泡盛 1 号酵母の形態学的, 生理学的諸性質

玉 城 武・忍頂寺晃嗣・高江洲朝清*

下 地 博**・玉那覇 勉***

(沖縄国税事務所)

昭和 55 年 9 月 30 日受理

Physiological and Morphological Properties of Awamori No.1 Yeast

Takeshi TAMAKI, Akitsugu NINJŌJI, Chōsei TAKAESU,

Hiroshi SHIMOZI and Tsutomu TAMANAHA

(Okinawa Regional Taxation Office)

緒 言

著者ら¹⁾が前報で分離した G-2 株は, 数度の島内工場での実地試験醸造によって, 製品の香味もよく, 製造歩合も高いことが確認されたので, 現在, 泡盛 1 号酵母と命名され, 泡盛醸造に供されている。実用化にあたってその性質を広く調べ, 明らかにしておくことは, その酵母の維持, 管理や他酵母との識別等のためにも重要なことと考えて本実験を行なった。

実 験 方 法

1. 供 試 菌

前報¹⁾で分離した泡盛 1 号酵母と協会 7 号酵母を使用した。

2. 菌学的性質の測定

主に, 秋山ら²⁾, 大内ら³⁾の方法に従った。

(1) 巨大集落 麦汁ゼラチン培地 (10% Difco 麦汁エキス, 18% ゼラチン) に供試菌懸濁液 (10^3 /ml) を径 1 mm 程度のガラス針で打点接種し, 18°C に 45~50 日間保って巨大集落を形成させた。

(2) 被膜形成 酵母エキス・ペプトン (YEP) 培地 (glucose 2%, 酵母エキス 0.5%, ポリペプトン 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04%) に供試菌を 1 白金耳接種し, 20°C 前後に培養して被膜形成を観察した。

(3) 擬菌子形成 Wickerham 培地⁴⁾に 30°C, 2 日間振とう培養した菌体をスライドガラス上の馬鈴薯・グルコース培地⁵⁾ (寒天 2.5% 含有) に画線接種し, 常法のごとくカバーガラスを軽くおしつけて, 25°C で 7~10 日間培養して擬菌糸形成をしらべた。

(4) 胞子形成 麴汁に 30°C, 48 hr 培養した菌体を無菌水で 2 回遠沈洗浄した後, 胞子形成用培地 (CH_3COONa 0.4%, glucose 0.05%, 寒天 3%) に移植し, 30°C で培養を続け, 2 日後, 胞子の形成率を鏡鏡した。

(5) 細胞の形態および大きさ 麴汁に 30°C, 2 日間培養したもの, および泡盛モロミにおける菌体について, 顕微鏡観察を行うとともに, ミクロメーターを用いて, 常法どおり細胞の大きさを測定した。

(6) 糖の発酵性 各供試糖を 2% 含有する菅間ら⁶⁾の Burkholder の改変培地に供試菌を接種し, その上に殺菌パラフィン (流動パラフィン 2 部: 固形パラフィン 1 部) を重層後, 培養する。25°C で 20 日後まで観察した。

(7) 炭素源の資化性 各炭素源 0.5% を含む前記培地に 2% の寒天を添加して平板培地をつくり, それに供試菌の懸濁液を画線接種して 25°C に培養し, 生育の有無を観察した。

(8) 硝酸塩の資化性 試験はオキザノグラフ法⁷⁾によった。なお菌懸濁液は 麴汁培地に 30°C, 48 hr 培養し, 無菌水で洗浄して作った。

(9) アルブチン分解能 常法⁸⁾に従った。

(10) 濃糖環境における生育 酵母エキス 1%, ポリペプトン 1%, glucose 50% または 60%, および寒天

* 沖縄県酒造組合連合会

** 菊の露酒造合名会社

*** 瑞穂酒造株式会社

第1表 諸性質の比較一覧表

	泡盛1号酵母	協会7号酵母
巨大集落	粗面ヒダ	粗面ヒダ
被膜形成	ring, islet	ring, islet
擬菌糸	+	+
胞子形成率(%)	86.0	45.0
細胞の大きさ		
長径(μ)	6.5	8.0
短径(μ)	5.0	6.5
細胞の形状	卵円形	卵円形
炭素源の資化性(カッコ内は発酵性)		
Glucose	+(+)	+(+)
Galactose	+(+)	+(+)
Sucrose	+(+)	+(+)
Maltose	+(+)	+(+)
Lactose	-(-)	-(-)
Melibiose	-(-)	-(-)
Raffinose	+(+)	+(+)
Cellobiose	-	-
Trehalose	+	+
Melezitose	-	-
Inulin	±	±
Soluble starch	-	-
α -Methyl glucoside	-	+
L-Sorbose	-	-
D-Xylose	-	-
DL-Arabinose	-	-
D-Ribose	-	-
L-Rhamnose	-	-
Ethanol	+	+
Glycerol	±	+
Erythritol	-	-
D-Sorbitol	-	-
Galactitol	-	-
Ribitol	-	-
D-Mannitol	-	-
DL-Lactic acid	+	+
Succinic acid	-	-
Citric acid	-	-
Inositol	-	-
硝酸塩の資化性	-	-
Arbutin 分解能	-	-
高張環境における生育		
50% Glucose	+	+
60% Glucose	-	-
シクロヘキシミド耐性	-	-
ビタミン要求性*		
完全培地	+	+
B ₁ 欠	-	+
B ₆ 欠	+	+
パントテン酸欠	+(+)**	-
ビオチン欠	+	+
パラアミノ安息香酸欠	+	+
イノシトール欠	+	+
全ビタミン欠	-	-
37℃における生育	+	+
ゼラチンの液化性	-	-
デンプン類似物質の生産性	-	-

* ビタミン要求性はその培地に生育したものを+とした。

** 福井のカザミノ酸培地上の生育。

写真1 泡盛1号酵母の巨大集落
麦芽エキスをゼラチン培地上、18℃、45日間培養

た。

(12) ビタミン要求性 Wickerham⁴⁾ 培地に 30℃, 48 hr 培養した菌体を2回殺菌水で洗浄後、ビタミン欠の同培地およびビタミン欠の福井のカザミノ酸培地⁹⁾を用いて、1l 当りビタミン B₁ 400 μ g, B₆ 400 μ g, パントテン酸-Ca 400 μ g, ビオチン 2 μ g, パラアミノ安息香酸 200 μ g, イノシトール 2,000 μ g を全ビタミンからそれぞれ1ビタミンを除いたものについて 30℃ で培養し、一定時間ごとに波長 660 m μ で比濁した。

(13) 37℃ における生育 寒天3.0%を加えた YEP 培地のプレート上に画線接種し、37℃ に培養した。

(14) ゼラチンの液化性 麦芽エキス 10g とゼラチン 12g を蒸留水 100 ml に溶解する。これを試験管に分注し、殺菌した培地は試験管を直立して固化させる。この表面に酵母懸濁液を接種し、18~19℃ で培養しながら1週間以内の溶解の程度を観察した。

(15) デンプン類似物質の生産性

i) 固体培地法: (NH₄)₂SO₄ 0.2%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.1%, ブドウ糖 2.0%, 寒天 2.0%, 酵母水 1~2 滴, pH 4.5 に調整した培地をペトリ皿に注入、固化した後、供試酵母を接種し、25℃ で 10 日間培養する。培養後、コロニーの周辺にルゴール液 (I₂ 1g, KI 2g を 300 ml の蒸留水に溶解) を注入する。

ii) 液体培地法: 炭素源としてブドウ糖 2.0% 含有の炭素化合物同化試験用培地⁵⁾を使用し、25℃ で 25 日間培養後、ルゴール液 2 滴を加える。

実験結果および考察

各試験項目についての結果を第1表に示す。

(1) 巨大集落

供試菌株は両方とも粗面、ヒダツキであったが、中央部の高さは泡盛1号酵母の方が幾分高かった(写真1)。

(2) 被膜形成

両菌株とも5日目頃より管壁のまわりに酵母環をつくり始め、長期間培養で islet の形成もみられたが、完全

3% よりなる平板培地に画線接種し、25℃ に培養した。

(11) シクロヘキシミド耐性 シクロヘキシミド 10 μ g/ml の割に添加した酵母エキス・ペプトン培地に 10⁶/ml の供試菌を接種し、30℃ に培養して生育を調べ

泡盛1号酵母（麹汁培地）

協会7号（麹汁培地）

泡盛1号酵母（泡盛モロミ）

写真2 泡盛1号酵母および協会7号酵母の細胞形状

な被膜にはならなかった。

(3) 擬菌糸形成

どちらの菌株もよく擬菌糸を形成した。

(4) 胞子形成

第1表に示すように，胞子形成率は協会7号に比べて泡盛1号酵母は高かった。また，胞子を形成したものの中には，協会7号は4胞子は非常に少なく，泡盛1号酵母においてはそれは全くみられなかった。

(5) 細胞の形態および大きさ

麹汁および泡盛モロミにおける形を写真2に示し，大きさは第1表に示した。表からわかるように泡盛1号酵母は大きさが協会7号に比べて幾分小さかった。

(6) 糖の発酵性

第1表に示すように，泡盛1号酵母は協会7号と同様，ラクトースとメリビースを発酵せず，グルコース，ガラクトース，シュクロース，ラフィノース，マルトースはいずれも発酵した。

(7) 炭素源の資化性

第1表にみられるように29種類の炭素化合物の資化性を調べたところ，協会7号との間には α -Methyl glucoside (α -MG) と Glycerol の2種に差がみられ，泡盛1号酵母は α -MGを資化せず，glycerolの資化は弱かった。

(8) 硝酸塩の資化性

産膜酵母との相違点として重要であるが，供試菌はいずれも当培地に生育しなかった。

(9) アルブチン分解能

どちらの菌株もアルブチン分解能はなかった。

(10) 濃糖環境における生育

50% glucose 含有培地には生育はおくれたが，確実に生育した。しかし，60% glucose 含有培地には生育しなかった。

(11) シクロヘキシミド耐性

どちらの菌株もシクロヘキシミド耐性がなかった。

(12) ビタミン要求性

高橋¹⁰⁾は，清酒酵母にパントテン酸要求性があることを認めている。泡盛1号酵母については，今回の実験で Wickerham 培地ではパントテン酸を要求しないが，福井のカザミノ酸培地ではそれを要求することがわかった。それから，泡盛1号酵母と協会7号の大きなちがいとして，前者はビタミン B₁ を要求することが明らかとなった。

(13) 37°C における生育

どちらの菌株も 37°C でよく生育した。

(14) ゼラチンの液化性

どちらの菌株もゼラチンを液化しなかった。

(15) デンブン類似物質の生産性

固体，液体両培地において，両供試菌株ともデンブン類似物質の生産性が認められなかった。

分類学においてとりあげられている性質を協会7号と対比しながら調べたところ，明瞭な差を示すものはなかった。しかし，すでにのべたように α -MG, Glycerolの資化性およびビタミン要求性でちがいがみられた。今後他の泡盛酵母についても同様の試験を行い，性質を比較する予定である。

今回しらべた泡盛1号酵母の性質を，Lodder¹¹⁾編の“The Yeast”における *Saccharomyces cerevisiae* の standard description と照合したところ，一致していた。従って泡盛1号酵母は *Saccharomyces cerevisiae* に属するものであると言える。

終りに本実験に御指導，御校閲下さいました醸造試験所大内弘造博士，西谷尚道博士に深謝致します。

要 約

泡盛1号酵母について，巨大集落の形態，被膜形成および擬菌糸形成の状態，胞子形成率，細胞の形態，7種の糖の発酵性，29種の炭素源の資化性，硝酸塩の資化性，アルブチン分解能，高張環境（50% または 60% glucose）における生育，シクロヘキシミド耐性，6種のビタミンの要求性，37°C における生育，ゼラチンの

液化性あるいはデンプン類似物質の生産性など，分類学的な性質を中心に，形態学的，生理学的諸性質を調べた。その際，対照として協会7号を用いた。その結果，泡盛1号酵母と協会7号はビタミン要求性で差が認められた。また，炭素源の資化性で若干の差がみられた。以上調べた泡盛1号酵母の諸性質は J. Lodder による *Saccharomyces cerevisiae* の Standard description に一致するものであった。

文 献

- 1) 玉城 武，忍頂寺晃嗣，今村利久，原田哲夫：醸協，76，59 (1981)
- 2) 秋山裕一，岩田知栄子，長縄真琴：醸工，43，629 (1965)
- 3) 大内弘造，田中良彦，布川弥太郎，秋山裕一：醸協，67，167 (1972)
- 4) L. J. WICKERHAM: "Taxonomy of Yeast" Tech. Bull. U.S. Dep. Agr. Washington, D.C No.1029 (1951)
- 5) 飯塚 広，後藤昭二著「酵母の分類同定法」東大出版会 1969年 p. 134~p. 136
- 6) 菅間誠之助，山川浩一郎，瀧岡巖一，山村紘司，野白喜久雄：醸協，60，453 (1965)
- 7) 飯塚 広，後藤昭二著「酵母の分類同定法」東大出版会 1969年 p. 49
- 8) J. LODDER 編「The Yeast, A Taxonomic Study」North Holland publishing Co. Amsterdam-London 1970年 p. 83
- 9) 福井三郎，谷 喜雄，岸部忠信：醸工，33，1 (1955)
- 10) 高橋雅弘：農化，28，395，398 (1954)
- 11) J. LODDER 編「The Yeast, A Taxonomic Study」North Holland publishing Co. Amsterdam-London 1970年 p. 597