

# 強磁場中における酵母の増殖抑制効果

小田部 莊 司

Edmund Soji Otabe

■九州工業大学大学院情報工学研究院電子情報工学研究系 教授 博士(工学)

## 1. はじめに

たくさんのグループによって生体と磁場の関係が調べられてきている。たとえば、50Hz、10mTの低周波の交流磁場を酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)に印加すると酵母の数が減り、増殖が制限されることが報告されている<sup>1)</sup>。この論文ではたくさんの参考文献が引用されており、環境磁場について議論が行われている。

一方で50Hz、2.45mTという交流磁場中では酵母の増殖について影響は認められないと報告されている<sup>2)</sup>。交流磁場の影響は判断するのが大変難しい。なぜならば測定に際してはジュール熱が常に発生するので、熱による温度上昇が影響しているのか、純粋に交流磁場の影響なのか分からないためである。

最近、冷凍機の性能が格段に向上し、超伝導技術を手軽に扱うことができるようになった。このため、超伝導磁石を用いて室温に10Tという強磁場を長時間印加できるようになった<sup>3)</sup>。この新技術により、物理、化学、生物分野でさまざまな研究や応用が進められている。たとえば5.2~6.1Tの磁場中で*Escherichia coli*の死滅が地磁気中に比べて100,000倍も抑制されるということが報告されている<sup>4)</sup>。この結果は*Escherichia coli*の増殖率が磁場中で抑制されていることを示唆する。さらに、5Tとか9Tといった直流強磁場において*Escherichia coli*の突然変異が細胞中の超酸素ラジカルの増加によって引き起こされているという報告もある<sup>5)</sup>。

直流磁場中における酵母の活動については、

Ikehataらが5Tにおける酵母の沈殿パターンが変化するに対して、遺伝子パターンには影響がないことを報告している<sup>6)</sup>。Iwasakaらは9~14Tの傾斜磁場中において酵母の増殖を行った。その結果、酵母の増殖は抑制され、これは傾斜磁場中での酸素の反磁性に基づく磁気力によるものであると説明している<sup>7)</sup>。

このように交流磁場はジュール熱が問題となり、傾斜磁場中では磁気力が無視できない。そこで、均一な直流磁場中での酵母の増殖を調べることで、純粋に磁場の影響を調べることが求められている。本研究では、磁気力の影響を受けないようにさまざまな温度における10Tまでの強磁場中における酵母の増殖について調べた。直流磁場の影響とその原因について議論を行う。

## 2. 実験

### 2.1 日本酒醪(もろみ)

はじめに、日本酒を醸造するにあたって酵母に与える磁場の影響がどのように現れるか「味」を通じて調べることにした。日本酒は醸造の手法に非常に敏感であり、磁場が与える少しの変化が味に影響を与える可能性が高い。さらに、専門の鑑定官による利酒は非常に感度が高く、少しの変化を捉えることができると考えられる。

日本酒の醸造過程はかなり複雑であるので、麴汁を準備して日本酒醪(もろみ)を造ることとした。麴汁は米と麴から作られ、55℃で4日間かけてデンプン質をグルコースに糖化させた。麴汁はこはく色をしており、甘い。グルコースの濃度は15%であった。その次に協会7号(K-7)酵母を使っ

て発酵させた。初期の酵母の濃度は  $2.5 \pm 0.1 \times 10^6 / \text{ml}$  であった。麴汁 100 ml を瓶に入れ、これを二つ準備した。発酵過程を通じて、グルコースはアルコールに転化されていく。麴汁の温度は 15℃ に保ったまま 10T の直流強磁場中においた。もう一方の対照用として地磁気中において比較した。発酵過程は低温で静的に行われたので、発酵にはおおよそ 1 週間をかけた。

直流磁場はジャパンスーパーコンダクタテクノロジー (JASTEC) 製の冷凍機冷却型の超伝導磁石を用いて印加した。最大磁場は 10T であった。印加磁場は半径 40mm の球の中で 1.4% の均一度があった。酵母懸濁液の温度管理は非常に重要である。したがって、二つの恒温容器を準備した。一つは超伝導磁石中に置き、一つは対照用である。水を循環させて、その水の温度はチラーユニットを用いて  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  の精度で制御した。瓶に入れた麴汁は恒温容器中の水に沈めた。

利酒は福岡国税局鑑定官室の鑑定官数名により行われた。さらに低沸点香気成分と有機酸成分について高速クロマトグラフィーを用いて化学定量分析を行った。また、磁場中  $\rho_M$  と対照  $\rho_C$  の酵母の密度は通常の計数盤と光学顕微鏡を用いて評価した。

## 2. 2 実験酵母

二番目の実験は実験酵母を用いて行った。前述の清酒酵母 (K-7) を用いた実験では、温度が低く静的な状態なので実験を行うのに 1 週間を要す

る。したがって、二番目の実験では実験酵母を用い、さらに温度を高くし、また、振動状態で実験を行った。ここで用いた実験酵母は W303-1a と呼ばれる酵母である。最初に YPD (Yeast extract Peptone Dextrose) 寒天を用いてこの酵母を 12 時間ほど振動状態で前培養した。次に前培養した酵母は濃度  $5.0 \pm 0.2 \times 10^6 / \text{ml}$  で 10 ml の YPD に植え付け、二つの試験管に分けた。YPD の組成は 500 ml の RO 水に Yeast extract : Peptone : Dextrose = 5 g : 10 g : 10 g であった。

磁場は超伝導磁石を用いて 10T まで印加した。温度は恒温容器を用いて 20 から 30℃ の範囲で制御を行った。酵母懸濁液を入れた試験管は図 1 のように恒温容器の内部に入れた。試験管は増殖の条件を良くするために 1 Hz の周波数で振動させた。振動の振幅は 10mm であり、40mm の半径の球内では 1.4% の磁場均一度があるので、磁気力は無視できるほど小さい。振動状態では酵母懸濁液は空気にさらされているので、酸素が十分に酵母に供給され酵母の増殖は加速される。酵母懸濁液は超伝導磁石の中心に置かれており、磁場の勾配や酸素の反磁性による磁気力の影響は無視できるほど小さい。

懸濁液中の酵母の濃度  $\rho$  の時間依存性を測定した。磁場中  $\rho_M$  と対照  $\rho_C$  の酵母の密度は通常の計数盤と光学顕微鏡を用いて評価した。

## 3. 結果および検討

日本酒もろみの 10T の磁場中で約 1 週間おい

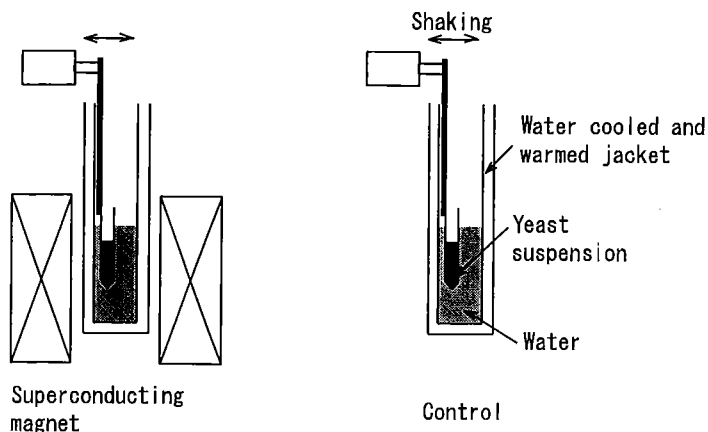


図 1 サンプルホルダーの概要

表1 磁場中試料と対照試料における(a)低沸点香気成分, (b)有機酸および(c)グルコースとアルコール量

(a)低沸点香気成分	isobutyl alcohol	isoamyl alcohol	isoamyl acetate	ethyl caproate
磁場中試料(ppm)	10.4	32.7	0.7	0.9
対照試料(ppm)	9.7	34.2	0.7	1.0

(b)有機酸	succinic	malic	lactic	pyruvic	citric	acetic
磁場中試料(ppm)	73.5	86.8	30.7	668.3	104.0	85.9
対照試料(ppm)	71.9	87.8	30.3	648.4	104.8	87.5

(c)	glucose	ethanol
磁場中試料(ppm)	8.1	3.5
対照試料(ppm)	7.9	3.7

たアルコール発酵の後の化学成分の定量分析結果について表1にまとめる。(a)低沸点香気成分と(b)有機酸の磁場中と対照の試料の差はピルビン酸を除いて1.6ppmであり, その差は非常に小さい。したがって, 磁場効果は非常に小さいといえる。しかしながら, グルコース量は磁場中の方が対照の試料に比べて大きい。また, アルコール量は磁場中の方が対照の試料に比べて小さい。この結果は利酒の結果でも確認することができた。つまり3人の鑑定官は一致して磁場中の試料が甘いと結論づけた。

図2に10T, 15℃における酵母の濃度の時間依存性を示す。磁場中における酵母の濃度 $\rho_M$ は対照の場合 $\rho_C$ に比べて抑制されていることが分かる。これらの結果は直流の強磁場により酵母の活動が抑制されていることを示唆する。つまり酵母の活動が抑制されることでグルコースはアルコー

ルに転化されず, 酵母の濃度は上がらず, 結果として甘い味になると考えられる。

酵母の活動の制御は現在では主に温度の制御によって行われている。たとえば高級な吟醸酒は10から15℃という低温で行われており, 発酵速度は通常の日本酒よりも遅くなるように制御されていて, 独特の香りを引き出すことに成功している。もし磁場により発酵速度を制御することができるのであれば, 新しい味の創出ができるかもしれない。たとえば低温においてさらに強磁場を印加すれば, これまでにない環境を酵母に与えることができると期待される。したがって, 磁場による酵母の活動の抑制効果の磁場および温度依存性を知ることが重要である。本研究ではこれを実験酵母 W303-1a を用いて振動状態において行った。

図3に10T, 20℃における振動状態におけるW303-1a 実験酵母の濃度の時間依存性を示す。30時間ほどで酵母の濃度は飽和していることがわかる。これはYPDの中の栄養素が限られているからである。また, 日本酒もろみの実験では1週間ほど発酵時間が必要であったが, ここではかなり短くなっている。これは温度が高いことと振動状態であり, 酸素が十分に酵母に供給されているからである。10時間よりも前のところでは磁場中における酵母の濃度は対照にくらべて抑制されていることがわかる。この時間帯は酵母の増殖において最も活動が活発であることが知られている。これらの結果は20から30℃の温度範囲と, 1から10Tの磁場範囲において同様に確認することができた。また再現性については25℃, 5Tにおいて行い, ほぼ同じ結果を得ることができ

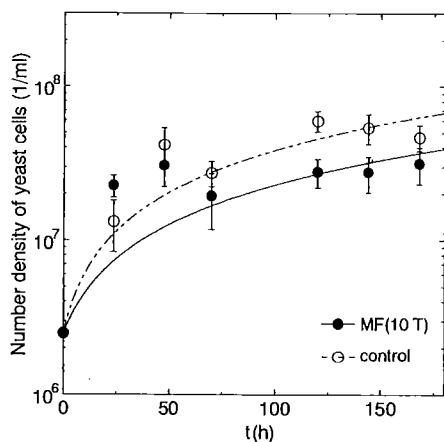


図2 10T, 15℃における K-7 清酒酵母の濃度の時間依存性

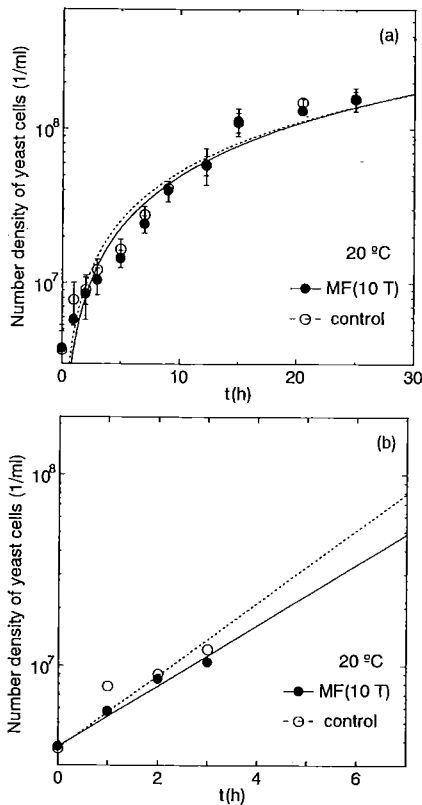


図3 10 T, 20°Cにおける振動状態における W303-1a 実験酵母の濃度の時間依存性

ことを確認した。

増殖の様子を6時間までの最も活動が活発な時間において定義することにする。人口増加のモデルなどで用いられる Malthus の式を用いて酵母の濃度の時間依存性を次の式で解析することにする。

$$\rho = \rho_0 \exp(kt)$$

ここで、 $k$ は増殖係数であり、 $\rho_0$ は定数であり、時刻  $t=0$  における酵母の濃度である。図3(b)に  $k$ の決定の例を示す。二つの場合において増殖係数  $k$ は異なっており、磁場中における場合  $k_M$  と対照における場合  $k_C$  では、 $k_M$  の方が小さいことがわかる。図4に増殖係数の差の絶対値  $|k_C - k_M|$  の磁場および温度依存性を示す。温度依存性において磁場は10 Tであり、磁場依存性では温度は25°Cであった。増殖係数の差は温度が上がるにつれて小さくなる傾向がある。これは高い温度では酵母の活動が活発であり、磁場効果があま

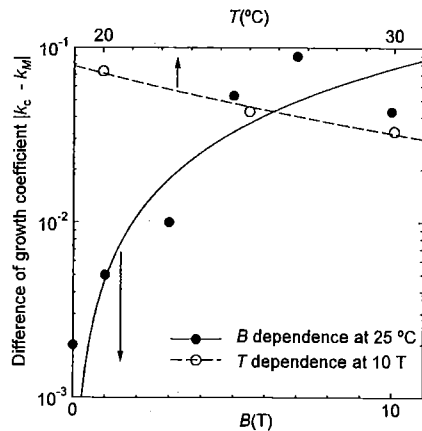


図4 25°Cにおける増殖係数の差の磁場依存性(実線)と10 Tにおける増殖係数の差の温度依存性(鎖線)

り顕著に見えないためであると考えられる。一方で、増殖係数は磁場が増加するにつれて大きくなり、5 T 付近から飽和する傾向がある。したがって、さらに10 T よりも高い磁場において増殖係数がどのように変化するかを調べる必要がある。25°Cにおける酵母の濃度の時間依存性について図5にまとめる。0 T では同じ結果が得られなければならないが、ほぼ同じ結果を得ることができている。

ここで、増殖係数について物理化学研究でよく取り扱われる古典的な Arrhenius タイプの式により議論を行う。増殖係数の磁場依存性は次の式で与えられる。

$$k(B) = k_0 \exp(m^*B/k_B T)$$

ここで、 $k_B$ は Boltzmann 定数であり、 $m^*$ は磁場による感受性を示す磁気増殖活性モーメントである<sup>8)</sup>。つまり、 $m^*$ が大きいと酵母の増殖係数の磁場依存性が大きいことを意味する。図6に増殖係数の磁場依存性を方対数グラフで示している。このプロットの初期の傾きから  $m^* = -2.7 \times 10^{-22}$  Am<sup>2</sup>を得ることができる。さらにいろいろな種類の酵母やさまざまな温度において  $m^*$ を評価し比較することが望まれる。

今回の実験結果からでは強い直流磁場が酵母に与える影響についてどのようなメカニズムになっているかを知ることは難しい。しかしながら、今回の実験では交流磁場でないのでジュール熱の影響は無いし、均一磁場中であるので磁場勾配によ

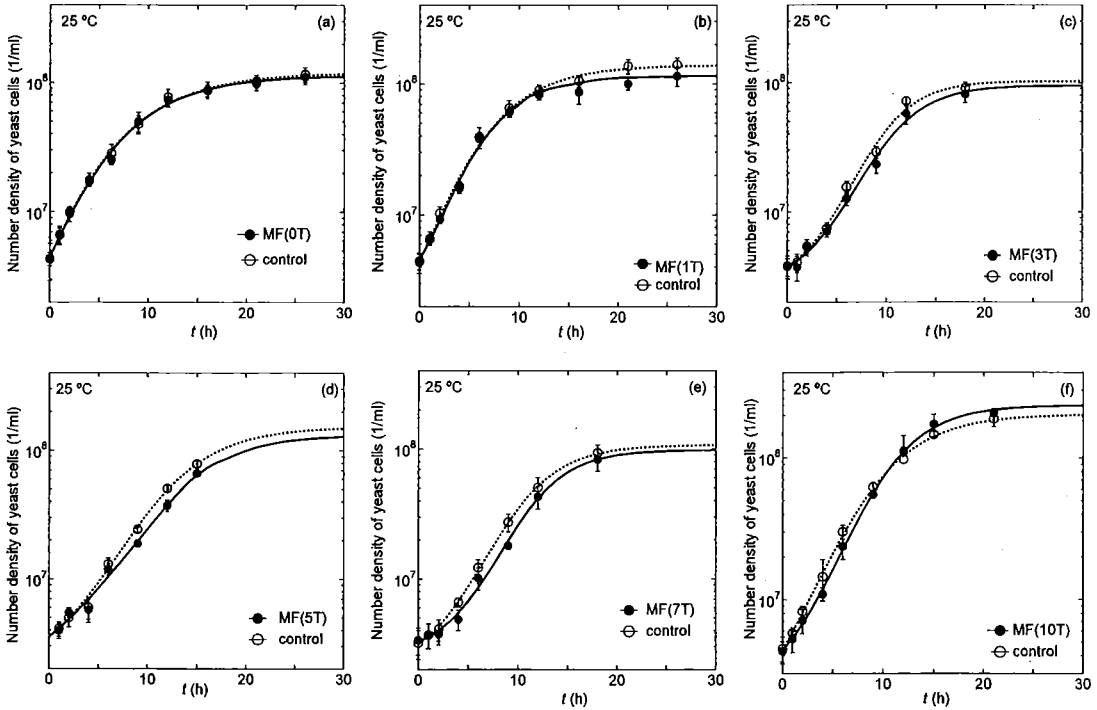


図5 25°Cにおけるさまざまな磁場で酵母の濃度の時間依存性 (a) 0 T, (b) 1 T, (c) 3 T, (d) 5 T, (e) 7 T, (f) 10 T

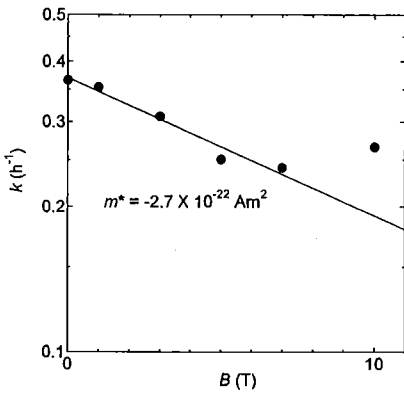


図6 25°Cにおける増殖係数 $k$ の磁場依存性

る磁気力の影響も無視することができる状況でも、磁場による酵母の増殖の抑制効果を得ることができていることは大変興味深い。酸素の反磁性による磁気力が強磁場中では常に議論されるが、今回は振動状態での実験もあり、そこでは振動の影響の方が大きく磁気力の影響は非常に小さい。たとえば  $10\text{T}^2/\text{m}$  の磁場勾配では水の蒸発が高まる

ことが報告されている<sup>9)</sup>。しかし、この影響も今回の実験では振動状態であるので小さいといえる。したがって、磁場の酵母に与える本質的な影響についてのきちんとした説明については今後の研究が期待される。

#### 4. まとめ

本研究では、酵母の活動に与える強い直流磁場の効果についてさまざまな温度と磁場において測定を行った。その結果、酵母の増殖は直流磁場を印加することにより抑制されていることがわかった。したがって、日本酒醪(もろみ)の味は磁場を印加することにより甘くなる。磁場の効果はおおよそ 5 T で飽和する。温度が高くなると、磁場の効果は小さくなる。これは高い温度で酵母の活動が活発となるためと考えられる。温度の他に、磁場の強さにより酵母の増殖速度を制御することができると考えられる。したがって、直流磁場を印加することにより新しいお酒の味を引き出すことができると期待される。たとえば、低温で強磁場

を印加することによりさらにゆっくりとした増殖が実現できるだろう。

#### 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、福岡県嘉麻市玉の井酒造の矢野喜平太氏と矢野朋子氏にはさまざまな助言をいただいた。ここに附記して感謝の意を表する。

#### 参考文献

- 1) Novák, J., Strašák, L., Fojt, L., Slaninová, I., Vetterl, V., "Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*", *Bioelectrochemistry*, **70** (2007) 115-121
- 2) Ruiz-Gómez, M.J., Prieto-Barcia, M.I., Ristori-Bogajo, E., Martínez-Morillo, M., "Static and 50Hz magnetic fields of 0.35 and 2.45mT have no effect on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*", *Bioelectrochemistry*, **64** (2004) 151-155
- 3) Watanabe, K., Awaji, S., Motokawa, M., Mikami, Y., Sakuraba, J., Watazawa, K., "15T Cryocooled Nb<sub>3</sub>Sn Superconducting Magnet with a 52mm Room Temperature Bore", *Jpn. J. Appl. Phys.*, **37** (1998) L1148-L1150
- 4) Horiuchi, S., Ishizaki, Y., Okuno, K., Ano, T., Shoda, M., "Drastic high magnetic field effect on suppression of *Escherichia coli* death", *Bioelectrochemistry*, **53** (2001) 149-153
- 5) Zhang, Q-M., Tokiwa, M., Doi, T., Nakahara, T., Chang, P-W., Nakamura, N., Hori, M., Miyakoshi, J., Yonei, S., "Strong static magnetic field and the induction of mutations thought elevated production of reactive oxygen species in *Escherichia coli* soxR", *Int. J. Radiat. Biol.*, **79** (2003) 281-286
- 6) Ikehata, M., Iwasaka, M., Miyakoshi, J., Ueno, S., Koana, T., "Effects of intense magnetic fields on sedimentation pattern and gene expression profile in budding yeast", *J. Appl. Phys.*, **93** (2003) 6724-6726
- 7) Iwasaka, M., Ikehata, M., Miyakoshi, J., Ueno, S., "Strong static magnetic field effects on yeast proliferation and distribution", *Bioelectrochemistry*, **65** (2004) 59-68
- 8) Neumann, E., "Digression on chemical electromagnetic field effects in membrane signal transduction-cooperatively paradigm of the acetylcholine receptor", *Bioelectrochemistry*, **52** (2000) 43-49
- 9) Nakagawa, J., Hirota, N., Kitazawa, K., Shoda, M., "Magnetic field enhancement of water vaporization", *J. Appl. Phys.*, **86** (1999) 2923-2925