

菩提配造りを活用した土田酒造の蔵付き清酒酵母の単離

渡部貴志・星野元希*・柳澤昌臣・櫛田麻希・土田祐士*

Isolation of house sake yeasts from Tsuchida Shuzo by utilization of *Bodai-moto*
WATANABE Takashi, HOSHINO Genki*,
YANAGISAWA Masaomi, Kushida Maki and TSUCHIDA Yuji*

菩提配造りとは、清酒造りの原型であり、蔵付き清酒酵母の優占化を促進する技術である。土田酒造で菩提配造りを行い、山廃配に差し配した清酒造りを行ったので、清酒酵母を単離し、醸造特性と簡易識別法で酵母の系統解析を行った。菩提配から蔵付き酵母を単離した際に用いたβアラニン培地において、大きなコロニーを形成したものはきょうかい7号系以外であり、小さなコロニーを形成したものはきょうかい7号系であった。α化米を用いた小仕込み試験では、特に香気成分の生成能に多様性があることが認められた。なお、蔵付き酵母は全て泡無し株であった。

キーワード：菩提配、蔵付き酵母、系統解析、泡無し株

Bodaimoto, a prototype method of sake brewing, accelerate house sake yeasts. Tsuchida shuzo brewed sake by adding bodai-moto into yamahai-moto. In the present study, we isolated 139 house sake yeasts from those mash, investigated those brewing ability and phylogenetic analysis by PCR. Large colonies on β-alanine plate isolated from *bodai-moto* identified as non kyokai No. 7 group by PCR. Small colonies identified as kyokai No. 7 group. By small scale brewing test revealed varieties of *ginjyo*-aroma productivity of yeasts. All tested yeasts were non-foaming strains.

Keywords: bodai-moto, house yeasts, phylogenetic analysis, non-foaming strain

1 はじめに

清酒は、蒸米と麴米、水、そして酵母によって醸し出される国酒である。現代の清酒のニーズは、高品質の独自性を合わせ持つ高級酒となってきた。このため、各酒造会社は、用いる酒造好適米の品種をこだわったり、多く磨いて精米歩合を低くしたり、低温長期熟成の吟醸造りを行ったりして特徴のある清酒造りに励んでいる。

土田酒造株式会社（土田酒造）は、蔵付き乳酸菌を利用した生配（きもと）系酒造りに力を入れており、消費者から高い評価を得ている。また、土田酒造では、現代では行われなくなった蔵付き酵母を利用し

た酵母無添加の酒造りを行うことにより、独自性がアピールできると考えた。取り組み始めた2015年では、蒸米と麴米のみで仕込んでみたが、いつまで経っても蔵付き酵母が湧いてこず、失敗に終わった。そこで文献調査をしたところ、菩提配（ぼだいもと）造り¹⁾という蔵付き酵母の育成を促す手法にたどり着いた。

菩提配は、水配とも呼ばれ、室町時代に奈良県奈良市の郊外にある菩提山正暦寺で創製された酒母であり、現代の速醸配や生配系酒母の原型と考えられている¹⁾。明治になると清酒酵母が単離されたり、蔵付き乳酸菌が生産する乳酸によるpHの酸性化が、酒母造りでの雑菌汚染防止を担っていることが知られるようになった。この結果、製造操作が容易かつ安全、しかも短期間で

バイオ・微生物係

* 土田酒造株式会社

製造できる乳酸を添加する速醸酏が考案され、培養した優良清酒酵母を添加するようになっていき、菩提酏造りは大正には姿を消したといわれてきた¹⁾。一方で、昭和になると、微生物相の変遷を調べる研究により、菩提酏の技術が再検討されている²⁾。

菩提酏は、生米と麴米、水で「そやし」をつくる工程があり、約一週間後に乳酸菌や酵母が湧いてくるので絞った「そやし水」を酵母供給源として用いる¹⁾。このため、そやし水には目的の酵母以外の様々な雑菌も含まれていることから、風味が整わなかったり、腐造となったりする危険性が伴う。そこで土田酒造では、酵母添加前の山麴酏を同時並行で造っておき、菩提酏を酵母の供給源として山麴酏に加える（差し酏する）ことにした。

一方、群馬産業技術センターでは、平成29年度に酵母の簡易識別法について検討を行い、福田らの方法³⁾で容易に優良清酒酵母の識別ができることを確認している⁴⁾。そこで本研究では、菩提酏を活用した土田酒造の蔵付き酵母を単離し、その醸造特性を調査し、遺伝子配列の増幅の型による簡易識別を行ったので報告する。

2 実験材料と方法

2.1 供試酵母

群馬KAZE酵母1号、2号、日本醸造協会が頒布する清酒酵母きょうかい701号（K701）、K901、K1801を比較対照に用いた。また、土田酒造株式会社の菩提酏造りのもろみの中から、日本醸造協会のβア

ラニン培地を利用して分離した139株の蔵付き酵母を供試酵母とした。なお、βアラニン培地は、パントテン酸要求性でK7系酵母かどうかを簡易的に識別できるため、コロニーの大きさにより、各蔵付き酵母を大中小と明記した。

2.2 ゲノムDNA抽出方法

前培養は、YM培地（酵母エキス3 g/L、麦芽エキス3 g/L、ペプトン5g/L、グルコース10 g/L）を用いた。すなわち、試験管に5 mLのYM培地を加え、酵母を一白金耳接種し、30℃、140 rpmで24時間の振とう培養を行った。培養液1 mLを遠心分離（15000×g, 1 min）し、得られた菌体からGenとるくん（タカラバイオ製）を用いてゲノムDNAを抽出した。

2.3 PCR条件

福田らの報告³⁾を参考に、長鎖末端反復配列をターゲットとしたプライマーを用いることにした（表1）。ポリメラーゼにはKOD-FX（東洋紡）を用い、マニュアルに準拠し、T100TMサーマルサイクラー（BIO-RAD）でPCRを行った。

2.4 アガロース電気泳動

Agarose S（ニッポンジーン）と1×TAEバッファー（BIO-RAD）を用いて1%アガロースゲルを作成した。PCR反応液をアガロース電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色後、UV励起により増幅した遺伝子のバンドの有無を確認した。

2.5 泡無し株の判定試験

濃縮麴エキス5 mLを15 mLディスポチューブに加え、酵母を一白金耳接種し、30℃で24時間静置培養を行った。得られ

表1 プライマーの名称と配列

Primer	Sequence
YDRWdelta25-F	5'-ATGGAGACAAATACGCGCAAATTGAGCATC-3'
YDRWdelta25-R	5'-GTTGTAAGACTCGATGCACTAAACAGTCAT-3'
YELWdelta5-F	5'-TTCTCATCATTTGCGTCATCTTCTAACACC-3'
YELWdelta5-R	5'-GCTTTTTCTACATTCAATGACTACTTCTCG-3'
YGRWdelta21-F	5'-GCTTTGTATTGGATCTTATAGCACTGCTTC-3'
YGRWdelta21-R	5'-GGCGTACTTACATGTGATAGGTTTCATTAG-3'
YLRWdelta20-F	5'-TCACGTCAGAATAGTTTTTGTGCATCTATG-3'
YLRWdelta20-R	5'-AAATGGATGGATAATTTGATAATTGCTGGG-3'
YPLWdelta7-F	5'-GTATGGTCAGAAAATGATCGTGGTGTTC-3'
YPLWdelta7-R	5'-ATCCTTGCGTTTCAGCTTCCACTAATTTAG-3'

た培養液を遠心分離（2400×g, 1 min）し、蒸留水で再懸濁した。懸濁液1 mLを採取し、ドラフトチャンバー内でベンゼンを1 mL加えて封をし、voltexで約10秒間激しく攪拌した。静置後に菌体が水相に戻るものを泡無し株、ベンゼン相に移行するものを泡有り株として判定した。

2. 6 α化米を用いた小仕込み試験

比較対照5株と菩提酩酵母139株の合計144株について、α化米と乾燥麴を用い、表2に示す条件で総米20 gの小仕込み試験を行った（24株ずつ6回の試験）。麴エキス（Brix 5°）2.5 mLに酵母を一白金耳接種し、23°Cで2日間静置培養を行った。この培養液を滅菌乳酸水（0.5 %（v/v））2.5 mLに置換し、酒母の代わりに用いた。なお、汲水は水道水を用い、仕込み温度15°C、18日後に上槽を遠心分離（4000×g, 15 min）で行った。

2. 7 分析方法

酸度、アミノ酸度、日本酒度、エタノールは国税庁所定分析法に従い、分析を行った。グルコース、マルトースは、高速液体

クロマトグラフ、示差屈折率検出器を用い、分析を行った。香気成分（酢酸エチル、イソアミルアルコール、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、イソブチルアルコール）は、ヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した。

3 結果と考察

3. 1 第1回目の菩提酩酵母の評価

菩提酩造りを初めて行った2016年11月のもろみから単離した酵母19株を用い、一連の評価試験を行った。その結果、全ての菩提酩酵母は泡無し株であることが分かった。また、小仕込み試験の結果から、用いた全ての菩提酩酵母は、カプロン酸エチルの生産量が少なく、酢酸イソアミルを生産するタイプであった（表2）。なお、比較対照であるKAZE1、KAZE2、K1801はカプロン酸エチル高生産性株であるが、本小仕込み試験では2.2～3.6 ppmの生産量であった。一方、遺伝子配列の増幅パターンをみると、βアラニン培地で大コロニー

表 2-1 第1回目の菩提酩酵母の評価のまとめ

	K701	K901	KAZE1	KAZE2	K1801	1-1大	1-2大	1-3大
重量減少量 (g)	8.60	8.58	8.56	8.32	8.32	8.60	8.55	8.82
日本酒度 (-)	6.6	7.5	6.3	3.7	5.0	6.6	5.0	7.9
酸度 (mL)	2.9	3.3	2.8	2.7	2.6	3.2	2.9	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.1	2.1	2.2	2.5	2.4	2.2	2.2	2.3
EtOH (%(v/v))	20.0	20.0	20.0	19.6	20.0	20.9	20.1	19.3
Glucose (%)	0.8	0.8	1.1	1.3	1.1	1.2	1.1	0.9
Maltose (%)	0.3	0.1	0.1	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.5	259.9	227.5	241.9	268.2	251.9	226.4	237.4
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	4.4	2.9	1.8	2.8	3.9	2.2	2.6
カプロン酸エチル (ppm)	0.8	0.7	2.3	2.2	3.6	1.0	0.8	1.0
酢酸エチル (ppm)	70.1	58.4	51.3	39.8	60.0	86.6	58.8	57.5
イソブチルアルコール (ppm)	113.4	96.8	133.8	117.6	116.2	116.6	104.6	104.1
E/A (-)	1.4	1.7	1.3	0.8	1.1	1.5	1.0	1.1
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25					○	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21								
YLRWdelta20	○				○			
YPLWdelta7	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統						K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 2-2 第1回目の菩提酩酵母の評価のまとめ (続き)

	1-4大	1-5大	1-6大	1-7大	1-8大	1-9大	1-10大	1-11小
重量減少量 (g)	8.97	9.35	8.99	8.69	8.47	9.27	8.85	9.11
日本酒度 (-)	6.9	6.2	8.2	6.9	4.6	5.9	6.0	5.5
酸度 (mL)	3.3	3.3	3.5	3.5	3.4	3.3	3.5	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.6	2.5	2.0	2.5	2.2	2.4	2.3
EtOH (%(v/v))	19.9	19.4	19.4	20.1	20.0	19.0	20.0	19.4
Glucose (%)	1.0	1.1	1.1	1.1	1.2	0.9	1.3	1.3
Maltose (%)	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.3	231.1	244.1	256.0	221.4	228.2	233.2	224.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.0	1.8	2.3	4.4	2.0	1.9	2.3	1.8
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	0.9	0.9	1.1	0.7	1.0	1.0	1.0
酢酸エチル (ppm)	47.5	44.5	62.8	86.6	48.6	43.0	61.7	42.3
イソブチルアルコール (ppm)	108.7	103.7	110.2	112.1	114.4	101.6	106.8	98.5
E/A (-)	0.8	0.8	0.9	1.7	0.9	0.8	1.0	0.8
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 2-3 第1回目の菩提酩酵母の評価のまとめ (続き)

	1-12小	1-13小	1-14小	1-15小	1-16小	1-17小	1-18小	1-19小
重量減少量 (g)	9.34	8.60	8.66	8.50	8.41	8.42	8.74	8.51
日本酒度 (-)	6.3	6.6	5.5	5.6	4.9	5.2	6.8	3.4
酸度 (mL)	3.4	3.3	3.8	3.3	3.6	3.1	3.4	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.2	2.3	2.4	2.3	2.4	2.3	2.5
EtOH (%(v/v))	19.1	20.0	19.8	20.2	20.3	20.3	20.5	20.6
Glucose (%)	0.9	1.2	1.2	1.2	1.3	1.5	1.3	1.8
Maltose (%)	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2	0.3	0.1	0.5
イソアミルアルコール (ppm)	225.4	246.0	231.1	237.1	243.2	250.0	255.6	248.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.1	3.2	2.3	3.2	3.8	4.0	4.4	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	0.9	1.1	1.2	1.2	1.4	1.2
酢酸エチル (ppm)	39.3	69.3	66.0	77.5	90.4	90.1	92.4	101.8
イソブチルアルコール (ppm)	97.8	110.9	106.3	113.1	113.1	117.7	115.0	119.0
E/A (-)	1.0	1.3	1.0	1.4	1.6	1.6	1.7	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

であったものはK9系であり、小コロニーになったものはK7系であった。なお、比較対照のKAZE1、KAZE2はK901を親株としており、同じ遺伝子配列の増幅パターンであることが確認できた。

秋山らの報告²⁾では、そやし工程から酵母を単離しており、清酒酵母は7号系であるが、産膜酵母や他の酵母を殺すキラー活性のある酵母が出てきたと述べている。しかしながら、今回の菩提酏酵母は全て発酵力の高い優良清酒酵母に分類されるものであり、土田酒造の蔵付き酵母は、清酒醸造過程で使われているきょうかい系酵母になっていると推測される。

3. 2 第2回目の菩提酏酵母の評価

先の第1回目の菩提酏造りによって、土田酒造の蔵付き酵母が分離できることを確認できたため、同じ酒造年度の2016年12月に第2回目の菩提酏造りを行い、酵母の分離を試みた。酵母の分離に用いていたβアラニン培地では、大コロニーと小コロニーの間の中コロニーも見られたので、それぞれ24株ずつ単離した。

今回単離した菩提酏酵母についても、全て泡無し株であった。大コロニーの24株は、いずれもK9系であることが確認されたが、香気成分や酸度、アミノ酸度などにバラツキがあり、多様性を示した(表3)。つづいて中コロニーの24株は、いずれもK9系と類推されるが、*YGRWdelta21*で指定サイズ以外の増幅が確認され、大コロニーとは異なる系統のものであると推測された(表4)。また、エタノール生産量(EtOH)も大コロニーのものより低いものが多く、カプロン酸エチルの量は高かった。土田酒造で使用した酵母の履歴から、KAZE4の系統の酵母であると推測される。一方、小コロニーの24株は、K7系と類推される*YLRWdelta20*が増幅されていた(表5)。しかしながら、*YGRWdelta21*に指定サイズ以外の増幅が確認され、第1回目のK7系とは異なる系統のもので推測された。また、香気成分の変動が大きく、2小-14は特に酢酸イソアミルの生産量が9.1 ppmと他の株に比べて2倍以上高く、株間の多様性が認められた。

表3-1 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ

	2大-1	2大-2	2大-3	2大-4	2大-5	2大-6	2大-7	2大-8
重量減少量 (g)	8.45	8.35	8.41	8.36	8.35	8.67	8.29	8.26
日本酒度 (-)	5.9	5.6	4.7	3.9	3.3	5.7	4.7	5.9
酸度 (mL)	3.2	3.3	3.2	3.1	3.3	3.4	3.2	3.5
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.4	2.5	2.7	2.7	2.3	2.5	2.3
EtOH (%(v/v))	20.6	21.0	20.6	21.1	20.8	20.7	20.6	21.0
Glucose (%)	1.1	1.3	1.4	1.7	1.8	1.3	1.4	1.2
Maltose (%)	0.2	0.1	0.3	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	237.7	243.2	240.3	240.9	246.0	244.5	244.6	253.7
酢酸イソアミル (ppm)	3.0	3.8	2.8	3.2	3.5	3.3	3.7	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	1.1	0.9	1.1	1.3	1.3	1.2
酢酸エチル (ppm)	67.1	92.5	62.3	79.7	81.1	78.7	73.5	92.2
イソブチルアルコール (ppm)	112.3	120.8	132.7	132.9	135.9	118.1	113.2	124.0
E/A (-)	1.3	1.5	1.2	1.3	1.4	1.3	1.5	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 3-2 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	2大-9	2大-10	2大-11	2大-12	2大-13	2大-14	2大-15	2大-16
重量減少量 (g)	8.58	8.49	8.54	8.50	8.66	8.68	8.54	8.69
日本酒度 (-)	4.1	5.7	3.3	3.1	5.6	6.6	4.0	4.7
酸度 (mL)	3.5	3.3	3.1	3.3	3.5	3.2	3.3	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.7	2.9	2.5	2.5	2.4	2.8	2.5
EtOH (%(v/v))	21.0	21.0	19.6	20.3	19.8	19.6	19.3	19.4
Glucose (%)	1.7	1.6	1.9	2.1	1.6	1.7	1.8	1.7
Maltose (%)	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	248.8	244.9	242.8	255.4	234.6	253.9	229.8	245.9
酢酸イソアミル (ppm)	3.1	3.2	3.4	4.8	3.2	4.5	2.6	3.3
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.2	1.1	1.3	1.2	1.5	1.1	1.1
酢酸エチル (ppm)	83.9	79.5	78.2	107.2	75.6	96.8	69.7	76.8
イソブチルアルコール (ppm)	122.7	119.7	138.2	132.1	108.4	121.4	128.5	138.5
E/A (-)	1.3	1.3	1.4	1.9	1.4	1.8	1.1	1.3
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 3-3 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	2大-17	2大-18	2大-19	2大-20	2大-21	2大-22	2大-23	2大-24
重量減少量 (g)	8.73	8.30	8.41	8.31	8.90	8.66	8.77	8.49
日本酒度 (-)	7.1	5.5	6.0	2.6	5.9	7.1	6.6	3.0
酸度 (mL)	3.3	3.3	3.3	3.3	3.5	3.4	3.5	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.6	2.4	2.7	2.4	2.4	2.3	2.7
EtOH (%(v/v))	19.3	20.1	19.6	19.4	19.2	18.9	19.3	19.2
Glucose (%)	1.4	2.0	1.6	2.0	1.9	1.4	1.5	2.2
Maltose (%)	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.3	239.9	230.0	241.5	238.3	231.5	242.4	253.7
酢酸イソアミル (ppm)	4.3	4.6	3.5	3.9	2.5	3.8	3.5	5.5
カプロン酸エチル (ppm)	1.3	1.4	1.3	1.2	1.3	1.4	1.5	1.4
酢酸エチル (ppm)	93.3	101.7	89.1	96.1	57.7	72.7	80.2	113.3
イソブチルアルコール (ppm)	114.9	118.4	106.0	137.2	108.6	138.6	113.8	141.3
E/A (-)	1.8	1.9	1.5	1.6	1.1	1.6	1.5	2.2
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-1 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ

	2中-1	2中-2	2中-3	2中-4	2中-5	2中-6	2中-7	2中-8
重量減少量 (g)	8.33	8.64	8.59	8.53	8.42	8.05	8.80	8.48
日本酒度 (-)	7.2	7.8	5.5	5.0	4.9	5.2	7.1	5.6
酸度 (mL)	2.8	2.8	3.0	3.1	2.8	3.1	3.0	3.0
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.5	2.7	2.5	2.6	2.7	2.7	2.6
EtOH (%(v/v))	19.6	19.9	19.8	19.7	19.5	20.1	19.7	19.6
Glucose (%)	0.9	0.9	1.1	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1
Maltose (%)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	237.6	255.6	251.7	255.6	259.5	259.2	239.8	249.3
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	3.0	3.7	2.5	3.1	4.3	2.6	2.5
カプロン酸エチル (ppm)	1.6	2.1	1.8	1.6	1.7	2.3	1.6	1.9
酢酸エチル (ppm)	57.5	64.1	72.5	55.5	55.8	84.3	50.0	56.5
イソブチルアルコール (ppm)	146.5	125.8	144.1	147.5	158.6	155.5	133.9	147.7
E/A (-)	1.5	1.2	1.5	1.0	1.2	1.7	1.1	1.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	△	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>			△		△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-2 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ (続き)

	2中-9	2中-10	2中-11	2中-12	2中-13	2中-14	2中-15	2中-16
重量減少量 (g)	9.37	9.34	8.52	8.91	8.77	9.53	8.53	8.59
日本酒度 (-)	7.6	6.2	3.0	7.1	6.8	5.6	5.9	5.5
酸度 (mL)	3.1	3.3	3.1	2.9	3.0	3.2	3.3	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.6	2.8	2.5	2.6	2.5	2.5	2.7
EtOH (%(v/v))	19.0	18.8	19.9	19.7	19.9	18.9	19.5	19.4
Glucose (%)	0.9	1.0	1.5	1.1	1.2	1.1	1.3	1.3
Maltose (%)	0.3	0.3	0.5	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	239.5	236.9	231.6	248.4	250.5	234.5	254.7	231.1
酢酸イソアミル (ppm)	1.7	1.6	2.7	2.7	2.2	1.5	3.1	2.7
カプロン酸エチル (ppm)	1.4	1.5	1.6	1.8	1.7	1.4	1.9	1.7
酢酸エチル (ppm)	39.5	35.6	67.0	71.9	49.7	34.6	64.3	55.6
イソブチルアルコール (ppm)	139.9	139.9	146.1	140.5	143.4	136.1	147.2	135.5
E/A (-)	0.7	0.7	1.2	1.1	0.9	0.7	1.2	1.2
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△		△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-3 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ (続き)

	2中-17	2中-18	2中-19	2中-20	2中-21	2中-22	2中-23	2中-24
重量減少量 (g)	8.67	8.50	8.17	8.12	8.15	8.83	8.79	8.21
日本酒度 (-)	6.2	6.0	4.4	5.7	4.4	5.2	3.4	5.5
酸度 (mL)	3.3	3.1	2.9	3.0	2.8	3.1	2.9	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.6	2.5	2.5	2.7	2.8	2.7	2.6	2.6
EtOH (%(v/v))	19.6	19.6	19.9	19.7	19.4	19.2	19.4	18.9
Glucose (%)	1.3	1.4	1.5	1.4	1.6	1.5	1.7	1.4
Maltose (%)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	242.6	251.3	259.1	257.9	248.7	244.0	250.2	237.0
酢酸イソアミル (ppm)	3.3	3.8	4.8	5.5	4.5	2.2	3.3	2.3
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	2.1	2.2	2.6	2.4	1.7	1.9	1.8
酢酸エチル (ppm)	73.4	74.6	96.1	101.5	88.1	46.4	69.3	47.1
イソブチルアルコール (ppm)	146.9	147.0	161.9	149.6	149.3	150.0	155.3	139.3
E/A (-)	1.4	1.5	1.8	2.1	1.8	0.9	1.3	1.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△		△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-1 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ

	2小-1	2小-2	2小-3	2小-4	2小-5	2小-6	2小-7	2小-8
重量減少量 (g)	7.84	8.48	8.44	8.46	8.18	8.35	8.30	8.03
日本酒度 (-)	2.4	6.6	6.9	5.3	5.3	6.0	4.4	4.9
酸度 (mL)	3.8	3.8	4.2	3.9	3.6	3.9	4.2	3.7
アミノ酸度 (mL)	2.4	2.4	2.3	2.4	2.5	2.3	2.5	2.5
EtOH (%(v/v))	19.3	19.6	19.3	19.1	19.8	19.5	19.5	19.7
Glucose (%)	1.0	0.9	0.8	0.9	1.1	1.0	1.1	1.2
Maltose (%)	0.5	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	223.2	244.8	244.3	236.2	245.8	232.3	243.8	259.1
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	3.0	3.6	2.2	3.3	3.4	3.4	4.1
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	1.0	1.1	2.7	1.1	1.1	1.1	1.1
酢酸エチル (ppm)	82.5	56.5	70.6	52.8	68.9	80.3	79.2	79.2
イソブチルアルコール (ppm)	117.8	125.5	128.9	112.9	123.7	119.5	130.5	140.0
E/A (-)	1.5	1.2	1.5	0.9	1.4	1.5	1.4	1.6
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-2 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	2小-9	2小-10	2小-11	2小-12	2小-13	2小-14	2小-15	2小-16
重量減少量 (g)	8.38	8.23	8.22	8.12	7.89	8.20	8.59	8.17
日本酒度 (-)	4.4	5.2	5.7	3.1	3.3	4.7	5.2	4.4
酸度 (mL)	4.4	3.9	3.7	4.0	4.0	3.4	4.2	3.8
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.4	2.5	2.5	2.5	2.2	2.4	2.6
EtOH (%(v/v))	19.5	19.8	20.0	19.5	19.7	19.6	19.3	20.2
Glucose (%)	1.1	1.3	1.3	1.4	1.4	1.2	1.2	1.5
Maltose (%)	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	228.4	239.7	241.2	237.1	255.4	249.8	271.9	237.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.4	3.5	4.6	2.7	4.4	9.1	2.5	4.1
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.2	1.1
酢酸エチル (ppm)	68.0	81.7	80.4	78.5	112.7	114.3	65.1	93.2
イソブチルアルコール (ppm)	119.4	120.4	118.1	125.3	140.5	225.8	141.1	119.2
E/A (-)	1.1	1.5	1.9	1.2	1.7	3.6	0.9	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△		△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-3 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	2小-17	2小-18	2小-19	2小-20	2小-21	2小-22	2小-23	2小-24
重量減少量 (g)	8.59	8.19	7.96	8.15	8.23	8.10	8.09	8.08
日本酒度 (-)	6.0	5.7	3.4	2.7	4.0	4.3	4.3	4.4
酸度 (mL)	4.1	3.9	4.0	4.4	4.0	3.8	3.2	3.8
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.3	2.5	2.6	2.5	2.7	2.7	2.7
EtOH (%(v/v))	19.1	20.3	19.6	19.5	19.8	20.0	19.3	19.7
Glucose (%)	1.2	1.4	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5	1.6
Maltose (%)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	225.6	244.3	234.4	206.5	233.9	233.7	241.9	243.5
酢酸イソアミル (ppm)	2.1	4.9	3.9	2.4	3.5	4.2	4.1	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	1.3	1.1	1.3	1.4	1.2	1.5
酢酸エチル (ppm)	51.5	117.2	99.2	73.8	85.8	89.3	87.2	85.2
イソブチルアルコール (ppm)	114.9	125.3	119.3	108.5	119.9	116.5	149.8	123.1
E/A (-)	0.9	2.0	1.7	1.1	1.5	1.8	1.7	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○		○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

3. 3 酒造期外の菩提酏酵母の評価

先に挙げた第1回、第2回の菩提酏酵母の系統は、日本醸造協会が頒布している優良清酒酵母であった。また、菩提酏造りを行った時期も酒造期であったことから、土田酒造で用いている酵母の影響が大きいことが考えられた。そこで酒造期前の2017年の8月に、普段は酒母を造っていない部屋で菩提酏造りを行うことで、これまでとは違った酵母が湧いてきて、酒質を変えることができると考え、実施した。しかしながら、予想に反して、日本醸造協会のTTC培地での酵母の染色では、湧いてきた酵母はほぼ全て赤色であり、優良清酒酵母が生えてきた。また、βアラニン培地では、大コロニーと小コロニーが生えてきたため、酵母を単離して評価を行うことにした。

まず、単離した菩提酏酵母の泡無し判定試験では、全ての株が泡無し株であり、これまでに酒母造りを行っていない部屋でも優良清酒酵母が蔵付きとなっていることが分かった。一方、大コロニーの24株は、全てYPLWdelta7に指定サイズ以外の増幅

が確認され、K9系統ではないと推測される結果となった(表6)。これらのことから、第1回、第2回とは違う酵母が湧いてきていることが認められた。なお、土田酒造が使用している酵母の履歴から推測すると、大コロニーはK6系統であるのかも知れない。つづいて小コロニーの24株を調べたところ、YLRWdelta20が増幅されたため、K7系と類推された(表7)。なお、今回単離した菩提酏酵母は、エステル系の香気成分(酢酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル)が高めであるが、小仕込み試験ではロット間の差が大きいため、株を選抜して菩提酏酵母間での比較を行わないと、正確なことが分からない。

今回菩提酏を行った場所は、酒造期ではないことと酒母造りは行っていない部屋であることから、前年度以前の酒造で使われた優良清酒酵母が何らかの形で浮遊し、蔵付きとなっていることが考えられた。野生型の清酒酵母は、基本的には泡有り株であることから、泡無し株しか取れていない結果からも、上記のことが推測される。

表6-1 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ

	3-大1	3-大2	3-大3	3-大4	3-大5	3-大6	3-大7	3-大8
重量減少量 (g)	8.48	8.83	8.56	8.74	8.67	8.73	8.62	8.56
日本酒度 (-)	9.8	8.8	8.7	9.1	8.1	7.9	7.9	7.6
酸度 (mL)	2.9	2.9	3.2	3.1	3.0	3.3	3.2	3.1
アミノ酸度 (mL)	1.8	2.1	1.9	1.9	2.0	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	16.1	17.2	16.6	17.6	19.1	19.6	17.3	17.8
Glucose (%)	0.6	1.0	1.0	0.5	0.7	0.5	0.5	0.7
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	250.8	247.1	253.4	248.1	253.5	237.2	238.2	243.3
酢酸イソアミル (ppm)	9.5	9.1	11.8	8.4	11.2	8.8	8.6	10.0
カプロン酸エチル (ppm)	2.0	1.8	2.1	1.8	1.9	2.0	1.8	2.0
酢酸エチル (ppm)	153.5	136.9	176.6	127.0	173.1	139.5	138.3	153.7
イソブチルアルコール (ppm)	107.8	109.9	114.8	111.3	113.2	104.4	106.1	110.6
E/A (-)	3.8	3.7	4.7	3.4	4.4	3.7	3.6	4.1
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25	△	△	△	△	△	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21	△	△	△	△	△	△	△	△
YLRWdelta20	○	○	○	○	○	○	○	○
YPLWdelta7	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 6-2 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-大9	3-大10	3-大11	3-大12	3-大13	3-大14	3-大15	3-大16
重量減少量 (g)	9.02	9.13	9.07	9.03	8.98	8.77	9.21	8.89
日本酒度 (-)	9.0	8.1	7.5	7.2	8.2	7.8	7.9	8.8
酸度 (mL)	3.2	3.2	3.3	3.1	3.3	3.3	3.2	3.3
アミノ酸度 (mL)	1.9	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9	2.0	2.0
EtOH (%(v/v))	18.3	17.4	19.1	18.5	16.7	17.3	16.9	17.8
Glucose (%)	1.0	0.7	0.5	0.7	1.0	1.0	0.5	1.0
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	243.3	240.1	240.2	242.3	244.0	241.8	229.7	237.5
酢酸イソアミル (ppm)	7.2	7.5	7.3	7.7	7.7	7.9	7.2	8.0
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	1.9	1.8	1.9	2.0	2.0	1.8	2.0
酢酸エチル (ppm)	118.4	110.8	109.3	119.6	130.7	123.3	104.9	121.7
イソブチルアルコール (ppm)	107.0	104.2	104.3	105.9	106.1	105.0	100.7	107.3
E/A (-)	3.0	3.1	3.0	3.2	3.2	3.2	3.2	3.4
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 6-3 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-大17	3-大18	3-大19	3-大20	3-大21	3-大22	3-大23	3-大24
重量減少量 (g)	8.82	8.97	8.69	9.37	8.53	8.62	8.65	8.67
日本酒度 (-)	8.2	8.4	7.3	8.7	8.8	8.5	7.6	7.5
酸度 (mL)	3.3	3.2	3.2	3.2	3.1	3.1	3.1	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.0	1.9	2.0	1.9	1.9	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	17.9	17.3	18.1	17.8	17.8	17.2	17.1	18.1
Glucose (%)	1.0	0.7	0.7	0.7	1.0	1.0	0.7	1.1
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	237.3	239.7	245.9	235.8	246.9	242.3	245.1	244.1
酢酸イソアミル (ppm)	6.7	8.4	9.1	7.5	11.2	12.2	9.3	12.8
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	2.0	2.2	2.0	2.2	2.1	2.1	2.2
酢酸エチル (ppm)	109.4	122.1	151.5	118.4	146.7	182.1	138.6	190.1
イソブチルアルコール (ppm)	104.9	104.4	109.1	100.7	109.4	107.7	108.0	110.9
E/A (-)	2.8	3.5	3.7	3.2	4.5	5.1	3.8	5.2
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-1 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ

	3-小1	3-小2	3-小3	3-小4	3-小5	3-小6	3-小7	3-小8
重量減少量 (g)	8.37	8.55	8.38	8.43	8.61	8.38	8.51	8.61
日本酒度 (-)	5.7	6.6	6.3	6.8	6.2	7.2	6.3	6.6
酸度 (mL)	3.2	3.2	3.2	3.3	3.2	3.3	3.2	3.2
アミノ酸度 (mL)	1.9	2.0	2.0	1.9	2.0	1.9	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	17.6	17.7	17.7	17.3	15.8	16.6	16.4	17.2
Glucose (%)	0.7	1.1	1.2	0.5	0.8	0.8	0.5	0.5
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	249.0	247.2	252.0	258.7	249.5	262.2	257.2	259.5
酢酸イソアミル (ppm)	8.8	10.7	12.1	10.8	8.9	13.1	11.0	10.6
カプロン酸エチル (ppm)	1.6	2.0	2.1	2.1	1.9	2.2	2.2	2.0
酢酸エチル (ppm)	123.0	144.8	158.0	147.8	119.9	172.5	139.2	144.2
イソブチルアルコール (ppm)	115.4	114.5	118.9	118.0	114.5	119.7	116.6	123.5
E/A (-)	3.5	4.3	4.8	4.2	3.6	5.0	4.3	4.1
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-2 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-小9	3-小10	3-小11	3-小12	3-小13	3-小14	3-小15	3-小16
重量減少量 (g)	8.61	8.63	8.57	8.54	8.37	8.49	8.17	8.36
日本酒度 (-)	6.6	6.6	7.3	5.9	3.3	4.9	4.3	5.3
酸度 (mL)	3.2	3.3	3.2	3.4	3.4	3.2	3.3	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.1	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	15.9	15.2	15.5	15.6	15.7	16.2	15.7	14.4
Glucose (%)	0.8	1.1	0.8	0.8	1.4	1.3	1.3	1.3
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	254.2	253.6	255.8	252.6	244.2	251.2	256.2	264.6
酢酸イソアミル (ppm)	10.9	11.6	11.1	9.9	10.3	11.9	15.9	18.4
カプロン酸エチル (ppm)	2.1	2.2	2.2	2.0	2.0	2.1	1.8	2.3
酢酸エチル (ppm)	112.9	148.6	140.7	141.8	138.5	156.0	187.4	252.9
イソブチルアルコール (ppm)	118.6	115.8	111.1	118.9	117.3	120.0	131.1	124.4
E/A (-)	4.3	4.6	4.3	3.9	4.2	4.7	6.2	7.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-3 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-小17	3-小18	3-小19	3-小20	3-小21	3-小22	3-小23	3-小24
重量減少量 (g)	8.54	8.54	8.65	8.63	8.45	8.62	8.50	8.65
日本酒度 (-)	5.6	5.9	6.3	5.0	5.2	6.9	6.5	6.2
酸度 (mL)	3.3	3.2	3.1	3.2	3.2	3.2	3.3	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	2.0	2.0	2.0
EtOH (%(v/v))	14.9	14.8	15.5	18.7	14.4	14.5	15.7	15.4
Glucose (%)	1.3	0.9	1.2	1.2	1.3	1.3	1.2	1.2
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	256.3	265.1	249.5	254.5	251.9	245.6	250.1	249.7
酢酸イソアミル (ppm)	14.4	15.5	13.8	9.1	14.4	10.3	11.7	10.8
カプロン酸エチル (ppm)	2.3	2.4	2.5	2.2	2.3	2.3	2.4	2.2
酢酸エチル (ppm)	193.6	209.7	184.3	133.2	192.3	150.4	167.4	148.2
イソブチルアルコール (ppm)	120.8	120.2	112.6	121.9	119.4	111.8	113.7	117.3
E/A (-)	5.6	5.9	5.5	3.6	5.7	4.2	4.7	4.3
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○		○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K9系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

4 まとめ

酒造りは、紀元前3000年頃にはメソポタミア文明やエジプト文明の遺物に記録が残っており⁴⁾、人類最初のバイオテクノロジーといえる。その酒造りのアルコール発酵を担っているのが酵母 *Saccharomyces cerevisiae* であり、人類の身近な有用微生物の一つである。*S. cerevisiae* は、清酒だけでなく、パン、ワイン、ビール、焼酎など様々な発酵に食品使われているが、それぞれの食品に適した進化を遂げている。

本研究では、土田酒造が独自性をアピールするために取り組んだ、菩提酏造りで湧いてきた蔵付き酵母を単離し、醸造特性と遺伝的な系統解析を行った。清酒酵母は、先に挙げたとおり同じ *S. cerevisiae* に属していても、ワインやビール、パンなどに使われるものと系統的に離れており、独自の進化をしている。その一つとされているのが炭酸ガスに細胞が付着して高泡形成をする「泡あり」という性質である。今回単離した菩提酏酵母は全て「泡無し」であり、

昭和に入ってから開発された優良清酒酵母が蔵付きの主体になっていることが推測された。一方、*YGRWdelta21* は K7 系以前の古い清酒酵母特有の部位であり、菩提酏酵母の多くが指定サイズ以外の増幅があったことから、純粋な優良清酒酵母の住み着きとは言えないのかも知れない。今後は、酵母を選抜してより詳細に解析する。

謝 辞

本研究の一部は、土田酒造株式会社との平成30年度群馬産業技術センター公募型共同研究により実施した。

文 献

- 1) 松澤一幸ら：日本醸造協会誌 97、734-740 (2002)
- 2) 秋元裕一ら：日本醸造協会誌 75、314-319 (1980)
- 3) 榎田麻希ら：平成29年度群馬県立産業技術センター研究報告、50-57
- 4) 独立行政法人酒類総合研究所：うまい酒の科学 (2006)