

氏 名	山 城 敬 一
	やま しろう けい いち
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	工 博 第 279 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	工 学 研 究 科 工 業 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	清酒酵母の代謝に関する研究 — 醱酵型酵母の好気培養に関する基礎的研究およびその応用 —
論文調査委員	(主 査) 教 授 福 井 三 郎 教 授 倉 田 道 夫 教 授 吉 田 文 武

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は清酒醸造における高濃度エタノール生成機構の解明とそれに基づいたエタノール耐性の強い「醱酵型酵母」の好気培養法の確立およびその目的に有効な α -フェニルエチルアルコール (α -PEA) の清酒酵母に対する作用機構とその工業的応用に関して研究した成果をまとめたもので、緒言と2篇13章の本論および結言よりなっている。

緒言では本研究の背景と目的が簡潔に述べられている。

第1篇では好気培養酵母を用いて醱酵を行ない高濃度エタノールを生成せしめる条件を検討し、その醱酵型酵母培養への適用に関する研究をまとめている。

第1章では合成培地に米麴を補足し、糖を逐次補足しつつ低温で醱酵を行なうことにより好気培養酵母を用いても高濃度のエタノールが生成することを示し、この場合の各種要因の効果を解析している。

第2章および第3章ではかかる醱酵過程においてエタノール以外に脂肪酸などの醱酵阻害物が副生するが、酵母はそれらの物質に耐性をもつ性質に変化する一方、代謝的には呼吸型から醱酵型へ急速な適応がおこっていることを明らかにしている。

第4章では上記の耐性獲得が多くの阻害物を含む醱酵液上清を培地に添加して酵母を好気培養することによってもなされることから、醱酵過程において蓄積する阻害物存在下で酵母が増殖することにより耐性を獲得することを示し、さらに醱酵液上清に多く含まれる物質の1つとしてエタノールが有効であることを認めている。さらにこれらの結果に基づいて高濃度エタノール生成機構について論じている。

第5章ではエタノール添加好気培養酵母の呼吸能、醱酵能ならびに酵素活性を測定してこの酵母が醱酵型に近づいていることを示し、さらにこのような効果は醱酵液中に微量存在する α および β PEA 添加培養によってより強くあらわれ、とくに α -PEA 添加培養酵母は呼吸能を全く有しないことを明らかにしている。しかもこのような酵母菌体は醱酵阻害物に耐性をもつことから、この現象を応用すれば、エタノールおよび他の副生する醱酵阻害物に対する耐性の強い醱酵型酵母を好気培養により製造しようとする

目的に合致することを示している。

第2篇では清酒酵母に対する PEA の作用機構を α -PEA を中心に研究し、さらにその工業的応用に関する研究をまとめている。

第1章では PEA は酵母の増殖を阻害することを認め、また PEA 存在下で生育した酵母菌体 (α -PEA および β -PEA 酵母と仮称) の呼吸と醗酵に関して詳細に検討し、PEA はチトクローム c 酸化酵素合成系を阻害するために呼吸能が低下あるいは消失し、そのため解糖に必要な NAD を再生するためにアルコール脱水素酵素系が強化されてアルコール醗酵が促進されると論述している。そしてそのような調節機構が好気培養酵母を醗酵に用いる場合にも働くことを推論している。

第2章および第3章では α -PEA 酵母の一部はチトクローム c 酸化酵素の新生合成により可逆的に呼吸能を回復するが、半数以上は呼吸欠損株に変異していることを明らかにしている。またこの変異は細胞質性突然変異であることを示し、 α -PEA が酵母ミトコンドリア DNA に作用することを述べている。

第4章、第5章および第6章では α -PEA 効果と酵母培養条件について検討し、(1) L-アスパラギン酸や L-グルタミン酸などのアミノ酸との共存が α -PEA の呼吸系合成阻害に必要であるが、L- α -アラニンは L-アスパラギン酸の菌体へのとりこみを阻害することにより α -PEA 効果を妨げること、(2) α -PEA の呼吸系合成阻害には、いわゆる「グルコース効果」との共同作用が必要なこと、(3) 菌種により α -PEA に対する感受性が異なることを明らかにしている。しかるに呼吸系の阻害が起こるか否かにかかわらずに増殖の阻害が起こることから α -PEA の増殖阻害と呼吸阻害が互いに独立した作用によるものであり、増殖阻害が栄養物の菌体へのとりこみ阻害によることを代謝的および形態学的研究により論じている。さらに菌種による感受性の違いを利用して、有用清酒酵母の検索に α -PEA を利用できることを述べている。

第7章では、一過的に呼吸能を失った酵母が他の環境下で呼吸能を回復する現象(呼吸適応)をも、 α -PEA が抑制すること、とくに 0.3% 以上の高濃度では α -PEA 単独で呼吸適応を阻害することを明らかにしている。さらにその阻害様式が種々の点でクロラムフェニコールの作用様式と類似していることから、 α -PEA は呼吸系に関してはミトコンドリア蛋白合成系を特異的に阻害すると結論している。さらに呼吸適応時の核酸合成に及ぼす影響から α -PEA がミトコンドリア DNA に作用してそれに基づく蛋白合成を阻害すると推論している。また第2篇の結果を総括して PEA の作用機構を提唱している。

第8章では各種条件における α -PEA 酵母の醗酵試験を試み、醗酵阻害物存在下や腐造性乳酸菌共存下で醗酵能がすぐれていることを明らかにし、変調醪の救済に有効であることを示している。さらに α -PEA 酵母添加により実際の腐造醪救済に成功している。

結言では本研究の成果を簡潔にまとめ、また将来の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

清酒醸造においてはエタノール生成は世界に類を見ない最高22%という高濃度に達することが特徴として知られている。本論文では、この高濃度アルコールの生因を清酒酵母の生理の面から解明することを企て、醸造過程中にエタノール及び他の副生する阻害物質に対する耐性が獲得され、強い醗酵能が持続するようになることを示し、さらにかかる性質を持つ酵母菌体(「醗酵型酵母」と称する)を好気培養法で製

造し実用に供する研究をまとめたものである。

本研究の主要な内容を列記すれば次のようである。

(1) 米麴を添加した合成培地を清酒醸造の醪工程のモデルとして用い、ブドウ糖が消費されエタノールが生成するに従ってブドウ糖を補足しつつ低温で醱酵を行なわせることにより、好気培養酵母を用いた場合も18%以上のエタノール生成が可能であることを示した。

(2) かかる醱酵過程においてエタノール以外に種々のアルコール類や酪酸などの醱酵阻害物質が副生するが、好気培養酵母はこの経過中にこれらの阻害物質に耐性を持つようになり、代謝的には呼吸型から醱酵型へ変化することを明らかにした。

(3) 上述の阻害物質を添加した合成培地に清酒酵母を通気培養すれば得られた菌体は醱酵型であり阻害物質にたいする耐性を持つことを示した。阻害物質中もっとも作用の強いものとして α -フェニルエチルアルコール (α -PEA) が挙げられる。この物質を0.15%含有する培地に清酒酵母を好気培養した場合、増殖はかなり抑制され、得られた菌体の半数以上は呼吸欠損変異株となり、残部では一時的な呼吸能の失活と醱酵能の増大が認められた。

(4) α -PEA の清酒酵母に与える作用を生化学的及び細胞化学的に研究し、いくつかの知見を得た。即ち α -PEA による呼吸欠損変異株の誘発は、この薬剤がミトコンドリア DNA に不可逆的な変化を与えたことによって起こった細胞質変異であることを示す実験成績を得た。また α -PEA により一過的に呼吸能を失なった菌体の場合は、この薬剤によりミトコンドリアにおける蛋白合成、とくにチトクローム c 酸化酵素生成が抑制され、一方アルコール脱水素系は影響を受けず NAD 再生のために活性が増進されることを示す結果を得た。また α -PEA が酵母の細胞壁構造に変化を与えて菌体内への物質のとりこみを低下させる作用を持つことも認めた。

(5) α -PEA 含有培地に好気培養して得た「醱酵型酵母」を実地の腐造醪救済に用いて、成功をおさめた。

以上を要するに本論文は清酒醸造における高濃度アルコール生成の原因を、清酒酵母の生理面から説明する知見を得ると共に、その成果に基づいて醱酵阻害物質に耐性を持つ醱酵能の強い菌体を好気培養法で工業的に製造し変調醪の救済に応用することに成功した内容を持つものであり、学術上および實際上貢献するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。