

富山湾海洋深層水から単離した酵母の発酵特性

Isolation of Yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) from Toyama Bay Deep-Sea Water and Their Fermentation Characteristics

瀬 智之・加藤肇一・中川秀幸

Tomoyuki SE, Tadahito KATO and Hideyuki NAKAGAWA

Abstract

Twenty-six strains of yeasts were isolated from ten tons of Toyama bay deep-sea water and were used in sake brewing tests on a small scale. Three strains showed high alcoholic fermentation ability. Two of them could be used for production of sake and bread. These strains showed a difference in bread fermentation ability after frozen storage of the doughs including the strains. The color of these strains by TTC staining was pink. The froth forming in the sake mash was not observed. Trehalose and melezitose were fermented like by typical bread yeast.

Key Words: Deep-sea water, Fermentation, Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, Baking

要 旨

富山湾海洋深層水からフィルターを使用して酵母26株を分離し、アルコール発酵能力の高い3株（15-1, 1/26-3, 3/7）を得た。その中で2株（15-1, 1/26-3）を使用した清酒は、それぞれ酸味とアルコールが調和した酒質で、まろやかにして切れが良い味わいであった。得られた3株は、TTC染色、糖の資化性および遺伝子の相同性より *Saccharomyces cerevisiae* であり、清酒もろみ中で高泡を形成しなかったことから泡なしタイプの清酒酵母であると判定した。また、1/26-3株および15-1株は市販パン酵母と同様、トレハロースとメレチトースを資化した。パン焼成試験では、1/26-3株および15-1株を使用したパンの膨らみが3/7株のものより良好であった。パン生地を冷凍保存すると、その発酵能力は株により差があった。1/26-3株は市販パン酵母より冷凍耐性があり、パン生地の冷凍保存に適していることが示唆された。

キーワード：海洋深層水、酵母、清酒醸造、発酵、製パン

1. 緒 言

海洋深層水は、表層水に比べて水温が低く、硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩などの無機栄養塩類に富んでいて、粒状および溶存有機炭素濃度が低いため、物理・化学的および微生物学的に水質が安定しており、藻類の天然培養水、温度差発電、水産育種や食品分野などに利用してきた（高橋, 1991; 藤田・

高橋, 2006; 伊藤ら, 2006)。

こうした中で、海水から有益な酵母が見つかっていることから（小玉, 1999; 柳田ら, 2002; 任ら, 2004），我々は海洋深層水中にも有益な酵母が存在すると考え（野村ら, 2010），富山湾の海洋深層水から2種類のフィルターを使用して酵母の分離を行った。その結果、26株を分離し、アルコール発酵能力が高い3株を得た。そこで、この3株につい

て清酒小仕込試験およびパン焼成試験を行うとともに、生理学的性質を含めた醸造特性を調べ、うち2株については清酒酵母およびパン酵母として十分に利用可能であることが示唆されたので報告する。

2. 方 法

2.1 酵母の分離

富山県農林水産総合技術センター水産研究所の海洋深層水取水設備で、孔径 3.0 μm ポリエスチルワインドカートリッジフィルター (ADVANTEC TCW-3-EPS) を使用して海洋深層水 1,000 L を濾過後、フィルターを 10 回交換し、合計 10,000 L 分の濾過を行った。そのフィルターを殺菌水 2 L が入った超音波洗浄機に入れて洗浄後、殺菌水を孔径 0.8 μm のメンブレンフィルター (ADVANTEC A080A047A) で濾過した。濾過に使用したメンブレンフィルターを、5 % エタノールおよび 50 mg/L クロラムフェニコール入り YM 液体培地 (0.5 % ペプトン、0.3 % 酵母エキス、0.3 % 麦芽糖、1 % グルコース) 20 mL (50 mL 容遠沈管使用、合計 10 本) に入れ、28°C、7 日間培養した。培養後、菌体の集積の認められた培養液を YM 平板培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) に希釀して植菌し、28°C、3 日間培養した。出現したコロニーを数回希釀して平板培地に接種し、シングルコロニーを分離した。

2.2 スクリーニング 1 回目

1 g の乾燥麹米入り麹汁培地 5 mL (50 mg/L クロラムフェニコール入り) に上記菌体を植菌し、15°C、3 週間発酵させた。培養液のアルコール濃度をガスクロマトグラフィーで調べた。ガスクロマトグラフィーの測定は、ガスクロマトグラフシステム GC-8A (株島津製作所製) とキャピラリーカラム 0.25 mm × 60 m を用いて昇温プログラム (充填剤 PEG6000、キャリアガス N₂、ガス流速 30 mL/分、カラム温度 120°C、水素炎イオン化検出器) で行った。5 % 以上のアルコール濃度が認められた培養液から、YM 平板培地 (50 mg/L クロラムフェニコー

ル入り) に植菌し、28°C、3 日間培養後、シングルコロニーを分離した。

2.3 スクリーニング 2 回目

1 g の乾燥麹米入り麹汁培地 5 mL (50 mg/L クロラムフェニコール入り) に、上記コロニーから各 5 株を植菌し、15°C、3 週間培養後、培養液のアルコール濃度をガスクロマトグラフィーで調べた。

2.4 小仕込試験 1 回目

市販コーヒーピン (1 L 容) を使用し、市販 α 米 (精米歩合 70 %) および市販乾燥麹 (精米歩合 70 %) の総米 200 g の小仕込試験を行った。酒母には汲水 1 L 当たり 0.5 mL の乳酸を添加し、YM 培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) で前培養した各酵母菌体を接種した。仕込温度は 15°C 一定とした。

2.5 小仕込試験 2 回目

市販の容量 5 L の果実酒ビンを使用し、市販 α 米 (精米歩合 60 %) および市販麹米 (精米歩合 60 %) の総米 1 kg の小仕込試験を行った。酒母には汲水 1 L 当たり 0.5 mL の乳酸を添加し、YM 培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) で前培養した各酵母菌体を接種した。仕込温度は 15°C 一定とした。

2.6 一般成分分析

第四回改正国税庁所定分析法注解に従って行った (注解編集委員会編 1993)。具体的には、アルコール分はガスクロマトグラフ分析法 (島津製作所 GC-14B のパックドカラム (信和加工 PEG6000, SHIN-CARBON A60/80) 昇温分析), 酸度およびアミノ酸度は指示滴定法, 日本酒度は浮標を用いて度数を読む方法で行った。

2.7 香気成分分析

仕込んだ清酒 1 mL をヘッドスペース法 (吉沢, 1973) により香気成分を分析した。すなわち、バイアル内で 50°C に加熱した後、ヘッドスペースオートサンプラー HP7694 (HEWLETT PACKARD 製)

を使用し、充填剤に DB-WAX (J & W Scientific) 0.25 mmI.D. × 30 m を用い、ヘッドスペースガスクロマトグラムシステム 5890 series II (HEWLETT PACKARD 製) で分析した。キャリアガス He の流速は 1 mL/min, カラム温度は 70°C, 検出器は水素炎イオン化検出器、検出温度は 150°C, インジェクション温度は 150°C とした。内部標準には、4-メチル-2-ペントオール 100 ppm とカプロン酸メチル 100 ppm を用いた。

2.8 18SrRNA 遺伝子配列による酵母の同定

各酵母を 1.5 mL の YM 培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) に植菌後、28°C で二晩静置培養し、培養液体から Gen とるくん™ (タカラバイオ) を用いてゲノム DNA を調製した。ユニバーサルプライマーセット P1 (ATCTGGTTGATCCTGCCAGT) および NS8 (TCCGCAGGTTCACCTACGGA) を使用して PCR 増幅を行い、約 1.8 kb の 18SrRNA 遺伝子断片の塩基配列を Dye Terminator 法で Open Gene DNA Sequencing System (SIEMENS 製) を使用して決定し、BLAST 検索を行った (Suzuki and Nakase, 1999)。

2.9 糖類発酵性および資化性

資化性は、Yeast Nitrogen Base (Difco) を基本培地に、炭素源を最終濃度 0.5% になるように添加した。発酵性は、Yeast Nitrogen Base (Difco) に、ダーラム管入り小試験管に最終濃度 2% になるように添加した。生育の判定は、炭素源無添加培地を対照とし培養温度は 28°C とした。さらに、酵母様真菌同定キット ID32C api (BIOMERIEUX) を用いて、31 種類の糖類についてアルコール発酵能力の高い 3 株の資化能をプロトコールに従って判定した。

2.10 ビタミン欠損培地上での増殖の有無

硫安を窒素源としたクエン酸およびクエン酸カリウムを除去したビタミンフリー培地 (グルコース 20 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0 g, KH_2PO_4 0.55 g, KCl 0.425 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.125 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg/L) を調製し、

YM 液体培地で前培養した菌体を滅菌生理食塩水で 2 回洗浄後、 $8 \times 10^3 \text{ cfu/mL}$ となるように接種し、25°C で増殖の有無を観察した (中田, 1985)。

2.11 KNO_3 の資化性

Yeast Carbon Base (Difco) を用い、 KNO_3 を 0.078 %, 寒天 2 % とした寒天培地上で行った。対照として 0.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加培地および窒素無添加培地を用い、洗浄菌体を接種し、28°C で増殖の有無を観察した。

2.12 TTC 染色性

清酒製造技術に従って行った (秋山, 1979)。具体的にはペプトン、酵母エキスなどを含む寒天培地上で酵母を生育させ、コロニーが大きくなつたところへ 0.5% グルコースを含む 0.05% TTC (2,3,4-トリフェニルテトラゾリュームクロライド) 寒天液を流して重層すると酵母の種類により色調が異なる (TTC 培地 (日本醸造協会) を使用)。きょうかい酵母などは赤、野生酵母は桃色になる。

2.13 分離酵母のキラー特性

グルコース 2 %、酵母エキス 1 %、ポリペプトン 1 % の YPD 培地 90 mL と pH 4.5 の 1M クエン酸-リン酸緩衝液 10 mL を混合し、0.003% メチレンブルーと 2.5% 寒天を添加したものを用いた。この平板培地にきょうかい 7 号を白金耳で画線接種し、それと交叉するように各供試菌を白金耳で画線接種した後、25°C、2 日間培養し、キラー株であれば、その周囲できょうかい 7 号の生育が阻害又は死滅して青く染まることからキラー特性を判定した (大内・川島, 1974)。

2.14 清酒もろみでの高泡形成能

500 mL 容三角フラスコに米麹 35 g、蒸米 115 g、水 200 mL、乳酸 0.8 mL および 10 mL のボーメ 10° 麹汁培地で前培養した酵母を全量添加し、13°C で発酵を行い経時的に高泡形成を観察した。

2.15 分離酵母の塩濃度耐性

食塩 0, 4, 8, 12% を加えた YM 培地に植菌し, 28°Cで静置培養し生育を観察した。

生地を -20°C で所定時間 (24, 48, 72, 96, 120 時間) 保存したのち, ホームベーカリーで焼成し, パンの高さを測定した。

2.16 パン焼成試験

ドライイーストや圧搾酵母には乳化剤やビタミンなどの添加物が入っているので, 酵母の発酵能力を比較するために, 湿菌体を用いた。YM 培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) 10 mL に各供試株一白金耳を接種し, 28°Cで二晩静置培養した培養液 5 mL を 1 L 容三角フラスコ入り YM 培地 500 mL に植菌し, さらに 72 時間振とう培養した。この培養液を遠心分離し, 得られた菌体 (10 g) を 180 mL の水道水 (15°C) に懸濁した。各成分 (Table 7) を混ぜて市販のホームベーカリー (Panasonic SD-BM101) で焼成後, パンの高さを測定した。なお, 対照としてドライイースト顆粒 (saf-instant) を YM 平板培地 (50 mg/L クロラムフェニコール入り) に置き, 生えてきたコロニーから, 上記と同様の方法で得られた菌体 10 g を使用した。

2.17 冷凍保存後の発酵性試験

上記パン焼成試験と同様に遠心分離菌体を 180 mL の水道水 (15°C) に懸濁した。各成分 (Table 7) を混ぜて上記のホームベーカリーで調製したパン

3. 結 果

海洋深層水の一般生菌数は, 表層水の十分の一から百分の一 (清水ら, 2004) なので, 酵母の数も多くないと考えられたことから, 大量の海洋深層水を処理可能にするために, まず孔径 3.0 μm カートリッジフィルターで海洋深層水を濾過し, そのカートリッジフィルターにトラップされた酵母を次に孔径 0.8 μm のメンブレンフィルターで濾過する方法で, 富山湾の海洋深層水 10,000 L からスクリーニングを行った結果, 26 株を得たので, これらの株を 12 % 食塩 (塩事業センター) 入り YM 培地に植菌したところ, 全株生育速度は無添加に比べて遅いがコロニーを形成した。

次に, 26 株のアルコール発酵能力を調べたところ, 麹米入り麹汁培地で発酵させた液中のアルコール濃度は, No. 3, No. 15 および No. 26 では, それぞれ 5.2, 8.1, 7.4% であった (Fig. 1)。

残りの 23 株のアルコール濃度は, 1.2 から 2.8% であり, 酒造用には適さないと考えられた。上記のアルコール発酵の認められた 3 株を, YM 平板培地

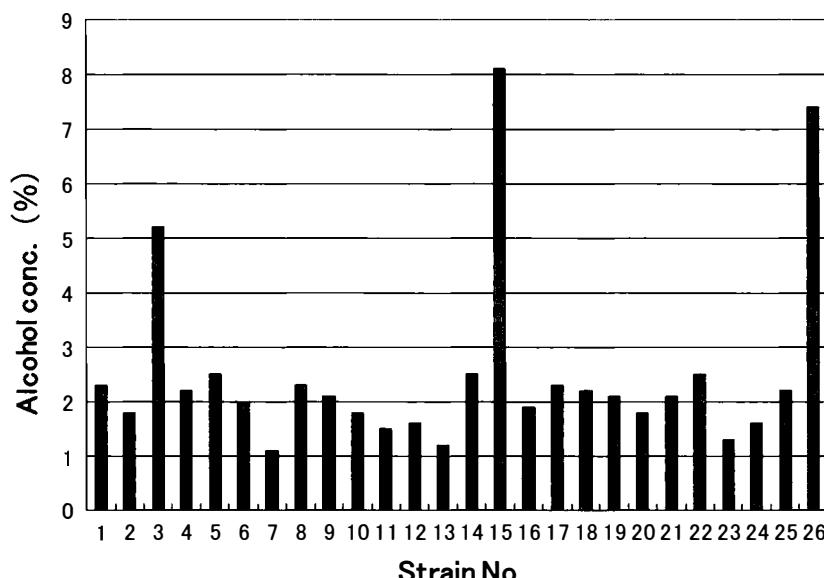


Fig. 1. Fermentation efficiency of yeasts isolated from deep-sea water (first group).

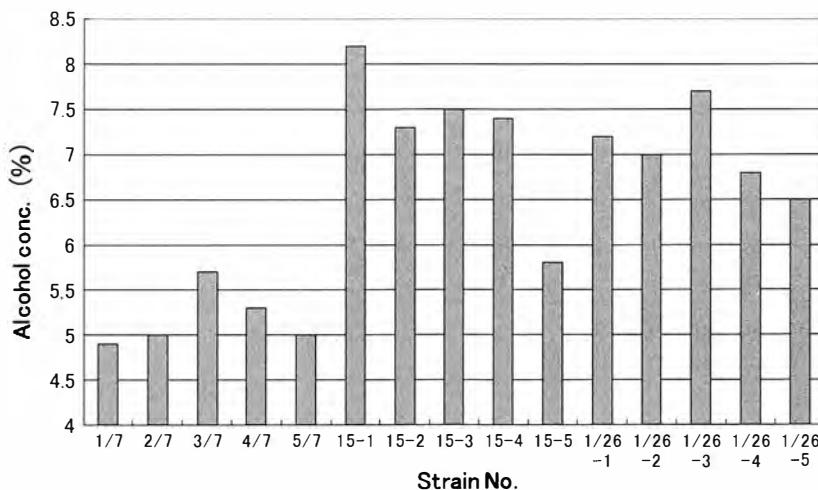
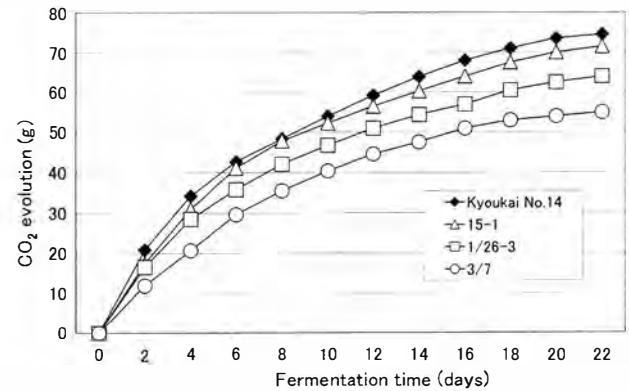


Fig. 2. Fermentation efficiency of yeasts isolated from deep-sea water (second group).

に画線培養し、各々から 5 コロニー合計 15 コロニーを 1 g の麹米入り麹汁 5 mL に植菌し、15°C、3 週間培養し、その培養液のアルコール濃度を調べた。その結果、No. 3 から分離した 5 株の中で一番アルコール濃度の高い株は 3/7、No. 15 では 15-1、No. 26 では 1/26-3 であった (Fig. 2)。

次に、小仕込試験を Table 1 に示した総米 200 g による配合で行った。本海洋深層水から分離した酵母 3 株と、対照株としてきょうかい 14 号を用いた小仕込試験によるもろみ経過は Fig. 3 のようになり、対照のきょうかい 14 号に比べ、いずれの酵母も、もろみ経過は緩慢であった。製成酒の一般成分を Table 2 に示した。きょうかい 14 号ではアルコール濃度が 16.0% に達したのに対して 15-1 株、1/26-3 株、3/7 株では、それぞれ 13.3、13.1、11.5% であった。

さらに規模を拡大して Table 3 に示した総米 1 kg による配合で試験醸造を行った。その結果、も

Fig. 3. Changes in CO₂ evolution of sake moromi mashes (total rice 200 g) during fermentation using yeasts from deep-sea water.

ろみ経過は Fig. 4 のようになり、15-1 株、1/26-3 株および対照のきょうかい 14 号に比べ、3/7 株の発酵速度は遅かった。製成酒の一般成分を Table 4 に示した。きょうかい 14 号のアルコール濃度は 17.9 % に達したのに対して 15-1 株、1/26-3 株は、それぞれ 16.5、16.0% と十分なアルコール量であったが

Table 1. Proportion of raw material for small scale *moromi* mash (total rice 200 g).

	Moto	1st	2nd	Total
Total rice (g)	10	60	130	200
α -rice (g)	0	40	100	140
Dried koji rice (g)	10	20	30	60
Water (ml)	45	75	200	320
Lactic acid (ml)	0.16		0.16	

α -rice: AA-70 (Tokushima seikiku Co., Ltd)

Dried koji rice: I-70 (Tokushima seikiku Co., Ltd)

Table 2. General characteristics of sake fermented using different yeast strains isolated from deep-sea water with 200 g of rice for 22 days.

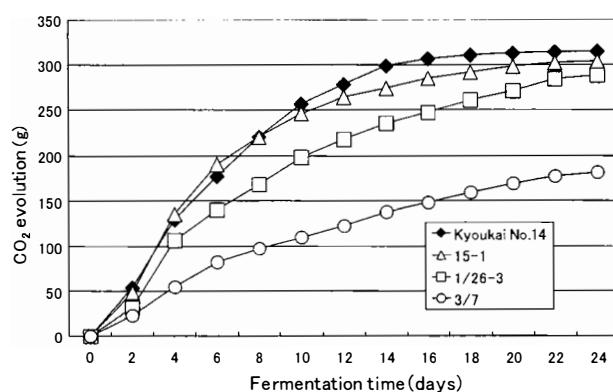
Strains/Isolates	Alcohol (%)	Sake meter	Acidity (ml)	Amino acidity (ml)
Kyoukai No. 14	16.0	-5	3.1	2.7
15-1	13.3	-18	2.9	2.6
1/26-3	13.1	-23	3.3	2.5
3/7	11.5	-30	3.4	2.7

Table 3. Proportion of raw material for small scale *moromi* mash (total rice 1 kg).

	Moto	1st	2nd	Total
Total rice (g)	60	270	670	1000
α -rice (g)	0	180	520	700
Dried koji rice (g)	60	90	150	300
Water (ml)	100	500	1000	1600
Lactic acid (ml)	0.8			0.8

 α -rice: AA-60 (Tokushima seikiku Co., Ltd)

Dried koji rice: I-60 (Tokushima seikiku Co., Ltd)

Fig. 4. Changes in CO_2 evolution of sake *moromi* mashes (total rice 1 kg) during fermentation using yeasts from deep-sea water.

3/7 株は 12.5% と低かった。また、海洋深層水酵母 3 株とともに、酸度はきょうかい 14 号に比べ高い傾向にあった。高級アルコールおよび香気成分を調べた結果、Table 5 に示したように、きょうかい 14 号より 1/26-3 株を使用した清酒のカプロン酸エチル濃度は 3.0 ppm と高く、*n*-プロピルアルコールやイソブチルアルコールの高級アルコールもそれぞれ 177 ppm, 89 ppm と高く、酸度が 3.4 mL (Table 4) で、「香り豊かで酸味がきいた酒質」であった。

15-1 株、1/26-3 株、3/7 株の生理学的性質を Table 6 に示した。これら 3 株の糖類の発酵性については、いずれの株もラクトース以外の糖類を発酵した。パン酵母はトレハロースを資化するものが多い（関口、2008）ことから資化性を調べたところ、3 株ともに資化した。また、15-1 および 1/26-3 株がラクトースだけ資化できなかつたのに対し、3/7 株はラクトースに加えて α -methyl-D-glucoside も資化できなかつた。硫安を窒素源としたビタミンフ

Table 4. General characteristics of sake fermented using different yeast strains isolated from deep-sea water with 1 kg of rice for 24 days.

Strains/Isolates	Alcohol meter (%)	Sake meter	Acidity (ml)	Amino acidity (ml)
Kyoukai No. 14	17.9	+5	2.3	2.9
15-1	16.5	-5	2.7	2.7
1/26-3	16.0	-10	3.4	2.1
3/7	12.5	-22	3.1	3.3

Table 5. Aroma components in sake fermented for 24 days using 1 kg of rice.

Aroma components (ppm)	Kyoukai No. 14	Strains		
		15-1	1/26-3	3/7
<i>n</i> -Propyl alcohol	78	55	177	24
i-Butyl alcohol	59	55	89	62
i-Amyl alcohol	176	154	223	162
ethyl caproate	1.7	0.8	3.0	0.0
i-Amyl acetate	1.0	1.4	2.0	2.0

リ一培地で増殖したが、 KNO_3 を窒素源としたビタミンフリー培地では増殖しなかつた。TTC 染色は 3 株ともピンクを呈した。さらに、3 株とも清酒もろみ中で高泡を形成しなかつた。発酵性酵母 3 株の 18SrRNA 遺伝子配列を決定し、BLAST でホモジマー検索を行ったところ、*S. cerevisiae* S288c と 3/7 株が 96% と 1/26 株および 15-1 株が 97% の相同性が認められた。その他の酵母での相同性は *Naumovozyma dairenensis* CBS421 と 80% と認められたが、糖の資化性の結果からトレハロース、マルトースおよびメレチトースの資化の有無で、上記 3 株は *S. cerevisiae* と判断した。

酵母の発酵力を比較するために、湿菌体を用いて Table 7 のパン材料の基本配合割合で焼成した結果、15-1 株、1/26-3 株では、パンはそれぞれ 13.6 cm, 13.5 cm の高さまで発酵した。一方、3/7 株では、11.5 cm の高さで、発酵力は他の 2 株に比べて弱かつた (Fig. 5)。

15-1 株、1/26-3 株を使用したパンの匂および味に關して、対照のドライイーストを使用したパンと遜色なかつた。また、15-1 株では、対照より淡色で薄い表皮と評価された。上記パン焼成試験で膨らみの

Table 6. Physiological characteristics of the three yeast strains isolated from deep-sea water.

Fermentation of		Assimilation of	
Glucose	+	Glucose	+
Galactose	+	Galactose	+
Sucrose	+	Sucrose	+
Maltose	+	Maltose	+
Lactose	-	Lactose	-
Trehalose	+	Trehalose	+
Raffinose	+	Raffinose	+
Melezitose	+	Melezitose	+
		α -Methyl-D-glucoside	+ (15-1, 1/26-3) - (3/7)
		KNO ₃	-

Growth in the vitamin-free medium used ammonium sulfate as a nitrogen source*: (+)

Growth of YM with 8% NaCl: (+)

Growth of YM with 12% NaCl: (+)

Staining by TTC: (pink)

Froth forming ability in the sake mash: (-)

15-1, 1/26-3 and 3/7 are yeast strains isolated from deep-sea water

Fermentation of sugar -: non fermentation, +: fermentation

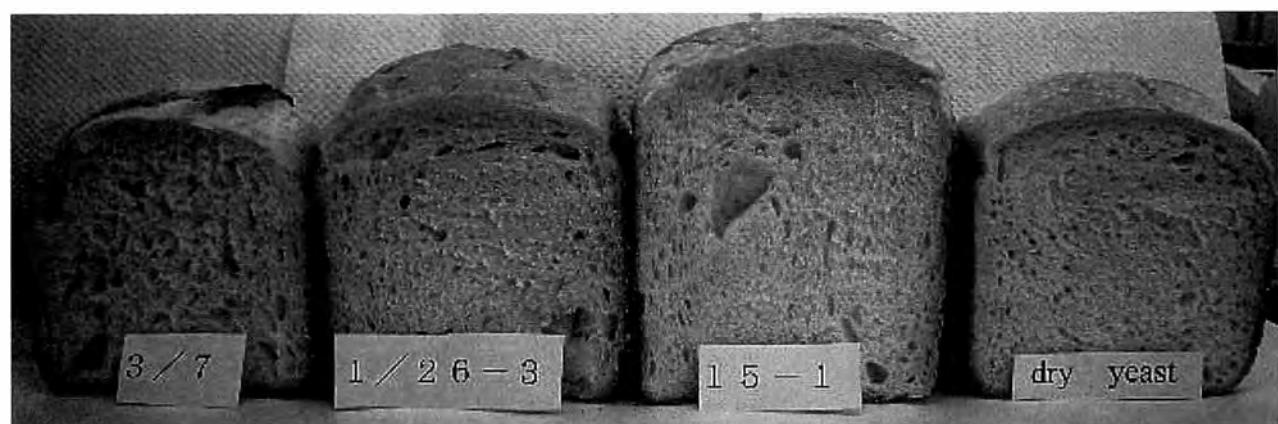
Assimilation of sugar and KNO₃ -: sterile, +: abundant

* The medium contains 20 g glucose, 2.0 g (NH₄)₂SO₄, 0.55 g KH₂PO₄, 0.425 g KCl, 0.125 g MgSO₄ · 7H₂O, 0.125 g CaCl₂ · 2H₂O, 0.125 g MgSO₄ · 7H₂O, 0.125 g CaCl₂ · 2H₂O, 2.5 mg FeCl₃ · 6H₂O, 2.5 mg MnSO₄ · 4H₂O in one liter of distilled water.

良いと認められた 15-1 株と 1/26-3 株について、パン生地にして -20°C における冷凍耐性試験を行ったところ、15-1 株では冷凍保存 24 時間で 14.7 cm とパンの膨らみが冷凍しない場合より増加し、その後、72 時間保存で 13.7 cm に低下するが以後 120 時間保存まで発酵力は維持された。一方、1/26-3 株では、48 時間で 14.4 cm の高さまで膨らみ、120 時間まで発酵力は維持された。市販のパン酵母で同様に試

Table 7. Mixing ratio of materials for bread making.

Flour for bread	250 g
Butter	10 g
Sugar	17 g
Salt	5 g
Tap water (15°C)	180 ml

Fig. 5. Cross sectional views of bread using dough fermented by each of three *Saccharomyces* strains isolated from deep-sea water and a commercial Baker's yeast strain (saf-instant).

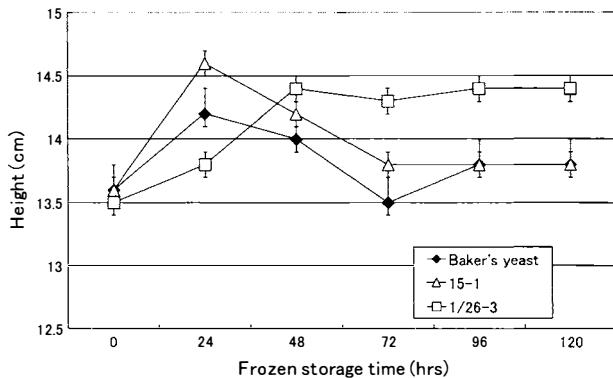


Fig. 6. Comparison of bread fermentation activity of two kinds of yeasts isolated from deep-sea water after frozen storage of dough. Each bar shows the standard deviation of three repetitions.

験を行ったところ、保存 24 時間で 14.2 cm まで膨らみが増加後、72 時間保存で 13.5 cm まで膨らみが減少したが、120 時間保存で 13.7 cm と微増した (Fig. 6)。これらの結果から、15-1 株は、市販パン酵母 (saf-instant) と同様な冷凍耐性を示すのに対して、1/26-3 株は、48 時間で最大の膨らみを示し以後も発酵力を維持することがわかった。

4. 考 察

小玉 (1999) は、海水 480 L から 14 C.F.U. の *Saccharomyces cerevisiae* complex が得られたと報告しているが、富山湾の海洋深層水 10,000 L から得られた酵母が 26 株と数が少なく、アルコール発酵性の認められた株は 3 株のみであったことから、本海洋深層水にはアルコール発酵性酵母は少ないと考えられた。また、これら 26 株を 12% 食塩入り YM 培地に植菌したところ、全株生育速度は無添加に比べて遅いが生育した結果から、耐塩性の低い陸上由来株ではなく海洋由来の可能性が高いと考えられた (小玉, 1999)。麹米入り麹汁培地で発酵させた予備スクリーニングで、液中にアルコール濃度が認められた 3 株を使用した総米 200 g の小仕込試験を実施した結果、3 株の日本酒度が -18 から -30 と低かった原因として、小スケールであるのでアルコール発酵が十分に進まなかった可能性が高いと考えられた。また、野生酵母は一般に酸度が高くなる傾向

がある (秋山, 1979) と言われているように、本海洋深層水から分離した 3 株の方がきょうかい 14 号に比べて酸度は高い値となった。総米 1 kg で仕込んだ清酒を醸造関係者 5 人に利き酒を行ったところ、1/26-3 および 15-1 株の酒質は酸味とアルコールが調和し、切れが良い味わいとの評価を得た。今後、県内醸造会社と協力して実用化していく予定である。

清酒酵母群の重要な点として、メレチトースを資化せず α -methyl-D-glucoside を資化すること、およびビタミンを要求せず、泡なし株を除き清酒もろみ中で高泡を形成することが言われている (中田, 1985)。3 株の中で、3/7 株は α -methyl-D-glucoside を資化しなかったが、1/26-3 株および 15-1 株はそれを資化したこと、3 株とも TTC 染色が赤ではなく野生酵母に多いとされるピンクであったこと、およびいずれも清酒もろみ中で高泡を形成しなかったことから、1/26-3 株および 15-1 株を野生の泡なしタイプの清酒酵母であると判定した。

アルコール発酵では炭酸ガスが同時に発生する。これを利用したのがパン作りで酵母の働きで炭酸ガスを生じさせ、小麦生地を膨張させる。1/26 株および 15-1 株には清酒発酵と生地を膨らます能力があると判断された。

さらに、1/26-3 株および 15-1 株は市販パン酵母と同様にトレハロースとメレチトースを資化した。また、これらの株は無糖パン生地製造でも重要なマルトースの資化能も持つことから、生地膨張試験をメスシリンド法 (日本イースト工業会) で行ったところ、1/26-3 株および 15-1 株は、無糖生地では 100 分経過でそれぞれ 204 mL, 179 mL、マルトースを糖源として加えた場合、100 分経過でそれぞれ 153 mL, 145 mL まで膨らんだこと (データ省略) から、無糖およびマルトースでも発酵が期待できると思われた。近年の製パン業界において、製パン工程の合理化および焼きたてパンの提供という生産者および消費者サイドの要求から、冷凍生地によるパンの製造が注目されているが、1/26-3 株は市販パン酵母より冷凍耐性があり、パン生地の冷凍保存に適していることが示唆された。

謝 辞

本研究を行うに当たり、海洋深層水施設を使用させていただいた富山県農林水産総合技術センター水産研究所の職員の方々に厚くお礼を申し上げます。

参考文献

- 秋山裕一 (1979) 清酒製造技術. 日本醸造協会, 東京, pp. 211-215.
- 藤田大介・高橋正征 (2006) 海洋深層水利用学. 成山堂, 東京, pp. 111-134.
- 伊藤慶明 (2006) 海洋深層水の多面的利用. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 105-119.
- 小玉健太郎 (1999) 海洋酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の分離と利用. 醸協, 94, 879-883.
- 中田久保・穂坂賢・坂井劭 (1985) 泡盛, 烧酎, 清酒酵母および他の *Saccharomyces cerevisiae* 間の差異. 発酵工学, 83, 509-515.
- 任恵峰・残間聰・浦野直人・遠藤英明・峯木茂・林哲仁 (2004) 東京湾海水から単離したピレン分解酵母. 70, 687-692.
- 野村道康・岡本良子・山田勝久・今田千秋・小林武志・濱田奈保子 (2010) 伊豆赤沢海洋深層水からの有用酵母の探索(1). 第14回海洋深層水利用研究会全国大会海洋深層水 2010 久米島大会講演要旨集,
- 35-36.
- 大内弘造・川島宏 (1974) 清酒酵母保存菌株における Killer および neutral strain の分布. 醸協, 69, 629-630.
- 関口幸恵・田中みち子・高橋淳・浅野行蔵 (2008) 北海道の植物からの *Saccharomyces cerevisiae* 属酵母の単離と製パン適性. 醸協, 103, 125-134.
- 清水美和子・香取幸治・磯部順子・嶋智子・木全恵子・田中大祐・刑部陽宅・南條暢聰・松永明信・綿引正則・永井美之 (2004) 富山湾の深度別生菌数調査. 第8回海洋深層水利用研究会全国大会海洋深層水 2004 入善大会講演要旨集, 15-16.
- Suzuki M. and Nakase T. (1999) A phylogenetic study of ubiquinone Q-8 species of the genera *Candida*, *Pichia*, and *Citeromyces* based on 18S ribosomal DNA sequence divergence. J. Gen. Appl. Microbiol., 45, 239-246.
- 高橋正征 (1991) 海にねむる海洋資源が地球を救う－海洋深層水の利用. あすなろ書房, 東京, pp. 106-112.
- 注解編集委員会編 (1993) 第四回改正国税庁所定分析法注解. 日本醸造協会, 東京, pp. 16-23.
- 柳田藤寿・小玉健太郎・篠原隆 (2002) 海洋酵母からの白ワイン醸造用酵母の選抜. 醸協, 97, 150-161.
- 吉沢淑 (1973) Head space 法による清酒香気成分の迅速定量法. 醸協, 68, 59-61.

(2012年1月19日受付; 2013年2月3日受理)