

UV-LED を用いた清酒酵母の育種

1. 目的

UV-LED を用いて、特徴的な香味生成能を有する新規酵母を育種することを目的とした。

清酒の香味を決定する上で、酵母は重要な要素であり、特徴的な香味生成能を有する新規酵母が育種できれば、既存の清酒とは異なった香味を有する清酒を醸造することが可能となる。本研究では、UV-LED を用いて、清酒酵母に突然変異を誘発させることにより、特徴的な香味生成能を持ちつつ発酵力に優れた徳島県独自の清酒用酵母を開発することを目指す。

2. 方法

きょうかい901号酵母を、YPD液体培地で28℃2日間振盪培養後、集菌洗浄し、生理食塩水に懸濁し、約 1×10^7 cells/mlの菌懸濁液を調製した。この菌懸濁液8mlを直径60mmのシャーレに入れ、本研究により試作した微生物変異用UV-LED照射装置を用いて、主波長280nmの紫外線を、シャーレの液体表面から50mmの距離で、4分間照射した。紫外線照射後の菌懸濁液を12.5 μ Mセルレニン含有YPD寒天平板培地に塗布し、28℃で4日間培養後、生育した酵母コロニーを単離した。

得られた酵母について、アルコール脱水麴添加麴エキス培地による発酵試験および総米200gの清酒小仕込み試験を行い、培地上清、もろみおよび製成酒の日本酒度、酸度、アミノ酸度アルコール分および香气成分を測定した。

3. 結果および考察

主波長280nmのUV-LEDを光源とする紫外線照射時の変異処理条件を、酵母の生存率が40~50%となる照射距離50mm、照射時間4分とした。この条件でUV-LEDによる紫外線照射を行った結果、多数のセルレニン耐性株が得られた。

得られたセルレニン耐性株の内、1915株について、アルコール脱水麴添加麴エキス培地を用いて発酵試験を行い、炭酸ガス減少量、培地上清の酸度およびカプロン酸エチル含量を測定し、有機酸生成能、カプロン酸エチル生成能および発酵力に特徴を持つ161株を選抜した。表1に特に良好な結果が得られた変異株3株と親株であるきょうかい901号(K-901)との比較を示した。変異株は3株ともアルコール脱水麴添加麴エキス培地中で、カプロン酸エチルを親株の4倍以上生成し、炭酸ガス減少量は親株とほぼ同等であった。また、酸度は親株

と比較して3826株は0.2ml、4067株は0.4ml高く、3643株は0.2ml低かった。

表1. 麴エキス培地を用いた発酵試験結果

菌株	K-901	3643	3826	4067
炭酸ガス減少量(g)	5.1	5.0	5.1	4.9
酸度(ml)	3.0	2.8	3.2	3.4
香气成分(ppm)				
酢酸エチル	45.0	39.3	45.5	42.5
酢酸イソアミル	2.7	2.7	2.4	2.9
イソアミルアルコール	158	122	116	150
カプロン酸エチル	0.9	4.5	5.4	3.9

選抜した161株について総米200g規模の清酒小仕込み試験を行った。表2に特に良好な結果が得られた変異株3株と親株であるきょうかい901号との比較を示した。製成酒の分析結果について、カプロン酸エチルの生産量は、親株と比較して3826株は約12倍、4067株は約6倍、3643株は約5倍と高い値を示した。アルコール分がおよそ18%に達するまでのもろみ日数は、親株と比較して、4067株は1日短期化し、3643株と3826株は、やや長期化したものの、その差は1日であり、発酵力の大きな低下はみられなかった。

表2. 総米200g清酒小仕込み試験製成酒の分析結果

菌株	K-901	3643	3826	4067
もろみ日数(日)	28	29	29	27
炭酸ガス減少量(g)	58.7	58.6	60	60.6
アルコール(%)	18.2	18.3	18.0	18.1
日本酒度	0.9	0.4	1.3	2.0
酸度(ml)	2.3	2.0	2.3	2.4
アミノ酸度(ml)	1.1	1.1	1.1	1.0
香气成分(ppm)				
酢酸エチル	114	74	48	56
酢酸イソアミル	4.6	2.1	1.6	1.9
イソアミルアルコール	168	127	106	134
カプロン酸エチル	1.1	5.9	13.5	6.5

4. まとめ

清酒酵母に主波長280nmのUV-LEDを光源とする紫外線を照射することにより多数の変異株が得られた。得られた変異株から、カプロン酸エチル生成能や有機酸製成能に特徴を持ちつつ発酵力の高い3株を選抜した。