

食塩水等における酵母の凍結障害

(京都市立中小企業総合指導所) ○早川 潔, 佐藤光弘

1. 目的 食塩水中で微生物を凍結する場合、食塩が致死的に作用することはよく知られており、その致死作用は主として水の氷結に伴う食塩水の濃縮によるものであり、食塩水の共晶(共融)点とは無関係であるとされている。しかし、凍結融解時における濃縮食塩水との接触が短時間で終了する場合にも大きな致死作用が生ずることから、濃縮のみで致死作用の全てを説明することは困難である。そこで、著者は、食塩による致死作用について共晶の生成融解を中心として検討したので報告する。

2. 方法 *Saccharomyces cerevisiae* の定常期の菌体を、目的とする溶液に約 2×10^6 cell/ml とするよう懸濁し、その7mlを15×100mmのプラスチック試験管に入れ、被凍結試料とした。試料の温度は1mmφの白金測温体を試料中心部に固定して測定した。凍結は、温度を調節した冷凍庫に試験管のまま又は試験管を後述の融解装置にセットした状態に入れ、任意の凍結速度を取れるようにした。融解は、発泡スチロールの外筒とコイル状ヒーターから成る融解装置を用い、任意の凍結時期を選び、任意の融解速度で加温した。凍結融解前後の菌数は麦芽汁寒天培地を用い希釈平板培養法で測定した。

3. 結果 食塩水を冷却していく場合、冷却曲線の -3°C 近辺の台地状の部分は水の氷結を示し、更に $-25 \sim -30^{\circ}\text{C}$ における小山状の部分は食塩水の共晶生成を示す。凍結試料を融解して行く場合、 -20°C 付近で共晶の融解が生じ、 -3°C 付近で水の融解が完了する。*S. cerevisiae*の生存率の減少が著しいのは $-25 \sim -30^{\circ}\text{C}$ 付近の共晶生成の前後であり、それ以下 -50°C 又はそれ以上 0°C に至るまでの温度域においては、相対的に生存率の大きな変化は見られなかった。また、低温下での食塩水の濃縮による致死作用を調べるために、共晶生成直前の温度(約 -21°C)に保持し接触時間を延長すると、時間の経過と共に生存率は低下したが、ゆるやかなものであった。これらのことから、食塩による凍結障害には共晶生成又は融解温度以上での濃縮食塩水との接触によるゆるやかな死滅と、共晶生成融解に伴う急激な死滅が考えられ、余程急速凍結融解を行わない限り、後者が食塩による凍結障害の主たる要因と考えられる。

共晶生成の前後において生存率が減少する物質としては、食塩の他に、塩化カリウム、コハク酸ナトリウム、アラニンなどがあつた。

また、塩化カルシウムは共晶生成の前後の生存率がほとんど変化しなかったが、これは物質によっては共晶の生成融解がかならずしも致死的作用を伴うとは限らないことを示すと共に、致死的作用発現には共晶の生成融解速度、物理的状态、生成場所等種々の条件の存在することも考えられる。