

# チーズ由来酵母の分離と性質について

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部 唐沢 夏騎

## はじめに

酵母は、最も古くから発酵食品に利用されてきた微生物の一つで、微生物の存在が知られる以前から酒類やパン製造等に用いられてきた。酵母の生息場所は多様性に富み、酵母は自然界では花・果実・植物の葉の表面などに広く生息している。本研究部ではザクロなど多くの果実から天然酵母を分離しその性質を調べる研究をおこなってきた。分離源対象を拡大し、動物由来として、乳製品(ナチュラルチーズ)から酵母を分離した。分離した酵母の性質を調べた。特に動物由来酵母と植物由来酵母の性質について注目した。

## 1. 乳製品(チーズ)酵母の分離

分離源: チーズ5種 (A,B,C,D,E)

A ルゴンゾーラドルチェ-イタリア製、B 熟成アリー-フランス、C スティルトン-イギリス製、D ダナブルー-デンマーク製、E カマンベール-国内産



YM 寒天培地 (組成)  
 グルコース 10 g  
 ペプトン 5 g  
 酵母エキス 3 g  
 麦芽エキス 3 g  
 蒸留水 1 L  
 寒天 17 g  
 pH 無調整

方法: 培養試験管に PBS (リン酸緩衝生理食塩水) を 9ml に分離源を各 1g 量り培養試験管の PBS に加え混濁した。シャーレに抗生物質希釈液 (0.1g/10ml) 100 $\mu$ l を入れ、60 $^{\circ}$ C以下の YM 寒天培地をシャーレに流し込みよく混ぜた。寒天表面に試料 100 $\mu$ l を滴下しコンラージュ棒で液滴を広げ塗抹した。30 $^{\circ}$ Cで3日間培養した(アネロバック嫌気システム)。

結果: 培養後得られた微生物コロニー (図1-Aチース培養) を生物顕微鏡観察 (図2-A培養コロニー) の結果、細胞の形状と大きさをから微生物を同定した (表1)。細菌はカタラーゼ試験を試み乳酸菌を特定した。

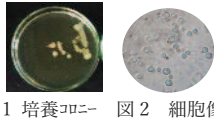


表1 チーズから分離した微生物の同定

| チーズNo.         | 微生物種類           | コロニーの形 | 細胞の形 | 細胞スケール ( $\mu$ m)<br>長径×短径 |
|----------------|-----------------|--------|------|----------------------------|
| A. ゴルゴンゾーラドルチェ | 酵母              | 円形     | 楕円形  | 5.0×4.3                    |
| B. 熟成アリー       | 乳酸菌<br>カタラーゼ 陰性 | 円形     | 桿菌   | 0.9×0.5                    |
| C. スティルトンズ     | 酵母              | 円形     | 円筒形  | 5.0×3.0                    |
| D. ダナブルー       | 細菌<br>カタラーゼ 陽性  | 不定形    | 桿菌   | 0.8×0.5                    |
| E. カマンベール      | 酵母              | 円形     | 紡錘形  | 4.5×1.8                    |

チーズ B、E からは酵母を分離できなかったが、A、C、E から酵母を分離することができた。3種類のチーズ由来酵母の性質について調べた結果を報告する。

## 2. 分離酵母の走査電子顕微鏡観察

チーズから分離した3種類(チーズ A、C、E)の酵母と製パン用酵母(日清フーズ製-植物由来)の細胞を比較するために SEM(日立 SU1510)1万倍で観察し画像を取得した(図3)。細胞の形状や大きさを調べ、長径と短径から形状比を求め表2に纏めた。

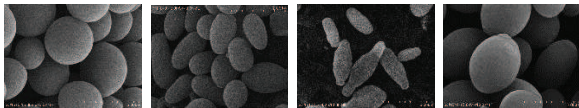


図3 チース由来酵母の走査電子顕微鏡観察 (×10K)  
(左から分離酵母 A、C、E 製パン用酵母の順)

表2 チーズ由来酵母細胞の形状と形状比

| 酵母No.  | 形状 | 長径 $\mu$ m | 短径 $\mu$ m | 形状比 |
|--------|----|------------|------------|-----|
| A      | 球形 | 5.12       | 4.39       | 1.2 |
| C      | 円筒 | 5.09       | 2.94       | 2.1 |
| E      | 紡錘 | 4.36       | 1.78       | 2.5 |
| パンイースト | 楕円 | 5.09       | 4.35       | 1.2 |

尚、長径と短径は顕微鏡座標設定ツールから二点間の距離を計測した。チーズから分離した3種類の酵母はそれぞれ形状が異なり、形状比も明らかに差がみられるので種類の異なる酵母と考えられる。

## 3. チーズ由来酵母の性質 (その1)

### アルコール発酵性試験

方法: 試験管の10% YM寒天培地(高層)に白金線を使用して3種類の分離酵母を穿刺接種した。培地上部に素寒天を1ml 加え、30 $^{\circ}$ Cのインキュベーターで培養した。対照として製パン用酵母を同様に試験した。24時間後の素寒天上昇距離(ガス発生量)を測定した。3回測定しその平均値を接種酵母のアルコール発酵力として比較し判定した(図4、表3)。

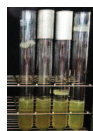


図4 分離酵母のアルコール発酵試験(左から酵母 A、C、E、製パン用)

結果と考察: 酵母 A は製パン用酵母に比べ、ガス発生量においてやや劣るもののアルコール発酵性が高く、製パン適性を有する可能性がみられた。酵母 C の発酵性は皆無、E は極めて低い発酵性であることが判明した。

表3 分離酵母のアルコール発酵試験(素寒天上昇距離 mm)

| 酵母種類    | 24時間 |
|---------|------|
| A       | 75   |
| C       | -    |
| E       | 10   |
| 製パン(市販) | 108  |

## 4. チーズ由来酵母の性質 (その2) 耐塩性試験

味噌醤油の製造「発酵」という過程で使用される酵母は高い濃度の食塩を含む中で生育できる。分離した3種酵母と製パン用酵母の耐塩性を調べた。

方法: 事前に作成した酵母 A、C、E、市販製パン用(P)のコロニー(種菌)を使用した。6区分(濃度 0、2.5、10%)の食塩を含有する YM 寒天培地に種菌を白金耳で接種した(塗抹法)。30 $^{\circ}$ Cで72時間培養し、培養後の観察結果(図5)から耐塩性を判定し表4に纏めた。

表4 チーズ由来酵母の耐塩性試験

| 酵母種類<br>\塩分濃度(%) | 0  | 2  | 5  | 10 |
|------------------|----|----|----|----|
| A                | ++ | ++ | +  | -  |
| C                | ++ | ++ | ++ | ++ |
| E                | ++ | ++ | +  | -  |
| P                | ++ | ++ | +  | -  |

(++ 生育良好、+弱く生育、-生育不良)

図5 チーズ由来酵母の耐塩性試験(食塩濃度(%)は左から0、2.5、10の順)

考察: 酵母 C は耐塩性が高く、A、E、P は耐性が低いといえる。市販醤油や市販味噌の塩分濃度(%)は16~19(醤油)、12~15(味噌)である。酵母 C の醤油や味噌製造適応性について調べたい。

(追加実験) 酵母 C の耐塩性試験(食塩濃度 15、20%追加)を2回行った結果(図6)から耐塩性を判定し表5に纏め考察した。

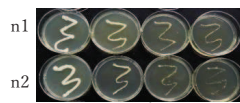


図6 チーズ由来酵母 C の耐塩性試験(食塩濃度(%)は左から0、10、15、20の順)

表5 チーズ由来酵母 C の耐塩性試験

| C酵母回数<br>\塩分濃度(%) | 0  | 10 | 15 | 20 |
|-------------------|----|----|----|----|
| n1                | ++ | ++ | +  | ±  |
| n2                | ++ | ++ | +  | -  |

(++生育優良、+生育弱、±生育微弱、-生育不良)

## 5. チーズ由来酵母の性質 (その3) 耐糖性試験

酵母はパン製造において糖濃度の影響を受ける。パン生地は、その糖濃度に応じて①無糖生地(例: フランスパン-生地の糖分0%) ②低糖生地(例: 食パン-生地の糖分1%) ③高糖生地(例: 菓子パン-生地の糖分20~30%)に分けられる。チーズ由来酵母の各種製パン用適性を調べるために耐糖性試験を試みた。

方法: 白糖を含有する YM 寒天培地(8区分: 濃度 0、1、10、20、30、40、50、60%)を使用し、酵母 A、C、E、P の耐糖性を実験4と同様の方法で試験した。30 $^{\circ}$ Cで72時間培養した結果(図7-酵母 A の例)、耐糖性を判定し表6に纏め考察した。



図7 チーズ由来酵母 A の耐糖性試験(糖濃度(%)は左から0、1、10、20、30、40、50、60の順)

表6 チーズ由来酵母(A、C、E)、製パン酵母(P)の耐糖性試験

| 酵母種類<br>\糖濃度(%) | 0 | 1  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
|-----------------|---|----|----|----|----|----|----|----|
| A               | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +  | -  |
| C               | + | ++ | ++ | ++ | +  | +  | -  | -  |
| E               | + | ++ | ++ | ++ | +  | -  | -  | -  |
| P               | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +  | -  |

(++生育優良、+生育弱、-生育不良)

チーズ酵母 A、製パン用酵母 P は糖分40%まで生育良好で菓子パンなど高糖生地に対応可能で、酵母 C、E の耐糖性は低く製パンに適応しないと考えられる。

## 6. チーズ由来酵母の性質 (その4) 糖類資化性試験

糖類資化性とは、微生物が栄養源の糖類を利用する性質で、試験結果から酵母の類似性を調べることができる。試験は単糖類のブドウ糖(g)、果糖(f)、二糖類のショ糖(su)、麦芽糖(m)、乳糖(L)、5炭糖のキシロ糖(x)、多糖類のデンプン(st)計7種類の糖類を使用した。

方法: 窒素基本培地1mlと各種糖類を含む寒天培地19mlを混合し、培地の固化後、素寒天で重層化した。分離酵母コロニーを決められたゾーン(左上:A、右上:C、左下:E、右下:P)に白金線で接種し、比較としてシユガーフリー(sf)を対照とした。

結果と考察: 30 $^{\circ}$ C、5日間培養後、酵母コロニーの生育状況からコロニーのスケールを測定した(図8)。測定方法はシャーレの裏面を実体顕微鏡で観察し、正規を中心点に合しコロニー両端を計測した(表7)。チーズ酵母 A、C、P に類似形がみられた。チーズ酵母 A と製パン用酵母 P は細胞像、アルコール発酵性、塩耐性、糖耐性のみならず糖資化性にも共通性がみられた。又、すべての酵母にはブドウ糖、果糖、ショ糖、麦芽糖などの甘味糖類を資化する特徴がみられた。

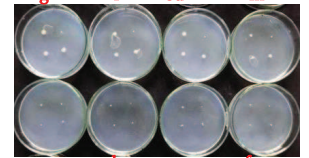


図8 チーズ酵母由来の糖類資化試験

表7 チーズ由来酵母の糖類資化試験(コロニーのスケール mm)

| 糖類、酵母 | A   | C   | E   | P   |
|-------|-----|-----|-----|-----|
| g     | 6.5 | 2.5 | 6   | 6.5 |
| f     | 5.5 | 1.2 | 6   | 5   |
| su    | 6   | 1.5 | 5.5 | 5.5 |
| m     | 3.5 | 2.5 | 4   | 5   |
| L     | 3   | 2   | 2   | 3   |
| x     | 2   | 2   | 2.5 | 2.5 |
| st    | 3   | 1.5 | 2   | 2   |
| sf    | 2   | 1.5 | 2.5 | 2.5 |

おわりに: チーズから3種類の酵母を分離し酵母の性質を調べた結果、酵母 A は製パン用酵母に近く、製パン用酵母として、又、酵母 C は、耐塩性が強く味噌製造に利用できる可能性がある。動物(乳)由来の酵母でも植物由来酵母と似ているのは、動物が植物を食べ植物由来の酵母が体内で生育していると思われる。