

アルコール発酵の再考察 松の観察日記 Part 5

沼津市立第二中学校

2年 杉山 夏来

1 研究の動機

小学校4年生以来、校区に自生する「松」に興味を持って研究に取り組んできました。4年生の時は雄花と雌花の違い、花粉の飛び方、松ぼっくりや種子の形状を、5年生の時は4年生の秋に採取した種子を様々な条件下で育てながら、発芽の様子や子葉・本葉のつくりなどを観察しました。6年生の時は、松の種の羽、松脂と松明の関係、松ぼっくりに見られるフィボナッチ数列について検証と考察を行い、松の成長過程についてのまとめを加えました。中1の時は松の葉にいる葉面微生物（酵母菌・乳酸菌等）が砂糖水を吸収し日光を浴びると、アルコール発酵を起こして二酸化炭素を発生させて松の葉サイダーができることを証明し、そのサイダーにいる酵母や乳酸菌を利用してヨーグルトとパンを作りました。今年は松以外にオリーブの葉を使用してサイダーを作り、比較観察することにしました。また、昨年実験して家の中に放置していた松のペットボトルのうち、発酵状態のペットボトルは中の松の葉が緑色のままで保存され、発酵していないペットボトルでは中の松の葉が完全に枯れていることに気づいたのですが、発酵食品が長期保存に向くように、できあがった発酵サイダーを使えば何かを長期保存できるのではないだろうか？切り花の延命剤として使えるのでは？と思いつき、切り花の水にたらして経過観察する実験も行いました。

2 研究方法

まず昨年同様に松の葉とオリーブの葉のサイダーを作ります。松の葉にいる酵母菌（葉面微生物）が糖分を吸収して日光を浴びると発酵して二酸化炭素を出しサイダーができるので、ペットボトルに葉を入れ、砂糖水等を加えて太陽の下に3日放置します。松葉以外にオリーブの葉を選んだ理由は、小6の時に比較研究したことがあります、どちらの木も脂を含んでいる常緑樹という点が似ていたからです。

ペットボトルに入れる葉の量は、昨年の研究で結果が反応の良かった量を参考に松もオリーブも140gにし、水を加えた総重量を520gに統一しました。入れる水の種類は煮沸した砂糖水・煮沸した水・生水道水の3種類にしました。（砂糖水は1000ccに100gの砂糖を煮沸して溶かした物）



左から順に

- 煮沸した砂糖水を入れたもの（松 A）
- 煮沸した水道水を入れたもの（松 B）
- ただの水道水を入れたもの（松 C）
- 煮沸した砂糖水を入れたもの（オリーブ A）
- 煮沸した水道水を入れたもの（オリーブ B）
- ただの水道水を入れたもの（オリーブ C）

この6本のペットボトルを3日太陽の下に放置した後、蓋を開けて中の液体の性質を次の4つの方法で調べました。

- ① 昨年同様ウコンの試験紙で酸性・中性・アルカリ性の変化を調べる。
（ウコン試験紙は黄色→ピンクがアルカリ性、ピンク→黄色が酸性を示す。）

- ② ペットボトルに火のついた線香を入れて消えるかどうか調べる。
- ③ pH試験紙で液体の性質を調べる。2つの試験紙を使用。
- ④ 糖質度計で出来上がったサイダーの糖質度を計測する。
- ⑤ 出来たサイダーを切り花に数滴落とし、他の液体を落とした場合との花持ちを比較観察する。

3 研究結果

	作製方法	ペットボトルを開ける前にボトルを触った感じ	ペットボトルの重さの有無(日に当てる前と後)	ペットボトルの中の液体のにごりの有無	ペットボトルの蓋を開けた時の泡の有無	試験紙の反応 上段:黄紙 下段:ピンク紙	ペットボトルにお線香を入れたと消えるか消えないか	PH①	PH②	糖度
松A	松葉に煮沸した砂糖水を加えたもの	張っていて、容器が硬くて凹まない	変化なし	変化なし	泡が発生して上に上がってきたがあふれない	変化なし ピンク→薄い黄色	すぐ消えた	4	6.4以下	12
松B	松葉に煮沸した水を加えたもの	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし 変化なし	消えない	5	-----	0.5
松C	松葉にただの水水道水を加えたもの	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし 変化なし	消えない	5	-----	0.5
オリーブA	オリーブの葉に煮沸した砂糖水を加えたもの	張っていて、容器が硬くて凹まない	変化なし	変化なし	泡が大量に発生して外にあふれた	変化なし ピンク→まっ黄色	すぐ消えた	7	6.4以下	12.5
オリーブB	オリーブの葉に煮沸した水を加えたもの	張っているが少し凹む	変化なし	変化なし	ペットボトルの中で細かい泡が上がった	変化なし ピンク→まっ黄色	少しして消えた	7	-----	2
オリーブC	オリーブの葉にただの水水道水を加えたもの	張っているが少し凹む	変化なし	変化なし	ペットボトルの中で細かい泡が上がった	変化なし ピンク→まっ黄色	少しして消えた	7	-----	2



観察の結果、砂糖水を入れた松AとオリーブAは、予想していた通りペットボトルが膨らみました。蓋を開けると泡が上がり、線香を差し込むと火がすぐに消え、ウコン試験紙やpH試験紙で酸性寄りを示す等、二酸化炭素の発生を確認できました。

また、驚いたことに砂糖を入れていないオリーブBとオリーブCのペットボトルも弱いですが二酸化炭素が発生している反応が出ました。どうしてだろうとオリーブの葉の主成分をインターネットで調べたところ、オリーブにはオレウロペインと言うポリフェノールの一種が大量に含まれていることが分かりました。(オレウロペインはセコイリド配糖体に属す成分。配糖体というのは、簡単に言うと何らかの化合物に糖がくっついている物。)

ポリフェノールとは植物が光合成する時に出る物質の総称で、糖分の一部が変化したものであり、木の葉、樹皮、花等に含まれていて、強力な抗酸化作用をもち、水に溶けやすい性質があることも分かりました。また、葉からポリフェノールを大量に取り出す方法として、熱水抽出と言う方法があることも分かりました。

このことから、真夏の太陽の下、葉を入れたペットボトル内の温度が上がり、オリーブの葉の主成分オレウロペインなどが煮出され糖質が溶けだした結果、オリーブの葉にいる酵母などの葉面微生物がその糖質を吸収して二酸化炭素を発生させたのではと考えました。

同じように松の葉にもケルセチン配糖体というフラボノイド(ポリフェノールの一種)が含まれ抗菌作用が強いようです。今回、煮沸した砂糖水を加えた松Aはサイダーになったものの出た泡は

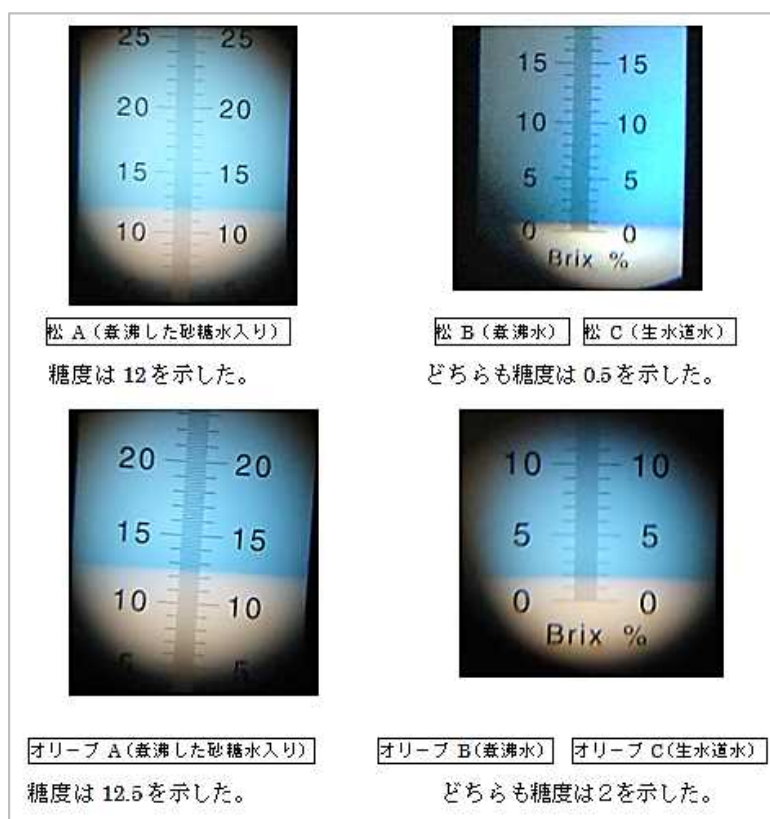
少しで、オリーブAに比べて二酸化炭素が少ししか発生しなかったことが分かります。昨年一番反応の良かったペットボトルと同じ量の松葉を入れたにしてはあまり反応は良くありませんでした。逆に砂糖を入れていないオリーブのペットボトルの方が二酸化炭素を出す反応が良いという結果になりました。

昨年までの研究で、松葉や松ぼっくりの成長活動が一番盛んな時期は春から初夏にかけてだと分かっています。今年の研究で使用した松の葉も活動が盛んな7月に採集した葉でしたが、今年は春の松の花粉の量が少なく6・7月の天候も涼しかったことから、松葉の活動はあまり活発ではなかったようでした。つまり、葉の活動が盛んでなければ配糖体は多く作られず寄生する葉面微生物の数も減るので、昨年に比べてアルコール発酵が起こりにくかったのではないかと推測します。今年はオリーブも花が殆どつかず、クマバチも蜜を採りに来ませんでした。このように葉の活動が盛んでなかった点では松もオリーブも同じです。ですから同じ気象条件下では松葉よりも元々配糖体(糖質)を多く含んでいるオリーブの葉の方が、アルコール発酵が盛んになったと思われます。



昨年までは葉面微生物が砂糖水を吸収したアルコール発酵しか考えていなかったのですが、オリーブの葉を使用して比較したことにより、光合成によって葉にできた配糖体(糖質)が熱水抽出されて水に溶解すると、それを葉面微生物が吸収してアルコール発酵を起こす事にも気づきました。

そこで、水に本当に糖質が溶け込んでいるかどうか調べるため、糖度計で糖度を測り比較することにしました。



ペットボトルAに入れた砂糖水(1000ccに100gの砂糖を入れて煮沸)の元々の糖度は9.5ですが、3日間日光の下に置いたペットボトルの糖度は左画像のように増加しました。

単純に発酵前後の差を計算すると、

松A	9.5→12	+2.5
松B・C	0→0.5	+0.5
オリーブA	9.5→12.5	+3
オリーブB・C	0→2	+2

砂糖を使用していない松とオリーブを比較すると、3日経過後のオリーブの糖度が松の4倍の測定値が出ました。これにより、予想通りオリーブの方が熱水抽出された糖質が多いことを確認できました。

ところで、昨年使用した葉入りペットボトルを一年放置しておいたところ、発酵しなかった物の中の松葉は茶色く枯れてしまいましたが、発酵していた物の中の葉は緑色のままの状態と保存され、底には沢山の酵母が溜まっていました。(右画像)



発酵によって状態が保たれていることが分かります。

発酵によって生まれた成分が殺菌作用を持って保存性を高めるのなら、出来上がった松の葉サイダーやオリーブの葉サイダーも切り花の延命剤として使えるかもしれないと考えました。そこで、一般的に切り花のもちをよくすると言われている物と比較実験してみました。

比較は、一般的に花のもちが良くなると言われている『砂糖』『十円玉』『ハイター』『お酢』と『松A』『松B』『オリーブA』『オリーブB』『湯冷まし』『生水道水』の10種類で行いました。コップは共通のものとし、入れる水の量は全て100ccに統一しました。ハイターとお酢は強すぎるとダメなので一滴だけたらし、砂糖は小さじ1/2、10円玉は1枚、松とオリーブの液体は3滴ほどたらししました。これで1週間後まで水をかえずに花・つぼみ・葉・茎の様子を観察しました。

	200ccの水道水	花の様子 8/12			花の様子 8/17			水の様子
		つぼみ	開き気味	開いたもの	つぼみ	開き気味	開いたもの	
松A	松Aを3滴足す	5	3	0	4	3	2	にごり気味
松B	松Bを3滴足す	3	1	3	1	2	3	綺麗
オリーブA	オリーブAを3滴足す	2	0	2	1	2	2	にごり気味
オリーブB	オリーブBを3滴足す	3	2	0	2	3	2	ややにごり気味
水道水	そのまま使用	3	1	3	2	2	3	綺麗
湯冷まし	煮沸して使用	7	1	0	7	1	1	綺麗
砂糖水	砂糖小さじ1/2足す	4	2	6	2	1	9	にごり気味
ハイター	1滴落とす	5	0	4	4	1	4	綺麗
お酢	1滴落とす	5	1	6	4	2	6	綺麗
十円	一枚入れる	4	3	4	3	2	6	綺麗

観察の結果、数日花を楽しみたいのなら、消毒系の液体を一滴たらしのが良く、1週間ぐらい花を長持ちさせて楽しみたいのなら、成長に必要な栄養や二酸化炭素の入っている液体を与えるのが良いと感じました。松の葉やオリーブ葉のサイダーは二酸化炭素や糖質を含んでいる上に、葉の配糖体に少し抗菌要素もあるので、十分花の延命剤代わりに使えることが分かりました。また、水道水では花は長く持たないことも分かりました。湯冷ましは、光合成に必要な二酸化炭素は多くないけれど、塩素や雑菌がすくないのが長持ちの理由だと思われます。

4 考察及び今後の課題等

ペットボトルを太陽の下に置くことで、砂糖を入れなかったペットボトルでも光合成の時にできたポリフェノール（オリーブでは配糖体のオレウロペイン）が熱水抽出されて糖質として水に溶けるため、それが葉の葉面微生物に吸収されアルコール発酵を起こせることが分かりました。また、葉のサイダーは二酸化炭素や糖質を含み、配糖体に抗菌作用や抗酸化作用もあるので、切り花の延命剤に使えることが実験から分かりました。

今後は機会があれば、針葉樹と広葉樹の葉の違いなども調べてみたいと思います。

5 参考文献

〔オリーブの森〕 <https://www.healthyolive.com/botany/olive-leaf.html>

〔さつまいも葉からポリフェノールの大量抽出法〕

http://www.naro.affrc.go.jp/org/karc/seika/kyushu_seika/2006/2006425.html

〔発酵食品のメリット〕 <http://www.tempestfoods.com/knowledge05.html>