

## 講演

### 清酒酵母について

辰馬本家酒造KK常務取締役・醸造部長

高岡祥夫氏

私達は酵母によってご飯を食べさせてもらっているといえるのですが、その酵母についての基本的、生物学的なことについて、本日は話をさせていただきます。しかし、学校を出て会社に入ってからでは応用面のことばかりやっております、研究としては酵母の生理、働きに関するものを少しばかり手がけた程度で、分類学上のことは全くといっていいほどやっておりません。ということで、特に清酒酵母に限定して話をさせていただきます。

私達が酵母を扱っていた時代とちがって、ここ20年ぐらい前から酵母の研究は大きな変化を見せています。昔は滴定による分析などが主でしたが、最近では、特徴として酵母が高等動植物に近い性質をもっていることもあって、細胞分裂のメカニズムだとか、細胞の調節機構の解明にはば広くこの酵母が用いられるようになってきました。また、特に遺伝子工学的な研究も非常に進んできておりますが、この方面のことについては最後に少しふれる程度で本日は詳しく話をしないことにします。

まず、酵母というのは分類学上の名前ではありません。皆様よくご存知でしょうが、発酵する菌類を一般に酵母と呼んでいるのです。分類学上は原核細胞生物と真核細胞生物とに分けられ、前者はバクテリアなどですが、酵母は後者に属し、真菌植物の子の菌類に入ります。そして、私達が酵母の中で一番よく用いるのは、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) です。これにはビールだとかブドウ酒、清酒など醸造用に使われている酵母がすべて含まれます。

私が入社してまもなく、当時灘酒研究会という各酒造メーカーの研究者の団体で何か協同研究をやろうということになり、話しあいの結果、一番やりやすいもの——有能なカビだとか、こうじカビ、酵母、乳酸菌などそういったものを研究しようということになり、私に割りあてられたものが酵母だったのです。灘五郷の数十軒の酒屋から、酒母(もと)、もろみをもらってきて、80種余りの酵母を分離しました。それが酵母をやりかけた初めなのです。それらの酵母は分類学上は全部サッカロミセス セレヴィセ (*S. cerevisiae*) に入ってしまうのですが、何となく性質や形が違います。例えば、日本人と西洋人との差といいますか、あるいはまた、日本人どおしでも微妙に違うそんな差があるのです。これをさらに分類することは非常に難しいと感じておりました。その後、10~15年間というもの、70~80種の酵母をかかえながら何とかしてこれを分類しようと思ってみました。それがうまくいったかどうか今だに疑問に思っている次第です。実

際用いられているものだけでも非常にたくさんあって、俗なことばでいいますと、酒蔵ごとに蔵つき酵母、家つき酵母というのがあって、細かい性質が皆違っているのです。そういうものを細かく分類するために細かい性質——形の違い、アルコール耐性、乳酸耐性、あるいは糖に対する耐性といったいろいろなものを調べていきました。

例えば形態ひとつにしても、丸いものとかダ円型のものとか卵型のものとかがあります。これは図1に示すよ

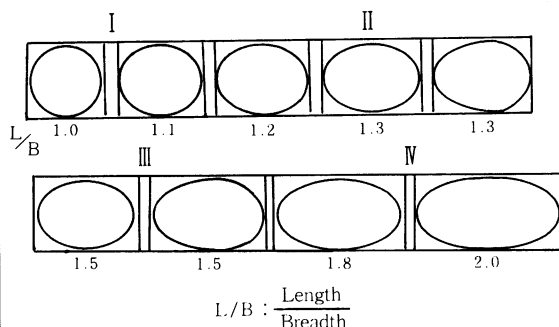


Fig. 1 Model of cell form

長径/短径の値が1~1.1のものを Round (I型)、1.2~1.3のものを Short Oval (II型)、1.4~1.7を Oval (III型)、1.8以上を Long Oval (IV型) 又IIおよびIII型において左右対称形のものをII-a、III-aとし、卵形のものをも II-b、III-bとした。

うに、長径と短径の比をとって1.0~1.1を球型(I型)、1.2~1.3を短ダ円型(II型)、1.4~1.7をダ円型(III型)、1.8~2.0のものは長ダ円型(IV型)とし、さらに、II・III型においては左右対称型か卵型かにより細分することができます。酵母の分類で一番権威があるのはロダンの分類です。1952年彼は非常に数多い酵母を分類するのに、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) を思い切って整理統合しました。今でいう行政改革のような感じでズバツと整理してしまった訳です。根拠は糖類の発酵性でした。みな同じ糖を発酵します。それと形態の特徴をもとにして分けると、清酒酵母もアルコール酵母もビール酵母もさらにはパン酵母も全部1つになってしまうのです。発酵工場で用いられる有用酵母といえば全部がサッカロミセス セレヴィセ (*S. cerevisiae*) なのです。

これに対して、サッカロミセス サケ (*S. sake*) は *S. cer.* とは違うと主張する人もあります。そのちがいが表1に示されています。例えば、人工培地で *S. sake* はビタミンとかピチオンなしでも十分生育可能です。簡単な無機塩と糖だけからいろんなものをつくっていきます。ただし、この時の培地のN源というのは有機ではだ

表1 醸造酵母の分類

酵母名	ビオチン欠及び全ビタミン欠培地での増殖	Na 利用性	イーストサイジンに対する抵抗性	乳酸菌 ( <i>L.casei</i> ) による凝集性	高泡形成能	所属する母所醸造酵母
<i>Sacch. sake</i>	+	+or -	+	-	+	清酒酵母
<i>Sacch. cerevisiae</i>	±	-	-	+	-	ビール酵母 パン酵母 ブドウ酒酵母 アルコール酵母
<i>Sacch. shōchu-awamori</i>	+	+or -	+or -	+	+ W	焼酎酵母 泡盛酵母

めで、硫酸のような無機塩を使わないといけません。ところが他のビール酵母などではビタミンを必要とします。また、清酒酵母はK塩の代わりにNa塩で生えたり、イーストサイジンという一種の抗性物質に対する抵抗性もっています。こうじカビを20日ほど培養して、その培養液を分離しそれに酵母を植えると、清酒酵母は繁殖しますが、他の *S. cer.* は生えることができません。

さらに、ある種の乳酸菌 (*Lactobacillus casei*) に対して凝集しないことも特徴としてあげられます。ところが、別の乳酸菌 (*L. プランタリウム* とか *ライフマニ*) — これらは清酒造りにおける腐敗菌なのですが — に対しては清酒酵母は固まって沈んでしまいます。逆に、他のビール酵母やパン酵母などはこれらの乳酸菌に対しては凝集性を示さないという、清酒造りにおける重要な特徴もっています。清酒造りにおいて、なぜ清酒酵母が昔から利用されているのかと申しますと、製造工程に必ず乳酸酸性の過程があって、ここで他の腐敗菌等から保護され、乳酸に強い清酒酵母だけが単独に純粋に生えてくることのできるのです。そして、アルコールをつくります。そのアルコールは次に乳酸菌を殺し、最後に生き残るのは清酒酵母だけということになるわけです。このように自然の節理をうまく利用して酒母(もと)をつくります。酒母とは酵母の集積培養のことです。清酒酵母が乳酸菌に強いという性質ゆえに、清酒造りが昔から簡単な製造工程でつくられているのです。酒母づくりについては詳しくはふれないでおきます。

次に、高泡形成能についてですが、皆さんの中にはろみをご覧になった方も多勢おられると思いますが、ここではずい分と泡が立ってきます。セッケンのように細かい泡が数十cmから時には1m、放置しておくとそれ以上にもなります。ところが、ビール酵母やブドウ酒酵母で清酒をつくりますと、20cm程度しか泡が出てこないのです。

このように見てきますと、いろんな性質が非常に違ってきますので *S. sake* が1つの独立したカビとして認められるべきだというふうに強力に主張する人もあるわけです。しかし、世界的にはまだ認められていません。

さらに清酒酵母の性質をながめてみましょう。図2は

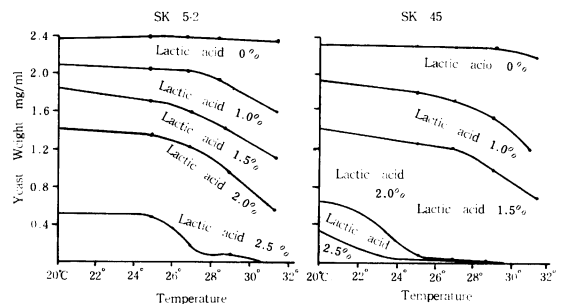


Fig. 2 乳酸耐性能 (8日培養後のmg/ml)

清酒酵母が何%くらいの乳酸に耐えるかを示しています。(培養後8日目のデータ)これによりますとSK5—2株よりもSK45株の方が乳酸に強いことがわかります。温度によっても違ってきますが、24~26°Cくらいから急激に温度の影響を受けるようになり、増殖が悪くなります。ご存知のように酒は冬つくりです。この事実はこの結果とよく一致します。一方酒母づくりの工程の最後に急激に温度を上げる場合があります、昔からなぜそうするのかわからなかったわけですが、弱性、悪性の酵母を淘汰するためであるといわれていました。この表から、確かに25~30°Cで20時間ほど処理すると、乳酸2.5%くらいとして、SK5—2株は生き残りますが、SK45株は死んでしまうことがわかります。このようにして強いものだけを残り弱いものを除いておかないと、次に乳酸の

ない普通培地、すなわちもろみに移した場合に、両方向時に生えてきて強い酵母が半分になってしまいます。こういう自然淘汰の方法を酒母づくりの時に利用しているのです。昔の人が考えた方法で、特に丹波流においては非常に苛酷な条件を与えています。

次にアルコールの影響を見てみましょう。(図3)

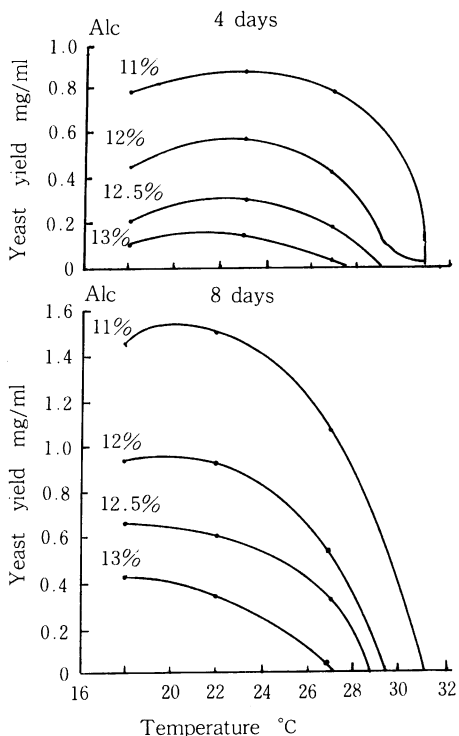


Fig. 3 アルコール耐性能 (mg/ml)

上が培養後4日目、下が同8日目のデータです。アルコールなしの場合のデータは図2のとおりで8日目で約24 mg/mlですから、アルコール11%で1.5 mg/mlとして20~30%しか繁殖しないことになります。以下アルコール濃度が増すに従って繁殖量が減ってきます。そして、この温度曲線から想像して、18°C以下の低温のときカーブが上向くとは思えませんので、アルコール13.5~14%、18°Cくらいでは全く繁殖しないということになります。実際その通りなのですが、そこで1つ問題があります。清酒の場合に、原酒づくりでは19~20%、場合によってはそれ以上のアルコールが出てきます。ところがこの実験結果ではほんの13%くらいで繁殖できないということになっています。なぜそうなるのでしょうか。

酵母の性質ももちろん関係してきます。他のビール酵母やブドウ酒酵母に比べてアルコール耐性が強いこともありますが、それ以外にもろみづくりの特徴といえます。こうじででんぷんを糖化しますが、その工程と発酵

の工程が同じ容器の中で同時に進行していることによるのです。私達はこれを平行複発酵と呼んでいるのですが、糖分ができるとすぐその場でアルコールに変換していくということが行なわれます。ですから、清酒もろみは全体としては非常に糖濃度が高いのですが、発酵中のグルコースのみの濃度を測定してみると、2~3%しかないのです。糖濃度がうすいということは、アルコールの影響が小さいといえるのです。ここに糖濃度の影響を示すデータはありませんが、糖濃度5~7%でアルコールの影響が出てきます。ですから、それより低い濃度で発酵が進んでいるがゆえに非常に高いアルコール濃度まで酵母が発酵することができるということになります。なお、図3の場合、アルコール13%ほどで発酵が止まりますが、これは酵母が死ぬのではなく増殖しないだけなのです。このことはもろみでも状況の変化に即座に現われてきます。泡の発生がストップするのです。日本酒のアルコール度数が高いのはやはりもろみづくりの原理に由来すると考えられます。

糖に対しての性質はどうかといいますと、それは表2に示されています。糖濃度10~15%の培地では全量消費されてしまいますが、20%では一部は消費されずに残り、濃度が高くなるにつれて消費量が減っていきます。また、これに伴ってアルコール濃度も変化し、20%で最大になります。酵母は糖からアルコールをつくります。だからアルコールを多く生産するには糖をたくさん食べさせればよいかといいますと決してそうではないことがわかります。一方酸もつくります。この場合は糖濃度が増すにつれて酸も多くなります。

なぜこのような表を示したかといいますと、灘の酒が有名になる以前、そもそも日本酒の製造法が現在のように確立されたのは平安時代のことであり、奈良地方のあるお寺で試行錯誤の末完成しました。その方法が江戸時代末期の頃まで続いています。ところが大変化が occurred。従来、池田伊丹の酒が有名であったのが、灘の酒が江戸でもてはやされるようになったのです。いいものは、仕込みに使う水の量が増えたからです。米の量に対して70%ほどの水を使用していたのが、灘では、100~130%ほど使うようになり、非常にさらっとして飲みやすい酒になったのです。以前は水をつめてつくっていましたが、非常に濃厚なドロドロとしたものでした。そして、その最大の理由は宮水にあります。西宮の宮水を使った酒は室町時代からうま酒として文献にも残っています。水の効果というのはこのように大きなものなのです。さて、表2との関連ですが、水をつめて糖濃度の高い状態でつくと発酵がにぶくなるとともに酸が多くなり、その結果、非常に甘ずっぱい酒になってしまいます。なぜそうしていたかと申しますと、開放発酵のむつ

Table 2 Effect of sugar concentration in Lodder's medium upon sugar utility, yield of alcohol, and yield of acid.

Culture condition ; 30°C, 11 days, inoculum size ;  $5 \times 10^3$  cell/ml.

Sugar conc. (%)	Utilized sugar (g/100ml)	Sugar utility (%)	Produced alcohol (vol. %)	Yield of alcohol to utilized sugar (%)	Produced acid (acidity)	Sugar used in acid formation*1 (calc.) (g/100ml)*2	Sugar used in acid formation $\times 100$ / Utilized sugar
10	10	100	6.0	93.4	2.4	0.86	8.6
15	15	100	8.5	88.0	3.2	1.15	7.7
20	18.6	93.0	10.9	91.0	3.4	1.22	6.6
25	16.7	66.8	10.0	93.0	3.7	1.33	8.0
30	14.4	48.0	8.4	91.0	4.1	1.47	10.3
35	11.5	33.0	6.6	88.7	4.4	1.58	13.8
40	9.2	22.9	5.1	86.5	4.2	1.51	16.6
45	7.4	16.4	3.6	75.0	4.0	1.44	19.5
50	0.3	—	—	—	—	—	—

\* 1 Acid was calculated as acetic acid.

\* 2 Weight of sugar produced acid in 100ml medium.

かしさで、何 100 年来の経験から水量が決められていたのです。

この表に関連した想像の話を一つ申しますと、日本の文献で一番最初に酒という文字がみられるのは日本書紀で、八岐大蛇を須佐之男命が退治する八塩折之酒という所に出てきます。しおるといのは酒をしぼることですが、しぼった汁(酒)でもう一度酒をしぼることによって濃い酒ができるというわけです。これを何度くり返してより濃い酒を得たということで、さすがの大蛇もこれによらば寝てしまい、そこを取り押えられた…というお話ですがこれは全くのウソでして、本居宣長が古事記伝の中で書いています。酵母のアルコールに対する影響のこの原理からいいますと、酒でもって酒を仕込みますと酵母が繁殖できないことになり、ある程度のところでアルコール度数は上がってきません。奈良時代にもこの方法が伝わっていて、宮中の女官用の酒、すなわち重醸酒と呼ばれ、非常に甘い酒でお菓子の代わりにも用いられたものと考えられています。ですから前述の八塩折之酒というの、八はたくさん、塩折酒は一夜酒、すなわち、大量の即製の一夜酒と理解する方が前後関係からもあうのではないかと思います。

最後に、当社ではじめて分離することに成功した大変な酵母についてお話ししましょう。1971年のことで、キラー酵母(Killer)といわれるものです。名前は私達がつけたわけではありません。同じような種類の酵母が他の酵母の毒素でもって殺されるというのはめずらしいことです。文献には1963年英国のベヴァンがS. cer. を混合培養した時に、一方が相手を殺す現象を認めています。こ

の時殺す側をキラー酵母(Killer)殺される側をセンシティブ酵母(sensitive)といいます。また、キラー毒素にやられない中性酵母もあります。

(スライドによる説明)

◎キラー毒素(killer factor)は高温に弱く、また、酸素に対しても弱いので、25°Cで25分ほど振とう培養すればほとんど影響がなくなる。15~20°Cでは影響が現われ、これはもろみの管理温度と一致するので問題がある。

◎溶菌作用ではなく、細胞壁に吸着し、物質透過性に差異を引き起こすようである。その際、細胞壁はそのまま、内容物が溶出することにより酵母が死ぬ。

◎突然変異をおこさせて耐性菌をつくる研究が進んでいる。特に、遺伝子組み換え技術で、優良酵母にキラー毒素合成能力を付加させようという研究が有望視されている。

◎キラー能力は核内にあるMファクターと、細胞質にあるキラープラスミドの両方がそろふ必要がある。

Mファクターとはキラープラスミドを支えるものである。そして、Mファクターだけだと中性になる。

## 第38回総会案内

と き 昭和59年5月

と ころ 西 播 支 部

上記の予定になっておりますので、研究発表等ご希望の方はあらかじめご準備ください。