

3S-Fp03 有用酵母の育種と泡盛醸造への応用

○高木 博史
(奈良先端大・バイオ)
hiro@bs.naist.jp

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は発酵生産環境において高温、冷凍、乾燥、高浸透圧、エタノール、低 pH、酸化、発酵阻害物質など多様なストレスに曝されながら有用機能（エタノール、炭酸ガス、味・風味成分の生成）を発揮している。しかしながら、長時間または複合的なストレス下では、タンパク質の変性や活性酸素種（ROS）の蓄積などにより生存率や発酵力が低下する。したがって、発酵力の向上には酵母のストレス耐性の強化が重要な育種戦略である。我々は実験室酵母を用い、アミノ酸の代謝制御や生理機能に着目したストレス耐性機構を解析し、得られた知見を産業酵母の育種に応用することを目指している。泡盛醸造では高濃度の米麹と酵母を仕込み、約2週間発酵させて高いエタノール濃度（約18%）のもろみを得た後、蒸留工程を経て泡盛原酒を得る。エタノール生産性の向上が発酵装置の小型化や蒸留コスト低減に直結するが、エタノールは酵母の生育と発酵を阻害し、濃厚な仕込みは酵母に高浸透圧ストレスを負荷する。また、冷却コストの点から高温での発酵が望ましいが、高温は酵母の生育と発酵を阻害する。したがって、泡盛醸造の効率化には、エタノール・高浸透圧・高温などのストレスに強い耐性を示す酵母の育種が重要である。また、泡盛の主要な芳香成分（高級アルコール、エ斯特類）は発酵過程で主にアミノ酸から酵母により生成される。現在、主としてエタノール生産性および芳香の高い「泡盛 101 号酵母」が使用されているが、最近ではマンゴー酵母、黒糖酵母、吟醸酵母などの新しい酵母が分離され、味や香りに特徴のある泡盛が開発されている。したがって、泡盛の品質向上や酒質バラエティー化には、アミノ酸の生成量に特徴を有する酵母の育種が重要である。今回、アミノ酸の機能性に着目した酵母のストレス耐性機構と泡盛酵母の育種への取り組みを紹介する。

まず、プロリンが様々なストレス（エタノール、浸透圧、冷凍、乾燥、酸化）から酵母を保護することを見出した。変異株の解析から、グルタミルキナーゼ（Pro1）遺伝子に変異が入ると（D154N）、プロリンによるフィードバック阻害感受性が低下し、プロリンを過剰合成することが判明した。さらに、フィードバック阻害を解除した変異型 Pro1 (I150Tなど) を取得し、これらを発現する酵母でプロリンの蓄積と ROS 制御によるストレス耐性の向上が認められた。また、プロリン・アルギニン代謝を連結するアセチル化酵素 Mpr1 が、冷凍、乾燥、エタノールなどのストレスで生じる ROS を制御し、酵母を保護することを見出した。さらに、触媒活性や安定性が高まった変異型 Mpr1 (K63R, F65L) を取得し、これらを発現する酵母でストレス耐性の向上が確認できた。最近、高温処理などの酸化ストレスによって Mpr1 が誘導され、プロリンからのアルギニン合成を亢進すること、また増加したアルギニンから Tah18 タンパク質依存的に一酸化窒素が生成し、細胞のストレス耐性に寄与することが判明した。パン酵母にも同様の機構が存在し、プロリン・アルギニン合成系を強化したパン酵母は、親株に比べて製パンストレス（冷凍、乾燥、高浸透圧）耐性が向上し、乾燥後や冷凍後の発酵力が有意に增加了。

以上の結果から、泡盛酵母のプロリン・アルギニン合成系を強化することで、ストレス耐性が向上し、泡盛醸造の効率化が期待できる。また、ロイシン・フェニルアラニンなどを高生産する泡盛酵母を取得することで、泡盛への香味性付与が可能になると思われる。これまでに、実用泡盛酵母株からストレス耐性や香味性に関与するアミノ酸を高生産する変異株を多数分離した。現在、これらの変異株を用いた小仕込み試験を行い、発酵特性の解析、泡盛の風味成分の比較・評価などを行っている。

Breeding of useful yeast strains and its application for awamori brewing

○Hiroshi Takagi
(Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST)

Key words yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, stress resistance, amino acid

3S-Fp04 沖縄高専が取り組む泡盛酒質の改良

○玉城 康智¹, 宮平 勝人¹, 新垣 竜都¹, 大城 宣実², 當間 士紋³,
城間 力³, 塚原 正俊³
(¹沖縄高専, ²(合) 津嘉山酒造所, ³バイオジェット)
tamaki@okinawa-ct.ac.jp

泡盛は沖縄の伝統的蒸留酒であり、県を代表する特産品の一つである。しかしながら、近年総出荷量は減少傾向にあり、販路拡大が喫緊の課題となっている。各酒造所ではこれらの対策として、新たな風味の泡盛の開発や新たな顧客の獲得に力を入れている。販売に関しては、酒造組合および酒販店、小売店は、様々なマーケティング調査を行い、消費者のニーズを把握すると共に今後の開発の方向性についての情報収集を行っている。

一方、酒造所を中心として、泡盛の醸造技術、ノウハウ、販売戦略などを有する次世代を担う新たな人材の育成が課題となっている。沖縄高専生物資源工学科では、泡盛業界の振興を目指した取り組みのひとつとして、泡盛を中心とした発酵学および食品製造学に力を入れた教育を実施している。学生が泡盛の醸造等についての知識と能力を身につけることで、将来泡盛醸造業界にはもちろんのこと、広く食品産業に貢献することを目指している。具体的には、学生が中心となって実際に酒造所での作業を含めた対応を行い、平成23年度より沖縄高専ブランド泡盛「香仙（こうせん）」を毎年1回製造している。この取り組みは、地元企業との交流や酒造、酒販の社会構造の理解にもつながると共に、学生一人一人が高い意欲を持って取り組む課題として、大きな教育的効果が上がっていると考えている。

本学では、泡盛醸造に関わる微生物や装置を改良することで予め酒質の目標を設定し、実際に製造した泡盛の酒質を評価するという進め方で実施している。沖縄高専では毎年1回の限定販売のため新たな発想と技術を常にアピールすることを主眼としている。醸造工程の一部を工夫し毎年酒質が変えることで、消費者の「今年の酒質の期待感」という付加価値を引き出し、リピーターの獲得に成功している。

本講演では、本校が過去3回製造した泡盛の製造前のコンセプト、および実際に製造した泡盛の酒質を分析、評価した結果を報告する。このような取り組みは、教育的あるいは産業界へのアピールとして、今後の泡盛業界の発展に寄与すると考えている。

Improvement of the quality of Awamori by Okinawa National College of Technology

○Yasutomo Tamaki¹, Masato Miyahira¹, Ryuto Shingaki¹, Yoshimi Oshiro²,
Simon Toma³, Riki Shiroma³, Masatoshi Tsukahara³
(¹Okinawa Natl. Coll. Technol., ²Tsukayama Shuzoujo, ³BioJet Co Ltd.)

Key words Awamori, brewing, education, Okinawa