

～1.2%, alc. 10.0～12.5%の範囲に囲んで見た。すなわち乳酸0.6%, alc. 10%は速醸系酒母, 乳酸1.2%, alc. 12.5%は生酏系酒母のそれぞれの醸酵末期における条件と一致する。そしてこの枠内の条件にある酵母は, いわゆる酒母の“ぬくみとり”時の状態にあると考えられる。ここにおいて品温を上昇することは, 酵母の繁殖に極めて苛酷な条件を与えることが明瞭である。すなわち, 高温に導くことにより, 両耐性の弱い酵母は, かなりの打撃を受けることが想像せられ, いわゆる淘汰の意義が強く現われてくる。SK73株は“ぬくみとり”操作を27℃に採ることにより増殖を阻害され, 耐性株のSK72株のみが残存することが考えられる。

古来から“ぬくみとり”操作を27～32℃に保つことが, 細菌その他の雑菌および不要な酵母を淘汰し, 酒質を一定にするのに効果がある³⁾という理由が, 自ら推察し得るのである。

総 括

乳酸, アルコールの共存下において, 清酒酵母が繁殖し得る, それぞれの濃度を調査した。その最大濃度, すなわち限界濃度は, 強耐性を示す菌株はその範囲が広く, 弱耐性を示す菌株は限界濃度の範囲が狭い。菌株個々の両耐性力の差異は, そのまま共存下にある耐性力となつて現われることを知つた。

また乳酸, アルコールの共存下における, 限界濃度は, 培養温度によつて著しく影響を受けることが判つた。

耐性力に強弱を示す2種の菌株が共棲した場合, 両菌株の23℃および27℃における限界濃度曲線を, 速醸および生酏系酒母の乳酸, アルコールの濃度範囲で限ることによつて, 酒母の湧付休, および“ぬくみとり”操作後における酵母の生育条件が推定し得ることを述べ, これについて若干の考察を加えた。

終りに臨み御懇篤なる御指導を賜つた大阪大学工学部照井教授, 寺本教授に対し厚く御礼申し上げます。また, 本稿の御校閲を賜つた, 田口助教授に対し深謝致します。

また本研究の発表を許可された当社会長辰馬吉男氏, 社長辰馬力氏に対し感謝の意を表します。

文 献

- 1) 井上, 高岡, 秦: 本誌, **40**, 505 (1962).
 - 2) 井上, 高岡, 秦: 本誌, **40**, 511 (1962).
 - 3) 小穴: 清酒醸造精義, P.476 (1936).
- (昭和 37, 9, 3 受付)

〔醸工 第40巻, 第11号, p. 548～555, 1962〕

清酒酵母に関する研究 (第7報) “ぬくみとり”操作について

井上 貞三・高岡 祥夫・秦 昌 造 (辰馬本家酒造株式会社)

Studies on Sake yeast (VII)

On the Significance of “Nukumitori”

Teizo Inoue, Yoshio Takaoka and Shozo Hata

(Tatsuuma Honke Sake-brewing Co., Ltd., Nishinomiya)

In order to elucidate the significance of the “Nukumitori” process, (raising seed mash temperature artificially at latter period of fermentation), an experiment was performed by utilizing the determination method of alcohol tolerance of yeast which has been described in our previous report.

We inoculated the weak tolerance yeast in the model seed mash especially prepared, and after fermentation isolated the yeast from the mash. Afterwards strains isolated were examined for their tolerance to alcohol.

It was found that there was no difference between alcohol tolerance of the inoculum strain and that of the isolated strain, and that the tolerance would not vary by culturing in a natural medium such as seed mash.

When two yeast strains, having high or low tolerance to alcohol, were incubated

in seed mash, and the “Nukumitori” process was maintained at 30°C for 15 hours, total counts of yeast in the mash decreased to 67% as compared to the count before Nukumitori. In this case the high tolerance yeast decreased to only 75% in count, whereas the low tolerance yeast decreased to 45%. We supposed that the operation of Nukumitori was effective in eliminating the lower tolerance yeasts.

緒 言

前報¹⁾においては乳酸、アルコールの共存下における清酒酵母の生育状態について述べ、“ぬくみとり”操作についての考察を行なった。

酒母の醗酵末期において、いわゆる“ぬくみとり”操作を行なつて加温し、27°~32°Cに12~20時間保つた後、冷却し熟成せしめることが従来から行なわれて来た。この操作については、酒母に含まれる酸およびアルコールにより、有害細菌、不良酵母を死滅させることによつて淘汰し、かつ酵母を酸やアルコールに対して馴養し、健全な酒母に仕上げるということがいわれている²⁾。

酒母の醗酵末期において品温を上げることは、酵母自体に対する生理的意義のほかに、枯し期間中の醗酵の抑制、酒母物料の溶解、分解の促進効果など、種々の意義が考えられる。

最近においては、該操作後の酒母中の酵母について、メチレンブラウによる染色率が増加することから、品温上昇の程度が追々と低下し、ついにはそれを廃止する傾向が多く見られるようになった。著者らは酵母の乳酸およびアルコール耐性に対する立場より、“ぬくみとり”操作前後における酒母の生存酵母数について検討を加え、あわせて古来より採用せられてきた、この方法の真の意義について探求した。

実 験 の 部

I “ぬくみとり”温度による影響

酒母における酵母の生育に対して、湧付休み終了時の酸、アルコールの存在下において、温度をあげることは、さらに苛酷な条件におくことになることを、さきの実験結果より容易に想像しうる。それ故、まず“ぬくみとり”における品温と酵母数の関係について実験を行なった。

A. 実験方法

1) 仕込方法：酒母として小規模の速醸酒母を採用した。すなわち、麴235g、および汲水690ml（醸造用乳酸5.75mlを含む）を加えて、まず水麴をおこない、これにあらかじめ麴汁50mlに培養した酵母の菌体のみを加え、2時間後蒸米470gを加える。仕込温度は24°C、24時間後に湧付き、品温は23~24°Cに保つ。72時間培養した後、500mlの広口瓶に約250ml宛分注し、それぞれ所定の“ぬくみとり”温度を与え、15時間その温度に保つて後、23°Cまで冷却する。このようにして得られた熟成酒母について測定を行なった。

“ぬくみとり”温度は23.5°C、27.5°C、29°C、30°Cおよび32°Cの5種類である。

供試酵母：第1報³⁾において報告した生酛系酒母より分離した菌株のうちで、乳酸およびアルコール耐性の強いSK72を用いた。

分析方法：酵母数は、すべて平板培養のコロニー数の測定により求めた。すなわち、培養液を充分攪拌したのち、その10mlを採り、殺菌水にて所要の濃度まで希釈する。その希釈液1mlを採つてペトリ皿に注入、同時に麴汁寒天を加え、28°C、3日間静置し、生じたコロニー数を測定した。酵母数は1ml中の値で示した。1試料に対し5~10枚のペトリ皿を用いて行ない、その平均値をもつてコロニー数とした。

一般分析は、醗酵終了後その濾液について行なった。

B. 実験結果

酒母の“ぬくみとり”操作前後の一般分析結果は Table 1 に示す。これらの分析値は、Béにおいて実際の酒母と比較して、少々低い値を示す以外は、ほぼ一致した値を示している。

また酵母数は Table 2 に示す。

すなわち熟成酒母の生存酵母数 1.3×10^8 /mlは、一般の酒母のそれよりは、やや低い値を示すが、大体において一致した結果が得られたと考えられる。

また Table 2 に示されるように、この操作の前後における生存酵母数は、品温上昇の高いものほど、生存率

Table 1. Component of seed mash before and after "Nukumitori"* stage

	Temp. of "Nukumitori"	Bé	Alcohol (vol %)	Acidity (g/100ml) (as lactic acid)	Reducing Sugar (g/100ml)	Total Sugar (g/100ml)
Before "Nukumitori" stage	23°	7.5	10.8	0.570	—	—
After "Nukumitori" stage	24	7.0	11.3	0.613	11.06	12.80
	27	6.0	12.0	0.608	9.85	11.50
	29	5.75	12.1	0.608	9.61	11.06
	30	5.6	12.3	0.613	9.35	10.64
	32	5.7	12.2	0.602	9.56	10.84

* "Nukumitori" is an operation of raising mash temperature up to 29°~32°C at latter period of seed mash fermentation.

Table 2. Effect of temperature on counts of yeast cells in "Nukumitori" stage.
"Nukumitori" : for 15hrs.

	Temp. in "Nukumitori" stage	Counts of colonies	Average	Number of yeast cells	Ratio (%)
Before "Nukumitori" stage	23°	93, 93, 94, 98, 100, 100, 100, 103, 104, 107	99.2	1.24×10^8	100
After "Nukumitori" stage	24	98, 100, 106, 108, 110	104.4	1.3×10^8	105
	27	94, 97, 99, 100, 100	98.0	1.23×10^8	99
	29	85, 86, 87, 91, 92	88.2	1.1×10^8	89
	30	73, 77, 80, 82, 82	78.8	0.98×10^8	79
	32	56, 60, 62, 64, 67	61.8	0.77×10^8	62

が低下することがわかる。

24°~27°Cまでは、コロニー計測法による誤差範囲内にあるため、温度による影響はあまり見られないが、29°C以上では明らかに減少し30°Cを越えると急激にその影響が現われてくる。これらの傾向はFig. 1に示した。

II “ぬくみとり” 操作による酵母の淘汰

以上は酵母の単一株を用いた結果であるが、2種以上の菌株が混在し、かつそれらの菌株の生理的耐性に強弱の差があるときは、当然弱い菌株の方が淘汰せられる可能性が大きい筈である。本実験においては、酵母のアルコール耐性を一つの目安として、耐性の異なつた酵母を接種したとき、酒母の“ぬくみとり”前後の酵母の分布状態がいかに変化するかを調査した。

1. 単一株の場合

単一株が酒母育成の状態を経たために、耐性に変化をもたらすか否かを試験した。すなわち単一株を、酒母に添加、繁殖せしめた後、酵母を分離し、その耐性試験を行ない、保存菌株のそれとを比較した。また小規模の速醸酒母において、対照として酵母無添加酒母を並行的に育成し、自然発生酵母についてその耐性を調べ、酵母添加酒母のそれと比較した。

A. 実験方法

仕込方法：操作方法はI.A.イ)の場合に準じて行なつた。仕込配合は、蒸米60g、麴米30g、汲水80ml（醸造用乳酸0.6mlを含む）とした。同一条件にて3本仕込み、そのうち2本は酵母を加え、他の1本は酵母を加えず無添加酒母の対照とした。“ぬくみとり”の温度は28~28.5°Cとし、培養は5日間おこなつた。

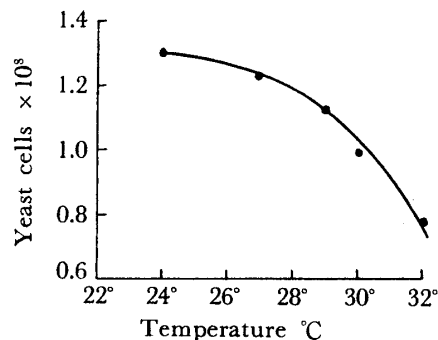


Fig. 1. Relationship between temperature of "Nukumitori" and numbers of viable cells.

供試酵母：供試酵母はアルコール耐性の弱い菌株を選ぶ方が、耐性変化が明瞭に現われ、また自然に混入した野生酵母との区別が明らかとなり易いので、アルコール耐性の弱いSH202株、およびアルコール耐性が普通程度であるSH26株を用いた。

酵母のアルコール耐性試験：培養終了後の酒母より麴汁寒天を用いて平板培養を行ない、生成した酵母のコロニーのうち、任意に10～15個を選び、前報⁴⁾の人工培地を用い29℃にて培養する。48時間毎に2回培養を繰返したのち、11%のアルコールを含む人工培地に接種し、29℃に静置する。培養日数5日および15日後の酵母量を比色計による比濁法によつて測定した。その酵母量によつて、酵母のアルコール耐性を判定した。

B. 実験結果

酵母を添加した酒母は24時間後に湧付いた。酵母無添加のものでは、48時間後に湧付いたが、湧付初期には産膜酵母のようなエステル香を発した。両者とも72時間後では醗酵旺盛となった。

SH202株、SH26株を用いた酒母より分離した酵母のアルコール耐性に対する実験結果は Table 3 に示す。これらの結果から、SH202においても、またSH26においても、保存菌株（植継後1ヶ月経過せるもの）と、それらをモデル酒母に添加育成後分離したものとの間には、アルコール耐性においてほとんど差異が認められない。

また、酵母無添加モデル酒母より、分離された酵母のアルコール耐性は中程度であつた。SH202株添加酒母よりは、この菌株と同程度の耐性を示す酵母が分離せられなかつたことより、早期に、すなわち仕込時に相当量の酵母を添加すれば、たとえ開放下における育成であつても、添加酵母が優位に繁殖し、酒母中の酵母の大部分を占め得ることを認めた。

Table 3. The tolerance of the yeast isolated from model seed mash to alcohol
Medium : containing 11% alcohol Temp. : at 29°C
Growth of yeast in the medium containing alcohol was shown
by optical density ($-\log T$) with 10mm cell, 660m μ .

SH202						SH26					
Colony No.	Optical density ($-\log T$)		Colony No.	Optical density ($-\log T$)		Colony No.	Optical density ($-\log T$)		Colony No.	Optical density ($-\log T$)	
	5 days	15 days		5 days	15 days		5 days	15 days		5 days	15 days
1	0.052	0.046	11	0.045	0.040	1	0.240	0.245	7	0.275	0.265
2	0.029	0.026	12	0.050	0.047	2	0.320	0.305	8	0.315	0.335
3	0.048	0.042	13	0.034	0.033	3	0.265	0.285	9	0.240	0.265
4	0.031	0.029	14	0.025	0.025	4	0.240	0.240	10	0.285	0.275
5	0.057	0.055	15	0.030	0.025	5	0.220	0.210	11	0.275	0.265
6	0.050	0.047	16	0.033	0.033	6	0.285	0.315	12	0.325	0.335
7	0.035	0.033	17	0.036	0.035	Colony No. 1 ~ No. 10 : isolated from seed mash No. 11, No. 12 : Control (stock culture)					
8	0.030	0.026	18	0.026	0.025						
9	0.035	0.030	19	0.026	0.025	Non-Inoculation					
10	0.038	0.035	20	0.030	0.030						
Colony No. 1 ~ No. 15 : isolated from seed mash No. 16 ~ No. 20 : Control (stock culture)						Colony No.	Optical density ($-\log T$)		Colony No.	Optical density ($-\log T$)	
							5 days	15 days		5 days	15 days
						1	0.240	0.255	6	0.210	0.245
						2	0.285	0.315	7	0.340	0.370
						3	0.200	0.180	8	0.285	0.255
						4	0.220	0.190	9	0.240	0.245
						5	0.220	0.200	10	0.245	0.245

2. アルコール耐性を異にする菌株の共存する場合

上記の実験結果より、アルコール耐性を一つの目安として、酵母の分布を察知し得るものと考え、耐性の異な

つた 2 菌株を添加した場合, この方法によつて酒母の“ぬくみとり”前後の両酵母の分布状態を調査しようと試みた。

A. 実験方法

仕込方法: 蒸米188g, 麴米95g, 汲水275ml, 醸造用乳酸1.15mlを用い実験 I.A.イ)の場合に準じて仕込みを行なつた。仕込温度28°C, 8時間後に23°Cに冷却し, その温度にて湧付に導いた。仕込後36時間で湧付いたが, 72時間目の酸量は, 乳酸として0.484g/100mlであつて, 湧付休み終了時の酸量としては, やや不足であるため, 乳酸(30%) 1.2mlを加え, 酸量を0.56g/100mlとした。

そののち, 物量を2等分し, 一部はただちに酵母の分離を行ない, 他の一部は“ぬくみとり”操作を行なうため品温を30°Cまで上げ, 以後同温度に15時間保つたのち, 酵母の分離を行なつた。

供試酵母: 実験の目的が“ぬくみとり”操作による酵母の淘汰状態の調査にあるため, 供試酵母には, 耐性の強いSK72株と, 耐性の弱いSK73株を選んだ。両菌株とも麴汁30mlを用いて前培養を行ない, 48時間培養後の沈澱酵母を, 両者等量づつ水麴に添加した。この場合の接種量は比色計を用いて測定したところ, SK72株は酵母数 10.2×10^8 , SK73株は 8.5×10^8 であつた。

分離酵母のアルコール耐性: 酵母の分離方法は前実験と同様である。加温操作前後の酒母より, 各々5枚のペトリー皿を用いて平板培養を行ない, 生じたコロニー数より全酵母数を算出し, また操作前後の酵母の分離に用いたペトリー皿のうち, 各々1枚づつを任意に選び (Table 5 に示す, ○印を附したペトリー皿) これより各々40個のコロニーを任意に選んで釣菌した。

釣菌した菌株のアルコール耐性は実験 II・Aと同様に前培養し, アルコール添加培地に接種した。このときのアルコール濃度は12%としたが, この濃度においてはSK72株は繁殖し得るが, SK73株は繁殖し得ないので, 両菌株を区別し得るものと考えた。

酵母の繁殖程度は比色計にて, 5mm cell, 660m μ の場合の吸光係数で示した。

B. 実験結果

モデル酒母における“ぬくみとり”操作前, および後の成分変化は Table 4 に示す。Bé がやや少ないほかは一般の酒母と大差ない結果を得た。

また操作前後の生存酵母数は Table 5 にてわかるように, 67%にまで減少する。この残存率は, 同一操作条件で得られた Table 2 の結果における79%に比べかなり小さい。これは本実験に使用した菌株が, 強耐性菌株と弱耐性菌株を混用したためであつて, 当然両菌株の残存率に差異のあることが推察される。

両菌株の分布状態を, アルコール耐性を目安として調べた結果は Table 6 および Table 7 に示す。すなわ

Table 4. Component of seed mash before and after “Nukumitori” stage.

	Bé	Acidity (g/100ml) (as lactic acid)	Alcohol (%)	Reducing Sugar (g/100ml)	Total sugar (g/100ml)
Before “Nukumitori” stage	7.5	0.568	10.4	—	—
After “Nukumitori” stage	5.3	0.590	12.5	8.84	10.08

Table 5. Number of yeast cells in seed mash before and after “Nukumitori” stage
Conditions in “Nukumitori”: at 30°C, for 15 hrs.

	Counts of colonies in Petri dish	Average	Number of yeast cells	Ratio (%)
Before “Nukumitori” stage	57, ⑤⑧, 61, 64, 64	60.8	1.52×10^8	100
After “Nukumitori” stage	36, 39, 40, 43, ④⑥	40.8	1.02×10^8	67

○: The strains selected from these agar plate were determined for properties of tolerance to alcohol.

Table 6. The tolerance properties of the yeasts isolated from seed mash before and after "Nukumitori" stage to alcohol
 Temp. of "Nukumitori" : at 30°C, for 15 hrs.
 Medium : containing 12% alcohol
 Temp. for alcohol tolerance test : at 27.7°C
 Growth of yeast : shown by optical density ($-\log T$) with 5mm cell, 660m μ

Before "Nukumitori" stage						After "Nukumitori" stage					
Colony No.	$-\log T$		Colony No.	$-\log T$		Colony No.	$-\log T$		Colony No.	$-\log T$	
	5 days	10 days		5 days	10 days		5 days	10 days		5 days	10 days
1	0.400	0.480	21	0.380	0.490	1	0.345	0.540	21	0.275	0.500
2	0.420	0.480	22	0.380	0.475	2	0.120	0.470	22	0.315	0.520
3	0.280	0.450	23	0.305	0.470	3	0.370	0.515	23	0.470	0.640
4	0.310	0.450	24	0.275	0.460	4	0.370	0.560	24	0.440	0.575
5	0.360	0.470	25	0.280	0.415	5	0.095	0.090	25	0.220	0.520
6	0.330	0.440	26	0.320	0.450	6	0.340	0.550	26	0.450	0.600
7	0.390	0.470	27	0.120	0.360	7	0.380	0.540	27	0.430	0.570
8	0.355	0.450	28	0.045	0.038	8	0.375	0.470	28	0.215	0.465
9	0.400	0.480	29	0.080	0.075	9	0.385	0.570	29	0.420	0.590
10	0.210	0.400	30	0.055	0.045	10	0.350	0.525	30	0.345	0.530
11	0.145	0.410	31	0.095	0.085	11	0.210	0.400	31	0.340	0.530
12	0.270	0.430	32	0.032	0.038	12	0.295	0.460	32	0.06	0.07
13	0.380	0.470	33	0.085	0.080	13	0.460	0.600	33	0.06	0.06
14	0.410	0.475	34	0.038	0.033	14	0.450	0.600	34	0.06	0.320
15	0.215	0.425	35	0.095	0.088	15	0.510	0.680	35	0.06	0.320
16	0.235	0.400	36	0.045	0.040	16	0.270	0.510	36	0.05	0.04
17	0.320	0.465	37	0.048	0.045	17	0.285	0.510	37	0.05	0.04
18	0.290	0.440	38	0.085	0.070	18	0.510	0.640	38	0.09	0.450
19	0.365	0.470	39	0.158	0.330	19	0.530	0.660	39	0.06	0.05
20	0.135	0.410	40	0.058	0.070	20	0.370	0.560	40	0.05	0.05

Table 7. Distribution of the yeast in the seed mash by diagnosis of alcohol tolerance before and after "Nukumitori" stage

	Tolerance to alcohol (shown in table 6)	Counts of colonies	Ratio (Strong : Weak)
Before "Nukumitori" stage	Strong (over 0.25mg/ml) Weak (below 0.08mg/ml)	28 12	70 : 30
After "Nukumitori" stage	Strong (over 0.25mg/ml) Weak (below 0.08mg/ml)	32 8	80 : 20

	Number of Yeast cells	Tolerance to alcohol	Number of Yeast cells	Survival ratio
Before "Nukumitori" stage	1.52 $\times 10^8$	Strong Weak	1.06 $\times 10^8$ 0.46 $\times 10^8$	100 100
After "Nukumitori" stage	1.02 $\times 10^8$	Strong Weak	0.82 $\times 10^8$ 0.20 $\times 10^8$	77.5 45

ち、加温操作前の強弱両菌株の比率は 70 : 30 であるが、操作を行なった後では、80 : 20 となり強耐性株の分布比率が増加していることがわかる。

また全酵母数が 67% まで減少していることから、この残存率を上分布比によつて按分すると、強耐性菌株の残存率は約 78% となり、弱耐性菌株は 45% となる。前者の数値は同じ SK72 株を用い、同一「ぬくみとり」条件で行なわれた実験 I より

得られた残存率79%とよく一致しており, 本実験結果の妥当なることを示していると考えらる。

考 察

以上のように, 乳酸, アルコール耐性試験方法によつて, 酒母育成中の諸問題として温度条件と酵母の生育との関係について検討を加えたが, もちろん清酒醸造においては, 非常に複雑な因子が, 互に交錯し, それらの総合的あるいは, 相乗的效果が, 諸種の現象として観察せられるわけである。

酒母の“ぬくみとり”操作の意義に関しては, 雑菌(主として乳酸菌)の死滅が古くより説えられているが²⁾, これに関し米山, 塚原⁵⁾は乳酸0.77%, アルコール10%において, 15℃3日間, 20℃1日で乳酸菌は死滅し, 乳酸0.5%に低下すれば, アルコール10%, 20℃3日間でも死滅しないと報じている。これによつても, 乳酸, アルコール, 温度の3条件によつて, 雑菌死滅に対する効果を挙げていることが判る。

この実験で採用した“ぬくみとり”の条件は酸度約0.6%, アルコール11.5~12%, 温度30℃であるから, 雑菌の死滅に対しては充分な条件であると考えられ, 酒母における該操作の効果は, むしろ酵母の生理にたいする影響にあると思われる。この操作を行なわない酒母では, 熟成後使用までの期間, (すなわち枯し期間)が短いときには, 醪において急進しやすく, たまたま醪の溶解糖化とのバランスが崩れたような状態が介在すると, かえつて醗酵が不調となることがある。

また実験Ⅰの結果によれば, 過度の“ぬくみとり”条件は, 酵母の生存にたいして苛酷な条件となり, 高温になるほど, 生存酵母数は顕著に減少することを知つた。ここに得られた数値そのままが, ただちに酒造上の諸結果に該当すると考えるのは危険ではあるが, 一応酒母の成分と, “ぬくみとり”条件との関連につき示唆を与えるものと思う。

実験Ⅱにおいては, まず著者らが採用している方法による, 酵母のアルコール耐性力が, 酒母という特殊の培地で培養せられたために, いかに変化するかについて検討を加えた。麹菌体中には酵母のアルコール耐性に対し必須な各種ビタミン群の存在を先に認めたが⁶⁾, その他の有効因子も認められている^{7,8)}ことより見て, 酒母より分離せられた直後の酵母のアルコール耐性は, 増強せられているという可能性も考えられる。

しかし本実験の結果によれば, 耐性力の増加は認められず, 菌株固有の性質として, 菌株のメルクマールの一つに利用し得ることが判つた。またこのモデル酒母の純粋性について検討したが, 小量仕込で, 且つ開放醗酵であるにも拘らず, 爾後の実験に全く影響ない程度の純粋培養がなされたことを認めた。

“ぬくみとり”操作によつて弱耐性酵母が淘汰せられる可能性については前報⁹⁾における基礎実験より予測したところであるが, モデル速醸酒母を用いた本実験においても, 操作後の生存酵母数は, 操作前の酵母数に対して, 強耐性菌株では約78%, 弱耐性のものは45%の残存率となり, 明らかに弱性酵母が淘汰されることを示している。またこのような苛酷な条件を受けた酵母は, 他の培地に移植せられた場合, 当然 lag time の延長が考えられ, 醪の添仕込後においては, 両酵母の分布比率はさらに大きな差となることが推察される。

なお本実験における生存酵母数は, すべて麹汁平板培養によるコロニー数により測定したが, これに関しては別報⁹⁾において検討した。

総 括

酵母の乳酸, アルコール耐性試験において, 酒母の醗酵末期の品温が, 共棲菌類の生育限界に著しい影響を及ぼすことが想像せられる。

本報告においては, “ぬくみとり”操作の意義について, モデル酒母により種々の耐性を示す酵母菌株を用いて, コロニー計測法により試験した。すなわち“ぬくみとり”操作の品温を27℃以下にとつた場合はともかくとして, 29℃以上においては, 操作前の生育コロニー数に対して, かなり減少し80%以下になることを知つた。

酒母育成中において添加酵母の耐性の変化は認められず, また早期に相当量の酵母を添加することにより, たとえ開放下の培養にあつても, その特性を保持せしめ生存菌株数もきわめて優位にあり, 酵母添加の有意義なることが判明した。

次いで耐性を異にする菌株の共棲した酒母における“ぬくみとり”の意義については, ある程度の淘汰の現象が附与せられることが明瞭となり, この操作を施すことにより, アルコール耐性株の分布比率が上昇し, 弱耐性株の分布が急激に減少することから, 古来より“ぬくみとり”操作を酒母に施す理由の一つとして挙げられる,

弱性酵母の淘汰ならびに酒質の不変性についても、若干の裏付けとなると考えられる現象を認めた。

終りに臨み御懇篤なる御指導を賜った大阪大学工学部照井教授、寺本教授、田口助教授に対し厚く御礼申し上げます。また本稿の御校閲を賜った上田講師に深謝致します。

また本研究の発表を許可された当社会長辰馬吉男氏、社長辰馬力氏に対し感謝の意を表します。

文 献

- | | |
|---|---|
| 1) 井上, 高岡, 秦: 本誌, 40 , 541 (1962). | (1954). |
| 2) 小穴: 清酒醸造精義, P.476 (1936). | 7) 照井, 中西: 大阪醸造学会第12回講演会発表 |
| 3) 井上, 高岡, 秦: 本誌, 40 , 237 (1962). | (1960). |
| 4) 井上, 高岡, 秦: 本誌, 40 , 511 (1962). | 8) 松田, 近池: 本誌, 38 , 68 (1960). |
| 5) 米山, 塚原: 醸協 51 , 162 (1956). | 9) 井上, 高岡, 秦: 本誌, 40 , 499 (1962). |
| 6) 井上, 高岡: 大阪醸造学会第6回講演会発表 | (昭和37, 9, 25 受付) |

訂正 本誌10号 (第4報) p.506 Fig. 1 の縦軸見出し Ylast は Yeast に, Fig. 1 説明文2行目の temy. は temp. に, また p.510 下より3行目の2カ日後は2カ月間後に訂正致します。

[醸工 第40巻, 第11号, p. 555~560, 1962]

醗酵乳酸の利用に関する研究 (第16報)

気-液相反応における乳酸メチルの製造 (4) 半連続型式における中間工業試験

上田 隆蔵・林田 正典・栗脇 美文 (大阪大学工学部醗酵工学教室)

畠 山 脩・中 村 利 夫 (昭和化工株式会社)

Studies on the Utilization of Fermentation Lactic Acid (XVI)

Methyl Lactate Formation by the Liquid-vapor Phase Reaction

(4) Pilot Plant Test with Semicontinuous System

Ryuzo Ueda, Masanori Hayashida and Yoshiyumi Kuriwaki

(Dept. Ferment., Tech., Facult. Engin., Osaka Univ.)

Osamu Hatakeyama and Toshio Nakamura (Showa Kako Co., Ltd., Osaka)

The formation of methyl lactate using a semicontinuous system on a pilot plant scale was studied. 200 moles of fermentation lactic acid (mother lactic acid) were placed in a reaction vessel equipped with agitator (100 r.p.m.) and sparger, and was reacted with the vapor of methyl alcohol introduced from the sparger. At the desired time after the reaction started, fermentation lactic acid (the added lactic acid) was added continuously at constant rate through a flow meter up to 200 moles. The mixture containing ester, water, and methyl alcohol was distilled and collected in a receiver through a cooler.

The yield of methyl lactate was about 93% under the following experimental conditions: feed rate of methyl alcohol 112 g per min., reaction temperature 105–107°C, concentration of mother lactic acid and the added lactic acid 60%, sulfuric acid to 1 mole of lactic acid 5.1 g, feeding of the lactic acid 150 min. after the reaction started, feed rate of the lactic acid 100 g per min., reaction time 10.5 hours, mole ratio of methyl alcohol to lactic acid 5.4.

The optimum mole ratio of methyl alcohol to lactic acid in the reaction using 200 moles of lactic acid was one third of the run where 1 mole of lactic acid was used.