

3S-Fp01 泡盛のバラエティー化に向けた泡盛黒麹菌の研究開発

○渡邊 泰祐

(琉球大・農・亜熱生資)

t-wata@agr.u-ryukyu.ac.jp

泡盛醸造では、*Aspergillus awamori* (ISH1) 及び *A. saitoi* (ISH2) を混合した種麹（複菌麹）が用いられている。現在、沖縄県内には種麹店が1店舗有り、泡盛酒造所の8割以上がこの種麹を用いている。これら2菌株を比較すると、ISH1はα-アミラーゼ生産力が高く、クエン酸生産能が比較的低いのに対し、ISH2は糖化力が低いもののクエン酸を大量に生産することができる。したがって2菌株は、泡盛醸造に重要な性質（α-アミラーゼ活性が高いこととクエン酸生産能を有すること）を補完し合っており、複菌麹法は雑菌が生育し易い亜熱帯気候の沖縄に適した方法と考えられる。一方、複菌麹法が、泡盛の酒質に与える影響は明らかではなかった。一般的に酒質に影響を与える要因として、蒸留法や酵母の影響等が挙げられるが、小仕込み試験の結果、ISH1のみの麹から調製した泡盛の4-ビニルグアヤコール（4-VG）濃度は、ISH2のみで調製した場合に比べ高かった。複菌麹で調製した泡盛中の4-VG濃度は、一種類の株のみの麹（単菌麹）から調製した場合とほぼ同等と予想されたが、意外にも複菌麹の方が4-VG濃度が高い傾向を示した。即ち、複菌麹が泡盛中の香氣成分の組成に影響を与えることが分かった。酢酸イソアミルや酢酸エチルでも4-VGと同様、複菌麹の方が高濃度であった。一方、イソブチルアルコール等は、単菌麹の方が高濃度であった。即ち、香氣成分毎に、複菌麹の影響が異なっていた。現在までに、前述2株の混合比率の変化による酒質の多様化について実用化レベルで検討が行われ、この特性を利用した泡盛は商品化されている。

一方、泡盛の蒸留粕は、多数の有効成分が含まれているものの、その成分は製造条件により異なり安定しないことが問題となっている。そこで、ISH1及びISH2各株の単菌麹を使ってアルコール発酵を行い、蒸留後の粕成分を比較した。アミノ酸量を調べた結果、チロシンを除く19種類のアミノ酸量は、ISH1のみの蒸留粕の方が高い値を示した。クエン酸量はISH2のみの方がISH1に対して1.2倍高い値を示した。麹中のクエン酸量は、ISH2のみの方が高いことが報告されており、蒸留粕でも同様の傾向を示した。また香氣成分を比較した結果、全体的にISH2のみの方が、香氣成分値が高い傾向を示した。中でもフルフラールと酢酸デシルは3.5倍高い値を示した。一方、1-オクテン-3-オール、酢酸オクチル等の4成分は、ISH2のみの蒸留粕ではISH1の0.6倍以下であった。以上の結果から、黒麹菌株の違いは蒸留粕成分中に含まれる様々な成分を変化させることが示された。変化が大きい成分は、蒸留粕の品質を安定させる指標となり得ると考えられた。

次に、泡盛風味に対する黒麹菌の影響を遺伝子レベルで解析する為に、次世代シーケンサ（SOLiDシステム）を用いた全ゲノム配列の比較ゲノム解析を行った。その結果、約20-60 kbに渡る菌株特異的な大規模欠損領域と多数の1塩基変異が確認された。さらに、両菌株の1塩基変異について、4314株のアノテーション情報を用いた遺伝子探索を行ったところ、多くの二次代謝関連遺伝子が見出された。これらの遺伝子の差異が泡盛風味に影響を与えていることが示唆された。

これまで麹菌は、糖化のための“酵素生産者”としての役割が大きく、醸造物や副産物の成分変化に対する影響は大きくないと考えられてきた。今回の泡盛黒麹菌を用いた検討によって、麹菌が醸造物の多様化に貢献する可能性は大きいことが示されたと考えられる。本研究は微生物に注目した技術であるため、実機に導入する際に酒造所での新たな設備投資の必要はなく、低コストでの泡盛風味のバラエティー化が可能になるものと期待される。

Research and development of black koji molds to produce variety of awamori

○Taisuke Watanabe

(Dept. Biosci. Biotechnol., Fac. Agric., Univ. Ryukyus)

3S-Fp02 泡盛酵母のゲノム解析○鼠尾 まい子¹, 東 春奈¹, 渡久地 政汰¹, 赤尾 健², 下飯 仁², 塚原 正俊¹(¹バイオジェット, ²酒経研)

nezuo@biojet.jp

酒類の醸造において「酵母」は単にアルコールを生成するだけでなく、酒質すなわち風味に大きく関与していることが分かっている。歴史的に泡盛醸造は、大戦の戦禍によりほとんどの酒造所が壊滅したことで、技術者やノウハウとともに、酵母を含む酒造所独自の醸造微生物を失った。その後、関係者の努力により泡盛が復興する過程で、生産性が高く泡盛風味が良好な優良酵母「泡盛101号酵母」が開発され、現在まで全酒造所で広く用いられている。泡盛101号酵母はクエン酸が多く含まれ酸度が高いもろみの中でアルコールを効率的に生産し、さらに風味が豊かな泡盛を作り出すという優れた特性を有する。そのため、泡盛101号酵母は、国内で唯一の亜熱帯気候である沖縄県においても、雑菌による汚染を防ぎ、安定的な醸造を行うために適した菌株である。また、泡盛101号酵母は「泡なし101酵母」とも呼ばれ、醸造中に気泡が形成されにくい、仕込み時の煩雑な手間を省くことができるという利点を有する。このように、泡盛101酵母は現在までスタンダードな優良酵母として泡盛業界の支えになってきた歴史を有する。

一方、単一酵母が広く用いられることで泡盛酒質が均質化の傾向に進んでいる。このことから、近年、マンゴー酵母やワイン酵母、吟香酵母など泡盛101酵母以外の酵母を用いた泡盛の開発も進んでいる。実際に、これらの酵母を用いて製造された泡盛は、泡盛101酵母に比べて風味が異なることが明らかとなっている。泡盛101酵母以外の酵母を用いた泡盛銘柄はまだ少なく、我々は、泡盛の商品開発に向けて、現在自然界の新規酵母の分離を実施している。酵母のゲノム解析に関しては、これまでに醸造酵母をはじめ非常に多くの酵母において実施され、系統分類や醸造への応用がなされてきた。このような状況の中、我々は、泡盛101酵母の全ゲノム解析を実施し、その特性を分子学的レベルで明らかにすると共に、今後の泡盛酵母選抜及び育種に有用な情報を得ることを目的としている。

泡盛101酵母よりゲノムを抽出し、イルミナ社のMiSeqによるゲノムシーケンズを実施した。リファレンス配列として、実験室酵母 *Saccharomyces cerevisiae* S288c、およびきょうかい7号酵母を用いて全ゲノムにおける比較解析を行った。その結果、それぞれの菌株との差異や相同性が明らかとなった。特に101酵母の醸造上の特徴である「泡なし」について、101酵母では高泡形成に関与すると報告されている遺伝子 *Awa1* に大きな変異があることが明らかとなり、形態との関連性の実証された。一方、きょうかい7号酵母と比較すると、いくつかの部位で特徴的な変異が確認されたことから、現在これらの差異について詳細な解析を進めている。本研究により得られたゲノム情報は、泡盛醸造に適した酵母の探索や異なる風味の泡盛をもたらす酵母の育種などに応用が可能であると考えている。さらに、将来的には、醸造技術の開発や商品としての泡盛のバラエティー化に寄与することを目指している。

Comparative genomics of Awamori yeast○Maiko Nezu¹, Haruna Azuma¹, Shota Toguchi¹, Takeshi Akao², Hitoshi Shimoi²,Masatoshi Tsukahara¹(¹BioJet Co Ltd., ²NRIB)