慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ドライイーストの経年劣化によるアルコール発酵実験への影響
Sub Title	Degradation of dry east and its effect on alcoholic fermentation experiment
Author	向井, 知大(Mukai, Tomohiro) 大場, 茂(Oba, Shigeru)
Publisher	慶應義塾大学日吉紀要刊行委員会
Publication year	2013
Jtitle	慶應義塾大学日吉紀要. 自然科学 (The Hiyoshi review of the natural science). No.54 (2013. 9) ,p.43- 56
JaLC DOI	
Abstract	慶應義塾大学日吉キャンパスにおける文系学生を対象とした化学実験のテーマの1つとして, アルコール発酵に関する実験を2007年から行っている。この実験では, 注射筒の中でスクロースを酵母によって発酵させ, 発生する二酸化炭素の体積から反応速度を求める。発酵後のスクロース酵母液をろ過し, そのろ液の糖度から, スクロースの消費具合を確認する。その際に, ろ液には酵母のエキスも加わっていることを考慮する必要がある。この影響の大きさは, 酵母の鮮度にはほぼ無関係であった。また, 使用期限の過ぎたドライイーストは, 新しいものに比べて明らかに活性が落ちるが, 2年半経過したものと4年半経過したものとでは, 反応速度にあまり違いが見られなかった。なお, アーレニウス・プロットによる検討の結果, 最適温度(45℃)において, すでに熱変性の影響が少し見られることがわかった。
Notes	研究ノート
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN10079809-20130930-0043

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hiyoshi Review of Natural Science
Keio University No. 54, 43–56（2013）

ドライイーストの経年劣化によるアルコール発酵実験への影響

向井知大・大場　茂

Degradation of Dry East and its Effect on Alcoholic Fermentation Experiment

Tomohiro Mukai and Shigeru Ohba

概要

慶應義塾大学日吉キャンパスにおける文系学生を対象とした化学実験のテーマの１つとして，アルコール発酵に関する実験を2007年から行っている。この実験では，注射筒の中でスクロースを酵母によって発酵させ，発生する二酸化炭素の体積から反応速度を求める。発酵後のスクロース酵母液をろ過し，そのろ液の糖度から，スクロースの消費具合を確認する。その際に，ろ液には酵母のエキスも加わっていることを考慮する必要がある。この影響の大きさは，酵母の鮮度にはほぼ無関係であった。また，使用期限の過ぎたドライイーストは，新しいものに比べて明らかに活性が落ちるが，２年半経過したものと４年半経過したものとでは，反応速度にあまり違いが見られなかった。なお，アーレニウス・プロットによる検討の結果，最適温度（45℃）において，すでに熱変性の影響が少し見られることがわかった。

１．はじめに

アルコール発酵は，生化学分野の入門的な実験として適している。酵母による嫌気呼吸でスクロースが分解され，エタノールと二酸化炭素が発生する。

$$C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O \longrightarrow 4C_2H_5OH+4CO_2 \qquad (1)$$

エタノールはヨードホルム反応で，また二酸化炭素は石灰水との反応で確認することができ

慶應義塾大学自然科学研究教育センター（〒223–8521 横浜市港北区日吉 4–1–1）：Research and Education Center for Natural Sciences, Keio University, Hiyoshi 4–1–1, Kohoku-ku, Yokohama 223–8521, Japan. [Received Mar. 2, 2013]

る。また，単位時間あたりの気体発生量を反応速度とみなすことができるので，温度を変えて測定することにより，最適温度（最も反応が速く進む温度）を知ることができる。注射筒を用いた実験方法および測定結果については，すでに報告した通りである[1)]。

発酵によってスクロースが消費されることは，糖度の低下として確認できるものと当初は考えていた。しかし，2012年度に行った学生実験において，アルコール発酵後のろ液の糖度が，最初のスクロース液の糖度よりも軒並み高いという，一見すると不自然な結果が多発した。その原因の１つの可能性として，ドライイーストの経年劣化の影響が考えられた。そこで，追加実験を行って確かめることにした。

2．実験方法

2–1. 実験操作

アルコール発酵の反応速度を測定する方法は，次の通りである。

①ウォーターバススターラーの設定温度を確認して（目的の液温よりも少し高めにしておき），その湯を300 mL ビーカーに汲み，湯浴の中に置く。これでビーカー内の湯が目的の温度に保たれるようにする。

②メスシリンダーを用いて約５％のスクロース水溶液を50 mL 測りとり，それを50 mL ビーカーに入れる。その液をガラス棒で撹拌しながら，乾燥酵母2.5 g を少しずつ入れて完全に懸濁させる（これとは別に，糖度計を用いてスクロース溶液の糖度を測定しておく）。このスクロース酵母液をガラス棒でよく撹拌してから，シリコンチューブを通して50 mL のガラス製注射筒に吸い上げ，注射筒の先を上に向けて中の空気をぬき，液を正確に10 mL だけ筒内に残す。次に注射筒の先端にキャップをつけ，液がもれないようにする。

③注射筒をキャップが下になるようにしてビーカー内の湯に入れ，発生する二酸化炭素の体積を１分ごと20分間測定する。もし，注射筒の目盛りが50 mL を超えたら，測定をやめる。室温での測定の場合は，注射筒をスタンドに固定し，５分ごと40分間測定する。

④測定が終わり次第，注射筒内の液をろ過し，糖度を測定する。

2–2. 糖度計の原理

アタゴ（株）製ポケット糖度計 PAL–2は，試料液を約0.3 mL 入れるだけで，簡便に糖度が測定できる[2)]。この原理は，光の屈折率をもとに，スクロース溶液のときの濃度として換算している。取り扱い説明書によると，測定範囲は Brix 0 〜53%，分解能は Brix 0.1%，測定精度は Brix±0.2% となっている。ここで，Brix（ブリックス）とは，スクロース水溶液のときの質量％濃度に対応する。この単位は，19世紀のドイツの発明家 A.F.W. Brix の名前にちなんでいる。溶液に含まれる成分がスクロース以外の場合は，Brix 目盛に対する換算表が必要となる。

2–3. ドライイーストの原材料

本実験で使うドライイーストは，厳密にいうとインスタント・ドライイースト（instant active dry yeast）のことである[3)]。生イーストは水分が65〜70% 程度であり，活性は高い。しかし保存は効かず，冷蔵しても 1 週間程度しかもたない。そこで日持ちさせるために，加熱して水分を 4 〜 6 % まで下げた小さな粒状のものが，ドライイーストである。しかし，この熱処理によって酵母の一部が死滅してしまう。ドライイーストは，水分を加えて戻してもすぐには発酵が始まらないため，予備発酵（スクロース液に溶かして発酵が始まるまでしばらく放置しておくこと）が必要である。インスタント・ドライイーストは，乳化剤（食用の界面活性剤）を加えて顆粒状にしてから，乾燥させたものである（水分は 8 〜12% 程度)。これは予備発酵が不要とされている。以下では，特に区別する必要がないかぎり，インスタント・ドライイーストを単にドライイーストと呼ぶことにする。

購入したインスタント・ドライイースト（高糖パン用金ラベル）のパッケージの表示によると，原材料はドライイースト，乳化剤（ソルビタン脂肪酸エステル)，そしてビタミン C であり，製造メーカーはフランス S.I. Lesaffre 社となっていた。ソルビタン脂肪酸エステルの含有率は1.5% である。ソルビトールとは，グルコースのホルミル基を還元して得られる糖アルコールのことであり，その脱水反応によって得られる化合物をソルビタンという。これは，1, 4–アンヒドロソルビトールや 1, 5–アンヒドロソルビトールなどの混合物である。脂肪酸の原材料がパーム油（アブラヤシの果実からとれる植物油）とすると，パルミチン酸（44.0%）やオレイン酸（39.2%）が主成分である[4)]。ソルビタン脂肪酸エステルに関しては，油の中に水を分散させたいときはトリエステル，水中に油を分散させるときはモノエステルが使われる[5)]。したがって，インスタント・ドライイーストに含まれている乳化剤は，図 1 に示すような構造である。この乳化剤をドライイーストに加える目的は，ドライイーストを顆粒状の形に保持させること（これで過剰な乾燥をさける)，カビなどの生育を抑制すること，ならびに水に入れたときに分散しやすくすることである[5)]。

今，水50 mL（つまり50 g）にドライイースト2.5 g を入れたとすると，乳化剤の質量%濃度は，次のように計算できる。

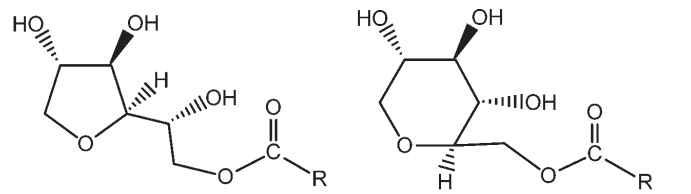


図 1．ソルビタン脂肪酸モノエステルの例。脂肪酸がパルミチン酸のとき R=$C_{15}H_{31}$, オレイン酸のときは R＝$C_{17}H_{33}$である。なお，ソルビタンの他の位置の OH 基が，エステル化している可能性もある。

$(2.5\times0.015/52.5)\times100=0.071\%$

後述するように，水にドライイーストを溶かして30分程度放置してろ過すると，ろ液の糖度は1.3程度を示す。有機化合物の屈折率は糖とほぼ同じとみなすと，乳化剤だけでは糖度の見掛け上の上昇は説明がつかない。逆に，糖度1.3に対応する抽出物の質量を計算すると，ドライイーストの質量の27% となる。つまり，ドライイーストの全重量の約1/4が，水によって抽出されていることになる。これは，加熱処理などのときに死滅したイーストに由来すると推定される。事実，ドライイーストから抽出された酵母エキスが試薬として市販されており，主成分としてアミノ酸や核酸関連物質などが含まれている。また，酵母エキスは調味料としても広く利用されており，ダシの元などに配合されている。

2–4. パン酵母

酵母とは，単細胞の栄養体を主要な形態とする菌類全体をさす。このうち，製パン用の酵母は，*Saccharomyces cerevisiae* という菌である。この DNA の全塩基配列が1996年に決定され，乾燥などに対する耐性と遺伝子との関係が研究されている[7]。また，酵母を乾燥させて長期保存する方法も，詳しく研究されている。乾燥に対する耐性は酵母の種類によって違ってくるが，*S. cerevisiae* は乾燥にも凍結保存にも比較的強いほうである[8]。

インスタント・ドライイーストは，次のような工程で製造される。酵母をある決められた条件に従って培養したあと，脱水機にかけてから乳化剤を加えて顆粒状にし，それを温風乾燥させる。その際に，急激な乾燥によるショックを和らげるため，温風を100℃から50℃程度まで４段階に切り換え，水分を徐々に除く工夫がされている[3]。この温風の温度など，乾燥の条件が少しでも違うと，菌の生存率に響いてくる。乾燥によって菌が一部死んでしまうのは避けられない。この段階での菌の生存率は60〜80% 程度である[3]。

乾燥に耐え，また長い期間の保存にも耐えて生き残った酵母には，もう１つの試練が待っている。それは，ドライイーストに水分を加えるときである。水の温度が低いと死亡率が高くなる。これは細胞膜のリン脂質の構造が，ゲルから液晶相へ転移し，パッキングの欠陥が生じて細胞質がもれるためと考えられている[9]。

3．反応の解析

3–1. アルコール発酵に伴う糖度の低下

ドライイーストを用いて，a% スクロース溶液10 mL を25℃において発酵させたところ，二酸化炭素が v（mL）発生したとする。このとき，発酵後の糖度を y として，求めてみよう。標準状態（０℃，１気圧）での気体１モルの体積を22.4 L とする。また，スクロース溶液は５% 程度なので，その密度は１g cm^{-3}として近似できるものとする。反応により生じた二酸化炭素の体積が v（mL）であるから，その物質量は次のようになる。

$v\times\{273/(273+25)\}/(22.4\times10^{3})$　（モル）

消費したスクロースは，式（1）より，その1/4である。a% スクロース液の密度を 1 g cm^{-3} と近似すると，反応液10 mL 中には最初に（a/100）×10（g）のスクロースが含まれていたことになる。スクロースの分子量が342であること，ならびに発酵前後で溶液の体積は10 mL で変わらないとすると，糖度は a から y へ下がったことになる。計算してまとめると，次のようになる。

$$y = a-0.035v \qquad (2)$$

ただし，後述するように，酵母を水に溶かして放置することで，見かけ上は糖度が増えるため，その上昇分を b として補正を加える必要がある。したがって，発酵後のろ液の糖度の予測値は，次式で与えられる。

$$y = a+b-0.035v \qquad (3)$$

3–2. 反応速度の温度依存性

酵素が熱変性してしまう高温部を除くと，温度が高いほど発酵が速くなるはずである。一般に反応速度 k と絶対温度 T の間には，次のような関係式が成り立つ。これを Arrhenius（アーレニウス）の式という[10]。

$$k = A\exp(-E_a/RT) \qquad (4)$$

ここで，A は前指数因子，E_a は活性化エネルギー，R は気体定数である。

$$R = 8.315\ \mathrm{J\,K^{-1}\,mol^{-1}} \qquad (5)$$

式（4）の両辺について自然対数をとると，次式となる。

$$\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \ln A \qquad (6)$$

絶対温度の逆数 1/T に対して，反応速度の対数 ln k をプロットすると直線となり，その傾きが$-E_a/R$ となる。活性化エネルギー E_a を求めるとき，反応速度の単位は別段気にする必要はない。なぜならば，反応速度の単位の換算は，k と A とに同じ定数を掛けることを意味し，式（4）中の活性化エネルギーには，その影響が及ばないからである。

4．実験

4–1. 糖度の測定精度

ポケット糖度計 APAL–1 にどの程度の精度があるのか，17台について検査を行った。具体

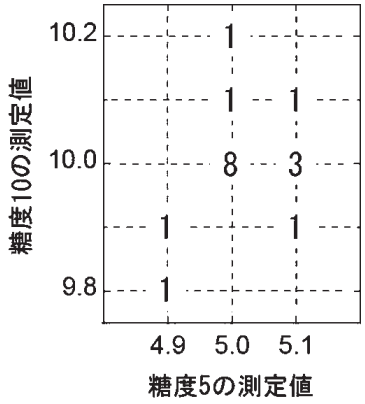


図２．糖度５と10の測定値の相関。数字は測定頻度を表す。例えば5.1および10.0と表示した糖度計は３本あったことを意味する。

的には，糖度が5.0と10.0の２種類の水溶液を調製し，蒸留水を用いてゼロ点の確認（あるいはゼロ点補正）ののちに，それぞれ測定を行った。その結果を図２に示す。正確に5.0および10.0を表示したものが約半数であり，それからのずれは5.0±0.1および10.0±0.2であった。糖度計の仕様書に書かれている測定精度「Brix±0.2%」の範囲にちょうど収まっている。アルコール発酵の実験では，糖度５～６程度の溶液を扱うので，複数の糖度計を用いた場合の個体差は最大で0.2である。

4–2. ドライイーストによる糖度測定への影響

スクロースを入れずに，室温において蒸留水にドライイーストを懸濁させて注射筒に入れ，一定時間経過後のろ液の糖度を測定した。ドライイーストは，（A）賞味期限１年前の新品，（B）未開封冷蔵庫保存で賞味期限２年半経過後，（B′）賞味期限はBと同じだが，２年前に開封しその後冷蔵庫で保存していたもの，（C）未開封で室温にて保存し賞味期限４年半経過後，の４種類を使用した。糖度の測定値（表１）を見ると，高温の60℃（致死温度）で酵母からダシが多く出ているが，50℃以下ではほぼ一定で1.1±0.3（Brix）となっている。

酵母エキス BSP-B（オリエンタルイースト㈱）の粉末を蒸留水に溶かし，糖度の再現を試みた。その結果，蒸留水20 mL に対して0.20 g を加えると，糖度計での測定値が1.3となった。また，溶液の色は抽出液と同じように淡黄色であった。この色の原因をさぐるために，紫外可視吸収スペクトルを ALS 製 SEC2000–UV/VIS ミニ分光器で測定した。図３に示すように，抽出液と酵母エキス水溶液のスペクトルはほぼ一致し，紫外部にダブルピークがある。これは，核酸などプリン誘導体にみられる特徴である[4]。溶液が淡黄色なのは，紫外部の吸収帯の山すそが，可視部の短波長側まで伸びているためである。可視部は全域にわたって平坦であり，吸収帯は観測されなかった。

表１．加熱条件とろ液の糖度（Brix）[a)]

ドライイースト[b)]	室温（19℃）で40分	40℃で20分	50℃で20分	60℃で20分
A	0.9	0.9	1.0	1.2
B	1.2	1.2	1.2	1.4
B′	1.3	1.3	1.4	1.8
C	0.8	—	—	1.6

a）室温にて蒸留水に酵母を懸濁させて注射筒に入れ，それぞれの温度で一定時間保ったあとにろ液の糖度を測定した。

b）ドライイーストは，（A）賞味期限１年前，（B）未開封冷蔵庫保存で賞味期限２年半経過後，（B′）賞味期限はＢと同じだが，２年前に開封しその後冷蔵庫で保存していたもの，（C）未開封室温保存で賞味期限４年半経過後。

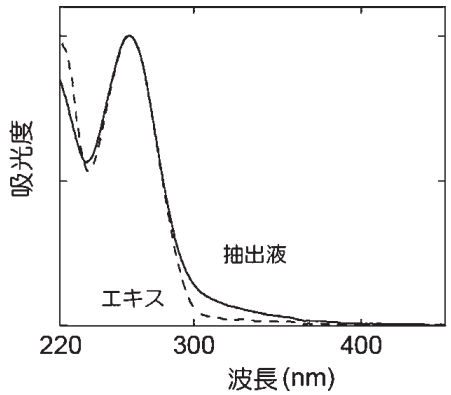


図３．ドライイーストを水に懸濁させたときの抽出液および酵母エキス水溶液の可視紫外吸収スペクトル。観測された吸収ピークは，いずれも λ_{max}＝261.3 nm。

4–3. アルコール発酵と糖度低下との関係

アルコール発酵に伴って，糖度が低下するはずである。そこで，反応速度の予備測定も兼ねて，25〜55℃の温度範囲で，20分（ただし25℃では50分）発酵させたのち，注射筒内の液をろ過して糖度を測定した（表２）。温度による気体の熱膨張の影響をなくすために，発生した二酸化炭素の体積は25℃における値に補正した。これで，二酸化炭素の体積と発酵後の糖度をプロットすると，図４のようになった。ろ液の糖度は，式（３）を使って理論的に予測できる。そこで，初期値 a ＝5.3，および酵母エキスの溶け出しによる見掛け上の増加分 b ＝1.3を仮定して計算したところ，図４に示すような直線となった。糖度の測定値には多少のばらつきがあるものの，理論的な推定とよく一致していることがわかる。つまり，反応が進んで二酸化炭素の発生量が多いほど，糖度が低下していることが確かめられた。

表２．発生した二酸化炭素の体積（mL）（25℃換算）と，発酵後の糖度測定値（Brix）との関係

ドライイースト	温度（℃）	気体発生量	気体体積（25℃）	糖度（Brix）
A	25	48.5	48.5	5.2
B	25	25	25	5.7
C	25	37	37	5.3
A	35	35	33.9	5.0
B	35	23	22.3	5.7
C	35	31	30.0	5.4
A	45	40	37.5	5.3
B	45	28	26.2	5.8
C	45	42	39.4	5.2
A	55	28	26.2	5.6
B	55	12	11.2	6.3
C	55	24	22.5	5.7

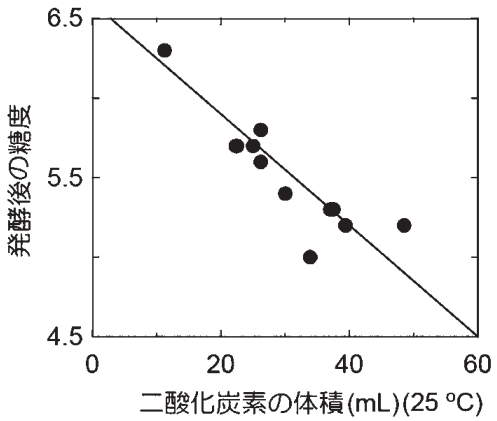


図４．発生した二酸化炭素の体積（25℃換算）とろ液の糖度との関係。図中の直線は，使用した最初のスクロース液の糖度をa＝5.3，酵母エキスによって見かけ上糖度が上昇する分をb＝1.3としたときの予想値。y＝6.6－0.035v。

4–4. アルコール発酵速度とドライイーストの賞味期限との関係

アルコール発酵速度が，ドライイーストの古さでどの程度違うかを調べた。その際に，温度は25～55℃の範囲を５℃刻みで行い，また速度をできるだけ正確に求めるために，反応は可能な限り40分程度まで追跡した。各ドライイーストについて，気体発生量の時間変化を図５に示す。どの温度においても，発酵が一定の速度に達するのに時間がかかる。これは，湯につけてから注射筒内の温度が上昇するまでにある程度の時間を要すること，ならびに酵母が水分を得て定常な状態に回復するためには一定の時間を必要とするためである。その傾向は，低温ほど著しい。このようにして求めた，各温度における気体発生速度を表３（a）にまとめた。なお，

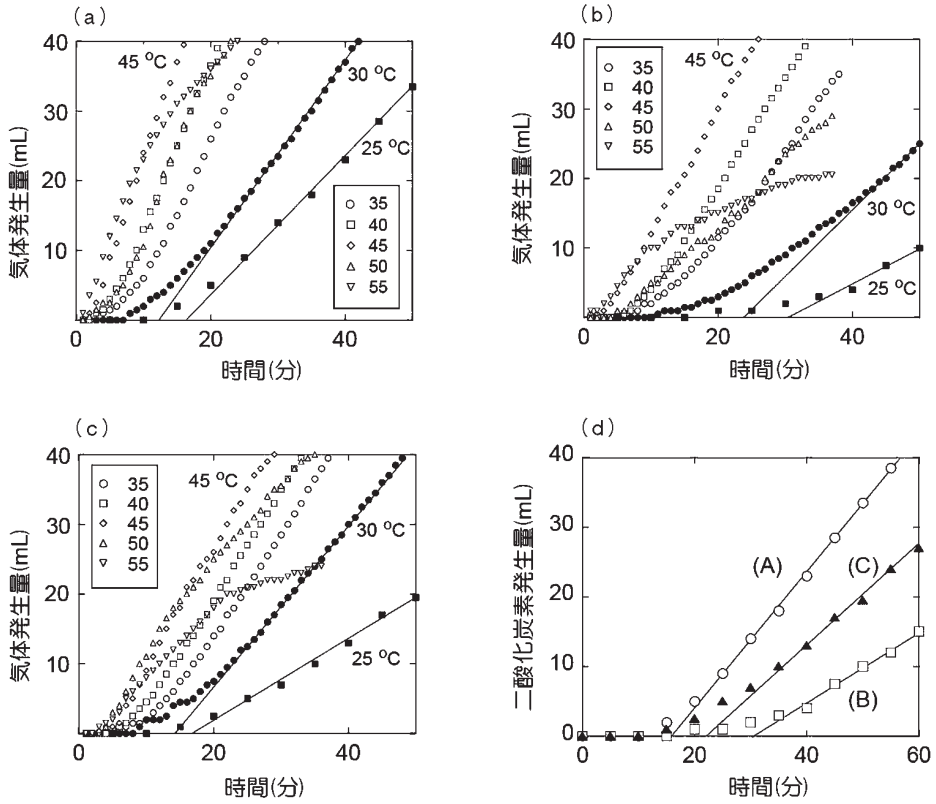


図５．各温度における二酸化炭素発生量の時間変化。(a)（b）(c）はそれぞれ，ドライイースト（A, B，C，表１参照）を使用したとき。(d）25℃における測定データの酵母鮮度による比較。図中の直線は，25℃と30℃について，発酵速度を示すための補助線である。

表３．アルコール発酵による気体発生速度（mL/分）

(a）生データ

ドライイースト	温度（℃）						
	25	30	35	40	45	50	55
A	1.05	1.31	1.91	2.46	2.84	2.70	1.05
B	0.58	0.92	1.33	1.57	1.76	0.97	0.32
C	0.68	1.17	1.51	1.54	1.66	1.12	0.32

(b）気体の熱膨張の補正後

ドライイースト	温度（℃）						
	25	30	35	40	45	50	55
A	1.05	1.29	1.85	2.34	2.66	2.49	0.95
B	0.58	0.90	1.29	1.49	1.65	0.89	0.29
C	0.68	1.15	1.46	1.47	1.56	1.03	0.29

気体の熱膨張による体積の違いを考慮する必要があるため，25℃における気体の体積として換算したものを表３（b）に示した。どの温度においても，鮮度のよいドライイースト（A）に比べて，使用期限を２年以上も過ぎている（B）や（C）は，活性が下がっていることは明らかである。

5．考察

5-1. 最適温度

反応速度の温度依存性を図６に示した。ドライイーストの鮮度にかかわらず，最適温度は約45℃である。これは同じ菌株であることから，当然といえる。ドライイーストの経年劣化は，生きた菌の数の減少によって生じているものと推定される。アーレニウス・プロットを作図したところ，ドライイースト（A），(B)，(C）とも25〜40℃の温度範囲でほぼ直線にのり，傾きもほぼ等しかった。(A）についてのグラフを図７に示す。これより，活性化エネルギーは約40 kJ mol^{-1}と見積ることができる。45℃以上の温度範囲で，直線から下方へずれている。反応がいちばん速い温度は45℃であるが，この温度ですでに熱変性の影響が少し出ているといえる。図６において，反応速度の温度依存性が非対称なピークになる理由が，これで説明できる。つまり，最適温度45℃よりも低温側では，通常の熱力学的法則に従った反応速度の変化であり，それに対して高温側では，酵素の熱変性による反応の阻害の影響が急速に強まるからである。

5-2. ドライイーストの経年劣化

図５（d）からもわかるように，ドライイースト（B）に比べて経過期間が２年も長い（C）のほうが，活性がやや高かった。これは（B）のほうが125 g というパッケージに対して，(C）のほうが３g と少量の分包だったので，品質保持に有利だったのかもしれない。あるいは，単に製造ロットの違いによるものかもしれない。反応速度のデータ（図６）を比べると，(B）と（C）はほとんど同じといえる。このことは，ドライイースト中の菌の生存率は，使用期限２年半後でも４年半後でもあまり違いがないことを意味する。それは，どういうことだろうか。

菌の乾燥保存の研究によると，大腸菌の乾燥標本について最初の１年間では直線的な生残菌数の低下が起こるが，それ以降はゆるやかとなり，２年以降はほとんど低下しないという報告例がある[8)]。つまり，保存初期の数年間で乾燥標品は安定化し，それ以降は劣化が進まないということである。この理由として，細胞の培養齢が関係していると思われる。培養初期である対数増殖期の細胞は乾燥に弱く保存性も悪いが，定常増殖期に達した細胞は乾燥にも強く保存性もよいと考えられている[8)]。*S. cerevisiae* は細胞から娘細胞が出芽し，分離することで増殖する。１つの細胞は出芽を約24回繰り返し，それが終わると死ぬ[12)]。このことから，元気な細胞は長期保存に耐えられるが，抵抗力のない細胞は保存期間中に徐々に死んでいくものと推定される。

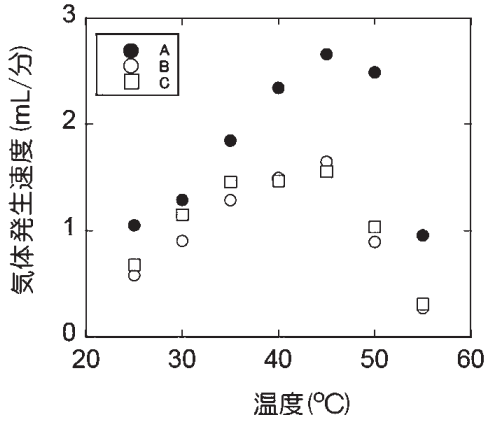


図 6．反応速度の温度変化およびドライイーストの鮮度依存性。(A)，(B)，(C) は表 1 を参照のこと。

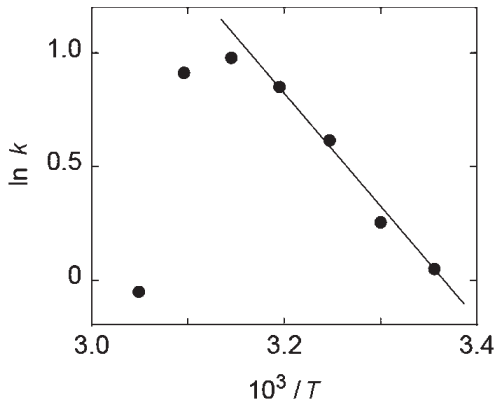


図 7．ドライイースト (A) についてのアーレニウスプロット。k は反応速度 (気体発生速度)。直線は，25〜40℃のデータがアーレニウスの式に従うことを示している。

ドライイースト中の菌の初期濃度を $[Y_0]+c$ とし，$[Y_0]$ が 1 次の速度式（定数 k_1）に従って減少するが，c は定数と仮定する。そうすると，t 年後の濃度 [Y] は，次のように表すことができる。

$$[Y] = [Y_0] \exp(-k_1 t) + c \qquad (7)$$

$$\ln([Y]-c) = \ln[Y_0] - k_1 t \qquad (8)$$

インスタント・ドライイーストの使用期限は製造日から 2 年とされていることから，ドライイースト（A）（B）（C）はそれぞれ t =1.0，4.5，6.5（年）である。最適温度45℃における発酵速度が，生存菌数に比例しているはずなので，表 3 （b）より（A）（B）（C）についてそれぞれ [Y] =2.66，1.65，1.56とする（濃度の単位はここでは問題にしないことにする）。定数項

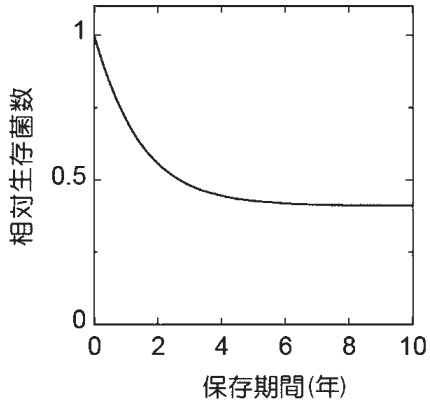


図８．ドライイースト中の相対生存菌数の保存期間依存性（計算による推定）

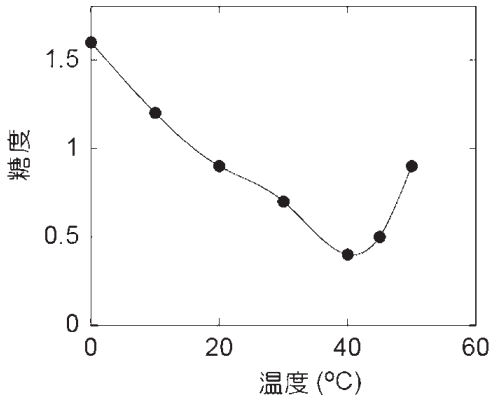


図９．酵母エキスによる糖度増加の懸濁温度依存性。それぞれの温度の蒸留水にドライイーストを懸濁させ，注射筒に入れて一定時間保ったのち，ろ液の糖度を測定した。

c ＝1.56と近似して，式（８）の（A）と（B）についての連立方程式を解くと，k_1＝0.715 (y^{-1})，$[Y_0]$ ＝2.25と求まる。よって，t ＝ 0 のとき，[Y] ＝ $[Y_0]+c$ ＝3.81。以上のことから，生存菌数の相対値の時間変化は，図８のようになると推定される。製造日から２年後の賞味期限では55% まで下がっているが，５年後以降はほぼ一定で約40% を維持すると予想される。

5-3. 酵母エキスによる糖度への影響

ドライイーストからの抽出液の糖度（表１）は，60℃の場合を除いて，温度に無関係であった。しかし，これは最初に室温（19℃）で水分を与えていたからである。前にも述べたように，ドライイーストの水分を戻すときの液温が大事であり，温度が低いほど，その際に死んでしまう菌の割合が高くなる[9]。ドライイーストからグルタチオン（これはグルタミン酸，システイン，グリシンからなるトリペプチド）を抽出する実験でも，最初に室温で水分を与えてから目的の温度で保った場合と，最初からその温度の水に溶かしたときとで，結果が異なることが報

告されている[13]。

そこで，追加実験を行った。すなわち，0 ～ 50℃までの蒸留水に酵母を1.0 g/20 mL の割合で懸濁させて注射筒に入れ，それぞれの温度で一定時間（20℃以下は40分，30℃以上では20分）保ったあとに，ろ液の糖度を測定した。その結果，図 9 に示すように 0 ～40℃の範囲では，懸濁させる温度が低いほど，糖度が増加した。これは，温度が低いほど，再水化において菌が死ぬ割合が増え，酵母エキスの浸み出しが多くなるためであり，予想通りである。40℃を越えると，糖度が上がっている。これは，再水化において温度が高すぎると不利になることを示唆している。くしくも，45℃は発酵における最適温度であり，再水化においても適温といえる。

6．学生実験への対応

ドライイーストを水に溶かして放置するだけで，酵母エキスがしみ出すために，ろ液の糖度が見掛け上は増える。実験操作に示した条件で測定すると，その糖度上昇分は約1.3程度であることを，実験テキストに追記することにした。なお，発酵前のスクロース液をビーカーに入れてラップもせずに放置した場合，残量が少量であると実験時間中に水分が飛んで濃縮される。それを使って糖度を測定すると，数値が高めに出てしまうので，注意する。また，当然のことながら，ろ過するときにろ紙を水で濡らさないこと，またろ過せずに糖度を測定しないように指導する必要がある。毎回，新鮮なドライイーストを使用し，賞味期限は守ったほうがよい。しかし，未開封のパッケージの場合，冷蔵庫で保管しておけば，賞味期限を過ぎてもこの実験には使える。

前回の解説[1] にも書いたことだが，注射筒に入れる前にスクロース酵母液を毎回撹拌することがとても重要である。なぜならば，酵母がすぐに沈殿してくるからである。酵母の濃度を同じにしないと，温度による反応速度の違いは不明確となってしまう。注射筒を入れるビーカーの湯の温度も，指定通りの値に保つことが重要である。温度が60℃を下回ると，発酵が高温で停止することがわからない。なお，注射筒の目盛りは，ビーカーの湯にじゃまされて読みにくいが，目盛りを読むために湯から注射筒を引き出してはいけない。

謝辞

アルコール発酵に関する実験テーマの改良は，慶應義塾大学調整費からの助成金を用いて行われた。

参考文献

1）大橋淳史・福山勝也・大場茂：「アルコール発酵の最適温度の測定」慶應義塾大学日吉紀要 自然科学，No.45，1 –13（2009年）。
2）（株）アタゴ，「ポケット糖度計 APAL-1 取扱説明書」（2012年）。

3）Akbari, H., Karimi, K., Lundin, M. & Taherzadeh, M. J. (2012): “Optimization of baker’s yeast drying in industrial continuous fluidized bed dryer,” *Food and Bioproducts Processing*, **90**, 52–57.
4）「五訂増補　日本食品成分表」（食品成分研究調査会編，医歯薬出版，2006年），pp.402–403.
5）坂本雄司：「食品用乳化剤の種類とその技術開発動向」食品と技術，**377**，1－9（2002年）。
6）「微生物科学１」（柳田友道著，学会出版センター，1981年）p.91。
7）島　純：「パン酵母のポストゲノム解析とデータベースの構築」食品と技術，**447**，11–18（2008年）。
8）見方洪三郎：「酵母の長期保存法に関する研究」*Microbiol. Cult. Coll.*, **18**, 3 –16 (2002年)。
9）Poirier, I., Maréchal, P.-A., Richard, S. & Gervais, P. (1999): “Saccharomyces cerevisiae viability is strongly dependant on rehydration kinetics and the temperature of dried cells,” *J. Appl. Microbiol.*, **86**, 87–92.
10）「物理化学演習」（伊藤正時，大場茂，茅幸二，仙名保，中嶋敦，藪下聡著，裳華房，1999年）pp.213–215。
11）「紫外・可視スペクトル（第２版）」（C.N.R.Rao 著，中川正澄訳，東京化学同人，1970年），pp.111–114.
12）「微生物科学２」（柳田友道著，学会出版センター，1981年）pp.198–200。
13）Kuninori, T., Yagi, M. & Matsumoto, H. (1968): “Glutathione Leached from Yeast Cells,” *J. Ferment. Technol.*, **46**, 196–201.