。

乾燥酵母の普及状況は当然のことながら、清酒需要に連動するとおもわれる。清酒需要は回復期には入っていると言われているが、製造数量3/4を占めるいわゆる経済酒の数量減の影響は大きい。今後、清酒乾燥酵母の安易なイメージが払拭されるよう願っている。



## 【泡盛・焼酎酵母（蒸留酒用酵母）】

蒸留酒は発酵工程での汚染がなく健全に発酵が進めば、蒸留方式や貯蔵により香味が大きく変化する酒類である。まずは原料の澱粉質をいかに効率よくアルコールに換えるかが重要であるが、酵母が発酵により生成する香味が蒸留後の酒質に寄与する効果も大きい。

香気生成酵母など蔵付き酵母に比べて醪中での増殖が遅い場合には、大量の酵母添加で蔵付き酵母を駆逐することで本来の醸造香気をもたらされると考えられる。焼酎の発酵工程では差しモトが行われているが、野生酵母等が混入源となり得る麴と環境で酒母を立てて、差しモトを行うのでは、使用した酵母が持つ醸造特性が反映させることは難しいと考えられる。初回の醪の菌叢が添加酵母により蔵付き酵母を圧倒していれば、差しモトを行っても本来の香気が維持されることが期待される。

当初、乾燥化に取り組んだ球磨焼酎用 CAN1 酵母は香気成分に特徴があり、安定に香気を生成させる目的で乾燥化の検討が進んだ。CAN1 酵母は 2000 年に製造したものが現在に至っても活性を維持しているという事であり、菌株にもよるが乾燥酵母の耐久性の高さに驚きを感じる所である。

泡盛酵母の乾燥化は冒頭に述べた研究により普及した成功例である。沖縄県の泡盛酒造所は本島(25 場)、伊是名島(1)、伊平屋島(1)、久米島(2)、宮古島(5)、伊良部島(2)、石垣島(6)、与那邦島(3)、波照間島(1)と約半数は本島以外に所在する。従って、液体酵母の頒布は難しいものであった。また、頒布回数は月 2 回であったため、台風などで輸送が断たれた場合には輸送待機中に活性の低下を招き、仕込みを延期せざるを得なかったとの事である。乾燥酵母化により供給上の問題点は解決するとともに、種もろみを管理する手間が無くなり省力化に繋がっている。

現在も少量の乾燥酵母を使い種もろみを立てている製造場はあるが、場数としては少ない。毎回、乾燥酵母を投入する製造場もある一方、焼酎と同様に差しモトを行う製造場もある。何回差しモトを繰り返すかは酒質を見て回数を設定している様であり、10 日～2 週間が一般的である。種もろみを立てる製造場では酵母のコストを気にしているという所もあるが、個人的感想では種もろみの管理を省力化し、他の作業に労働力を振り分けるメリットが高いと思われ、コストと省力化を両立させた一番有効な製造法は初回到乾燥酵母で酒母なしを行い、差しモトで繋ぐ方法ではないかと思われる。

乾燥酵母化による顕著な効果はモロミ日数の短縮、アルコール収得率の向上と思われる。酒質については従来の液体酵母とは変わらないと言われており、今後、古酒化が進みどの様な香味となるかが楽しみなところである。

## 【その他】

この他にも個別メーカーからの受託製造による乾燥酵母もあるが、契約上、お話しはできない。しかし、それぞれで乾燥酵母化のメリットを感じて使用しているとの事である。先に述べたとおり、乾燥酵母の簡便なイメージがマイナスとなっているのは日本酒においてのみであり、いつか乾燥酵母で鑑評会金賞を取ってくれる蔵が無いか夢想するところである。

## バイオテクノロジーの父、高峰讓吉

新日本化学工業株式会社 山本 紳

### はじめに

清酒用麴の応用から生まれたタカジアスターゼの成功で一躍有名になり、富を築いた高峰讓吉は、ニッポン・クラブ、ジャパン・ソサイエティー、日本人協会、日米協会などの日米親善団体設立や、ワシントン市やニューヨーク市への桜の寄贈など日米親善に生涯をかけて尽くす一方、生涯を通じて酵素事業に尽力した。その晩年病に倒れ、日本への帰国願望もむなしくわが国政財界の強い要望で米国に留まり祖国日本のため、日本人のために日米親善に尽くし彼の地に骨を埋めた。博士が眠るニューヨークのブルックスにあるウッドローン墓地の案内書には、「近代バイオテクノロジーの父」(Father of Modern Biotechnology)として紹介されている。

### 清酒造りからウイスキー製造へ

1854年(嘉永7年)に高岡で、母親が日本酒醸造元の娘で父親が医者兼化学者の長男として生まれ育った高峰讓吉は10歳にして親元を離れ、長崎での3年間の英語学習に続いて、京都・大阪など教育制度がない時代に学問を求めてあちこち歩き回った。1872年(明治5年)に学制が敷かれ、翌年開校された後の工部大学校で英国から招聘された教師のもと6年間の教育を受け、卒業後直ちに英国へ留学した。3年後帰国し、直ちに農商務省勤務となり、日本酒醸造を含めたわが国の産業の発展に努める。この時期、明治初期に招聘された“お雇い外人教師”の中には日本酒の高度な醸造技術に強い関心を抱き日本酒醸造の研究に情熱を傾けた化学者もいた。彼らの影響もあったことだろう。学生時代には醤油についても、日本酒同様醤油も国際商品になると予言しているように強い関心を持ち、醤油の乾燥などの研究も行っている。その技術はさらに英国留学で磨かれ、日清・日露戦争に役立ったという。

農商務省の役人として日本の近代化、工業化に勤める傍ら、高橋是清を補佐して我が国の特許・商標制度の確立に勤めた。この経験は後に世界各国で100余りの特許、および「タカジアスターゼ」や「アドレナリン」などの商標を確立することに繋がった。その特許の多くは酵素とその利用に関するものである。灘の日本酒醸造の指導をしていた時に、渋沢栄一に偶然出会い化学肥料の必要性を説き、農商務省を辞して東京人造肥料の立ち上げに専念している時でも日本酒醸造など発酵について施設研究所にて研究を続けていた。醸造試験所創立

は難しいといわれて、ならば自分ひとりでも研究するという意気込みの中から生まれたのが、麴を利用した「アルコール製造法」の特許で、1887年には英国で、1889年には米国でも成立した。この特許がシカゴのウイスキー・トラストに認められ、1990年には丹波杜氏の藤木幸助を連れて米国へ移住することになった。しかしウイスキー製造は技術的には成功するのだが、それまでの酵素の給原であった麦芽製造業者などの大反対にあい、新設の工場も放火と思われる火災で焼失してしまい、本人も肝臓病を再発して入院手術となる。ウイスキー造りは断念する。

### タカジアスターゼの誕生

そのような苦しみの中から生まれたのが世界初の微生物酵素製品、タカジアスターゼである。工部大学の後輩で農商務省や特許局の後輩でもあった清水鉄吉の献身的な協力で、一連のタカジアスターゼ関連の特許が1894年に米国で成立し、当時の米国の大手製薬メーカー、パーク・デービス社により製品化されてタカジアスターゼは誕生するが、消化剤以外の、製パンなど他の用途への販売も考えていた。今から120年前に高峰は酵素の多様な用途を理解していたのである。

高峰が考えた麴培養法は、当時アメリカではなかなか入手できなかった米の変わりに、現地で簡単に年間通じて手に入る極めて安価な原料、“小麦糠”（小麦フスマ）を使うというアイデアであり、「麦皮麴」と表現していた。他の栄養源は必要とせずカビの生育には絶好な空間を造れるという物理的にも化学的にも優れた培地となったのである。この技術はタカジアスターゼの国産化により1914年、日本へ里帰りした。現在では固体培養とか表面培養とか言われている技術だが、“麴蓋”式のトレー培養では高峰博士も苦勞した。しかながらこの技術は液体培養あるいはタンク培養では得られない多くの酵素を短時間で簡単に作れることもあり、今でも世界各地で利用されている。この技術がその後の日本での盛んな酵素の研究と生産に多大な影響を与えたことは言うまでもない。50年ほど前から酵素が環境問題解決のために利用されるようになり、種々の酵素が開発され、利用されて酵素産業は成長してきた。今、バイオテクノロジーの時代となり、地球環境保全や健康問題のためにも更なる酵素の活躍が期待されている。

## 酵母を育てる酒母—育て酏

菊正宗酒造株式会社 溝口晴彦

### 1. 灘で生酏が継承された背景

戦後、全国的に速醸酒母が普及したが、灘では依然として生酏の採用が多く、昭和25年の調査では酒母の87%が生酏であった。さすがに昭和30年代以降の機械化と需要増大の影響で、生酏を採用する蔵元が激減してゆくが、弊社を含めた二三の蔵は継承した。そこには、生酏の操作の意義を考えながら、省力のための工夫があったと考えられる。

生酏と言えば、一番摺りに見られる酏摺り作業の風景であろう。これはつらい作業であったと言われているが、弊社では、酏摺りに替えて「酏踏み」を行ってきた。しかしながら、酏踏み、二番摺り、三番摺りをした後、夜間に半切り桶を外に運び出す作業（「亀」と呼ばれた）は依然として重労働であった。夜気に当てて、冷やすためのものである。戦後、冷温器の水を潤沢に使えるようになり、さらに酒母室が冷房されるようになった。「亀」によって冷やす必要がなくなったので、二番摺り、三番摺りをせず、酏踏み後ただちに酏寄せを行うようになった。これには、高度精米と山田錦の普及も影響していると考えられる。その後、培養酵母を添加して、添加酵母の純度検定<sup>1)</sup>を行うようになり、さらに安定した酒母管理を容易に行えるようになった。

### 2. 枯らしに強い生酏酵母<sup>2)</sup>

かつての清酒醸造では、100日の酒造期間のはじめに一斉に生酏を製造し、順次使用した。したがって、最後の仕込に用いる酒母は二か月近く経過していたが、支障なく使用できた。省力化の進んだ今日の生もとでも、長期保存（枯らし）における生存率の高さが確認されている。

生酏初期に、低温増殖性の乳酸菌である *Leuconostoc mesenteroides* と *Lactobacillus sakei* が、酒母中の遊離リノール酸を利用しながら増殖するため、遊離脂肪酸の大半はパルミチン酸になる。引き続いて増殖する清酒酵母は二価不飽和酸を合成しないため、細胞膜にリノール酸をほとんど含まず、リノール酸を30~50%含む速醸酒母の酵母とは対照的である。この差異に起因する細胞膜バリアー能の違いが、枯らしにおける生存率の差になっていると考えられる。

清酒醸造の仕込では、先ず蒸米が仕込水を吸水した後、米が次第に溶解して水を開放し、液相が増大していく。このために、酵母はエタノール存在下に増殖することになり、細胞膜の飽和度があがる<sup>3)</sup>。枯らしに弱い速醸酏を用いて支障なく醸造できるのは、段仕込の過程で、エタノール存在下に増殖させることにより、酵母の適応現象が起きていると考えられる。

脂質合成経路におけるアシル CoA 合成酵素には Faa1 と Faa4 のパラログが存在するが、実験室酵母では Faa1 が主体とされている。しかし、清酒酵母の FAA4 破壊株は、エタノ

ール存在下に増殖が悪くなり、パルミチン酸を添加しても改善しない。また、パルミトイル CoA プールを制限すると、エタノール存在下に増殖が悪くなるが、*FAA4* 高発現により改善される。これらの結果から、清酒酵母は、*Faa4* を介して膜脂質中の飽和度を増大させ、エタノール存在下に優れた増殖を示すと考えられる<sup>4)</sup>。

一般的なストレス応答では、*Msn2/4p* がストレス応答遺伝子の転写を促進し、*YAK1* のような遺伝子も含まれるため増殖が悪くなるが、清酒酵母は例外的によく増殖する。これに矛盾せず、ノーザン解析やレポーターアッセイの結果は、清酒酵母の *YAK1* 発現量がエタノールに影響されないことを示した<sup>5)</sup>。清酒酵母のゲノムシーケンシング後、渡辺らによって *Msn4* の C 末端の DNA 結合モチーフの欠失や、*RIM15* の機能欠失が示され、清酒酵母のエタノールストレスのもとでの増殖の背景が明らかになった<sup>6)</sup>。

### 3. 生酏の高アミノ酸度と酒質の関わり<sup>7)</sup>

生酏のアミノ酸度は、速醸酏の 2~3 倍高い。速醸酏では、初発 pH が 3.6 くらいのため、タンパク質は酸性プロテアーゼによって速やかに分解され、ジ・トリペプチドになる。そのため、酸性カルボキシペプチターゼに対する基質親和性が低いのにに対し、生酏では pH が緩やかに低下し、タンパク質からペプチドを経てアミノ酸へと継起反応が進んで、高アミノ酸度を示す。

いずれの酒母を用いて仕込んだ清酒も、アミノ酸度の違いはなくなるが、生酏を用いた清酒はペプチド含量が高くなる。これは、生酏のようにアミノ酸/ペプチド比が高い培養基で培養されると、ペプチド輸送体の遺伝子 *PTR2* の発現が抑制されることに起因する。生酏造りの酒は押し味があると言われるが、コク味を付与するペプチドを多く含んでいることが一要因と考えられる。*PTR2* の発現制御機構を利用して、ユニークな分離法により変異株が得られ、実用化されている。

### 4. 培養乳酸菌の添加の試み

季節蔵の生酏製造過程で分離保存してきた乳酸菌株について、PFGE による系統解析を行ったところ多様性が認められた。したがって、乳酸菌のスターターを用いる場合は、何らかの選択基準によるスクリーニングとともに、従来の生酏特性を再現できるか確認する必要があるだろう。

#### 文献

1. 溝口晴彦ら：醸協，**77**，361-364 (1982)。
2. 溝口晴彦：生物工程，**76**，122-130 (1998)。
3. Huffer, S. et al: Appl. Environ. Microbiol., **77**, 6400-6408 (2011)。
4. Nozawa, M. et al: J. Biosci. Bioeng., **93**, 288-295 (2002)。
5. Yamaji, K. et al: J. Biosci. Bioeng., **96**, 474-480 (2003)。
6. Watanabe, D. et al: Appl. Environ. Microbiol., **78**, 4008-4016 (2012)。
7. 山田 翼：生物工程，**87**，9-15 (2009)。