

地場農産物からの有用微生物単離と性状確認

—神奈川県相模原市緑区城山エリア—

山崎 薫¹ 歳川 夏貴² 石神 優紀子³

本学町田校舎近隣の神奈川県相模原市緑区城山エリアには城山湖里地里山観光振興協議会が発足し、「産学官連携」が推奨されている観光推奨の一端として産品開発に取り組んでいる。既にその第一弾として、販売されている梅ジュースに付随し、梅に関連する新たな産品開発として、原料梅ならびにジュース作成時に出る漬け込み後の梅に付着している有用微生物に着目、今後の活用基盤となる有用微生物の単離を本研究の主目的とし、単離菌種の性状確認（の一部）を行った。里地里山として豊かな土地柄より多種多様な農産物等が地元素材として栽培されていることから、梅以外の素材からも有用微生物の単離が可能であると判断し、稲穂、ヤマブドウからも有用微生物の単離を試みた。その結果、いずれの地元素材からも酵母が単離され、一部、乳酸菌を単離することができ、今後、「梅ほ乃香」に続く、産品開発に寄与できると考えられる有用微生物を得ることができた。

キーワード：梅 稲穂 ヤマブドウ 酵母 特産品

1. 緒言

本学町田校舎近隣の神奈川県相模原市緑区城山エリアには2014年4月より城山湖里地里山観光振興協議会が発足し、「産官学連携」が推奨され、観光振興事業に本格的に力を入れ始めている。特に本協議会の中核となっている小松地区（小松、小野、龍籠、松風）、城山地区（穴川、風間）の谷戸部は複雑な地形と豊かな緑を有しており、周辺領域が急速に都市化するなか、多様な環境に多くの動植物が見受けられる¹⁾。

また、本沢梅園は緑区川尻財産区所有の梅園であり、梅酒や梅シロップ、梅干し等に適している白加賀の品種を栽培している。3haの敷地を有し、約1000本のウメの木が植えられており、開花シーズンの3月中旬には「本沢梅園まつり」が開催され、6月の収穫時期には「梅のもぎ取り」が体験

でき、多くの親子連れや観光客で賑わう。この本沢梅園のウメを手づくり製法で作った「梅ほ乃香」という梅ジュースを城山の特産品として、城山湖里地里山観光振興協議会が2014年9月に商品化した。140ml（果汁20%）と、720ml（果汁100%）の2種類を製造し、2015年2月の5日間に羽田空港で開催された「神奈川みやげもの市場」にも出品し、はちみつや砂糖が入りとても飲みやすいジュースとなっている^{2), 3)}。

現在、地域活性化の一端として、更なる特産品開発を模索している。その際に素材をどう生かすかが重要となる。別研究において、前述した「梅ほ乃香」を用いたレシピ考案も依頼され、考案品の試食も地元の方々に行って頂いている。一次加工品の有効活用である。

更なる発展形として、枝分かれ式に産品開発を行う視点として、本学として地元企業、団体の方々へ地場より採取した有用微生物を活用した加工食品開発への取り組み提案として、「梅ほ乃香」製造のための原料梅ならびにジュース製造時に出る

1 東京家政学院大学現代生活学部生活デザイン学科

2 東京家政学院大学現代生活学部生活デザイン学科
(平成27年度卒業生)

3 神奈川県立相模原青陵高等学校家庭科非常勤教諭
東京家政学院大学大学院修士課程(平成26年度修了)

漬け込み後の梅に付着している有用微生物に着目した。よって、今後の産品開発基盤となる有用微生物の単離を本研究の主目的とし、単離菌種の性状確認の一部を行った。加えて当該エリアより収穫された稲穂、ヤマブドウからも有用微生物の単離を試みた。

2. 実験方法

2-1 試料

有用微生物を単離する試料として、神奈川県相模原市緑区川尻財産区（特別地方公共団体）にある本沢梅園栽培された梅の実（白加賀；徳川時代より関東地方で多く栽培されてきた品種、多果実は球形で、重さが30g前後の大果である^{4), 5)}。果皮の色は淡緑黄色で、果肉は厚く品質がよい。今回、試料として用いた条件は梅ジュース作成のため、青梅の状態で収穫されたもの、原料梅試料とした青梅を採取した樹木の葉、その梅の実を「梅は乃香」作成のため、ハチミツと上白糖で漬け込んだ後の梅の実、小松地区で収穫され、毎年5,500㎡の広大な遊休農地を活用し、10月に毎年恒例の「小松コスモスまつり」で販売されていた稲穂、同地に設置されたブドウ棚に生育していたヤマブドウの5試料とした。青梅の収穫時期は平成27年6月、浸漬梅は同6月収穫梅を約3か月間、ハチミツと砂糖に浸漬した梅、稲穂は同9月中旬に収穫、乾燥品でもみ殻付きのもの、ヤマブドウは「小松コスモスまつり」開催中の10月に収穫したものを用いた。単離微生物に関しては、今回は酵母様菌に特に注目し、性状確認を進めた。単離酵母の性状確認の比較対象として、研究者らが過去に三宅島産アシタバの花より単離している酵母を用いた。

2-2 微生物の単離

滅菌済み1.0% ショ糖液に各試料を入れて24時間から最大72時間培養し、BCP加プレートカウント寒天培地（栄研化学株式会社）、MRS寒天培地（関東化学株式会社）、SCDLPブイヨン培地（栄研化学株式会社）に塗抹し、48時間培養した。次いで、培地上に出現したコロニーを白金耳で鈎菌し、MRS液体培地とSCDLPブイヨン液体培

地に植菌し、18～24時間培養した。生育した菌液を0.85%生理食塩水で単離が行いやすい菌数に段階希釈し、調整後、BCP加プレートカウント寒天培地、MRS寒天培地、SCDLPブイヨン培地に培地に塗抹して培養した。これを菌が単一になるまで繰り返した。単離した菌は各試験に供するまで冷蔵保存（4℃）した。本研究は試料採取、保存条件に合わせ、好氣的条件のもとで培養し、単離を進めた。

2-3 単離菌株の同定

平板に出現したコロニー形態を肉眼観察し、単離菌株の同定を進めるため、先ず、カタラーゼ活性を1.0%過酸化水素溶液に菌体をつけ、菌体の発泡の有無を確認した。加えて、スライドガラスに菌を火炎固定後、グラム染色を行い、顕微鏡（CH20、OLYMPUS社）によって形態を観察した。糖資化性テストを行い、病原性を有した菌株ではないか判別するため、アピオクサノグラム・アピ50CH（BIOMERIEUX社）を用い、確認を行った。酵母の同定においては、顕鏡だけでは無く、WL nutrient 寒天培地（MERCK社）を用い、選択培地における培地の色の変化による同定も行った。

2-4 単離菌株の性状確認

梅ジュース原料梅より単離した酵母に関しては、単離菌株の生育曲線を生育の栄養源となる糖源の好みの探索と併せて、測定した。糖源として6%ブドウ糖（和光純薬工業株式会社）、ショ糖（株式会社パールエースE）、果糖（和光純薬工業株式会社）を普通ブイヨン液体培地（極東製薬工業株式会社）に培地全量6%の各々の糖源を加えたものに普通ブイヨン液体培地のみで前培養した菌液を0.1ml加え、 $34 \pm 1^{\circ}\text{C}$ で培養開始し、培養時間ごと（定時：2時間後、24時間後、48時間後、72時間後、110時間後、135時間後）にOD値0.66を分光光度計（UVmini1240、SHIMADZU社）で測定した。

3. 実験結果

有用微生物として酵母と乳酸菌分離を中心に試

料より分離した菌株を精査した結果を表1に示した。分離細菌総数は平板に出現したコロニーを肉眼観察により、大きさ、色、光沢より分別した数である。酵母様細菌、乳酸菌はカタラーゼ活性、顕鏡、APIによる糖資化性試験、選択培地による同定操作後に分類した菌株数を示した。

表1 本研究で各試料より単離した菌株数
cfu/ 同一試料出現コロニー

	分離 細菌総数	酵母様 細菌	乳酸菌 (桿・球菌)
原料青梅	9	1	2
原料木葉	15	2	0
浸漬梅	3	1	2
稲穂	5	1	1
ヤマブドウ	8	2	2

表1の各試料より単離した菌株のなかより本研究ではまず、梅ジュース原料青梅より単離した酵母1菌株(図1)に対し、将来的に発酵食品へ応用する際に重要となるエネルギー源として好む糖源を生育曲線作成と併せて確認した結果を図2に示した。糖源には加工現場で手に入る糖の種類に絞り込み、供試した。梅ジュース原料青梅より単離した酵母を他の菌株に先駆けて同定を進めた理由は、単離時に同定開始初期段階よりWL nutrient 寒天培地を用いた選択培地における試験に対して、酵母を示す培地の色の変化が認められ、顕鏡においては酵母特有の娘細胞と母細胞が認められたため、極めて酵母である可能性が高いと判断した結果である。

性状試験の比較対象として本研究室所有分離株アシタバの花より採取した酵母(以降、アシタバ酵母と表記した)を用いた。

梅ジュース原料青梅より単離した酵母は*Kloeckera apis/apiculata*と総合判定した。本菌株は自然界などに存在し、果実類の表面などから単離される酵母である⁶⁾。以降、本酵母を青梅酵母と表記した。

増殖期に十分培養を行えなかった場合、酵母の増殖が進まず、その後の生育の結果に影響がある

ことが分かった。その結果を表2に示した。

表2の結果より、生育曲線作成時には添加する前培養液の培養時間が24時間培養物に対し、48時間培養物が増殖に適していることも確認したため、図2と3に示した青梅酵母とアシタバ酵母の生育曲線は前培養48時間の試料を用い試験した結果を示している。

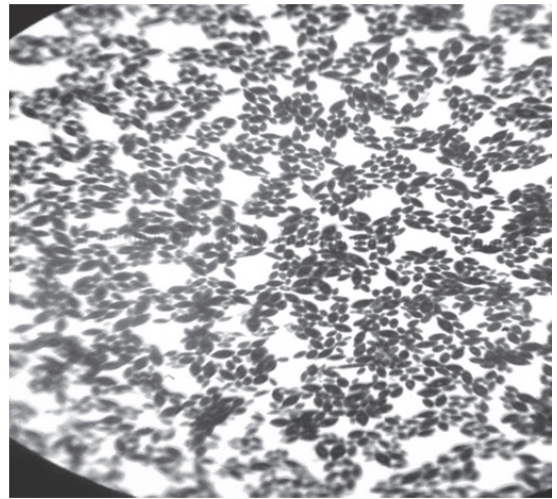


図1 顕鏡観察時の青梅酵母

表2 培養時間による生育酵母数の違い

	cfu/ml	
	青梅酵母	アシタバ酵母
24時間後	4.0×10^5	1.7×10^5
48時間後	1.3×10^7	4.0×10^7

生育曲線では青梅酵母は果糖を最も好み、アシタバの酵母は全体的に増殖しているが、ブドウ糖が最も好まれていた。

また、青梅酵母は発酵が進む過程で梅酒の様なアルコール臭を発してくることも確認した。

4. 考察

天然酵母を家庭で扱う醍醐味は同じ品種の果実類を用いても発酵時間などに差ができ、その待ち時間も楽しみの一つである。しかし、産品を開発し、安定供給を目指す場合、適性の高い栄養源を特定し、培養する必要がある。加えて培養時間の特定も作業効率を考えた場合、重要である。

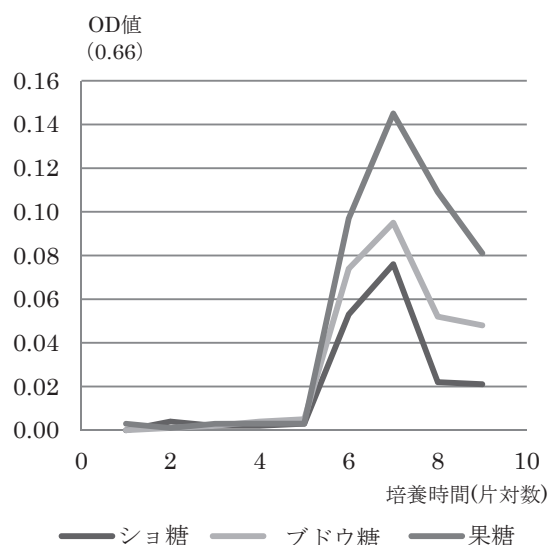


図2 青梅酵母の生育曲線

多数分離した有用菌株の候補の一つである青梅酵母は2～3日目で増殖ピークに達することを確認できた。この結果は、種々の天然酵母パンのレシピ本を見た中でも増殖速度が速い天然酵母に分類されると示唆された。通常、5日目に増殖ピークを迎えている天然酵母が多い。増殖スピードが速いことは製造現場では大変有益である。

青梅酵母の分離源である青梅は果実であるため、生育における糖源として、果糖を最も好む結果が得られたと考えている。

比較対象としたアシタバ酵母は培養5日目に増殖ピークに達し、糖源としてはブドウ糖を最も好んだが、比較的、総ての糖源において万遍なく培養可能な菌株でもある。本研究において、ブドウ糖を最も好む結果を得た理由として、アシタバ酵母は当研究室にて4年前より継代を行ってきたため、一般的な培地組成として使用される糖源であるブドウ糖を最も好むようになった可能性がある。可視化においては、青梅酵母とアシタバ酵母の濁度がほぼ同じであったが、生菌数測定の結果を比較したところ、24時間培養した結果ではアシタバ酵母の生菌数の値が少ないことから、アシタバ酵母は青梅酵母よりも酵母の大きさが大きいことが考えられた。

現段階は試験管内の *in vitro* の実験結果である

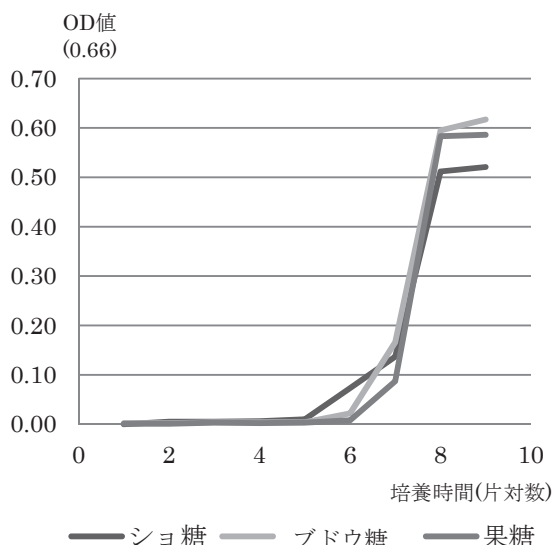


図3 アシタバ酵母の生育曲線

ため、例えば、パンの発酵試験などを行った時には培養時間はどの様に変化するのか、必要とする栄養源の好みは変化するのか、加工食品の他の素材との相性も視野に入れて確認が必要であると考えている。

5. 今後の展望

地域活性化には継続可能な要件として地域資源を有効に活用することが重要であると考えられる。地域素材の豊かな神奈川県相模原市緑区城山エリアにおいては、産品開発の視点として地域の魅力ある農産物を活用することにより、特性ある加工食品の提案が行える。素材にこだわることの可能な地域ともいえる。

今後、一次産品を地元の企業や団体が二次産品として継続的に作り出す条件として、手作り感と機械化の折り合いをつける必要性も感じている。

また、販路開拓としてマーケティング戦略も重要であるが、技術と味のバランスが産品販売を伸ばす要素である。その様ななか、地域に根差した本学特性をアピールする上でも他の大学機関も隣接する立地にある町田校舎においては、新たな産品開発に取り組む上で施設や技術に難しい特殊な部分を担うことも存在意義になると考えている。このことが「産学官連携」による地域活性で求め

られる項目でもあると考えている。

本研究では地場の有用微生物を単離し、その特性を探る初期段階を遂行した。地球上のありとあらゆる所に微生物は存在し、何らかの微生物は単離される。地場の素材には地場の微生物が環境的にも合った働きを示す可能性が高いと考えている。

今後、青梅酵母以外に単離した酵母、乳酸菌の性状確認を進めるだけでなく、考察にも述べた様に加工食品への応用時条件に即した活用適性（発酵力試験等）をより探り、酵母と乳酸菌の一般的な活用手段である発酵加工食品への具現化提案を行っていき、枝分かれの産品開発の更なる提案を進めて行く。

謝辞

本研究は平成 27 年度東京家政学院大学若手研究者研究助成も活用し、研究遂行しました。また、城山湖里地里山観光振興協議会の貴重な場の提供やご協力を頂きました。ここに関係各位に対し、深謝致します。

引用文献

- 1) 城山湖里地里山観光振興協議会：「里地・里山“再発見”～龍が棲まうという伝説の里山～」. pp.1-12（城山湖里地里山観光振興協議会，神奈川，2015）
- 2) 一般社団法人相模原市観光協会：相模原市観光協会ホームページ. <http://www.e-sagami-hara.com/nature/flower/0366/>「いい～さがみはら 本沢梅園」2016.2.29
- 3) 株式会社タウンニュース社：神奈川県全域・東京多摩地域の地域情報誌タウンニュースホームページ. <http://www.townnews.co.jp/0303/2015/01/22/268240.html>「梅ジュースを全国へ | さがみはら緑区 | タウンニュース」2016.3.1
- 4) 梅田操：『ウメの品種図鑑』. pp.18,116-185（誠文堂新光社，東京，2009）
- 5) 河野友美：『果実・種実』新・食品事典（6）. pp.75（真珠書院，東京，1991）
- 6) Takumi, O. and Chikao, O. Chuichi, I. Shoji, G. Identification and Characterization of Film-Forming Yeasts Isolated from Decomposing Salted Ume-Processed Products. J. JPN. SOC. FOOD SCI. TECHNOL 44(6):407-417 (1997)

（受付 2016.3.23 受理 2016.7.11）