

バイオテクノロジーの応用による製造合理化に関する研究（その4）

- 清酒酵母の育種 -

吉浦 貴紀* 長谷川裕正* 郡司 章*

1. 緒言

前報で明利小川酵母に変異処理を行い新酵母を取得した。今回はこの新酵母にさらに耐アルコール性を付与した株を取得した。さらに、この株についてセンターの保存株とともに小仕込み試験を行い酸度、香気成分の測定を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 酵母への耐アルコール性の付与（M-103N）

- ① 寒天培地上のM-103 単独コロニーを通常のYPD 培地 10m_lで25℃、2~3 日静置培養する。
- ② 培養したM-103 をエタノール5%を含むYPD 培地10m_lに植菌する。アルコール揮散防止のためにパラフィン紙でシリコ栓を覆う。
- ③ 25℃1 週間静置培養して生育が認められたものについてエタノール濃度を10%にしたYPD 培地に植菌する。これをエタノールの濃度を15%・18%濃度の培地になるまで繰り返す。
- ④ 最終的にエタノール濃度18%のYPD 培地で3 代培養したM-103 をYPD 寒天培地に塗布し単一で大きいコロニーを釣菌する。
- ⑤ TTC 染色、パルスフィールド電気泳動、栄養要求性等により酵母の由来識別をする。

2.2 総米300g の小仕込み試験法

第1 表に示した変則仕込配合（総米300g、麴歩合20%、汲水歩合140%）により10 号泡なし酵母、M-103、M-103N、INK20、INK23、INK25 の5 種の酵母を用いて13℃で発酵させ、状態の様子により留添後（今回は仲添後）16日目に上槽した。

第1 表 小仕込試験仕込配合

	初 添			留 添		
	蒸米 (g)	麴 (g)	汲水 (m) [*]	蒸米 (g)	麴 (g)	汲水 (m) [*]
変則 2 段仕込	—	60	420	240	—	—

総米300g、麴歩合20%、汲水歩合140%、初期添加乳酸0.2m_l/100m_l、発酵温度13.0℃

2.3 酸度測定

国税庁所定分析法によった。

2.4 香気成分測定

ヘッドスペースガスクロマトグラフによった。

3. 結果

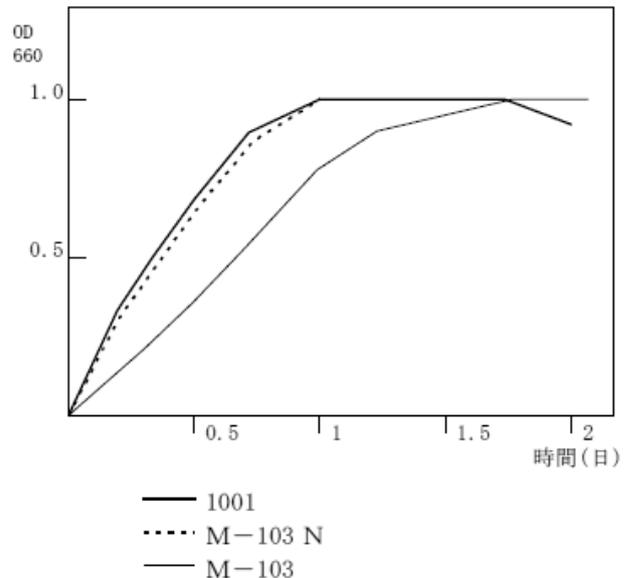
TTC 染色、パルスフィールド電気泳動によりM-103NはM-103 由来であることが確かめられた。

第1 図に10 号泡なし酵母、M-103、M-103N、3 種の酵母の成長曲線を示す。これよりM-103 の課題であった初期状態の成育性・増殖性の悪さが改善できたものと思われる。

第2 表に酸度を測定した結果を示す。M-103 は1001に比べて低酸度の性質を持つが、今回は原因は不明であるが逆の結果となった。

次に第3 表に生成酒の香気成分の測定結果を示す。これからM-103N は高カプロン酸生成能を損なうことなくM-103 から受け継いでいることが確認された。

なおINK20、23、25 はシクロヘキシミド耐性菌であるが酢酸イソアミルの生成量が非常に高いことが観察された。吉田ら¹⁾はシクロヘキシミド耐性菌はリンゴ酸生成能が高く酸度の高い清酒製造に向くと報告しているが今回の実験では酸度の上昇は見られず、その代わりに酢酸イソアミルの高生産性が確認された。このことはカナバニン耐性株が高酢酸イソアミル生産性を示すことに類似しており²⁾今後、さらに検討して行きたい。



第1 図 酵母の増殖曲線

第2 表 生成酒の酸度

酵 母	酸 度 (m) [*]
1001	2.6
M-103	3.5
M-103N	3.2
INK20	3.2
INK23	2.8
INK25	2.85

第3表 生成酒の香気成分

酵 母	酢酸イソ アミル	イソアミル アルコール	カブロン酸 エチル
1001	3.87	141.4	5.35
M-103	2.56	134.6	9.02
M-103N	2.99	109.1	9.00
INK20	8.87	156.2	5.71
INK23	7.73	139.0	6.10
INK25	6.77	140.4	5.50

単位は全て ppm

4. まとめ

M-103 株を親株として得られたM-103N 株は親株の高い香気成分生成能という長所はそのまま増殖力の弱さという弱点をカバーした期待の持てる酵母であると思われる。

今後、酵母の性質を詳細に把握するために実地醸造に近い中間規模試験醸造を行う必要がある。

またINK 系の酵母についても今までに報告されている変異株とは異なる性質を持っているようでありさらに詳細な検討を行う予定である。

- 1) 吉田清 他：醸協88、(8)645(1993)
- 2) 秋田修 他：発酵工学会誌67、(1)7(1989)