

耐塩性酵母の生理的性質

畑山 誠*、中山 繁喜*、桜井 廣*

味噌、醤油の製造に利用することを目的として、岩手県工業技術センターで保存している耐塩性酵母の生理的性質を調べた。20°Cでも、通常最適生育温度である25°Cや30°Cと同じようによく生育する酵母が4菌株あった。また菌株間でアルコール発酵には約2倍の差があった。

キーワード：耐塩性酵母、生理的性質

Physiological Properties of Salt Tolerant Yeasts

HATAKEYAMA Makoto, NAKAYAMA Shigeki and SAKURAI Hiroshi

The physiological properties of salt tolerant yeasts that have been preserved in Iwate Industrial Research Institute were studied for the use in the production of Miso and Shoyu. There were 4 strains that could grow at 20 °C as well as at best growth temperature of 25 °C or 30 °C for yeasts. There was 2 times difference in alcohol fermentation ability among the yeasts studied.

key words : salt tolerant yeast , physiological properties

1 緒言

近年、味噌、醤油の製造において、発酵をコントロールし高品質な製品を製造することを目的として培養酵母を添加することが行われており、これに関する報告や解説も多い^{1)~7)}。すなわち家付き酵母による蔵癖を修正し諸味の発酵を健全にすること、さらに積極的に熟成期間を短くする試み⁸⁾などが行われている。

味噌、醤油の発酵を行う耐塩性酵母には主発酵酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii*) と後熟酵母 (*Candida versatilis*、*Candida etchellsii*) がある。当センターでは主発酵酵母 14 株、後熟酵母 3 株を保存している。この中で県内の業者に頒布用として、それぞれの酵母を 1 菌株ずつ選定しているが、保存酵母のすべてについて同一条件での生理的性質の比較を行ったことがない。また、継代培養の繰り返しで性質が変わってきていることが考えられる。そこで、味噌醤油醸造への利用を目的として保存株のすべてについて生理的性質を把握することとした。

本研究では、センター保有の耐塩性酵母の生理的性質 (生育 pH、生育温度、耐糖性、耐アルコール性、アルコール発酵性、香り) について調べた。

2 実験方法

2-1 供試菌株

当センター保有の主発酵酵母 (以後、Z酵母と略す) 14 菌株、後熟酵母 (以後、C酵母と略す) 3 菌株を供試した。

2-2 基本となる培地組成

本実験には、表1の培地を高食塩 (1.8% ≒ 3 M) 含有基本培地として使用した。pH 調整はマッキルベン緩衝液で行い、基本 pH を 5.0 とした。

表1 基本培地組成

組成物	含量 (%)
ガザミ酸	1
酵母エキス	0.2
KH ₂ PO ₄	0.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
グルコース	5
NaCl	18

2-3 酵母の前培養

表1の培地を10 mlづつ試験管に分注し、殺菌した。これに酵母を1白金耳植菌し、よく攪拌した後、25 °Cで1週間静置培養したものを前培養物とした。

2-4 生育pH試験

培地として、マッキルベン緩衝液で基本培地のpHを3.5~6.5に0.5刻みで調整したものを用意した。

各培地を10 mlづつ試験管に分注し、殺菌した。これに、よく攪拌した前培養物を初発酵母濃度が 3×10^5 個/mlとなるように植菌し、よく攪拌した後、25 °Cで1週間静置培養した。

この培養物をよく攪拌した後、(株)島津製作所製分光光度計UV-1200を用いて、波長660nmで吸光度を測定し、酵母の生育度とした。

2-5 生育温度試験

培地は基本培地を使用した。

酵母の培養温度を5~35 °Cに5 °C刻みで設定した。

酵母の培養と生育度測定は、生育pH試験と同じに行った。最も生育度の高かった温度を生育最適温度とした。

2-6 耐糖性試験

培地として、基本培地のグルコース含量を2.5、5、10、15、20、30%に調整したものを用意した。

酵母の培養と生育度測定は、生育pH試験と同じに行った。

2-7 耐アルコール性試験

培地として、基本培地にエタノールを加え、アルコール含量を0、1、2、3、4、5%に調整したものを用意した。ただし、エタノールの添加は基本培地の殺菌後に行った。

酵母の培養と生育度測定は、生育pH試験と同じに行った。

2-8 アルコール発酵性試験

培地として基本培地を使用し、酒精発酵力測定装置を用いた方法⁹⁾で測定した。

初発酵母濃度が 3×10^5 個/mlとなるように前培養物を植菌し、27.5 °Cで静置培養した。

2-9 発酵香气試験

培地として、仕込んで約1ヶ月の醤油諸味ろ液を使用し、表2の諸味ろ液培地を調製した。還元糖、食塩濃度

は、諸味ろ液に含有されている量を含めて、表2に示した濃度になるようにグルコース、塩化ナトリウムを添加し調整した。

この培地を50 mlづつ三角フラスコに分注し、殺菌した。これに、よく攪拌した前培養物を初発酵母濃度が 3×10^5 個/mlとなるように植菌し、25 °C、100rpmで3週間緩やかな振盪培養した。

この培養物の香りの好ましきについて5人のパネラーで官能評価を行った。点数は、好ましいもの1点、やや好ましいもの2点、普通のもの3点、やや嫌いなもの4点、嫌いなもの5点とした。

表2 諸味ろ液培地の組成

諸味ろ液	50%
還元糖	10%
食塩	18%

(pH5.0に調整)

3 実験結果

3-1 生育pH試験

今井¹⁰⁾によると塩化ナトリウム3M存在下でのZ酵母の生育pHは3グループに分類されると言う。すなわち、pH3.5~6.5の広いpH範囲に生育するAグループ、pH3.5~5.5までに生育するBグループ、pH4.0~5.0という狭いpH範囲にしか生育できないCグループである。

本試験の結果は表3の通りであり、Aグループに該当する菌株はなかった。そしてCグループに該当する菌株が1株あった他は、全ての酵母がBグループであった。ただし生育pHの上限が5.5の菌株と5.0の菌株の2つに分かれた。

表3 耐塩性酵母の生育pH

グループ	A	B		C
		pH5.5	pH5.0	
Z酵母	なし	RS-2 RS-5 RM-1 RM-13 RM-14 RM-16	RS-1、 RM-3、RM-5 RM-6 RM-8 RM-10 IFO1846	RM-21
C酵母		KT-2	KT-1、KT-3	

3-2 生育温度試験

酵母の生育最適温度は25~30℃付近と言われているが、本試験でも全ての酵母の生育最適温度がこの範囲に入った(表4)。また15℃以下の温度帯で生育できた菌株もなかった。しかし20℃での生育が25~30℃とほぼ変わらなかった菌株として、RM-1、RM-8、KT-1、KT-2の4株があった。また逆に生育温度が25℃近辺に限られた菌株としてRM-21があった。

表4 耐塩性酵母の生育最適温度

最適温度	25℃	25~30℃	30℃
Z酵母	RM-5	RM-1	RS-1
	RM-6	RM-3	RS-2
	RM-13	RM-8	RS-5
	RM-16	RM-14	RM-10
	RM-21		IFO1846
C酵母	KT-3	KT-1 KT-2	

3-3 耐糖性

ほとんどの酵母は、培地のグルコース濃度が高くなるにつれて生育が阻害された。その中でRS-5、RM-1の2菌株は、グルコース濃度2.5~20%まで平均的な生育を示した。また、逆にRM-21はグルコース濃度15%以上では生育できなかった。

3-4 アルコール耐性

それぞれの酵母の生育できる上限のアルコール濃度を表5に示す。多くの酵母は3%までは生育できる。また4%まで生育できる酵母も3菌株あった。しかしアルコール濃度5%で生育できる酵母はなかった。

表5 耐塩性酵母のアルコール耐性

アルコール濃度	1%	2%	3%	4%
Z酵母	RM-21	RS-1 RS-2	RS-5、RM-1 RM-3、RM-6 RM-8、RM-10 RM-16 IFO1846	RM-5 RM-13 RM-14
C酵母			KT-1、KT-2 KT-3	

*この表は、これ以上のアルコール濃度になると酵母が増殖できない濃度を表示している。

3-5 アルコール発酵性

この試験では、発酵により生成する二酸化炭素の揮発量分を測定し、これに比例して生成されるアルコールを計算値で求めた。実際には、二酸化炭素は呼吸によっても生成されるが、培養法を静置培養としているため二酸化炭素の発生はすべて発酵によるものと見なした。

図1に、培養60日目の各酵母のアルコール生成量を示す。Z酵母ではRM-14が、C酵母ではKT-2のアルコール発酵性が優れている。なおRM-21は、この試験条件では生育できなかった。

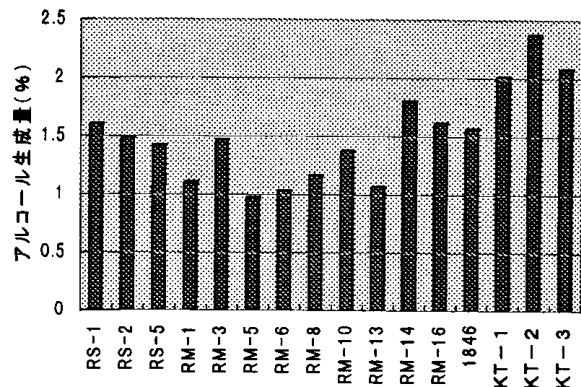


図1 耐塩性酵母のアルコール発酵性

3-6 発酵香

耐塩性酵母の発酵香の好ましさを表6にまとめた。この中で一番評価の高かった菌株は主発酵酵母ではRM-10で平均点2点であった。また、後熟酵母では特に香りが良いと評価された酵母はなかった。なおRM-21は、この試験条件でも生育できなかった。

表6 耐塩性酵母の発酵香の好ましさ(平均点)

	Na	点数	Na	点数
Z酵母	RS-1	3.0	RM-8	3.0
	RS-2	3.0	RM-10	2.0
	RS-5	2.8	RM-13	2.5
	RM-1	2.8	RM-14	2.5
	RM-3	2.8	RM-16	3.0
	RM-5	3.0	IFO1846	2.8
	RM-6	3.3		
C酵母	KT-1	3.0		
	KT-2	3.0		
	KT-3	3.8		

4 考察

センター保有菌株の生育 pH 範囲および耐糖性は、

RM-21を除きほぼ同じであった。従って味噌醤油醸造への利用という点から考えて、これらの項目では優劣はないと考える。

生育温度の点では違いがあり、最適生育温度が25℃の菌株、30℃の菌株がある。また、25℃でも30℃でも同じように生育した菌株もある。RM-1、RM-8、KT-1、KT-2の4菌株は20℃でも同程度に生育した。通常の最適生育温度より低い温度でもよく増殖する酵母を利用すると、発酵温度を低く設定することができる。これらの酵母は、冬期間の発酵や平均気温の低い地域での天然発酵にも有効利用できると思われる。

アルコール耐性と発酵性にも違いが見られた。アルコール耐性と発酵性は必ずしも比例しないが、RM-14のように耐性が大きく、かつ発酵性も良好な菌株もあった。このような酵母は、発酵香を積極的に付与したい場合に諸味へ添加すると有用と思われる。また、後発酵による味噌包装の膨れを防止するためにアルコール添加がよく行われるが、RS-1、RS-2のようなアルコール耐性の低い酵母を発酵に用いることでアルコール添加量を減らすことが可能と考えられる。

発酵香は、RM-10が他の酵母よりやや良い香りと判断された。しかし、その他は大差がなく、香りの差に基づく特徴のある酵母の使い方をするのは難しいと思われた。

5 結 語

本研究では、味噌醤油醸造への利用を目的としてセンター保存の耐塩性酵母について同一条件での生理的性質

の比較を行った。

生育pH、耐糖性では各酵母間に差がほとんどなかった。生育温度では、20℃でもよく増殖する酵母が4株見つかった。アルコール耐性とアルコール発酵性には酵母間で違いがあった。しかし、これら2つの能力は必ずしも比例せず、酵母利用の目的に合わせた選択の可能性が示唆された。発酵香気は1株がやや好ましいものと判定されたが、他の酵母には大きな差がなかった。

これら個々の酵母菌株の生理的性質をふまえて、県内味噌醤油製造業者それぞれの実状に合った最適な能力を持った酵母の利用を考えてゆきたい。

文 献

- 1) 相羽富夫：醤研, 1, 157(1975)
- 2) 清水 毅, 村井延二郎：醤研, 4, 171(1978)
- 3) 奥沢洋平, 板倉 徹, 江口卯三夫：醤研, 8, 21(1982)
- 4) 野田義治, 井上 等, 楠田秀喜, 大場和徳, 中野正路：醤研, 8, 108(1982)
- 5) 小泉幸道, 羽島久志, 柳田藤治, 伊藤明徳, 山口元之：醸協, 76, 206(1981)
- 6) 今井誠一：味噌の科学と技術, 32, 206(1984)
- 7) 今井誠一：味噌の科学と技術, 35, 334(1987)
- 8) 小澤一広, 赤池嘉彦, 佐々木勝史, 村松恵津子：醤研, 21, 197(1995)
- 9) 京都大学農学部編：新改版農芸化学実験書(増補)第2巻, 835(1965)
- 10) 今井誠一：新潟県食品研究所報告・特別号(1984)