

奈良八重桜から分離した花酵母でつくった 爽やかな旨味の清酒

岩口 伸一*・鈴木 孝仁¹・松澤 一幸²・清水 浩美²
大橋 正孝²・都築 正男²・藤野 千代³

平成18年5月、奈良女子大学創立100周年にむけた「大学ブランドの創生」、さらには「奈良県地域社会への還元」をめざして、日本古来の奈良八重桜から有用酵母を分離し、それらを使用した発酵食品（酒類）の開発に向けた「奈良八重桜PJ（プロジェクト）」が発足した。桜から酒酵母を分離する試みは、これまでもいくつかの大学、県で試みられているが、そのほとんどがソメイヨシノに由来するものである。本プロジェクトでは日本古来の「ナラノヤエザクラ（奈良八重桜）」からの酒酵母の分離を行った。

ナラノヤエザクラ（奈良八重桜, *Prunus verecund* 'Antiqua'）は、八重桜の一種でオクヤマザクラが重弁化した変種であると考えられている。開花時期はソメイヨシノより遅い、5月初旬、蕾の頃は濃い紅色を、花の開花期は白に近い淡い紅色、そして散り際に花びらが濃い紅色へと変化する。平安時代中期の女流歌人 伊勢大輔は「いにしへの奈良の都の八重桜 けふ九重に にほひぬるかな」と和歌に詠んでいる。歌に詠まれ、書物、図録にも残されているナラノヤエザクラは、大正11年の春、東大寺知足院を訪れた三好博士によって種子が見いだされ、翌年3月7日に「知足院奈良八重桜」として国の天然記念物に指定された。ナラノヤエザクラは、奈良を代表する花として奈良県花、奈良市章・市花に用いられ、前身の奈良女子高等師範学校の校章、現在の国立大学法人奈良女子大学の学章に引き継がれており、奈良女子大学創立100周年に向けた記念商品の開発にふさわしい材料で、また地域性を活かせる素材である。

奈良は古くから酒と関わっており、およそ1300年前御神酒として酒を醸す記述が見いだされる。平城京では造酒司（みきのつかさ）と名付けられた役所が置かれ、祭事や外交に供する酒が造られていた。その後、都が京都に移った平安時代から室町時代にかけては、興福寺を中心とした寺院で盛んに酒造り（僧坊酒）が行われ、白米で仕込みを行う「諸白造り」、パスツールより300年も早く行われていた低温加熱殺菌「火入れ」、2回又は3回に分けて仕込みを行う「段仕込」、液化と発酵を同時に進める「並行複発酵方式」など現在の酒造りの根幹となる技術が生み出され、「南都諸白」というブランド品が確立していた。しかし、現在では全国的な日本酒の需要の落ち

込みと同様、奈良県でもその需要は年々減少しており、奈良県酒蔵からも日本酒のイメージを刷新するような「奈良県のオリジナル酵母」が長く待ち望まれていた。

ナラノヤエザクラの花から有用酵母分離

平成19年5月、大学構内のナラノヤエザクラの花からの有用酵母分離がスタートした。蜂蜜様芳香のする野生酵母株（NY2）の分離に成功したが、この年には日本酒醸造に使用される *Saccharomyces cerevisiae* は得られなかった。平成20年4月～5月には、奈良女子大学と奈良県工業技術センターとで、大学構内のみならず、奈良公園管理事務所の許可を得て奈良公園でも採取を行った（奈良女子大学は、計12ヶ所において、5日に分けてナラノヤエザクラの花を滅菌チューブ330本に採取し、奈良県工業技術センターは、計6カ所において、約560個の花を採取した。）。採取した花についてはそれぞれの機関で野生酵母の分離を行った。

花には細菌、酵母、カビといったさまざまな微生物が多く生息している。その中から *S. cerevisiae* を分離できるように、キイロコウジカビで糖化された麴汁を分離用培地として利用した。麴汁にはキイロコウジカビが産生するある種の抗菌物質が含まれており、*Aureobasidium* 属などの他の菌の増殖を阻止することができる。さらに、乳酸の添加によりpHを低くし（pH 3.0～3.5）、抗生物質（クロラムフェニコール）の添加により、細菌類の増殖を阻止した。また、アルコール発酵に適した菌株を得るために、集積培養（増菌法）ではアルコールを3～5%添加し、酒造に適した酵母が生き残るようにした。酵母増殖、ガス発生認められたものについては培養を繰り返えし、菌株を選別し、DNA塩基配列（D1/D2領域）から種の推定を行った。*Candida* 属、*Metschnikowia* 属酵母、*Torulaspora delbrueckii* などの花酵母が27株分離されたが、その中に目的とした *S. cerevisiae* が1株（B17）含まれていた。

DNA塩基配列から *S. cerevisiae* と推定されたB17株は、生化学的な同定法（糖資化性試験：API-32C）からも *S. cerevisiae* であることが確認された。次にパルスフィールドゲル電気泳動法により、B17株と *S. cerevisiae* の実験室

* 著者紹介 奈良女子大学理学部生物科学科（准教授） E-mail: iwaguchi@cc.nara-wu.ac.jp

¹ 奈良女子大学理学部生物科学科、² 奈良県工業技術センター食品・毛皮革技術チーム、³ 奈良女子大学社会連携センター

株 (X2180, YPH149), 協会7号, 9号株の染色体電気泳動核型を比較した。2000kb以下の染色体DNAバンドを分離できる条件で, B17株では13本の染色体DNAバンドが認められた。実験室株や協会酵母の染色体XIと染色体(V+VIII)に相当する染色体DNAバンドはB17株では認められず, XIとV+VIIIの間の位置に複数の染色体DNAを含むと考えられるバンドが見られた。染色体電気泳動核型から, B17株は実験室株, 協会酵母と異なる菌株であると判断された。胞子形成培地において胞子形成を誘導したところ, *S. cerevisiae*に特有な四分子からなる子嚢胞子を確認した。以上のことから, 我々の分離したB17株は新規な*S. cerevisiae*株であることが明らかとなった。

野生酵母には同種の他の菌株を殺すキラー因子を放出する株が知られている。現在, 多くの蔵元で使用されている協会酵母はキラー因子に対して感受性を示すため, 分離された菌株がキラー特性を持たないことを確認することは実際の醸造現場への提供を考える上で, 非常に重要である。この点について確認したところ, 協会7号株はB17株と混合培養しても生育阻止域は認められず, B17株は協会酵母に対してキラー性がないことが確認された。

ナラノヤエザクラから分離した *S. cerevisiae* 株を使用した日本酒醸造

B17株を使用することでどのような日本酒が醸造できるのかを確かめるために, 平成20年10月, 奈良県工業技術センターに依頼し, アルファ化米, 乾燥麹を使った三段仕込みによる試験醸造(総米10kg)を行った。できあがった清酒は, アルコール濃度15.2%(v/v), 日本酒度マイナス37.1, 酸度4.1, アミノ酸度1.4, さらに, リンゴ酸(76.8 mg/100ml), クエン酸(18.6 mg/100ml), コハク酸(88.0 mg/100ml)などの有機酸が協会酵母に比べ, 相対的に多く含まれていた(奈良県工業技術センター 研究報告 No.35, 2009)。試験醸造した日本酒につ

いて, 奈良女子大学(学生, 職員), 奈良県職員, 酒造関係者による試飲を実施したところ, 「甘みはあるが, 酸味がしっかりとあり, フルーティーな味わいをもつワイン風味」と好評価を得た。なお, B17株は特許微生物寄託センターへ委託し(受託番号: NITE P-684), この菌株を用いた清酒醸造に関する特許の共同出願を奈良女子大学と奈良県とで行った(特2009-004951)。

この結果をうけて, 平成20年12月には(株)今西清兵衛商店(清酒・春鹿醸造元)での総米2トンのタンク仕込み醸造のための「酒母」造りが開始された。蔵人による入念な管理の下, 1月から本仕込みが始まり, 2月5日に搾りが実施され, 清酒「奈良の八重桜」が完成した。3月9日には奈良ホテルにおいて「奈良八重桜PJ(プロジェクト)成果発表会」としてプレス発表を行い, 多くの新聞, テレビで取り上げられた。そして, 平成21年5月1日には, 本学創立百周年記念日に発売日をそろえて大学生協, 蔵元, 百貨店などで発売が開始され, 5月2日の大学創立100周年を祝う会において披露することができた。清酒「奈良の八重桜」は, 今まで日本酒を飲んだことのない女子学生, 女性にも好評で, これまでの日本酒と趣の異なる, 爽やかなワイン風味のものと評価され, 予想以上の反響を得ている。

ナラノヤエザクラの花から分離した*S. cerevisiae*を使用した奈良女子大学100周年記念の清酒「奈良の八重桜」は, 産官学の協力のもと, 多くの方々に支えられ商品化にこぎつけることができた。平成22年(2010年), 奈良県では平城遷都1300年祭が催されるが, 清酒「奈良の八重桜」が奈良県の特産品としても育つことを期待したい。今後はこの酵母のもつ高有機酸生成のメカニズムについて研究を進め, 性状について詳しく検討していきたい。

本研究は「奈良八重桜PJ(プロジェクト)」のメンバー(奈良女子大学, 奈良県工業技術センター, 株式会社今西清兵衛商店, 奈良県商工労働部)をはじめ, 多くの方のご協力をいただいた。なお, 本研究は平成20年度奈良女子大学プロジェクト経費(代表: 岩口伸一)のサポートを受けて実施された。



HPではカラーでご紹介しております。是非ご覧下さい。(編集部)