

有用機能性酵母の探索と利用

鶴園 大* 富永 達矢* 仲島日出男* 横堀正敏*

Isolation of Yeasts for Practical Use

TSURUZONO Masaru*, TOMINAGA Tatsuya*, NAKAJIMA Hideo*, YOKOBORI Masatoshi*

抄録

標準的な YPD 培地のほかに、2 種の選択培地を用いて、県内の自然植物を主な対象とした有用機能性酵母の探索を行った。延べ 330 サンプル収集し、酵母を含むサンプルから、保存性、発酵性等の条件を満たした酵母を 18 株 得ることができた。さらに、その中の 12 株は、比較的高い発酵能を有した。

キーワード：発酵，酒造，製パン，酵母

1 はじめに

発酵食品産業である酒造や製パン業界は、安定的な生産能力を有した成熟産業といわれる。各社においては、さらなる生産性の向上により価格競争に対抗しつつ、新商品の開発により消費者の多様な嗜好への対応を進めることが、成熟した業界で生き残るための重要な課題となっている。

他社製品との差別化を図る方法の1つとして、製造に使用する酵母を改良することが考えられている。酵母は糖を含む原材料に加えらることで発酵を行い、アルコールの生成、炭酸ガスの放出により発酵食品を形成する。また、発酵過程において香気成分や有機酸を生産することから、製品の味や香りにも大きな影響を与える。そのため、酵母を改良することにより、消費者の多様な嗜好への対応が可能になることが期待されている。

現在、食品製造で使われている酵母の多くは、

長い歴史の中で改良が繰り返されてきた酵母である。これらの酵母は、安定的な生産に寄与する一方、多くの製造現場で使われていることから製品の画一化の一因ともされている。この現状の改善のために、各地で自然界からの酵母の探索が行われている^{1),2)}。本県においても、主に県内各地にある自然植物から、有用機能性酵母の探索を行った。

2 研究方法

2.1 採取・分離

酵母の採取・分離で用いる YPD 培地には、一般的な材料のほかに、カビや細菌の生育抑制のためにプロピオン酸ナトリウム 0.2 % 及び クロラムフェニコール 0.01 % をそれぞれ加えた。上記の YPD 培地をもとに、2 種類の選択培地を用意した。エタノール 5 % 含培地は、オートクレーブ後、放熱した YPD 培地にエタノールを 5 % となるように加えて調製した。グルコース 30 % 含培

* 北部研究所 生物工学部

表1 サンプル採取の対象

回	採取月	採取対象
1	3	ウメ
2	4	サクラ、ナノハナ
3	4	フジ、ボタン、ツツジ
4	6	ラベンダ、アヤメ、ショウブ
5	7	ハス、アジサイ、ラベンダ
各回		土壌、樹皮表面、表流水など

表2 各培地を用いたサンプルの結果

	YPD 寒天 培地	エタノール 5%含培地	グルコース 30%含培地
サンプル数	200	76	54
酵母様 コロニー生成	137	12	27
保存可能	15	6	11
発酵能を有し 膜形成が無い	4	1	3

地は、グルコース溶液とその他の材料を含む溶液とを別々にオートクレーブした後に混合して調製した。また、必要に応じて3種それぞれの培地に寒天を1.5~2%加え、同じ種類の寒天培地を調製した。

酵母の採取を行う際には、YPD 寒天培地、エタノール5%含YPD液体培地、グルコース30%含YPD液体培地を用意した。現地にて、対象となる分離源を培地に直接こすりつけたり、滅菌した綿棒を分離源に接触させて培地に移植することでサンプルを調製した。

各回のサンプリングにおいて、収集目的に応じて各種培地を用いた。多様な酵母の収集にYPD寒天培地を、エタノール耐性酵母の収集にエタノール5%含培地を、高糖耐性酵母の収集にグルコース30%含培地をそれぞれ用いた。

YPD寒天培地で作ったサンプルについては、25℃で2日間培養し、生じた酵母様コロニーを新たな培地に移植した。酵母以外にもカビ様の真菌類が混在して出現するので、完全に除去できるまでこの作業を繰り返した。

2種類の液体培地で作ったサンプルについては、25℃で1週間培養した。にごりが生じた培養液を、再び新しい液体培地に移植して1週間培養を行った。この結果、再びにごりが生じた培養液を、同じ種類の寒天培地に塗布して、コロニーを単離した。

カビの除去を終了した後、8℃で3か月ほど保存し、生存が確認された酵母について評価を行った。

2.2 評価

評価用のYPD10%培地は、採取・分離用の培地で用いた薬剤2種を加えず、グルコースを10%になるように加えて調整した。

発酵定性試験は、YPD培地2mlに菌体1白金耳を加えて25℃で2日間予備発酵させ、その培養液から100μlをとり、ダーラム管入りのYPD10%培地10mlに加えて、さらに2,3日培養した。ダーラム管内に気体の生成が認められた株を発酵能ありとした。

発酵定量試験は、上と同様に予備発酵させた培養液100μlを、YPD10%培地3mlに加えて2日間培養し、培地中のエタノール濃度を理研機器製アルコメイトにて測定した。

26S rDNA塩基配列の決定は、前報³⁾と同様に、Kurtzmanらの方法⁴⁾で行った。

3 結果及び考察

3.1 採取・分離

分離源は、県内の植物を主に対象とした。採取時期と対象を表1にまとめた。1回のサンプリングで寒天培地40サンプル、2種の液体培地をそれぞれ20サンプル程度を採取した。

その後、分離作業を行い、酵母様コロニーを選択した。その後の保存中に多くの酵母が死滅したが、安定性のある酵母を32サンプル得ることができた。各培地を用いて得られた酵母の内訳は、表2のとおりである。

3.2 評価

得られたサンプル中の各株について、本研究の

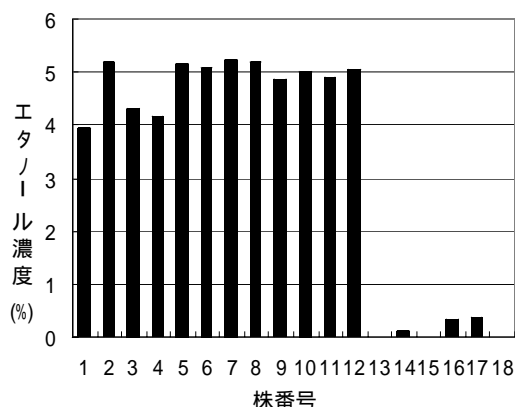


図1 発酵定量試験結果

対象とする業界で求められる発酵能を調べた。まず、発酵定性試験を行い、発酵能があり、かつ水面に膜を形成しないサンプルを8個選択した(表2)。各サンプルから条件を満たす18株を選び、株番号を付与し、発酵定量試験を行った(図1)。その結果、12株(株番号1~12)が、比較的高い発酵力を示すことを確認した。ただし、同じサンプル(分離源)から得られた酵母があるので、同じ株がいくつか含まれると考えられる。

発酵定量試験を行った株については、26S rDNA塩基配列の決定を行った。得られた配列をBLAST検索して、既知種の26S rDNA塩基配列と比較し、Kurtzmanらの報告⁴⁾を参考に種・属の同定を行った。その結果、発酵能が高い株番号1~12までの株は、いずれも*Saccharomyces*属であることが確認された。また、発酵能が低い株の中に、新種の可能性があるものが含まれていた。

4 まとめ

(1) 今回の調査により、高い発酵能を有する酵母の取得に成功した。今後これらの酵母が生産する有機酸や香り成分の分析を行い、実用可能性の検討を行う。

(2) 酒造、製パンには適さないが、新種の可能性のある酵母を取得することに成功した。未知の有用機能が存在する可能性も考えられるため、今後慎重に検討を行いたい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、客員研究員として御指導いただきました独立行政法人理化学研究所の鈴木基文前任研究員に感謝します。

参考文献

- 1) 柏木亨：桜の花から分離した酵母による清酒の商品化, 醸協, **97**, (2002) 2
- 2) 小玉健吉, 高橋源太郎：酵母, 冷凍パン生地, 乾燥パン酵母, 発酵食品, 含塩発酵食品及び発酵食品製造方法, 特願平 11-372313
- 3) 富永達矢, 奥沢洋平：分子生物学的手法を用いた新規酵母の開発, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **1**, (2003) 107
- 4) Kurtzman C.P. & Robnett C.J.: Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences, *Antonie van Leeuwenhoek*, **73**, (1998) 331