

これまでの 3 回では、酒類の品目ごとに、酵母を巡る固有の歴史・文化、事情について紹介してきました。清酒には清酒酵母、ビールにはビール酵母、ワインにはワイン酵母と、それぞれの関係は切っても切れない強固なものに見えますが、実際のところはどうかでしょうか。今回は、醸造現場における野心的な取り組みを通して、酵母にとっての酒類の品目の壁、酵母を超えた今後の新たな発酵系について考えてみたいと思います。

●▲■ それぞれの酒類と酵母菌株の関係性

伝統的な酒類、とりわけ醸造酒の製造においては、それぞれの発酵環境から分離された酵母菌株の中から、優れた特性を有するものが選抜、使用されています。酒類の発酵環境は、品目ごとに物理的および化学的な面でそれぞれ特徴的ですから、酵母を分離すれば、その環境により適したものが得られやすいでしょう。そして分離源としては、発酵性、あるいは香味特性に優れたもろみや半製品を選ぶのが自然です。最終的に選ばれて実用に供される菌株は、更に厳しく吟味された発酵・香味共に優良なものはずです。換言すれば、発酵環境によって選ばれた酵母菌株を、更に人間がそれぞれの酒類ごとの判断基準によって選んでいることとなります。

このとき得られた優良菌株と分離された発酵環境との間の関係はかなり必然性の高いものと考えられます。本欄第 44 回の図 1 でお示しましたが、清酒酵母、上面発酵ビール酵母、ワイン酵母の分離株は、それぞれが遺伝的に類似した系統群を形成しています。推測の域を出ませんが、それぞれの環境への適応性において遺伝的背景が反映された結果のように思えます。

それぞれの酒類における優良菌株の確立は、19 世紀末に人間が酵母菌株の取り扱い技術を手に入れて以来の、発酵系を制御し安全醸造と品質の向上・安定化を達成しようとする取り組みのひとつの到達点といえます。特に、使用される頻度の高い（人気の高い）菌株は、いわば各界の酵母のスーパーエリートであり、（流行廃りによる多少の入れ替えはあったとしても）これからもそれぞれの世界で活躍し続けていくと考えられます。そこは揺るぎない前提として、本稿を進めていきたいと思えます。

こうした酒類の品目と酵母菌株の関係性は、醸造酒においてはより必然性が高く強固な、まさに「切っても切れないもの」である一方で、蒸留酒においてはより必然性が低く柔軟なものに見えます。醸造酒ではアルコール度数や香味成分などの酵母の発酵産物が、より直接的に品質に影響を及ぼすのに対し、蒸留酒では発酵と製品の間蒸留工程が介在することで、酵母と品質の関係性が緩和されるためといえるでしょう。

●▲■ 蒸留酒製造における菌株の選択

本欄第 45 回でも紹介しましたが、蒸留酒の酵母の来歴は、実はその酒類の発酵環境ばかりではありません。スコッチウイスキーでは、元々用いられていたのは、ビール製造の余剰酵母でしたし、その後育成された高発酵性の M 株は交雑体とされています。メスカル（テキーラ）では、発酵分離株以外にもパン酵母やワイン酵母

が使用されています。ラムの場合は、元々は非 *Saccharomyces* 属酵母も含む複雑な発酵系でしたが、特にライトラムでは発酵力の強い培養酵母が添加されています。

蒸留酒製造で、こうした発酵力の強い酵母が求められる背景には、規模の大きな蒸留所では酵母の発酵の速さや発酵度によりコストが大きく左右されるという事情があるのでしょうか。酵母の供給業者である White Labs 社では、様々な菌株について元々の用途に囚われずに、いろいろな蒸留酒製造における適性を調べているようです。そして、相性が良いと思われる推奨の組み合わせを菌株と蒸留酒の種類のマトリックスとして提案しており、顧客の菌株選択を支援しています。それによると、例えばワイン酵母 EC1118 株は、バーボン、ブランデー、ジン、ウォッカに、またある種の上面発酵酵母はバーボンやスコッチウイスキーにも適するとされています。

ところで、日本の焼酎・泡盛の場合は、現在の主流の菌株は発酵環境由来のものであるという点で特徴的です（古くには、工業アルコールの菌株が利用されていたという点でも特異ですが）。焼酎・泡盛酵母の酵母事情は、蒸留酒というよりは、後述する清酒における酵母事情とよく似た流れにあると捉えた方がしっくりくると思います。

●▲■ 醸造酒製造における菌株の選択

他方、醸造酒の分野では、菌株の選択はより保守的といえます。もちろん、酵母の供給業者は菌株の選択のための様々な情報を提供していますが、それは、ワインならばワイン酵母、上面発酵ビールならば上面発酵酵母の範疇でのマッチングにとどまります。酵母は品質の多様化や差別化のために重要なファクターの一つであるのは確かですが、ワインではブドウの品質、ビールならば麦芽の処理法やホップの選択、といったように酵母以外にも品質に直結する要素があるためではないかと推察します。

翻って、清酒についてはどうでしょうか。先刻ご承知かもしれませんが、最近になって、いくつかの新しい動きが目にとまりました。それらを列挙すれば、①野生酵母の分離と利用、②他用途の菌株の転用、③酵母無添加仕込み、④蔵付き酵母の分離と利用です。清酒醸造でも、原料米、製造方法、貯蔵など品質の多様化、差別化のための要因は数多くありますが、香味成分の多くが発酵工程で生成することもあり、従来から酵母への関心は高いといえます。既に様々な優良菌株が利用可能であるにもかかわらず、こうした動きが見られるというのは、本欄第 43 回の図 2 で示したように優良清酒酵母菌株の遺伝的多様性が、ビール酵母やワイン酵母と比較してとりわけ限定的であるということや、清酒自体の官能特性の範囲が比較的狭く、より大胆な品質の差別化に対するニーズの存在が背景にあるのではないかと推察します。従来の優良菌株へのアンチテーゼの側面があるともいえるのかもしれませんが。

●▲■ 清酒における菌株選択の新潮流とリスク

とはいえ、実際のところほとんどの局面では、従来どおりに清酒酵母の範囲から菌株が選択されていると考えてよいでしょう。しか

表1 清酒醸造において従来の優良菌株を敢えて使用しない取り組み

酵母の選択	取組み内容	効果	想定すべきリスク
① 野生酵母の分離と利用	植物（花・果実）、土壌、水圏等からの分離・選抜	酒質の多様化と差別化、話題性（地域ブランド等）	キラー酵母、4-VG 生成、香味・発酵不良
② 他用途の菌株の転用	ワイン酵母の利用	酒質の多様化と差別化	キラー酵母、4-VG 生成、香味・発酵不良
③ 酵母無添加仕込み	生酏系酒母、速醸系酒母	酒質の多様化と差別化、話題性（独自ブランド）	キラー酵母、4-VG 生成、香味・発酵不良、湧かない、菌叢の不安定性
④ 蔵付き酵母の分離と利用	蔵内・発酵環境からの分離・選抜	酒質の多様化と差別化、話題性（独自ブランド）	キラー酵母、4-VG 生成、香味・発酵不良、優良菌株の再分離

し、上述の①～④のような新しい潮流は、「発酵環境に最適化された優良菌株による発酵系の制御」という技術的な到達点を越えていこうとする野心的なものです。そして野心的であるがゆえにリスクもあります。ただし、多くの場合で回避可能と思われるので、(考え方によってはリスクとして捉えないという選択肢も含めて) これらを明確に認識しコントロールしていく必要があります。これらの潮流は、全体としてはマイナーではあっても、自ずと衆目を惹き付けます。しかし今後、酵母利用技術のバリエーションとして定着していくためには適切なリスク管理が重要になるはずで、概要を表1にまとめましたが、それぞれについて見てみましょう。

①野生酵母の分離と利用

発酵環境以外の植物（花・果実）、土壌、水圏などの自然環境から多くの分離例があります。酵母は糖分があるところからは酵母を分離しやすいと信じられており、実際に優良菌株を効率的に分離できたというケースも聞きますが、多くの場合、すんなり分離できているわけではないようです。また、分離できたとしても、清酒（あるいは他の酒類）の製造に適した性質を有するかは別の問題です。人間の眼に映る酵母 *S. cerevisiae* は酒類製造に適したものであるという印象が強いですが、実際には、そうでないものも多数存在し、人間が思うよりも種内の多様性が大きいという興味深い研究報告もあります。自然環境から望みどおりの特性を備えた菌株を得るのは、考える以上に難しいと思われる。最も留意すべきリスクとしては、キラー性が挙げられます。キラー性とは、キラートキシンを生産し周囲の酵母を殺してしまう性質です。キラー性を持つ菌株をそれとは知らずに使用した場合、蔵内がキラー酵母に汚染されてしまう恐れがあります。そうなると優良酵母を添加してもキラー酵母に置き換わってしまい、発酵系をコントロールできなくなります。もう一つの大きなリスクとしては、4-VG（4-ビニルグアヤコール）の生成が挙げられます。4-VGは燻製様（フェノール様）のオフフレーバー物質で、清酒・焼酎酵母では生合成遺伝子が機能を失っていて4-VGを作りません。清酒・焼酎酵母以外でも4-VGを作らない株もありますが、本来的に *S. cerevisiae* には4-VG生成能が備わっていますので、野生の菌株については4-VGを生成する可能性を想定する必要があります。

こうした自然環境由来の酵母を「天然酵母」と呼んでいるケースを見掛けます。何となくありがたい印象を与えますが、実態として

は「野生酵母」であることを忘れてはいけません。敢えて野生酵母を利用するのであれば、優良菌株と異なる価値を見出した上で、しっかりと菌株の特性を評価することは欠かせないでしょう。

②他用途の菌株の転用

清酒醸造において他用途の酵母を用いる場合、実態としてはほぼワイン酵母と考えてよいと思います。ワイン酵母の利用は以前からも時々見かけましたが、最近はその数が増えているようです。ワイン酵母を利用するメリットとしては、有機酸の生成バランスが清酒酵母とは異なることが挙げられます。筆者もそのような印象を持っていますが、残念ながら今のところは成分に関するきちんとしたデータは持っていないので、今後の宿題だと考えています。

ただ清酒もろみでのワイン酵母の挙動については調べたことがあります。日本産の代表的菌株であるOC2株と上でも名前の挙がったEC1118株を用いてそれぞれ清酒を仕込んだところ、いずれも発酵速度、アルコール度数ともにきょうかい7号並みと、非常に高い発酵力を示しました。ワインもろみは単発酵ですし到達アルコール度数は最高で14%前後ですから、少なくともこの2株は、ワイン環境ではそのポテンシャルを持って余っていたのかもしれませんが、清酒の並行復発酵環境では持てる発酵能を存分に発揮出来たのでしょう。

発酵力がよくて有機酸組成に特徴が出るのであれば、ワイン酵母の利用はなかなか興味深い選択肢ですが、やはり留意すべきはキラー性の有無と4-VGの生成能です。実はワイン酵母には、キラー性を持つ菌株が珍しくありません。ワインの世界ではキラー性を有する菌株を用いることで、野生酵母の汚染を防ぐという発想があるためかと思います。キラー性については、業者が提供する情報に当たって十分に確認することが肝要です。これは余談ですが、かつてワインと同様の発想で、野生酵母による汚染防止のためにきょうかい7号酵母にキラー性を持たせようという試みがなされたことがありました。しかし、それ以外の優良菌株の使用に支障が出るおそれから、実用化は見送られたと聞いています。4-VGの生成能については、ワイン酵母の場合は菌株ごとに異なりますので、慎重に菌株を選択する必要があります。

ワイン酵母以外には、ビール酵母の利用も考えられますが、残念ながら筆者はそうした例を知りません。逆にビール醸造への清酒酵母の利用は、国内の地ビール（＝地域性の高いクラフトビール）

① 3つのDNAマーカーによる優良清酒酵母（K7グループ）の判別

	DNAマーカー-A	DNAマーカー-B	DNAマーカー-C
タイプ1 優良清酒酵母	ACA A GCC	CAA T AAC	遺伝子I
タイプ2 それ以外の酵母	ACA - GCC	CAA C AAC	遺伝子P
DNA配列・構造の違いの種類	一塩基挿入	一塩基置換	遺伝子変換

判別対象菌株 → DNAマーカーの型を分析 → すべてタイプ1 → 優良清酒酵母の系統（高発酵力、香り生成など優れた清酒醸造特性）

→ すべてタイプ2 → それ以外の系統（醸造特性はさまざま）

※ DNAマーカーによってタイプの異なる菌株は今のところ見つかっていない

② きょうかい7号（K7）の系統の判別

	DNAマーカー-D
タイプ1 K7の系統	TTC A/G TAT or TTC A/A TAC
タイプ2 K7の系統以外	TTC G/G TAT

～DNAマーカーによる菌株判別技術の用途～

- ✓菌株の管理（取り間違いはないか、もろみ汚染はないか）
- ✓菌株のスクリーニングへの利用
- ✓菌株の権利の保護

図1 きょうかい優良清酒酵母のDNAレベルでの判別方法

ゲノム解析などの結果から、優良清酒酵母菌株とそれ以外の菌株とを高精度に判別可能なDNAマーカーを開発。優良清酒酵母とは、きょうかい6号（K6）、K7、K9、K10及びこれらの派生株（現在使用されている大半の清酒酵母が該当）；K7に近縁なのでK7グループともいう。それ以外の酵母とは、K7グループ以外の全ての酵母（その他の清酒酵母も含む）を指す。

において例があります。ただしこの場合、清酒酵母の主発酵への関与は限定的で、ビール酵母の補助としての役割が主になります。一般に清酒酵母はマルトース資化能を持たないか、あっても非常に弱いからです。他用途への転用には、こうした資化性の問題も付いて回ります。

③酵母無添加仕込み

酵母無添加仕込みでは酒母に酵母を添加しないわけですが、その意義は蔵付き酵母の菌叢をトータルで利用することといえます。普段使用している（使用していた）きょうかい酵母と、いつもは添加酵母に押され活躍の場のない蔵付き野生清酒酵母のいずれも降臨する可能性があります。菌叢の不安定さなどのリスクはゼロではありませんが、環境面からは清酒酵母の範疇に含まれる菌株が増殖してくる可能性が高いと考えられます。キラー酵母のことは、やはり念頭に置くに越したことはないと思います。

④蔵付き酵母の分離と利用

③と④とはお互いにバリエーションの関係と考えることが出来ます。蔵付き酵母を分離・選抜は、過去の優良菌株の分離・選抜で

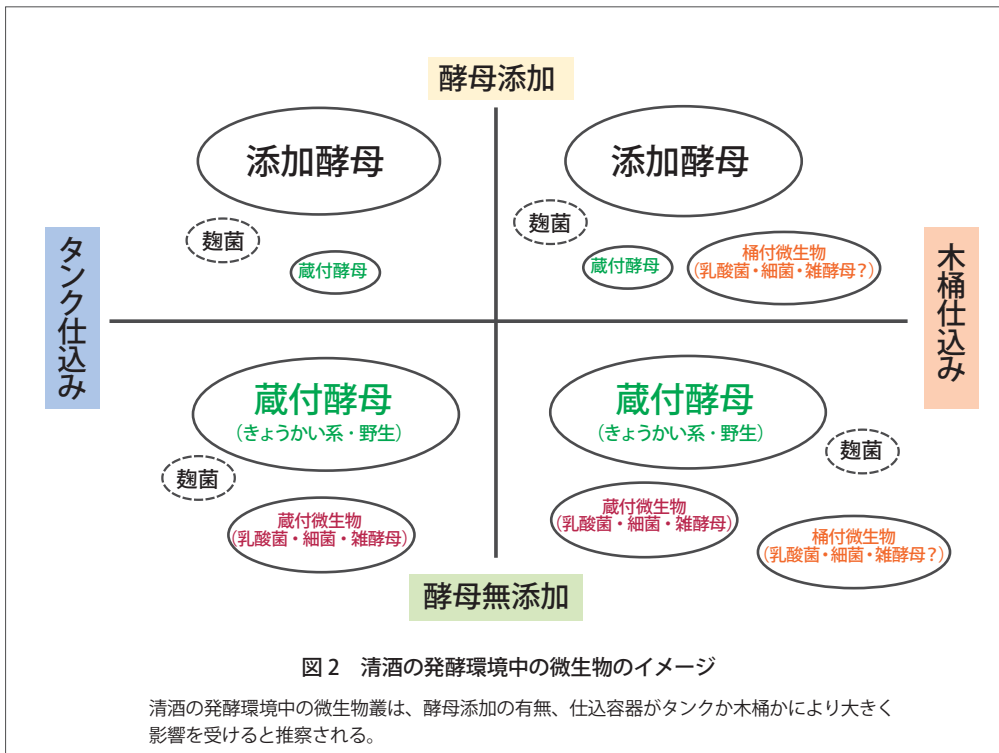
行われてきたことと変わりありません。多くの製造場では日本醸造協会の優良清酒酵母菌株やその派生株を長きに亘って使用してきたと思われますので、それらが蔵付き酵母化していることも考えられますし、それ以外に棲みついていたものが分離されてくるかもしれません。

優良きょうかい清酒酵母の判別には、生理的な手法であるTTC染色が長らく用いられていますが、図1に示したように、今日では、ゲノム情報を基にきょうかい系酵母とそれ以外の酵母とをDNAの塩基レベルで明確に判別することが可能となっています。菌株の選抜方針として、安全醸造を優先しきょうかい酵母の派生株を求める場合、あるいは新奇な菌株の探索を優先する場合のいずれであっても、分離されてきた候補菌株の評価の初期段階に判別工程を含めることで選抜過程の効率化が可能となります。キラー酵母や4-VG生成菌株のリスクは、菌株の評価を慎重に行うことで回避が可能です。別の面でのリスクとしては、従来使用していた菌株とあまり性質の変わらないものが分離されてしまう可能性が挙げられ、その場合、品質面での差別化はなかなか難しいといえます。

ここまでに出てきた「野生（天然）」、「無添加」、「蔵付き」といった語句は、消費者の嗜好の一側面を表現したキーワードといえます。

表2 複合微生物系の積極利用の例

酒類	複合微生物系	主発酵酵母以外の微生物	効果
清酒	生酏系酒母	硝酸還元菌、乳酸菌	酵母の生理特性の変化による香味の特徴（押し味）の付加など
	木桶発酵	乳酸菌、その他？	香味の特徴（複雑さ）の付加
ワイン	異種酵母の添加	異種酵母	酵母無添加もろみの初期の再現による香味の特徴（複雑さ）の付加
スコッチウイスキー	木桶発酵	乳酸菌、その他？	香味の特徴（複雑さ）の付加
	ビール酵母の添加	ビール酵母	香味の特徴（複雑さ）の付加



のであり、一見すると退化しているようにも感じられます。しかし、実際はそうではなく、一回りして、より大きく系を捉え直し、酵母を超えた微生物を包含したうえで、それらを改めて制御していこうとする方向であると考えるのが適当だと思います。言い換えれば、こうした動きは、これまでに培われてきた微生物の理解や取扱い技術、解析技術の進展の上に抛って立ており、その先には、発酵系をより複数の微生物が関与する複合的な系として理解し、再モデル化し、制御していく方向性が拓けてくるのではないのでしょうか。将来的には、酒類の製造においては、酵母だけでなく脇役の微生物についてもきちんと優良な菌株を確立し、明確な意図を持って選択していくことが求められる日も来るかもしれません。既に、清酒の生酛系の酒母においては、乳酸菌の分離と人工

このような方向性の技術的な意義は、今までになし得なかった品質を達成するために期待の持てるアプローチの一つであり、それにより酵母という遺伝子資源の様々な可能性を探ることにあるのではないかと筆者は捉えています。

●▲■ 酵母を超えた発酵系

最後に酵母だけでなく、他の微生物も考慮に入れた複合微生物系について触れて、本稿を終えたいと思います。少数の例外もありますが、酒類の製造においてアルコール発酵を担うのは酵母です。そこで多くの発酵系は、これまで酵母以外の微生物を排除し、より単純化する方向に発展してきたといっても差し支えないでしょう。清酒の安全醸造には、酒母製造時に優良菌株を十分量添加することで、発酵系を安定させ腐造を防止したことが一役買っています。また、酒母においてはそればかりではなく、速醸酒母の発明により乳酸菌が排除されました。仕込容器は洗浄等の容易さから木桶からホーロー、ステンレスへと移行しました。ワインでは、発酵初期に培養酵母を添加することで速やかな発酵の進行と品質の安定化がなされました。スコッチウイスキーでは、優良菌株の普及と共に余剰ビール酵母の添加が廃れていきました。メスカル（テキーラ）やラムでは、元々は細菌も含んだ発酵系だったところ、酵母添加を行うようになりました。これらの方向性は、発酵系を安定化させ、また、工学的に制御しやすくするという点で共通しています。

しかし近年、これまで排除されていた主発酵酵母以外の酵母や乳酸菌等を発酵系に呼び戻そうとする動きが見られます（表2）。清酒における生酛系酒母や木桶仕込の再評価、ワインにおける自然発酵の初期に現れるマイナーな酵母の発酵系への添加、スコッチウイスキーにおける木桶とビール余剰酵母の意義の解明など、単純化してきた発酵系をより複合的なものへと回帰させようとする取り組みといえます。先に述べた酵母無添加仕込みなども同じ流れの上にあるものです。こうした動きを悲観的に捉えれば、せっかく解明の進んだ発酵系をもう一度ブラックボックスに戻そうとするも

的な添加の例も見られますし、微生物叢の再解析も始まっています。図2に清酒の発酵系に存在する微生物のイメージを示しました。酵母添加の有無と仕込容器という2つのファクターだけで見ても、微生物系の広がり、複雑さは様々であることがおわかりになると思います。複合微生物系の解析は難度も高く、平坦な道のりではないでしょうが、酒類製造においてこれまで見えていなかった様々な「脇役」の微生物の関与が浮かび上がり、それらの役割が明かされることで、発酵系全体の理解が深まっていくことを期待したいと思います。

過去3回も含め、本稿では多数の意見や見解を記してきましたが、これらは筆者の私見であることを申し添えます。

(Text. T.Akao)

主な引用文献等

- AR. Borneman *et al.* : *G3*, 6, 957 (2016)
- B. Gallone *et al.* : *Cell*, 166, 1397 (2016)
- M. Gonçalves *et al.* : *Curr. Biol.*, 26, 1 (2016)
- QM. Wang *et al.* : *Mol. Ecol.*, 21, 5404 (2012)
- N. Mukai *et al.* : *J. Biosci., Bioeng.*, 118, 50-55 (2014)
- 能勢晶ら：醸協，89 (12)，983 (1994)
- 鰐川彰：醸協，94 (4)，241 (2003)
- 四方秀子：醸協，110 (5)，315 (2006)
- アダム・ロジャース：“酒の科学”，白揚社，2016
- White Labs 社ウェブサイト (<https://www.whitelabs.com/>)

赤尾 健 (あかお たけし)

独立行政法人酒類総合研究所 醸造微生物研究部門 副部門長

QA? 本稿に関するご質問・ご意見等は、きた産業 (info@kitasangyo.com) にご連絡ください。筆者に転送いたします。

<お詫びと修正> 前々号の「醸造用酵母の菌株あれこれ (2) ビール酵母、ワイン酵母」の図2で、編集の手違いで酵母の図の一部が欠落していました。ウェブサイトで正しく修正したものを公開しています。