



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

酢酸エステル類を著量含有する清酒の製造に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岩瀬, 利徳 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2382

氏名(本籍)	岩瀬利徳(静岡県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第41号
学位授与年月日	平成7年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	酢酸エステル類を著量含有する清酒の製造に関する研究
審査委員	主査 静岡大学教授 山田雄三 副査 静岡大学教授 田原康孝 副査 岐阜大学教授 河合啓一 副査 静岡大学教授 岡部満康 副査 信州大学教授 寄藤高光

論文の内容の要旨

バナナ様の香りを呈する酢酸イソアミルは、とくに、清酒において、「吟醸香」と称され、その品質に大きな影響を与えている。本研究は、酢酸イソアミルを著量生成する微生物をスクリーニングし、酢酸イソアミルを増加させた清酒製造を検討したものである。

1) アミノ酸アナログを用いた酢酸エステル類を著量生成する清酒酵母の育種

清酒酵母のアミノ酸アナログ耐性株を育種した。F-215株は酢酸イソアミルおよびイソアミルアルコールを親株の約3倍量生成、ロイシンによる α -イソプロピールリンゴ酸シンターゼ活性のフィードバック阻害が、O-115株は酢酸イソブチルおよびイソブチルアルコールを親株の約3倍量生成、バリンによるアセトヒドロキシ酸シンターゼ活性のフィードバック阻害が、O-107株は酢酸活性アミルおよび活性アミルアルコールとを親株の約3倍量生成、および、イソロイシンによるフィードバック阻害が、それぞれ、解除されていた。

2) プロトプラスト融合法を用いた酢酸エステル類を著量生成する清酒酵母の育種

イソアミルアルコール、および、イソブチルアルコールを多く生成するワイン酵母 YM-39、および、酢酸エステルを多く生成する清酒酵母協会 701号株を親株とし、プロトプラスト融合を行った。酢酸エステル類が親株の約2倍量生成する KYM-5株および KYM-45株をえ、これらの融合株は、DNA 含量が親株の2倍であることより、4倍体と考えられた。

3) 著量の酢酸エステル類を生成する酵母の検索および各種培地での酢酸エステル類の生成

著量の酢酸エステル類を生成する菌株のスクリーニングで、*Williopsis beijerinckii* IFO 0941が、YDP 培地を用いることにより、100 ppm 以上の酢酸イソアミルを生成することを見出した。また、ロイシンやイソロイシンを培地中に添加することによって、約 150 ppm の酢酸イソアミルを生成した。一方、*Cladosporium cladosporioides* No. 9は 100 ppm 以上の酢酸イソアミル生成した。

4) *Williopsis beijerinckii* および *Cladosporium cladosporioides* における酢酸エステル類の生成と分解

Williopsis beijerinckii IFO 0941および *C. cladosporioides* No. 9 の菌体より、酢酸イソアミル生成に関与する酵素を精製した。両菌株の精製酵素は酢酸イソアミルを生成した。両酵素、ともに、アセチルコエンザイム A を唯一の基質にし、アシルコエンザイム A とは反応しなかったことより、アルコールアセチルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1.84) であつた。本酵素はイソアミルアルコールに高い反応性を示した。一方、生成した酢酸イソアミルは酢酸とイソアミルアルコールへ加水分解された。両菌株の精製酵素は、ともに、ジイソプロピルリンゴ酸、および、フェニルメタンスルフォニルフルオリドによる強い阻害、活性残基にセリン、および、エゼリンやネオスチグミンによる阻害のないことより、カルボキシエステラーゼ (EC 3.1.1.1) であつた。本酵素は酢酸イソアミル、および、酢酸イソブチルに高い反応性を示した。

5) 酢酸エステル類を著量含有する清酒の醸造

アミノ酸アナログ耐性株、および、融合株を用いる清酒が醸造された。アミノ酸アナログ耐性株による清酒は、酢酸イソアミル、酢酸イソブチル、および、酢酸活性アミルを、それぞれ、約 2 倍量含有し、製品の官能検査では、香りの点で優れていた。プロトプラスト融合株による清酒は、酢酸イソアミルを約 2 倍量含有し、香りの点で華やか、味ですっきり、爽やかなの評価がくだされた。一方、*W. beijerinckii* IFO 0941を用いる 4 段階添加醸造法による清酒は、酢酸イソアミル、および、酢酸 β -フェネチルエチルを、それぞれ、約 2 倍量含有し、官能評価では、香りは高く、華やかであつたが、その中に「セメダイン臭」の存在が僅かに指摘され、評価が分かれた。

審 査 結 果 の 要 旨

バナナ様の香りを呈する酢酸イソアミルは、とくに、清酒において、「吟醸香」と称され、その品質に大きな影響を与えている。本研究は、酢酸イソアミルを著量生成する微生物をスクリーニングし、酢酸イソアミルを増加させた清酒製造を検討したものである。

1) アミノ酸アナログを用いた酢酸エステル類を著量生成する清酒酵母の育種

清酒酵母のアミノ酸アナログ耐性株を育種した。F-215 株は酢酸イソアミルおよびイソアミルアルコールを親株の約 3 倍量生成、ロイシンによる α -イソプロピルリンゴ酸シンターゼ活性のフィードバック阻害が、O-115 株は酢酸イソブチルおよびイソブチルアルコールを親株の約 3 倍量生成、バリンによるアセトヒドロキシ酸シンターゼ活性のフィードバック阻害が、O-107 株は酢酸活性アミルおよび活性アミルアルコールとを親株の約 3

倍量生成、および、イソロイシンによるフィードバック阻害が、それぞれ、解除されていた。

2) プロトプラスト融合法を用いた酢酸エステル類を著量生成する清酒酵母の育種

イソアミルアルコール、および、イソブチルアルコールを多く生成するワイン酵母 YM-39、および、酢酸エステルを多く生成する清酒酵母協会 701号株を親株とし、プロトプラスト融合を行った。酢酸エステル類が親株の約2倍量生成する KYM-5株およびKYM-45株をえ、これらの融合株は、DNA 含量が親株の2倍であることより、4倍体と考えられた。

3) 著量の酢酸エステル類を生成する酵母の検索および各種培地での酢酸エステル類の生成

著量の酢酸エステル類を生成する菌株のスクリーニングで、Williopsis beijerinckii IFO 0941が、YDP 培地を用いることにより、100 ppm 以上の酢酸イソアミルを生成することを見出した。また、ロイシンやイソロイシンを培地中に添加することによって、約 150 ppm の酢酸イソアミルを生成した。一方、Cladosporium cladosporioides No. 9は 100 ppm 以上の酢酸イソアミル生成した。

4) Williopsis beijerinckii および Cladosporium cladosporioides における酢酸エステル類の生成と分解

Williopsis beijerinckii IFO 0941および C. cladosporioides No. 9 の菌体より、酢酸イソアミル生成に関与する酵素を精製した。両菌株の精製酵素は酢酸イソアミルを生成した。両酵素、ともに、アセチルコエンザイム Aを唯一の基質にし、アシルコエンザイム Aとは反応しなかったことより、アルコールアセチルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1.84)であった。本酵素はイソアミルアルコールに高い反応性を示した。一方、生成した酢酸イソアミルは酢酸とイソアミルアルコールへ加水分解された。両菌株の精製酵素は、ともに、ジイソプロピルリンゴ酸、および、フェニルメタンスルフォニルフルオリドによる強い阻害、活性残基にセリン、および、エゼリンやネオスチグミンによる阻害のないことより、カルボキシエステラーゼ (EC 3.1.1.1)であった。本酵素は酢酸イソアミル、および、酢酸イソブチルに高い反応性を示した。

5) 酢酸エステル類を著量含有する清酒の醸造

アミノ酸アナログ耐性株、および、融合株を用いる清酒が醸造された。アミノ酸アナログ耐性株による清酒は、酢酸イソアミル、酢酸イソブチル、および、酢酸活性アミルを、それぞれ、約2倍量含有し、製品の官能検査では、香りの点で優れていた。プロトプラスト融合株による清酒は、酢酸イソアミルを約2倍量含有し、香りの点で華やか、味ですっきり、爽やかなの評価がくださった。一方、W. beijerinckii IFO 0941を用いる4段添加醸造法による清酒は、酢酸イソアミル、および、酢酸 β -フェネチルエチルを、それぞれ、約2倍量含有し、官能評価では、香りは高く、華やかであったが、その中に「セメダイン臭」の存在が僅かに指摘され、評価が分かれた。

本学位論文は、以上のように、全5部より構成され、生産現場の研究として高い価値をもっている。博士論文として、充分評価されるものであり、本論文にたいして、合格の判定がくださった。