

【 73 】

氏名	伊藤 うめの
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第187号
学位授与の日付	昭和42年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Studies on the Yeast Flocculation During the Wort Fermentation (麦汁醱酵中における酵母の凝集に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 田中正三 教授 大杉治郎 教授 波多野博行

論文内容の要旨

酵母の中には醱酵の進行中に細胞がたがいに凝集をおこして沈降する種類と、いつまでも懸濁したまま沈降しないものがある。この差異のおこる原因の解明は、生物学的にも興味ある研究課題であるが、特に下面醱酵法によるビールの醸造法においては、醱酵のある段階で酵母に適度の凝集を形成させることが醸造技術上すこぶる重要な問題になる。したがって、この凝集機構については従前から多数の醸造関係の研究者によって研究され、数多くの説が出されている。しかし、酵母の凝集現象に関連をもつ内的、外的の因子が非常に多く、また、これの表現の型も多様、複雑であるためまとまった結論がえられていない。申請者の学位申請論文は、麦汁醱酵に際しての酵母の凝集と深い関係をもつと推定した要素について主として生化学的立場から研究し、凝集の原因解明に寄与しようとしたものである。

主論文は二部四編に別れていて、第一部(その1)は酵母のタン白質と凝集との関係を研究したものである。酵母細胞の表面は通常負に帯電しているが、電気的に中性となる pH は 2~3 である。しかるに、麦汁醱酵に際して、凝集がおこるのは最初の pH 5.6 が 4.5 付近に低下した頃である。また、緩衝液を用いる試験でも酵母凝集はその表面荷電の変転点ではおこらず、却って陰荷電をもっている pH 4.5 で凝集沈降する。したがって、タン白質の等電点における沈降と同様の理由によって凝集がおこるとすると、凝集時における酵母表面が pH 4.5 となっていると考えなくてはならない。申請者は、まず予備実験として高分子のタンニンの酵母への吸着について検し、細胞の表面がタン白質に覆われていると推測される結果をえた。そこで酵母を音波破碎してえた液についてタン白質をしらべ、主なものとしてリンタン白のチモカゼインとアルブミン型のセレビジンとを分離した。前者は圧倒的少量に酵母に含有されており、そのリン酸含有補欠族は核酸型の化合物であることを定めた。チモカゼインは pH の変化に極めて鋭敏で pH 4.5 で沈降し、カルシウムイオンの添加で沈降するなど、酵母の凝集と一致する挙動を示した。後述するように、凝集性酵母ではチモカゼインは細胞外に滲出し、細胞膜に固着することがわかったので、申請者は、このタン白質は酵母の凝集性を左右する重要な要素の一つであるとしている。

主論文第一部（その2）は、麦汁中のアミノ酸含量と酵母の凝集性との関係について研究したものである。リン酸欠乏培地に生育した酵母が、リン酸化合物の含量が低く、また、凝集性にも変化を示すことが知られているが、申請者はホルモル窒素量が 25.30 mg% と 15.88 mg% の二種の麦汁に酵母を接種し、同一条件の下に培養して醗酵 2,4および6日目の酵母について、沈降したものとお浮遊しているものとに別ち、種々のタイプのリン酸化合物の含量などについて詳査した。その結果、麦汁中のアミノ酸量とは関係なくリン酸化合物の含量は2日目に最高となるが、以後は減少し、特にアミノ酸含量の低い麦汁に生育したものは、その減量が急速であり、早期凝集をおこした。また、同期の沈降酵母と浮遊酵母とを比較すると、リン酸化合物は後者に多いことがわかった。申請者は、このリン酸化合物の含量と凝集性との関係をチモカゼインとの関連において説明できるとしている。

主論文第一部（その3）は、麦汁の成分のうち、酵母の凝集と関連をもつものを検索したものである。麦汁からグロブリン、アルブミンおよびプロテオースに属するタン白質をとり出し、その諸性質をしらべた。電気泳動法による等電点測定の結果は、いずれも pH 4.0-4.5 であったが、これらのタン白質の添加では酵母凝集は促進されなかった。また、ホップおよび麦芽殻皮から鉛塩として数種のタンニンを取り出し、これらの酵母凝集に及ぼす影響をしらべたところ、タンニンの種類によってその効果には差はあるが、いずれも強い凝集促進をおこした。また、タンニン溶液に酵母を懸濁させたのち、細胞に吸着されるタンニン量をしらべると、可成りの量が吸着されていることがわかった。特に、麦汁のタン白質の共存の下ではタンニンの酵母への吸着と凝集促進が盛んになることが認められた。申請者は、このタンニンの凝集に対する効果は、これがタン白質と複合体をつくり、酵母細胞の表面を一層凝集し易い状態に導くことによると推論している。

主論文第二部は、凝集性酵母と非凝集性酵母との相異点について詳細にしらべたものである。酵母を pH 4.6 の酢酸緩衝液に懸濁させて、カルシウムイオンを加えると盛んに凝集するものと然らざるものがある。後者は麦汁醗酵に際しても非凝集性を示す。この二群の酵母についてチモカゼインの含量、その分子量、カルシウムイオンによる沈殿、リン酸化合物の差異、タンニンの吸着などについてしらべたがほとんど差異が認められなかった。ただ、酵母を緩衝液で浸出すると、チモカゼインと推定されるものの滲出と、その細胞表面への固着には相当な相異があることが認められ、非凝集性の酵母ではタン白質は容易に緩衝液に溶出することが判明した。また、生育初期の酵母は非凝集性酵母と似た挙動を示した。

以上の結果を総括して申請者は、麦汁醗酵中における凝集性酵母の凝集については、チモカゼインが重要な要素の一つであり、醗酵が進行すると、チモカゼインが細胞外に浸出して表面に固着し、細胞自体があたかもタン白質粒子のように挙動することになるため、チモカゼインの等電点の pH 4.5 では懸濁状態が非常に不安定となり、その上に麦汁中のタンニンが加わり、タン白質と結合して凝集をさらに促進する結果、酵母の沈降がおこるとしている。なお、この説明によってビール製造特に観察される麦汁中の栄養物含量や酵母の老若などの相異による凝集性の変化なども理解できるとしている。

参 考 論 文

- (その1) 9種の酵母について、その生態・醗酵生理・醗酵生産物などを詳しくしらべた研究である。
(その2) より(その12)まで。麦汁における酵母凝集に関する研究で、これらの結果から主論文の焦点

が絞られたもので、いわば主論文の前駆的研究である。

(その13)より(その20)まで。ビール製造時に汚染をおこす細菌に関する菌学的・生化学的研究で、乳酸菌の新株の分離や、その栄養要求性、醗酵の初期過程における代謝の特異性などについての研究である。

論文審査の結果の要旨

酵母の中には醗酵の進行中に細胞がたがいに凝集して沈降するものと、いつまでも浮遊しているものがある。その原因の解明は生物学的にも興味ある研究課題であるが、下面醗酵法によるビール製造においては醸造技術上最も重要な問題の一つである。したがって、酵母凝集機構に関しては数多くの説が出されているが、関連すると思われる要因がすこぶ多く、また、表現の型も複雑であるため、未だまとまった結論がえられていない状態である。申請者は、ビール会社の研究所に30年間勤務して、主としてこの問題の研究に従事し、凝集要因と推定されるものを追究してえた参考論文(その2)から(その12)までの研究結果を基として主論文の研究を行ない、凝集機構の解明に寄与しようとしている。

主論文の第一部では、酵母がその表面の帯電の変転面である pH 2~3 では凝集をおこさず、それより遙かに高い pH 4.5 付近で最大の凝集をおこす原因の一つが、酵母の含有するタン白質によることを指摘している。酵母の含む数多くのタン白質のうちリンタン白型のチモカゼインが等電点 pH 4.5 でカルシウムイオンの添加で沈殿するなど凝集における酵母の挙動と密接な関係を示すこと、これが細胞外に滲出することなどから、凝集に際してはタン白質に覆われて酵母細胞はあたかもタン白粒子として挙動すると推論している。また、アミノ酸含量の異なる麦汁中で生育した酵母について、生育過程におけるリン酸化合物の含量と凝集性の変化について追究し、その結果をチモカゼインとの関連において説明している。つぎに、麦汁の成分で酵母凝集に関係のあるものを追究し、麦汁中のタン白質はいずれも pH 4.0~4.5 に等電点をもつが、凝集促進の効果がなく、ホップと麦芽穀皮からとり出した数種のタンニンはいずれも強く凝集を促進することを認めている。そして、このタンニンの効果は、酵母細胞の表面でタン白質と結合して複合体をつくり、細胞の懸濁状態を不安定にすることにあるとしている。

主論文第二部では、凝集性酵母と非凝集性酵母との間でのチモカゼイン含量やその分子量その他の性質、リン酸化合物の質と量、タンニンの吸着能などの差異の有無をしらべ、二群の酵母の間にはほとんど差異がないことを認めたが、凝集性酵母ではチモカゼインの滲出とこれの表面への固着の点で、非凝集性酵母とはかなりの相異があり、これが凝集性付与の一因となっていることを明らかにしている。

以上の結果を総合して、申請者は、麦汁醗酵に際しての酵母凝集は、酵母のチモカゼインが体外に滲出して細胞表面に固着し、細胞はあたかもタン白粒子として挙動するようになり、醗酵の進行にともなって pH の低下がおこってチモカゼインの等電点に達すると懸濁状態が不安定となって凝集沈降ははじめるものであり、さらに、麦汁のタンニンが酵母表面のタン白質と結合し凝集を一層盛んにするとしている。

申請者の研究は、従来、要因の複雑さからまとまった結論に到達していなかった酵母の凝集現象に、酵母のチモカゼインを中心にして一応の解明を与えたものであり、生化学のこの方面での発展に寄与するところが大きい。

参考論文20編は、いずれもビール醸造に関連した微生物の生化学的研究であり、申請者がこの分野に広い学識をもっていることがうかがえる。主論文・参考論文を併せて評価して、申請者伊藤うめの申請論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。