

REHSE「高校生による環境安全とリスクに関する自主研究活動支援事業」

2023年度 研究活動報告書

酵母がもつ抗カビ物質について探る

大村高等学校理科部

1.背景

文献調査にて、酵母が抗カビ作用をもたらす、さらに抗カビ物質をもっている可能性があることを知った。この抗カビ物質を用い、環境に優しい農業に活かすことで、持続可能な開発に繋げることができるのではないかと考え、本研究を開始した。

2.目的

- ①酵母がもつ抗カビ物質の性質や成分を明らかにする
- ②抗カビ物質を単離する

3.研究の成果

I 酵母とカビの単離

ポテトデキストロース培地に酵母とカビを繰り返し培養し、単離した。
25°C 1週間培養した。



ミニトマト酵母

ドライイースト

カビ①

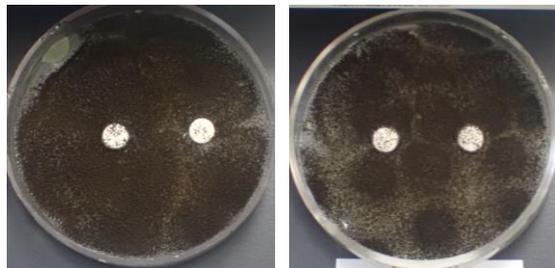
カビ②

図1 単離した酵母・カビ

II 抗カビ作用の確認

酵母懸濁液とカビ①とカビ②の胞子液を用い、抗カビ試験を行った。

ポテトデキストロース培地に 0.01%の胞子液を 0.1ml 塗布し、その上に 0.01%酵母懸濁液を染み込ませたペーパーディスクを置き、25°C 1週間培養した。

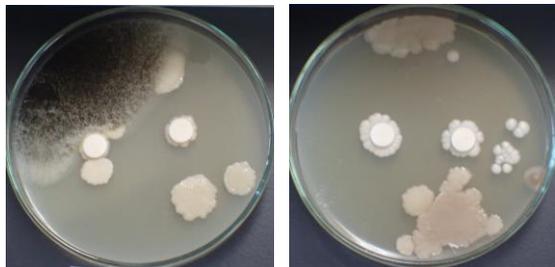


カビ①&ミニトマト酵母 0.01%

カビ①&ドライイースト 0.01%

1回目：2023年10月13日～2023年10月20日実施

2回目：2023年12月29日～2024年1月5日実施



カビ②&ミニトマト酵母 0.01%

カビ②&ドライイースト 0.01%

図2 抗カビ作用の確認 1回目

1回目の実験において、カビ②&ミニトマト酵母 0.01%でのコンタミやコントロールがないという問題点を見つけた。

この問題を改善し2回目の実験を行った。

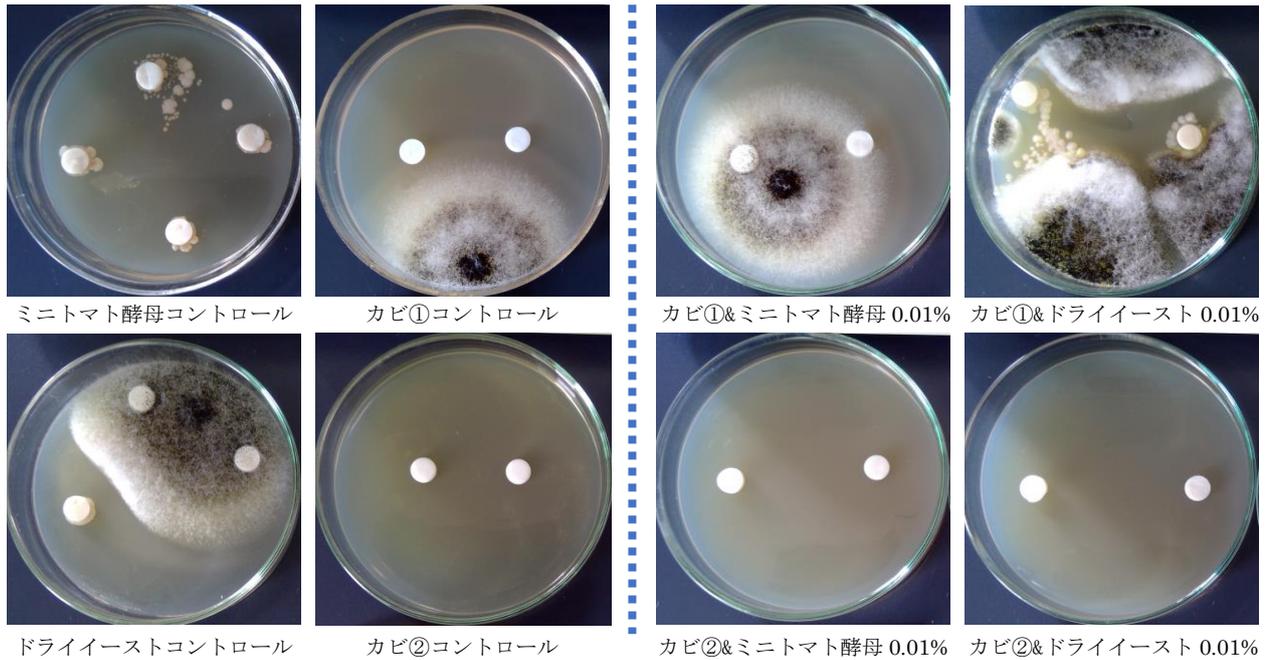


図3 抗カビ作用の確認 2回目

ドライイーストコントロールでは、コンタミが起こってしまった。

また、カビ②を用いた実験ではすべてカビ②が生えなかったため、カビ②の抗カビ効果については言及できない。

カビ①&ドライイースト 0.01%の実験からドライイーストにはカビ①に対する抗カビ作用があることが分かった。ドライイーストのコロニーを挟むようにしてカビが生えていることから、この抗カビ作用は栄養競争による拮抗作用によって引き起こされたものである可能性が高いと考えられる。

III 条件を変えた抗カビ試験

IIの実験の条件を変え、実験を行った。今回、濃度を変えた抗カビ試験を行った。

1回目：2023年10月26日～2023年11月2日実施

2回目：2023年12月29日～2024年1月5日実施

酵母懸濁液の濃度をドライイーストは1%、0.01%、0.001%、ミニトマト酵母は1%、0.01%に変更した。

ドライイーストを用いた実験は2回行った。

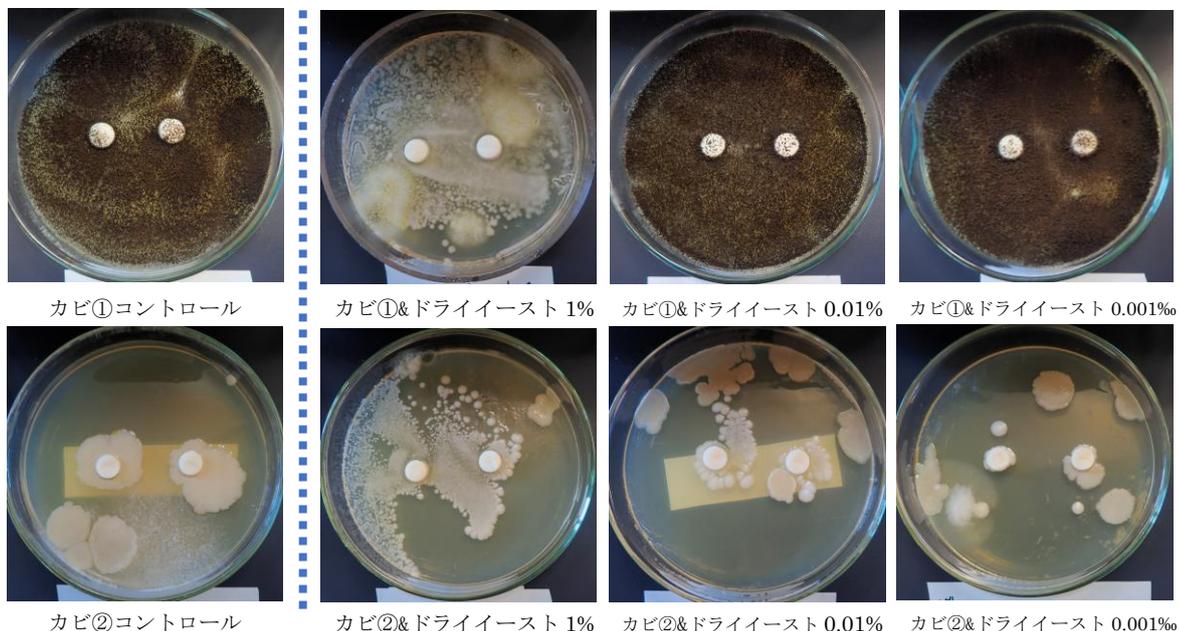


図4 ドライイーストの抗カビ作用 1回目

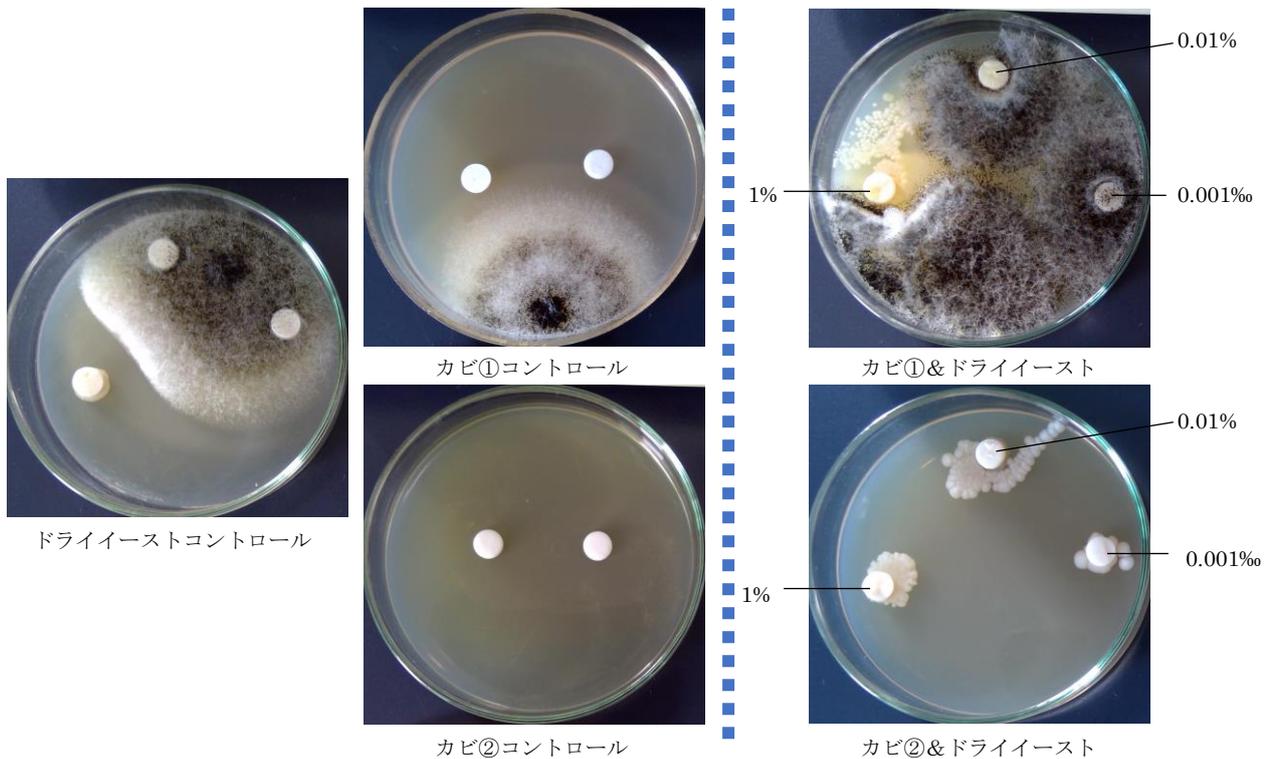


図5 ドライイーストの抗カビ作用 2回目

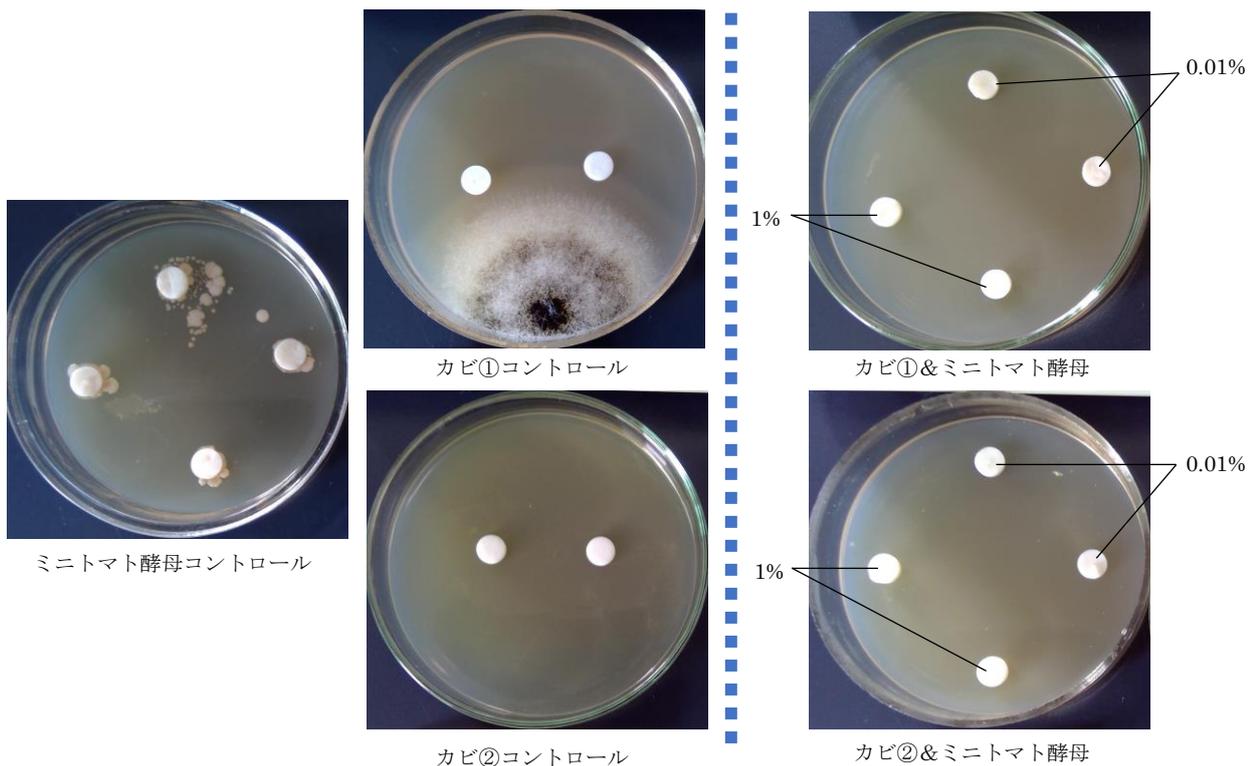


図6 ミニトマト酵母の抗カビ作用

〈〈カビ①&ドライイーストに関して〉〉

カビ①&ドライイースト 0.01%の実験では、酵母のコロニーを挟んだ発育阻止帯が形成された。これは物質による抗カビ作用ではなく、栄養競争による拮抗作用である可能性が高いと考えられる。また、カビ①&ドライイースト 1%、0.01%、0.0001%の結果においても、濃度が低くなるにつれてカビの生え方（ペーパーディスク上、周辺の状況）が異なっている様子を見るとその可能性が高いと考えられる。

〈カビ①&ミニトマト酵母に関して〉

カビ①&ドライイーストとこの組み合わせを比較すると、2回目の条件を変えた抗カビ試験で、カビ①&ドライイーストではカビ①が生えているもの、カビ①&ミニトマト酵母 1%、0.01%では全くカビ①が生えておらず、結果が異なった。

カビ①の胞子がこの組み合わせに含まれていなかったのか、抗カビ作用によるものなのか再度実験を行う必要がある。

中間報告書で計画していた温度の条件を変えた抗カビ試験を現在行っている。

4.今後の実験予定

①温度を変えた抗カビ試験

目的：発酵と抗カビ作用の関連性について明らかにする。

現在試験中のものである。

②酵母が含まれていない懸濁液による抗カビ試験

目的：抗カビ作用の要因が抗カビ物質であるのか明らかにする。

方法：酵母を目の細かいガーゼで取り除き、抗カビ試験を行う。

ドライイースト 0.01%、ミニトマト酵母 0.01%を用い、実験を行う。

③加熱滅菌した酵母懸濁液による抗カビ試験

目的：抗カビ作用をもたらす要因がタンパク質であるか明らかにする。

方法：酵母懸濁液を加熱滅菌した後、抗カビ試験を行う。

④2区画に分けたシャーレによる試験

目的：揮発性の物質が抗カビ作用をもたらしているのか明らかにする。

方法：アルミホイルを用い、シャーレを2区画に分ける。

それぞれの区画に孢子液と酵母懸濁液を塗布し、培養する。

⑤pHの調整をした酵母懸濁液による抗カビ試験

目的：pHによって抗カビ作用の振る舞いが変わるのか調べる。

方法：リン酸緩衝液を用い、酵母懸濁液のpHの調整をする。

調整した酵母懸濁液を用い、抗カビ試験を行う。

⑥再現性試験

目的：データの精度を高める。

方法：今まで行ってきた実験や今後予定している実験を繰り返し行う。

5.研究成果の発表

①日時：R5年10月11日（水） 10時10分～12時10分

発表の場：SS探究IIA 中間発表会

発表題目：「酵母がもつ抗カビ物質の性質について探る」

②日時：R5年11月3日（水） 11時35分～11時50分

発表の場：長崎県高等学校総合文化祭【自然科学部門】第29回 科学研究発表大会

発表題目：「酵母がもつ抗カビ物質について探る」

③日時：R5年11月15日（水）10時10分～12時10分
発表の場：2年数理探究科 科学英語プレゼンテーション研修会
発表題目：「Exploring the anti-fungal substances in yeast」

④日時：R5年12月7日（木）
発表の場：数理探究科 海外研修
発表題目：「Exploring the anti-fungal substances in yeast」

⑤日時：R5年12月17日（日）
発表の場：甲南大学リサーチフェスタ
発表題目：「酵母がもつ抗カビ物質について探る」

⑥日時：R5年12月23日（土）
発表の場：奈良女子大学サイエンスコロキウム
発表題目：「酵母がもつ抗カビ物質について探る」

6. 「環境安全とリスク」に関する意見と感想

自然界には様々な酵母やカビが生息しており、有機物を無機物、水、二酸化炭素に分解し、物質循環において重要な役割を果たしている。しかし、カビはアレルギーや感染症の原因になることがある。加えて、農作物の直接の病害の原因となり、農作物の生育に悪影響をもたらす可能性がある。

そこで、今回微生物である酵母を用い、生物由来の農薬の開発の基礎研究として本研究を行った。農薬が標的とする虫・カビに作用することと、その農薬が生態系に優しいことの両立は今後の社会に欠かせないことだと考えている。持続可能な開発と環境への配慮は現在も今後も未来の農業の発展には不可欠である。本研究により環境負荷を軽くし、生態系の保護の一助のなればと思う。

7. 今後の課題

- 火を使って簡易的に無菌空間を作って作業をしているものの、コンタミが起きてしまっているため、作業の手順や方法を見直していく必要がある。
- 三井農林株式会社に依頼している菌の同定が終わり次第、改めて考察を行う必要がある。
- 再現性試験や新たな条件での実験を行い、酵母の抗カビ作用や物質についてさらに調べていく必要がある。

8. まとめ

本研究では酵母とカビの単離、酵母の抗カビ作用の確認、酵母懸濁液の濃度を変更した抗カビ試験、再現性試験を一部行った。その結果、ドライイーストがカビ①・カビ②に対する抗カビ作用をもたらしていることが確認された。さらに実験を重ね、ドライイーストの抗カビ作用の要因やミニトマト酵母の抗カビ作用など、多くのことを明らかにしていきたいと考えている。

9. 参考文献

- HUDAGULA 南 典子 高橋宗一郎 吉田訓子 近藤良介 山口昭弘『ブドウ灰色カビ病に対する微生物農薬としての ヴィンヤード野生酵母の探索』（2021）日本食品科学工学会誌 第 68 巻 第 7 号
- 吉野精一(1993)『パン作りの疑問に答える パン「こつ」の科学』
- 李憲俊・李新一（2020）『カラー写真と実例でわかる カビの分離同定と抗カビ試験』
- M.C. Nallya, V.M. Pesce, Y.P. Maturanoa, C.J. Munoz, M. Combina, M.E. Toro,

L.I. Castellanos de Figueroa, F. Vazquez 『Biocontrol of *Botrytis cinerea* in table grapes by non-pathogenic indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated from viticultural environments in Argentina』 *Postharvest Biology and Technology* 64 (2012) 40–48