

自然環境中からのマルトース資化性酵母の分離と 麦汁様培地での発酵力の評価 *

玉川英幸 **, 太田睦 ***

本研究では岩手県内の自然環境中からマルトース資化能のある *Saccharomyces cerevisiae* の分離および麦汁様培地での発酵力の評価を実施した。2024年4月から9月にかけて岩手県遠野市内4カ所で合計934の植物試料を採取し、マルトースを唯一の炭素源とする培地で集積培養を行ったところ、9つ植物試料からのマルトース資化能のある *S. cerevisiae* が分離された。9つの試料から分離された各2コロニー、合計18株について、初期比重1.05に調整した麦汁様培地で発酵試験を実施し、比較的发酵力が高い3株を選抜した。初期比重1.07に調製した麦汁様培地で発酵試験を実施したところ、そのうち2株は途中で発酵が停止したものの、1株は対照として使用した酵母と同等の発酵度まで比重が低下した。

キーワード：野生酵母、*Saccharomyces cerevisiae*、マルトース資化、ビール醸造

Isolation of Maltose-Assimilable *Saccharomyces cerevisiae* from the Natural Environment and Evaluation of Fermentability in Wort Like-Medium

TAMAKAWA Hideyuki, OHTA Mutsumi

Key words: wild yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, maltose assimilation, beer brewing

1 緒言

日本にクラフトビールが誕生してから2025年で30年を迎えた。全国地ビール醸造者協議会はこの30年間に10年ずつに区切り、それぞれを創業期、停滞期、成長期と振り返っている¹⁾。創業期は、いわゆる1994年の「地ビール解禁」と呼ばれるビール製造数量の規制緩和を発端とする爆発的な地ビールブームであり、観光目玉、レストラン併設型など主に地域おこしを目的としたブルワリーが日本各地に誕生した。しかし、当時の日本においてビール醸造は未知の世界であり、醸造技術の未熟さ、あるいは地元の特産品を無理に使い過ぎたことによる品質の低い地ビールの乱立により、“地ビール=美味しくない”という認識が広まることとなった。その結果、撤退が参入を上回る長い停滞期へと繋がる。しかし、その間もブルワリーでは醸造技術が研鑽され

続け、品質の高いビールが多く製造されるようになってくる。また、国内では東日本大震災やコロナ禍を経て、マスから個へと価値観が変化し、大量生産大量消費の時代からいわゆる“推し文化”の時代へと変革し、地ビールを受け入れる地盤が形成される。2019年にはビールに使用できる副原料が拡大となる酒税法改正が実施され、それに伴う製造免許の駆け込み申請をきっかけに、国内のブルワリー数は一気に増加傾向に転じる。昨今では毎年100社単位で事業者が増加しており、きた産業株式会社の報告によれば2024年末段階でビールもしくは発泡酒の醸造所の数は日本国内で907箇所となっている²⁾。現在、地ビール産業はクラフトビールと名前を変え、地方創生の一翼を担える存在として、各地における雇用の創出や、地域資源・観光資源として再び注目を集めている³⁾。

* 令和6年度 研究開発型人材育成事業

** 醸造技術部

*** 株式会社遠野醸造

クラフトビールは、個性豊かな味わいはもちろん、その商品が持つ地域ならではの特性や文化、ストーリー性も大きな価値のひとつと見なされている。その商品のストーリー性に寄与する要素として、いわゆる地域の「野生酵母」が存在する。野生酵母とは枝や葉、花、果実、樹液など地域の自然環境中に元々存在していた酵母のことであり、地元の植物試料から分離された野生酵母を用いた酒類の開発は度々報告がされている⁴⁾⁵⁾⁶⁾。このような野生酵母を利用する場合、多くの場合は最も一般的な醸造用酵母と同種である *Saccharomyces cerevisiae* を分離することを目標として実施されるものの、最近では *Lachancea* 属酵母を利用した例も散見されるようになり⁷⁾⁸⁾、野生酵母のビール醸造への利用が拡大している。

ビールの原料である麦汁に含まれる主要な糖類はマルトース（麦芽糖）であり、マルトースを利用できない酵母は単独でビールを製造することは難しい。本研究では、岩手県内の自然環境中からマルトース資化性のある *S. cerevisiae* の単離を試みた。得られた分離株のマルトース資化能および初期比重の異なるモルトエキスでの発酵能の評価を行い、ビール醸造の可能性を検討した。

2 実験方法

2-1 菌株

対照としてマルトリオース資化性のないエール酵母 ALE514（AB Mauri Food Inc, St. Louis, MO, USA）、岩手県吟醸酵母ジョバンニの調べ F2 株から分離したマルトース資化性変異株 OG8 を用いた。

2-2 植物試料からの *S. cerevisiae* の分離と同定

植物試料の採取は、事前に管理者から採取および研究の許可を得て、遠野市内 4 箇所（遠野森のがっこう、遠野ふるさと村、鍋倉山公園、個人宅敷地）で実施した。滅菌された 50 mL コニカルチューブに植物試料を採取し、完全に浸漬するように培地を添加した。培地には殿内らが報告した培地⁷⁾を一部改変して用いた。すなわち 3 g 酵母エキス、3 g 麦芽エキス、5 g ペプトン、20 g マルトースを溶解させた後、乳酸で pH4.0 に調整し 920 mL にメスアップし、オートクレーブ後に 100 mg のクロラムフェニコールを溶解させたエタノール 80 mL を添加した。培地を添加したサンプルは 30°C で静置培養した。培養開始から 1-3 週間後に確認を行い、微生物の増殖と思われる沈殿が生成したサンプルのうち産膜性を示さなかったものを上下反転によりよく

懸濁した後、0.05 mL を 5 mL の同じ培地に接種して 30°C で 1 週間培養を行った。再度沈殿が生成したサンプルのうち産膜性を示さなかったものをアンチマイシン - マルトース培地（6.7 g/L Yeast Nitrogen base w/o amino acid、20 g/L マルトース、0.6 mg/L アンチマイシン A、20 g/L 寒天）に塗布して 30°C で 5 日間培養し、シングルコロニー化を行った。コロニー形状を確認し、コロニーが小さすぎる（1 mm 以下）もの、糸状菌や細菌様のコロニー形状を示したもの、塗布した培地の混濁量に対して極端にコロニー数が少ないものを除き、1 シャーレから 4 コロニーをピックアップした。YPD2 寒天培地（10 g/L 酵母エキス、20 g/L ペプトン、20 g/L グルコース、20 g/L 寒天）に塗布して 30°C で 2 日間培養し、マスタープレートとした。得られた酵母株はギ酸 - アセトニトリル法でタンパク質抽出を行い、 α -シアノ -4- ヒドロキシケイ皮酸をマトリックスとして用いたマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析 (MALDI TOF-MS ultraflex, Bruker, Massachusetts, USA) で分析およびライブラリーサーチを実施して酵母菌種の同定を行った⁸⁾。

2-3 分離した *S. cerevisiae* の AWA1 遺伝子座の多型解析

文献 9 に従った。すなわち酵母菌体からのゲノム DNA の抽出には PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) を用い、付属のプロトコールに従い行った。PCR は SimpliAmp Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific) と EX Taq HS (Takara Bio, Shiga, Japan) を用いて行った。プライマーには AWA1Fw (ATGTTCAATCGCT TTAATAAACTTCAAGCC) と AWA1Rv (TTAGTTAA AGAAAGCAAGAACGAAAATACC) を用いた。反応液は 1.0% アガロース S (Nippon Gene, Tokyo, Japan) を用いてゲル電気泳動した。

2-4 発酵試験

分離した酵母の合成培地での発酵能力評価のために以下のような簡易発酵試験を行った。2 mL 容 96 穴深底プレートに分注した 0.5 mL YPD2 培地（10 g/L 酵母エキス、20 g/L ペプトン、20 g/L グルコース）に評価菌株を接種し、30°C、静置条件で 24 時間前培養した。次に 1 mL の YPM10（10 g/L 酵母エキス、20 g/L ペプトン、100 g/L マルトース）を分注した 2 mL 容 96 穴深底プレートに前培養液 50 μ L を接種して 30°C、静置条件で培養を行った。培養 48 時間

後、培養液の Brix を測定して各酵母株の発酵能力を評価した。

分離した酵母の麦汁様の培地での発酵能力評価のためにドライモルト エクストラライト (Muntions Plc, Stowmarket, England) を用いて調製したドライモルト培地を用いた。初期比重 1.05-1.07 (t/t) となるように蒸留水に溶解し、オートクレーブで 105°C、60 分間加熱処理した。加熱によって生成した凝集物を無菌的に遠心して除去し、発酵試験用の培地とした。発酵容器には 180 mL の培地を入れた 225 mL 容ピオラモビグコニカル (As one, Osaka, Japan) を用いた。酵母は 1 mL YPD2 に接種し、30°C で 1 日間静置した。前培養液は 30 mL の YPD2 に植え継ぎ、30°C で 2 日間静置培養した。培養液から遠心で菌体を回収し、初期 OD600=0.2 となるように培地に接種し、20°C で静置培養を行った。経時的にサンプリングして遠心上清の比重を測定した。各サンプルは比重低下が停止して 24 時間経過してから 4°C に移し、7 日間静置した後、上清の香気成分を分析した。

2-5 分析方法

発酵液の Brix 測定はポケット糖度計 PAL-J (Atago, Tokyo, Japan) を用いた。マルトース、マルトトリオース、エタノールの分析は Shi らの高速液体クロマトグラフィーによる方法¹⁰⁾を一部改変して行った。60°C で保持した IC Sep-ION-300 カラム (Tokyo Chemical Industry, Tokyo, Japan) を用い、溶媒として 0.01 N 硫酸 (流速 0.4 mL/min) を使用した。検出には示差屈折率検出器を用いた。4-ビニルグアイ

アコール (4VG)、4-ビニルフェノール (4VP) の分析は Stefan らの方法にしたがい、励起波長 280 nm、蛍光波長 320 nm で蛍光検出した¹¹⁾。比重は密度比重計 DA-505 (Kyoto Electronics Manufacturing Co. Ltd., Kyoto, Japan) を用いて測定した。香気成分はエタノール 5% (v/v) を含む標準物質を用いて清酒用の国税庁所定分析法を用いて行った。

3 結果及び考察

3-1 植物試料の採取、集積培養と酵母菌種の同定

採取数および選抜状況は Table 1 に示した。合計 934 の植物試料を採取し、最終的に 9 個の植物試料からマルトース資化性のある *S. cerevisiae* を分離することに成功した。分離源は木の皮 4、枯葉 3、枯枝 2 であった。著者らは過去に *S. cerevisiae* が高効率で取得できると殿内らが報告した培地⁷⁾を用いて自然環境中からの *S. cerevisiae* の分離を試みたことがある。殿内らの方法は確かに *S. cerevisiae* を高効率で分離することはできるものの、分離された 33 株の *S. cerevisiae* はいずれもマルトース資化性を有していなかった¹²⁾。自然環境中に存在する *S. cerevisiae* においてマルトースの資化能はマイナーな形質であると考えられるため、今回、炭素源をマルトースへと変更した培地を用いることでマルトース資化性 *S. cerevisiae* を選抜段階で集積培養することとした。炭素源をマルトースへと変更したことで、マルトース資化能がある酵母が特異的に分離されると思われたが、研究開始当初、集積培養用の培地の炭素源はマルトースしかないにも関わらずマルトース資化性のない *S. cerevisiae* ばかりが分離され

Table 1 Number of sampling and isolate yeasts.

Sampling date	Number of samples						
	Collection	Growth on			Identification		
		1st cultivation	2nd cultivation	Maltose medium containing AA ¹⁾	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lachancea fermentati</i>	the other ²⁾
2024/4/22	100	5	3	1			1
2024/5/12	100	27	7	1	1		
2024/5/26	100	35	13	6	2	4	
2024/6/17	80	24	23	5	2	3	
2024/6/27	120	59	50	13	3	6	4
2024/7/14	100	41	31	1		1	
2024/8/14	100	48	42	6		5	1
2024/8/22	110	72	63	10	1	3	6
2024/9/18	112	42	30	6		5	1
2024/12/7	12						
Total	934	353	262	49	9	27	13

1) AA: Antimycin A

2) Including unidentifiable samples

た (data not shown)。集積培養の工程を鋭意検討した結果、2回目の集積培養の希釈率を 1/100 以下にすることで、マルトースとアンチマイシンを含む培地でシングルコロニー化を行うことでマルトース資化性のある *S. cerevisiae* を分離できることが明らかとなった。これらの結果は、集積培養の際、自然環境中に存在していた酵母が採取した植物試料から持ち込まれたわずかな炭素源を基質として増殖した可能性を示唆するものであり、マルトース資化性のある *S. cerevisiae* を自然環境中から分離するためには強い選択圧で選抜をかける必要があることと思われた。

マルトース資化性のある *S. cerevisiae* を分離できる方法を確立できた一方で、本手法でも多く分離されたのは *Lachancea fermentati* であり、27 個の植物試料から分離された (Table 1)。*Lachancea* 属酵母は *S. cerevisiae* が持たない乳酸デヒドロゲナーゼ (EC 1.1.2.5) 遺伝子を有しており、アルコールと乳酸を同時に生成する能力を持っていることから、昨今サワービールの製造において大変注目を集めている酵母である^{13) 14) 15)}。ベルリーナヴァイセやゴーゼのように酸味の強いスタイルのビールは、歴史的には乳酸菌の乳酸発酵との組み合わせによって製造されていたものであるが、製造場で乳酸菌を使用することは他商品への汚染の大きなリスクが伴う。乳酸生成能の高い *Lachancea* 属酵母でビールを製造することはこの課題を解決する有効な手段であると考えられている。すでに Lallemand 社より実用化されている株も存在するが¹⁶⁾、本研究で確立した分離方法は自然環境中に存在する *Lachancea* 属の探索にも有用であると考えられる。

植物試料の採取時期と *S. cerevisiae* の分離数を比較すると 5 月、6 月に集中していることが見て取れる (Table 1)。数岡らの報告¹⁷⁾においても、自然環境中からの *S. cerevisiae* の分離は 5 月、6 月、9 月に集中していること、平均気温 15 ~ 25°C の時期に採取すると目的の酵母が取得できる可能性が高いことが記載されている。自然環境中からの *Lachancea* 属酵母の分離傾向についてはこれまで報告されていないようであるが、7 月から 9 月にかけても分離されてくるため、自然環境中での存在形態が *S. cerevisiae* とは異なるものと思われる。

3-2 分離した *S. cerevisiae* の *AWA1* 遺伝子座の多型解析

次に自然環境中から分離された *S. cerevisiae* の遺伝的な差異を確認することとした。野生酵母の多様性を簡易的に調べることができる遺伝子座は報告されていないため、清酒酵母で多型が報告されている *AWA1* 遺伝子座を用いて多型解析を実施した。その結果、対照として使用したエール酵母 ALE514 では 3 kbp よりやや大きいバンドとやや小さいバンドの 2 本が検出された (Figure 1)。また、マルトース資化性を獲得した清酒酵母変異株である OG8 では 5 kbp 付近に 1 本のバンドが検出された。この結果は OG8 の親株である F2 と同じ結果であった⁹⁾。一方、今回分離した野生酵母 18 株では幾つかの株で明瞭なバンドが検出されなかったものもあるが、検出された株ではいずれも 3 kbp 付近 1 本のバンドしか検出されなかった。菌株によって若干の分子量差はあるもののかかなり似通っており、野生酵母では *AWA1* 遺伝子座の多型に乏しいことが明らかとなった。

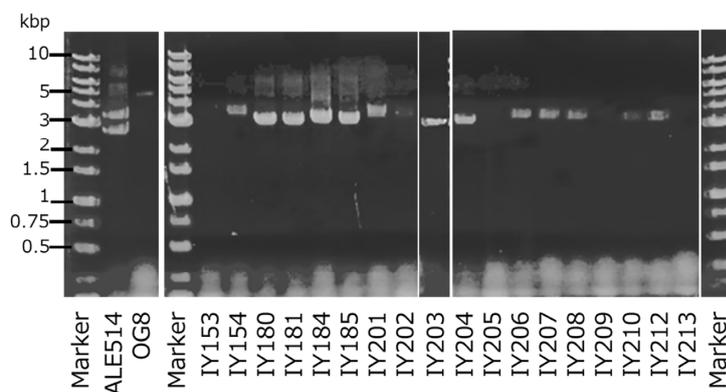


Figure 1 PCR amplification patterns of *AWA1*.

3-3 マルトース培地での発酵力評価

分離した *S. cerevisiae* のビール醸造適性を評価することを目的としてマルトースを炭素源とした合成培地 (YPM10 培地) で簡易発酵試験を実施した。培養 48 時間後の培養液 Brix を測定した結果を Figure 2 に示した。陽性対照として用いた ALE514、OG8 は資化性が高く、初発 Brix14.5 の YPM10 培地の Brix は培養によって 6.5 および 6.7 まで低下した。一方、今回自然環境からマストース資化性がある株として分離した *S. cerevisiae* は全体的に発酵力が低く、今回の培養時間では Brix7.9 ~ 10.7 までしか低下しなかった。その中でも植物試料 379 から分離した IY203、IY204 および植物試料 732 から分離した IY212、IY213 は比較的发酵力が高かった。

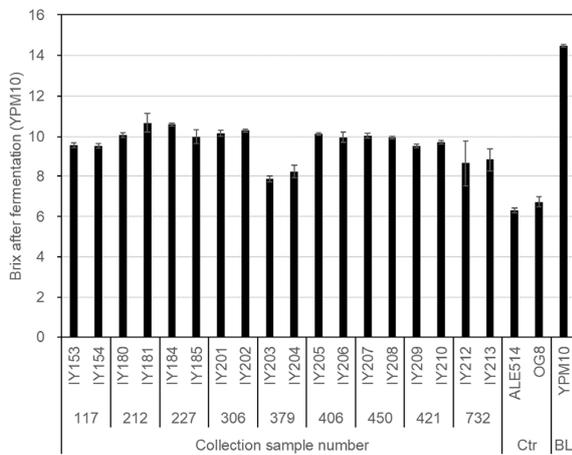


Figure 2 Brix value after micro-scale fermentation test by isolate yeast strains in YPM10 medium. Data are means for four independent fermentation experiments; error bars indicate SD values.

3-4 ドライモルト培地での発酵力評価

麦汁に近い条件で評価することを目的としてドライモルト培地での発酵試験を実施した。マルトリオース資化性のない酵母の外観発酵度目標値は一般的に 65% 程度であることから¹⁸⁾、今回外観発酵度が 60% に達するのに要した日数と 10 日間発酵させた発酵液の分析値を Table 2 に示した。自然環境から分離された *S. cerevisiae* 株の多くは極めて発酵が遅く、10 日間の発酵でも外観発酵度が 60% に達しなかった。発酵度が低かった株ではマルトースが多く残存しており、マルトース資化性の低さがドライモルト培地での発酵性に影響したものと考えられた。また、いずれの株もマルトリオースの資化性は認められなかった。

酢酸イソアミルはイソアミルアルコールを前駆体としており、一般的にこの 2 つの香気成分は相関するとされている¹⁹⁾。しかし、自然環境から分離された *S. cerevisiae* 株は概して比較的高いイソアミルアルコール生成量を示したにも関わらず、酢酸イソアミル量はそれほど高くなく、エステル生成量は高くないことが示された。カプロン酸エチルは清酒酵母を親株に持つ OG8 を除くと生産量が低いものが多かった。香気成分の大きな特徴として、今回自然環境から分離された *S. cerevisiae* 株はすべて高い 4VP、4VG 生成能を示した。データには示さないが、いずれの株も最終発酵液中では 4VP、4VG の前駆体であるクマル酸、フェルラ酸が完全に消失しており、麦汁中でのフェノール変換能が極めて高いことが明らかとなった。

Table 2 Analysis of dry malt medium (initial specific gravity=1.05) fermented with isolate-yeasts.

Collection sample number	Strain	day Fermentation period ¹⁾	g/L			ppm						4VP	4VG
			Maltose	Maltotriose	Ethanol	n-Propanol	Isobutanol	Isoamyl alcohol	Ethyl acetate	Isoamyl acetate	Ethyl caproate		
117	IY153	10<	3.7	15.0	32.0	19.3	17.9	77.3	19.0	1.44	ND	0.27	1.73
	IY154	10<	9.0	15.0	29.4	16.2	18.8	74.9	22.0	1.61	ND	0.28	1.76
212	IY180	5	0.9	14.6	34.7	15.4	19.5	79.0	17.0	1.20	0.60	0.28	1.80
	IY181	6	1.1	14.7	34.6	15.8	22.0	84.9	19.6	1.31	0.66	0.29	1.85
227	IY184	10<	5.2	14.8	32.0	14.9	16.4	72.6	16.0	1.08	ND	0.28	1.80
	IY185	10<	6.8	14.7	31.1	13.7	16.0	70.4	16.3	1.06	0.55	0.28	1.82
306	IY201	10<	2.2	15.0	32.7	20.5	18.3	82.1	20.0	1.42	ND	0.27	1.73
	IY202	10<	1.3	14.8	31.3	19.5	18.0	76.2	23.5	1.53	ND	0.28	1.77
379	IY203	7	1.9	14.8	33.5	19.8	20.1	89.1	21.3	1.47	0.59	0.28	1.80
	IY204	10<	5.9	14.9	31.5	18.0	21.1	83.2	24.0	1.49	0.60	0.28	1.81
406	IY205	10<	1.2	14.8	31.1	18.2	17.7	75.5	20.7	1.29	ND	0.27	1.73
	IY206	10<	1.2	14.8	31.4	19.8	15.4	71.5	19.3	1.42	ND	0.27	1.76
450	IY207	10<	6.3	15.0	30.8	19.2	19.4	77.3	23.1	1.65	ND	0.28	1.74
	IY208	10<	5.6	15.0	31.1	19.0	19.9	80.2	25.7	1.81	ND	0.28	1.76
421	IY209	10<	3.7	15.0	32.2	20.0	19.4	79.8	25.7	1.80	ND	0.28	1.72
	IY210	6	1.3	15.0	33.6	20.7	17.2	82.8	23.0	1.70	ND	0.27	1.73
732	IY212	5	1.2	15.0	33.8	23.9	13.4	76.5	24.9	2.00	ND	0.28	1.81
	IY213	4	1.2	15.0	33.8	24.0	12.5	81.0	21.5	1.89	ND	0.28	1.80
Ale yeast	ALE514	2	1.2	15.0	34.8	21.1	11.6	62.5	15.9	1.34	ND	ND	0.18
Sake yeast	OG8	3	1.2	15.0	34.8	23.4	12.8	55.8	13.8	1.98	1.67	ND	0.18

1) Fermentation days whose attenuation reach 60%

ND: not detectable

3-5 初期比重の異なるドライモルト培地での発酵力評価

比較的発酵力の高かった株のうち、分離源の異なる IY180、IY210、IY213 を用いて初期比重の異なるドライモルト培地での発酵力を評価した。

Figure 3 に発酵経過、Table 3 に発酵液の分析値を示した。いずれの培地条件においても対照株である OG8 は高い発酵速度を示し、IY213、IY210、IY180 の順で発酵が速かった。IY213 はいずれの培地条件においても評価を行った期間内に対照株と同等の比重まで発酵をすすめることが可能であり、健全なビールが製造できる可能性が示唆された。しかし、IY210、IY180 については初期比重 1.07 とした条件では 14 日間の発酵で外観発酵度が 60% に達しなかった。これらの株では比較的少量のマルトース (8.9 g/L、7.8 g/L) が残存しており、高比重の麦汁では最後まで資化性糖を発酵できない可能性が示唆された。すべての株において、すべての香り成分は培地の初期比重に依存して増加した。n-プロパノール、イソブタノール、イソアミルアルコール、4VP、4VG は培地に含まれる基質を変換して生成さ

れるため、培地の濃度に依存して生成量が増加したものと思われた。また、酢酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチルなどのエステル類は前駆体の供給量と細胞内のエネルギーレベルに依存して生成量が増えるため¹⁹⁾、これも培地の濃度に依存したものと思われた。

今回評価を行った IY180、IY210、IY213 は OG8 と比較するといずれの培地条件においてもイソアミルアルコールの生成量が高く、また酢酸エチルの生成量も高い傾向が認められた。過去にも野生酵母は酢酸エチル生成量が高いという報告がされている⁵⁾。イソアミルアルコールと酢酸エチルは、フーゼルアルコール様、シンナー様と形容される香りの成分で、一般的には酒類に多分に含まれることが望ましくないとされる成分であり、醸造用酵母はこうした望ましくない香り成分生成量が低い株が選ばれてきた歴史がある。したがって野生酵母がイソアミルアルコールや酢酸エチル生成量が高いというよりは、*S. cerevisiae* そのものはこの程度生成するのが普通であり、醸造用酵母で生成量が低いと考える方が妥当なのかもしれない。

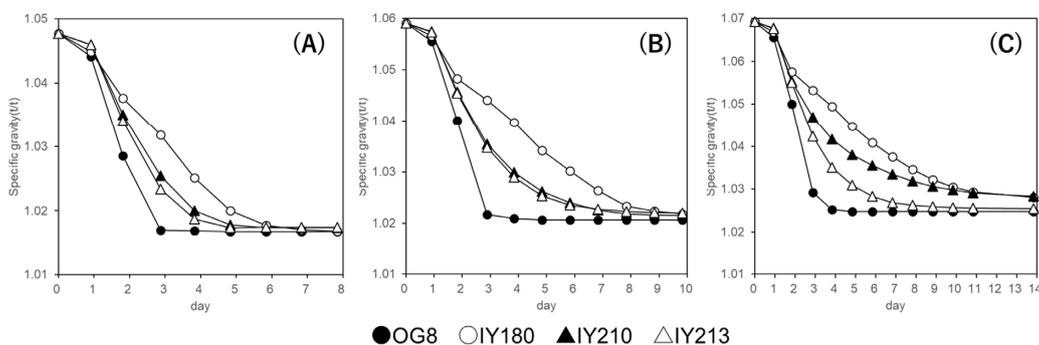


Figure 3 Time-dependent fermentation profiles of IY180, IY210, IY213 and OG8 in dry malt medium adjusted to an initial specific gravity of 1.05 (A), 1.06 (B) and 1.07 (C), respectively.

Table 3 Analysis of dry malt medium (initial specific gravity=1.05-1.07) fermented with isolate-yeasts.

Strain	Initial specific gravity(t/t)	day Fermentation period ¹⁾	g/L		ppm							
			Maltose	Ethanol	n-Propanol	Isobutanol	Isoamyl alcohol	Ethyl acetate	Isoamyl acetate	Ethyl caproate	4VP	4VG
IY180	1.05	6	1.2	33.5	15.9	18.7	86.8	16.8	1.68	0.75	0.28	1.83
	1.06	8	2.3	41.3	18.9	24.9	99.0	25.3	1.76	0.78	0.35	2.12
	1.07	14<	8.9	44.6	20.5	25.7	105.5	33.1	1.94	0.84	0.39	2.34
IY210	1.05	5	1.4	32.6	22.5	13.3	81.9	20.9	1.86	ND	0.28	1.85
	1.06	7	1.7	40.8	28.9	18.1	96.0	34.3	2.66	0.59	0.34	2.12
	1.07	14<	7.8	44.8	30.1	23.1	112.7	41.9	3.09	0.66	0.40	2.42
IY213	1.05	4	1.5	32.4	27.4	10.8	80.8	18.7	1.84	ND	0.27	1.73
	1.06	6	1.3	40.7	33.5	15.5	88.9	33.0	2.78	ND	0.35	2.09
	1.07	7	2.0	47.9	39.9	17.5	104.2	41.9	3.30	0.58	0.39	2.27
OG8	1.05	3	1.4	33.2	24.5	13.0	68.5	13.9	2.77	2.79	ND	0.24
	1.06	3	1.8	41.7	28.3	16.1	75.5	18.9	3.86	4.64	ND	0.24
	1.07	4	2.1	48.8	29.9	17.9	85.7	24.9	4.59	4.77	ND	0.26

1) Fermentation days whose attenuation reach 60%

ND: not detectable

4 結 言

本研究では岩手県内の自然環境中からマルトース資化性の *S. cerevisiae* の分離およびビール醸造への可能性を検討した。924 の植物試料を採取し、発酵試験等で段階的な選抜の結果、ビール醸造の可能性のある野生酵母株として IY213 を選抜した。野生酵母でビール醸造を試みた研究は幾つか報告がされているが、採取、選抜状況について詳細に集計した報告は少ない。本研究が次なる挑戦者への良品道標となり、高付加価値なクラフトビールの開発につながることを期待したい。

文 献

- 1) 国税庁令和 6 年度ビール・発泡酒醸造技術研修資料
- 2) 全国醸造所リスト クラフトビール（地ビール・地発泡酒醸造所）リスト, きた産業, <https://kitasangyo.com/beer/MAP.html>
- 3) 日本ビール文化研究会：知って広がるビールの世界, 翔泳社 (2024)
- 4) 鈴木成宗, 坂宮章世, 金澤春香, 栗田修, 矢野竹男, 苅田修一：樹液から単離した香気生産野生酵母のビール香気特性および実用性の評価, 日本食品工学会誌, 17, p.59-69 (2016)
- 5) 堀江祐範, 中川智行, 杉野紗貴子, 吉村明浩, 奈良一寛, 梅野彩, 田尾博明：地産微生物の応用として四国遍路道から分離した野生酵母による清酒醸造の試み, 美味技術学会誌, 15, p.12-20 (2016)
- 6) 松田義弘, 上木厚子, 上木勝司：各種果実から分離された香気生産性野生酵母の同定と香気生産特性, 日本醸造協会誌, 104, p.57-74 (2009)
- 7) 殿内暁夫, 森山裕理子, 青山嘉宏, 土岐春歌：白神山地から分離した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の利用, 醸協, 111, p.437-444 (2016)
- 8) 川崎浩子：MALDI-TOF MS を用いた微生物迅速同定の食品微生物分野への展開, 日本食品微生物学会雑誌, 37, p.165-177 (2020)
- 9) 玉川英幸：PCR 法による独自清酒酵母の判別, 岩手県工業技術センター研究報告, 24, p.66-69 (2022)
- 10) Shi NQ, Cruz J, Sherman F, Jeffries TW: SHAM-sensitive alternative respiration in the xylose-metabolizing yeast *Pichia stipitis*, *Yeast*, 19, p.1203-1220 (2002)
- 11) Stefan C, Koen B, Filip D, Bart V, Freddy RD: Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, p.602-608 (2004)
- 12) 玉川英幸, 笹渡繁巳：自然環境からの *Saccharomyces cerevisiae* の分離とビール醸造への利用, 岩手県工業技術センター研究報告, 27, p.45-52 (2024)
- 13) Sgouros G, Mallouchos A, Filippousi ME, Banilas G, Nisiotou A: Molecular characterization and enological potential of a high lactic acid-producing *Lachancea thermotolerans* vineyard strain, *Foods*, 9, p.595 (2020)
- 14) 武内純子, 阪内淳逸, 山崎雅夫：自然界からの酵母分離および分離された *Lachancea thermotolerans* の酒類製造上の性質と活用, 日本食品科学工学会誌, 72, p.1-10 (2025)
- 15) 久富泰資：福山バラの酵母プロジェクト, 生物工学会誌, 102, p.418-420 (2024)
- 16) WildBrew Philly Sour, LALLEMAND, <https://www.lallemantbrewing.com/en/canada/products/wildbrew-philly-sour/>
- 17) 数岡孝幸：清酒製造用酵母の分離および実用化, 醸協, 110, p.298-355 (2015)
- 18) Maruyama H, Yamamiya T, Ozawa A, Yamazaki E and Suzuki N: Beer Brewed with Sake Yeast Strain Has Unique Sake-like Flavors, *J Am Soc Brew Chem*, 82, p.150-159 (2023)
- 19) 堤浩子：清酒酵母の香気生成の研究, 生物工学会誌, 89, p.717-719 (2011)