

川上村の微生物資源を利用した食品製造



川上村HPから転載



500年以上
手付かずの原生林

水源地の森

豊富で
きれいな水資源



平成22年

大阪工大と川上村 連携・協力に関する協定

川上村の植物から酵母を単離する

平成31年(令和元年)度

川上村大学連携事業補助金の助成を受けて実施
(研究は平成30年からスタート)

生命工学研究部の学生(1~3年生)が
中心となって研究を遂行



川上村での植物採取



麹汁培地(抗生物質含有)
でのスクリーニング

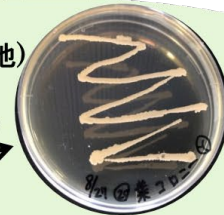


酵母の単離操作(YPD培地)

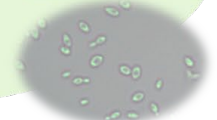


ピックアップ

赤矢印: 酵母のコロニー



単離した菌株の
顕微鏡観察(400倍)



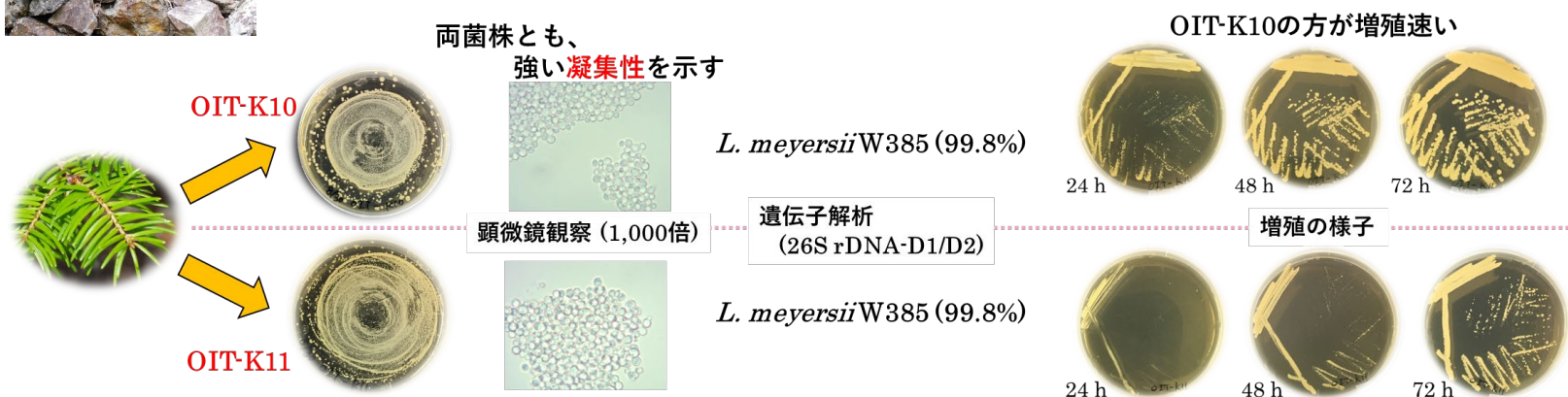
菌株	分離源	キラー性 (協会酵母7号)	遺伝子解析-26S rDNA-D1/D2- 結果 (カッコ内の数字は相同性)	発酵食品との関連
OIT-K1	サツキ(葉)	なし	<i>Metschnikowia koreensis</i> CLIB1630 (99.2%)	
OIT-K2	ヤマゴボウ(房)	なし	<i>Candida akabanensis</i> CBS5039 (100%)	パームワイン
OIT-K3	⑳(葉)	なし	<i>Lachancea thermotolerans</i> CBS6340 (100%)	サワービール、ワイン
OIT-K4	ヤマゴボウ(実)	なし	<i>L. meyersii</i> W385 (99.6%)	ケフィア(ブラジル)
OIT-K5	ヤマゴボウ(葉)	なし	<i>C. akabanensis</i> CBS5039 (100%)	パームワイン
OIT-K6	㉕(花)-1	なし	<i>L. thermotolerans</i> CBS6340 (100%)	サワービール、ワイン
OIT-K7	㉕(花)-2	なし	<i>L. thermotolerans</i> CBS6340 (100%)	サワービール、ワイン
OIT-K8	㉕(葉)	なし	<i>L. meyersii</i> W385 (99.6%)	ケフィア(ブラジル)

「トガサワラ」からの酵母の単離



トガサワラ

マツ科トガサワラ属に属する日本固有種の常緑樹
紀伊半島の中南部、四国高知の東部のみに生息
川上村三之公にある群生林は国の天然記念物に指定



令和元年度までの研究により数種類の酵母を獲得できたが...

Saccharomyces cerevisiaeを採りたい!!

(可能であれば、水源地の森から)



酵母の探索を継続

水源地の森の腐葉土から酵母を単離する

令和3年度 川上村大学連携事業補助金の助成を受けて実施

水源地の森

吉野川(紀の川)の源流にあたる、
500年以上人の手が入っていない原生林

川上村はこの森の約740 haを購入し管理することで
吉野川(紀の川)の源流を守るための取組みを実施

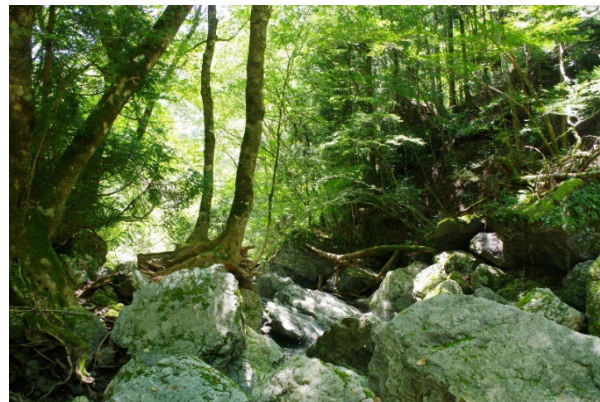
川上村を象徴する場所の一つであるこの森から

酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を入手したい!!



パン、酒類など食品の製造に
利用されている酵母種

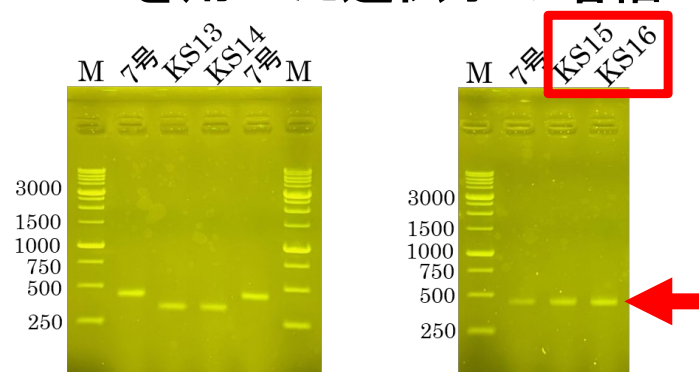
安全性が担保されている (GRASレベル)



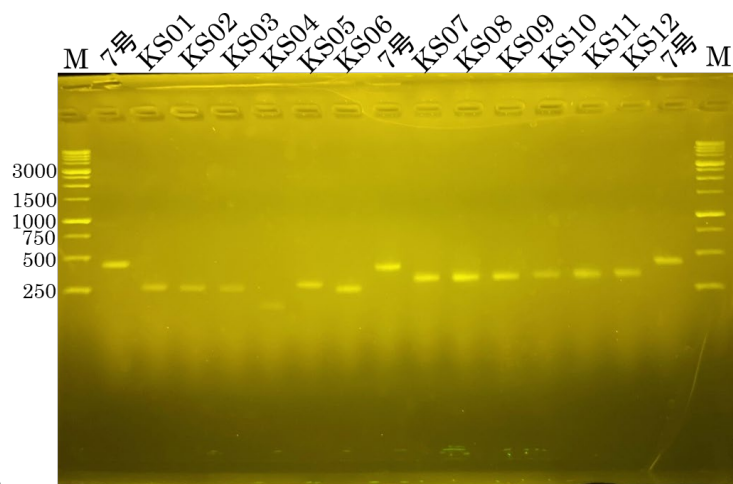
単離した酵母の遺伝子解析による同定

水源地の森の腐葉土から**16菌株の酵母**を単離することができた

PCRを用いた遺伝子の増幅



OIT-KS15株とOIT-KS16株の結果で、*S. cerevisiae* 協会7号と同じサイズの遺伝子が増幅



7号: *S. cerevisiae* 協会7号 (450 bp)

さらに詳細な遺伝子解析を実施した結果、

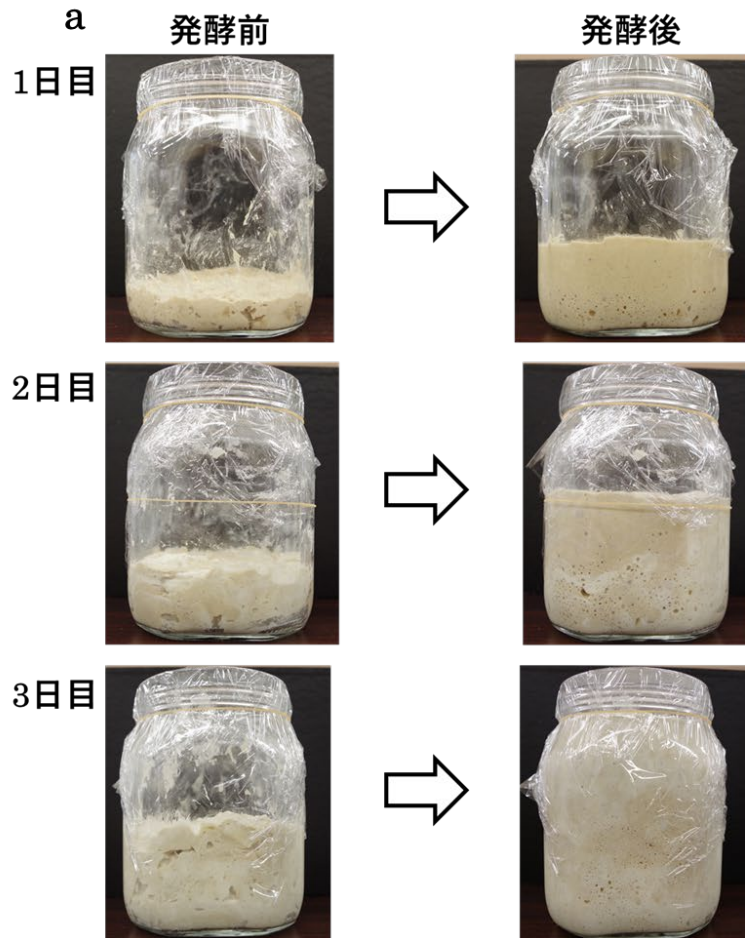
菌株名	26S rDNA解析 相同性の高い菌種	相同性 (%)
OIT-KS01	<i>Zygorulasporea florentina</i>	99.5
OIT-KS02		
OIT-KS03	<i>Cyberlindnera suaveolens</i>	100
OIT-KS04		
OIT-KS05	<i>Lachancea thermotolerans</i>	100
OIT-KS06		
OIT-KS07	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99.3
OIT-KS08		
OIT-KS09		
OIT-KS10		
OIT-KS11		
OIT-KS12	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99.5
OIT-KS13		
OIT-KS14	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99.5
OIT-KS15		
OIT-KS16	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100

S. cerevisiaeであることを確認

単離した酵母を利用してパンを製造する

S. cerevisiae OIT-KS16 → 川上原生林酵母 (仮)

中種製造時の発酵の様子(a)と、中種法を利用して製造したパン(b, c)



より美味しいパンの製造を目指して開発中

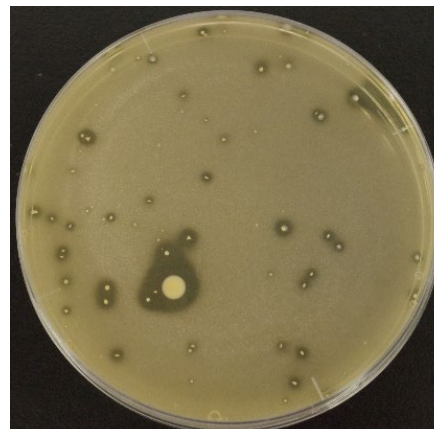
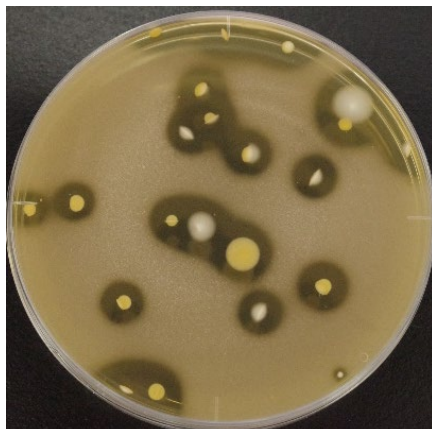
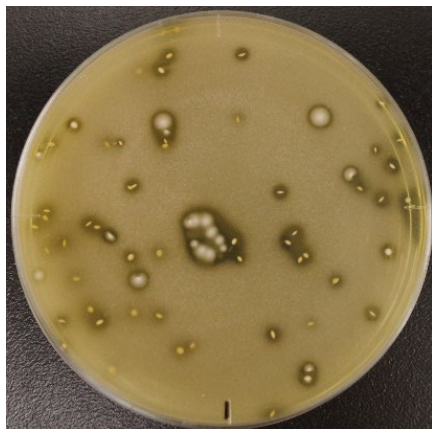
川上村の家庭で作られている

「ぬか漬け(ぬか床)」から乳酸菌を取得する

令和2年度 川上村大学連携事業補助金の助成を受けて実施

10件のご家庭にぬかを提供していただき、
そこから18菌株の乳酸菌を採取することができた

ぬか懸濁液を培養したときに形成されたコロニーの一例



白い塊が乳酸菌など微生物のコロニー
乳酸菌が生産する乳酸によりコロニー周辺に透明領域が形成

16S rDNA塩基配列解析を行うことで菌種の同定を行った結果、
それぞれの株が以下に示した菌種であることが分かった

菌株	相同性の高かった種属名	相同性 (%)
No. 1-1	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> JCM1149	100
No. 2-2	<i>Latilactobacillus sakei</i> NBRC15893	100
No. 3-1 No. 3-3	<i>Ligilactobacillus acidipiscis</i> NBRC102163	99.6
No. 4-1	<i>Lac. plantarum</i> JCM1149	99.8
No. 4-3	<i>Companilactobacillus alimentarius</i> NBRC106464	100
No. 5-1	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i> JCM1164	100
No. 5-3	<i>Pediococcus ethanolidurans</i> Z9	100
No. 6-1 No. 6-2	<i>Lac. plantarum</i> JCM1149	100
No. 7-1	<i>Levilactobacillus parabrevis</i> LMG11984	99.4
No. 7-2	<i>C. heilongjiangensis</i> DSM28069	99.6
No. 8-1	<i>Lac. plantarum</i> JCM1149	100
No. 8-2 No. 8-5	<i>C. alimentarius</i> NBRC106464	99.8
No. 9-1	<i>Lac. plantarum</i> JCM1149	99.8
No. 10-1	<i>Lac. plantarum</i> JCM1149	99.8
No. 10-2	<i>Le. brevis</i> NBRC107147	99.6

凝乳試験に使用した菌株を赤字で表記

単離・同定した15菌株を用いて凝乳試験(ヨーグルトが作れるか)を実施

菌株		スキムミルク	豆乳	1% グルコース含有 スキムミルク
<i>Lac. plantarum</i>	No. 1-1	×	○	△
	No. 4-1	×	○	△
	No. 6-1	×	○	△
	No. 8-1	×	○	○
	No. 9-1	×	○	×
	No. 10-1	×	○	×
<i>Lat. sakei</i>	No. 2-2	×	○	×
<i>Li. acidipiscis</i>	No. 3-1	×	×	×
<i>C. alimentarius</i>	No. 4-3	×	○	×
	No. 8-2	×	○	×
<i>Lo. coryniformis</i>	No. 5-1	×	×	×
<i>P. ethanolidurans</i>	No. 5-3	×	×	×
<i>Le. parabrevis</i>	No. 7-1	×	×	×
<i>C. heilongjiangensis</i>	No. 7-2	×	○	○
<i>Le. brevis</i>	No. 10-2	×	×	×

植菌から3日間、30°Cで培養

○:凝固、△:一部凝固、×:凝固せず 赤:1日目、青:2日目、緑:3日目

牛乳からヨーグルトを作製することは難しいが、
豆乳ヨーグルトの製造には適した菌株であることが判明

単離した乳酸菌で作製した 豆乳ヨーグルトを使用した焼き菓子の開発

摂南大学 農学部 食品栄養学科

黒川 通典 教授との共同研究・共同開発



Lac. plantarum No.1-1株を使用して焼き菓子(ドーナツ)を開発



今後も川上村の乳酸菌を利用した
食品開発を検討中