

酵母の分離とその性質

大高 八重子 森 美羽

1. 要旨

発酵食品や花、果実から酵母の分離を試みた。発酵食品（味噌、塩辛）や花（バラ、サツキなど）、果実（ブドウ、桑の実など）から酵母を分離した。分離酵母について、耐糖性、耐塩性、耐アルコール性の試験を行った。分離したいずれの酵母も、高いスクロース濃度では初期の増殖はゆっくりしていたが、最終的な増殖量は高濃度ほど高かった。また、分離した酵母の中で機能的に特徴のある酵母が分離できた。多くの酵母は、耐塩性は示さなかったが、塩辛から分離した酵母は、1 mol/L の NaCl でも増殖した。

2. 結論

酵母は、果物の皮の表面、花の蜜や花卉、歯の表面、海水、虫の体内などいたるところに存在しているといわれている。古代から、パンやワイン、ビール、日本でも味噌、醤油などの様々な発酵食品に利用されてきた。最近では、化石燃料からの二酸化炭素排出抑制のため、サトウキビやトウモロコシを材料にしたバイオマス・エタノールの生産に利用されている。

アルコール発酵を行う酵母としては、出芽酵母をはじめとして数種類の菌種が知られているが、同じ種類の酵母でも、株の違いにより性質が異なるといわれている。酵母は生息する環境により、性質の異なる株があるのではないかと、その環境に合った機能を持つ株が存在しているのではないかと考えられる。

3. 目的

酵母が生育する環境条件の異なるものから、また、季節的に身近に手に入れやすいものから酵母を分離を試みる。耐糖性、耐塩性、耐アルコール性などの試験を通して、特徴のある酵母の株を分離し、その利用を考える。

4. 方法

(1)酵母用の基本培地（YPD 培地）

酵母エキス 1%，ペプトン 2%，グルコース 2%，（固形培地の場合は、寒天 1.5%を添加）

(2)酵母の分離

- ① 塩辛、味噌、ブドウ、バラ、サツキ、桑の実の各試料をグルコース溶液（10g/150mL）に浸し、密封した後、室温で数日間静置する。
- ② グルコースの培養液から、線画法により YPD 固形培地上で数日間、25℃で培養後、形成されたコロニーから各菌を単離した。

(3)分離酵母の耐性試験

各分離株を液体の基本培地で培養後、一定量をテスト培地に移し、数日間観察した。基本培地で培養したものを対照として、以下の各耐性試験用培地で培養した。いずれも 25℃で行った。

〈耐糖性試験〉

基本培地にスクロースを 10%，30%，50%となるように加えた培地

〈耐塩性試験〉

基本培地に NaCl を 0.5mol/L, 1.0mol/L となるように加えた培地

〈耐アルコール性試験〉

基本培地にエタノールを 10%，15%，20%となるように加えた培地

5. 結果

塩辛 2 種、味噌、ブドウ、バラ、サツキ、桑の実から 1 種ずつを分離した。塩辛からの 2 種類は、塩辛 A、塩辛 B として区別する。実験 I として、塩辛 A、塩辛 B、ブドウ、味噌についての耐性試験を、実験 II として、バラ、サツキ、桑の実についての耐性試験を行った。

実験 I : 塩辛・ブドウ・味噌からの酵母の耐性試験

左から塩辛 A の 1 本, 塩辛 B の 1 本, ブドウ 2 本, 味噌 2 本で 1・2・3・7 日目の様子である。

<耐糖性試験>

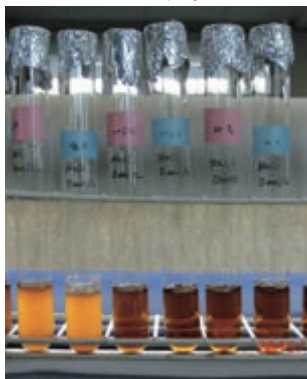
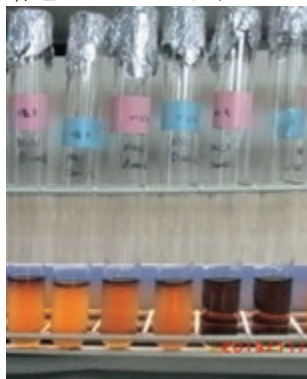
基本培地

1 日目

2 日目

3 日目

7 日目

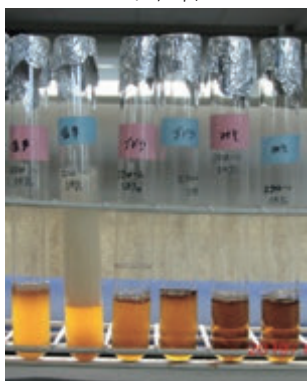
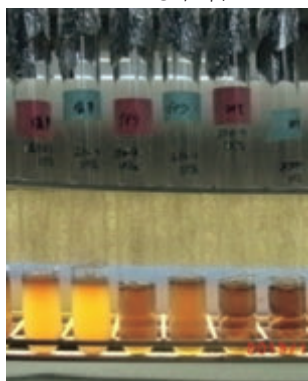
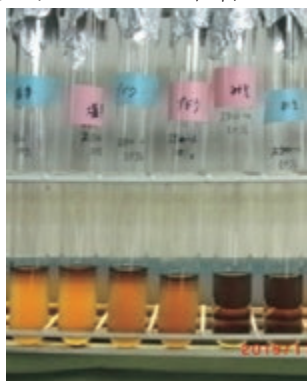


10%スクロース 1 日目

2 日目

3 日目

7 日目

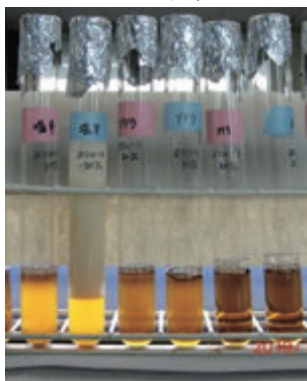


30%スクロース 1 日目

2 日目

3 日目

7 日目

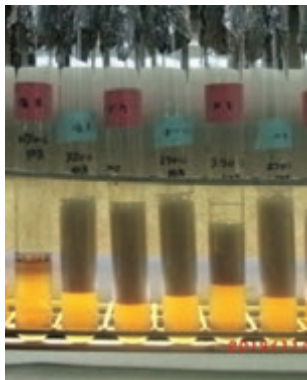
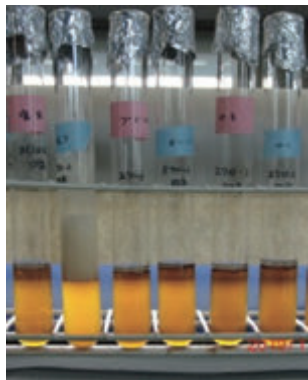
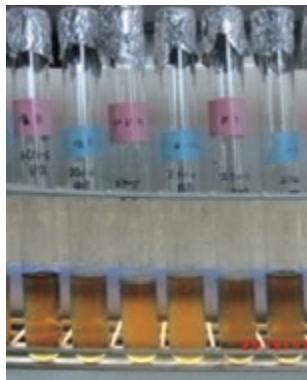
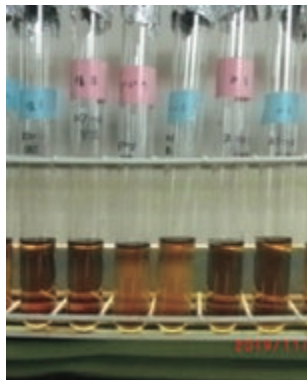


50%スクロース 1 日目

2 日目

3 日目

7 日目



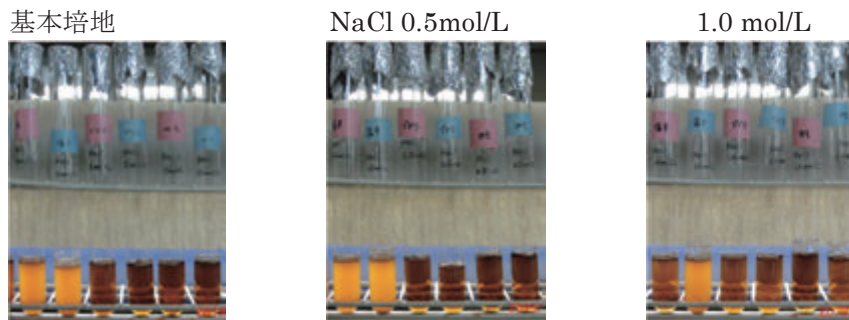
1~2 日目の初期の増殖速度は、10%スクロース>30%スクロース>50%スクロースの順に、濃度が低い方が最初は早く増殖するようだ。しかし、最終の増殖量（7 日目）は逆に、10%スクロース<30%スクロース<50%スクロースの順に、濃度が高い方が増殖量は大きかった。培養液の濁りや気体の発生量から観察できた。塩辛

A, B, ブドウ, 味噌の4種の中で、塩辛 B の酵母の増殖が最も著しい。なお、塩辛 A は他と異なり、濁りはあるが気体の発生がみられなかった。塩辛 A については後に考察する。7 日目の増殖量で比べると、ブドウと味噌からの酵母は、塩辛のものに比べ増殖が鈍く、味噌からの酵母は特に、高濃度のスクロースでないと増殖が悪かった。

<耐塩性試験>

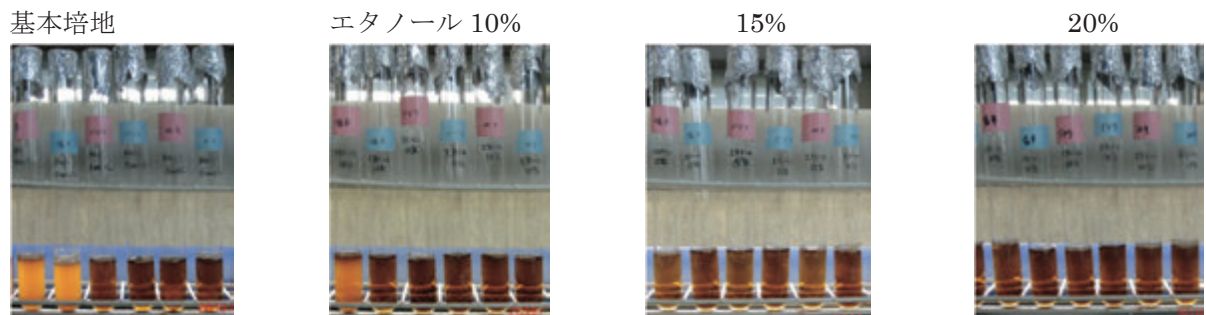
以下の実験結果は、差が最もわかる培養 7 日目の結果だけを掲載している。耐糖試験と同様に左から、塩辛 A の 1 本、塩辛 B の 1 本、ブドウ 2 本、味噌 2 本である。塩辛 A と B が、0.5 mol/L NaCl で増殖した。塩辛 B は 1.0 mol/L NaCl でも増殖が見られた。

ブドウと味噌の酵母は、耐糖性試験でも高濃度のスクロースがあれば増殖が見られることから、スクロース存在下であれば、耐塩性があるのかもしれない。いずれにせよ、塩辛 B の増殖量が最も著しく、耐塩性が高いと思われる。



<耐アルコール性試験>

耐糖試験と同様に左から、塩辛 A の 1 本、塩辛 B の 1 本、ブドウ 2 本、味噌 2 本であり、培養 7 日目の結果である。塩辛 A のみが、10%エタノールで増殖が見られたが、他の株では 10%以上では増殖しなかった。



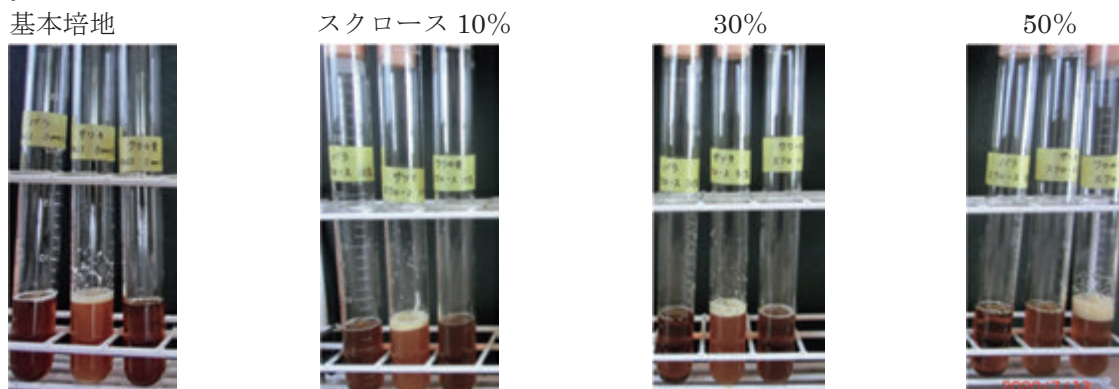
実験Ⅱ：バラ, サツキ, 桑の実からの酵母の耐性試験

左からバラ, サツキ, クワの実の順に並べてある。いずれの試験も 25℃培養 4 日目の結果である。

3つの酵母株とも、全般的に増殖が緩やかで、いずれの試験でも増殖の差が小さかった。

<耐糖性試験>

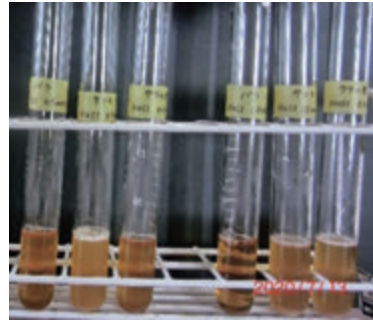
バラの酵母がやや増殖が良いが、いずれも増殖は緩やかであった。スクロース濃度により違いは顕著ではなかった。



<耐塩性試験>

いずれの NaCl 濃度でもある程度の増殖が見られたが、1.0mol/L は 0.5mol/L よりは増殖が抑えられた。全体に増殖が悪く、差は小さかった。

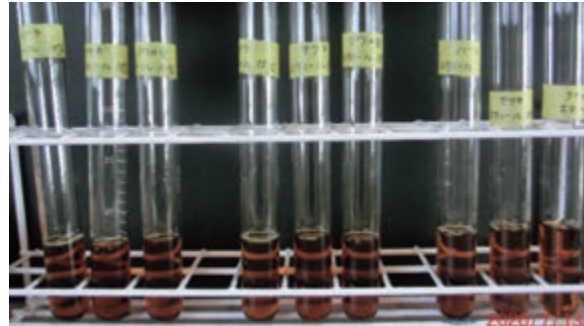
基本培地 NaCl 0.5mol/L 1.0mol/L



<耐アルコール性試験>

いずれの株も 10%以上のエタノール存在下では、増殖しない。

基本培地 エタノール 10% 15% 20%



6. 考察

今回、多くの試料から酵母を分離できた。分離した株の正確な同定はまだ行えていないが、寒天培地上でのコロニーの形状や顕微鏡像、静置培養でのガスの発生状況から、塩辛 A を除いては酵母と考えられるが、今後、株ごとに詳しく調べる必要がある。今はスクリーニングの段階で、分離株ごとの詳しい増殖の様子は調べられていないが、分離した株の中では、塩辛 B の酵母が最も増殖がよく、耐糖性や耐塩性が高い。塩辛という塩分濃度の高い食品からの酵母であることを考えると、生育条件に合った機能を持った酵母であると考えられる。

耐アルコール性試験では、塩辛 A を除いて 10%以上での耐性がなかった。ワインや酒の醸造では 10%を超えて醸造が続くことより、多くの酵母が 10%以上の耐性があると思いい濃度設定をしたが、もう少し低い濃度範囲での試験を行わなければならなかった。塩辛 A は耐糖性テストで気体の発生がなかったこと、顕微鏡像で酵母に比べて小さいこと、コロニーの形状などから酵母ではなく、細菌の可能性が高いが、10%アルコールに耐性である点が興味深い。この菌株は保存して、さらにその性質を調べることにした。

実験 I の分離酵母では、培地のスクロース濃度が高いほど、初期の増殖が遅くなるのは、培地の浸透圧が大きくなることで増殖が抑制されているのではないかと考えられる。しかし、最終的には高濃度のスクロースで発酵による気体発生が盛んにおこった。基本培地には 2%のグルコースを含むが、7 日目では濁りがうすくなっていることなどから、長い培養期間では基本培地では糖の量が不十分でないかと考えられる。味噌酵母のように、低スクロース濃度では、生育が悪いものもあり、株によって糖の要求において性質の違いがあるようだ。砂糖漬けにして雑菌の増殖を抑え食品を保存するように、50%スクロースという高濃度では、他の微生物は高い浸透圧で生育しづらい環境であるが、いずれの酵母も発酵を行い生育することから、酵母は一般に、浸透圧に対抗して増殖するしくみを持つと考えられる。

実験 II の酵母株は、いずれも増殖が緩やかで、スクロース高濃度でも種類による違いは顕著ではなかった。耐塩性でもある程度の耐性はあると思われるが増殖に大きな差はなかった。

実験 I の分離酵母、特に塩辛 B は、その生育環境から考えて、耐塩性が高く、他に比べ増殖も良い。その性質を生かして、例えば、塩分濃度が高い環境でのバイオマス・エタノールの生産などに利用できるのではないかと考えられる。物質生産能力が高い海の植物プランクトン、あるいは海藻を利用したバイオマス・エタノールの生産などといったことも考えられる。さらに、詳しく調べてみたい。

7. 参考文献

- (1) 中島春紫. 日本の伝統 発酵の科学. 講談社. 2018. 261p., (ブルーバックス, B2044)
- (2) 瀬見井純. 自然界から分離した酵母の培養・保持方法の検討. あいち産業科学技術総合センター研究報告 2017. 2017. p.66-69.