[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.68, No.1, pp.33~40, 1994]

セルロース系固形物に対し凝集促進性を有する酵母の 分離とその芋焼酎蒸留排液処理への利用

家藤治幸, 城至純治, 飯村 稜, 小幡孝之

(国税庁醸造試験所)

平成 5 年 7 月 2 日 受 理

Isolation of a Yeast Strain That Accelerates Aggregation of Cellulose Fiber and Its Use in Treatment of Wastewater from Sweet-Potato *Shochu* Distilleries

Haruyuki IEFUJI, Junji KISHI, Yuzuru IIMURA, and Takaji OBATA

National Research Institute of Brewing, 2-6-30 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114

The separation of the insoluble solids from wastewater of sweet potato *shochu* distillation is difficult because of the high viscosity of the wastewater. To improve the separation, we screened for microorganisms that accelerated the aggregation of the insoluble solids of *shochu* waste. Such a strain, M111, was isolated from soil and identified as a *Geotrichum* sp. from its morphological and physiological characteristics. When cells of M111 were added to *shochu* waste at final cell density of 1×10^7 cells/ml and the mixture was stirred gently, the solids immediately aggregated. Separation of the resultant waste was easier than without such treatment. M111 cells adhered to the insoluble solids of *shochu* waste, connecting neighboring particles. M111 cells adhered not only *shochu* waste but also Avicel, pulp wastewater, cellulose powder, filter cellulose, tomato juice solids, kaolinite, talcum powder, and active charcoal. When the surface of M111 cells was treated with sodium dodecyl sulfate or Proteinase K, the ability to accelerate the aggregation of *shochu* waste and cellulose fiber was lowered. This finding suggested that protein on the surface of M111 cells took part in the aggregation.

(Received July 2, 1993)

緒 言

食品工業における排水の成分は、植物を原料とした場合、主なものとして未利用の糖分、窒素成分、それに繊維質であるセルロース、ヘミセルロースおよびペクチン等を挙げることができる。とくに繊維質は水に不溶性のため、排水を微生物処理する際、分解しにくいという排水の粘性を高める場合が多く、その処理を一層困難なものにしている。したがって、このような食品排水を微生物処理するにあたっては固形物を効率よく分離除去することが先決問題となる。

焼酎乙類（本格焼酎）の蒸留残渣（以下、蒸留排液と呼ぶ）のうち、とくに甘藷を原料とした芋焼酎蒸留排液は、他の蒸留排液に比べ、粗繊維質をより多く含むた

め粘度が高く、しかも COD が 4 万～5 万 ppm と高い⁽¹⁾。そのため、そのまま活性汚泥法など従来の生物処理技術で処理することはきわめて困難であり、現状では主に海洋投棄や土壌還元により処分されており、海洋汚染をはじめ環境汚染の原因となることが懸念される。

著者らは焼酎蒸留排液の効果的な微生物処理方法の開発を目指し、まず芋焼酎蒸留排液の固形物と液部の分離（固液分離）を容易にする方法を検討してきた。その一端として先に自己凝集性酵母の一種 *Hansenula anomala* J 224 の菌体を芋焼酎蒸留排液に添加することで、排液の濾過性が改善されることを報告した⁽²⁾。この場合、*H. anomala* J 224 は、菌体自身が優れた濾過助材として機能し、濾過を容易にしているものと考えられた。

著者らはさらに芋焼酎蒸留排液を効果的に固液分離さ

せる微生物を自然界より幅広く検索した結果、排液中の固形分に強く吸着しそれらを凝集させる性質（以下、凝集促進性と呼ぶ）を有する微生物 M 111 株を分離することができた。本菌は芋焼酎蒸留排液中の固形物だけでなく、パルプ排液や野菜ジュース中の固形物などのセルロース系固形物に強く吸着し、それらに対し凝集促進性を示した。

本報では、本菌の分離と同定、および芋焼酎蒸留排液や各種固形物に対する吸着・凝集促進機能などについて検討した結果を報告する。

実 験 方 法

1. 菌株の分離方法 (1) 分離源：国内各地から採取した土壌 155 点を用いた。

(2) 集積培養：各土壌をあらかじめ 120°C、10 分間オートクレーブ滅菌した芋焼酎蒸留排液培地（芋焼酎蒸留排液を水で 2 倍に希釈して pH を 4.2 に調整したもの）に加えて、30°C、2 日間振盪して集積培養した。

(3) 凝集促進性の判定：24 ウェルのマルチプレート上で 2 倍に希釈した芋焼酎蒸留排液 500 μ l に対し、(2) で得られた培養液 20 μ l を添加し、振盪しながら排液中の固形物に対する凝集促進性の程度を肉眼で観察、判定した。

(4) 単コロニー分離：凝集性が認められた培養液を芋焼酎蒸留排液寒天プレート（2 倍希釈芋焼酎蒸留排液、寒天 2.5%）に植菌し、出現したコロニーについて (3) の方法で凝集促進性の判定を行い、最終的に凝集促進性の強い株を単離した。

2. 分離株の分類・同定試験方法 飯塚、後藤の方法⁽²⁾、長谷川らの方法⁽³⁾、N. J. W. Kreger-van Rij ら⁽⁴⁾および J. A. Barnett ら⁽⁵⁾の方法に基づいて以下の試験を行った。

(1) 形態学的性質および培養的性質

1) YM 培地での性質 YM 培地（ペプトン 0.5%，イーストエキス 0.3%，麦芽エキス 0.3%，グルコース 1%）5 ml に、供試株の新鮮なコロニーから 1 白金耳を接種して 25°C で 7 日間まで静置培養し、肉眼および検鏡によって生育状態および細胞の形態を観察した。

2) YM 寒天培地上での生育 YM 寒天培地（YM 培地、寒天 2%）に供試株を新鮮なコロニーから画線状に接種して 25°C で 2 日間培養しその生育状態を観察した。

3) スライド培養 PDB 寒天培地（Potato Dextrose Broth (DIFCO) 2.4%，寒天 2%）をシャーレ中で薄く固化させ、これに供試株を新鮮なコロニーから画線状に接種し、カバーガラスをかぶせて、25°C で 2 日間培養しその生育状態を観察した。

4) 子嚢胞子の観察 ニンジン片培地、改良 Goro-dokowa 培地⁽⁶⁾、Kleyn 培地⁽⁷⁾、McClary 培地⁽⁸⁾および麦芽エキス寒天培地の 5 種類の子嚢胞子形成培地において培養し、検鏡によって子嚢胞子形成の有無を観察した。

5) 射出胞子の観察 YM 寒天培地に供試株を画線培養し、射出胞子の形成を肉眼および検鏡で観察した。

(2) 生理学的性質の試験

1) 発酵性 Wickerham の実施例⁽²⁾に従い、Darham 発酵管法で、各種糖に対する発酵性を観察した。

2) 糖の資化性 YNB（Yeast Nitrogen Base (DIFCO)）培地に各種炭素源を 1% 添加し、これに YM 培地で 1 日前培養した洗浄菌体を約 10⁵ 個/ml となるよう接種し、3 週間まで静置培養し、資化性の有無を観察した。

3) 硝酸塩の資化性 硝酸塩培地（KNO₃ 0.1%，YNB (Yeast Nitrogen Base, without Amino Acid and Ammonium Sulfate (DIFCO)) 0.17%，グルコース 1%，寒天 2%）に供試株を接種し、生育の有無を観察した。

4) 生育の範囲 YEPD 培地（イーストエキス 1%，ペプトン 2%，グルコース 2%）に、10⁵ 個/ml に接種した供試菌体を、温度勾配バイオフィトレコーダー TN-112 D（東洋科学産業社製）を用い、10~37°C の範囲の各温度で観察した。また、YEPD 培地を pH 2~10 の範囲の各 pH に調整し、同様の装置を用い 30°C での生育および至適 pH を調べた。

5) ウレアーゼテスト Seeliger 法⁽⁹⁾により、ペプトンを含む培地でのウレアーゼ活性を調べた。

6) DBB (Diazonium Blue B) テスト 供試株を YM 培地に画線状に接種し、3 週間培養後、DBB 試薬（Fast Blue B 1% を 0.1 M Tris-HCl 緩衝液（pH 7）に溶解したもの）を注ぎ、暗赤色の呈色の有無を観察した⁽¹⁰⁾。

7) DNase テスト DNase 寒天培地（DIFCO）をシャーレに固化し、供試菌を画線状に接種して 7 日間培

養後、1 N HCl を注ぎハロー形成の有無を観察した。

3. 凝集促進性試験 (1) 芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性の判定：供試株を YEPD 培地中で 30°C、2 日間振盪培養して得られた菌体を遠心分離で集菌洗浄し、最終濃度が 10^7 個/ml になるよう芋焼酎蒸留排液に添加し、凝集状態の観察を行った。

(2) 各種固形物に対する凝集促進性試験：カオリン（丸石製薬）、タルクパウダー（和光純薬）、活性炭（精製白鷺、武田製薬）、アビセル SF（フナコシ薬品）、セルロースパウダー CF 11（Whatman）、濾紙（東洋濾紙）、パルプ廃液（古紙工場排液）、カゼイン（メルク社）および CM-セルロース（和光純薬）を 10 mM クエン酸緩衝液（pH 4.2）に凝集性が判定しやすい濃度（0.2~0.5 %）に懸濁させていたもの、また、トマトジュースについては純水で 4 倍に希釈したものについて、それぞれに YEPD 培地で 2 日間培養した供試株の洗浄菌体を 10^7 個/ml になるよう添加し、凝集性の程度を肉眼で判定した。

(3) 凝集促進性の阻害試験：前述のカオリン、タルク、活性炭、アビセル、濾紙、芋焼酎蒸留排液について、以下の物質の添加またはプロテアーゼ処理した菌体での、供試菌体の凝集促進性を検討した。

1) 界面活性剤 Cetyltrimethylammonium bromide(CTAB), Tween 20, Trion X-100 および Sodium dodecyl sulfate (SDS) それぞれ 2% 水溶液

2) 塩類 NaCl および CaCl_2 のそれぞれ 1 M 水溶液

3) キレート剤 40 mM EDTA 水溶液（pH 7.5）

4) 糖類 グルコース、シュクロース、セロビオース、およびマンノースのそれぞれ 1 M 水溶液

5) pH pH 3, 4, 5 の 100 mM 酢酸緩衝液, pH 6, 7 の 100 mM リン酸緩衝液, pH 8, 9 の 50 mM トリス塩酸緩衝液および 0.1 N HCl, 0.1 N NaOH

6) プロテアーゼによる菌体表面の処理 供試菌体を洗浄後、20 mM Tris-HCl 緩衝液（pH 8.0）に懸濁し乾燥菌体重量の 1/500 量の Proteinase K (SIGMA) を加えて 37°C、2 時間処理した。

実験結果

1. 凝集促進性を有する菌体の分離

供試土壌 155 点について集積培養してられた培得養液のうち、14 点に芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性が

認められた。これらの培養液から合計 33 株の凝集促進性を有する菌株を分離した。顕微鏡下の観察ではこれらのほとんどは酵母状の形態を呈していた。うち 1 株は排液中の固形物をとくに強く凝集させることを見出し、この株を M 111 株と命名し、以降その諸性質を検討した。

2. M 111 株の芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性

YPED 培地にて培養集菌した M 111 株を、芋焼酎蒸留排液に攪拌しながら添加すると、菌体密度約 10^7 個/ml となった点で固形物の凝集が促進され直ちに凝集物が生成した。次にこの M 111 菌体を添加した芋焼酎蒸留排液の濾過性を調べたところ、M 111 株の添加によって生じた凝集物は、Fig.1 のように、小塊状を呈し、処理後の芋焼酎蒸留排液はガーゼを敷いたロート上で自然濾過によって容易に固液分離を行うことができた。一方 M 111 株で処理しない芋焼酎蒸留排液は不溶性固形物を多く含む粘性の高い液体であり、ガーゼのような目の粗い布でも固液分離が不可能であった。この凝集によって得られた濾液は濁度は高いが粘性は低く、検鏡したところ、その濁りは焼酎もろみの発酵に用いた酵母の残骸が主体となっており、繊維状の固形物はほとんど認められなかった。

3. 菌株の同定

M 111 株の分類学的同定を行い、以下の結果を得た。

(1) 形態学的性質：1) YM 液体培地での生育および形態 培養 24 時間で良好な増殖を示し、増殖様式

Fig.1. Filtration of the Residue of Sweet-Potato Shochu Distillation by Addition of M 111 Cells (About 10^7 cells/ml) (Right) and None Addition (Left)

は出芽と分裂の両方が観察された。栄養細胞の大きさは $(3\sim5)\times(5\sim17)\mu\text{m}$ で、形状は卵型または円筒形であった (Fig. 2)。

2) YM 寒天地での生育性および形態 良好な増殖を示し、放射状に菌糸がよく発達し、コロニー表面は白色で粉末様の形状を示した。

3) PDB 寒天培地によるスライド培養 真性菌糸 (true mycelium) がよく発達し、さらにこれが断裂して形成される分節型分生子 (arthroconidium) が観察された (Fig. 3)。また、厚壁孢子 (chlamydospore) も観察された (Fig. 4)。

Fig. 2. Strain M 111 Cells Cultured in YM Medium for 2 Days at 25°C

Fig. 3. True Mycelium and Arthroconidium of M 111 Strain Grown on Potato Dextrose Broth Agar Medium after 1 Day at 25°C by Slide Culture

Fig. 4. Chlamydospore of Strain M 111 Grown on Potato Dextrose Broth Agar Medium after 1 Day at 25°C by Slide Culture

4) 子嚢孢子 (ascospore) の形成 子嚢孢子的形成は観察されなかった。

5) 射出孢子的形成 射出孢子的形成は観察されなかった。

(2) 生理学的性質：本菌の生理学的諸性質を Table I に示した。本菌はグルコースの発酵性が微弱ながら認められ、また培養液は果実様の芳香を生じた。pH については 3～9 の範囲で、また温度については 35°C まで生育が認められ、最適生育 pH 5、至適生育温度は 28°C であった。またウレアーゼテスト、DBB テストおよび DNase テストはいずれも陰性であった。

本菌は、分裂と出芽によって増殖し、真性菌糸 (true mycelium) および分節型分生子 (arthroconidium) を形成するが、子嚢孢子 (ascospore) を形成しないことから、不完全菌類に属する *Trichosporon* 属、*Geotrichum* 属、*Arxula* 属⁽¹¹⁾のいずれかに該当する酵母と考えられる。現在では、系統的に *Trichosporon* 属は担子菌系、*Geotrichum* 属、*Arxula* 属⁽¹¹⁾は子嚢菌系に分類されている^(11~13)。本菌はウレアーゼテスト、DBB テストおよび DNase テストはいずれも陰性であり、さらに発酵性を有することより、子嚢菌系の酵母に該当すると考えられ、また nitrate を利用できないことなどより *Geotrichum* 属に帰属する酵母であると判断される。

Table I. Physiological Characteristics of M 111 Strain

Optimum temperature of growth : 28°C					
Optimum pH of growth : pH 5					
Fermentation of glucose : +w					
Assimilation of carbon compounds :					
Galactose	+	Raffinose	-	Erythritol	-
Sucrose	-	Soluble starch	-	Ribitol	+
Maltose	-	D-Xylose	+	D-mannitol	+
Cellobiose	-	L-Arabinose	-	Succinic acid	+
Trehalose	-	D-Ribose	-	Citric acid	+
Lactose	-	L-Rhamnose	-	Inositol	-
Assimilation of nitrate : -					
Growth in vitamin-free medium : +					
Growth on 50% glucose yeast extract agar : -					
Growth at 37°C : -					
Urease Test : -					
Color reaction with DBB : -					
DNase Test : -					

+, positive reaction ; -, negative reaction ; +w, weak.

Fig. 5. Binding of Strain M 111 Cells to the Solids in *Shochu* Waste

Fig. 6. Connection of the Solids in *Shochu* Waste with Strain M 111 Cells

4. 芋焼酎蒸留排液固形物との凝集様式

本菌の YEPD 培地での培養液の遠心上清には芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性が認められないことから、本菌による凝集促進性は菌体自身の関与によるものであることが示唆された。また、培養時間（1日～1週間）が異なっても、同じ菌体量で同じように芋焼酎蒸留排液固形物を凝集させた。

検鏡によりその凝集物を観察したところ、菌体が蒸留排液固形物に吸着し（Fig. 5）、また固液物質間に介在している状態（Fig. 6）がみられた。なお菌体同士が直接結合する自己凝集性は本菌には認められなかった。

5. 各種固形物との凝集

本菌体の芋焼酎蒸留排液以外の各種固形物に対する凝集活性を検討した結果を Table II に示す。本菌はトマトジュース固形物、アビセル（微細結晶セルロース）、濾紙セルロース、パルプ排液固形物、活性炭、セルロースパウダー、カオリンおよびタルクパウダーなど広範な固形物に凝集性を示した。また Fig. 7 のように、本菌がセルロース繊維に強く吸着していることが観察された。

6. 各種条件下での凝集阻害試験

本菌の固形物に対する凝集の機構を解明する一端とし

Table II. Aggregation-Accelerating Ability of Strain M 111 Cells against Various Kinds of Solids

Solids	Aggregation ability
<i>Shochu</i> waste	++
Avicel	+
Filter cellulose	++
Cellulose powder	+
Tomato juice	++
Pulp waste	++
Kaolinite	+
Talcum powder	++
Active charcoal	++
CM-cellulose	-
Casein	-

++, good aggregation ; +, aggregation ; -, no aggregation. M 111 cells were added to each solid suspension in 10 mM citric acid buffer (pH 4.2) except *shochu* waste and tomato juice.

て凝集促進活性に対する諸条件の影響について検討した。

(1) イオンの影響 : M 111 株の各固形物に対する凝集促進性に, 1 M NaCl および CaCl₂ それぞれの添加ならびに 40 mM EDTA の共存は影響を与えなかった。

(2) 糖類の影響 : いずれの固形物に対する凝集促進性も, 1 M グルコース, シュエクロース, セロビオース, マンノースの添加で阻害されなかった。

(3) pH の影響 : カオリンについては pH 5 以下でのみ凝集したが, 他の固形物については pH に関係なくよく凝集促進性を示した。しかしながら, pH 8 以上のアルカリ側ではややフロックが崩れる傾向が認められた。

(4) 強酸, 強塩基の影響 : Table III に示すように, 強酸性下ではカオリン, 活性炭およびタルクに対する凝集促進性を保持したが, アビセル, 濾紙および芋焼酎蒸

0.10 mm

Fig. 7 Binding of M 111 Cells to Cellulose Fiber

留排液に対する凝集促進性は弱くなった。また, 強塩基性下では, 活性炭およびタルクに対する凝集促進性はやや弱くなる程度であったが, カオリン, アビセル, 濾紙および芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性はほぼ完全に消失した。

(5) 界面活性剤の影響 : Table IV に示すように, アビセル, 濾紙繊維および芋焼酎蒸留排液に対する凝集促進性は, SDS 共存下ではほぼ完全に消失したが, CTAB, Tween 20 および Triton X-100 のそれぞれの存在下ではほとんど影響がなかった。一方, カオリン, 活性炭およびタルクに対する凝集促進性は, CTAB, Tween 20 および Triton X-100 それぞれの存在下で大幅に阻害されたが, SDS 存在下では凝集性がやや残った。

(6) 菌体表面のプロテアーゼ処理による凝集性への影響 : Table V に示すように Proteinase K 処理により菌体は芋焼酎蒸留排液, 濾紙セルロースおよびアビセルとの凝集促進性をほぼ完全に失ったが, カオリン, 活性炭およびタルクに対する凝集促進性は保持されていた。

Table III. Effect of Strong Acid and Alkali on the Aggregation-Accelerating Ability of Strain M 111 Cells

	Kao.	A. c.	T. p.	Avicel	F. c.	S. w.
1 N HCl	+	++	++	-	±	±
1 N NaOH	-	+	+	-	-	-
Control	+	++	++	+	++	++

++, strong aggregation ; +, aggregation ; ±, weak aggregation ; -, no aggregation. Kao., Kaolinite ; A. c., Active charcoal ; T. p., Talcum powder ; F. c., Filter cellulose ; S. w., *Shochu* waste.

Table IV. Effect of Detergents on Aggregation-Accelerating Ability of Strain M 111

	Kao.	A. c.	T. p.	Avicel	F. c.	S. w.
CTAB	±	±	—	+	++	++
Tween	—	—	—	+	++	++
Triton X-100	—	—	—	+	++	++
SDS	+	±	±	—	—	—
Control	+	++	++	+	++	++

++, strong aggregation; +, aggregation; ±, weak aggregation; —, no aggregation. Kao., Kaolinite; A. c., Active charcoal; T. p., Talcum powder; F. c., Filter cellulose; S. w., *Shochu* waste. Each detergents were added to 2% (v/v).

Table V. Aggregation-Accelerating Ability of Strain M 111 Cells Treated with Proteinase K

Treatment	Kao.	A. c.	T. p.	Avicel	F. c.	S. w.
Proteinase K	+	++	++	—	—	—
Control	+	++	++	+	++	++

++, strong aggregation; +, aggregation; —, no aggregation. Kao., Kaolinite; A. c., Active charcoal; T. p., Talcum powder; F. c., Filter cellulose; S. w., *Shochu* waste; Pro. K. treat., M 111 cells treated by Proteinase K.

なお, Proteinase K 処理後, 処理液を遠心分離して得た上清液には各種固形物の凝集性は認められなかった。

考 察

芋焼酎蒸留排液は, COD が4~5万 ppm ときわめて高く, また原料の甘藷に由来する固形物が多く含まれ粘度が高いため, 微生物による排液処理がきわめて困難である。その処理を行うにあたっては, まず, 固液分離を効率よく行うこと, すなわち濾過性を向上させることが有効であると考えられる。

著者らが今回土壌より分離した *Geotrichum* 属酵母の1種 M 111 株は, 芋焼酎蒸留排液に 10^7 個/ml 程度添加し, 軽く攪拌するだけで直ちに排液固形物を凝集させる効果を持ち, その凝集物はガーゼ様の濾布で容易に濾別することができた (Fig. 1)。芋焼酎蒸留排液中の繊維質の固形物のほとんどは本菌体との凝集物として濾別され, 凝集されず濾液に残された固形物としては, 発酵に用いられた酵母残骸がみられるのみであり, M 111 株は芋焼酎蒸留排液の固液分離に著しい効果のあることがわかった。その凝集促進性は, 検鏡によると M 111 株が蒸留排液固形物に強く吸着し, 菌体が架橋物として固形物同士を結合させていることによるものと考えられた

(Fig. 5, 6)。

本菌は芋焼酎蒸留排液の固形質だけでなく, アビセル (微結晶セルロース), セルロースパウダー, 濾紙セルロース, パルプ排液, トマトジュース固形物, カオリン, 活性炭およびタルクパウダーと広範な固形物に吸着しその凝集を促進させた (Table II)。そのうち芋焼酎蒸留排液, アビセル (微結晶セルロース), 濾紙セルロース, カオリン, 活性炭およびタルクと本菌との凝集性に影響を与える因子について検討した。その結果, 界面活性剤あるいは Proteinase K 処理による凝集パターン (Table IV, V) から, これら固形物は以下の2つのグループに大別できた。1つは, 芋焼酎蒸留排液固形物, およびアビセル, 濾紙繊維, セルロースパウダーなどセルロースが主体のグループで, 各種界面活性剤のうち SDS の存在下でのみ凝集促進性の阻害がみられ, また Proteinase K で処理された菌体では凝集促進性が認められなかった。もう1つのグループのカオリン, 活性炭, タルクパウダーでは, どの界面活性剤にも凝集阻害を受け, Proteinase K で処理された菌体は凝集促進性を保持していた。

以上の結果から, 芋焼酎蒸留排液固形物とセルロース系固形物が全く同じ凝集阻害パターンを示したことよ

り、本菌の芋焼酎蒸留排液固形物への吸着凝集性は、排液固形物成分のセルロース繊維に対する吸着に由来することが推察された。

また、本菌とセルロース系固形物との凝集には、SDS およびプロテアーゼ処理により凝集性が失われることより、菌体表層にあるタンパク質が関与している可能性が示唆された。なお、どのようなタンパク質が関与しているかは、今後検討する予定である。

一方、カオリン、活性炭、タルクパウダーなどに対する吸着凝集は、その凝集が界面活性剤一般に強く阻害を受けることから、菌体との疎水的な吸着による可能性が考えられる。バクテリア菌体と土壌粒子、鉱物粒子の吸着には菌体疎水性の関与が考えられている^(14,15)が、本菌とカオリン、タルクパウダーなど鉱物粒子の吸着も同様の機構によることが推察される。

さて、菅野ら⁽¹⁶⁾は、清酒もろみからセルロース吸着性を持つ清酒酵母を分離し、その吸着性は菌体の培養 age が古くなると菌体表層のマナン層が剥離し、内層のタンパク質がむき出しになることによって発現するのであると推察している。M 111 株のセルロースに対する吸着性も菌体表層タンパク質の関与が考えられるが、本菌の場合培養 age によって吸着性が変化することは認められず、セルロースに対して強い吸着性を示すタンパク質が菌体表層に存在するものと推察される。このように本菌体が培養 age に依存することなく安定な凝集促進性を示すことは、実用規模の処理を行う際の菌体の培養にとって有利な点と考えられる。なお本菌を用いた実用規模での芋焼酎蒸留排液の処理は検討中である。

さらに本菌はセルロース系の固形物一般を強く凝集させること (Table II) より、芋焼酎蒸留排液だけでなく、パルプ排液の凝集処理、野菜や果実ジュース中の植物繊維固形物の分離など、広範囲の植物繊維固形物除去に、微生物凝集剤として適用できる可能性が示された。

要 約

(1) 芋焼酎蒸留排液の不溶性固形物を強く凝集させる微生物 M 111 菌を分離した。

(2) 本菌は分類学的諸性質から不完全菌類 *Geotrichum* 属に属する酵母であると同定した。

(3) 本菌は芋焼酎蒸留排液の固形物に強く吸着し、菌体が架橋のような役割をして凝集物を形成しているこ

とが観察された。

(4) 本菌は芋焼酎蒸留排液だけでなく、セルロース固形物一般に対して強く吸着し凝集を促進させる効果を持ち、またカオリン、タルク、活性炭などに対しても凝集促進作用を示した。

(5) 本菌のセルロース系固形物に対する吸着機能とカオリン、タルクなどに対する吸着機能は別であり、セルロース系固形物に対する吸着には、菌体表層のタンパク質が関与しているものと推察された。

- (1) 鈴木 修, 佐藤俊一, 家藤治幸, 下飯 仁, 蓼沼 誠, 吉沢 淑: 醸協, **85**, 137—141 (1991).
- (2) 飯塚 廣, 後藤昭二: 「酵母の分類同定法」第3版, 東京大学出版会, 東京, 1980, pp.1—78.
- (3) 長谷川武治: 「微生物の分類と同定」改訂版, 学会出版センター, 東京, 1984, pp.153—254.
- (4) N. J. W. Kreger-van Rij: in "The Yeasts, a Taxonomic Study," 3rd revised and enlarged ed., Elsevier, Amsterdam, 1984, pp.45—104.
- (5) J. A. Barnett, R. W. Payne, and D. Yarrow: in "Yeasts, Characteristics and Identification," 2nd ed., Cambridge University Press, New York, 1990, pp.15—49.
- (6) C. C. Lindegren and G. Lindegren: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **29**, 306—312 (1943).
- (7) J. G. Kleyn: *Wallerstein Lab. Commun.*, **17**, 91—97 (1954).
- (8) D. O. McClary, W. L. Nulty, and G. R. Miller: *J. Bacteriol.*, **78**, 362—368 (1959).
- (9) H. P. R. Seeliger: *J. Bacteriol.*, **72**, 127—131 (1956).
- (10) J. P. van der Walt and V. K. Hopsu-Havu: *Antonie van Leeuwenhoek*, **42**, 157—163 (1976).
- (11) J. P. van der Walt, M. Th. Smith, and Y. Yamada: *Antonie van Leeuwenhoek*, **57**, 59—61 (1990).
- (12) A. C. M. Weijman: *Antonie van Leeuwenhoek*, **45**, 119—127 (1979).
- (13) J. P. van der Walt: in "The Expanding Realm of Yeast-like Fungi," ed. by G. S. de Hoog, M. Th. Smith, and A. C. M. Weijman, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1987, pp.19—31.
- (14) T. A. Stenstrom: *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 142—147 (1989).
- (15) T. A. Stenstrom: *Arch. Microbiol.*, **143**, 6—10 (1985).
- (16) N. Sugano, H. Akiyama, and K. Noshiro: *Agric. Biol. Chem.*, **39**(5), 959—965 (1975).