

## 白神山地からの酵母の分離と利用

(弘前大学農学生命科学研究科) 殿内 暁夫\*・森山裕理子

青森県と秋田県の県境に位置する白神山地（約13万ha）は、東アジア最大規模の原生的なブナ林を抱えていることが評価され、1993年にその一部（16,971 ha）がユネスコの世界自然遺産に登録された。世界自然遺産への登録以降、白神山地に豊富に賦存する生物資源に関して動植物の生態や保護を中心とした研究が盛んになされているが、利用の面からの研究、特に微生物の利用に関する研究は残念ながらきわめて少ないのが現状である。

白神山地の微生物の利用に関しては、秋田県総合食品研究センターにおいて白神山地から分離した酵母や乳酸菌の研究がなされており、有名な「白神こだま酵母」<sup>1)</sup>も同センターにおいて実用化されている。しかし、青森県側での微生物利用研究は皆無といっても過言ではなかった。

筆者らの所属する弘前大学には、2003年に設立された研究グループ「白神研究会」と、2010年に大学附属研究所として設置された「白神自然環境研究所」があり、両組織において除々にではあるが利用面からの研究も行われるようになってきた。筆者らは2011年から白神山地の土壌や樹木に関係した微生物に関する研究を行っており、本稿ではその研究の一部である「白神山地から酵母の分離と利用」について紹介する。

### 白神山地からの酵母の分離

本項でいう酵母とは発酵パンや酒造に用いられる子囊菌門の *Saccharomyces cerevisiae* のことを指す。白神山地から酵母を分離するにあたっては主として植物性基質を分離源とした。すなわち、木本・草本植物の花および実、樹木の樹皮、分解過程にある落葉（以下リターという）、腐朽材などである。*S. cerevisiae* を選択的に分離することが可能な培地は存在しないことから、当初はYeast Nitrogen Base (Difco) をもとに基質を2%グルコースとし、細菌の増殖を抑えるために4%のエタノールと各種抗生物質を添加した培地で分離を試みた。しかし、雑酵母（主として *Candida*, *Galactomyces*, *Metschnikowia*, *Pichia* に属する酵母）の増殖を抑えることができず、目的とする *S. cerevisiae* の分離には至らなかった。そこで、これらの雑酵母の増殖を可能な限り抑えるために既報を参照し<sup>2)</sup>、7.6%のエタノールを含み基質としてスクロースまたはラフィノースを用いた培地を集積培地として設計した。本培地を用いることで、雑酵母の増殖

は *Zygosaccharomyces fermentati* か *Schizosaccharomyces japonicus* のほぼ2種に抑えられた。集積培養液からの酵母の分離にはプロモクレゾールグリーンを含む Wallerstein Nutrient (WLN) 平板培地を用いた。集積培養液をWLN平板培地に画線し、増殖してきたコロニーの中で緑色を呈するものは高い頻度で *S. cerevisiae* 由来のコロニーであった。

500以上の試料から2015年5月末日の時点で分離にまで至ったのは19株であるが、うち3株は呼吸欠損株であり実用には適さないものであった。表1に分離源別に株数を示す。草本・木本を問わず花や実からの酵母の分離には成功しなかった。一方で、広葉樹のリターからは比較的よく分離され、その中でももっとも高い頻度で分離されたのがミズナラのリター（6/19）からであった。酵母とコナラ属 (*Quercus*) との関連性は既報において示唆されており<sup>2)</sup>、我々の結果もそれを支持するものであった。

現在、ゲノム上に存在する複数のSNP (single nucleotide polymorphism) 領域<sup>5)</sup>を用いた分子系統解析を進めているが、白神山地から分離された酵母は、清酒酵母・ワイン酵母や、これまでに果樹園・二次林・原生林などから分離された野生の酵母とは異なる系統にあり、白神山地において独自に分化した系統群を形成する

表1. 白神山地から分離した酵母とその分離源

	分離源	分離株数
	ブナ	1
	ミズナラ	6
	コシアブラ	1
	オノエヤナギ	1
リター	ハウチワカエデ	3
	カツラ	1
	オオヤマザクラ	1
	バッコヤナギ	1
	タニウツギ	1
樹皮	ミズナラ	1
	オノエヤナギ	1
	ショウジョウバエ*	1

\*白神山地内にエサとしてバナナを設置し、誘引されたショウジョウバエを分離源とした。

\*著者連絡先 E-mail: symbio@hirosaki-u.ac.jp



図1. 弘前大学白神酵母を用いて醸造・販売されている製品。ミズナラ樹皮から分離されたNo. 65株を一次発酵用酵母に用いて製造されたカネショウ株式会社のりんご酢(左)。同社の従来品よりもすっきりとして飲みやすく爽やかな特徴を示す。弘前市のりんご公園に農家が設立したシードル工房で製造されるKimoriのシードル(右)醸造にはブナのリターから分離されたNo. 9株が用いられている。

という興味深い解析結果を得ている。

### 白神山地から分離した酵母の利用と普及

筆者らが白神山地から分離した酵母にはそれぞれ個性がある。たとえばブナのリターから分離されたNo. 9株は低温での発酵力がきわめて強いという特徴をもつ。また、ミズナラの樹皮から分離されたNo. 65株を製パンに用いると、風味豊かで食感も良好なパンが焼きあがる。

2012年から県内企業数社(食酢・酒類醸造業・製菓企業)と分離酵母の実用化に向けての共同研究を開始し、2013年には産官学連携組織である「ひろさき産官学連携フォーラム」内に「白神酵母研究会」を設立した<sup>3)</sup>。白神酵母研究会では県内企業を対象とし、研究報告とPRを兼ねた年2回のセミナーを継続して開催している。

2013年にはカネショウ株式会社において、りんご酢醸造工程の一次発酵(アルコール発酵)にNo. 65株が使用された「りんご酢」が製造販売されている(図1-左)。カネショウでは大半のりんご酢製品の一次発酵用酵母としてNo. 65株を用いている。2014年にはNo. 9株で発酵したシードルの販売が開始された(図1-右)。2015年6月現在、筆者らの提供した酵母が商品化に結びついたのはここで紹介した2例であるが、この間、白神酵母研究会において白神から分離した酵母を「弘前大学白神酵母」として商標登録し<sup>4)</sup>、また、加えて酵母と白神山地をイメージしたロゴ(図2)を作成してPRに用いることで普及促進を図っている。

### 弘前大学白神酵母を用いた清酒醸造

筆者らが現在目指しているのは弘前大学白神酵母(以下弘大白神酵母)による清酒醸造である。2014年から、青森県産業技術センター弘前地域研究所、青森県内の大



## 弘前大学 白神酵母

図2. 弘前大学白神酵母ロゴマーク。緑色は白神山地の新緑をイメージし、白抜きの酵母の形で白神酵母の「白」を示すようにデザインされている。

手酒造メーカーである六花酒造および八戸酒造と共同で弘大白神酵母を用いた清酒開発を試みている。弘大白神酵母の中では比較的アルコール生産能力が高く、低温発酵能力が既存の協会酵母よりも高いNo. 9株(ブナのリターから分離)を用いて試験醸造したところ、甘めでアルコール度数が低く、清酒と謳わなければそれなりに面白いものが仕上がった。ただし、弘大白神酵母は既存の協会酵母に比べるとアルコール生産量や酢酸イソアミルやカプロン酸エチルなどの香気成分生産性が劣ることに加えて、発酵の途中で胞子形成が起こることがあるため発酵管理が難しく、一定の品質を保った酒を醸造できるまでには至っていない。また、原料の米や麴の香りが残留しているため、お世辞にも洗練されているとはいえない。これらのことは、酒造業者が自然界から分離した酵母を清酒酵母として用いることを躊躇させる要因の一つでもある。

筆者らは、青森県オリジナルの清酒酵母(まほろば華・吟・醇)との掛け合わせや、変異導入などの方法により、弘大白神酵母から吟醸香生産能が高く、かつ性質の安定した酒造適性酵母の育種を試みており、将来的には原料(米・麴・酵母・水)のすべてを青森県産とした清酒を醸造し、「白神ブランド」を冠して製品化することを目指している。

### 文 献

- 1) 特許第3995183号
- 2) Sniegowski, P. D. *et al.*: *FEMS Yeast Res.*, 1299 (2002).
- 3) 白神酵母研究会: <http://www.cjr.hirosaki-u.ac.jp/hirosaki/study/>
- 4) 商標登録第5739997号「弘前大学白神酵母」
- 5) Wang, Q. M. *et al.*: *Mol. Ecol.*, 21, 5404 (2012).