重量法による酵母発酵能の測定

辻 謙 次

(ニッカウキスキー株式会社)

昭和 57 年 12 月 27 日受理

Gravimetric Measurement of
Fermentation Capacity of Yeast

Kenji TSUJI

(The Nikka Whisky Distilling Co., Ltd.,
967 Matsuyama, Masuo, Kashiwa-shi,
Chiba-ken)

従来酵母の発酵能はワールブルグ検圧計を用いる検圧法¹⁾により測定されてきた。前報²⁾において著者らは酵母のグルコース発酵能の測定に簡便な重量法を適用して、いわゆるウィスキー酵母 TS-1 株がディステリリー酵母 NCYC 株に比して 2 倍も強力な発酵能を有することを明らかにした。ところが今回、ウィスキー酵母として著名な DCL "M" 酵母³⁾と TS-1 株の保存株のグルコース発酵能を比較したところ特長的な強力な発酵能が認められなかった。このため保存株のくり返し馴養による発酵能の回復を試み、また発酵能の測定条件を種々検討した結果、2, 3 の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 供試酵母菌株

ウィスキー酵母 TS-1 株、DCL "M" 株及びアルコール酵母 AHU 3201 株⁴⁾の 3 株を用いた。

2. 酵母菌体の調製とグルコース発酵能の測定

YEPD (酵母エキス 1%, ペプトン 2%, グルコース 5%) 液体培地 300 ml で 30°, 1~3 日間培養した酵母を冷凍遠心機 (KUBOTA, KR-180 A) で集菌 (8,000 r.p.m, 15 分間) i, 滅菌 M/10 KH₂PO₄ 液で 2 回洗浄 (遠沈法) したのち、滅菌素焼陶板で脱水し、その 0.1~1g を 5% グルコース (M/10 KH₂PO₄) 液 50 ml に添加し、30° 恒温器内に置き、20 分毎に炭酸ガス発生量を測定し、酵母乾物 g 当りの炭酸ガス発生量 (mg CO₂/hr) で発酵能を表示した。一方、脱水酵母一定量を秤量瓶に採り、105° で 3 時間乾燥して酵母水分を求めた。

また好気培養酵母の場合は YEPD 液体培地 200 ml で 30°, 24 時間振盪培養 (IWASHIYA, RGR-S) して上記の通り集菌した。

3. 酵母の発酵能回復法

供試酵母を YEPD 保存培地より麦汁 (Balling 15°) に移し、2~3 日おきに新しい麦汁に植継ぐ馴養法を約 1 ヶ月間継続して発酵能の回復を図った。

実験結果及び考察

1. 酵母の培養期間の相違と発酵能

YEPD 液体培地における前培養期間に対応した発酵能の変化を第 1 表に示した。

当初 72 時間 (培養した供試) 酵母菌のグルコース発酵能を測定したところ、第 1 表第 4 項に示す如く、TS-1 株が供試酵母菌株 3 株中の最高値 365 mg CO₂/hr/g-dry cells (以下単位の表示を省略する。) を示しているが、この値は前報²⁾の 893 の 41% の値である。液体培地は完全に発酵が終了していたので、すでに酵母は死滅期に入っていて発酵能が低くでたのではないかと推定し、次に 24 時間培養の対数増殖期のものと及び 48 時間培養で増殖を終えて活発に発酵中のものの発酵能を測定した。第 1 表第 2 項に示す如く、24 時間培養の TS-1 株が最高値 674 を示しているが、この場合でも前報の 75% の値である。

この時の各前培養期間における素焼陶板で脱水した固形酵母の水分を第 2 表に示した。供試酵母菌株 3 株とも 24 時間培養のものが最も高く、対数増殖期の酵母が若くて水々しい最も活性の高い酵母であることを示している。また 48 時間培養は定常期にあたり 3 株とも水分が最低値を示し、このことは細胞内容が最も充実していることを示唆している。TS-1 株について 30°, 24 時間の振盪培養したものの発酵能を測定したが、静置培養に比して発酵能は低く、水分が高かった。

2. 酵母添加量の相違による発酵能の変動

反応液に対して TS-1 株、48 時間培養の固形酵母添加率を変えた場合の発酵能測定結果の相違を第 3 表に示

第 1 表 前培養期間における発酵能の変化

酵母菌株	24 時間	48 時間	72 時間
DCL "M"	482	477	290
TS-1	674	583	365
AHU 3201	507	488	316

(注) 発酵能 ($Q_{CO_2}^{8hr}$) は mg CO₂/hr/g-dry cells として表示した。

第 2 表 前培養期間と固形酵母水分

酵母菌株	24 時間	48 時間	72 時間
DCL "M"	67.88	63.59	66.31
TS-1	68.45	67.84	67.88
AHU 3201	66.65	64.88	66.13

(注) 水分は重量%で表示した。

第3表 酵母添加量の相違による発酵能の変動

酵母添加量(%)	発酵能
0.2	227
1.0	418
2.0	484

(注) 発酵能の表示単位は第1表の通りである。

第4表 麦汁で馴養した酵母の発酵能

酵母菌株	水分(%)	発酵能
DCL“M”	67.34	868
TS-1	68.08	860
AHU3201	66.68	848

(注) 発酵能の表示単位は第1表の通りである。

した。酵母の発酵能は1%添加を中心にして添加率が高い場合には高く、低い場合には低くなる傾向を示した。なお経時的炭酸ガス発生量が直線化するのには0.2%添加の場合は添加180分後、1.0%添加で160分後そして2.0%添加では140分後と添加率の増加に応じて直線化が速くなり、かつ単位時間当りの炭酸ガス発生量も多かった。重量法で測定した酵母の発酵能は酵母単位重量当り単位時間内に生成した炭酸ガス重量として表示しているため、酵母菌株固有の絶対値の如く受けとられるが、発酵能は反応液に対する酵母添加率で著しく変動するから、比較のためには前培養条件、酵母添加率及び測定時間等の測定条件をきびしく特定する必要性を示唆している。

一方、酵母添加量を増やしてもTS-1株の発酵能は前報の値を示さないため、保存株の発酵能が低下してお

り、YEPD 液体培地 5 ml で 48 時間、次に 300 ml で の 48 時間培養では、まだ十分に馴養されていないのではないかと考え、次の実験を行なった。

3. 馴養による発酵能の回復

前記の発酵能測定条件を検討していた約1ヶ月間、麦汁培養を2~3日毎にくり返し継続した菌株につき、YEPD 液体培地で24時間培養した場合の発酵能を第4表に示した。表中に示した如く、TS-1株は前報における同等の860.4を示し、DCL“M”株が最も高く868.0また、AHU3201株も847.8を示した。このことは微生物を取扱う場合の基本的かつ古典的な馴養という手法が酵母の発酵力の向上に寄与することを示している。

以上の通り、酵母の発酵能を論ずる場合、保存菌株のそれで比較すべきなのか、あるいは適当な液体培地を用いて適当な回数、培養をくり返した上で比較すべきなのか、いずれにしても馴養条件を含めて、前培養条件をはっきり特定した上で発酵能を比較すべきであると思われる。

参考文献

- 1) 東京大学農芸化学教室：実験農芸化学 上巻 358 (1972)
- 2) 辻 謙次，秋山裕一：醸協 75(9) 781 (1980)
- 3) Berry, D. R. : *Brewer's guardian.*, june, 25 (1979)
- 4) 辻 謙次，竹鶴 威：醸協 75(8) 665 (1980)