



清酒醪におけるイノシトールの成因と酵母の香気生成能およびエタノール耐性の促進に関する研究

古川, 恵司

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2005-03-11

(Date of Publication)

2010-07-12

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2798

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002798>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 3 1 8 】

氏 名・（本 籍） 古川 恵司 （兵庫県）

博士の専攻分野の名称 博士（農学）

学 位 記 番 号 博ろ第69号

学位授与の 要 件 学位規則第5条第2項該当

学位授与の 日 付 平成17年3月11日

【 学位論文題目 】

清酒醪におけるイノシトールの成因と酵母の香気生成能
およびエタノール耐性の促進に関する研究

審 査 委 員

主 査 教 授 青木 健次

教 授 清水 晃

教 授 杉本 幸裕

本論文では、清酒醸造において原料から供給され、また酵母によって生合成されるイノシトールが清酒の品質にどのような影響を与えるかを解明することを目的として研究を行い、次のような成果を得ることができた。

清酒醸造において使用される原料米は高度に搗精されるため、酵母へのイノシトールの供給源であり、米粒の外層部に存在するフィチンは除去された。その結果、清酒醪における酵母へのイノシトールの供給は制限され、酵母は増殖期にイノシトールが枯渇し、増殖量が制限された。また、醪工程初期には、酵母菌体内イノシトールレベルも低く抑えられた。しかし、その後、醪工程の進行とともに、菌体内イノシトールレベルは増大し、末期においては最大レベルに達した。このような醪における酵母菌体内イノシトールレベルの増大は、原料から供給されたイノシトールを酵母が利用するためではなく、酵母のイノシトール生合成によるものであった。(第1章)

次に、フィチンからイノシトールを生成する酵素について検討した。フィチンを添加した液体培地および醪において、酵母由来酸性ホスファターゼ (AP) はフィチンからのイノシトール生成能を有することがわかった。醪において、麴のプロテアーゼは蛋白質の分解を通じてフィチンを可溶化することによって、AP によるイノシトールの生成を促進する作用を有すると考察した。さらに、低リン酸下で誘導される酵母の AP 遺伝子のうち、主要 AP 遺伝子である *PHO5* および *PHO5-3* はフィチン分解に対する効果が低く、*PHO11* および *PHO12* が最もフィチンの分解に関与することを見いだした。(第2章)

醪において、イノシトールの酵母への供給制限が、清酒の品質に対してどのような影響を与えるかについて検討した。まず、高度精白米を使用すると、イノシトールの供給量が制限されることによって、製成酒のカブロン酸エチル含量が高くなることを示した。イノシトールを制限すると、醪上清のカブロン酸等の中鎖脂肪酸含量が増大した。したがって、イノシトールが制限された時、カブロン酸エチル生成量が增大するのは、その基質であるカブロン酸の生成が促進されるためであることがわかった。さらに、カブロン酸生成の促進は、イノシトールによる負の制御遺伝子である *OPI1* を介する脂肪酸合成遺伝子 *FAS1* の発現抑制が解除されるためであると結論した(第3章)。

高度精白米を使用すると、製成酒の酢酸イソアミルおよび E/A 比(酢酸イソアミル/イソアミル含量)が高くなることを見いだした。これはイノシトールの供給が制限されることによって、酢酸イソアミル生成酵素である AATase (alcohol acetyltransferase) 活性が増大するためであった。次に、イノシトールによって AATase 活性が低下する原因を検討し、以下の結果を得た。イノシ

トールが制限された醪の酵母菌体ホスファチジルイノシトール (PI) 含量は十分量のイノシトールが供給された醪に比べ、1/3 に低下した。酸性リン脂質であり、荷電を持つ PI は他のリン脂質に比べて AATase に吸着されやすいため、リン脂質中の不飽和脂肪酸による AATase 活性阻害効果が強いことがわかった。以上より、イノシトールを制限することによって AATase 活性が高くなるのは、酵母の PI 含量の低下によって、本酵素活性の阻害が緩和されるためであると考察した(第4章)。

酵母のエタノール耐性に与えるイノシトールの影響について検討した。イノシトールレベルの高い酵母は、同レベルの低い酵母に比べてエタノール存在下で死滅しにくいことがわかった。イノシトールレベルの高い酵母細胞においては、 H^+ -ATPase 活性が増大することによって、プロトン排出にもとづく膜バリア能が高まり、エタノールによるプロトンの細胞内への流入が抑制されるため、エタノール耐性が高くなることを示した。さらに、イノシトールレベルの高い酵母の H^+ -ATPase 活性が高くなるのは、PI 含量の増大によって H^+ -ATPase 活性を高めるのに有利な膜脂質環境が形成されるためであると考えられた。清酒醪において、酵母のイノシトール合成酵素は、菌体内イノシトールレベルを増大させることによってエタノール耐性を向上させ、エタノール収率の増大をもたらすと同時に、酵母の死滅による菌体内成分の漏出に伴う製成酒のアミノ酸の増大など、清酒の品質劣化を防止する役割を果たすと考察した(第5章)。

本研究において、高度精白米の使用は、醪工程初期にイノシトール制限環境を作り出すことによって、香り高い清酒の醸造を可能にすることを示した。また、醪工程末期においては、酵母がイノシトールを合成することによって、エタノール耐性を高め、雑味のない清酒の醸造を可能とする点において、清酒醸造は理にかなう洗練された製法であることを証明した。

氏名	古川 恵司		
論文 題目	清酒醪におけるイノシトールの成因と酵母の香気生成能およびエタノール耐性の促進に関する研究		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	青木 健次
	副 査	教授	清水 晃
	副 査	教授	杉本 幸裕
	副 査		印
	副 査		印
要 旨			
清酒は「米」を唯一の主原料とするわが国を代表する伝統的醸造産物である。清酒の醸造技術は、長い歴史の中で種々の改良が加えられた結果、清酒の収量や品質の向上をもたらした。しかし、今日においてもなお、清酒醸造における諸現象に関して未解明な点も多く残されており、技術的な改良の余地が残されている。 清酒醸造における特徴の1つは、高度に精白した原料米を用いることである。特に、グレードの高い清酒である本醸造酒および吟醸酒製造の場合には、精米歩合がそれぞれ70および60%以下であることが、清酒の製法品質表示基準で規定されている。清酒製造法は、米を原料とする酒類の中でも、原料米を高度に搗精する点において他に類をみないものであると言える。 清酒製造における搗精の目的は、米粒外層部に多く存在し、清酒の着色や雑味の原因となるタンパク質、脂質、灰分、ビタミンなどを除去することにあるが、フィチン(Inositol hexaphosphate)も米粒外層に存在するため、搗精により精米歩合が低下するとともに含量が激減する。その結果、フィチンが加水分解して生成するイノシトールの清酒醪への供給が制限されることになる。 本研究は、原料米を搗精することによって、清酒醪におけるイノシトールの酵母への供給量が制限される結果、酵母の増殖やアルコールに対する耐性、さらに清酒の品質にどのような影響を与えるかを解明することを目的とする。 本論文は、序論、1章から5章、総括により構成される。 序論では、清酒醸造技術の歴史と本研究の意義を中心に述べている。 第1章では、イノシトールの清酒醪への供給と酵母の増殖との関係を述べている。イノシトールの供給が制限されると、醪工程初期においては酵母の増殖は抑制され、酵母菌体内イノシトールレベルも低く抑えられることを見いだした。しかし、醪工程の進行とともに、菌体内イノシトールレベルは増大し、末期においては最大レベルに達したこのような酵母菌体内イノシトールレベルの増大は、酵母自身によるイノシトールの生合成によるものであることを示した。 第2章では、フィチンからイノシトールを生成する酵素反応について述べている。酵母由来酸性ホスファターゼ(AP)がこの反応に関与することを見いだした。また、低リン酸下で誘導される酵母のAP遺伝子のうち、主要AP遺伝子であるPHO5およびPHO5-3はフィチン分解に余り関与せず、PHO11およびPHO12がフィチンの分解に関与することを示した。			

氏名	古川 恵司
第3章では、イノシトールの酵母への供給制限と清酒の品質との関係を述べている。高度精白米を使用すると、イノシトールの供給量が制限されることによって、製成酒の香気成分であるカブロン酸エチルの含量が高くなることを示した。これはイノシトールを制限すると、醪上清のカブロン酸等の中鎖脂肪酸の生成が促進されるためであった。さらに、カブロン酸生成の促進は、イノシトールによる負の制御遺伝子 <i>OPI1</i> を介する脂肪酸合成遺伝子 <i>FAS1</i> の発現抑制が解除されるためであることを示した。 第4章では、製成酒のもうひとつの香気成分である酢酸イソアミル含量およびE/A比(酢酸イソアミル/イソアミル)について述べている。高度精白米を使用した場合、両者は増加することを見いだした。これはイノシトールの供給が制限されることによって、酢酸イソアミル生成酵素である alcohol acetyltransferase (AATase) 活性が増大するためであることを示した。次に、イノシトールの供給制限によって AATase 活性が増大する原因を検討した結果、イノシトールの制限が酵母菌体内ホスファチジルイノシトール (PI) 含量を低下させ、PI による AATase の阻害を抑制するためであると考察した。 第5章では、酵母のエタノール耐性に与えるイノシトールの影響について述べている。イノシトールレベルの高い酵母は、同レベルの低い酵母に比べてエタノール存在下で死滅しにくいことを見いだした。また、イノシトールレベルの高い酵母細胞においては、H⁺-ATPase 活性が増大し、エタノール耐性が高くなることを示した。さらに、イノシトール合成酵素遺伝子 <i>INO1</i> 破壊株を用いた実験結果を加え、菌体内イノシトールレベルの増大は、清酒酵母のエタノール耐性を向上させ、エタノール収率の増大をもたらすと同時に、酵母の死滅による菌体内成分の漏出に伴う製成酒のアミノ酸の増大など、清酒の品質劣化を防止する役割を果たすと考察した。 総括では、清酒醸造において高度精白米を使用することの効用を中心に論じている。すなわち、醪工程初期にイノシトール制限環境を作り出すことによって、香り高い清酒の醸造を可能にし、醪工程末期において、酵母自身がイノシトールの生合成を増大させることによって、エタノール耐性を高め、雑味のない清酒が製造されるため、高度精白米を使用する清酒醸造は理にかなった極めて洗練された製法であると結論している。また、本研究の応用について論じている。 本研究は、清酒醪における香気の生成と酵母のエタノール耐性に与えるイノシトールの影響について生化学、遺伝子レベルで研究したものであり、清酒製造における香気の生成要因および酵母のエタノール耐性機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者の古川恵司は博士(農学)の学位を得る資格があると認める。	
・特記事項 日本醸造協会平成16年度技術賞受賞 ・特許登録数 0 件 ・発表論文数 5 編	