

UV-LEDを利用した微生物育種用機器の開発に関する調査研究

1. 目的

これまでの研究により、UV-LEDを酵母の育種に利用することで、既存の酵母とは異なった性質の酵母が育種できることが明らかとなった。そこで、UV-LEDを利用した微生物育種用機器開発の可能性を探るため、試作した微生物育種用機器に改良を加え複数の波長の紫外線を照射可能にし、それぞれの波長について、最適育種条件を検討するとともに、波長による育種酵母の性質を調べた。

2. 方法

酵母育種試験の親株にはきょうかい901号を用いた。YPD液体培地で28°C2日間培養した酵母培養液を、遠心分離にて集菌後、生理食塩水に懸濁し、約 2×10^7 cfu/mlの菌懸濁液を調整した。菌懸濁液8mlを直径60mmのシャーレに取り、330nm, 280nm, 270nm, 255nmの波長のUV-LEDを用いて50mmの距離から0.5~20分間紫外線を照射した。照射後の菌液をYPD寒天培地に塗布し、28°Cで3日間培養し、生菌数を求めた。同様にUV-LED照射後の菌液を遠心分離にて集菌し、12.5 μ Mセルレニンを含むYPD寒天培地に塗布し、28°Cで2~4日間培養後、生育したセルレニン耐性株を分離した。分離したセルレニン耐性株について、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成分を測定した。

3. 結果および考察

3-1. 微生物育種用機器の改良

新たなUV-LED光源として、主波長330nm, 280nm, 270nm, 255nmのLEDを用いた。電源は安価で一般的なACアダプターを利用し、基板内の電子回路で定電流制御に変換し、LEDを発光した。本研究で用いたLEDは一般的なLEDに比べ大電流タイプであるため、光量も大きいLEDが放つ熱量も高く、LED自体の熱量によってLED光量が低下する特性を持つ。そのため、専用の高放熱基板を作成し、UV光量の低下を防いだ。

3-2. 最適照射条件の検討

清酒酵母にそれぞれの波長の紫外線を照射し、酵母生菌数の経時変化を調べることで、各波長における最適照射時間の検討を行った(図1)。照射距離50mmで、酵母の生存率が40~50%となる時間、すなわち280nmは5分270nmは2分、255nmは1分を各波長の最適育種条件とした。330nmは120分間の連続照射でも清酒酵母に対する殺菌効果は確認できなかったため、30分間の照射で育種試験を行った。

の連続照射でも清酒酵母に対する殺菌効果は確認できなかったため、30分間の照射で育種試験を行った。

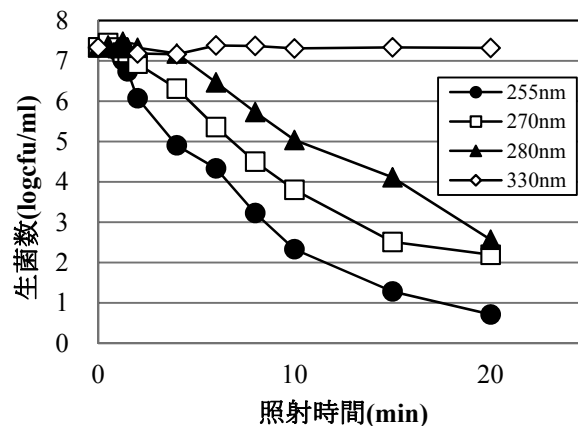


図1. UV-LEDによる紫外線照射後の酵母生菌数

3-3. 清酒酵母育種試験

最適条件で清酒酵母に各波長の紫外線を照射し、得られた変異酵母について、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により、酵母の性質を調べた。

特に良好な結果が得られた変異酵母の清酒小仕込み試験の結果を表1に示す。280nm, 270nm および330nmの紫外線照射時には、親株と比較してカプロン酸エチル(EtOCap)生成能が高まり、発酵力がほとんど低下していない清酒酵母が取得できた。一方、255nmの紫外線照射時には、親株と比較してカプロン酸エチル生成能が高まった酵母は取得できたが、当該酵母は発酵力が低下していた。

この結果によりUV-LEDの波長により変異酵母の性質が異なる可能性が示唆されたが、サンプル数が少ないため、確証を得るには至っていない。今後は、より詳細なデータを取得し、UV-LEDを利用した微生物育種用機器の開発に繋げていく。

表1. 清酒小仕込み試験製成酒の分析結果

菌株	K-901	4335	4538	4206	4487
UV-LED波長	(親株)	330nm	280nm	270nm	255nm
もろみ日数(日)	29	29	31	29	35
アルコール(%)	17.7	17.5	17.7	17.7	16.7
日本酒度	1.2	1.6	0.0	1.6	-8.2
酸度(ml)	2.4	2.0	2.1	1.9	3.0
アミノ酸度(ml)	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0
i-AmOAc(ppm)	3.4	2.0	1.9	2.1	2.5
i-AmOH(ppm)	178	149	149	161	134
EtOCap(ppm)	0.9	4.3	4.8	4.0	6.0