

様々な乾燥酵母の生菌率と活性の程度の調査

所 悠*, 河嶋 優美*, 松本 啓嗣*, 赤崎 哲也*

Investigation of the viable cell rates and degrees of activity regarding various kinds of dried yeasts

Yuu TOKORO*, Yuumi KAWASHIMA*, Yoshitsugu MATSUMOTO* and Tetsuya AKASAKI*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

In the Harmonized System, active yeasts and inactive ones are classified in subheadings 2102.10 and 2102.20, respectively. In Japan, different Customs duty rates are specified for the two subheadings. The conventional methylene blue staining method is considered a potential analysis method for discriminating between the two types of yeasts. However, this method observes the viable cell rate of microorganisms but does not directly measure the degree of activity. In addition, there is no reference regarding the viable cell rates of yeast products. In this study, we collected various kinds of dried yeast products available in Japan, and determined their viable cell rates according to a modified methylene blue staining method. We also evaluated whether a viability assay kit for microorganisms can be used for discriminating between active yeasts and inactive ones. As a result, we confirmed the following: (1) the analyzed active yeast products varied in their viable cell rates, while all the analyzed inactive yeast products consisted of dead cells only; and (2) as for the viability assay kit, it was found that an appropriate preparation method has to be developed for accurate analysis, because reducing substances in yeast products could affect the results.

1. 緒 言

関税率表第 21.02 項に分類される乾燥酵母は、活性のものか不活性のものかによって関税率表上の所属区分及び関税率が異なっている。不活性酵母については、関税率表解説第 21.02 項 (A) において「不活性酵母は、乾燥によって得られるものであるが、(中略) ビール醸造、蒸留酒製造又はパン製造に供するのには活性が弱くなったものをいう。」と説明されているが、その具体的な数値基準は設けられていない。

現在、税関では、輸入酵母製品が活性のものであるか又は不活性のものであるかを区別する方法の 1 つとして、染色法 (メチレンブルー染色による菌数計測法)¹⁾ (以下、菌数測定法と略記する。) が採用されている。この分析法は、死細胞ではメチレンブルーで青色に染色されるのに対し、生細胞ではその細胞内の酸化還元酵素の働きで、青色のメチレンブルーが無色のロイコンブルーに還元されるために染色されないことを利用し、視覚的な判断に基づいて生 (又は死) 細胞を計数し、生 (又は死) 細胞率を算出する。このため、測定誤差が生じ易い分析法といえる²⁾。また、同法により求めた生 (又は死) 細胞率が、測定した酵母製品の活性の程度と関連付けられるかどうかは不明である。更に、当該分析結果を比較するための活性及び不活性酵母製品の生菌率に関す

る文献は見当たらない。

一方、塚谷ら³⁾は、細胞の生体活動において生じる補酵素の還元能に着目し、仲介物質を介することで、無色の水溶性テトラゾリウム塩から有色のホルマザンを生成・蓄積させ、その吸光度を測定することにより微生物の代謝活性の程度を評価する方法を報告している。関税率表解説でいう酵母の活性とは、発酵能と考えられ、この発酵能は代謝活性と密接に関係することから、この原理を応用・発展させた市販の菌活性測定用キット (以下、発色キットと略記する。) を用いれば、菌数測定法とは異なり、酵母製品の活性の程度を直接評価できると思われる。

本研究では、まず菌数測定法における視覚的な誤差を改善するため、染色液の組成 (pH) 及び検液の調製方法を検討し、現行法を改良した菌数測定法により、国内市場に流通している様々な乾燥酵母製品の生菌率を測定した。次に、上記の発色キットを用いて同製品の代謝活性値を測定し (以下、吸光度測定法と略記する。)、関税分類における「活性酵母」と「不活性酵母」を区別するために有効かどうかを評価したので報告する。

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

活性酵母：パン酵母（3 検体；フランス産）、ビール酵母（1 検体；フランス産）、ワイン酵母（5 検体；ベルギー産及びオーストラリア産）

不活性酵母：パン酵母（2 検体；日本産及びポーランド産）、ビール酵母（6 検体；日本産、中国産及びベトナム産）、健康食品用酵母（4 検体；カナダ産）

2.1.2 試薬

りん酸水素二ナトリウム二水和物（特級 和光純薬）

りん酸二水素カリウム（特級 和光純薬）

メチレンブルー（特級 関東化学）

塩酸（特級 和光純薬）

グリシン（特級 和光純薬）

水酸化ナトリウム（特級 和光純薬）

標準寒天培地（日水製薬）

発色キット：Microbial Viability Assay Kit-WST（同仁化学）

2.2 分析装置及び条件

2.2.1 菌数測定法

トーマ血球計算盤（Erma 製）

生物顕微鏡：BX51（Olympus 製）

超音波脱気装置：DM-1（Cosmo Bio 製）

2.2.2 吸光度測定法

紫外・可視分光光度計：UV-2550（Shimadzu 製）

測定波長：450nm

測定セル：ディスポーサブル・マイクロセル

2.3 実験方法

2.3.1 菌数測定法

2.3.1.1 染色液の調製

0.01%メチレンブルー染色液⁴⁾：0.2Nりん酸水素二ナトリウム溶液0.25 mlと0.2Nりん酸二水素カリウム溶液99.75 mlを混合したものを、0.02%メチレンブルー水溶液100mlと混合し、0.05N塩酸でpH4.6に調整した。

0.01%アルカリメチレンブルー染色液⁶⁾：0.1Mグリシン 50mlを0.1N水酸化ナトリウムでpH10.6に調整後、100mlに定容した。このグリシン・水酸化ナトリウム緩衝液と0.1%メチレンブルー水溶液を9：1（容量比）の割合で混合した。

2.3.1.2 検液の調製

製品中の乾燥酵母は仮死状態にあり、水に一定時間浸透させて生菌に戻す操作（復水）が必要である。そこで、住川ら⁴⁾及び林田ら⁵⁾の報告を参考に、試料約200mgを100ml容のメスフラスコに量り取り、40℃の蒸留水で定容した後、40℃に設定した恒温水槽中で20分間インキュベート（10分経過時に攪拌）することにより復水を行った。この懸濁液1mlと2.3.1.1で調製した染色液のいずれか1mlを試験管内で混合し、一定時間、超音波脱気装置（40

kHz）で穏やかに試験管内の粒子を分散させたものを検液とした。

2.3.1.3 生菌率の計測

2.3.1.2で調製した各検液をトーマ血球計算盤に導入し、生物顕微鏡により総合倍率200～400倍で菌数の計測を行った。計測の際は、無作為になるようN字型に50区画の酵母細胞数を計測し、総菌数に対する無色の細胞数（生菌数）の割合を算出した。各試料について同じ操作を3回行い、その平均値を各乾燥酵母製品の生菌率とした。なお、トーマ血球計算盤の目盛線上の酵母については計数から除外した⁴⁾。

各乾燥酵母製品の総菌細胞密度（cells/g）は、使用したトーマ血球計算盤の1区画の容積が $2.5 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ であることから、50区画分の計測総菌数（cells）を 8×10^6 倍したものを、2.3.1.2における試料採取量（g）で割ることにより算出した。

2.3.2 吸光度測定法

2.3.2.1 細胞濃度が異なる検液の吸光度測定

試料1gを100ml容のメスフラスコに量り取り、2.3.1.2と同様の操作で復水し、測定検液中の細胞濃度（cells/ml）が $5.6 \times 10^6 \sim 1.3 \times 10^8$ の範囲で5種類の異なった濃度になるように、酵母懸濁液を滅菌水で適宜希釈した。各希釈懸濁液の1.9 mlを3本の微量遠心管に分取し、更に2.1.2の発色キットの説明書に従い、添付試薬と混合した。混合後、酵母の代謝を促進するために40℃の恒温水槽中にて1時間インキュベートした。

インキュベート後、遠心分離機（5000rpm, 1min）により酵母を分離した後、各々の上清のみを測定セルに移し、測定波長450nmで吸光度を測定した。

2.3.2.2 一定のインキュベート時間毎の吸光度測定

測定検液中の細胞濃度（cells/ml）が、活性酵母については、生菌で 2.0×10^7 に揃え、不活性酵母については、総菌（生菌及び死滅菌）で 3.2×10^7 になるように、適量の試料をそれぞれ100ml容のメスフラスコに量り取り、2.3.1.2と同様の操作で復水した。この酵母懸濁液の1.9 mlを9本の微量遠心管にそれぞれ分取し、更に2.1.2の発色キットの説明書に従い添付試薬と混合した。混合後、酵母の代謝を促進するために40℃の恒温水槽中にてインキュベートした。

インキュベート時間に対する吸光度の経時変化を観察するために、一定時間毎に恒温水槽中から上記の遠心管のうちの3本を取り出し、遠心分離機（5000rpm, 1min）により酵母を分離した後、その上清のみを測定セルに移し、測定波長450nmで吸光度を測定し、それらの平均値を測定値とした。

2.3.3 細胞培養試験

酵母の濃度が $3.2 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ になるように、適量の乾燥酵母製品を滅菌済みの三角フラスコに量り取り、100mlの滅菌水を加えて懸濁させた。この懸濁液を滅菌済みの試験管に適量分取し、滅菌水で $20 \sim 2 \times 10^5$ 倍に希釈したものを検液とした。

培地プレートは、標準寒天培地11.75gを1L容三角フラスコに量り取り、蒸留水500mlを加えてオートクレーブ滅菌（121℃, 15min）後、熱いうちに滅菌済みシャーレーに流し込み作製した。上記の各検液1mlを培地プレート上に塗り、乾かした後、37℃の

インキュベーター内で2日間保持した。ポジティブ・コントロールとして、市販のパン酵母を用いて同様の操作を行い、比較することにより、生菌存在の有無を確認した。

なお、上記の調製操作については、試料の秤量以外は全てクリーンベンチ内で行った。

3. 結果及び考察

3.1. 菌数測定法

3.1.1 検液調製の際の超音波照射の影響

乾燥酵母は、現行の菌数測定法⁴⁾に従って検液を調製すると、その液中で細胞が凝集することがあり、これは菌数を計測する際の誤差の要因となる。このことから、まず検液中の細胞を分散・均質化させるために超音波脱気装置を用いた前処理法の検討を行った。

乾燥（活性）酵母を2.3.1.2に従い、0.01%メチレンブルー染色液を用いて検液を調製し、その検液について、超音波照射時間に対する生菌率の変化を観測した（Table 1）。

Table 1 Effect of ultrasound treatment (40 kHz) on the viable cell rate of a dried yeast

Elapsed time (sec)	Viable cell rate (%)	S.D. (%)	C.V. (%)
0	61.6	1.57	2.55
30	62.8	2.29	3.65
60	66.2	1.95	2.95
90	63.7	0.81	1.28
120	62.8	3.52	5.61
180	60.2	1.50	2.49
300	62.3	1.62	2.60
480	62.2	3.49	5.61

Each value of the viable cell rate of yeast is the average value of three measurements. "S.D." and "C.V." mean "standard deviation" and "coefficient of variation," respectively.

測定時間の範囲（最大480秒間）においては、測定される生菌率への超音波照射の影響は確認されなかった。照射時間が120秒以上になると、酵母細胞が液中で十分に分散され、計測が困難となる事象が高い頻度で改善された。このことから、以後の菌数測定法の前処理では、超音波脱気装置による処理時間を120秒とした。

3.1.2 染色液の検討

現行の菌数測定法ではメチレンブルー染色液（pH 4.6）を用いるが、計数の際に死細胞（青）と生細胞（白）の色差が不明瞭なために、両者を識別することが困難な場合がある。一方、Samiら

⁹⁾は、メチレンブルー染色液の液性をアルカリ性（pH 10.6）にすることで、その染色結果が鮮明になることを報告している。そこで、同一の乾燥酵母製品について、2.3.1.2に従って復水した酵母懸濁液を2検体分調製し、一方にpH 4.6のメチレンブルー染色液（以下、メチレンブルー染色液と略記する。）を、他方にpH 10.6のメチレンブルー染色液（以下、アルカリメチレンブルー染色液と略記する。）を混合後、一定時間毎の両検液の生菌率を測定した（Fig. 1）。

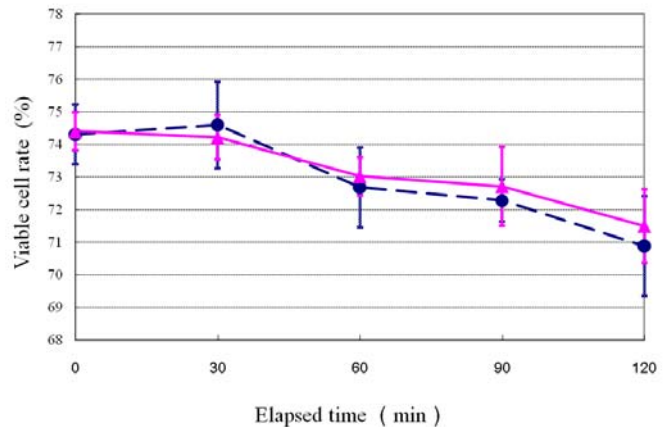


Fig.1 Change in the viable cell rate of a dried yeast after adding staining solution

Symbols (● conventional methylene blue (pH 4.6) staining method; ▲ alkaline methylene blue (pH 10.6) staining method) indicate the average value of three measurements. Bars in the graph are standard error bars representing the range of standard deviation (\pm) from each average value.

両検液とも混合した直後から30分までは、測定される生菌率に統計的な有意差は認められず、染色液混合から30分を経過すると、両検液ともに測定される生菌率は減少傾向を示した。

また、アルカリメチレンブルー染色液を用いた方が、検鏡時に観測される酵母細胞の色差（生細胞と死滅細胞の色の違い）がより明瞭となることを確認した（Fig.2）。これは、アルカリ性（pH 10.6）の染色液により、原形質膜が影響を受け、正の電荷を帯びるメチレンブルーが細胞内により浸透し易くなり、その結果として、酵母細胞の染色がより鮮明になったためと考えられる⁹⁾。

従って、菌数測定用検液の調製では、染色液をアルカリメチレンブルー染色液（pH 10.6）に変更し、超音波照射（40kHz、120秒間）を加えることで、計数作業を改善できることから、以降の菌数測定法には、この改良法を用いることにした。

3.1.3 各種乾燥酵母製品の生菌率

本研究に用いた試料の種類、用途、原産国、生菌率（%）、総菌細胞密度（cells/g）及び検鏡により確認した酵母の種類をTable 2に示す。

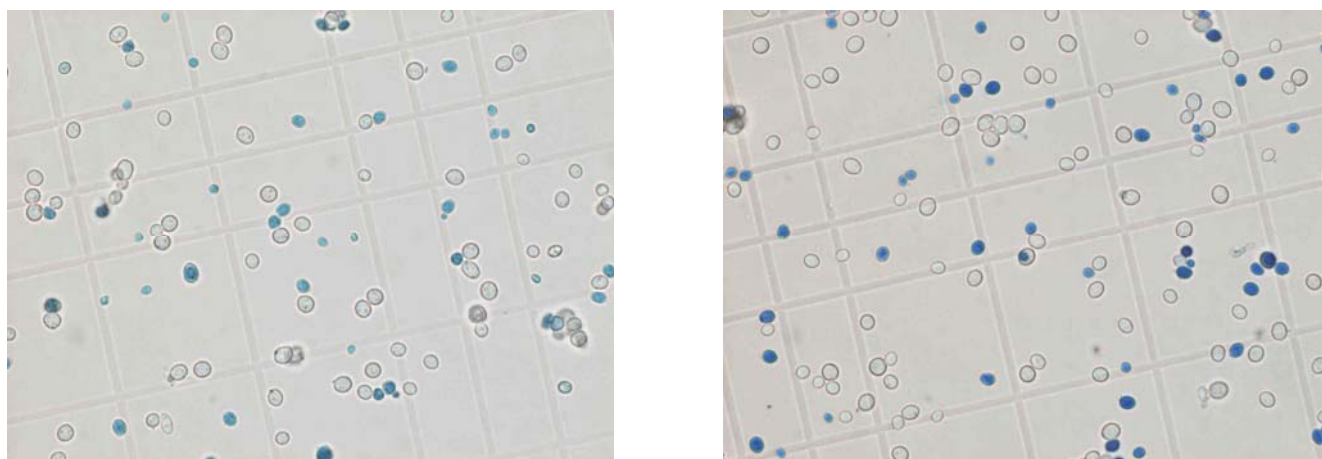


Fig. 2 Observation of yeast cells stained by two different methylene blue solutions

(A) Result of the conventional methylene blue (pH 4.6) staining method; (B) Result of alkaline methylene blue (pH 10.6) staining method. The optical scope observations were conducted at a total magnification of 400X. Dead cells are stained blue by methylene blue. Live cells are not stained and therefore retain their translucent bodies.

Table 2 List of the samples used in the study and their characteristics

Sample	Type of sample	Type of yeast / Use	Country of origin	Viable cell rate (%)	Cell density ^{*)} ($\times 10^4$ cells/g)	Identified genera by microscopic analysis
A	Active yeasts	Bread	France	62.1	1.61	<i>Saccharomyces</i>
B		Bread	France	80.3	1.46	<i>Saccharomyces</i>
C		Bread	France	77.2	1.52	<i>Saccharomyces</i>
D		Beer	France	53.0	1.55	<i>Saccharomyces</i>
E		Wine	Belgium	70.2	2.18	<i>Saccharomyces</i>
F		Wine	Belgium	49.5	2.12	<i>Saccharomyces</i>
G		Wine	Australia	66.4	1.41	<i>Saccharomyces</i>
H		Wine	Australia	77.8	1.98	<i>Saccharomyces</i>
I		Wine	Australia	81.0	1.85	<i>Saccharomyces</i>
J	Inactive yeasts	Beer	Japan	0.0	0.95	<i>Saccharomyces</i>
K		Beer	Japan	0.0	0.80	<i>Saccharomyces</i>
L		Beer	Japan	0.0	0.78	<i>Saccharomyces</i>
M		Beer	Japan	0.0	0.85	<i>Saccharomyces</i>
N		Bread	Poland	0.0	1.67	<i>Saccharomyces</i>
O		Bread	Japan	0.0	2.28	<i>Saccharomyces</i>
P		for food supplement	Canada	0.0	1.96	<i>Candida</i>
Q		for food supplement	Canada	0.0 ^{**)}	1.12	<i>Saccharomyces</i>
R		for food supplement	Canada	0.0	1.27	<i>Saccharomyces</i>
S		for food supplement	Canada	0.0 ^{**)}	1.59	<i>Saccharomyces</i>
T ^{***)}		Beer	China	0.0 ^{**)}	0.67	<i>Saccharomyces</i>
U		Beer	Vietnam	0.0	1.15	<i>Saccharomyces</i>

Each value of viable cell rate is the average value of three measurements.

*) The cell densities ($\times 10^7$ cells/g) of the products were roughly estimated from the total amounts of their yeast cells measured according to the alkaline methylene blue staining method.

**) The viable cell rates were confirmed by culture experiments, because the alkaline methylene blue staining method gave ambiguous results.

***) The sample is an imported yeast product declared as inactive yeast under subheading 2102.20.

Table 2 に示すように、製品の単位グラム当りの酵母細胞数を示す総菌細胞密度 (cells/g) は様々であった。また、活性酵母製品の生菌率は 49.5~81.0% と様々であったが、不活性酵母製品の生菌率はいずれも 0% であった。なお、Sample Q、Sample S 及び Sample T については、染色の不明瞭な酵母細胞が僅かに認められたことから、別途、細胞培養試験を行い、生菌の存在を示すコロニーが

形成されないことを確認した。

3.2 吸光度測定法

3.2.1 検液の酵母細胞濃度と吸光度の関係

2.3.2.1 に従い測定した、活性酵母製品の濃度に対する吸光度を Fig.3 に示す。

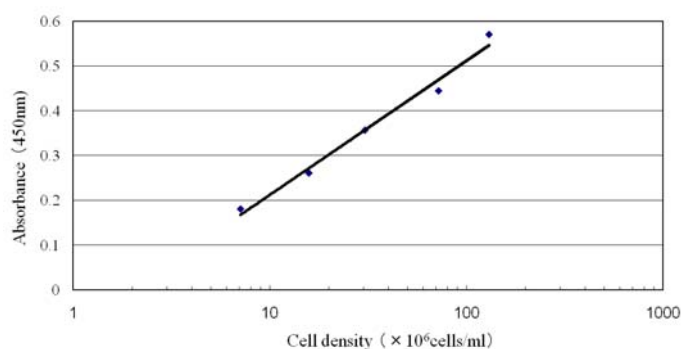


Fig. 3 Change in absorbance with the cell density of live yeast
A bread yeast product was used. Each absorbance was measured after incubation of test solution at 40°C for 60 minutes.

検液の酵母の生菌濃度 $5.6 \times 10^6 \sim 1.3 \times 10^8$ cells/mlにおいて、測定される吸光度は、生菌濃度の対数値と比例関係にあることを確認した。また、この結果から、吸光度測定においては、検液を調製する際の酵母細胞の凝集を避け、かつ十分な強度の吸光度を得るために、生菌濃度として 2×10^7 cells/ml程度の濃度に検液を調製するのが適当と判断した。

3.2.2 各乾燥酵母製品の代謝活性値（吸光度上昇度）

2.3.2.2 に従い測定した、乾燥酵母製品の吸光度の経時変化を Fig. 4 及び Table 3 に示す。

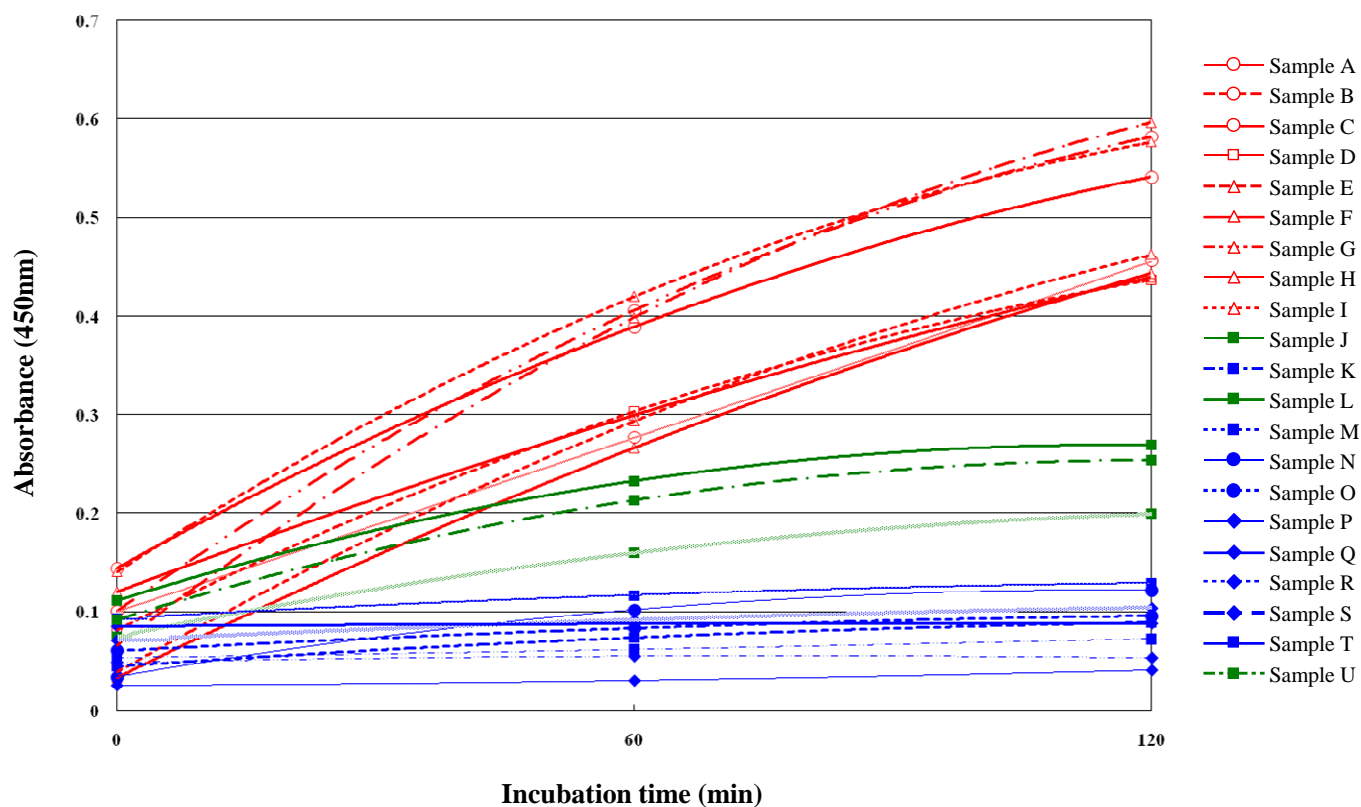


Fig.4 Change in absorbance with incubation time for dried yeast samples

The symbols, “round,” “triangle,” “square” and “diamond,” indicate bread yeast, wine yeast, beer yeast and yeast for production of dietary supplement, respectively. The analyzed samples were distinguished by using three different colors as follows: “red: active yeast products,” “blue: inactive yeast products” and “green: inactive yeast products but showed an increase of absorbance.”

Table 3 Result of the viability assay for various kinds of dried yeasts

Sample	Type of sample	Type of yeast / Use	Absorbance (450nm) \pm S.D. vs incubation time		
			0 hr	1 hr	2 hr
A	Active yeasts	Bread	0.144 \pm 0.002	0.389 \pm 0.010	0.541 \pm 0.013
B		Bread	0.101 \pm 0.010	0.406 \pm 0.016	0.582 \pm 0.008
C		Bread	0.101 \pm 0.006	0.277 \pm 0.007	0.456 \pm 0.008
D		Beer	0.081 \pm 0.006	0.303 \pm 0.006	0.437 \pm 0.007
E		Wine	0.141 \pm 0.008	0.420 \pm 0.006	0.577 \pm 0.009
F		Wine	0.121 \pm 0.010	0.300 \pm 0.007	0.440 \pm 0.004
G		Wine	0.066 \pm 0.008	0.399 \pm 0.007	0.597 \pm 0.009
H		Wine	0.033 \pm 0.003	0.266 \pm 0.003	0.444 \pm 0.002
I		Wine	0.039 \pm 0.003	0.294 \pm 0.007	0.462 \pm 0.010
J	Inactive yeasts	Beer	0.112 \pm 0.006	0.233 \pm 0.002	0.269 \pm 0.003
K		Beer	0.054 \pm 0.002	0.062 \pm 0.001	0.072 \pm 0.007
L		Beer	0.075 \pm 0.005	0.160 \pm 0.005	0.199 \pm 0.007
M		Beer	0.045 \pm 0.006	0.122 \pm 0.003	0.089 \pm 0.003
N		Bread	0.034 \pm 0.002	0.102 \pm 0.002	0.122 \pm 0.007
O		Bread	0.060 \pm 0.006	0.083 \pm 0.001	0.096 \pm 0.002
P		For food supplement	0.025 \pm 0.005	0.030 \pm 0.003	0.041 \pm 0.006
Q		For food supplement	0.071 \pm 0.004	0.092 \pm 0.005	0.104 \pm 0.005
R		For food supplement	0.085 \pm 0.005	0.067 \pm 0.009	0.088 \pm 0.002
S		For food supplement	0.049 \pm 0.003	0.055 \pm 0.006	0.053 \pm 0.003
T		Beer	0.093 \pm 0.004	0.117 \pm 0.003	0.129 \pm 0.003
U		Beer	0.092 \pm 0.004	0.213 \pm 0.005	0.254 \pm 0.005

The sample identification codes are the same as those in Table 2. Average absorbance of each sample at 450 nm against incubation time and its standard deviation (n = 3) are shown.

インキュベートから2時間後の吸光度は、活性酵母では最も低いもので0.440となり、不活性酵母では最も高いもので0.269となったことから、活性酵母と不活性酵母では吸光度に一定の差が確認できた。一部の不活性酵母製品 (Sample J、Sample L 及び Sample U) については、2時間のインキュベートで吸光度が約0.16上昇したので、それらについて細胞培養試験を行ったが生菌は確認されなかった。塚谷ら³⁾が「酵母の細胞内液や培地成分のペプトン、アミノ酸及び少糖類などの還元物質による影響を僅かに受ける。」と報告していることから、それらの吸光度の上昇は、製品中の何らかの成分（例えば、添加剤や残留培地成分等）の影響を受けたことが原因と考えられる。

活性酵母製品については、2時間のインキュベート後、パン酵母で0.36～0.48、ビール酵母で0.36、ワイン酵母で0.32～0.53の吸光度の上昇が認められ、酵母製品の用途が異なっても、それらの測定値に顕著な違いは確認されなかった。すなわち、酵母製品そのものの代謝活性の強さは、含まれる生菌数により依存していると思われる。

3.3 考察

国内で入手可能な様々な乾燥酵母製品を収集し、それらの生菌率を計測した結果、不活性酵母製品 (12種類) の生菌率はいずれ

も0%であり、菌数測定法でそれらが関税分類における不活性酵母であると確認できた。この結果は、国内市場で不活性のものとして流通している全ての酵母製品は、死滅酵母のみからなるものではないかと推察させる。また、3.2.1 及び 3.2.2 の結果から、酵母製品の活性の強さが、含まれる生菌数の対数値と大まかな相関があることが示唆されたことから、生菌率は酵母製品の活性の強さを評価するための指標の1つとして利用可能と思われる。今後、更なる酵母製品の生菌率についてのデータを蓄積することにより、(1)活性酵母製品の生菌率の範囲及び(2)不活性酵母製品として取り扱われている物品の生菌率は必ず0%であるかがより明確になると思われる。

吸光度測定法については、40℃、2時間のインキュベートで、全ての活性酵母製品 (9種類) で吸光度の上昇が認められたが、死滅酵母のみからなる不活性酵母製品の多く (12種類中9種類) については吸光度が上昇しなかったことから、酵母の活性の程度を評価する分析法としての可能性を示したといえる。しかしながら、一部の不活性酵母製品については、死滅酵母のみからなるにもかかわらず、添加剤又は残留培地成分等の還元性物質が原因と思われる吸光度の若干の上昇が確認されたので、正確な測定値を得るためには、前処理段階でのこれらの阻害物質の除去を検討する必要がある。

4. 要 約

メチレンブルー染色による菌数計測法の前処理方法を改良し、この改良法により国内で入手可能な様々な乾燥酵母製品の生菌率を測定すると共に、市販の菌活性測定用キットで収集した乾燥酵母製品の（代謝）活性の程度を測定し、活性酵母と不活性酵母を区別するために有効な方法かどうかを評価した。

菌数計測法の前処理方法については、染色液の液性をアルカリ性（pH 10.6）に変更し、超音波照射（40kHz、120 秒間）を行った改良法は、細胞凝集を抑制し、生・死細胞の色差を明瞭にすることから計測を容易にし、その測定値（生菌率）は、現行の染色法で得られたものと統計的な有意差がないことを確認した。

この改良菌数計測法で測定した活性酵母製品（9 種類）の生菌率は、49.5～81.0%と様々であったが、不活性酵母製品（12 種類）の生菌率は、いずれも 0%であった。

菌活性測定用キットを用いた測定では、活性酵母製品と不活性

酵母製品の間で測定値にある程度の差が認められたが、その一方で、製品中の何らかの還元性物質が測定値に影響を及ぼすことが確認された。今後は、精製等の前処理方法を検討すると共に、より多くの酵母製品のデータを収集し、その有効性を更に検証する必要がある。また、酵母製品そのものの活性の強さは、含まれる生菌数の対数値と大まかな相関があることを示すデータが得られた。

（謝 辞）

本研究を行うにあたり、乾燥酵母製品を提供して頂いた株式会社アサヒビール様、株式会社オリエンタル酵母工業様、株式会社キリン協和フーズ様及び株式会社ビー・インターナショナル様、そして試料収集に協力して頂いた横浜税関職員の皆様に、深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 日本生化学会編：“新生化学実験講座 17 微生物実験法” 東京化学同人，p.139 (1992)
- 2) 金丸毅，藤原耕三：鹿児島大学教育学部研究紀要（1968）
- 3) T. Tsukatani, T. Oba, H. Ukeda, K. Matsumoto：Analytical Sciences., **19**, 659-664 (2003)
- 4) 住川友則，赤崎哲也，中村文雄：関税中央分析所報，**43**，1 (2003)
- 5) 林田安生，西村賢了：“乾燥酵母の米焼酎製造への利用” 熊本県工業技術センター研究報告第 41 号（2003）
- 6) M. Sami, M. Ikeda, S. Yabuuchi：Journal of Fermentation and Bioengineering., **78**, 212-216 (1994)